

[3] Lojanapiwat B, Soonthornphan S, Wudhikarn S. Tubeless percutaneous nephrolithotomy in selected patients[J]. J Endourol, 2001, 15(7): 711-713.

[4] Maheshwari PN, Andankar MG, Bansal M. Nephrostomy tube after percutaneous nephrolithotomy: large-bore or pigtail catheter? [J]. J Endourol, 2000, 14(9): 735-737.

[5] Giusti G, Piccinelli A, Maugeri O, et al. Percutaneous nephrolithotomy: tubeless or not tubeless? [J]. Urol Res, 2009, 37(3): 153-158.

[6] Aghamir SM, Mohammadi A, Mosavibahar SH, et al. Totally tubeless percutaneous nephrolithotomy in renal anomalies[J]. J Endourol, 2008, 22(9): 2131-2134.

[7] Al-Ba'adani TH, Al-Kohlany KM, Al-Adimi A, et al. Tubeless percutaneous nephrolithotomy: the new gold standard[J]. Int Urol Nephrol, 2008, 40(3): 603-608.

[8] Crook TJ, Lockyer CR, Keoghane SR, et al. Totally tubeless percutaneous nephrolithotomy[J]. J Endourol, 2008, 22(2): 267-271.

[9] Shah H, Khandkar A, Sodha H, et al. Tubeless percutaneous nephrolithotomy: 3 years of experience with 454 patients[J]. BJU Int, 2009, 104(6): 840-846.

[10] Istanbuluoglu MO, Cicek T, Ozturk B, et al. Percutaneous nephrolithotomy: nephrostomy or tubeless or totally tubeless? [J]. Urology, 2010, 75(5): 1043-1046.

[11] Sofer M, Beri A, Friedman A, et al. Extending the application of tubeless percutaneous nephrolithotomy[J]. Urology, 2007, 70(3): 412-416.

[12] Mouracade P, Spie R, Lang H, et al. Tubeless percutaneous nephrolithotomy: what about replacing the Double-J stent with a ureteral catheter? [J]. J Endourol, 2008, 22(2): 273-275.

[13] Abou-Elela A, Emran A, Mohsen MA, et al. Safety and efficacy of tubeless percutaneous renal surgery[J]. J Endourol, 2007, 21(9): 977-984.

[14] Gonen M, Ozturk B, Ozkardes H. Double-j stenting compared with one night externalized ureteral catheter placement in tubeless percutaneous nephrolithotomy[J]. J Endourol, 2009, 23(1): 27-31.

[15] Limb J, Bellman GC. Tubeless percutaneous renal surgery: review of first 112 patients[J]. Urology, 2002, 59(4): 527-531.

[16] Yang RM, Bellman GC. Tubeless percutaneous renal surgery in obese patients[J]. Urology, 2004, 63(6): 1036-1040.

[17] Khairy Salem H, Morsi HA, Omran A, et al. Tubeless percutaneous nephrolithotomy in children[J]. J Pediatr Urol, 2007, 3(3): 235-238.

[18] Shah HN, Kausik VB, Hegde SS, et al. Safety and efficacy of bilateral simultaneous tubeless percutaneous nephrolithotomy[J]. Urology, 2005, 66(3): 500-504.

[19] Istanbuluoglu MO, Ozturk B, Cicek T, et al. Bilateral simultaneous totally tubeless percutaneous nephrolithotomy: preliminary report of six cases[J]. J Endourol, 2009, 23(8): 1255-1257.

[20] Guven S, Ozturk A, Arslan M, et al. Simultaneous bilateral percutaneous nephrolithotomy in children: no need to delay[J]. J Endourol, 2011, 25(3): 437-440.

[21] Wang CJ, Chang CH, Huang SW. Simultaneous bilateral tubeless percutaneous nephrolithotomy of staghorn stones: a prospective randomized controlled study[J]. Urol Res, 2011, 39(4): 289-294.

[22] Desai MR, Kukreja RA, Desai MM, et al. A prospective randomized comparison of type of nephrostomy drainage following percutaneous nephrostolithotomy: large bore versus small bore versus tubeless[J]. J Urol, 2004, 172(2): 565-567.

[23] Crook TJ, Lockyer CR, Keoghane SR, et al. A randomized controlled trial of nephrostomy placement versus tubeless percutaneous nephrolithotomy[J]. J Urol, 2008, 180(2): 612-614.

