

通路调节剂、含其的药物组合物、其用途和采用其的治疗方法

本公开要求 2021 年 01 月 26 日提交的中国专利申请（申请号 2021101034359）的优先权。

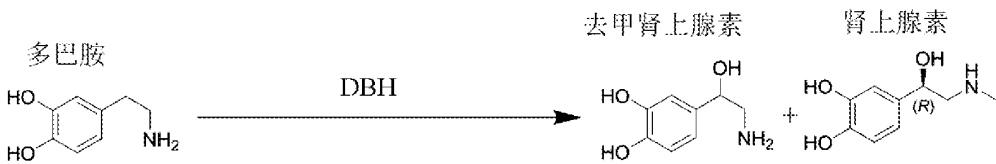
5

技术领域

本公开涉及通路调节剂、含其的药物组合物、其用途和采用其的治疗方法。

背景技术

10 多巴胺 β-羟化酶（Dopamine beta-hydroxylase，以下简称 DBH），也被称为多巴胺 β-单加氧酶，是一种在人体中由 DBH 基因编码的酶（EC 1.14.17.1）。DBH 催化多巴胺被氧气氧化为去甲肾上腺素和肾上腺素，如下所示：



DBH 是一种约 290 kDa 的含铜加氧酶，其由四个相同的亚基组成，其活性需要抗坏血酸作为辅助因子[1]。

15 DBH 是唯一参与小分子膜结合的神经递质合成的酶，其使得去甲肾上腺素成为在囊泡内合成的唯一递质。去甲肾上腺素在中枢和外周神经系统的嗜去甲肾上腺素能神经末梢以及肾上腺髓质的铬细胞中表达。

DBH 主要有助于痕量胺和儿茶酚胺的生物合成，包括肾上腺素（epinephrine 或 adrenaline）、去甲肾上腺素（norepinephrine 或 noradrenaline）和多巴胺。此外，其还参与与这些物质有关的外源性生物物质的代谢。例如，人的 DBH 催化苯丙胺和对羟基苯丙胺的 β-羟基化，分别产生去甲麻黄碱和对羟基去甲麻黄碱[2-4]。

25 DBH 被认为是与思维决策和药物成瘾的病症相关，例如，酒精中毒[5]和吸烟[6]、注意力缺陷多动障碍[7]、精神分裂症[8]和阿尔茨海默病[9]。而 DBH 不足被称为多巴胺 β-羟化酶缺乏症。

在 20 世纪末 21 世纪初，相继开发了内匹司他（Nepicastat）[10]、依他米司他（Etamicastat）[11]、依米司他（Zamicastat）[12]这些高选择性的 DBH 抑制剂，也进一步研究了其对高血压（Pulmonary Arterial Hypertension）、充血性心衰、可卡因依赖或创伤后应激障碍（PTSD）等潜在用途。

30 内匹司他可能用于充血性心力衰竭的治疗，并且在患者中显示良好的耐受性[13]。进一步的临床研究数据表明，内匹司他在治疗心衰上没有效果，但具有安全性。

内匹司他及其类似物（如依他米司他、依米司他）在治疗高血压方面具有潜

在用途。评估内匹司他治疗 PTSD 和可卡因依赖的临床试验已经完成。研究发现，当内匹司他与可卡因联合用药时，内匹司他是安全的，并可以抑制可卡因的正向效果。这一结果提示内匹司他可作为治疗可卡因依赖的药物疗法[14]。

与内匹司他相比，依他米司他及依米司他具有较低的脑-血-屏障渗透水平，能够降低外周交感神经支配组织中的去甲肾上腺素水平，而对自发性高血压大鼠的脑组织没有作用[15]。这一结果提示依他米司他及依米司他这类 DBH 抑制剂在治疗外周相关疾病时，可以减少中枢神经系统不良反应或并发症。在一项 II 期临床研究中，观察到依他米司他（200mg）在 10 天的治疗后，剂量依赖性地降低收缩压和舒张压，且显示良好的耐受性及安全性[16]。依米司他（1200mg）连续 10 天用药时也显示较好的安全性（NCT02151994）。目前，依米司他用于肺动脉高压疗效的临床试验正在开展中（NCT04316143）。

最早在 1998 年的研究中，报道了 DBH 对免疫调节的作用。研究发现，在无病原体条件下，dbh-/-小鼠的白细胞数量正常、T、B 细胞发育正常，体外功能也都正常，但 dbh-/-小鼠更容易感染病原体（如单核增生李斯特菌或肺结核分枝杆菌）；同时，动物表现出严重的胸腺退化，T 细胞受损功能，包括产生 Th1 细胞因子。这些结果提示生理上的正常发育不需要产生儿茶酚胺，但在感染的免疫调节中儿茶酚胺起着重要作用[17]。

DBH 作为自主神经的一部分，通过去甲肾上腺素能纤维直接和间接的贯穿整个脑源、组织、血管及外周血。除去甲肾上腺素能纤维外，其蛋白的表达和定位也具有一定的组织特异性，如 DBH 在肾上腺髓质的嗜铬细胞和蓝斑的去甲肾上腺素能细胞、肝组织、肠组织中均有一定水平表达，其中 DBH 在肾上腺髓质中的表达最高。

某项研究发现，组织中 DBH 高表达或外周血高水平 DBH 分泌可能与一些神经或内分泌疾病相关[18]；比如，外周血高水平 DBH 可能与阿尔茨海默病、双相情感障碍、亨廷顿病、甲状腺功能减退、PTSD 相关。尽管外周血 DBH 水平可能与神经疾病相关，但在临床实验中 DBH 抑制剂对于阿尔茨海默病及 PTSD 都没有获得很好的疗效（见 CLINICALTRIALS 的数据库）。类似地，还有研究发现，在自身免疫性肠炎患者中，炎症组织中 DBH 表达上调，但该研究并没有阐明二者的必然联系[19]。

据 Autoimmune Association 协会统计，有 100 种以上自身免疫性疾病类型。在临床中，对于自身免疫性疾病的治疗，主要以激素和/或免疫抑制剂非靶向性的药物控制症状，与此同时给患者带来极大且不可逆的不良反应和损伤。

由此可见，寻求一种安全的能够治疗自身免疫性疾病的治疗剂是该领域亟需解决的技术问题。

发明内容

本公开所要解决的技术问题包括提供一种通路调节剂、含其的药物组合物、其用途和采用其的治疗方法。

发明人意外地发现，现有技术中的通路调节剂，包括多巴胺 β -羟化酶抑制剂（简称为 DBH 抑制剂）、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种，可通过免疫
5 调节，而抑制自身免疫性疾病的发生发展（例如，具体体现在对体重减轻的改善、DAI 评分的改善及使结肠密度正常化），进而可为自身免疫性疾病的治疗提供潜在治疗药物。

本公开通过以下技术方案解决上述技术问题：

本公开的第一方面涉及一种通路调节剂在制备治疗自身免疫性疾病的药物中的
10 用途；其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

上述用途中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述用途中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的或之后的 DBH 抑制剂，作为示例可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、
15 半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自内匹司他、依他米司他和依米司他。采用内匹司他、依他米司他和依米司他中的一种或多种治疗自身免疫性疾病，不会存在激素和/或免疫抑制剂非靶向性的
20 药物给患者带来的极大且不可逆的不良反应和损伤，是一种安全的能够治疗自身免疫性疾病的治疗剂。

上述用途中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。采用内匹司他治疗自身免疫性疾病，可以显著减少患者的体重降低以及显著降低患者的结肠密度。

25 上述用途中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

30 所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范
35 围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120

mg/kg; 例如, 80、85、90、95、100、110、120, 或前述任意两个数值之间的范围; 优选 90-110 mg/kg, 更优选 100 mg/kg; 或者,

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐, 单位剂量为 80-120 mg/kg; 例如, 80、85、90、95、100、110、120, 或前述任意两个数值之间的范围; 优选
5 90-110 mg/kg, 更优选 100 mg/kg; 或者,

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐, 单位剂量为 80-120 mg/kg; 例如, 80、85、90、95、100、110、120, 或前述任意两个数值之间的范围; 优选
90-110 mg/kg, 更优选 100 mg/kg。

上下文中, 单位剂量可以是整数或分数。应当理解, 例如, “10 至 100” 是
10 一种简洁的书写方式, 尽管没有给出该范围内的每一个点值, 但视为已经在文中明确得以披露。

上述技术方案用于治疗自身免疫性疾病, 可以显著减少患者的体重降低以及显著降低患者的结肠密度。

上述用途中, 所述自身免疫性疾病可为现有技术中公开的自身免疫性疾病中
15 的一种或多种, 例如可选自贲门失弛缓症 (Achalasia)、艾迪生氏病 (Addison's disease)、成人斯蒂尔氏病 (Adult Still's disease)、血球蛋白血症 (Agammaglobulinemia)、斑秃 (Alopecia areata)、淀粉样变性 (Amyloidosis)、强直性脊柱炎 (Ankylosing spondylitis)、抗 GBM/抗 TBM 肾炎 (Anti-GBM/Anti-TBM nephritis)、抗磷脂综合征 (Antiphospholipid syndrome)、自身免疫性血管性水肿
20 (Autoimmune angioedema)、自身免疫性自主神经异常 (Autoimmune dysautonomia)、自身免疫性脑脊髓炎 (Autoimmune encephalomyelitis)、自身免疫性肝炎 (Autoimmune hepatitis)、自身免疫性内耳疾病 (Autoimmune inner ear disease, 缩写 AIED)、自身免疫性心肌炎 (Autoimmune myocarditis)、自身免疫性卵巢炎 (Autoimmune oophoritis)、自身免疫性睾丸炎 (Autoimmune orchitis)、
25 自身免疫性胰腺炎 (Autoimmune pancreatitis)、自身免疫性视网膜病变 (Autoimmune retinopathy)、自身免疫性荨麻疹 (Autoimmune urticaria)、轴突神经病 (Axonal & neuronal neuropathy, 缩写 AMAN)、巴洛病 (Baló disease)、白塞氏病 (Behcet's disease)、良性粘膜类天疱疮 (Benign mucosal pemphigoid)、大疱性类天疱疮 (Bullous pemphigoid)、卡斯尔曼病 (Castleman disease, 缩写 CD)、麸质过敏
30 症 (Celiac disease)、恰加斯病 (Chagas disease)、慢性炎性脱髓鞘性多神经病 (Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, 缩写 CIDP)、慢性复发多灶性骨髓炎 (Chronic recurrent multifocal osteomyelitis, 缩写 CRMO)、嗜酸性肉芽肿 (Eosinophilic Granulomatosis, 缩写 EGPA)、瘢痕性类天疱疮 (Cicatricial pemphigoid)、科根综合症 (Cogan's syndrome)、冷凝集素病 (Cold agglutinin disease)、先天性心脏传导阻滞 (Congenital heart block)、柯萨奇心肌炎 (Coxsackie myocarditis)、肢端硬皮综合征 (CREST syndrome)、克罗恩病 (Crohn's disease)、
35

- 疱疹样皮炎 (Dermatitis herpetiformis)、皮肌炎 (Dermatomyositis)、视神经脊髓炎 (Devic's disease (neuromyelitis optica))、盘状狼疮 (Discoid lupus)、德莱勒综合征 (Dressler's syndrome)、子宫内膜异位症 (Endometriosis)、嗜酸性食管炎 (Eosinophilic esophagitis, 缩写 EoE)、嗜酸性筋膜炎 (Eosinophilic fasciitis)、
- 5 结节性红斑 (Erythema nodosum)、基本混合性冷球蛋白血症 (Essential mixed cryoglobulinemia)、埃文斯综合征 (Evans syndrome)、纤维肌痛症 (Fibromyalgia)、纤维化肺炎 (Fibrosing alveolitis)、巨细胞动脉炎 (Giant cell arteritis)、巨细胞心肌炎 (Giant cell myocarditis)、肾小球肾炎 (Glomerulonephritis)、肺出血肾炎综合征 (Goodpasture's syndrome)、肉芽肿合并多血管炎 (Granulomatosis with
- 10 Polyangiitis)、甲状腺机能亢进 (Graves' disease)、格林-巴利综合征 (Guillain-Barre syndrome)、桥本氏甲状腺炎 (Hashimoto's thyroiditis)、溶血性贫血 (Hemolytic anemia)、过敏性紫癜 (Henoch-Schonlein purpura, 缩写 HSP)、妊娠期疱疹或类天疱疮 (Herpes gestationis or pemphigoid gestationis, 缩写 PG)、化脓性汗腺炎 (Hidradenitis Suppurativa, 缩写 HS)、低丙球蛋白血症 (Hypogammaglobulinemia)、
- 15 IgA 肾病 (IgA Nephropathy)、IgG4 相关性硬化症 (IgG4-related sclerosing disease)、免疫性血小板减少性紫癜 (Immune thrombocytopenic purpura, 缩写 ITP)、包涵体肌炎 (Inclusion body myositis, 缩写 IBM)、间质性膀胱炎 (Interstitial cystitis, 缩写 IC)、青少年关节炎 (Juvenile arthritis)、青少年 I 型糖尿病 (Juvenile diabetes Type 1)、青少年肌炎 (Juvenile myositis, 缩写 JM)、川崎病 (Kawasaki disease)、
- 20 朗伯-伊顿综合征 (Lambert-Eaton syndrome)、白细胞碎裂性血管炎 (Leukocytoclastic vasculitis)、扁平苔癣 (Lichen planus)、萎缩性硬化性苔藓 (Lichen sclerosus)、木样结膜炎 (Ligneous conjunctivitis)、线性 IgA 病 (Linear IgA disease, 缩写 LAD)、红斑狼疮 (Lupus)、慢性莱姆病 (Lyme disease chronic)、梅尼埃病 (Meniere's disease)、显微镜下多血管炎 (Microscopic polyangiitis, 缩写 MPA)、混合性结
- 25 缔组织病 (Mixed connective tissue disease, 缩写 MCTD)、蚕蚀性角膜溃疡 (Mooren's ulcer)、穆-哈二氏病 (急性痘疮样苔藓状糠疹) (Mucha-Habermann disease)、多灶性运动神经病 (Multifocal Motor Neuropathy, 缩写 MMN 或 MMNCB)、多发性硬化症 (Multiple sclerosis)、重症肌无力 (Myasthenia gravis)、肌炎 (Myositis)、嗜睡症 (Narcolepsy)、新生儿狼疮 (Neonatal Lupus)、中性粒细胞减少症
- 30 (Neutropenia)、眼瘢痕性类天疱疮 (Ocular cicatricial pemphigoid)、视神经炎 (Optic neuritis)、回文风湿病 (Palindromic rheumatism, 缩写 PR)、潘达斯症 (PANDAS)、副肿瘤性小脑变性 (Paraneoplastic cerebellar degeneration, 缩写 PCD)、阵发性夜间血红蛋白尿 (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, 缩写 PNH)、帕里伯格综合征 (Parry Romberg syndrome)、睫状体平坦部炎 (Pars planitis)、帕森纳-特纳
- 35 综合征 (Parsonage-Turner syndrome)、天疱疮 (Pemphigus)、周围神经病变 (Peripheral neuropathy)、静脉周围脑脊髓炎 (Perivenous encephalomyelitis)、恶性贫血 (Pernicious

anemia, 缩写 PA)、POEMS 综合症(POEMS syndrome)、结节性多动脉炎(Polyarteritis nodosa)、I 型多腺综合征(Polyglandular syndromes type I)、II 型多腺综合征(Polyglandular syndromes type II)、III 型多腺综合征(Polyglandular syndromes type III)、风湿性多肌痛(Polymyalgia rheumatica)、多肌炎

5 (Polymyositis)、心肌梗塞后综合症(Postmyocardial infarction syndrome)、心包切开后综合症(Postpericardiotomy syndrome)、原发性胆汁性肝硬化(Primary biliary cirrhosis)、原发性硬化性胆管炎(Primary sclerosing cholangitis)、孕激素性皮炎(Progesterone dermatitis)、银屑病(Psoriasis)、银屑病关节炎(Psoriatic arthritis)、纯红细胞再生障碍性贫血(Pure red cell aplasia, 缩写 PRCA)、坏疽

10 性脓皮病(Pyoderma gangrenosum)、雷诺现象(Raynaud's phenomenon)、反应性关节炎(Reactive Arthritis)、反射交感性营养不良(Reflex sympathetic dystrophy)、复发性多发性软骨炎(Relapsing polychondritis)、不宁腿综合征(Restless legs syndrome, 缩写 RLS)、腹膜后纤维化(Retroperitoneal fibrosis)、风湿热(Rheumatic fever)、类风湿性关节炎(Rheumatoid arthritis)、结节病(Sarcoidosis)、

15 施密特综合症(Schmidt syndrome)、巩膜炎(Scleritis)、硬皮病(Scleroderma)、干燥综合征(Sjögren's syndrome)、精子和睾丸自身免疫(Sperm & testicular autoimmunity)、僵硬者综合征(Stiff person syndrome, 缩写 SPS)、亚急性细菌性心内膜炎(Subacute bacterial endocarditis, 缩写 SBE)、苏萨克综合征(Susac's syndrome)、交感性眼炎(Sympathetic ophthalmia, 缩写 SO)、大动脉炎(Takayasu's

