

近红外二区花菁染料在疾病应用中的研究进展

仇雨, 沈之阳, 丁海贞, 景靳彭, 陈洪敏*

厦门大学公共卫生学院分子疫苗学与分子诊断学国家重点实验室 分子影像暨转化医学研究中心, 福建 厦门 361102

摘要 由于具备组织散射少、穿透深度深、时空分辨率高等许多优势,近年来近红外二区(NIR-II, 1000~1700 nm) 荧光成像在生物成像领域取得了显著的进展。基于花菁染料的有机荧光分子,具有荧光量子产率高、吸光系数高、合成过程相对简单、生物相容性好等优势,其在 NIR-II 的荧光特性使其成为一类极具研究价值的分子探针,在医学应用方面展现出巨大的潜力。首先简要介绍了花菁染料的基本特性,其次对最近开发的近红外二区花菁染料在多种疾病(如肿瘤、炎症性疾病和损伤)应用中的最新研究进展进行总结,最后对其未来的发展方向与前景进行了展望。

关键词 医用光学; 花菁染料; 近红外二区; 疾病应用
中图分类号 R445 **文献标志码** A

DOI: 10.3788/CJL231338

1 引言

近年来,生物成像技术的快速发展为生命科学研究提供了强大的工具,其中荧光(FL)成像作为一种重要的成像技术,能够实时、无创地可视化生物系统中的生理活动^[1]。以往的荧光成像窗口主要集中在可见光区(400~700 nm)和近红外一区(NIR-I, 700~900 nm),由于生物组织对近红外二区(NIR-II)光子具有更低的吸收和散射作用,同时在该区域组织的自发荧光更弱,极大地提高了信号背景比(SBR),因此 NIR-II 荧光成像能够实现更深层次、更高分辨率的生物成像,有望作为一种理想的精准成像技术广泛应用于未来的基础研究和临床实践当中^[2-3]。

近红外二区荧光团主要分为单壁碳纳米管、量子点、稀土掺杂纳米粒子和有机荧光团几大类^[4]。无机荧光团未知的长期毒性、潜在的金属离子泄漏和有限的体内清除率阻碍了它们向临床应用转化;同时,生物体内的低亮度荧光成像也成为其广泛应用于临床的一大瓶颈^[5]。而有机荧光团具有近红外吸光度强、生物相容性好、易于代谢等优点,是目前体内成像的首选,有望发展成为一类极具临床转化前景的探针^[6]。

目前,用于 NIR-II 荧光成像的有机荧光团主要有两大类:一类是具有供体-受体-供体(D-A-D)结构的染料,另一类是由一定长度的碳原子的共轭多甲川链连接的花菁染料^[7]。由于 D-A-D 型染料荧光量子产率(QY)一般较低,因此通常需要大剂量注射以保持成像过程中的荧光强度^[8]。此外, D-A-D 型染料复杂的结

构决定了其往往需要繁琐的合成步骤。与 D-A-D 型染料相比, NIR-II 花菁染料的合成过程相对简单,且具有较高的亮度,因此在 NIR-II 成像中具有巨大的优势^[9]。

花菁染料作为一类极具研究价值的分子探针,在近红外二区具有出色的荧光特性,引起了广泛的研究兴趣,在疾病诊断和治疗领域不断发展。因为高的组织穿透深度和低的生物背景信号干扰,这些染料在活体应用中可以克服传统荧光探针的缺陷,用于深层疾病的诊断应用。它们能够穿透肿瘤组织,提供高分辨率的图像以提高肿瘤的早期检测率。在手术中,这些染料可以清晰地标记肿瘤边界,为手术过程提供指导,以实现更精确的肿瘤切除。NIR-II 花菁染料在炎症性疾病应用方面同样具有重要价值,一方面可以精确定位炎症区域,另一方面可以通过监测染料在体内的分布和浓度变化,评估炎症的活动性,为治疗提供指导。NIR-II 花菁染料还可以有效地区分和定位损伤部位,可视化损伤,以及帮助评估组织的损伤程度。此外,将 NIR-II 花菁染料与药物结合,可以实现对肿瘤、炎症区域或损伤部位的靶向药物递送。通过监测药物-染料复合物在体内的分布,可以实时评估治疗效果^[10-15]。这些先进应用展示了 NIR-II 花菁染料在现代医学领域的巨大潜力以及在疾病应用中的广阔应用前景。

本文概括和总结了 NIR-II 花菁染料在疾病应用方面的最新进展。首先简要介绍了花菁荧光团的结构特征、分类和应用领域等。其次对最近开发的 NIR-II

收稿日期: 2023-10-30; 修回日期: 2024-01-06; 录用日期: 2024-01-11; 网络首发日期: 2024-01-15

基金项目: 国家自然科学基金(82172007, 81771977)、福建省杰出青年科学基金(2021J06007)

通信作者: *hchen@xmu.edu.cn

花菁染料在肿瘤、炎症性疾病和损伤等疾病中的生物医学应用进行总结。最后,我们展望了现阶段使用花菁染料进行 NIR- II 成像和疾病治疗时面临的困难和挑战。

2 花菁染料概述

2.1 结构特征

花菁素,也称为四甲基吡啶(二)-碳花菁^[16],是一类属于聚甲川基团的荧光染料的统称。

从化学角度来说,花菁染料是两个氮原子杂环

之间的共轭体系;在共振结构中,恰好有一个氮原子被氧化成亚胺离子,而亚胺离子也是形成含氮杂环系统的一部分^[17]。花菁荧光团一般都包含两个氮杂环,其中一个带有正电荷,由一定长度的碳原子的共轭多甲川链连接^[18]。如图 1 所示,Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、Cy7.5 的整数位表示共轭多甲川链的碳原子数,小数位表示苯并融合的花菁染料,结构的变化使得染料的荧光性质发生变化,这个类群中的荧光染料覆盖了从紫外到近红外一区、二区的宽泛光谱。

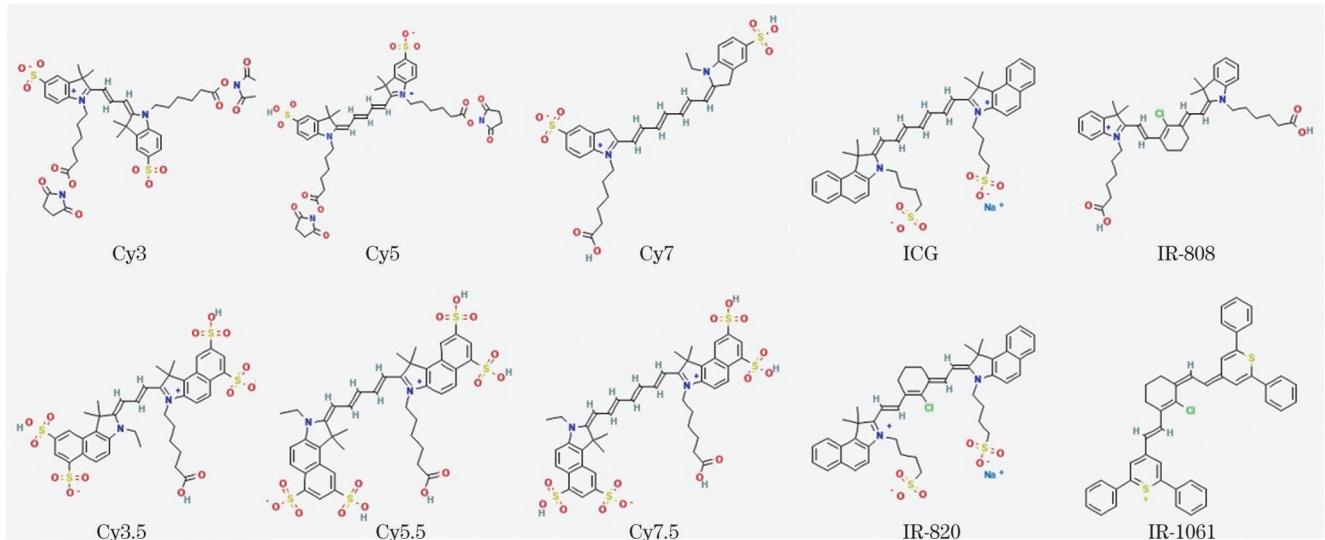


图 1 花菁染料结构式

Fig. 1 Chemical structures of cyanine dyes

花菁染料由一条以奇数个碳原子组成的多甲基链作为共轭主链,以两个杂环为封闭单元组成,显示出 D- π -A 共轭体系^[19]。这种共轭结构特征被认为是一个推拉体系,使得花菁素分子能够吸收和发射特定波长的光^[20]。花菁染料的荧光波长主要是通过改变多甲基链的长度来决定的。具体来说,甲基链碳原子数小于 5 的花菁染料的荧光波长将处于可见光区域。当碳原子数达到 5 个时,荧光波长可以到达 NIR- I 区。一旦碳原子数超过 5 个,荧光波长可以超过 1000 nm 并进入 NIR- II 区域。此外,通常用于衰减长共轭骨架不稳定性的桥接环结构将大大降低荧光波长^[21]。花菁染料在近红外活体成像中的应用始于吡啶菁绿(ICG),ICG 已被美国食品和药物管理局(FDA)批准用于人体临床应用^[22]。尽管 ICG 的发射光谱在 NIR- I 达到峰值,但是其尾带发射延伸到了 NIR- II。一些量子产率高、荧光强度大的 NIR- I 花菁染料,如 IR-12N3、ICG 和 IRdye800,在 NIR- II 区域也具有明亮的尾发射,并具有高的量子产率和摩尔消光系数,从而可以用于小鼠肿瘤、炎症、损伤等模型的 NIR- II 实时成像,这些探针在 NIR- II 成像时的穿透深度、分辨率、灵敏度以及信噪比等相比 NIR- I 成像都获得了显著提升^[23]。

花菁染料本身具有相对较高的吸光系数,对其进行化学基团改性还可以进一步改善化学和光学性能^[24]。N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯、异硫氰酸酯、琥珀酰亚胺酯、马来酰亚胺、胺、羧基、聚乙二醇(PEG)、叠氮化物和炔烃是商品化花菁染料中几种最常见的末端修饰基团。其中,通过聚乙二醇进行改性,能进一步提高花菁染料分子的量子产率和成像能力^[25]。还有研究证实,在中心共轭链中引入环状结构如环己烯环可以极大地提高花菁染料分子的光稳定性和 QY^[26]。兼具高吸光系数和高量子产率的花菁染料具有巨大的临床应用潜力。

为了实现实时、高对比度的 NIR- II 成像,NIR- II 花菁染料改性方面存在一些共性。一方面,可以通过改变染料分子的结构和化学修饰来调节其最大吸收波长,使其可以在 NIR- II 波段具有更高的吸收能力。具体来说,这一波段的花菁染料通过改变乙烯基长度和末端杂环基团的结构来红移波长并增强经典吡啶菁支架的亮度。然而,波长红移与水环境中光谱形状和亮度的维持之间需要权衡。例如,聚亚甲基链和杂环基团上的 π 延伸是实现波长红移所必需的,但这通过 π 堆积增强了自聚集程度,并通过破坏对称性诱导溶剂

变色,从而拓宽了吸收光谱并衰减了水溶液中的亮度。但通过在结构中引入叔丁基可以减轻聚亚甲基菁的自聚集^[27]。另一方面,荧光探针波长红移势必会导致荧光量子产率的降低。可以通过引入较大的空间位阻基团、与蛋白质自组装形成复合物以及增强分子结构的刚性等策略提升探针亮度,提高成像信噪比。此外,NIR-II 花菁类染料往往水溶性较差,通过纳米沉淀法利用两亲性材料包覆疏水荧光分子或通过分子工程手段在疏水荧光分子上引入亲水基团可以提高 NIR-II 花菁类染料的生物相容性,从而提高其在生物医学领域的应用^[28]。

