

# 膀胱平滑肌细胞原代培养技术研究进展



胡晋堂, 双卫兵

山西医科大学第一医院泌尿外科 (太原 030001)

**【摘要】**膀胱平滑肌细胞原代培养存在易发生去分化、易受杂质污染、操作复杂等问题, 本文对膀胱平滑肌细胞的分离方法 (组织块分离法、酶消化分离法)、提纯方法 (差速贴壁法、选择性培养基法、差速离心法、筛网分离法)、生物物理刺激 (机械拉伸、膀胱内压、碱性成纤维细胞因子、胶原基质, 缺氧刺激)、鉴定方法 (组织学观察、免疫荧光染色法) 和操作要点进行了总结, 并通过比较不同方法的优缺点, 为后续相关研究的开展提供参考。

**【关键词】**膀胱; 平滑肌细胞; 原代细胞分离方法; 原代细胞培养; 细胞鉴定

**【中图分类号】** R694; Q813.1 **【文献标识码】** A

## Progress in research on primary culture techniques of bladder smooth muscle cells

HU Jintang, SHUANG Weibing

Department of Urology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: SHUANG Weibing, Email: shuangweibing@126.com

**【Abstract】** Primary culture of bladder smooth muscle cells is challenged by issues such as proneness to dedifferentiation, susceptibility to impurity contamination, and operational complexity. This article summarizes the isolation methods (tissue explant culture method, enzymatic digestion method), purification techniques (differential adhesion method, selective medium method, differential centrifugation, mesh filtration separation), biophysical stimulation (mechanical stretch, intravesical pressure, basic fibroblast growth factor, collagen matrix, hypoxic stimulation), identification methods (histological observation, immunofluorescence staining), and key operational considerations. By comparing the advantages and disadvantages of different approaches, this review aims to provide references for subsequent related research.

**【Keywords】** Bladder; Smooth muscle cells; Primary cell isolation methods; Primary cell culture; Cell identification

膀胱平滑肌细胞属于不随意肌细胞, 可以通过协调收缩与舒张维持膀胱的正常功能。膀胱平滑肌细胞不仅是收缩功能的执行者, 更是膀胱微环境的调控者, 参与膀胱结构维持、免疫应答、代谢适应、信号传递等生理过程。平滑肌功能异常在膀胱疾病发生发展过程中扮演着重要的角

色。获得膀胱平滑肌细胞并进行原代培养, 可为了解膀胱的生物学特性, 开展神经源性膀胱、间质性膀胱炎、膀胱出口梗阻和膀胱过度活动症等各种膀胱疾病研究提供实验条件。因此, 深入研究膀胱平滑肌细胞的原代培养技术具有重要的意义<sup>[1]</sup>。

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202505090

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82470809); 中央引导地方科技发展资金项目 (YDZJSX2022A065)

通信作者: 双卫兵, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, Email: shuangweibing@126.com

膀胱平滑肌细胞的原代培养是指从活体中分离细胞,并经一系列处理后在体外进行培养的过程,其核心特征是利用新鲜取材的组织细胞在体外实现初次增殖,并保持其原有的生物学特性与功能,主要步骤包括:①从活体组织中获取所需的组织器官;②通过机械或酶解等方法进行细胞分离和纯化;③在精确控制的细胞培养环境下进行扩增;④细胞生长达到一定密度后进行传代培养以保持细胞活性;⑤通过形态学观察和细胞标志物等完成细胞生物学的鉴定<sup>[2]</sup>。

膀胱平滑肌细胞在提取和培养的过程中面临诸多挑战,如细胞易受到微生物和成纤维细胞的污染导致培养失败,扩增过程中肌动蛋白和钙结合蛋白的表达水平下降,出现去分化现象等<sup>[3]</sup>。针对这些问题,研究者们已开发出多种对膀胱平滑肌细胞进行分离和提纯的方法,在获取细胞数量、操作复杂程度、培养成本等方面各有优缺点。本文对膀胱平滑肌细胞的原代培养方法进行了综述,分析多种分离和提纯的方法,为后续相关研究提供参考。

