

论著·基础研究

基于单细胞 RNA 测序解析人与小鼠睾丸中 SARS-CoV-2 相关受体的时空表达特征

罗嘉强^{1,2}, 赵亮宇^{1,2}, 姚晨成^{1,2}, 朱子珏^{1,2}, 邢晓宇³, 李 朋^{1,2}, 田汝辉^{1,2}, 陈慧兴^{1,2}, 孙 杰³, 李 铮^{1,2}

1. 上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科中心 男科, 辅助生殖医学科, 上海 200080; 2. 上海交通大学泌尿外科研究所男性健康评估中心, 上海市生殖医学重点实验室, 上海 200080; 3. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心泌尿外科, 上海 200127

[摘要] **目的**· 基于单细胞 RNA 测序 (single-cell RNA sequencing, scRNA-Seq), 分析严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 受体血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 在人和小鼠睾丸中的时空表达特征。**方法**· 收集生理性各发育阶段的人睾丸组织 10 例和 C57BL/6 小鼠睾丸组织 9 例, 用酶消化成单细胞悬液后经 scRNA-Seq 标准处理程序得到细胞-基因表达矩阵。经过质量控制、数据标准化、批次效应处理和聚类降维后, 利用已知的睾丸细胞标志物注释各群细胞, 以明确在发育的不同阶段中人和小鼠睾丸中 ACE2 表达模式和差异。**结果**· 鉴定出人和小鼠均有的睾丸细胞亚群 9 个, 包括 3 群生殖细胞 (精原细胞、精母细胞和精子细胞/精子) 和 6 群体细胞 (Sertoli 细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞、Leydig 细胞和管周肌样细胞)。从空间分布来看, 在成人睾丸中, ACE2 主要表达于 Sertoli 细胞, 在 Leydig 细胞、管周肌样细胞和生殖细胞也有表达。从时间尺度上看, 人 Sertoli 细胞的 ACE2 转录丰度随着睾丸的发育而增加, 青春后期 Sertoli 细胞中 ACE2 表达显著高于幼儿期和儿童期 ($P=0.000$)。从小鼠睾丸发育各阶段来看, Ace2 表达模式与人体均有显著不同。在 5 周龄成年 C57BL/6 小鼠睾丸中, Ace2 的转录水平低且主要表达于血管平滑肌细胞 ($P=0.000$), 而 Sertoli 细胞中 Ace2 阳性细胞数则极少。**结论**· SARS-CoV-2 可能主要通过 Sertoli 细胞感染人类睾丸, 常规 C57BL/6 小鼠模型不适用于模拟 SARS-CoV-2 感染对人类睾丸的功能影响。

[关键词] 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; 单细胞 RNA 测序; 血管紧张素转化酶 2; 病毒性睾丸炎; sertoli 细胞

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.04.002 **[中图分类号]** R691.3 **[文献标志码]** A

Single-cell RNA sequencing reveals the spatio-temporal expression profile of SARS-CoV-2 related receptor in human and mouse testes

LUO Jia-qiang^{1,2}, ZHAO Liang-yu^{1,2}, YAO Chen-cheng^{1,2}, ZHU Zi-jue^{1,2}, XING Xiao-yu³, LI Peng^{1,2}, TIAN Ru-hui^{1,2}, CHEN Hui-xing^{1,2}, SUN Jie³, LI Zheng^{1,2}

1. Urologic Medical Center; Department of Andrology, Department of Assisted Reproductive Medicine, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China; 2. Center for Men's Health, Shanghai Key Lab of Reproductive Medicine, Institute of Urology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China; 3. Department of Urology, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

