[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 31/195 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680002364.7

[43] 公开日 2008 年 7 月 30 日

[11] 公开号 CN 101232878A

[22] 申请日 2006.1.12
[21] 申请号 200680002364.7
[30] 优先权
[32] 2005. 1.14 [33] US [31] 60/644,502
[86] 国际申请 PCT/US2006/001241 2006.1.12
[87] 国际公布 WO2006/076580 英 2006.7.20
[85] 进入国家阶段日期 2007.7.16
[71] 申请人 利兰·斯坦福青年大学托管委员会
地址 美国加利福尼亚州
[72] 发明人 L·斯坦曼 M·普拉藤
P·P·霍 M·L·塞利

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司
代理人 余 颖

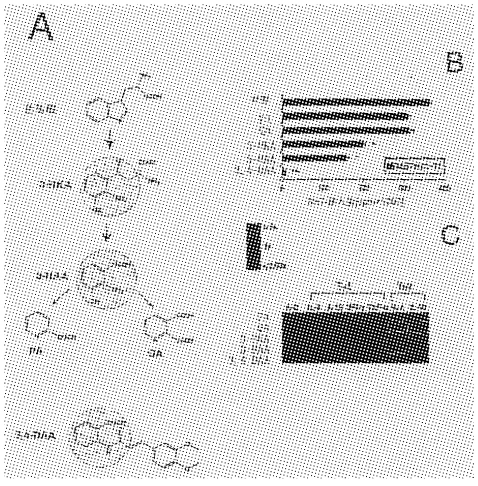
权利要求书 8 页 说明书 39 页 序列表 3 页
附图 4 页

[54] 发明名称

调控 T 细胞功能的方法

[57] 摘要

在哺乳动物体内调控 T_H1 细胞功能的方法，包括向所述哺乳动物给药有效量的一种或多种 IDO－介导的色氨酸代谢物或其衍生物；或其拮抗剂。



1.一种下调哺乳动物 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括：

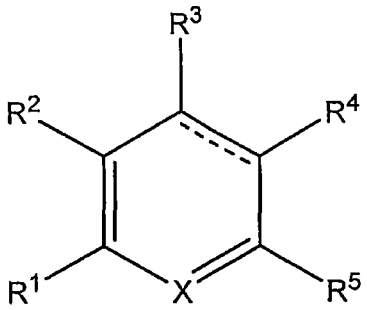
给予所述哺乳动物有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

2.如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述给予哺乳动物有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物在足以将 T_H1 细胞应答转变为 T_H2 细胞应答的条件下和一段时间内进行。

3．如权利要求 2 所述的方法，其特征在于，所述代谢产物或其衍生物上调 T_H2 细胞因子产生。

4．如权利要求 3 所述的方法，其特征在于，所述方法下调自身免疫 T_H1 细胞功能，所述 T_H1 细胞指向髓鞘质蛋白。

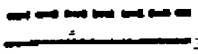
5．如权利要求 1-4 中任一项所述的方法，其特征在于，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

X 选自 N 和 CR^6；

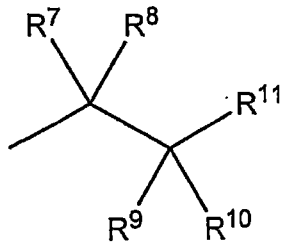
表示单键或双键；

R^1 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、CO_2H 和 CO_2C_{1-4} 烷基；

R^2 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、或者，R^1 和 R^2 一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基和卤素；

R^4 选自 H、C_{1-4} 烷基、C_{2-4} 烯基、OH、C_{1-4} 烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基和



;

R^5选自 C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、NH_2和 NHR^{12}；

R^6选自 H、C_{1-4}烷基、OH 和 C_{1-4}烷氧基；

R^7、R^8、R^9和 R^{10}各自为 H 和 C_{1-4}烷基，或者，R^7和 R^8一起形成桥氧基，或者，R^7和 R^9形成键；

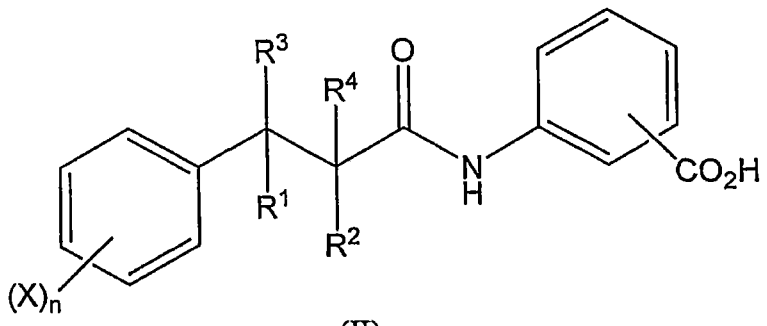
R^{11}选自 $CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、$C(O)NH_2$，$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4}烷基和 $CH_2N(C_{1-4}$烷基$)_2$；

R^{12}选自 H、C_{1-4}烷基和 C(O)H；和

R^{13}为 H、C_{1-4}烷基和或选取代的苯基，其中或选取代的苯基或选性地以一个或多个 C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、卤素、NH_2、NHC_{1-4}烷基和 $N(C_{1-4}$烷基$)_2$取代。

6．如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物选自 3-羟基犬尿喹啉酸(3-HKA)、3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)、吡啶甲酸(PA)或喹啉酸(QA)。

7．如权利要求 1-4 中任一项所述的方法，其特征在于，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物是式(II)化合物：



(II)

其中 R^1和 R^2分别选自氢原子或 C_1-C_4烷基，R^3和 R^4均为氢原子或一起组成另一个化学键，每个 X 独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或 C_1-C_4烷氧基，或者，当两个 X 基团为烷基或烷氧基时，它们可以连成环，n 为从 1 到 3 的整数。

8．如权利要求 7 所述的方法，其特征在于，所述 CO_2H 基团位于芳香环的 2-、3-或 4-位。

9．如权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述 CO_2H 位于 2-位。

10．如权利要求 7 所述的方法，其特征在于，至少 R^1 和 R^2 之一为氢原子。

11．如权利要求 10 所述的方法，其特征在于，R^1 和 R^2 均为氢原子。

12．如权利要求 7 所述的方法，其特征在于，R^3 和 R^4 共同形成化学键。

13．如权利要求 11 所述的方法，其特征在于，所述化学键为 E 或 Z 几何异构体形式的不饱和键。

14．如权利要求 7 所述的方法，其特征在于，所述 n 为 1 或 2；X 相同或不同，选自卤素、C_1-C_4 烷基或 C_1-C_4 烷氧基。

15．如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，X 选自卤素和 C_1-C_4 烷氧基。

16．如权利要求 15 所述的方法，其特征在于，n 为 2 且两个 X 均选自 C_1-C_4 烷氧基。

17．如权利要求 16 所述的方法，其特征在于，两个 X 均为甲氧基。

18.如权利要求 1-4 中任一项所述的方法，其特征在于，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为化合物，选自 2-[[3-(2-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二甲氧基苯

基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-亚甲二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；和2-[[3-(3,4-亚乙二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸。

19.如权利要求 1-4 中任一项所述的方法，其特征在于，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为 2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸(利喘贝，TNL)。

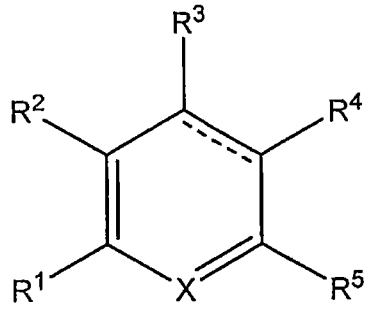
20.如权利要求1-19中任一项所述的方法，还包括给予一种激动剂以增强所述IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物的效果。

21.用于权利要求1-20中任一项方法的组合物。

22.IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物用以制备用于权利要求1-20中任一项所述方法的药物的用途。

23.一种药物组合物，包含IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物；以及药学上可接受的赋形剂。

24.如权利要求23所述的药物组合物，其特征在于，所述IDO-介导色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

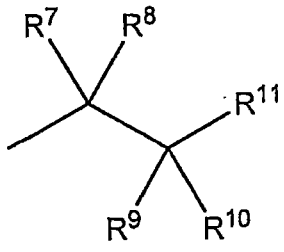
X选自N和CR^6；

表示单键或双键；

R^1选自H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H和CO_2C_{1-4}烷基；R^2选自H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、或R^1和R^2一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3选自H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基和卤素；

R^4选自H、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基和



；

R^5选自C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、NH_2和NHR^{12}；

R^6选自H、C_{1-4}烷基、OH和C_{1-4}烷氧基；

R^7、R^8、R^9和R^{10}各自为H和C_{1-4}烷基，或者，R^7和R^8一起形成桥氧基，或

R^7和R^9形成键；

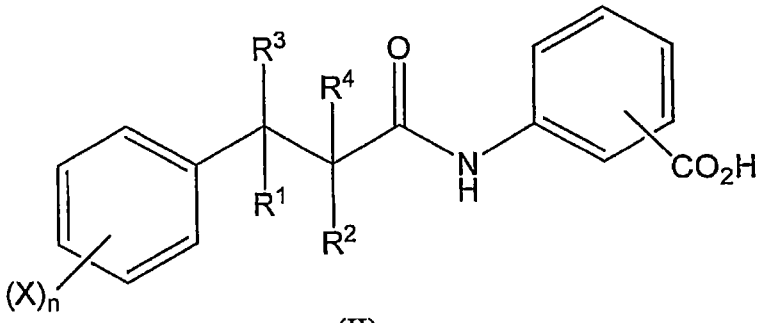
R^{11}选自$CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、$C(O)NH_2$，$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4}烷基和$CH_2N(C_{1-4}$烷基$)_2$；

R^{12}选自H、C_{1-4}烷基和$C(O)H$；和

R^{13}为H、C_{1-4}烷基和或选取代的苯基，其中或选取代的苯基或选性地以一个或多个C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、卤素、NH_2、NHC_{1-4}烷基和$N(C_{1-4}$烷基$)_2$取代。

25.如权利要求23所述的药物组合物，其特征在于，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物选自3-羟基犬尿喹啉酸(3-HKA)、3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)、吡啶甲酸(PA)或喹啉酸(QA)。

26.如权利要求23所述的药物组合物，其特征在于，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物是式(II)化合物：



(II)

其中R^1和R^2分别选自氢原子或C_1-C_4烷基，R^3和R^4均为氢原子或一起组成另一个化学键，每个X独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基，或者，当两个X基团为烷基或烷氧基时，它们可以连环，n为从1到3的整数。

27.如权利要求26所述的药物组合物，其特征在于，所述CO_2H组位于芳香环的2-、3-或4-位。

28.如权利要求27所述的药物组合物，其特征在于，所述CO_2H位于2-位。

29.如权利要求26所述的药物组合物，其特征在于，至少R^1和R^2之一为氢原子。

30.如权利要求26所述的药物组合物，其特征在于，R^1和R^2均为氢原子。

31.如权利要求26所述的药物组合物，其特征在于，R^3和R^4共同形成化学键。

32.如权利要求31所述的药物组合物，其特征在于，所述化学键为E或Z

几何异构体形式的不饱和键。

33.如权利要求 26 所述的药物组合物，其特征在于，所述 n 为 1 或 2；X 相同或不同，选自卤素、C_1-C_4烷基或 C_1-C_4烷氧基。

34.如权利要求 26 所述的药物组合物，其特征在于，X 选自卤素和 C_1-C_4烷氧基。

35.如权利要求 26 所述的药物组合物，其特征在于，n 为 2 且两个 X 均选自 C_1-C_4烷氧基。

36.如权利要求 26 所述的药物组合物，其特征在于，两个 X 均为甲氧基。

37.如权利要求 26 所述的药物组合物，其特征在于，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为化合物，选自 2-[[3-(2-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(4-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(2,3-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；2-[[3-(3,4-亚甲二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；和2-[[3-(3,4-亚乙二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸。

38.如权利要求26所述的药物组合物，其特征在于，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸(利喘贝，TNL)。

39.一种上调哺乳动物T_H1细胞功能的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物有效量的IDO-介导的色氨酸代谢产物或式(I)或式(II)的化合物或其药学上可接受的盐的拮抗剂。

调控 T 细胞功能的方法

发明领域

本发明总体上涉及一种调控细胞功能的方法及所用试剂。更具体地说，本发明涉及一种采用色氨酸代谢物或其衍生物，如式(I)的化合物来调控 T_H1 细胞功能的方法。本发明的方法尤其适用于治疗和/或预防以 T_H1 细胞功能异常、过度或不当为特征的病症，特别针对自身免疫性 T_H1 的机能，如将自身反应性 T_H1 应答变为 T_H2 应答。

背景技术

本说明书中，作者涉及的出版物的目录的详细资料按照字母顺序列在具体描述部分的最后。

“自身免疫疾病”描述了一组疾病，其能误导免疫系统，并攻击实际上应该得到保护的一个或多个器官。大约 75%的自身免疫疾病发生在妇女身上，最常发生于分娩时期。

免疫系统是由细胞和细胞组分组成的复杂网络，主要作用是保卫身体并消灭由细菌、病毒、和其它侵略性微生物导致的感染。在人患上自身免疫疾病的情况下，免疫系统错误地攻击自身体内的细胞、组织、和器官。免疫系统细胞和分子在靶位点集合通常导致发炎。

自身免疫疾病的类型有各种各样，它们分别以不同的方式影响身体。例如，自身免疫应答针对多硬化症患者的髓鞘质和 Crohn 氏症患者的肠线。其它自身免疫疾病，如系统性红斑狼疮(lupus)，影响的组织和器官随患者的不同而不同。有的狼疮患者皮肤和关节受影响，而另外一些则是皮肤、肾和肺受影响。最终，随着 1 型糖尿病患者体内胰腺的胰岛素产生细胞的受损，免疫系统对某些组织的破坏可能是永久性的。

自身免疫疾病的触发原因也是多样的，包括免疫的、遗传的、病毒的、药物诱导的和激素因素的单独或结合作用。目前，已经确定的机制有许多，但是它们是如何与免疫网络交互作用来诱导此类异常应答的原因可能随着环境或

疾病状况而变化，因此并未得到阐述。最终导致免疫耐受的崩溃的机制如下所述，包括：

(1)病毒感染身体组织，

(2)某种药物连接到细胞表面而生成改变了的自身抗原，

(3)某些抗体与细菌抗原和自身决定簇的交互反应，

(4)在体内生成新暴露的抗原

(5)激素的影响，和

(6)识别自身的免疫网络的崩溃。

自身免疫疾病通常为慢性的，需要终生照料和监护。目前，几乎没有自身免疫疾病能够被治愈。

多发性硬化症(MS)为一种神经性自身免疫疾病，其特点是，在中枢神经系统的脱髓鞘化病变，以及轴突坏损和神经元丢失。临床表现包括视觉丧失、眼球外活动紊乱、感觉错乱、感觉丧失、虚弱、发音困难、痉挛、肌共济失调、和膀胱功能失调。通常模式为在每次反复发作之后部分恢复，然而也会出现急性爆发性和慢性渐进性形式。由于再髓鞘化和神经元丢失无法自发修复，由自身免疫攻击导致的损害引起永久性神经损伤并会随疾病发展而更加恶化。

因此，人们一直需要发展新的方法来治疗疾病，如自身免疫疾病，其特点是异常的免疫细胞功能。治疗性和/或预防性对策的发展提供了除类固醇和免疫抑制法之外的选择，考虑到目前这些治疗手段都存在严重的副作用，新的选择具有非常高的价值。

