

人体几种典型病理性钙化物中碳羟磷灰石的 红外光谱研究

张 岩¹, 李 艳¹, 鲁安怀¹, 王长秋¹, 梅 放², 柳剑英², 杨重庆³, 李 康⁴

(1. 矿物环境功能北京市重点实验室, 北京大学, 北京 100871; 2. 北京大学医学部 基础医学院病理学系, 北京 100083;
3. 北京医院 病理科, 北京 100730; 4. 北京医院 心内科, 北京 100730)

摘 要: 选取人体心脏瓣膜、动脉、甲状腺、卵巢和乳腺 5 大类典型病理性钙化共 38 例样品开展了系统的红外光谱表征, 重点探讨了样品内碳羟磷灰石(CHA)中 CO_3^{2-} 含量及 CO_3^{2-} 的取代类型特征。研究发现, 这 5 类典型病理性钙化产物均以碳羟磷灰石为主要物相, 相同部位钙化物中的 CO_3^{2-} 含量基本保持一致, 但不同部位钙化物中的 CO_3^{2-} 平均含量差别较明显, 甲状腺、乳腺中 CO_3^{2-} 平均含量最低, 为 6.2%, 相比 CO_3^{2-} 平均含量最高的心脏瓣膜, 相差 3.3%。5 类样品含有的碳羟磷灰石均以 B 型取代(CO_3^{2-} 取代 PO_4^{3-})为主, 伴随有少量 A 型取代(CO_3^{2-} 取代 OH^-), 钙化物中的 CO_3^{2-} 含量与 B/A 取代比值的正向联系不明显。

关键词: 病理性钙化; 红外光谱; 碳羟磷灰石; 碳酸根取代

中图分类号: P578.92⁺2; R36

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2017)06-0909-07

An infrared spectrum analysis of several kinds of typical pathologic calcification product in human body

ZHANG Yan¹, LI Yan¹, LU An-huai¹, WANG Chang-qiu¹, MEI Fang², LIU Jian-ying²,
YANG Chong-qing³ and LI Kang⁴

(1. Beijing Key Laboratory of Mineral Environmental Function, Peking University, Beijing 100871, China; 2. Pathology Department, School of Basic Medical Science, Health Science Center of Peking University, Beijing 100083, China; 3. Department of Pathology, Beijing Hospital, Beijing 100730, China; 4. Department of Cardiology, Beijing Hospital, Beijing 100730, China)

Abstract: In this study, the human pathologic calcification samples were selected from human heart valve, artery, thyroid, ovarian and breast. Focusing on 38 cases of five different types, the authors carried out a systematic infrared spectrum characterization and, with the help of infrared spectrum method, inferred the presence of the carbonate group and evaluated the carbonate substitution in bioapatite structure. It was found that the basic composition of the five kinds of typical pathologic calcification product was carbonate-hydroxylapatite (CHA). The carbonate content of the samples in the same part remained the same, but the differences of the average content of the carbonate in different parts were obvious. The average content of CO_3^{2-} in the thyroid as well as the breast was 6.2, 3.3% lower than that in the heart valve. The average content of CO_3^{2-} in the heart valves was the highest. The infrared spectra showed that the pathological bioapatite mainly was the B-type carbonate substitution (CO_3^{2-} for PO_4^{3-}), accompanied by a small amount of A-type carbonate substitution (CO_3^{2-}

收稿日期: 2017-08-30; 接受日期: 2017-09-30

基金项目: “973”计划(2014CB846001); 国家自然科学基金(41230103, 41522201)

作者简介: 张 岩(1990-), 男, 硕士研究生, 材料及环境矿物学专业, E-mail: zhangyan3506@163.com; 通讯作者: 鲁安怀(1962-), 教授, 研究方向环境矿物学, E-mail: ahlu@pku.edu.cn。

for OH^-). The forward contact of the carbonate content inferred by the spectroscopic measurements and the ratio of B/A substitution was un conspicuous.

