



间充质干细胞治疗新冠肺炎的科学性和可行性探讨

徐畅¹, 张英驰^{1,2,3}, 郝莎^{1,2,3}, 程涛^{1,2,3*}, 程辉^{1,2,3*}

1. 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020;

2. 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 天津 300020;

3. 中国医学科学院干细胞医学中心, 北京协和医学院干细胞与再生医学系, 天津 300020

* 联系人, Email: chengtao@ihcams.ac.cn; chenghui@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2020-04-07; 接受日期: 2020-05-18; 网络版发表日期: 2020-05-21

国家自然科学基金创新研究群体项目(批准号: 81421002)和国家自然科学基金重点项目(批准号: 81730006)资助

摘要 自新型冠状病毒肺炎(Coronavirus disease 2019, COVID-19)(以下简称“新冠肺炎”)暴发以来, 国内外研究团队积极探索可行的治疗方案, 但截至目前, 尚无针对新冠肺炎的特效治疗药物. 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类多潜能组织干细胞, 具有免疫调节和组织修复功能. 应用MSCs治疗急性肺损伤、重症肺炎、急性呼吸窘迫综合征的临床研究显示, MSCs输注有良好的安全性和有效性. 目前, 国内外已有多项利用MSCs治疗COVID-19的临床试验正式注册, 正在开展临床研究. 结合COVID-19的病理特征和目前研究情况, 本文主要探讨MSCs治疗新冠肺炎的科学性和可行性, 以期为正确把握和评判MSCs在COVID-19的潜在治疗价值提供有益的参考信息.

关键词 新型冠状病毒肺炎, 间充质干细胞, 急性呼吸窘迫综合征, 免疫调节

新型冠状病毒肺炎(Coronavirus disease 2019, COVID-19), 简称“新冠肺炎”, 是由2019新型冠状病毒“SARS-CoV-2”(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)感染导致的肺炎^[1]. 该病主要以发热、乏力、干咳为临床表现. 重型患者大多在发病一周后加重并出现呼吸困难, 严重者可发展为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)、休克、多器官功能障碍等^[2,3]. 疾病进展过程中可出现免疫系统过度激活、细胞因子风暴(cell cytokine storm, CCS)、肺损伤和肺纤维化等表现. 2020年5月18日的

数据显示, 疫情已波及213个国家及地区, 其中183个国家及地区存在本地传播, 病例数仍在持续增长. 截至2020年5月18日早8时, 全球新冠肺炎累计确诊病例达4,721,051例, 累计死亡312,115例, 已构成全球性大流行(<http://www.nhc.gov.cn>). 目前, 新冠肺炎治疗主要包括支持治疗或对症治疗等一般治疗, 以及抗病毒、抗菌和中医药等, 但尚无特效药物治疗COVID-19.

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类多潜能组织干细胞, 具有多向分化与自我更新能力, 因具有较强的抗炎和免疫调节功能^[4-6], 并能降低

引用格式: 徐畅, 张英驰, 郝莎, 等. 间充质干细胞治疗新冠肺炎的科学性和可行性探讨. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 802-811

Xu C, Zhang Y C, Hao S, et al. Scientific basis and feasibility of exploring mesenchymal stem cells for the treatment of Coronavirus disease 2019 (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2020, 50: 802-811, doi: [10.1360/SSV-2020-0119](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0119)

肺部纤维化水平、增强组织损伤修复而被考虑应用于新冠肺炎患者的救治中^[7]。国内外已有多项利用MSCs治疗COVID-19的临床试验进行了正式注册,正在陆续开展相关临床研究。已有研究结果显示, MSCs对新冠肺炎,尤其是对重症患者的治疗具有较好成效。基于以往研究,现将MSCs用于治疗COVID-19的潜在作用机制和可行性进行探索。

1 COVID-19患者病理特征及MSCs临床研究

1.1 肺组织ARDS样改变

COVID-19患者尸检和穿刺组织病理结果显示,死亡患者肺组织存在不同程度的肺水肿和肺实变。与此同时,局部肺组织可见肺泡细胞脱落,肺泡内纤维样渗出伴透明膜形成,符合ARDS的病理特征^[8]。2015年的一项临床研究用骨髓来源的MSCs治疗2例重度ARDS患者,移植后,患者肺部和全身炎症标志物降低,呼吸、血液动力学和多器官衰竭状况有所缓解^[9]。同年,另一项研究对9位中至重度ARDS患者进行单次静脉注射异体骨髓来源的MSCs治疗。结果发现,患者对不同浓度的MSCs均显示出良好的耐受性^[10]。2019年,临床研究进一步评估了中重度ARDS患者使用MSCs后的安全性。60位中度到重度ARDS患者接受单次静脉注射MSCs后,未发生与MSCs相关的血液动力学或呼吸系统不良事件^[11]。以上证据说明了MSCs在缓解中至重度ARDS方面的可行性和安全性。

1.2 过度免疫反应

对COVID-19患者外周血进行流式分析发现,外周CD4⁺和CD8⁺ T细胞数量减少,但其活性增强。增多的辅助性T细胞17(T helper cell 17, Th17)和高细胞毒性的CD8⁺ T细胞等共同造成了COVID-19患者严重的免疫损伤^[8,12]。

