

动态交联水凝胶负载二硫化钼和抗氧化剂用于肿瘤性骨缺损修复的体外研究

赵亚军, 张 艺, 李春涯*

中南民族大学, 化学与材料科学学院, 国家民族事务委员会分析化学重点实验室, 湖北 武汉

收稿日期: 2026年5月17日; 录用日期: 2026年6月17日; 发布日期: 2026年6月29日

摘 要

针对骨肉瘤术后高复发及缺损部位氧化应激难题, 利用水凝胶作为药物递送载体, 设计并制备集光热抗肿瘤与抗氧化功能于一体的MAEO复合纳米水凝胶。该水凝胶以席夫碱键和离子络合动态交联改性透明质酸与海藻酸钠为基质, 物理掺杂二硫化钼(MoS_2)纳米花作为光热剂, 同时负载表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)为抗氧化剂。在1064 nm近红外光照射下, 含100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MoS_2 的水凝胶可产生高效光热效应, 显著杀伤肿瘤细胞, 并保持良好的生物相容性。同时, 负载的EGCG清除活性氧, 降低局部炎症与氧化应激水平, 有利于改善骨缺损微环境。MAEO水凝胶协同整合光热治疗与抗氧化药物, 有望为肿瘤性骨缺损修复及术后防复发提供新策略。

关键词

水凝胶, 光热疗法, 抗氧化, 二硫化钼, 表没食子儿茶素没食子酸酯, 肿瘤性骨缺损修复

In Vitro Investigation of a Dynamically Crosslinked Hydrogel Incorporating Molybdenum Disulfide and Antioxidants for Tumorous Bone Defect Repair

Yajun Zhao, Yi Zhang, Chunya Li*

Key Laboratory of Analytical Chemistry of the State Ethnic Affairs Commission, School of Chemistry and Materials Science, South-Central Minzu University, Wuhan Hubei

*通讯作者。

文章引用: 赵亚军, 张艺, 李春涯. 动态交联水凝胶负载二硫化钼和抗氧化剂用于肿瘤性骨缺损修复的体外研究[J]. 材料科学, 2026, 16(6): 162-174. DOI: 10.12677/ms.2026.166148

Abstract

In order to solve the problems of high recurrence and oxidative stress in the defect site of osteosarcoma after operation, MAEO composite nano-hydrogel with photothermal anti-tumor and anti-oxidation functions was designed and prepared by using hydrogel as drug delivery carrier. The hydrogel matrix was prepared from modified hyaluronic acid and sodium alginate through dynamic Schiff base bonding and ionic coordination crosslinking. Molybdenum disulfide (MoS_2) nanoflowers were physically incorporated as photothermal agents, while epigallocatechin gallate (EGCG) was loaded as a potent antioxidant. Upon 1064 nm near-infrared (NIR) laser irradiation, the hydrogel containing 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MoS_2 exhibited an efficient photothermal conversion effect, resulting in significant tumor cell ablation while maintaining favorable biocompatibility. Meanwhile, the released EGCG effectively scavenged reactive oxygen species (ROS), thereby alleviating local inflammation and oxidative stress and contributing to the improvement of the bone defect microenvironment. By synergistically integrating photothermal therapy with antioxidative drug delivery, the MAEO hydrogel demonstrates considerable potential as a therapeutic strategy for postoperative prevention of osteosarcoma recurrence and tumorous bone defect repair.

Keywords

Hydrogel, Photothermal Therapy, Antioxidation, Molybdenum Disulfide, Epigallocatechin Gallate, Tumorous Bone Defect Repair

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

水凝胶作为良好的药物输送载体[1], 可以通过智能响应刺激药物释放来使水凝胶具有一定抗氧化和清除 ROS 的能力[2]。表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是一种从绿茶中提取的多酚类化合物, 因其特殊的立体化学结构, 具有非常强的抗氧化活性, 可以有效清除体内自由基[3]。EGCG 通过提供电子使自由基稳定, 从而减少自由基对身体的损害[4]。此外, EGCG 可以通过氢键、 π - π 堆积和静电作用等相互作用力负载于水凝胶体系中, 为水凝胶提供抗氧化性能[5] [6]。

骨肉瘤是一种恶性骨肿瘤, 由于复发和转移的可能性很高, 在临床上被认为是一种极具挑战性的疾病, 导致 5 年总生存率低于 20% [7] [8]。切除手术是治疗骨肉瘤的传统且最有效的策略, 然而, 肿瘤复发和术后感染是患者术后面临的问题之一[9]。尽管放疗和化疗已在临床上得到应用, 但全身副作用仍然不可避免[10]。此外, 骨肉瘤切除术后常遗留大范围的节段性骨缺损, 修复难度很高, 生物惰性材料(如钛、镁合金)虽能填充缺损并提供支撑, 但不具备诱导成骨的能力。水凝胶生物相容性优异, 引入活性分子后可用于骨修复[11] [12]。面对这种情况, 光热疗法(PTT)作为一种非侵入性治疗方法, 引起了研究人员的极大兴趣, 并已应用于伤口愈合、癌症治疗、代谢调节等领域[13]。基于可靠的组织穿透性、高能量且对皮肤几乎无热损伤, 1064 nm 近红外光作为光热效应的触发器已在医疗领域得到广泛应用[14]。同时, 一系列光热材料如黑磷[15]、MXene [16]、黑色二氧化钛[17]等被发现。二硫化钼(MoS_2)是一种二维过渡

金属硫化物, 可通过水热法轻松制备且具有良好的光热转换效率, 可通过物理掺杂的方式引入水凝胶中用作光热剂, 以防止肿瘤复发甚至人工材料植入后的细菌感染[18][19]。

在此, 基于席夫碱键与离子络合的动态交联将改性透明质酸与改性海藻酸钠混合并负载 EGCG 和 MoS_2 , 制得 MAEO 水凝胶[20][21]。MAEO 水凝胶具有良好的光热效果以杀死肿瘤细胞, 同时通过负载的 EGCG 赋予水凝胶抗炎抗氧化的性能, 以达到治疗肿瘤性骨缺损的目的。

2. 材料与方法

2.1. 主要仪器及试剂

主要仪器: 智能磁力搅拌器(ZNCL-BS 武汉科尔有限公司)、紫外分光光度计(T700AS 北京普析)、共聚焦显微镜(LCS SP8 Leica)、手持式红外热像仪(TiS55+ 美国福禄克)、倒置生物显微镜(XDS-1B 日本奥林巴斯)、温度数据记录仪(HH306 美国欧米茄)。

主要试剂: 透明质酸(麦克林)、盐酸(国药)、己二酸二酰肼(阿拉丁)、MES 缓冲液(麦克林)、氢氧化钠(国药)、海藻酸钠(阿拉丁)、高碘酸钠(麦克林)、氯化钠(国药)、乙醇(国药)、多巴胺(99%阿拉丁)、四水合钼酸铵(AR 国药)、硫代乙酰胺(99%阿拉丁)、表没食子儿茶素没食子酸酯(99%毕得药业)。

