

用于深层组织光学成像的荧光探针与成像技术

高宇翔¹, 郭乐², 李慧², 张学良¹, 努尔尼沙·阿力甫¹

1. 新疆医科大学医学工程技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

【摘要】对用于深层组织成像的探针和自适应光学成像技术的最新研究进展进行了综述,旨在为生命科学和跨学科的研究提供了一个新的思路和视角。首先,对发射光波长在近红外-II区的荧光、生物发光、化学发光和长余辉发光的探针进行了阐述,同时,对直接波前传感方法实现快速测量和校正波畸变,以及间接波前传感方法实现校正复杂光学像差的相关技术进行了概述。上述技术和方法的不断更新,使得光学成像能够成功地穿透更深层的组织,减少背景噪声以获得更高的成像质量。

【关键词】光学成像;近红外-II区;生物发光;化学发光;自适应光学;综述

【中图分类号】R318

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2024)02-0169-06

Fluorescent probes and imaging techniques for deep-tissue optical imaging: a review

GAO Yuxiang¹, GUO Le², LI Hui², ZHANG Xueliang¹, ALIFU Nuernisha¹

1. School of Medical Engineering and Technology, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract: The research advancements in probes for deep-tissue imaging and adaptive optical imaging technologies are summarized, aiming to offer a new perspective for life science and interdisciplinary research. The review firstly gives an introduction on the probes emitting in the near-infrared-II region, including fluorescence, bioluminescence, chemiluminescence, and persistent luminescence, and then elaborates direct sensing methods for rapid measurement and correction of wavefront distortions, as well as indirect sensing methods for correcting complex optical aberrations. The continuous updating of the above techniques and methods has enabled optical imaging to successfully penetrate deeper tissues with a remarkable reduction of background noise for higher image quality.

Keywords: optical imaging; near-infrared II region; bioluminescence; chemiluminescence; adaptive optics; review

前言

精准成像与诊断在疾病诊疗中起着非常重要的价值和作用。随着科技的发展,逐渐出现了多种可实现准确诊断的成像方法和手段^[1],包括光学成像、磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)、计算机断层扫描(Computed Tomography, CT)成像、超

声波(Ultrasonography, US)、单光子发射计算机断层扫描(Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT)成像和正电子发射断层扫描(Positron Emission Tomography, PET)成像^[2]。与其他的成像技术相比,光学成像技术可以提供精确和高分辨率的亚细胞结构。与此同时,光学成像技术对生物体无辐射损伤、危害很小。但是,当光穿透深层生物组织时,由于组织性质(组织对光的折射率、吸收和散射特性)的差异,会产生像差和多次光散射,对光的传播产生显著影响,且随着探测深度的增加,空间分辨率将会急剧下降^[3-4]。因此,在生物医学光学成像领域中,能够产生或增强成像信号的近红外-II(Near-infrared-II, NIR-II, 900~1 700 nm)区的光学成像探针发挥着至关重要的作用^[5]。

为此,研究者们采用了一系列措施,以提高光学成像的深度和分辨率。其中,增强探针的光学成像信号

【收稿日期】2023-09-26

【基金项目】国家自然科学基金(82060326, 62035011);省部共建中亚高发病因与防治国家重点实验室开放课题重点项目(SK-L-HID-CA-2022-3);新疆维吾尔自治区高校科研计划自然科学青年项目(XJEDU2018Y026)

【作者简介】高宇翔,硕士研究生,主要研究方向:生物医学光子学, E-mail: 1635166151@qq.com

【通信作者】努尔尼沙·阿力甫,博士,教授,博士生导师,主要研究方向:生物医学光子学, E-mail: nens_xjmu@126.com

成为了备受关注的方法之一。光学成像探针(纳米颗粒)的开发和研制是以小分子染料、蛋白质或无机物纳米材料作为基底。小分子染料具有分子量低、结构明确、有利于批量生产和质量控制的特点;蛋白质可以由生物体产生,并且像生物仿制药一样通过基因工程与特定蛋白质联系在一起;无机物纳米材料因其独特的成分和微观结构对成像或治疗非常有效^[6]。因此,研究者们基于这些典型的基底,开发了适合于深层组织成像的探针,如结合NIR-II区荧光、生物发光、化学发光和长余辉成像等技术。这些探针可以实现长波段发光,具有较小的散射和较大的空间分辨率,有助于实现深层组织的高清晰度成像。

