

DOI: 10.13376/j.cblls/2021116

文章编号: 1004-0374(2021)08-1054-09

近红外荧光纳米探针追踪移植干细胞的最新进展

廖士洋¹, 许必通², 张亚东^{2*}

(1 安徽理工大学医学院, 淮南 232001; 2 南方医科大学第三附属医院, 广州 510630)

摘要: 干细胞再生医学在治疗各种疑难杂症方面展现出了巨大潜力, 备受临床和科研人员关注。要提高干细胞疗法的安全性和治疗效果, 深入了解移植后干细胞分化和再生能力至关重要, 这也加速了干细胞的基础研究向临床应用的转化。其中, 荧光纳米颗粒 (fluorescent nanoparticles, NPs) 广泛应用于对移植体内干细胞的追踪, 通过降低近红外 (near-infrared, NIR, 700~1 700 nm) 荧光的吸收、散射和自发荧光, 极大地提升了对干细胞追踪的灵敏度、组织穿透深度和时空分辨率。文中结合近年来有关使用 NIR NPs 追踪移植干细胞的研究, 阐述了近红外第二窗口 (NIR-II, 1 000~1 700 nm) 中荧光成像的最新进展, 讨论并展望了基于 NIR NPs 技术的挑战和未来前景。

关键词: 近红外荧光成像; 干细胞; 荧光纳米颗粒; 近红外第二窗口

中图分类号: R318

文献标志码: A

Recent progress on tracing transplanted stem cells with near-infrared fluorescent nanoprobe

LIAO Shi-Yang¹, XU Bi-Tong², ZHANG Ya-Dong^{2*}

(1 School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China;

2 The Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: Stem cells transplantation-based regenerative medicine has shown great potential in the treatment of a variety of miscellaneous diseases, attracting much attention from clinical and scientific researchers. Understanding the fate and regenerative capacity of transplanted stem cells is critical to improve the safety and efficacy of stem cell-based therapies, and to accelerate the transformation of stem cells into clinical applications. In the clinical diagnosis and treatment process, fluorescent nanoparticles (NPS) are widely used in the tracking of stem cells *in vivo*. NPs, by decreasing the absorption, scattering and autofluorescence of near-infrared (NIR, 700~1 700 nm) fluorescence, have greatly improved the sensitivity of stem cell tracking, tissue penetration depth and spatial and temporal resolution. Here, this review summarized the latest progress on the application of NIR NPs to track transplanted stem cells, especially the recent advances in fluorescence imaging in the second near-infrared window (NIR-II, 1 000~1 700 nm). In addition, the challenges and future prospects of NIR NPs-based technology are discussed.

Key words: near infrared fluorescence imaging; stem cells; fluorescent nanoparticles; the second near-infrared window

干细胞是一种可以快速自我更新的多功能细胞, 能治疗如心力衰竭、肝脏疾病、骨缺损、阿尔

茨海默病以及免疫系统疾病等多种疾病^[1-5]。现在已经有多种用干细胞治疗疾病的方法被用在临床试

收稿日期: 2021-04-06; 修回日期: 2021-05-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81871774); 安徽理工大学研究生创新基金项目(2020CX2086)

*通信作者: E-mail: zhangyadong6@126.com

验中^[6-7]。因为干细胞在移植后会先迁移至受损组织, 然后存活并分化成靶细胞, 最终达到治疗效果, 所以全面了解移植干细胞的生物分布、活力和功能, 有助于提高干细胞的安全性和再生能力, 从而加快其临床转化^[8-11]。

为了满足这一迫切需要, 人们使用多种生物成像技术去追踪移植干细胞, 如荧光成像 (fluorescence imaging, FI)^[12]、磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)^[13-15]、正电子发射计算机断层显像 (positron emission tomography, PET)^[16-18] 和光声成像 (photoacoustic imaging, PAI)^[19-21] 等。在这些方法中, 荧光成像由于具有无创、高时空分辨率、可多通道成像以及成本低等优势而备受关注^[22-24]。然而, 可见光区域 (400~700 nm) 的常规 FI 因受到组织散射与吸收以及自发荧光的影响, 其穿透深度和空间分辨率较低。为此, 研究人员运用一系列更长波长的近红外 (near-infrared, NIR, 700~1 700 nm) 发光纳米颗粒来改善这些问题。目前已知的 NIR 发光纳米颗粒主要包括半导体量子点 (quantum dots, QDs)^[24-26]、稀土掺杂纳米颗粒^[27-29] 和有机荧光染料^[30-32] 等。在组织中, 由于 NIR 荧光的吸收、散射和自发荧光干扰减弱, 其成像灵敏度、组织穿透深度、时间和空间分辨率均得到明显改善^[24,33-34]。目前, NIR 纳米颗粒已在追踪移植干细胞的相关研究中得到广泛利用。

根据波长的不同, 通常将近红外分为近红外第一窗口 (NIR-I, 700~900 nm) 和近红外第二窗口 (NIR-II, 1 000~1 700 nm)。与 NIR-I FI 相比, NIR-II FI 的组织穿透率更深、时间分辨率和空间分辨率更高并且背景噪声更低, 是更理想的活体成像方法^[35-37]。近年来, 研究人员通过 NIR-II 成像技术成功捕捉移植干细胞在某些疾病模型中的行踪, 使人们对移植干细胞的再生能力有了更好的认知。本文主要总结了利用近红外发光纳米颗粒追踪移植干细胞行为的最新进展。

1 近红外半导体量子点

QDs 是一类因电子在纳米晶体中的运动被限制而具有独特发光特性的导体纳米晶体。在成像方面, QDs 有较长的荧光寿命、良好的光稳定性和高灵敏度, 以及能够多个靶标成像, 现已广泛应用于生物成像^[12,24]。2019年, 研究发现在 NIR-II 发光的 QDs 能显著提高追踪体内干细胞的灵敏度和成像的时间与空间分辨率^[38]。

