

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-511940

(P2025-511940A)

(43)公表日 令和7年4月16日(2025.4.16)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	2 G 0 4 5
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 B 0 6 3
A 6 1 K 31/7068(2006.01)	A 6 1 K 31/7068	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/706(2006.01)	A 6 1 K 31/706	4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/506(2006.01)	A 6 1 K 31/506	4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全78頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2024-559584(P2024-559584)	(71)出願人 514232085 ユーシービー バイオファルマ エスアー ルエル
(86)(22)出願日 令和5年4月6日(2023.4.6)	
(85)翻訳文提出日 令和6年12月4日(2024.12.4)	
(86)国際出願番号 PCT/EP2023/059271	ベルギー国 1 0 7 0 ブリュッセル アレ デ ラ レシエルシエ 6 0
(87)国際公開番号 WO2023/194584	
(87)国際公開日 令和5年10月12日(2023.10.12)	(74)代理人 110000855 弁理士法人浅村特許事務所
(31)優先権主張番号 2205200.5	(72)発明者 デイヴィス、ガレス チャールズ グリン ドゥール
(32)優先日 令和4年4月8日(2022.4.8)	
(33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)	英国 エスエル1 3ダブリュイー パ ークシャー、スラウ、バス ロード 2 0 8、ユーシービー バイオファルマ ユー ケイ、アイビーディー 気付
(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW), EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES, FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV 最終頁に続く	(72)発明者 ジョーンズ、ポール 英国 エスエル1 3ダブリュイー パ ークシャー、スラウ、バス ロード 2 0 8、ユーシービー バイオファルマ ユー ケイ、アイビーディー 気付 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 グレムリン - 1 アンタゴニストとシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体の組み合わせ

(57)【要約】

本発明は、増殖依存性細胞傷害性剤を組み合わせ、がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんを処置又は予防する方法における使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニストであって、方法が、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を投与することをさらに含む、上記抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 2】

(a) がんが固形がんであり；
 (b) がんが間質 G R E M 1 過剰発現を有し；
 (c) がんが転移性がんであり；
 (d) がんが休眠がん細胞、場合により休眠幹様がん細胞を含み；
 (e) がんが再発がんであり、及び / 若しくは前記方法ががんの再発を予防するためのものであり；

10

(f) がんが、シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性であるがんであり；場合によりがんが、ゲムシタピン若しくはその誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性であるがんであり；並びに / 又は

(g) がんが、大腸がん、多発性骨髄腫、膵臓がん、膀胱がん、乳がん、肺がん、胃がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、前立腺がん、神経膠腫、子宮内膜がん、卵巣がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、及び骨肉腫から選択される、請求項 1 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

20

【請求項 3】

(a) がんが膵臓がんであり；場合により
 (i) 膵臓がんが外分泌膵臓がんであり；及び / 若しくは
 (i i) 膵臓がんが膵管腺がん (P D A C) であり；
 (b) がんが肺がんであり；場合によりがんが非小細胞肺がんであり；
 (c) がんが膀胱がんであり；
 (d) がんが乳がんであり；又は
 (e) がんが卵巣がんである、請求項 2 (g) に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

30

【請求項 4】

(a) (i) がんが上皮 G R E M 1 過剰発現を有し；場合によりがんが G R E M 1 誘導性のがんであり；

(i i) がんが播種性がんであり；及び / 又は

(i i i) がんが確立がんであり；並びに / 或いは

(b) (i) シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体がゲムシタピン若しくはその誘導体であり；

(i i) シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体がアザシチジン若しくはその誘導体であり；

(i i i) シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体がシタラピン若しくはその誘導体であり；

40

(i v) シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体がデシタピン若しくはその誘導体であり；又は

(v) シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体がトロキサシタピン若しくはその誘導体である、請求項 1 から 3 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 5】

膵臓がんを処置又は予防する方法における使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニストであって、方法が、増殖依存性細胞傷害性剤を投与することをさらに含む、抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 6】

50

- (a) 膵臓がんが外分泌膵臓がんであり；
- (b) 膵臓がんが膵管腺がん (P D A C) であり；
- (c) 膵臓がんが転移性膵臓がんであり；
- (d) 膵臓がんが再発膵臓がんであり；及び / 又は
- (e) 膵臓がんが、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性であるがんである、請求項 5 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 7】

- (a) 増殖依存性細胞傷害性剤がヌクレオシド阻害剤若しくは代謝拮抗剤であり；
 - (b) 増殖依存性細胞傷害性剤がシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体であり；
 - (c) 増殖依存性細胞傷害性剤が有糸分裂阻害剤であり；場合により
 - (i) 有糸分裂阻害剤が微小管安定化薬であり；及び / 又は
 - (i i) 有糸分裂阻害剤及び / 若しくは微小管安定化薬がアブラキサン及びパクリタキセルから選択され；
 - (d) 増殖依存性細胞傷害性剤が、オキサリプラチン、フォリン酸、イリノテカン及びフルオロウラシルのうちの一つ以上を含み；場合により増殖依存性細胞傷害性剤が F O L F I R I N O X 若しくは F O L F O X であり；又は
 - (e) 増殖依存性細胞傷害性剤が、
 - (i) ゲムシタピン若しくはその誘導体；
 - (i i) アザシチジン若しくはその誘導体；
 - (i i i) シタラピン若しくはその誘導体；
 - (i v) デシタピン若しくはその誘導体；
 - (v) トロキサシタピン又はその誘導体；又は
 - (v i) カペシタピン
- である、請求項 5 又は請求項 6 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 8】

アンタゴニストが、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、アンチセンス RNA、低分子干渉 RNA (s i R N A)、低分子阻害剤又は低分子ヘアピン RNA (s h R N A) である、請求項 1 から 7 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 9】

- (a) アンタゴニストが、 I l e 1 3 1、L y s 1 4 7、L y s 1 4 8、P h e 1 4 9、T h r 1 5 0、T h r 1 5 1、A r g 1 6 9、L y s 1 7 4 及び G l n 1 7 5 から選択される少なくとも一つの残基を含むグレムリン - 1 上のエピトープに結合する抗体であり、残基の番号付けが配列番号 1 に従い；場合により
 - (i) 抗体が、I l e 1 3 1、L y s 1 4 7、L y s 1 4 8、P h e 1 4 9、T h r 1 5 0、T h r 1 5 1、A r g 1 6 9、L y s 1 7 4 及び G l n 1 7 5 のすべてを含むエピトープと結合し；並びに / 又は
 - (i i) L y s 1 4 7、L y s 1 4 8、P h e 1 4 9、T h r 1 5 0、T h r 1 5 1、A r g 1 6 9、L y s 1 7 4 及び G l n 1 7 5 が、同じグレムリン - 1 モノマー上に位置し、I l e 1 3 1 が第 2 のグレムリン - 1 モノマー上に位置し；
- (b) アンタゴニストが、配列番号 1 0 若しくは 1 2 の重鎖可変領域 (H C V R) 内に含有される重鎖相補性決定領域 (H C D R) 配列、及び / 又は配列番号 1 1 若しくは 1 3 の軽鎖可変領域 (L C V R) 内に含まれる軽鎖相補性決定領域 (L C D R) 配列を含む抗グレムリン - 1 抗体であり；又は
- (c) アンタゴニストが、配列番号 3、4、5 及び 6 から選択される少なくとも一つの H C D R 配列、及び / 又は配列番号 7、8 及び 9 から選択される少なくとも一つの L C D R 配列を含む抗グレムリン - 1 抗体であり；場合により
 - (i) 抗グレムリン - 1 抗体が、配列番号 6 の H C D R 3 配列を含み；

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

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

(i v) 抗グレムリン - 1 抗体が、配列番号 1 0 若しくは 1 2 の重鎖可変領域 (H C V R) 配列、及び / 又は配列番号 1 1 若しくは 1 3 の軽鎖可変領域 (L C V R) 配列、又はそれと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 8 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

10

【請求項 1 0】

(a) 抗グレムリン - 1 抗体が、配列番号 1 0 / 1 1 若しくは 1 2 / 1 3 の H C V R 及び L C V R 配列対、又はそれと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含み；場合により、抗グレムリン - 1 抗体が、配列番号 4 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 若しくは配列番号 3 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 からなる H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 / L C D R 1 / L C D R 2 / L C D R 3 配列を含み；H C V R 及び L C V R の残りが、それぞれ配列番号 1 0、1 1、1 2 及び / 又は 1 3 と少なくとも 9 5 % の同一性を含み；並びに / 或いは

(b) 抗グレムリン - 1 抗体が、配列番号 1 4、1 6、1 8、2 2、2 8、3 0、3 2 若しくは 3 4 の重鎖、及び / 若しくは配列番号 1 5、1 7、1 9、2 3、2 9、3 1、3 3 若しくは 3 5 の軽鎖、又はそれと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含む、請求項 9 (c) (i v) に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

20

【請求項 1 1】

抗グレムリン - 1 抗体が、配列番号 1 4 / 1 5、1 6 / 1 7、1 8 / 1 9、2 2 / 2 3、2 8 / 2 9 若しくは 3 0 / 3 1、3 2 / 3 3、3 4 / 3 5 の重鎖及び軽鎖の対、又はそれらと少なくとも 9 5 % 同一である配列を含み；場合により、抗体の H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 / L C D R 1 / L C D R 2 / L C D R 3 配列が配列番号 4 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 若しくは配列番号 3 / 5 / 6 / 7 / 8 / 9 からなり、重鎖及び軽鎖の残りがそれぞれ配列番号 1 4、1 5、1 6 及び / 又は 1 7 と少なくとも 9 5 % の同一性を含む、請求項 1 0 (b) に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

30

【請求項 1 2】

(a) アンタゴニストが、請求項 9 (a) (i) から 1 0 までのいずれか一項に定義される抗体とグレムリン - 1 への結合をめぐって競合する抗体であるか；又は

(b) アンタゴニストが、請求項 9 (a) (i) から 1 0 までのいずれか一項に定義される抗体と同じ、グレムリン - 1 上のエピトープに結合する抗体である、請求項 8 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 1 3】

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

(b) アンタゴニスト抗体が、F a b、修飾 F a b、F a b '、修飾 F a b '、F (a b)₂、F v、単ドメイン抗体若しくは s c F v である、請求項 8 から 1 2 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 1 4】

アンタゴニストは、請求項 9 から 1 3 までのいずれか一項に定義される抗体をコードするポリヌクレオチドであるか、又は前記ポリヌクレオチドを有する発現ベクターである、請求項 8 に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 1 5】

アンタゴニスト抗体が、薬学的に許容されるアジュバント及び / 又は担体をさらに含む医薬組成物中に含まれる、請求項 8 から 1 3 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

50

【請求項 16】

方法が、追加の抗がん剤を投与することをさらに含み；場合により

(a) 方法が、さらなるシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体と組み合わせたゲムシタピンを投与することを含み；及び/又は

(b) 方法が、トロキサシタピンと組み合わせたゲムシタピンを投与することを含み、請求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の使用のための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

【請求項 17】

がんを処置若しくは予防する方法における使用のためのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体であって、方法が、抗 G R E M 1 アンタゴニストを投与することをさらに含み；場合により、前記がん、前記アンタゴニスト、前記シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体及び/又は前記方法が、請求項 1 から 4 まで及び 8 から 16 までのいずれか一項に定義される通りである、上記シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体。

10

【請求項 18】

がんを処置するための方法であって、治療有効量のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせた治療有効量の抗 G R E M 1 アンタゴニストをそれを必要とする対象に投与することを含み、場合により、前記がん、前記アンタゴニスト、前記シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体及び/又は前記方法が、請求項 1 から 4 まで及び 8 から 16 までのいずれか一項に定義される通りである、上記方法。

【請求項 19】

膵臓がんを処置又は予防する方法における使用のための増殖依存性細胞傷害性剤であって、方法が、抗 G R E M 1 アンタゴニストを投与することをさらに含み；場合により、前記増殖依存性細胞傷害性剤、前記膵臓がん、前記アンタゴニスト及び/又は前記方法が、請求項 5 から 16 までのいずれか一項に定義される通りである、上記増殖依存性細胞傷害性剤。

20

【請求項 20】

膵臓がんを処置するための方法であって、治療有効量の増殖依存性細胞傷害性剤を組み合わせた治療有効量の抗 G R E M 1 アンタゴニストを投与することを含み、場合により、前記増殖依存性細胞傷害性剤、前記膵臓がん、前記アンタゴニスト及び/又は前記方法が、請求項 5 から 16 までのいずれか一項に定義される通りである、上記方法。

30

【請求項 21】

抗 G R E M 1 アンタゴニスト及びシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体を含む組成物又はキットであって、場合により、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体が請求項 4 (b) に定義される通りである、上記組成物又はキット。

【請求項 22】

抗 G R E M 1 アンタゴニスト及び有糸分裂阻害剤を含む組成物又はキット。

【請求項 23】

有糸分裂阻害剤が、請求項 7 (c) (i) 又は 7 (c) (ii) のいずれか 1 つに定義される通りである、請求項 22 に記載の組成物又はキット。

【請求項 24】

抗 G R E M 1 アンタゴニストが、請求項 8 から 14 までのいずれか一項に定義されている通りである、請求項 21 から 23 までのいずれか一項に記載の組成物又はキット。

40

【請求項 25】

(a) がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、G R E M 1 アンタゴニストとシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体との組み合わせ処置に应答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者における G R E M 1 の間質発現及び/又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に対して应答する可能性が高いかどうかを予測することを含み上記方法；或いは

(b) 膵臓がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを

50

発症するリスクがある患者が、G R E M 1 アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤との組み合わせ処置に应答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者におけるG R E M 1 の間質発現及び/又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に対して应答する可能性が高いかどうかを予測することを含む上記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、がんを処置又は予防するための併用療法に関する。特に、本発明は、ゲムシタピンなどのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせた、がんを処置又は予防する方法において使用するための抗G R E M 1 アンタゴニスト、並びに関連する組成物及びキットに関する。本発明はまた、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせた、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための抗G R E M 1 アンタゴニスト、並びに関連する組成物及びキットに関する。本発明はまた、間質G R E M 1 過剰発現に基づいて、患者が併用療法に应答する可能性があるか否かを予測する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

がんは、がん免疫療法、遺伝子治療、データサイエンス及び精密医療における技術的進歩にもかかわらず、重大であり、複雑な世界的課題であり続けている。薬剤耐性及び既存治療への应答不良を伴う失敗は、がんの処置及び予防のための改善された治療を開発する必要性を浮き彫りにしている。また、既存の処置の有効性を改善することができる併用療法もまた必要とされている。

20

【0003】

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

30

【発明の概要】

【0004】

本発明者らは、驚くべきことに、G R E M 1 アンタゴニストが、膵臓がんの処置又は予防のために化学療法剤と組み合わせて有利に投与され得ることを示した。膵臓がんのL S L - K r a s G 1 2 D / + ; L S L - T r p 5 3 R 1 7 2 H / + ; P d x 1 - C r e (K P C) マウスモデルを用いて、本発明者らは、抗G R E M 1 アンタゴニストと化学療法剤を含む併用療法が、ビヒクル対照と比較して、これらのマウスの生存を有意に改善することを実証した。理論に束縛されることなく、本発明者らは、抗G R E M 1 アンタゴニストを用いた間質標的化は、間質自体が腫瘍細胞に化学療法耐性を付与することができるため、膵臓がんに対する化学療法の有効性を増強し得るという仮説を立てた。本発明者らはまた、これらの結果に基づいて、G R E M 1 アンタゴニストと、ゲムシタピン及び他のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体などの増殖依存性細胞傷害性剤を含む併用療法が、がんの処置及び予防において一般的に有用であることを想定している。特に、本発明者らは、G R E M 1 アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤を含む併用療法が、休眠幹様

40

50

がん細胞の存在によって特徴付けられるがんの処置及び予防において一般的に有用であることを想定している。本発明者らの知見は、がん、特に膵臓がんの予防及び処置に対する新たなアプローチを提供するものである。

【0005】

したがって、本発明の第1の態様では、がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストが提供され、本方法は、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を投与することをさらに含む。

【0006】

本発明のさらなる態様では、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストが提供され、本方法は、増殖依存性細胞傷害性剤を投与することをさらに含む。

10

【0007】

本発明の別の態様では、がんを処置又は予防する方法において使用するためのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体が提供され、本方法は、抗GREM1アンタゴニストを投与することをさらに含む。

【0008】

本発明のさらに別の態様では、がんを処置する方法であって、治療有効量のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせた治療有効量の抗GREM1アンタゴニストを、それを必要とする対象に投与することを含む方法が提供される。

【0009】

本発明のさらなる態様では、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための増殖依存性細胞傷害性剤が提供され、本方法は、抗GREM1アンタゴニストを投与することをさらに含む。

20

【0010】

本発明のさらに別の態様では、膵臓がんを処置する方法であって、治療有効量の増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせた治療有効量の抗GREM1アンタゴニストを投与することを含む方法が提供される。

【0011】

本発明の別の態様では、抗GREM1アンタゴニスト及びシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体を含む組成物又はキットが提供される。

30

【0012】

本発明のさらに別の態様では、抗GREM1アンタゴニスト及び有糸分裂阻害剤を含む組成物又はキットが提供される。

【0013】

本発明のさらなる態様では、がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストとシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法が提供され、本方法は、患者におけるGREM1の間質及び/又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に対して応答する可能性が高いかどうかを予測することを含む。

40

【0014】

本発明のさらに別の態様では膵臓がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又は膵臓がんを発症するリスクがある患者が、GREM1アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤との組み合わせ処置に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法が提供され、本方法は、患者におけるGREM1の間質及び/又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に対して応答する可能性が高いかどうかを予測することを含む。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】グレムリン-1発現が示されている中央値を上回るか又は下回るPDAC患者の

50

生存を示すカプランマイヤー分析の図である。高レベルのグレムリン - 1 を発現している腫瘍を有する患者は、低発現の患者と比較して有意に予後不良である。K M p l o t t e r より作製した。

【図 2】(a) 繁殖戦略、及び (b) 実験設計を示す模式図である。

【図 3】指示されるように処置中の個々のマウスにおける高分解能超音波法によって測定した場合の腫瘍負荷を示すグラフである。

【図 4】示されるように、A b 7 3 2 6 m I g G 1 (n = 7)、ビヒクル (n = 7)、ゲムシタピン (n = 5)、又はゲムシタピンを組み合わせた A b 7 3 2 6 m I g G 1 (n = 6) による処置の開始からの P d x 1 - C r e ; L S L - K r a s G 1 2 D / + ; L S L - T r p 5 3 R 1 7 2 H / + (K P C) マウスの生存を示すカプランマイヤー分析。A b 7 3 2 6 m I g G 1 とゲムシタピンの組み合わせで処置したマウスは、ビヒクル対照と比較して生存において有意な増加を示す (ログランク、p = 0 . 0 4) 。

10

【発明を実施するための形態】

【0016】

表の簡単な説明

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

表 2 - 与えられた処置の用量とスケジュール、各処置上のマウスの数 (打ち切られた症例を含む)、及び各処置コホートにおける生存中央値を示す表。A b 7 3 2 6 m I g G 1 とゲムシタピンの組み合わせで処置したマウスは、ビヒクル対照と比較して生存中央値において有意な増加を示す。

20

表 3 - 示される処置上の個々のマウスの生存データ及び打ち切りを示す表。* は処置の開始時の平均腫瘍より小さいことを示す。

【0017】

本発明の詳細な説明

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

【0018】

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

30

【0019】

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

【0020】

抗 G R E M 1 アンタゴニストとシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を用いた併用療法

40

本発明は、がんを処置又は予防する方法において使用するための、ゲムシタピンなどのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせた抗 G R E M 1 アンタゴニストを提供する。がんは、典型的には、G R E M 1 過剰発現を有するがん、及び / 又はゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体で標的化することができるがんである。がんは、追加的又は代替的に、休眠がん細胞、例えば、休眠幹様がん細胞を含むもの及び / 又は再発がんであるとして特徴付けることができる。

【0021】

本発明はさらに、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を、がんを処置又は予防する方法において使用するために提供し、本方法は、抗 G R E M 1 アンタゴニストの別個の、連続した、又は同時の投与を含む。

50

【0022】

シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体

本発明は、がんを処置又は予防するために、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とともに抗GREM1アンタゴニストを用いる併用療法を提供する。シチジン類似体及びデオキシシチジン類似体は、特異的なヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤であり、内因性ヌクレオシドを模倣し、核酸の合成と干渉することによって細胞傷害活性を発揮する。ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤には、生理学的なピリミジン及びプリン核酸塩基及びヌクレオシドの類似体が含まれる。特に、シチジン類似体及びデオキシシチジン類似体は、内因性のシチジン又はデオキシシチジンを模倣する。このような化合物はまた、DNAのメチル化と干渉するか、又は生理学的ヌクレオシドの代謝を修飾することができる。「類似体（単数又は複数）」とは、対象とする標的/化合物と構造的又は機能的に類似した化合物を指す。例えば、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体は、シチジン若しくはデオキシシチジンと構造的類似性を有し、及び/又はシチジン若しくはデオキシシチジンと同様の化学的及び生物学的性質を有することがある。

