

·综述·

新型冠状病毒肺炎细胞治疗的关键策略和研究进展

姚惟琦^{1,2} 梅恒¹ 石磊³ 张宇² 胡豫¹

【摘要】 新型冠状病毒肺炎感染性强,感染后的重型、危重型患者病死率高,尚无特效治疗方法。间充质干细胞具有免疫调节和组织修复功能,一方面可以通过分泌抑炎因子减少炎性因子表达,降低细胞因子风暴和急性呼吸窘迫综合征发生的风险,从而降低重症患者的死亡率;另一方面间充质干细胞可分泌营养因子且具有多向分化能力,能修复肺部组织损伤,阻止肺部纤维化进程并使其恢复,从而治疗病毒感染肺炎后引起的难治性肺损伤相关疾病。此外自然杀伤细胞等也可在病毒感染性疾病预防、减少轻症患者向重型患者转化等方面发挥作用。本文总结并分析了细胞治疗新型冠状病毒肺炎最新研究进展。

【关键词】 新型冠状病毒肺炎; 间充质干细胞; 免疫调节; 组织修复; 自然杀伤细胞

Key strategies and research advances in cell therapy for COVID-19 Yao Weiqi^{1,2}, Mei Heng¹, Shi Lei³, Zhang Yu², Hu Yu¹. ¹Department of Hematology, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; ²National Stem Cell Engineering Product Industrialization Base, Tianjin 3003842, China; ³Fifth Medical Center of PLA General Hospital, National Clinical Research Center for Infectious Diseases, Beijing 100039, China

Corresponding author: Hu Yu, dr_huyu@126.com

【Abstract】 Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is highly infectious, with a high mortality rate among severe and critically severe patients with COVID-19. However, there is no effective treatment at present, which highlights a desperate need of a safe and effective treatment. Previous studies have revealed that mesenchymal stem cells (MSCs) have the ability to normalize immune system function and repair the damaged tissues. On the one hand, MSCs could reduce the possibility of cytokine storm and the risk of acute respiratory distress syndrome by secreting anti-inflammatory factors, and thus the mortality of critically ill patients. On the other hand, MSCs could repair damaged lung tissues, prevent pulmonary fibrosis, improve respiratory function by secreting trophic factors, and thus treat refractory lung injury-related diseases caused by coronavirus. Natural killer cells might play an important role in preventing viral infections and the transfer from patients with mild COVID-19 to patients with severe COVID-19. In this review, the current research of cell therapy for COVID-19 disease is summarized and analyzed.

【Key words】 Coronavirus Disease 2019; Mesenchymal stem cells; Immune regulation; Tissue repair; Natural killer cells

新型冠状病毒肺炎(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)现已在全球蔓延的由一种新型冠状病毒(国际病分类委员会命名为SARS-CoV-2)感染导致的肺炎^[1]。根据国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》,COVID-19患者以发热、乏力和干咳为主

要表现,少数患者伴有鼻塞、流涕和腹泻等症状。重症患者多在发病1周后出现呼吸困难和(或)低氧血症,严重者快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒和出凝血功能障碍等。COVID-19目前的治疗手段包括卧床休息、支持治疗等一般治疗,配合抗病毒治疗、抗菌治疗及中医药治疗等,尚无确切的治疗手段^[2]。我国也已将该病作为急性呼吸道传染病纳入《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病,并按照甲类传染病管理,WHO已将此疫情列为国际关注突发公共卫生事件,近期更将新型冠状病毒传播和影响的风险评估提高到最高等级^[3-4]。因此,COVID-19作为亟待解决的重大公共卫生事件,急需寻找安全有效的治疗手段^[5]。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2020.04.007

基金项目:国家重点研发计划“公共安全风险防控与应急技术装备”重点专项(2020YFC0845700)

作者单位:430022 武汉,湖北省华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科¹;3003842 天津,国家干细胞工程产品产业化基地²;100039北京,中国人民解放军总医院第五医学中心感染病医学部,国家感染性疾病临床医学研究中心³

