

脑动脉粥样硬化斑块中钙化物矿物学特征研究

李源¹, 王长秋¹, 孟繁露¹, 李艳¹, 鲁安怀¹, 杨重庆², 于启², 李康³

(1. 造山带与地壳演化教育部重点实验室, 北京大学地球与空间科学学院, 北京 100871;

2. 北京医院病理科, 北京 100730; 3. 北京医院心内科, 北京 100730)

摘要: 脑动脉钙化与脑动脉系统病变有密切联系。本文从矿物学角度出发, 使用偏光显微镜(POM), 扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)、显微红外光谱(micro-FTIR)、同步辐射微区X射线衍射(μ -SRXRD)以及同步辐射微区X射线荧光光谱(μ -SRXRF)对脑动脉粥样硬化斑块中的钙化样品进行了研究。结果表明, 钙化主要有球状和块状两种集合体形态, 球状钙化具有同心环状或同心放射状构造, 直径约0.3~5 μm ; 块状钙化中可见球状钙化被杂乱分布的柱状纳米晶体包裹。钙化主要矿物相为B型碳羟磷灰石(B-CHA), 并含Na、Mg、Zn、Fe和Sr等元素, 与主动脉钙化中的矿物组成类似。钙化在其形成初期呈分散的小球状, 后期大量球体逐渐被CHA纳米晶体充填胶结形成了致密的块状钙化。

关键词: 病理性矿化; 动脉粥样硬化; 碳羟磷灰石; 无定形磷酸钙; 球状钙化

中图分类号: P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2015)06-0963-08

Mineralogical characteristics of calcification in cerebrovascular atherosclerotic plaque

LI Yuan¹, WANG Chang-qiu¹, MENG Fan-lu¹, LI Yan¹, LU An-huai¹, YANG Chong-qing²,
YU Qi² and LI Kang³

(1. Key Laboratory of Orogenic Belts and Crustal Evolution, MOE, School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871, China; 2. Department of Pathology, Beijing Hospital, Beijing 100730, China; 3. Department of Cardiology, Beijing Hospital, Beijing 100730, China)

Abstract: Cerebral artery calcification is closely associated with cerebrovascular diseases. In this study, mineralogical analytic techniques were applied to cerebral artery samples with atherosclerotic calcification, including scanning electron microscope (SEM), transmission electron microscope (TEM), micro-Fourier transform infrared spectroscopy (micro-FTIR), micro-area synchrotron radiation X-ray powder diffraction (μ -SRXRD) and micro-area synchrotron radiation X-ray fluorescence (μ -SRXRF). The results show that calcification mainly exists in two aggregated forms, i.e., spherical and massive. Spherical calcification has concentric layers or radiated-concentric structure, with a diameter of 0.35 μm . Spherical calcification could be observed in the massive calcification, which is surrounded by randomly arranged prismatic crystals. The mineral phase of calcification is type-B carbonate hydroxyapatite (B-CHA), which contains Na, Mg, Zn, Fe and Sr. The mineral phase in calcification is similar to that of the minerals in cardiovascular artery calcification. Spherical calcification appears at the initial stage of calcification, which is eventually filled with CHA nanocrystals and developed into massive ca-

收稿日期: 2015-05-31; 修订日期: 2015-10-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41272048, 40872196)

作者简介: 李源(1990-), 男, 硕士研究生, 材料及环境矿物学专业, E-mail: ury091126@163.com; 通讯作者: 王长秋, E-mail: cqwang@pku.edu.cn

lification.

Key words: pathological mineralization; atherosclerosis; carbonate hydroxyapatite; amorphous calcium phosphate; spherical calcification

动脉粥样硬化是一种常见的多发病,被认为是引发心血管和脑动脉系统疾病的主要原因(Stary *et al.*, 1995)。硬化斑块中常伴的钙化是动脉粥样硬化的一个重要指示(Agatston *et al.*, 1990; Stary *et al.*, 1995; Criqui *et al.*, 2010)。调查显示,45 岁以上的人群中,三分之一存在血管钙化(Bild *et al.*, 2005)。

心脑血管系统中,主动脉、冠状动脉和脑动脉中经常出现钙化现象。主动脉钙化与心血管系统疾病的风险性和死亡率有重要联系(Witteman *et al.*, 1986)。冠状动脉中钙化预示着严重的动脉狭窄,并且是冠心病的一项有力预测指标(Agatston *et al.*, 1990; Mautner *et al.*, 1994)。脑动脉系统钙化与中风和颅内动脉狭窄有关,并常见于临床 CT 影像中(Sohn *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2007; Erbay *et al.*, 2007; Dufouil *et al.*, 2009)。

