巯嘌呤纳米粒的年龄相关性药代动力学和基于蛋白质组学的机制初探

李雅娜[1], 邹亚茹[1,2], 张燕妮[1,3], 赵立波[1,4], 郭 鹏[1], 梅 冬[1*]

(1. 国家儿童医学中心, 首都医科大学附属北京儿童医院, 北京 100045; 2. 苏州大学附属儿童医院药剂科, 江苏 苏州 215025; 3. 昆山市中医医院药剂科, 江苏 苏州 215300; 4. 北京大学第三医院药剂科, 北京 100191)

摘要: 急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 是儿童最常见的血液系统恶性肿瘤, 6-巯基嘌呤 (mercaptopurine, 6-MP) 是ALL化疗的核心药物。为改善其溶解性差、生物利用度低及毒副作用强等临床应用局限性, 揭示儿童与成人间发育差异对药物吸收的影响, 本研究采用复乳−溶剂蒸发法开发了基于聚乳酸−乙醇酸共聚物 [poly (lactic-*co*-glycolic acid), PLGA] 的6-MP纳米粒 (6-MP nanoparticles, 6-MPNs), 综合运用高效液相色谱−质谱联用技术与label-free定量蛋白质组学, 结合eggnog-mapper (v2.0) 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释和STRING (v10.5) 蛋白质互作网络分析, 系统评价了6-MPNs在不同年龄模型动物中的药代动力学、肠道分布特征及十二指肠蛋白表达差异。所有动物实验研究均由首都医科大学动物伦理委员会批准 (批准号: AEEI-2020-072), 且所有动物实验均按照相关指导原则进行。结果显示, 6-MPNs可显著提高6-MP的生物利用度。4周龄组的药−时曲线下面积和达峰浓度更高、在肠段中吸收更快, 推进更迅速、从肠上皮向门静脉的转运效率更高。16周龄组在胰液分泌及膜脂代谢、刷状缘募集、微绒毛黏附、脂肪消化与转运等相关蛋白的表达均显著低于4周龄组, 提示6-MPNs在幼龄动物中较高的生物利用度可能是较长的相对肠段长度、更高的肠壁转运效率、更动态的肠道屏障构建综合作用的结果。

关键词: 巯嘌呤; 纳米粒; 口服吸收; 年龄相关性; 蛋白质组学

中图分类号: R943 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)03-0860-11

Age-related pharmacokinetics of 6-mercaptopurine nanoparticles and preliminary mechanistic insights based on proteomic profiling

LI Ya-na[1], ZOU Ya-ru[1,2], ZHANG Yan-ni[1,3], ZHAO Li-bo[1,4], GUO Peng[1], MEI Dong[1*]

(*1. Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, National Center for Children's Health, Beijing 100045, China; 2. Department of Pharmacy, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215025, China; 3. Department of Pharmacy, Kunshan Hospital of Chinese Medicine, Suzhou 215300, China; 4. Department of Pharmacy, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China*)

Abstract: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common hematological malignancy in children. 6-Mercaptopurine (6-MP) is a core chemotherapeutic drug for ALL, but its clinical application is limited by poor solubility, low biological availability, and significant side effects. To address these limitations and to investigate the impact of developmental differences between children and adults on drug absorption, this study developed 6-MP-loaded poly (lactic-*co*-glycolic acid) nanoparticles (6-MPNs) using a double emulsion-solvent evaporation method. We comprehensively applied high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) and label-free quantitative proteomics, along with GO functional annotation *via* eggnog-mapper (v2.0) and protein-protein interaction analysis using STRING (v10.5), to systematically evaluate the pharmacokinetics, intestinal distribution,

收稿日期: 2025-09-25; 修回日期: 2025-12-17.
基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (7232246); 国家重点研发计划 (2023YFC2706100).
*通讯作者 E-mail: meidong11290926@126.com
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1139

and duodenal protein expression differences of 6-MPNs in animal models of different ages. All animal studies were approved by the Animal Ethics Committee of Capital Medical University (Approval No.: AEEI-2020-072) and conducted in accordance with relevant guidelines. The results showed that 6-MPNs significantly improved the biological availability of 6-MP. Rats at 4 weeks of age group exhibited higher AUC_{last} (area under curve from time zero to time of last measurable concentration) and C_{max} (maximum concentration), faster intestinal absorption, more rapid propulsion, and higher transport efficiency from the intestinal epithelium to the portal vein compared to the rats at 16 weeks of age group. Proteomic analysis revealed that the rats at 16 weeks of age group had significantly lower expression of proteins related to fat digestion and transport, pancreatic secretion, membrane lipid metabolism, brush border recruitment, and microvillus adhesion. These findings suggest that the higher biological availability of 6-MPNs in younger animals may result from longer relative intestinal length, higher intestinal wall transport efficiency and more dynamic barrier construction.

Key words: mercaptopurine; nanoparticle; oral absorption; age-related; proteomics

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 是一种常见的血液系统恶性肿瘤, 占儿童所有白血病病例的 70%～80%, 也是 20 岁以下的患者癌症最常见的死亡原因[1]。目前, 化学疗法是 ALL 患儿的主要治疗方法之一, 主要包括诱导缓解、缓解后巩固和长期维持 3 个阶段[2]。

6-巯基嘌呤 (mercaptopurine, 6-MP) 是目前临床上广泛应用于 ALL 口服持续治疗的核心药物, 可以在诱导和维持阶段单独使用或与其他药物联合使用[3]。然而, 6-MP 在水中极微溶解, 溶解度仅为 0.22 $mg·mL^{-1}$, 其口服后在胃肠道吸收不完全, 血浆半衰期短 (0.5～1.5 h)、生物利用度较低 (约 16%～50%)、在体内呈非选择性分布, 易导致肝脏毒性和骨髓抑制, 存在较大的安全性和有效性风险[4]。

因此, 亟需开发新型给药系统以克服这些缺陷, 优化给药效果。纳米递送系统 (nano-drug delivery system, NDDS) 是使用功能性纳米载体进行治疗剂靶向递送的系统, 其在转运过程中能有效避免药物在人体生理环境的作用下发生降解和失活等现象, 从而达到增效减毒的效果[5]。目前关于巯嘌呤的 NDDS 研究中存在制备技术繁杂、毒性交联剂残留[6]、通过静脉给药不利于长期维持治疗的用药依从性等问题。由于载体材料聚乳酸–乙醇酸共聚物 [poly (lactic-*co*-glycolic acid), PLGA] 具有良好的生物相容性和生物可降解性, 且无毒无刺激, 因此采用 PLGA 是制备纳米粒较为理想的靶向药物载体, 可以通过有效包埋、吸附或共价交联使药物分子在载体中形成稳定且较高的局部浓度, 最终提高药物的稳定性和生物利用度。本课题组已在前期通过处方优化构建了稳定的以 PLGA 为载体的 6-MP 纳米粒 (6-MP nanoparticles, 6-MPNs), 并在体外验证了其经由网格蛋白和脂筏/小窝蛋白介导的内吞作用转运入胞[7], 较传统剂型具备更好的抗肿瘤效果[8]。

目前, 已有多种基于 PLGA 的纳米制剂实现临床应用, 例如阿立哌唑长效微球注射剂和注射用醋酸亮丙瑞林微球等, 这些制剂通过良好的缓释性能和稳定的药代动力学特征 (更平稳的血药浓度、更小的谷峰浓度波动值), 提高了患者的用药依从性, 并在成人群体中表现出明确的临床疗效。然而, 其在儿童患者中的应用仍面临诸多挑战。

首先, 针对儿科人群的临床研究面临受试者招募困难、伦理审查严格等挑战, 相关临床试验数据严重匮乏; 其次, 儿童处于生长发育阶段, 其药物代谢动力学和药效动力学特征随年龄、体重及器官成熟度发生显著变化[9], 这种高度异质性使得从成人数据外推至儿童群体的有效性及安全性存在较大不确定性。此外, 儿童专用制剂的剂量确定、给药方案优化及长期安全性评价等方面均缺乏充分证据。因此, 尽管 PLGA 制剂在技术上具备实现儿童个体化给药的潜力, 目前仍缺乏足够的临床数据支持其广泛应用于儿科人群, 也导致相关儿童适应症获批受限, 临床使用态度趋于保守。