通信作者:胡豫,Email: dr_huyu@126.com

一、新型冠状病毒发病机理和细胞治疗的选择策略

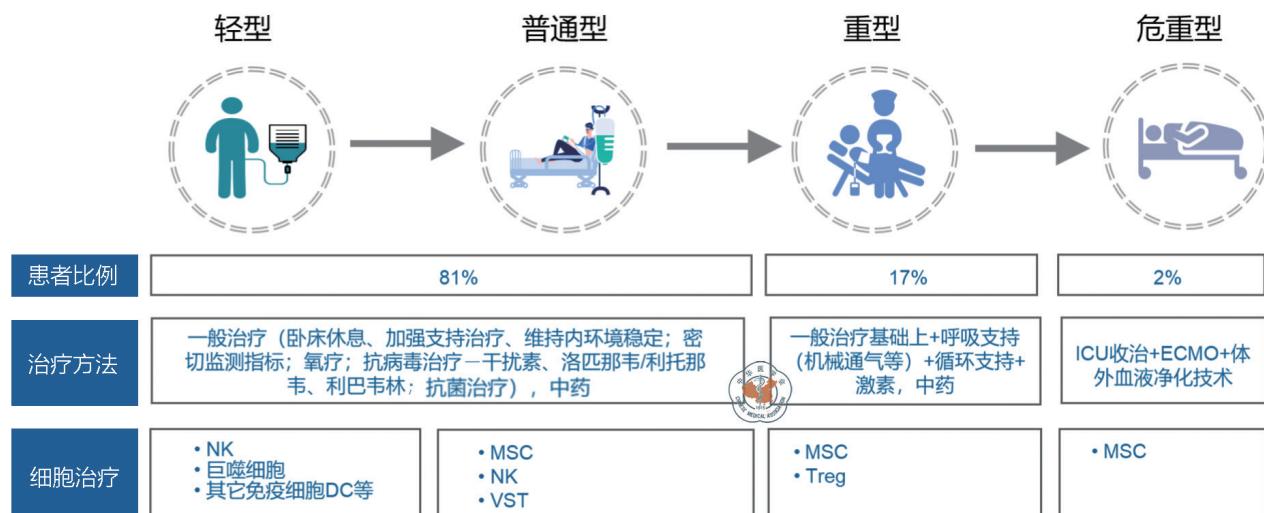
新型冠状病毒是具有外套膜(envelope)的正链单股RNA病毒,通过呼吸道分泌物排出体外,并通过空气飞沫传播。病毒通过表面S蛋白与人黏膜上皮细胞血管紧张素转换酶2受体相互作用进入宿主细胞(新冠病毒S蛋白与宿主细胞血管紧张素转换酶2之间的亲和力是SARS的10~20倍)^[6],并形成新的病毒扩散,继而引发免疫系统的强烈反应,如白细胞扩增、分泌大量炎症因子和抗体等去清除病毒。一般大部分病毒感染只引起机体恰当的免疫系统应答,清除病毒的同时不会引起剧烈反应,但严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2,SARS-CoV-2)、重症急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)和中东呼吸综合征(Middle East respiratory syndrome, MERS)等冠状病毒均可引起机体免疫调控失衡,从而引发细胞因子风暴综合征(cytokine storm syndrome, CSS),导致靶器官如肺毛细血管内皮细胞及肺泡上皮细胞的弥漫性损伤,最终进展为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)、脓毒性休克及多器官功能障碍甚至死亡^[7-8]。对COVID-19患者遗体进行解剖后的病理结果显示肺部受到SARS-CoV-2攻击后,呈现弥漫性肺泡损伤并形成肺透明膜,双侧肺可见以淋巴细胞为主的间质性炎性浸润,符合ARDS的主要指征。此外,患者外周血CD4⁺和CD8⁺T细胞数量减少,但被过度激活,表现为高刺激性CCR4⁺、CCR6⁺、Th17细胞增加和CD8⁺T细胞的高细胞毒性^[9]。研究发现CSS导致的ARDS是重症患者病情继续加重甚至死亡的关键原因之一^[10-11],CSS是微生物入侵人体后引起的体液中炎症因子,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素(interleukin-2, IL-2)、IL-6、IL-8、IL-12和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)等大量快速上升引起的一系列症状,CSS是引起ARDS并致使血氧交换功能受损最终导致多器官衰竭死亡的重要原因^[12]。Huang等^[13]对早期41例患者的分析结果显示重型COVID-19患者会出现CSS,51%的患者第8天出现呼吸障碍,27%的患者进展为ARDS,其中50%的患者在短时间内由于多器官功能衰竭而死亡。该研究还发现ICU患者和非ICU患者的初始血浆中IL-1 β 、IL1-R α 、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、GM-CSF(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、IFN- γ 、IP-10(interferon inducible protein 10, IP-10)、MCP-1、PDGF(platelet-derived growth factor, PDGF)、TNF- α 和VEGF(vascular endothelial growth factor, VEGF)等因子浓度均高于健康成年人,ICU患者的IL-2、IL-7、IL-10、GM-CSF、IP-10、MCP-1和TNF- α 的血浆浓度高于非ICU患者,这表明CSS的发生也与疾病严重程度相关。随后Wang等^[14]报道了138例住院患者的临床分析,其中20%的患者在第8天出现ARDS,占ICU收治患者的61%。在过往的细胞治疗临床研究中CSS常见于晚期白血病(较常见)和淋巴瘤患者,部分患者经过Anti-CD19 CAR-T治疗后

