·论　著·

DFO/MXene 水凝胶通过促进成骨分化治疗骨缺损修复的机制研究

褚明辉，潘哲浩，陈筱慧，陈奇

【摘要】目的　探讨载有去铁胺（DFO）和碳化钛（MXene）的甲基丙烯酰化明胶（GelMa）水凝胶在骨缺损中的修复作用。**方法**　制备浓度为 0.25%、0.5%的 DFO/MXene 水凝胶以及 GelMa 空白对照组（Control 组），通过活-死染色、细胞计数试剂盒-8（CCK-8）、碱性磷酸酶染色实验、茜素红染色实验、离子释放实验及聚合酶链式反应评估 DFO/MXene 水凝胶的生物相容性、成骨能力，采用扫描电镜及膨胀降解实验分析材料表征。**结果**　DFO/MXene 水凝胶无明显细胞毒性，生物相容性良好。0.5%浓度组促成骨分化效果均优于 0.25%浓度组及 Control 组；与 0.25%浓度组及 Control 组相比，0.5%浓度组 Runt 相关转录因子 2（*Runx2*）、骨形态发生蛋白 4（*BMP4*）、I 型胶原蛋白（*COL I*）和 Sma 与 Mad 相关蛋白（*Smad*）表达均显著上调，铁离子持久释放（均 $P < 0.05$）。0.5%浓度的 DFO/MXene 水凝胶在电镜下表现为多孔蜂窝织结构，膨胀率高于 Control 组，且降解率更快。**结论**　0.5% DFO/MXene 水凝胶可通过 *BMP4*/*Runx2*/*Smad* 信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞（rBMSCs）成骨分化，兼具优良生物相容性与成骨分化能力，是理想的骨缺损修复组织工程材料。

【关键词】　骨缺损；水凝胶；去铁胺；碳化钛

DOI:10.3969/j.issn.1671-0800.2026.06.004

【中图分类号】　R275　　**【文献标志码】**　A　　**【文章编号】**　1671-0800(2026)06-0595-05

Mechanistic study of DFO/MXene hydrogel in the treatment of bone defect repair by promoting osteogenic differentiation

Chu Minghui, Pan Zhehao, Chen Xiaohui, Chen Qi (Deqing People's Hospital, 313200 Deqing, Zhejiang, China)

【Abstract】Objective　To investigate the reparative effect of gelatin methacryloyl (GelMa) hydrogels loaded with deferoxamine (DFO) and titanium carbide nanosheets (MXene) on bone defects. **Methods**　Prepare DFO/MXene hydrogels with concentrations of 0.25% (0.25% concentration group) and 0.5% (0.5% concentration group), as well as a blank control group of GelMa(control group). The biocompatibility and osteogenic ability were evaluated by live/dead staining, cell counting kit-8 (CCK-8) assay, alkaline phosphatase (ALP) staining, alizarin red S (ARS) staining, ion release test and polymerase chain reaction (PCR). The material characteristics were analyzed by scanning electron microscopy (SEM), swelling test and degradation test. **Results**　DFO/MXene hydrogel showed no obvious cytotoxicity and good biocompatibility. The osteogenic differentiation effect in the 0.5% concentration group was superior than that in the 0.25% concentration group and control group. Compare with the 0.25% concentration group and control group, the expression of osteogenic-related genes runt-related transcription factor 2 (*Runx2*), bone morphogenetic protein 4 (*BMP4*), collagen type I (*COL I*) and Sma-and Mad-related protein (*Smad*) in 0.5% concentration group were significantly up-regulated, and iron ions could be released persistently (all $P < 0.05$). SEM observation showed a porous honeycomb-like structure, and its water swelling ratio and *in vitro* degradation rate were more suitable for bone repair. **Conclusions**　This study confirms that 0.5% DFO/MXene hydrogel can promote osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells (rBMSCs) through the *BMP4*/*Runx2*/*Smad* signaling pathway, with excellent biocompatibility and osteogenic differentiation capacity, it is an ideal tissue-engineered material for bone defect repair.

