

干细胞及其外泌体治疗勃起功能障碍的研究进展

庄靖铭(综述) 侯剑刚[△](审校)

(复旦大学附属华山医院泌尿外科 上海 200040)

【摘要】 干细胞(stem cells)作为一大类具有多向分化和自我更新能力的细胞,在很多领域都有所应用。除了诱导各类干细胞应用于再生医学及组织工程学,干细胞周围微环境以及肿瘤干细胞也引起了广泛关注。外泌体(exosome)则是一种几乎所有细胞都会分泌的,直径为30~100 nm的细胞外囊泡,通常会含有其分泌细胞的蛋白质、核酸等细胞活性成分。由于外泌体内容物可以反映其来源细胞的多种特性,对于干细胞的强大功能是否与其外泌体相关,也是研究的热点。目前对难治性勃起功能障碍,药物治疗收效甚微,而使用各类干细胞以及其外泌体进行探索性治疗实验,大多有显著的效果。更好地了解干细胞及外泌体的作用机制,比较出最适合治疗的细胞类型,将有望推进该疾病的治疗效果。本文将对现有干细胞及其外泌体治疗勃起功能障碍相关研究进展进行综述。

【关键词】 干细胞; 外泌体; 勃起功能障碍; 注射治疗

【中图分类号】 R698+.1 **【文献标志码】** B **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2020.05.020

Progress in the treatment of erectile dysfunction by stem cells and their exosomes

ZHUANG Jing-ming, HOU Jian-gang[△]

(Department of Urology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

【Abstract】 Stem cells, as a large group of cells with multi-directional differentiation and self-renewal ability, have recently played a pivotal role in the life sciences. In addition to inducing various types of stem cells for regenerative medicine and tissue engineering, the microenvironment around stem cells and cancer stem cells have also attracted widespread attention. The exosome is an extracellular vesicle that is secreted by almost all cells and has a diameter of 30 to 100 nm. It usually contains cell-active components such as proteins and nucleic acids from that secrete cells. Since the contents of exosomes can reflect the various characteristics of the cells from which they are derived, whether the powerful functions of stem cells are related to their exosomes is also a hot topic. At present, for refractory male erectile dysfunction, drug therapy showed little effect, while the use of various types of stem cells and even their exosomes for exploratory treatment experiments, mostly have significant effects. A better understanding of the mechanism of action of stem cells and exosomes, and the comparison of the most suitable cell types for treatment, is expected to further advance the therapeutic effects of the disease. This article will review recent advances in the treatment of erectile dysfunction in existing stem cells and their exosomes.

【Key words】 stem cell; exosomes; erectile dysfunction; injection therapy

* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81771683).

国家自然科学基金(81771683)

[△]Corresponding author E-mail:hou-jiangang@126.com

网络首发时间:2020-09-11 09:59:11 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20200909.1514.020.html

勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)是一种常见的男科疾病,指男性无能力达到性生活所需要的充分勃起或维持勃起时间过短的病症。各个年龄段均可发生,以中老年为主,且年龄越大发病率越高^[1]。生理上,勃起需要副交感神经末梢释放的一氧化氮(NO)来实现。因此,各种原因引起的NO释放减少和/或限制阴茎血流量可以导致ED。从病因学分析,ED可分为器质性、心理性和混合性。器质性ED可由多种代谢条件紊乱(如糖尿病、高血压、动脉粥样硬化、阴茎纤维性海绵体炎等)或物理打击(如创伤、盆腔手术等)所引起^[2-3]。心理障碍(如焦虑、抑郁)可以通过精神性或药物相关性途径抑制勃起功能从而导致心理性ED。尽管在过去二十多年出现了诸如口服磷酸二酯酶抑制剂(phosphodiesterase 5 inhibitors, PDE5i)、海绵体内注射(intracavernosal injections, ICI)血管活性药物和低强度冲击波等疗法,但治疗效果仅限于缓解症状,往往是出现暂时性的好转而非永久性治愈或根本的病理性改善。对于严重ED的治疗突破则更加有限,其中糖尿病性ED以及创伤后ED(包括医源性)更加严重,且对传统药物治疗反应不佳。寻找和开发新疗法,从而延长改善时间,提高疗效,是这个领域的研究重点。

在众多疗法中,干细胞(stem cells, SCs)疗法因其对ED有治愈的可能而引起了广泛的关注。在此,我们简要综述现有ED干细胞疗法的临床前实验、临床试验和未来可研究的方向。