会出现以IL-6升高为代表的细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)^[15]。COVID-19患者发生的CSS与CAR-T治疗出现的CRS有一定相似性,尽管IL-6受体拮抗剂妥珠单抗(tocilizumab)对重型及危重型患者展现了一定效果^[16],但疗效仍需进一步明确。2020年4月,全球多中心的随机双盲研究已经展开^[17]。

如何根据COVID-19的临床指征特别是CSS和ARDS选择合适的细胞对COVID-19进行干预和治疗,可以从现有诊疗指南中得到一些启发^[2]。诊疗指南中对于适用药物的探索开发主要基于如下两点:一方面可以“老药新用”,如已获批上市且其在人体内的代谢特征、使用剂量、潜在疗效和副作用都明确的抗病毒药物。同理,可以从过往细胞治疗CSS、ARDS等有关疾病的临床治疗研究中筛选可行的细胞种类;另一方面,追本溯源,明确治疗机理,进行精确打击,例如洛匹那韦/利托那韦(lopinavir/ritonavir)和目前备受期待的瑞德西韦(remdesivir)等。不同细胞在病毒免疫中的角色大不相同,病毒侵入人体后,单核细胞、NK细胞是第一道防线,随后巨噬细胞吞噬病毒传递抗原,T细胞和B细胞被抗原分泌的细胞因子激活,对抗并清除感染细胞,使人体恢复正常。目前,国内外在细胞治疗冠状病毒肺炎领域主要聚焦在异体间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)和自然杀伤(nature killer, NK)细胞上。有文献报道,体外和动物实验均已验证,NK细胞对SARS、H5N1、埃博拉、寨卡、登革热和HIV等多种突发病毒感染疾病有很好的抑制和清除能力^[18-20]。但还未见在临床试验中直接使用异体NK细胞治疗上述病毒性传染病,其主要风险在于无法确切控制可能产生的免疫排异反应和免疫过激反应。但脐带血来源的NK细胞由于细胞来源广泛,并且免疫原性较低,可能是潜在的主要候选之一^[21]。(图1)

二、MSC治疗冠状病毒的潜在机制及其治疗同类疾病的临床研究进展

MSC属于成体干细胞,主要来源于中胚层,最早在骨髓中被发现,而后从脐带、胎盘、脂肪、骨骼和牙髓等多个组织中成功分离获得。MSC除了具有干细胞不断复制和多向分化潜能外,还能通过其对损伤组织定向趋化的归巢能力、旁分泌功能进行体内双向免疫调节和组织修复等。此外,MSC还有易获取、无毒副作用以及无伦理争议等优点^[22-23],MSC在急性肺损伤(acute lung injury, ALI)、特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)、慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)等肺部疾病的临床前和临床试验中都展现了良好的安全性和潜在治疗价值^[24-27]。另一方面,MSC极低表达人主要相容性复合物II型分子,低表达I型分子,免疫原性低,已有大量临床研究证实可以用异体来源细胞供患者使用,并已有相关异体MSC药物上市^[28]。目前认为MSC在COVID-19重症患者治疗中主要起支持作用,不是直接消灭病毒,但有助于缓解炎症,使免疫系统趋于正常化,修复肺组织,恢复肺部功能,提高重症患者的生存率。其治疗COVID-19的可能机理如下。



注: 根据国家卫健委最新发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》,患者比例计算根据国家卫健委截止 2020 年 3 月 5 日 24 时公布的数据计算

图 1 不同细胞在新型冠状病毒肺炎不同阶段中的潜在治疗作用

(一) 免疫功能正常化作用(normalization)

MSC 对机体免疫系统具有双向调节作用, 在这里首次提出把 MSC 的这种双向调节功能定义为免疫功能正常化: 一方面既可抑制 T 细胞的过度激活和增殖^[29], 另一方面又可修复和改善缺损的免疫功能^[30]。临床观察报道淋巴细胞功能异常是 COVID-19 重症患者的主要指征之一, 一方面部分重症患者由于免疫细胞过度激活发生 CSS 而导致 ARDS; 另一方面淋巴细胞数量急速下降、中性粒细胞增加和功能异常也见于部分重症患者^[31]。MSC 主要通过旁分泌作用, 即通过分泌多种可溶性因子, 主要包括一氧化氮、吲哚胺 2,3- 双加氧酶、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PEG)、TGF-β 和 IL-10 等, 以及释放微囊泡、外泌体的方式发挥作用, 调节各种免疫细胞数量和功能, 抑制细胞因子风暴对人体器官造成的损伤, 使得异常免疫功能正常化, 同时减少激素的使用, 降低因此产生的副作用^[32-33]。MSC 不仅能够降低参与 CSS 的主要炎性因子表达, 如 IL-1α、TNF-α、IL-6、IL-12 和 IFN-γ 等, 还能够提高 IL-10、VEGF 等抑炎因子的表达^[34]。此外, 大量研究表明, MSC 主要抑制 T 细胞和 B 细胞过度增殖、树突状细胞成熟、分化和免疫球蛋白产生, 活化调节性 T 细胞 (Tregs) 功能, 促进巨噬细胞向抗炎表型极化等^[35]。有研究表明 MSC 不但可抑制异常激活的 Th1 和 Th17 T 细胞的活性, 还可促进 Th17 T 细胞向 Tregs 分化, 从而抑制免疫系统的过度激活, 预防 CSS 的发生。该研究还发现 MSC 可以抑制 B 细胞增殖, 降低 B 细胞中转录因子 Blimp-1 表达从而抑制其向浆细胞分化, 下调抗体分泌水平和向淋巴结的趋化^[36]。Zheng 等^[37]发现 MSC 促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞转化, 增加抑制性细胞因子 IL-10 或 TGF-β 等的分泌从而下调过激免疫反应。Ethokic 等^[38]研究表明 MSC 还能降低单核细胞向树突状细胞分化, 抑制树突状细胞细胞成熟, 活化和炎性因子分泌从而调节过激免疫反应。此外, MSC 在某些特殊情况下如免疫缺陷或者受损时能够促进免疫功能