【Key words】　Bone defect; Hydrogel; Deferoxamine; Titanium carbide

[Modern Practical Medicine, 2026, 38(6): 595-599]

基金项目：　湖州市公益性应用研究项目（2023GY90）

作者单位：　313200 德清，德清县人民医院

通信作者：　陈奇，Email：jackiechanoth@163.com

骨缺损是指高能量外伤、骨肿瘤切除术后产生的骨质缺损，7%～ 20%骨折患者术后因骨缺损区缺血或感染等导致骨延迟愈合和骨不愈合，最终形成骨缺损[1]。临床常用各种材料修复骨缺损，但存在失败率高、治疗周期长及费用高等缺陷，临床应用受限。近年来生物材料在骨缺损修复中得到广泛应用，是最有可能取得突破性进展的研究方向之一。

甲基丙烯酰化明胶（gelatin methacryloyl，GelMa）是一种广泛使用的水凝胶[2]，可作为支架承载促骨再生和血管生成的材料。Mondrinos 等[3]报道水凝胶可以诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化，且可促进钙盐沉积。去铁胺（deferoxamine，DFO）作为羟肟酸类络合剂，可与游离态或蛋白结合态的 Fe^{3+}、Al^{3+}结合，形成水溶性、稳定且无毒的铁胺与铝胺复合物，促进骨折断端血管生成，且含有 DFO 的水凝胶可以加速大鼠缺血性胫骨缺损的骨再生和新生血管形成[4]。碳化钛（titanium carbide nanosheets，MXene）是一类新型过渡金属碳化物/氮化物/碳氮化物，是一种结构超薄、物理化学性能优良的新型二维纳米材料。

在组织工程骨修复骨缺损的过程中，种子细胞的成骨分化是再生修复成功的核心环节。因此，探究材料对该分化过程的调控机制至关重要。Runt 相关转录因子 2（runt-related transcription factor 2，*Runx2*）是成骨分化最核心的转录因子，负责启动和调控下游多种成骨相关基因的表达；骨形态发生蛋白 4（bone morphogenetic protein 4，*BMP4*）作为关键的成骨相关生长因子，能通过旁分泌或自分泌方式激活成骨相关信号；I 型胶原蛋白（collagen type I，*COL I*）则是骨组织细胞外基质的主要成分，其高表达是成骨分化进入成熟阶段的核心标志，可为细胞外基质的后续矿化奠定结构基础[5]。此外，BMP 信号可通过其下游的 Sma 与 Mad 相关蛋白（sma-and mad-related protein，*Smad*）完成胞内信号转导，进而调控 *Runx2* 的转录活性，形成经典的 *BMP4*/*Smad*/*Runx2* 成骨信号轴[6]。

因此，本文拟将 DFO 和 MXene 为载体的水凝胶制备成组织工程骨，探索并验证其在骨缺损中的修复作用及材料特性，并通过体外细胞实验检测 *BMP4*、*Smad*、*Runx2* 及 *COL I* 的 mRNA 表达水平，初步探索 DFO/MXene 水凝胶促进大鼠骨髓间充质干细胞（rat bone marrow mesenchymal stem cells，rBMSCs）成骨分化是否与该信号通路的激活有关，以期为骨缺损的治疗提供新思路和理论基础，现报道如下。

1　材料与方法

1.1　DFO/MXene 水凝胶的制备　将 15%（w/v）的 GelMa 和 2%（w/v）的光交联聚酯酰胺完全溶解在含 0.17% Irgacure 2959 光引发剂的去离子水中。制备 DFO/MXene 水凝胶，然后将 0.1 mg/mL 的 DFO 和 0.5 mg/mL 的 MXene 加入 GelMa 水凝胶溶液中。将其转移到定制的 40 孔模具（直径 10 mm）中，在室温下用长波长紫外线灯照射 5 min，分别制备浓度为 0.25%、0.5%的 DFO/MXene 水凝胶以及 GelMa 空白对照组（Control 组）。