[Abstract] **Objective**· To analyze the spatio-temporal expression profile of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), the receptor of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), in human and mouse testes based on single-cell RNA sequencing (scRNA-Seq). **Methods**· Ten testicular tissues from humans and nine testicular tissues from C57BL/6 mice with normal developmental stages were collected and digested into single cell suspensions by enzyme, and then the cell-gene expression matrixes were obtained by scRNA-Seq standard processing procedures. After quality control, data standardization, batch effect processing, clustering, and dimensionality reduction, each subgroup of cells was annotated based on known testicular cell bio-markers to clarify the expression patterns and differences of ACE2 in human and mouse testes with normal developmental stages. **Results**· In this study, nine testicular cell subgroups found in human and mice were identified, including three subgroups of germ cells (spermatogonia, spermatocytes, and spermatids/sperm) and six subgroups of somatic cells (Sertoli cells, macrophages, vascular smooth muscle cells, endothelial cells, Leydig cells, and peritubular myoid cells). In terms of spatial distribution, ACE2 was predominantly expressed in human Sertoli cells in adult testes, and also expressed in Leydig cells, peritubular myoid cells, and germ cells. In terms of time scale, the transcription abundance of ACE2 in human Sertoli cells increased with the development of testis, and the expression level of ACE2 in Sertoli cells after puberty was significantly higher than that in infancy and childhood ($P=0.000$). Judging from the stages of mouse testicular development, the expression patterns of Ace2 were both significantly different from those in humans. In testis of the 5-week-old adult C57BL/6 mouse, the transcription level of Ace2 was low and it was mainly expressed in vascular smooth muscle cells ($P=0.000$), while the number of Ace2 positive cell in Sertoli cells was extremely low. **Conclusion**· SARS-CoV-2 may mainly infects human testis through Sertoli cells, and the conventional C57BL/6 mouse model is not suitable to simulate the effect of SARS-CoV-2 infection on human testicular function.

[Key words] severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2); single-cell RNA sequencing (scRNA-Seq); angiotensin-converting

[基金项目] 国家重点研发计划 (2017YFC1002003); 上海市科学技术委员会项目 (17JC1420103)。

[作者简介] 罗嘉强 (1994—), 男, 博士生; 电子信箱: luojiaq@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 李 铮, 电子信箱: lizhengboshi@sjtu.edu.cn。

[Funding Information] National Key Research and Development Program of China (2017YFC1002003); Program of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (17JC1420103)。

[Corresponding Author] LI Zheng, E-mail: lizhengboshi@sjtu.edu.cn。

[网络首发] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2045.R.20210407.1419.020.html> (2021-04-07 17:03:51)。



enzyme 2 (ACE2); viral orchitis; Sertoli cell

2019年12月以来,严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)导致的肺炎疫情在全球不断蔓延^[1-2]。据世界卫生组织官方网站(<https://covid19.who.int/>)数据显示,截至2021年3月23日,新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)全球累计确诊超12 341万例,已成为全人类面对的共同严峻挑战。研究^[3]证明, SARS-CoV-2通过与血管紧张素转化酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)受体结合进入靶细胞。此外,同SARS-CoV不同, SARS-CoV-2的S蛋白在S1/S2亚基具有独特的弗林蛋白酶(furin)切割位点, S蛋白在此位点的切割对于其介导的细胞融合及侵入人肺细胞至关重要^[4-6]。

COVID-19患者尸检结果^[7]显示, SARS-CoV-2感染会导致多处器官和组织损伤,并伴有明显且广泛的肺部病变;免疫组织化学(免疫组化)染色显示,表达ACE2的一些气管和支气管黏膜上皮细胞、Ⅱ型肺泡上皮细胞和浸润巨噬细胞的SARS-CoV-2蛋白呈阳性;通过基于实时定量PCR(real time quantitative PCR, RT-qPCR)的病毒核酸检测、免疫组化染色和透射电子显微镜,在睾丸中检测到SARS-CoV-2的RNA和病毒颗粒。然而, SARS-CoV-2感染睾丸组织的途径尚不明确^[8]。对此,我们基于团队前期睾丸单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-Seq)数据,绘制了生长发育各标志性年龄阶段的生精正常的人及小鼠睾丸中ACE2和成人睾丸中FURIN的表达谱,以期之后从动物水平研究SARS-CoV-2感染睾丸的途径及其对睾丸功能产生的影响提供参考。

1 材料与方法

1.1 组织来源和主要试剂

1.1.1 组织来源

(1) 人体睾丸组织 2018年11月—2019年2月于上海交通大学附属第一人民医院和上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心收集了10例患者的少量手术剩余睾丸组织,包括行显微镜下睾丸取精术的26~33岁梗阻性无精子症(obstructive azoospermia, OA)患者5例;2岁、5岁、11岁畸胎瘤切缘患者各1例;8岁滑动性睾丸对侧活检患者、17岁睾丸扭转对侧活检患者各1例。本研究经上述2家医院伦理委员会审批通过,所有患者均签署《手术知情同意书》和《手术剩余组织用于科学研究知情

同意书》,未成年患者由其监护人代为签署。

(2) 小鼠睾丸组织 小鼠睾丸组织取自出生后3、6、8、11、14、17、21、25 d和5周的C57BL/6小鼠。处死小鼠后取出睾丸,用无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗,剥去白膜组织,取黄豆大小睾丸组织作下一步处理。