干细胞 干细胞是具有多向分化能力的可自我更新的细胞,可以从胎盘、羊水、脂肪组织、肝脏、肌肉、骨髓和脐带血等组织中回收。成人干细胞驻留在称为干细胞巢(stem cell niche)的特殊微环境中,巢内细胞根据与干细胞的接近程度分为基质细胞和上皮细胞。干细胞通过细胞黏附和细胞外基质分子锚定到细胞巢。干细胞可以通过分泌细胞因子和生长因子传递信息^[4],其具有分裂能力和向各种类型的细胞分化的潜能。一个母细胞可产生两个相同的干细胞(维持其数量)或两个分化的细胞,甚至能产生一个干细胞和一个分化的细胞。它们分裂、分化和组织再生的能力高度依赖于周围环境^[5]。干细胞根据发育阶段可分为胚胎干细胞(embryonic SCs, ESCs)和成体干细胞(adult stem cells, ASCs);根据发育潜能可分为全能干细胞

(totipotent)、多能干细胞(pluripotent)、专能干细胞(multipotent)和祖细胞(progenitor)。全能干细胞分化潜能最大,可分化出成熟生物体的所有细胞,但人类的全能干细胞只存在于胚胎发育的前3天。多能干细胞可以产生三个生发层(即外胚层,中胚层和内胚层)中的所有细胞;专能干细胞可以在发育成熟的器官中发现,并且可以分化成它们自己所在的生发层的细胞;最后,祖细胞显示出最小的分化潜能(最多可分化成两种类型的细胞)^[6]。除了具有分化产生成熟组织细胞的能力,干细胞还发挥旁分泌作用,其似乎在受损或缺陷组织的愈合过程中起到了关键作用^[7]。这可能是通过干细胞外泌体的趋化性、抗炎性、再生性、血管生成性和抗细胞凋亡性来实现的^[8]。这些能力促使众多学者研究它们在治疗各种疾病中的可能性。

临床前实验 现阶段大多数研究使用大鼠模型模拟了不同类型的人类ED。最广泛应用的两种模型是诱导大鼠糖尿病引发的慢性ED(diabetes mellitus-induced erectile dysfunction, DMED)和模拟根治性前列腺切除术(radical prostatectomy, RP)后海绵体神经损伤(cavernous nerve injury, CNI)的急性ED。治疗方法大多是向成模动物直接注射干细胞。已有多种类型的干细胞应用于研究器质性ED,这其中包括了ESCs、间充质干细胞(mesenchymal SCs, MSCs)、神经嵴干细胞(neural crest SCs, NCSCs)、内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)、肌源性干细胞(muscle-derived SCs, MDSCs)、脂肪源性干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)和尿源性干细胞(urine-derived stem cells, USCs)。另外,在开展动物实验的同时,一些研究人员也开始进行体外实验(如细胞共培养)来探究干细胞改善ED功能的机制。

胚胎干细胞(ESCs) 由于伦理与法律的限制,ESCs在ED研究中的使用受到限制。只有Bochinski等^[9]在2004年进行了相关研究,他们使用CNI诱导的神经性ED大鼠模型,记录了在大鼠海绵体和主盆神经节(major pelvic ganglion, MPG)注射同源神经胚胎干(NES)细胞的结果。将26只雄性SD大鼠分成4组:5只进行假手术;8只(对照组)进行双侧CN钳夹,并将干细胞培养基注入其阴茎海绵体;4只经钳夹后,将NES细胞注入MPG;最后9只钳夹后,使用NES细胞进行ICI。3个月后通过

海绵体神经电刺激评估勃起反应,测定阴茎海绵体内压(intracavernosal pressures, ICP),免疫组化染色评估阴茎组织中神经型一氧化氮合酶(neural NO synthase, nNOS)的质量差异。结果显示第一组的ICP均峰值为96.9(18.0)cmH₂O,明显高于其他组($P < 0.05$);第2组ICP均峰值为30.5(8.3)cmH₂O,显著低于第3组[55.1(19.2)]和第4组[54.1(23.8)cmH₂O](P 均 < 0.05),第3组和第4组之间的平均ICP峰值无显著差异。在注射NES细胞的实验组中,染色结果也明显更好。这说明使用NES细胞,可以改善神经源性ED大鼠模型的勃起功能。