作为一种常见的心血管系统矿化,主动脉钙化已有较深入的研究(Stary, 2000; Epple and Lanzer, 2001; Kim, 2001; Tomazic, 2001; LeGeros, 2001; Li *et al.*, 2014),其中的矿物相被鉴定为 B-CHA,与骨、牙以及肿瘤矿化灶中的矿物组成类似(LeGeros, 2001; 王长秋等, 2009; 熊翠娥等, 2011; Li *et al.*, 2014)。相比之下,脑动脉钙化矿物学方面的研究很少见。研究疾病不同阶段钙化物的特征,可以获取其形成与演化过程的信息,有助于了解疾病进程,甚至可以指导对疾病的干预。本文从矿物学角度出发,对脑动脉钙化物的物相以及化学成分进行了分析,对钙化物形成过程中矿物集合体的演化进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

从北京医院病理科收集 5 例动脉粥样硬化伴钙化的脑动脉样品,包括 3 例椎基底动脉、1 例颈内动脉和 1 例脑中动脉,样品保存于福尔马林中。患者平均年龄 82 岁左右,均为男性。获得的伴钙化组织样品用石蜡包埋后切片,一部分样品被切成 4 μm 的薄片,分别放置在玻片和硅片上。玻片上的样品进

行标准病理学 HE 染色,硅片上的样品经处理后用于 SEM 观察。另一部分样品用化学方法将有机质去除,得到钙化粉末。样品制备具体步骤见文献 Li 等(2014)和 Meng 等(2015)。

1.2 样品观察与测试手段

利用光学显微镜观察 HE 玻片,获得钙化的形态与分布等信息,并为 SEM 观察做好定位。

用于 SEM 观察的硅片进行喷金处理,以更有效的观察钙化物形貌。SEM 观察在北京大学物理学院的 Quanta 200FEG 型场发射环境扫描电镜下进行,并使用附带的 EDAX 能谱仪分析元素组成。工作电压 15 kV,采用高真空模式。

分离后的钙化粉末浸泡在无水乙醇中超声分散 10 min,将微栅碳膜铜网立即浸入液体,使钙化粉末附着在碳膜上。铜网取出后放在滤纸上空气干燥,以进行透射电镜(TEM)观察。TEM 观察以及选区电子衍射测试(SAED)在北京大学分析测试中心的 JEM-2100F 场发射高分辨透射电子显微镜上进行,加速电压 200 keV。所得数据用 measureIT 软件处理与标定。

钙化粉末的显微红外分析在北京大学化学与分子工程学院的 NICOLET iN10 MX 傅立叶变换红外光谱仪上进行。设置光谱范围为 650~4 000 cm^{-1} ,分辨率为 4 cm^{-1} 。

将钙化粉末用 3M 胶带固定,在上海同步辐射光源 BL15U 线站进行 $\mu\text{-SRXRD}$ 和 $\mu\text{-SRXRF}$ 分析。 $\mu\text{-SRXRD}$ 测试的 X 光波长 $\lambda = 0.0619 \text{ nm}$,曝光时间 60 s,得到二维衍射环图像,使用 Fit2D 软件积分,DataLab 软件扣除基线,从而得到常规的一维 X 射线衍射图。 $\mu\text{-SRXRF}$ 测试中 X 射线能量为 18 keV,束斑大小为 2.2 $\mu\text{m} \times 2.5 \mu\text{m}$ 。数据采集时间为 50 s。所获得的数据用 PyMca 软件校正与拟合。