色氨酸相比其它氨基酸而言相对稀缺，因而在抵抗感染方面具有独特的作用。感染期间，身体会诱导产生色氨酸分解代谢酶，这加剧了色氨酸的稀缺性，试图饿死受感染组织[Brown 等，1991]。在尚未治愈的慢性感染中，色氨酸代谢维持不受干扰的状态。由广泛的色氨酸缺乏导致的生物学紊乱可能很大程度上导致了一些认知缺陷、神经内分泌紊乱、和免疫机能不全，如 AIDS、自身免疫疾病、和其它慢性疾病。

色氨酸在多种组织内通过不同的酶系统代谢。色氨酸分解的主要在肝脏，在那里，色氨酸氧化酶使用氧分子作为氧化剂将色氨酸代谢掉。用氧来打开色氨酸分子上包含 5 个氮原子的环，生成犬尿氨酸(KYN)衍生物。

十几年前，人们都认为色氨酸氧化酶是唯一的色氨酸分解代谢酶。日本学者之后发现了吲哚胺-2,3-二加氧酶(IDO)，也被称为吲哚氧化酶。在外周组织

和脑中，IDO 是唯一的使用过氧化物阴离子作为氧化剂的色氨酸分解酶。IDO 是更为普遍的酶。其氧化称为吲哚的化学上与色氨酸相关的一大类化合物的能力有限。与肝的色氨酸氧化酶相比，IDO 对色氨酸的特异性较低。

在本发明的研究工作中，我们发性，由 IDO 酶系统产生的色氨酸代谢产物及其衍生物(如利喘贝)通过将 T_H1 应答变为 T_H2 应答来下调 T_H1 细胞的机能。这些发现极其重要，因为下调 T_H1 机能的方法提供了在特别的自身免疫条件(如脱髓鞘条件下)选择性调控 T_H1 免疫应答的方法。于是，本发明提供一种有力的选择性下调 T_H1 细胞功能的方法，并且避免了常规免疫抑制所引起的副作用，所述常规免疫抑制下调所有免疫细胞的机能。

发明内容

在如下说明书和权利要求中，除非文中另有需要，术语“包含”应该理解为包含写明的整数或步骤或整数组或步骤组，但不排除任何其它的整数或步骤或整数组或步骤组。

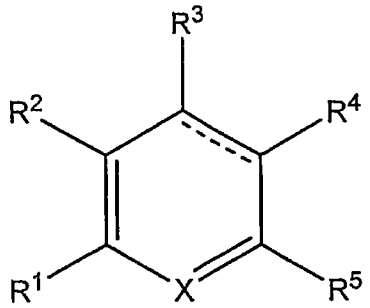
本说明书包括用PatentIn版本3.1程序制作的核苷酸和氨基酸信息列表列于参考书目之后。

各核苷酸序列在序列表中由数字标示<210>及其后跟的序列标号(如<210>1，<210>2等)注明。数字标示<211>，<212>和<213>部分分别提供各核苷酸序列的序列(DNA、氨基酸等)长度、类型及物种来源等信息。说明书中涉及的核苷酸和氨基酸序列用标示SEQ ID NO:及其后的序列标号(如SEQ ID NO:1，SEQ ID NO:2等)表示。本说明书中的序列标号与序列表中<400>(其后有序列标号(如<400>1，<400>2等)部分所提供的信息一致。也就是说，说明书中具体描述的SEQ ID NO:1与序列表中的以<400>1所标示的序列一致。

本发明的一方面涉及一种下调哺乳动中 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物，或其衍生物。

另一方面，本发明提供一种下调哺乳动物自身免疫 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物给药有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

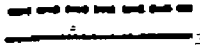
一个优选实施例中，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

X选自N和CR^6；

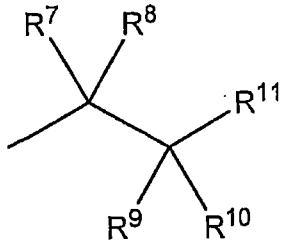
表示单或双键；

R^1选自H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H和CO_2C_{1-4}烷基；

R^2选自H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素，或者，R^1和R^2一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3选自H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基和卤素；

R^4选自H、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基和

；

R^5选自C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、NH_2和NHR^{12}；

R^6选自H、C_{1-4}烷基、OH和C_{1-4}烷氧基；

R^7、R^8、R^9和R^{10}各自为H和C_{1-4}烷基，或者，R^7和R^8一起形成桥氧基，或者，R^7和R^9形成健；

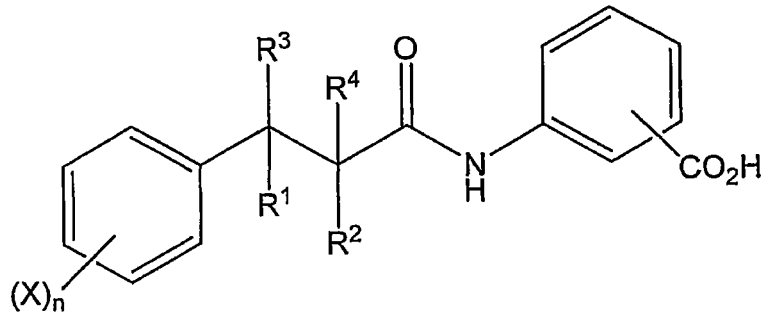
R^{11}选自$CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、$C(O)NH_2$、$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4}烷基和$CH_2N(C_{1-4}$烷基$)_2$；

R^{12}选自H、C_{1-4}烷基和$C(O)H$；和

R^{13}为H、C_{1-4}烷基和或选取代的苯基，其中，或选取代的苯基可被一个或多个选自以下组群的基团取代：C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、卤素、NH_2、NHC_{1-4}烷基和$N(C_{1-4}$烷基$)_2$。

一个优选实施例中，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物为3-羟基犬尿喹啉酸(3-HKA)、3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)、吡啶甲酸(PA)或喹啉酸(QA)。

另一个优选实施例中，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物衍生物为式(II)化合物：



(II)

其中每个R^1和R^2分别选自氢原子或C_1-C_4烷基，R^3和R^4均为氢原子或一起形成另一个化学键，每个X独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基，或者，当两个X基团为烷基或烷氧基时，它们可以连结成环，n为从1到3的整数。

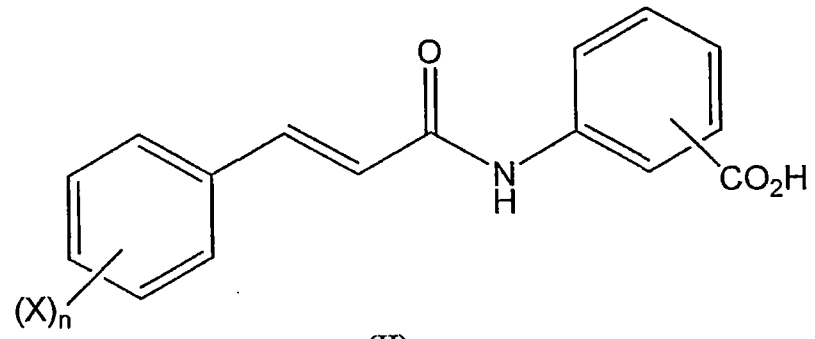
羧基可以在芳香环的2-、3-或4-位。优选地，羧基位于2-位。

优选地，至少R^1和R^2中有一个为氢原子。更优选地，R^1和R^2均为氢原子。

优选地，R^3和R^4一起形成化学键。此类带有不饱和键的化合物的形式可以是E或Z几何异构体。

优选地，n为1或2，各X，可以相同或不同，选自卤素、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基。优选地，X选自卤和C_1-C_4烷氧基。更优选地，n为2，两个X均选自C_1-C_4烷氧基，特别地，两个X均为甲氧基。

特别优选的用于本发明的化合物为式(II)所示的那些：



(II)

式(II)化合物的例子包括：

2-[[3-(2-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-亚甲二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；和

2-[[3-(3,4-亚乙二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

特别优选的用于本发明的式(II)化合物为2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸(利喘贝(tranilst)，TNL)。

还有另一个方面，本发明提供一种下调哺乳动物自身免疫T_H1细胞功能的方法，所述方法包括在足以将个体T_H1细胞应答转变为T_H2细胞应答的条件下和一段时间内给予哺乳动物有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物，所述代谢产物或其衍生物上调T_H2细胞因子的产生。

本发明还提供一种下调哺乳动物自身免疫T_H1细胞功能的方法，所述T_H1细胞指向髓鞘质蛋白(myein protein)，所述方法包括在足以将个体T_H1细胞应答转变为T_H2细胞应答的条件下和一段时间内给予哺乳动物有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物，所述代谢产物或其衍生物上调T_H2细胞因子的产生。

本发明还涉及一种在哺乳动物体内上调受抑制的T_H1细胞功能的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物有效量的IDO-介导的色氨酸代谢产物或式(I)化合物或式(II)化合物或其药学上可接受的盐的拮抗剂。

本发明还涉及一种治疗和/或预防以哺乳动物体内异常T_H1细胞功能为特征的病症的方法，所述方法包括在足以下调所述T_H1细胞功能的条件下和一段时间内给予所述哺乳动物有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

本发明还提供一种治疗和/或预防以哺乳动物体内自身免疫T_H1细胞功能为特征的病症的方法，所述方法包括在足以将T_H1细胞应答变为T_H2细胞应答的条件下和一段时间内给予所述哺乳动物有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

本发明还提供一种治疗和/或预防以哺乳动物体内自身免疫T_H1细胞功能为特征的病症的方法，所述自身免疫T_H1细胞指向髓鞘质蛋白，所述方法包括在足以将T_H1细胞应答变为T_H2细胞应答的条件下和一段时间内给予所述哺乳动物有效量的一种或多种IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物，其中所述代谢产物或其衍生物上调T_H2细胞因子的产生。

本发明还涉及IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物在制备用以治疗以T_H1细胞功能为特征的病症的药物中用途，其中，给药所述化合物将下调所述T_H1细胞功能。

本发明还涉及IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物在制备治疗多发性硬化症的药物中的用途。

本发明还涉及用于本发明方法的如前所述的代谢产物或衍生物或如前所述的其药学上可接受的盐类或其拮抗剂。

附图说明

图1A-1C： 通过Trp代谢产物调控T细胞增殖

(A)Trp代谢产物的化学结构。3-HKA、3-羟基-犬尿喹啉酸；3-HAA、3-羟基-邻氨基苯甲酸；PA、吡啶甲酸；QA、喹啉酸；3,4-DAA，N-(3,4,-二甲氧基肉桂酰)邻氨基苯甲酸。(B)源自MBPAc1-11 TCR转基因小鼠的脾细胞与Trp代谢产物PA、QA、3-HKA、3-HAA、3,4-DAA (200μM)共培养并用MBPAc1-11(5μg/ml)进行刺激。为了评估增殖效果，细胞在48小时之后用^3H-胸腺嘧啶脉冲标记18

小时。数据代表三个平行试验的每分钟计数(cpm)平均值与SEM，并且代表了四项独立试验。*p<0.05，***p<0.001。(C)源自MBPAc1-11 TCR转基因小鼠的脾细胞用MBP Ac1-11 (0.5-2.5μg/ml)激活，在无或有200μM(IL-2、IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-12/23 p40)或30μM(IL-4, IL-10)Trp代谢产物PA、QA、3-HKA、3-HAA、3,4-DAA的情况下。48小时(IL-2、IL-6、IL-12/23 p40)、72小时(IFN-γ、TNF-α)或120小时(IL-4、IL-10)之后采用ELISA(OptEIA Cytokine Sets, BD Pharmingen)方法测量细胞因子释放量。所示为热图(heatmap)数据。

图2A-2G: APC和T细胞功能受3,4-DAA调控的机制。(A, B) MBPAc1-11 TCR转基因小鼠(每组n=3)用3,4-DAA喂食5天(500mg/kg/d)。(A)载体(Na-CMC)-处理过的(空心条柱)或3,4-DAA-处理过的(实心条柱)小鼠的汇总胰细胞用MBPAc1-11(5μg/ml)或ConA(2μg/ml)在体外进行刺激。如图1所示进行增殖和细胞因子分析。给出三个平行试验的平均值和SEM，并且数据代表了两项独立试验。*p<0.05，**p<0.01。(B)采用流式细胞计数法分析汇总胰细胞的CD11b和II类MHC($I\text{-}A^s$)细胞表面表达。右图为抗-MHCII染色的$CD11b^+$单核细胞的直方图。图中数值表示MHC II^+类$CD11b^+$细胞的百分比。数据代表两项独立试验。(C-G) EOC20细胞与纯媒介、载体(DMSO)或3,4-DAA在所示浓度下一同培养，并且用IFN-γ(200U/ml)和/或LPS(200ng/ml)进行刺激。(C) 48小时后，采用流式细胞计数法测定MHC II类($I\text{-}A^k$)、CD40、CD80和CD86的细胞表面表达。直方图代表三项独立试验，数值表示荧光指数平均值。(D)24小时后抽提RNA并反转录。采用实时PCR半定量CIITA cDNA的表达。数值代表三个平行试验的随机表达水平的平均值和SEM，相对于β-肌动蛋白表达进行了归一化。数据代表两项独立试验。*p<0.05。(E)48小时后采用Griess实验确定未刺激(菱形)、IFN-γ-刺激(圆圈)或IFN-γ-和LPS-刺激细胞的亚硝酸盐释放。数值为三个平行试验的平均亚硝酸盐浓度和SEM，并且表示三项独立试验。(F) 24小时后抽提RNA并反转录。采用实时PCR半定量iNOS cDNA表达。未刺激(空心条柱)和IFN-γ-刺激(实心条柱)的数值代表三个平行试验的随机表达水平平均值和SEM，相对β-肌动蛋白表达进行了归一化。数据代表两项独立试验。(G)以IFN-γ进行刺激之后15min后抽提的全细胞蛋白用磷酸根特异性(phosphor-specific)STAT1α抗体进行的免疫印迹法分析。细胞膜用非-磷酸特异性STAT1α抗体进行再杂交以确认加样量相等。

图 3A-3D:3,4-DAA 改善已确定的 EAE。(A-D)7-8 周大的雌性 SJ/L 小鼠用 PLP139-151 进行免疫。治疗从第 16 天开始，通过每天两次经口管饲进行。(A)每天对以载体处理的小鼠(空心菱形)和用 100mg/kg/d 的 3,4-DAA (灰色圆圈)或 300mg/kg/d 的 3,4-DAA (黑色圆圈)处理的小鼠进行临床评分(0，无病症；1，尾疲软(limp tail)；2，部分后肢轻瘫；3，后肢麻痹；4，四肢麻痹；5，濒死或死亡)。数据表示平均分(n=9，载体和 300 mg/kg/d；n=10，100 mg/kg/天)和 SEM。(B)接受免疫后 60 天分离自载体喂养小鼠(n=6)或 3,4-DAA-喂养小鼠(n=7，100 mg/kg/d；n=6，300 mg/kg/d)的脾细胞的流式细胞计数器分析。数值代表双阳性细胞。(C)60 天后自载体喂养的小鼠(n=6，空心条柱)，或 3,4-DAA-喂养的小鼠(n=7，100mg/kg/d，灰色条柱；n=6，300 mg/kg/d，黑色条柱)分离脾细胞，汇总，并在体外用 PLP139-151(20μg/ml)进行刺激。如图 3 所示评估其增殖，在培养 72h 之后对细胞进行脉冲标记。如图 3 所示进行细胞因子分析。数据表示三个平行试验的平均值和 SEM。*p<0.05， **p<0.01。(D) 免疫后 60 天抽提大脑和脊髓。由对相关处理全不知晓的神经病理学家测量随机选取的载体处理小鼠(n=3，空心条柱)和 3,4-DAA-处理小鼠(n=3，100 mg/kg/d，黑色条柱)脑中的炎细胞浸润。数据表示炎性病灶数平均值和 SEM。*p<0.05。