1.2　rBMSCs 细胞培养　将购买的第 2 代（普诺赛，武汉）rBMSCs 细胞放入 10 cm 培养皿中，置入细胞培养箱中培养（5% CO_2，37℃）。其中生长培养基的成分为：α-MEM+10%（v/v）胎牛血清+1%（v/v）青霉素/链霉素。将第 4 ～ 5 代 rBMSCs 细胞培养用于本实验。

1.3　rBMSCs 细胞体外增殖和骨分化　将制备完成的水凝胶转移至已添加有生长培养液的 12 孔培养板，置入细胞培养箱中培养（5% CO_2，37℃），隔天换 1 次细胞液。

1.4　活-死染色　分别于第 3、5 天收集标本并检测。将 100 μL 细胞悬液（5 000 ～ 10 000 个细胞）加到 6 孔培养板，放置于 37℃，5%CO_2 恒温培养箱中培养 24 h。每孔加入 10 μL DFO/MXene 水凝胶渗提液，继续于培养箱中放置 3、5 d。取出培养板，加入 200 μL calcein AM/PI 染色液。4℃避光孵育 0.5 h 后用 PBS 溶液洗涤细胞，然后用倒置荧光显微镜观察。

1.5　CCK-8 试验　分别于第 3、5、14 和 21 天收集各组细胞。用胰蛋白酶消化细胞并离心重悬细胞，将细胞稀释到 5×10^4 个/mL，随后向 96 孔板的实验孔中加入 100 μL 细胞悬液，Control 组仅加 100 μL 完全培养基。将培养板放入 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中预培养 24 h，让细胞贴壁，向每孔直接加入 10 μL 的 CCK-8 试剂。避光孵育后用酶标仪，在 450 nm

波长处测定每孔的吸光度（OD 值），以 Control 组为基线标准化各组 OD 值。

1.6　碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，ALP）染色实验　各组细胞接种至 24 孔板中，培养 21 d 后取出细胞，进行 ALP 染色实验，严格按照染色试剂盒（索莱宝，中国上海）说明书进行。

1.7　茜素红（alizarin red staining，ARS）染色实验　各组细胞接种至 24 孔板中，收集培养 21 d 的标本。试验方法严格按照茜素红染色试剂盒（索莱宝，中国上海）说明书进行。

1.8　成骨相关 mRNA 的表达　为进一步明确 DFO/MXene 复合水凝胶促成骨分化的组分贡献与分子机制，排除 MXene 单一组分对成骨信号的非特异性影响，增设单纯 MXene 水凝胶组，与 Control 组、0.25% DFO/MXene 组、0.5% DFO/MXene 组共同检测成骨相关 mRNA 的表达水平，每组 3 个重复样本，1 周时提取细胞进行 PCR 检测分析成骨相关 mRNA 的表达情况。

1.9　DFO/MXene 水凝胶铁离子释放的动力学分析　各组水凝胶置入 PBS 溶液，存放于 37℃恒温箱中，用分光光度计测量 0、1.5、3、6、12、18、24 及 48 h 溶液中的铁离子浓度，并绘制离子释放曲线。

1.10　微观特征观察　通过扫描电镜观察 DFO/MXene 水凝胶的微观特征。

1.11　DFO/MXene 水凝胶的吸水性和体外降解性

1.11.1　吸水膨胀性　将 0.5%浓度 DFO/MXene 水凝胶及 Control 组放置于 37℃ PBS 中浸泡 24 h，然后冻干。将称量的冻干水凝胶（W_0）浸入 PBS 中静置。收集并经冷冻干燥处理后，称量 0、1.5、3、6、12、8、24 及 48 h 后各样本的质量（W_t）。计算其所占初始质量的百分比绘制时间-质量百分比图，计算平衡溶胀比为 W_t/W_0。

1.11.2　体外降解性　取 0.5%浓度 DFO/MXene 水凝胶及 Control 组，精确称量初始冻干质量（W_0）。将其浸入含胶原酶 II 的 37℃ PBS 溶液中，再进行冻干并测定干重（W_t）。每天更换 PBS。计算失重百分比：失重%=（W_0–W_t）/W_0×100%，其中 W_0 为原始水凝胶的重量，W_t 为剩余水凝胶的重量。