限制其在儿科临床应用的另一重要原因是纳米药物在儿童体内的吸收机制仍存在诸多关键科学问题尚未阐明。由于纳米药物的微观转运过程 (如黏液穿透、胞吞胞转运等) 及宏观体内分布、代谢行为均显著区别于传统制剂[10], 其药代动力学行为更为复杂。此外, 纳米材料本身的理化特性 (如尺寸、表面电荷、疏水性等) 及儿童与成人间显著的生理差异 (如胃肠道 pH、酶活性、肠道通透性[11]、淋巴系统发育程度[12]等), 共同限制了纳米药物在儿科人群中的广泛应用。

已有相关研究表明, 阿瑞匹坦纳米晶体在肠上皮细胞的摄取和转运高度依赖于脂质吸收效率及转运蛋白如 ApoB 的表达与功能, 而这些因素在儿童期呈现明显的年龄依赖性差异[13]。此外, 儿童的肠道黏液层不是一个静态的屏障, 它随着年龄增长、饮食改变 (从

母乳/配方奶到固体食物) 和肠道菌群的定植而不断发展和成熟。新生儿和婴儿的肠道屏障黏液层通常更为稀薄, 不够致密[14], 高肠道通透性和高相对表面积协同作用可能进一步加速口服药物的吸收和肠壁转运效率, 这些年龄依赖性生理差异会对纳米药物的药代动力学产生何种影响, 有待进一步研究。

本研究以前期制备的以PLGA为载体的6-MPNs为基础, 拟开展其在不同年龄间的吸收差异及其机制研究, 并基于定量蛋白质组学结合实验验证探究不同年龄间6-MPNs吸收的差异及其机制, 旨在阐明儿童肠道特点对纳米药物吸收带来的影响, 为儿科药物研发与临床用药提供理论依据和参考, 以实现更精准有效的个体化治疗。

材料与方法

试药 6-MP (纯度99.93%, 57859)、6-MP-^{13}C,$^{15}N_2$ (纯度99.85%, 同位素纯度99.5%, 959607) 购自美国MedChemexpress公司; Resomer® RG 502H [乳酸/羟基乙酸 (50/50), 羧基末端, Mw: 7 000～17 000, PLGA, MKCW1516]、聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA, 水解度: 87%～89%, Mw: 31 000～50 000, MKCW5222) 购自德国Sigma-Aldrich公司; DiR (20230707, 北京万景励志生物技术有限公司); 帕洛沙姆188 (Pluronic188, F68, C14605980, 上海麦克林生化科技股份有限公司)。

仪器 纳米激光粒度仪 (NKT-N9, 山东耐克特分析仪器有限公司); 高效液相色谱仪 (LC-20A, 日本岛津公司); 三重四极杆质谱仪 (Sciex API 5500, 加拿大Applied Biosystems公司); 旋转蒸发仪 (C-2L-ARE, 上海舍岩仪器有限公司); 透射电镜 (JEM 2100, 日本电子株式会社); 激光扫描共聚焦显微镜 (Sp8, 德国Leica仪器有限公司); 生物样品低温快速制备仪 (Gene Ready Ultracool BSH-C2, 杭州遂真生物技术有限公司); 小动物活体成像仪 (IVIS SPECTRUM, 美国PerkinElmer股份有限公司)。

实验动物 4、8、16周龄雄性SPF级SD大鼠共计70只, 体质量分别50～70、190～210、480～520 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK (京) 2021-0011。所有动物均按照动物福利法和《实验动物的护理和使用指南》规程进行饲养。所有动物实验研究均由首都医科大学动物伦理委员会批准 (批准号: AEEI-2020-072)。

6-MPNs的制备和表征 6-MPNs的制备是基于前期研究的处方优化结果[8], 采用改进的复乳−溶剂蒸发法制备而成, 制备所用溶液配制浓度均按质量/体积比。内水相 (W1) 由6-MP的氨水溶液组成 (6-MP 5%, PVA 0.5%), 有机相 (O) 为6% RG 502H PLGA乙酸乙酯溶液。磁力搅拌下将W1滴入O, 冰水浴超声2 min (功率130 W, 开关时间2.0 s), 得到6-MP的油包水初乳 (W1/O); 之后将初乳迅速注入到4倍初乳体积的1% F68 (外水相, W2) 中, 冰水浴超声2 min (功率400 W, 开关时间2.0 s), 得到W2/O/W1复乳; 再将复乳在40 ℃下旋蒸1 h, 除去有机溶剂, 即得6-MPNs。采用动态光散射技术测定其平均粒径及多分散系数, 用透射电子显微镜观察形态。

6-MPCs的制备 称取一定量的羧甲基纤维素钠 (sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na), 缓慢分散在去离子水的表面, 在60～70 ℃水浴中加热2 h, 使之溶解, 以配制0.5% CMC-Na溶液。称取适量巯嘌呤粉末, 加入0.5% CMC-Na溶液中, 并涡旋5 min, 配制成2 mg·mL^{-1}的巯嘌呤临时配置混悬液 (6-MP compounded suspensions, 6-MPCs)。

6-MP体内含量检测方法 采用高效液相色谱联合质谱法 (HPLC-MS/MS) 以6-MP-^{13}C,$^{15}N_2$为内标, 测定6-MP含量。色谱柱: Thermo C18 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.01 mol·L^{-1} KH_2PO_4 (用盐酸调节pH至3.3)∶甲醇 = 75∶25; 检测波长: 325 nm; 流速: 1.0 mL·min^{-1}; 柱温: 40 ℃; 进样体积: 20 μL。使用API5500三重四极杆质谱仪进行MS分析; 正离子电喷雾离子源 (ESI温度: 550 ℃; 离子喷雾电压: 5 500 V; 干燥气: 40 psi; 离子源气1和2均为55 psi; 去簇电压、碰撞能、入口电压、碰撞单元出口电压分别为120、20、10、15 V); 多重反应检测扫描定量分析: 6-MP质荷比为153.0/118.9。

肠道组织样本匀浆的制备 取各肠段组织样品0.1～0.2 g, 准确称重后放入1.5 mL匀浆管中。按1∶9 (*w*/*v*, g·mL^{-1}) 比例加入预冷的甲醇, 冰浴条件下, 用眼科剪尽快将组织剪碎。匀浆机粉碎后在5 000 r·min^{-1}离心15 min, 收集含有药物的组织上清液, 不立即分析需保存在−80 ℃冰箱。

血浆和组织匀浆样品的处理 取血浆样品和组织匀浆液100 μL, 加入10 μL内标, 加入310 μL含有0.05%甲酸的甲醇以沉淀蛋白, 涡旋5 min (组织匀浆液涡旋8 min), 于4 ℃、5 000 r·min^{-1}离心20 min, 收集上清, 取3 μL上清液分析。

大鼠体内血浆药动学 实验前SD大鼠禁食16～18 h予其自由饮水, 4周龄、16周龄各2组, 每组各7只。按照6-MP 15.75 mg·kg^{-1}给大鼠灌胃6-MPCs或6-MPNs, 分别于0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、5、7、9 h取眼眶血, 置于含有抗凝剂的离心管中, 于4 ℃、12 000 r·min^{-1}离心10 min, 取上清血浆, 按照血浆样品处理方法用

HPLC-MS/MS 分析血浆中 6-MP 浓度, 采用 Phoenix Winnonlin 8.3.5.340 软件分析拟合。

6-MPNs 在不同年龄的肠段浓度 实验前 SD 大鼠禁食 16～18 h 予其自由饮水, 按 4 周龄、16 周龄分 2 组, 每组各 3 只。按照 6-MP 15.75 mg·kg^{-1} 给大鼠灌胃 6-MPNs, 在给药后 10、30、60、180 min 对其实施安乐死。剖腹后, 取整个肠段再将其分段 (十二指肠、空肠、回肠、结肠), 用眼科剪纵向剪开使肠腔暴露, 用 PBS 仔细冲洗后, 滤纸吸干水分, 按照组织样品处理方法制样, 用 HPLC-MS/MS 分析血浆中的 6-MP 浓度。

