

网络出版时间:2022-8-16 13:02 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220816.0832.010.html

基于增材制造技术的 GelMA/HA 水凝胶支架的制备及其研究

刘重远, 蒋 勇, 邹多宏

摘要 **目的** 利用增材制造技术制备甲基丙烯酸酯化明胶/羟基磷灰石(GelMA/HA)复合水凝胶支架,通过微观结构表征和生物相容性测试,探究其作为骨组织工程修复支架的可行性。**方法** 将 GelMA 溶液和 HA 颗粒混合形成均匀的生物墨水,利用增材制造技术制备 GelMA/HA 水凝胶支架。采用扫描电镜(SEM)、透射电镜(TEM)对复合支架及其成分进行表征。采用万能力学实验机测试样品抗压缩性能。利用 CCK-8 法和活/死细胞染色检测支架的细胞相容性。通过碱性磷酸酶(ALP)染色法探究其促 BMSCs 成骨分化的

能力。**结果** GelMA/HA 水凝胶支架内部呈清晰的多孔网格状结构,与纯 GelMA 支架比较,抗压性能提高。活死细胞染色实验显示,BMSCs 在复合水凝胶支架上生长良好,培养 7 d 后细胞在支架上铺展呈梭形形态。细胞增殖实验显示,培养 3、7 d 的纯 GelMA 水凝胶支架组及 GelMA/HA 复合水凝胶支架组的 BMSCs 增殖快于空白组($P < 0.05$)。ALP 染色实验结果表明,与空白组和纯 GelMA 水凝胶支架组比较,GelMA/HA 复合水凝胶支架组的 ALP 阳性面积增加($P < 0.05$)。**结论** GelMA/HA 复合水凝胶支架具有良好的生物相容性,并且对 BMSCs 的成骨分化具有促进作用,具备作为填充修复支架应用于骨组织工程的潜力。

关键词 甲基丙烯酸酯化明胶;羟基磷灰石;增材制造;水凝胶支架;成骨分化

中图分类号 R 782

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)09-1403-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.09.012

2022-01-15 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:31870969)

作者单位:安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,
安徽省口腔疾病研究重点实验室,合肥 230032

作者简介:刘重远,女,硕士研究生;

蒋 勇,男,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:j6263@163.com;

邹多宏,男,博士后,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:zdhyy@ahmu.edu.cn

骨移植修复手术是临床上治疗骨缺损常用的方

Mechanism of GP73 neutralizing antibody inhibiting MCD diet-induced nonalcoholic fatty liver disease

Liu Jialong^{1,2}, Yang Xiaoli^{1,2}, Zhang Xuemiao², Yang Xiaopan², Wei Congwen²

(¹Clinical Laboratory of The Third Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Anhui Medical University, Beijing 100039; ²Beijing Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071)

Abstract **Objective** To investigate the function and mechanism of golgi protein 73 (GP73) neutralizing antibody in Methionine-choline deficient (MCD) diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** Total cholesterol (TC), aspartate aminotransferase (AST), triglyceride (TG) and serum alanine aminotransferase (ALT) levels were detected after MCD diet and GP73 neutralizing antibody intervention. Lipid deposition in liver tissue was observed by oil red O staining; qRT-PCR was used to detect the gene expression of *ACCI*, *HMGR*, *TIMP1* and *TGF-β* in liver tissue; Western blotting was used to detect α-SMA and SREBP1 protein expression levels in liver tissues. **Results** GP73 neutralizing antibody could reduce the accumulation of serum ALT and AST ($P < 0.001$) induced by MCD diet, and increase the levels of serum TG and TC ($P < 0.001$); The gene expression levels of *HMGR* ($P < 0.001$), *TGF-β* ($P < 0.05$), *ACCI* ($P < 0.01$) and the protein expression levels of α-SMA ($P < 0.05$) and SREBP1 ($P < 0.05$) in liver tissue significantly decreased, and the lipid deposition was also improved. **Conclusion**

GP73 neutralizing antibody inhibits the formation of MCD-induced NAFLD by slowing down the progression of liver fibrosis and reducing the deposition of liver lipids.