近年来,随着对MSCs免疫调节功能认识的加深,一些免疫疾病动物模型中的MSCs治疗已显示出一定的优势^[13]。2018年,对81名异体MSCs治疗耐药性系统性红斑狼疮患者的长期随访结果表明,有22名获得完全临床缓解,6名出现部分临床缓解^[14]。目前,全球登记的MSCs临床试验共1073项(数据来源于Clinical trials(<https://clinicaltrials.gov>)),截至2020年3月,其中包

括克罗恩病、移植物抗宿主病、类风湿性关节炎等免疫性疾病。

以上研究数据提示, MSCs可能对SARS-CoV-2诱发的过度免疫反应及后续肺组织损伤具有一定的作用。据中国临床试验注册中心(<http://www.chictr.org.cn>)和Clinical trials数据显示,截至目前,国内外共有30项临床研究注册项目申请MSCs治疗COVID-19,主要用于重型、危重型或从普通型向重症转化的COVID-19患者。因此,深入探讨MSCs用于COVID-19治疗的潜在作用机制,可能为该疾病的治疗提供有益的参考信息。

2 MSCs的潜在作用机制

目前基础研究认为, MSCs对免疫系统的调节功能取决于它所处的环境。在强烈炎症刺激下, MSCs会趋化至受损组织炎症部位,并以负反馈的方式发挥抗炎作用。此外, MSCs能借助其微环境调节作用修复受损组织。因此,推测MSCs治疗COVID-19的潜在机制可能如下。

2.1 MSCs调节免疫系统活动

过去的研究显示,当MSCs暴露于炎性环境时,可调节免疫细胞和炎性因子的功能,影响特异性或非特异性免疫反应^[15]。这一调节作用与MSCs分泌的外泌体或多种细胞因子^[16,17]有关,如PGE-2, IL-10, TGF- β 等^[18]。

MSCs通过多种方式调节T细胞的功能。在炎性刺激下,一方面,它能调节T细胞的增殖。细胞周期分析显示, MSCs处理后, T细胞亚群被阻滞在G0/G1期^[19]。另一方面, MSCs可利用细胞因子调控T细胞的功能。例如, MSCs通过释放TGF- β 上调*FoxP3*基因,抑制Th17细胞的免疫活性,并诱导其向调节性T细胞(T regulatory cell, Treg)细胞转化^[20];或分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)调节Th17/Treg细胞平衡^[21]。不仅如此,最近研究还发现, Th17细胞可以吸收MSCs的线粒体,增加Th17细胞耗氧并促进其转化为Treg细胞^[22]。

MSCs对B细胞的增殖、分化和抗体分泌也发挥调节作用。MSCs能影响B细胞G0/G1期的转变,并通过多种转录途径影响B细胞的抗体产生^[23]。在细胞表型上, MSCs通过产生EBI3来增加表达IL-10的调节性B细胞的数量^[24]。同时, MSCs通过激活T细胞使其释放

干扰素, 抑制滤泡和边缘区活化的B细胞, 从而间接调节B细胞的免疫作用^[25].

与此同时, MSCs能影响固有免疫细胞(如巨噬细胞和树突细胞)^[26,27], 实现免疫调节作用. 在炎症条件下, MSCs以负反馈方式调节巨噬细胞功能. 当促炎型(M1)的巨噬细胞释放炎性因子时, 被激活的MSCs能上调COX-2信号并增加PGE2分泌, 促进巨噬细胞从经典激活的促炎型向选择性激活的抗炎型(M2)转变; 同时, MSCs分泌的抗炎因子TSG-6与巨噬细胞的CD44结合后, 会破坏CD44与TLR2的相互作用, 抑制下游NF- κ B信号并降低炎症反应^[28]. 对于树突细胞, MSCs可在内毒素刺激下分泌HGF诱导其分化为调节型树突细胞, 减轻急性肺损伤^[29].

针对细胞因子, 研究表明, MSCs可适应性降低促炎因子(如IL-1a, IL-1b, IL-6, IFN和TNF- α)表达, 并增加抗炎因子(如IL-4, IL-5, IL-10)表达^[15,18], 改善肺组织结构, 减少多器官功能障碍相关标志物^[30]. MSCs对炎症和器官功能的有益作用可能是通过IL-10实现的^[31]. IL-10主要由单核细胞分泌, 可抑制Th1细胞的功能, 影响中性粒细胞的黏附及上皮迁移^[32]. 有研究认为, 巨噬细胞在MSCs的炎性因子调节中起辅助作用. 当CD8⁺ T细胞分泌的穿孔素使MSCs凋亡后, 巨噬细胞可以吞噬凋亡的MSCs并最终实现免疫抑制作用^[33].

研究认为, SARS-CoV-2能够结合ACE2受体从而侵袭细胞. 病毒与ACE2的结合也将消耗ACE2, 进而打破RAS系统(renin-angiotensin system)中ACE/Ang II/AT1R通路与ACE2/Ang(1-7)/Mas受体通路之间的平衡, 导致多系统炎症^[34]. 在炎症条件下, MSCs可提高上述通路中血管生成素-1(angiotensin 1, Ang-1)的水平. 同时, 对移植的MSCs进行单细胞分析发现, MSCs呈ACE2阴性因而不易被SARS-CoV-2感染^[35]. 推测MSCs或许对维持SARS-CoV-2影响的RAS系统的平衡有所帮助.