20 s arteritis)、颞动脉炎/巨细胞动脉炎(Temporal arteritis/Giant cell arteritis)、血小板减少性紫癜(Thrombocytopenic purpura, 缩写 TTP)、甲状腺眼病(Thyroid eye disease, 缩写 TED)、痛性眼肌麻痹综合征(Tolosa-Hunt syndrome, 缩写 THS)、横

向脊髓炎(Transverse myelitis)、I 型糖尿病(Type 1 diabetes)、溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, 缩写 UC)、未分化结缔组织病(Undifferentiated connective tissue

25 disease, 缩写 UCTD)、葡萄膜炎(Uveitis)、血管炎(Vasculitis)、白癜风(Vitiligo)和沃格特-小柳-原田病(Vogt-Koyanagi-Harada Disease); 优选为自身免疫性结肠炎、视神经脊髓炎、类风湿关节炎、硬皮病、银屑病、或葡萄膜炎。

本公开的第二方面涉及一种通路调节剂, 其用于治疗自身免疫性疾病; 其中, 所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

30 上述通路调节剂中, 所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述通路调节剂中, 所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制剂, 例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自

35 内匹司他、依他米司他和依米司他。

上述通路调节剂中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

上述通路调节剂中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100
5 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、
85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120
10 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；
优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120
mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；
优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120
15 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；
优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；
例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选
90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；
20 例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选
90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

上述通路调节剂中，所述自身免疫性疾病的定义如前所定义。

本公开的第三方面涉及一种用于治疗自身免疫性疾病的方法，其包括步骤：
25 向受试者施用治疗有效量的通路调节剂；其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、
受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

上述治疗方法中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述治疗方法中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制
剂，例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、
30 泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接
受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米
司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自
内匹司他、依他米司他和依米司他。

上述治疗方法中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的
35 盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

上述治疗方法中，所述 DBH 抑制剂可与选自化学治疗剂、靶向治疗剂、免疫

治疗剂和抗炎剂中的一种或多种联合施用。

上述治疗方法中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、
5 85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

10 所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；
15 优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；
20 例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

上述治疗方法中，所述自身免疫性疾病的定义如前所定义。

本公开的第四方面涉及一种治疗自身免疫性疾病的药物组合物，其包含：

- 通路调节剂、和
- 25 - 药学上可接受的载体；

其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

上述药物组合物中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述药物组合物中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制剂，例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡啶、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自内匹司他、依他米司他和依米司他。

35 上述药物组合物中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

上述药物组合物中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

上述药物组合物中，所述自身免疫性疾病的定义如前所定义。

本公开的第五方面涉及一种通路调节剂在制备药物中的用途；所述药物用于选自以下的一种或多种用途：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、增加 CD8+T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、降低 CD8+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化；降低外周血中淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞的含量；减轻真皮层中炎症性细胞浸润和真皮下的毛细血管增生；改善皮肤纤维化；降低葡萄膜炎发病率；改善皮肤炎症；改善粪便成形性评分、改善 CW/CL、改善 CW/BW、改善 CW/CL/BW、抑制结肠溃疡面积增加、改善结肠炎性细胞浸润评分、改善组织损伤评分；改善疾病活动度评分、改善便血或隐血。其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

上述用途中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述用途中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制剂，例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、

依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自内匹司他、依他米司他和依米司他。

上述用途中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

5 上述用途中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

10 所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

15 所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

25 上述用途中，所述药物优选用于选自以下的一种或多种用途：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化。

上述用途中，所述 CD4+T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A、IFN- γ 和 TNF- α 中的一种或多种。

30 上述用途中，所述 CD8+T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A 和/或 TNF- α 。

上述用途中，所述调节性 T 细胞优选为 CD25+FOXP3+Treg 细胞。

上述用途中，所述 B 细胞优选为 B220+细胞，更优选为 CD69+B220+B 细胞。

上述用途中，所述 NK 细胞优选为 NK1.1+细胞，更优选为 NK1.1+CD107a+NK 细胞。

35 本公开的第六方面涉及一种通路调节剂，其用于选自以下的一种或多种用途：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、增加 CD8+T 细胞比例、降低 CD4+T

细胞的促炎因子分泌、降低 CD8⁺T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化；降低外周血中淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞的含量；减轻真皮层中炎症性细胞浸润和真皮下的毛细血管增生；改善皮肤纤维化；降低葡萄膜炎发病率；改善皮肤炎症；改善粪便成形性评分、改善 CW/CL、改善 CW/BW、改善 CW/CL/BW、抑制结肠溃疡面积增加、改善结肠炎性细胞浸润评分、改善组织损伤评分；改善疾病活动度评分、改善便血或隐血。其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

上述通路调节剂中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述通路调节剂中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制剂，例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯哒嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自内匹司他、依他米司他和依米司他。

上述通路调节剂中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

上述通路调节剂中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

上述通路调节剂中，所述药物优选用于选自以下的一种或多种用途：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化。

上述通路调节剂中，所述 CD4+T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A、IFN- γ 和 TNF- α 中的一种或多种。

上述通路调节剂中，所述 CD8+T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A 和/或 TNF- α 。

上述通路调节剂中，所述调节性 T 细胞优选为 CD25+FOXP3+Treg 细胞。

上述通路调节剂中，所述 B 细胞优选为 B220+细胞，更优选为 CD69+B220+B 细胞。

上述通路调节剂中，所述 NK 细胞优选为 NK1.1+细胞，更优选为 NK1.1+CD107a+NK 细胞。

本公开的第七方面涉及一种在体内或体外调节免疫细胞功能的方法，其包括如下步骤：使有效量的通路调节剂在体内或体外接触免疫细胞，所述免疫细胞来自受试者；其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种；

所述调节免疫细胞功能指的是选自以下的一种或多种功能：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、增加 CD8+T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、降低 CD8+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化。

上述方法中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述方法中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制剂，例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自内匹司他、依他米司他和依米司他。

上述方法中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

上述方法中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

上述方法中，所述 DBH 抑制剂可与选自化学治疗剂、靶向治疗剂、免疫治疗剂和抗炎剂中的一种或多种联合施用。

上述方法中，所述药物优选用于选自以下的一种或多种用途：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化。

上述方法中，所述 CD4+T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A、IFN- γ 和 TNF- α 中的一种或多种。

上述方法中，所述 CD8+T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A 和/或 TNF- α 。

上述方法中，所述调节性 T 细胞优选为 CD25+FOXP3+Treg 细胞。

上述方法中，所述 B 细胞优选为 B220+细胞，更优选为 CD69+B220+B 细胞。

上述方法中，所述 NK 细胞优选为 NK1.1+细胞，更优选为 NK1.1+CD107a+NK 细胞。

本公开的第八方面涉及一种药物组合物，其包含通路调节剂和药学上可接受的载体；其中，所述通路调节剂为 DBH 抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种；

所述药物组合物具有选自以下的一种或多种功能：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、增加 CD8+T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、降低 CD8+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化；降低外周血中淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞的含量；减轻真皮层中炎症性细胞浸润和真皮下的毛细血管增生；改善皮肤纤维化；降低葡萄膜炎发病率；改善皮肤炎症；改善粪便成形性评分、改善 CW/CL、改善 CW/BW、改善 CW/CL/BW、抑制结肠溃疡面积增加、改善结肠炎性细胞浸润评分、改善组织损伤评分；改善疾病活动度评分、改善便血或隐血。

上述药物组合物中，所述通路调节剂优选为 DBH 抑制剂。

上述药物组合物中，所述 DBH 抑制剂可为现有技术中的已经公开的 DBH 抑制剂，例如可为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种。所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、依他米司他、依米司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选地选自内匹司他、依他米司他和依米司他。

上述药物组合物中，所述 DBH 抑制剂优选地选自内匹司他、其药学上可接受的盐和其前药。所述 DBH 抑制剂更优选为内匹司他。

上述药物组合物中，作为示例：

所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg；例如 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 mg/kg，或前述任意两个数值之间的范围；优选 20-50 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者

所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，

所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg；例如，80、85、90、95、100、110、120，或前述任意两个数值之间的范围；优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。

上述药物组合物中，所述药物组合物还可含有选自化学治疗剂、靶向治疗剂、免疫治疗剂和抗炎剂中的一种或多种物质。

上述药物组合物中，所述药物优选用于选自以下的一种或多种用途：降低 CD4⁺T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、降低 CD4⁺T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化。

上述药物组合物中，所述 CD4⁺T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A、IFN- γ 和 TNF- α 中的一种或多种。

上述药物组合物中，所述 CD8⁺T 细胞的促炎因子优选为 IL-17A 和/或 TNF- α 。

上述药物组合物中，所述调节性 T 细胞优选为 CD25+FOXP3+Treg 细胞。

上述药物组合物中，所述 B 细胞优选为 B220+细胞，更优选为 CD69+B220+B 细胞。

上述药物组合物中，所述 NK 细胞优选为 NK1.1+细胞，更优选为
5 NK1.1+CD107a+NK 细胞。

本公开的积极效果在于：发明人发现，DBH 抑制剂可通过免疫调节，而抑制自身免疫性疾病的发生发展（作为示例，具体体现在对体重减轻的改善、DAI 评分的改善及结肠密度正常化），进而可为自身免疫性疾病的治疗提供新的选择。

10 附图说明

图 1A 显示根据实施例 1 中描述的实验程序进行实验后，各组小鼠体重评估结果。

图 1B 显示根据实施例 1 中描述的实验程序进行实验后，各组小鼠 DAI 评分结果。

15 图 1C 显示根据实施例 1 中描述的实验程序进行实验后，各组小鼠结肠密度结果。

图 2A 至图 2E 显示实施例 4 中各组的小鼠肠系膜淋巴结中 CD4+T 细胞亚群（图 2A）、CD25+FOXP3+Treg 细胞亚群（图 2B）、来自 CD4+T 细胞亚群的 IL-17A（图 2C）、来自 CD4+T 细胞亚群的 IFN- γ （图 2D）及来自 CD4+T 细胞亚群的
20 TNF- α （图 2E）的影响。

图 3A 至图 3D 显示如实施例 4 中各组的小鼠肠系膜淋巴结中 CD8+T 细胞亚群（图 3A）、来自 CD8+T 细胞亚群的 IFN- γ （图 3B）、来自 CD8+T 细胞亚群的 IL-17A（图 3C）及来自 CD8+T 细胞亚群的 TNF- α （图 3D）的影响。

图 4A 至图 4B 显示如实施例 4 中各组的小鼠肠系膜淋巴结中 CD69+B220+B
25 细胞亚群（图 4A）及 NK1.1+CD107a+NK 细胞亚群（图 4B）的影响。上述各图中*指的是 $p < 0.05$ ，**指的是 $p < 0.01$ ，***指的是 $p < 0.001$ ，****指的是 $p < 0.0001$ 。

图 5 显示实施例 5 各组中的体重变化；Two-way ANOVA: # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ vs. 溶媒组。

图 6 显示实施例 5 各组中的体重变化率。

30 图 7 显示实施例 5 各组中的脾脏重量；One-way ANOVA: *** $p < 0.001$ vs. 正常组, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. 溶媒组。

图 8 显示实施例 5 各组中的脏体系数；One-way ANOVA: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs. 溶媒组。

图 9 显示实施例 5 各组中外周血红细胞（RBC）计数；One-way ANOVA: *** $p < 0.001$ vs 正常组, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs 溶媒组, &&& $p < 0.001$ vs 伊马替尼组。
35

图 10 显示实施例 5 各组中外周血血红蛋白（HGB）含量；One-way ANOVA:

*** $p < 0.001$ vs 正常组, ^{##} $p < 0.01$, ^{###} $p < 0.001$ vs 溶媒组, ^{&&&} $p < 0.001$ vs 伊马替尼组。

图 11 显示实施例 5 各组中外周血白细胞 (WBC) 计数; One-way ANOVA: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs 正常组, ^{##} $p < 0.01$ vs 溶媒组。

5 图 12 显示实施例 5 各组中外周血淋巴细胞 (LYMPH) 计数; One-way ANOVA: [#] $p < 0.05$, ^{###} $p < 0.001$ vs 溶媒组。

图 13 显示实施例 5 各组中外周血单核细胞 (MONO) 计数; One-way ANOVA: ^{##} $p < 0.01$ vs 溶媒组。

图 14 显示实施例 5 各组中外周血中性粒细胞 (NEUT) 计数; One-way ANOVA: 10 *** $p < 0.001$ vs 正常组。

图 15 显示实施例 5 各组中外周血血小板含量; One-way ANOVA: *** $p < 0.001$ vs 正常组, ^{###} $p < 0.001$ vs 溶媒组, ^{&&} $p < 0.01$, ^{&&&} $p < 0.001$ vs. 尼达尼布组, ^{\$\$} $p < 0.01$ vs. 伊马替尼组。

图 16 显示实施例 5 各组中真皮层炎细胞浸润评分; One-way ANOVA: [#] $p < 0.05$ 15 vs. 溶媒组, ^{\$} $p < 0.05$ vs. 内匹司他-25mg/kg, qd, po。

图 17 显示实施例 5 各组中真皮层内毛细血管密度评分; One-way ANOVA: [#] $p < 0.05$, ^{##} $p < 0.01$ vs. 溶媒组。

图 18 显示实施例 5 各组中真皮厚度; One-way ANOVA: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 20 *** $p < 0.001$ vs. 正常组。

图 19 显示实施例 6 各组中的临床评分。

图 20A 至图 20D: 实施例 7 各组中 AQP4、GFAP、IBA1、CD45 阳性细胞比例。

图 21 显示实施例 8 各组中动物的体重。

图 22 显示实施例 8 各组中红斑+鳞屑+厚度总评分的 AUC; 均值±标准误差, 25 Two way ANOVA, 与相应的溶媒组相比, $p^* < 0.05$, $p^{**} < 0.01$, $p^{***} < 0.001$, $p^{****} < 0.0001$ (注: 正常组的总评分 AUC 为 0, 图中未显示)。

图 23 显示实施例 8 各组中脾脏重量。

图 24 显示实施例 9 各组中的动物体重。

图 25 显示实施例 9 各组中的临床评分。

30 图 26 显示实施例 9 各组中的 AUC。

图 27 显示实施例 9 各组中的发病率。

图 28 显示实施例 10 各组中动物体重。

图 29 显示实施例 10 各组中动物体重变化率。

图 30 显示实施例 10 各组中粪便评分。

35 图 31 显示实施例 10 各组中粪便评分 AUC。

图 32 显示实施例 11 各组中体重变化。

图 33 显示实施例 11 各组中 DAI。

具体实施方式

在背景技术和整个说明书中引用了各种出版物、专利申请；这些参考文献中的每一篇均通过引用整体并入本文。除非另外定义，本文所使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。

术语

本文中，术语“受体激动剂”指的是能够作用于多巴胺 β -羟化酶催化的底物（即多巴胺）的受体，并发挥与多巴胺升高相同的机制及效应的物质。所述受体激动剂优选为多巴胺受体激动剂。

本文中，术语“受体拮抗剂”指的是能够作用于多巴胺 β -羟化酶催化的产物（即去甲肾上腺素和/或肾上腺素）的受体，并发挥与去甲肾上腺素和/或肾上腺素降低相同的机制及效应的物质。所述受体拮抗剂优选为去甲肾上腺素受体拮抗剂和/或肾上腺素受体拮抗剂。

术语“自身免疫性疾病”是指自身的免疫系统攻击机体，以识别自身/非己的适应性免疫耐受机制破坏为特征，适应性免疫细胞异常反应导致自身组织的炎症损害。

术语“多巴胺 β -羟化酶”旨在涵盖人源的多巴胺 β -羟化酶、及其片段、变体、前体和功能结构域。

术语“DBH 抑制剂”指的是能够在核酸或蛋白水平影响（该影响指的是降低、减少、抑制、阻断、阻遏、失活或防止激活）多巴胺 β -羟化酶的结构、表达或活性的任何天然化合物或人工化合物。DBH 抑制剂包括现有技术中已知的，以及未来提供的 DBH 抑制剂。其包括 CN87103323A 和 WO9529165 中公开的 DBH 抑制剂，以及内匹司他（Nepicastat）、依他米司他（Etamicastat）、依米司他（Zamicastat）、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、半胱胺衍生物、泛硫乙胺和泛硫乙胺衍生物。

