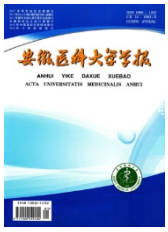

安徽医科大学学报
Acta Universitatis Medicinalis Anhui
ISSN 1000-1492,CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：　改良组织块贴壁法培养大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞及鉴定
作者：　张焘，余茂彬，刘美君，马紫阳，张培海
收稿日期：　2025-10-18
网络首发日期：　2025-12-18
引用格式：　张焘，余茂彬，刘美君，马紫阳，张培海．改良组织块贴壁法培养大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞及鉴定[J/OL]．安徽医科大学学报．https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20251218.1022.004

网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

网络首发时间：2025-12-18 16:43:13　网络首发地址：https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20251218.1022.004

改良组织块贴壁法培养大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞及鉴定

张 焘[1, 2]，余茂彬[1, 2]，刘美君[2]，马紫阳[1, 2]，张培海[1, 2]

（[1]成都中医药大学附属医院泌尿外科，成都 610036；[2]代谢性疾病中医药调控四川省重点实验室，成都 610036）

摘要　目的　使用改良后的组织块贴壁法构建大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞（CCSMCs）体外培养模型。**方法** 分离大鼠阴茎海绵体组织，先用I型胶原酶消化大鼠阴茎海绵体平滑肌组织块再贴壁培养，差速贴壁法对细胞进行纯化，免疫荧光染色法和 Western blot 对其进行鉴定。**结果** 改良组织块贴壁法培养 CCSMCs 3 d 后可见少量细胞从组织块中游出，7 d 后细胞大量从组织块游出，12 d 细胞融合，传代后细胞增殖旺盛，呈“峰-谷”样生长。细胞经差速贴壁纯化后，免疫荧光染色和 Western blot 法鉴定为 α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）阳性，提示大鼠 CCSMCs 体外培养模型建立成功。**结论** 改良组织块贴壁法能够快速得到纯度较高的 CCSMCs，是一种经济便捷获得 CCSMCs 的方法。

关键词　大鼠；阴茎海绵体平滑肌细胞；平滑肌肌动蛋白；体外模型；细胞培养；免疫荧光；组织块贴壁法

中图分类号 R332

文献标志码 A

Culture and identification of rat corpus cavernosum smooth muscle cells by modified tissue block adherence method

Zhang Tao[1,2], Yu Maobin[1,2], Liu Meijun[2], Ma Ziyang[1,2], Zhang Peihai[1,2]

([1]*Dept of Urology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu* 610036; [2]*TCM Regulating Metabolic Diseases Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu* 610036)

Abstract ***Objective*** To establish an *in vitro* culture model of rat corpora cavernous smooth muscle cells (CCSMCs) using a modified tissue block adherence method. ***Methods*** Corpus cavernosum smooth muscle tissue was digested with collagenase type I and subsequently cultured using an adherent method. Cells were purified via differential adhesion and identified through immunofluorescence and Western blotting. ***Results*** CCSMCs began to emerge from the tissue block after 3 days, increased significantly by day 7, and converged by day 12. Post-passage, CCSMCs exhibited strong proliferation and a “peak-to-valley” phenomenon. After purification, the cells tested positive for α-smooth muscle actin (α-SMA), confirming the successful establishment of the *in vitro* culture model. ***Conclusion*** The modified tissue block adherence method is a cost-effective and efficient way to obtain high-purity CCSMCs.

Key words rats; corpus cavernosum smooth muscle cells; smooth muscle actin; vitro model; cell

2025-10-18 接收

基金项目：国家自然科学基金项目（编号：82474319、82405412）

作者简介：张　焘，男，博士研究生；

张培海，男，教授，博士生导师，通信作者，E-mail: zhangpeihai@126.com

culture; immunofluorescence; tissue block adherence method
Fund programs National Natural Science Foundation of China (Nos. 82474319, 82405412)
Corresponding author Zhang Peihai, E-mail: zhangpeihai@126.com