2.2. 复合水凝胶制备

2.2.1. 改性透明质酸(AHS)制备

将 1 g HA 溶解在 100 mL MES 缓冲液(pH = 6.5)中, 依次加入 EDC (1.25 g)和 HOBt (0.89 g)反应 1 h。然后, 加入 4.5 g 的己二酸二(ADH), 在室温下再反应 24 h, 如图 1 所示。反应完成后, 混合溶液在透析袋中透析 5 day, 最后通过冷冻干燥获得产物。得到的产物按照一定比例溶于含有 Sr^{2+} 的溶液中, 获得最终产物 AHS, 保存在 4°C 以备进一步使用。

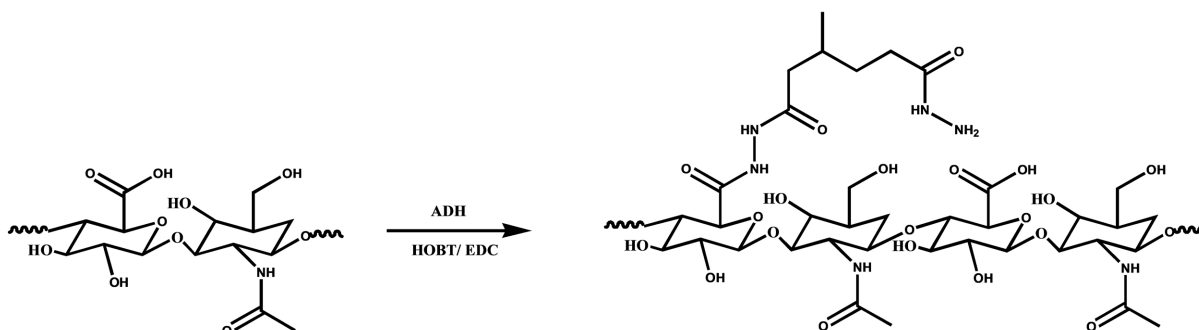


Figure 1. Schematics for the synthesis of HA-NH₂

图 1. HA-NH₂ 的合成路线

2.2.2. 改性海藻酸钠(OSD)制备

将海藻酸钠(3 g)溶解于 300 mL 去离子水中, 制备成 1 wt% 的溶液, 随后加入高碘酸钠(0.65 g), 在黑暗条件下反应 4 h, 加入 3 mL 乙二醇终止反应 2 h, 然后加入 1 g 氯化钠, 加入 100 mL 乙醇使其沉淀。抽滤得到白色产物。用去离子水充分溶解后, 透析 3 day 后将产品冷冻干燥, 得到白色的氧化海藻酸钠。

将氧化海藻酸钠(3 g)溶解在 300 mL 去离子水中, 然后加入 EDC (2.71 g)和 NHS (1.63 g)。在氮气保护下, 然后加入 DA (2 g), 在反应过程中, 调节 pH 约 4.5~5.5, 使其稳定在该范围内。在室温下反应过夜, 将反应溶液放入透析袋中透析 5 day, 冷冻干燥后得到产物 OSD, 如图 2 所示。

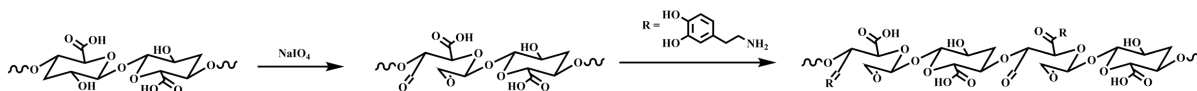


Figure 2. Schematics for the synthesis of OSD
图 2. OSD 的合成路线

2.2.3. 二硫化钼纳米花(MoS₂)制备

将硫代乙酰胺(2.3 mmol)、(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (0.12 mmol)和超纯水(28.0 mL)加入 100 mL 高压釜中, 并不断搅拌 0.5 h 使其溶解, 然后转移至烘箱 200℃反应 24 h, 冷却后用超纯水洗涤高压釜中的产物, 然后在 10000 rpm 转速下离心。冷冻干燥后, 得到的黑色固体为 MoS₂ 纳米花。

2.2.4. 水凝胶(MAEO)制备

将 OSD 以 15 wt% 的含量溶解在 EGCG 溶液中, 并与 5 wt% AHS 混合制备水凝胶, 水凝胶中的 MoS₂ 浓度为 100 μg/mL, 形成 MAEO 水凝胶。按照上述步骤分别制备不含 MoS₂ 与 EGCG 的 AO 水凝胶, 不含 MoS₂ 的 AEO 水凝胶, 不含 EGCG 的 MAO 水凝胶, 统称为 MAEO 水凝胶组。

2.2.5. MAEO 水凝胶表征

(1) 光物理性质: 将 MoS₂ 以不同浓度分散在去离子水中, 用紫外分光光度计(T700AS 北京普析)采集其紫外/可见吸收光谱; (2) 用傅里叶红外光谱(IS10 美国尼高力) (FT-IR)采集各组分在 4000~500 cm⁻¹ 范围内的 FT-IR 光谱。(3) 形貌: 使用扫描电镜扫描透射电子显微镜(Talos F200X 美国赛默飞)和场发射扫描电镜(SU8010 日本日立)表征 MoS₂ 形貌。(4) 含水量: 将四种直径为 10 mm, 高度为 5 mm 的圆柱形 MAEO 组水凝胶称重记录, 冷冻干燥, 除去所有水分后结束冻干, 取出四种水凝胶并记录各水凝胶的质量。样品的含水量计算公式如下:

$$\text{Water content \%} = \frac{W_0 - W_d}{W_0} \times 100$$

其中 W_0 是干燥前的重量, W_d 是干燥后的重量。(5) 光热性能: 在 1064 nm 激光(800 mW/cm²)照射下, 测量 MoS₂ 分散体的温度变化。分别配制 50、100、200、300、500、700 μg/mL 的 MoS₂ 溶液, 照射 10 min, 以 PBS 溶液为对照评估 MoS₂ 的光热效能。用 1064 nm 激光(800 mW/cm²)持续照射 MoS₂ 分散体 10 min, 再冷却 10 min, 进行三次循环, 测试其稳定性。MAEO 水凝胶的光热性能用红外热成像仪记录其光热图像。

2.2.6. MAEO 水凝胶生物相容性测试

LO2 和 4T1 细胞在 DMEM 培养基(1%青霉素/链霉素和 10%胎牛血清)中培养, HUVECs 和 rBMSCs 细胞用其专用培养基培养, 并放在含有 5% CO₂ 的 37℃细胞培养箱中孵育。

采用 CCK-8 试剂盒(Cell Counting Kit-8, 碧云天生物)评价 MoS₂ 材料和四种水凝胶对 LO2、HUVECs 和 BMSC 的细胞毒性。将 LO2 和 HUVECs 细胞分别接种在 96 孔板中(1 × 10⁴ 细胞/孔), 贴壁后, 分别加入不同浓度 MOFs 材料与两种细胞共培养 3 day, 加入 CCK-8, 1 h 后检测细胞毒性, 用酶联检测器(EL-10A, 博科生物)在 450 nm 波长下测量每个孔的光密度(OD)。以细胞相对生长率(RGR)作为细胞相容性指标。以未添加材料为对照组, 重复实验 3 次。根据以下公式计算细胞活力:

$$\text{Cell Viability (\%)} = (\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{background}}) / (\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{background}})$$