恢复^[39]。Liu 等^[40]研究发现脐带 MSC 可促进免疫缺陷的 Nude 小鼠免疫重建, 增加其外周血中 T 细胞含量。同时 MSC 可通过降低促凋亡蛋白 Bax 和 Caspase-3 的表达, 增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达发挥抗凋亡作用, 减少淋巴细胞凋亡和恢复受损的免疫功能^[41]。

(二) 支持修复作用

MSC 通过静脉输注到人体, 大部分聚集在肺部, 可分泌细胞营养因子如角质形成细胞生长因子 (keratinocyte growth factor, KGF) 等, 改善肺部细胞微环境、保护和修复肺泡上皮细胞和血管内皮细胞。在肺损伤修复方面, 有研究发现大部分 MSC 归巢至肺部后主要通过分泌 KGF、VEGF 和肝细胞生长因子 (hematopoietic growth factor, HGF), 从而促进肺泡 II 型细胞 (alveolar type II cells, AT II) 细胞的再生, 阻止肺内皮细胞的凋亡, 并有助于加强 ARDS 损伤肺泡 - 上皮屏障的修复^[42-43]。一些动物实验结果也表明 MSC 可显减轻肺部组织损伤, 恢复肺泡结构及血管密度, 修复大鼠支气管肺发育不良^[44-45]。在改善肺纤维化方面, MSC 可通过降低肺组织 TGF-β、TNF-α、I 型胶原、III型胶原和羟脯氨酸等的表达, 促进肺泡上皮细胞的再生, 抑制内皮细胞的凋亡, 修复肺组织的肺泡 - 上皮屏障损伤, 从而发挥抗炎和缓解肺纤维化的作用^[30,46]。氧化应激是 ALI 的重要起因和表现, MSC 可减少氧化应激终产物提高机体抗氧化应激能力^[47]。最近有研究表明, MSC 可有效改善 AMD 诱导的大鼠肺纤维化及修复肺部损伤, 主要通过抑制 NF-κB 信号通路, 下调肺部促炎因子的表达, 降低肺部炎症水平并最终逆转纤维化进程^[48]。脐带 MSC 可通过分泌 HGF 抑制博来霉素诱导的小鼠肺纤维化的炎症和纤维化水平, 恢复正常的肺部结构^[49]。此外, 也有研究表明 MSC 也可分化为肺泡上皮细胞、肺血管内皮细胞, 从而发挥其保护作用。但这种直接分化效率极低, 产生的修复作用需要在体内进行验证^[50-51]。

