

· 综 述 ·

勃起功能障碍的干细胞治疗研究进展

陈 崇 综述 单玉喜* 审核

苏州大学附属第二医院泌尿外科(苏州 215004)

勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)是指阴茎持续不能达到和维持充分的勃起以获得满意的性生活。美国MMAS(Massachusetts Male Aging Study)调查^[1]表明,40~50岁成年男性中ED的发生率为54.8%(其中轻度20%,中度25.2%,重度9.6%)。ED作为男科中一种常见的疾病,往往给患者本人和家庭均带来极大的痛苦,且不利于社会和家庭稳定与和谐。因此寻求有效治疗ED的方法成了当前的研究热点之一。

近20多年来,有关勃起生理机制和ED病理生理机制的深入研究,推动了ED治疗的发展,目前临床上ED的治疗方式包括口服药物的无创性治疗和阴茎假体植入术、血管手术等有创性治疗。上世纪90年代,由于西地那非等PDE₅抑制剂的问世,ED治疗史又掀开了新的一页。然而,ED的病理生理机制复杂,牵涉到血管、神经、内分泌代谢等众多因素,以上各种方法治疗ED均有一定的适应证和禁忌证,如对糖尿病、前列腺癌根治术等所引起的ED,目前的治疗方式效果欠佳^[2,3],往往只能“治标”不能“治本”。理想的ED治疗方式应符合人类性行为的自然过程,且远期疗效确定。随着干细胞治疗技术的发展和运用,使之用于ED的治疗成为可能,有望成为一种“标本兼治”的理想ED治疗方式,目前在这方面已有一些初步的实验研究,取得了令人鼓舞的成果,本文复习了近期相关文献就此作一综述。

一、干细胞基本概念及分型

干细胞(stem cells, SCs)是指那些具有长期自我更新和产生至少一种终末分化细胞能力的细胞,就如同树的枝干,是一群结构和功能未特化的原始细胞。干细胞有两个重要的特点,一是自我更新,指的是干细胞在长期的细胞增殖过程中,每次细胞分裂后产生的子代细胞中至少有一个(或同时两个)还保持着干细胞的原始状态,即干细胞能够长期的进行自我复制;另一个重要的特点是分化能力,干细胞在特定条件下能够分化产生一种或多种终末细胞,分化后的终末细胞具有特殊的结构,能够执行特定的功能。

干细胞根据分化潜能由高到低依次可分为全能型(totipotent)、多能型(pluripotent)、多向潜能型(multipotent)等三种类型。受精卵属于全能型干细胞,可以分化成任何细胞类型,从而可以发育成一个完整的个体(包括胚胎和支持胚胎发育的胎盘等胚外组织)。就人类而言,全能型干细胞只存在于胚胎发育的前三天,目前尚不能体外成功培养扩增全能型干细胞。胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)、胚胎癌细胞(embryonal carcinoma cells, ECCs)、胚胎生殖细胞(embryonic germ cells, EGCs)则属于多能型干细胞,具有分化形成三个胚层不同细胞类型的潜能,但不能分化出胎盘等胚外组织,其中胚胎干细胞是目前最具研究和应用价值的多能型干细胞。成体干细胞(adult stem cells, ASCs)则属于多向潜能型干细胞,广泛存在于成体的不同组织中,用于维持组织器官结构和功能的稳态,其分化能力与胚胎干细胞是有区别的,往往分化成局限在同一胚层或同一系统内的多种细胞类型,故也有人将其称为单胚层多能性,而将胚胎干细胞称为三胚层多能性。但是大量研究发现,不同来源的成体干细胞可以跨胚层分化成其他的细胞类型,例如造血干细胞可以分化成神经胶质细胞^[4],因此成体干细胞也具有一定的多能性分化能力^[5,6]。