## 1 膀胱平滑肌细胞分离与提纯

### 1.1 膀胱平滑肌来源及样本处理

原代培养提取组织来源主要分为动物和人类,常见动物来源包括大鼠、小鼠、豚鼠、猪和兔等。其中,大鼠和小鼠膀胱因易于获取和遗传背景明确而被广泛采用,尤其适用于膀胱出口梗阻、糖尿病性膀胱病变等病理模型研究<sup>[4]</sup>。人类来源的原代膀胱平滑肌细胞主要来自手术切除组织(如良性前列腺增生伴膀胱梗阻患者的前列腺切除术中膀胱标本)或器官捐献者,该类细胞在表型维持、信号通路和药物响应上更接近生理状

态,具有更高的临床相关性。

获取组织后如需转运,推荐将组织置于低温(4℃)无血清培养基后迅速送往实验室进行后续操作,理想时间在2~4 h内<sup>[5]</sup>。在开始分离膀胱平滑肌细胞前,用预冷的生理盐水对膀胱组织进行冲洗,并尽可能去除膀胱平滑肌以外的组织(尿路上皮层、结缔组织、脂肪和血管组织等)<sup>[4]</sup>。目前多采用机械性方法剔除多余组织,但获得的平滑肌细胞纯度较差。Guo等<sup>[6]</sup>发现在浆膜下注射生理盐水以分离平滑肌层和浆膜层的方法,可进一步提高膀胱平滑肌细胞纯度,显著提高了原代细胞培养成功率。

无菌操作是分离膀胱平滑肌细胞的关键,提取过程中,所有器械必须经过严格的灭菌处理,且整个操作过程需要严格遵守无菌原则,需在培养基中加入青霉素和链霉素以降低细胞污染的可能性。

在膀胱平滑肌的分离过程中,要快速、准确、彻底地剥离黏膜层和浆膜层,充分剪碎膀胱组织,并利用细胞筛网过滤消化后的细胞悬液以获得高纯度平滑肌细胞。在消化过程中,需通过预实验确定消化酶的种类、浓度、温度和消化时间,及时终止消化,防止过度消化对膀胱平滑肌细胞结构和功能的破坏。在培养的前48 h,由于膀胱平滑肌细胞贴壁能力较弱,应避免培养瓶振动和移动<sup>[7]</sup>。

### 1.2 膀胱平滑肌细胞分离

目前实验室常用分离方法包括组织块分离法和酶消化分离法,二者各有优缺点,需根据具体的实验条件和需求进行选择(表1)。

#### 1.2.1 组织块分离法

经过清洗与去除多余组织后,把平滑肌组织

表1 膀胱平滑肌细胞原代培养分离方法比较

Table 1. Comparison of primary culture isolation methods for bladder smooth muscle cells

特征	组织块分离法	酶消化分离法
原理	细胞从组织块边缘迁移爬出	酶解细胞外基质释放单个细胞/细胞团
关键参数	组织块大小、迁移时间	酶类型/浓度、消化时间/温度
时间	长(数周)	较短(数小时)
细胞产量	低	高
细胞活力	通常较高	易受损伤
细胞纯度	低(易混杂成纤维细胞)	较高
操作难度	相对简单	难(需要精细控制)
成本	低	较高(酶成本)
细胞表型	稳定	易去分化
适用场景	珍贵/微量样本、优先保证细胞活力	高产量/纯度需求、分子机制、药物筛选

剪成直径 1 mm 大小的组织小块，以 20~25 个的数量均匀接种在 10 cm 细胞培养皿中，静置待其黏附于培养器皿后加入培养基浸润组织块，确保组织块不发生移位。期间需及时更换废弃的培养基，待周围细胞群落游离生长后，更换培养液并取出组织块，此时需注意避免影响周围细胞群落。待细胞群落融合后，进行后续亚培养<sup>[8]</sup>。

组织块分离法操作简便，无需精细控制，少量组织便可培养出大量细胞，且无需昂贵的酶制剂，在一定程度上降低了实验成本。但此方法无法满足大规模的实验需求，易被成纤维细胞等杂质污染且耗时较长，目前已经较少应用<sup>[9]</sup>。

