

# **Efekti ljekovite gljive *Agaricus blazei* Murill na imunitet, infekcije i karcinom**

G. Hetland , E. Johnson, T. Lyberg, S. Bernardshaw §, A.M.A Tryggestad & B. Grinde

Odjel za imunologiju i transfuzijsku Medicinu; Odjel za Gastroenterološku Kirurgiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Oslo, Oslo; Centar za klinička istraživanja, Ullevål University Hospital, Oslo; § Odjel kirurgije, Stavanger University Hospital, Stavanger i-Odjel kontrole infektivnih bolesti, Norveški institut za javno zdravstvo, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Oslu, Oslo, Norveška .

Primljena 27 mart 2008, prihvaćena u revidiranom obliku 2 Juli 2008 .

Kontakt: G. Hetland, Odsjek za  
Imunologiju i transfuzijsku medicinu, Ullevål  
University Hospital, Oslo, Norveška. E-mail:  
geir.heterland@medisin.uio.no

## **Sažetak**

*Agaricus blazei* Murill (ABM) je jestiva, ljekovita gljiva brazilskog porijekla. Koristi se tradicionalno protiv niza bolesti, uključujući rak i kronični hepatitis, i uzgaja se kao zdrava hrana, komercijalno, za plasman na tržištu. ABM je nedavno pokazala da ima jaka imunomodulirajuća svojstva, što je dovelo do povećanja naučnog interesa. U ovom članku, dajemo pregled postojećih znanja kao i imunoloških svojstva ABM, i njene mogućnosti u kliničkoj upotrebi kod infekcija i karcinoma. Također ćemo predložiti neke nove nalaze, koji ukazuju na veoma različit biološki potencijal između ABM ekstrakta iz različitih izvora i proizvođača.

## **Uvod**

Imunostimulacija medicinskim gljivama generalno nastaje preko urođenog imuniteta, a uglavnom posredstvom fagocita. Ove ćelije gutaju patogene ili stupaju u interakciju sa patogenim komponentama, a to će , u oba slučaja, dodatno stimulirati urođeni i stečeni imunitet kroz sekreciju citokina i hemokina. Prepoznavanje oblika receptora (PRR) na površini ćelije - kao što su Toll-like receptori (TLR), manosa receptori i dectin-1 - aktiviraju odgovor prepoznavanjem sačuvanih molekularnih obrazaca u mikro-organizmima [1]. Bio je povećan interes za imunomodulirajuće supstance gljiva. Lentinan, na primjer, se koristio intenzivno u liječenju bolesnika sa karcinomom u Japanu. *Agaricus blazei* Murill (ABM) (*Himematsutake*) je jestiva Basidiomycetes gljiva, koja slobodno raste u Piedade izvan Sa ~ o Paula, Brazil. Prema legendi, stariji ljudi u ovoj regiji imaju manje ozbiljnih bolesti od onih u susjednim zajednicama, po svoj prilici zbog upotrebe ABM u ishrani.

Osim raka i kroničnog hepatitisa, ove gljive se koriste u narodnoj medicini protiv raznih bolesti, uključujući dijabetes, arteriosklerozu i hiperlipidemiju.

Sredinom 1960-ih godina, spore ABM su odnešene u Japan, a za potrebe komercijalnog uzgoja i istraživanja. Od tada, se pojavio značajan broj znanstvenih radova, koji su se uglavnom fokusirali na učinak ABM kao imunomodulirajućeg agensa, a terapijski učinak u vezi s infekcijama i karcinomom. U ovom članku, dat je pregled ovog rada .

## IMUNOMODULACIJA

Jedna važna grupa u imunokompetentnih leukocita su fagocitne ćelije, koje uključuju monocite, monocit-makrofage izvedene i polimorfonuklearnih neutrofila (PMN). Svi su vezuju, internaliziraju i iskorjenjuju invaziju mikroorganizama. Ove ćelije koriste vlastite primitivne, nespecifične sisteme za prepoznavanje, koji im omogućavaju vezati mnoštvo produkata mikroba , i izazivaju tzv urođeni imuni odgovor. U stvari, ćelije djeluju kao prva linija odbrane protiv infekcije. Prirodni ubica ćelija ( natural killer) (NK) i NK T ćelije također pripadaju u urođeni imuni sistem i oni su, zajedno sa makrofagima, prva linija odbrane protiv tumora.

