

# 免疫疗法及间充质干细胞移植在危重型新型冠状病毒肺炎患者治疗中的效果评价

阎岩<sup>1</sup> 姜秀峰<sup>2</sup> 丁涤非<sup>1</sup> 黄捷晖<sup>2</sup>

<sup>1</sup>无锡市第五人民医院感染与免疫实验室,江苏无锡 214016; <sup>2</sup>无锡市第五人民医院呼吸与危重症医学科,江苏无锡 214016

通信作者:阎岩,Email:yanyana20@163.com

**【摘要】目的** 分析新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)患者的免疫学治疗方案及临床特点,重点探讨免疫疗法及间充质干细胞(MSC)移植在危重症治疗中的效果。**方法** 以2020年1月23日至3月31日无锡市第五人民医院收治的55例新冠肺炎确诊病例为研究对象,分析患者的人口学特点以及免疫治疗方法,通过危重症患者的免疫学基础指标、病原体阳性情况、临床指标来评价免疫治疗及干细胞移植的作用及效果。**结果** 高龄、男性和有合并症均是重型和危重型新冠肺炎患者的主要因素。55例新冠肺炎患者均实施了 $\alpha$ -干扰素(IFN- $\alpha$ )治疗,其中81.8%(45例,轻型和普通型)康复,14.6%(8例)转化为重型,3.6%(2例)转化为危重型。部分重型患者还使用了丙种球蛋白和白蛋白辅助治疗;危重型患者不但用了IFN- $\alpha$ 、丙种球蛋白和白蛋白治疗,还给予了恢复期血浆、MSC移植,由于出现肺出血及血氧饱和度持续低下,实行了肺移植终末疗法。2例危重型患者入院时外周血淋巴细胞总数、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞、自然杀伤细胞(NK细胞)、B细胞明显减少,肺、肝、肾等功能严重受损,表现为血中C-反应蛋白(CRP)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、血尿素氮(BUN)等水平升高,血氧饱和度降低,出现I型呼吸衰竭,需要无创辅助通气改善;经丙种球蛋白等辅助免疫治疗后,新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸转阴。1例危重型病例CRP较入院时明显降低(最低达21 mg/L),但肺部炎症进展迅速,病理结果显示,肺移植手术切下的病肺组织内有出血及不可逆的纤维化改变,且免疫球蛋白A(IgA)阳性细胞减少;给予恢复期血浆治疗后肝功能得到明显改善及稳定,MSC移植治疗使BUN水平较前期下降>50%,患者淋巴细胞总数升高2倍以上(从 $0.23 \times 10^9/L$ 升至 $0.57 \times 10^9/L$ ),但淋巴细胞总量仍低于正常参考值( $< 1.1 \times 10^9/L$ ),肺脏炎症病灶明显吸收,生命体征趋于平稳。**结论** 除IFN外,丙种球蛋白、抗血清及MSC治疗更有助于清除病毒,减轻炎症反应,MSC移植疗法虽未能完全纠正危重型新冠肺炎患者免疫低下的状态,但是控制了肝脏、肾脏的炎症进展。

**【关键词】** 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 危重型;  $\alpha$ -干扰素; 间充质干细胞

**基金项目:** 中国公共卫生联盟(GWLM202005); 江苏省无锡市卫健委中青年拔尖人才资助计划项目(BJ2020094); 江苏省无锡市重点医学人才项目(ZDRC024)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201113-00714

## Evaluation of the effects of immunotherapy and mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of critically ill coronavirus disease 2019 patients

Yan Yan<sup>1</sup>, Jiang Xiufeng<sup>2</sup>, Ding Difei<sup>1</sup>, Huang Jiehui<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Infection and Immunity, the Fifth People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214016, Jiangsu, China; <sup>2</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Fifth People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214016, Jiangsu, China