Key words: pathologic calcification; infrared spectrum; carbonate-hydroxylapatite; carbonate substitution

Fund support: National Basic Research Program of China (2014CB846001); Natural Science Foundation of China (41230103, 41522201)

人体病理性钙化是指发生在人体内的异位结晶钙盐物质沉积, 在一些部位如心脏瓣膜、心血管等钙化的产生会导致部分生理功能的缺失, 而另一些部位如甲状腺、卵巢、乳腺等肿瘤钙化的产生则与疾病的发生、发展关系尚不明确。从矿物学和病理学交叉学科角度, 系统研究人体病理性无机钙化产物的精细结构特征与形成机制, 可望为未来疾病防治新方法的提出与临床诊疗新技术的形成提供崭新视角。

以往围绕人体不同部位病理性钙化产物矿物学特征的研究已获得有关其物相组成的具体认识。如心脏瓣膜钙化由多种磷酸钙混合相组成, 主要包括磷酸八钙 $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6]$ 和碳羟磷灰石 $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})]$ (Gilinskaya *et al.*, 2003; Hujairi *et al.*, 2004)。值得关注的是, 无论何种部位、何种疾病, 碳羟磷灰石(CHA)几乎是人体所有病灶中病理性矿化产物的共有物相。从化学成分来看, 人体碳羟磷灰石是一种化学计量比不固定的磷酸盐矿物, 碳酸根取代比例与占位的变化是导致其在人体不同病理性钙化产物中具有不同化学组成的主要原因。Roy 和 Elliot(1969)对天然磷灰石的研究发现, CO_3^{2-} 在磷灰石中有 A 型取代(占据 OH^- 的位置)、B 型取代(占据 PO_4^{3-} 的位置)和 AB 型混合取代(同时占据 OH^- 和 PO_4^{3-} 的位置)3 种取代位。磷灰石中碳酸根的取代对其结构和物理化学性能会产生显著影响。

针对碳羟磷灰石中碳酸根取代结构的研究, 前人主要利用了光学双折射、X 射线衍射、红外光谱、拉曼光谱、同步辐射 X 射线吸收谱、同位素示踪与核磁共振等方法。其中, 红外光谱作为一种振动光谱, 因所需样品量少(2~5 mg)且可方便开展原位研究, 在生物磷酸盐结构的相关研究中被广泛运用(Emer-son and Fischer, 1962; Holcomb and Young, 1985; Rey *et al.*, 1991a, 1991b; Mendelsohn *et al.*, 1999)。通过对红外光谱中碳酸根特征峰的分峰识别可实现对碳羟磷灰石中不同碳酸根取代位相对比例的定量分析(Roy and Elliot, 1969)。然而, 前人有关碳羟磷灰石中碳酸根问题的研究多集中于合成磷

灰石和生理性矿化产物如牙釉质、牙本质和骨等方面(Rey *et al.*, 1989; Paschalis *et al.*, 1996; Gadaleta *et al.*, 1996), 而鲜有研究关注于病理性钙化产物, 尤其是不同部位病理性钙化产物的定量对比研究。

本文借助红外光谱手段, 对选自人体心脏瓣膜、动脉、卵巢、乳腺以及甲状腺的 5 大类 38 例典型病理性钙化产物, 进行了基本物质组成分析以及碳酸根含量和取代比例的对比研究, 主要通过各类病理性钙化产物的红外光谱图分析其基团成分, 确定钙化产物主要类型以及不同部位钙化产物基团成分的异同, 同时对比分析碳酸根在相应钙化产物中的含量及其在钙化产物结构中的取代类型, 以碳酸根为切入点, 对人体不同部位病理性钙化产物的定量对比研究进行初步探讨, 以期对人体病理性钙化预防与临床诊疗研究提供参考。

1 材料与方法

从北京大学医学部基础医学院病理学系收集了具有明显钙化的乳腺样品 19 例, 甲状腺样品 3 例, 卵巢样品 7 例, 从北京医院病理科收集瓣膜钙化样品 4 例(主动脉瓣钙化 2 例, 二尖瓣钙化 2 例)、动脉钙化样品 5 例(主动脉钙化 2 例、冠状动脉钙化 3 例)。用 Leica 超薄切片机对上述石蜡包埋样品块进行连续切片。对于每一例样品, 取 1 张 $4\ \mu\text{m}$ 薄片制成普通苏木素-伊红(HE)玻片, 1 张 $10\ \mu\text{m}$ 薄片置于 $20\ \text{mm} \times 20\ \text{mm}$ 硅片上制成硅质薄片, 用于原位观察。选取钙化较多的病例, 将数张连续切片置于 $1.5\ \text{mL}$ 离心管中, 进行分离处理。制样方法和步骤参见赵文雯等(2009)。

对所有样品进行红外光谱分析。取分离出的样品粉末, 将乙醇烘干后, 放置在金刚石窗片表面上压平后测试。实验在 NICOLETIN10MX 显微红外光谱仪上进行, 设置光谱为 $600 \sim 4000\ \text{cm}^{-1}$, 分辨率为 $4\ \text{cm}^{-1}$, 扫描 64 次。使用 origin8.0 对得到的所有样品红外数据作图, 在部分基团特征峰的拟合过程中