勃起功能障碍（erectile dysfunction, ED）是指男性不能持续获得并维持足够的阴茎勃起以完成满意的性生活，病程通常持续超过 3 个月，具有发病率高、发病趋于年轻化、病程隐匿等特点[1]。近年来，ED 发病率逐年上升，研究[2]表明我国 ED 的总患病率高达 43.4%。阴茎海绵体平滑肌（corporal cavernous smooth muscle, CCSM）的舒张是实现阴茎勃起的关键因素之一，阴茎海绵体平滑肌细胞（corporal cavernous smooth muscle cells, CCSMCs）是构成 CCSM 的基本单元，其数量占海绵体细胞总数的 40%~52%[3]。这些细胞不仅是 CCSM 舒张和收缩功能的基础，也是维持其正常生理活动的关键组成部分，其结构和功能的失调是引发 ED 的重要因素[4-5]。分离并体外培养大鼠 CCSMCs 有助于深入阐释 ED 的发病机制。目前原代细胞的培养方法以酶消化法和组织块贴壁法为主，但两者都存在一定的局限性[6-7]。该研究拟采用I型胶原酶先对组织块进行初步消化，后贴壁培养的改良方法，以期快速、高效获得 CCSMCs，为 ED 等相关疾病的研究提供新思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

选取 6 只 6 周龄，体质量 120~160 g 的雄性 SPF 级 SD 大鼠[成都达硕动物技术有限公司，SYXK（川）2020-124]。所有动物在相对湿度 40%~70%、温度 20~26 ℃的 SPF 标准环境条件下饲养，自由取食和饮水。所有实验操作遵循成都中医药大学动物使用伦理要求（实验动物伦理号：2024142）。

1.1.2 实验试剂

DMEM 培养基（PM150220）、青霉素链霉素混合物（PB180120）、PBS（PB180327）、0.25%胰蛋白酶溶液（PB180224）、胎牛血清(FBS) （164210）、D-Hank's 平衡盐溶液（PB180321）购自武汉普诺赛生命科技有限公司；I 型胶原酶（Type I collagenase）（MKL-C917425）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；抗荧光淬灭封片液(含 DAPI)（P0131）、荧光一抗稀释剂（P0262）、荧光二抗稀释剂（P0265）购自上海碧云天科技有限公司；兔源内参 Tubulin 抗体（2144）、兔源单克隆 α-SMA 抗体（19245）购自美国 CST 公司；二抗特异性 Alexa Fluor 488 荧光抗体（A-11008）购自美国

赛默飞公司。

1.1.3 实验器材

CO_2 细胞培养箱购自美国赛默飞公司（3307 E）；体式显微镜购自德国蔡司公司（Stemi 508）；多光谱倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司（BX 53）；高压蒸汽灭菌锅购自日本平山制作所（HVE 50）；高速冷冻离心机购自上海华岩仪器设备有限公司（H2050R-1）。

1.2 实验方法

1.2.1 原代细胞培养

大鼠经戊巴比妥钠注射麻醉后，脱颈处死，浸入盛有 75%乙醇中 1 min，使用无菌器械从大鼠腹部依次剪开皮肤和肌肉之后，快速低温剪取阴茎组织，在体式显微镜下使用无菌眼科镊小心地剥离大鼠阴茎包皮和其他结缔组织，去除阴茎头和尿道海绵体，仅保留富含平滑肌细胞的阴茎海绵体组织。分离的阴茎海绵体放入盛有预冷的 D-Hank's 液的培养皿中，转移至超净台进行后续操作。用 1 mL 的无菌注射器，吸取 D-Hank's 液反复清洗海绵体平滑肌组织，将清洗过的平滑肌条用无菌眼科剪剪成体积约为 1 mm^3 的组织块，加入 1 mL 37 ℃预温过的I型胶原酶（1 mg/mL），于 37 ℃培养箱中消化 30 min。消化结束后使用 1 mL 移液枪将组织连同培养基吸入新的培养皿中，吸弃培养基，使组织块尽可能地均匀分布，并将培养皿翻转倒置于 CO_2 培养箱中 2 h，使其稳定附着于培养皿。2 h 后，从培养箱内取出培养皿，小心地正置培养皿，而后将培养基沿培养皿侧面缓缓加入。最后，将培养皿平稳地置于 CO_2 培养箱中培养。见图 1。

