

叶妙勇,张杰,赵凡. 阴茎海绵体细胞原代培养及鉴定研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(12): 116-122.

Ye MY, Zhang J, Zhao F. Research progress in primary culture and identification of penile cavernosum cells [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(12): 116-122.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.12.012

阴茎海绵体细胞原代培养及鉴定研究进展

叶妙勇¹, 张杰², 赵凡^{3,4*}

(1.温州医科大学附属温岭医院泌尿外科,浙江 温岭 317500;2.浙江中医药大学第一临床医学院,杭州 310053;
3.南通大学附属医院泌尿外科,江苏 南通 226001;4.国家中西医协同“旗舰”建设科室(泌尿外科),江苏 南通 226001)

【摘要】 阴茎海绵体原代细胞分离与培养是研究勃起功能障碍(ED)病理机制的关键技术手段之一。本文详细综述了阴茎海绵体中平滑肌细胞(CSMCs)、内皮细胞(CECs)、周细胞(CPs)和成纤维细胞(CFs)等主要细胞类型的分离与培养方法,包括酶消化法、组织贴壁法、免疫磁珠法及基质胶诱导法等,并对各方法的优、缺点进行比较,同时,总结不同类型原代细胞的鉴定技术。本文系统归纳细胞培养和鉴定方法,为深入研究阴茎海绵体细胞在ED的发生发展及治疗中的作用提供了一定的技术支持和参考。

【关键词】 勃起功能障碍;原代细胞培养;海绵体平滑肌细胞;海绵体内皮细胞;海绵体周细胞;海绵体肌成纤维细胞

【中图分类号】 R697;R339.2⁺;R329-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2025)12-0116-07

Research progress in primary culture and identification of penile cavernosum cells

YE Miaoyong¹, ZHANG Jie², ZHAO Fan^{3,4*}

(1. Department of Urology, the Affiliated Wenling Hospital of Wenzhou Medical University, Wenling 317500, China.
2. the First School of Clinical Medicine, Zhejiang University of Chinese Medicine, Hangzhou 310053. 3. Department of Urology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001. 4. National Flagship Construction Department of Collaboration Between Traditional Chinese Medicine and Western Medicine (Urology Department), Nantong 226001)

【Abstract】 The primary isolation and culture of penile corpus cavernosum cells are key techniques for studying the pathological mechanisms of erectile dysfunction (ED). This review summarizes the isolation and culture method of the major cell types in the penile corpus cavernosum, including smooth muscle cells, endothelial cells, pericytes, and fibroblasts. We discuss commonly used techniques, including enzymatic digestion, tissue explantation, immunomagnetic bead separation, and Matrigel induction, and compare their advantages and disadvantages. We also summarize the method for identifying different cell types. This systematic review of cell culture and identification techniques thus provides technical support and references for further research into the roles of penile corpus

【基金项目】 国家自然科学基金(82004360);国家中西医协同“旗舰”科室(泌尿外科)建设项目(国中医药综合函[2024]221号);中华中医药学会青年人才托举工程项目(CACM-2023-QNRC2-B21);南通市卫生健康委员会科研课题(MS2023020);浙江省中医药科技计划项目(2024ZL200);台州市科技计划项目(2022S00124)。

【作者简介】 叶妙勇(1993—),男,住院医师,研究方向:泌尿外科及男科基础与临床。E-mail:yemiaoyong1993@163.com

【通信作者】 赵凡(1989—),男,博士,主治医师,研究方向:泌尿外科及男科基础与临床。E-mail:zhaofan@ntu.edu.cn

cavernosum cells in the onset, progression, and treatment of ED.

