

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220314

· 综述 ·

干细胞治疗海绵体神经损伤性勃起功能障碍的研究进展

何 为¹, 蔡明磊¹, 任善成^{2*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)基础医学院, 上海 200433

2. 海军军医大学(第二军医大学)第二附属医院泌尿外科, 上海 200003

[摘要] 海绵体神经损伤性勃起功能障碍(CNIED)是前列腺癌手术或其他盆腔手术的常见并发症,会对患者预后及生活质量产生负面影响。传统治疗措施能在一定程度上改善病理状态,但疗效有限。干细胞因其再生潜力而备受关注,利用干细胞治疗CNIED的有效性已在多种临床前模型中得到评估;针对脂肪来源干细胞和骨髓间充质干细胞等的I/II期临床试验正在进行中。然而,干细胞治疗的长期疗效仍是需要考虑的问题。本文综述了干细胞治疗CNIED的研究现状,并总结探讨了干细胞疗法的疗效强化策略。

[关键词] 海绵体神经损伤;勃起功能障碍;干细胞移植;再生疗法

[引用本文] 何为,蔡明磊,任善成.干细胞治疗海绵体神经损伤性勃起功能障碍的研究进展[J].海军军医大学学报,2024,45(10):1288-1295. DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20220314.

Stem cell therapy for cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction: research progress

HE Wei¹, CAI Minglei¹, REN Shancheng^{2*}

1. College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Department of Urology, The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

[Abstract] Cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction (CNIED) is a common complication of prostate cancer surgery or other pelvic surgery, and it can have a negative impact on the patient's prognosis and quality of life. Traditional treatments can improve the pathological state to a certain extent, but the efficacy is limited. Stem cells have attracted considerable attention for their regenerative potential, and the effectiveness of stem cell therapy in the treatment of CNIED has been evaluated in various preclinical models. Phase I / II clinical trials targeting adipose-derived stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells are ongoing. However, the long-term efficacy of stem cell therapy is still a question that needs to be considered. This article reviews the current research status of stem cell therapy for CNIED and summarizes and discusses strategies to enhance the efficacy of stem cell therapy.

[Key words] cavernous nerve injury; erectile dysfunction; stem cell transplantation; regenerative therapy

[Citation] HE W, CAI M, REN S. Stem cell therapy for cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction: research progress[J]. Acad J Naval Med Univ, 2024, 45(10): 1288-1295. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220314.

勃起功能障碍(erection dysfunction, ED)是常见的男性疾病之一,由于无法实现或维持足够的勃起,给患者的生活质量造成了严重的负面影响。资料显示,40岁以上的男性中有50%存在ED^[1],其患病率随着年龄增大而增加。有研究者预测,全球ED发病人数在2025年将达到3.22亿^[2]。ED已成为不可忽视的健康问题。

海绵体神经是调控阴茎勃起的主要自主神经,起源于盆腔神经节,包含交感神经与副交感神经纤维,与细小的动静脉分支共同形成神经血管束,穿行经前列腺进入阴茎海绵体,直接负责性刺激的响应^[3]。静息状态下,海绵体平滑肌收缩维持阴茎松弛;接受性刺激后,一氧化氮与乙酰胆碱作为递质从海绵体神经纤维释放,分别提高细胞内环磷酸

[收稿日期] 2022-04-18 **[接受日期]** 2022-09-02

[基金项目] 国家自然科学基金(81872105),国家杰出青年科学基金(82125025),上海市科学技术委员会“科技创新行动计划”国际联合实验室建设项目(18410750200)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81872105), National Science Fund for Distinguished Young Scholars (82125025), “Science and Technology Innovation Action Plan” International Joint Laboratory Construction Project of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (18410750200).

[作者简介] 何 为. E-mail: 510384485@qq.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885721, E-mail: renshancheng@gmail.com

鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 与 cAMP 的水平, 并引起 Ca^{2+} 浓度降低, 海绵体肌松弛, 从而允许血液填充海绵体内间隙, 阴茎完成勃起^[4]。海绵体神经损伤性勃起功能障碍 (cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction, CNIED) 是盆腔手术特别是根治性前列腺切除术 (radical prostatectomy, RP) 的常见并发症。近年来微创术式不断发展, 即使在双侧神经保留的 RP 中, 一定程度的海绵体神经损伤依然不可避免^[5]。