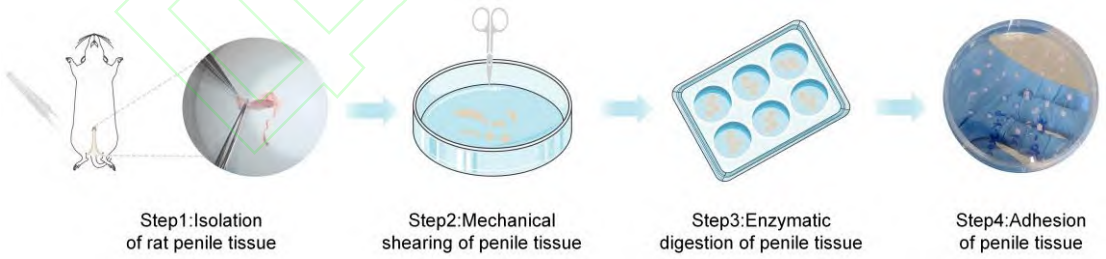

图 1 大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞培养步骤示意图

Fig.1 Schematic diagram of the steps for culturing of smooth muscle cells from the corpus cavernosum of rat penis

1.2.2 细胞传代

当细胞密度超过 90%时，吸弃培养基，并用 PBS 缓缓地冲洗培养皿 3 次，将适量的 0.25%胰蛋白酶添加至培养皿中，随后“十字”轻柔晃动培养皿，促使胰蛋白酶均匀铺展于培

养皿内，对细胞进行约 30 s 的消化处理，期间在显微镜下观察细胞状态，待细胞呈现变圆且变亮的特征后，加入含 10% FBS 的 DMED 完全培养基终止消化，并用移液枪轻轻吹打贴壁的细胞，使细胞全部从培养皿上脱落下来，形成单细胞悬液。将细胞悬液以 1 000 r/min 的速度离心 5 min，去除含有消化液的上清液，加入完全培养基重悬细胞，按照 1：3 的比例进行传代，轻轻晃动培养基，使细胞分布均匀，置于 CO_2 培养箱中继续培养。

1.2.3 细胞纯化

利用细胞贴壁时间差异对细胞进行纯化。细胞传代后，置于 37 ℃培养箱中静置 15 min，此时显微镜下可观察到部分细胞已贴壁（成纤维细胞），移液枪小心地吸去未贴壁细胞（平滑肌细胞）转移至新的培养皿内培养，即得到纯度较高的平滑肌细胞。此步骤重复 2~3 次可以进一步纯化细胞。

1.2.4 细胞计数

采用台盼蓝染色法进行细胞计数，制备细胞悬液，取 20 μL 细胞悬液与 2%台盼蓝染液充分混匀，室温下染色 2 min；染色完成后，取适量混合液滴加在载玻片上，用细胞计数仪进行计数。

1.2.5 细胞免疫荧光染色

制备细胞悬液，将细胞接种在铺好爬片的 12 孔板中，细胞培养至 50%~70%融合度，进行免疫荧光染色。吸弃培养基，PBS 缓冲液小心清洗细胞 3 次，加入 4% 多聚甲醛固定细胞 15 min，用 PBS 缓冲液清洗 3 次，彻底去除残留的固定液；0.2% TritonX-100 透化细胞 15 min，用 PBS 缓冲液洗涤 3 次；用 5% 的山羊血清室温下封闭 30 min；加入稀释好的 α-SMA (1:500)一抗溶液，室温孵育 2 h，孵育结束后，用 PBS 洗涤 3 次，每次 5 min；加入稀释好的 Alexa Fluor 488 (1:500) 二抗溶液，室温避光孵育 1 h；载玻片上滴加含 DAPI 的抗荧光淬灭剂对细胞爬片进行封片，荧光显微镜采集图像，ImageJ 对图片结果分析，统计被染色为阳性细胞的数目与视野内的细胞总数目百分比即为平滑肌细胞的纯度，具体公式如下。

平滑肌细胞纯度（%）＝ α-SMA 阳性细胞数/细胞总数 ×100%

1.2.6 细胞蛋白印迹

去除培养基，在细胞培养皿中加入适量细胞专用裂解液；将裂解后的细胞匀浆液在 4 ℃下 12000 r/min 离心 15 min；离心结束后，吸取上清液，对提取的总蛋白进行定量；定量后加入上样缓冲液，于 100 ℃金属浴中加热变性 10 min，冷却后备用；SDS-PAGE 电泳、电转：蛋白上样后，先用 80 V 的电压跑出上层胶，换 120 V 电压跑下层胶，250 mA