另一种有效方法是通过减少成像中的相对光程和波长衰减。在解读包含生物体信息的单次散射波(称为弹道波)信号时,通过研究光在组织中的传播规律^[7],研究员发现信号衰减的原因主要是像差和多重散射。在散射平均自由路径深度处,信号强度降低至13.5%,而这一深度在生物组织中大约为数百微米^[8]。除多重散射外,样品引起的像差也会显著降低弹道波的信号强度。因此可通过自适应光学(Adaptive Optics, AO)来解决弹道波的衰减。在成像速度方面,利用直接波前传感方法(Direct sensing method)需要数毫秒到几十毫秒的时间来测量和校正波前;基于样品的光学特性,直接波前传感技术对培养细胞或透明样品的成像非常有效^[9-21]。而与直接波前传感方法相比,间接波前传感方法(Indirect sensing method)即使在相对不透明的组织样品上也可以测量和校正波前^[22-36]。此外,显微镜的系统像差和样品引起的像差大多是静态时,间接波前传感方法更为合适。因此这两种AO检测方法也是有效提高深层组织高质量成像的方法。

本综述中,笔者围绕着用于深层组织成像的探针和成像技术两大核心内容,概述了几种典型的NIR-II荧光成像、生物发光成像、化学发光成像和长余辉发光成像探针在生物医学领域中的最新研究进展;同时,对深层组织光学成像的另一种成像技术,即AO方法在光学成像的最新生物医学应用做了梳理和总结;最后,对用于深层组织光学成像的探针和技术在生物医学领域中的进一步应用进行了展望。

1 用于深层组织光学成像的探针

在生物医学研究中,深层组织的高分辨率成像一直是一个重大的挑战。传统的光学成像技术在穿透深层组织时由于光的衰减、散射和吸收容易受到限制。结合深层组织成像技术的光学成像探针,有助于增强成像信号的强度,以提高深层组织的成像

质量和深度。在深层组织成像技术中,典型的光学探针有NIR-II荧光成像探针、生物发光探针、化学发光探针和长余辉发光探针等。下文将对这些探针的特性和应用进行更加详细的阐述。

1.1 NIR-II荧光成像探针

可见光(380~750 nm)因其波长短、散射大、自发光强,适用于细胞或薄层组织成像。近红外-I(Near-infrared-I, NIR-I, 650~900 nm)区光波长比可见光长,与组织的相互作用较少,可应用于活体内成像。吲哚菁绿(Indocyanine Green, ICG)是美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的NIR-I荧光染料,已被应用于成像引导下的手术治疗^[37]。但是,NIR-I光的组织穿透深度小于1 mm,限制了其在深层组织成像中的应用。因此,NIR-II成为了热门研究方向,与NIR-I波段相比,它展现了更深的穿透深度、更低的光衰减和散射^[38]。因此,NIR-II波段荧光成像特别适用于深层组织,能够获得高信噪比和低自发荧光的活体成像^[39]。尽管NIR-II波段具有这些优势,但相应的荧光探针数量仍然有限,且现有探针因低量子产率和较差的水溶性而未被广泛应用。

2019年,Yang等^[40]研制了一种在NIR-II波段下发射荧光的纳米晶量子点(Quantum Dots, QDs),用于示踪间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSC)。通过使用RNase-A作为蛋白质模板来控制铅(Pb)和硫(S)之间的化学反应,以此合成QDs,并将细胞渗透的TAT(Trans-activator of transcription)肽连接到PbS@CdS QDs表面以增加细胞摄取。在808 nm波长的激发光照射下,这些QDs在1100~1700 nm波段发出荧光信号,使得深层组织中的细胞示踪成为可能。Yang等^[40]将经QDs修饰的MSC皮下注射入小鼠体内后,成功检测到了至少 1×10^3 个细胞,并且持续28 d观察到稳定的荧光信号。与此前报道的发射可见光的CdSe@ZnS QDs相比,显示出了更高的检测数(5×10^4 细胞),证明了NIR-II成像探针用于体内细胞示踪的优势。最后,这些QDs在小鼠体内逐渐分解成Pb离子,并通过尿液和粪便排出,在注射42 d后,在肾脏、肝脏和脾脏之外的其他器官中几乎未观察到信号。

2022年,Kang等^[41]报告了一种基于七甲基菁基的NIR-II荧光探针SH1,该荧光探针不需要与靶向配体进行化学共轭,可用于肿瘤光学成像。为估算体内肿瘤特异性成像性能,Kang等^[41]在静脉分别注射SH1、ICG和IR-780碘化物到携带Lewis肺癌细胞(Lewis Lung Carcinoma, LLC)的小鼠体内,并在不同时间点对每一个荧光探针分别进行了NIR-II荧光成

