

総説

Journal of Emerging Microbes and Infections Volume 9, 2020-Issue 1

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染の潜在的病因の仮説- ウイルス性肺炎患者における免疫変化の検討

Ling Lin その他

ウェイ曹感染症科、北京ユニオン医科大学、北京ユニオン医科大学

協会 副会長

東京歯科大学微生物学教室非常勤講師

要約

コロナウイルス病 2019 (COVID-19) は、飛沫と接触を主な感染手段とする重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) によって引き起こされる感染症である。2019 年 12 月に中国の武漢市で初めて登場して以来、世界的な流行が急激に広がっている。これまで中国保健委員会が発表した公式データによると、新たに診断された患者の数は減少しており、流行は徐々に制御されている。ほとんどの患者は感染後に軽度の症状と良好な予後を示すが、一部の患者は重篤に発症し、多臓器不全症で死亡している。ヒトにおける SARS-CoV-2 感染の病因は不明のままである。免疫機能は、侵襲的な病原体に対する強力な防御であり、現在、ウイルスに対する特定の抗ウイルス剤はない。本稿では、SARS、MERS、および SARS-CoV-2 と同様の他のウイルス性肺炎のようなコロナウイルスの免疫学的変化を検討している。多くの文献と組み合わせることで、COVID-19 の潜在的な病因が推定され、重症の患者に高用量の静脈内免疫グロブリン療法および低分子ヘパリン抗凝固療法の治療提案が勧告できる。

キーワード : COVID-19、SARS-CoV-2、抗凝固、IVIg、病因

新型コロナウイルスが湖北省武漢で発生し、中国全土および他の 197 カ国に急激に広がっていることから、2003 年の重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) [1]およびサウジアラビアと韓国で大流行した中東呼吸器症候群 (MERS-CoV) [2]以来、コロナウイルス (CoVs) が再びトップニュースとなっている。現在までに (2020 年 4 月 11 日時点、朝日新聞)、約 160 万 5548 人の患者が感染し、9 万 5808 人の死亡が確認されており [3]、

できる限り早い段階での緊急のウイルス感染の特定と治療介入が必要である。核酸検査（リアルタイム PCR 法）はウイルスゲノム配列の検出に最大の役割を果たしているが[4]、超過敏性やサンプリングへの依存は、病院内の偽陽性または偽陰性の結果につながる可能性がある。実用的な治療法や可能な医薬品に対していくつかの種類の研究が行われているにもかかわらず、どの抗ウイルス剤に対してもコンセンサスは得られていない[5]。免疫システムが SARS-CoV および MERS 感染に対する防御において重要な役割を果たしたことはすでに多くの論文で確認されている。SARS[6]、MERS[7]およびインフルエンザ [8]の患者における免疫変化、特に末梢血 T リンパ球サブセットの変化は、病気の特異性、診断、監視、予防および治療の理解に貢献している。

SARS における免疫変化

重症急性呼吸器症候群の場合（2002 年）

SARS-CoV 感染の急性期において、末梢血におけるリンパ球[6]、主に T リンパ球の急速な減少が観察され、また、CD4+および CD8+T リンパ球の両方が減少した。リンパ球の喪失は、胸部 X 線の異常変化にも先立って生じた[9, 10]。SARS 患者の 1 年間のフォローアップの後、CD3+、CD4+および CD8+T 細胞は疾患回復期間中に急速に回復した。CD8+ T リンパ球は発症後 2~3 ヶ月以内に正常に戻った。CD4+T 細胞は発症後 1 年で正常に戻ったのに対し、総 T リンパ球、CD3+細胞、CD4+細胞、ナイーブ CD4+T 細胞を含む他の細胞数は依然として健康なコントロールよりも低かった[11]。ウイルス感染後、リンパ球の隔離による末梢血中のリンパ球減少症を最初に想定した。回復中のリンパ球の増加は、胸腺によって産生される新しい細胞ではなく、末梢血と組織または器官との間のリンパ球再循環である[11]。SARS 特異的 IgG 抗体は、急性期後期に約 2 週間で産生され、疾患の経過とともに徐々に増加する[12]。IgG の持続的な存在は、患者に感染後の免疫機能を獲得させる。回復中の患者は、S タンパク質特異的の中和抗体応答の高くかつ持続的なレベルを有し、疾患の転帰を決定する上で重要な役割を果たす可能性がある[13]。軽度の患者の IgG レベルは、重症患者のそれよりも有意に高かった。疾患の進行の過程で、患者は回復の初期段階でピークに達する IL-8 および TNF- α レベルの増加を伴い、一方、MCP-1 は早期急性期の急速な増加を示し、疾患の進行に伴って徐々に減少する。上記の知見に基づき、疾患の初期段階においてグルココルチコイドの低用量を 2 週間未満で治療し、最も重篤な患者の症状が十分に制御されるようにすることが提案されている[9]。これは他の文献で示される高容量のグルココルチコイドの効果とは異なる[14]。

MERS の免疫変化（2012 年）

中東呼吸器症候群の場合 (MERS コロナウイルス)

2012年に患者から分離し[15]、家族間や病院内での感染拡大で高い死亡率を伴う[2]、以前は未知であったコロナウイルス (MERS-CoV) は、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) に類似していた。2つのウイルスのゲノム構造は非常に類似しており、両方とも一本鎖陽性感覚 RNA ウイルスである。しかし宿主細胞に入ると、MERS-CoV と SARS-CoV は、それぞれ異なる受容体ジペプチジルペプチダーゼ 4 (DDP4) およびアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) に付着する[16, 17]。また、SARS-CoV 感染のような MERS-CoV 感染の臨床症状は、無症候性感染症から、急性呼吸窮迫症候群、敗血症性ショック、および多臓器不全を伴う致死性のある重度の肺炎まで多岐にわたる[15]。臨床的病因は明確に説明されていないが、韓国の 45 人の患者を比較する遡及研究[7]は、末梢リンパ球の数の減少 (リンパ球減少症で、リンパ球絶対数が 1,000 細胞/mm³ 未満の場合) と、血小板減少症 (血小板数が 150,000 細胞/mm³ 未満) および高 CRP レベルは、肺炎の発症および呼吸不全への進行を疾患の初期段階で予測することができることを示唆している。この結果は、Min その他による報告の証拠で裏付けられている[18]。一方で、MERS 感染におけるリンパ球減少症は SARS 患者に比較して有意でないことは注目すべきであり[19]、免疫抑制状態および付随感染を除いて、年齢が唯一の予測因子であることを発見した[20]。

