

# 改性纳米羟基磷灰石/PLGA 复合材料的 制备及生物活性

于 婷<sup>1,2</sup>, 刘 娅<sup>2</sup>, 王 宇<sup>1</sup>, 景遐斌<sup>1</sup>, 章培标<sup>1</sup>, 陈学思<sup>1</sup>

(1. 中国科学院长春应用化学研究所, 高分子物理与化学国家重点实验室, 长春 130022;

2. 吉林大学公共卫生学院, 长春 130021)

**摘要** 以低聚乳酸接枝改性的羟基磷灰石纳米粒子 (op-HA) 和聚丙交酯-乙交酯 (PLGA) 制备的生物可降解纳米复合材料 (op-HA/PLGA) 为研究对象, 采用 FTIR, TGA, ESEM 和 EDX 分析其接枝反应、接枝率、表面形貌和钙磷沉积情况, 通过在材料膜表面接种兔成骨细胞进行体外培养, 采用荧光染色、NIH Image J 图像分析和 Real-time PCR 综合评价细胞在材料表面的形态、黏附面积比、增殖能力和基因表达水平, 以此评价新型骨修复纳米复合材料 op-HA/PLGA 的表面性质和生物活性. 研究结果表明, op-HA 的表面接枝率为 8.3%, 掺入至 PLGA 后可形成富含钙磷的粗糙表面, 促进成骨细胞的黏附、扩展和增殖, 提高 I 型胶原蛋白 (Collagen-I)、骨形态蛋白-2 (BMP-2) 和骨连接蛋白 (Osteonectin) 的基因表达水平, 提高材料的钙磷沉积能力. op-HA/PLGA 具有良好的细胞相容性和成骨活性.

**关键词** 羟基磷灰石 (HA); 聚丙交酯-乙交酯 (PLGA); 表面改性; 纳米复合材料; 成骨活性

**中图分类号** O631

**文献标识码** A

**文章编号** 0251-0790(2009)07-1439-06

生物活性材料是指能够增进细胞活性或新组织再生的材料<sup>[1]</sup>. 具有生物活性的硬组织修复材料必须能够增强成骨细胞的活性, 有利于成骨细胞的黏附与增殖. 羟基磷灰石 (Hydroxyapatite, HA) 是人体骨组织的主要无机成分, 占人体骨组织的 70% 以上. 人工合成的 HA 生物陶瓷由于其结构和性能与天然 HA 的相似, 并具有良好的生物相容性和成骨活性, 因此被广泛应用于骨损伤的修复<sup>[2,3]</sup>. 但 HA 生物陶瓷在组织工程应用中存在脆性大、易碎、不易加工成型和体内降解性差等缺陷. 聚丙交酯-乙交酯 [Poly(lactide-co-glycolide), PLGA] 为丙交酯 (LA) 和乙交酯 (GA) 的共聚物, 是应用于临床的生物可降解材料. PLGA 的可降解性伴随着酯键的水解而发生, 其最终降解产物为二氧化碳和水, 可通过机体新陈代谢完全排出体外, 因此不必通过外科手术去除移植体<sup>[4]</sup>. 由于 LA 与 GA 的降解速度不同, 因此可以通过控制 LA 和 GA 的比例调节 PLGA 的降解速率. 目前, PLGA 已经用于骨软骨炎和一些小的骨折以及颅面外科等的治疗<sup>[4]</sup>. 但 PLGA 等聚酯材料缺乏生物活性, 其机械性能仍未能达到承重骨的固定和修复需要. 近年来, 纳米 HA/生物可降解聚合物的复合材料以其良好的骨传导性、生物降解性和较高的机械性而备受关注<sup>[5]</sup>. 由于亲水的 HA 与疏水的 PLGA 共混, 界面相容性差, 且 HA 纳米粒子表面能大, 易发生团聚现象, 很难均匀分散到疏水的聚合物中, 导致材料的稳定性差, 植入体内后力学强度衰减快, 限制了其临床应用. 因此, 人们尝试采用硅烷偶联剂修饰及原位聚合等方法对其进行表面改性<sup>[6]</sup>. 在无催化剂情况下, 将低聚乳酸 (LAc oligomer) 与纳米 HA 表面的钙原子通过化学键连接, 制成表面接枝低聚乳酸的改性 HA 纳米粒子 (op-HA), 改善了纳米粒子与基体材料之间的界面相容性, 提高了界面结合力, 从而增强了复合材料的热稳定性和机械性能<sup>[6,7]</sup>. 本文制备了改性的 op-HA 纳米粒子和 op-HA/PLGA 复合材料, 研究材料的表面性质及生物活性, 探索其对成骨细胞黏附、增殖和分化影响的相关机制, 为该新型骨修复纳米复合材料在骨组织工程和骨修复中的应用提供理论依据.