2.2 花菁染料的分类

花菁染料从来源上可分为天然花菁染料和人工花菁染料。自然界中存在的天然花菁染料是 Wyler 等^[29-30]在 1960—1980 年间持续发现的。自从被发现以来,这些花菁染料一直被用作天然的着色剂。例如,甜菜素是红甜菜呈红紫色的原因,它在 537 nm 处有可见光的吸收;在蘑菇中发现了橙红色染料 Musca-Aurin I,其最大吸收波长为 475 nm。人工合成的花菁染料又可根据分子结构和官能团细分为亚甲基菁染料、载脂花菁染料、苯乙基菁染料(半花菁染料)、氮杂苯基菁染料(氮杂半花菁染料/氮杂花菁染料)、部花菁染料、方酸菁染料等^[31-33]。

2.3 应用领域

花菁染料优异的荧光特性、生物相容性和特异性使得它们在生物医学领域具有广泛的应用前景,包括生物成像、生物标记、药物传递等。花菁染料可标记特定蛋白质、DNA 和其他生物大分子,已成为分子生物学中一种非常强大的研究工具^[34]。此外,一些化学改性的花菁染料还有越来越多的商业应用,包括临床免疫分析、DNA 杂交测试、基因融合检测测试等。

总的来说,花菁染料因具有较高的稳定性、低毒性和较好的生物相容性,且能在体内保持荧光特性,常被用于生物标记和成像,在生物医学研究中具有广泛应用的潜力。对花菁类分子结构和特性做更深入的研究,可以为生物成像技术的发展提供重要的支持。

部分花菁荧光染料在近红外二区展现出显著的荧光特性,这一区域的荧光具有较高的生物组织穿透能力,使其成为深层生物成像的理想选择。相比于 NIR-I 的花菁染料,NIR-II 花菁染料具有生物背景荧光干扰低、组织穿透深度高、成像分辨率高等优势,在生物医学成像和早期疾病诊断中显示出巨大潜力。为使研究者们更容易地了解近期有关 NIR-II 花菁染料的科研成果,本综述将以疾病分类,归纳总结近 5 年 NIR-II 花菁染料在疾病诊疗应用中的最新研究进展。

3 近红外二区花菁染料在肿瘤中的应用

癌症是全球人口的主要死因之一,具有高病死率

和高复发率的特点^[35]。近红外二区成像技术具备许多优势,如组织散射少、无辐射风险等,能够提供精细的解剖结构信息。花菁荧光染料在 NIR-II 窗口可用于肿瘤检测和显影,其高灵敏度和高分辨率成像使之成为早期肿瘤诊断的重要工具。同时,在实时动态显示肿瘤边界方面,花菁染料也具备显著的优势,可为肿瘤切除手术提供关键信息。此外,花菁荧光染料还可以与药物载体结合,用于药物的精确输送和释放,在治疗脑肿瘤等多种疾病方面也具有广泛的应用前景^[36-37]。

3.1 脑肿瘤

胶质母细胞瘤(GBM)又称脑胶质瘤,是最具侵袭性的神经系统恶性脑肿瘤之一,严重影响了全球人类健康。如图 2(a)所示,Wu 等^[10]成功研发了一种用于脑胶质瘤诊断治疗的主动靶向 NIR-II 纳米颗粒(NP),被命名为 HSA-ICG-iRGD。该探针以白蛋白、ICG 和 iRGD 肽为基础构建而成,通过分子间氢键连接,实现了对深层肿瘤的成像。基于超分子相互作用的原理,花菁染料与白蛋白自组装形成复合物可以提升探针亮度。HSA-ICG-iRGD NP 的波长红移和荧光增强导致 NIR-II 荧光亮度在 1050 nm 处相对于 ICG-iRGD 增加了 3.1 倍。由于其超小的尺寸(10 nm)有利于穿透血脑屏障,同时 iRGD 肽的修饰对 $\alpha V\beta 3$ 整合素受体具有良好的靶向能力,从而使更多的 ICG 在脑部肿瘤富集。在 808 nm 激光照射下,能够清晰地成像原位脑肿瘤,信噪比高达 6.85。通过高信噪比的 NIR-II 荧光成像,成功地实现了皮下和原位脑胶质瘤小鼠的肿瘤监测。同时,HSA-ICG-iRGD NP 在两种携带脑胶质瘤的小鼠模型中展现了良好的光热治疗(PTT)效果,且未出现明显的细胞毒性。这一研究成果显示用于癌症诊疗一体化的 NIR-II 纳米颗粒取得了显著进展,为脑肿瘤的有效诊断和光热治疗提供了崭新的视角。

如图 2(b)所示,Ding 等^[38]同样受 ICG 结构的启发,开发了一系列在 NIR-II a 窗口(1300~1400 nm)同时具有吸收和发射特性的聚亚甲基硫代吡喃染料,用于 NIR-II 成像。通过铜催化的叠氮化物-炔烃环加成,进一步将 $\alpha V\beta 3$ 整合素靶向肽 c(RGD)_k 偶联到荧光团 5H5 上。借助这种聚乙二醇化的复合花菁荧光团,成功实现了对肿瘤组织/非肿瘤组织(T/NT)比值高达 6.8 的无创 NIR-II a 窗口成像和特异性检测。

同时,有研究表明,聚焦超声(FUS)诱导的血脑屏障(BBB)开启是提升对抗胶质母细胞瘤治疗效果的关键一环^[39]。然而,迄今为止,缺乏一种具备高时空分辨率的体内成像方法,以实现原位同步监测血脑屏障的开启过程。Liang 等^[40]报道了成功利用 ICG 掺杂微泡(MB-ICG)实现可视化的 FUS 诱导血脑屏障开启,并增强对抗 GBM 的光热治疗的新方法。MB-ICG 在 NIR-II 区域呈现出明亮的荧光、高超声对比度以及超声诱导尺寸转换等特性。通过利用互补的对比度特

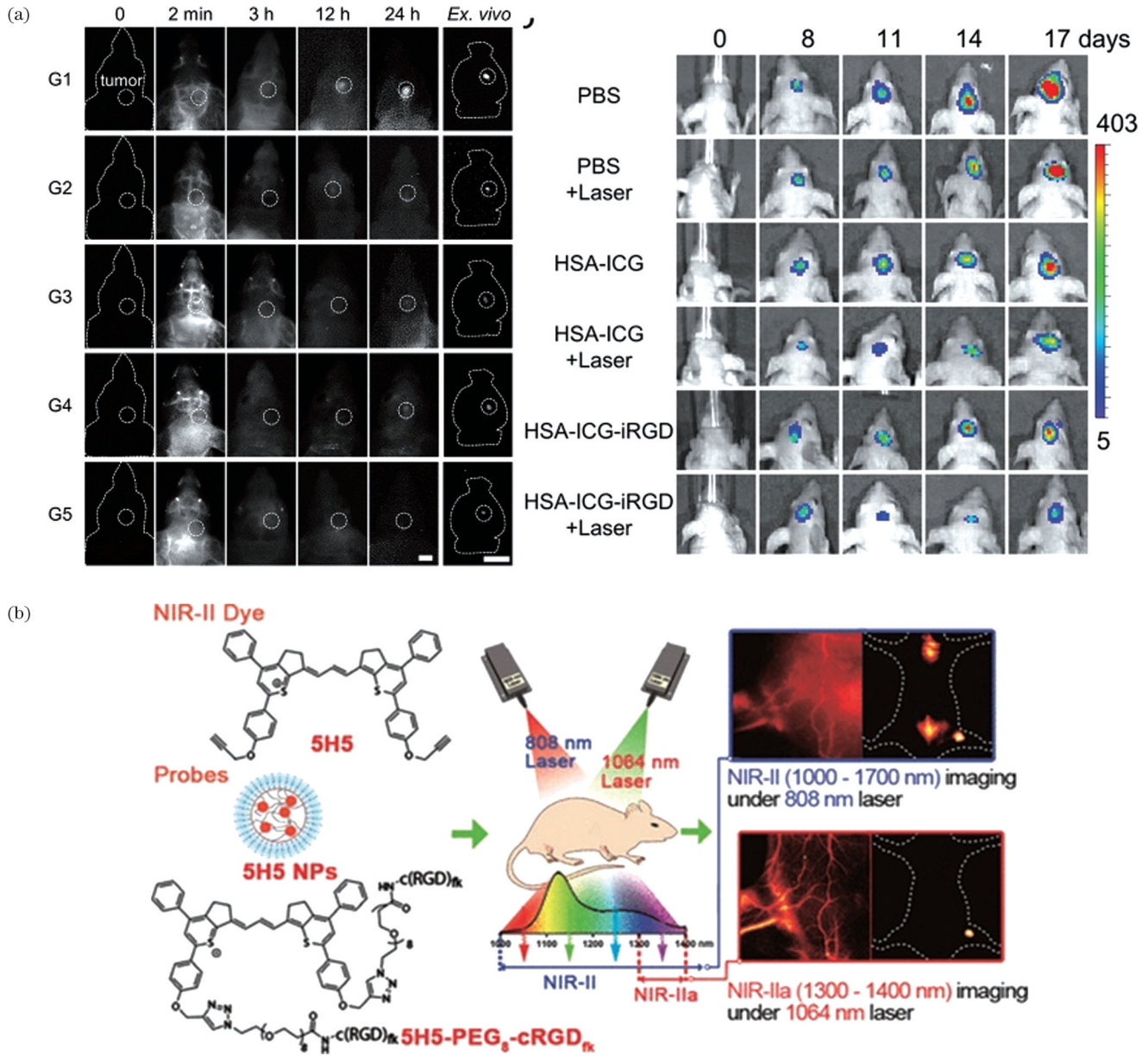


图 2 近红外二区花菁染料在脑肿瘤中的应用。(a)HSA-ICG-iRGD在原位胶质瘤小鼠体内主动靶向 NIR-II 成像和光热治疗的示意图^[10]; (b)用于 NIR-II 和 NIR-II a 成像的宽带发射荧光团 5H5-PEG₈-cRGD_k 的示意图^[38]

Fig. 2 Applications of NIR-II cyanine dyes in brain tumor. (a) Illustration of HSA-ICG-iRGD *in vivo* active-targeted NIR-II imaging and PTT in orthotopic glioma-bearing mice^[10]; (b) schematic illustration of broadband emission fluorophore 5H5-PEG₈-cRGD_k for both NIR-II and NIR-II a imaging^[38]

性,MB-ICG可成功地应用于脑血管成像。在808 nm激光激发下,MB-ICG可实现对血脑屏障开启的原位同步可视化,其荧光信噪比高达 6.2 ± 1.2 。在FUS照射下,MB-ICG会转化为脂质-ICG纳米颗粒,并在10 min内迅速穿越肿瘤组织,从而增强了原位GBM小鼠的光热治疗效果。这一多功能的MB-ICG纳米粒子的合成为监测BBB的开启以及强化GBM治疗提供了崭新的范例。

此外,活性氧(ROS)疗法也显示出良好的脑胶质瘤治疗潜力。但是,由于受到BBB的限制,绝大多数光敏剂难以有效进入大脑,极大地制约了治疗效果。

因此,Xue等^[41]设计了一种基于 $Gd_2(WO_4)_3:Nd^{3+}$ 纳米颗粒的新型诊疗一体化纳米试剂GLIF,并在其表面负载了聚-L-精氨酸(PLA)、ICG以及乳铁蛋白(LF)。这种新型纳米试剂通过鞘内注射,能够以ROS高效治疗原位脑胶质瘤,同时可用于NIR-II荧光/核磁共振(FL/MRI)双模态成像。值得一提的是,ICG的负载不仅增强了GLIF产生NO、抑制细胞迁移以及支持ROS杀伤肿瘤的能力,同时使其作为一种NIR-II和磁共振成像造影剂,可以较低的剂量实现对胶质母细胞瘤的诊断,凸显了其在脑内注射造影剂中的卓越性能。此外,GLIF具备高富集度、良好的顺磁性和近红外发