6-MPNs 在不同年龄的肠段分布 实验前 SD 大鼠禁食 16～18 h 予其自由饮水, 按 4 周龄、16 周龄分 2 组, 每组 1 只。按照 6-MP 15.75 mg·kg^{-1} 给大鼠灌胃 DiR 标记的 6-MPNs 并在不同时间点利用活体成像技术对胃肠道进行拍摄, 分别于给药后 1、2、4、8、16 h, 将麻醉大鼠实施安乐死, 完整取出胃肠道, 采用小动物活体光学成像系统进行离体成像, 以定量评估药物在肠道各段的分布情况。成像结束后, 分别截取十二指肠、空肠、回肠及结肠区段各约 1 cm, 经 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋后制备组织切片。切片经脱蜡处理后, 采用 DAPI 进行核复染, 在激光共聚焦显微镜下观察 6-MPNs 的肠段分布。

大鼠十二指肠磷酸化/蛋白组学

组织样本制备 按照组织样本制备方法取 4 周龄、16 周龄相同部位相同重量的十二指肠样本, 精确称取 30 mg 样本迅速置于液氮中冷冻 30 min, 立即取出装到离心管中, 用封口膜将管口密封好。

蛋白质提取和酶解 称取适量组织样品至液氮预冷的研钵中, 加液氮充分研磨至粉末, 各组样品分别加入 4 倍体积的 10% TCA/丙酮, −20 ℃下静置 4 h, 4 500 ×*g*、4 ℃下离心 5 min, 弃上清, 用预冷的丙酮洗涤沉淀 3 次, 晾干沉淀, 最后用 8 mol·L^{-1} 尿素复溶或者进行 SDS-酚提取, 利用 BCA 法进行蛋白浓度测定。各样品蛋白取等量进行酶解, 用裂解液将体积调整至一致。缓慢加入 20% 三氯乙酸, 涡旋混匀, 4 ℃沉淀 2 h, 4 500 ×*g* 离心 5 min, 弃上清, 用预冷的丙酮洗涤沉淀 2 或 3 次, 晾干沉淀后加入终浓度 200 mmol·L^{-1} 四乙基溴化铵, 超声打散沉淀, 以 1∶50 的比例 (蛋白酶∶蛋白, *m*/*m*) 加入胰蛋白酶, 酶解过夜。

LC-MS/MS 分析肽段 加入二硫苏糖醇使其终浓度为 5 mmol·L^{-1}, 56 ℃还原 30 min, 之后加入碘乙酰胺使其终浓度为 11 mmol·L^{-1}, 室温避光孵育 15 min。用液相色谱流动相 A 相溶解后使用 NanoElute 超高效液相系统进行分离。流动相 A: 水溶液 (含 0.1% 甲酸和 2% 乙腈); 流动相 B: 100% 乙腈溶液 (含 0.1% 甲酸)。设置液相梯度: 0～70 min, 6%～24% B; 70～84 min, 24%～35% B; 84～87 min, 35%～80% B; 87～90 min, 80% B。流速: 450 nL·min^{-1}。将经由超高效液相系统分离后的肽段注入 Capillary 离子源中进行电离, 进行质谱分析。离子源电压为 1.75 kV, 肽段母离子及其二级碎片都使用高分辨的飞行时间质谱进行检测和分析。二级质谱扫描范围设置为 400～1 500 *m*/*z*。数据采集模式使用平行累积串行碎裂 (parallel accumulation serial fragmentation, PASEF) 模式。一张一级质谱采集后进行 10 次 PASEF 模式采集母离子电荷数在 0～5 范围内的二级谱图, 串联质谱扫描的动态排除时间设置为 30 s 避免母离子的重复扫描。

蛋白数据库的建立和质控分析 根据样本来源情况构建样本特异性蛋白数据库, 然后采用分析软件进行数据库的搜索, 基于数据库搜索结果进行肽段和蛋白水平的质控分析。

生物信息分析 对鉴定到的蛋白进行常见功能数据库注释和功能分类统计分析, 并采用 Fisher 确切检验方法进行富集分析; 使用 eggnog-mapper 软件 (v2.0) 进行 GO 功能注释, 采用 STRING (v10.5) 数据库构建蛋白质互作网络。

数据分析 使用 GraphPad Prism 9 进行数据分析, 统计数据均表示为均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 两个独立组别的显著差异采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 显著性分析中 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

结果

1 6-MPNs 的表征及其对体内药代动力学行为的改善作用

先前研究中作者评估了不同内水相聚合物浓度、不同有机相溶剂、不同分子质量和不同末端基团的 PLGA 及其与 6-MP 的质量比等条件对最终形成的 6-MPNs 的粒径和稳定性的影响, 发现在 0.5%～3% 范围内, PVA 浓度越大溶剂黏度越高、所形成的 6-MPNs 粒径越大; 有机溶剂选择较高水溶性的乙酸乙酯可以使乳液液滴表面的聚合物迅速固化成无粘连的球状结构, 所制得的 6-MPNs 的粒径相对较小; 此外, 具有较高亲水性末端基团的低分子质量 PLGA 可使纳米颗粒直径更小[8]。因此本研究中使用先前研究中改良的复乳−溶剂蒸发法, 采用 0.5% PVA、乙酸乙酯、含亲水性羧基末端基团的 PLGA (RG 502H) 为处方成功制备了 6-MPNs。使用动态光散射技术测定其平均粒径及分散性, 平均粒径为 147.70 ± 0.66 nm, 多分散指数 (polymer dispersity index, PDI) 为 0.119 ± 0.002, 表明所制得的

6-MPNs粒径分布均匀 (图1A、B)。透射电镜观察显示6-MPNs呈现表面光滑的均匀球形 (图1C)。

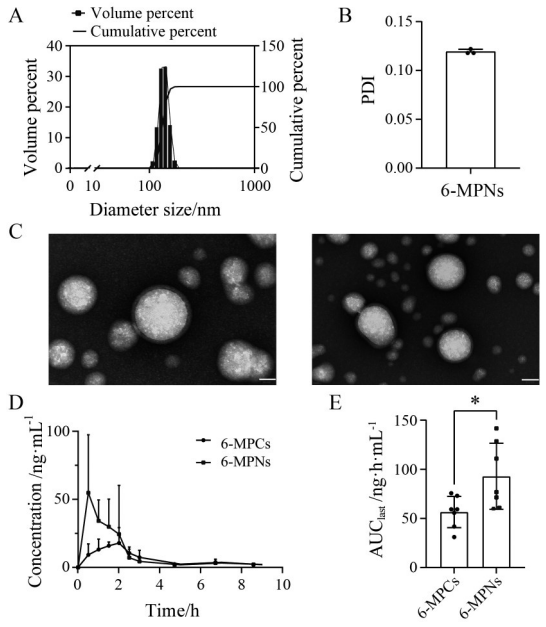


Figure 1　Characterization of 6-MPCs and 6-MPNs and plasma pharmacokinetics in 8-week-old SD rats. A: Histogram of average particle size, displayed by volume and cumulative percent; B: PDI statistical bar chart of 6-MPNs; C: Transmission electron microscope images of 6-MPNs, with the left and right scale bars set at 50 nm and 100 nm, respectively; D: Drug-time curve of 6-MPCs and 6-MPNs in rats at 8 weeks of age; E: AUC_{last} statistical plot of 6-MPCs and 6-MPNs in 8-week-old rats. $n = 7$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$. PDI: Polymer dispersity index; 6-MPCs: 6-MP compounded suspensions; 6-MPNs: 6-MP nanoparticles; AUC_{last}: Area under curve from time zero to time of last measurable concentration

