

# 胆结石组成和形成机理的研究进展\*

孙颖 杨展澜 申国荣 周勇 吴瑾光\*\* 徐光宪

(北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871)

周孝思

(北京大学医学部第三临床医院, 北京 100083)

**摘要** 综述了利用多种方法(如: FT-IR, Raman, NMR, EPR, 凝胶色谱, 元素分析, ICP, 原子吸收谱, 差热-热重谱, X射线荧光分析, EXAFS 及 XRD 等)对胆结石组成和形成机理进行研究的进展。结果表明, 胆结石中含有多种生物小分子、生物大分子(如蛋白等)、金属离子, 以及具有非化学计量特征的胆红素络合物等。金属离子与胆盐的相互作用与结石沉淀的形成密切相关。从结石截面可以看到环状结构, 所以利用体外模拟实验对结石的形成机理进行了研究, 并将非线性的科学概念引入到结石的形成机理中, 提出结石生长不是逐层生成沉淀, 而是首先生成周期环形模板的观点。

**关键词** 胆结石 形成机理 周期性沉淀 分形结构 胆盐

胆结石是一种常见和多发病, 一般可分为两类: 胆色素型结石和胆固醇型结石, 胆色素型结石分为棕色色素型结石和黑色色素型结石, 结石是一个组分繁多、结构复杂的体系。胆固醇型结石的组成是连续变化的<sup>[1]</sup>, 大多数胆固醇型结石中胆固醇的含量为 80%~95%, 少数为 50%~70%。其他非胆固醇组分主要是蛋白, 也含少量钙盐。多年来, 关于色素型结石的组成和形成机理还不太清楚。Schmid 解释了质子化的胆红素具有水不溶性的原因<sup>[2]</sup>。马金石合成了不同的胆红素衍生物, 并研究了它们在不同条件和环境下的光氧化等性质<sup>[3,4]</sup>。王夔等<sup>[5]</sup>利用电子自旋共振(EPR)的方法研究了胆红素钙络合物的自由基信号。欧阳健明等研究了不同亚相表面胆红素(BR)及其长链取代的衍生物的单分子膜和 LB 膜的性质<sup>[6]</sup>, 从而模拟胆红素及其衍生物在生物膜中的矿化行为。而我们组从 20 世纪 70 年代开始, 在胆石的组成、结构表征、生成机理和治疗等方面进行了广泛的研究, 并得到了若干新结果。

## 1 人体棕色色素型结石的溶石与组成的研究

通过溶剂浸泡和提取, 并利用络合溶石法(可溶量达 90%以上), 成功地解决了在温和条件下色素型结石的溶石难题<sup>[7,8]</sup>。进一步利用凝胶电泳<sup>[7~11]</sup>, ICP<sup>[7~10,12]</sup>, 元素分析<sup>[7~10,12]</sup>, XRD<sup>[11,13,14]</sup>及 FT-IR<sup>[7~12,15~21]</sup>, Raman<sup>[10,16~18,22]</sup>, NMR<sup>[10,11,23]</sup>, 电子自旋共振谱<sup>[10,19,20,24]</sup>, EXAFS<sup>[10~16,25]</sup>, 原子吸收谱<sup>[6~9,26]</sup>, 差热-热重谱<sup>[9~12,26]</sup>等各种谱学方法, 在色素型结石的组成

2001-01-16 收稿, 2001-05-21 收修改稿

\* 国家自然科学基金(批准号: 29671002, 39730160, 20023005)及国家重点基础研究发展规划项目(G1998061311)共同资助

\*\* 联系人, E-mail: wjg@chem.pku.edu.cn

和结构表征方面做了一系列的工作。结果表明：此类结石中含有胆红素钙聚合物，蛋白质、糖蛋白、多糖等多种水溶性高分子，和胆固醇、磷酸盐、碳酸盐、脂肪酸盐等多种物质，以及少量的胆汁酸和胆汁酸金属络合物，另外还含有 Ca, Mg, Cu, Fe, Al, Si, Mn, Na, Pb 和 Ti 等 10 多种金属离子(占胆石的 3%)，而且各组分之间存在复杂的相互作用<sup>[6~9, 11]</sup>。