ED 的治疗措施包括心理治疗、生活方式管理、口服药物或海绵体内药物注射、真空勃起装置辅助、冲击波治疗、阴茎假体植入等。一线治疗方案一般是口服 5 型磷酸二酯酶抑制剂 (phosphodiesterase type 5 inhibitor, PDE5i), 如西地那非、乌地那非、他达拉非等^[6]。PDE5i 类药物的原理是增加 cGMP 水平以提高阴茎勃起硬度。考虑到该类药物对一氧化氮通路的依赖性, CNIED 患者对 PDE5i 的反应率并不令人满意^[7]。为了克服传统治疗方案的局限性, 更好地恢复 CNIED 患者的勃起功能, 基于神经再生与修复的干细胞疗法成为了治疗 CNIED 的一道曙光。

早在 2004 年就有研究报道并证实神经细胞系衍生的胚胎干细胞在移植入 CNIED 大鼠的海绵体后, 可以促进受损海绵体神经的修复, 并改善大鼠的勃起功能^[8]。近年来, 随着对干细胞认知的深入与分离提取技术的成熟, 已有部分研究步入初期临床试验阶段。本文综述了基于干细胞治疗 CNIED 的研究现状, 并总结探讨了干细胞疗法的疗效强化策略。

1 干细胞概述

干细胞是具有多向分化潜能、自我更新能力及克隆形成特征的低分化或未分化细胞。根据其来源主要分为胚胎干细胞 (embryonal stem cell, ESC)、诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSC) 和成体干细胞 (adult stem cell, ASC)。其中, ESC 和 iPSC 的再生能力更强, 但由于伦理问题、免疫排斥、致癌性等原因, 这 2 种干细胞的研究应用受限, 临床试验大多处于 I / II 期^[9]。相比之下, 更具安全性且兼备高增殖、高分化能力的 ASC 更受研究者青睐。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC)

是除造血干细胞外最受关注的一种 ASC。其来源广泛, 可从各种机体组织或体液中 (包括脐带、外周血、脂肪组织、骨髓、肌肉、尿液等) 分离得到^[10]。除具备增殖分化能力之外, MSC 还可分泌生物活性因子, 激活并引导内源性干细胞与祖细胞进行组织修复。此外, 其分泌物还能发挥抗凋亡、抗瘢痕形成、促血管重建等作用, 具有免疫调节特性^[11]。

在 ED 修复与再生过程中, 干细胞通过调节信号通路 (如基质细胞衍生因子 / 趋化因子受体 4) 动员、增殖和分化成为内皮或神经细胞, 释放如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 等活性因子促进血管生成与神经纤维再生, 并上调一氧化氮合酶, 从而使海绵体平滑肌细胞纤维化减少、含量增加。此外, 干细胞还能通过免疫调节和抗凋亡作用进一步抑制神经或肌肉的损伤。干细胞的多重积极效应使其成为 ED 有效再生治疗的候选对象^[12]。

2 干细胞治疗 CNIED 的临床前模型

用于 ED 研究的动物模型包括大鼠、狗、猴子、猫等。1989 年 Quinlan 等^[13]通过对海绵体神经消融成功建立了 CNIED 大鼠模型。由于大鼠海绵体神经易于识别与暴露、购买与饲养成本相对更低等优势, 已成为 CNIED 研究的理想实验动物。除应用射频或冷冻对海绵体神经进行消融外, 双侧 CNIED 大鼠模型也可通过神经离断或神经钳夹粉碎完成构建^[14], 其中, 神经钳夹粉碎似乎更能模拟盆腔手术后 ED 的神经生理环境, 能够在不破坏神经固有结构的前提下满足研究需求^[15]。

干细胞疗法的有效性已在多种不同类别的 ED 大鼠模型 (老年性 ED、血管性 ED、糖尿病 ED 等) 中得到评估与验证^[16-18]。干细胞移植后 ED 动物模型的内皮、平滑肌与神经细胞标志物水平增加, 胶原蛋白含量减少, 一定程度支持了干细胞对 ED 的治疗作用。

考虑到伦理问题、免疫原性、致癌性等因素, ESC 或 iPSC 在 ED 治疗领域的研究应用较为局限, 更多的学者选用具有旁分泌功能的 MSC 进行干细胞治疗。对于 CNIED, MSC 移植可发挥抗凋亡能力, 逆转海绵体组织中的结构损伤, 修复海绵体神