使用 peakfit v4.12 进行处理, 并使用二阶导数法来确定特征峰的强度和对应的波数。 1470 cm^{-1} 和 870 cm^{-1} 的吸收峰是 A 型替代和 B 型替代 CO_3^{2-} 峰的叠加, 通过函数拟合, 可将其分解成纯 A 型取代和纯 B 型取代的 CO_3^{2-} 峰。通过对比拟合分解后的 A 型取代和 B 型取代 CO_3^{2-} 吸收峰的峰强, 可得到样品中 A 型取代和 B 型取代 CO_3^{2-} 所占的比例(杨维虎等, 2009)。 CO_3^{2-} 的反对称伸缩振动吸收峰峰值不同则由钙化物中 CO_3^{2-} 含量不同导致, 可按照 Ouyang 和 Paschalis(2001)的方法计算不同样品中的 CO_3^{2-} 含量。对于 CO_3^{2-} 含量估计的误差通过贝叶斯分析推知(Caldwell and Park, 2009)。

2 结果

2.1 不同病理性钙化产物镜下特征

偏光显微镜下, 乳腺癌、乳腺纤维腺瘤、乳腺增生症、乳腺炎症、卵巢癌、主动脉钙化 6 种病变的 HE

染色切片中均可观察到数量不等的深染矿物质, 呈砂粒体(图 1a、1c、1e)或不规则状(图 1b、1d、1f)产出, 都发生在玻璃样变性的增生间质中, 结构较为致密, 大小在 $100\text{ }\mu\text{m}$ 左右, 正交偏光下全消光。如图 1 所示, 粉染的部分为束状交联在一起的胶原, 深蓝紫染的部分为钙化(黑色细箭头所示)。钙化中间粉色背底为崩解的变性胶原(黑色粗箭头所示), 钙化和变性胶原生长在一起。部分钙化在切片和后续制样过程中被破坏掉, 形成了图中白色区域的空隙, 表明钙化整体的成分不均匀。从形貌上还可以看出钙化的走向和粗大胶原的分布方向相同, 初步推断大片不规则钙化的形成和胶原密切相关, 因此形貌上保留了胶原的束状结构。

2.2 不同病理性钙化产物红外光谱

对 5 类典型病理性钙化产物的样品(心脏瓣膜、动脉、乳腺、甲状腺和卵巢)进行了红外光谱测试, 图 2 为分离出来的钙化样品红外光谱测试结果图。如图 2 所示, 位于 1037 cm^{-1} 处的强吸收峰为 PO_4^{3-} 典型