## 2 生物分子与金属离子相互作用及水化作用的基础研究

为了搞清上述相互作用在结石形成中所起的作用，利用多种方法持续开展了生物分子与金属离子相互作用及水化作用的基础研究。20世纪 70 年代末至 80 年代初，在研究方法方面做了许多探索性和创新性的工作。用 FT-IR 分辨率增强和减谱技术、二阶导数光谱和退卷积技术、曲线拟合和分峰对蛋白二级结构等生物分子结构进行了表征<sup>[27~36]</sup>。例如，通过上述技术，得到多种胆结石及牛胆结石(牛黄)中皆有蛋白存在<sup>[10,11]</sup>，分峰处理结果表明，蛋白与结石中其他组分相互作用会引起构象的变化，在结石中蛋白链趋向于转变为无规线团<sup>[37]</sup>。凝胶色谱结果也证明糖蛋白在结石中存在<sup>[9]</sup>，认识到糖蛋白的存在在结石形成过程中扮演重要角色。根据结石是在黏蛋白层上析出的等大量实验结果<sup>[38]</sup>，在 1986/1987 年间提出，水溶性生物大分子(蛋白、糖蛋白、多糖等)通过与金属离子络合配位可促进难溶的胆红素盐、胆酸盐的缔合、凝聚、成核、分相和外延生长<sup>[33,37]</sup>。

## 3 胆红素钙的非化学计量特征

胆红素钙的结构是色素型结石研究中的重要环节，由于胆红素钙的单晶制备和结构测定至今尚未获得成功，所以谱学方法是研究胆红素钙结构的可行手段<sup>[39~41]</sup>。我们获得了  $\text{CaCO}_3$  单晶面上外延生长胆红素钙的  $\text{CaCO}_3$  红色单晶，用 XRD 和 FTIR-PAS 技术证实了胆红素钙的存在，这一新的结果提供了  $\text{CaCO}_3$  和胆红素钙相互作用的直接证据<sup>[13,14]</sup>。通过中、远红外光谱，X 射线粉末衍射谱及 EXAFS 等多种手段，证实胆红素钙并非简单的羧酸钙，胆红素的吡咯环和内酰胺环上的 NH 也与  $\text{Ca}^{2+}$  配位，通过钙桥和氢键将胆红素络合物连接起来<sup>[42~44]</sup>。由于胆红素钙络合配位的多样性，并且  $\text{Ca}^{2+}$  有多个不同的配位点与之络合<sup>[39,45]</sup>，使胆红素钙中多种配位结构同时存在，从而具有非化学计量的特征<sup>[25]</sup>。该络合物与蛋白形成高分子的网状结构<sup>[33,46]</sup>。胆红素钙结构和性质上的特殊性有助于我们理解色素型结石在胆汁中的沉淀过程和生成机理<sup>[11, 18, 47]</sup>。

## 4 胆红素铜络合物的研究与黑色色素结石的生成机理

由于黑色结石中含有相当数量的胆红素铜<sup>[48]</sup>，为了研究胆红素铜在生成黑色结石中的作用，系统地研究了胆红素铜的结构和性质。发现 Cu 优先和吡咯环和内酰胺环上的 N 配位<sup>[21]</sup>。该类化合物有很强的 ESR 信号，对光和  $\text{O}_2$  敏感<sup>[49]</sup>。并呈现深黑色，具有类似于黑色结石的外表。根据大量实验结果，提出在  $\text{Cu}^{2+}$  的催化下，通过自由基使胆红素氧化，并以  $\text{Cu}^{2+}$  为桥交联成高分子<sup>[38,50]</sup>。在此过程中，胆红素骨架发生了变化，共轭体系规模增大可能是黑色结石呈现黑色的结构本质<sup>[20,51,52]</sup>。这一系列工作受到国际同行的重视，于 1995 年被邀请在 Bilirubin Workshop(Trieste, Italy)做大会报告<sup>[52]</sup>。

## 5 结石形成的体外模拟实验及非线性科学概念引入探讨结石的形成机理

胆固醇型结石和多种结石的剖面常常可以观察到周期性环状的多层结构,通过显微镜可见这些环形结构是由小的花状分形结构的团簇组成的(图 1)。胆结石剖面图的图形结构与结石的生长过程密切相关,研究它们的形成过程可以了解结石生长过程中的细节。以前人们一般认为结石首先形成结晶核心,然后以此为中心进行难溶物沉积,通过一个个周期环而一层层长成,即如年轮生长机理。然而胆汁成分并不存在相应的周期变化,因此不能用人体生命活动的周期性来解释环状沉淀和分形沉淀的形成。

我们发现胆汁中的重要组分胆汁酸盐在凝胶中与金属离子沉淀过程中可形成与结石中类似的周期和分形的图案。因此上述体系是研究胆结石中形成周期沉淀和分形结构的理想模型。从 1989 年,开始对人体内的结石生成和图形生长进行体外模拟研究<sup>[53~75]</sup>,得到了多种周期沉淀(Liesegang ring)和分形结构(图 2 和图 3)。由于结石形成和生长不是热力学平衡过程,且结石剖面中的周期性环状沉淀和分形图案的出现都是非线性科学现象,因而在结石形成中引入近代非线性科学的概念,用非线性科学的理论来深化对结石形成机理的认识。