综上, MSCs可通过调节多种免疫细胞和细胞因子抑制免疫系统的过度激活. 但是MSCs的免疫抑制作用可能会因受损组织内炎症的水平和类型的差异而有所不同. 因此, 临床应根据患者炎症状态评估MSCs应用的合理时机.

2.2 MSCs抑制重症患者体内细胞因子风暴

本次多数COVID-19患者起病时症状较轻, 部分患

者发病一周后突然加重. 其原因可能是宿主过度的免疫反应引发细胞因子风暴^[12,36]. 危重症患者体内的CCS可导致一氧化氮的释放增加, 影响血管收缩和舒张功能, 引发低血压和多器官缺氧^[36]. 研究发现, COVID-19患者血液中存在大量的炎性因子, 如INF- γ , IP-10和MCP-1. 不仅如此, ICU患者体内的G-CSF, MCP-1, TNF- α 等炎性因子浓度显著高于非ICU的患者^[2]. 可见, CCS的严重程度与COVID-19临床表现存在相关性. COVID-19由轻症向重症的转变过程, 虽然部分源于合并症的作用, 但不能排除后期CCS对机体的损伤作用^[12].

目前对于SARS-CoV-2及其引起的CCS尚无特效药物. 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》主要推荐抗病毒治疗和支持治疗, 仅糖皮质激素、托珠单抗和康复者血浆等少数药物可能对CCS有一定效果(<http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>). 但较大剂量的糖皮质激素会因其免疫抑制作用影响治疗, 所以糖皮质激素只能短期小剂量使用, 对于重症患者过度免疫反应的帮助不明确, 不作为常规治疗手段^[3]. 相对于糖皮质激素, MSCs更多地是平衡免疫系统, 故其双向免疫调节能力可能在COVID-19的CCS中有所帮助.

研究认为, IL-6在CCS中发挥关键作用. 危重症患者的IL-6水平是其他患者的10倍. 更重要的是, IL-6水平与血清SARS-CoV-2病毒载量和COVID-19患者的生命体征密切相关. 现已将抗IL-6受体托珠单抗用于阻断CCS, 早期足量使用可阻止疾病加重^[37]. 利用人脐带来源的MSCs也能抑制循环单核细胞的激活和IL-6的产生, 从而抑制CCS的发展并改善预后^[38]. 在高IL-6刺激下, MSCs能适应性地产生细胞因子和mirR-455-3p富集的外泌体, 从而缓解CCS并治疗急性炎症性肝损伤^[39]. 但是早期SARS治疗的研究表明, 来自人免疫血清球蛋白的广谱抗体治疗方法对SARS效果不明显, 其他非特异性免疫抑制剂或广谱抗病毒药物的治疗效果也相对有限^[40]. 因此, MSCs对于CCS的作用仍需进一步研究和确认.

2.3 MSCs修复受损肺泡上皮细胞和血管细胞

SARS-CoV-2在侵袭肺泡上皮和血管的同时, 会过度激活免疫系统引发肺组织的二次损伤. 病理检查证实, COVID-19患者肺组织呈弥漫性肺泡损伤, 并伴支

气管黏膜上皮脱落.同时,肺泡隔血管有充血和透明血栓形成^[8].以上病理结果提示,COVID-19患者可能存在病毒或药物等引发的肺泡和血管的损伤^[8].

对于肺泡上皮细胞,MSCs可通过分泌Ang-1或含有Ang-1 mRNA的外泌体保护其功能^[41,42].在原代培养的肺泡II型细胞(alveolar epithelial cell II, AECII)中, MSCs分泌的Ang-1通过恢复肺泡上皮细胞对蛋白的通透性缓解内毒素诱导的肺损伤^[41].与此同时, MSCs可通过线粒体转移途径增强受损肺泡上皮的修复^[43],或借助外泌体调节巨噬细胞及其细胞因子,改善高氧诱导的小鼠支气管肺发育不良^[16].对于血管内皮细胞, Ang-1起到稳定内皮细胞、抑制血管炎症、促进血管再生的作用^[41,44]. Ang-1通过结合内皮细胞的Tie2受体改变内皮细胞黏附分子和细胞连接,从而降低内皮细胞的通透性,抑制炎症反应^[7].提示MSCs可能通过分泌细胞因子或外泌体调控组织微环境,缓解肺泡上皮和血管的损伤.

MSCs的功能也受周围微环境影响.有文献报道MSCs在某些情况下对肿瘤发生和肿瘤血管形成起协同作用^[45].此外,有研究认为, MSCs可通过表达组织因子发挥促凝血活性,增加血栓风险;或促进补体和凝血途径的双重激活,又称即时血液介导的炎症反应,导致临床应用MSCs时出现发热、过敏等不良反应^[46].因此,临床应用MSCs应当准确评估其风险性并根据患者的个人情况合理用药.