本研究所用睾丸组织均为新鲜的未经液氮冻存过的组织,并在睾丸离体后6 h内完成测序上机,以保证最大程度获取到可靠的转录组信息。

1.1.2 实验主要试剂 透明质酸酶(Hyaluronidase, Sigma公司,货号H3506);胰酶(Typsin, Sigma公司,货号T8003);Ⅳ型胶原酶(Collagenase Type Ⅳ, Gibco, 货号17104-019);去死细胞试剂盒(Miltenyi, 货号130-090-482)。

1.2 研究方法

1.2.1 睾丸单细胞悬液的获取 PBS缓冲液冲洗睾丸组织3次后,用无菌剪刀剪碎,消化酶(Ⅳ型胶原酶,胰酶和透明质酸酶)于37℃水浴消化15~20 min,直至完全消化后获得细胞悬液。使用40 μm尼龙网过滤后离心,再重悬于含0.1%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)的PBS中。使用去死细胞试剂盒去除死细胞,用0.1%BSA的PBS洗涤1遍后进行计数并稀释到 5×10^5 /mL浓度。

1.2.2 scRNA-Seq文库的建立和数据分析 用Chromium Single cell 3' Reagent (v3, 10×Genomics™)试剂盒,将睾丸单细胞悬液加载到10×Genomics™微流控芯片上,分离并捕获生成单细胞凝胶珠液。经53℃逆转录45 min后,85℃5 min终止反应生成cDNA。然后用PCR扩增cDNA,并将扩增的cDNA进行片段化、末端修复、poly-A尾添加、接头连接并进行文库扩增。用Illumina NovaSeq 6000测序平台进行测序。原始数据用Cell Ranger软件(V2.2.0, 10×Genomics™)进行比对后得到细胞UMI表达矩阵(数据上传至GSE149512^[9]),并和GEO数据库GSE124263^[10](2个0岁样本数据)和GSE134144^[11](7岁和13岁样本数据各1个)整合。通过如下标准进行细胞质量筛选:①总UMI大于500且小于90 000。②总基因表达数大于500。③线粒体基因表达占比小于25%。剩余细胞采用R包Seurat(V3.0.1)进行主成分分析(principal component analysis, PCA)^[12]后,选择PCs 1-20执行t-SNE(t-distributed stochastic neighbor embedding)降维分析和非监督聚类从而获得9个细胞群。

