

## 间充质干细胞移植治疗新型冠状病毒肺炎的思考

姚孟维<sup>1</sup> 陈卓<sup>1,2</sup> 何晓<sup>3</sup> 龙皎月<sup>1</sup> 郭韡<sup>1</sup> 邢伟<sup>1</sup> 徐祥<sup>1</sup>

<sup>1</sup>陆军军医大学第三附属医院干细胞与再生医学科,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042; <sup>2</sup>陆军军医大学基础医学院,重庆 400038; <sup>3</sup>解放军火箭军特色医学中心,北京 100088  
通信作者:徐祥, Email: xiangxu@tmmu.edu.cn

**【摘要】** 目前2019新型冠状病毒(2019-nCoV)感染疫情已造成了全球大流行。尽管科研人员已经对2019-nCoV展开了深入研究,并解析出了分子结构,进行了进化树分析,但对于其具体的致病机制还缺乏足够认识,导致目前尚缺乏特异有效的治疗药物与手段。由于2019-nCoV感染会引发过度炎症反应,进而导致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和脓毒症是其致死的主要并发症,因此,在抗病毒和对症治疗的同时减轻炎症反应,才能有更好的治疗效果。间充质干细胞(MSCs)不仅具有显著的免疫调节功能,还能发挥再生修复的作用,修复受损肺组织,可以考虑作为治疗新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)的一种新的有效手段。本文通过分析2019-nCoV的主要致病机制以及发展为ARDS的过程,并结合MSCs的研究现状,探讨其用于治疗新冠肺炎的意义与可行性,为临床治疗提供充实的理论依据。

**【关键词】** 新型冠状病毒; 急性呼吸窘迫综合征; 细胞因子风暴; 间充质干细胞; 免疫调节

**基金项目:** 重庆市教委新冠病毒感染与防治应急专项(KYYJ202009); 军队生物安全项目(19SWAQ18)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200506-00623

### Possibility of mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of coronavirus disease 2019

Yao Mengwei<sup>1</sup>, Chen Zhuo<sup>1,2</sup>, He Xiao<sup>3</sup>, Long Jiaoyue<sup>1</sup>, Guo Wei<sup>1</sup>, Xing Wei<sup>1</sup>, Xu Xiang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Stem Cell and Regenerative Medicine, State Key Laboratory of Trauma, Burn and Combined Injury, Third Hospital Affiliated to Army Military Medical University, Chongqing 400042, China; <sup>2</sup>Basic Medical School of Army Military Medical University, Chongqing 400038, China; <sup>3</sup>PLA Rocket Force Characteristic Medical Center, Beijing 100088, China

Corresponding author: Xu Xiang, Email: xiangxu@tmmu.edu.cn

**【Abstract】** 2019 Novel coronavirus (2019-nCoV) infection has caused a global pandemic. Although researchers have carried out a lot of research on 2019-nCoV, analyzed the molecular structure and conducted evolutionary tree analysis, there is still insufficient understanding of its specific pathogenic mechanism, resulting in the lack of specific and effective therapeutic drugs and method. 2019-nCoV infection can cause inflammation and may deteriorate to acute respiratory distress syndrome (ARDS) and sepsis, which have become the main complication of its death. Therefore, using antiviral and symptomatic treatment with inflammation reduction can have a better therapeutic effect. Mesenchymal stem cells (MSCs) not only have a significant immune-regulation function, but also play a role in regeneration and repair, repairing damaged lungs, so they can be considered as a new effective method for the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19). This article analyzes the main pathogenic mechanism of 2019-nCoV, and the process of developing into ARDS, combined with the research status of MSCs, to explore its significance and feasibility for the treatment of COVID-19. Finally, it will provide a substantial theoretical basis for clinical treatment now and in the future.

**【Key words】** 2019 Novel coronavirus; Acute respiratory distress syndrome; Cytokine storm; Mesenchymal stem cell; Immunomodulation

**Fund program:** Special Project of Chongqing Education Commission on Prevention and Control of Coronavirus Disease 2019 of China (KYYJ202009); Military Biosafety Program of the Chinese People's Liberation Army (19SWAQ18)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200506-00623

2019新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)极大危害了公众健康,我国各级政府对其防控高度重视,国家卫生健康委员会制定了新冠肺炎诊疗方案,目前已修订至第七版<sup>[1]</sup>,对指导临床诊治发挥了重要作用。作为新发疾病,尽管科研人员已经对新冠肺炎展开了深入研究,但对其致病机制仍缺乏足够认识,导致目前尚缺乏特异有效的药物和疫苗(陈薇院士团队研发的疫苗已获批进入临床试验阶段),基本上以抗病毒、对症和功能支持性疗法为主,因此迫切需要一种安全有效并且可行性高的新冠肺炎,尤其是重症新冠肺炎的治疗方法。

目前认为,病毒通过与细胞膜上的受体血管紧张素转换

酶2(ACE2)结合进入肺泡细胞,之后透过单层内皮细胞进入血液,引发局部或全身炎症反应,是新冠肺炎的基本病理生理机制;而炎症级联反应最终导致的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或脓毒症则是新冠肺炎致死的主要并发症。因此,在进行常规治疗的同时,减轻炎症反应并保护器官功能,才能达到更好的治疗效果。而目前用于临床的传统抗炎药物,如糖皮质激素和氯喹等,均有一定的副作用,抑制炎症反应的同时可能损害正常细胞,甚至破坏免疫系统平衡,并且仅使用1种或2种免疫因子,产生的免疫调节能力可能不够强,无法抵抗新冠肺炎导致的“细胞因子风暴”。