OD_{sample}: 实验组(含有细胞的培养基, CCK8, 待测物质);

OD_{control}: 对照组(含有细胞的培养基, CCK8, 无待测物质);

OD_{background}: 空白组(不含细胞和待测物质的培养基, CCK8)。

为评估材料的生物相容性, 通过分子探针: 钙黄绿素 AM (Ethidium Homodimer-1 and Calcein AM)来观察材料与细胞 LO2、HUVECs 和 BMSC 的生物相容性。将细胞接种在培养皿中, 分别加入不同浓度的材料, 在共培养三天后分别加入钙黄绿素 AM 染料, 通过激光共聚焦显微镜(TCS sp8, Germany Leica)观察细胞的生存情况。

2.2.7. MAEO 水凝胶的细胞水平治疗实验方法

通过 CCK8 实验检测 MoS₂ 和 MAEO 组水凝胶的光毒性和暗毒性。将 LO2 和 4T1 细胞悬液以 8×10^3 /孔的密度接种到 96 孔板中, 在细胞培养箱中培养 24 h。待细胞贴壁后, 去除培养基, 用 DMEM 将 MoS₂ 溶液稀释至 50、100、200、300、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 并加到孔中。孵育 2 h 后, 对于实验组, 用 1064 nm 激光($800 \text{ mW}/\text{cm}^2$)照射每孔 10 min。再孵育 12 h, 加入 CCK8 试剂孵育, 用酶标仪记录 450 nm 的吸光度, 根据公式计算细胞活力。

同时将 4T1 细胞接种在共聚焦小皿中, 培养 24 h。吸出培养基, 加入浓度为 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MoS₂ 的 DMEM 溶液并孵育, 随后用 1064 nm ($800 \text{ mW}/\text{cm}^2$)激光照射细胞 10 min, 对照组不经激光照射, 继续培养 12 h。加入 AM、PI 试剂对细胞染色 20 min, 使用共聚焦显微镜(LCS SP8 Leica)进行共聚焦成像。

再用同样的方法来评价水凝胶组的细胞毒性。

2.2.8. MAEO 水凝胶对细胞迁移的影响

将 BMSC 细胞接种在孔板中, 用枪头在孔板中划出划痕, 并分别放入四种灭菌后的水凝胶, 共培养 36 h, 用倒置荧光显微镜分别在 0 h、12 h、24 h 和 36 h 拍照记录细胞划痕之间的距离。以未添加水凝胶样品的细胞作为对照组。

2.2.9. 数据分析

所有实验数据均采用 Origin 2024 进行可视化和统计学分析。两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义(*代表 $P < 0.05$, **代表 $P < 0.01$, ***代表 $P < 0.001$)。

3. 结果与讨论

3.1. 材料表征

3.1.1. 二硫化钼纳米花(MoS₂)表

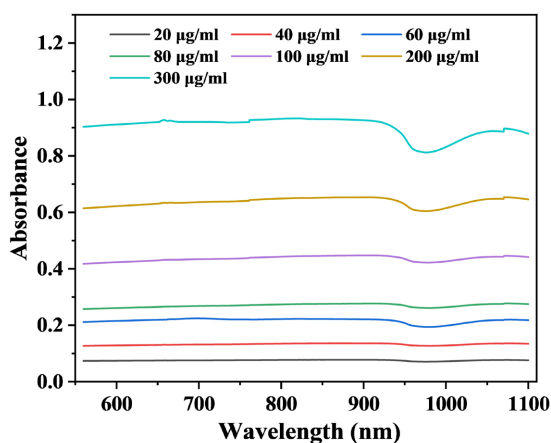


Figure 3. UV-Vis absorption spectra of MoS₂
图 3. MoS₂ 的紫外 - 可见吸收光谱

如图 3 所示, 二硫化钼纳米花材料在整个波长范围内都有吸收, 且在 1064 nm 处仍保持较强吸收, 表明具近红外吸收性能。

通过水热法成功合成了二硫化钼纳米材料, 采用扫描透射显微镜对其进行表征。如图 4(A)和图 4(B)所示, 可以看到许多纳米片交织形成的花状结构, 平均直径约为 400 nm, 几乎所有的纳米颗粒都保持着均匀的尺寸和形态, 放大后可看到明显的晶格条纹(如图 4(C)和图 4(D))。使用扫描透射电子显微镜能谱(STEM-EDS)对二硫化钼纳米材料进行元素分析, 如图 5 所示, Mo 元素和 S 元素均匀分散在材料上, 说明二硫化钼纳米材料成功合成。

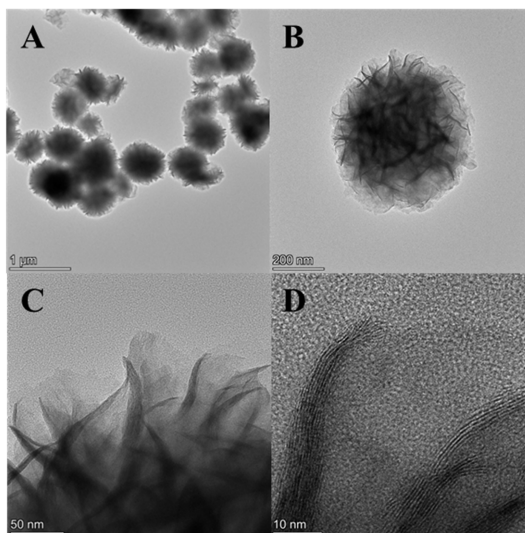


Figure 4. TEM images of (A)~(D) MoS₂

图 4. (A)~(D) MoS₂ 的 TEM 图像

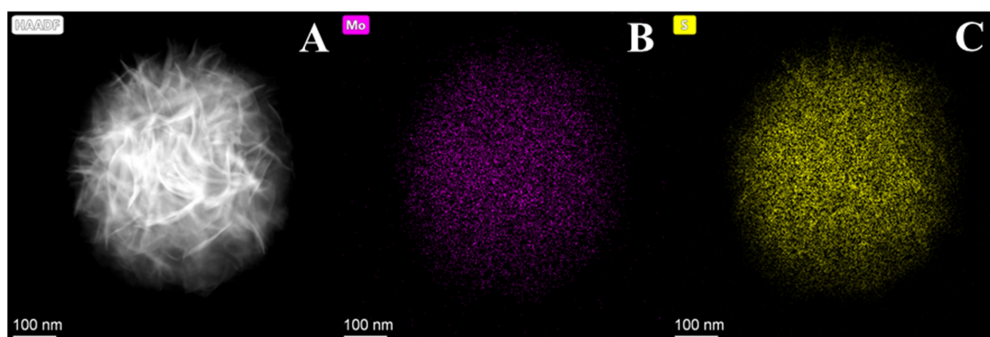


Figure 5. HAADF-STEM (A) and elemental mapping images of MoS₂ (from (B) to (C): Mo and S)