2 结果

2.1 形貌与分布

HE 染色病理学切片中钙化呈蓝紫色(如图 1a 中箭头所示),主要有点状和片状两种形态。钙化在其形成初期呈点状分布于血管内膜,未引起明显的

血管变形(图 1a)。发展后期的钙化呈片状分布于血管内膜粥样硬化斑块中,内膜已严重变形并压迫中膜(图 1b)。片状钙化在形态上与胶原纤维(粉色)具

有一定连续性。点状钙化附着在胶原纤维上,在片状钙化附近更加密集,部分存在于胶原纤维构成的孔洞中。

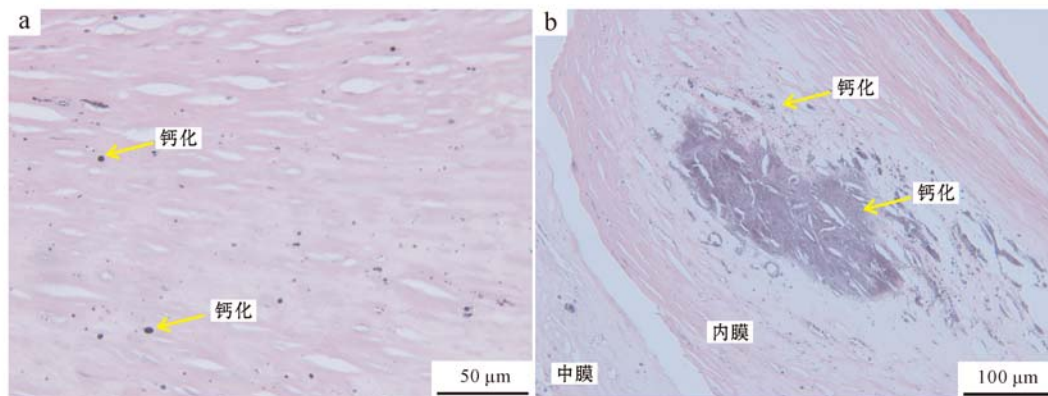


图 1 HE 病理切片

Fig. 1 HE stained sections, calcification was stained purple
a—初期钙化呈点状分散于血管内膜(箭头); b—晚期钙化呈片状分布于动脉内膜粥样硬化斑块中,内膜已严重变形并压迫中膜
a—at initial stage, calcification dots were distributed in the intima (arrow); b—at advanced stage, schistose calcification appeared in atherosclerotic plaque, and distorted intima was pressing the media

SEM 背散射电子像(BSE)中,较亮部分为钙化(图 2a 箭头),较暗部分为胶原纤维(图 2a 手指)。钙化主要有块状(图 2a 大箭头)和球状(图 2a 小箭头)

两种形态,对应光镜下的片状和点状钙化。球状钙化分散于胶原纤维上,块状钙化边缘与胶原纤维联系紧密。

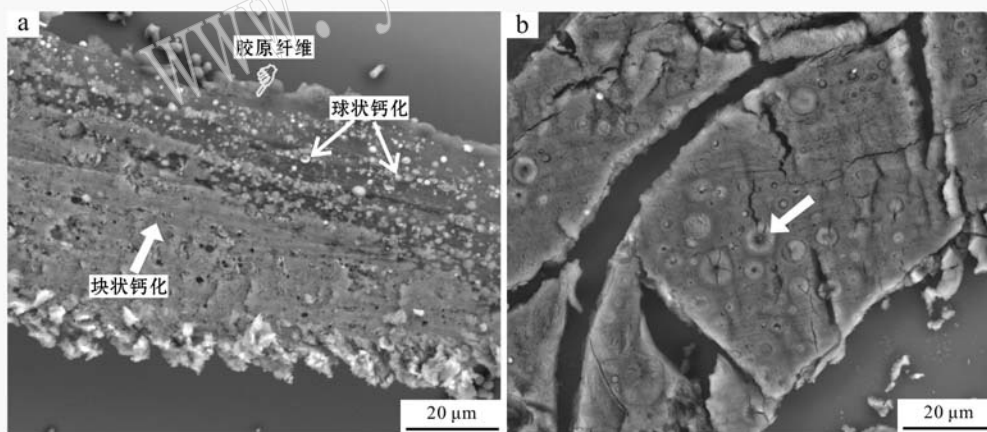


图 2 钙化组织切片 SEM-BSE 像

Fig. 2 SEM-BSE image of calcification tissue section
a—块状钙化(大箭头)与球状钙化(小箭头)共存,球状钙化依附胶原纤维(手指)生长; b—块状钙化断面上存在球状钙化的结构(箭头)
a—massive calcification and spherical calcification (big arrow) coexistent, spherical calcification distributed along the collagen fiber (finger);
b—structural remains of spherical calcification (arrow) on the fracture surface of massive calcification