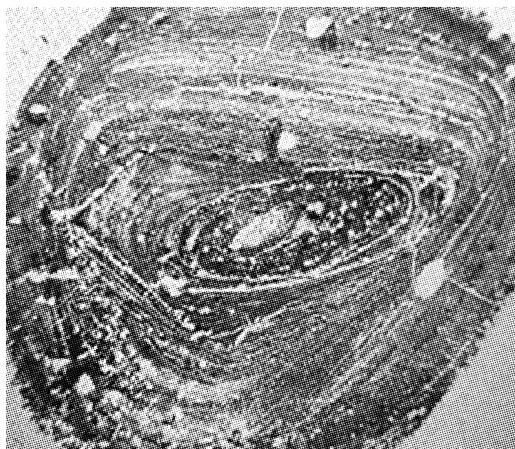


图 1 胆结石的剖面图  
环形结构和分形结构共存

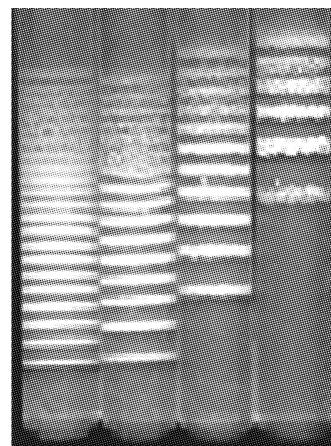


图 2 体外模拟实验中的周期沉淀  
Nd-NaDC 的凝胶扩散体系

虽然胆盐在胆结石中所占的比重不大,但是,胆结石是在胆汁环境下长成的,胆盐作为胆汁中最重要的生物表面活性剂(占胆汁中固体总量的 60%~70%),使胆固醇、磷脂、胆红素等增溶于胆汁中,如果胆盐的浓度变化或平衡破坏,将导致沉淀和结石生成。所以,胆结石的预防及形成都是和胆盐与金属离子的相互作用密切相关的。在研究金属-多组分生物分子的凝胶扩散体系的沉淀生长过程中,发现胆盐能够促进胆红素钙、碳酸钙及磷酸钙形成周期性沉淀结构。实验证明金属离子-脱氧胆酸 NaDC(或胆酸钠 NaC)凝胶扩散体系是一个好的结石生成和图形生长的体外模拟模型<sup>[53,54,76]</sup>。在金属离子-NaDC(或 NaC)凝胶扩散体系中,对胆结石的生长过程进行了一系列模拟实验。除了一维试管实验<sup>[53,54,57,76]</sup>,还设计了二维圆盘实验<sup>[56]</sup>、三维扩散体系实验<sup>[71~75]</sup>及薄膜和电场中的图形生长实验<sup>[59,65~67]</sup>,分别得到了周期沉淀与分形结构

等图形。并用多种方法(如: FT-IR, Raman, EPR, NMR, ICP, 元素分析, 差热-热重谱, EXAFS, XRD 等)对沉淀图形的微观结构进行了研究, 发现其结构与真实的胆结石层状结构有可比性, 并得到了大量规律性的结果<sup>[63,64,68]</sup>。