经损伤^[19-20]。CNIED大鼠模型通常使用脂肪来源干细胞(adipose-derived stem cell, ADSC)、骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)及肌源性干细胞(muscle-derived stem cell, MDSC)作为MSC的组织来源。有研究比较了ADSC与BMSC的治疗效果,蛋白质印迹法与免疫荧光分析结果显示,ADSC处理组的内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)表达略高于BMSC处理组,且透射电子显微镜下,ADSC处理组的内皮与平滑肌细胞的超微结构特征也更为清晰,这表明与BMSC相比,ADSC在血运重建方面可能更有效^[21]。事实上,考虑到ADSC比BMSC更为活跃,可以产生更多分泌细胞因子与免疫调节因子,加之脂肪组织的干细胞/祖细胞数量更多,且较易通过抽脂获得,ADSC在干细胞来源选择上具优先性^[22]。此外,Chen等^[23]发现,iPSC来源的间充质干细胞(iPSC-derived mesenchymal stem cell, iMSC)移植同样能恢复内皮成分和平滑肌成分,增加神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)表达和组织重量,并发挥抗凋亡作用,增强主盆腔神经节中S100 β 的表达,最终改善CNIED,并显示出长期的治疗效果。iMSC避免了需要侵入性手术以收集自体干细胞的操作,同时具有较低的衰老风险和更强的扩增能力,因此为MSC提供了一种可靠的新来源。

除组织来源外,干细胞的递送形式也是一个需要考虑的问题,主要包括前列腺周围植入与海绵体内注射。有研究比较了前列腺周围植入与海绵体内注射ADSC对CNIED大鼠的治疗效果,结果显示2种递送形式在恢复勃起功能方面同样有效,但可能涉及不同的病理生理学^[24]。目前临床前最常使用的仍是ADSC的海绵体内注射。最近,Wu等^[25]的研究发现,主盆腔神经节周围注射人牙龈来源的MSC 2周后,CNIED大鼠勃起功能显著恢复,组织纤维化明显缓解,为干细胞组织来源与递送方式的选择提供了新的方向与线索。

3 干细胞治疗CNIED的临床研究

干细胞治疗ED的临床试验多处于I/II期,以受试者的国际勃起功能指数-15(international index of erectile function-15, IIEF-15)、勃起硬度

评价(erect hardness scale, EHS)、阴茎血管的基底收缩速度峰值(peak systolic velocity, PSV)和阻力指数(resistance index, RI)等作为勃起功能的评价指标,并已经取得初步的成果,但其安全性与有效性有待在更大规模的队列研究中进行评估与验证。

2016年报道了一项I/II期试点临床试验(INtra-cavernous STem-cell INjection clinical trial, INSTIN),该研究使用自体骨髓-单核细胞(bone marrow mononuclear cell, BM-MNC)治疗RP后的ED患者。在第1阶段,12例受试者被分为4组,分别接受剂量递增的BM-MNC海绵体内注射,并用IIEF-15、EHS及彩色双相多普勒超声进行疗效评估。随访6个月时,在总人群中观察到勃起功能评价指标与治疗前相比有显著改善^[26]。在试验II期,I期研究纳入的12例受试者的勃起功能随时间推移出现下降趋势,平均随访(62.1 \pm 11.7)个月后的勃起功能评分与随访1年时相比略低^[27]。这些结果表明海绵体内注射BM-MNC治疗RP后ED的可行性与安全性,但可能需要重复注射以维持长期疗效。

Haahr等^[28]于2018年报道了一项I期临床试验,讨论了ADSC在治疗RP后ED患者的有效性和安全性。该研究使用自体来源的ADSC对21例常规治疗无效的ED患者进行的海绵体内注射治疗,分别在第1、3、6、12个月使用IIEF-5与EHS评估受试者的勃起功能。治疗后6个月,受试者的IIEF-5评分显著增加。根据尿失禁状态对21例患者进一步分层,无尿失禁的15例患者中有8例在第12个月时恢复了足够的勃起功能,而6例尿失禁患者未能恢复勃起功能。治疗后短时间内有8例出现与抽脂相关的可逆性不良反应,但随访过程中未出现严重的不良反应。该研究表明,海绵体内注射ADSC是治疗RP后ED安全且有效的方法。

2021年报道的I期临床试验招募了10例常规PDE5i治疗无效的ED患者(5例RP后ED,5例糖尿病ED),使用BMSC移植治疗,有9例患者完成了试验,均没有出现与自体BMSC治疗相关的严重不良反应,且治疗1个月后,平均国际指数评分显著增加(24.9 vs 18.1, $P=0.0222$)^[29],证实了自体BMSC在ED患者中的安全性与潜在有效性。