研究证实,间充质干细胞(MSCs)具有强大的免疫调节及再生修复功能,抑制炎症的同时还能修复损伤肺组织<sup>[2]</sup>,且其免疫原性低,不会导致机体的排斥反应<sup>[3]</sup>;此外,通过静脉输注的MSCs首先到达肺组织,且大部分被扣留于此,以改善肺部微环境,保护肺泡上皮细胞,防止纤维化,进而改善肺功能,最重要的是MSCs为ACE2<sup>-</sup>,不会被2019新型冠状病毒(2019-nCoV)感染<sup>[4]</sup>。因此,可考虑将MSCs移植作为治疗新冠肺炎的一种新型有效手段。现通过分析2019-nCoV侵袭人体引发新冠肺炎的主要致病机制以及发展为ARDS的过程,结合MSCs的研究现状,探讨其用于治疗新冠肺炎的意义与可行性,为临床治疗提供充足的理论依据。

### 1 2019-nCoV的基本结构

冠状病毒有4种主要结构蛋白,即棘突蛋白(S蛋白)、基质蛋白(M蛋白)、核衣壳蛋白(N蛋白)和小包膜蛋白(E蛋白),其中S蛋白含有两个功能亚基,即S1和S2,主要负责与ACE2结合<sup>[5]</sup>。2019-nCoV与严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)在S蛋白的整体氨基酸序列上存在着较大的差异,这一结构上的差异主要表现在某些氨基酸的变化上。有证据表明,与SARS-CoV相比,2019-nCoV的S蛋白的5个关键氨基酸中,除Tyr491以外的其他4个,即Tyr442、Leu472、Asn479和Thr487均发生了变化,这种变化非但没有抑制其与ACE2相互作用[SARS-CoV的结合自由能为-328.9 kJ/mol(-78.6 kcal/mol),2019-nCoV的结合自由能为-211.7 kJ/mol(-50.6 kcal/mol)],反而在整体性上完美地维持了原结构构象<sup>[6]</sup>,更加增强了其侵袭能力。

### 2 2019-nCoV的基本致病机制

目前已经证实,2019-nCoV具有与SARS-CoV相似的整体结构,因此致病机制也与之相似<sup>[7]</sup>,均是与人ACE2结合,进而破坏细胞,引发炎症疾病。ACE2主要位于II型肺泡上皮细胞<sup>[8]</sup>、小肠上皮细胞<sup>[9]</sup>和血管内皮细胞<sup>[10-11]</sup>表面,是肾素-血管紧张素系统(RAS)调控中的关键酶,能将血管紧张素I(Ang I)分解为Ang(1-9),将Ang II分解为Ang(1-7),以调节血压<sup>[12]</sup>。此外,Ang II还是一种促炎分子,能直接与核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)结合促进 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素(IL-1、IL-8)等炎症细胞因子的转录;而Ang(1-7)则通过与Mas受体结合调控磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)和细胞外信号调节激酶(ERK)信号途径,进而发挥抗炎功能<sup>[13]</sup>。

结构分析表明,S蛋白中受体结合结构域(RBD)的受体结合基序(RBM)能与ACE2爪状结构的外表面结合,从而占据Ang的结合位点<sup>[14]</sup>,使Ang I和Ang II分解受阻。因此,当ACE2被2019-nCoV识别后,除了直接影响其对血压的调控外,更重要的是会破坏免疫系统平衡:Ang II分解被抑制,使其大量累积,NF- $\kappa$ B不断活化,炎症细胞因子大量表达,同时Ang(1-7)合成也被抑制,导致其抗炎功能被削弱,进一步加重炎症反应。

### 3 新冠肺炎与ARDS

2019-nCoV以肺为主要靶器官,其感染人体后引发肺部

炎症,损害肺的供氧功能,因此新冠肺炎的临床症状表现为发热、干咳和乏力。随着感染和缺氧的加重,这些轻微症状将会发展为呼吸困难和低氧血症<sup>[1]</sup>。

据临床报道,2019-nCoV感染人体后导致死亡的最常见并发症是ARDS<sup>[15]</sup>。事实上,各种类型的病毒性肺炎[中东呼吸综合征(MERS)和严重急性呼吸综合征(SARS)等]严重时都会引起强烈的肺损伤及ARDS。ARDS的主要病理特征是炎症导致肺微血管通透性增加,肺泡腔渗出富含蛋白质的液体,进而导致肺水肿及透明膜形成。ARDS的本质是多种炎性细胞(巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等)及其释放的炎性介质和细胞因子介导的肺脏炎症反应<sup>[16]</sup>。

刘良教授团队<sup>[17]</sup>对1例死亡原因为“新冠肺炎、呼吸衰竭”的患者进行尸检发现,其肺部损伤明显,左肺有严重的炎性病损,切面可见大量黏稠的分泌物从肺泡内溢出;与SARS相比,新冠肺炎患者肺部渗出性反应增强,纤维化减弱。提示2019-nCoV可能主要通过加强肺部炎症反应间接引起肺功能障碍,而不是通过感染肺泡细胞导致其死亡而造成肺损伤。王福生教授团队<sup>[18]</sup>对新冠肺炎患者的尸检结果也显示,双肺均可见明显水肿及透明膜形成,进一步证明炎症引起的ARDS是2019-nCoV致死的主要并发症。