ABM je bogat biološki modulatornim odgovorima, kao što su proteoglikani [5, 6] i B-glukani [7], koji su potentni stimulatori makrofaga [8-10], PMN [11] i K ćelije [12]. Ove supstance su glavne strukturne komponente u zidu ćelija kvasaca i gljiva ,ali se mogu naći i u nekim biljkama kao što je ječam. Efekti su posredovani preko ćelije lektin-koja se veže za B-glukan u komplementarni receptor 3 (CR3) (CD11b / 18) [13-15], Toll-like receptora 2 (TLR2) [16] i dektina-1 [17].

Stimulacija ovih receptora rezultira u oslobađanju proinflammatoryh citokina [18], azot oksida i hidrogen peroksida [19, 20], lisosomal enzima [21] i aktiviranja metabolizma arahidonske kiseline [22]. Beta-1,3-glukani ,također, izazivaju aktivaciju još komponenti urođenog imuniteta, alternativni komplementarni put [23].

Što se ABM tiče, u nekoliko studija su istraživali njegov stimulatívni profil detaljnije.

Kod aktiviranih makrofaga, ABM je pokazao da izaziva lučenje azot oksida, proinflammatoryh citokina TNF-a i IL-8 [24], i Th1 citokina IL-12 [25]. A od doze-ovisna proizvodnja proinflammatoryh citokina, in vitro, uključujući IL-1b i IL-6, dokazano je da u ABM-stimulisanim ljudskim monocitima i endotelnim ćelijama pupčane vene [26], međutim sinteze, niti anti-upalnih citokina IL-10, niti IL-12 nisu uočene u ovoj studiji. S druge strane, ABM proteoglikan koji stimulíše sazrijevanje dendritičke ćelije miša i povećava IL-12 proizvodnju [27]. Genetska microarray analiza promonocitne THP-1 ćelije otkrila povećanu izražajnost gena za hemokin ligandi CXCL1-3, TLR2, dektin-1 i IL-23a podjedinica IL-12 porodice, pored gena za IL-1b, IL-8 i ciklo-oksigenase 2 (Prostaglandin- endoperoxide sintetaza 2), dok j IL-10 i IL-12 geni nisu imali veću izražajnost [28].

Što se tiče efekta in vivo, povećanje nivoa citokina MIP-2 ( Murine ekvivalent IL - 8 ) i TNF – Alfa ,a koji su posmatrani kod miševa nakon primaju ABM ekstrakta [ 29 ] . Ispitivanje imunomodulatornih efekata ABM kod miševa otkrio je povećan broj antitijela koje su proizvodile ćelije slezene30 ] , povišene razine u serumu IgG i broj T - ćelija u slezeni , kao i povećanje fagocitnog kapaciteta PMN [ 31 ] , koja je izazvana proinflammatoryh citokinima [ 32.33 ] . S druge strane , IL - 12 i IFN - gama posrednici NK ćelijske aktivnosti od straneABM je dokumentovana i in vitro i in vivo [ 34 ] .

Drugi nalaz se kosi , nekako, s prethodnim o ABM –om zatomljene PBMC proizvodnje IFN -a , IL - 2 i IL - 4 [ 35 ] . Zanimljivo , i gen za reguliranje G - protein signalizaciju ( RGS1 ) , a što je

važno za G - protein – povezivanje s rodopsinu -sličnom kemijskom receptoru za IL - 8 ( CD128 ), komplementarni anaphylatoxin C5a ( CD88 ), bakterijski formil peptid ( fMLF ) i leukotriene B4 [ 36 ] , je selektivno reguliran od strane ABM ekstrakta u promonocitnim THP - 1 ćelijama [ 28 ] . U receptorima za interferon A ( alfa ) i B ( beta ) ( IFNAR1 ) je također reguliran u leukocitima periferne krvi kod bolesnika s kroničnim IFN - alfa rezistentnim hepatitis C virusom ( HCV ), a koji AbM ekstrakt “proguta” za sedmicu.

