

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-513807
(P2025-513807A)

(43)公表日 令和7年4月30日(2025.4.30)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/06 (2006.01)	A 6 1 K	45/06	Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	4 C 0 8 5
A 6 1 K	31/4184(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/519 (2006.01)	A 6 1 K	31/4184		4 H 0 4 5
A 6 1 K	31/4365(2006.01)	A 6 1 K	31/519		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全99頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-559585(P2024-559585)			(71)出願人	514232085
(86)(22)出願日	令和5年4月6日(2023.4.6)				ユーシービー バイオファルマ エスアー
(85)翻訳文提出日	令和6年12月4日(2024.12.4)				ルエル
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/059270				ベルギー国 1 0 7 0 ブリュッセル アレ
(87)国際公開番号	WO2023/194583				デ ラ レシエルシエ 6 0
(87)国際公開日	令和5年10月12日(2023.10.12)			(74)代理人	110000855
(31)優先権主張番号	2205203.9				弁理士法人浅村特許事務所
(32)優先日	令和4年4月8日(2022.4.8)			(72)発明者	デイビス、ガレス チャールズ グリンデ
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)				ユア
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV			(72)発明者	英国 エスエル1 3 ダブリューイー バ
			最終頁に続く		ークシャー、スラウ、バス ロード 2 0
					8、ユーシービー バイオファルマ ユー
					ケー、アイビーディー 気付
					ジョーンズ、ポール
					英国 エスエル1 3 ダブリューイー バ
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 グレムリンー 1 アンタゴニストと R a s − R a f − M E K − E R K シグナル伝達の阻害剤の組み合わせ

(57)【要約】
本発明は、R a s − R a f − M E K − E R K シグナル伝達の阻害剤を組み合わせ、がんを処置又は予防する方法において使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニストに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんを処置又は予防する方法における使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニストであって、方法が、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を投与することをさらに含む、上記抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 2】

- (a) がんが固形がんであり；
- (b) がんが間質 G R E M 1 過剰発現を有し；
- (c) がんが R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常を伴うがんであり；
- (d) 抗 G R E M 1 アンタゴニストへの曝露後、がんが R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常を示し；
- (e) がんが R a s 遺伝子、場合により K R A S、N R A S 及び／若しくは H R A S において突然変異を含有し；
- (f) がんが R a f 遺伝子；場合により A R A F、B R A F 及び／若しくは C R A F において突然変異を含有し；
- (g) がんが R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性であるがんであり；並びに／又は
- (h) がんが大腸がん、多発性骨髄腫、膵臓がん、膀胱がん、乳がん、肺がん、胃がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、前立腺がん、神経膠腫、子宮内膜がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、黒色腫及び骨肉腫から選択される、請求項 1 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 3】

- (a) がんが膵臓がんであり；場合により、
 - (i) 膵臓がんが外分泌膵臓がんであり；及び／又は
 - (i i) 膵臓がんが膵管腺がん (P D A C) であり；
- (b) がんが多発性骨髄腫又は大腸がんであり；場合により K R A S / B R A F 突然変異型大腸がんであり；
- (c) がんが肺がんであり；場合によりがんが非小細胞肺がん (N S C L C) であり；又は
- (d) がんが黒色腫であり、場合により B R A F 突然変異型黒色腫である、請求項 2 (h) に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 4】

- (a) がんが上皮 G R E M 1 過剰発現を有し；場合によりがんが G R E M 1 誘発性のがんであり；
- (b) がんが播種性がんであり；及び／又は
- (c) がんが確立されたがんである、請求項 1 から 3 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 5】

アンタゴニストが、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、アンチセンス RNA、低分子干渉 RNA (s i R N A)、低分子阻害剤又は低分子ヘアピン RNA (s h R N A) である、請求項 1 から 4 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 6】

- (a) アンタゴニストが、I l e 1 3 1、L y s 1 4 7、L y s 1 4 8、P h e 1 4 9、T h r 1 5 0、T h r 1 5 1、A r g 1 6 9、L y s 1 7 4 及び G l n 1 7 5 から選択される少なくとも 1 つの残基を含むグレムリン-1 上のエピトープに結合する抗体であり、残基の番号付けが配列番号 1 に従い；場合により
 - (i) 抗体が、I l e 1 3 1、L y s 1 4 7、L y s 1 4 8、P h e 1 4 9、T h r 1 5 0、T h r 1 5 1、A r g 1 6 9、L y s 1 7 4 及び G l n 1 7 5 のすべてを含むエピトープと結合し；並びに／又は

10

20

30

40

50

(i i) L y s 1 4 7、L y s 1 4 8、P h e 1 4 9、T h r 1 5 0、T h r 1 5 1、A r g 1 6 9、L y s 1 7 4 及び G l n 1 7 5 が、同じグレムリン-1モノマー上に位置し、I l e 1 3 1 が第2のグレムリン-1モノマー上に位置し；

(b) アンタゴニストが、配列番号10若しくは12の重鎖可変領域(H C V R)内に含有される重鎖相補性決定領域(H C D R)配列、及び／又は配列番号11若しくは13の軽鎖可変領域(L C V R)内に含まれる軽鎖相補性決定領域(L C D R)配列を含む抗グレムリン-1抗体であり；又は

(c) アンタゴニストが、配列番号3、4、5及び6から選択される少なくとも1つのH C D R配列、並びに／若しくは配列番号7、8及び9から選択される少なくとも1つのL C D R配列を含む抗グレムリン-1抗体であり；場合により

(i) 抗グレムリン-1抗体が、配列番号6のH C D R 3配列を含み；

(i i) 抗グレムリン-1抗体が、配列番号4／5／6若しくは配列番号3／5／6から選択されるH C D R 1／H C D R 2／H C D R 3配列の組み合わせ、及び／又は配列番号7／8／9から選択されるL C D R 1／L C D R 2／L C D R 3配列の組み合わせを含み；

(i i i) 抗グレムリン-1抗体が、配列番号4／5／6／7／8／9若しくは配列番号3／5／6／7／8／9のH C D R 1／H C D R 2／H C D R 3／L C D R 1／L C D R 2／L C D R 3配列の組み合わせを含み；及び／又は

(i v) 抗グレムリン-1抗体が、配列番号10若しくは12の重鎖可変領域(H C V R)配列、及び／又は配列番号11若しくは13の軽鎖可変領域(L C V R)配列、又はそれと少なくとも95%同一である配列を含む、
請求項5に記載の使用のための抗G R E M 1アンタゴニスト。

【請求項7】

(a) 抗グレムリン-1抗体が、配列番号10／11若しくは12／13のH C V R及びL C V R配列対、又はそれと少なくとも95%同一である配列を含み；場合により、抗グレムリン-1抗体が、配列番号4／5／6／7／8／9若しくは配列番号3／5／6／7／8／9からなるH C D R 1／H C D R 2／H C D R 3／L C D R 1／L C D R 2／L C D R 3配列を含み；H C V R及びL C V Rの残りが、それぞれ配列番号10、11、12及び／又は13と少なくとも95%の同一性を含み；並びに／或いは

(b) 抗グレムリン-1抗体が、配列番号14、16、18、22、28、30、32若しくは34の重鎖、及び／若しくは配列番号15、17、19、23、29、31、33若しくは35の軽鎖、又はそれと少なくとも95%同一である配列を含む、
請求項6(c)(i v)に記載の使用のための抗G R E M 1アンタゴニスト。

【請求項8】

抗グレムリン-1抗体が、配列番号14／15、16／17、18／19、22／23、28／29若しくは30／31、32／33、34／35の重鎖及び軽鎖の対、又はそれらと少なくとも95%同一である配列を含み；場合により、抗体のH C D R 1／H C D R 2／H C D R 3／L C D R 1／L C D R 2／L C D R 3配列が配列番号4／5／6／7／8／9若しくは配列番号3／5／6／7／8／9からなり、重鎖及び軽鎖の残りがそれぞれ配列番号14、15、16及び／又は17と少なくとも95%の同一性を含む、
請求項7(b)に記載の使用のための抗G R E M 1アンタゴニスト。

【請求項9】

(a) アンタゴニストが、請求項6(a)(i)から7までのいずれか一項に定義される抗体とグレムリン-1への結合をめぐって競合する抗体であるか；又は

(b) アンタゴニストが、請求項6(a)(i)から7までのいずれか一項に定義される抗体と同じ、グレムリン-1上のエピトープに結合する抗体である、
請求項5に記載の使用のための抗G R E M 1アンタゴニスト。

【請求項10】

(a) アンタゴニスト抗体が、キメラ抗体、ヒト抗体若しくはヒト化抗体であり；及び／又は

10

20

30

40

50

(b) アンタゴニスト抗体が、Fab、修飾Fab、Fab'、修飾Fab'、F(ab')₂、Fv、単ドメイン抗体若しくはscFvである、

請求項5から9までのいずれか一項に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項11】

アンタゴニストは、請求項6から10までのいずれか一項に定義される抗体をコードするポリヌクレオチドであるか、又は前記ポリヌクレオチドを有する発現ベクターである、請求項5に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項12】

アンタゴニスト抗体が、薬学的に許容されるアジュバント及び／又は担体をさらに含む医薬組成物中に含まれる、請求項5から10までのいずれか一項に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

10

【請求項13】

(a) Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤が、Mapk1、Nrass、Kras及び／若しくはMycシグナル伝達を下方制御し；及び／又は

(b) Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤がMEK阻害剤、場合によりアロステリックMEK阻害剤である、

請求項1から12までのいずれか一項に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項14】

(a) MEK阻害剤が、MEK1及び／又はMEK2阻害剤であり；及び／又は

20

(b) MEK阻害剤が、セルメチニブ(AZD6244)、トラメチニブ(GSK-1120212)、コビメチニブ(GDC-0973)、ビメチニブ(MEK162)、CI-1040(PD184352)、ミルダメチニブ(PD0325901)、TAK733、レファメチニブ(RDEA119/Bay86-9766)、RO-5126766、RO5068760、ピマセルチブ(AS703026)、AZD8330、GDC-0623、RO-4987655、WX-554(UCB-554)、HL-085、ARRY-300、ClnQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、U0126又はSL327であり；場合により

(i) MEK阻害剤がセルメチニブ(AZD6244)であり；

(ii) MEK阻害剤がトラメチニブ(GSK-1120212)であり；

30

(iii) MEK阻害剤がWX-554(UCB-554)であり；

(iv) MEK阻害剤がセルメチニブ(AZD6244)であり、がんが膵臓がん；場合によりPDACであり；又は

(v) MEK阻害剤がトラメチニブ(GSK-1120212)であり、がんが膵臓がん；場合によりPDACであり；

(vi) MEK阻害剤がWX-554(UCB-554)であり、がんが膵臓がん；場合によりPDACである、

請求項13(b)に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項15】

MEK阻害剤が、

40

(a) N-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)-3-(モルホリン-4-イルカルボニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-アミン；

(b) N-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)-3-[(4-メチルピペラジン-1-イル)カルボニル]チエノ[2,3-b]ピリジン-2-アミン；

(c) [2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル](ピロリジン-1-イル)メタノン；

(d) (1-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-カルボニル}ピペリジン-4-イル)-カルバミン酸tert-ブチルエステル；

(e) 2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]

50

ピリジン-3-カルボン酸 (4-アミノピペリジン-1-イル) アミド二塩酸塩;

(f) (1- {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-カルボニル} アゼチジン-3-イルメチル) カルバミン酸 tert-ブチルエステル;

(g) [3- ((アミノメチル) アゼチジン-1-イル) - {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} -メタノン;

(h) (1- {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-カルボニル} - (3R) -ピロリジン-3-イル) カルバミン酸 tert-ブチルエステル;

(i) (1- {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-カルボニル} - (3S) -ピロリジン-3-イル) カルバミン酸 tert-ブチルエステル;

(j) (1- {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-カルボニル} アゼチジン-3-イル) -カルバミン酸 tert-ブチルエステル;

(k) [(3R) -3-アミノピロリジン-1-イル] - {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} -メタノン;

(l) [(3S) -3-アミノピロリジン-1-イル] - {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} -メタノン;

(m) (3-アミノアゼチジン-1-イル) - {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} -メタノン;

(n) {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} - (3-ヒドロキシアゼチジン-1-イル) -メタノン;

(o) {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} - [(3R) -3-ヒドロキシピロリジン-1-イル] -メタノン;

(p) {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} - [(3S) -3-ヒドロキシピロリジン-1-イル] -メタノン;

(q) {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} - [2- (ヒドロキシメチル) -ピペリジン-1-イル] -メタノン;

(r) {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} - [(3S) -3- (ヒドロキシメチル) -モルホリン-4-イル] -メタノン;

(s) 4- {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-カルボニル} - (3R) -3- (ヒドロキシメチル) ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル;

(t) 2- [4- ({2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} カルボニル) ピペラジン-1-イル] エタノール;

(u) 3- ((1, 4-ジアゼパン-1-イルカルボニル) -N- (2-フルオロ-4-ヨードフェニル) チエノ [2, 3-b] ピリジン-2-アミン;

(v) N- (2-フルオロ-4-ヨードフェニル) -3- (ピペラジン-1-イルカルボニル) チエノ [2, 3-b] ピリジン-2-アミン;

(w) エチル [4- ({2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} カルボニル) -ピペラジン-1-イル] アセタート;

(x) [4- ({2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b] ピリジン-3-イル} カルボニル) ピペラジン-1-イル] 酢酸;

(y) {2- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3-b

10

20

30

40

50

】ピリジン-3-イル} - [(2R)-2-(メトキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-メトン；及び

(z) {2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル} - [(2R)-2-(ヒドロキシメチル)-ピペラジン-1-イル]-メタノン

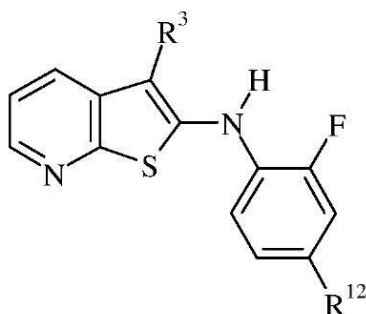
からなる群から選択される、請求項13(b)に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項16】

MEK阻害剤が、式(II)：

【化1】

10



(II)

20

[式中、

R¹²はハロゲンを表し；

R³はCONR^bR^cを表し；

R^b及びR^cは、それらがともに結合している窒素原子と一緒にした場合、アゼチジン-1-イル、ピロリジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリン-4-イル、チオモルホリン-4-イル、ピペラジン-1-イル、ホモピペリジン-1-イル、ホモモルホリン-4-イル又はホモピペラジン-1-イルを表し、それらの基のいずれかは、場合により、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ(C₁₋₆)アルキル、アミノ-(C₁₋₆)アルキル、(アミノ)(ヒドロキシ)(C₁₋₆)アルキル、ハロゲン、オキソ、C₂₋₆アルキルカルボニル、カルボキシ、C₂₋₆アルコキシカルボニル、ジ(C₁₋₆)アルキルヒドラジニルカルボニル、アミノ、C₁₋₆アルキルアミノ、ジ(C₁₋₆)アルキルアミノ、C₂₋₆アルキルカルボニルアミノ、アミノカルボニルアミノ、アミノカルボニル、C₁₋₆アルキルアミノカルボニル、ジ(C₁₋₆)アルキルアミノカルボニル、アミノスルホニル、C₁₋₆アルキルスルホニル、C₁₋₆アルキルアミノカルボニル(C₁₋₆)アルキル、C₁₋₆アルコキシ(C₁₋₆)アルキル、カルボキシ(C₁₋₆)アルキル、C₂₋₆アルコキシカルボニル(C₁₋₆)アルキル、C₂₋₆アルコキシカルボニルアミノ及びC₂₋₆アルコキシカルボニルアミノ-(C₁₋₆)アルキルから選択される1つ以上の置換基によって置換されていてもよく；

30

40

場合により、R¹²はブロモ又はヨードを表す]

並びにその薬学的に許容される塩、溶媒和物及びN-オキシドによって表される、請求項13(b)に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項17】

Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤がERK阻害剤であり；場合により

(a) ERK阻害剤が、ウリキセルチニブ、テムテルキブ、JSI-1187、ラボキセルチニブ、ASN007若しくはMK-8353であり；及び／又は

(b) ERK阻害剤が、ウリキセルチニブであり；さらに場合により、ERK阻害剤が

50

ウリキセルチニブであり、がんが膵臓がん；場合によりPDACである、請求項1から13(a)までのいずれか一項に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項18】

方法が、追加の抗がん剤を投与することをさらに含む、請求項1から17までのいずれか一項に記載の使用のための抗GREM1アンタゴニスト。

【請求項19】

がんを処置又は予防する方法における使用のためのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤であって、方法が、さらに抗GREM1アンタゴニストを投与することを含む、上記阻害剤。

【請求項20】

前記がん、前記アンタゴニスト及び／又は前記方法が、請求項1から18までのいずれか一項に定義される通りである、請求項19に記載の使用のためのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤。

【請求項21】

(a) Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤が、MEK阻害剤であり；場合により

(i) 阻害剤がセルメチニブ(AZD6244)であり；

(ii) 阻害剤がトラメチニブ(GSK-1120212)であり；若しくは

(iii) 阻害剤がWX-554(UCB-554)であるか；又は

(b) Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤がERK阻害剤であり；場合により、前記ERK阻害剤がウリキセルチニブである、請求項19又は請求項20に記載の使用のためのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤。

【請求項22】

がんを処置する方法であって、治療有効量のRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた治療有効量の抗GREM1アンタゴニストを、それを必要とする対象に投与することを含む上記方法。

【請求項23】

前記がん、前記アンタゴニスト及び／又は前記方法が、請求項1から21までのいずれか一項に定義される通りである、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

抗GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を含む組成物又はキット。

【請求項25】

(a) 抗GREM1アンタゴニストが、請求項5から11までのいずれか一項に定義されている通りであり；及び／又は

(b) Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤が、請求項13(a)から17までのいずれか一項に定義される通りである、請求項24に記載の組成物又はキット。

【請求項26】

(a) がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者におけるGREM1の間質発現、GREM1の上皮発現、及び／又はRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を測定し、それによって、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いか否かを予測することを含む上記方法；或いは

(b) がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者におけるGREM1の間質発現及び／又はGREM1の上皮発現を測定し、患者がRAS遺伝子又はRAF遺伝子に突然変異を有するか否かを決定し、それによ

10

20

30

40

50

って、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いか否かを予測することを含む上記方法；或いは

（c）がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、抗GREM1アンタゴニストによる処置に応答して、患者におけるRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路シグナル伝達を測定し、それによって、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いか否かを予測することを含む上記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、がんを処置又は予防するための併用療法に関する。特に、本発明は、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせて、がんを処置又は予防する方法に使用するための抗GREM1アンタゴニスト、並びに関連する組成物及びキットに関する。本発明はまた、間質GREM1過剰発現及びRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路のシグナル伝達又はRAS遺伝子若しくはRAF遺伝子における突然変異に基づいて、患者が併用療法に応答する可能性があるか否かを予測する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）シグナル伝達経路（例えば、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路）は、細胞の生存、増殖及び分化において重要な役割を果たす。これらの経路における調節異常のシグナル伝達は、細胞増殖の制御不能によるがんを含む様々な疾患と関連している。さらに、MAPK経路における上方制御されたシグナル伝達は、細胞傷害性剤、免疫調節剤及びEGFR阻害剤を含む広範な抗がん剤治療に応答する耐性メカニズムとして報告されている（Martinelli, E. et al., 2017; Kozar, I. et al., 2019; Kobayashi, Y. et al., 2020）。MAPKシグナル伝達経路の阻害剤、特にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路の阻害剤、例えば、MEK阻害剤及びERK阻害剤は、がんを処置するために報告されている。例えば、MEK阻害剤は、BRAF突然変異型黒色腫及びKRAS/BRAF突然変異型大腸がんの処置における使用について承認されている。しかしながら、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路などのMAPKシグナル伝達経路の阻害剤による処置を受けている患者では、後天性耐性が一般的である。したがって、がんを処置及び予防するための新しい治療の開発が必要とされている。また、既存のMAPK経路阻害剤の有効性を改善することができる併用療法もまた必要とされる。

【0003】

重要な課題となっているがんの1つに膵臓がんがある。膵臓がんは致死的な疾患であり、近年罹患率が増加している。膵臓がんに関連する環境的危険因子には、喫煙、膵炎、アルコール、肥満、感染症及びダイエットが含まれ、これは、先進国では膵臓がんがますます一般的になってきていることを意味する。化学療法を組み合わせた外科的切除術（膵十二指腸切除術）は、膵臓がんの唯一の長期的処置法を提示する。しかしながら、限られた検診と症状の欠如が相まって、患者は、典型的には末期の進行した疾患と診断され、外科的切除のチャンスは限られている。結果として、膵臓がんは、すべての一般的ながんの中で生存率が最も低く、5年生存率は7%以下、10年以上の生存率は5%という低さである。過去40年間、生存率の改善は限定的であり、膵臓がんに対する新しい治療法の緊急の必要性を強めている。切除不能な腫瘍では、膵臓がんの標準治療は化学療法レジメンである。しかしながら、化学療法は副作用を伴い、がんの再発は一般的である。膵臓がんは診断が遅く、予後不良であり、治療戦略も限られているため、治療法の改善が必要である。

【発明の概要】

【0004】

本発明者らは、 $LSL-Kras^{G12D/+}; LSL-Trp53^{R172H/+}; Pdx1-Cre$ (KPC) マウスモデルにおいて、抗GREM1アンタゴニスト（例えば、Ab7326）に曝露すると、NRas、Myc及びMapk1などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達に關与する遺伝子が上方制御されることを実証した。さらに、本発明者らは、驚くべきことに、GREM1アンタゴニストが、膵臓がんの処置又は予防のために、MEK阻害剤などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と有利に組み合わせて投与され得ることを示した。本発明者らは、これらの結果に基づいて、GREM1アンタゴニストと、MEK阻害剤及びERK阻害剤などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤とを含む併用療法が、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達が誘導／上方制御されるがんの処置及び予防において一般的に有用であることを想定している。さらに、本発明者らは、これらの結果に基づいて、GREM1アンタゴニストと、MEK阻害剤及びERK阻害剤などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤とを含む併用療法が、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常に關連するがん、又はRas遺伝子若しくはRaf遺伝子における突然変異を含有するがんの処置及び予防において一般的に有用であることを想定している。本明細書において提供されるインビボの結果は、MEK阻害剤と組み合わせたGREM1アンタゴニストの投与による、 $LSL-Kras^{G12D/+}; LSL-Trp53^{R172H/+}; Pdx1-Cre$ (KPC) マウスモデルにおける有意に増加した生存、並びに腫瘍増殖の遅延及び腫瘍縮小を示す。本発明者らの知見は、がん、特に膵臓がんの予防及び処置に対する改善されたアプローチを提供する。

10

20

【0005】

したがって、本発明の第1の態様では、がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストが提供され、本方法は、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を投与することをさらに含む。

【0006】

本発明のさらなる態様では、がんを処置又は予防する方法において使用するためのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤が提供され、本方法は、抗GREM1アンタゴニストを投与することをさらに含む。

【0007】

本発明の別の態様では、がんを処置する方法であって、治療有効量のRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を組み合わせた治療有効量の抗GREM1アンタゴニストを、それを必要とする対象に投与することを含む上記方法が提供させる。

30

【0008】

本発明のさらに別の態様では、抗GREM1アンタゴニスト及びRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を含む組成物又はキットが提供される。

【0009】

本発明のさらなる態様では、がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法が提供され、本方法は、抗GREM1アンタゴニストによる処置に
40
応答して患者におけるRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達を測定し、それによって、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いかどうかを予測することを含む。

40

【0010】

本発明のさらなる態様では、がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に
50
応答する可能性が高いかどうかを決定する方法が提供され、本方法は、患者におけるGREM1の間質発現、GREM1の上皮発現及び／又はRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達を測定し、それによって、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いかどうかを予測することを含む。

50

【0011】

本発明のさらに別の態様ではがん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法が提供され、本方法は、患者におけるGREM1間質発現及び／又はGREM1の上皮発現を測定し、患者がRAS遺伝子又はRAF遺伝子において突然変異を有するかどうかを決定し、それによって、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いかどうかを予測することを含む。

【図面の簡単な説明】

【0012】

10

【図1】グレムリン-1発現が示されている中央値を上回るか又は下回るPDAC患者の生存を示す Kaplan-Meier 分析の図である。高レベルのグレムリン-1を発現している腫瘍を有する患者は、低発現の患者と比較して有意に予後不良である。KM plotter より作製した。

【図2】(a) 繁殖戦略、及び (b) 実験設計を示す模式図である。

【図3A】NanoString 技術によりプロファイリングされた46遺伝子のKPCマウスモデルにおける遺伝子発現を示す図である。A. ボルケーノプロットに記述された未調整のp値。

【図3B】B. Nras 発現の線形モデル。

【図3C】C. Myc 発現の線形モデル。

20

【図3D】D. Mapk1 発現の線形モデル。

【図4】KRAS経路に対するAb7326 mIgG1曝露の効果を示す経路エンリッチメントを示す図である。

【図5】薬力学的研究において、(指示されるように)処置中の個々のマウスにおける高分解能超音波法によって測定した場合の腫瘍負荷を示すグラフである。

【図6】生存研究コホートにおいて、(指示されるように)処置中の個々のマウスにおける高分解能超音波法によって測定した場合の腫瘍負荷を示すグラフである。

【図7】指示されるAb7326 mIgG1 (n=9)、セルメチニブ (n=8)、又はセルメチニブを組み合わせたAb7326 mIgG1 (n=9) による処置開始からの、Pdx1-Cre; LSL-Kras^{G12D/+}; LSL-Trp53^{R172H/+} (KPC) マウスの生存を示す Kaplan-Meier 分析を示す図である。

30

【図8】指示されるように処置されたマウスにおける、がん関連線維芽細胞のマーカー (αSMAとボドブランニン) に対する抗体を用いたIHC、及びコラーゲンIとIIIに対するピクロシリウスレッド染色のスコアリング (HALOソフトウェア分析による) のグラフである。

【図9a】指示されるように、ビヒクル対照 (n=10)、Ab7326 mIgG1 (n=10)、UCB-554 (n=10)、又はUCB-554と組み合わせたAb7326 mIgG1 (n=11) による処置の開始からの、Pdx1-Cre; LSL-Kras^{G12D/+}; LSL-Trp53^{R172H/+} (KPC) マウスの生存を示す Kaplan-Meier 分析を示す図である。

40

【図9b】ビヒクル対照 (n=10)、Ab7326 mIgG1 (n=8)、UCB-554 (n=10)、又はUCB-554と組み合わせたAb7326 mIgG1 (n=11) で処置された個々のKPCマウスにおける、高分解能超音波によって測定した場合の処置開始後7日目の腫瘍体積を示す箱ひげを示す図である。各箱は四分位範囲、ひげは最小観察値と最大観察値を示す。実線の横棒は中央値を表し、破線の横線は平均体積を表す。

【図9c】ビヒクル対照 (n=10)、又はUCB-554と組み合わせたAb7326 mIgG1 (n=11) による処置において、個々のKPCマウスにおける高分解能超音波によって測定した場合の経時的な腫瘍負荷を示すグラフである。

【図10a】指示されるように、ビヒクル対照 (n=10)、Ab7326 mIgG1

50

($n = 19$)、セルメチニブ ($n = 17$)、又はセルメチニブと組み合わせた A b 7 3 2 6 m I g G 1 ($n = 19$) による処置の開始からの、P d x 1 - C r e ; L S L - K r a s G 1 2 D / + ; L S L - T r p 5 3 R 1 7 2 H / + (K P C) マウスの生存を示す Kaplan-Meier 分析を示す図である。データは、図 7 に示したものを含む合わせたデータセットである。

【図 10 b】ビヒクル対照 ($n = 10$)、A b 7 3 2 6 m I g G 1 ($n = 8$)、セルメチニブ ($n = 9$)、又はセルメチニブと組み合わせた A b 7 3 2 6 m I g G 1 ($n = 10$) で処置された個々の K P C マウスにおける、高分解能超音波によって測定した場合の処置開始後 7 日目の腫瘍体積を示す箱ひげを示す図である。各箱は四分位範囲、ひげは最小観察値と最大観察値を示す。実線の横棒は中央値を表し、破線の横線は平均体積を表す。

10

【図 10 c】ビヒクル対照 ($n = 10$)、又はセルメチニブと組み合わせた A b 7 3 2 6 m I g G 1 ($n = 10$) による処置において、個々の K P C マウスにおける高分解能超音波によって測定した場合の経時的な腫瘍負荷を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0013】

表の簡単な説明

表 1 - K r a s G 1 2 D + マウス膵管細胞と比較した、K P C 腫瘍及びすべての膵臓マウスモデルを合わせたものにおいて上方制御された g r e m 1 示す表。

表 2 - 用量と所定の処置スケジュール、各処置を受けたマウスの数、及び各処置コホートにおける生存中央値を示す表。

20

表 3 - 用量と所定の処置スケジュール、アームあたりのマウスの数、及びサンプリングの時点を示す表。

表 4 - 用量と所定の処置スケジュール、各処置におけるマウスの数、及び各処置コホートにおける生存中央値を示す表。* 使用された過去のデータを示す。

表 5 - 処置コホート間の生存統計を比較する表 (ログランク分析)。A b 7 3 2 6 m I g G 1 とセルメチニブの組み合わせで処置されたマウスは、セルメチニブ単独での処置と比較して生存の有意な増加を示す。

表 6 - 処置中の個々のマウスの生存データ及び打ち切りを示す表。

表 7 - 分析した個々のマウス試料を示す表。

30

表 8 - 用量と所定の処置スケジュール、各処置におけるマウスの数、各処置コホートにおける生存中央値を示す表。

表 9 - A b 7 3 2 6 と U C B - 5 5 4 の組み合わせで処置した K P C マウスの生存統計のまとめ。

表 10 - A b 7 3 2 6 とセルメチニブの組み合わせで処置された K P C マウスの生存統計の要約。

【0014】

本発明の詳細な説明

開示された製品及び方法の異なる用途は、当該技術分野における特定の必要性に合わせて調整され得ることを理解されたい。また、本明細書で使用される用語は、本発明の特定の実施形態を説明するためだけのものであり、限定することを意図するものではないことを理解されたい。

40

【0015】

さらに、本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、「及び「the」は、内容が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「阻害剤」への言及は、2つ以上のこのような阻害剤を含み、又は「オリゴヌクレオチド」への言及は、2つ以上のこのようなオリゴヌクレオチドなどを含む。

【0016】

本明細書で引用されるすべての刊行物、特許及び特許出願は、前述又は後述にかかわらず、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

50

【0017】

抗GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を用いた併用療法

本発明は、がんを処置又は予防する方法において使用するための、MEK又はERK阻害剤などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供する。がんは、典型的には、GREM1の過剰発現を有するがん、及び／又はRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路の調節異常を伴うがんである。がんは、追加的又は代替的に、抗GREM1アンタゴニストへの曝露／処置後にRas-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示すがんであり得る。特に、がんは、Ras-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達が、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置後に誘導／上方制御されるがんであり得る。このようながんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を示し得る。がんは、追加的又は代替的に、RAS遺伝子又はRAF遺伝子における突然変異を含むものとして特徴付けられ得る。

10

【0018】

本発明はさらに、がんを処置又は予防する方法において使用するためのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を提供し、本方法は、抗GREM1アンタゴニストの別個の、連続した、又は同時の投与を含む。

20

【0019】

Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤

Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤は、細胞生存、増殖及び分化に関与するRas-Raf-MEK-ERKマイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）シグナル伝達カスケード（本明細書では古典的MAPK経路、Raf/MEK/ERK、Raf-MEK-ERK、Ras-調節Raf-MEK-ERK経路、MAPK/ERK（MEK）、Ras/Raf/MAPK（MEK）/ERK、Ras-Raf-MAPK又はRaf-MEK-ERK経路とも呼ばれることがある）を標的とする任意の阻害剤であり得る。MAPKカスケードは複数の細胞内シグナル伝達経路からなる。典型的には、細胞表面で増殖因子のそれらの同族受容体（例えば、EGF/EGFR）への結合は、低分子GTPaseであるRasの動員をもたらし、これはセリンセロニンキナーゼであるRAFを活性化し、マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼ（MEK）酵素であるMEK1及びMEK2のリン酸化及び活性化をもたらし。MEK1及びMEK2（それぞれMap2k1及びMap2k2としても公知である）は、二重特異性キナーゼであり、Erk1及びErk2（MAPK）をリン酸化し、核への移行と複数の転写因子の活性化を引き起こす。したがって、MEK阻害剤は、通常、Erk1/Erk2のMEK1/MEK2リン酸化と下流のシグナル伝達経路を遮断する。ERK阻害剤はまた、Erk1/Erk2のリン酸化を妨げ、及び／又はErk1/Erk2の触媒活性を阻害し得る。

30

40

【0020】

本発明者らは、抗GREM1アンタゴニストによる曝露後、KPCマウスモデルにおいて、KRASシグナル伝達が上方制御されることを同定した（図4）。さらに、Mapk1、Nras及びMycなどのRas-Raf-MEK-ERK経路に関与する遺伝子は、KPCマウスモデルにおいて抗GREM1抗体Ab7326による曝露により上方制御される（図3）。本発明者らはさらに、抗GREM1抗体とMEK阻害剤の組み合わせが、このモデルにおいて有意な抗腫瘍活性を有することを示した。したがって、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを含む併用療法は、GREM1過剰発現、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常、並びに／又はRAS遺伝子及びRAF遺伝子における突然変異に関連するがんを処置

50

するために使用され得る。

【0021】

さらに、本明細書で定義される抗GREM1アンタゴニストと、MEK阻害剤又はERK阻害剤などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤とを含む併用療法は、抗GREM1アンタゴニストへのより早い曝露／それによる処置後にRas-Raf-MEK-ERK経路が調節異常となるがんを処置又は予防するために使用され得る。特に、がんは、Ras-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達が、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置後に誘導／調節されるがんであり得る。このようながんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を示すことができる。

10

【0022】

調節異常とは、Ras-Raf-MEK-ERK経路が、参照試料又は参照レベルと比較して、上方制御又は下方制されることを意味する。Ras-Raf-MEK-ERK経路は、mRNA又はタンパク質レベルで上方制御又は下方制御され得る。例えば、がんは、本発明の抗GREM1アンタゴニストへの曝露後に、Ras-Raf-MEK-ERK経路の遺伝子／タンパク質の上方制御を示すがんであり得る。代替的又は追加的に、がんは、本発明の抗GREM1アンタゴニストによる処置に応答して、Map2k1、Map2k2、Erk1及び／又はErk2のリン酸化の増加を示すがんであり得る。がんは、GREM1アンタゴニストによる処置について以前に記載されたがん又は腫瘍であり得る。このようながんには、限定されないが、膵臓がん、多発性骨髄腫、大腸がん、乳がん及び前立腺がんが含まれる。好ましい実施形態では、がんは膵臓がんである。

20

【0023】

本明細書で使用される場合、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤には、その薬学的に許容される塩及び溶媒和物が含まれる。

【0024】

Ras-Raf-MEK-ERK経路（古典的なMAPKカスケード）内の任意のタンパク質が、本発明で使用するための阻害剤の標的となり得る。したがって、阻害剤は、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達を阻害するために、Ras-Raf-MEK-ERK経路の少なくとも1つの成分を標的化する。Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害は、典型的には、経路の少なくとも1つの成分の活性の減少を伴う。したがって、阻害剤は、Ras-Raf-MEK-ERK経路（古典的なMAPKカスケード）中の任意のノード（典型的には任意のタンパク質）の直接的又は間接的な阻害剤であり得る。例えば、Ras-Raf-MEK-ERK経路の阻害剤は、KRASの阻害剤（例えば、ARS-1620又はMRTX849）などの直接的又は間接的なRAS阻害剤であり得る。或いは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤は、ソラフェニブ、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ又はエンコラフェニブなどのRAF阻害剤であり得る。別の態様では、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤は、MEK阻害剤であり得る。例示的なMEK阻害剤は、以下に詳述される。なおさらなる態様では、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤は、ERK阻害剤、例えば、ウリキセルチニブ（4-[5-クロロ-2-[(1-メチルエチル)アミノ]-4-ピリジニル]-N-[(1S)-1-(3-クロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]-1H-ピロール-2-カルボキサミド、一塩酸塩）；(S)-4-(5-クロロ-2-(イソプロピルアミノ)ピリジン-4-イル)-N-(1-(3-クロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル)-1H-ピロール-2-カルボキサミド；BVD-523；VRT-752271）、テムテルキブ（LY3214996；4H-チエノ[2,3-c]ピロール-4-オン、5,6-ジヒドロ-6,6-ジメチル-2-[2-[(1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アミノ]-4-ピリミジニル]-5-[2-(4-モルホリニル)エチル]；6,6-ジメチル-2-[2-[(2-メチルピラゾール-3-イル)ア

