明　細　書

発明の名称 ： ＲＥＴ阻害剤

技術分野

[0001] 本発明は、４環性化合物もしくはその塩またはそれらの溶媒和物を含む、ＲＥＴ阻害剤、ＲＥＴチロシンキナーゼの阻害剤、ＲＥＴに変異を有する癌、癌転移を含む疾患の予防または治療剤、その対象患者の同定方法等に関する。

背景技術

[0002] Ｒｅａａｒａｎｇｅｄ ｄｕｒｉｎｇ ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ（ＲＥＴ）は、カドヘリンスーパーファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼの一つである（Ｓｕｒｇｅｒｙ，２００７年，１４１巻，ｐ．９６－９９）。ＲＥＴチロシンキナーゼは、中央部に細胞膜貫通領域を有し、そのカルボキシル末端側にチロシンキナーゼ領域、アミノ末端側に細胞外領域を有する。カルボキシル末端のスプライシングの違いにより３種類のタンパク質が存在することが知られている（ＴＲＥＮＤＳ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，２００６年，２２巻，ｐ．６２７－６３６：文献ａ）。ＲＥＴは、リガンド／ＧＦＲ複合体を介して二量体を形成することで、自己のチロシンをリン酸化し活性化する（文献ａ）。

ＲＥＴ遺伝子に異常（点変異、染色体転座、染色体逆位、遺伝子増幅）が生じた結果、癌化に関与することが報告されている。例えば、甲状腺髄様癌では、ＲＥＴ遺伝子に点変異が生じることにより、癌化能を持ったＲＥＴチロシンキナーゼが発現していることが報告されている（文献ａ）。また、甲状腺乳頭癌では、ＲＥＴ遺伝子が染色体逆位もしくは染色体転座により他の遺伝子（ｃｏｉｌｅｄ－ｃｏｉｌｄｏｍａｉｎ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ６（ＣＣＤＣ６）遺伝子やｎｕｃｌｅａｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｃｏａｃｔｉｖａｔｏｒ ４（ＮＣＯＡ４）遺伝子など）と融合し、癌化能を持った融合型チロシンキナーゼＲＥＴ／ＰＴＣが発現していることが報告されている（Ｅ

ｕｒｏｐｅａｎ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ，２００６年，１５５巻，ｐ．６４５－６５３）。さらに、非小細胞肺癌では、ＲＥＴが細胞内の微小管輸送に関わるモーター蛋白質複合体の構成分子の一つであるｋｉｎｅｓｉｎ ｆａｍｉｌｙ ｐｒｏｔｅｉｎ ５Ｂ（ＫＩＦ５Ｂ）遺伝子やＣＣＤＣ６遺伝子と融合し、癌化能を持った融合型チロシンキナーゼＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴあるいはＣＣＤＣ６－ＲＥＴの恒常的なチロシンキナーゼ活性により非小細胞肺癌を引き起こすことが報告されている（Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３７８－３８１、ＷＯ２０１２／０１４７９５）。また、非小細胞肺癌の患者においてＲＥＴ遺伝子がＮＣＯＡ４遺伝子やＴＲＩＭ３３（ｔｒｉｐａｒｔｉｔｅ ｍｏｔｉｆ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ３３）遺伝子と融合した融合型チロシンキナーゼＮＣＯＡ４－ＲＥＴ、ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴが存在することが報告されている（Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ，３０（３５），Ｄｅｃ １０，２０１２，ｐ．４３５２－９、Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ ２０１３ Ｊｕｎ，３（６），Ｊｕｎ ２０１３，ｐ．６３０－５）。

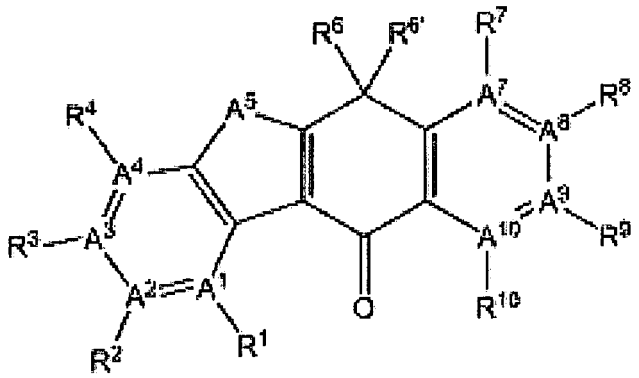
従って、ＲＥＴチロシンキナーゼの阻害作用を有する化合物は癌の予防および治療に極めて有用である。

ＲＥＴチロシンキナーゼ阻害物質としては、Ｓｏｒａｆｅｎｉｂ、Ｓｕｎｉｔｉｎｉｂ、ＸＬ１８４、Ｖａｎｄｅｔａｎｉｂ、ＰｏｎａｔｉｎｉｂといったマルチキナーゼインヒビターがＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴを発現する細胞株に対して細胞増殖阻害作用を示すことが報告されている（非特許文献１：Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ３０，２０１２，ｓｕｐｐｌ；Ａｂｓｔｒａｃｔ ｎｏ：７５１０）。また、マルチキナーゼインヒビターであるＣａｂｏｚａｎｔｉｎｉｂがＲＥＴ融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌患者2人に対して部分奏功を示したことが報告されている（非特許文献２：Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ，３（６），Ｊｕｎ ２０１３，ｐ．６３０－５）。

一方、インスリン受容体ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼのＡｎａｐｌａｓｔｉｃ Ｌｙｍｐｈｏｍａ Ｋｉｎａｓｅ（ＡＬＫ）の阻害

剤として以下の一般式を有する４環性化合物が報告されている（特許文献１：ＷＯ２０１０／１４３６６４、特許文献２：ＷＯ２０１２／０２３５９７、特許文献３：特開２０１２－１２６７１１）。当該化合物はＡＬＫ遺伝子に変異を有する腫瘍の治療剤および／または予防剤として有用である。

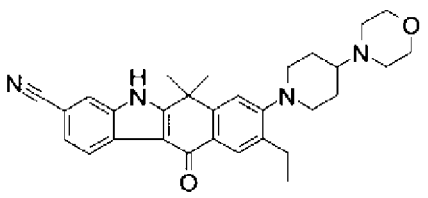
[化1]



（置換基等は上記公報を参照）

また、以下の化合物が、Ａｍｂｉｔ　Ｋｉｎａｓｅ　Ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ試験において高濃度（１，０００ｎＭ）ではＲＥＴを含む多数のキナーゼを阻害することが報告されている（非特許文献３：Ｃａｎｃｅｒ　ｃｅｌｌ，１９（５），ｐ．６７９－６９０，２０１１，Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔａｌ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ）。

[化2]



しかしながら、特許文献１および非特許文献３に記載の４環性化合物がＲＥＴに変異を有する癌の治療または予防剤として有用であることは報告されていない。

また、ＡＬＫ阻害剤であるＣｒｉｚｏｔｉｎｉｂについては、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ発現細胞に対して細胞増殖阻害活性を有さないことが報告されてい

る（非特許文献４：Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３７８－３８１）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：ＷＯ２０１０／１４３６６４

特許文献2：ＷＯ２０１２／０２３５９７

特許文献3：特開２０１２－１２６７１１

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ　３０，　２０１２，　ｓｕｐｐｌ；　Ａｂｓｔｒａｃｔ　ｎｏ：　７５１０

非特許文献2：Ｃａｎｃｅｒ　Ｄｉｓｃｏｖ，３（６），Ｊｕｎ　２０１３，ｐ．６３０－５

非特許文献3：Ｃａｎｃｅｒ　ｃｅｌｌ，１９（５），ｐ．６７９－６９０，２０１１，Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔａｌ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ

非特許文献4：Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３７８－３８１

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] ＡＬＫ遺伝子の変異により引き起こされる癌とＲＥＴ遺伝子の変異により引き起こされる癌では、癌の発生機序、それぞれのキナーゼのタンパク質立体構造等が異なり、それぞれの癌に対して特定の治療および／または予防方法が必要とされている。肺癌において、ＡＬＫ遺伝子に変異を有する患者群とＲＥＴに変異を有する患者群は重複しないことが報告されており（Ｎａｔ　Ｍｅｄ，２０１２　Ｆｅｂ　１２，１８（３），３７５－７）、両患者群は治療上明確に区別され、それぞれの患者に対して特定の治療および／または予防方法が必要とされる。

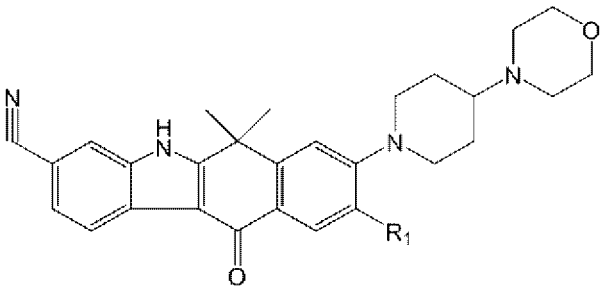
一方、多数のキナーゼを同時に阻害する化合物は、その有効治療域が狭い

ことが原因で治療効果が低くなる場合があることが知られている。したがって、少数のキナーゼを選択的に阻害する薬物は治療効果の観点からも望ましい性質を有するといえ、このような薬物が必要とされている。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、上記課題に鑑み、鋭意検討した結果、下記式（Ｉ）で表される４環性化合物、その塩、それらの溶媒和物が、ＡＬＫ阻害活性の他、優れたＲＥＴ阻害活性を有し、選択的にＲＥＴを阻害し、ＲＥＴに変異を有する癌、癌転移を含む疾患の治療および予防に有用であり、かつこれらの疾患に対し優れた薬効を有することを初めて見出し、本発明を完成するに至った。

[化3]



（Ｉ）

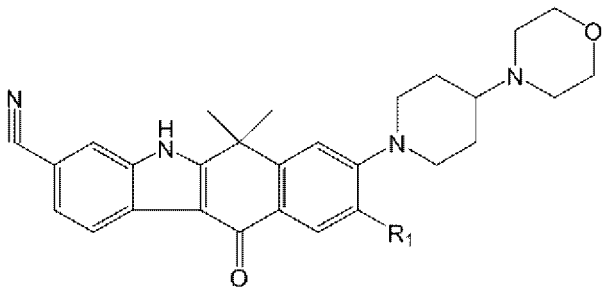
（式中、R_1はC_{1-6}アルキル基である）

すなわち、本発明の１つの側面によれば、本発明は、以下に示す、４環性化合物またはその塩等を含有する、ＲＥＴに変異を有する癌、癌転移等の治療または予防剤である。また、本発明の他の側面によれば、上記化合物等による治療が効果的な癌や対象患者の同定方法を提供する。

[0007] 具体的には、以下のとおりである。

［１］ 式（Ｉ）で表される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、ＲＥＴに変異を有する腫瘍、または前記腫瘍の転移の治療および／または予防剤。

［化4］



（Ｉ）

（式中、Ｒ$_1$はＣ$_{1-6}$のアルキル基である。）

［２］　前記腫瘍が、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、脳腫瘍、神経芽細胞腫、神経膠腫、甲状腺癌、骨髄異形成症候群、頭頸部癌、食道癌、胃癌、大腸癌、結腸直腸癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、膵臓癌、肝臓癌、胆嚢癌、皮膚癌、悪性黒色腫、腎癌、腎盂尿管癌、膀胱癌、子宮癌、精巣癌、前立腺癌、および該腫瘍から転移した腫瘍からなる群より選択される、［１］に記載の治療および／または予防剤。

［３］　前記腫瘍が甲状腺癌または肺癌である、［１］～［２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［４］　前記腫瘍が甲状腺髄様癌または非小細胞肺癌である、［１］～［３］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［４－１］前記腫瘍が、腫瘍組織においてＲＥＴチロシンキナーゼの活性化が確認された腫瘍である、［１］～［４］に記載の治療および／または予防剤。

［４－２］前記腫瘍が、ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異を有する腫瘍である、［１］～［４］に記載の治療および／または予防剤。

［４－２－１］前記腫瘍が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質、を有する腫瘍である［１］～［４－２］に記載

の治療および／または予防剤。

［４－２－２］前記腫瘍が、ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質を有する腫瘍である、［１］～［４－２］に記載の治療および／または予防剤。

［４－２－３］前記腫瘍が、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ、またはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴを有する腫瘍である、［１］～［４－２］、または［４－２－２］に記載の治療および／または予防剤。

［４－３］前記腫瘍が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質、を有する腫瘍である、［１］～［４－２］に記載の治療および／または予防剤。

[0008] ［５］　前記腫瘍がＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質を有する腫瘍である、［１］～［４－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［５－１］他の遺伝子およびタンパク質がＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４またはＴＲＩＭ３３の遺伝子およびタンパク質である、［５］に記載の治療および／または予防剤。

［５－２］前記融合遺伝子およびタンパク質が、ＲＥＴ遺伝子またはタンパク質のチロシンキナーゼドメイン、および他の遺伝子またはタンパク質のコイルドコイルドメインを含む、［５］または［５－１］に記載の治療および／または予防剤。

［５－２－１］ＲＥＴタンパク質およびＲＥＴ遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［５］～［５－２］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：３または４で表されるポリペプチドにおいて１または複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｃ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチド

［５－２－２］ＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４およびＴＲＩＭ３３のタンパク質および遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドのそれぞれが、以下に記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［５－１］または［５－２－１］に記載の治療および／または予防剤：

（１）ＫＩＦ５Ｂのタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（２）ＣＣＤＣ６のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（３）ＮＣＯＡ４のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（４）ＴＲＩＭ３３のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドである。

［５－２－３］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［４－２－２］、［５］または［５－２］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列おいて、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列を含むポリペ

プチド、あるいは、配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列において、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド

［５－２－４］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［４－２－２］、［５］または［５－２］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、かつチロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列を含み、かつＲＥＴチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプ

チド

［５－３］前記融合遺伝子が、以下（ａ）～（ｄ）のいずれかである、［５－２］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列のポリヌクレオチドを含む融合遺伝子

（ｂ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列と相補的な塩基配列からなるＤＮＡとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドからなる融合遺伝子

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子、または

（ｄ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペプチドにおいて、１または複数（例えば、数十個、１－１０個、１－５個、１－３個）のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたポリペプチドで、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子。

[0009] ［６］　前記腫瘍がＲＥＴ遺伝子および／またはタンパク質に点変異を有する腫瘍である、［１］～［４－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［６－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、２６００Ｇ、２８６１Ｔ、または２９４３Ｔの塩基における変異である、［６］に記載の治療および／または予防剤。

［６－１－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、または２８６１Ｔの塩基における変異である、［６］または［６－１］に記載の治療および／または予防剤。

［６－２］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌク

レオチドの２０９１Ｇ、２４９４Ｇ、２６００Ｇ、または２９４３Ｔの塩基における変異である、［６］または［６－１］に記載の治療および／または予防剤。

［６－３］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２８６１Ｔ＞Ｇまたは２９４３Ｔ＞Ｃである、［６］または［６－１］に記載の治療および／または予防剤。

［６－３－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、または２８６１Ｔ＞Ｇである、［６］、［６－１］または［６－３］に記載の治療および／または予防剤。

［６－４］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２６００Ｇ＞Ａまたは２９４３Ｔ＞Ｃである、［６］、［６－１］、［６－２］または［６－３］に記載の治療および／または予防剤。

［６－５］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［６］に記載の治療および／または予防剤。

［６－５－１］　前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｓ８９１、またはＡ８８３のアミノ酸における変異である、［６］または［６－５］に記載の治療および／または予防剤。

［６－６］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４

、Ｅ７６８、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［６］または［６－５］に記載の治療および／または予防剤。

［６－７］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｓ８９１ＡまたはＭ９１８Ｔである、［６］または［６－５］に記載の治療および／または予防剤。

［６－７－１］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、またはＳ８９１Ａである、［６］、［６－５］、または［６－７］に記載の治療および／または予防剤。

［６－８］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４Ｍ、またはＭ９１８Ｔである、［６］または［６－６］に記載の治療および／または予防剤。

[0010] ［７］　式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、ＲＥＴに変異を有する患者に使用する、腫瘍、または前記腫瘍の転移の治療および／または予防剤。

［８］　前記腫瘍が甲状腺癌または肺癌である、［７］に記載の治療および／または予防剤。

［８－１］前記患者が、腫瘍組織におけるＲＥＴチロシンキナーゼの活性化が確認された患者である、［７］または［８］に記載の治療および／または予防剤。

［８－２］前記患者が、ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異を有する患者である、［７］または［８］に記載の治療および／または予防剤。

［８－２－１］前記患者が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナ

ーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質、を有する患者である［７］～［８－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［８－２－２］前記患者が、ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質を有する患者である、［７］～［８－２－１］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［８－２－３］前記患者が、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ、またはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴを有する患者である、［７］～［８－２］、［８－２－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［８－３］前記患者が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質、を有する患者である、［７］～［８－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［９］　前記患者がＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質を有する患者である、［７］または［８］に記載の治療および／または予防剤。

［９－１］前記他の遺伝子およびタンパク質がＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４またはＴＲＩＭ３３である、［８－３］または［９］に記載の治療および／または予防剤。

［９－２］前記融合遺伝子および融合タンパク質が、ＲＥＴ遺伝子またはタンパク質のチロシンキナーゼドメイン、および他の遺伝子またはタンパク質のコイルドコイルドメインを含む、［９］または［９－１］に記載の治療および／または予防剤。

［９－２－１］ＲＥＴタンパク質およびＲＥＴ遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドを

コードするポリヌクレオチドである、［９］～［９－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３または４で表されるポリペプチドにおいて１または複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

［９－２－２］ＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４およびＴＲＩＭ３３のタンパク質および遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドのそれぞれが、以下に記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［９－１］に記載の治療および／または予防剤：

（１）ＫＩＦ５Ｂのタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または

（ｃ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（２）ＣＣＤＣ６のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（３）ＮＣＯＡ４のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列からな

るポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（４）ＴＲＩＭ３３のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドである。

［９－２－３］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［８－２－２］または［９］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列おいて、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列において、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド。

［９－２－４］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［８－２－２］または［９］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、かつチロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列を含み、かつＲＥＴチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列との同一性が

９０％以上であるアミノ酸を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド。

［９－３］前記融合遺伝子が、以下（ａ）～（ｄ）のいずれかである、［９］または［９－２］に記載の治療および／または予防剤：

（ａ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列のポリヌクレオチドを含む融合遺伝子

（ｂ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列と相補的な塩基配列からなるＤＮＡとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドからなる融合遺伝子

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子、または

（ｄ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペプチドにおいて、１または複数（例えば、数十個、１－１０個、１－５個、１－３個）のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたポリペプチドで、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子。

[0011] ［１０］　前記患者がＲＥＴ遺伝子および／またはタンパク質に点変異を有する患者である、［７］または［８］に記載の治療および／または予防剤。

［１０－１］前記ＲＥＴにおける点変異が、ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける点変異またはチロシンキナーゼドメインにおける点変異である、［１０］に記載の治療および／または治療剤。

［１０－２］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、２６００Ｇ、２８６１Ｔまたは２９４３Ｔである、［１０］または［１０－１］に記載の治療および／または予防剤。

［１０－２－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、また

は２８６１Ｔの塩基における変異である、［１０］～［１０－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［１０－３］前記ＲＥＴにおける点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２４９４Ｇ、２６００Ｇ、または２９４３Ｔの塩基における変異である、［１０］～［１０－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［１０－４］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２８６１Ｔ＞Ｇまたは２９４３Ｔ＞Ｃである、［１０］～［１０－２］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［１０－４－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、または２８６１Ｔ＞Ｇである、［１０］～［１０－２］または［１０－４］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［１０－５］前記ＲＥＴにおける点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２６００Ｇ＞Ａ、または２９４３Ｔ＞Ｃである、［１０］～［１０－２］、［１０－４］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［１０－６］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［１０］または［１０－１］に記載の治療および／または予防剤。

［１０－６－１］　前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｓ８９１、またはＡ８８３のアミノ酸における変異である、［１０］、［１０－１］または［１０－６］に

記載の治療および／または予防剤。

［１０－７］前記ＲＥＴにおける点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｅ７６８、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［１０］、［１０－１］または［１０－６］に記載の治療および／または予防剤。

［１０－８］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｓ８９１ＡまたはＭ９１８Ｔである、［１０］、［１０－１］または［１０－６］に記載の治療および／または予防剤。

［１０－８－１］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、またはＳ８９１Ａである、［１０］、［１０－１］、［１０－６］または［１０－８］に記載の治療および／または予防剤。

［１０－９］前記ＲＥＴにおける点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｙ、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４Ｍ、またはＭ９１８Ｔである、［１０］、［１０－１］または［１０－６］～［１０－８］のいずれかに記載の治療および／または治療剤。

［１０－１０］前記患者が、サンガーシーケンス法またはＦＩＳＨ法によりＲＥＴにおける変異の存在を検出した患者である、［１０］～［１０－９］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

[0012] ［１１］　Ｒ[1]がエチルである、［１］～［１０－１０］のいずれかに記載の治療および／または予防剤。

［１１－１］前記化合物が塩酸塩である、［１］～［１１］に記載の治療および／または予防剤。

［１１－２］ＲＥＴを選択的に阻害する、［１］～［１１－１］に記載の治療および／または予防剤。

［１２］　式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、ＲＥＴ阻害剤。

［１２－１］ＲＥＴを阻害するための、式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物の使用。

［１２－２］式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物の有効治療量を患者に投与することを含む、ＲＥＴに変異を有する腫瘍、および前記腫瘍の転移を予防および／または治療する方法。

［１２－３］ＲＥＴに変異を有する腫瘍、および前記腫瘍の転移を予防および／または治療するための、式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物の使用。

［１２－３－１］前記ＲＥＴにおける変異が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質、の形成である［１２－３］に記載の使用。

［１２－３－２］前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質の形成である、［１２－３］または［１２－３－１］に記載の使用。

［１２－３－３］前記ＲＥＴの変異が、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ、またはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴの形成である、［１２］～［１２－２－２］のいずれか１項に記載の使用。

［１２－３－４］式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物が選択的にＲＥＴを阻害する、［１２－３］～［１２－３－３］のいずれかに記載の使用。

［１２－３－５］R^1がエチルである、［１２－３］～［１２－３－４］のいずれかに記載の使用。

［１２－３－６］前記化合物が、塩酸塩である、［１２－３］～［１２－３－５］のいずれかに記載の使用。

［１２－３－７］前記腫瘍が甲状腺癌または肺癌である、［１２－３］～［１２－３－６］のいずれかに記載の使用。

[0013] ［１３］　式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物の投与対象を同定するための方法であって、前記対象由来の組織においてＲＥＴの変異を検出する工程を含む方法。

［１３－１］前記組織がＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を確認した組織である［１３］に記載の方法。

［１３－２］前記組織がＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異を有する［１３］に記載の方法。

［１３－２－１］前記ＲＥＴにおける変異が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質の形成である［１３］～［１３－２］のいずれか１項に記載の方法。

［１３－２－２］前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質の形成である、［１３］～［１３－２－１］のいずれかに記載の方法。

［１３－２－３］前記ＲＥＴの変異が、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ、またはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴの形成である、［１３］～［１３－２－２］のいずれかに記載の方法。

［１３－３］前記組織が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質を有する、［１３］～［１３－２］のいずれかに記載の方法。

［１３－４］ＲＥＴの変異がＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパクの形成である、［１３］～［１３－３］のいずれかに記載の方法。

［１３－５］他の遺伝子およびタンパク質がＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４またはＴＲＩＭ３３である、［１３－４］に記載の方法。

［１３－６］前記融合遺伝子および融合タンパク質が、ＲＥＴ遺伝子またはタンパク質のチロシンキナーゼドメイン、および他の遺伝子またはタンパク質のコイルドコイルドメインを含む、［１３－５］に記載の方法。

［１３－６－１］ＲＥＴタンパク質およびＲＥＴ遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１３－４］～［１３－６］のいずれかに記載の方法。

（ａ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３または４で表されるポリペプチドにおいて１または複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

［１３－６－２］ＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４およびＴＲＩＭ３３のタンパク質および遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドのそれぞれが、以下に記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１３－５］に記載の方法：

（１）ＫＩＦ５Ｂのタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（２）ＣＣＤＣ６のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（３）ＮＣＯＡ４のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（４）ＴＲＩＭ３３のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドである。

［１３－６－３］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１３－２－１］、［１３－２－２］、［１３－３］または［１３－４］に記載の方法：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列おいて、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列において、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド。

［１３－６－４］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１３－２－１］、［１３－２－２］、［１３－３］、［１３－４］または［１３－６－３］に記載の方法：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、かつチロシンキナーゼ活性を有す

るポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列を含み、かつＲＥＴチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド。

［１３－７］前記融合遺伝子が、以下（ａ）～（ｄ）のいずれかである、［１３－６］に記載の方法：

（ａ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列のポリヌクレオチドを含む融合遺伝子

（ｂ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列と相補的な塩基配列からなるＤＮＡとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドからなる融合遺伝子

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子または

（ｄ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペオプチドにおいて、１または複数（例えば、数十個、１－１０個、１－５個、１－３個）のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたポリペプチドで、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子。

［１３－８］前記組織がＲＥＴに点変異を有する、［１３］～［１３－２］に記載の方法。

［１３－９］前記組織がＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインまたはチロシンキナーゼドメインに点変異を有する、［１３－８］に記載の方法。

[0014] ［１３－１０］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、２６００Ｇ、２８６１Ｔ、または２９４３Ｔの塩基における変異である、［１３－８］または［１３－９］に記載の方法。

［１３－１０－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、または２８６１Ｔの塩基における変異である、［１３－８］～［１３－１０］のいずれかに記載の方法。

［１３－１１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２４９４Ｇ、２６００Ｇまたは２９４３Ｔにおける塩基の変異である、［１３－８］～［１３－１０］のいずれかに記載の方法。

［１３－１２］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２８６１Ｔ＞Ｇまたは２９４３Ｔ＞Ｃである、［１３－８］～［１３－１０］のいずれかに記載の方法。

［１３－１２－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、または２８６１Ｔ＞Ｇである、［１３～８］～［１３－１０］、［１３－１２］のいずれかに記載の方法。

［１３－１３］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける、２０９１Ｇ＞Ｔ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２６００Ｇ＞Ａまたは２９４３Ｔ＞Ｃである、［１３－８］～［１３－１２］のいずれかに記載の方法。

［１３－１４］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［１３－８］または［１３－９］に記載の方法。

［１３－１４－１］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｓ８９１、またはＡ８８３のアミノ酸における変異である、［１３－８］、［１３－９］または［１３－１４］に記載の方法。

［１３－１５］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｅ７６８、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［１３－８］、［１３－９］または［１３－１４］に記載の方法。

［１３－１６］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｓ８９１ＡまたはＭ９１８Ｔである、［１３－８］、［１３－９］または［１３－１４］に記載の方法。

［１３－１６－１］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、またはＳ８９１Ａである、［１３－８］、［１３－９］または［１３－１４］に記載の方法。

［１３－１７］ＲＥＴにおける点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｙ、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４ＭまたはＭ９１８Ｔである、［１３－８］～［１３－１６］のいずれかに記載の方法。