Key words golgi protein 73; GP73 neutralizing antibody; non-alcoholic fatty liver disease; methionine-choline deficient

法,但仍受诸多限制,如取材困难、操作要求高、排斥反应大等^[1]。近年来,增材制造,又称 3D 打印,为制备拟填充支架提供了新方法,它可根据骨缺损的形状打印出尺寸匹配的修复支架,同时调控支架内部结构,满足个体化修复的需求^[2]。甲基丙烯酸酯化明胶(gelatin methacryloyl, GelMA)是明胶经改性而得的一种生物源性材料,具有出色的生物相容性、温敏性和可降解性,作为打印墨水广泛应用于 3D 打印领域^[3]。羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)是临床医学上常用的合成骨替代物,常与有机聚合物形成复合支架,应用于骨组织工程的研究^[4]。该研究以 GelMA 和 HA 为结构单元,通过增材制造技术构建有机/无机复合支架,对其理化性能及生物相容性进行表征和测试,旨在探索其作为填充支架应用于个体化骨缺损修复的可行性。

1 材料与方法

1.1 复合水凝胶支架的合成材料 壳聚糖(高粘度,脱乙酰度 $\geq 95\%$,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);明胶(美国 Sigma-Aldrich 公司);甲基丙烯酸酐(上海麦克林生化科技有限公司);羟基磷灰石(生物医药级,纯度 $\geq 98\%$,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);光引发剂——苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰基磷酸锂盐(lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphine, LAP, 苏州永沁泉智能设备有限公司)。

1.2 主要的试剂与仪器 MEM- α 培养基(以色列 BI 公司);磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS, 以色列 BI 公司);胎牛血清(美国 Gibco 公司);CCK-8 试剂盒(日本同仁化学研究所);Calcein-AM/PI 活/死细胞双染试剂盒(日本同仁化学研究所);BCIP/NBT 碱性磷酸酯酶显色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);生物 3D 打印机(Bio-Architect[®] WS, 杭州捷诺飞生物科技股份有限公司);扫描电镜(Supra 40, 德国 Zeiss 公司);透射电镜(HT7700, 日本 Hitachi 公司);酶标仪(美国 Biotek 公司);倒置荧光显微镜(Axio Observer 3, 德国 Zeiss 公司)。

1.3 原料合成 GelMA 前体合成 称 10 g 明胶放入圆底烧瓶中,再加入 90 ml PBS 溶液,置入磁力搅拌器,烧瓶外用铝箔纸包裹严密,在 50 ℃ 下的水浴中搅拌 1~2 h。待溶液澄清透明后,增大转速,用玻璃滴管逐滴加入 6 g 甲基丙烯酸酐,反应 8 h。反应结束,将溶液倒入离心管,配平,离心取上清液

(3 500 r/min, 3 min),弃除杂质。将上清液倒入透析分子量 12 ku 的透析袋内,于 40 ℃ 的超净水内进行透析,每天换水 2 次,避光,直至气味完全消失。将上述透析完成的溶液的 pH(1 mol/L NaHCO₃)调节至 7.4,分装,冷冻(-20 ℃),转移冷冻样至冻干机中,使凝胶完全干燥(7 d),-20 ℃ 下避光储存。

1.4 复合水凝胶支架的制备 将 12% 的 GelMA 溶液与 2% 的 HA 按 1:1 的比例混匀,形成生物墨水加入打印料筒内,在温度为 0 ℃ 的收集平台上打印复合支架。打印速率为 50 mm/s,针嘴内径为 0.34 mm,每层 Z 轴上升高度为 250 μ m,打印间距为 1 mm。打印完成后进行光固化(紫外光 405 nm, 3 min),获得 GelMA/HA 复合水凝胶支架。见图 1。

