

干细胞技术在阴茎勃起功能障碍治疗中的应用进展

杨其运 刘贵华 孙祥宙 邓春华

【关键词】干细胞;阴茎勃起功能障碍;治疗

【中图分类号】R697+.1

【文献标识码】A

【文章编号】1004-5511(2016)06-0402-06

阴茎勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)是指阴茎反复不能达到和/或维持足够的勃起硬度以完成满意的性交^[1]。ED 的发病率在全球范围内逐年升高,已经成为严重影响男性生活质量以及夫妻感情的重要疾病之一^[2]。年龄增长是 ED 发生的重要因素之一——男性在 40 岁时 ED 的发病率为 20%,而 70 岁以后则高达 67%^[3,4]。生活方式的改变导致代谢性疾病及心血管疾病发病率升高是 ED 人群增长的另一重要因素。其他因素还包括盆腔手术、性腺功能低下以及阴茎的局部病变(如阴茎硬结症、动静脉瘘等)^[5]。

目前 ED 的治疗方法主要有口服磷酸二酯酶抑制剂(phosphodiesterase type-5 inhibitors, PDE5Is)、海绵体注射血管活性药物、经尿道给予前列地尔、真空负压吸引(vacuum erection device, VED)和阴茎假体植入^[2]。PDE5Is 在 ED 人群中的总体有效率达 80%,因此从上市以来就一直作为 ED 的一线治疗方法。然而对于糖尿病性勃起功能障碍(diabetic erectile dysfunction, DED)以及神经损伤性 ED,如前列腺癌根治术后 ED, PDE5Is 的有效率显著降低,这是因为该类 ED 的病变部位在 PDE5Is 作用靶点的上游,如内皮功能障碍、神经失用等^[6]。其他几种治疗方法虽然也有一定的疗效,但是也都存在各自的局限性而未能在临床上广泛应用。再者,以上 5 种治疗方法都只能改善症状,并不能从根本上治愈 ED,因此目前的研究热点转向了有希望治愈 ED 的疗法,如基因治疗和干细胞(stem cell, SC)疗法。

1 干细胞概述

干细胞是一类具有自我复制和更新能力的多潜能细胞,在一定条件下,可分化为特定的组织细胞。根据来源可分为胚胎干细胞和成体干细胞。根据分

化能力的不同,干细胞又可以分为全能干细胞(totipotent SCs)、多能干细胞(pluripotent SCs)、专能干细胞(multipotent SCs)和单能干细胞(unipotent SCs)^[7]。全能干细胞来源于受精卵和桑椹胚,可以发育为 3 个胚层的所有类型细胞以及胚外组织(如胎盘)^[8]。多能干细胞可以分化为 3 个胚层的细胞,但不能分化为胚外组织^[9]。目前研究最多的多能干细胞是来源于囊胚内细胞团的胚胎干细胞(embryonic SC, ESC)。专能干细胞存在于特定器官中,可以分化为其所属胚层的组织细胞,如造血干细胞(hematopoietic SCs)、间充质干细胞(mesenchyma SCs)等^[8]。目前有研究发现专能干细胞在体外也能分化为其他胚层的细胞^[10]。单能干细胞是一类只能分化为单一特定类型细胞的前体细胞,其分化能力非常有限^[11]。

干细胞治疗勃起功能障碍的研究逐年增多,研究结果显示单纯的干细胞或者经基因修饰的干细胞均能改善勃起功能,甚至有希望治愈 ED^[12]。虽然胚胎干细胞具有多能性,但其获取需要破坏胚胎,因此受到伦理和法律的限制,目前研究仅限于动物实验,未能在临床上应用。成体干细胞(如骨髓干细胞、脂肪干细胞、肌源干细胞、尿源干细胞等)的获取相对简单安全,并且不存在伦理问题。因此,成为 ED 治疗研究理想的种子细胞。

2 干细胞治疗 ED 的进展

2.1 胚胎干细胞(ESCs) 如前所述,ESCs 具有多能性,可以分化为内、中、外三个胚层的所有类型细胞。2004 年,Bochinshi 等^[13]将从 SD 大鼠胚胎中分离出来的 ESCs 通过转染脑源性神经生长因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)后诱导分化为神经性胚胎干细胞(neural embryonic stem cells, NES),并将 NES 分别注射到双侧海绵体神经损伤大鼠的主要盆腔神经节(major pelvic ganglion, MPG)或者阴茎海绵体,结果显示 NES 可以显著改善实验组大鼠的勃起功能。这种改善作用可能与 NES 旁分泌的神经营养因子有关。由于受到伦理和法律的限制,ESCs 治疗 ED 的研究并未进入临床试验。