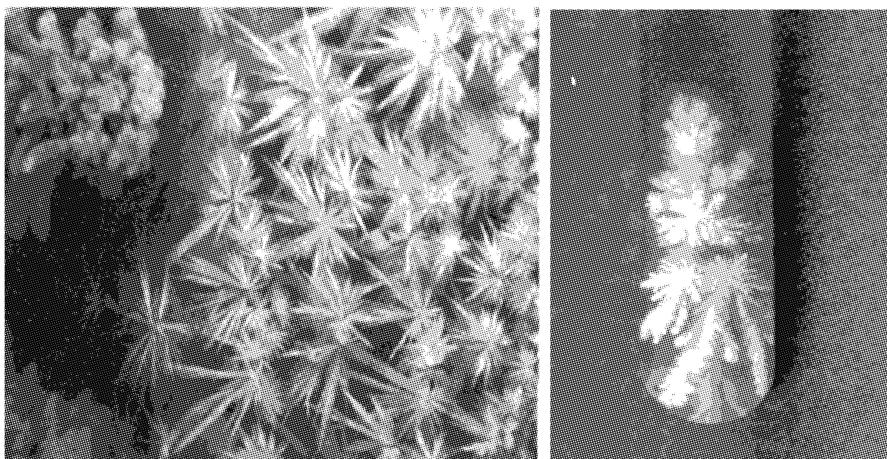


图 3 体外模拟实验中的分形结构  
Co-NaDC 的凝胶扩散体系

大量实验证明沉淀图形的生长对外界条件变化非常敏感, 金属离子的种类和浓度、胆盐的种类和浓度、pH 值以及凝胶介质组成的变化对环状结构和分形图案的外观形状及颜色都有很大的影响<sup>[56,59~62,70]</sup>。胆红素、胆固醇、磷脂等胆汁的主要成分的加入都对图形的生成起着关键作用<sup>[69,72]</sup>, 例如, 卵磷脂和胆固醇的加入有利于周期环状沉淀的生成, 而胆红素钠的加入促进分形沉淀图形的生成<sup>[58]</sup>。糖和蛋白的加入对沉淀图形的生长也有大的影响<sup>[73,74]</sup>。而且体系初始条件的微小的不同往往会导致最终沉淀的图形发生明显的变化, 这就是非线性科学中的蝴蝶效应<sup>[53,54]</sup>。实验还证明, 周期性沉淀和分形沉淀可在同一体系中生成, 说明两者具有共同的物理化学本质<sup>[54]</sup>。以上结果说明胆结石形成过程受到众多物理化学规律的共同影响。其中, 混沌、分形等非线性科学规律在凝胶体系中的扩散、反应和沉淀结晶过程中起重要作用, 是胆结石中周期和分形结构形成的物理化学本质, 也是胆结石生成机理研究中不可忽略的一个重要方面。

另外, 在金属离子-NaDC 等模拟胆汁体系中, 以及在金属离子-人体胆汁体系中都观察到了沉淀的小球, 球上可见很多周期性的环。同时, 动物实验中在小鼠胆囊内发现了软的具有层状结构的结石, 这与实验结果相符, 并为之提供了医学上的证据。基于蛋白与胆红素钙结合和结石在黏蛋白层中生长等实验证据<sup>[37]</sup>, 首先提出了蛋白促进结石沉淀的观点<sup>[47]</sup>。在人体生理环境中, 存在于胆囊内壁附近的糖蛋白形成蛋白网络(以凝胶的形式存在), 认为可能是胆红素钙聚合物及胆汁酸难溶盐与蛋白网络上的极性基团配位<sup>[45]</sup>, 从而形成环状模板(与沉淀小球上的周期性环相似), 并在此模板上难溶物通过与极性基团的络合配位作用和氢键作用进一步沉积, 环状结构继续增大而逐步形成结石<sup>[20,27]</sup>。所以周期性环状沉淀的模板是一次形成的<sup>[31,47]</sup>, 在金属离子和有机大小分子的不断扩散和配位沉淀过程中, 使环状结石不断长大。另外, 环境和条件不同形成的模板不同, 从而影响沉淀图形的形状。

## 6 胆盐的表面活性及金属离子与胆盐的相互作用对结石形成的影响

作为生物体中最重要的表面活性剂, 胆盐(胆汁主要成分之一)是两亲分子, 不是以真溶液的形式存在, 而是以简单胶团或复合胶团(与胆固醇、磷脂形成)的形式存在, 所以胆结石的形成与胆盐的表面活性有密切关系。另外, 胆汁中还含有多种金属离子, 金属离子与胆盐之间存在复杂的相互作用。研究结果表明, 金属离子的加入使牛黄胆酸钠(NaTC)简单胶团增大, 也使 NaTC 与胆固醇、磷脂形成的复合胶团增大<sup>[77,78]</sup>。当脱氧胆酸钠(NaDC)和金属离子(如: Ca<sup>2+</sup>)<sup>[79,80]</sup>在人体正常浓度范围内, M<sup>2+</sup>不是与 NaDC 单分子反应, 而是与 DC<sup>-</sup>胶团作用, 同时以 M<sup>2+</sup>为桥, 将不同的 DC<sup>-</sup>胶团交联形成凝胶性质的、大分子网状结构的复杂络合物, 并在络合物中形成 NaDC-M(DC)<sub>2</sub>的复合胶团结构。最终改变了胆盐介质的特性<sup>[79~82]</sup>, 破坏了胆汁的生理平衡, 降低了磷脂和胆固醇在胆汁中的溶解, 从而促进结石的形成。因为凝胶介质有利于结石的形成, 所以通过胆囊中金属离子与胆盐的相互作用, 而形成凝胶性质的大分子网状结构的胆汁酸金属络合物可能是导致结石产生的因素之一。这个问题还需要更进一步的研究和确证。