10

【0023】

任意のがんの処置との関連で、本発明は、任意のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体の使用を包含する。本発明において使用するための例示的なシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体としては、ゲムシタピン（2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロシチジン；4-アミノ-1-(2-デオキシ-2, 2-ジフルオロ-D-エリスロ-ペントフラノシル)ピリミジン-2(1H)-オン；4-アミノ-1-[(2R, 4R, 5R)-3, 3-ジフルオロ-4-ヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)オキソラン-2-イル]ピリミジン-2-オン）、又はそれらの誘導体；アザシチジン（5-アザシチジン；4-アミノ-1-ベータ-D-リボフラノシル-1, 3, 5-トリアジン-2(1H)-オン）、又はその誘導体；シタラピン（Ara-C/シトシン1-[ベータ]-D-アラビノフラノシド；4-アミノ-1-[(2R, 3S, 4S, 5R)-3, 4-ジヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)オキソラン-2-イル]ピリミジン-2-オン）、又はその誘導体；デシタピン（5-アザ-2'-デオキシシチジン/5-アザデオキシシチジン；4-アミノ-1-(2-デオキシ-D-エリスロ-ペントフラノシル)-1, 3, 5-トリアジン-2(1H)-オン；4-アミノ-1-[(2R, 4S, 5R)-4-ヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)オキソラン-2-イル]-1, 3, 5-トリアジン-2-オン、又はそれらの誘導体；及びトロキサシタピン（トロキサチル/4-アミノ-1-[(2S)-2-(ヒドロキシメチル)-1, 3-ジオキソラン-4-イル]ピリミジン-2-オン）、又はそれらの誘導体が挙げられる。好ましい実施形態では、デオキシシチジン類似体はゲムシタピンである。

20

30

【0024】

一部の実施形態では、併用療法は、1つ以上のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とともに抗GREM1アンタゴニストを提供する。好ましい実施形態では、本発明は、がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストを提供し、本方法は、ゲムシタピンを投与することをさらに含む。1つの例示的な実施形態では、本発明は、がんを処置又は予防する方法における使用するための抗GREM1アンタゴニストを提供し、本方法は、トロキサシタピンと組み合わせたゲムシタピンを投与することをさらに含む。特に好ましい実施形態では、本発明は、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストを提供し、本方法は、トロキサシタピンと組み合わせたゲムシタピンを投与することをさらに含む。

40

【0025】

本明細書において定義されるGREM1アンタゴニストと、本明細書において記載されるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を含む併用療法が、前記シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体で典型的に標的化されるがんの処置又は予防に使用され得ることが企図される。がんは、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置のために以前に記載されたがん又は腫瘍であり得る。このようながんには、限定されないが、膵

50

臓がん、乳がん、卵巣がん、非小細胞肺がん及び膀胱がんが含まれる。

【0026】

がんは、シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体による処置に応答性であるがん、及び/又はシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体による処置が企図されているがんであり得る。或いは、がんは、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、又は難治性であるがんであり得る。がんは、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に適さないものとして先に記載されたものであり得る。一部の 경우에는、がんはシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を示す場合がある。応答性は任意の手段で測定することができる。例えば、処置に対する応答性は、X線、CT若しくはMRIスキャンを用いて処置前後の腫瘍サイズを測定することにより評価されるか、又は腫瘍マーカーを測定することにより評価することができる。臓器機能を決定するための血液検査もまた、処置に対する応答性を評価するために使用され得る。膵臓がんの応答性をモニタリングするための例示的な血液マーカーの1つはCA19-9である。当業者は、処置に対するがんの応答性を測定する方法を知っている。

10

【0027】

がんは、休眠がん細胞、例えば、休眠幹様がん細胞を含む、及び/又は再発がんであるとして追加的若しくは代替的に特徴付けることができる。

【0028】

特に好ましい一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、膵臓がんの処置のために、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせて投与される。例示的な1つの膵臓がんは、膵管腺がんなどの外分泌膵臓がんである。

20

【0029】

ゲムシタピン

ゲムシタピン(2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロシチジン/2', 2'-ジフルオロ2'-デオキシシチジン)は、典型的には、膵臓がん、乳がん、卵巣がん、非小細胞肺がん、膀胱がん、及び他の固形がんの処置に使用される化学療法剤である。ゲムシタピンは代謝拮抗剤である。上述され、以下でより詳しく記載されるように、代謝拮抗剤は内因性ヌクレオシドを模倣し、核酸の合成と干渉することにより細胞傷害活性を発揮する。ゲムシタピンはシチジンのピリミジンヌクレオチド類似体である。細胞膜上のヌクレオチドトランスポーターを介して細胞内に進入することができ、その後、一連のリン酸化反応を経てゲムシタピン二リン酸とゲムシタピン三リン酸を形成する。ゲムシタピン三リン酸は、伸長中のDNA鎖への組み込みについて内因性デオキシシチジン三リン酸(dCTP)と競合し、結果としてマスクされた鎖終結をもたらす。一方、ゲムシタピン二リン酸はリボヌクレオチド還元酵素を阻害し、dCTPの利用可能性の減少をもたらす。

30

【0030】

本発明との関連で、ゲムシタピン又はその誘導体を含む併用療法が企図される。「その誘導体」という語句は、同様の治療効果を発揮し、類似の化合物/前駆体化合物から誘導される化合物を指す。ゲムシタピン誘導体には、例えば、ゲムシタピンの立体異性体、又はゲムシタピンのエステル若しくはアミドが含まれる。

40

【0031】

本発明者らは、驚くべきことに、KPCマウスモデルにおける膵臓がんを処置又は予防するために、GREM1アンタゴニストは、有利にゲムシタピンと組み合わせて投与され得ることを示した。理論に束縛されることなく、本発明者らは、抗GREM1アンタゴニストが休眠幹様がん細胞をより増殖状態に駆動することができ、ゲムシタピン又は他のシチジン若しくはデオキシシチジン類似体などの増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対する感受性を高めることができると仮定する。本発明者らはまた、間質自体が腫瘍細胞上に化学療法耐性を付与することができるため、抗GREM1アンタゴニストを使用した間質標的化が膵臓がんに対する化学療法処置の有効性を増強し得るといふ仮説を立てている。

50

したがって、G R E M 1 アンタゴニストとゲムシタピン又はその誘導体を含む併用療法は、広範囲のがんの処置又は予防に使用し得ることが想定される。また、本明細書に記載されるものなどの、G R E M 1 アンタゴニストと他のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とを含む併用療法は、広範囲のがんの処置又は予防に使用できることが想定される。

【 0 0 3 2 】

特に、本明細書で定義される G R E M 1 アンタゴニストとゲムシタピン又はその誘導体とを含む併用療法は、典型的には、ゲムシタピン又はその誘導体で標的化されるがんの処置又は予防のために使用され得ることが企図される。がんは、ゲムシタピン又はその誘導体による処置のために以前に記載されたがん又は腫瘍であり得る。このようながんとは、限定されないが、膵臓がん、乳がん、卵巣がん、非小細胞肺癌及び膀胱がんが含まれる。

10

【 0 0 3 3 】

がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体による処置に応答性であるがん、及び / 又はゲムシタピン若しくはその誘導体による処置が企図されているがんであり得る。或いは、がんは、ゲムシタピン又はその誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性であるがんであり得る。がんは、ゲムシタピン又はその誘導体による処置に適さないものとして以前に記載され得る。一部の 경우에는、がんはゲムシタピン又はその誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピンによる処置に対して耐性を発生することがある。応答性は任意の手段で測定することができる。例えば、処置に対する応答性は、X線、CT若しくはMRIスキャンを用いた処置前後の腫瘍サイズを測定するか、又は腫瘍マーカーを測定することによって評価することができる。臓器機能を決定するための血液検査もまた、処置に対する応答性を評価するために使用され得る。膵臓がんの応答性をモニタリングするための例示的な血液マーカーの1つはCA 19 - 9である。当業者は、処置に対するがんの応答性を測定する方法を知っている。

20

【 0 0 3 4 】

がんは、休眠がん細胞、例えば、休眠幹様がん細胞を含む、及び / 又は再発がんであるとして追加的若しくは代替的に特徴付けることができる。

【 0 0 3 5 】

特に好ましい一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニストは、膵臓がんの処置のために、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせて投与される。例示的な1つの膵臓がんは、膵管腺がんなどの外分泌膵臓がんである。

30

【 0 0 3 6 】

がん

抗 G R E M 1 アンタゴニストと、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とを含む併用療法との関連で、がんは、任意のがん又は腫瘍であり得る。特に、抗 G R E M 1 アンタゴニストと、ゲムシタピン又はその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とを含む併用療法との関連で、がんは、間質、典型的には脱腫瘍性間質を有する任意のがん又は腫瘍であり得る。がんは、G R E M 1 誘導性である任意のがん又は腫瘍であり得る。がんは、間質及び / 又は上皮 G R E M 1 の過剰発現が観察される任意のがんであり得る。がん又は腫瘍は、間質 G R E M 1 過剰発現を有し、上皮 G R E M 1 過剰発現を有さない場合がある。がん又は腫瘍は、上皮 G R E M 1 過剰発現を有し、間質 G R E M 1 過剰発現を有さない場合がある。好ましい実施形態では、がん又は腫瘍は、脱形成間質において G R E M 1 の過剰発現を有する。がん又は腫瘍は、G R E M 1 アンタゴニスト及び / 又はシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体による標的化に適した任意のがん又は腫瘍であってもよく、このような薬剤（複数可）による標的化に適していることが当該技術分野において公知である任意のがん又は腫瘍、及びこのような薬剤（単数又は複数）による処置に適していることが当該技術分野において公知である任意のがん又は腫瘍を含む。例えば、がん又は腫瘍は、ゲムシタピン（2' - デオキシ - 2' , 2' - ジフルオロシチジン）又はその誘導体による標的化に適した任

40

50

意のがん又は腫瘍であり得る。がん又は腫瘍は、アザシチジン（5 - アザシチジン）又はその誘導体で標的化するのに適した任意のがん又は腫瘍であり得る。がん又は腫瘍は、シタラビン（Ara - C / シトシン 1 - [ベータ] - D - アラビノフラノシド）又はその誘導体で標的化するのに適した任意のがん又は腫瘍であり得る。がん又は腫瘍は、デシタビン（5 - アザ - 2' - デオキシシチジン / 5 - アザデオキシシチジン）又はその誘導体で標的化するのに適した任意のがん又は腫瘍であり得る。がん又は腫瘍は、トロキサシタビン（トロキサチル / 4 - アミノ - 1 - [(2 S) - 2 - (ヒドロキシメチル) - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - イル] ピリミジン - 2 - オン）又はその誘導体で標的化するのに適した任意のがん又は腫瘍であり得る。がん又は腫瘍は固形腫瘍であり得る。固形腫瘍は脱形質間質を有する場合がある。

10

【 0 0 3 7 】

抗 GREM 1 アンタゴニストは、2019年6月18日に出版された国際公開第 WO 2019 / 243801号において、様々ながんの処置に有効であることが以前に示されており、その開示は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。処置され得る特に好ましいがんには、大腸がん、多発性骨髄腫、膵臓がん、膀胱がん、乳がん、肺がん、胃がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、前立腺がん、神経膠腫、子宮内膜がん、卵巣がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん及び骨肉腫が含まれる。処置され得るがんは、腸がん、結腸がん、又は直腸がんであり得る。処置されるべきがんは、播種性がん、例えば、転移性がんであり得る。播種性がんとは、生体内の最初の発生部位から広がったがんとして理解すべきである。例えば、播種性がんは、患者の骨髄、結腸、前立腺、又は乳房組織から発生し、患者の肝臓又は肺などに転移したものであり得る。

20

【 0 0 3 8 】

また、GREM 1 アンタゴニストと、ゲムシタビン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とを含む併用療法は、がんの播種を予防するために使用され得る。例えば、GREM 1 アンタゴニストとゲムシタビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんの播種を予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとアザシチジン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんの播種を予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとシタラビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんの播種を予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとデシタビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんの播種を予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとトロキサシタビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんの播種を予防するために使用され得る。

30

【 0 0 3 9 】

GREM 1 アンタゴニストと、ゲムシタビン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体とを含む併用療法は、がんに関連するポリポーシスを予防するために使用され得る。例えば、GREM 1 アンタゴニストとゲムシタビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんに関連するポリポーシスを予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとアザシチジン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんに関連するポリポーシスを予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとシタラビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんに関連するポリポーシスを予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとデシタビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんに関連するポリポーシスを予防するために使用され得る。GREM 1 アンタゴニストとトロキサシタビン又はその誘導体とを含む併用療法は、がんに関連するポリポーシスを予防するために使用され得る。

40

【 0 0 4 0 】

悪性度分類システムは、がん生物学及び医学において、細胞分化の欠如に関してがん細胞を分類するために用いられる。これは、がん細胞が、そのがん細胞が発生した組織に見出される健康な細胞とはどの程度形態が異なるかを反映する。悪性度分類システムは、特定のがんがどの程度の速さで増殖するかを示す指標として用いることができる。典型的に使用されるがんの悪性度は、悪性度 (G) X と 1 ~ 4 である。GX は、がん悪性度が評価

50

され得ないことを示す。G 1（低悪性度）がん細胞は、正常で健康な細胞（すなわち、よく分化している）と類似した形態をしており、ゆっくりと増殖し、広がる可能性は低いことが予想される。G 2（中間悪性度）がん細胞は、中程度に分化している。すなわち、より異常に見え、G 1細胞よりもわずかに早く増殖することが予想される。G 3（高悪性度）がん細胞は、正常細胞と比較して形態が大きく異なり（すなわち、分化度が低い）、G 1細胞及びG 2細胞よりも増殖速度は速いことが予想される。G 4（高悪性度）がん細胞は、分化しておらず（未分化とも呼ばれる）、増殖能力は最も高いことが予想される。

【0041】

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

10

【0042】

当業者は、がんの悪性度及び/又は病期を決定する方法を知っている。一実施形態では、本発明は、確立されたがんの処置及び/又は予防のための、抗GREM1アンタゴニストの使用に関する。一実施形態では、がんは確立されたがんである。確立されたがんは、高悪性度がん、例えばG 3又はG 4がんであり得る。確立されたがんは、II期以上のがんであり得る。確立されたがんは、III期又はIV期のがんであり得る。一実施形態では、確立されたがんは、転移したIV期のがんである。一実施形態では、確立されたがんは、確立された膵臓がんである。

20

【0043】

膵臓がんの処置及び予防における具体的に例示された用途に加えて、本発明者らは、実施例に例示されるような、ゲムシタピン及び他のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせたGREM1アンタゴニストの治療効果がまた、本明細書に記載されるような対応する特性を有する他のがんの処置に適用可能であることを想定している。

【0044】

特に、GREM1アンタゴニストを含む組み合わせが、間質及び/又は上皮のGREM1過剰発現があり、この過剰発現が悪性細胞の増殖に寄与しているがんの予防又は処置に有用であることが想定される。このようながんには、膵臓がん、膀胱がん、肺がん、胃がん、十二指腸がん、食道がん、頭頸部がん、神経膠腫、子宮内膜がん、肝臓がん、脾臓がん、骨常在がん、及び骨肉腫が含まれる。

30

【0045】

本発明のアンタゴニストは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせて、がんの処置又は予防に使用される。本発明における使用が企図される他のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体は本明細書に記載され、アザシチジン又はその誘導体；シタラピン又はその誘導体；デシタピン又はその誘導体；又はトロキサシタピン又はその誘導体が含まれる。本発明のアンタゴニストはまた、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせて「膵臓がんの処置又は予防に使用される。

40

【0046】

がんの予防には、対象ががんと診断されることを予防すること、又はがんの発症を遅延させることも含まれる。がんの予防には、以前にがんと診断された対象におけるがんの再発（relapse）又は再発（recurrence）の予防も含まれ得る。がんの予防には、追加的に、がんと診断されていないか、又は以前にがんと診断された対象の生存を増加させることが含まれる。

【0047】

がんの処置は、がんの1つ以上の症状を改善し、がんの寛解を誘発若しくは延長し、又はがんの再発（relapse）若しくは再発（recurrence）を遅延させることができる。処置は、がんを治癒、緩和又は部分的に停止させることができる。疾患症状の重症度の低下

50

、又は無症状期間の頻度若しくは期間の増加をもたらすことがある。がんの処置には、がん（例えば、確立されたがん）が患者の生体内の発生部位から患者の生体内の1つ以上の二次的な部位に広がるのを防ぐことも含まれる。したがって、がんの処置は、既存のがんの播種性又は転移の予防を含み得る。膵臓がんの処置は、例えば、CT又は内視鏡超音波検査によってアッセイした場合、原発腫瘍サイズの減少をもたらすことができる。このような減少は、膵頭部から腫瘍を摘出するWhipple法（膵頭十二指腸切除術）を容易にする可能性がある。本発明者らは、ゲムシタピンと組み合わせた抗GREM1アンタゴニストによる処置が、KPCマウスモデルにおいて生存を増加させ得ることを実証した。したがって、ゲムシタピン又は本発明による別のシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体による膵臓がんの処置はまた、患者の生存を改善することができる。

10

【0048】

膵臓がん

本発明は、好ましくは、膵臓がんの処置又は予防を対象とする。実施例においてより詳細に記載されるように、本発明者らは、ヒト膵管腺がん試料におけるGREM1の過剰発現を確認し、GREM1 mRNAの高発現が予後不良と有意に関連することを実証した（図1）。さらに、本発明者らは、抗GREM1アンタゴニストとゲムシタピンを含む併用療法がKPCマウスモデルにおいて生存を増加させることを実証した。

【0049】

したがって、一実施形態では、膵臓がんは、GREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる膵臓がんである。別の実施形態では、膵臓がんは、外分泌腫瘍又は神経内分泌腫瘍を有するものとして特徴付けることができる。膵神経内分泌がん（膵島細胞腫瘍としても公知である）は、膵臓の内分泌腺に発生する。膵臓がんの特に好ましい形態は、膵管腺がんなどの外分泌膵臓がんであり、膵管腺がんは膵管の内膜に発生し、すべての膵臓癌腫の90%を占める（Feldmann et al. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 2007; 14(3): 224-32）。他の膵外分泌がんには、膵管に形成する扁平上皮癌腫；腺扁平上皮癌腫；印環細胞癌腫；及び典型的には膵管内乳頭粘液性新生物から発生するコロイド癌腫が含まれる。膵臓がんは診断が遅く、予後不良で処置戦略も限られているため、改善された治療が必要である。

20

【0050】

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

30

【0051】

一部の態様では、膵臓がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場合では、膵臓がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

40

50

【 0 0 5 2 】

例えば、一部の態様では、膵臓がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、若しくは難治性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、膵臓がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

10

【 0 0 5 3 】

肺がん

さらなる態様では、本発明は肺がんの処置又は予防に関する。肺がんは、最も好ましくは非小細胞肺がん（NSCLC）である。NSCLCは、III期又はIV期のNSCLCなどの進行NSCLCであり得る。NSCLCは扁平上皮癌腫、腺癌腫又は大細胞癌腫であり得る。がんは小細胞肺がんであり得る。肺がんは切除不能である場合がある。肺がんは原発性肺がんであるか、又は乳がんや膵臓がんなどの肺に広がった任意の二次性がんであり得る。肺がんは播種性肺がんであり得る。肺がんは転移性肺がんであり得る。肺がんは、GREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる肺がんであり得る。肺がんは再発肺がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき肺がんには、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した肺がんが含まれる。処置の対象となる好ましいタイプの肺がんは、以下にさらに記載されるように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

20

【 0 0 5 4 】

一部の態様では、NSCLCなどの肺がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である肺がんであり得る。NSCLCなどの肺がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、若しくは難治性である肺がんであり得る。NSCLCなどの肺がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、NSCLCなどの肺がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

30

【 0 0 5 5 】

例えば、一部の態様では、肺がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの任意の誘導体による処置に応答性である肺がんであり得る。肺がんは、代替的に、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、若しくは難治性である肺がんであり得る。肺がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、肺がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

40

【 0 0 5 6 】

50

膀胱がん

さらなる態様では、本発明は、膀胱がんの処置又は予防に関する。膀胱がんは、移行細胞（尿路上皮）膀胱がんであり得る。膀胱がんは、膀胱の上皮内膜から発生する場合がある。膀胱がんは、非筋肉浸潤性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、扁平上皮膀胱がんであり得る。膀胱がんは、腺がんであり得る。膀胱がんは、膀胱の内膜から粘膜固有層に増殖した高悪性度T1腫瘍であり得る。膀胱がんは、表在性がん又は浸潤性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、再発膀胱がんであり得る。本明細書で使用される再発膀胱がんという用語は、外科的治療などの処置後に再発した膀胱がんを指す。