像。从实验结果来看,肿瘤部位的ICG荧光信号微乎其微,几乎可以忽略不计。尽管在注射IR-780后4 h,肿瘤处出现了强烈的荧光信号,但在48 h后去除周围皮肤时,信号减弱,只能在肿瘤轮廓处观察到。另一方面,注射SH1 24 h后开始在肿瘤中显示出强烈的荧光信号,即使在注射48 h后去除周围皮肤时,信号仍然维持不变。这种延迟的肿瘤成像方式是因为SH1靶向骨髓中的免疫细胞,并随后与它们一起迁移。利用这种机制,不论是大小为5 mm的胰腺癌肿瘤还是大到15 mm的乳腺癌肿瘤,肿瘤与背景比(Tumor-Background Ratio, TBR)均大于9。

1.2 生物发光探针

生命有机体如真菌、细菌菌株和海洋有机微生物等都可以产生并发射光信号,这种自然发光的现象被称为生物发光。生物发光于1667年被Robert Boyle首次发现,并在后续生物医学研究中被用作成像工具^[42]。生物发光的产生是由萤光素底物与萤光素酶之间的化学反应引起的。当萤光素酶氧化萤光素时,会产生明亮的光,其中萤火虫的萤光素酶和D-萤光素就是生物发光材料的代表性例子。

2019年,Nomura等^[43]开发了一种生物发光探针,该探针能与类似生物硫醇的半胱氨酸反应后发出光。为了激发萤光素(Coelenterazine, CTZ)发光,Nomura等^[43]使用丙烯酰基团对CTZ进行了修饰,得到了丙烯酰基甲氧基-CTZ-甲氧基(Acryloyl methoxy-CTZ-methoxy, AMCM)。AMCM通过切割丙烯酰基团而产生荧光,随后该荧光由萤光酶RLuc8.6-535的生物体分子发射出来。并且,通过转化COS-7细胞来产生一个新的RLuc蛋白(RLuc8.6-535),这延长了RLuc在细胞内的半衰期。由于iRFP713和RLuc8.6-535的基因融合而发生生物发光共振能量转移(Bioluminescence Resonance Energy Transfer, BRET),这增强了该系统的成像灵敏度。在BRET的作用下,萤光酶RLuc8.6-535与邻近的iRFP713相互作用,使得生物发光的波长可以延伸到更长的近红外波段。当AMCM经半胱氨酸处理后与RLuc8.6-535发生反应,生物发光信号的强度显著增强,但这种变化取决于半胱氨酸的浓度。这一结果表明,基于BRET的生物发光探针在深层组织成像中具有显著的应用潜力。

2020年,Bellini等^[44]使用H-铁蛋白(Human Ferritin, HFn)纳米笼,通过HFn与转铁蛋白1结合,并与肿瘤细胞结合并被摄取后,释放出的萤光素与肿瘤细胞中的萤光酶发生反应。它们使用自身分解间隔物在二硫键断裂后触发分子内反应,并释放萤光素进行高效的生物发光反应。当这些纳米笼被静脉注射入携带表达萤光酶的4T1乳腺癌细胞的小鼠体内后,在肿瘤区域观察到持续长达105 min的强烈

生物发光信号。实验结果体现了纳米笼的特异性以及生物发光不被背景信号所干扰的优势。这证明所提议的生物发光系统可以实现精确的实时体内成像。这些近期的研究成果都能够证明生物发光对于体内成像以及体外测定的有效价值。

1.3 化学发光探针

化学发光也是深层组织成像的一种有力工具。化学发光并不依赖外部光源进行激发,而是通过与一氧化氮(NO)等活性氮物种或过氧化氢(H₂O₂)等与体内生命活动有关的物质发生化学反应而发光。由于化学发光不依赖于外部光源,因此它不受背景自发荧光的影响,能够提供高灵敏度的深层组织成像。