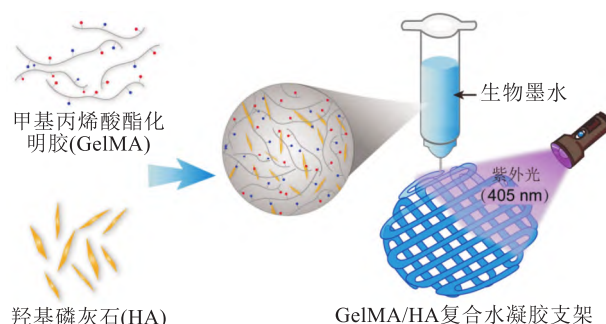


图 1 GelMA/HA 复合水凝胶支架制备过程示意图

1.5 微观表征 将复合支架放入真空冻干机冷冻干燥 24 h,于液氮中脆断得到样品。选择断面整齐样品,导电胶将其固定于样品台侧面,于低真空度的蒸金室中蒸金 30 s,通过扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)观察其结构特征。取 HA/乙醇稀释溶液分散至透射铜网表面,完全干燥后,通过透射电镜(transmission electron microscope, TEM)观察 HA 形态。

1.6 力学性能测试 制备尺寸为 10 mm $\times$ 10 mm $\times$ 5 mm 的纯 GelMA 水凝胶支架和 GelMA/HA 复合水凝胶支架,通过万能力学试验机进行单向压缩试验,负载为 10 N,压缩速率为 1 mm/min,测试样品的弹性模量。

1.7 大鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cells, BMSCs)的分离与培养 选取 2~4 周龄、体重 20~25 g 的 SD 大鼠,颈椎脱臼法处死,浸泡于 75% 乙醇中 15 min。无菌条件下取股骨及胫骨内的骨髓,使用含双抗(10^5 U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素)及 20% 胎牛血清的 MEM- α 培养基放置到温度为 37 ℃ 并含 5% CO₂ 的培养箱中进行培养,每 3 d

换液一次;待细胞数量达 80% 左右后,用 0.25% 胰酶消化液进行消化,按 1:2 或 1:3 比例传代,用含 10% 胎牛血清的 MEM- α 培养基进行培养,每 2 d 更换培养基。重复以上操作,待细胞传至 2~4 代后待用。

1.8 细胞相容性检测 通过 Live/Dead 荧光染色评估细胞活力:制备直径为 10 mm,厚度为 1.5 mm 的圆柱形 GelMA/HA 复合支架,浸泡于 75% 乙醇中 30 min,紫外 365 nm 灭菌 30 min。灭菌后加入到 48 孔板中,每孔加入 5×10^4 个 BMSCs,37 °C 分别培养 1、3、7 d。PBS 洗涤,加入配置好的 Calcein-AM/PI 染色试剂,在 37 °C 和 5% CO₂ 的培养箱中孵育 30 min 后,PBS 冲洗 5 次,每次 5 min。倒置荧光显微镜下观察,活细胞呈绿色,死细胞呈红色。通过 CCK-8 试剂盒测定细胞增殖:将纯 GelMA、GelMA/HA 复合支架制备成直径为 6 mm,厚度为 1 mm 的圆柱形样品,每组 12 个。灭菌后 4 个每组分别置于 3 个 96 孔板中,BMSCs 铺板,每个时间点设 3 个复孔,空白组仅接种 BMSCs,纯 GelMA 水凝胶支架组接种纯 GelMA 支架,GelMA/HA 复合水凝胶支架组接种 GelMA/HA 复合支架。37 °C 分别培养 1、3、7 d。将 CCK-8 试剂与 MEM- α 以 1:10 的比例混合,每孔加入 110 μ l 混合试剂,放入 37 °C 培养箱继续培养 2 h,随后取出用酶标仪测量其在 450 nm 处的吸光度值。

1.9 细胞 SEM 表征 将细胞与复合支架共培养 3 d 后取出样品,PBS 洗涤,用 4% 多聚甲醛固定 30 min,并在去离子水中充分漂洗。吸净水分,加入叔丁醇浸没样品 2 h,使其脱水。最后,换新的叔丁醇,