图 4A-4B：3,4-DAA 抑制 EAE 中的 CNS 抗原递呈细胞活化。(A) 7-8 周大雌性 SJ/L 小鼠在治疗开始两天之后用 $PLP_{139-151}$ 免疫。对大脑或脊髓进行针对 MHC II 类($I\text{-}A^k$)、CD40、CD80、CD86 和 iNOS 的染色。(B)7-8 周大的雌性 SJ/L 小鼠用 $PLP_{139-151}$ 免疫。治疗在第 16 天开始，通过经口管饲进行，每天两次。以裸鼠作为对照。免疫后 60 天，从脊髓中分离 RNA(n=3)。反转录之后采用实时 PCR 分析所示转录产物的 cDNA 表达。数值表示三个重复试验中随机表达水平的平均值和 SEM，相对 β-肌动蛋白表达进行了归一化。数据代表三项独立试验。*ρ<0.05，**p<0.01。

本发明的详细描述

本发明部分基于以下惊人发现，那就是 IDO-介导的色氨酸代谢产物及其衍生物能下调 T_H1 细胞功能。更具体地说，T_H1 细胞因子释放下调，同时，T_H2 细胞因子的产生上调。这必然导致 T_H1 细胞应答从 T_H1 应答变为 T_H2 应答从而抑制任何进一步的 T_H1 响应。现在，基于这些发现能够合理得设计出针对以 T_H1 细

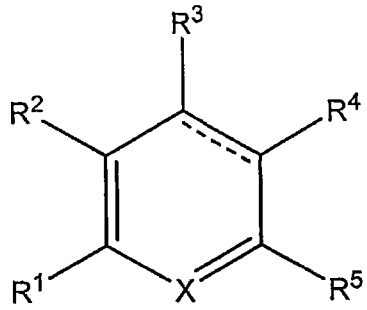
胞功能(如自身免疫 T_H1 细胞功能)异常为特征的病症的治疗性或预防方法。此类病症的例子包括自身免疫脱髓鞘病，如多发性硬化症。

因此，本发明的一个方面涉及下调哺乳动物 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

更具体地说，本发明提供了一种下调哺乳动物自身免疫 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括在足以将 T_H1 细胞应答转变为 T_H2 细胞应答的条件下和一段时间内给予哺乳动物有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

“IDO-介导的色氨酸代谢产物”应该被理解为色氨酸经由 IDO 酶系统代谢所产生的各种分子。此类代谢产物的例子包括，但不限于，3-羟基犬尿喹啉酸(3-HKA)、3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)、吡啶甲酸(PA)和喹啉酸(QA)。本发明还应理解为涵盖 IDO-介导的色氨酸代谢产物的衍生物(如利喘贝)的使用。N-[3,4-二甲氧基肉桂酰]-邻氨基苯甲酸(也就是 2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸，利喘贝，TNL)是一种抗过敏剂，最初被认为是肥大细胞去粒抑制剂(Zampini P 等，1983)。本发明已经确定，该分子是一个 3-HAA 的合成衍生物，具有将自身免疫 T_H1 细胞应答转变为 T_H2 细胞应答的功能，从而有效抑制 T_H1 应答。

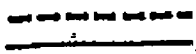
而且，一个优选实施例中，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

X 选自 N 和 CR^6；

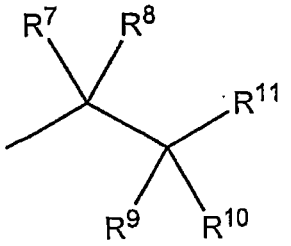
表示单键或双键；

R^1 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、CO_2H 和 CO_2C_{1-4} 烷基；

R^2选自 H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、或者，R^1和 R^2一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3选自 H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基和卤素；

R^4选自 H、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基和



；

R^5选自 C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、NH_2和 NHR^{12}；

R^6选自 H、C_{1-4}烷基、OH 和 C_{1-4}烷氧基；

R^7、R^8、R^9和 R^{10}各自为 H 和 C_{1-4}烷基，或者，R^7和 R^8一起形成桥氧基，或者，R^7和 R^9形成键；

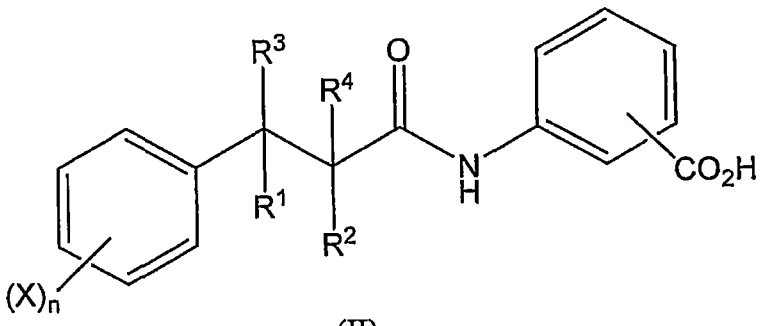
R^{11}选自 $CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、$C(O)NH_2$、$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4}烷基和 $CH_2N(C_{1-4}$烷基$)_2$；

R^{12}选自 H、C_{1-4}烷基和 C(O)H；和

R^{13}为 H、C_{1-4}烷基和或选取代的苯基，其中或选取代的苯基或选性性地以一个或多个 C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、卤素、NH_2、NHC_{1-4}烷基和 $N(C_{1-4}$烷基$)_2$取代。

一个优选实施例中，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物为 3-羟基犬尿喹啉酸(3-HKA)、3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)、吡啶甲酸(PA)或喹啉酸(QA)。

另一个优选实施例中，所述 IDO-介导色氨酸代谢产物衍生物为式(II)的化合物：



(II)

其中R^1和R^2分别选自氢原子或C_1-C_4烷基，R^3和R^4均为氢原子或一起组成另一个化学键，每个X独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基，或当

两个X基团为烷基或烷氧基时，它们可以连成环，n为从1到3的整数。

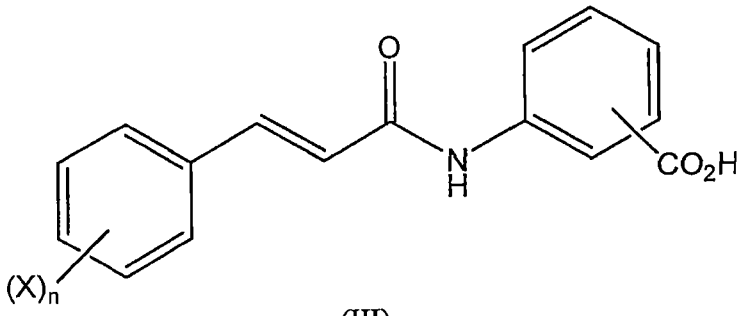
羧基可以在芳香环的2-、3-或4-位。优选地，羧基位于2-位。

优选地，至少R^1和R^2中有一个为氢原子。更优选地，R^1和R^2均为氢原子。

优选地，R^3和R^4一起形成化学键。此类带有不饱和键的化合物可以为E或Z几何异构体形态。

优选地，n 为 1 或 2，各 X，可以相同或不同，选自卤素、C_1-C_4烷基或 C_1-C_4烷氧基。优选地，X 选自卤素和 C_1-C_4烷氧基。更优选地，n 为 2，两个 X 均选自 C_1-C_4烷氧基，尤其当两个 X 均为甲氧基时。

特别优选的用于本发明的化合物为式(III)所示的那些：



(III)

式(III)的化合物的例子包括

2-[[3-(2-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-氟苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(4-溴苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二乙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二丙氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二乙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,4-二丙基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-4-甲基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-4-氯苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-3-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2-甲氧基-4-羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(2,3-(1,3-亚丙基)苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

2-[[3-(3,4-亚甲二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；和

2-[[3-(3,4-亚乙二氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸；

特别优选的用于本发明的式(III)的化合物为 2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸(利喘贝，TNL)。

本文中，术语“C_1-C_4烷基”指带有 1 到 4 个碳原子的直链或支链的烃链。此类基团的例子包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基和叔丁基。

本文中，术语“C_2-C_4烯基”指带有 2 到 4 个碳原子以及一个或两个双键的直链或支链的烃链。此类基团的例子包括乙烯基、丙烯基、丁烯基和丁二烯基。

本文中，术语“C_1-C_4烷氧基”指被带有 1 到 4 个碳原子的直链或支链烷基所取代的羟基。此类基团的例子包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基和叔丁氧基。

本文中，术语“卤(素)”或“卤”指氟、氯或溴原子。

合适的药学上可接受的盐包括，但不限于，药学上可接受的无机酸如盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、硼酸、氨基磺酸和氢溴酸的盐，或药学上可接受的有机酸如乙酸、丙酸、丁酸、酒石酸、马来酸、羟基马来酸、延胡索酸、马来酸、柠檬酸、乳酸、粘液酸、葡萄糖酸、苯甲酸、丁二酸、乙二酸、苯乙酸、甲基磺酸、甲苯磺酸、苯磺酸、水杨酸、氨基苯磺酸、天冬氨酸、谷氨酸、乙二胺四乙底酸、硬脂酸、棕榈酸、油酸、月桂酸、泛酸、鞣酸、抗坏血酸和戊酸的盐。

碱盐包括，但不限于，与药学上可接受的阳离子，如钠、钾、锂、钙、镁、铵和烷基铵形成的盐。

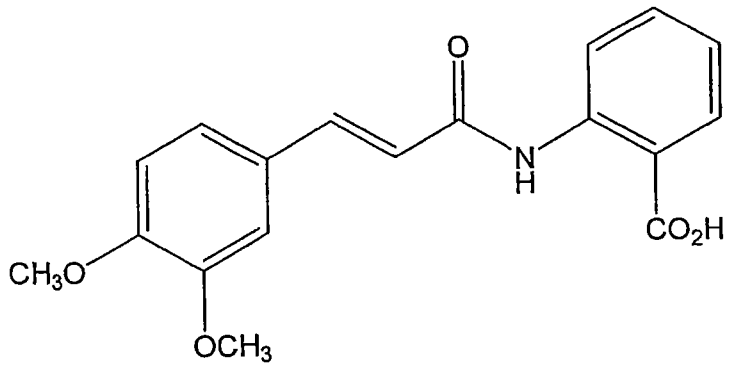
碱性含氮基团可以如下试剂季铵化：例如低级卤代烃，如氯代、溴代和碘代的甲烷、乙烷、丙烷和丁烷；二烃硫酸盐如二甲基和二乙基硫酸盐；和其它。

式(I)的化合物和它们药学上可接受的盐是已知的，并可以通过现有技术

的方法制备，见 US 3,940,422，其内容作为参考结合到这里。

同样可以认识到，式(I)的一些化合物可以具有不对称中心，从而能以多个立体异构体的形态存在。因此，本发明也涉及就一个或多个不对称中心而言基本纯的异构体形态的化合物，如高于大约 90% ee，如大约 95% 或 97% ee 或高于 99% ee，也包括其混合物，包括外消旋混合物。此类异构体可以由不对称合成来制备，例如采用手性中间体，或通过手性拆分。

并非将本发明限制于任何一种理论或实施方式，式(I)化合物为口服活性抗过敏化合物。本发明的特别优选的化合物的化学名称为 N-[3,4-二甲氧基肉桂酰]-邻氨基苯甲酸或 2-[[3-(3,4-二甲氧基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氨基]苯甲酸，也可以称为利喘贝。而且，已知其化学式为 $C_{18}H_{17}NO_5$，商标名为 Rizaben。N-[3,4-二甲氧基肉桂酰]-邻氨基苯甲酸的结构如下所示：



“T_H1 细胞”或“T_H2 细胞”应该理解为表达 T 细胞受体和 CD4 并且诱导效应细胞产生体液免疫应答或细胞介导的免疫/炎症的免疫细胞。并非将本发明限制于任何理论或实施方式，这些细胞识别并与以表达于抗原递呈细胞表面的 MHC II 类分子形式呈现的抗原结合。更具体地说，T_H1 细胞功能上定义为产生 IL-2、IFN-γ和 TNF-α等因子并介导细胞/炎性免疫应答的 T_H 细胞。T_H2 细胞在功能上定义为产生 IL-4、IL-5 和 IL-10 等因子并介导体液应答的 T_H 细胞。这些 T_H 亚类之间存在交叉抑制，某一亚类的特征性细胞因子的产生会促进该亚类 T_H 细胞的扩增和机能，同时会下调其它亚类的机能。

仍然并非将本发明限制于任何方式，在自身免疫疾病如多发性硬化症中，T_H1-分化自身反应性 $CD4^+$ 细胞驱动发炎过程。实际上，治疗方法例如通过用变构肽配体(APL)、HMG-CoA 还原酶抑制剂(“Statins”)或结合 IL-4 基因递送的 DNA 接种来将髓鞘质特异性自身免疫 T_H 细胞的细胞因子况型从 T_H1 改变到 T_H2。这些已在多发性硬化症动物模式中被证明有效(Brocke, S,等人, Nature 379,

343-6, 1996; Garren, H., et ah, Immunity 15, 15-22, 2001; Youssef, S., 等人, Nature 420, 78-84, 2002)。而且，目前已获准的多硬化症治疗方法已被证实能在多发性硬化症患者的细胞因子况型中诱导出 T_H2 的转换(Steinman, L., Science 305, 212-6, 2004)。“T 细胞”还应该理解为包括 T 细胞突变体。“突变体”包括，但不限于被自然或非自然改造的 T 细胞，如被遗传改造的细胞。“T 细胞”还应该被理解为涵盖具有向 T 细胞定向分化表现的细胞。这些细胞可以处于发育的任何分化阶段。

T_H1“机能”应该被理解为指在发育的任何分化阶段的 T_H1 细胞所能够施行的任何一种或多种功能性活动。其包括，例如，T_H1 增殖、分化和/或产生细胞因子。它还应当被理解为涵盖上调 T_H2 机能，基于亚类的交互抑制，从而有效下调 T_H1 机能。优选地，通过上调 T_H2 细胞因子的产生而下调 T_H1 机能。

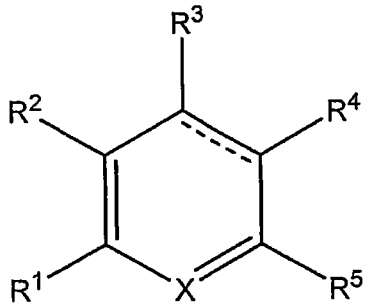
根据所述优选实施例，其提供一种下调哺乳动物自身免疫 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括在足以将个体 T_H1 细胞应答变为 T_H2 细胞应答的条件下和一段时间内给予所述哺乳动物给药有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物，其中所述代谢产物或其衍生物上调 T_H2 细胞因子产生。