［１３－１８］ＲＥＴに変異を有する腫瘍、または前記腫瘍の転移の治療お

よび／または予防のための、式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物の投与対象を同定する、［１３］～［１３－１７］のいずれかに記載の方法。

［１３－１９］前記腫瘍が甲状腺癌または肺癌である［１３］～［１３－１８］のいずれかに記載の方法。

［１３－２０］式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物が選択的にＲＥＴを阻害する、［１３］～［１３－１９］のいずれかに記載の方法。

［１３－２１］R^1がエチルである、［１３］～［１３－２０］のいずれかに記載の方法。［１３－２２］式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物が、式（Ｉ）の化合物の塩酸塩である、［１３］～［１３－２１］のいずれかに記載の方法。

[0015] ［１４］　ＲＥＴにおける変異を有する患者を特定し、当該患者に式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物の有効治療量を患者に投与することを含む、ＲＥＴに変異を有する腫瘍、および前記腫瘍の転移を予防および／または治療する方法。

［１５］　式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物に対して感受性のある患者を同定あるいは予備的に同定する方法であって、

前記患者から得られた試料中のＲＥＴにおける変異の存在を検出する工程、および

前記腫瘍中のＲＥＴにおける変異の存在に基づき、前記患者が前記化合物、その塩またはそれらの溶媒和物に対して感受性を有する患者であると決定あるいは予備的に決定する工程を含む、前記方法。

［１５－１］さらに、ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を検出する工程を含む、［１５］に記載の方法。

［１５－２］前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異である、［１５］に記載の方法。

［１５－２－１］前記ＲＥＴにおける変異が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナー

ゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質の形成、である［１５］～［１５－２］のいずれかに記載の方法。

［１５－２－２］前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質の形成である、［１５］～［１５－２－１］のいずれかに記載の方法。

［１５－２－３］前記ＲＥＴにおける変異が、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴまたはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴの形成である、［１５］～［１５－２－２］に記載の方法。

［１５－３］前記ＲＥＴにおける変異が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質の形成である、［１５］～［１５－２］のいずれかに記載の方法。

［１５－４］前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質の形成である、［１５］～［１５－３］のいずれかに記載の方法。

［１５－５］他の遺伝子およびタンパク質がＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４またはＴＲＩＭ３３である、［１５－４］に記載の方法。

［１５－６］前記ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子およびＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質が、ＲＥＴ遺伝子またはタンパク質のチロシンキナーゼドメイン、および他の遺伝子またはタンパク質のコイルドコイルドメインを含む、［１５－４］または［１５－５］に記載の方法。

［１５－６－１］ＲＥＴタンパク質およびＲＥＴ遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチド

をコードするポリヌクレオチドである、［１５－４］～［１５－６］のいずれか１項に記載の方法：

（ａ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３または４で表されるポリペプチドにおいて１または複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３または４で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

［１５－６－２］ＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４およびＴＲＩＭ３３のタンパク質および遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドのそれぞれが、以下に記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１５－５］に記載の方法：

（１）ＫＩＦ５Ｂのタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３０で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（２）ＣＣＤＣ６のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３１で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（３）ＮＣＯＡ４のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列からな

るポリペプチド、

（ｂ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドであり、

（４）ＴＲＩＭ３３のタンパク質を構成するポリペプチドは、

（ａ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ｂ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列において１又は複数のアミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド、または、

（ｃ）配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドである。

［１５－６－３］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１５－２－１］、［１５－２－２］、［１５－３］または［１５－４］に記載の方法：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列おいて、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列からなるポリ

ペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列において、１または複数のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上であるアミノ酸を含むポリペプチド。

［１５－６－４］前記融合タンパク質および融合遺伝子を構成するポリペプチドおよびポリヌクレオチドが、以下（ａ）～（ｆ）のいずれかに記載のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである、［１５－２－１］、［１５－２－２］、［１５－３］または［１５－４］に記載の方法：

（ａ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｂ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、かつチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、かつチロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

（ｄ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

（ｅ）配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列を含み、かつＲＥＴチロシンキナーゼが活性化したポリペプチド、あるいは配列番号：２７または２８で表されるアミノ酸配列において、１～１０個のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含み、チロシンキナーゼ活性を有す

るポリペプチド

（ｆ）配列番号：２７または２８から選択されるアミノ酸配列との同一性が９０％以上であるアミノ酸を含み、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド。

［１５－６－５］前記融合遺伝子が、以下（ａ）～（ｄ）のいずれかである、［１５－３］または［１５－４］に記載の方法：

（ａ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列のポリヌクレオチドを含む融合遺伝子

（ｂ）配列番号：５～１４からなる群より選択される塩基配列と相補的な塩基配列からなるＤＮＡとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドからなる融合遺伝子

（ｃ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子、または

（ｄ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列のポリペオプチドにおいて、１または複数（例えば、数十個、１－１０個、１－５個、１－３個）のアミノ酸が、置換、欠失または挿入されたポリペプチドで、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む融合遺伝子。

［１５－７］前記ＲＥＴにおける変異が点変異である、［１５］～［１５－２］のいずれかに記載の方法。

［１５－８］前記点変異がＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインまたはチロシンキナーゼドメインにおける点変異である、［１５－７］に記載の方法。

［１５－９］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、２６００Ｇ、２８６１Ｔ、または２９４３Ｔの塩基における変異である、［１５－７］または［１５－８］に記載の方法。

［１５－９－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、または２８６１Ｔの塩基における変異である、［１５－７］～［１５－９］に記載の方法。

［１５－１０］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２４９４Ｇ、２６００Ｇまたは２９４３Ｔの塩基における変異である、［１５－７］～［１５－９］のいずれかに記載の方法。

［１５－１１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２８６１Ｔ＞Ｇまたは２９４３Ｔ＞Ｃである、［１５－７］～［１５－９］のいずれかに記載の方法。

［１５－１１－１］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドにおける２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、または２８６１Ｔ＞Ｇである、［１５－７］～［１５－９－１］または［１５－１１］に記載の方法。

［１５－１２］前記点変異が、配列番号：１により表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ＞Ｔ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２６００Ｇ＞Ａまたは２４９３Ｔ＞Ｃである、［１５－７］～［１５－１１］のいずれかに記載の方法。

［１５－１３］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［１５－７］または［１５－８］に記載の方法。

［１５－１３－１］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、

Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７９１、Ｓ８９１、またはＡ８８３のアミノ酸における変異である、［１５－７］、［１５－８］または［１５－１３］に記載の方法。

［１５－１４］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｅ７６８、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３またはＭ９１８のアミノ酸における変異である、［１５－７］、［１５－８］または［１５－１３］に記載の方法。

［１５－１５］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｓ８９１ＡまたはＭ９１８Ｔである、［１５－７］、［１５－８］または［１５－１３］に記載の方法。

［１５－１５－１］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドにおけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、またはＳ８９１Ａである、［１５－７］、［１５－８］、［１５－１３］または［１５－１５］に記載の方法。

［１５－１６］前記点変異が、配列番号：３により表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４ＭまたはＭ９１８Ｔである、［１５－７］～［１５－１５］のいずれかに記載の方法。

［１５－１７］前記患者が甲状腺癌または肺癌の患者である、［１５］～［１５－１６］のいずれかに記載の方法。

［１５－１８］前記患者が甲状腺髄様癌または非小細胞肺癌の患者である、［１５］～［１５－１７］のいずれかに記載の方法。

［１５－１９］式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物が選択的にＲＥＴを阻害する、［１５］～［１５－１８］のいずれかに記載の方法。

［１５－２０］R^1がエチルである、［１５］～［１５－１８］のいずれかに記載の方法。

［１５－２１］前記化合物が塩酸塩である、［１５］～［１５－１９］のい

ずれかに記載の方法。

［１６］式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物に対する患者の感受性を予測する方法であって、以下の工程；

（１）患者から得られた試料におけるＲＥＴの変異の有無を確認する工程、

（２）ＲＥＴの変異が存在する場合、式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物に対する該患者の感受性を有すると決定あるいは予備的に決定する工程、

を含む前記方法。

発明の効果

[0016] 本発明の治療剤および／または予防剤は、優れたＲＥＴ阻害作用、特にＲＥＴチロシンキナーゼ阻害作用を有し、増殖性疾患の予防剤または治療剤（特に治療剤）として有用である。また、本発明の有効成分は、白血病（急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病など）、悪性リンパ腫（ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫など）、脳腫瘍、神経芽細胞腫、神経膠腫、甲状腺癌、骨髄異形成症候群、頭頸部癌、食道癌、胃癌、大腸癌、結腸直腸癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、膵臓癌、肝臓癌、胆嚢癌、皮膚癌、悪性黒色腫、腎癌、腎盂尿管癌、膀胱癌、子宮癌、精巣癌、前立腺癌のような種々の癌などの疾患の予防剤または治療剤（特に治療剤）として有用である。さらに本発明の有効成分は、固形癌の浸潤・転移の予防剤または治療剤（特に治療剤）として有用である。

また、本発明によれば、ＲＥＴに変異を有する癌または患者を同定することができ、そのような患者に対し、式（Ｉ）で示される化合物等により効果的に治療等を行うことができる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]図１はCCDC6-RET融合遺伝子を有するゼノグラフトマウスモデルを用いた化合物１の抗腫瘍活性を示す（実施例６）。

本発明を実施するための形態

[0018] 以下、本発明の治療または予防剤、その製法等について説明する。

定義

本発明において、「C_{1-6}アルキル基」とは、炭素数１～６の直鎖状および分枝鎖状の脂肪族炭化水素から任意の水素原子を１個除いて誘導される１価の基である。具体的にはメチル基、エチル基、イソプロピル基、ブチル基、ｎ－ブチル基、イソブチル基、ｓｅｃ－ブチル基、ｔ－ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、２，３－ジメチルプロピル基、ヘキシル基、２，３－ジメチルヘキシル基、１，１－ジメチルペンチル基、ヘプチル基、オクチル基などが挙げられる。好ましくはC_{1-6}アルキル基であり、より好ましくはC_{1-5}アルキル基であり、より好ましくはC_{1-4}アルキル基であり、さらに好ましくはC_{1-3}アルキル基である。

[0019] 本発明において、「ＲＥＴに変異を有する」、「ＲＥＴにおける変異」、「ＲＥＴの変異」とは、ＲＥＴ遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質に変異が生じていることを意味する。本発明において、用語「ＲＥＴに変異を有する」、「ＲＥＴにおける変異」には、ＲＥＴ遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質に点変異、欠失変異、挿入変異が生じていること、ＲＥＴ遺伝子が転座・逆位により他の遺伝子と融合していること、およびＲＥＴタンパク質が他のタンパク質と融合し、融合タンパク質が形成されていることが含まれる。さらに、用語「ＲＥＴに変異を有する」、「ＲＥＴにおける変異」、「ＲＥＴの変異」には、ＲＥＴ遺伝子の切断および再結合、ＲＥＴ遺伝子の修復機能の破壊等により正常の状態よりゲノム上のＤＮＡ領域が増え、ＲＥＴ遺伝子の増幅および／またはＲＥＴタンパク質の増幅が引き起こされることが含まれる。

本発明において、「ＲＥＴ遺伝子」は、ＲＥＴ（Rearranged during transfenction）チロシンキナーゼをコードする遺伝子を意味する。本発明のＲＥＴ遺伝子は、如何なる由来のＲＥＴ遺伝子を意味する。具体的には、配列番号：１または２により表される塩基配列からなるポリヌクレオチドから構成される遺伝子、配列番号：３または４により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがあげられるが、これらに限定

されない

[0020] 本発明において、「ＲＥＴタンパク質」は、ＲＥＴチロシンキナーゼを構成するアミノ酸からなるタンパク質を意味する。本発明のＲＥＴタンパク質は、如何なる由来のＲＥＴタンパク質を意味する。具体的には、配列番号：３または４により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドから構成されるタンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。ＲＥＴチロシンキナーゼには、カルボキシル末端のスプライシングの違いによりＲＥＴ９、ＲＥＴ４３、ＲＥＴ５１の３種類のタンパク質が存在することが知られている（ＴＲＥＮＤＳ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ， ２００６年，２２巻，ｐ．６２７－６３６）が、これら３種類のタンパク質を構成するアミノ酸からなるポリペプチドも、「ＲＥＴタンパク質」に含まれる。

[0021] さらに、本発明において、ＲＥＴ遺伝子およびＲＥＴタンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが含まれる。

・配列番号：３または４で表されるポリペプチドにおいて１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個のアミノ酸）アミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド

・配列番号：３または４で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは９５％以上）であるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

本発明において、「ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド」は、特定のポリペプチドをコードし得るいかなるポリヌクレオチドをも包含し、ゲノミックＤＮＡまたはｃＤＮＡのいずれをも包含する。また、該ポリヌクレオチドは、同一のアミノ酸をコードするコドンであればどのようなコドンから構成される縮重ポリヌクレオチドをも含む。

[0022] 本発明において、アミノ酸配列の同一性は、比較対象の少なくとも２つの配列を適切に整列させ、それぞれの配列に存在する同一のアミノ酸残基を決定して、適合部位の数を決定し、ついで、比較対象の配列領域内の残基の総

数で、前記適合部位の数を割、得られた数値に１００をかけることにより算出することができる。例えば、配列番号：３により表されるアミノ酸配列と特定のアミノ酸配列の同一性を算出する場合、配列番号：３により表されるアミノ酸配列と該特定のアミノ酸配列との２つの配列について、前記の方法により適合部位の数を決定し、ついで、配列番号：３により表されるアミノ酸配列の残基の総数で、前記適合部位の数を割、得られた数値に１００をかけることにより算出することができる。