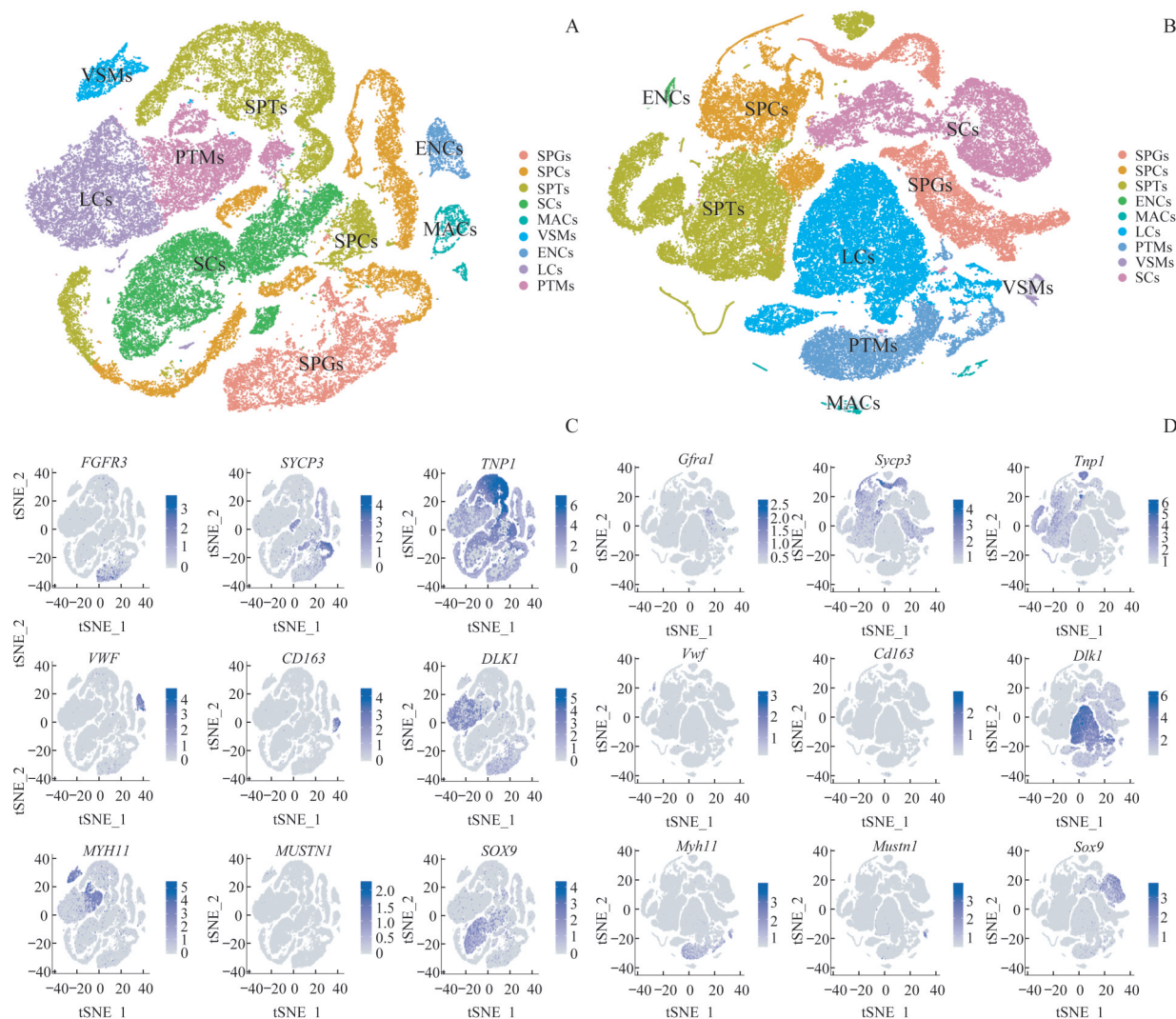
1.2.3 基因表达分析 采用已知的睾丸各类细胞标志物鉴定各群细胞。使用R包Seurat (V3.0.1) 内置命令VLNPLLOT和FEATUREPLOT绘制小提琴图和细胞分布点图。检索人类蛋白表达数据库 Human Protein Atlas (<https://www.proteinatlas.org>), 获得ACE2 (CAB026174) 与FURIN (CAB009499) 在成年男性睾丸组织中的免疫组化染色情况, 染色样本分别来自于29岁和26岁的男性。

基因表达的特异性统计分析采用Wilcoxon秩和检验。检验时, 每个细胞被看作独立样本, 按照细胞类型进行分组, 比对特定类型的细胞群和其余睾丸细胞。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 睾丸各群细胞的鉴定

经过质量筛选, 超过6万个睾丸细胞的测序结果被保留。根据已知人睾丸各类细胞标志物, 我们共鉴定出9个主要的细胞群, 包括3群生殖细胞(精原细胞、精母细胞和精子细胞/精子)以及6群体细胞(Sertoli细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞、Leydig细胞和管周肌样细胞)(图1A)。经鉴定, 人睾丸各群细胞具有独特的转录特征(图1C)。用相同方法对5周龄C57BL/6小鼠睾丸scRNA-Seq结果进行分析, 相应地鉴定出9个主要的细胞群(图1B、D)。



Note: A. t-SNE plot of testicular cells from 5 adult OA patients. B. t-SNE plot of 5-week-old mouse testicular cells. C. Expression patterns of markers on t-SNE plots of human testicular cells. D. Expression patterns of markers on t-SNE plots of mouse testicular cells. SPGs—spermatogonia; SPCs—spermatocytes; SPTs—spermatids/sperm; SCs—Sertoli cells; MACs—macrophages; VSMs—vascular smooth muscle cells; ENCs—endothelial cells; LCs—Leydig cells; PTMs—peritubular myoid cells. FGFR3—fibroblast growth factor receptor 3; SYCP3—synaptonemal complex protein 3; TNP1—transition protein 1; VWF—von willebrand factor; DLK1—delta like non-canonical notch ligand 1; MYH11—myosin heavy chain 11; MUSTN1—musculoskeletal embryonic nuclear protein 1; SOX9—(sex-determining of Y)-Box transcription factor 9; Gfra1—glial cell derived neurotrophic factor family receptor α 1.