Corresponding author: Yan Yan, Email: yanyana20@163.com

**【Abstract】Objective** To analyze the immunotherapy and clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients, and focus on exploring the effects of immunotherapy and mesenchymal stem cells (MSC) transplantation in the critically ill patients' treatment. **Methods** Fifty-five COVID-19 patients were admitted to the Fifth People's Hospital of Wuxi from January 23rd to March 31st, 2020 as the research object. The demographic characteristics of the cases and the methods of immunotherapy were analyzed, focusing on the immunized indicators, positivity of pathogens and clinical indicators of critically ill COVID-19 patient, and the effects of immunotherapy and stem cell transplantation were evaluated. **Results** Aged, male and people with comorbidities were the main risk factors in the development of severe and critical COVID-19. All of confirmed COVID-19 cases ( $n = 55$ ) had been treated with interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), of which 81.8% ( $n = 45$ , mild and ordinary) of the patients were recovered, 14.6% ( $n = 8$ ) of the patients were converted to severe, 3.6% ( $n = 2$ ) of the patients were converted to critical, and some severe patients were treated with gamma globulin and albumin as adjuvant treatment. Critically ill patients were not only treated with IFN- $\alpha$ , gamma globulin and albumin, but also treated with convalescent plasma and MSC transplantation. Due to pulmonary hemorrhage and persistently low blood oxygen saturation, terminal lung transplantation therapy was implemented. The total number of lymphocytes, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>T lymphocytes, natural killer (NK) cells and B cells in peripheral blood of the two critical COVID-19 patients were significantly reduced, and the functions of lung, liver,

and kidney were severely damaged on admission, manifested as significant increase of the levels of blood C-reactive protein (CRP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and blood urea nitrogen (BUN), etc. and decrease of blood oxygen saturation, and type I respiratory failure, and the noninvasive assisted ventilation was needed to improve. After adjuvant immunotherapy such as gamma globulin, the nucleic acid of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) turned into negative. The CRP of one critically ill patient was significantly lower than the value at admission (minimum of 21 mg/L). But the lung inflammation progressed rapidly, and the pathological results of the lung tissue from the lung transplantation showed hemorrhage and irreversible fibrosis. The ability to secrete immunoglobulin A (IgA) was significantly reduced. Liver function had been significantly improved and stabilized after treatment with convalescent plasma during the recovery period. MSC transplantation treatment reduced the BUN level by > 50% compared with the previous period, and the total number of lymphocytes in the patient increased by more than 2 times (rose from  $0.23 \times 10^9/L$  to  $0.57 \times 10^9/L$ ), but the total amount of lymphocytes was still lower than the normal reference value ( $< 1.1 \times 10^9/L$ ). The lung inflammation lesions were obviously absorbed, and the vital signs were stable. **Conclusions** In addition to IFN, gamma globulin, antiserum and MSC transplantation therapy can help clear the virus and reduce inflammation. Although MSC transplantation fail to completely change the immunocompromised state of critically ill patients, it controlled the progression of inflammation in the liver and kidneys.

**【Key words】** Coronavirus disease 2019; 2019 Novel coronavirus; Critically ill patient; Interferon- $\alpha$ ; Mesenchymal stem cell

**Fund program:** China Public Health Alliance Program (GWLM202005); Wuxi "Two hundred" Young and Middle-aged Medical and Health Top Talent Program (BJ2020094); Wuxi City Key Medical Talent Project of Jiangsu Province of China (ZDRC024)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201113-00714