作者单位:510080 广东广州,中山大学附属第一医院泌尿外科(杨其运、孙祥宙、邓春华);510080 广东广州,中山大学附属第六医院生殖医学中心男科(刘贵华)

通信作者:邓春华,教授,主任医师,博士生导师;E-mail:13501519349@163.com

2.2 骨髓间充质干细胞(BM-MSCs) BM-MSCs 是一类来源于中胚层,存在于骨髓组织中的成体干细胞,具有多向分化潜能。研究表明 BM-MSCs 可以分化为软骨、骨及脂肪等中胚层组织^[14]。BM-MSCs 是最早应用于 ED 治疗研究的干细胞。2003 年, Deng 等^[15]首次将携带 eNOS 基因的腺病毒转染大鼠 MB-MSCs 后注射入老年大鼠的海绵体组织内,结果显示注射后大鼠的海绵体内压显著升高。此后, BM-MSCs 逐渐应用于多种类型 ED 治疗的研究,如糖尿病性 ED^[16-19]、海绵体神经损伤性 ED^[20-25]、老年性 ED^[15,26]等。这些研究的结果均显示 BM-MSCs 可以显著改善模型动物的勃起功能。2007 年, Song 等^[27]将 BM-MSCs 注射入大鼠的阴茎海绵体后,可以观察到 BM-MSCs 分化为海绵窦内皮细胞和平滑肌细胞。因此,很多早期研究认为 BM-MSCs 是通过直接分化为内皮细胞、平滑肌细胞而改善勃起功能。随后,越来越多的研究发现经海绵体注射的 BM-MSCs 在阴茎局部停留的时间短暂,治疗 28 d 后在海绵体内就已基本上观察不到所标记的干细胞了。后来逐渐认为 BM-MSCs 旁分泌的各种细胞因子可能是其治疗作用的关键。例如, Su 等^[24]将携带 BDNF 基因的腺病毒转染 BM-MSCs 后用于治疗海绵体神经损伤性 ED 大鼠模型,结果显示 BDNF 过表达组大鼠的海绵体组织内 eNOS 和 nNOS 的表达水平平均高于其他治疗组及对照组,推测这与 BM-MSCs 旁分泌的 BDNF 激活 JAK/STAT 通路促进神经修复有关。Muammer 等^[25]将经 p75 神经生长因子受体分离得到的 BM-MSCs 通过阴茎海绵体注射入 CNIED 大鼠的阴茎后, BM-MSCs 通过旁分泌多种神经营养因子,如 NGF、FGF、BDNF、VEGF 和 IGF-1 等,显著改善大鼠的勃起功能。此外,有研究发现经阴茎海绵体注射 BM-MSCs 的条件培养液也可以改善 DED 大鼠的勃起功能^[23],进一步验证了旁分泌作用的重要性。然而, BM-MSCs 的确切治疗机制目前还是存在争议。Qiu 等^[18]发现将过表达 VEGF164 的 BM-MSCs 注射入 DED 大鼠的海绵体后, VEGF164 可以促进 BM-MSCs 在体内的增殖和局部定植,并且 VEGF164 还能直接促进海绵窦内皮细胞和平滑肌细胞的增殖,从而改善勃起功能。

2.3 脂肪干细胞(ADSCs) ADSCs 是另一种研究比较深入的成体干细胞,与 BM-MSCs 相似,具有自我复制和多向分化潜能。由于脂肪组织来源广泛大量、取材微创,且 ADSCs 易于分离培养^[28],因此其成为了 ED 治疗研究最多的干细胞,包括 DED^[29]、CNIED

(CNIED)^[30]、高脂血症性 ED^[31]、放疗引起的 ED^[32]等。除了 ADSCs 外,还有另一种用于 ED 治疗研究的脂肪组织来源的干细胞——血管基质成分(stromal vascular fraction, SVF),这是一种混合细胞,通过用胶原酶将脂肪组织消化后获得^[33]。而 ADSCs 是将 SVF 进行培养后能够在培养皿贴壁生长并传代的细胞,仅占 SVF 细胞总数的 2%^[34]。研究表明 SVF 可以通过直接分化为血管内皮细胞或者旁分泌多种生长因子从而改善勃起功能^[35]。目前已经研发出了可以分离 SVF 的全自动装置,为 SVF 在临床上的推广应用更加迈进了一大步。而 ADSCs 改善勃起功能是通过直接分化为内皮细胞、平滑肌细胞、神经元以及旁分泌作用。Albersen 等^[30]分别将 ADSCs 和 ADSCs 的裂解液注射到 CNIED 大鼠的海绵体后,两组大鼠的勃起功能均较损伤组显著改善,说明是旁分泌作用,而非直接分化作用,是 ADSCs 治疗 ED 的主要机制。目前研究发现 ADSCs 旁分泌的细胞因子中具有改善勃起功能作用的包括 VEGF、NGF、BDNF 等。我们课题组将过表达 VEGF 的 ADSCs 注射入 DED 大鼠的海绵体后,阴茎内 VEGF 含量增高,后者通过改善内皮功能而修复阴茎勃起功能,并且 VEGF 还能动员阴茎局部的内源性干细胞(endogenous stem cell)参与修复过程^[36]。最近,我们课题组还证实了一种多功能细胞生长因子——色素上皮衍生因子(PEDF)分泌不足是 CNIED 的发病机制之一,ADSCs 可以通过旁分泌 PEDF 促进受损神经的修复,从而改善勃起功能^[37]。