(收稿日期: 2012-02-15)

金纳米团簇在生物学中的应用及展望

罗雅文 综述, 杨晓明 审校(西南大学药学院, 重庆 400715)

【关键词】 金纳米团簇; 生物检测; 细胞标记; 药物传递
DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.15.055 **文献标志码: A** **文章编号: 1672-9455(2012)15-1923-03**

采用荧光标记法实现对实验材料的检测, 在生物学领域广泛应用。然而, 传统的荧光染料一般存在细胞毒性与不良反应较大、激发光谱窄、光稳定性差、荧光强度弱等缺点, 使其应用受到限制。金纳米团簇(Gold nanoclusters, Au NCs)由于其特有的量子尺寸效应以及生物相容性好、毒性低等特点引起了学者的广泛关注。通过对其研究的进一步深入, 在生物监测、生物标记、药物传递上有着广泛的应用前景。

1 Au NCs 的性质

Au NCs 是由几个到几十个金原子组成核心, 有机单分子如硫醇类化合物或者蛋白质等作为保护基团组合而成的分子级聚集体。单分子层保护的 Au NCs(monolayer protected gold clusters, Au-MPCs)由于保护基团的存在具有良好的生物相容性。Au-MPCs 粒径一般在 2 nm 以下, 介于原子和纳米颗

粒之间, 具有一些特殊的光学特性而引起学者广泛关注。

1.1 荧光性 当纳米粒子的粒径降低到与电子的费米波长(约 0.7 nm)相当时, 那么会导致许多分散能级的产生, 具有依赖于粒子粒径大小的荧光性状。Au NCs 的量子产率一般为 10%~70%^[1]。

1.2 生物相容性 硫醇类、羧基类、胺类化合物、树状大分子等均可用于连接和促进 Au-MPCs 的生成。Brewer 等^[2]还报道了一种利用牛血清蛋白介导合成 Au NCs 的方法。这些表面单分子保护层都为 Au-MPCs 提供了良好的生物相容性, 使其能够用于细胞标记、成像以及药物的传递。

1.3 荧光强度和光稳定性 Lin 等^[3]利用水溶性 Au NCs 成功实现了生物标记, 并对其荧光强度和光稳定性进行了测试, 结果表明, Au-MPCs 的荧光强度虽不如量子点(quantum

dots, QDs), 但较之传统有机荧光团, 其荧光强度和稳定性大幅度提高, 为活体细胞跟踪提供了可能性。

1.4 荧光可调性 Au NCs 的荧光发射光谱随其粒径和组成的变化具有可调节性, 可获得从可见光区到近红外光区范围内的任意发射波长, 且随着粒径的增大, 发射光谱红移^[4]。该性质在生物标记领域有着潜在的应用价值, 可以利用发射光谱不同的 Au-MPCs 分别标记正常和病变组织实现快速监测。此外, Yu 等^[5]指出 Au10 的荧光随温度而变化, 这为研究 Au NCs 的荧光条件提供了更多参考。

2 Au NCs 在生物检测中的应用

Au NCs 具有粒径小, 光稳定性好, 毒性低、生物相容性好等特性。因此, 在生物标记、成像、生物传感器等方面具有广泛的用途。

2.1 生物标记及成像 Au NCs 通过受体介导和非特异性内吞的方式进入细胞, 并用于标记存在于体内的生物素, 实现对被标记细胞的成像和跟踪。Ramakrishna 等^[6]研究表明 Au NCs 具有优于普通有机荧光材料的双量子吸收(Two-photon absorption, TPA)截面。双量子成像能够深入组织内部且能减少在红外光区的光毒性。因此, 在活细胞成像方面有很大的应用前景。Liu 等^[7]利用葡聚糖修饰的疏基十一烷酸 Au NCs (dextran-encapsulated 11-MUA-Au NCs) 作为荧光材料标记人类间叶干细胞, 在 800 nm 激发波长处监测到荧光。Oyelere 等^[8]将核定位信号肽(nuclear-localization signal, SV40 NLS)修饰的 11-MUA-Au NCs 用于宫颈癌细胞(HeLa)的染色, 结果表明, NLS-11-MUA-Au NCs 在细胞质和核内均匀分布, 实现了细胞核的标记, 可以用于反映癌细胞的增殖活性。Yang 等^[9]利用叶酸与其受体的特异性结合, 制备了叶酸修饰的 BSA-Au NCs, 特异性地标记了乳腺癌细胞和口腔癌细胞。Li 等^[10]通过尾部静脉注射的方式将最大发射波长为 710 nm 的 Au NCs 注入小鼠体内, 将这些小鼠暴露于光线下, 聚集在小鼠体内 HeLa 上的 Au NCs 便会发光, 可用于判断肿瘤的位置。此外, Wang 等^[11]的研究还指出, 利用 Au NCs 良好的生物相容性, 还可用于体内和体外标记内皮细胞。