目前对于新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)的治疗尚无特效药物。国内外报道危重型新冠肺炎患者的终末治疗方法支持使用肺移植疗法<sup>[1-2]</sup>,但肺移植患者需要具备肺移植的适应证,如新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)核酸转阴、能够接受长期医疗、合并症不复杂等<sup>[2]</sup>。经过一系列早期抗 2019-nCoV 药物效果的摸索和筛选,发现硫酸羟氯喹、洛匹那韦/利托那韦片(克立芝)、核苷酸类似物等常见抗病毒药物是无效的<sup>[3-4]</sup>,而  $\alpha$ -干扰素(interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )作为免疫治疗药物在治疗指南中一直被推荐<sup>[5]</sup>。针对重症新冠肺炎患者发生严重肺功能受损的情况,于 2020 年初我国国家食品药品监督管理局批准了间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)在医疗救治中的使用,并在救治过程中呈现了明显的效果,尤其在未发展成为危重型新冠肺炎的早期使用效果更明显<sup>[6]</sup>。说明细胞因子(如 IFN- $\alpha$ )及干细胞在新冠肺炎患者体内的免疫清除、免疫保护及症状恢复中发挥了重要作用。

2019-nCoV 感染下呼吸道,从而引发重症肺炎,通过临床治疗,病原体在肺内不能被完全清除,这也可能是 2019-nCoV 复阳的主要原因<sup>[7]</sup>。研究显示,重型新冠肺炎患者常为老年、男性人群,伴有高血压、糖尿病等合并症,危重型患者最终会发生多器官功能衰竭、休克,甚至死亡<sup>[8]</sup>。

鉴于免疫疗法在新冠肺炎治疗中广泛使用,而且早期临床研究显示, MSC 移植可以挽救新冠肺炎患者的生命,但由于目前对其在危重型患者治疗中

的临床指标评价还不多,尤其在疾病晚期的应用,故本研究旨在综合评估免疫调节药物、恢复期血浆,尤其是 MSC 移植治疗对危重型新冠肺炎患者治疗后的临床特征和效果,以期有助于评估免疫疗法及干细胞移植治疗在危重型新冠肺炎患者预后、辅助免疫及器官功能恢复中的作用。

## 1 资料和方法

**1.1 研究对象:**以 2020 年 1 月 23 日至 3 月 31 日本院收治的新冠肺炎确诊病例为研究对象,诊断及临床分型符合国家卫生健康委员会(卫健委)公布的第八版新冠肺炎诊疗方案试行标准<sup>[5]</sup>。

**1.2 伦理学:**本研究为回顾性分析,已通过医院医学伦理委员会审核(伦理号:2020-021-1),所有治疗及检测(包括肺组织病理检查)均获得过患者本人或家属的知情同意并签署知情同意书。

**1.3 研究指标及方法:**通过查阅医院电子病历系统和纸质病历获得患者入院时的人口学资料、临床特征、实验室检查、临床检查资料、临床治疗及转归情况。免疫治疗及 MSC 移植的研究指标包括:① 抗病毒疗法,包括 IFN- $\alpha$ 、克立芝和利巴韦林联合应用。② 流式细胞仪检测轻型和危重型新冠肺炎患者住院期间外周血 CD3<sup>+</sup>、CD45<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD19(B)淋巴细胞、CD16/56 细胞[自然杀伤细胞(natural killer cell, NK 细胞)]。③ 免疫组化结果:免疫组化法检测的双肺移植切下的病肺组织免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 阳性表达结果。④ 免疫治疗:目前对新冠肺炎病例的治疗指南推荐

IFN- $\alpha$  联合抗病毒药物治疗,而不建议单独使用抗病毒药物治疗<sup>[5]</sup>。对于危重型病例也可使用丙种球蛋白、白蛋白、恢复期血浆等。⑤ MSC 移植治疗:危重型病例伴有血氧不足、多器官功能衰竭, MSC 属于多能干细胞,通过静脉输注给药。