2.4 肌源性干细胞(MDSCs) 肌源性干细胞是一类存在于肌肉组织中的多能干细胞,同时表达肌源性细胞和干细胞的标志物,并可以分化为肌肉、内皮、神经元等多种组织细胞^[38]。MDSCs 具有分化增殖能力强、免疫原性低等优点而成为 ED 治疗的另一理想种子细胞。2006 年, Kim 等^[39]首次将 MDSCs 通过海绵体注射治疗 CNIED 大鼠,结果显示 MDSCs 可以通过神经修复作用改善 CNIED 大鼠的勃起功能。Woo 等^[40]也验证了 MDSCs 对 CNIED 大鼠勃起功能的改善作用。2008 年 Nolasco 等^[41]发现 MDSCs 可以通过直接分化为平滑肌细胞或者动员内源性干细胞,改善老年性大鼠的勃起功能。最近, Kovanecz 等^[42]将 MDSCs 移植入 2 型糖尿病大鼠的阴茎后,大鼠的勃起功能得到显著改善,并且还发现 MDSCs 的增殖和修复能力会受到高血糖的损害。

2.5 尿源性干细胞(USCs) 尿源性干细胞最早是由 Zhang 等^[43,44]从人体尿液中分离培养获得,并证明其可以分化为内皮、肌肉、神经等多种组织细胞。与

MSCs 相比,USCs 具有以下优点:①来源广泛,获取简单方便、安全无创;②部份 USCs 克隆具有端粒体酶活性,其自我更新和细胞增殖能力比骨髓间充质干细胞强一倍^[45];③从原代培养始可获取单个干细胞克隆,经数代扩增后可获得大量纯化的干细胞,使其分化为各种细胞效率大大提高,为细胞治疗提供良好的细胞来源;④USCs 可以旁分泌大量促血管新生的细胞因子如 VEGF、Angiogenin、Ang - 1、Ang - 2、CXCL4 等^[46,47]。Ouyang 等^[48]研究显示 USCs 或者过表达 FGF2 的 USCs 均能改善 2 型糖尿病 ED 大鼠的勃起功能,作用机制与招募海绵窦局部的细胞、促进内皮修复以及增加平滑肌含量有关。

2.6 血管内皮祖细胞(EPCs) 血管内皮祖细胞(EPCs)是一类来源于骨髓的内皮细胞的前体细胞,能在特定的生理或病理状态下动员释放入血液,对于维持血管内皮的完整和功能具有重要作用^[49]。目前 EPCs 仍缺乏特异性标志物,研究人员普遍以 CD34⁺ VEGFR - 2⁺ 或者 CD133⁺ VEGFR - 2⁺ 作为 EPCs 的鉴定标准。虽然迄今已有很多临床研究证明外周血 EPCs 数量下降是血管性 ED 发病的独立预测因子^[50-52],但利用 EPCs 治疗 ED 的实验研究仍然很少。2011 年 Gou 等^[53]将过表达 VEGF165 的 EPCs 通过海绵体注射治疗 DED 大鼠,结果显示治疗后 DED 大鼠的勃起功能得到显著改善,这可能与 VEGF165 促进 EPCs 存活以及分化为内皮细胞从而修复海绵窦内皮功能有关。2012 年 Qiu 等^[54]研究发现褪黑素可以通过促进 EPCs 的动员来预防 DED。

2.7 其他 一些用于 ED 治疗研究的 SC 还有脑干细胞(brain stem cells, BDSCs)^[55]、脐带血干细胞(umbilical cord blood stem cells, UCBSCs)^[56]、神经脊干细胞(neural crest stem cells, NCSCs)^[57] 和神经胶质祖细胞(glia restricted progenitor cells, GRPSCs)^[58], 结果显示这几类干细胞也均能改善勃起功能。由于目前涉及这几类干细胞治疗 ED 的研究还很少,因此具体的作用机制仍有待深入探讨。

