

# 低氧环境对大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞表型转化及 MAPK 信号通路相关蛋白表达的影响

陈思翔 赵凡 叶妙勇 朱晨锋 赵剑锋 黄晓军

**【摘要】** 目的 探讨低氧环境对大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞 (CCSMC) 表型转化及 MAPK 信号通路相关蛋白表达的影响。方法 体外培养 SD 大鼠 CCSMC, 采用细胞免疫荧光法对原代 CCSMC 进行鉴定。设常氧组 (21%O<sub>2</sub>) 与低氧组 (1%O<sub>2</sub>) 分别培养 48h, 在倒置显微镜下观察两组 CCSMC 形态学变化; 采用 Western blot 法检测表型转化及 MAPK 信号通路相关蛋白表达。结果 体外培养的 CCSMC 生长良好, 抗  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 和抗肌间线蛋白 (Desmin) 抗体免疫荧光均为阳性, 融合后可观察到大部分细胞, 且细胞核与细胞质重合在一起, 证实分离培养的细胞是同种细胞, 即 CCSMC。常氧组 CCSMC 多呈长梭形, 而低氧干预 48h 后 CCSMC 胞体趋向肥大。与常氧组比较, 低氧组缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )、胶原蛋白 I (Collagen I) 相对表达量均明显升高 (均  $P < 0.05$ ),  $\alpha$ -SMA、磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶 (p-JNK)、磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p-p38 MAPK) 蛋白相对表达量明显降低 ( $P < 0.05$ ), 而磷酸化细胞外信号调节激酶 (p-ERK) 蛋白相对表达量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 低氧可造成 CCSMC 发生表型转化及 p-JNK、p-p38 MAPK 蛋白表达下降。

**【关键词】** 阴茎海绵体平滑肌细胞 低氧 勃起功能障碍 表型转化 p38 丝裂原活化蛋白激酶 细胞外信号调节激酶 c-Jun 氨基末端激酶

Effect of hypoxia on phenotypic transformation and expression of MAPK in corpus cavernosum smooth muscle cells of rats  
CHEN Sixiang, ZHAO Fan, YE Miaoyong, et al. The Second College of Clinical Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

**【Abstract】** Objective To investigate the effect of hypoxia on phenotypic transformation and expression of MAPK signaling pathway in corpus cavernosum smooth muscle cells (CCSMCs) of rats. Methods CCSMCs were cultured in vitro and identified by immunofluorescence staining. The cells cultured in normoxia (21%O<sub>2</sub>) or hypoxia (1%O<sub>2</sub>) for 48 h, respectively. Morphological changes of CCSMC among two groups were observed by inverted microscope. The expressions of proteins related to phenotypic transformation and MAPK signaling pathway were detected by Western blot. Results The CCSMCs showed positive  $\alpha$ -SMA and Desmin in immunofluorescence staining; after merged with each other, most of the cells were observed with the nucleus combined with the cytoplasm. The cells were identified as CCSMCs. The CCSMCs in the normoxia group were mostly long fusiform and CCSMCs tended to be hypertrophic after 48h for hypoxic intervention. Compared with the normoxia group, the relative expressions of HIF-1 $\alpha$  and collagen I in hypoxia group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the relative expressions of  $\alpha$ -SMA, p-JNK and p-p38 MAPK in the hypoxia group were significantly declined ( $P < 0.05$ ), while the relative expression of p-ERK was not significantly changed ( $P > 0.05$ ). Conclusion Hypoxia can induce the phenotypic transformation of CCSMCs and inhibit the expression of p-JNK/JNK and p-p38/p38 MAPK.

**【Key words】** Corpus cavernosum smooth muscle cells Hypoxia Erectile dysfunction Phenotypic transformation p38 mitogen-activated protein kinase Extracellular signal-regulated kinase C-jun N-terminal kinase

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.7.2018-2876

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81874400、81603620); 浙江省自然科学基金项目 (LY17H040013)

作者单位: 310053 杭州, 浙江中医药大学第二临床医学院 (陈思翔、赵凡、叶妙勇、朱晨锋); 浙江中医药大学附属第二医院泌尿外科 (赵剑锋、黄晓军)