2.2 生物传感器 Au NCs 受激发产生的荧光可以受环境中某些物质的影响, 使得产生的量子数在短时间内减少或者消失, 即发生荧光的猝灭。该性质可以用做生物传感器, 用于环境中微量物质的检测。

2.2.1 重金属离子的检测 Hg^{2+} 是一种高毒性, 普遍存在的污染物。它能破坏大脑、神经系统和肾脏的功能。最近, 利用 Hg^{2+} 可以使 Au NCs 荧光猝灭的特性, Lin 和 Tseng^[12]研究表明 MUA-Au NCs 用于 Hg^{2+} 的检测, 该方法具有选择性高、检测限低等特点。同时, 利用 Au-MPCs 用于氰化物和 Cu^{2+} 的检测也已经运用于实践。

2.2.2 蛋白质及微生物的检测 Huang 等^[13]利用甘露糖保护的 Au NCs 检测伴刀豆球蛋白 A(ConA), 由于 Man-Au NCs 的荧光可受多种蛋白质和凝集素的猝灭, 而 ConA 则可以减弱这种猝灭, 依据该性质, 可定性及定量检测 CoA, 检测限达到 75 pmol/L。Huang 等^[13]研究指出, Man-Au NCs 可与大肠杆菌菌毛特异性结合, 使得菌体表面受光激发后产生荧光, 该荧光强度与菌体浓度在一定范围内呈线性关系, 可用于检测大肠杆菌的浓度, 该方法大大减少了检测时间。

3 Au NCs 在药物传递中的应用

Hong 等^[14]利用疏基修饰的 Bodipy 染料模拟疏水性药物, 成功将其同末端带有三甲胺阳离子的硫醇化合物一起, 通过配体交换的方法结合成了多元单层修饰的 Au NCs(mixed monolayer pretected gold clusters, Au-MMPCs), 该 Au-MMPCs 通过细胞膜进入细胞内后, 由于胞质中富含谷胱甘

肽, 通过谷胱甘肽的配体交换可将药物取代下来, 实现药物向细胞内的传递, 但该方法对于细胞的选择性不高。de la Fuente 等^[15]在此基础上进一步研究, 以硫普罗宁作为配体制备 Au-MPCs, 通过 Au-MPCs 表面配体的化学反应, 将能与特定细胞表面结合的生物分子结合到 Au-MPCs 表面, 再结合前面研究者的方法, 实现药物的靶向传递。

4 结语与展望

Au NCs 作为一种新型纳米材料, 由于生物相容性好, 毒性低等特点, 在生物检测、药物传递等领域具有广泛的应用前景。然而, 其发展却比较缓慢, 目前设计的 Au NCs 还存在量子产率较低、稳定性不足、速率闪烁现象等缺点。另外, 虽然被应用于单分子保护层的巯基化合物较多, 但能使 Au-MPCs 在水溶液中稳定的却很少。Au NCs 的稳定性、量子产率及荧光颜色受保护基团的影响。因此, 选择合适的保护基团在有助于 Au NCs 稳定性及量子产率的提高。随着 Au NCs 制备工艺的提高, 高量子产率、高稳定性的 Au NCs 将会被广泛应用于生物医学领域。