Ekstrakti ABM se uspješno koriste kao kemijski dodaci u DNA vakcinama za poboljšanje njihove efikasnosti protiv hepatitis B virusnih (HBV) infekcija i stopala-i-usta bolesti (FMDV) [38, 39]. U odnosu na DNA vakcine , miševi koji su dobili ili HBcAg DNK vakcine ili FMDV DNK vakcine plus ABM ekstrakt, imali su značajno povećanje ne samo u HBcAg ili FDMV- specifičnom odgovoru antitijela, nego i na T-ćelijskoj proliferaciji. Kao što je prikazano na izoliranim beta-glukanima, ABM također posreduje u aktivaciji komplemента alternativnog puta[40].

Imune i upalne reakcije su kritički ovisne o sposobnosti leukocita da migriraju iz krvi u okolna tkiva ,a na mjestima upale. Leukocitno povezivanje i kretanje, aktivacija i čvrsto prijanjanje čini klasični obrazac ponašanja upalnih ćelija. Specifične obitelji adhezivnih molekula posreduju svakom koraku ovog procesa.

Početnom vezivanju i valjanju uglavnom posreduju adhezivne molekule iz porodice selektina, od kojih CD62L (L-selektina) je konstitutivno izražena u visokim nivoima na svim leukocitima. Beta-2 (ili leukocit) integrin, i.e. u CD11 / CD18 kompleksu, uključujući CD11b (Mac-1, C3 receptor) i CD11c (p 150/95, C4 receptor) se brzo prilagođavaju nakon aktivacije i prave jake veze leukocita na vaskularni endotel i naknadnu transendotelnu migraciju. U studijama na punoj krvi, nedavno smo pronašli da ABM ekstrakt konačne koncentracije do 0,06%, povećava CD11b i smanjuje(zbog odbacivanja) CD62L utjecaj na leukocyte. Ovaj ekstrakt ,posebno, isti je kao onaj koji sadrži oko 20% ekstrakta druge dvije Basidiomycetes gljive. Ažuriranje ABM-om uzrokovanim promjenama na izražaju citokina ili hemokina i srodnih receptora i povezanih proteina dat je I tabeli 1.

Djelovanje molekularnog kisika može se povećati reduciranjem ili pobuđivanjem,što dovodi do reaktivnog rasta neke vrste kisika (ROS), na primjer superoksid aniona, vodik peroksida, hidroksil radikala, singlet kisika i peroksinitrita. Glavni ćelijski izvor ROS je PMN u kome je ROS proizvodi NADPH oksidaza-katalizatorom izazvane oksidativne eksplozije. Iz PMN (i monocita) - izveden ROS se prvenstveno stvara kako bi se uništila invazija mikroorganizama. Ovaj efekt je normalno prednost, ali nehotično vanćelijsko otpuštanje ROS može izazvati upalne reakcije u okolnom tkivu. Postoje kontradiktorni nalazi u vezi proizvodnje ROS i ABM. ABM, objavljeno je, je izvrstan izvor antioksidansa [42], doduše u nešto manjoj mjeri nego druge Basidiomycetes gljive [43].

S druge strane, dodavanje ABM ekstrakta u krv inducira blagi, ali značajan, porast ROS proizvodnje peroksinitrit, ONOO) u PMN, a ne i monocitima.

## **INFEKCIJA**

Zna se da imunomodulirajući glukani dovode do poboljšana odbrane protiv infekcija [44-47], i, kao što je već spomenuto, kao komponente su u izobilju u ABM. Frakcije ABM su pokazala da inhibira citopatski uticaj zapadnog konjskog encefalitis virusa in vitro [48]. Kako se ABM tradicionalno koristi protiv hroničnog hepatitisa, mogući in vivo učinak nakon oralno uzete ABM je ispitan kod pacijenata s IFN-alfa -otpornom, kroničnom hepatitis C virusnom infekcijom [37]. Utvrđeno je da se virusno opterećenje blago, ali ne značajno, smanjio nakon tjedan dana

tretmana. Međutim, kako se činilo da liječenje poboljšava gen za IFN-alfa-receptor, studija koja ispituje ABM unos u kombinaciji sa redovnim IFN-alfa tretmanom, bi bila interesantna. Komercijalno dostupni ABM ekstrakti su napravljeni po različitim protokolima, a često sadrže dodatne komponente.