远离块状钙化的部位,球状钙化分布较稀疏;靠近块状钙化处,球状钙化分布较密集,块状钙化边缘由球状钙化堆积而成。块状钙化断面上存在球状钙化的结构(图 2b 箭头)。

球状钙化直径多在 $0.1 \sim 5 \mu\text{m}$ 之间。球体有同心层状(图 3a)和同心放射状(图 3b)两种内部构造,

后者数量比前者少得多。直径较小的同心层状球体核心外只存在一圈钙化层,直径较大的球体可有多圈钙化层。部分具有放射状构造的球体核心脱落,说明了核心与外层的不连续性。

TEM 下可观察到球状钙化(图 4a 大圆)与其周围的包裹物。包裹物是由大量柱状晶体构成的集合

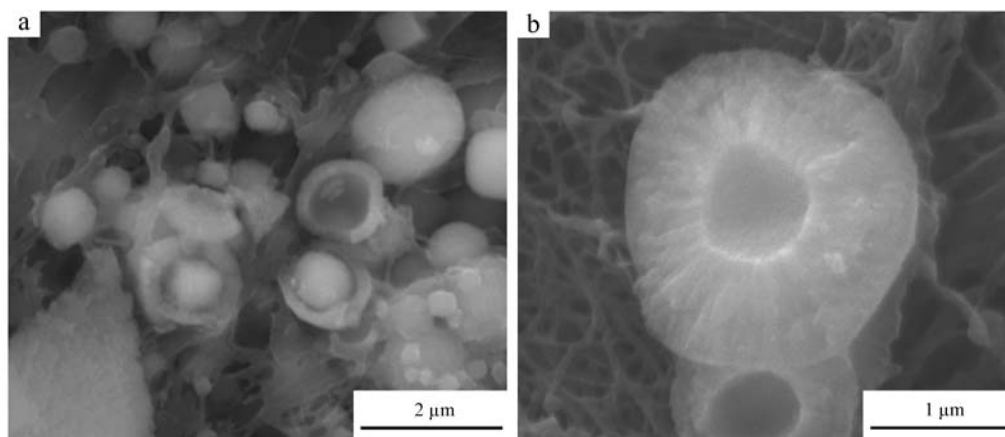


图 3 球状钙化 SEM 二次电子(SE)像

Fig. 3 SEM-SE image of spherical calcification

a—具同心层状结构的球状钙化; b—具同心放射状结构的球状钙化, 核心已脱落

a—sphere with concentric layer structure; b—sphere with radiated-concentric structure without core

体, 晶体长约 10~30 nm, 宽约 5~7 nm。球状集合体的内部构造无法观察到, 但选区电子衍射图中衍射环由断续的圆弧组成, 说明晶体排布有一定的择优取向, 球体内部存在较为规则的构造。包裹物由不规则分布的柱状晶体颗粒构成, 对应区域的电子衍射图为不连续斑点构成的衍射环(图 4c), 说明了晶体的随机取向。

2.2 矿物物相与化学成分

SEM 下利用能谱仪对块状钙化和球状钙化各

取 3 点进行测试, 结果表明, 块状钙化和球状钙化的主要成分均为 Ca、P、O、C, 含少量 Na、Mg。块状钙化平均 Ca/P 比(原子百分数)为 1.69, 球状钙化平均 Ca/P 比(原子百分数)为 1.36, 均在磷酸钙系列矿物 Ca/P 比范围内(Dorozhkin and Eppe, 2002), 表明钙化的物相是钙的磷酸盐。 μ -SRXRF 还检测到钙化物中含微量的 Zn、Fe、Sr 等元素, 与人体体液中所示微量元素相对应。

钙化粉末的 μ -SRXRD图谱(图 5a)与碳羟磷灰

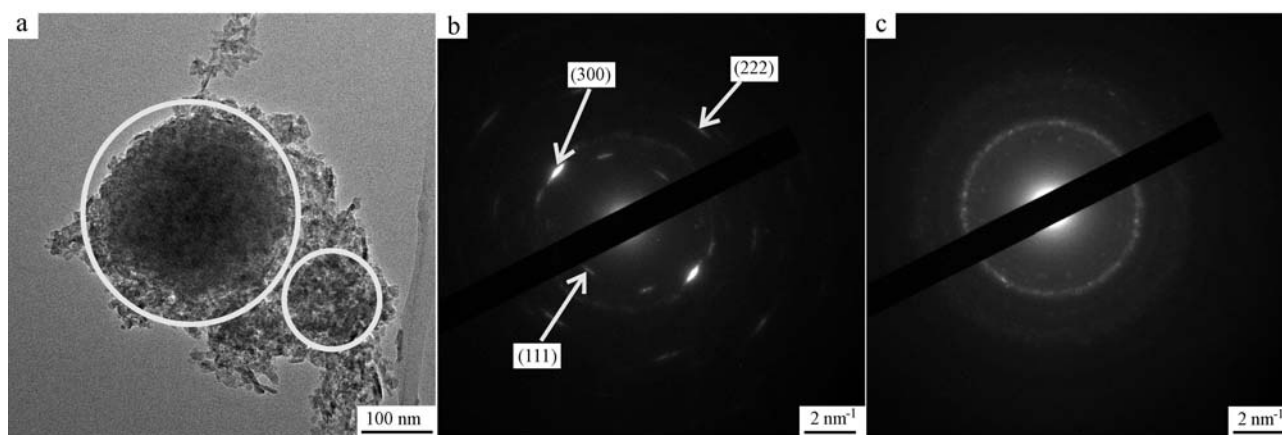


图 4 脑动脉钙化 TEM 图像

Fig. 4 TEM and SAED image of cerebral artery calcification

a—球状集合体, 球体被不规则分布的柱状晶体组成的集合体所包裹; b—球状集合体的选区电子衍射图(大圆), 由断续的弧形构成的衍射环说明球体内部晶体排布具有一定择优取向(衍射图标定在 2.2 部分讨论); c—球状集合体周围包裹物的选区电子衍射图(小圆), 不连续斑点构成的衍射环说明了晶体的随机取向

a—spherical aggregate surrounded by randomly arranged prismatic crystals; b—SAED image of the sphere (big circle), intermittent rings suggested certain degree of preferred orientation (calibration of SAED image will be discussed in section 2.2); c—SAED image of the surrounding crystals (small circle), intermittent dots confirmed that it was randomly arranged