图 5. HAADF-STEM 图像 (A)和 MoS₂ ((B)~(C): Mo, S)的能量色散谱图

二硫化钼纳米花表面的花瓣状薄片确保了更有效的表面暴露和更高的光利用效率, 由于二硫化钼纳米花的悬浮液在可见光和近红外区域表现出强烈的吸收, 在 1064 nm 近红外照射下检测光热效应。在功率密度为 0.75 W/cm² 激光照射下, 二硫化钼纳米花的光热效应表现出浓度依赖性(如图 6(A))。此外, 在 100 μg/mL 固定浓度悬浮液下, 二硫化钼纳米花的光热效应表现出功率依赖性(如图 6(B))。当二硫化钼纳米花的浓度和 1064 nm 近红外照射的功率密度分别控制在 100 μg/mL 和 0.75 W/cm² 时, 在 600 秒内温度升高到 67.1℃。此外, 进行了三次开-关照射循环, 证实二硫化钼纳米花具有出色的光热稳定性(如图 6(C))。

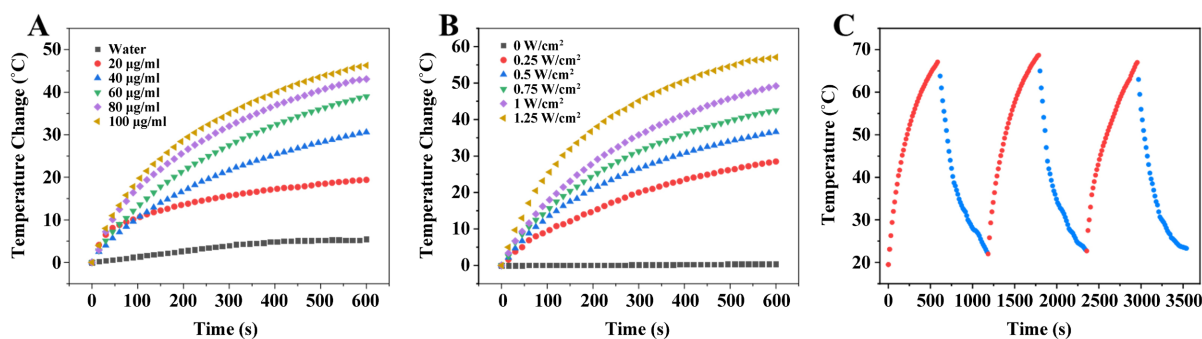


Figure 6. (A) Photothermal conversion behavior of MoS₂ at different concentrations (20~100 µg/mL) under 1064 nm laser irradiation (0.75 W/cm²); (B) Photothermal conversion behavior of MoS₂ (100 µg/mL) with at 1064 nm laser under different irradiation intensity (0~1.25 W/cm²); (C) Temperature fluctuation of MoS₂ over three laser on/off cycles
图 6. (A) 不同浓度 MoS₂ (20~100 µg/mL) 在 1064 nm 激光 (0.75 W/cm²) 照射下的光热转化行为; (B) MoS₂ (100 µg/mL) 在 1064 nm 激光不同辐照强度 (0~1.25 W/cm²) 下的光热转化行为; (C) MoS₂ 在 3 个激光开/关周期内的温度波动

3.1.2. MAEO 水凝胶光物理性质

对 HA 和 HA-NH₂ 进行了傅里叶变换红外 (FTIR) 分析, 由图 7 可知, 在 3300 cm⁻¹ 处出现了 NH₂ 的特征峰, 在 1720 cm⁻¹ 处出现了 C=O 的特征峰, 表明成功合成了 HA-NH₂。

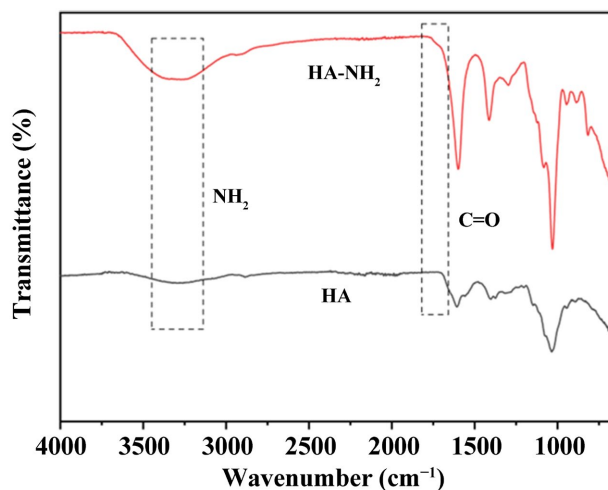


Figure 7. FT-IR spectra of HA and HA-NH₂
图 7. HA 和 HA-NH₂ 的 FT-IR 光谱图

如图 8 FTIR 谱图所示, OSA 和 OSD 在 1741 cm⁻¹ 处有新的吸收, 对应于 -CHO 的吸收。与 SA 相比, -OH 的拉伸振动偏移由于 OSA 的 -OH 部分氧化。在 OSA 中, 醛基可能以半乙酰基形式呈现。在多糖结构中, 醛基可以与相邻的糖环或其他官能团相互作用, 从而产生不同的立体化学相互作用, 这些相互作用为醛基创造了独特的化学环境。同时也证明 OSA 和 OSD 的成功合成。

图 9 中流变测试表明 MAEO 水凝胶具有一定稳定性; 图 9(B) 的含水量测试表明, 四种水凝胶的含水量都接近 90%, 可以为生物组织提供湿润环境; 图 9(C) 的抗氧化实验中, AO、AEO、MAO、MAEO 水凝胶的 DPPH 清除率分别为 41%、78%、71%、79%, 表明负载抗氧化剂 EGCG 的 AEO、MAEO 水凝胶具更好的 DPPH 清除效果, 能够更好地抗氧化。同时, 侧面表明了动态水凝胶能够在该生理微环境缓慢释放 EGCG 和 MoS₂, 推测是由于席夫碱动态交联水凝胶在弱酸性模拟生理微环境中发生缓慢降解, 从