1.1 在近红外第一窗口发光的QDs

CdX (X = S、Se、Te) 的 II-IV 组 QDs 是目前使用最广泛的 NIR-I 量子点。研究发现将 QDs 的发光波长红移至 700 nm 以后, 可以增强其追踪体内干细胞的灵敏度和分辨率^[39-41]。例如, Kim 等^[41] 发现了波长为 840~860 nm 的 CdTe/CdSe 量子点, 其中 CdTe QDs 已用于标记人体脂肪来源的间充质干细胞、人体造血干细胞和人体间充质干细胞^[39-40,42-43]。另外, 商业性的 CdTe QDs (QDs800, Invitrogen) 也已被开发和利用。例如, Yukawa 等^[40] 用八肽-精氨酸肽 (R8) 修饰的 QDs800 来标记脂肪组织来源的干细胞 (adipose tissue-derived stem cells, ASCs), 其中细胞穿透肽 R8 可以在 1 h 内标记超过 80% 的 ASCs 而不影响细胞效力, 而且这些标记的干细胞在皮下移植后可以被检测到。此外, 他们还移植 QDs655 或 QDs800 标记的 ASCs 的急性肝衰竭小鼠进行观察, 发现在不需要对小鼠进行剖腹术的情况下, 能看到 QDs800 标记的 ASCs 在小鼠肝脏中的易位。但是, 用 QDs655 标记的 ASCs 移植到体内却无法被检测到。QDs655 的发射波长为 650 nm, 位于可见光范围; QDs800 的发射波长为 800 nm, 位于近红外第一窗口。相比可见光, 生物组织对近红外光的散射与吸收更小, 所以近红外荧光成像具有更高的分辨率、信噪比和灵敏度。因此, 可以检测到 QDs800 标记的 ASCs, 但是检测不到 QDs655 标记的 ASCs。这些结果进一步说明了近红外荧光材料在干细胞示踪应用中具有广阔的前景。

随着人们对 Cd QDs 中 Cd 毒性的关注, 人们开始注意不含 Cd 和低毒性 QDs 的发展。目前已有各种在 NIR 发光的不含 Cd 的 QDs 被用于标记和追踪移植干细胞, 如 ZnS-AgInS₂^[44]、ZnS-CuInS₂^[26] 和碳 QDs^[45] 等。其中, Ogihara 等^[44] 合成的水性 ZnS 涂层 ZAIS (ZnS-ZAIS) 羧化纳米颗粒 (ZZC) 可以高效标记小鼠脂肪组织干细胞 (mouse adipose tissue-derived stem cells, mASCs), 细胞毒性极低, 并对细胞增殖没有影响; Shao 等^[45] 合成的柠檬酸基碳点 (CDs) 能在不影响细胞活力的同时有效标记和追踪大鼠骨髓间充质干细胞 (rat bone marrow mesenchymal stem cells, rBMSCs)。研究还发现, 碳点不仅可用于追踪移植的 rBMSCs, 还可用于增强 rBMSCs 的成骨分化。尽管如此, 由于 NIR-I 成像受组织中光散射和吸收的影响, 其组织穿透力和空间分辨率仍不足以完全揭示体内移植干细胞准确的生物分布。因此, 不含 Cd 的 QDs 在体内干细胞追踪的应用上仍

然受到限制。

除了生物分布之外,移植后干细胞的活力在治疗上也至关重要。然而,使用外源荧光探针监测体内移植干细胞的活力仍然是一个挑战。研究发现,利用生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)开发的自发光 QDs 可用于检测细胞的活力^[46-47]。例如,Alam 等^[48]将萤火虫荧光素酶的绿色发光变体直接涂覆到由 N-末端六组氨酸标记的 QD800 表面制备出 QD800-Luc,其表现出较高的 BRET 效率比。这些自发光 QDs 在检测移植干细胞活力和行为方面有很好的前景,但是在将它们应用于体内干细胞追踪和感测之前,还需要进一步改善这些探针的 BRET 效率和稳定性。

1.2 在近红外第二窗口中发光的 QDs

研究发现, NIR-II 的光可以明显降低组织中光子的吸收和散射,同时在 NIR-II 窗口中组织的自发荧光也显著减弱^[24,49-50]。因此,与 NIR-I 窗口荧光成像相比, NIR-II 窗口荧光成像的组织穿透力更深,时间和空间分辨率更高,是活体荧光成像更理想的方法^[35,51]。在过去的几十年中,一系列的在 NIR-II 窗口中具有荧光的 QDs 被成功用于生物学成像,如 Ag₂S^[25]、Ag₂Se^[52]、Ag₂Te^[53]、PbS^[54] 和 AgInTe₂^[55] QDs。在 NIR-II 窗口中,这些 QDs 有很强的荧光。其中, Ag₂S 量子点因其量子产率高、毒性低和光稳定性好,已被应用于干细胞的标记和追踪^[38,56-57]。已合成 Ag₂S QDs 的荧光量子产率约为 15.5%^[33]。通过将 Ag₂S 量子点与 Tat 肽缀合后得到的 Tat-Ag₂S QDs 可以有效地标记 MSC,且在 MSCs 中非常稳定,其存在周期长达 30 d。另外,一项系统的毒性研究表明,用 Ag₂S QDs 标记 MSCs 不会引起细胞凋亡/坏死和 DNA 损伤,同时对 MSCs 的增殖、分化及趋向性和治疗能力也没有影响^[38,56]。

除了较高的生物相容性之外,用 Ag₂S QDs 活体成像追踪干细胞的方法的灵敏度、时间和空间分辨率均得到改善。首先,由于 NIR-II 区域的组织自发荧光可忽略不计,采用 Ag₂S 量子点大约可限制检测 1 000 个皮下移植细胞,优于使用 CdSe@ZnS 655 量子点限制检测 50 000 个皮下移植细胞^[40]。其次,因 Ag₂S 量子点独特的光学特性,其在活体成像中拥有更好的组织穿透深度(>1.2 cm)、更出色的空间(≈25 μm)和时间分辨率(≈30 ms),为实时监测移植干细胞全身移位提供了可能性。在一个肝脏再生的研究中, Ag₂S QD NIR-II 荧光成像被成功用于对移植 MSCs 的实时监测。因 NIR-II 成像出色的时

间分辨率,可清楚地看到 MSCs 在静脉注射后立即在肺中积累,在 10 s 时最大化,持续 2 min 后在肺中逐渐减少。另外, NIR-II 成像还能够长期监测移植的 MSCs 在小鼠肺和肝脏中的分布和移位情况,其检测时间长达 14 d,并且肝素可以加速 MSCs 从肺转移到肝脏^[35]。