U cilju procjene mogućih razlika, pet ABM proizvoda (A-E) su upoređeni eksperimentom na miševima, za pneumokoknu sepsu ekstrakti su dati oralno, putem želudačnog katetera 1 dan prije inokuliranja bakterijama. Među ekstraktima, samo jedan (A) je imao značajan zaštitni učinak na sniženje bakterijemije i povećanje stope preživljavanja ( $P < 0,05$ ).

Nijedan od kontrolnih miševa kojima je dat PBS nije preživio 5. dan, dok je 38 % (3/8) miševa, kojima je dat ekstrakt A bili živi 6. dan, a još dva miša su ubijena zbog bolesti 8. dan. Jedan od ekstrakata (D) pokazao je sličan, ali statistički beznačajan, trend za obje bakterijemije i preživljavanje. Najaktivniji proizvod bio je vodeni, visoko pročišćeni ekstrakt koji sadrži 82 % AbM, 15 % *Hericiium erinaceum* (*Yamabushitake*) i 3 % *Grifola frondosa* (*Maitake*). Iako su druge dvije vrste i to su poznate ljekovite gljive sa imunomodulirajućim efektom, nedavna ispitivanja NF- $\kappa$ B aktiviranje putem TLR2 je otkrio da glavni stimulirajući učinak ekstrakta A jeste na monocite u AbM frakciji [49].

Imajte na umu, da su ekstrakti B-E čisti ABM ekstrakti (prema proizvođačima), moralo bi se uporediti ~80% ekstrakta A sa 100% od svakog drugog.

Razlika u anti-infektivnosti između ABM ekstrakata može biti zbog prisustva dodatnih bioloških komponenti, kao što su ekstrakti iz drugih gljiva, sa mogućim sinergističkim dejstvima [50].

Metode kultivacije mogu, međutim, biti još jedan razlog za biološke razlike. Dobro je poznato da gljive i plijesni mogu promijeniti svoj fenotip (na primjer boju i sporulaciju), i proizvodnju svojih sekundarnih metabolita [kao što su mikotoksini i isparljiva organska jedinjenja mikroba (MVOC)] ovisno o mjestu i uvjetima rasta. Na primjer, mikotoksini se stvaraju u suboptimalnim uvjetima rasta plijesni [50] i MVOC prilikom rasta na određenim materijalima u "bolesnim zgradama" [51].

Utvrđeno je da su ekstrakti A i E jednako potentani u aktiviranju alternativnog puta komplementa (G. Hetland & TE Michaelsen, neobjavljeni podaci), što ukazuje da aktivacija komplementa nije mehanizam koji stoji iza antibakterijskog učinka ekstrakta A.

Osim toga, ovaj ekstrakt nije imao direktni bakteriostatski ili bakteriolitički efekat zbog nedostatka inhibicije pri kulivisanju pneumokoka u njegovu prisustvu [29].

Međutim, slično proinflatomnom citokinom izazvanom fagocitozom *S. aureus* i *M. tuberculosis* od strane PMN [32, 33], u serumu povećane razine proinflatomnih citokina MIP-2 (IL-8) i TNF-alfa a na ABM tretmanu, mogao je dovesti do pojačane fagocitoze *S. pneumoniae*.

Ekstrakt A je također korišten na drugom uzorku miša pri ispitivanju Gram-negativne sepse nastale zbog aerobne izloženosti fekalijama [52].

U uzorku fekalnog peritonitisa i sepse inokulirana su tri različita razrjeđenja fekalija intraperitonealno, što je dovelo do, teške, umjerene i blage infekcije.

U ovim eksperimentima, ABM tretman apliciran oralno (per os) 24 h prije inokulacije bakterija, imao je zaštitni učinak kao što blago sniženje temperature, smanjenje bakterijemije, i povećanje stope preživljavanja ( $P = 0.03$ ). Značajan utjecaj tretmana uočen u teškim (slika 3), ali ne i u umjerenim ili blagim infekcijama, vjerojatno zbog manje razlike u parametrima između zaraženih i kontrolnih životinja u kasnijim situacijama

## Karcinom

Beta-glukani su poznati po antitumorskim svojstvima [7, 53, 54], kao i proteoglikani [55, 56] i ergosterol [57], druga dva sastojka ABM [6, 58]. B-1, 3/1-6-glucani iz kvasca i gljiva se koriste u

raznim kliničkim ispitivanjima liječenja karcinoma [59-63]. Efekti makrofunga u vezi sa liječenjem karcinoma su tek nedavno ponovo pregledani u Ref. [64].