MERS-CoV の T 細胞応答に関しては、症状の発症後 2 週間以内 (急性期) に、インターロイキン (IL) -6 および C-X-C モチーフケモカイン (CXCL)-8 のような炎症性サイトカイン/ケモカイン分泌以外に[21, 22]、MERS-CoV に反応性がある CD8+T 細胞の高頻度が重度/中等度の疾患患者で観察され、体液性および CD4+T 細胞応答の検出前に観察されている。回復期には、CD8+T 細胞応答の大きさが大幅には増強されなかった[22]。この結果は、侵入する MERS-CoV を効率的に制御できないことが強い炎症および CTL 応答をもたらすことを示しており、これがウイルスをクリアする上で重要な役割を果たす。また、発症後 24 日目に得られた PBMC は、MERS-CoV S タンパク質に対し強い特定の T 細胞反応を示している[23]。MHV (SARS-CoV および MERS-CoV と同じ β コロナウイルス群の一種) のウイルスクリアランスからの細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 保護の役割は、動物実験モデルにおいても実証されている[24]。

Zhao その他[25]は、回復期に、試験官内で測定された中和 (PRNT50) 抗体力細胞が感染したマウスの血清保護能を予測し、CD8+ T 細胞ではなく CD4+ T 細胞応答と相関していることを発見した。そして、その実験では、CD4+ T 細胞はフェノタイプエフェクターメモリ (CD45RA-CCR7-) 細胞であり、一方ウイルス特異的な CD8+ T 細胞集団は、半分はエフェクター (CD45RA-CCR7-) 細胞、もう半分は CD45RA+CCR7-細胞であった。MERS 患者の症状発症後のリンパ球応答の持続的かつ緩やかな増加は、MERS-CoV に対する効果的な免疫応答に

必要である可能性があるが、CTL がターンオーバーするかどうか、及び、これらの細胞が提供する効果については依然としてさらなる研究を必要とする。

インフルエンザの免疫変化 (2009)

MERS および SARS の消失とは異なり、2009 年のインフルエンザ大流行 (H1N1) は季節性株に組み込まれている。しかし、インフルエンザパンデミック (H1N1) は、通常は季節性株とされるインフルエンザ A ウイルス (IAV) およびインフルエンザ B ウイルス (IBV) と比較して [27] より高い死亡率を有する [26]。インフルエンザゲノムは 8 つのセグメントを含み、抗原ドリフトとシフトの両方が可能であり、それぞれ小さなヌクレオチド突然変異とゲノムセグメントの交換を行う。これらの特徴により、ヒト集団には季節的な流行を可能にする新しい抗原が存在しなかった。

H1N1 感染の症状は、潜在性の症状から、発熱、筋痛、鼻の痛みを伴い、急性低酸素血症および急性呼吸窮迫に進行する重大な倦怠感まで多岐に及んだ。胃腸、神経機能および心臓機能障害などの肺外提示も報告された [26]。パンデミック 2009 H1N1 ウイルス感染および宿主免疫パターンの特徴付けは不完全だが、初期の応答期間において、IL-15、IL-8、特に IL-6 の血漿レベルの上昇は重篤な疾患のマーカーである可能性がある [28]。別の研究 [28] では、感染前および感染中のインフルエンザに対する 41 の健康なボランティア T 細胞応答をマッピングし、インフルエンザ特異的 CD4+T 細胞がヒトのインフルエンザ攻撃に対する疾患保護と相関することを実証している。しかし、Kristin G. I.、Mohn その他 [8] は、中等度および重度の疾患を有する急性および回復期の患者における免疫応答は急性および回復期にある患者において PBMC を刺激し、急性期の患者では CD4+IFN- γ T 細胞と比較してインフルエンザ特異的 CD8+ の頻度が有意に低く、一方で回復期の患者においては、保存されたコア抗原に向けた CD4+ および CD8+ T 細胞のレベルが高いことを示唆している。十分なサンプルサイズと研究デザインの欠如を考えると、感染の異なる期間における T リンパ球サブグループの優位性の不一致があるかどうかはさらに探求されるべきであるが、CD4+ T リンパ球数は疾患重篤度に関連付けて考えられている [28, 29]。

季節性インフルエンザ感染では、末梢リンパ球数とリンパ球サブセットが重篤な病気の予後と有意な相関関係を示していることは注目に値する。IAV または IBV 患者と健康な被験者を比較した研究では、血清 IL-6、IL-8 レベルを上昇させ、患者感染に関連する CD3+CD4+、CD3+CD8+、NK カウントを減少させた [30, 31]。

この文献でレビューされているように、SARS-CoV、MERS-CoV およびインフルエンザウイルスのような呼吸器感染症のウイルスはすべて定期的な流行および死を引き起こした。組織

病理学的検査は、びまん肺の損傷、浮腫性肺病変および肺炎という共通した特徴を示す[32-34]。また、MERS-CoVに感染したアカゲザルにおいてのみ、接種後の最初の2日間で一過性リンパ球減少を検出することができたが[33]、ウイルス感染の検査は、上気道および下気道におけるウイルス複製の能力が軽度または中等度の臨床徴候および病理学的変化に関連していることを示している[33-35]。Jiang Gu その他[36]は、マークされたTリンパ球(CD3+、CD4+およびCD8+細胞)の低下が免疫系を弱め、気道のSARS感染を悪化させたと仮定した。要約すると、ウイルス複製、分布および関連する免疫応答が感染症の進行に寄与した。末梢リンパ球の変化とリンパ球サブ群の転移は、SARS-CoV-2感染の病因に新たな考えをもたらす可能性がある。

