

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000116

BKca 下调 RhoA/ROCK 信号通路改善糖尿病大鼠阴茎勃起功能

罗家宇, 吴方昊, 曾 李, 赵 亮, 肖明朝

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:观察大电导钙激活钾通道(big conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel, BKca)对糖尿病勃起功能障碍(diabetes mellitus-induced erectile dysfunction, DMED)大鼠阴茎海绵体平滑肌 RhoA/ROCK 信号通路的影响。**方法:**实验大鼠分为空白对照组 8 只, DMED 组 8 只, NS1619 组(DMED 治疗组)7 只, NS1619 组大鼠采用特异性 BKca 激活剂(NS1619)阴茎海绵体注入 2 周。观察各组勃起行为, 并电刺激检测阴茎海绵体内压(intracavernous pressure, ICP)/平均动脉压(mean arterial pressure, MAP), 取各组阴茎海绵体平滑肌检测肌张力, 采用 Western blot 和定量 PCR(real-time PCR)方法检测 RhoA、ROCK1、ROCK2 表达, 反应 RhoA/ROCK 信号通路差异, 同时检测 MYPT-1 表达反应肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)磷酸化程度。**结果:**成功构建 DMED 大鼠模型, NS1619 组大鼠与 DMED 组大鼠比较, 勃起次数和 ICP/MAP 明显改善($P=0.025, 0.024$), 阴茎海绵体平滑肌舒缩顺应性提高($P=0.031, 0.024$)并且 RhoA、ROCK2 以及肌球蛋白磷酸酶靶向结合亚基(myosin phosphatase target subunit, MYPT)-1 蛋白和 mRNA 表达水平下调($P=0.029, 0.003, 0.002$), 但仍未达到正常对照组大鼠水平($P=0.018, 0.040, 0.003$), ROCK1 表达无明显差异($P=0.533$)。**结论:**DMED 大鼠因 RhoA/ROCK 信号通路上调和 MLCP 磷酸化增强导致阴茎海绵体平滑肌舒缩顺应性降低以致勃起功能障碍发生, 激活 BKca 可以通过下调 RhoA/ROCK 信号通路和抑制 MLCP 磷酸化, 改善勃起功能。

【关键词】勃起功能障碍; RhoA/ROCK 信号通路; 大电导钙激活钾通道; 糖尿病

【中图分类号】R691.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-10-31

Improve of erectile function in diabetic rats through regulation of RhoA/ROCK signaling pathway by BKca

Luo Jiayu, Wu Fanghao, Zeng Li, Zhao Liang, Xiao Mingzhao

(Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of big conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel (BKca) on RhoA/ROCK signaling pathway of diabetes mellitus-induced erectile dysfunction (DMED) rats. **Methods:** Rats were divided into control group ($n=8$), DMED group ($n=8$) and NS1619 group (treatment group, $n=7$). The NS1619 group was treated with BKca specific opener (NS1619) for two weeks. Rats underwent cavernous nerve stimulation to determine the value of intracavernous pressure (ICP)/mean arterial pressure (MAP) and the number of erection was recorded. Corpus cavernosum smooth muscle was isolated for detection of contractile force. Western blot and real-time PCR were used to detect the expression of RhoA, ROCK1, ROCK2, which determined the differences of RhoA/ROCK signaling pathway and phosphorylation of myosin light chain phosphatase (MLCP). **Results:** DMED rat models were successfully established. While erectile function and compliance of smooth muscle was decreased in rats with DMED, administration of NS1619 improved erectile responses ($P=0.025, 0.024$) and compliance ($P=0.031, 0.024$). Treatment significantly decreased the expression of RhoA, ROCK2 and MYPT-1 ($P=0.029, 0.003, 0.002$), but not ROCK1 ($P=0.533$). Compared with those in control group the NS1619 group have a higher expression levels of those protein ($P=0.018, 0.040, 0.003$). **Conclusion:** Up-regulation of the RhoA/ROCK signaling pathway is harmful to erectile function. Activation of BKca can improve erectile function by down-regulation the level of RhoA/ROCK and phosphorylation of MLCP.