30

40

50

ミノ] ピリミジン-4-イル] -5- (2-モルホリン-4-イルエチル) チエノ [2, 3-c] ピロール-4-オン)、JSI-1187、ラボキセルチニブ (1- [(1S) -1- (4-クロロ-3-フルオロフェニル) -2-ヒドロキシエチル] -4- [2- [(2-メチルピラゾール-3-イル) アミノ] ピリミジン-4-イル] ピリジン-2-オン; (S) -1- (1- (4-クロロ-3-フルオロフェニル) -2-ヒドロキシエチル) -4- (2- (1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル) アミノ) ピリミジン-4-イル) ピリジン-2 (1H) -オン); MK-8353 ((3S) -3-メチルスルファニル-1- [2- [4- [4- (1-メチル-1, 2, 4-トリアゾール-3-イル) フェニル] -3, 6-ジヒドロ-2H-ピリジン-1-イル] -2-オキソエチル] -N - [3- (6-プロパン-2-イルオキシピリジン-3-イル) -1H-インダゾール-5-イル] ピロリジン-3-カルボキサミド; (S) -N- (3- (6-イソプロポキシピリジン-3-イル) -1H-インダゾール-5-イル) -1- (2- (4- (4- (1-メチル-1H-1, 2, 4-トリアゾール-3-イル) フェニル) -3, 6-ジヒドロピリジン-1 (2H) -イル) -2-オキソエチル) -3- (メチルチオ) ピロリジン-3-カルボキサミド)、又はASN007 ((S) -N- (2-アミノ-1- (3-クロロ-5-フルオロフェニル) エチル) -1- (5-メチル-2- (テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル) アミノ) ピリミジン-4-イル) -1H-イミダゾール-4-カルボキサミド) であり得る。好ましい実施形態では、ERK阻害剤はウリキセルチニブである。本発明の特に好ましい実施形態では、ERK阻害剤はウリキセルチニブであり、処置されるべきがんは膵臓がん、好ましくは膵管腺がん (PDAC) である。Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路の他の阻害剤は当該技術分野において周知である。

10

20

【0025】

本発明の好ましい態様では、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤は、MEK阻害剤である。抗GREM1アンタゴニストと組み合わせて使用するためのMEK阻害剤は、アロステリックMEK阻害剤並びに／又はMEK1阻害剤及び／若しくはMEK2阻害剤であり得る。用語「アロステリックMEK阻害剤」とは、MEKのATP結合ポケット外のアロステリック部位に結合する阻害剤を指す。アロステリックMEK阻害剤 (他にはIII型MEK阻害剤としても公知である) は、高い選択性を示し、典型的には、MEK1/2の活性化ループの動きを減少させることによって機能する。他のMEK阻害剤には、I型及びII型MEK阻害剤が含まれ、これらはATP結合をめぐって競合し、MEKの触媒部位を占有するか (I型)、又はATP結合ポケット内の隣接部位に結合する (II型)。MEK阻害剤の3つの型はすべて、本発明の方法における使用が企図される。すなわち、I型、II型又はIII型のMEK阻害剤が、本発明の方法において使用され得る。

30

【0026】

例示的なアロステリックMEK阻害剤としては、セルメチニブ (AZD6244; ARRY-142886; 6- (4-ブロモ-2-クロロアニリノ) -7-フルオロ-N- (2-ヒドロキシエトキシ) -3-メチルベンズイミダゾール-5-カルボキサミド) 又はトラメチニブ (GSK-1120212; N- (3- {3-シクロプロピル-5- [(2-フルオロ-4-ヨードフェニル) アミノ] -6, 8-ジメチル-2, 4, 7-トリオキソ-3, 4, 6, 7-テトラヒドロピリド [4, 3-d] ピリミジン-1 (2H) -イル} フェニル) アセトアミド) が挙げられる。本発明で使用するための他の例示的なMEK阻害剤としては、セルメチニブ (AZD6244)、トラメチニブ (GSK-1120212)、コビメチニブ (GDC-0973; (S) - [3, 4-ジフルオロ-2- (2-フルオロ-4-ヨードフェニルアミノ) フェニル] [3-ヒドロキシ-3- (ピペリジン-2-イル) アゼチジン-1-イル] メタノン)、ビニメチニブ (MEK162; 5- (4-ブロモ-2-フルオロフェニル) アミノ) -4-フルオロ-N- (2-ヒドロキシエトキシ) -1-メチル-1H-ベンゾ [d] イミダゾール-6-カルボキサミド)、CI-1040 (PD184352)、ミルダメチニブ (PD0325901; N- [(2R) -2, 3-ジヒドロキシプロポキシ] -3, 4-ジフルオロ-2- [(2-フルオロ-

40

50

4-ヨードフェニル) アミノ] ベンズアミド)、TAK733 ((R)-3-(2,3-ジヒドロキシプロピル)-6-フルオロ-5-(2-フルオロ-4-ヨードフェニルアミノ)-8-メチルピリド[2,3-d]ピリミジン-4,7(3H,8H)-ジオン;3-[(2R)-2,3-ジヒドロキシプロピル]-6-フルオロ-5-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)-8-メチルピリド[2,3-d]ピリミジン-4,7-ジオン)、レファメチニブ(RDEA119/Bay 86-9766;N-[3,4-ジフルオロ-2-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)-6-メトキシフェニル]-1-[(2S)-2,3-ジヒドロキシプロピル]シクロプロパン-1-スルホンアミド)、RO5126766(3-[[2-[(メチルアミノスルホニル)アミノ]-3-フルオロピリジン-4-イル]メチル]-4-メチル-7-[(ピリミジン-2-イル)オキシ]-2H-1-ベンゾピラン-2-オン);N-[3-フルオロ-4-[[4-メチル-2-オキソ-7-(2-ピリミジニルオキシ)-2H-1-ベンゾピラン-3-イル]メチル]-2-ピリジニル]-N'-メチルスルファミド)、RO5068760、ピマセルチブ(AS703026;N-[(2S)-2,3-ジヒドロキシプロピル]-3-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)ピリジン-4-カルボキサミド)、AZD8330(2-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)-N-(2-ヒドロキシエトキシ)-1,5-ジメチル-6-オキソピリジン-3-カルボキサミド;2-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ)-N-(2-ヒドロキシエトキシ)-1,5-ジメチル-6-オキソ-1,6-ジヒドロピリジン-3-カルボキサミド)、GDC-0623(5-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)-N-(2-ヒドロキシエトキシ)イミダゾ[1,5-a]ピリジン-6-カルボキサミド)、RO-4987655(3,4-ジフルオロ-2-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)-N-(2-ヒドロキシエトキシ)-5-[(3-オキソオキサジナン-2-イル)メチル]ベンズアミド)、WX-554(UCB-554;[3-(アミノメチル)アゼチジン-1-イル]-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル}-メタノン)、HL-085、ARRY-300、ClnQ-03、G-573、PD184161(5-ブromo-2-[(2-クロロ-4-ヨードフェニル)アミノ]-N-(シクロプロピルメトキシ)-3,4-ジフルオロベンズアミド)、PD318088(5-ブromo-N-(2,3-ジヒドロキシプロピル)-3,4-ジフルオロ-2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]ベンズアミド)、PD98059(2-(2-アミノ-3-メトキシフェニル)-4H-1-ベンゾピラン-4-オン)、U0126(1,4-ジアミノ-2,3-ジシアノ-1,4-ビス(2-アミノフェニルチオ)ブタジエン;(2Z,3Z)-2,3-ビス[アミノ[(2-アミノフェニル)チオ]メチレン]ブタンジニトリル)又はSL327が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0027】

本発明の好ましい実施形態では、MEK阻害剤は、セルメチニブ(AZD6244)又はトラメチニブ(GSK-1120212)である。本発明の特に好ましい実施形態では、MEK阻害剤はセルメチニブ(AZD6244)又はトラメチニブ(GSK-1120212)であり、処置されるべきがんは膵臓がん、好ましくは膵管腺がん(PDAC)である。

【0028】

本発明の好ましい実施形態では、MEK阻害剤は、置換アニリノ部分によって2位が置換されたチエノ[2,3-b]ピリジン誘導体のクラスに属する。このクラスに属する例示的なMEK阻害剤としては、

- N-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)-3-(モルホリン-4-イルカルボニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-アミン;
- N-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)-3-[(4-メチルピペラジン-1-イル)カルボニル]チエノ[2,3-b]ピリジン-2-アミン;
- [2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル](ピロリジン-1-イル)メタノン;

- － (1－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボニル} ピペリジン－4－イル)－カルバミン酸 *tert*－ブチルエステル；
- － 2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボン酸 (4－アミノピペリジン－1－イル) アミド二塩酸塩；
- － (1－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボニル} アゼチジン－3－イルメチル) カルバミン酸 *tert*－ブチルエステル；
- － [3－ (アミノメチル) アゼチジン－1－イル]－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－メタノン；
- － (1－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボニル}－ (3R)－ピロリジン－3－イル) カルバミン酸 *tert*－ブチルエステル；
- － (1－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボニル}－ (3S)－ピロリジン－3－イル) カルバミン酸 *tert*－ブチルエステル；
- － (1－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボニル} アゼチジン－3－イル)－カルバミン酸 *tert*－ブチルエステル；
- － [(3R)－3－アミノピロリジン－1－イル]－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－メタノン；
- － [(3S)－3－アミノピロリジン－1－イル]－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－メタノン；
- － (3－アミノアゼチジン－1－イル)－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－メタノン；
- － {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－ (3－ヒドロキシアゼチジン－1－イル)－メタノン；
- － {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－ [(3R)－3－ヒドロキシピロリジン－1－イル]－メタノン；
- － {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－ [(3S)－3－ヒドロキシピロリジン－1－イル]－メタノン；
- － {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－ [2－ (ヒドロキシメチル)－ピペリジン－1－イル]－メタノン；
- － {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル}－ [(3S)－3－ (ヒドロキシメチル)－モルホリン－4－イル]－メタノン；
- － 4－ {2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－カルボニル}－ (3R)－3－ (ヒドロキシメチル) ピペラジン－1－カルボン酸 *tert*－ブチルエステル；
- － 2－ [4 ({2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル) カルボニル) ピペラジン－1－イル] エタノール；
- － 3－ ((1, 4－ジアゼパン－1－イルカルボニル)－N－ (2－フルオロ－4－ヨードフェニル) チエノ [2, 3－b] } ピリジン－2－アミン；
- － N－ (2－フルオロ－4－ヨードフェニル)－3－ (ピペラジン－1－イルカルボニル) チエノ [2, 3－b] } ピリジン－2－アミン；
- － エチル [4－ ({2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル) カルボニル)－ピペラジン－1－イル] アセタート；
- － [4－ ({2－ [(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] } ピリジン－3－イル) カルボニル) ピペラジン－1－イル] 酢酸；

10

20

30

40

50

ー {2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル}-[(2R)-2-(メトキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-メトン; 及び

ー {2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル}-[(2R)-2-(ヒドロキシメチル)-ピペラジン-1-イル]-メタノン

が挙げられる。

【0029】

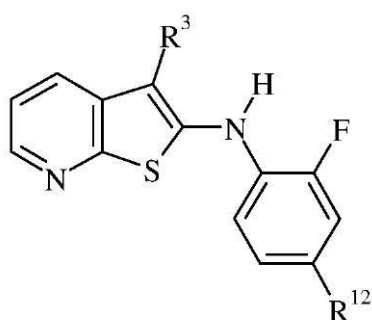
これらのMEK阻害剤を製造する方法は、国際公開第WO2007/088345号に開示され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0030】

本発明で使用するための、置換アニリノ部分によって2位が置換されたチエノ[2,3-b]ピリジン誘導体のクラスに属する好ましいMEK阻害剤は、式(II)：

【化1】



20

(II)

[式中、

R¹² はハロゲンを表し；

R³ はCONR^bR^cを表し；

R^b 及び R^c は、それらがともに結合している窒素原子と一緒になった場合、アゼチジン-1-イル、ピロリジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリン-4-イル、チオモルホリン-4-イル、ピペラジン-1-イル、ホモピペリジン-1-イル、ホモモルホリン-4-イル又はホモピペラジン-1-イルを表し、それらの基のいずれかは、場合により、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ(C₁₋₆)アルキル、アミノ-(C₁₋₆)アルキル、(アミノ)(ヒドロキシ)(C₁₋₆)アルキル、ハロゲン、オキソ、C₂₋₆アルキルカルボニル、カルボキシ、C₂₋₆アルコキシカルボニル、ジ(C₁₋₆)アルキルヒドラジニルカルボニル、アミノ、C₁₋₆アルキルアミノ、ジ(C₁₋₆)アルキルアミノ、C₂₋₆アルキルカルボニルアミノ、アミノカルボニルアミノ、アミノカルボニル、C₁₋₆アルキルアミノカルボニル、ジ(C₁₋₆)アルキルアミノカルボニル、アミノスルホニル、C₁₋₆アルキルスルホニル、C₁₋₆アルキルアミノカルボニル(C₁₋₆)アルキル、C₁₋₆アルコキシ(C₁₋₆)アルキル、カルボキシ(C₁₋₆)アルキル、C₂₋₆アルコキシカルボニル(C₁₋₆)アルキル、C₂₋₆アルコキシカルボニルアミノ及びC₂₋₆アルコキシカルボニルアミノ-(C₁₋₆)アルキルから選択される1つ以上の置換基によって置換されていてもよい]

30

40

の化合物、並びにそれらの薬学的に許容される塩、溶媒和物及びN-オキシドによって表される。

【0031】

一実施形態では、R¹² はブロモである。別の実施形態では、R¹² はヨードである。

【0032】

50

式 (I I) の化合物を製造する方法は、国際公開第 W O 2 0 0 7 / 0 8 8 3 4 5 号に開示され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 0 3 3 】

本発明の好ましい実施形態では、M E K 阻害剤は、式 (I I) の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは N - オキシドである。本発明の特に好ましい実施形態では、M E K 阻害剤は、式 (I I) の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは N - オキシドであり、処置されるべきがんは、膵臓がん、好ましくは膵管腺がん (P D A C) である。

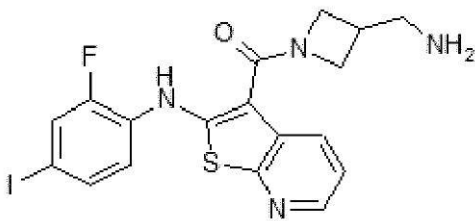
【 0 0 3 4 】

本発明の好ましい実施形態では、M E K 阻害剤は W X - 5 5 4 (U C B - 5 5 4) である。本発明の特に好ましい実施形態では、M E K 阻害剤は W X - 5 5 4 (U C B - 5 5 4) であり、処置されるべきがんは膵臓がん、好ましくは膵管腺がん (P D A C) である。

【 0 0 3 5 】

W X - 5 5 4 (U C B - 5 5 4) ; [3 - (アミノメチル) アゼチジン - 1 - イル] - { 2 - [(2 - フルオロ - 4 - ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2 , 3 - b] ピリジン - 3 - イル } - メタノン) の構造をここに示す。

【 化 2 】



【 0 0 3 6 】

W X - 5 5 4 を製造する方法は、国際公開 W O 2 0 0 7 / 0 8 8 3 4 5 号に開示され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 0 3 7 】

置換アニリノ部分で 2 位が置換されたチエノ [2 , 3 - b] ピリジン誘導体のクラスに属する上述の M E K 阻害剤は、ヒト M E K 1 及び / 又は M E K 2 酵素に対する結合親和性 (I C ₅₀) が 5 0 μ M 以下、一般的には 2 0 μ M 以下、通常 5 μ M 以下、典型的には 1 μ M 以下、好適には 5 0 0 n M 以下、理想的には 1 0 0 n M 以下、好ましくは 2 0 n M 以下である強力で選択的な M E K 阻害剤である。(当業者は、I C ₅₀ の数値が低いほど活性の高い化合物であることを理解する)。本発明で使用するためのこれらの M E K 阻害剤は、ヒト M E K 1 及び / 又は M E K 2 酵素に対して、他のヒトキナーゼと比較して少なくとも 1 0 倍の選択的親和性、典型的には少なくとも 2 0 倍の選択的親和性、好適には少なくとも 5 0 倍の選択的親和性、理想的には少なくとも 1 0 0 倍の選択的親和性を有することができる。

【 0 0 3 8 】

インビトロ M E K アッセイなどの M E K 阻害剤の活性を決定するために種々の方法を使用することができる。例示的なインビトロ M E K アッセイは、国際公開第 W O 2 0 0 7 / 0 8 8 3 4 5 号に記載され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 0 3 9 】

本明細書で定義される G R E M 1 アンタゴニストと、M E K 阻害剤又は E R K 阻害剤などの R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤とを含む併用療法が、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤で典型的に標的化されるがんを処置又は予防するために使用され得ることも企図される。がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置について以前に記載されたがん又は腫瘍であり得る。このようながんには、限定されないが、膵臓がん、多発性骨髄腫、大腸がん、肺がん及び黒色腫が含まれる。

【0040】

がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性であるがん、及び／又は R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置が企図されているがんであり得る。或いは、がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性であるがんであり得る。がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に適さないものとして先に記載されたものであり得る。一部の場合では、がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して初期には応答性であるが、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤に対して耐性を発生することがある。応答性は任意の手段によって測定され得る。例えば、処置に対する応答性は、X 線、C T 若しくは M R I スキャンを用いた処置前後の腫瘍サイズを測定するか、又は腫瘍マーカーを測定することによって評価することができる。臓器機能を決定するための血液検査もまた、処置に対する応答性を評価するために使用され得る。膵臓がんの応答性をモニタリングするための例示的な血液マーカーの1つは C A 1 9 - 9 である。当業者は、処置に対するがんの応答性を測定する方法を知っている。

10

【0041】

がん

抗 G R E M 1 アンタゴニストと、M E K 又は E R K 阻害剤などの R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤とを含む併用療法との関連で、がんは、任意のがん又は腫瘍であり得る。特に、抗 G R E M 1 アンタゴニストと R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を含む併用療法との関連で、がんは、間質、典型的には脱腫瘍性間質を有するがん又は腫瘍であり得る。がんは、G R E M 1 誘導性である任意のがん又は腫瘍であり得る。がんは、間質及び／又は上皮 G R E M 1 の過剰発現が観察される任意のがんであり得る。がん又は腫瘍は、間質 G R E M 1 過剰発現を有し、上皮 G R E M 1 過剰発現を有さない場合がある。がん又は腫瘍は、上皮 G R E M 1 過剰発現を有し、間質 G R E M 1 過剰発現を有さない場合がある。好ましい実施形態では、がん又は腫瘍は、脱形成間質において G R E M 1 の過剰発現を有する。がん又は腫瘍は、G R E M 1 アンタゴニスト、M E K 阻害剤及び／又は E R K 阻害剤による標的化に適した任意のがん又は腫瘍であってもよく、このような薬剤（複数可）による標的化に適していることが当該技術分野において公知である任意のがん又は腫瘍、及びこのような薬剤（単数又は複数）による処置に適していることが当該技術分野において公知である任意のがん又は腫瘍を含む。

20

30

【0042】

がん又は腫瘍は固形腫瘍であり得る。固形腫瘍は脱形質間質を有する場合がある。

【0043】

抗 G R E M 1 アンタゴニストは、2019年6月18日に出願された国際公開第 W O 2 0 1 9 / 2 4 3 8 0 1 号において、様々ながんの処置に有効であることが以前に示されており、その開示は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0044】

処置され得る特に好ましいがんには、大腸がん、多発性骨髄腫、膵臓がん、膀胱がん、乳がん、肺がん、胃がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、前立腺がん、神経膠腫、子宮内膜がん、卵巣がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、黒色腫及び骨肉腫が含まれる。処置され得るがんは、腸がん、結腸がん、又は直腸がんであり得る。処置されるべきがんは、播種性がん、例えば、転移性がんであり得る。播種性がんとは、生体内の最初の発生部位から広がったがんとして理解すべきである。例えば、播種性がんは、患者の膵臓、骨髄、結腸、前立腺、又は乳房組織から発生し、患者の肝臓又は肺などに転移したものであり得る。

40

【0045】

G R E M 1 アンタゴニスト及び R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を含む併用療法はまた、がんの播種性を予防するために使用することができる。

【0046】

50

G R E M 1 アンタゴニスト及び R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を含む併用療法は、がんに伴うポリポシスを予防するために使用することができる。

【 0 0 4 7 】

悪性度分類システムは、がん生物学及び医学において、細胞分化の欠如に関してがん細胞を分類するために用いられる。これは、がん細胞が、そのがん細胞が発生した組織に見出される健康な細胞とはどの程度形態が異なるかを反映する。悪性度分類システムは、特定のがんがどの程度の速さで増殖するかを示す指標として用いることができる。典型的に使用されるがんの悪性度は、悪性度 (G) X と 1 ~ 4 である。G X は、がん悪性度が評価され得ないことを示す。G 1 (低悪性度) がん細胞は、正常で健康な細胞 (すなわち、よく分化している) と類似した形態をしており、ゆっくりと増殖し、広がる可能性は低いことが予想される。G 2 (中間悪性度) がん細胞は、中程度に分化している。すなわち、より異常に見え、G 1 細胞よりも僅かに早く増殖することが予想される。G 3 (高悪性度) がん細胞は、正常細胞と比較して形態が大きく異なり (すなわち、分化度が低い)、G 1 細胞及び G 2 細胞よりも増殖速度は速いことが予想される。G 4 (高悪性度) がん細胞は、分化しておらず (未分化とも呼ばれる)、増殖能力は最も高いことが予想される。

10

【 0 0 4 8 】

がんの悪性度は、がんがどのように広がるかの指標を与えるがんの病期分類とは異なる。一般的ながんの病期分類システムでは、5つの病期があり、すなわち、0期：がん細胞がインサイチュにある (正常組織に位置する) ; I 期：がんが生体の一部に限局している ; II 期：がんが局所的に進行している ; III 期：がんがさらに局所的に進行している (II 期とIII期のどちらに指定されるかは、がんの特定の種類に依存し得る) ; IV 期：がんがしばしば転移しているか、又は他の臓器若しくは全身に広がっている。

20

【 0 0 4 9 】

当業者は、がんの悪性度及び／又は病期を決定する方法を知っている。一実施形態では、本発明は、確立されたがんの処置及び／又は予防のための、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗 G R E M 1 アンタゴニストの使用に関する。一実施形態では、がんは確立されたがんである。確立されたがんは、高悪性度がん、例えば G 3 又は G 4 がんであり得る。確立されたがんは、III 期以上のがんであり得る。確立されたがんは、III 期又は IV 期のがんであり得る。一実施形態では、確立されたがんは、転移した IV 期のがんである。一実施形態では、確立されたがんは、確立された膵臓がんである。

30

【 0 0 5 0 】

膵臓がんの処置及び予防における具体的に例示される用途に加えて、本発明者らは、実施例に例示される R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた G R E M 1 アンタゴニストの治療効果が、本明細書に記載されるような対応する特性を有する他のがんの処置にも適用可能であることを想定している。

【 0 0 5 1 】

特に、G R E M 1 アンタゴニストを含む組み合わせが、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置／曝露に応答して R a s - R a f - M E K - E R K 経路が調節異常となるがんの予防又は処置に有用であることが想定される。特に、がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達が、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置後に誘導／上方制御されるがんであり得る。このようながんは、抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置の非存在下では、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常な R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達を示す場合がある。

40

【 0 0 5 2 】

G R E M 1 アンタゴニストを含む組み合わせは、間質及び／又は上皮の G R E M 1 過剰発現があり、この過剰発現が悪性細胞の増殖に寄与しているがんの予防又は処置に有用であることも想定される。このようながんには、膵臓がん、膀胱がん、肺がん、胃がん、十

50

二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、神経膠腫、子宮内膜がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、及び骨肉腫が含まれる。

【0053】

本発明のアンタゴニストは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤（例えば、M E K 阻害剤又は E R K 阻害剤）と組み合わせて、がんの処置又は予防に使用される。がんの予防には、対象ががんと診断されることを予防すること、又はがんの発症を遅延させることも含まれる。がんの予防には、以前にがんと診断された対象におけるがんの再発（relapse）又は再発（recurrence）の予防も含まれ得る。がんの予防には、追加的に、がんと診断されていないか、又は以前にがんと診断された対象の生存を増加させることが含まれる。

10

【0054】

がんの処置は、がんの1つ以上の症状を改善し、がんの寛解を誘発若しくは延長し、又はがんの再発（repapse）若しくは再発（recurrence）を遅延させることができる。処置は、がんを治癒、緩和又は部分的に停止させることができる。疾患症状の重症度の低下、又は無症状期間の頻度若しくは期間の増加をもたらすことができる。がんの処置には、がん（例えば、確立されたがん）が患者の生体内の発生部位から患者の生体内の1つ以上の二次的な部位に広がるのを防ぐことも含まれる。したがって、がんの処置は、既存のがんの播種性又は転移の予防を含み得る。好ましい実施形態では、本発明のアンタゴニストは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤（例えば、M E K 阻害剤又は E R K 阻害剤）と組み合わせて、膵臓がんの処置又は予防に使用される。膵臓がんの処置は、例えば、C T 又は内視鏡超音波検査によってアッセイした場合、原発腫瘍サイズの減少をもたらすことができる。このような減少は、膵頭部から腫瘍を摘出する W h i p p l e 法（膵頭十二指腸切除術）を容易にする可能性がある。本発明者らは、M E K 阻害剤と組み合わせた抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置が、K P C マウスモデルにおいて生存を増加させ得ることを実証した。したがって、抗 G R E M 1 アンタゴニストと M E K 阻害剤による膵臓がんの処置はまた、患者の生存を改善することができる。がん、特に膵臓がんを E R K 阻害剤で処置しても、同様の有利な結果が得られることが想定される。

20

【0055】

膵臓がん

本発明は、好ましくは、膵臓がんの処置又は予防を対象とする。実施例においてより詳細に記載されるように、本発明者らは、ヒト膵管腺がん試料における G R E M 1 の過剰発現を確認し、G R E M 1 m R N A の高発現が予後不良と有意に関連することを実証した（図1）。さらに、本発明者らは、K P C マウスモデルにおいて、抗 G R E M 1 アンタゴニストによる曝露後、K R A S シグナル伝達が上方制御されること（図4）、及び K P C マウスモデルにおいて、抗 G R E M 1 抗体 A b 7 3 2 6 による曝露時、M a p k 1、N r a s 及び M y c などの R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達経路に関与する遺伝子が上方制御されることを実証した（図3）。本発明者らはまた、抗 G R E M 1 アンタゴニスト及び M E K 阻害剤を含む併用療法が、K P C マウスモデルにおいて生存を有意に増加させ、腫瘍の増殖を遅延させ、及び腫瘍の縮小を促進することを示した。K P C マウスは、組織学的及び病理学的にヒトの膵臓腫瘍に類似した腫瘍を発症し、ヒトの膵臓がんを模倣する。

30

40

【0056】

したがって、一実施形態では、膵臓がんは、G R E M 1 の過剰発現を有することによって特徴付けられる膵臓がんである。別の実施形態では、膵臓がんは、外分泌腫瘍又は神経内分泌腫瘍を有するものとして特徴付けることができる。膵神経内分泌がん（膵島細胞腫瘍としても公知である）は、膵臓の内分泌腺に発生する。膵臓がんの特に好ましい形態は、膵管腺がん（P D A C）などの外分泌膵臓がんである。P D A C は、全膵臓癌腫の 9 0 % を占めることが報告されている（Feldmann et al. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 2007; 14(3): 224-32）。膵臓がんは、膵管の内膜に発生する任意のがんであり得る。

50

【0057】

Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達経路は、膵管腺がんにおいて重要な役割を持つことが報告されている (Collisson EA, et al. (2012) 膵管腺癌の発生におけるRAF→MEK→ERKシグナル伝達の中心的な役割 (A central role for RAF→MEK→ERK signaling in the genesis of pancreatic ductal adenocarcinoma). Cancer Discov. 2012 2(8):685-93)。例えば、KRASがん遺伝子における突然変異の活性化は、増大した細胞増殖、運動性及び生存を促進することによりPDAC形成を駆動することが公知であるが、KRASシグナル伝達の標的化は、依然として困難であり、MEK阻害剤を用いた臨床試験では、患者において統計的に有意な結果を得ることはほとんどできなかった (Brauswetter et al. (2017) 膵臓がんにおけるMEK阻害剤の分子サブタイプ特異的有効性 (Molecular subtype specific efficacy of MEK inhibitors in pancreatic cancers). PLoS ONE 12(9): e0185687)。したがって、一実施形態では、処置の対象となる膵臓がんは、本明細書に記載されるように、Ras (例えば、KRAS、NRAS、及び／若しくはHRAS) 又はRaf遺伝子 (例えば、ARAF、BRAF、及び／若しくはCRAF) におけるRas-Raf-MEK-ERK経路の調節異常及び／又は突然変異を有する膵臓がんである。例えば、膵臓がんは、KRAS^{G12D}又はKRAS^{G12R}突然変異／置換を有する膵臓がん腫瘍であり得る。或いは、膵臓がんは、BRAF^{V600E}突然変異／置換を有する膵臓がん腫瘍であり得る。

10

【0058】

別の実施形態では、膵臓がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露に応答して、Ras-Raf-MEK-ERK経路が調節異常となる膵臓がんである。特に、膵臓がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達が誘導／上方制御される膵臓がんであり得る。このような膵臓がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、膵臓がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を示す場合がある。

20

【0059】

他の膵外分泌がんには、膵管に形成する扁平上皮癌腫；腺扁平上皮癌腫；印環細胞癌腫；及び典型的には膵管内乳頭粘液性新生物から発生するコロイド癌腫が含まれる。

30

【0060】

処置の対象となる好ましいタイプの膵臓がんは、1つ以上の公知の抗がん剤 (例えば、化学療法) に対して耐性であり得る。膵臓がんは、播種性膵臓がんであり得る。膵臓がんは、転移性膵臓がんであり得る。転移性がんは、生体内の最初の発生部位から広がっているがんとして理解されるべきである。したがって、転移性膵臓がんとは、膵臓から始まり、肺、肝臓、骨、脳などの他の臓器に広がるがんを指す。典型的には、転移性膵臓がんとは、膵臓で始まり、肺及び／又は肝臓に広がるがんを指す。また、膵臓がんは再発膵臓がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき膵臓がんには、化学療法、放射線療法又は根治的手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した膵臓がんが含まれる。処置の対象となる好ましいタイプの膵臓がんは、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤 (例えば、化学療法剤) に対して耐性であり得る。

40

【0061】

一部の態様では、膵臓がんは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である膵臓がん、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に応答性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、代替的に、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、又は難治性である膵臓がん、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、又は難治性である膵臓

50

がんであり得る。膵臓がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていたものであってもよく、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた膵臓がんであり得る。一部の 경우에는、膵臓がんは、初期には R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性であるが、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤に対して耐性を発現する場合がある。例えば、膵臓がんは、M E K 阻害剤又は E R K 阻害剤による処置に初期には応答性であるが、本明細書に記載される M E K 阻害剤又は E R K 阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。

【0062】

肺がん

さらなる態様では、本発明は肺がんの処置又は予防に関する。肺がんは、最も好ましくは非小細胞肺がん (N S C L C) である。N S C L C は、I I I 期又は I V 期の N S C L C などの進行 N S C L C であり得る。N S C L C は扁平上皮癌腫、腺癌腫又は大細胞癌腫であり得る。がんは小細胞肺がんであり得る。肺がんは切除不能である場合がある。肺がんは非血管新生性であってもよく、及び／又は血管共役を示し得る。肺がんは、肺胞及び／又は間質腫瘍の増殖を含み得る。肺がんは原発性肺がんであるか、又は乳がんや膵臓がんなどの肺に広がった任意の二次性がんであり得る。肺がんは播種性肺がんであり得る。肺がんは転移性肺がんであり得る。肺がんは、G R E M 1 の過剰発現を有することによって特徴付けられる肺がんであり得る。また、肺がんは再発肺がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき肺がんには、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した肺がんが含まれる。処置の対象となる好ましいタイプの肺がんは、以下にさらに記載されるように、1 つ以上の公知の抗がん剤 (例えば、化学療法剤) に対して耐性であり得る。

【0063】

一部の態様では、肺がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である肺がん、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に応答性である肺がんであり得る。肺がんは、代替的に、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である肺がん、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である肺がんであり得る。肺がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた肺がんであり得る。一部の 경우에는、肺がんは、初期には R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性であるが、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤に対して耐性になる場合がある。例えば、肺がんは、M E K 又は E R K 阻害剤による処置に初期には応答性であるが、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。

【0064】

さらなる態様では、処置の対象となる肺がんは、本明細書に記載されるように、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常、並びに／或いは R a s (例えば、K R A S、N R A S 及び／若しくは H R A S) 又は R a f 遺伝子 (例えば、A R A F、B R A F 及び／若しくは C R A F) における突然変異を有する肺がんである。例えば、処置の対象となる肺がんは、本明細書に記載されるように、M A P K / E R K 経路の調節異常、並びに／或いは R a s (例えば、K R A S、N R A S 及び／若しくは H R A S) 又は R a f 遺伝子 (例えば、A R A F、B R A F 及び／若しくは C R A F) における突然変異を有する非小細胞肺がんであり得る。

【0065】

別の実施形態では、肺がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置／曝露に応答して、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達経路が調節異常

となる肺がんである。特に、肺がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達が誘導／上方制御される肺がんであり得る。このような肺がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、肺がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を示す場合がある。

【0066】

黒色腫

さらなる態様では、本発明は黒色腫の処置又は予防に関する。黒色腫は、表在拡大型黒色腫、結節性黒色腫、悪性黒子型黒色腫又は尖圭黒子型黒色腫などの皮膚（cutaneous）／皮膚（skin）黒色腫であり得る。皮膚黒色腫は、無色素性黒色腫、母斑黒色腫、斑状黒色腫又は脱腫瘍性黒色腫であり得る。一部の態様では、黒色腫は、結膜黒色腫、脈絡膜黒色腫、虹彩黒色腫などの眼（eye）／眼球（ocular）黒色腫であり得る。他の態様では、黒色腫は粘膜黒色腫であってもよい。

10

【0067】

黒色腫は、転移性黒色腫であり得る。黒色腫は、GREM1の過剰発現有することによって特徴付けられる黒色腫であり得る。また、黒色腫は、再発黒色腫であり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき黒色腫には、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した黒色腫が含まれる。処置の対象となる好ましいタイプの黒色腫は、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

20

【0068】

一部の態様では、黒色腫は、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である黒色腫、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に応答性である黒色腫であり得る。代替的に、黒色腫は、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である黒色腫、例えば、本明細書に記載されるRas-Raf-MEK-ERK阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である黒色腫であり得る。黒色腫は、以前はRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に適さないと考えられていた黒色腫、例えば、本明細書に記載される、以前はMEK又はERK阻害剤による処置に適さないと考えられていた黒色腫であり得る。一部の場合では、黒色腫は、初期にはRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性であり得るが、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得することがある。例えば、黒色腫は、MEK又はERK阻害剤による処置に対して初期には応答性であり得るが、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤に対して耐性を獲得することがある。

30

【0069】

さらなる態様では、処置の対象となる黒色腫は、本明細書に記載されるように、MAPK／ERK経路の調節異常、及び／又はRas（例えば、KRAS、NRAS及び／若しくはHRAS）若しくはRaf遺伝子（例えば、ARAF、BRAF及び／若しくはRAF）における突然変異を有する黒色腫である。

40

【0070】

別の実施形態では、黒色腫は、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露に応答してMAPK／ERK経路が調節異常となる黒色腫である。特に、黒色腫は、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にMAPK／ERKシグナル伝達が誘導／上方制御される黒色腫であり得る。このような黒色腫は、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、MAPK／ERK経路の調節異常を示さないことがある。換言すると、黒色腫は、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なMAPK／ERK経路シグナル伝達を示す場合がある。

50

【0071】

大腸がん

本発明は、一態様では大腸がんの予防又は処置に関する。背景として、腸粘膜は複雑な生態系であり、上皮はその微小環境、特にその下にある間質と相互依存的な関係にある。間葉系と上皮系のクロストークは恒常性の制御に深く関与しており、腸の再生やがんではダイナミックに変化する。細胞シグナル伝達ネットワークは、コンパートメント間クロストークのエフェクター経路であり、上皮細胞の運命決定を制御しているが、大腸がんでは腫瘍微小環境によって共役され、破壊される可能性がある。

【0072】

大腸がんの現在の化学療法管理は、過去20年間、実質的に変化しておらず、主に、増殖腫瘍上皮に対する細胞傷害性剤の併用（例えば、FOLFOX及びFOLFIRIレジメン <http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/cancer-drugs/drugs>）を基準とし、これらの上皮標的薬剤に対する耐性が生じる可能性がある。大腸がんに使用するための新規な治療を同定することは、今までになく重要である。

【0073】

したがって、処置の対象となるがん又は腫瘍は、大腸がん又は大腸腫瘍である。処置の対象となる大腸がんの特に好ましい形態は、間質細胞におけるGREM1の過剰発現、すなわち間質GREM1過剰発現を有することによって特徴付けられる大腸がんである。間質細胞は、がん関連線維芽細胞であり得る。間質GREM1過剰発現を有する大腸がんは、上皮GREM1過剰発現を示さない場合がある。間質GREM1過剰発現を有する大腸がんは、間質Foxl1過剰発現を含み得る。処置の対象となる大腸がんの特に適した形態は、間葉系サブタイプの大腸がんであり、CMS4（Guinney et al, Nat Med 2015）としても記載されている大腸がんである。大腸がんの他のいずれのサブタイプもまた、前述のGuinneyらに記載されているように、CMS1、CMS2及びCMS3のいずれかを含めて処置することができる。本明細書に記載される大腸がんは、近位大腸がん（又は近位大腸腫瘍）であり得る。近位結腸とは、脾弯曲部より上流の大腸の領域であり、盲腸、上行結腸及び横行結腸を意味する。この領域のがん又は腫瘍は、右側がん又は腫瘍とも呼ばれる。本発明は、右側大腸がん又は右側大腸腫瘍の処置に関するものであり得る。