当肺泡细胞崩塌及肺部形成水肿后,一方面通过阻碍血液从肺泡摄取氧气,影响氧的弥散;另一方面通过减少肺表面活性物质及有效参与气体交换的肺泡数量,影响通气/血流比例,最终导致机体严重缺氧,发生低氧血症,直至发展为ARDS。因此,在对症支持治疗的同时进行合理的抗炎治疗,不失为一种治疗新冠肺炎的有效方式。

### 4 MSCs的免疫调节功能

临床上用于抗炎治疗的方式很多,如免疫抑制剂(糖皮质激素)和非甾体抗炎药(氯唑)等,但是均有一定的副作用,抑制炎症反应的同时可能损害正常细胞,甚至破坏免疫系统平衡,并且仅使用1种或2种免疫因子产生的免疫调节能力可能不够强,无法抵抗“细胞因子风暴”。近年来研究表明,MSCs除了具有强大的组织再生修复功能外,还能抑制炎症<sup>[2]</sup>,并且具有低免疫原性[主要组织相容性复合物I(MHC I)低表达,MHC II和T细胞共刺激分子不表达]<sup>[3]</sup>,因此在同种异体移植治疗(尤其是类风湿关节炎和脓毒症等炎症性疾病)中越来越受到青睐,目前在美国临床试验数据库已经注册了超过1000项关于MSCs的临床试验。当组织受损时,MSCs被动员到受损部位,一方面通过分化成上皮细胞和内皮细胞,替代受损细胞;另一方面分泌大量的生长因子,促进其他细胞分化成上皮细胞和内皮细胞,并加强受损部位的血管生成和细胞外基质重塑,进而促进组织修复。除此之外,MSCs还能通过分泌免疫调节因子[咪唑胺2,3-双加氧酶(IDO)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )和前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)等]调节炎症进程,形成有利于组织修复的微环境,加快组织修复<sup>[2]</sup>。

IDO是一种可以将色氨酸降解为犬尿氨酸的限速酶,在炎症或缺氧状态下表达增加。MSCs经IFN- $\gamma$ 诱导分泌功

能性 IDO<sup>[19]</sup>, 作用于 T 细胞引起色氨酸耗竭, 导致犬尿氨酸的累积, 间接介导对 T 细胞增殖的抑制<sup>[20]</sup>, 从而发挥免疫抑制功效。尤其对于人类来说, IDO 是 MSCs 发挥免疫调节功能的主要途径之一<sup>[21]</sup>。TGF- $\beta$  则是一种被广泛认可的抗炎细胞因子, IL-4 和 IL-13 能通过激活 MSCs 中的信号转导和转录活化因子 6 (STAT6) 途径促进其产生。在哮喘小鼠模型中已证实, 静脉注射 MSCs 可抑制辅助性 T 细胞 2 (Th2) 引发的过敏反应, 并通过 TGF- $\beta$  重建生理平衡, 从而介导免疫抑制效应<sup>[22]</sup>。此外, MSCs 分泌的 TGF- $\beta$  除了作用于免疫细胞以外, 还能反过来作用于自身, 抑制自身的免疫抑制效应, 并且 TGF- $\beta$  对 MSCs 的作用具有剂量依赖性, 大剂量的 TGF- $\beta$  会显著降低 MSCs 膜表面的 II 型 TGF- $\beta$  受体 (TGF- $\beta$ R II) 表达, 从而弱化其对 MSCs 抗炎功能的抑制<sup>[23]</sup>。PGE<sub>2</sub> 是其前体化合物花生四烯酸经组成型环氧合酶 (COX1) 或者诱导型环氧合酶 (COX2)、前列腺素合成酶代谢产生, 可以被促炎细胞因子 (IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$ ) 诱导<sup>[24]</sup>, 并参与调节免疫反应。有研究表明, 当 MSCs 与 T 细胞共培养时, 会上调 COX1/COX2 的表达, 从而促进 PGE<sub>2</sub> 的产生<sup>[25]</sup>; 还有研究证实, PGE<sub>2</sub> 可以通过抑制  $\gamma$   $\delta$  T 细胞和自然杀伤细胞 (NK 细胞) 的活化与增殖来减弱免疫反应<sup>[26]</sup>。然而, 尽管大量的实验表明 PGE<sub>2</sub> 具有免疫抑制效应, 但也有研究报道了它的促炎作用, 即在脂多糖 (LPS) 处理的树突细胞 (DC) 中, PGE<sub>2</sub> 能诱导 IL-23 介导的 Th17 应答, 并抑制 IL-12 和 IL-27 介导的 Th1 应答<sup>[27]</sup>。

由此可见, MSCs 的免疫调节能力并不是组成型的, 而是需要由特定炎症细胞因子诱导来“赋能”。在炎症疾病发生发展过程中, 细胞因子的数量和种类也会随之发生很大的变化, 这些变化严重影响 MSCs 免疫调节能力的激活, 最终决定 MSCs 的免疫调节命运, 即抑炎或促炎<sup>[28-29]</sup>, 这使得 MSCs 的免疫调节功能具有很强的可塑性。在炎症疾病的急性期或复发期, 效应 T 细胞会通过分泌促炎细胞因子 IL-1、IL-17、TNF 和 IFN- $\gamma$ , 刺激 MSCs 分泌大量趋化因子受体 [趋化因子受体 3 (CXCR3)、C-C 趋化因子受体 5 (CCR5)] 配体、一氧化氮