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の仮説の病因

COVID-19患者の文献および臨床観察に基づき、ヒトにおけるSARS-CoV-2感染の病因に関する合理的な仮説を提案する。ウイルスは粘膜、特に鼻腔および喉頭粘膜を通過し、気道を通って肺に入る可能性がある。感染の初期の最も一般的な症状は発熱と咳である[37]。ウイルスは肺から末梢血に入り、ウイルス血症を引き起こす可能性がある。その後、ウイルスは、肺、心臓、腎臓、胃腸管などのACE2を発現する標的器官を攻撃する[38, 39]。便サンプル中で検出されたSARS-CoV-2は[37]、新型コロナウイルスが肺から血液に入り、血液から腸に移動した可能性が高く、私たちの仮説を裏付けている。Dawei Wangその他は、症状の発症からARDSまでの中央値の時間が約8日であることを突き止めた[40]。このようにして、ウイルスは2回目の攻撃を開始し、発症後7~14日で患者の状態が悪化すると推測される。感染過程において、疾患初期段階における末梢血中の白血球数は正常であるか、またはわずかに低く[37, 40]、患者にリンパ球減少症が観察される[40]。我々は、Bリンパ球減少が疾患の早期に起こり得ることがあり、患者の抗体産生に影響を及ぼす可能性があるかと推測する。重症型患者では、リンパ球が有意に減少した[40]。COVID-19患者のリンパ球は、病気が進行するにつれて徐々に減少する可能性がある和我々は推測している。しかし、重度のタイプの患者における著しいリンパ球減少のメカニズムは不明のままである。また、主にIL-6を含む疾患に関連する炎症因子[41]は大幅に増加し、発症後7~14日頃の病気の悪化にも寄与した。非生存者は、生存者よりも好中球、D-ダイマー、血中尿素窒素およびクレアチニンのレベルが高かった[40]。

上記の仮定に基づいて、臨床相は、ウイルス血症期、急性期(肺炎期)および回復期の3つに分けられる。急性期(肺炎期)の患者の免疫機能が有効で、それ以上の基本的な疾患が無い場合、ウイルスを効果的に抑制し、回復期に入ることができる。患者が高齢の場合、または免疫障害状態にある場合、高血圧および糖尿病などの他の基本的な疾患と組み合わせると、免疫系は急性期(肺炎期)においてウイルスを効果的に制御することができず

、患者は重度または重篤なタイプになる。我々の仮説で述べたように、重症型患者においてはT細胞とB細胞はさらに減少し、一方炎症性サイトカインおよびD-ダイマーは増加を続けた（図1A）。患者の免疫機能を高め、炎症因子嵐の形成を阻害するために、以下の2つの治療手段を提案した。

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染の潜在的病因の仮説-ウイルス性肺炎患者における免疫変化の検討

図1. COVID-19 の仮説的な病因。X軸はSARS-CoV-2感染後の日数であり、上記の予想に従って3つの段階に分けられる。Y軸は、T細胞、B細胞、炎症因子、D-ダイマーおよび患者におけるウイルス負荷の傾向である。(A) 重症型のCOVID-19患者における各指標の傾向；(B) LWMHおよびIVIg療法後の重症型のCOVID-19患者における各指標の傾向。シェーディングされた領域は、LWMH および IVIg 治療に推奨される介入時間を表す。

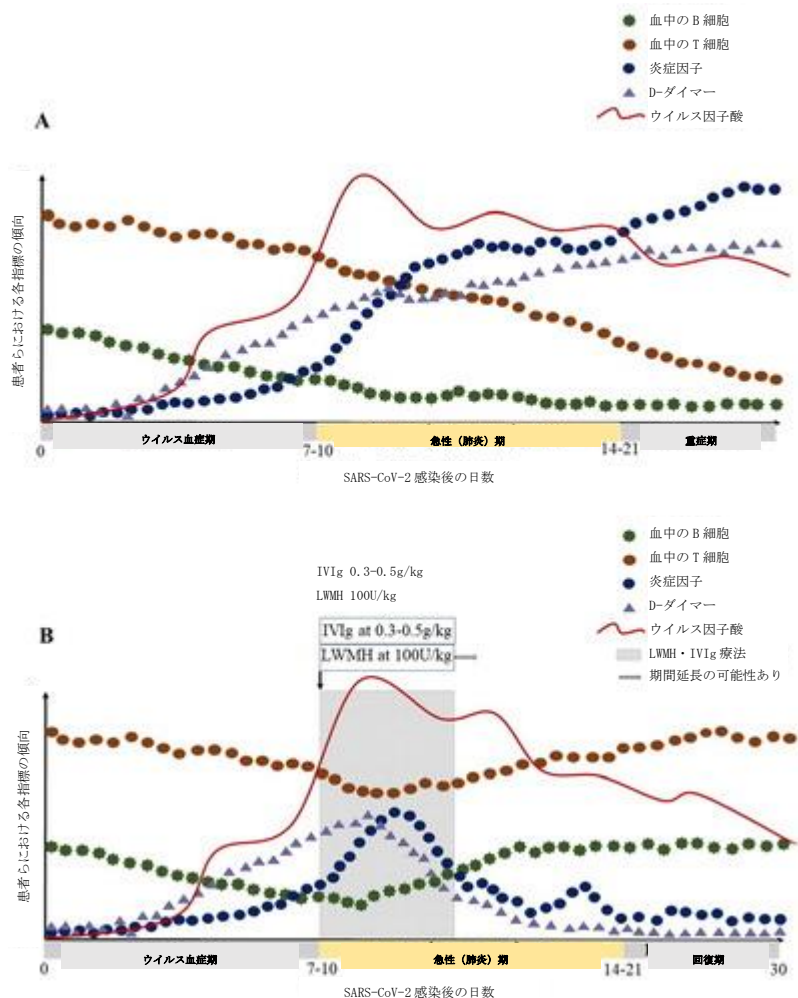


図 1. COVID-19 の仮説的な病因。X 軸は SARS-CoV-2 感染後の日数であり、上記の予想に従って 3 つの段階に分けられる。Y 軸は、T 細胞、B 細胞、炎症因子、D-ダイマーおよび患者におけるウイルス負荷の傾向である。(A) 重症型の COVID-19 患者における各指標の傾向；(B) LMWH および IVIg 療法後の重症型の COVID-19 患者における各指標の傾向。シェーディングされた領域は、LMWH および IVIg 治療に推奨される介入時間を表す。

COVID-19 には現在、特定の抗ウイルス薬治療がないため、この疾患の治療は主に症候性治療と酸素療法が中心である。炎症性因子およびリンパ球サブセットは、疾患の間に監視することが推奨される。T 細胞、B 細胞、炎症性サイトカインおよび D-ダイマーに関して、末梢血中の T リンパ球および B リンパ球が以前より有意に低い、IL-6 などの炎症性サイトカインが有意に増加する、D-ダイマーなどの凝固パラメータが異常に増加する、胸部 CT が肺病変の拡大を示すといった傾向を示す場合、我々は、IVIg および低分子量ヘパリン（LMWH）抗凝固療法を可能な限り早期に与えることを推奨する。我々の勧告では、1 日当たり 0.3~0.5g/kg の高用量 IVIg を 5 日間投与することが可能であり、これにより早期段階で炎症性因子の激発を防ぎ、免疫機能を高めることができる。重度の SARS-CoV-2 感染患者において IVIg の無作為化対照臨床試験が開始された（NCT 04261426）。IVIg はインフルエンザ[42]と SARS[43]の患者の治療に有効性を示しているが、証拠として COVID-19 患者のより多くの臨床データが必要である。