术语“药学上可接受的载体”指的是药学上可接受的辅料。

术语“药学上可接受的盐”应该被理解为指代下列盐，其是药学上可接受的盐并且其具备预期的母体化合物的药理活性。这种盐包括：

- (1) 与无机酸形成的酸加成盐，或与有机酸形成的酸加成盐；其中，所述无机酸可为盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸中的一种或多种；所述有机酸可为甲酸、草酸、丁二酸、乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟苯酸、2-羟基乙磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘康酸、2-萘磺酸、丙酸、水杨酸、琥珀酸、二苯甲酰基-L-酒石酸、酒石酸、对甲苯磺酸、三甲基乙酸和三氟乙酸中的一种或多种；和
- (2) 母体化合物中存在的酸质子被金属离子，例如，碱金属离子（例如， Na^+ 、 K^+ 或 Li^+ ）、碱土金属离子（如 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} ）或铝离子代替；或者，与有机碱或

- 无机碱配位时形成的盐；其中，所述有机碱可为吡啶类、咪唑类、吡嗪类、吡啶类、嘧啶类、嘌呤类、叔胺类和苯胺类有机碱中的一种或多种，优选为吡啶、甲基吡啶、4-二甲氨基吡啶、2-甲基-5-乙基吡啶、三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、N,N-二甲基苯胺、二乙醇胺、乙醇胺、N-甲基葡萄糖胺、三乙醇胺和氨丁三醇中的一种或多种；
- 5 所述无机碱可为氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠和氢氧化钠中的一种或多种。

本公开的药物组合物可以是各种常规剂型，例如片剂，水混悬液，油混悬液，可分散粉末，可分散颗粒，乳剂，硬胶囊、软胶囊，无菌注射水溶液，无菌注射水包油微乳，或栓剂。上述各剂型均可通过常规的制备方法制得。

- 10 本公开的片剂中的辅料可为填充剂、粘合剂、润滑剂、助流剂和崩解剂中的一种或多种。其中，所述填充剂可为微晶纤维素、淀粉、一水乳糖和磷酸氢钙中的一种或多种。所述粘合剂可为淀粉、明胶、聚乙烯吡咯烷酮和阿拉伯胶中的一种或多种。所述润滑剂可为硬脂酸镁、硬脂酸和十二烷基硫酸钠中的一种或多种。所述助流剂可为微粉硅胶和滑石粉中的一种或两种。所述崩解剂可为交联聚维酮、
- 15 羧甲淀粉钠、低取代羟丙纤维素和交联羧甲基纤维素钠中的一种或多种。所述片剂还可含有包衣。所述片剂还可制成缓释制剂，所述缓释制剂中的缓释材料可为羟丙基甲基纤维素和黄原胶中的一种或两种。

- 本公开的水混悬液中的辅料可为悬浮剂、分散剂、防腐剂和矫味剂中的一种或多种。其中，所述悬浮剂可为羧基甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮和阿拉伯胶中的一种或多种。所述分散剂可为天然产生的磷脂（例如卵磷脂）、烯化氧与脂肪酸的缩合产物（例如聚氧乙烯硬脂酸酯）、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物（例如十七碳亚乙基氧基鲸蜡醇）、环氧乙烷与由脂肪酸和己糖醇衍生的部分酯的缩合产物（例如聚环氧乙烷山梨醇单油酸酯）、环氧乙烷与由脂肪酸和己糖醇衍生的偏酯的缩合产物（例如聚环氧乙烷脱水山梨醇单油酸酯）中的一种或多种。所述防腐剂可为尼泊金乙酯和/或尼泊金正丙酯。所述矫味剂可为蔗糖、糖精和阿司帕坦中的一种或多种。
- 20
- 25

- 本公开的油混悬液中的辅料可为悬浮剂、增稠剂、矫味剂和抗氧化剂中的一种或多种。所述悬浮剂可为植物油和/或矿物油，所述植物油可为花生油、橄榄油、芝麻油和椰子油中的一种或多种，所述矿物油可为液体石蜡。所述增稠剂可为蜂蜡、硬石蜡和鲸蜡醇中的一种或多种。所述矫味剂可为蔗糖、糖精和阿司帕坦中的一种或多种。所述抗氧化剂可为丁羟茴醚、 α -生育酚和抗坏血酸中的一种或多种。
- 30

本公开的可分散粉末和可分散颗粒中的辅料可为悬浮剂、分散剂、防腐剂、矫味剂和抗氧化剂中的一种或多种。上述各组分的具体选择同水混悬液中的辅料。

- 本公开的乳剂中的辅料可为悬浮剂、乳化剂、矫味剂、防腐剂和抗氧化剂中的一种或多种。所述悬浮剂可为植物油和/或矿物油，所述植物油可为橄榄油和/或花生油，所述矿物油可为液体石蜡。所述乳化剂可为天然产生的磷脂（例如大豆卵
- 35

磷脂)、由脂肪酸和己糖醇酐衍生的酯或偏酯(例如山梨坦单油酸酯)和所述偏酯和环氧乙烷的缩合产物(例如聚环氧乙烷山梨醇单油酸酯)中的一种或多种。所述矫味剂可为甘油、丙二醇、山梨醇和蔗糖中的一种或多种。所述防腐剂可为尼泊金乙酯和/或尼泊金正丙酯。所述抗氧化剂可为丁羟茴醚、 α -生育酚和抗坏血酸中的一种或多种。

本公开的硬胶囊中辅料可为常规的惰性固体稀释剂,例如可为碳酸钙、磷酸钙和高岭土中的一种或多种。

本公开的软胶囊中的辅料可为常规的水溶性载体和/或常规的油溶媒,例如可为聚乙二醇、花生油、液体石蜡和橄榄油中的一种或多种。

本公开的无菌注射水溶液中的辅料可为药学上可接受的溶媒,例如水、林格氏液或等渗氯化钠溶液。

本公开的无菌注射水包油微乳中的辅料可为油相辅料和水相辅料,所述油相辅料可为大豆油和卵磷脂的混合物,所述水相辅料可为水和甘油的混合物。

本公开的栓剂中的辅料可为可可脂、甘油、明胶、氢化植物油、聚乙二醇和聚乙二醇的脂肪酸酯中的一种或多种。

术语“受试者”是指动物,优选哺乳动物。根据具体的实施方案,受试者为哺乳动物,包括例如骆驼、驴、斑马、牛、猪、马、山羊、绵羊、猫、狗、大鼠、兔、豚鼠、小鼠、灵长动物(例如人)。在具体的实施方案中,受试者为人。在具体的实施方案中,受试者为易感于、疑似患有、已患有自身免疫性疾病的人。

术语“治疗”指的是消除疾病,阻止疾病进展,减缓疾病进展,减少与疾病相关的一种或多种症状的持续时间,至少一个与疾病相关的可测量参数的改善或逆转,或者增加患有疾病的受试者的存活率。

术语“有效量”是指药物活性成分在受试者中引发期望效果的量。在具体的实施方案中,本领域技术人员可以基于对多种因素的考虑(例如经由临床试验)来确定有效量的选择,所述因素包括待治疗的疾病、所涉及的症状、施用途径、疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状态和本领域技术人员已知的其他因素。具体实施方案中的有效量,可以从来源于动物模型测试系统的剂量-应答曲线而得到,并允许根据医生的判断和每位患者的情况来决定。其中,动物和人的用药量的相互关系描述于 Freireich 等人 1966, *Cancer Chemother Rep* 50: 219, 且人体表面积可以近似地由患者的身高和体重确定。本公开的药物化合物的有效量可为 0.5 mg/kg 至 500 mg/kg, 优选为 1 mg/kg 至 200 mg/kg, 更优选为 10 mg/kg 至 100 mg/kg。

本文中,同一药物活性成分(指的是单一的药物化合物)或不同药物活性成分(指的是两个以上的药物化合物)可一次性施用,或者可分成许多更小的单位剂量,以一定时间间隔施用。应理解治疗的确切剂量、持续时间、间隔时间是所治疾病的函数,并且可使用动物或临床试验数据推断而确定。所述施用可包括单次施用,或者间隔适当时间间隔的两次或更多次施用。其中,相邻两次的施用可

间隔 30 分钟、40 分钟、50 分钟、60 分钟、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、8 小时、9 小时、10 小时、12 小时、14 小时、16 小时、18 小时、20 小时、22 小时、24 小时、一天半、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、1 周、2 周、3 周、4 周、5 周、6 周、1 个月、2 个月、3 个月、4 个月、5 个月、6 个月、7 个月、8 个月、9 个月、10 个月、11 个月或 12 个月。

本文中提及的各药物活性成分（各药物化合物）可作为唯一的活性化合物使用，也可以与其他活性化合物（指的是本文所述的药物化合物之外的化合物）联合施用，只要它们不产生其他不利的作用，例如过敏反应等。联合施用包括将各活性化合物同时或先后施用。

术语“联合施用”是指为了达到治疗目的，而将两种或两种以上活性化合物同时或先后提供给受试者的方法。当涉及“联合施用”时，每次施用之间的时间间隔，足以实现施用的各活性化合物之间的协同作用。两种或两种以上活性化合物在相同的不同容器中。

缩写：QD：每天一次；BID：每天两次；PO：口服；IP：腹腔注射；IM：肌肉注射。

实施例 1：DBH 抑制剂对硫酸葡聚糖钠（DSS）诱导的结肠炎的抑制作用

1. 材料和设备：

表 1. 试剂

试剂	供应商	货号
杜氏磷酸缓冲液（1×DPBS）	Corning Incorporated	21-031-CVR
硫酸葡聚糖钠（DSS）	MP Biomedicals	SR01606
环孢菌素 A（CsA）	Novartis	/
生理盐水	Ke Lun Pharmaceutical Co., Ltd	/
PEG400	Sigma Aldrich	25322-68-3
30% Solutol HS15	Sigma Aldrich	70142-34-6
内匹司他	Selleckchem	S2695
依他米司他	南京药石	677773-32-9
依米司他	MCE	1080028-80-3

表 2. 仪器

仪器	供应商	型号
电子天平	常州天之平	YH-2000
电子分析天平	Mettler Toledo	585310

2. 药液的配制及保存：

溶媒的组成如下：20v% PEG400+10v%（30%Solutol HS15）+70v%生理盐水。

待测物-内匹司他药液：将内匹司他 27 mg 完全溶解于 9 mL 溶媒中（该浓度对应检测组 1#），每 3 天配制一次，4℃ 保存，以保持效果。

待测物-依他米司他药液：分别将 9 mg，27 mg，90 mg 的依他米司他完全溶解于 9 mL 溶媒中（三个浓度分别对应检测组 2#、检测组 3#、检测组 4#），每 3 天配制一次，4℃ 保存，以保持效果。

待测物-依米司他药液：分别将 9 mg，27 mg，90 mg 的依米司他完全溶解于 9 mL 溶媒中（三个浓度分别对应检测组 5#、检测组 6#、检测组 7#），每 3 天配制一次，4℃ 保存，以保持效果。

阳性药对照-环孢菌素 A 药液：将 200 mg 环孢菌素 A 完全溶解于 10 mL 生理盐水中，配制成 20 mg/mL 的溶液（对应阳性药对照组），每 3 天配制一次，4℃ 保存，以保持效果。

3. 各组小鼠的处理：

使用从维通利华实验动物技术有限公司（Charles River Laboratories）购买的 8-10 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠。在恒温（20±2℃）的房间里（每个笼子 5 只），进行 12 小时的明暗循环。所有的实验方案都得到了药明康德（Wuxiapptec）机构动物保护和使用委员会的批准。实验前，这些小鼠在药明康德的动物实验中心至少适应三天。

（1）溶媒组、阳性药对照组和检测组

为了建立硫酸葡聚糖钠诱导的结肠炎模型，连续 7 天自由饮用 3% DSS 水溶液（于 100 mL 水中加入 3g DSS 制得该水溶液，其中 DSS 的分子量为 36000-50000）以诱发结肠炎（该结肠炎属于自身免疫性结肠炎），并分为 9 组分别给药（见表 3 中的溶媒组、阳性药对照组和检测组 1#至检测组 7#），其中 3% DSS 水溶液每天新鲜配制。在实验终点时（见下文）被实施安乐死并获得终点样品。

（2）正常组

正常组的小鼠没有经过 3% DSS 水溶液诱发结肠炎，而是自由饮用空白水。在实验终点时（见下文）被实施安乐死并获得终点样品。

表 3. 各组别及给药方案

组别	小鼠数量 (只)	实验药物	剂量 (mg/kg)	给药方案	
				途径	频率
正常组	10	水	/	-	-
溶媒组	10	溶媒	/	PO	QD×8 天
阳性药对照组	10	环孢菌素 A 与溶媒	50	IM	QD×8 天
检测组 1#	10	内匹司他与溶媒	30	PO	QD×8 天
检测组 2#	10	依他米司他与溶媒	10	PO	QD×8 天
检测组 3#	10	依他米司他与溶媒	30	PO	QD×8 天

检测组 4#	10	依他米司他与溶媒	100	PO	QD×8 天
检测组 5#	10	依米司他与溶媒	10	PO	QD×8 天
检测组 6#	10	依米司他与溶媒	30	PO	QD×8 天
检测组 7#	10	依米司他与溶媒	100	PO	QD×8 天
溶媒组中：每天每只小鼠按 10 mL/kg 体重给予溶媒。					

4. 体重评估及疾病活动指数（disease activity Index，DAI）评分：

对于动物体重及 DAI 评分均在双盲的条件下进行，即科研人员未知组别及给药情况下，每天收集小鼠体重、观察大便性状及血便及进行评分。DAI 评分为体重减轻评分、排便评分和出血评分之和。评分标准如表 4 所示。

表 4. DAI 评分体系

评分体系			
分数	体重减轻	粪便硬度	血便
0	无减轻	正常	隐血阴性
1	1-5%	软但成型	隐血弱阳性
2	5-10%	非常软	隐血阳性
3	10-20%	腹泻	出血
4	>20%	严重腹泻	严重出血

5. 统计分析：

数据分析采用方差分析，具体采用的方法如下：使用 Graph Pad Prism 6.0 软件，采用 post-hoc Dunnett's Dunnett 多重比较检验方法。将其余组（指的是正常组、阳性药对照组和检测组 1#至 7#）与溶媒组比较，分析其余组与溶媒组相比是否具有显著性。若 p 值<0.05，则具有统计学意义上的差异，具有显著性。数据以均数±S.E.M. 表示。

15 实施例 2：DBH 抑制剂对免疫细胞活化及细胞因子影响

1. 材料：

表 5. 流式抗体试剂

编号	抗体的靶标	染料	供应商	货号	全名
1	CD45	APC-Cy7	BD bioscience	557659	APC-Cy™7 大鼠抗小鼠 CD45
2	CD3	BV510	BD bioscience	563024	BD Horizon™ BV510 仓鼠抗小鼠 CD3e
3	CD4	BUV395	BD bioscience	563790	BD Horizon™ BUV395 大鼠抗小鼠 CD4

4	CD8	AF700	BD bioscience	557959	Alexa Fluor® 700 大鼠抗小鼠 CD8a
5	CD25	BV421	BD bioscience	562606	BV421 大鼠抗小鼠 CD25
6	IFN- γ	BV650	BD bioscience	563854	BD Horizon™ BV650 大鼠抗小鼠 IFN- γ
7	IL-17A	BV786	BD bioscience	564171	BD Horizon™ BV786 大鼠抗小鼠 IL-17A
8	Foxp3	FITC	eBioscience	11-5773-82	FOXP3 单抗 (FJK-16s), FITC, eBioscience™
9	TNF- α	BB700	BD bioscience	566510	BD Horizon™ BB700 大鼠抗小鼠 TNF
10	活/死细胞	FVS620	BD bioscience	564996	BD Horizon™ Fixable 细胞活力染色 620
11	CD45RO/B220	FITC	BD bioscience	553087	BD Pharmingen™ FITC 大鼠抗小鼠 CD45R/B220
12	CD3	PE	BD bioscience	553064	BD Pharmingen™ PE 仓鼠抗小鼠 CD3e
13	NK1.1	BV421	BD bioscience	562921	BD Horizon™ BV421 小鼠抗小鼠 NK-1.1
14	CD69	BV786	BD bioscience	564683	BD Horizon™ BV786 仓鼠抗小鼠 CD69
15	CD107a	PECY7	BD bioscience	560647	BD Pharmingen™ PE-Cy™7 大鼠抗小鼠 CD107a
上述各试剂的使用体积均为 2 μ L/次					

表 6. 其他试剂

试剂/材料	供应商	货号
1640 培养基	Invitrogen	22400-089
胎牛血清	Hyclone	SV30087.03
Fc 阻断剂	BD bioscience	553141
细胞固定破膜液 (能够作为细胞固定液, 细胞破膜液, 细胞破膜洗液使用)	ebioscience	85-88-8824-00
细胞活化混合液	Biolegend	423304
细胞计数载玻片	Invitrogen	C10228
流式抗体染色液	BD bioscience	563794

2. 方法:

- 5 实施例 1 的阳性药对照组和检测组 1#至检测组 7#, 第 8 天给药后 24 小时为实验终点; 正常组和溶媒组的实验终点同阳性药对照组和检测组 1#至检测组 7#。

实验终点时, 采集肠系膜淋巴结, 并进行如下处理:

- 1) 轻轻研碎肠系膜淋巴结, 用 70 μ M 滤网 (BD bioscience, 货号 352350) 过滤, 获得细胞悬液, 计数细胞。

- 2) 采用悬浮液 (该悬浮液采用如下方法制得: 采用 90 v% 1640 培养基与 10v% 胎牛血清组成的混合液将细胞活化混合液稀释至浓度为 $1 \times$ 即得) 悬浮细胞, 调整细胞密度为 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$, 在 37°C 下孵育 5 小时。
- 3) 采用杜氏磷酸缓冲液清洗细胞, 利用死/活 (viable/dead) 染料 (表 5 中编号为 12 染料) 常温染色 15min, 区分活细胞及死细胞; 用染色缓冲液 (胎牛血清与杜氏磷酸缓冲液按 2:98 的体积比混合后制得) 清洗细胞, 加入 Fc 阻断剂工作液 (Fc 阻断剂与染色缓冲液按 1:200 的体积比混合后制得), 室温孵育 15 分钟。
- 4) 无需清洗细胞, 用 $100\mu\text{L}$ 流式抗体染色液表面标记细胞, 4°C 孵育 30 分钟。
- 5) 采用染色缓冲液洗涤细胞 1 次, 加入 $100\mu\text{L}$ 细胞固定液, 4°C 孵育过夜。
- 6) 加入 $200\mu\text{L}$ 细胞破膜液, 4°C 孵育 30 分钟。
- 7) 用 $250\mu\text{L}$ 细胞破膜液清洗细胞后, 用 $100\mu\text{L}$ 染色缓冲液悬浮细胞, 用 BD LSRFortessa 仪器检测荧光。
- 8) 进行流式检测分析的细胞亚群包括 $\text{CD4}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{IL-17A}+\text{CD4}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{IFN-}\gamma+\text{CD4}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{TNF-}\alpha+\text{CD4}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{CD25}+\text{FOXP3}+\text{Treg}$ 细胞亚群; $\text{CD8}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{IL-17A}+\text{CD8}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{IFN-}\gamma+\text{CD8}+\text{T}$ 细胞亚群、 $\text{TNF-}\alpha+\text{CD8}+\text{T}$ 细胞亚群; $\text{CD69}+\text{B220}+\text{B}$ 细胞亚群及 $\text{NK1.1}+\text{CD107a}+\text{NK}$ 细胞亚群。

实施例 3: DBH 抑制剂改善了 DSS 诱导的结肠损伤

- 根据实施例 1 中描述的实验程序进行实验后, 各组小鼠体重评估结果见表 7 及图 1A; 各组小鼠 DAI 评分结果见表 8 及图 1B; 各组小鼠结肠密度结果见表 9 及图 1C。

表 7. 显示各组小鼠体重记录及统计学分析（对应图 1A）

指标	组别		正常组	溶媒组	阳性药 对照组	检测组 1#	检测组 2#	检测组 3#	检测组 4#	检测组 5#	检测组 6#	检测组 7#
	均值	标准误差										
第七天 的体重/ 初始体 重, %	101.59	1.17	101.59	89.68	101.42	94.61	91.92	92.19	95.89	91.68	91.04	93.49
				1.29	0.93	1.13	1.08	1.74	0.65	1.24	1.12	1.16
第八天 的体重/ 初始体 重, %	100.36	4.03	100.36	86.92	100.94	90.68	87.27	89.13	91.63	87.45	85.35	89.17
				6.97	2.66	3.64	4.52	2.23	2.74	4.71	3.83	4.52
第七天 的体重, g	21.38	0.25	21.38	18.84	21.37	19.71	19.18	19.48	20.08	19.26	18.96	19.66
				0.30	0.24	0.30	0.21	0.41	0.27	0.14	0.24	0.21
第八天 的体重, g	21.11	0.19	21.11	18.26	21.27	18.88	18.20	18.89	19.19	18.37	17.78	18.75
				0.48	0.24	0.25	0.23	0.20	0.30	0.19	0.27	0.31
第七天	与溶媒组	P<0.0001	P<0.0001	/	P<0.0001	P<0.01	ns	ns	P<0.0001	ns	ns	P<0.05
第八天	相比的统 计学差异	P<0.0001	P<0.0001	/	P<0.0001	P<0.05	ns	ns	P<0.01	ns	ns	ns

ns 表示无统计学差异。

表 8. 显示各组小鼠 DAI 评分及统计学分析 (对应图 1B)

指标	组别	正常组	溶媒组	阳性药 对照组	检测组 1#	检测组 2#	检测组 3#	检测组 4#	检测组 5#	检测组 6#	检测组 7#
第七天的 DAI 评分	均值	0.40	8.70	2.00	6.00	7.00	6.50	5.70	7.50	6.60	6.00
	标准误	0.16	0.40	0.21	0.52	0.30	0.60	0.30	0.34	0.34	0.33
第八天的 DAI 评分	均值	0.40	6.70	1.00	5.30	6.20	6.56	5.00	6.30	6.30	5.20
	标准误	0.22	0.63	0.21	0.42	0.44	0.50	0.26	0.62	0.30	0.47
第七天	与溶媒组 相比的统 计学差异	P<0.0001	/	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001	P<0.05	P<0.0001	P<0.0001
第八天	与溶媒组 相比的统 计学差异	P<0.0001	/	P<0.0001	P<0.01	ns	ns	P<0.0001	ns	ns	P<0.001

ns 表示无统计学差异。

表9. 显示各组小鼠实验终点时结肠密度评价及统计学分析(对应图1C)

指标	组别		正常组	溶媒组	阳性药对照组	检测组 1#	检测组 2#	检测组 3#	检测组 4#	检测组 5#	检测组 6#	检测组 7#
结肠密度 (mg/cm)	均值		20.93	35.61	25.65	27.67	32.24	34.23	30.51	35.04	36.37	28.33
	标准误		0.81	1.23	0.86	1.06	1.52	0.73	0.83	0.90	1.76	0.74
	与溶媒组相比的统计学差异		P<0.0001	/	P<0.0001	P<0.0001	ns	ns	P<0.05	ns	ns	P<0.0001

ns 表示无统计学差异。

与溶媒组相比，检测组 1#、检测组 4#和检测组 7#的小鼠在治疗第 7 天时的体重降低均明显减少（图 1A，表 7）。

与溶媒组相比，检测组 1#，检测组 2#，检测组 3#，检测组 4#，检测组 5#，检测组 6#和检测组 7#的小鼠在治疗第 7 天的 DAI 评分均显著降低（图 1B，表 8）。

5 小鼠给予 DSS 后，通常会导致结肠缩短，结肠密度提高，上述这两个指标能够反映出 DSS 所致结肠炎的严重程度。与溶媒组相比，检测组 1#、检测组 4#和检测组 7#的结肠密度显著降低（图 1C，表 9）。这些数据表明，内匹司他、依他米司他及依米司他改善了 DSS 诱导的结肠炎的严重程度，降低了疾病的活动性。

10 综上所述，检测组 1#、检测组 4#组和检测组 7#的 DSS 诱导的结肠炎较溶媒组更轻，提示内匹司他、依他米司他及依米司他对结肠炎有潜在的治疗作用。

实施例 4：内匹司他及依米司他对免疫细胞及细胞因子的影响

按照实施例 2 方法，分析内匹司他及依米司他对免疫细胞及细胞因子的影响，所得结果见图 2A 至图 2E，图 3A 至图 3D，图 4A 至图 4B。

15 首先，对来自 CD3+CD45+细胞亚群的 CD4+T 细胞亚群的变化进行了分析，也对来自 CD4+细胞亚群的 CD25+FOXP3+Treg 细胞亚群的变化进行了分析。结果表明，与溶媒组相比，检测组 1#和检测组 7#，可以降低 CD4+T 细胞亚群比例（图 2A），同时增加 CD25+FOXP3+Treg 细胞亚群比例（图 2B）。上述结果提示，DBH 抑制剂可显著抑制炎症及免疫。

20 然后，对 CD4+T 细胞亚群所分泌的细胞因子进一步分析。结果表明，与溶媒组相比，检测组 1#和检测组 7#，均可降低促炎因子 IL-17A（图 2C）、IFN- γ （图 2D）及 TNF- α （图 2E）的分泌，进而提示 DBH 抑制剂通过降低 CD4+T 细胞亚群分泌促炎因子而发挥抑制炎症及免疫的作用。

25 此外，对来自 CD3+CD45+细胞亚群的 CD8+T 细胞亚群及其分泌的细胞因子进行了类似分析。结果表明，与溶媒组相比，DBH 抑制剂可增加 CD8+T 细胞亚群比例（图 3A），对 IFN- γ （图 3B）分泌没有显著影响，但可抑制 IL-17A（图 3C）和 TNF- α （图 3D）分泌。上述结果提示，DBH 抑制剂通过降低 CD8+T 细胞亚群分泌 IL-17A 和 TNF- α 从而抑制炎症及免疫。

30 最后，对 B 细胞（指的是来自 CD3-细胞亚群的 CD69+B220+B 细胞亚群）及 NK 细胞（指的是来自 CD3-B220-细胞亚群的 NK1.1+CD107a+NK 细胞亚群）的活化情况进行了评估。结果表明，与溶媒组相比，DBH 抑制剂均可抑制 B 细胞（图 4A）及 NK 细胞（图 4B）的活化。上述结果提示，DBH 抑制剂可以降低 B 细胞产生自身抗体的风险及 NK 细胞介导的非特性对粘膜组织的杀伤，从而缓解炎症及抑制免疫。

35

实施例 5：DBH 抑制剂对博来霉素诱导的雄性 C57 小鼠皮肤纤维化的抑制作

用

1. 材料和设备

表 10. 试剂

试剂	供应商	货号
生理盐水	浙江都邦药业股份有限公司	2009240101
Solutol HS15	Sigma	BCCF2234
PEG400	国药集团化学试剂有限公司	20181205
MC	Sigma	SLBT4343
Tween 80	Sigma	WXBD2914v
异氟烷	RWD 瑞沃德	20120101
盐酸博莱霉素	日本化药株式会社	600700

5

表 11. 仪器

名称	型号和生产商
呼吸麻醉机	AMS (Gene&I) 北京吉安得尔科技有限公司 (吉安得尔)
自动血液分析仪	Sysmex XS-800i
组织脱水机	LEICA HistoCore Pearl
包埋机	Leica Histocore Arcadia C&H
切片机	LEICA, RM2235
自动染色机	LEICA, ST5020
切片扫描仪	HAMAMATSU Nano Zoomer S210
数控超声波清洗器	KQ-100DE, 昆山市超声仪器有限公司

2. 药液的配制及保存

溶媒的组成：20% PEG400+10% (30% Solutol HS15) +70% 生理盐水。量取 100mL 的 PEG400 和 50mL 的 30% (V/V) solutol，加入至 350mL 的生理盐水中；
10 置于磁力搅拌器上，搅拌至其混合均匀，4℃ 保存备用。

待测物-内匹司他药液：称取 40 mg 待测物至棕色样品瓶中，加入 0.8 mL PEG400，于漩涡仪上涡旋，超声 15 分钟，40℃ 水浴加热 15 分钟，成悬浊液，然后在加入 0.4 mL 30%Solutol HS15，于漩涡仪上涡旋混匀，然后再加入 2.8 mL 生理盐水，于漩涡仪上涡旋混匀，至成溶液，化合物浓度为 10mg/mL。每三天配制
15 一次，保存于 4℃ 备用。

对照品-尼达尼布药液：精确称取 25mg 尼达尼布 (BIBF1120)，加入 5mL 溶媒 (0.5%MC+0.2%Tween80) 中，充分混匀至溶液呈澄清透明状态，药物浓度为 5mg/mL (给药剂量为 10mL/kg)，每七天配制一次。

对照品-伊马替尼药液：精确称取 15mg 甲磺酸伊马替尼粉末至样品瓶中，加入
20 3mL 生理盐水，于漩涡仪上涡旋至完全溶解，药物浓度为 5mg/mL。现配现用，半小时内用完。

3. 试验方法

3.1 动物饲养

雄性 C57BL/6 小鼠 70 只（体重 20 至 22g），动物饲养于凯斯艾生物科技（苏州）有限公司 SPF 级屏障系统内，动物使用合格证号：SYXK（苏）2017-0041，遵循国际标准温、湿、光控制系统。

本试验动物操作方案经由 IACUC 委员会联合审批确认。严格遵循凯斯艾生物科技（苏州）有限公司 SOP 实行操作和管理。

3.2 模型建立

选用异氟烷（2.0 至 2.5%）将动物进行麻醉，去除背部被毛，选择大小为 1cm² 面积进行每两天一次的博来霉素（0.3mg/kg，100μL）皮内注射建立皮肤纤维化模型。

3.3 试验分组

根据动物体重分成 7 组，每组 10 只，分别是：正常组、溶媒组、尼达尼布组（阳性对照药）、伊马替尼（阳性对照药）、检测组 1#、检测组 2#、检测组 3#，具体情况见表 12。

表 12 .试验分组和给药计划

组别	数量 (只)	建模	药物	给药剂量	给药方式	给药体 积
正常组	10	否	溶媒 ^a	NA	PO, QD	10mL/kg
溶媒组	10	是	溶媒 ^a	NA	PO, QD	10mL/kg
尼达尼布组	10	是	尼达尼布	50mg/kg	PO, BID	10mL/kg
伊马替尼组	8	是	伊马替尼	50mg/kg	IP, QD	10mL/kg
检测组 1#	10	是	内匹司他	25mg/kg	PO, QD	10mL/kg
检测组 2#	10	是	内匹司他	50mg/kg	PO, QD	10mL/kg
检测组 3#	10	是	内匹司他	100mg/kg	PO, QD	10mL/kg

备注：a：20% PEG400+10%（30% Solutol HS15）+ 70%生理盐水。

3.4 试验给药

给药开始时间为建模当天，每只动物给药前称量动物体重计算给药体积，其中给药周期为 28 天。给药方式：伊马替尼组为腹腔注射，其余组为灌胃给药。给药频率：尼达尼布组为一天两次，其余组为每天一次。

3.5 试验动物生理观察

建模当日起每周 2 次记录动物体重变化；密切观察动物临床表征，如呼吸急促、困难，吸腹，活动量减少，精神萎靡等。

3.6 局部皮肤观察

试验终点，动物经腹腔注射过量的戊巴比妥钠（100mg/kg）进行安乐死，然后拍摄皮肤局部照片。

3.7 试验终点

试验终点称重并记录，计算给药体积。给药后 6h，首先从小鼠眶静脉丛取全血，使用自动血液分析仪（Sysmex XS-800i）进行血常规检测。具体检测步骤如下：

检测前，将试管中的血液样品充分混匀；将样品置于吸样针下，然后按开始键吸样，待仪器指示灯灭后移走样品；仪器开始自动检测并输出结果。

然后动物腹腔注射戊巴比妥钠麻醉动物进行安乐死，解剖取材内容和顺序依次是：取脾脏称重并记录，取双侧腹股沟淋巴结速冻后保存于-80℃冰箱，取病变皮肤组织先进行皮肤图像采集，再浸泡于 10%福尔马林固定液固定，组织与福尔马林比例 1:10，固定 48h 后进行组织病理学检测。具体内容如下表 13 所示。

表 13. 实验终点

名称	内容	保存条件
外周血全血（100 μL）	末次给药后 6h 采集	常温
血浆	50 μL×2 份	-80℃
	50 μL +保护液	
脾脏	称重	NA
淋巴结	双侧腋窝和腹股沟淋巴结，	-80℃
病变皮肤	1/2 病变皮肤固定	中性福尔马林
	1/4 病变皮肤干冰冻存	-80℃
	1/4 病变皮肤加保护液	

3.8 组织病理学检测

按照病理学 SOP，对病变皮肤进行皮肤组织脱水，包埋和切片，组织进行 HE 和 Masson 染色。按照以下方法进行组织病理学分析：

3.8.1 真皮厚度

Masson 染色的切片，经过 Nanozomer S210 进行全景扫描，扫描图像利用 Visiopharm VIS6.0 软件进行定量分析。纤维化程度目前用 Masson 染色后的真皮厚度来表示。

3.8.2 真皮层内毛细血管密度评分

在病灶区的真皮层内选择观察视野（根据病灶区大小决定选择多少个视野）按照毛细血管密度在该区域所占面积进行评分：

- 0：未见毛细血管生成
- 1：毛细血管生成占比小于 25%；
- 2：毛细血管生成占比 25-50%；
- 3：毛细血管生成占比 50-75%；
- 4：毛细血管生成占比大于 75%。

3.8.3 真皮层炎细胞浸润评分

在病灶区的真皮层内选择观察视野（根据病灶区大小决定选择多少个视野）按照炎细胞浸润程度进行评分：

- 0：未见炎细胞浸润；
- 1：少量局灶性的炎细胞浸润；

- 2: 散在弥漫性的炎细胞浸润:
- 3: 大量弥漫性的炎细胞浸润
- 4: 大量聚聚成团的炎细胞浸润。

3.9 数据分析

5 使用 Graphpad prism6.0 软件, 计算均值 ± SEM, 差异显著性检验使用 t-检验, one-way ANOVA 检验或 two-way ANOVA 检验, p< 0.05 时认为两组之间具有显著性差异。