置于真空冷冻干燥器干燥。SEM 下观察复合支架上细胞的形态。

1.10 水凝胶支架的促成骨性 向 MEM- α 培养基加入 10% 胎牛血清、 10^{-4} mol/L 维生素 C、 10^{-8} mol/L 地塞米松和 0.01 mol/L β -甘油磷酸钠制备得到成骨诱导培养基。将纯 GelMA 支架和 GelMA/HA 复合水凝胶支架在 37 °C 下浸没于成骨诱导培养基中 24 h,制备浸提液。6 孔板中每孔铺入 8×10^4 个 BMSCs,在生长培养基中培养 1 d 后,换浸提液继续培养。培养基每 3 d 更换一次,空白组细胞在生长培养基中培养。经过 7 d 的成骨诱导,4% 多聚甲醛固定细胞,PBS 洗涤,采用 BCIP/NBT 碱性磷酸酯酶显色试剂盒进行 ALP 染色并通过光学显微镜进行观察。采用 Image J 软件对染色面积进行数据分析。

1.11 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件和 Origin 2019 进行数据分析和绘图,统计资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析(ANOVA)检验不同组数据的统计学差异,检验标准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GelMA/HA 复合水凝胶支架表征 复合水凝胶支架是通过在低温平台上以层层叠加的方式沉积生物墨水,经过紫外光照射 3 min 后制备而成(图 2A)。照片显示复合水凝胶支架呈乳白色,多孔网格状,结构清晰稳定(图 2B)。SEM 可见复合水凝胶支架内部成层状结构,支架柱上有大小不一的球形孔(图 2C),HA 颗粒分散于孔壁上(图 2D)。TEM 显示 HA 颗粒呈明显的层片状结构(图 2E)。

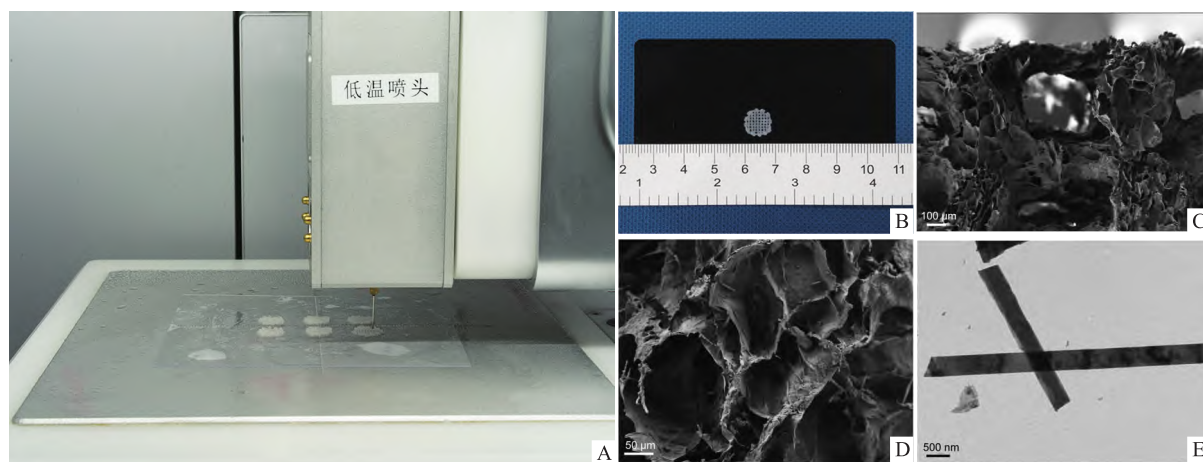


图 2 GelMA/HA 复合水凝胶支架的结构表征

A:复合支架的打印过程;B:复合支架宏观照片;C:复合支架的截面 SEM $\times 64$;D:复合支架的截面 SEM $\times 200$;E:HA 的 TEM 观察 $\times 2000$

2.2 水凝胶支架的力学性能 纯 GelMA 水凝胶支架组的弹性模量为 (47.0 ± 4.7) kPa, 而 GelMA/HA 复合水凝胶支架组弹性模量为 (245.3 ± 24.5) kPa, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明 HA 的引入提高了复合支架的抗压性能。