[0023] また、アミノ酸配列の同一性は、Karlin and Altschulによるアルゴリズム BLAST (Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1993)90:5873-7) によっても決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている (Altschul et al.,J.Mol.Biol.(1990)215:403-10) 。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメーターは例えばscore = 100、wordlength = 12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターは例えばscore = 50、wordlength = 3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である (NCBI (National Center for Biotechnology Information) の BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) のウェブサイトの情報を参照することができる) 。

[0024] 本発明において、「ハイブリダイズする」とは、ストリンジェントな条件下で標的ＤＮＡ、ポリヌクレオチドにハイブリダイズすることを意味する。ストリンジェントな条件は、常法に従って複合体を形成する核酸の融解温度（Ｔｍ）に基づいて決定することができる。具体的には、ハイブリダイゼーションのための条件として、「５×ＳＳＰＥ、５×Ｄｅｎｈａｒｄｔ’ｓ液、０．５％ＳＤＳ、５０％ホルムアミド、２００μｇ／ｍｌ鮭精子ＤＮＡ、４２℃オーバーナイト」、洗浄のための条件として、「０．５×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、４２℃」の条件である。よりストリンジェントな条件は、ハイブリダイゼーションのための条件として、「５×ＳＳＰＥ、５×Ｄｅｎｈ

ａｒｄｔ’ｓ液、０．５％ＳＤＳ、５０％ホルムアミド、２００μｇ／ｍｌ鮭精子ＤＮＡ、４２℃オーバーナイト」、洗浄のための条件として、「０．２×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、６５℃」の条件である。

[0025] 用語「ＲＥＴに変異を有する」、「ＲＥＴにおける変異」、「ＲＥＴの変異」には、ＲＥＴ遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質において、ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異が生じていること、ＲＥＴチロシンキナーゼを活性化させ、癌化（例えば甲状腺癌、肺癌）を誘発する変異が生じていること、が含まれる。ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化は、腫瘍組織におけるリン酸化ＲＥＴを抗リン酸化ＲＥＴ抗体による免疫染色などで検出することにより確認することができる。

本発明において、用語「ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化」、「ＲＥＴチロシンキナーゼが活性化していること」とは、ＲＥＴチロシンキナーゼに含まれるアミノ酸残基、例えばチロシン残基がリン酸化されていることを意味し、被験者（例えば被験者から採取した試料）におけるリン酸化ＲＥＴチロシンキナーゼタンパク質の量が（例えば健常者と比較して）増大することが含まれる。さらに、用語「ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化」、「ＲＥＴチロシンキナーゼが活性化していること」には、ＲＥＴチロシンキナーゼのリン酸化によりＲＥＴチロシンキナーゼが標的とするタンパク質（以下標的タンパク質）がリン酸化されることが含まれる。用語「ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化」、「ＲＥＴチロシンキナーゼが活性化していること」には、リン酸化ＲＥＴチロシンキナーゼタンパク質の他、リン酸化された前記標的タンパク質の量が増大することが含まれる。

本発明において、「チロシンキナーゼ活性を有する」とは、チロシンキナーゼに含まれるアミノ酸残基、例えばチロシン残基をリン酸化する酵素としての活性を有することを意味する。ＲＥＴタンパク質を構成するポリペプチドがチロシンキナーゼ活性を有することは、例えば、前述の方法により確認することができる。さらに、用語「チロシンキナーゼ活性を有する」には、標的とするタンパク質のアミノ酸残基をリン酸化する酵素としての活性を有す

ることが含まれる。

[0026] ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異として、（１）ＲＥＴのシステインリッチドメインにおける変異、（２）ＲＥＴのチロシンキナーゼドメインにおける変異、（３）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子やＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質の形成、が報告されている（ＴＲＥＮＤＳ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ， ２００６年，２２巻，ｐ．６２７－６３６）。ヒトのＲＥＴ遺伝子は１０番染色体（１０ｑ１１．２）に位置し、２１個のエキソンからなる。「ＲＥＴのシステインリッチドメイン」とは、ＲＥＴチロシンキナーゼにおけるシステインに富む領域であり、当該ドメインをコードするポリヌクレオチドはエキソン１０および１１に位置する。「ＲＥＴのチロシンキナーゼドメイン」とは、ＲＥＴチロシンキナーゼにおけるチロシンキナーゼ活性を有する領域であり、当該ドメインをコードするポリヌクレオチドはエキソン１２～１８に位置する（ＴＲＥＮＤＳ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ， ２００６年，２２巻，ｐ．６２７－６３６）。

[0027] 前記（１）～（３）の変異の具体例としては、以下のものがあげられる。本発明において、用語「ＲＥＴに変異を有する」、「ＲＥＴにおける変異」には、ＲＥＴ遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質においてこれら（１）～（３）に記載のいずれかの変異が生じていることが含まれる。

（１）システインリッチドメインの変異

配列番号：３により表されるアミノ酸配列のＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４等における変異（例えば、Ｃ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ）

（２）チロシンキナーゼドメインの変異

配列番号：３により表されるアミノ酸配列のＥ７６８、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、Ｍ９１８等における変異（例えば、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｍ９１８Ｔ）

（３）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子やＲＥＴタンパク質と他の

タンパク質との融合タンパク質の形成

・ＫＩＦ５Ｂのコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

・ＣＣＤＣ６のコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

・ＮＣＯＡ４のコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

・ＴＲＩＭ３３のコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

[0028] 本発明において「ＫＩＦ５Ｂの遺伝子」、「ＫＩＦ５Ｂ遺伝子」はＫＩＦ５Ｂ（Ｋｉｎｅｓｉｎ ｆａｍｉｌｙ ｐｒｏｔｅｉｎ ５Ｂ）をコードする遺伝子を、「ＫＩＦ５Ｂのタンパク質」、「ＫＩＦ５Ｂタンパク質」はＫＩＦ５Ｂを構成するアミノ酸からなるタンパク質を意味し、如何なる由来のＫＩＦ５Ｂの遺伝子、タンパク質を意味する。ＫＩＦ５Ｂの遺伝子、およびタンパク質を構成するポリヌクレオチド、ポリペプチドとしては、具体的には、配列番号：２９により表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、配列番号：３０により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、ＫＩＦ５Ｂ遺伝子およびＫＩＦ５Ｂタンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが含まれる。

・配列番号：３０で表されるアミノ酸配列において１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個の）アミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド

・配列番号：３０で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは９５％以上）であるアミノ酸配列からなるポリペプチド

[0029] ヒトのＫＩＦ５Ｂ遺伝子は染色体１０番染色体に位置し２６個のエキソンからなる。ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子の塩基配列としては、配列番号：５、配列番号：６、配列番号：７、配列番号：８、配列番号：９、配列番号：１０、配列番号：１１、配列番号：１２、配列番号：１３、配列番号：１４により表されるものがあげられるが、これらに限定されない。ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合タンパク質のアミノ酸配列としては、配列番号：１５、配列番号：１６、配列番号：１７、配列番号：１８、配列番号：１９、配列番号：２０、配列番号：２１、配列番号：２２、配列番号：２３、配列番号：２４により表されるものがあげられるが、これらに限定されない。これらのＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子および融合タンパク質は、ＫＩＦ５Ｂのコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのキナーゼドメインを含むことが報告されている（Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３７８－３８１、Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３８２－３８４）。本発明において、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子および融合タンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、上記の他、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが含まれる。

（ｉ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列おいて、１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個の）アミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｉｉ）配列番号：１５～２４からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは９５％以上）であるアミノ酸を含むポリペプチド

（ｉｉｉ）（ｉ）または（ｉｉ）に記載のポリペプチドであって、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

[0030] 本発明において、「ＣＣＤＣ６の遺伝子」、「ＣＣＤＣ６遺伝子」はＣＣＤＣ６（ｃｏｉｌｅｄ－ｃｏｉｌ ｄｏｍａｉｎ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ６）をコードする遺伝子を、「ＣＣＤＣ６のタンパク質」、「ＣＣＤＣ６タンパク質」はＣＣＤＣ６を構成するアミノ酸からなるタンパク質を意味し、如何なる由来のＣＣＤＣ６の遺伝子、タンパク質を意味する。ＣＣＤＣ６の遺伝子、およびタンパク質を構成するポリヌクレオチド、ポリペプチドとしては、具体的には、配列番号：３１により表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、配列番号：３２により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、ＣＣＤＣ６遺伝子およびＣＣＤＣ６タンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが含まれる。

・配列番号：３１で表されるアミノ酸配列において１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個の）アミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド

・配列番号：３１で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは９５％以上）であるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

ヒトのＣＣＤＣ６は１０番染色体に位置し、９個のエキソンからなる。

ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子の塩基配列としては、配列番号：２５および２６により表されるものが挙げられるが、これらに限定されない。ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合タンパク質のアミノ酸配列としては、配列番号：２７および２８により表されるものが挙げられるが、これらに限定されない。これらのＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子および融合タンパク質は、ＣＣＤＣ６のコイルドコイルドメインおよびＲＥＴのチロシンキナーゼドメインを含むことが報告されている（Ｎａｔ Ｍｅｄ．２０１２ Ｆｅｂ １２；１８（３）

：３７８－８１）。

上記の他、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子および融合タンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが挙げられる。

（ｉ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは、配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列おいて、１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個の）アミノ酸が、置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を含むポリペプチド

（ｉｉ）配列番号：２７または２８により表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは９５％以上）であるアミノ酸を含むポリペプチド

（ｉｉｉ）（ｉ）または（ｉｉ）に記載のポリペプチドであって、チロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

[0031] 本発明において、「ＮＣＯＡ４の遺伝子」、「ＮＣＯＡ４遺伝子」はＮＣＯＡ４（ｎｕｃｌｅａｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｃｏａｃｔｉｖａｔｏｒ ４）をコードする遺伝子を、「ＮＣＯＡ４のタンパク質」、「ＮＣＯＡ４タンパク質」はＮＣＯＡ４を構成するアミノ酸からなるタンパク質を意味し、如何なる由来のＮＣＯＡ４の遺伝子、タンパク質を意味する。ＮＣＯＡ４の遺伝子、およびタンパク質を構成するポリヌクレオチド、ポリペプチドとしては、具体的には、配列番号：３３～３７からなる群より選択される塩基配列からなるポリヌクレオチド、配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、ＮＣＯＡ４の遺伝子およびタンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが含まれる。

・配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列において１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個

の）アミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド

・配列番号：３８～４２からなる群より選択されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは９５％以上）であるアミノ酸配列からなるポリペプチド

ヒトのＮＣＯＡ４は１０番染色体に位置する。ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合遺伝子として、ＮＣＯＡ４のエキソン６がＲＥＴのエキソン１２と融合した遺伝子が報告されている。この融合遺伝子および融合タンパク質は、ＮＣＯＡ４のコイルドコイルドメインとＲＥＴのチロシンキナーゼドメインを含むことが報告されている（Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ，３０（３５），Ｄｅｃ　１０，２０１２，ｐ．４３５２－９）。

[0032] 本発明において、「ＴＲＩＭ３３の遺伝子」、「ＴＲＩＭ３３遺伝子」はＴＲＩＭ３３（ｔｒｉｐａｒｔｉｔｅ　ｍｏｔｉｆ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ　３３）をコードする遺伝子を、「ＴＲＩＭ３３のタンパク質」、「ＴＲＩＭ３３タンパク質」はＴＲＩＭ３３を構成するアミノ酸からなるタンパク質を意味し、如何なる由来のＴＲＩＭ３３の遺伝子、タンパク質を意味する。ＴＲＩＭ３３の遺伝子、およびタンパク質を構成するポリヌクレオチド、ポリペプチドとしては、具体的には、配列番号：４３または４４により表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、配列番号：４５または４６により表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、ＴＲＩＭ３３の遺伝子およびタンパク質を構成するポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、以下のポリペプチドおよび該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが含まれる。

・配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列において１または複数の（好ましくは１～１０個のアミノ酸、特に好ましくは１～５個の）アミノ酸が置換、欠失若しくは挿入されたアミノ酸配列からなるポリペプチド

・配列番号：４５または４６で表されるアミノ酸配列との同一性が８０％以上（好ましくは８５％以上、さらに好ましくは９０％以上、より好ましくは

９５％以上）であるアミノ酸配列からなるポリペプチド

[0033] ヒトのＴＲＩＭ３３は１番染色体に位置する。ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合遺伝子として、ＴＲＩＭ３３のエキソン１４がＲＥＴのエキソン１２と融合した遺伝子が報告されている。この融合遺伝子および融合タンパク質は、ＴＲＩＭ３３のコイルドコイルドメインとＲＥＴのチロシンキナーゼドメインを含むことが報告されている（Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ，３（６），Ｊｕｎ ２０１３，ｐ．６３０－５）。

コイルドコイルドメインは、タンパク質の二量体形成に関わるドメインである。そのため、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ、ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴは、それらのコイルドコイルドメインにより二量体形成すると考えられている。これらのタンパク質は、それらのコイルドコイルドメイン間の二量体形成により、ＲＥＴチロシンキナーゼの異常な活性化を引き起こし、癌化を誘発すると考えられている（Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３７８－３８１、Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３８２－３８４、Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ，３０（３５），Ｄｅｃ １０，２０１２，ｐ．４３５２－９、Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ ２０１３ Ｊｕｎ，３（６），Ｊｕｎ ２０１３，ｐ．６３０－５）。

[0034] 甲状腺癌（例えば甲状腺髄様癌）におけるＲＥＴタンパク質の変異の例としては、配列番号：３により表されるアミノ酸配列（ＲＥＴのアミノ酸配列）におけるＣ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｍ９１８Ｔの変異があげられる。ここで、「Ｃ６３４Ｗ」、「Ｃ６３４Ｙ」、「Ｅ７６８Ｄ」、「Ｖ８０４Ｍ」、「Ｖ８０４Ｌ」、「Ｍ９１８Ｔ」は、特定の位置を表す数字の前後に変異前と変異後のアミノ酸の一文字記号を並べた、アミノ酸の変異を表す表現である。例えば、「Ｃ６３４Ｗ」は、特定のアミノ酸配列のＮ末端から６３４番目のアミノ酸がＣｙｓからＴｒｐへ置換されていることを意味する。すなわち、数字は特定のアミノ酸配列のＮ末端から数えたアミノ酸の位置を表し、その前に記載されるアミノ酸の一文