2.4 MSCs减轻ARDS进程和肺纤维化

针对SARS-CoV-2引起的ARDS, MSCs主要发挥免疫调节与再生修复作用,稳定肺泡上皮和血管内皮细胞^[47]. MSCs的修复作用主要通过多种细胞因子实现,特别是角蛋白生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)^[48],它通过上调AECII的 $\alpha 1$ 亚单位,促进肺泡液的清除,缓解内毒素诱发的急性肺损伤^[49].同时, KGF能上调肺泡细胞钠钾ATP酶的活性,改善肺泡液转运^[50],并在细菌性肺炎诱发的ARDS和肺损伤中发挥治疗作用.

但是有研究表明, KGF并不能缓解甲型流感病毒引发的肺炎.相反, KGF会促进流感病毒从上呼吸道向肺泡移动,增强AECII对病毒的易感性,导致死亡率增加.研究发现, KGF能够促进AECII的有丝分裂.在给予KGF之前用mTOR抑制剂雷帕霉素预处理,可以

逆转KGF诱导的AECII增殖和对病毒的易感性,降低死亡率.证明KGF诱导的有丝分裂的过度增加可能是病毒感染的风险因素之一^[51].因此,临床应用KGF或MSCs治疗COVID-19时应注意病毒感染情况.综上,尽管MSCs及其分泌的细胞因子对细菌性肺炎引发的肺水肿和ARDS有一定的治疗效果,但是针对SARS-CoV-2的作用仍需进一步研究明确.

COVID-19重症和危重症患者病理表现包括肺间质纤维化和肺泡腔渗出物机化.其原因可能是: ARDS肺水肿液的纤维连接蛋白、I型和III型胶原蛋白过度沉积^[52],慢性炎症的渗出液机化,机械通气的牵拉力引发肺组织上皮细胞-间充质转化^[53].以上纤维化机制会进一步影响肺功能,最终导致呼吸衰竭.研究发现, MSCs可分泌抗纤维化蛋白,降低胶原含量,抑制炎症因子以实现抗纤维化作用^[54].在博莱霉素诱导的肺纤维化模型中, MSCs能改善小鼠肺胶原沉积和肺纤维化评分^[55];骨髓或脂肪来源的MSCs可以影响I型胶原和III型胶原的表达进而减轻肝损伤或肌腱炎症^[56,57].此外, MSCs的外泌体可调节巨噬细胞表型,抑制高氧相关的炎症并防止肺纤维化和肺血管重构^[16].以上实验说明, MSCs具有抑制纤维化的功能,但是MSCs能否用于多种因素引发的COVID-19相关肺纤维化,其对肺纤维化的具体改善效果如何,仍需要更多的体内实验与细化的临床评分体系验证.

2.5 在合并细菌感染时, MSCs促进细菌清除

与COVID-19轻型患者组相比,重型患者组的中性粒细胞数在发病后13~15天显著增加^[2].考虑重症患者可能在病毒感染同时合并细菌感染. MSCs固有的抗菌特性可能应用于COVID-19重型患者.研究证实, MSCs的抗菌机制包括:调节免疫细胞功能^[58],或分泌细胞因子,如KGF、人抗菌肽LL-37、脂钙蛋白2和防御蛋白等^[30].虽然MSCs本身缺乏吞噬活性,但可以刺激单核巨噬细胞增强吞噬细菌的作用^[59].目前, COVID-19的诊疗方案中明确指出,应合理应用抗生素来预防继发感染.故MSCs在促进细菌清除上可能会通过协助单核巨噬细胞发挥作用.

综上, MSCs通过多种途径调节T细胞、B细胞和巨噬细胞的免疫功能,并借助KGF和Ang-1等细胞因子促进受损肺泡上皮和血管内皮恢复,抑制肺纤维化.基于以上的调节机制,应用MSCs疗法或许对COVID-

19的治疗有所帮助。

3 MSCs治疗COVID-19的可行性分析

疫情发生后,国家紧急启动了“人干细胞用于治疗2019-nCoV感染肺炎的临床研究”“CAStem细胞药物治疗重型新冠肺炎研究”和“应对新冠肺炎的间充质干细胞治疗研究”等应急科技攻关项目,部分产品正在进行临床试验。需要说明的是,以上项目所用的干细胞主要为MSCs,但各自MSCs的来源和制作方法不尽相同。根据Clinical trials数据,由王福生院士负责的临床研究项目《间充质干细胞治疗2019年新型冠状病毒感染的肺炎患者的安全性和有效性》已经登记注册。该试验为多中心试验,计划招募40名患者。近期两例临床试验结果证明, MSCs在治疗COVID-19上已取得初步疗效。第一例临床试验利用人脐带来源的MSCs(human umbilical cord derived MSCs, hUCMSCs)进行三次静脉回输治疗。在第二次静脉回输后,受试的COVID-19患者中性粒细胞下降,淋巴细胞增加, CD4⁺ T、CD8⁺ T细胞恢复至正常水平,大部分生命体征得到改善^[60]。第二例临床试验显示, ACE2阴性的MSCs移植治疗能改善COVID-19患者的预后。这项临床试验招募了7例COVID-19患者(2例轻症、4例重症、1例危重症)接受单次静脉MSCs移植治疗。在MSCs移植后2~4天,调节型树突细胞群增多、促炎因子TNF- α 水平下降、抗炎因子IL-10的水平升高^[35]。以上证据显示了MSCs对重症患者治疗的有益作用。然而,真正将MSCs的特性合理地运用到临床中,需要更多的临床数据对其有效性进行证实,同时深入了解MSCs的作用机制及其相关制品的安全性和风险性。