电转 1.5 h；提前用甲醇活化 PVDF 膜 15 min，电转后的 PDVF 膜用快速封闭液封闭 20 min，封闭完成后置于摇床上 TBST 清洗 3 次，每次 5 min；加入稀释好的一抗 α-SMA（1：2 000）4 ℃ 孵育过夜，TBST 摇床上清洗 3 次，每次 5 min，加入山羊抗兔二抗（1：5 000）室温孵育 1 h，TBST 摇床上清洗 3 次，每次 5 min，滴加显影液，采用 Bio-Rad 显影仪进行图像采集，ImageJ 分析蛋白条带灰度值。

1.3 统计学处理

使用 Graphpad Prism 8 软件对实验数据进行统计分析并作图。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 来表示，两独立样本比较采用 t 检验判断有无显著差异。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞生长情况

镜下观察细胞生长情况，结果显示细胞培养第 3 天可见少量细胞从组织块边缘游离出来贴壁生长，培养第 7 天可见较多细胞从组织块周围游离出来，培养第 12 天，细胞生长呈“峰-谷”样，细胞突触相互交错，此时细胞大量融合可进行首次传代。

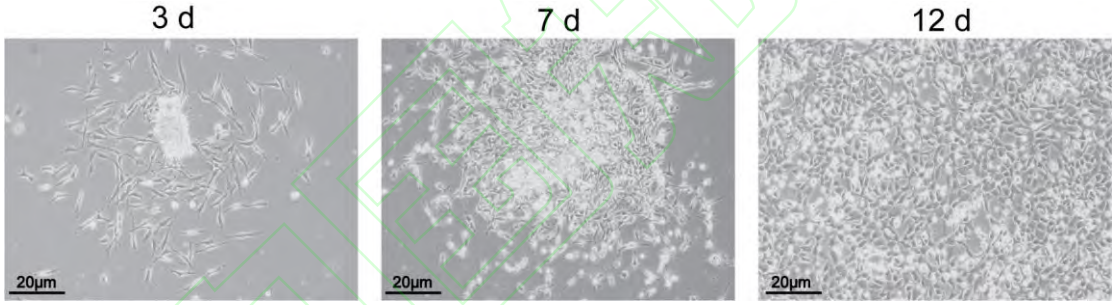

图 2 不同时间段 CCSMCs 的出芽情况 ×200

Fig.2 Cells climbing out of the tissue block at different time points ×200

2.2 细胞纯化及传代情况

根据细胞贴壁时间差异，采用差速离心法纯化得到的细胞，纯化后对细胞生长进行观察，传代 24 h 后细胞多呈规则的梭形，胞质丰富，突触较长且交错分布；传代培养 72 h 后，细胞生长旺盛，细胞融合，呈“峰-谷”样生长。

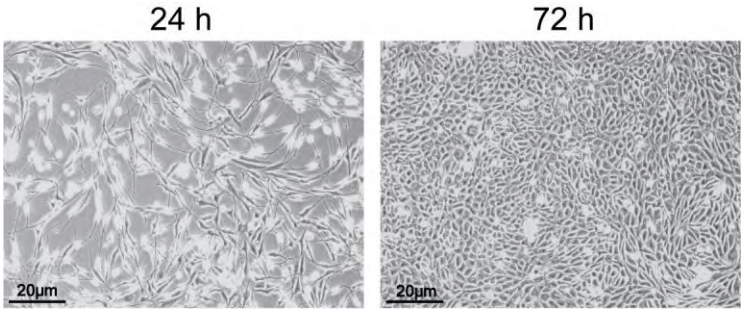

图 3 细胞传代培养后的形态学观察 ×200

Fig.3 Morphological observation of cells after subculturing ×200

2.3 细胞鉴定结果

对纯化后第 1 代（P1）的阴茎海绵体平滑肌细胞制备爬片，荧光染色特异性的 α-肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α-SMA)抗体，可观察到细胞核经 DAPI 染色后镜下呈蓝色，细胞核呈卵圆形，细胞胞质绝大部分被染成绿色（图 4A），Western blot 法检测结果显示第 1 代原代细胞 α-SMA 高表达（图 4B），提示 CCSMCs 成功鉴定。见图 4。