3 干细胞疗法

3.1 干细胞移植途径 目前动物实验研究中应用最广泛的干细胞移植途径是经海绵体注射(intracavernous injection, ICI), 研究结果也证明了这种移植方法安全有效,且易于操作,主要的并发症是感染和局部出血、血肿,但发生率低^[28]。CNIED 的主要病变部位在海绵体神经而非阴茎海绵体,然而多个研究结果均显示经海绵体注射干细胞(如 ADSCs、BM - MSCs、MD-

SCs)后可以显著改善 CNIED 大鼠的勃起功能。Thomas 等^[59]发现大鼠海绵体神经损伤后,MPG 通过上调基质细胞衍生因子 1(SDF - 1)招募经海绵体注射的 ADSCs 到达 MPG,并通过 ADSCs 的神经修复作用改善勃起功能——第一次阐明了从海绵体注射的 ADSCs 是如何定向迁移到达损伤部位的。2013 年,You 等^[60]比较了将 ADSCs 经前列腺周围注射(PPI)和/或经海绵体注射(ICI)治疗 CNIED 大鼠的疗效,结果显示这两种注射方式均能改善 CNIED 大鼠的勃起功能,并且疗效之间没有差异,然而他们的具体治疗机制并不同。

3.2 提高干细胞疗效的方法 为了提高干细胞的疗效,目前研究采用的方法包括通过基因改造技术增强干细胞移植后的分化增殖能力或增强其旁分泌功能。由于基因改造存在一定的生物风险,研究人员又探索了将干细胞联合组织工程材料(如水凝胶、PLGA 膜、纳米粒子)、细胞生长因子(如 BDNF、FGF、HGF)或者药物(如西地那非),以增加干细胞在局部的定植、改善移植局部的微环境或者增强干细胞的修复能力。Xu 等^[61]通过悬滴法制成一种富集 ADSCs 的微组织(micro - tissues, MTs)用于治疗 CNIED 大鼠模型,结果显示 MTs 改善勃起功能的疗效明显优于单个 ADSCs,可能的机制是 MTs 更容易停留于海绵体内,并具有更强的旁分泌功能。这种通过单纯物理方式而不需要联合其他材料就可以增强干细胞疗效的方法为干细胞治疗提供了新的探索方向。

3.3 目前存在的问题 首先,目前绝大部分关于干细胞治疗 ED 的研究仍处于动物实验阶段,虽然已注册的临床研究很多,但正式发表的临床研究结果仅有 2 篇,分别是: Bahk 等^[56]报道的将脐带血干细胞通过 ICI 治疗 7 例 2 型糖尿病性 ED 患者,结果显示患者的勃起功能在治疗后均有不同程度的改善; Haahr 等^[62]从 17 名前列腺癌根治术后 ED 患者身上获取脂肪组织后分离出脂肪源性再生细胞(adipose - derived regenerative cells, ADRCs),并通过 ICI 自体回输,结果显示 ADRCs 自体回输治疗 ED 具有良好的安全性和耐受性,并且患者的勃起功能也得到改善。这 2 项临床研究对勃起功能的评估都是通过量表进行,并没有客观的组织学检测,因此还需要其他无创或者微创的检测手段来了解组织学的改善情况。同时还需要更多的临床研究来进一步验证干细胞治疗 ED 的安全性和有效性。其次,尽管干细胞的分离培养技术已越来越成熟,但是对于每种干细胞的培养和鉴定没有统一的标准,不能保证在不同研究中同一类型干细胞的同质

性,影响了研究结果之间的可比性。最后,目前通过基因改造的方式来增强干细胞的疗效也存在一定的不足与风险,如病毒转染效率低,病毒基因整合到宿主染色体或者向恶性疾病转化的可能等^[63]。

3.4 展望 近十来年的研究表明,干细胞可以作为难治性 ED 的一种有前途的治疗手段。旁分泌作用被认为是干细胞治疗 ED 的主要机制,只有深入阐明干细胞旁分泌的蛋白及分子的具体调控通路以及相互间的交叉对话(cross-talk),才能为推动干细胞治疗的临床转化提供充分的理论依据。此外,安全性是所有治疗方法的前提条件,尽管目前动物实验和有限的临床研究已表明干细胞治疗具有安全性,但仍需要更多设计严谨的临床研究来进一步验证。相信在不久的将来,干细胞疗法会成为一种真正可以治愈 ED 的安全手段在临床上推广应用。