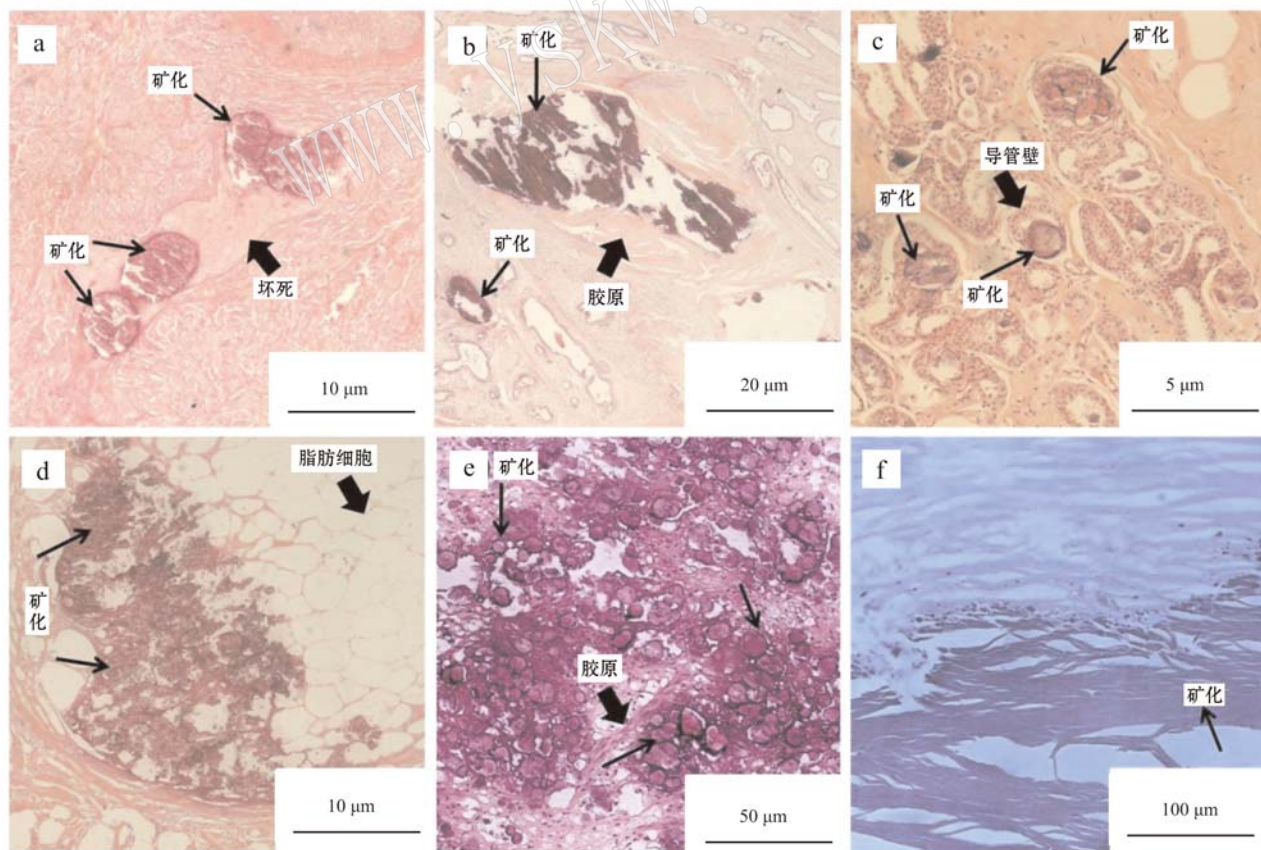


图 1 人体病理性矿化灶镜下照片

Fig. 1 Microphotographs of pathological mineralization in human bodies

a—乳腺癌; b—乳腺纤维腺瘤; c—乳腺增生症; d—乳腺炎症(脂肪坏死); e—卵巢浆液癌; f—主动脉钙化
a—breast cancer; b—fibroadenoma; c—hyperplasia; d—fat necrosis; e—ovarian serous cancer; f—aortic calcification

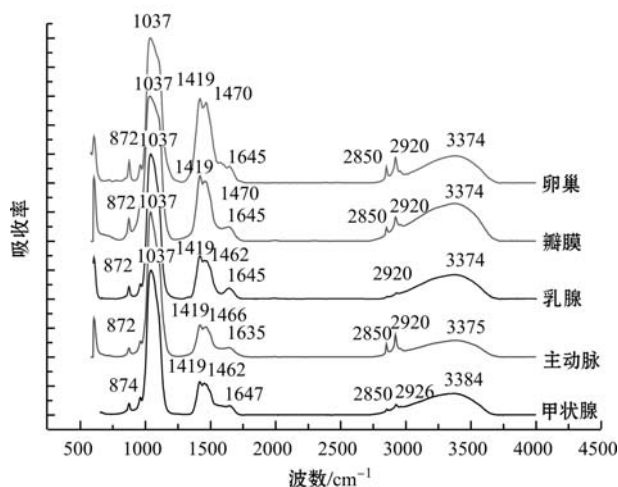


图 2 人体 5 种典型病理性钙化颗粒的红外光谱图

Fig. 2 The infrared spectrum of five kinds of typical pathologic calcification product in human bodies

的反对称伸缩振动吸收峰, 963 cm^{-1} 处的小吸收峰是 PO_4^{3-} 的对称伸缩振动吸收峰, 在生物磷灰石中, 其强度减弱, 甚至以吸收肩的形式重叠于反对称伸缩振动吸收峰之上, 故样品红外光谱中不明显, 部分乳腺样品中该峰缺失。由 1470 cm^{-1} 和 1419 cm^{-1} 组成的吸收双峰是 CO_3^{2-} 的反对称伸缩振动吸收峰 (Rey *et al.*, 1989), 872 cm^{-1} 处的小吸收峰是 CO_3^{2-} 的面外弯曲振动吸收峰。位于 3374 cm^{-1} 处的是 OH^- 的伸缩振动带。 1645 cm^{-1} 出现了羰基 $\text{C}=\text{O}$ 的特征振动吸收峰, 2850 cm^{-1} 和 2920 cm^{-1} 为脂膜中 $\text{C}-\text{H}$ 的伸缩振动吸收峰, 这些峰是由与钙化紧密相关的酯类物质产生的 (Featherstone *et al.*, 1984)。 PO_4^{3-} 弯曲振动双吸收峰、 1037 cm^{-1} 处的 PO_4^{3-} 高强度吸收峰和 872 cm^{-1} 处的 CO_3^{2-} 弱吸收峰, 共同可作为碳羟基磷灰石的特征吸收峰 (Rey *et al.*, 1989)。整体上, 各样品吸收峰所对应的波数基本一致, $\text{O}-\text{H}$ 的伸缩振动、 $\text{C}-\text{H}$ 的伸缩振动和羰基 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动特征峰峰形明显, PO_4^{3-} 的反对称伸缩振动和对称伸缩振动吸收峰峰位和强度一致, 峰形相同。心脏瓣膜、动脉、甲状腺和卵巢 CO_3^{2-} 的反对称伸缩振动和面外弯曲振动峰强度一致, 峰形相同, 这都说明了其中心脏瓣膜、动脉、甲状腺及卵巢钙化物成分在红外光谱上表现较为一致。与之相比, 乳腺样品中, 出现了 CO_3^{2-} 反对称伸缩振动峰双峰的合并以及 PO_4^{3-} 对称伸缩振动峰的消失。