光性能,从而实现了高分辨率的 NIR-II FL/MRI 双模态成像。该项研究表明, GLIF 作为一种有前景的探针,具有广泛应用于原位胶质瘤诊断的潜力。同时,此研究也为花菁染料用于脑胶质瘤的诊疗一体化纳米材料的开发提供了新的思路。

3.2 乳腺癌

据统计,乳腺癌是全球最为常见的恶性肿瘤之一。保乳手术已成为公认的早期乳腺癌治疗标准。手术期间的精确切缘评估可以降低再次手术的需求^[42]。如图 3(a)所示, Wei 等^[11]设计了一种 Gd 包覆、叶酸(FA)修饰、可消耗谷胱甘肽(GSH)的类病毒介孔二氧化硅纳米探针。将 ICG 负载到介孔二氧化硅纳米颗粒中之后,可以减弱荧光自淬灭效应,从而为 ICG 提供稳定的成像效果。叶酸受体 FOLR1 在乳腺癌中高表达。他们成功地合成了一种先进的类病毒介孔二氧化硅,且其具有叶酸修饰,可用于精确输送 ICG,以实现保乳手术正边缘的实时区分。这种纳米探针为手术提供了清晰的肿瘤边界成像技术、微小肿瘤识别能

力以及稳定的荧光等优势,为精准手术提供了坚实的基础。

如图 3(b)所示, Yang 等^[43]开发了一种可生物降解的环状 RGD 五肽/中空病毒样钆基卟啉菁绿(R&HV-Gd@ICG)纳米探针,旨在提升荧光图像引导手术的能力以及乳腺癌放疗的疗效。R&HV-Gd 表现出了显著改善 ICG 水稳定性的性质,并且在肿瘤滞留和靶向特异性方面表现优异,同时该探针也实现了在体内磁共振与 NIR-II 窗口的多模态成像。基于这一纳米探针的 NIR-II 荧光图像能有效区分良性和恶性乳腺组织,有助于实现对肿瘤的完全切除,从而提高总体存活率。此外,将纳米探针引入肿瘤后,在 X 射线照射下产生了更多的 ROS,提高了放疗的敏感性,有效控制了小鼠肿瘤的进展。值得一提的是,这种纳米探针在体内具备良好的可生物降解性,展现出了高效的体内清除效率,这有望降低无机纳米颗粒潜在的长期毒性。总的来说,这种纳米探针为开发精确的乳腺癌治疗策略奠定了基础。

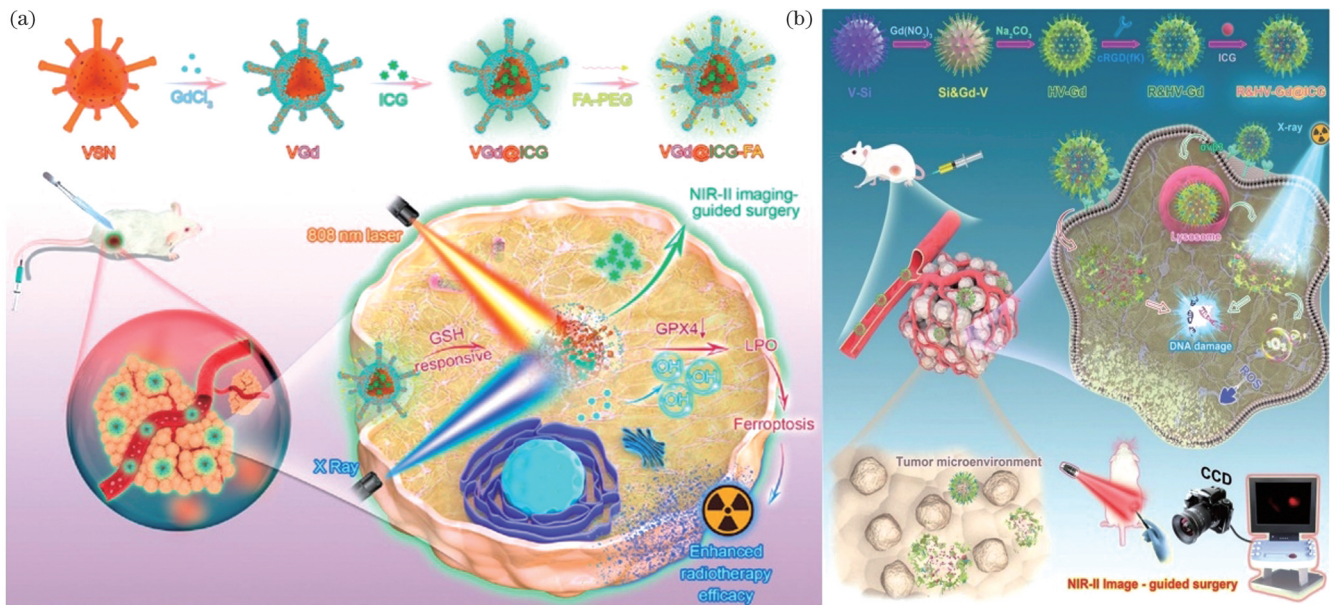


图 3 近红外二区花菁染料在乳腺癌中的应用。(a)用于 NIR-II 荧光图像引导乳腺癌手术和铁死亡增强放射增敏的 VGd@ICG-FA 纳米探针示意图^[11]; (b)用于 NIR-II 图像引导乳腺癌手术和增强 RT 疗效的 R&HV-Gd@ICG 制造的示意图^[43]

Fig. 3 Applications of NIR-II cyanine dyes in breast cancer. (a) Schematic illustration of VGd@ICG-FA nanoprobe fabrication for NIR-II fluorescent image-guided breast cancer surgery and ferroptosis enhanced radiosensitization^[11]; (b) schematic illustration of R&HV-Gd@ICG fabrication for NIR-II image-guided breast cancer surgery and enhanced RT efficacy^[43]

同样是多模态成像方面的研究, Zhang 等^[44]成功将放射性核素标记的疏水性 NIR-II 花菁荧光团(¹²⁵I-MT)包裹到两亲性嵌段共聚物(PEO-PPO-PEO)中,研制出了一种多功能 NIR-II 纳米探针。将此纳米探针静脉注射到鼠源乳腺癌细胞 4T1 皮下瘤 BALB/c 小鼠体内, NIR-II 荧光成像显示了肿瘤的清晰轮廓。注射后 24 h 的时间窗口内, MT 的荧光信号开始显现,而在 48~96 h 后变得更为明亮。此外,基于单光子发射计算机断层扫描(SPECT)和 NIR-II 荧光双模态成像

技术,通过注射这种纳米探针,可以在小鼠模型中敏锐、准确地获取皮下肿瘤的清晰图像,这对于肿瘤的精准治疗具有重要的意义。

另外, 2022 年 Bandi 等^[45]将邻苯二酚环和芳基环融合到非甲基甲胺支架上,成功合成出一系列全磺化卟啉菁染料,并可以与 ICG 等临床相关的花菁染料联合使用,在乳腺癌等多个肿瘤模型中实现了在 NIR-II 窗口内的双色和三色体内成像,同时有效标记了肿瘤、周围健康组织以及淋巴管系统,展现出良好的成像性

能,为活体多色成像提供了新的可能性。并且该成像方法对可见光不敏感,可在常规环境下进行荧光引导手术。除了在癌症研究中的应用,这种多色成像技术在各种临床场景中可能也将大有用处,如在肿瘤切除、前哨淋巴结追踪和吻合口灌注量检测等方面。这项研究拓展了全碘化吲哚菁分子在体内多色成像和未来临床应用方面的潜力。

这几项研究都侧重于用花菁染料来改善乳腺癌的治疗和手术效果。前三项研究中的纳米探针通过多模态成像实现了对乳腺癌的准确定位和区分,提高了手术切除的精确性,并在放疗中增强治疗敏感性,从而提高患者的生存率。而后者报道的一系列全碘化吲哚菁染料则同时实现了肿瘤、健康组织、淋巴系统的 NIR-II 三色成像,为精准肿瘤手术的实施、多通道活体成像以及前哨淋巴结追踪等提供了新颖的思路。这几项研究共同为乳腺癌治疗领域的进展提供了有前景的方向。

3.3 胰腺癌

胰腺癌被认为是癌症相关死亡的第四大常见原因,超过 53% 的患者在终末期才被确诊,而其 5 年生存率更是低于 3%。在胰腺癌手术中,未能完全切除的癌细胞常导致局部复发^[46]。因此,检测肿瘤边缘状态至关重要。如图 4(a) 所示, Li 等^[47]设计了一种吲哚菁绿近红外荧光(ICG-NIRF) 成像系统,用低剂量($\leq 0.5 \text{ mg/kg}$)的 ICG 作为荧光剂,成功实现了

对胰腺癌小鼠模型和人胰腺癌患者原始神经外胚层肿瘤(PNET)的 NIR-I 和 NIR-II 成像,验证了该系统区分肿瘤和正常组织的有效性。相较于使用其他荧光染料,该系统的优势在于 ICG 已获得美国 FDA 的批准,有望更快地实现临床转化应用。此研究成果显示, ICG-NIRF 成像系统可提供高度敏感和特异的术中癌症诊断能力,能够准确鉴定肿瘤边缘,有望成为诊断和引导胰腺癌肿瘤切除手术的新型图像引导工具。

此外,如图 4(b) 所示, Luo 等^[48]采用羧甲基葡聚糖作为递送载体, ICG 衍生物为 NIR-II 荧光团,利用化学交联脱溶剂法成功研发了一种可代谢的葡聚糖-吲哚菁绿(DN-ICG)纳米探针,用于深部近肝胰腺癌肿瘤相关巨噬细胞(TAM)的动态成像,可检测肿瘤对放疗的治疗反应。DN-ICG 纳米探针的吸收和激发光谱与游离 ICG 一致,但由于 DN-ICG 纳米探针发射光谱的红移,其 NIR-II 荧光发射强度相比于游离 ICG 约增加了 279%。研究证明 DN-ICG 纳米探针在体外具备出色的巨噬细胞靶向特性和光学稳定性,能够动态监测低剂量放疗诱导的 TAM 数量变化,具有极高的敏感性和特异性。因此,具备高度生物相容性且可生物降解的 DN-ICG 纳米探针在深部近肝胰腺癌精准治疗方面具有巨大潜力,为 TAM 相关癌症治疗提供了新兴的成像技术。

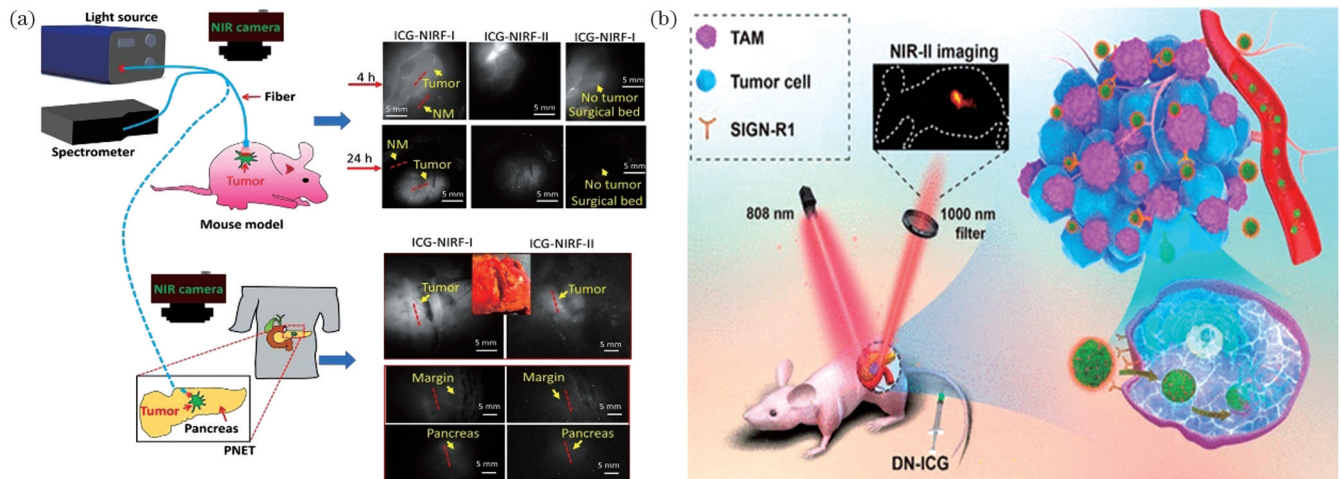


图 4 近红外二区花菁染料在胰腺癌中的应用。(a)通过 ICG-NIRF 成像检测小鼠和人类 PNET 示意图^[47]; (b)DN-ICG 纳米探针在胰腺癌微环境中 TAM 的 NIR-II 荧光成像的示意图^[48]