接着在8周龄SD大鼠中进行了药代动力学研究, 以15.75 mg·kg^{-1}的剂量灌胃6-MPCs或6-MPNs后, 通过HPLC-MS/MS检测6-MP的血浆浓度, 图1D展示了平均血浆浓度随时间变化的曲线。如图1E所示, 6-MPNs组从给药时间到最后一个可测量浓度的曲线下面积 (area under curve from time zero to time of last measurable concentration, AUC_{last}) 为92.96 ± 33.62 ng·h·mL^{-1}, 显著高于6-MPCs组 (56.56 ± 15.89 ng·h·mL^{-1}), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明6-MPNs可显著提高SD大鼠体内6-MP的暴露量。作者推测, 这种口服生物利用度的提升可归因于难溶药物在纳米载体中溶解度的提升和经由小肠M细胞的淋巴被动靶向效应的综合作用。

2　SD大鼠周龄对体内血浆药动学的影响

根据人−大鼠非线性年龄推算法, 作者在4周龄 (模拟人类儿童期) 和16周龄 (模拟人类成年期) 中开展了单次给药的药代动力学研究。图2展示了以15.75 mg·kg^{-1}的剂量灌胃6-MPCs (图2A) 或6-MPNs (图2B) 后, 通过HPLC-MS/MS检测6-MP的血浆浓度随时间变化的曲线。

AUC_{last}是血药浓度曲线从给药时间到最后一个可测量浓度的曲线下面积, 是评价药物吸收程度的重要指标, 反映了药物在体内的暴露特性; 给药后出现的血药浓度最高值 (maximum concentration, C_{max}) 是反映药物在体内吸收速率和吸收程度的重要指标。非房室模型的药代动力学参数显示, 不同年龄组主要药代动力学参数均存在显著差异 (表1)。4周龄组的AUC_{last}值 (6-MPCs: 402.33 ± 162.49 ng·h·mL^{-1}; 6-MPNs: 581.65 ± 189.85 ng·h·mL^{-1}) 显著高于16周龄组 (6-MPCs: 68.59 ± 32.50 ng·h·mL^{-1}; 6-MPNs: 135.11 ± 43.67 ng·h·mL^{-1})。同一制剂在两组年龄间AUC_{last}的绝对差值及比值分析显示, 4周龄组与16周龄组AUC_{last}的比值分别为: 6-MPCs组中, 4周龄/16周龄 ≈ 5.9; 6-MPNs组中, 4周龄/16周龄 ≈ 4.3, 相应的绝对差值分别为333.7 ng·h·mL^{-1} (6-MPCs) 和446.5 ng·h·mL^{-1} (6-MPNs) (图2C)。上述结果表明, 在单位给药剂量相同的条件下, 年龄显著影响药物在体内的暴露水平, 幼年个体 (4周龄) 较成年个体 (16周龄) 表现出更高的吸收程度与生物利用度。

3　肠道发育差异对6-MPNs在不同肠段分布的影响

前述实验结果表明, 6-MPNs在不同年龄组动物中表现出显著的药代动力学差异。为深入阐释该差异的形成机制, 本研究采用实时小动物活体成像技术, 动态监测了6-MPNs在4周龄与16周龄SD大鼠肠道内随

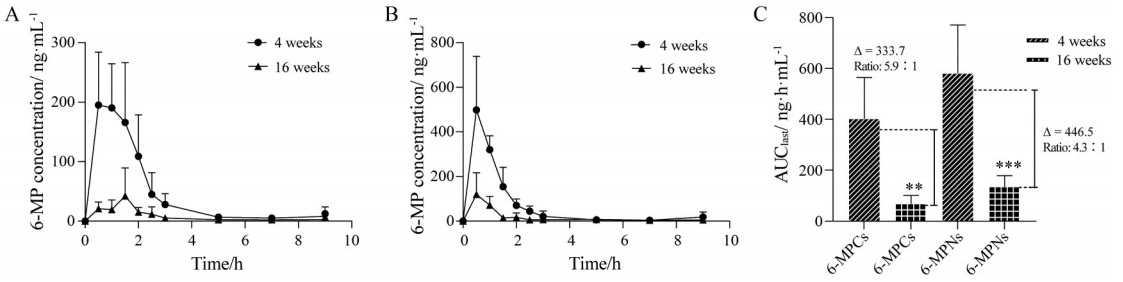


Figure 2　Pharmacokinetic study of 6-MPNs in SD rats of different age groups. A: Drug-time curves of 6-MPCs; B: Drug-time curves of 6-MPNs; C: Statistical bar chart of the AUC_{last} of 6-MPCs and 6-MPNs in SD rats of different age groups. $n = 7$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$

Table 1 Main plasma pharmacokinetic parameters in SD rats of different weeks of age groups. $n = 7$, $\bar{x} \pm s$, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ *vs* data from the rats at 4 weeks of age group

Formulation	Age group	AUC_{last}/ng·h·mL^{-1}	C_{max}/ng·mL^{-1}	V_z/F/L·kg^{-1}	CL/F/L·h^{-1}·kg^{-1}
6-MPCs	4 weeks	402.33 ± 162.49	225.67 ± 74.49	128.38 ± 113.13	36.02 ± 15.10
	16 weeks	68.59 ± 32.50**	52.13 ± 39.43***	1 479.05 ± 1 024.31*	212.93 ± 108.71**
6-MPNs	4 weeks	581.65 ± 189.85	531.2 ± 192.25	87.98 ± 54.59	27.35 ± 9.77
	16 weeks	135.11 ± 43.67***	134.97 ± 90.63***	467.55 ± 334.38*	104.21 ± 25.98***

时间的分布特征。

DiR 是一种亲脂性近红外荧光探针, 其激发和发射波长分别为 754 和 778 nm。由于自身荧光背景较低, 该探针常用于活体成像研究。实验将 DiR 与 6-MP 共同包封于纳米粒中, 制备得到 DiR 标记的 6-MPNs, 分别经口灌胃给予两个年龄组大鼠观察不同时间药物在体内的分布 (图 3A)。结果显示, 在给药后 1 h, 药物在两组大鼠肠道中的分布即表现出与解剖顺序 (十二指肠→空肠→回肠→结肠) 相关的显著年龄差异。4 周龄组药物主要分布在空肠段, 而 16 周龄组药物仍集中滞留于十二指肠区域; 此时, 4 周龄大鼠十二指肠的荧光强度低于 16 周龄组, 提示 4 周龄动物中药物在更早时间通过十二指肠, 该现象与相应肠段组织切片的共聚焦显微镜观察结果一致 (图 3B)。

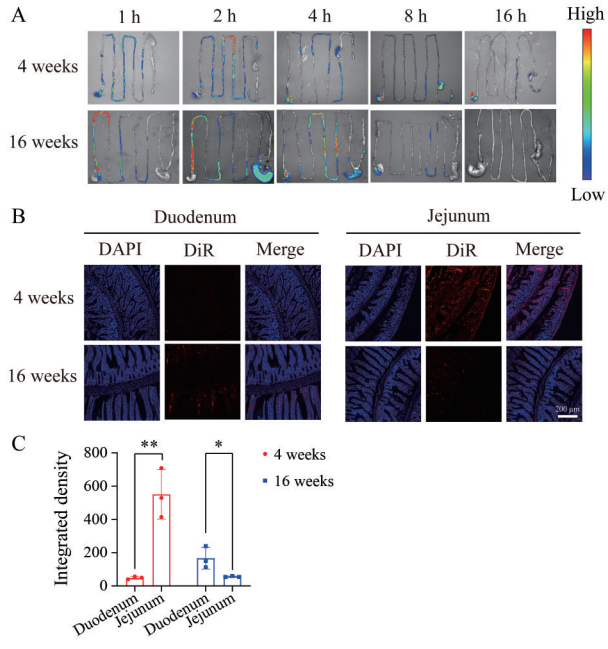


Figure 3 Distribution of 6-MPNs in intestinal segments across different age groups. A: Distribution of 6-MPNs in rats at 4 weeks of age and 16 weeks of age by small animal *in vivo* imaging; B: Intestinal sections at 1 h after administration observed under laser confocal microscopy. Scale bar = 200 μm; C: Quantitative statistical analysis of total fluorescence intensity in intestinal tissue sections from different regions at 1 h post-dose, derived from multiple fields of view of the same section. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$