参考文献

- 1 NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence[J]. JAMA,1993,270(1):83-90.
- 2 Shamloul R, Ghanem H. Erectile dysfunction[J]. Lancet,2013,381(9861):153-165.
- 3 Laumann E O, West S, Glasser D, et al. Prevalence and correlates of erectile dysfunction by race and ethnicity among men aged 40 or older in the United States: from the male attitudes regarding sexual health survey[J]. J Sex Med,2007,4(1):57-65.
- 4 Lewis R W, Fugl - Meyer K S, Corona G, et al. Definitions/epidemiology/risk factors for sexual dysfunction[J]. J Sex Med,2010,7(4 Pt 2):1598 - 1607.
- 5 Burnett A L. Erectile dysfunction[J]. J Urol,2006,175(3 Pt 2):S25-31.
- 6 Albersen M, Shindel A W, Mwamukonda K B, et al. The future is today: emerging drugs for the treatment of erectile dysfunction[J]. Expert Opin Emerg Drugs,2010,15(3):467-480.
- 7 Keller G. Embryonic stem cell differentiation; emergence of a new era in biology and medicine[J]. Genes Dev,2005,19(10):1129-1155.
- 8 Becker C, Jakse G. Stem cells for regeneration of urological structures[J]. Eur Urol,2007,51(5):1217-1228.
- 9 Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos[J]. Nature,1981,292(5819):154-156.
- 10 Gimble J M, Bunnell B A, Frazier T, et al. Adipose - derived stromal/stem cells; a primer[J]. Organogenesis,2013,9(1):3-10.
- 11 Yamzon J L, Kokorowski P, Koh C J. Stem cells and tissue engineering applications of the genitourinary tract[J]. Pediatr Res,2008,63(5):472-477.
- 12 Strong T D, Gebeska M A, Burnett A L, et al. Endothelium - specific gene and stem cell - based therapy for erectile dysfunction[J]. Asian J Androl,2008,10(1):14-22.
- 13 Bochinski D, Lin GT, Nunes L, et al. The effect of neural embryonic stem cell therapy in a rat model of cavernosal nerve injury[J]. BJU Int,2004,94(6):904-909.
- 14 Chen Y, Shao J Z, Xiang L X, et al. Mesenchymal stem cells; a promising candidate in regenerative medicine[J]. Int J Biochem Cell Biol,2008,40(5):815-820.
- 15 Deng W, Bivalacqua T J, Chattergoon N N, et al. Adenoviral gene transfer of eNOS; high - level expression in ex vivo expanded marrow stromal cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol,2003,285(5):C1322-1329.
- 16 Ryu J K, Kim D H, Song K M, et al. Intracavernous delivery of clonal mesenchymal stem cells rescues erectile function in the streptozotocin - induced diabetic mouse[J]. Andrology,2016,4(1):172-184.
- 17 He Y, He W, Qin G, et al. Transplantation KCNMA1 modified bone marrow - mesenchymal stem cell therapy for diabetes mellitus - induced erectile dysfunction[J]. Andrology,2014,46(5):479-486.
- 18 Qiu X, Sun C, Yu W, et al. Combined strategy of mesenchymal stem cell injection with vascular endothelial growth factor gene therapy for the treatment of diabetes - associated erectile dysfunction[J]. J Androl,2012,33(1):37-44.
- 19 Qiu X, Lin H, Wang Y, et al. Intracavernous transplantation of bone marrow - derived mesenchymal stem cells restores erectile function of streptozotocin - induced diabetic rats[J]. J Sex Med,2011,8(2):427-436.
- 20 You D, Jang M J, Kim B H, et al. Bone marrow - derived mesenchymal stromal cell therapy in a rat model of cavernous nerve injury: Pre-clinical study for approval[J]. Cytotherapy,2016,18(7):870-880.
- 21 Takayanagi A, Sasaki M, Kataoka - Sasaki Y, et al. Intravenous Pre-load of Mesenchymal Stem Cells Rescues Erectile Function in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury[J]. J Sex Med,2015,12(8):1713-1721.
- 22 You D, Jang MJ, Lee J, et al. Periprostic implantation of human bone marrow - derived mesenchymal stem cells potentiates recovery of erectile function by intracavernosal injection in a rat model of cavernous nerve injury[J]. Urology,2013,81(1):104-110.
- 23 Sun C, Lin H, Yu W, et al. Neurotrophic effect of bone marrow mesenchymal stem cells for erectile dysfunction in diabetic rats[J]. Int J Androl,2012,35(4):601-607.
- 24 Kim S J, Choi S W, Hur KJ, et al. Synergistic effect of mesenchymal stem cells infected with recombinant adenovirus expressing human BDNF on erectile function in a rat model of cavernous nerve injury[J]. Korean J Urol,2012,53(10):726-732.
- 25 Kendirci M, Trost L, Bakondi B, et al. Transplantation of nonhematopoietic adult bone marrow stem/progenitor cells isolated by p75 nerve growth factor receptor into the penis rescues erectile function in a rat model of cavernous nerve injury[J]. J Urol,2010,184(4):1560-1566.
- 26 Bivalacqua T J, Deng W, Kendirci M, et al. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age - associated erectile dysfunction[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2007,292(3):H1278-1290.
- 27 Song Y S, Lee H J, Park I H, et al. Potential differentiation of human mesenchymal stem cell transplanted in rat corpus cavernosum toward