成体干细胞(ASCs)对ESC的种种限制使得可以从患者自身取得的ASCs在近些年来的研究中更受青睐,在有关ED治疗的研究中也是如此。应用各类ASCs(如MSCs、ADSCs等)进行ED治疗的动物研究大多都得出了勃起功能改善的结论,许多团队正以进一步确定哪种细胞类型表现最佳以及优化治疗方案为目标进行尝试。

Abdel等^[10]使用同源MSCs对老年大鼠进行ICI以评价其疗效,100只大鼠每只进行100万个单位MSCs的单次ICI。在第3周、4周、3个月和4个月(每组25只大鼠)进行ICP测定和病理学检测,并分别设立成年和老年对照组。结果显示,与对照组相比,注射组组织中平均cGMP含量均显著增加($P < 0.05$),ICP测量也显示MSCs移植组均峰值显著增加。注射后第3个月和4个月的平均cGMP水平和ICP均峰值与注射后第3和4周相比显著增加,提示长期疗效优于短期。

Kendirci等^[11]使用p75神经生长因子受体的抗体激活的骨髓源性间充质干细胞(BMSCs)对CNI大鼠进行了ICI,他们发现注射和非注射组的大鼠都出现勃起功能的改善,但注射p75激活的干细胞组表达出了更高浓度的 β -成纤维细胞生长因子,揭示了一种加强干细胞修复功能的途径。另一项研究^[12]则比较了双侧CN钳夹后分别向海绵体或腹腔注射BMSCs,使用两种注射方法后大鼠的海绵体内皮细胞、平滑肌细胞、阴茎NOS和神经微丝含量均有上升,但ICI显著优于IPI($P < 0.05$)。

上述实验表明,干细胞注射有助于恢复阴茎的勃起以及其他生理功能^[13],这些基于干细胞的临床前研究强调了干细胞治疗后动物ED的恢复情况。而其治疗作用机制仍不明确。ADSCs和USCs由

于其丰富的自体来源、易于分离和较强的扩增能力受到了特别关注,并且开始应用于体外培养实验^[14]。Liu等^[15]通过病毒转染,制备出表达大量VEGF的ADSCs。他们发现使用其进行ICI后,通过刺激内皮功能和增加平滑肌和周细胞的含量,DMED大鼠的勃起功能明显改善。这样的疗法结合了干细胞注射与基因治疗,Qiu等^[16]在MSCs中也进行过类似实验,表达VEGF的MSCs也表现出相同的优势。此外,ADSCs注射联合胰岛素治疗在链脲佐菌素(STZ)诱导的DMED大鼠中能产生更好的治疗效果^[17]。Zhou等^[18]发现ADSCs可表达VEGF,金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)和脂多糖诱导的CXC趋化因子(LIX)。与对照组相比,ADSCs注射组可恢复部分海绵体内皮细胞、平滑肌细胞以及nNOS阳性神经细胞的功能,并减少未经胰岛素治疗的DMED大鼠的细胞凋亡,可以将DMED大鼠的ED症状和病理表现改善至接近正常水平^[18]。Zhang等^[19]制备过量表达诱导型NOS(iNOS)的腺病毒感染了ADSCs,对DMED大鼠进行注射的同时,分离提取了大鼠海绵体平滑肌细胞进行共培养实验。结果显示ADSCs-iNOS可以显著改善DMED大鼠的勃起功能。体外则可以通过增加NO生成和抑制海绵体平滑肌中的I型胶原和IV型胶原表达以减少阴茎纤维化来达到治疗效果。

Xu等^[20]在CNI大鼠模型上比较了用游离的ADSCs进行ICI和用悬滴法培养ADSCs 3天产生的微组织(micro-tissue, MT)进行ICI。发现注射MT组的细胞恢复数量增加,且ICP/MAP也显著上升,说明MT注射更能改善勃起功能。Lin等^[21]将纳米颗粒吸附ADSCs来维持注射后的细胞簇。他们将这些干细胞簇注射到大鼠体内观察3天,发现与单纯注射ADSCs相比,纳米颗粒吸附组改善勃起功能更佳。

USCs可以很容易地从尿液中分离出来,表达出多能祖细胞的性质,并具有应用于组织工程的潜力^[22-26]。USCs分泌促血管生成因子,可诱导内皮细胞分化,可能在糖尿病性ED中有作用。Ouyang等^[27]使用人类USCs和FGF2转染的人类USCs对2型DMED大鼠进行ICI来确定这种疗法是否具有改善勃起功能障碍的可能性。使用高脂饮食和STZ诱导2型DMED大鼠进行分组ICI。结果显示虽然注射部位细胞数目增加不明显,但是实验组