Ag₂Se QDs 是另一种广泛用于生物学成像的,在 NIR-II 发光的 QDs^[58-59]。Ag₂Se QDs 的溶度积常数为 2×10^{-64} ,其在生物微环境中非常稳定且有好的生物相容性。在一项研究中,用 C¹⁸-PMH-PEG 修饰 Ag₂Se QDs 能发出波长为 1 300 nm 的光,且在浓度小于 100 μg/mL 时,合成的 C¹⁸-PMH-PEG-Ag₂Se QDs 不影响 hMSCs 的增殖,也不会导致 hMSCs 的凋亡和坏死,所以 Ag₂Se QD 可用于体内干细胞的追踪。另外,与自发光 NIR-I QD 类似, Ma 等^[60]合成了自发光 Luc-PbS QD,它是以荧光素酶作为模板生长 Luc-PbS 杂化纳米结构的 PbS QD。在 NIR-II 自发光的 QD 在 NIR-II 窗口感测体内移植干细胞的活力具有巨大潜力。考虑到 PbS QD 中 Pb 的安全性,应用 PbS QDs 标记和追踪干细胞应该更加谨慎,还需要积极探索在 NIR-II 发光的不同 QD 在体内干细胞追踪方面的潜力。

2 稀土掺杂的纳米颗粒

除了 QD 之外,稀土掺杂的纳米颗粒也是生物学成像中使用最广泛的纳米探针之一^[61]。稀土掺杂的纳米颗粒可在 NIR 激光激发后发射出可见光或近红外光,因此其活体成像的组织穿透力、光化学稳定性更好且背景自发荧光更低^[62-63]。近年来,稀土掺杂的纳米颗粒上转换探针^[61-62,64]和 NIR-II 发光探针^[65-66]已广泛应用于生物学活体成像中。

2.1 上转换纳米粒子

稀土掺杂的纳米晶体通常被定义为上转换纳米颗粒,其可以按顺序吸收两个或更多个光子并通过反斯托克斯位移发射单个更高能量的光子。目前,980 nm 激光是上转换成像最常用的激发光源,其与可见激发光相比组织穿透深度明显增加。上转换成像因在成像过程中保证了最小的自发荧光背景,使得成像的灵敏度得到显著提高^[62-63]。Li 等^[61]开发了一种基于上转换纳米颗粒的多功能纳米材料,既长期超灵敏追踪标记了 hMSC,又阐述了其功能和命运。上转换纳米颗粒可有效地标记 mMSC 而不影响 mMSC 的增殖和分化。更重要的是,体内上转换发光成像系统可以检测大约 10 个皮下移植细

细胞, 灵敏度远高其他常规外源荧光探针标记干细胞的方法。目前, 体内上转换发光成像已成功监测了上转换纳米颗粒标记的 mMSCs 在静脉注射后从肺移位至肝脏的过程, 并追踪了移植的 MSCs 在伤口和肺再生模型中的归巢行为^[67-68]。这些研究展现出上转换纳米颗粒在追踪体内干细胞方面具有广大前景。

2.2 在NIR发光的稀土掺杂纳米颗粒

上转换纳米颗粒成像有极高的灵敏度, 在追踪体内干细胞的应用中具有巨大的潜力。然而, 大多数上转换纳米颗粒发射可见光, 使得它的空间分辨率并不完全令人满意。为了克服这一缺点, 科学家研究出一系列 NIR 激发 -NIR 发射的上转换纳米颗粒^[29]。例如, Chen 等^[69]合成了一种 (α -NaYbF₄:Tm³⁺)/CaF₂ 纳米颗粒, 其用 980 nm 激光激发后可发射出 800 nm 近红外, 该纳米颗粒在体外和深层组织中具有高对比度和深度生物成像, 为生物医学成像领域的广泛应用提供了希望。

除了 NIR-I 激发的上转换纳米颗粒之外, 一些稀土掺杂的纳米颗粒还可以通过斯托克斯位移过程用作 NIR-II 发光探针。在 NIR-II 发光的稀土掺杂的纳米颗粒有希望用于干细胞追踪研究, 从而进一步改善稀土掺杂的纳米颗粒成像的空间和时间分辨率。NIR-II 发光的稀土掺杂纳米颗粒在生物医学成像中引起了极大的关注^[65-66]。例如, Naczynski 等^[28]开发了一种 NaYF₄Yb:Ln 发光核 (Ln: Er、Ho、Tm、Pr), 其外围有 NaYF₄ 壳为对应的核-壳纳米颗粒, 此稀土掺杂的纳米探针可以被 980 nm 激光激发并发射 NIR-II 荧光。通过对近红外激发和近红外发光的优势研究, 在 NIR-II 发光的稀土掺杂的纳米颗粒具有高生物相容性、深层组织穿透和高灵敏度, 是活体成像的理想探针。

3 用于追踪干细胞的有机荧光纳米颗粒

有机荧光染料早已广泛用于标记和追踪干细胞。其中, NIR-I 荧光团 ICG 已获得美国食品和药品监督管理局 (FDA) 批准并广泛用于临床试验^[70]。为克服有机荧光染料光稳定性低、单分子发射量有限、发射光谱宽等缺点, 现已研发出一系列有机荧光纳米颗粒^[32]。其中, 荧光聚合物纳米颗粒是标记和追踪干细胞最常用的探针^[71]。

3.1 在NIR-I发光的荧光聚合物纳米颗粒

将有机染料包封到聚合物纳米颗粒中制备的荧光聚合物纳米颗粒与裸露的有机染料相比, 前者的

亮度、光稳定性和生物相容性更加出色, 现已广泛用于干细胞的追踪^[72]。其中, 有几种荧光聚合物纳米颗粒已经商业化, 它们的应用也已被反复报道^[73]。以最常见的荧光聚苯乙烯 (PS) 纳米颗粒为例, 尼罗红包裹的 PS 纳米颗粒已成功用于追踪循环干/祖细胞的移植^[74]。

