

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-505190

(P2008-505190A)

(43) 公表日 平成20年2月21日(2008.2.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 B 0 2 4
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 B 0 6 5
<b>A 6 1 K 35/12 (2006.01)</b>	A 6 1 K 35/12	4 C 0 5 6
<b>A 6 1 K 35/24 (2006.01)</b>	A 6 1 K 35/24	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 35/32 (2006.01)</b>	A 6 1 K 35/32	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 164 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-527363 (P2007-527363)	(71) 出願人	500334070
(86) (22) 出願日	平成17年5月18日 (2005.5.18)		エンゾー セラピューティクス, インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成19年1月17日 (2007.1.17)		Enzo Therapeutics, Inc.
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/017199		アメリカ合衆国 ニューヨーク 10022, ニューヨーク, 9ティエーエイチ
(87) 国際公開番号	W02005/115354		フロアー, マディソン アベニュー 527, エンゾー バイオケム, インコーポレイテッド内
(87) 国際公開日	平成17年12月8日 (2005.12.8)		C/O Enzo Biochem, Inc., 527 Madison Avenue, 9th Floor, New York, New York 10022, United States
(31) 優先権主張番号	10/849,067		最終頁に続く
(32) 優先日	平成16年5月19日 (2004.5.19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 骨の形成と再構築のための組成物および方法

## (57) 【要約】

W n t 共役受容体 L R P 5 の高骨量 ( H B M ) 変異 ( G 1 7 1 V ) が標準的 W n t シグナル伝達を調節する機序について研究調査した。この変異は、D k k タンパク質 - 1 による拮抗作用を低減させることがすでに分かっており、G 1 7 1 が局在する第 1 の Y W T D 繰り返しドメインが D k k タンパク質による拮抗作用を担っているのではないかと考えられる。しかしながら、本発明者らは、D K K 1 による拮抗作用には、第 1 の繰り返しドメインではなく第 3 の Y W T D 反復配列が必要であることを見いだした。そうではなく、本発明者らは、G 1 7 1 V 変異が細胞表面で L R P 5 と M e s d すなわち L R P 5 / 6 分子のシャペロンタンパク質との相互作用を乱すことを見いだした。細胞表面 L R P 5 分子のレベルが低下すると傍分泌の枠組みでの W n t シグナル伝達も低減されるが、変異は、自己分泌の枠組みで同時発現された W n t の活性に影響するようには見えなかった。骨芽細胞が自己分泌的に標準的 W n t である W n t 7 b を生成し、骨細胞が傍分泌 D k k 1 を生成するという観察結果とあわせて、本発明者らは、G 1 7 1 V 変異が、傍分泌 D k k 1 の標的数を減らして自己分泌 W n t の活性に影響することなく拮抗させることで、骨芽細胞で W n t 活性の増加を引き起こすのではないかと考えている。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と相互作用する膜貫通タンパク質に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 2】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と相互作用する膜貫通タンパク質に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 3】

L R P 5 / 6 受容体系に結合する少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 4】

L R P 5 / 6 受容体系に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 5】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 6】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 7】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログに結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 8】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログに結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 9】

骨の形成または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 10】

骨の形成または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 11】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 12】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 13】

W n t シグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節す

10

20

30

40

50

るための方法。

【請求項 14】

W n t シグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

【請求項 15】

W n t シグナル伝達受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

【請求項 16】

W n t シグナル伝達受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

10

【請求項 17】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを蓄積させるための方法。

【請求項 18】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを蓄積させるための方法。

20

【請求項 19】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害するための方法。

【請求項 20】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害するための方法。

【請求項 21】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを非標準的 W n t 経路で蓄積させるための方法。

30

【請求項 22】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを非標準的 W n t 経路で蓄積させるための方法。

【請求項 23】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害するための方法。

40

【請求項 24】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害するための方法。

【請求項 25】

L R P 5 / 6 受容体系に結合する少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 26】

L R P 5 / 6 受容体系に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少

50

なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項２７】

LRP５受容体またはLRP６受容体に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項２８】

LRP５受容体またはLRP６受容体に結合する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

10

【請求項２９】

LRP５受容体またはLRP６受容体のホモログに結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項３０】

LRP５受容体またはLRP６受容体のホモログに結合する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項３１】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

20

【請求項３２】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項３３】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

30

【請求項３４】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項３５】

Wntシグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

40

【請求項３６】

Wntシグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体に結合する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項３７】

Wntシグナル伝達受容体に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項３８】

50

W n t シグナル伝達受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 39】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

【請求項 40】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を助長する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

10

【請求項 41】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

【請求項 42】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

【請求項 43】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

20

【請求項 44】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で助長する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

【請求項 45】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

30

【請求項 46】

細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

【請求項 47】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 48】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 49】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、または、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質若しくは化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 50】

50

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 51】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

a. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

b. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 52】

LRP5 / 6 受容体系に結合する少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 53】

LRP5 / 6 受容体系に結合する、Wnt タンパク質または Dkk タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

20

【請求項 54】

LRP5 受容体または LRP6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 55】

LRP5 受容体または LRP6 受容体に結合する、Wnt タンパク質または Dkk タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 56】

LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログに結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

30

【請求項 57】

LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログに結合する、Wnt タンパク質または Dkk タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 58】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

40

【請求項 59】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、Wnt タンパク質または Dkk タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 60】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 61】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体に結合する、W

50

n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 6 2】

W n t シグナル伝達経路に關与する受容体または共役受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 6 3】

W n t シグナル伝達経路に關与する受容体または共役受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

10

【請求項 6 4】

W n t シグナル伝達受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 6 5】

W n t シグナル伝達受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

20

【請求項 6 6】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

【請求項 6 7】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を助長する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

【請求項 6 8】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

30

【請求項 6 9】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 7 0】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

40

【請求項 7 1】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で助長する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

【請求項 7 2】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質

50

である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 7 3】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体に結合して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 7 4】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 7 5】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 7 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記組成物が、錠剤、ビル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 8 0】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 5 2 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8 1】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と相互作用する膜貫通タンパク質と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

40

【請求項 8 2】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と相互作用する膜貫通タンパク質と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

【請求項 8 3】

L R P 5 / 6 受容体系と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

50



## 【請求項 8 4】

L R P 5 / 6 受容体系と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 8 5】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 8 6】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

10

## 【請求項 8 7】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 8 8】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログと相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 8 9】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

20

## 【請求項 9 0】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 9 1】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

30

## 【請求項 9 2】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 9 3】

W n t シグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 9 4】

W n t シグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

40

## 【請求項 9 5】

W n t シグナル伝達受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

## 【請求項 9 6】

W n t シグナル伝達受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激、促進または調節するための方法。

50

## 【請求項 97】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを蓄積させるための方法。

## 【請求項 98】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを蓄積させるための方法。

## 【請求項 99】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害するための方法。

10

## 【請求項 100】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害するための方法。

## 【請求項 101】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の天然化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを非標準的 W n t 経路で蓄積させるための方法。

20

## 【請求項 102】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の天然化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンを非標準的 W n t 経路で蓄積させるための方法。

## 【請求項 103】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害するための方法。

## 【請求項 104】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害するための方法。

30

## 【請求項 105】

L R P 5 / 6 受容体系と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

## 【請求項 106】

L R P 5 / 6 受容体系と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

40

## 【請求項 107】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

## 【請求項 108】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

## 【請求項 109】

50

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 1 1 0】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログと相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 1 1 1】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

10

【請求項 1 1 2】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 1 1 3】

骨の刺激、促進、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

20

【請求項 1 1 4】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、D k k タンパク質または W n t 以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 1 1 5】

W n t シグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

30

【請求項 1 1 6】

W n t シグナル伝達経路に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 1 1 7】

W n t シグナル伝達受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

【請求項 1 1 8】

W n t シグナル伝達受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための方法。

40

【請求項 1 1 9】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

【請求項 1 2 0】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンバ

50

ク質である - カテニンの蓄積を助長する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

【請求項121】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

【請求項122】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

10

【請求項123】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的W n t 経路で助長する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

【請求項124】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的W n t 経路で助長する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための方法。

20

【請求項125】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的W n t 経路で阻害する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

【請求項126】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的W n t 経路で阻害する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための方法。

30

【請求項127】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項81～126のいずれか1項に記載の方法。

【請求項128】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項81～126のいずれか1項に記載の方法。

40

【請求項129】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質、化学物質、または、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質若しくは化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項81～126のいずれか1項に記載の方法。

【請求項130】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項81～126

50

のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

a. UNIT Y<sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flex x<sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. C s c o r e<sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、

ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 8 1 ~ 1 2 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

L R P 5 / 6 受容体系と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

10

【請求項 1 3 3】

L R P 5 / 6 受容体系と相互作用する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 3 4】

L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

20

【請求項 1 3 5】

L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体と相互作用する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 3 6】

L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 3 7】

L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログと相互作用する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

30

【請求項 1 3 8】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 3 9】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

40

【請求項 1 4 0】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 4 1】

骨の刺激、強化、調節または再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質またはD k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

50

## 【請求項 1 4 2】

W n t シグナル伝達経路に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 3】

W n t シグナル伝達経路に關与する受容体または共役受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 4】

W n t シグナル伝達受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 5】

W n t シグナル伝達受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 6】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質 - カテニンの蓄積を助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 7】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を助長する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 8】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 4 9】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を阻害する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 5 0】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で助長する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 5 1】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で助長する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷または骨異常を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 5 2】

骨形成または骨再構築に關与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 5 3】

骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体と相互作用して細胞内タンパク質である - カテニンの蓄積を非標準的 W n t 経路で阻害する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において腫瘍または異常増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1 5 4】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 5 5】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 5 6】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 5 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 5 8】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 5 9】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 6 0】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 3 2 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 6 1】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 1 6 2】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 1 6 3】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 1 6 4】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 1 6 5】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 6 6】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 6 7】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 1 6 8】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 1 6 9】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含み、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 7 0】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含み、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 7 1】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含み、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 1 7 2】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含み、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、W n t タンパク質

10

20

30

40

50



または D k k タンパク質以外の外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 173】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 174】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項 175】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 176】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 177】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

【請求項 178】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

【請求項 179】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 180】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、W n t タンパク質または D k k タンパク質以外の少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

【請求項 181】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含み、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 182】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質また

50

は化学物質を含み、LRP5受容体またはLRP6受容体と相互作用する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも1種の外来化合物あるいは、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項183】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含み、LRP5受容体またはLRP6受容体と相互作用する、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項184】

小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含み、LRP5受容体またはLRP6受容体と相互作用する、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の少なくとも1種の外来化合物あるいは、Wntタンパク質またはDkkタンパク質以外の外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項185】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項161～184のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項186】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項161～184のいずれか1項に記載の方法。

【請求項187】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項161～184のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項188】

a. UNITY<sup>TM</sup>プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup>プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup>プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項161～184のいずれか1項に記載の方法。

【請求項189】

LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインに結合する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項190】

LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインに結合する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項191】

LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインに結合する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項192】

50

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 193】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 194】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 195】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 196】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 197】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 198】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 199】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 200】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 201】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 202】

10

20

30

40

50

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 203】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項 204】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 205】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 189 ~ 204 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 206】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 189 ~ 204 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 207】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 189 ~ 204 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 208】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 189 ~ 204 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 209】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項 210】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 211】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 212】

50

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 1 3】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 1 4】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 1 5】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 1 6】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 1 7】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 1 8】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 1 9】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 2 0】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 2 1】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 2 2】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、タンパク質、

10

20

30

40

50

脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項223】

L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の第1のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項224】

L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の第1のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項225】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項209～224のいずれか1項に記載の方法。

【請求項226】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項209～224のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項227】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項209～224のいずれか1項に記載の方法。

【請求項228】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項209～224のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項229】

少なくとも1種のM e s d が、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のL D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項230】

少なくとも1種のM e s d が、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のL D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項231】

少なくとも1種のM e s d が、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のL D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の

50

組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも１種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 3 2】

少なくとも１種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも１種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 3 3】

少なくとも１種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、タンパク質小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項 2 3 4】

少なくとも１種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項 2 3 5】

少なくとも１種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

【請求項 2 3 6】

少なくとも１種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

【請求項 2 3 7】

少なくとも１種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 3 8】

少なくとも１種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成ま

50

たは骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 3 9】

少なくとも 1 種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 4 0】

少なくとも 1 種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 4 1】

少なくとも 1 種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 4 2】

少なくとも 1 種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 4 3】

少なくとも 1 種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 4 4】

少なくとも 1 種の M e s d が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 4 5】

少なくとも 1 種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 2 4 6】

少なくとも 1 種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 2 4 7】

少なくとも 1 種の M e s d が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受

10

20

30

40

50



容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項248】

少なくとも1種のMesdが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項249】

少なくとも1種のMesdが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項250】

少なくとも1種のMesdが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項251】

少なくとも1種のMesdが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

【請求項252】

少なくとも1種のMesdが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

【請求項253】

少なくとも1種のMesdがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築(bone remodelling)を刺激または促進するための方法。

【請求項254】

少なくとも1種のMesdがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインと

50

相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 つの外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 255】

少なくとも 1 種の Mesd が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 256】

少なくとも 1 種の Mesd が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 257】

少なくとも 1 種の Mesd が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 258】

少なくとも 1 種の Mesd が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項 259】

少なくとも 1 種の Mesd が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 260】

少なくとも 1 種の Mesd が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項 261】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 229 ~ 260 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 262】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 229 ~ 260 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 263】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 229 ~ 260 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

## 【請求項 264】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 229 ~ 260 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 265】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 229 ~ 260 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

## 【請求項 266】

少なくとも 1 種の LRP5 シャペロンまたは LRP6 シャペロンが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 267】

少なくとも 1 種の LRP5 シャペロンまたは LRP6 シャペロンが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 268】

少なくとも 1 種の LRP5 シャペロンまたは LRP6 シャペロンが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

## 【請求項 269】

少なくとも 1 種の LRP5 シャペロンまたは LRP6 シャペロンが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 270】

少なくとも 1 つの LRP5 シャペロンまたは LRP6 シャペロンが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

## 【請求項 271】

少なくとも 1 種の LRP5 シャペロンまたは LRP6 シャペロンが、LRP5 受容体ま

50

たはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項272】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項273】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項274】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項275】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項276】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項277】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

【請求項278】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

50

## 【請求項 279】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 280】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

## 【請求項 281】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンがLRP5受容体またはLRP6受容体の第1のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 282】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 283】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

## 【請求項 284】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

## 【請求項 285】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 286】

50

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンが、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のＬＤＬ受容体反復配列、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の少なくとも１つのドメイン、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項２８７】

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンが、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のＬＤＬ受容体反復配列、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の少なくとも１つのドメイン、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項２８８】

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンが、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のＬＤＬ受容体反復配列、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の少なくとも１つのドメイン、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

【請求項２８９】

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンが、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のＬＤＬ受容体反復配列、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の少なくとも１つのドメイン、ＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項２９０】

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンがＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の第１のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項２９１】

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンがＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の第１のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項２９２】

少なくとも１種のＬＲＰ５シャペロンまたはＬＲＰ６シャペロンがＬＲＰ５受容体またはＬＲＰ６受容体の第１のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも１種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

50

## 【請求項 293】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンが L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 294】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンが L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

## 【請求項 295】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンが L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 296】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンが L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

## 【請求項 297】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンが L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

## 【請求項 298】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 266 ~ 297 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 299】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 266 ~ 297 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【請求項 300】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 266 ~ 297 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 301】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

50

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 2 6 6 ~ 2 9 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 0 2】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 0 3】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 3 0 4】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 0 5】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 0 6】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

【請求項 3 0 7】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項 3 0 8】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 0 9】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

【請求項 3 1 0】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 1 1】

少なくとも 1 種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少

50



なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 1 2】

少なくとも１種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも１種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 1 3】

少なくとも１種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも１種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 3 1 4】

少なくとも１種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 1 5】

少なくとも１種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項 3 1 6】

少なくとも１種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 1 7】

少なくとも１種の M e s d と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項 3 1 8】

少なくとも１種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項 3 1 9】

少なくとも１種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 2 0】

少なくとも１種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、L R P 5 受

50

容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 2 1】

少なくとも 1 種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 2 2】

少なくとも 1 種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 2 3】

少なくとも 1 種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 2 4】

少なくとも 1 種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 2 5】

少なくとも 1 種の M e s d と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 2 6】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 2 7】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、

10

20

30

40

50

骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 2 8】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 2 9】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 3 0】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 3 1】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 3 2】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、タンパク質小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 3 3】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 3 4】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 3 3 5】

少なくとも 1 種の L R P 5 シャペロンまたは L R P 6 シャペロンと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 3 3 6】

10

20

30

40

50

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項337】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項338】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

【請求項339】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項340】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項341】

少なくとも1種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項342】

50

前記外来化合物が、少なくとも１種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項３０２～３４１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３４３】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項３０２～３４１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３４４】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項３０２～３４１のいずれか１項に記載の方法。

10

【請求項３４５】

a. UNITY<sup>TM</sup>プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup>プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup>プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項３０２～３４１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３４６】

LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも１つのドメインに結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

20

【請求項３４７】

LRP5受容体またはLRP6受容体の第１のドメインに結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項３４８】

少なくとも１種のMesdが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも１つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

30

【請求項３４９】

少なくとも１種のMesdが、LRP5またはLRP6受容体の第１のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項３５０】

少なくとも１種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも１つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

40

【請求項３５１】

少なくとも１種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンが、LRP5受容体またはLRP6受容体の第１のドメインに結合または相互作用する部位に結合する、少なく

50

とも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項３５２】

少なくとも１種のMesdとLRP5受容体またはLRP6受容体との相互作用または結合を乱す、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項３５３】

少なくとも１種のMesdと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも１つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用または結合を乱す、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

10

【請求項３５４】

少なくとも１種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンとLRP5受容体またはLRP6受容体との相互作用または結合を乱す、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項３５５】

少なくとも１種のLRP5シャペロンまたはLRP6シャペロンと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも１つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用または結合を乱す、少なくとも１種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

20

【請求項３５６】

前記外来化合物が、少なくとも１種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項３４６～３５５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３５７】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項３４６～３５５のいずれか１項に記載の方法。

30

【請求項３５８】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項３４６～３５５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３５９】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項３４６～３５５のいずれか１項に記載の方法。

40

【請求項３６０】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項３４６～３５５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３６１】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項３４６～３５５のいずれか１項に記載の方法。

50

## 【請求項 3 6 2】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 3 4 6 ~ 3 5 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 3 6 3】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

## 【請求項 3 6 4】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 3 6 5】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 3 6 6】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 3 6 7】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 3 6 8】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

## 【請求項 3 6 9】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

## 【請求項 3 7 0】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 3 7 1】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

50

## 【請求項 372】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 373】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 374】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

## 【請求項 375】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 376】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 377】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 378】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

## 【請求項 379】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 363 ~ 378 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 380】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 363 ~ 378 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【請求項 381】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 363 ~ 378 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 382】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリ

50



ーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 363 ~ 378 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 383】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項 384】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 385】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 383 または 384 に記載の方法。

20

【請求項 386】

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 383 または 384 に記載の方法。

【請求項 387】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15 または Wnt16 を含む、請求項 386 に記載の方法。

【請求項 388】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 383 または 384 に記載の方法。

30

【請求項 389】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve-leed タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 388 に記載の方法。

【請求項 390】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 383 または 384 に記載の方法。

40

【請求項 391】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 392】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL

50

受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項393】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項391または392に記載の方法。

【請求項394】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項391または392に記載の方法。

【請求項395】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項394に記載の方法。

【請求項396】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項391または392に記載の方法。

【請求項397】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dishveleledタンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項396に記載の方法。

【請求項398】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項391または392に記載の方法。

【請求項399】

少なくとも1種のDkkタンパク質が、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項400】

少なくとも1種のDkkタンパク質が、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項401】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項399または400に記載の方法。

【請求項402】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項399または400に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 403】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt 1、Wnt 2、Wnt 3a、Wnt 4a、Wnt 5a、Wnt 5b、Wnt 6、Wnt 7a、Wnt 7b、Wnt 7c、Wnt 8、Wnt 8a、Wnt 8c、Wnt 10a、Wnt 10b、Wnt 11、Wnt 14、Wnt 15 または Wnt 16 を含む、請求項 402 に記載の方法。

## 【請求項 404】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 399 または 400 に記載の方法。

## 【請求項 405】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve1ed タンパク質または sFRP 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 404 に記載の方法。

## 【請求項 406】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 399 または 400 に記載の方法。

## 【請求項 407】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質が、LRP 5 受容体または LRP 6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP 5 受容体または LRP 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP 5 受容体または LRP 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 408】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質が、LRP 5 受容体または LRP 6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP 5 受容体または LRP 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP 5 受容体または LRP 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 409】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk 1、Dkk 2、Dkk 3、Dkk 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 407 または 408 に記載の方法。

## 【請求項 410】

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 407 または 408 に記載の方法。

## 【請求項 411】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt 1、Wnt 2、Wnt 3a、Wnt 4a、Wnt 5a、Wnt 5b、Wnt 6、Wnt 7a、Wnt 7b、Wnt 7c、Wnt 8、Wnt 8a、Wnt 8c、Wnt 10a、Wnt 10b、Wnt 11、Wnt 14、Wnt 15 または Wnt 16 を含む、請求項 410 に記載の方法。

## 【請求項 412】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 407 または 408 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 4 1 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 1 2 に記載の方法。

## 【請求項 4 1 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 0 7 または 4 0 8 に記載の方法。

10

## 【請求項 4 1 5】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 3 8 3、3 8 4、3 9 1、3 9 2、3 9 9、4 0 0、4 0 7 または 4 0 8 に記載の方法。

## 【請求項 4 1 6】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 3 8 3、3 8 4、3 9 1、3 9 2、3 9 9、4 0 0、4 0 7 または 4 0 8 に記載の方法。

## 【請求項 4 1 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 3 8 3、3 8 4、3 9 1、3 9 2、3 9 9、4 0 0、4 0 7 または 4 0 8 に記載の方法。

20

## 【請求項 4 1 8】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 3 8 3、3 8 4、3 9 1、3 9 2、3 9 9、4 0 0、4 0 7 または 4 0 8 に記載の方法。

30

## 【請求項 4 1 9】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 4 2 0】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 4 2 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 1 9 または 4 2 0 に記載の方法。

40

## 【請求項 4 2 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 1 9 または 4 2 0 に記載の方法。

## 【請求項 4 2 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 4 2 2 に記載の方法。

## 【請求項 4 2 4】

50

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 1 9 または 4 2 0 に記載の方法。

【請求項 4 2 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 2 4 に記載の方法。

【請求項 4 2 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 1 9 または 4 2 0 に記載の方法。

【請求項 4 2 7】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 4 2 8】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 4 2 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 2 7 または 4 2 8 に記載の方法。

【請求項 4 3 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 2 7 または 4 2 8 に記載の方法。

【請求項 4 3 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 4 3 0 に記載の方法。

【請求項 4 3 2】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 2 7 または 4 2 8 に記載の方法。

【請求項 4 3 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 3 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 2 7 または 4 2 8 に記載の方法。

【請求項 4 3 5】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 4 3 6】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 4 3 7】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 3 5 または 4 3 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 3 8】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 3 5 または 4 3 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 3 9】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 4 3 8 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 0】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 3 5 または 4 3 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 1】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 4 0 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 2】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 3 5 または 4 3 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 3】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 4 4 4】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 4 4 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 4 4 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 4 4 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 4 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 1】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 1 9、4 2 0、4 2 7、4 2 8、4 3 5、4 3 6、4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 2】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 4 1 9、4 2 0、4 2 7、4 2 8、4 3 5、4 3 6、4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 3】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 1 9、4 2 0、4 2 7、4 2 8、4 3 5、4 3 6、4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 4】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、  
ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 4 1 9、4 2 0、4 2 7、4 2 8、4 3 5、4 3 6、4 4 3 または 4 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 5】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 4 5 6】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 4 5 7】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 5 5 または 4 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 8】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 5 5 または 4 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 5 9】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 4 5 8 に記載の方法。

10

## 【請求項 4 6 0】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 5 5 または 4 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 6 1】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 6 0 に記載の方法。

20

## 【請求項 4 6 2】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 5 5 または 4 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 6 3】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

## 【請求項 4 6 4】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 4 6 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 6 3 または 4 6 4 に記載の方法。

40

## 【請求項 4 6 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 6 3 または 4 6 4 に記載の方法。

## 【請求項 4 6 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 4 6 6 に記載の方法。

## 【請求項 4 6 8】

50



前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 6 3 または 4 6 4 に記載の方法。

【請求項 4 6 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 6 8 に記載の方法。

【請求項 4 7 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 6 3 または 4 6 4 に記載の方法。

【請求項 4 7 1】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 4 7 2】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 4 7 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 7 1 または 4 7 2 に記載の方法。

【請求項 4 7 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 7 1 または 4 7 2 に記載の方法。

【請求項 4 7 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 4 7 4 に記載の方法。

【請求項 4 7 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 7 1 または 4 7 2 に記載の方法。

【請求項 4 7 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 7 6 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 478】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 471 または 472 に記載の方法。

## 【請求項 479】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

## 【請求項 480】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 481】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 479 または 480 に記載の方法。

## 【請求項 482】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 479 または 480 に記載の方法。

## 【請求項 483】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 482 に記載の方法。

30

## 【請求項 484】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 479 または 480 に記載の方法。

## 【請求項 485】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 484 に記載の方法。

40

## 【請求項 486】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 479 または 480 に記載の方法。

## 【請求項 487】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 455、456、463、464、471、472、479 または 480 に記載の方法。

## 【請求項 488】

50

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項455、456、463、464、471、472、479または480に記載の方法。

【請求項489】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項455、456、463、464、471、472、479または480に記載の方法。

【請求項490】

a. UNITY<sup>TM</sup>プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup>プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup>プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項455、456、463、464、471、472、479または480に記載の方法。

【請求項491】

少なくとも1種のDkkタンパク質がLRP5受容体またはLRP6受容体の第3のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項492】

少なくとも1種のDkkタンパク質がLRP5受容体またはLRP6受容体の第3のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項493】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項491または492に記載の方法。

【請求項494】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項491または492に記載の方法。

【請求項495】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項494に記載の方法。

【請求項496】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項491または492に記載の方法。

【請求項497】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dishveiledタンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項496に記載の方法。

【請求項498】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項491または492に記載の方法。

【請求項499】

少なくとも1種のDkkタンパク質がLRP5受容体またはLRP6受容体の第3のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも1種の有機外来化合物または無機

10

20

30

40

50

外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 5 0 0】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 5 0 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 9 9 または 5 0 0 に記載の方法。

【請求項 5 0 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 4 9 9 または 5 0 0 に記載の方法。

【請求項 5 0 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 5 0 2 に記載の方法。

【請求項 5 0 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 4 9 9 または 5 0 0 に記載の方法。

【請求項 5 0 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 0 4 に記載の方法。

【請求項 5 0 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 4 9 9 または 5 0 0 に記載の方法。