通信作者: 黄晓军, E-mail: hxj19682002@126.com

阴茎海绵体内氧含量与勃起功能有着密不可分的联系。目前研究认为,低氧是勃起功能障碍(erec-tile dysfunction, ED)的一个独立危险因素<sup>[1]</sup>。根治性盆腔手术(如根治性前列腺切除术)后患者常常会发生神经性 ED,而低氧与其生理、病理变化有关<sup>[2]</sup>。有研究发现,因根治性前列腺切除术所致的 ED,最主要的发病原因是海绵体神经(cavernous nerve, CN)损伤后,患者夜间生理性勃起受到影响,海绵体内组织缺氧,从而导致阴茎海绵体平滑肌细胞(corpus cavernosum smooth muscle cell, CCSMC)损伤和海绵体纤维化<sup>[3-4]</sup>。动物实验发现,SD 大鼠双侧海绵体神经切除后,CCSMC 中缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )和胶原蛋白 I(Collagen I)表达升高,CCSMC 发生了缺氧和表型转化<sup>[5]</sup>。一些有关 ED 发生机制的研究提示,MAPK 信号通路在其中有着举足轻重的地位<sup>[6]</sup>。但是,低氧状态下 CCSMC 发生表型转化与 MAPK 信号通路之间是否存在联系,目前尚未可知。本研究通过低氧干预 CCSMC,观察低氧状态下大鼠 CCSMC 表型转化及 MAPK 信号通路相关蛋白表达的变化,以探讨低氧环境对大鼠 CCSMC 表型转化及 MAPK 信号通路相关蛋白表达的影响。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物 雄性 SPF 级 SD 大鼠 1 只,6 周龄,体质量 170g。由浙江中医药大学动物实验研究中心提供,许可证号:SYXK(浙)2018-0012。

1.2 主要试剂 DMED/F-12 高糖培养液、FBS(美国 Gibco 公司),胰蛋白酶、胶原酶 I(美国 Sigma 公司),4%多聚甲醛、Triton X-100、异硫氰酸荧光素(SABC-FITC)标记的羊抗小鼠 IgG 和辣根过氧化物酶(HRP)(武汉博士德生物工程有限公司),4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)、RIPA 裂解液、苯甲基磺酰氟(PMSF)、BCA 蛋白定量试剂盒(杭州碧云天公司),兔抗  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、兔抗肌间线蛋白(Desmin)、兔抗  $\beta$ -Actin(杭州华安生物技术有限公司),兔抗 Collagen I(美国 Immunoway 公司),兔抗细胞外信号调节激酶 1 和 2(ERK1/2)及兔抗 p-ERK1/2、兔抗 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)及兔抗 p-p38 MAPK、兔抗 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)及兔抗 p-JNK(美国 Cell Signaling Technology 公司),混合气体 1%O<sub>2</sub>+5%CO<sub>2</sub>+94%N<sub>2</sub>(杭州今工物资有限公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 CCSMC 培养 采用酶消化法培养细胞<sup>[7]</sup>。采取颈椎脱臼法将 SD 大鼠迅速处死,置入 75%乙醇中浸泡

5min,转移至无菌超净台中,迅速切取阴茎于无菌培养皿中,用 4℃预冷的 PBS 冲洗阴茎组织 2 次。在 PBS 中去龟头部分,仔细剥除阴茎外周皮肤、白膜以及尿道海绵体、海绵体间隔和血管。PBS 漂洗 3 次,剪成 1mm $\times$ 1mm $\times$ 1mm 的体积均匀的组织块,然后放入含 0.5%胶原酶 I 溶液的 1.5ml 离心管中,置于 37℃恒温培养箱 3~4h,使组织块基本消化完毕。1 000r/min 离心 5min,弃上清液,在沉淀中加入 1ml 已配制好的含 20% FBS 的 DMEM/F12 高糖培养液,吹打均匀,移至细胞培养瓶,置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中。培养 24h 后,镜下可见贴壁生长的平滑肌细胞。当细胞生长融合达 70%~80%时,用 0.25%胰蛋白酶消化、传代,然后换含 10% FBS 的 DMEM/F12 高糖细胞培养液培养。用于实验的细胞均在 4 代以内。