### 1.2.2 酶消化分离法

酶消化分离法是使用酶制剂制成消化液，将组织加入恒温消化液中进行消化，用筛网过滤掉消化液中剩余的结缔组织大颗粒，随后将混悬液离心，吸取上清液重新制成细胞悬液并移至培养瓶中进行培养<sup>[8]</sup>。目前使用最广泛的酶是胰蛋白酶和胶原蛋白酶，胰蛋白酶具有水解细胞间连接蛋白的能力，可特异性切断细胞间紧密连接、黏着连接，以及细胞与细胞外基质间的锚定连接，从而实现组织解离，使平滑肌细胞从组织块中分离为单个细胞悬液。胰蛋白酶成本低，作用快速，常用于贴壁细胞的分离，但其需要准确把握消化时间，过度的消化会导致细胞死亡，并且胰蛋白酶无法单独消化胶原，因此通常联合胶原蛋白酶特异性分解细胞间质中的胶原蛋白，来更好地分离目标细胞。酶消化分离法成功率取决于酶的类型、浓度、消化时间和温度等多种因素。Serdinšek 等<sup>[10]</sup>研究发现，胶原蛋白酶 II 联合分散酶 II 可以更高效地获取膀胱平滑肌细胞。相较于组织块分离法，该方法耗时更少，收获细胞数量更多，成纤维细胞污染可能性降低。虽然过程更加繁琐，但通过调整消化时间、酶浓度和种类

等参数，能够更加稳定地获取平滑肌细胞，满足开展大量实验的需求。

酶消化分离法难度大，试剂价格较为昂贵，且存在细胞损伤的风险。针对酶消化分离法存在的缺点，可从以下方面进行优化：①优化酶的配方，使用复合酶，以特定比例组合各种单一酶，减少单一酶的用量和消化时间，探索最适合膀胱平滑肌细胞原代培养的组合酶；②开发特异性更高的重组酶，明确切割位点，进一步优化物理-化学联用方法，如使用更加温和且持续的机械力辅助组织解离（如温控振荡水浴），开发非酶消化技术，通过结合细胞间黏附因子辅助组织解离。

## 1.3 膀胱平滑肌细胞提纯

膀胱平滑肌细胞分离过程中，存在成纤维细胞、内皮细胞、上皮细胞等非目标细胞，会影响膀胱平滑肌细胞的生长速度，并对后续实验结果造成影响。其中，成纤维细胞生长速度较快，是影响平滑肌细胞生长的主要因素。目前常采取以下方法对膀胱平滑肌细胞进行提纯（表 2）。

### 1.3.1 差速贴壁法

膀胱平滑肌细胞和成纤维细胞都属于贴壁细胞，但两者贴壁速度不同，成纤维细胞的贴壁速度较快。将细胞悬液静置 20~30 min，成纤维细胞贴壁而膀胱平滑肌细胞未贴壁，此时可将未贴壁的膀胱平滑肌细胞悬液收集并继续培养。该方法原理简单，适用于大规模培养或生产，但易丢失膀胱平滑肌细胞，并且纯化效率不高，需要多次反复进行，因此实际操作中常联合其他方法<sup>[11-12]</sup>。

### 1.3.2 选择性培养基

膀胱平滑肌细胞对无血清培养基的耐受程度强于内皮细胞和成纤维细胞，当原代细胞生长融合度达 80%~90% 时，可通过改用无血清 DMEM 培养基培养 24 h 以去除杂质细胞。该方法获得

表2 膀胱平滑肌细胞原代培养提纯方法比较

Table 2. Comparison of methods for purification of primary cultures of bladder smooth muscle cells

方法	核心原理	适用场景	主要优势	主要局限
差速贴壁法	成纤维细胞贴壁速度更快	成纤维细胞污染较轻的混合细胞群	原理简单，适合大规模生产	易丢失目标细胞，且需多次操作
选择性培养基	成纤维细胞对无血清培养基耐受能力较弱	需长期培养且污染风险高的场景	细胞纯度高，增殖能力强，可在体外连续多代培养	可能影响细胞表型
差速离心法	基于细胞密度差异进行梯度分离	细胞密度差异显著的组织（如消化后的细胞悬液）	快速、简单、低成本，适合处理大样本量并进行初步粗分离	分辨率低、纯度差
筛网分离法	通过孔径筛选去除大块组织或成纤维细胞团	酶消化后含组织碎片或细胞团的悬液	操作简单，成本低廉，物理过滤对细胞损伤小	分辨率低，无法获得高纯度目标细胞群体