Ohno et al. [7] je preporučio da su očigledni antitumorski efekti ABM zbog B-1,3-glukana. Drugi su pokazali da je B-1,6-glukan izdvojen iz ABM izazvao regresiju tumora kod miševa [65, 66], i da je dnevna dopuna B-glukanom iz ABM reducirala spontane metastaze ćelija karcinoma jajnika i pluća na uzorku miša [67]. Ovi autori su predložili da tretman sa B-glukanom može koristiti pacijentima sa rizikom od metastaza ili sa metastazama. Ovo je u suglasnosti sa izvještajem koji preporučuje da TLR2 / 4 agonisti mogu uticati na potencijalno preživljavanje-prolongiranja života molekula kod pacijenata s karcinomom koji relapsira i pod terapijom- kemoterapijom [68].

Odgovarajuća studija je pokazala da, Beta-glukan-protein kompleks izoliran iz ABM, ima inhibitorni učinak na Meth A fibrosarkom na uzorku miša [6].

Rezultati su potvrđeni od strane Ebina i Fujimiya [69], koristeći još i proteoglukan iz ABM, a učinak se pripisuje aktivaciji NK stanica i apoptoznoj indukciji [65]. RNA-protein kompleks iz ABM je pokazao da uzrokuje apoptozu kod leukemije, ćelijske linije HL60 [70]. Osim toga, objavljeno je i da je liječenje sa ABM imao inhibitorni učinak na ćelije leukemije kod pacijenata s akutnom non-limfocitnom leukemijom [71]. Vodeni ekstrakti ABM pokazuju antitumorigeni i antiklastogeni efekat in vitro [72, 73], i zaštitu od X-zračenja kod miševa [74]. Osim toga, još jedan vodeni ekstrakt ABM inhibira stvaranje abnormalnih formacija kolagenih vlakana kod humanog hepatokarcinoma [75].

Ostale japanske grupe su pokazale da u mastima topiv ergosterola, kao i antiangiogenetične supstance iz ABM, smanjuju rast tumora i metastaza sarkoma i karcinoma pluća- kod miševa [58, 76]. Jedno zanimljivo istraživanje je pokazalo da je unos AbM ekstrakta uzrokovao smanjivanje mijeloma kod miševa, a da je tumor nestao kod miševa kojima je data kombinacija AbM ekstrakta i morskih fosfolipida [77]. Ovi rezultati sugeriraju unos aktivnih supstanci iz AbM, kao što su B-glukani koji su inkorporirani u fosfolipide, i to preko crijevne sluznice. Nedavna studija toksičnosti kod štakora a koji su unosili AbM ekstrakt dže od 2 godine, pokazala je da nema pronađenih kancerogenih ili drugih efekata štetnih po zdravlje Ab M [78]. Naprotiv, studija pokazala znatno manji mortalitet kod mužijaka štakora koji su bili na tretmanu s AbM, a što sugerira da je u ovoj grupi bila manja incidence tumora.

Tabela 2 pokazuje sažetak prijavljenih ABM-izazvana promjenama in vitro i in vivo a koje se odnose na karcinom.

Analize mikronizova leukocita periferne krvi, a u studiji sa unosom AbM ekstrakta kod pacijenata sa HCV, otkrila je pored povećane ekspresije IFN-alfa, beta receptora, i povećano prilagođavanje gena uključenih u signalizaciju i prijenos, kao i transkripciju [37]. Ovi geni mogu biti važni u antitumorskoj odbrani.

Postoje indicije [79], a vezane za pacijente s nekim hematološkim karcinomom koji su izliječeni, ili su imali manje nuspojave kemoterapije, u slučaju kada im je propisano bolničko liječenje bilo prošireno dodatkom AbM ekstrakta.