【0057】

本発明はさらに、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせて抗GREM1アンタゴニストを投与することによる膀胱がんの処置及び予防を提供する。膀胱がんは、播種性膀胱がんであり得る。膀胱がんは転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、肺転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、肝臓転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、骨転移性膀胱がんであり得る。膀胱がんは、GREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる膀胱がんであり得る。また、膀胱がんは、再発膀胱がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき膀胱がんには、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した膀胱がんが含まれる。処置の対象となる好ましいタイプの膀胱がんは、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤（例えば、化学療法剤）に対して耐性であり得る。

【0058】

一部の態様では、膀胱がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である膀胱がんであり得る。膀胱がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である膀胱がんであり得る。膀胱がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、膀胱がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

【0059】

例えば、一部の態様では、膀胱がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である膀胱がんであり得る。膀胱がんは、代替的に、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又はそれらの誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である膀胱がんであり得る。膀胱がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、膀胱がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

【0060】

卵巣がん

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

【 0 0 6 1 】

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

【 0 0 6 2 】

本発明はさらに、ゲムシタピン又はその誘導体を組み合わせて抗G R E M 1 アンタゴニストを投与することによる卵巣がんの処置及び予防を提供する。卵巣がんは、播種性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、転移性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、肺転移性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、肝臓転移性卵巣がんであり得る。卵巣がんは、骨転移性卵巣がんであり得る。

10

【 0 0 6 3 】

一部の態様では、卵巣がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である卵巣がんであり得る。卵巣がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である卵巣がんであり得る。卵巣がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場 合では、卵巣がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

20

【 0 0 6 4 】

例えば、一部の態様では、卵巣がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である卵巣がんであり得る。卵巣がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である卵巣がんであり得る。卵巣がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場 合では、卵巣がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

30

【 0 0 6 5 】

大腸がん

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

40

【 0 0 6 6 】

現在の大腸がんの化学療法管理は過去20年間実質的に変化しておらず、主に、増殖腫瘍上皮に対する併用細胞傷害性剤（F O L F O X（フォリン酸、フルオロウラシル及びオキサリプラチンを含む併用療法）並びにF O L F I R I（フォリン酸、フルオロウラシル及びイリノテカンを含む併用療法）レジメンなど、<http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/cancer-drugs/drugs>）によ

50

るものであり、これらの上皮標的剤に対する耐性が生じる可能性がある。大腸がんを使用するための新規な治療を同定することは、今までになく重要である。

【0067】

したがって、処置の対象となるがん又は腫瘍は、大腸がん又は大腸腫瘍である。処置の対象となる大腸がんの特に好ましい形態は、間質細胞におけるG R E M 1の過剰発現、すなわち間質G R E M 1過剰発現を有することによって特徴付けられる大腸がんである。間質細胞は、がん関連線維芽細胞であり得る。間質G R E M 1過剰発現を有する大腸がんは、上皮G R E M 1過剰発現を示さない場合がある。間質G R E M 1過剰発現を有する大腸がんは、間質F o x 1 1過剰発現を含み得る。処置の対象となる大腸がんの特に適した形態は、間葉系サブタイプの大腸がんであり、C M S 4 (Guinney et al, Nat Med 2015)としても記載されている大腸がんである。大腸がんの他のいずれのサブタイプもまた、前述のGuinneyらに記載されているように、C M S 1、C M S 2及びC M S 3のいずれかを含めて処置することができる。本明細書に記載される大腸がんは、近位大腸がん(又は近位大腸腫瘍)であり得る。近位結腸とは、脾弯曲部より上流の大腸の領域であり、盲腸、上行結腸及び横行結腸を意味する。この領域のがん又は腫瘍は、右側がん又は腫瘍とも呼ばれる。本発明は、右側大腸がん又は右側大腸腫瘍の処置に関するものであり得る。

10

【0068】

大腸がんは遠位大腸がん(又は遠位大腸腫瘍)であり得る。遠位結腸とは、脾弯曲部より下流の大腸の領域であり、下行結腸、S状結腸及び直腸を意味する。この領域におけるがん又は腫瘍は、左側がん又は腫瘍とも呼ばれる。本発明は、左側大腸がん又は左側大腸腫瘍の処置に関し得る。G R E M 1の間質過剰発現を有するがんは、好ましくは散発性がんであり得る。散発性がんは体細胞突然変異によって引き起こされる場合がある。散発性がんは、発がん性物質によって引き起こされる場合がある。散発性がんは遺伝性の遺伝子突然変異によるものではない。散発性がんはG R E M 1の間質過剰発現を引き起こし得る。散発性がんの増殖は、がんにおけるG R E M 1の間質過剰発現に依存している可能性がある。

20

【0069】

G R E M 1に近い少なくとも3つの一塩基多型(S N P)が、独立に、北欧の白人において、またおそらく他の民族においても、大腸がん(C R C)のリスクと関連する(Tomlinson et al, PLoS Genet, 2011)。G R E M 1発現との直接的なリンクがあり、他のS N P sも同様の影響を有する可能性が高い。さらに、B M P 2近傍に2つ、B M P 4近傍に2つ、及びB M P 7近傍に1つの共通のS N PがB M Pリガンドの発現に影響を与え、C R Cリスクに影響を与える。したがって、がんは上記のS N Pの1つ以上を含み得る。

30

【0070】

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

40

【0071】

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

【0072】

大腸がんは播種性大腸がんであり得る。大腸がんは転移性大腸がんであり得る。大腸がんは肺転移性大腸がんであり得る。大腸がんは肝臓転移性大腸がんであり得る。大腸がん

50

が骨転移性大腸がんである可能性がある。

【0073】

大腸がんは、Foxl1の間質過剰発現によって特徴付けることができる。大腸がんは、1つ以上のWntリガンドの間質過剰発現によって特徴付けることができる。例えば、大腸がんは、Wnt5A及び/又はWnt2Bの間質過剰発現によって特徴付けることができる。大腸がんが、Foxl1及び/又はWntリガンド、例えば、Wnt5A又はWnt2Bの間質過剰発現を有する場合、大腸がんは、GREM1アンタゴニストを用いた予防又は処置に特に適している。

【0074】

一部の態様では、大腸がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である大腸がんであり得る。大腸がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である大腸がんであり得る。大腸がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場では、大腸がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

10

【0075】

例えば、一部の態様では、大腸がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である大腸がんであり得る。大腸がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である大腸がんであり得る。大腸がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場では、大腸がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又はそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

20

30

【0076】

家族性がん

家族性がんには、GREM1をコードする遺伝子の突然変異又は複数の突然変異、或いはGREM1遺伝子の発現に影響を及ぼす任意の他の突然変異に起因するがんが含まれる。常染色体優性遺伝性混合ポリポーシス症候群(HMPs)は、GREM1の上流に40kbの重複によって引き起こされ、その結果、病的コンパートメント発現が間葉系に限定された勾配から上皮全体に異所的にGREM1遺伝子が発現するように変化する。

【0077】

抗GREM1アンタゴニストで処置されるべき対象は、家族性がんを発症するリスクがあると以前に決定されている場合がある。例えば、対象者は、家族歴に基づいて、及び/又は、対象者が家族性がんを生じさせるか若しくは発症のリスクを増加させることが知られている遺伝子に突然変異を有するために、リスクがあると決定された可能性がある。

40

【0078】

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

【0079】

家族性腺腫症ポリポーシス(FAP)に罹患している患者又は対象は、抗GREM1アンタゴニストを含む併用療法による処置に特に好適であり得る。抗GREM1アンタゴニスト(例えば、抗GREM1抗体)及びゲムシタピン又はその誘導体を含む併用療法で処

50

置又は予防されるべき家族性がんは、FAPであり得る。以前にFAPに罹患した対象には、例えば再発を予防するために、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせて抗GREM1アンタゴニストを予防的に投与することができる。以前にFAPに罹患したことはないが、以前にFAPを発症するリスクがあると決定された対象には、ゲムシタピンと組み合わせて抗GREM1アンタゴニストを予防的に投与することができる。対象がFAPを発症するリスクがあると決定されたのは、対象がApc遺伝子に劇症突然変異を有することが見出されたためである。

【0080】

一部の態様では、家族性がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である家族性がんであり得る。家族性がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である家族性がんであり得る。家族性がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、家族性がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

10

【0081】

例えば、一部の態様では、家族性がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である家族性がんであり得る。家族性がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン、又は任意のそれらの誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である家族性がんであり得る。家族性がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、家族性がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

20

30

【0082】

多発性骨髄腫

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

40

【0083】

したがって、本発明は多発性骨髄腫の処置又は予防も対象とする。多発性骨髄腫は、典型的には、骨髄内に複数の形質細胞の塊が存在することを含む。したがって、多発性骨髄腫は、典型的には、骨髄における形質細胞の異常増殖と関連する。処置の対象となる特に好ましい形態の多発性骨髄腫は、骨髄においてGREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる。したがって、多発性骨髄腫は間質GREM1の過剰発現を含み得る。

50

間質 G R E M 1 過剰発現は、骨の緻密質コンパートメントに存在する場合がある。間質 G R E M 1 過剰発現は、間質細胞の数の増加、又は既存の G R E M 1 を発現する間質細胞内の G R E M 1 の発現レベルの増加を反映している場合がある。骨髄は、骨軟骨 (O C R) 幹細胞を含み得る。 G R E M 1 を過剰発現する間質細胞は、 O C R 幹細胞を含み得る。処置の対象となる好ましいタイプの多発性骨髄腫は、以下にさらに記載するように、1つ以上の公知の抗がん剤 (例えば、化学療法剤) に対して耐性であり得る。

【 0 0 8 4 】

一部の態様では、多発性骨髄腫は、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である多発性骨髄腫であり得る。多発性骨髄腫は、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である多発性骨髄腫であり得る。多発性骨髄腫は、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場合では、多発性骨髄腫は、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類縁体又はデオキシシチジン類縁体による処置に対して耐性を発生することがある。

10

【 0 0 8 5 】

例えば、一部の態様では、多発性骨髄腫は、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である多発性骨髄腫であり得る。多発性骨髄腫は、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である多発性骨髄腫であり得る。多発性骨髄腫は、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場合では、多発性骨髄腫は、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

20

【 0 0 8 6 】

乳がん

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

30

【 0 0 8 7 】

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

40

【 0 0 8 8 】

一部の態様では、乳がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に応答性である乳がんであり得る。乳がんは、代替

50

的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である乳がんであり得る。乳がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、乳がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

【0089】

例えば、一部の態様では、乳がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に 10
 応答性である乳がんであり得る。乳がんは、代替的に、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して 20
 応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である乳がんであり得る。乳がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、乳がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には 20
 応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

【0090】

前立腺がん

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

【0091】

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

【0092】

本発明はさらに、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを投与することによる前立腺がんの処置及び予防を提供する。前立腺がんは、播種性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、転移性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、肺転移性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、肝臓転移性前立腺がんであり得る。前立腺がんは、骨転移性前立腺癌であり得る。

【0093】

一部の態様では、前立腺がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に 40
 応答性である前立腺がんであり得る。前立腺がんは、代替的に、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して 50
 応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性である前立腺がんであり得る。前立腺がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の 경우에는、前立腺がんは、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して初期には 50
 応答性であるが、ゲムシタピン処置などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して耐性を発生することがある。

【0094】

10

20

30

40

50

例えば、一部の態様では、前立腺がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に応答性である前立腺がんであり得る。前立腺がんは、代替的に、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、若しくは難治性である前立腺がんであり得る。前立腺がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に以前は適さないと考えられていたものであり得る。一部の場
合では、前立腺がんは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又は任意のそれらの誘導体による処置に対して初期には応答性であるが、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又はそれらの誘導体による処置に対して耐性を発生することがある。

10

【0095】

間質及び上皮

ゲムシタピンと組み合わせたGREM1アンタゴニストを用いて、本明細書において予防又は処置のために記載されるがんは、間質及び/又は上皮のGREM1の過剰発現を含み得る。

【0096】

本明細書で使用される用語「間質細胞（単数又は複数）」又は「間質」とは、組織又は臓器の構造的及び/又は結合的部分を指す。

【0097】

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

20

【0098】

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

30

【0099】

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

【0100】

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

40

【0101】

理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、間質自体が腫瘍細胞に化学療法耐性を付与することができるため、抗GREM1アンタゴニストを用いた間質標的化が、膵臓

50

がんに対する化学療法処置の有効性を増強することができるという仮説を立てている。本発明者らはまた、上皮及び／又は間質における G R E M 1 の過剰発現が、幹細胞／前駆細胞の表現型を促進し（幹細胞／前駆細胞の数を増加させ）、上皮幹細胞の挙動を促進し、がんの進行及び／又は化学療法剤に対する耐性を促進すると仮定する。したがって、本発明に従って使用される G R E M 1 アンタゴニスト及びゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を含む併用療法は、がんが予防又は処置されるべき対象の組織又は臓器の上皮において、異常ながん幹細胞表現型／前駆細胞表現型の誘導を妨げ、上皮幹細胞の挙動を減少させ、及び／又は幹細胞／前駆細胞の数を減らすことができる。幹細胞の挙動に影響を及ぼす G R E M 1 アンタゴニストの能力は、公知の上皮幹細胞マーカー及びがん幹細胞マーカーの評価によって臨床的にアッセイすることができる。

10

【 0 1 0 2 】

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

20

【 0 1 0 3 】

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

【 0 1 0 4 】

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

30

【 0 1 0 5 】

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

40

【 0 1 0 6 】

決定される量は、タンパク質の量であり得る。がんは、同じ組織型の正常細胞と比較して、G R E M 1 タンパク質の過剰発現を含み得る。タンパク質は、任意の量だけ増加され得る。タンパク質の量は、本発明の抗 G R E M 1 抗体の使用を含む、免疫組織化学、ウエ

50

スタンプロッキング、質量分析又は蛍光活性化細胞選別（FACS）を用いて測定することができる。発現を決定するための閾値は、使用される技術間で異なる場合があり、免疫組織化学のスコアに対して検証される場合がある。

【0107】

したがって、本明細書に記載されるような、患者におけるがんを処置又は予防するための、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせたGREM1アンタゴニストの使用は、(a)がんにおけるGREM1の量を測定すること、及び(b)がんがGREM1の過剰発現を含む場合、本明細書に記載されるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせたGREM1アンタゴニストを患者に投与し、それによってがんを処置又は予防することを含み得る。GREM1の量は、mRNA又はタンパク質の量であ

10

【0108】

したがって、本明細書に記載される、患者のがんを処置又は予防するための、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせたGREM1アンタゴニストの使用は、(a)がんにおけるGREM1の量を測定すること、及び(b)がんがGREM1の過剰発現を含む場合、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせたGREM1アンタゴニストを患者に投与し、それによってがんを処置又は予防することを含み得る。GREM1の量は、mRNA又はタンパク質の量であってもよく、過剰発現は、上述の任意の過剰発現であり得る。GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される任意のGREM1アンタゴニストであり

20

【0109】

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

30

【0110】

増殖依存性細胞傷害性剤を組み合わせた抗GREM1アンタゴニストを用いる併用療法

本発明のさらなる実施態様では、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストが提供される。本方法は、増殖依存性細胞傷害性剤の別個の、連続した、又は同時の投与を含み得る。

【0111】

本発明はまた、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための増殖依存性細胞傷害性剤を提供し、本方法は、抗GREM1アンタゴニストの別個の、連続した、又は同時の投与を含む。

40

【0112】

一実施形態では、膵臓がんは、GREM1の過剰発現を有することによって特徴付けられる膵臓がんである。別の実施形態では、膵臓がんは、外分泌腫瘍又は神経内分泌腫瘍を有することによって特徴付けられ得る。膵神経内分泌がん(膵島細胞腫瘍としても公知である)は、膵臓の内分泌腺に発生する。膵臓がんの特に好ましい形態は、膵管腺がんなどの外分泌膵臓がんである。他の外分泌膵臓がんには、膵管に形成する扁平上皮癌腫;腺扁平上皮癌腫;印環細胞がん;及び典型的には膵管内乳頭粘液性新生物から発生するコロイド癌腫が含まれる。

【0113】

処置の対象となる好ましいタイプの膵臓がんは、1つ以上の公知の抗がん剤(化学療法

50

剤など)に対して耐性であり得る。膵臓がんは、播種性膵臓がんであり得る。膵臓がんは、転移性膵臓がんであり得る。転移性がんは、生体内の最初の発生部位から広がっているがんとして理解されるべきである。したがって、転移性膵臓がんとは、膵臓から始まり、肺、肝臓、骨及び脳などの他の臓器に転移するがんを指す。また、膵臓がんは再発膵臓がんであり得る。換言すると、本発明の方法によって処置されるべき膵臓がんには、化学療法、放射線療法又は根治手術などの以前の処置後、数カ月又は数年さえ経過した後に再発した膵臓がんが含まれる。

【0114】

一部の態様では、膵臓がんは、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に応答性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対して応答性が低い
10
か、非応答性であるか、若しくは難治性である膵臓がんであり得る。膵臓がんは、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に適さないことがある。一部の 경우에는、膵臓がんは、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対して初期には応答性であるが、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対して耐性を発生することがある。

【0115】

本明細書に記載される患者における膵臓がんを処置又は予防するための、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせたGREM1アンタゴニストの使用は、(a)がんにおけるGREM1の量を測定すること、及び(b)膵臓がんがGREM1の過剰発現を含む場合、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせてGREM1アンタゴニストを患者に投与し、それによって膵臓がんを処置又は予防することを含み得る。GREM1の量は、mRNA又はタンパク質の量であってもよく、過剰発現は上述した任意の過剰発現であり得る。GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される任意のGREM1アンタゴニストであり得る。増殖依存性細胞傷害性剤は、本明細書に記載される任意の増殖依存性細胞傷害性剤であり得る。
20

【0116】

増殖依存性細胞傷害性剤

膵臓がんの処置又は予防との関連で、本発明において使用される使用される増殖依存性細胞傷害性剤という用語は、増殖細胞を標的化する任意の細胞傷害性剤を指す。換言すると、急速に分裂するがん細胞を含む高度に増殖する細胞集団は、このような薬剤に対する増加した感受性を示す。理論に束縛されることなく、本発明者らは、抗GREM1アンタゴニストが休眠幹様がん細胞をより増殖状態に駆動し、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対する感受性を高めることができると仮定している。したがって、一態様では、本発明の方法で使用される増殖依存性細胞傷害性剤は、増殖する幹様がん細胞に対して細胞傷害性である。
30

【0117】

一実施形態では、増殖依存性細胞傷害性剤は、ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤である。ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤は、内因性ヌクレオシドを模倣し、核酸の合成と干渉することによって細胞傷害活性を発揮する。例えば、ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤には、生理学的ピリミジン及びプリン核酸塩基及びヌクレオシドの類似体が含まれる。このような化合物はまた、DNAメチル化と干渉するか、又は生理学的ヌクレオシドの代謝を修飾することができる。ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤は、酵素阻害を媒介し、核酸の合成を妨害することができる。したがって、ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤は、典型的には、細胞周期特異的であると説明される。
40

【0118】

ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤の例としては、葉酸アンタゴニスト、例えば、メトトレキサート及びペメトレキセド；ピリミジンアンタゴニスト、例えば、5-フルオロウラシル、フォクスウリジン、カペシタビン、シタラビン及びゲムシタビン；プリンアンタゴニスト、例えば、6-メルカプトプリン及び6-チオグアニン；並びにアデノシンデアミナーゼ阻害剤、例えば、クラドリピン、フルダラビン及びベントスタチンが挙げられる。膵臓がんとの関連で好ましい実施形態では、増殖依存性細胞傷害性剤はゲムシタビン及
50

びカペシタピンから選択される。

【0119】

好ましい実施形態では、ヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤は、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体である。上述したように、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体は、内因性のシチジン又はデオキシシチジンを模倣する。このような化合物はまた、DNAのメチル化と干渉するか、又は生理学的ヌクレオシドの代謝を修飾する可能性がある。結果として、シチジン類似体及びデオキシシチジン類似体は抗がん剤治療に広く用いられている。

【0120】

膵臓癌の処置に使用されるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体の例としては、
 ゲムシタピン(2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロシチジン)又はその誘導体; アザ
 シチジン(5-アザシチジン)又はその誘導体; シタラピン(Ara-C/シトシン1-
 [ベータ]-D-アラビノフラノシド)又はその誘導体; デシタピン(5-アザ-2'-
 デオキシシチジン/5-アザデオキシシチジン)又はその誘導体; 及びトロキサシタピン
 (トロキサチル/4-アミノ-1-[(2S)-2-(ヒドロキシメチル)-1,3-ジ
 オキソラン-4-イル]ピリミジン-2-オン)又はその誘導体が挙げられる。好ましい
 実施形態では、デオキシシチジン類似体はゲムシタピンである。

