

## 人脐带间充质干细胞联合抗病毒等方法治疗新型冠状病毒肺炎

古利明<sup>1)</sup>, 李涛<sup>2)</sup>, 曾勇<sup>1)</sup>, 陈俊辉<sup>3)</sup>, 王福平<sup>1)</sup>, 郝应禄<sup>1)</sup>, 吴海鹰<sup>4)</sup>, 阮继银<sup>3)</sup>, 李燕皎<sup>5)</sup>, 陈云<sup>1)</sup>, 夏婧<sup>4)</sup>, 孙佳<sup>6)</sup>, 胡隽源<sup>6)</sup>, 李薇<sup>4)</sup>, 余从涛<sup>3)</sup>, 马朝霞<sup>5,7)</sup>, 钱传云<sup>4)</sup>, 胡敏<sup>3,5)</sup>

(1) 玉溪市人民医院, 昆明医科大学第六附属医院重症医学科, 云南 玉溪 653100; 2) 云南雅盛医疗科技有限公司, 云南 昆明 650021; 3) 北京大学深圳医院介入与细胞治疗中心, 广东 深圳 518035; 4) 昆明医科大学第一附属医院急诊医学部, 云南 昆明 650032; 5) 昆明学院云南省骨与关节疾病基础研究重点实验室 & 云南省干细胞技术应用研究中心, 云南 昆明 650214; 6) 深圳市北科生物科技有限公司, 广东 深圳 518057; 7) 云南济慈再生医学研究院有限公司, 云南 昆明 650106)

**[摘要]** **目的** 探讨人脐带间充质干细胞 (hUCMSC) 联合抗病毒等方法对新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 重症患者的治疗作用。**方法** 在常规治疗的基础上, 对 1 例 70 岁的女性 COVID-19 重症患者静脉输注三次异体人脐带间充质干细胞, 并对其抑制炎症反应和组织损伤的作用进行研究。**结果** 降低了主要炎症因子 IL-6 以及 C-反应蛋白 (CRP) 等指标的水平, 输注期间患者中性粒细胞与淋巴细胞的比值持续下降, T 细胞、NK 细胞和 B 细胞的绝对值持续回升, CT 影像结果显示肺部的炎症反应逐渐消退; 未见不良反应。**结论** 异体人脐带间充质干细胞联合抗病毒等方法对 COVID-19 重症患者安全有效, 值得进行更多的临床探索。

**[关键词]** 新型冠状病毒肺炎; 人脐带间充质干细胞; IL-6; 组织修复

**[中图分类号]** R563.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2020) 03-0096-05

## Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Treatment Combined with Anti-Virus and other Treatments for COVID-19

GU Li-ming<sup>1)</sup>, LI Tao<sup>2)</sup>, ZENG Yong<sup>1)</sup>, CHEN Jun-hui<sup>3)</sup>, WANG Fu-ping<sup>1)</sup>, HAO Ying-lu<sup>1)</sup>, WU Hai-ying<sup>4)</sup>, RUAN Ji-yin<sup>3)</sup>, LI Yan-jiao<sup>5)</sup>, CHEN Yun<sup>1)</sup>, XIA Jing<sup>4)</sup>, SUN Jia<sup>6)</sup>, HU Jun-yuan<sup>6)</sup>, LI Wei<sup>4)</sup>, YU Cong-tao<sup>3)</sup>, MA Zhao-xia<sup>5,7)</sup>, QIAN Chuan-yun<sup>4)</sup>, HU Min<sup>3,5)</sup>

(1) Dept. of Emergency, The People's Hospital of Yuxi City, The Sixth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yuxi Yunnan 653100; 2) Yunnan Yasheng Medical Technology Co., Ltd., Kunming Yunnan 650021; 3) Intervention and Cell Therapy Center, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518035; 4) Dept. of Emergency, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, EICU/MICU, Kunming Yunnan 650032; 5) Yunnan Key Laboratory for Basic Research on Bone and Joint Diseases & Yunnan Stem Cell Translational Research Center, Kunming University, Kunming Yunnan 650214; 6) Shenzhen Beike Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518057; 7) Yunnan Jici Institute for Regenerative Medicine co., Ltd., Kunming Yunnan 650106, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSCs) combined with anti-virus and other treatments on a critical patient with COVID-19. **Methods** A 70-year old female critical patient with COVID-19 was injected allogenic human umbilical cord mesenchymal stem