2.3 CO_3^{2-} 在钙化产物碳羟基磷灰石中的取代

5 类典型病理性钙化产物样品的红外光谱中同

时存在 1470 cm^{-1} 和 870 cm^{-1} 的吸收峰, 表明样品属于 A、B 型混合取代 (Roy and Elliot, 1969)。对这些钙化产物进行 B/A 取代比例分析, 并绘制了 B/A 取代比例均值、最大值和最小值汇总分析图 (图 3)。不同病理性钙化产物的 B/A 取代比例存在差异, 最大取代比例为 14.29, 最小取代比例为 1.12, 整体数据方差为 14.50。心脏瓣膜、动脉、甲状腺、卵巢和乳腺的 B/A 取代均值分别为 8.90、10.07、7.59、8.4 和 7.1, 所有样品 B/A 取代整体均值为 7.96, 中值为 8.80。其中动脉的 B/A 取代均值最大, 为 10.07, 心脏瓣膜、动脉取代比例均高于整体水平, 卵巢、甲状腺取代比例与整体水平相近, 乳腺钙化取代比例分布区间较大且均值最低, 乳腺类的样品均来自于恶性肿瘤, 数据显示, 其 B/A 取代比例低于整体均值 0.86。如图 3 所示, 乳腺的 B/A 取代比例变化最大, 最大取代比例 14.29 和最小取代比例 1.12 均出现在乳腺中, 动脉、甲状腺相比其它 3 个部位, 取代比例分布较为集中。整体上, B/A 取代比例主要分布在 8~10, 取代比例分布较为离散。

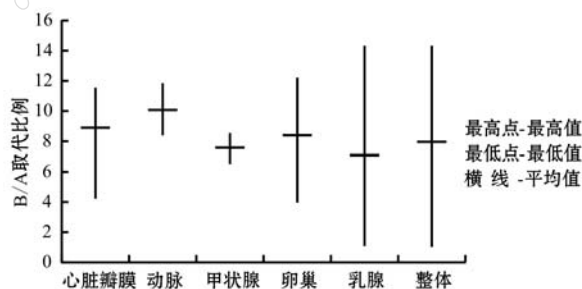


图 3 人体 5 种典型病理性钙化颗粒的 B/A 取代比例分析图

Fig. 3 The B/A replacement ratio analysis of five kinds of typical pathologic calcification product in human bodies

通过计算 5 类样品中 CO_3^{2-} 含量 (Ouyang and Paschalis, 2001), 绘制得到 CO_3^{2-} 含量均值、最大值和最小值汇总分析图 (图 4)。不同病理性钙化产物中的 CO_3^{2-} 含量相差很大, 最大值为 16.48%, 最小值为 1.07%, 整体数据方差为 7.87。所有样品碳酸根含量均值为 7.52%, 中值为 7.94%, 其中心脏瓣膜 CO_3^{2-} 含量均值最大为 9.5%, 心脏瓣膜、卵巢的 CO_3^{2-} 含量均高于整体水平, 而动脉、甲状腺和乳腺的 CO_3^{2-} 含量均低于整体水平, 且卵巢中出现了较为明显的最大值, 甲状腺中不同样品的 CO_3^{2-} 含量相对较为一致。甲状腺、乳腺中的碳酸根含量均值均低于正常均值, 相比 CO_3^{2-} 平均含量最高的心脏

瓣膜,相差 3.3%。如图 4 所示,碳酸根含量的低值均出现在乳腺中,卵巢中出现了碳酸根含量的最高值。相比较其它部位,卵巢中碳酸根的含量分布最为集中,主要集中在 9%~11%,乳腺中碳酸根的含量变化较大。整体上,碳酸根含量分布较为集中,主要集中在 7%~10%。