收稿日期: 2008-12-04.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 50673090) 和国家“八六三”计划 (批准号: 2007AA03Z320) 资助.

联系人简介: 章培标, 男, 博士, 副研究员, 主要从事生物医用高分子和组织工程研究. E-mail: zhangpb@ciac.jl.cn

刘 娅, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事生物安全性评价研究. E-mail: liuya@jlu.edu.cn

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

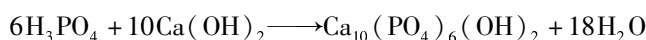
丙交酯(*L*-LA, 99%, Purac 公司); 辛酸亚锡(99%, Sigma 公司); DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium 干粉, Gibco 公司); F12(F12 Nutrient Mixture 干粉, Gibco 公司); 标准胎牛血清(FBS, tbd 公司); 胰蛋白酶(Gibco 公司); MTT(噻唑兰, Solarbio 公司); 羟乙基呱嗪乙硫磺酸(HEPES, Sigma 公司); 异硫氰酸荧光素(FITC, Sigma 公司); RNA 提取试剂盒(Promega 公司); 逆转录试剂(Promega 公司); Real-time PCR 试剂(Stratagene 公司); 磷酸、氢氧化钙和乙酸乙酯等为国产分析纯试剂。

傅里叶变换红外光谱仪(IFS 66V/S 真空型, Bruker); 热重分析仪(TGA, Q-500, TA); 场发射环境扫描电子显微镜(ESEM, XL30ESEM-FEG, FEL COMPANY); 能量色散谱仪(EDX, Genesis2000); 实时定量 PCR 仪(Real-time PCR, Stratagene); 荧光倒置显微镜(Nikon Eclips TE2000-U); 数码摄像系统(Nikon DXM1200F); CO<sub>2</sub> 培养箱(Sanyo); 全自动酶标仪(Multiskan MK3)。

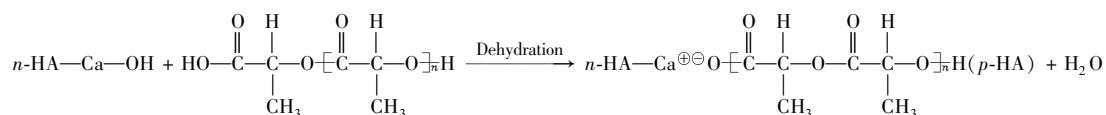
实验用乳兔为出生 24 h 内新西兰大白兔, 由吉林大学基础动物实验中心提供。

### 1.2 改性纳米羟基磷灰石(op-HA)/PLGA 复合物的制备

按文献[6]方法, 以磷酸和氢氧化钙为原料在 50 ~ 55 °C 条件下以沉淀法合成出直径为 20 ~ 30 nm, 长度为 100 ~ 200 nm 的针状纳米羟基磷灰石晶体(*n*-HA)。其化学反应方程式为



*n*-HA 的表面接枝改性按照文献[6]方法进行。将 200 mL *L*-乳酸与 300 mL 甲苯混合, 将混合物缓慢加热到 160 °C 恒温反应 72 h, 反应中生成的水通过甲苯共沸除去, 所得反应物用氯仿溶解, 在冷乙醇中沉降出来, 经过 60 °C 真空干燥 24 h 得到端羧基低聚乳酸, 整个反应过程不添加任何催化剂。将 30 g 端羧基低聚乳酸溶解在 200 mL 甲苯中, 将 30 g *n*-HA 纳米粒子分散在溶液中, 将悬浮液加热到 150 °C 恒温反应 10 h, 反应生成的水通过甲苯共沸除去。将产物离心分离, 用氯仿超声洗涤 5 次后于 60 °C 真空干燥 24 h, 得到表面接枝低聚乳酸的 HA 纳米粒子(op-HA)。其化学反应式如下:



以丙交酯(LA)和乙交酯(GA)为单体, 辛酸亚锡为催化剂, 采用开环聚合法合成 PLGA [ $m(\text{LA}):m(\text{GA}) = 8:2$ ], 其黏均分子量为 85000。采用溶液法先将 PLGA 用氯仿溶解, 再加入 op-HA (op-HA 与 PLGA 质量比为 1:9), 超声分散后在乙醇中沉降, 真空干燥, 制成 op-HA/PLGA 纳米复合材料。

将 op-HA/PLGA 纳米复合材料和 PLGA 分别溶于氯仿, 制成 1% 氯仿溶液, 在已硅化的方形盖玻片(2.4 cm × 2.4 cm)上铺膜, 真空干燥 48 h 后备用, 并以未硅化的盖玻片(Glass)为空白对照。

### 1.3 表征

用傅里叶红外光谱仪记录 FTIR 光谱, KBr 压片, 测定范围 4000 ~ 400 cm<sup>-1</sup>。用热失重分析确定 op-HA 的有机分子接枝量, 在空气气氛中分别将 10 mg HA 和 op-HA 从 50 °C 开始以 10 °C/min 的速度升温到 800 °C。将 PLGA 和 op-HA/PLGA 喷金处理后用 ESEM 观察材料的表面形貌和粒子的分散性。

### 1.4 生物相容性实验

1.4.1 细胞培养 将乳兔处死后消毒, 在无菌条件下, 取出颅骨, 剪成 2 mm × 2 mm 的骨块, 以间距约为 5 mm 放在培养皿中, 待骨块与培养皿贴附后, 轻轻地加入少量 DMEM/F12 培养液(含 20% 胎牛血清, 10 mmol/L HEPES, 60 mg/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素, DMEM 和 F12 体积比为 1:1), 放入 37 °C, CO<sub>2</sub>(体积分数 5%)培养箱中培养。第 3 天换培养液, 去除多余的圆形血细胞, 以后每 3 天更换 1 次培养液。原代培养至细胞长满骨块间隙后, 吸出连同骨块的培养液, 用 PBS 液洗涤 3 次, 加入 0.25% 的胰蛋白酶消化并进行传代。所用细胞为第三代兔成骨细胞。

1.4.2 细胞黏附和扩展实验 将 Glass, PLGA 和 op-HA/PLGA 3 种玻片放入 6 孔培养板中, UV 照射灭菌 40 min, 在培养板中接种兔成骨细胞, 密度为每孔 5 × 10<sup>4</sup> 个, 于 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 培养 7 d。隔日换

液, 用荧光倒置显微镜定期观察细胞状态. 在 1, 3 和 7 d 三个时间点用 FITC 进行荧光染色, 数码摄像系统拍摄细胞荧光照片, 并用 NIH Image J 软件进行数据分析.

1.4.3 实时定量 PCR 检测成骨活性基因的表达 取培养 7 d 的成骨细胞, 用总 RNA 提取试剂盒提取 RNA, 再进行反转录得到 cDNA. 按照引物设计原则设计 4 种基因的引物. 内参 (GAPDH) 上游引物: 5'-GATGCTGAAGGTCGGAGTG-3', 下游引物: 5'-TGTACTGGAGGTCAATGAATGG-3'; I 型胶原蛋白 (Collagen-I) 上游引物: 5'-CTCGCTCACCACCTTCTC-3', 下游引物: 5'-TAACCACTGCTCCACTCTG-3'; 骨形态蛋白-2 (BMP-2) 上游引物: 5'-GAAGCAAGGTGTCTCCAAG-3', 下游引物: 5'-TCCGCTGTTTGTGTTTCG-3'; 骨连接蛋白 (Osteonectin) 上游引物: 5'-ACCGAAGAGGAAGTAGTGG-3', 下游引物: 5'-AAGAAGTGGCAGGAGGAG-3'. 每个样品取 3 个平行样, 用实时 PCR 进行扩增反应. 反应条件为预变性温度 95 °C, 2 min; 解链温度 95 °C, 10 s; 退火温度 54 °C, 20 s; 延伸温度 72 °C, 10 s. 数据用 MxPro 软件进行分析, 以样品的目的基因浓度除以内参基因的浓度, 即为此样品基因的相对含量.