**[收稿日期]** 2020-03-12

**[基金项目]** 云南省重点新产品研发计划基金资助项目 (2016RA093), 云南省生物医药重大科技专项子课题 (2018ZF007-03), 云南省科技计划项目生物医药领域重点基金资助项目 (2019ZF002), 深圳市“三名工程”项目 (SZSM201612071), 科技部粤港澳大湾区创新中心细胞技术中心暨转化基地基金资助项目 (YCZYPT[2018]03-1)

**[作者简介]** 古利明 (1966~), 男, 云南富民人, 管理硕士, 教授, 主要从事重症医学临床工作。

**[通信作者]** 胡敏, [E-mail:huminynkm@163.com](mailto:huminynkm@163.com); 钱传云, [E-mail:qianchuanyun@126.com](mailto:qianchuanyun@126.com)

cells for three times while the routine treatment was performed. The anti-inflammatory and tissue repair effects were investigated. Results No obvious side effect was observed in the treatment of hUCMSCs. Major inflammatory cytokine IL-6 and tissue injuring marker CRP were decreased after the injection. The ratio of neutrophil to lymphocyte, T cell count, NK cell count and B cell count were gradually increased during the hUCMSCs treatment. The CT images indicated that lung inflammation was also gradually decreased. Conclusion The combination of human umbilical cord mesenchymal stem cells and anti-virus and other treatments is safe and effective for critical patients with COVID-19, which is worthy of further clinical exploration.

[Key words] COVID-19; Human umbilical cord mesenchymal stem cells; IL-6; Tissue repair

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19, 简称新冠肺炎) 是由新型冠状病毒 2019-nCoV (又称为 SARS-CoV-2) 感染引起的传染性疾病。截至 2020 年 2 月 29 日, 全球范围内已经有 10 万余人感染 2019-nCoV, 其中重症和危重症患者的治疗是临床上的主要问题, 除了常规的抗病毒治疗以外, 如何安全有效地控制炎症反应和组织损伤至关重要<sup>[1]</sup>。人脐带间充质干细胞来源丰富、制备方便, 被认为具有抑制炎症反应、损伤组织归巢和修复等功能, 在自身免疫性疾病等治疗中具有重要作用<sup>[2-8]</sup>。笔者曾公开过脐带间充质干细胞治疗新冠肺炎危重症患者的病例报告, 发现间充质干细胞能够明显抑制炎症反应并修复损伤组织<sup>[9]</sup>。本文将针对 1 例采用人脐带间充质干细胞联合抗病毒等方法治疗的 70 岁女性新冠肺炎重症患者的治疗过程和效果进行探讨。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

对在玉溪市第一人民医院 1 例 COVID-19 感染的重症肺炎住院患者进行 MSC 静脉移植治疗临床研究 (医院伦理委员会批准号: 2020 伦审 L 第 1 号)。患者为女性, 70 岁, 有多年高血压病史。曾于 2010 年 1 月 19 日接触过来自武汉的亲属, 2020 年 1 月 30 日出现无明显诱因的阵发性咳嗽被送医院治疗, 次日咽拭子样本检测结果报告为 2019-nCoV 阳性, CT 检查显示肺部感染征象, 确诊为 2019-nCoV 感染肺炎。患者住院期间的主要身体指征和治疗情况见图 1、表 1, 除了不断出现咳嗽症状以外, 还间断性地出现乏力、发烧、腹泻和胸闷等症状。患者在入院第 6~14 天出现不同程度的呼吸衰竭症状, 在第 6~9 天, 患者血液中 proBNP、Lac 等反映组织损伤的多个标志物明显升高。炎症因子 IL-6、CRP 以及中性粒细胞计

数和中性粒细胞/淋巴细胞比值也随之显著升高, 2 月 5 日、16 日复查 CT 影像显示双上肺、双下肺片状密度增高影, 双肺病变呈进行性加重趋势。2 月 19 日。经专家会诊后诊断为新型冠状病毒肺炎 (危重型)。针对患者的这些症状, 除了抗病毒和抗感染治疗以外, 还进行了高流量鼻导管氧疗等支持治疗。随后依据国家卫健委最近发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第六版)》, 增加了阿比多尔和磷酸氯喹进行抗病毒治疗。