【請求項 5 0 7】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 5 0 8】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 5 0 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 0 7 または 5 0 8 に記載の方法。

【請求項 5 1 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 5 0 7 または 5 0 8 に記載の方法。

【請求項 5 1 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t

10

20

30

40

50

5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6を含む、請求項 5 1 0 に記載の方法。

【請求項 5 1 2】

前記 D k k タンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項 5 0 7 または 5 0 8 に記載の方法。

【請求項 5 1 3】

前記W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質またはs F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 1 2 に記載の方法。

10

【請求項 5 1 4】

前記D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログを含む、請求項 5 0 7 または 5 0 8 に記載の方法。

【請求項 5 1 5】

少なくとも1種のD k k タンパク質がL R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の第3のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

【請求項 5 1 6】

少なくとも1種のD k k タンパク質がL R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の第3のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項 5 1 7】

前記D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 1 8】

前記D k k タンパク質がW n t アンタゴニストを含む、請求項 5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 1 9】

前記W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6を含む、請求項 5 1 8 に記載の方法。

40

【請求項 5 2 0】

前記D k k タンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項 5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 2 1】

前記W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質またはs F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項

50

5 2 0 に記載の方法。

【請求項 5 2 2】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 2 3】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 9 1、4 9 2、4 9 9、5 0 0、5 0 7、5 0 8、5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 2 4】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 4 9 1、4 9 2、4 9 9、5 0 0、5 0 7、5 0 8、5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 2 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 4 9 1、4 9 2、4 9 9、5 0 0、5 0 7、5 0 8、5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 2 6】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 4 9 1、4 9 2、4 9 9、5 0 0、5 0 7、5 0 8、5 1 5 または 5 1 6 に記載の方法。

【請求項 5 2 7】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 5 2 8】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 5 2 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 2 7 または 5 2 8 に記載の方法。

【請求項 5 3 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 5 2 7 または 5 2 8 に記載の方法。

【請求項 5 3 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 5 3 0 に記載の方法。

【請求項 5 3 2】

10

20

30

40

50

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 527 または 528 に記載の方法。

【請求項 533】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve1 ed タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 532 に記載の方法。

【請求項 534】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 527 または 528 に記載の方法。

【請求項 535】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 536】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 537】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 535 または 536 に記載の方法。

【請求項 538】

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 535 または 536 に記載の方法。

【請求項 539】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15 または Wnt16 を含む、請求項 538 に記載の方法。

【請求項 540】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 535 または 536 に記載の方法。

【請求項 541】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve1 ed タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 540 に記載の方法。

【請求項 542】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 535 または 536 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 5 4 3】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 5 4 4】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 5 4 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 4 3 または 5 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 4 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 5 4 3 または 5 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 4 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 5 4 6 に記載の方法。

## 【請求項 5 4 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 5 4 3 または 5 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 4 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 5 5 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 5 4 3 または 5 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 5 5 1】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、

10

20

30

40

50



外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項552】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項553】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項551または552に記載の方法。

【請求項554】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項551または552に記載の方法。

【請求項555】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項555に記載の方法。

20

【請求項556】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項551または552に記載の方法。

【請求項557】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish-eve1edタンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項556に記載の方法。

30

【請求項558】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項551または552に記載の方法。

【請求項559】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項527、528、535、536、543、544、551または552に記載の方法。

40

【請求項560】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項527、528、535、536、543、544、551または552に記載の方法。

【請求項561】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項527、528、535、536、543、544、551または552に記載の方法。

【請求項562】

50

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 527、528、535、536、543、544、551 または 552 に記載の方法。

【請求項 563】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項 564】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 565】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 563 または 564 に記載の方法。

【請求項 566】

20

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 563 または 564 に記載の方法。

【請求項 567】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15 または Wnt16 を含む、請求項 566 に記載の方法。

【請求項 568】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 563 または 564 に記載の方法。

30

【請求項 569】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve1 iled タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 568 に記載の方法。

【請求項 570】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 563 または 564 に記載の方法。

40

【請求項 571】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 572】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

50

## 【請求項 573】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 571 または 572 に記載の方法。

## 【請求項 574】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 571 または 572 に記載の方法。

## 【請求項 575】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 574 に記載の方法。

10

## 【請求項 576】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 571 または 572 に記載の方法。

## 【請求項 577】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 576 に記載の方法。

20

## 【請求項 578】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 571 または 572 に記載の方法。

## 【請求項 579】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

## 【請求項 580】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 581】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 579 または 580 に記載の方法。

40

## 【請求項 582】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 579 または 580 に記載の方法。

## 【請求項 583】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 582 に記載の方法。

## 【請求項 584】

50

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 5 7 9 または 5 8 0 に記載の方法。

【請求項 5 8 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 8 4 に記載の方法。

【請求項 5 8 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 5 7 9 または 5 8 0 に記載の方法。

【請求項 5 8 7】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 5 8 8】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合する部位に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 5 8 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

【請求項 5 9 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

【請求項 5 9 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 5 9 0 に記載の方法。

【請求項 5 9 2】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

【請求項 5 9 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 9 2 に記載の方法。

【請求項 5 9 4】

10

20

30

40

50

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

【請求項 5 9 5】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 6 3、5 6 4、5 7 1、5 7 2、5 7 9、5 8 0、5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

【請求項 5 9 6】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 5 6 3、5 6 4、5 7 1、5 7 2、5 7 9、5 8 0、5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

10

【請求項 5 9 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 6 3、5 6 4、5 7 1、5 7 2、5 7 9、5 8 0、5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

【請求項 5 9 8】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 5 6 3、5 6 4、5 7 1、5 7 2、5 7 9、5 8 0、5 8 7 または 5 8 8 に記載の方法。

20

【請求項 5 9 9】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

【請求項 6 0 0】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 6 0 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 9 9 または 6 0 0 に記載の方法。

【請求項 6 0 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 5 9 9 または 6 0 0 に記載の方法。

40

【請求項 6 0 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 0 2 に記載の方法。

【請求項 6 0 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 5 9 9 または 6 0 0 に記載の方法。

50

## 【請求項 605】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eveled タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 604 に記載の方法。

## 【請求項 606】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 599 または 600 に記載の方法。

10

## 【請求項 607】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 608】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 609】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 607 または 608 に記載の方法。

## 【請求項 610】

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 607 または 608 に記載の方法。

30

## 【請求項 611】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15 または Wnt16 を含む、請求項 610 に記載の方法。

## 【請求項 612】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 607 または 608 に記載の方法。

## 【請求項 613】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eveled タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 612 に記載の方法。

40

## 【請求項 614】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 607 または 608 に記載の方法。

## 【請求項 615】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タ

50

ンパク質のホモログが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項616】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項617】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項615または616に記載の方法。

20

【請求項618】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項615または616に記載の方法。

【請求項619】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項618に記載の方法。

【請求項620】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項615または616に記載の方法。

30

【請求項621】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dishlevelタンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項620に記載の方法。

【請求項622】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項615または616に記載の方法。

40

【請求項623】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログが、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

50

## 【請求項 6 2 4】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

## 【請求項 6 2 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 2 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 2 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 6 2 6 に記載の方法。

20

## 【請求項 6 2 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 2 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 2 8 に記載の方法。

30

## 【請求項 6 3 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 3 1】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 9 9、6 0 0、6 0 7、6 0 8、6 1 5、6 1 6、6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 3 2】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 5 9 9、6 0 0、6 0 7、6 0 8、6 1 5、6 1 6、6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

40

## 【請求項 6 3 3】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 9 9、6 0 0、6 0 7、6 0 8、6 1 5、6 1 6、6 2 3 または 6 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 3 4】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

50



b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 599、600、607、608、615、616、623 または 624 に記載の方法。

【請求項 635】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 636】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 637】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 635 または 636 に記載の方法。

【請求項 638】

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 635 または 636 に記載の方法。

【請求項 639】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15 または Wnt16 を含む、請求項 638 に記載の方法。

【請求項 640】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 635 または 636 に記載の方法。

【請求項 641】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve1ed タンパク質または sFRP3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 640 に記載の方法。

【請求項 642】

前記 Dkk タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログを含む、請求項 635 または 636 に記載の方法。

【請求項 643】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 644】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または Dkk タンパク質のホモログが、LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 645】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任

10

20

30

40

50

意の組み合わせを含む、請求項 6 4 3 または 6 4 4 に記載の方法。

【請求項 6 4 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 4 3 または 6 4 4 に記載の方法。

【請求項 6 4 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 4 6 に記載の方法。

【請求項 6 4 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 4 3 または 6 4 4 に記載の方法。

【請求項 6 4 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 4 8 に記載の方法。

【請求項 6 5 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 4 3 または 6 4 4 に記載の方法。

【請求項 6 5 1】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 6 5 2】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 6 5 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 5 1 または 6 5 2 に記載の方法。

【請求項 6 5 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 5 1 または 6 5 2 に記載の方法。

【請求項 6 5 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 5 4 に記載の方法。

【請求項 6 5 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 5 1 または 6 5 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 6 5 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 6 5 8】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 5 1 または 6 5 2 に記載の方法。

10

## 【請求項 6 5 9】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 6 6 0】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

## 【請求項 6 6 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

## 【請求項 6 6 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

30

## 【請求項 6 6 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 6 2 に記載の方法。

## 【請求項 6 6 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

40

## 【請求項 6 6 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 6 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 6 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

50

## 【請求項 6 6 7】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 3 5、6 3 6、6 4 3、6 4 4、6 5 1、6 5 2、6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

## 【請求項 6 6 8】

前記外来化合物が、NCI 3 6 6 2 1 8、NCI 8 6 4 2、NCI 1 0 6 1 6 4、NCI 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 6 3 5、6 3 6、6 4 3、6 4 4、6 5 1、6 5 2、6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

## 【請求項 6 6 9】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 3 5、6 3 6、6 4 3、6 4 4、6 5 1、6 5 2、6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

10

## 【請求項 6 7 0】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 6 3 5、6 3 6、6 4 3、6 4 4、6 5 1、6 5 2、6 5 9 または 6 6 0 に記載の方法。

20

## 【請求項 6 7 1】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質と LRP 5 受容体または LRP 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 6 7 2】

少なくとも 1 種の Dkk タンパク質と LRP 5 受容体または LRP 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 6 7 3】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk 1、Dkk 2、Dkk 3、Dkk 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 7 1 または 6 7 2 に記載の方法。

30

## 【請求項 6 7 4】

前記 Dkk タンパク質が Wnt アンタゴニストを含む、請求項 6 7 1 または 6 7 2 に記載の方法。

## 【請求項 6 7 5】

前記 Wnt アンタゴニストが、Wnt 1、Wnt 2、Wnt 3 a、Wnt 4 a、Wnt 5 a、Wnt 5 b、Wnt 6、Wnt 7 a、Wnt 7 b、Wnt 7 c、Wnt 8、Wnt 8 a、Wnt 8 c、Wnt 10 a、Wnt 10 b、Wnt 11、Wnt 14、Wnt 15 または Wnt 16 を含む、請求項 6 7 4 に記載の方法。

## 【請求項 6 7 6】

前記 Dkk タンパク質が Wnt インヒビターを含む、請求項 6 7 1 または 6 7 2 に記載の方法。

40

## 【請求項 6 7 7】

前記 Wnt インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkk タンパク質、crescent タンパク質、cerebrus タンパク質、axin タンパク質、Frzb タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、dish-eve1 タンパク質または sFRP 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 7 6 に記載の方法。

## 【請求項 6 7 8】

50

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 7 1 または 6 7 2 に記載の方法。

【請求項 6 7 9】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 6 8 0】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 6 8 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 7 9 または 6 8 0 に記載の方法。

【請求項 6 8 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 7 9 または 6 8 0 に記載の方法。

【請求項 6 8 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 8 2 に記載の方法。

20

【請求項 6 8 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 7 9 または 6 8 0 に記載の方法。

【請求項 6 8 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 8 4 に記載の方法。

30

【請求項 6 8 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 7 9 または 6 8 0 に記載の方法。

【請求項 6 8 7】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項 6 8 8】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 6 8 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 8 7 または 6 8 8 に記載の方法。

【請求項 6 9 0】

50

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 8 7 または 6 8 8 に記載の方法。

【請求項 6 9 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 9 0 に記載の方法。

【請求項 6 9 2】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 8 7 または 6 8 8 に記載の方法。

10

【請求項 6 9 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 9 2 に記載の方法。

【請求項 6 9 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 6 8 7 または 6 8 8 に記載の方法。

20

【請求項 6 9 5】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 6 9 6】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項 6 9 7】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 6 9 5 または 6 9 6 に記載の方法。

【請求項 6 9 8】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 6 9 5 または 6 9 6 に記載の方法。

40

【請求項 6 9 9】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 6 9 8 に記載の方法。

【請求項 7 0 0】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 6 9 5 または 6 9 6 に記載の方法。

【請求項 7 0 1】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s

50

c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質またはs F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項700に記載の方法。

【請求項702】

前記D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログを含む、請求項695または696に記載の方法。

【請求項703】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項671、672、679、680、687、688、695または696に記載の方法。

10

【請求項704】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項671、672、679、680、687、688、695または696に記載の方法。

【請求項705】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項671、672、679、680、687、688、695または696に記載の方法。

20

【請求項706】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項671、672、679、680、687、688、695または696に記載の方法。

【請求項707】

少なくとも1種のD k k タンパク質とL R P 5 受容体またはL R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

【請求項708】

少なくとも1種のD k k タンパク質とL R P 5 受容体またはL R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項709】

前記D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項707または708に記載の方法。

【請求項710】

前記D k k タンパク質がW n t アンタゴニストを含む、請求項707または708に記載の方法。

40

【請求項711】

前記W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6 を含む、請求項710に記載の方法。

【請求項712】

前記D k k タンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項707または708に記載の方法。

50

## 【請求項 7 1 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 1 2 に記載の方法。

## 【請求項 7 1 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 0 7 または 7 0 8 に記載の方法。

10

## 【請求項 7 1 5】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 7 1 6】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 7 1 7】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 1 5 または 7 1 6 に記載の方法。

20

## 【請求項 7 1 8】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 1 5 または 7 1 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 1 9】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 1 8 に記載の方法。

## 【請求項 7 2 0】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 1 5 または 7 1 6 に記載の方法。

30

## 【請求項 7 2 1】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 2 0 に記載の方法。

## 【請求項 7 2 2】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 1 5 または 7 1 6 に記載の方法。

40

## 【請求項 7 2 3】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 7 2 4】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を

50



乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 7 2 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 2 3 または 7 2 4 に記載の方法。

【請求項 7 2 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 2 3 または 7 2 4 に記載の方法。

【請求項 7 2 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 2 6 に記載の方法。

【請求項 7 2 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 2 3 または 7 2 4 に記載の方法。

【請求項 7 2 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも１つ、前記タンパク質の少なくとも１つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 2 8 に記載の方法。

【請求項 7 3 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 2 3 または 7 2 4 に記載の方法。

【請求項 7 3 1】

少なくとも１種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 3 2】

少なくとも１種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 7 3 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 3 1 または 7 3 2 に記載の方法。

【請求項 7 3 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 3 1 または 7 3 2 に記載の方法。

【請求項 7 3 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t

10

20

30

40

50

5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6を含む、請求項734に記載の方法。

【請求項736】

前記D k kタンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項731または732に記載の方法。

【請求項737】

前記W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k kタンパク質、c r e s c e n tタンパク質、c e r e b r u sタンパク質、a x i nタンパク質、F r z bタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e dタンパク質またはs F R P 3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項736に記載の方法。

【請求項738】

前記D k kタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k kタンパク質のホモログを含む、請求項731または732に記載の方法。

【請求項739】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項707、708、715、716、723、724、731または732に記載の方法。

【請求項740】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項707、708、715、716、723、724、731または732に記載の方法。

【請求項741】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項707、708、715、716、723、724、731または732に記載の方法。

【請求項742】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項707、708、715、716、723、724、731または732に記載の方法。

【請求項743】

少なくとも1種のD k kタンパク質と、L R P 5受容体またはL R P 6受容体のL D L受容体反復配列、L R P 5受容体またはL R P 6受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5受容体またはL R P 6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項744】

少なくとも1種のD k kタンパク質と、L R P 5受容体またはL R P 6受容体のL D L受容体反復配列、L R P 5受容体またはL R P 6受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5受容体またはL R P 6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項745】

前記D k kタンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4またはこれらの任

10

20

30

40

50

意の組み合わせを含む、請求項 7 4 3 または 7 4 4 に記載の方法。

【請求項 7 4 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 4 3 または 7 4 4 に記載の方法。

【請求項 7 4 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 4 6 に記載の方法。

【請求項 7 4 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 4 3 または 7 4 4 に記載の方法。

【請求項 7 4 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 4 8 に記載の方法。

【請求項 7 5 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 4 3 または 7 4 4 に記載の方法。

【請求項 7 5 1】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 5 2】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 7 5 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 5 1 または 7 5 2 に記載の方法。

【請求項 7 5 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 5 1 または 7 5 2 に記載の方法。

【請求項 7 5 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 5 4 に記載の方法。

【請求項 7 5 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 5 1 または 7 5 2 に記載の方法。

【請求項 7 5 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 5 6 に記載の方法。

【請求項 7 5 8】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 5 1 または 7 5 2 に記載の方法。

【請求項 7 5 9】

10

少なくとも1種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 6 0】

20

少なくとも1種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 7 6 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 5 9 または 7 6 0 に記載の方法。

【請求項 7 6 2】

30

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 5 9 または 7 6 0 に記載の方法。

【請求項 7 6 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 6 2 に記載の方法。

【請求項 7 6 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 5 9 または 7 6 0 に記載の方法。

【請求項 7 6 5】

40

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 6 4 に記載の方法。

【請求項 7 6 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 5 9 または 7 6 0 に記載の方法。

【請求項 7 6 7】

50

少なくとも１種の D k k タンパク質と、 L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、 L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、 L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 6 8】

少なくとも１種の D k k タンパク質と、 L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、 L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも１つのドメイン、 L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも１つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも１種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも１つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 7 6 9】

前記 D k k タンパク質が、 D k k 1、 D k k 2、 D k k 3、 D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

20

【請求項 7 7 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 7 1】

前記 W n t アンタゴニストが、 W n t 1、 W n t 2、 W n t 3 a、 W n t 4 a、 W n t 5 a、 W n t 5 b、 W n t 6、 W n t 7 a、 W n t 7 b、 W n t 7 c、 W n t 8、 W n t 8 a、 W n t 8 c、 W n t 1 0 a、 W n t 1 0 b、 W n t 1 1、 W n t 1 4、 W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 7 2】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

30

【請求項 7 7 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、 D k k タンパク質、 c r e s c e n t タンパク質、 c e r e b r u s タンパク質、 a x i n タンパク質、 F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、 T 細胞因子タンパク質、 d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも１つ、前記タンパク質の少なくとも１つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 7 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

40

【請求項 7 7 5】

前記外来化合物が、少なくとも１種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 4 3、7 4 4、7 5 1、7 5 2、7 5 9、7 6 0、7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 7 6】

前記外来化合物が、 N C I 3 6 6 2 1 8、 N C I 8 6 4 2、 N C I 1 0 6 1 6 4、 N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 7 4 3、7 4 4、7 5 1、7 5 2、7 5 9、7 6 0、7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 7 7】

50

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 4 3、7 4 4、7 5 1、7 5 2、7 5 9、7 6 0、7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 7 8】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 7 4 3、7 4 4、7 5 1、7 5 2、7 5 9、7 6 0、7 6 7 または 7 6 8 に記載の方法。

10

【請求項 7 7 9】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 8 0】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項 7 8 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 7 9 または 7 8 0 に記載の方法。

【請求項 7 8 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 7 9 または 7 8 0 に記載の方法。

【請求項 7 8 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 8 2 に記載の方法。

30

【請求項 7 8 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 7 9 または 7 8 0 に記載の方法。

【請求項 7 8 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 8 4 に記載の方法。

40

【請求項 7 8 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 7 9 または 7 8 0 に記載の方法。

【請求項 7 8 7】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L

50

R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 8 8】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 7 8 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 8 7 または 7 8 8 に記載の方法。

【請求項 7 9 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 8 7 または 7 8 8 に記載の方法。

【請求項 7 9 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 9 0 に記載の方法。

【請求項 7 9 2】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 8 7 または 7 8 8 に記載の方法。

【請求項 7 9 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 9 2 に記載の方法。

【請求項 7 9 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 8 7 または 7 8 8 に記載の方法。

【請求項 7 9 5】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 つの外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 7 9 6】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 7 9 7】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 9 5 または 7 9 6 に記載の方法。

【請求項 7 9 8】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 7 9 5 または 7 9 6 に記載の方法。

【請求項 7 9 9】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 7 9 8 に記載の方法。

10

【請求項 8 0 0】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 7 9 5 または 7 9 6 に記載の方法。

【請求項 8 0 1】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 9 8 に記載の方法。

20

【請求項 8 0 2】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 7 9 5 または 7 9 6 に記載の方法。

【請求項 8 0 3】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

【請求項 8 0 4】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

【請求項 8 0 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 0 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 0 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t

50



8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5  
またはW n t 1 6を含む、請求項 8 0 6 に記載の方法。

【請求項 8 0 8】

前記 D k k タンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項 8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 0 9】

前記W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質またはs F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 0 8 に記載の方法。

10

【請求項 8 1 0】

前記D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログを含む、請求項 8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 1 1】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 7 9、7 8 0、7 8 7、7 8 8、7 9 5、7 9 6、8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 1 2】

20

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 7 7 9、7 8 0、7 8 7、7 8 8、7 9 5、7 9 6、8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 1 3】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 7 7 9、7 8 0、7 8 7、7 8 8、7 9 5、7 9 6、8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

【請求項 8 1 4】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 7 7 9、7 8 0、7 8 7、7 8 8、7 9 5、7 9 6、8 0 3 または 8 0 4 に記載の方法。

30

【請求項 8 1 5】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体に対する結合を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項 8 1 6】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体に対する結合を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 8 1 7】

前記D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 1 5 または 8 1 6 に記載の方法。

【請求項 8 1 8】

前記D k k タンパク質がW n t アンタゴニストを含む、請求項 8 1 5 または 8 1 6 に記

50

載の方法。

【請求項 8 1 9】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 8 1 8 に記載の方法。

【請求項 8 2 0】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 8 1 5 または 8 1 6 に記載の方法。

【請求項 8 2 1】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 2 0 に記載の方法。

【請求項 8 2 2】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 8 1 5 または 8 1 6 に記載の方法。

【請求項 8 2 3】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 8 2 4】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する結合を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 8 2 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 2 3 または 8 2 4 に記載の方法。

【請求項 8 2 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 8 2 3 または 8 2 4 に記載の方法。

【請求項 8 2 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 8 2 6 に記載の方法。

【請求項 8 2 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 8 2 3 または 8 2 4 に記載の方法。

【請求項 8 2 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 2 8 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 8 3 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 8 2 3 または 8 2 4 に記載の方法。

## 【請求項 8 3 1】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

## 【請求項 8 3 2】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 8 3 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 3 1 または 8 3 2 に記載の方法。

20

## 【請求項 8 3 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 8 3 1 または 8 3 2 に記載の方法。

## 【請求項 8 3 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 8 3 1 に記載の方法。

## 【請求項 8 3 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 8 3 1 または 8 3 2 に記載の方法。

30

## 【請求項 8 3 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 3 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 3 8】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 8 3 1 または 8 3 2 に記載の方法。

40

## 【請求項 8 3 9】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 8 4 0】

50

少なくとも1種のDkkタンパク質と、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項841】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項839または840に記載の方法。

10

【請求項842】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項839または840に記載の方法。

【請求項843】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項842に記載の方法。

【請求項844】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項839または840に記載の方法。

20

【請求項845】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish-eve1タンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項844に記載の方法。

【請求項846】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項839または840に記載の方法。

30

【請求項847】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項815、816、823、824、831、832、839または840に記載の方法。

【請求項848】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項815、816、823、824、831、832、839または840に記載の方法。

【請求項849】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項815、816、823、824、831、832、839または840に記載の方法。

40

【請求項850】

a. UNITY<sup>TM</sup>プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup>プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup>プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項815、816、823、824、8

50

3 1、8 3 2、8 3 9 または 8 4 0 に記載の方法。

【請求項 8 5 1】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 8 5 2】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 8 5 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 5 1 または 8 5 2 に記載の方法。

【請求項 8 5 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 8 5 1 または 8 5 2 に記載の方法。

【請求項 8 5 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 8 5 4 に記載の方法。

20

【請求項 8 5 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 8 5 1 または 8 5 2 に記載の方法。

【請求項 8 5 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 5 6 に記載の方法。

30

【請求項 8 5 8】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 8 5 1 または 8 5 2 に記載の方法。

【請求項 8 5 9】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項 8 6 0】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 8 6 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 5 9 または 8 6 0 に記載の方法。

【請求項 8 6 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 8 5 9 または 8 6 0 に記

50

載の方法。

【請求項 8 6 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 8 6 2 に記載の方法。

【請求項 8 6 4】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 8 5 9 または 8 6 0 に記載の方法。

【請求項 8 6 5】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 6 4 に記載の方法。

【請求項 8 6 6】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 8 5 9 または 8 6 0 に記載の方法。

【請求項 8 6 7】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 8 6 8】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 8 6 9】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 6 7 または 8 6 8 に記載の方法。

【請求項 8 7 0】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 8 6 7 または 8 6 8 に記載の方法。

【請求項 8 7 1】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 8 7 0 に記載の方法。

【請求項 8 7 2】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 8 6 7 または 8 6 8 に記載の方法。

【請求項 8 7 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タン

10

20

30

40

50

パク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish e v e l e dタンパク質またはs F R P 3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 7 2 に記載の方法。

【請求項 8 7 4】

前記D k kタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k kタンパク質のホモログを含む、請求項 8 6 7 または 8 6 8 に記載の方法。

【請求項 8 7 5】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k kタンパク質のホモログの、L R P 5受容体またはL R P 6受容体に対する相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項 8 7 6】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k kタンパク質のホモログの、L R P 5受容体またはL R P 6受容体に対する相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リボタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

20

【請求項 8 7 7】

前記D k kタンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 7 5 または 8 7 6 に記載の方法。

【請求項 8 7 8】

前記D k kタンパク質がW n tアンタゴニストを含む、請求項 8 7 5 または 8 7 6 に記載の方法。

【請求項 8 7 9】

前記W n tアンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6を含む、請求項 8 7 8 に記載の方法。

30

【請求項 8 8 0】

前記D k kタンパク質がW n tインヒビターを含む、請求項 8 7 5 または 8 7 6 に記載の方法。

【請求項 8 8 1】

前記W n tインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k kタンパク質、c r e s c e n tタンパク質、c e r e b r u sタンパク質、a x i nタンパク質、F r z bタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish e v e l e dタンパク質またはs F R P 3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 8 0 に記載の方法。