1.12　统计方法　使用 SPSS 18.0 进行统计学分析，符合正态分布且方差齐的计量资料以均数±标准差表示，两组间比较采用两独立样本 t 检验，多组间比较使用方差分析和两两比较 q 检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　活-死细胞染色实验结果　培养 3 d 时，各组 rBMSCs 活细胞数量无明显减少；培养 5 d 时，各组细胞均出现大量增殖，见图 1。

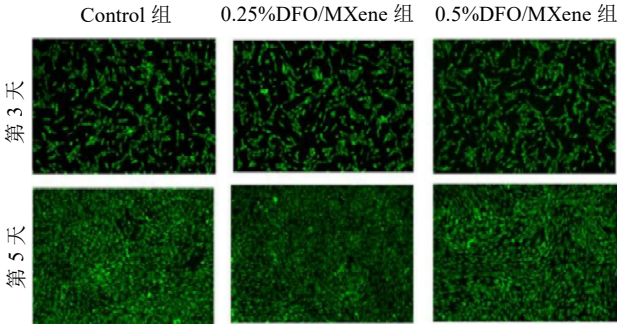
2.2　细胞活力结果　培养 3、5 d 时，3 组细胞活力差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$）。14、21 d 时，0.5% DFO/MXene 组的细胞活力均高于其他两组，且 0.25% DFO/MXene 组细胞活性高于 Control 组（均 $P < 0.05$），见图 2。

2.3　ARS、ALP 染色实验结果　DFO/MXene 水凝胶成骨分化情况均优于 Control 组（均 $P < 0.05$），且 0.5%浓度组成骨分化结果优于 0.25%浓度组（$P < 0.05$），见图 3。

2.4　成骨相关 mRNA 的表达情况　0.5% DFO/MXene 组 *Runx2*、*BMP4*、*Smad* 和 *COL I* 的表达情况均高于其他 3 组（均 $P < 0.05$）；0.25% DFO/MXene 组 *Runx2*、*BMP4*、*Smad* 和 *COL I* 的表达情况均高于 Mxene 组、Control 组，Control 组 *Runx2*、*BMP4*、*Smad* 和 *COL I* 的表达最低（均 $P < 0.05$），见图 4。

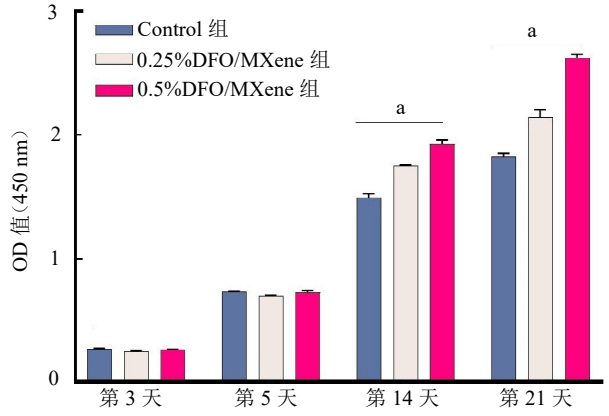
2.5　铁离子释放实验结果　各组铁离子均表现为持续缓慢释放。0.5% DFO/Mxene 组的铁离子释放浓度最高，0.25%DFO/Mxene 组铁离子浓度次之，Control 组最低（均 $P < 0.05$），见图 5。

2.6　DFO/MXene 水凝胶微观特征观察　0.5%浓度的 DFO/MXene 水凝胶在电镜下表现为多孔蜂窝织结构，见图 6。0.5%浓度的 DFO/MXene 水凝胶的膨胀率高于 Control 组，且降解率更快（$P < 0.05$），见图 7 ～ 8。