## 7 进展与前瞻

通过大量体外模拟实验, 我们对结石形成和图形生长过程提出了非线性科学的新概念, 深化了对结石形成机理的认识。以上大部分工作自 1990 年以来, 在美国消化道国际年会(AGA)上每年都有连续报道, 受到国际同行认可和好评, 并在 Clinical Research 上发表<sup>[53,77]</sup>。但人体的生命过程是很复杂的, 结石的成因和预防是世界性的难题, 仍有很多不清楚的问题(例如: 三种结石的成分、形成条件、自组装过程等结石形成机理的内在本质等)。所以, 我们的研究结果如何应用到临床中去仍有难度, 在如何治疗(溶石)方面还有大量的工作要做。以上各项研究工作尚在继续进展中。

### 参 考 文 献

- 1 Soloway R D, Trotman B W, Maddrey W C, et al. The influence of hemolysis, infection and stasis on the calcium salts in pigment gallstones. *Dig Dis Sci*, 1986, 31: 454~460
- 2 Ostrow J D, Overview the bile pigment metabolism. In: Ostrow J D, ed. *Bile pigments and jaundice: Molecular, metabolic, and medical aspects*. New York: Marcel Dekker, 1986. 1~6
- 3 程凌江, 张 驿, 马金石, 等. 胆红素二牛磺酸钠的化学制备及性质. 化学试剂, 2000, 22(2): 70~71
- 4 马金石, 王昌琦, 阎 芳. 在非质子溶剂中竹红菌甲素敏化光氧化胆红素. 感光科学与光化学, 1991, 9(1): 58~61
- 5 Yang Z H, Wang K, Liu, X T. Studies of electron-spin-resonance on bilirubin free radicals. *Science in China, Ser B*, 1992, 35(9): 1093~1100
- 6 Ouyang J M, Li C, Li Y Q, et al. Monolayer and Langmuir-Blodgett films of bilirubin dihexadecyl ester. *Thin Solid Films*, 1999, 348: 242~247
- 7 吴瑾光, 申国荣, 周孝思, 等. 胆色素型胆结石中的结构表征. 科学通报, 1979, 24: 1054~1056
- 8 Zhou X S, Wang S S, Wu J G, et al. Pigment gallstones study. *Chinese Medical Journal*, 1982, 95(12): 905~911
- 9 吴瑾光, 申国荣, 周孝思, 等. 色素型结石的组成、结构和生成机理的研究. 北京大学学报, 1980, 1: 34~43