1.3.2 CCSMC 鉴定 采用免疫荧光法鉴定 CCSMC<sup>[8-9]</sup>。按 2 $\times$ 10<sup>4</sup>/ml 浓度将 CCSMC 铺于 24 孔板中(24 孔板中预先放入无菌圆型盖玻片),置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24h,弃培养液,PBS 洗 3 次,10min/次;加入 4%多聚甲醛,4℃固定 15min,PBS 洗 3 次,10min/次;用 0.5%Triton X-100 室温破膜处理 15min,PBS 洗 3 次,10min/次;血清封闭液室温封闭 1h,分别加入兔抗  $\alpha$ -SMA(1:200)和兔抗 Desmin(1:200)4℃过夜;PBS 洗 3 次,10min/次,生物素化二抗(1:100)置于 37℃恒温培养箱避光孵育 30min;PBS 洗 3 次,10min/次,加入 SABC-FITC(1:100)室温避光孵育 2h;PBS 洗 3 次,10min/次,加入 DAPI(0.5 $\mu$ g/ml)室温避光孵育 15min;PBS 洗 3 次,10min/次,取出盖玻片置于载玻片上,并用抗荧光衰减封片剂封片,在荧光显微镜下观察。

1.3.3 细胞低氧处理 参照 Wu 等<sup>[10]</sup>提出的方法进行细胞低氧处理。按 3 $\times$ 10<sup>4</sup>/ml 浓度将 CCSMC 铺在 6 孔板中;待第 2 天细胞贴壁生长良好后换液;低氧组放入缺氧小室,通入混合气体(1%O<sub>2</sub>+5%CO<sub>2</sub>+94%N<sub>2</sub>);再将缺氧小室放入 37℃恒温培养箱中,低氧培养 48h。同时常氧组置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48h。

1.3.4 CCSMC 表型转化及 MAPK 信号通路相关蛋白表达检测 采用 Western blot 法。收集 1.3.3 培养的细胞,加入 RIPA 裂解液(含 PMSF 1mmol/L),于冰上裂解 30min,12 000r/min 离心 15min,取上清液。采用 BCA 法测定蛋白浓度,加入 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液,100℃金属浴变性 15min,用 10%SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白(80V,30min;120V,90min),然后切下含有目的蛋白条带的凝胶条,采用湿转法转至 PVDF 膜上(分子质量较小:200mA,120min;分子质量较大:200mA,150min)。用 5%脱脂奶

粉于摇床上室温封闭 2h, TBST 摇床洗膜 3 次, 10min/次; 分别加入兔抗  $\alpha$ -SMA (1:1 000)、兔抗 Collagen I (1:1 000)、兔抗 ERK1/2 (1:1 000) 及兔抗 p-ERK1/2 (1:1 000)、兔抗 p38 MAPK (1:1 000) 及兔抗 p-p38 MAPK (1:1 000)、兔抗 JNK (1:1 000) 及兔抗 p-JNK (1:1 000) 和鼠抗  $\beta$ -actin (1:1 000), 4℃ 摇床孵育过夜。TBST 摇床洗膜 3 次, 10min/次; 分别对应加入兔抗和鼠抗二抗 (1:15 000), 摇床室温避光孵育 2h, TBST 摇床洗膜 3 次, 10min/次。采用 Odyssey 双色红外激光成像系统扫描, 用 Image J 软件对蛋白条带进行半定量分析。所有实验重复 3 次, 以  $\beta$ -actin 作为内参, 计算 HIF-1 $\alpha$ 、Collagen I、 $\alpha$ -SMA 蛋白相对表达量; 以  $\beta$ -actin 为内参, 计算 p-ERK/ERK、p-JNK/JNK、p-p38 MAPK/p38 MAPK

比值, 即 p-ERK、p-JNK、p-p38 MAPK 蛋白相对表达量。  
1.4 统计学处理 应用 SPSS 23.0 统计软件。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CCSMC 鉴定结果 细胞分离培养第 2 天在显微镜下观察到细胞贴壁生长良好, 多数呈长梭形。选取 4 代内细胞进行免疫荧光鉴定, 在荧光显微镜下观察抗  $\alpha$ -SMA 和抗 Desmin 免疫荧光均为阳性, 细胞核 DAPI 染色为蓝色。将图 1 中 a 与 b 融合得到 c, d 与 e 融合得到 f, 可观察到大部分细胞, 且细胞核与细胞质重合在一起, 由此证明分离培养的细胞是同种细胞, 即 CCSMC。