【0074】

大腸がんは遠位大腸がん（又は遠位大腸腫瘍）であり得る。遠位結腸とは、脾弯曲部より下流の大腸の領域であり、下行結腸、S状結腸及び直腸を意味する。この領域におけるがん又は腫瘍は、左側がん又は腫瘍とも呼ばれる。本発明は、左側大腸がん又は左側大腸腫瘍の処置に関し得る。GREM1の間質過剰発現を有するがんは、好ましくは散発性がんであり得る。散発性がんは体細胞突然変異によって引き起こされる場合がある。散発性がんは、発がん性物質によって引き起こされる場合がある。散発性がんは遺伝性の遺伝子突然変異によるものではない。散発性がんはGREM1の間質過剰発現を引き起こし得る。散発性がんの増殖は、がんにおけるGREM1の間質過剰発現に依存している可能性がある。

【0075】

GREM1に近い少なくとも3つの一塩基多型（SNP）が、独立に、北欧の白人において、またおそらく他の民族においても、大腸がん（CRC）のリスクと関連する（Tomlinson et al, PLoS Genet, 2011）。GREM1発現との直接的なリンクがあり、他のSNPsも同様の影響を有する可能性が高い。さらに、BMP2近傍に2つ、BMP4近傍に2つ、及びBMP7近傍に1つの共通のSNPがBMPリガンドの発現に影響を与え、CRCリスクに影響を与える。したがって、がんは上記のSNPの1つ以上を含み得る。

【0076】

本発明による処置の対象となるさらなるタイプのがん又は腫瘍は、上皮細胞においてG

10

20

30

40

50

R E M 1 の過剰発現を示すものである。上皮細胞における G R E M 1 の過剰発現は、がんを引き起こす可能性がある。がんの増殖は、上皮の G R E M 1 の過剰発現に依存する可能性がある。したがって、がんは上皮由来である可能性がある。がんは大腸がん又は十二指腸がんであり得る。がんは G R E M 1 誘発性であり得る。G R E M 1 誘発性とは、G R E M 1 の活性又は発現を増強する突然変異原性事象ががんの原因であることを意味する。このようながんは遺伝性の遺伝子突然変異に起因している可能性がある。したがって、このがんは家族性がんであり得る（下記を参照されたい）。

【0077】

処置の対象となる好ましいタイプの大腸がんは、以下にさらに記載されるように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

10

【0078】

大腸がんは播種性大腸がんであり得る。大腸がんは転移性大腸がんであり得る。大腸がんは肺転移性大腸がんであり得る。大腸がんは肝臓転移性大腸がんであり得る。大腸がんが骨転移性大腸がんである可能性がある。

【0079】

大腸がんは、F o x l 1 の間質過剰発現によって特徴付けることができる。大腸がんは、1つ以上のW n t リガンドの間質過剰発現によって特徴付けることができる。例えば、大腸がんは、W n t 5 A 及び／又はW n t 2 B の間質過剰発現によって特徴付けることができる。大腸がんが、F o x l 1 及び／又はW n t リガンド、例えば、W n t 5 A 又はW n t 2 B の間質過剰発現を有する場合、大腸がんは、G R E M 1 アンタゴニストを用いた予防又は処置に特に適している。

20

【0080】

一部の態様では、大腸がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である大腸がん、例えば、本明細書に記載されるM E K 又はE R K 阻害剤による処置に応答性である大腸がんであり得る。大腸がんは、代替的に、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である大腸がん、例えば、本明細書に記載されるM E K 阻害剤又はE R K 阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である大腸がんであり得る。大腸がんは、以前は、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に適さないと考えられていたものであってもよく、例えば、以前は、本明細書に記載されるM E K 阻害剤又はE R K 阻害剤による処置に適さないと考えられていた大腸がんであり得る。一部の 경우에는、大腸がんは、初期にはR a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答するが、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。例えば、大腸がんは、最初は本明細書に記載されるM E K 阻害剤又はE R K 阻害剤による処置に対して応答性を示すが、M E K 阻害剤又はE R K 阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。

30

【0081】

さらなる態様では、処置の対象となる大腸がんは、本明細書に記載されるように、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常、及び／又はR a s 遺伝子（例えば、K R A S、N R A S 及び／若しくはH R A S）又はR a f 遺伝子（例えば、A R A F、B R A F 及び／若しくはC R A F）における突然変異を有する大腸がんである。例えば、大腸がんは、K R A S / B R A F 突然変異型大腸がんであり得る。K R A S 突然変異型大腸がんは、K R A S における以下の突然変異：G 1 2 D、G 1 2 V、G 1 2 C、G 1 2 A、G 1 3 D、Q 6 1 H、Q 6 1 L、Q 6 1 R、A 1 4 6 T 及び／又はA 1 4 6 V のうちのいずれかを有するものとして特徴付けられ得る。B R A F 突然変異型大腸がんは、B R A F V 6 0 0 E 突然変異であり得る。

40

【0082】

別の実施形態では、大腸がんは、本明細書に記載される抗G R E M 1 アンタゴニストによる処置／曝露に応答して、R a s - R a f - M E K - E R K 経路が調節異常となる大腸がんである。特に、大腸がんは、抗G R E M 1 アンタゴニストによる処置後にR a s - R

50

a f - M E K - E R K シグナル伝達が誘導／上方制御される大腸がんであり得る。このような大腸がんは、抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置の非存在下では、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、大腸がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常な R a s - R a f - M E K - E R K 経路シグナル伝達を示す場合がある。

【 0 0 8 3 】

家族性がん

家族性がんには、G R E M 1 をコードする遺伝子の突然変異又は複数の突然変異、或いは G R E M 1 遺伝子の発現に影響を及ぼす任意の他の突然変異に起因するがんが含まれる。常染色体優性遺伝性混合ポリポーシス症候群（H M P S）は、G R E M 1 の上流に 4 0 k b の重複によって引き起こされ、その結果、病的コンパートメント発現が間葉系に限定された勾配から上皮全体に異所的に G R E M 1 遺伝子が発現するように変化する。

【 0 0 8 4 】

抗 G R E M 1 アンタゴニストで処置されるべき対象は、家族性がんを発症するリスクがあると以前に決定されている場合がある。例えば、対象者は、家族歴に基づいて、及び／又は、対象者が家族性がんを生じさせるか若しくは発症のリスクを増加させることが知られている遺伝子に突然変異を有するために、リスクがあると決定された可能性がある。

【 0 0 8 5 】

家族性がんは、遺伝性非ポリポーシス大腸がん（H N P C C）とも呼ばれるリンチ症候群であり得る。家族性がんは家族性大腸腺腫症（F A P）であり得る。

【 0 0 8 6 】

家族性腺腫症ポリポーシス（F A P）に罹患している患者又は対象は、抗 G R E M 1 アンタゴニストを含む併用療法による処置に特に好適であり得る。抗 G R E M 1 アンタゴニスト（例えば、抗 G R E M 1 抗体）及び R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を含む併用療法で処置又は予防されるべき家族性がんは、F A P であり得る。以前に F A P に罹患した対象には、例えば再発を予防するために、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせて抗 G R E M 1 アンタゴニストを予防的に投与することができる。以前に F A P に罹患したことはないが、以前に F A P を発症するリスクがあると決定された対象には、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせて抗 G R E M 1 アンタゴニストを予防的に投与することができる。対象が F A P を発症するリスクがあると決定されたのは、対象が A p c 遺伝子に劇症突然変異を有することが見出されたためである。

【 0 0 8 7 】

一部の態様では、家族性がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である家族性がん、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に応答性である家族性がんであり得る。家族性がんは、代替的に、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、又は難治性である家族性がん、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、又は難治性である家族性がんであり得る。家族性がんは、以前は R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に適さないと考えられている可能性があり、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に適さないと考えられていた可能性がある。一部の態様では、家族性がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に初期には応答し得るが、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。例えば、家族性がんは、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に対して初期には応答性を示すが、M E K 又は E R K 阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。

【 0 0 8 8 】

さらなる態様では、処置の対象となる家族性がんは、本明細書に記載されるように、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常、並びに／或いは R a s 遺伝子（例えば、

10

20

30

40

50

K R A S、N R A S及び／若しくはH R A S)又はR a f遺伝子(例えば、A R A F、B R A F及び／若しくはC R A F)の突然変異を有する家族性がんである。

【0089】

別の実施形態では、家族性がんは、本明細書に記載される抗G R E M 1アンタゴニストによる処置／曝露に応答してR a s－R a f－M E K－E R K経路が調節異常となる家族性がんである。特に、家族性がんは、抗G R E M 1アンタゴニストによる処置後にR a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達が誘導／上方制御される家族性がんであり得る。このような家族性がんは、抗G R E M 1アンタゴニストによる処置の非存在下では、R a s－R a f－M E K－E R K経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、家族性がんは、本明細書に記載される抗G R E M 1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なR a s－R a f－M E K－E R K経路シグナル伝達を示す場合がある。

10

【0090】

多発性骨髄腫

本発明は、別の態様では、多発性骨髄腫の処置又は予防に関する。多発性骨髄腫(M M)は、骨髄(B M)内の形質細胞(P C)のクローン性増殖によって特徴付けられる血液学的悪性腫瘍である。B MがM Mの腫瘍増殖を支えていることは周知であり、腫瘍細胞とB M間の双方向のシグナル伝達は、M MのP Cの継続的な増殖、拡散及び生存に不可欠である。細胞性及び非細胞性のB M成分は、M M P Cの増殖及び拡散に異なる影響を及ぼす。最近の研究は、疾患の進行に役割を果たすB Mの成分が同定され、これらを標的とする処置法が開発されているが、M Mにおける標準的な処置法は、依然として主に腫瘍細胞そのものを標的とすることに依存している。このような療法は患者の生存を延長させるのに有効であるが、M M細胞の増殖、拡散、生存及び薬剤耐性においてB Mが果たす役割は大きいいため、疾患の重要な側面を標的としたより効果的な療法が必要とされる。実際、M Mはほとんど不治の病であり、疾患の再発はこの疾患を効果的に処置する上で直面する重要な問題である。

20

【0091】

したがって、本発明は多発性骨髄腫の処置又は予防も対象とする。多発性骨髄腫は、典型的には、骨髄内に複数の形質細胞の塊が存在することを含む。したがって、多発性骨髄腫は、典型的には、骨髄における形質細胞の異常増殖に関連する。処置の対象となる特に好ましい形態の多発性骨髄腫は、骨髄においてG R E M 1の過剰発現を有することによって特徴付けられる。したがって、多発性骨髄腫は間質G R E M 1の過剰発現を含み得る。間質G R E M 1過剰発現は、骨の緻密質コンパートメントに存在する場合がある。間質G R E M 1過剰発現は、間質細胞の数の増加、又は既存のG R E M 1を発現する間質細胞内のG R E M 1の発現レベルの増加を反映している場合がある。骨髄は、骨軟骨(O C R)幹細胞を含み得る。G R E M 1を過剰発現する間質細胞は、O C R幹細胞を含み得る。処置の対象となる好ましいタイプの多発性骨髄腫は、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤(例えば、化学療法剤)に対して耐性であり得る。

30

【0092】

一部の態様では、多発性骨髄腫は、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である多発性骨髄腫、例えば、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に応答性である多発性骨髄腫であり得る。多発性骨髄腫は、代替的に、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である多発性骨髄腫、例えば、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である多発性骨髄腫であり得る。多発性骨髄腫は、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた多発性骨髄腫、例えば、M E K又はE R K阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた多発性骨髄腫であり得る。一部の場合では、多発性骨髄腫は、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に対して初期には応答性を示すが、R a s－R a f－M

40

50

E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得することがある。例えば、多発性骨髄腫は、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に対して初期には応答性を示すが、M E K又はE R K阻害剤に対して耐性を獲得することがある。

【0093】

さらなる態様では、処置の対象となる多発性骨髄腫は、本明細書に記載されるように、R a s－R a f－M E K－E R K経路の調節異常、並びに／又はR a s遺伝子（例えば、K R A S、N R A S及び／若しくはH R A S）又はR a f遺伝子（例えば、A R A F、B R A F及び／若しくはC R A F）における突然変異を有する多発性骨髄腫である。

【0094】

別の実施形態では、多発性骨髄腫は、本明細書に記載される抗G R E M 1アンタゴニストによる処置／曝露に応答してR a s－R a f－M E K－E R K経路が調節異常となる多発性骨髄腫である。特に、多発性骨髄腫は、抗G R E M 1アンタゴニストによる処置後にR a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達が誘導／上方制御される多発性骨髄腫であり得る。このような多発性骨髄腫は、抗G R E M 1アンタゴニストによる処置の非存在下では、R a s－R a f－M E K－E R K経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、多発性骨髄腫は、本明細書に記載される抗G R E M 1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なR a s－R a f－M E K－E R K経路シグナル伝達を示すことがある。

【0095】

乳がん

本発明は、別の態様では、乳がんの処置又は予防に関する。乳がんは浸潤性乳がん、例えば、浸潤性小葉乳がんであり得る。乳がんはトリプルネガティブ乳がんであり得る。乳がんは炎症性乳がんであり得る。乳がんは、乳房血管肉腫であり得る。乳がんはインサイシュ乳管癌腫又はインサイシュ小葉癌腫であり得る。

【0096】

本発明は、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗G R E M 1アンタゴニストを投与することによる乳がんの処置及び予防を提供する。乳がんは間質G R E M 1過剰発現を含み得る。G R E M 1を過剰発現する間質乳房細胞は、本明細書においてがん関連線維芽細胞としても記載される間質線維芽細胞を含み得る。また、乳がんは再発乳がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき乳がんには、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した乳がんが含まれる。処置の対象となる好ましいタイプの乳がんは、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。乳がんは、播種性乳がんであり得る。乳がんは、転移性乳がんであり得る。乳がんは、肺転移性乳がんであり得る。乳がんは、肝臓転移性乳がんであり得る。乳がんは、骨転移性乳がんであり得る。

【0097】

一部の態様では、乳がんは、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である乳がん、例えば、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に応答性である乳がんであり得る。乳がんは、代替的に、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である乳がん、例えば、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である乳がんであり得る。乳がんは、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた乳がん、例えば、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた乳がんであり得る。一部の 경우에는、乳がんは、初期にはR a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性であるが、R a s－R a f－M E K－E R Kシグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得することがある。例えば、乳がんは、本明細書に記載されるM E K又はE R K阻害剤による処置に初期には応答性であるが、M E K又はE R K阻害剤に対して耐性を獲得し得

る。

【0098】

別の実施形態では、乳がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露に応答して、Ras-Raf-MEK-ERK経路が調節異常となる乳がんである。特に、乳がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達が誘導／上方制御される乳がんであり得る。このような乳がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、乳がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置の前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なRas-Raf-MEK-ERK経路のシグナル伝達を示す場合がある。

10

【0099】

前立腺がん

さらなる態様では、本発明は、前立腺がんの処置又は予防に関する。前立腺がんは、前立腺腺がんであり得る。前立腺がんは、前立腺に広がった移行細胞癌腫又は尿路上皮がんであり得る。

【0100】

前立腺がんは、GREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる前立腺がんであり得る。前立腺がんはまた、再発前立腺がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき前立腺がんは、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置の後、数カ月又は数年後にさえ再発した前立腺がんを含む。処置の対象となる好ましいタイプの前立腺がんは、以下にさらに記載されるように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

20

【0101】

本発明はさらに、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを投与することによる前立腺がんの処置及び予防を提供する。前立腺がんは、播種性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、転移性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、肺転移性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、肝臓転移性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、骨転移性前立腺癌であり得る。

【0102】

一部の態様では、前立腺がんは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である前立腺がん、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に応答性である前立腺がんであり得る。前立腺がんは、代替的に、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である前立腺がん、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である前立腺がんであり得る。前立腺がんは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていたもの、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた前立腺がんであり得る。一部のケースでは、前立腺がんは、初期にはRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性であるが、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得し得る。例えば、前立腺がんは、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に対して初期には応答性を示すが、MEK又はERK阻害剤に対して耐性を獲得し得る。

30

40

【0103】

別の実施形態では、前立腺がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露に応答して、Ras-Raf-MEK-ERK経路が調節異常となる前立腺がんである。特に、前立腺がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達が誘導／上方制御される前立腺がんであり得る。このような前立腺がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、前立

50

腺がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置の前に、参照試料又は参照値と比較して、正常な R a s - R a f - M E K - E R K 経路シグナル伝達を示し得る。

【 0 1 0 4 】

膀胱がん

さらなる態様では、本発明は、膀胱がんの処置又は予防に関する。膀胱がんは、移行細胞（尿路上皮）膀胱がんであり得る。膀胱がんは、膀胱の上皮内膜から発生する場合がある。膀胱がんは、非筋肉浸潤性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、扁平上皮膀胱がんであり得る。膀胱がんは、腺がんであり得る。膀胱がんは、膀胱の内膜から粘膜固有層に増殖した高悪性度 T 1 腫瘍であり得る。膀胱がんは、表在性がん又は浸潤性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、再発膀胱がんであり得る。本明細書で使用される再発膀胱がんという用語は、外科的治療などの処置後に再発した膀胱がんを指す。

10

【 0 1 0 5 】

本発明は、さらに、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗 G R E M 1 アンタゴニストを投与することによる膀胱がんの処置及び予防を提供する。膀胱がんは、播種性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、肺転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、肝臓転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、骨転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、G R E M 1 の過剰発現を有することによって特徴付けられる膀胱がんであり得る。また、再発膀胱がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき膀胱がんは、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した膀胱がんを含む。処置の対象となる好ましいタイプの膀胱がんは、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

20

【 0 1 0 6 】

一部の態様では、膀胱がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である膀胱がん、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に応答性である膀胱がんであり得る。膀胱がんは、代替的に、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である膀胱がん、例えば、M E K 又は E R K 阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である膀胱がんであり得る。膀胱がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていたもの、例えば、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた膀胱がんであり得る。一部の 경우에는、膀胱がんは、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に初期には応答性であるが、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。例えば、膀胱がんは、本明細書に記載される M E K 又は E R K 阻害剤による処置に対して初期には応答性であるが、M E K 又は E R K 阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。

30

【 0 1 0 7 】

別の実施形態では、膀胱がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置／曝露に応答して R a s - R a f - M E K - E R K 経路が調節異常となる膀胱がんである。特に、膀胱がんは、抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置後に R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達が誘導／上方制御される膀胱がんであり得る。このような膀胱がんは、抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置の非存在下では、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常を示さない可能性がある。換言すると、膀胱がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常な R a s - R a f - M E K - E R K 経路シグナル伝達を示すことができる。

40

【 0 1 0 8 】

卵巣がん

50

さらなる態様では、本発明は卵巣がんの処置又は予防に関する。卵巣がんは、上皮卵巣がん、胚細胞性卵巣がん又は性索間質卵巣がんであり得る。卵巣がんは、原発性腹膜がんであり得る。卵巣がんは、卵管がんであり得る。卵巣がんは、境界卵巣腫瘍によって特徴付けられ得る。卵巣がんは、胚細胞卵巣腫瘍によって特徴付けることができる。卵巣がんは、明細胞卵巣がんであり得る。卵巣がんは、漿液性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、粘液性卵巣がんであり得る。卵巣がんは子宮内膜がんであり得る。

【0109】

卵巣がんは、GREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる卵巣がんであり得る。また、卵巣がんは再発卵巣がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき卵巣がんは、化学療法、放射線療法又は根治的手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した卵巣がんを含む。処置の対象となる好ましいタイプの卵巣がんは、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

10

【0110】

本発明はさらに、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを投与することによる卵巣がんの処置及び予防を提供する。卵巣がんは、播種性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、転移性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、肺転移性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、肝臓転移性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、骨転移性卵巣がんであり得る。

【0111】

一部の態様では、卵巣がんは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に応答性である卵巣がん、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に応答性である卵巣がんであり得る。卵巣がんは、代替的に、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である卵巣がん、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性である卵巣がんであり得る。卵巣がんは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていたものであってもよく、例えば、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に以前は適さないと考えられていた卵巣がんであり得る。一部の場では、卵巣がんは、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による処置に初期には応答性であるが、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。例えば、卵巣がんは、本明細書に記載されるMEK又はERK阻害剤による処置に初期には応答性であるが、MEK又はERK阻害剤に対して耐性を獲得する場合がある。

20

30

【0112】

別の実施形態では、卵巣がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露に応答してRas-Raf-MEK-ERK経路が調節異常となる卵巣がんである。特に、卵巣がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置後にRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達が誘導／上方制御される卵巣がんであり得る。このような卵巣がんは、抗GREM1アンタゴニストによる処置の非存在下では、Ras-Raf-MEK-ERK経路の調節異常を示さない可能性がある。換言すると、卵巣がんは、本明細書に記載される抗GREM1アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常なRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を示す場合がある。

40

【0113】

間質及び上皮

MAPK／ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせたGREM1アンタゴニストを用いて、本明細書において予防又は処置のために記載されるがんは、間質及び／又は上皮のGREM1の過剰発現を含み得る。

【0114】

本明細書で使用される用語「間質細胞（単数又は複数）」又は「間質」とは、組織又は

50

臓器の構造的及び／又は結合的部分を指す。

【0115】

間質組織は、主に結合組織細胞を含有する細胞外マトリックスで構成されてる。細胞外マトリックスは、主に、プロテオグリカン凝集体から作られた多孔質の水和ゲルである基質と結合組織繊維で構成されている。間質内には、I型コラーゲン繊維、弾性繊維、網状繊維（III型コラーゲン）の3種類の繊維が一般的に見出される。線維芽細胞及び周皮細胞は、最も一般的な間質細胞の種類である。

【0116】

がん又は腫瘍（例えば、組織若しくは臓器の上皮から発生する）の場合、組織又は臓器の間質はがんの増殖又は進行を助ける可能性がある。がん又は腫瘍に関連する間質は、がん又は腫瘍周囲の線維性組織若しくは結合組織の増殖によって引き起こされる脱形成性間質である可能性がある。

【0117】

GREM1の過剰発現は、間質の任意の部分／任意の間質細胞において観察され得る。間質細胞は、線維芽細胞又は線維芽細胞様支持細胞であり得る。間質細胞は、上記のがん又は腫瘍のいずれかの脱腫瘍性間質、例えば、大腸がんでは脾臓、結腸若しくは直腸、又は多発性骨髄腫では骨髄から単離された線維芽細胞又は線維芽細胞様支持細胞であり得る。間質細胞は、がん関連線維芽細胞であり得る。

【0118】

本明細書で使用される用語「上皮」とは、組織若しくは臓器の外側又は内側の内膜に由来する細胞を指す。大腸との関係では、腸上皮は、消化管の小腸と大腸の両方の管腔表面又は内膜を形成する細胞層である。それは、単純な柱状上皮で構成される。「上部バリア」は、4種類の腸上皮細胞：吸収性腸細胞、杯細胞、パネス細胞及び腸内分泌細胞からなる柱状細胞の腸上皮単層である。上部バリアの特性は小腸と大腸で類似している。主な違いは、吸収面積の増加を可能にする、十二指腸、空腸及び回腸における隆起又は突起（円形のひだ、絨毛、微絨毛）の存在によって構築される。これは結腸では観察されず、代わりに平坦な表面を示す。絨毛と呼ばれる粘膜の突起の中に、Lieberkuhnの陰窩と呼ばれる屈折があり、これは明瞭な腺管侵襲である。上皮GREM1の過剰発現が観察される細胞は、任意の腸上皮細胞などの任意の上皮細胞であり得る。

【0119】

理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、上皮及び／又は間質におけるGREM1の過剰発現が、幹細胞／前駆細胞の表現型を促進し（幹細胞／前駆細胞の数を増加させる）、上皮幹細胞の挙動を促進し、がんの進行及び／又は化学療法剤に対する耐性を駆動する可能性があるとは仮定する。したがって、本発明に従って使用されるGREM1アンタゴニスト及びRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を含む併用療法は、がんが予防又は処置されるべき対象の組織又は臓器の上皮において、異常ながん幹細胞表現型／前駆細胞表現型の誘導を妨げ、上皮幹細胞の挙動を減少させ、及び／又は幹細胞／前駆細胞の数を減らすことができる。幹細胞の挙動に影響を及ぼすGREM1アンタゴニストの能力は、公知の上皮幹細胞マーカー及びがん幹細胞マーカーの評価によって臨床的にアッセイすることができる。

【0120】

間質及び／又は上皮におけるGREM1の過剰発現は、任意の方法によって決定することができる。GREM1の過剰発現は、典型的には、同じ組織型の正常細胞におけるマーカーのレベル、すなわち基底発現レベルとの比較によって決定される。発現は、典型的には、他の遺伝子、好ましくは1つ以上のハウスキーピング遺伝子の発現レベルに対して正規化される。GREM1はまた、がん患者集団の閾値パーセンテージにおいて過剰発現又は過小発現を示すものとして分類することもできる。集団中の各患者における過剰発現は、幾何平均から2より高い場合がある。集団中の患者の少なくとも10%、より好ましくは少なくとも15%以上がこのような過剰発現を示すことがある。

【0121】

G R E M 1 間質過剰発現とは、間質の G R E M 1 レベルが、合致する正常組織のレベルよりも高いことを指す。例えば、間質 G R E M 1 レベルは、合致する正常組織のレベルよりも少なくとも 2 倍高い可能性がある。

【 0 1 2 2 】

G R E M 1 が過剰発現している場合、その量は基底状態と比較して任意の量まで増加する可能性がある。例えば、H M P S などの G R E M 1 誘発性のがんは、数千倍の上皮 G R E M 1 の上方制御を含み得るが、一方、正常上皮では G R E M 1 の発現は観察されない。間質 G R E M 過剰発現を含む散発性がんは、臓器の正常間質における生理学的 G R E M 1 発現レベルを超える間質過剰発現の任意のレベルを含み得る。当業者は、間質又は上皮における過剰発現の存在を、同じ型の正常細胞における G R E M 1 のレベルと比較して評価することができる。

10

【 0 1 2 3 】

決定される量は、m R N A の量であり得る。したがって、がんは、G R E M 1 m R N A の過剰発現を含み得る。がんは、同じ組織型の正常細胞と比較して増加した G R E M 1 m R N A の量を含み得る。m R N A は任意の量だけ増加され得る。m R N A の量は、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (q R T - P C R)、例えば、リアルタイム q R T - P C R、Q u a n t i G e n e アッセイ (A f f y m e t r i x / T h e r m o F i s h e r) を用いて、ノーザンブロッティングによって、又はマイクロアレイ、R N A シーケンシングによって測定することができる。m R N A 発現は、好ましくは、試料の遺伝子発現を、その遺伝子について二倍体である腫瘍で構成される参照試料にわたる特定の遺伝子の発現レベルの分布と比較することによって決定される。z スコアは、R N A s e q b y e x p e c t a t i o n m a x i m i s a t i o n (R S E M) アルゴリズム (c B i o p o r t a l f o r C a n c e r G e n o m i c s , w w w . c b i o p o r t a l . o r g ; G a o e t a l , 2 0 1 3 a n d S e r a m i e t a a l 2 0 1 2) を用いて導出することができる。参照セットの平均値より 2 S D 高いか又は低い z スコアは、好ましくは、それぞれ過剰発現又は過小発現とみなされる。

20

【 0 1 2 4 】

決定される量は、タンパク質の量であり得る。がんは、同じ組織型の正常細胞と比較して、G R E M 1 タンパク質の過剰発現を含み得る。タンパク質は、任意の量だけ増加され得る。タンパク質の量は、本発明の抗 G R E M 1 抗体の使用を含む、免疫組織化学、ウェスタンブロッティング、質量分析又は蛍光活性化細胞選別 (F A C S) を用いて測定することができる。発現を決定するための閾値は、使用される技術間で異なる場合があり、免疫組織化学のスコアに対して検証される場合がある。

30

【 0 1 2 5 】

したがって、本明細書に記載される、患者におけるがんを処置又は予防するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた G R E M 1 アンタゴニストの使用は、(a) がんにおける G R E M 1 の量を測定すること、及び (b) がんが G R E M 1 の過剰発現を含む場合、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた G R E M 1 アンタゴニストを患者に投与し、それによってがんを処置又は予防することを含み得る。G R E M 1 の量は、m R N A 又はタンパク質の量であってもよく、過剰発現は、上記で検討した任意の過剰発現であり得る。

40

【 0 1 2 6 】

上記の測定は、患者由来の任意の適切な試料において行うことができる。測定は、患者から得られたがん又は腫瘍の生検において行うことができる。間質及び／又は上皮 (間質細胞及び／又は上皮細胞) は、生検から単離することができる。生検組織は、ホルマリン固定され、パラフィン包埋 (F F P E) された組織又は新鮮組織であり得る。組織は、脾臓組織、膀胱組織、肺組織、子宮内膜組織、乳房組織、胃組織、十二指腸組織、食道組織、骨髄又は大腸組織であり得る。上記で検討した方法はいずれも、がん生検において行うことができる。このような方法はまた、患者の血液中を循環しているがん細胞において行うことができる。R N A 法は、尿中又は血液中のエクソソームにおいて行うことができる。

50

【0127】

R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達経路の調節異常に関連するがん

上述のように、本発明者らは、K P C マウスモデルにおいて、本発明による抗 G R E M 1 アンタゴニスト (A b 7 3 2 6) による曝露後に K R A S シグナル伝達が上方制御されることを実証した。さらに、M a p k 1、N r a s 及び M y c などの R a s - R a f - M E K - E R K 経路に関与する遺伝子は、K P C マウスモデルにおいて A b 7 3 2 6 による曝露後に上方制御される。したがって、グレムリン-1と R a s - R a f - M E K - E R K 経路の両方を標的化する併用療法は有利である。

【0128】

本発明は、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常に関連するがん及び／又は R a s 若しくは R a f 遺伝子における突然変異を含有するがんを処置又は予防するための、R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗 G R E M 1 アンタゴニストの使用を包含する。R a s 遺伝子は、例えば、K R A S、N R A S 及び／又は H R A S であり得る。R a f 遺伝子は、例えば、A R A F、B R A F 及び／又は C R A F であり得る。M A P K / E R K 経路の調節異常に関連するがん、及び／又は R a s 若しくは R a f 遺伝子における突然変異を含有するがんには、例えば、大腸がん、多発性骨髄腫、膵臓がん、膀胱がん、乳がん、肺がん、胃がん、卵巣がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、前立腺がん、神経膠腫、子宮内膜がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、骨肉腫などが含まれる。

【0129】

本発明はまた、抗 G R E M 1 アンタゴニストへの先行する曝露／処置後に R a s - R a f - M E K - E R K 経路が調節異常となるがんの処置又は予防のための、本明細書に定義される抗 G R E M 1 アンタゴニストと R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を含む併用療法を包含する。特に、がんは、R a s - R a f - M E K - E R K 経路シグナル伝達が、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置後に誘導／上方制御されるがんであり得る。このようながんは、抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置の非存在下では、R a s - R a f - M E K - E R K 経路の調節異常を示さない場合がある。換言すると、がんは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 アンタゴニストによる処置前に、参照試料又は参照値と比較して、正常な R a s - R a f - M E K - E R K 経路シグナル伝達を示すことがある。

【0130】

好ましい実施形態では、本発明は、膵臓がんの処置又は予防を対象とする。例えば、本発明は、本明細書において定義される抗 G R E M 1 アンタゴニストと、抗 G R E M 1 アンタゴニストへの先行する曝露／処置後に R a s - R a f - M E K - E R K 経路が調節異常となる膵臓がんの処置又は予防のための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤とを含む併用療法を包含する。膵臓がんは、代替的に又は追加的に、古典的な M A P K 経路の構成的活性化によって特徴付けられることがある。多くの場合、膵臓がんは、R A S をコードする、K R A S における機能獲得型突然変異を伴う。典型的な機能獲得型突然変異には G 1 2 D 又は G 1 2 R 置換が含まれ、膵管腺がんに見られる。他の症例では、膵臓がんは、B - R A F をコードする B R A F の機能獲得型突然変異を伴う。典型的な機能獲得型突然変異は V 6 0 0 E の位置に見られ、R A F の構成的キナーゼ活性をもたらす。

【0131】

上述のように、本発明はまた、K R A S / B R A F 突然変異型大腸がんの処置又は予防も対象とし得る。別の態様では、本発明は B R A F 突然変異型黒色腫、例えば、B R A F における V 6 0 0 E 突然変異を保有する黒色腫を対象とする。

【0132】

G R E M 1

タンパク質との関連で本発明で使用される G R E M 1 又はグレムリン-1 という用語は、典型的には、U n i P r o t エントリー O 6 0 5 6 5 (配列番号 1) に示されるアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を有するタンパク質であるヒトGREM1を指す。GREM1及びグレムリン-1という用語はまた、グレムリン-1ポリペプチドを指していてもよく、

(a) N末端シグナルペプチドを有するか若しくは有さない配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれらからなり、すなわち、配列番号21に示される成熟ペプチド配列を含むか又はそれらからなり；或いは

(b) N末端シグナルペプチド（配列番号21に示される）を有するか若しくは有さない配列番号1のアミノ酸配列に対して1つ以上のアミノ酸置換、修飾、欠失又は挿入を有する誘導体であり、配列番号20のアミノ酸配列などのグレムリン-1の活性を保持し；

(c) そのバリエーションであって、このようなバリエーションは、典型的には、配列番号1（又は配列番号20若しくは21）に対して少なくとも約60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%若しくは95%の同一性（又はさらには約96%、97%、98%若しくは99%の同一性）を保持する。換言すると、このようなバリエーションは、配列番号1に対して約60%～約99%の同一性、好適には配列番号1に対して約80%～約99%の同一性、より好適には配列番号1に対して約90%～約99%の同一性、及び最も好適には配列番号1に対して約95%～約99%の同一性を保持し得る。バリエーションは以下にさらに記載される。

10

【0133】

以下でさらに検討されるように、残基番号は、典型的には、配列番号1の配列に基づいて引用される。しかしながら、残基番号付けは、上記で検討されるように、誘導体配列又はバリエーション配列に当業者によって容易に外挿され得る。残基番号が引用される場合、本発明はまた、バリエーション又は誘導体配列上のこれらの残基を包含する。

20

【0134】

GREM1又はグレムリン-1核酸配列は、配列番号36若しくは配列番号37の配列又はそのバリエーションを含むか又はそれらからなり得る。バリエーション核酸配列は、以下にさらに記載される。GREM1又はグレムリン-1核酸配列は、任意のGREM1転写物バリエーションを含むか又はそれらからなり得る。GREM1転写物バリエーションの例は、転写物1（NCBI：NM_013372.6；ENSEMBL：ENST00000560677.5）；転写物2：NCBI：NM_001191323.1；ENSEMBL：ENST00000560830.1）；転写産物3：NCBI：NM_001191322.1；ENSEMBL：ENST00000622074.1である。2018年6月18日現在、上記アクセッション番号で入手可能な配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0135】

アンタゴニスト

抗GREM1アンタゴニストは、GREM1の機能又は活性を減少させる任意の分子である。抗GREM1アンタゴニストは、GREM1の機能又は活性を任意の量だけ減少させることができる。抗GREM1アンタゴニストは、GREM1の機能又は活性を少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、若しくは少なくとも95%減少させ得るか、又は任意のGREM1の機能若しくは活性を妨げ得る。抗GREM1アンタゴニストがGREM1の機能又は活性を減少させる程度は、抗GREM1アンタゴニストの存在下及び非存在下での細胞におけるGREM1の機能又は活性を測定することによって決定することができる。細胞は正常細胞又はがん細胞であり得る。細胞は、上記のようにがん細胞であり得る。それらは膵臓がん細胞であり得る。膵臓がん細胞は、実施例に記載されるKPCマウスモデルに存在し得る。したがって、膵臓がんにおける併用療法におけるGREM1アンタゴニストの活性についてのインビボアッセイは、マウスモデルにおいて実施され得る。より一般的には、任意の手段によりGREM1の機能又は活性を減少させることが示されたGREM1アンタゴニストは、次に、膵臓がん細胞などのがん細胞の増殖を防止若しくは減少させる能力、又はがん若しくは腫瘍を防止、減少若しくは排除する能力について、インビトロ又はインビボでアッセイするこ

40

50

とができる。

【0136】

アンタゴニストは、任意の手段によってもGREM1機能を低下させることができる。GREM1機能に直接的又は間接的に影響を及ぼす任意の分子の活性又は量を増加又は低下させる可能性がある。mRNA又はタンパク質レベルでのGREM1の量を低下させることができる。GREM1の分解を増加させることができる。阻害修飾によりGREM1の機能を低下させることができる。GREM1機能を増強する分子の転写を低下させることができる。ジンクフィンガーヌクレアーゼなどの薬剤を用いて、GREM1又はGREM1の機能を増強する分子をコードするDNAを破壊することができる。

【0137】

アンタゴニストは、グレムリン-1と相互作用する薬剤であり得る。グレムリン-1と相互作用する薬剤は、典型的には、グレムリン-1と結合する薬剤である。グレムリン-1と相互作用する薬剤は、グレムリン-1を調節し得る。阻害性調節剤は、グレムリン-1の機能のいずれにも影響を及ぼし得るが、典型的には、グレムリン-1のBMP（BMP 2/4/7）への結合を減少させる。アンタゴニストはBMP-7模倣分子であり得る。グレムリン-1は、BMPの負の制御因子であり、そのため、結合の減少はBMPを介したシグナル伝達を増加させる。調節剤の活性化は、BMPに対するグレムリン-1の結合を増加させ得る。