【Keywords】 erectile dysfunction; primary cell culture; cavernosal smooth muscle cells; cavernosal endothelial cells; cavernosal pericytes; cavernosal fibroblasts

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

男性正常勃起时,阴茎海绵体的舒缩功能受到心理、神经、激素和血流动力等多种因素的共同调控^[1]。作为勃起反应的效应器官^[2],阴茎海绵体主要由海绵体平滑肌细胞(cavernosal smooth muscle cells, CSMCs)、海绵体内皮细胞(cavernosal endothelial cells, CECs)、海绵体周细胞(cavernosal pericytes, CPs)和海绵体成纤维细胞(cavernosal fibroblasts, CFs)等组成^[3]。上述细胞在调节阴茎血流和控制勃起过程中发挥关键作用。

原代细胞培养技术能够较好地保留细胞的原始生理特性,是研究基因表达、癌基因激活、耐药机制以及药物开发等领域的重要手段^[4]。在勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)研究中,基于阴茎海绵体原代细胞的体外实验模型有助于解析一氧化氮-环磷酸鸟苷(NO-cGMP)信号通路、氧化应激及纤维化等关键信号及病理生理环节。此外,人源性细胞的培养与鉴定,能更贴近临床实际,为药物筛选、组织工程及个性化治疗提供重要参考^[5]。目前,研究者多从 CSMCs、CECs、CPs 和 CFs 入手,探讨这些细胞类型的分子基础及其在组织工程学中的应用^[6]。基于此,本文结合国内外文献,系统综述研究中常用阴茎海绵体原代细胞的分离与培养技术,为相关研究提供参考和指导。

1 阴茎海绵体组织中不同种类原代细胞分离、培养

1.1 CSMCs 的分离与培养

CSMCs 是阴茎海绵体中的主要细胞类型,占海绵体组织细胞总数的 38.5%~52.0%。它们通过收缩和舒张调节阴茎内血流量^[7,8],从而控制勃起。1988 年,KRALL 等^[8]首次分离出人源 CSMCs 用于体外实验,证实了药物对 CSMCs 收缩与舒张的调节是控制男性勃起功能的关键。CSMCs 的获取通常采用酶消化法和组织贴壁法两种方法。酶消化法通过使用胰蛋白酶和 I 型或

II 型胶原酶处理阴茎海绵体组织,从而快速分离出大量细胞。LIAO 等^[9]研究了 JNK/Bcl-2/Bax 通路海绵体神经挤压伤后早期海绵体平滑肌细胞凋亡的关系。他们将 SD 大鼠的阴茎海绵体组织切成 1 mm³ 的小块,并置于含 0.5% I 型胶原酶的溶液中,在 37 °C 恒温培养箱中消化 3~4 h,以促进细胞分离。消化完成后,通过细胞筛网过滤消化液,收集所得细胞悬浮液并离心。细胞沉淀置于含 20% 胎牛血清、青霉素和链霉素的 DMEM 培养基中,接种到 25 cm² 的培养瓶中,并在 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。当细胞密度达到 70%~80% 时,使用 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 溶液消化细胞后进行传代,供后续实验使用。酶消化法虽能快速获得大量 CSMCs,但在消化过程中,酶的作用可能损伤细胞,并且其效果易受消化时间、组织大小以及振荡频率等因素的影响。为避免这些问题,部分研究选择组织贴壁法。

组织贴壁法通过让细胞从组织块中自然迁移爬出,以获取 CSMCs,从而避免了酶消化可能带来的细胞损伤。MARTIN 等^[10]从接受前列腺切除术的患者及糖尿病或佩罗尼氏病患者的阴茎海绵体组织中采集样本,探讨音猬因子(Sonic hedgehog, SHH)蛋白在促进海绵体平滑肌再生中的作用。将海绵体组织切割成约 1 mm³ 的小块,均匀铺放在 25 cm² 培养瓶底部。在 37 °C、5% CO₂ 的条件下,倒置培养 2 h 以促进组织附着,随后将培养瓶正置,加入培养基继续培养,最后使用胰蛋白酶进行传代。

鼠源性和人源性 CSMCs 的贴壁培养方法在细节上存在差异。鼠源性 CSMCs 使用高葡萄糖 DMEM 培养基,并通过直接贴壁法促进组织块的附着和细胞迁移^[11]。而人源性 CSMCs 采用 DMEM/F12 培养基,并使用改进的“半干法”贴壁方法,以增强组织块的附着稳定性^[10]。尽管贴壁培养法操作简便,但细胞生长周期较长且纯度相对较低^[12]。