目前, MSCs及其相关制品已在欧美、日本、澳大利亚等国家和地区进行初步临床应用^[13]。在药剂形式上,为保证MSCs的活性及干细胞特性,多采用细胞悬浮液或细胞水凝胶法。在给药方式上,根据不同患者情况,可局部给药或全身给药。全身给药的细胞剂量是根据每位患者体重或应用固定数量的细胞,利用静脉等途径将MSCs注入体内,多用于免疫系统疾病,如克罗恩病、GVHD等;局部给药是根据损伤组织的表面积或细胞数量来定义MSCs剂量,通过肌内、心肌内、骨内、皮下注射方式用于组织修复,如急性心梗后治疗、难治性膝关节软骨恢复、脊髓损伤等^[13,61]。

4 MSCs应用的风险评估

虽然对MSCs的可能作用机制的认识逐步清晰,但是将MSCs疗法正式应用于临床仍存在诸多挑战:(i) MSCs的质量控制应当如何保证,如何对MSCs疗法进行准确有效的评价;(ii) MSCs的活性差异及不同供体和组织来源的MSCs异质性如何等效地应用于临床;(iii) 不同患者应用MSCs疗法的剂量和疗程如何确定;(iv) MSCs作为一类与环境相互作用的活细胞,不同患者体内的炎症反应是否会影响治疗效果;(v) MSCs疗法是否存在其他未知的不良反应,如对肿瘤血管形成的协同作用,血栓形成风险,以及增强肺泡II型上皮细胞对病毒的易感性等。因此,这些问题都有待于更加严格的临床试验和更多的临床数据,以期获得可靠的研究结论。

MSCs产品是一种“活的药物”,其生产、运输和应用等环节都不同于一般的化学类和生物类药物,质量控制对于MSCs产品有效发挥治疗作用尤为关键。质量控制是MSCs产品临床应用的前提与保障,与MSCs产品治疗患者的健康息息相关。近日发布的《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》(<http://www.cncbd.org.cn/News/Detail/9219>)指出,干细胞的制备参照国家卫健委颁布的《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》执行,质量达到开展临床研究的要求,或达到干细胞药物临床试验要求,并获得国家药监局批准开展临床试验的产品。MSCs产品的质量控制包括生物学基本属性检测、病原微生物检测、安全性和有效性评价等,指导意见中对干细胞治疗新冠肺炎的安全性和有效性评价做出了明确的规定:(i) 有效性评价:主要疗效指标:根据研究目标确定合理的疗效指标,可选择氧合指数、炎症因子变化和肺部影像学检查(CT或床旁胸片)等。次要疗效指标:临床症状改善情况如乏力、呼吸困难等症状的改善程度。临床转归评价包括病亡率、肺纤维化发生等。其他评分体系包括:SOFA; APPACHII. WHO临床过程综合评分等。(ii) 安全性评价:包括局部炎症反应,全身的不良反应(如发热、畏寒、寒战、过敏反应等),定期的干细胞安全性随访。

MSCs的活性与其最终疗效直接相关^[61]。在一项MSCs治疗重症ARDS的2期临床试验中,应用MSCs后并未发生血流动力学和呼吸系统的不良反应,但注射

到体内的MSCs活性差异较大^[11]。同样在自体MSCs治疗时, ECMO(extracorporeal membrane oxygenation)支持等治疗手段虽然能增加循环中的MSCs数量, 但是其整体活性明显降低^[62]。因此, 提取供体MSCs后, 应当通过合理的培养方式, 尽可能减少MSCs干性、活性和结构变化。目前也有临床试验利用MSCs相关的生物制品, 如其外泌体来治疗疾病。研究发现, 不同时期MSCs的外泌体存在活性差异, 这可能与外泌体中的miRNA含量不同有关^[63]。因此, 不同供体提供的MSCs在培养过程中应尽量使其活性相近, 并根据需要考虑体外扩增等可能, 同时也应注意MSCs来源的差异性。骨髓、脂肪组织和脐带血来源的MSCs在转录组特征、分化潜能和生物学功能上有很大的差异^[64]。在移植入受体前, 应当根据受体情况对MSCs进行适当调控。

真正将MSCs疗法应用于临床, 需要根据患者的各个指标的情况进一步明确: 最佳治疗剂量和初始剂量, 给药次数和疗程, 不同剂量、给药途径和适应症之间的关系, MSCs的免疫调节效力高低, 同类药相比的优势和劣势等。准确评估MSCs的有效性和安全性, 从而科学地评判MSCs疗法。

5 总结

总之, 鉴于当前对于COVID-19病理机制的认识和MSCs的特性, 开展MSCs治疗COVID-19临床研究具有科学基础、必要性和可行性, 少数临床探索性研究初步展示了一定的效果。但MSCs治疗COVID-19是否真正成为标准治疗方法还有待最终的、经过合理设计的临床试验结果。