2019年,Huang等^[45]推出了一种化学发光探针,能够迅速检测药物诱导的急性肾损伤(Acute Kidney Injury, AKI)。当前用于诊断肾脏损伤的代表性生物标志物(FDA批准)包括N-乙酰基-β-D-葡萄糖苷酶、炎症介质三叶因子-3、肾小球过滤标志物以及β2-微球蛋白。然而,这些标志物只有在疾病已经显著进展时才能检测到,可能导致错过有效治疗的时机。为此该探针可以与AKI相关的分子以及现有的生物标志物反应,从而帮助快速诊断AKI。Huang等^[45]开发的化学发光探针MRP₀能够与超氧(O₂⁻)发生反应,在无需激发光的情况下发出长波段的近红外光。这种探针采用双通道技术(化学发光和近红外荧光探针),MRP₀是由3个小分子合成的: Cy7(一个NIRF信号结构)、CySCL(一个化学发光信号结构)以及(2-羟丙基)-环糊精。这种与AKI诊断相关的新型探针可以在短时间内通过深层组织为肾脏提供高强度的检测信号,并在成像后迅速地被肾脏清除。这一化学发光探针不仅有望在AKI的诊断中得到应用,还可能推动新型化学成像探针在AKI诊断方面的验证与转化应用。

2021年,Scott等^[46]开发了第一个用于验证自然杀伤(Natural Killer, NK)细胞在肿瘤内活性的化学发光探针。当NK细胞识别到肿瘤细胞时,它们会释放出对细胞具有毒性的溶颗粒酶,从而导致肿瘤细胞凋亡。利用这一特性,Scott等^[46]设计了一种能特异性结合颗粒酶B并发光的苯氧二环己烷探针,并在体外及体内证明了其作为化学发光探针的潜力。在MDA-MB-231(人类乳腺癌细胞系)细胞皮下注射到免疫缺陷小鼠后,NK细胞也被注射入肿瘤,随后对新探针的效果进行了评估。如预期,化学发光探针在NK细胞注射的地方被激活。由于化学发光是基于NK细胞的激活而检测到的,所以它不受背景自发荧光和需要光源的现有光学成像技术的限制。因此,它在深组织成像中展现出足够的潜力。

1.4 长余辉发光

长余辉发光是指在激发光终止后长时间持续发光的现象。其中,持续发光纳米粒子(Persistent Luminescence Nanoparticles, PLNPs)不仅能够产生长余辉发光效应,还可以用作载体装载药物^[47]。尽管PLNPs仍然面临一些挑战,例如需要进一步精确控制其特性和纳米粒子的递送,以及生物安全性方面的问题,但它们在无激发成像、图像引导手术以及与多种治疗方法结合使用等领域都表现出显著的潜力和效果。

2017年,Li等^[48]提出了由水热法合成的发射波长为800 nm,尺寸为5 nm的 $\text{ZnSn}_2\text{O}_4\text{:Cr,Eu}$ (ZSO)近红外持续发光纳米粒子(Near-infrared Persistent Luminescence Nanoparticles, NPLNPs)。ZSO NPLNPs在接受激光照射30 min后可以产生近红外区域的持久发光,波长大约为800 nm,其可有效地穿透2.5 cm的猪组织,信噪比高达7.39,而且在正常小鼠中信噪比达到25.5。此外,由于其结构中富含羟基,使得ZSO NPLNPs容易和叶酸(Folic acid, FA)进行功能化。因此,在体外和体内研究中,ZSO NPLNPs表现出对FA富集肿瘤的显著靶向能力。在体外实验中,ZSO-FA相比于ZSO,能更好地被乳腺癌细胞(Michigan Cancer Foundation-7, MCF7)摄取,其摄取率提高了6.33倍;而在小鼠体内,通过静脉注射后,29.08%的ZSO-FA NPLNPs积聚在肿瘤部位。通过ZSO-FA NPLNPs在肿瘤中的残余发光显示出了显著的信噪比为13.3,并持续超过了10 min,从而实现长时间和深层组织成像。

2019年,Jiang等^[49]通过级联光反应提出了长余辉发光纳米粒子(Afterglow Luminescent Nanoparticles, ALNPs),该反应利用传统的荧光剂在化学缺陷(材料或分子结构中的不完整或非正常部分)中存储光能,并在激发终止后导致延迟发光。在此级联光反应中,光敏剂充当长余辉启动器产生 $^1\text{O}_2$,导致 $^1\text{O}_2$ 和长余辉底物($^1\text{O}_2$ 活性分子)之间反应后产生一个不稳定的化学发光中间体(1, 2-dioxetane)。然后,不稳定的中间体将其能量传递给由化学激发的长余辉荧光物质。这些研究展示了ALNPs在深部组织成像和诊断中的积极潜力,但也指出在每种长余辉成像应用中都需要仔细考虑信号强度随时间的变化。