1.2 CECs 的分离与培养

CECs 位于腔隙内表面,通过 NO-cGMP 信号

传导途径释放 NO, 调节覆盖于 CECs 下层平滑肌的张力继而调控阴茎勃起^[13,14]。与 CSMCs 类似, CECs 的常用分离方法包括酶消化法、基质胶诱导法和免疫磁珠法。酶消化法通常将阴茎海绵体组织使用胶原酶或弹性蛋白酶进行消化。消化后, 细胞悬液通过 100 μm 过滤筛过滤, 离心收集细胞, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养。约 10 d 后, 细胞即可铺满皿底^[15]。

1986 年 CARSON 等^[16]首次从人阴茎海绵体分离出 CECs, 并指出常规的机械吹打和酶分离方法不适用于 CECs 的分离。PILATZ 等^[17]则选择酶消化联合机械吹打的方法成功培养出人源 CECs, 使用 0.05% 弹性蛋白酶消化海绵体组织碎片使 CECs 从组织中分离出来, 随后用 10 mL 玻璃移液管进行机械吹打提高 CECs 的产量及浓度。然而, YIN 等^[18]使用相同方法分离小鼠 CECs 时未达到预期效果并且分离出的 CECs 含有大量成纤维细胞, 其认为物种差异性可能对分离与培养造成偏差。

为提高分离效率和细胞纯度, CHEN 等^[19]首次在 SD 大鼠上采用了酶消化、机械挤压和定点消化结合的方法, 使用弹性蛋白酶与胶原酶 II 代替单一酶处理, 且每隔 5~10 min 进行机械挤压以加速细胞释放。培养 10 d 后, 通过定点消化法进一步纯化内皮细胞, 最终, 第三代细胞通过免疫荧光染色和流式细胞检测, 纯度达 96.9%。

鉴于内皮细胞其位于血管内表面、易受生长因子刺激增殖的特点^[3], YIN 等^[18]建立了一种小鼠 CECs 培养体系, 他将阴茎海绵体组织植入含 VEGF-A 的 Matrigel 基质中, 诱导内皮细胞萌芽生长。然后在含 20% 胎牛血清、肝素和 VEGF-A 的 M199 培养基中, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的环境培养 2~3 周, 待内皮细胞覆盖培养皿底部后进行培养。该方法无需酶处理, 能有效保持细胞形态和功能, 获得高纯度内皮细胞。

此外, 也有学者通过酶消化后结合抗体标记的磁珠筛选分离 CECs^[20], 尽管此法可获得高纯度细胞, 但因操作复杂、细胞产量低而较少采用。

1.3 CFs 的分离与培养

CFs 属于间充质细胞, 具有平滑肌细胞的特性。在正常情况下促进胶原蛋白合成和组织修复, 但在异常情况下可能导致胶原过度沉积, 诱

发阴茎纤维化和勃起功能障碍^[21,22]。最新研究表明, 成纤维细胞通过调节去甲肾上腺素的水平, 促进血管扩张, 从而增强阴茎血流^[23]。佩罗尼氏病特点为阴茎海绵体白膜的纤维化^[21]。白膜纤维化的发生与 CFs 的异常增殖和活化密切相关, 因此, CFs 的研究通常采用从临床获取阴茎海绵体的白膜组织, 并通过酶消化法分离和培养人源 CFs。MULHALL 等^[24]将取自佩罗尼氏病患者阴茎的白膜组织置于 0.5% 胶原酶溶液中, 随后通过离心去除未完全消化的组织, 收集细胞团和未释放的细胞。为了进一步纯化 CFs, 研究者可采用磁性分选技术 (magnetic-activated cell sorting, MACS) 去除 CECs 和 CSMCs^[25]。所得细胞沉淀和组织块被转移至组织培养瓶中, 加入基础培养基 (MEM 或 DMEM, 含 10% 胎牛血清、1% 谷氨酰胺和 1% 抗生素), 并更换新鲜培养基。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下继续培养, 直至细胞达到 50%~70% 汇合度。随后, 使用 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 分离细胞, 再将其转移至 T75 培养瓶中扩增, 细胞可在 10 代内稳定维持。