(NO) 和 IDO, 趋化因子将 T 细胞吸引到活化的 MSCs 附近, 高浓度的 NO 和 IDO 通过直接抑制 T 细胞来抑制免疫反应; 而在慢性炎症或炎症缓解期间, 伴随着最佳浓度的促炎细胞因子和高浓度的抗炎细胞因子 (如 TGF- $\beta$ ), 此时诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和 IDO 浓度低于免疫抑制阈值, 趋化因子尽管仍被表达, 但水平较低, 募集的 T 细胞不受控制, 从而促进免疫反应<sup>[2]</sup>。由此可见, MSCs 具有平衡免疫反应与控制炎症的功能, 并且可以通过调控诱导手段来控制这些功能。

## 5 MSCs 移植治疗新冠肺炎的应用前景

由于新冠肺炎引发的 ARDS 本质上也是炎症反应, 但在此过程中不受控制, 损害了许多正常细胞和组织, 因此一方面能促进免疫反应消灭病毒, 另一方面能抑制免疫反应保护正常细胞并修复受损组织的 MSCs, 显现出巨大的优势<sup>[30]</sup>。实际上之前已经有文献报道了 MSCs 在肺损伤模型中具有显著的抗炎作用。例如: 在博莱霉素肺损伤模型中, 损伤 6 h 后静脉输注 MSCs, 第 14 天时细胞因子和中性粒细胞数量均已恢复到正常水平<sup>[31]</sup>; 在大肠杆菌离体灌注肺损伤模型中, 损伤 1 h 后输注 MSCs, 发现中性粒细胞显著减少, 损伤的肺组织几乎完全恢复<sup>[32]</sup>。还有研究表明, MSCs 能动员黏附的连接蛋白到内皮细胞膜上形成屏障, 限制其与免疫细胞结合而降低细胞膜通透性, 保护其免受炎症破坏<sup>[33-34]</sup>。

在临床上, 有效去除肺泡水肿液对于急性肺损伤的恢复也至关重要。已有文献证明, MSCs 可以通过成纤维细胞生长因子 7 (FGF7) 介导的机制提高肺泡水肿液的清除率; 当使用活菌损伤离体肺后, 添加 MSCs 可以改善肺泡液的清除, 并且对未进行移植的灌注肺进行 MSCs 静脉输注后, 使其恢复了正常清除肺泡水肿液的功能<sup>[35]</sup>。此外, MSCs 的基因表达谱显示为 ACE2<sup>-</sup>, 表明其不会受 2019-nCoV 感染, 对于治疗新冠肺炎引发的 ARDS 是安全的。鉴于 MSCs 对于治疗 ARDS 有如此大的潜力, 因此可以考虑使用其治疗新冠肺炎的重症患者, 目前在中国临床试验注册中心和美国临床试验数据库已经分别注册了 11 项关于 MSCs 治疗新冠肺炎的临床研究 (表 1~2)。

表 1 在中国临床试验注册中心注册的 11 项国内关于间充质干细胞治疗新型冠状病毒肺炎的临床试验

序号	项目名称	注册号	申请单位
1	异体人牙髓间充质干细胞治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 重症肺炎的安全性和有效性研究	ChiCTR2000031319	武汉大学人民医院
2	脐带间充质干细胞 (hucMSCs) 治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 高危患者	ChiCTR2000030300	南京市第二医院
3	间充质干细胞治疗重症新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的临床研究	ChiCTR2000030224	华中科技大学同济医学院附属协和医院
4	脐带间充质干细胞治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 关键技术攻关与临床应用示范	ChiCTR2000030173	湖南源品细胞生物科技有限公司
5	人间充质干细胞治疗重症新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 临床研究	ChiCTR2000030138	解放军总医院
6	脐带华通胶源间充质干细胞治疗重症新型冠状病毒肺炎 (COVID-19)	ChiCTR2000030088	解放军总医院第六医学中心
7	间充质干细胞治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的临床应用及其相关基础研究	ChiCTR2000030020	南华大学附属第二医院
8	脐血间充质干细胞用于治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的临床研究	ChiCTR2000029816	广州瑞铂茵健康管理咨询有限公司
9	芦荟替代联合输注间充质干细胞治疗重症新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 患者的前瞻性、单盲、随机对照临床研究	ChiCTR2000029580	华中科技大学同济医学院附属同济医院
10	脐带间充质干细胞条件培养基治疗重症及危重症新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的安全性和有效性研究: 随机对照临床试验	ChiCTR2000029569	襄阳市第一人民医院
11	脐带间充质干细胞治疗重型和危重型新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的开放性临床观察研究	ChiCTR2000030866	长沙市第一医院

