

文章编号: 1000-7032(2025)09-1596-16

近红外二区发光探针及生物成像

杜 平, 杨小涵, 肖 和, 孙聆东*

(北京大学 化学与分子工程学院, 稀土材料化学及应用国家重点实验室,
北京大学-香港大学稀土材料与生物无机化学联合实验室, 北京分子科学中心, 北京 100871)

摘要: 近红外二区(NIR-II, 1 000~2 000 nm)光学成像技术通过减少组织散射和自体荧光干扰,显著提升了活体成像的深度与分辨率。近十几年来,基于 NIR-II 探针和成像设备的开发成果,NIR-II 成像突破了传统光学成像穿透深度的限制,实现了从宏观解剖结构到微观分子事件的跨尺度动态观测,为生物医学研究提供了革命性工具。本文系统综述了 NIR-II 发光探针的开发及其在生物医学领域的应用进展,总结了各类 NIR-II 探针的光学特性,重点围绕其在解剖结构成像、肿瘤精准诊疗、活体分子事件示踪、响应性成像与活体微环境成像和构建诊疗一体化平台中的创新实践展开综述。最后,展望了 NIR-II 发光材料的发展和应用,期待在基础研究与临床转化中发挥更重要的作用。

关 键 词: 光学成像; 近红外二区; 发光探针

中图分类号: O482.31 **文献标识码:** A

DOI: 10.37188/CJL.20250130 **CSTR:** 32170.14.CJL.20250130

NIR-II Luminescent Probes for Bioimaging

DU Ping, YANG Xiaohan, XIAO He, SUN Lingdong*

(Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, State Key Laboratory of Rare Earth Materials Chemistry and Applications,
PKU-HKU Joint Laboratory in Rare Earth Materials and Bioinorganic Chemistry, College of Chemistry and Molecular Engineering,
Peking University, Beijing 100871, China)

* Corresponding Author, E-mail: sun@pku.edu.cn

Abstract: Optical imaging in the second near-infrared window (NIR-II, 1 000–2 000 nm) significantly improves *in vivo* imaging depth and resolution by reducing tissue scattering and autofluorescence. Over the past decade, the development of diverse NIR-II probes and imaging setups has enabled NIR-II imaging to overcome the penetration depth limitations of conventional optical techniques, achieving cross-scale dynamic observation from macroscopic anatomical structures to microscopic molecular events, thereby providing revolutionary tools for biomedical research. This review systematically summarizes recent advances in the design of NIR-II luminescent probes and their biomedical applications. The optical properties of various NIR-II probes are discussed, with a focus on their innovative applications in anatomical structure imaging, precision tumor diagnosis and therapy, real-time tracking of molecular events *in vivo*, responsive imaging, microenvironment visualization, and the construction of integrated theranostic platforms. Finally, critical summaries and perspectives on the development and applications of NIR-II luminescent materials are presented, highlighting their potential for broader impacts in fundamental research and clinical translation.

Key words: optical imaging; second near-infrared window (NIR-II); luminescent probes

收稿日期: 2025-04-27; 修订日期: 2025-05-12

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFF0710001); 国家自然科学基金(22031002, 21927901)

Supported by National Key Research and Development Program of China(2022YFF0710001); National Natural Science Foundation of China(22031002, 21927901)

1 引言

活体成像技术作为生物医学研究的重要工具,在疾病诊断、手术指导、疗效监测等领域被广泛应用^[1]。目前,人们已经发展了多种成像技术,如超声(Ultrasound, US)^[2]、磁共振成像(Magnetic resonance imaging, MRI)^[3]、X射线断层扫描成像(X-ray computed tomography, CT)^[4]、正电子发射断层扫描成像(Positron emission tomography, PET)^[5]、单光子发射断层扫描成像(Single photon emission computed tomography, SPECT)^[6]、光声成像(Photoacoustic imaging, PAI)^[7]、光学成像(Optical imaging, OI)^[8]等。其中,光学成像凭借无放射性、快速响应和高灵敏度等优点而备受关注^[1]。然而,光学成像存在穿透深度低、易受自体荧光干扰等劣势。

为了提高光学成像质量,能够提高信噪比的成像波长窗口非常重要。研究表明,生物组织对光的吸收、散射及自体荧光的产生与光的波长密切相关^[9]。随着波长增加,散射和自体荧光都有所减弱。因此,与波长较短的可见光区(400~700 nm)和

近红外一区窗口(the first near-infrared I window, NIR-I, 700~900 nm)相比,波长更长的近红外二区窗口(the second near-infrared II window, NIR-II, 1 000~2 000 nm)具有较小的散射和可忽略的自体荧光,可以实现更高空间分辨率、更深穿透深度以及更高信噪比的荧光成像。迄今为止,有多例NIR-II发光性能优异的有机染料、碳纳米管以及无机纳米颗粒的报道,研究者利用这些发光探针从不同维度对生物结构与功能进行了活体层面的原位解析。本文从NIR-II发光探针的研发现状及其在生物解剖结构成像、肿瘤成像与手术指导、活体分子成像、响应性成像和诊疗一体化平台的研究展开,综述了近年来NIR-II发光探针在生物医学领域的研究进展。

2 近红外二区成像窗口与发光探针

2.1 近红外二区成像窗口

光与生物组织的相互作用包括散射、反射、吸收和产生自体荧光等过程(图1(a))^[10]。其中,水的吸收是限制光穿透深度的主要原因。与NIR-I波段相比,水分子O—H键弯曲振动使得NIR-II

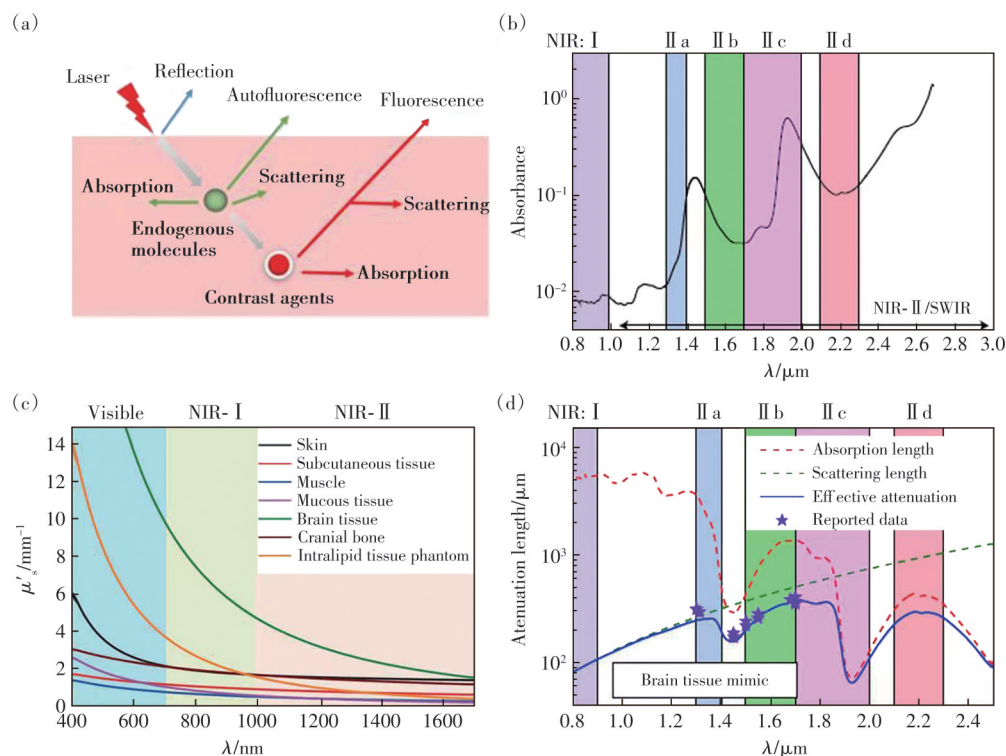


图1 光与生物组织的相互作用。(a)光与生物组织相互作用的吸收、散射、自体荧光过程^[10];(b)水的吸收曲线^[11];(c)生物组织对光的散射^[11];(d)光在脑组织的衰减曲线^[14]

Fig.1 Light-tissue interactions. (a) Schematic illustration of light interactions with biological tissues, including absorption, scattering, and autofluorescence^[10]. (b) Absorption spectrum of water^[11]. (c) Scattering characteristics of biological tissues^[11]. (d) Optical attenuation length in brain tissue as a function of wavelength^[14]

波段吸收更强(图 1(b))^[11-12]。生物组织对光的散射是背景噪声的主要来源,包括皮肤、肌肉、脂肪、骨骼和大脑在内的生物组织的散射程度都与波长成反比关系(图 1(c))^[9, 11]。综合吸收和散射,与 NIR-I 波段相比,在脑组织中 NIR-II 波段能够实现更深的穿透深度(图 1(d))^[13-14]。此外,生物体内的内源性荧光团会导致自体荧光,造成背景干扰并降低信噪比。

在早期的近红外成像研究中,由于传统的硅基检测器难以对 1 000 nm 以上的光进行有效检测,且发射波长大于 1 000 nm 的光学探针难以合成,因此近红外成像探针的发射波长集中在 NIR-I。吲哚菁绿(ICG)作为典型的 NIR-I 染料(激发波长 808 nm,发射波长 822 nm),已在临床造影和手术导航中获得广泛应用^[15]。然而,生物组织在 NIR-I 仍然存在较强的自体荧光,阻碍了成像质量的进一步提高,对于较为精细的结构分辨率有限,因此 NIR-I 波段并不是活体成像的最佳选择。

近年来,近红外探测器的商业化推动了近红外探针的合成和 NIR-II 活体成像的研究^[16]。与

NIR-I 发光相比,虽然 NIR-II 波段具有较高的组织吸收,但是该区域具有更低的组织散射和自体荧光背景。当波长大于 1 300 nm 时,自体荧光造成的干扰可基本消除,而大于 1 500 nm 时,自体荧光几乎消失^[17]。因此,利用大于 1 300 nm 的近红外发光进行生物成像可以显著提高深层组织成像的分辨率和信噪比(图 2(a))^[18]。成像中需要避开水强吸收的 1 400~1 500 nm 波段,NIR-II 波段又可以进一步分为 NIR-II a(1 300~1 400 nm)和 NIR-II b(1 500~1 700 nm)两个窗口。其中,NIR-II b 波段具有较低的自体荧光和组织散射,是活体成像尤其微血管成像的较好选择。近年来,随着 NbTiN 单光子检测器的推出,也可进行大于 1 700 nm 波长的活体显微成像,并将 1 700~2 000 nm 波段定义为 NIR-II c 窗口^[12]。由于该波段内的组织散射进一步降低,且避开了水的强吸收区域,NIR-II c 窗口内的活体成像分辨率有所提高,穿透深度相比 NIR-II b 波段有所加深(图 2(b))^[19]。随着发射波长大于 1 700 nm 发光探针的发展及商业化 HgCdTe 相机的发展,NIR-II c 波段内的生物成像已成为新的研究热点。