【0121】

一部の実施形態では、併用療法は、1つ以上のシチジン類似体又はデオキシシチジン類
 似体とともに抗GREM1アンタゴニストを提供する。好ましい実施形態では、本発明は
 、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニスト
 を提供し、本方法は、ゲムシタピンを投与することをさらに含む。1つの例示的な実施形
 態では、本発明は、膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM
 1アンタゴニストを提供し、本方法は、トロキサシタピンと組み合わせてゲムシタピンを
 投与することをさらに含む。1つの例示的な膵臓がんは、膵管腺がんなどの外分泌膵臓が
 んである。

【0122】

別の実施形態では、増殖依存性細胞傷害性剤は有糸分裂阻害剤である。本明細書で使用
 される有糸分裂阻害剤という用語は、微小管の破壊を介して有糸分裂を阻害することによ
 り細胞分裂を阻止する阻害剤を指す。例えば、有糸分裂阻害剤は、チューブリンを標的化
 し、したがって、有糸分裂紡錘体の正常な機能を損ない、微小管重合の破壊をもたらすこ
 とができる。本発明の一実施態様では、有糸分裂阻害剤は微小管安定化薬である。このよ
 うな薬物は、微小管依存性シグナル伝達イベントを阻害し、チューブリン形成を刺激し、
 及び/又は細胞微小管の密度を増加させることによって細胞分裂を阻害することができる
 。

【0123】

有糸分裂阻害剤及び/又は微小管安定化薬の例としては、カバジタキセル、ドセタキセル
 、パクリタキセル、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピノレルピン及びアブラキサン
 が挙げられる。膵臓がんの関連で好ましい実施形態では、有糸分裂阻害剤及び/又は微小
 管安定化薬は、アブラキサン及びパクリタキセルから選択される。

【0124】

本発明のさらなる実施態様では、増殖依存性細胞傷害性剤は、オキサリプラチン、フォ
 リン酸、イリノテカン及びフルオロウラシルのうちの一つ以上を含むことができる。膵臓
 がんとの関連で、増殖依存性細胞傷害性剤は、FOLFIRINOX又はFOLFOXで
 あり得る。

【0125】

本発明の好ましい実施態様では、増殖依存性細胞傷害性剤はゲムシタピンであり、がん
 は膵臓がんである。

【0126】

GREM1

10

20

30

40

50

タンパク質との関連で本発明で使用される G R E M 1 又はグレムリン - 1 という用語は、典型的には、UniProt エントリー O 6 0 5 6 5 (配列番号 1) に示されるアミノ酸配列を有するタンパク質であるヒト G R E M 1 を指す。G R E M 1 及びグレムリン - 1 という用語はまた、グレムリン - 1 ポリペプチドを指していてもよく、

(a) N 末端シグナルペプチドを有するか若しくは有さない配列番号 1 のアミノ酸配列を含むか又はそれらからなり、すなわち、配列番号 2 1 に示される成熟ペプチド配列を含むか又はそれらからなり；或いは

(b) N 末端シグナルペプチド (配列番号 2 1 に示される) を有するか若しくは有さない配列番号 1 のアミノ酸配列に対して 1 つ以上のアミノ酸置換、修飾、欠失又は挿入を有する誘導体であり、配列番号 2 0 のアミノ酸配列などのグレムリン - 1 の活性を保持し；

(c) そのバリエーションであって、このようなバリエーションは、典型的には、配列番号 1 (又は配列番号 2 0 若しくは 2 1) に対して少なくとも約 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 % 若しくは 9 5 % の同一性 (又はさらには約 9 6 %、9 7 %、9 8 % 若しくは 9 9 % の同一性) を保持する。換言すると、このようなバリエーションは、配列番号 1 に対して約 6 0 % ~ 約 9 9 % の同一性、好適には配列番号 1 に対して約 8 0 % ~ 約 9 9 % の同一性、より好適には配列番号 1 に対して約 9 0 % ~ 約 9 9 % の同一性、及び最も好適には配列番号 1 に対して約 9 5 % ~ 約 9 9 % の同一性を保持し得る。バリエーションは以下にさらに記載される。

【 0 1 2 7 】

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

【 0 1 2 8 】

G R E M 1 又はグレムリン - 1 核酸配列は、配列番号 3 6 若しくは配列番号 3 7 の配列又はそのバリエーションを含むか又はそれらからなり得る。バリエーション核酸配列は、以下にさらに記載される。G R E M 1 又はグレムリン - 1 核酸配列は、任意の G R E M 1 転写物バリエーションを含むか又はそれらからなり得る。G R E M 1 転写物バリエーションの例は、転写物 1 (N C B I : N M _ 0 1 3 3 7 2 . 6 ; E N S E M B L : E N S T 0 0 0 0 0 5 6 0 6 7 7 . 5) ; 転写物 2 : N C B I : N M _ 0 0 1 1 9 1 3 2 3 . 1 ; E N S E M B L : E N S T 0 0 0 0 0 5 6 0 8 3 0 . 1) ; 転写産物 3 : N C B I : N M _ 0 0 1 1 9 1 3 2 2 . 1 ; E N S E M B L : E N S T 0 0 0 0 0 6 2 2 0 7 4 . 1 である。2 0 1 8 年 6 月 1 8 日現在、上記アクセッション番号で入手可能な配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 1 2 9 】

アンタゴニスト

抗 G R E M 1 アンタゴニストは、G R E M 1 の機能又は活性を減少させる任意の分子である。抗 G R E M 1 アンタゴニストは、G R E M 1 の機能又は活性を任意の量だけ減少させることができる。抗 G R E M 1 アンタゴニストは、G R E M 1 の機能又は活性を少なくとも 1 0 %、少なくとも 2 0 %、少なくとも 3 0 %、少なくとも 4 0 %、少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、若しくは少なくとも 9 5 % 減少させ得るか、又は任意の G R E M 1 の機能若しくは活性を妨げ得る。抗 G R E M 1 アンタゴニストが G R E M 1 の機能又は活性を減少させる程度は、抗 G R E M 1 アンタゴニストの存在下及び非存在下での細胞における G R E M 1 の機能又は活性を測定することによって決定することができる。細胞は正常細胞又はがん細胞であり得る。細胞は、上記のようにがん細胞であり得る。それらは膵臓がん細胞であり得る。膵臓がん細胞は、実施例に記載される K P C マウスモデルに存在し得る。したがって、膵臓がんにおける併用療法における G R E M 1 アンタゴニストの活性についてのインビボアッセイは、マウスモデルにおいて実施され得る。より一般的には、任意の手段により G R E M 1 の機能又は活性を減少させることが示された G R E M 1 アンタゴニストは、次に、膵

臓がん細胞などのがん細胞の増殖を防止若しくは減少させる能力、又はがん若しくは腫瘍を防止、減少若しくは排除する能力について、インビトロ又はインビボでアッセイすることができる。

【0130】

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

10

【0131】

アンタゴニストは、グレムリン-1と相互作用する薬剤であり得る。グレムリン-1と相互作用する薬剤は、典型的には、グレムリン-1と結合する薬剤である。グレムリン-1と相互作用する薬剤は、グレムリン-1を調節し得る。阻害性調節剤は、グレムリン-1の機能のいずれにも影響を及ぼし得るが、典型的には、グレムリン-1のBMP(BMP2/4/7)への結合を減少させる。アンタゴニストはBMP-7模倣分子であり得る。グレムリン-1は、BMPの負の制御因子であり、そのため、結合の減少はBMPを介したシグナル伝達を増加させる。調節剤の活性化は、BMPに対するグレムリン-1の結合を増加させ得る。

20

【0132】

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

【0133】

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

【0134】

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

30

【0135】

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

【0136】

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

40

【0137】

アンタゴニスト剤とタンパク質残基との相互作用は、X線結晶構造分析によって決定した場合、残基と薬剤の間の距離(典型的には6未満、又は4未満)などの当該技術分野において公知である任意の適切な方法によって決定することができる。治療薬によって標的化され得るグレムリン-1の領域は、アミノ酸Asp92-Leu99、Arg11

50

6 - His 130、Ser 137 - Ser 142、Cys 176 - Cys 178 を含み得る。これらはグレムリン - 1 の表面で突然変異しているアミノ酸と6 以内である。

【0138】

抗体アンタゴニスト

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

10

【0139】

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

【0140】

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

20

【0141】

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

【0142】

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

30

【0143】

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

40

【0144】

本発明に従って使用される抗体はまた、例えば、Babcook, J. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(15): 7843-7848; 国際公開第WO92/02551号; 国際公開第WO2004/051268号及び国際公開第WO2004/106377号によって記載される方法によって、特定の抗体を産生するために選択される単一のリンパ球から生成される免疫グロブリン可変領域cDNAをクローニング及び発現させることによって、単一のリンパ球抗体法を使用して生成することもできる。

【0145】

50

抗体はまた、当該技術分野において公知である種々のファージディスプレイ法を用いて生成することができ、Brinkmanら (in J. Immunol. Methods, 1995, 182: 41-50)、Amesら (J. Immunol. Methods, 1995, 184:177-186)、Kettleboroughら (Eur. J. Immunol. 1994, 24:952-958)、Persicら (Gene, 1997 187 9-18)、Burtonら (Advances in Immunology, 1994, 57:191-280)、並びに国際公開第WO90/02809号；国際公開第WO91/10737号；国際公開第WO92/01047号；国際公開第WO92/18619号；国際公開第WO93/11236号；国際公開第WO95/15982号；国際公開第WO95/20401号；及び米国特許第5,698,426号；同第5,223,409号；同第5,403,484；同第5,580,717；同第5,427,908；同第5,750,753；同第5,821,047；同第5,571,698；同第5,427,908；同第5,516,637；同第5,780,225；同第5,658,727；同第5,733,743号及び同第5,969,108号によって開示されるものが含まれる。

10

【0146】

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

20

【0147】

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

【0148】

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

30

40

【0149】

50

抗体分子の定常領域ドメインは、存在する場合、抗体分子の提案される機能、特に必要とされ得るエフェクター機能を考慮して選択することができる。例えば、定常領域ドメインは、ヒトIgA、IgD、IgE、IgG又はIgMドメインであり得る。特に、抗体分子が治療用途に意図され、抗体エフェクター機能が要求される場合、ヒトIgG定常領域ドメイン、特にIgG1及びIgG3アイソタイプが使用され得る。或いは、抗体分子が治療目的であることが意図され、抗体エフェクター機能が要求されない場合、IgG2及びIgG4アイソタイプを使用することができる。

【0150】

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

10

【0151】

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

20

【0152】

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

30

【0153】

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

【0154】

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

【0155】

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

40

【0156】

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

50

た C D R のいずれか 1 つからの特異性決定残基の 1 つ以上のみがヒト抗体フレームワークに転移される（例えば、Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34 を参照されたい）。一実施形態では、本明細書に記載される C D R の 1 つ以上からの特異性決定残基のみがヒト抗体フレームワークに転移される。別の実施形態では、本明細書で上述した各 C D R からの特異性決定残基のみがヒト抗体フレームワークに導入される。

【 0 1 5 7 】

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

10

【 0 1 5 8 】

本発明で使用され得るヒトフレームワークの例は、K O L、N E W M、R E I、E U、T U R、T E I、L A Y 及び P O M である（K a b a t ら、前出）。例えば、K O L 及び N E W M は重鎖に使用することができ、R E I は軽鎖に使用することができ、E U、L A Y 及び P O M は重鎖と軽鎖の両方に使用することができる。或いは、ヒトの生殖細胞系列の配列を使用することができる。これらは、例えば、<http://www.vbase2.org/> (see Retter et al, Nucl. Acids Res. (2005) 33 (supplement 1), D671-D674) で

20

利用可能である。

【 0 1 5 9 】

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

【 0 1 6 0 】

また、本明細書に記載される C D R グラフト抗体において、フレームワーク領域はアクセプター抗体のものと正確に同じ配列を有する必要はない。例えば、通常でない残基は、そのアクセプター鎖クラス又はタイプに対してより頻繁に存在する残基に変更することができる。或いは、アクセプターフレームワーク領域の選択された残基は、ドナー抗体における同じ位置に見出される残基に対応するように変更され得る（Reichmann et al., 1998, Nature, 332, 323-324 を参照されたい）。このような変更は、ドナー抗体の親和性を回復するのに必要な最小限のものにとどめるべきである。変更が必要であり得るアクセプターフレームワーク領域の残基を選択するためのプロトコールは、国際公開第 W O 9 1 / 0 9 9 6 7 号に記載されている。

30

【 0 1 6 1 】

また、当業者は、抗体は様々な翻訳後修飾を受ける可能性があることを理解される。これらの修飾の種類及び程度は、しばしば、抗体を発現させるために使用される宿主細胞系、並びに培養条件に依存する。このような修飾には、グリコシル化、メチオニン酸化、ジケトピペラジン形成、アスパラギン酸異性化及びアスパラギン脱アミド化の変化が含まれ

40

【 0 1 6 2 】

一実施形態では、抗体重鎖は C H 1 ドメインを含み、抗体軽鎖はカッパ又はラムダのいずれかの C L ドメインを含む。

【 0 1 6 3 】

抗体又はその断片などの生物学的分子は、酸性及び/又は塩基性の官能基を含有し、それによって分子に正味の正又は負の電荷を与える。全体的な「観察される」電荷の量は、実体の絶対的なアミノ酸配列、3 D 構造における荷電基の局所的な環境、及び分子の環境

50

条件に依存する。等電点 (pI) は、特定の分子又は表面が正味の電荷を持たない pH である。一実施形態では、本開示による抗体又は断片は、少なくとも 7 の等電点 (pI) を有する。一実施形態では、抗体又は断片は、8.5、8.6、8.7、8.8 又は 9 などの少なくとも 8 の等電点を有する。一実施形態では、抗体の pI は 8 である。 * * E x P A S Y http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html (Walker, The Proteomics Protocols Handbook, Humana Press (2005), 571-607 を参照されたい) などのプログラムを用いて、抗体又は断片の等電点を予測することができる。

【0164】

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

10

【0165】

本明細書に記載される好ましい A b 7326 抗体は、グレムリン - 1 の以下の残基 : I l e 110 (131)、L y s 126 (147)、L y s 127 (148)、P h e 128 (149)、T h r 129 (150)、T h r 130 (151)、A r g 148 (169)、L y s 153 (174) 及び G l n 154 (175) と結合することが確認され、L y s 126 (147)、L y s 127 (148)、P h e 128 (149)、T h r 129 (150)、T h r 130 (151)、A r g 148 (169)、L y s 153 (174) 及び G l n 154 (175) は 1 つのグレムリン - 1 モノマー上に存在し、I l e 110 (131) は第 2 のグレムリン - 1 モノマー上に存在する。括弧内にはない番号付けは、構造ファイル及び (構造アラインメントに基づくマウスグレムリン - 2 の番号付けと一致する) に基づく。括弧内の番号は、配列番号 1 の U n i P r o t エントリー 060565 に基づく残基を表す。これらのエピトープ残基は、グレムリン - 1 - A b 7326 F a b 複合体から 4 の N C O N T 分析を用いて同定された。

20

【0166】

したがって、本明細書に記載される抗体は、I l e 131、L y s 147、L y s 148、P h e 149、T h r 150、T h r 151、A r g 169、L y s 174 及び G l n 175 (残基番号付けは配列番号 1 に基づく) から選択される少なくとも 1 つの残基を含むエピトープに結合し得る。本明細書に記載される抗体は、これらの残基の 2、3、4、5、6、7、8 又は全 9 残基 (好ましくは少なくとも 5 残基) を含むエピトープに結合し得る。

30

【0167】

本明細書に記載される抗体はまた、I l e 131 が他の残基とは異なるグレムリン - 1 モノマー上に存在するエピトープを認識することができる。

【0168】

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

40

【0169】

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

50

【0170】

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

【0171】

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

【0172】

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

【0173】

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

【0174】

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

【0175】

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

【0176】

抗体は、好ましくは配列番号6の少なくともHC DR3配列を含む。

【0177】

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

【0178】

抗体は、配列番号10又は12の重鎖可変領域（HC VR）配列（Ab 7326バリエーション1及び2のHC VR）を含み得る。抗体は、配列番号11又は13の軽鎖可変領域（LC VR）配列（Ab 7326バリエーション1及び2のLC VR）を含み得る。抗体は

、好ましくは配列番号 10 又は 12 の重鎖可変領域配列及び配列番号 11 又は 13 の軽鎖可変領域配列（特に配列番号 10 / 11 又は 12 / 13 の H C V R / L V C R 対）を含む。

【0179】

抗体は、

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

10

の重鎖（H鎖）配列を含み得る。

【0180】

抗体は、

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

20

の軽鎖（L鎖）配列を含み得る。

【0181】

ある例では、抗体は、

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

30

の重鎖 / 軽鎖配列対を含む。

【0182】

対応する配列のバリエント形態は、交換され得る。例えば、抗体は、

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

40

の重鎖 / 軽鎖配列対を含み得る。

【0183】

抗体は、キメラ抗体、ヒト抗体、又はヒト化抗体であり得る。

【0184】

50

抗体は、代替的に、上記に記載した特定の配列の1つのバリエーションであり得るか、又はそれを含み得る。抗体バリエーションに関する以下の説明は、上記のGREM1ポリペプチドバリエーションの選択にも適用可能である。

【0185】

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

【0186】

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

【表A】

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

【0187】

「誘導体」又は「バリエーション」には、一般的に、天然に存在するアミノ酸の代わりに、配列中に現れるアミノ酸がその構造的類似体であるものが含まれる。配列に使用されるアミノ酸は、抗体の機能に大きな悪影響を与えない限り、誘導体化又は修飾、例えば、標識化され得る。

【0188】

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

【0189】

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

て開示される正確なCDRを保持しながら、本明細書に開示されるHCVR/LCVR配列並びにH鎖及びL鎖配列と約60%より高い、又は約70%より高い、例えば75%又は80%、典型的には約85%より高い、例えば約90%又は95%より高いアミノ酸同一性を有するバリエーションであり得る。バリエーションは、(状況によっては、正確なCDRを保持しながら)本明細書に開示されるHCVR/LCVR配列、並びにH鎖及びL鎖配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を保持し得る。

【0190】

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

10

【0191】

アミノ酸配列に関連して、「配列同一性」とは、以下のパラメータ：ペアワイズアライメントパラメータ - 方法：正確、マトリックス：PAM、ギャップオープンペナルティ：10.00、ギャップ拡張ペナルティ：0.10；マルチプルアライメントパラメータ - マトリックス：PAM、ギャップオープンペナルティ：10.00、遅延の同一性%：30、エンドギャップのペナルティ：on、ギャップ分離距離：0、負のマトリックス：なし、ギャップ拡張ペナルティ：0.20、残基特異的ギャップペナルティ：on、親水性ギャップペナルティ：on、親水性残基：GPSNDQEKRC1ustalW (Thompson et al., 1994、前述)を用いて評価した場合に指定された値を有する配列を指す。特定の残基における配列同一性は、単に誘導体化された同一の残基を含むことが意図される。

20

【0192】

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

【0193】

抗体は、H鎖/L鎖、HCVR/LCVR又はCDR配列の点で、上記で定義したものとグレムリン-1への結合をめぐって競合するか、又は同じエピトープに結合し得る。特に、抗体は、配列番号4/5/6/7/8/9のHC DR1/HC DR2/HC DR3/LC DR1/LC DR2/LC DR3配列の組み合わせを含む抗体とグレムリン-1への結合をめぐって競合し得るか、又は同じエピトープに結合し得る。抗体は、配列番号10/11若しくは12/13のHCVR及びLCVR配列対、又は配列番号14/15若しくは16/17の全長鎖を含む抗体と、グレムリン-1への結合をめぐって競合するか、又は同じエピトープに結合する可能性がある。

30

【0194】

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

40

【0195】

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

50

ンパク質又はペプチドに結合し得る場合、試験抗体は参照抗体とは異なるエピトープに結合すると結論づけることができる。一方、参照抗体との飽和結合後に試験抗体がタンパク質又はペプチドに結合することができない場合、試験抗体は本発明の参照抗体が結合するエピトープと同じエピトープに結合する場合がある。

【0196】

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

10

【0197】

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

20

【0198】

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

30

【0199】

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

40

【0200】

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

【0201】

50

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

【0202】

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

10

【0203】

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

20

【0204】

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

30

【0205】

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

40

【0206】

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

【0207】

抗体がグレムリン1を阻害することができるかどうかをスクリーニングするために使用され得る特定の機能的アッセイには、SMADリン酸化アッセイ及びHek Id1レポーター遺伝子アッセイが含まれる。典型的には、阻害抗体は、Hek Id1レポーター