40

【請求項 8 8 2】

前記D k kタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k kタンパク質のホモログを含む、請求項 8 7 5 または 8 7 6 に記載の方法。

【請求項 8 8 3】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 5 1、8 5 2、8 5 9、8 6 0、8 6 7、8 6 8、8 7 5 または 8 7 6 に記載の方法。

50

## 【請求項 884】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 851、852、859、860、867、868、875または876に記載の方法。

## 【請求項 885】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 851、852、859、860、867、868、875または876に記載の方法。

## 【請求項 886】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 851、852、859、860、867、868、875または876に記載の方法。

## 【請求項 887】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

## 【請求項 888】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

## 【請求項 889】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 887または888に記載の方法。

## 【請求項 890】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項 887または888に記載の方法。

## 【請求項 891】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項 890に記載の方法。

## 【請求項 892】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項 887または888に記載の方法。

## 【請求項 893】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish-eve1タンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項

10

20

30

40

50



892に記載の方法。

【請求項894】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項887または888に記載の方法。

【請求項895】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

10

【請求項896】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項897】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項895または896に記載の方法。

20

【請求項898】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項895または896に記載の方法。

【請求項899】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項898に記載の方法。

【請求項900】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項895または896に記載の方法。

30

【請求項901】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish-eveledタンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項900に記載の方法。

【請求項902】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項895または896に記載の方法。

40

【請求項903】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを

50

含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 9 0 4】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項 9 0 5】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 0 3 または 9 0 4 に記載の方法。

【請求項 9 0 6】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 9 0 3 または 9 0 4 に記載の方法。

【請求項 9 0 7】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 9 0 6 に記載の方法。

20

【請求項 9 0 8】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 9 0 3 または 9 0 4 に記載の方法。

【請求項 9 0 9】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 0 8 に記載の方法。

30

【請求項 9 1 0】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 9 0 3 または 9 0 4 に記載の方法。

【請求項 9 1 1】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項 9 1 2】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機

50

複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

【請求項 9 1 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

【請求項 9 1 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

10

【請求項 9 1 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 または W n t 1 6 を含む、請求項 9 1 4 に記載の方法。

【請求項 9 1 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

【請求項 9 1 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 1 6 に記載の方法。

20

【請求項 9 1 8】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

【請求項 9 1 9】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 8 7、8 8 8、8 9 5、8 9 6、9 0 3、9 0 4、9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

30

【請求項 9 2 0】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 8 8 7、8 8 8、8 9 5、8 9 6、9 0 3、9 0 4、9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

【請求項 9 2 1】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 8 8 7、8 8 8、8 9 5、8 9 6、9 0 3、9 0 4、9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

40

【請求項 9 2 2】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 8 8 7、8 8 8、8 9 5、8 9 6、9 0 3、9 0 4、9 1 1 または 9 1 2 に記載の方法。

【請求項 9 2 3】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タ

50

ンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項924】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

10

【請求項925】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項923または924に記載の方法。

【請求項926】

前記Dkkタンパク質がWntアンタゴニストを含む、請求項923または924に記載の方法。

【請求項927】

前記Wntアンタゴニストが、Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4a、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt7c、Wnt8、Wnt8a、Wnt8c、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、Wnt14、Wnt15またはWnt16を含む、請求項926に記載の方法。

20

【請求項928】

前記Dkkタンパク質がWntインヒビターを含む、請求項923または924に記載の方法。

【請求項929】

前記Wntインヒビターが、以下のタンパク質すなわち、Dkkタンパク質、crescentタンパク質、cerebrusタンパク質、axinタンパク質、Frzbタンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、dish-eveledタンパク質またはsFRP3タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項928に記載の方法。

30

【請求項930】

前記Dkkタンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログを含む、請求項923または924に記載の方法。

【請求項931】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

40

【請求項932】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはDkkタンパク質のホモログと、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、少なくとも1種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

50

## 【請求項 9 3 3】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 3 1 または 9 3 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 3 4】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 9 3 1 または 9 3 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 3 5】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 10 a、W n t 10 b、W n t 11、W n t 14、W n t 15 または W n t 16 を含む、請求項 9 3 4 に記載の方法。

10

## 【請求項 9 3 6】

前記 D k k タンパク質が W n t インヒビターを含む、請求項 9 3 1 または 9 3 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 3 7】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 3 6 に記載の方法。

20

## 【請求項 9 3 8】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 9 3 1 または 9 3 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 3 9】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

30

## 【請求項 9 4 0】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

40

## 【請求項 9 4 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 3 9 または 9 4 0 に記載の方法。

## 【請求項 9 4 2】

前記 D k k タンパク質が W n t アンタゴニストを含む、請求項 9 3 9 または 9 4 0 に記載の方法。

## 【請求項 9 4 3】

前記 W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t

50

5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6を含む、請求項 9 4 2 に記載の方法。

【請求項 9 4 4】

前記 D k k タンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項 9 3 9 または 9 4 0 に記載の方法。

【請求項 9 4 5】

前記W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質またはs F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも1つ、前記タンパク質の少なくとも1つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 4 4 に記載の方法。

10

【請求項 9 4 6】

前記D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログを含む、請求項 9 3 9 または 9 4 0 に記載の方法。

【請求項 9 4 7】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のL D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

20

【請求項 9 4 8】

少なくとも1種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質またはD k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のL D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、L R P 5 受容体またはL R P 6 受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの結合を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも1つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を調節するための方法。

30

【請求項 9 4 9】

前記D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

【請求項 9 5 0】

前記D k k タンパク質がW n t アンタゴニストを含む、請求項 9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

40

【請求項 9 5 1】

前記W n t アンタゴニストが、W n t 1、W n t 2、W n t 3 a、W n t 4 a、W n t 5 a、W n t 5 b、W n t 6、W n t 7 a、W n t 7 b、W n t 7 c、W n t 8、W n t 8 a、W n t 8 c、W n t 1 0 a、W n t 1 0 b、W n t 1 1、W n t 1 4、W n t 1 5 またはW n t 1 6を含む、請求項 9 5 0 に記載の方法。

【請求項 9 5 2】

前記D k k タンパク質がW n t インヒビターを含む、請求項 9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

50

## 【請求項 9 5 3】

前記 W n t インヒビターが、以下のタンパク質すなわち、D k k タンパク質、c r e s c e n t タンパク質、c e r e b r u s タンパク質、a x i n タンパク質、F r z b タンパク質、グリコーゲンシンターゼキナーゼタンパク質、T 細胞因子タンパク質、d i s h e v e l e d タンパク質または s F R P 3 タンパク質のうちの少なくとも 1 つ、前記タンパク質の少なくとも 1 つのフラグメントまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 5 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 5 4】

前記 D k k タンパク質が、関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログを含む、請求項 9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

10

## 【請求項 9 5 5】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 2 3、9 2 4、9 3 1、9 3 2、9 3 9、9 4 0、9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 9 5 6】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 9 2 3、9 2 4、9 3 1、9 3 2、9 3 9、9 4 0、9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

## 【請求項 9 5 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 2 3、9 2 4、9 3 1、9 3 2、9 3 9、9 4 0、9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

20

## 【請求項 9 5 8】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 9 2 3、9 2 4、9 3 1、9 3 2、9 3 9、9 4 0、9 4 7 または 9 4 8 に記載の方法。

30

## 【請求項 9 5 9】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 9 6 0】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

40

## 【請求項 9 6 1】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質が、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 9 6 2】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体また

50

は L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 9 6 3】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k のホモログが、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

10

【請求項 9 6 4】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と L R P 5 受容体または L R P 6 受容体との相互作用または結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 9 6 5】

少なくとも 1 種の D k k タンパク質と、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用または結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

20

【請求項 9 6 6】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に対する、少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログの相互作用または結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 9 6 7】

少なくとも 1 種の関連タンパク質、類似の機能を持つ非関連タンパク質または D k k タンパク質のホモログと、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の L D L 受容体反復配列、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメイン、L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせとの相互作用または結合を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

30

【請求項 9 6 8】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 6 9】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 9 7 0】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 7 1】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非

50



経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 7 2】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 7 3】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 7 4】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティ ( c a y i t y ) にドッキングさせ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 9 5 9 ~ 9 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 7 5】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 9 7 6】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 9 7 7】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する、部位に結合またはこれと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 9 7 8】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する部位に結合またはこれと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 9 7 9】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する部位と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 9 8 0】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 9 8 1】

W n t が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 2 のドメインに結合する部位に結合またはこれと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖

10

20

30

40

50

脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 982】

Wnt が LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 2 のドメインに結合またはこれと相互作用する部位と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 983】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 975 ~ 982 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 984】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 975 ~ 982 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 985】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 975 ~ 982 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 986】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 975 ~ 982 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 987】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 2 のドメインに結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 988】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 987 に記載の方法。

【請求項 989】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 987 に記載の方法。

【請求項 990】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 987 に記載の方法。

【請求項 991】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 987 に記載

10

20

30

40

50

の方法。

【請求項 992】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 987 に記載の方法。

【請求項 993】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 987 に記載の方法。

【請求項 994】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 987 に記載の方法。

【請求項 995】

Wnt と LRP5 または LRP6 との結合または相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 996】

Wnt と LRP5 または LRP6 との結合または相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 997】

Wnt と LRP5 または LRP6 との結合または相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 998】

Wnt と LRP5 または LRP6 との結合または相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を阻害するための方法。

【請求項 999】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 995 ~ 998 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1000】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 995 ~ 998 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1001】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 995 ~ 998 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1002】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 995 ~ 998 のいずれか 1 項に記載

10

20

30

40

50

の方法。

【請求項 1 0 0 3】

W n t と L R P 5 または L R P 6 との結合または相互作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、哺乳類の ( m a m m a l i e a n ) 被験動物において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用 ( t h e r e a p e u t i c ) 組成物。

【請求項 1 0 0 4】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 0 5】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 0 6】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 0 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 0 8】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 0 9】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 1 0】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 0 0 3 に記載の方法。

【請求項 1 0 1 1】

W n t と L R P 5 または L R P 6 との結合または相互作用を乱す、外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 0 1 2】

W n t と L R P 5 または L R P 6 との結合または相互作用を乱す、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 0 1 3】

W n t と L R P 5 または L R P 6 との結合または相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1 0 1 4】

Wnt と LRP5 または LRP6 との結合または相互作用を乱す、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を刺激または促進するための方法。

【請求項 1015】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1011 ~ 1014 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1016】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1011 ~ 1014 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1017】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1011 ~ 1014 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1018】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1011 ~ 1014 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1019】

LRP5 受容体または LRP6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

【請求項 1020】

LRP5 受容体または LRP6 受容体に結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

【請求項 1021】

LRP5 受容体または LRP6 受容体に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

【請求項 1022】

LRP5 受容体または LRP6 受容体に結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

【請求項 1023】

LRP5 受容体または LRP6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

【請求項 1024】

LRP5 受容体または LRP6 受容体と相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1025】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、D k k タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

## 【請求項 1026】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体と相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、D k k タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

10

## 【請求項 1027】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1019 ~ 1026 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1028】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1019 ~ 1026 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

## 【請求項 1029】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1019 ~ 1026 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1030】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1019 ~ 1026 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

## 【請求項 1031】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体に結合またはこれと相互作用することで D k k タンパク質による拮抗作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1032】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1031 に記載の方法。

40

## 【請求項 1033】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1031 に記載の方法。

## 【請求項 1034】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1031 に記載の方法。

50

## 【請求項 1035】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1031 に記載の方法。

## 【請求項 1036】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1031 に記載の方法。

## 【請求項 1037】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1031 に記載の方法。

10

## 【請求項 1038】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1031 に記載の方法。

## 【請求項 1039】

少なくとも 1 種の外来化合物を LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合させることを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

20

## 【請求項 1040】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

## 【請求項 1041】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

30

## 【請求項 1042】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインに結合する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

## 【請求項 1043】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

## 【請求項 1044】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

40

## 【請求項 1045】

LRP5 受容体または LRP6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、Dkk タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

## 【請求項 1046】

50

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインと相互作用する、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物あるいは、外来化合物の少なくとも 1 つのフラグメントを投与することを含む、D k k タンパク質による拮抗作用を乱すための方法。

【請求項 1 0 4 7】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 0 3 9 ~ 1 0 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0 4 8】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 0 3 9 ~ 1 0 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0 4 9】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 0 3 9 ~ 1 0 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0 5 0】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 0 3 9 ~ 1 0 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0 5 1】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 1 のドメインに結合またはこれと相互作用することによって D k k タンパク質による拮抗作用を乱す、少なくとも 1 種の外来化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常 ( b o n e a b n o r m a l i t y )、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 0 5 2】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 0 5 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 5 3】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 0 5 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 5 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 0 5 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 5 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 0 5 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 5 6】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1 0 5 1 に記載の方法

10

20

30

40

50



。

## 【請求項 1057】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1051 に記載の方法。

## 【請求項 1058】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1051 に記載の方法。

10

## 【請求項 1059】

Dkk タンパク質が膜貫通タンパク質に結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害 (increased inhibition) するための方法。

## 【請求項 1060】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の結合を強める、請求項 1059 に記載の方法。

## 【請求項 1061】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の親和性を高める、請求項 1059 に記載の方法。

20

## 【請求項 1062】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の相互作用を強める、請求項 1059 に記載の方法。

## 【請求項 1063】

Dkk タンパク質が膜貫通タンパク質に結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

## 【請求項 1064】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の結合を強める、請求項 1063 に記載の方法。

30

## 【請求項 1065】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の親和性を高める、請求項 1063 に記載の方法。

## 【請求項 1066】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の相互作用を強める、請求項 1063 に記載の方法。

## 【請求項 1067】

Dkk タンパク質が膜貫通タンパク質に結合またはこれと相互作用 (interacts) する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

40

## 【請求項 1068】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の結合を強める、請求項 1067 に記載の方法。

## 【請求項 1069】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の親和性を高める、請求項 1067 に記載の方法。

## 【請求項 1070】

前記外来化合物が、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の相互作用を強める、請求項 1067 に記載の方法。

50

## 【請求項 1071】

Dkk タンパク質が膜貫通タンパク質に結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物または少なくとも外来化合物のフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

## 【請求項 1072】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の結合を強める、請求項 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1073】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の結合親和性を高める、請求項 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1074】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の相互作用を強める、請求項 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1075】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1051、1059、1063 または 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1076】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1051、1059、1063 または 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1077】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1051、1059、1063 または 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1078】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1051、1059、1063 または 1071 に記載の方法。

## 【請求項 1079】

Dkk タンパク質が膜貫通タンパク質に結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の天然化合物であって、前記膜貫通タンパク質に対する前記 Dkk タンパク質の結合、親和性または相互作用を高める前記化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常 (bone abnormality)、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

## 【請求項 1080】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1079 に記載の方法。

## 【請求項 1081】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1079 に記載の方法。

## 【請求項 1082】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポ

10

20

30

40

50

タンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1079 に記載の方法。

【請求項 1083】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1079 に記載の方法。

【請求項 1084】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1079 に記載の方法

10

【請求項 1085】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1079 に記載の方法。

【請求項 1086】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Score<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1079 に記載の方法。

20

【請求項 1087】

Dkk タンパク質が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1088】

前記外来化合物が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の前記 LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記 Dkk タンパク質の結合を強める、請求項 1087 に記載の方法。

30

【請求項 1089】

前記外来化合物が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の前記 LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記 Dkk タンパク質の親和性を高める、請求項 1087 に記載の方法。

【請求項 1090】

前記外来化合物が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の前記 LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記 Dkk タンパク質の相互作用を強める、請求項 1087 に記載の方法。

40

【請求項 1091】

Dkk タンパク質が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の LDL 受容体反復配列、LRP5 受容体または LRP6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン、LRP5 受容体または LRP6 受容体のホモログの少なくとも 1 つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1092】

前記外来化合物が、LRP5 受容体または LRP6 受容体の前記 LDL 受容体反復配列

50

、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の結合を強める、請求項1091に記載の方法。

【請求項1093】

前記外来化合物が、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の親和性を高める、請求項1091に記載の方法。

【請求項1094】

前記外来化合物が、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の相互作用を強める、請求項1091に記載の方法。

10

【請求項1095】

Dkkタンパク質が、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

20

【請求項1096】

前記外来化合物が、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の結合を強める、請求項1095に記載の方法。

【請求項1097】

前記外来化合物が、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の親和性を高める、請求項1095に記載の方法。

30

【請求項1098】

前記外来化合物が、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の相互作用を強める、請求項1095に記載の方法。

【請求項1099】

Dkkタンパク質が、LRP5受容体またはLRP6受容体のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも1種の外来化合物または少なくとも外来化合物のフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

40

【請求項1100】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の結合を強める、請求項1099に記載の方法。

【請求項1101】

50

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の親和性を高める、請求項1099に記載の方法。

【請求項1102】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、LRP5受容体またはLRP6受容体の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の相互作用を強める、請求項1099に記載の方法。

10

【請求項1103】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項1079、1087、1091、1095または1099に記載の方法。

【請求項1104】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項1079、1087、1091、1095または1099に記載の方法。

【請求項1105】

20

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項1079、1087、1091、1095または1099に記載の方法。

【請求項1106】

a. UNITY<sup>TM</sup>プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup>プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup>プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項1079、1087、1091、1095または1099に記載の方法。

30

【請求項1107】

Dkkタンパク質が、LRP5またはLRP6のLDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも1種の天然化合物であって、LRP5またはLRP6の前記LDL受容体反復配列、LRP5受容体またはLRP6受容体の少なくとも1つのドメイン、LRP5受容体またはLRP6受容体のホモログの少なくとも1つのドメインまたはこれらの任意の組み合わせに対する前記Dkkタンパク質の結合、親和性または相互作用を高める前記化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常(bone abnormality)、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

40

【請求項1108】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項1107に記載の方法。

【請求項1109】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項1107に記載の方法。

【請求項1110】

50

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 1 0 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 1 1】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 0 7 に記載の方法。

10

【請求項 1 1 1 2】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1 1 0 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 1 3】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1 1 0 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 1 4】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 1 0 7 に記載の方法。

20

【請求項 1 1 1 5】

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1 1 1 6】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 1 7】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 1 5 に記載の方法。

30

【請求項 1 1 1 8】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 1 9】

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

40

【請求項 1 1 2 0】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 1 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 1】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 1 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 2】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 1 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 3】

50

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1 1 2 4】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 2 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 5】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 2 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 6】

前記外来化合物が前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 2 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 7】

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物または少なくとも外来化合物のフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1 1 2 8】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 2 9】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 3 0】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記ドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 3 1】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 1 5、1 1 1 9、1 1 2 3 または 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 3 2】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 1 1 5、1 1 1 9、1 1 2 3 または 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 3 3】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 1 5、1 1 1 9、1 1 2 3 または 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 3 4】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 1 1 5、1 1 1 9、1 1 2 3 または 1 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 3 5】

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つのドメイン

10

20

30

40

50

に結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の天然化合物を含む、対象とする哺乳類における骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常 (bone abnormality)、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1136】

前記外来化合物が、少なくとも１種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1135 に記載の方法。

【請求項 1137】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1135 に記載の方法。

10

【請求項 1138】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1135 に記載の方法。

【請求項 1139】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1135 に記載の方法。

20

【請求項 1140】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1135 に記載の方法。

【請求項 1141】

前記組成物が、錠剤、ビル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1135 に記載の方法。

【請求項 1142】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1135 に記載の方法。

30

【請求項 1143】

Dkk タンパク質がLRP5 受容体またはLRP6 受容体の第3のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1144】

前記外来化合物が前記第3のドメインに対する前記Dkk タンパク質の結合を強める、請求項 1143 に記載の方法。

40

【請求項 1145】

前記外来化合物が前記第3のドメインに対する前記Dkk タンパク質の親和性を高める、請求項 1143 に記載の方法。

【請求項 1146】

前記外来化合物が前記第3のドメインに対する前記Dkk タンパク質の相互作用を強める、請求項 1143 に記載の方法。

【請求項 1147】

Dkk タンパク質がLRP5 受容体またはLRP6 受容体の第3のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも１種の有機外来化合物または無機外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害する

50



ための方法。

【請求項 1 1 4 8】

前記外来化合物が前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 4 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 4 9】

前記外来化合物が前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 4 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 5 0】

前記外来化合物が前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 4 7 に記載の方法。

10

【請求項 1 1 5 1】

D k k タンパク質が第 3 のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物を投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

【請求項 1 1 5 2】

前記外来化合物が前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 5 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 5 3】

前記外来化合物が前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 5 1 に記載の方法。

20

【請求項 1 1 5 4】

前記外来化合物が前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 5 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 5 5】

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、タンパク質、脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質または化学物質を含む、少なくとも 1 種の外来化合物または少なくとも外来化合物のフラグメントを投与することを含む、骨形成または骨再構築を強阻害するための方法。

30

【請求項 1 1 5 6】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の結合を強める、請求項 1 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 5 7】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の親和性を高める、請求項 1 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 5 8】

前記外来化合物または外来化合物の前記フラグメントが、前記第 3 のドメインに対する前記 D k k タンパク質の相互作用を強める、請求項 1 1 4 3、1 1 4 7、1 1 5 1 または 1 1 5 5 に記載の方法。

40

【請求項 1 1 5 9】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 4 3、1 1 4 7、1 1 5 1 または 1 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 6 0】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 1 4 3、1 1 4 7、1 1 5 1 または 1 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 6 1】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非

50

経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 4 3、1 1 4 7、1 1 5 1 または 1 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 1 6 2】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 1 4 3、1 1 4 7、1 1 5 1 または 1 1 5 5 に記載の方法。

10

【請求項 1 1 6 3】

D k k タンパク質が L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の第 3 のドメインに結合またはこれと相互作用する部位に結合またはこれと相互作用する、少なくとも 1 種の天然化合物を含む、対象とする哺乳類において骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常 ( b o n e a b n o r m a l i t y )、腫瘍または増殖を治療するための治療用組成物。

【請求項 1 1 6 4】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 6 5】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

20

【請求項 1 1 6 6】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 6 7】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

30

【請求項 1 1 6 8】

前記組成物が薬学的に許容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 6 9】

前記組成物が、錠剤、ピル、糖衣錠、液体、ゲル、カプセル、シロップ、スラリーまたは懸濁液として処方される、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

【請求項 1 1 7 0】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキングさせ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 1 6 3 に記載の方法。

40

【請求項 1 1 7 1】

a . 被験動物から細胞を取得し、b . ( i ) 支持細胞層と、( i i ) 前記細胞の複製を刺激するのに十分な量の D k k タンパク質、W n t インヒビターまたは W n t アンタゴニストと、( i i i ) 骨形成または骨再構築を刺激、促進、阻害または調節する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物と、を含む条件を

50

*in vitro*にて提供することを含む、*in vitro*での細胞の自己複製を促進するための方法。

【請求項 1172】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1173】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞またはNK細胞を含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1174】

前記細胞が造血 (*hematopoietic*) 幹細胞を含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1175】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1176】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1177】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1178】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1171 に記載の方法。

【請求項 1179】

a. 被験動物から細胞を取得し、b. (i) 支持細胞層と、(ii) 前記細胞の代謝回転または分化を刺激するのに十分な量 (*amount*) のDkkタンパク質、WntインヒビターまたはWntアンタゴニストと、(iii) 骨形成または骨再構築を刺激、促進、阻害または調節する少なくとも1種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも1種の外来化合物と、を含む条件を*in vitro*にて提供することを含む、*in vitro*での細胞の代謝回転または分化を促進するための方法。

【請求項 1180】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1179 に記載の方法。

【請求項 1181】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞またはNK細胞を含む、請求項 1179 に記載の方法。

【請求項 1182】

前記細胞が骨細胞または骨芽細胞を含む、請求項 1179 に記載の方法。

【請求項 1183】

前記Dkkタンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1179 に記載の方法。

【請求項 1184】

前記外来化合物が、少なくとも1種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1179 に記載の方法。

【請求項 1185】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NC

10

20

30

40

50

I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 1 7 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 8 6】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 1 7 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 8 7】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング ( o c k i n g ) させ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 1 7 1 または 1 1 7 9 に記載の方法。

10

【請求項 1 1 8 8】

a . 被験動物から細胞を取得し、b . ( i ) 支持細胞層と、( i i ) 前記細胞の増殖を刺激するのに十分な量の D k k タンパク質、W n t インヒビターまたは W n t アンタゴニストと、( i i i ) 骨形成または骨再構築を刺激、促進、阻害または調節する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物と、を含む条件を i n v i t r o にて提供することを含む、i n v i t r o での細胞の増殖を促進するための方法。

20

【請求項 1 1 8 9】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

【請求項 1 1 9 0】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または N K T 細胞を含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

【請求項 1 1 9 1】

前記細胞が造血 ( h e m a t o p o e i t i c ) 幹細胞を含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

30

【請求項 1 1 9 2】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

【請求項 1 1 9 3】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

【請求項 1 1 9 4】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

40

【請求項 1 1 9 5】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 1 8 8 に記載の方法。

【請求項 1 1 9 6】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリー

50

ーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1188 に記載の方法。

【請求項 1197】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、a. 前記被験動物または他の被験動物から細胞を取得し、b. (i) 支持細胞層と、(ii) 前記細胞の複製を刺激するのに十分な量の Dkk タンパク質、Wnt インヒビターまたは Wnt アンタゴニストと、(iii) 骨の形成または再構築を刺激、促進、阻害または調節する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物と、を含む条件で、前記細胞を *in vitro* にて複製させ、c. 前記複製後の細胞を前記被験動物に再投与することを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

10

【請求項 1198】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1197 に記載の方法。

【請求項 1199】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または NK T 細胞を含む、請求項 1197 に記載の方法。

【請求項 1200】

前記細胞が造血 (hematopoietic) 幹細胞を含む、請求項 1197 に記載の方法。

20

【請求項 1201】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1197 に記載の方法。

【請求項 1202】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1197 に記載の方法。

【請求項 1203】

前記外来化合物が、NCI366218、NCI8642、NCI106164、NCI657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1197 に記載の方法。

30

【請求項 1204】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1197 に記載の方法。

【請求項 1205】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1197 に記載の方法。

40

【請求項 1206】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1197 に記載の方法。

50

## 【請求項 1 2 0 7】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、a. 前記被験動物または他の被験動物から細胞を取得し、b. (i) 支持細胞層と、(ii) 前記細胞の代謝回転または分化を刺激するのに十分な量の Dkk タンパク質、Wnt インヒビターまたは Wnt アンタゴニストと、(iii) 骨の形成または再構築を刺激、促進、阻害または調節する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物と、を含む条件を *in vitro* にて提供することによって、細胞の代謝回転または分化を助長し、c. 前記新規 (new) または分化後の細胞を前記被験動物に再投与することを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

## 【請求項 1 2 0 8】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 0 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または NK T 細胞を含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 0】