- endothelial or smooth muscle cells [J]. *Int J Impot Res*, 2007, 19 (4): 378-385.
- 28 Lin C S, Xin Z, Dai J, et al. Stem - cell therapy for erectile dysfunction [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2013, 13 (11): 1585-1597.
- 29 Garcia M M, Fandel T M, Lin G, et al. Treatment of erectile dysfunction in the obese type 2 diabetic ZDF rat with adipose tissue - derived stem cells [J]. *J Sex Med*, 2010, 7 (1 Pt 1): 89-98.
- 30 Albersen M, Fandel T M, Lin G, et al. Injections of adipose tissue - derived stem cells and stem cell lysate improve recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury [J]. *J Sex Med*, 2010, 7 (10): 3331-3340.
- 31 Huang Y C, Ning H, Shindel A W, et al. The effect of intracavernous injection of adipose tissue - derived stem cells on hyperlipidemia - associated erectile dysfunction in a rat model [J]. *J Sex Med*, 2010, 7 (4 Pt 1): 1391-1400.
- 32 Qiu X, Villalta J, Ferretti L, et al. Effects of intravenous injection of adipose - derived stem cells in a rat model of radiation therapy - induced erectile dysfunction [J]. *J Sex Med*, 2012, 9 (7): 1834-1841.
- 33 Lin C S, Xin Z C, Deng C H, et al. Defining adipose tissue - derived stem cells in tissue and in culture [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25 (6): 807-815.
- 34 Strem BM, Hicok KC, Zhu M, et al. Multipotential differentiation of adipose tissue - derived stem cells [J]. *Keio J Med*, 2005, 54 (3): 132-141.
- 35 Ryu J K, Tumurbaatar M, Jin H R, et al. Intracavernous delivery of freshly isolated stromal vascular fraction rescues erectile function by enhancing endothelial regeneration in the streptozotocin - induced diabetic mouse [J]. *J Sex Med*, 2012, 9 (12): 3051-3065.
- 36 Liu G, Sun X, Bian J, et al. Correction of diabetic erectile dysfunction with adipose derived stem cells modified with the vascular endothelial growth factor gene in a rodent diabetic model [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (8): e72790.
- 37 Chen X, Yang Q, Zheng T, et al. Neurotrophic Effect of Adipose Tissue - Derived Stem Cells on Erectile Function Recovery by Pigment Epithelium - Derived Factor Secretion in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury [J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 5161248.
- 38 Urish K, Kanda Y, Huard J. Initial failure in myoblast transplantation therapy has led the way toward the isolation of muscle stem cells: potential for tissue regeneration [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2005, 68: 263-280.
- 39 Kim Y, de Miguel F, Usiene I, et al. Injection of skeletal muscle - derived cells into the penis improves erectile function [J]. *Int J Impot Res*, 2006, 18 (4): 329-334.
- 40 Woo J C, Bae W J, Kim S J, et al. Transplantation of muscle - derived stem cells into the corpus cavernosum restores erectile function in a rat model of cavernous nerve injury [J]. *Korean J Urol*, 2011, 52 (5): 359-363.
- 41 Nolzaco G, Kovanecz I, Vernet D, et al. Effect of muscle - derived stem cells on the restoration of corpora cavernosa smooth muscle and erectile function in the aged rat [J]. *BJU Int*, 2008, 101 (9): 1156-1164.
- 42 Kovanecz I, Vernet D, Masouminia M, et al. Implanted Muscle - Derived Stem Cells Ameliorate Erectile Dysfunction in a Rat Model of Type 2 Diabetes, but Their Repair Capacity Is Impaired by Their Prior Exposure to the Diabetic Milieu [J]. *J Sex Med*, 2016, 13 (5): 786-797.
- 43 Zhang Y, McNeill E, Tian H, et al. Urine Derived Cells are a Potential Source for Urological Tissue Reconstruction [J]. *The Journal of Urology*, 2008, 180 (5): 2226-2233.
- 44 Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, et al. Multipotential differentiation of human urine - derived stem cells: Potential for therapeutic applications in urology [J]. *STEM CELLS*, 2013, 31 (9): 1840-1856.
- 45 Lang R, Liu G, Shi Y, et al. Self - renewal and differentiation capacity of urine - derived stem cells after urine preservation for 24 hours [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (1): e53980.
- 46 Liu G, Pareta R A, Wu R, et al. Skeletal myogenic differentiation of urine - derived stem cells and angiogenesis using microbeads loaded with growth factors [J]. *Biomaterials*, 2013, 34 (4): 1311-1326.
- 47 Liu G, Wang X, Sun X, et al. The effect of urine - derived stem cells expressing VEGF loaded in collagen hydrogels on myogenesis and innervation following after subcutaneous implantation in nude mice [J]. *Biomaterials*, 2013, 34 (34): 8617-8629.
- 48 Ouyang B, Sun X, Han D, et al. Human urine - derived stem cells alone or genetically - modified with FGF2 Improve type 2 diabetic erectile dysfunction in a rat model [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (3): e92825.
- 49 Callaghan M J, Ceradini D J, Gurtner G C. Hyperglycemia - induced reactive oxygen species and impaired endothelial progenitor cell function [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7 (11 - 12): 1476-1482.
- 50 Foresta C, Caretta N, Lana A, et al. Relationship between vascular damage degrees and endothelial progenitor cells in patients with erectile dysfunction: effect of vardenafil administration and PDE5 expression in the bone marrow [J]. *Eur Urol*, 2007, 51 (5): 1411-1417, discussion 1417-1419.
- 51 Esposito K, Ciotola M, Maiorino M I, et al. Circulating CD34 + KDR + endothelial progenitor cells correlate with erectile function and endothelial function in overweight men [J]. *J Sex Med*, 2009, 6 (1): 107-114.
- 52 Condorelli R A, Calogero A E, Vicari E, et al. Arterial erectile dysfunction and peripheral arterial disease: reliability of a new phenotype of endothelial progenitor cells and endothelial microparticles [J]. *J Androl*, 2012, 33 (6): 1268-1275.
- 53 Gou X, He W Y, Xiao M Z, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells transfected with VEGF165 to restore erectile function in diabetic rats [J]. *Asian J Androl*, 2011, 13 (2): 332-338.
- 54 Qiu X F, Li X X, Chen Y, et al. Mobilisation of endothelial progenitor cells: one of the possible mechanisms involved in the chronic administration of melatonin preventing erectile dysfunction in diabetic rats [J]. *Asian J Androl*, 2012, 14 (3): 481-486.
- 55 Song Y, Mehta N, Sheh B, et al. Transdifferentiation of rat fetal brain stem cells into penile smooth muscle cells [J]. *BJU Int*, 2009, 104 (2): 257-262.