1.4 CPs 的分离与培养

CPs 又称为 Rought 细胞或壁细胞, 因其围绕并贴附在微血管周围得名, 在微血管分支的形成与稳态中发挥重要作用^[26,27]。CPs 内含有肌动蛋白 (Actin)、结蛋白 (Desmin)、肌球蛋白 (Myosin)、原肌球蛋白 (Tropomyosin) 等多种与收缩相关的蛋白质^[28], 因此 CPs 可能参与调控血管管径和血流量, 从而影响勃起时的供血。由于 CPs 与 CECs 在海绵体组织中相互附着, 其分离方法和稳定性与 CECs 有一定相似之处。YIN 等^[26]将小鼠海绵体组织碎块放置于涂有胶原蛋白的培养皿中, 待细胞从组织中分离后, 将其置于含 10 nm/mL 人色素上皮衍生因子的 DMEM 培养液中分离出周细胞。分离的周细胞用于体外血管生成实验, 结果显示, 在正常糖环境下, 形成了良好的毛细血管样结构, 而在高糖环境下则显著减少。

2 阴茎海绵体组织中不同种类原代细胞鉴定

2.1 CSMCs、CFs 鉴定

虽然 CSMCs 分离培养技术成熟, 但不论采用

哪种方法都不可避免地混有 CFs、CEs 等。培养初期 CSMCs 散在分布,正常生长的 CSMCs 呈现长梭形,亦可见星形;随着细胞逐渐生长融合,各个区域分别出现单层排列或多层重叠排列,其排列开始呈现方向性且多为平行排列,当细胞生长密度较高时,其排列成旋涡状,细胞间相互交错融合,部分区域重叠生长,部分区域单层生长,呈现出“峰谷样”特征^[12]。采用酶消化法分离的 SD 大鼠 CSMCs 在传代至 6 代时仍能保持长梭形的典型平滑肌细胞形态。但超过 6 代后,细胞逐渐出现胞体增大、胞质内颗粒沉积,部分细胞从梭形转变为星形,增殖速度较前 4 代降低^[1]。

由于 CFs 与 CSMCs 在形态上极其相似^[8],显微镜下通过肉眼难以区分,因此目前鉴定实验多通过免疫荧光法检测 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、碱性调宁蛋白(Calponin)、Myosin、Desmin 用以区别 CFs。因为 Desmin、Calponin 在 CFs 中几乎不表达^[29,30],所以鉴定二者时 Desmin 与 Calponin 是不可或缺的指标。最近研究表明 SLC1A3、Col1 α 1、PDGFR α 和 S100A4 是转基因小鼠 CFs 中的阳性标志物,可用于区分 CSMCs 与 CECs^[23]。在体外培养过程中,CFs 的传代次数对细胞特性和功能影响很大。尼氏病相关 CFs 的研究,通常会选择 5~12 代的低传代细胞,因为这些细胞能较好地保持肌成纤维细胞的特性,如持续表达 α -SMA 蛋白,也能维持分泌促纤维化因子的能力。相比之下,当 CFs 传代超过 12 代后,分泌碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的能力就会明显减弱^[2]。

另一项研究把 CFs 传代控制在 10 代以内,结果发现,超过这个代数的细胞,对转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)诱导的肌成纤维细胞转化反应变得不敏感^[3]。单细胞测序技术还发现,CFs 包含 Dnah5+、Cxcl12+、Gjal+ 等不同细胞亚群。但如果传代超过 15 代,这些亚群的比例就会失调,其中 Cxcl12+ 亚群的数量会大幅减少^[4]。

此外,原代 CFs 在体外培养到 10~15 代时,会出现衰老迹象,如细胞体积变大、分裂速度变慢,衰老相关 β -半乳糖苷酶(senescence-associated β -galactosidase, SA- β -gal)活性增强,像

p16INK4a 这类抑制细胞周期的蛋白表达量也会上升^[3,4]。

2.2 CECs 鉴定

原代培养的 CECs 通常呈现典型的铺路石样或鹅卵石样形态^[18]。但是刚分离出的第一代人源 CECs 并未表现出典型的鹅卵石样外观,而是呈现细长的纺锤形,形态与 CSMCs 及 CFs 相似。直至第 3 代,CECs 的形态才逐渐趋于典型^[5]。通过免疫荧光或蛋白免疫印迹技术检测 CECs 标志蛋白(如 CD31、CD34 和 vWF),并结合流式细胞术评估细胞纯度,可确保样本的可靠性^[5,19]。但 CD34 蛋白在第 2 代时已明显下降,第 5 代时超过 60% 的 CECs 失去内皮细胞的荧光标记。所以建议选用第 1~4 代的人源 CECs 进行体外实验^[5]。