### 1.2 方法

细胞制备和移植: 由云南雅盛医疗科技有限公司、云南济慈再生医学研究院有限公司、深圳市北科生物科技有限公司联合免费提供临床级 hUC-MSC (中国食品药品检定研究院检定合格报告编号: SH201401060)。在原治疗方案的基础上, 分别于 2 月 20、23、26 日按  $1 \times 10^6$  个细胞/kg 体重的剂量及约 40 滴/min 的速度静脉滴注细胞。

观察指标: 包括主要安全性指标 (输注和变态反应, 继发感染和危及生命的不良事件) 和主要功效指标 (细胞因子变异水平, 血浆中 C 反应蛋白水平和血氧饱和度), 次要疗效指标 (患者症状和体征, 淋巴细胞亚群绝对计数分析, 胸部 CT)。

## 2 结果

患者在接受细胞治疗期间仍然维持常规治疗方案, 未出现与细胞治疗相关的不良反应, 见图 1、表 1。干细胞治疗期间, 患者的淋巴细胞数量不断回升, 尤其是 T 细胞计数 (包括 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞) 明显回升直至正常水平, NK 细胞和 B 细胞计数也持续回升; 与之相对应的是, 中性粒细胞/淋巴细胞比值持续下降, 主要的炎症因子 IL-6 和 CRP 水平持续下降, 见图 2。干细胞治疗后患者肺部炎症反应明显减轻, 见图 3。