- 56 Bahk J Y, Jung J H, Han H, et al. Treatment of diabetic impotence with umbilical cord blood stem cell intracavernosal transplant: preliminary report of 7 cases [J]. *Exp Clin Transplant*, 2010, 8 (2): 150-160.
- 57 Song Y S, Lee H J, Park I H, et al. Human neural crest stem cells transplanted in rat penile corpus cavernosum to repair erectile dysfunction [J]. *BJU Int*, 2008, 102 (2): 220-224.
- 58 Nout Y S, Culp E, Schmidt M H, et al. Glial restricted precursor cell transplant with cyclic adenosine monophosphate improved some autonomic functions but resulted in a reduced graft size after spinal cord contusion injury in rats [J]. *Exp Neurol*, 2011, 227 (1): 159-171.
- 59 Fandel T M, Albersen M, Lin G, et al. Recruitment of intracavernously injected adipose - derived stem cells to the major pelvic ganglion improves erectile function in a rat model of cavernous nerve injury [J]. *Eur Urol*, 2012, 61 (1): 201-210.
- 60 You D, Jang M J, Lee J, et al. Comparative analysis of periprosthetic implantation and intracavernosal injection of human adipose tissue - derived stem cells for erectile function recovery in a rat model of cavernous nerve injury [J]. *Prostate*, 2013, 73 (3): 278-286.
- 61 Xu Y, Guan R, Lei H, et al. Therapeutic potential of adipose - derived stem cells - based micro - tissues in a rat model of postprostatectomy erectile dysfunction [J]. *J Sex Med*, 2014, 11 (10): 2439-2448.
- 62 Haahr M K, Jensen C H, Toyserkani N M, et al. Safety and Potential Effect of a Single Intracavernous Injection of Autologous Adipose - Derived Regenerative Cells in Patients with Erectile Dysfunction Following Radical Prostatectomy: An Open - Label Phase I Clinical Trial [J]. *EBioMedicine*, 2016, 5: 204-210.
- 63 Condorelli R A, Calogero A E, Vicari E, et al. Vascular regenerative therapies for the treatment of erectile dysfunction: current approaches [J]. *Andrology*, 2013, 1 (4): 533-540.