其他来源的MSC也可以通过改善人体阴茎血

流恢復勃起功能,並首先在糖尿病ED中得到臨床驗證。2021年報道的一項隨機單盲臨床試驗將20例難治性糖尿病ED患者分為干預組和對照組,干預組通過海綿體內注射從自体口腔黏膜中提取的MSC($50 \times 10^6 \sim 60 \times 10^6$ 個細胞),對照組注射生理鹽水。結果顯示,注射前、注射後3個月和6個月,干預組的IIEF-15評分分別為(7.2 ± 2.1)、(9.2 ± 3.4)和(10.6 ± 4.7)分,呈顯著上升趨勢($P=0.01$),且注射後6個月干預組與對照組的IIEF-15評分存在顯著差異($P=0.02$);儘管兩組間PSV和RI變化差異不具有統計學意義,但在干預組中顯示出改善的趨勢^[30]。2021年還報道了一項I/II期臨床試驗,研究人員對22例難治性糖尿病ED患者連續2次海綿體內注射同種異體沃頓膠質來源MSC(Wharton's jelly-derived MSC, WJ-MSC),結果顯示受試者IIEF-5、EHS、PSV和20 min PSV均有顯著改善,且無嚴重不良反應^[31]。這項研究首次證實了WJ-MSC治療ED的耐受性與有效性。

一些研究認為,對於組織再生,干細胞分泌的活性因子可能比干細胞本身更為關鍵。2022年有研究者將去角質乳牙牙髓干細胞培養基上清液直接注入38例ED患者的海綿體,給藥及隨訪期間未出現不良反應。其中,37例患者(97.4%)IIEF-5改善,且年輕或病史少的受試者恢復情況更好^[32]。研究者推測,干細胞培養基上清液可以利用自体的原位干細胞,通過修復受損的血管內皮細胞促進一氧化氮生成,有望成為ED再生醫學領域的下一代療法。

4 干細胞治療CNIED的療效強化策略

MSC擴增能力較低、易衰老,且可能受疾病影響出現活性下降的情況。此外,在歸巢動力學方面,干細胞在体内的遷移代謝強度及局部保留的數量也是治療時需要考慮的因素。鑒於上述局限性,單純海綿體內注射MSC的長期療效尚未得到普遍認可。當下,還有很多臨床前試驗正在研究治療的強化策略以擺脫臨床應用中長期療效不足的困境。

4.1 聯合口服藥物 干細胞聯合口服藥物在RP後ED治療中具有不錯的潛力。研究顯示,海綿體內注射BMSC和長期口服PDE5i聯合治療與單獨給藥方案相比,聯合治療更有助於CNIED大鼠勃起功能的恢復^[33]。Jeong等^[34]的研究表明,烏地那

非+ADSC/BDNF膜的治疗可显著增加CNIED大鼠nNOS、VEGF及cGMP的表达,进一步保护海绵体神经,改善血管生成。

4.2 聯合低能冲击波療法 有研究者將ADSC與低能冲击波療法(low energy shock wave therapy, LESWT)結合來治療CNIED大鼠。治療4周後發現,ADSC/LESWT組大鼠的 α 平滑肌肌動蛋白含量及nNOS、eNOS、cGMP水平均顯著增加,此外,ADSC/LESWT降低了海綿體細胞調亡指數。這項研究還證明,ADSC更有助於受損海綿體神經的恢復,LESWT更有助於改善海綿體的血管生成^[35]。

4.3 聯合活性因子 TGF- β 1是海綿體神經損傷後主要的負效應細胞因子,TGF- β 1-Smad信號通路與各種組織纖維化密切相關。肝細胞生長因子(hepatocyte growth factor, HGF)已被證明可拮抗TGF- β 1-Smad信號轉導,有研究結果顯示,ADSC與HGF聯合使用療效更好,而這種作用可能與TGF- β 1-Smad信號轉導的下調相關^[36]。体外研究結果表明,低劑量脂多糖可以提高ADSC的活力,與ADSC上清液相比,脂多糖預處理的同種異體ADSC上清液能更好地減少TGF- β 1誘導的海綿體平滑肌細胞纖維化^[37]。在体内研究中,同種異體ADSC療法可以更好地改善勃起功能,該結局可能與海綿體HGF含量增加和主盆腔神經節中髓鞘碱性蛋白增加有關^[37]。最近,還有研究者通過3D球體培養製備出富含活性因子的BMSC條件培養基,增強了CNIED的治療效果^[38]。

4.4 聯合再生材料 Fang等^[39]從人骨髓中分離出MSC,從人臍帶血中分離出內皮祖細胞(endothelial progenitor cell, EPC),通過聯合移植治療CNIED大鼠模型。首次證明EPC有助於增強MSC的旁分泌活性,通過促進VEGF與神經生長因子(nerve growth factor, NGF)的釋放,進一步增強海綿體神經纖維的修復。

血源性富血小板血漿(platelet-rich plasma, PRP)富含生長因子,如VEGF、胰島素樣生長因子1、成纖維細胞生長因子、血小板源性生長因子等,可以在MSC增殖分化、血管再生、神經再生等過程中發揮關鍵作用。在CNIED大鼠模型中,使用PRP已被證明可以改善海綿體內壓(intracavernosal pressure, ICP),保留髓鞘軸突並降低調亡指數^[40]。基於脊髓損傷大鼠模型的研