【0138】

BMPの結合とシグナル伝達は、当該技術分野において公知である任意の方法によって検出することができる。

【0139】

アンタゴニストは、GREM1の活性部位に結合することによって作用するか、又は異なる部位に結合することによってアロステリックに作用することができる。アンタゴニストは、GREM1の調節因子又はリガンドに結合することによって作用し、それによってGREM1の活性化を減少させることができる。アンタゴニストは可逆的又は不可逆的であり得る。

【0140】

GREM1アンタゴニストは、低分子阻害剤、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA（siRNA）又は低分子ヘアピンRNA（shRNA）であり得る。

【0141】

GREM1のアンタゴニストは、GREM1をコードするmRNA又はGREM1の活性を増強する分子をコードするmRNAに特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであり得る。GREM1のアンタゴニストは、GREM1機能を低下させる任意の分子をコードするポリヌクレオチドであり得る。例えば、GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするポリヌクレオチドであり得る。

【0142】

GREM1のアンタゴニストは、GREM1の機能を直接的又は間接的に低下させるように、任意の標的分子（典型的にはタンパク質）に特異的に結合する抗体であり得る。アンタゴニストは、GREM1に特異的に結合する抗体であり得る。この態様では、抗体は、アロステリック不活性化によって、又はその標的と活性に必要なリガンドの間の相互作用を遮断することによって、GREM1機能を低下させることができる。

【0143】

アンタゴニスト剤とタンパク質残基との相互作用は、X線結晶構造分析によって決定した場合、残基と薬剤の間の距離（典型的には6 Å未満、又は4 Å未満）などの当該技術分野において公知である任意の適切な方法によって決定することができる。治療薬によって標的化され得るグレムリン-1の領域は、アミノ酸Asp92-Leu99、Arg116-His130、Ser137-Ser142、Cys176-Cys178を含み得る。これらはグレムリン-1の表面で突然変異しているアミノ酸と6 Å以内である。

10

20

30

40

50

【0144】

抗体アンタゴニスト

本明細書で言及される用語「抗体」とは、抗体全体、任意の抗原結合断片（すなわち、「抗原結合部分」）又はその一本鎖が含まれる。抗体とは、ジスルフィド結合によって連結された少なくとも2つの重鎖（H）と2つの軽鎖（L）を含む糖タンパク質、又はその抗原結合部分を指す。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではH C V R又はV_Hと略記する）と重鎖定常領域を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではL C V R又はV_Lと略記する）と軽鎖定常領域を含む。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。V_H及びV_L領域は、相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変性の領域と、フレームワーク領域（F R）と呼ばれる保存性の高い領域にさらに細分化することができる。

10

【0145】

抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体の第1成分（C1q）を含む宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を仲介する可能性がある。

【0146】

本発明に従って使用される抗体は、モノクローナル抗体であるか又はポリクローナル抗体であってもよく、典型的にはモノクローナル抗体である。本発明に従って使用される抗体は、キメラ抗体、C D Rグラフト抗体、ナノボディ、ヒト抗体若しくはヒト化抗体、又は任意のそれらの抗原結合部分であり得る。モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体の産生のために、実験動物は通常、ヤギ、ウサギ、ラット又はマウスなどの非ヒト哺乳動物であるが、抗体を他の種で飼育することもできる。

20

【0147】

ポリクローナル抗体は、適切な動物に対象とする抗原を免疫するなどの日常的な方法で産生することができる。その後、動物から血液を取り出し、I g G画分を精製する。

【0148】

グレムリン-1に対する抗体は、動物への免疫化が必要な場合、ポリペプチドを動物、例えば、非ヒト動物に投与することによって、周知であり日常的なプロトコルを用いて得ることができ、例えば、Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), Vol 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986を参照されたい。ウサギ、マウス、ラット、ヒツジ、ウシ、ラクダ又はブタなどの多くの温血動物に免疫することができる。しかしながら、一般的には、マウス、ウサギ、ブタ及びラットが最も適している。

30

【0149】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術（Kohler & Milstein, 1975, Nature, 256:495-497）、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozbor et al., 1983, Immunology Today, 4:72）、及びE B Vハイブリドーマ技術（Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp77-96, Alan R Liss, Inc., 1985）などの当該技術分野において公知である任意の方法によって調製することができる。

40

【0150】

本発明に従って使用される抗体はまた、例えば、Babcock, J. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(15): 7843-7848; 国際公開第W O 9 2 / 0 2 5 5 1号; 国際公開第W O 2 0 0 4 / 0 5 1 2 6 8号及び国際公開第W O 2 0 0 4 / 1 0 6 3 7 7号によって記載される方法によって、特定の抗体を産生するために選択される単一のリンパ球から生成される免疫グロブリン可変領域c D N Aをクローニング及び発現させることによって、単一のリンパ球抗体法を使用して生成することもできる。

【0151】

抗体はまた、当該技術分野において公知である種々のファージディスプレイ法を用いて生成することができ、Brinkmanら（in J. Immunol. Methods, 1995, 182: 41-5

50

0)、Amesら(J. Immunol. Methods, 1995, 184:177-186)、Kettleboroughら(Eur. J. Immunol. 1994, 24:952-958)、Persicら(Gene, 1997 187 9-18)、Burtonら(Advances in Immunology, 1994, 57:191-280)、並びに国際公開第WO90/02809号;国際公開第WO91/10737号;国際公開第WO92/01047号;国際公開第WO92/18619号;国際公開第WO93/11236号;国際公開第WO95/15982号;国際公開第WO95/20401号;及び米国特許第5,698,426号;同第5,223,409号;同第5,403,484;同第5,580,717;同第5,427,908;同第5,750,753;同第5,821,047;同第5,571,698;同第5,427,908;同第5,516,637;同第5,780,225;同第5,658,727;同第5,733,743号及び同第5,969,108号によって開示されるものが含まれる。

10

【0152】

完全ヒト抗体は、重鎖と軽鎖両方の可変領域及び定常領域(存在する場合)がすべてヒト起源の抗体であるか、又はヒト起源の配列と実質的に同一である抗体であるが、必ずしも同一の抗体由来である必要はない。完全ヒト抗体の例としては、例えば、上記のファージディスプレイ法によって産生される抗体、マウス免疫グロブリン可変領域遺伝子及び場合により定常領域遺伝子をそれらのヒト対応遺伝子に置換したマウスによって産生される抗体などが挙げられ、例えば、欧州特許第0546073号、米国特許第5,545,806号、米国特許第5,569,825号、米国特許第5,625,126号、米国特許第5,633,425号、米国特許第5,661,016号、米国特許第5,770,429号、欧州特許第0438474号及び欧州特許0463151号に一般的に記載されているようなものである。

20

【0153】

或いは、本発明に従って使用される抗体は、非ヒト哺乳動物をグレムリン-1免疫原で免疫すること;前記哺乳動物から抗体調製物を得ること;そこからグレムリン-1を認識するモノクローナル抗体を誘導することを含む方法によって産生され得る。

【0154】

本発明に従って使用される抗体分子は、全長の重鎖及び軽鎖を有する完全な抗体分子、又はその断片若しくは抗原結合部分を含み得る。抗体の「抗原結合部分」という用語は、抗原に選択的に結合する能力を保持する抗体の1つ以上の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって発揮し得ることが示されている。抗体並びにその断片及び抗原結合部分は、限定されないが、Fab、修飾Fab、Fab'、修飾Fab'、F(ab')₂、Fv、単ドメイン抗体(例えば、VH又はVL又はVHH)、scFv、2価、3価又は4価抗体、Bis-scFv、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、及び上記のいずれかのエピトープ結合断片であり得る(例えば、Holliger and Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair and Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217を参照されたい)。これらの抗体断片を作製及び製造する方法は、当該技術分野において周知である(例えば、Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181を参照されたい)。本発明で使用するための他の抗体断片には、国際特許出願公開第WO2005/003169号、同第WO2005/003170号及び同第WO2005/003171号に記載されるFab及びFab'断片、並びに国際特許出願公開第WO2009/040562号に記載されるFab-dAb断片が含まれる。多価抗体は、複数の特異性を含み得るか、又は単特異性であり得る(例えば、国際公開第WO92/22853号及び国際公開第WO05/113605号を参照されたい)。これらの抗体断片は、当業者に公知である従来技術を用いて得ることができ、インタクトな抗体と同様の方法で有用性をスクリーニングすることができる。

30

40

【0155】

抗体分子の定常領域ドメインは、存在する場合、抗体分子の提案される機能、特に必要とされ得るエフェクター機能を考慮して選択することができる。例えば、定常領域ドメイ

50

ンは、ヒトIgA、IgD、IgE、IgG又はIgMドメインであり得る。特に、抗体分子が治療用途に意図され、抗体エフェクター機能が要求される場合、ヒトIgG定常領域ドメイン、特にIgG1及びIgG3アイソタイプが使用され得る。或いは、抗体分子が治療目的であることが意図され、抗体エフェクター機能が要求されない場合、IgG2及びIgG4アイソタイプを使用することができる。

【0156】

本発明に従って使用される抗体は、組換え手段によって調製、発現、作製又は単離され得、例えば、(a)対象とする免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニック若しくはトランス染色体である動物(例えば、マウス)又はそれから調製されるハイブリドーマから単離された抗体、(b)対象とする抗体を発現するように形質転換された宿主細胞、例えば、トランスフェクトーマから単離された抗体、(c)組換え、コンビナトリアル抗体ライブラリーから単離された抗体、並びに(d)免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを伴う他の手段により調製、発現、作製又は単離された抗体である。

【0157】

本発明に従って使用される抗体は、ヒト抗体であるか又はヒト化抗体であり得る。本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、フレームワーク領域とCDR領域の両方がヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する抗体を含むことを意図している。さらに、抗体が定常領域を含む場合、定常領域はまたヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する。本明細書に記載されるヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基(例えば、インビトロでのランダム突然変異誘発若しくは部位特異的突然変異誘発、又はインビボでの体細胞突然変異によって導入された突然変異)を含み得る。しかしながら、本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列にグラフトされた抗体を含むことを意図するものではない。

【0158】

このようなヒト抗体は、ヒトモノクローナル抗体であり得る。このようなヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞に融合したヒト重鎖導入遺伝子及び軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有する、トランスジェニック非ヒト動物、例えば、トランスジェニックマウスから得られたB細胞を含むハイブリドーマによって産生され得る。

【0159】

ヒト抗体は、ヒトリンパ球をインビトロで免疫し、続いて、エプスタイン・バーウイルスでリンパ球を形質転換することによって調製することができる。

【0160】

用語「ヒト抗体誘導體」とは、ヒト抗体の任意の修飾形態、例えば、抗体と他の薬剤又は抗体とのコンジュゲートを指す。

【0161】

用語「ヒト化抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列にグラフトされたCDRグラフト抗体分子を指すことを意図している。ヒトフレームワーク配列内では、さらなるフレームワーク領域の修飾が行われ得る。

【0162】

本明細書で使用される場合、用語「CDRグラフト抗体分子」とは、重鎖及び／又は軽鎖が、アクセプター抗体(例えばヒト抗体)の重鎖及び／又は軽鎖可変領域フレームワークにグラフトされたドナー抗体(例えば、マウス又はラットモノクローナル抗体)からの1つ以上のCDR(所望により、1つ以上の修飾CDRを含む)を含む抗体分子を指す。総説としては、Vaughan et al, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998を参照されたい。一実施形態では、CDR全体が転移されるのではなく、本明細書で上述したCDRのいずれか1つからの特異性決定残基の1つ以上のみがヒト抗体フレームワークに転移される(例えば、Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34を参照され

10

20

30

40

50

たい)。一実施形態では、本明細書に記載されるCDRの1つ以上からの特異性決定残基のみがヒト抗体フレームワークに転移される。別の実施形態では、本明細書で上述した各CDRからの特異性決定残基のみがヒト抗体フレームワークに導入される。

【0163】

CDR又は特異性決定残基がグラフトされる場合、CDRが由来するドナー抗体のクラス／タイプを考慮して、マウス、霊長類及びヒトフレームワーク領域を含む任意の適切なアクセプター可変領域フレームワーク配列を使用することができる。好適には、本発明によるCDRグラフト抗体は、上記のCDR又は特異性決定残基の1つ以上と同様に、ヒトアクセプターフレームワーク領域を含む可変ドメインを有する。したがって、一実施形態では、可変ドメインがヒトアクセプターフレームワーク領域及び非ヒトドナーCDRを含む中和CDRグラフト抗体が提供される。

10

【0164】

本発明で使用され得るヒトフレームワークの例は、KOL、NEWM、REI、EU、TUR、TEI、LAY及びPOMである(Kabatら、前出)。例えば、KOL及びNEWMは重鎖に使用することができ、REIは軽鎖に使用することができ、EU、LAY及びPOMは重鎖と軽鎖の両方に使用することができる。或いは、ヒトの生殖細胞系列の配列を使用することができる。これらは、例えば、<http://www.vbase2.org/> (see Retter et al, Nucl. Acids Res. (2005) 33 (supplement 1), D671-D674)で利用可能である。

【0165】

本明細書に記載されるCDRグラフト抗体において、アクセプター重鎖及び軽鎖は、必ずしも同一の抗体由来である必要はなく、所望により、異なる鎖由来のフレームワーク領域を有する複合鎖を含み得る。

20

【0166】

また、本明細書に記載されるCDRグラフト抗体において、フレームワーク領域はアクセプター抗体のものと正確に同じ配列を有する必要はない。例えば、通常でない残基は、そのアクセプター鎖クラス又はタイプに対してより頻繁に存在する残基に変更することができる。或いは、アクセプターフレームワーク領域の選択された残基は、ドナー抗体における同じ位置に見出される残基に対応するように変更され得る(Reichmann et al., 1998, Nature, 332, 323-324を参照されたい)。このような変更は、ドナー抗体の親和性を回復するのに必要な最小限のものにとどめるべきである。変更が必要であり得るアクセプターフレームワーク領域の残基を選択するためのプロトコールは、国際公開第WO 91/09967号に記載されている。

30

【0167】

また、当業者は、抗体は様々な翻訳後修飾を受ける可能性があることを理解される。これらの修飾の種類及び程度は、しばしば、抗体を発現させるために使用される宿主細胞系、並びに培養条件に依存する。このような修飾には、グリコシル化、メチオニン酸化、ジケトピペラジン形成、アスパラギン酸異性化及びアスパラギン脱アミド化の変化が含まれ得る。頻繁に起こる修飾は、カルボキシペプチダーゼの作用によるカルボキシ末端の塩基性残基(例えば、リシン又はアルギニン)の消失である(Harris, R.J. Journal of Chromatography 705:129-134, 1995に記載される)。

40

【0168】

一実施形態では、抗体重鎖はCH1ドメインを含み、抗体軽鎖はカップ又はラムダのいずれかのCLドメインを含む。

【0169】

抗体又はその断片などの生物学的分子は、酸性及び／又は塩基性の官能基を含有し、それによって分子に正味の正又は負の電荷を与える。全体的な「観察される」電荷の量は、実体の絶対的なアミノ酸配列、3D構造における荷電基の局所的な環境、及び分子の環境条件に依存する。等電点(pI)は、特定の分子又は表面が正味の電荷を持たないpHである。一実施形態では、本開示による抗体又は断片は、少なくとも7の等電点(pI)を

50

有する。一実施形態では、抗体又は断片は、8.5、8.6、8.7、8.8又は9などの少なくとも8の等電点を有する。一実施形態では、抗体のpIは8である。＊＊E x P A S Y http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html (Walker, The Proteomics Protocols Handbook, Humana Press (2005), 571-607を参照されたい)などのプログラムを用いて、抗体又は断片の等電点を予測することができる。

【0170】

好ましいグレムリン-1エピトープを特徴付けるために、本発明者らは、ヒトのグレムリン-1を単独で、及びAb 7326と呼ばれる抗体(Fab断片)との複合体で結晶化した。グレムリン-1の結晶化は、BMP結合部位の推定残基を決定することを可能にした。さらに、アロステリック阻害抗体であるAb 7326との結晶化は、抗体エピトープの残基を決定することを可能にした。このエピトープに結合する抗体は、グレムリン-1に関連する疾患の処置における治療剤として特に有望である。

10

【0171】

本明細書に記載される好ましいAb 7326抗体は、グレムリン-1の以下の残基：Ile110(131)、Lys126(147)、Lys127(148)、Phe128(149)、Thr129(150)、Thr130(151)、Arg148(169)、Lys153(174)及びGln154(175)と結合することが確認され、Lys126(147)、Lys127(148)、Phe128(149)、Thr129(150)、Thr130(151)、Arg148(169)、Lys153(174)及びGln154(175)は1つのグレムリン-1モノマー上に存在し、Ile110(131)は第2のグレムリン-1モノマー上に存在する。括弧内には番号付けは、構造ファイル及び(構造アラインメントに基づくマウスグレムリン-2の番号付けと一致する)に基づく。括弧内の番号は、配列番号1のUniProtエントリーO60565に基づく残基を表す。これらのエピトープ残基は、グレムリン-1-Ab 7326 Fab複合体から4 ÅのNCONT分析を用いて同定された。

20

【0172】

したがって、本明細書に記載される抗体は、Ile131、Lys147、Lys148、Phe149、Thr150、Thr151、Arg169、Lys174及びGln175(残基番号付けは配列番号1に基づく)から選択される少なくとも1つの残基を含むエピトープに結合し得る。本明細書に記載される抗体は、これらの残基の2、3、4、5、6、7、8又は全9残基(好ましくは少なくとも5残基)を含むエピトープに結合し得る。

30

【0173】

本明細書に記載される抗体はまた、Ile131が他の残基とは異なるグレムリン-1モノマー上に存在するエピトープを認識することができる。

【0174】

これらの残基は、ヒトグレムリン-1の特定の配列について提供されているが、当業者は、日常的な技術を用いて、これらの残基の位置を他の対応するグレムリン配列(例えば、マウス)に容易に外挿することができる。したがって、これらの他のグレムリン配列内の対応する残基を含むエピトープに結合する抗体はまた、本発明により提供される。

40

【0175】

特定のエピトープに結合する抗体をスクリーニングするには、Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)に記載されるものなどの日常的なクロスブロッキングアッセイを行うことができる。他の方法には、アラニンスキャニング突然変異体、ペプチドプロット(Reineke (2004) Methods Mol Biol 248:443-63)、又はペプチド切断分析が挙げられる。さらに、抗原のエピトープ切除、エピトープ抽出及び化学修飾などの方法が採用され得る(Tomer (2000) Protein Science 9: 487-496)。このような方法は当該技術分野において周知である。

【0176】

抗体のエピトープはまた、X線結晶構造分析によって決定することができる。したがっ

50

て、本開示の抗体は、グレムリン-1に結合した抗体のX線結晶構造分析によって評価することができる。エピトープは、特に、抗体パラトープ残基から4 Å以内のグレムリン-1上の残基を決定することによって、このように同定され得る。

【0177】

したがって、本明細書に記載される抗体は、Trp93、Phe117、Tyr119、Phe125、Tyr126及びPhe138から選択される少なくとも1つの残基を含むグレムリン-1上のエピトープに結合することができ、残基番号付けは配列番号1に従う。さらに、本明細書では、Trp93、Phe117、Tyr119、Phe125、Tyr126及びPhe138のすべてを含むエピトープに結合する抗体について記載する。さらに、以下の残基：Ile131、Lys147、Lys148、Phe149、Thr150、Thr151、Arg169、Lys174及びGln175を含むエピトープに結合する抗体について記載する。好ましくは、Lys147、Lys148、Phe149、Thr150、Thr151、Arg169、Lys174及びGln175は、グレムリン-1の1つのモノマー上に位置し、Ile131は、グレムリン-1の他のモノマー上に位置する（グレムリン-1二量体はBMP二量体に結合する）。

10

【0178】

抗体のパラトープが、X線結晶構造分析によって決定した場合にグレムリン-1残基の4 Å以内にある場合、抗体は上記グレムリン-1残基に結合することができる。

【0179】

本明細書で開示するエピトープに結合する抗体は、配列番号4～6（それぞれHC DR1 / HC DR2 / HC DR3）の重鎖CDR配列の少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つすべてを含み得る。これらは、Kab at法を用いて決定した場合、実施例のAb 7326抗体のHC DR1 / HC DR2 / HC DR3配列である。

20

【0180】

CDR配列を決定するためのKab at法とCh o t h i a法（並びに他の技術）は、当該技術分野において周知である。CDR配列は、任意の適切な方法を使用して決定することができ、本発明では、Kab atが典型的に採用されるが、他の技術も同様に使用することができる。本例では、配列番号3は、Ch o t h i a & Kab atの複合定義を使用して決定されたAb 7326 HC DR1配列を示す。

【0181】

本発明に従って使用される抗体は、配列番号7～9（それぞれLC DR1 / LC DR2 / LC DR3）の少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つすべての軽鎖CDR配列を含み得る。これらは、Kab at法を用いたAb 7326のLC DR1 / LC DR2 / LC DR3配列である。

30

【0182】

抗体は、好ましくは配列番号6の少なくともHC DR3配列を含む。

【0183】

典型的には、抗体は配列番号4～6から選択される少なくとも1つの重鎖CDR配列及び配列番号7～9から選択される少なくとも1つの軽鎖CDR配列を含む。抗体は、配列番号4～6から選択される少なくとも2つの重鎖CDR配列及び配列番号7～9から選択される少なくとも2つの軽鎖CDR配列を含み得る。抗体は、典型的には、配列番号4～6の3つすべての重鎖CDR配列（それぞれHC DR1 / HC DR2 / HC DR3）及び配列番号7～9の3つすべての軽鎖CDR配列（それぞれLC DR1 / LC DR2 / LC DR3）を含む。抗体は、キメラ抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体であり得る。

40

【0184】

抗体は、配列番号10又は12の重鎖可変領域（HC VR）配列（Ab 7326バリエーション1及び2のHC VR）を含み得る。抗体は、配列番号11又は13の軽鎖可変領域（LC VR）配列（Ab 7326バリエーション1及び2のLC VR）を含み得る。抗体は、好ましくは配列番号10又は12の重鎖可変領域配列及び配列番号11又は13の軽鎖可変領域配列（特に配列番号10 / 11又は12 / 13のHC VR / LC VR対）を含む

50

。

【0185】

抗体は、

配列番号14 マウス全長 I g G 1 重鎖バリエーション1、又は
 配列番号28 マウス全長 I g G 1 重鎖バリエーション2、又は
 配列番号30 ヒト全長 I g G 1 重鎖バリエーション1、又は
 配列番号16 ヒト全長 I g G 1 重鎖バリエーション2、又は
 配列番号22 ヒト全長 I g G 4 P 重鎖バリエーション1、又は
 配列番号34 ヒト完全長 I g G 4 P 重鎖バリエーション2、又は
 配列番号18 F a b 重鎖バリエーション1、又は
 配列番号32 F a b 重鎖バリエーション2

10

の重鎖（H鎖）配列を含み得る。

【0186】

抗体は、

配列番号15 マウス全長 I g G 1 軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号29 マウス全長 I g G 1 軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号31 ヒト全長 I g G 1 軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号17 ヒト全長 I g G 1 軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号23 ヒト全長 I g G 4 P 軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号35 ヒト完全長 I g G 4 P 軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号19 F a b 軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号33 F a b 軽鎖バリエーション2

20

の軽鎖（L鎖）配列を含み得る。

【0187】

ある例では、抗体は、

配列番号14／15 マウス全長 I g G 1 バリエーション1、又は
 配列番号28／29 マウス全長 I g G 1 バリエーション2、又は
 配列番号30／31 ヒト全長 I g G 1 バリエーション1、又は
 配列番号16／17 ヒト全長 I g G 1 バリエーション2、又は
 配列番号22／23 ヒト全長 I g G 4 P バリエーション1、又は
 配列番号34／35 ヒト完全長 I g G 4 P バリエーション2、又は
 配列番号18／19 F a b 軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号32／33 F a b 軽鎖バリエーション2

30

の重鎖／軽鎖配列対を含む。

【0188】

対応する配列のバリエーション形態は、交換され得る。例えば、抗体は、

配列番号14／29 マウス全長 I g G 1 重鎖バリエーション1／軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号28／15 マウス全長 I g G 1 重鎖バリエーション2／軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号30／17 ヒト全長 I g G 1 重鎖バリエーション1／軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号16／31 ヒト全長 I g G 1 重鎖バリエーション2／軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号22／35 ヒト全長 I g G 4 P 重鎖バリエーション1／軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号34／23 ヒト完全長 I g G 4 P 重鎖バリエーション2／軽鎖バリエーション1、又は
 配列番号18／33 F a b 重鎖バリエーション1／軽鎖バリエーション2、又は
 配列番号32／19 F a b 重鎖バリエーション2／軽鎖バリエーション1

40

の重鎖／軽鎖配列対を含み得る。

【0189】

抗体は、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体であり得る。

【0190】

抗体は、代替的に、上記に記載した特定の配列の1つのバリエーションであり得るか、又はそれを含み得る。抗体バリエーションに関する以下の説明は、上記の G R E M 1 ポリペプチド

50

バリエーションの選択にも適用可能である。

【0191】

例えば、バリエーションは、上記のアミノ酸配列のいずれかの置換、欠失又は付加バリエーションであり得る。

【0192】

バリエーション型抗体は、上記で検討した特定の配列から1、2、3、4、5、最大10、最大20個若しくはそれ以上（典型的には最大50個）のアミノ酸置換及び／又は欠失を含み得る。「欠失」バリエーションは、個々のアミノ酸の欠失、2、3、4若しくは5個のアミノ酸などの小さなアミノ酸群の欠失、又は特定のアミノ酸ドメイン若しくは他の特性の欠失などのより大きなアミノ酸領域の欠失を含み得る。「置換」バリエーションは、典型的には、1つ以上のアミノ酸を同数のアミノ酸による置換、及び保存的アミノ酸置換を行うことを伴う。例えば、あるアミノ酸は、類似の性質を有する代替アミノ酸、例えば、別の塩基性アミノ酸、別の酸性アミノ酸、別の中性アミノ酸、別の荷電アミノ酸、別の親水性アミノ酸、別の疎水性アミノ酸、別の極性アミノ酸、別の芳香族アミノ酸、又は別の脂肪族アミノ酸で置換され得る。適切な置換基を選択するために使用することができる20個の主要なアミノ酸のいくつかの性質は以下の通りである。

【表A】

Ala	脂肪族, 疎水性, 中性	Met	疎水性, 中性
Cys	極性, 疎水性, 中性	Asn	極性, 親水性, 中性
Asp	極性, 親水性, 荷電 (-)	Pro	疎水性, 中性
Glu	極性, 疎水性, 荷電 (-)	Gln	極性, 親水性, 中性
Phe	芳香族, 疎水性, 中性	Arg	極性, 親水性, 荷電 (+)
Gly	脂肪族, 中性	Ser	極性, 親水性, 中性
His	芳香族, 極性, 疎水性, 荷電 (+)	Thr	極性, 親水性, 中性
Ile	脂肪族, 疎水性, 中性	Val	脂肪族, 疎水性, 中性
Lys	極性, 親水性, 荷電 (+)	Trp	芳香族, 疎水性, 中性
Leu	脂肪族, 疎水性, 中性	Tyr	芳香族, 極性, 疎水性

「誘導体」又は「バリエーション」には、一般的に、天然に存在するアミノ酸の代わりに、配列中に現れるアミノ酸がその構造的類似体であるものが含まれる。

配列に使用されるアミノ酸は、抗体の機能に大きな悪影響を与えない限り、誘導体化又は修飾、例えば、標識化され得る。

【0193】

上記の誘導体及びバリエーションは、抗体の合成中、又は産生後の修飾によって、或いは抗体が組換え体の形態である場合に、部位特異的突然変異誘発、ランダム突然変異誘発、又は核酸の酵素的切断及び／若しくはライゲーションの公知の技術を用いて調製することができる。

【0194】

バリエーション型抗体は、本明細書に開示されるアミノ酸配列（特にHCVRLCVR配列、並びにH鎖及びL鎖配列）と約60%より高い、又は約70%より高い、例えば75%又は80%、典型的には約85%より高い、例えば約90%又は95%より高いアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列を有することができる。さらに、抗体は、これらの配列について開示される正確なCDRを保持しながら、本明細書に開示されるHCVRLCVR配列並びにH鎖及びL鎖配列と約60%より高い、又は約70%より高い、例えば75%又

は 80%、典型的には約 85% より高い、例えば約 90% 又は 95% より高いアミノ酸同一性を有するバリエーションであり得る。バリエーションは、（状況によっては、正確な CDR を保持しながら）本明細書に開示される HCV R / LCVR 配列、並びに H 鎖及び L 鎖配列と少なくとも約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 又は 99% の同一性を保持し得る。

【0195】

バリエーションは、典型的には、約 60% ～約 99% の同一性、約 80% ～約 99% の同一性、約 90% ～約 99% の同一性、又は約 95% ～約 99% の同一性を保持する。このレベルのアミノ酸同一性は、関連する配列番号の配列の全長にわたって、又は配列の一部にわたって、例えば、全長ポリペプチドのサイズに応じて、約 20、30、50、75、100、150、200 又はそれ以上のアミノ酸にわたって見ることができる。

10

【0196】

アミノ酸配列に関連して、「配列同一性」とは、以下のパラメータ：ペアワイズアライメントパラメータ ー方法：正確、マトリックス：PAM、ギャップオープンペナルティ：10.00、ギャップ拡張ペナルティ：0.10；マルチプルアライメントパラメータマトリックス：PAM、ギャップオープンペナルティ：10.00、遅延の同一性%：30、エンドギャップのペナルティ：on、ギャップ分離距離：0、負のマトリックス：なし、ギャップ拡張ペナルティ：0.20、残基特異的ギャップペナルティ：on、親水性ギャップペナルティ：on、親水性残基：GPSNDQEK R で Clustal W (Thompson et al., 1994、前述) を用いて評価した場合に指定された値を有する配列を指す。特定の残基における配列同一性は、単に誘導体化された同一の残基を含むことが意図される。

20

【0197】

したがって、これらの鎖の機能又は活性を維持する特異的な配列及びバリエーションを有する抗体が提供される。

【0198】

抗体は、H 鎖 / L 鎖、HCV R / LCVR 又は CDR 配列の点で、上記で定義したものとグレムリン-1 への結合をめぐって競合するか、又は同じエピトープに結合し得る。特に、抗体は、配列番号 4 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 の HCD R 1 / HCD R 2 / HCD R 3 / LCD R 1 / LCD R 2 / LCD R 3 配列の組み合わせを含む抗体とグレムリン-1 への結合をめぐって競合し得るか、又は同じエピトープに結合し得る。抗体は、配列番号 10 / 11 若しくは 12 / 13 の HCV R 及び LCVR 配列対、又は配列番号 14 / 15 若しくは 16 / 17 の全長鎖を含む抗体と、グレムリン-1 への結合をめぐって競合するか、又は同じエピトープに結合する可能性がある。

30

【0199】

「エピトープ」とは、抗体が結合する抗原の領域である。エピトープは構造的な又は機能的なものとして定義され得る。機能的エピトープは、一般的に構造的エピトープのサブセットであり、相互作用の親和性に直接寄与する残基を有する。エピトープはまた、立体構造的なもの、すなわち、非直鎖アミノ酸で構成されるものであり得る。ある特定の実施形態では、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基、又はスルホニル基などの分子の化学的に活性な表面基である決定基を含んでいてもよく、ある特定の実施形態では、特定の三次元構造特徴、及び / 又は特定の電荷特徴を有し得る。

40

【0200】

抗体が参照抗体と、同じエピトープに結合するか又は結合をめぐって競合するかは、当該技術分野において公知である日常的な方法を用いて容易に決定することができる。例えば、試験抗体が本発明の参照抗体と同じエピトープに結合するかどうかを決定するために、参照抗体を飽和条件下でタンパク質又はペプチドに結合させる。次に、試験抗体がタンパク質又はペプチドに結合する能力を評価する。参照抗体との飽和結合後、試験抗体がタンパク質又はペプチドに結合し得る場合、試験抗体は参照抗体とは異なるエピトープに結合すると結論づけることができる。一方、参照抗体との飽和結合後に試験抗体がタンパク

50

質又はペプチドに結合することができない場合、試験抗体は本発明の参照抗体が結合するエピトープと同じエピトープに結合する場合がある。

【0201】

抗体が参照抗体と結合をめぐって競合するかどうかを決定するために、上述の結合方法は2つの方向で行われる。第1の方向では、参照抗体を飽和条件下でタンパク質／ペプチドに結合させ、続いて、試験抗体のタンパク質／ペプチド分子への結合を評価する。第2の方向では、試験抗体は、飽和条件下でタンパク質／ペプチドに結合させ、続いて、参照抗体のタンパク質／ペプチドへの結合を評価する。両方の方向において、第1の（飽和）抗体のみがタンパク質／ペプチドに結合し得る場合、試験抗体及び参照抗体はタンパク質／ペプチドへの結合をめぐって競合すると結論づけられる。当業者には理解されるように、参照抗体と結合をめぐって競合する抗体は、必ずしも参照抗体と同一のエピトープに結合するとは限らず、重複又は隣接するエピトープに結合することによって参照抗体の結合を立体的に遮断することができる。

10

【0202】

2つの抗体が同一又は重複するエピトープに結合するのは、各々が他方の抗体の抗原への結合を競合的に阻害（遮断）する場合である。すなわち、1倍、5倍、10倍、20倍又は100倍過剰の一方の抗体が、競合結合アッセイ（例えば、Junghans et al., Cancer Res, 1990:50:1495-1502を参照されたい）によって測定した場合、他方の結合を少なくとも50%、75%、90%又は99%阻害する。或いは、一方の抗体の結合を減少又は消失させる抗原の本質的にすべてのアミノ酸突然変異が、他方の抗体の結合を減少又は消失させる場合、2つの抗体は同じエピトープを有する。一方の抗体の結合を減少又は消失させる一部のアミノ酸突然変異が他方の抗体の結合を減少又は消失させる場合、2つの抗体は重複エピトープを有する。

20

【0203】

次に、追加の日常的な実験（例えば、ペプチド突然変異及び結合分析）を行い、観察された試験抗体の結合の欠如が、実際に参照抗体と同じエピトープへの結合によるものなのか、又は観察された結合の欠如の原因が立体遮断（又は別の現象）にあるのかを確認することができる。この種の実験は、ELISA、RIA、表面プラズモン共鳴、フローサイトメトリー、又は他の任意の当該技術分野において利用可能な定量的若しくは定性的抗体結合アッセイを用いて行うことができる。

30

【0204】

抗体は、例えば、標準的なELISA又はウェスタンブロッティングによって、グレムリン-1との結合について試験することができる。ELISAアッセイはまた、標的タンパク質と陽性応答性を示すハイブリドーマをスクリーニングするために使用することができる。抗体の結合選択性はまた、例えば、フローサイトメトリーにより、標的タンパク質を発現する細胞への抗体の結合をモニタリングすることによって決定することができる。したがって、スクリーニング方法は、ELISA若しくはウェスタンブロット、又はフローサイトメトリーによって、グレムリン-1に結合することができる抗体を同定する工程を含み得る。

【0205】

抗体はグレムリン-1を選択的に（又は特異的に）認識する。抗体又は他の化合物が、あるタンパク質に「選択的に結合する」又は「選択的に認識する」のは、そのタンパク質に優先的又は高い親和性で結合し、他のタンパク質には実質的に結合しないか、低い親和性で結合する場合である。抗体の選択性は、上記で検討したように抗体が他の関連タンパク質に結合するかどうか、又はそれらのタンパク質間を識別するかどうかを決定することによって、さらに研究することができる。本発明に従って使用される抗体は、典型的にはヒトグレムリン-1を認識する。

40

【0206】

抗体はまた、関連タンパク質、或いはヒトのグレムリン-1及び他の生物種由来のグレムリン-1に対して交差反応性を有することがある。

50

【0207】

特異的（又は選択的）とは、抗体が対象とするタンパク質に結合し、任意の他の分子と有意な交差反応性を示さないことを意味する。交差反応性は、本明細書に記載される任意の適切な方法によって評価することができる。抗体の交差反応性は、抗体が対象とするタンパク質に結合するのと同程度に、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%又は100%強く他の分子に結合する場合に、有意であると考えることができる。特異的（又は選択的）である抗体は、対象とするタンパク質と結合する強さの約90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%又は20%未満で別の分子と結合することができる。抗体は、対象とするタンパク質と結合する強さの約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満、約2%未満、約1%未満で他の分子と結合することができる。

10

【0208】

抗グレムリン抗体は、以前に報告されており、例えば、国際公開第WO2014/159010A1号（Regeneron）には、グレムリン-1活性を阻害する抗グレムリン抗体が記載されており、結合親和性 K_D の値は25℃で625pM~270nMの範囲である。Ciuculanら（2013）は、結合親和性 K_D が 5.6×10^{-10} Mである抗グレムリン-1モノクローナル抗体を記載する。

【0209】

本明細書に記載される（並びに両者が、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、2017年12月19日に出願された国際公開第WO2018/115017号及び2019年6月18日に出願された国際公開第WO2019/243801号にも記載される）抗グレムリン-1抗体は、グレムリン-1活性のアロステリック阻害剤であり、BMP結合部位から遠位で、上記のような新規エピトープに結合する。抗体はグレムリン-1に非常に高い親和性で結合し、 K_d 値は100pM未満である。したがって、この抗体は、現在入手可能な抗体よりも大幅に改善されており、グレムリン-1媒介疾患の処置に特に有用であることが期待される。