随着COVID-19动物模型的建立及对发病机制的系统了解, 未来的基础研究应进一步明确MSCs治疗COVID-19的机理。这些研究有望在之后转化为具有更大影响的临床试验。研究中应当考虑所用的动物模型是否能够准确反映疾病进程和临床复杂性。对于ARDS, 之前大多数研究多依赖小型近交动物模型, 而这些模型与COVID-19的ARDS特征有所不同。未来需要开发更适合的动物模型用于新冠病毒感染的研究, 从而更准确地代表COVID-19发病过程的各个方面。

另一方面, 尽管早期临床试验的结果提示MSCs可为治疗提供益处。然而, 样本量小、实验设计和生物标志物选择的差异阻碍了MSCs在临床中的应用。我们认为, 未来应将更多资源投入基于科学支持的临床试验中, 并在受试患者中使用分子标记物监测多项指标和治疗反应。在扩大样本量的同时, 应考虑对受试患者进行标准化的免疫学分析, 以缩小研究之间的差异。在MSCs治疗COVID-19的实际应用中, 需要考虑不同来源(包括骨髓、脐带、脂肪组织^[61]和多能干细胞^[65]等)MSCs的治疗效果的差异。此外, 体外培养代数及冻存等也是影响疾病选择和治疗效果的重要因素。将来利用MSCs的外泌体及细胞因子, 或基因修饰、组织工程和异种移植产生的MSCs细胞产品也可能为一些疾病提供新的治疗选择^[66,67]。这些问题的回答和MSCs安全性的保障都将依赖于更加科学和具有可行性的生物学质控指标和合理流程的建立。最后值得强调的一点是, 当前把MSCs名称的扩大外延使用不妥, 不建议将其在文献和公众媒体上说成“干细胞”。干细胞涵盖的种类很多, MSCs治疗某一疾病有效, 不代表其他干细胞也对该疾病有效。

参考文献

- 1 Gorbalenya A E, Baker S C, Baric R S, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—A statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.02.07.937862
- 2 Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, 395: 497–506
- 3 Zhang J, Zhou L, Yang Y, et al. Therapeutic and triage strategies for 2019 novel coronavirus disease in fever clinics. *Lancet Respir Med*, 2020, 8: e11–e12
- 4 Yin X, Hu L, Zhang Y, et al. PDGFB-expressing mesenchymal stem cells improve human hematopoietic stem cell engraftment in immunodeficient mice. *Bone Marrow Transplant*, 2019, doi: 10.1038/s41409-019-0766-z
- 5 Xia C, Wang T, Cheng H, et al. Mesenchymal stem cells suppress leukemia via macrophage-mediated functional restoration of bone marrow microenvironment. *Leukemia*, 2020, doi: 10.1038/s41375-020-0775-3

- 6 Wang Y, Chen X, Cao W, et al. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nat Immunol*, 2014, 15: 1009–1016
- 7 Lee J W, Fang X, Krasnodembskaya A, et al. Concise review: Mesenchymal stem cells for acute lung injury: role of paracrine soluble factors. *Stem Cells*, 2011, 29: 913–919
- 8 Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*, 2020, 8: 420–422
- 9 Simonson O E, Mougiakakos D, Heldring N, et al. *In vivo* effects of mesenchymal stromal cells in two patients with severe acute respiratory distress syndrome. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5: 845
- 10 Wilson J G, Liu K D, Zhuo H, et al. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial. *Lancet Respir Med*, 2015, 3: 24–32
- 11 Matthay M A, Calfee C S, Zhuo H, et al. Treatment with allogeneic mesenchymal stromal cells for moderate to severe acute respiratory distress syndrome (START study): a randomised phase 2a safety trial. *Lancet Respir Med*, 2019, 7: 154–162
- 12 Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. medRxiv, 2020, doi: 10.1101/2020.02.16.20023671
- 13 López-Beas J, Guadix J A, Clares B, et al. An overview of international regulatory frameworks for mesenchymal stromal cell-based medicinal products: From laboratory to patient. *Med Res Rev*, 2020, doi: 10.1002/med.21659
- 14 Wang D, Zhang H, Liang J, et al. A long-term follow-up study of allogeneic mesenchymal stem/stromal cell transplantation in patients with drug-resistant systemic lupus erythematosus. *Stem Cell Rep*, 2018, 10: 933–941
- 15 Shi Y, Wang Y, Li Q, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14: 493–507
- 16 Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, Anastas J, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate experimental bronchopulmonary dysplasia and restore lung function through macrophage immunomodulation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197: 104–116
- 17 Li N, Hua J. Interactions between mesenchymal stem cells and the immune system. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74: 2345–2360
- 18 Uccelli A, de Rosbo N K. The immunomodulatory function of mesenchymal stem cells: mode of action and pathways. *Ann NY Acad Sci*, 2015, 1351: 114–126
- 19 Glennie S, Soeiro I, Dyson P J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood*, 2005, 105: 2821–2827
- 20 Luz-Crawford P, Kurte M, Bravo-Alegria J, et al. Mesenchymal stem cells generate a CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4: 65
- 21 Chen Q H, Wu F, Liu L, et al. Mesenchymal stem cells regulate the Th17/Treg cell balance partly through hepatocyte growth factor *in vitro*. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 91
- 22 Luz-Crawford P, Hernandez J, Djouad F, et al. Mesenchymal stem cell repression of Th17 cells is triggered by mitochondrial transfer. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10: 232
- 23 Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*, 2006, 107: 367–372
- 24 Cho K A, Lee J K, Kim Y H, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate B-cell-mediated immune responses and increase IL-10-expressing regulatory B cells in an EB13-dependent manner. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14: 895–908
- 25 Franquesa M, Mensah F K, Huizinga R, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells abrogate plasmablast formation and induce regulatory B cells independently of T helper cells. *Stem Cells*, 2015, 33: 880–891
- 26 de Witte S F H, Luk F, Sierra Parraga J M, et al. Immunomodulation by therapeutic mesenchymal stromal cells (MSC) is triggered through phagocytosis of MSC By monocytic cells. *Stem Cells*, 2018, 36: 602–615
- 27 Reis M, Mavin E, Nicholson L, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles attenuate dendritic cell maturation and function. *Front Immunol*, 2018, 9
- 28 Prockop D J. Concise review: two negative feedback loops place mesenchymal stem/stromal cells at the center of early regulators of inflammation. *Stem Cells*, 2013, 31: 2042–2046
- 29 Lu Z, Chang W, Meng S, et al. Mesenchymal stem cells induce dendritic cell immune tolerance via paracrine hepatocyte growth factor to alleviate acute lung injury. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10: 372