的膀胱平滑肌细胞纯度较高且具有较强的增殖能力,可以在体外连续传代培养<sup>[11,13]</sup>。

### 1.3.3 差速离心法

组织经机械分离、消化、过滤后悬液中仍可能存在组织碎块、未被完全消化的细胞团、体积较大细胞(如成纤维细胞)或细胞碎片。不同的颗粒沉降速度不同,通过对原代细胞悬液进行离心,可将目标细胞与其他杂质分离,得到纯度更高的细胞悬液。差速离心法在常规离心法的基础上,通过改变转速产生不同的离心力,将细胞悬液中的不同物质分步沉淀。差速离心法目前多采取三步离心:第一次 $100 \times g$ 离心5 min,可以沉淀未消化的组织块和大型细胞团;第二次 $200\sim 400 \times g$ 离心5~10 min,目标细胞和微小细胞碎片沉淀于管底;第三次离心前用新鲜PBS或者培养基重悬细胞沉淀,随后 $200\sim 300 \times g$ 离心5 min,离心力需低于第二次离心,让目标细胞缓慢、完整地沉降在底部,同时微小细胞碎片仍留在上清液被弃去<sup>[5,14-15]</sup>。离心时间过长或者离心力过大,会导致细胞簇以及其他杂质细胞进入细胞沉淀,离心时间过短或离心力不够,会导致细胞沉淀不充分。因此,需根据提纯结果探究最适合膀胱平滑肌细胞的离心力大小和时间。

### 1.3.4 筛网分离法

酶消化法处理组织后,还存在消化不完全的组织块。将消化悬液缓慢倒入或用移液枪转移至离心管,先用 $100 \mu\text{m}$ 细胞筛网筛去大组织块,再用 $70 \mu\text{m}$ 及更小孔径的筛网进一步分离,以显著提升细胞质量。筛网分离法已成为酶消化法后的常规优化方法。

### 1.3.5 其他方法

流式细胞分选和免疫磁珠分选技术通过识别或结合细胞表面标志物以筛选纯化细胞。然而,膀胱平滑肌细胞的标志物,如平滑肌肌动蛋白 $\alpha$ ( $\alpha$ -SMA)、平滑肌肌球蛋白重链、钙调蛋白和平滑肌 $22\alpha$ 等为胞内蛋白,且流式细胞术会对细胞状态产生较大影响,这两种方法并不适用于膀胱平滑肌细胞的原代提取,但可用于鉴定膀胱平滑肌细胞的纯度。

## 2 膀胱平滑肌细胞培养方法

### 2.1 培养基选择

膀胱平滑肌细胞原代培养常使用DMEM细

胞培养基。Serdinšek等<sup>[10]</sup>通过比较分离效率、细胞培养成功率和细胞表型,认为SmGM-2培养基是膀胱平滑肌原代培养的最优选择。此外,含10%胎牛血清(FBS)和庆大霉素( $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ )的DMEM高糖培养基<sup>[8]</sup>,含10%FBS的RPMI 1640培养基<sup>[15]</sup>,含10%FBS、碳酸氢钠( $2.2\text{g}/\text{L}$ )、 $\times 100$  BME维生素溶液( $10\text{mL}/\text{L}$ )、 $\times 50$  BME氨基酸溶液( $20\text{mL}/\text{L}$ )的无血清M199培养基<sup>[5]</sup>,均实现了膀胱平滑肌的培养。