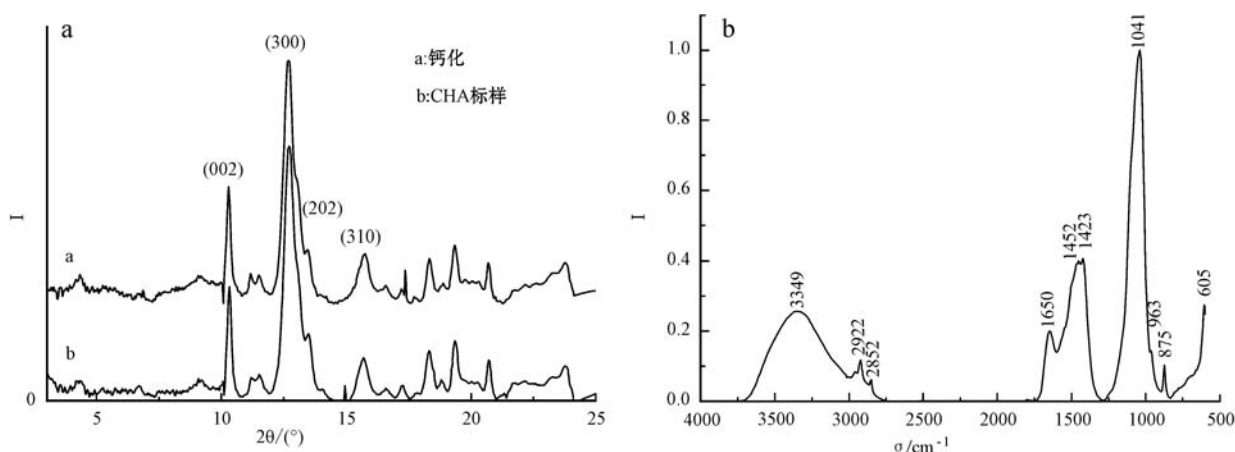


图5 脑动脉钙化 XRD 与显微红外光谱图

Fig. 5 XRD patterns and FTIR spectra of calcification

石标样基本一致。几个主要峰 $d(002)=0.346$ nm, $d(300)=0.278$ nm, $d(202)=0.262$ nm 和 $d(310)=0.231$ nm 与碳羟磷灰石 PDF # 12-0529 相吻合。由于结晶度较差, 位于 $d(300)=0.278$ nm 和 $d(211)=0.281$ nm 处的 2 个最强峰未分裂。虽然结果显示钙化主要物相是碳羟磷灰石, 但羟基磷灰石(PDF # 09-0432)的特征衍射峰与 CHA 十分接近, 难以用 μ -SRXRD 区分, 还需要进一步测试。

显微红外光谱(图 5b)中位于 1041 cm^{-1} 处的强峰与 963 cm^{-1} 处的弱峰是 PO_4^{3-} 的吸收峰(Trommer *et al.*, 2009)。 1452 cm^{-1} 和 1423 cm^{-1} 处的双吸收峰与 875 cm^{-1} 处的尖峰都是 CO_3^{2-} 的吸收峰。 3349 cm^{-1} 左右的宽峰属于 OH^- 的振动吸收(Manara *et al.*, 2008)。 2922 cm^{-1} 、 2852 cm^{-1} 与 1648 cm^{-1} 处的峰都是由与钙化紧密相关的酯类物质产生, 表明钙化物质中含部分有机成分(Sofia *et al.*, 2001; Movasaghi *et al.*, 2008)。以上结果显示了碳酸根的存在, 表明钙化的主要物相为 CHA, 而且根据 CO_3^{2-} 的双吸收峰位置可以得出, 钙化物相为 B-CHA, 即 CO_3^{2-} 取代了 PO_4^{3-} 的位置(Sønju and Ruyter, 1997; Barralet *et al.*, 1998)。

选取随机分布的柱状晶体集合体进行高分辨透射电镜观察(图 6a), 可见柱状晶体有清晰的晶格条纹像, 颗粒与颗粒之间由无晶格条纹的无定形物充填, 集合体的边界也有一层无定形物环绕(图 6b)。对无定形物进行能谱分析, 其主要构成元素为 Ca、P、O, 说明其成分为无定形磷酸钙(ACP)。图 6b 中柱状晶体的面网间距分别为 0.281 nm 和 0.227

nm, 与 CHA(PDF # 12-0529)(211)晶面($d=0.281\text{ nm}$)和(310)晶面($d=0.227\text{ nm}$)符合。选区电子衍射图样为不连续的点组成的衍射环, 标定后得出衍射环对应的面网间距 0.343 nm 、 0.275 nm 和 0.172 nm , 分别对应 CHA 的(002)、(300)和(004)晶面。图 4b 球状钙化的电子衍射图经标定, 衍射斑点对应的面网间距为 0.379 nm 、 0.270 nm 和 0.191 nm , 分别与 CHA(111)、(300)和(222)晶面相吻合。