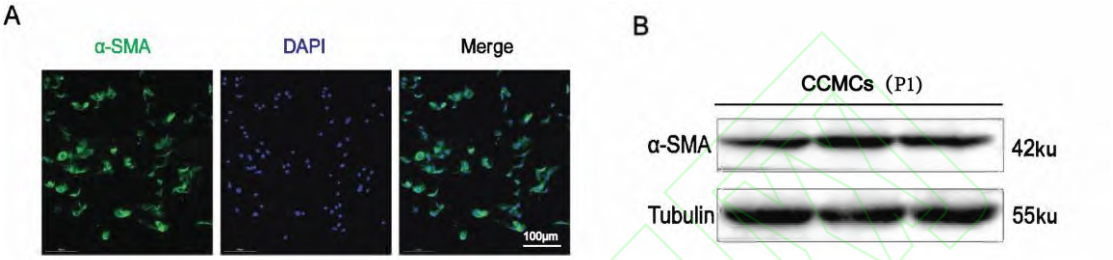

图 4 平滑肌细胞鉴定结果

Fig.4 Results of the identification of smooth muscle cell

注：A: Immunofluorescence results (×400); B: Western blot results.

2.4 P1、P5 代 CCSMCs 阳性率

免疫荧光染色纯化后的第 1 代（P1）和第 5 代（P5）CCSMCs，判断 CCSMCs 阳性率是否会随着传代次数的增加而降低。结果显示，与 P1 代相比，P5 代细胞 α-SMA 染色阳性率降低（$P<0.05$），说明平滑肌细胞的纯度会随传代次数增加而逐渐降低。见图 5。

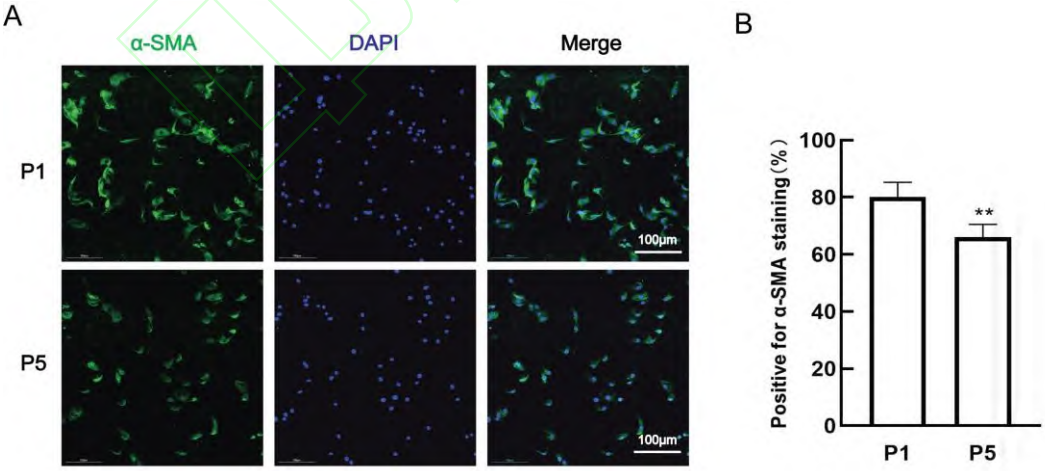

图 5 第 1 代和第 5 代 CCSMCs 中 α-SMA 阳性率比较

Fig.5 Comparison of α-SMA positive rates between P1 and P5 CCSMCs

注：A: Immunofluorescence results of P1 and P5 (×400); B: The positive rate of α-SMA;

**$P<0.01$ *vs* P1 group.

3 讨论

ED 是最常见的男性疾病之一，不仅涉及到男性生殖系统的健康问题，也是一些全身性疾病的预警信号，如心血管疾病、糖尿病等[8-10]，有效防治 ED 对患者生活质量的提升意义重大。目前各种动物模型的构建加速了科学阐释 ED 发病机制的进程，但有关 ED 体外模型的构建却十分匮乏[11]。阴茎是勃起的效应器，而 CCSMCs 是阴茎海绵体细胞群的主要组成部分，深入研究其细胞特性、生理功能以及病理变化机制具有关键价值。通过体外培养 CCSMCs，为进一步开展细胞水平的研究提供了坚实的实验基础，有利于揭示 ED、糖尿病性阴茎血管损伤、佩罗尼氏病（Peyronie's disease，PD）等相关疾病的发病机制，为开发新的治疗靶点和药物提供了可能。因此，探索如何从大鼠体内快速且稳定地获取足量、高纯度的 CCSMCs 尤为关键。