目前在 clinicaltrials.gov 上用“MSC”和“ARDS”作为

关键词共检索到使用 MSC 治疗 ARDS 的临床研究有 7 项,其中有 2 项已经完成。在 2014 年一项单中心的随机对照临床实验: 12 例中度 ARDS 患者,单次回输 1×10^6 个细胞 / kg 的脂肪 MSC,没有发生与输注相关的不良事件,治疗组和对照组在第 28 天的住院、无呼吸机和无 ICU 天数相似^[52]。而 2015 年的 START 临床 I 期试验结果表明使用异体骨髓 MSC 治疗 9 例患者采用 3+3 剂量爬坡(1×10^6 细胞 / kg、 5×10^6 细胞 / kg、 10×10^6 细胞 / kg,单次静脉回输),耐受性良好,没有发现与 MSC 治疗相关的副作用,根据肺损伤评分不同剂量注射 MSC 均能改善患者肺部功能^[53]。随后在 2019 年开展了 START 临床 II a 期试验,并使用了随机双盲、多中心、安慰剂对照的设计,ARDS 患者使用单次 10×10^6 细胞 / kg 的 MSC 治疗,两组之间的 28 d 死亡率几乎无差异, MSC 组在急性生理学和慢性健康评估方面的平均得分高于安慰剂组。需要指出的是这次临床试验中所用的 MSC 制剂的细胞活率只有 36 % ~ 85 %^[54]。此外,Chen 等采用单中心开放式临床试验,纳入 44 例 H7N9 致 ARDS 患者作为对照组,而将 17 例 H7N9 致 ARDS 患者接受同种异体来源 MSC 治疗作为实验组。与对照组相比, MSC 治疗后的死亡率降低(MSC 组 17.6 %, 对照组 54.5 %)。此外,长期随访期未观察到 MSC 对人体产生不良影响。由于 H7N9 和 COVID-19 有相似的并发症(如 ARDS 和肺功能衰竭)和相应的多器官功能障碍,提示 MSC 是治疗 COVID-19 的一种比较可行的方法。

三、针对 COVID-19 的细胞治疗临床研究现状

根据公开数据报道,目前进入到临床研究或试验的主要 MSC。截止 2020 年 3 月 3 日,在 Clinicaltrials.gov 上用“MSC”和“coronavirus”作为关键词检索到注册的临床研究共 6 项,其中由解放军总医院第五医学中心王福生院士团队牵头的 I 期和 II 期临床研究项目获得了国家重点研发计划“公共安全风险防控与应急技术装备”项目资助。在中国临床试验注册中心 ChiCTR 上用“新型冠状病毒”和“间充质干细胞”作为关键词检索到注册的临床研究共 14 项(表 1)。这些研究集中在武汉、北京和上海等地,大部分项目使用的是脐带 MSC,也有两项研究使用的是 MSC 分泌的外泌体。给药方式方面,使用的干细胞制剂均采用静脉回输,一般分多次回输,单次回输剂量 3×10^7 ~ 10×10^7 细胞; 使用外泌体均采用多次雾化吸入的方式。项目临床设计方面,既有单臂也有采用平行对照,只有王福生院士团队的一项 II 期临床研究采用了前瞻随机多中心双盲的设计。主要观测指标或重点多是安全性和不良反应,也有部分项目直接使用患者治疗。目前已有一项临床研究发表了初步的研究结果,其中 Leng 等^[56]在 7 例新冠肺炎患者包括 1 例危重症患者、4 例重症患者和 2 例轻症患者按照 1×10^6 个细胞 / kg 的剂量静脉回输 MSC 进行治疗,发现患者无显著不良反应,并且临床症状和生化指标得到迅速改善。MSC 移植前,患者存在高烧、虚弱、呼吸急促和低氧饱和度的症状; 移植后 2~4 d, 所有患者的全部症状均消失,安静时血氧饱和度上升至 95 % 以上。与安慰剂对

照组相比, MSC 治疗组的 TNF-α 水平降低而 IL-10 水平升高,以上结果在重症患者中尤其显著。另外, MSC 移植能加快治疗进程。移植后 4 d, 新冠肺炎危重症患者呼吸频率降至正常范围、发烧和呼吸急促等症状消失。移植后 9 d, 胸部 CT 成像显示毛玻璃样混浊和肺炎浸润已大大减少。抗炎和营养因子如 TGF-β、HGF、LIF、FGF、VEGF、EGF、BDNF 和 NGF 等在 MSC 中高表达,进一步证明了 MSC 的免疫调节和保护修复双重功能^[56]。Liang 等^[57] 报道使用脐带 MSC 治疗 1 例 65 岁 COVID-19 危重症患者,经糖皮质激素和抗病毒药物的治疗效果都不明显,继而进行了 3 次异体 hUC-MSCs 的静脉注射(每次 5×10^7 个细胞),并且给予抗生素和胸腺素 α1 辅助治疗。患者治疗前后的胸部 CT 影像显著改善,气管插管去除,其他生命特征体征也得到明显改善及血清胆红素、CRP 和 ALT/AST 等临床实验室生化指标恢复至正常水平,治疗后 9 d 出 ICU 并经 3 次病毒核酸检测转阴后治愈出院。