2.3 CPs 鉴定

人源原代 CPs 培养时呈现出典型的四周投射生长形态^[5],作为具有异质性的多能细胞,CPs 可以被多种标志物标记,但并非同时表达所有标记蛋白。其标记物的表达会因发育阶段、器官组织、微血管网结构以及体内外条件的不同而有所差异。因此,需要结合多种标志物来对 CPs 进行准确鉴定。血小板衍生生长因子受体蛋白(platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR β)、神经胶质抗原(neural glial antigen 2, NG-2)、CD146、RGS5、 α -SMA、Desmin、CD13 等均能对 CPs 进行标记,但周细胞并无特异性标记蛋白,如 PDGFR β 可在成纤维细胞显著表达、NG2 在巨噬细胞高表达、Desmin 则是平滑肌细胞的特异性标志蛋白^[28]。YIN 等^[26]首次证实了 CPs 存在于人体海绵体组织,并成功分离培养小鼠 CPs,同时鉴定结果表明 NG2、 α -SMA、PDGFR β 可成功标记小鼠阴茎 CPs。

在体外培养人 CPs 时,细胞的传代次数不是无限的。研究发现,用组织贴壁法培养 CPs,前 4 代细胞还能稳定表达 PDGFR β 、NG2 等特征性蛋白,保持 CPs 该有的形态和功能。但到第 5 代,超过 60% 的 CPs 就不再表达这些标志性蛋白了。因此,CPs 在实验室培养条件下,一般建议在 2~3 代进行相关实验研究,以确保细胞维持较好的生物学特性^[5]。

3 总结与展望

ED 是男性常见的健康问题,严重影响患者

的生活质量、心理健康和家庭和谐。CSMCs、CECs、CPs 和 CFs 的功能异常是 ED 发生的关键细胞病理基础,基于细胞分子层面开展的研究,对揭示 ED 发病机制及评估治疗方法与疗效具有重要意义。其中,CSMCs 的衰老与凋亡机制研究最为深入。IL-17A 蛋白能激活 mTORC2-ACACA 信号通路,促使 CSMCs 老化,增加纤维化相关蛋白的分泌,进而加重神经源性 ED 患者的海绵体纤维化^[31];长链非编码 RNA H19 则通过 JNK 信号通路,促使 CSMCs 凋亡,参与神经损伤后 ED 的发病过程^[9]。在糖尿病 ED 模型中,Nesfatin-1 蛋白激活 PI3K/AKT/mTOR 通路后,能推动 CSMCs 向收缩型表型转换,不仅改善 2 型糖尿病小鼠的糖代谢紊乱,还可显著提升其勃起功能^[32]。

作为神经-血管单元的核心组分,CPs 数量减少或功能异常会破坏血管生成与神经再生,加重 ED 病情^[26];单细胞转录组分析证实,糖尿病状态下 CPs 中 Lbh 等关键基因表达下调,直接导致其与 CECs 的交互作用减弱^[33]。此外,CFs 通过调控去甲肾上腺素水平及细胞外基质稳态参与勃起调控,其异常活化仍是佩罗尼氏病等纤维化相关 ED 的重要病理基础^[23]。

目前,海绵体原代细胞的分离方法已相对成熟,常用技术包括酶消化法、磁珠分离法和组织贴壁培养法等,每种方法各有优缺点。酶消化法可快速获得大量细胞,但可能损害细胞表面蛋白和功能特性,且影响细胞活力;磁珠或机械分离法操作较为复杂,产量较低,但细胞纯度较高;组织贴壁培养法操作简单,但周期较长,且获得的细胞数量较少。