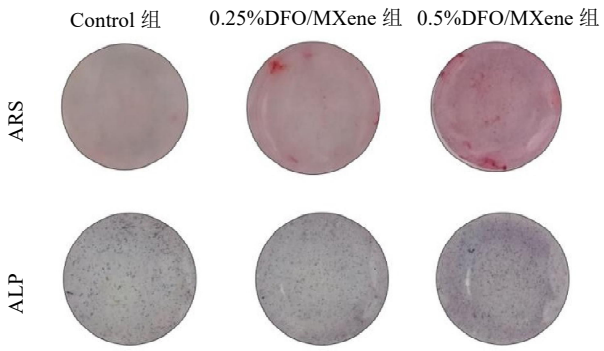
注：Control 组为空白对照组，DFO 为去铁胺，MXene 为碳化钛

图 1　活-死染色实验结果（×200）



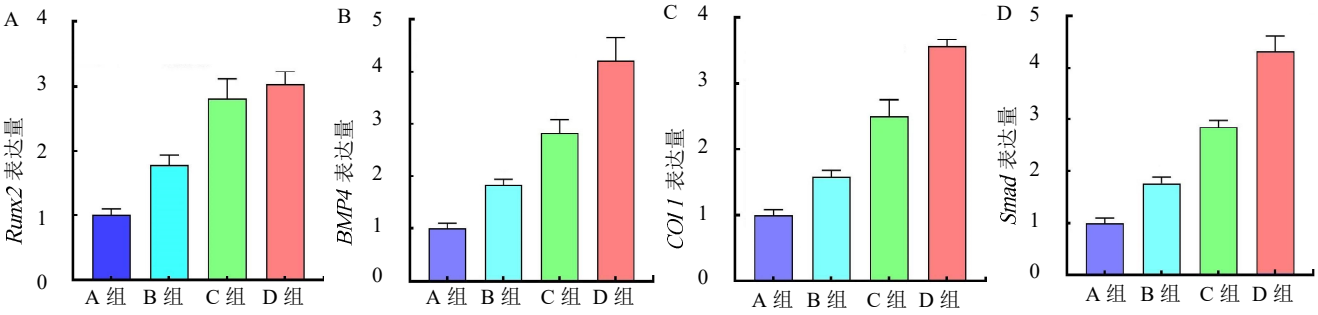
注：Control 组为空白对照组，DFO 为去铁胺，MXene 为碳化钛；a*P* < 0.05

图 2　CCK-8 实验结果



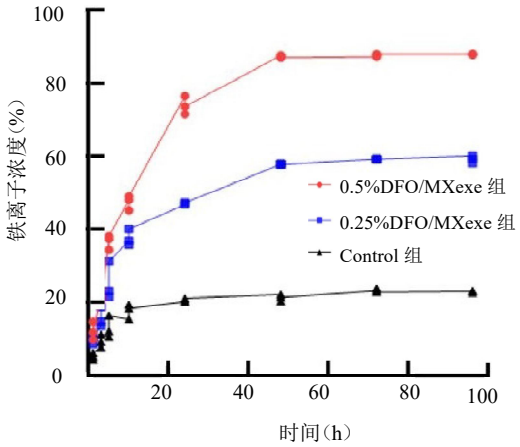
注：Control 组为空白对照组，DFO 为去铁胺，MXene 为碳化钛

图 3　rBMSC 的 ARS 染色、ALP 染色结果（肉眼直视）



注：A 为 Runt 相关转录因子 2（*Runx2*）表达量，B 为骨形态发生蛋白 4（*BMP4*）表达量，C 为 I 型胶原蛋白（*COl 1*）表达量，D 为 Sma 与 Mad 相关蛋白（*Smad*）表达量。A 组为空白对照组，B 组为碳化钛（MXene）组，C 组为 0.25%去铁胺（DFO）/MXene 组，D 组为 0.5%DFO/MXene 组；4 组间 *Runx2*、*BMP4*、*COl 1* 及 *Smad* 表达量两两多重比较，均 *P* < 0.05）