### 1.5 材料的生物矿化分析及统计学分析

取一组细胞培养 7 d 后的 PLGA 和 op-HA/PLGA 玻片, 用蒸馏水洗涤后真空干燥, 采用 ESEM 和 EDX 分析材料表面的矿物质沉积情况和钙磷元素含量.

采用 SPSS 12.0 软件, 用方差分析进行处理, 数据以  $\text{mean} \pm \text{SD}$  表示,  $P < 0.05$  具有统计学意义.

## 2 结果与讨论

### 2.1 HA 的表面接枝反应和接枝率

为解决纳米 HA 的团聚问题, 人们用硅烷偶联剂、聚乙二醇和异氰酸酯等对 HA 粒子表面进行改性. 由于 HA 表面的羟基数量很少且活性很低, 一般改性方法接枝到 HA 表面的有机物数量很少, 且用作改性 HA 的有机分子往往有毒性, 会引起生物体的不良反应. 本文采用的 op-HA 是在甲苯共沸脱水条件下, 将一定分子量的低聚乳酸与 HA 表面的钙原子反应, 得到了表面负载低聚乳酸的改性 HA 纳米粒子 (op-HA). HA 表面的接枝反应和接枝率可通过红外和热失重 (TGA) 进行表征 (图 1 和图 2).

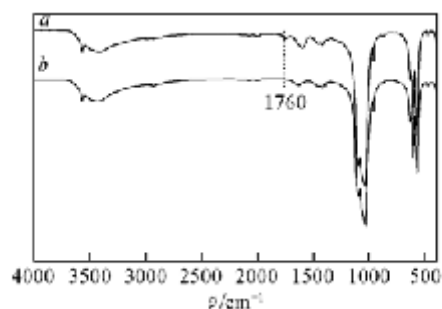


Fig. 1 FTIR spectra of op-HA (a) and HA (b)

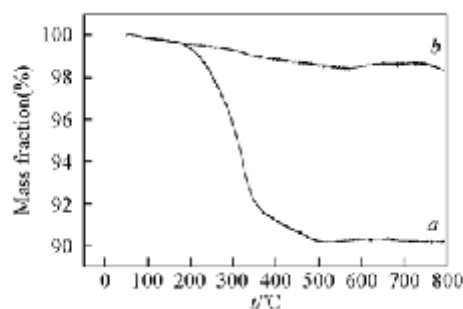


Fig. 2 TGA curves of op-HA (a) and HA (b)

图 1 为 op-HA 与 HA 的傅里叶红外图谱. 从图 1 可见, 表面接枝低聚乳酸的 op-HA 在  $1760 \text{ cm}^{-1}$  附近出现的吸收峰归属于接枝到 HA 表面上的低聚乳酸分子中的羰基的吸收峰. 由此可以证实接枝反应产物 op-HA 的表面确实存在低聚乳酸分子. 图 2 为 TGA 热失重曲线. 从图 2 可见, 改性前的 HA 纳米颗粒升温后存在 0.82% 左右的热失重, 可能是纳米羟基磷灰石表面物理吸附的水; 接枝改性后, 出现了 9.12% 的失重. 通过氯仿反复洗涤可以除去未接枝的低聚乳酸, 因此 op-HA 的热失重主要是由于表面接枝的低聚乳酸热裂解造成的.  $\text{op-HA 的接枝率} = 9.12\% - 0.82\% = 8.3\%$ .