**1.4 统计学分析:**使用 GraphPad 8.0 软件进行统计学分析处理。对正态或近似正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准误 ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ) 表示,不同组间指标比较采用 *t* 检验;计数资料采用率或百分比表示。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者基本情况:**共收治 55 例新冠肺炎患者,其中轻型 32 例,普通型 13 例,重型 8 例,危重型 2 例。危重型患者基本情况:① 病例 1:患者男性,58 岁,确诊为新冠肺炎相关的急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 和急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS),发展为重型时从附近城市转入本院进行肺移植,基础疾病为乙型肝炎病毒感染。② 病例 2:患者男性,71 岁,因发热、咳嗽并确诊为本地 2019-nCoV 感染入院,基础疾病为冠心病、心功能 III 级、高血压 3 级、心房颤动、慢性支气管炎、肺气肿、2 型糖尿病,慢性肾脏病 3 期,住院 1 个月内出现 ARDS 及多器官功能异常,进行了肺移植。

**2.2 新冠肺炎患者人口学基本信息及免疫治疗信息 (表 1):**危重型和重型患者的年龄明显大于轻型患者 (均  $P < 0.05$ );重型/危重型患者中男性占比较高,有合并症的患者比例更高,这两个因素在其他病例组中占比较低。所有新冠肺炎患者均使用了 IFN- $\alpha$  治疗,81.8% (45/55) 未转化为重型/危重型,14.6% (8/55) 转化为重型,3.6% (2/55) 转化为危重型;8 例重型患者中有 3 例使用了丙种球蛋白治疗,有 2 例使用了白蛋白治疗。经病例资料分析,危重型病例在感染早期不但使用了 IFN- $\alpha$  治疗,还序贯使用了丙种球蛋白和白蛋白以维持自身球蛋白、白蛋白的稳定及抵抗细菌感染。2 例危重型患者在

无创辅助通气后症状进展迅速,血氧饱和度低,随后接受有创机械通气及体外膜肺氧合 (extracorporeal membrane oxygenation, ECMO) 治疗,但由于患者并发症状严重,肺出血、肺实变、肝肾等多器官功能衰竭,最终采用终末治疗手段,进行了双肺移植手术,其中,病例 1 为危重型转院进行肺移植病例,未使用 MSC 移植治疗;病例 2 为本地重型转为危重型病例,进行了 MSC 移植治疗。