2 基于AO的深层组织成像技术改进

深层组织成像技术的不断改进对于生命科学研究和医学诊断具有重要意义。其中,基于AO的成像技术尤为重要。在接下来的部分中,本文将概述探讨两种关键的AO成像技术:直接波前传感方法和间接波前传感方法。这些方法和应用对于深层组织的高质量成像具有重要影响。

2.1 直接波前传感方法AO荧光成像

在直接波前传感方法中,使用波前传感器(例如Shack-Hartmann传感器)来确定光学像差。直接波前传感方法具有优势,它可以在几十毫秒内快速测量光学像差。但为了精确测量和校正光学像差,需要发出一个足够强的信号导引在待测区域附近。

直接波前传感方法适用于焦点扫描荧光显微术中。通过双光子引导星(Two-photon guide star),获取活体斑马鱼大脑的两色共聚焦图像^[50]。该文章得出髓鞘形成细胞(洋红色)和神经元核(绿色)的三维体积图像以及像差校正之前的最大强度投影(Maximum Intensity Projection, MIP)和通过200 μm 深度后的MIP校正^[50]。另外,通过双光子导引的直接波前传感方法也适用于小鼠大脑成像,因为与可见波长相比,生物样品中的散射在近红外波长下减少。使用这种技术,可以测量活体小鼠大脑皮层内深度约为600 μm 区域的图像^[51]。

结构照明显微术(Structured Illumination Microscopy, SIM)也可以与直接波前传感AO技术相结合。SIM通过将光源照射到样品上形成特定模式,然后通过计算处理这些模式以生成图像。这种方法因其在活体样品中超过衍射极限的高分辨率而受到关注。然而,传统的SIM方法存在一些问题,例如低信噪比和由活体样品特性引起的运动诱导伪影。通过Shack-Hartmann传感器与直接波前传感集成的光学切片SIM可以减少噪声并纠正样品运动的问题^[52]。另一项研究中,将广域照明、结构照明和共聚焦照明的方法整合到一个带有AO的系统中,其中AO可以通过简单地改变光学路径直接应用于直接波前传感^[53]。研究采用了一个集成系统,结合了基于图像的无传感器波前校正、共聚焦无传感器AO技术和直接波前传感技术,以开发出三维SIM技术。

2.2 间接波前传感AO荧光成像

间接波前传感方法主要可以分为模态方法(Modal method)和区域方法(Zonal method)。模态方法使用连续表面波前校正仪器,而波前则由像差模式之和组成。对于区域方法,波前则被视为整个瞳孔的单独不重叠的区域。此方法确定每个区域的斜率,以在焦点处的图像位移中校正波前。

通常情况下,使用双光子显微镜成像技术对哺乳动物脑组织的成像深度难以超过1 mm,因为随着激光功率的增加,靠近表面会出现失焦的背景噪声。通过与基于模态的无传感器波前系统集成,三光子激光扫描显微镜可以是解决这个问题的适当方法^[54]。通过基于模态的无传感器AO三光子显微镜并结合主动心电图门控,最终获得了成像深度为1.4 mm

的小鼠海马体图像。

频率多路复用的间接波前测量的区域方法可以用于评估和校正组织引起的像差^[55]。这种区域性的间接传感AO方法适用于双光子和三光子显微镜,用于测量小鼠大脑深皮层区域的突触结构。另外,一项研究报道指出,结合Bessel光束的间接波前传感模式技术非常适合高速体积成像^[56]。在双光子显微镜中,利用物镜焦平面上的Bessel光束进行像差的测量和校正。全息散射补偿方法是一种较新的区域间接波前测量方式,它通过使用两个干涉光束进行非线性激发来测量组织内散射光的幅度和相位信息,并将其用于像差校正(通过焦点扫描全息像差探测)^[57]。因此,利用三光子激光可以获得高速图像,特别适用于密集标记的样品,且能在难以获得高速图像的双光子激光成像中实现。

3 总结和前景

在本综述中,针对深层组织成像的局限性问题,即在深层组织样本中进行光学成像会导致多光散射增加和波前像差复杂化,主要围绕两种解决方法(深层组织成像探针和AO成像技术)及其在生物医学研究中的应用进行了概述和梳理。