### 2.2 培养环境

膀胱平滑肌细胞培养一般选择在 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 、95% $\text{O}_2$ 、饱和湿度的环境下进行,该条件能够保持培养基pH、酶活性和细胞代谢稳定。随着组织工程学的发展,研究者们尝试制备膀胱类器官。膀胱支架是膀胱平滑肌细胞生长培养的环境,其不仅需具备良好的生物学相容性、低免疫原性、可降解性和机械性,还需具有防感染的屏障功能<sup>[16-18]</sup>。胶原蛋白、吸收性明胶海绵等材料曾被用作支架材料支持膀胱平滑肌细胞生长,但由于机械、结构和生物相容性等原因而被淘汰。研究发现,丙烯酸表面接枝聚合对苯二甲酸乙二醇酯可为原代膀胱平滑肌细胞的生长、附着和增殖提供良好的支持,该支架可有效吸附生长因子、胶原蛋白等蛋白质,为无血清条件细胞共培养提供了理想条件<sup>[19]</sup>。聚酯聚氨酯泡沫支架同样可用作膀胱平滑肌细胞培养,该支架具备优异的弹性与力学效应,高度多孔的结构有利于细胞三维扩散和营养供给,但缺乏天然生长因子,导致细胞附着和深层浸润较差,血管化困难<sup>[20-21]</sup>。Suda等<sup>[22]</sup>研究发现脱细胞小肠黏膜下层(SIS)可支持膀胱平滑肌细胞黏附和生长,具有极佳的生物相容性与生物活性,为研究膀胱再生机制提供了有效模型,但大面积重建时收缩和钙化问题突出。通过模拟SIS特性开发的三维复合支架,使膀胱平滑肌细胞黏附和扩散功能得到显著改善<sup>[23]</sup>。

## 3 影响膀胱平滑肌细胞增殖分化的因素

随着体外传代次数增加,细胞去分化程度不断增高,细胞的结构、功能和生长速率可能发生明显改变,对实验结果产生较大的影响<sup>[24]</sup>。因此,研究膀胱平滑肌细胞增殖分化的影响因素具有重要意义。

### 3.1 机械拉伸刺激

机械拉伸刺激可以促进膀胱平滑肌细胞的增殖和肥大,该变化可能与胰岛素样生长因子和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)增加以及转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )减少有关<sup>[25]</sup>。TGF- $\beta$ 1通过刺激膀胱平滑肌细胞胶原结构,影响细胞和细胞外基质相互作用,改变膀胱平滑肌细胞表型<sup>[26]</sup>。目前,膀胱平滑肌细胞感知外源性机械刺激的机制尚未完全明确。但现有结果提示,整合素可能在膀胱平滑肌细胞对机械刺激的关键反应中发挥重要作用<sup>[27]</sup>。此外,持续性的张力刺激是维持体外膀胱平滑肌收缩表型的重要因素<sup>[28]</sup>。膀胱充盈拉伸时,Piezo1通道开放使阳离子(如Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>)内流,胞内Ca<sup>2+</sup>浓度上升是触发平滑肌收缩和基因表达改变的核心过程。在正常的充盈-排空过程周期中,适度的机械刺激有利于膀胱平滑肌维持正常的生理功能。但拉伸刺激过度或持续存在时,如膀胱出口梗阻、神经源性膀胱等病理状态下,可能导致膀胱组织重塑。因此,精确模拟正常的充盈-排空生理过程对研究膀胱功能调控机制及病理生理变化具有重要意义。

### 3.2 膀胱内压

膀胱在储存尿液过程中,会持续受到尿液压力刺激。既往研究对膀胱内压和膀胱平滑肌增殖分化之间的关系进行分析,发现持续性膀胱高压会通过肝素结合性表皮生长因子促进膀胱平滑肌细胞的增殖,并导致膀胱平滑肌细胞从收缩型转化为合成型<sup>[29-30]</sup>。Sharma等<sup>[31]</sup>研究表明,循环

水动力压力刺激可显著促进膀胱平滑肌细胞增殖,并证实PI3K/SGK1信号通路在其中发挥核心调控作用。韦堂墙等<sup>[32]</sup>构建体外模型,结合膀胱内压与机械牵张力的协同作用,有效促进了膀胱平滑肌细胞的生长、增殖及功能分化。

除上述机械力学因素外,缺氧、I型胶原、bFGF等因素同样对膀胱平滑肌细胞的增殖与分化过程具有显著调控作用<sup>[33-35]</sup>。条件重编程技术能够在体外诱导原代细胞进入干细胞样增殖状态,实现快速扩增,同时完整保留细胞原有的基因型与表型特征。经该技术扩增后的细胞在移除培养条件后,仍可恢复其收缩功能及特异性分子标志表达,并保留供体的病理生理特征,因此该技术特别适用于疾病模型的构建研究<sup>[36]</sup>。