20

【0210】

したがって、本発明での使用に適した抗体は、（ヒト）グレムリン-1に対して高い親和性結合を有する可能性がある。抗体は、 <1 nM、好ましくは <500 pMの解離定数（ K_D ）を有することができる。一例では、抗体は200pM未満の解離定数（ K_D ）を有する。一例では、抗体は、100pM未満の解離定数（ K_D ）を有する。表面プラズモン共鳴アッセイ、飽和アッセイ、又はELISAもしくはRIAなどのイムノアッセイなどの、当業者に周知であるように、抗体の標的抗原に対する結合親和性を決定するために様々な方法を使用することができる。結合親和性を決定するための例示的な方法は、Kriner et al., (2007) Mol. Immunol. February; 44 (5):916-25 (Epub 2006 May 11))に記載されるように、CM5センサーチップを用いたBiacore（商標）2000装置（Biacore AB, Freiburg, Germany）上での表面プラズモン共鳴によるものである。

30

40

【0211】

本発明に従って使用される抗体は、典型的には阻害抗体である。グレムリン-1はBMP-2、4及び7を負に制御するため、グレムリン-1の阻害はBMPを介したシグナル伝達の増加をもたらす。

【0212】

抗体がグレムリン1を阻害することができるかどうかをスクリーニングするために使用され得る特定の機能的アッセイには、SMADリン酸化アッセイ及びHek Id1レポーター遺伝子アッセイが含まれる。典型的には、阻害抗体は、Hek Id1レポーター遺伝子アッセイにおいて、SMADリン酸化を回復させ、及び／又はBMPのシグナル伝達を回復させる。SMADリン酸化は、BMP対照と比較して、少なくとも80%、90

50

%又は100%まで回復することができる。H e k I d 1レポーター遺伝子アッセイにおいて、阻害抗体はI C ₅₀が10 n M未満、好ましくは5 n M未満であり得る。

【0213】

適切な抗体が同定され選択されると、その抗体のアミノ酸配列は、当該技術分野において公知である方法によって同定することができる。抗体をコードする遺伝子は、縮退プライマーを用いてクローニングすることができる。抗体は日常的な方法で組換え的に産生することができる。

【0214】

本開示はまた、本明細書に新たに記載される抗体分子の重鎖及び／又は軽鎖可変領域（単数又は複数）（又は全長H鎖及びL鎖）をコードする単離されたDNA配列を提供する。

10

【0215】

バリエーションポリヌクレオチドは、配列表に示される核酸配列（GREM1及び抗GREM1抗体核酸配列を含む）のいずれかから、1、2、3、4、5、最大10、最大20、最大30、最大40、最大50、最大75個、又はそれ以上の核酸置換及び／若しくは欠失を含み得る。一般に、バリエーションは、1～20、1～50、1～75又は1～100個の置換及び／若しくは欠失を有する。

【0216】

好適なバリエーションは、本明細書に開示される核酸配列のいずれか1つのポリヌクレオチドと少なくとも約70%、典型的には少なくとも約80又は90%、より好適には少なくとも約95%、97%又は99%相同であり得る。バリエーションは、少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を保持し得る。バリエーションは、典型的には、約60%～約99%の同一性、約80%～約99%の同一性、約90%～約99%の同一性、又は約95%～約99%の同一性を保持する。これらのレベルでの相同性及び同一性は、一般的に、少なくともポリヌクレオチドのコード領域に関して存在する。相同性を測定する方法は当該技術分野において周知であり、当業者には、本文脈において相同性は核酸同一性に基づいて計算されることが理解される。このような相同性は、少なくとも約15、少なくとも約30、例えば、少なくとも約40、60、100、200又はそれ以上の連続ヌクレオチド（長さに依存する）の領域にわたって存在し得る。このような相同性は、未修飾ポリヌクレオチド配列の全長にわたって存在し得る。

20

30

【0217】

ポリヌクレオチドの相同性又は同一性を測定する方法は、当該技術分野において公知である。例えば、UWGC Gパッケージは、相同性を計算するために使用され得るBESTFITプログラムを提供する（例えば、そのデフォルト設定で使用する）（Devereux et al (1984) Nucleic Acids Research 12, p387-395）。

【0218】

PILEUP及びBLASTアルゴリズムはまた、例えば、Altschul S.F. (1993) J Mol Evol 36:290-300; Altschul, S, F et al (1990) J Mol Biol 215:403-10に記載されるように、相同性を計算するか、又は配列を並べるために使用することができる（典型的にはそれらのデフォルト設定）。

40

【0219】

BLAST分析を行うためのソフトウェアは、National Centre for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)から公衆に利用可能である。このアルゴリズムでは、第1に、クエリー配列中の長さWの短い単語が、データベース配列中の同じ長さの単語と整列した場合に、一部の正の値の閾値スコアTと一致するか、又はそれを満たすものを特定することによって、高スコア配列ペア（HSP）を同定することを伴う。Tは、近傍単語スコア閾値と呼ばれる（Altschulら、前述）。これらの初期の近傍単語ヒットは、その単語を含むHSPを見つけるための検索を開始するための種として働く。ワードヒットは各配列に沿って、累積アラインメントスコアが上がる限り

50

両方向に拡張される。各方向の単語ヒットの拡張は、1つ以上の負のスコアの残基アラインメントの蓄積により、累積アラインメントスコアが0以下になるか、又はどちらかの配列の終端に達した時に停止する。BLASTアルゴリズムのパラメータW、T、及びXは、アラインメントの感度と速度を決定する。BLASTプログラムは、デフォルトとして11のワード長(W)、50のBLOSUM62スコアリングマトリックス(Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919を参照されたい)アラインメント(B)、10の期待値(E)、M=5、N=4、及び両鎖の比較を使用する。

【0220】

BLASTアルゴリズムは、2つの配列間の類似性の統計的分析を行う；例えば、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787を参照されたい。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の尺度の1つは最小和確率(P(N))であり、これは2つのヌクレオチド又はアミノ酸配列間の一致が偶然に起こる確率の指標を提供する。例えば、第1の配列と第2の配列の比較における最小和確率が約1未満、典型的には約0.1未満、好適には約0.01未満、最も好適には約0.001未満である場合、配列は別の配列と類似していると考えられる。例えば、最小和確率は、約1〜約0.001、多くの場合、約0.01〜約0.001の範囲であり得る。

【0221】

ホモログは、関連ポリヌクレオチド中の配列と、約3、5、10、15、20未満又はそれ以上の突然変異(各々は置換、欠失又は挿入であり得る)により異なる場合がある。例えば、ホモログは、3〜50個の突然変異、しばしば3〜20個の突然変異で異なることがある。これらの突然変異は、ホモログの少なくとも30個、例えば、少なくとも約40、60又は100個以上の連続したヌクレオチドの領域にわたって測定することができる。

【0222】

一実施形態では、バリエーション配列は、遺伝コードの冗長性によって、配列表に示される特定の配列と異なる場合がある。DNAコードには4つの主要な核酸残基(A、T、C及びG)があり、これらを用いてタンパク質の生物の遺伝子にコードしたアミノ酸を表す3文字のコドンで「綴る」。DNA分子に沿ったコドンの直線的な配列は、それらの遺伝子によってコードされるタンパク質(単数又は複数)のアミノ酸の直線的な配列に翻訳される。コードは高度に縮退しており、61個のコドンが20種類の天然アミノ酸をコードし、3個のコドンが「終止」シグナルを表す。したがって、ほとんどのアミノ酸は1を超えるコドンでコードされ、実際、いくつかのアミノ酸は4つ以上の異なるコドンでコードされる。したがって、本発明のバリエーションポリヌクレオチドは、本発明の別のポリヌクレオチドと同じポリペプチド配列をコードする可能性があるが、同じアミノ酸をコードするために異なるコドンを使用するため、異なる核酸配列を有する可能性がある。

【0223】

DNA配列は、例えば、化学処理によって生成された合成DNA、cDNA、ゲノムDNA、又はそれらの組み合わせを含み得る。

【0224】

本明細書に記載される抗体分子をコードするDNA配列は、当業者に周知の方法によって得ることができる。例えば、抗体の重鎖及び軽鎖の一部又は全部をコードするDNA配列は、決定されたDNA配列から、又は対応するアミノ酸配列に基づいて、所望により合成することができる。

【0225】

ベクターを構築し得る一般的な方法、トランスフェクション方法及び培養方法は、当業者に周知である。この点に関しては、“Current Protocols in Molecular Biology”, 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York and the Maniatis Manual produced by Cold Spring Harbor Publishingを参照されたい。

【0226】

核酸アンタゴニスト

核酸などのポリヌクレオチドは、2つ以上のヌクレオチドを含むポリマーである。ヌクレオチドは、天然に存在するものであるか又は人工のものであり得る。ヌクレオチドは、典型的には、核酸塩基、糖及び少なくとも1つの連結基、例えば、リン酸基、2'-O-メチル基、2'-メトキシエチル基、ホスホルアミデート基、メチルホスホネート基又はホスホロチオエート基を含有する。核酸塩基は、典型的には複素環である。核酸塩基には、限定されないが、プリン及びピリミジン、より具体的にはアデニン（A）、グアニン（G）、チミン（T）、ウラシル（U）及びシトシン（C）が含まれる。糖は、典型的には五炭糖である。ヌクレオチド糖には、限定されないが、リボース及びデオキシリボースが含まれる。ヌクレオチドは、典型的にはリボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドである。ヌクレオチドは、典型的には、一リン酸、二リン酸又は三リン酸を含有する。リン酸は、ヌクレオチドの5'側又は3'側に結合され得る。

10

【0227】

ヌクレオチドには、限定されないが、アデノシン一リン酸（AMP）、アデノシン二リン酸（ADP）、アデノシン三リン酸（ATP）、グアノシン一リン酸（GMP）、グアノシン二リン酸（GDP）、グアノシン三リン酸（GTP）、チミジン一リン酸（TMP）、チミジン二リン酸（TDP）、チミジン三リン酸（TTP）、ウリジン一リン酸（UMP）、ウリジン二リン酸（UDP）、ウリジン三リン酸（UTP）、シチジン一リン酸（CMP）、シチジン二リン酸（CDP）、シチジン三リン酸（CTP）、5-メチルシチジン一リン酸、5-メチルシチジン二リン酸、5-メチルシチジン三リン酸、5-ヒドロキシメチルシチジン一リン酸、5-ヒドロキシメチルシチジン二リン酸、5-ヒドロキシメチルシチジン三リン酸、環状アデノシン一リン酸（cAMP）、環状グアノシン一リン酸（cGMP）、デオキシアデノシン一リン酸（dAMP）、デオキシアデノシン二リン酸（dADP）、デオキシアデノシン三リン酸（dATP）、デオキシグアノシン一リン酸（dGMP）、デオキシグアノシン二リン酸（dGDP）、デオキシグアノシン三リン酸（dGTP）、デオキシチミジン一リン酸（dTMP）、デオキシチミジン二リン酸（dTDP）、デオキシチミジン三リン酸（dTTP）、デオキシウリジン一リン酸（dUMP）、デオキシウリジン二リン酸（dUDP）、デオキシウリジン三リン酸（dUTP）、デオキシシチジン一リン酸（dCMP）、デオキシシチジン二リン酸（dCDP）及びデオキシシチジン三リン酸（dCTP）、5-メチル-2'-デオキシシチジン一リン酸、5-メチル-2'-デオキシシチジン二リン酸、5-メチル-2'-デオキシシチジン三リン酸、5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジン一リン酸、5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジン二リン酸及び5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジン三リン酸が含まれる。ヌクレオチドは、好ましくは、AMP、TMP、GMP、UMP、dAMP、dTMP、dGMP又はdCMPから選択される。

20

30

【0228】

ヌクレオチドは、追加の修飾を含有し得る。特に、適切な修飾ヌクレオチドには、限定されないが、2'-アミノピリミジン（例えば、2'-アミノシチジン及び2'-アミノウリジン）、2'-ヒドロキシルプリン（例えば、2'-フルオロピリミジン（例えば、2'-フルオロシチジン及び2'-フルオロウリジン）、ヒドロキシルピリミジン（例えば、5'- α -P-ボラノウリジン）、2'-O-メチルヌクレオチド（例えば、2'-O-メチルアデノシン、2'-O-メチルグアノシン、2'-O-メチルシチジン及び2'-O-メチルウリジン）、4'-チオピリミジン（例えば、4'-チオウリジン及び4'-チオシチジン）が含まれ、ヌクレオチドは、核酸塩基の修飾を有する（例えば、5-ペンチニル-2'-デオキシウリジン、5-(3-アミノプロピル)-ウリジン及び1,6-ジアミノヘキシル-N-5-カルバモイルメチルウリジン）。

40

【0229】

ポリヌクレオチド中のヌクレオチドは、任意の方法で互いに結合することができる。ヌクレオチドは、ホスフェート、2'-O-メチル、2'-メトキシエチル、ホスホルアミデート、メチルホスホネート又はホスホロチオエート連結によって連結され得る。ヌクレオチ

50

ドは、典型的には、核酸のようにそれらの糖とリン酸基によって結合される。ヌクレオチドは、ピリミジン二量体のように、それらの核酸塩基を介して接続され得る。

【0230】

G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードするポリヌクレオチドであり得る。

【0231】

ポリヌクレオチドは、デオキシリボ核酸 (DNA) 又はリボ核酸 (RNA) などの核酸であり得る。ポリヌクレオチドは、ペプチド核酸 (PNA)、グリセロール核酸 (GNA)、スレオース核酸 (TNA)、ロックド核酸 (LNA)、モルホリノ核酸、又はヌクレオチド側鎖を有する他の合成ポリマーなどの当該技術分野において公知である任意の合成核酸であり得る。ポリヌクレオチドは一本鎖又は二本鎖であり得る。

10

【0232】

ポリヌクレオチド配列は、任意の適切な発現ベクターにクローニングすることができる。発現ベクターにおいて、構築物をコードするポリヌクレオチド配列は、典型的には、宿主細胞によるコード配列の発現を提供することができる制御配列に作動可能に連結される。このような発現ベクターは、構築物を発現させるために使用することができる。

【0233】

一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載のされる抗 G R E M 1 抗体をコードするポリヌクレオチドである。ポリヌクレオチドは、遺伝子療法における使用のために提供され得る。ポリヌクレオチドは、インビボでの抗 G R E M 1 抗体の発現を提供することができる任意の適切なベクターで提供され得る。

20

【0234】

抗 G R E M 1 抗体をコードするポリヌクレオチドは、DNA 配列であり得る。DNA 配列は、それを必要とする対象への投与のために、任意の適切なベクター、例えば、発現ベクターで提供され得る。例えば、DNA 配列は、インビボでの抗 G R E M 1 抗体の発現を提供することができる発現ベクターで対象に投与することができる。発現ベクターは、ウイルス発現ベクター、例えば、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターであり得る。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする DNA 配列である。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、遺伝子治療において使用するための DNA 配列であり、DNA 配列は、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする DNA 配列を含む AAV である。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、遺伝子治療に使用するための AAV であり、AAV は本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする DNA 配列を含む。

30

【0235】

抗 G R E M 1 抗体をコードするポリヌクレオチドは、RNA 配列であり得る。RNA 配列は、任意の適切なベクターでそれを必要とする対象に投与することができる。RNA 配列は、メッセンジャー RNA (mRNA) 配列であり得る。mRNA 配列は、安定化された形態でそれを必要とする対象に投与することができる。例えば、mRNA 配列は、脂質ナノ粒子 (LNP) 組成物に提供され得る。LNP 組成物は、前記 mRNA 配列の増加した安定性を提供するために mRNA 配列をカプセル化することができる任意の適切な LNP を含み得る。したがって、一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする安定化された mRNA 配列である。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、遺伝子療法で使用するための安定化された mRNA 配列であり、mRNA 配列は、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする mRNA を含む LNP 組成物である。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、遺伝子療法に使用するための LNP 組成物であり、LNP 組成物は、本明細書に記載される抗 G R E M 1 抗体をコードする mRNA を含む。

40

【0236】

50

用語「作動可能に連結された」とは、記載された成分が、意図された方法で機能することを可能にする関係にある並置を指す。コード配列に「作動可能に連結された」制御配列は、コード配列の発現が制御配列に適合する条件下で達成されるように連結される。同一又は異なるポリヌクレオチドの複数コピーをベクターに導入することができる。

【0237】

次に、発現ベクターを適切な宿主細胞に導入することができる。したがって、構築物は、構築物をコードするポリヌクレオチド配列を発現ベクターに挿入し、ベクターを適合性細菌宿主細胞に導入し、ポリヌクレオチド配列の発現をもたらす条件下で宿主細胞を増殖させることによって生成することができる。

【0238】

核酸ベースのGREM1アンタゴニストは、GREM1の発現を減少させることができる。タンパク質の発現をノックダウンするためのアンチセンス及びRNA干渉(RNAi)技術は当該技術分野において周知であり、対象とする分子の発現をノックダウンするために標準的な方法を採用することができる。アンチセンス及びsiRNA技術はともにmRNAに干渉する。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、mRNAの一部分に結合(ハイブリダイズ)することによってmRNAに干渉する。したがって、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、mRNAと相補的になるように設計される(ただし、後述するようにオリゴヌクレオチドは100%相補的である必要はない)。換言すると、アンチセンスオリゴヌクレオチドはcDNAの一部であり得る。この場合も、オリゴヌクレオチド配列はcDNA配列と100%同一である必要はない。これについても以下に検討する。RNAiは、二本鎖RNA、例えば、mRNAに結合してタンパク質の発現を阻害することができる、低分子干渉RNA(siRNA)又は低分子ヘアピンRNA(shRNA)の使用を伴う。

【0239】

したがって、アンタゴニストは、GREM1をコードするmRNA、例えば、配列番号36若しくは配列番号37のコード配列又はそのバリエーションに特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであり得る。オリゴヌクレオチドは、標的配列に優先的又は高親和性でハイブリダイズするが、他の配列には実質的にハイブリダイズしないか、ハイブリダイズしないか、又は低親和性でしかハイブリダイズしない場合に、標的配列に「特異的にハイブリダイズ」する。より好ましくは、オリゴヌクレオチドは、他の核酸に対する T_m よりも少なくとも5℃、少なくとも10℃、少なくとも20℃、少なくとも30℃、又は少なくとも40℃高い T_m で標的配列にハイブリダイズする。ハイブリダイゼーションを可能にする条件は、当該技術分野において周知である(例えば、Sambrook et al., 2001, Molecular Cloning: a laboratory manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press; and Current Protocols in Molecular Biology, Chapter 2, Ausubel et al., Eds., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York (1995))。ハイブリダイゼーション条件は、当該技術分野において報告されているようなストリンジェントな条件であり得る。

【0240】

オリゴヌクレオチドは、短いヌクレオチドポリマーであり、典型的には50個以下、例えば40個以下、30個以下、22個以下、21個以下、20個以下、10個以下又は5個以下のヌクレオチドを有する。使用されるオリゴヌクレオチドは、長さが20~25ヌクレオチド、より好ましくは長さが21又は22ヌクレオチドであり得る。ヌクレオチドは、天然に存在するものであるか又は人工のものであり得る。ヌクレオチドは、上記のいずれかであり得る。

【0241】

GREM1アンタゴニストは、GREM1に結合する抗体、典型的にはGREM1に特異的に結合する抗体であり得る。抗体は、タンパク質に優先的又は高い親和性で結合するが、他のタンパク質には実質的に結合しないか、結合しないか、又は低い親和性でしか結合しない場合に、タンパク質に「特異的に結合」する。例えば、抗体は、標的分子に優先

10

20

30

40

50

的又は高い親和性で結合するが、他のヒトタンパク質には実質的に結合しないか、結合しないか、又は低い親和性でしか結合しない場合に、標的分子に「特異的に結合」する。

【0242】

抗体は、 K_d が $1 \times 10^{-7} M$ 以下、より好ましくは $5 \times 10^{-8} M$ 以下、さらに好ましくは $1 \times 10^{-8} M$ 以下、よりさらに好ましくは $5 \times 10^{-9} M$ 以下の場合、優先的又は高い親和性で結合する。 K_d が $1 \times 10^{-6} M$ 以上、より好ましくは $1 \times 10^{-5} M$ 以上、より好ましくは $1 \times 10^{-4} M$ 以上、より好ましくは $1 \times 10^{-3} M$ 以上、さらに好ましくは $1 \times 10^{-2} M$ 以上であれば、抗体は低親和性で結合する。

【0243】

抗体は、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、一本鎖抗体、キメラ抗体、二重特異性抗体、CDRグラフト抗体、又はヒト化抗体であり得る。抗体は、インタクトな免疫グロブリン分子、又はFab、 $F(a b')_2$ 若しくはFv断片などの断片であり得る。

【0244】

患者

任意の患者が本発明に従って処置され得る。患者は、典型的にはヒトである。

しかしながら、患者は、別の哺乳動物、例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、魚、ニワトリ又はブタなどの商業的に養殖された動物、マウス若しくはラットなどの実験動物、又はモルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ若しくはイヌなどのペットであり得る。

【0245】

医薬組成物、投薬量及び投薬レジメン

本発明の方法に使用するためのGREM1アンタゴニストは、医薬組成物に提供され得る。本発明の方法に使用するためのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤（例えば、本明細書に記載されるMEK阻害剤又はERK阻害剤）はまた、同じ医薬組成物の一部として、又は別の医薬組成物で提供され得る。例えば、本発明の方法に使用するためのGREM1アンタゴニストは、本明細書に記載されるMEK阻害剤若しくはERK阻害剤、又はRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の他の阻害剤とともに、医薬組成物で提供され得る。医薬組成物は、通常、無菌であり、典型的には、薬学的に許容される担体及び／又はアジュバントを含む。これらの組成物は、治療的に有効な成分（単数又は複数）に加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、希釈剤、緩衝液、安定剤、又は当業者に周知である他の材料を含み得る。このような材料は無毒であり、有効成分の効能を妨げてはならない。医薬担体又は希釈剤は、例えば、等張液であり得る。

【0246】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」には、生理学的に適合する任意のあらゆる溶媒、分散媒体、被覆剤、抗菌剤及び抗真菌剤、等張化剤及び吸収遅延剤などが含まれる。担体又は他の物質の正確な性質は、投与経路、例えば、経口、静脈内、皮膚又は皮下、鼻腔、筋肉内及び腹腔内経路に依存し得る。

【0247】

担体は、非経口投与、例えば、静脈内、筋肉内、皮内投与、眼内、腹腔内、皮下、脊髄又は他の非経口投与経路、例えば注射又は注入による投与に好適であり得る。或いは、担体は、局所投与、表皮投与、又は粘膜投与経路などの非経口投与に好適であり得る。担体は経口投与に好適であり得る。投与経路に依存して、モジュレーターは、化合物を不活性化化する可能性のある酸及び他の自然条件の作用から化合物を保護するための材料で被覆され得る。例えば、固形の経口剤形は、活性物質とともに、希釈剤、例えば、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、トウモロコシデンプン又はジャガイモデンプン；滑沢剤、例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム又はカルシウム、及び／又はポリエチレングリコール；結合剤；例えば、デンプン、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はポリビニルピロリドン；脱凝集剤、例えば、デンプン、アルギン酸、アルギン酸塩又はデンプングリコール酸ナトリウム；発泡性混合物；染料；甘味料；湿潤剤；例えば、レシチン、ポリソルベ

10

20

30

40

50

ト、ラウリル硫酸塩；及び一般的に、医薬製剤に使用される非毒性であり薬理学的に不活性な物質を含有し得る。このような医薬調製物は、公知の方法、例えば、混合、造粒、打錠、糖衣、又はフィルム被覆プロセスにより製造することができる。

【0248】

他の経口製剤には、例えば、医薬グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどの通常採用される賦形剤が含まれる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸薬、カプセル剤、徐放性製剤又は粉末の形態をとり、10%～95%、好ましくは25%～70%の有効成分を含有する。医薬組成物が凍結乾燥される場合、凍結乾燥された材料は、例えば、懸濁液のように、投与前に復元することができる。復元は、好ましくは緩衝液中で行われる。

10

【0249】

個人に経口投与するためのカプセル、錠剤及び丸薬は、個人に経口投与するためのカプセル、錠剤及び丸剤は、例えば、オイドラギット「S」、オイドラギット「L」、セルロースアセテート、セルロースアセテートフタレート、又はヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む腸溶性コーティングで提供され得る。

【0250】

経口投与用の液体分散剤は、シロップ、エマルジョン又は懸濁剤であり得る。シロップは、担体として、例えば、サッカロース又はグリセリン及び／若しくはマニトール及び／若しくはソルビトールを有するサッカロースを含有することができる。

20

【0251】

懸濁剤及びエマルジョンは、担体として、例えば天然ガム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、又はポリビニルアルコールを含有することができる。筋肉内注射用の懸濁液又は溶液は、活性物質とともに、薬学的に許容される担体、例えば、滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール、例えば、プロピレングリコール、及び所望により適量の塩酸リドカインを含有することができる。

【0252】

静脈内投与又は注入のための溶液は、担体として、例えば、滅菌水を含有することができるか、又は好ましくは滅菌された水性等張食塩水の形態であり得る。

30

【0253】

坐薬の場合、従来の結合剤及び担体には、例えば、ポリアルキレングリコール又はトリグリセリドが含まれていてもよく；このような坐薬は、0.5%～10%、好ましくは1%～2%の範囲で有効成分を含有する混合物から形成され得る。

【0254】

ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド阻害剤は、裸のヌクレオチド配列であり得るか、又はカチオン性脂質、ポリマー若しくはターゲティングシステムと組み合わせられ得る。それらは、任意の利用可能な技術によっても送達され得る。例えば、ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドは、針注射によって、好ましくは皮内、皮下又は筋肉内に導入することができる。或いは、ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドは、粒子媒介遺伝子送達などの送達デバイスを用いて皮膚を横切って直接送達され得る。ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドは、局所的に皮膚に投与され得るか、又は、例えば、経鼻、経口、若しくは直腸内投与により粘膜表面に投与され得る。

40

【0255】

ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド構築物の取り込みは、いくつかの公知のトランスフェクション技術、例えば、トランスフェクション剤の使用を含む技術によって増強され得る。これらの薬剤の例としては、カチオン性薬剤、例えば、リン酸カルシウム、DEAE-デキストラン及びリポフェクタント、例えば、リポフェクタム及びトランスフェクタムが挙げられる。投与されるべきポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドの投薬量を変更することができる。

50

【0256】

本発明の医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容される塩を含み得る。「薬学的に許容される塩」とは、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、望ましくない毒物学的効果を付与しない塩を指す。このような塩の例には、酸付加塩及び塩基付加塩が含まれる。

【0257】

薬学的に許容される担体は、水性担体又は希釈剤を含む。本発明の医薬組成物に採用され得る適切な水性担体の例としては、水、緩衝水及び生理食塩水が挙げられる。他の担体の例としては、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの適切な混合物、植物油、例えば、オリーブ油、及び注射可能な有機エステル、例えば、オレイン酸エチルが挙げられる。多くの場合、組成物に等張化剤、例えば、糖、多価アルコール、例えば、マンニトール、ソルビトール、又は塩化ナトリウムを含めることが望ましい。

10

【0258】

治療用組成物は、典型的には、製造及び保存の条件下で無菌であり、安定でなければならない。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リポソーム、又は高濃度の薬物に適した他の秩序構造として製剤化することができる。

【0259】

本発明の医薬組成物は、さらなる有効成分を含み得る。

【0260】

また、本明細書に記載される併用療法及び使用説明書を含むキットもまた本開示の範囲に含まれる。キットは、本明細書において検討されるような追加の治療剤又は予防剤などの1つ以上の追加の試薬をさらに含有し得る。

20

【0261】

本明細書に記載されるアンタゴニスト又はその製剤若しくは組成物は、予防的及び／又は治療的処置のために投与することができる。

【0262】

治療適用において、化合物は、上記の障害又は状態に既に罹患している対象に、状態又はその症状の1つ以上を治療、緩和又は部分的に停止させるのに十分な量で投与される。このような治療的処置は、疾患症状の重症度の低下、又は症状のない期間の頻度若しくは期間の増加をもたらす可能性がある。これを達成するのに十分な量は、「治療的に有効な量」として定義される。

30

【0263】

予防的適用では、製剤は、上記の障害又は状態のリスクを有する対象に、状態又はその症状の1つ以上によるその後の影響を予防又は減少させるのに十分な量で投与される。これを達成するのに十分な量は、「予防的に有効な量」として定義される。各々の目的に対する有効量は、疾患又は傷害の重症度、並びに対象者の体重及び一般的な状態に依存する。

【0264】

投与対象は、ヒト又は非ヒト動物であり得る。用語「非ヒト動物」は、すべての脊椎動物、例えば、哺乳動物及び非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。ヒトへの投与が典型的である。

40

【0265】

本発明のアンタゴニスト、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤（例えば、MEK又はERK阻害剤）、又は医薬組成物は、当該技術分野において公知である様々な方法のうちの1つ以上を用いて、1つ以上の投与経路を介して投与することができる。当業者には理解されるように、投与経路及び／又は投与様式は、所望の結果に応じて変化する。本発明の化合物又は医薬組成物の投与経路の例としては、静脈内、筋肉内、皮内、眼内、腹腔内、皮下、脊髄又は他の非経口投与経路、例えば、注射又は注入による投与が挙げられる。本明細書で使用される語句「非経口投与」とは、経腸投与及び局所投与以外の投与様式を意味し、通常は注射による投与である。或いは、本発明の抗体／調節剤

50

又は医薬組成物は、局所、表皮又は粘膜投与経路などの非経口経路を介して投与することができる。本発明の抗体／調節剤又は医薬組成物は、経口投与用であり得る。

【0266】

本発明の抗体／調節剤又は医薬組成物の適切な投薬量は、熟練した医療従事者によって決定され得る。本発明の医薬組成物中の活性成分の実際の投薬量レベルは、特定の患者、組成物、及び投与様式に対して所望の治療応答を達成するのに有効な活性成分の量を、患者に毒性を与えずに得るように変化させることができる。選択される投薬量レベルは、種々の薬物動態学的要因、例えば、採用される本発明の特定の組成物の活性、投与経路、投与時間、採用される特定の化合物の排出速度、処置期間、採用される特定の組成物と組み合わせ使用される他の薬物、化合物及び／又は材料、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、一般的な健康状態及び以前の病歴、並びに医療分野において周知である同様の要因に依存する。

10

【0267】

好適な用量は、例えば、上記の条件に依存して処置される患者の体重約 $0.01 \mu\text{g} / \text{kg} \sim$ 約 $1000 \text{mg} / \text{kg}$ 、典型的には約 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim$ 約 $100 \text{mg} / \text{kg}$ の範囲であり得る。例えば、好適な投薬量は、1日あたり約 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim$ 約 $10 \text{mg} / \text{kg}$ 体重、又は1日あたり約 $10 \mu\text{g} / \text{kg} \sim$ 約 $5 \text{mg} / \text{kg}$ 体重であり得る。

【0268】

投薬量レジメンは、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を提供するように調整することができる。例えば、単回用量を投与することができ、数回に分けた用量を経時的に投与することができ、又は治療状況の緊急性に応じて用量を比例的に減量又は増量することができる。用量は複数回の用量として提供することができ、例えば、1時間ごとに2回、3回又は4回に分けて投与するなど、一定の間隔で提供することができる。複数回用量は、同一又は異なる経路で、同一又は異なる位置に投与することができる。或いは、徐放性製剤による投与も可能であり、その場合は投与回数を少なくする必要がある。投薬量及び頻度は、患者におけるアンタゴニストの半減期及び望まれる処置期間に応じて変化し得る。

20

【0269】

典型的には、ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド阻害剤は、粒子媒介送達では $1 \text{pg} \sim 1 \text{mg}$ 、好ましくは $1 \text{pg} \sim 10 \mu\text{g}$ の核酸、他の経路では $10 \mu\text{g} \sim 1 \text{mg}$ の範囲で投与される。

30

【0270】

本明細書で使用される投薬単位形態とは、処置されるべき対象に対する単位投薬量として適する物理的に離散した単位を指し、各単位は、必要な医薬担体と関連して所望の治療効果をもたらすように計算された所定量の活性化合物を含有する。

【0271】

上述したように、本発明のモジュレーター／抗体又は医薬組成物は、1つ以上の他の治療剤と共投与することができる。

【0272】

上述した技術及びプロトコルの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, 2000, pub. Lippincott, Williams & Wilkinsに見出すことができる。

40

【0273】

2つ以上の薬剤の併用投与は、多くの異なる方法で達成することができる。両者を単一の組成物と一緒に投与し得るか、又は併用療法の一部として別々の組成物で投与し得る。例えば、一方は、他方の前若しくは別々に、後に若しくは連続して、又は同時に（concurrently）若しくは同時に（simultaneously）投与することができる。例えば、抗GREM1アンタゴニストは、Ras-Raf-MERK-EKKシグナル伝達の阻害剤の前若しくは別々に、後に若しくは連続して、又は同時に（concurrently）若しくは同時に（simultaneously）投与することができる。例えば、抗GREM1アンタゴニス

50

トは、本明細書に記載されるMEK阻害剤の前若しくは別々に、後に若しくは連続して、又は同時に（concurrently）若しくは同時に（simultaneously）投与することができる。本発明の別の態様では、抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載されるERK阻害剤の前若しくは別々に、後に若しくは連続して、又は同時に（concurrently）若しくは同時に（simultaneously）投与することができる。

【0274】

組成物及びキット

さらに、抗GREM1アンタゴニスト及びRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を含む組成物又はキットが提供される。抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される任意の抗GREM1アンタゴニストであり得る。Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤は、本明細書に記載されるRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の任意の阻害剤であり得る。例えば、本発明は、抗GREM1アンタゴニスト及びMEK阻害剤を含む組成物又はキットを提供する。別の態様では、本発明は、抗GREM1アンタゴニスト及びERK阻害剤を含む組成物又はキットを提供する。組成物又はキットは、膵臓がんの処置に好適であり得る。好ましい実施形態では、MEK阻害剤は、特に膵臓がんを処置するための組成物又はキットの一部として、セルメチニブ（AZD6244）、トラメチニブ（GSK-1120212）又はWX-554（UCB-554）である。好ましい組み合わせは、抗GREM1アンタゴニストと、セルメチニブ（AZD6244）、トラメチニブ（GSK-1120212）又はWX-554（UCB-554）とを含む。別の好ましい実施形態では、ERK阻害剤はウリキセルチニブである。

10

20

【0275】

抗GREM1特異性と他の上記特異性のうちの1つとを組み合わせた二重特異性抗体は、本明細書に記載される組成物又はキットに提供することができる。上記組成物及びキットのいずれかにおける抗GREM1アンタゴニストは、好ましくは抗GREM1抗体であり得る。

【0276】

追加の治療的組み合わせ

上記の本発明の併用療法は、例えば、補助療法として、処置のためのさらなる治療組成物と組み合わせ使用／投与することができる。他の治療組成物又は処置は、例えば、本明細書において検討されているものの1つ以上であり、本発明の組成物と同時に又は連続して投与することができる。

30

【0277】

GREM1アンタゴニストは、放射線療法又は外科手術など、さらなる抗がん剤に対してがん又は腫瘍を感作するために使用されるため、組み合わせ処置において特に有用である。GREM1アンタゴニストの非存在下では、がんは他の抗がん剤又はがん治療に対して耐性を示す場合がある。

【0278】

したがって、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストは、さらに、任意の他のがん治療又はがんのための任意の他の治療剤と組み合わせ使用することができる。他のがん治療は、膵臓がんに対する任意の公知の治療などの関連するがんに対する公知の治療から選択することができる。他のがん治療は放射線処置であり得る。好適な放射線療法は、例えば、Van Cutsem (and others) *Annals of Oncology*, 2014, Vol 25, Issue 3に記載されている。放射線療法は、がんの外科手術前又はがんの外科手術後に行うことができる。放射線療法は、補助放射線療法であり得る。放射線療法は、本明細書に記載されるRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせ行うことができる。例えば、GREM1アンタゴニストとセルメチニブ（AZD6244）を含む併用療法を放射線療法と組み合わせ使用することができる。加えて、GREM1アンタゴニストとトラメチニブ（GSK-1120212）を含む併用療法を放射線療法と組み合わせ使用することができる。或い

40

50

は、GREM1アンタゴニストとWX-554（UCB-554）を含む併用療法を放射線療法と組み合わせて使用することができる。GREM1アンタゴニストと本明細書に記載される任意のMEK阻害剤を含む併用療法は、放射線療法と組み合わせて使用することができる。或いは、GREM1アンタゴニストと本明細書に記載される任意のERK阻害剤を含む併用療法は、放射線療法と組み合わせて使用することができる。例えば、GREM1アンタゴニストとウリキセルチニブを含む併用療法は、放射線療法と組み合わせて使用することができる。