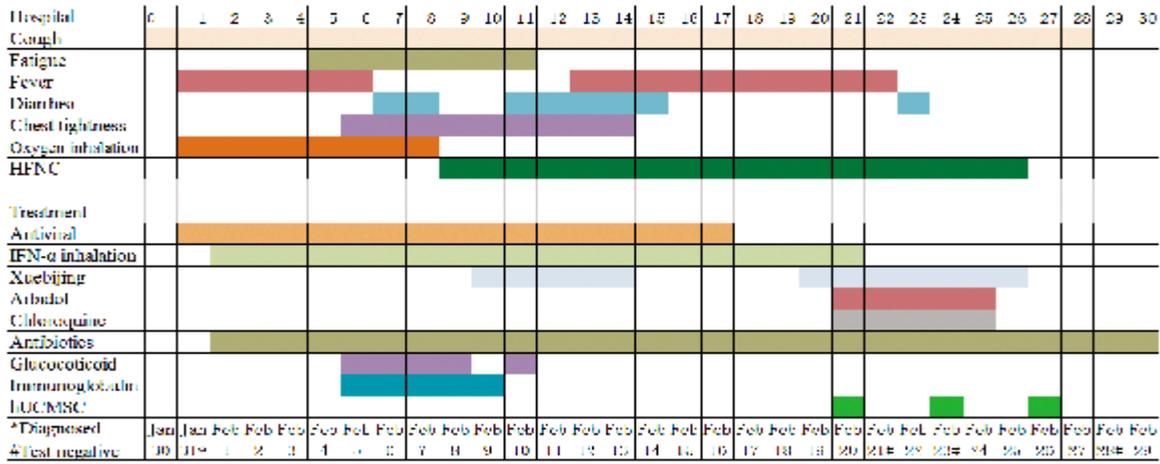


图 1 患者住院期间的基本症状和治疗情况

Fig. 1 The general vital sign and therapeutic of the COVID-19 patient

表 1 患者住院期间的主要血液生化指标

Tab. 1 The major blood clinical laboratory indexes of the patient

项目	正常值范围	发病后天数 (d)											
		2	5	9	11	13	16	18	21	24	25	27	
PCT (ng/mL)	0 ~ 0.05	0.05	0.15	0.13	0.14	0.15	0.14	0.13	0.07	0.12	0.14	0.13	
proBNP (pg/mL)	0 ~ 325	88.8		870		328	74	89	122	616			
CK-MB (U/L)	0 ~ 24	0.88		1.32	0.76			0.63	0.67	0.83	0.82	0.8	
CREA (μmol/L)	41 ~ 81	53				49	54		51	38	47	50	
Lac (mg/L)	0.5 ~ 2.2	1.5	2	5.7	3.7	2.7	1.5	1.9	2.3	1.4		2.4	
Tbil (μmol/L)	≤21	8.4			14.3	17.9	17.7		10.5	3.9	7.1	4.7	
Dbil (μmol/L)	0 ~ 8	3.9			6.9	8.9	8.8		4.8	2.5	3.1	2.9	
TP (g/L)	60 ~ 80	70.3			64	60.6	63.3		65.9	57.8	65.9	64.8	
Alb (g/L)	40 ~ 55	43.2			25.4	31.8	32.7		35.8	25.4	37.5	35.3	
ALT (U/L)	7 ~ 40	16			55	32	33		30	29	39	42	
AST (U/L)	13 ~ 35	22			51	28	32		35	31	44	37	
D-dimer (μg/mL)	0 ~ 0.5	0.29	0.48	0.68			1.28		0.93	2.12	2.12	1.38	

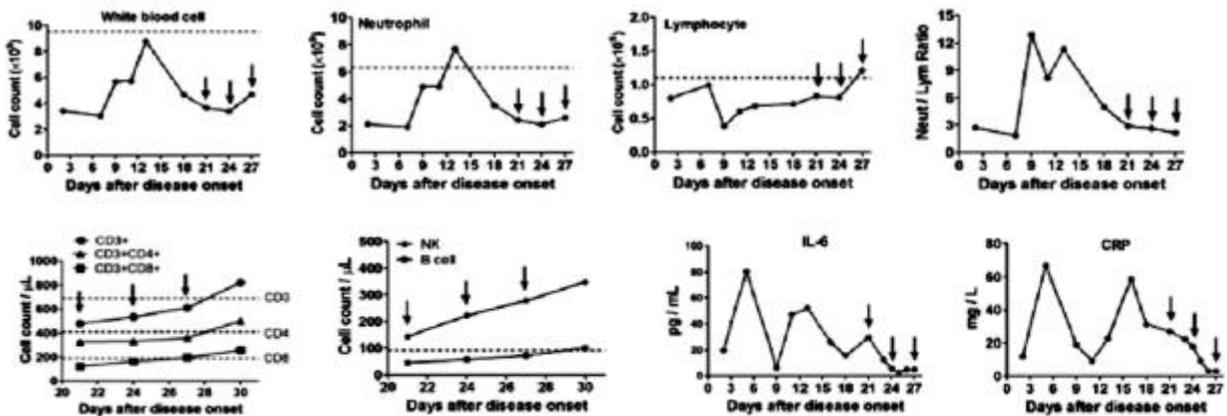


图 2 患者住院期间血液中的免疫细胞、IL-6 和 C 反应蛋白的变化情况

Fig. 2 The change of the immune cells, IL-6 and C-reaction protein levels of the patient peripheral blood