近年来, 已研发出许多具有独特光学特征的新型荧光聚合物。例如, Liu 等^[75]合成了 PCL-DPP-PCL 纳米探针, 不需额外修饰就可以有效标记 MSCs, 并且对 MSCs 有很好生物相容性, 在 4 周后仍可在 PCL-DPP-PCL 纳米探针标记过的 MSCs 中检测到很强的荧光, 因此, PCL-DPP-PCL 纳米探针有望用于长期追踪干细胞。Cai 等^[76]通过另一种新方法发现了具有聚集诱导发光的 TPEEP 纳米颗粒。它具有聚集诱导近红外发光的特征, 并展示出良好的荧光量子产率和光稳定性及低细胞毒性。在大鼠光血栓性缺血模型中, 利用 TPEEP 纳米颗粒成功追踪了移植骨髓干细胞 (bone marrow stem cells, BMSCs) 的归巢行为, 并清晰显示了移植后的 BMSCs 转移至中风病变部位的踪迹。

此外, 半导体聚合物点 (preparation of semiconducting polymer dots, Pdots) 因其光稳定性好、亮度高和生物相容性好等优点, 其在追踪干细胞方面有极大的潜力^[71,77]。2017 年, Chen 等^[72]合成了 NIR 荧光 Pdots, 在 775 nm 处窄带发光, 其量子产率高达 22%, 通过与八精氨酸 (R8) 肽缀合后得到的 R8-Pdots 可以有效地标记 MSCs, 而不影响 MSCs 的增殖和多能性; 在小鼠肝脏被切除的模型中, 可观察到 Pdots 标记的 MSCs 向肝脏迁移的过程, 表明 Pdots 用于干细胞再生医学研究具有很大的潜力。此外, Mao 等^[78]发现了一种 NIR 荧光纳米探针 PFBD/PFDBD10-PBPSPNs, 通过荧光能量共振转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 的方法, 纳米探针显示出超高的 NIR 荧光, 可以限制检测 2 000 个细胞。

3.2 在NIR-II发光的有机荧光纳米颗粒

除了在 NIR-I 发光的有机荧光染料外, 还有许多在 NIR-II 发光的有机荧光团, 如 IR-1061、CH1055 等^[79]。近年来, 研究人员发现了一些在 NIR-II 发光的有机荧光纳米颗粒并成功将其用于体内 NIR-II 成像^[22,36]。在 2015 年的一项研究中, Hong 等^[79]发现一系列核壳 PDA-PEG 聚合物纳米颗粒可在波长为 1 050~1 350 nm 的范围内发光。Wan 等^[36]研发了一种在 NIR-II 发光的有机纳米荧光团 (命名为 p-FE),

其量子产率高达约 16.5%，通过使用 p-FE 和自制的 NIR-II 共聚焦显微镜，实现了成像深度 ≈ 1.3 mm 且空间分辨率小于 $10 \mu\text{m}$ 的 3D 脉管系统成像。此外，他们还通过使用 p-FE 和单壁碳纳米管 (single-walled carbon nanotubes, CNTs) 发现体内双色 NIR-II 荧光成像的方法。具备较高的空间和时间分辨率的三维成像方式可以显示移植干细胞与宿主细胞的相互作用，提升了对体内移植干细胞行为的认知。因而，该方法凭借多通道和三维成像的独特性质，在未来研究干细胞的行为方面具有很大潜力。

4 其他近红外纳米颗粒

除了荧光 QDs、稀土掺杂的纳米颗粒和聚合物纳米颗粒之外，还有一系列具有独特光学特性的其他纳米颗粒可用于追踪移植的干细胞，如二氧化硅纳米颗粒^[80]、Au 纳米颗粒^[81]、纳米金刚石^[82]、持久发光纳米颗粒^[83]、铋铁氧体谐波纳米颗粒^[84]等。

二氧化硅染料掺杂的荧光纳米粒子是一种用于长期标记和追踪干细胞的荧光探针。二氧化硅通常为介孔二氧化硅纳米颗粒，利用其介孔通道装载荧光染料。通过将染料分子包封到二氧化硅纳米颗粒中，二氧化硅荧光纳米颗粒与染料分子相比具有更佳的光稳定性、生物相容性和表面功能性。例如，Biffi 等^[80]研发出具有很强近红外发光特性的核壳型二氧化硅-PEG 纳米颗粒，并把它成功用于标记和成像 MDA-MB-231 细胞。另外，Accomasso 等^[85]合成了花青染料掺杂的二氧化硅纳米颗粒 (称为 IRIS 点)，其具有很强的 NIR 发光特性和光稳定性。IRIS 点对 hMSCs 具有很好的生物相容性，可在 2 h 内有效标记 hMSCs，同时对细胞的活力、增殖和分化能力没有影响。研究还发现，由于细胞表面的分布不同，IRIS 点可以区分活的和早期的凋亡干细胞。这是首次通过非功能化 IRIS 点区分凋亡细胞的报道。它们感知体内凋亡干细胞的潜在应用还需要进一步探索。

Au 纳米颗粒通常作为超声和光成像的探针，用于监测移植的干细胞^[27]。多功能 Au 纳米颗粒也被用于干细胞的标记和追踪。例如，Lee 等^[81]合成的变色龙式多层纳米探针 (命名为 DL₂) 可用于监测干细胞从活到死的整个过程，表明多层纳米探针可以成功追踪 hMSCs 在体内外的命运。

另外，因荧光纳米金刚石 (fluorescent nanodiamonds, FNDs) 有优异的光学性质，而在生物成像、药物输送和组织工程方面的应用中具有巨大的潜

力。近年来，FNDs 可用于追踪移植干细胞的植入和再生能力，是一种有前途的荧光探针。例如，Wu 等^[82]用可在 NIR 发光的 FNDs 标记了 CD⁴⁵-CD⁵⁴+CD¹⁵⁷+ 肺干 / 祖细胞 (LSCs)，并在蔡损伤的小鼠中检测分析了标记的 LSCs 的植入和再生情况。由于 FND 的荧光寿命长 ($\tau > 15$ ns)，可以通过荧光寿命成像技术将宿主组织的自发荧光和 FNDs 荧光分离开，然后通过时间门控荧光成像和具有单细胞分辨率的荧光激活细胞分选方法揭示静脉移植的 LSCs 在小鼠中的分布情况。该研究清楚地显示了在长达 7 d 的时间里静脉移植的 LSCs 在肺的末端细支气管中的分布特点。另外，Su 等^[86]发现 FNDs 也可用于追踪小型猪中移植的人胎盘脉络膜来源的间充质干细胞 (placenta chorioddecidual membranederived mesenchymal stem cells, pcMSCs)。这些研究表明，利用 FNDs 在单细胞分辨率下追踪干细胞是非常有前景的方法。