究结果显示,富含生长和神经营养因子的PRP可促进干细胞向神经谱系的增殖和分化^[41]。这些结果提示,PRP能够作为潜在的再生材料,与干细胞协同,提高ED再生治疗的效果。

4.5 磁性纳米颗粒 2016年,有研究者使用NanoShuttle磁性纳米颗粒磁化ADSC来治疗CNIED大鼠,在磁铁作用下磁化的ADSC能在海绵体中保留3d^[42]。辅助磁场的添加可进一步改进这项技术,即使是小剂量的磁化ADSC也能更好地改善勃起功能^[43]。这一系列研究创造性地将纳米颗粒植入干细胞,通过改造干细胞,提升其驻留受损组织的时间。有研究者将超顺磁性氧化铁纳米颗粒作为神经调节素-1基因的载体,在外部磁场作用下,提高了基因转染进入ADSC的效率,为CNIED的再生治疗提供了新策略^[44]。

4.6 基因治疗 基因治疗是一种替换或上调基因的技术,目前已有许多基因递送载体,例如质粒、腺病毒、脂质体等。阴茎易于暴露、血流有限且细胞更新速度缓慢,是基因治疗的适用靶标^[45]。基于DNA重组技术,通过载体转染,调控干细胞基因表达的ED再生治疗方案已被广泛探索。2020年,有研究者发现ADSC感染编码鼠BDNF的慢病毒载体,可有效改善CNIED^[46]。此外,Yang等^[47]的研究也显示,同时在ADSC中过表达VEGF和胶质细胞源性神经营养因子也能优化神经源性ED的治疗效果。在CNIED大鼠中,过表达miRNA-145的BMSC抑制1型胶原、基质金属蛋白酶2和磷酸-Smad2水平,从而使组织中的ICP/平均动脉压和平滑肌含量均得到改善^[48]。联合基因修饰的干细胞治疗,往往会选择性地过表达再生所需要的活性因子,更有利于组织损伤的控制甚至逆转。

4.7 基因编辑 规律成簇的间隔短回文重复(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)-CRISPR相关蛋白9(CRISPR-associated protein 9, Cas9)系统利用如Cas9等工程酶,借助一段起引导作用的小RNA嵌入DNA,以此切除并取代DNA的特定部分,实现基因编辑。CRISPR方法能够精准地调控、敲除或校正疾病的相关基因,有助于疾病的机制研究与治疗。CRISPR基因编辑技术与干细胞重编程的结合是近年来的一大热点^[49],在例如脊髓性肌萎缩症的遗传病中已经显示出了一定的应用价值^[50]。目前尚

未见CRISPR方法与干细胞联合治疗ED的报道,但这确实是一个值得努力的方向。Rho/Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(Rho-associated coiled-coil containing protein kinase, ROCK)通路的抑制是治疗CNIED的有效路径,大量的动物体内实验证明,RhoA/ROCK抑制剂或将是CNIED联合治疗的新选择^[51-53]。

5 小结

CNIED是不可忽视的临床问题,干细胞在ED治疗中的潜力已在众多的动物模型与临床研究中得到验证。干细胞治疗ED的临床试验多处于I/II期,单纯海绵体内注射干细胞的长期安全性与疗效还有待在更大规模的队列中进行评估与验证。一些临床研究仅仅采用IIEF-15或EHS等主观指标进行勃起功能评价,缺乏对如血流动力学与神经冲动传导速度的客观测量,容易造成数据结果的偏倚,后续的临床研究可能还需要进一步完善勃起功能评定的标准,同时可以考虑使用联合疗法提升治疗效果。

联合治疗的效力已经在小规模临床前试验中得到证明。无论是与传统疗法(如口服药物、LESWT)结合,还是添加生物因子,抑或是构建工程化干细胞等方式都能进一步改善患者的勃起功能,突破单一疗法疗效不足的瓶颈。其中,基因编辑干细胞有望在ED再生治疗中占据一席之地。

强化策略无疑是更具前景的研究方向,但要把这些策略真正应用于临床为时尚早。如相关操作的标准化程序尚未制定,可能会导致研究结果不一致;不同疗法间的相互作用机制也需要更加深入的探索以指导临床决策。总之,干细胞治疗的应用之路是漫长又充满希望的,期待其能尽早为更多的ED患者带来福音。

[参考文献]