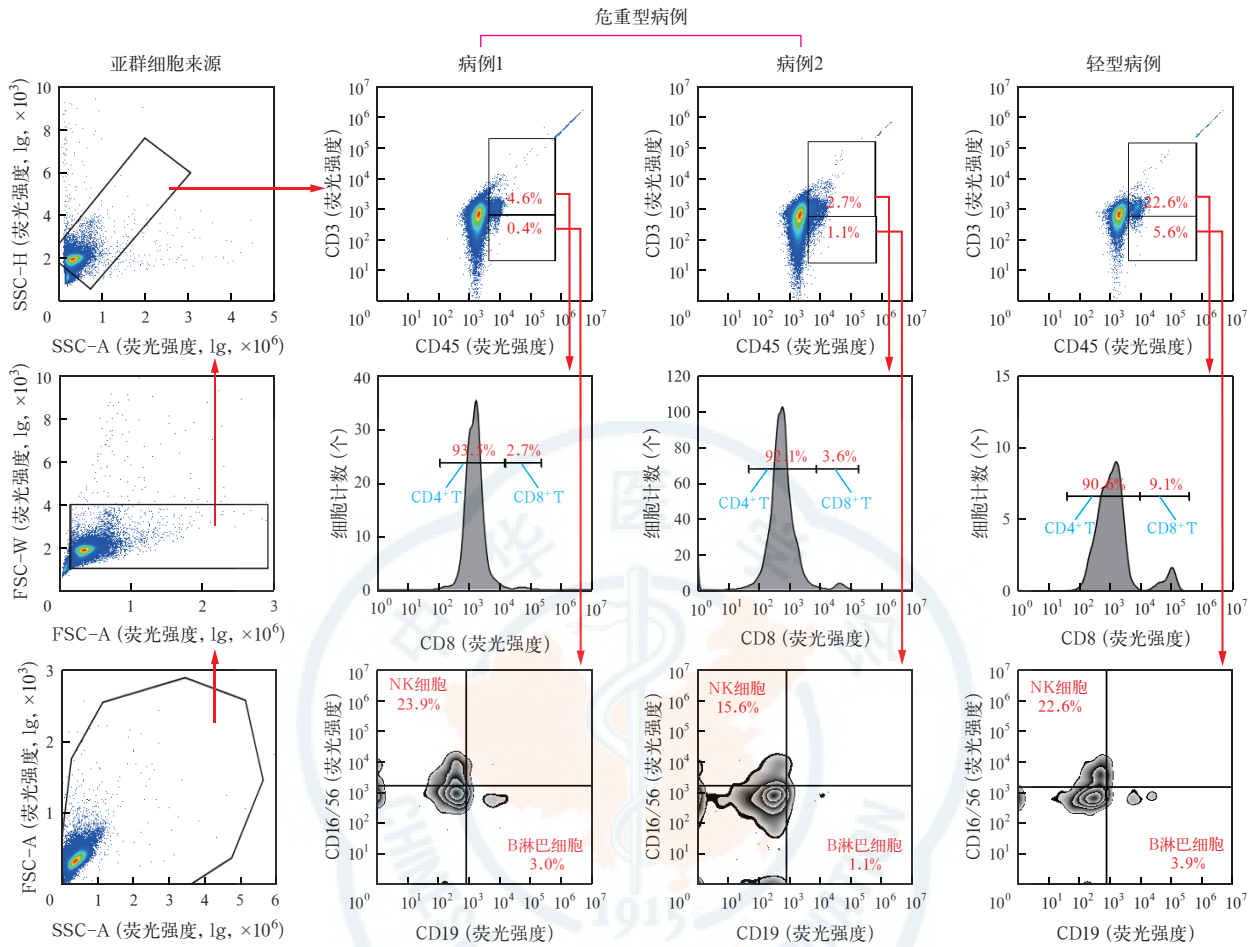
**2.3 免疫细胞分析 (图 1):**危重型患者在住院期间给予抗病毒、抗菌药物、营养支持及激素等综合治疗。与轻型患者比较,危重型患者移植前细胞免疫 (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>T 细胞、B 细胞、NK 细胞) 及 2019-nCoV 病毒特异性抗体持续较低 (表现为弱阳性);移植后,细胞免疫仍然很低,血清中 2019-nCoV 病毒特异性抗体转为阴性。在细胞免疫中,CD8<sup>+</sup>T 细胞在抗病毒中最重要的。与轻型患者相比,危重型患者 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> 细胞总数 (以 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞为主) 明显减少,其中 CD8<sup>+</sup>T 细胞比例更少;CD45<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> 细胞总数 (以 NK 细胞和 B 细胞为主) 也明显减少。

**2.4 病原体及临床治疗指标 (图 2):**危重型病例 2 免疫学治疗结果显示:① IFN 治疗及病原体变化:经过 5 d 的 IFN- $\alpha$  抗病毒治疗后,患者 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 明显下降 (149 mg/L 降至 21 mg/L),约为原来的 14.1%;在后续治疗中发现鼻咽拭子 2019-nCoV 核酸反复为阳性,移植前转阴。② 丙种球蛋白及白蛋白治疗:由于危重型患者具有广泛的并发症,出现进展迅速的肺、肝和肾等多器官功能损伤,并且对于持续性免疫功能低下的患者,临床上考虑使用丙种球蛋白及白蛋白治疗以提高免疫、预防真菌等感染,使用后表现为 CRP、丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 及天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 明显降低,但外周血淋巴细胞数量仍未改善 (低于正常参考值  $1.1 \times 10^9/L$ ),而且白蛋白在后续治疗中表现为无效,例如住院第 12~15 天 CRP 又明显增高,血氧饱和度差。③ 恢复期血浆治疗:由于危重型患者