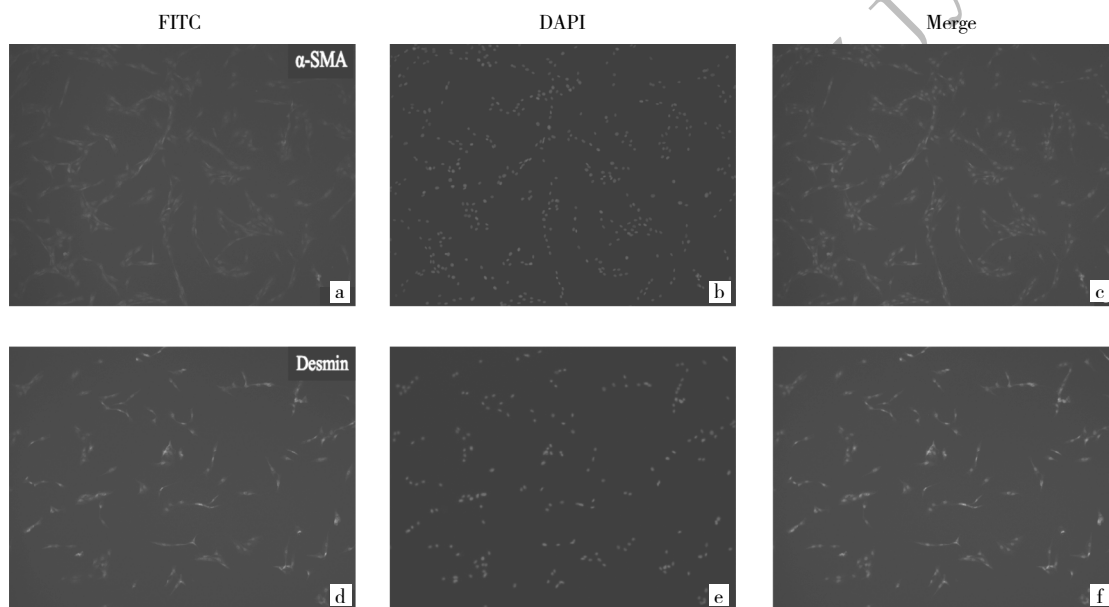


图 1 CCSMC 的免疫荧光鉴定(a: 采用抗  $\alpha$ -SMA 免疫荧光染色; b: 使用 DAPI 进行细胞核染色; c: a 与 b 融合得到; d: 采用抗 Desmin 免疫荧光染色; e: 使用 DAPI 进行细胞核染色; f: d 与 e 融合得到; 免疫荧光,  $\times 100$ )

2.2 低氧干预 48h 后 CCSMC 的形态学变化 常氧条件下培养的 CCSMC 多呈长梭形, 见图 2a; 而经低氧干预 48h 后, CCSMC 形态发生变化, 主要表现为胞体趋向肥大, 见图 2b。

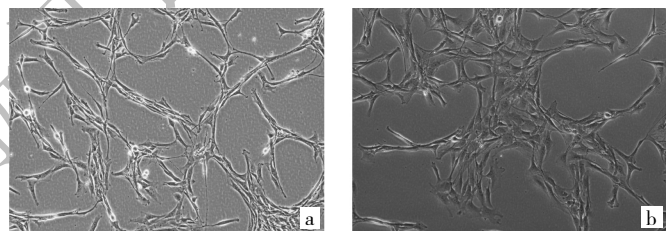


图 2 常氧与低氧干预 48h 后 CCSMC 形态学观察(a: 常氧条件下; b: 低氧条件下; 倒置显微镜,  $\times 100$ )

2.3 低氧状态下 CCSMC 表型转化相关蛋白表达的变化 经低氧干预 48h 后, HIF-1 $\alpha$ 、Collagen I 蛋白相对表达量分别为  $0.23 \pm 0.04$ 、 $0.49 \pm 0.07$ , 较常氧组的  $0.12 \pm 0.01$ 、 $0.29 \pm 0.04$  均明显升高 (均  $P < 0.05$ );  $\alpha$ -SMA 蛋白相对表达量为  $0.35 \pm 0.04$ , 较常氧组的  $0.47 \pm 0.02$  明显降低 ( $P < 0.05$ ), 见图 3。