字記号は置換前のアミノ酸、そのあとに記載されるアミノ酸の一文字記号は置換後のアミノ酸を表す。

[0035] 前記変異に対応するＲＥＴ遺伝子の変異としては、配列番号：１により表される塩基配列（ＲＥＴの塩基配列）における２０９１Ｇ＞Ｔ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２９４３Ｔ＞Ｃの変異があげられる。ここで、「２０９１Ｇ＞Ｔ」、「２４９４Ｇ＞Ｃ」、「２６００Ｇ＞Ａ」、「２６００Ｇ＞Ｃ」、「２９４３Ｔ＞Ｃ」は、特定の位置を表す数字の後に変異前と変異後の塩基を並べた、ヌクレオチドの変異を表す表現である。例えば、「２０９１Ｇ＞Ｔ」は、特定の塩基配列の５’末端から２０９１番目の塩基がＧからＴへ置換されていることを意味する。すなわち、数字は特定の塩基配列の５’末端から数えた塩基の位置を示し、当該数字の後ろかつ記号「＞」の前に記載された塩基は置換前の塩基、記号「＞」のあとに記載される塩基は置換後の塩基を表す。

肺癌（例えば非小細胞肺癌）における、ＲＥＴにおける変異の例としては、ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはタンパク質、ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはタンパク質、ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはタンパク質、ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはタンパク質の形成、等があげられる。具体的には以下のものがあげられるが、これらに限定されない。

・ＫＩＦ５Ｂのコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

・ＣＣＤＣ６のコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

・ＮＣＯＡ４のコイルドコイルドメインおよびｒｅｔのチロシンキナーゼドメインを含むＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

・ＴＲＩＭ３３のコイルドコイルドメインおよびＲＥＴのチロシンキナーゼドメインを含むＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合遺伝子および／または融合タンパク質の形成

[0036] 本発明において、「ＲＥＴの融合遺伝子」、「ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子」とは、ＲＥＴ遺伝子の全部又は一部と他の遺伝子（例えば、ＫＩＦ５Ｂ遺伝子、ＣＣＤＣ６遺伝子、ＮＣＯＡ４遺伝子）の全部又は一部とが融合した遺伝子のことをいう。

本発明において、「ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子」とはＲＥＴ遺伝子の全部又は一部とＫＩＦ５Ｂ遺伝子の全部又は一部とが融合した遺伝子のことを、「ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子」とはＲＥＴ遺伝子の全部又は一部とＣＣＤＣ６遺伝子の全部又は一部とが融合した遺伝子のことを、「ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合遺伝子」とは、ＲＥＴ遺伝子の全部又は一部とＮＣＯＡ４遺伝子の全部又は一部とが融合した遺伝子のことを、「ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合遺伝子」とはＲＥＴ遺伝子の全部又は一部とＴＲＩＭ３３遺伝子の全部又は一部とが融合した遺伝子のことをいう。

本発明において、「ＲＥＴの融合タンパク質」、「ＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質」とは、ＲＥＴタンパク質の全部又は一部と他のタンパク質（例えば、ＫＩＦ５Ｂタンパク質、ＣＣＤＣ６タンパク質、ＮＣＯＡ４タンパク質、ＴＲＩＭ３３タンパク質）の全部又は一部とが融合したタンパク質のことをいう。

[0037] 本発明において、「ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合タンパク質」とはＲＥＴタンパク質の全部又は一部とＫＩＦ５Ｂタンパク質の全部又は一部とが融合したタンパク質のことを、「ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合タンパク質」とはＲＥＴタンパク質の全部又は一部とＣＣＤＣ６タンパク質の全部又は一部とが融合したタンパク質のことを、「ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合タンパク質」とはＲＥＴタンパク質の全部又は一部とＮＣＯＡ４タンパク質の全部又は一部とが融合したタンパク質のことを、「ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合タンパク質」とは、ＲＥＴタンパク質の全部又は一部とＴＲＩＭ３３タンパク質の全部又は一部

とが融合したタンパク質のことをいう。

本発明において、「ＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ」とはＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはＫＩＦ５Ｂ－ＲＥＴ融合タンパク質を、「ＣＣＤＣ６－ＲＥＴ」とはＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合遺伝子、および／またはＣＣＤＣ６－ＲＥＴ融合タンパク質を、「ＮＣＯＡ４－ＲＥＴ」とはＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはＮＣＯＡ４－ＲＥＴ融合タンパク質を、「ＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ」とはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合遺伝子および／またはＴＲＩＭ３３－ＲＥＴ融合タンパク質を、意味する。

「ＲＥＴに変異を有する腫瘍」とは、腫瘍細胞中のＲＥＴ遺伝子および／またはタンパク質に変異を有する腫瘍を意味する。

[0038] 「治療剤」とは、対象疾患に対し、対象疾患を直接的・間接的に改善あるいは悪化を防止する薬剤を意味する。具体的には、腫瘍組織の増殖抑制、縮小効果、転移の抑制、腫瘍マーカーの減少、患者の全身症状の改善、生存期間の延長等に用いられる薬剤を意味する。

「予防剤」とは、対象疾患に罹患する可能性のある患者に、対象疾患を発症しないように予め処置するために用いられる薬剤を意味する。

「当該腫瘍の転移」とは、当該原発腫瘍が他の組織に転移することを意味する。「当該腫瘍の転移」の治療剤とは、当該腫瘍の転移を阻害・抑制する薬剤、または転移により再発した腫瘍の増殖を抑制、縮小する薬剤を意味する。「当該腫瘍の転移」の予防剤とは、当該腫瘍が転移あるいは転移して再発しないように予め処置するために用いられる薬剤を意味する。

[0039] 「腫瘍から転移した腫瘍」とは、原発腫瘍として列挙された腫瘍が、他の組織に転移して発現する腫瘍を意味する。

「投与対象」とは、薬剤の作用機序に基づき、当該薬剤による治療効果が期待できる対象を意味する。具体的には、増殖性疾患を有する患者における、腫瘍組織の増殖抑制、縮小効果、転移の抑制、腫瘍マーカーの減少、患者の全身症状の改善等が期待できる患者を意味する。

「対象由来の組織」とは、患者などの対象から採取した血液、肺胞、生検

された試料、喀痰試料などに含まれる組織を意味する。

「ＲＥＴに変異を有する患者」とは、患者から採取された腫瘍または、非腫瘍組織のいずれかに、ＲＥＴ遺伝子および／またはタンパク質に変異を有することを意味する。

[0040] 「ＲＥＴ阻害剤」とは、ＲＥＴキナーゼの活性を阻害する薬剤を意味し、好ましくはＲＥＴキナーゼに結合し、当該活性を阻害する作用を有する薬剤である。

「ＲＥＴを選択的に阻害する」とは、ＡＬＫを除く他の多数のキナーゼ（例えば、ＡＢＬ、ＥＧＦＲ、ＦＧＦＲ２、ＨＥＲ２、ＩＧＦ１Ｒ、ＪＡＫ１、ＫＩＴ、ＭＥＴ、ＡＫＴ１、ＭＥＫ１）に対する阻害活性とＲＥＴチロシンキナーゼに対する阻害活性についてIC_{50}値で比較した際に、ＲＥＴチロシンキナーゼに対する阻害活性が高いことを意味する。

「予備的に決定」、「予備的に同定」とは、感受性のある患者を決定あるいは同定するために、ＲＥＴにおける変異の存在に関する情報を提供することを意味する。

[0041] 本発明において、式（Ｉ）で表される化合物の塩としては、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、リン酸塩、ホスホン酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩などのスルホン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、サリチル酸塩などのカルボン酸塩、または、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；マグネシウム塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、アルキルアンモニウム塩、ジアルキルアンモニウム塩、トリアルキルアンモニウム塩、テトラアルキルアンモニウム塩などのアンモニウム塩などが含まれる。好ましくは塩酸塩、メタンスルホン酸塩、が挙げられ、より好ましくは塩酸塩である。

これらの塩は、当該化合物と、医薬品の製造に使用可能である酸または塩基とを接触させることにより製造される。

本発明において式（I）で表される化合物またはその塩は、無水物であって

もよく、水和物などの溶媒和物を形成していてもよい。ここでいう「溶媒和」とは、溶液中で溶質分子あるいはイオンがそれに隣接している溶媒分子を強く引き付け、一つの分子集団をつくる現象をいい、例えば溶媒が水であれば水和という。溶媒和物は水和物、非水和物のいずれであってもよい。非水和物としては、アルコール（例えば、メタノール、エタノール、ｎ－プロパノール）、ジメチルホルムアミドなどを使用することができる。

[0042] また本発明に用いられる化合物およびその塩には、いくつかの互変異性形態、例えばエノール及びイミン形態、ケト及びエナミン形態、並びにそれらの混合物で存在することができる。互変異性体は、溶液中で、互変異性セットの混合物として存在する。固体の形態では、通常、一方の互変異性体が優勢である。一方の互変異性体を記載することがあるが、本発明には、本発明に用いられる化合物の全ての互変異性体が含まれる。

本発明には、式（Ｉ）で表される化合物の全ての立体異性体（例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー（シス及びトランス幾何異性体を含む。））、前記異性体のラセミ体、およびその他の混合物が含まれる。例えば、本発明に用いられる化合物は、式（Ｉ）は１以上の不斉点を有していてもよく、本発明には、そのような化合物のラセミ混合物、ジアステレオマー混合物、およびエナンチオマーが含まれる。

本発明に係る化合物がフリー体として得られる場合、当該化合物が形成していてもよい塩またはそれらの水和物もしくは溶媒和物の状態に、常法に従って変換することができる。

また、本発明に係る化合物が、当該化合物の塩、水和物、または溶媒和物として得られる場合、化合物のフリー体に常法に従って変換することができる。

[0043] また、本発明に用いられる物質には、式（Ｉ）の化合物のプロドラッグも含まれる。ここで、「プロドラッグ」とは、投与後に、生理条件下、酵素的または非酵素的分解によって、式（Ｉ）の化合物または製薬上許容されうるそれらの塩に変換される、式（Ｉ）の化合物の誘導体を意味する。プロドラ

ッグは、患者に投与されたときには不活性であってもよいが、生体内では活性のある式（Ｉ）の化合物に変換されて存在するものである。

例えば、プロドラッグは、特定のｐＨになった時、あるいは酵素の作用によって所望の薬物形態に転化する。

[0044] 代表的製造方法

本発明の治療または予防剤の有効成分である式（Ｉ）で表される化合物は、国際公開ＷＯ２０１０／１４３６６４号パンフレットに記載の方法に従って製造することができるが、式（Ｉ）で表せる化合物の製造方法はこれらに限定されるものではない。

[0045] 本発明の治療および／または予防剤

本発明でいう「治療および／または予防剤」とは、治療、予防、又は治療及び予防のために用いられる薬剤を指し、具体的には前記対象疾患の治療、予防、病態の進展抑制（悪化防止や現状維持）等のために用いられる薬剤をいう。

本発明の治療および／または予防剤は、本発明のために有用な選択された化合物に加えて、薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物として用いることができる。

本明細書において、「薬学的に許容される担体」という用語は、一種以上の適合性の固体または液体の賦形希釈剤またはカプセル化材料であって、哺乳類への投与に適したものを意味する。本明細書において、「許容される」という用語は、通常の使用条件下で組成物の医薬的な有効性を実質的に減少させるような反応をお互いに起こすことがないような方法で、組成物中の成分と対象化合物とが混合されうることを意味する。薬学的に許容される担体は、当然、処置されようとする、好ましくは動物、より好ましくは哺乳類への投与に適するように、十分に高い純度と十分に低い毒性を有していなければならない。

[0046] 薬学的に許容される担体として用いられうる材料の例としては、乳糖、ブドウ糖、ショ糖などの糖類；トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプンな

どのデンプン類；セルロース及びカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、メチルセルロースなどの誘導体；トラガカントガム粉末；麦芽；ゼラチン；タルク；ステアリン酸やステアリン酸マグネシウムなどの固形潤滑剤；硫酸カルシウム；ピーナッツ油、綿実油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、カカオ油などの植物油；プロピレングリコール、グリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコールなどの多価アルコール；アルギン酸；TWEENのような乳化剤；レシチンのような湿潤剤；着色剤；香料；錠剤化剤(tabletingagent)；安定化剤；坑酸化剤；防腐剤；パイロジェンフリー水；等張塩水溶液；及びリン酸緩衝液などがあげられる。

本発明の治療剤および／または予防剤の投与方法は、経口的、直腸的、非経口的（静脈内的、筋肉内的、皮下的）、槽内的、膣内的、腹腔内的、膀胱内的、局所的（点滴、散剤、軟膏、ゲルまたはクリーム）投与および吸入（口腔内または鼻スプレー）などが挙げられる。その投与形態としては、例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、丸剤などの固形製剤、水性および非水性の経口用溶液および懸濁液、および個々の投与量に小分けするのに適応した容器に充填した非経口用溶液などの液剤、用時溶解して用いることができる凍結乾燥性剤などが挙げられる。また投与形態は、皮下移植のような調節された放出処方物を包含する種々の投与方法に適応させることもできる。

[0047] 上記の製剤は、賦形剤、滑沢剤（コーティング剤）、結合剤、崩壊剤、安定剤、矯味矯臭剤、希釈剤などの添加剤を用いて周知の方法で製造される。

例えば、賦形剤としては、デンプン、バレイショデンプン、トウモロコシデンプン等のデンプン、乳糖、結晶セルロース、リン酸水素カルシウム等を挙げることができる。

コーティング剤としては、例えば、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、セラック、タルク、カルナウバロウ、パラフィン等を挙げることができる。

