

Q. nanoparticle の毒性について、大きい状態と小さい状態でどちらで毒性が出るのか？

A. 表面電荷や形状にもよるので一概には言えないが、サイズという観点でいうと、数 nm の小さい nanoparticle は、毒性が 10nm 以上の大きさの nanoparticle よりも毒性が高いらしい

数 nm の nanoparticle は 10nm を超える nanoparticle よりも簡単に細胞内外にあるバリアを透過するので、細胞内や細胞小器官内、特に核内に入りやすいため、毒性を出しやすい¹ (Sukhanova, 2018)

Q. がん細胞への nanoparticle の DDS について、薬剤放出に追加して他の機能を持たせることはできるか？（例えば、薬剤を放出した後に残るキャリアに機能を持たせることはできるか？）

A. 調べた限りでは薬剤放出後のキャリアに他の機能を持たせる例はなかった。ただ、薬剤を 2 種類放出する系として、薬剤を放出する nanoparticle の外側に、他の薬剤を放出できる殻をつけたという例はあった。

薬剤を切り離れた後のポリマー分子に何らかの機能を付与した例は、調べた限りでは見当たらなかった。ただ、考えられる戦略として、今回紹介した系² (Li, 2016) であれば、薬剤を放出した後のポリマー分子がカチオン性を持っているので、LLPS を作ることができるのではないかと考えた。しかしながら、多くの場合毒性低減のために生分解性のポリマーを用いていると考えられるので、機能を付与できるかはわからない。この話とは直接関係しないが、2 種類の薬剤放出を行った例³ (He, 2021) がある。戦略としては、ミトコンドリアを標的とするリガンドを含む生分解性ポリマーを凝集させた nanoparticle の中にミトコンドリアで作用する薬物を封入しておき、nanoparticle を他の薬物を含む殻（細胞膜付近で分解されるヒアルロン酸）で覆った系である。機構としては、細胞膜付近で nanoparticle の外殻が分解して一つ目の薬物を放出する。一つ目の薬物は細胞内へと透過して作用する。外殻が外れた nanoparticle（薬剤放出後の残り）は細胞内に移行したのち、ミトコンドリアにターゲティングしてミトコンドリアで二つ目の薬物を放出する。この系では、核内で作用する薬剤（ドキソルビシン）とミトコンドリアで作用する薬剤（ロニダミン）の 2 種類を用いている。

¹ Sukhanova, A., Bozrova, S., et al. *Nanoscale Research Letters* **2018**, 13, 44.

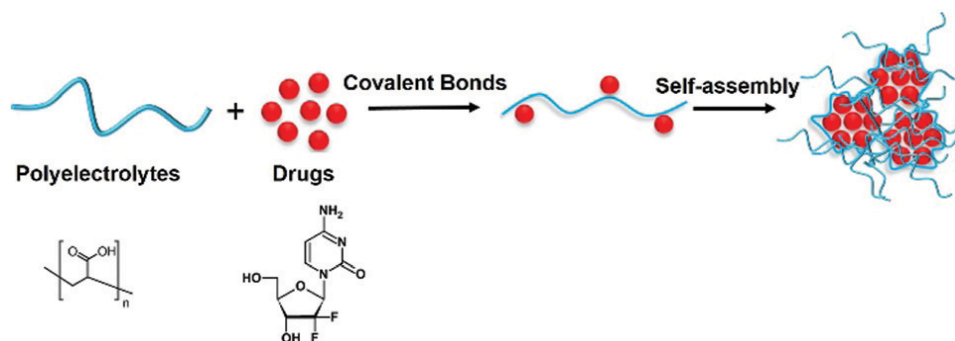
² Li, H. J., Du, J. Z., et al. *ACS Nano* **2016**, 10(7), 6753–6761.

³ He, Y., Lei, L., *Science Advances* **2021**, 7(6), 1–14.

Q. 薬剤同士を pH 応答性リンカーなどで繋いだ nanoparticle はあるか？

A. 調べた限りでは見つからなかったが、薬物自身の疎水性相互作用を用いてミセルを形成させる例はあった。

例としては、ポリマーに対して薬物を結合させ、薬物自身が持つ疎水性を利用して、そのポリマーを自己集合させることでミセルを形成させる方法だった⁴（下図、Catarata, 2020）。