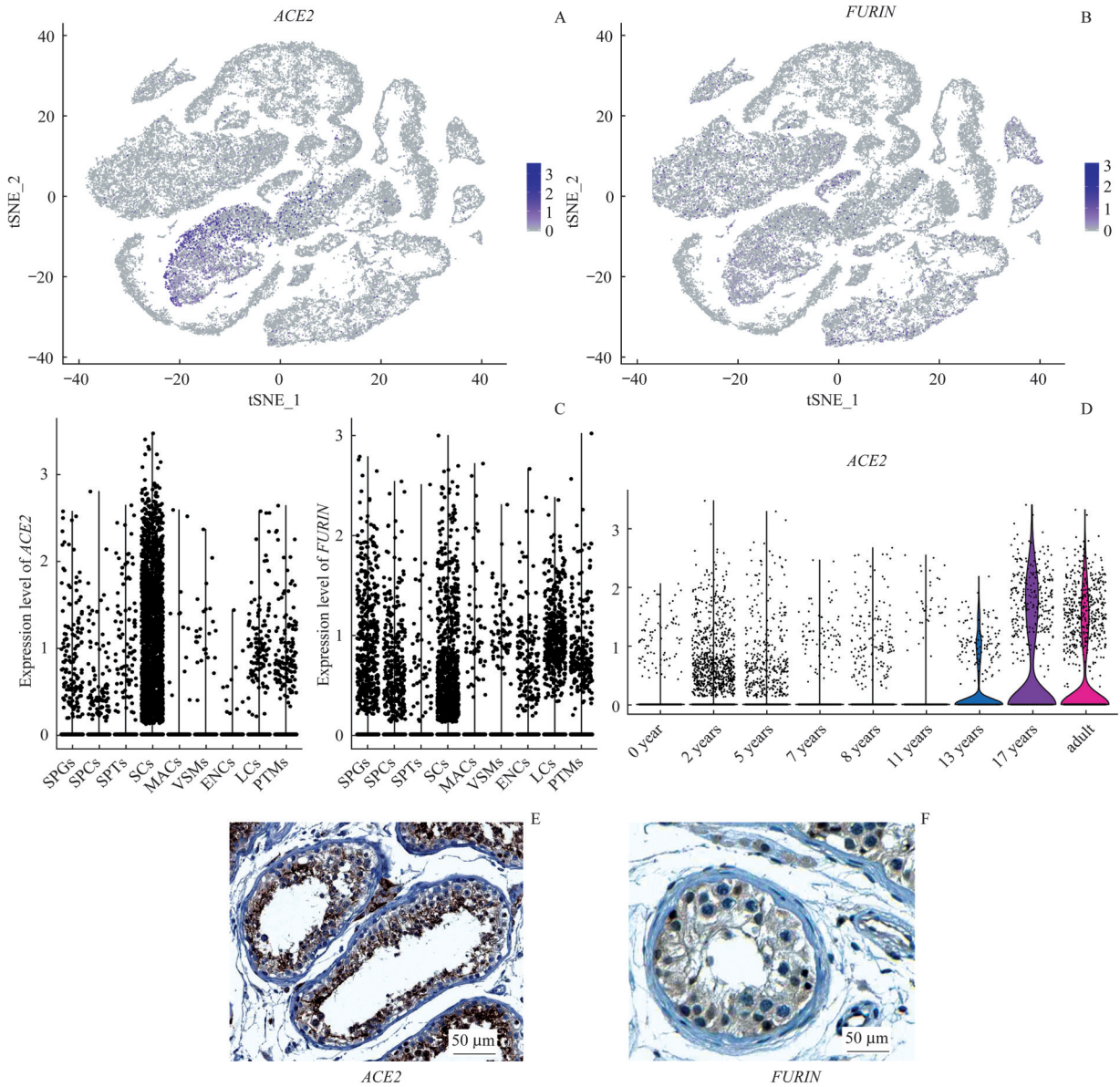
图1 人和小鼠睾丸细胞的scRNA-Seq分析

图1 scRNA-Seq analysis of human and mouse testicular cells

2.2 人睾丸ACE2与FURIN的表达特征

成人睾丸 scRNA-Seq 数据表明: *ACE2* 主要富集在 Sertoli 细胞中, 在 Leydig 细胞、管周肌样细胞和各级生精细胞中也均有明显表达, 而在其他类型的细胞中表达水平较低 (图 2A、C)。*ACE2* 阳性的 Sertoli 细胞占全部 Sertoli 细胞的 12.7%。人睾丸组织免疫组化染色显示, *ACE2* 主要表达于 Sertoli 细胞和 Leydig 细胞 (图 2E)。将本研究 scRNA-Seq 数据与犹他大学医学院的 Guo 等^[11] 及加利福尼亚大学的 Sohni 等^[10] 的数据整合后分析发现, *ACE2* 在 Sertoli 细胞中的高表达模式同样存在于其他年龄