Fig. 4 Applications of NIR-II cyanine dyes in pancreatic cancer. (a) Schematic illustration of detection of murine and human PNET with ICG-NIRF imaging^[47]; (b) schematic illustration of DN-ICG nanoprobe for NIR-II fluorescence imaging of TAM in pancreatic cancer microenvironment^[48]

3.4 肝癌

在肝细胞癌靶向和成像技术的研究方面, Hu 等^[49]以 ICG 作为 NIR-II 荧光探针,成功应用于指导肝癌患者的肿瘤切除手术。通过利用 ICG,术中 NIR-II 荧光成像展现出较高的肿瘤检测灵敏度与信噪比,使得肿瘤与正常肝组织得以准确区分。

如图 5(a) 所示, Zhao 等^[50]将 NIR-II 花菁荧光团 MY-1057 掺入 Nd^{3+} 纳米颗粒中,提出了一种基于 MY-1057 的 NIR-II 荧光共振能量转移传感器,用于肝细胞癌的检测。在给原位肝癌小鼠模型进行药物注射后,通过成像技术成功实现了对单个或多个病灶与正常肝组织的准确区分。

3.5 膀胱癌

在膀胱癌应用研究领域, Feng 等^[51]发现 IR-820 作为一种典型的 NIR- I 荧光有机小分子染料, 实际上在 700~1300 nm 范围内展现了宽广的发射光谱, 在 NIR- II 窗口具有相当强的荧光信号。实验证明, IR-820 能够有效染色 UMUC3 细胞(人膀胱癌细胞系)。在实验中, 通过向皮下荷瘤裸鼠肌肉内注射 IR-820 溶液, 并使用全身 NIR- II 荧光成像系统进行成像, 24 h 后出现荧光信号, 但 SBR 仅有 6.59, 随后荧光强度和 SBR 逐渐升高, 在 48 h 时 SBR 达到最大值 14.766, 表明大量 IR-820 分子在肿瘤中富集。IR-820 具有良好的生物相容性和可代谢性, 这为未来在 NIR- II 荧光生物医学功能成像及相关临床转化应用方面提供了广阔的前景。

3.6 结直肠癌

结直肠癌(CRC)是目前世界上第三大致命癌症^[52]。相对于传统的宽光筛查内窥镜, 基于荧光染料分子的 NIR- II 成像技术能够有效辨识病灶部位, 提高

图像对比度, 从而提升早期肿瘤检出率。c-Met 是一种重要的肿瘤生物标志物, 在 CRC 晚期时过表达^[53]。如图 5(b) 所示, Hu 等^[54]以克唑替尼(Crizotinib)对 c-Met 阳性肿瘤细胞的良好靶向抑制作用为基础, 将荧光染料 IR-808 与 Crizotinib 以及牛血清白蛋白(BSA) NP 结合制备了靶向 c-Met 阳性肿瘤细胞的 NIR- II 荧光探针 Crizotinib-IR808@BSA NP。CT26 (小鼠结肠癌细胞系) 肿瘤模型注射该探针后进行的 NIR- II 成像结果显示, 探针在肿瘤中高效富集, 肿瘤的荧光亮度在 24 h 后达到最大值。在高对比度实时 NIR- II 荧光成像的引导下, 成功对荷瘤小鼠进行了肿瘤切除手术。同时, 在 808 nm 激光照射下, Crizotinib-IR808@BSA NP 对肿瘤表现出协同光疗效应。总的来说, 这种新型探针具有优异的肿瘤靶向性, 可用于微创生物医学血管 NIR- II 成像和术中实时成像, 以引导肿瘤切除手术。该影像引导多功能联合治疗策略具有很好的创新性, 可能成为治疗 CRC 的一种新方法。

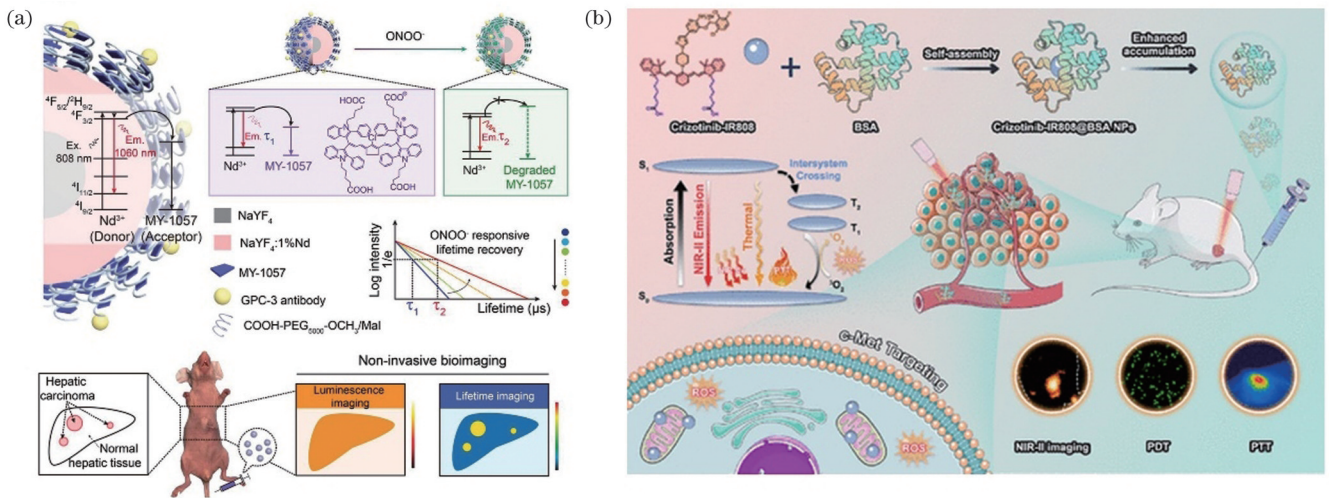


图 5 近红外二区花菁染料在肝癌和结直肠癌中的应用。(a) 在 NIR- II 窗口中基于荧光寿命的肝细胞癌检测示意图^[50];

(b) Crizotinib-IR808@BSA NP 的制备及手术导航示意图^[54]

Fig. 5 Applications of NIR- II cyanine dyes in liver cancer and colorectal cancer. (a) Schematic illustration of lifetime-based detection of hepatocellular carcinoma in NIR- II window^[50]; (b) illustration of preparation of Crizotinib-IR808@BSA NP and surgical navigation^[54]

3.7 胃癌

在胃癌应用研究领域, Cui 等^[55]成功构建了三种新型花菁类 NIR- II 荧光探针, 用于胃癌的 NIR- II / 光声双模态成像和光热治疗研究。该探针由三部分组成: 七甲基菁 NIR- II 荧光基团 Q₃、肿瘤靶向环状 cRGD 多肽以及三个不同长度的 PEG 链 (n=5、20、122)。通过分子工程手段对 NIR- II 花菁类染料进行磺酸根化或者聚乙二醇化是提升其生物相容性的一种有效手段。引入 PEG 聚合物不仅可以减少血小板聚集, 从而改善探针的水溶性、生物相容性以及纳米聚集形态, 还调控了探针的 NIR- II 成像量子产率以及光声和光热效应。体内外实验结果显示, 探针 QR-2PEG₅₀₀₀ 对胃癌具有最强的 NIR- II 成像能力。在静脉注射探

针 QR-2PEG₅₀₀₀ (8 mg/kg) 后, 对荷瘤小鼠进行了实时 NIR- II 荧光成像。结果显示 QR-2PEG₅₀₀₀ 在 MGC-803 肿瘤富集且成像清晰, SBR 为 7.4, 而作为对照注射 QR-2PEG₃₂₁ 的肿瘤则仅检测到微弱的荧光 (SBR 约为 1.0)。该研究成功开发了一个多用途的 NIR- II 纳米工具包, 为进行活体胃癌的诊断与治疗研究提供了有效手段。

3.8 其他肿瘤

已有研究表明, 许多人类癌症, 如结直肠癌、胃癌、膀胱癌、肝癌、肺癌、胰腺癌和宫颈癌等, 都与慢性炎症密切相关^[56]。在肿瘤微环境中, 包括炎性单核细胞在内的浸润性免疫细胞会从体液循环中富集到肿瘤部位, 因此, 肿瘤组织中的免疫细胞可以作为癌症检测的

主要靶点^[57]。在此背景下,基于花菁类荧光团结构固有的肿瘤靶向性(SITT)策略正受到越来越多的关注。Kang等^[58]的研究为SITT策略提供了新的解释。他们证明了基于七甲基菁染料的荧光团不仅具有肿瘤微环境的靶向性,无需额外的靶向配体,而且还具备NIR-II光谱窗口成像能力。研究显示,骨髓来源/肿瘤相关的免疫细胞(TRIC/TAIC)在肿瘤组织中含丰富,因此可以作为癌症检测的主要目标。他们设计并合成了一种基于七甲基菁染料的TAIC靶向荧光团SH1,作为术中SITT NIR-II荧光成像试剂。在实验中,将SH1、ICG和IR-780注射到小鼠Lewis肺癌细胞(LLC)荷瘤小鼠中,SH1在注射后48h在肿瘤区域显示出极好的信号强度,而ICG由于其肝胆清除速度快而没有显示出良好的肿瘤靶向性,注射IR-780小鼠的信号强度在皮肤去除后会显著降低。此外,SH1还可用于检测转移性肿瘤等小病灶。因此,SH1是一种很有潜力的肿瘤靶向造影剂,未来可能在术中光学成像和图像引导的癌症手术方面发挥重要作用。这些研究为肿瘤的SITT策略检测提供了一种新的思路,同时也为术中NIR-II成像技术的发展提供了有力的支持。

另一项最新研究提出了一种创新的脂质体包裹策略:Gao等^[59]通过一种高压均质方法将染料限制在疏水的脂质体内部并抑制其聚集,制备了超亮的脂质体-花菁染料S-Lipo-ICG和S-Lipo-FD1080。相较于游离的ICG,S-Lipo-ICG在NIR-II窗口的亮度增强了38.7倍,荧光量子产率提高约10倍,且仅需游离ICG 1/10的剂量即可进行脑血管成像,同时持续时间也长达30 min。通过调节激发波长,两种脂质体包裹的花菁染料实现了NIR-II双色成像。此外,在兔间变表皮鳞癌(VX2肿瘤)模型中,根据NIR-II双色成像的引导成功识别和切除了直径仅为2~5 mm的肿瘤小结节。总的来说,该脂质体包裹探针的荧光亮度较游离态ICG显著增强,这可能归因于吸收峰的红移和非辐射跃迁的抑制,而脂质体包裹策略也没有改变ICG的代谢途径,生物安全性和可代谢性良好。这项研究为NIR-II成像技术提供了一种新型的生物相容性良好且具有明亮荧光的造影剂,并成功将其应用于深部组织成像和图像引导手术,为临床转化应用提供了有力的支持。