表2 在美国临床试验数据库注册的11项国外关于间充质干细胞治疗新型冠状病毒肺炎的临床试验

序号	项目名称	注册号	申请单位
1	NestaCell® mesenchymal stem cell to treat patients with severe COVID-19 pneumonia	NCT04315987	Hospital Vera Cruz, Campina Grande, São Paulo, Brazil
2	Treatment of COVID-19 patients using Wharton's Jelly-mesenchymal stem cells	NCT04313322	Stem Cells Arabia, Amman, Jordan
3	A clinical trial to determine the safety and efficacy of hope biosciences autologous mesenchymal stem cell therapy (HB-adMSCs) to provide protection against COVID-19	NCT04349631	Hope Biosciences Stem Cell Research Foundation, Sugar Land, Texas, United States
4	A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to determine the safety and efficacy of hope biosciences allogeneic mesenchymal stem cell therapy (HB-adMSCs) to provide protection against COVID-19	NCT04348435	Hope Biosciences Stem Cell Research Foundation, Sugar Land, Texas, United States
5	Use of UC-MSCs for COVID-19 patients	NCT04355728	Diabetes Research Institute, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida, United States
6	Mesenchymal stromal cells for the treatment of SARS-CoV-2 induced acute respiratory failure (COVID-19 disease)	NCT04345601	Houston Methodist Hospital, Houston, Texas, United States
7	Repair of acute respiratory distress syndrome by stromal cell administration (REALIST) (COVID-19)	NCT03042143	Belfast Health and Social Care Trust, Royal Hospitals, Belfast, Northern Ireland, United Kingdom
8	Cell therapy using umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in SARS-CoV-2-related ARDS	NCT04333368	Hôpital Pitié-Salpêtrière-APHP, Paris, France; Hôpital Européen Georges Pompidou-APHP, Paris, France
9	ASC therapy for patients with severe respiratory COVID-19	NCT04341610	2014 Department of Cardiology, the Heart Centre, University Hospital Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark
10	BATLe against COVID-19 using mesenchymal stromal cells	NCT04348461	Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz; Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante; Hospital General Universitario Gregorio Marañón; Clínica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra; Hospital Universitario de Salamanca; Hospital General Universitario de Alicante; Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
11	Adipose mesenchymal cells for abatement of SARS-CoV-2 respiratory compromise in COVID-19 disease	NCT04352803	未注明

本团队前期开展了MSCs救治脓毒症的I期临床安全性评价研究,证实MSCs治疗脓毒症的安全性高<sup>[36]</sup>。在此基础上,本团队和蒋东坡教授团队近期使用MSCs对重症新冠肺炎患者进行了临床探索性治疗,其中有10例患者在接受治疗后,相关生命体征指标、全身炎症反应指征和多器官功能(如肺、心和肾)均明显改善,提升了救治有效性和预后,得到了广泛关注<sup>[37]</sup>。此外,北京佑安医院的临床数据也表明, MSCs能显著改善新冠肺炎患者的炎症状态,使血清中促炎细胞因子和趋化因子水平显著降低,吸引少数单核/巨噬细胞进入肺的同时,诱导更多的调节性DC细胞聚集到炎症部位,抑制炎症的同时又能促进肺的修复,并且在整个治疗过程中没有出现不良反应<sup>[4]</sup>。因此, MSCs在治疗新冠肺炎中有着巨大的潜力,而且其来源广泛,提取方式简单快捷,培养方便,未来也将在各种炎性疾病的治疗中大放异彩。

### 6 MSCs移植救治新冠肺炎的困境与思考

尽管MSCs在救治新冠肺炎患者的过程中显示出较好的临床疗效,但在临床应用中仍存在诸多问题,在部分患者中甚至未表现出临床疗效。导致临床疗效个体化差异的主要原因可能涉及以下几个方面。

**6.1 MSCs在体内存活时间短,凋亡迅速:**研究表明,外源性MSCs输入机体后往往会过早凋亡<sup>[38-39]</sup>,严重影响临床疗效。尤其是在高炎症微环境下,高浓度的IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 能通过协同诱导iNOS,以NO依赖性的方式上调Fas的表达,使细胞对Fas激动剂引起的凋亡敏感,进而诱发小鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)凋亡<sup>[40]</sup>。此外,NO还能抑制细胞自噬,

促进内质网应激,进一步诱导MSCs凋亡。还有研究报道,体外敲除盐皮质激素受体(MR)能增强MSCs的活性,并证实心肌梗死患者体内高表达的MR活化配体醛固酮和皮质酮能诱导MSCs凋亡<sup>[41]</sup>。此外,本团队采用MSCs移植治疗糖尿病患者心肌梗死时也发现,体内循环MSCs数量显著减少,并且与糖尿病并发症的进展呈负相关,证明糖尿病一线用药二甲双胍会通过磷酸腺苷依赖性蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(AMPK/mTOR)途径诱导MSCs凋亡<sup>[42]</sup>。

**6.2 凋亡的MSCs**虽然也具有一定的免疫调节功能,但效力低下:尽管如上文所述,输入体内的MSCs会被过早诱导凋亡,然而有研究表明凋亡的MSCs也能发挥抗炎功能。据报道,在移植抗宿主病(GvHD)小鼠模型中, MSCs确实发生了凋亡,但仍具有免疫抑制能力。该研究者发现,进入体内的MSCs会被活化的细胞毒性细胞(CD8<sup>+</sup>和CD56<sup>+</sup>)诱导凋亡,凋亡的MSCs进一步诱导受体吞噬细胞产生IDO,发挥抗炎功能;随后将凋亡的MSCs输入缺乏细胞毒性细胞的Th2炎症模型后,也同样发挥了抗炎功能<sup>[43]</sup>。但值得注意的是,在GvHD小鼠模型中,只有腹腔输入凋亡的MSCs能减少效应细胞浸润,并且与同等来源的活MSCs相比,其治疗功效大大降低,凋亡MSCs的效力远低于活MSCs<sup>[44]</sup>。因此,尽管活化的细胞毒性细胞诱导的凋亡MSCs受吞噬细胞介导也能发挥抗炎功能,但考虑到其功效,应用前景不甚明朗。