結合剤としては、例えばポリビニルピロリドン、マクロゴール及び前記賦形剤と同様の化合物を挙げることができる。

崩壊剤としては、例えば前記賦形剤と同様の化合物及びクロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、架橋ポリビニルピロリドンのような化学修飾されたデンプン・セルロース類を挙げることができる。

安定剤としては、例えばメチルパラベン、プロピルパラベンのようなパラオキシ安息香酸エステル類；クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコールのようなアルコール類；塩化ベンザルコニウム；フェノール、クレゾールのようなフェノール類；チメロサール；デヒドロ酢酸；及びソルビン酸を挙げることができる。

矯味矯臭剤としては、例えば通常使用される、甘味料、酸味料、香料等を挙げることができる。

また、液剤を製造するための溶媒としては、エタノール、フェノール、クロロクレゾール、精製水、蒸留水等を使用することができる。

界面活性剤又は乳化剤としては、例えば、ポリソルベート８０、ステアリン酸ポリオキシル４０、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウロマクロゴール等を挙げることができる。

[0048] 本発明の予防剤および／または治療剤の使用量は、症状、年齢、体重、相対的健康状態、他の投薬の存在、投与方法等により異なる。例えば、患者（温血動物、特に人間）に対して、一般に有効な量は、有効成分（式（Ｉ）で表される化合物）として、経口剤の場合、一日につき体重１ｋｇ当たり好ましくは０．００１～３０００ｍｇ、さらに好ましくは体重１ｋｇ当たり０．０１～３００ｍｇであり、一日当たりの使用量は、普通の体重の成人患者に対しては、好ましくは１～８００ｍｇの範囲にある。非経口剤の場合、一日につき体重１ｋｇ当たり好ましくは０．００１～１０００ｍｇ、さらに好ましくは体重１ｋｇ当たり０．０１～３００ｍｇである。これを１日１回又は数回に分けて、症状に応じて投与することが望ましい。

本発明の予防剤および／または治療剤は、国際公開公報ＷＯ２０１２／０２３５９７に記載の方法により製剤化することもできる。

[0049] また、本発明の治療剤および／または予防剤は、他の化学療法剤、ホルモン療法剤、免疫療法剤または分子標的薬などから選ばれる１種以上の薬剤（以下、併用薬剤と略記することがある）と組み合わせて用いてもよい。これらの活性成分は、低分子化合物であってもよく、また高分子の蛋白、ポリペプチド、抗体であるか、あるいはワクチン等であってもよい。また、活性成分は、２種以上を適宜の割合で混合して用いてもよい。

例えば、該「化学療法剤」としては、例えばアルキル化剤、白金製剤、代謝拮抗剤、トポイソメラーゼ阻害剤、抗癌性抗生物質、植物由来抗癌剤などが挙げられる。「アルキル化剤」としては、例えば、ナイトロジェンマスタード、塩酸ナイトロジェンマスタードーＮーオキシド、クロラムブチル、シクロフォスファミド、イホスファミド、チオテパ、カルボコン、トシル酸インプロスルファン、ブスルファン、塩酸ニムスチン、ミトブロニトール、メルファラン、ダカルバジン、ラニムスチン、リン酸エストラムスチンナトリウム、トリエチレンメラミン、カルムスチン、ロムスチン、ストレプトゾシン、ピポブロマン、エトグルシド、アルトレタミン、アンバムスチン、塩酸ジブロスピジウム、フォテムスチン、プレドニムスチン、プミテパ、リボムスチン、テモゾロミド、トレオスルファン、トロフォスファミド、ジノスタチンスチマラマー、アドゼレシン、システムスチン、ビゼレシンなどが挙げられる。「白金製剤」としては、例えば、カルボプラチン、シスプラチン、ミボプラチン、ネダプラチン、オキサリプラチンなどが挙げられる。「代謝拮抗剤」としては、例えば、メルカプトプリン、６ーメルカプトプリンリボシド、チオイノシン、メトトレキサート、エノシタビン、シタラビン、シタラビンオクフォスファート、塩酸アンシタビン、５－ＦＵ系薬剤（例、フルオロウラシル、テガフール、ＵＦＴ、ドキシフルリジン、カルモフール、ガロシタビン、エミテフールなど）、アミノプテリン、ロイコボリンカルシウム、タブロイド、ブトシン、フォリネイトカルシウム、レボフォリネイトカルシウム、クラドリビン、フルダラビン、ゲムシタビン、ヒドロキシカルバミド、ペントスタチン、ピリトレキシム、イドキシウリジン、ミトグアゾン、

チアゾフリン、アンバムスチンなどが挙げられる。トポイソメラーゼＩ阻害薬（例、イリノテカン、トポテカンなど）、トポイソメラーゼＩＩ阻害薬（例えば、ソブゾキサンなど）、「抗癌性抗生物質」としては、例えば、アントラサイクリン系抗癌薬（塩酸ドキソルビシン、塩酸ダウノルビシン、塩酸アクラルビシン、塩酸ピラルビシン、塩酸エピルビシンなど）、アクチノマイシンＤ、アクチノマイシンＣ、マイトマイシンＣ、クロモマイシンＡ３、塩酸ブレオマイシン、硫酸ブレオマイシン、硫酸ペプロマイシン、ネオカルチノスタチン、ミスラマイシン、ザルコマイシン、カルチノフィリン、ミトタン、塩酸ゾルビシン、塩酸ミトキサントロン、塩酸イダルビシンなどが挙げられる。「植物由来抗癌剤」としては、例えば、ビンカアルカロイド系抗癌薬（硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンデシンなど）、タキサン系抗癌薬（パクリタキセル、ドセタキセルなど）、エトポシド、リン酸エトポシド、テニポシド、ビノレルビンなどが挙げられる。

[0050] 該「ホルモン療法剤」としては、例えば、副腎皮質ホルモン系薬剤（例、デキサメタゾン、プレドニゾロン、ベタメタゾン、トリアムシノロンなど）が挙げられ、なかでもプレドニゾロンが好ましい。

該「免疫療法剤（ＢＲＭ）」としては、例えば、ピシバニール、クレスチン、シゾフィラン、レンチナン、ウベニメクス、インターフェロン、インターロイキン、マクロファージコロニー刺激因子、顆粒球コロニー刺激因子、リンホトキシン、ＢＣＧワクチン、コリネバクテリウムパルブム、レバミゾール、ポリサッカライドＫ、プロコダゾールなどが挙げられる。

該「分子標的薬」は「細胞増殖因子ならびにその受容体の作用を阻害する薬剤」等を含み、「細胞増殖因子」としては、細胞の増殖を促進する物質であればどのようなものでもよく、通常、分子量が２０，０００以下のペプチドで、受容体との結合により低濃度で作用が発揮される因子が挙げられ、具体的には、（1）ＥＧＦ（epidermal growth factor）またはそれと実質的に同一の活性を有する物質〔例、ＥＧＦ、ハレグリン（ＨＥＲ２リガンド）など〕、（2）インシュリンまたはそれと実質的に同一の活性を有する物質〔例、

インシュリン、ＩＧＦ（insulin-like growth factor）－１、ＩＧＦ－２など〕、（3）ＦＧＦ（fibroblast growth factor）またはそれと実質的に同一の活性を有する物質〔例、酸性ＦＧＦ、塩基性ＦＧＦ、ＫＧＦ（keratinocyte growth factor）、ＦＧＦ-１０など〕、（4）ＶＥＧＦ（vascular endothelial growth factor）、（5）その他の細胞増殖因子〔例、ＣＳＦ（colony stimulating factor）、ＥＰＯ（erythropoietin）、ＩＬ－２（interleukin-2）、ＮＧＦ(nerve growth factor)、ＰＤＧＦ（platelet-derived growth factor）、ＴＧＦβ（transforming growth factorβ）、ＨＧＦ（hepatocyte growth factor）、など〕などがあげられる。

該「細胞増殖因子の受容体」としては、上記の細胞増殖因子と結合能を有する受容体であればいかなるものであってもよく、具体的には、ＥＧＦ受容体、ハレグリン受容体（ＨＥＲ２）、インシュリン受容体、ＩＧＦ受容体、ＦＧＦ受容体－１またはＦＧＦ受容体－２、ＨＧＦ受容体（ｃ－ｍｅｔ）、ＶＥＧＦ受容体、ＳＣＦ受容体（ｃ－ｋｉｔ）などがあげられる。該「細胞増殖因子の作用を阻害する薬剤」としては、ハーセプチン（ＨＥＲ２抗体）、ＧＬＥＥＶＥＣ（ｃ－ｋｉｔ、ａｂｌ阻害薬）、Ｔａｒｃｅｖａ（ＥＧＦ受容体阻害薬）などがあげられる。

また、一つの薬剤で複数の細胞増殖因子の作用を阻害する薬剤や、細胞増殖因子よって発せられる細胞内の情報を遮断する薬剤も含まれる。

[0051] 前記の薬剤の他に、Ｌ－アスパラギナーゼ、アセグラトン、塩酸プロカルバジン、プロトポルフィリン・コバルト錯塩、水銀ヘマトポルフィリン・ナトリウム、分化誘導剤（例、レチノイド、ビタミンＤ類など）、血管新生阻害薬、α－ブロッカー（例、塩酸タムスロシンなど）なども用いることができる。

上記した中でも、併用薬としては、白金錯体（例、カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチンなど）、代謝拮抗剤（例、ゲムシタビン、ペメトレキセドなど）、トポイソメラーゼＩ阻害薬（例、イリノテカン、トポテカンなど）、植物由来抗癌剤（タキサン系薬剤（例、パクリタキセル、ドセ

タキセル）、ビノレルビン）、抗癌性抗生物質（例、マイトマイシンＣ）等、さらに、ホルモン療法剤（例、プレドニゾロン）、免疫療法剤（例、ピシバニール、クレスチンなど）、分子標的薬（例、ベバシズマブ等抗ＶＥＧＦ抗体、エルロチニブ等ＥＧＦＲ阻害剤、スニチニブ等ＶＥＧＦＲ阻害剤）などが好ましい。さらに、シスプラチン、ゲムシタビン、パクリタキセル、ベバシズマブなどが好ましい。また、これら薬剤の併用療法と併用して用いることもできる。例えば、シスプラチンとビンブラスチンとマイトマイシンＣ、シスプラチンとビノレルビン、シスプラチンとパクリタキセル、シスプラチンとゲムシタビン、カルボプラチンとパクリタキセル、ペメトレキセドとシスプラチン、ベバシズマブとシスプラチンとペメトレキセド等の併用療法に組み合わせた併用が挙げられる。

[0052] 本発明において、本発明の有効成分および併用薬剤の投与時期は限定されず、これらを投与対象に対し、同時に投与してもよいし、時間差をおいて投与してもよい。また、本発明の有効成分および併用薬剤を、これらを含む単一の製剤として投与対象に投与してもよい。例えば、３～６ヵ月にわたり、複数の薬を組み合わせて点滴注射する多剤併用療法や、約２年間にわたって経口剤を服用する方法などがある。

また、既に拡散している腫瘍（癌）細胞を抑え、転移による再発を防ぐためや、手術範囲を小さくする目的で、手術施行前に「化学療法」などの術前補助療法を行うこともある。

さらには、手術や放射線などの局所的治療により除去されなかった腫瘍（癌）細胞の発育を抑え、転移による再発を防ぐために、「化学療法」などの術後補助療法が行われることもある。

さらには、併用する抗癌剤は、癌細胞と同時に正常な細胞にも作用し、それが副作用となって現れる場合がある。代表的な副作用には、消化器粘膜の障害による吐き気、嘔吐、食欲不振、口内炎、下痢あるいは便秘、味覚異常、骨髄の障害による白血球・赤血球・血小板の減少・脱毛、免疫力の低下などがあり、これらを抑制するための副作用軽減薬を併用することもできる。

例えば、吐き気を効果的に抑える制吐剤（例、グラニセトロン塩酸塩）や、骨髄障害の回復を早める薬（例えば、エリスロポイエチン、Ｇ－ＣＳＦ、ＧＭ－ＣＳＦ）等が挙げられる。

併用薬剤の投与量は、臨床上用いられている用量を基準として適宜選択することができる。また、本発明の有効成分と併用薬剤の配合比は、投与対象、投与ルート、対象疾患、症状、組み合わせなどにより適宜選択することができる。例えば投与対象がヒトである場合、本発明の有効成分を含む製剤１００重量部に対し、併用薬剤を０．０１ないし１００重量部用いればよい。

[0053] ＲＥＴの変異を検出する方法

また、本願発明の治療剤および／または予防剤は、ＲＥＴに変異を有することを検出した被験者に対して投与することにより、治療および／または予防の有効性が期待される。すなわち、ＲＥＴに変異を有することを検出した患者は本願発明の治療剤および／または予防剤に対して感受性を有することが考えられる。本発明において、ＲＥＴにおける変異を検出する方法には、ＲＥＴ遺伝子の変異を検出する方法、およびＲＥＴタンパク質の変異を検出する方法が含まれる。

ＲＥＴ遺伝子の変異を検出する方法は、被験者から得た試料中の、以下に示すＲＥＴ遺伝子に関連する特定のポリヌクレオチドの存在および特定のポリヌクレオチドの増幅を検出する工程を含む。

具体的には、以下（１）～（３）の工程を含む。

（１）被験者の試料（血液、肺胞、生検された試料、喀痰試料等）を採取する。

（２）試料からゲノムＤＮＡやその転写物（例えばｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、タンパク質）を抽出する。ゲノムＤＮＡの抽出は公知の方法で行うことができ、市販のＤＮＡ抽出キットを用いて簡便に行うことができる。