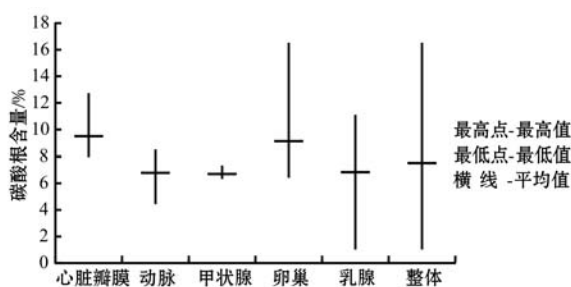


图 4 人体 5 种典型病理性钙化颗粒的 CO_3^{2-} 含量分析图

Fig. 4 The carbonate content analyses of five kinds of typical pathologic calcification product in human bodies

3 讨论

3.1 不同病理性钙化产物成分的差异

在红外光谱图峰位上,上述 5 种病理性钙化有很大的相似性,但因为碳酸根含量及取代比例不同,红外光谱图的峰形及相对强度呈现出差异。其中位于 1041 cm^{-1} 处的强峰与 963 cm^{-1} 处的弱峰是 PO_4^{3-} 的吸收峰。 1452 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 (Fleet and Liu, 2003),这些特征峰差别很小,除了乳腺之外,其它 4 种病理性钙化部分特征峰基本一致,这反映出人体中 5 类典型的病理性钙化产物均含有碳羟磷灰石。

进一步研究可发现,乳腺红外光谱中出现了较多的峰位移动以及特征峰吸收强度的变化,主要集中在 2922 、 2852 与 1648 cm^{-1} 等处,这些位置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 (Weiner and Wagner, 1998)。通过所有样品的比较,可明显观察到 3 个峰之间存在正向联系,C—H 的伸缩振动吸收峰、 OH^- 的伸缩振动带随着羰基 $\text{C}=\text{O}$ 的特征吸收峰增强而增强,这反映出相比人体其它部位,乳腺钙化物与有机成分的关系更紧密。

3.2 CO_3^{2-} 在不同钙化产物中的取代位置

从空间构型来看, CO_3^{2-} 为平面三角形,不同于 PO_4^{3-} 的四面体结构,也不同于 OH^- 的线性结构,因此早期的研究把 CO_3^{2-} 的引入简单地归因于杂质碳酸盐的机械混入或 CO_2 气体的表面吸附。直到 1969 年 Roy 和 Elliot 对磷灰石的研究发现 CO_3^{2-} 取代有两种类型: A 型取代是 CO_3^{2-} 取代 X^- 位, B 型取代是 CO_3^{2-} 取代 PO_4^{3-} 四面体。很多研究表明,在生物体的骨骼和牙釉质中,碳羟磷灰石矿化过程中 A 型取代可以发生但很少见,主要发生的是 B 型取代 (Legeros *et al.*, 1995)。黄志良等 (2002) 从取代匹配性的角度对这一现象进行了分析,以 CO_3^{2-} 三角形配位体取代通道位置 OH^- 后,其取代能较大,晶格稳定性较差,所以这一取代过程较 B 型取代更难发生。结合上述红外光谱特征峰识别可以判断人体这 5 种典型病理性钙化中 CO_3^{2-} 均以 A、B 两种取代方式存在于钙化产物碳羟磷灰石中。由图 3 可以观察到,在人体心脏瓣膜、动脉、乳腺、甲状腺和卵巢中,碳羟磷灰石矿化过程中碳酸根的取代类似于骨和牙齿,也以 B 型取代为主, B/A 取代比例在 70%~80%,说明在人体病理性矿化与生理性矿化过程中,碳羟磷灰石中碳酸根的取代类型一致,均以 B 型取代为主。

所有病理性钙化样品中 CO_3^{2-} 的取代类型主要为 B 型取代,但 A 型取代也存在于各例样品中。对比所有样品的 B/A 取代比值,5 种部位的钙化样品没有特征性,不同部位的钙化样品其 B/A 取代比值变化幅度均较大 (图 3),最小到 1,最大达到 13.2。汇总 38 例样品的预估 CO_3^{2-} 含量,总体上,各部位 CO_3^{2-} 含量保持一致,个别样品出现差异。心脏瓣膜样品中的 CO_3^{2-} 含量明显高于主动脉、甲状腺、卵巢、乳腺钙化样品的 CO_3^{2-} 含量。 CO_3^{2-} 含量与 B/A 取代比值的关系,在不同部位之间均没有相关性,汇总所有部位数据后,相关性仍无法得到归纳 (图 5)。