段, 且 Sertoli 细胞的 *ACE2* 转录丰度随着睾丸的发育而增加, 青春期后成熟的 Sertoli 细胞中 *ACE2* 表达明显高于幼儿期和儿童期 ($P=0.000$, 图 2D)。此外, 对成人睾丸中 *FURIN* 的表达特征进行分析发现: *FURIN* 在睾丸各群细胞中均有表达, 在 Sertoli 细胞和 Leydig 细胞中表达量较高 (图 2B、C)。免疫组化染色显示, *FURIN* 表达于支持细胞和间质中 (图 2F)。综上所述, 人 *ACE2* 主要表达于 Sertoli 细胞和 Leydig 细胞, 尤其高表达于青春期后成熟的 Sertoli 细胞中; *FURIN* 在人睾丸各群细胞中均有表达。



Note: A. Feature plot for *ACE2* expression across all cell populations of adult testis. B. Feature plot for *FURIN* expression across all cell populations of adult testis. C. Violin plot for *ACE2* and *FURIN* expression across all cell populations of adult testis. D. Changes of expression levels of *ACE2* in human testicular Sertoli cells at different developmental stages from birth to adult. E. Immunohistochemical staining of *ACE2* in the testis of adult male ($\times 400$). F. Immunohistochemical staining of *FURIN* in the testis of adult male ($\times 400$).