所述 T_H1 细胞为“自身免疫”细胞应该理解为意味着所述 T_H1 细胞的 T 细胞受体(TCR)直接指向自身抗原。就此而言，所述 T_H1 细胞 TCR 可以独特且唯一地指向自身抗原，它可能指向非自身抗原但与自身抗原交叉反应，或者，它可能指向自身抗原但与非自身抗原交叉反应。并非为了将本发明限制于任何理论或实施方式，自身抗原对 T 细胞的效应功能的激活和诱导与自身免疫应答相对应。优选地，所述自身抗原为髓鞘质蛋白，甚至更优选地为髓鞘质碱性蛋白。

还更优选地，提供一种下调自身免疫 T_H1 细胞功能的方法，所述自身免疫 T_H1 细胞在哺乳动物体内指向髓鞘质蛋白，所述方法包括在足以将个体 T_H1 细胞应答变为 T_H2 细胞应答的条件下和一段时间内给予所述哺乳动物有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物，其中所述代谢产物或其衍生物上调 T_H2 细胞因子产生。

优选地，所述髓鞘质蛋白为髓鞘质碱性蛋白。

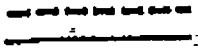
优选的实施例中，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

X 选自 N 和 CR^6；

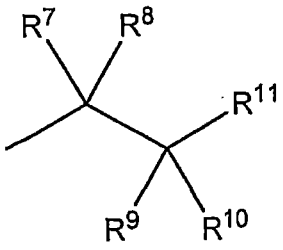
表示单键或双键；

R^1 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、CO_2H 和 CO_2C_{1-4} 烷基；

R^2 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、或 R^1 和 R^2 一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基和卤素；

R^4 选自 H、C_{1-4} 烷基、C_{2-4} 烯基、OH、C_{1-4} 烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基和

；

R^5 选自 C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基、NH_2 和 NHR^{12}；

R^6 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH 和 C_{1-4} 烷氧基；

R^7、R^8、R^9 和 R^{10} 各自 H 和 C_{1-4} 烷基，或者 R^7 和 R^8 一起形成桥氧基，或者，R^7 和 R^9 形成键；

R^{11} 选自 $CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$ 烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$ 烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基、$C(O)NH_2$、$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4} 烷基和 $CH_2N(C_{1-4}$ 烷基$)_2$；

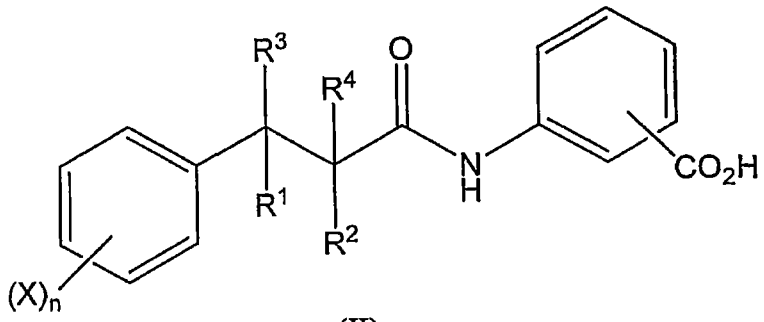
R^{12} 选自 H、C_{1-4} 烷基和 C(O)H；和

R^{13} 为 H、C_{1-4} 烷基和或选取代的苯基，其中或选取代的苯基或选性地以一个或多个 C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基、卤素、NH_2、 NHC_{1-4} 烷基和 $N(C_{1-4}$ 烷基$)_2$ 取代。

甚至更优选地，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物为 3-HKA、3-HAA、PA 或

QA。

另一个优选实施例中，所述 IDO-介导色氨酸代谢产物衍生物为式(II)化合物：



(II)

其中每个R^1和R^2分别选自氢原子或C_1-C_4烷基，R^3和R^4均为氢原子或一起组成另一个化学键，每个X独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基，或当两个X组为烷基或烷氧基时，它们可以连成环，n为从1到3的整数。

应该理解，T_H1 细胞，即根据本发明的方法进行调控的主体，处于哺乳动物体内，因此需要本发明方法在体内施行。由于受试主体细胞为细胞组或组织中的一个，无论是否分离，本发明方法能够调控该组中所有 T_H1 细胞的机能，或仅调控该组中某 T_H1 细胞亚组的机能。类似地，就调控哺乳动物生物学机能而言，应该理解所述调控可以在系统性地或局部地调控 T_H1 细胞功能的情况下获得。还进一步，不考虑采用何种定义，T_H1 细胞功能改变对细胞的影响既可能在相关环境中的所有细胞中出现，也可能在一个亚组的细胞中出现。

“下调”T_H1 细胞的机能活性应该理解成防止、减少(如，减慢)或者抑制所述活性一个或多个方面，而“上调”则应该被理解为相反的意思。

本文中，术语“哺乳动物”包括人类、灵长类、畜牧动物(如羊、猪、牛、马、驴)、实验动物(如小鼠、兔子、大鼠、豚鼠)、陪宠物(如狗、猫)和驯养的野生动物(如狐狸、袋鼠、鹿)。优选地，所述哺乳动物为人或实验室的实验动物。甚至更优选地，所述哺乳动物为人。

尽管优选方式是下调 T_H1 细胞功能，在某些情况下也可能希望诱导该活性的上调。例如，某些情形下，给予如前所说式(I)所示代谢产物或化合物可能是恰当的系统疗法。这样，此类疗法所导致的副作用很可能是在某些细胞组或某些组织位点中不希望发生的 T_H1 细胞功能下调。由于无法通过停止给药式(I)所示代谢产物或化合物来校正这种情况，操作者可能会需要所述分子的拮抗剂

(例如，以位点靶定的方式)。因此，另一个例子中，采用式(I)代谢产物或化合物的疗法可能需要给药这类分子的拮抗剂来抑制那些被引入哺乳动物体内但需要减缓或停止的化合物的机能。“抑制的 T_H1 细胞功能”因此应该被理解为意味着至少哺乳动物的某些 T_H1 细胞功能由于受式(I)或式(II)代谢产物或化合物或其药学上可接受的盐的影响而呈现受抑制、减缓或迟滞。

因此，本发明的另一方面涉及一种在哺乳动物体内上调受抑制的 T_H1 细胞功能的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物有效量的式(I)或式(II)所示IDO-介导的色氨酸代谢产物或化合物或其药学上可接受的盐的拮抗剂。

“拮抗剂”应该理解为这样的蛋白或非蛋白分子，它们直接或间接抑制、阻滞或者下调式(I)或式(II)所示代谢产物或化合物或其药学上可接受的盐的对细胞功能抑制活性。确定适用于本发明的拮抗剂可以通过本领域技术人员所公知的方法来常规实现。

本发明的还涉及将本发明用于治疗和/或预防疾病状况、其它有害状况或者对此类状况的易发倾向。更具体地说，本发明涉及治疗以异常或有害 T_H1 细胞功能(如自身免疫 T_H1 细胞响应)为特征的疾病。并非将本发明限于任何理论或实施方式，可采用本发明的方法进行治疗的病症包括但不限于 T_H1-介导自身免疫病症。优选地，所述状况为发生于中枢神经系统或外周的自身免疫脱髓鞘病，如多发性硬化症、急性炎性多发性神经病(Guillan-Barre syndrome)、多发性神经根炎或慢性炎性脱髓鞘。

因此，本发明的还涉及治疗和/或预防哺乳动物体内以异常 T_H1 细胞功能为特征的病症，所述方法包括在足以下调所述 T_H1 机能的条件下和一段时间内给予所述哺乳动物有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

更具体地说，提供一种治疗和/或预防哺乳动物体内以自身免疫 T_H1 细胞功能为特征的病症的方法，所述方法包括在足以将 T_H1 细胞应答变为 T_H2 细胞应答的条件下和一段时间内给予有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物。

优选地，所述代谢产物或其衍生物上调 T_H2 细胞因子产生。

更优选地，所述自身免疫 T_H1 细胞指向髓鞘质蛋白。还更优选地，所述髓鞘质蛋白为髓鞘质碱性蛋白。

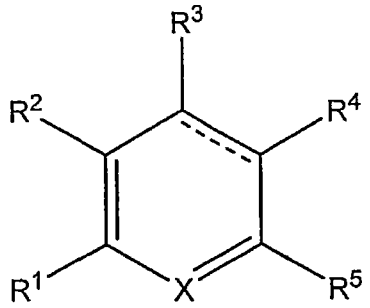
根据本发明的优选方面，提供一种治疗和/或预防以哺乳动物体内自身免疫 T_H1 细胞功能为特征的病症的方法，所述自身免疫 T_H1 细胞指向髓鞘质碱性

蛋白，所述方法包括在足以将 T_H1 细胞应答变为 T_H2 细胞应答的条件下和一段时间内给予有效量的一种或多种 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物，所述代谢产物或其衍生物上调 T_H2 细胞因子产生。

优选地，所述病症为中枢神经系统或外周的自身免疫脱髓鞘病。更优选地，所述外周脱髓鞘病为急性炎性多发性神经根病、多发性神经根炎或慢性炎性脱髓鞘。

最优选地，所述病症为多发性硬化症。

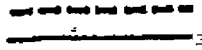
优选实施例中，所述 IDO-介导色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

X 选自 N 和 CR^6；

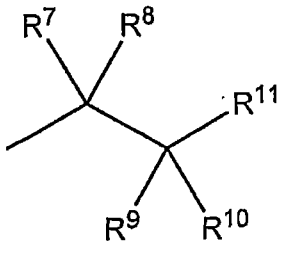
表示单键或双键；

R^1 选自 H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H 和 CO_2C_{1-4}烷基；

R^2 选自 H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、或 R^1 和 R^2 一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3 选自 H、C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基和卤素；

R^4 选自 H、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基和



；

R^5 选自 C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、NH_2 和 NHR^{12}；

R^6 选自 H、C_{1-4}烷基、OH 和 C_{1-4}烷氧基；

R^7、R^8、R^9 和 R^{10} 各自为 H 和 C_{1-4}烷基，或者，R^7 和 R^8 一起形成桥氧基，或

者，R^7和R^9形成键；

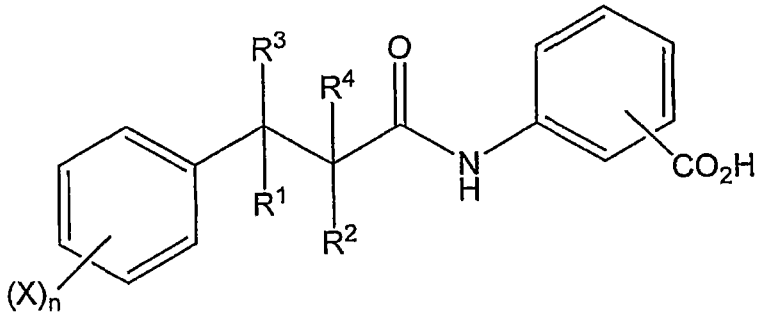
R^{11}选自$CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、$C(O)NH_2$、$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4}烷基和$CH_2N(C_{1-4}$烷基$)_2$；

R^{12}选自H、C_{1-4}烷基和$C(O)H$；和

R^{13}为H、C_{1-4}烷基和或选取代的苯基，其中或选取代的苯基或选性地以一个或多个C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、卤素、NH_2、 NHC_{1-4}烷基和$N(C_{1-4}$烷基$)_2$取代。

优选地，所述IDO-介导色氨酸代谢产物为3-HKA、3-HAA、PA或QA。

另一个优选实施例中，所述IDO-介导色氨酸代谢产物衍生物为式(II)化合物：



(II)

其中每个R^1和R^2分别选自氢原子或C_1-C_4烷基，R^3和R^4均为氢原子或一起组成另一个化学键，每个X独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基，或者，当两个X基团为烷基或烷氧基时，它们可以连成环，n为从1到3的整数。

式(I)、式(II)或其药学上可接受的盐的代谢产物、衍生物和化合物还可以用来与其它治疗(例如免疫抑制或抗-发炎治疗方法)相结合来治疗自身免疫病症。

“有效”量意味着至少部分获得所需回应或延迟发作或抑制发展或全部停止待治疗特定病症的发生和发展的所需的量。该有效量随待治疗个体的健康或身体状况、待治疗个体的分类学组、所需保护的程度、组合物的配方、医学情况的评估、和其它相关因素的不同而变化。可以预期，该有效量可以通过常规试验确定，并将落入相对宽的范围内。

此处的“治疗”和“预防”应该作最宽泛的理解。术语“治疗”并不必然意味着治疗个体直到完全康复。相似地，“预防”并不必然意味着个体不会最

终感染疾病。因此，治疗和预防包括改善特定病症的症状或预防或降低患特定病症的风险。例如，就对多发性硬化症而言，可以包括改善或预防一些神经部位(并不一定是所有神经部位)的发炎。例如，这可能出现在相关化合物被给药到局部而非所有受感染组织的情况下。术语“预防”可以认为是减轻特定病症的严重性或防止其发生。“治疗”也可以减轻已存在病症的严重性。

以药物组合物形式给予式(I)、式(II)化合物或其药学上可接受的盐或其拮抗剂(本文称为“调控剂”)可以采用任何传统方法。当给予针对个案而定的剂量时，药学组分的调控剂将呈现治疗活性。差异取决于人或动物个体以及所选调控剂。可以采用宽泛的范围剂量。例如，就单个患者而言，每天每公斤体重可以给药大约 0.1mg 到 1mg 的调控剂。可以调整剂量以获得最佳治疗效果。例如，可以每天、每周、每月或按其它合适的间隔多次用药，或者在危急情况(exigencies situation)下，剂量可以按照说明成比例递减。

所述调控剂可以传统方法给药，如通过口服、静脉注射(当水溶性时)、腹腔内注射、肌肉注射、皮下注射、皮内注射或栓剂途径或植入(如，采用缓释分子)。调控剂可以药学上可接受的无毒盐的形式给药，如酸加成盐或与金属如锌、铁或类似物所形成的金属络合物(可以被认为是用于本发明目的的盐)。此酸加成盐的举例说明有盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、马来酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、抗坏血酸盐、酒石酸盐等。当活性成分以片剂的形给药时，片剂可包含粘结剂如黄芪胶、玉米淀粉或明胶；崩解剂，如藻酸；和润滑剂，如硬脂酸镁。

调控剂可与各种蛋白或非蛋白分子连接、结合或以其他方式联合。例如，本发明的一个实施例中，所述调控剂与能靶定到局部区域的分子联合。

给药路径包括，但不限于，吸入、气管内、鼻咽、静脉内、腹腔内、皮下、颅内、皮内、肌肉内、眼内、内鞘内、脑内、鼻内、输液、口服、直肠、结肠、IV 滴流、贴剂和植入。

按照这些方法，本发明的药剂可以与一种或多种其它化合物或分子共给药。“共给药”意味着通过同样或不同路径在同一配方内或在不同配方内同时给药，或通过同样或不同路径先后给药。例如，主题药剂可以与激动剂一同给药以增进效果。“先后”给药意味着在两种类型分子的给药时间之间相差几秒、几分、几小时或几天。这些分子可以任何顺序给药。

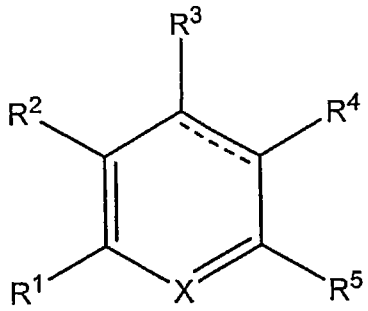
本发明的另外一方面涉及 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物制备治