LMWH 抗凝固療法は、特に疾患の初期段階で推奨される。感染は、播種された血管内凝固の共通する原因の一つである。炎症、感染および他の要因は、凝固の過剰な活性化につながる可能性がある。我々は、重症タイプの COVID-19 患者が播種性血管内凝固（DIC）を発症する可能性があることを臨床で観察した（未発表データ）。重度のタイプの COVID-19 患者では、指やつま先に虚血性変化が起こり得る（図 2）。抗凝固療法は、抗凝固禁忌の患者を除いて、D-Dimer 値が通常の上限よりも 4 倍高い場合、COVID-19 患者に推奨される。LMWH の推奨用量は、皮下注射で 12 時間あたり 100U/kg で少なくとも 3~5 日間である。臨床医は、患者の検査の指標を注意深く監視し、抗凝固剤治療後の副作用に注意する必要がある。

図 2. ある重度のタイプの COVID-19 患者におけるつま先の虚血性変化



図2. ある重度のタイプの COVID-19 患者におけるつま先の虚血性変化

結論として、重度のタイプおよび重篤なタイプの COVID-19 患者の現在の治療が、死亡者数の増加を制御するための鍵である。我々は、重度および重篤なタイプの患者の予後を改善するのに有効である IVIg および LMWH 抗凝固療法の早期開始を推奨する。図 1B は、IVIg および LMWH 抗凝固療法を開始するのに最適な時間、ならびに療法後の T 細胞、B 細胞、炎症性サイトカイン、D-ダイマーの考えられる傾向を示す。病因を理解し、病気の治療を導き、予後を改善するためには、より多くの免疫関連の研究が必要だ。

Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2

infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an infectious disease caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) with droplets and contact as the main means of transmission. Since the first case appeared in Wuhan, China, in December 2019, the outbreak has gradually spread nationwide. Up to now, according to official data released by the Chinese health commission, the number of newly diagnosed patients has been declining, and the epidemic is gradually being controlled. Although most patients have mild symptoms and good prognosis after infection, some patients developed severe and die from multiple organ complications. The pathogenesis of SARS-CoV-2 infection in humans remains unclear. Immune function is a strong defense against invasive pathogens and there is currently no specific antiviral drug against the virus. This article reviews the immunological changes of coronaviruses like SARS, MERS and other viral pneumonia similar to SARS-CoV-2. Combined with the published literature, the potential pathogenesis of COVID-19 is inferred, and the treatment recommendations for giving high-doses intravenous immunoglobulin and low-molecular-weight heparin anticoagulant therapy to severe type patients are proposed.

KEYWORDS: COVID-19, SARS-CoV-2, anticoagulation, IVIg, pathogenesis

Coronaviruses (CoVs) have been on the top news again after the severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) in 2003 [1Zhong N, Zheng B, Li Y, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet*. 2003;362(9393):1353-1358. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14630-2 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] and Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) outbreak in Saudi Arabia and south korea [2World Health Organization: health

topics [Internet]. WHO. [cited 2020 Feb 26]. Available from: <http://www.emro.who.int/health-topics/> [Google Scholar]], since a new Coronavirus occurred in Wuhan, Hubei province and quickly spread across over whole China and other 30 countries. Up to date (25 February 2020), there are approximately 80000 infectious patients confirmed and caused above 2500 death [3World Health Organization: emergencies[Internet] WHO. [updated 2020 Feb 25, cited 2020 Feb 26]. Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200225-sitrep-36-covid-19.pdf?sfvrsn=2791b4e0_2 [Google Scholar]], which need urgent viral infection identification and intervention as early as possible. Although nucleic acid testing played an utmost part in the detection of the viral genome sequence [4Yu F, Du L, Ojcius DM, et al. Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes Infect.* 2020;undefined:undefined. [Google Scholar]], over-hypersensitivity and dependence on sampling may lead to some degree of false-positive or false-negative in the clinic. Despite several types of research have been conducted to practical treatments or any possible medicines, the consensus has not recommended any antiviral medicine [5National Health Commission: Diagnosis and treatment of pneumonia infected by novel coronavirus (trial Fifth Edition) CHINA. [updated 2020 Feb 05, cited 2020 Feb 26] Available from: <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml> [Google Scholar]]. It has been confirmed that the immune system played a vital role in defense against SARS-CoV and MERS infection. Immune changes in patients with SARS [6Taisheng L, Zhifeng Q, Linqi Z, et al. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis.* 2004;189(4):648-651. doi: 10.1086/381535 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]], MERS [7Ko JH, Park GE, Lee JY, et al. Predictive factors for pneumonia development and progression to respiratory failure in MERS-CoV infected patients. *J Infect.* 2016;73:468-475. doi: 10.1016/j.jinf.2016.08.005 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] and influenza [8Mohn KG, Cox RJ, Tunheim G, et al. Immune responses in acute and convalescent patients with mild, moderate and severe disease during the 2009 influenza pandemic in Norway. *PLoS One.* 2015;10(11):e0143281. doi: 10.1371/journal.pone.0143281 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]], especially changes in peripheral blood T lymphocyte subsets, contribute to

understanding the characteristics, diagnosis, monitoring, prevention and treatment of the disease.