3 讨论与结论

脑动脉粥样硬化斑块的矿物学研究表明, 钙化物主要以球状钙化和块状钙化两种集合体形式存在。球状钙化出现在钙化初期, 具有同心环状或同心放射状构造; 块状钙化出现在钙化晚期, 由杂乱分布的柱状纳米晶体构成, 其中包裹着球状钙化。钙化物的主要组成物相为 B-CHA, 同时存在少量 ACP。钙化物中含 Na、Mg、Zn、Fe、Sr 等杂质元素, 与人体体液中常见元素相对应。

磷酸钙系列矿物与人类关系十分密切, 人体正常生理性钙化(骨、牙)与病理性钙化(动脉粥样硬化斑块性钙化、肿瘤钙化、牙石、尿路结石等)的主要成分都是钙的磷酸盐。这些磷酸钙物相包括 CHA、ACP、二水磷酸氢钙(DCPD)、磷酸八钙(OCP)和磷酸三钙(TCP)等(LeGeros, 1990, 2001; Dorozhkin and Eppel, 2002), 它们在人体内单独或混合存在。

前人的合成实验表明, 磷酸钙系列矿物之间可以相互转化。在不同的 pH 值和溶液组成下, ACP

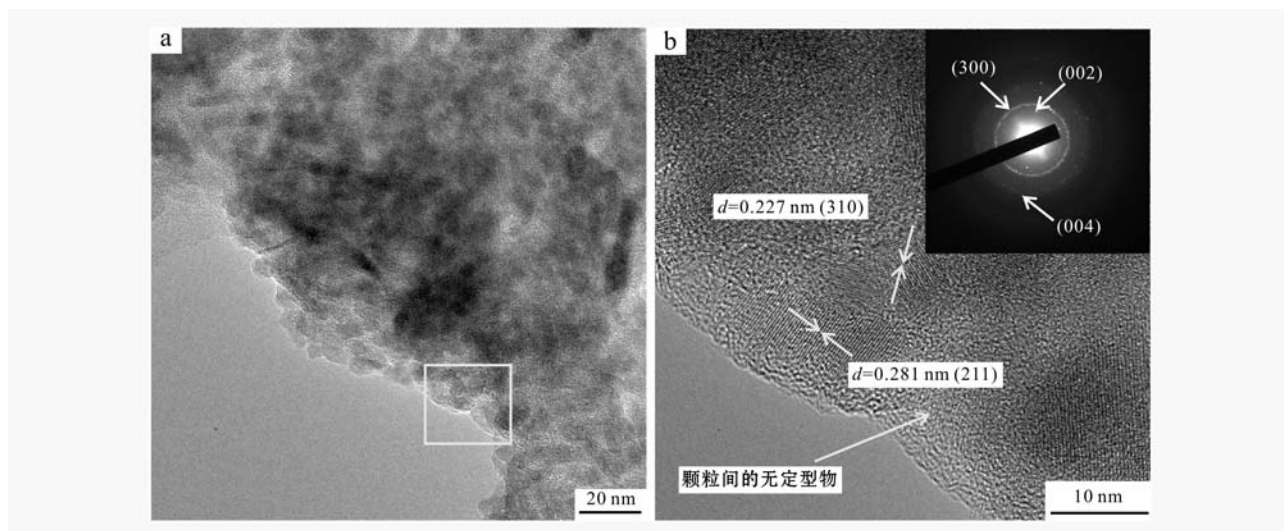


图 6 脑动脉钙化 TEM 图像

Fig. 6 HRTEM image of cerebral artery calcification

a—柱状晶体集合体; b—对应区域的高分辨晶格像与选区电子衍射图

a—aggregate composed of randomly arranged prismatic crystals; b—magnified selected square area in a: high-resolution TEM and SAED image

可以转化成 DCPD (Wuthier *et al.*, 1985; LeGeros, 1990)、OCP 或 CHA (Eanes *et al.*, 1973), 而 DCPD 或 OCP 也可以转化成 CHA (LeGeros, 2001)。

生物体内, 磷酸钙矿物的形成也经历了物相转变过程。无脊椎动物中, 无定形相在硬组织发展过程中有重要作用, 硬组织形成以无定形相为早期前驱体, 然后通过调控结晶过程从而形成更稳定的物相。脊椎动物中, 新生的斑马鱼鳍骨中含大量的球形 ACP, 其含量随着骨的成熟而降低 (Mahamid *et al.*, 2008)。另一项研究发现鼠的牙釉质形成过程中初始矿物相是 ACP 前驱体, 最终转化为磷灰石晶体 (Beniash *et al.*, 2009)。人体血管钙化的形成过程与骨组织的矿化过程有很大的相似性 (Karwowski *et al.*, 2011), 且其矿物组成都是结晶度较差的 CHA、ACP、OCP 等磷酸钙物相很有可能作为前驱体存在于病理性钙化中 (LeGeros, 2001)。