本研究采用改良组织块贴壁法成功培养出大鼠 CCSMCs。相较于单纯的酶消化和组织块贴壁法，改良后的组织块贴壁法操作可以在较短的时间内获得纯度较高的 CCSMCs。在取材方面，采用钝性分离的方法将海绵体组织完全分离，并在体式显微镜下进行这些操作可以最大程度保证其组织完整性，减少了其他组织的残留，为获得高纯度的 CCSMCs 奠定了基础；在组织块处理环节，对组织块大小、贴壁方式等关键步骤进行了优化，将组织块用眼科剪剪成大小 1 mm^3 大小的组织块，使得细胞从组织块中迁出的效率明显提高，将培养皿倒置的时间延长，增加了组织块贴壁时间，避免了组织块在培养过程中脱离培养皿的情况，大大缩短了原代细胞培养的时间，从传统方法的平均 15~20 d 缩短至 10~12 d，为后续实验争取了宝贵时间[12]；在细胞纯化方面，采用差速贴壁的方法对细胞进行纯化，因成纤维细胞是阴茎中除平滑肌细胞外最多的细胞，与平滑肌细胞相比，成纤维细胞贴壁时间更短，根据这一特性可有效去除平滑肌细胞中的成纤维细胞，以保证最终获得纯度较高的平滑肌细胞[13-14]。在 CCSMCs 鉴定方面，对培养的 CCSMCs 进行鉴定是确保实验准确性和可靠性的关键，CCSMCs 根据其结构和功能特性可分为收缩型和合成型，二者在特定条件下可以发生互相转化，而阴茎海绵体 α-SMA 是收缩型 CCSMCs 的标志物，通过检测平滑肌细胞 α-SMA 的阳性表达率，可以验证 CCSMCs 纯度[15]。免疫荧光染色结果显示，细胞中 α-SMA 呈强阳性表达，Western blot 结果进一步证实了 α-SMA 的高强度表达，表明培养的细胞具有典型的平滑肌细胞特征，为细胞的平滑肌来源提供了有力证据。

本研究通过改良组织块贴壁法成功培养并鉴定了 CCSMCs，但仍然存在一定的局限性。例如，在细胞培养过程中，因难以完全模拟体内的生理环境，细胞在体外培养过程中

可能会发生一定程度的表型改变，这可能会影响细胞的生物学功能；其次因细胞传代次数的增加，CCSMCs 的阳性表达率会有所下降，影响后续实验结果的准确性；此外，本研究仅对 CCSMCs 进行了初步的鉴定，对于其细胞的功能特性和分子机制有待深入研究。

参考文献

[1] Pantazis A, Franco I, Gitlin J. Erectile dysfunction in adolescents and young adults[J]. Curr Urol Rep, 2024, 25(9): 225-32. doi:10.1007/s11934-024-01213-9.

[2] 陈卫宏, 杨　玲, 陈　悦, 等. 中国男性勃起功能障碍患病率的 Meta 分析[J]. 中国性科学, 2024, 33(7): 12-8.doi:10.3969/i.issn.1672-1993.2024.07.004.

Chen W H, Yang L, Chen Y, et al. Prevalence of erectile dysfunction in Chinese men: a Meta-analysis [J]. Chin J Hum Sex, 2024, 33(7): 12-8. doi:10.3969/i.issn.1672-1993.2024.07.004.

[3] Nehra A, Goldstein I, Pabby A, et al. Mechanisms of venous leakage: a prospective clinicopathological correlation of corporeal function and structure[J]. J Urol, 1996, 156(4): 1320-9. doi:10.1016/s0022-5347(01)65578-2.

[4] 冀小卫, 张爱平, 刘黎明, 等. 地龙蛋白对糖尿病性勃起功能障碍大鼠阴茎海绵体平滑肌细胞表型转化及其勃起功能的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(3): 325-33. doi:10.19378/j.issn.1003-9783.2024.03.003.

Ji X W, Zhang A P, Liu L M, et al. Effects of *Lumbricus protein* on phenotypic transformation of corporal cavernous smooth muscle cells and erectile dysfunction in rats with diabetic erectile dysfunction[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2024, 35(3): 325-33. doi:10.19378/j.issn.1003-9783.2024.03.003.