给药后 2 h, 4 周龄组药物进一步向肠道远端移动, 主要分布于远端空肠及回肠段; 相比之下, 16 周龄组药物仍较多存留于十二指肠及近端空肠。至给药后 4 h, 4 周龄组药物荧光信号整体减弱, 残留信号主要富集于远端回肠及盲肠; 而 16 周龄组在回肠段仍可检出较强的荧光信号, 表明其药物排空速率较慢。给药后 8 h, 两个年龄组大鼠整个肠道范围内均未检测到明显荧光信号, 提示此时药物可能已基本完成肠道内转运及排空过程。

作者推测, 从不同年龄肠道动力发育差异的角度讲, 6-MPNs 在 4 周龄动物体内的药物暴露量、峰浓度更高的原因与其在肠道更高的转运效率有直接联系: ① 巨大的肠道相对长度意味着药物在儿童体内面对的是一个相对于其体型而言非常庞大、密集的吸收表面。这直接抵消了绝对长度短的劣势, 确保了药物能与吸收面充分接触; ② 较快的药物推进速度起到了积极的作用, 能快速将药物分散并输送至广阔的吸收表面, 减少了药物在局部可能发生的聚集或降解。

4 肠壁转运效率差异对 6-MPNs 肠段浓度的影响

为深入探究不同周龄动物肠道内药物转运与分布差异对最终系统暴露量与生物利用度的影响, 本研究于给药后 10、30、60 及 180 min 分别采集肠段组织及血浆样本, 并检测其中药物浓度。实验结果显示, 在给药初期 (10、30 min), 4 周龄血浆药物浓度都显著高于 16 周龄的血浆药物浓度 (图 4A), 证明 6-MPNs 在 4 月龄动物中吸收入血的量更多, 而 4 周龄动物不同肠段组织中的药物浓度却显著低于 16 周龄组 (图 4B～E); 在给药后 60 min, 4 周龄动物空肠的药物浓度已降至给药后 10 min 的 2.9%, 然而 16 周龄动物给药后 60 min 时空肠的药物浓度仅是给药后 10 min 的 22% (图 4F)。这可能是由于药物在 4 周龄即幼年动物肠道上皮细胞内吸收更快, 滞留时间较短。需特别说明的是, 本研究检测的为冲洗后肠段组织中的药物浓度, 即已从肠腔转移至肠壁但尚未进入体循环的部分, 当测得值越低, 意味着药物从肠组织向血液循环的跨上皮转运速率可能越快, 即 4 周龄动物肠道的药物吸收效率可能高于 16 周龄动物, 这可能是导致其全身暴露量与生物利用度显著升高的重要原因。

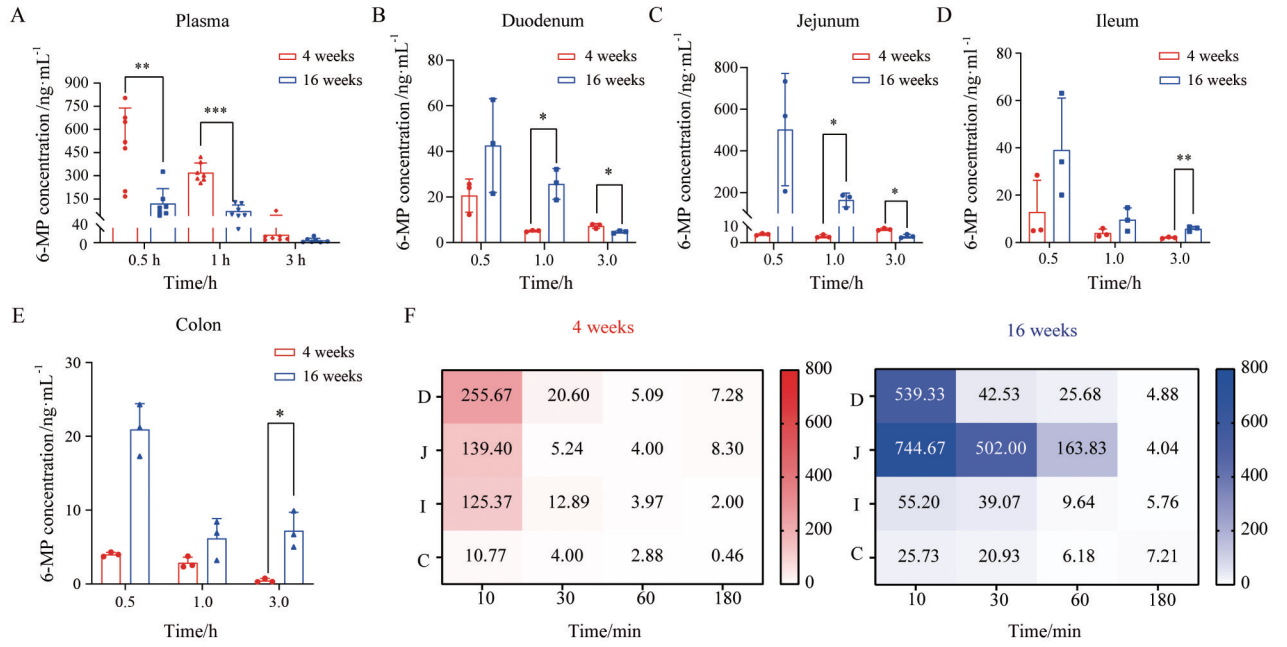


Figure 4　Plasma and intestinal tissue concentrations of 6-MPNs in rats of different age groups. The legend applies to panels (A−E). A: Plasma concentrations of 6-MPNs, n = 7, $\bar{x} \pm s$; B−E: Drug concentrations in different intestinal segments at various time points in rats at 4 weeks of age and 16 weeks of age, intestinal luminal contents were washed prior to measurement; F: Heatmap of 6-MP concentrations across intestinal segments (D: Duodenum, J: Jejunum, I: Ileum, C: Colon) at different time points. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$

作者推测, 4 周龄动物肠道上皮的物理屏障功能尚未发育完善, 同时其细胞膜上的药物转运体表达或活性可能更高, 共同导致了更高的肠壁通透性与转运效率, 这一机制使得药物能更快速、更大量地穿过肠上皮屏障进入门静脉循环或经淋巴管转运, 这可以解释在早期时间点幼年动物同时出现了“肠道组织药物浓度低”与“外周血药物浓度高”的现象, 为理解年龄依赖性药物吸收提供了新的视角。

5　6-MPNs 对不同周龄大鼠十二指肠蛋白质表达的影响

为进一步探究不同年龄间肠道生理因素差异对药物吸收的影响, 作者在 4 周龄和 16 周龄大鼠给药后 0.5 h 的十二指肠样本上开展了非标 (label-free) 蛋白质组定量研究。首先对样本进行质谱分析, 获得样本中肽段的质量和信号强度, 以及肽段碎裂后碎片离子的质量和信号强度, 结果表明, 鉴定到的蛋白质大部分肽段分布在 7～20 个氨基酸, 符合基于 trypsin 酶解和 HCD 碎裂方式的一般规律。质谱鉴定到的肽段长度的分布符合质控要求, 且样本两两之间相关性良好, 皮尔逊相关系数均大于 0.92, 主成分分析重复样本之间聚集程度较高, 相对标准差均小于 0.2, 样本符合生物重复标准。

通过对每个蛋白在比较样品对中的所有生物重复定量值的均值的比值作为差异倍数 (fold change, FC) 展开蛋白差异分析。*t*-test 检验用于判断显著性指标, 默认 $P < 0.05$。检验前蛋白相对定量值已经过 $\log_2$ 对数转换。通过上述差异分析, 作者设定显著性阈值为 $P < 0.05$, 并以表达量 FC 大于 1.5 作为显著上调、小于 1.5 作为显著下调的标准。所有比较结果均以“16 周龄组 *vs* 4 周龄组”为对比基准, 即所有变化均表示 16 周龄组相对于 4 周龄组的表达差异。