- [1] NAJARI B B, KASHANIAN J A. Erectile dysfunction[J]. JAMA, 2016, 316(17): 1838. DOI: 10.1001/jama.2016.12284.
- [2] SHAMLOUL R, GHANEM H. Erectile dysfunction[J]. Lancet, 2013, 381(9861): 153-165. DOI: 10.1016/s0140-6736(12)60520-0.
- [3] JIANG N, WU C, ZHOU X, et al. Cavernous nerve injury resulted erectile dysfunction and regeneration[J]. J Immunol Res, 2021, 2021: 5353785. DOI: 10.1155/2021/

- 5353785.
- [4] LUE T F. Erectile dysfunction[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(24): 1802-1813. DOI: 10.1056/nejm200006153422407.
- [5] CAMPBELL J, BURNETT A. Neuroprotective and nerve regenerative approaches for treatment of erectile dysfunction after cavernous nerve injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): 1794. DOI: 10.3390/ijms18081794.
- [6] HATZIMOURATIDIS K, HATZICHRISTOU D G. A comparative review of the options for treatment of erectile dysfunction: which treatment for which patient?[J]. *Drugs*, 2005, 65(12): 1621-1650. DOI: 10.2165/00003495-200565120-00003.
- [7] BOND C, CAKIR OO, MCVARY KT, et al. Nitric oxide synthase is necessary for normal urogenital development[J]. *Andrology (Los Angel)*, 2013, 2: 108. DOI: 10.4172/2167-0250.1000108.
- [8] BOCHINSKI D, LIN G T, 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. DOI: 10.1111/j.1464-410x.2003.05057.x.
- [9] YAMANAKA S. Pluripotent stem cell-based cell therapy—promise and challenges[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(4): 523-531. DOI: 10.1016/j.stem.2020.09.014.
- [10] VASIC V, BARTH K, SCHMIDT M H H. Neurodegeneration and neuro-regeneration—alzheimer’s disease and stem cell therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17): 4272. DOI: 10.3390/ijms20174272.
- [11] BALISTRERI C R, DE FALCO E, BORDIN A, et al. Stem cell therapy: old challenges and new solutions[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(4): 3117-3131. DOI: 10.1007/s11033-020-05353-2.
- [12] LIU M C, CHANG M L, WANG Y C, et al. Revisiting the regenerative therapeutic advances towards erectile dysfunction[J]. *Cells*, 2020, 9(5): 1250. DOI: 10.3390/cells9051250.
- [13] QUINLAN D M, NELSON R J, PARTIN A W, et al. The rat as a model for the study of penile erection[J]. *J Urol*, 1989, 141(3 Part 1): 656-661. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)40926-8.
- [14] JIN H R, CHUNG Y G, KIM W J, et al. A mouse model of cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction: functional and morphological characterization of the corpus cavernosum[J]. *J Sex Med*, 2010, 7(10): 3351-3364. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2010.01942.x.
- [15] YAMASHITA S, KATO R, KOBAYASHI K, et al. Nerve injury-related erectile dysfunction following nerve-sparing radical prostatectomy: a novel experimental dissection model[J]. *Int J Urology*, 2009, 16(11): 905-911. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2009.02382.x.
- [16] NOLAZCO G, KOVANEZ 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. DOI: 10.1111/j.1464-410x.2008.07507.x.
- [17] HUANG YC, NING H, SHINDEL AW, 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. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2009.01697.x.
- [18] ZHANG C, LUO D, LI T, et al. Transplantation of human urine-derived stem cells ameliorates erectile function and cavernosal endothelial function by promoting autophagy of corpus cavernosal endothelial cells in diabetic erectile dysfunction rats[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 2168709. DOI: 10.1155/2019/2168709.
- [19] RYU J K, KIM D H, SONG K M, et al. Intracavernous delivery of clonal mesenchymal stem cells restores erectile function in a mouse model of cavernous nerve injury[J]. *J Sex Med*, 2014, 11(2): 411-423. DOI: 10.1111/jsm.12380.
- [20] WANI M M, RAI B P, WEBB W R, et al. Is there a role for stem cell therapy in erectile dysfunction secondary to cavernous nerve injury? Network meta-analysis from animal studies and human trials[J]. *Ther Adv Urol*, 2022, 14: 175628722210869. DOI: 10.1177/17562872221086999.
- [21] CHEN S, ZHU J, WANG M, et al. Comparison of the therapeutic effects of adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells on erectile dysfunction in diabetic rats[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3): 1006-1014. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4254.
- [22] WITKOWSKA-ZIMNY M, WALENKO K. Stem cells from adipose tissue[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2011, 16(2): 236-257. DOI: 10.2478/s11658-011-0005-0.
- [23] CHEN Z, HAN X, OUYANG X, et al. Transplantation of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells improved erectile dysfunction induced by cavernous nerve injury[J]. *Theranostics*, 2019, 9(22): 6354-6368. DOI: 10.7150/thno.34008.
- [24] YOU D, LEE C, JANG M J, et al. Comparative analysis of periprostatic implantation and intracavernosal injection of adipose tissue-derived stem cells for erectile function recovery in a rat model of cavernous nerve injury[J]. *Prostate*, 2013, 73(3):278-286. DOI: 10.1002/pros.22567.
- [25] WU J, CHEN Z, ZHONG F, et al. Transplantation of human gingiva-derived mesenchymal stem cells ameliorates neurotic erectile dysfunction in a rat model[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 630076. DOI: 10.3389/fbioe.2021.630076.
- [26] RENÉ Y, HAMIDOU L, BIREBENT B, et al. Safety