To je u skladu s kliničkim izvještajima iz Južne Koreje gdje je tretman s ABM ekstraktom smanjio nuspojave kemoterapije kod bolesnika sa ginekološkim karcinomom [63]. Osim poboljšane kvalitete života tijekom kemoterapije, dopunski ABM tretman je značajno povećao aktivnost NK ćelija kod ovih bolesnika. Ovo se slaže sa izvještajem o povećanoj aktivnosti NK ćelija i povećanoj infiltraciji NK ćelija u tumor stranicama sekundarno, a pri tretmanu s ABM [6, 65]. Planiramo klinička ispitivanja s ABM ekstraktom kao pomoćnim sredstvom- dodatkom kemoterapiji za pacijente s hematološkim karcinomom.

U toku su klinička ispitivanja na Memorial Sloan- Kettering Cancer Center u New York s Beta-glukanom iz kvasaca i žitarica na bolesnicima s neuroblastomom i leukemijom / limfomi (protokol 05-073 i 03-095, <http://www.mskcc.org>). Alfa i Beta-glukan iz *G. Frondosa* pokazalo se, povećava hematopoezu u koštanoj srži miševa i izaziva hematopoetsku proliferaciju matičnih ćelija u *venae umbilicis*[80, 81]. Takvi efekti bi mogli ubrzati oporavak pacijenata s karcinomom nakon kemoterapije i radioterapije. Trenutno, smo u fazi I sa ABM ekstraktom kod zdravih volontera, a kako bi dobili što više podataka o općim imunološkim efektima i toksičnosti. Treba napomenuti da je Kerrigan [82] sugerirao da je ABM, zapravo *Agaricus subrufescens* Peck, koji je već opisan 1893 god.nasuprot opisu AbM iz 1947 godine.

## Zaključci

ABM s razlogom dobro karakterizira imunomodulatorna svojstva. Čini se da gljiva aktivira ogranak imunog sistema koji izaziva i anti-infekcije i antitumour efekte, barem na uzorcima miševa, a pretpostavlja se i kod ljudi. To produžava život štakora i štiti od nuspojava kemoterapije kod bolesnika s karcinomom, a na dopunskom tretmanu s ABM. In vivo ABM ekstrakt uzrokuje veću prilagodbu gena uključenih u ćelijsku signalizaciju, pokretljivost i transkripciju, a koje se odnose na antitumorske efekte. Međutim, postoji ogromna razlika u obimu bioloških efekata između različitih ABM ekstrakata koji, vjerojatno, ovise o izvoru ABM i od proizvodnog postupka dobivanja ekstrakta.

Vjerujemo da su dokazi dovoljni da opravdaju daljnje testiranje ABM, i kao dopunske, Adjuvantne, terapije karcinoma, ali i kod liječenja pacijenata s ozbiljnim mješovitim, na antibiotike otpornim, bakterijskim infekcijama.

## Zahvale

Zahvaljujemo Linda K. Ellertsen za suradnju u publikaciji ovog pregleda, i Lisbeth Sætre, Centar za Clinical Research, Ullevål University Hospital i Else- Carin Groeng i Ase Eikeset, Odjel za okolišnu Imunologiju i Marc Gayorfar, Division za kontrolu infektivnih bolesti, i osoblja u objektima za životinje, Norveški institut za javno zdravstvo, Oslo, za odličnu tehničku pomoć.

## Literatura

- 1 Brown GD. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Immunol* 2006;6:33–43.
- 2 Taguchi T, Furue H, Kimura T, Kondo T, Hattori T, Ogawa N. Clinical efficacy of lentinan on neoplastic diseases. *Adv Exp Med Biol* 1983;166:181–7.
- 3 Wasser SP, Weis AL. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Crit Rev Immunol* 1999;19:65–96.
- 4 Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat*