4 试验结果

4.1 体重变化

10 试验期间, 正常组动物体重呈上升趋势, 检测组 1#、检测组 2#、检测组 3# 体重保持稳定, 在正常范围内波动。只有尼达尼布组和伊马替尼组, 在给药后, 呈缓慢降低的趋势, 并且在第 25 至 28 天期间内, 与溶媒组相比, 一直有显著差异 (见下图 5、图 6)。其中伊马替尼组有一只动物在第 28 天出现死亡, 死亡当天的体重与建模前的体重相比下降了 23.7%。

15 4.2 脾脏和脏体系数

 在实验终点取脾脏, 称量脾脏重量并计算脏体系数 (脾脏/体重×100%), 结果如图 7 所示。溶媒组脾脏重量对比于正常组显著下降, 尼达尼布组、伊马替尼组、检测组 1#、检测组 2#、检测组 3#与溶媒组相比, 脾脏重量也显著降低。

 在脾脏脏体系数方面, 溶媒组和正常组相比, 没有明显差异, 表示造模后并不能改变小鼠的脾脏脏体系数, 只有尼达尼布组、检测组 1#、检测组 2#、检测组 20 3#, 与溶媒组相比, 有显著性差异 (表 14, 图 8)。

表 14. 脾脏重量和脏体系数

组别	脾脏 (g)	脏体系数 (%)
正常组	0.07±0.00	0.27±0.01
溶媒组	0.05±0.00***	0.24±0.01
尼达尼布组	0.04±0.00##	0.20±0.01 [#]
伊马替尼组	0.04±0.00 [#]	0.22±0.01
检测组 1#	0.04±0.00 ^{##}	0.18±0.01 ^{###}
检测组 2#	0.04±0.00 [#]	0.20±0.01 ^{##}
检测组 3#	0.04±0.00 ^{##}	0.18±0.01 ^{###}

***p< 0.001 vs. 正常组, [#]p< 0.05, ^{##}p< 0.01 vs. 溶媒组。

25 4.3 血常规

 实验终点采集外周血进行血常规检测。结果显示, 伊马替尼显著减少外周血红细胞和血红蛋白含量, 这也与该组动物在实验终点时出现贫血症状相符。此外, 伊马替尼能显著减少外周血白细胞的含量 (包括淋巴细胞和中性粒细胞); 对单核细胞有降低的趋势, 但无显著性差异。

30 与溶媒组相比, 检测组 3#在减少淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞方面, 均

具有显著差异，表明检测组 3#的剂量（100mg/kg）的治疗具有减轻炎症的作用，这与病理结果相一致（图 9 至图 15）。

4.4 皮肤病理染色结果

系统性硬化症（SSc）是一种自身免疫性疾病，表现为炎症、血管病变、皮肤和脏器纤维化。

本实施例选用博来霉素（BLM）建立小鼠纤维化模型，病理 HE 染色结果显示，与溶媒组和正常组相比，表现出显著的炎细胞浸润、真皮下毛细血管增生；Masson 染色结果显示溶媒组动物具有更强的皮肤纤维化程度，其真皮厚度也明显增加。尼达尼布和伊马替尼的治疗可以明显减轻病变皮肤炎细胞浸润和真皮下毛

细血管增生，检测组 2#、检测组 3#能显著减轻真皮层炎细胞浸润和真皮下毛

细血管增生。根据真皮厚度的统计结果来看，待测物内匹司他的三个不同剂量降低真皮厚度的效果呈递进式的，剂量越高降低结果越明显，但与模型组相比均无显著性差异。与检测组 1#、检测组 2#相比，检测组 3#具有更好的改善皮肤纤维化的效果（图 16 至图 18）。

由以上试验结果可以看出，检测组 2#、检测组 3#能够降低博来霉素刺激后外周炎细胞反应性增加的数量，减轻病变皮肤真皮层内炎细胞浸润和毛细血管增生，尤其以检测组 3#对应的 100mg/kg 剂量的效果最佳，而且 100mg/kg 亦能减轻病变皮肤的纤维化程度。

实施例 6：DBH 抑制剂对牛 IRBP R16 诱导的 Lewis 大鼠实验性自身免疫性葡萄膜视网膜炎（EAU）的影响

1. 材料和设备

表 15 . 试剂

试剂	供应商	批号
PEG400	国药集团化学试剂有限公司	20190806
生理盐水	江西科伦药业有限公司	C19070906
30% Solutol HS15	Sigma	BCCB9630
地塞米松	Shanghai Sine Pharmaceutical Laboratories Co, Ltd.	015191109
0.5%羧甲基纤维素钠	Sinopharm Chemical Reagent	30036365（cat No.）
IRBP 肽 R16	GL Biochem Co., Ltd	P191203-TL051092
完全弗氏佐剂	Sigma-Aldrich	SLCD6299
结核分枝杆菌 H37Ra	Difco Detroit, MI, USA	231141（cat No.）
Zoletil 50（舒泰 50）	Virbac S.A.	BN 6ALU（cat No.）
戴维森氏固定液	PHYGENE	PH0975

表 16. 设备

设备	厂家	型号
组织处理仪	Fisher/Thermo	A78400006
组织包埋机	Fisher/Thermo	B64100010

2. 药液的配制及保存

待测物-内匹司他药液：以 10mg/mL 内匹司他药液的配制为例：称取 40mg 内匹司他至棕色样品瓶中，添加 0.8 mL PEG400，在旋涡仪上旋涡，超声 15 分钟，于 40℃的水浴中加热 15 分钟，形成悬浊液，然后添加 0.4 mL 30% Solutol HS15，旋涡悬浊液，然后添加 2.8 mL 生理盐水，完全旋涡至溶液。每天现配现用。

对照品-地塞米松药液：将地塞米松悬浮在质量浓度为 0.5%的羧甲基纤维素钠中，浓度为 0.04 mg/mL。每天现配现用。

10 IRBP R16 溶液：将牛 IRBP R16 多肽溶解于生理盐水中至终浓度为 300µg/mL。完全弗氏佐剂（CFA）：将 15 mg 结核分枝杆菌 H37Ra 与 10 mL CFA 混合，最终浓度为 2.5 mg/mL（CFA 本身含 1.5 mg/mL 的 H37Ra，10 mL CFA 中加入 15 mg 的 H37Ra，终浓度为 2.5 mg/mL）。

15 乳化液制备：乳化液是用手工混合的方法制备的。首先，取 2 个 10mL 的注射器，其中一个注射器吸入 4 mL 的 300 µg/mL IRBP R16 溶液并连接到三通旋塞阀上，确保所有气泡均已清除。然后连接一个含有 4 mL CFA 的注射器并快速开始混合。通过来回推柱塞手动混合 5 分钟。最后使用另一个 10 mL 的注射器吸入 8 mL 乳化液，然后连接一个大口径针头（例如 18 g），针头插入 1 毫升注射器的端部，将乳化液分装入 10 个 1 mL 的注射器中，同时当针头套上注射器后可来回推动柱
20 塞，并确保没有气泡。乳化液在配制好后 3 小时以内使用。

3. 试验方法

测试大鼠为购自北京维通利华实验动物技术有限公司的 6 至 8 周龄雌性 Lewis 大鼠，约 180 至 220 g，实验开始时无携带特定病原体。在室温（20 至 26℃，相对湿度 40 至 70%）的房间里（每个笼子 2 至 4 只）进行 12/12 小时的明暗循环。
25 所有实验方案均得到澎立生物 IACUC（实验动物管理委员会）的批准。实验前，测试大鼠在澎立生物实验室中适应 7 天。

（1）IRBP R16 乳化液免疫大鼠

在第-1 天（即免疫接种的前一天，下同），将 60 只大鼠根据体重随机分为 6 组（n=10）（见表 18）。第 0 天，第 2 至 6 组大鼠用异氟烷麻醉，然后皮下注射
30 共 200mL 的 IRBP R16 与 CFA 按 1:1 v/v 比例乳化所得的乳化液，在两条大腿（每个部位 50µL）和尾部根部（100 µL）分别进行。

其中第 0 天是指免疫接种的当天。每只大鼠的体重在免疫后每周监测两次。

（2）大鼠的 EAU 临床评价

从免疫后第 0 天开始，测试大鼠的眼睛的上下眼睑被轻轻地拨开，每天用手

电筒检查大鼠的眼睛，记录疾病的发生率。根据表 17 中列出的标准，从疾病开始到研究结束，以盲法对临床症状进行评分。

表 17. 大鼠 EAU 临床评分

评分	标准
0	无疾病；眼睛半透明并反射光线（红色反射）
0.5（痕量）	虹膜血管扩张
1	虹膜血管充盈；瞳孔收缩异常
2	模糊性前房；红色反射减弱
3	中度不透明前房，但瞳孔仍可见；暗红色反射
4	前房混浊，瞳孔模糊；红色反射缺失；眼球突出

5 （3）给药方案

从第 0 天开始给药，按动物体重精确给药，一共 16 天。测试大鼠的给药方案见表 18。

表 18. 给药方案

组别	药物	大鼠数量 (只)	给药途径	母液浓度 (mg/mL)	剂量		给药频率
					mL/kg	mg/kg	
1	空白对照 ^a	10	PO	N/A	10	N/A	QD×16 天
2	模型对照 ^a	10	PO	N/A	10	N/A	QD×16 天
3	地塞米松 ^b	10	PO	0.04	10	0.4	QD×16 天
4	内匹司他 (25mpk)	10	PO	2.5	10	25	QD×16 天
5	内匹司他 (50mpk)	10	PO	5	10	50	QD×16 天
6	内匹司他 (100mpk)	10	PO	10	10	100	QD×16 天

a: 20%PEG400+10%（30% Solutol HS15）+70%生理盐水

10 b: 0.5%羧甲基纤维素钠。

 （4）实验结果的统计分析

结果以“均值±标准误差”表示。使用 Graphpad Prism 或 SPSS 进行统计分析，p<0.05 被认为具有统计学意义。

15 4. 试验结果

 （1）大鼠体重

试验大鼠的体重变化具体如下表 19 所示，分别以均值和标准误差示出。

表 19. 大鼠体重（g）

均值	第-1 天	第 2 天	第 6 天	第 9 天	第 13 天	第 16 天
空白对照	195.89	198.20	209.00	215.42	216.80	221.80
模型对照	186.99	192.94	200.05	204.24	209.85	210.04

地塞米松	188.46	174.65	166.65	164.05	162.10	161.29
内匹司他（25mpk）	188.31	193.95	204.67	207.81	214.28	219.00
内匹司他（50mpk）	189.34	194.04	202.28	206.07	216.20	218.42
内匹司他（100mpk）	189.92	194.02	205.97	214.36	223.98	227.40
标准误差	第-1 天	第 2 天	第 6 天	第 9 天	第 13 天	第 16 天
空白对照	2.77	2.32	1.97	2.84	2.62	3.28
模型对照	2.49	1.87	2.47	2.33	2.98	2.84
地塞米松	2.41	1.66	2.19	2.29	3.13	3.27
内匹司他（25mpk）	2.55	2.13	2.94	2.31	2.50	3.23
内匹司他（50mpk）	2.61	2.21	2.14	3.36	3.39	2.81
内匹司他（100mpk）	2.72	3.82	3.38	3.85	3.28	3.86

(2) 重量变化率

表 20. 重量变化率（%）

均值	第-1 天	第 2 天	第 6 天	第 9 天	第 13 天	第 16 天
空白对照	0.00%	3.47%	7.84%	9.71%	11.59%	13.89%
模型对照	0.00%	3.25%	7.06%	9.26%	12.23%	12.36%
地塞米松	0.00%	-7.26%	-11.53%	-12.92%	-13.99%	-14.44%
内匹司他（25mpk）	0.00%	3.25%	7.06%	9.26%	12.23%	12.36%
内匹司他（50mpk）	0.00%	2.53%	6.90%	8.83%	14.24%	15.41%
内匹司他（100mpk）	0.00%	2.11%	8.45%	12.84%	17.96%	19.77%
标准误差	第-1 天	第 2 天	第 6 天	第 9 天	第 13 天	第 16 天
空白对照	0.00%	0.61%	0.88%	0.78%	0.76%	0.81%
模型对照	0.00%	0.72%	1.24%	0.60%	0.75%	0.95%
地塞米松	0.00%	0.92%	0.91%	0.91%	1.28%	1.18%
内匹司他（25mpk）	0.00%	0.72%	0.84%	0.87%	1.20%	1.06%
内匹司他（50mpk）	0.00%	0.61%	0.81%	0.87%	1.48%	1.05%
内匹司他（100mpk）	0.00%	0.97%	0.88%	0.84%	0.89%	1.46%

5 (3) 临床评分

参见图 19 和表 21。

表 21. 临床评分的曲线下面积 AUC

	空白对照	模型对照	地塞米松	内匹司他 (25mpk)	内匹司他 (50mpk)	内匹司他 (100mpk)
AUC	0	49.60	7.68	45.30	39.65	37.65
标准误差	0	3.80	0.85	4.27	4.30	5.14
抑制率 ^a	N/A	N/A	84.53%	8.67%	20.06%	24.09%

a: 抑制率=[AUC（模型对照）-AUC（测试组）]/AUC（模型对照），测试组包括地塞米松组和内匹司他组。

10

(4) 发病率

表 22. 发病率 (%)

天	空白对照	模型对照	地塞米松	内匹司他 (25mpk)	内匹司他 (50mpk)	内匹司他 (100mpk)
第-1天	0	0	0	0	0	0
第0天	0	0	0	0	0	0
第1天	0	0	0	0	0	0
第2天	0	0	0	0	0	0
第3天	0	0	0	0	0	0
第4天	0	0	0	0	0	0
第5天	0	80	0	70	70	80
第6天	0	100	0	100	100	80
第7天	0	100	10	70	100	50
第8天	0	100	20	100	100	100
第9天	0	100	100	100	100	100
第10天	0	100	100	100	100	100
第11天	0	100	90	100	100	100
第12天	0	100	90	100	100	100
第13天	0	100	90	100	100	100
第14天	0	100	90	100	100	100
第15天	0	100	90	100	100	100
第16天	0	100	90	100	100	100

通过 EAU 临床评分的增加可证明大鼠葡萄膜炎模型造模成功。内匹司他的治疗可轻度改善葡萄膜炎的症状，降低了 EAU 临床评分和临床评分 AUC，但这种效果没有达到统计学意义。

内匹司他在 25、50 和 100mg/kg 剂量下对临床评分 AUC 的抑制率分别为 8.67%、20.06%、24.09%。作为阳性对照，通过地塞米松治疗，葡萄膜炎的临床评分和临床评分 AUC 显著降低，对临床评分 AUC 的抑制率为 84.53%。

10 实施例 7：DBH 抑制剂对 NMO-IgG 诱导的小鼠视神经脊髓炎（NMO）的影响

1. 材料和设备

表 23. 试剂

试剂	供应商	批号
PEG400	国药集团化学试剂有限公司	20190806
生理盐水	江西科伦药业有限公司	C19070906
30% Solutol HS15	Sigma	BCCB9630
地塞米松	Shanghai Sine Pharmaceutical Laboratories Co, Ltd.	015191109
5%水合氯醛	LEAGENE	0415A19

表 24. 设备

设备	厂家	型号
RWD 脑立体定位仪	瑞沃德生命科技有限公司	68025
Kd Scientific 注射泵	Kd Scientific	legato130
Hamilton 微量进样针	Hamilton	Gastight#1702
一次性带线缝合针	宁波医用缝针有限公司	角针 3/0 单针

2. 药液的配制及保存

待测物-内匹司他药液：以 5mg/mL 内匹司他药液的配制为例：称取 50mg 内匹司他至棕色样品瓶中，添加 1.98 mL PEG400，在旋涡仪上旋涡，超声 15 分钟，于 40℃ 的水浴中加热 15 分钟，形成悬浊液，然后添加 0.99 mL 30% Solutol HS15，旋涡 2.97mL 的悬浊液，然后添加 6.93 mL 生理盐水，完全旋涡至溶液。每天现配现用。

对照品-地塞米松药液：将地塞米松分散于生理盐水中，浓度为 0.1 mg/mL。每天现配现用。

对照品-丹参酮 II a 药液：将丹参酮 II a 溶解于含有 2%DMSO 的 PBS 中，浓度为 0.0736 mg/mL。

3. 试验方法

测试小鼠为购自北京维通利华实验动物技术有限公司的雌性 C57 小鼠，20 至 22g，实验开始时无携带特定病原体。

(1) 造模步骤

1) 5%水合氯醛腹腔注射麻醉 C57 雌性小鼠（6 至 8 周）（70μL/10g）。

2) 头顶剪毛漏出头皮，将小鼠头部固定于脑立体定位仪，使其头顶颅骨保持大致水平。碘伏消毒。

3) 纵向剪开头皮约 0.5cm，寻找前囟和后囟区域。旋转立体定位仪卡尺，将微量进样针针尖移动至前囟及后囟区域，通过观察针尖距前后囟点高度使老鼠颅骨保持水平。调至水平后，将针尖移到前囟点，然后向右移 2mm，进行定位。