ICP/MAP明显增加,且海绵体组织的内皮和平滑肌标记物的表达也明显增加,推测可能是USCs或USCs-FGF2的旁分泌作用通过募集原有细胞和增加内皮细胞表达和平滑肌含量来诱导2型糖尿病大鼠勃起功能的改善。Zhang等^[28]对USCs的治疗机制进行了探索,使用高级糖基化终末产物(AGEs)处理大鼠海绵体血管内皮细胞模拟糖尿病环境。然后对两种细胞进行共培养评估USCs体外保护作用。最后得出自噬功能障碍与DMED大鼠海绵体内皮功能和勃起功能障碍有关。且USCs可上调海绵体内皮细胞的自噬活性,有助于改善海绵体内皮功能障碍,并最终有望改善糖尿病引起的勃起功能障碍。

干细胞外泌体(exosomes) 有一些观点认为注射干细胞改善性功能是由细胞的植入和分化造成的,但大多数意见还是以旁分泌机制为主。旁分泌机制强调勃起功能的改善是由于干细胞注射后分泌的细胞外囊泡(或外泌体)引起的,其内容物包括细胞保护分子、抗纤维化分子和抗凋亡分子^[29]。近几年,随着有关各类干细胞衍生物外泌体研究的不断深入,也有一些学者开始将干细胞外泌体直接应用于ED的治疗^[30],不失为另一种很有前景的治疗方向。

Chen等^[30]使用超速离心的方法从培养ADSCs的上清液中分离出EXOs。将构建好的2型DMED大鼠模型分成3组,分别用ADSCs衍生的EXOs、ADSC或磷酸盐缓冲盐水(PBS)进行ICI。结果显示,与ADSCs类似,ADSCs衍生的EXOs能够通过抑制细胞凋亡来增加海绵体内皮细胞和平滑肌细胞的数量,从而促进2型糖尿病大鼠勃起功能的恢复。Ouyang等^[31]使用同样方法获得了MSCs的EXOs。将双侧CNI模拟神经性ED的大鼠模型分成3组,分别用PBS、MSCs或MSCs-EXOs进行ICI,并且还分离培养了阴茎海绵体平滑肌细胞(corpus cavernosum smooth muscle cells, CCSMCs)用于体外实验。结论显示, MSCs-EXOs可通过抑制CCSMCs中的细胞凋亡来改善CNI诱导的大鼠ED,其效力与MSCs处理组相似。另一组研究人员使用USCs-EXOs也得到了相似的结论,他们还通过RNA测序发现USCs-EXOs中富集了促进血管生成的多种的miRNA(miR-21-5p, let-7家族, miR-10家族, miR-30家族和miR-148a-3p)^[31]。因此,与传统的干细胞注射疗法相比,EXOs这种无细胞的细胞衍

生疗法在ED治疗方面可能具有更大的应用潜力。

临床试验 Bahk等^[33]使用 1.5×10^7 单位的脐带血干细胞对7名糖尿病伴发ED的患者(药物治疗至少6个月未能正常勃起)进行了ICI,之后与口服PDE5i联合应用时可明显改善性功能。跟踪检测9个月后没有患者表现出对注射的不良反应,3名参与者在1个月内恢复了晨勃,2名参与者6个月后在口服PDE5i的情况下成功完成性生活,除1名以外的所有参与者都表示性欲增加。

Demour等^[34]首先进行了I期临床试验并实现了长期随访,首次使用自体骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)进行连续2次的ICI。参与者是4名糖尿病性难治性ED患者,并随访了2年。结论是注射耐受性良好,患者没有显著的不良反应,勃起功能和硬度也有显著的改善。

Yiou等^[35]对行RP后出现ED的12名患者(最大剂量药物治疗无效)给予BMSCs的ICI,4组相同情况的患者注射剂量逐步增加BMSCs(分别为 2×10^7 , 2×10^8 , 1×10^9 和 2×10^9)。之后全面评估勃起功能。12名患者在联合口服PDE5i的情况下有9名出现性功能明显改善。分组比较后发现,随着注射剂量增加,自发勃起发生率增加,且该研究没有报告严重的注射后不良反应。实验的第二阶段^[36]增加了6名患者,并注射了第一阶段确定的最佳剂量(1×10^9)的BMSCs,结果显示,在第一阶段参加实验的患者中,没有前列腺癌复发,但勃起功能较1年前时间点相比略低,这表明使用BMSCs进行ICI是安全的,但随着时间的推移可能需要重复多次的注射以维持更好的疗效。