- 10 Zhou X S, Shen G R, Wu J G, et al. A spectroscopic study of pigment gallstone in China. *Biospectroscopy*, 1997, 3(3): 371 ~ 380
- 11 Soloway R D, Wu J G. Method in Biliary Research. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press, Analysis of Gallstones, 1995, Chapter 11: 167 ~ 190
- 12 Yang Z L, Soloway R D, Wu J G, et al. The use of multiple spectroscopic techniques to measure the extent of hydration and to deduce the coordination structure of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ , and  $\text{Cu}^{2+}$  deoxycholates in the absence of single crystal structures. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0137
- 13 Liu H Z, Wu J G, Zhang Y Z, et al. Formation of a calcium calcite single crystal with intercalated calcium bilirubinate provides insight into one mechanism for growth of black pigment gallstones. *Gastroenterology*, 1993, 104(4): A942
- 14 Liu H Z, Wu J G, Yang Z L, et al. Calcium bilirubinate intercalated calcite single crystal: Evidence for microstructure of pigment gallstones. In: Proceedings of 9<sup>th</sup> International Conference on FTS, Washington: SPIE, 2089. 1993. 126 ~ 127
- 15 Ferraro J R, Wu J G, Li W H, et al. Copper binding to bilirubin as determined by FT-IR and EPR spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 1996, 50(7): 922 ~ 934
- 16 黄卫东, 胡天斗, 吴瑾光, 等. 脱氧胆酸钇络合物的 EXAFS 和 FTIR 表征. 光谱学与光谱分析, 1994, 14(6): 43 ~ 47
- 17 Soloway R D, Song Y Y, Wu J G, et al. Serial Fourier Transform Infrared and FT-RAMAN Spectroscopy with Increasing temperature to examine bilirubinates and black gallstones. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0136
- 18 Taylor D R, Crowther R S, Wu J G, et al. Calcium carbonate in cholesterol gallstones: polymorphism, distribution, and hypotheses about pathogenesis. *Hepatology*, 1995, 22(2): 488 ~ 496
- 19 刘会洲, 吴瑾光, 徐光宪, 等. 胆红素锶的 EXAFS 和 FT-IR 研究. 北京大学学报, 1990, 26(4): 406 ~ 412
- 20 Li W H, Shen G R, Wu J G, et al. Copper bilirubinate and black pigment gallstone. *Biospectroscopy*, 1995, 1(2): 149 ~ 156
- 21 石景森, 邱随民, 吴瑾光, 等. 黑色胆结石的红外光谱研究. 中华外科杂志, 1988, 26(11): 676 ~ 678
- 22 宋苑苑, 许振华, 吴瑾光, 等. 胆红素络合物的表面增强拉曼光谱研究. 光谱学与光谱分析, 1999, 19(2): 165 ~ 167
- 23 Yang Z L, Soloway R D, Wu J G, et al. NMR- $\text{H}^1$  Evidence for the variability of protonated bilirubin and bilirubinate (BR) configuration in different solvents: Why sodium BR is soluble and calcium BR precipitates. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): A529
- 24 Xu Y Z, Weng S F, Wu J G, et al. 2D IR Spectroscopic studies on cholic acid. Two-Dimensional Correlation Spectroscopy, 1999, CP503: 303 ~ 306
- 25 Soloway R D, Wu J G, Yang Z L, et al. Why does  $\text{Ca}^{++}$  vary from 3 to 12% in non-stoichiometric calcium bilirubinates? *Gastroenterology*, 1994, 106(4): A359
- 26 杨展澜, 翁诗甫, 吴瑾光. 色素及混合型结石组成的研究. 北京大学学报(自然科学版), 1998, 34(4): 429 ~ 434
- 27 徐怡庄, 陈志达, 吴瑾光, 等. 分子力学计算中的分形现象. 中国科学, B 辑, 1997, 27(4): 349 ~ 356
- 28 Lin Y Z, Li W H, Wu J G, et al. Fourier transform Infrared (FT-IR) spectroscopy studies of peptide models for interaction of the binding regions of high molecular weight kininogen and prekallikrein. *Thrombosis Research*, 1998, 90: 65 ~ 72
- 29 徐怡庄, 陶 靖, 吴瑾光, 等. 囊体与长链碳氢化合物 C—H 伸缩振动行为差别及结构本质. 中国科学, B 辑, 1999, 29(1): 1 ~ 7
- 30 徐怡庄, 陈志达, 吴瑾光, 等. 胆汁酸分子内氢键稳定性的分子力学研究. 北京大学学报, 1996, 32(4): 425 ~ 430
- 31 Liu J H, Soloway R D, Wu J G, et al. How does Ca bilirubinate bind to protein in gallstones? *Gastroenterology*, 1994, 106(4): A346
- 32 Soloway R D, Taylor D R, Xu Y Z, et al. Infrared microspectroscopy of cholesterol- $^{13}\text{C}$ -3 identifies differences from cholesterol- $^{12}\text{C}$ -3 permitting kinetic studies or changes in cholesterol crystal during stone growth, and remodeling, and dissolution. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): 34
- 33 Xu Y Z, Soloway R D, Wu J G, et al. Unusual O---O distances for two hydrogen bonds in the single crystal structure of cholic