前記細胞が骨細胞または骨芽細胞を含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 1】

前記 Dkk タンパク質が、Dkk 1、Dkk 2、Dkk 3、Dkk 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 2】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 3】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 6】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 2 0 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1 7】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、a. 前記被験動物または他の被験動物から細胞を取得し、b. (i) 支持細胞層と、(ii) 前記細胞の代謝回転または分化を刺激するのに十分な量の Dkk タンパク質、Wnt インヒビターまたは Wnt アンタゴニストと、(iii) 骨の形成または再構築を刺激、促進

10

20

30

40

50

、阻害または調節する少なくとも１種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも１種の外来化合物と、を含む条件を *in vitro* にて提供することによって、細胞の増殖を助長し、*c*．前記増殖後の細胞を前記被験動物に再投与することを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

【請求項 1 2 1 8】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 1 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または *NKT* 細胞を含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 0】

前記細胞が造血 (*hematopoietic*) 幹細胞を含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 1】

前記 *Dkk* タンパク質が、*Dkk1*、*Dkk2*、*Dkk3*、*Dkk4* またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 2】

前記外来化合物が、少なくとも１種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 3】

前記外来化合物が、*NCI366218*、*NCI8642*、*NCI106164*、*NCI657566* またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 6】

*a*．*UNITY<sup>TM</sup>* プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

*b*．*Flexx<sup>TM</sup>* プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (*docking*) させ、

*c*．*Cscore<sup>TM</sup>* プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 2 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 7】

対象とする哺乳類におけるウイルス感染を治療するための方法であって、*a*．ウイルスに感染した被験動物から *CD34+* 細胞を取得し、*b*．前記細胞を *in vitro* にて形質導入して、前記ウイルスに耐性のある遺伝子を導入し、*c*．(*i*) 支持細胞層と、(*ii*) 前記細胞の代謝回転または分化を刺激するのに十分な量の *Dkk* タンパク質、*Wnt* インヒビターまたは *Wnt* アンタゴニストと、(*iii*) 骨の形成または再構築を刺激、促進、阻害または調節する少なくとも１種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも１種の外来化合物と、を含む条件を提供することによって、前記形質導入細胞を *in vitro* にて複製させ、*d*．前記複製後の形質導入細胞を前記被験動物に再投与する

10

20

30

40

50

ことを含む、対象とする哺乳類におけるウイルス感染を治療するための方法。

【請求項 1 2 2 8】

前記支持細胞層が、間葉系幹細胞、間質細胞または細胞の自己複製または再生を助長する他のタイプの細胞を含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 2 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または N K T 細胞を含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 0】

前記細胞が造血 ( h e m a t o p o e i t i c ) 幹細胞を含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 1】

前記 D k k タンパク質が、D k k 1、D k k 2、D k k 3、D k k 4 またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 2】

前記外来化合物が、少なくとも 1 種のアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 3】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 6】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング ( o c k i n g ) させ、

c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 2 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 7】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、骨形成または骨再構築に関与する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物を前記被験動物に投与して、細胞の複製を刺激または増大させることを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

【請求項 1 2 3 8】

前記細胞が造血 ( h e m a t o p o e t i c ) 幹細胞を含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 3 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または N K T 細胞を含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 4 0】



前記疾病が、ウイルスによる、あるいは免疫製剤による、あらゆるタイプの肝炎、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 4 1】

前記ウイルス感染が、HBV 感染、HCV 感染、HDV 感染または HIV 感染を含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 4 2】

前記外来化合物が、アゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 4 3】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

10

【請求項 1 2 4 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 4 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

20

【請求項 1 2 4 6】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 2 3 7 に記載の方法。

30

【請求項 1 2 4 7】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、LRP5 受容体または LRP6 受容体に対する Dkk の結合を阻害する少なくとも 1 種の外来化合物を前記被験動物に投与することで、細胞の複製を刺激または増大させることを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

【請求項 1 2 4 8】

前記細胞が造血 (hematopoietic) 幹細胞を含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 4 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または NK T 細胞を含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

40

【請求項 1 2 5 0】

前記疾病が、ウイルスによる、あるいは免疫製剤による、あらゆるタイプの肝炎、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 5 1】

前記ウイルス感染が、HBV 感染、HCV 感染、HDV 感染または HIV 感染を含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 5 2】

前記外来化合物が、アゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

50

## 【請求項 1 2 5 3】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 5 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

10

## 【請求項 1 2 5 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 5 6】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 2 4 7 に記載の方法。

20

## 【請求項 1 2 5 7】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、骨形成または骨再構築に関与する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物を前記被験動物に投与して、細胞の代謝回転または分化を刺激または増大させることを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

## 【請求項 1 2 5 8】

前記細胞が骨細胞または骨芽細胞を含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 5 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞またはNK細胞を含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

30

## 【請求項 1 2 6 0】

前記疾病が、ウイルスによる、あるいは免疫製剤による、あらゆるタイプの肝炎、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 6 1】

前記ウイルス感染が、HBV感染、HCV感染、HDV感染またはHIV感染を含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 6 2】

前記外来化合物が、アゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

40

## 【請求項 1 2 6 3】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 6 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物の

50

フラグメントを含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 6 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 6 6】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1 2 5 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 6 7】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、LRP5 受容体または LRP6 受容体に対する Dkk の結合を阻害する少なくとも 1 種の外来化合物を前記被験動物に投与することで、細胞の代謝回転または分化を刺激または増大させることを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

【請求項 1 2 6 8】

前記細胞が骨細胞または骨芽細胞を含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 6 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または NK T 細胞を含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 0】

前記疾病が、ウイルスによる、あるいは免疫製剤による、あらゆるタイプの肝炎、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 1】

前記ウイルス感染が、HBV 感染、HCV 感染、HDV 感染または HIV 感染を含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 2】

前記外来化合物が、アゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 3】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 4】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 5】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 6 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 7 6】

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

10

20

30

40

50

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1267 に記載の方法。

【請求項 1277】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、骨形成または骨再構築に関与する少なくとも 1 種の受容体または共役受容体に結合する少なくとも 1 種の外来化合物を前記被験動物に投与して、細胞増殖を刺激または増大させることを含む、対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法。

【請求項 1278】

10

前記細胞が造血 (hematopoietic) 幹細胞を含む、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1279】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または NK T 細胞を含む、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1280】

前記疾病が、ウイルスによる、あるいは免疫製剤による、あらゆるタイプの肝炎、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を含む、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1281】

前記ウイルス感染が、HBV 感染、HCV 感染、HDV 感染または HIV 感染を含む、請求項 1277 に記載の方法。

20

【請求項 1282】

前記外来化合物が、アゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1283】

前記外来化合物が、NCI 366218、NCI 8642、NCI 106164、NCI 657566 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1284】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1277 に記載の方法。

30

【請求項 1285】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、膈内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1286】

40

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング (ocking) させ、  
c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む方法を用いて前記外来化合物を同定する、請求項 1277 に記載の方法。

【請求項 1287】

対象とする哺乳類における疾病を治療するための方法であって、LRP5 受容体または LRP6 受容体に対する Dkk の結合を阻害する少なくとも 1 種の外来化合物を前記被験動物に投与することで、細胞増殖を刺激または増大させることを含む、対象とする哺乳類

50

における疾病を治療するための方法。

【請求項 1 2 8 8】

前記細胞が造血 ( h e m a t o p o e t i c ) 幹細胞を含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 8 9】

前記細胞が、調節細胞、免疫調節細胞または N K T 細胞を含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9 0】

前記疾病が、ウイルスによる、あるいは免疫製剤による、あらゆるタイプの肝炎、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

10

【請求項 1 2 9 1】

前記ウイルス感染が、H B V 感染、H C V 感染、H D V 感染または H I V 感染を含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9 2】

前記外来化合物が、N C I 3 6 6 2 1 8、N C I 8 6 4 2、N C I 1 0 6 1 6 4、N C I 6 5 7 5 6 6 またはこれらの任意の誘導体またはアナログを含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9 3】

前記化合物が、小分子、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、環状分子、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質、化学物質、あるいは、有機複素環分子、核酸、脂質、荷電脂質、極性脂質、非極性脂質、糖、糖タンパク質、糖脂質、リポタンパク質または化学物質を含む化合物のフラグメントを含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

20

【請求項 1 2 9 4】

前記投与する工程が、吸入投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、非経口投与、経皮投与、腔内投与、鼻腔内投与、粘膜投与、舌下投与、局所投与、直腸投与または皮下投与による投与またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9 5】

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて受容体のキャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物をキャビティにドッキング ( o c k i n g ) させ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、請求項 1 2 8 7 に記載の方法。

30

【請求項 1 2 9 6】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つの細胞外ドメインのキャビティに結合する、これと相互作用する、またはこれに適合する外来化合物を同定することで、骨形成または骨再構築を刺激、促進、阻害または調節するための方法であって、

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記ドメインの結合キャビティに適合する化合物をスクリーニングし、  
b . F l e x x <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記化合物を前記結合キャビティにドッキングさせ、  
c . C s c o r e <sup>T M</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む、方法。

40

【請求項 1 2 9 7】

L R P 5 受容体または L R P 6 受容体の少なくとも 1 つの細胞内ドメインのキャビティに結合する、これと相互作用する、またはこれに適合する外来化合物を同定することで、W n t 活性を上昇または低下させる方法であって、

a . U N I T Y <sup>T M</sup> プログラムを用いて前記ドメインの結合キャビティに適合する化合物

50

をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物を前記結合キャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む、方法。

【請求項 1298】

Frizzled 受容体の少なくとも 1 つのドメインのキャビティに結合する、これと相互作用する、またはこれに適合する外来化合物を同定することで、Wnt 活性を上昇または低下させる方法であって、

a. UNITY<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記ドメインの結合キャビティに適合する化合物をスクリーニングし、

b. Flexx<sup>TM</sup> プログラムを用いて前記化合物を前記結合キャビティにドッキングさせ、

c. Cscore<sup>TM</sup> プログラムを用いて結合親和性が最も高い化合物を得る、ことを含む、方法。

【請求項 1299】

frizzled 受容体の前記ドメインが CRD を含む、請求項 1298 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連特許出願への参照

本願は、発明の名称「Compositions and Methods for Stimulation of Bone Formation (骨形成を刺激するための組成物および方法)」で 2003 年 9 月 22 日に出願された米国仮特許出願第 60/504,860 号明細書の利益を主張するものである。

【0002】

本願は、発明の名称「Compositions and Methods for the Stimulation or Enhancement of Bone Formation and the Self-Renewal of Cells (骨形成および細胞の自己複製を刺激または促進するための組成物および方法)」で 2004 年 5 月 19 日に出願されたダン・ウ (Dan Wu) らによる特許出願に関連したものであり、その内容全体を本願明細書に援用する。

【0003】

発明の分野

本発明は、骨折、骨疾患、骨損傷、骨異常、腫瘍、増殖またはウイルス感染の治療の際の治療方法、組成物およびその用途の分野に関する。特に、本発明の方法および組成物は、骨形成または骨再構築の刺激、促進、阻害を対象とするものである。

【0004】

本願に引用または本願で確認した特許、特許出願、特許出願公開公報、化学論文などについてはいずれも、本発明が属する技術分野の状況を一層よく説明する目的で、その全体を本願明細書に援用する。

【背景技術】

【0005】

発明の背景

公衆衛生上の大きな問題のひとつに骨粗鬆症があり、特に高齢者のあいだでは普通に見られる (1, 15, 21)。65 歳よりも高齢の人々の骨折の大多数は骨粗鬆症 (15, 40) が原因である。骨粗鬆症による骨折の危険性を明確にする際の判断要素のひとつがピーク骨量 (ヒーニー (Heaney) ら、2000) であるが、このピーク骨量の変動には遺伝因子が大きくかかわっていることが研究から分かっている。最近になって、骨量

10

20

30

40

50

を調節する遺伝子のうちの1種がポジショナルクローニングで同定された。低密度リボタンパク質受容体関連タンパク質5 (LRP5) の機能喪失型変異すなわち、標準的Wntシグナル伝達経路の共役受容体(27)が、ヒトでの骨密度の減少を主徴とする常染色体劣性疾患である骨粗鬆症 - 偽性神経膠腫症候群(OPPG)に関連していることが明らかになった(9)。また、家族性高骨量(HBM)の表現型を示す2つの独立した家系(kindred)には、LRP5にGly171からValへの置換変異(G171V)があることも明らかになった(5, 22)。ごく最近では、G171V変異の同じ構造ドメインで別のHBM変異が報告された(36)。さらに、標的遺伝子組み換えによってLRP5遺伝子を不活化したマウスには、OPPG患者のものと同様の表現型が認められ(16)、マウスでLRP5<sub>G171V</sub>をトランスジェニック発現させるとHBMが得られた(2)。さらに、マウス初代骨芽細胞ではLRP5の不在下でWntに対する応答性が低下(16)し、Wnt(9)または活性化 - カテニン(4)によって標準的Wntシグナル伝達活性が刺激されて、骨芽細胞様細胞で骨芽細胞マーカーであるアルカリホスファターゼ(AP)の産生が誘導された。まとめると、これらの証拠から、標準的Wntシグナル伝達経路が骨の発達の調節に重要な役割を果たしていることが分かる。

#### 【0006】

最近まで、標準的Wntシグナル伝達経路はWntがfrizzled Fzタンパク質に結合すると開始されると考えられていた。7つの膜貫通ドメインを含有するFzタンパク質が、Dishevelledタンパク質が関与するはっきりしない機序で - カテニンのグリコーゲンシンターゼキナーゼ3(GSK3)依存性リン酸化を抑制する。この抑制によって - カテニンが安定する。こうして安定すると、 - カテニンはリンパ系増強因子-1(LEF-1)やT細胞因子(TCF)をはじめとする転写調節因子と相互作用して、遺伝子転写を活性化することができる(7, 10, 38)。最近、遺伝学的な研究や生化学的な研究によって、標準的Wntシグナル伝達にはFzタンパク質だけでなく共役受容体が必要だということを示す確かな証拠が得られている(27, 28)。また、LRP5/6(LRP5またはLRP6)のハエオースログArrowが、Wnt-1のハエオースログであるWgのシグナル伝達に必要なことが明らかになった(37)。LRP5とLRP6は、発現パターンこそ異なるが基本的には同じように機能する、よく似たホモログである。一方、LRP6は、ツメガエル胚でWnt1に結合し、Wnt誘導発生過程を調節することが明らかになった(34)。また、LRP6欠損マウスには、さまざまなWntタンパク質が欠乏したときに生じる発育障害に類似した発育障害が認められた(30)。さらに、LRP5、LRP6、Arrowが、アキシンを結合してアキシンの分解と - カテニンの安定化を引き起こすことで、標準的Wntシグナルの形質導入に関与していることも明らかになった(25, 35)。LRP5/6によるシグナル伝達過程がDishevelledタンパク質に依存しているようには見えない(18, 31)。最近になって、シャペロンタンパク質であるMesdが、細胞表面へのLRP5/6輸送に必要なものとして同定された(6, 11)。

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0007】

ツメガエルのDickkopf(Dkk)-1は、最初は頭部形成に重要な役割を果たすWntアンタゴニストとして発見された(8)。これまでのところ、Dkkは哺乳動物で4種類のメンバーが同定されている(17, 26)。これらのメンバーは、Dkk1、Dkk2、Dkk3、Dkk4である。Dkk1とDkk2は、LRP5またはLRP6と単一膜貫通タンパク質Kremenに同時に結合して標準的Wntシグナル伝達を阻害する(3, 23, 24, 32)。以前、LRP5 HBM G171V変異が標準的Wntシグナル伝達に対するDkk1による拮抗作用を減弱させるように見えることが報告されている(5)。本発明は、この減弱の機序について説明するものである。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0008】

10

20

30

40

50

## 発明の概要

本発明は、骨形成または骨再構築に関与する受容体または共役受容体のドメインのキャビティと、同様に機能するDkk、Wnt、Mesdまたは他のタンパク質との機能的相互作用を明らかにするモデルについて説明するものである。これらの受容体としては、LRP5受容体、LRP6受容体、frizzled受容体があげられるが、これに限定されるものではない。LRP5受容体は、4つのYWTD繰り返しドメインで構成される。各ドメインには、複数のアミノ酸YWTD反復配列が含まれる。また、LRP5受容体にはLDL受容体反復配列もある。LRP5とLRP6はいずれもよく似たホモログであり、基本的に同じように機能するが、発現パターンは異なっている。

## 【0009】

本発明は、これらのキャビティに結合またはこれと相互作用してWntシグナル伝達を刺激、阻害または調節し、ひいては骨形成、腫瘍形成ならびにWntシグナル伝達によって調節される他のあらゆる生物学的過程および病理学的過程を刺激、阻害または調節する外来化合物または外因性化合物を同定するための方法を提供するものである。外来化合物とは、外部ソースから導入されるものではない天然化合物との対比で、細胞または生物に自然にはあるいは通常は見られない化合物を含む。化合物については、さまざまなスクリーニング法とアッセイを用いて米国国立癌研究所(National Cancer Institute(NCI))のデータベースから同定した。これらの化合物を修飾して、同じように効果的に機能する、NCIのデータベースや自然界には見られない派生物(derivate)またはアナログを作出することも可能であった。DkkとLRP5/6との相互作用、WntとLRP5/6との相互作用、MesdとLRP5/6との相互作用を乱す化合物を同定した。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0010】

## 発明の詳細な説明

すでに報告されているように(5)、C末端にHBM G171V変異とHA-エピトープタグとを含有するLRP5変異体タンパク質(LRP5<sub>G171V</sub>)を発現させ(図3A)ても、野生型(Wt)LRP5(LRP5<sub>Wt</sub>) (図3A)に比してLEF-1依存性転写活性は増加しなかった。また、G171V変異は、自己分泌の枠組みで同時発現されたWnt1によって刺激される活性をさらに増強するには至らなかった(図3B)。LEF-1は、標準的Wntシグナル伝達経路の下流側標的転写因子である。ルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイで測定されるその活性が、標準的Wnt活性を測るのに広く用いられている(12, 20)。このように、LRP5<sub>G171V</sub>は、Wntシグナル伝達の形質導入にあたって構成的に活性でもなければ一層コンピテントであるわけでもない。驚いたことに、LRP6での対応する変異であるG-158残基からVal残基への置換によって、おそらくは受容体が不活化されて、これがWnt-1と相乗作用することはできなくなった(図3A)。

## 【0011】

LRP5<sub>G171V</sub>は、Kremenの非存在下でLRP5<sub>Wt</sub>よりもDkk1による阻害に対する感受性が低いことが明らかになった(5)。Dkk1誘導阻害を容易にすることが知られているDkk結合単一膜貫通タンパク質である(23)。この研究では、本発明者らはKremenの存在下で、この変異による影響を試験した。Kremen1の同時発現によってDkkによる阻害が有意に増強され(図3B)、すでに報告がなされているKremenの作用(23)が確認された。すなわち、Kremenの非存在下で観察されたものと同様に、Kremen1およびDkk1の両方の存在下で、WntはLRP5<sub>Wt</sub>を発現しているものよりも、LRP5<sub>G171V</sub>を発現しているHEK細胞の方で高い活性を示した(図3B)。この違いがマルチプラスミドトランスフェクションの結果ではないことを裏付けるために、Dkk1、Kremen1およびLRP5のタンパク質発現(図3C)について検討した。NIH3T3細胞と2種類の骨芽細胞様細胞株MC3T3および2T3で自己分泌型Wnt1活性のDkkによる阻害に対する耐性が上昇す

10

20

30

40

50



るという同様の結果が観察された。

【0012】

なぜLRP5 G171Vの方がDkk1による阻害に対する感受性が低いのかを説明する有力な仮説に、LRP5とDkk1との間の相互作用が変異によって乱れる可能性があるというものがある。Dkk1による拮抗作用にはG171を含有する第1のYWTD繰り返しドメインが必要であるという仮説には筋が通っている。この仮説を試験するために、第3および第4のYWTD繰り返しドメインが欠失したLRP5 R12と、第1および第2のYWTD繰り返しドメインが欠失したLRP5 R34という2つのLRP5欠失変異体を生成した(図1)。LRP6(24)に対してすでに報告がなされているように、欠失があってもLRP5 R12はWnt刺激LEF-1活性を増強できたが、LRP5 R34ではそうはいかなかった(図6A)ことから、LRP5 R12はWnt共役受容体の機能を保持しているのではないかと考えられる。しかしながら、LRP5 R12が存在すると、Kremenが同時発現されていてもDkk1はWntシグナル伝達を阻害することができなかった(図6A)。このことから、Dkk1による阻害には最後の2つのYWTD繰り返しドメインが必要なかもしれないと考えられる。Dkk1による阻害に必要な配列をさらに明確にするために、第3のYWTD繰り返しドメインが欠失した別のLRP5変異体であるLRP5 R124を生成した(図1)。LRP5 R12と同様に、LRP5 R124もDkk1による阻害に対する耐性があった(図6A)ことから、Dkk1による阻害には第3のYWTD繰り返しドメインが必要なことが分かる。

10

【0013】

20

第3のYWTD繰り返しドメインが完全に欠失すると、LRP5のコンホメーション全体が変化する可能性があるため、Dkk1による阻害を乱すことが可能であろうこのドメインの点変異を作製した。LDL受容体の三次元構造(13)から推定した第3のYWTD繰り返しドメインの三次元構造に基づいて、第3のYWTD繰り返しドメインの表面にAla置換変異を含有する19のLRP5変異体を作製した(図7A)。これらの変異体LRP5タンパク質のDkk1による阻害に耐える機能を判断し、これを図3Aに示す。変異体のうちの9つ(5%超)にDkk1による阻害に対する感受性の変化が見られ、そのすべてに同一表面に局在する変異が含まれていた(図7A)。これらの変異のうち、E721変異に最も強い影響が認められ、津続いてW781、次はY719であった(図7B)。第1および第2のYWTD繰り返しドメインにおけるE721対応残基の変異(それぞれD111およびD418)では、Dkk1による阻害に対する感受性は有意に変化しなかった。Dkk1による阻害に対する耐性のある変異体はすべて、Dkk2による阻害に対しても耐性があった。このデータはすべて、Dkkによる阻害に第3のYWTD繰り返しドメインが必要であるという結論を裏付けるものとなっている。

30

【0014】

Dkkによる阻害に第3のYWTD繰り返しドメインが必要であることの明らかな理由のひとつに、このドメインがDkk1結合を担っているということがある。HEK細胞の表面で発現されるLRP5へのDkk1-AP融合タンパク質の直接的な結合を測定した(23)。図6Cに示されるように、Dkk1-APは飽和を示した。LRP5を発現しているHEK細胞に対する結合曲線。この結合は、LRP5/6の折りたたみと輸送を容易にすることが分かっているMesdすなわちLRP5/6シャペロン(6,11)が同時発現されるときにだけ測定できた。驚いたことに、LRP5 E721は依然としてDkk1の有意な結合を示し、LRP5 G171Vで見られるものよりも結合率が高かった(図6C)。LRP5 E721は、LRP5 G171Vに比してDkk1による阻害に対する耐性が極めて高い(図7B)が、LRP5 G171VよりもDkk1に対する結合性がよかった(図6C)。第3のYWTD繰り返しドメインが実際にDkk1と結合できることを示すために、R34またはR34E(R34EはE721変異のあるR34である)を発現しているHEK細胞に対するDkk1-APの結合について検討した。R34にはDkk1-APの有意な結合が認められたが、R34Eではこのようにならなかった(図15A)ことから、R34はDkk1を結合でき、結合を生じるにはE721が必要であ

40

50

ることが分かる。これについては、第3のYWTドメイン繰り返しドメインだけがDkk1と結合する機能をLRP5<sub>E721</sub>に持たせることのできるLRP5上の唯一のDkk結合部位ではないという観察結果から説明できる。この説明を、R12もDkk1に結合可能であった(図15A)という観察結果を得ることで裏付けた。R12およびR34はいずれもDkk1と結合できるが、Dkk1に対するその親和性は全長LRP5の親和性(最大結合率の半分から推測)よりも少なくとも5分の1未満であるように思われる。R12またはR34を発現している細胞への最大結合率は、LRP5<sub>wt</sub>の最大結合率に匹敵するか、おそらくはこれよりも高い(R12またはR34への結合は可能な限り最大の入力でも飽和に達したようには見えなかった)が、R12およびR34の発現レベルをウェスタン分析で推測すると(図15B)、LRP5<sub>wt</sub>の場合のほぼ2倍であった。このことは、LRP5またはLRP6にはDkk1への結合部位が2ヶ所以上あるという結論の裏付けとなる。

10

#### 【0015】

第1のYWTドメイン繰り返しドメインの点変異であるG171Vは、Dkk1の見かけ上の結合を劇的に減らす(図6C)。LRP5<sub>G171V</sub>についてのDkk1結合曲線の特徴からみて、最大結合率が6分の1に落ちる(図6C)のにもかかわらず、G171V変異がDkk1への親和性を変化させているとは思えない。LRP5<sub>wt</sub>とLRP5<sub>G171V</sub>はいずれも同じようなレベルで発現される(図6C)が、G171V変異の方が細胞表面でのLRP5受容体が少なかった。Mesdが細胞表面へのLRP5受容体の輸送に重要な役割を果たしていることは周知であるため、G171V変異を調べて、これがMesdの機能を妨害したのか否かを判断した。Mesdについては、LRP5またはLRP6と相互作用することがすでに分かっている(11)。この所見と一致して、LRP5およびMesdの共免疫沈降が(図2A)。R12とMesdとの相互作用も検出した(図2B)。これらの結果から、G171V変異がLRP5とMesdとの相互作用(図2A、レーン1および3)とR12とMesdとの相互作用(図2B、レーン1および2)の両方を乱すのに対し、E721変異はこの相互作用には影響しない(図2A、レーン2および3)ということが分かった。Mesdの機能(折りたたみとLRP5またはLRP6の輸送)にLRP5とMesdとの間の相互作用が重要であれば、G171V変異も膜貫通ドメインのないLRP5変異体の分泌を妨げるはずである。予想どおり、G171V変異は、それぞれ膜貫通ドメインと細胞内ドメインのないR12および全長LRP5であるR12T(図2C)およびR1-4(図2D)の分泌を阻害した。E721変異を持つR1-4は、その分泌を阻害しなかった。また、LRP5<sub>wt</sub>およびLRP5<sub>G171V</sub>を発現している生きた細胞を表面でビオチン標識し、LRP5タンパク質を免疫沈降した上でストレプトアビジン-HRPを用いてウェスタン分析で細胞表面でのLRP5タンパク質レベルを比較した。図2Eに示すように、ビオチン標識されたLRP5<sub>G171V</sub>の量はLRP5<sub>wt</sub>の量よりも明らかに少ないが、免疫複合体における2種類のLRP5分子のレベルは同じである。このことから、G171V変異がLRP5の細胞表面輸送を妨害していることが確認される。