而缓慢释放 EGCG 和 MoS₂。

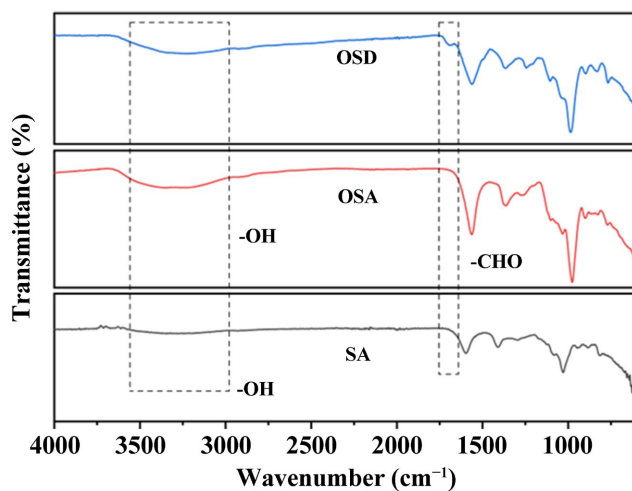


Figure 8. FT-IR spectra of SA, OSA and OSD

图 8. SA、OSA 和 OSD 的 FT-IR 光谱图

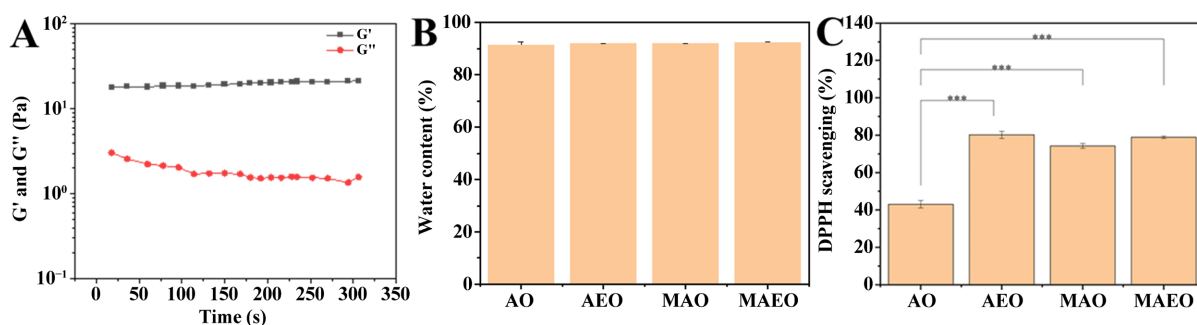


Figure 9. (A) Rheological curves of MAEO hydrogels; (B) Water content of MAEO hydrogels; (C) DPPH scavenging rate of MAEO hydrogels

图 9. (A) MAEO 水凝胶流变曲线; (B) MAEO 水凝胶含水量; (C) MAEO 水凝胶 DPPH 清除率

如图 10(A)和图 10(B)所示, MoS₂ 负载于动态交联水凝胶后形成的 MAO 和 MAEO 水凝胶仍然保持良好的光热性能, 最高温度可达 75°C。从图 10(B)可以看到 MAO 和 MAEO 水凝胶中心温度高, 周围温度较低, 呈梯度分布, 这将有利于在治疗过程中保护周围正常组织免受热损伤。

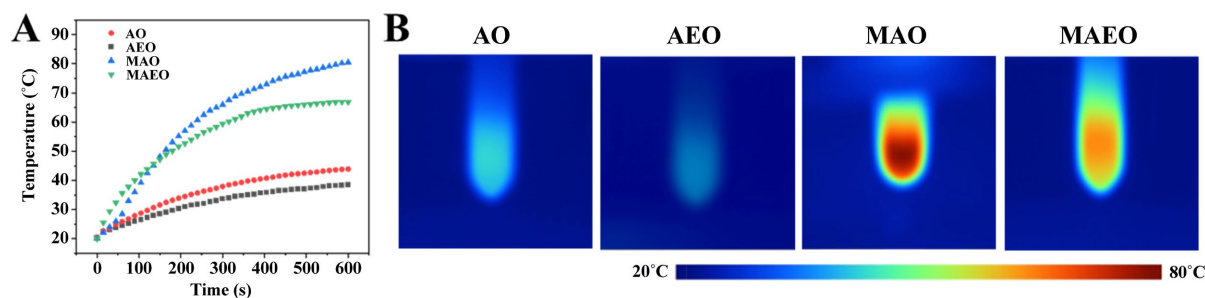


Figure 10. Photothermal performance of MAEO hydrogel

图 10. MAEO 组水凝胶光热性能

3.2. MAEO 水凝胶生物相容性

3.2.1. 二硫化钼纳米花(MoS₂)的细胞毒性测试

使用 CCK8 试剂评估了 MoS₂ 材料对 LO2 和 HUVECs 细胞的体外细胞毒性。不同浓度 MoS₂ 材料与 LO2 和 HUVECs 细胞共同培养 3 day 后的细胞活力, 如图 11(A)和图 11(B)所示, 可以看出在浓度高达 600 $\mu\text{g/ml}$ 时, LO2 细胞的细胞活性均在 100%以上, 且 HUVECs 细胞的细胞活性也同样基本均在 100%以上, 未观察到有明显的细胞毒性, 表明 MoS₂ 材料具有良好的生物相容性。

评估不同浓度下 MoS₂ 的细胞相容性, 将 MoS₂ 与 LO2 细胞共培养 3 day, 用 Calcein-AM/PI 对活细胞/死细胞进行双重染色, 如图 12 所示, 几乎没有观察到死细胞, 表明其具有良好的生物相容性。

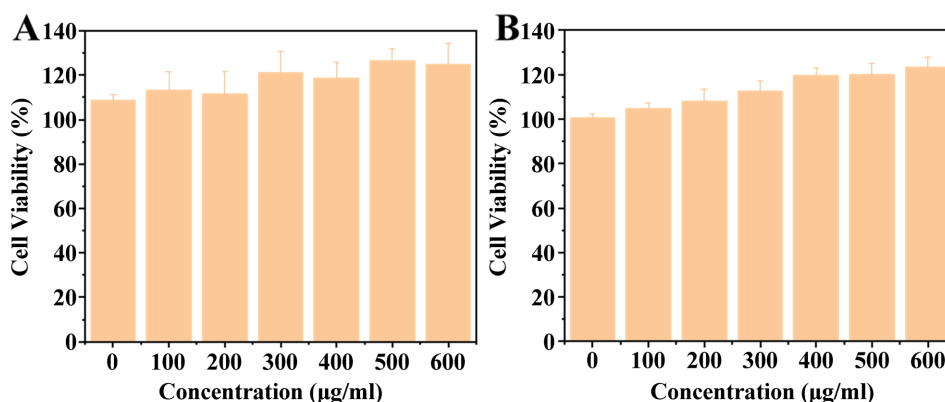


Figure 11. Cytotoxicity of MoS₂ towards (A) LO2 cells and (B) HUVECs cells

图 11. MoS₂ 对(A) LO2 细胞和(B) HUVECs 细胞的细胞毒性

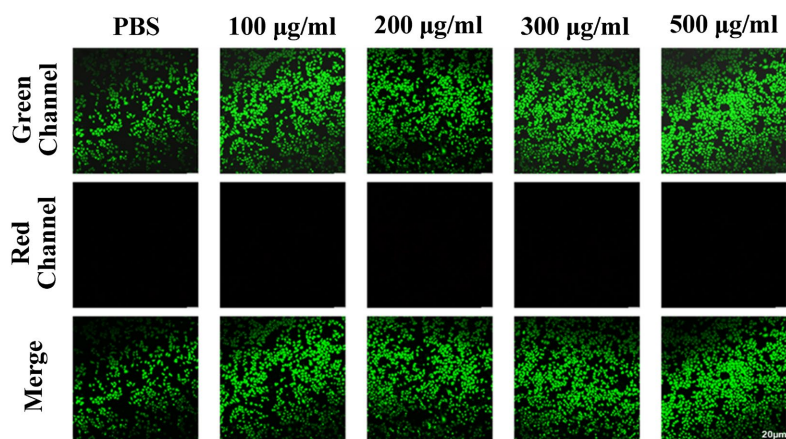


Figure 12. LO2 cells were co-cultured with different concentrations of MoS₂ and then confocal imaged using co-staining with calcein (Calcein-AM, green) and propidium iodide (PI, red), excitation: 488 nm and 520 nm, emission: 505~525 nm and 610~625 nm; scale bar: 20 μm