细胞鉴定对于原代分离的阴茎细胞至关重要,目标细胞的纯度越高,后续实验研究结果的准确性也越高。因此,原代分离目标细胞时,需同时采用多种细胞标记物进行区分与鉴定。在阴茎海绵体原代细胞培养研究中,传代次数和细胞纯度对实验结果具有重要影响。随着传代次数的增加,细胞的分化能力逐渐下降,功能特性丧失,表型发生漂移,这些变化可能会影响实验结果的可靠性。

原代细胞培养技术为 ED 机制研究和药物研发提供了重要平台。基于 CSMCs 建立的体外模

型,可用来评估 PDE5 抑制剂的舒张效果,以及研究相关信号通路的调控机制^[9,31];将 CECs 和 CPs 共同培养,能够模拟血管生成的微环境,有助于筛选促进神经-血管再生的候选药物^[26,33]。值得一提的是,人类尿源干细胞(human urine-derived stem cells, USCs)容易获取,并且具有多向分化能力。它能通过诱导海绵体内 CECs 自噬,改善糖尿病 ED 患者的血管功能;将其与基质胶诱导的 CECs 共同移植的策略,已在动物实验中展现出促进血管生成的潜力^[34]。

基因编辑和非编码 RNA 调控技术为 ED 治疗带来了新方法。LncRNA MALAT1 能“吸附”miR-206,解除 miR-206 对 CDC42/PAK1/paxillin 信号轴的抑制作用,促进骨髓间充质干细胞向内皮细胞分化,改善 ED 模型中的血管再生情况^[35];CRISPR-Cas9 技术可敲除 CSMCs 中 JNK 通路相关基因,抑制高糖环境下细胞的凋亡^[9];腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)介导的基因递送系统,能靶向调控 CPs 中的 Notch 信号,促进血管生成^[26]。将这些技术与单细胞转录组分析相结合,有助于精准分析细胞异质性在 ED 发病中的作用。

不过,获取和培养人源原代细胞存在诸多困难,严重制约了相关研究的进展。目前临床样本主要来自阴茎癌手术切缘组织或假体植入术废弃组织,这些样本受患者年龄、基础疾病等因素影响较大。此外,培养体系缺乏统一标准,模型转化也存在障碍。不同实验室在酶消化时间(2~6 h)、血清浓度(10%~20%)等培养条件上存在差异,导致实验结果缺乏可比性。基因编辑技术在临床应用时也面临安全性问题,CRISPR 可能出现脱靶效应,病毒载体具有免疫原性,可能引发海绵体炎症,局部递送效率低也限制了基因编辑工具的使用。未来,研究应重点开发人源细胞替代技术,比如将诱导多能干细胞定向分化为具有海绵体功能的细胞,并结合类器官模型模拟三维微环境。还需要建立国际共识,统一细胞来源、培养条件和鉴定标准,通过绘制单细胞转录组图谱,明确“功能正常”原代细胞的标准。在优化基因编辑技术方面,要关注局部递送系统的开发,如用纳米脂质体包裹 CRISPR 组件,采用双靶点策略同时调控代谢异常和纤维化通路,并结合

单细胞多组学技术,深入解析细胞异质性调控网络,为 ED 的精准治疗寻找新靶点。

参考文献:

- [1] DAI Q, SILVERSTEIN A D, DAVIES M G, et al. Systemic basic fibroblast growth factor induces favorable histological changes in the corpus cavernosum of hypercholesterolemic rabbits [J]. *J Urol*, 2003, 170(2 Pt 1): 664-668.
- [2] CHRIST G J, LUE T. Physiology and biochemistry of erections [J]. *Endocrine*, 2004, 23(2/3): 93-100.
- [3] GOLDSTEIN A M, PADMA-NATHAN H. The microarchitecture of the intracavernosal smooth muscle and the cavernosal fibrous skeleton [J]. *J Urol*, 1990, 144(5): 1144-1146.
- [4] RICHTER M, PIWOCKA O, MUSIELAK M, et al. From donor to the lab: a fascinating journey of primary cell lines [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 711381.
- [5] YIN G N, OCK J, CHOI M J, et al. A simple and nonenzymatic method to isolate human corpus cavernosum endothelial cells and pericytes for the study of erectile dysfunction [J]. *World J Mens Health*, 2020, 38(1): 123-131.
- [6] ZOU Q, FU Q. Tissue engineering for urinary tract reconstruction and repair: Progress and prospect in China [J]. *Asian J Urol*, 2018, 5(2): 57-68.
- [7] 冀小卫, 刘黎明, 张爱平, 等. 糖尿病性勃起功能障碍与阴茎海绵体平滑肌细胞表型转化的相关研究进展 [J]. *中医临床研究*, 2023, 15(31): 34-38.
- JI X W, LIU L M, ZHANG A P, et al. A review on the correlation between diabetic erectile dysfunction and phenotypic transformation of corporal cavernous smooth muscle cell [J]. *Clin J Chin Med*, 2023, 15(31): 34-38.
- [8] KRALL J F, FITTINGOFF M, RAJFER J. Characterization of cyclic nucleotide and inositol 1, 4, 5-trisphosphate-sensitive calcium-exchange activity of smooth muscle cells cultured from the human corpora cavernosa [J]. *Biol Reprod*, 1988, 39(4): 913-922.
- [9] LIAO K, CHEN J, FAN L, et al. Long noncoding RNA H19 promotes the apoptosis of corpus cavernosum smooth muscle cells after cavernosal nerve injury *via* JNK signalling pathway [J]. *Andrologia*, 2021, 53(8): e14089.
- [10] MARTIN S, DENG J, SEARL T, et al. Sonic hedgehog signaling in primary culture of human corpora cavernosal tissue from prostatectomy, diabetic, and peyronie's patients [J]. *J Sex Med*, 2022, 19(8): 1228-1242.
- [11] LV B, ZHAO J, YANG F, et al. Phenotypic transition of corpus cavernosum smooth muscle cells subjected to hypoxia [J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 357(3): 823-833.
- [12] 黄晓军, 年建华, 吕伯东. SD 大鼠阴茎平滑肌细胞的获取和体外培养 [J]. *中国男科学杂志*, 2009, 23(9): 21-24.
- HUANG X J, NIAN J H, LV B D. Isolation and culture *in vitro* of smooth muscle cells in SD rat corpus cavernosum [J]. *Chin J Androl*, 2009, 23(9): 21-24.
- [13] BIVALACQUA T J, USTA M F, CHAMPION H C, et al. Endothelial dysfunction in erectile dysfunction: role of the endothelium in erectile physiology and disease [J]. *J Androl*, 2003, 24(6 Suppl): S17-S37.
- [14] 马洁桦, 程童大, 潘连军, 等. 内皮损伤与勃起功能障碍研究进展 [J]. *中华男科学杂志*, 2011, 17(8): 734-738.
- MA J H, CHENG T D, PAN L J, et al. Endothelial injury and erectile dysfunction [J]. *Natl J Androl*, 2011, 17(8): 734-738.
- [15] 陈颖, 杜子君, 李世雄, 等. 阴茎海绵体内皮细胞原代培养技术的研究进展 [J]. *中国男科学杂志*, 2023, 37(1): 99-102, 124.
- CHEN Y, DU Z J, LI S X, et al. Research progress on primary culture technology of corpus cavernosum endothelial cells [J]. *Chin J Androl*, 2023, 37(1): 99-102, 124.
- [16] CARSON M P, HAUDENSCHILD C C. Microvascular endothelium and pericytes: high yield, low passage cultures [J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1986, 22(6): 344-354.
- [17] PILATZ A, SCHULTHEISS D, GABOUEV A I, et al. Isolation of primary endothelial and stromal cell cultures of the corpus cavernosum penis for basic research and tissue engineering [J]. *Eur Urol*, 2005, 47(5): 710-719.
- [18] YIN G N, RYU J K, KWON M H, et al. Matrigel-based sprouting endothelial cell culture system from mouse corpus cavernosum is potentially useful for the study of endothelial and erectile dysfunction related to high-glucose exposure [J]. *J Sex Med*, 2012, 9(7): 1760-1772.
- [19] CHEN Y, QI T, ZHU S G, et al. Culture and purification of SD rat corpus cavernosum endothelial cells by enzymatic digestion combined with mechanical extrusion and fixed-point digestion [J]. *Andrologia*, 2021, 53(10): e14194.
- [20] 张范波, 姜睿. 改良免疫磁珠结合克隆法培养 SD 大鼠阴茎海绵体内皮细胞 [J]. *中华男科学杂志*, 2017, 23(6): 503-509.
- ZHANG F B, JIANG R. Culture of SD rat cavernous endothelial cells by improved immunomagnetic beads combined with cloning method [J]. *Natl J Androl*, 2017, 23(6): 503-509.
- [21] 李志然, 马利民. Peyronie 病发病机制研究进展 [J]. *南通大学学报(医学版)*, 2018, 38(3): 206-210.
- LI Z R, MA L M. Research progress in the pathogenesis of Peyronie's disease [J]. *J Nantong Univ Med Sci*, 2018, 38