50

遺伝子アッセイにおいて、S M A Dリン酸化を回復させ、及び/又はB M Pのシグナル伝達を回復させる。S M A Dリン酸化は、B M P対照と比較して、少なくとも80%、90%又は100%まで回復することができる。H e k I d 1レポーター遺伝子アッセイにおいて、阻害抗体はI C 5 0が10 n M未満、好ましくは5 n M未満であり得る。

【0208】

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

【0209】

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

【0210】

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

【0211】

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

【0212】

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

【0213】

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

【0214】

B L A S T分析を行うためのソフトウェアは、National Centre for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)から公衆に利用可能である。このアルゴリズムでは、第1に、クエリー配列中の長さWの短い単語が、データベース配列中の同じ長さの単語と整列した場合に、一部の正の値の閾値スコアTと一致するか、又はそれを満たすものを特定することによって、高スコア配列ペア(H S P)を同定することを伴う。Tは、近傍単語スコア閾値と呼ばれる(Altschulら、前述)。これらの

10

20

30

40

50

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

10

【0215】

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

【0216】

20

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

【0217】

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

30

【0218】

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

40

【0219】

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

【0220】

ベクターを構築し得る一般的な方法、トランスフェクション方法及び培養方法は、当業者に周知である。この点に関しては、"Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York and the Maniati

50

s Manual produced by Cold Spring Harbor Publishingを参照されたい。

【0221】

核酸アンタゴニスト

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

10

【0222】

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

20

30

【0223】

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

40

【0224】

ポリヌクレオチド中のヌクレオチドは、任意の方法で互いに結合することができる。ヌ

50

クレオチドは、ホスフェート、2' O - メチル、2' メトキシ - エチル、ホスホルアミデート、メチルホスホネート又はホスホロチオエート連結によって連結され得る。ヌクレオチドは、典型的には、核酸のようにそれらの糖とリン酸基によって結合される。ヌクレオチドは、ピリミジン二量体のように、それらの核酸塩基を介して接続され得る。

【0225】

GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするポリヌクレオチドであり得る。

【0226】

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

【0227】

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

【0228】

一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載のされる抗GREM1抗体をコードするポリヌクレオチドである。ポリヌクレオチドは、遺伝子療法における使用のために提供され得る。ポリヌクレオチドは、インピボでの抗GREM1抗体の発現を提供することができる任意の適切なベクターで提供され得る。

【0229】

抗GREM1抗体をコードするポリヌクレオチドは、DNA配列であり得る。DNA配列は、それを必要とする対象への投与のために、任意の適切なベクター、例えば、発現ベクターで提供され得る。例えば、DNA配列は、インピボでの抗GREM1抗体の発現を提供することができる発現ベクターで対象に投与することができる。発現ベクターは、ウイルス発現ベクター、例えば、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターであり得る。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするDNA配列である。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、遺伝子治療において使用するためのDNA配列であり、DNA配列は、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードする。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするDNA配列を含むAAVである。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、遺伝子治療に使用するためのAAVであり、AAVは本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするDNA配列を含む。

【0230】

抗GREM1抗体をコードするポリヌクレオチドは、RNA配列であり得る。RNA配列は、任意の適切なベクターでそれを必要とする対象に投与することができる。RNA配列は、メッセンジャーRNA(mRNA)配列であり得る。mRNA配列は、安定化された形態でそれを必要とする対象に投与することができる。例えば、mRNA配列は、脂質ナノ粒子(LNP)組成物に提供され得る。LNP組成物は、前記mRNA配列の増加した安定性を提供するためにmRNA配列をカプセル化することができる任意の適切なLNPを含み得る。したがって、一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードする安定化されたmRNA配列である。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、遺伝子療法で使用するための安定化されたmRNA配列であり、mRNA配列は、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードする。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするmRNAを含むLNP組成物である。一実施形態では、抗GREM1アンタゴニストは、遺伝子療法に使用するためのLNP組成物であり、LNP組成物は、本

10

20

30

40

50

明細書に記載される抗GREM1抗体をコードするmRNAを含む。

【0231】

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

【0232】

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

10

【0233】

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

20

【0234】

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

30

40

【0235】

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

【0236】

GREM1アンタゴニストは、GREM1に結合する抗体、典型的にはGREM1に特異的に結合する抗体であり得る。抗体は、タンパク質に優先的又は高い親和性で結合する

50

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

【0237】

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

10

【0238】

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

【0239】

患者

任意の患者が本発明に従って処置され得る。患者は、典型的にはヒトである。しかしながら、患者は、別の哺乳動物、例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、魚、ニワトリ又はブタなどの商業的に養殖された動物、マウス若しくはラットなどの実験動物、又はモルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ若しくはイヌなどのペットであり得る。

20

【0240】

医薬組成物、投薬量及び投薬レジメン

本発明のGREM1アンタゴニストは、医薬組成物中で提供され得る。シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体は、同じ医薬組成物の一部として、又は別個の医薬組成物で提供され得る。例えば、ゲムシタピン又はその誘導体は、同じ医薬組成物の一部として、又は別個の医薬組成物で提供され得る。例えば、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン又はその誘導体は、同じ医薬組成物の一部として、又は別個の医薬組成物で提供され得る。増殖依存性細胞傷害性剤はまた、同じ医薬組成物の一部として、又は別個の医薬組成物で提供され得る。医薬組成物は、通常、無菌であり、典型的には、薬学的に許容される担体及び/又はアジュバントを含む。これらの組成物は、治療的に有効な成分（単数又は複数）に加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、希釈剤、緩衝液、安定剤、又は当業者に周知である他の材料を含み得る。このような材料は無毒であり、有効成分の効能を妨げてはならない。医薬担体又は希釈剤は、例えば、等張液であり得る。

30

【0241】

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

【0242】

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

40

50

ドン；脱凝集剤、例えば、デンプン、アルギン酸、アルギン酸塩又はデンプングリコール酸ナトリウム；発泡性混合物；染料；甘味料；湿潤剤；例えば、レシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸塩；及び一般的に、医薬製剤に使用される非毒性であり薬理的に不活性な物質を含有し得る。このような医薬調製物は、公知の方法、例えば、混合、造粒、打錠、糖衣、又はフィルム被覆プロセスにより製造することができる。

【0243】

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

10

【0244】

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

【0245】

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

20

【0246】

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

【0247】

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

30

【0248】

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

【0249】

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

40

【0250】

ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド構築物の取り込みは、いくつかの公知のトランスフェクション技術、例えば、トランスフェクション剤の使用を含む技術によって増強され得る。これらの薬剤の例としては、カチオン性薬剤、例えば、リン酸カルシウム、DEAE-デキストラン及びリポフェクタント、例えば、リポフェクタム及びトランスフェ

50

クタムが挙げられる。投与されるべきポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドの投薬量を変更することができる。

【0251】

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

【0252】

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

10

【0253】

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

【0254】

本発明の医薬組成物は、さらなる有効成分を含み得る。

20

【0255】

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

【0256】

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

【0257】

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

30

【0258】

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

【0259】

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

40

【0260】

本発明のアンタゴニスト、増殖依存性細胞傷害性剤、例えば、ゲムシタピン、シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体、又は医薬組成物は、当該技術分野において公知である様々な方法の1つ以上を用いて、1つ以上の投与経路を介して投与され得る。当業者には理解されるように、投与経路及び/又は投与様式は、所望の結果に応じて変化する。本発明の化合物又は医薬組成物の投与経路の例としては、静脈内、筋肉内、皮内、眼内、腹腔内、皮下、脊髄又は他の非経口投与経路、例えば、注射又は注入による投与が挙げ

50

られる。本明細書で使用される語句「非経口投与」とは、経腸投与及び局所投与以外の投与様式を意味し、通常は注射による投与である。或いは、本発明の抗体／調節剤又は医薬組成物は、局所、表皮又は粘膜投与経路などの非経口経路を介して投与することができる。本発明の抗体／調節剤又は医薬組成物は、経口投与用であり得る。

【0261】

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

10

【0262】

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

【0263】

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

20

【0264】

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

30

【0265】

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

【0266】

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

40

【0267】

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

【0268】

2つ以上の薬剤の併用投与は、多くの異なる方法で達成することができる。両者を単一の組成物と一緒に投与し得るか、又は併用療法の一部として別々の組成物で投与し得る。例えば、一方は、他方の前若しくは別々に、後に若しくは連続して、又は同時に（concurrently）若しくは同時に（simultaneously）投与することができる。抗GREM1アンタゴニストは、本明細書に記載されるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体の

50

前若しくは別個に、後若しくは連続して、又は同時に (concurrently) 若しくは同時に (simultaneously) 投与することができる。例えば、抗GREM1アンタゴニストは、ゲムシタピン又はその誘導体の前若しくは別個に、後若しくは連続して、又は同時に (concurrently) 若しくは同時に (simultaneously) 投与することができる。抗GREM1アンタゴニストは、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラピン、デシタピン、トロキサシタピン、又はそれらの誘導体の前若しくは別個に、後若しくは連続して、又は同時に (concurrently) 若しくは同時に (simultaneously) 投与することができる。或いは、膵臓がんとの関連で、抗GREM1アンタゴニストは、増殖依存性細胞傷害性剤の前若しくは別個に、後若しくは連続して、又は同時 (concurrently) 若しくは同時 (simultaneously) に投与することができる。

10

【0269】

追加の治療的組み合わせ

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

【0270】

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

20

【0271】

したがって、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストは、さらに、任意の他のがん治療又はがんのための任意の他の治療剤と組み合わせ使用することができる。さらに、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせた抗GREM1アンタゴニストは、膵臓がんの処置のために、他のがん療法又は他の治療剤と組み合わせ使用することができる。他のがん治療は、膵臓がんに対する任意の公知の治療などの関連するがんに対する公知の治療から選択することができる。他のがん治療は放射線処置であり得る。好適な放射線療法は、例えば、Van Cutsem (and others) *Annals of Oncology*, 2014, Vol 25, Issue 3に記載されている。放射線療法は、がんの外科手術前又はがんの外科手術後に行うことができる。放射線療法は、補助放射線療法であり得る。放射線療法は、化学療法と組み合わせ、例えば、本明細書に記載されるゲムシタピン又は増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせ行うことができる。例えば、GREM1アンタゴニストとゲムシタピン又はその誘導体とを含む併用療法を放射線療法と組み合わせ使用することができる。さらに、膵臓がんとの関連で、GREM1アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤とを含む併用療法は、放射線療法と組み合わせ使用され得る。

30

【0272】

さらなる化学療法剤などのがんのためのさらなる治療剤は、関連するがんのための任意の公知の化学療法剤又は化学療法剤の組み合わせを含む、関連するがんのための任意の公知の治療剤から選択され得る。例えば、GREM1アンタゴニストとゲムシタピンを含む併用療法は、特に膵臓がんの処置において、アブラキサン、パクリタキセル、オキサリプラチン、フォリン酸、イリノテカン、フルオロウラシル、FOLFIRINOX又はFOLFOXの1つ以上と組み合わせ使用することができる。例えば、本発明に従って使用するための抗GREM1アンタゴニストは、ゲムシタピン及びさらなるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせ投与することができる。

40

【0273】

さらに、GREM1アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤を含む併用療法は、ゲムシタピン、アブラキサン、パクリタキセル、オキサリプラチン、フォリン酸、イリノテカン、フルオロウラシル、FOLFIRINOX又はFOLFOXなどのさらなる化学療法剤と組み合わせ使用することができる。本明細書に記載される組み合わせのいずれもが

50

、がん又は膵臓がんの処置のための組成物及びキットとの関連で企図される。好ましい実施形態では、本発明に従って使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニストは、ゲムシタピン及びトロキサシタピンと組み合わせて投与され得る。特に好ましい実施形態では、膵臓がんを処置する方法において使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニストは、ゲムシタピン及びトロキサシタピンと組み合わせて投与され得る。がんは、本明細書に記載される G R E M 1 アンタゴニストを含む併用療法とともに投与されない場合、放射線療法又は 1 つ以上の化学療法剤（上記の化学療法剤の 1 つなど）に対して耐性であり得る。

【 0 2 7 4 】

上記の態様の一部として、本発明は、膵臓がんなどのがんを処置及び/若しくは予防する方法において使用するための、本発明に記載のゲムシタピン若しくはその誘導体、又は増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせた抗 G R E M 1 アンタゴニストを提供し、本方法はさらに、追加の抗がん剤の別個の、連続した、又は同時の投与を含む。

10

【 0 2 7 5 】

組成物及びキット

さらに、抗 G R E M 1 アンタゴニスト及びシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を含む組成物又はキットが提供される。本明細書に記載されるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体は、ゲムシタピン、アザシチジン、シタラビン、デシタピン又はトロキサシタピンのうちの 1 つ又は複数であり得る。一実施形態では、抗 G R E M 1 アンタゴニスト及びゲムシタピン又はその誘導体を含む組成物又はキットが提供される。また、抗 G R E M 1 アンタゴニスト及びカペシタピン又はその誘導体を含む組成物又はキットが本発明に包含される。ゲムシタピンの誘導体は、上記のような任意の誘導体であり得る。抗 G R E M 1 アンタゴニストは、本明細書に記載される任意の抗 G R E M 1 アンタゴニストであり得る。組成物又はキットは、膵臓がんの処置に好適であり得る。

20

【 0 2 7 6 】

抗 G R E M 1 アンタゴニスト及び有糸分裂阻害剤を含む組成物又はキットもまた提供される。組成物又はキットは、抗 G R E M 1 アンタゴニストと、カバジタキセル、ドセタキセル、パクリタキセル、ビンブラスチン、ビクリスチン、ピノエレルビン及びアブラキサンから選択される 1 つ以上の有糸分裂阻害剤とを含み得る。膵臓がんとの関連で好ましい実施形態では、有糸分裂阻害薬及び/又は微小管安定化薬は、特に膵臓がんの処置のための組成物又はキットの一部として、アブラキサン及びパクリタキセルから選択される。好ましい組み合わせは、抗 G R E M 1 アンタゴニストとパクリタキセル又はアブラキサンの含む。

30

【 0 2 7 7 】

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

【 0 2 7 8 】

検出及び診断

間質 G R E M 1 とがんの関連に基づいて、本発明は、処置に対するがんの応答性を予測するための追加的な手段も提供する。

40

【 0 2 7 9 】

本発明は、がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、G R E M 1 アンタゴニストと、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体との組み合わせ処置にตอบสนองする可能性が高いかどうかを決定する方法を提供し、本方法は、患者における G R E M 1 の間質発現及び/又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に対してตอบสนองする可能性が高いかどうかを予測することを含む。

【 0 2 8 0 】

本発明はさらに、膵臓がん罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、

50

又は膵臓がんを発症するリスクがある患者が、G R E M 1 アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤の組み合わせ処置に应答する可能性があるか否かを決定するための方法を提供し、この方法は、患者におけるG R E M 1 の間質及び/又は上皮発現を測定し、それによって患者が組み合わせによる処置に应答する可能性があるか否かを予測することを含む。

【0281】

所定の療法に対する個人の予測される应答性とは、その個人がその療法を受けることによって利益を得ることが期待されるか、又は十分な程度の利益を得ることが期待されることを意味する。ある療法に対する個人の予測される非应答性とは、その個人がその療法を受けることによって利益を得ることが期待されないか、又は十分な程度の利益を得ることが期待されないことを意味する。应答を予測する方法は、G R E M 1 アンタゴニストと、ゲムシタピン若しくはその誘導体などのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体との組み合わせ処置、又はG R E M 1 アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤との組み合わせ処置の投与前に行うことができる。次に、予測は、個人に対して適切な処置を選択するか又は推奨する場合に考慮され得る。或いは、本方法は、治療の処置後に行われ、処置に対する個人の反応をモニタリングし、予測するために使用される。典型的には、本方法は、個人が療法に対する一次应答を有するかどうか、すなわち、個人が最初に処置を受けたときに应答するかどうかを予測するためのものである。一部の例では、本方法は、二次的な非应答性、すなわち、初期に処置に应答した個人が、後に処置に应答しなくなるか、又は処置に対する应答が低下するかどうかを予測するためのものである。

【0282】

一部の 경우에는、参照試料又は参照レベルと比較したG R E M 1 の過剰発現は、個人が本明細書に記載される組み合わせ処置による療法に应答することを示す。次に、本明細書に記載されるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせたG R E M 1 アンタゴニストを含む併用療法が選択又は推奨されてもよく、その後、個体にさらに投与され得る。次に、ゲムシタピン又はその誘導体と組み合わせたG R E M 1 アンタゴニストを含む併用療法が選択又は推奨されてもよく、その後、個体にさらに投与され得る。同様に、膵臓がんとの関連で、G R E M 1 の過剰発現に基づいて、増殖依存性細胞傷害性剤と組み合わせたG R E M 1 アンタゴニストの使用を含む療法を選択することができる。

【0283】

他の場合には、基準試料又は基準レベルと比較したG R E M 1 の低下又は正常レベルは、個人がG R E M 1 アンタゴニストによる治療に应答しないことを示す。次に、G R E M 1 アンタゴニストとゲムシタピン(又はその誘導体)、又はG R E M 1 アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤を含む併用療法は、個体には投与されない。さらに、本明細書に記載される併用療法以外の治療的処置は、個人の処置のために選択又は推奨され、次に、さらに個人に投与され得る。

【0284】

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

【0285】

以下の実施例は本発明を説明するものである。

【実施例】

【0286】

材料及び方法

試験抗体及び薬剤抗グレムリン - 1 抗体 - A b 7 3 2 6 m I g G 1 - A P P . 4 4 0 5 . I g G . m F c - ロット番号 - P B 4 6 8 2

ビヒクル - リン酸緩衝生理食塩水 pH 7 . 4 (B e a t s o n I n s t i t u t e より提供された)

ゲムシタピン (B e a t s o n I n s t i t u t e より提供され、 L C L a b s , W o b u r n , M A , U S A から購入した)、リン酸緩衝生理食塩水 pH 7 . 4 中。

【 0 2 8 7 】

遺伝子修飾されたマウス

L S L - K r a s ^{G12D} / + ; T r p 5 3 ^{R172H} / + ; P d x 1 - C r e (K P C) マウスは以前に報告されている (H i n g o r a n i e t a l . , 2 0 0 5) 。マウスは、 P d x 1 - C r e を有するマウスと条件付き L S L - K r a s ^{G12D} 又は L S L - T r p 5 3 ^{R172H} 対立遺伝子 (系統 0 1 X J 6 及び 0 1 X L 9 、 M o u s e M o d e l s o f H u m a n C a n c e r C o n s o r t i u m [M M H C C] 、 N C I - F r e d e r i c k , F r e d e r i c k , M D , U S A) を交配することによって生成された。混血背景のマウスは C R U K B e a t s o n I n s t i t u t e で自家繁殖され、環境エンリッチメントを施し、標準的な餌と水を自由に摂取できる通常のケージで維持された。遺伝子タイピングは T r a n s n e t y x (C o r d o b a , T N , U S A) で行われた。マウスは雌雄ともに試験に組み入れられた。すべての動物実験は英国内務省の許可のもとで行われ、グラスゴー大学動物福祉倫理審査委員会の承認を得た。

【 0 2 8 8 】

処置

腹部触診で膵臓がんと診断され、超音波画像で確認されるまで、マウスは週 3 回モニタリングされた。マウスは処置群に無作為に割り付けられ、 3 0 m g / k g A b 7 3 2 6 m I g G 1 s . c . 週 2 回 ; 1 0 0 m g / k g ゲムシタピン i . p . 週 2 回 ; 3 0 m g / k g A b 7 3 2 6 m I g G 1 s . c . 週 2 回及び 1 0 0 m g / k g ゲムシタピン i . p . 週 2 回 ; 又は P B S ビヒクル対照、週 2 回で投薬された。1 群あたり 5 匹以上のマウスであった。マウスは毎日モニタリングされ、倫理的エンドポイント (症状には腹部膨満、悪液質、間欠的な猫背又は運動能力の低下、毛孔形成、軽度の下痢、貧血が含まれる) に達した時点で殺された。処置開始からの生存の統計的評価は、 Kaplan-Meier 及び log-rank 分析によって行われた。

【 0 2 8 9 】

超音波画像

V i s u a l S o n i c s V e v o 3 1 0 0 前臨床画像プラットフォーム (F U J I F I L M V i s u a l S o n i c s , T o r o n t o , C a n a d a) は、腫瘍診断を確認するための高解像度超音波画像と腫瘍進行の毎週のモニタリングに使用された。麻酔はイソフルランと医療用空気の混合麻酔で誘導及び維持した。腫瘍体積は各マウスについて毎週計算し、縦断的にプロットした。