图 12. LO2 细胞与不同浓度 MoS₂ 共培养后, 采用钙黄绿素(Calcein-AM, 绿色)和碘化丙啶(PI, 红色)共染色后共聚焦成像。激发: 490 nm 和 535 nm, 发射: 505~525 nm 和 610~625 nm; 标尺: 20 μm

3.2.2. MAEO 水凝胶细胞相容性

水凝胶材料的生物相容性对于医疗应用至关重要, 也是构建理想骨修复材料的首要条件。评估了 MAEO 水凝胶的细胞毒性, 如图 13 所示在培养两种细胞 5 day 后的细胞活性均在 95%以上, 同时从图 14

观察细胞的生存状态, 几乎没有呈现红色荧光的死细胞, 且随着培养时间增加, 绿色荧光的活细胞数量与前期相比显著增加, 这与 CCK-8 实验结果一致, 表明 MAEO 水凝胶具有良好的细胞相容性。

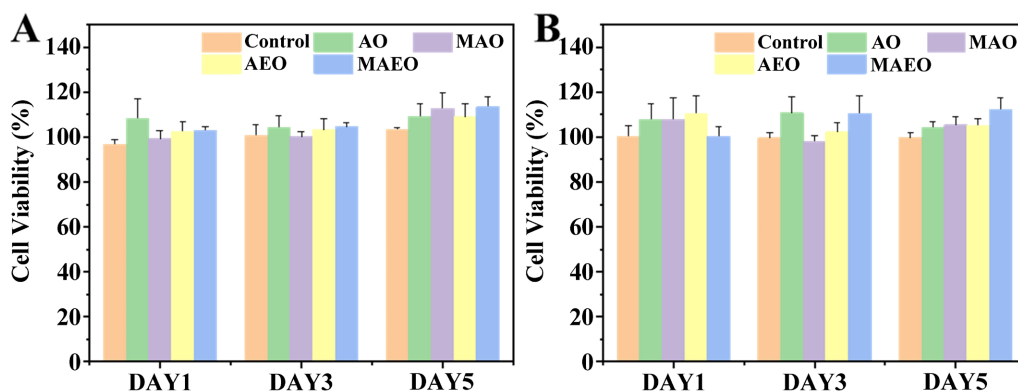


Figure 13. CCK-8 quantification of cell viability in (A) HUVECs and (B) rBMSCs

图 13. CCK-8 测定(A) HUVECs 和(B) rBMSCs 细胞活力的定量统计

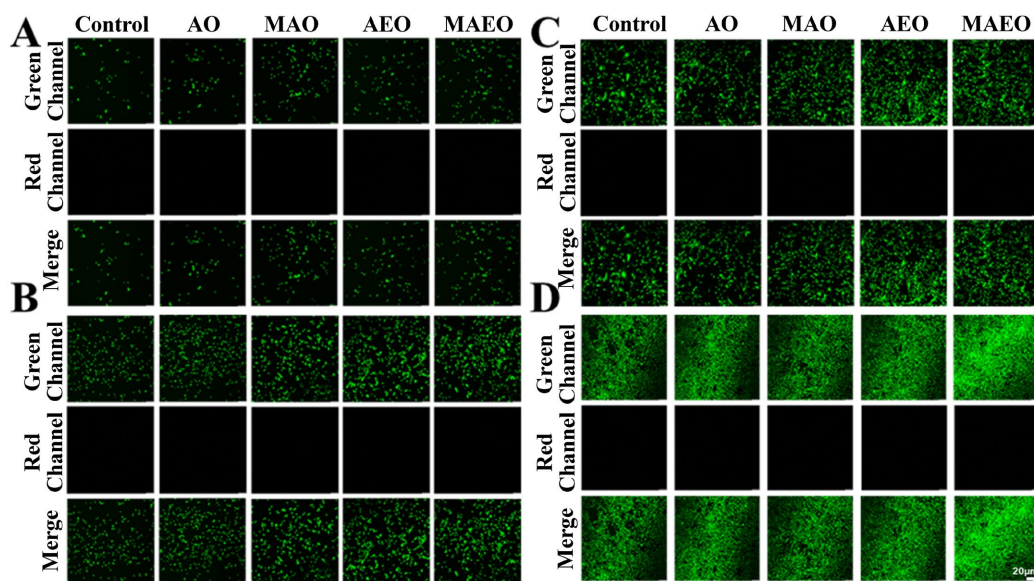


Figure 14. HUVECs cells were co-cultured with four hydrogels (A) for 1 day and (B) for 5 days and then confocal imaged by co-staining with calcein (Calcein -AM, green) and propidium iodide (PI, red); BMSC cells were co-cultured with four hydrogels (C) for 1 day and (D) for 5 days and then confocal imaged by co-staining with calcein (Calcein -AM, green) and propidium iodide (PI (Calcein-AM, red)) and propidium iodide (PI, red) co-staining followed by confocal imaging, Excitation: 488 nm and 520 nm, emission: 505~525 nm and 610~625 nm; scale bar: 20 μ m

图 14. HUVECs 细胞与四种水凝胶共培养(A) 1 day 和(B) 5 day 后, 采用钙黄绿素(Calcein-AM, 绿色)和碘化丙啶(PI, 红色)共染色后共聚焦成像; BMSC 细胞与四种水凝胶共培养(C) 1 day 和(D) 5 day 后, 采用钙黄绿素(Calcein-AM, 绿色)和碘化丙啶(PI, 红色)共染色后共聚焦成像, 激发: 490 nm 和 535 nm, 发射: 505~525 nm 和 610~625 nm; 标尺: 20 μ m

3.3. MAEO 水凝胶的细胞水平治疗结果

为评估 MoS_2 对 4T1 的 PTT 效果, 采用 CCK8 试剂盒评估 MoS_2 体外光毒性和暗毒性。如图 15 所示, 4T1 细胞与不同浓度的 MoS_2 共培养后, 在激光未照射的情况下, 随着 MoS_2 浓度的提高, 当 MoS_2