【0279】

がんは、本明細書に記載されるGREM1アンタゴニストを含む併用療法とともに投与されない場合、放射線療法に対して耐性を示すことがある。

【0280】

上記の態様の一部として、本発明は、本発明による膵臓がんなどのがんを処置及び／又は予防する方法において使用するための、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供し、本方法は、追加の抗がん剤の別々の、連続した、又は同時の投与をさらに含む。好ましい実施形態では、本発明は、本発明による膵臓がんなどのがんを処置及び／又は予防する方法において使用するための、1つ以上のMEK阻害剤（例えば、セルメチニブ（AZD6244）、トラメチニブ（GSK-1120212）及び／又はWX-554（UCB-554））と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供し、本方法は、追加の抗がん剤の別々の、連続した、又は同時の投与をさらに含む。

【0281】

上記の態様の一部として、本発明は、膵臓がんなどのがんを処置及び／又は予防する方法において使用するための、1つ以上のRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供する。例えば、本発明は、本発明による膵臓がんなどのがんを処置及び／又は予防する方法において使用するための、MEK阻害剤セルメチニブ（AZD6244）と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供することができ、本方法は、追加のMEK阻害剤、例えば、トラメチニブ（GSK-1120212）、コビメチニブ（GDC-0973）、ビニメチニブ（MEK162）、CI-1040（PD184352）、ミルダメチニブ（PD0325901）、TAK733、リファメチニブ（RDEA119／Bay 86-9766）、RO-5126766、RO5068760、ピマセルチブ（AS703026）、AZD8330、GDC-0623、RO-4987655、WX-554（UCB-554）、HL-085、ARRY-300、ClnQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、U0126又はSL327の別々の、連続した、又は同時の投与をさらに含む。

【0282】

代替の実施形態では、本発明は、本発明による膵臓がんなどのがんを処置及び／又は予防する方法において使用するための、MEK阻害剤トラメチニブ（GSK-1120212）と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供することができ、この方法は、追加のMEK阻害剤、例えば、セルメチニブ（AZD6244）、コビメチニブ（GDC-0973）、ビニメチニブ（MEK162）、CI-1040（PD184352）、ミルダメチニブ（PD0325901）、TAK733、リファメチニブ（RDEA119／Bay 86-9766）、RO-5126766、RO5068760、ピマセルチブ（AS703026）、AZD8330、GDC-0623、RO-4987655、WX-554（UCB-554）、HL-085、ARRY-300、ClnQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、U0126又はSL327の別々の、連続した、又は同時の投与をさらに含む。

【0283】

なおさらに代替の実施形態では、本発明は、本発明による、膵臓がんなどのがんの処置及び／又は予防の方法において使用するための、MEK阻害剤WX-554（UCB-5

10

20

30

40

50

54) と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供することができ、本方法はさらに、追加のMEK阻害剤、例えば、トラメチニブ(GSK-1120212)、セルメチニブ(AZD6244)、コビメチニブ(GDC-0973)、ビニメチニブ(MEK162)、CI-1040(PD184352)、ミルダメチニブ(PD0325901)、TAK733、レファメチニブ(RDEA119/Bay86-9766)、RO-5126766、RO5068760、ピマセルチブ(AS703026)、AZD8330、GDC-0623、RO-4987655、HL-085、ARRY-300、ClnQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、U0126又はSL327の別々の、連続した、又は同時の投与を含む。

【0284】

なおさらに代替の実施形態では、本発明は、本発明による、膵臓がんなどのがんの処置及び／又は予防方法において使用するための、ERK阻害剤ウリキセルチニブと組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供することができ、本方法はさらに、追加のERK阻害剤、例えば、ウリキセルチニブ、テムテルキブ、JSI-1187、ラボキサルチニブ、ASN007又はMK-8353などの別々の、連続した、又は同時の投与を含む。

【0285】

本発明はさらに、本明細書に記載されるように、MEK阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニスト、さらにはERK阻害剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを提供することができる。

【0286】

検出及び診断

Ras-Raf-MEK-ERK経路に関与する遺伝子がGREM1アンタゴニストによる処置後に上方制御されるという知見と結び付けた、間質GREM1とがんの相関に基づいて、本発明は、処置に対するがんの応答性を予測するための追加的な手段も提供する。このような手段は、患者から得られた試料におけるGREM1のRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達、間質発現及び／又は上皮発現を測定することを含み得る。

【0287】

本発明は、がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤の組み合わせ処置に応答する可能性があるか否かを決定するための方法を提供し、この方法は、患者におけるGREM1及びRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の間質及び／又は上皮発現を測定し、それによって患者が組み合わせによる処置に応答する可能性があるか否かを予測することを含む。

【0288】

本発明はさらに、抗GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤の組み合わせ処置に、がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が反応する可能性があるか否かを決定するための方法を提供し、この方法は、抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露後の患者におけるRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を測定し、それによって患者が組み合わせによる処置に応答する可能性があるか否かを予測することを含む。例えば、抗GREM1アンタゴニストによる処置に応答したRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の上方制御／誘導は、その患者が本発明による併用療法の良好な候補者であることを示す可能性がある。本発明はさらに、膵臓がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又は膵臓がんを発症するリスクがある患者が、抗GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤の組み合わせ処置に応答する可能性が高いか否かを決定する方法を提供し、この方法は、抗GREM1アンタゴニストによる処置／曝露後の患者におけるRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を測定し、それによって患者が組み合わせによる処置に応答する可能性が高いか否かを予測することを含む。例えば、抗GREM1アンタゴニストによる処置に応答したRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の上方制御は、患者が本発明による併

10

20

30

40

50

用療法の良好な候補者であることを示す可能性がある。本発明はさらに、膵臓がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又は膵臓がんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤の組み合わせ処置に应答する可能性が高いか否かを決定するための方法を提供し、この方法は、患者におけるGREM1の間質及び／又は上皮発現を測定し、患者がRAS遺伝子又はRAF遺伝子における突然変異を有するか否かを決定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に应答する可能性が高いか否かを予測することを含む。

【0289】

所定の療法に対する個人の予測される应答性とは、その個人がその療法を受けることによって利益を得ることが期待されるか、又は十分な程度の利益を得ることが期待されることを意味する。ある療法に対する個人の予測される非应答性とは、その個人がその療法を受けることによって利益を得ることが期待されないか、又は十分な程度の利益を得ることが期待されないことを意味する。应答を予測する方法は、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤の組み合わせ処置の投与前に行うことができる。次に、予測は、個人に対して適切な処置を選択するか又は推奨する場合に考慮され得る。或いは、本方法は、治療の処置後に行われ、処置に対する個人の反応をモニタリングし、予測するために使用される。典型的には、本方法は、個人が療法に対する一次应答を有するかどうか、すなわち、個人が最初に処置を受けたときに应答するかどうかを予測するためのものである。一部の例では、本方法は、二次的な非应答性、すなわち、初期に処置に应答した個人が、後に処置に应答しなくなるか、又は処置に対する应答が低下するかどうかを予測するためのものである。

【0290】

一部の 경우에는、参照試料又は参照レベルと比較したGREM1の過剰発現は、個人が本明細書に記載される組み合わせ処置による療法に应答することを示す。Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の調節異常、例えば、Nras、Mapk1、及び／又はMycの上方制御はまた、参照試料又は参照レベルと比較して、個人が本明細書に記載される組み合わせ処置による療法に反応することを示す場合がある。Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達は、例えば、MEK及びERKに対するリン酸化特異的抗体などのリン酸化部位特異的抗体を用いて、リン酸化レベルを調べることにより測定することができる。例えば、本発明の抗GREM1アンタゴニストによる処置に应答して、Map2k1/Map2k2/Erk1/Erk2のリン酸化の増加は、参照試料又は参照レベルと比較して、個人が本明細書に記載される組み合わせ処置による療法に应答することを示す。次に、MEK阻害剤又はERK阻害剤などのRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせたGREM1アンタゴニストを含む併用療法を選択又は推奨し、さらに個人に投与することができる。

【0291】

他の場合には、基準試料又は基準レベルと比較したGREM1の低下又は正常レベルは、個人がGREM1アンタゴニストによる治療に应答しないことを示す。参照試料又は参照レベルと比較して、正常又は低下したRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達は、個人がRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤による治療に应答しないことを示す場合がある。次に、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤を含む併用療法は、個人に投与されない。さらに、本明細書に記載される併用療法以外の治療的処置は、個人の処置のために選択又は推奨され、次に、さらに個人に投与され得る。

【0292】

さらに他の場合には、RAS遺伝子（例えば、KRAS、NRAS及び／若しくはHRAS）又はRAF遺伝子（例えば、ARAF、BRAF及び／若しくはCRAF）における突然変異は、個人が本明細書に記載される組み合わせ処置による治療に应答することを示す。次に、Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤と組み合わせたGREM1アンタゴニストを含む併用療法が選択又は推奨され、次に、個人にさらに投与され

得る。

【0293】

本発明のすべての態様では、がん（例えば膵臓がん）を有する個人、又は疾患若しくは状態を有する疑いのある個人、及び／又は疾患若しくは状態を発症するリスクのある個人は、処置のために選択又は同定され得る。例えば、個人は正式には診断されていないが、1つ以上の症状が存在するため、疾患又は状態を有する疑いがある場合がある。個人ががんに関連する1つ以上の危険因子及び／又はがんに対する感受性を増加させる1つ以上の素因を有する場合、個人はがんを発症するリスクがあると考えられ得る。膵臓がんに関連する危険因子には、PRSS1遺伝子における突然変異によって引き起こされる家族性膵炎、GREM1をコードする遺伝子における突然変異若しくは複数の突然変異、又はGREM1遺伝子の発現に影響を及ぼす任意の他の突然変異などの遺伝性遺伝子突然変異が含まれ得る。

10

【0294】

以下の実施例は本発明を説明するものである。

【実施例】

【0295】

材料及び方法

抗グレムリン-1抗体-A b 7 3 2 6 m I g G 1 - A P P . 4 4 0 5 . I g G . m F c
ビヒクル-リン酸緩衝生理食塩水pH7.4 (Beatson Instituteより提供される)

20

セルメチニブ (A Z D 6 2 4 4) - Beatson Instituteより提供 (SYNthesis Pharmより購入)、0.5%HPMC+0.1%Tween-80中。

UCB-554MEK阻害剤 (UCB1366554-000、バッチID B10476792、UCBにより提供される) を10%DMSO+90%1% (w/v) メチルセルロース中に提供した。投薬量は10mg/kg、125µl、p.o.、q2dであった。

例5のビヒクルは、125µlの10%DMSO+90%の1% (w/v) メチルセルロース、p.o.、q2dであった。

【0296】

30

遺伝子修飾されたマウス

LSL-Kras^{G12D}/+; Trp53^{R172H}/+; Pdx1-Cre (KPC) マウスは以前に報告されている (Hingorani et al., 2005)。マウスは、Pdx1-Creを有するマウスと条件付きLSL-Kras^{G12D}又はLSL-Trp53^{R172H}対立遺伝子 (系統01XJ6及び01XL9、Mouse Models of Human Cancer Consortium [MMHCC]、NCI-Fredrick, Frederick, MD, USA) を交配することによって生成された。混血背景のマウスはCRUK Beatson Instituteで自家繁殖され、環境エンリッチメントを施し、標準的な餌と水を自由に摂取できる通常のケージで維持された。遺伝子タイピングはTransnetyx (Cordoba, TN, USA) で行われた。マウスは雌雄ともに試験に組み入れられた。すべての動物実験は英国内務省の許可のもとで行われ、グラスゴー大学動物福祉倫理審査委員会の承認を得た。

40

【0297】

例3及び4の処置

腹部触診で膵臓がんと診断され、超音波画像で確認されるまで、マウスは週3回モニタリングされた。マウスは処置群にランダム化され、30mg/kg A b 7 3 2 6 m I g G 1 s . c . 週2回; 又は30mg/kg A b 7 3 2 6 m I g G 1 s . c . 週2回及び25mg/kgセルメチニブ p . o . , b . i . d . を投与された。25mg/kgセルメチニブ p . o . , b . i . d . で処理されたマウスの履歴データは入手可能であった。1群あたり12匹以上のマウスであった。マウスは毎日モニタリングされ、

50

処置開始後7日目（4匹／群）又は倫理的エンドポイント（8匹以上／群、症状には腹部膨満、悪液質、間欠的な猫背又は運動能力の低下、毛孔形成、軽度の下痢、貧血が含まれる）に達した時点で 殺された。これらのマウスの処置開始からの生存の統計的評価は、 Kaplan-Meier及びLog-Rank分析によって行われた。

【0298】

超音波画像

VisualSonics Vevo 3100前臨床画像プラットフォーム（FUJIFILM VisualSonics, Toronto, Canada）は、腫瘍診断を確認するための高解像度超音波画像と腫瘍進行の毎週のモニタリングに使用された。麻酔はイソフルランと医療用空気の混合麻酔で誘導及び維持した。腫瘍体積は各マウスについて毎週計算し、縦断的にプロットした。

10

【0299】

サンプリング

マウスの淘汰は施設ガイドラインに従ったスケジュール1法で行われた。死後の腫瘍負荷は肉眼病理及び組織学的に評価された。臓器を摘出し、10%緩衝ホルマリンで固定した。 殺の際、可能であれば心臓穿刺により血液試料を採取し、血清処理した。腫瘍の大部分はFFPE処理用に10%緩衝ホルマリンで固定され、いずれの残りもRNA前処理用にRNAlater（登録商標）（Sigma-Aldrich）に採取され、及び／又は瞬間凍結された。固定された組織はパラフィン包埋され、IHC分析のために5µmの切片がポリ-レリンスライド上に置かれた。

20

【0300】

組織学及び免疫組織化学

H&E染色及びピクロシリウスレッド染色は、前述されるようにホルマリン固定され、パラフィン包埋された組織について行われた。免疫組織化学は標準プロトコルを用いて行われた。手短に言えば、ホルマリン固定され、パラフィン包埋された切片を脱パラフィンし、キシレン及び段階的アルコール系列に通して再水和した。内因性ペルオキシダーゼ活性は、過酸化水素による処理によって不活性化され、その後、クエン酸緩衝液による抗原検索を行った。切片を血清で遮断し、一次抗体とともにインキュベートした。切片を二次抗体で30分間インキュベートし、3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩で染色を可視化した。使用した一次抗体は、抗アルファ-SMA（1A4, Sigma-Aldrich）1:20,000と抗ポドプラニン（RTD4E10, AbCam 1:250）であった。

30

【0301】

例5の処理

腹部触診で脾臓がんと診断され、超音波画像で確認されるまで、マウスを週3回モニタリングした。マウスは処置群にランダム化され（n=9~11匹／群）、125µlビヒクル、p.o.、q2d; 30mg/kg Ab7326 mIgG1 s.c.、週2回; 25mg/kgセルメチニブ p.o.、b.i.d.; 30mg/kg Ab7326 mIgG1 s.c.、週2回及び25mg/kgセルメチニブ p.o.、b.i.d.; UCB-554 10mg/kg、125µl中、p.o.、q2d; 又は30mg/kg Ab7326 mIgG1 s.c.週2回、及びUCB-554 10mg/kg 125µl中、p.o.、q2dで投与された。マウスは毎日モニタリングされ、倫理的エンドポイントに達した時点で 殺された。

40

【0302】

例5の統計

処置開始からのこれらのマウスの生存の統計的評価は、ハザード比を算出するためにCoxの比例ハザードモデルを用いて行われた。7日目の腫瘍体積データは、ランダム化設計に適した線形モデルを用いて分析され、推定値の精度を高めるために0日目の処置腫瘍体積を共変量として用いられた。

【0303】

50

（例１）膵臓がんにおけるGrem1 mRNA発現の確認

グレムリンー１が膵臓がんにおいて役割を果たしているかどうかを調べるために、RNAseq分析によって決定した場合、Grem1 mRNA発現はヒト膵管腺がん（PDAC）患者のコホートにおいて決定された。これは、Grem1 mRNAがヒトPDACで発現しており、高発現は予後不良と有意に関連していることを確認した（図１）。結果は、膵臓がんにおけるGrem1の発現と予後不良の関連を報告した発表研究（Yu et al., 2018）と一致した。

【0304】

grem1 mRNAがKPC遺伝子操作されたマウスの膵臓がんモデルにおいて発現されるかどうかを決定するために、KPC腫瘍（及び他の自己膵臓がんモデル）において遺伝子発現を調べ、対照のKrasG12Dを発現する正常膵管上皮と比較した。結果は、KPC腫瘍（及び他のマウス膵臓腫瘍）ではgrem1のmRNA発現が対照と比較して上昇したことを示す（表１）。

【表１】

表 1

遺伝子 記号	遺伝子 タイトル	KPC腫瘍 対 膵管細胞 (倍数変化)	p値	全マウス PDAC 対 膵管細胞 (倍数変化)	p値
<i>grem1</i>	グレムリン1	5.5	4.0×10^{-3}	6.4	4.1×10^{-3}

【0305】

（例２）Ab7326 mIgG1を用いた処置によるKPCマウスモデルの遺伝子発現変化

膵臓腫瘍が確認されたKPCマウスは、材料と方法に記載されるように樹立された。マウスは、表２に示されるように、抗グレムリン抗体Ab7326 mIgG1又はビヒクル対照による処置のため、コホートに登録された。

【0306】

倫理的エンドポイントでマウスを殺し、RNA抽出のために原発腫瘍組織をRNAlater（登録商標）（Sigma-Aldrich）に採取した。RNA試料は、Nanostripping nCounter遺伝子発現技術を使用し、約750個のプロープパネルを用いて調べられた。

【表 2】

表 2

処置	用量	スケジュール	n =	生存中央値 (日数)
Ab7326 mIgG1	30mg/kg s.c.	週2回	3	26
ビヒクル(PBS)	na	週2回	3	20

10

【0307】

Ab7326 mIgG1に曝露されたKPCマウスモデルにおける遺伝子発現変化の分析は、MAPK/ERK (MEK) 経路及びその正準メンバーの上方制御を示した。

【0308】

MAPK/ERK (MEK) 経路の主要メンバーであるMapk1、Nras及びMycは上方制御された(図3)。検出力が不十分であったため(群あたり3試料、すなわちAb7326 mIgG1曝露群と対照群)、これらの遺伝子は多重仮説補正後、統計的有意性を失った($FDR < 5\%$)。しかしながら、これら3つの遺伝子の遺伝子発現分布の差を表す箱ひげ図では、Ab7326 mIgG1群と対照群を比較した場合、上方制御された発現を明らかに示した(図3)。

20

【0309】

この知見は、経路濃縮分析によっても裏付けられた(図4)。KRASシグナル伝達の下方向制御は、下方制御された遺伝子セットに濃縮され($p = 0.03$)、一方、KRASシグナル伝達の上方向制御は、上方制御された示差的に発現した遺伝子セットに関連した($p = 0.01$)。これらの濃縮された経路は多重仮説補正後も統計的に有意ではなかったが、上方制御と下方制御の効果における首尾一貫したパターンは顕著であった。

30

【0310】

さらに、KPCマウスをAb7326 mIgG1に曝露した場合、増殖シグナルが上昇した(G2M、E2F及びMYC標的)。これはMAPK/ERK (MEK) 経路活性化の下流効果と一致していた。図4では、 $-\log_{10}(p)$ スコアが提示され、 $p < 0.05$ である経路のみが保持される。多重仮説補正は行われていない。しかし、MYC_TARGETS、E2F_TARGETS、及びG2M_CHECKPOINT経路はこの補正後も有意のままであった($FDR < 5\%$)。

【0311】

この知見は、膵臓がんの処置におけるAb7326 mIgG1とMEK阻害剤の併用の可能性を支持した。さらに、Ab7326 mIgG1曝露は、膵臓がんをこの標的化処置に対してより感受性にする可能性がある。

40

【0312】

(例3) Ab7326 mIgG1とセルメチニブの組み合わせによる処置は単一薬剤としてのAb7326 mIgG1による処置と比較して遅い腫瘍増殖をもたらす

LSL-Kras^{G12D/+}; LSL-Trp53^{R172H/+}; Pdx1-Cre (KPC) マウスは以前に報告されている(Hingorani et al., 2005)。これらのマウスは、組織学的及び病理学的にヒトの膵臓腫瘍に類似した腫瘍を発症し、非常に侵襲性であり、しばしば転移を起こし、化学療法耐性が強く、やはりヒトの膵臓がんを模倣している。KPCマウスのコホートが確立され、触診で検出可能な膵臓がんが発生するまでマ

50

ウスがモニタリングされた。これらのマウスを生成するのに必要な繁殖戦略と実験設計を図 2 に示す。

【 0 3 1 3 】

マウスは、脾臓腫瘍が検出されるまで、触診によって少なくとも毎週モニタリングされた。この時点で、高解像度の超音波画像を用いて脾臓がんの存在を確認し、マウスは、抗グレムリン 1 抗体 A b 7 3 2 6 m I g G 1 による処置、又は A b 7 3 2 6 m I g G 1 + セルメチニブの組み合わせによる処置のためにコホートに登録された（表 3 及び表 4 に詳述される）。

【表 3】

表 3

10

Pharmacodynamic Assessment Study				
処置	用量	スケジュール	n =	時間点
Ab7326 mIgG1	30mg/kg s.c.	週2回	4	7日
Ab7326 mIgG1 +セルメチニブ	30mg/kg s.c. 25mg/kg p.o.	週2回 b.i.d.	4	7日

20

【表 4】

表 4

Survival Study				
処置	用量	スケジュール	n =	生存中央値
Ab7326 mIgG1	30mg/kg s.c.	週2回	9	19
セルメチニブ*	25mg/kg p.o.	b.i.d.	8	17
Ab7326 mIgG1 +セルメチニブ	30mg/kg s.c. 25mg/kg p.o.	週2回 b.i.d.	9	33

30

【 0 3 1 4 】

各コホートから 4 匹のマウスが 1 週間後に追跡超音波検査を受け、次に、殺にして薬力学的評価のための試料を生成した（表 3）。肉眼的病理学の分析は、異なる実験条件間での腫瘍負荷又は表現型に違いは表されなかった。超音波による 3 D 腫瘍画像の分析は、A b 7 3 2 6 m I g G 1 + セルメチニブの組み合わせで処置されたマウスでは腫瘍の増殖が遅延されることを表した（図 5）。

40

【 0 3 1 5 】

（例 4）A b 7 3 2 6 m I g G 1 と S e l u m e t i n i b の組み合わせによる処置は、A b 7 3 2 6 m I g G 1 単独による処置と比較して、奏効の延長とともに腫瘍増殖の遅延及び腫瘍の縮小をもたらし、単一薬剤としてのセルメチニブ及び A b 7 3 2 6 m I g G 1 による処置と比較して、生存中央値の有意な増加をもたらす。

生存コホート（表 4）では、処置中の各個々のマウスの腫瘍負荷をモニタリングするために、処置期間中、高解像度超音波画像を毎週行った。マウスは研究を継続し、倫理的エンドポイントに達するまで注意深くモニタリングされ、その時点で施設のガイドラインに

50

従って 殺された。示された臨床的特性には、腹部膨満、悪液質を示す体調不良、運動能力の低下、及び時には黄疸が含まれた。

【0316】

超音波による3D腫瘍画像の分析は、Ab7326 mIgG1とセルメチニブの組み合わせで処置された数匹のマウスにおいて、奏効の延長とともに、腫瘍増殖の遅延、腫瘍の縮小があることを明らかにした（図6）。さらに、本発明者らは、Ab7326 mIgG1とセルメチニブの組み合わせで処置されたマウスが、セルメチニブ単独で処置されたマウスと比較して生存中央値（33日間）における有意な増加（17日、ログランク、 $p = 0.050$ ）、及びAb7326単独で処置されたマウスと比較して生存中央値における増加（19日、個々のマウスデータについては図7、表5、表6を参照されたい）を示すことを観察した。薬力学的評価と生存研究の両方からの血清試料は、分析のためにUCBに送られた（表7）。

【表5】

表5

	Log-Rank
Ab7326 + セルメチニブ 対 Ab7326	$P = 0.100$
Ab7326 + セルメチニブ 対 セルメチニブ	$P = 0.050$
Ab7326 + セルメチニブ 対 Ab7326 (合わせた第1及び第2 Ab7326 単一薬剤コホート)	$P = 0.061$

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6

マウスID	Rxの日数	Censored (= 0)		
		Ab7326	セルメチニブ	Ab7326 + セルメチニブ
NKD207.1d	11	1		
NKD203.2e	18	1		
NKD193.7a	18	1		
NKD203.6a	18	1		
NKD192.9d	19	1		
NKD211.1f	21	1		
NKD211.3e	25	1		
NKD210.1d	33	1		
NKD206.2c	40	1		
160324	9		1	
NKD232.1b	13		1	
160323	15		1	
NKD214.9e	17		1	
130780	17		1	
173159	20		1	
148346	32		1	
NKD232.3d	33		1	
NKD219.1c	11			1
NKD217.1f	12			1
NKD221.1e	17			1
NKD208.1d	21			1
NKD214.1e	33			1
NKD186.10d	59			1
NKD206.1g	86			1
NKD190.8e	91			1
NKD191.6e	130			1

10

20

30

40

50

【表 7】

表 7

Mouse ID	Treatment	Timepoint	Sample
NKD191.1g	Ab7326	7日	血清
NKD202.3g	Ab7326	7日	血清
NKD201.6f	Ab7326	7日	血清
NKD219.1d	Ab7326	7日	血清
NKD203.2e	Ab7326	エンドポイント	血清
NKD193.7a	Ab7326	エンドポイント	血清
NKD192.9d	Ab7326	エンドポイント	血清
NKD210.1d	Ab7326	エンドポイント	血清
NKD211.1f	Ab7326	エンドポイント	血清
NKD206.2c	Ab7326	エンドポイント	血清
NKD202.1j	Ab7326 + セルメチニブ	7日	血清
NKD203.3e	Ab7326 + セルメチニブ	7日	血清
NKD203.5i	Ab7326 + セルメチニブ	7日	血清
NKD209.2e	Ab7326 + セルメチニブ	7日	血清
NKD186.10d	Ab7326 + セルメチニブ	エンドポイント	血清
NKD208.1d	Ab7326 + セルメチニブ	エンドポイント	血清
NKD214.1e	Ab7326 + セルメチニブ	エンドポイント	血清
NKD221.1e	Ab7326 + セルメチニブ	エンドポイント	血清
NKD219.1c	Ab7326 + セルメチニブ	エンドポイント	血清
NKD217.1f	Ab7326 + セルメチニブ	エンドポイント	血清

10

20

【0317】

実験マウスを 殺した後、肉眼的病理学的検査は、異なる実験条件間での腫瘍負荷及び表現型においていずれの違いも示さなかった。免疫組織化学的（IHC）分析は、ホルマリン固定され、パラフィン包埋された腫瘍組織上で行われ、腫瘍微小環境を調べ、アルファーマーSMA陽性及びポドプラニン陽性の腫瘍関連線維芽細胞の数、又はコラーゲンI及びIIIの質若しくは量（ピクロシリウスレッド染色で測定した場合）の任意の変化を評価した。染色はHALOデジタルソフトウェアを用いてスコア化したが、しかしながら、試験したレジメンのいずれもこれらのパラメータのいずれにも有意な影響はなかった（図8）。

30

【0318】

結果

要約すると、ここに示された結果は、KPCマウスモデルにおいてAb7326に曝露されるとMAPK/ERK経路遺伝子が上方制御されることを示す。さらに、Ab7326 mIgG1は、セルメチニブと組み合わせてKPCマウスに安全に与えることができる。マウスがAb7326 mIgG1とセルメチニブを組み合わせて処置された場合、セルメチニブ単独による処置と比較して、生存の有意な改善が観察された（図7、表5、及び表6の個々のマウスのデータを参照されたい）。さらに、Ab7326 mIgG1とセルメチニブを組み合わせて処置された数匹のマウスにおいて、腫瘍の縮小が観察され、これらのマウスでは奏効が延長した。これは、Ab7326 mIgG1とセルメチニブの組み合わせが、膵臓がんに対する非常に有望な処置を示すことを示唆する。

40

【0319】

（例5）Ab7326 mIgG1とセルメチニブ又はUCB-554 MEK阻害剤のいずれかとの組み合わせによるKPCマウスの処置は単一薬剤による処置と比較して腫瘍増殖の遅延及び生存の延長をもたらす。

例3におけるAb7326とSセルメチニブの組み合わせで見られた生存の延長が他の

50

M E K 阻害剤にも適用可能であるかどうかを決定するために、また、各コホートにおける K P C マウスの数を増やすことによって研究の頑健性をさらに増加させるために、A b 7 3 2 6 と M E K 阻害剤セルメチニブ又は M E K 阻害剤 U C B - 5 5 4 のいずれかとの組み合わせを比較する研究を行った。脾臓腫瘍が確認された K P C マウスを材料と方法に記載したように樹立し、表 8 に示されるように処置のためのコホートに登録し、超音波検査による腫瘍増殖と倫理的生存エンドポイントをモニタリングした。

【表 8】

表 8

Survival Study				
処置	用量	スケジュール	n =	生存中央値
ビヒクル	125μl p.o.	2日ごと	10	12日
Ab7326 mIgG1	30mg/kg s.c.	週2回	10	9.5日
セルメチニブ*	25mg/kg p.o.	b.i.d.	9	22日
Ab7326 mIgG1 + セルメチニブ	30mg/kg s.c. 25mg/kg p.o.	週2回	10	29.5日
UCB-554	10mg/kg p.o.	2日ごと	10	21日
Ab7326 mIgG1 + UCB-554	30mg/kg s.c. 10mg/kg p.o.	週2回 2日ごと	11	32日

【0320】

M E K 阻害剤 U C B - 5 5 4 による処置は、ビヒクルのみの対照又は A b 7 3 2 6 処置と比較して、K P C マウスの生存の中程度の増加をもたらした（図 9 a 及び表 8 生存中央値）。しかしながら、A b 7 3 2 6 と U C B - 5 5 4 の組み合わせ処置は、U C B - 5 5 4 単独と比較して、K P C マウスのさらに改善された生存をもたらした（図 9 a 及び表 8 生存中央値）。C o x の比例ハザードモデルを生存データに当てはめ、異なる処置群の比較のためにハザード比（H R）を推定した（表 9）。A b 7 3 2 6 + U C B - 5 5 4 対ビヒクル対照（H R = 3.57、p = 0.005）又は A b 7 3 2 6 単独（H R = 4.38、p = 0.001）のハザード比は、併用による生存の統計学的に有意な改善を示した。A b 7 3 2 6 + U C B - 5 5 4 対 U C B - 5 5 4 単独のハザード比はまた、1 を上回った（H R = 1.75）ことから、M E K 阻害単独よりも併用により生存率の改善を示唆したが、統計学的有意性には達しなかった（p = 0.211）。

【表 9】

表 9－A b 7 3 2 6 と U C B－5 5 4 の併用で処置した K P C マウスの生存統計の要約

Survival Study		
比較	ハザード比	P値
ビヒクル / Ab7326	0.82	0.656
ビヒクル / UCB-554	2.04	0.120
ビヒクル / Ab7326 + UCB-554	3.57	0.005
Ab7326 / UCB-554	2.50	0.043
Ab7326 / Ab7326 + UCB-554	4.38	0.001
UCB-554 / Ab7326 + UCB-554	1.75	0.211

10

20

対照又は処置された K P C マウスの脾臓腫瘍の体積は、超音波による 3 D 腫瘍画像を用いて経時的に測定された。処置開始後 7 日目での腫瘍体積の比較は、生存データと一致して、腫瘍体積が、ビヒクル又は A b 7 3 2 6 単独処置と比較して、U C B－5 5 4 処置群において減少することを示した（図 9 b）。さらに、A b 7 3 2 6 + U C B－5 5 4 の組み合わせは、U C B－5 5 4 単独と比較して、7 日目で腫瘍体積の統計学的に有意な減少を有した（ $p = 0.040$ ）。

30

【0321】

このコホートにおけるマウスについて、倫理的エンドポイントまでの腫瘍体積の経時的な測定は、A b 7 3 2 6 と U C B－5 5 4 の併用処置が、ビヒクル対照と比較して、マウスのサブセットにおいて腫瘍の縮小又は腫瘍増殖の減少をもたらすことを示した（図 9 c）。

【0322】

例 3 に示されるセルメチニブ M E K 阻害剤研究において回収された K P C マウスの生存データ（表 4）が、例 5 のコホートからのデータ（表 8）と組み合わせて、より多数の動物を含めることによって分析の頑健性を増加させた。図 10 a 及び表 10 に示されるように、A b 7 3 2 6 とセルメチニブの併用は、ビヒクル単独（ $HR = 5.16$ 、 $p < 0.001$ ）又は A b 7 3 2 6 処置（ $HR = 3.82$ 、 $p < 0.001$ ）よりも K P C マウスの生存を有意に増加させた。さらに、A b 7 3 2 6 とセルメチニブの組み合わせは、セルメチニブ単独による処置と比較して生存を有意に増加させ、ハザード比は 2.92（ $p = 0.006$ ）であり、これはこの脾臓がんモデルにおいてグレムリン-1 の阻害と M E K 経路阻害の組み合わせが有意に有益な効果であることを示した。

40

50

【表 10】

表 10－A b 7 3 2 6 とセルメチニブの併用で処置したK P Cマウスの生存統計の要約

Survival Study		
比較	ハザード比	P値
ビヒクル / Ab7326	1.35	0.450
ビヒクル / セルメチニブ	1.77	0.166
ビヒクル / Ab7326 + セルメチニブ	5.16	0.000
Ab7326 / セルメチニブ	1.31	0.427
Ab7326 / Ab7326 + セルメチニブ	3.82	0.000
セルメチニブ / Ab7326 + セルメチニブ	2.92	0.006

10

20

【0323】

処置開始後7日目での腫瘍体積の比較は、生存データと一致して、平均腫瘍体積が、ビヒクル又はA b 7 3 2 6 単独処置と比較して、セルメチニブ及びセルメチニブ＋A b 7 3 2 6 処置群において減少することを示した（図 10 b）。

【0324】

このコホートにおけるマウスについて、倫理的エンドポイントまでの腫瘍体積の経時的な測定は、A b 7 3 2 6 とセルメチニブの併用処置が、ビヒクル対照と比較して、マウスのサブセットにおいて腫瘍の縮小又は腫瘍増殖の減少をもたらすことを示した（図 10 c）。

30

【0325】

結論として、これらのデータは、セルメチニブ又はU C B－5 5 4 などのM E K 阻害剤と組み合わせ投薬される抗グレムリン－1 抗体A b 7 3 2 6 が、膵臓がんのK P Cマウスモデルにおいて、個々の薬剤による処置よりも腫瘍増殖が減少し、生存が増加することを示す。これは、グレムリン－1 とM E K の薬理的経路を同時に標的とすることが、膵臓がんの処置において相加的又は相乗的な効果をもたらす可能性を示唆する。

【0326】

態様

40

1. がんを処置又は予防する方法において使用するための抗G R E M 1 アンタゴニストであって、方法が、R a s－R a f－M E K－E R K シグナル伝達の阻害剤を投与することをさらに含む、上記抗G R E M 1 アンタゴニスト。

2. がんが固形がんである、態様 1 に記載の使用するための抗G R E M 1 アンタゴニスト。

3. がんが間質G R E M 1 過剰発現を有する、態様 1 又は態様 2 に記載の使用するための抗G R E M 1 アンタゴニスト。

4. がんが、R a s－R a f－M E K－E R K 経路の調節異常に関連するがんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗G R E M 1 アンタゴニスト。

5. がんが、抗G R E M 1 アンタゴニストへの曝露後にR a s－R a f－M E K－E R

50

K 経路の調節異常を示す、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

6. がんが R a s 遺伝子、場合により K R A S、N R A S 及び／又は H R A S における突然変異を含有する、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

7. がんが R a f 遺伝子；場合により A R A F、B R A F 及び／又は C R A F における突然変異を含有する、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

8. がんが、R a s－R a f－M E K－E R K シグナル伝達の阻害剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性であるがんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

9. がんが、大腸がん、多発性骨髄腫、膵臓がん、膀胱がん、乳がん、肺がん、胃がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、前立腺がん、神経膠腫、子宮内膜がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、黒色腫及び骨肉腫から選択される、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

10. がんが膵臓がんである、態様 9 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

11. 膵臓がんが外分泌膵臓がんである、態様 10 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

12. 膵臓がんが膵管腺がん（P D A C）である、態様 10 又は態様 11 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

13. がんが多発性骨髄腫又は大腸がんであり、場合により K R A S／B R A F 突然変異型大腸がんである、態様 9 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

14. がんが肺がんであり；場合によりがんが非小細胞肺癌（N S C L C）である、態様 9 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

15. がんが黒色腫であり；場合により B R A F 突然変異型黒色腫である、態様 9 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

16. がんが上皮 G R E M 1 過剰発現を有する、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

17. がんが G R E M 1 誘導性のがんである、態様 16 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

18. がんが播種性がんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

19. がんが確立されたがんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

20. アンタゴニストが、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、アンチセンス RNA、低分子干渉 RNA（s i R N A）、低分子阻害剤、又は低分子ヘアピン RNA（s h R N A）である、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

21. アンタゴニストが、I l e 131、L y s 147、L y s 148、P h e 149、T h r 150、T h r 151、A r g 169、L y s 174 及び G l n 175 から選択される少なくとも 1 つの残基を含むグレムリン-1 上のエピトープに結合する抗体であり、残基番号付けが配列番号 1 に従う、態様 20 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

22. 抗体が、I l e 131、L y s 147、L y s 148、P h e 149、T h r 150、T h r 151、A r g 169、L y s 174 及び G l n 175 のすべてを含むエピトープと結合する、態様 21 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