磷酸钙矿物在形成初期, 常常以球形 ACP 作为前驱体, 逐渐转化成更稳定的物相: 利用中性过饱和溶液合成 HA 过程中, 溶液中首先会快速沉淀出球状 ACP, 随后转化成絮状 ACP, 后来才演变成 OCP, 最后形成热力学上更稳定的 HA 结晶 (Christoffersen *et al.*, 1989); 模拟人体体液环境下, 溶液中会逐渐形成 ACP 纳米球体, 这些球体不断长大, 最终形成直径 120 nm 的球状 CHA 集合体 (Dey *et al.*, 2010)。本研究对脑动脉中钙化的观察也显示, 球形

是钙化形成初期的主导形态, 球状钙化很有可能是由 ACP 球体发展而来的。在球体周围的包裹物中亦存在 ACP, 说明包裹物初期可能也以 ACP 前驱体形式存在, 后期逐渐脱玻化形成 CHA 晶体。由此可见, ACP 前驱体在钙化形成过程中具有重要作用。然而, 由于 ACP 在热力学上是不稳定的, 会自发地晶化而转变为 HA 或 CHA, 因此, 实际样品中, ACP 含量很少, 不易被检测到。

综合上述分析, 推测脑动脉钙化形成过程为: 形成初期, 钙化以球状 ACP 前驱体分散于病灶中, 随着时间推移球体逐渐长大, 形成了同心层状与同心放射状构造的钙化球, 此过程中伴随着先形成 ACP 的不断脱玻化。球状钙化不断形成, 长大、堆积, 同时, 球体间也被 ACP 充填胶结, 从而形成晚期大面积的块状钙化。钙化小球与其间的充填胶结物, 初始均为 ACP。ACP 沉淀后, 随时间推移, 自发转变为 CHA。