在十二指肠组织中, 共鉴定到 660 个差异表达蛋白。与 4 周龄组相比, 16 周龄组中有 294 个蛋白表达显著上调, 366 个蛋白显著下调。图 5A 展示了差异表达蛋白的火山图, 其中横坐标 $\log_2$ (fold change) 为蛋白表达量变化的对数转换值, 纵坐标−lg (*P* value) 为差异显著性水平的负对数。图中红色散点代表 16 周龄组中显著上调的蛋白, 蓝色散点代表 16 周龄组中显著下调的蛋白。图 5B 为差异蛋白的同源蛋白簇 (COG/KOG) 功能分类注释, 不同颜色对应“细胞过程与信号”“信息存储与处理”“代谢”“未充分表征”等功能类别。可见差异蛋白广泛参与翻译后修饰、信号转导、能量产生与转化等多种生物学过程, 其中“翻译后修饰、蛋白周转与分子伴侣”“信号转导机制”类别包含的差异蛋白数量较多, 并且鉴定出的差异蛋白在细胞骨架构成、胞内转运、脂质转运等过程中也发挥调控作用。

6　差异蛋白的 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

对于鉴定到的全体蛋白的注释及差异表达蛋白的

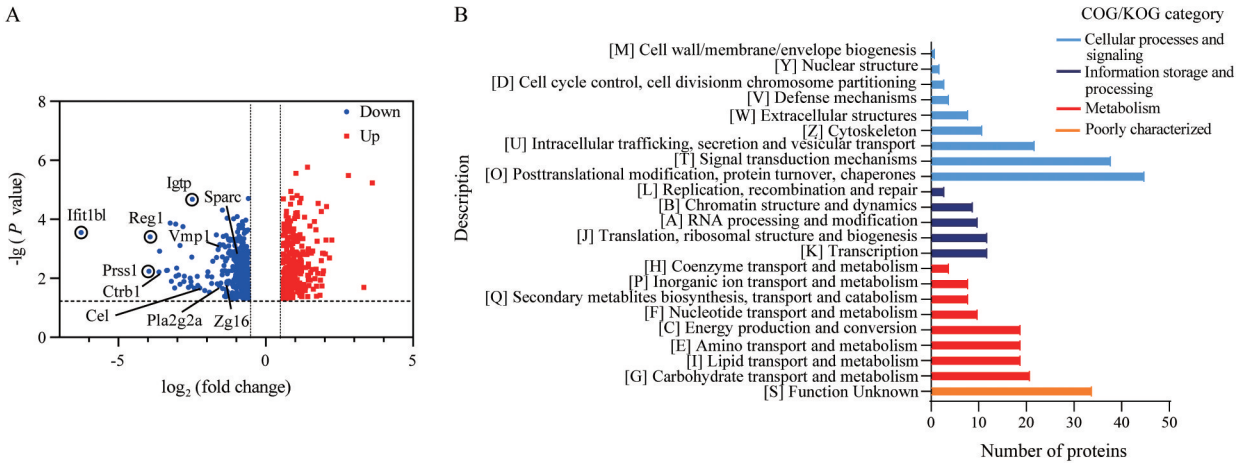


Figure 5 Effects of 6-MPNs on duodenal protein expression in rats of different weeks of age. A: Differential protein volcano plot at 16 weeks of age *vs* 4 weeks of age; B: Functional classification chart of COG/KOG for differential proteins. COG/KOG: Clusters of orthologous groups/clusters of eukaryotic orthologous groups

筛选，作者对各比较组中差异表达蛋白分别进行了基因本体 (gene ontology, GO) 分类、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路的富集分析，目的是发现差异表达蛋白是否在某些功能类型有显著性的富集趋势。对于富集检验 (此处运用 Fisher's exact test 即费希尔精确检验) 得到的 P 值通过气泡图方式展现了差异蛋白显著富集 ($P < 0.05$) 的功能分类和通路。气泡图中给出了最显著富集的前 20 个分类的结果。气泡图中纵轴为功能分类或通路，横轴数值为差异蛋白在该功能类型中所占比例相比于鉴定蛋白所占比例的变化倍数的 $\log_2$ 转换后的数值。圆圈颜色表示富集显著性 P 值，圆圈大小表示功能类或通路中差异蛋白个数。

GO 功能富集显示相比于 4 周龄组，16 周龄组十二指肠下调蛋白在膜脂分解代谢、上皮细胞分化、刷状缘组装等功能富集 (图 6A)，因此 16 周龄组十二指肠的肠道上皮屏障构建、脂筏/小窝蛋白介导的药物转运、微绒毛流动性、蛋白质和脂质消化可能低于 4 周龄组的对应功能。KEGG 通路展示了相比于 4 周龄组，16 周龄组十二指肠下调的蛋白显著富集于脂肪消化与吸收、胰液分泌、甘油酯代谢等与脂质吸收相关的通路 (图 6B)，与 GO 分析相互印证，提示 4 周龄大鼠肠道可能具有更强的脂质消化和分解代谢能力。差异蛋白显著富集于“蛋白质消化与吸收”(KEGG: moo04974)、“脂肪消化与吸收”(KEGG: moo04975)、“胰腺分泌”(KEGG: moo04972) 及“蛋白酶解”(GO: Proteolysis) 等过程。这意味着 4 周龄大鼠肠道中用于分解大分子物质的酶 (如各种肽酶、脂酶) 表达可能高于 16 周龄大鼠肠道对应蛋白表达水平。

肠道物理屏障完整性相关的关键过程，如“刷状缘组装”(GO: Brush border assembly) 和“上皮细胞分化调控”(GO: Regulation of epithelial cell differentiation)。

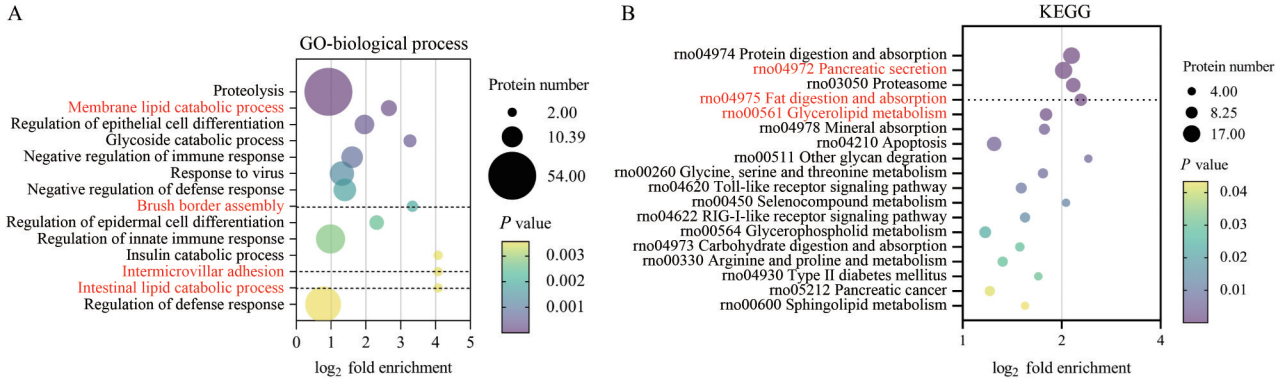


Figure 6 Functional enrichment analysis of down-regulated proteins at 16 weeks of age compared with those at 4 weeks of age. A: GO biological process functional enrichment analysis of down-regulated proteins at 16 weeks of age compared with those at 4 weeks of age; B: KEGG functional enrichment analysis of down-regulated proteins at 16 weeks of age compared with those at 4 weeks of age. GO: Gene ontology; KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes

肠道刷状缘是药物吸收的重要界面, 其微绒毛结构、密度及组成蛋白 (如转运体、通道蛋白) 的表达直接影响药物的渗透性和吸收效率。儿童肠道的上皮屏障结构可能处于一个更动态、更活跃的成熟和重塑阶段。这可能导致儿童与成人在肠道通透性、药物转运蛋白的表达谱和功能活性上存在本质差异, 进而影响小分子药物的吸收速率和程度。