20

30

#### 【0016】

G171V変異は、LRP5ヌルまたは低形質の変異で見られるものとは逆の骨の表現型と関連しているため、高形質のアレルではないかと予測された(5, 9, 16, 22)。細胞表面の受容体が少なくなればなるほどWntも低くなるはずだという仮定に基づくと、LRP5<sub>G171V</sub>の細胞表面での提示が弱いことは、上記の予測内容と矛盾するであろう。しかしながら、傍分泌または内分泌の枠組みを模する外因的なWntを加えると、LRP5<sub>G171V</sub>を発現している細胞はLRP5<sub>wt</sub>を発現している細胞よりも少ない応答を示した(図16A)。これは、WntがLRP5分子と同時に発現された場合には起こらなかった(図3A)。変異は自己分泌型のWnt活性に影響するようには思えず、Wntタンパク質は、受容体が実際に細胞表面まで輸送される前にその受容体に結合してシグナル伝達イベントを活性化させることができるのではないかと考えられる。これらの観察結果から、LRP5<sub>G171V</sub>が骨芽細胞でその分化時にどのようにしてWnt活性

40

50

を高めるのかが明らかになる。骨芽細胞がその分化時に自己分泌的に標準的Wntを生成し、骨でDkk1が傍分泌的に生成される場合に、変異はWnt活性よりもDkkによる拮抗作用の方に一層大きく影響する。骨髓間質細胞の骨芽細胞培養における19のマウスWnt遺伝子すべての発現を調べた。Wnt遺伝子のうちのひとつであるWnt7bで、分化誘導後にその発現に顕著な増加が認められた(図16A)。Wnt7bがLEF-1レポーター遺伝子と標準的Wnt経路を刺激する機能が示された(図16B)。また、骨細胞と最終分化した骨芽細胞でDkk1が高いレベルで発現され、骨芽細胞を分化させるための傍分泌因子として機能していた(図16C)。

#### 【0017】

本発明は、HBM G171V変異がどのようにして標準的Wntシグナル伝達を促進するのかを説明するものである。G171V変異が高形質ではないかという仮定は、この変異に関連する表現型と、同時発現されたWnt活性のDkkによる阻害に対して変異体LRP5受容体が一層高い耐性を持つようだという過去の観察結果に基づくものであった(5)。最初の仮説は、変異がLRP5のDkk1結合領域に局在しているため、DkkとLRP5の直接的な相互作用が妨害されるのではないかというものであった。本発明は、G171V変異が局在する第1のドメインではなくLRP5受容体の第3のYWTドメインで、G171V変異がLRP5とDkk1との間の相互作用を直接妨害することはないことを示している。そうではなくて、G171V変異はLRP5とそのシャペロンMesdとの相互作用を妨害し、細胞表面へのLRP5の輸送を妨げるため、細胞表面に到達するLRP5分子の数が少なくなる。

#### 【0018】

分化している骨芽細胞が自己分泌型Wntタンパク質を生成し、骨の傍分泌型Dkkタンパク質を利用できるかぎり、骨芽細胞が分化する際にG171V変異によってWnt活性が増加する可能性がある。これは、LRP5<sub>Wt</sub>またはLRP5<sub>G171V</sub>を発現している骨芽細胞は同じように自己分泌的に標準的Wntに应答するが、傍分泌Dkkには変異体LRP5を発現している細胞に対する拮抗作用が少ないためである。このため、LRP5<sub>G171V</sub>を発現している細胞でWntシグナル伝達活性が高まる。図16に示されるように、骨芽細胞が標準的WntであるWnt7bを発現し、骨細胞から生成されるDkk1を利用できるという、両方の状態が存在する。

#### 【0019】

G171V変異があればそのWnt共役受容体の役割とは無関係な機序によって骨量が増えるかもしれないが、G171V変異がWnt活性を落として骨量を増やすことは非常に考えにくい。ヒトとマウスでの遺伝的な証拠や生化学的な証拠をはじめとして、入手可能な証拠からはいずれも、Wnt活性と骨形成との間に正の関係があることが分かる。ヒトとマウスのどちらでも、LRP5ヌルまたは低形質の変異によって、G171V変異のあるヒトまたはマウスで見られる表現型とは逆の骨の表現型が得られる(5, 9, 16, 22)。また、標準的Wntタンパク質は骨芽細胞の増殖と分化の両方を刺激する(9, 16)のに大使、Dkk1は骨髓間質細胞培養系で骨芽細胞の分化を阻害する。これらの所見に、骨芽細胞の分化後にWnt7bの発現が劇的に上方制御される(図16B)という所見をあわせて考えると、標準的Wntシグナル伝達活性が増大することで骨形成量が増すのではないかとと思われる。他方、Dkk1は分化している骨芽細胞では低いレベルで生成され、最終分化した骨芽細胞である骨細胞ではこれよりも高いレベルで生成される。骨細胞によって生成されるDkk1は、骨芽細胞活性の調節における負のフィードバック機序として骨再構築機能の調節に関与していた。

#### 【0020】

最初の2つのYWTドメイン反復配列はDkk1と結合できる(図15A)が、これらの配列はWntシグナル伝達のDKKによる阻害には必要ない(図6A)。これは、図16Dに示されるように、最初の2つのYWTドメイン反復配列に対するDkk1の結合、ドメインが、Dkk1とKremenの同時相互作用とは両立されないためである。Wntシグナル伝達のDKKによる阻害には、KremenおよびLRP5/6の両方に対してDkk1

10

20

30

40

50

が同時に相互作用する必要がある(24)。LDL受容体YWTD繰り返しドメインの構造に基づいて、LRP5の最初の3つのYWTD繰り返しドメイン各々が、一端に広い開口、他端に狭い開口のある樽状構造を形成する(第4の繰り返しドメインには構造的に推定できるだけの十分なアミノ酸配列相同性がない)。この構造情報から、Dkk1結合のために重要な第3のYWTD繰り返しドメイン上のアミノ酸残基を同定することができた。これらの結果から、Dkk1は樽状構造の広い方の開口を介して第3のYWTD繰り返しドメインと相互作用することが分かった。最初の2つのYWTD繰り返しドメインでの同時ではあるが別個ではないE721の変異相当の残基(それぞれD111およびD481)がR12に対するDkk1-APの結合を無効にするため、Dkk1はこれら2つの繰り返しドメインと同じような形で相互作用する。このLRP5のE721残基はDkk1の塩基性残基との間で塩橋を形成し得る。この推論は、結晶学を用いたニドジェンとラミニンとの相互作用についての最近の研究によって裏付けられる。ニドジェンのラミニン相互作用ドメインは、LRP5のYWTD繰り返しドメインとアミノ酸配列相同性で同じ樽状構造を持ち、このニドジェンドメインの接触残基のうちのひとつがラミニンのLys残基との間で塩橋を形成するE721相当のGluである(33)。

10

20

30

40

50

#### 【0021】

本発明では、細胞に提供されると、骨形成または骨再構築の刺激、促進、阻害または調節に参与する共役受容体のドメインに見られる部位またはキャビティに結合し、これと相互作用し、あるいはこれに適合する化合物を同定した。これらの受容体としては、LRP5受容体、LRP6受容体、frizzled受容体あるいは、LRP5またはLRP6(LRP5/6)受容体系に参与する他のあらゆる受容体があげられる。frizzled受容体は、Wnt活性を増大または低減させるよう機能するドメイン含有CRDすなわちWnt結合部位を持つ共役受容体である。

#### 【0022】

化合物については、実施例にて説明するスクリーニング法で同定した。これらの化合物のうちのいくつかは、DkkとLRP5の相互作用を乱すことが明らかになった。他の化合物は、おそらくはLRP5/6に対するWntの結合を阻害することでWntシグナル伝達を阻害した。本発明の化合物は、細胞には存在しないが、外部ソースに由来する外来化合物または外因性化合物である。これらの化合物は、アゴニストすなわち受容体と組み合わせさせてイベントを開始できる作用物質と、アンタゴニストすなわち受容体と組み合わせさせてアゴニスト(agonists)の作用を阻害する作用物質と、あるときはアクションを引き起こすように見え、別の時にはアゴニストの作用を弱めることでアクションを阻害するなど、アゴニストとアンタゴニストの両方の特徴を持つ部分アゴニストと、を含む。これらの化合物のなかには、親和性または製剤や化合物が受容体の結合部位に誘引される度合いを高めることが明らかになっているもある。

#### 【0023】

骨密度を高くするLRP5<sub>G171V</sub>変異はMesd-LRP5相互作用を弱め、細胞表面に存在するLRP5受容体が少なくなる。同じようにMesd-LRP5相互作用を乱し、骨形成または骨再構築によって骨密度を増す化合物が見いだされた。

#### 【0024】

Wnt活性(が高い状態は、多くの癌に関連してきた。LRP5受容体の第2のドメインへのWntの結合を乱すことで、このWnt活性を落とし、Wnt活性を阻害するとともに、Wnt活性の増大を特徴とする腫瘍および増殖を治療する化合物が見いだされた。

#### 【0025】

Wntシグナル伝達は骨形成の正の調節因子であることが分かっている。Wnt活性を高めて骨形成、骨形成または骨再構築を助長することができる化合物も同定された。

#### 【0026】

Dkkは、LRP5受容体の第3のドメインに結合またはこれと相互作用すると、Wntアンタゴニストとして働く。Dkk-LRP5相互作用を阻害して骨の形成または再構築を助長する化合物が同定された。ひとつの化合物であるNCI366218の骨芽細胞

分化を組織培養モデルで試験した。GFPを骨芽細胞のマーカーとして利用できる、2.3 KbのCol1A1プロモーター(2.3 Col-GFP)で制御される緑色蛍光タンパク質(GFP)トランスジーンを持つ3ヶ月齢のマウスから骨髄間質(BMS)細胞を単離した。8日目と12日目に、培養をNCI366218化合物で処理した。同じ日に、培養を対照としてのDMSOでも処理した。細胞をNCI366218で処理した後、DMSOで処理した場合よりも多くの細胞がGFP陽性になった。これらの結果から、NCI366218化合物が骨芽細胞の分化を刺激することが分かる。WntのDkkによる阻害を減弱する化合物(NCI366218およびNCI8642など)には、骨粗鬆症および他の骨疾患を治療する潜在的な治療用途がある。

#### 【0027】

WntおよびDkkは、間葉系幹細胞の増殖と分化を調節することが分かっている。骨形成を調節し、造血(hematopoietic)幹細胞を発達・分化させるためのメセンチル(mesenchyl)幹細胞調節因子として機能する化合物が同定されている。

#### 【0028】

Wntは造血(hematopoietic)幹細胞の増殖と分化を調節することが分かっている。骨形成を調節し、in vivoおよびin vitroにて幹細胞を増殖・増大させるための造血(hematopoietic)幹細胞調節因子として機能する化合物が同定されている。

#### 【0029】

材料および方法

細胞培養、トランスフェクション、CMの調製、ルシフェラーゼアッセイ。

ヒト胚腎臓細胞(HEK)株A293Tとマウス線維芽細胞株NIH3T3を維持し、上述したようにトランスフェクトした(1)。10%FCS含有-MEM中で前骨芽細胞株2T3およびMC3T3を培養した。ルシフェラーゼアッセイのために、24ウェルのプレートの細胞を $5 \times 10^4$ 個/ウェルで播種し、リポフェクタミンプラス(インヴィトロジェン、カリフォルニア州)を製造業者が提案しているように用いて、1ウェルあたり0.5  $\mu$ gのDNAをトランスフェクトした。通常、LacZプラスミドを用いて、各トランスフェクションごとのDNA濃度を等しくした。トランスフェクションの24時間後に細胞抽出物を回収した。上述したようにしてルシフェラーゼアッセイを実施した(1、2)。GFPの蛍光強度に対してルミネセンス強度を正規化した。Dkk1-AP含有CMを調製するために、6ウェルのプレートに細胞 $4 \times 10^5$ 個/ウェルでHEK細胞を播種し、1ウェルあたり1  $\mu$ gのDNAをトランスフェクトした。トランスフェクションの48時間後にCMを回収した。

#### 【0030】

発現プラスミドの構成と変異誘発

高フィデリティの熱安定性DNAポリメラーゼPfuウルトラ(ストラタジーン(Stratagene)、カリフォルニア州)を用いるPCRによって、ヒトLRP5、LRP6、マウスWnt1、Dkk1、Dkk2の野生型と変異体を生成した。HAエピトプタグまたはFlagエピトプタグを全長分子と変異体分子のC末端に導入した。これらの分子の発現をCMVプロモーターによって駆動した。外部のソースからLEF-1レポーター遺伝子コンストラクトを得た(3)。

#### 【0031】

Dkk1-AP結合アッセイおよび免疫沈降アッセイ。

24ウェルのプレートに入れたHEK細胞にLRP5とその変異体をトランスフェクトした。1日後、細胞を冷たい洗浄緩衝液(BSAおよびNaN<sub>3</sub>を含有するHBBS)で洗浄し、マウスDkk1-AP条件培地を用いて氷上で2時間インキュベートした。続いて、細胞を洗浄緩衝液で3回洗浄し、溶解させた。ライセートを65℃で10分間加熱し、トロピックス(Tropix)ルミネセンスAPアッセイキットを用いてそのAP活性を求めた。免疫沈降アッセイを上述したようにして実施した(4)。

## 【0032】

## 細胞表面タンパク質のビオチン化

HEK細胞に、LacZ、LRP5、LRP5<sub>G171V</sub>発現プラスミドをトランスフェクトした。細胞を氷冷PBS中に0.5mg/mlのスルホ-NHS-ビオチン（ピアース（Pierce））で標識し、上述したようにして洗浄し、溶解させた（5）。抗HA抗体およびA/Gアガロースタンパク質を用いて細胞ライセートを免疫沈降させた。

## 【0033】

## 初代骨芽細胞培養

3ヶ月齢のマウスから得た骨髄間質細胞（BMS）の骨芽細胞培養を上述したようにして生成した（6）。10nMのデキサメタゾン、8mM - グリセロホスフェート、50ug/mlのアスコルビン酸の存在下、細胞が骨原性分化するように誘導した。2日ごとに培地を交換した。

10

## 【0034】

## 相同性モデリング

スイスプロット/TrEMBLデータベース（エントリー名Q9UP66[8]）から得た配列を用いて、ICM（モルソフト（Molsoft）L.L.C.、カリフォルニア州ラホーヤ（La Jolla））でLRP5の第3のYWTD-EGFドメインの相同性モデルを構築した。LDL受容体（低密度リポタンパク質）YWTD-EGFドメイン（PDBコード1IJQ[9]）をテンプレートとして選択した。

20

## 【0035】

## 仮想スクリーニング

UNITY<sup>TM</sup>プログラム（トリポスインコーポレイテッド（Tripos, Inc.））を用いて、米国国立癌研究所（NCI）のデータベースで、Glu456末端で6つのプロペラによって形成されたキャビティに適合できる化合物をスクリーニングした。次に、エネルギー最小化用のFlexX<sup>TM</sup>プログラム（トリポスインコーポレイテッド（Tripos, Inc.））を用いて候補化合物をLRP5ドメインのDkk1結合キャビティにドッキングさせた[10]。以後の実験的な試験用に、計算で最も高い結合親和性を示した化合物を、米国国立癌研究所の癌治療・診断部門（Division of Cancer Treatment and Diagnosis）発生学的治療プログラム（Developmental Therapeutics Program）製剤合成&化学部（Drug Synthesis & Chemistry Branch）から得た。スクリーニングの第2ラウンドおよび第3ラウンドを、生化学的アッセイの結果に基づいて実施した。

30

## 【実施例】

## 【0036】

## 1. LRP5の欠失変異体

一組のPCRプライマーを設計し、PCR反応を実施し、PCRフラグメントをベクターにサブクローンし（suced）て、いくつかのLRP5欠失変異体を得た。第3および第4のドメイン（残基646から1198）の欠失がLRP5R12となり、第1および第2のドメイン（残基1から646）の欠失はLRP5R34、第3のドメイン（残基947から1198）の欠失はLRP5R124となった。（図1参照）。

40

## 【0037】

2. LRP5のドメインIはMesdによるLRP5の機能に不可欠である。

2.1 LRP5の第1のドメインにおけるG171V変異がLRP5の輸送を乱す。

（A）LRP5とMesdの相互作用

図2Aに示すようにしてHEK細胞に発現プラスミドをトランスフェクトした。1日後、細胞を溶解させ、抗Flag抗体を用いて免疫沈降を実施した。MesdにはFlagタグを付加し、LRP5分子にはすべてHAタグを付加した。これらの結果から、ドメインIのG171V変異はLRP5とMesdとの相互作用（図2A、レーン1および3）とR12とMesdとのそうご作用（図2B、レーン1および2）の両方を乱すが、ドメ

50

イン I I I の E 7 2 1 変異はこれらの相互作用に対して何ら影響を示さない ( 図 2 A 、 レーン 2 および 3 ) ということが分かった。

【 0 0 3 8 】

( B ) L R P 5 変異体は自ら細胞表面に効率よく存在することはない。

図 2 B および図 2 C に示すように、 H E K 細胞に M e s d プラスミドと発現プラスミドをトランスフェクトした。 R 1 2 T G V 、 R 1 2 T 、 R 1 - 4 および R 1 - 4 G V ( G V ) は、細胞培養培地に分泌される膜貫通ドメインのない L R P 5 変異体である A P 融合タンパク質である。 1 日後、条件培地 ( C M ) を回収し、高速で遠心処理した。上清を抗 H A 抗体で免疫沈降 ( 図 2 C ) させるか、 A P アッセイに用いた ( 図 2 D ) 。細胞を S D S - P A G E サンプル緩衝液にも溶解させ、ウェスタンブロッティングで分析した ( 図 2 C および図 2 D の下側のパネル ) 。これらの結果から、 G 1 7 1 V 変異が細胞表面に対する L R P 5 の提示を減弱することが分かる。

10

【 0 0 3 9 】

( C ) 細胞表面 L R P 5 レベルの評価

H E K 細胞に、 L a c Z 、野生型 H A - L R P 5 または H A - L R P 5 G 1 7 1 V 発現プラスミドをトランスフェクトした。細胞表面をビオチン標識して抗 H A 抗体で L R P 5 分子を沈降させた後、ストレプトアビジン - ホースラディッシュペルオキシダーゼ ( S A - H R P ) を用いるウェスタン分析によって細胞表面 L R P 5 分子レベルを検出した ( 図 2 E の上側のパネル ) 。免疫複合体における L R P 5 のレベルを下側のパネルに示す。これらの結果から、 G 1 7 1 V 変異体の細胞表面提示が減少することが分かる。

20

【 0 0 4 0 】

2 . 2 L R P 5 G 1 7 1 V は同時発現された W n t の活性の D k k 1 による阻害に対する感受性が低い。

( A ) G 1 7 1 V 変異が標準的 W n t シグナル伝達活性に対して及ぼす影響。

図 3 A に示すようにして、 L E F - 1 発現プラスミド、 L E F - 1 ルシフェラーゼレポータープラスミド、 G F P 発現プラスミドと一緒に、 H E K 細胞にプラスミドをトランスフェクトした。 1 日後、細胞を溶解させた。「材料および方法」で説明したようにして溶解後の細胞の G F P レベルとルシフェラーゼ活性を求め、 G F P レベルに対して正規化した。 L a c Z をトランスフェクトした細胞の活性を 1 0 0 % として、対照を得た。 L R P 5 タンパク質または抗 L R P 6 抗体が持つ H A タグに特異的な抗体を用いて、 L R P 5 、 L R P 5 G 1 7 1 V 、 L R P 6 、 L R P 6 G 1 5 8 V の発現を検出した ( 図 3 A ) 。これらの結果から、野生型 ( W t ) L R P 5 ( L R P 5 W t ) に比して H B M G 1 7 1 V 変異が、それ自体または同時発現された W n t に対する形質導入シグナルで L E F - 1 依存性転写活性の増大につながらなかったことが分かる。

30

【 0 0 4 1 】

( B ) G 1 7 1 V 変異が同時発現された W n t 1 によって刺激された標準的シグナル伝達活性に対して及ぼす影響

図 3 B に示すように、 L R P 5 W t または L R P 5 G 1 7 1 V の存在下、 H E K 細胞に、 L E F レポーター、 W n t - 1 、 D k k 1 、 K r e m e n のプラスミドをトランスフェクトした。 L R P 5 または L R P 5 G 1 7 1 V の存在下、ヒト H E K 細胞に L a c Z をトランスフェクトするか、 D k k 1 、 K r e m e n 1 および W n t 1 を同時トランスフェクトした。ウェスタンブロッティングでタンパク質の発現レベルを確認した ( 図 3 C ) 。 K r e m e n 1 および D K K 1 の両方の存在下、 W n t は L R P 5 G 1 7 1 V を発現している H E K 細胞で L R P 5 W t を発現しているものよりも高い活性を示した ( 図 3 B ) 。これらの結果から、 D k k 1 の存在下では、 L R P 5 G 1 7 1 V の方が野生型よりも多くのシグナルを伝達する ( t r a n d u c e ) ことが分かる。

40

【 0 0 4 2 】

2 . 3 L R P 5 および L R P 5 変異体に対する D k k 1 - A P の結合

図 4 に示すようにして H E K 細胞に M e s d プラスミドと L R P 5 プラスミドをトランスフェクトし、 D k k 1 - A P を発現している H E K 細胞から調製した C M を用いて氷上

50

でインキュベートした。「材料および方法」で説明したようにして、AP活性を任意単位(AU)で求めた。Wtおよび変異体LRP5分子の発現を図4Bに示す。これらの結果から、LRP5<sub>G171V</sub>変異体を発現している細胞の方がLRP5<sub>wt</sub>を発現している細胞よりも明白なDkk結合が少ないことが分かる(図4A)が、これは図2に示す細胞表面にLRP5<sub>G171V</sub>が少ないことと一致する。

#### 【0043】

3. Wnt活性にはLRP5のドメインIIが必要である。

図5に示すようにHEK細胞にLEF活性レポータープラスミドと発現プラスミドをトランスフェクトした。発現プラスミドLRP5<sub>R494Q</sub>およびLRP5<sub>G479V</sub>は、第2のドメインに点変異のあるLRP5受容体である。1日後、細胞を溶解させた。「材料および方法」で説明したようにして、溶解後の細胞のGFPレベルとルシフェラーゼ活性を求め、GFPレベルに対して正規化した。図5は、LRP5<sub>wt</sub>に比して、LRP5<sub>R494Q</sub>およびLRP5<sub>G479V</sub>がWntシグナル伝達を無効にできることを示している。これらの結果から、Wnt活性にはドメインIIが必要だということが分かる。

#### 【0044】

4. Dkkによる阻害にはドメインIIIが必要である。

4.1 ドメインIIIの分析

(A) ドメインIIIの機能的分析

図6Aに示すようにして、HEK細胞に、LEF活性レポータープラスミド、Kremen1プラスミドおよび発現プラスミドをトランスフェクトした。Wt LRP5とその変異体分子の発現を図6Bに示す。これらの結果から、LRP5<sub>R12</sub>またはLRP5<sub>R124</sub>は依然としてWnt刺激LEF-1活性を増強できたが、LRP5<sub>R34</sub>ではそうはいかなかった(図6A)ということが分かり、LRP5<sub>R12</sub>またはLRP5<sub>R124</sub>はWnt共役受容体の機能を保持しているのではないかと考えられる。しかしながら、LRP5<sub>R12</sub>またはLRP5<sub>R124</sub>が存在すると、Dkk1はWntシグナル伝達を阻害することができなかった(図6A)。このことから、Dkk1による阻害にはドメインIIIが必要なのかもしれないと考えられる。

#### 【0045】

(B) LRP5およびLRP5変異体に対するDKK1-APの結合

図6Cに示すようにしてHEK細胞にMsdプラスミドおよびLRP5プラスミドをトランスフェクトし、Dkk1-APを発現しているHEK細胞から調製したCMを用いて氷上でインキュベートした。「方法および材料」で説明したようにして、AP活性を任意単位で求めた。Wtおよび変異体LRP5分子の発現を図6Cの右側のパネルに示す。これらの結果から、LRP5<sub>R34</sub>はDkk1結合部位を含有し、Dkk1結合にはR34のE721が必要であるということが分かる。(図6C)

#### 【0046】

4.2 Dkk阻害に必要なドメインIIIの相互作用表面でのアミノ酸残基の同定

(A) 相互作用表面IIIでのAla置換変異の概略図

LDL受容体YWTD繰り返しドメインの構造(13)に基づいて、ドメインIIIの空間充填モデルを推定した。スイスプロット/TrEMBLデータベース(エントリー名Q9UP66[18])から得た配列を用いて、ICM(モルソフト(Molsolt))L.L.C.、カリフォルニア州ラホーヤ(La Jolla))でDkk1のドメインIIIの相同性モデルを構築した。低密度リボタンパク質(LDL)受容体YWTD-EGFドメイン(PDBコード1IJQ[22])をテンプレートとして選択した。この三次元構造に基づいて、本発明者らは、ドメインIIIの表面にAla置換変異を含有する19のLRP5変異体を生成した(図7A)。これらの変異体LRP5タンパク質のDkk1による阻害に耐える機能を判断し、これを図7Aに示す。変異体のうちの9つ(5%超)にDkk1による阻害に対する感受性の変化が見られ、変異同一表面に局在する変異が含まれていた(図7A)。

#### 【0047】

10

20

30

40

50



(B) 代表的な点変異がLRP5のWnt共役受容体活性に対して及ぼす影響

図7Bに示すようにして、HEK細胞に、LEF活性レポータープラスミド、Kremen1プラスミド、発現プラスミドをトランスフェクトした。Wntおよび変異体LRP5分子の発現を下側のパネルに示す。19の変異のうち、E721変異でDkk1による阻害に対する最も強い影響が認められ、続いてW781、次がY719であった(図7B)。

#### 【0048】

5. LRP5の特定ドメインと相互作用するスクリーニング化合物

5.1 ドメインIIIをテンプレートとして用いたスクリーニング化合物

(A) 仮想スクリーニング

UNITY<sup>TM</sup>プログラム(トリポスインコーポレイテッド(Triplos, Inc.))を用いて、米国国立癌研究所(NCI)のデータベース(<http://129.43.27.140/ncidb2>)で、ドメインIIIのキャビティに適合できる化合物をスクリーニングした。このデータベースは自由に検索可能なものであり、250,251の小さな化合物の配位を含む。公差0.3のR764およびE721と、キャビティに向かってTrp781から3.2離れている公差1.0の疎水性中心からなるように検索クエリを設計した。化合物の柔軟性を考慮して、高速でコンホメーション的に柔軟な三次元検索[21]に対応できるUNITY<sup>TM</sup>プログラムのディレクテッドトウィーク(Directed Tweak)アルゴリズムを適用した。