4) 在定位后的小鼠颅骨表面进行标记，用颅骨钻在该点进行钻孔。钻孔过程中，注意避开血管，小心深入，避免损伤硬膜以及脑组织。

5) 用立体定位仪垂直将微量进样针插入小鼠脑组织中，垂直进针深度 3mm，使针保持原位，停针等待 5min。

6) 开启注射泵，选择 Infuse Only 模式，速度为 1μL/min，进行注射（2μL NMO-IgG+3μL 人补体+5μL PBS/药品，提前混合吹匀，置于冰上）。

7) 注射完成后，停针等待 10min。旋转卡尺缓慢向上拔针，向上 1mm 后停针 5min，直至进样针全部拔出，缝合皮肤，用碘伏再次消毒。

(2) 给药方案

在造模前 3 天开始给药，造模后给药 7 天，连续给药 10 天。具体给药方案如

下表 25 所示。

表 25. 给药方案

组别	药物	大 鼠 数 量（只）	给 药 途径	母 液 浓 度 （mg/mL）	剂 量		给药 频率
					mL/kg	mg/kg	
1	溶媒	15	PO	N/A	10	N/A	QD×10 天
2	丹参酮 II	15	IP	0.0736	10	736μg/ mL	QD×10 天
3	地塞米松	15	IP	0.1	10	1 mg/kg	QD×10 天
4	内 匹 司 他 （50mpk）	15	PO	5	10	50	QD×10 天
5	内 匹 司 他 （100mpk）	15	PO	10	10	100	QD×10 天

（3）样品采集

5 在模型第 8 天（即最后一次给药的后一天），安乐死处死实验小鼠，取脑部组织作冰冻切片。然后测定各组小鼠星形胶质细胞标志物的免疫反应面积并评价（实验方法参见文献：Ye Gong 等，Journal of Neuroinflammation, 17（1）. doi:10.1186/s12974-020-01874-6）。

4. 试验结果

10 图 20A 至图 20D 显示，从 AQP4 和 GFAP 的病灶比来看，与对照组相比，内匹司他组可显著减少病灶比，效果低于阳性药组。但对于免疫参数 CD45 和 IBA1 无显著影响。因此，内匹司他对 NMO-IgG 诱导的小鼠视神经脊髓炎具有一定的抑制作用。

15 实施例 8： DBH 抑制剂对咪喹莫特（IMQ）诱导的银屑病的治疗作用

1. 材料和设备

表 26. 试剂

试剂	供应商	货号
5%咪喹莫特乳膏	Aldara, 3M Pharmaceuticals	/
地塞米松乳膏	三军医药有限公司	H44024170
枸橼酸托法替尼	大连美仑生物科技有限公司	MB3358
PEG400	西格玛	202398
Solutol HS15	西格玛	42966
EtOH	上海阿拉丁生化科技有限公司	A500737-0500
Cremophor EL	Sigma	C5135
Poloxamer 188	Sigma	9003-11-6

表 27. 设备

设备	型号
电子天平	MFC: 9092250
分析天平	SECURA225D-1CN+YDP20-0CEV1
离心机	Eppendorf_5424

表 28. 试验动物

动物种类和品系:	Balb/c 小鼠
饲养者/供应商:	北京维通利华实验动物技术有限公司
性别、年龄:	雌性, 7-8 周
实验机构:	药明康德医药科技有限公司 (南通)
适应期:	7 天
房间:	SPF 级
室温:	20-26 °C
相对湿度:	40-70%
光照周期:	12/12 小时光照/黑暗交替
饲养密度:	5 只/笼
食物和水:	自由获取食物和水

本方案中进行的所有实验均经药明康德 (Wuxiapptec) 机构动物保护和使用委员会 IACUC 的批准。

2. 药液的配制和保存

待测物-内匹司他口服用药溶液: 制备 9.9mL 浓度为 5mg/mL 的内匹司他溶液用于口服给药: 称取 50mg 内匹司他, 加入 1.98mL PEG400, 超声 15 分钟, 40℃ 水浴加热 15 分钟, 旋涡至悬浮液。向 1.98mL 内匹司他悬浮液中添加 0.99mL 30%Solutol HS15 并旋涡至悬浮液。将 6.93mL 生理盐水加入 2.97mL 内匹司他悬浮液中, 并旋涡到溶液。

待测物-内匹司他局部用药溶液: 制备 1mL 内匹司他 (50mg/mL) 外用: 称取 50.13mg 内匹司他, 加入 100μL PG, 在 45℃下搅拌 10 分钟, 得到均匀的不透明悬浮液; 再添加 200μL 乙醇, 并在 45℃下搅拌 5 分钟, 以获得均匀的不透明悬浮液; 然后再加入 200μLCremophor EL, 在 45℃下搅拌 5 分钟, 以获得均匀的不透明悬浮液。再向悬浮液中加入 500μL 5% Poloxamer 188, 在 45℃下搅拌 30 分钟, 得到澄清溶液。

对照品-枸橼酸托法替尼溶液: 将枸橼酸托法替尼溶于二甲基亚砜中得浓度为 5mg/mL 的溶液, 在 IMQ 软膏中加入 50μL 上述溶液用于局部应用。

3. 试验方法

(1) 剃须毛发

在实验开始前一天, 所有老鼠的背部都用宠物理发器剃毛, 面积为 2×3 厘米。

(2) 分组

将 65 只动物按体重随机分组, 给药方案如下。

表 29. 分组和给药方案

组别	小鼠数量	实验药品	局部诱导	治疗	剂量 (mg/kg)	给药方案	
						途径	频率
1	5	正常组	无	N/A	N/A	N/A	N/A
2	10	溶媒组 A	62.5 mg 5%IMQ QD×7 天	10mL/kg	N/A	口服	QD×7 天
3	10	溶媒组 B	62.5 mg 5%IMQ QD×7 天	40μL/只小鼠	N/A	局部给药	QD×7 天
4	10	阳性对照 (地塞米松)	62.5 mg 5%IMQ QD×7 天	70mg 软膏/只小鼠	2	局部给药	QD×7 天
5	10	阳性对照 (托法替尼)	62.5 mg 5%IMQ QD×7 天	5mg/mL 50μL/只小鼠	12.5	局部给药	QD×5 天 BID×2 天
6	10	内匹司他 A	62.5 mg 5%IMQ QD×7 天	10mL/kg	50	口服	QD×7 天
7	10	内匹司他 B	62.5 mg 5%IMQ QD×7 天	40μL/只小鼠	100	局部给药	QD×7 天

溶媒 A: 20% PEG400+10% (30% Solutol HS15) +70% 生理盐水;

溶媒 B: 10%PG/20%EtOH/20%Cremophor EL/50%(5% Poloxamer 188 水溶液)。

5

(3) IMQ 和阳性对照制剂

咪喹莫特 (IMQ) 乳膏: 从 G2 到 G7, 每只小鼠对应剂量为 62.5 mg IMQ 乳膏;

地塞米松 (DEX) 软膏: G4 中每只小鼠对应剂量为 70 mg 药膏;

10 托法替尼: 将托法替尼溶解在二甲基亚砜中至 5mg/mL, 加入 50μL 到 IMQ 乳膏中进行日常治疗。

(4) IMQ 致敏和给药

从第 0 天到第 7 天, 第 2 组到第 7 组的小鼠在剃光的背部接受每日局部剂量 62.5 mg 的 IMQ 乳膏。

15 试验化合物和对照品的给药按表 29 进行, 连续 7 天。

(5) 疾病评估

为了评估背部皮肤炎症的严重程度, 对背部皮肤按表 30 进行评分。红斑、鳞屑和增厚在 0 到 3 范围内独立评分, 0、无; 1、轻度; 2、中度; 3、明显/严重。

表 30. 临床评分参数

临床评分参数	
红斑	无（0）、轻度（1）、中度（2）、重度（3）
厚度	无（0）、轻度（1）、中度（2）、重度（3）
鳞屑	无（0）、轻度（1）、中度（2）、重度（3）

（6）试验终止与取样

实验终止时，通过 CO₂ 吸入安乐死小鼠：

- 1) 通过心脏穿刺采集血液，并对血浆进行处理，各 3 份，1 份在保护溶液中，
- 2 份快速冷冻；
- 2) 每组收取 5 个背部皮肤样品放入保护液中；5 个背部皮肤样品放入 PFA 中；
- 5 个背部皮肤样品快速冷冻；
- 3) 收集淋巴结，快速冷冻；
- 4) 收集脾脏样品并称重（图 23）。

（7）数据统计

使用 Graph Pad Prism6.0 软件，通过单因素方差分析对数据进行统计分析。

4. 研究结果

（1）体重

在整个研究过程中，每天监测体重。连续使用 IMQ 乳膏可降低溶媒组的平均
体重。除此之外，地塞米松治疗组（G4）的体重下降更为明显。但是治疗组和溶
媒组之间没有统计学显著差异（图 21）。

（2）临床评分

每天对背部皮肤的红斑、鳞屑和厚度进行评分。此外，三者相加（红斑+厚度
+鳞屑）表示为总分。地塞米松治疗组对炎症有明显的抑制作用，提示 IMQ 乳膏
诱导的银屑病模型是成功的。

内匹司他口服组从第 5 天到第 7 天抑制红斑和厚度。内匹司他局部组从第 4
天到第 7 天抑制红斑。托法替尼在剂量加倍后，显示出疗效。内匹司他治疗不影
响疾病的发展和发病率，但在病程后期（第 5 天至第 7 天）显示出疗效。根据各
组动物的总临床评分曲线，计算曲线下面积（AUC）（图 22）。

按以下公式计算抑制率：抑制率=[AUC（溶媒）-AUC（治疗）]/AUC（溶媒）
×100%。其中：溶媒是指对应给药方式的溶媒组。

地塞米松治疗组抑制率为 96.96%。内匹司他经口服治疗的 50 mpk 组对皮肤临
床评分有显著抑制作用，抑制率为 23.64%。然而，内匹司他经局部治疗的 100 mpk
组无明显疗效。

表 31. 红斑评分结果

	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
正常组	0	0	0	0	0	0	0	0

溶媒组 A	0	0.1	1.6	2	2.2	2.4	2.5	2.5
溶媒组 B	0	0	1.5	2	2.2	2.2	2.2	2.3
阳性对照（地塞米松）	0	0	0	0.2	0.1	0.1	0	0
阳性对照（托法替尼）	0	0	1.4	1.9	2.2	2	1.8	1.7
内匹司他 A	0	0	1.4	1.5	1.6	1.6	1.7	1.6
内匹司他 B	0	0	1.5	1.8	1.8	1.7	1.5	1.2

表 32. 鳞屑评分结果

	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
正常组	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒组 A	0	0	0	0.1	0.9	2.1	2.7	2.3
溶媒组 B	0	0	0	0	1	2.4	3	2.3
阳性对照（地塞米松）	0	0	0	0	0.2	0.2	0.2	0.1
阳性对照（托法替尼）	0	0	0	0.4	0.7	1.4	1.3	1.6
内匹司他 A	0	0	0	0	1.1	1.6	1.9	2.1
内匹司他 B	0	0	0	0	1.2	2.5	2.4	2.1

表 33. 厚度评分结果

	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
正常组	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒组 A	0	0.9	1.1	1.6	1.8	2	2	2
溶媒组 B	0	0.9	1.1	1.5	1.5	1.7	1.6	1.8
阳性对照（地塞米松）	0	0	0	0	0	0	0	0
阳性对照（托法替尼）	0	0.8	1.4	2.2	2	2.2	2	1.9
内匹司他 A	0	0.6	1.2	1.6	1.4	1.3	1.4	1.4
内匹司他 B	0	0.9	1.3	1.5	1.5	1.3	1.3	1.4

5

表 34. 红斑+鳞屑+厚度总评分结果

	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
正常组	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒组 A	0	1	2.7	3.7	4.9	6.5	7.2	6.8
溶媒组 B	0	0.9	2.6	3.5	4.7	6.3	6.8	6.4
阳性对照（地塞米松）	0	0	0	0	0.3	0.3	0.2	0.1
阳性对照（托法替尼）	0	0.8	2.8	4.5	4.9	5.6	5.1	5.2

尼)								
内匹司他 A	0	0.6	2.6	3.1	4.1	4.5	5	5.1
内匹司他 B	0	0.9	2.8	3.3	4.5	5.5	5.2	4.7

5. 本实施例的目的是研究试验化合物对 IMQ 诱导的银屑病模型的疗效。结果表明，应用 IMQ 会导致严重的皮肤炎症。与溶媒组对照组相比，内匹司他的 PO 治疗组对临床症状的治疗效果轻微。

5

实施例 9：DBH 抑制剂对胶原诱导的小鼠关节炎（CIA）中的治疗作用

1. 实验材料

牛二型胶原，CII，四川大学；
乙酸，Sigma（St. Louis，MO，USA），货号：A8976；
完全弗氏佐剂，Sigma，货号：F5881；
20% PEG400+10%（30% Solutol HS15）+70% 生理盐水；
托法替尼，>98%，大连美仑生物技术有限公司 MB3358。

10

2. 受试化合物

表 35

化合物名称	内匹司他
性状	白色粉末
纯度	99.73%
盐系数	/
分子量	/
保存条件	-20 °C
配制方法	20% PEG400+10%（30% Solutol HS15）+70% 生理盐水

15

称取 40 mg 待测物至棕色样品瓶中，加入 0.8 ml PEG400，于漩涡仪上涡旋，超声 15 分钟，40°C 水浴加热 15 分钟，成悬浊液；然后在加入 0.4 ml 30%Solutol HS15，于漩涡仪上涡旋混匀；然后再加入 2.8 ml 生理盐水，于漩涡仪上涡旋混匀，至成溶液；化合物浓度为 10mg/ml。每三天配置一次，保存于 4 °C 备用。

20

3. 实验仪器

麻醉机：Raymain，RM-HSIV-u；
高速匀浆机：IKA，T10 basic；
化合物称量天平：Sartorius，CPA225D；
动物称量天平：常州天之平电子天平，YH2000。

25

4. 实验动物及饲养环境

动物种系：DBA/1 小鼠
供应商：北京维通利华实验动物技术有限公司

性别体重：雄性，14-20 g，无特定病原体（SPF）
适应期：3-7 天
环境：SPF 动物饲养室，药明康德上海外高桥动物饲养中心
温度：20-26°C
湿度：40-70%
光照：荧光灯，明（08:00-20:00）、暗（20:00-08:00）各 12 小时
饲养密度：5 只/笼
食物：自由进食（辐射灭菌饲料）
饮水：自由饮水（摩尔（超）纯水器制备）。

本实施例报告描述的动物操作通过了药明康德公司实验动物使用及管理（伦理）委员会（IACUC）的审核及批准。

5. 实验方法

1) 二型胶原/完全弗氏佐剂免疫

5 乙酸的配制：稀释 2N 的乙酸至 100 mM，用 0.22 微米滤膜过滤后，4°C 保存。
牛二型胶原溶液：将牛二型胶原（CII）溶解于 100 mM 的乙酸溶液中，并置于 4°C 过夜保存。胶原蛋白的终浓度为 8 mg/mL。

乳剂的制备：将过夜保存的 CII 溶液与等体积的完全弗氏佐剂混合，使用高速匀浆机，在冰上以 30000 转每分钟匀浆大约 60 分钟，直至溶液形成稳定的乳剂。

10 2) 关节炎的诱导

DBA/1 小鼠经异氟烷麻醉后，在尾部皮下注射 50 微升的制备好的胶原乳剂(包含 200 微克 CII)。第一次免疫当天记为第 0 天，随后的天数依序标注。第 21 天，尾部注射相同体积胶原乳剂。

3) 给药和剂量设计

15 当模型小鼠出现临床症状，平均分约为 0.5（第 28 天左右），按照体重和评分重新随机分组到 5 个实验组，每组 8 只小鼠。连续给药 14 天。化合物每 3 天配置一次，4°C 保存。

表 36. 分组及剂量设计

组别	动物数	给药剂量 (mg/kg)	给药途径	给药频率	给药周期
正常组	5	-	-	-	-
溶媒组	8	NA	PO	QD	2 周
阳性对照（托法替尼）	8	10	PO	BID	2 周
内匹司他	8	50	PO	QD	2 周