## 4 膀胱平滑肌细胞的特征和鉴定

对膀胱平滑肌细胞定期进行鉴定,可确保细胞纯度,排除污染,保证细胞的表型和功能特性,常用方法包括形态观察和特征染色。组织学观察时,膀胱平滑肌细胞呈现特征性的纺锤形形态,细胞相互交叉重叠生长,不受接触性抑制影响,呈“山丘和山谷”样生长模式,如图1。特征染色最常用方法为利用抗 $\alpha$ -SMA抗体对膀胱平滑肌细胞进行染色,膀胱平滑肌细胞会呈现阳性反应,还可通过SM-MHC、Calponin、SM22 $\alpha$ 、Desmin等多种标志物联合检测进一步提升鉴定效率,并使用流氏细胞术定量评估原代膀胱平滑肌细胞的纯度<sup>[6,25]</sup>。

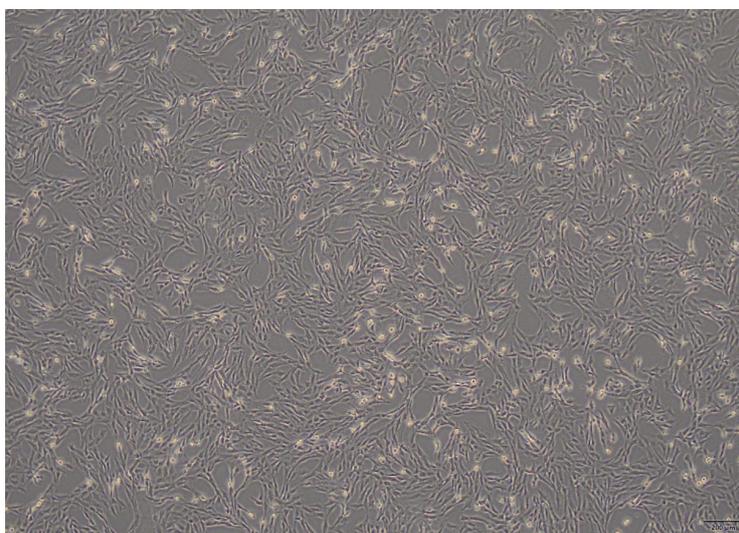


图1 膀胱平滑肌细胞体外培养的形态学特征

Figure 1. Morphological characteristics of bladder smooth muscle cells *in vitro* culture

注: 图片来源于大鼠原代膀胱平滑肌细胞, 由作者团队自行拍摄。

## 5 结语

酶消化分离法是提取膀胱平滑肌原代细胞最为常用的提取方法,探索并优化消化条件后,酶消化分离法可以快速、系统、高效地获得大量纯度较高的原代膀胱平滑肌细胞悬液,再联合筛网分离法、差速分离法、选择性培养基法进一步提纯细胞。在细胞培养基选择方面,SmGM-2培养基在细胞培养成功率和细胞表型稳定性方面具有一定优势,可作为首选。在细胞培养过程中,应当注意机械拉伸、压力、缺氧等因素对平滑肌细胞增殖和分化的影响,以保证实验结果的准确性。此外,定期通过形态观察、特征染色和流式细胞术对膀胱平滑肌细胞定期进行鉴定,可确保细胞纯度,排除污染,保证细胞的表型和功能特性。