【 0 2 9 0 】

サンプリング

マウスの淘汰は施設ガイドラインに従ったスケジュール 1 法で行われた。死後の腫瘍負荷は肉眼病理及び組織学的に評価された。臓器を摘出し、 1 0 % 緩衝ホルマリンで固定した。可能な限り終末血を採取した。腫瘍の大部分は F F P E 処理用に 1 0 % 緩衝ホルマリンで固定され、いずれの残りも RNA 前処理用に R N A l a t e r (登録商標) (S i g m a - A l d r i c h) に採取され、及び / 又は瞬間凍結された。固定された組織はパラフィン包埋され、 I H C 分析のために 5 μ m の切片がポリ - L - リンスライド上に置かれた。

【 0 2 9 1 】

組織学及び免疫組織化学

H & E 染色及びピクロシリウスレッド染色は、前述されるようにホルマリン固定され、

10

20

30

40

50

パラフィン包埋された組織について行われた。免疫組織化学は標準プロトコールを用いて行われた。手短に言えば、ホルマリン固定され、パラフィン包埋された切片を脱パラフィンし、キシレン及び段階的アルコール系列に通して再水和した。内因性ペルオキシダーゼ活性は、過酸化水素による処理によって不活性化され、その後、クエン酸緩衝液による抗原検索を行った。切片を血清で遮断し、一次抗体とともにインキュベートした。切片を二次抗体で30分間インキュベートし、3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩で染色を可視化した。使用した一次抗体は、抗Ki67 (SP6、ThermoFisher) 1:200、抗切断型カパーゼ3 (ASP175、Cell Signaling) 1:50、抗アルファ-SMA (1A4、Sigma-Aldrich) 1:20,000)。

【0292】

(例1) 膵臓がんにおけるGrem1 mRNA発現の確認

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

【0293】

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

【表1】

表1

遺伝子記号	遺伝子タイトル	KPC腫瘍対膵管細胞(倍数変化)	p値	全マウスPDAC対膵管細胞(倍数変化)	p値
grem1	グレムリン1	5.5	4.0 x 10 ⁻³	6.4	4.1 x 10 ⁻³

【0294】

(例2) Ab7326 mIgG1とゲムシタピンの組み合わせによる処置は、ビヒクル対照又はAb7326 mIgG1とゲムシタピンの単一薬剤による処置と比較して、KPCマウスモデルにおいて生存の改善をもたらす

提供される用量及びスケジュールの忍容性を確認するため、現地の要求に従い、健康な同腹マウスを用いたパイロット実験を行った。副作用は観察されなかった。

【0295】

次に、膵臓がんに対する潜在的な治療アプローチとしてのグレムリン-1阻害の有効性をKPCモデルにおいて試験した。KPCマウスは、組織学的及び病学的にヒトの膵臓腫瘍に類似した腫瘍を発症する。さらに、腫瘍は、非常に侵襲性であり、しばしば転移を起こし、化学療法耐性が強く、やはりヒトの膵臓がんを模倣している。KPCマウスのコホートが確立され、触診で検出可能な膵臓がんが発生するまでマウスがモニタリングされた。これらのマウスを生成するのに必要な繁殖戦略と実験設計を図2に示す。

【0296】

マウスは、膵臓腫瘍が検出されるまで、触診によって少なくとも毎週モニタリングされ

た。この時点で、高解像度の超音波画像を用いて膵臓がんの存在を確認し、マウスを抗グレムリン1抗体 Ab7326 mIgG1、標準処置の化学療法であるゲムシタピン、Ab7326 mIgG1 + ゲムシタピンの組み合わせ、又はビヒクル対照による処置を行うコホートに登録した（表2に詳述される）。処置中の各個々のマウスの腫瘍負荷をモニタリングするために、処置期間中、高解像度超音波画像を毎週行った。マウスは研究を継続し、倫理的エンドポイントに達するまで注意深くモニタリングされ、その時点で施設のガイドラインに従って殺された。示された臨床的特性には、腹部膨満、悪液質を示す体調不良、運動能力の低下、及び時には黄疸が含まれた。

【表2】

表2

10

処置	用量	スケジュール	n = (打ち切り)	中央値(日数)
Ab7326 mIgG1	30mg/kg s.c.	週2回	7 (2)	26
ビヒクル(PBS)	na	週2回	7 (1)	20
ゲムシタピン	100mg/kg i.p.	週2回	5	24
Ab7326 mIgG1 + ゲムシタピン	30mg/kg s.c. 100mg/kg i.p.	週2回 週2回	6 (1)	37

20

【0297】

超音波による3D腫瘍画像分析は、いずれの処置群においても腫瘍の縮小又はうっ血は認められなかったことを示した（図3）。しかしながら、Ab7326 mIgG1とゲムシタピンの組み合わせで処置されたマウスは、ビヒクル対照と比較して生存中央値（37日）の有意な増加を示した（20日、ログランク、 $p = 0.037$ 、図4、表2、及び表3の個々のマウスのデータを参照されたい）。Ab7326 mIgG1とゲムシタピンの組み合わせで処置されたマウスはまた、単一薬剤としてAb7326 mIgG1（生存中央値26日、n.s.）又はゲムシタピン（生存中央値24日、n.s.）のいずれかで処置されたマウスと比較して生存の増加を示した。ゲムシタピン単剤療法による利益はごくわずかであり、最近の研究と一致している（Olive et al., 2009; Frese et al., 2012; Provenzano et al., 2012）。

30

40

50

【表 3】

表 3

マウスID	Rxの日数	打ち切り(=0)			
		Ab7326	ビヒクル	ゲムシタピン	Ab7326 + ゲムシタピン
NKD141.9e	26	1			
NKD158.3i *	85	0			
NKD142.9f	12	1			
NKD168.2l	33	1			
NKD154.4b	24	0			
NKD154.4g	13	1			
NKD154.5b	9	1			
NKD169.1c	3		1		
NKD159.3b	16		1		
NKD167.2e	29		1		
NKD142.9c	27		1		
NKD167.3e	20		1		
NKD161.4b	16		1		
NKAG81.9d	23		0		
NKD140.10e	3			1	
NKD169.1d	34			1	
NKD164.2f	24			1	
NKD165.2d	44			1	
NKD148.5d	17			1	
NKD134.9c	23				1
NKD157.3d	20				1
NKD162.2d	38				1
NKD164.2c *	93				0
NKD143.8d	35				1
NKD154.4h	57				1

10

20

30

【0298】

実験マウスを 殺した後、肉眼的病理学的検査は、異なる実験条件間での腫瘍負荷及び表現型においていずれの違いも示さなかった。免疫組織化学的(IHC)分析は、ホルマリン固定され、パラフィン包埋された腫瘍組織上で行われ、腫瘍細胞増殖(Ki67)とアポトーシス(切断型カスパーゼ3)を評価した。また、本発明者らは、アルファ-SMA陽性腫瘍関連線維芽細胞の数又はコラーゲンI及びIIIの質もしくは量(ピクロシウスレッド染色によって測定した場合)の変化を評価するために、腫瘍微小環境のIHCベースの分析を行った。染色は、試験したいずれのレジメンでもこれらのパラメータにいずれも明らかな影響を示さなかった(データは示さず)。

40

【0299】

結果

要約すると、グレルリン-1は膵臓がんの処置において有効な標的を示し、本明細書で示された結果は、Ab7326 mIgG1が単一薬剤及びゲムシタピンとの組み合わせでKPCマウスに安全に投与し得ることを示している。Ab7326 mIgG1とゲムシタピンの組み合わせでマウスを処置した場合、ビヒクル対照と比較して生存の有意な改善が観察された(図4、9、表2、及び表3の個々のマウスのデータ)。

50

【 0 3 0 0 】

本発明の態様

1. がんを処置又は予防する方法において使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニストであって、方法が、さらにシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体を投与することを含む、上記抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

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

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

4. がんが転移性がんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。 10

5. がんが休眠がん細胞、場合により休眠幹様がん細胞を含む、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

6. がんが再発がんであり、及び / 又は前記方法ががんの再発を予防するためのものである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

7. がんが、シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、若しくは難治性であるがんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

8. がんが、ゲムシタピン又はその誘導体による処置に対して応答性が低い、非応答性であるか、若しくは難治性であるがんである、態様 7 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。 20

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

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

11. 膵臓がんが外分泌膵臓がんである、態様 10 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。 30

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

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

14. がんが非小細胞肺がんである、態様 13 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

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

16. がんが乳がんである、態様 9 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。 40

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

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

19. がんが G R E M 1 誘導性のがんである、態様 18 に記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。

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

21. がんが確立がんである、先行する態様のいずれか 1 つに記載の使用するための抗 G R E M 1 アンタゴニスト。 50

22. シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体がゲムシタピン又はその誘導体である、態様1～21のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
23. シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体がアザシチジン又はその誘導体である、態様1～21のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
24. シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体がシタラピン又はその誘導体である、態様1～21のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
25. シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体がデシタピン又はその誘導体である、態様1～21のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
26. シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体がトロキサシタピン又はその誘導体である、態様1～21のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 10
27. 膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための抗GREM1アンタゴニストであって、方法が、さらに増殖依存性細胞傷害性剤を投与することを含む、上記抗GREM1アンタゴニスト。
28. 膵臓がんが外分泌膵臓がんである、態様27に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
29. 膵臓がんが膵管腺がん(PDAC)である、態様27又は態様28に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
30. 膵臓がんが転移性膵臓がんである、態様27～29のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 20
31. 膵臓がんが再発膵臓がんである、態様27～30のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
32. 膵臓がんが、増殖依存性細胞傷害性剤による処置に対して応答性が低いか、非応答性であるか、若しくは難治性であるある膵臓がんである、態様27～31のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
33. 増殖依存性細胞傷害性剤がヌクレオシド阻害剤又は代謝拮抗剤である、態様27～32のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
34. 増殖依存性細胞傷害性剤がシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体である、態様27～32のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
35. 増殖依存性細胞傷害性剤が有糸分裂阻害剤である、態様27～32のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 30
36. 有糸分裂阻害剤が微小管安定化薬である、態様35に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
37. 有糸分裂阻害剤及び/又は微小管安定化薬が、アブラキサン及びパクリタキセルから選択される、態様35又は36に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
38. 増殖依存性細胞傷害性剤が、オキサリプラチン、フォリン酸、イリノテカン及びフルオロウラシルのうち1つ以上を含み；場合により、増殖依存性細胞傷害性剤がFOLFIRINOX又はFOLFOXである、態様27～33のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 40
39. 増殖依存性細胞傷害性剤が
- (a) ゲムシタピン若しくはその誘導体；
 - (b) アザシチジン若しくはその誘導体；
 - (c) シタラピン若しくはその誘導体；
 - (d) デシタピン若しくはその誘導体；
 - (e) トロキサシタピン若しくはその誘導体；又は
 - (f) カペシタピン
- である、態様27～32のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。
40. アンタゴニストが、ペプチド、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、オリゴヌ 50

クレオチド、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA (siRNA)、低分子阻害剤、又は低分子ヘアピンRNA (shRNA)である、先行する態様のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

41. アンタゴニストが、Ile131、Lys147、Lys148、Phe149、Thr150、Thr151、Arg169、Lys174及びGln175から選択される少なくとも1つの残基を含むグレムリン-1上のエピトープに結合する抗体であり、残基番号付けが配列番号1に従う、態様40に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

42. 抗体が、Ile131、Lys147、Lys148、Phe149、Thr150、Thr151、Arg169、Lys174及びGln175のすべてを含むエピトープと結合する、態様41に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

43. Lys147、Lys148、Phe149、Thr150、Thr151、Arg169、Lys174及びGln175が同一のグレムリン-1モノマー上に位置し、Ile131が第2のグレムリン-1モノマー上に位置する、態様41又は42に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

44. アンタゴニストが、配列番号10若しくは12の重鎖可変領域 (HCVR) 内に含まれる重鎖相補性決定領域 (HCDR) 配列、及び/又は配列番号11若しくは13の軽鎖可変領域 (LCVR) 内に含まれる軽鎖相補性決定領域 (LCDR) 配列を含む抗グレムリン-1抗体である、態様40に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

45. アンタゴニストが、配列番号3、4、5及び6から選択される少なくとも1つのHCDR配列、並びに/又は配列番号7、8及び9から選択される少なくとも1つのLCDR配列を含む抗グレムリン-1抗体である、態様40に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

46. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号6のHCDR3配列を含む、態様45に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

47. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号4/5/6若しくは配列番号3/5/6から選択されるHCDR1/HCDR2/HCDR3配列の組み合わせ、及び/又は配列番号7/8/9から選択されるLCDR1/LCDR2/LCDR3配列の組み合わせを含む、態様45又は46に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

48. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号4/5/6/7/8/9又は配列番号3/5/6/7/8/9のHCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3配列の組み合わせを含む、態様45~47のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

49. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号10若しくは12の重鎖可変領域 (HCVR) 配列、及び/又は配列番号11若しくは13の軽鎖可変領域 (LCVR) 配列、或いはそれらと少なくとも95%同一である配列を含む、態様45~48のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

50. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号10/11若しくは12/13のHCVR及びLCVR配列対、又はそれらと少なくとも95%同一である配列を含む、態様49に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

51. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号4/5/6/7/8/9又は配列番号3/5/6/7/8/9からなるHCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3配列を含み、HCVR及びLCVRの残りが、それぞれ配列番号10、11、12及び/又は13に対して少なくとも95%同一性である、態様50に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

52. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号14、16、18、22、28、30、32若しくは34の重鎖、及び/又は配列番号15、17、19、23、29、31、33若しくは35の軽鎖、或いはそれらと少なくとも95%同一である配列を含む、態様49~51に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

10

20

30

40

50

53. 抗グレムリン-1抗体が、配列番号14/15、16/17、18/19、22/23、28/29若しくは30/31、32/33、34/35の重鎖及び軽鎖の対、又は少なくとも95%同一である配列を含む、態様52に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

54. 抗体のHC DR 1 / HC DR 2 / HC DR 3 / LC DR 1 / LC DR 2 / LC DR 3配列が、配列番号4/5/6/7/8/9又は配列番号3/5/6/7/8/9からなり、重鎖及び軽鎖の残りが、それぞれ配列番号14、15、16及び/又は17と少なくとも95%同一性である、態様53に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

55. アンタゴニストが、態様42~52のいずれか1つに定義される抗体とグレムリン-1への結合をめぐって競合する抗体である、態様40に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 10

56. アンタゴニストが、態様42~52のいずれか1つに定義される抗体と同じグレムリン-1上のエピトープに結合する抗体である、態様40に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

57. アンタゴニスト抗体がキメラ抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体である、態様40~56のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

58. アンタゴニスト抗体が、Fab、修飾Fab、Fab'、修飾Fab'、F(a b')₂、Fv、単ドメイン抗体又はscFvである、態様40~57のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 20

59. アンタゴニストが、態様41~58のいずれか1つに定義される抗体をコードするポリヌクレオチド、又は前記ポリヌクレオチドを有する発現ベクターである、態様40に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

60. アンタゴニスト抗体が、薬学的に許容されるアジュバント及び/又は担体をさらに含む医薬組成物中に含まれる、態様40~58のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

61. 方法が、追加の抗がん剤を投与することをさらに含む、先行する態様のいずれか1つに記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

62. 方法が、さらなるシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせたゲムシタピンを投与することを含む、態様61に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。 30

63. 方法が、トロキサシタピンと組み合わせがゲムシタピンを投与することを含む、態様61又は62に記載の使用するための抗GREM1アンタゴニスト。

64. がんを処置又は予防する方法において使用するためのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体であって、方法が、さらに抗GREM1アンタゴニストを投与することを含む、上記シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体。

65. 前記がん、前記アンタゴニスト、前記シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体及び/又は前記方法が、態様1~26及び40~63のいずれか1つに定義される通りである、態様64に記載の使用するためのシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体。 40

66. がんを処置する方法であって、治療有効量のシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体と組み合わせた治療有効量の抗GREM1アンタゴニストを、それを必要とする対象に投与することを含む上記方法。

67. 前記がん、前記アンタゴニスト、前記シチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体、及び/又は前記方法が、態様1~26及び40~63のいずれか1つに定義される通りである、態様66に記載の方法。

68. 膵臓がんを処置又は予防する方法において使用するための増殖依存性細胞傷害性剤であって、方法が、さらに抗GREM1アンタゴニストを投与することを含む、上記増殖依存性細胞傷害性剤。

69. 前記増殖依存性細胞傷害性剤、前記膵臓がん、前記アンタゴニスト及び/又は前 50

記方法が、態様 27 ~ 63 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 68 に記載の使用するための増殖依存性細胞傷害性剤。

70 . 膵臓がんを処置する方法であって、治療有効量の増殖依存性細胞傷害性剤を組み合わせた治療有効量の抗 GREM1 アンタゴニストを投与することを含む方法。

71 . 前記増殖依存性細胞傷害性剤、前記膵臓がん、前記アンタゴニスト及び / 又は前記方法が、態様 27 ~ 63 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 70 に記載の方法。

72 . 抗 GREM1 アンタゴニストとシチジン類似体若しくはデオキシシチジン類似体とを含む組成物又はキット。

73 . シチジン類似体又はデオキシシチジン類似体が、態様 22 ~ 26 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 72 に記載の組成物又はキット。 10

74 . 抗 GREM1 アンタゴニスト及び有糸分裂阻害剤を含む組成物又はキット。

75 . 有糸分裂阻害剤が、態様 36 又は 37 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 74 に記載の組成物又はキット。

76 . 抗 GREM1 アンタゴニストが、態様 40 ~ 59 のいずれか 1 つに定義される通りである、態様 72 ~ 75 のいずれか 1 つに記載の組成物又はキット。

77 . がんに罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1 アンタゴニストとシチジン類似体又はデオキシシチジン類似体との組み合わせ処置に应答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者における GREM1 の間質発現及び / 又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に应答する可能性が高いかどうかを予測することを含む上記方法。 20

78 . 膵臓がん に罹患しているか若しくは罹患していることが疑われるか、又はがんを発症するリスクがある患者が、GREM1 アンタゴニストと増殖依存性細胞傷害性剤との組み合わせ処置に应答する可能性が高いかどうかを決定する方法であって、患者における GREM1 の間質発現及び / 又は上皮発現を測定し、それによって、患者が組み合わせによる処置に应答する可能性が高いかどうかを予測することを含む上記方法。

【 0 3 0 1 】

配列表

配列番号 1 (ヒトグレムリン - 1 ; Uniprot ID : O60565) 30

MSRTAYTVGALLLLLGTLLPAAEGKKKGSQGAIPPPDKAQHNDSEQTQSPQQPGSR
NRGRGQGRGTAMPGEEVLESSQEALHVTERKYLKRDWCKTQPLKQTIHEEGCNSRT
IINRFCYGCNSFYIPRHIRKEEGSFQSCSFCKPKKFTTMMVTLNCPQLPPTKKKRV
TRVKQCRCISIDL

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

MGSSHHHHHSSGENLYFQGSAMPGEEVLESSQEALHVTERKYLKRDWCKTQPLK
QTIHEEGCNSRTIINRFCYGCNSFYIPRHIRKEEGSFQSCSFCKPKKFTTMMVTLNC
PELQPPTKKKRVTRVKQCRCISIDL

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

GYTFTDYMH 40

配列番号 4 (Ab7326 HCDR1 Kabat)

DYYMH

配列番号 5 (Ab7326 HCDR2 Kabat)

LVDPEDGETIYAEKFQG

配列番号 6 (Ab7326 HCDR3 Kabat)

DARGSGSYYPNHFDY

配列番号 7 (Ab7326 LCDR1 Kabat)

KSSQSVLYSSNNKNYLA

配列番号 8 (Ab7326 LCDR2 Kabat)

WASTRES 50

配列番号 9 (A b 7 3 2 6 L C D R 3 K a b a t)

QYYDTPT

配列番号 10 (A b 7 3 2 6 重鎖 改变領域 バリエント 1)

QVQLVESGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSS

配列番号 11 (A b 7 3 2 6 軽鎖 改变領域 バリエント 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
STRESGVPDRFSGSGGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGRLEIK

配列番号 12 (A b 7 3 2 6 重鎖 改变領域 バリエント 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSS

配列番号 13 (A b 7 3 2 6 軽鎖 改变領域 バリエント 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGRLEIK

配列番号 14 (マウス 全長 I g G 1 重鎖 バリエント 1)

QVQLVESGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSG
SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRD
CGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTLTPKVTQVVDISKDDPEVQFSWFVDDV
EVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISK
KGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQ
PIMDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK

配列番号 15 (マウス 全長 I g G 1 軽鎖 バリエント 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
STRESGVPDRFSGSGGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGRLEIKRTD
AAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQD
SKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC

配列番号 16 (ヒト 全長 I g G 1 重鎖 バリエント 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL
PGK