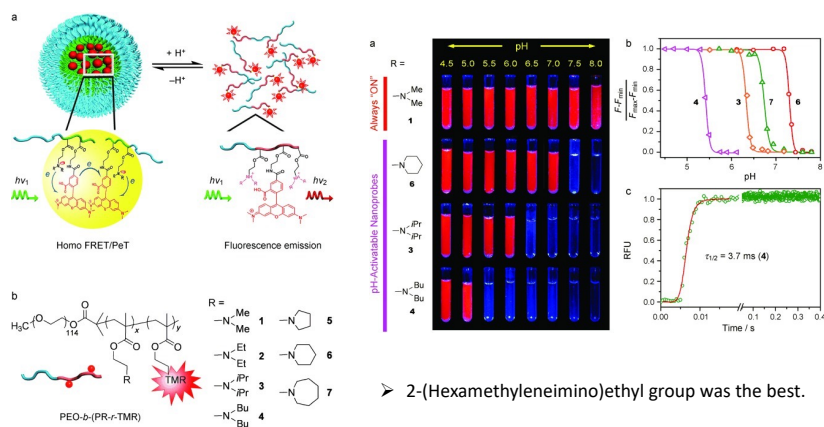


Catarata, R., Azim, N., et al. *Journal of Materials Chemistry B* 2020, 8(14), 2887–2894.

Q. 下の図のような三級アミンの応答性について、pKa は同じくらいだと考えられるが、どこが応答性に効いているのか？

ultra-pH-sensitive and fast reactivity site

research ①→②



Zhou, K., Wang, Y., et al. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2011, 50, 6109–6114. 25

A. polymer の pKa と疎水性の違いが応答性に効いている

⁴ Catarata, R., Azim, N., et al. *Journal of Materials Chemistry B* 2020, 8(14), 2887–2894.

Table S2. Characterization of PEO-*b*-(PR-*r*-TMR) nanoprobles.

Copolymer	pKa ^a		CMC ^b (mg/mL)	D _h (nm) ^c	R _F (F _{max} /F _{min}) ^d	ΔpH _{10-90%}	τ _{1/2} (ms) ^e
	Monomer	Polymer					
1	8.4	7.4	--	--	1.0	--	--
2	9.2	7.4	--	--	1.8	--	--
3	8.5	6.3	0.001	41	55	0.20	3.2 ± 0.1
4	6.9	5.1	0.003	43	20	0.17	3.9 ± 0.1 ^f
5	9.1	7.6	--	--	--	--	--
6	8.9	6.9	0.004	39	10	0.17	2.7 ± 0.1
7	8.6	6.7	0.003	38	23	0.23	3.0 ± 0.2

^aDetermined by pH titration experiments. ^bDetermined by I₁/I₃ ratio of pyrene probe at pH 7.4; ^cDetermined by DLS at copolymer concentration of 1 mg/mL and pH = 7.4; ^dDetermined by rhodamine fluorescence emission intensity; ^eDetermined by stopped-flow measurement by mixing 20 μL 5 mg/mL polymer solution with 80 μL phosphate buffer at pH 5.5; ^fpH = 4.9 buffer was used to account for the low p*H_t* value of 4 (5.4).

Zhou, K., Wang, Y., et al. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 6109–6114.

polymer の pKa は上の図に示すようになっていいる。polymer の pKa と、蛍光が半分になる時の pH (p*H_t*とする) を表にしたのが以下。

-NR ₂ の R ₂	Bu ₂	ⁱ Pr ₂	(七員環)	(六員環)	(五員環)
	4	3	7	6	5
pKa(polymer)	5.1	6.3	6.7	6.9	7.6
p <i>H_t</i>	5.4	6.3	6.8	7.2	-

p*H_t* と polymer の pKa は傾向がほぼ一致している。若干 p*H_t* の方が pKa よりも大きくなっている要因としては、アミンのアルキル鎖の違いによって生じる疎水性の違いが挙げられる。論文内で疎水性が応答に効いていること、七員環と五員環の polymer を比較すると、七員環の方が五員環よりも疎水性が高かったことが言及されていた⁵ (Zhou, 2011)。そのため、polymer の疎水性が低いほど、若干のプロトン化でも nanoparticle の分解応答が速くなると推測される。直接の言及はなかったが、p*H_t* と pKa のズレの原因はアミンのアルキル鎖の違いによるポリマーの疎水性の違いと考えられる。

Q. デンドリマーは比較的大きめの分子だが、どのようにして細胞内に入っているのか？

A. 主にエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる

デンドリマーのサイズや表面電荷、細胞種にも左右されるが、主にエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれるらしい⁶ (Fox, 2018)。受動拡散の効果が効いているとする報告もある⁶。

⁵ Zhou, K., Wang, Y., et al. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 6109–6114.

⁶ Fox, L. J., Richardson, R. M., & Briscoe, W. H. *Advances in Colloid and Interface Science* **2018**, *257*, 1–18.