### 2.2 op-HA/PLGA 的表面形貌及其细胞黏附、扩展和增殖

由图 3 可见, 与单纯 PLGA 膜比较, op-HA/PLGA 复合材料由于掺杂了改性后的 HA 纳米粒子, 使 HA 粒子较均匀地分布于材料表面, 形成一定的粗糙度. 有研究表明, 一定粗糙度的表面可促进蛋白质的吸附, 从而提高材料对细胞的亲和性<sup>[8]</sup>.

对材料的浸提液进行了系统的生物安全性评价, 研究结果表明, op-HA/PLGA 是一种无毒性的、具有良好生物相容性的生物医用材料<sup>[7]</sup>. 但该方法只能间接反映材料内的可溶性物质 (溶剂、单体、催化剂、有毒重金属等) 或降解产物对细胞的毒性作用, 无法体现材料真正的生物学性能. 理想的支架材

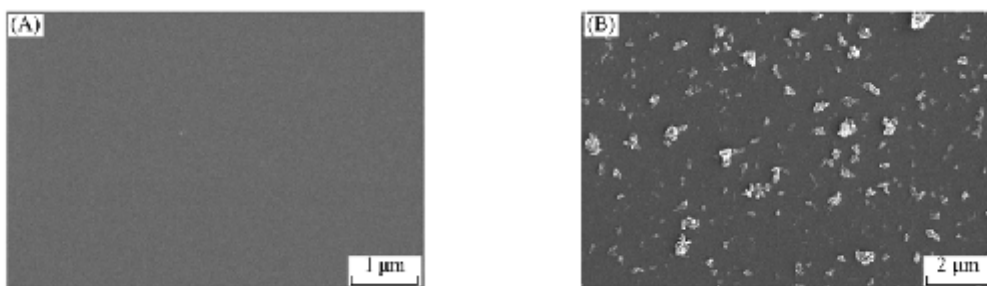


Fig. 3 ESEM images of the surface topography of PLGA (A) and op-HA/PLGA (B)

料不仅要求对机体无毒性, 而且要求细胞可在材料表面黏附、生长和增殖, 即具有生物活性. 因此, 通过在材料表面接种细胞, 评价细胞在材料表面的黏附和生长情况, 可以反映细胞与材料界面直接接触后的相互作用关系, 可更真实地体现材料的生物学性能.

图 4 为成骨细胞的 FITC 荧光染色图片. 结果显示, 接种 1 d 时, 各组均有大量细胞贴壁, 细胞略小呈圆形或梭形, 而 op-HA/PLGA 组的细胞数明显多于 PLGA 组; 3 d 时各组的贴壁细胞数量均明显增