图 4　各组成骨相关 mRNA 的表达情况



注：Control 组为空白对照组，DFO 为去铁胺，MXene 为碳化钛

图 5　铁离子的释放累积百分比

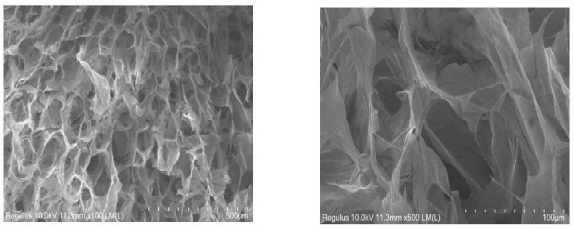


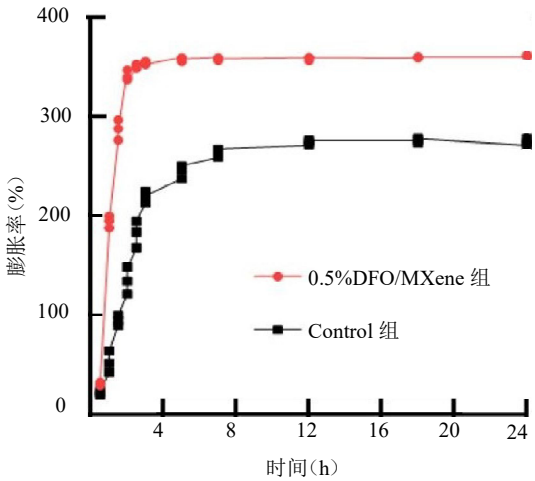
图 6　0.5% 去铁胺/碳化钛水凝胶电镜图[×100（左图），×500（右图）]

3　讨论

本研究通过将 GelMa 制成的水凝胶材料作为支架载体，联合载 DFO 和 MXene 的水凝胶制备成组织工程骨，验证并探索 DFO/MXene 水凝胶组织工程骨的修复作用及其材料表征。

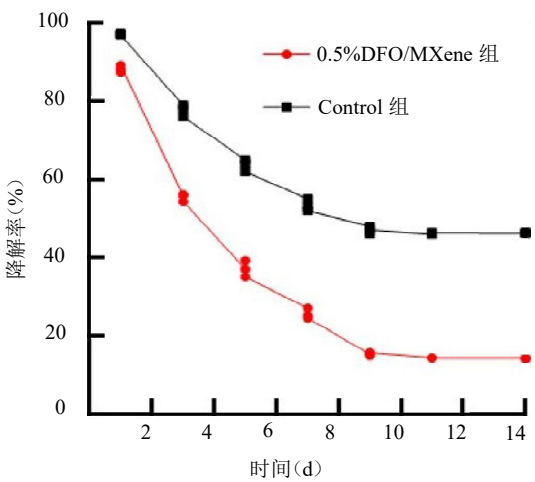
DFO/MXene 水凝胶良好的生物相容性是骨再生过程中取得成功的关键特征。本研究结果显示，各组 3、5 d 均存在 90%以上的活细胞增殖，CCK-8 实验提示 DFO/MXene 水凝胶对 rBMSCs 具有较好的生物相容性，提示 DFO/MXene 水凝胶有成为安全的生物相容性支架的巨大的潜力，与 Jin 等[7]报道相符。ARS 染色、ALP 染色实验提示 DFO/MXene 水凝胶在体外具有促进 rBMSCs 成骨的能力，且 0.5%浓度较 0.25%浓度的 DFO/MXene 水凝胶成骨能力更强。