**6.3 细胞因子“赋能”的MSCs**具有两种表型,即抗炎症与促炎症,这种不确定性对于MSCs的临床疗效影响巨大:实际上, MSCs的免疫调节能力并不是组成型,而是需要由炎症

细胞因子诱导来“赋能”。研究证实, IFN- $\gamma$  能通过 Jannus 激酶(JAK)/STAT 途径诱导 MSCs 分泌各种免疫抑制分子[IDO 和程序性死亡配体 1(PD-L1)等]抑制炎症反应<sup>[45-46]</sup>。本团队前期研究也证实, MSCs 移植对于类风湿关节炎的治疗效果依赖于血清 IFN- $\gamma$  水平<sup>[29]</sup>。然而,近年来研究却表明, IFN- $\gamma$  参与诱导的 MSCs 免疫抑制也存在很大问题。临床上在应用 IFN- $\gamma$  预处理的 MSCs 治疗克罗恩病时,输入体内的 MSCs 没有按照预期发挥抑炎作用,最后仍使用了英夫利昔单抗进行抢救治疗<sup>[46]</sup>。同时,当 IFN- $\gamma$  联合其他细胞因子(如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等)对 MSCs 进行诱导时,有时无法抑制 T 细胞增殖,反而促进了其活化<sup>[29]</sup>。

正是由于 MSCs 的免疫调节功能受如此多因素的影响,才使得其在临床治疗上的效果参差不齐,时而有效时而无效。但值得注意的是, MSCs 在治疗脓毒症、ARDS 及新冠肺炎等重症患者的过程中均表现出显著的抗炎效果,尤其是在此次抗击新冠肺炎的过程中, MSCs 移植治疗重症患者仍然发挥了举足轻重的作用。由此可见,炎症微环境是影响 MSCs 功能表型的重要因素,而炎症微环境中的细胞因子种类与数量直接决定其表型分化,并且细胞因子种类和数量越多,则 MSCs 的抗炎能力越强,在炎症细胞因子占绝对主导地位时(如“细胞因子风暴”),诱导 MSCs 发挥更强的抗炎功能。因此,对于严重的新冠肺炎患者,可以优先考虑使用 MSCs 移植治疗。在今后的研究和应用中,不应忽视 MSCs 抗炎功能的负向调节因素,可以通过体外预处理的方式消除负效应或增强抗炎效应。

随着探索的深入,越来越多的预处理方式被研究者发现。据报道,经 10  $\mu\text{g/L}$  IFN- $\gamma$  预处理的 MSCs,其基因表达谱发生明显改变,有 512 个基因显著上调,其中 4 个(CXCL9、CXCL10、CCL8 和 IDO)与免疫抑制功能密切相关;进一步研究表明,IDO 表达上调依赖于 JAK/STAT1 信号途径,并且当与人外周血单核细胞(PBMC)共培养时,其增殖能力被显著抑制,动物实验也证明经 IFN- $\gamma$  预处理的 MSCs 比未经处理的 MSCs 对于治疗小鼠 GvHD 具有更好的效果<sup>[47]</sup>。与之相似的是,本团队正在进行的一项实验也初步表明,与未经处理的 MSCs 相比,经 20  $\mu\text{g/L}$  IFN- $\gamma$  预处理的 MSCs 能更好地提高类风湿关节炎小鼠的治疗效果。此外,还有研究表明,IFN- $\gamma$  同家族成员 IFN- $\beta$  也能够增强 MSCs 的抗炎功能。使用 1 500 kU/L 的 IFN- $\beta$  预处理 MSCs 可增强其 STAT1 和 STAT3 的磷酸化,从而上调抗炎因子 CD274、CCL2 和肝细胞生长因子(HGF)的表达,最终抑制 T 细胞增殖<sup>[48]</sup>。由此可见, MSCs 体外预处理的细胞因子种类与浓度对其抗炎功能的增强至关重要,需慎重考虑。

除细胞因子直接调控 MSCs 抗炎功能外,近年来还有少数研究表明,糖代谢在 MSCs 的抗炎功能中也具有重要的调控作用。例如:组蛋白去乙酰化酶抑制剂丙戊酸能通过增强 MSCs 的糖酵解与有氧氧化,促进其抑制 T 细胞增殖的能力<sup>[49]</sup>;糖酵解还可通过调控 STAT1 的糖基化,影响 IFN- $\gamma$  (10  $\mu\text{g/L}$ ) 和 TNF- $\alpha$  (15  $\mu\text{g/L}$ ) 诱导的 JAK/STAT1 途径活化