【Key words】erectile dysfunction; RhoA/ROCK signaling pathway; big conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel; diabetes mellitus

作者介绍: 罗家宇, Email: luo8480091@sina.com,

研究方向: 泌尿男科学。

通信作者: 肖明朝, Email: xmz.2004@163.com。

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(编号: 2009BB5411)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000116.html>

勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)是一种严重影响患者生理及心理健康的疾病,而糖尿病是导致 ED 主要病因之一。据报道,40 岁以上的男性中 40%患有不同程度的 ED,而在糖尿病(diabetes mellitus, DM)人群中 ED 的发病率高达 19~86.3%^[1]。尽管 PDE5 抑制剂能有效改善大多数患者勃起功能,但对于 DMED 疗效较差^[2]。

BKca 由 hSlo 基因家族编码,是依赖细胞内 Ca²⁺ 依赖性跨膜钾通道,能介导细胞 K⁺ 的外流,使细胞膜超极化,降低细胞兴奋性,导致平滑肌舒张,本课题组前期研究发现有表达 BKca 能显著改善 DMED 大鼠勃起功能^[3]。RhoA/ROCK 信号通路上调,导致阴茎平滑肌和血管平滑肌收缩,是导致 ED 发生的根本机制之一^[4]。因此本实验通过激活 BKca 离子通道,研究其与 RhoA/ROCK 信号通路相关性,进一步揭示 BKca 治疗 DMED 的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 NS1619(BKca 开放剂)、链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)、阿扑吗啡(apomorphine, APO)、去氧肾上腺素(phenylephrine, PE)、乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)均购自 Sigma 公司。兔抗 RhoA、ROCK1、ROCK2、肌球蛋白磷酸酶靶向结合亚基(myosin phosphatase target subunit, MYPT)-1 抗体购自 Abcam 公司,小鼠抗 β -actin、HRP 标记的羊抗兔、羊抗小鼠 IgG 抗体购自碧云天公司。RNAiso Plus、RNA 逆转录试剂盒 RR047A、SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 购自 TaKaRa 公司,PCR 引物由上海生工设计合成。

1.1.2 实验动物 3 月龄 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 30 只,体重 200~250 g,由重庆医科大学动物中心提供,经交配实验证实均有正常性功能。

1.1.3 分组及药物处理 本实验分为对照组(正常未处理大鼠);DMED 组(DMED 大鼠生理盐水处理组);NS1619 组(DMED 大鼠 NS1619 处理组)。NS1619 用 DMSO 溶解,阴茎海绵体注入,注入量按 1×10^{-3} $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体质量计算,橡皮筋套扎阴茎根部 5 min,隔天注入 1 次,干预 2 周。

1.2 实验方法

1.2.1 DMEM 大鼠模型的构建 30 只大鼠分为对照组 8 只,处理组 22 只。处理组禁食 12 h 后腹腔注射 1% STZ 60 mg/kg。72 h 后空腹断尾测血糖 >7.2 mmol/L 确定患糖尿病。所有大鼠正常喂养 2 月,期间观察饮水、进食、尿量及体质量。第 8 周再次断尾测血糖, APO 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 颈部注入,记录 0.5 h 内阴茎勃起情况。血糖 >7.2 mmol/L, APO 诱导实验阴性为建模成功。最终建模成功 15 只,随机分为 DMED 组 8 只, NS1619 组 7 只。

1.2.2 大鼠勃起功能观察 干预 2 周后夜间观察,室内保持安静,颈部皮肤注射 APO 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。待大鼠适应 5 min 后,观察 0.5 h,记录每组中大鼠有勃起次数。

1.2.3 阴茎海绵体内压(intracavernous pressure, ICP)/平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)检测勃起功能 颈部皮肤切开,颈动脉插管;下腹正中切口暴露盆腔神经节和阴茎海绵体神经,双极钩状电极刺激海绵体神经(刺激参数为 5.0 mV,频率 20 Hz,波幅 5 ms,持续 1 min),同时装有 250 U/ml 肝素 23 G 针头插入阴茎脚。2 条通路分别与压力转换器相连检测 MAP、ICP 值。

1.2.4 阴茎海绵体平滑肌收缩与舒张功能的检测 大鼠麻醉后,切下阴茎,部分组织用于后续试验,其余组织在 4 $^{\circ}\text{C}$ Krebs 液中去除尿道海绵体、阴茎软骨、神经血管等,暴露阴茎海绵体,制作 6 mm \times 2 mm \times 2 mm 肌条,在恒温浴槽中一端固定,另一端接张力换能器。肌条平衡后记录平滑肌张力 F2,加入 PE 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 再次记录张力 F1, (F1-F2)/F1 为收缩百分率。Krebs 液冲洗去除 PE 效应,加入 Ach 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 记录张力 F3, (F1-F3)/F1 为舒张百分率。