很多人类疾病与特定器官、组织、细胞的损伤或功能障碍有关,如糖尿病、心血管疾病、帕金森氏症等^[7-9],而通过替代治疗(replacement therapy)使受损的组织器官和细胞再生,恢复其功能是治疗这些疾病的理想方法。目前临床上进行的替代治疗多来自于供体捐献,而供体来源匮乏是当前替代治疗面临的最大困境,干细胞由于其具有自我更新和多向分化能力,是替代治疗最佳的“种子细胞”。干细胞分化的多种细胞类型可用于细胞替代治疗,将其与组织工程技术结合,甚至能在实验室中培育出可用于移植的各种组织和器官。目前造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)移植已经用于白血病的临床治疗,取得了较好的疗效,成为干细胞替代治疗的先锋。亦有研究报道^[10]运用骨髓干细

胞 (bone marrow stem cells, BMSCs) 修复受损的心脏组织等。

二、干细胞在 ED 治疗中的应用

不同类型的 ED 其病因和发病机制也各不相同, 治疗时往往是针对其中某一环节或因素进行靶向性的干扰或纠正, 因此对不同类型的 ED 必须深入细致的研究其病理生理机制, 而后才能进行治疗的选择。但这样治疗往往只能针对某些因素, 而忽略其他因素, 不能做到面面俱到, 综合治疗, 因而疗效有限。运用干细胞治疗 ED 一方面可以完全取代受损或死亡的阴茎组织细胞, 另一方面可以分泌一些因子修复功能受损的阴茎组织细胞, 这样治疗既能做到“一劳永逸”的替代, 又不需要对复杂的 ED 发病因素一一厘清。目前干细胞治疗 ED 尚处在动物实验研究阶段, 运用的干细胞包括胚胎干细胞和各种来源的成体干细胞。

(一) 胚胎干细胞 (ESCs)

受精卵发育到囊胚期, 分离其中囊胚的内细胞团, 在体外合适条件下培养即可获得胚胎干细胞 (ESCs), 此外, 目前尚可以通过体细胞核移植技术即治疗性克隆技术^[11]制造出具有与供核体细胞基因组完全相同的胚胎干细胞。ESCs 可在体外无限增殖, 并能分化为体内任何一种细胞类型, 因此 ESCs 有可能成为一个取之不尽、用之不竭的人类零部件加工厂。

2004 年美国加州大学的一个研究小组将 ESCs 用于神经源性 ED 的治疗^[12], 这是目前干细胞治疗 ED 的最早记录。在这项研究中研究人员首先从大鼠的囊胚分离获得 ESCs, 再将脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 转染入 ESCs, 从而获得神经性胚胎干细胞 (neural embryonic stem cells, NESCs)。实验大鼠分为四组, A 组为假手术组, 另三组大鼠均先将双侧阴茎海绵体神经钳夹损伤, B 组将干细胞培养基注入阴茎海绵体, C 组将 NESCs 注入盆腔神经节 (major pelvic ganglion, MPG), D 组将 NESCs 注入阴茎海绵体。3 个月后将通过检测阴茎海绵体内压 (intracavernosal pressure, ICP) 评估勃起功能, 并取 MPG 和阴茎组织通过组织化学法检测其中的神经丝及一氧化氮合酶 (NOS) 阳性神经纤维含量。实验结果表明: NESCs 能显著改善神经源性 ED 大鼠的勃起功能, 并且提高 MPG 和阴茎组织中神经丝及 NOS 阳性神经纤维含量。

(二) 成体干细胞 (ASCs)

尽管 ESCs 具有一些无可比拟的优势, 但将其真

正应用于临床替代治疗还有很多技术性问题亟待解决, 如 ESCs 的致瘤性、定向分化效率以及移植导致的免疫排斥等; 其次 ESCs 的分离需要破坏早期的人类胚胎, 因此 ESCs 的研究和应用尚存在伦理性问题。而成体干细胞 (ASCs) 则可以取自患者自身的各种组织, 获取相对容易, 由于源于患者自身, 故不存在免疫排斥的问题和伦理道德上的压力, 而且 ASCs 也具有一定的多向分化潜能, 因而目前 ASCs 的研究和应用较 ESCs 更受关注, 在有关 ED 的干细胞治疗研究中亦是如此。