#### 【0049】

続いて、UNITY<sup>TM</sup>プログラムを用いて得られた候補化合物を、リガンドをタンパク質結合部位に短時間かつ柔軟にドッキングさせる[44]、エネルギー最小化用のFlexX<sup>TM</sup>プログラム(トリポスインコーポレイテッド(Triplos, Inc.))でDkk1結合表面にドッキングさせた[17]。Dkk1認識に不可欠であることが分かっている、残基E721、W864、Y719、R764、D877、F888、G782、W781およびM891(図7A)を、計算時に考慮した。ドッキング手順に続いて、Dkk1結合ポケットに結合する予測した機能に基づいて、Cscore<sup>TM</sup>プログラムを用いて化合物をランク付けした。Cscore<sup>TM</sup>では、タンパク質リガンド複合体の個々のスコアリング機能がどれだけうまく果たされるかに基づいて、相対的なコンセンサススコアを生成した[8]。次に、Cscore<sup>TM</sup>で手作業での最終的な目視検査を行った。コンセンサススコアが最も高かった40の化合物をNCIにリクエストしたが、入手不可のものがあったため17の化合物を手に入れた。次に、これらの化合物でDkk1結合アッセイを行った(セクション5参照)。これらの化合物のうちの3つが、LRP5に対するDkk1の結合に影響することが明らかになった。すなわち、NCI106164(図8A)はDkk1結合を32%阻害し、一方NCI39914(図8B)およびNCI660224(図8C)はDkk1結合をそれぞれ645%および275%刺激した。NCI39914およびNCI660224の刺激作用は、これらの化合物と第3のドメインのDkk1結合キャビティとの相互作用が促進されたことによるものかもしれない。この促進は、Dkk1とLRP5の相互作用表面間に存在するギャップがブリッジされたことによる可能性がある。アントラ-9,10-キノン(図9A)は化合物NCI39914およびNCI660224に共通の部分構造であるため、アントラ-9,10-キノン(quninone)がLRP5との結合相互作用において鍵となる役割を果たしているのかもしれない。UNITY<sup>TM</sup>プログラムの類似性検索アルゴリズムを用いて、アントラ-9,10-キノンに近いNCIデータベースに見られた化合物の二次元検索を実施した。次に、FlexX<sup>TM</sup>プログラムを用いて上述したようにしてヒットしたものをドッキングさせた。スコアが最も高かった25の化合物をNCIから得て試験した。化合物NCI657566(図9B)およびNCI366218(図10A)が、Wntシグナル伝達のDkk1による阻害を逆転できた。図9Cに示すNCI366218由来のテンプレートを用いて新規な二次元類似性検索を実施し、13の候補化合物を同定した。(後述するような)生物学的アッセイから、Wntシグナル伝達のDkk1による阻

10

20

30

40

50

害を逆転させ、LRP5に対するDkk1結合を乱すには、NCI8642(図10B)が最適な化合物であることが分かった。

#### 【0050】

##### (B) 生物学的アッセイ

生物学的アッセイを利用して、仮想スクリーニングで同定された化合物をスクリーニングした。

#### 【0051】

##### (1) Dkk-I 結合アッセイ

セクション2(図4)で説明したようにして、最初の2つのドメインがない全長LRP5またはLRP5R34変異体を発現しているHEK細胞に対するDkk1-APの結合を実施した。17の化合物からなる第1のバッチで、まずは全長LRP5に対するDkk1結合の阻害についてスクリーニングした。本発明者らは、NCI106164がDkk1結合に対して68%の阻害作用を示すのに対し、NCI39914およびNCI660224はDkk1結合をそれぞれ654%および276%刺激することを明らかにした。

(表I参照)

#### 【0052】

##### (II) Wnt 活性アッセイ

Wntシグナル伝達にはLRP5の第2および第3のドメインが必要であり、これらのドメインはおそらく、Wnt分子と直接的に相互作用する。これらのドメインは広範囲にわたってアミノ酸配列が相同であるが、第3のドメインに結合する特定の化合物が最初の2つのドメインにも結合し、潜在的にWnt活性の阻害を引き起こしているという可能性がある。化合物の第2のバッチについては、まずWnt活性アッセイを用いてスクリーニングした上で、結合アッセイを用いてスクリーニングし、Dkk阻害を逆転させる化合物がLRP5に対するDkk結合を阻害することを確認した。表IIに示されるように、第2のバッチのうち25の化合物をWnt活性アッセイでスクリーニングした。これらの化合物を以下の項目について調べた。1)基礎レポーター活性の阻害、2)Wnt活性の阻害、3)Wnt活性のDkkによる阻害の逆転。表IIに示されるように、25の化合物のうちの17がWnt活性を30%よりも多く阻害することが明らかになった。NCI366218およびNCI657566という2つの化合物が、Wnt活性に影響せずにWntシグナル伝達のDkk1による阻害を逆転させることが明らかになった。

#### 【0053】

どの化合物がDkkによる阻害を逆転させるのかを判断するために、仮想スクリーニングを用いて化合物の第3のバッチを同定した。13の化合物を同定し、Wnt活性スクリーニングを行った。表IIIに示されるように、3つの化合物がWnt活性を大幅に阻害し、1つの化合物(NCI8642)がDkkによる阻害を有意に逆転させることが明らかになった。

#### 【0054】

図11および図12に示すように、NCI8642およびNCI366218の両方をWnt活性アッセイおよびDkk結合アッセイでさらに特徴付けした。Dkkによる阻害を逆転させるにはNCI8642の方が効果的であった。NCI8642にもNCI366218より広い範囲の有効濃度があった。どちらの化合物も、高い濃度でWnt阻害を示しはじめた。どちらの化合物も最初の2つのドメインのない全長LRP5およびLRP5R34変異体に対するDkk1-APの結合を阻害するため、どちらの化合物もDkk1とLRP5との相互作用を乱してDkkによる阻害を逆転させた。Dkk1結合の阻害にはNCI366218よりもNCI8642の方が効果的であることが分かったが、これはWntシグナル伝達に対するDkkによる拮抗作用の逆転で有効性が増した結果と一致していた。

#### 【0055】

##### (III) 骨原性アッセイ

##### a) 培養での骨原性アッセイ

W n t は培養した骨芽細胞の増殖と分化を刺激し、D k k はこの過程を阻害する。したがって、これらの化合物は骨形成量を増す。B S P、オステオカルシン、コラーゲンの発現をはじめとする骨形成マーカーの発現または石灰化を調べれば、このことをモニターすることができる。2 . 3 K b の C o l 1 A 1 プロモーターによって駆動される G F P の発現もモニターした。図 1 3 は、N C I 3 6 6 2 1 8 が G F P 発現を刺激し、骨芽細胞の分化が増しているのではないかと示している。図 1 4 は、N C I 3 6 6 2 1 8 が石灰化を刺激することを示している。N C I 3 6 6 2 1 8 も頭蓋冠の有機培養 ( o r g a n o c u l t u r e ) で骨形成を刺激する。

#### 【 0 0 5 6 】

##### b ) i n v i v o での骨原性アッセイ

i n v i v o でのこれらの化合物の有効性についての試験を行い、これらの化合物が i n v i v o で骨形成量を増すのかどうかを判断することができる。頭蓋冠の外側と骨髄キャビティ内にさまざまな化合物用量を注入することができる。骨形成の増加については、組織学的に調べることができ、また、p Q C T、D N X、X 線ラジオオートグラフィを用いて調べることができる。

#### 【 0 0 5 7 】

##### ( I V ) - カテニンレベルアッセイ

W n t シグナル伝達によってサイトゾルの B - カテニンを安定させる。このようにして得られる - カテニンのレベルによって、これらの化合物が W n t シグナル伝達に対して及ぼす影響を調べることができる。たとえば、W n t 3 a C M または D k k 1 - W n t 3 a C M 混合物と組み合わせた化合物でマウス L 1 細胞を 8 時間処理した。対照として用いた細胞も W n t 3 a C M または D k k 1 - W n t 3 a C M 混合物だけで 8 時間処理した。特異的抗 - カテニン抗体を利用して、細胞ライセートでの - カテニンレベルをウェスタンブロッティングまたは E L I S A で測定した。化合物で処理した細胞の - カテニンレベルを、対照での場合と比較した。この方法を利用して、化合物を生物学的にスクリーニングしても構わない。[ 4 9 ]

#### 【 0 0 5 8 】

##### ( V ) L R P 5 / 6 の P P P S P 部位のリン酸化

最近になって、W n t が L R P 5 の細胞内ドメインにおいて P P P S P モチーフで L R P 5 のリン酸化を刺激することが発見された ( タマイ ( T a m a i ) ら、2 0 0 4 ) 。リン酸化した P S P P P に特異的な抗体を得て、W n t 活性を調べるのに利用することができる ( タマイら、2 0 0 4 ) 。このアッセイの利点は、受容体の活性化だけしか測定しない点にある。このイベントに加わる化合物は、他のアッセイでスクリーニングされた化合物よりも W n t 細胞内シグナル伝達イベントに影響する可能性が低い。たとえば、W n t 3 a C M または D K K 1 - W n t 3 a C M 混合物と組み合わせた化合物で H E K 細胞を 1 0 ~ 6 0 分間処理した。対照として用いた細胞については、W n t 3 a C M または D K K 1 - W n t 3 a C M 混合物だけで 6 時間処理した。リン酸化 P P P S P 部位に対する特異的抗体を用いて、L R P 5 または L R P 6 の P P P S P 部位のリン酸化をウェスタンブロッティングまたは E L I S A で測定した。リン酸化 L D L R - P P P S P 部位のレベルに基づいて、W n t 活性に対する影響を示す化合物をスクリーニングする目的で、化合物で処理した細胞を対照と比較した。この方法を利用して、化合物を生物学的にスクリーニングしても構わない。[ 4 9 ]

#### 【 0 0 5 9 】

##### 5 . 2 L R P 5 のドメイン I I をテンプレートとして用いて化合物をスクリーニング

##### ( A ) 仮想スクリーニング

「材料および方法」で説明したような相同性モデリングを用いて、このドメインの構造を推定することができる。セクション 4 . 2 で説明したように、部位特異的変異誘発を利用して、W n t シグナル伝達に必要な残基をマッピングした。セクション 5 . 1 ( A ) で説明した方法を用いて、この W n t シグナル伝達表面に仮想スクリーニング法を適用した。ドメイン I I は W n t シグナル伝達に関与するため、ドメイン I I をテンプレートとし

10

20

30

40

50

て用いて同定される化合物がWntシグナル伝達を上昇またはWntシグナル伝達を低減させる可能性がある。ドメインIIとドメインIIIは相同であるため、仮想スクリーニングで同定される化合物は、1) Dkk結合を増大させる、2) Dkk結合を低減させる、3) Dkk拮抗作用を増大させるおよび/または4) Dkk拮抗作用を低減させる可能性がある。

#### 【0060】

##### (B) 生物学的アッセイ

セクション5.1(B)で説明した生物学的アッセイを用いて化合物を試験した。セクション5.1(B)、I~Vで説明した方法で、Wnt活性を増大または低減させる化合物を同定した。また、5.1(B)、Iで説明したアッセイを用いて、Dkk1結合を促進または阻害する化合物を求めた。さらに、5.1(B)、IIで説明したアッセイを用いて、Dkk1拮抗作用を促進または阻害する化合物を求めた。

10

#### 【0061】

5.3 LRP5のドメインIをテンプレートとして用いて化合物をスクリーニング

##### (A) 仮想スクリーニング

「材料および方法」で説明したような相同性モデリングを用いて、このドメインの構造を推定することができる。図2で説明したように、部位特異的変異誘発を利用して、Mesdの結合と機能に必要な残基をマッピングした。セクション5.1(A)で説明した方法を用いて、このMesd結合表面に仮想スクリーニング法を適用した。ドメインIはMesd機能に關与するため、ドメインIをテンプレートとして用いて同定される化合物は、細胞表面へのLRP5提示を増大または低減させることでWntシグナル伝達を増大または低減させるおよび/またはDkk拮抗作用を増大または低減させる可能性がある。ドメインIIとドメインIIIは相同であるため、仮想スクリーニングで同定される化合物はWntシグナル伝達を増大または低減させる可能性がある。ドメインIIとドメインIIIは相同であるため、仮想スクリーニングで同定される化合物は、1) Dkk結合を増大させる、2) Dkk結合を低減させる、3) Dkk拮抗作用を増大させるおよび/または4) Dkk拮抗作用を低減させる可能性がある。

20

#### 【0062】

##### (B) 生物学的アッセイ

セクション5.1(B)、I~Vで説明した方法で、Wnt活性を増大または低減させる化合物を同定した。また、セクション5.1(B)、Iで説明したアッセイを用いて、Dkk1結合を促進または阻害する化合物を求めた。さらに、セクション5.1(B)、IIで説明したアッセイを用いて、Dkk1拮抗作用を促進または阻害する化合物を求めた。図2に示すアッセイで、Mesd機能に影響する化合物を求めた。

30

#### 【0063】

6. frizzled受容体のCRDと相互作用する化合物のスクリーニング。

Wntは、frizzledファミリーの膜貫通受容体を介してシグナル伝達する。このfrizzled受容体は、細胞膜を数回通り抜ける。frizzledのN末端細胞外領域に局在する保存されたシステインリッチドメイン(CRD)がWnt結合部位として作用する。分泌されたfrizzled関連タンパク質Frzb-1がCRDを含有し、Wntシグナル伝達発現のアンタゴニストとして機能する。

40

#### 【0064】

Frizzled 8およびマウスから分泌されたFrizzled関連タンパク質3のCRDの結晶構造が求められている。(ダン(Dann)C.ら)Wnt結合アッセイおよび変異誘発アッセイによってWnt結合部位も求められている。

#### 【0065】

##### 6.1 仮想スクリーニング

5.1(A)で説明した仮想スクリーニング法を用いて、CRDと相互作用してWntシグナル伝達経路を調節する潜在的な化合物をスクリーニングした。マウスタンパク質から得た周知のCRD構造をテンプレートとして用いて相同性モデルを作製した。他のf

50

*frizzled* ファミリメンバーまたはヒト *frizzled* タンパク質 C R D 領域の相同性モデルを作製した。C R D - W n t 相互作用に關与する構造とアミノ酸に基づいて、エネルギー最小化法を利用して各化合物の生物学的活性をさらに試験するための化合物をスクリーニングした。生物学的活性が高かった化合物については、同様の構造クエリを用いて別の候補化合物を同定した。

#### 【0066】

##### 6.2 生物学的アッセイ

W n t - 結合アッセイを利用して、化合物が *frizzled* タンパク質の C R D 領域に対して及ぼす影響をスクリーニングした。C R D ペプチド（または *frizzled* タンパク質）が、検出可能なマーカー（M y c - タグなど）のある細胞の表面で発現された。化合物および W n t アルカリホスファターゼ融合タンパク質（W n t 8 - A P など）を含有する培地を用いた。インキュベーション後、免疫組織化学染色を利用して結合を求めた。候補化合物が W n t 結合に対する影響を示したら、（5.1（B）で説明したような）他の生物学的アッセイを適用して、W n t シグナル伝達に対する各化合物の影響を求めた。[27, 38, 12]

10

#### 【0067】

##### 7. D k k と相互作用する化合物のスクリーニング

##### 7.1 仮想スクリーニング

D k k 1 の構造を解明し、セクション 4.2 で説明したようにして、K r e m e n および L R P 5 / 6 に対するその相互作用表面を変異誘発でマッピングした。セクション 5.1（A）で説明した方法で仮想スクリーニングを実施した。L R P 5 または K r e m e n への D k k 結合を増大または低減させるか、あるいは W n t の D k k による阻害を増大または低減させる化合物が明らかになった。

20

#### 【0068】

##### 7.2 生物学的（B i l o g i c a l）アッセイ

セクション 5.1（B）、I で説明したようにして、L R P 5 に対する D k k 結合を増大または低減させる化合物を求めた。また、細胞に L R P 5 ではなく K r e m e n をトランスフェクトしたこと以外はセクション 5.1（B）、I で説明したようにして、K r e m e n に対する D k k 結合を増大または低減させる化合物を求めた。さらに、セクション 5.1（B）、I I ~ I I I で説明したようにして、D k k 拮抗作用を増大または低減させる化合物を求めた。

30

#### 【0069】

##### 8. D v l ドメインと相互作用する化合物のスクリーニング

W n t - *frizzled* 受容体複合体によって細胞質の *dishvelled*（D v l）タンパク質が活性化される。これらのタンパク質は、標準的と非標準的の両方の W n t シグナル伝達経路に不可欠である。D v l タンパク質は、N 末端の D I X ドメイン、中央の P D Z ドメイン、C 末端の D E P ドメインで構成される。これらの3つの保存ドメインは各々、異なるタンパク質に関連しているため、各々異なる経路で機能する。

#### 【0070】

D I X ドメインはホモダイマーとして存在し、優勢に螺旋構造を形成する。パルスフィールド勾配 N M R 研究でこれを判断した。D I X ドメインは、*in vivo* でアクチンストレスファイバおよび細胞質小胞への標的を媒介する。よって、これは W n t シグナル伝達における分岐点を表す可能性がある。標準的 W n t シグナル伝達による - カテニンの安定化には、D v l のメンバランス（*m e m b e r a n c e*）標的を伴う。マウス D v l 2 の L y s 58、S e r 59、M e t 60 は、アクチン相互作用に決定的に關与する。L y s 68 および G l u 69 は細胞質小胞の局在化に重要である。

40

#### 【0071】

P D Z ドメインは、いくつかの分子と相互作用し、標準的と非標準的の両方の W n t 経路で重要な役割を果たす。ツメガエルの三次元 P D Z ドメイン構造が求められている（シェイト（C h e y e t t e）ら）。化学シフト摂動 N M R 分光法と結合アッセイを用い

50

ることで、*frizzled*の保存されたモチーフK T X X X WとマウスD v l 1のP D Zドメインとの間に直接的な相互作用があることが分かった。これによって、結合領域を判断することができる。(ウォング(Wong)ら)。

#### 【0072】

D v lタンパク質のD E Pドメインは、W n t経路でD v l下流のエフェクタータンパク質にシグナルを伝達する。哺乳類の細胞における - カテニン活性の上方制御とL e f - Iによる転写の刺激には、*dishvelled*のD E Pドメインが必要である。マウスD v l 1 D E Pドメインの構造が求められている。(ウォング(Wong)ら) L y s 4 3 4、A s p 4 4 5、A s p 4 4 8が、タンパク質 - タンパク質相互作用において重要な役割を果たし、その変異であるW n t - 1がL e f - 1の活性化を誘導したことが分かっている。

10

#### 【0073】

##### 8.1 仮想(V i t u a l)スクリーニング

D I Xドメインの二次構造と機能性残基が求められているため、既存のタンパク質ドメインのスクリーニングを用いて三次構造配置についての情報を得ることができる。潜在的な候補とこれについてのシミュレーションによって、結合分析用の候補化合物を生成できる。結合に影響する候補化合物を分析することができ、似たような化合物からなる新しいグループを生物学的にアッセイすることができる。P D ZおよびD E Pの三次元構造は周知であるため、セクション5.1で説明した方法と似た仮想スクリーニング法を利用すればよい。この構造をテンプレートとして利用して、ヒトタンパク質ドメインまたは他の同様の機能的タンパク質ドメインの相同性モデルを作製することができる。特定の機能に關与する構造とアミノ酸とに基づいて、エネルギー最小化法を利用して化合物をスクリーニングすることができる。各化合物の生物学的活性を試験することができる。高い生物学的活性を示す化合物については、同様の構造クエリを用いてさらに候補化合物を見つけることができ、生物学的活性をさらにアッセイすることになる。

20

#### 【0074】

##### 8.2 生物学的アッセイ

D I Xドメイン小胞の局在化には、アクチン結合領域のアクチン結合阻害アッセイと、X n r 3またはS i a m o i sの発現レベルを利用することができる。化合物の処理後は、タグ付きD I Xを含有する構成済みのベクターを細胞にトランスフェクトすることができる。続いて、免疫蛍光(I m m u n o f l u o r e n s c e n c e)染色を利用して、アクチン結合阻害を求めることができる。また、R T - P C Rを利用して、小胞局在化のX n r 3またはS i a m o i s レベルを検出することができる。

30

#### 【0075】

P D Zドメインの初期スクリーニングにはi n v i t r o結合アッセイを利用することができる。D v lのP D Zドメインに結合するペプチド(D r p C末端領域など)を利用すればよい。ビーズに結合した精製後のタグ付きペプチドをP D Zドメインおよび各化合物と混合し、インキュベーション後に、抗体を使って結合した化合物を検出することができる。各化合物の結合効率の作用(e f f i c i e n c y e f f e c t)を求めることができる。

40

#### 【0076】

標準的W n t経路に影響する化合物をスクリーニングするには、ドメインにルシフェラーゼアッセイを用いればよい。細胞にD v lドメインをトランスフェクトすることができる。これらの細胞を化合物と一緒にインキュベートすると、W n t / - カテニン活性化ルシフェラーゼ活性をアッセイできるため、これによって各化合物の作用を測定できる。

#### 【0077】

続いて、化合物をその構造に基づいて分類し、同定された化合物をさらにスクリーニングする。タンパク質結合に影響する候補の化合物を同定したら、5.1(B)においてセクションで説明した他の生物学的アッセイを使って各化合物がW n tシグナル伝達に対して及ぼす影響を判断することができる。[57, 6, 58, 55, 7]

50

## 【0078】

## 9. - カテニンと相互作用する化合物のスクリーニング

- カテニンは核への Wnt シグナルの伝達を媒介することで、標的遺伝子を活性化させる。Wnt シグナルは - カテニンの分解を防止し、- カテニンが蓄積して後から核に転座して Tcf / LEF ファミリー (family) のタンパク質のメンバーとの間で転写活性化複合体を形成できるようにする。

## 【0079】

- カテニンならびに、これがアキシン、Lef、TCF および他のいくつかのタンパク質との間で形成する複合体の結晶構造が解明されている。この情報は、標準的 Wnt シグナル伝達を調節する化合物のスクリーニングに利用することができる。

10

## 【0080】

- カテニンは、APC、LEF / TCF、E - カドヘリン、コンダクチン (conductin) / アキシンの結合部位である N 末端 アルマジロ反復配列を含有する。これらの結合部位はいずれも、- カテニンのアルマジロ反復配列単位 3 ~ 8 に局在している。因子の結合によってグループが占領されるため、他の競合する - カテニンパートナーが同時に結合することはできなくなる。

## 【0081】

## 9. 1 仮想スクリーニング

セクション 5. 1 で説明した仮想スクリーニングに近い改変戦略を利用して、結合対象となる - カテニン相互作用の化合物を同定することができる。- カテニンをテンプレートとして用いて、異なる種から得られる - カテニンの相同性モデルを生成することができる。LEF / TCF、アキシンおよび APC との相互作用に関与する必須アミノ酸と構造とに基づいて、エネルギー最小化法を利用して化合物をスクリーニングし、候補化合物のグループを作製することができる。上述したタンパク質はいずれも - カテニンの似たような位置を占めるため、生物学的アッセイを使って各化合物をスクリーニングすると、4 つの相互作用がすべて試験される。初期の生物学的活性に基づいて、有効化合物の構造を分析し、似たような方法を使って化合物の新しいグループを試験する。別の生物学的アッセイを実施して、最も有効な化合物を同定してもよい。

20

## 【0082】

## 9. 2 生物学的アッセイ

- カテニンパートナーはいずれも似たような位置を占めるため、in vitro の翻訳およびタンパク質結合アッセイを利用して各化合物の有効性を求めることができる。タグ付き - カテニン、TCF、APC、LEF またはアキシンコンストラクトを、in vitro にて転写して、翻訳することができる。対象となる化合物を用いてインキュベート後、イムノプロットングを利用して結合を検出すればよい。Wnt 結合に影響する化合物を同定したら、セクション 5. 1 (B) で説明したような他の生物学的アッセイを利用して、各化合物が Wnt シグナル伝達に対して及ぼす影響を判断することができる。[ 52, 43, 16, 59, 11 ]

30

## 【0083】

## 10. LEF - 1 / TCF 転写因子と相互作用する化合物のスクリーニング

調節因子ヌクレオタンパク質複合体のアセンブリと機能において構築的な役割を果たす DNA 結合タンパク質に、リンパ球エンハンサー結合因子 (LEF) がある。これは、高移動度群 (HMG) ドメインによって特異的なヌクレオチド配列を認識する。TCF - 遺伝子エンハンサーからの最適な結合部位を含有する 15 塩基対のオリゴヌクレオチドデュプレックスと複合化したマウス LEF - 1 の HMG ドメインのソリューション (solution) 構造が解明されている。

40

## 【0084】

## 10. 1 仮想スクリーニング

セクション 5. 1 で説明した仮想スクリーニングに近い戦略を利用して、HMG - オリゴヌクレオチド結合と相互作用し、これによって遺伝子発現調節の活性に影響す

50

る潜在的な化合物をスクリーニングすることができる。構造に基づいて、HMGドメインを含有するタンパク質は、自らが結合する対象となるDNAを屈曲させる。DNAの屈曲または結合能に影響する化合物はいずれも、遺伝子発現の調節に影響をおよぼす。周知の構造をテンプレートとして用いて、異なる種のLEF HMGドメインの相同性モデルを作製することができる。HMG-オリゴ相互作用に関与するアミノ酸と構造とに基づいて、エネルギー最小化法を利用して化合物をスクリーニングすることができる。強制的に屈曲させるか、屈曲を禁止する化合物を選択する。DNA結合(binding)活性を利用して化合物をスクリーニングした。生物学的活性がかなり高いか、かなり低い化合物についても、同様の構造クエリを用いて別の候補化合物(compound)を同定することができる。

10

#### 【0085】

##### 10.2 生物学的アッセイ

DNA結合アッセイを利用して、化合物をスクリーニングすることができる。オリゴヌクレオチドとHMGドメインを、これらの化合物と一緒にインキュベートする。ゲル遅延度アッセイを用いて、DNA結合を求める。均一に<sup>13</sup>C標識したNMRを用いて結合実験を改変し、ドメインの屈曲を分析することができる。LEF制御された遺伝子調節が直接影響するため、ルシフェラーゼアッセイも利用して化合物の影響を検出することができる。タンパク質の結合に影響している化合物を同定したら、5.1(B)で説明した他の生物学的アッセイを利用して各化合物がWntシグナル伝達に対して及ぼす影響を求めることができる。[33]

20

#### 【0086】

##### 11. 他の何らかのWntシグナル伝達関連タンパク質と相互作用する化合物のスクリーニング

Wntシグナル伝達に関与する別のタンパク質因子が存在する。将来的に、その構造を解明することができるかもしれない。相互作用表面構造に基づいて、セクション5で説明したようにして化合物をスクリーニングし、その生物学的活性を試験することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0087】