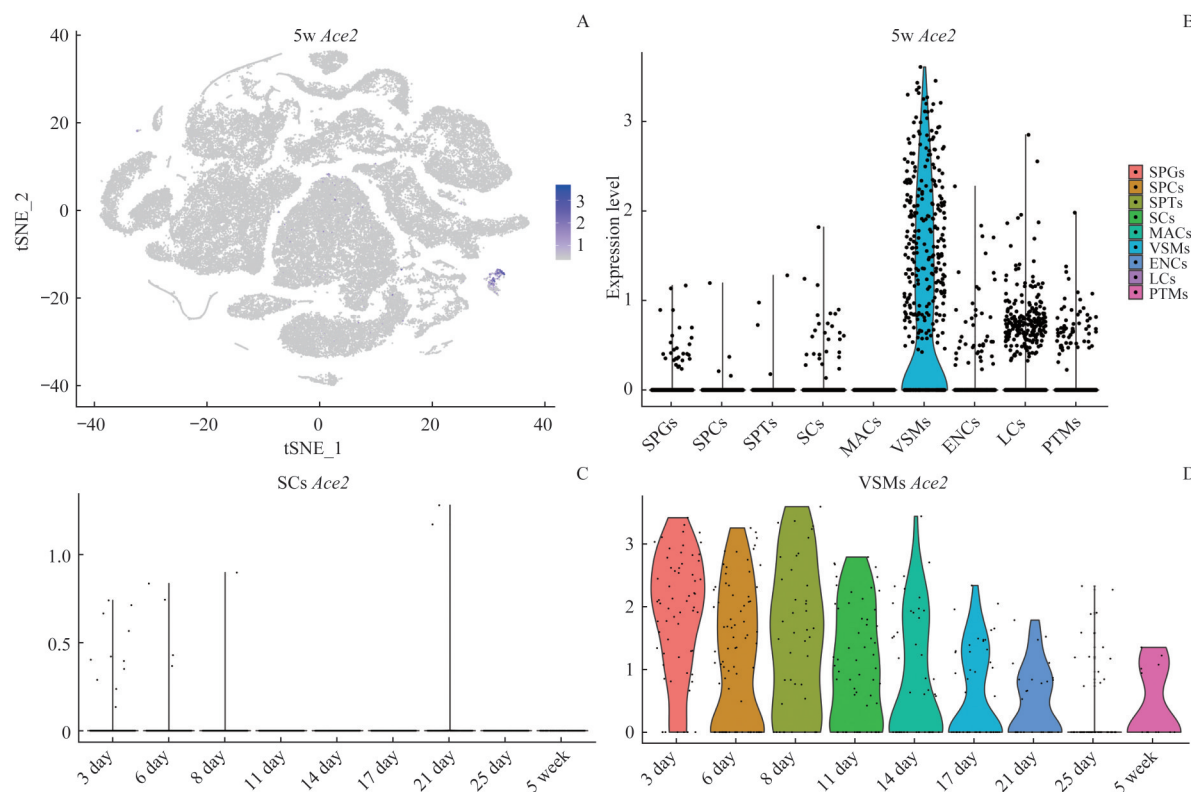
图 2 *ACE2* 和 *FURIN* 在人睾丸中的表达模式

Fig 2 Expression patterns of *ACE2* and *FURIN* in human testis

2.3 小鼠睾丸*Ace2*表达特征

动物实验中通常使用小鼠作为模式动物对人类疾病进行初步研究,人鼠差异会影响疾病再现与研究可靠性。5周龄成年C57BL/6小鼠睾丸scRNA-Seq数据表明,成年小鼠睾丸中*Ace2*整体转录水平较低,且主要表达于血管平滑肌细胞($P=0.000$),在Sertoli细胞中表达量很低(图

3A、B)。此外,我们对从出生后3 d到5周的小鼠睾丸scRNA-Seq数据进行分析发现:在小鼠睾丸发育的不同阶段中,*Ace2*转录本表达阳性的Sertoli细胞数量极少且表达水平不高(图3C),但血管平滑肌细胞中有较高的*Ace2*表达水平(图3D)。



Note: A. Feature plot for *Ace2* expression across all cell populations of 5-week-old mouse testis. B. Violin plot for *Ace2* expression across all cell populations of 5-week-old mouse testis. C. Changes of expression levels of *Ace2* in mouse testicular Sertoli cells. D. Changes of expression levels of *Ace2* in mouse testicular vascular smooth muscle cells from 3 days and 5 weeks after birth.

图3 *Ace2*在小鼠睾丸中的表达模式

Fig 3 Expression patterns of *Ace2* in mouse testicles

3 讨论

精子发生是精原干细胞自我更新和分化为成熟精子的过程^[13]。Sertoli细胞作为生精小管腔内唯一的体细胞,与包括精原细胞在内的多级生精细胞直接接触,并通过调控多种旁分泌和自分泌信号维持精子发生^[14]。同时,Sertoli细胞之间的紧密连接也是血睾屏障的关键组成部分,参与维持睾丸免疫豁免微环境。Leydig细胞位于睾丸间质,是合成和分泌雄激素的主要细胞^[15]。

多种病毒感染可引起睾丸炎^[16],其中腮腺炎病毒(mumps virus, MuV)是常见的病原体之一。14%~35%青春期后的男性感染腮腺炎会并发睾丸炎,甚至造成生育力受损^[17],但至今机制未明。有学者^[18]基于小鼠研究发现,MuV感染Sertoli细胞并刺激其产生肿瘤坏死因

子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),通过自身炎症反应上调趋化因子CXCL10 (C-X-C motif chemokine ligand 10)表达,进而诱导生精细胞凋亡。此外,MuV感染会损伤Leydig细胞功能,影响睾酮的正常分泌^[19]。SARS-CoV感染引起睾丸炎也有报道^[20-21]。迟晓春等^[21]对6例因患严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)死亡的患者进行尸检发现,其睾丸组织均表现出睾丸炎的病理改变:睾丸间质充血并有白细胞浸润、生精小管基膜增厚、各级生精细胞明显减少、管腔内几乎未见精子。此外,他们还在生精上皮内发现大量的自身抗体IgG和IgA,推测SARS-CoV所引起的自身免疫性损伤可能是导致睾丸炎的主要原因之一。

*ACE2*在人睾丸组织中广泛表达,尤其高表达于Sertoli细胞和Leydig细胞,表明人睾丸中存在大量SARS-

CoV-2 结合位点。现有研究^[5-6]认为, *FURIN* 对 SARS-CoV-2 的 S 蛋白的预激活是病毒感染细胞的关键, 而 *FURIN* 表达于包括人支持细胞和间质细胞在内的多群人类睾丸细胞中。因此, 综合本研究结果和已有数据库数据, 我们推测人睾丸是 SARS-CoV-2 的易感靶器官之一, 病毒主要通过侵入 Sertoli 细胞感染睾丸。ACE2 在人青春期后 Sertoli 细胞中表达丰度相对更高, 提示 SARS-CoV-2 对青春期后睾丸感染风险可能相对更大。SARS-CoV-2 可能通过破坏 Sertoli 细胞和 Leydig 细胞正常功能, 引发炎症细胞因子异常表达, 破坏正常血睾屏障和睾丸免疫豁免微环境, 诱导生精细胞凋亡, 导致男性生育力受损和睾丸内分泌功能异常。