由于不需要原位激发和高信噪比，持久发光纳米颗粒在体内生物成像中具有潜在的应用前景。近年来，NIR 持久发光纳米颗粒在追踪干细胞的应用方面已经取得了很好的发展。Wu 等^[83]合成了含有 Zn_{1.1}Ga_{1.8}Ge_{0.1}O₄:Cr³⁺,Eu³⁺ 成分的余晖纳米颗粒用于干细胞追踪。在该研究中，持久发光纳米颗粒用于标记 ASCs，在红色 LED 灯激发 1 min 后，持久发光纳米颗粒在细胞内持续发射 NIR 光，可以限制检测皮下注射的 10 个 ASCs。

铋铁氧体谐波纳米颗粒 (bismuth ferrite harmonic NPs, BFO HNP) 是一种非线性光学效率的纳米颗粒。由于非线性成像独特的特征，BFO HNP 已被用于体内外细胞监测。2017 年，Dubreil 等^[84]用 BFO HNP 有效标记和成像了人类骨骼肌来源的干细胞 (human skeletal muscle-derived stem cells, hMuStem)，并且对细胞的存活和增殖没有影响。此外，在近红外第二窗口中使用多重谐波成像，各个 BFO HNP 标记的 hMuStem 在肌内注射后可在骨骼肌组织中检测到。利用近红外第二窗口的优势，该研究为监测移植干细胞的植入提供了一种新颖的思路。

5 结论和未来展望

本文总结了在近红外区域发光的荧光纳米粒子追踪移植干细胞的研究，包括 QDs、稀土掺杂的纳米颗粒、有机荧光纳米颗粒等新型荧光纳米颗粒 (表 1)。在许多干细胞治疗模型中，标记和追踪干细胞方面的研究取得了重要进展。由于 NIR-II 荧光在组织中的吸收、散射和自发荧光极大减小，因此，

表1 用于干细胞追踪的代表性近红外荧光纳米探针

近红外纳米颗粒	荧光基团	激发波长和发射波长	应用领域	参考文献
半导体量子点	QDs800	745/800 nm	追踪脂肪组织来源的肝再生干细胞	[40]
	ZnS-AgInS ₂ NPs	365/673 nm	标记脂肪组织来源的干细胞, 显示低细胞毒性	[44]
	Ag ₂ S QDs	808/1 200 nm	间充质干细胞用于肝脏和伤口再生的体内跟踪 具有高空间和时间分辨率	[25,38,56-57]
	Ag ₂ Se QDs	808/1 300 nm	静脉注射小鼠间充质干细胞在小鼠体内的标记 和追踪	[52,58-59]
稀土掺杂纳米颗粒	NaYF ₄ NPs	980/540, 660 nm	静脉注射小鼠间充质干细胞在小鼠体内的标记 和追踪	[28]
	(α -NaYbF ₄ :Tm ³⁺)/CaF ₂ NPs	980/800 nm	标记大鼠间充质干细胞	[69]
有机荧光纳米颗粒	TPEEP NPs	460/690 nm	用聚集诱导放射法追踪移植骨髓基质细胞在光 血栓性缺血模型中的作用	[76]
	NIR荧光Pdots	500/775 nm	肝切除模型小鼠间充质干细胞向肝脏迁移的追踪	[72]
	核壳PDA-PEG聚合物纳米颗粒	1 050~1 350 nm	在NIR-II发光的有机荧光纳米颗粒并成功将其用于 体内NIR-II成像	[79]
其他	介孔二氧化硅纳米颗粒	760/800 nm	同时进行近红外、MR和PET成像, 快速有效地标 记人类间充质干细胞	[80,85]
	变色龙式多层纳米颗粒	665/700 nm	人间充质干细胞的体内标记及从凋亡和坏死细胞 中区分活细胞	[27,81]
	持久发光纳米颗粒	254, 650/694 nm	脂肪来源干细胞和间充质干细胞在皮肤再生和肿 瘤归巢小鼠模型中的追踪	[83]
	泌铁氧体谐波纳米颗粒	1 040/520 nm	骨骼肌组织中单个人骨骼肌干细胞的标记与追踪	[84]

NIR-II 纳米探针显著地增强了体内荧光成像的灵敏度、组织穿透深度、空间和时间分辨率^[24,35]。NIR-II 荧光成像精确的光学追踪可提高人们对移植干细胞的命运和再生能力的认识, 从而为进一步研究干细胞再生医学提供可能。为了进一步提高 NIR-II 发光纳米颗粒在干细胞再生研究中的应用, 迫切需要克服目前基于 NIR-II 纳米颗粒成像的缺点。

首先, 探索移植干细胞的命运和再生能力需要对干细胞进行长期的追踪。然而, 由于细胞分裂和胞吐作用, 细胞中的外源性纳米颗粒会迅速减少。研究发现具有极高 NIR-II 荧光产率的纳米探针可以在多次细胞分裂后提供足够的信号。目前, 大多数在 NIR-II 发光的纳米探针的荧光产率均较低, 开发高荧光产率的 NIR-II 纳米探针是目前迫切需要解决的问题。除此之外, 找到一种效率高、生物相容性好的细胞标记方法, 也是提高灵敏度需要探索的问题。

其次, 移植后干细胞的活力和功能是决定移植干细胞命运和再生能力的关键。然而, 目前大多数以纳米颗粒为基础的方法只能提供移植干细胞的生

物分布信息, 但它们在揭示细胞的活力和功能方面是有限的。目前, 检测细胞活力或功能的 NIR-II 纳米探针尚未开发。因此, 研发出一种能够感知在细胞死亡或分化过程中分泌的化学物质、某些生物分子或干细胞的其他生理变化的 NIR-II 纳米颗粒也是需要解决的问题。