Haahr等^[37]使用ASCs对17名有RP手术史的ED患者(药物治疗无法恢复)进行ICI,以确定安全性、耐受性以及疗效。结果显示海绵体内注射ASCs具有良好的耐受性,仅5例患者出现与吸脂有关的轻微不良事件,2例患者在注射部位出现红肿或肿胀,1例患者出现阴囊和阴茎血肿,并发现其中有8名能够在没有使用口服药物的情况下实现勃起并完成性交。随访1年后分析显示^[38],RP术后恢复了尿控力的患者通过注射可以明显改善性功能。

未来方向无论是针对ED的动物实验还是临床试验,干细胞相关疗法大都显示出对ED症状的明显改善,但关于ED的干细胞疗法仍然存在许多问题。比如,干细胞的免疫原性的问题,同种异体或

自体的干细胞的选择都有待明确。虽然自体干细胞会减轻免疫原性问题,但其获得比同种异体的干细胞更加复杂。某些类型的干细胞可能会在后续增殖的过程中产生不良影响,且不同类型的干细胞,细胞的最佳传代数可能不同^[39]。注射的最佳细胞浓度,注射量是否应基于患者体重或基于靶器官内干细胞的标准浓度也有待确定^[40]。标准的给药时间表也尚未建立,确定单次注射是否足够还是在不同时间点进行多次注射也是很有必要的。此外,干细胞治疗效果的详细机制也有待阐明,这也有助于明确将来的应用治疗范围^[41]。干细胞外泌体的研究可能会解决一些直接应用干细胞进行治疗的障碍,但其分离方法较为困难,治疗机制以及注射后的长期疗效也尚未阐明。在大规模临床试验之前,必须建立起规范的检验标准,诸如国际勃起功能指数和勃起硬度量表。相信随着ED相关机制的研究不断进行以及对于干细胞及其衍生物的认识不断深入,干细胞疗法将会在ED的治疗中发挥更加重要的作用。