疗以异常 T_H1 细胞功能为特征的病症的药物的用途，其中给药所述化合物下调所述 T_H1 细胞功能。

优选地，所述病症为自身免疫病症，甚至更优选地，是以指向髓鞘质蛋白的免疫应答为特征的自身免疫病症。更优选地，所述病症为 CNS 或外周自身免疫脱髓鞘病。最优选地，所述病症为多发性硬化症。

本发明还涉及 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物制备治疗多发性硬化症的药物的用途。

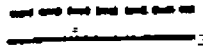
一个优选实施例中，所述 IDO-介导的色氨酸代谢产物或其衍生物为式(I)化合物：



(I)

其中

X 选自 N 和 CR^6；

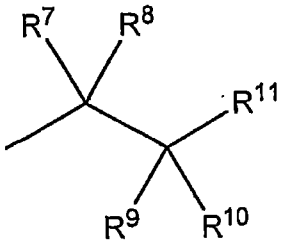
表示单键或双键；

R^1 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、CO_2H 和 CO_2C_{1-4} 烷基；

R^2 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、或者，R^1 和 R^2 一起形成或选取代的稠合苯环；

R^3 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基和卤素；

R^4 选自 H、C_{1-4} 烷基、C_{2-4} 烯基、OH、C_{1-4} 烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基和



；

R^5 选自 C_{1-4} 烷基、OH、C_{1-4} 烷氧基、卤素、CO_2H、CO_2C_{1-4} 烷基、NH_2 和 NHR^{12}；

R^6 选自 H、C_{1-4} 烷基、OH 和 C_{1-4} 烷氧基；

R^7、R^8、R^9和R^{10}各自为H和C_{1-4}烷基，或者，R^7和R^8一起形成桥氧基，或者，R^7和R^9形成键；

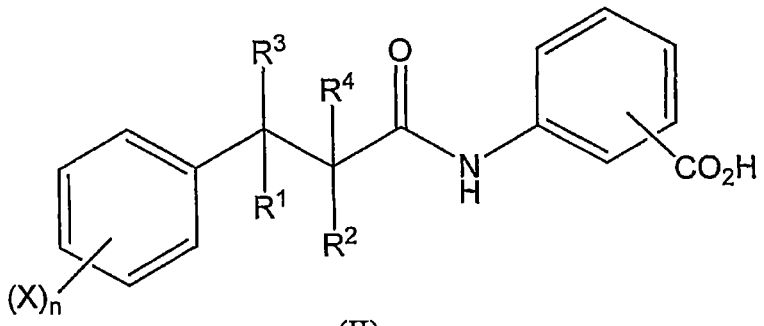
R^{11}选自$CH(CO_2H)NH_2$、$CH(CO_2C_{1-4}$烷基$)NH_2$、$C(O)CO_2H$、$C(O)CO_2C_{1-4}$烷基、$C(O)H$、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、$C(O)NH_2$、$C(O)NHR^{13}$、CH_2NH_2、CH_2NHC_{1-4}烷基和$CH_2N(C_{1-4}$烷基$)_2$；

R^{12}选自H、C_{1-4}烷基和$C(O)H$；和

R^{13}为H、C_{1-4}烷基和或选取代的苯基，其中或选取代的苯基或选性地以一个或多个C_{1-4}烷基、OH、C_{1-4}烷氧基、CO_2H、CO_2C_{1-4}烷基、卤素、NH_2、NHC_{1-4}烷基和$N(C_{1-4}$烷基$)_2$取代。

优选地，所述IDO-介导色氨酸代谢产物为3-HKA、3-HAA、PA或QA。

另一个优选实施例中，所述IDO-介导的色氨酸代谢产物衍生物为式(II)化合物：



(II)

其中每个R^1和R^2分别选自氢原子或C_1-C_4烷基，R^3和R^4均为氢原子或一起组成另一个化学键，每个X独立地选自羟基、卤素原子、C_1-C_4烷基或C_1-C_4烷氧基，或者，当两个X组为烷基或烷氧基时，它们可以连成环，n为从1到3的整数。

本发明考虑将所述代谢产物以纯物质形式或以药物组合物形式给药，所述药物组合物含有所述代谢产物或其药学上可接受的盐或其拮抗剂(如前所述)和一种或多种药学上可接受的载体和/或稀释剂。所述药剂指活性成分。

适用于注射使用的药物形式包括无菌水溶液(其可溶于水)或悬浮液和用于临时制备无菌注射溶液或悬浮液的无菌粉末、或乳霜及其它适于局部(topical)给药的形态。这些形式在生产和储存条件下必须稳定，且不受微生物(如细菌和真菌)污染。载体可以是含有如水、乙醇、多元醇(如丙三醇、丙二醇、液态聚乙二醇等)、它们的适当混合物和植物油的溶液或悬浊液介质。合适的流动性可以通过例如使用包衣(如卵磷脂)、在悬浊液的情况下通过维持

所需的颗粒尺寸以及通过使用表面活性剂来维持。为了预防微生物感染，可以引入各种抗细菌和抗真菌药剂，如，对羟苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等。许多情况下，优选包括等渗剂，如，糖或氯化钠。通过在药剂组合物中使用吸收延迟剂(如单硬脂酸铝和明胶)来延长可注射组合物的吸收时间。

无菌注射溶液通过如下方法制备：根据需要，将所需量的活性化合物与上述各种其它成分加入合适的溶剂，再进行过滤灭菌。总体而言，悬浊液通过如下方法制备：将各种无菌活性成分与含有基本悬浊介质和选自以如上所述的所需其它组分一起加入无菌载体中。对用于制备无菌注射溶液的无菌粉末而言，优选的制备方法为将前述经过除菌过滤的溶液经过真空干燥和冷冻干燥，以得到活性成分和添加的各种所需成分的粉末。

当所述活性成分被适当保护时，它们可以通过口服给药，例如，采用惰性稀释剂或采用可吸收可食载体来保护，或将其包入硬壳或软壳明胶胶囊内，或将其压成片剂，或将其直接加入食物。对口服治疗给药而言，活性化合物可与赋形剂一起加入例如以下使用形式：可咽/可吸收药片、颊含片(buccal tablet)、含片(troche)、胶囊、酏剂、悬浮剂、糖浆、多层片剂(wafer)等形式。按重量计，此类组合物和制备物应包含至少 1%活性化合物。组合物和制备物的百分比当然可以变化，合适的可以是按单位剂型重量计大约 5 到 80%。活性化合物在此类治疗用组合物内的剂量以能够获得合适的剂量为准。优选的本发明的组合物或制剂被制备成其口服剂量单位含有大约 0.1μg 到 2000mg 的活性化合物。

药片、颊含片(troche)、药丸、胶囊等还可以包含如下所列的成分：粘结剂如树胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；赋形剂如磷酸氢钙；崩解剂如玉米淀粉、土豆淀粉、藻酸等；润滑剂如硬脂酸镁；和甜味剂如蔗糖、乳糖或糖精或调味剂如薄荷油、冬青油或水果(例如莓果)香精。当剂量单位形式为胶囊时，除了上面提到材料外，它还可包含液态载体。各种其它材料可以包衣的形式存在，或被用来修饰剂量单位的物理形态。例如，药片、药丸、或胶囊可以包以虫胶、糖或这两者。糖浆或酏剂可以包含所述活性化合物、作为甜味剂的蔗糖、作为防腐剂的对羟苯甲酸甲酯和对羟苯甲酸丙酯、色素和调味剂如莓果或桔子味的。当然，用以制备各种剂量单位形式的所有材料都应该是药学纯且在所用剂量基本无毒。而且，可将活性化合物制成缓释制剂。

本发明还涉及用于本发明方法中的前述代谢产物或衍生物或其药学上可接受的盐或其拮抗剂。

还应该理解本发明范围涵盖基于将 T_H细胞应答引导为 T_H2 亚型来上调 T_H2 机能的方法。这一目的通过本发明所述的方法而得以实现，其中，用以改变 T_H1 应答的所述方法将自然而然地下调 T_H1 应答并上调 T_H2 应答。由于 T_H2 应答支持体液应答，上调 T_H2 应答允许人们合理设计出能够利用这一免疫应答效应诱导方法的治疗和/或预防方法。

本发明还提供一种药物套装或试剂盒，其包含一个或多个装有一种或多种本发明药物组合物成分的容器。这些容器可带有药物或生物制品制备、使用或销售政府监管部门规定的标识，所述标识表明其已获得上述部门许可，获准用于人类。

下列实施例是为本领域普通技术人员提供完整的如何获得并使用本发明的公开和描述，而不是要限制本发明的范围，也不是意味着下列试验是所有或唯一可进行的试验。发明人已尽力保证所用数字(如数量、温度等)的精确度，但仍然应该容许一些试验误差和偏离。除非有其它说明，份为重量份，分子量为重均分子量，温度为摄氏度，并且压力为等于或接近于大气压。

所有说明书中引用的出版物和专利申请在这里都作为参考包含在本发明内容之中，正如每个出版物或专利申请均晶体并分别作为参考包含在本发明中。

本发明已经按照本发明人发现或提出的特别实施例来进行了描述，以提供优选的实施本发明的方式。本领域技术人员在本发明的启示下可以认识到，在不背离本发明范围的情况下，用以举例的特别实施例中还可以进行许多改变和变型。例如，由于密码子冗余，可以改变 DNA 序列而不影响其编码的蛋白序列。而且，基于生物功能等效性的考虑，可以对蛋白结构做一些改变而不影响其生物行为的种类或数量。所有此类改变均包含在权利要求范围内。本说明书中对任何现有技术的引用不是且不应该被认为是承认或以任何形式暗示现有技术在澳大利亚构成公知常识的一部分。以下非限制性实施例是对本发明的进一步描述。

实施例 1

用 3,4-DAA(口服活性人工合成 TRP 代谢产物)治疗确症的自身免疫性神经炎

结果

鉴定经 APL 处理的 T 细胞内被差异调控的基因转录子。这样，从带有对髓鞘质碱性蛋白(MBP)肽 Ac1-11 特异性的转基因 TCR 的小鼠产生一 T 细胞系，并进行了基因芯片分析。变构肽配体 Ac1-11[4Y]以高于天然肽的亲和性结合主要组织相容性复合物(MHC)II 类 I-A^u。尽管 Ac1-11 主要诱导 T_H1 应答，Ac1-11[4Y]则启动 T_H2 应答(Pearson 等人., *J Exp Med.* 185:583-99, 1997)。微型阵列分析揭示，与 Ac1-11-活化的细胞相比，48h 后，Ac1-11[4Y]-活化的 T 细胞内吲哚胺-2,3-二加氧酶(IDO)的转录物上调了超过 70 倍(表 1)。

表 1:被 APL MBP Ac1-11[4Y]特异性诱导的 T 细胞转录物

编号	描述	改变倍数
X12531	巨嗜细胞炎性蛋白(MIP)的小鼠 mRNA。	164.8
M69109	小鼠吲哚胺-2,3-二加氧酶 mRNA，完整 cds。	74.4
aa028770	mi15h02.rl Soares 小鼠 p3NMF19.5 Mus 肌 cDNA 克隆 463635 5'，mRNA 序列	34.1
M10937	小鼠表皮 67-kDa II 类角蛋白 mRNA	21
X03532	IgGl 诱导因子的小鼠 mRNA	18.2
u29947	Mus 肌 α-D-甘露糖苷酶(Man2b1) mRNA，完整 cds。	14.7
aa572259	v152b09.rl Stratagene 小鼠皮肤(#937313)Mus 肌 cDNA 克隆 975833 5'，mRNA 序列	14.4
M12279	选择性抗流感病毒的小鼠干扰素诱导的 Mx 蛋白 mRNA，完整 cds。	11.8
x03019	粒细胞-巨嗜细胞集落刺激因子(GM-CSF)的小鼠 mRNA。	10.8
x51834	骨桥蛋白的鼠基因。	10.6
U96700	Mus 肌丝氨酸蛋白酶抑制子 6(SPI6)mRNA，完整 cds。	10.6
Msa.1376.0	早期 T-淋巴细胞激活 1 蛋白(ETa-1)的小鼠 mRNA。	10.4
M35590	小鼠巨嗜细胞炎性蛋白 1-β (MIP-1) mRNA，完整 cds。	9.8
Msa.35983.0	与 Sp P10923 同源：骨桥蛋白前体(骨涎蛋白 1)(MINOPONTIN)(早期 T 淋巴细胞激活 1 蛋白)(分泌型磷蛋白 1)(SPP-I) (2AR) (草酸钙晶体生长抑制蛋白)。	9.7

Msa.757.0	小鼠核染色质非组蛋白高迁移率族蛋白(HGM-I(Y)，完整cds。	8.9
d89571	Ryudocan 核蛋白的 Mus 肌 mRNA，完整 cds。	8.8
Msa.27449.0	与 Sp P10923 同源：骨桥蛋白前体(骨涎蛋白1)(MINOPONTIN)(早期T淋巴细胞激活1蛋白)(分泌型磷蛋白1)(SPP-I) (2AR) (草酸钙晶体生长抑制蛋白)。	8.7
x03019	粒细胞-巨嗜细胞集落刺激因子(GM-CSF)的小鼠 mRNA。	8.4
x06271	白介素5的鼠基因(嗜酸性细胞分化因子)。	8.1
Msa.17355.0	与 Sp P48960 同源：白细胞抗原 CD97 前体。	7.9
u85786	Mus 肌钠通道 β-1 亚基 mRNA，完整 cds。	7.6
x14045	T 细胞生长因子 P40 的小鼠 mRNA。	7.2
x02732	白介素-3(IL-3)的小鼠基因。	6.9
ET61010	T-细胞受体 β 的小鼠淋巴细胞 mRNA，部分 cds。	6.5
aa185666	mt89d08.rl Soares 小鼠淋巴结 NbMLNMus 肌 cDNA 克隆637071 5'，mRNA 序列。	6.4
Msa.2173.0	抑制素 β-A 亚基的小鼠 mRNA，完整 cds。	6.1
u81603	Mus 肌 Eya2 同源(Eya2)mRNA，完整 cds。	5.8
Msa.1189.0	Mus 肌分泌型 T 细胞蛋白(P500/TCA3; SIS-ε) mRNA，完整 cds	5.8
aa709719	vt38al θ.rl Barstead 小鼠近结肠 MPLRB6Mus 肌 cDNA 克隆 1165338 5'，mRNA 序列。	5.6
Msa.3279.0	Mus 肌 RGS-r 蛋白 mRNA，完整 cds。	5.6
Msa.2937.0	mTGIF 蛋白的 Mus 肌小鼠 mRNA	5.6
U06119	Mus 肌组织蛋白酶 H 前肽原(ctsH)mRNA，完整 cds。	5.4
u08372	Mus 肌 Balb/c 非唾液酸糖蛋白受体(MHL-1)mRNA，完整cds。	5.3
AA389997	vb43hl 1.rl Soares 小鼠淋巴结 NbMLNMus 肌 cDNA 克隆751749 5'，mRNA 序列。	5.3
aa163485	mt66b03.rl Soares 小鼠淋巴结 NbMLN Mus 肌 cDNA 克隆634829 5'，mRNA 序列。	5