致谢 本研究的同步辐射测试均在中国科学院上海应用物理研究所 BL15U 硬 X 射线站完成, 在此表示衷心感谢。

References

Agatston A S, Janowitz W R, Hildner F J, *et al.* 1990. Quantification

- of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography[J]. *Am. Coll. Cardiol.*, 15: 827~832.
- Barralet J, Best S and Bonfield W. 1998. Carbonate substitution in precipitated hydroxyapatite: An investigation into the effects of reaction temperature and bicarbonate ion concentration [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 41: 79~86.
- Beniash E, Metzler R A, Lam R S K, *et al.* 2009. Transient amorphous calcium phosphate in forming enamel[J]. *Journal of Structural Biology*, 166(2): 133~143.
- Bild D E, Detrano R, Peterson D, *et al.* 2005. Ethnic differences in coronary calcification: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA)[J]. *Circulation*, 111: 1 313~1 320.
- Criqui M H, Kamineni A, Allison M A, *et al.* 2010. Risk factor differences for aortic versus coronary calcified atherosclerosis: the multi-ethnic study of atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 30: 2 289~2 296.
- Chen X Y, Lam W W, Ng H K, *et al.* 2007. Intracranial artery calcification: a newly identified risk factor of ischemic stroke[J]. *J. Neuroimaging*, 17: 300~303.
- Christoffersen J, Christoffersen M R, Kibaczyc W, *et al.* 1989. A contribution to the understanding of the formation of calcium phosphates[J]. *Journal of Crystal Growth*, 94(3): 767~777.
- Dey A, Bomans P H H, Müller F A, *et al.* 2010. The role of prenucleation clusters in surface-induced calcium phosphate crystallization [J]. *Nature Materials*, 9(12): 1 010~1 014.
- Dorozhkin S V and Epple M. 2002. Biological and medical significance of calcium phosphates[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 41(17): 3 130~3 146.
- Dufouil C, Godin O, Chalmers J, *et al.* 2009. Severe cerebral white matter hyperintensities predict severe cognitive decline in patients with cerebrovascular disease history[J]. *Stroke*, 40: 2 219~2 221.
- Eanes E D, Termine J D and Nylen M U. 1973. An electron microscopic study of the formation of amorphous calcium phosphate and its transformation to crystalline apatite[J]. *Calcified Tissue Research*, 12(1): 143~158.
- Epple M and Lanzer P. 2001. How much interdisciplinarity is required to understand vascular calcifications? Formulation of four basic principles of vascular calcification[J]. *Zeitschrift für Kardiologie*, 90(3): III 2~III 5.
- Erbay S, Han R, Bacceti S, *et al.* 2007. Intracranial carotid artery calcification on head CT and its association with ischemic changes on brain MRI in patients presenting with stroke-like symptoms: retrospective analysis[J]. *Neuroradiology*, 49: 27~33.
- Karwowski W, Naumnik B, Szczepański M, *et al.* 2011. The mechanism of vascular calcification—a systematic review[J]. *Medical Science Monitor Basic Research*, 18(1): RA1~RA11.
- Kim K M. 2001. Cellular mechanism of calcification and its prevention in glutaraldehyde treated vascular tissue[J]. *Zeitschrift für Kardiologie*, 90(3): 99~105.
- LeGeros R Z. 1990. Calcium phosphates in oral biology and medicine [J]. *Monographs in Oral Science*, 15: 1~201.
- LeGeros R Z. 2001. Formation and transformation of calcium phosphates: relevance to vascular calcification[J]. *Zeitschrift für Kardiologie*, 90(3): 116~124.
- Li Y, Wang X, Zhu M, *et al.* 2014. Mineralogical characterization of calcification in cardiovascular aortic atherosclerotic plaque: A case study[J]. *Mineralogical Magazine*, 78(4): 775~786.
- Mahamid J, Sharir A, Addadi L, *et al.* 2008. Amorphous calcium phosphate is a major component of the forming fin bones of zebrafish: Indications for an amorphous precursor phase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(35): 12 748~12 753.
- Manara S, Paolucci F, Palazzo B, *et al.* 2008. Electrochemically-assisted deposition of biomimetic hydroxyapatite-collagen coatings on titanium plate[J]. *Inorganica Chimica Acta*, 361: 1 634~1 645.
- Meng Fanlu, Wang Changqiu, Li Yan, *et al.* 2015. Psammoma bodies in two types of human ovarian tumours: a mineralogical study[J]. *Mineralogy and Petrology*, 109(3): 357~365.
- Mautner G C, Mautner S L, Fröhlich J, *et al.* 1994. Coronary artery calcification: Assessment with electron beam CT and histomorphometric correlation[J]. *Radiology*, 192: 619~623.
- Movasaghi Z, Rehman S and ur Rehman D I. 2008. Fourier transform infrared (ftir) spectroscopy of biological tissues[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43: 134~179.
- Sofia S, McCarthy M B, Gronowicz G, *et al.* 2001. Functionalized silkbased biomaterials for bone formation[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 54: 139~148.
- Sohn Y H, Cheon H Y, Jeon P, *et al.* 2004. Clinical implication of cerebral artery calcification on brain CT[J]. *Cerebrovascular Diseases*, 18(4): 332~337.
- Sønju Clasen A B and Ruyter I E. 1997. Quantitative determination of type a and type b carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of fourier transform infrared spectrometry[J]. *Advances in Dental Research*, 11, 523~527.

- Sary H C, Chandler A B, Dinsmore R E, *et al.* 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association [J]. *Circulation*, 92(5): 1 355~1 374.
- Sary H C. 2000. Natural history of calcium deposits in atherosclerosis progression and regression[J]. *Zeitschrift für Kardiologie*, 89(2): 28~35.
- Tomazic B B. 2001. Physicochemical principles of cardiovascular calcification[J]. *Zeitschrift für Kardiologie*, 90(3): 68~80.
- Trommer R M, Santos L A and Bergmann C P. 2009. Nanostructured hydroxyapatite powders produced by a flame-based technique[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 29: 1 770~1 775.
- Wang Changqiu, Yang Ruochen, Lu Anhuai, *et al.* 2009. Mineralogy of psammoma bodies in human ovarian cancer[J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 28(6): 617~622(in Chinese with English abstract).
- Wittman J C, Kok F J, van Saase J L, *et al.* 1986. Aortic calcification as a predictor of cardiovascular mortality[J]. *The Lancet*, 328: 1 120~1 122.
- Wuthier R E, Rice G S, Wallace Jr J E B, *et al.* 1985. In vitro precipitation of calcium phosphate under intracellular conditions: formation of brushite from an amorphous precursor in the absence of ATP[J]. *Calcified tissue International*, 37(4): 401~410.
- Xiong Cui'e, Wang Changqiu, Lu Anhuai, *et al.* 2011. A mineralogical study on calcification in fibroadenoma of breast[J]. *Acta Mineralogica Sinica*, 31(4): 713~718(in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

- 王长秋, 杨若晨, 鲁安怀, 等. 2009. 人体卵巢癌中砂粒体矿化的矿物学研究[J]. *岩石矿物学杂志*, 28(6): 617~622.
- 熊翠娥, 王长秋, 鲁安怀, 等. 2011. 乳腺纤维腺瘤病灶中钙化的矿物学研究[J]. *矿物学报*, 31(4): 713~718.