4 近红外二区花菁染料在炎症性疾病中的应用

炎症是对刺激的保护性反应,涉及由内源性和外源性刺激(如病原体、受损细胞或化学物质等)诱导的免疫细胞、血管和介质。然而,如果炎症长期存在而没有得到及时诊断和有效控制,那么这种现象的弊端从其生物学后果来看更具破坏性。一些严重的炎症可能会使心、肝、肾等重要器官的实质细胞发生不同程度的变性、坏死、功能障碍等病变,甚至会危及生命^[60]。近红外二区荧光由于其低自发荧光和低光子散射等优

势,在生物体内高分辨率的深层次组织分析成像方面显示出巨大的潜力,是炎症早期诊断与治疗的重要工具。

4.1 急性炎症

氧化还原动态平衡对生物系统的正常运行至关重要,生物氧化还原状态的改变又与生理和病理过程密切相关。以使用NIR-II荧光成像监测急性炎症中的氧化还原动态平衡为目的,He等^[61]将强供电子基团1,4-二乙基-10-氢喹啉吡喃与NIR-II花菁染料Cy3结合,成功制备了一种可对次氯酸(HClO)和活性硫(RSS)进行可逆响应的NIR-II探针——NIR-II Cy3s,其可以在病理生理学环境中可逆监测HClO/RSS介导的氧化还原过程。与传统的花菁类NIR-II荧光探针相比,新构建的探针在监测ROS和RSS方面都表现出了显著提升的稳定性,因此能够可靠地在活体中实现HClO/RSS介导的氧化还原稳态的可逆检测。通过注射NIR-II Cy3-988探针,成功实现了对急性炎症小鼠模型中的氧化还原环境和药物治疗效果的评估。该成果为研究急性炎症模型中氧化还原环境响应药物治疗的动态变化、监测药物治疗效果以及肝损伤和修复过程中的氧化还原电位变化提供了重要手段。

众所周知,急性血管炎症的发生会导致血管结构和血流动力学的显著改变,如血管舒张和血流量增加等。因此,实现血管的实时监测对及时发现血管炎症至关重要。如图6(a)所示,Liang等^[62]提出了一项策略,将花菁染料IR-3C和Ln³⁺(Ln=Yb, Nd, Er)整合到一个金属有机骨架(MOF)中,以制备具有强NIR-II发射的复合材料。MOF由于其分子/原子水平的催化中心、高孔隙率、大比表面积、高负载能力和均匀的结构,已成为工程中最有前途的材料之一^[63]。IR-3C具备高光子吸收能力,它可以收集激发光子,并通过共振能量转移途径将能量传递至Ln³⁺,从而显著增强Ln³⁺的NIR-II发射能力。通过皮下注射脂多糖(LPS)到小鼠的右后肢诱导血管炎症,同时将生理盐水注射到左后肢作为对照组。随后,通过静脉注射Er-BTC-IR@A到小鼠体内,在注射后几秒内即可迅速获得清晰的血管图像。值得注意的是,有急性炎症的血管在NIR-II b(1500~1700 nm)窗口的荧光强度明显高于无炎症的血管,验证了急性炎症中血管血流量的增加。此外,有炎症的血管直径也明显增大。制备的Er-BTC-IR@A能够通过无创方式快速区分急性炎症血管,且其在水相中表现出优异的NIR-II b发射效率,同时经过表面改性后具有良好的生物相容性。凭借其出色的成像性能,它能够清晰地描绘小鼠的血管、脊柱和淋巴系统,并且还能通过显示炎症过程中的血管扩张和血流量增加来区分具有急性炎症的血管。这项研究为实现对急性血管炎症的无创、实时NIR-II b荧光成像监测提供了强有力的方法。同时,这一策略也为

制备 NIR-II 发光 MOF 铺平了道路, 将有望推动其在生物医学领域的广泛应用。

4.2 关节炎炎症

类风湿性关节炎(RA)是一种具有毁灭性的自身免疫性疾病, 若未及早实施有效干预, 将导致慢性的滑膜炎以及软骨和骨质损伤, 最终引发无法逆转的功能性残疾^[64]。如图 6(b)所示, Liu 等^[12]成功构建了一种 Janus 纳米平台——Janus-CPS-MI。在 808 nm 激光的激发下, Janus-CPS-MI 荧光发射的边带可以延伸到 NIR-II 区域, 负载 ICG 使其具备 NIR-II 荧光成像能力, 用于 RA 的早期诊断和治疗。该平台具备多功能的生物成像功能, 同时还具备增强的 ROS 清除能力以及抗碎骨形成的特性。研究显示, 该 Janus 纳米平台在 RA 的诊疗一体化方面具有极好的前景, 不仅展现了平台具有结构增强性能的合理设计和精确合成模式, 也为 Janus 结构生物材料在生物医学领域的应用拓宽

了新的可能性。

4.3 膀胱炎和结肠炎

内环境稳态对于生命活动的维持至关重要, 酸碱平衡稳态也是其中之一^[65]。若碱性组织中的炎症得不到及时的诊断和治疗, 可能会造成严重的后果。高水平的 ROS 和活性氮(RNS)是氧化应激和炎症的信号, 而过氧化氢(H₂O₂)和过氧亚硝酸根(ONOO⁻)是 ROS/RNS 中负责炎症的主要反应物^[66]。Zhang 等^[67]合成了一系列含羟基的部花菁 NIR-II 荧光染料, 并从中选择了 Chrodol-3 与苄基苯硼酸酯连接, 成功制备出了能够选择性地碱性条件下对 ROS/RNS 双重响应的 NIR-II 荧光探针 PN910。随后, 他们构建了小鼠膀胱炎和结肠炎模型, 并对模型进行了 NIR-II 荧光成像。他们先选择膀胱炎模型进行验证, 通过改变尿液的 pH 值来探究 PN910 在体内检测 ROS/RNS 的能力。成像结果显示, 将该探针注入膀胱后, 碱性环境下

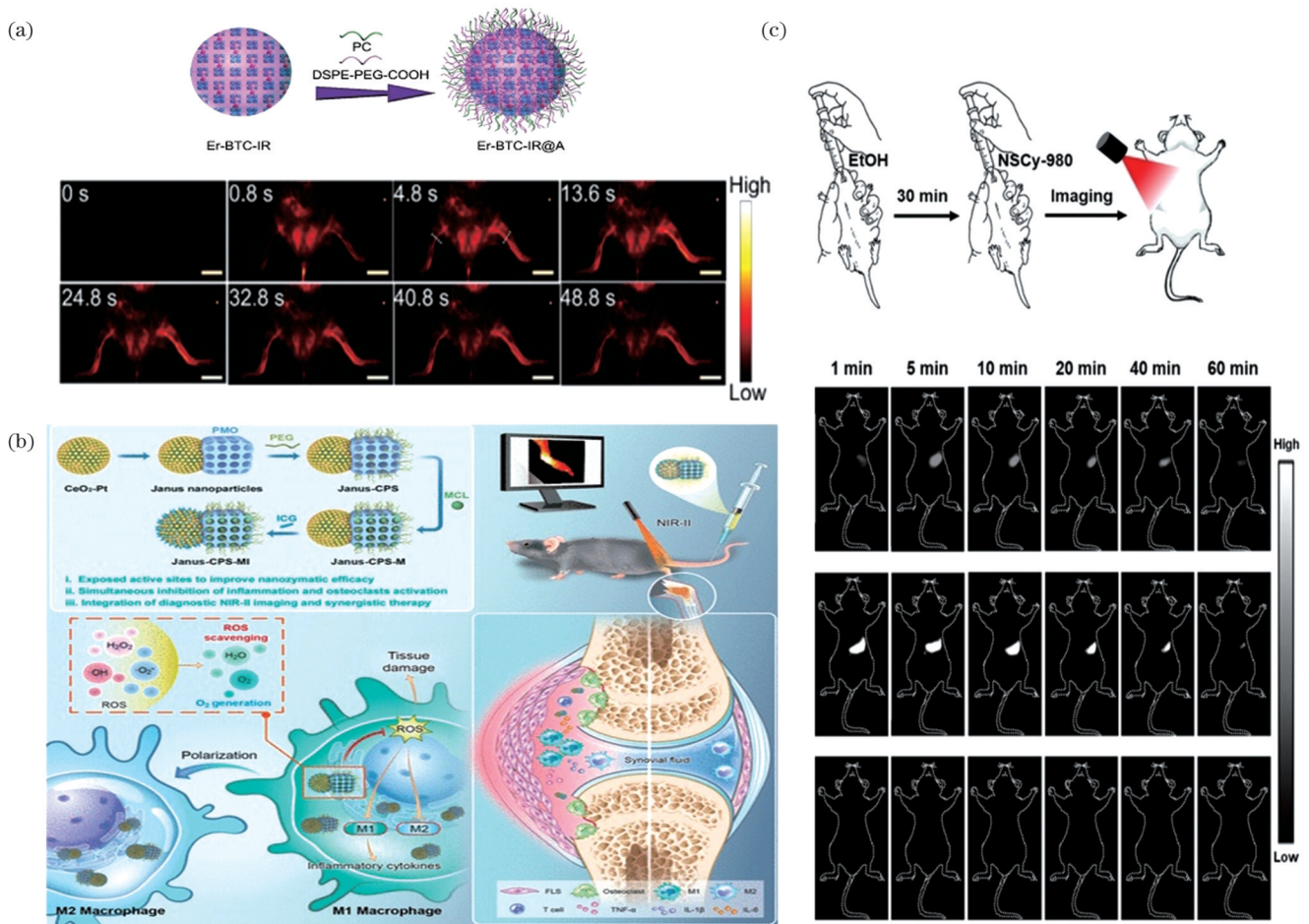


图 6 近红外二区花菁染料在炎症性疾病中的应用。(a)Er-BTC-IR@A 注射后不同时间点急性血管炎症的 NIR-II 血管图像示意图^[62]; (b)Janus 纳米平台 Janus-CPS-MI 的合成及其对 RA 的早期诊断和协同治疗示意图^[12]; (c)胃内施用 NSCy-980 后, 正常小鼠、急性胃炎小鼠和用西咪替丁治疗的急性胃炎小鼠的 NIR-II 荧光成像示意图^[13]

Fig. 6 Applications of NIR-II cyanine dyes in inflammatory diseases. (a) Illustration of NIR-II vessel images of acute vascular inflammation at different time points after Er-BTC-IR@A injection^[62]; (b) schematic illustration of synthesis of Janus nanoplatform Janus-CPS-MI and its early diagnosis and synergistic treatment of RA^[12]; (c) schematic illustration of NIR-II fluorescence imaging of normal mice, acute gastritis mice, and acute gastritis mice treated with cimetidine after intragastric administration of NSCy-980^[13]

的膀胱炎炎症区域的荧光明显增强,而无炎症以及正常生理 pH 值的膀胱炎小鼠的荧光均没有明显升高。结肠炎小鼠模型也得到了相同的结果。这一研究为在碱性环境下实现对膀胱炎、结肠炎的实时监测提供了新的思路和方法。