最后, 除了对干细胞的追踪, 纳米颗粒对干细胞的调节也是一个值得关注的研究。能够对干细胞疗法进行跟踪并改善其相应功能的多功能荧光纳米颗粒在再生医学研究中有巨大的潜力。2018年, 一个激动人心的研究发现是 NIR-II 荧光可以渗透到深部组织中, 通过上转换纳米粒子介导的光遗传学刺激深部脑组织^[87]。研究者发现 NIR-II 荧光在调节深部组织中的干细胞方面具有巨大的潜力。进一步探索可同时用于干细胞治疗和诊断的多功能 NIR-II 纳米颗粒, 可以大大促进干细胞再生医学的发展。

[参 考 文 献]

- [1] Ikeda G, Santoso MR, Tada Y, et al. Mitochondria-rich extracellular vesicles from autologous stem cell-derived

- cardiomyocytes restore energetics of ischemic myocardium. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77: 1073-88
- [2] Zhou T, Yuan Z, Weng J, et al. Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *J Hematol Oncol*, 2021, 14: 24
- [3] Wang S, Zhu R, Li H, et al. Mesenchymal stem cells and immune disorders: from basic science to clinical transition. *Front Med*, 2019, 13: 138-51
- [4] Huang D, Cao Y, Yang X, et al. A nanoformulation-mediated multifunctional stem cell therapy with improved beta-amyloid clearance and neural regeneration for alzheimer's disease. *Adv Mater*, 2021, 33: e2006357
- [5] Reddy LVK, Murugan D, Mullick M, et al. Recent approaches for angiogenesis in search of successful tissue engineering and regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2020, 15: 111-34
- [6] Chu DT, Nguyen TT, Tien NLB, et al. Recent progress of stem cell therapy in cancer treatment: molecular mechanisms and potential applications. *Cells*, 2020, 9: 563
- [7] Takahashi J. Stem cells and regenerative medicine for neural repair. *Curr Opin Biotechnol*, 2018, 52: 102-8
- [8] Ashmore-Harris C, Iafrate M, Saleem A, et al. Non-invasive reporter gene imaging of cell therapies, including T cells and stem cells. *Mol Ther*, 2020, 28: 1392-416
- [9] Bose RJC, Mattrey RF. Accomplishments and challenges in stem cell imaging *in vivo*. *Drug Discov Today*, 2019, 24: 492-504
- [10] Ni X, Jia S, Duan X, et al. Fluorescent nanoparticles for noninvasive stem cell tracking in regenerative medicine. *J Biomed Nanotechnol*, 2018, 14: 240-56
- [11] Alessandrini M, Preynat-Seauve O, De Bruin K, et al. Stem cell therapy for neurological disorders. *S Afr Med J*, 2019, 109: 70-7
- [12] Chen G, Lin S, Huang D, et al. Revealing the fate of transplanted stem cells *in vivo* with a novel optical imaging strategy. *Small*, 2018, 14: 10
- [13] Shin TH, Kang S, Park S, et al. A magnetic resonance tuning sensor for the MRI detection of biological targets. *Nat Protoc*, 2018, 13: 2664-84
- [14] Mohseni M, Shojaei S, Mehraei B, et al. Natural polymeric nanoparticles as a non-invasive probe for mesenchymal stem cell labelling. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2021, 49: 279
- [15] Rawat S, Gupta S, Bhat M, et al. Efficient labeling of human mesenchymal stem cells using iron oxide nanoparticles. *Methods Mol Biol*, 2020, 2150: 113-20
- [16] Liu YJ, Yang YP, Sun MJ, et al. Highly specific noninvasive photoacoustic and positron emission tomography of brain plaque with functionalized croconium dye labeled by a radiotracer. *Chem Sci*, 2017, 8: 2710-6
- [17] Sellmyer MA, Richman SA, Lohith K, et al. Imaging CAR T cell trafficking with eDHFR as a PET reporter gene. *Mol Ther*, 2020, 28: 42-51
- [18] Greenwood HE, Nyitrai Z, Mocsai G, et al. High-throughput PET/CT imaging using a multiple-mouse imaging system. *J Nucl Med*, 2020, 61: 292-7
- [19] Kubelick KP, Emelianov SY. *In vivo* photoacoustic guidance of stem cell injection and delivery for regenerative spinal cord therapies. *Neurophotonics*, 2020, 7: 030501
- [20] Chen RH, Huang SS, Lin TT, et al. Photoacoustic molecular imaging-escorted adipose photodynamic-browning synergy for fighting obesity with virus-like complexes. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16: 455-65
- [21] Qiao Y, Gumin J, MacLellan CJ, et al. Magnetic resonance and photoacoustic imaging of brain tumor mediated by mesenchymal stem cell labeled with multifunctional nanoparticle introduced via carotid artery injection. *Nanotechnology*, 2018, 29: 165101
- [22] Wang X, Anton N, Ashokkumar P, et al. Optimizing the fluorescence properties of nanoemulsions for single particle tracking in live cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 13079-90
- [23] Sun A, Guo H, Gan Q, et al. Evaluation of visible NIR-I and NIR-II light penetration for photoacoustic imaging in rat organs. *Opt Express*, 2020, 28: 9002-13
- [24] Zhao P, Xu Q, Tao J, et al. Near infrared quantum dots in biomedical applications: current status and future perspective. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2018, 10: e1483
- [25] Du Y, Xu B, Fu T, et al. Near-infrared photoluminescent Ag₂S quantum dots from a single source precursor. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 1470-1
- [26] Tsuboi S, Jin T. Fluorescent, recombinant-protein-conjugated, near-infrared-emitting quantum dots for *in vitro* and *in vivo* dual-color molecular imaging. *Chembiochem*, 2019, 20: 568-75
- [27] Li Y, Wang R, Zheng W, et al. Silica-coated Ga(III)-doped ZnO: Yb³⁺, Tm³⁺ upconversion nanoparticles for high-resolution *in vivo* bioimaging using near-infrared to near-infrared upconversion emission. *Inorg Chem*, 2019, 58: 8230-6
- [28] Naczynski DJ, Tan MC, Zevon M, et al. Rare-earth-doped biological composites as *in vivo* shortwave infrared reporters. *Nat Commun*, 2013, 4: 2199
- [29] Sun L, Wang T, Sun Y, et al. Fluorescence resonance energy transfer between NH₂-NaYF₄:Yb,Er/NaYF₄@SiO₂ upconversion nanoparticles and gold nanoparticles for the detection of glutathione and cadmium ions. *Talanta*, 2020, 207: 120294
- [30] Liu Y, Liu H, Yan H, et al. Aggregation-induced absorption enhancement for deep near-Infrared II photoacoustic imaging of brain gliomas *in vivo*. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6: 1801615
- [31] Lei Z, Sun C, Pei P, et al. Stable, wavelength-tunable fluorescent dyes in the NIR-II region for *in vivo* high-contrast bioimaging and multiplexed biosensing. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58: 8166-71
- [32] Klymchenko AS, Liu F, Collot M, et al. Dye-loaded nanoemulsions: biomimetic fluorescent nanocarriers for bioimaging and nanomedicine. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10: e2001289
- [33] Awasthi P, An X, Xiang J, et al. Facile synthesis of noncytotoxic PEGylated dendrimer encapsulated silver