由 IDO 产生的 Trp 代谢产物包括 3-羟基犬尿喹啉酸(3-HKA)、3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)、吡啶甲酸(PA)和喹啉酸(QA)(R. Schwarcz, *Curr. Opin. Pharmacol.* 4:12-7, 2004)。为了验证关于犬尿氨酸参与激活髓鞘质-特异性 T 细胞的假设，用 MBP Ac1-11 与 Trp 代谢产物 PA、QA、3-HAA、3-HKA 和合成衍生物 3,4-DAA 联合刺激以下分离的脾细胞，所述脾细胞分离自带有髓鞘质肽髓鞘质碱性蛋白(MBP)肽 AcI-11 特异性转基因 T 细胞受体(TCR)的 B10.PL 小鼠。3,4-DAA 与 3-HKA 和 3-HAA (Fig. 1A)具有相同的邻氨基苯甲酸核心，且为在人体中具有良好药代动力学的口服活性化合物(Isaji 等人, *Cardiovascular Drug Reviews*, 16:288-299, 1998)。3-HAA、3-HKA 和 3,4-DAA 剂量依赖性地抑制 MBPAc1-11 TCR 转基因 CD4+细胞的抗原特异性增殖(图 1B)。3,4-DAA 对 T 细胞应答的抑制并非由于细胞毒性而引起，而是与 CD4 细胞的 G1/S 期阻滞相关。T_H1-介导的自身免疫疾病，如实验性自身免疫脑脊髓炎(EAE)，一种多发性硬化症动物模型，是由分泌促炎细胞因子(如 IFN-γ 和 TNF-α)的自身反应性 CD4+细胞所引起的(L. Steinman, *J Exp Med.* 197:1065-71, 2003)。因此，分析了 Trp 代谢产物对受 MBP Ac1-11 刺激的 TCR 转基因脾细胞的细胞因子表达的影响。天然 Trp 代谢产物和 3,4-DAA 均减少了活化 CD4 细胞的 IL-2 释放和 T_H1 细胞因子 IFN-γ 和 TNF-α 的释放。相反，接受抗原刺激之后，MBP Ac1-11 TCR 转基因 T 细胞中的 T_H2 细胞因子 IL-4 和 IL-10 被上调(图 1C，表 3)。因此，天然 Trp 代谢产物和 3,4-DA A 均将髓鞘质-特异性 T 辅助细胞的细胞因子况型从 T_H1 表型转变为了 T_H2 表型。

表 3：通过 Trp 代谢产物调控脾细胞细胞因子况型

	IL-2	*IFN-γ*	*TNF-a*	*IL-4*	*IL-10*	*IL-6*	*IL-12/23*
对照	212±20	2159±250	218±13	31±3	74±1	364±10	199±4
PA	256±12	1114±50*	150±4*	54±3*	138±11*	363±12	141±16*
QA	233±25	1237±24*	191±9	56±2*	84±2	367±8	116±2**
3-HKA	212±2	2031±286	141±6*	39±3	122±12*	251±10*	133±2*
3-HAA	144±9*	184±38***	116±12*	37±3	134±23*	205±16*	85±5**
3,4-DAA	66±10**	115±32***	50 ±1**	82±2**	500±46***	317±11	96±12*

来自 MBPAc1-11 TCR 转基因小鼠的脾细胞在无或有 200μM (IL-2、IFN-γ、TNF-α、IL-6 和 IL-12/23 p40)或 30μM(IL-4、IL-10)Trp 代谢产物 PA、QA、

3-HKA、3-HAA、3,4-DAA 存在的情况下用 MBPAc1-11(0.5-2.5μg/ml)进行激活。在 48 小时(IL-2、IL-6、IL-12/23 p40)、72 小时(IFN-γ、TNF-α)或 120 小时(IL- 4、IL-10)后采用 ELISA 方法测量细胞因子释放量。

检测 3,4-DAA 在体内对髓鞘质-特异性 T 细胞的影响。MBPAc1-11 TCR 转基因小鼠用 3,4-DAA 喂养 5 天。当脾细胞在体外用 MBP Ac1-11 进行刺激时，会对 MBP Ac1-11-特异性 T 细胞增殖被抑制。相似地，3,4-DAA-喂养小鼠的脾细胞中，抗原介导的促炎细胞因子 IFN-γ、TNF-α 和 IL-12/23 p40 的释放被显著抑制(图 2A)，说明 3,4-DAA 具有抑制抗原-特异性自身反应性 T_H1 细胞产生的口服活性。而且，FACS 分析显示 CD11b+单核细胞上 MHC II 类和分子和辅助刺激因子分子的表达被下调了(图 2B，表 3)，说明在体外 3,4-DAA 体内抑制抗原-递呈细胞的活化。将抗原有效递送到 $CD4^+$ T_H细胞需要 MHC II 类分子表面呈现抗原，并需要辅助刺激因子分子如 CD40、CD80、CD86 的递呈。MHC II 类分子和辅助刺激因子分子的表达由 IFN-γ 诱导 (Carreno 等人，*Anna Rev Immunol.* 20:29-53, 2002)。

为了评估 Trp 代谢产物对抗原-递呈的影响，使用 EOC20 小神经胶质细胞作为模型。EOC20 细胞组成型地、低水平地基本表达 MHC II 类分子和辅助刺激因子分子，所述表达可被 IFN-γ 迅速上调。IFN-γ 诱导的 MHC II 类分子表达和辅助刺激因子分子表达受到 3,4-DAA 介导的剂量依赖性下调，然而，这些分子的组成性(constitutive)表达量维持不变(图 2C)。值得注意的是，通过碘丙锭(propidium iodine)染色估计，3,4-DAA 浓度高达 200μM 时也不影响细胞活度。EOC20 细胞内，在 IFN-γ-诱导的 MHC II 类表达受到 3,4-DAA-介导的抑制的同时，II 类反式激活因子 CIITA 被抑制(图 2D)。而且，3,4-DAA 抑制 EOC20 细胞中 IFN-γ 和脂多糖(LPS)诱导的可诱导的氧化氮合成酶(iNOS)表达及氧化氮(NO)释放(图 2E、F)。因此，总体上，3,4-DAA 干扰 IFN-γ 的信号传导。当 EOC20 细胞与 3,4-DAA 一起预培养后，由 IFN-γ 诱导的 STAT1α 的磷酸化作用被剂量依赖性地抑制了(图 2G)。因此，3,4-DAA 通过干扰 IFN-γ 的信号传导来抑制抗原递呈细胞的活化。

为了评估 3,4-DAA 是否抑制了自身反应性 T_H1 的功能，在自身免疫疾病模型中对所述化合物进行测试。用 $PLP_{139-151}$ 免疫 SJ/L 小鼠诱导复发-缓解(反复性)EAE(relapsing-remitting EAE)，一种多发性硬化症的原型动物模型

(L.Steinman, *Nat Immunol.* 2:762-4, 2001)。反复性多发性硬化症患者通常在临床症状首次发作后接受旨在避免复发的治疗。因此，为了模拟临床情形，在疾病出现后并待动物机能损伤达到最严重时开始治疗。根据临床分数随机选择小鼠，然后，在免疫之后 15 或 16 天开始对小鼠进行每天两次的经口管饲治疗。大部分动物在首次急性期之后康复。但是，以载体处理的动物在整个病程中出现严重复发，用 3,4-DAA 处理的动物几乎没有复发的临床迹象(图 3A)。在某些剂量水平，临床疾病指数显著下降(CDI)，复发分数达到峰值(表 2)。

表 2:3,4-DAA 改善了确诊 EAE 的临床症状

治疗 [mg/kg/d]	*开始 [dpi]*	*峰值 [急性]*	*CDI*	*CDI[d0-26]*	*CDI[d27-60]*	*峰值 [复发]*
载体	12.7+/-0.3	3.0+/-0	109+/-12	27.3+/-3.2	81+/-10	3.0+/-0.4
30	13.3+/-0.2	3.0+/-0	76+/-13	22.3+/-1.9	54+/-13	2.9+/-0.4
100	12.7+/-0.2	3.1+/-0.3	51+/-11 ***	23.3+/-3.4	28+/-9 ***	1.4+/-0.3**
200	14.1+/-0.8	2.9+/-0.4	45+/-16 **	17.2+/-5.9	28+/-10 ***	2.0+/-0.3 **
300	12.9+/-0.3	3.1+/-0.3	61+/-12 *	23.9+/-3.1	37+/-9 **	1.9+/-0.5
500	13.1+/-0.5	2.8+/-0.5	68+/-16	21.7+/-5.7	47+/-11	2.2+/-0.3 *

7-8 周大的雌性 SJ/L 小鼠用 $PLP_{139-151}$ 进行免疫并以仅载体(Na-CMC)或所示浓度的 3,4-DAA 进行处理。计算 CDI(累积疾病指数)，即 60 天或所示时间段内分数之和。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001。

值得注意的是，观察到了最有效剂量区间 100-200mg/kg/d 之间的钟形量-效曲线(表 2)。这可能是由经 3,4-DAA 改变的独特机制所造成的，其可能对 EAE 具有相反的效果。首先，3,4-DAA 活化髓鞘质特异性 T 细胞内 IFN-γ 的产生(表 1)。而且，3,4-DAA 消除了抗原递呈细胞内的 IFN-γ-信号传导(图 3)。已证实，通过 IFN-γR 遗传沉默或抗体中和抑制 IFN-γ-信号传导导致 EAE 恶化。而且，已证实，STAT1 遗传沉默导致多个器官发炎(Wang 等人, *Proc Natl Acad Sci USA.* 99:16209-14, 2002)，其原因可能是 T_R 细胞发育不全(nishibori 等人, *J Exp Med.* 199:25-34, 2004)，而且，STAT1-缺乏小鼠的 EVE 比野生型小鼠更为严重(Bettelli 等人., *J Exp Med.* 200:79-87, 2004)。而且，NOD 小鼠可能容易应通过 STAT1 的 IFN-γ 信号传导缺陷而发生自身免疫，所述缺陷会导致 Trp 分解代谢诱导不良(Grohmann 等人., *J Exp Med.* 198:153-60, 2003)。另外一

方面，3,4-DAA 抑制了氧化氮的释放，并抑制抗原递呈细胞表面 MHC II 分子和辅助刺激因子分子的表达(图 2E)。据信，3,4- DAA 通过直接抑制髓鞘质-特异性 $CD4^+$T 细胞部分绕开了抑制自身反应性 T_H1 细胞产生所需的 Trp 分解代谢。在体内很好地达到了用于体外试验的 3,4-DAA 的高微摩尔剂量。使用气相色谱观察到 SJ/L 小鼠体内 100mg/kg/d 时 44.3μM、300mg/kg/d 时 314.9 μM 的稳态血浆水平(数据未显示)。而且，人体内口服后的最高血浆水平为 200mg 时 125μM(Charng 等人., *J Food Drug Anal.* 10:135- 8, 2002)，并且，据报道，口服后，小鼠体内的稳态血浆水平为 52μM(550mg/kg/day)，人体内的稳态血浆水平为 50-200μM (600mg/day)(Izawa 等人., *Arterioscler Thromb Vase Biol.* 21:1172-8)。

与 3,4-DAA 在体外抑制髓鞘质特异性 T_H1 细胞活化这一发现一致，活化 T 细胞的出现频率在接受 3,4-DAA 处理的患 EAE 的 EAE 诱导小鼠体内降低了。共表达活化标记 CD25、CD44 或 CD69 的 CD4 细胞减少了 40%(图 3B)。而且，在接受 3,4-DAA 处理的动物体内，PLP-特异性 T 细胞增殖应答降低少。而且，在以 3,4-DAA 处理的小鼠体内，促炎细胞因子 IFN-γ、TNF-α 和 IL-12/23 p40 减少(图 3C)。值得注意的是，3,4-DAA-处理的小鼠体内 ConA-诱导的 T 细胞增殖没有改变,标明这是一个仅特异性针对 PLP-特异性 T 细胞的影响(数据未显示)。接下来，评估 EAE 小鼠的大脑和脊髓的炎症迹象。与载体处理的小鼠相比，3,4-DAA 处理小鼠的 CNS 组织内的组织(parenchymal)炎症病灶和总炎症病灶减少(图 3D)。为了证明体内 CNS 抗原递呈细胞活化是否受抑制，进行了一系列免疫组织化学和 RT-PCR 试验。如图 4A 所示，载体喂养的患 EAE 的 SJ/L 小鼠内，脊髓内有小神经胶质细胞形态，薄壁组织细胞内高表达 MHC II 类、CD40、CD80、CD86 和 iNOS。相反，3,4-DAA 处理的动物体内，这些分子的表达显著下降。而且,RT-PCR 试验显示,在 3,4-DAA 处理动物的脊髓中,II 类反式激活因子 CIITA、TNF-α 和 IL-12/23 p40 的表达减弱(图 4B)，这暗示抗原递呈细胞抑制为 3,4-DAA 免疫抑制效果的关键。

因此，3,4-DAA 代表了具有独特免疫调节特性的合成 Trp 代谢产物，所述免疫调节特性包括抑制 IL- 12/23 并抑制通过 STAT 分子的信号传导。Trp 代谢产物及其衍生物，如 3,4-DAA，因此可以代表一类新的用于治疗 T_H1 - 介导的自身免疫病的药物。

表 4: 3,4-DAA 体内抑制单核细胞表面 MHCII 和辅助刺激因子分子的表达。

	MHCII	*CD80*	*CD86*	*CD40*
载体	51.9	9.4	34.2	41.1
3,4-DAA	28.4	2.7	21.3	24.9

MBP Ac1-11 TCR 转基因小鼠经口管饲以 3,4-DAA(500mg/kg/d)或纯载体(Na-CMC 0.5%)，每天两次，共 5 天。以流式细胞计数法分析脾细胞。给出的数据是 $CD11b^{+}$单核细胞群中阳性细胞的百分比。数据代表了从每组 3 个不同动物采得脾细胞的集合。

Table 5: 半定量 PCR 的引物序列

	正向序列(5'-3')	序列号	反向序列(3'-5')	序列号
MHC II ($I\text{-}A^{k/s}$)	GGATGCTTCCTGAGTTTG	1	CTGGTTTCATAAACGCCG	8
CIITA	ACGGTCACTACACTTAAAATG	2	CATAACTATAATGCTACGGGGA	9
IL-12 p35	CCAAGGTCAGCGTTCC	3	GTTTGGTCCCGTGTGAT	10
IL-12/23 p40	GACGTTTATGTTGTAGAGGTG	4	GTCTCGCCTCCTTTGT	11
IL-23 p19	AATGTGCCCCGTATCC	5	GGAGGTGTGAAGTTGCT	12
TNF-α	CCTTGTCTACTGCTAACCGACTCCT	6	AGTTGGTCCCCCTTCTCCA	13
iNOS	GACGGCAAACATGACT	7	CCACTCGTACTTGGGAT	14

材料与方法

动物: 购自 Jackson 实验室(Bar Harbor)的 5 周大雌性 SJL/J 小鼠。获自 C. Janeway Jr. (Hardardottir 等人., *Proc Natl Acad Sd USA* 92:354-8, 1995)的 MBP Ac 1-11 TCR 转基因小鼠回交到 B10.PL 背景。所有动物实验均按照国家健康协会准则，获得斯坦福大学比较药物部和旧金山加里弗尼亚大学动物研究委员会的认可。

试剂: 吡啶甲酸、喹啉酸、3-羟基-邻氨基苯甲酸和 3-羟基-犬尿喹啉酸购自 Sigma 公司。鼠重组 IFN-γ 和 IL-6 获自 Biosource 公司。3,4-DAA 为人工