- 30 Johnson C L, Soeder Y, Dahlke M H. Concise review: Mesenchymal stromal cell-based approaches for the treatment of acute respiratory distress and sepsis syndromes. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6: 1141–1151
- 31 Park K S, Svennerholm K, Shelke G V, et al. Mesenchymal stromal cell-derived nanovesicles ameliorate bacterial outer membrane vesicle-induced sepsis via IL-10. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10: 231
- 32 Wang X, Wong K, Ouyang W, et al. Targeting IL-10 family cytokines for the treatment of human diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11: a028548
- 33 Galleu A, Riffo-Vasquez Y, Trento C, et al. Apoptosis in mesenchymal stromal cells induces *in vivo* recipient-mediated immunomodulation. *Sci Transl Med*, 2017, 9: eaam7828
- 34 Sun M L, Yang J M, Sun Y P, et al. Inhibitors of RAS might be a good choice for the therapy of COVID-19 pneumonia (in Chinese). *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2020, 43: E014 [孙美丽, 杨建民, 孙玉萍, 等. RAS抑制剂是治疗新型冠状病毒肺炎的可能选择之一. *中华结核和呼吸杂志*, 2020, 43: E014]
- 35 Leng Z, Zhu R, Hou W. Transplantation of ACE2⁻ mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging Dis*, 2020, 11: 216–228
- 36 Chousterman B G, Swirski F K, Weber G F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol*, 2017, 39: 517–528
- 37 Chen X, Zhao B, Qu Y, et al. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely associated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients. medRxiv, 2020, doi: 10.1101/2020.02.29.20029520
- 38 Guo G, Zhuang X, Xu Q, et al. Peripheral infusion of human umbilical cord mesenchymal stem cells rescues acute liver failure lethality in monkeys. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10: 84
- 39 Shao M, Xu Q, Wu Z, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate IL-6-induced acute liver injury through miR-455-3p. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 37
- 40 Gong Y, Shi Z X, Chen J, et al. Disease briefing: Coronaviruses (in Chinese). *China Biotechnol*, 2020, Z1: 1–20 [巩玥, 史志祥, 陈菁, 等. 冠状病毒的研究现状. *中国生物工程杂志*, 2020, Z1: 1–20]
- 41 Fang X, Neyrinck A P, Matthay M A, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cells restore epithelial protein permeability in cultured human alveolar type II cells by secretion of angiopoietin-1. *J Biol Chem*, 2010, 285: 26211–26222
- 42 Hu S, Park J, Liu A, et al. Mesenchymal stem cell microvesicles restore protein permeability across primary cultures of injured human lung microvascular endothelial cells. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7: 615–624
- 43 Sinclair K A, Yerkovich S T, Hopkins P M A, et al. Characterization of intercellular communication and mitochondrial donation by mesenchymal stromal cells derived from the human lung. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7: 91
- 44 Wang S, Mo M, Wang J, et al. Platelet-derived growth factor receptor beta identifies mesenchymal stem cells with enhanced engraftment to tissue injury and pro-angiogenic property. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 547–561
- 45 Xu S, De Veirman K, De Becker A, et al. Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutic tool or target? *Leukemia*, 2018, 32: 1500–1514
- 46 Coppin L, Sokal E, Stéphenne X. Thrombogenic risk induced by intravascular mesenchymal stem cell therapy: Current status and future perspectives. *Cells*, 2019, 8: 1160
- 47 Lopes-Pacheco M, Robba C, Rocco P R M, et al. Current understanding of the therapeutic benefits of mesenchymal stem cells in acute respiratory distress syndrome. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36: 83–102
- 48 Monsel A, Zhu Y, Gennai S, et al. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cell-derived microvesicles in severe pneumonia in mice. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 192: 324–336
- 49 Li J W, Wu X. Mesenchymal stem cells ameliorate LPS-induced acute lung injury through KGF promoting alveolar fluid clearance of alveolar type II cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19: 2368–2378
- 50 Goolaerts A, Pellan-Randrianarison N, Larghero J, et al. Conditioned media from mesenchymal stromal cells restore sodium transport and preserve epithelial permeability in an *in vitro* model of acute alveolar injury. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306: L975–L985
- 51 Nikolaidis N M, Noel J G, Pitstick L B, et al. Mitogenic stimulation accelerates influenza-induced mortality by increasing susceptibility of alveolar type II cells to infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E6613–E6622
- 52 Ito J T, Lourenço J D, Righetti R F, et al. Extracellular matrix component remodeling in respiratory diseases: What has been found in clinical and experimental studies? *Cells*, 2019, 8: 342