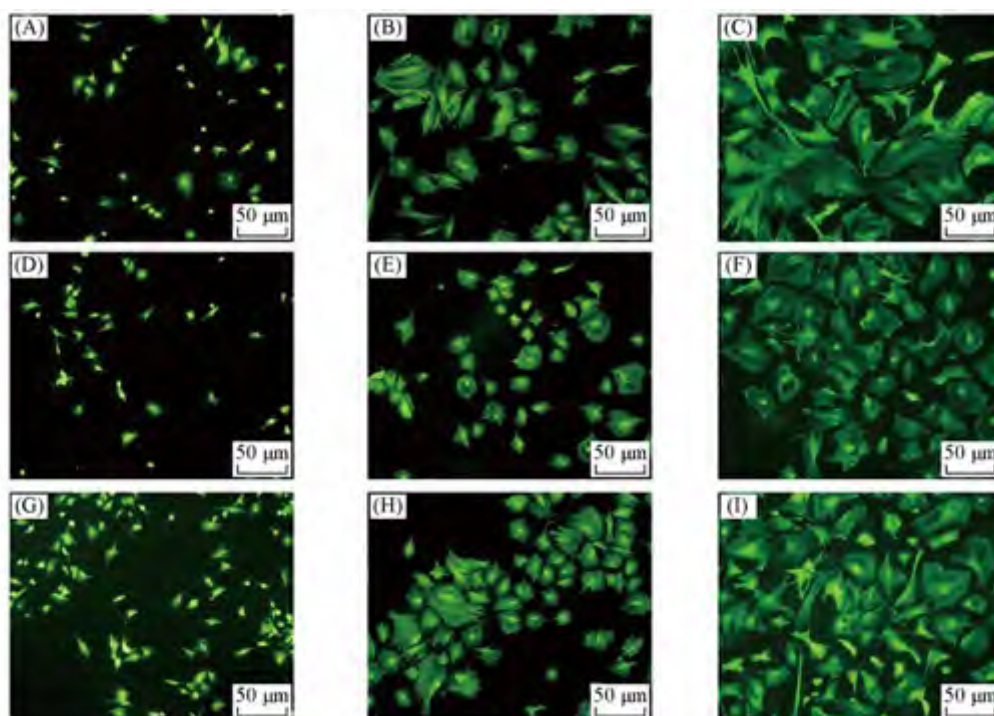


Fig. 4 Micrographs of osteoblasts grew on the surface of glass [(A)–(C)], PLGA [(D)–(F)] and op-HA/PLGA [(G)–(I)] for 1 d, 3 d, 7 d, respectively

Fluorescent staining with FITC.

多, 胞体充分展开, 转变为多角形; 7 d 后可见细胞增殖显著, 细胞呈集落性生长; 3 ~ 7 d 时, op-HA/PLGA 和 Glass 组的细胞数量和细胞状态均明显优于 PLGA 组.

为确认不同材料界面的细胞黏附生长的差异, 用 NIH Image J 图像分析软件对上述图像进行计算机细胞形态定量分析, 获得细胞面积比 (即细胞着色面积占图片面积的百分数). 细胞面积比是反映细胞在材料表面黏附和扩展的综合评价指标. 由图 5 可见, 随着培养时间的延长, 各组的细胞面积比

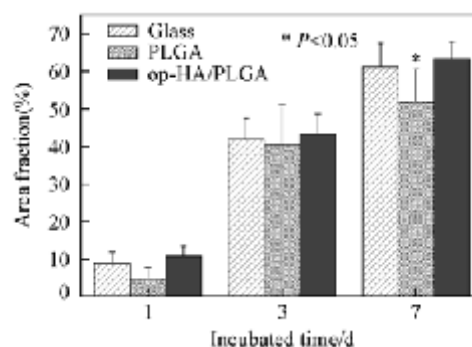


Fig. 5 Area fraction of osteoblasts grew on the surface of glass, PLGA and op-HA/PLGA

均明显增高; 在培养的 3 个时间点, op-HA/PLGA 的细胞面积比均高于 PLGA, 而与 Glass 相近; 培养 7 d 时, op-HA/PLGA 的细胞面积比明显高于 PLGA 的, 有显著性差异 ( $P < 0.05$ ). 这表明, op-HA/PLGA 复合材料比 PLGA 更有利于成骨细胞的黏附、扩展和生长. 其可能的机制是, op-HA/PLGA 由于添加了改性后纳米 HA 而增加了有利于成骨细胞生存的条件, 如丰富的钙磷元素和表面的粗糙性等.

### 2.3 材料对细胞的基因表达影响和生物矿化能力分析

骨修复材料的生物活性还体现在材料对成骨细胞的骨基质合成、分泌和基质矿化的影响. 成骨细胞在骨形成过程中主要经历成骨细胞增殖、细胞外基质成熟、细胞外基质矿化和成骨细胞凋亡四个阶段, 并与 BMP-2, Collagen-I 和 Osteonectin 等相关基因的表达和调控密切相关. BMP-2 的主要生物学作用是通过调节胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 和胰岛素样生长因子-II (IGF-II) 而诱导成骨细胞形成, 促进成骨细胞的增殖<sup>[9]</sup>. Osteonectin 可促进细胞外基质的合成, 增加骨基质沉积率<sup>[10]</sup>. Collagen-I 是骨基质中的主要胶原类型, 从增殖期开始表达, 基质合成期达到高峰, 是钙盐沉着和细胞附着的支架. 因此, 通过实时定量 PCR 分析成骨细胞在材料表面生长分化过程中的基因表达水平, 有利于进一步探索材料的理化性质对成骨细胞影响的分子机制. 由图 6 可见, 成骨细胞在材料表面培养 7 d 后, op-HA/PLGA 的 BMP-2, Collagen-I 和 Osteonectin 表达量均明显高于 PLGA, 其中 Collagen-I 和 Osteonectin 有显著性差异 ( $P < 0.05$ ). 结果表明, op-HA/PLGA 复合材料由于掺入了具有生物活性的羟基磷灰石, 在一定时期内提高了成骨细胞的相关基因表达水平. 据此, 我们推测该类材料的成骨活性主要通过影响和调控成骨基因的表达, 从而促进成骨细胞的生长、分化和骨基质形成.