表 1 Clinicaltrials 和 ChiCTR 注册的干细胞临床研究



查阅表格 扫描二维码

四、细胞治疗在 COVID-19 临床研究中的难点

针对 COVID-19 的细胞治疗药物开发难点主要为缺乏合适的动物模型、明确的药物作用机制(motivation of action, MOA)、有关病毒是否存在变异可能性的准确数据等,同时,如何在疫情特殊的情况下设计合理的临床试验方案也是面临的重要挑战^[58]。首先,由于 SARS-CoV-2 的强传染致病性,故动物试验需要在高等级(P3 以上)实验室完成,并且动物建模和稳定性测试也需要一定的时间,所以虽已有报道显示成功获得 COVID-19 的动物模型,但仍需要进一步数据证实其稳定有效。其次, MSC 的非特异性导致 MSC 成药的 MOA 不是很明确,到底是哪一种作用机制在患者体内起到主导并产生实际疗效仍需要进一步的临床前和临床研究来阐述。同时,由于 SARS-CoV-2 属于单链 RNA 病毒,核酸稳定性不高,是病毒中较容易变异的种类,因此开发的特异性药物可能对于变异的病毒产生不了持续疗效。最后,在临床试验设计上,目前大部分的临床研究项目还是研究者发起的探索性临床研究(investigator initiated trial, IIT), 临床试验方案的设计往往比较简单,多为单臂或者简单的平行对照,缺乏随机双盲的临床研究。此外,在临床实际疗效判定、入排标准和标准治疗方案等方面有比较大的出入,需要进一步明确和形成临床共识。前述报道 2 个已发表的 MSC 治疗

COVID-19 临床研究结果虽然初步证实了 MSC 治疗的安全性和潜在的治疗效果,但属于个例报道,在临床设计、病例数量等方面均需要通过更严谨和详实的随机双盲对照的多中心临床研究进行确认。

五、总结与展望

截止 2020 年 3 月 10 日,全国新冠肺炎患者已超过 8 万人,重症患者仍有 4 700 余人,当前最重要的工作是找到更有效的治疗方法,进一步降低重症患者的死亡率。目前临床治疗以对症治疗为主,没有特效药,疫苗等药物开发耗时相对较长。同日,中国细胞生物学学会干细胞生物学分会及中华医学学会感染病学分会联合发布了《干细胞治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)临床研究与应用专家指导意见》指出干细胞产品和技术已在新冠肺炎患者治疗的前期研究中展现出一定的疗效:“一些具有免疫调节和抗炎能力的细胞可向炎症部位迁移并发挥功能。这些细胞可从骨髓、脐带和子宫内膜等组织分离或从胚胎干细胞分化获得,能与靶细胞直接接触或通过分泌细胞因子发挥调控效应,抑制 T 细胞活化增殖、抑制 NK 细胞杀伤功能和促进调节性 T 细胞增殖等。多项应用干细胞治疗急性肺损伤、重症肺炎、ARDS 和呼吸衰竭的临床研究均显示细胞输注有良好的安全性和有效性,能改善患者氧合指数、降低肺部的炎性损伤”;并在临床研究方面给出了适应症为“重型、危重型或从普通型向重症转化的新冠肺炎”等具体建议^[59]。综上,细胞治疗需要根据具体的细胞功能来选择合适阶段及合适症状的患者进行治疗。其中 MSC 可以异体制备使用,在有效抗炎及修复损伤两方面都具有巨大的优势,并且已有报道在小部分患者临床使用后发现安全性良好,并且观察到初步的有效性。因此,建议按照《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》、《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》等法规和中国食品药品检定研究院发布的相关指南进行生产制备保证细胞制备工艺和质量,并遵照《干细胞临床研究管理办法(试行)》向国家卫健委和药监局申报,应鼓励开展更多的细胞治疗临床研究治疗重型和危重症 COVID-19 患者,阻止重症患者的病情进展、进一步降低死亡率、提高治愈率。