骨再生支架的研究显示，成骨活性的增强可能与部分成骨相关基因的 mRNA 表达水平上调有关；而 Bastami 等[8]认为这可能与 P^{5+}的额外释放有关。



注：Control 组为空白对照组，DFO 为去铁胺，MXene 为碳化钛；两组比较 $P < 0.05$

图 7　0.5% DFO/MXene 水凝胶和 Control 组的膨胀率比较



注：Control 组为空白对照组，DFO 为去铁胺，MXene 为碳化钛；两组比较 $P < 0.05$

图 8　0.5% DFO/MXene 水凝胶和 Control 组的降解率比较

铁离子的快速释放可通过提供氧气和营养，促进细胞增殖和组织形成，防止细胞凋亡和骨坏死，有助于早期的血管化[9]，而本研究结果显示 DFO/MXene 水凝胶的铁离子表现为持续缓慢释放，可以为骨再生过程中血管再生持续提供铁离子。微孔海绵状的电镜结构及更快的膨胀率和降解率有助于通过更多的氧气和营养物质，更有利于细胞生长，组织形成。另外，本研究为进一步分析其促进成骨分化的机制，对成骨相关 mRNA 进行了 PCR 分析，结果显示 0.5% DFO/MXene 组中 *Runx2*、*BMP4* 和 *COL I* 的表达水平均高于其他 3 组（均 $P < 0.05$），这提示 DFO/MXene 水凝胶可能通过 *BMP4*/*Runx2*/*Smad* 信号通路促进 rBMSCs 成骨分化。

本研究成功制备了具有良好生物相容性与成骨分化能力的 DFO/MXene 水凝胶，其多孔蜂窝织状结构、适配骨修复的吸水膨胀率与体外降解特性，共同保障了其在骨组织修复中的应用潜力。其中，0.5% 浓度水凝胶可通过 *BMP4*/*Runx2*/*Smad* 信号通路显著促进 rBMSCs 的成骨分化，为骨缺损治疗提供了新的材料选择，也为相关组织工程研发提供了实验依据。本研究仍存在一定局限性，目前仅初步探讨了 DFO/MXene 水凝胶的生物安全性、体外成骨活性及其作用机制，尚未开展体内动物实验验证其实际修复效果；此外，未对其促成血管分化能力进行深入探究，是后续研究的重点方向。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　褚明辉：实验操作，论文撰写；潘哲浩，陈筱慧：数据整理，统计学分析；陈奇：研究指导，论文修改，经费支持

参　考　文　献

[1] Morgenstern M, Kühl R, Eckardt H, et al. Diagnostic challenges and future perspectives in fracture-related infection[J]. Injury, 2018, 49: S83-S90.

[2] Yue K, Trujillo-de Santiago G, Alvarez M M, et al. Synthesis, properties, and biomedical applications of gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels[J]. Biomaterials, 2015, 73: 254-271.

[3] Mondrinos M J, Alisafaei F, Yi A Y, et al. Surface-directed engineering of tissue anisotropy in microphysiological models of musculoskeletal tissue[J]. Sci Adv, 2021, 7(11): eabe9446.

[4] Farberg A S, Sarhaddi D, Donneys A, et al. Deferoxamine enhances bone regeneration in mandibular distraction osteogenesis[J]. Plast Reconstr Surg, 2014, 133(3): 666-671.

[5] Zhang Y X, Fang M R, Yang Z W, et al. GATA binding protein 4 regulates tooth root dentin development *via* FBP1[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(1): 181-193.

[6] Li W, Zhong Y L, Song Y Q, et al. Chorordin-like 1 inhibits pancreatic cancer cell migration and invasion: Involvement of the BMP4/SMAD pathway[J]. Front Oncol, 2025, 15: 1633464.

[7] Jin M Y, Zhang Y H, Liang W, et al. Conductive MXene/adECM hydrogel promotes skeletal muscle regeneration and innervation through Ca^{2+} influx modulation and neuromuscular junction formation[J]. J Nanobiotechnology, 2026, 24(1): 214.

[8] Bastami F, Paknejad Z, Jafari M, et al. Fabrication of a three-dimensional β-tricalcium-phosphate/gelatin containing chitosan-based nanoparticles for sustained release of bone morphogenetic protein-2: Implication for bone tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2017, 72: 481-491.

[9] Yang L, Ullah I, Yu K D, et al. Bioactive Sr^{2+}/Fe^{3+} co-substituted hydroxyapatite in cryogenically 3D printed porous scaffolds for bone tissue engineering[J]. Biofabrication, 2021.[2026-03-10]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33260162/

收稿日期：2026-03-02

（本文编辑：吴迪汉）