- acid. *Gastroenterology*, 1999, G0144
- 34 Soloway R D, Xu Y Z, Wu J G, et al. Cryogenic Fourier transform infrared studies of cholesterol monohydrate crystals. *Gastroenterology*, 1999, G0148
- 35 Li W H, Soloway R D, Wu J G, et al. Changes in the secondary structure of albumin after binding with  $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^+$ . *Gastroenterology*, 1996, 110(4): A1251
- 36 Liu H Z, Soloway R D, Wu J G, et al. Structure characterization of strontium (II) bilirubinate complexes. *Biospectroscopy*, 1995, 1(3): 217 ~ 223
- 37 Soloway R D, Wu J G, Shen G R, et al. Protein trapping of salts as a mechanism of black pigment gallstone nidation and growth. 1. Identification of water soluble salts in human black pigment stones. 2. FT-IR demonstration of homogeneous and heterogeneous binding of salts in pigment gallstones. 4. Similarities in the formation of calcium hydroxyapatite stones from various parts of the human body. 5. In vitro binding of mucin and neutral calcium bilirubinate. *Gastroenterology*, 1987, 92(5): Part 2, 1780 ~ 1802
- 38 Hou R Z, Wu J G, Guo H, et al. Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy of dental calculus. *Microchim Acta*, 1988, 2: 133 ~ 136
- 39 Wagner A J, Wu J G, Soloway R D, et al. Does the structure of calcium bilirubinate provide special properties contributing to its precipitation in bile? A comparison with other metal bilirubinates by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). *Hepatology*, 1987, 7(5): 1138 ~ 1139
- 40 Wu J G, Yang Z L, Xu D F, et al. FT-IR Study on Calcium Ions Binding to Bilirubin. In: 7th International Conference on FTS, Abstract Program p2.6, Washington: SPIE, 1145. 1989. 264
- 41 Soloway R D, Wu J G, Xu D F, et al. Fourier transform infrared spectroscopy demonstrated the reactivity of the protonated carboxyl group of the acid salt of calcium bilirubinate. In: 7th International Conference on FTS, Abstract Program p2.5, Washington: SPIE, 1145. 1989. 262
- 42 Yang B J, Wu J G, Soloway R D, et al. Normal coordinate analysis of bilirubin vibrational spectra: effects of intramolecular hydrogen bonding. *Spectrochimica Acta*, 1993, 49A(12): 1735 ~ 1746
- 43 Liu F, Zhang Y F, Wu J G, et al. Identification of the peak locations of the  $3\alpha$ ,  $7\alpha$  and  $12\alpha$  OH group in unconjugated bile acid provides a basis for the study of their role in molecular binding. *Gastroenterology*, 1990, 98(5): A254
- 44 Yang Z L, Soloway R D, Wu J G, et al. Calcium binds with both the carboxyl and pyrrole groups of bilirubinate *in vitro* formation of non-stoichiometric salt. *Gastroenterology*, 1991, 100(5): A813
- 45 Liu J H, Wu J G, Soloway R D, et al. Ca bilirubinate binds more avidly to proteins than Ca carbonate or hydroxyapatite in black pigment gallstones. *Gastroenterology*, 1994, 106(4): A347
- 46 Guo H, Soloway R D, Wu J G, et al. Dependence of equilibrium swelling on an interaction between calcium bilirubinate and protein. *Gastroenterology*, 1990, 98(5): A249
- 47 杨展澜, 翁诗甫, 吴瑾光, 等. 胆红素-氟化钡体系固相研磨反应的红外光谱研究. 光谱学与光谱分析, 1998, 18(2): 187 ~ 190
- 48 Shen G R, Li W H, Wu J G, et al. Measurement and characterization of black gallstone composition using extraction with serial solvents. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): A523
- 49 徐智, 周孝思, 吴瑾光, 等. 胆色素结石成型硬化过程中成份分析. 中华实用外科杂志, 1993, 10(1): 12 ~ 16
- 50 Lin Y Z, Li W H, Wu J G, et al. Fourier transformed infrared (FT-IR) studies of the interaction of the binding regions of high molecular weight kninogen (HK) and prekallikrein (PK). The FASEB Journal, 1995, 9(6): A1498
- 51 Li W H, Soloway R D, Wu J G, et al. Copper forms black bilirubinate salts related to the formation of free radicals and causes alteration of the pyrrole rings and tetrapyrrole structure. Bilirubin Workshop, Trieste, Italy, 1992
- 52 Soloway R D, Wu J G. Pigment Oxidation and Polymers with Emphasis on the Role of Copper Complexes. *Bilirubin*