Immune changes in SARS

In the acute phase of SARS-CoV infection, rapid reduction of lymphocytes in peripheral blood [6Taisheng L, Zhifeng Q, Linqi Z, et al. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis.* 2004;189(4):648-651. doi: 10.1086/381535 [Crossref], [Web of Science®], [Google Scholar]], mainly T lymphocytes, was observed, and both CD4+ and CD8+ T lymphocytes were decreased. The loss of lymphocytes precedes even the abnormal changes on the chest X-ray [9Liu Z Y, Li T S, Wang Z, et al. [Clinical features and therapy of 106 cases of severe acute respiratory syndrome]. *Chinese J Intern Med.* 2003;06:16-20. Chinese. [Google Scholar], 10Li TS, Qiu ZF, Han Y, et al. [The alterations of T cell subsets of severe acute respiratory syndrome during acute phase]. *Chinese J Lab Med.* 2003;05:40-42. Chinese. [Google Scholar]]. After a one-year follow-up of SARS patients, CD3+, CD4+, and CD8+ T cells recovered rapidly during the disease recovery period. CD8+ T lymphocytes, which returned to normal within 2-3 months after onset. The memory CD4+ T cells returned to normal a year after onset, whereas other cell counts including total T lymphocytes, CD3+ cells, CD4+ cells, and naive CD4+ T cells were still lower than healthy controls [11Xie J, Fan HW, Li TS, et al. [Dynamic changes of T lymphocyte subsets in the long-term follow-up of severe acute respiratory syndrome patients]. *Chinese Acad Med Sci.* 2006;28(2):253-255. Chinese. [Google Scholar]]. It assumed that after a viral infection, lymphocytopenia in peripheral blood due to lymphocyte sequestration firstly. The increase in lymphocytes during recovery is not new cells produced by the thymus, but lymphocyte recirculation between peripheral blood and tissues or organs [11Xie J, Fan HW, Li TS, et al. [Dynamic changes of T lymphocyte subsets in the long-term follow-up of severe acute respiratory syndrome patients]. *Chinese Acad Med Sci.* 2006;28(2):253-255. Chinese. [Google Scholar]]. SARS-specific IgG antibodies are produced in the late acute stage about 2 weeks and gradually increase with the course of the disease [12Gang L, Chen MJ, Chen W, et al. [Variation in the titer of the specific IgG antibody in patients with SARS]. *J Trop Med.* 2003;03:283-285. Chinese. [Google Scholar]]. The sustainable existence of IgG makes the patients acquire the immune function after infection.

Recovering patients have high and sustained levels of S protein-specific neutralizing antibody responses, which may play an important role in determining disease outcome [13Cao Z, Liu L, Du L, et al. Potent and persistent antibody responses against the receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein in recovered patients. *Virology*. 2010;7(1):299. doi: 10.1186/1743-422X-7-299 [Crossref], [Google Scholar]]. The IgG level of mild patients was significantly higher than that of severe patients. In the course of disease progression, patients may be accompanied by increased IL-8 and TNF- α levels, which peak in the early stage of recovery, while MCP-1 shows a rapid increase in the early acute stage and gradually decreases with the progress of the disease. Based on the above findings, it is proposed to treat the disease with a low-dose of glucocorticoid for less than 2 weeks in the early stage of the disease, so that the symptoms of most severe patients are well controlled [9Liu Z Y, Li T S, Wang Z, et al. [Clinical features and therapy of 106 cases of severe acute respiratory syndrome]. *Chinese J Intern Med*. 2003;06:16-20. Chinese. [Google Scholar]]. This is different from the effect of high-dose of glucocorticoids described in other literature [14Stockman LJ, Bellamy R, Garner P. SARS: Systematic review of treatment effects. *PLoS Med*. 2006;3(9):e343. doi: 10.1371/journal.pmed.0030343 [Crossref], [Web of Science $\text{\textcircled{R}}$], [Google Scholar]].

Immune changes in MERS

A previously unknown coronavirus (MERS-CoV) which isolated from a patient in 2012 [15Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012;367(19):1814-1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721 [Crossref], [Web of Science $\text{\textcircled{R}}$], [Google Scholar]] and caused high mortality rates in family-based and hospital-based outbreaks [2World Health Organization: health topics [Internet]. WHO. [cited 2020 Feb 26]. Available from: <http://www.emro.who.int/health-topics/> [Google Scholar]], was similar to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV). The genomic structures of the two viruses are very similar, both single-stranded positive-sense RNA viruses, but when they enter host cells, MERS-CoV and SARS-CoV attach to different receptor dipeptidyl peptidase 4 (DDP4) and angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) respectively [16Raj VS, Mou H, Smits SL, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature*. 2013;495(7440):251-254. doi:

10.1038/nature12005 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar], Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. doi: 10.1038/nature02145 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]. Besides, the clinical manifestations of MERS-CoV infection, like SARS-CoV, range from asymptomatic infection to severe pneumonia with acute respiratory distress syndrome, septic shock, and multi-organ failure resulting in death [15Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012;367(19):1814-1820. doi: 10.1056/NEJMoal211721 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Though the clinical pathogenesis have not been explained clearly, a retrospective study [7Ko JH, Park GE, Lee JY, et al. Predictive factors for pneumonia development and progression to respiratory failure in MERS-CoV infected patients. *J Infect*. 2016;73:468-475. doi: 10.1016/j.jinf.2016.08.005 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] comparing 45 patients in South Korea has suggested that a decreasing number of peripheral lymphocyte (lymphopenia as an absolute lymphocyte count lower than 1,000 cells/mm³), thrombocytopenia (platelet count lower than 150,000 cells/mm³) and high CRP level could predict pneumonia development and progression to respiratory failure at the early course of the disease. This result is supported by evidence of the report by Min et al. [18Min CK, Cheon S, Ha NY, et al. Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity. *Sci Rep*. 2016;6:25359. doi: 10.1038/srep25359 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Whereas it should be noteworthy that lymphopenia in MERS infection is not significant as SARS patients [19Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet*. 2014;40(7):995-1007. [Google Scholar]], and research found that except immunosuppression state and concomitant infection, age was the only predictor [20Saad M, Omrani AS, Baig K, et al. Clinical aspects and outcomes of 70 patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a single-center experience in Saudi Arabia. *Int J Infect Dis*. 2014;29:301-306. doi: 10.1016/j.ijid.2014.09.003 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Concerning MERS-CoV T cell responses, within two weeks after the onset of symptoms (acute phase), besides pro-inflammatory cytokine/chemokine secretion, such as interleukin (IL)-6 and C-X-C motif chemokine (CXCL)-8 [21Alosaimi B, Hamed ME, Naeem A, et al. MERS-CoV infection is associated with downregulation