志谢 本文在此感谢张宇博士提供了重要的帮助和支持,并共同完成了本文的发表工作

参 考 文 献

- 1 国家卫生健康委员会·国家卫生健康委关于新型冠状病毒肺炎暂命名事宜的通知[EB/OL]·(2020-02-07)[2020-06-23]·http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/08/content_5476248.htm
- 2 国家卫生健康委员会·新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版) [EB/OL]·(2020-03-03)[2020-06-23]·<http://www.nhc.gov.cn/zyzgy/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>
- 3 国家卫生健康委员会·中华人民共和国国家卫生健康委员会公告 [EB/OL]·(2020-01-20)[2020-06-23]·<http://www.nhc.gov.cn/kjk/s7916/02001/44a3b8245e8049d2837a4f27529cd386.shtml>
- 4 世界卫生组织WHO·关于2019新型冠状病毒疫情的《国际卫生条例(2005)》突发事件委员会第二次会议的声明[EB/OL]·(2020-01-30)·[2020-06-23]·[https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))
- 5 Sohrabi C, Alsaifi Z, O'Neill N, et al· World Health Organization declares global emergency: a review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19) [J]· Int J Surg, 2020, 76:71-76
- 6 Chen W, Peter WH, Frederick GH, et al· A novel coronavirus outbreak of global health concern[J]· Lancet, 2020, 395(10223):470-473
- 7 Zhu N, Zhang D, Wang W, et al· A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]· N Engl J Med, 2020, 382(8):727-733
- 8 Vincent JM, Koopmans M, Doremalen NV, et al· A novel coronavirus emerging in China-key questions for impact assessment[J]· N Engl J Med, 2020, 382(8):692-694
- 9 Xu Z, Lei S, Wang YJ, et al· Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome[J]· Lancet Respir Med, 2020, 8(4):420-422
- 10 Lee KY· Pneumonia, acute respiratory distress syndrome, and early immune-modulator therapy[J]· Int J Mol Sci, 2017, 18(2):388
- 11 Chen NS, Zhou M, Dong X, et al· Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in wuhan, China:a descriptive study[J]· Lancet, 2020, 395(10223):507-513
- 12 Bauer TT, Ewig S, Rodloff AC, et al· Acute respiratory distress syndrome and pneumonia: a comprehensive review of clinical data[J]· Clin Infect Dis, 2006, 43(6):748-756
- 13 Huang C, Wang Y, Li X, et al· Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in wuhan, China[J]· Lancet, 2020, 395(10223):497-506
- 14 Wang D, Hu B, Hu C, et al· Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in wuhan, China[J]· JAMA, 2020, 323(11):1061-1069
- 15 Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al· Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities[J]· Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(1):47-62
- 16 Xu X, Han M, Li T, et al· Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab[J]· Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(20):10970-10975
- 17 A study to evaluate the safety and efficacy of tocilizumab in patients with severe COVID-19 pneumonia (COVACTA) (EB/OL) (2020-03-25) [2020-06-23]·<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04320615>
- 18 William GG, Subbarao K, Brian M, et al· Mechanisms of host defense following severe acute respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) pulmonary infection of mice[J]· J Immunol, 2004, 173(6):4030-4039
- 19 Jansan CA, de Geus ED, van Haarlem DA, et al· Differential lung NK cell responses in avian influenza virus infected chickens correlate with pathogenicity[J]· Sci Rep, 2013, 3(1):2478
- 20 Parsons MS, Boulet S, Song R, et al· Mind the gap: lack of association between KIR3DL1*004/HLA-Bw4-induced natural killer cell function and protection from HIV infection[J]· J Infect Dis, 2010, 202 Suppl 3: S356-360
- 21 Sarvaria A, Jawdat D, Madrigal JA, et al· Umbilical cord blood natural killer cells, their characteristics, and potential clinical applications[J]· Front Immunol, 2017, 8:329
- 22 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al· Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells· The International Society for Cellular Therapy position statement[J]· Cytotherapy, 2006, 8(4):315-317
- 23 Krampera M, Galipeau J, Shi Y, et al· Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells--The international society for cellular therapy(ISCT)working proposal[J]· Cytotherapy, 2013, 15(9):1054-1061