- sulfide quantum dots for NIR-II biological imaging. *Nanoscale*, 2020, 12: 5678-84
- [34] Chen G, Zhang Y, Li C, et al. Recent advances in tracking the transplanted stem cells using near-infrared fluorescent nanoprobe: turning from the first to the second near-infrared window. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7: e1800497
- [35] Chen G, Tian F, Zhang Y, et al. Tracking of transplanted human mesenchymal stem cells in living mice using near-infrared Ag₂S quantum dots. *Adv Funct Mater*, 2014, 24: 2481
- [36] Wan H, Yue J, Zhu S, et al. A bright organic NIR-II nanofluorophore for three-dimensional imaging into biological tissues. *Nat Commun*, 2018, 9: 1171
- [37] Zhu S, Herraiz S, Yue J, et al. 3D NIR-II molecular imaging distinguishes targeted organs with high-performance NIR-II bioconjugates. *Adv Mater*, 2018, 30: e1705799
- [38] 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. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6: 1901018
- [39] Kundrotas G, Karabanovas V, Pleckaitis M, et al. Uptake and distribution of carboxylated quantum dots in human mesenchymal stem cells: cell growing density matters. *J Nanobiotechnology*, 2019, 17: 39
- [40] Yukawa H, Watanabe M, Kaji N, et al. Monitoring transplanted adipose tissue-derived stem cells combined with heparin in the liver by fluorescence imaging using quantum dots. *Biomaterials*, 2012, 33: 2177-86
- [41] Kim S, Lim YT, Soltesz EG, et al. Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. *Nat Biotechnol*, 2004, 22: 93-7
- [42] Deglmann CJ, Błażków-Schmalzbauer K, Moorkamp S, et al. *In vivo* tracking of adipose tissue grafts with cadmium-telluride quantum dots. *Arch Plast Surg*, 2018, 45: 111-7
- [43] Ulusoy M, Lavrentieva A, Walter JG, et al. Evaluation of CdTe/CdS/ZnS core/shell/shell quantum dot toxicity on three-dimensional spheroid cultures. *Toxicol Res (Camb)*, 2015, 5: 126-35
- [44] Ogihara Y, Yukawa H, Kameyama T, et al. Labeling and *in vivo* visualization of transplanted adipose tissue-derived stem cells with safe cadmium-free aqueous ZnS coating of ZnS-AgInS₂ nanoparticles. *Sci Rep*, 2017, 7: 40047
- [45] Shao D, Lu M, Xu D, et al. Carbon dots for tracking and promoting the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Biomater Sci*, 2017, 5: 1820-7
- [46] Tsuboi S, Jin T. Bioluminescence resonance energy transfer (BRET)-coupled annexin V-functionalized quantum dots for near-infrared optical detection of apoptotic cells. *Chembiochem*, 2018, 19: 2242
- [47] Tsuboi S, Jin T. Bioluminescence resonance energy transfer coupled near-infrared imaging of apoptotic cells. *Methods Mol Biol*, 2020, 2081: 15-27
- [48] Alam R, Karam LM, Doane TL, et al. Near infrared bioluminescence resonance energy transfer from firefly luciferase-quantum dot bionanoconjugates. *Nanotechnology*, 2014, 25: 495606
- [49] Yang Q, Hu Z, Zhu S, et al. Donor engineering for NIR-II molecular fluorophores with enhanced fluorescent performance. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 1715-24
- [50] Rotko G, Cichos J, Wysokińska E, et al. Towards biocompatible NIR-II nanoprobe - transfer of hydrophobic Ag₂S quantum dots to aqueous solutions using phase transfer catalysed hydrolysis of poly(maleic anhydride-alt-1-octadecene). *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 181: 119-24
- [51] Bhavane R, Starosolski Z, Stupin I, et al. NIR-II fluorescence imaging using indocyanine green nanoparticles. *Sci Rep*, 2018, 8: 14455
- [52] Ma JJ, Yu MX, Zhang Z, et al. Gd-DTPA-coupled Ag₂Se quantum dots for dual-modality magnetic resonance imaging and fluorescence imaging in the second near-infrared window. *Nanoscale*, 2018, 10: 10699-704
- [53] Dong L, Li W, Yu L, et al. Ultrasmall Ag₂Te quantum dots with rapid clearance for amplified computed tomography imaging and augmented photonic tumor hyperthermia. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 42558-66
- [54] Yu M, Yang X, Zhang Y, et al. Pb-doped Ag₂Se quantum dots with enhanced photoluminescence in the NIR-II window. *Small*, 2021, 17: e2006111
- [55] Kameyama T, Ishigami Y, Yukawa H, et al. Crystal phase-controlled synthesis of rod-shaped AgInTe₂ nanocrystals for *in vivo* imaging in the near-infrared wavelength region. *Nanoscale*, 2016, 8: 5435-40
- [56] Zhang Y, Zhang Y, Hong G, et al. Biodistribution, pharmacokinetics and toxicology of Ag₂S near-infrared quantum dots in mice. *Biomaterials*, 2013, 34: 3639-46
- [57] Shen Y, Lifante J, Ximenes E, et al. Perspectives for Ag₂S NIR-II nanoparticles in biomedicine: from imaging to multifunctionality. *Nanoscale*, 2019, 11: 19251-64
- [58] Liao C, Tang L, Wang L, et al. Low-threshold near-infrared lasing at room temperature using low-toxicity Ag₂Se quantum dots. *Nanoscale*, 2020, 12: 21879-84
- [59] Liu J, Zheng D, Zhong L, et al. Biosynthesis of biocompatibility Ag₂Se quantum dots in *Saccharomyces cerevisiae* and its application. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 544: 60-4
- [60] Ma N, Marshall AF, Rao J. Near-infrared light emitting luciferase via biomineralization. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 6884-5
- [61] Li J, Lee WY, Wu T, et al. Near-infrared light-triggered release of small molecules for controlled differentiation and long-term tracking of stem cells *in vivo* using upconversion nanoparticles. *Biomaterials*, 2016, 110: 1-10
- [62] Zhang Y, Wiesholler LM, Rabie H, et al. Remote control of neural stem cell fate using NIR-responsive photoswitching upconversion nanoparticle constructs. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 40031-41
- [63] Le XT, Youn YS. Emerging NIR light-responsive delivery systems based on lanthanide-doped upconverting nanoparticles. *Arch Pharm Res*, 2020, 43: 134-52
- [64] Li J, Leung CWT, Wong DSH, et al. Photocontrolled siRNA delivery and biomarker-triggered luminogens of