- 53 Kuhn H, Zobel C, Vollert G, et al. High amplitude stretching of ATII cells and fibroblasts results in profibrotic effects. *Exp Lung Res*, 2019, 45: 167–174
- 54 Jiang X, Jiang X, Qu C, et al. Intravenous delivery of adipose-derived mesenchymal stromal cells attenuates acute radiation-induced lung injury in rats. *Cytotherapy*, 2015, 17: 560–570
- 55 Srour N, Thébaud B. Mesenchymal stromal cells in animal bleomycin pulmonary fibrosis models: A systematic review. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4: 1500–1510
- 56 Dong L, Pu Y, Chen X, et al. hUCMSC-extracellular vesicles downregulated hepatic stellate cell activation and reduced liver injury in *S. japonicum*-infected mice. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 21
- 57 Viganò M, Lugano G, Perucca Orfei C, et al. Autologous microfragmented adipose tissue reduces the catabolic and fibrosis response in an *in vitro* model of tendon cell inflammation. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 1–10
- 58 Antebi B, Mohammadipoor A, Batchinsky A I, et al. The promise of mesenchymal stem cell therapy for acute respiratory distress syndrome. *J Trauma Acute Care Surg*, 2018, 84: 183–191
- 59 Krasnodembskaya A, Samarani G, Song Y, et al. Human mesenchymal stem cells reduce mortality and bacteremia in gram-negative sepsis in mice in part by enhancing the phagocytic activity of blood monocytes. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302: L1003–L1013
- 60 Liang B, Chen J, Li T, et al. Clinical remission of a critically ill COVID-19 patient treated by human umbilical cord mesenchymal stem cells. 2020, ChinaXiv:202002.00084
- 61 Yin J Q, Zhu J, Ankrum J A. Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3: 90–104
- 62 Patry C, Doniga T, Lenz F, et al. Increased mobilization of mesenchymal stem cells in patients with acute respiratory distress syndrome undergoing extracorporeal membrane oxygenation. *PLoS ONE*, 2020, 15: e0227460
- 63 Huang R, Qin C, Wang J, et al. Differential effects of extracellular vesicles from aging and young mesenchymal stem cells in acute lung injury. *Aging*, 2019, 11: 7996–8014
- 64 Moll G, Ankrum J A, Kamhieh-Milz J, et al. Intravascular mesenchymal stromal/stem cell therapy product diversification: Time for new clinical guidelines. *Trends Mol Med*, 2019, 25: 149–163
- 65 Meng X, Su R J, Baylink D J, et al. Rapid and efficient reprogramming of human fetal and adult blood CD34⁺ cells into mesenchymal stem cells with a single factor. *Cell Res*, 2013, 23: 658–672
- 66 Phinney D G, Pittenger M F. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem Cells*, 2017, 35: 851–858
- 67 Phan J, Kumar P, Hao D, et al. Engineering mesenchymal stem cells to improve their exosome efficacy and yield for cell-free therapy. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7: 1522236

Scientific basis and feasibility of exploring mesenchymal stem cells for the treatment of Coronavirus disease 2019

XU Chang¹, ZHANG YingChi^{1,2,3}, HAO Sha^{1,2,3}, CHENG Tao^{1,2,3} & CHENG Hui^{1,2,3}

1 State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020, China;

2 National Clinical Research Center for Blood Diseases, Tianjin 300020, China;

3 Center for Stem Cell Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences; Department of Stem Cell & Regenerative Medicine, Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Since the outbreak of Coronavirus disease 2019 (COVID-19), researchers have been proposing new treatment regimes. However, there is no specific treatment or drug for COVID-19. Mesenchymal stem cells (MSCs) are a class of multipotent tissue stem cells with immunoregulatory and tissue repair functions. Several studies using MSCs for the treatment of acute lung injury, severe pneumonia, and acute respiratory distress syndrome have shown safety and effectiveness. Domestic and foreign clinical trials using MSCs to treat COVID-19 have been approved and filed, which are underway. Considering the pathological characteristics of COVID-19, discussing the scientific basis and feasibility of MSCs treatment may explore the potential values of MSCs for the treatment of COVID-19.

Coronavirus disease 2019, mesenchymal stem cells, acute respiratory distress syndrome, immunomodulation

doi: [10.1360/SSV-2020-0119](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0119)