首先,概述了深层组织成像探针,即长波长、有利于组织穿透的NIR-II成像探针和不需要激发光且背景信号噪声低的成像探针(生物发光、化学发光和长余辉成像)。很明显,NIR-II波段比其他波段更适合深层组织成像。然而,至今很少有NIR-II光的成像探针得到人体试验的批准。因NIR-II区域的小分子染料的化学结构多为疏水,很难将其制成可注射用的水溶液。因此,开发新的长波长且低疏水性的NIR-II成像探针至关重要。生物发光成像使用的是荧光酶蛋白,这些蛋白在人体内可以被各种酶降解。化学发光在于可以合理地开发出对体内各种分子产生响应的探针。但是,对生物发光和化学发光,其成像信号随时间变化,不利于进行疾病的定量诊断。长余辉成像能够产生无背景信号的光,并且其组成相对简单。然而,一个问题是其成像信号会随着成像时间的增长而自然衰减。因此,关键在于延长长余辉成像信号的持续时间,并为成像提供足够的时间,使信号变化最小。

其次,探讨了AO成像技术,基于荧光的直接和间接波前传感方法在生物医学和纳米光子学应用中具有更高的适用性。此外,光学技术还可用于观察人源诱导多能干细胞的类器官,以研究阿尔茨海默病,成为了转化医学的一项研究^[58]。光学技术同样

有助于检测生物体内的微小病灶,尤其是在临床应用中用于早期皮肤癌的检测。尽管有几种临床成像技术可用于检测黑素瘤,但它们的空间分辨率不足以诊断早期皮肤癌^[59]。

光学成像的低穿透深度是其固有的局限问题。很明显,光学探针和光学技术不能完全消除这一局限性,但相对于传统材料和方法,它们可以增加穿透深度。因此,在某些特定的临床场合中,例如腹腔切开后的图像引导癌症手术,增加的成像穿透深度有助于准确且成功地切除隐藏的癌症病灶组织。在成像探针和光学技术中,实验室研究与临床应用之间任然存在一定的差距。成像探针需要注入人体,因此必须确认其生物相容性。预计大多数注射的探针会在几个小时或几天后通过尿液或粪便从体内排出。然而,为进一步的应用,通过试验证明探针能被完全排出体外是非常重要的,而探针的亲水性和小尺寸可能有助于其快速排泄。新的光学技术通常依赖于复杂的设备,因此需要仔细考虑它们进入体内疾病部位的可行性。研究人员经过长期的努力来解决这些难题,在成像探针和光学技术方面的最新研究进展已经展示出了对未来疾病诊断和治疗方法的巨大潜力。

【参考文献】

- [1] Willmann JK, van Bruggen N, Dinkelborg LM, et al. Molecular imaging in drug development[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(7): 591-607.
- [2] Lee DE, Koo H, Sun IC, et al. Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis[J]. Chem Soc Rev, 2012, 41(7): 2656-2672.
- [3] Gigan S, Katz O, De Aguiar HB, et al. Roadmap on wavefront shaping and deep imaging in complex media[J]. J Phys Photonics, 2022, 4(4): 042501.
- [4] Ji N. Adaptive optical fluorescence microscopy[J]. Nat Methods, 2017, 14(4): 374-380.
- [5] Koo H, Huh MS, Ryu JH, et al. Nanoprobes for biomedical imaging in living systems[J]. Nano Today, 2011, 6(2): 204-220.
- [6] Son J, Yi G, Yoo J, et al. Light-responsive nanomedicine for biophotonic imaging and targeted therapy[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2019, 138: 133-147.
- [7] Yoon S, Kim M, Jang M, et al. Deep optical imaging within complex scattering media[J]. Nat Rev Phys, 2020, 2(3): 141-158.
- [8] Ntziachristos V. Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology[J]. Nat Meth, 2010, 7(8): 603-614.
- [9] Booth MJ. Adaptive optical microscopy: the ongoing quest for a perfect image[J]. Light Sci Appl, 2014, 3(4): e165-e167.
- [10] Azucena O, Crest J, Cao J, et al. Wavefront aberration measurements and corrections through thick tissue using fluorescent microsphere reference beacons[J]. Opt Express, 2010, 18(16): 17521-17532.
- [11] Tao X, Fernandez B, Azucena O, et al. Adaptive optics confocal microscopy using direct wavefront sensing[J]. Opt Lett, 2011, 36(7): 1062-1064.
- [12] Jae-Won C, Jérôme B, Peter TC. Shack-Hartmann wavefront-sensor-based adaptive optics system for multiphoton microscopy[J]. J Biomed Opt, 2010, 15(4): 046022.
- [13] Aviles-Espinosa R, Andilla J, Porcar-Guezenc R, et al. Measurement and correction of *in vivo* sample aberrations employing a nonlinear guide-star in two-photon excited fluorescence microscopy[J]. Biomed