2.4 低氧状态下 CCSMC MAPK 信号通路相关蛋白表达的变化 经低氧干预 48h 后, p-JNK、p-p38 MAPK 蛋白相对表达量分别为  $0.27 \pm 0.05$ 、 $0.38 \pm 0.28$ , 较常氧组的  $0.42 \pm 0.09$ 、 $0.58 \pm 0.27$  均明显降低 (均  $P < 0.05$ ); p-ERK 蛋白相对表达量为  $0.74 \pm 0.25$ , 与常氧组的  $0.74 \pm 0.23$  比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 4。

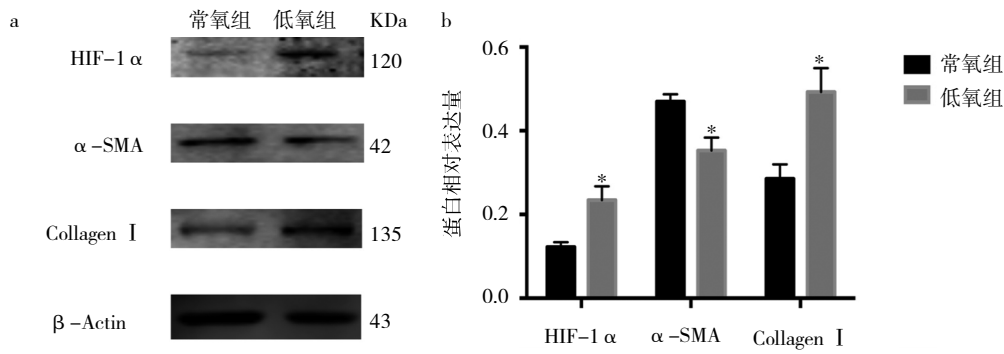


图 3 低氧状态下 CCSMC 表型转化相关蛋白的变化(a:电泳图;b:低氧组与常氧组 CCSMC 表型转化相关蛋白表达量的比较;与常氧组比较,\* $P < 0.05$ ;  $n = 3$ )

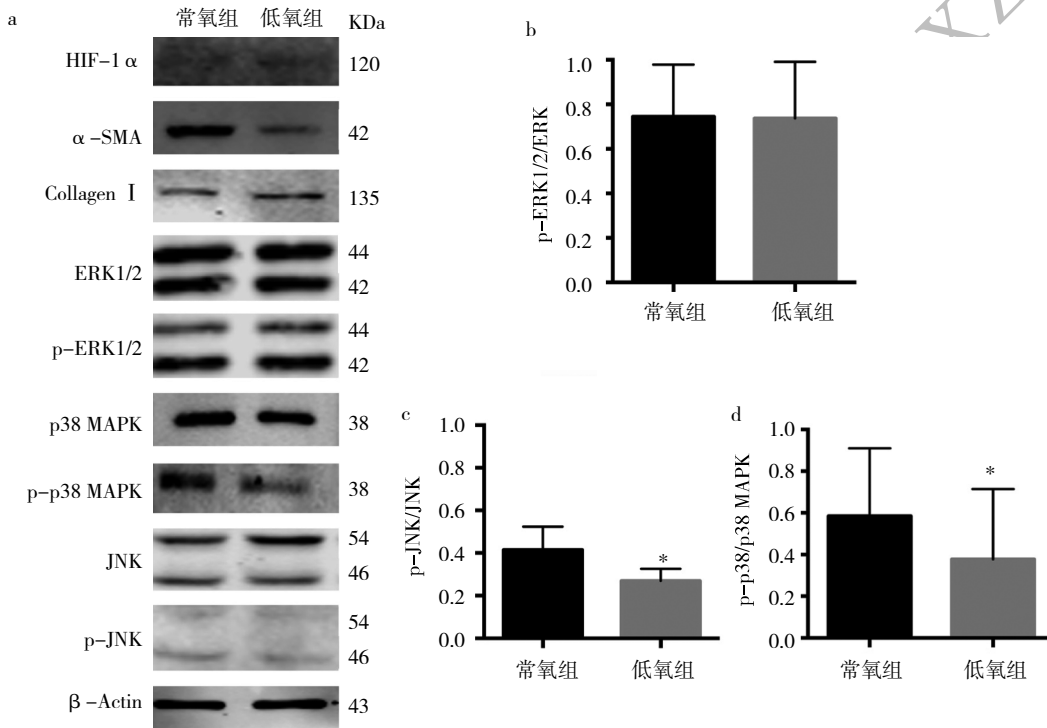


图 4 低氧状态下 CCSMC MAPK 信号通路相关蛋白表达的变化(a:电泳图;b-d:低氧组与常氧组 CCSMC MAPK 信号通路相关蛋白表达量的比较;与常氧组比较,\* $P < 0.05$ ;  $n = 3$ )