20 4) 关节炎发病指标测定

从第 28 天后，一周三次对小鼠进行称重并记录临床评分，直至实验结束。

临床评分：根据病变的不同程度（红肿，关节变形）按照 0-4 分的标准进行评分，每个肢体的最高评分为 4 分，每只动物最高评分为 16 分。

表 37. 关节炎临床评分标准

分值	临床症状
0	无红斑和红肿
1	近跗骨附近或踝关节或跖骨出现红斑或轻度红肿，1 个脚趾红肿
2	踝关节和跖骨轻微红斑和肿胀，或超过两个脚趾红肿
3	踝、腕关节和跖骨中度红斑和肿胀
4	踝、腕关节，跖骨和脚趾全部严重红肿

5) 关节炎发病指标测定

- 5
- a. 收集小鼠后爪，固定于 PFA，用于 H&E 染色和病理评分；
b. 收集小鼠脾脏，进行 FACS 染色。

6) 统计学处理

实验数据用平均数±标准误表示，体重和临床评分用双因素方差分析（Two-way ANOVA）， $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

6. 实验结果

- 10
- 参见图 24 至图 27，内匹司他对胶原诱导的小鼠关节炎有一定的已知作用，但不如阳性对照药明显。

实施例 10: DBH 抑制剂对 2,4-二硝基苯磺酸（DNBS）诱导大鼠肠炎的治疗作用

- 15
1. 材料和设备

表 38. 试剂

试剂	供应商	货号
醋酸泼尼松片（简称泼尼松）	上海上药信谊药厂有限公司	017180604
羧甲基纤维素钠	国药集团化学试剂有限公司	20180412
生理盐水	江西科伦药业有限公司	C19070906
PEG400	国药集团化学试剂有限公司	20190806
30% Solutol HS15	Sigma Aldrich	BCCB9630
2,4-二硝基苯磺酸（DNBS）	东京化成工业株式会社（TCI）	LSMRO-RA
乙醇	国药集团化学试剂有限公司	20190313
舒泰	Virbac S.A.	N/A
甲苯噻嗪	东京化成工业株式会社（TCI）	X0059
葡萄糖氯化钠注射液	山东华鲁制药有限公司	G18071503

表 39. 仪器

仪器	供应商	型号
灌肠软管	法国 Vygon	ACL 7157348

2. 药液的配制及保存

待测物-内匹司他药液：称取 12 mg 内匹司他至棕色样品瓶，加入 0.8 mL 聚乙二醇 400，涡旋振荡并超声 15 分钟，40°C 水浴加热 15 分钟，形成混悬液，然后加入 0.4 mL 30%聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯，涡旋，然后加入 2.8 mL 生理盐水，涡旋使其完全溶解。

对照品-泼尼松药液：泼尼松的使用浓度为 0.9 mg/mL，使用 0.5%羧甲基纤维素钠制备成混悬液，一周配制两次。

DNBS 药液的制备：将 DNBS 粉末用 30%乙醇溶解，终浓度为 50 mg/mL。

3. 大鼠的处理

动物种属及品系：Wistar 大鼠；

给药记录：无给药史；

性别、年龄、体重：雄性，5 至 6 周，160 至 180g；

养殖方/供应商：上海斯莱克实验动物有限公司；

实验机构：澎立生物动物房；

适应期：7 天；

房间：普通区房间；

室内温度：20 至 26 °C；

室内相对湿度：40 至 70%；

灯光：日光灯照明，12 小时照明及 12 小时无照明；

动物饲养：每笼 2 至 4 只大鼠（同一给药组）；

食物：自由获取饲料（经辐照消毒，江苏省协同医药生物工程有限公司，中国）；

水：自由获取饮用水（经反渗透处理或高压灭菌）。

从上海斯莱克实验动物有限公司购入共计 90 只雄性 Wistar 大鼠，动物均无携带特定病原，到达澎立生物动物房时约为 4 至 5 周（140 至 150g）。

动物到达澎立生物后，动物房人员将动物从运输包装中转移至鼠笼并对每只动物进行检查。检查范围包括外观、四肢和孔腔等，以及动物静止或运动时是否有异常表现。适应期为 7 天。

设计应用于动物的实验操作方案由澎立生物 IACUC（实验动物管理和使用委员会）进行审批。

根据动物体重，在第-1 天（即正式实验前的一天），将 90 只动物随机分组，确保每组动物的体重值相似，减少偏差。实验前大鼠禁食 40 小时，并且在禁食期间给大鼠皮下注射 5%葡萄糖盐水（10mL/kg，每天一次）。

实验分组情况：

实验第 1 天，腹腔注射舒泰（25 mg/kg 替来他明和 25 mg/kg 唑拉西洋）和 5

mg/kg 甲苯噻嗪麻醉禁食大鼠。

G2 组-G6 组，将软管从肛门伸入到结肠左曲（约肛门 8 cm 处），用 DNBS 灌肠（0.5 mL/只）诱导大鼠结肠炎。正常对照组（G1）以同样的方法用 30%乙醇灌肠。灌肠的动物使其头下低 15 min，然后保持特伦德伦伯卧位姿势直到动物苏醒，以避免灌肠液回流。

表 40. 分组及给药方案

组别	测试物	模型	动物数	给药途径	浓度	给药剂量		给药方案
					mg/mL	mL/kg	mg/kg	
G1	正常对照组	乙醇	15	PO	N/A	10	N/A	QD×7
G2	模型对照组	DNBS	15	PO	N/A	10	N/A	QD×7
G3	泼尼松	DNBS	15	PO	0.9	10	9	QD×7
G4	检测组 1#	DNBS	15	PO	0.3	10	3	QD×7
G5	检测组 2#	DNBS	15	PO	1	10	10	QD×7
G6	检测组 3#	DNBS	15	PO	3	10	30	QD×7
G1 正常对照组，30%乙醇灌肠 4h 后用 20%聚乙二醇 400+10%（30%聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯）+70%生理盐水灌胃，10 mL/kg，一日一次，连续给药 7 天； G2 模型对照组，DNBS 诱导 4h 后用溶媒 20%聚乙二醇 400+10%（30%聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯）+70%生理盐水灌胃，10 mL/kg，一日一次，连续给药 7 天； G3 泼尼松组，DNBS 诱导 4h 后用泼尼松灌胃，9 mg/kg，一日一次，连续给药 7 天； G4 至 G6 待测物组，DNBS 诱导 4h 后分别用不同剂量的待测物灌胃，一日一次，连续给药 7 天。								

4. 检测指标

（1）动物体重：每天测量记录动物的体重，并对动物的日常活动进行观察，记录异常情况。体重百分比按照以下公式计算：（第 x 天体重-起始体重）/起始体重]×100%。

（2）粪便评分：实验过程中，每天对大鼠粪便状态进行评分（0=正常，1=潮湿/粘，2=松软，3=液体）。

（3）结肠观察：实验结束后，所有动物用舒泰（静脉注射，25 mg/kg）麻醉，打开腹腔，腹主动脉采血，EDTA 抗凝（离心条件：4℃，2000 g，10 min）动物放血处死后，取出结肠（从盲肠到肛门），立即测量结肠长度。将结肠纵向刨开，冲洗干净后记录结肠重量、溃疡面积并整体拍照，将结肠分为三部分，两部分液氮速冻后-80℃保存，用于 MPO 和细胞因子检测。另一部分结肠用 10%中性福尔马林固定。如果溃疡为不规则的形状,它可以被认为是矩形，然后其测量长度和宽度进行溃疡面积评估。溃疡面积（cm²）=溃疡长度（cm）×溃疡宽度（cm）。

（4）结肠组织进行病理分析

将中性福尔马林固定结肠组织的近端、溃疡（如无溃疡，取近似部位）和远端部分用石蜡包埋，进行切片（厚度 5 μm），用 H&E 染色进行组织病理学评分。

表 41

炎性细胞浸润			组织损伤	
0	偶见或未见炎性细胞浸润	0	粘膜未见损伤	
1	炎性细胞浸润固有层	1	局限性隐窝病灶	
2	炎性细胞浸润粘膜下层	2	粘膜糜烂或溃疡	
3	透壁性炎性细胞渗透	3	粘膜下层受到大面积损伤	

5. 统计分析

实验数据用均数±标准误表示。数据由 Graphpad Prism 采用相应的统计方法

5 分析。p<0.05 认为有显著性差异。

6. 实验结果

(1) 体重和粪便评分参见图 28 至图 31。

(2) 第 7 天结肠宏观评价

表 42. 第 7 天的结肠宏观评价

组别		BW	结肠长度	结肠重量	溃疡长度	溃疡宽度	溃疡面积
		(g)	(cm)	(g)	(cm)	(cm)	(cm ²)
G1:正常对照组	均值	181.69	1.28	16.51	0.00	0.00	0.00
	标准误差	1.05	0.03	0.24	0.00	0.00	0.00
G2:模型对照组	均值	161.79	2.05	10.70	1.71	1.21	2.09
	标准误差	2.18	0.11	0.42	0.08	0.04	0.14
G3:泼尼松	均值	162.92	1.61	11.56	0.77	0.85	1.26
	标准误差	1.67	0.08	0.39	0.21	0.29	0.62
G4:检测组 1#	均值	168.65	1.76	11.15	1.08	0.87	1.36
	标准误差	2.91	0.09	0.36	0.21	0.15	0.33
G5:检测组 2#	均值	169.54	1.69	12.01	0.97	0.73	1.17
	标准误差	2.80	0.09	0.40	0.22	0.17	0.32
G6:检测组 3#	均值	164.62	1.72	10.55	1.09	0.95	1.35
	标准误差	2.06	0.08	0.23	0.20	0.15	0.30

10

表 43. 第 7 天的结肠宏观评价

组别		比值					
		CW/CL/BW	IR1 ^a (%)	CW/BW	IR2 ^b (%)	CW/CL	IR3 ^c (%)
		×1000		×100		×10	
G1:正常	均值	0.43	/	0.71	/	0.78	/

对照组	标准误差	0.01	/	0.02	/	0.02	/
G2:模型对照组	均值	1.22	/	1.28	/	1.96	/
	标准误差	0.09	/	0.07	/	0.13	/
G3:泼尼松	均值	0.87	44.20	0.99	50.13	1.41	46.51
	标准误差	0.05	/	0.06	/	0.08	/
G4:检测组 1#	均值	0.96	32.98	1.05	40.24	1.60	30.82
	标准误差	0.06	/	0.06	/	0.09	/
G5:检测组 2#	均值	0.86	44.95	1.01	47.06	1.44	43.80
	标准误差	0.07	/	0.06	/	0.10	/
G6:检测组 3#	均值	1.00	27.12	1.05	39.85	1.64	26.68
	标准误差	0.05	/	0.05	/	0.08	/

BW: 体重;

CL: 结肠长度;

CW: 结肠重量;

- 5
- ^a: $IR1(\text{抑制率 } 1) = \{[CW/CL/BW(\text{模型组}) - CW/CL/BW(\text{测试药组})] / [CW/CL/BW(\text{模型组}) - CW/CL/BW(\text{正常组})]\} \times 100\%$;

^b: $IR2(\text{抑制率 } 2) = \{[CW/BW(\text{模型组}) - CW/BW(\text{测试药组})] / [CW/BW(\text{模型组}) - CW/BW(\text{正常组})]\} \times 100\%$;

^c: $IR3(\text{抑制率 } 3) = \{[CW/CL(\text{模型组}) - CW/CL(\text{测试药组})] / [CW/CL(\text{模型组}) - CW/CL(\text{正常组})]\} \times 100\%$ 。

10

(3) 病理评分

表 44. 病理评分

组别		近端		溃疡端		远端		总分	
		炎症	损伤	炎症	损伤	炎症	损伤	炎症	损伤
G1:正常对照组	均值	0.87	0.67	1.13	0.87	0.80	0.53	2.80	2.07
	标准误差	0.09	0.13	0.09	0.09	0.11	0.13	0.17	0.25
G2:模型对照组	均值	1.87	1.07	2.87	2.73	2.27	1.67	7.00	5.47
	标准误差	0.22	0.30	0.09	0.21	0.18	0.33	0.26	0.36
G3:泼尼松	均值	1.73	0.80	2.33	1.87	2.00	1.33	6.07	4.00
	标准误差	0.18	0.26	0.19	0.31	0.28	0.33	0.49	0.61
G5:检测组 2#	均值	1.60	0.47	2.40	2.13	2.07	0.93	6.07	3.53
	标准误差	0.16	0.17	0.21	0.29	0.23	0.28	0.44	0.51

7. 结论

- 15
- Wistar 大鼠用 DNBS 结肠内灌注诱导其产生炎症性结肠炎。结肠炎表现为动物体重显著下降, 粪便成形性评分显著增加, 结肠长度显著缩短, 结肠重量、结

肠重量：结肠长度（即 CW/CL）、结肠重量：体重比率（即 CW/BW）和结肠重量：结肠长度：体重比率（即 CW/CL/BW）显著增加，结肠溃疡面积显著增大，结肠炎性细胞浸润评分和组织损伤评分显著增加。

在本实施例中，阳性对照药泼尼松能够显著降低模型大鼠粪便成形性评分
5 AUC、肠重、CW/CL、CW/BW、CW/CL/BW 和结肠溃疡端炎性细胞浸润评分，其中 CW/CL/BW、CW/BW、CW/CL 的抑制率分别达 44.20%、50.13%和 46.51%。

检测组 1#（3mg/kg）对 CW/CL/BW、CW/BW 和 CW/CL 的抑制率分别为 32.98%、40.24%和 30.82%。

检测组 2#（内匹司他 10mg/kg 可显著降低 CW/CL、CW/CL/BW 和结肠组织
10 损伤总评分，CW/CL/BW、CW/BW 和 CW/CL 的抑制率分别为 44.95%、47.06%和 43.80%。

检测组 3#（30mg/kg）对 CW/CL/BW、CW/BW 和 CW/CL 的抑制率分别为 27.12%、39.85%和 26.68%。

综上所述，内匹司他对 DNBS 诱导大鼠结肠炎有一定的防治作用。
15

实施例 11：DBH 抑制剂对硫酸葡聚糖钠（DSS）诱导的结肠炎的抑制作用

1. 实验材料

表 45. 试剂

试剂名称	来源	货号	批号
Tween80	Sigma	P4780-100ML	BCCB6908
PEG300	MedChemExpress	HY-Y0873/CS-0015844	85948
PEG400	国药（沪试）	30150828	/
Solutol HS 15	Sigma-Aldrich	42966-1KG	BCCB9630
0.9%氯化钠注射液	双鹤药业	/	190507
DMSO	Sigma-Aldrich	D4540-100ML	BCCB6907

20 表 46. 待测物

化合物名称	来源	货号	批号	纯度
DSS	MP Biomedicals	160110	S3045	/
内匹司他	亚虹医药		0002812-058-01	99.79%
环孢菌素 A (CsA)	MedChemExpress	HY-BO579/CS-2761	31755	/
镰孢菌酸	MedChemExpress	HY-128483	536-69-6	98.1%
双硫仑	MedChemExpress	97-77-8	97170	98.8%
富马酸	MedChemExpress	HY-W015883	110-17-8	98%

实验动物：品系 C57BL/6 小鼠；来源：浙江维通利华实验动物技术有限公司；
性别：雌。主要仪器：电子天平：赛多利斯，QUINTIX35-1CN。

2. 实验方法

25 2.1 化合物的配制与贮存

称取适量环孢菌素 A（CsA）粉末放置于棕色样品瓶中，依次加入适量比例的 2%DMSO、30%PEG300、5%Tween 80 和 63%Saline，振荡溶解，每天配制一次。

称取适量内匹司他至棕色样品瓶中，依次加入适量一定比例的 20%PEG400、10%（30%Solutol HS15）和 70%生理盐水混匀，超声溶解，每 3 天一配，以维持其稳定性。

称取适量的镰孢菌酸放置于棕色样品瓶中，加入适量生理盐水，超声溶解，每七天配置一次。

称取适量的双硫仑放置于棕色样品瓶中，依次加入适量一定比例的 50%PEG300 和 50%生理盐水，超声溶解成悬浮液，给药前应先混匀，每七天配置一次。

称取适量的富马酸放置于棕色样品瓶中，加入适量的生理盐水，水浴加热溶解，每天配置一次。

表 47. 给药体积和药物贮存浓度

组别（n=10）	给药体积（mL/ kg）	给药剂量（mg/kg）	贮液浓度（mL/mg）
正常组	——	——	——
溶媒组			
环孢菌素 A	10	50	5
内匹司他	10	50	5
镰孢菌酸	10	100	10
双硫仑	10	100	10
富马酸	10	100	10

2.2 动物饲养

70 只，8 周龄，20 g 左右，雌性 C57BL/6 小鼠，饲养于单独通风笼子（IVC，每个笼子 5 只），温度控制（20±2℃），光照/黑暗交替 12/12 小时。开展实验之前，小鼠需在 SPF 级动物房适应性喂养三天，期间，保证充足的水跟食物。