7　生物过程通路图和关键蛋白的 PPI 网络分析

儿童与成人肠道在蛋白质表达谱上的差异, 集中体现了其功能上的分化: 儿童肠道可能表现出更旺盛的消化代谢能力、更活跃的屏障结构重塑 (包括刷状缘募集、膜脂分解、微绒毛黏附) (图 7A)。这些发育相关的生理学差异共同构成了药物吸收的独特微环境, 可能是导致许多药物在儿童群体中药代动力学参数 (如曲线下面积、生物利用度) 与成人不同的深层分子基础。网络分析显示, 各基因依据生物功能的不同构成了多个子网络, 其中, Ctrb1、Ctrc、Cpa1、Cpb1、Cel 等蛋白在 16 周龄组表达显著下调, 其构成的调控胰蛋白酶原的活化−降解及肠道上皮细胞脂蛋白的合成−转运功能网络在成年动物组功能降低可能影响肠上皮细胞乳糜微粒介导的脂溶性药物转运过程从而产生药物吸收差异。

Stat1 是 JAK-STAT 信号通路中的关键转录因子, 主要被干扰素 (IFN-γ, IFN-α/β) 等细胞因子激活, 其经典激活途径为: IFN-γ 通过 JAK1/JAK2 激酶诱导 Stat1 磷酸化, 形成 Stat1 同源二聚体并转运入核, 进而抑制紧密连接蛋白 (如 Claudins、Occludin) 表达、诱导肠道屏障功能障碍。同时, Stat1 还可抑制杯状细胞的分化与功能, 减少黏蛋白的分泌。这些变化共同导致肠道黏液层变薄, 并阻碍炎症环境下肠上皮细胞的修复过程[15]。在本研究中, 作者观察到 16 周龄成年动物十二指肠组织中, 以 Stat1 为核心的屏障调控网络表达水平相对于 4 周龄幼年动物显著下调。这可能说明幼年动物肠道中相对活跃的 Stat1 信号, 可能通过上述机制, 主动塑造了一个屏障功能尚不成熟、通透性更高的内环境, 这不仅表现为杯状细胞功能受抑所致的黏液层稀疏, 也体现在紧密连接结构的发育不全。这种由 Stat1 驱动形成的“高通透性”状态, 为解释幼年动物口服药物吸收更快、系统暴露量更高的现象提供了直接的分子机制。该结果反映出幼龄动物可能具备一种独特的、允许更高通透性的屏障调控模式。此外, 这也间接提示其他未被检测的屏障相关蛋白 (如紧密连接蛋白) 可能在成年动物中发挥更为主导的屏障保护作用, 该假设仍有待进一步实验验证。

综上所述, 本研究通过改良的复乳−溶剂蒸发法制备了稳定的 6-MPNs, 其能显著提升原药物的生物利用度, 并且在 4 和 16 周龄 SD 大鼠中呈现出不同的药代动力学参数差异, 作者推测上述差异与不同年龄肠道

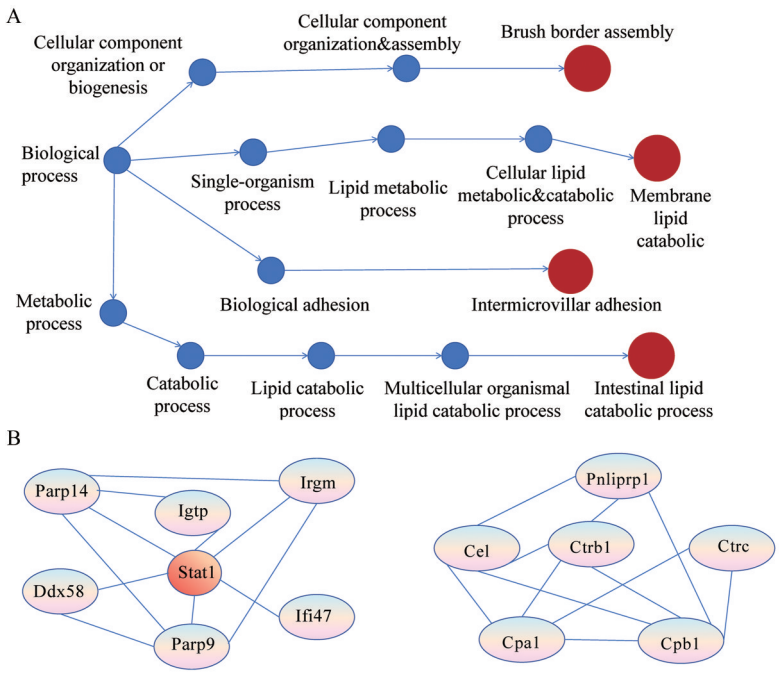


Figure 7　Biological process pathways and protein-protein interaction network of key down-regulated proteins at 16 weeks of age compared with those at 4 weeks of age. A: Bioprocess pathway diagrams of differential proteins; B: PPI network analysis of key proteins. The left panel depicts the network related to the intestinal epithelial barrier, while the right panel illustrates the network associated with the lipid digestion and absorption pathway, as revealed in this study. PPI: Protein-protein interaction

发育差异 (如相对肠段长度、肠道蠕动节律、肠壁通透性等) 及十二指肠蛋白表达差异 (如参与肠道上皮细胞膜脂代谢和生物黏附等过程的蛋白) 有密切联系。

讨论

尽管化疗极大地改善了儿童白血病的生存预后, 但其应用仍面临化疗药物靶向性差、治疗窗口狭窄等重要挑战。临床实践中往往需采用高剂量药物以诱导缓解, 由此引发的严重全身毒性非但影响治疗耐受性, 还可能危及患者的长期临床结局。因此, 开发新型药物递送策略以增强化疗药物的靶向效率、降低有效剂量并减轻毒副作用, 已成为当前研究的迫切需求。

随着纳米技术的迅速发展, 纳米药物递送系统在多种疾病治疗中展现出显著优势, 尤其在提高药物稳定性、靶向蓄积性和控释特性方面表现突出。然而, 其在儿童患者中的应用仍较为有限, 主要归因于儿童与成人在药代动力学行为上的显著差异, 以及纳米药物在儿童体内转运、分布、代谢和排泄等生物学过程尚未系统阐明。为克服这一瓶颈, 整合宏观药代动力学与微观分子机制研究显得尤为关键。采用蛋白质组学等高通量技术, 对纳米药物干预下关键通路与功能蛋白群的变化进行系统性分析、阐释与可视化, 将有助于揭示其在不同年龄机体中的递送机制与药效基础, 从而为推进纳米药物在儿童白血病治疗中的精准应用提供理论依据。

儿童与成人口服药物吸收暴露量的差异与其肠道动力生理学特性密切相关。药物在肠道内的分布、停留时间及最终吸收效率, 深受肠道生理环境的影响[16], 其中肠道动力 (包括肠道蠕动速度和肠道相对长度) 是关键性的生理因素, 这两个因素在不同年龄个体间可能存在显著差异, 因此药物在肠道的分布和后续药代动力学特征可能产生巨大变化。

肠道蠕动是推动食糜和内容物向远端移动的主要动力, 其速度直接决定了药物在肠道特定吸收部位 (如十二指肠、空肠) 的滞留时间和药物在肠腔内的扩散速度; 肠道相对长度是评估吸收表面密度和效率的关键指标, 新生儿及婴幼儿的肠道相对长度 (肠道长度/身长) 远高于成人, 胃肠液量随年龄增长而增加[17]。这意味着单位体长或体重所对应的吸收表面积在幼龄期是最大的[18]。虽然绝对长度短, 但其肠道在腹腔内盘曲密度高, 可能为高效吸收提供了优越的解剖学基础。

尽管幼龄个体肠道蠕动可能更为活跃, 但其对吸收的影响与高吸收表面积共同作用, 往往表现为药物在肠道的滞留时间被优化而非单纯缩短, 可能促进了药物的高效吸收[9]。这两种因素协同作用, 导致药物在儿童体内的吸收速率和程度常高于成人, 最终表现为更高全身暴露量。因此, 在儿科药物制剂研发与剂量设计中, 必须充分考虑这些独特的肠道生理学参数。

前期研究结果表明, 6-MPNs 在肠上皮细胞的转运主要由网格蛋白和脂筏/小窝共同介导的内吞作用[7], 其中脂筏/小窝蛋白是存在于上皮细胞膜脂双层内含有特殊脂质及蛋白质的微区, 由胆固醇、鞘脂及蛋白质组成。本研究发现幼龄和成年动物肠上皮细胞的膜脂质环境可能存在流动性等动力学或刚性结构差异, 作者推测肠道上皮胆固醇和鞘脂等脂筏关键组分的含量与构成存在年龄特异性差异, 更多或更易内化的脂筏微域可能为药物内吞创造了更优越的初始条件[19]。