##### 図面の簡単な説明

【図1】野生型LRP5とその欠失変異体の概略図を示す。

30

【図2】G171V変異がLRP5の輸送を乱すことを説明するための図である。図示のように、HEK細胞に発現プラスミドをトランスフェクとした。1日後、この細胞を溶解させ、抗Flag抗体を用いて免疫沈降を実施した。MedsにはFlagタグを付加し、LRP5分子にはすべてHAタグを付加した。G171V変異がLRP5とMedsとの相互作用(図2A、レーン1および3)ならびにR12とMedsとの相互作用(図2B、レーン1および2)の両方を乱したのに対し、E721変異はこれらの相互作用に影響しなかった(図2A、レーン2および3)。図2Aおよび図2Bの下側のパネルは、免疫沈降用の等量のWtおよび変異体LRP5投与量を示す。[HEK細胞に、図示のMedsプラスミドと発現プラスミドをトランスフェクトした。]R12TGV、R12T、R1-4およびR1-4GV(GV)は、細胞培養の上清に分泌されることのある膜貫通ドメインが欠如したLRP5変異体であるAP融合タンパク質である。1日後、条件培地(CM)を回収し、高速で遠心分離した。上清を抗HA抗体によって免疫沈降(図2C)させるか、あるいはAPアッセイに利用した(図2D)。細胞をSDS-PAGEサンプル緩衝液にも溶解させ、ウェスタンブロッティングで分析した(図2Cおよび図2Dの下側のパネル)。このデータから、G171V変異がR12およびR1-4の分泌を阻害することが分かる。図2Eは、細胞表面のLRP5を検出する結合アッセイを用いて、G171V変異がLRP5の細胞表面輸送に干渉することを確認するものである。細胞表面をビオチン標識し、LRP5分子を抗HA抗体で沈降させた(図2E、上側のパネル)後、ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ(SA-HRP)を用いるウェスタン分析で細胞表面のLRP5分子濃度を検出した。免疫複合体中のLRP5濃度を

40

50



図 2 E の下側のパネルに示す。

【図 3】LRP5 の HBM G 1 7 1 V 変異が、同時発現した Wnt 活性の Dkk 1 による阻害よりも影響されにくいことを示す。図 3 A の左側のパネルは、Wnt 1、HBM G 1 7 1 V 変異の存在下または非存在下で LEF - 1 ルシフェラーゼレポータープラスミドと一緒に図示のように HEK 細胞にプラスミドをトランスフェクトしても、野生型 (Wt) LRP5 (LRP5<sub>Wt</sub>) に比して LEF - 1 依存性転写活性が上昇しなかったことを示す。図 3 A の右側のパネルは、LRP5 タンパク質または抗 LRP6 抗体の HA タグに特異的な抗体によって求めた、LRP5、LRP5<sub>G 1 7 1 V</sub>、LRP6、LRP6<sub>G 1 5 8 V</sub> の発現レベルを示す。図 3 B は、HEK 細胞に LEF - 1 ルシフェラーゼレポータープラスミドをトランスフェクトすると、Wnt - 1、Dkk 1 および Kremen が、Wt または G 1 7 1 V LRP5 の存在下で図示のようになることを示す。Dkk が存在する場合、LRP5<sub>Wt</sub> を発現している HEK 細胞よりも、LRP5<sub>G 1 7 1 V</sub> を発現している HEK 細胞の方が、LEF - 1 レポーター指標 Wnt 活性が有意に高い。Dkk 1、Kremen、LRP5 のタンパク質発現レベルを、図 3 C に示すようにしてウェスタンブロッティングで確認した。

【図 4】LRP5 G 1 7 1 を発現している細胞の方が、LRP5<sub>Wt</sub> を発現している細胞よりも Dkk 1 結合部位が少ないことを説明するための図 (図 4 A) である。図 4 B は、トランスフェクション後の Wt と変異体 LRP5 の同じ量の発現を示している。

【図 5】Wnt 活性に LRP5 の第 2 のドメインが必要であることを示す。HEK 細胞に、LEF 活性レポータープラスミドと発現プラスミドをトランスフェクトした。1 日後、LEF レポーター活性を上述したようにして測定した。図 5 に示す結果から、LRP5<sub>Wt</sub> よりも LRP5<sub>R 4 9 4 Q</sub> および LRP5<sub>G 4 7 9 V</sub> (第 2 のドメインに点変異がある LRP5) の方が Wnt シグナル伝達を無効にする可能性があることが分かる。

【図 6】Dkk による拮抗作用には LRP5 の第 3 のドメインが必要であることを説明するための図である。図 6 A は、Dkk による阻害に第 3 の YWTD 繰り返しドメインが必要であることを示している。HEK 細胞に、LEF 活性レポータープラスミド、Kremen 1 プラスミド、発現プラスミドをトランスフェクトした。LRP5 R 1 2 または LRP5 R 1 2 4 は依然として Wnt 刺激 LEF - 1 活性を増強できたが、LRP5 R 3 4 はこれができなかったことから、LRP5 R 1 2 または LRP5 R 1 2 4 のいずれかが Wnt 共役受容体機能を保持しているのではないかと考えられる。しかしながら、LRP5 R 1 2 または LRP5 R 1 2 4 が存在すると、Kremen の同時発現にもかかわらず Dkk 1 は Wnt シグナル伝達を阻害することができなかった。このことから、Dkk 1 による阻害には第 3 の YWTD 繰り返しドメインが必要なのではないかと考えられる。LRP5<sub>Wt</sub> とその変異体分子の発現レベルを図 6 B に示す。図 6 C は、LRP5 R 3 4 が Dkk 1 結合部位を含有し、Dkk 1 結合には R 3 4 の E 7 2 1 が必要であることを説明するための図である。図 6 D は変異の概略図である。

【図 7】Wnt を Dkk で阻害するには、相互作用表面を構成している第 3 の YWTD 繰り返しドメインのアミノ酸残基が必要であることを示す。図 7 A では、LDL 受容体 YWTD 繰り返しドメインの構造 (13) に基づいて第 3 の YWTD 繰り返しドメインの空間充填モデルを推定した。三次元構造に基づいて、第 3 の YWTD 繰り返しドメインの表面に Ala 置換変異を含有する 19 の LRP5 変異体を生成した。これらの変異体 LRP5 タンパク質の Dkk 1 による阻害に耐える能力を判断した。この変異体のうちの 9 つ (5% 超) で、Dkk 1 による阻害に対する感受性の変化が認められたが、いずれも同一表面に局在した変異を含有していた。図 7 B では、HEK 細胞に、LEF 活性レポータープラスミド、Kremen 1 プラスミド、発現プラスミドをトランスフェクトした。Wt および変異体 LRP5 分子の発現を下側のパネルに示す。19 の変異のうち、E 7 2 1 変異で Wnt の Dkk 1 による阻害に対する最も強い影響が認められ、続いて W 7 8 1、次は Y 7 1 9 であった。LRP5<sub>G 1 7 1 V</sub> でも Wnt の Dkk 1 による阻害に対する影響が認められた。

【図 8】米国国立癌研究所 (National Cancer Institute (N

10

20

30

40

50

C I ) ) から得られた 3 種類の化合物の二次元構造を示す。N C I 1 0 6 1 6 4 ( 図 8 A ) は D k k 1 結合に対して 6 8 % の阻害作用を示し、N C I 3 9 9 1 4 ( 図 8 B ) と N C I 6 6 0 2 2 4 ( 図 8 C ) はそれぞれ、D k k 1 結合を 6 5 4 % および 2 7 6 % 増加させる。

【図 9】N C I 3 9 9 1 4 および N C I 6 6 0 2 2 4 における共通の部分構造であるアントラ - 9 , 1 0 - キノン ( 図 9 A ) の二次元構造を説明するための図である。図 9 B は、N C I 6 5 7 5 6 6 の二次元構造を示す。図 9 C は、二次元の類似性探索に用いたテンプレートを示す。

【図 1 0】D k k 1 - L R P 5 相互作用を特異的に妨害し、D k k 1 による W n t シグナル伝達の阻害を逆転させる化合物である N C I 3 6 6 2 1 8 ( I I C 8 、 図 1 0 A ) と N C I 8 6 4 2 ( I I I C 3 、 図 1 0 B ) の二次元構造を示す。

【図 1 1】N C I 3 6 6 2 1 8 と N C I 8 6 4 2 が D k k 1 阻害を逆転させることを説明するための図である。H E K 細胞に、L E F - 1 発現プラスミド、L E F - 1 ルシフェラーゼレポータープラスミド、G F P 発現プラスミドと共に L R P 5 プラスミドをトランスフェクトした。次に、これらの細胞を異なる濃度の N C I 3 6 6 2 1 8 化合物と N C I 8 6 4 2 化合物で処理し、続いて対照としての C M 、 W n t 3 a C M または W n t 3 a / D k k 1 C M 混合物で 6 時間処理した。D M S O で処理した細胞のレポーター活性を 1 0 0 % とした。図 1 1 は、特定の濃度で、N C I 3 6 6 2 1 8 ( 図 1 1 A ) と N C I 8 6 4 2 ( 図 1 1 B ) が W n t 活性の D k k による阻害を有意に逆転可能であることを示している。

【図 1 2】N C I 3 6 6 2 1 8 および N C I 8 6 4 2 が L R P 5 に対する D k k 1 の結合を阻害できることを示す。H E K 細胞に、M e s d プラスミドと L R P 5 または L R P 5 R 3 4 とをトランスフェクトした。1 日後、細胞を異なる濃度の N C I 3 6 6 2 1 8 と N C I 8 6 4 2 で処理し、m D k k 1 - A P を発現している H E K 細胞から調製した条件培地 ( C M ) を用いて氷上でインキュベートした。A P 活性を上記したようにして求めた。D M S O で処理した細胞の A P 活性を 1 0 0 % とした。図 1 2 は、N C I 3 6 6 2 1 8 ( 図 1 2 A ) と N C I 8 6 4 2 ( 図 1 2 B ) が、L R P 5<sub>wt</sub> に対する D k k 1 の結合ならびに L R P 5 R 3 4 に対する D k k タンパク質の結合を阻害することを示している。

【図 1 3】N C I 3 6 6 2 1 8 ( I I C 8 ) によって骨芽細胞の分化を刺激できることを説明するための図である。G F P を骨芽細胞のマーカーとして利用できる、2 . 3 K b の C o l 1 A 1 プロモーター ( 2 . 3 C o l - G F P )<sup>11</sup> で制御される緑色蛍光タンパク質 ( G F P ) トランスジーンを持つ 3 ヶ月齢のマウスから骨髓間質 ( B M S ) 細胞を単離した。8 日目と 1 2 日目に、それぞれ 9 μ M と 2 6 μ M の I I C 8 化合物で培養を処理した。これと同じ時点、対照としての D M S O で培養を処理した。図 1 3 は、B M S 培養を I I C 8 で処理した場合に骨芽細胞分化マーカー 2 . 3 C o l - G F P の供給が開始された ( t u r n e d o n ) ことを示している。

【図 1 4】骨原性アッセイを示す。N C I 3 6 6 2 1 8 の存在下および非存在下で初代骨髓間質骨芽細胞 ( p r i m a r y b o n e m a r r o w s t r o m a l o s t e o b l a s t ) を培養し、分化を誘導した。2 0 日後、骨形成過程を反映している骨芽細胞の石灰化がキシレンオレンジ染色で観察された。N C I 3 6 6 2 1 8 は石灰化を 2 倍刺激した。

【図 1 5】L R P 5 R 1 2 と L R P 5 R 3 4 のどちらも D k k 1 結合部位を含有し、D k k 1 結合には R 3 4 の E 7 2 1 が必要であり、G 1 7 1 V L R P 5 変異体が細胞表面に対する D k k 結合を無効にし得ることを説明するための図である。図 4 A は、D k k 1 が L R P 5 R 1 2 と L R P 5 R 3 4 のどちらにも結合可能であるが、R 1 2 G V ( L R P 5 R 1 2 における G 1 7 1 V 変異 ) および R 3 4 E ( E 7 2 1 変異のある L R P 5 R 3 4 ) でトランスフェクトした細胞では細胞表面に対する D k k 1 結合が有意に低かったことを示す。図 4 B は、トランスフェクション後の W t と変異体 L R P 5 の同じ量の発現を示している。

【図 1 6】骨原性細胞での D k k 1 と W n t 7 b の発現を説明するための図である。分化

10

20

30

40

50

誘導後の異なる時点で骨髄間質細胞の細胞培養から全RNAを単離した。リアルタイムのRT-PCRでDkkとWntの発現レベルを求めた。Wnt 7bでは、分化誘導後にその発現に顕著な増加が認められた(図7A)。Wnt 7bがLEF-1レポーター遺伝子を刺激する能力を試験したところ、標準的Wnt経路を刺激することができた(図7B)。図7Cは、マウス長骨部分のインサイチュハイブリダイゼーション画像である。この画像から、Dkk 1の大半が骨細胞で発現されることが分かる。図Dは、Kremen、Dkk、LRP、Wnt、Fz間の相互作用について説明するための図である。