2.3 分组与给药方案

实验小鼠在 SPF 级动物房适应性喂养三天，随机分成 7 组（8 个模型组和 1 个对照组）每组 10 只。小鼠给药从第 0 天开始，第 7 天结束。

表 48. 动物分组及给药方案

组别	动物数量	给药频率	给药途径	给药周期（天）
正常组	10	——	——	——
溶媒组	10			
环孢菌素 A	10	QD	PO	8
内匹司他	10	QD	PO	8
镰孢菌酸	10	BID	PO	8
双硫仑	10	QD	PO	8
富马酸	10	QD	PO	8

2.4 模型的建立

本实施例小鼠肠炎模型采用 DSS 诱导建模：模型组小鼠从第 0 天到第 7 天饮用 3.1% DSS（硫酸葡聚糖钠，分子量 36000-50000）水溶液，DSS 水溶液每天现配更换，防止降解。正常对照组小鼠饮用正常水。实验周期为 9 天，实验终点将小鼠安乐死并进行收样。

2.5 疾病活动度（DAI）评分

每天进行 DAI 评分，DAI 评分由 3 部分组成：体重变化、粪便性状和便血（或隐血）评分，具体的评分标准如表 49 所示。整个实验过程中，所有小鼠的 DAI 评分由同一人完成。

表 49. DAI 评分标准

评分	体重降低百分比	粪便性状	便血或隐血
0	0	正常	隐血阴性
1	1 至 5%	软便	隐血弱阳性
2	6 至 10%	松散便	隐血阳性
3	11 至 20%	稀便	少量血迹
4	>20%	水样便	大量血迹

2.6 结肠组织的采集

实验终点安乐死小鼠，剖取小鼠结肠进行拍照，测量长度，去除内容物后进行称重。

2.7 统计分析

数据以均值±标准误（ $\bar{X} \pm s$ ）表示，体重变化与疾病活动度评分采用双因素方法分析(two-way ANOVA)方法进行统计学分析并应用 Dunnett’s 进行组间比较，其余数据采用单因素方法分析（one-way ANOVA）方法进行统计学分析并应用 Dunnett’s 进行组间比较。所有分析使用 GraphPad Prism 软件进行。* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.005$ ，**** $P<0.0001$ vs. 溶媒组。

3. 实验结果与分析

收集实验期间各组小鼠体重数据并进行相应的 DAI 评分，数据的分析采用 Two-way ANOVA 的方法。

如图 32 所示，与溶媒组相比，阳性对照 CsA（50mg/kg，QD）和内匹司他（50mg/kg，QD）有效缓解了 DSS 诱导的小鼠体重下降。相比于溶媒组，镰孢菌酸（100mg/kg，bid）和双硫仑（100mg/kg，qd）未能得到有效缓解 DSS 诱导的小鼠体重下降。富马酸（100mg/kg，qd）有缓解 DSS 诱导的小鼠体重下降的趋势。

如图 33 所示，阳性对照 CsA（50mg/kg，QD）组与内匹司他（50mg/kg，QD）小鼠的疾病活动度评分（DAI）显著低于溶媒组。在给药期间，相比于溶媒组，镰孢菌酸（100mg/kg，bid）组、双硫仑（100mg/kg，qd）和富马酸（100mg/kg，

qd) 组小鼠的 DAI 能得到轻微的改善, 其中第 4 天, 第 5 天表现较为明显, 但效果低于内匹司他。

综合体重变化和 DAI 评分可知, 阳性对照 CsA (50mg/kg, QD) 和内匹司他 (50mg/kg, QD) 有效缓解 DSS 诱导结肠炎造成的小鼠体重降低及拉稀和便血的症状。5 镰孢菌酸 (100mg/kg, bid) 组、双硫仑 (100mg/kg, qd) 和富马酸 (100mg/kg, qd) 能轻微改善小鼠的 DSS 诱导结肠炎造成的小鼠拉稀和便血的症状, 但未能有效缓解 DSS 诱导结肠炎造成的小鼠体重降低。

参考文献

- 10 1. Rush RA, Geffen LB. Dopamine beta-hydroxylase in health and disease. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 1980, 12(3): 241-77.
2. Glennon RA. Phenylisopropylamine stimulants: amphetamine -related agents. *Principles of Medicinal Chemistry* (7th ed.). Philadelphia, USA: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. 2013, pp. 646-648. ISBN 9781609133450.
- 15 3. Taylor KB. Dopamine-beta-hydroxylase. Stereochemical course of the reaction. *J. Biol. Chem*. 1974, 249(2): 454-458.
4. Horwitz D, Alexander RW, Lovenberg W, Keiser HR. Human serum dopamine- β -hydroxylase. Relationship to hypertension and sympathetic activity. *Circ. Res*. 1973, 32(5): 594-599.
- 20 5. Mutschler J, Abbruzzese E, Witt SH, Dirican G, Nieratschker V, Frank J, et al. Functional polymorphism of the dopamine β -hydroxylase gene is associated with increased risk of disulfiram-induced adverse effects in alcohol-dependent patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2012, 32(4): 578-80.
6. Ella E, Sato N, Nishizawa D, Kageyama S, Yamada H, et al. Association
25 between dopamine beta hydroxylase rs5320 polymorphism and smoking behaviour in elderly Japanese. *Journal of Human Genetics*. 2012, 57(6): 385-90.
7. Bhaduri N, Sinha S, Chattopadhyay A, Gangopadhyay PK, Singh M, Mukhopadhyay KK. Analysis of polymorphisms in the dopamine beta hydroxylase gene: association with attention deficit hyperactivity disorder in Indian children. *Indian*
30 *Pediatrics*. 2005, 42(2):123-9.
8. Cubells JF, Sun X, Li W, Bonsall RW, McGrath JA, Avramopoulos D, Elston RC. Linkage analysis of plasma dopamine β -hydroxylase activity in families of patients with schizophrenia. *Human Genetics*. 2011, 130(5): 635-43.
9. Combarros O, Warden DR, Hammond N, Cortina-Borja M, Belbin O, Lehmann
35 MG, et al. The dopamine β -hydroxylase -1021C/T polymorphism is associated with the risk of Alzheimer's disease in the Epistasis Project. *BMC Medical Genetics*. 2010, 11(161): 162.
10. Stanley WC, Li B, Bonhaus DW, Johnson LG, Lee K, Porter S, et al. Catecholamine modulatory effects of nepicastat (RS-25560-197), a novel, potent and
40 selective inhibitor of dopamine-beta-hydroxylase. *British Journal of Pharmacology*.

- 1997, 121(8): 1803–9.
11. Beliaev A, Learmonth DA, Soares-da-Silva P. Synthesis and biological evaluation of novel, peripherally selective chromanylimidazoethione-based inhibitors of dopamine beta-hydroxylase. *J Med Chem*. 2006, 49(3): 1191-7.
- 5 12. Cvek B., Dvorak Z. Targeting of Nuclear Factor- κ B and Proteasome by Dithiocarbamate Complexes with Metals. *Current Pharmaceutical Design*. 2007, 13(30): 3155–67.
13. Hegde SS, Friday KF. Dopamine-beta-hydroxylase inhibition: a novel sympatho-modulatory approach for the treatment of congestive heart failure. *Current*
10 *Pharmaceutical Design*. 1998, 4(6): 469–79.
14. De La Garza, R 2nd, Bubar MJ, Carbone CL, Moeller FG, Newton TF, et al. Evaluation of the dopamine β -hydroxylase(DBH) inhibitor nepicastat in participants who meet criteria for cocaine use disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2015, 59: 40-8.
- 15 15. Nunes T, Rocha JF, Vaz-da-Silva M, Igreja B, Wright LC, et al. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of etamicastat, a novel dopamine- β -hydroxylase inhibitor, in a rising multiple-dose study in young healthy subjects. *Drugs in R & D*. 2010, 10(4): 225-242.
16. Almeida L, Nunes T, Costa R, Rocha JF, Vaz-da-Silva M, Soares-da-Silva P.
20 Etamicastat, a novel dopamine β -hydroxylase inhibitor: tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics in patients with hypertension. *ClinTher*. 2013, 35(12): 1983-96.
17. R C Alaniz , S A Thomas, M Perez-Melgosa, K Mueller, A G Farr, et al. Dopamine beta-hydroxylase deficiency impairs cellular immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* . 1999, 96(5): 2274-8.
- 25 18. Gonzalez-Lopez E, Vrana KE. Dopamine beta-hydroxylase and its genetic variants in human health and disease. *J Neurochem*. 2020, Jan, 152(2): 157-181.
19. *Clin Exp Immunol*. 2009, May, 156(2): 353-362.

权利要求书

1. 通路调节剂在制备治疗自身免疫性疾病的药物中的用途；其中，
所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。
2. 根据权利要求 1 所述的用途，其中，
所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种；
优选地，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂选自：内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、富马酸、其药学上可接受的盐和其前药。
3. 根据权利要求 1 所述的用途，其中，
所述通路调节剂为内匹司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为：10-100 mg/kg、优选 20-50 mg/kg；或者，
所述通路调节剂为依他米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg，优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，
所述通路调节剂为依米司他或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg，优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者
所述通路调节剂为镰孢菌酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg，优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，
所述通路调节剂为双硫仑或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg，优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg；或者，
所述通路调节剂为富马酸或其药学上可接受的盐，单位剂量为 80-120 mg/kg，优选 90-110 mg/kg，更优选 100 mg/kg。
4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的用途，其中，
所述自身免疫性疾病选自：贲门失弛缓症、艾迪生氏病、成人斯蒂尔氏病、血球蛋白血症、斑秃、淀粉样变性、强直性脊柱炎、抗 GBM/抗 TBM 肾炎、抗磷脂综合征、自身免疫性血管性水肿、自身免疫性自主神经异常、自身免疫性脑脊髓炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳疾病、自身免疫性心肌炎、自身免疫性卵巢炎、自身免疫性睾丸炎、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性视网膜病变、自身免疫性荨麻疹、轴突神经病、巴洛病、白塞氏病、良性粘膜类天疱疮、大疱性类天疱疮、卡斯尔曼病、麸质过敏症、恰加斯病、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、慢性复发性多灶性骨髓炎、嗜酸性肉芽肿、瘢痕性类天疱疮、科根综合症、冷凝

- 集素病、先天性心脏传导阻滞、柯萨奇心肌炎、肢端硬皮综合征、克罗恩病、疱疹样皮炎、皮炎、视神经脊髓炎、盘状狼疮、德莱勒综合征、子宫内膜异位症、嗜酸性食管炎、嗜酸性筋膜炎、结节性红斑、基本混合性冷球蛋白血症、埃文斯综合征、纤维肌痛、纤维化性肺泡炎、巨细胞动脉炎、巨细胞心肌炎、肾小球肾炎、肺出血肾炎综合征、肉芽肿合并多血管炎、甲状腺机能亢进、格林巴利综合征、桥本甲状腺炎、溶血性贫血、过敏性紫癜、妊娠期疱疹或类天疱疮妊娠、化脓性汗腺炎、低丙球蛋白血症、IgA 肾病、IgG4 相关性硬化症、免疫性血小板减少性紫癜、包涵体肌炎、间质性膀胱炎、青少年关节炎、青少年 I 型糖尿病、青少年肌炎、川崎病、朗伯-伊顿综合征、白细胞碎裂性血管炎、扁平苔藓、萎缩性硬化性苔藓、木样结膜炎、线性 IgA 病、红斑狼疮、慢性莱姆病、梅尼埃病、显微镜下多血管炎、混合性结缔组织病、蚕蚀性角膜溃疡、穆-哈二氏病、多灶性运动神经病、多发性硬化、重症肌无力、肌炎、嗜睡症、新生儿狼疮、中性粒细胞减少症、眼瘢痕性类天疱疮、视神经炎、回文风湿病、潘达斯症、副肿瘤性小脑变性、阵发性夜间血红蛋白尿、帕里伯格综合征、睫状体平坦部炎、帕森纳-特纳综合征、天疱疮、周围神经病变、静脉周围脑脊髓炎、恶性贫血、POEMS 综合征、结节性多动脉炎、I 型多腺综合征、II 型多腺综合征、III 型多腺综合征、风湿性多肌痛、多肌炎、心肌梗塞后综合征、心包切开后综合征、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、孕激素性皮炎、银屑病、银屑病关节炎、纯红细胞再生障碍性贫血、坏疽性脓皮病、雷诺现象、反应性关节炎、反射性交感神经营养不良、复发性多发性软骨炎、不宁腿综合征、腹膜后纤维化、风湿热、类风湿关节炎、结节病、施密特综合征、巩膜炎、硬皮病、干燥综合征、精子和睾丸自身免疫、僵硬者综合征、亚急性细菌性心内膜炎、苏萨克综合征、交感性眼炎、大动脉炎、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、血小板减少性紫癜、甲状腺眼病、痛性眼肌麻痹综合征、横纹肌炎、I 型糖尿病、溃疡性结肠炎、未分化结缔组织病、葡萄膜炎、血管炎、白癜风和沃格特-小柳-原田病；

5 优选地，选自以下任一项：自身免疫性结肠炎、视神经脊髓炎、类风湿关节炎、硬皮病、银屑病、葡萄膜炎；

10 所述自身免疫性结肠炎选自以下任一项：克罗恩病、溃疡性结肠炎。

30 5. 一种用于治疗自身免疫性疾病的方法，其包括步骤：

向受试者施用治疗有效量的通路调节剂；

其中，所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

35 6. 根据权利要求 5 所述的方法，其中，

所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂为内

匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种；

5 优选地，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂选自：内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、富马酸、其药学上可接受的盐和其前药。

7. 根据权利要求 5 或 6 所述的方法，其中，
所述自身免疫性疾病如权利要求 4 中所定义。

10 8. 一种治疗自身免疫性疾病的药物组合物，其包含：

通路调节剂、和

药学上可接受的载体；

其中，所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种。

15

9. 根据权利要求 8 所述的药物组合物，其中，

所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药
20 中的一种或多种；

优选地，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂选自内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、富马酸、其药学上可接受的盐和其前药。

10. 根据权利要求 8 所述的药物组合物，其中，所述自身免疫性疾病如权利要求
25 4 中所定义。

11. 根据权利要求 1 所述的用途，其中所述药物用于选自以下的一种或多种：

降低 CD4⁺T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、增加 CD8⁺T 细胞比例、降低 CD4⁺T 细胞的促炎因子分泌、降低 CD8⁺T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化；减少外周血中淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞的含量；减轻真皮层中炎症性细胞浸润和真皮下的毛细血管增生；改善皮肤纤维化；降低葡萄膜炎的发病率；改善皮肤炎症；改善粪便成形性评分、改善 CW/CL、改善 CW/BW、改善 CW/CL/BW、抑制结肠溃疡面积增加、改善结肠炎性细胞浸润评分、改善组织损伤评分；改善疾病活动度评分、改善便血或隐血。

35

12. 根据权利要求 11 所述的用途，其中：

所述 CD4⁺T 细胞的促炎因子为 IL-17A、IFN- γ 和 TNF- α 中的一种或多种；

所述 CD8+T 细胞的促炎因子为 IL-17A 和/或 TNF- α 。

13. 根据权利要求 11 所述的用途，其中，所述调节性 T 细胞为 CD25+FOXP3+Treg 细胞；

5 和/或，所述 B 细胞为 B220+细胞，优选为 CD69+B220+B 细胞；

和/或，所述 NK 细胞为 NK1.1+细胞，优选为 NK1.1+CD107a+NK 细胞。

14. 一种在体内或体外调节免疫细胞功能的方法，其包括如下步骤：

使有效量的通路调节剂在体内或体外接触免疫细胞，

10 其中，

所述免疫细胞来自受试者；

所述通路调节剂为多巴胺 β -羟化酶抑制剂、受体激动剂和受体拮抗剂中的一种或多种；

15 所述调节免疫细胞功能指的是选自以下的一种或多种功能：降低 CD4+T 细胞比例、增加调节性 T 细胞比例、增加 CD8+T 细胞比例、降低 CD4+T 细胞的促炎因子分泌、降低 CD8+T 细胞的促炎因子分泌、抑制 B 细胞的活化和抑制 NK 细胞的活化。

15. 根据权利要求 14 所述的方法，其中，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂为内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、半胱胺、泛硫乙胺、铜螯合剂、富马酸、胍苯吡嗪、2-噻吩-2-基烯丙基胺、其药学上可接受的盐和其前药中的一种或多种；

优选地，所述多巴胺 β -羟化酶抑制剂选自：内匹司他、依他米司他、依米司他、镰孢菌酸、双硫仑、富马酸、其药学上可接受的盐和其前药。

25

16. 根据权利要求 14 所述的方法，其中：

所述 CD4+T 细胞的促炎因子为 IL-17A、IFN- γ 和 TNF- α 中的一种或多种；

所述 CD8+T 细胞的促炎因子为 IL-17A 和/或 TNF- α 。

30 17. 根据权利要求 14 所述的方法，其中，所述调节性 T 细胞为 CD25+FOXP3+Treg 细胞；

和/或，所述 B 细胞为 B220+细胞，优选为 CD69+B220+B 细胞；

和/或，所述 NK 细胞为 NK1.1+细胞，优选为 NK1.1+CD107a+NK 细胞。