4.4 胃炎

常见的花菁染料一般都具有对称结构,易于在肝脏富集,显现较高的肝脏背景荧光,干扰肝外疾病的精确诊疗^[49]。如图 6(c)所示,Tian 等^[13]通过“双钥匙-锁”策略设计并合成了一系列 pH/黏度响应型非对称花菁染料,其中 NSCy-980 实现了在急性胃炎区域的高对比度 NIR-II 荧光成像。在成像实验中,给急性胃炎小鼠模型灌胃 NSCy-980 后,存在胃炎的区域在 1 min 内即显示出荧光,给药后 5 min 内荧光强度达到最高,信背比高达 19.6。此外,观察到强烈的 NIR-II 荧光信号持续了 1 h,这为体内高对比度实时荧光成像提供了便利。无胃炎区域表现出较低的 NIR-II 荧光,而患胃炎区域显示出比正常区域高 2 倍的荧光强度。综合上述结果,NSCy-980 在酸性胃黏膜的炎症微环境中能够有效激活,并敏感地检测急性胃炎的发生,具有较深的穿透深度和较高的荧光亮度,可用于急性胃炎的胃部非侵入性可视化,为急性胃炎的高对比度成像提供了一种有效的方法。同时,该研究开发的一系列非对称花菁染料也为其他学者研发 pH/黏度响应型 NIR-II 荧光团提供了新颖的见解,这种非对称的设计策略也将进一步拓宽 NIR-II 花菁染料的开发和应用方向。

5 近红外二区花菁染料在损伤中的应用

5.1 肝损伤

如图 7(a)所示,为有效检测和治疗亚硝酸胺导致的急性肝损伤,Zeng 等^[14]开发了一种可激活的 NIR-II 荧光探针 BHC-Lut。该探针以苯并吡啶七甲基菁为荧光团骨架,引入了三甘醇以提高探针的水溶性和生物相容性,同时通过硼酸键将木犀草素偶联到荧光团上。其中硼酸键既是肝损伤生物标志物 H_2O_2 的响应基团,也是荧光的淬灭剂。原理上,探针 BHC-Lut 通过静脉注射到亚硝酸胺诱导的肝损伤小鼠模型体内,当存在高表达的 H_2O_2 时,硼酸键被氧化断裂,释放出药物木犀草素进行治疗,同时释放出荧光团 BHC-OH 用于 NIR-II 荧光成像。为了探讨该探针对肝损伤小鼠的治疗作用,建立了急性肝损伤小鼠模型。据不同治疗组的 NIR-II 荧光成像数据所示,探针组小鼠肝脏区域的 NIR-II 荧光信号都明显较接近健康对照组的荧光信号,表明探针 BHC-Lut 对于肝损伤具有良好的治疗效果。此外,组织学分析和体重统计也佐证了这一结论。该研究表明,BHC-Lut 探针可以对肝损伤标志物产生响应,有效地区分和定位肝损伤部位,同时具有良

好的治疗效果,实现了诊疗一体化。此研究的探针设计策略为设计其他治疗系统提供了思路:通过生物标志物触发荧光团和药物的释放来检测和治疗其他疾病。这一思路具有潜在的临床应用前景。

而 Qin 等^[3]对前期研发的半菁染料(HD)进行了结构改造与性能调控,发展出了一系列具有羟基调控基团的 NIR-II 荧光染料 NIR-II-HD。这些染料不仅具备了发射波长更长(扩展至 NIR-II 区域)、稳定性良好、pKa 值适当以及抗溶剂化吸收淬灭等优点,同时也保留了氧杂蒽类染料荧光可控的特性。在此基础上,研究人员进一步构建了活性氧、谷胱甘肽和碱性磷酸酯酶等激活型 NIR-II 荧光探针。利用这些探针,他们评估了肝损伤过程中肝组织的氧化还原电位,并成功实现了肝损伤的高信背比成像分析。

另外,Li 等^[68]基于苯硫代吡啶花菁骨架和硼酸苯酯的融合,开发了一种用于药物诱导肝毒性监测的可活化 NIR-II 分子探针 IRBTP-B。利用该探针对乙酰氨基酚诱导的肝损伤模型进行 NIR-II 成像,成功实现了临床前药物性肝损伤的实时监测。

除此之外,He 等^[61]制备的 HClO/RSS 介导的氧化还原可逆探针 NIR-II Cy3-988,除可监测急性炎症外,还成功监测了小鼠肝损伤及修复过程中氧化还原电位的可逆变化。

上述研究为实时监测肝组织的氧化还原状态提供了有力的工具,也为肝损伤的临床诊断与治疗提供了新的思路。

5.2 肾损伤

急性肾损伤(AKI)是一种严重的疾病,具有高发病率和死亡率的特点,对健康构成了极大威胁^[69]。因此,开发高性能的 NIR-II 探针,实现对 AKI 的无创原位检测,具有重要的意义。然而,传统的 NIR-II 发光色团通常具有长连接和疏水性,这限制了它们在肾脏成像中的应用。如图 7(b)所示,Zeng 等^[70]设计并研制了一种新型 NIR-II 探针 PEG3-HC-PB。该探针具有可肾脏代谢性、生物标志物可激活性以及良好的水溶性和光稳定性。通过响应生物标志物 H_2O_2 的存在,探针产生明显的光声信号和 NIR-II 荧光信号。研究结果表明,PEG3-HC-PB 探针能够通过实时 3D-MSOT 和 NIR-II 荧光双模态成像技术,成功检测造影剂诱导的和缺血/再灌注(I/R)诱导的小鼠 AKI。这使得该探针成为了检测 AKI 的实用工具。此外,该探针的设计策略也为设计响应其他生物标志物的花菁染料,以及设计具有多种生物学应用的大共轭 NIR-II 荧光探针提供了借鉴。

缺血/再灌注肾损伤是由于血流暂时性中断引起的,可能会发生在器官移植、心肌梗死或败血症后^[71]。Ouyang 等^[15]的研究通过在中心环己烯基芯上引入吡啶和叔丁基基团,增加空间位阻,从而提升了花菁染料分子的水溶性,并为分析物响应元件提供了特定位置。

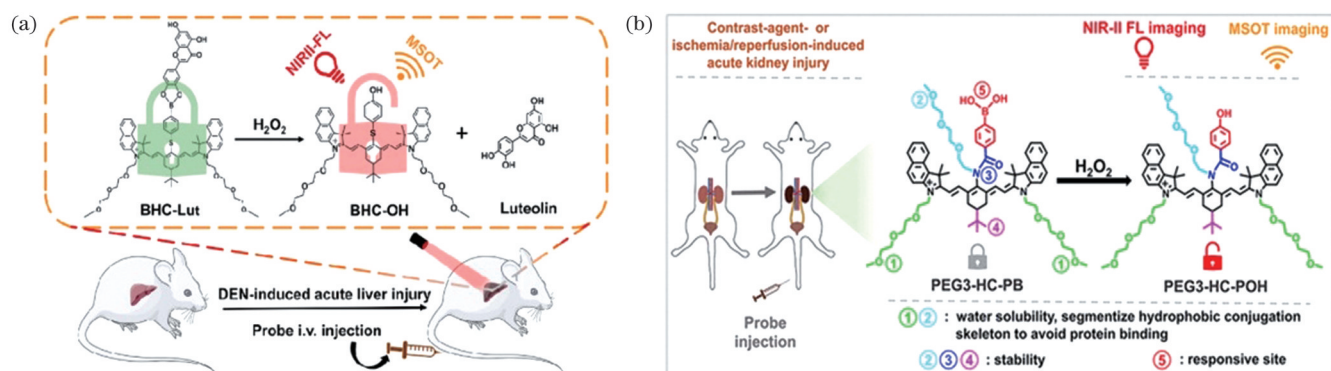


图7 近红外二区花菁染料在肝损伤和肾损伤中的应用。(a) 探针 BHC-Lut 对小鼠肝损伤 NIR-II 荧光/光声成像和治疗的示意图^[14]; (b) NIR-II 荧光和光声双模态成像检测和成像 AKI 的示意图^[70]

Fig. 7 Applications of NIR-II cyanine dyes in hepatic injury and kidney injury. (a) Schematic illustration of BHC-Lut probe for NIR-II fluorescence/optoacoustic imaging and therapy of hepatic injury in mice^[14]; (b) schematic illustration of NIR-II fluorescent and optoacoustic dual-mode imaging for detecting and imaging AKI^[70]

研究中制备的 HP-N 染料在 NIR-II 区域可产生明亮的荧光,其性能优于基准七甲基花菁染料。利用 HP-N 分子,进一步开发了一种可活化探针 HP-H₂O₂。HP-H₂O₂具有良好的水溶性和小粒径,易于通过新陈代谢进入肾脏。基于此特性,他们将此探针用于 I/R 诱导的急性肾损伤模型,以检测损伤处的内源性 H₂O₂ 含量。在此实验中建立了 I/R 诱导的急性肾损伤小鼠模型,并对不同处理组进行了 NIR-II 荧光成像。健康对照组的小鼠在肾脏区域几乎没有荧光信号,相比之下,急性肾损伤组显示出随时间逐渐增强的荧光信号。同时,相对于经历了较短时间缺血的小鼠,经历了较长时间缺血的小鼠在肾脏区域显示出更强的荧光,这表明 HP-H₂O₂ 不仅可以可视化肾损伤,还可以报告损伤的严重程度。

这两种基于花菁染料的可活化 NIR-II 荧光探针都能有效响应生物标志物 H₂O₂ 的存在,为肾损伤的监测以及改善治疗方案提供了有力工具。

5.3 胆道损伤

胆道损伤是腹腔镜胆囊切除术中最为可怕的并发症之一^[72]。Wu 等^[73]进行了一系列实验,旨在评估在腹腔镜胆囊切除术中可用于胆道成像的 NIR-II 窗口。首先,他们测定并记录了 ICG 胆汁溶液在 NIR-II 窗口的吸收和发射光谱,及其荧光强度和光稳定性。结果显示,ICG 胆汁溶液的荧光光谱在近红外二区表现出色,且具有较高的发射值和出色的光稳定性,这为 NIR-II 胆道成像提供了充分的支持。其次,他们进行了体外脂质内模拟成像,以评估 NIR-II 窗口的组织穿透深度。通过模拟不同临床场景,如扩大穿透距离或产生胆管损伤,他们评估了 NIR-II 窗口在胆管可视化和病变部位诊断方面的表现。实验结果表明,在 NIR-II 窗口中使用 ICG 进行肝外胆管造影明显降低了背景信号,增强了穿透深度,提供了更多的结构信息,并改善了胆管或病变位置的成像效果。相比之下,NIR-II 窗口成像的表现明显优于 NIR-I 窗口。

综合以上实验证明,常规临床批准的花菁染料 ICG 在 NIR-II 胆道成像方面表现优异。利用 ICG 进行 NIR-II 窗口下的胆管造影,可以提供清晰的胆道结构荧光成像,具有更高的分辨率和穿透深度。该研究表明,花菁染料 ICG 可能是提高疑难病例胆囊切除术安全性的有效选择。

6 结论与展望

总而言之,相对于其他成像技术,NIR-II 荧光成像具有光子散射低、生物背景荧光干扰低、组织穿透深度高、成像分辨率高、细微结构显像能力强以及安全性高的优势。花菁染料相对于其他染料来说,由于其有机小分子的特性,具有分子结构确定、生物相容性高、易于功能化修饰等优点。过去十几年间,已开发出许多用于深层组织生物成像的高对比度、高灵敏度的 NIR-II 花菁染料^[74]。相比于 NIR-I 的花菁染料,NIR-II 花菁染料在活体应用中可以克服传统荧光探针的缺陷,用于深层疾病的诊断应用。

本文对花菁染料在不同类型疾病上的生物医学应用进行了综合评述,包括对深层肿瘤如脑胶质瘤的灵敏检测、早期微小肿瘤病灶的检测、实时动态成像炎症区域的血流、以及在术中引导肿瘤切除手术等。表 1 简要地总结了花菁染料疾病应用有关信息。这些研究为未来花菁染料在医学领域的更广泛应用提供了有力的指导。

尽管 NIR-II 花菁染料在上述疾病的成像和治疗方面具有巨大的潜力,但目前它们仍处于转化的起步阶段,要实现临床应用或拓展其在体外生物检测中的应用,仍有一些挑战需要面对。首先,已研发的 NIR-II 花菁荧光探针仍存在量子产率低、稳定性差的问题,在体内易受生物酶等影响而发生结构变化^[75-76];其次,新研发的 NIR-II 花菁染料在成像深度、细微结构成像能力和信噪比方面较已获 FDA 批准的花菁染料并未取得突破性进展,其成像性能还有待进一步提升;最