(收稿日期: 2016-07-07)

(上接第 401 页)

- 4 Brom D, Kleber R J, Hofman M C. Victims of traffic accidents: incidence and prevention of post - traumatic stress disorder [J]. *J Clin Psychol*, 1993, 49 (2): 131-140.
- 5 Reznik I, Zemishlany Z, Kotler M, et al. Sildenafil citrate for the sexual dysfunction in antidepressant - treated male patients with post-traumatic stress disorder: a preliminary pilot open - label study [J]. *Psychother Psychosom*, 2002, 71 (3): 173-176.
- 6 Smith E M, Bodner D R. Sexual dysfunction after spinal cord injury [J]. *Urol Clin North Am*, 1993, 20 (3): 535-542.
- 7 King J. Impotence after fractures of the pelvis [J]. *J Bone Joint Surg*, 1975, 57 (8): 1107-1109.
- 8 Machtens S, Gänsslen A, Pohlemann T, et al. Erectile dysfunction in relation to traumatic pelvic injuries or pelvic fractures [J]. *BJU Int*, 2001, 87 (5): 441-448.
- 9 Malavaud B, Mouzin M, Tricoire J L. Evaluation of male sexual function after pelvic trauma by the International Index of Erectile Function [J]. *Urology*, 2000, 55 (6): 842-846.
- 10 Fishel B, Chen J, Alon M, et al. Pudendal nerve conduction to evaluate organic erectile dysfunction [J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2001, 80 (12): 885-888.
- 11 Bird S J, Hanno P M. Bulbocavernosus reflex studies and autonomic testing in the diagnosis of erectile dysfunction [J]. *J Neurol Sci*, 1998, 154 (1): 8-13.
- 12 Jiang X G, Speel T G, Wagner G, et al. The value of corpus cavernosum electromyography in erectile dysfunction: current status and future prospect [J]. *Eur Urol*, 2003, 43 (3): 211-218.
- 13 Suh D D, Yang C C, Clowers D E. Nocturnal penile tumescence and effects of complete spinal cord injury: possible physiologic mechanisms [J]. *Urology*, 2003, 61 (1): 184-189.
- 14 McMahon C G. Correlation of penile duplex ultrasonography, PBI, DICC and angiography in the diagnosis of impotence [J]. *Int J Impot Res*, 1998, 10 (3): 153-158.
- 15 Padma - Nathan H, McCullough A R, Giuliano F, et al. Postoperative nightly administration of sildenafil citrate significantly improves the return of normal spontaneous erectile function after bilateral nerve - sparing radical prostatectomy [J]. *J Urol*, 2003, 169: 375, abstract 1402.
- 16 Schwartz E J, Wong P and Graydon R J. Sildenafil preserves intracorporeal smooth muscle after radical retropubic prostatectomy [J]. *J Urol*, 2004, 171 (2 Pt 1): 771-774.
- 17 Mark S D, Keane T E, Vandemark R M, et al. Impotence following pelvic fracture urethral injury: incidence, etiology and management [J]. *Br J Urol*, 1995, 75 (1): 62-64.
- 18 Morgentaler A. Male impotence [J]. *Lancet*, 1999, 354 (9191): 1713-1718.
- 19 Melman A, Riccardi R, Jr. The success of microsurgical penile revascularization in treating arteriogenic impotence [J]. *Int J Impot Res*, 1993, 5 (1): 47-52.
- 20 Wespes E, Wildschutz T, Roumeguere T, et al. The place of surgery for vascular impotence in the third millennium [J]. *J Urol*, 2003, 170 (4 Pt 1): 1284-1286.
- 21 Giuliano F, Hultling C, El Masry W S, et al. Randomized trial of sildenafil for the treatment of erectile dysfunction in spinal cord injury [J]. *Ann Neurol*, 1999, 46 (1): 15-21.
- 22 Giuliano F, Sanchez - Ramos A, Löchner - Ernst D. Efficacy and safety of tadalafil in men with erectile dysfunction following spinal cord injury [J]. *Arch Neurol*, 2007, 64 (11): 1584-1592.
- 23 Shenfeld O Z, Gofrit ON, Gdor Y, et al. The role of sildenafil in the treatment of erectile dysfunction in patients with pelvic fracture urethral disruption [J]. *J Urol*, 2004, 172 (6 Pt 1): 2350-2352.
- 24 Montorsi F, Maga T, Strambi L F, et al. Sildenafil taken at bedtime significantly increases nocturnal erections: results of a placebo - controlled study [J]. *Urology*, 2000, 56 (6): 906-911.
- 25 Peng J, Zhang Z, Cui W, et al. Role of nocturnal penile erection test on response to daily sildenafil in patients with erectile dysfunction due to pelvic fracture urethral disruption: a single - center experience [J]. *Urology*, 2014, 84 (6): 1389-1394.

(收稿日期: 2016-09-10)