1. 间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs): 间充质干细胞 (MSCs) 是来源于中胚层的成体干细胞, 广泛存在于全身结缔组织和器官间质中, 以骨髓组织中含最为丰富, 此外还存在于胎儿脐血、胎盘、肝脏、脂肪等多种组织中^[13-15]。MSCs 具有高度增殖、自我更新和多向分化潜能, 在不同诱导条件下, 可分化为软骨、骨、骨骼肌、肌腱、脂肪等中胚层细胞, 同时还可以向外胚层的神经细胞和内胚层的肝卵圆细胞分化^[6, 16]。

目前 MSCs 应用于 ED 治疗尚处在早期阶段, 相关研究报道为数不多, Bivalacqua 和 Deng 领导的研究小组在这方面作了最早的探索, 经过多年的研究取得一些积极的成果^[17-19]。他们先将内皮源性 NOS (eNOS) 基因通过腺病毒转染入鼠源性骨髓间充质干细胞 (rMSCs), 随后将转染和未转染 eNOS 基因的 rMSCs 分别注入老龄大鼠阴茎中, 7d 后发现 rMSCs 已附着于内皮组织上, 21d 后发现 rMSCs 可分化成内皮细胞, 同时阴茎组织中 eNOS 和 cGMP 的表达增加, 老龄大鼠的勃起功能亦得到显著改善, 且转染 eNOS 基因较未转染 eNOS 基因的 rMSCs 疗效更佳。2007 年来自韩国的 Song 所领导的研究小组将经过永生化处理的人源性骨髓间充质干细胞 (hMSCs) 植入健康年轻大鼠的阴茎, 两周后取阴茎组织标本检测发现阴茎组织中有内皮细胞和平滑肌细胞特异性抗原的表达, 这表明 hMSCs 具有向内皮细胞和平滑肌细胞分化的潜能, 从而有望用于血管性 ED 的治疗^[20]。国内谭艳所领导的研究小组尝试将 PnNOS 基因修饰的自体骨髓间充质干细胞移植用于治疗糖尿病性 ED, 此项课题于 2006 年已获得国家自然科学基金资助 (项目编号 30600614/C03030305)。

2. 肌源性干细胞 (muscle-derived stem cells, MDSCs): 肌源性干细胞 (MDSCs) 是肌肉组织中特有的成体干细胞, 长期以来一直被认为是单能干细胞, 但近年来的一系列研究表明, MDSCs 不仅

具有强大的自我更新能力^[21], 而且在体外适当的刺激下能分化为肌肉、内皮细胞、骨细胞以及神经细胞等^[22, 23], 具有多向分化潜能。

目前 MDSCs 已被用于一些泌尿外科疾病的治疗研究中^[24], 而在 ED 治疗中的应用则刚刚起步, 最早的研究报道是 2006 年 Kim 等将 MDSCs 用于神经源性 ED 的治疗^[25]。他们先从雌性大鼠骨骼肌中分离获得 MDSCs, 接着将 MDSCs 注入大鼠阴茎海绵体, 另有假手术组将平衡盐液注入阴茎海绵体, 随之将大鼠双侧海绵体神经横断损伤, 分别于 2 周和 4 周后检测 ICP, 并取阴茎组织通过组织化学法检测神经标志蛋白 PGP 9.5 的表达分布, 结果表明 2 周和 4 周后实验组的 ICP 和 PGP 9.5 的表达均明显高于假手术组, 这表明 MDSCs 注入阴茎海绵体有助于损伤的勃起神经恢复, 从而改善神经源性 ED 大鼠的勃起功能。最近 Nolzaco 等的一项研究^[26]表明: 将 MDSCs 植入老龄大鼠的阴茎可以分化成平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMCs), 并且可以显著改善老龄大鼠的勃起功能。

3. 神经嵴干细胞 (neural crest stem cells, NCSCs): 神经嵴干细胞 (NCSCs) 即外周神经系统干细胞, 起源于胚胎期的神经管背侧, 与中枢神经系统干细胞在形态学上有着显著不同, NCSCs 可表达低亲和力神经营养因子受体 p75NTR, 不能分化出少突胶质细胞, 而中枢神经系统干细胞与之恰好相反^[27], NCSCs 在不同的条件下可分化成神经元、神经胶质、色素细胞、骨及软骨等^[28]。