另外, 儿童的肠道黏液层不是一个静态的屏障, 而是随着年龄增长不断发育和成熟的系统, 儿童与成人口服药物吸收的差异可能源于其肠道屏障结构与功能的发育依赖性差异。相较于成人, 儿童肠上皮细胞的刷状缘膜通透性可能更高, 微绒毛密度与形态动态性更强, 因儿童肠道屏障仍处于发育阶段, 其黏液层更薄, 物理屏障作用较弱, 肠上皮细胞间的紧密连接表达更低且结构可能更松散, 导致细胞旁路通透性增加[15]。此外, 肠道上皮的快速更新虽意味着修复能力强, 但也可能暂时性地削弱屏障的完整性。这些生理特性可能使得儿童肠道屏障的选择性更低, 药物更易通过跨细胞和细胞旁路途径被吸收, 最终表现为更高的吸收速率和生物利用度。

部分口服纳米药物能被小肠上皮细胞吸收并组装成乳糜微粒, 通过淋巴循环进入全身血液循环, 这是亲脂性药物吸收的一条关键途径[20]。本研究发现直接或间接影响乳糜微粒合成与出胞的蛋白如 Cel、Ctrb1、UGT2B4 等在 16 周龄表达显著下调, 它们可以通过调节胆盐浓度、刺激乳糜微粒的组装从而调控脂质消化过程。作者推测可能上述蛋白在成年大鼠十二指肠的下调, 影响了该段乳糜微粒的形成, 从而影响亲脂性药物的吸收。

综上所述, 本研究针对 6-MPNs 开展了基于年龄相关性的肠道发育差异的口服吸收机制研究, 在理论层面, 为理解口服纳米药物在儿童与成人体内吸收差异提供了一个综合性的研究范式; 在应用层面, 6-MPNs 在儿科临床应用方面展现出显著的潜力, 具体体现在: ① 6-MPNs 能通过增加十二指肠的吸收, 提高 6-MP 的峰浓度和血药浓度–时间曲线下面积, 改善 6-MP 的口服生物利用度; ② 6-MPNs 还可以减少 6-MP 毒性代谢产物在肝脏和骨髓中的蓄积, 降低肝脏和骨髓毒性风险[8]; ③ 通过纳米粒包载, 6-MPNs 可掩盖巯嘌呤的苦味, 降低胃肠道刺激, 并且液体制剂便于灵活调整剂

量, 提升儿童用药精准性、依从性和安全性。

本研究初步探索了儿童与成人间肠道生理因素差异对PLGA纳米粒口服吸收的影响及其潜在机制, 仍存在一定局限性。为进一步理解口服纳米药物在不同发育阶段的吸收特性, 后续研究可从以下维度展开: 对关键差异蛋白进行基因敲除以验证其对年龄依赖性吸收的调控作用; 引入多种模型药物, 建立年龄特异性的肠类器官或肠芯片模型, 以便更准确地呈现年龄相关的生理、生化和遗传特征, 可用于在可控条件下高通量筛选年龄特异性的纳米药物递送策略, 加速儿科药物研发。

本研究开发的6-MPNs在提升6-MP生物利用度展现出显著优势, 6-MPNs在儿童和成人体内的暴露程度、吸收程度、肠道分布均存在较大差异, 这一差异可能与动态的肠道上皮黏液层屏障系统有关。本研究构建了一个整合药代动力学、生物分布与蛋白组学的综合分析框架, 为阐释口服纳米药物在儿童与成人间吸收差异的机制提供了新视角, 并对其他脂溶性药物或纳米制剂的儿童适宜性研发具有参考价值。

作者贡献: 李雅娜负责实验开展、数据分析与文章撰写; 邹亚茹、张燕妮负责实验开展和数据分析; 赵立波、郭鹏提供实验和论文指导; 梅冬负责整体研究方案设计和论文修改、审阅指导。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] GBD 2017 Childhood Cancer Collaborators. The global burden of childhood and adolescent cancer in 2017: An analysis of the global burden of disease study 2017 [J]. Lancet Oncol, 2019, 20: 1211-1225.

[2] Tran TH, Hunger SP. The genomic landscape of pediatric acute lymphoblastic leukemia and precision medicine opportunities [J]. Semin Cancer Biol, 2022, 84: 144-152.

[3] Toksvang LN, Lee SHR, Yang JJ, et al. Maintenance therapy for acute lymphoblastic leukemia: Basic science and clinical translations [J]. Leukemia, 2022, 36: 1749-1758.

[4] Schmiegelow K, Nielsen SN, Frandsen TL, et al. Mercaptopurine/methotrexate maintenance therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia: Clinical facts and fiction [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2014, 36: 503-517.

[5] Zhao Q, Wang C, Liu Y, et al. PEGylated mesoporous silica as a redox-responsive drug delivery system for loading thiol-containing drugs [J]. Int J Pharm, 2014, 477: 613-622.

[6] Sun M, Huang CS, Wang LP, et al. Advances in oral distant targeted nanodelivery systems [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 72-81.

[7] Zou Y, Gao W, Jin H, et al. Cellular uptake and transport mechanism of 6-mercaptopurine nanomedicines for enhanced oral bioavailability [J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18: 79-94.

[8] Zou Y, Mei D, Yuan J, et al. Preparation, characterization, pharmacokinetic, and therapeutic potential of novel 6-mercaptopurine-loaded oral nanomedicines for acute lymphoblastic leukemia [J]. Int J Nanomedicine, 2021, 16: 1127-1141.

[9] Adeniyi-Ipadeola GO, Hankins JD, Kambal A, et al. Infant and adult human intestinal enteroids are morphologically and functionally distinct [J]. mBio, 2024, 15: 01316-24.

[10] Doane TL, Burda C. The unique role of nanoparticles in nanomedicine: Imaging, drug delivery and therapy [J]. Chem Soc Rev, 2012, 41: 2885-2911.

[11] Zhang CN, Yao SY, Yang L, et al. Effects of colloidal silicon dioxide on intestinal barrier and mucosal immunity in childhood mice [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 1901-1910.

[12] Senda T, Dogra P, Granot T, et al. Microanatomical dissection of human intestinal T-cell immunity reveals site-specific changes in gut-associated lymphoid tissues over life [J]. Mucosal Immunol, 2019, 12: 378-389.

[13] Wang X, Deng F, Ji T, et al. Impact of physiological characteristics on chylomicron pathway-mediated absorption of nanocrystals in the pediatric population [J]. ACS Nano, 2024, 18: 23136-23153.

[14] Gleeson JP, Fein KC, Whitehead KA. Oral delivery of peptide therapeutics in infants: Challenges and opportunities [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 173: 112-124.

[15] Sayoc-Becerra A, Krishnan M, Fan SJ, et al. The JAK-inhibitor tofacitinib rescues human intestinal epithelial cells and colonoids from cytokine-induced barrier dysfunction [J]. Inflamm Bowel Dis, 2020, 26: 407-422.

[16] Hurst S, Loi CM, Brodfuehrer J, et al. Impact of physiological, physicochemical and biopharmaceutical factors in absorption and metabolism mechanisms on the drug oral bioavailability of rats and humans [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2007, 3: 469-489.

[17] Van der Veken M, Aertsen M, Brouwers J, et al. Gastrointestinal fluid volumes in pediatrics: A retrospective MRI study [J]. Pharmaceutics, 2022, 14: 1935.

[18] Hambidge KM, Krebs NF, Westcott JE, et al. Changes in zinc absorption during development [J]. J Pediatr, 2006, 149: S64-8.

[19] Egawa J, Pearn ML, Lemkuil BP, et al. Membrane lipid rafts and neurobiology: Age-related changes in membrane lipids and loss of neuronal function [J]. J Physiol, 2016, 594: 4565-4579.

[20] Zhang Z, Lu Y, Qi J, et al. An update on oral drug delivery *via* intestinal lymphatic transport [J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11: 2449-2468.