表 1 不同临床分型新型冠状病毒肺炎患者人口学基本信息及免疫治疗信息

组别	例数 (例)	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )	男性 (例)	合并症 (例)	免疫治疗 (例)					结局
					IFN- $\alpha$	丙种球蛋白	白蛋白	恢复期血浆	MSC	
轻型组	32	38.90 $\pm$ 3.07	13	12	32	0	0	0	0	康复
普通型组	13	45.90 $\pm$ 5.65	10	3	13	0	0	0	0	康复
重型组	8	58.40 $\pm$ 4.55 <sup>a</sup>	6	5	8	3	2	0	0	康复
危重型组	2	65.00 $\pm$ 7.00 <sup>b</sup>	2	2	2	2	2	2	1	肺移植

注: IFN- $\alpha$  为  $\alpha$ -干扰素, MSC 为间充质干细胞;与轻型组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$



注：FSC-A 为前向散射光面积，代表前向散射光检测的细胞强度大小；SSC-A 为侧向散射光面积，代表侧向散射细胞内颗粒结构的复杂程度；FSC-W 为前向散射光宽度，代表前向细胞穿过所用的时间；SSC-H 为侧向散射光高度，代表侧向细胞信号强度；CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> 细胞阳性代表 T 淋巴细胞；CD45<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> 细胞包含 B 淋巴细胞 (CD19<sup>+</sup>) 和自然杀伤细胞 (NK 细胞, CD16/56<sup>+</sup>)；箭头指示上一张图来源的细胞门

图 1 危重型及轻型新型冠状病毒肺炎患者淋巴细胞亚群分析

免疫功能持续低下、病毒复阳、肺部病灶增加，选择恢复期血浆治疗。恢复期血浆治疗期间可见 CRP 再次降低，ALT 和 AST 出现更显著的降低及稳定，但血氧饱和度及肺肾功能未得到恢复；同时，恢复期血浆未能完全中和体内病毒，患者仍表现为间断 2019-nCoV 核酸阳性，但外周血淋巴细胞计数有所增加。④ MSC 移植治疗：采用 MSC 移植治疗改善器官功能，如：MSC 移植期间，危重型患者淋巴细胞总数出现 2 倍以上的升高(从  $0.23 \times 10^9/L$  升至  $0.57 \times 10^9/L$ ，但仍然低于正常参考值  $1.1 \times 10^9/L$ )，血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 水平较前期下降 >50%，CRP 数值稳定。鉴于肺部已出现不可逆的纤维化病变，后期使用了双肺移植作为终末治疗。虽然危重型病例 1 未使用 MSC 移植治疗，但其免疫治疗表现出了相似的功效。

2.5 肺部病理改变：危重型病例 2 肺组织免疫组

化染色结果显示(图 3)，病肺组织内有弥散片状纤维化；局部可见透明变性、肺间质出血，肺泡间隔增宽，上皮细胞增生、萎缩，退化细胞脱落于肺泡腔；肺泡腔吞噬细胞增多；肺泡壁纤维化，IgA 阳性细胞明显减少。危重型病例 1 有相似的病理表现。

2.6 肺部 CT(图 4)：危重型病例 2 表现出肺部炎症及纤维化并进展迅速(入院第 3 天至第 7 天可见明显的炎性渗出)，与临床症状一致(CRP 增高、血氧饱和度下降)。在未进行 MSC 治疗前，肺部炎症病灶无明显吸收(X 线胸片结果也是如此)；MSC 治疗完成(肺移植前)，肺部炎性渗出病灶可见明显吸收；肺移植后患者细胞免疫仍持续低下，且使用了正常移植患者 1/6 的免疫抑制剂，使用抗菌药物预防细菌感染。移植后 20 d 仍未见肺部出现明显的新冠肺炎样炎症病灶。危重型病例 1 未使用 MSC 治疗，移植后也未见新冠肺炎样炎症病灶。