[5] Guan Y J, Wang Y, Zhao F J, et al. Research progress on the key role of corpus cavernosum smooth muscle cells in erectile dysfunction [J]. J Clin Urology, 2024, 39(7): 632-5. doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2024.07.014.

[6] Feng H, Liu Q, Deng Z, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate erectile dysfunction in rats with diabetes mellitus through the attenuation of ferroptosis[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 450. doi:10.1186/s13287-022-03147-w.

[7] 张　帆, 李柏霖, 池　茗, 等. 改良组织块培养法提取原代大鼠脑微血管内皮细胞及鉴定[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(1): 10-4. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.01.002.

Zhang F, Li B L, Chi M, et al. Extraction and identification of primary rat brain microvascular endothelial cells by improved tissue block culture method[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(1): 10-4. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.01.002.

[8] Xiong Y, Zhang F, Zhang Y, et al. Insights into modifiable risk factors of erectile dysfunction, a wide-angled Mendelian Randomization study[J]. J Adv Res, 2024, 58: 149-61. doi:10.1016/j.jare.2023.05.008.

[9] Terentes-Printzios D, Ioakeimidis N, Rokkas K, et al. Interactions between erectile dysfunction, cardiovascular disease and cardiovascular drugs[J]. Nat Rev Cardiol, 2022, 19(1): 59-74. doi:10.1038/s41569-021-00593-6.

[10] Defeudis G, Mazzilli R, Tenuta M, et al. Erectile dysfunction and diabetes: a melting pot of circumstances and treatments[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2022, 38(2): e3494. doi:10.1002/dmrr.3494.

[11] 胡道远, 肖恒军. 勃起功能障碍动物模型的建立与研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2021, 35(6): 97-100.doi:10.3969/j.issn.1008-0848.2021.06.020.

Hu D Y, Xiao H J. Establishment and research progress of animal models of erectile dysfunction [J]. Chin J Androl, 2021, 35(6): 97-100. doi:10.3969/j.issn.1008-0848.2021.06.020.

[12] 赵爱玲, 姚　冬. 改良组织块贴壁法培养小鼠气道平滑肌细胞及鉴定[J]. 医学研究与战创伤救治, 2023, 36(3): 225-30. doi:10.16571/j.cnki.2097-2768.2023.03.001.

Zhao A L, Yao D. Improvement and identification of tissue-piece inoculation mouse airway smooth muscle cells[J]. J Med Res Combat Trauma Care, 2023, 36(3): 225-30. doi:10.16571/j.cnki.2097-2768.2023.03.001.

[13] 许春燕, 范为之, 宋　阳, 等. 差速贴壁法分离人子宫腺肌病病灶细胞的平滑肌细胞的纯化时间探讨[J]. 临床医学工程, 2020, 27(7): 869-70.doi:10.3969/j.issn.1674-4659.2020.07.0869.

Xu C Y, Fan W Z, Song Y, et al. Exploration on the purification time of getting smooth muscle cells from human adenomyosis focus cells by different-speed adhesion method[J]. Clin Med Eng, 2020, 27(7): 869-70. doi:10.3969/j.issn.1674-4659.2020.07.0869.

[14] 罗　洁, 曹梦菲, 付可威, 等. 新生小鼠原代心肌细胞分离及培养方法的改进[J]. 江苏大学学报(医学版), 2025, 35(2): 161-5. doi:10.13312/j.issn.1671-7783.y240093.

Luo J, Cao M F, Fu K W, et al. Improvement of method for isolation and culture of primary myocardial cells in neonatal mouse[J]. J Jiangsu Univ Med Ed, 2025, 35(2): 161-5. doi:10.13312/j.issn.1671-7783.y240093.

[15] 于旭东, 张耀圣, 商建伟, 等. 糖尿病对大鼠性功能及阴茎海绵体组织形态学、α-SMA表达的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2024, 40(5): 513-6. doi:10.13463/j.cnki.cczyy.2024.05.011.

Yu X D, Zhang Y S, Shang J W, et al. Effects of diabetes mellitus on sexual function, histomorphology and α-smooth muscle actin expression in cavernous body of penis in rats[J]. J Changchun Univ Chin Med, 2024, 40(5): 513-6. doi:10.13463/j.cnki.cczyy.2024.05.011.