### 3 讨论

CN 损伤后会影 响男性夜间生理性勃起,从而引起 CCSMC 损伤和海绵体纤维化;在这过程中,缺氧是关键<sup>[3-4]</sup>。相关研究表明,慢性缺氧性疾病,如动脉粥样硬化、睡眠呼吸暂停综合征、慢性阻塞性肺病等,可造成不同程度的夜间生理性勃起损害<sup>[11-13]</sup>。表型转化,源自血管平滑肌细胞研究领域的概念,多次被用于阐述 CCSMC 表型转化与 ED 关系的类推证据<sup>[14-16]</sup>。目前,国内外多个团队正围绕表型转化与 ED 的关系展开一系列研究,国内以吕伯东团队、韦安阳团队为主。吕伯东团队通过低氧干预 CCSMC 不同时间来观察 CCSMC 发生

表型转化的变化规律,最终认为低氧干预 48h 是诱导 CCSMC 发生表型转化最显著的时间<sup>[7]</sup>。同时,吕伯东团队还发现低氧干预 48h 后,低氧组表型转化相关蛋白 α-SMA 表达较常氧组明显下降,Collagen I 表达较常氧组明显升高<sup>[8]</sup>。参考吕伯东团队的前期实验研究成果,本研究将 CCSMC 置于低氧中培养 48h,结果发现低氧组 α-SMA 表达较常氧组明显下降,HIF-1α、Collagen I 表达均明显升高,这说明低氧干预能使 CCSMC 发生表型转化,与吕伯东团队的研究结果一致。

MAPK 信号通路能调控细胞的各种基本生命活动,包括细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡等。ERK1/2、JNK 和 p38(α、β、γ 和 δ)是 MAPK 家族的成员,与不同类型 ED

的生理、病理改变有着联系<sup>[6]</sup>。Labazi 等<sup>[19]</sup>在高血压 ED 大鼠模型中发现二甲双胍可以下调阴茎海绵体中 p-ERK1/2 水平。Lysiak 等<sup>[20]</sup>通过损伤(完全切断)和夹损伤(非完全切断)小鼠阴茎 CN, 结果发现阴茎海绵体出现细胞凋亡, 且伴有 p-JNK、p-p38 MAPK 水平升高。Abdel 等<sup>[21]</sup>运用实时 PCR 法检测糖尿病型 ED 大鼠的基因表达, 结果发现 p38 基因表达明显升高。本实验结果显示, 原代培养的 SD 大鼠 CCSMC 在低氧处理 48h 后发生了表型转化, 同时 p-ERK 表达无明显变化, p-JNK、p-p38 MAPK 表达均明显下降。

综上所述, 低氧诱导 CCSMC 发生表型转化的同时, 伴随 JNK、p38 MAPK 信号的改变, 但关于 JNK 及 p38 MAPK 信号在低氧所致 CCSMC 表型转化过程中的具体调控作用尚不清楚。因此, 笔者下一步将以 p-JNK、p-p38 MAPK 表达下调与低氧所致 CCSMC 表型转化之间的相关性展开深入的研究, 为临床上治疗神经性 ED 提供新思路。