合成，并由 Angiogen Pharmaceuticals Pty. Ltd 提供。MBP AcI-11 肽(Ac-ASQKRPSQRHG)(SEQ ID NO:36)和 PLP p139-151(HCLGKWLGHPDKF)(SEQ ID NO:37)通过标准 9-芴基甲氧基羰基化学法用肽合成仪(9050 型；MilliGen)人工合成，并由高效液相色谱(HPLC)纯化。通过氨基酸分析和质谱分析确定氨基酸序列。每种肽的纯度达到 95%以上。

*小神经胶质细胞和巨噬细胞:*采用非病毒性无限增殖方法(Walker等人., *J Neuroimmunol.* 63:163-74, 1995)由 C3H/HeJ CH-2k 小鼠产生的小神经胶质 EOC 20 细胞获自美国菌种保藏中心(ATCC)并 DMEM 培养基培养，所述培养基补充了 1mM 丙酮酸钠、10%(v/v)胎牛血清(FCS)和 20%(v/v)以 LADMAC 小鼠骨髓细胞(ATCC, CRL-2420)作为 CSF-1 来源进行了调配培养基。原初(primary)小神胶质分离自 1-3 天大的 129Sv/Ev 小鼠，方法如现有技术所述(Youssef 等人., *Nature* 420:78-84, 2002)。原初小神经胶质细胞通过荧光激活细胞分选术(FACS)达 95% CD11b+。给 B10.PL 小鼠腹膜内注射 1ml 3%(w/v)巯基醋酸盐(或酯)，24 小时后收获原初巨噬细胞(腹膜分泌物细胞(PEC))。PEC 单用培养基培养 72 小时，然后以 IFN-γ (100U ml^{-1})活化或单用培养基处理。据 FACS 分析，PEC 达到 98% (w/v) CD11b+。

3,4-DAA 处理: 将 3,4-DAA (Angiogen Pharmaceuticals, Pty. Ltd.)在羧甲基纤维素钠(Na-CMC，0.5%)中配制成悬浮液。用 20-mm 喂食针(Popper and Sons Inc.)每天两次口服给药 3,4-DAA(含于 0.5 ml Na-CMC 中)。

实验性自身免疫性脑脊髓炎的诱导: 通过 100μg PLP p139-151 皮下免疫在 SJL/J 小鼠体内诱导 EAE，所述 100μg PLP p139-151 乳化于含有 4mg ml-1 热灭活结核分支杆菌(Mycobacterium tuberculosis)H37Ra (difco Laboratories)的 Freund 氏佐剂(CFA)中。每天对小鼠进行 EAE 临床迹象的检测并按如下记分：0，无麻痹；1，丧失尾部紧张；2，后肢无力；3，后肢麻痹；4，后肢及前肢麻痹；5，濒死或死亡。

流式细胞计数: 如描述地进行免疫荧光染色。培养 48 小时后，细胞用 FACS 缓冲液(含有 0.1%(w/v)叠氮化钠和 2%(v/v)FCS 的 PBS)冲洗并与抗小鼠 CD16/CD32 单克隆抗体(克隆 2.4G2，PharMingen)一起 4℃预培养 10 min 以阻断非-特异性的与 Fc 受体的结合。荧光染料-偶联的单克隆抗体(大鼠抗小鼠 Mac-1 /CD Hb- PE (M1/70，IgG2b)、小鼠抗小鼠 MHC II 类(1-Ak)-FITC (10-3.6，IgG2b)、豚鼠抗小鼠 CD40-FITC (HM40-3，IgM)、豚鼠抗小鼠 CD80-FITC

(16-10A1，IgG)、大鼠抗小鼠 CD86-FITC (GL1，IgG2a)、抗-CD4-FITC、抗-CD4-PE、抗-CD44-PE、抗-CD25-FITC 和抗-CD69-PE 均购自 PharMingen 公司。通过用相应的同型对照抗体(PharMingen)进行细胞染色以测定背景荧光。培养之后，细胞用 FACS 缓冲液冲洗两次并采用 CellQuest 软件(Becton dickinson)进行 FACScan 分析。为了进行细胞周期分析，脾细胞经过冲洗后用抗-CD4-FITC (Pharmingen)进行染色。将所述细胞与 90%冰冻乙醇混合后，细胞用碘丙锭(50g/ml)的 PBS 溶液(含有 100 U/ml RNase A)染色 30 min。

*T-细胞增殖试验：*脾细胞或淋巴结细胞(LNC)从患有 EAE 的小鼠体内分离，并与用来免疫的特异性致脑炎肽(PLP p139-151)或与伴刀豆球蛋白 A(Con A)(阳性对照)或与卵清蛋白(阴性对照)一起体外培养。细胞在 96 孔板上以 2-5 倍 10^6 细胞 ml-1 的浓度进行培养。培养基为补充了以下成分的 RPMI 1640 培养基：L-谷氨酸(2 mM)、丙酮酸钠(1 mM)、非必需氨基酸(0.1 mM)、青霉素(100 U ml-1)、链霉素(0.1 mg ml-1)、2-巯基乙醇 (5 倍 10-5 M)和 10% (v/v) FBS。SJL/J 小鼠的脾细胞和 LNC 培养 72 小时，而 MBPAc-1-11 Tg 小鼠的培养物则培养 48 小时。然后，按照每孔 1μCi 用[^{3}H]胸腺嘧啶对培养物进行 18 小时的脉冲标记，之后收获。

*细胞因子分析：*取以下脾细胞和 LNC 的上清液，用于细胞因子分析，所述脾细胞和 LNC 的培养与在增殖试验中使用的那些细胞是平行的。收集不同时间的上清液作细胞因子水平检测：48 小时的上清液用来检测 IL-2 和 IL-12/23 p40 和 IL-6；72 小时的检测 IFN-γ 和 TNF-α；120 小时的检测 IL-4 和 IL-10。细胞因子水平采用对应于各细胞因子的特异性酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒，按照厂商试验手册进行确定(抗小鼠 OPTEIA 试剂盒，PharMingen)。

*半定量 PCR：*免疫后 60 天，杀死小鼠，用 20ml 冷冻无菌 PBS 灌注。采用 Absolutely RNA Mini Kit(Stratagene)，并依据包括一柱上 DNA 消化步骤的厂商的实验手册，从脊髓组织或小神经胶质细胞培养物中抽提总 RNA。用 Superscript II RNase H-反转录酶(Invitrogen, Carlsbad, CA)将 3μg 总 RNA 转录成 cDNA，用于第一链 cDNA 分析。使用高速热循环仪(LightCycler3; Roche diagnostics, Indianapolis, IN)对 cDNA 产物进行实时定量 PCR，并用 SYBR Green I (Qiagen)进行产物检测。PCR 引物列于附表 1。扩增循环为：95℃ 900s，94℃ 15s 的 60 次循环，56℃ 20s，72℃ 15s；65℃ 15s，和 40℃ 30s。在所有样本中扩增作为看家基因的 β-肌动蛋白，用于对表达进行归一化。每

对引物均包括一个对照(无反转录)，用以监控 DNA 污染。熔解曲线证实仅有一个产物得到扩增。为了定量，每个反应体系都包括一个浓缩总 cDNA 的 10 倍稀释系列。

iNOS 活性： iNOS 活性通过 Griess 试验进行评估(Plarten 等人, Biochem Pharmacol 66:1263-70, 2003)。简单说来，将条件上清液与等体积的 Griess 试剂一起室温下培养 5 min，Griess 试剂含有 1%磺胺、0.1% 盐酸萘乙二胺和 2.5% H_3PO_4。在 546 nm 处测量吸光度。以 DMEM 稀释的 $NaNO_2$ 为标准。为了检测细胞数量，细胞以结晶紫染色。iNOS 活性以 48 hr/10^5 细胞中积累的亚硝酸盐/酯来表征。

免疫印迹分析： 小神经胶质细胞裂解于蛋白抽提缓冲液中(含有 20 mg ml^{-1} 抑酞酶（aprotinin）、20 mg ml-1 亮肽素（leupeptin）、1.6 mM Pefablock SC (Roche)、10 mM NaF、1 mM Na_3VO_4 和 1mM $Na_4P_2O_7$(Sigma))。将裂解液加入含有 40 mM DTT 的 2x SDS 加样缓冲液(Cell Signaling Technology)。在 10% SDS-PAGE 胶上电泳分离产物。将凝胶影印到 PVDF 膜上，影印条件为：25 mM tris、192 mM 甘油和 20% (v/v) 甲醇，100V；然后用含有 0.1%(v/v)Tween-20 和 5%(w/v) 脱脂奶粉的 tris-缓冲的生理盐水(TBS)在室温下封闭 1 小时。用 TBS 和 0.1% (v/v) Tween 20 清洗之后，膜在 4℃ 与 1:1,000 稀释于 TBS, 0.1% (v/v) Tween 20 和 5% (w/v) BSA 的抗-磷酸-STAT1α 抗体或抗-磷酸-STAT3 抗体(Cell Signaling Technology, Inc.)杂交过夜。然后膜用 ECL Plus 法(Amersham BioSciences, Inc.)处理以显现条带。膜再次与抗-抗-STAT-1α 杂交作为对照以证实蛋白加样量相等。STAT 分子的迁移表现为 90 kDa 相对分子量。

组织病理学： 经麻醉后的小鼠用 20 ml 冷 PBS 进行灌注。大脑和脊髓在 4% (w/v)三聚甲醛中固定，并包入石蜡。切片用苏木素和曙红染色。由一位对动物治疗情况全不知晓的检测者对所选脑、胸和腰部脊髓切片进行评估。

统计学分析： 数据是平均值和s.e.m.。为了进行临床评分，进行多重比较的单向多范围方差分析(ANOVA)以测定每两组之间的显著性。$p < 0.05$的值被认为显著。

本领域技术人员都知道，这里描述的本发明易于进行改变和变型，而非仅局限于具体所述的那些。应该理解，本发明包括所有这类改变和变型。本发明也包括所有本说明书中以单独或集合方式提到的步骤、特征、组合物和化合物，

以及所述这些步骤或特征的任何以及全部组合。

参考书目

Bettelli E.等人, J *Exp Med* 200, 79-87 (JuI 5, 2004).

Brocke, S等人, *Nature* 379, 343-6 (1996)

Brown 等, 1991

Carenno B.M., Collins M., *Annu Rev Immunol* 20, 29-53 (2002).

Charng MJ.等人, *J Food Drug Anal* 10, 135-8 (2002).

Garren, H.等, *Immunity* 15, 15-22 (2001)

Grohmann U.等人, *J Exp Med* 198, 153-60 (JuI 7, 2003).

Hardardottir, F., Baron, J.L. & Janeway, C.A., Jr. 带有两个功能性抗原特异性受体得T细胞(T cells with two functional antigen- specific receptors). *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 354-8 (1995)

Isaji M., Miyata H., Ajisawa Y., *Cardiovascular Drug Reviews* 16, 288-299. (1998).

Izawa A., Suzuki J., Takahashi W., Amano J., Isobe M., *Arterioscler Thromb Vase Biol* 21,1172-8. (2001).

Nishibori T., Tanabe Y., Su L., David M., *J Exp Med* 199, 25-34 (Jan 5, 2004).

Pearson CL, van Ewijk W., McDevitt H.O., *J Exp Med* 185, 583-99 (Feb 17, 1997).

Platten, M., Eitel, K., Wischhusen, J., dichgans, J. & Weller, M. 在N-[3,4-二甲氧基肉桂酰]-邻氨基苯甲酸(利喘贝)对小神经胶质细胞可诱导的一氧化氮合成酶的表达的抑制过程中涉及蛋白激酶CΔ和细胞外信号-调控激酶-2 (Involvement of protein kinase Cdelta and extracellular signal-regulated kinase-2 in the suppression of microglial inducible nitric oxide synthase expression by N-[3,4-dimethoxy cinnamoyl]-anthranilic acid (tranilast)). *Biochem Pharmacol* 66, 1263-70 (2003)

Schwarcz R., *Curr Opin Pharmacol* 4, 12-7 (Feb, 2004).

Steinman, L., *Science* 305, 212-6 (2004)

Steinman L., *J Exp Med* 197, 1065-71 (May 5, 2003).

Steinman L., *Nat Immunol* 2, 762-4. (2001).

Walker, W.S., Gatewood, J., Olivas, E., Askew, D. & Havenith, CE. 在对天然和记忆 CD4+和 CD8+ T 细胞内的组成型及干扰素-γ-可诱导的抗原递呈活性中存在差异的小鼠小神经胶质细胞系(Mouse microglial cell lines differing in constitutive and interferon-gamma-inducible antigen-presenting activities for naive and memory CD4+ and CD8+ T cells). *J Neuroimmunol 63*, 163-74 (1995)

Wang J., Schreiber R.D., Campbell I.L., *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 16209-14 (Dec 10, 2002).

Youssef, S. 等人, HMG-CoA 还原酶抑制剂阿伐他汀促进Th2偏好并逆转中枢神经自身免疫疾病中的瘫痪(The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune disease. *Nature* 420, 78-84 (2002)。

<110> L.斯坦曼(STEINMAN, Lawrence)
M.普拉滕(PLATTEN, Michael)
P.P.霍(HO, Peggy Pui-Kay)

<120> 调控T细胞功能的方法

<130> STAN-473WO

<150> 60/644,502
<151> 2005-01-14

<160> 14

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1
<211> 18
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 1
ggatgcttcc tgagtttg 18

<210> 2
<211> 21
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 2
acggtcacta cacttaaaat g 21

<210> 3
<211> 16
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 3
ccaaggtcag cgttcc 16

<210> 4
<211> 21
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 4
gacgtttatg ttgtagaggt g 21

<210> 5
<211> 16

<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 5
aatgtgcccc gtatcc 16

<210> 6
<211> 25

<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 6
ccttgtctac tgctaaccga ctcct 25

<210> 7
<211> 16
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 7
gacggcaaac atgact 16

<210> 8
<211> 18
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 8
ctggtttcat aaacgccg 18

<210> 9
<211> 22
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 9
cataactata atgctacggg ga 22

<210> 10
<211> 17
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 10
gtttggtccc gtgtgat 17

<210> 11
<211> 16
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 11
gtctcgcctc ctttgt 16

<210> 12
<211> 17
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 12
ggaggtgtga agttgct 17
<210> 13
<211> 19
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 13
agttggtccc ccttctcca 19

<210> 14
<211> 17
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 14
ccactcgtac ttgggat 17