1.2.5 Western blot 检测海绵体平滑肌 RhoA/ROCK 信号通路节点蛋白表达变化 Western blot 检测 RhoA、Rho 激酶

表 1 Real-time PCR 所使用各引物序列及其相关信息

Tab.1 Sequence and useful information of primers designed for real-time PCR

基因	GenBank 登录号	引物序列 (5'-3')	产物大小 (bp)
RhoA	NM_057132	F: AGCACACAAGCGGGAGTTAG	108
		R: CTGAACACTCCATGTACCCAAAAG	
ROCK1	NM_031098	F: AGATGCCATGTTAAGTCCCACA	194
		R: GCACGGACAAAAGCCAGAAG	
ROCK2	NM_013022	F: TCAGAGGTTTACAGATGAAAGCAGA	98
		R: TGATGCCTTATGACGAACCAAC	
MYPT-1	NM_053890	F: GTCAGCTCAACAGCCAAAC	128
		R: AGGTTGTGACTTATCTTCCCCTTC	
β -actin	NM_031144	F: CCCATCTATGAGGGTTACGC	150
		R: TGACCTGGACATCCGCAAAG	

(ROCK1、ROCK2)以及 MYPT-1 蛋白表达水平。提取各组组织总蛋白,BCA 测定蛋白浓度。取 40 μg 蛋白,经 10%SDS-PAGE 分离后,电转至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉 37 °C 封闭 1 h。兔抗 RhoA、ROCK1、ROCK2、MYPT-1 抗体(1:2 000 稀释)和小鼠抗 β-actin 抗体(1:1 000 稀释),4 °C 过夜。TBST 洗膜后,HRP 标记的羊抗兔、羊抗小鼠 IgG 抗体(均 1:1 000 稀释),37 °C 孵育 1 h;TBST 洗涤,ECL 显影。以 β-actin 为内参对照,计算各个样本条带和内参条带的光密度比值。

1.2.6 Real-time PCR 检测海绵体平滑肌 RhoA/ROCK 信号通路节点基因相对表达量 采用 real-time PCR 法,收集各组阴茎平滑肌组织,液氮研磨后加入 RNAiso Plus 裂解,按说明书步骤提取 RNA,RNA 电泳检测 RNA 完整性,紫外分光光度计检测其浓度、纯度。逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。以各组 cDNA 为模板,SYBR GREEN 荧光染料试剂进行 real-time PCR 相关操作(引物序列见表 1),总反应体系 10 μL。扩增条件:95 °C 30 s,95 °C 5 s,55 °C 30 s,共 40 循环,软件自带的熔解曲线检测程序观察扩增产物特异性。每个样本设置 3 个重复孔,β-actin 作为内参基因,采用 2^{-ΔΔCt} 方法计算各组间的差异。

1.3 统计学分析

计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 17.0 统计软件,经方差齐性检验后行单因素方差分析,组间均数两两比较采用 LSD-t 检验,检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 DMED 大鼠模型构建

对照组 8 只,成功构建 DMED 大鼠 15 只,DMED 大鼠出现饮水、进食及尿量增加,消瘦、活动减少等表现。将 DMED 大鼠随机分为 DMED 组 8 只,NS1619 组 7 只。

2.2 大鼠勃起行为观察

各组大鼠注射 APO 后有打哈欠、焦躁、包皮后退、骨盆前推、阴茎勃起等表现,DMED 组勃起次数小于对照组(P=0.000)(P<0.01),DMED 组小于 NS1619 组(P=0.025)。见表 2。

2.3 ICP/MAP 测定勃起功能

结果显示电刺激后 NS1619 组勃起功能较 DMED 组明显改善(P=0.024),但仍明显低于对照组(P=0.000)。见表 2。

表 2 各组大鼠勃起功能比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of erectile function among various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(n)	勃起次数	ICP/MAP(%)
对照组	8	2.25 ± 0.89	69.4 ± 13.0
DMED组	8	0.25 ± 0.46 ^a	28.7 ± 7.2 ^a
NS1619组	7	1.14 ± 0.69 ^{ab}	42.0 ± 10.6 ^{a,b}
F 值		16.289	30.957
P 值		0.000	0.000

注:与对照组比较,a,P<0.01;与 DMED 组比较,b,P<0.05

2.4 海绵体平滑肌收缩功能测定

结果显示 DMED 组海绵体平滑肌收缩功能明显高于 NS1619 组及对照组(P=0.031、0.000),NS1619 组高于对照组(P=0.033);DMED 组海绵体平滑肌舒张能力明显低于 NS1619 组及对照组(P=0.023、0.001),NS1619 组与对照组比较无统计学差异。见表 3。