2.3 水凝胶支架的生物相容性 倒置荧光显微镜下观察, 培养 1 d 后可见 BMSCs 存活于 GelMA/HA 复合水凝胶支架内部, 形态呈圆形; 7 d 后, 可见复合支架上的 BMSCs 增殖, 伸展呈梭形, 表明 GelMA/HA 对 BMSCs 的生长无明显影响 (图 3A)。选取纯 GelMA 支架和 GelMA/HA 支架进行细胞增殖实验, 与 BMSCs 共培养 3、7 d 的纯 GelMA 水凝胶支架组及 GelMA/HA 复合水凝胶支架组的吸光度值均高于空白组 ($P < 0.05$), 表明复合支架有良好的生物相容性, 并且可促进 BMSCs 的增殖 (图 3B, 表 1)。与复合水凝胶支架共培养 3 d 后, BMSCs 在支架上铺展良好 (图 3C)。

2.4 水凝胶支架对 BMSCs 成骨分化的影响 选

择纯 GelMA 支架、GelMA/HA 复合支架的浸提液进行 ALP 染色实验, 光镜下显示 GelMA/HA 复合水凝胶支架组 ALP 染色阳性面积高于纯 GelMA 水凝胶支架组和空白组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明复合水凝胶支架对 BMSCs 的成骨分化具有促进作用。见图 4。

3 讨论

随着组织工程的快速发展和深入研究, 生物支架材料作为自体骨的替代物在骨修复研究领域越来越受到关注, 尤其是 3D 打印水凝胶支架。与传统的骨组织支架材料比较, 水凝胶支架模拟了骨基质中的有机相, 同时为细胞生长提供了机械支撑, 并且多孔的结构有助于气体和营养物质在支架内互相交换, 有利于细胞的生长^[5-6]。此外, 增材制造技术的引入降低了制备过程的复杂性, 可以快速制造出各种与骨缺损形状适配的水凝胶支架, 印刷效果好, 为个体化修复提供了坚实基础。

表 1 各组支架与 BMSCs 共培养不同时间后吸光度值的比较 ($n=4, \bar{x} \pm s$)

组别	1 d	3 d	7 d
空白	0.345 ± 0.014	0.558 ± 0.042	1.018 ± 0.076
纯 GelMA 水凝胶支架	0.377 ± 0.016	$0.618 \pm 0.013^*$	$1.226 \pm 0.101^*$
GelMA/HA 复合水凝胶支架	$0.406 \pm 0.046^*$	$0.651 \pm 0.028^{**}$	$1.333 \pm 0.083^{**}$
F 值	4.290	9.972	13.420
P 值	0.049 1	0.005 2	0.002 0

