

## ABSTRACT

**Background:** Mucosal vaccination offers a non-invasive strategy to induce local and systemic immunity. However, its advancement is hindered by the lack of safe and effective mucosal adjuvants. Conventional adjuvants, such as aluminum hydroxide, exhibit poor uptake and are suboptimal for mucosal applications. Exosome-functionalized carbonate apatite (CHA-EXO) nanoparticles have emerged as a promising platform for enhancing antigen delivery and modulating immune responses at oral mucosal sites. **Aims:** This study aims to develop and evaluate CHA-EXO nanoparticles as a novel immunomodulatory adjuvant for trans-buccal vaccine delivery. **Methods:** The study was conducted in two phases. In phase I, CHA-EXO was synthesized via exosome adsorption to carbonate apatite and characterized for size, surface charge, protein loading, release profile, and morphology. Cellular uptake, immunomodulation and cytocompatibility were evaluated in TR146 and RAW264.7 cells. In phase II, a fibronectin-coated polylactic acid electrospun mesh seeded with TR146 cells was used to model buccal epithelium *in vitro*. Fluorescence quantification was used to assess CHA-EXO permeation. **Results:** The results of the study displayed CHA-EXO in nanoscale size, with negative surface charge, and successful exosome immobilization. It showed favourable cytocompatibility and enhanced cellular uptake compared to unmodified CHA. The IL-6 expression in CHA-EXO treated TR146 and RAW264.7 cells indicated immunomodulatory activity surpassing aluminum hydroxide. In the *in vitro* buccal epithelial model, CHA-EXO exhibited gradual permeation across the epithelial layer. **Conclusion:** It is concluded that CHA-EXO nanoparticles demonstrate favourable physicochemical properties, cytocompatibility, cellular uptake, immune activation, and buccal permeation capability, supporting their potential as a novel mucosal vaccine adjuvant.

**Keyword:** mucosal adjuvant; nanoparticles; oral soft tissue engineering; exosomes; carbonate apatite

## ABSTRAK

**Latar belakang:** Vaksinasi mukosa menawarkan strategi non-invasif untuk menginduksi imunitas lokal dan sistemik. Namun, kemajuannya terhambat oleh ketiadaan ajuvan mukosa yang aman dan efektif. Ajuvan konvensional, seperti aluminium hidroksida, menunjukkan internalisasi yang buruk dan kurang optimal untuk aplikasi mukosa. Nanopartikel karbonat apatit yang difungsikan dengan eksosom (CHA-EXO) dikembangkan sebagai inovasi yang menjanjikan untuk meningkatkan penghantaran antigen dan memodulasi respons imun di lokasi mukosa mulut. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan mengevaluasi nanopartikel CHA-EXO sebagai ajuvan imunomodulator untuk penghantaran vaksin trans-bukal. **Metode:** Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap. Pada tahap I, CHA-EXO disintesis melalui adsorpsi eksosom pada karbonat apatit dan dikarakterisasi berdasarkan ukuran, muatan permukaan, muatan protein, profil pelepasan, dan morfologi. Internalisasi seluler, imunomodulasi, dan sitokompatibilitas dievaluasi dalam sel TR146 dan RAW264.7. Pada tahap II, jejaring elektrospun *polylactic acid* berlapis fibronektin yang disemai dengan sel TR146 digunakan untuk memodelkan epitel bukal. Kuantifikasi fluoresensi digunakan untuk menilai permeasi CHA-EXO. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan CHA-EXO dalam ukuran nano, dengan muatan permukaan negatif, dan eksosom yang terimobilisasi. Hal ini menunjukkan sitokompatibilitas yang baik dan internalisasi seluler yang lebih baik dibandingkan dengan CHA yang tidak dimodifikasi. Ekspresi IL-6 dalam sel TR146 dan RAW264.7 dengan perlakuan CHA-EXO menunjukkan aktivitas imunomodulator yang melampaui aluminium hidroksida. Dalam model epitel bukal, CHA-EXO menunjukkan penyerapan melintasi lapisan epitel. **Kesimpulan:** Nanopartikel CHA-EXO menunjukkan sifat fisikokimia yang baik, sitokompatibilitas, internalisasi seluler, aktivasi imun, dan kemampuan permeasi bukal, mendukung potensinya sebagai adjuvan vaksin mukosa baru.

**Kata kunci:** ajuvan mukosal; nanopartikel; rekayasa jaringan lunak rongga mulut; eksosom; karbonat apatit