- Opt Express, 2011, 2(11): 3135-3149.
- [14] Tao X, Fernandez B, Azucena O, et al. Adaptive optics confocal microscopy using direct wavefront sensing[J]. Opt Lett, 2011, 36(7): 1062-1064.
- [15] Tao XD, Azucena O, Fu M, et al. Adaptive optics microscopy with direct wavefront sensing using fluorescent protein guide stars[J]. Opt Lett, 2011, 36(17): 3389-3391.
- [16] Rahman SA, Booth MJ. Direct wavefront sensing in adaptive optical microscopy using backscattered light[J]. Appl Opt, 2013, 52(22): 5523-5532.
- [17] Tao X, Crest J, Kotadia S, et al. Live imaging using adaptive optics with fluorescent protein guide-stars[J]. Opt Express, 2012, 20(14): 15969-15982.
- [18] Jorand R, Le Corre G, Andilla J, et al. Deep and clear optical imaging of thick inhomogeneous samples[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35795.
- [19] Turcotte R, Liang Y, Tanimoto M, et al. Dynamic super-resolution structured illumination imaging in the living brain[J]. Proc Natl Acad Sci, 2019, 116(19): 9586-9591.
- [20] Akondi V, Dubra A. Multi-layer Shack-Hartmann wavefront sensing in the point source regime[J]. Biomed Opt Express, 2021, 12(1): 409-432.
- [21] Yusuke A, Yusuke H, Noriaki M, et al. Imaging performance of microscopy adaptive-optics system using scene-based wavefront sensing[J]. J Biomed Opt, 2020, 25(12): 123707.
- [22] Ji N, Milkie DE, Betzig E. Adaptive optics *via* pupil segmentation for high-resolution imaging in biological tissues[J]. Nat Meth, 2010, 7(2): 141-147.
- [23] Ji N, Sato TR, Betzig E. Characterization and adaptive optical correction of aberrations during *in vivo* imaging in the mouse cortex[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(1): 22-27.
- [24] Scrimgeour J, Curtis JE. Aberration correction in wide-field fluorescence microscopy by segmented-pupil image interferometry[J]. Opt Express, 2012, 20(13): 14534-14541.
- [25] Wang C, Liu R, Milkie DE, et al. Multiplexed aberration measurement for deep tissue imaging *in vivo*[J]. Nat Methods, 2014, 11(10): 1037-1040.
- [26] Skorsetz M, Artal P, Bueno JM. Performance evaluation of a sensorless adaptive optics multiphoton microscope[J]. J Microsc, 2016, 261(3): 249-258.
- [27] Booth MJ. Wave front sensor-less adaptive optics: a model-based approach using sphere packings[J]. Opt Express, 2006, 14(4): 1339-1352.
- [28] Booth MJ, Neil MA, Juškaitis R, et al. Adaptive aberration correction in a confocal microscope[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(9): 5788-5792.
- [29] Booth MJ. Wavefront sensorless adaptive optics for large aberrations[J]. Opt Lett, 2007, 32(1): 5-7.
- [30] Park JH, Kong LJ, Zhou YF, et al. Large-field-of-view imaging by multi-pupil adaptive optics[J]. Nat Methods, 2017, 14(6): 581-583.
- [31] Zheng W, Wu Y, Winter P, et al. Adaptive optics improves multiphoton super-resolution imaging[J]. Nat Methods, 2017, 14(9): 869-872.
- [32] Boniface A, Dong J, Gigan S. Non-invasive focusing and imaging in scattering media with a fluorescence-based transmission matrix[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 6154.
- [33] Wu JM, Lu Z, Jiang D, et al. Iterative tomography with digital adaptive optics permits hour-long intravital observation of 3D subcellular dynamics at millisecond scale[J]. Cell, 2021, 184(12): 3318-3332.
- [34] Facomprez A, Beaurepaire E, Débarre D. Accuracy of correction in modal sensorless adaptive optics[J]. Opt Express, 2012, 20(3): 2598-2612.
- [35] Papadopoulos IN, Jouhanneau JS, Poulet JF, et al. Scattering compensation by focus scanning holographic aberration probing (F-SHARP)[J]. Nat Photonics, 2017, 11(2): 116-123.
- [36] Papadopoulos IN, Jouhanneau JS, Takahashi N, et al. Dynamic conjugate F-SHARP microscopy[J]. Light Sci Appl, 2020, 9(1): 110.
- [37] Luo S, Zhang E, Su Y, et al. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging[J]. Biomaterials, 2011, 32(29): 7127-7138.