及 IDO 表达,从而调节 MSCs 的抗炎功能<sup>[50]</sup>。

综上所述,影响 MSCs 免疫调节功能的因素很多,基于这些影响因素,研究者们开发出了许多在体外增强 MSCs 抗炎功能的干预方式,然而,这些干预方式均不能完美地控制 MSCs 的表型分化及其抗炎效应。MSCs 发挥免疫调节功能是一个相当复杂且精细的过程,只有明晰其中的分子调控机制,才能更好地发挥临床疗效,对此仍需要继续深入研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. [2020-03-04] [2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>. National Health Commission of the People's Republic of China. Diagnosis and treatment of coronavirus disease 2019 (trial version 7) [EB/OL]. [2020-03-04] [2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [2] Wang Y, Chen X, Cao W, et al. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15 (11): 1009-1016. DOI: 10.1038/ni.3002.
- [3] Najar M, Raicevic G, Fayyad-Kazan H, et al. Immune-related antigens, surface molecules and regulatory factors in human-derived mesenchymal stromal cells: the expression and impact of inflammatory priming [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2012, 8 (4): 1188-1198. DOI: 10.1007/s12015-012-9408-1.
- [4] Leng Z, Zhu R, Hou W, et al. Transplantation of ACE2<sup>+</sup> mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia [J]. *Aging Dis*, 2020, 11 (2): 216-228. DOI: 10.14336/AD.2020.0228.
- [5] Li W, Wong SK, Li F, et al. Animal origins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus: insight from ACE2-S-protein interactions [J]. *J Virol*, 2006, 80 (9): 4211-4219. DOI: 10.1128/JVI.80.9.4211-4219.2006.
- [6] Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63 (3): 457-460. DOI: 10.1007/s11427-020-1637-5.
- [7] 丁彦青, 卞修武. 从 SARS 尸体解剖发现, 浅析冠状病毒性疾病-19 (COVID-19) [J/OL]. *中华病理学杂志*, 2020, 49 [2020-02-19]. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2020.0003. [优先发表] Ding YQ, Bian XW. Analysis of coronavirus disease 2019 from the autopsy of SARS [J/OL]. *Chin J Pathol*, 2020, 49 [2020-02-19]. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2020.0003. [published online ahead of print February 18, 2020].
- [8] Bao LL, Deng W, Huang BY, et al. The pathogenicity of 2019 novel coronavirus in hACE2 transgenic mice [EB/OL]. (2020-02-11) [2020-02-26].
- [9] Camargo SM, Singer D, Makrides V, et al. Tissue-specific amino acid transporter partners ACE2 and collectrin differentially interact with hartnup mutations [J]. *Gastroenterology*, 2009, 136 (3): 872-882. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.055.
- [10] Wiener RS, Cao YX, Hinds A, et al. Angiotensin converting enzyme 2 is primarily epithelial and is developmentally regulated in the mouse lung [J]. *J Cell Biochem*, 2007, 101 (5): 1278-1291. DOI: 10.1002/jcb.21248.
- [11] Soler MJ, Ye M, Wysocki J, et al. Localization of ACE2 in the renal vasculature: amplification by angiotensin II type 1 receptor blockade using telmisartan [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296 (2): F398-405. DOI: 10.1152/ajprenal.90488.2008.
- [12] Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. Lessons from SARS: control of acute lung failure by the SARS receptor ACE2 [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2006, 84 (10): 814-820. DOI: 10.1007/s00109-006-0094-9.
- [13] Passos-Silva DC, Verano-Braga T, Santos RA. Angiotensin-(1-7): beyond the cardio-renal actions [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124 (7): 443-456. DOI: 10.1042/CS20120461.
- [14] Wan Y, Shang J, Graham R, et al. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long