- aggregation-induced emission by up-conversion $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}\text{Tm}^{3+}/\text{SiO}_2$ nanoparticles for inducing and monitoring stem-cell differentiation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 22074-84
- [65] Li X, Jiang M, Li Y, et al. 808 nm laser-triggered NIR-II emissive rare-earth nanoprobe for small tumor detection and blood vessel imaging. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 100: 260-8
- [66] Cantarano A, Yao J, Matulionyte M, et al. Autofluorescence-free in vivo imaging using polymer-stabilized Nd^{3+} -doped YAG nanocrystals. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 51273-84
- [67] Cheng L, Wang C, Ma X, et al. Multifunctional upconversion nanoparticles for dual-modal imaging-guided stem cell therapy under remote magnetic control. *Adv Funct Mater*, 2013, 23: 272
- [68] Xu Y, Xiang J, Zhao H, et al. Human amniotic fluid stem cells labeled with up-conversion nanoparticles for imaging-monitored repairing of acute lung injury. *Biomaterials*, 2016, 100: 91-100
- [69] Chen G, Shen J, Ohulchanskyy TY, et al. ($\alpha\text{-NaYbF}_4:\text{Tm}^{3+}$)/ CaF_2 core/shell nanoparticles with efficient near-infrared to near-infrared upconversion for high-contrast deep tissue bioimaging. *ACS Nano*, 2012, 6: 8280-7
- [70] Yamamichi T, Oue T, Yonekura T, et al. Clinical application of indocyanine green (ICG) fluorescent imaging of hepatoblastoma. *J Pediatr Surg*, 2015, 50: 833-6
- [71] Yuan Y, Zhang Z, Hou W, et al. *In vivo* dynamic cell tracking with long-wavelength excitable and near-infrared fluorescent polymer dots. *Biomaterials*, 2020, 254: 120139
- [72] Chen D, Li Q, Meng Z, et al. Bright polymer dots tracking stem cell engraftment and migration to injured mouse liver. *Theranostics*, 2017, 7: 1820-34
- [73] Wang Y, Xu C, Ow H. Commercial nanoparticles for stem cell labeling and tracking. *Theranostics*, 2013, 3: 544-60
- [74] Milovanova TN, Bhopale VM, Sorokina EM, et al. Lactate stimulates vasculogenic stem cells via the thioredoxin system and engages an autocrine activation loop involving hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 6248-61
- [75] Liu S, Tay LM, Anggara R, et al. Long-term tracking mesenchymal stem cell differentiation with photostable fluorescent nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 11925-33
- [76] Cai X, Zhang CJ, Lim FTW, et al. Organic nanoparticles with aggregation-induced emission for bone marrow stromal cell tracking in a rat PTI model. *Small*, 2016, 12: 6576-85
- [77] Gupta N, Chan YH, Saha S, et al. Near-infrared-II semiconducting polymer dots for deep-tissue fluorescence imaging. *Chem Asian J*, 2021, 16: 175-84
- [78] Mao D, Liu J, Ji S, et al. Amplification of near-infrared fluorescence in semiconducting polymer nanoprobe for grasping the behaviors of systemically administered endothelial cells in ischemia treatment. *Biomaterials*, 2017, 143: 109-19
- [79] Hong G, Diao S, Antaris AL, et al. Carbon nanomaterials for biological imaging and nanomedicinal therapy. *Chem Rev*, 2015, 115: 10816-906
- [80] Biffi S, Petrizza L, Garrovo C, et al. Multimodal near-infrared-emitting plus silica nanoparticles with fluorescent, photoacoustic, and photothermal capabilities. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 4865-74
- [81] Lee SK, Mortensen LJ, Lin CP, et al. An authentic imaging probe to track cell fate from beginning to end. *Nat Commun*, 2014, 5: 5216
- [82] Wu TJ, Tzeng YK, Chang WW, et al. Tracking the engraftment and regenerative capabilities of transplanted lung stem cells using fluorescent nanodiamonds. *Nat Nanotechnol*, 2013, 8: 682-9
- [83] Wu SQ, Chi CW, Yang CX, et al. Penetrating peptide-bioconjugated persistent nanophosphors for long-term tracking of adipose-derived stem cells with superior signal-to-noise ratio. *Anal Chem*, 2016, 88: 4114-21
- [84] Dubreil L, Leroux I, Ledevin M, et al. Multi-harmonic imaging in the second near-infrared window of nanoparticle-labeled stem cells as a monitoring tool in tissue depth. *ACS Nano*, 2017, 11: 6672-81
- [85] Accomasso L, Cibrario Rocchietti E, Raimondo S, et al. Fluorescent silica nanoparticles improve optical imaging of stem cells allowing direct discrimination between live and early-stage apoptotic cells. *Small*, 2012, 8: 3192-200
- [86] Su LJ, Wu MS, Hui YY, et al. Fluorescent nanodiamonds enable quantitative tracking of human mesenchymal stem cells in miniature pigs. *Sci Rep*, 2017, 7: 45607
- [87] Chen S, Weitemier AZ, Zeng X, et al. Near-infrared deep brain stimulation via upconversion nanoparticle-mediated optogenetics. *Science*, 2018, 359: 679-84