浓度到达 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 细胞存活率仍然有 88% 以上, 说明 MoS_2 暗毒性可以忽略不计, 其具有良好的生物相容性。而在不同浓度的 MoS_2 共培养后, 用 1064 nm (0.75 W/cm^2) 激光照射 10 min, 随着 MoS_2 浓度的不断提高, 细胞的存活率不断降低, 当浓度到达 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 4T1 肿瘤细胞的存活率低于 10%。该结果表明 MoS_2 在光照下可以有效杀死肿瘤细胞, 且对肿瘤细胞的生长具有很好抑制效果。

使用 AM-PI 试剂盒对不同条件处理的 4T1 细胞进行活死染色。钙黄绿素乙酰氧甲酯(Calcein-AM, 绿色)和碘化丙啶(PI, 红色)分别检测活细胞和死细胞。如图 16 所示, MoS_2 、light 和 PBS 对照组, 在绿色通道上有绿色荧光, 红色通道上没有明显的红色荧光, 说明经过这三个条件处理后细胞仍能够很好存活。而经过 MoS_2 处理后, 绿色通道上没有明显的绿色荧光, 而在红色通道上有着明显的红色荧光。表明 MoS_2 在 1064 nm 激光照射下, 能够几乎完全杀死 4T1 细胞。

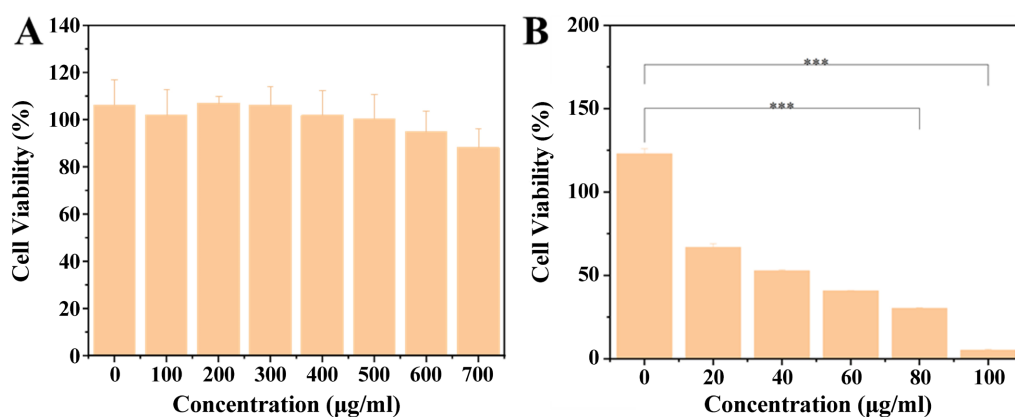


Figure 15. Cell viability of 4T1 cells treated with different concentrations of MoS_2 was determined by CCK-8 assay: (A) without laser irradiation; (B) under 1064 nm laser irradiation

图 15. CCK-8 法测定 4T1 细胞与不同浓度 MoS_2 处理后的细胞活力: (A) 未经激光照射; (B) 1064 nm 激光照射下

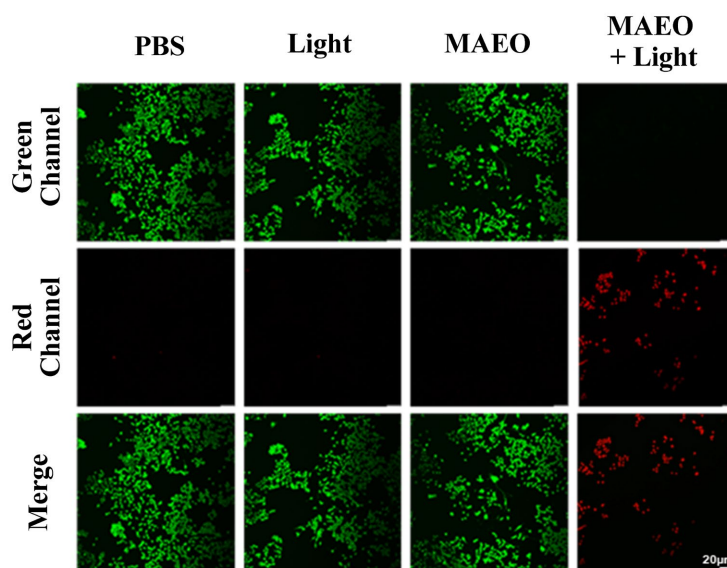


Figure 16. Fluorescent imaging live (green) /dead (red) 4T1 cells. Excitation: 488 nm and 520 nm, emission: 505~525 nm and 610~625 nm; scale bar: 20 μm

图 16. 4T1 细胞活(绿色)/死(红色)的荧光图像。激发: 490 nm 和 535 nm, 发射: 505~525 nm 和 610~625 nm; 标尺: 20 μm

3.4. MAEO 水凝胶促进细胞迁移能力

通过体外 BMSC 细胞的划痕试验来模拟组织修复的过程。如图 17 所示，水凝胶组在 BMSC 细胞中在不同时间点的划痕闭合速度明显快于对照组，12 h 后，水凝胶组的划痕距离小于对照组的划痕距离。该现象在 24 h 后更加明显，水凝胶组的划痕距离远小于对照组的划痕距离，且 MAEO 水凝胶组的划痕基本上完全闭合。结果表明，MAEO 水凝胶孵育的 BMSC 细胞与对照组相比，表现出了更快的细胞迁移速度，表明其在促进组织修复方面具有较大的应用潜力。

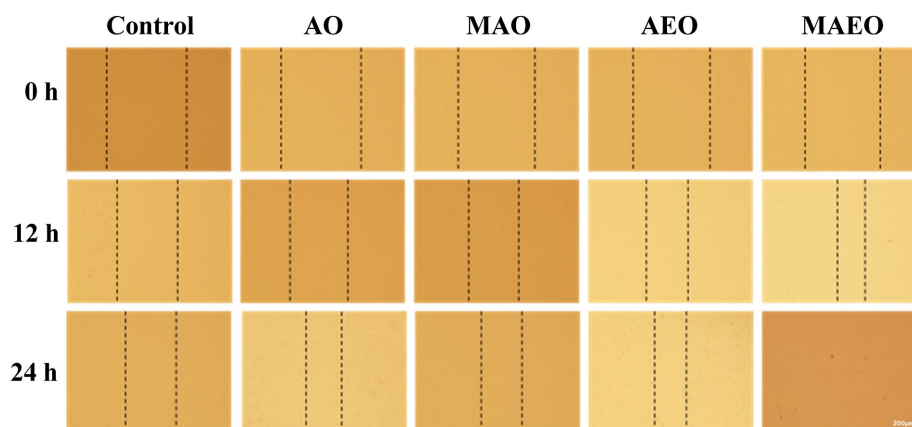


Figure 17. Effect of GMPD hydrogel on BMSC cell migration. Scale bar: 200 μm

图 17. GMPD 水凝胶对 BMSC 细胞迁移的影响。标尺：200 μm

4. 结论

设计制备集抗氧化和抗肿瘤等功能于一体的复合纳米水凝胶，用于修复肿瘤性骨缺损，并防止肿瘤复发。二硫化钼纳米花(MoS_2)通过物理掺杂的方式引入水凝胶中，赋予 MAEO 水凝胶优异的光热性能，在 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时，通过 1064 nm 激光照射，能很好杀死肿瘤细胞的同时，又具有良好的生物相容性，增加了 MAEO 水凝胶的实用性。更重要的是，MAEO 水凝胶通过负载抗氧化剂 EGCG，具有抗氧化和清除 ROS 的性能，可帮助降低骨缺损部位的炎症和氧化应激，MAEO 水凝胶还能促进 BMSC 细胞迁移，有促进肿瘤性骨缺损组织修复的潜力。