或减低, 70%~80% 出现淋巴细胞计数减少<sup>[9]</sup>, 细胞免疫及体液免疫均减弱。本研究中危重型病例 2019-nCoV 特异性抗体仅为弱阳性, 移植后转阴, 提示患者出现免疫功能严重受损。既往的病理研究表明, 2019-nCoV 能够攻击人体的免疫系统, 尤其在重症病例中发现脾脏体积变小<sup>[11]</sup>; 而脾脏的 B 细胞和 T 细胞出现凋亡<sup>[12]</sup>, 这可能就是细胞免疫和体液免疫减弱的部分原因。在免疫药物治疗中发现, IFN- $\alpha$  治疗后能够辅助免疫功能低下的危重型患者病毒转阴, 但并不能完全清除, 后期反复出现阳性; 注射丙种球蛋白和白蛋白部分减轻了炎症, 控制了继发感染, 但由于患者出现多器官功能异常, 尤其血氧不足, 生命体征不稳定, 对于免疫功能低下的患者, 选择恢复期血浆被动免疫治疗, 最终促进了肝功能的恢复、减轻了炎症, 但仍未能完全清除病毒, 在肛拭子中偶尔会检测出病毒核酸。缺氧也被证实是引发重症的主要因素<sup>[13]</sup>, 本组危重型患者也使用了机械通气改善血氧饱和度, 血氧改善后血液淋巴细胞有轻微的回升和炎症的控制, 由于危重型患者肺长期功能失代偿, 病理显示病肺组织出现了不可逆的纤维样、出血样变, 肺功能严重受损, 这也是血氧得不到根本性改善而选用肺移植的主要原因。

2019-nCoV 引起 ARDS 的本质是炎症反应, 根据以往研究, MSC 具有强大的组织再生、修复功能, 能够抑制炎症, 还可以通过招募单核和巨噬细胞到肺部, 吞噬受损细胞<sup>[14]</sup>。我们也在肺移植患者切下来的病肺组织中观察到肺泡腔内有吞噬细胞在吞噬红细胞。在危重型患者症状发展过程中, 肺部 CT 示出现不可逆肺纤维化, 淋巴细胞计数持续性低水平, 最终选择了 MSC 移植疗法, 其虽未能充分纠正免疫低下状态, 但明显提高了淋巴细胞计数, 改善及稳定了肺肾功能, 肺部炎症吸收, 迅速控制了全身的炎症进展, 延长了患者的生命期, 最终等到肺源, 使患者在双肺移植后存活。在 MSC 移植治疗中也发现, 停止注射 MSC 后, 患者各方面指标很快又接近危急值, 这也再一次证实了 MSC 半衰期短的弊端<sup>[14]</sup>。