2008 年亦是 Song 所领导的研究小组首次将经过永生化处理的人源性 NCSCs 植入健康年轻大鼠的阴茎, 两周后取阴茎组织标本通过免疫荧光染色检测其中内皮细胞和平滑肌细胞特异性抗原的表达分布, 结果表明, 人源性 NCSCs 在阴茎组织中可以分化成内皮细胞和平滑肌细胞, 基于此项研究成果, 他们认为 NCSCs 有望成为治疗 ED 的理想“种子细胞”^[29]。

4. 脂肪干细胞 (adipose tissue-derived stem cells, ADSCs): 2001 年 Zuk 等^[30]首次从人抽脂术获取的脂肪组织中成功分离出脂肪干细胞 (ADSCs), 从此揭开了 ADSCs 研究和应用的序幕。后续研究发现 ADSCs 具有和 BMSCs 相似的形态、生长特性、分子表型和多向分化能力, 故 ADSCs 又被称为脂肪间充质干细胞^[31]。与其它类型的干细胞相比, ADSCs 具有来源充足、取材容易、分离培养步骤简便、体外增殖能力强、免疫抑制特性等优点, 因而更适合于临床应用^[32]。

Lue 所领导的研究小组经过多年研究发现^[33, 34], ADSCs 可以诱导分化成神经样细胞, 且这一分化是通过 IGF-I 信号通路介导的。通过后续的研究, 他们发现^[35] ADSCs 在体外可以增强来自于大鼠骨盆神经节的神经轴突生长。基于此, 他们相信 ADSCs 有望用于神经源性 ED 的治疗^[36]。

三、展望

目前 ED 的基因治疗方兴未艾, 显示出良好的应用前景^[37], 但随着研究的深入人们发现单独采用基因治疗存在着基因的随意表达、诱发宿主的炎症反应、病毒载体的致病性等安全性问题^[38], 且需要反复导入才能保持其勃起功能, 长期稳定表达的效率并不高^[39]。干细胞具有很强的自我扩增能力, 能够耐受基因导入后长时间的筛选过程, 一旦与外源基因整合, 单个稳定表达的细胞就能无限扩增成为稳定的转基因细胞系用于研究, 而且这样可以减少了基因直接用于人体治疗的未知不良影响。因此, 在 ED 治疗中可以先在体外培养的干细胞中完成对基因的改造和修饰, 再利用干细胞作为基因治疗的载体进行移植入阴茎, 目前在这方面已有一些初步研究, 取得了良好的效果^[12, 17]。

迄今为止, 用于 ED 治疗研究的干细胞均为外源性, 那么阴茎组织自身是否存在干细胞? 2005 年 Vernet 等^[40]报道体外培养的阴茎白膜细胞具有成骨和成纤维分化的潜能, 且在其中发现有干细胞抗原标志物的表达。2008 年 Nolzaco 等^[26]报道在阴茎海绵体组织中亦有干细胞抗原标志物的表达。如果阴茎组织中确实存在干细胞, 通过调节休眠的阴茎干细胞活性, 刺激其增殖, 从而取代损伤或功能障碍的阴茎组织, 这将成为干细胞治疗 ED 的新思路和新途径。

干细胞及其相关技术的发展为 ED 的治疗研究注入了新的生机, 但干细胞治疗 ED 距离真正临床应用还有一段漫长的征途, 尚有许多悬而未决的难题亟待解决, 如干细胞维持不分化的分子机制及其定向诱导分化的机制尚不明确, 如何分离、鉴定干细胞, 干细胞在体外长期培养的安全性, 等等。尽管如此, 我们还是有理由相信, 通过持久而深入的研究, 干细胞治疗有望成为 ED 的“根治性”治疗方法。