参 考 文 献

- [1] 张凯,刘德风,姜辉,等.不同年龄勃起功能障碍患者勃起功能的调查[J].中国性科学,2014,23(2):21-23.
- [2] SHIN D, PREGENZER GJ, GARDIN JM. Erectile dysfunction: a disease marker for cardiovascular disease[J]. *Cardiol Rev*, 2011, 19(1): 5-11.
- [3] MULHALL JP, BIVALACQUA TJ, BECHER EF. Standard operating procedure for the preservation of erectile function outcomes after radical prostatectomy[J]. *J Sex Med*, 2013, 10(1): 195-203.
- [4] GOKCE A, PEAK TC, ABDEL-MAGEED AB, et al. Adipose tissue-derived stem cells for the treatment of erectile dysfunction[J]. *Curr Urol Rep*, 2016, 17(2): 14.
- [5] KIEFER JC. Primer and interviews: The dynamic stem cell niche[J]. *Dev Dyn*, 2011, 240(3): 737-743.
- [6] ZHANG H, ALBERSEN M, JIN X, et al. Stem cells: novel players in the treatment of erectile dysfunction[J]. *Asian J Androl*, 2012, 14(1): 145-155.
- [7] ALBERSEN M, FANDEL TM, 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.
- [8] RUBINA K, KALININA N, EFIMENKO A, et al. Adipose stromal cells stimulate angiogenesis via promoting progenitor cell differentiation, secretion of angiogenic factors, and enhancing vessel maturation[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(8): 2039-2050.
- [9] BOCHINSKI D, LIN GT, NUNES L, et al. The effect of neural embryonic stem cell therapy in a rat model of cavernous nerve injury[J]. *BJU Int*, 2004, 94(6): 904-909.
- [10] ABDEL AM, EL-HAGGAR S, MOSTAFA T, et al. Effect of mesenchymal stem cell penile transplantation on erectile signaling of aged rats[J]. *Andrologia*, 2010, 42(3): 187-192.
- [11] 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.
- [12] RYU JK, KIM DH, SONG KM, 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.
- [13] ZHANG H, ZHENG W, SHEN Y, et al. Experimental evidence showing that no mitotically active female germline progenitors exist in postnatal mouse ovaries[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(31): 12580-12585.
- [14] MORIZONO K, DE UGARTE DA, ZHU M, et al. Multilineage cells from adipose tissue as gene delivery vehicles[J]. *Hum Gene Ther*, 2003, 14(1): 59-66.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] QIU X, LIN G, XIN Z, et al. Effects of low-energy shockwave therapy on the erectile function and tissue of a diabetic rat model[J]. *J Sex Med*, 2013, 10(3): 738-746.
- [18] ZHOU F, HUI Y, XU Y, et al. Effects of adipose-derived stem cells plus insulin on erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Int Urol Nephrol*, 2016, 48(5): 657-669.
- [19] ZHANG Y, YANG J, ZHUAN L, et al. Transplantation of adipose-derived stem cells overexpressing inducible nitric oxide synthase ameliorates diabetes mellitus-induced erectile dysfunction in rats[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7507.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] ZHANG Y, MCNEILL E, TIAN H, *et al*. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction[J].*J Urol*, 2008, 180(5):2226-2233.
- [23] BODIN A, BHARADWAJ S, WU S, *et al*. Tissue-engineered conduit using urine-derived stem cells seeded bacterial cellulose polymer in urinary reconstruction and diversion[J].*Biomaterials*, 2010, 31(34):8889-8901.
- [24] WU S, WANG Z, BHARADWAJ S, *et al*. Implantation of autologous urine derived stem cells expressing vascular endothelial growth factor for potential use in genitourinary reconstruction[J].*J Urol*, 2011, 186(2):640-647.
- [25] BHARADWAJ S, LIU G, SHI Y, *et al*. Characterization of urine-derived stem cells obtained from upper urinary tract for use in cell-based urological tissue engineering[J].*Tissue Eng Part A*, 2011, 17(15-16):2123-2132.
- [26] GUAN JJ, NIU X, GONG FX, *et al*. Biological characteristics of human-urine-derived stem cells: potential for cell-based therapy in neurology[J].*Tissue Eng Part A*, 2014, 20(13-14):1794-1806.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] ALBERSEN M, KENDIRCI M, VAN DER AA F, *et al*. Multipotent stromal cell therapy for cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction [J].*J Sex Med*, 2012, 9(2): 385-403.
- [30] CHEN F, ZHANG H, WANG Z, *et al*. Adipose-derived stem cell-derived exosomes ameliorate erectile dysfunction in a rat model of type 2 diabetes [J].*J Sex Med*, 2017, 14(9):1084-1094.
- [31] OUYANG X, HAN X, CHEN Z, *et al*. MSC-derived exosomes ameliorate erectile dysfunction by alleviation of corpus cavernosum smooth muscle apoptosis in a rat model of cavernous nerve injury [J].*Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1):246.
- [32] OUYANG B, XIE Y, ZHANG C, *et al*. Extracellular vesicles from human urine-derived stem cells ameliorate erectile dysfunction in a diabetic rat model by delivering proangiogenic microRNA [J].*Sex Med*, 2019, 7(2): 241-250.
- [33] 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.
- [34] AL D S, JAFAR H, ADWAN S, *et al*. Safety and potential therapeutic effect of two intracavernous autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells injections in diabetic patients with erectile dysfunction: an open label phase I clinical trial[J].*Urol Int*, 2018, 101(3):358-365.
- [35] YIOU R, 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.
- [36] YIOU R, 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.
- [37] HAAHR MK, JENSEN CH, TOYSERKANI NM, *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.
- [38] HAAHR MK, HARKEN JC, TOYSERKANI NM, *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, 121:203-206.
- [39] OLIVEIRA PH, BOURA JS, ABECASIS MM, *et al*. Impact of hypoxia and long-term cultivation on the genomic stability and mitochondrial performance of ex vivo expanded human stem/stromal cells [J].*Stem Cell Res*, 2012, 9(3):225-236.
- [40] LIU S, ZHOU J, ZHANG X, *et al*. Strategies to optimize adult stem cell therapy for tissue regeneration [J].*Int J MolSci*, 2016, 17(6):982.
- [41] SOEBADI MA, MILENKOVIC U, WEYNE E, *et al*. Stem cells in male sexual dysfunction: are we getting somewhere?[J].*Sex Med Rev*, 2017, 5(2):222-235.

(收稿日期:2019-09-27; 编辑:王蔚)