4 结论

通过对人体心脏瓣膜、动脉、甲状腺、卵巢和乳腺这 5 种典型病理性钙化产物的红外光谱分析发现,这 5 类典型病理性钙化产物的基本物质组成相同,均以碳羟磷灰石为钙化的主要物相。相同部位钙化物中的 CO_3^{2-} 含量基本保持一致,但不同部位

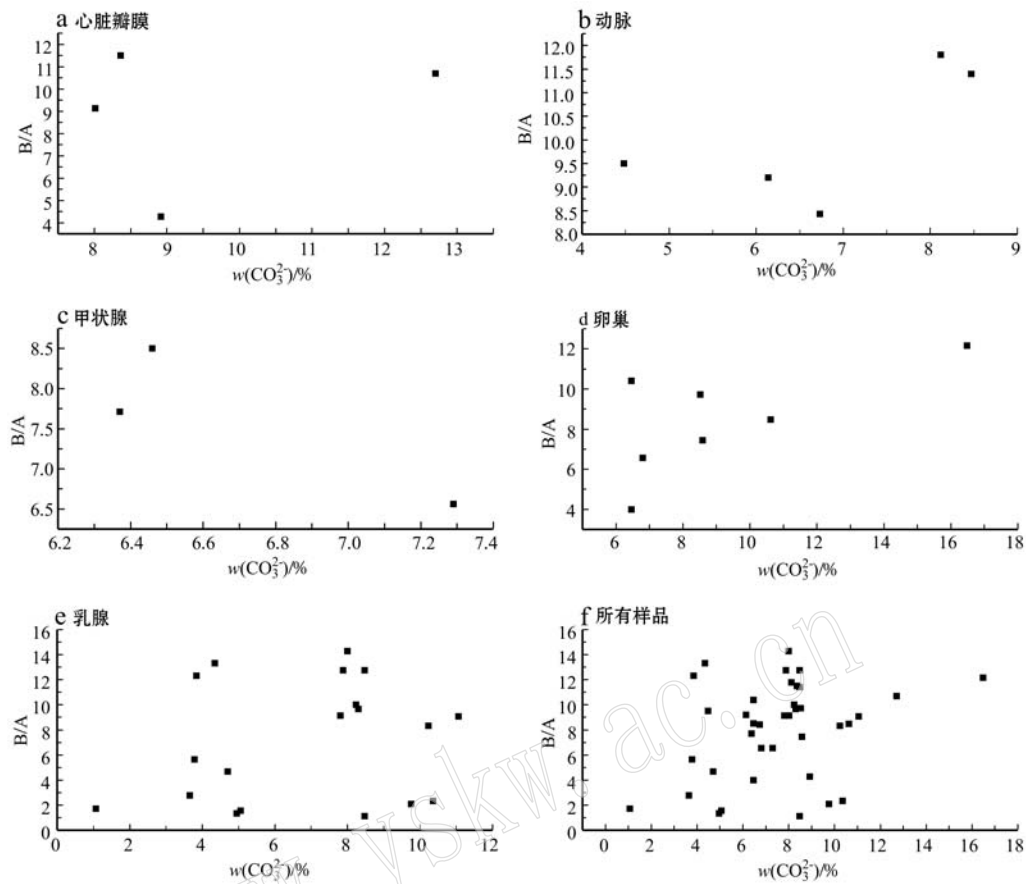


图 5 病理性钙化样品的 CO_3^{2-} 含量与 B/A 取代比值关系图

Fig. 5 The ratio diagram of the carbonate content and the B/A replacement ratio in the calcification

钙化物中的 CO_3^{2-} 平均含量差别较明显, 甲状腺、乳腺中 CO_3^{2-} 平均含量较低, 心脏瓣膜中 CO_3^{2-} 平均含量最高。5 类钙化产物均伴随有少量 A 型取代 (CO_3^{2-} 取代 OH^-), B/A 取代比值为 70%~80%, 钙化物中的 CO_3^{2-} 含量与 B/A 取代比值的正向联系不明显。