综上, 根据危重型新冠肺炎诊治专家共识支持实行个体化治疗<sup>[15]</sup>, 在没有特效抗 2019-nCoV 新药诞生的情况下, 使用免疫疗法和 MSC 移植可有效改善炎症及器官功能, 但对于已发展成危重型的患者往往难以逆转, 或许在未转化为危重型之前使用, 更有助于降低病死率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Chen JY, Qiao K, Liu F, et al. Lung transplantation as therapeutic option in acute respiratory distress syndrome for coronavirus disease 2019-related pulmonary fibrosis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133 (12): 1390-1396. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000839.
- [2] Lang C, Jaksch P, Hoda MA, et al. Lung transplantation for COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome in a PCR-positive patient [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8 (10): 1057-1060. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30361-1.
- [3] Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV) [J]. *Biosci Trends*, 2020, 14 (1): 69-71. DOI: 10.5582/bst.2020.01020.
- [4] 陈军, 刘丹萍, 刘莉, 等. 硫酸羟氯喹治疗 2019 冠状病毒病 (COVID-19) 普通型患者的初步研究 [J]. *浙江大学学报 (医学版)*, 2020, 49 (2): 215-219. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9292.2020.03.03.  
Chen J, Liu DP, Liu L, et al. A pilot study of hydroxychloroquine in treatment of patients with moderate COVID-19 [J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci)*, 2020, 49 (2): 215-219. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9292.2020.03.03.
- [5] 国家卫生健康委员会. 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第八版)》修订要点 [EB/OL]. (2020-08-19) [2020-08-20]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7652m/202008/475d0199d34c4c4c840eb7998fad444f.shtml>.  
National Health Commission of the People's Republic of China. Key points for revision of *Diagnosis and treatment protocol for coronavirus disease 2019 (trial version 8)* [EB/OL]. (2020-08-19) [2020-08-20]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7652m/202008/475d0199d34c4c4c840eb7998fad444f.shtml>.
- [6] 周娟, 胡伶俐, 谭英征, 等. 间充质干细胞治疗危重型新型冠状病毒肺炎患者的疗效分析 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28 (8): 14-18. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.08.003.  
Zhou J, Hu LL, Tan YZ, et al. Therapeutic effect of mesenchymal stem cells in the treatment of patients with critical COVID-19 [J]. *Pract J Cardiac Cereb Pneum Vasc Dis*, 2020, 28 (8): 14-18. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.08.003.
- [7] Li J, Long X, Fang X, et al. SARS-CoV-2 positivity in a discharged COVID-19 patient: a case report [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26 (8): 1115-1117. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.04.032.
- [8] Yan Y, Liu B, Ding H, et al. Characterizing COVID-19 severity, epidemiology and SARS-CoV-2 genotypes in a regional business hub of China [J/OL]. *J Infect*, 2020: S0163-4453(20)30566-1 [2020-10-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32853601/>. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.08.031. [published online ahead of print August 25, 2020].
- [9] Liu Z, Long W, Tu M, et al. Lymphocyte subset (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) counts reflect the severity of infection and predict the clinical outcomes in patients with COVID-19 [J]. *J Infect*, 2020, 81 (2): 318-356. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.054.
- [10] Anon. Stem cell therapy shows efficacy at treating COVID-19, finds study [DB/OL]. Victoria Rees (European Pharmaceutical Review), 2020 [2020-04-25]. <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/116056/stem-cell-therapy-shows-efficacy-at-treating-covid-19-finds-study/>.
- [11] Ding Y, Wang H, Shen H, et al. The clinical pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a report from China [J]. *J Pathol*, 2003, 200 (3): 282-289. DOI: 10.1002/path.1440.
- [12] Tabary M, Khanmohammadi S, Araghi F, et al. Pathologic features of COVID-19: a concise review [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216 (9): 153097. DOI: 10.1016/j.prp.2020.153097.
- [13] Shi L, Wang Y, Wang Y, et al. Dyspnea rather than fever is a risk factor for predicting mortality in patients with COVID-19 [J]. *J Infect*, 2020, 81 (4): 647-679. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.013.
- [14] 姚孟维, 陈卓, 何晓, 等. 间充质干细胞移植治疗新型冠状病毒肺炎的思考 [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32 (9): 1139-1144. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200506-00623.  
Yao MW, Chen Z, He X, et al. Possibility of mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of coronavirus disease 2019 [J]. *Chin Crit Care Med*, 2020, 32 (9): 1139-1144. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200506-00623.
- [15] 周青山. 关于《重型和危重型新型冠状病毒肺炎诊断和治疗专家共识》中重型和危重型肺炎分类标准的商榷与建议 [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32 (3): 277. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200226-00339.  
Zhou QS. Discussion and suggestion on the classification of severe and critical coronavirus disease 2019 in *Chinese experts' consensus on diagnosis and treatment of severe and critical coronavirus disease 2019* [J]. *Chin Crit Care Med*, 2020, 32 (3): 277. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200226-00339.

(收稿日期: 2020-11-13)