of genes encoding Th1 and Th2 cytokines/chemokines and elevated inflammatory innate immune response in the lower respiratory tract. Cytokine. 2020;126:154895. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154895 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar], 22Shin HS, Kim Y, Kim G, et al. Immune responses to Middle East respiratory syndrome coronavirus during the acute and convalescent phases of human infection. Clin Infect Dis. 2019;68:984-992. doi: 10.1093/cid/ciy595 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]], high frequencies of MERS-CoV-reactive CD8+ T cells were observed in patients with severe/moderate illness, which before the detection of humoral and CD4+ T cell responses. During the convalescent phase, the magnitude of the CD8+ T cell response was not greatly augmented [22Shin HS, Kim Y, Kim G, et al. Immune responses to Middle East respiratory syndrome coronavirus during the acute and convalescent phases of human infection. Clin Infect Dis. 2019;68:984-992. doi: 10.1093/cid/ciy595 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. This result indicates that the inefficient control of invading MERS-CoV brings about robust inflammatory and CTL responses, which play a vital role in clearing the virus. Further, PBMCs obtained on day 24 after illness onset shows a strong specific T-cell response against the MERS-CoV S protein [23Wen DG, Pun MCK, Lin CZ, et al. Characteristics of traveler with Middle East respiratory syndrome, China, 2015. Emerg Infect Dis.. 2015;21(12):2278-2280. doi: 10.3201/eid2112.151232 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Role of cytotoxic T lymphocytes (CTL) protection from MHV(a member of the same beta coronavirus group as SARS-CoV and MERS-CoV) virus clearance also been demonstrated in animal experimental models [24Stohlman SA, Bergmann CC, Veen RCVD, et al. Mouse hepatitis virus-specific cytotoxic T lymphocytes protect from lethal infection without eliminating virus from the central nervous system. J Virol. 1995;69(2):684-694. doi: 10.1128/JVI.69.2.684-694.1995 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]].

Zhao, J et al. [25Zhao J, Alshukairi AN, Baharoon S A, et al. Recovery from the Middle East respiratory syndrome is associated with antibody and T-cell responses. Sci Imm. 2017;2(14). undefined. [Google Scholar]] found that during the convalescent phase, neutralizing (PRNT50) antibody titers measured in vitro predicted serum protective ability in infected mice and correlated with CD4 but not CD8+ T cell responses. And in their experiment, the CD4+ T cells were phenotypically effector memory (CD45RA-CCR7-) cells, while the virus-specific CD8+ T cell populations were half effector (CD45RA-CCR7-) cells and half

CD45RA+CCR7⁻ cells. Persistent and gradual increases of lymphocyte responses after symptom onset in MERS patients may be required for effective immune responses against MERS-CoV, but whether the CTL turnover and what the effect these cells provide still need further research.

Immune changes in influenza

Different from the disappearance of MERS and SARS, the influenza pandemic (H1N1) in 2009 been incorporated into seasonal strains. However, the influenza pandemic (H1N1) has a relatively high mortality rate [26Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao ZC, et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med.* 2010;362(18):1708-1719. doi: 10.1056/NEJMr1000449 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] compared to influenza A virus (IAV) and influenza B virus (IBV) which are usually covered in seasonal strains [27World Health Organization: newsroom [Internet]. WHO. [cited 2020 Feb 26]. Available from: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)). [Google Scholar]]. The influenza genome contains 8 segments and is capable of both antigenic drift and shift, making small nucleotide mutations and the exchange of genome segments respectively. Due to these characteristics, novel antigens never existed in the human population to make seasonal epidemics possible.

The manifestation of H1N1 infections ranged from subclinical symptoms to significant malaise with fever, myalgias, and rhinorrhea, progressing to acute hypoxemia and acute respiratory distress. Extra-pulmonary presentations like gastrointestinal, neurologic and cardiac dysfunction, have also been described in the review [26Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao ZC, et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med.* 2010;362(18):1708-1719. doi: 10.1056/NEJMr1000449 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Albeit pandemic 2009 H1N1 virus infection and host immunity patterns are incompletely characterized, in the early response period, increased plasma levels of IL-15, IL-8, and especially IL-6 may be markers of critical illness [28Bermejo-Martin JF, Lejarazu ROD, Pumarola T, et al. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza. *Crit Care.* 2009;13(6):R201. doi: 10.1186/cc8208 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Another study [28Bermejo-Martin JF, Lejarazu ROD, Pumarola T, et al. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response

signature in severe pandemic influenza. *Crit Care*. 2009;13(6):R201. doi: 10.1186/cc8208 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] mapped 41 healthy volunteer T cell responses to influenza before and during infection and demonstrated that influenza-specific CD4+ T cells correlate with disease protection against influenza challenge in humans. However, Kristin G. I. Mohn et al. [8Mohn KG, Cox RJ, Tunheim G, et al. Immune responses in acute and convalescent patients with mild, moderate and severe disease during the 2009 influenza pandemic in Norway. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143281. doi: 10.1371/journal.pone.0143281 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] stimulated PBMC during acute and convalescent patients, suggesting that significantly lower frequencies of influenza-specific CD8+ compared with CD4+ IFN- γ T-cells in acute patients, while high levels of both CD4+ and CD8+ T cells directed against conserved core antigens in convalescent patients. Considering the lack of enough sample size and study design, whether there is a discrepancy of T lymphocyte subgroups dominance in different periods of infection should be explored further, but the CD4+ T lymphocyte counts have been linked to disease severity [28Bermejo-Martin JF, Lejarazu ROD, Pumarola T, et al. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza. *Crit Care*. 2009;13(6):R201. doi: 10.1186/cc8208 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar], 29Wilkinson TM, Li CK, Chui CS, et al. Preexisting influenza-specific CD4+ T cells correlate with disease protection against influenza challenge in humans. *Nat Med*. 2012;18(2):274-280. doi:10.1038/nm.2612. [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. It is noteworthy that in the seasonal influenza infection, peripheral lymphocyte counts and lymphocyte subsets showed a significant correlation with prognosis of severe illness. Studies compared IAV or IBV patients with healthy subjects, elevated serum IL-6, IL-8 level and decreased CD3+CD4+, CD3+CD8+, NK counts related to patients infection [30Geng TR, Han Y, Li TS, et al. [Characteristics and prognostic value of peripheral blood T lymphocyte subsets in patients with severe influenza]. *Chinese J Inter Med*. 2020;59(3). undefined. Chinese. [Google Scholar], 31Juarez-Reyes A, Noyola DE, Monsivais-Urenda A, et al. Influenza virus infection but not H1N1 influenza virus immunization is associated with changes in peripheral blood NK cell subset levels. *Clin Vaccine Immunol*. 2013;20(8):1291-1297. doi: 10.1128/CVI.00194-13 [Crossref], [Google Scholar]]. As reviewed in this literature, the viruses of respiratory infections like SARS-CoV, MERS-CoV and influenza virus all caused periodical outbreak and death.