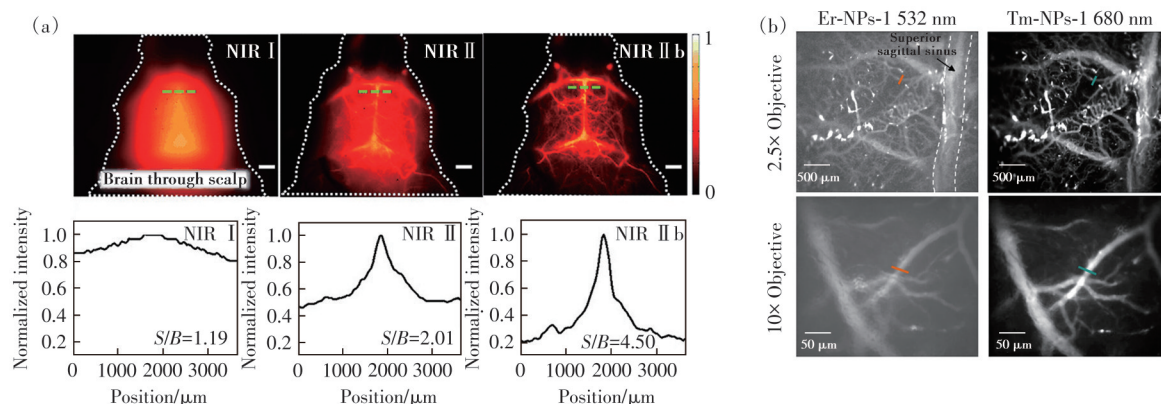


图2 不同近红外波段小鼠活体成像效果比较。(a)在不同近红外波段(NIR-I, NIR-II a, NIR-II b)小鼠脑血管成像^[18]; (b)在 NIR-II b 和 NIR-II c 波段小鼠脑血管成像^[19]

Fig.2 *In vivo* bioimaging in different NIR spectral windows. (a)Comparative visualization of cerebral vasculature in mice (NIR-I, NIR-II a, NIR-II b)^[18]. (b)Cerebral vascular imaging in the NIR-II b and NIR-II c windows^[19]

2.2 近红外二区发光探针

开发具有高化学稳定性与光学稳定性、优异生物安全性、高发光量子产率的红外激发-近红外发射(NIR-to-NIR)光学探针是实现深层组织高分辨成像的前提^[20]。近年来,研究者已开发出多种满足以上要求的 NIR-II 探针用于活体成像,本文将按照化学组分为无机近红外发光纳米探针和有机近红外发光分子探针两大类进行概述。

2.2.1 无机近红外发光纳米探针

目前发展的无机近红外发光纳米探针主要包括单壁碳纳米管(Single-walled carbon nanotubes, SWCNTs)^[21]、半导体量子点(Semiconductor quantum dots, QDs)^[22]、稀土纳米颗粒(Rare-earth doped nanoparticles, RENPs)^[23]和金纳米团簇(Gold nanoclusters, AuNCs)^[24]等。其中,单壁碳纳米管、半导体量子点和金纳米团簇的 NIR-II 发光来源于尺寸相关的量子限域效应,而稀土纳米颗粒的 NIR-II

发光源于稀土离子组态内的f-f跃迁,不同的发光机理使纳米探针具有独特的NIR-II发光特性。

单壁碳纳米管(图3(a))是最早被报道的NIR-II活体成像材料,半导体型的SWCNTs具有合适的带隙,可以吸收NIR-I区光子产生800~2 000 nm的发射,其波长随手性、长径比可调^[21,25]。通过PEG修饰SWCNTs,可在NIR-II对小鼠活体及肿瘤血管成像^[21],以及小鼠腿部血管的动静脉区分、腿部动

脉缺血成像^[26],小鼠颅骨下的脑血管动态成像^[27]等。量子点同样是NIR-II造影剂的有力候选材料之一。量子点的量子产率较高,吸收截面大,吸收、发射波长随尺寸变化连续可调,且光稳定性较好。Ag的硫族化合物如 Ag_2S ^[28]、 Ag_2Se ^[29]、 Ag_2Te ^[30],以及具有更长发射波长的 PbS ^[31]、 $\text{PbS}@\text{CdS}$ ^[22](发射波长可达到1 800 nm,图3(b))量子点目前已被广泛用于NIR-II肿瘤、血管成像等研究^[12]。

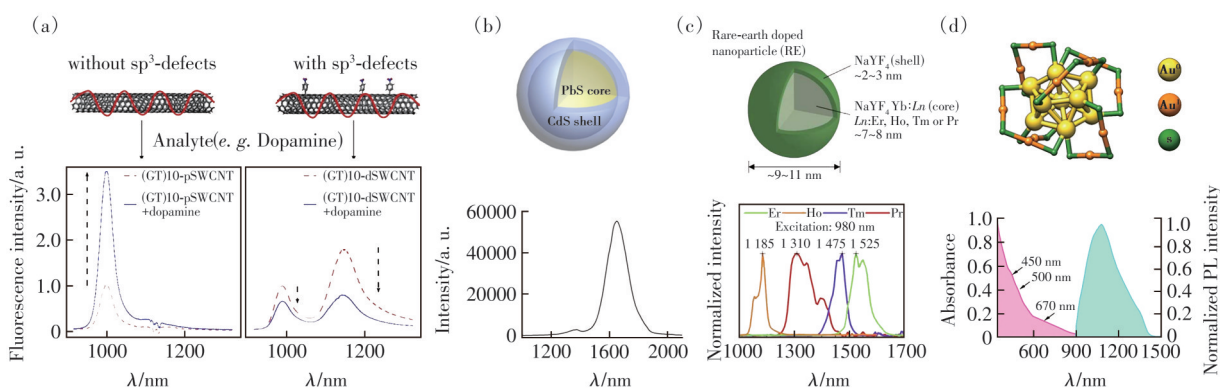


图3 代表性无机NIR-II发光探针。(a)单壁碳纳米管^[25];(b)量子点^[22];(c)稀土纳米颗粒^[23];(d)金纳米团簇^[24]

Fig.3 Representative inorganic NIR-II luminescent probes and their corresponding spectra^[25]. (a) Single-walled carbon nanotubes^[21]. (b) Quantum dots^[22]. (c) Rare-earth doped nanoparticles^[23]. (d) Gold nanoclusters^[24]

稀土纳米颗粒的发光来源于稀土离子的组态内f-f跃迁。得益于稀土离子丰富的4f能级,许多稀土离子在NIR-II区具有特征发射,发光范围可覆盖整个NIR-II波段(1 000~2 000 nm),其吸收、发射峰都较窄,发光具有较大的斯托克斯位移。f-f跃迁的另一个特点是具有微秒到毫秒以上的发光寿命,在时间门成像或寿命成像领域具有更大的发展空间。在 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Ln}$ 纳米颗粒中引入稀土发光中心,实现了980 nm激发下 Ho^{3+} (1 185 nm)、 Pr^{3+} (1 310 nm)、 Tm^{3+} (1 475 nm)和 Er^{3+} (1 525 nm)的近红外发射,并首次将其应用于活体生物组织中的血管和肿瘤诊断(图3(c))^[23]。最近,在 $\text{LiTmF}_4@\text{LiYF}_4$ 纳米颗粒中实现了 Tm^{3+} 在NIR-II b/c波段(1 600~2 100 nm)的发射,进一步提高了活体成像的穿透深度和分辨率^[32]。

相比于以上无机纳米探针,金纳米团簇具有原子级精确的结构,通常由金原子核心与外围配体组成(图3(d))^[24,33]。其尺寸通常介于1~3 nm之间,独特的结构和相对较小的尺寸使其兼具大尺寸纳米颗粒与小分子化合物的特性^[34],使其在保持无机纳米颗粒优异发光特性的同时可通过肾脏快速代谢。作为一种新型NIR-II发光材料,因其合成简单、毒性低、斯托克斯位移大、生物相容性

好和肾清除率高等特性,在生物成像与生物传感领域表现出巨大潜力^[35]。

2.2.2 有机近红外发光分子探针

相较于无机纳米探针,有机NIR-II荧光探针具有明确的化学结构、优异的生物相容性和代谢特性,可以通过结构模块设计实现响应性成像,在临床转化中具有更大潜力,已成为最具临床应用前景的分子影像工具之一^[36]。

根据分子骨架结构,已报道的用于NIR-II成像的有机小分子染料主要可分为花菁类染料及其衍生物、罗丹明类染料、BODIPY染料和基于供体-受体(D-A)结构的染料几大类^[37]。其中,花菁类染料、罗丹明及BODIPY均为经典的可见光区及NIR-I区荧光染料,通过扩展染料分子共轭体系、引入强给电子基团和杂原子取代等分子工程手段,可在经典染料的基础上将吸收和发射波长红移到NIR-II区,其发射峰拖尾甚至可延伸到NIR-II b区。在过去的十几年来中,已有大量的基于传统染料的NIR-II染料被报道,如JuloFlav7^[38-40]等。具有供体-受体(D-A)结构的荧光团是另一种在NIR-II区域发射的小分子染料,其典型代表CH1055(图4(a))是首个专为NIR-II荧光成像设计的有机分子^[14,41]。该荧光化合物具有给体-受