伦理声明: 不适用

作者贡献: 论文撰写: 胡晋堂; 论文审定和基金支持: 双卫兵

数据获取: 不适用

利益冲突声明: 无

致谢: 不适用

### 参考文献

- Muhl L, Mocci, GPietilä R, et al. A single-cell transcriptomic inventory of murine smooth muscle cells[J]. *Dev Cell*, 2022, 24, 57(20): 2426–2443. e6.
- Geng J, Zhang X, Zhang Y, et al. TGFβ2 mediates oxidative stress-induced epithelial-to-mesenchymal transition of bladder smooth muscle[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2024, 60(7): 793–804.
- Luo Z, Wu A, Robson S, et al. Adiponectin signaling regulates urinary bladder function by blunting smooth muscle purinergic contractility[J]. *JCI Insight*, 2025, 10(4): e188780.
- Olsson PO, Yeonwoo J, Park K, et al. Live births from urine derived cells[J]. *PLoS One*, 2023, 25, 18(1): e0278607.
- Baskin LS, Howard PS, Duckett JW, et al. Bladder Smooth Muscle Cells in Culture: I. Identification and Characterization[J]. *J Urol*, 1993, 149(1): 190–197.
- Guo HL, Peng XF, Bao XQ, et al. Bladder reconstruction using autologous smooth muscle cell sheets grafted on a pre-vascularized capsule[J]. *Theranostics*, 2020, 10(23): 10378–10393.
- 谢冲, 王杭, 王国民. 兔膀胱平滑肌细胞的分离培养与鉴定[J]. *复旦学报(医学版)*, 2009, 36(4): 435–439. [Xie C, Wang H, Wang GM. Identification of smooth muscle cells purified from rabbit bladder after in vitro culture[J]. *Fudan University Journal of Medical Sciences*, 2009, 36(4): 435–439.]
- Franchi-Mendes T, Silva M, Carreira MC, et al. Xenogeneic-free platform for the isolation and scalable expansion of human bladder smooth muscle cells[J]. *Biotechnol Rep (Amst)*, 2025, 46: e00878.
- Corsi CAC, Sares CTG, Mestriner F, et al. Isolation and primary culture of human abdominal aorta smooth muscle cells from brain-dead donors: an experimental model for vascular diseases[J]. *Cell Tissue Bank*, 2024, 25(1): 187–194.
- Serdinšek T, Lipovšek S, Leitinger G, et al. A novel in situ approach to studying detrusor smooth muscle cells in mice[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 2685.
- Chae S, Kim J, Yi HG, et al. 3D bioprinting of an in vitro model of a biomimetic urinary bladder with a contract-release system[J]. *Micromachines (Basel)*, 2022, 13(2): 277.
- Di XP, Jin X, Ai JZ, et al. YAP/Smad3 promotes pathological extracellular matrix microenvironment-induced bladder smooth muscle proliferation in bladder fibrosis progression[J]. *MedComm (2020)*, 2022, 3(4): e169.
- Sidler M, Aitken KJ, Jiang JX, et al. Inhibition of DNA methylation during chronic obstructive bladder disease (COBD) improves function, pathology and expression[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 17307.
- Wada N, Karnup S, Kadekawa K, et al. Current knowledge and novel frontiers in lower urinary tract dysfunction after spinal cord injury: basic research perspectives[J]. *Urol Sci*, 2022, 33(3): 101–113.
- Hayes CA, Wilson D, De Leon MA, et al. Insulin-like growth factor-1 and cognitive health: exploring cellular, preclinical, and clinical dimensions[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2025, 76: 101161.
- Zhao M, Chen Z, Liu L, et al. Functional expression of transient receptor potential and piezo1 channels in cultured interstitial cells of human-bladder lamina propria[J]. *Front Physiol*, 2022, 12: 762847.
- Zhao F, Yang T, Zhou L, et al. Construction of tissue-engineered bladders using an artificial acellular nanocomposite scaffold loaded with stromal vascular fraction secretome[J]. *Acta Biomater*, 2023, 167: 260–277.
- 安子彦, 肖树伟, 符伟军, 等. 生物来源水凝胶在膀胱组织工程中的研究进展[J]. *解放军医学院学报*, 2021, 42(2): 220–223. [An ZY, Xiao SW, Fu WJ, et al. Research advances in bio-derived hydrogel in bladder tissue engineering[J]. *Academic Journal of Chinese PLA Medical School*, 2021, 42(2): 220–223.]
- Krishnamoorthy M, Hakobyan S, Ramstedt M, et al. Surface-initiated polymer brushes in the biomedical field: applications in membrane science, biosensing, cell culture, regenerative medicine and antibacterial coatings[J]. *Chem Rev*, 2014, 114(21): 10976–11026.
- Le NXT, Trinh KTL, Lee NY. Poly(acrylic acid) as an adhesion promoter for UV-assisted thermoplastic bonding: application for the in vitro construction of human blood vessels[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 122: 111874.
- Ersanli C, Tzora A, Skoufos I, et al. Recent advances in collagen antimicrobial biomaterials for tissue engineering applications: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 7808.
- Suda K, Matsumoto Y, Ochi T, et al. Successful engraftment of bladder organoids in de-epithelialized mouse colon[J]. *Pediatr Surg Int*, 2022, 39(1): 14.
- Casarin M, Todesco M, Fontanella CC, et al. Hybrid materials for tissue repair and replacement: another frontier in biomaterial exploitation focusing on cardiovascular and urological fields[J]. *Processes*, 2023, 11, 2013.
- Casarin M, Fortunato TM, Imran S, et al. Porcine small intestinal submucosa (SIS) as a suitable scaffold for the creation of a tissue-engineered urinary conduit: decellularization, biomechanical and biocompatibility characterization using new approaches[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2826.
- Liu S, Lin Z. Vascular smooth muscle cells mechanosensitive regulators