Histopathological examinations show common characteristics: diffuse alveolar damage, edematous lung lesions and pneumonia [32-34Shieh WJ, Blau DM, Denison AM, et al. 2010 pandemic influenza A (H1N1): pathology and pathogenesis of 100 fatal cases in the United States. *Am J Pathol.* 2010;177(1):166-175. doi: 10.2353/ajpath.2010.100115 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]de Wit E, Rasmussen AL, Falzarano D, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) causes transient lower respiratory tract infection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(41):16598-16603. doi: 10.1073/pnas.1310744110 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]Munster VJ, de Wit E, van den Brand JM, et al. Pathogenesis and transmission of Swine-Origin 2009 A(H1N1) influenza virus in Ferrets. *Science.* 2009;325(5939):481-483. doi: 10.1126/science.1177127 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Besides, the examination of virus infection demonstrates that the capability of virus replication efficiently in the upper and lower respiratory tract is associated with mild or moderate clinical signs and pathological changes [33-35de Wit E, Rasmussen AL, Falzarano D, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) causes transient lower respiratory tract infection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(41):16598-16603. doi: 10.1073/pnas.1310744110 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]Munster VJ, de Wit E, van den Brand JM, et al. Pathogenesis and transmission of Swine-Origin 2009 A(H1N1) influenza virus in Ferrets. *Science.* 2009;325(5939):481-483. doi: 10.1126/science.1177127 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]Mcauliffe J, Vogel L, Roberts A, et al. Replication of SARS coronavirus administered into the respiratory tract of African Green, rhesus and cynomolgus monkeys. *Virology.* 2004;330(1):8-15. doi: 10.1016/j.virol.2004.09.030 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]], though only in the MERS-CoV infected rhesus macaque could detect transient lymphocyte cell reduction in the first 2 days after inoculation [33de Wit E, Rasmussen AL, Falzarano D, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) causes transient lower respiratory tract infection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(41):16598-16603. doi: 10.1073/pnas.1310744110 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]]. Jiang Gu et al. [36Gu J, Gong E, Zhang B, et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS[J]. *J Exp Med.* 2005;202(3):415-424. doi: 10.1084/jem.20050828 [Crossref], [Web of Science ®], [Google Scholar]] hypothesized that the marked T lymphocytes (CD3+, CD4+, and CD8+ cells) decline

weakened immune system and aggravated the SARS infection of the respiratory tract. In summary, virus replication, distribution and associated immune response contributed to the progress of the infectious disease. The change of peripheral lymphocyte change and the transition of lymphocyte subgroups may provide new thoughts for the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection.

3

Hypothetical pathogenesis

Based on the published literature and clinical observations of COVID-19 patients, we propose reasonable hypotheses about the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection in humans. The virus might pass through the mucous membranes, especially nasal and larynx mucosa, then enters the lungs through the respiratory tract. The early most common symptoms of infection are fever and cough [37Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *N Engl J Med*. 2020;undefined:undefined. doi:10.1056/NEJMoa2002032. [Google Scholar]]. The virus may enter the peripheral blood from the lungs, causing viremia. Then the virus would attack the targeting organs that express ACE2, such as the lungs, heart, renal, gastrointestinal tract [38Dan H, Maureen G, Richard B, et al. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS*. 2002;undefined:undefined. doi:undefined. [Google Scholar], 39Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol*. 2020;undefined:undefined. doi:10.1038/s41564-020-0688-y. [Google Scholar]]. The SARS-CoV-2 detected in the fecal samples [37Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *N Engl J Med*. 2020;undefined:undefined. doi:10.1056/NEJMoa2002032. [Google Scholar]] is more likely because the virus enters the blood from the lungs and then travels from the blood to the intestines, which supports our hypothesis. Dawei Wang et al found that the median time from symptom onset to ARDS was about 8 days [40Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients With 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;undefined:undefined. [Google Scholar]]. We speculate that in this way, the virus begins a second attack, causing the patient's condition to aggravate around 7-14 days after onset. During the infection process, the white blood cell

count in peripheral blood in the early stage of the disease is normal or slightly low [37Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *N Engl J Med*. 2020;undefined:undefined. doi:10.1056/NEJMoa2002032. [Google Scholar]], and lymphopenia is observed in patients [40Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients With 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;undefined:undefined. [Google Scholar]]. We speculate that B lymphocyte reduction may occur early in the disease, which may affect antibody production in the patient. In severe type patients, lymphocytes were significantly reduced [40Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients With 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;undefined:undefined. [Google Scholar]]. We speculate that lymphocytes in patients with COVID-19 might gradually decrease as the disease progress. But the mechanism of significant lymphocyte reduction in severe type patients remains unclear. Besides, the inflammatory factors associated with diseases mainly containing IL-6 [41Wan SX, Yi QJ, Fan SB, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). *medRxiv*. 2020;undefined:undefined, doi:10.1101/2020.02.10.20021832. [Google Scholar]] were significantly increased, which also contributed to the aggravation of the disease around 7-14 days after onset. Non-survivors had higher levels of neutrophils, D-Dimer, blood urea nitrogen, and creatinine than the survivors [40Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients With 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;undefined:undefined. [Google Scholar]].

Based on the above assumptions, the clinical phase is divided into three: the viremia phase, the acute phase (pneumonia phase) and the recovery phase. If the immune function of patients in the acute phase (pneumonia phase) is effective, and no more basic diseases, the virus can be effectively suppressed, then enter the recovery phase. If the patient is older, or in an immune impaired state, combined with other basic diseases such as hypertension and diabetes, the immune system cannot effectively control the virus in the acute phase (pneumonia phase), the patient will become severe or critical type. As we mentioned in our hypothesis, T cells, B cells were further reduced, while inflammatory cytokines and D-Dimer continued to increase in severe type patients (Figure 1A). To

enhance the immune function of patients and inhibit the formation of inflammatory factor storms, we proposed the following two therapeutic measures.

Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia

Figure 1. Hypothetical pathogenesis of COVID-19. The X-axis is the number of days after SARS-CoV-2 infection, and it is divided into three phases according to the above conjecture. The Y-axis is the trend of T cells, B cells, inflammatory factors, D-Dimer and viral load in patients. (A) The trend of each indicator in COVID-19 patients with severe type; (B) The trend of each indicator in COVID-19 patients with severe type after LMWH and IVIg therapy. The shaded areas represent the recommended intervention times for LMWH and IVIg treatment.

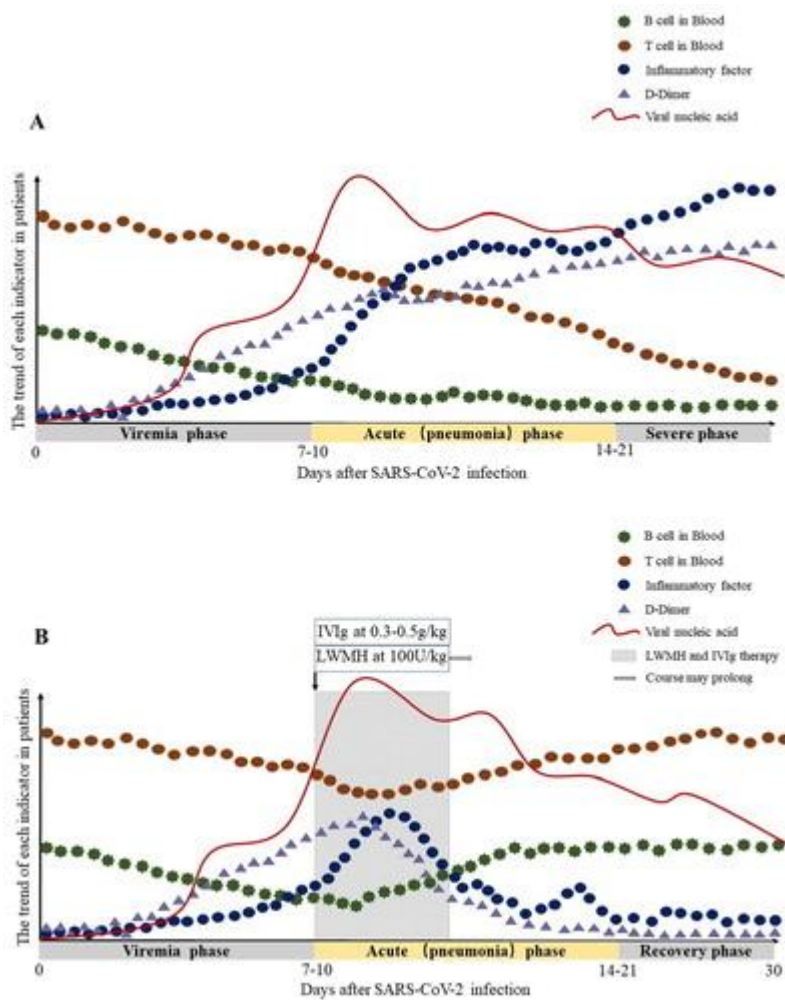


Figure 1. Hypothetical pathogenesis of COVID-19. The X-axis is the number of days after SARS-CoV-2 infection, and it is divided into three phases according to the above conjecture. The Y-axis is the trend of T cells, B cells, inflammatory factors, D-Dimer and viral load in patients. (A) The trend of each indicator in COVID-19 patients with severe type; (B) The trend of each indicator in COVID-19 patients with severe type after LMWH and IVIg therapy. The shaded areas represent the recommended intervention times for LMWH and IVIg treatment.

COVID-19 does not have specific antiviral drug treatment currently, so the treatment of the disease is mainly focused on symptomatic treatment and oxygen therapy. Inflammatory factors and lymphocyte subsets are recommended to be monitored during the disease. We suggest that IVIg and low molecular weight heparin (LMWH) anticoagulant therapy could be given as early as possible when T cells, B cells, inflammatory cytokines, and D-Dimer show the following trends: T lymphocytes and B lymphocytes in peripheral blood are significantly lower than before; inflammatory cytokines such as IL-6 are increased significantly; coagulation parameters such as D-Dimer increased abnormally; Chest CT indicates the expansion of lung lesions. In our recommendation, high-dose IVIg at 0.3-0.5g per kg weight per day could be given for 5 days, which can interrupt the storm of inflammatory factors at an early stage, enhance immune function. A randomized controlled clinical trial of IVIg in patients with severe SARS-CoV-2 infection has been initiated (NCT 04261426). Although IVIG has shown efficacy in the treatment of patients with influenza [42Liu Q, Zhou YH, Yang ZQ. The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy. *Cell Mol Immunol.* 2016;13(1):3-10. doi: 10.1038/cmi.2015.74 [Crossref], [Web of Science®], [Google Scholar]] and SARS [43Ho J, Wu A, Lam B, et al. Pentaglobin in steroid-resistant severe acute respiratory syndrome. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004;8(10):1173-1179. [Web of Science®], [Google Scholar]], we need more clinical data of COVID-19 patients as evidence.

LMWH anticoagulation therapy is especially recommended in the early stage of the disease. Infection is a common cause of disseminated intravascular coagulation. Inflammation, infection and other factors can lead to excessive activation of coagulation. We have observed in clinical that COVID-19 patients with severe type may develop disseminated intravascular coagulation (DIC) (unpublished data). In COVID-19 patients with severe type, ischemic changes may occur in the fingers and toes (Figure 2). Anticoagulation therapy is recommended for COVID-19

patients when the D-Dimer value is 4 times higher than the normal upper limit, except for patients with anticoagulant contraindications. The recommended dose of LMWH is 100U per kg weight per 12 h by subcutaneous injection for at least 3-5 days. Clinicians should closely monitor the indicators of laboratory examination of patients to be alert for side effects after anticoagulant treatment.

Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia

Figure 2. Ischemic changes of toes in one COVID-19 patient with severe type.



Figure 2. Ischemic changes of toes in one COVID-19 patient with severe type.

In conclusion, the current treatment of COVID-19 patients with severe type and critical type is the key to controlling the rising number of deaths. We recommend early initiation of IVIg and LMWH anticoagulant therapy, which is effective in improving the prognosis of severe and critical type patients. Figure 1B describes the optimal time to initiate IVIg and LMWH anticoagulant therapy, as well as the possible trend of T cells, B cells, Inflammatory cytokines, D-Dimer after therapy. More immune-related research is needed to help us understand the pathogenesis, guide the treatment of the disease, and improve the prognosis.