与空白组比较; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

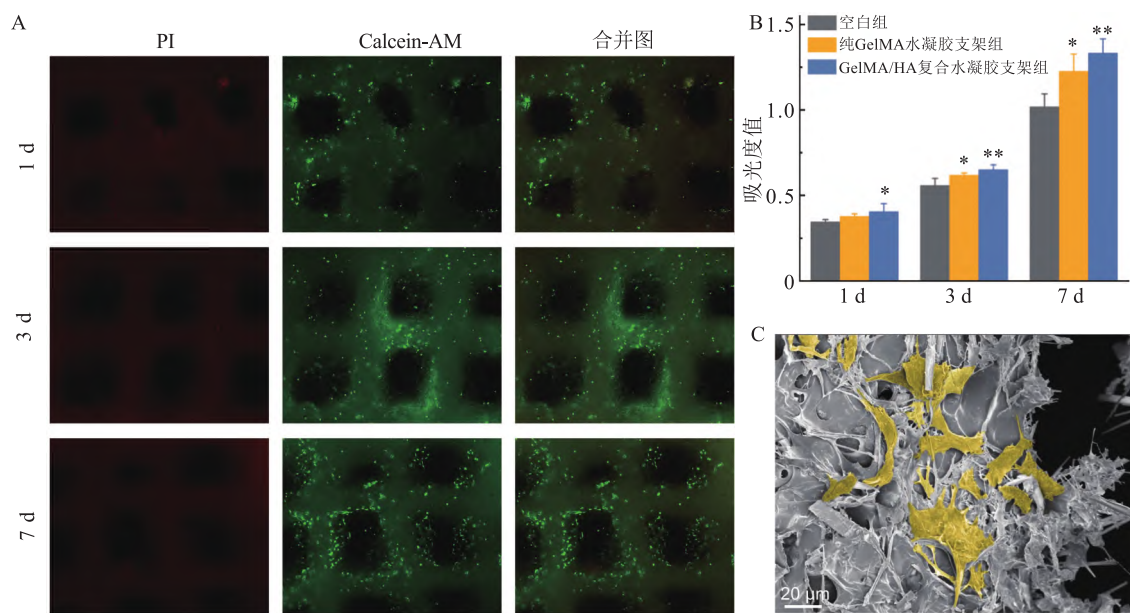


图 3 GelMA/HA 复合水凝胶支架的生物相容性

A: 复合支架培养 1、3、7 d 后的死活细胞染色; B: 支架与 BMSCs 共培养 1、3、7 d 后吸光度值的比较; C: 支架与 BMSCs 共培养 3 d 后的 SEM 观察 (用伪彩标记细胞); 与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

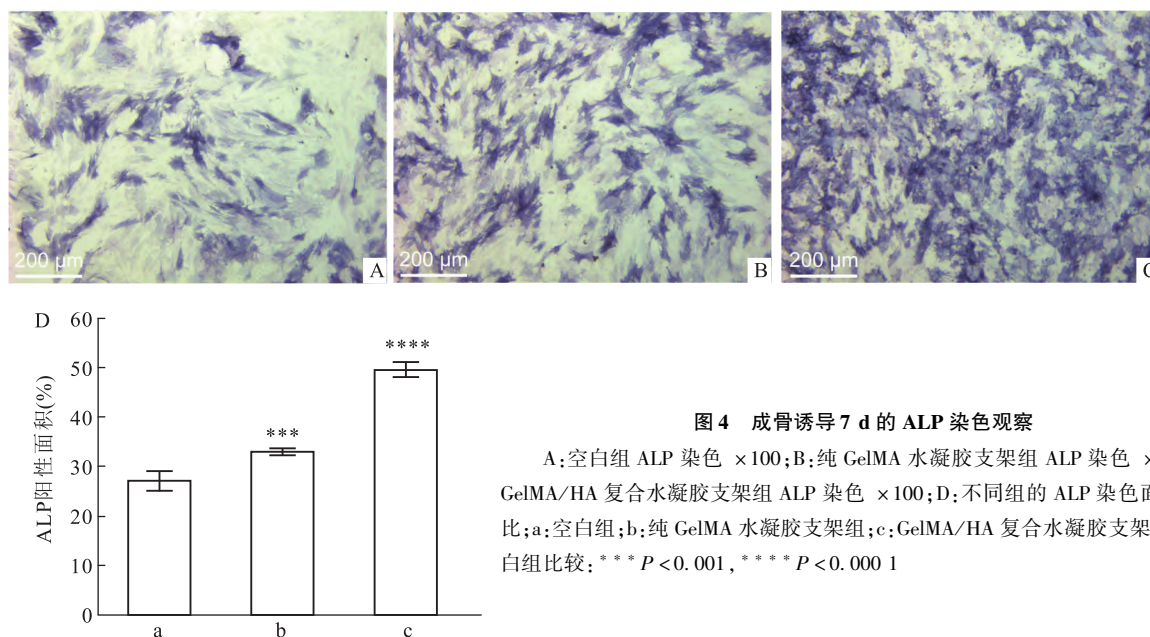


图4 成骨诱导7 d的ALP染色观察

A:空白组 ALP 染色 $\times 100$;B:纯 GelMA 水凝胶支架组 ALP 染色 $\times 100$;C: GelMA/HA 复合水凝胶支架组 ALP 染色 $\times 100$;D:不同组的 ALP 染色面积百分比;a:空白组;b:纯 GelMA 水凝胶支架组;c:GelMA/HA 复合水凝胶支架组;与空白组比较:*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