表 3 各组大鼠阴茎海绵体平滑肌舒缩功能比较($\bar{x} \pm s$)

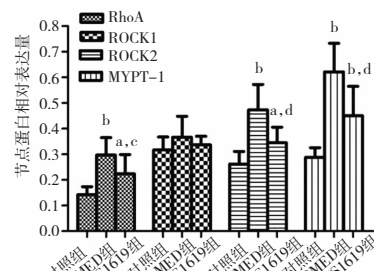
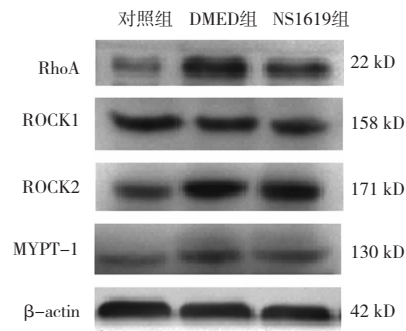
Tab.3 Comparison of constriction and relaxation of corpus cavernosum smooth muscle among various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(n)	收缩功能(%)	舒张功能(%)
对照组	8	10.88 ± 3.60	40.50 ± 10.20
DMED组	8	23.75 ± 6.90 ^c	22.13 ± 6.15 ^c
NS1619组	7	17.29 ± 5.12 ^{ab}	32.0 ± 7.96 ^b
F 值		11.397	8.067
P 值		0.000	0.003

注:与对照组比较,a,P<0.05,c,P<0.01;DMED 组比较,b,P<0.05

2.5 各组 RhoA/ROCK 相关节点蛋白表达差异

Western blot 结果显示(图 1),DMED 组大鼠 RhoA、ROCK2、MYPT-1 蛋白表达高于对照组(P=0.000、0.000、0.000),NS1619 组较 DMED 组蛋白表达下调(P=0.029、0.003、0.002),说明激活 BKca 可以逆转糖尿病引起的 RhoA/ROCK 信号通路上调及 MLCP 磷酸化水平升高。3 组 ROCK1 表达无统计学差异(F=1.327,P=0.115、0.533、0.350),说明通路调节异常主要作用于 ROCK2 亚型。



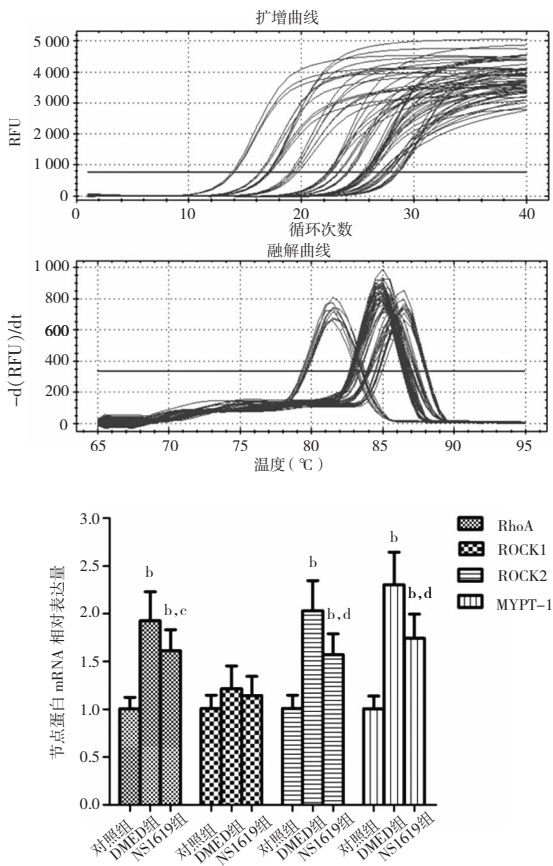
与对照组比较,a,P<0.05,b,P<0.01;DMED 组比较,c,P<0.05,d,P<0.01

图 1 Western blot 检测各组大鼠海绵体平滑肌组织中 RhoA/ROCK 通路相关蛋白相对表达量

Fig.1 Relative protein expression levels in various groups analyzed by Western blot

