

April Basic Science Tip

Abstract Title: Heterogeneity of Cellular Hypoxia in Murine Bone Marrow

摘要标题: 小鼠骨髓细胞缺氧的多样性

<https://www.ors.org/transactions/2023/482.pdf>

BST Title: How hypoxic is the initial phase of fracture healing?

BST 标题: 骨折愈合初期细胞内缺氧程度如何?

氧气对于细胞存活、增殖和分化具有至关重要的作用。不同种类的细胞和组织的氧气水平和对氧气的需求也有所不同。例如, 脾脏在大气压力下具有约 8-10% pO₂ 的高氧水平, 而相比之下骨髓则处于缺氧状态 (1%-6% pO₂)。骨折的发生会显著改变局部氧气含量。长期以来, 人们认为在骨折愈合的初始阶段, 由于血管破裂, 局部环境会出现严重缺氧, 但骨髓和骨折间隙内部的细胞氧含量尚未得到充分研究。本研究将探究骨折时骨髓细胞间质及细胞内氧水平分布的差异, 以及骨折修复过程中细胞内氧水平的变化情况。

在癌症研究中, 硝基咪唑 (例如 EF5) 已被广泛用于评估肿瘤组织中的缺氧程度。EF5 是一种硝基咪唑, 它在缺氧条件下被硝基还原酶选择性还原, 因此, EF5 合成物的量将与细胞内缺氧程度成比例。这些合成物可以进一步被荧光团偶联抗体标记并可视化。因此, EF5 染色氧合法可作为研究缺氧细胞在骨髓中及骨折愈合初期百分比的精确方法。

首先, 研究者将小鼠骨髓在不同预设氧浓度 (10%, 2%, 0.5%, 0.1% pO₂) 下进行体外培养, 并发现 EF5 标记为阳性细胞的数量与环境缺氧程度以及 HIF 靶基因的表达呈正相关。这一发现确立了 EF5 作为细胞缺氧程度的可靠标记, 即强 EF5 信号代表着低氧气含量。

其次, 研究人员通过在小鼠体内全身注射 EF5 来分析骨髓中的细胞氧水平。结果显示氧含量测量值与小鼠骨髓中氧含量为 4% pO₂ 时的测量值一致, 且 EF5 阳性和 EF5 阴性细胞的分布大致相等, 表明在这些生理条件下细胞内缺氧程度呈现多样性。

最后, 研究人员在骨折后 3 天, 对骨折间隙血肿中的细胞内氧含量进行了 EF5 测量。结果显示, EF5 阳性细胞的数量显著低于同侧肢体的相邻骨髓或对侧肢体骨髓中的 EF5 阳性细胞数量。这些发现表明, 与该领域长期以来的假设不同, 最初的骨折愈合并非缺氧所致。

综上所述, 研究人员建立了通过 EF5 标记来分析骨髓和骨折修复中细胞内氧水平的可靠方法。研究结果表明, 天然骨髓中细胞内氧水平存在多样性。本研究推翻了长期以来关于骨折修复早期为缺氧状态的假设。