参考文献

- [1] Bao YP, Yeh HC, Zhong C, et al. Formation and stabilization of fluorescent gold nanoclusters using small molecules[J]. J Phys Chem C, 2010, 114(38):15879-15882.
- [2] Brewer SH, Glomm WR, Johnson MC, et al. Probing BSA binding to citrate-coated gold nanoparticles and surfaces[J]. Langmuir, 2005, 21(20):9303-9307.
- [3] Lin CA, Yang TY, Lee CH, et al. Synthesis, characterization, and bioconjugation of fluorescent gold nanocluster-stoward biological labeling applications[J]. ACS Nano, 2009, 3(2):395-401.
- [4] Reilly SM, Krick T, Dass A. Surfactant-free synthesis of ultrasmall gold nanoclusters[J]. J Phys Chem C, 2010, 114(2):741-745.
- [5] Yu P, Wen XM, Toh YR, et al. Temperature-dependent fluorescence in Au10 nanoclusters[J]. J Phys Chem C, 2012, 116(11):6567-6571.
- [6] Ramakrishna G, Lee D, Goodson T, et al. Quantum-sized gold clusters as efficient two-photon absorbers[J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(15):5032-5033.
- [7] Liu CL, Ho ML, Chou PT, et al. Thiol-functionalized gold nanodots two-photon absorption property and imaging in vitro[J]. J Phys Chem C, 2009, 113(50):21082-21089.
- [8] Oyelere AK, Huang XH, El-Sayed MA, et al. Peptide-conjugated gold nanorods for nuclear targeting[J]. Bioconjugate Chem, 2007, 18(5):1490-1497.
- [9] Yang QF, Liu JY, Chen HP, et al. Preparation of noble metallic nanoclusters and its application in biological detection[J]. Pro Chem, 2011, 23(5):880-892.
- [10] Li S, Jun DS, Ulrich NG, et al. Ultra-small uorescent metal nanoclusters synthesis and biological applications[J]. Nano Today, 2011, 6(4):401-418.
- [11] Wang HH, Lin CAJ, Lee CH, et al. Fluorescent gold nanoclusters as a biocompatible marker for in vitro and in vivo tracking of endothelial cells[J]. ACS Nano, 2011, 5(6):4337-4344.
- [12] Lin YH, Tseng WL. Ultrasensitive sensing of Hg^{2+} and CH_3Hg^+ based on the fluorescence quenching of lysozyme type VI-stabilized gold nanoclusters[J]. Anal Chem,

- 2010,82(22):9194-9200.
- [13] Huang CC, Chen CT, Shiang YC, et al. Synthesis of fluorescent carbohydrate-protected au nanodots for detection of concanavalin a and escherichia coli[J]. Anal Chem, 2009,81(3):875-882.
- [14] Hong R, Han G, Rotello VM, et al. Glutathione-mediated delivery and release using monolayer protected nanoparti-

- cle carriers[J]. J Am Chem Soc, 2006, 128(4): 1078-1079.
- [15] de la Fuente JM, Berry C C, Riehle MO, et al. Nanoparticle targeting at cells[J]. Langmuir, 2006, 22(7): 3286-3293.

(收稿日期:2012-03-25)

输尿管软镜技术在肾结石治疗中的应用

冯德刚 综述, 徐世田 审校(重庆市合川区人民医院泌尿外科 401520)

【关键词】 输尿管软镜; 肾结石; 钬激光

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.15.056 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)15-1925-03

作为泌尿外科的常见疾病,近年来尿路结石的发病率有增加的趋势。中国泌尿系结石发病率为 1%~5%^[1]。输尿管软镜技术的出现使肾结石的“微创”治疗成为可能,越来越多的泌尿外科医生开始使用该技术治疗肾结石。随着近些年来制作工艺的提高、成像系统以及钬激光的应用,输尿管软镜在泌尿外科的诊治中发挥了重要的作用,给临床医生提供了更丰富的选择。

1 输尿管软镜的历史发展过程

输尿管镜是膀胱镜技术的延伸,包括硬镜、软镜两种。事实上,输尿管软镜的临床应用要早于输尿管硬镜,1964 年 Marshall^[2]首次采用 9F 输尿管软镜观察到输尿管结石,随后 Takagi 等^[3]制成了可弯曲的输尿管软镜,并用其完成了对输尿管及肾脏的检查。然而,早期的输尿管软镜由于受到工艺水平,如:没有冲水通道、窥视镜清晰度不够等因素的限制,仅用于上尿路的检查。到 19 世纪 70 年代末,国外有学者开始报道使用输尿管软镜对远端输尿管进行诊断和进一步治疗^[4-5]。随着制造工艺以及输尿管软镜配套碎石设备的不断发展,特别是光纤技术的进步、主动弯曲技能的设计和工作通道的出现,提高了输尿管软镜在肾结石中的使用价值。目前,输尿管软镜常用于硬镜不能到达的上尿路,尤其是肾内集合系统^[6]。