（３）抽出されたゲノムＤＮＡやその転写物（例えばｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、タンパク質）中の特定のポリヌクレオチドの存在および特定のポリヌクレオチドの増幅の有無を検出する。

上記特定のポリヌクレオチドの存在の検出は、公知の遺伝子解析法（例えば、ＰＣＲ法、逆転写ＰＣＲ法、サンガーシーケンス法、インサイチュー・ハイブリダイゼーション法、マイクロアレイ法などの方法）を単独、または組み合わせて行うことができる。

ｍＲＮＡを用いて特定のポリヌクレオチドの存在を検出する場合、検出対象ポリヌクレオチドの配列を特異的に増幅できるように設計したプライマーを用いて逆転写ＰＣＲなどの遺伝子増幅反応を行う。プライマーの設計は、プライマー設計ソフトウェア（例えば、Ｐｒｉｍｅｒ　Ｅｘｐｒｅｓｓ；ＰＥ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）などを利用して行うことができる。

さらに、逆転写ＰＣＲ法およびＰＣＲ法等により得られたＰＣＲ産物をアガロースゲル電気泳動によって分析し、エチジウムブロマイド染色等を行うことによって、目的とするサイズの増幅断片が得られたか否かを確認することができる。目的とするサイズの増幅断片が得られた場合は、被験者から得た試料において、特定のポリヌクレオチドが存在することとなる。

ＲＥＴ遺伝子の点変異、欠失変異または挿入変異の検出は、前述の逆転写ＰＣＲ法とサンガーシーケンス法を組み合わせた方法や公知の一塩基伸長反応法などを用いて特定のポリヌクレオチドの存在を検出することにより、行うことができる。

[0054] ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子の検出方法には、前述の逆転写ＰＣＲ法とサンガーシーケンス法を組み合わせた方法に加えて、インサイチュー・ハイブリダイゼーション技術を利用し、特定のポリヌクレオチドの存在を検出する方法がある。インサイチュー・ハイブリダイゼーション技術を利用した検出は、例えば、公知のフルオレッセント・インサイチュー・ハイブリダイゼーション（ＦＩＳＨ）法、クロモジェニック・インサイチュー・ハイブリダイゼーション（ＣＩＳＨ）法、シルバー・インサイチュー・ハイブリダイゼーション（ＳＩＳＨ）法により行うことができる。

ハイブリダイゼーションに用いるプローブとしては、特定のポリヌクレオチド又はそれらの相補鎖にストリンジェントな条件下で（好ましくはよりス

トリンジェントな条件下で）ハイブリダイズする、連続した少なくとも３２塩基（融合点を中心にその上流及び下流にそれぞれ１６塩基）の核酸分子を使用することができるが、これに限定されない。配列番号：５～１４、２５および２６からなる群より選ばれる塩基配列のポリヌクレオチドの特定の部分の配列又はそれらの相補鎖を含むプローブも、用いることができる。

ストリンジェントな条件は、常法に従って複合体を形成する核酸の融解温度（Ｔｍ）に基づいて決定することができる。具体的には、ハイブリダイゼーションのための条件として、「５×ＳＳＰＥ、５×Ｄｅｎｈａｒｄｔ’ｓ液、０．５％ＳＤＳ、５０％ホルムアミド、２００μｇ／ｍｌ鮭精子ＤＮＡ、４２℃オーバーナイト」、洗浄のための条件として、「０．５×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、４２℃」の条件である。よりストリンジェントな条件は、ハイブリダイゼーションのための条件として、「５×ＳＳＰＥ、５×Ｄｅｎｈａｒｄｔ’ｓ液、０．５％ＳＤＳ、５０％ホルムアミド、２００μｇ／ｍｌ鮭精子ＤＮＡ、４２℃オーバーナイト」、洗浄のための条件として、「０．２×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、６５℃」の条件である。

[0055] ＲＥＴ遺伝子の増幅の検出は，前述のインサイチュー・ハイブリダイゼーション技術に加えて，ゲノムＤＮＡを用いたコンパラティブ・ゲノミック・ハイブリダイゼーション（ＣＧＨ）法により、特定のポリヌクレオチドの増幅を検出することで、行うことができる。

検出対象となる特定のポリヌクレオチドとは、ＲＥＴ遺伝子を構成するポリヌクレオチド中の塩基が点変異、欠失変異、挿入変異により変化したポリヌクレオチド、およびＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子（例えば、ＫＩＦ５Ｂ遺伝子、ＣＣＤＣ６遺伝子、ＮＣＯＡ４遺伝子、ＴＲＩＭ３３遺伝子）との融合遺伝子を構成するポリヌクレオチド，および増幅したＲＥＴ遺伝子を構成するポリヌクレオチドのことをいう。このようなポリヌクレオチドとしては、以下に記載のポリヌクレオチド、又はこれらのポリヌクレオチドと相補的な配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド（特にチロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド

をコードするポリヌクレオチド）があげられるが、これらに限定されない。

（１）ＲＥＴ遺伝子とＫＩＦ５Ｂ遺伝子との融合遺伝子を構成するポリヌクレオチド：

・配列番号：５で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：６で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：７で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：８で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：９で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：１０で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：１１で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：１２で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：１３で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：１４で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

（２）ＲＥＴ遺伝子とＣＣＤＣ６遺伝子との融合遺伝子を構成するポリヌクレオチド

・配列番号：２５で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：２６で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

（３）ＲＥＴ遺伝子を構成するポリヌクレオチド：

・配列番号：１で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

・配列番号：２で表される塩基配列を含むポリヌクレオチド

（４）ＲＥＴ遺伝子を構成するポリヌクレオチド中の塩基が点変異、欠失変異、挿入変異により変化したポリヌクレオチド：

配列番号：１で表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、２６００Ｇ、２８６１Ｔ、２９４３Ｔの塩基における変異（例えば、２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２８６１Ｔ＞Ｇ、２９４３Ｔ＞Ｃの変異）を有する塩基配列を含むポリヌクレオチド

配列番号：３で表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１

１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｅ７６８、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、Ｍ９１８のアミノ酸における変異（例えば、Ｃ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｅ７６８Ｄ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｍ９１８Ｔの変異）を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド

[0056] ＲＥＴの変異を検出する方法は、前述の方法の他、ＲＥＴタンパク質における変異を検出する方法を含む。

ＲＥＴタンパク質における変異を検出する方法は、被験者から得た試料における、特定のポリペプチド（以下、検出対象ポリペプチドと称する）の存在を検出する工程を含む。被験者から得た試料（例えば、被験者から得た癌組織や細胞）由来の可溶化液を調製し、その中に含まれる検出対象ポリペプチドを検出する。

検出対象ポリペプチドがＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質である場合、ＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４またはＴＲＩＭ３３などに対する抗体と、抗ＲＥＴ抗体とを組み合わせることによる免疫学的測定法又は酵素活性測定法等により検出対象ポリペプチドの存在を検出することができる。好ましくは、検出対象ポリペプチドに特異的なモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を用いた、酵素免疫測定法、２抗体サンドイッチＥＬＩＳＡ法、蛍光免疫測定法、放射免疫測定法、ウエスタンブロッティング法等の手法を用いることができる。その他、ＲＥＴタンパク質における変異（点変異、欠失変異、挿入変異を含む）の検出は、ウエスタンブロッティング法、質量分析法などを用いて検出対象ポリペプチドの存在を検出することにより、行うことができる。

[0057] 検出対象ポリペプチドとしては、以下に記載のポリペプチド、およびこれらのポリペプチドにおいて、１または複数のアミノ酸（例えば、１－１０個、１－５個、１－３個のアミノ酸）が欠失、置換及び／若しくは挿入されたポリペプチド（特にチロシンキナーゼ活性を有するポリペプチド）が挙げられるが、これらに限定されない。

（１）ＲＥＴタンパク質とＫＩＦ５Ｂタンパク質との融合タンパク質を構成

するポリペプチド：

配列番号：１５で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：１６で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：１７で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：１８で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：１９で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：２０で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：２１で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：２２で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：２３で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：２４で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

（２）ＲＥＴタンパク質とＣＣＤＣ６タンパク質との融合タンパク質を構成するポリペプチド：

配列番号：２７で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：２８で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

（３）ＲＥＴタンパク質を構成するポリペプチド：

配列番号：３で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

配列番号：４で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド

（４）ＲＥＴタンパク質を構成するポリペプチドにおいて点変異を有するポリペプチド

・配列番号：１で表される塩基配列のポリヌクレオチドの２０９１Ｇ、２２６１Ｇ、２４９４Ｇ、２５６２Ａ、２６００Ｇ、２８６１Ｔ、２９４３Ｔの塩基における変異（例えば、２０９１Ｇ＞Ｔ、２２６１Ｇ＞Ａ、２４９４Ｇ＞Ｃ、２５６２Ａ＞Ｔ、２６００Ｇ＞Ａ、２６００Ｇ＞Ｃ、２８６１Ｔ＞Ｇ、２９４３Ｔ＞Ｃの変異）を有する塩基配列を含むポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド

・配列番号：３で表されるアミノ酸配列のポリペプチドのＣ６０９、Ｃ６１１、Ｃ６１８、Ｃ６２０、Ｃ６３０、Ｃ６３４、Ｇ６９１、Ｅ７６８、Ｙ７

９１、Ｖ８０４、Ｓ８９１、Ａ８８３、Ｍ９１８のアミノ酸における変異（例えば、Ｃ６３４Ｗ、Ｃ６３４Ｙ、Ｇ６９１Ｓ、Ｅ７６８Ｄ、Ｙ７９１Ｆ、Ｖ８０４Ｍ、Ｖ８０４Ｌ、Ｓ８９１Ａ、Ｍ９１８Ｔの変異）を有するポリペプチド

[0058] 上記の他、国際公開ＷＯ２０１２／０１４７９５号パンフレット、Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１２年，１８，ｐ．３７８－３８１、ＪＣｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ，３０（３５），Ｄｅｃ １０，２０１２，ｐ．４３５２－９、Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ ２０１３ Ｊｕｎ，３（６），Ｊｕｎ ２０１３，ｐ．６３０－５等に記載の方法により、ＲＥＴ遺伝子とＫＩＦ５Ｂ遺伝子との融合遺伝子、およびその他の融合遺伝子の存在を検出することができる。

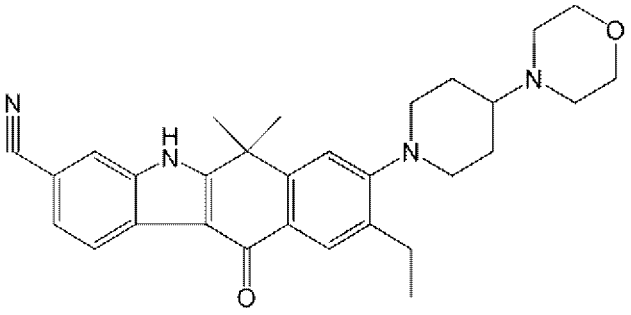
上述の方法に加えてＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を検出してもよい。ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化は、腫瘍組織におけるリン酸化ＲＥＴを抗リン酸化ＲＥＴ抗体による免疫染色などで検出することにより確認することができる。

実施例

[0059] 以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

式ＩＩにより示される化合物１（９－エチル－６，６－ジメチル－８－（４－モルホリン－４－イル－ピペリジン－１－イル）－１１－オキソ－６，１１－ジヒドロ－５Ｈ－ベンゾ［ｂ］カルバゾール－３－カルボニトリル、または９－エチル－６，６－ジメチル－８－［４－（モルホリン－４－イル）ピペリジン－１－イル］－１１－オキソ－６，１１－ジヒドロ－５Ｈ－ベンゾ［ｂ］カルバゾール－３－カルボニトリルとも称される。）（ＷＯ２０１０／１４３６６４の実施例３６６に記載の化合物）に対して、実施例１～６に記載の薬理学的試験を行った。

[化5]



（ＩＩ）

[0060] 実施例１

RETキナーゼ阻害活性及び結合親和性の評価

化合物１のRETキナーゼ阻害活性の評価は，RETキナーゼドメイン（Carna Biosciences）のN末端にGSTタグを付加したRETキナーゼを用い、ビオチン化ペプチド(EGPWLEEEEEAYGWMDF）のリン酸化反応の阻害活性を指標に行った。リン酸化ビオチン化ペプチドの検出は，Europiumラベルを結合させた抗リン酸化抗体を用いたTR-FRET（time-resolved fluorescence resonance energy transfer）法により行った。50%阻害濃度(IC_{50}値）をロジスティック回帰法により算出したところ，化合物１はRETキナーゼに対してIC_{50}値4.8 nMの強い阻害活性を示した。

また，RETキナーゼに対する解離定数（Kd値）を$KINOME_{SCAN}^{TM}$（DiscoveRx）により測定したところ，化合物１はKd値7.6 nMの結合親和性を示した。

[0061] 実施例２

KIF5B-RET発現細胞の樹立及び当細胞を用いた細胞増殖阻害活性の評価

KIF5B-RET variant 1（KIF5BのCDSのN末端からExon15とRETのCDSのExon12からC末端までが融合した遺伝子）（配列番号：５）を組み込んだ発現プラスミドCS-GS104J-M67（GeneCopoeia）をマウスリンパ球細胞Ba/F3（RIKEN Cell Bank）にエレクトロポレーション法により遺伝子導入した。遺伝子導入後，10% FBS（Bovogen Biologicals）及び 1 ng/mL recombinant mouse IL-3（R&D systems）を含むRPMI-1640 Medium（Sigma-Aldrich）で終夜培養した。その後，培養上清を10% FBS を含むRPMI-1640 Mediumに交換し，限界希釈法に