表 1 花菁染料疾病应用有关信息
Table 1 Information on applications of cyanine dyes in diseases

Fluorescent probe	Dyes modification	Imaging	Fields of application	Ref.
HSA-ICG-iRGD	ICG and HAS programmed self-assembly	NIR- II imaging	GBM	[10]
GLIF	Loading PLA, ICG on surface of GWO	NIR- II FL/MRI imaging	GBM	[41]
MB-ICG	ICG-doped microbubbles	NIR- II imaging	Cerebrovascular imaging, GBM	[40]
R&H-V-Gd@ICG	ICG encapsulated in R&H-V-Gd	MR/NIR- II window multimodal imaging	Breast cancer	[43]
VGd@ICG-FA	Loading ICG into mesopores of MSN	NIR- II imaging	Breast cancer	[11]
ICG	-	NIR- II imaging	Pancreatic cancer, liver tumor	[47,49]
DN-ICG	ICG derivatives conjugated with carboxymethyl dextran nanoparticles	NIR- II imaging	Pancreatic cancer	[48]
S-Lipo-ICG	ICG encapsulated into lipids through hydrophobic interactions	Dual-color NIR- II imaging	Tumor, cerebrovascular imaging	[59]
Janus-CPS-MI	ICG-loaded	NIR- II imaging	RA	[12]
ICG-bile solution	-	NIR- II imaging	Biliary tract injury	[73]
IR-820	-	NIR- II imaging	Bladder tumor	[51]
Crizotinib-IR808 @BSA NP	IR808 combined with crizotinib and BSA NP	NIR- II imaging	CRC	[54]
Er-BTC-IR@A	Doping IR-3C into Ln-MOFs	NIR- II imaging	Acute vascular inflammation	[62]

后, NIR- II 花菁荧光探针的生物安全性是其能否进入临床应用的关键因素之一。

因此,为了拓展 NIR- II 花菁染料在生物成像与疾病治疗中的应用,未来的研究应优化分子设计,专注于开发具有高量子产率、高稳定性、高特异性、良好水溶性和生物相容性、可调控光学基团的可控 NIR- II 探针。尽管仍需解决众多困难,但 NIR- II 花菁荧光团在医学应用方面的潜力是不容置疑的。相信随着技术的进一步发展和研究的持续深入,这类分子有望实现更广泛的临床应用,为医学影像学 and 临床诊断领域带来新的突破和发展。

参 考 文 献

- [1] Ci Q Q, Wang Y Y, Wu B, et al. Fe-doped carbon dots as NIR- II fluorescence probe for *in vivo* gastric imaging and pH detection [J]. *Advanced Science*, 2023, 10(7): e2206271.
- [2] Chen Y, Wang S F, Zhang F. Near-infrared luminescence high-contrast *in vivo* biomedical imaging[J]. *Nature Reviews Bioengineering*, 2023, 1: 60-78.
- [3] Qin Z J, Ren T B, Zhou H J, et al. NIR II -HDs: a versatile platform for developing activatable NIR- II fluorogenic probes for reliable *in vivo* analyte sensing[J]. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 2022, 61(19): e202201541.
- [4] Li C Y, Chen G C, Zhang Y J, et al. Advanced fluorescence imaging technology in the near-infrared- II window for biomedical applications[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(35): 14789-14804.
- [5] Dang H P, Yan L F. Organic fluorescent nanoparticles with NIR- II emission for bioimaging and therapy[J]. *Biomedical Materials*, 2021, 16(2): 022001.
- [6] Cai Y, Si W L, Huang W, et al. Organic dye based nanoparticles for cancer phototheranostics[J]. *Small*, 2018, 14(25): e1704247.
- [7] Li B H, Zhao M Y, Zhang F. Rational design of near-infrared- II organic molecular dyes for bioimaging and biosensing[J]. *ACS Materials Letters*, 2020, 2(8): 905-917.
- [8] Lei Z H, Sun C X, Pei P, et al. Stable, wavelength-tunable fluorescent dyes in the NIR- II region for *in vivo* high-contrast bioimaging and multiplexed biosensing[J]. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 2019, 58(24): 8166-8171.
- [9] Wang S F, Fan Y, Li D D, et al. Anti-quenching NIR- II molecular fluorophores for *in vivo* high-contrast imaging and pH sensing[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 1058.
- [10] Wu Y Y, Hu D H, Gao D Y, et al. Miniature NIR- II nanoprobe for active-targeted phototheranostics of brain tumors[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2022, 11(23): e2202379.
- [11] Wei M, Bai J W, Shen X, et al. Glutathione-exhausting nanoprobe for NIR- II fluorescence imaging-guided surgery and boosting radiation therapy efficacy via ferroptosis in breast cancer [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(12): 11345-11361.
- [12] Liu Y Y, Chen L, Chen Z Y, et al. Multifunctional Janus nanoplateform for efficiently synergistic theranostics of rheumatoid arthritis[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(9): 8167-8182.
- [13] Tian Y, Chen Z M, Liu S Y, et al. "Dual-key-and-lock" NIR- II NSCyranines enable high-contrast activatable phototheranostics in extrahepatic diseases[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(38): e202309768.
- [14] Zeng C, Ouyang J, Sun L H, et al. An activatable probe for detection and therapy of food-additive-related hepatic injury via NIR- II fluorescence/optoacoustic imaging and biomarker-triggered drug release[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2022, 1208: 339831.
- [15] Ouyang J, Sun L H, Zeng F, et al. Rational design of stable heptamethine cyanines and development of a biomarker-activatable probe for detecting acute lung/kidney injuries via NIR- II fluorescence imaging[J]. *The Analyst*, 2022, 147(3): 410-416.

- [16] Kvach M V, Ustinov A V, Stepanova I A, et al. A convenient synthesis of cyanine dyes: reagents for the labeling of biomolecules [J]. *European Journal of Organic Chemistry*, 2008, 2008(12): 2107-2117.
- [17] International Union of Pure and Applied Chemistry. Compendium of chemical terminology[M]. Zurich: International Union of Pure and Applied Chemistry, 2014: 528.
- [18] Iliina K, Henary M. Cyanine dyes containing quinoline moieties: history, synthesis, optical properties, and applications[J]. *Chemistry*, 2021, 27(13): 4230-4248.
- [19] Li B H, Lu L F, Zhao M Y, et al. An efficient 1064 nm NIR- II excitation fluorescent molecular dye for deep-tissue high-resolution dynamic bioimaging[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57(25): 7483-7487.
- [20] Pan D, Caruthers S D, Chen J J, et al. Nanomedicine strategies for molecular targets with MRI and optical imaging[J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2010, 2(3): 471-490.
- [21] Yu X M, Feng Z, Cai Z C, et al. Deciphering of cerebrovasculatures via ICG-assisted NIR- II fluorescence microscopy[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7(42): 6623-6629.
- [22] Saremi B, Bandi V, Kazemi S, et al. Exploring NIR aza-BODIPY-based polarity sensitive probes with ON-and-OFF fluorescence switching in pluronic nanoparticles[J]. *Polymers*, 2020, 12(3): 540.
- [23] 韦族武, 杨森, 吴名, 等. 近红外二区荧光手术导航探针研究进展[J]. *中国激光*, 2022, 49(5): 0507102.
Wei Z W, Yang S, Wu M, et al. Recent progress in near-infrared- II fluorescence imaging probes for fluorescence surgical navigation [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(5): 0507102.
- [24] Hoelzel C A, Zhang X. Visualizing and manipulating biological processes by using HaloTag and SNAP-tag technologies[J]. *ChemBioChem*, 2020, 21(14): 1935-1946.
- [25] Hang Y J, Boryczka J, Wu N Q. Visible-light and near-infrared fluorescence and surface-enhanced Raman scattering point-of-care sensing and bio-imaging: a review[J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(1): 329-375.
- [26] Zhu S J, Tian R, Antaris A L, et al. Near-infrared- II molecular dyes for cancer imaging and surgery[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(24): e1900321.
- [27] Yang Y, Sun C X, Wang S F, et al. Counterion-paired bright heptamethine fluorophores with NIR- II excitation and emission enable multiplexed biomedical imaging[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(24): e202117436.
- [28] 刘嘉慧, 杨燕青, 马睿, 等. 有机近红外二区荧光探针研究进展[J]. *中国激光*, 2023, 50(21): 2107101.
Liu J H, Yang Y Q, Ma R, et al. Research progress of organic NIR- II fluorescent probes[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2023, 50(21): 2107101.
- [29] Wyler H. Das experiment: papierelektrophorese[J]. *Chemie in Unserer Zeit*, 1969, 3(4): 111-115.
- [30] Musso H. The pigments of fly agaric, *Amanita muscaria*[J]. *Tetrahedron*, 1979, 35(24): 2843-2853.
- [31] Tyutyulkov N, Fabian J, Mehlhorn A, et al. Polymethine dyes: structure and properties[M]. Sofia: St. Kliment Ohridski University Press, 1991.
- [32] Hunger K. Industrial dyes: chemistry, properties, applications[M]. Singapore: John Wiley & Sons, 2007.
- [33] Panigrahi M, Dash S, Patel S, et al. Syntheses of cyanines: a review[J]. *Tetrahedron*, 2012, 68(3): 781-805.
- [34] Chapman G, Henary M, Patonay G. The effect of varying short-chain alkyl substitution on the molar absorptivity and quantum yield of cyanine dyes[J]. *Analytical Chemistry Insights*, 2011, 6: 29-36.
- [35] Chen X Z, Guo R, Zhao C, et al. A novel anti-cancer therapy: CRISPR/Cas9 gene editing[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 939090.
- [36] Huang F, Li Y H, Liu J L, et al. Intraperitoneal injection of cyanine-based nanomicelles for enhanced near-infrared fluorescence imaging and surgical navigation in abdominal tumors[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2021, 4(7): 5695-5706.
- [37] Jeong C, Uthaman S, Bagheri B, et al. Self-assembled heptamethine cyanine dye dimer as a novel theranostic drug delivery carrier for effective image-guided chemo-photothermal cancer therapy[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 329: 50-62.
- [38] Ding B B, Xiao Y L, Zhou H, et al. Polymethine thiopyrylium fluorophores with absorption beyond 1000 nm for biological imaging in the second near-infrared subwindow[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 62(4): 2049-2059.
- [39] Tsai H C, Tsai C H, Chen W S, et al. Safety evaluation of frequent application of microbubble-enhanced focused ultrasound blood-brain-barrier opening[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 17720.
- [40] Liang S M, Hu D H, Li G F, et al. NIR- II fluorescence visualization of ultrasound-induced blood-brain barrier opening for enhanced photothermal therapy against glioblastoma using indocyanine green microbubbles[J]. *Science Bulletin*, 2022, 67(22): 2316-2326.
- [41] Xue D Z, Cao Y, Wang Y H, et al. An efficient reactive oxygen species/reactive nitrogen species generator for dual imaging-guided orthotopic glioblastoma therapy through intrathecal delivery[J]. *Nano Today*, 2023, 50: 101886.
- [42] Jeevan R, Cromwell D A, Trivella M, et al. Reoperation rates after breast conserving surgery for breast cancer among women in England: retrospective study of hospital episode statistics[J]. *British Medical Journal*, 2012, 345: e4505.
- [43] Yang R Q, Wang P Y, Lou K L, et al. Biodegradable nanoprobe for NIR- II fluorescence image-guided surgery and enhanced breast cancer radiotherapy efficacy[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(12): 2104728.
- [44] Zhang X L, Zhao M, Wen L, et al. Sequential SPECT and NIR- II imaging of tumor and sentinel lymph node metastasis for diagnosis and image-guided surgery[J]. *Biomaterials Science*, 2021, 9(8): 3069-3075.
- [45] Bandi V G, Luciano M P, Saccomano M, et al. Targeted multicolor *in vivo* imaging over 1000 nm enabled by nonamethine cyanines[J]. *Nature Methods*, 2022, 19: 353-358.
- [46] Xu J, Kooby D A, Nie S M. Nanofluorophore assisted fluorescence image-guided cancer surgery[J]. *Journal of Medical - Clinical Research & Reviews*, 2018, 2(1): 1-3.
- [47] Li Z Q, Li Z, Ramos A, et al. Detection of pancreatic cancer by indocyanine green-assisted fluorescence imaging in the first and second near-infrared windows[J]. *Cancer Communications*, 2021, 41(12): 1431-1434.
- [48] Luo X P, Hu D H, Gao D Y, et al. Metabolizable near-infrared- II nanoprobes for dynamic imaging of deep-seated tumor-associated macrophages in pancreatic cancer[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(6): 10010-10024.
- [49] 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]. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, 4: 259-271.
- [50] Zhao M Y, Li B H, Wu Y F, et al. A tumor-microenvironment-responsive lanthanide-cyanine FRET sensor for NIR- II luminescence-lifetime *in situ* imaging of hepatocellular carcinoma [J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(28): 2001172.
- [51] Feng Z, Yu X M, Jiang M X, et al. Excretable IR-820 for *in vivo* NIR- II fluorescence cerebrovascular imaging and photothermal therapy of subcutaneous tumor[J]. *Theranostics*, 2019, 9(19): 5706-5719.
- [52] Siegel R L, Miller K D, Wagle N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2023, 73(1): 17-48.
- [53] Bradley C A, Dunne P D, Bingham V, et al. Transcriptional upregulation of c-MET is associated with invasion and tumor budding in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(48): 78932-78945.