参考文献

- [1] Li, J. and Mooney, D.J. (2016) Designing Hydrogels for Controlled Drug Delivery. *Nature Reviews Materials*, **1**, Article No. 16071. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.71>
- [2] Yu, H., Gao, R., Liu, Y., Fu, L., Zhou, J. and Li, L. (2024) Stimulus-Responsive Hydrogels as Drug Delivery Systems for Inflammation Targeted Therapy. *Advanced Science*, **11**, Article ID: 2306152. <https://doi.org/10.1002/advs.202306152>
- [3] Zhong, Y., Seidi, F., Wang, Y., Zheng, L., Jin, Y. and Xiao, H. (2022) Injectable Chitosan Hydrogels Tailored with Antibacterial and Antioxidant Dual Functions for Regenerative Wound Healing. *Carbohydrate Polymers*, **298**, Article ID: 120103. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120103>
- [4] Lee, G.M., Kim, S., Kim, E.M., Kim, E., Lee, S., Lee, E., *et al.* (2022) Free Radical-Scavenging Composite Gelatin Methacryloyl Hydrogels for Cell Encapsulation. *Acta Biomaterialia*, **149**, 96-110. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.06.043>
- [5] Peng, X., McClements, D.J., Liu, X. and Liu, F. (2025) EGCG-Based Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **65**, 2177-2198. <https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2328184>

- [6] Tan, S., Han, J., Yuan, X., Song, Z., Gao, L., Gao, J., *et al.* (2023) Epigallocatechin Gallate-Loaded pH-Responsive Dressing with Effective Antioxidant, Antibacterial and Anti-Biofilm Properties for Wound Healing. *Materials & Design*, **227**, Article ID: 111701. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.111701>
- [7] Liao, J., Han, R., Wu, Y. and Qian, Z. (2021) Review of a New Bone Tumor Therapy Strategy Based on Bifunctional Biomaterials. *Bone Research*, **9**, Article No. 18. <https://doi.org/10.1038/s41413-021-00139-z>
- [8] Wang, X., Li, T., Ma, H., Zhai, D., Jiang, C., Chang, J., *et al.* (2017) A 3D-Printed Scaffold with MoS₂ Nanosheets for Tumor Therapy and Tissue Regeneration. *NPG Asia Materials*, **9**, e376-e376. <https://doi.org/10.1038/am.2017.47>
- [9] Li, L., Wu, R., Hong, R., Chen, X., Huang, T., Huang, S., *et al.* (2025) Mussel-Inspired Integrated Functional 3D Printed Scaffolds with Molybdenum Disulfide Nanoflowers for Tumor Therapy and Bone Reconstruction. *Chemical Engineering Journal*, **509**, Article ID: 161399. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2025.161399>
- [10] Khan, K., Kane, K., Davison, Z. and Green, D. (2025) Post-Treatment Late and Long-Term Effects in Bone Sarcoma: A Scoping Review. *Journal of Bone Oncology*, **52**, Article ID: 100671. <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2025.100671>
- [11] Li, Z., Ren, K., Chen, J., Zhuang, Y., Dong, S., Wang, J., *et al.* (2025) Bioactive Hydrogel Formulations for Regeneration of Pathological Bone Defects. *Journal of Controlled Release*, **380**, 686-714. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2025.01.061>
- [12] Yu, D., Tang, Z., Bao, S., Guo, S., Chen, C., Wu, Q., *et al.* (2025) Immunoregulatory Neuro-Vascularized Osseointegration Driven by Different Nano-Morphological CaTiO₃ Bioactive Coatings on Porous Titanium Alloy Scaffolds. *Advanced Healthcare Materials*, **14**, Article ID: 2404647. <https://doi.org/10.1002/adhm.202404647>
- [13] Li, X., Lovell, J.F., Yoon, J. and Chen, X. (2020) Clinical Development and Potential of Photothermal and Photodynamic Therapies for Cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **17**, 657-674. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0410-2>
- [14] Yan, D., Zhang, Z., Zhang, J., Li, X., Wu, Q., Gui, Y., *et al.* (2024) An All-Rounder for NIR-II Phototheranostics: Well-tailored 1064 nm-Excitable Molecule for Photothermal Combating of Orthotopic Breast Cancer. *Angewandte Chemie International Edition*, **63**, e202401877. <https://doi.org/10.1002/anie.202401877>
- [15] Luo, M., Fan, T., Zhou, Y., Zhang, H. and Mei, L. (2019) 2D Black Phosphorus-Based Biomedical Applications. *Advanced Functional Materials*, **29**, Article ID: 1808306. <https://doi.org/10.1002/adfm.201808306>
- [16] Irvani, S. and Varma, R.S. (2021) Mxenes for Cancer Therapy and Diagnosis: Recent Advances and Current Challenges. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **7**, 1900-1913. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c01763>
- [17] Ullattil, S.G., Narendranath, S.B., Pillai, S.C. and Periyat, P. (2018) Black TiO₂ Nanomaterials: A Review of Recent Advances. *Chemical Engineering Journal*, **343**, 708-736. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.01.069>
- [18] Huang, Y., Zhai, X., Ma, T., Zhang, M., Yang, H., Zhang, S., *et al.* (2023) A Unified Therapeutic-Prophylactic Tissue-Engineering Scaffold Demonstrated to Prevent Tumor Recurrence and Overcoming Infection toward Bone Remodeling. *Advanced Materials*, **35**, Article ID: 2300313. <https://doi.org/10.1002/adma.202300313>
- [19] Sasanipoor, F. and Zhang, Z. (2025) Molybdenum Disulfide Nanocomposites for Cancer Diagnosis and Therapeutics: Biosensors, Bioimaging, and Phototherapy. *Advanced Healthcare Materials*, **14**, Article ID: 2500655. <https://doi.org/10.1002/adhm.202500655>
- [20] Thanh, T.N., Laowattanatham, N., Ratanavaraporn, J., Sereemasun, A. and Yodmuang, S. (2022) Hyaluronic Acid Crosslinked with Alginate Hydrogel: A Versatile and Biocompatible Bioink Platform for Tissue Engineering. *European Polymer Journal*, **166**, Article ID: 111027. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111027>
- [21] Zhang, L., Yang, J., Ding, C., Sun, S., Zhang, S., Ding, Q., *et al.* (2024) Application of Polysaccharide-Based Crosslinking Agents Based on Schiff Base Linkages for Biomedical Scaffolds. *Carbohydrate Polymers*, **345**, Article ID: 122585. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122585>