本研究基于增材制造技术,拟制备一种可个体化修复骨缺损的新型复合水凝胶支架。GelMA 水凝胶是一种经光引发自由基聚合(即光引发剂存在,紫外光照射)而形成的共价交联水凝胶,具有优异的生物相容性和可调节的物理特性,被广泛应用于细胞培养和生物打印^[7]。但 GelMA 作为挤出打印式的生物墨水,受到粘度低、印刷性差等因素的限制,所以为了成功制备高仿真性的水凝胶支架,本研究向 GelMA 内引入了 HA。HA 是一种生物陶瓷材料,由于其与骨组织极其相似的化学组成,模拟了骨基质中的无机相,可与周围宿主骨进行良好的骨结合,因此被广泛应用于骨再生材料的研究^[8]。HA 作为具有生物活性的无机填料,可与有机相水凝胶的结构链形成紧密界面,分散应力,从而改善其力学性能,形成兼具高机械性能和生物性能的复合水凝胶^[9]。在应用过程中,HA 可通过释放 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 于材料表面形成类骨磷灰石层,从而吸附与骨形成相关的蛋白质,促进成骨细胞在其表面黏附和生长,诱导新骨形成^[10-11]。此外,研究^[12]表明 HA 可以刺激内源性成骨生长因子如骨形成蛋白的表达,以增强间充质干细胞中碱性磷酸酶的活性,诱导其成骨分化。

本课题组拟将 GelMA 和 HA 混合,通过超声破碎,使 HA 在 GelMA 体系中充分分散,形成均匀的复合生物材料墨水,增加生物墨水的粘度,增强水凝胶细丝的可控性,提高制备水凝胶支架的印刷仿真

性和机械性能,更好的适配于骨缺损。微观结构表征显示 GelMA/HA 复合水凝胶支架呈清晰的层层叠加的网状结构,内部无塌陷,具有良好的稳定性。力学性能测试结果显示添加了 HA 的复合水凝胶支架的弹性模量与纯 GelMA 支架比较,增加了 4 倍,提升了抗压缩性能,可见其有助于在骨缺损空间提供支撑作用。叔丁醇真空干燥法是制备 SEM 生物样品的常用方法,其以叔丁醇作为升华介质,将样品置于真空中进行干燥,既保留了冷冻干燥法的优点,又对样品无冷冻损伤,操作简单,且制备的生物样品的各项指标均较理想^[13]。经叔丁醇真空干燥法制备的样品在 SEM 下清晰地展示了 BMSCs 在复合支架上呈铺展的生长状态。GelMA/HA 复合水凝胶支架具有良好的生物相容性,并且促进了 BMSCs 的增殖,可能是由于 GelMA 保留了明胶中促进细胞黏附的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列^[14]。复合支架的多孔结构有助于气体和营养物质在支架内的运输也可能是促进细胞生长的另一个重要原因。同时 HA 的加入赋予了支架生物活性,ALP 染色实验结果显示 GelMA/HA 复合水凝胶支架组的 ALP 染色面积增加,表明可促进 BMSCs 成骨分化。

参考文献

- [1] Moussa N T, Dym H. Maxillofacial bone grafting materials[J]. Dent Clin North Am, 2020, 64(2): 473-90.
- [2] Wang C, Huang W, Zhou Y, et al. 3D printing of bone tissue engineering scaffolds[J]. Bioact Mater, 2020, 5(1): 82-91.