23. L y s 147、L y s 148、P h e 149、T h r 150、T h r 151、A r g 169、L y s 174 及び G l n 175 が同一のグレムリン-1 モノマー上に位置し、I l e 131 が第 2 のグレムリン-1 モノマー上に位置する、態様 21 又は 22 に記載

10

20

30

40

50

の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

24. アンタゴニストが、配列番号 10 若しくは 12 の重鎖可変領域 (H C V R) 内に含まれる重鎖相補性決定領域 (H C D R) 配列、及び／又は配列番号 11 若しくは 13 の軽鎖可変領域 (L C V R) 内に含まれる軽鎖相補性決定領域 (L C D R) 配列を含む抗グレムリン-1 抗体である、態様 20 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

25. アンタゴニストが、配列番号 3、4、5 及び 6 から選択される少なくとも 1 つの H C D R 配列、並びに／又は配列番号 7、8 及び 9 から選択される少なくとも 1 つの L C D R 配列を含む抗グレムリン-1 抗体である、態様 20 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

26. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 6 の H C D R 3 配列を含む、態様 25 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

27. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 4 / 5 / 6 若しくは配列番号 3 / 5 / 6 から選択される H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 配列の組み合わせ、及び／又は配列番号 7 / 8 / 9 から選択される L C D R 1 / L C D R 2 / L C D R 3 配列の組み合わせを含む、態様 25 又は 26 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

28. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 4 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 又は配列番号 3 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 の H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 / L C D R 1 / L C D R 2 / L C D R 3 配列の組み合わせを含む、態様 25 ~ 27 のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

29. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 10 若しくは 12 の重鎖可変領域 (H C V R) 配列、及び／又は配列番号 11 若しくは 13 の軽鎖可変領域 (L C V R) 配列、或いはそれらと少なくとも 95 % 同一である配列を含む、態様 25 ~ 28 のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

30. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 10 / 11 若しくは 12 / 13 の H C V R 及び L C V R 配列対、又はそれらと少なくとも 95 % 同一である配列を含む、態様 29 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

31. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 4 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 又は配列番号 3 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 からなる H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 / L C D R 1 / L C D R 2 / L C D R 3 配列を含み、H C V R 及び L C V R の残りが、それぞれ配列番号 10、11、12 及び／又は 13 に対して少なくとも 95 % 同一性である、態様 30 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

32. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 14、16、18、22、28、30、32 若しくは 34 の重鎖、及び／又は配列番号 15、17、19、23、29、31、33 若しくは 35 の軽鎖、或いはそれらと少なくとも 95 % 同一である配列を含む、態様 29 ~ 31 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

33. 抗グレムリン-1 抗体が、配列番号 14 / 15、16 / 17、18 / 19、22 / 23、28 / 29 若しくは 30 / 31、32 / 33、34 / 35 の重鎖及び軽鎖の対、又は少なくとも 95 % 同一である配列を含む、態様 32 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

34. 抗体の H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 / L C D R 1 / L C D R 2 / L C D R 3 配列が、配列番号 4 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 又は配列番号 3 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 からなり、重鎖及び軽鎖の残りが、それぞれ配列番号 14、15、16 及び／又は 17 と少なくとも 95 % 同一性である、態様 33 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

35. アンタゴニストが、態様 22 ~ 32 のいずれか 1 つに定義される抗体とグレムリン-1 への結合をめぐって競合する抗体である、態様 20 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

36. アンタゴニストが、態様 22 ~ 32 のいずれか 1 つに定義される抗体と同じグレムリン-1 上のエピトープに結合する抗体である、態様 20 に記載の使用するための抗 G

10

20

30

40

50

REM1 アンタゴニスト。

37. アンタゴニスト抗体がキメラ抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体である、態様20～36のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

38. アンタゴニスト抗体が、Fab、修飾Fab、Fab'、修飾Fab'、F(ab')₂、Fv、単ドメイン抗体又はscFvである、態様20～37のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

39. アンタゴニストが、態様21～38のいずれか1つに定義される抗体をコードするポリヌクレオチド、又は前記ポリヌクレオチドを有する発現ベクターである、態様20に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

40. アンタゴニスト抗体が、薬学的に許容されるアジュバント及び／又は担体をさらに含む医薬組成物中に含まれる、態様20～38のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

41. Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤が、Mapk1、Nras、Kras及び／又はMycシグナル伝達を下方制御する、先行する態様のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

42. Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤がMEK阻害剤であり、場合によりアロステリックMEK阻害剤である、先行する態様のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

43. MEK阻害剤がMEK1及び／又はMEK2阻害剤である、態様42に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

44. MEK阻害剤が、セルメチニブ(AZD6244)、トラメチニブ(GSK-1120212)、コビメチニブ(GDC-0973)、ビメチニブ(MEK162)、CI-1040(PD184352)、ミルダメチニブ(PD0325901)、TAK733、レファメチニブ(RDEA119/Bay86-9766)、RO-5126766、RO5068760、ピマセルチブ(AS703026)、AZD8330、GDC-0623、RO-4987655、WX-554(UCB-554)、HL-085、ARRY-300、ClnQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、U0126又はSL327である、態様42又は態様43に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

45. MEK阻害剤が、

(a) N-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)-3-(モルホリン-4-イルカルボニル)チエノ[2,3-b]ピリジン-2-アミン；

(b) N-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)-3-[(4-メチルピペラジン-1-イル)カルボニル]チエノ[2,3-b]ピリジン-2-アミン；

(c) [2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル](ピロリジン-1-イル)メタノン；

(d) (1-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-カルボニル}ピペリジン-4-イル)-カルバミン酸tert-ブチルエステル；

(e) 2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-カルボン酸(4-アミノピペリジン-1-イル)アミド二塩酸塩；

(f) (1-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-カルボニル}アゼチジン-3-イルメチル)カルバミン酸tert-ブチルエステル；

(g) [3-((アミノメチル)アゼチジン-1-イル)-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-イル}-メタノン；

(h) (1-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3-b]ピリジン-3-カルボニル}-(3R)-ピロリジン-3-イル)カルバミン酸tert-ブチルエステル；

(i) (1-{2-[(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]チエノ[2,3

10

20

30

40

50

－b] ピリジン－3－カルボニル} － (3 S) －ピロリジン－3－イル) カルバミン酸 t e r t－ブチルエステル；

(j) (1－{2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－カルボニル} アゼチジン－3－イル) －カルバミン酸 t e r t－ブチルエステル；

(k) [(3 R) －3－アミノピロリジン－1－イル] －{2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －メタノン；

(l) [(3 S) －3－アミノピロリジン－1－イル] －{2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －メタノン；

(m) (3－アミノアゼチジン－1－イル) －{2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －メタノン；

(n) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －(3－ヒドロキシアゼチジン－1－イル) －メタノン；

(o) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －[(3 R) －3－ヒドロキシピロリジン－1－イル] －メタノン；

(p) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －[(3 S) －3－ヒドロキシピロリジン－1－イル] －メタノン；

(q) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －[2－(ヒドロキシメチル) －ピペリジン－1－イル] －メタノン；

(r) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －[(3 S) －3－(ヒドロキシメチル) －モルホリン－4－イル] －メタノン；

(s) 4－{2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－カルボニル} －(3 R) －3－(ヒドロキシメチル) ピペラジン－1－カルボン酸 t e r t－ブチルエステル；

(t) 2－[4 ({2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} カルボニル) ピペラジン－1－イル] エタノール；

(u) 3－((1, 4－ジアゼパン－1－イルカルボニル) －N－(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) チエノ [2, 3－b] ピリジン－2－アミン；

(v) N－(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) －3－(ピペラジン－1－イルカルボニル) チエノ [2, 3－b] ピリジン－2－アミン；

(w) エチル [4－({2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} カルボニル) －ピペラジン－1－イル] アセタート；

(x) [4－({2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} カルボニル) ピペラジン－1－イル] 酢酸；

(y) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －[(2 R) －2－(メトキシメチル) －ピロリジン－1－イル] －メトン；及び

(z) {2－[(2－フルオロ－4－ヨードフェニル) アミノ] チエノ [2, 3－b] ピリジン－3－イル} －[(2 R) －2－(ヒドロキシメチル) －ピペラジン－1－イル] －メタノン

からなる群から選択される、態様 4 2 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

4 6 . M E K 阻害剤が、式 (I I) ；

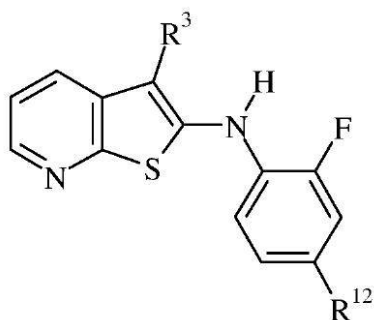
10

20

30

40

【化 3】



(II)

10

〔式中、

R¹² はハロゲンを表し；R³ は CONR^bR^c を表し；

R^b 及び R^c は、それらがともに結合している窒素原子と一緒になった場合、アゼチジン-1-イル、ピロリジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、モルホリン-4-イル、チオモルホリン-4-イル、ピペラジン-1-イル、ホモピペリジン-1-イル、ホモモルホリン-4-イル又はホモピペラジン-1-イルを表し、それらの基のいずれかは、
 場合により、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ（C₁₋₆）アルキル、アミノ（C₁₋₆）アルキル、（アミノ）（ヒドロキシ）（C₁₋₆）アルキル、ハロゲン、オキソ、C₂₋₆アルキルカルボニル、カルボキシ、C₂₋₆アルコキシカルボニル、ジ（C₁₋₆）アルキルヒドラジニルカルボニル、アミノ、C₁₋₆アルキルアミノ、ジ（C₁₋₆）アルキルアミノ、C₂₋₆アルキルカルボニルアミノ、アミノカルボニルアミノ、アミノカルボニル、C₁₋₆アルキルアミノカルボニル、ジ（C₁₋₆）アルキルアミノカルボニル、アミノスルホニル、C₁₋₆アルキルスルホニル、C₁₋₆アルキルアミノカルボニル（C₁₋₆）アルキル、C₁₋₆アルコキシ（C₁₋₆）アルキル、カルボキシ（C₁₋₆）アルキル、C₂₋₆アルコキシカルボニル（C₁₋₆）アルキル、C₂₋₆アルコキシカルボニルアミノ及びC₂₋₆アルコキシカルボニルアミノ（C₁₋₆）アルキルから選択される1つ以上の置換基によって置換されていてもよい]

20

30

並びにその薬学的に許容される塩、溶媒和物及びN-オキシドによって表される、態様42に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

47. R¹² がブromo又はヨードを表す、請求項46に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

48. MEK阻害剤がセルメチニブ（AZD6244）である、態様44に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

49. MEK阻害剤がトラメチニブ（GSK-1120212）である、態様44に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

40

50. MEK阻害剤がWX-554（UCB-554）である、態様44に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

51. MEK阻害剤がセルメチニブ（AZD6244）であり、がんが膵臓がん、場合によりPDACである、態様44に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

52. MEK阻害剤がトラメチニブ（GSK-1120212）であり、がんが膵臓がん、場合によりPDACである、態様44に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

53. MEK阻害剤がWX-554（UCB-554）であり、がんが膵臓がん、場合によりPDACである、態様44に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

54. Ras-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤がERK阻害剤である、

50

態様 1 ～ 4 1 のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

55. E R K 阻害剤が、ウリキセルチニブ、テムテルキブ、J S I - 1 1 8 7、ラボキセルチニブ、A S N 0 0 7 又は M K - 8 3 5 3 である、態様 5 4 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

56. E R K 阻害剤がウリキセルチニブである、態様 5 4 又は 5 5 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

57. E R K 阻害剤がウリキセルチニブであり、がんが膀胱がん、場合により P D A C である、態様 5 6 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

58. 方法が、追加の抗がん剤を投与することをさらに含む、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

59. がんを処置又は予防するための方法において使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤であって、方法がさらに抗 G R E M 1 アンタゴニストを投与することを含む、上記阻害剤。

60. 前記がん、前記アンタゴニスト及び／又は前記方法が、態様 1 ～ 5 8 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 5 9 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K の阻害剤。

61. R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤が M E K 阻害剤である、態様 5 9 又は 6 0 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤。

62. 前記 M E K 阻害剤がセルメチニブ (A Z D 6 2 4 4) である、態様 6 1 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤。

63. 前記 M E K 阻害剤がトラメチニブ (G S K - 1 1 2 0 2 1 2) である、態様 6 1 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤。

64. 前記 M E K 阻害剤が W X - 5 5 4 (U C B - 5 5 4) である、態様 6 1 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤。

65. R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤が E R K 阻害剤である、態様 5 9 又は 6 0 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤。

66. 前記 E R K 阻害剤がウリキセルチニブである、態様 6 5 に記載の使用するための R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤。

67. がんを処置する方法であって、治療有効量の R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤と組み合わせた治療有効量の抗 G R E M 1 アンタゴニストを、それを必要とする対象に投与することを含む上記方法。

68. 前記がん、前記アンタゴニスト及び／又は前記方法が、態様 1 ～ 6 6 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 6 7 に記載の方法。

69. 抗 G R E M 1 アンタゴニストと R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤を含む組成物又はキット。

70. 抗 G R E M 1 アンタゴニストが、態様 2 0 ～ 3 9 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 6 9 に記載の組成物又はキット。

71. R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤が、態様 4 1 ～ 5 7 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 6 9 又は 7 0 に記載の組成物又はキット。

72. がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、G R E M 1 アンタゴニストと R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に应答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者における G R E M 1 の間質発現、G R E M 1 の上皮発現、及び／又は R a s - R a f - M E K - E R K 経路シグナル伝達を測定し、それによって、患者が併用処置に対して应答する可能性が高いか否かを予測することを含む上記方法。

73. がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、G R E M 1 アンタゴニストと R a s - R a f - M E K - E R K シグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に应答する可能性が高いかどうかを決定する方

10

20

30

40

50

法であって、患者におけるGREM1の間質発現及び／又はGREM1の上皮発現を測定し、患者がRAS遺伝子又はRAF遺伝子に突然変異を有するか否かを決定し、それによって、患者が併用処置に対して応答する可能性が高いか否かを予測することを含む上記方法。

74. がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとRas-Raf-MEK-ERKシグナル伝達の阻害剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、抗GREM1アンタゴニストによる処置に反応して、患者のRas-Raf-MEK-ERK経路シグナル伝達を測定し、それにより、併用処置に患者が反応する可能性があるか否かを予測することを含む上記方法。

10

【0327】

〔配列表〕

配列番号1 (ヒトグレムリン-1; Uniprot ID: O60565)

MSRTAYTVGALLLLLTLLPAAEGKKKGSQGAIPPPDKAQHNDSEQTQSPQQPGSR
NRGRGQGRGTAMPGEEVLESSQEALHVTERKYLKRDWCKTQPLKQTIHEEGCNSRT
IINRFCYGCNSFYIPRHIRKEEGSFQSCSFCKPKKFTTMMVTLNCPQLPPTKKKRV
TRVKQCRCISIDL

配列番号2 (結晶構造解析に使用されるN末端タグ付きのヒト切断型グレムリン-1)

MGSSHHHHHSSGENLYFQGSAMPGEEVLESSQEALHVTERKYLKRDWCKTQPLK
QTIHEEGCNSRTIINRFCYGCNSFYIPRHIRKEEGSFQSCSFCKPKKFTTMMVTLNC
PELQPPPTKKKRVTRVKQCRCISIDL

20

配列番号3 (Ab7326 HCDR1 Kabat & Chothiaの複合)

GYTFTDYMH

配列番号4 (Ab7326 HCDR1 Kabat)

DYMH

配列番号5 (Ab7326 HCDR2 Kabat)

LVDPEGETIYAEKFQ

配列番号6 (Ab7326 HCDR3 Kabat)

DARGSGSYYPNHFDY

配列番号7 (Ab7326 LCDR1 Kabat)

KSSQSVLYSSNNKNYLA

30

配列番号8 (Ab7326 LCDR2 Kabat)

WASTRES

配列番号9 (Ab7326 LCDR3 Kabat)

QQYYDTPT

配列番号10 (Ab7326 重鎖改変領域バリエーション1)

QVQLVESGAIEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDATYMEISSLRSEDATVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLTVSS

配列番号11 (Ab7326 軽鎖改変領域バリエーション1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIK

40

配列番号12 (Ab7326 重鎖改変領域バリエーション2)

QVQLVQSGAIEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDATYMEISSLRSEDATVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLTVSS

配列番号13 (Ab7326 軽鎖改変領域バリエーション2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIK

配列番号14 (マウス全長IgG1重鎖バリエーション1)

50

QVQLVESGAIEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSG
SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRD
CGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTLITLTPKVTCVVDISKDDPEVQFSWFVDDV
EVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISK
KGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQ
PIMDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGK

配列番号 15 (マウス全長 Ig G 1 軽鎖バリエーション 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTD
AAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQD
SKDSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

10

配列番号 16 (ヒト全長 Ig G 1 重鎖バリエーション 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

20

配列番号 17 (ヒト全長 Ig G 1 軽鎖バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 18 (Fab 重鎖バリエーション 1)

QVQLVESGAIEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

30

配列番号 19 (Fab 軽鎖バリエーション 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 20 (結晶構造解析に使用される N 末端タグ付きのヒト切断型グレムリン-1)

AMPGEVLESSQEALHVTERRKYLRDWCKTQPLKQTIHEEGCNSRTIINRRCYGGCNS
SFYIPRHIRKEEGSFQSCSFCKPKKFTTMMVTLNCPQLPPTKKKRVTRVKQCRCISIDLD

40

配列番号 21 (アミノ酸 1 ~ 21 のシグナルペプチドを欠損している配列番号 1 の成熟グ
レムリン-1 配列)

KKKGSQGAIPPPDKAQHNDSEQTQSPQQPGSRNRGRGQGRGTAMPGEVLESSQEAL
HVTERRKYLRDWCKTQPLKQTIHEEGCNSRTIINRRCYGGCNSFYIPRHIRKEEGSF
QSCSFCKPKKFTTMMVTLNCPQLPPTKKKRVTRVKQCRCISIDLD

配列番号 22 (ヒト Ig G 4 P 重鎖バリエーション 1)

QVQLVESGAIEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD

50

YWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGAL
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLVHQLD WLNKGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

配列番号 2 3 (ヒト I g G 4 P 軽鎖 バリアント 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAA
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINS LQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

配列番号 2 4 (ヒト I g G 1 重鎖 DNA バリアント 1)

caagt gcaact ggt ggaat ccgggg ccgaagt gaaaa agcccg gagccact gtgaag atctctt gca
aagtgt ccggct acacctt caccgact attacat gcaact ggggt ccagc aggcac ctggga agggc ctt
gagtgg atgggt ctggtc gatccc gagga cggcgaa actatct acgccg agaagt tccagg gtcgcg
tcaccat caccg ccgac acttcc accgac accgcg tacat ggagct gtccag cttg aggtcc gagga c
acagcc gtgtact actg cgccac ggatg ctcggg gaagc ggcag ctact acccga accactt cgact
actggg gacagg gcactct cgtg actgtct cgagc gcttct acaa agggccc ctccgt gttccc gctc
gctccat catcga agtct accagc ggagg cactg cggtct ctcgg ttgcct cgtga aggact acttccc
ggagcc ggtg accgt gtcgt ggaac agcgg agccct gaccag cgggg tgcacac ctttcc ggccgtc
ttgcagt caagc ggcctt tactcc ctgtc atcagt ggtg actgtccc gtcag ctatt ggga acccaa
acctac atctg caatgt gaatc aaaa cctag caacac caaagg ttgaca agaa agtcg agcccaa atc
gtgtgaca agactc acactt gtccgc cgtg cccggc acccga actg ctggg aggtcc agcgtctt c
tggtccc tccaa agccgaa agacac gctgat gatctccc gcacccc ggaggt cacttg cgtgg tctgtg
gacgtgt cacatg agga cccag aggtga agttca attgg tacgtgg atggcgtc gaagtcc acaatg
ccaaa acta agccc agaga agaac agtaca attcgac ctacc gcgtc gtcgtc cgtgtc acgggtgtt g
catcagg attgg ctga acggga aggaata caagt gcaa agtgtcca acaagg cgctg ccgggc accga
tcgagaaa actatct ccaa agcga agggac agcctag gggaacct caagtct acacg ctgccacc atc
acgggat gaactg acta agaata caagtct cactg acttgt ctgtgg taaggg gtttacc ctagc gacat
tgccgt ggagtg ggaatcca acggcc agccag agaa caactaca agact acccct ccagt gctcgac
tcggat ggatc gttctt ctttact cgaag ctcac ccgtgg ataagt cccgg tggcag caggga aacgt
gttctc ctgtc ggtgat gcatga agccct ccata accact atacc caaaa agtcg ctgtc cctgtc gcc
gggaaa g

20

30

配列番号 2 5 (ヒト I g G 1 軽鎖 DNA バリアント 1)

gacattgtgatg acccag tcccc gattcg cttg cggtgt ccctgg ggaga acgggg ccaccat taactg
caagag ctcac agtcc gtcctgt attcat cgaaca acaaga attacct cgcat ggatc agcaga agc
ctggac agcctccc aagct gctcat ctact gggct agcacc cgcaat ccgggg gtgcgg gatagatt c
tccggat cgggtt cgggc actg acttca ctctg actat caact cactg caagcc gaggat gtcgc ggt
gtactt ctgtc agcag tactac gacacccc gac tttg gaca aggcacc agact ggagatta agcgta
cgggtg gccgt cccctcc gttcat cttccc accctc gacg agcag ctga agtcc ggcacc gcctcc
gtcgtgt gcctg ctga acaact tctac ccccg cgagg ccaagg tgcagt ggaa ggtgg acaac gcccc
tgcagt ccggc aactccc aggaat ccgtc accgag caggact ccaagg acagc acctact cctgtc c
tccacc ctg accctgt ccaagg ccgact acgaga agcaca aggtgt acgcct gcga agtg acccacc
agggc ctgtc cagcccc gtgacca agtcctt caacc gggggc gagtgc

40

配列番号 2 6 (ヒト I g G 4 P 重鎖 DNA バリアント 1)

caagt gcaact ggt ggaat ccgggg ccgaagt gaaaa agcccg gagccact gtgaag atctctt gca
aagtgt ccggct acacctt caccgact attacat gcaact ggggt ccagc aggcac ctggga agggc ctt
gagtgg atgggt ctggtc gatccc gagga cggcgaa actatct acgccg agaagt tccagg gtcgcg
tcaccat caccg ccgac acttcc accgac accgcg tacat ggagct gtccag cttg aggtcc gagga c
acagcc gtgtact actg cgccac ggatg ctcggg gaagc ggcag ctact acccga accactt cgact

50

actggggacagggcactctcgtgactgtctcgagcgcttctacaaagggccctccgtgttccctctg
gcccccttgctcccgggtccacctccgagtgctaccgcccgtctgggctgcctgggtcaaggactacttccc
gagcccgtgacagtgtcctggaactctggcgccctgacctccggcgtgcacaccttccctgcccgtgct
gcagtcctccggcctgtactccctgtcctccgtcgtgacctgcccctcctccagcctggggcaccaaga
cctacacctgtaacgtggaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagta
cggccctccctgccccccctgccctgcccctgaatttctgggcggaccttccgtgttccctgttcccccc
aaagcccaaggacacctgatgatctcccggacccccgaagtgacctgcgtgggtgggtggacgtgtcc
caggaagatcccagaggtccagttcaattgggtacgtggacggcgtggaagtgcacaatgccaaagacca
agcccagagaggaacagttcaactccacctaccgggtgggtgtccgtgctgacctgctgcaccagga
ctggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcctgccctccagcatcgaaaag
accatctccaaggccaagggccagccccgcgagccccaggtgtacaccttgccccctagccaggaag
agatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgtctgggtcaagggccttctacccctccgacattgccgtg
gaatgggagtgcaacggccagccccgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggacagcgac
ggctccttcttctgtactctcggctgacctgggacaagtcccgggtggcaggaaggcaacgtcttctcc
tgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaaagtcctgtccctgagcctgggcaa
g

10

配列番号 27 (ヒト I g G 4 P 軽鎖 DNA バリエーション 1)

gacattgtgatgaccagtgccccgattcgcttgcggtgtccctgggagaaacggggccaccattaactg
caagagctcacagtgccgtcctgtattcatcgaacaacaagaattacctcgcatgggtatcagcagaagc
ctggacagcctcccaagctgctcatctactgggctagcaccgcgaatccgggggtgccggatagattc
tccggatcggggttcgggcactgacttcactctgactatcaactcactgcaagccgaggatgtcgcggt
gtacttctgtcagcagtgactacgacaccccgaccttgggacaaggcaccagactggagattaagcgta
cgggtggcgcctccctccgtgttcattcttcccacctccgacgagcagctgaagtccggcaccgcctcc
gtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaggtgcagtggaaagggtggacaacgccc
tgcagtcgggcaactcccaggaatccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcc
tccacctgacctgtccaaggccgactacgagaagcacaagggtgtacgcctgcgaagtgaccacc
agggcctgtccagccccgtgaccaagtccttcaaccggggcgagtg

20

配列番号 28 (マウス全長 I g G 1 重鎖 バリエーション 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTVNSG
SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRD
CGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDV
EVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISK
TGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQ
PIMDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK

30

配列番号 29 (マウス全長 I g G 1 軽鎖 バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
DAAPTYSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKKWIDGSRQNGVLNSWTDQ
DSKDSTYSMSSTLTLTKEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

40

配列番号 30 (ヒト全長 I g G 1 重鎖 バリエーション 1)

QVQLVESGAIEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS

50

PGK

配列番号 3 1 (ヒト全長 I g G 1 軽鎖バリエーション 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 3 2 (F a b 重鎖バリエーション 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDVAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

10

配列番号 3 3 (F a b 軽鎖バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 3 4 (ヒト I g G 4 P 重鎖バリエーション 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDVAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

20

配列番号 3 5 (ヒト I g G 4 P 軽鎖バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30

配列番号 3 6 (ヒトグレムリン-1 ; 全長)

actcgggtgcgcccttcgcgaggaccgggacccagtgacggccgcccgcgtcactctcgggtcccgcgtg
accccgcgccgagccccggcggtcttgccgcgggccgcactcagcgccacgcgtcgaaagcgagcag
ccccgaggaccgcccgcactgacaggtgagcgcgggacgcacccggcagggatgtgagtgggcgga
gggaagaggggccgcaaaccaaccaggaccgctcagttccacgcgcggcagccctccgtgcgcg
aggctcgggtgctgttctcgcggggggtgaattgtgaagaaccatcgcggggtccttcctgctgaggcc
gcggaacaccgtgacctcgctgctctgggtctgcagggaaacgtaggaaaaaaagtgtgtaggagcg
gcaggatgacccccacatcccgtttccacctcccgaggccccgaacacgctcctggtgctggtggc
agcagcgccctggcagacgcgcccgttagcgagggcgcggaagtccaggccgagagcgagcaggag
catccggacctgctagtcggccgctgactgcgcggcgagttgccttgagaggggtcccatgtgcttg
gcgccgcgctgggtctggggcggtcttgggcgccattggagtcgcggttgaggatccggaga
atccatgatgtgtgcatcttgcgatccccgaggtgagatggagactggcaagggcagagccgctgtgt
tcagccacagcggaacacgaacgggtgggtgaatccgacagctgcgggtgcggggcgcgccctggcc
gcggggtccagcgaacccgcagtgctcacaaggcagacaccacacgcgctcgcggaacggccacgc
actcgcgggcgctcgcttctactccagcctcttccccgccccgcgcacgcccagctgaatggtag
acgttctggcgccgggcagcgggccaccggctggttcccacttccgcgcgaccccttaaactgtgttc
tagaggccccagcctcgcttgacagcgctcactagctcctgaggactaggagctggcggtgaggc
gggttgggcggtgcaacgagctggggcggtcttctgcttctctcgctgcctggctggctccgctggcccc
tccacagcttgcgagcaaggccatagcaggggagtgaggaggtatattggggctgtcacctccttgct
ggccggaggttattttagactacagactccggaagaacagacgcgcccaccgctctcgcttggtgattgc

40

50

50

gaggacctgctttgagagtatgtgtcctctgggacaagtgggaatgaaagagaggatagaggcaaaga
gaaaaaaaaaggtggagatggggtgagacttgctggaggacagttgcaaagaaaactcatgatgagaat
aacatcacatttcttgaagaagctgaactgcattgatgggaagttgaggcagagtttgaaaagaagat
atactgtctgcaaaaaagaatcaacggagatgtcaggtatcttgatgcaccctgagtcctatgagatgc
agcttaatttaatttaatatgatagtaggcccatttcataagtgggtggaaattaccataaagtgtttgca
gctaattgacggcgcatgaatgatgtcataggaacctaatgtctggatgagctatggattgaattttact
atgggacaccccttctacatgttgctgtggaaaagaattgtcctcaagaaatgtacatcttctgcatttcc
tctacatctctgatatttacaaaagtgcacattatttggtgatactacaactgggatttcaagtgcacatc
actactatttcccttactgaagaatcaagagcagtcctgggggtggggagagcttgagtgattgacaag
gatgtggcagagccctggttccactatgaattatagttcttaccctgcttactgtcactcatgtagagca
gctagtgtgcctcagagcactgctgttctctgagaagctgagggtctcgattgacattcttgaagttggt
gtttacttctctctgaataaacaagggttggcaactcagacatcttacaataagtactaaagatttttga
agaatagggttttaaaaaaatgaaaaaacatttccatttccatagctaataaatcttattttgaggaaaat
gtacttttcttttaaaaaaaaaaaaaagcctgtctgtcactctagacccttggcttagaaggtaggcaca
ctcacatagaaacagaaagtctgtccaaatttaaaactgaaaaccacagttgactaattttgaatttata
gctctgtctgttggcttctgcatagtagtattaatttcaatggcttcaattagaaaatgaaaccatagcatt
ccatatgagaacaggtaaaaagtgcagggaacatttggagttttccaagaaaaagaaagacaagtcttag
gaagctctctaggatggaaggaatttggcacactgagagtttagacatccaaaggatagcaattggctc
ttctgtctcatgggcactgggtgaaggcattttaaaatgcgaagaatggtaacctctgtaaatcaatgaggt
tcataataatcatgcatttaccaaatttttataagcacctgacctgtgcccaggcactgagggtgaaggtg
atgaataagccctcatcaactgtcagactagatatttactcaataacagatgtgaaaatgccaagaag
gaaaagttgagtataaagaaagccttaagtgtgttcagagaaataaaattgcatttttcggatagatgt
ttatggaatcggccttatgaggtaaaacttgtcctatgcagtgaacatacattcccagtttagtctcagatt
ggcctctgtgatgacaaactcagaggggtcctggtctaggagggggtgaatttgtctggagggccatttcc
aggaggtatggaggaagactggggcataggcctggggccatcccatgtactcctcctctgaaatggg
gagcaactgaattgtgttttatttttagatcttctgccaacttgaataaccagaaattcgtgaaaccttctc
aaattcacactatattttgagaccaggagaagggtccttgagaaattgccacactgtcttatcctagtct
ctggaaaaattcagtcctgtattataactgggcgttttctcataagtgttttttttttctttttctttttat
aatactttaagttctgggatacatgtgcagaatgtgcaggtttgttacataggtatacacgtgccatggt
ggtttgctgcacccatcaacccatcatctacattaggattttctcctaagtctaccccttccctagcccc
ccacccctcgacaggccccagtggttgatgttccctccctgtgtccatgtgttctcattgttcaactcc
catttatgagttagagcatgcggtgtttggttttctgttccctgtgttagtttgctgagaatgatggttttt
ggcttcatccacgtccctgcaaaggacatgaactcatccttttatggctgcatagtattccatgggtga
tatgtgccacatttgctttatccagtctatcattgatgagcacttgggttggctccaagtctttgctatta
tgactagtactgcgataaacatgtgtatattgtgtctttatattagaatgatttataatccttaggtctat
accagtaataggattcctgggtcaaatgggtatttctggttctagatccttgagggaattgccacactgtc
ttccacaacgggttgaactaatttacactcccaccaacagtgtaaaagcatttccatttctccacatcctc
tccaacatctgttgtttcctgactctttaatgacggccatttctaactggcgtgaaatgggtatctcattgtg
gttttgatttgacatttctctaattgaccaccgatgatgagctttttctcatatgtttgctggcccccataaat
gtcttcttttgagaaatgtctgttcataatcctttgccactttttgatggggtgttttgcttttttcttgtaa
atttgtttgagttcctggtagattctggatattagccctttgtcagatggatagactgcaaaaaattttctc
ccattctgtagggttgcctgttcaactctgatggtagtttcttttgccatgcagaagctgttttagtttaatta
gatccaatttgtcagttttggcttttgttggcattgtcttttgggtgttttagtcatgaagtctttgcccatgc
ctatgtcctgaattgtattgccctgggttttcttctaggatttttatgggttttaggtcttaatttaagtcttt
aatccatcttgaatttaattttgtataaagggtgaaggaaagggtccagtttcagttttctgcgtatggct
agccagttttcccaacgttattttattaaatagggaatcctttcccatgttctgtttttgtcaggtttgtca
aagatcagacgggtttagatgtgtgggtgttatttctgaggcctctgttctgttccattgggtctgtatatct
gctttgataccagtagcctgtgttttgggttactgttagcctttagtagtacagtttgaaagtcaggtagcgtg
atgctttgttctttttgcttaggattgtcttggctatattgggctcttttttggttctatagaaatttaaaagt
agttttttcatagacatctatagaactctccaccccaaatcaacagaatatacatttctcagtatcgc

10

20

30

40

50

atcacacttatttctaaaaatgaccacataattagaagtaaaacactcctcagcaaatgcaaaaaacaga
aatcctaacagtctgtcagacccccagtgcaatcaaattagaactcaggattaagaaacttactgaaaa
ccacacaactgcatggaaactgaacaacctgctcctgaatgactactgggttaaataacaaaattaagg
cagaaataaataaggttctttgaaagaaatgagaacaaagacacaatataccagaatctctgggacaca
gctaaagcagtggttttagaggggaaattgatagcactaaatgcccacaggagaaagcgggacagatcta
aatcgacaccctaataatcacaaattaaaagaactagagaaacaagagcaaacaaattcaaaagctag
cagaagacaagaaataactaagatcagagcagaactgaaggagatagagacacaaaaaaccttca
aaaaatcaatgaatccaggagctgttttttttttttgaagaaagattaatgaaatagactgctagccaaac
taataaaggagaaaaagagagagaagaatcaaataagacacaataaaaaagtataaaaggggat
atcaccactgatccacagaaatacaaaactaccatcagagaatactataaacacctctacgcaaataa
actagaaaattgggaagaaatggatacattcctgaacgcatacacctcccaagactaaaccaggaa
gaagttgaatccctgaatagaccaatagcaagttctgaaattgaggcagtaattagtagcctaccaac
caaaaaaagcccaggaccagacagattcacagccgaagtctaccagaggtacaaagaggagctagt
accattccttctgaaactatttccaaacaatagaaaaagaaggactcctccctaactcattttatgaggc
cagcatcatcctgataccaaaacctggcagagacacacataaaggaaattcaggccaatatccctga
tgaacattgatgtgaaaatcctcaataaaatactggcagcacatcaaaaagcttacctgccatgatcaa
gttggttcatccctgggatgcaaggctggttcaacatacgcaaatcaataaacgtaatcaatcacata
cacagaaccaatgacaaaaaccacatgattatctcaatagatgcagaaaaggccttcgataaaattca
acaccccttcaatgctaagaactctcaataaaactaggtattgatgaaacatatctcaaaaataataagag
ttatttatgacaaaaccacagccagtatcatactgaatgggcaaaaagctggaagcattccctttgaaaa
ccgccacaaggatgacttctctcaccactcctattcaacatactattggaagttctggccagggcaagc
aggcaagacaaaataaaataaagggtattcaaatagggaagagaggaaagtcaaaattgtctctgtttgcaga
tgacatgattgtatatatttagaaaaccccatcatctcagcccaaaatctccttaagctgataagcaacttc
agcaaagtctcaggatacaaaatcaatgtgcaaaaatcacaaagcattcctatacaccaataatagaca
aacagccaaatcatgagtgaactcccattcacaaagtgtacaaagaataaaaatacctaggaatccaac
ttacaagggatgtgaaggacctcttcaaggagaactacagaccactgctcaaggtaataagagagga
cacaacaaaatggaaaaacattccatgctcatggataggaagaatcaatattatgaaaatggccatac
tgcccaaaaacaatttatagattcaatgccatccccatcaagctaccactgacttccttcacagaattag
aaaaaaaaactacttttaaatctcatatggaaactgaaaaaagagccgggtatagccaagacgatcctaagca
aaaagaaaaaagctggaagcatcatgctacctgacttcaaaactatactacaaggctaca
gtaacaaaaacagcatggtatagtataagtgtttttttttaaagacaaaagtaaaagtaattttttgttgt
tggggtaaaaacaaaagctctgcataaagagcagggatgttgtaacatacactgaccaaagggtgggaa
acctacagttggagcagaagctgaatgtcacattatcagctccgaacttataatggtctaaaagtacta
ggttaatgttggaagatgggtgccatttaaagatatcttaaattcaatatttaatttttaatttgacat
tatcctagagttgaatgggtgtttacttaccatgtgctgttcattagaaaatctagatcctacactgccttt
gcgcaaggtagttgctctaataataccaacctgtccagttttggtgggagaaataatgttactgttaag
ttgcacttagtggttattatgtgtaatactgggtattccaaagagagagaaggaaaatgtttgctacacagct
gtgttcttaggttcagaaaaccacaggagtgggacaggagaaccttcaggattcagggtccgattgttg
tgatggccgcaggaggagactgtgaatttgaaactgcatccattgaaaagaaaatccctccacactt
taataattctctccgtgccccatggcagcaagtgttatagcccttgctactcaaagcttaataaaaag
gcagacctgctgaatcataatctgcatcttaacaatatccccagatattgtctgcactttctttttttttt
ctttctttctttcttttttttttggagacagagctctcgctcagtcacccaggctggagtgcagtggcgca
tctcggctcactgcaagctctgactccggggttcacgccattctcctgccttagactcccagtagctg
gcactacaggcgcccgccactacgcccggctaattttttttagtatttttagtagagatgggggtttcaccgt
gtagccaggatggtctcgaatctcctgacctcgtgatccgcgcccattctgggcctcccaaagtgtg
ggattacaggcgtgagccactgcgcccggccaattgtctgcactttcaagtctaagaagcactgtccc
aggaggaaaatcttttttagtctgaggcttctctcttgcaactctcttttttaaaaatatgctgctccttctc
cacctttccctcttcttccgccttttctgtctgcctttactacctccctgaacattcaacttgtagaaga
gttcccttttctctgaattgcattcttcaattcattcattcttttctctctgtctatgggtttcctattttt
gtcgggtttccctcacctcacctccttgttattttttgccaattgttcacatatcactgccctttcagaccca