- of intracavernous bone marrow-mononuclear cells for postradical prostatectomy erectile dysfunction: an open dose-escalation pilot study[J]. *Eur Urol*, 2016, 69(6): 988-991. DOI: 10.1016/j.eururo.2015.09.026.
- [27] RENÉ Y, HAMIDOU L, BIREBENT B, et al. Intracavernous injections of bone marrow mononucleated cells for postradical prostatectomy erectile dysfunction: final results of the INSTIN clinical trial[J]. *Eur Urol Focus*, 2017, 3(6): 643-645. DOI: 10.1016/j.euf.2017.06.009.
- [28] HAAHR M K, HARKEN JENSEN C, TOYSERKANI N M, et al. A 12-month follow-up after 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]. *Urology*, 2018, 121: 203.e6-203.e13. DOI: 10.1016/j.urology.2018.06.018.
- [29] YOU D, JANG M J, SONG G, et al. Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells in erectile dysfunction: an open-label phase I clinical trial[J]. *Cytherapy*, 2021, 23(10): 931-938. DOI: 10.1016/j.jcyt.2021.06.001.
- [30] MIRZAEI M, BAGHERINASABSARAB M, PAKMANESH H, et al. The effect of intracavernosal injection of stem cell in the treatment of erectile dysfunction in diabetic patients: a randomized single-blinded clinical trial[J]. *Urol J*, 2021, 18(6): 675-681. DOI: 10.22037/uj.v18i.6503.
- [31] AL DEMOUR S, ADWAN S, JAFAR H, et al. Safety and efficacy of 2 intracavernous injections of allogeneic Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells in diabetic patients with erectile dysfunction: phase 1/2 clinical trial[J]. *Urol Int*, 2021, 105(11/12): 935-943. DOI: 10.1159/000517364.
- [32] KOGA S, HORIGUCHI Y. Efficacy of a cultured conditioned medium of exfoliated deciduous dental pulp stem cells in erectile dysfunction patients[J]. *J Cellular Molecular Medi*, 2022, 26(1): 195-201. DOI: 10.1111/jcmm.17072.
- [33] MARTÍNEZ-SALAMANCA J I, ZURITA M, COSTA C, et al. Dual strategy with oral phosphodiesterase type 5 inhibition and intracavernosal implantation of mesenchymal stem cells is superior to individual approaches in the recovery of erectile and cavernosal functions after cavernous nerve injury in rats[J]. *J Sex Med*, 2016, 13(1): 1-11. DOI: 10.1016/j.jsxm.2015.12.001.
- [34] JEONG H H, PIAO S, HA J N, et al. Combined therapeutic effect of udenafil and adipose-derived stem cell (ADSC)/brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-membrane system in a rat model of cavernous nerve injury[J]. *Urology*, 2013, 81(5): 1108.e7-1108.e14. DOI: 10.1016/j.urology.2013.01.022.
- [35] JEON S H, SHRESTHA K R, KIM R Y, et al. Combination therapy using human adipose-derived stem cells on the cavernous nerve and low-energy shockwaves on the corpus cavernosum in a rat model of post-prostatectomy erectile dysfunction[J]. *Urology*, 2016, 88: 226.e1-226.e9. DOI: 10.1016/j.urology.2015.10.021.
- [36] LIU T, PENG Y, JIA C, et al. Hepatocyte growth factor-modified adipose tissue-derived stem cells improve erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Growth Factors*, 2015, 33(4): 282-289. DOI: 10.3109/08977194.2015.1077825.
- [37] ZHANG Z, NIE P, YANG W, et al. Lipopolysaccharide-preconditioned allogeneic adipose-derived stem cells improve erectile function in a rat model of bilateral cavernous nerve injury[J]. *Basic Clin Androl*, 2022, 32(1): 5. DOI: 10.1186/s12610-022-00156-w.
- [38] KIM S G, YOU D, KIM K, et al. Therapeutic effect of human mesenchymal stem cell-conditioned medium on erectile dysfunction[J]. *World J Mens Health*, 2022, 40(4): 653. DOI: 10.5534/wjmh.210121.
- [39] FANG J F, HUANG X N, HAN X Y, et al. Combined transplantation of mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells restores cavernous nerve injury-related erectile dysfunction[J]. *J Sex Med*, 2018, 15(3): 284-295. DOI: 10.1016/j.jsxm.2018.01.005.
- [40] WU C C, WU Y N, HO H O, et al. The neuroprotective effect of platelet-rich plasma on erectile function in bilateral cavernous nerve injury rat model[J]. *J Sex Med*, 2012, 9(11): 2838-2848. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2012.02881.x.
- [41] ZHAO T, YAN W, XU K, et al. Combined treatment with platelet-rich plasma and brain-derived neurotrophic factor-overexpressing bone marrow stromal cells supports axonal remyelination in a rat spinal cord hemisection model[J]. *Cytherapy*, 2013, 15(7): 792-804. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.04.004.
- [42] LIN H, DHANANI N, TSENG H, et al. Nanoparticle improved stem cell therapy for erectile dysfunction in a rat model of cavernous nerve injury[J]. *J Urol*, 2016, 195(3): 788-795. DOI: 10.1016/j.juro.2015.10.129.
- [43] WU H, TANG W H, ZHAO L M, et al. Nanotechnology-assisted adipose-derived stem cell (ADSC) therapy for erectile dysfunction of cavernous nerve injury: *in vivo* cell tracking, optimized injection dosage, and functional evaluation[J]. *Asian J Androl*, 2018, 20(5): 442-447. DOI: 10.4103/aja.aja_48_18.
- [44] CHENG J, ZHENG Z, TANG W, et al. A new strategy for stem cells therapy for erectile dysfunction: Adipose-derived stem cells transfect neuregulin-1 gene through