配列番号 17 (ヒト 全長 I g G 1 軽鎖 バリエント 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 18 (F a b 重鎖 バリエント 1)

QVQLVESGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

10

20

30

40

50

配列番号 19 (Fab 軽鎖バリエーション 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

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

AMPGEEVLESSQEALHVTERKYLKRDWCKTQPLKQTIHEEGCNSRTIINRFQYGCN
SFYIPRHIRKEEGSFQSCSFCKPKKFTTMMVTLNCPPELQPPTKKKRVTRVKQCRCSIDLD

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

KKKGSQGAIPPDKAQHNDSEQTQSPQQPGSRNRGRGQGRGTAMPGEEVLESSQEA
LHVTERKYLKRDWCKTQPLKQTIHEEGCNSRTIINRFQYGCNNSFYIPRHIRKEEGSF
QSCSFCKPKKFTTMMVTLNCPPELQPPTKKKRVTRVKQCRCSIDLD

配列番号 22 (ヒト IgG4P 重鎖バリエーション 1)

QVQLVESGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFKGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

配列番号 23 (ヒト IgG4P 軽鎖バリエーション 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 24 (ヒト IgG1 重鎖 DNA バリエーション 1)

caagtgcactggtggaatccggggccgaagtgaaaaagcccggagccactgtgaagatctcttgca
aagtgtccggctacaccttcaccgactattacatgcaactgggtccagcaggcacctgggaagggcctt
gagtggatgggtctggtcgcacccgaggacggcgaaactatctacgccgagaagtccagggtcgcg
tcacatcaccgcccacacttcaccgacaccgctacatggagctgtccagcttgaggtccgaggac
acagccgtgtactactgcccacggatgctcggggaagcggcagctactaccgaaaccacttcgact
actggggacagggcactctcgtgactgtctcagcgccttctacaaagggcccctccgtgttcccgtc
gctccatcatcgaagtctaccagcggaggcactgcggtctcgggtgcctcgtgaaggactacttccc
ggagccggtgaccgtgctggtggaacagcggagccctgaccagcgggtgcacaccttccggccgctc
ttgcagtcaagcggcctttactccctgtcatcagtggtgactgtcccgtccagctcattgggaacccaa
acctacatctgcaatgtgaatcacaacactagcaacaccaaggttgacaagaaagtcgagcccaaatc
gtgtgacaagactcacactgtccgcccgtgcccggcaccgcaactgctgggaggtccagcgtcttcc
tgttccctccaaagccgaaagacacgctgatgatctcccgccccggaggtcacttgctggtcgtg
gacgtgtccatgaggaccagaggtgaagttcaattggtacgtggatggcgtcgaagtccacaatg
ccaaaactaagcccagagaagaacagtacaattcgacctaccgctcgtgtccgtgctcacgggtgttg
catcaggattggctgaacgggaaggaatacaagtgcaaggtgtccaacaaggcgtgcccggcaccga
tcgagaaaactatctccaaagcgaaggacagcctagggaaactcaagtctacacgctgccaccatc
acgggatgaactgactaagaatcaagctcactgacttgtctggtgaaggggtttaccctagcgacat
tgccgtggagtggaatccaacggccagccagagaaactacaagactaccctccagtgctcgac
tcggatggatcgttcttcttactcgaagctcaccgtggataagtcgggtggcagcagggaaacgt
gttctcctgctcgggtgatgcatgaagccctccataaccactatacccaaaagtcgctgtccctgtcgcc
gggaaag

10

20

30

40

50

EVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNQQSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK

配列番号 29 (マウス全長 I g G 1 軽鎖バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
DAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPKIDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQ
DSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSTSPIVKSFNREK

配列番号 30 (ヒト全長 I g G 1 重鎖バリエーション 1)

QVQLVESGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFKGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

10

配列番号 31 (ヒト全長 I g G 1 軽鎖バリエーション 1)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA
STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

20

配列番号 32 (F a b 重鎖バリエーション 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFKGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKSC

配列番号 33 (F a b 軽鎖バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30

配列番号 34 (ヒト I g G 4 P 重鎖バリエーション 2)

QVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHWVQQAPGKGLEWMGLVDPED
GETIYAEKFKGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCATDARGSGSYYPNHFD
YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK

40

配列番号 35 (ヒト I g G 4 P 軽鎖バリエーション 2)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYW
ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINSLQAEDVAVYFCQQYYDTPTFGQGTRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号 36 (ヒトグレムリン - 1 ; 全長)

actcggtagcgcctccgcggaccgggacccagtgacggccgcccgcgtcactctcgggtcccgcgtg
accccgcgccgagccccggcggtctgcccgcggccgacctcagcgccacgcgtcgaaagcgagg

50

ccccgaggaccgcccgcactgacaggtgagcgcggacgcacccggcagggatgtgagtgggcgga
gggaagagggccgcaaaccaaccaggaccgctcagttccacgcgcggcagccctccgtgcgcg
aggctcgggtgcttgttcgcgggggtgaattgtgaagaaccatcgcggggtccttctgctgaggcc
gaggacaccgtgacctgctgctctgggtctgcagggaaacgtaggaaaaaagtgtcaggagcgg
gcaggatgacccccacatcccgtttccacctcccggaggccccgaacacgctcctggtgctggtgg
agcagcgcctggcagacgcgcccgttagcgagggcggaagtccaggccgagagcgcaggag
catccggacctgctagtcggccgctgactgcgcgggcagttgccttgagaggggtcccatgtgcttggg
gcgccgcgctgggtctgggggctcttggggcgcccattggagtcggcggggtggagcatccggaga
atccatgatgtgtgcatttggcgatccccgaggtgagatggagactggcaagggcagagccgctgtgt
tcagccacagcggaaaaccgaacgggtgggtaatccgacagctgcgggtgcggggcgcgccctggcc
gcggggtccagcgaaccgcagtgctcacaaggcagacaccacacgcgctcgcggaccggccacgc
actcgcgggcgctcgttcttactccagcctcttccccgccccgcgcacgcccagctgaatggtag
acgttctggcgccgggagcggccaccggctggttcccacttccgcgcgacccccctaaactgtgttc
tagaggccccagcctcgccttgcagcgcctcactagctcctgaggactagggactggcggtgaggc
gggttggcggtgcaacgagctgggctcttctcgttctctcgcctggtggtcgcgctggcccc
tccacagcttgcggagcaaggccatagcaggggagtgaggatattggggctgtcacctccttgt
ggccggagttattgtagactacagactccggaagaacagacgcgcccaccgctctcgttggcattgc
cttccgatcgcagctcctccttgggggtgccccagcttggcgtttatttgcctgcgcccaggctctggcg
acggtcaccgggcccaggcggggagggacggacggcaggtgaccagcctctgctgtgaagaaattcc
tgcgcgcccggagctgtccctaattgcattcccgggtcgaatccgtctactgccttccccctcctcgaccg
actccgaatctcggctcttatagacagaaatacagcctcagcgttaggggttaaaatccccctcttaa
cgggtccgagggcagagaggtgaccaccgataggtaatggatctcctgctggaaagagcaaatctga
gcggtgtgcgctctgtttatgttccccttcgagatggtgcccaggacacgaactgattaaaacaatcta
ttgtgtaagtgggtcactaggggttttaagctgtcccagggaccccagagtagtggttcccttctggct
gtacacacaagttaaataaatagcgtagaagaggttaagataaacccattctagggtgaggagtctc
tttcatccctagggttccccctcccccttttctcttttttggaaaggaggggagcatgagagctctgag
ggggggatgtacttttcaaagcaaggagggaagatcttaagaaaactataatctcactgcccccc
aagccaagtctataacagtaggtgatttgattactatctctggataaatggcactgtcaaattgtaata
ttaactatttcagggatTTTTtagcagggtagtggcagtatgtgtgcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
gtgtgttttaacctccaggctattgtaggaattagagcttttgtaaactttgtaatttcacagggttctta
tttcttaaaagttcatttttagtgaaatgttttggtaaccacgcctctgtaggaatccagggtggctaa
tgcggctcttatgtgagtagttacacaggggaaggataaaaaccttttatgtcctacatctctgaatgag
ggctgcctaccctgtctttgaaactaagccgaagatgccttcagctgaatggtcaagtattaaaagt
ataaaatgcaaagaaatttcatgccgcagacacctcccccaagaactgcttgttgacagcaaagctgt
ggaacatgttccacaacagagagtaaaaggacagccaggaaatataaaccttttatgtaaaggaaagg
cagggtgggggacagtggttaggggaggtgactgcagcctctaaccaaaaggcaaccatcaggcaagt
gctaccagcccgtgtcttcgatctgcaaggaattttcttttagttttaacatatgctcttagaaattcaa
gtacaacaggaattcctgggacaagagaaatctttttattcacatgtgaacatgaagatacaaaatag
ataattttttatattatagcactcttcaaattgtattgcattagaaaacatatccattgaccactgttaa
ggacagcactgggtgtcaataggacagtggttaaggacctgtgtttggggctagatagaattgggttt
aaactgctggctgggctgggcacagtggtcacaccggtaatcccagcactttgggaggccaaggag
gacggatcacctgaggctcgggagttcgacaccagcctgaccaacatggaaaaatcccgtctctactaa
aaacacaaaattagccaggcatggtggtgcatgcctgcaatcccagctacttgggaggctgaggcag
gagaattgcttgaaacccgggagggcggaggtgtggtgagcccagatagcggcattgcattccagcct
gggcaacacgagtgaaaactcgtcaaaaaaacaacaaacaaacaaacaaacaaacaaacaaacaaacaa
tcccacttatgagctgtgtgaccttggacaaaattccaacttttctgagtgtagattccctgattggtaa
aaggaagatgatattatctacctcatatttgttatgaaaaataaatgataaaattgggtcagaaatca
gcataatgcctggcacagtaagggttcaaaaataaaaggtagctcttattattagtaaatggtgtagga
aaagtagcaatgttatacagaaccaggatatacagggcagttctgaaattaaatcctgaatcctg
gccgggtgaggtggctcacgcttgaatcctaagcactttcggagactgaggcaggcggatcacgag

10

20

30

40

50

gtcaggagtttgagaccagcctggccaacacactgaaatcccgtctctactaaaaatacaaaaattag
 ctgggtgtgggtggcaggcgccataatctcagctacttgggaggctgaggcaggagaatcacttgagc
 ccaggaggcggagggttgcagtgagctgatatcgtgccagtgcaactccagcctgggtgacatctcttaa
 aaaaaaaaaatcctgaataccacactacgcagtgactaacacatctttcactacagaacagaacctgta
 acttggccgtctctcagcagtgctgctcagtgaaacatttaataatcttacttttctaactcgtttcttgtt
 gacctcaagaattgtacatagtcattaactttcctaagaaaatctttgacaaacatagagctcctgaga
 tatttcacaaccagggtggtctcctccctgtcctatgcaatgftgggccccagcctgatttagccgacctg
 gtcttcagacttgagaggctgtttagggttcttacaacacaaaggggatgagactttatcctctacctgt
 gtgccaacaaggattcttcttatctccttgggtgcaacttgtctgaaaaagaaagtcaacacaattatct
 tcttaaaagttaaagatcaaattaaaaataagctatagttttcccaaagatttagacctgagaaaaagg
 aatagatctttctaaaacctggcctgcacttagagcatttgtagtcacttccactatttcttatgctgaga
 gaataatttgatgtcatgcctattgaatgtctttctaaagcttgattcatcaggaggaactgaccagaa
 gtccatgcacagacatttggctttcactgtaattcctactcaaaactccctttcactgattatgagcagg
 ttgcttagctaaaatgagaaatacagcaagaagagggatggaaagagctggcttaaactttcccaaag
 acatcatgaacactgggaacagggtcatacatataaccatttttatttctcagtcctcagtattagaatatt
 gtgttccctagaggcttgtgaaaattggaatacattgccatgacctgcacaggatagagggtggttaata
 tggcttaccttgctttagatgtttactcttgatccctaagggaaactggaaggaaagcatgctgtaga
 gaggacctgctttagagatgtgtcctctgggacaagtggaaatgaaagagaggatagaggcaaaaga
 gaaaaaaaaagggtggagatgggggtgagacttgctgggtggacagttgcaaagaaaactcatgatgagaat
 aacatcacatttcttgaagaagctgaactgcattgatgggaagttgaggcagagtttgaagaagat
 aactgtctgcaaaaaagaatcaacggagatgtcaggatcttgatgcaccctgagtctatgagatgc
 agcttaatttaatttaatgatatgagtaggccatttcataagtggtggaaattaccataaagtggttga
 gctaatgacggcgcatgaatgatgtcataggaacctaaagtctggatgagctatggattgaattttact
 atgggacaccttctacatgttgcctgtggaagaattgtcctcaagaaatgtacatcttctgcatttcc
 tctacatctctgatatttacaagtgcacattatttgggtgatactacaactgggatttcaagtgcacatc
 actactatttccctcactgaagaatcaagagcagctctgggggtggggagagcttgagtattgacaag
 gatgtggcagagcccctggttccactatgaattatagttcttaccctgcttactgtcactcatgtagagca
 gctagtgtgcctcagagcactgctgttctctgagaagctgagggtctcgattgacattcttgaagttggt
 gtttacttctctctgaataaacaaggttggcaactcagacatcttacaataagtactaaagatttttga
 agaatagggttttaaaaaaatgaaaaacatttccatagctaaataatcttattttgaggaaaat
 gtacttttctttaaaaaaaaaaaaaagcctgtctgtcactctagaccctttggcttagaaggtaggcaca
 ctacatagaaacagaaagtctgtccaaattaaaactgaaaaccacagttgactaattttgaatttata
 gctctgctgttggcttctgcatagtagtattaattcaatggcttcaattagaaaaatgaaacctatagcatt
 ccataatgagaacaggtaaaaagtcaggggacatttggagtttccaagaaaaagaaagacaagctcttag
 gaagctctctaggatggaagggaatttggcacactgagagtttagacatccaaaggatagcaattggctc
 ttctgctcatgggcactgggtgaaggcattttaaaatgcaagaatggtacctctgtaaatcaatgaggt
 tcataataatcatgcatttaccaaatttttataagcacctgccttgtgccaaggcactgagggttaagggtg
 atgaataagccctcatcaactgtcagactagatatttactcaataacagatgtgaaaaatgccaagaag
 gaaaagttgagtataaagaaagccttaagtgggttcagagaaataaaaattgcatttttcggatagatgt
 ttatggaatcggccttatgaggtaaacctgtcctatgcagtgaaacatacttccagttagtctcagatt
 ggctctgtgatgacaaactcagagggtcctggcttaggagggtgaatttgtctggaggccattttc
 aggaggfatggagggaagactggggcataggcctggggccatcccatgtaactcctcctctgaaatggg
 gagcaactgaattgtgttttatttttagatcttctgccaacttgaataccagaaattcgtgaaaccttctc
 aaattcacactataattttgagaccaggagaaggctccttgagaaattgccacactgtcttatcctagtct
 ctggaaaaattcagtcctgtattataactgggcgttctcataagtgcttttttttttctttttctttttat
 aatactttaagttctgggatacatgtgcagaatgtgcagggttgttacataggtatacacgtgccatggt
 ggtttgctgcacccatcaaccatcatctacattaggtatttctcctaattgctacccttccctagcccc
 ccacctctgcacaggccccaggtttgatgttccctccctgtgtccatgtgttctcattgttcaactcc
 cacttatgagtgagagcatgagggttttgggtttctgttccctgtgttagtttctgagaatgatggtttt
 ggcttcatccacgtccctgcaaaggacatgaactcatcctttttatggctgcatagattccatgggtga

10

20

30

40

50

tatgtgccacatttgctttatccagtcctatcattgatgagcacttgggttggctccaagtctttgctatta
 tgactagtagtgcgataaacatgtgtatgtgtctttatattagaatgattataatccttaggtctat
 acccagtaataggattcctgggtcaaatggatcttctgggtctagatccttgaggaattgccacactgtc
 tccacaacgggtgaaactaattacactcccaccaacagtgtaaaagcattcctatttctccacatcctc
 tccaacatctgttgtttcctgactctttaatgacggccattctaactggcgtgaaatggatctcattgtg
 gttttgatttgcatttctctaattgaccaccgatgatgagctttttctcataatgtttgctggcccataa
 gtcttcttttgagaaatgtctgttcataatcctttgccactttttgatggggttgtttgctttttctt
 gtaa atttgtttgagttcctggtagattctggatattagccctttgtcagatggatagactgcaaaa
 atttctc ccattctgtaggttgctgttactctgatggtagtttcttttgccatgcagaagctgttt
 agtttaatta gatccaatgttgcagttttggctttttgttggcattgctttttgggttttttagt
 catgaagcttttggccatgctatgtcctgaattgtattgccctggttttcttctaggatttttat
 gggttttaggtcttacatttaagtctttaatccatcttgaattaatttttgtataagggtgta
 aggaagggtccagtttcagttttctgctgatggctagccagttttcccaacgttatattta
 aataggggaatcctttccccattgcttgtttttgtcaggtttgtca aagatcagacgggtt
 gtagatgtgtgggtgttatttctgaggcctctgttctgttccattgggtctgtataatct
 gctttgataccagtagcctgtctgttttgggttactgtagcctttagtacagtttgaagtc
 aggttagcgtgatgctttgttctttttgcttaggattgtcttggctataatgggctcttttt
 ggttctataatgaaatataaagt agtttttcatagacatctatagaactctccacccca
 aatcaacagaatatacattcttctcagtatcgc atcacacttattctaaaatgaccacata
 attagaagtaaaacactcctcagcaaatgcaaaaaacaga aatcctaacagctctgtcag
 acccagtgcaatcaaatagaaactcaggattaagaaacttactgaaaa ccacacaactg
 catggaaactgaacaacctgctcctgaatgactactgggtaaataacaaaattaagg
 cagaaataaataggttctttgaaagaaatgagaacaaagacacaatataaccagaatct
 ctgggacacagctaaagcagtgtttagagggaaattgatagcactaaatgcccacaggaga
 aagcgggacagatcta aatcgacaccctaataatcacaaatgaaagaacttagagaaaca
 agagcaaaacaaattcaaaagctag cagaagacaagaaataactaagatcagagcaga
 actgaaggagatagagacacaaaaaaccttca aaaaaatcaatgaatccaggagct
 gtttttttttttggaaaagattaatgaaatagactgctagccaaac taataaaggaga
 aagagagaagaatcaaatagacaatagacacaataaaaagtataaagggat atcaccact
 gatcccacagaaatacaaaactaccatcagagaatactataaacacctctacgcaataa
 actagaaaaattgggaagaaatggatacattcctgaacgcatacacctcccagactaa
 accaggga gaagttgaatccctgaatagaccaatagcaagttctgaaattgaggcagta
 attagtagcctaccaac caaaaaaagcccaggaccagacagattcacagccgaagtct
 accagaggtacaaagaggagctagt accattccttctgaaactattccaacaataga
 aaaaagaaggactcctccctaactcattttatgaggc cagcatcatcctgataccaaa
 acctggcagagacacaacataaaaggaaattcaggccaatatccttga tgaacattgat
 gtgaaaatcctcaataaaatactggcagcacatcaaaaagcttacctgccatgatcaa
 gttggcttcatccctgggatgcaaggctgggtcaacatacgcaaatcaataaacgta
 atcaatcacata cacagaaccaatgacaaaaaccacatgattatctcaatagatgcaga
 aaaggccttcgataaaattca acaccccttcaatgctaagaactctcaataaactag
 gttatgtgatgaaacccacagccagtatcactgaatgggcaaaagctggaagcattcc
 ctttgaaaa ccgccacaaggatgacttctctcaccactcctattcaacatactattgga
 agttcttggccagggcaagc aggcaagacaaaataaaagggtattcaaataggaag
 agagaggaaagtcaaaattgtctctgtttgcaga tgacatgattgtatatttagaaa
 accccatcatctcagcccaaaatctccttaagctgataagcaacttc agcaaagtct
 caggatacaaaaatcaatgtgcaaaaatcacaaagcattcctatacaccaataataga
 caaacagccaaatcatgagtgaactcccattcacaaagtgctacaaagaataaaa
 atacctaggaatccaacttacaagggatgtgaaaggaccttcaaggagaactacagacc
 actgctcaaggtaataagagagga cacaaaacaaatggaaaaacattccatgctcat
 ggataggaagaatcaatattatgaaaatggccatac tgcccaaaacaatttataga
 ttcaatgccatccccatcaagctaccactgacttcttcacagaattag aaaaaact
 actttaaatctatggaaactgaaaaaagagccgggtatagccaagacgatcctaagca
 aaaagaaaaagctggaagcatcatgctacctgacttcaactatactacaaggctaca
 gtaacaaaaacagcatggtatagtataagtgttttttttaaaagacaaagtaaa
 gtaattttttgttgt tggggtaaaacaaaagctctgcataaaagagcagggtgtt
 gtaacatacactgaccaaaagggtgggaa acctacagttggagcagaagctgaatgt
 cacattatcagctccgaacttataatgggtctaaaagtacta