此外, 尽管人和小鼠 ACE2 蛋白的氨基酸序列比对的

一致性达到了 82%, 但是 C57BL/6 小鼠睾丸中 *Ace2* 的整体转录水平较低, 且其在睾丸中表达分布与人具有显著差异。这些结果提示, 常规 C57BL/6 小鼠模型不适用于模拟 SARS-CoV-2 感染对人类睾丸功能影响, 需建立人源性 *hACE2* 转基因小鼠用于相关机制研究。此外, 本研究尚存在一些不足之处, 如同一年龄的重复不够, 所选择的小鼠品系较为单一, 只获得了相关基因在人和小鼠睾丸不同发育时期的表达谱。未来需要增加重复、扩大小鼠品系的选择范围和完善细胞、动物水平上的机制研究。

综上所述, 本研究提供了 SARS-CoV-2 可能主要通过 Sertoli 细胞感染人类睾丸的生物信息学证据, 结果提示了常规 C57BL/6 小鼠模型不适用于模拟 SARS-CoV-2 感染对人类睾丸功能影响。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2[J]. Nat Microbiol, 2020, 5(4): 536-544.
- [2] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727-733.
- [3] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor[J]. Cell, 2020, 181(2): 271-280. e8.
- [4] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein[J]. Cell, 2020, 181(2): 281-292. e6.
- [5] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells[J]. Mol Cell, 2020, 78(4): 779-784. e5.
- [6] Shang J, Wan YS, Luo CM, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(21): 11727-11734.
- [7] Bian XW, the COVID-19 Pathology Team. Autopsy of COVID-19 patients in China[J]. NSR, 2020, 7(9): 1414-1418.
- [8] Pan F, Xiao X, Guo J, et al. No evidence of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 in semen of males recovering from coronavirus disease 2019[J]. Fertil Steril, 2020, 113(6): 1135-1139.
- [9] Zhao LY, Yao CC, Xing XY, et al. Single-cell analysis of developing and azoospermia human testicles reveals central role of Sertoli cells[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 5683.
- [10] Sohni A, Tan K, Song HW, et al. The neonatal and adult human testis defined at the single-cell level[J]. Cell Rep, 2019, 26(6): 1501-1517. e4.
- [11] Guo JT, Nie XC, Giebler M, et al. The dynamic transcriptional cell atlas of testis development during human puberty[J]. Cell Stem Cell, 2020, 26(2): 262-276. e4.
- [12] Satija R, Farrell JA, Gennert D, et al. Spatial reconstruction of single-cell gene expression data[J]. Nat Biotechnol, 2015, 33(5): 495-502.
- [13] Sharma S, Wistuba J, Pock T, et al. Spermatogonial stem cells: updates from specification to clinical relevance[J]. Hum Reprod Update, 2019, 25(3): 275-297.
- [14] Griswold MD. 50 years of spermatogenesis: Sertoli cells and their interactions with germ cells[J]. Biol Reprod, 2018, 99(1): 87-100.
- [15] Zirkin BR, Papadopoulos V. Leydig cells: formation, function, and regulation[J]. Biol Reprod, 2018, 99(1): 101-111.
- [16] Liu WH, Han RQ, Wu H, et al. Viral threat to male fertility[J]. Andrologia, 2018, 50(11): e13140.
- [17] Beard CM, Benson RC, Kelalis PP, et al. The incidence and outcome of mumps orchitis in Rochester, Minnesota, 1935 to 1974[J]. Mayo Clin Proc, 1977, 52(1): 3-7.
- [18] 江倩. 腮腺炎病毒感染睾丸细胞及其损伤精子发生的机制[D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
- [19] Le Goffic R, Mouchel T, Ruffault A, et al. Mumps virus decreases testosterone production and gamma interferon-induced protein 10 secretion by human leydig cells[J]. J Virol, 2003, 77(5): 3297-3300.
- [20] Xu J, Qi LH, Chi XC, et al. Orchitis: a complication of severe acute respiratory syndrome (SARS)[J]. Biol Reprod, 2006, 74(2): 410-416.
- [21] 迟晓春, 祁丽花, 徐健, 等. 严重急性呼吸综合征死亡患者睾丸炎的病因[J]. 解剖学杂志, 2007, 30(1): 25-27, 125.

[收稿日期] 2020-07-07

[本文编辑] 包 玲