- superparamagnetic iron oxide nanoparticles[J]. *Investig Clin Urol*, 2022, 63(3): 359-367. DOI: 10.4111/icu.20220016.
- [45] HARRAZ A, SHINDEL A W, LUE T F. Emerging gene and stem cell therapies for the treatment of erectile dysfunction[J]. *Nat Rev Urol*, 2010, 7(3): 143-152. DOI: 10.1038/nrurol.2010.8.
- [46] YING C C, YANG M, SUN J Y, et al. Adipose-derived stem cells modified by *BDNF* gene rescue erectile dysfunction after cavernous nerve injury[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(1): 120-127. DOI: 10.4103/1673-5374.264464.
- [47] YANG W, CHEN Z, MA X, et al. Co-overexpression of VEGF and GDNF in adipose-derived stem cells optimizes therapeutic effect in neurogenic erectile dysfunction model[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(2): :e12756. DOI: 10.1111/cpr.12756.
- [48] LIU Q, CUI Y, LIN H, et al. MicroRNA-145 engineered bone marrow-derived mesenchymal stem cells alleviated erectile dysfunction in aged rats[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 398. DOI: 10.1186/s13287-019-1509-1.
- [49] HENDRIKS D, CLEVERS H, ARTEGIANI B. CRISPR-cas tools and their application in genetic engineering of human stem cells and organoids[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(5): 705-731. DOI: 10.1016/j.stem.2020.10.014.
- [50] LI J J, LIN X, TANG C, et al. Disruption of splicing-regulatory elements using CRISPR/Cas9 to rescue spinal muscular atrophy in human iPSCs and mice[J]. *Natl Sci Rev*, 2019, 7(1): 92-101. DOI: 10.1093/nsr/nwz131.
- [51] SAUZEAU V, LE JEUNE H, CARIO-TOUMANIANTZ C, et al. Cyclic GMP-dependent protein kinase signaling pathway inhibits RhoA-induced Ca^{2+} sensitization of contraction in vascular smooth muscle[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(28): 21722-21729. DOI: 10.1074/jbc.m000753200.
- [52] LASKER G F, PANKEY E A, ALLAIN A V, et al. The selective rho-kinase inhibitor azaindole-1 has long-lasting erectile activity in the rat[J]. *Urology*, 2013, 81(2): 465.e7-465.e14. DOI: 10.1016/j.urology.2012.10.039.
- [53] UVIN P, ALBERSEN M, BOLLEN I, et al. Additive effects of the Rho kinase inhibitor Y-27632 and vardenafil on relaxation of the corpus cavernosum tissue of patients with erectile dysfunction and clinical phosphodiesterase type 5 inhibitor failure[J]. *BJU Int*, 2017, 119(2): 325-332. DOI: 10.1111/bju.13691.

[本文编辑] 魏莎莎