- 24 Loy H, Kuok DIT, Hui KPY, et al. Therapeutic implications of human umbilical cord mesenchymal stromal cells in attenuating influenza a(H5N1) virus-associated acute lung injury[J]. *J Infect Dis*, 2019, 219(2):186-196.
- 25 Lee JW, Fang X, Krasnodembskaya A, et al. Concise review: Mesenchymal stem cells for acute lung injury: role of paracrine soluble factors[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(6):913-919.
- 26 Broekman W, Khedoe PPSJ, Schepers K, et al. Mesenchymal stromal cells: a novel therapy for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease?[J]. *Thorax*, 2018, 73(6):565-574.
- 27 Chuang HM, Shih TE, Lu KY, et al. Mesenchymal stem cell therapy of pulmonary fibrosis: improvement with target combination[J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(11): 1581-1587.
- 28 Fernández Vallone VB, Romaníuk MA, Choi H, et al. Mesenchymal stem cells and their use in therapy: What has been achieved?[J]. *Differentiation*, 2013, 85(1-2):1-10.
- 29 Fayyad-Kazan H, Faour WH, Badran B, et al. The immunomodulatory properties of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells are defined according to multiple immunobiological criteria[J]. *Inflamm Res*, 2016, 65(6):501-510.
- 30 Shi Y, Wang Y, Li Q, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(8):493-507.
- 31 Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese center for disease control and prevention[J]. *JAMA*, 2020. doi: 10.1001/jama.2020-2648. Online ahead of print.
- 32 Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(9):726-736.
- 33 Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells[J]. *Blood*, 2007, 110(10):3499-3506.
- 34 Zhou YY, Yamamoto Y, Xiao ZD, et al. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(7):1025.
- 35 Galipeau J, Sensé bé L. Mesenchymal stromal cells: clinical challenges and therapeutic opportunities[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(6):824-833.
- 36 Uccelli A, Nicole Kerlero de Rosbo. The immunomodulatory function of mesenchymal stem cells: mode of action and pathways[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1351(1):114-126.
- 37 Zheng GP, Ge MH, Qiu G, et al. Mesenchymal stromal cells affect disease outcomes via macrophage polarization[J]. *Stem Cells Int*, 2015, 2015:989473.
- 38 Đokić JM, Tomić SZ, Čolić MJ. Cross-talk between mesenchymal stem/stromal cells and dendritic cells[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2016, 11(1): 51-65.
- 39 Li N, Hua JL. Interactions between mesenchymal stem cells and the immune system[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2017, 74(13):2345-2360.
- 40 Liu GY, Wang LH, Pang TX, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells regulate thymic epithelial cell development and function in Foxn1 (-/-) mice[J]. *Cell Mol Immunol*, 2014, 11(3):275-284.
- 41 Li B, Zhang H, Zeng M, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells protect alveolar macrophages from lipopolysaccharide-induced apoptosis partially by inhibiting the Wnt/β-catenin pathway[J]. *Cell Biol Int*, 2015, 39(2):192-200.
- 42 Lee JW, Fang X, Gupta N, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cells for treatment of E. coli endotoxin-induced acute lung injury in the ex vivo perfused human lung[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(38):16357-16362.
- 43 Yi Y, Hu SL, Xu XP, et al. The vascular endothelial growth factors-expressing character of mesenchymal stem cells plays a positive role in treatment of acute lung injury *in vivo*[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 2347938. Published online 2016 May 24. doi:10.1155/2016/2347938.
- 44 Megan O, Marius AM, Arul V, et al. Late rescue therapy with Cord-Derived mesenchymal stromal cells for established lung injury in experimental bronchopulmonary dysplasia[J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(6):364-371.
- 45 Kwon JH, Miyeon K, Yun KB, et al. Decorin secreted by human umbilical cord Blood-Derived mesenchymal stem cells induces macrophage polarization via CD44 to repair hyperoxic lung injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19):4815.
- 46 Hostettler KE, Gazdar A, Khan P, et al. Multipotent mesenchymal stem cells in lung fibrosis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8):e0181946.
- 47 El-Tantawy HW, Ekram Nemr Abd Al Haleem. Therapeutic effects of stem cell on hyperglycemia, hyperlipidemia, and oxidative stress in alloxan-treated rats[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 391(1/2):193-200.
- 48 Radwan SM, Ghoneim D, Salem M, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells protect against Amiodarone-Induced lung injury in rats[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2020, 191(3):1027-1041.
- 49 Mahmoudi T, Kamal A, Bashiri H, et al. Hydrogen peroxide preconditioning promotes protective effects of umbilical cord vein mesenchymal stem cells in experimental pulmonary fibrosis[J]. *Adv Pharm Bull*, 2020, 10(1):72-80.
- 50 Rojas M, Xu J, Woods CR, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33(2):145-152.
- 51 Neuringer IP, Randell SH. Stem cells and repair of lung injuries[J]. *Respir Res*, 2004, 5(1):6.
- 52 Zheng G, Huang L, Tong H, et al. Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study[J]. *Respir Res*, 2014, 15(1):39.
- 53 Wilson JG, Liu KD, Zhuo H, et al. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS:a phase 1 clinical trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3(1):24-32.
- 54 Michael AM, Carolyn SC, Zhuo HJ, et al. Treatment with allogeneic mesenchymal stromal cells for moderate to severe acute respiratory distress syndrome (START study): a randomised phase 2a safety trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(2):154-162.
- 55 Chen J, Hu CX, Chen LJ, et al. Clinical study of mesenchymal stem cell treatment for acute respiratory distress syndrome induced by epidemic influenza a (H7N9) infection: a hint for COVID-19 treatment[J]. *Engineering(Beijing)*, 2020. doi: 10.1016/j.eng.2020.02.006. Online ahead of print.
- 56 Leng ZK, Zhu RJ, Wei H, et al. Transplantation of ACE2- mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia[J]. *Aging Dis*, 2020, 11(2):216-228.
- 57 Liang B, Chen JH, Li T, et al. (2020)Clinical remission of a critically ill COVID-19 patient treated by human umbilical cord mesenchymal stem cells[J]. 2020, 9(2). doi:10.12074/202002-00084.
- 58 Li GD, Erik DC. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV)[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3):149-150.
- 59 中国细胞生物学学会干细胞生物学分会&中华医学会感染病学分会.《干细胞治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)临床研究与应用专家指导意见》[EB/OL]. (2020-03-27) [2020-06-23].http://www.most.gov.cn/gnwkjdt/202003/t20200327_152617.htm

(收稿日期 :2020-03-12)

(本文编辑 :陈媛媛)

姚惟琦,梅恒,石磊,等·新型冠状病毒肺炎细胞治疗的关键策略和研究进展 [J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2020, 10 (4) :234-239.