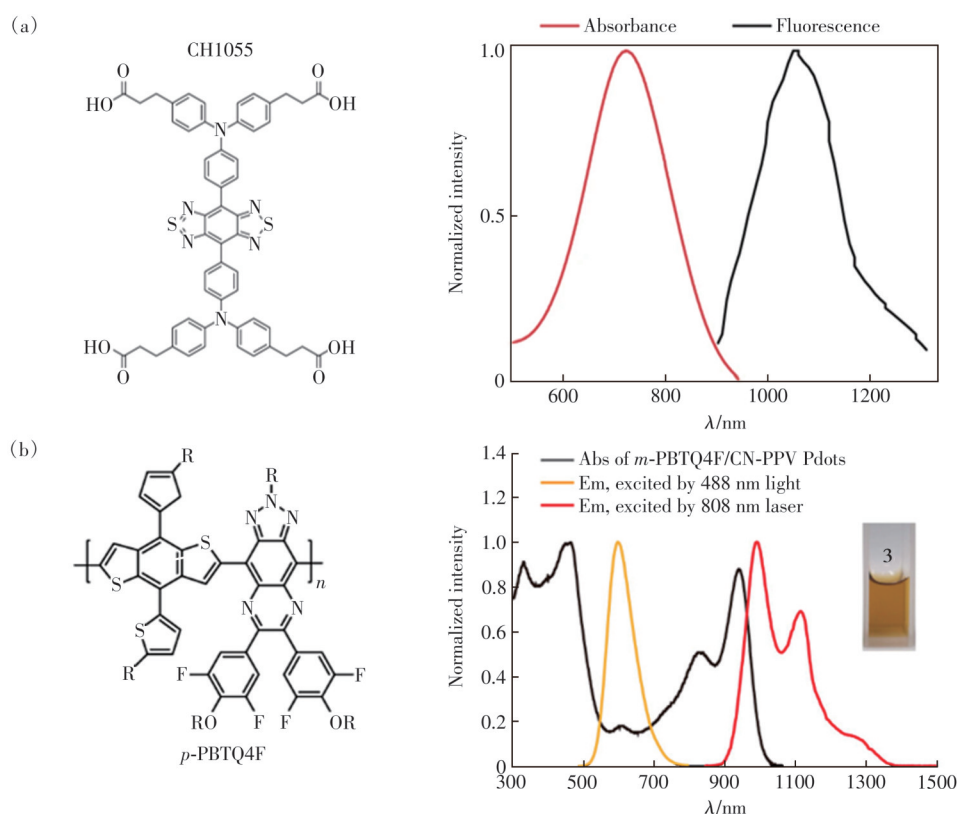


图 4 代表性有机 NIR-II 发光探针。(a)染料分子 CH1055^[14]; (b)有机半导体共轭聚合物^[44]

Fig.4 Representative organic NIR-II luminescent probes and their corresponding spectra. (a) Dye molecule CH1055^[14]. (b) Organic semiconducting conjugated polymer^[44]

体-给体(D-A-D)结构,通过引入聚乙二醇(PEG)修饰可获得水溶性的 CH1055-PEG,静脉注射后 24 h 内即可通过肾脏快速清除。

除游离小分子染料外,构筑近红外小分子染料的聚集体如 J-聚集体策略和聚集诱导发光策略也是调控小分子染料 NIR-II 发光的重要手段。如 FD-1080 J 聚集体的发光波长相比于 FD-1080 单体可红移约 300 nm^[42]。聚集诱导发光策略可以较好地规避 NIR-II 染料聚集时的荧光猝灭问题,基于该策略构筑的 TPE-BBT 表现出高达 10.4% 的绝对量子产率,这也是迄今为止报道的有机 NIR-II 探针中最高绝对量子产率^[43]。

除小分子染料外,通过合理匹配供体和受体交替共聚形成的有机半导体共轭聚合物(图 4(b))也是颇具潜力的 NIR-II 成像探针^[44]。共轭聚合物具有带隙小、易调控的特点,相比于传统荧光染料,具有宽吸收、窄发射、高亮度、高光稳定性和大的斯托克斯位移等优点,在生物成像、分子检测和诊疗一体化领域表现出广阔的应用前景。

上述两类 NIR-II 发光探针的发光性质各具特色(表 1),在用于生物成像时,应将实际需求与

探针特性结合,选择适宜的 NIR-II 发光探针。为满足高信噪比、低自发荧光、高分辨和高穿透深度的要求,应选择发射峰位于 1 300 nm 以上的 NIR-II b 和 NIR-II c 区的发光探针。目前,在有机 NIR-II 探针中,除少数分子探针(如 SiRos1700^[40])与分子聚集体^[42]之外,多数有机 NIR-II 发光探针的峰值发射小于 1 400 nm。与之相比,无机 NIR-II 探针(如 SWCNTs、QDs 和 RENPs)的发光波长更长,适于 NIR-II b、NIR-II c 区的活体成像研究,但还应注意规避 970 nm、1 200 nm、1 450 nm、1 900 nm 和 2 300 nm 以上水的吸收峰。除发光波长要求外,NIR-II 发光探针的亮度也是影响成像质量的重要因素。理想情况下,高亮度的发光探针应同时具备高的量子产率与大的吸收截面。然而,有机 NIR-II 发光探针虽吸收截面较大,但受 C—H、O—H 等化学键的振动影响^[45],其发光量子产率通常较低。无机 NIR-II 发光探针虽然量子产率相对较高,但如 RENPs 等探针吸收截面较小,吸收截面较大、量子产率较高的量子点是总体性能更优异的 NIR-II 成像探针。然而,在生物成像应用中,除发光特性外,探针的生物相容性及代谢能力

表 1 NIR-Ⅱ 发光探针的比较
Tab. 1 Comparison of NIR-Ⅱ luminescent probes

探针类型	优点	不足
无机发光探针	单壁碳纳米管 (SWCNTs) ^[21] 发射波长可调, 光稳定性好	量子产率低, 生物相容性较差, 清除效率低
	半导体量子点 (QDs) ^[28, 31] 发射波长可调, 量子产率高, 易表面修饰	生物安全差, 清除效率低
	稀土纳米颗粒 (RENPs) ^[23] 发射谱带窄, 斯托克斯位移大, 发射波长可调, 发光寿命长, 光稳定性好	量子产率低, 代谢缓慢
	金纳米簇 (Au NCs) ^[24] 斯托克斯位移大, 肾清除率高, 生物相容性好, 毒性低	发射波长短, 量子产率低
有机发光探针	染料 ^[38, 41] 摩尔消光系数高(>10 ⁴ L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹), 结构精准可控, 易代谢	光稳定性差, 量子产率较低, 斯托克斯位移小
	共轭聚合物 ^[44] 摩尔消光系数高(>10 ⁴ L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹), 发光亮度高, 斯托克斯位移大, 光稳定性和生物相容性较好	代谢缓慢, 合成复杂

等也是需要考虑的关键问题。研究者们希望得到具有高亲水性、可通过肾脏快速代谢的高生物安全性的探针。然而,除少数金纳米团簇^[24]和亲水有机小分子^[41]探针外,绝大部分无机 NIR-Ⅱ 纳米探针和有机 NIR-Ⅱ 探针均因尺寸效应和疏水性通过肝胆代谢,在动物体内代谢较为缓慢。同时,无机纳米探针中所含的重金属元素则引发了人们对于其生物安全性的担忧。为了提升探针的生物安全性、器官或病灶的靶向性等,研究者们开发了诸如配体交换^[46]、两亲分子包覆^[47]、多种聚合物涂层^[48]、胶束封装^[49]、亲水侧链^[50]以及点击化学结合^[51]等修饰方法,改善这两类探针的生物相容性,拓宽其应用领域。

3 近红外二区发光探针在生物成像中的应用

3.1 生物体解剖结构成像

NIR-Ⅱ 发光具有高组织穿透性和高活体成像分辨率,在对骨骼、胃肠道等深层组织和血管等精细结构的成像领域引发了研究者们广泛的研究兴趣。NaYF₄:7%Nd@NaYF₄ 纳米晶在 808 nm 激发下,通过 Nd³⁺在 1 064 nm 和 1 345 nm 处发射观察到,在无任何靶向分子修饰的情况下,该纳米颗粒会在骨骼内部聚集,为骨骼成像提供了新的思路和方法^[52]。利用 Pdots 在 1 100 nm 以上的发光,研究人员也观察到有机纳米材料亦具有类似的骨富集行为。同时,Pdots 易于通过修饰或编辑引入可见发光基团,通过共聚焦显微镜研究发现纳米颗粒积累在骨髓内部而不是骨骼硬质中^[53]。由于骨骼所

处位置较深,利用更长波长的 NIR-Ⅱ b 区发光可进一步对骨进行更高信噪比和分辨率的成像,如利用发光位于 1 530 nm 处的 NaYbF₄:Er³⁺,Ce³⁺@NaYF₄ 纳米晶成像对包括骨关节炎、类风湿性关节炎及骨折等骨疾病的骨骼形态及结构评估(图 5(a))^[54]。利用 NaYbF₄:Er³⁺,Ce³⁺,Zn²⁺@CaF₂ 纳米晶的 1 530 nm 发光,在光片显微镜下实现了小鼠全身的三维肠道成像,并对肠道炎症进行了诊断(图 5(b))^[55]。

与上述器官不同,血管结构精细、复杂,对于成像分辨率要求更高。目前临床常用的血管成像方法如 US、CT、MRI 等无法实现微小血管的高分辨成像,而结合 NIR-Ⅱ 发光探针的光学成像可实现较深层血管的成像,并依据成像了解血管的动态变化。具有 NIR-Ⅱ 发光的 Ag₂S 量子点静脉注射至小鼠体内,其前 15 s 发光图像可精确解析出小鼠心、肝、脾、肺和肾等深层组织和器官的血液循环情况(图 5(c))^[56-57]。为实现更高分辨率的血管成像,波长长于 1 300 nm 的 NIR-Ⅱ 探针受到了众多研究者的青睐。基于六方相 NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄ 在 1 530 nm 处的发射,可对小鼠脑部血管进行动态成像观察,并监测小鼠脑部动脉血液流速,每帧曝光时间仅需 20 ms(图 5(d))。由于所用的成像波长处于 NIR-Ⅱ b 区,血管成像信噪比可达 7.3^[47]。利用在 1 500 nm 以上 NIR-Ⅱ b 波段具有强荧光发射的 AIE(OTPA-BBT)纳米点,首次在灵长类动物狨猴模型中实现减薄颅骨的脑血管显微观测,成像深度超过 600 μm(图 5(e)),并创非人灵长类超高清晰度胃肠成像纪录^[58]。将 NIR-Ⅱ 光片成像技术与深度学习结合,利用 NaYbF₄:

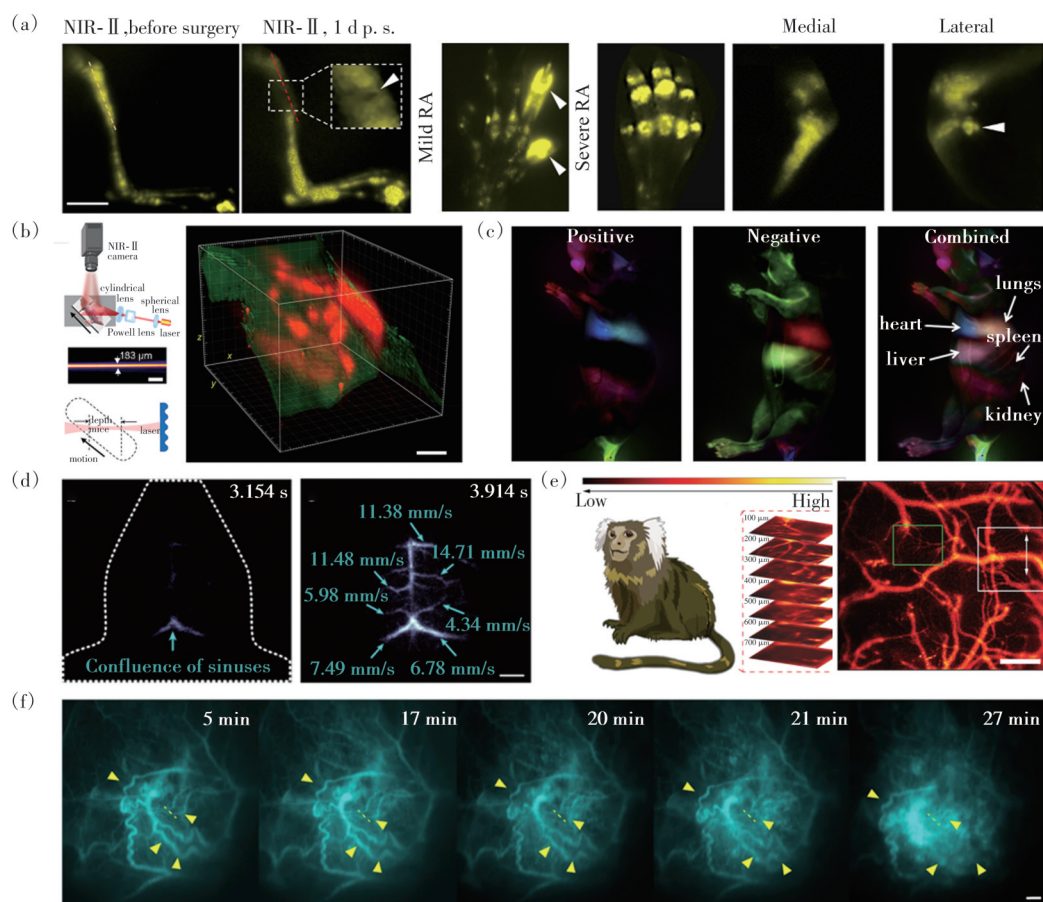


图5 NIR-Ⅱ 发光探针用于生物体解剖结构成像。(a)骨骼疾病诊断^[54];(b)小鼠肠道三维成像^[55];(c)小鼠全身器官血液循环分析^[57];(d)脑血管血液流速监测^[47];(e)狨猴脑血管显微观测^[58];(f)肿瘤血管破坏过程探测^[62]

Fig.5 NIR-Ⅱ luminescent probes for anatomical structure imaging *in vivo*. (a) Bone disease diagnosis^[54]. (b) 3D imaging of mouse intestine^[55]. (c) Systemic organ blood circulation analysis in mice^[57]. (d) Cerebral blood flow velocity monitoring^[47]. (e) Microscopic observation of cerebral vasculature of marmoset^[58]. (f) Detection of tumor vascular disruption process^[62]

Ce,Er,Zn@NaYF₄实现了小鼠全身血管的三维成像与分析^[59]。

NIR-Ⅱ 血管成像技术的高时空分辨率使其成为在疾病进程中实时监测血管变化的有力工具。利用具有蛋白逃逸功能的染料,避免了传统 NIR-Ⅱ 含氯花菁染料(如 IR-808)易被内源性白蛋白非特异性结合问题,实现了对血流灌注和血管生成过程的实时观察,为皮瓣血供和整体健康评估提供了关键信息^[60]。在肿瘤血管动态演变监测方面,利用 DSPE-PEG 包覆的 NaYF₄:5%Nd@NaGdF₄ 监测了肿瘤从发生、生长到坏死阶段肿瘤血管的变化,这对理解肿瘤生长过程具有重要价值^[61]。研究人员发现了一种新型电子受体,并基于此合成了具有高亮度和高稳定性的有机分子染料 FT-TQT,利用其在 1 300 nm 以上的发光拖尾,通过 NIR-Ⅱ 成像实现了微米级分辨率的实时动态血管监测,并成功观测到 CA4P 药物治疗后的肿瘤血

管破坏过程(图 5(f))^[62]。

以上结果均表明 NIR-Ⅱ 成像技术具有对较深层组织和血管进行非侵入性高分辨动态成像的能力,在对肠道、骨骼疾病进行诊断,以及血栓治疗、脑缺血再灌注、治疗过程中肿瘤血管变化等过程进行动态监测方面有应用潜力。

3.2 肿瘤诊断与术中导航

肿瘤是威胁人类健康的重大疾病,对肿瘤进行成像有助于识别肿瘤边缘,进行早期诊断或找到微小转移灶;在手术中进行肿瘤成像有助于更加彻底地切除癌变组织,降低肿瘤复发的可能性。在纳米药物中引入成像功能可以监测药物在肿瘤处富集程度,精准把握治疗时机。采用 NIR-Ⅱ 探针可以对肿瘤部位实现非侵入、非离子辐射的实时成像,更有利于手术指导。

肿瘤部位特有的高渗透长滞留(Enhanced permeability and retention, EPR)效应使 NIR-Ⅱ 纳

米探针被动富集在该区域,可基于此进行早期肿瘤和微小转移灶的诊断^[63]。利用 NaYF₄:40%Gd, 20%Yb,2%Er,5%Ce 纳米棒对小鼠腿部皮下肿瘤进行成像,其 1 500 nm 以上发射具有高穿透深度和弱的组织散射,成像中观察到小鼠背部约 3~4 mm 的微小转移灶^[64]。在纳米颗粒表面增加靶向修饰可提高肿瘤区域的富集效率,如通过 TRC105 修饰 Er³⁺ 掺杂的纳米晶^[65],通过其 1 530 nm 发光成像可观察到清晰的肿瘤边缘,指导肿瘤切除(图 6(a))。将大范围肿瘤切除后,少数细胞级别的残留组织处仍能观察到 Er³⁺ 的发光,在发光指导下将残留癌变组织彻底清除。利用纳米颗粒在正常组织和肿瘤组织代谢时间的差异,采用体内自组装策略,分步向小鼠体内注射稀土 NIR-II 发光颗粒,其上修饰的 DNA 单链使其在肿瘤部位形成大尺寸组装体,实现了高对比度的肿瘤-正常组织成像,成功检测到肿瘤多处腹膜转移并指导切除手术(图 6(b))^[66]。基于激发和发射不

同的有机 IR-FD 染料和 PbS/CdS 量子点,开发了 NIR-II 荧光的双靶向分子探针系统,通过特异性标记实现了对淋巴结转移癌细胞的双通道成像(图 6(c)),并指导手术切除直径<0.5 mm 的微转移淋巴结^[67]。最近,基于 DNA 框架的超亮近 NIR-II 荧光探针,通过将染料封装在 DNA 纳米结构的疏水空腔中,实现了可检测约 40 个肿瘤细胞的超高灵敏度和深层组织(~1 cm)成像,能对小至 53 μ m 的乳腺癌微转移灶进行识别^[68]。而在临床应用, NIR-II 发光指导的手术切除亦有优异表现,有机小分子具有确定的分子组成,相对更高的生物安全性和代谢速率,在临床转化方面相比无机纳米探针更具优势。在全球首例基于多光谱荧光成像(可见光、近红外一区和二区)导航的肝癌手术研究中,通过临床常用染料吲哚菁绿(ICG)在 NIR-II 区的发光拖尾,实现了肿瘤边界精准识别和微转移灶检出,为肝癌精准切除提供了有力工具^[69]。

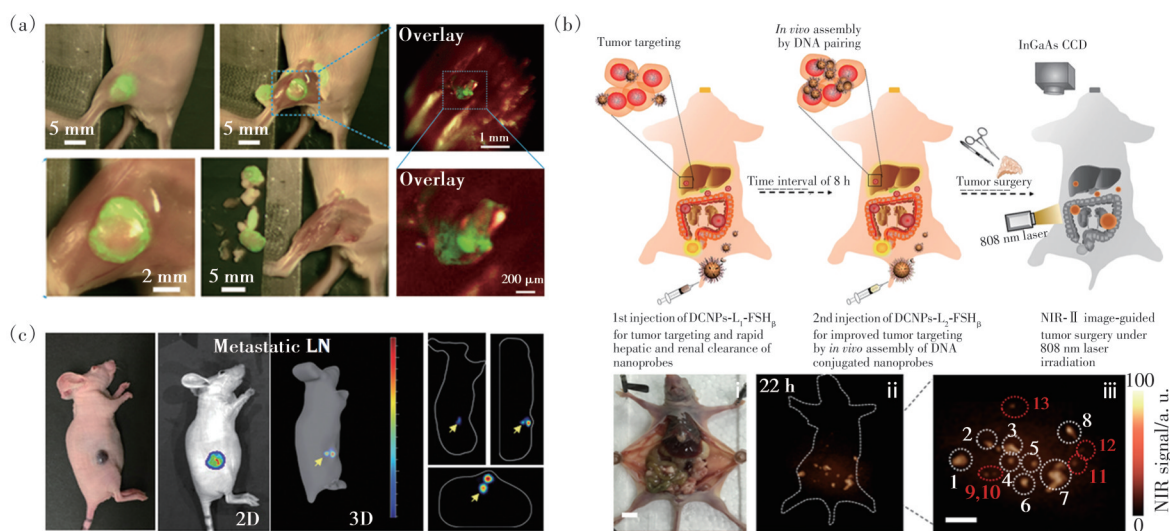


图6 NIR-II 发光探针用于肿瘤成像。(a)近红外光引导下对微小肿瘤的切除^[65];(b)自组装策略提高成像信噪比^[66];(c)前哨淋巴结转移检测^[67]

Fig.6 NIR-II luminescent probes for tumor imaging. (a) NIR light-guided resection of microtumors^[65]. (b) Self-assembly strategy for enhanced imaging signal-to-noise ratio^[66]. (c) Sentinel lymph node metastasis detection^[67]

3.3 活体内分子与细胞成像

随着对疾病相关生理机制研究的深入,分子成像技术因其能够在非干扰条件下观察细胞功能和分子过程的独特优势而备受关注。NIR-II 荧光成像凭借其优异的组织穿透能力和高时空分辨率,已成为在深层组织甚至活体中研究特定分子靶标和信号通路的重要工具。

在体外组织染色方面,采用 NIR-II 染料

IR-FGP 标记的 Erb (发射峰~1 050 nm) 和链霉素修饰的单壁碳纳米管(SWCNT-SA, 发射 1 500~1 700 nm) 作为 NIR-II 探针,配合商业化细胞核染料 Deep Red (发射 600~900 nm),建立了覆盖 800~1 700 nm 的三通道标记体系。通过免疫组化染色,成功实现了脑组织微血管、神经元和细胞核的同时标记和高分辨 NIR-II 成像(图 7(a))^[70]。在体内分子成像方面,利用抗 PD-L1 抗