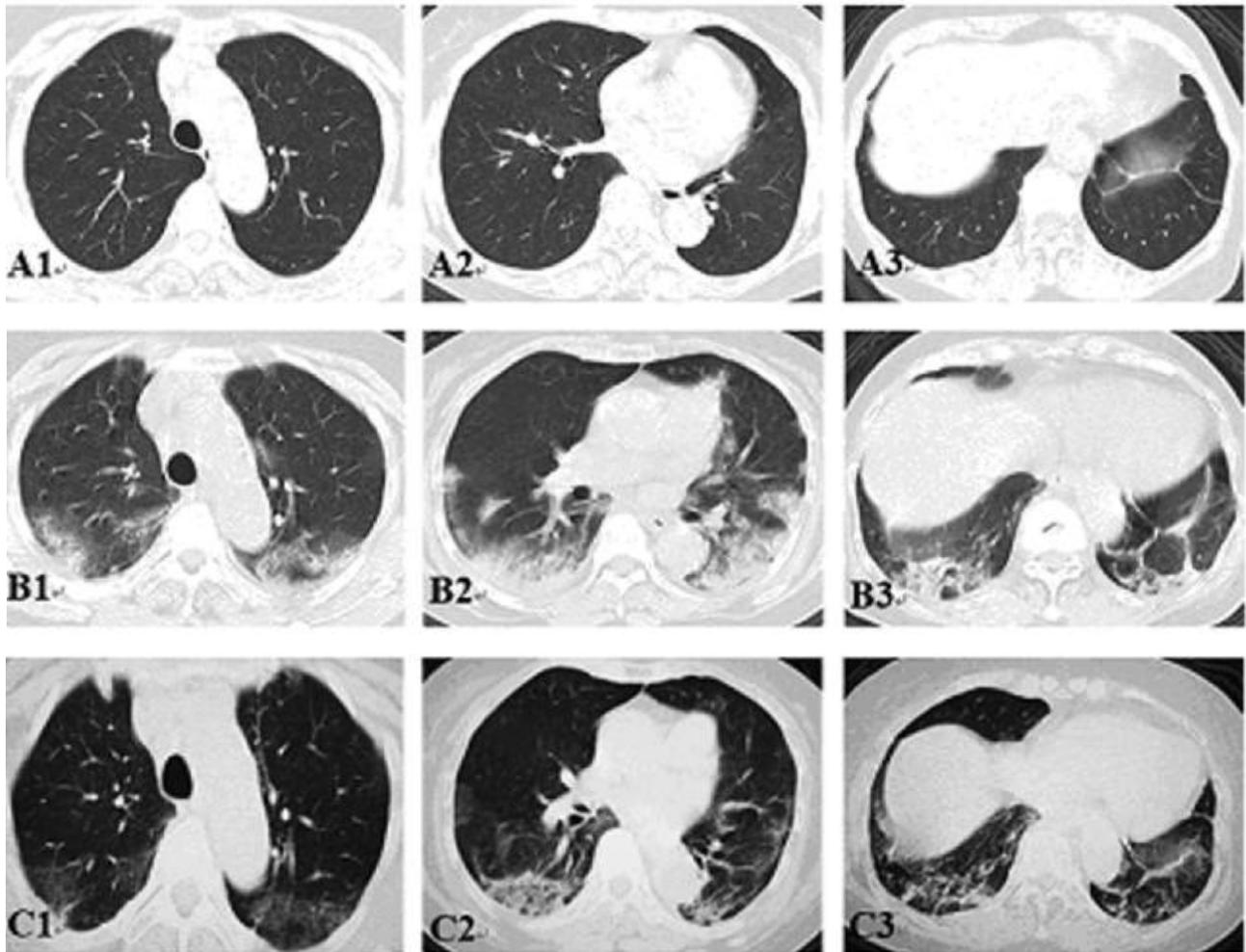


图 3 患者治疗前后肺部 CT

Fig. 3 The CT images of the lung before or after therapy

A1 ~ A3: 确诊第 1 天; B1 ~ B3: 确诊第 17 天; C1 ~ C3: 确诊第 31 天。

### 3 讨论

新冠肺炎轻中症患者的致死率相对较低, 而重症和危重症致死率较高, 是临床治疗的重点<sup>[10]</sup>, 目前有多种抗病毒的药物相继在开展临床试验<sup>[11]</sup>。但从临床实践看, 对于重症和危重症患者, 除了抗病毒以外, 迅速抑制肺部的炎症反应、改善患者的呼吸状况可能是救治的关键<sup>[12]</sup>。糖皮质激素等免疫抑制药物有诸多的副作用<sup>[13]</sup>, 并且会损伤患者的抗病毒免疫反应<sup>[14]</sup>。因此, 寻找既能抑制炎症又不影响患者免疫能力的疗法至关重要。本例研究结果显示在干细胞输注期间, 炎症反应和炎症因子明显降低, 而患者的淋巴细胞尤其是 T 细胞和 NK 细胞的数量却在不断地回升, 提示这是一种有前景的治疗方法。结合当前对新冠肺炎的认识<sup>[15]</sup>及笔者之前的报道<sup>[9]</sup>, 笔者推测人异体脐带间充质干细