2.6 各组 RhoA/ROCK 相关节点基因表达差异

各组节点蛋白 mRNA 表达与 Western blot 结果相符(图 2)。DMED 组 RhoA、ROCK2 和 MYPT-1 mRNA 表达分别为对照组 1.93 倍 ($F=33.592, P=0.000$), 2.03 倍 ($F=37.579, P=0.000$), 2.3 倍 ($F=50.838, P=0.000$)。NS1619 组 RhoA、ROCK2 和 MYPT-1 mRNA 表达分别为 DMED 组 0.86 倍 ($F=33.592, P=0.029$), 0.79 倍 ($F=37.579, P=0.003$), 0.77 倍 ($F=50.838, P=0.002$)。3 组间 ROCK1 比较无统计学差异 ($F=2.186, P=0.052, 0.212, 0.489$)。



与对照组比较, a, $P<0.05$, b, $P<0.01$; DMED 组比较, c, $P<0.05$, d, $P<0.01$

图 2 Real-time PCR 检测各组大鼠海绵体平滑肌组织中 RhoA/ROCK 通路基因相对表达量

Fig.2 Relative gene expression levels in various groups analyzed by real-time PCR

3 讨论

目前认为 DMED 发病机制为周围神经血管损伤进而导致组织内内皮功能紊乱、No/cGMP 通路障碍、内皮素及其受体表达异常等导致血管平滑肌及海绵体平滑肌舒缩功能障碍。Chitale 等^[5]首次报道 ROCK 在阴茎海绵体中参与平滑肌收缩,最近, Li 等^[6]

报道证实 RhoA/ROCK 信号通路异常在 DMED 发病机制中起到重要作用。糖尿病高糖生理环境导致 RhoA、ROCK 表达上调及 ROCK 活化, ROCK 使 MYPT-1 磷酸化, 导致 MLCP 失活, 阻止肌球蛋白轻链 (myosin light chain, MLC) 脱磷酸, 导致磷酸化的 MLC 含量增多, 肌动球蛋白收缩性增强^[7]。Bivalacqua^[8]通过腺病毒转入 RhoA 基因发现可以提高内皮源性一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 表达, 改善勃起功能。Guagnini 等^[9]用 ROCK 抑制剂对大鼠、兔、人进行体内和体外干预, 发现抑制 RhoA/ROCK 能改善不同种属动物及人类平滑肌舒缩功能及勃起功能。RhoA/ROCK 已成为当前研究 ED 治疗中的重要靶点之一。

BKca 通过维持细胞内外 K^+ 、 Ca^{2+} 平衡和膜电位来调节平滑肌张力^[10], 其可能机制为激活 BKca 改变细胞膜电势促进电压依赖性钙通道激活, Ca^{2+} 进入细胞内与钙调蛋白结合 (CaM) 活化 MLC 激酶 (myosin light chain kinase, MLCK), 使 MLC 磷酸化增加, 引起平滑肌的收缩。多项研究^[11-12]报道海绵体平滑肌上存在多种离子通道, 但 BKca 作用最为重要, 它通过调节细胞外向 K^+ 电流, 介导细胞超极化, 舒松血管平滑肌和阴茎海绵体组织, 从而改善勃起功能。Melman 等^[13]报道了 hSlo (BKca α 亚基) 基因治疗 ED 的一期临床试验, 结果也显示治疗组患者勃起功能明显改善。

本课题组前期研究发现 NS1619 体外干预大鼠骨髓间充质干细胞能使 I-V 曲线上移, 影响细胞膜 K^+ 跨膜流动, 及细胞膜电势, 因此本研究同样用 NS1619 行体内干预 BKca 活性。期望证实 BKca 除了上述经典 Ca^{2+} 依赖途径调节平滑肌收缩外, 是否还可以通过 RhoA/ROCK 通路介导平滑肌收缩? Western blot 及 real-time PCR 结果显示, DMED 组大鼠阴茎海绵体平滑肌组织 RhoA、ROCK-2、MYPT-1 表达较对照组明显增高, 与 Morelli 等^[14]报道相符。NS1619 干预 2 周后, NS1619 组 RhoA、ROCK-2、MYPT-1 明显下调, 说明激活 BKca 会逆转糖尿病导致的 RhoA/ROCK 通路表达异常, 降低 MLCP 磷酸化。但 ROCK1 各组表达无明显差异, 提示在 DMED 大鼠的海绵体平滑肌组织中, RhoA/ROCK 调节异常主要表现在 ROCK2 亚型。为消除动脉压波动影响, 本研究检测电刺激海绵体神经后 ICP/MAP 并且观察勃起行为和体外平滑肌肌条张力, 结果也显示了 NS1619 能增加平滑肌顺应性, 有效改善 DMED 大