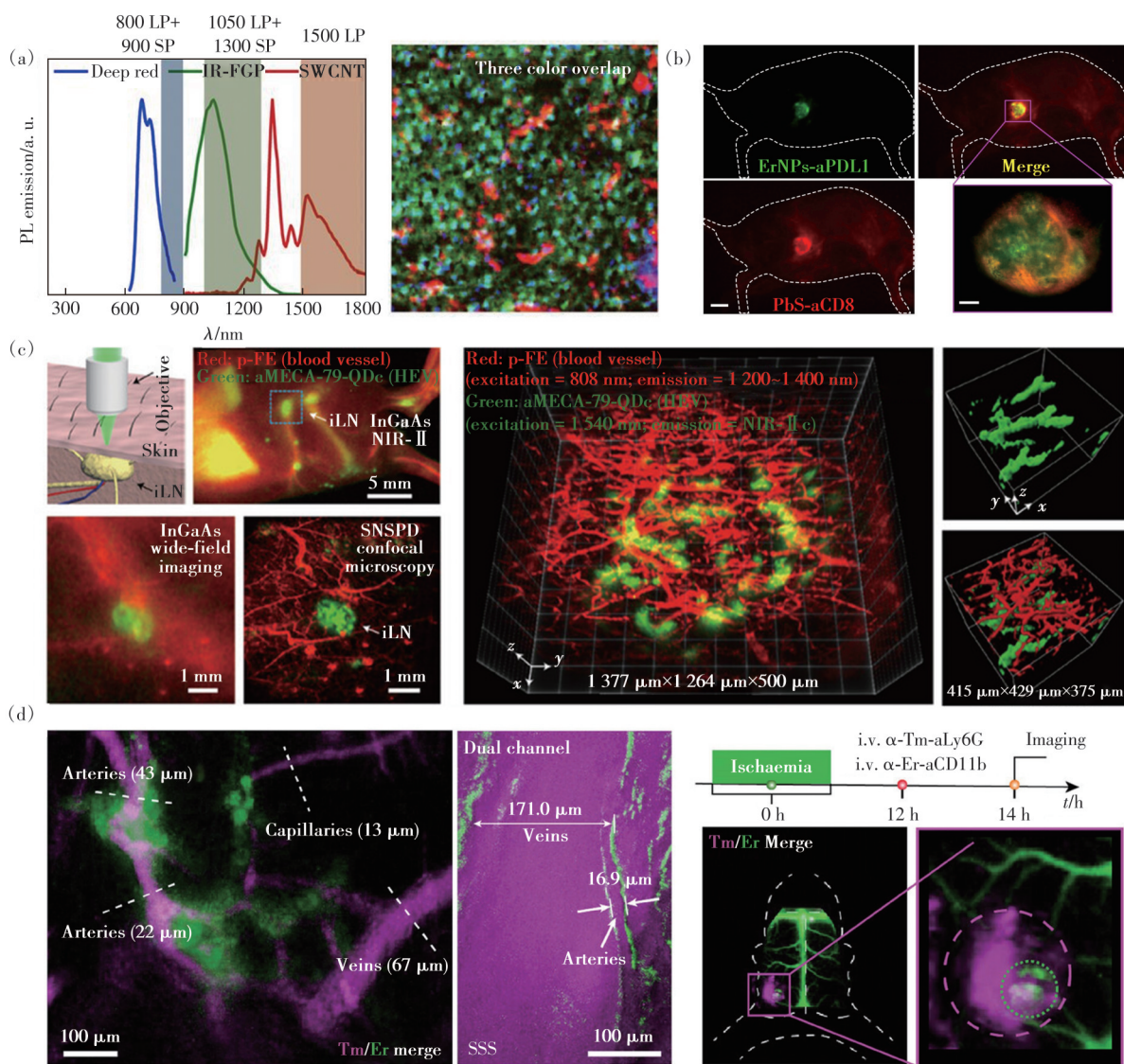


图7 NIR-II 发光探针用于分子与细胞成像。(a) NIR-II 脑切片染色^[72]; (b) 活体内 PD-L1 表达与 CD8+T 细胞^[72]; (c) CD169+巨噬细胞和 CD3+T 细胞的在体原位监测^[72]; (d) 活体内中性粒细胞成像^[74]

Fig.7 NIR-II luminescent probes for molecular and cellular imaging. (a) NIR-II brain slice staining^[72]. (b) *In vivo* PD-L1 expression and CD8+T cell imaging^[72]. (c) *In situ* monitoring of CD169+macrophages and CD3+T cells^[72]. (d) *In vivo* neutrophil imaging^[74]

体修饰的 ErNPs 与抗 CD8 抗体标记的 PbS QDs 寿命差异,在二者发光均位于 NIR-II b 区并保证良好的成像穿透性与分辨率的前提下,利用以上两种探针显著的寿命差异,通过双通道 NIR-II 寿命成像技术,揭示了免疫检查点阻断治疗中 PD-L1 表达与 CD8+T 细胞的异质性分布(图 7(b))^[71]。进一步结合 NIR-II 成像中 PD-L1 的肿瘤/正常组织比值和 CD8+T 细胞的肿瘤/脾脏分布比值,提出了对肿瘤细胞和免疫细胞进行在体无创生物分布评估的新方法,为预测免疫治疗响应提供了补充工具。将检测窗口红移至 NIR-II c 窗口后,使小鼠腹股沟淋巴结的非侵入性成像成为可能。

利用发射波长约 1 880 nm 的 PbS/CdS 量子点,实现了直径小至 6.6 μm 的高内皮微静脉、CD169+巨噬细胞和 CD3+T 细胞的在体原位监测(图 7(c))^[22,72]。

在炎症反应研究中, NIR-II 探针亦发挥了重要作用。利用发光分别位于 NIR-II c 和 NIR-II b 内的 α -Tm-aLy6G 结合血管显影探针 α -Er 纳米颗粒^[73-74],在活体水平上完整记录了中性粒细胞在急性炎症中的动态行为过程,包括血管壁黏附、爬行和外渗等关键步骤。进一步通过双探针标记对活化中性粒细胞的特异性进行示踪,在脑卒中模型中实时记录了损伤脑区的中性粒细胞浸润现象,

并观察到活化中性粒细胞特有的运动模式和通过血管外渗而拉长的形态变化(图7(d))。

以上研究展现了NIR-II成像技术在活体分子和细胞原位研究中的独特优势,为深入理解疾病机制和开发新型诊疗方法提供了强有力的技术支持。随着探针设计和成像技术的不断创新,NIR-II荧光成像将在生物医学研究领域发挥更加重要的作用。

3.4 响应性成像与活体微环境成像

生物标志物检测是疾病诊断过程中的重要一环,利用光学探针进行生物标志物检测主要通过发光信号的增强和减弱两种模式进行。以发光信号增强为例,发光材料一般先与能级匹配的受体分子复合,猝灭其发光;当遇到检测目标分子时,目标分子与受体分子结合,使得材料的发光恢复;根据材料发光强度的增强情况可对目标分子进行定量检测。发光信号减弱原理与之相反。

利用 $\text{NaCeF}_4:\text{Yb,Er}$ 纳米颗粒的1530 nm发光可实现对尿酸(UA)分子的高灵敏体外检测,检出限可低至25.6 nmol/L^[75]。在该体系中,UA在尿酸酶作用下生成的 H_2O_2 可将 $\text{NaCeF}_4:\text{Yb,Er}$ 中的 Ce^{3+} 氧化为 Ce^{4+} ,使 $\text{NaCeF}_4:\text{Yb,Er}$ 纳米颗粒1530 nm的发光减弱,据此检测定量UA分子。该纳米颗粒也被用于小鼠活体成像,包覆壳层后的 $\text{NaCeF}_4:\text{Yb,Er}@\text{NaCeF}_4$ 量子产率可达19.5%。相比于无机纳米探针,有机分子探针的环境响应设计更为灵活,基于半花菁骨架库,构建pH响应型NIR-II荧光探针可实现对结肠炎的早期诊断,诊断结果较临床结肠镜检查提前(3.2±0.50)天^[76]。而在活体原位检测中,由于发光强度会受到颗粒浓度、组织衰减的影响,仅具有单一发射峰的发光纳米材料无法实现准确的定量检测,比率型荧光探针应运而生。该类探针利用固定强度的发射作为参比,以提高活体内检测的准确性。利用表面修饰有Cy925染料的 $\text{NaYbF}_4:\text{Er}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}@\text{NaYF}_4:\text{Nd}$ 纳米晶,以 Er^{3+} 在1530 nm处发光为参比,通过测量925 nm和1530 nm强度比值,可对 ClO^- 进行定量检测^[77]。类似地,利用吸收竞争策略,由Cy7.5染料和 $\text{NaY}_{0.5}\text{Er}_{0.5}\text{F}_4@\text{NaYF}_4$ 纳米晶复合,通过比率成像对小鼠腿部淋巴炎症进行诊断^[78]。在有机分子探针中,通过分子结构设计,无需外加其他探针作为能量供体或受体,仅通过分子自身的响应即可实现不同发光峰比例的变化,研究者利用 H_2O_2 介导的螺

环化反应设计比率型分子荧光探针(LC-1250 NP),使用单一组分实现了对炎症性肠病中 H_2O_2 的动态监测^[79]。通过整合抗聚集aza-BODIPY供体和NIR-II b发射铈配合物EB766受体,量化了实体瘤内的pH变化,实现了对肿瘤微环境中纳米颗粒内吞动力学的实时监测(图8(a))^[80]。

除了上述分子响应型纳米探针,利用血红蛋白对不同波长的光吸收差异,以 $\text{NaErF}_4@\text{NaYF}_4$ 纳米晶的发光实现了无创氧合血红蛋白饱和度(sO_2)成像(图8(b))^[81-82]。结果显示,探针能以33 Hz高帧率实时动态监测肿瘤血管 sO_2 水平,成功实现了完整头皮/颅骨下脑血管的动静脉分辨及肿瘤代谢微环境评估。通过双通道NIR-II b成像同步监测了肿瘤血管 sO_2 和PD-L1表达,成功预测了免疫治疗响应,为肿瘤免疫治疗精准筛选提供了新型无创分子影像工具。