10

20

30

40

50

ggftaatgftggaaagatggtgccatttaaagataatcttaaattcaatatattaatttttaatttgacat
 tatcctagagttgaatggtgfttacttaccatgtgctgttcattagaaaatctagatcctacactgccttt
 gcgcaaggtagttgctctaataataccaacctgtccagttttggtgggagaaataatgttactgttaag
 ttgcacttagtggttattatgtgtaatactggtattccaagagagaaaggaaaatgtttgctacacagct
 gtgttcttaggttcagaaaaccacaggagtgggacaggagaaaccttcaggattcagggtccgattgttg
 tgatggccgcaggaggagactgtgaatttgaaactgcatccattgaaaagaaaatccctccacactt
 taataattctctccgtgccccatggcagcaagtgttataggccttgctactcaagcttaataaaaag
 gcagacctgctgaatcataatctgcatcttaacaatatccccagatattgtctgcactttcttttttttt
 ctttctttctttctttttttttgagacagagctctcgctcagtcaccaggctggagtgagtgggcgga
 tctcggctcactgcaagctctgactcccgggttcacgccattctcctgccttagactcccgagtagctg 10
 gcactacaggcgcccgccactacgccccgctaattttttgtatttttagtagagatggggtttcacctg
 gttagccaggatggtctcgatctcctgacctcgtgatccgcccggccatctgggcctcccaaagtctg
 ggattacaggcgtgagccactgcgccccggcaattgtctgcactttcaagtctaagaagcactgtccc
 aggaggaaaatcttttttagtctgaggcttctctcttgcaactctccttttttaaaaatatgctgctccttctc
 cacctttccctcttcttccgcttttctgtctgcctttactacctccctgaacattcaactgtgagaaga
 gttcccctttctctgaattgcattcttcaacttcaattcttttctctctctgtctatggtttcctattttt
 gtcggttttccctcacctcacctccttgttattttttgccattgttcacatatcactgccctttcagaccca
 tatctagcttctgacctatccactaatccattgccactaatatttcagcatgcccatgccatttattaat
 gtaaatatttgcacatacttgttctatcatgccatttttctaccttttaaatgtatatacacagacacat
 gtgaatgacataatttcaactatftaaaggtagaaaaatgtatatactgtggtacaaagtgatacattgagt 20
 atctgtgccagtttcaagatgagaataagtgtgagaggtgaagcctcatgagtcacgtcacctacacgc
 tactgtctttcattccatctgcagtactgccacacatttggttagttctccaattgctgtcacattgacat
 cgagttggatctgaacagcgtacctggggagacgaagtattggatctttgcttaaatggagtgattta
 ctgagagacaaagtgacatctttaagatcagatagcaagttactgcaccaggagcgcgacctttcctg
 tttgtgtgtttccctctgtcaaattgccttctggtctccatgaatctctccttccacatatgataaaaatgc
 aaagtctcataagcattcacagctcaggaagcctcaggctagtggggagaaagactgggaggtttc
 cggagggaatgaagtcctctgagcagagaggttaattcatcttgcctgtataaaacaaaatagaaaataagt
 tcccctcaataagtgaacgtaatacaaaagacaaaatgtggtttggtgccagaggccaggaagaagttctt
 gtgagaatagggtgcagagaagagctaggccctggctgagtttaaccttgacttagtcactgtgggac
 tctgggtgagttactccatggattgatggctgggtcatggagataatagtaacctaatcatacaggtaac 30
 tgtgagaagtaaatggaatatttcaactaaagtgttttaacgggtgcgtttaaatgctagggtgctattatta
 ttaatttttaaatcaactttgccatgtttgtgtcttccccctctctgtgtcttctttcttttagtatgagccgc
 acagcctacacgggtgggagccctgcttctcctcttggggaccctgctgcgggctgctgaagggaaaaa
 gaaaggggtcccaagggtgccatccccccggcagacaaggcccagcacaatgactcagagcagactca
 gtcgccccagcagcctggctccaggaaccggggggcggggccaagggcggggcaactgccatgcccg
 ggaggaggtgctggagtccagccaagaggccctgcatgtgacggagcgcgaaataacctgaagcgaga
 ctggtgcaaaaccagccgcttaagcagacctccacgaggaaggctgcaacagtcgcacctatc
 aaccgcttctgtttacggccagtgaactctttctacatccccaggcacatccggaaggaggaaggttc
 cttcagtcctgctccttctgcaagcccaagaaattcactacctatgatggtcacactcaactgccctga
 actacagccacctaccaagaagaagagagtcacacgtgtgaagcagtgctgftgcatatccatcgatt 40
 tggattaagccaaatccagggtgcacccagcatgtcctaggaatgcagccccaggaagtccagacct
 aaaacaaccagattcttacttggcttaaacctagaggccagaagaacccccagctgcctcctggcagg
 agcctgcttgtgcgtagtctgtgcatgagtggtggtgctgtgggtgttttttagacaccagag
 aaaacacagctctctgctagagagcactccctatfttgtaaacataatctgctttaaaggggatgtaccag
 aaaccacctcaccggctcacatctaaagggcgggggccgtgggtctggttctgactttgtgtttttg
 tgcctcctggggaccagaatctcctttcggaatgaatgttcatggaagaggctcctctgagggcaag
 agacctgttttagtgctgcatcagacatggaaaagtccttttaacctgtgcttgcacctccttctcct
 cctcctcacaatccatctcttcttaagttagatagtgactatgtcagctcaatctcttgtttgccaaggttc
 ctaaattaattcaacttaacctatgatgcaaatgtttttcattttgtgaagacctccagactctgggagag
 gctgggtgtgggcaaggacaagcaggatagtggagtgagaaaggagggtggagggtgaggccaaat 50

10
20
30
40
50

cagggtccagcaaaaagtcagtagggacattgcagaagcttgaaaggccaataccagaacacagggctga
 tgcttctgagaaagcttttcttagtatttaacagaacccaagtgaaacagaggagaaatgagattgcc
 gaaagtgattaactttggccgttgcaatctgctcaaacctaacaccaaactgaaaacataaatactgac
 cactcctatgttcggacccaagcaagttagctaaaccaaaccaactcctctgctttgtccctcaggtgg
 aaaagagaggttagtttagaactctctgcataggggtgggaattaatcaaaaaccgcagaggctgaaa
 ttccataactttcctttatcgtggttatagtcagctcatttccattccactatttccataatgcttctg
 agagccactaacttgattgataaagatcctgcctctgctgagtgctacctgacagtagtctaagatgaga
 gagtttagggactactctgttttagcaagagatatgttgggggtcttttgttttaactattgtcaggaga
 ttgggctaaagagaagacgacgagagtaaggaaataaagggaattgcctctggctagagagtagtta
 ggtgttaataactggttagagatgtaagggatagacctccctttctttatgtgctcactgaggatctgag
 gggacctgttaggagagcatagcatcatgatgtattagctgttcatctgctactggttggatggacat
 aactattgtaactattcagtatctactggttaggcactgtcctctgattaaacttggcctactggcaatgg
 ctacttaggattgatctaaggggccaaagtgcaggggtgggtgaactttattgtactttggatttggttaac
 ctgttttcttcaagcctgaggttttatatacaaaactccctgaatactcttttgccttgtatcttctcagcc
 tcctagccaagtcctatgtaatatggaaaacaaacactgcagacttgagattcagttgccgatcaagg
 ctctggcattcagagaacccttgcaactcgagaagctgtttttatttctgttttggatccagtgctc
 tcccatctaacaactaaacaggagccatttcaaggcgggagatattttaaacaccccaaaatgttgggt
 ctgattttcaaaacttttaaaactcactactgatgattctcacgctaggcgaatttgtccaaacacatagtg
 tgtgtgttttgtatacactgtatgacccccaccccaaatcttgtattgtccacattctccaacaataaagc
 acagagtggtatftaattaagcacacaaatgctaaggcagaatfttgagggtgggagagagaagaaagg
 gaaagaagctgaaaatgtaaaaccacaccaggaggaaatgacattcagaaccagcaaacactg
 aatttctctgttgttttaactctgccacaagaatgcaatttctgttaacggagatgacttaagttggcag
 cagtaatcttcttttaggagcttgtaccacagcttctgcacataagtgcagatttggctcaagtaagag
 aatttctcaacactaacttcaactggtgataatcagcagcgttaactacctaagcatatcactagcca
 aagagggaataatctgttcttcttactgtgcctatattaagactagtacaaatgtgggtgtgtcttccaac
 tttcattgaaaatgccatatctataccatattttattcagctactgatgatgtaatgatataatftttcat
 tattatagtagaataatftttatggcaagatatfttgtggtcttgcatacctattaaataatgccaaaca
 ccaaatatgaatftttatgatgtacacttftgtgcttggcattaaaagaaaaaacacacatcctggaagt
 ctgtaagttgtttttgttactgttaggtcttcaaagtttaagagtgtaagtgaaaaatctggaggagagg
 ataatttccactgtgtggaatgtgaatagttaaatgaaaagttatggttatttaatgtaattacttca
 aatcctfttggctactgtgatttcaagcatgtfttctfttctcctttatagacttctctgagttgggcaa
 agaagaagctgacacaccgtatgttgttagagctttttatctggtcaggggaaacaaaatcttgacca
 gctgaacatgtcttccctgagtcagtgccctgaatctttatfttttaattgaatgttccfttaaagggttaaca
 tttctaaagcaatattaagaaagactfttaaatgttattfttggaaagacttacgatgcatgtatacaaacga
 atagcagataatgatgactagttcacacataaagtcctftttaaggagaaaatctaaaatgaaaagtgg
 ataaacagaaacatttataagtgatcagttaatgcctaagagtgaaagtagttctattgacattcctcaa
 gatftttaatatcaactgcattatgtattatgtctgcttaaatcatttaaaaacggcaagaattatatag
 actatgaggtacctgtgtgtaggaggatgaaaggggagttgatagctctataaaactaatttggctt
 caagtttcatgaatctgtaactagaatttaatttccaccaataatgttctatatagccttftgctaaaga
 gcaactaataaattaacctattctttctgtg

10

20

30

40

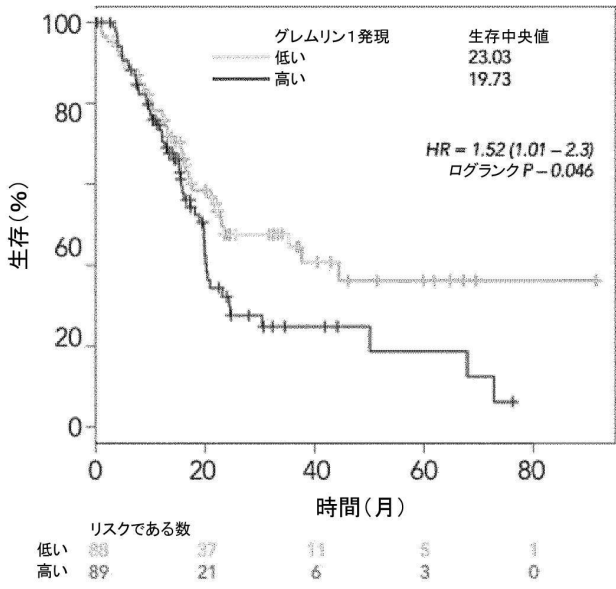
配列番号 37 (ヒトグレムリン - 1 ; コード配列)

atgagccgcacagcctacacgggtgggagccctgcttctcctcttggggaccctgctgccggctgctga
 agggaaaaagaaaggggtcccaagggtgccatccccccgccagacaaggcccagcacaatgactcaga
 gcagactcagtcgccccagcagcctggctccaggaaccggggggcggggccaaggggcggggcactgc
 catgccggggaggagggtgctggagtcagccaagaggccctgcatgtgacggagcgcaataacct
 gaagcgagactggtgcaaaaccagccgcttaagcagaccatccacgaggaaggctgcaacagtcg
 cccatcatcaaccgcttctgttacggccagtgcaactcttctacatcccaggcacatccggaagga
 ggaaggttcccttctcagtcctgctccttctgcaagcccaagaaattcactacatgatggtcacactcaa
 ctgccctgaactacagccacctaccaagaagaagagagtcacacgctgtgaagcagtgctcgttgcatat
 ccatcgatttggattaa

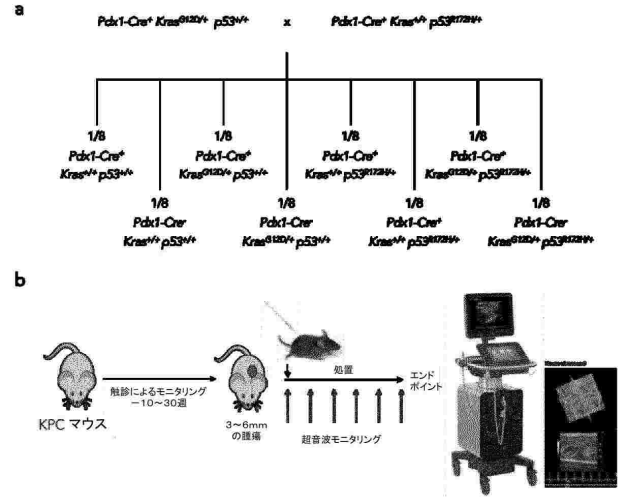
50

【 図面 】

【 図 1 】



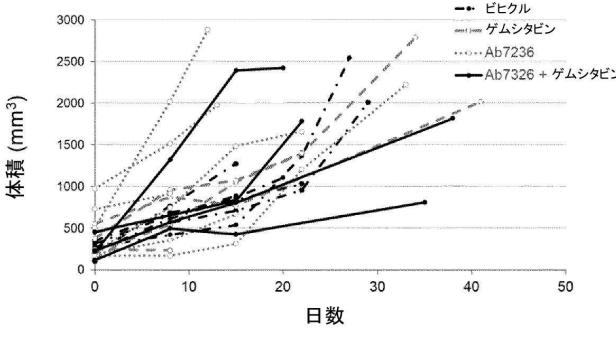
【 図 2 】



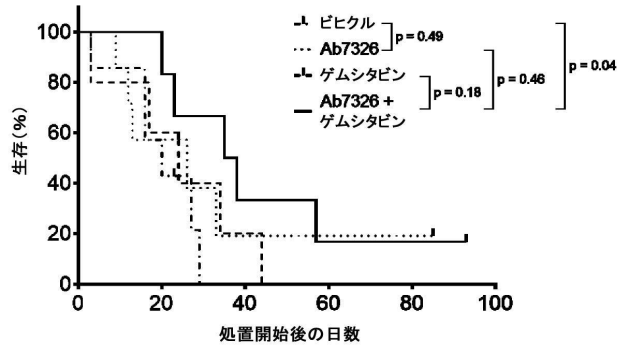
10

20

【 図 3 】



【 図 4 】



30

40

50

【配列表】

2025511940000001.xml

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

International application No. PCT/EP2023/059271
--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)
1.	<p>With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).</p> <p style="padding-left: 40px;"><input type="checkbox"/> accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.</p>
2.	<p><input type="checkbox"/> With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.</p>
3.	<p>Additional comments:</p>

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2023/059271
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07K16/22	A61K39/395	A61P35/00
ADD.	A61K31/7068	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/041757 A1 (ZHEN HANSON [US] ET AL) 12 February 2009 (2009-02-12) the whole document in particular, pages 1 and 11 -----	5-8, 19, 20 9-16
Y	WO 2019/243801 A1 (UCB BIOPHARMA SRL [BE]; UNIV OXFORD INNOVATION LTD [GB] ET AL.) 26 December 2019 (2019-12-26) cited in the application the whole document in particular, pages 12, 25-35, 54-56 and 58-60 -----	9-16, 22-24
Y	EP 2 826 790 A1 (SNU R&DB FOUNDATION [KR]; KIM HYUN KEE [KR]) 21 January 2015 (2015-01-21) the whole document in particular, paragraphs 34-36 -----	22-24
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/>
		See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 24 May 2023	Date of mailing of the international search report 05/06/2023	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Pérez-Mato, Isabel	

3

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 3

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2023/059271

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>CHENG ZIQI ET AL: "A review of research progress of antitumor drugs based on tubulin targets", TRANSLATIONAL CANCER RESEARCH, vol. 9, no. 6, 1 June 2020 (2020-06-01), pages 4020-4027, XP093048872, ISSN: 2218-676X, DOI: 10.21037/tcr-20-682 the whole document in particular, pages 4021-4023 -----</p>	22-24
A	<p>WO 2017/158396 A1 (INSERM [FR]; UNIVERSITÉ PAUL SABATIER TOULOUSE III [FR]) 21 September 2017 (2017-09-21) the whole document in particular, pages 5-6 -----</p>	1-4, 17, 18, 21, 25
A	<p>J. B. SNEDDON ET AL: "Bone morphogenetic protein antagonist gremlin 1 is widely expressed by cancer-associated stromal cells and can promote tumor cell proliferation", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 103, no. 40, 3 October 2006 (2006-10-03), pages 14842-14847, XP055121828, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.0606857103 the whole document in particular, pages 14844-14845 -----</p>	1-25
A	<p>MINSOO KIM ET AL: "Gremlin-1 Induces BMP-Independent Tumor Cell Proliferation, Migration, and Invasion", PLOS ONE, vol. 7, no. 4, 13 April 2012 (2012-04-13), page e35100, XP055121712, DOI: 10.1371/journal.pone.0035100 the whole document in particular, pages 4-5 -----</p>	1-25
A	<p>ELEMAM NOHA MOUSSAAD ET AL: "Insights into the Role of Gremlin-1, a Bone Morphogenic Protein Antagonist, in Cancer Initiation and Progression", BIOMEDICINES, vol. 10, no. 2, 28 January 2022 (2022-01-28), page 301, XP093048642, DOI: 10.3390/biomedicines10020301 the whole document in particular, page 9 -----</p>	1-25

10

20

30

40

-/--

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 3

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/059271

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2022/152290 A1 (SUZHOU TRANSCENTA THERAPEUTICS CO LTD [CN]) 21 July 2022 (2022-07-21) the whole document in particular, page 102 -----	1-4

10

20

30

40

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2023/059271

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009041757	A1	12-02-2009	NONE

WO 2019243801	A1	26-12-2019	AU 2019289176 A1 24-12-2020
			BR 112020025661 A2 23-03-2021
			CA 3102743 A1 26-12-2019
			CL 2020003249 A1 09-07-2021
			CN 112533632 A 19-03-2021
			CO 2020015923 A2 10-05-2021
			EP 3806898 A1 21-04-2021
			IL 279347 A 31-01-2021
			JP 2021528400 A 21-10-2021
			KR 20210028191 A 11-03-2021
			SG 11202012312U A 28-01-2021
			US 2021253688 A1 19-08-2021
			WO 2019243801 A1 26-12-2019

EP 2826790	A1	21-01-2015	AU 2013232855 A1 02-10-2014
			CN 104321342 A 28-01-2015
			EP 2826790 A1 21-01-2015
			ES 2720617 T3 23-07-2019
			JP 6339063 B2 06-06-2018
			JP 2015512894 A 30-04-2015
			KR 20130105541 A 25-09-2013
			TR 201905395 T4 21-05-2019
			US 2015158938 A1 11-06-2015
			WO 2013137686 A1 19-09-2013

WO 2017158396	A1	21-09-2017	EP 3429597 A1 23-01-2019
			US 2019076464 A1 14-03-2019
			WO 2017158050 A1 21-09-2017
			WO 2017158396 A1 21-09-2017

WO 2022152290	A1	21-07-2022	TW 202241944 A 01-11-2022
			WO 2022152290 A1 21-07-2022

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 31/282	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 31/513 (2006.01)	A 6 1 K 31/513	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	Z N A
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68	
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/68	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I R,IS,IT, JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW ,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL ,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW
ークシャー、スラウ、バス ロード 2 0 8、ユーシービー バイオファルマ ユーケイ、アイピー
ディー 気付

(72)発明者 モートン、ジェニファー パトリシア

英国 ジー 6 1 1 ビーディー グラスゴー、スイッチバック ロード、ガースキューブ エステート
、キャンサー リサーチ、ユーケイ ビートソン インスティテュート 気付

F ターム (参考) 2G045 AA25 DA36
4B063 QA01 QA13 QA19 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QS36
QX01
4C084 AA20 NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZC751 ZC752
4C085 AA14 BB11 BB41 BB43 BB50
4C086 AA01 AA02 BA02 BC42 BC43 CB09 CB22 EA16 EA17 GA02
GA07 NA05 NA14 ZB26 ZC75
4C206 AA01 AA02 JB16
4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA75 EA20 FA74