图 7 的扫描电镜照片显示, 成骨细胞培养 7 d 后的 PLGA 表面只有少量的沉积物, 而 op-HA/PLGA

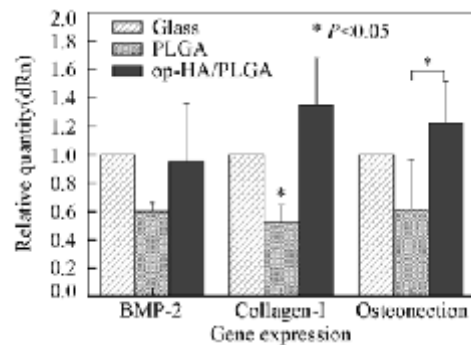


Fig. 6 Gene expression of osteoblasts incubated on the surface of Glass, PLGA and op-HA/PLGA at 7d

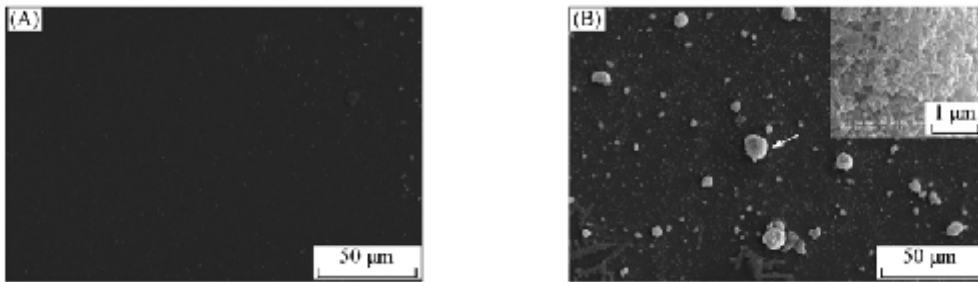


Fig. 7 ESEM images of biomimetic deposition on PLGA(A) and op-HA/PLGA(B) incubated for 7 d

表面则出现大量的微米级聚集体, 这些聚集体均由大量的短棒状纳米粒子构成. 通过表面能谱分析结果表明, PLGA 表面仅有少量钙、磷元素, 而 op-HA/PLGA 表面的钙、磷含量明显高于 PLGA; 同时, 聚集体表面含有更加丰富的钙、磷元素, 表明为类磷灰石物质 (见图 8). 由此可以证明, PLGA 掺杂了 op-HA 粒子后, 可有效地促进材料对培养液中钙、磷的沉积能力, 诱导类磷灰石的形成, 是一种良好的生物矿化材料. 这种富含钙磷的材料表面界面和类磷灰石的形成, 可进一步促进成骨细胞的分化和骨基质形成, 提高了材料的生物活性及其骨

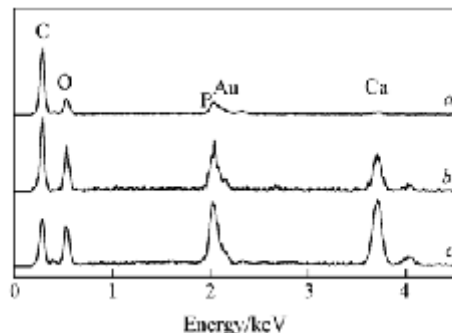


Fig. 8 EDX analysis of PLGA(a), op-HA/PLGA(b) and the aggregates on op-HA/PLGA (c) incubated *in vitro* for 7 d