#### 4 参考文献

- [1] Moreland RB. Is there a role of hypoxemia in penile fibrosis: a viewpoint presented to the Society for the Study of Impotence? [J]. *Int J Impot Res*, 1998, 10(2): 113-120. DOI:10.1038/sj.ijir.3900328.
- [2] Yafi FA, Jenkins L, Albersen M, et al. Erectile dysfunction [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2:16003. DOI:10.1038/nrdp.2016.3.
- [3] Ferrini MG, Kovanecz I, Sanchez S, et al. Fibrosis and loss of smooth muscle in the corpora cavernosa precede corporal veno-occlusive dysfunction (CVOD) induced by experimental-cavernosal nerve damage in the rat [J]. *J Sex Med*, 2009, 6(2): 415-428. DOI:10.1111/j.1743-6109.2008.01105.x.
- [4] McCullough A. Penile change following radical prostatectomy: size, smooth muscle atrophy, and curve [J]. *Curr Urol Rep*, 2008, 9(6):492-499. DOI:10.1007/s11934-008-0084-2.
- [5] Yang F, Zhao JF, Shou QY, et al. Phenotypic modulation of corpus cavernosum smooth muscle cells in a rat model of cavernous neurectomy [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105186. DOI:10.1371/journal.pone.0105186.
- [6] 陈思翔, 赵凡, 黄晓军. MAPK 信号通路与勃起功能障碍关系的研究进展 [J]. *中华男科学杂志*, 2018, 24(5):442-446. DOI:10.13263/j.cnki.nja.2018.05.011.
- [7] Pilatz A, Schultheiss D, Gabouev AI, 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. DOI:10.1016/j.eururo.2005.01.008.
- [8] Chen R, Wang T, Rao K, et al. Up-regulation of VEGF by small activator RNA in human corpus cavernosum smooth muscle cells [J]. *J Sex Med*, 2011, 8(10):2773-2780. DOI:10.1111/j.1743-6109.2011.02412.x.
- [9] 赵剑锋, 傅惠英, 杨帆, 等. 红景天苷对低氧诱导大鼠海绵体平滑肌细胞凋亡的抑制作用 [J]. *中华男科学杂志*, 2014, 20(4):309-314. DOI:10.13263/j.cnki.nja.2014.04.004.
- [10] Wu D, Yotnda P. Induction and testing of hypoxia in cell culture [J]. *J Vis Exp*, 2011, 12(54):2899. DOI:10.3791/2899.
- [11] Liu K, Liu XS, Xiao L, et al. NADPH oxidase activation: a mechanism of erectile dysfunction in a rat model of sleep apnea [J]. *J Androl*, 2012, 33(6):1186-1198. DOI:10.2164/jandrol.112.016642.
- [12] Gur S, Kadowitz PJ, Thammasitboon S, et al. Characterization of erectile function in monocrotaline-treated pulmonary hypertensive rats [J]. *J Androl*, 2009, 30(5):495-504. DOI:10.2164/jandrol.108.006700.
- [13] Verratti V, Di Giulio C, Berardinelli F, et al. The role of hypoxia in erectile dysfunction mechanisms [J]. *Int J Impot Res*, 2007, 19(5):496-500. DOI:10.1038/sj.ijir.3901560.
- [14] Beamish JA, He P, Kottke-Marchant K, et al. Molecular regulation of contractile smooth muscle cell phenotype: implications for vascular tissue engineering [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2010, 16(5):467-491. DOI:10.1089/ten.TEB.2009.0630.
- [15] 邓吉坤, 谭艳. 缺氧性 ED 模型阴茎海绵体微结构改变的研究进展 [J]. *中华男科学杂志*, 2016, 22(10):932-937. DOI:10.13263/j.cnki.nja.2016.10.013.
- [16] 刘文彬, 张海波, 王涛, 等. Myocardin 基因与勃起功能障碍相关研究进展 [J]. *中国男科学杂志*, 2017, 31(1):65-68. DOI:10.3969/j.issn.1008-0848.2017.01.017.
- [17] 刘山山, 吕伯东, 赵剑锋, 等. 缺氧对 SD 大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞表型转化的影响 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2013, 37(7):897-901. DOI:10.16466/j.issn1005-5509.2013.07.030.
- [18] Zhang X, Zhao JF, Zhao F, et al. The Protective Effect of Salidroside on Hypoxia-Induced Corpus Cavernosum Smooth Muscle Cell Phenotypic Transformation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017:3530281. DOI:10.1155/2017/3530281.
- [19] Labazi H, Wynne BM, Tostes R, et al. Metformin treatment improves erectile function in an angiotensin II model of erectile dysfunction [J]. *J Sex Med*, 2013, 10(9):2154-2264. DOI:10.1111/jsm.12245.
- [20] Lysiak JJ, Yang SK, Klausner AP, et al. Tadalafil increases Akt and extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation, and prevents apoptotic cell death in the penis following denervation [J]. *J Urol*, 2008, 179(2):779-785. DOI:10.1016/j.juro.2007.09.021.
- [21] Abdel AMT, Rezq AM, Atta HM, et al. Molecular signaling of a novel curcumin derivative versus Tadalafil in erectile dysfunction [J]. *Andrologia*, 2015, 47(6): 616-625. DOI:10.1111/and.12309.

(收稿日期:2018-11-22)

(本文编辑:陈丹)