10

20

30

40

50

tatctagcttctgacccatccactaatccattgccactaatttattcagcatgcccatgccatttattaat
gtaaatatttgcacatacttgttctatcatgccatttttctaccttttaaatgtatatacacagacacat
gtgaatgacatatttactattttaaaggtagaaaaatgtatatcgtggtacaaagtgtacattgagt
atctgtgcccagtttcaagatgagaataagtgtgagagggtgaagcctcatgagtcacgtcacctacacgc
tactgtctttcattccatctgcagtagtgcacacatttgggttagttctccaattgctgtcacattgacat
cgagttggatctgaacagcgtagcctggggagacgaagtattgggtatctttgcttaaatggagtgattta
ctgagagacaaagtgtacatctttaagatcagatagcaagttactgcaccaggagcgcgacctttcctg
ttttgttgttttccctctgtcaaatgccttctggtctccatgaatctctccttccacatatgataaaaatgc
aaagtctcataagcattcacagctcaggaagcctcaggctagttggggagaaaaagactgggaggtttc
cggagggaatgaagtcctctgagcagagagggttaattcatcttgcgtgtaaaaacaaaatagaaaaataagt
tccctcaataagtgaacgtaatacaaaagacaaaatgtgggttggtgccagaggccaggaagaagtctt
gtgagaatagggtgcagagaagagctaggccctggctgagtttaaaccttgacttagtcactgtgggac
tctgggtgagttactccatggattgatggctgggtcatggagataatagtaacctaatccatacaggtag
tgtgagaagtaaatggaatatttcacgttaagtgtttaacgggtgcgtttaaatgctagggtgctattatta
ttaatttttaaatgaactttgccatgttttgtgtcttccctctctgtgtcttcttctttagtatgagccgc
acagcctacacgggtgggagccctgcttctcctcttggggaccctgctgcgggctgctgaaggggaaaaa
gaaagggtcccaagggtgccatccccccgcccagacaaggcccagcacatgactcagagcagactca
gtcgtcccagcagcctggctccaggaaccggggggcggggccaaggggcggggcactgccatgcccg
ggaggagggtgctggagtcacagccaagaggccctgcatgtgacggagcgcgaataacctgaagcgaga
ctggtgcaaaaaccagccgcttaagcagaccatccacgaggaaggctgcaacagtcgcaccatcatc
aaccgcttctgttacggccagtgcaactctttctacatccccaggcacatccggaaggaggaagggttc
ctttcagtcctgctccttctgcaagcccaagaaattcactaccatgatggtcacactcaactgccctga
actacagccacctaccaagaagaagagaggtcacacgtgtgaagcagtgctggtgcatatccatcgatt
tggaattaagccaaatccagggtgcaccagcatgtcctaggaatgcagccccaggaagttccagacct
aaaacaaccagattcttacttggcttaaacctagaggccagaagaacccccagctgcctcctggcagg
agcctgcttgtgctgtagttcgtgtgcatgagtggttgatgggtgcctgtgggtgtttttagacaccagag
aaaacacagtcctctgctagagagcactccctattttgtaaacatatctgctttaatggggatgtaccag
aaaccacctcaccccggtcacatctaaagggggcggggccgtgggtctggttctgactttgtgttttg
tgccctcctggggaccagaatctccttccggaatgaatgttcatggaagaggctcctctgaggggcaag
agacctgttttagtgctgcattcgacatggaaaagtccttttaacctgtgcttgcatcctccttctcct
cctcctcacatccatctcttcttaagttagatgtagtactatgtcagtcataatctcttgtttgccaagggttc
ctaaattaattcacttaacctatgatgcaaatgtttttcattttgtgaagacctccagactctgggagag
gctgggtgtgggcaaggacaagcaggatagtgagtgagaaaggaggggtggagggtgagggccaaat
cagggtccagcaaaagtcagtagggacattgcagaagcttgaaaggccaataccagaacacagggtga
tgcttctgagaaagtcttttctagttatctaacagaacccaagtgaacagaggagaaatgagattgcca
gaaagtgttaactttggcgttgcaatctgctcaaacctaacaccaaactgaaaacataaatactgac
cactcctatgttcggaccacaagcaagttagctaaaccaaactcctctgctttgtccctcaggtgg
aaaagagaggtagtttagaactctctgcatagggggtgggaattaatcaaaaaccgcagaggctgaaa
ttcctaataacctttcctttatcgtgggttatagtcagctcatttccattccactatttcccataatgcttctg
agagccactaacttgattgataaagatcctgcctctgctgagtgtagctgacagtagtctaagatgaga
gagtttagggactactctgttttagcaagagatattttgggggtctttttgttttaactattgtcaggaga
ttgggctaagagagaagacgacgagagtaaggaaataaagggaattgcctctggctagagagtagtta
gggtgttaataacctggtagagatgtaagggatagaccccttcttctttagtgctcactgaggatctgag
gggacctgttaggagagcatagcatcatgatgtattagctgttcatctgctactgggttgatggacat
aactattgttaactattcagttttactggtaggcactgtcctctgattaaacttggcctactggcaatgg
ctacttaggattgatctaaggggccaaagtgcagggtgggtgaactttattgtactttggatttggttaac
ctgttttcttcaagcctgaggttttatatacaaaactcctgaatactctttttgccttgatcttctcagcc
tcctagccaagtcctatgtaatatggaacaaacactgcagacttgagattcagttgccgatcaagg
ctctggcattcagagaacccttgcaactcgagaagctgtttttatttcgtttttgttttgatccagtgctc
tcccatctaacaactaaacaggagccatttcaaggcgggagataattttaaacacccaaaatgttgggt

10

20

30

40

50

ctgattttcaaactttttaaaactcactactgatgattctcacgctaggcgaatttgtccaaacacatagtg
tgtgtgttttgtatacactgtatgacccaccccaaatctttgtattgtccacattctccaacaataaagc
acagagtggatttaattaagcacacaaatgctaaggcagaattttgaggggtgggagagaagaaaagg
gaaagaagctgaaaatgtaaaaccacaccagggaggaaaaatgacattcagaaccagcaaacactg
aatttctcttgttgttttaactctgccacaagaatgcaatttcgttaacggagatgacttaagttggcag
cagtaatcttcttttaggagcttgtaccacagctcttgcacataagtgcagatttggctcaagtaagag
aatttcctcaacactaacttcactgggataatcagcagcgttaactaccctaaaagcatatcactagcca
aagagggaataatctgttcttcttactgtgcctatatattaagactagtacaaatgttggtgtgtcttccaac
tttcattgaaaatgccatatctataccatattttattcagagtcactgatgatgtaatgatataatttttcat
tattatagtagaataatttttatggcaagatatttgtggtcttgatcacatctattaaaataatgccaaaca
ccaaatatgaattttatgatgtacactttgtgcttggcattaaaagaaaaaacacacatcctggaagt
ctgtaagttgtttttgttactgtaggctcttcaaagtttaagagtgttaagtgaanaatctggaggagagg
ataatttccactgtgtggaatgtgaatagttaaagtaagttatggttatttaattgtaattattacttca
aatcctttggtcactgtgatttcaagcatgttttcttttctcctttatatgactttctctgagttgggcaa
agaagaagctgacacaccgtatgttgtagagcttttctgtggtcaggggaaacaaaatcttgaccca
gctgaacatgtcttctcctgagtcagtgctgaatctttatttttaattgaatgttccttaaagggttaaca
tttctaaagcaatattaagaaagactttaaatgttattttggaagacttacgatgcatgtatacaaacga
atagcagataatgatgactagtccacacataaagtccttttaaggagaaaaatctaaaatgaaaagtgg
ataaacagaacatttataagtgatcagttaatgcctaagagtgaagtagttctattgacattcctcaa
gatatttaatatcaactgcattatgtattatgtctgcttaaatcatttaaaaacggcaaagaattatatag
actatgaggtaccttgcgtgttaggaggatgaaaggggagttgatagtcctcataaaactaatttggctt
caagtttcatgaatctgtaactagaatttaattttcaccccaataatgttctatatagcctttgctaaaga
gcaactaataaattaaacctattctttctgtg

10

20

30

40

50

配列番号 37 (ヒトグレムリン-1 ; コード配列)

Atgagccgcacagcctacacgggtgggagccctgcttctcctcttggggaccctgctgccggctgctga
agggaaaaagaaagggtcccaagggtgccatcccccgccagacaaggcccagcacaatgactcaga
gcagactcagtcgccccagcagcctggctccaggaaccggggggcggggccaaggcggggcaactgc
catgccccggggaggaggtgctggagtccagccaagaggccctgcatgtgacggagcgcaataacct
gaagcgagactgggtgcaaaaccagccgcttaagcagaccatccacgaggaaggctgcaacagtcg
caccatcatcaaccgcttctgttacggccagtgcactctttctacatcccagggcacatccggaagga
ggaagggttcctttcagtcctgctccttctgcaagcccaagaaattcactacatgatgggtcacactcaa
ctgccctgaactacagccacctaaccaagaagaagagagtcacacgtgtgaagcagtgctcgttgcatat
ccatcgatttggattaa

【0328】

参考文献

Hingorani, S.R., L. Wang, A.S. Multani, C. Combs, T.B. Deramaudt, R.H. Hruban, et al.

Trp53R172H及びKrasG12Dは協力して染色体不安定性とマウスの広範囲転移性膵管腺がんを促進する (Trp53R172H and KrasG12D cooperate to promote chromosomal instability and widely metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma in mice)

Cancer Cell 2005;7:469-83.

Kobayashi, Y., S. O. Lim and H. Yamaguchi.

がんにおける免疫回避及び免疫チェックポイント阻害剤への耐性に関連する発がんシグナル伝達経路 (Oncogenic signaling pathways associated with immune evasion and resistance to immune checkpoint inhibitors in cancer)

Semin Cancer Biol;2020;65:51-64.

Kozar, I., C. Margue, S. Rothengatter, et al.

耐性への多数の方法：黒色腫細胞が標的化治療を回避する方法 (Many ways to resistance: How melanoma cells evade targeted therapies)

Biochim Biophys Acta Rev Cancer;2019;1871(2):313-322.

Martinelli, E., F. Morgillo, T. Troiani, et al.

EGFR-RAS-RAF経路に対する治療に対するがんの耐性：MEKの役割 (Cancer resistance to therapies against the EGFR-RAS-RAF pathway: The role of MEK)

Cancer Treat Rev;2017;53:61-69.

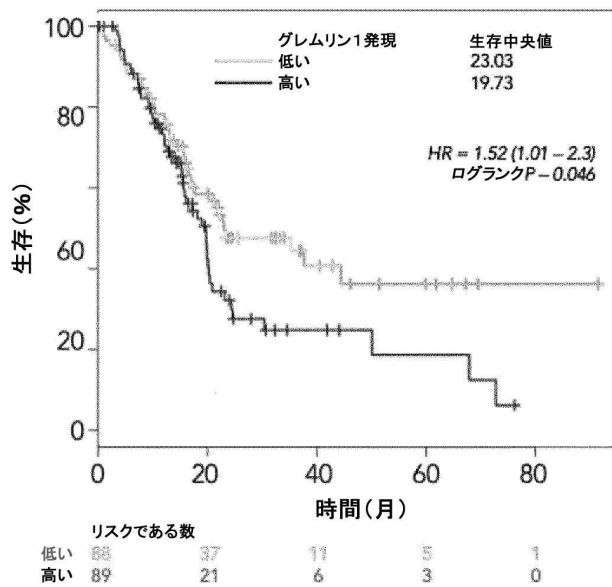
Yu, Y., L. Cheng, B. Yan, et al.

ソニックヘッジホッグシグナル伝達によるグレムリン1の過剰発現は膵臓がんの進行を促進する (Overexpression of Gremlin 1 by sonic hedgehog signaling promotes pancreatic cancer progression)

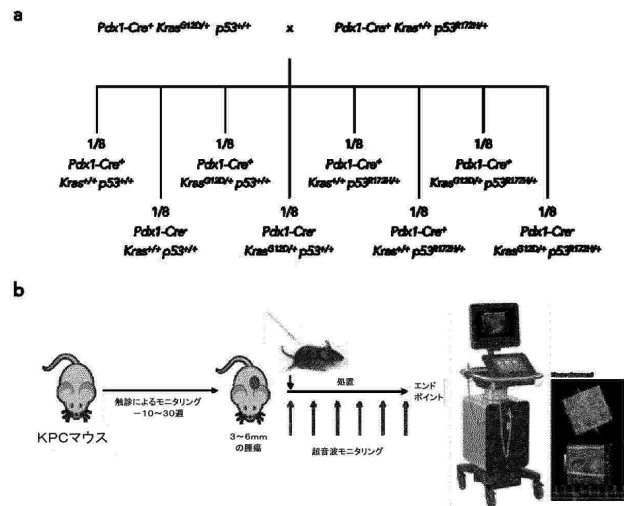
Int J Oncol;2018;53(6):2445-2457).

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

20

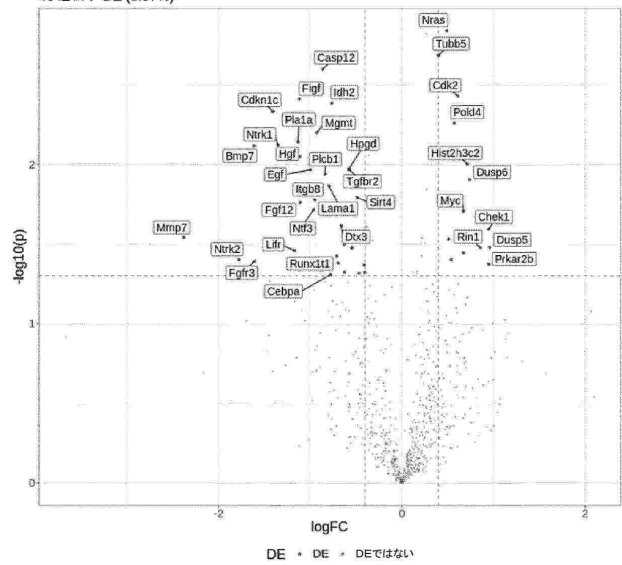
30

40

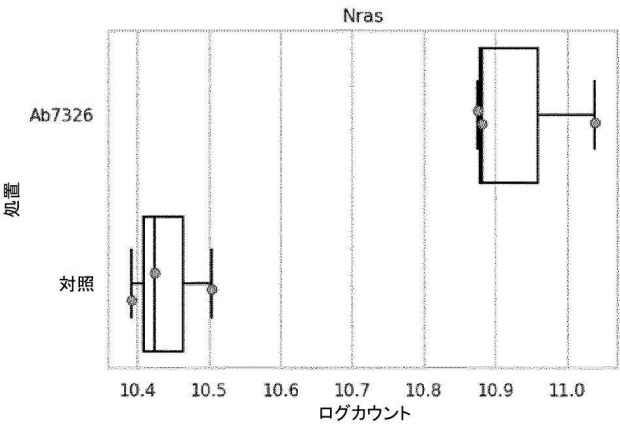
50

【図 3 A】

ボルケーノプロット
Ab7326
46 遺伝子 DE (5.97%)

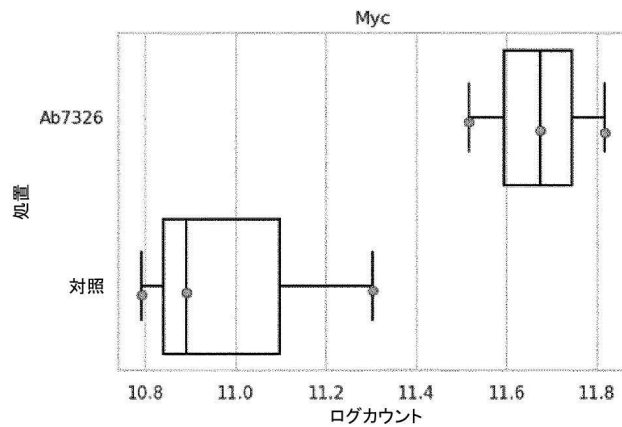


【図 3 B】

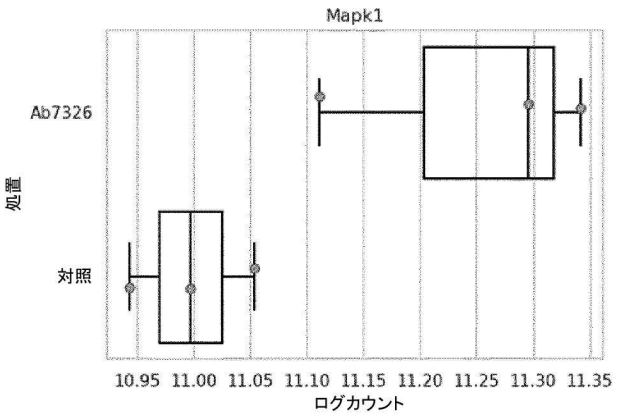


10

【図 3 C】



【図 3 D】

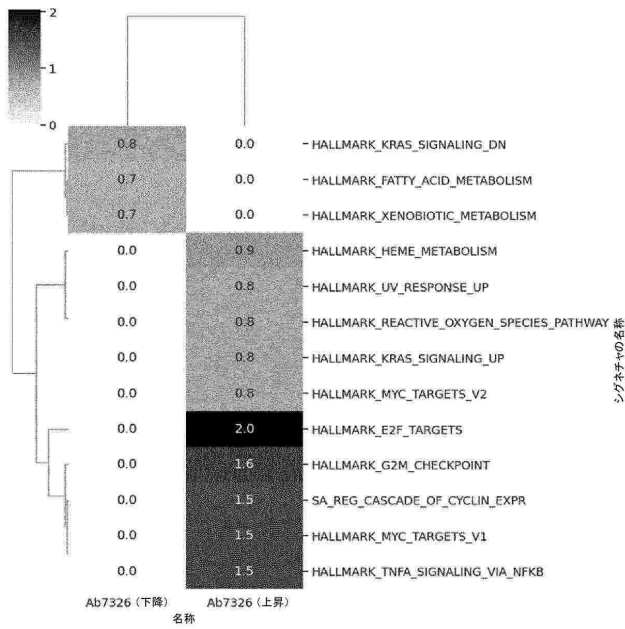


30

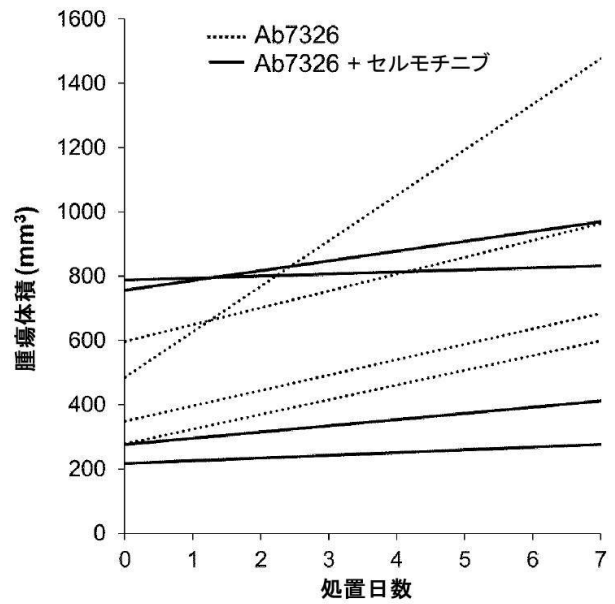
40

50

【図 4】

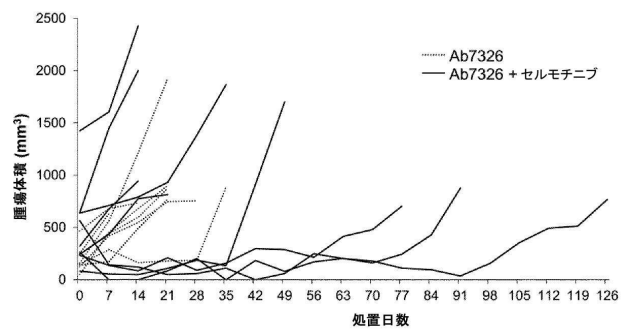


【図 5】

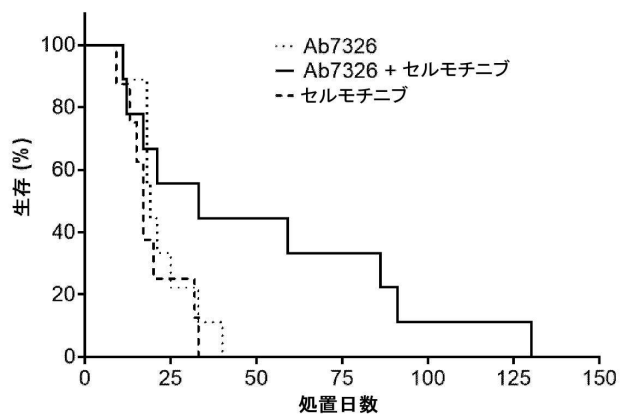


10

【図 6】



【図 7】

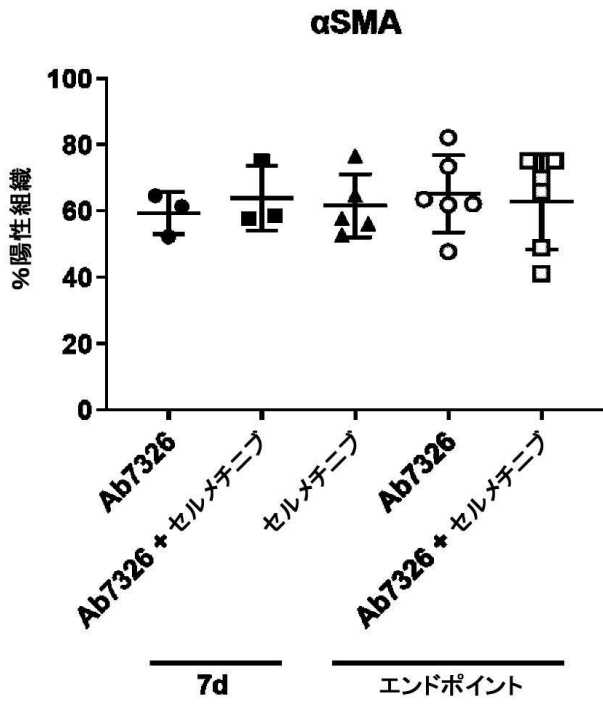


30

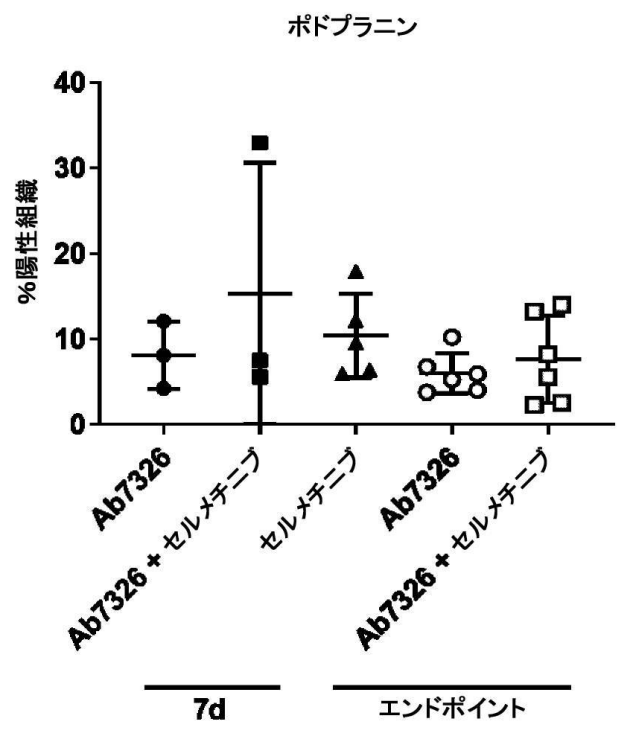
40

50

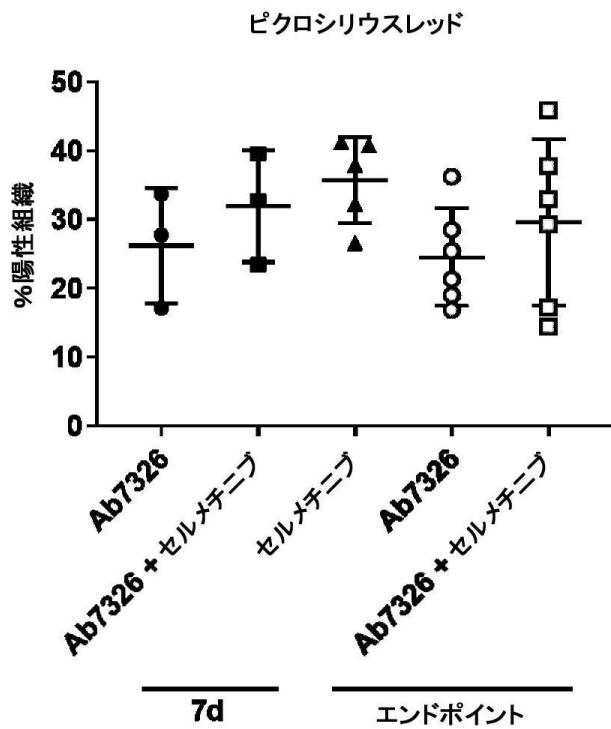
【図 8 - 1】



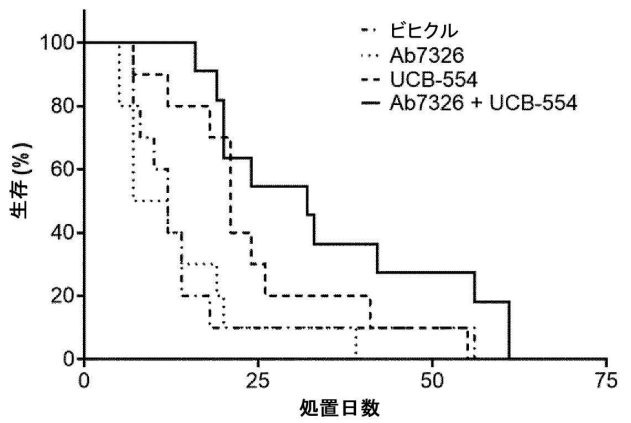
【図 8 - 2】



【図 8 - 3】



【図 9 a】



10

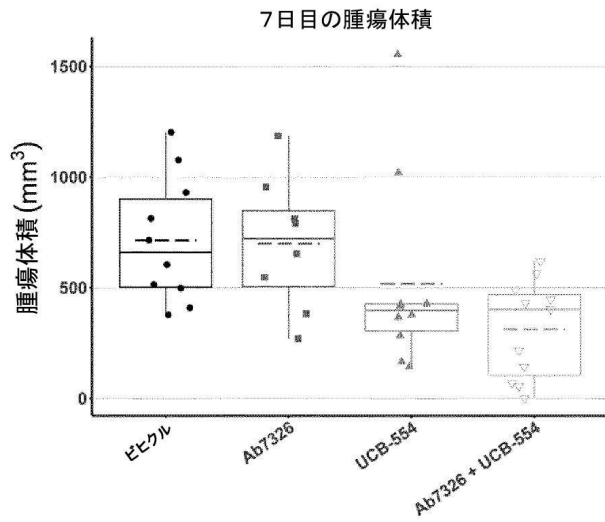
20

30

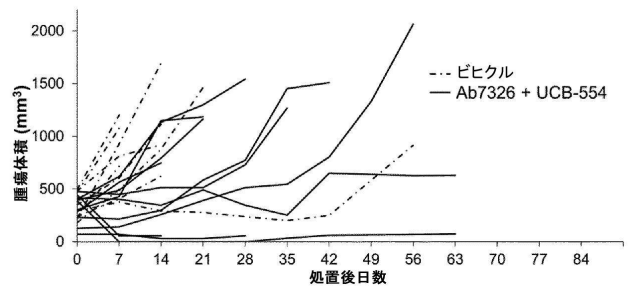
40

50

【図 9 b】

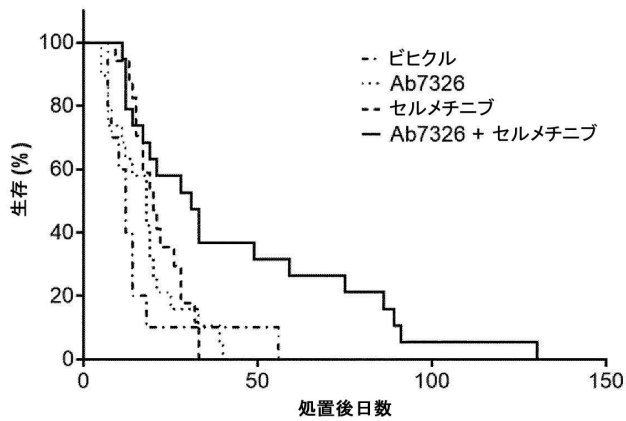


【図 9 c】

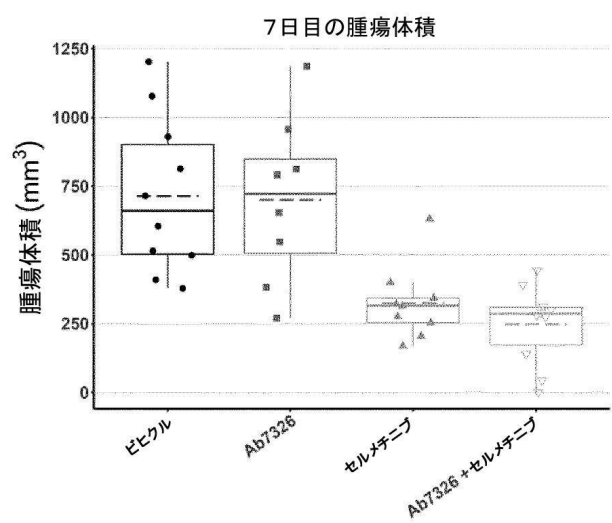


10

【図 10 a】



【図 10 b】



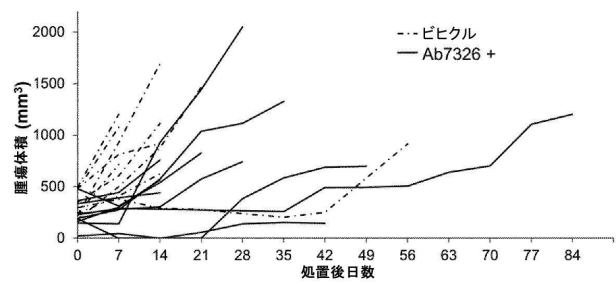
20

30

40

50

【図 10 c】



【配列表】

2025513807000001.xml

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/EP2023/059270
Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/059270

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. **C07K16/22 A61P35/00 A61K31/4184 A61K39/395**
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61P A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/159010 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 2 October 2014 (2014-10-02) cited in the application	1-5, 10-12, 18-20, 22, 23
Y	the whole document in particular, pages 2, 10 and 23	6-9, 13-17, 21, 24-26
Y	----- WO 2019/243801 A1 (UCB BIOPHARMA SRL [BE]; UNIV OXFORD INNOVATION LTD [GB] ET AL.) 26 December 2019 (2019-12-26) cited in the application the whole document in particular, pages 33-35 ----- -/--	6-9, 13-17, 21, 24-26

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 May 2023

Date of mailing of the international search report

05/06/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Pérez-Mato, Isabel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/059270

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2020/010280 A1 (MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER [US]) 9 January 2020 (2020-01-09) the whole document in particular, pages 26-27 -----	13-17
Y	DIÁNA BRAUSWETTER ET AL: "Molecular subtype specific efficacy of MEK inhibitors in pancreatic cancers", PLOS ONE, vol. 12, no. 9, 28 September 2017 (2017-09-28), page e0185687, XP055572028, DOI: 10.1371/journal.pone.0185687 cited in the application the whole document in particular, pages 5-8 -----	13-17
A	CARL-HENRIK HELDIN: "Targeting the PDGF signaling pathway in tumor treatment", CELL COMMUNICATION AND SIGNALING, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 11, no. 1, 20 December 2013 (2013-12-20), page 97, XP021171368, ISSN: 1478-811X, DOI: 10.1186/1478-811X-11-97 the whole document in particular, figure 1 -----	1-5, 10-12, 18-20, 22,23
A	DEGIRMENCI UFUK ET AL: "Targeting Aberrant RAS/RAF/MEK/ERK Signaling for Cancer Therapy", CELLS, vol. 9, no. 1, 13 January 2020 (2020-01-13), page 198, XP093049226, DOI: 10.3390/cells9010198 the whole document -----	1-26
X,P	WO 2022/152290 A1 (SUZHOU TRANSCENTA THERAPEUTICS CO LTD [CN]) 21 July 2022 (2022-07-21) the whole document in particular, pages 2 and 104-106 -----	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2023/059270

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014159010 A1	02-10-2014	AU 2014241442 A1	15-10-2015
		BR 112015021979 A2	29-08-2017
		CA 2904644 A1	02-10-2014
		CL 2015002603 A1	04-03-2016
		CN 105189548 A	23-12-2015
		EA 201591762 A1	30-12-2015
		EP 2970448 A1	20-01-2016
		ES 2898620 T3	08-03-2022
		HK 1220469 A1	05-05-2017
		JP 6581075 B2	25-09-2019
		JP 2016519650 A	07-07-2016
		JP 2019151654 A	12-09-2019
		KR 20150129718 A	20-11-2015
		MX 369574 B	13-11-2019
		PH 12015501865 A1	07-12-2015
		SG 10201707518Y A	30-10-2017
		SG 11201506459P A	29-09-2015
		US 2016024195 A1	28-01-2016
		US 2020157194 A1	21-05-2020
		WO 2014159010 A1	02-10-2014
		ZA 201506113 B	27-07-2016
WO 2019243801 A1	26-12-2019	AU 2019289176 A1	24-12-2020
		BR 112020025661 A2	23-03-2021
		CA 3102743 A1	26-12-2019
		CL 2020003249 A1	09-07-2021
		CN 112533632 A	19-03-2021
		CO 2020015923 A2	10-05-2021
		EP 3806898 A1	21-04-2021
		IL 279347 A	31-01-2021
		JP 2021528400 A	21-10-2021
		KR 20210028191 A	11-03-2021
		SG 11202012312U A	28-01-2021
		US 2021253688 A1	19-08-2021
		WO 2019243801 A1	26-12-2019
WO 2020010280 A1	09-01-2020	US 2021205319 A1	08-07-2021
		WO 2020010280 A1	09-01-2020
WO 2022152290 A1	21-07-2022	TW 202241944 A	01-11-2022
		WO 2022152290 A1	21-07-2022

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/4365
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/7088
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00
A 6 1 K	31/4439(2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	31/5377(2006.01)	A 6 1 K	31/4439
A 6 1 K	31/506 (2006.01)	A 6 1 K	31/5377
A 6 1 K	31/454 (2006.01)	A 6 1 K	31/506
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	A 6 1 K	31/454
		C 0 7 K	16/18

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

ークシャー、スラウ、バス ロード 208、ユーシービー バイオファルマ ユーケー、アイピーディー 気付

(72)発明者 ヴァン デ サンド、ブラム イェルーン

ベルギー国 ビー 1070 ブリュッセル アレ デ ラ レシエルシエ 60、ユーシービー バイオファルマ エスアールエル 気付

(72)発明者 モルトン、ジェニファー パトリシア

英国 ジー 61 1ビーディー グラスゴー、スイッチバック ロード、ガースキューブ エステート、キャンサー リサーチ ユーケー ビートソン インスティテュート 気付

F ターム (参考)

4C084 AA13 AA20 MA02 NA05 ZB26 ZC75
 4C085 AA13 AA14 BB11 BB41 BB43 CC23 EE03
 4C086 AA01 AA02 BC17 BC38 BC39 BC60 CB09 CB27 EA16 GA02
 GA07 GA08 MA02 MA03 MA04 NA05 ZB26 ZC75
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA76 EA20 EA28 FA74