【手続補正書】

【提出日】平成17年10月28日(2005.10.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

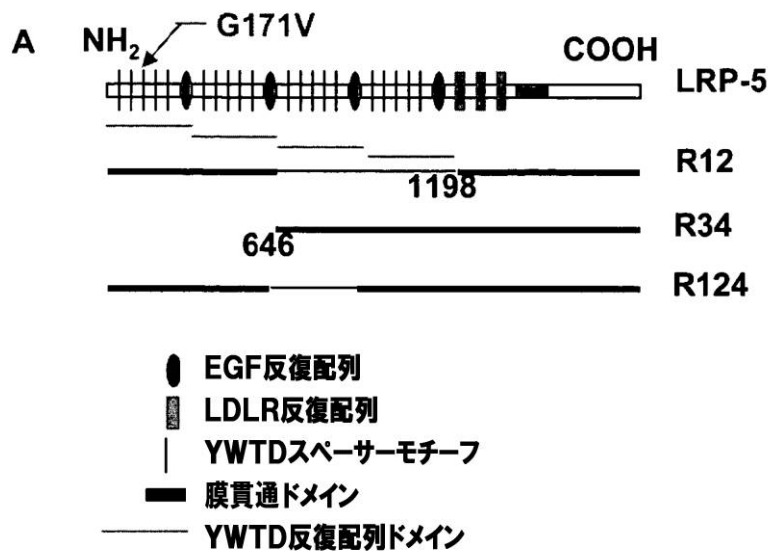
【補正方法】変更

【補正の内容】

【書類名】図面

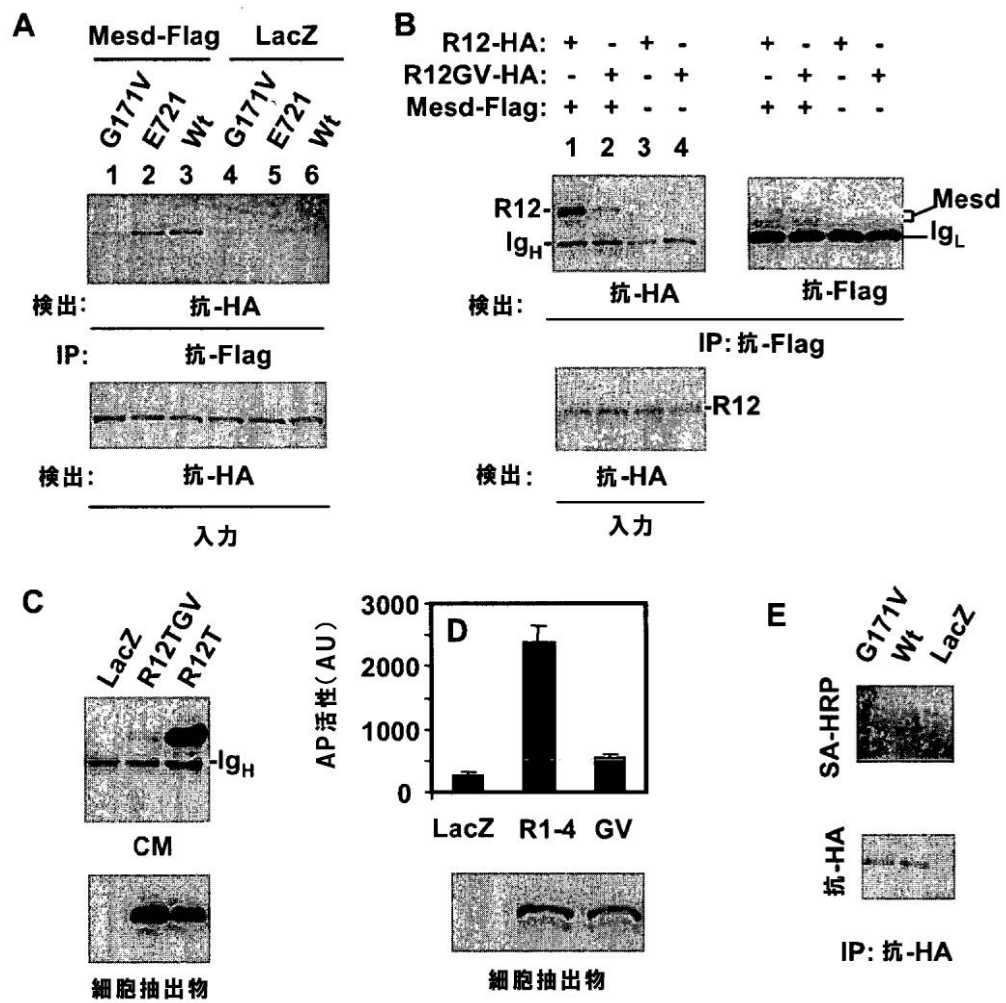
【図1】

図1



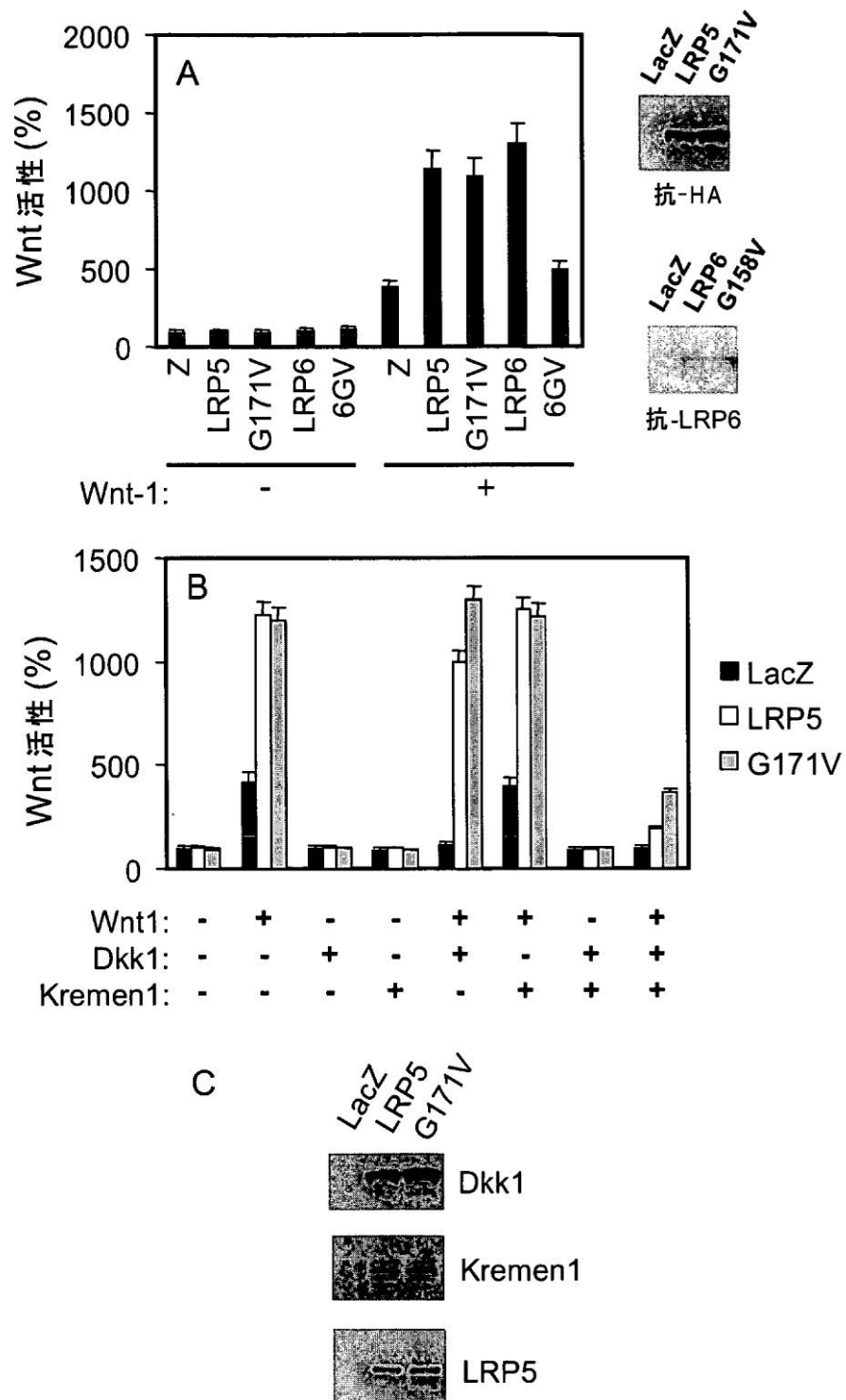
【図2】

図 2



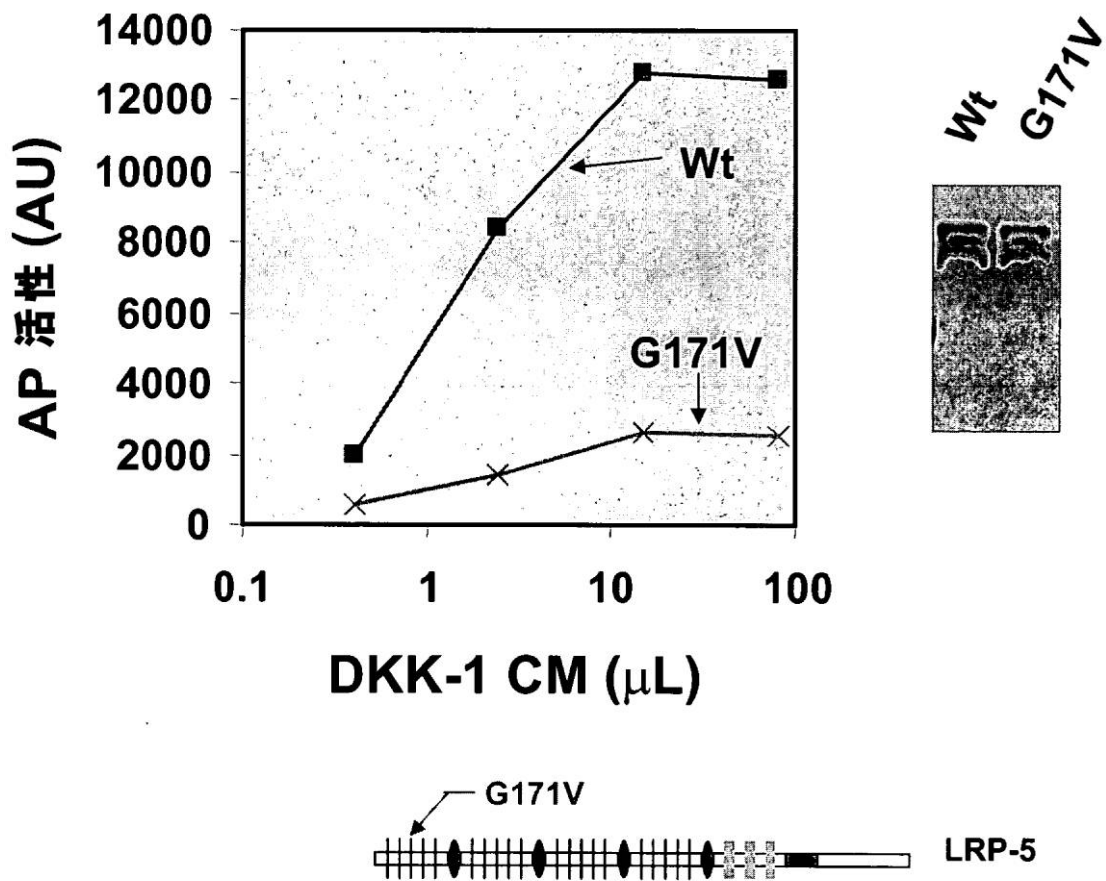
【 図 3 】

图 3



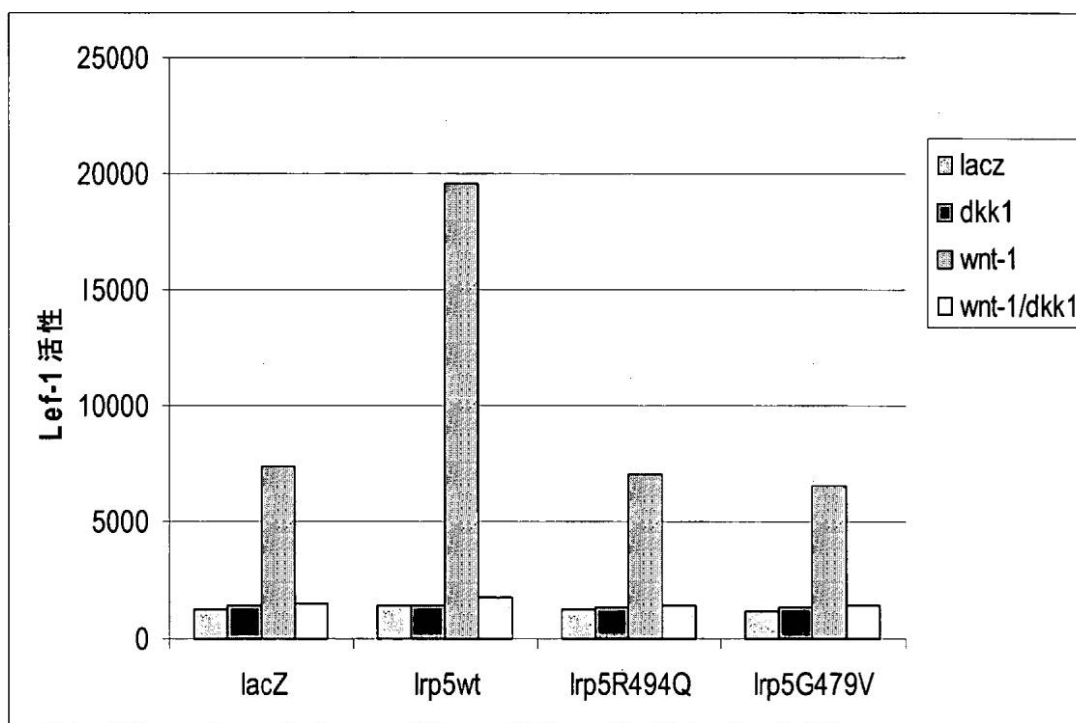
【图 4】

図 4



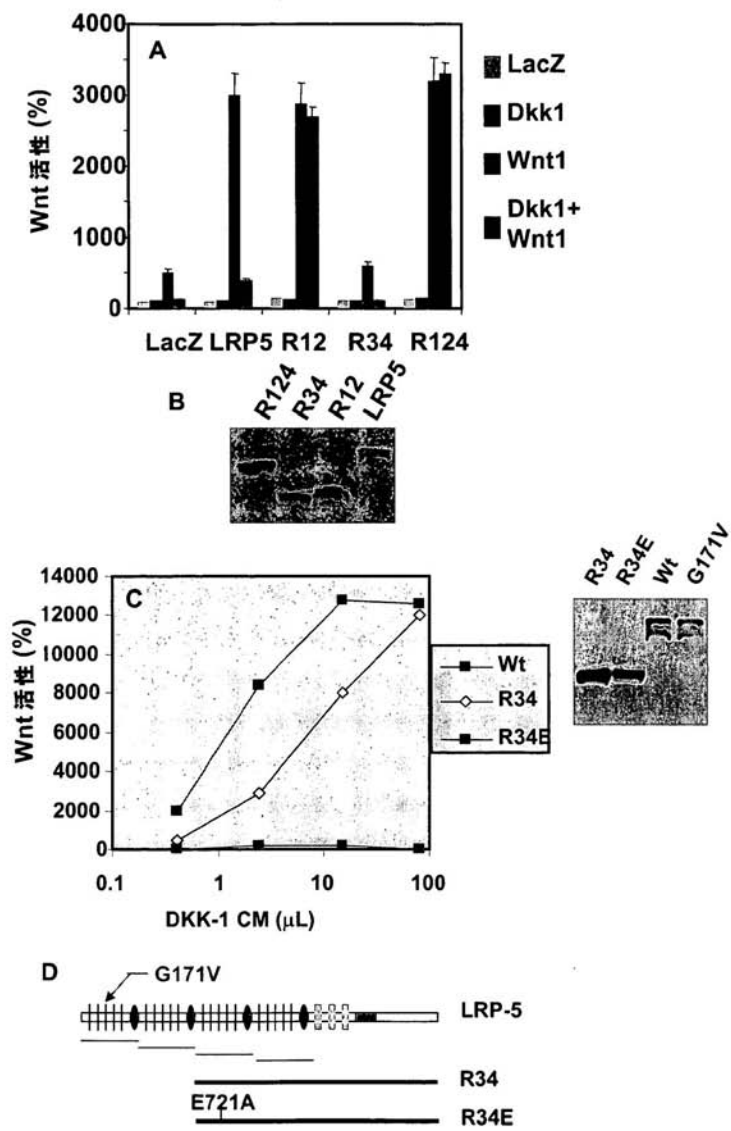
【 図 5 】

図 5



【 図 6 】

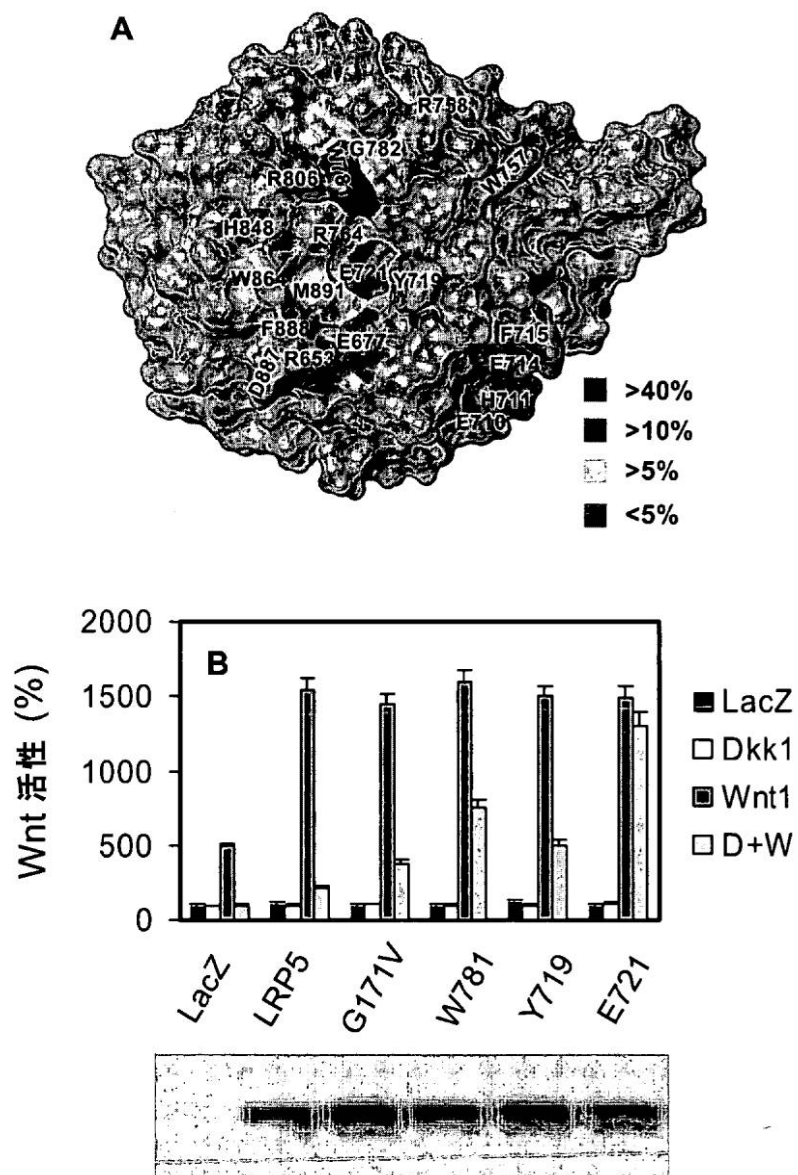
図 6



【 図 7 】



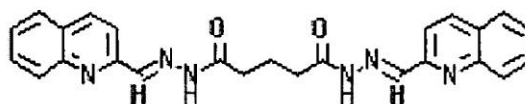
図 7



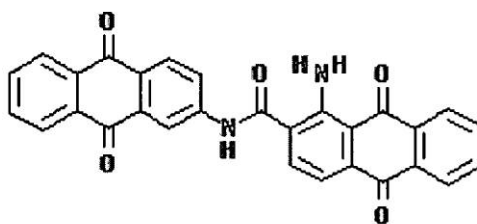
【 図 8 】

## 図 8

A



B



C

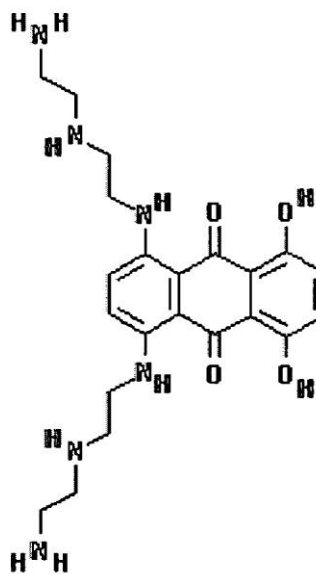
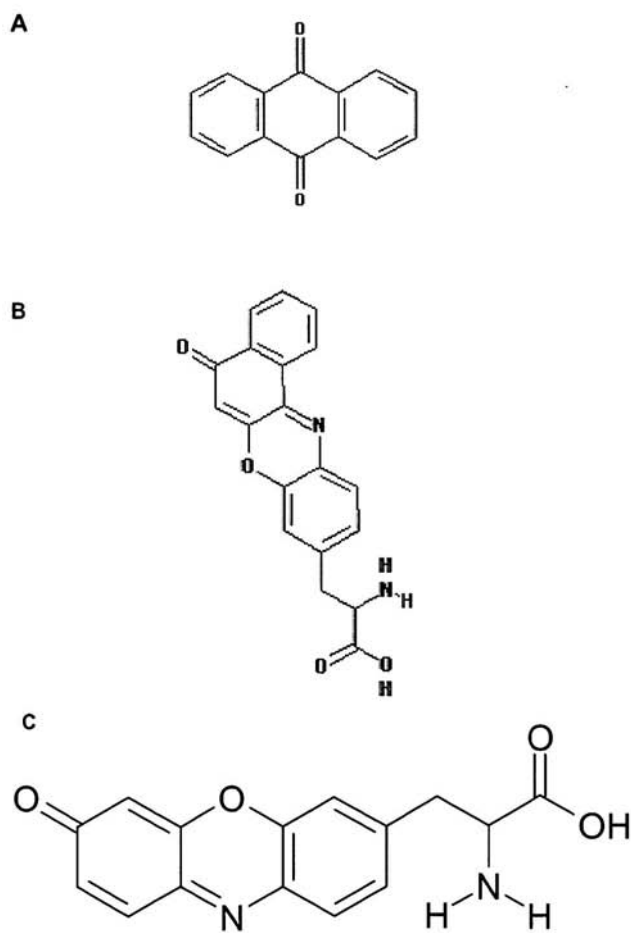


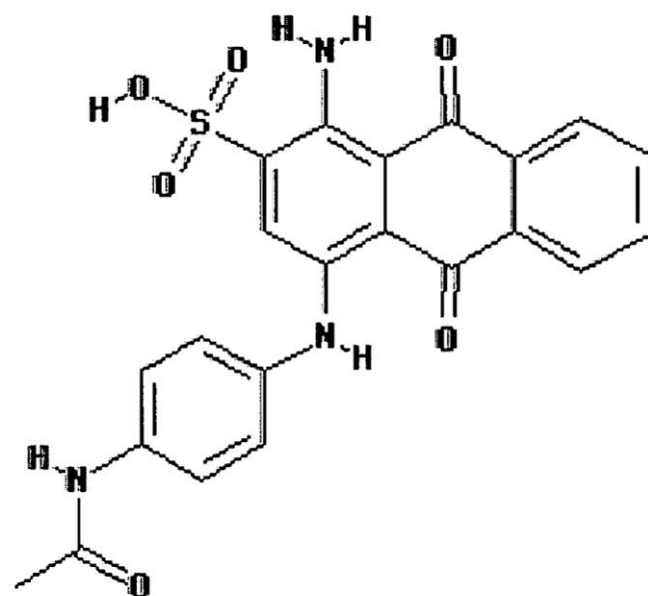
図 9



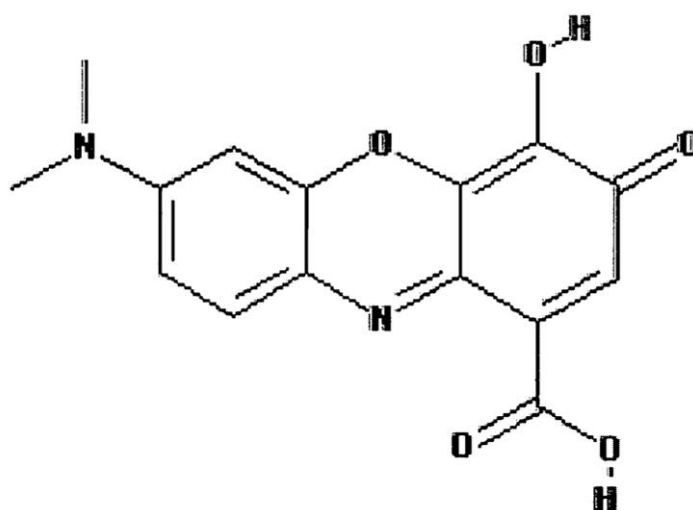
アントラ-9,10-キノン (A)、NCI657566(B)、  
第2の2D類似性検索のテンプレート(C)の2D構造

図 10

A

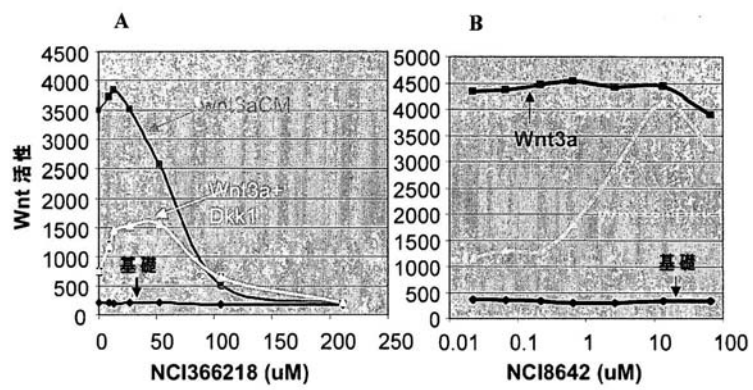


B



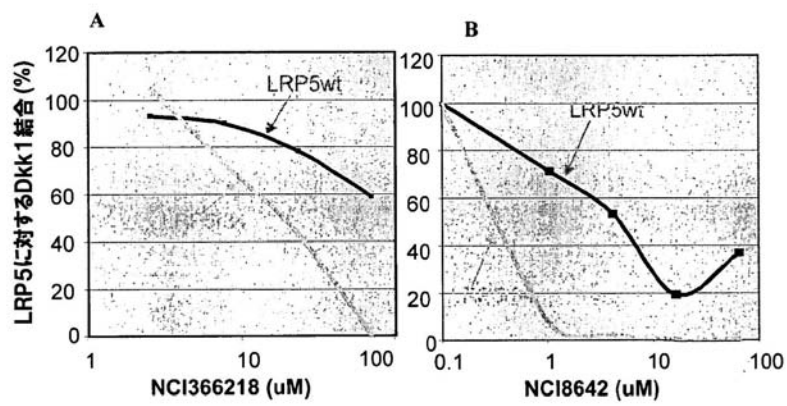
DKK1-LRP5\_3 相互作用を特異的に妨害し、DKK1 による Wnt シグナル伝達の阻害を逆転できる化合物 NCI366218(A, IIC8) および NCI8642(B, IIC3)2D 構造

図 11



【 図 1 2 】

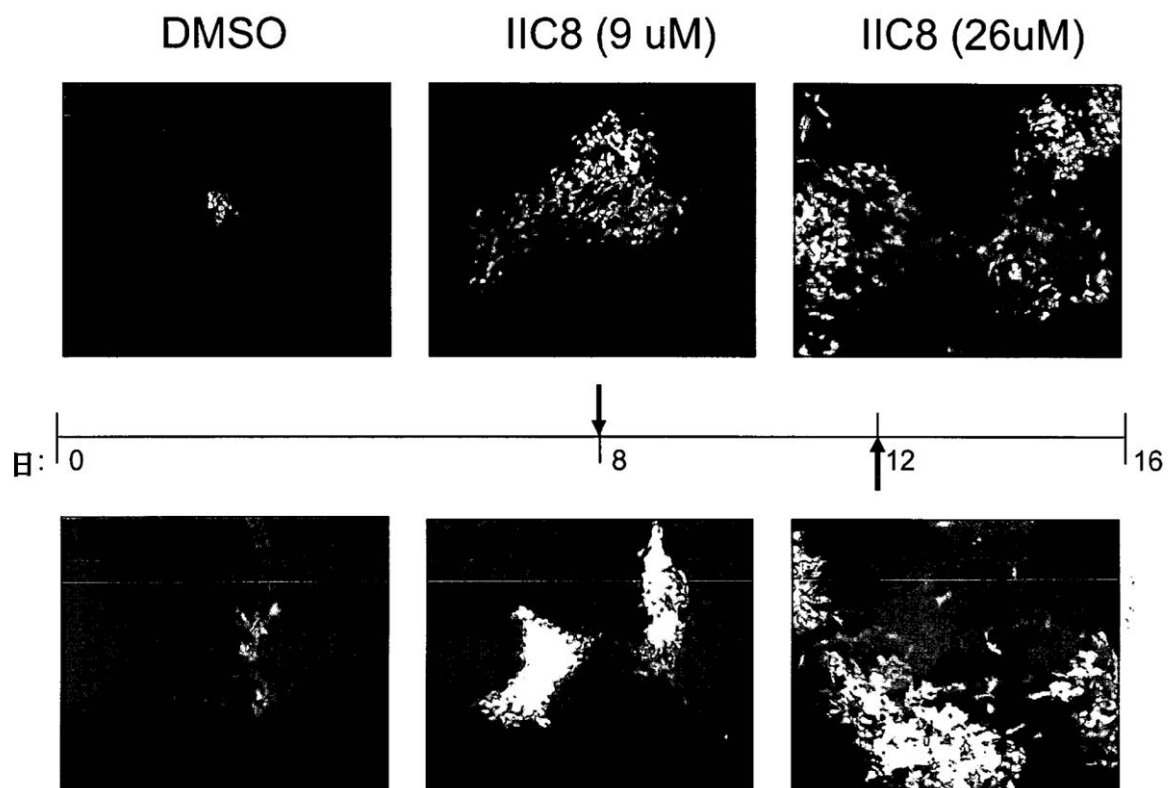
図 12



【 図 1 3 】

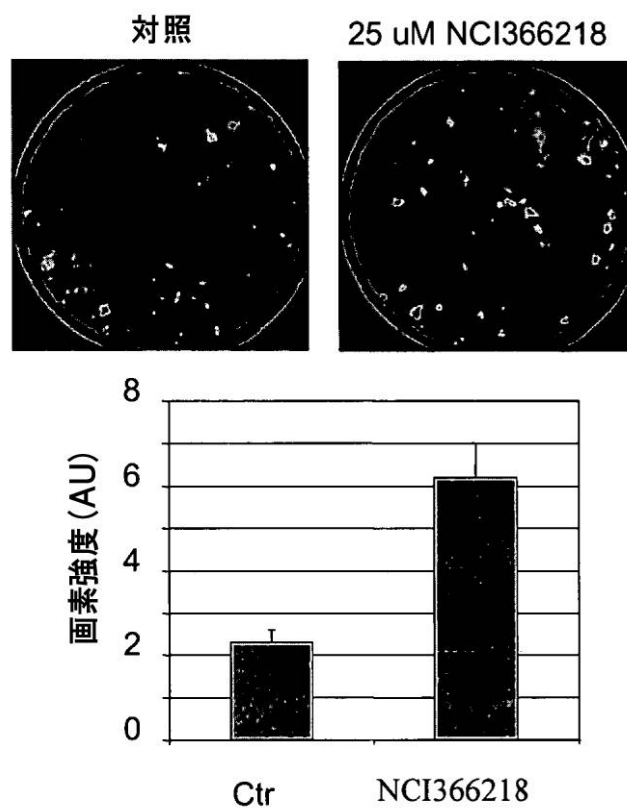
図 13

IIC8 化合物が骨芽細胞の分化を刺激



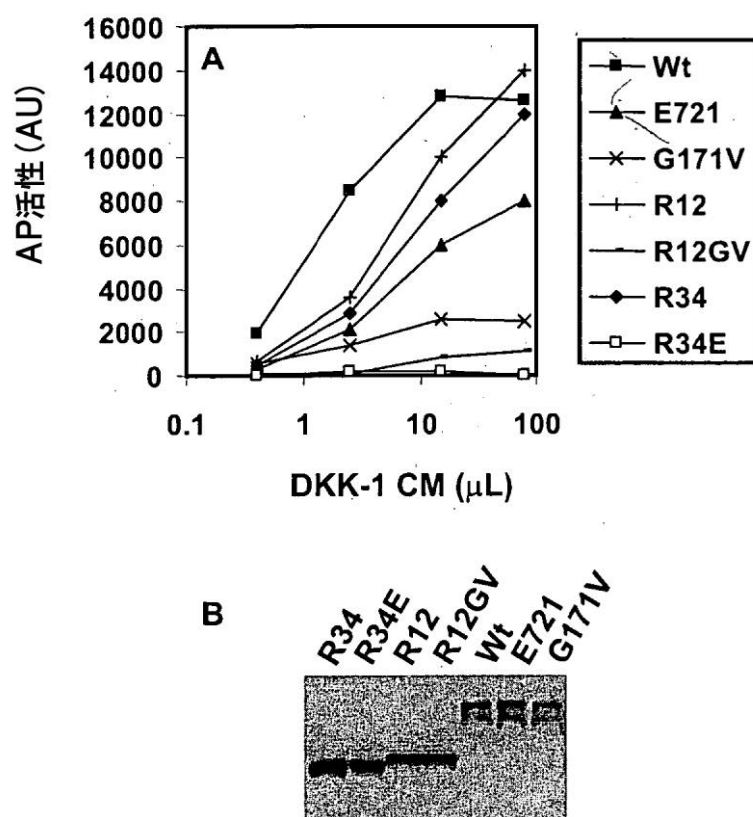
【 図 1 4 】

图 14



【图 15】

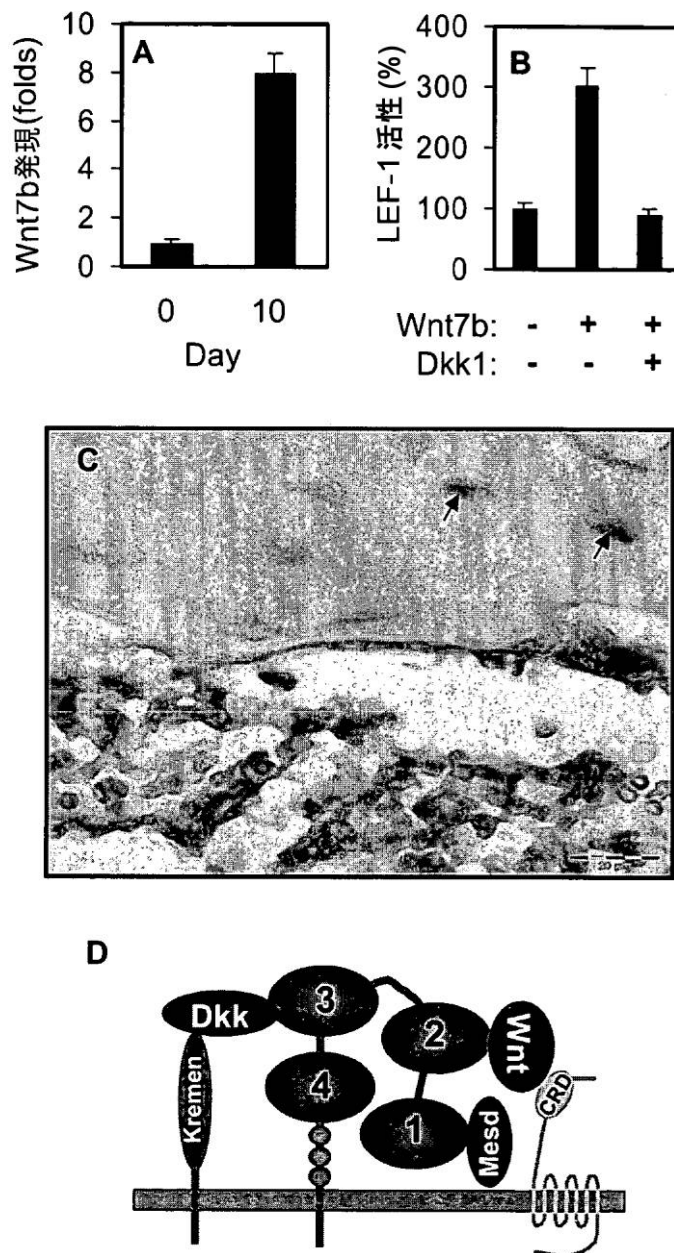
図 15



【 図 1 6 】



図 16



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/185 (2006.01)	A 6 1 K 31/185	4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/4709 (2006.01)	A 6 1 K 31/4709	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/538 (2006.01)	A 6 1 K 31/538	
A 6 1 P 19/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/10 (2006.01)	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/20 (2006.01)	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 33/00 (2006.01)	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 0 7 D 265/34 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 D 265/38 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 1 2 N 5/06 (2006.01)	C 0 7 D 265/34	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 0 7 D 265/38	
	C 1 2 N 5/00	E
	C 1 2 N 15/00	A

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM), EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ, CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR, CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,L T,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN ,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(71)出願人 500334070

エンゾ セラピューティクス, インコーポレイテッド

Enzo Therapeutics, Inc.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10022, ニューヨーク, 9ティーエイチ フロアー,  
マディソン アベニュー 527, エンゾ バイオケム, インコーポレイテッド内  
C/O Enzo Biochem, Inc., 527 Madison Avenue,  
9th Floor, New York, New York 10022, United  
States of America

(71)出願人 506385852

ツァン, ヤツォウ

アメリカ合衆国, コネチカット州 06032, ファーミントン, タルコット フォレスト ロード 12 エフ.

(71)出願人 506384327

リユー, パン

アメリカ合衆国, コネチカット州 06107, ウェスト ハートフォード, ウェスト ノルマン  
ディ ドライブ 30

(71)出願人 506383984

リ, シャオフェン

アメリカ合衆国, コネチカット州 06110, ウェスト ハートフォード, アパートメント シ

- ー, スティーブン ストリート 23
- (71)出願人 506385863  
ツァン, ジー  
アメリカ合衆国, テネシー州 38103, メンフィス, アイランド プレイス イースト 1071
- (71)出願人 506385874  
シャン, ジュファン  
アメリカ合衆国, テネシー州 38126, メンフィス, ナンバー 16, エス. ダンラップ ストリート 255
- (71)出願人 506383939  
エンゲルハート, ディーン  
アメリカ合衆国, ニューヨーク州 10024, ニューヨーク, ナンバー 6 ディー, リバーサイド ドライブ 173
- (74)代理人 100079108  
弁理士 稲葉 良幸
- (74)代理人 100093861  
弁理士 大賀 眞司
- (74)代理人 100109346  
弁理士 大貫 敏史
- (72)発明者 ツァン, ヤツォウ  
アメリカ合衆国, コネチカット州 06032, ファーミントン, タルコット フォレスト ロード 12 エフ.
- (72)発明者 リュー, パン  
アメリカ合衆国, コネチカット州 06107, ウェスト ハートフォード, ウェスト ノルマンディ ドライブ 30
- (72)発明者 リ, シャオフエン  
アメリカ合衆国, コネチカット州 06110, ウェスト ハートフォード, アpartment シー, スティーブン ストリート 23
- (72)発明者 ツァン, ジー  
アメリカ合衆国, テネシー州 38103, メンフィス, アイランド プレイス イースト 1071
- (72)発明者 シャン, ジュファン  
アメリカ合衆国, テネシー州 38126, メンフィス, ナンバー 16, エス. ダンラップ ストリート 255
- (72)発明者 エンゲルハート, ディーン  
アメリカ合衆国, ニューヨーク州 10024, ニューヨーク, ナンバー 6 ディー, リバーサイド ドライブ 173
- (72)発明者 ウー, ディアンキン  
アメリカ合衆国, コネチカット州 06410, チェシャー, ギネヴェーレ リッジ 298
- F ターム(参考) 4B024 AA01 BA63 CA01 DA02 EA04 GA11 HA08  
4B065 AA87X BA22 BB19 BC41 BD39 BD42 CA44  
4C056 AA02 AB01 AC03 AD02 AD05 AE03 EA01 EB01 EC01 ED03  
ED06 ED08  
4C084 AA17 BA44 DA01 MA02 NA14 ZA961 ZA971 ZB211 ZB212 ZB261  
ZB331 ZB351 ZB371 ZC202 ZC412 ZC511 ZC512 ZC551 ZC751  
4C086 AA01 AA02 BC28 BC74 GA07 MA01 MA02 MA04 NA14 ZA96  
ZA97 ZB21 ZB26 ZB33 ZB35 ZB37 ZC20 ZC41 ZC51 ZC55  
ZC75  
4C087 AA01 AA02 BB42 BB44 BB64 CA04 MA02 NA14 ZA96 ZA97  
ZB21 ZB26 ZB33 ZB35 ZB37 ZC20 ZC41 ZC51 ZC55 ZC75

4C206	AA01	AA02	JA09	MA01	MA02	MA04	NA14	ZA96	ZA97	ZB21
	ZB26	ZB33	ZB35	ZB37	ZC20	ZC41	ZC51	ZC55	ZC75	