胞主要可能通过以下几个方面使新冠肺炎笔者获益: (1) 损伤组织的归巢和修复, 主要可能是通过分泌促进组织再生的因子来实现; (2) 抑制炎症反应, 主要可能是通过分泌抑制炎症的因子, 以及表达 IL-6、G-CSF 等炎症因子受体的中和作用降低炎症; (3) 上述作用为中性粒细胞的下降和淋巴细胞的增殖提供了良好的环境。这些效果与抗病毒药物或者提升淋巴细胞数量和功能的药物联用, 为最终清除病毒提供了帮助。

此外, 除了 IL-6, 笔者发现患者血液中的 IL-2、IL-4、IL-10、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等因子并无明显的升高。从笔者的结果中也可以看出, 相对于单一种类的细胞计数, 中性粒细胞 / 淋巴细胞的比值可能是反映新冠肺炎患者炎症状况的更好指标, 这与其他课题组的报道基本一致<sup>[16]</sup>。从 CT 影像的结果也可以看出, 单纯的使用抗病毒药物对于

迅速改善肺部的炎症效果不是特别理想,需要与脐带间充质干细胞输注等损伤修复的疗法进行联合。

总之,尽管本文只是个例探讨,但结合笔者和其他课题组之前的研究结果,笔者认为脐带间充质干细胞在新冠肺炎重症和危重症患者的救治方面具有重要的应用前景。

#### [参考文献]

- [1] World Health Organization. WHO statement on cases of COVID-19 surpassing 100 000 [EB/OL]. (2020-3-7) <https://www.who.int/news-room/detail/07-03-2020-who-statement-on-cases-of-covid-19-surpassing-100-000> (2020-3-9).
- [2] Yin S, Ji C, Wu P, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells and exosomes: bioactive ways of tissue injury repair [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(3): 1230-1240.
- [3] Gu Z, Akiyama K, Ma X, et al. Transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells alleviates lupus nephritis in MRL/lpr mice [J]. *Lupus*, 2010, 19(13): 1502-1514.
- [4] Liang J, Zhang H, Hua B, et al. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study [J]. *Annals of the rheumatic diseases*, 2010, 69(8): 1423-1429.
- [5] Chang J W, Hung S P, Wu H H, et al. Therapeutic effects of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation in experimental lupus nephritis [J]. *Cell transplantation*, 2011, 20(2): 245-258.
- [6] Bouffi C, Djouad F, Mathieu M, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells and rheumatoid arthritis: risk or benefit [J]. *Rheumatology*, 2009, 48(10): 1185-1189.
- [7] Andrea Augello, Roberta Tasso, Simone Maria Negrini, et al. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2007, 56(4): 1175-1186.
- [8] Choi J J, Yoo S A, Park S J, et al. Mesenchymal stem cells overexpressing interleukin 10 attenuate collagen induced arthritis in mice [J]. *Clinical & experimental immunology*, 2008, 153(2): 269-276.
- [9] 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 [J]. 2020. [ChinaXiv: 202002.00084]
- [10] World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report-41 [EB/OL]. (2020-3-1) [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200301-sitrep-41-covid-19.pdf?sfvrsn=6768306d\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200301-sitrep-41-covid-19.pdf?sfvrsn=6768306d_2) (2020-3-9).
- [11] Lin S, Runnan S, Guo X. Molecular Modeling Evaluation of the Binding Abilities of Ritonavir and Lopinavir to Wuhan Pneumonia Coronavirus Proteases [J]. 2020. [bioRxiv 2020.01.31.929695] doi: 10.1101/2020.01.31.929695.
- [12] Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China [J]. *New England Journal of Medicine*, 2020. doi:10.1056/NEJMoa2002032.
- [13] Chrousos G A, Kattah J C, Beck R W, et al. Side effects of glucocorticoid treatment: experience of the optic neuritis treatment Trial [J]. *Jama*, 1993, 269(16): 2110-2112.
- [14] Shang L, Zhao J, Hu Y, et al. On the use of corticosteroids for 2019-nCoV pneumonia [J]. *The Lancet*, 2020, 395(10225): 683-684.
- [15] Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2020. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X
- [16] Zhang B, Zhou X, Qiu Y, et al. Clinical characteristics of 82 death cases with COVID-19 [J]. 2020. [medRxiv: 2020.02.26.20028191] doi:10.1101/2020.02.26.20028191.