输尿管软镜的基本构造包括光学系统、可弯曲镜体、工作通道等。目前的软镜主要通过以下 2 种途径增强到达肾下盏的能力:(1)具有独立原发和继发性弯曲能力,提升了软镜向下的弯曲能力,可达 270°(如 Gyrus-ACMI Dur8-E 和 Stryer Flexvision);(2)可以原发双向弯曲至 270°(如 WolfViper 及 Olympus URF-P5)。与早期由束成光学纤维提供光源的输尿管软镜相比,新一代的电子输尿管软镜(digital flexible ureteroscope, DUR)术中成像更清晰,图像分辨率更高,可以放大图像 150%,大大提高了手术的有效性和安全性。同时,由于 DUR 采用 LED 驱动的光载体替代了外部摄像头和光纤,较传统软镜轻巧,利于术者长时间操作^[7]。此外, DUR 配备有激光保护系统(endoscope protection system, EPS),当激光光纤操作不当时可自动报警并暂停工作,以达到保护 DUR 和延长使用寿命的目的^[8]。Humphreys 等^[9]运用 DUR 获得了 8 例患者(10 个肾单位,结石直径均小于 1 cm)的高质量图像资料,发现使用 DUR 可以观察到早期草酸钙结石的形成,有助于了解结石成因。Binbay 等^[10]比较研究接受传统输尿管软镜碎石术(34 例)和 DUR(42 例)治疗患者的资料,结果发现后者可以明显缩短手术时间。最近, Desai 等^[11]又指出采用机器人辅助操作输尿管软镜碎石可以使软镜运动范围增大、稳定性增强。

2 输尿管软镜治疗肾结石的应用

国内,孙颖浩等^[12]首次报道了 51 例逆行输尿管软镜钬

光碎石术,提出对于体外冲击波碎石术(extracorporeal shock wave lithotripsy, ESWL)治疗失败者,可首选此方法。薛蔚等^[13]报告了输尿管软镜结合钬激光和 FREDDY 激光治疗小于 2 cm 的肾结石 338 例,结石排净率高,无严重并发症出现。叶利洪等^[14]认为输尿管软镜钬激光碎石术尤其适用于结石较小、肾盏无明显积水以及预期 ESWL 效果不好的患者。在 2011 版中国泌尿外科疾病诊断治疗指南中,明确提出了输尿管软镜治疗肾结石的适应证和禁忌证^[1]。适应证包括:(1)ESWL 定位困难、X 线阴性肾结石(<2cm);(2)ESWL 术后残留的肾下盏结石;(3)嵌顿性肾下盏结石, ESWL 治疗的效果不好;(4)极度肥胖、严重脊柱畸形,建立经皮肾镜碎石术(percutaneous nephrolithotripsy, PNL)通道困难;(5)结石坚硬,不利于 ESWL 治疗;(6)伴盏颈狭窄的肾盏憩室内结石。禁忌证包括:(1)不能控制的全身出血性疾病;(2)严重的心肺功能不全,无法耐受手术;(3)未控制的泌尿道感染;(4)严重尿道狭窄,腔内手术无法解决;(5)严重髋关节畸形,截石位困难。

Breda 等^[15]治疗肾结石 51 例,结石直径为 0.3~1.5 cm, 单次输尿管软镜手术后无石率(stone free rate, SFR)为 64.7%,二次手术后 SFR 为 92.2%,未出现严重并发症。Wong^[16]认为输尿管软镜更适合于结石小于 1.5 cm 不利于 ESWL 治疗的肾结石病例,同样也有学者认为输尿管软镜取石术的失败与结石超过 1.5 cm 有关^[17]。近来也有关于输尿管软镜治疗大于 2 cm 肾结石的报道。Hyams 等^[18]治疗 120 例肾结石(直径 2~3 cm,平均 2.4 cm),二次手术率仅为 2.5%,指出虽然目前 PNL 为治疗直径大于 2 cm 结石的标准方法^[1-19],但输尿管软镜治疗此类患者也是安全有效的。Riley 等^[20]采用输尿管软镜钬激光治疗平均直径为 3 cm 肾结石 22 例, SFR 为 90.9%。对于直径大于 2 cm 的肾结石,手术时间和次数会相应增加。此外,结石的位置也会影响软镜碎石效果。Perlmutter 等^[21]采用输尿管软镜碎石处理肾脏上、中、下盏小于 1.5 cm 结石 86 例,成功率分别为 100.0%、95.8% 和 90.9%。

3 输尿管软镜治疗肾结石的优点

与传统的 PNL 和 ESWL 相比,输尿管软镜治疗肾结石的优越性主要体现在 3 种情况:(1)肾结石合并肾脏解剖畸形、位置畸形,如:马蹄肾、异位肾等;(2)肾结石合并特殊体质,如:过度肥胖、出血体质等;(3)肾结石位置异常,如:肾盏憩室结石、肾下盏结石等。Molimard 等^[22]回顾性分析了 2004~2009 年输尿管软镜治疗马蹄肾合并肾结石 17 例(其中 ESWL 失败 8 例, PNL 失败 4 例), SFR 为 88.2%。Chouaib 等^[23]同样报道 18 例马蹄肾合并肾结石,通过多期软镜手术治疗后 SFR 达到