鼠勃起功能。但 NS1619 组 RhoA/ROCK 各节点蛋白表达和勃起功能还未达到对照组水平,说明 DMED 的发生不仅是由 RhoA/ROCK 调节异常单独所致,可能还涉及 eNOS 表达异常、糖基化终产物及氧自由基生成等因素。

本实验结果表明激活 BKca 可以逆转糖尿病引起的 RhoA/ROCK 信号通路上调及 MLCP 磷酸化水平升高,介导阴茎海绵体平滑肌舒张,从而有效改善糖尿病大鼠勃起功能。这为针对 DMED 患者 RhoA/ROCK 调节异常的靶向治疗提供了依据。Li 等^[15]认为 RhoA/ROCK 是通过抑制 NO/cGMP 通路抑制阴茎小动脉平滑肌舒张,限制阴茎组织充血并且加剧平滑肌凋亡,导致 ED 发生。究竟何种机制占主导或者其相互关系是什么,BKca 为什么会下调 RhoA/ROCK 信号通路,需要更深入的研究。

参 考 文 献

[1] 邓大同,杨明功,陈明卫,等.208 例 II 型糖尿病男子性功能障碍调查[J].疾病控制杂志,2005,9(3):280-281.
 [2] Burnett AL.Erectile dysfunction management for the future[J].Androl,2009,30(4):391-396.
 [3] He Y,He W,Qin G,et al.Transplantation KCNMA1 modified bone marrow-mesenchymal stem cell therapy for diabetes mellitus-induced erectile dysfunction[J].Andrologia,2013,doi:10.1111/and.12104[Epub ahead of print].
 [4] Toque HA,Nunes KP,Yao L,et al.Activated Rho kinase mediates diabetes-induced elevation of vascular arginase activation and contributes to impaired corpora cavernosa relaxation;possible involvement of p38 MAPK activation[J].J Sex Med,2013,10(6):1502-1515.
 [5] Chitale K,Wingard CJ,Clinton Webb R,et al.Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway[J].Nat Med,2001,7(1):119-122.

[6] Li M,Zhuan L,Wang T,et al.Apocynin improves erectile function in diabetic rats through regulation of NADPH oxidase expression[J].J Sex Med,2012,9(12):3041-3050.
 [7] Wang Y,Zheng XR,Riddick N,et al.ROCK isoform regulation of myosin phosphatase and contractility in vascular smooth muscle cells[J].Circ Res,2009,104(4):531-540.
 [8] Bivalacqua TJ,Champion HC,Usta MF,et al.RhoA/Rho-kinase suppresses endothelial nitric oxide synthase in the penis;a mechanism for diabetes-associated erectile dysfunction[J].Proc Natl Acade Sci USA,2004,101(24):9121-9126.
 [9] Guagnini F,Ferazzini M,Grasso M,et al.Erectile properties of the Rho-kinase inhibitor SAR407899 in diabetic animals and human isolated corpora cavernosa[J].J Transl Med,2012,doi:10.1186/1479-5876-10-59.
 [10] Melman A,Zhao W,Davies KP,et al.The successful long-term treatment of age related erectile dysfunction with hSLo cDNA in rats in vivo[J].J Urol,2003,170(1):285-290.
 [11] Christ GJ,Andersson KE,Williams K,et al.Smooth-muscle-specific gene transfer with the human maxi-k channel improves erectile function and enhances sexual behavior in atherosclerotic cynomolgus monkeys[J].Eur Urol,2009,56(6):1055-1066.
 [12] Kiraly I,Pataricza J,Bajory Z,et al.Involvement of large-conductance Ca(2+)-activated K(+) channels in both nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarization-type relaxation in human penile small arteries[J].Basic Clini Pharmacol Toxicol,2013,113(1):19-24.
 [13] Melman A,Bar-Chama N,McCullough A,et al.The first human trial for gene transfer therapy for the treatment of erectile dysfunction: preliminary results[J].Eur Urol,2005,48(2):314-318.
 [14] Morelli A,Chavalmane AK,Filippi S,et al.Atorvastatin ameliorates sildenafil-induced penile erections in experimental diabetes by inhibiting diabetes-induced RhoA/Rho-kinase signaling hyperactivation[J].J Sex Med,2009,6(1):91-106.
 [15] Li WJ,Park K,Paick JS,et al.Chronic treatment with an oral rho-kinase inhibitor restores erectile function by suppressing corporal apoptosis in diabetic rats[J].J Sex Med,2011,8(2):400-410.

(责任编辑:关蕴良)

《重庆医科大学学报》邮发代号:78-132