诱导能力。

综上所述,与已经应用于临床的 PLGA 生物降解聚酯材料相比,通过掺入低聚乳酸接枝改性 HA 纳米粒子所制备的 op-HA/PLGA 复合材料,其 HA 纳米粒子可均匀地分散于 PLGA 中,形成富含钙磷的粗糙表面,有利于钙磷沉积和成骨细胞的黏附、扩展和增殖,促进成骨细胞的 BMP-2, Collagen- I 和 Osteonectin 等基因的表达,很大程度上提高了材料的骨诱导活性和成骨能力,是一种较理想的骨修复纳米复合生物活性材料。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] QU Yang(屈阳), LI Zhen-Sheng(李振声), YANG Bang-Cheng(杨邦成), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2007, **28**(7): 1288—1291
- [ 2 ] Pistner H., Bendix D. R., Muhling J., *et al.*. Biomaterials[J], 1993, **14**: 291—298
- [ 3 ] LeGeros R. Z. Clin. Orthop. Relat. Res. [J], 2002, (395): 81—98
- [ 4 ] Xin X. J., Hussain M., Mao J. J. Biomaterials[J], 2007, **28**(2): 316—325
- [ 5 ] Kim S. S., Sun P. M., Jeon O., *et al.*. Biomaterials[J], 2006, **27**(8): 1399—1409
- [ 6 ] Qiu Xue-Yu, Chen Li, Hu Jun, *et al.*. Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry[J], 2005, **43**: 5177—5185
- [ 7 ] CUI Yang(崔阳), LIU Yi(刘一), CHEN Xue-Si(陈学思), *et al.*. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research(中国组织工程研究与临床康复)[J], 2007, **11**(26): 5074—5077
- [ 8 ] Burg K. J. L., Porter S., Kellam J. F. Biomaterials[J], 2000, **21**: 2347—2359
- [ 9 ] Mandeep Singh Virk, Augustine Conduah, Sang-Hyun Park, *et al.*. Bone[J], 2008, **42**: 921—931
- [ 10 ] Hock J., Canalis E., Centrella M. Endocrinology[J], 1990, **126**: 421—423

## Preparation and Bioactivity of the Composite of PLGA and Hydroxyapatite Nanocrystals Surface-grafted with L-lactic Acid Oligomer

YU Ting<sup>1,2</sup>, LIU Ya<sup>2\*</sup>, WANG Yu<sup>1</sup>, JING Xia-Bin<sup>1</sup>, ZHANG Pei-Biao<sup>1\*</sup>, CHEN Xue-Si<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China;

2. School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract** The hydroxyapatite (HA) nanocrystals of 100—200 nm in length and 20—30 nm in width were hydrothermally synthesized by the reaction of phosphoric acid and calcium hydroxide. Lactic acid oligomer surface grafted HA (op-HA) nanoparticles were obtained by oligomeric lactic acid with a certain molecular weight grafting onto the HA surface to form a Ca carboxylate bond in the absence of any catalyst. The op-HA was further blended with poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) to prepare the nanocomposite of op-HA/PLGA. FTIR, TGA, ESEM and EDX were used to analyze grafting reaction, the graft ratio of op-HA, surface topography and calcium deposition of the composites, respectively. The rabbit osteoblasts were seeded and cultured on the surface of composites *in vitro*. The cell morphology, adhesion, proliferation and gene expression were evaluated with FITC staining, NIH image J software and the analysis of real-time PCR, respectively. The results show that the graft ratio of op-HA is 8.3% (mass fraction). The op-HA/PLGA nanocomposite possessed more suitable surface properties, including roughness and plenty of calcium and phosphor. It exhibited better cell adhesion, spreading and proliferation of rabbit osteoblasts compared to pure PLGA. Its gene expression of Collagen-I, Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) and Osteonectin were higher than that of PLGA. It indicated that the biocompatibility and osteogenic bioactivity of the op-HA/PLGA nanocomposite were improved obviously than that of the pure PLGA.

**Keywords** Hydroxyapatite; Poly(lactide-co-glycolide); Surface grafting; Nanocomposite; Osteogenic bioactivity (Ed.: W, Z)