- [3] Chimene D, Kaunas R, Gaharwar A K. Hydrogel bioink reinforcement for additive manufacturing: a focused review of emerging strategies[J]. *Adv Mater*, 2020, 32(1):1902026.
- [4] Ramesh N, Moratti S C, Dias G J. Hydroxyapatite-polymer biocomposites for bone regeneration: a review of current trends[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2018, 106(5):2046–57.
- [5] Naahidi S, Jafari M, Logan M, et al. Biocompatibility of hydrogel-based scaffolds for tissue engineering applications[J]. *Biotechnol Adv*, 2017, 35(5):530–44.
- [6] Li J H, Wu C T, Chu P K, et al. 3D printing of hydrogels: rational design strategies and emerging biomedical applications[J]. *Mater Sci Eng R Rep*, 2020, 140:100543.
- [7] Dong Z, Yuan Q, Huang K, et al. Gelatin methacryloyl (GelMA)-based biomaterials for bone regeneration[J]. *RSC Adv*, 2019, 9(31):17737–44.
- [8] 郭雨晴, 张菁, 李頌. 明胶复合羟基磷灰石支架材料促进大鼠骨髓干细胞增殖与分化[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(2):159–65.
- [9] 李亚莹, 白艳洁, 曹婷. 羟基磷灰石在硬组织修复中的应用进展[J]. *中国美容整形外科杂志*, 2020, 31(3):190–1.
- [10] Koons G L, Diba M, Mikos A G. Materials design for bone-tissue engineering[J]. *Nat Rev Mater*, 2020, 5(8):584–603.
- [11] Tang Z, Li X, Tan Y, et al. The material and biological characteristics of osteoinductive calcium phosphate ceramics[J]. *Regen Biomater*, 2018, 5(1):43–59.
- [12] Turnbull G, Clarke J, Picard F, et al. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Bioact Mater*, 2018, 3(3):278–314.
- [13] 肖媛, 刘伟, 汪艳, 等. 生物样品的扫描电镜制样干燥方法[J]. *实验室研究与探索*, 2013, 32(5):45–53, 172.
- [14] Osi A R, Zhang H, Chen J, et al. Three-dimensional-printable thermo/photo-cross-linked methacrylated chitosan-gelatin hydrogel composites for tissue engineering[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(19):22902–13.

Preparation and research of a GelMA/HA hydrogel scaffold based on additive manufacturing

Liu Chongyuan, Jiang Yong, Zou Duohong

(College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University,

Key Lab of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract Objective To prepare the gelatin methacryloyl (GelMA) / hydroxyapatite (HA) composite hydrogel scaffold by additive manufacturing (AM) technology, and to explore its feasibility as a scaffold for repairing in bone tissue engineering via characterizing microstructure and testing biocompatibility. **Methods** The GelMA solution and hydroxyapatite particles were uniformly mixed to prepare a bio-ink firstly. Then, AM technology was used to fabricate the GelMA/HA composite hydrogel scaffold. The microstructure and components of the composite scaffold were characterized and analyzed by scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM). The Young's modulus of pure GelMA scaffold and the composite scaffold was measured by a mechanical tester. Cell counting kit-8 (CCK-8) and Live/dead cell staining were used to evaluate the cytocompatibility of scaffolds. Alkaline phosphatase (ALP) staining was used to explore the osteogenic properties of scaffolds. **Results** The GelMA/HA hydrogel scaffold showed a porous and lattice-like structure and exhibited stiffer than pure GelMA scaffold. The live-dead cell staining experiment exhibited that BMSCs grew well and displayed a spread morphology on the composite scaffold after 7 days of culture. Cell proliferation experiments showed that the proliferation rates of BMSCs in pure GelMA hydrogel scaffold group and the GelMA/HA composite hydrogel scaffold group cultured for 3 and 7 d were higher than those of the blank group ($P < 0.05$). The ALP staining experiment revealed that the positive ALP stained area of the GelMA/HA composite hydrogel scaffold significantly increased ($P < 0.05$) compared with the blank group and pure GelMA hydrogel scaffold group. **Conclusion** The GelMA/HA composite hydrogel scaffold processes good biocompatibility and promotes the osteogenic differentiation of BMSCs, which has a potential to be used as a filling and repair scaffold for bone tissue engineering.

Key words gelatin methacryloyl; hydroxyapatite; additive manufacturing; hydrogel scaffold; osteogenic differentiation