

## 合成 TLR9 リガンドのキャリアに糖鎖固定化金ナノ粒子を用いた糖鎖ナノアジュバントの開発

(鹿大院理工<sup>1</sup>・熊大院生命科学<sup>2</sup>・熊大健康長寿センター<sup>3</sup>) ○村田 光紀<sup>1</sup>・下田 真唯子<sup>2</sup>・新村 真由美<sup>2</sup>・若尾 雅広<sup>1</sup>・隅田 泰生<sup>1</sup>・諸石 寿朗<sup>2,3</sup>・新地 浩之<sup>1</sup>  
Development of Glyco-Nanoadjuvants that consisted of gold nanoparticles co-immobilized with synthetic TLR9 ligand and sugar molecule (<sup>1</sup>*Grad. Sch. Sci. and Eng., Kagoshima Univ.*, <sup>2</sup>*Dept. Mol. and Med. Pharmacol., Fac. Life Sci., Kumamoto Univ.*, <sup>3</sup>*CMRHA, Fac. Life Sci., Kumamoto Univ.*) Koki Murata,<sup>1</sup> Mayuko Shimoda,<sup>2</sup> Mayumi Niimura,<sup>2</sup> Masahiro Wakao,<sup>1</sup> Yasuo Suda,<sup>1</sup> Toshiro Moroishi,<sup>2,3</sup> Hiroyuki Shinchi<sup>1</sup>

Synthetic TLR9 ligands that are oligodeoxynucleotides containing unmethylated CpG motifs are expected to be effective adjuvants for infectious disease vaccines and cancer immunotherapies. However, synthetic TLR9 ligands have several drawbacks such as poor *in vivo* stability and low cell permeability. In this study, to improve the *in vivo* functionality of synthetic TLR9 ligands, we examined  $\alpha$ -mannose immobilized GNPs as a carrier for a synthetic TLR9 ligand and fabricated novel TLR9 ligand-immobilized Glyco-Nanoadjuvants. *In vitro* and *in vivo* immunostimulatory activities of the Glyco-Nanoadjuvants were also investigated. **Keywords** : Adjuvant; TLR ligand; TLR; Gold nanoparticles; Sugar chain

非メチル化 CpG モチーフを含むオリゴデオキシヌクレオチドからなる TLR9 リガンドは、感染症やがんなどの免疫療法のアジュバントとしての利用が期待されているが、生体内安定性や細胞内移行性が低いことが課題である。我々はこれまでに、金ナノ粒子に合成低分子 TLR7 リガンドと糖鎖を共固定化した糖鎖ナノアジュバントを開発し、この糖鎖ナノアジュバントが液性免疫と細胞性免疫の両方を強力に誘導することを見出した<sup>1)</sup>。本研究では、TLR9 リガンドの機能を改善するため、 $\alpha$ -マンノースを固定化した金ナノ粒子を TLR9 リガンドのキャリアに用いた糖鎖ナノアジュバントを開発し、その免疫増強活性を評価した。

TLR9 リガンドには、クラス A タイプの CpG D35 を用いた。CpG D35 の 3'末端にチオクト酸を修飾し、 $\alpha$ -マンノースと共に金ナノ粒子表面に固定化して CpG D35- $\alpha$ Man-GNPs を調製した。マウス骨髄由来樹状細胞を用いて CpG D35- $\alpha$ Man-GNPs の免疫刺激活性評価したところ、CpG D35 単体に比べてインターロイキン (IL) -6 や IL-12(p40/p70)の誘導活性が約 3 倍向上した。また、モデルタンパク質抗原にオボアルブミン (OVA) を用いて、*in vivo* でのアジュバント活性を評価したところ、抗原特異的な IgG 抗体の誘導活性は CpG D35 単体と同程度であったが、抗原特異的な CD8 陽性 T 細胞の誘導活性が有意に向上した。以上の結果から、CpG D35 を  $\alpha$ -マンノースと共に金ナノ粒子に固定化したことで CpG D35 の機能が改善され、より優れたアジュバントになることが示唆された。

1) Gold Nanoparticles Coimmobilized with Small Molecule Toll-Like Receptor 7 Ligand and  $\alpha$ -Mannose as Adjuvants., H. Shinchi, T. Yamaguchi, *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2019**, 30(11), 2811-2821.