- (3): 206–210.
- [22] MATEUS M, ILG M M, STEBBEDS W J, et al. Understanding the role of adenosine receptors in the myofibroblast transformation in Peyronie's disease [J]. *J Sex Med*, 2018, 15(7): 947–957.
- [23] GUIMARAES E L, DIAS D O, HAU W F, et al. Corpora cavernosa fibroblasts mediate penile erection [J]. *Science*, 2024, 383(6683): eade8064.
- [24] MULHALL J P, THOM J, LUBRANO T, et al. Basic fibroblast growth factor expression in Peyronie's disease [J]. *J Urol*, 2001, 165(2): 419–423.
- [25] PILATZ A, SCHULTHEISS D, GABOUEV A I, et al. *In vitro* viability of human cavernosal endothelial and fibroblastic cells after exposure to papaverine/phentolamine and prostaglandin E1 [J]. *BJU Int*, 2005, 95(9): 1351–1357.
- [26] YIN G N, DAS N D, CHOI M J, et al. The pericyte as a cellular regulator of penile erection and a novel therapeutic target for erectile dysfunction [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10891.
- [27] 周明宽, 张亚东, 涂响安. 周细胞在泌尿生殖系统中的作用 [J]. *中华男科学杂志*, 2014, 20(12): 1126–1130. ZHOU M K, ZHANG Y D, TU X A. Roles of pericytes in the urological and reproductive systems [J]. *Nat J Androl*, 2014, 20(12): 1126–1130.
- [28] HARRELL C R, SIMOVIC MARKOVIC B, FELLABAUM C, et al. Molecular mechanisms underlying therapeutic potential of pericytes [J]. *J Biomed Sci*, 2018, 25(1): 21.
- [29] KOVANE CZ I, NOLAZCO G, FERRINI M G, et al. Early onset of fibrosis within the arterial media in a rat model of type 2 diabetes mellitus with erectile dysfunction [J]. *BJU Int*, 2009, 103(10): 1396–1404.
- [30] KOLODSICK J E, PETERS-GOLDEN M, LARIOS J, et al. Prostaglandin E2 inhibits fibroblast to myofibroblast transition *via* E. prostanoid receptor 2 signaling and cyclic adenosine monophosphate elevation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 29(5): 537–544.
- [31] YANG W, FANG J, ZHAI J, et al. IL-17A exacerbates corpus cavernosum fibrosis and neurogenic erectile dysfunction by inducing CSMC senescence *via* the mTORC2-ACACA pathway [J]. *BMC Med*, 2024, 22(1): 376.
- [32] CHEN K, HUANG B, FENG J, et al. Nesfatin-1 regulates the phenotype transition of cavernous smooth muscle cells by activating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway to improve diabetic erectile dysfunction [J]. *PLoS One*, 2024, 19(9): e0304485.
- [33] BAE S G, YIN G N, OCK J, et al. Single-cell transcriptome analysis of cavernous tissues reveals the key roles of pericytes in diabetic erectile dysfunction [J]. *eLife*, 2024, 12: RP88942.
- [34] 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.
- [35] LUO L, WANG Z, TONG X, et al. LncRNA MALAT1 facilitates BM-MSCs differentiation into endothelial cells and ameliorates erectile dysfunction *via* the miR-206/CDC42/PAK1/paxillin signalling axis [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2024, 22(1): 74.

[收稿日期]2025-01-16