Workshop, Trieste, Italy, April 6-8, 1995

- 53 Li X F, Soloway R D, Wu J G, et al. Chaotic and periodic precipitation in a Ca-Cu bile salt system: relation to gallstone formation. *Clinical Research*, 1993, 41(2): A158
- 54 Peng Q, Wu J G, Xu D F, et al. Periodic and chaotic precipitation phenomena in bile salt system related to gallstone formation. *Biospectroscopy*, 1997, 3: 195 ~ 205
- 55 Xie D T, Wu J G, Xu G X, et al. Three-dimensional periodic and fractal precipitation in metal ion-deoxycholate system: A model for gallstone formation. *J Phys Chem B*, 1999, 103(40): 8602 ~ 8605
- 56 Wang L B, Hu T D, Wu J G, et al. Micro FT-IR and EXAFS studies on periodic and chaotic precipitations in bile salt systems. *Mikrochimi Acta*, 1997, 14(Suppl): 345 ~ 347
- 57 李晓峰, 吴瑾光, 徐光宪, 等. Liesegang Rings 现象与胆结石的形成. *中国科学, B 辑*, 1996, 26(1): 52 ~ 56
- 58 Yang Z L, Soloway R D, Somjen G J, et al. Influence of the main components in bile on the precipitation pattern in an agar gel system: The concentration of metal ions and the addition of bilirubin, cholesterol and lecithin. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): A551
- 59 Soloway R D, Yang Z L, Wu J G, et al. Influence of the molar ratio of sodium deoxycholate and sodium cholate on the pattern of calcium bile salt precipitation in an agar diffusion system. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0138
- 60 Hui J B, Wu J G, Xu G X, et al. Effects of  $Fe^{3+}$  and other metals on formation of cholate precipitates in gel. *Gastroenterology*, 1996, 110(4): Part 2, A457
- 61 Hui J B, Wu J G, Xu G X, et al. Models of mechanism of gallstone growth: the role of copper in cholate precipitation in gels. *Gastroenterology*, 1996, 110(4): Part 2, A459
- 62 Peng Q, Soloway R D, Wu J G, et al. Influence of metal ions on the pattern and spacing of deoxycholate precipitates in agar gels. *Gastroenterology*, 1996, 110(4): Part 2, A472
- 63 Xie D T, Qi O Y, Wu J G, et al. The kinetic process of liesegang ring formation is described using computer analysis of videoraped recordings of a metal ion-cholate diffusion system. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0139
- 64 Wu J G, Zhou X S, Xu D F, et al. A spectroscopic investigation of the formation mechanism of pigment gallstones. *Biospectroscopy*, 1997, 3: 381 ~ 391
- 65 Xie D T, Soloway R D, Wu J G, Development of periodic precipitation in an agar gel diffusion system containing both bilirubinate and deoxycholate. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0142
- 66 谢大韬, 徐怡庄, 吴瑾光, 等. 金属脱氧胆酸凝胶扩散体系的分形沉淀及维数. *北京大学学报*, 1997, 33(2): 137 ~ 141
- 67 谢大韬, 吴瑾光, 徐光宪, 等. 稀土胆酸络合物在凝胶中的周期沉淀现象. *中国稀土学报*, 1998, 16(2): 101 ~ 104
- 68 Xie D T, Wu J G, Xu G X, et al. Studies on the mechanisms involved in periodical fractal precipitation in a metal ion deoxycholate gel diffusion system. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0145
- 69 Peng Q, Li W H, Wu J G, et al. Other components of bile influence the pattern of metal-deoxycholate precipitation in agar gel. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): A520
- 70 Li Q, Wu J G, Xu G X, et al. Simultaneous diffusion characteristics of  $Ca^{2+}$  and  $Fe^{3+}$  into agar gel in the formation of Ca- and Fe-cholates in ring and fractal precipitates. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): A515
- 71 Xie D T, Xu Y Z, Wu J G, et al. Development of a three dimensional metal-bile salt-gel system to study periodic and chaotic precipitation as a model of gallstone growth. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): A528
- 72 Yang Z L, Wu J G, Xu G X, et al. Influence of cholesterol, lecithin, and bilirubin on patterns of precipitates of bile acid-divalent metals. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): A529
- 73 Zhao Y, Soloway R D, Wu J G, et al. Influence of fructose and albumin on the pattern of cobalt deoxycholate precipitation in agar gel. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): A553
- 74 Zhao Y, Wu J G, Xu G X, et al. Influence of saccharides and bovine serum albumin on the pattern of metal ion deoxycholate

- precipitation in agar Gel. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0146
- 75 Xie D T, Wu J G, Xu G X, et al. Modification of periodic and fractal precipitation in a bile salt/metal chloride system. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): A550
- 76 Li X F, Soloway R D, Wu J G, et al. Sodium cholate promotes formation of Liesegang rings of mixed calcium salts and bile acids in gels, implications for cholesterol and pigment gallstone formation. *Gastroenterology*, 1992, 104(4): Part 2, A842
- 77 Liu Z J, Soloway R D, Wu J G, et al.  $\text{Ca}^{++}$  increases bile salt mixed micelle size and cholesterol solubility. *Clinical Research*, 1993, 41(2): A159
- 78 刘之俊, 吴瑾光, 徐光亮, 等. 激光光散射及荧光光谱法研究金属离子对牛磺胆酸钠胶团性质的影响. 北京大学学报(自然科学版), 1994, 30(6): 641~657
- 79 Sun Y, Yang Z L, Wu J G, et al. Effectt of various divalent metal ions ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$ ) on the cation composition of precipitates from a mixed micelle ( $\text{M}(\text{DC})_2\text{-NaDC}$ ) system. *Gastroenterology*, 2000, 118(4): 306
- 80 孙颖, 杨展澜, 吴瑾光, 等.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ 及  $\text{Eu}^{3+}$ 对 NaDC 胶团的作用. 物理化学学报, 2000, 16(10): 873~878
- 81 Sun Y, Yang Z L, Soloway R D, et al. The effects of varying the proportions of  $\text{Co}(\text{deoxycholate})_2 \cdot \text{Na deoxycholate}$  in mixed micelles on the resulting precipitates. *Gastroenterology*, 1999, 116(4): G0146
- 82 孙颖, 杨展澜, 吴瑾光, 等.  $\text{Co}(\text{DC})_2\text{-NaDC}$  凝胶复合络合物的研究. 光谱学与光谱分析, 1999, 19(2): 172~176