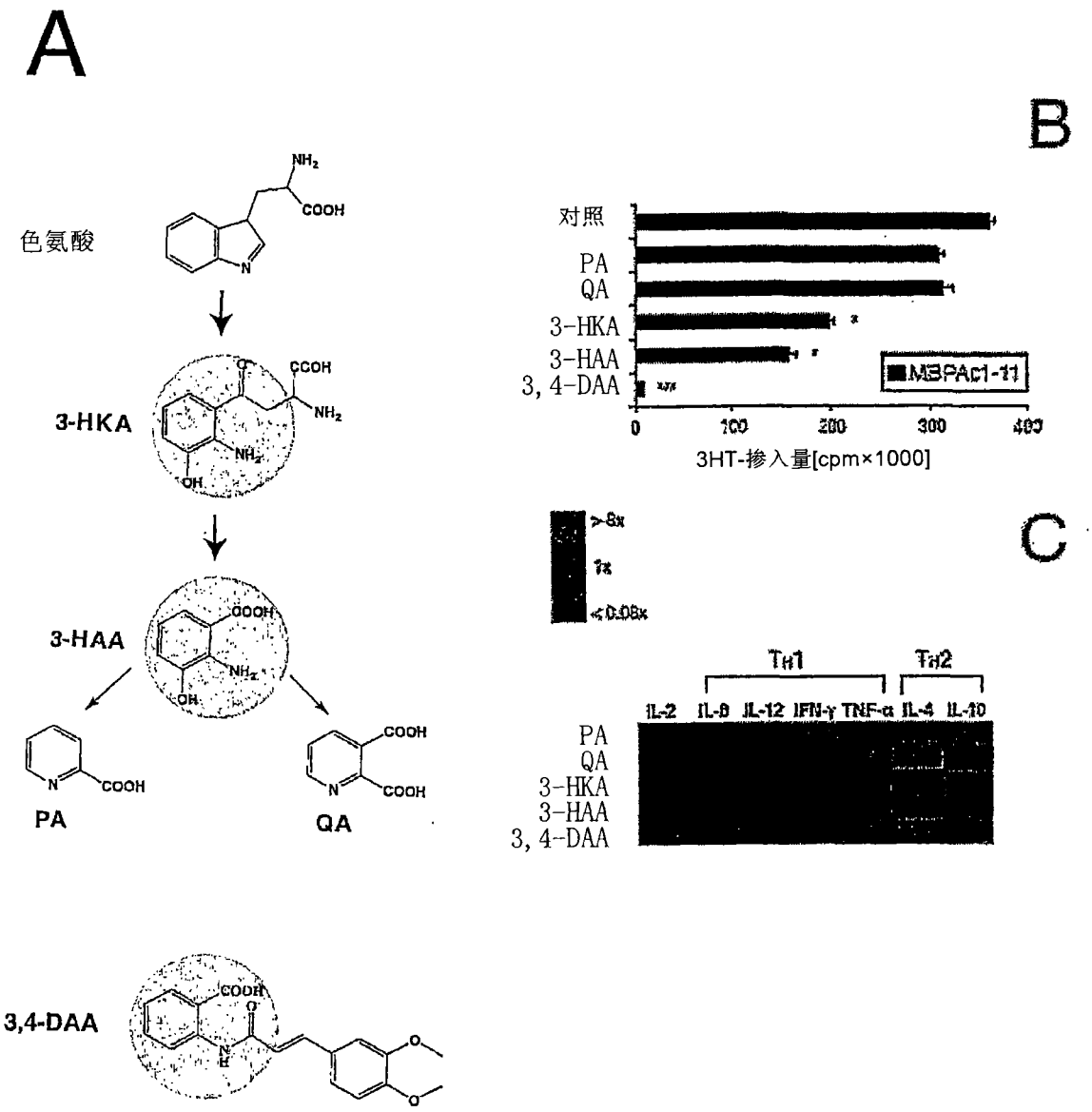

A
色氨酸
3-HKA
3-HAA
PA
QA
3,4-DAA
B
对照
PA
QA
3-HKA
3-HAA
3, 4-DAA
MBPAc1-11
0
100
200
300
400
3HT-掺入量[cpm×1000]
C
TH1
TH2
IL-2
IL-6
IL-12
IFN-γ
TNF-α
IL-4
IL-10
PA
QA
3-HKA
3-HAA
3, 4-DAA

图 1

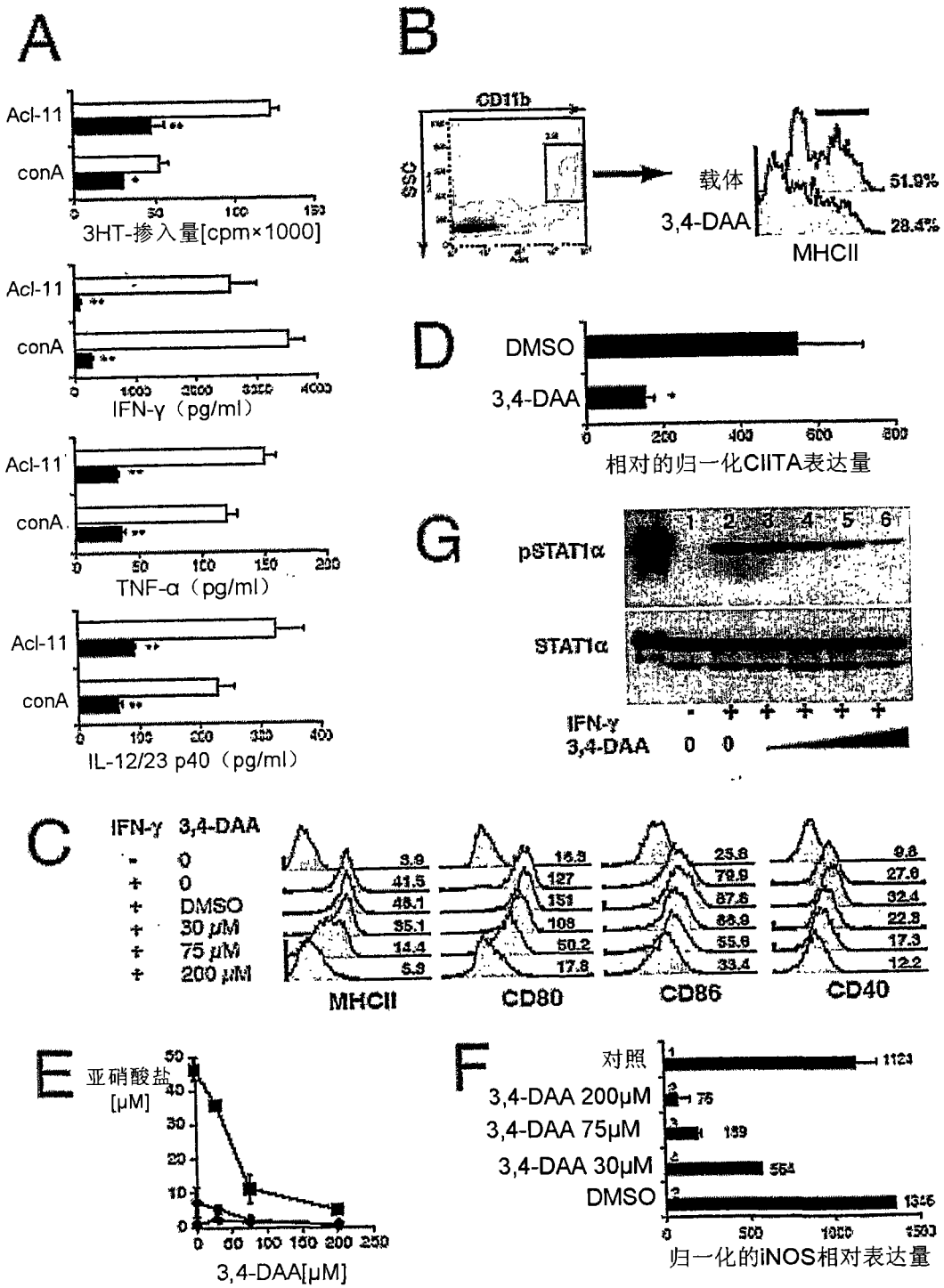

A
Acl-11
conA
3HT-掺入量[cpm×1000]
IFN-γ（pg/ml）
TNF-α（pg/ml）
IL-12/23 p40（pg/ml）
B
CD11b
CD86
载体
3,4-DAA
51.9%
28.4%
MHCII
D
DMSO
3,4-DAA
相对的归一化CIITA表达量
G
pSTAT1α
STAT1α
IFN-γ
3,4-DAA
C
IFN-γ 3,4-DAA
DMSO
30 μM
75 μM
200 μM
MHCII
CD80
CD86
CD40
E
亚硝酸盐 [μM]
3,4-DAA[μM]
F
对照
3,4-DAA 200μM
3,4-DAA 75μM
3,4-DAA 30μM
DMSO
归一化的iNOS相对表达量

图 2

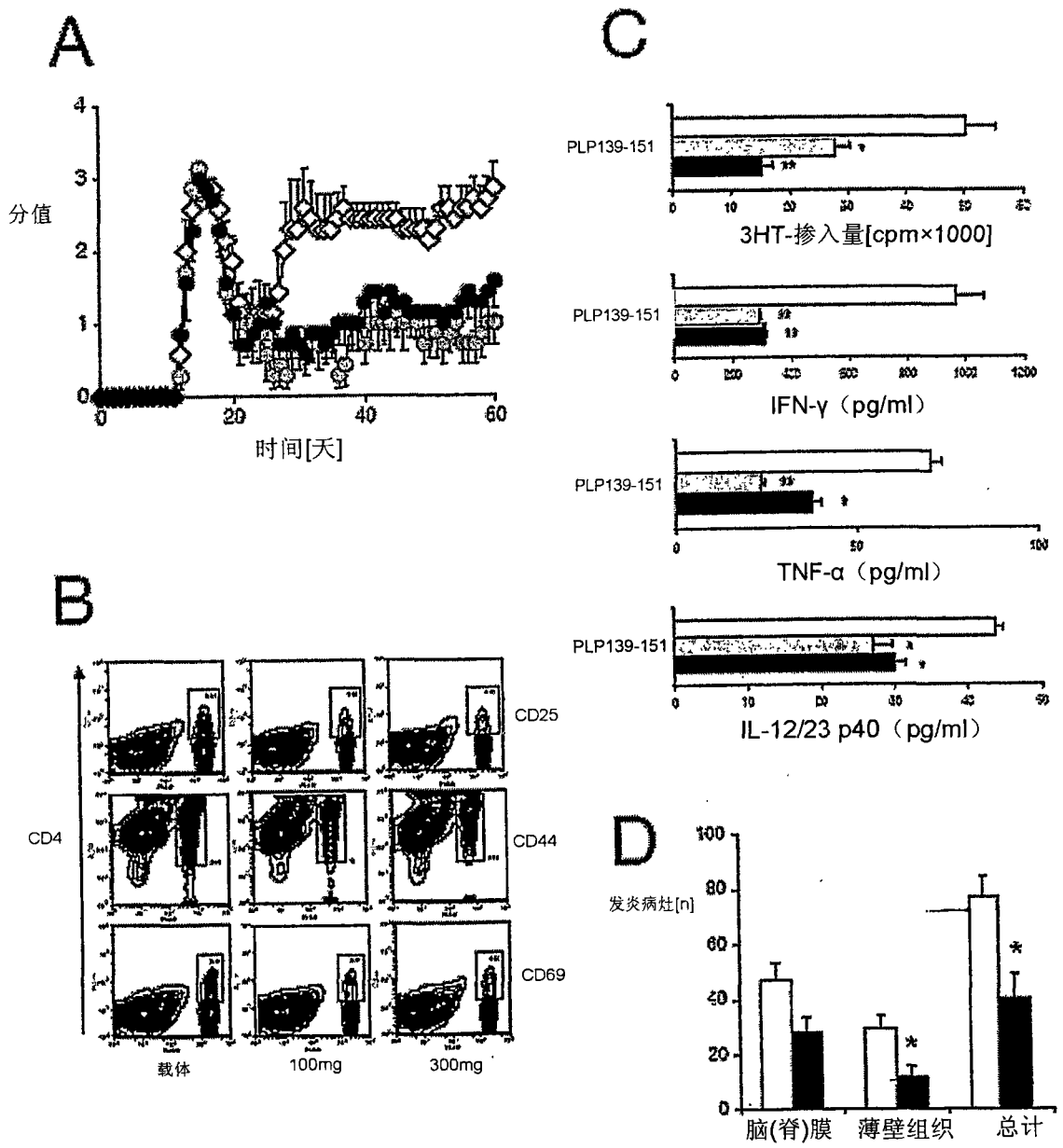

A
分值
时间[天]
B
CD4
CD25
CD44
CD69
载体
100mg
300mg
C
PLP139-151
3HT-掺入量[cpm×1000]
IFN-γ（pg/ml）
TNF-α（pg/ml）
IL-12/23 p40（pg/ml）
D
发炎病灶[n]
脑(脊)膜
薄壁组织
总计

图 3

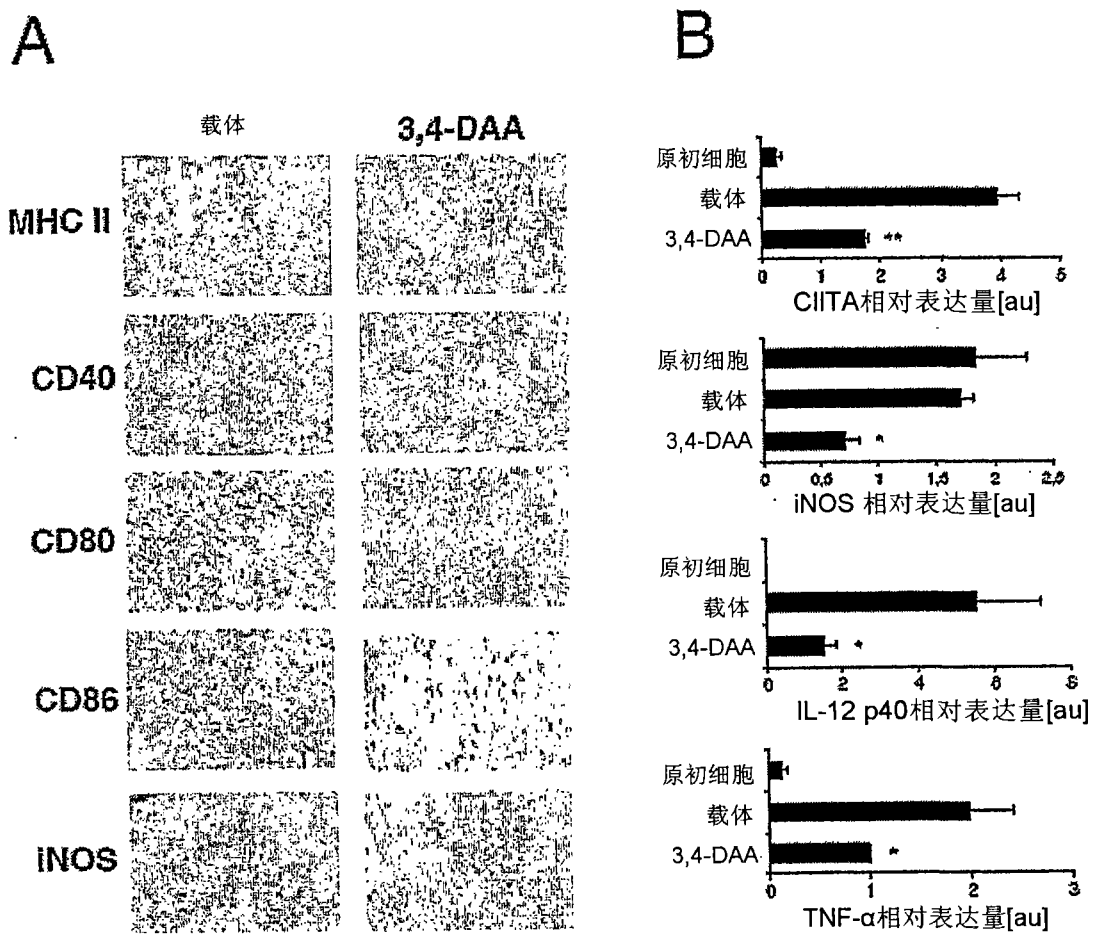

A
载体
3,4-DAA
MHC II
CD40
CD80
CD86
iNOS
B
原初细胞
载体
3,4-DAA
CIITA相对表达量[au]
iNOS 相对表达量[au]
IL-12 p40相对表达量[au]
TNF-α相对表达量[au]

图 4