- [54] Hu Z, Li R H, Cui X Y, et al. Albumin-based cyanine crizotinib conjugate nanoparticles for NIR- II imaging-guided synergistic chemophototherapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15(28): 33890-33902.
- [55] Cui C X, Li J C, Fang J, et al. Building multipurpose nano-toolkit by rationally decorating NIR- II fluorophore to meet the needs of tumor diagnosis and treatment[J]. Chinese Chemical Letters, 2022, 33(7): 3478-3483.
- [56] Coussens L M, Werb Z. Inflammation and cancer[J]. Nature, 2002, 420(6917): 860-867.
- [57] Vinogradov S, Warren G, Wei X. Macrophages associated with tumors as potential targets and therapeutic intermediates[J]. Nanomedicine, 2014, 9(5): 695-707.
- [58] Kang H, Shamim M, Yin X R, et al. Tumor-associated immune-cell-mediated tumor-targeting mechanism with NIR- II fluorescence imaging[J]. Advanced Materials, 2022, 34(8): 2106500.
- [59] Gao D Y, Luo Z C, He Y, et al. Low-dose NIR- II preclinical bioimaging using liposome-encapsulated cyanine dyes[J]. Small, 2023, 19(17): 2206544.
- [60] Pezone A, Olivieri F, Napoli M V, et al. Inflammation and DNA damage: cause, effect or both[J]. Nature Reviews Rheumatology, 2023, 19: 200-211.
- [61] He L, He L H, Xu S, et al. Engineering of reversible NIR- II redox-responsive fluorescent probes for imaging of inflammation *in vivo*[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2022, 61(46): e202211409.
- [62] Liang T, Guo Z, He Y F, et al. Cyanine-doped lanthanide metal-organic frameworks for near-infrared II bioimaging[J]. Advanced Science, 2022, 9(7): 2104561.
- [63] Ma Y, Liu L H, Ye Z F, et al. Engineering of cyanine-based nanoplatform with tunable response toward reactive species for ratiometric NIR- II fluorescent imaging in mice[J]. Science Bulletin, 2023, 68(20): 2382-2390.
- [64] Smolen J S, Aletaha D, Barton A, et al. Rheumatoid arthritis[J]. Nature Reviews Disease Primers, 2018, 4: 18001.
- [65] Xie J W, Huang X Y, Gao M, et al. Surgical pharmacy for optimizing medication therapy management services within enhanced recovery after surgery (ERAS[®]) programs[J]. Journal of Clinical Medicine, 2023, 12(2): 631.
- [66] Mittal M, Siddiqui M R, Tran K, et al. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2014, 20(7): 1126-1167.
- [67] Zhang X, Chen Y, He H S, et al. ROS/RNS and base dual activatable merocyanine-based NIR- II fluorescent molecular probe for *in vivo* biosensing[J]. Angewandte Chemie (International Ed. in English), 2021, 60(50): 26337-26341.
- [68] Li D D, Wang S F, Lei Z H, et al. Peroxynitrite activatable NIR- II fluorescent molecular probe for drug-induced hepatotoxicity monitoring[J]. Analytical Chemistry, 2019, 91(7): 4771-4779.
- [69] Li J J, Duan Q J, Wei X N, et al. Kidney-targeted nanoparticles loaded with the natural antioxidant rosmarinic acid for acute kidney injury treatment[J]. Small, 2022, 18(48): 2204388.
- [70] Zeng C, Tan Y Y, Sun L H, et al. Renal-clearable probe with water solubility and photostability for biomarker-activatable detection of acute kidney injuries via NIR- II fluorescence and optoacoustic imaging[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15(14): 17664-17674.
- [71] Yang B, Lan S S, Dieudé M, et al. Caspase-3 is a pivotal regulator of microvascular rarefaction and renal fibrosis after ischemia-reperfusion injury[J]. Journal of the American Society of Nephrology: JASN, 2018, 29(7): 1900-1916.
- [72] Barrett M, Asbun H J, Chien H L, et al. Bile duct injury and morbidity following cholecystectomy: a need for improvement[J]. Surgical Endoscopy, 2018, 32(4): 1683-1688.
- [73] Wu D, Xue D W, Zhou J, et al. Extrahepatic cholangiography in near-infrared II window with the clinically approved fluorescence agent indocyanine green: a promising imaging technology for intraoperative diagnosis[J]. Theranostics, 2020, 10(8): 3636-3651.
- [74] Sun C L, Wang B Q, Dong B, et al. Review: advances in the application of microenvironment-responsive NIR- II fluorescent probes in organisms[J]. ECS Journal of Solid State Science and Technology, 2021, 10(7): 076002.
- [75] Yang Z M, Mo Q Y, He J M, et al. Mitochondrial-targeted and near-infrared fluorescence probe for bioimaging and evaluating monoamine oxidase activity in hepatic fibrosis[J]. ACS Sensors, 2020, 5(4): 943-951.
- [76] Li K, Lyu Y F, Huang Y, et al. A *de novo* strategy to develop NIR precipitating fluorochrome for long-term *in situ* cell membrane bioimaging[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(8): e2018033118.

Research Advances of NIR- II Cyanine Dyes in Disease Applications

Qiu Yu, Shen Zhiyang, Ding Haizhen, Jing Jinpeng, Chen Hongmin*

School of Public Health, State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics & Center for Molecular Imaging and Translational Medicine, Xiamen University, Xiamen 361102, Fujian, China

Abstract

Significance In recent years, the rapid development of bioimaging technology has provided powerful tools for life science research. Among them, fluorescence imaging, as an important imaging technique, enables real-time and non-invasive visualization of physiological activities in biological systems. Since biological tissues have lower absorption and scattering of photons in the near-infrared region II (NIR- II), combined with the weaker autofluorescence of tissues in this region, the signal-to-background ratio is greatly improved. Therefore, NIR- II fluorescence imaging can achieve deeper and higher-resolution biological imaging, and is expected to be widely used as an ideal precision imaging technique in basic research and clinical practice in the future.

NIR- II fluorescence probes can be mainly categorized into inorganic and organic probes. Organic probes have advantages such as strong near-infrared absorbance, good biocompatibility, and easy metabolism, making them the preferred choice for *in vivo* imaging. Currently, there are two major classes of organic probes used in NIR- II fluorescence imaging. One class is dyes with a donor-acceptor-donor structure, and the other class is cyanine dyes connected by conjugated polymethyl chains with a certain length of carbon atoms. Compared with donor-acceptor-donor dyes, the synthesis process of NIR- II cyanine dyes is relatively simple, and they have higher brightness, thus possessing significant advantages in NIR- II imaging. Cyanine dyes, as a highly valuable class of

molecular probes, exhibit excellent fluorescence characteristics in the NIR- II region, so that they have attracted extensive research interests and continue to develop in the field of disease diagnosis and treatment. Due to the high tissue penetration depth and low interference from biological background signals, NIR- II cyanine dyes can overcome the drawbacks of traditional fluorescence probes and be applied in the diagnosis of diseases.

Cancer is one of the leading causes of death of the global population, characterized by high mortality and recurrence rates. NIR- II cyanine dyes can be used for tumor detection and visualization in the NIR- II region. Their high sensitivity and high-resolution imaging make them important tools for early tumor diagnosis. Additionally, cyanine dyes also have significant advantages in real-time dynamic display of tumor boundaries, providing critical information for tumor resection surgery. Inflammation is a protective response to stimuli. However, if inflammation persists without timely diagnosis and effective control, the detrimental effects will outweigh its biological benefits. NIR- II cyanine dyes also have important value in the application of inflammatory diseases. On the one hand, they can precisely locate the inflammatory area, and on the other hand, by monitoring the distribution and concentration changes of the dye in the body, the activity of inflammation can be evaluated, providing guidance for treatment. NIR- II cyanine dyes can also effectively differentiate and locate the sites of injury, visualize injuries, and help assess the extent of tissue injuries. Furthermore, the combination of NIR- II cyanine dyes with drugs enables targeted drug delivery to tumors, inflammatory areas, or injured sites. By monitoring the distribution of the drug-dye complexes in the body, the therapeutic effect can be assessed in real time. These advanced applications demonstrate the tremendous potential of NIR- II cyanine dyes in the field of modern medicine and their broad application prospects in diseases.

Progress The latest advancements in the applications of NIR- II cyanine dyes in various diseases are summarized. First, the structural characteristics, classifications, and applications of cyanine dyes are introduced. Then, the utilization of NIR- II cyanine dyes in various tumors such as brain tumors, breast cancer, pancreatic cancer, liver cancer, bladder cancer, colorectal cancer, gastric cancer and other tumors is comprehensively reviewed, referencing prior researches. Tian's research group from University of Chinese Academy of Sciences and Gambhir *et al.* from Stanford University have developed an integrated visible and NIR- I / II multispectral imaging instrument to perform the first human liver tumor surgery. They have taken relatively pioneering studies on treatment of tumors. Additionally, the research group from Fudan University, led by Zhang, has developed a tumor-microenvironment-responsive lanthanide-cyanine fluorescence resonance energy transfer (FRET) sensor for NIR- II luminescence-lifetime *in situ* imaging of hepatocellular carcinoma [Fig. 5(a)]. The applications of NIR- II cyanine dyes in various inflammatory diseases like acute vascular inflammation, rheumatoid arthritis, gastritis, and in injuries related to liver, kidney, and biliary tract are further discussed. Liu *et al.* collaborated on cyanine-doped lanthanide metal-organic frameworks for NIR- II bioimaging [Fig. 6(a)]. It is noted that the application research of NIR- II cyanine dyes is still limited and not comprehensive. Finally, the challenges and research trends in this field are discussed.

Conclusions and Prospects NIR- II cyanine dyes have tremendous potential in the imaging and treatment of tumors, inflammatory diseases, and injuries. In summary, further in-depth exploration is needed for the development of NIR- II cyanine dyes to promote their wider clinical applications, and bring new breakthroughs and developments to the fields of medical imaging and clinical diagnosis.

Key words medical optics; cyanine dye; near-infrared region II; disease application