3.5 结合近红外二区发光的多功能诊疗平台

除用于成像外,通过结构设计或材料复合可得到基于NIR-II发光材料的诊疗一体化纳米平台。目前,基于光触发的治疗模式主要有光动力治疗、光热治疗等。其中,光动力治疗是利用光照下光敏剂(Photosensitizer, PS)和三线态氧($^3\text{O}_2$)或生物底物反应生成的活性氧物种(Reactive oxygen species, ROS)诱导肿瘤细胞死亡^[83],而光热治疗则是利用光热剂(Photothermal agent, PTA)产热诱导细胞死亡^[84]。本课题组开发了一种基于稀土纳米颗粒($\text{Er}@\text{Nd}$ NPs)的多功能诊疗平台,通过808 nm激光激发可同时产生可见光和近红外成像信号,以实现光动力治疗和肿瘤实时监测,高效抑制了肿瘤转移(原发灶抑制率67%,肺/肝转移灶减少82%)^[85]。基于此设计了 Er^{3+} 掺杂的 $\text{NaLnF}_4@\text{MOF}$ 核壳纳米颗粒,通过980 nm激发同时产生上转换发光和NIR-II发射,分别用于卟啉MOF介导的光动力治疗和肿瘤精确定位(图9(a))^[86-87]。 $\text{NaLnF}_4@\text{MOF}$ 介导的光动力治疗联合 α -PD-L1免疫治疗能够显著增强抗肿瘤效果,使原发和远端肿瘤抑制率达95%。在其他疾病的诊疗中,NIR-II发光也发挥了不可替代的作用。基于3D打印 $\text{ErBG}@\text{IR808}$ 支架和LZ-1105 NIR-II分子探针,实现了小鼠颅骨修复过程中早期炎症、血管生成和植入物降解的原位监测(图9(b))^[88],这是常规的骨支架所无法完成的。同时,功能性生物活性玻璃支架还具有优异的血管生成和成骨活性,为骨组织工程提

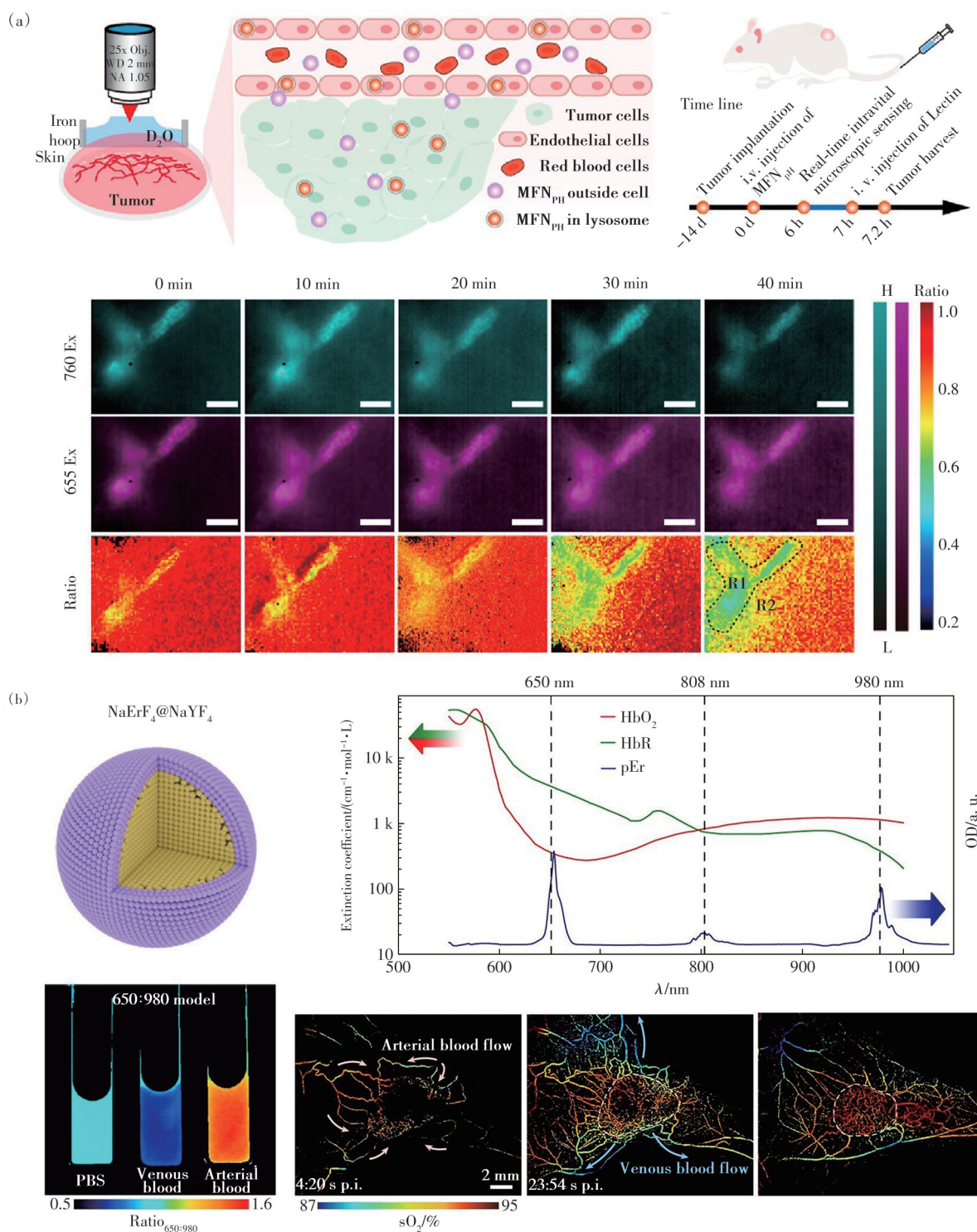


图 8 NIR- II 发光探针用于响应性与活体内微环境成像。(a)肿瘤微环境监测^[80];(b)肿瘤血管 sO_2 水平监测^[82]

Fig.8 NIR- II luminescent probes for responsive imaging and *in vivo* microenvironment imaging. (a) Tumor microenvironment monitoring^[80]. (b) Tumor vascular sO_2 level monitoring^[82]

供了新型诊疗一体化工具。在肺部疾病的诊疗方面,研究者将 AIE 光热剂封装至 PLGA 聚合物核中,通过结核分枝杆菌刺激的巨噬细胞膜包覆,实现了对结核肉芽肿和内部结核分枝杆菌的同时靶向(图 9(c))^[89-90]。利用该纳米颗粒能够对结核小

鼠肺部肉芽肿实现高分辨率 NIR- II b 原位成像,分辨率显著高于临床 CT,并在 1 064 nm 激光照射下产生光热效应,有效清除靶向结核分枝杆菌并减轻肺部病理损伤和过度炎症,疗效优于一线抗生素联合治疗。

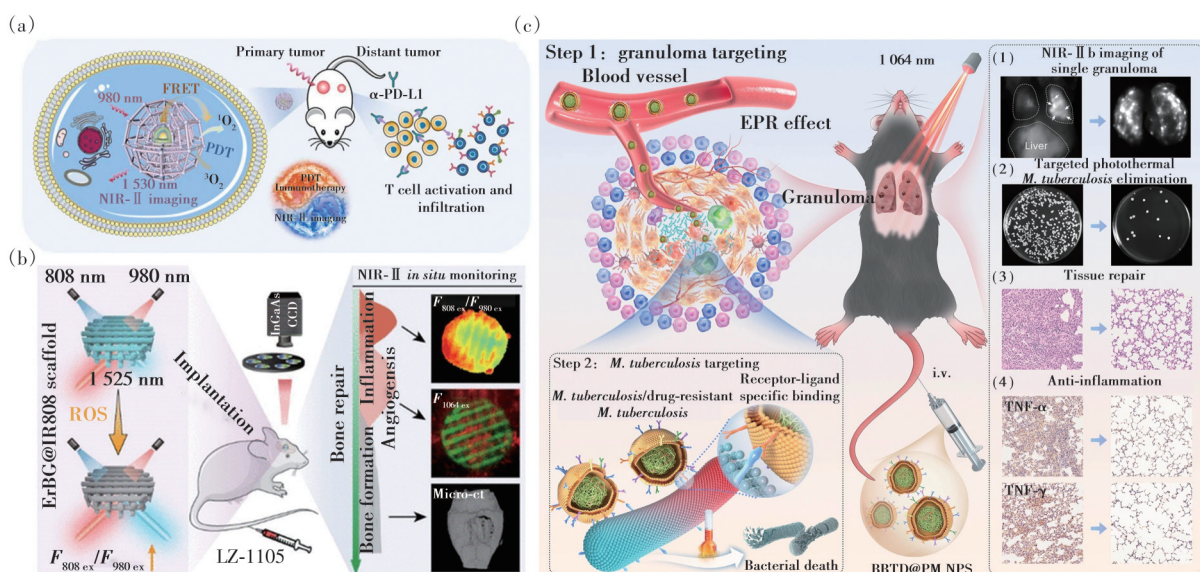


图9 基于 NIR-II 探针的诊疗一体化平台。(a) NaLnF₄@MOF 用于肿瘤光动力治疗^[87]; (b) ErBG@IR808 支架结合 LZ-1105 NIR-II 分子探针用于骨修复^[88]; (c) TPE-BT-BBTD 光热剂用于光热治疗结核病^[89]

Fig.9 Theranostic platforms constructed with NIR-II probes. (a) NaLnF₄@MOF for photodynamic therapy of tumors^[87]. (b) ErBG@IR808 scaffold integrated with LZ-1105 NIR-II molecular probe for bone repair^[88]. (c) TPE-BT-BBTD photothermal agent for photothermal therapy of tuberculosis^[89]

4 总结与展望

近红外二区(NIR-II)发光材料凭借其独特的光学特性,在生物医学成像领域展现出诱人的应用潜力,为高分辨、高穿透深度的活体动态观测提供了基础。目前,研究者已开发出包括无机纳米探针(如量子点^[53,65]、稀土纳米颗粒等)和有机探针(如D-A-D结构染料、花菁类衍生物等)在内的多种NIR-II造影剂。这些材料在生物医学领域的应用已突破传统解剖结构成像的局限,成功应用于微血管网络重构、肿瘤微环境动态示踪及术中精准导航等领域。特别是在分子与细胞水平研究中,NIR-II成像能够实时捕捉免疫细胞迁移和演变等动态过程,为解析疾病机制提供了全新视角。此外,基于响应性探针的功能成像技术进一步拓展了其在血氧监测、疾病诊断等领域应用的边界。随着材料设计与成像系统的协同创新,NIR-II发光材料正逐步向诊疗一体化平台发展,为精准医学提供了重要的技术支撑。

尽管 NIR-II 成像在多种领域展现出巨大潜

力,然而,特异性、稳定性的 NIR-II 探针开发,以及高灵敏度的检测器研制和成像系统设计仍是该领域面临的重要挑战。面对更加复杂的生物系统,需要更具特异性、稳定性的 NIR-II 探针以实现精准、可靠的 NIR-II 成像,通过在发光稳定性好的探针上修饰生物标志物可长时、动态跟踪或监测生理过程。同时,发射波长超过 1 700 nm 的 NIR-II 探针也面临更高灵敏度和更宽光谱响应范围的检测器的限制。传统的 InGaAs 检测器无法满足,亟需具有更长截止波长的 HgCdTe^[91]、InSb^[92] 和超导纳米线^[12]等新型检测器的商业化发展。现有 NIR-II 成像设备体积较大,也面临与临床现有操作系统的融合。未来,随着探针设计、成像技术及临床前评估的协同创新,NIR-II 荧光成像有望为精准医学提供更强大的技术支撑,在科研与医疗领域发挥重要作用。

本文专家审稿意见及作者回复内容的下载地址:
<http://cjl.lightpublishing.cn/thesisDetails#10.37188/CJL.20250130>

参考文献:

- [1] CAI Y, WEI Z, SONG C H, et al. Optical nano-agents in the second near-infrared window for biomedical applications [J]. Chem. Soc. Rev., 2019, 48(1): 22-37.