- structural studies of SARS coronavirus [J]. *J Virol*, 2020, 94 (7): e00127–20. DOI: 10.1128/JVI.00127–20.
- [15] Liu JY, Liu Y, Xiang P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts severe illness patients with 2019 novel coronavirus in the early stage [EB/OL]. (2020-02-12) [2020-02-26].
- [16] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学 [M]. 9版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 41–61.  
Ge JB, Xu YJ, Wang C. Internal medicine [M]. 9th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018: 41–61.
- [17] 刘茜, 王荣帅, 屈国强, 等. 新型冠状病毒肺炎死亡尸体系统解剖大体观察报告 [J]. 法医学杂志, 2020, 36 (1): 21–23. DOI: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.01.005.  
Liu Q, Wang RS, Qu GQ, et al. General anatomy report of coronavirus disease 2019 death corpse [J]. *J Forensic Med*, 2020, 36 (1): 21–23. DOI: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.01.005.
- [18] Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8 (4): 420–422. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- [19] Chinnadurai R, Copland IB, Patel SR, et al. IDO-independent suppression of T cell effector function by IFN- $\gamma$ -licensed human mesenchymal stromal cells [J]. *J Immunol*, 2014, 192 (4): 1491–1501. DOI: 10.4049/jimmunol.1301828.
- [20] Meisel R, Zibert A, Laryea M, et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation [J]. *Blood*, 2004, 103 (12): 4619–4621. DOI: 10.1182/blood-2003-11-3909.
- [21] Ren G, Su J, Zhang L, et al. Species variation in the mechanisms of mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression [J]. *Stem Cells*, 2009, 27 (8): 1954–1962. DOI: 10.1002/stem.118.
- [22] Nemeth K, Keane-Myers A, Brown JM, et al. Bone marrow stromal cells use TGF- $\beta$  to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed-induced asthma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (12): 5652–5657. DOI: 10.1073/pnas.0910720107.
- [23] Xu C, Yu P, Han X, et al. TGF- $\beta$  promotes immune responses in the presence of mesenchymal stem cells [J]. *J Immunol*, 2014, 192 (1): 103–109. DOI: 10.4049/jimmunol.1302164.
- [24] Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2 [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271 (52): 33157–33160. DOI: 10.1074/jbc.271.52.33157.
- [25] Najar M, Raicevic G, Boufker HI, et al. Mesenchymal stromal cells use PGE2 to modulate activation and proliferation of lymphocyte subsets: Combined comparison of adipose tissue, Wharton's Jelly and bone marrow sources [J]. *Cell Immunol*, 2010, 264 (2): 171–179. DOI: 10.1016/j.cellimm.2010.06.006.
- [26] Prigione I, Benvenuto F, Bocca P, et al. Reciprocal interactions between human mesenchymal stem cells and gammadelta T cells or invariant natural killer T cells [J]. *Stem Cells*, 2009, 27 (3): 693–702. DOI: 10.1634/stemcells.2008-0687.
- [27] Sheibanie AF, Yen JH, Khayrullina T, et al. The proinflammatory effect of prostaglandin E2 in experimental inflammatory bowel disease is mediated through the IL-23 $\rightarrow$ IL-17 axis [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (12): 8138–8147. DOI: 10.4049/jimmunol.178.12.8138.
- [28] 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. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.02.010.
- [29] Li W, Ren G, Huang Y, et al. Mesenchymal stem cells: a double-edged sword in regulating immune responses [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19 (9): 1505–1513. DOI: 10.1038/cdd.2012.26.
- [30] 许文, 陈威巍. 间充质干细胞在 ARDS 治疗中的临床应用 [J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30 (3): 275–279. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2018.03.017.  
Xu W, Chen WW. Application of mesenchymal stem cell in the treatment of acute respiratory distress syndrome [J]. *Chin Crit Care Med*, 2018, 30 (3): 275–279. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2018.03.017.
- [31] 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. DOI: 10.1165/ajrmb.2004-0330OC.
- [32] Lee JW, Krasnodembskaya A, McKenna DH, et al. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cells in *ex vivo* human lungs injured with live bacteria [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 187 (7): 751–760. DOI: 10.1164/rccm.201206-0990OC.
- [33] Pati S, Khakoo AY, Zhao J, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit vascular permeability by modulating vascular endothelial cadherin/ $\beta$ -catenin signaling [J]. *Stem Cells Dev*, 2011, 20 (1): 89–101. DOI: 10.1089/scd.2010.0013.
- [34] Pati S, Gerber MH, Menge TD, et al. Bone marrow derived mesenchymal stem cells inhibit inflammation and preserve vascular endothelial integrity in the lungs after hemorrhagic shock [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (9): e25171. DOI: 10.1371/journal.pone.0025171.
- [35] Walter J, Ware LB, Matthay MA. Mesenchymal stem cells: mechanisms of potential therapeutic benefit in ARDS and sepsis [J]. *Lancet Respir Med*, 2014, 2 (12): 1016–1026. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70217-6.
- [36] He X, Ai S, Guo W, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of severe sepsis: a phase I clinical trial [J]. *Transl Res*, 2018, 199: 52–61. DOI: 10.1016/j.trsl.2018.04.006.
- [37] 李珩. 重庆专家团队在世界上率先开展间充质干细胞治疗新冠肺炎研究 [N/OL]. 重庆日报, (2020-03-10) (5) [2020-03-12].  
Li H. Coronavirus disease 2019 in Chongqing is pioneered by the team of experts in the world [N/OL]. *Chongqing Daily*, (2020-03-10) (5) [2020-03-12].
- [38] Robey TE, Saiget MK, Reinecke H, et al. Systems approaches to preventing transplanted cell death in cardiac repair [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45 (4): 567–581. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.03.009.
- [39] Mastri M, Lin H, Lee T. Enhancing the efficacy of mesenchymal stem cell therapy [J]. *World J Stem Cells*, 2014, 6 (2): 82–93. DOI: 10.4252/wjsc.v6.i2.82.
- [40] Li X, Shang B, Li YN, et al. IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  synergistically induce apoptosis of mesenchymal stem/stromal cells via the induction of nitric oxide [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10 (1): 18. DOI: 10.1186/s13287-018-1102-z.
- [41] Xie X, Shen Y, Chen J, et al. Mineralocorticoid receptor deficiency improves the therapeutic effects of mesenchymal stem cells for myocardial infarction via enhanced cell survival [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (2): 1246–1256. DOI: 10.1111/jcmm.14026.
- [42] He X, Yao MW, Zhu M, et al. Metformin induces apoptosis in mesenchymal stromal cells and dampens their therapeutic efficacy in infarcted myocardium [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9 (1): 306. DOI: 10.1186/s13287-018-1057-0.
- [43] Galleu A, Rizzo-Vasquez Y, Trento C, et al. Apoptosis in mesenchymal stromal cells induces *in vivo* recipient-mediated immunomodulation [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9 (416): eaam7828. DOI: 10.1126/scitranslmed.aam7828.
- [44] Mounayar M, Kefaloyianni E, Smith B, et al. PI3K $\alpha$  and STAT1 interplay regulates human mesenchymal stem cell immune polarization [J]. *Stem Cells*, 2015, 33 (6): 1892–1901. DOI: 10.1002/stem.1986.
- [45] Mimura K, Teh JL, Okayama H, et al. PD-L1 expression is mainly regulated by interferon gamma associated with JAK-STAT pathway in gastric cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109 (1): 43–53. DOI: 10.1111/cas.13424.
- [46] Taddio A, Tommasini A, Valencic E, et al. Failure of interferon- $\gamma$  pre-treated mesenchymal stem cell treatment in a patient with Crohn's disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21 (14): 4379–4384. DOI: 10.3748/wjg.v21.i14.4379.
- [47] Kim DS, Jang IK, Lee MW, et al. Enhanced immunosuppressive properties of human mesenchymal stem cells primed by interferon- $\gamma$  [J]. *EBioMedicine*, 2018, 28: 261–273. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.002.
- [48] Vigo T, La Rocca C, Faicchia D, et al. IFN $\beta$  enhances mesenchymal stromal (stem) cells immunomodulatory function through STAT1-3 activation and mTOR-associated promotion of glucose metabolism [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (2): 85. DOI: 10.1038/s41419-019-1336-4.
- [49] Killer MC, Nold P, Henkenius K, et al. Immunosuppressive capacity of mesenchymal stem cells correlates with metabolic activity and can be enhanced by valproic acid [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8 (1): 100. DOI: 10.1186/s13287-017-0553-y.
- [50] Jitschin R, Böttcher M, Saul D, et al. Inflammation-induced glycolytic switch controls suppressivity of mesenchymal stem cells via STAT1 glycosylation [J]. *Leukemia*, 2019, 33 (7): 1783–1796. DOI: 10.1038/s41375-018-0376-6.