- and vascular remodeling[J]. *J Vasc Res*, 2022, 59(2): 90–113.
- 26 Ma L, Mu Y, Li X, et al. Expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 and autophagy markers in the bladder of rats with neurogenic lower urinary tract injury[J]. *Spinal Cord*, 2023, 61(2): 154–159.
- 27 Saxena P, Goel A, Broemer E, et al. Compound 48/80 increases bladder compliance by activating MMP-2 and inhibiting TIMP-2[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 21652.
- 28 Hiroshima Y, Oyama Y, Sawasaki K, et al. A compressed collagen construct for studying endothelial-smooth muscle cell interaction under high shear stress[J]. *Ann Biomed Eng*, 2022, 50(8): 951–963.
- 29 Babu R, Sai V. Bladder height width ratio on voiding cystourethrogram as a predictor of future valve bladder in children with posterior urethral valve[J]. *Pediatr Surg Int*, 2022, 38(6): 935–939.
- 30 Burton L, Scaife P, Paine SW, et al. Hydrostatic pressure regulates CYP1A2 expression in human hepatocytes via a mechanosensitive aryl hydrocarbon receptor-dependent pathway[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(5): C889–C902.
- 31 Sharma S, Basu B. Biomaterials assisted reconstructive urology: the pursuit of an implantable bioengineered neo-urinary bladder[J]. *Biomaterials*, 2022, 281: 121331.
- 32 韦堂墙, 陈林, 胡海峰, 等. 多模化仿生应力调节膀胱平滑肌细胞的生物学功能[J]. *生物医学工程学杂志*, 2024, 41(2): 321–327. [Wei TQ, Chen L, Hu HF, et al. Biological function of bladder smooth muscle cells regulated by multi-modal biomimetic stress[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 2024, 41(2): 321–327.]
- 33 Kai W, Lin C, Jin Y, et al. Urethral meatus stricture BOO stimulates bladder smooth muscle cell proliferation and pyroptosis via IL-1 $\beta$  and the SGK1-NFAT2 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(1): 219–226.
- 34 Kim SJ, Kim J, Na YG, et al. Irreversible bladder remodeling induced by fibrosis[J]. *Int Neurourol J*, 2021, 25(Suppl 1): S3–7.
- 35 Xiong Q, Lu F, Xie X, et al. Hypoxia-induced endothelial cell-derived exosome stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Biomed Res*, 2023, 44(6): 245–255.
- 36 Daneshdoust D, Luo M, Li Z, et al. Unlocking translational potential: conditionally reprogrammed cells in advancing breast cancer research[J]. *Cells*, 2023, 12(19): 2388.

收稿日期: 2025 年 05 月 17 日 修回日期: 2025 年 10 月 02 日  
本文编辑: 杨室淞 曹越

引用本文: 胡晋堂, 双卫兵. 膀胱平滑肌细胞原代培养技术研究进展[J]. 医学新知, 2026, 36(2): 217–223. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202505090.  
Hu JT, Shuang WB. Progress in research on primary culture techniques of bladder smooth muscle cells[J]. *Yixue Xinzhi Zazhi*, 2026, 36(2): 217–223. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202505090.