- [2] STAUB D, PARTOVI S, IMFELD S, *et al.* Novel applications of contrast-enhanced ultrasound imaging in vascular medicine [J]. *Vasa*, 2013, 42(1): 17-31.
- [3] KLINK A, HEYNENS J, HERRANZ B, *et al.* *In vivo* characterization of a new abdominal aortic aneurysm mouse model with conventional and molecular magnetic resonance imaging [J]. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2011, 58(24): 2522-2530.
- [4] LEE N, CHOIS H, HYEON T. Nano-sized CT contrast agents [J]. *Adv. Mater.*, 2013, 25(19): 2641-2660.
- [5] SEO J W, MAHAKIAN L M, TAM S, *et al.* The pharmacokinetics of Zr-89 labeled liposomes over extended periods in a murine tumor model [J]. *Nucl. Med. Biol.*, 2015, 42(2): 155-163.
- [6] LAMICHHANE N, DEWKAR G K, SUNDARESAN G, *et al.* [^{18}F]-fluorinated carboplatin and [^{111}In]-liposome for image-guided drug delivery [J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, 18(5): 1079.
- [7] REPENKO T, FOKONG S, DE LAPORTE L, *et al.* Water-soluble dopamine-based polymers for photoacoustic imaging [J]. *Chem. Commun.*, 2015, 51(28): 6084-6087.
- [8] HE S Q, SONG J, QU J L, *et al.* Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores: design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2018, 47(12): 4258-4278.
- [9] HONG G S, ANTARIS A L, DAI H J. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging [J]. *Nat. Biomed. Eng.*, 2017, 1(1): 0010.
- [10] TANG Y F, PEI F, LU X M, *et al.* Recent advances on activatable NIR- II fluorescence probes for biomedical imaging [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2019, 7(21): 1900917.
- [11] SONG F, ZHANG P, WU H J, *et al.* Advances of fluorescence molecular imaging: NIR- II window, probes, and tomography [J]. *Laser Photonics Rev.*, 2025, 19(10): 2400275.
- [12] WANG F F, REN F Q, MA Z R, *et al.* *In vivo* non-invasive confocal fluorescence imaging beyond 1 700 nm using superconducting nanowire single-photon detectors [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2022, 17(6): 653-660.
- [13] WANG F F, ZHONG Y T, BRUNS O, *et al.* *In vivo* NIR- II fluorescence imaging for biology and medicine [J]. *Nat. Photonics*, 2024, 18(6): 535-547.
- [14] MA K M, JIANG Q Y, YANG Y, *et al.* Recent advances of versatile fluorophores for multifunctional biomedical imaging in the NIR- II region [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2025, 13(1): 15-36.
- [15] FRANGIONI J V. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging [J]. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, 7(5): 626-634.
- [16] SMITH A M, MANCINI M C, NIE S M. Second window for *in vivo* imaging [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2009, 4(11): 710-711.
- [17] DIAO S, HONG G S, ANTARIS A L, *et al.* Biological imaging without autofluorescence in the second near-infrared region [J]. *Nano Res.*, 2015, 8(9): 3027-3034.
- [18] DIAO S, BLACKBURN J L, HONG G S, *et al.* Fluorescence imaging *in vivo* at wavelengths beyond 1 500 nm [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, 54(49): 14758-14762.
- [19] XU R, CAO H Q, YANG Y C, *et al.* Tm^{3+} -based downshifting nanoprobes with enhanced luminescence at 1 680 nm for *in vivo* vascular growth monitoring [J]. *ACS Nano*, 2024, 18(51): 35039-35051.
- [20] KOBAYASHI H, OGAWA M, ALFORD R, *et al.* New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging [J]. *Chem. Rev.*, 2010, 110(5): 2620-2640.
- [21] WELSHER K, LIU Z, SHERLOCK S P, *et al.* A route to brightly fluorescent carbon nanotubes for near-infrared imaging in mice [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2009, 4(11): 773-780.
- [22] MA Z R, ZHANG M X, YUE J Y, *et al.* Near-infrared II b fluorescence imaging of vascular regeneration with dynamic tissue perfusion measurement and high spatial resolution [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, 28(36): 1803417.
- [23] NACZYNSKI D J, TAN M C, ZEVON M, *et al.* Rare-earth-doped biological composites as *in vivo* shortwave infrared reporters [J]. *Nat. Commun.*, 2013, 4(1): 2199.
- [24] BAGHDASARYAN A, WANG F F, REN F Q, *et al.* Phosphorylcholine-conjugated gold-molecular clusters improve signal for lymph node NIR- II fluorescence imaging in preclinical cancer models [J]. *Nat. Commun.*, 2022, 13(1): 5613.
- [25] ACKERMANN J, METTERNICH J T, HERBERTZ S, *et al.* Biosensing with fluorescent carbon nanotubes [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61(18): e202112372.
- [26] HONG G S, LEE J C, ROBINSON J T, *et al.* Multifunctional *in vivo* vascular imaging using near-infrared II fluorescence [J]. *Nat. Med.*, 2012, 18(12): 1841-1846.

- [27] HONG G S, DIAO S, CHANG J L, *et al.* Through-skull fluorescence imaging of the brain in a new near-infrared window [J]. *Nat. Photonics*, 2014, 8(9): 723-730.
- [28] HONG G S, ROBINSON J T, ZHANG Y J, *et al.* *In vivo* fluorescence imaging with Ag₂S quantum dots in the second near-infrared region [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, 51(39): 9818-9821.
- [29] HAO X X, LI C Y, ZHANG Y J, *et al.* Programmable chemotherapy and immunotherapy against breast cancer guided by multiplexed fluorescence imaging in the second near-infrared window [J]. *Adv. Mater.*, 2018, 30(51): 1804437.
- [30] ZHANG J J, LIN Y, ZHOU H, *et al.* Cell membrane-camouflaged NIR-II fluorescent Ag₂Te quantum dots-based nano-bioprobes for enhanced *in vivo* homotypic tumor imaging [J]. *Adv. Healthc. Mat.*, 2019, 8(14): 1900341.
- [31] ZHU S J, HERRAIZ S, YUE J Y, *et al.* 3D NIR-II molecular imaging distinguishes targeted organs with high-performance NIR-II bioconjugates [J]. *Adv. Mater.*, 2018, 30(13): 1705799.
- [32] CHANG Y L, CHEN H R, XIE X Y, *et al.* Bright Tm³⁺-based downshifting luminescence nanoprobe operating around 1 800 nm for NIR-II b and c bioimaging [J]. *Nat. Commun.*, 2023, 14(1): 1049.
- [33] ZHAO H X, XIAO H, LIU Y, *et al.* Lanthanide-doped rare earth nanoparticles for near-infrared-II imaging and cancer therapy [J]. *BMEMat*, 2023, 1(3): e12032.
- [34] QIAN J, YANG Z C, LYU J, *et al.* Molecular interactions in atomically precise metal nanoclusters [J]. *Prec. Chem.*, 2024, 2(10): 495-517.
- [35] LI S H, WEI J, YAO Q F, *et al.* Emerging ultras-small luminescent nanoprobe for *in vivo* bioimaging [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2023, 52(5): 1672-1696.
- [36] DING F, ZHAN Y B, LU X J, *et al.* Recent advances in near-infrared-II fluorophores for multifunctional biomedical imaging [J]. *Chem. Sci.*, 2018, 9(19): 4370-4380.
- [37] SU Y B, YU B, WANG S, *et al.* NIR-II bioimaging of small organic molecule [J]. *Biomaterials*, 2021, 271: 120717.
- [38] COSCO E D, SPEARMAN A L, RAMAKRISHNAN S, *et al.* Shortwave infrared polymethine fluorophores matched to excitation lasers enable non-invasive, multicolour *in vivo* imaging in real time [J]. *Nat. Chem.*, 2020, 12(12): 1123-1130.
- [39] BANDI V G, LUCIANO M P, SACCOMANO M, *et al.* Targeted multicolor *in vivo* imaging over 1 000 nm enabled by non-amethine cyanines [J]. *Nat. Methods*, 2022, 19(3): 353-358.
- [40] MEADOR W E, LIN E Y, LIM I, *et al.* Silicon-RosIndolizine fluorophores with shortwave infrared absorption and emission profiles enable *in vivo* fluorescence imaging [J]. *Nat. Chem.*, 2024, 16(6): 970-978.
- [41] ANTARIS A L, CHEN H, CHENG K, *et al.* A small-molecule dye for NIR-II imaging [J]. *Nat. Mater.*, 2016, 15(2): 235-242.
- [42] SUN C X, LI B H, ZHAO M Y, *et al.* J-Aggregates of cyanine dye for NIR-II *in vivo* dynamic vascular imaging beyond 1 500 nm [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141(49): 19221-19225.
- [43] SHEN H C, SUN F Y, ZHU X Y, *et al.* Rational design of NIR-II AIEgens with ultrahigh quantum yields for photo- and chemiluminescence imaging [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2022, 144(33): 15391-15402.
- [44] CHEN D D, QI W Z, LIU Y, *et al.* Near-infrared-II semiconducting polymer dots: chain packing modulation and high-contrast vascular imaging in deep tissues [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(17): 17082-17094.
- [45] WEI Y C, WANG S F, HU Y, *et al.* Overcoming the energy gap law in near-infrared OLEDs by exciton-vibration decoupling [J]. *Nat. Photonics*, 2020, 14(9): 570-577.
- [46] DONG A G, YE X C, CHEN J, *et al.* A generalized ligand-exchange strategy enabling sequential surface functionalization of colloidal nanocrystals [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133(4): 998-1006.
- [47] ZHONG Y T, MA Z R, ZHU S J, *et al.* Boosting the down-shifting luminescence of rare-earth nanocrystals for biological imaging beyond 1 500 nm [J]. *Nat. Commun.*, 2017, 8(1): 737.
- [48] MA Z R, WANG F F, ZHONG Y T, *et al.* Cross-link-functionalized nanoparticles for rapid excretion in nanotheranostic applications [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59(46): 20552-20560.
- [49] LIU C C, WANG X Y, ZHU X F, *et al.* 3,4-Ethylenedithio thiophene donor for NIR-II fluorophores with improved quantum yields [J]. *Mater. Chem. Front.*, 2023, 7(12): 2419-2425.
- [50] MA H L, LIU C C, HU Z B, *et al.* Propylenedioxy thiophene donor to achieve NIR-II molecular fluorophores with enhanced brightness [J]. *Chem. Mater.*, 2020, 32(5): 2061-2069.