- [38] Ding F, Feng J, Zhang XL, et al. Responsive optical probes for deep-tissue imaging: Photoacoustics and second near-infrared fluorescence[J]. Adv Drug Delivery Rev, 2021, 173: 141-163.
- [39] Hong G, Antaris AL, Dai H. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging[J]. Nat Biomed Eng, 2017, 1(1): 10.
- [40] Yang Y, Chen J, Shang X, et al. Visualizing the fate of intra-articular injected mesenchymal stem cells *in vivo* in the second near-infrared window for the effective treatment of supraspinatus tendon tears[J]. Adv Sci, 2019, 6(19): 1901018.
- [41] Kang H, Shamim M, Yin XR, et al. Tumor-associated immune-cell-mediated tumor-targeting mechanism with NIR-II fluorescence imaging[J]. Adv Mater, 2022, 34(8): e2106500.
- [42] Syed AJ, Anderson JC. Applications of bioluminescence in biotechnology and beyond[J]. Chem Soc Rev, 2021, 50(9): 5668-5705.
- [43] Nomura N, Nishihara R, Nakajima T, et al. Biothiol-activatable bioluminescent coelenterazine derivative for molecular imaging *in vitro* and *in vivo*[J]. Anal Chem, 2019, 91(15): 9546-9553.
- [44] Bellini M, Riva B, Tinelli V, et al. Engineered ferritin nanoparticles for the bioluminescence tracking of nanodrug delivery in cancer[J]. Small, 2020, 16(39): 2001450.
- [45] Huang JG, Li JC, Lyu Y, et al. Molecular optical imaging probes for early diagnosis of drug-induced acute kidney injury[J]. Nat Mater, 2019, 18(10): 1133-1143.
- [46] Scott JI, Gutkin S, Green O, et al. A functional chemiluminescent probe for *in vivo* imaging of natural killer cell activity against tumours[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2021, 60(11): 5699-5703.
- [47] Liu N, Chen X, Sun X, et al. Persistent luminescence nanoparticles for cancer theranostics application[J]. J Nanobiotechnol, 2021, 19(1): 113.
- [48] Li JL, Shi JP, Wang CC, et al. Five-nanometer ZnSn₂O₄:Cr, Eu ultra-small nanoparticles as new near infrared-emitting persistent luminescent nanoprobes for cellular and deep tissue imaging at 800 nm[J]. Nanoscale, 2017, 9(25): 8631-8638.
- [49] Jiang YY, Huang JG, Zhen X, et al. A generic approach towards afterglow luminescent nanoparticles for ultrasensitive *in vivo* imaging[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2064.
- [50] Wang K, Milkie DE, Saxena A, et al. Rapid adaptive optical recovery of optimal resolution over large volumes[J]. Nat Meth, 2014, 11(6): 625-628.
- [51] Wang K, Sun W, Richie CT, et al. Direct wavefront sensing for high-resolution *in vivo* imaging in scattering tissue[J]. Nat Commun, 2015, 6(1): 7276.
- [52] Li ZW, Zhang QR, Chou SW, et al. Fast widefield imaging of neuronal structure and function with optical sectioning *in vivo*[J]. Sci Adv, 2020, 6(19): eaaz3870.
- [53] Lin RZ, Kipreos ET, Zhu J, et al. Subcellular three-dimensional imaging deep through multicellular thick samples by structured illumination microscopy and adaptive optics[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 3148.
- [54] Streich L, Boffi JC, Wang L, et al. High-resolution structural and functional deep brain imaging using adaptive optics three-photon microscopy[J]. Nat Meth, 2021, 18(10): 1253-1258.
- [55] Rodríguez C, Chen A, Rivera JA, et al. An adaptive optics module for deep tissue multiphoton imaging *in vivo*[J]. Nat Meth, 2021, 18(10): 1259-1264.
- [56] Chen W, Natan RG, Yang Y, et al. *In vivo* volumetric imaging of calcium and glutamate activity at synapses with high spatiotemporal resolution[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6630.
- [57] Berlage C, Tantirigama M, Babot M, et al. Deep tissue scattering compensation with three-photon F-SHARP[J]. Optica, 2021, 8(12): 1613-1619.
- [58] Choi SH, Kim YH, Hebisch M, et al. A three-dimensional human neural cell culture model of Alzheimer's disease[J]. Nature, 2014, 515(7526): 274-278.
- [59] Smith L, MacNeil S. State of the art in non-invasive imaging of cutaneous melanoma[J]. Skin Res Technol, 2011, 17(3): 257-269.

(编辑:薛泽玲)