References

- Caldwell S and Park S H. 2009. The epidemiology of hepatocellular cancer: from the perspectives of public health problem to tumor biology [J]. *Journal of Gastroenterology*, 44 (19): 96~101.
- Emerson W H and Fischer E E. 1962. The infra-red absorption spectra of carbonate in calcified tissues[J]. *Archives of Oral Biology*, 7: 671~683.
- Featherstone J D B, Pearson S and LeGeros R Z. 1984. An infrared method for quantification of carbonate in carbonated apatites[J]. *Caries Research*, 18: 63~66.
- Fleet M E and Liu X. 2003. Carbonate apatite type A synthesized at high pressure: new space group and orientation of channel carbonate ion[J]. *Journal of Solid State Chemistry*, 174: 412~417.
- Gadaleta S J, Landis W J, Boskey A L, *et al.* 1996. Polarized FT-IR microscopy of calcified turkey leg tendon[J]. *Connective Tissue Research*, 34: 203~211.
- Gilinskaya L G, Grigorieva T N, Okuneva G N, *et al.* 2003. Investigation of pathogenic mineralization on human heart valves Chemical and phase composition[J]. *Journal of Structural Chemistry*, 44(4): 622~631.
- Holcomb D W and Young R A. 1985. Infrared determination of the degree of substitution of hydroxyl by carbonate ions in human dental enamel[J]. *Calcified Tissue International*, 37: 372~375.
- Huang Zhiliang, Wang Dawei, Liu Yu, *et al.* 2002. FTIR investigation on crystal chemistry of CO_3^{2-} substituted apatite solid solutions prepared through different methods[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 22(6): 949~953(in Chinese with English abstract).

- Hujairi N M, Afzali B and Goldsmith D J. 2004. Cardiac calcification in renal patients: What we know and don't know[J]. American Journal of Kidney Diseases, 43(2): 234~243.
- Legeros R Z, Kijkowska R, Bautista C, *et al.* 1995. Synergistic effects of magnesium and carbonate on properties of biological and synthetic apatites[J]. Connective Tissue Research, 33: 203~209.
- Mendelsohn R, Paschalis E P and Boskey A L. 1999. Infrared spectroscopy, microscopy, and microscopic imaging of mineralizing tissues: Spectra-structure correlations from human iliac crest biopsies [J]. Journal of Biomedical Optics, 4: 14~21.
- Ouyang H and Paschalis E P. 2001. Infrared microscopic imaging of bone: Spatial distribution of CO_3^{2-} [J]. Journal of Bone and Mineral Research, 16(5): 893~900.
- Paschalis E P, DiCarlo E, Betts F, *et al.* 1996. FTIR microscopic analysis of human osteonal bone[J]. Calcified Tissue International, 59: 480~487.
- Rey C J, Lian J, Grynblas M, *et al.* 1989. Non-apatitic environments in bone mineral: FT-IR detection, biological properties and changes in several disease states[J]. Connective Tissue Research, 21: 267~273.
- Rey C, Renugopalakrishnan V, Collins B, *et al.* 1991a. Fourier transform infrared spectroscopic study of the carbonate ions in bone mineral during aging[J]. Calcified Tissue International, 49: 251~258.
- Rey C, Renugopalakrishnan V, Collins B, *et al.* 1991b. A resolution-enhanced Fourier transform infrared spectroscopic study of the environment of the CO_3^{2-} ion in the mineral phase of enamel bone during its formation and maturation[J]. Calcified Tissue International, 49: 259~268.
- Roy D M and Elliot J C. 1969. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease[J]. Connective Tissue Research, 3: 293.
- Weiner S and Wagner H D. 1998. The material bone: Structure-mechanical function relations[J]. Annual Review of Materials Research, 28: 271~298.
- Yang Weihua, Zuo Yi, Zhang Li, *et al.* 2009. Calculating and analyzing the influence of fabrication conditions on the structure of carbonated hydroxyapatite[J]. Chinese Journal of Inorganic Chemistry, 25(2): 223~230(in Chinese with English abstract).
- Zhao Wenwen, Wang Changqiu, Lu Anhuai, *et al.* 2009. Mineralogy of psammoma bodies in papillary thyroid carcinoma[J]. Acta Petrologica et Mineralogica, 28(6): 623~628(in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

- 黄志良, 王大伟, 刘 羽, 等. 2002. 不同方法制备的 CO_3^{2-} 替换磷灰石固溶体晶体化学的 FTIR 研究[J]. 光谱学与光谱分析, 22(6): 949~953.
- 杨维虎, 左 奕, 张 利, 等. 2009. 制备条件影响碳酸羟基磷灰石晶格的计算分析[J]. 无机化学学报, 25(2): 223~230.
- 赵文雯, 王长秋, 鲁安怀, 等. 2009. 甲状腺乳头状癌中砂粒体矿物学研究[J]. 岩石矿物学杂志, 28(6): 623~628.