より96ウェルプレートに播種した。約2週間後に，ウエスタンブロッティング法により、IL-3非存在下で成育した細胞におけるリン酸化RETの発現を検出し、これを指標にKIF5B-RETを安定的に発現する細胞株Ba/F3 KIF5B-RETを樹立した。

96ウェルプレートに，Ba/F3 KIF5B-RET細胞を1ウェル当り2,500細胞となるように10%FBSを含むRPMI-1640培地で播種した。化合物１の塩酸塩をジメチルスルホキシドにより最終濃度が1 nMから10 μMとなるよう希釈し、96ウェルプレートに添加した。陰性対照としてジメチルスルホキシドを添加した。37℃，5% CO_2存在下で2日間培養後，細胞数測定試薬CellTiter-Glo(R) Luminescent Cell Viability Assay (Promega Corporation) を添加し撹拌後，発光測定装置Envision (PerkinElmer) を用いて，発光強度を測定した。培地のみのウェルでの測定値を生存率0%，ジメチルスルホキシド添加ウェルでの測定値を生存率100%として化合物１の各濃度におけるBa/F3 KIF5B-RET細胞の生存率を算出し，これらの値からロジスティック回帰法によりIC_{50}値を求めた。その結果，化合物１はBa/F3 KIF5B-RET細胞に対してIC_{50}値86 nMの細胞増殖阻害活性を示した。

以上の結果から，化合物１はRETのキナーゼ活性を阻害し，KIF5B-RETを発現する細胞株に対して細胞増殖を阻害できることが示された。

[0062] 実施例３

甲状腺髄様癌細胞株 TTを用いた細胞増殖阻害活性の測定

RETキナーゼ活性化変異(C634W) を有する甲状腺髄様癌細胞株 TT (American Type Culture Collection) の細胞増殖阻害活性の測定を行った。

96ウェルプレートに， TT細胞を1ウェル当り5,000細胞となるように10% FBSを含むF-12K Nutrient Mixture (Life Technologies Corporation) で播種し，37℃，5% CO_2存在下で終夜培養した。その後，化合物１の塩酸塩をジメチルスルホキシドにより最終濃度1 nMから10 μMとなるよう希釈し、96ウェルプレートに添加した。陰性対照としてジメチルスルホキシドを添加した。37℃，5% CO_2存在下で5日間培養した後に，細胞数測定試薬CellTiter-Glo(R) L

uminescent Cell Viability Assay を添加し撹拌後，発光測定装置Envisionを用いて，発光強度を測定した。培地のみのウェルでの測定値を生存率0%，ジメチルスルホキシド添加ウェルでの測定値を生存率100%として化合物１の各濃度におけるTT細胞の生存率を算出し，これらの値からロジスティック回帰法によりIC_{50}値を求めた。その結果，化合物１はTT細胞に対してIC_{50}値190 nMの細胞増殖阻害活性を示した。

[0063] 実施例４

RET変異体キナーゼ阻害活性

化合物1のRET変異体キナーゼ阻害活性の評価は，RETキナーゼドメイン（Carna Biosciences, Millipore）のN末端にGSTタグを付加したRET変異体キナーゼを用い，ビオチン化ペプチド（EGPWLEEEEEAYGWMDF）のリン酸化反応の阻害活性を指標に行った。リン酸化ビオチン化ペプチドの検出は，Europiumラベルを結合させた抗リン酸化抗体を用いたTR-FRET法により行った。IC_{50}値をロジスティック回帰法により算出した。試験結果を表1に示す。化合物１は、ゲートキーパー残基での変異（V804L，V804M）を含むＲＥＴキナーゼの各変異体に対して阻害活性を示した。

[表1]

RET変異体	IC_{50} (nM)
RET G691S	9.5
RET Y791F	14
RET V804L	32
RET V804M	53
RET S891A	8.3
RET M918T	5.7

[0064] 実施例５

非小細胞肺癌細胞株 LC-2/adを用いた細胞増殖阻害活性の測定

CCDC6-RET融合遺伝子を有する非小細胞肺癌細胞株 LC-2/ad （ＲＩＫＥＮ、Ｊ Ｔｈｏｒａｃ Ｏｎｃｏｌ．２０１２ Ｄｅｃ，７（１２），１８７２－６） の細胞増殖阻害活性の測定を行った。

96ウェルプレートに，LC-2/ad細胞を1ウェル当り2,000細胞となるように15% FBS及び25 mM HEPESを含むRPMI-1640とHamを1：1の割合で混合させた培地で播種し，37℃，5% CO2存在下で終夜培養した。その後，化合物１の塩酸塩をジメチルスルホキシドにより最終濃度1 nMから1 μMとなるよう希釈し，96ウェルプレートに添加した。陰性対照としてジメチルスルホキシドを添加した。37℃，5% CO_2存在下で5日間培養した後に，細胞数測定試薬CellTiter-Glo(R) Luminescent Cell Viability Assayを添加し撹拌後，発光測定装置Envisionを用いて，発光強度を測定した。培地のみのウェルでの測定値を生存率0%，ジメチルスルホキシド添加ウェルでの測定値を生存率100%として化合物１の各濃度におけるLC-2/ad細胞の生存率を算出し，これらの値からロジスティック回帰法によりIC_{50}値を求めた。その結果，化合物１はLC-2/ad細胞に対してIC_{50}値190 nMの細胞増殖阻害活性を示した。

[0065] 実施例６

CCDC6-RET融合遺伝子を有するゼノグラフトマウスモデルを用いた抗腫瘍活性の評価

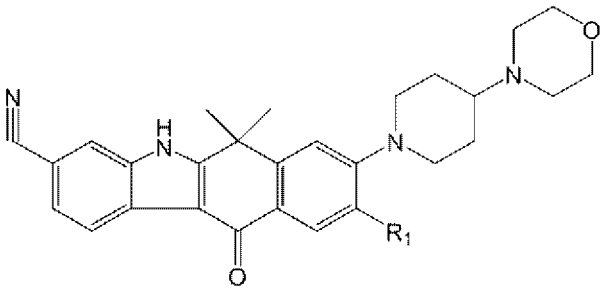
化合物１のin vivoにおける抗腫瘍活性を，非小細胞肺癌細胞株LC-2/adを移植したマウスモデルを用いて評価した。LC-2/adをSCIDマウスの皮下に移植し，腫瘍の大きさが200～350 mm^3に到達した後にランダマイズし，化合物の投与を開始した。化合物を溶解するための溶媒（最終濃度）は，0.02N HCl，10% ジメチルスルホキシド，10%Cremophor EL，15% PEG400，及び15% HPCD (2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin) を用いた。20 mg/kg及び60 mg/kgの化合物１を1日1回14日間経口投与した。その結果，いずれの腫瘍に対しても，用量依存的な腫瘍増殖抑制効果と腫瘍の退縮が認められた。また，この試験時に

おけるマウスの有意な体重減少はいずれの用量においても認められなかった。抗腫瘍効果の結果を図1に示した。

請求の範囲

［請求項1］ 式（Ｉ）で表される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、ＲＥＴに変異を有する腫瘍、および前記腫瘍の転移の治療および／または予防剤。

［化1］



（Ｉ）

（式中、R_1はC_{1-6}のアルキル基である。）

［請求項2］ 前記腫瘍が、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、脳腫瘍、神経芽細胞腫、神経膠腫、甲状腺癌、骨髄異形成症候群、頭頸部癌、食道癌、胃癌、大腸癌、結腸直腸癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、膵臓癌、肝臓癌、胆嚢癌、皮膚癌、悪性黒色腫、腎癌、腎盂尿管癌、膀胱癌、子宮癌、精巣癌、前立腺癌、および該腫瘍から転移した腫瘍からなる群より選択される、請求項１に記載の治療および／または予防剤。

［請求項3］ 前記腫瘍が甲状腺癌または肺癌である、請求項１に記載の治療および／または予防剤。

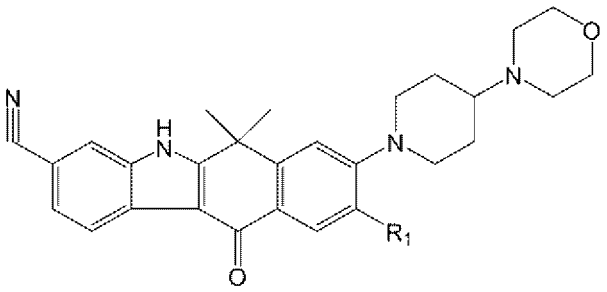
［請求項4］ 前記腫瘍が甲状腺髄様癌または非小細胞肺癌である、請求項１に記載の治療および／または予防剤。

［請求項5］ 前記腫瘍がＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質を有する腫瘍である、請求項１～４のいずれか１項に記載の治療および／または予防剤。

[請求項6] 前記腫瘍がＲＥＴ遺伝子および／またはタンパク質に点変異を有する腫瘍である、請求項１～４のいずれか１項に記載の治療および／または予防剤。

[請求項7] 式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、ＲＥＴに変異を有する患者に使用する、腫瘍、および前記腫瘍の転移の治療および／または予防剤。

[化2]



（Ｉ）

（式中、R_1はC_{1-6}のアルキル基である。）

[請求項8] 前記腫瘍が甲状腺癌または肺癌である、請求項７に記載の治療および／または予防剤。

[請求項9] 前記患者がＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質の融合タンパク質を有する患者である、請求項７または８に記載の治療および／または予防剤。

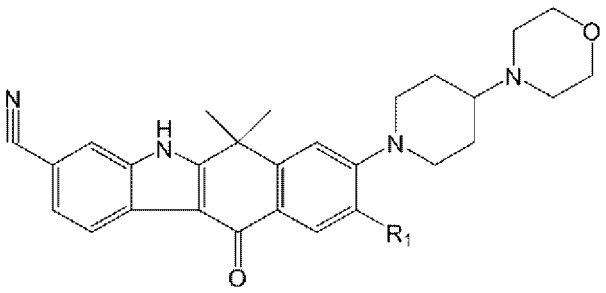
[請求項10] 前記患者がＲＥＴ遺伝子および／またはタンパク質に点変異を有する患者である、請求項７または８に記載の治療および／または予防剤。

[請求項11] R^1がエチルである、請求項１～９のいずれか１項に記載の治療および／または予防剤。

[請求項12] 前記化合物が塩酸塩である、請求項１～１１のいずれか１項に記載の治療および／または予防剤。

[請求項13] 式（Ｉ）の化合物、その塩またはそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、ＲＥＴ阻害剤。

［化3］



（Ｉ）

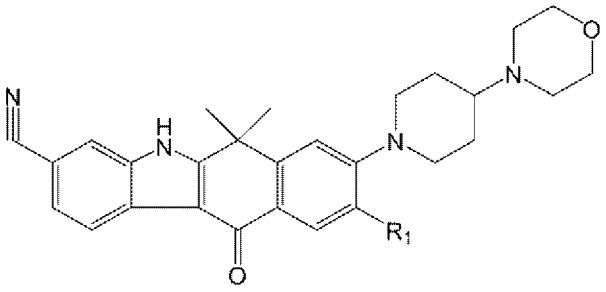
（式中、Ｒ$_1$はＣ$_{1-6}$のアルキル基である。）

［請求項14］ 式（Ｉ）で示される化合物、その塩またはそれらの溶媒和物に対して感受性のある患者を同定する方法であって、

患者から得られた試料中のＲＥＴにおける変異の存在を検出する工程、および

前記腫瘍中のＲＥＴにおける変異の存在に基づき、前記患者が前記化合物、その塩またはそれらの溶媒和物に対して感受性を有する患者であると決定しあるいは予備的に決定する工程を含む、前記方法。

［化4］



（Ｉ）

（式中、Ｒ$_1$はＣ$_{1-6}$のアルキル基である。）

［請求項15］ 前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴチロシンキナーゼの活性化を引き起こす変異である、請求項１４に記載の方法。

［請求項16］ 前記ＲＥＴにおける変異が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴの融

合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質、である請求項１４または１５に記載の方法。

[請求項17] 前記腫瘍が、ＲＥＴの融合遺伝子および／またはＲＥＴの融合タンパク質を有する腫瘍である、請求項１４～１６のいずれか１項に記載の方法。

[請求項18] 前記ＲＥＴにおける変異が、（ａ）ＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインにおける変異、（ｂ）ＲＥＴチロシンキナーゼのチロシンキナーゼドメインにおける変異、または（ｃ）ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質の形成である、請求項１４または１５に記載の方法。

[請求項19] 前記ＲＥＴにおける変異が、ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子および／またはＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質の形成である、請求項１４、１５または１８に記載の方法。

[請求項20] 他の遺伝子およびタンパク質がＫＩＦ５Ｂ、ＣＣＤＣ６、ＮＣＯＡ４またはＴＲＩＭ３３である、請求項１９に記載の方法。

[請求項21] 前記ＲＥＴ遺伝子と他の遺伝子との融合遺伝子およびＲＥＴタンパク質と他のタンパク質との融合タンパク質が、ＲＥＴ遺伝子またはタンパク質のチロシンキナーゼドメイン、および他の遺伝子またはタンパク質のコイルドコイルドメインを含む、請求項１８～２０のいずれか１項に記載の方法。

[請求項22] 前記ＲＥＴにおける変異が点変異である、請求項１４または１５に記載の方法。

[請求項23] 前記点変異がＲＥＴチロシンキナーゼのシステインリッチドメインまたはチロシンキナーゼドメインにおける点変異である、請求項２２に記載の方法。

[請求項24] 前記患者が甲状腺癌または肺癌の患者である、請求項１４～２３のいずれか１項に記載の方法。

［請求項25］ 前記患者が甲状腺髄様癌または非小細胞肺癌の患者である、請求項１４～２４のいずれかに記載の方法。