关键词 勃起功能障碍; 干细胞

中图分类号 R 698.1

参 考 文 献

- 1 Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, et al. J

- Urol* 1994;151(1):54-61
- 2 Aversa A, Bruzziches R, Vitale C, et al. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007;3(3):451-464
- 3 Kendirci M, Bejma J, Hellstrom WJ. *Curr Opin Urol* 2006;16(3):186-195
- 4 Eglitis MA, Mezey E. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(8):4080-4085
- 5 Kolf CM, Cho E, Tuan RS. *Arthritis Res Ther* 2007;9 (1):204
- 6 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. *Nature* 2002; 418(6893): 41-49
- 7 Lee SC, Pervaiz S. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(3): 497-504
- 8 Grazette LP, Rosenzweig A. *Heart Fail Clin* 2005;1(2): 251-261
- 9 Bredeken DE, Rao RV, Mehlen P. *Nature* 2006;443 (7113):796-802
- 10 Chiu RC. *Heart Fail Rev* 2003;8(3):247-251
- 11 Lanza RP, Cibelli JB, West MD. *Nat Med* 1999; 5(9): 975-977
- 12 Bochinski D, Lin GT, Nunes L, et al. *BJU Int* 2004; 94 (6): 904-909
- 13 Erices A, Conget P, Minguell JJ. *Br J Haematol* 2000; 109(1):235-242
- 14 Yen BL, Huang HI, Chien CC, et al. *Stem Cells* 2005; 23(1):3-9
- 15 Kuznetsov SA, Mankani MH, Gronthos S, et al. *J Cell Biol* 2001; 153(5): 1133-1140
- 16 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. *J Clin Invest* 2002;109(10):1291-1302
- 17 Bivalacqua TJ, Deng W, Kendirci M, et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292(3):H1278-1290
- 18 Deng W, Bivalacqua TJ, Chattergoon NN, et al. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;285(5):C1322-1329
- 19 Bivalacqua TJ, Deng W, Champion HC, et al. *Methods Mol Biol* 2004;279:173-185
- 20 Song YS, Lee HJ, Park IH, et al. *Int J Impot Res* 2007; 19(4):378-385
- 21 Deasy BM, Gharaibeh BM, Pollett JB, et al. *Mol Biol Cell* 2005;16(7):3323-3333
- 22 Williams JT, Southerland SS, Souza J, et al. *Am Surg* 1999;65(1):22-26
- 23 Jankowski RJ, Deasy BM, Huard J. *Gene Ther* 2002;9 (10):642-647
- 24 Huard J, Yokoyama T, Pruchnic R, et al. *Gene Ther* 2002; 9(23):1617-1626
- 25 Kim Y, de Miguel F, Usiene I, et al. *Int J Impot Res* 2006;18(4):329-334
- 26 Nolzaco G, Kovanez I, Vernet D, et al. *BJU Int* 2008; 101(9): 1156-1164
- 27 Kim SU, Nakagawa E, Hatori K, et al. *Methods Mol Biol* 2002;198:55-65
- 28 Le Douarin NM, Creuzet S, Couly G, et al. *Development* 2004;131(19):4637-4650
- 29 Song YS, Lee HJ, Park IH, et al. *BJU Int* 2008; 102(2): 220-224
- 30 Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. *Tissue Eng* 2001;7 (2):211-228
- 31 Schaffler A, Böhler C. *Stem Cells* 2007;25(4):818-827
- 32 Halvorsen YC, Wilkison WO, Gimble JM. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24 Suppl 4:S41-44
- 33 Ning H, Lin G, Lue TF, et al. *Differentiation* 2006;74 (9-10):510-518
- 34 Ning H, Lin G, Fandel T, et al. *Differentiation* 2008;76 (5):488-494
- 35 Bella AJ, Lin G, Cagiannos I, et al. *Asian J Androl* 2008; 10(1):54-59
- 36 Lin CS, Xin ZC, Deng CH, et al. *Asian J Androl* 2008; 10(2):171-175
- 37 刘继红, 王涛. *中国男科学杂志* 2004; 18(4): 70-72
- 38 Tan PH, Tan PL, George AJ, et al. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6(8): 759-772
- 39 Schultheiss D. *Eur Urol* 2004;46(2):162-169
- 40 Vernet D, Nolzaco G, Cantini L, et al. *Biol Reprod* 2005; 73(6):1199-1210

(2008-07-02 收稿)