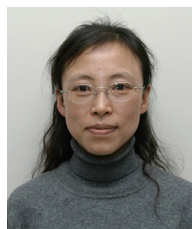
- [51] LUO Z C, HU D H, GAO D Y, *et al.* High-specificity *in vivo* tumor imaging using bioorthogonal NIR- II b nanoparticles [J]. *Adv. Mater.* , 2021, 33(49): 2102950.
- [52] HE S Q, CHEN S, LI D F, *et al.* High affinity to skeleton rare earth doped nanoparticles for near-infrared II imaging [J]. *Nano Lett.* , 2019, 19(5): 2985-2992.
- [53] CHEN D D, LIU Y, ZHANG Z, *et al.* NIR- II fluorescence imaging reveals bone marrow retention of small polymer nanoparticles [J]. *Nano Lett.* , 2021, 21(1): 798-805.
- [54] MI C, ZHANG X, YANG C Y, *et al.* Bone disease imaging through the near-infrared- II window [J]. *Nat. Commun.* , 2023, 14(1): 6287.
- [55] MI C, GUAN M, ZHANG X, *et al.* High spatial and temporal resolution NIR- II b gastrointestinal imaging in mice [J]. *Nano Lett.* , 2022, 22(7): 2793-2800.
- [56] LI C Y, ZHANG Y J, WANG M, *et al.* *In vivo* real-time visualization of tissue blood flow and angiogenesis using Ag₂S quantum dots in the NIR- II window [J]. *Biomaterials* , 2014, 35(1): 393-400.
- [57] XU G X, ZENG S W, ZHANG B T, *et al.* New generation cadmium-free quantum dots for biophotonics and nanomedicine [J]. *Chem. Rev.* , 2016, 116(19): 12234-12327.
- [58] FENG Z, BAI S Y, QI J, *et al.* Biologically excretable aggregation-induced emission dots for visualizing through the mar-mosets intravitaly: horizons in future clinical nanomedicine [J]. *Adv. Mater.* , 2021, 33(17): 2008123.
- [59] WU S T, YANG Z C, MA C G, *et al.* Deep learning enhanced NIR- II volumetric imaging of whole mice vasculature [J]. *Opto-Electronic Adv.* , 2023, 6(4): 220105.
- [60] DU Y J, XU J J, ZHENG X, *et al.* NIR- II protein-escaping dyes enable high-contrast and long-term prognosis evaluation of flap transplantation [J]. *Adv. Mater.* , 2024, 36(14): 2311515.
- [61] REN F, DING L H, LIU H H, *et al.* Ultra-small nanocluster mediated synthesis of Nd³⁺-doped core-shell nanocrystals with emission in the second near-infrared window for multimodal imaging of tumor vasculature [J]. *Biomaterials* , 2018, 175: 30-43.
- [62] JI A Y, LOU H Y, QU C R, *et al.* Acceptor engineering for NIR- II dyes with high photochemical and biomedical performance [J]. *Nat. Commun.* , 2022, 13(1): 3815.
- [63] XUE Z L, ZENG S J, HAO J H. Non-invasive through-skull brain vascular imaging and small tumor diagnosis based on NIR- II emissive lanthanide nanoprobe beyond 1 500 nm [J]. *Biomaterials* , 2018, 171: 153-163.
- [64] LI Y B, ZENG S J, HAO J H. Non-invasive optical guided tumor metastasis/vessel imaging by using lanthanide nano-probe with enhanced down-shifting emission beyond 1 500 nm [J]. *ACS Nano* , 2019, 13(1): 248-259.
- [65] WANG F F, QU L Q, REN F Q, *et al.* High-precision tumor resection down to few-cell level guided by NIR- II b molecular fluorescence imaging [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 2022, 119(15): e2123111119.
- [66] WANG P Y, FAN Y, LU L F, *et al.* NIR- II nanoprobe *in-vivo* assembly to improve image-guided surgery for metastatic ovarian cancer [J]. *Nat. Commun.* , 2018, 9(1): 2898.
- [67] TIAN R, MA H L, ZHU S J, *et al.* Multiplexed NIR- II probes for lymph node-invaded cancer detection and imaging-guided surgery [J]. *Adv. Mater.* , 2020, 32(11): 1907365.
- [68] LIU X, SHI B, GAO Y, *et al.* Ultrabright near-infrared fluorescent DNA frameworks for near-single-cell cancer imaging [J]. *Nat. Photonics* , 2025, 19(1): 79-88.
- [69] HU Z H, FANG C, LI B, *et al.* First-in-human liver-tumour surgery guided by multispectral fluorescence imaging in the visible and near-infrared-I/II windows [J]. *Nat. Biomed. Eng.* , 2019, 4(3): 259-271.
- [70] ZHU S J, YANG Q L, ANTARIS A L, *et al.* Molecular imaging of biological systems with a clickable dye in the broad 800- to 1 700-nm near-infrared window [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 2017, 114(5): 962-967.
- [71] ZHONG Y T, MA Z R, WANG F F, *et al.* *In vivo* molecular imaging for immunotherapy using ultra-bright near-infrared-II b rare-earth nanoparticles [J]. *Nat. Biotechnol.* , 2019, 37(11): 1322-1331.
- [72] FAN F, ZENG K Y, ZHU Y Y, *et al.* Second near-infrared window fluorescence materials for *in vivo* dynamic multiplexed imaging [J]. *Adv. Funct. Mater.* , 2025, 35: 2422693.
- [73] YANG Y W, CHEN Y, PEI P, *et al.* Fluorescence-amplified nanocrystals in the second near-infrared window for *in vivo* real-time dynamic multiplexed imaging [J]. *Nat. Nanotechnol.* , 2023, 18(10): 1195-1204.
- [74] WU J X, CHEN Z H, XIE Y, *et al.* Advances in lanthanide-based NIR- II b probes for *in vivo* biomedical imaging [J].

- Small Methods*, 2025, 9(5): 2401462.
- [75] LEI X L, LI R F, TU D T, *et al.* Intense near-infrared- II luminescence from NaCeF₄:Er/Yb nanoprobes for *in vitro* bioassay and *in vivo* bioimaging [J]. *Chem. Sci.*, 2018, 9(20): 4682-4688.
- [76] LIU Y, DIAO S C, RUAN B K, *et al.* Molecular engineering of activatable NIR-II hemicyanine reporters for early diagnosis and prognostic assessment of inflammatory bowel disease [J]. *ACS Nano*, 2024, 18(11): 8437-8451.
- [77] CAO C, ZHOU X B, XUE M, *et al.* Dual near-infrared-emissive luminescent nanoprobes for ratiometric luminescent monitoring of ClO⁻ in living organisms [J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, 11(17): 15298-15305.
- [78] WANG S F, LIU L, FAN Y, *et al.* *In vivo* high-resolution ratiometric fluorescence imaging of inflammation using NIR- II nanoprobes with 1 550 nm emission [J]. *Nano Lett.*, 2019, 19(4): 2418-2427.
- [79] LI T W, CAO K L, YANG X H, *et al.* An oral ratiometric NIR- II fluorescent probe for reliable monitoring of gastrointestinal diseases *in vivo* [J]. *Biomaterials*, 2023, 293: 121956.
- [80] WANG T, CHEN Y, HE Z Y, *et al.* Molecular-based FRET nanosensor with dynamic ratiometric NIR- II b fluorescence for real-time *in vivo* imaging and sensing [J]. *Nano Lett.*, 2023, 23(10): 4548-4556.
- [81] FANG Z G, WANG C L, YANG J R, *et al.* Oxyhaemoglobin saturation NIR- II b imaging for assessing cancer metabolism and predicting the response to immunotherapy [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2024, 19(1): 124-130.
- [82] ZHANG P S, LI Y, LI X Q, *et al.* Shedding light on vascular imaging: the revolutionary role of nanotechnology [J]. *J. Nanobiotechnol.*, 2024, 22(1): 757.
- [83] WANG X, PENG J L, MENG C, *et al.* Recent advances for enhanced photodynamic therapy: from new mechanisms to innovative strategies [J]. *Chem. Sci.*, 2024, 15(31): 12234-12257.
- [84] LIU S, PAN X T, LIU H Y. Two-dimensional nanomaterials for photothermal therapy [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59(15): 5890-5900.
- [85] LI Y, TANG J L, PAN D X, *et al.* A versatile imaging and therapeutic platform based on dual-band luminescent lanthanide nanoparticles toward tumor metastasis inhibition [J]. *ACS Nano*, 2016, 10(2): 2766-2773.
- [86] WANG Q X, YANG Y F, YANG X F, *et al.* Upconverted/downshifted NaLnF₄ and metal-organic framework heterostructures boosting NIR- II imaging-guided photodynamic immunotherapy toward tumors [J]. *Nano Today*, 2022, 43: 101439.
- [87] GONG L S, CHEN L X, LIN Q J, *et al.* Nanoscale metal-organic frameworks as a photoluminescent platform for bioimaging and biosensing applications [J]. *Small*, 2024, 20(45): 2402641.
- [88] PEI P, HU H X, CHEN Y, *et al.* NIR- II ratiometric lanthanide-dye hybrid nanoprobes doped bioscaffolds for *in situ* bone repair monitoring [J]. *Nano Lett.*, 2022, 22(2): 783-791.
- [89] WU K, YANG R W, SONG X F, *et al.* Recent advances in NIR- II molecular aggregates and applications in the biomedical field [J]. *Chemosensors*, 2025, 13(2): 67.
- [90] LI B, WANG W, ZHAO L, *et al.* Photothermal therapy of tuberculosis using targeting pre-activated macrophage membrane-coated nanoparticles [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2024, 19(6): 834-845.
- [91] BANSAL S, JAIN A, KUMAR S, *et al.* Optoelectronic performance prediction of HgCdTe homojunction photodetector in long wave infrared spectral region using traditional simulations and machine learning models [J]. *Sci. Rep.*, 2024, 14(1): 28230.
- [92] SOIBEL A, TING D Z, HILL C J, *et al.* Mid-wavelength infrared InAsSb/InSb nBn detector with extended cut-off wavelength [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2016, 109(10): 103505.



杜平(1997-),女,山东潍坊人,博士,2023年于北京大学获得博士学位,主要从事稀土近红外发光纳米材料的发光及生物成像研究。

E-mail: du-ping@pku.edu.cn



孙聆东(1969-),女,黑龙江齐齐哈尔人,博士,教授,1996年于中国科学院长春物理研究所获得博士学位,主要从事稀土材料化学与光物理研究。

E-mail: sun@pku.edu.cn