- Rev Immunol 2001;1:41–9.
- 5 Kawagishi H, Inagaki R, Kanao T et al. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Carbohydr Res* 1989;186:267–73.
- 6 Itoh H, Ito H, Amano H, Noda H. Inhibitory action of a (1 fi 6)-beta-D-glucan-protein complex (F III-2-b) isolated from *Agaricus blazei* Murill (“himematsutake”) on Meth A fibrosarcoma-bearing mice and its antitumor mechanism. *Jpn J Pharmacol* 1994;66:265–71.
- 7 Ohno N, Furukawa M, Miura NN, Adachi Y, Motoi M, Yadomae T. Antitumor beta glucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei*. *Biol Pharm Bull* 2001;24:820–8.
- 8 Riggi S, Di Luzio NR. Identification of a RE stimulating agent in zymosan. *Am J Physiol* 1961;200:297–300.
- 9 Bøggwald J, Johnson E, Seljelid R. The cytotoxic effect of mouse macrophages stimulated in vitro by a beta-glucan from yeast cell walls. *Scand J Immunol* 1982;15:297–304.
- 10 Hetland G, Sandven P. b-1,3-glucan reduces growth of *Mycobacterium bovis* in macrophage cultures. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002;33:41–5.
- 11 Morikawa K, Takeda R, Yamazaki M, Mizuno D. Induction of tumoricidal activity of polymorphonuclear leukocytes by a linear beta-1,3-D-glucan and other immunomodulators in murine cells. *Cancer Res* 1985;45:1496–501.
- 12 Amino M, Noguchi R, Yata J et al. Studies on the effect of lentinan on human immune system. II. In vivo effect on NK activity, MLR induced killer activity and PHA induced blastic response of lymphocytes in cancer patients. *Gan To Kagaku Ryoho* 1983;10:2000–6.
- 13 Czop JK, Valiante NM, Janusz MJ. Phagocytosis of particulate activators of the human alternative complement pathway through monocyte beta-glucan receptors. *Prog Clin Biol Res* 1989;297:287–96.
- 14 Vetvicka V, Thornton BP, Ross GD. Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11b/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of iC3b-opsonized target cells. *J Clin Invest* 1996;98:50–61.
- 15 Ross GD, Vetvicka V, Yan J, Xia Y, Vetvickova J. Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. *Immunopharmacology* 1999;42:61–74.
- 16 Roeder A, Kirschning CJ, Rupec RA, Schaller M, Weindl G, Korting HC. Toll-like receptors as key mediators in innate antifungal immunity. *Med Mycol* 2004;42:485–98.
- 17 Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ, Akira S, Underhill DM. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J Exp Med* 2003;197:1107–17.
- 18 Adachi Y, Okazaki M, Ohno N, Yadomae T. Enhancement of cytokine production by macrophages stimulated with (1 fi 3)-beta-D-glucan, grifolan (GRN), isolated from *Grifola frondosa*. *Biol Pharm Bull* 1994;17:1554–60.
- 19 Ohno N, Egawa Y, Hashimoto T, Adachi Y, Yadomae T. Effect of beta-glucans on the nitric oxide synthesis by peritoneal macrophage in mice. *Biol Pharm Bull* 1996;19:608–12.
- 20 Okazaki M, Chiba N, Adachi Y, Ohno N, Yadomae T. Signal transduction pathway on beta-glucans-triggered hydrogen peroxide production by murine peritoneal macrophages in vitro. *Biol Pharm Bull* 1996;19:18–23.
- 21 Tapper H, Sandler R. Glucan receptor and zymosan-induced lysosomal enzyme secretion in macrophages. *Biochem J* 1995;306:829–35.
- 22 Castro M, Ralston NV, Morgenthaler TI, Rohrbach MS, Limper AH. *Candida albicans* stimulates arachidonic acid liberation from alveolar macrophages through alpha-mannan and beta-glucan cell wall components. *Infect Immun* 1994;62:3138–45.
- 23 Suzuki T, Ohno N, Saito K, Yadomae T. Activation of the complement system by (1 fi 3)-beta-D-glucans having different degrees of branching and different ultra structures. *J Pharmacobiodyn* 1992;15:277–85.

- 24 Sorimachi K, Akimoto K, Ikehara Y, Inafuku K, Okubo A, Yamazaki S. Secretion of TNF-alpha, IL-8 and nitric oxide by macrophages activated with Agaricus blazei Murill fractions in vitro. *Cell Struct Funct* 2001;26:103-8.
- 25 Kasai H, He LM, Kawamura M et al. IL-12 Production Induced by Agaricus blazei Fraction H (ABH) Involves Toll-like Receptor (TLR). *Evid Based Complement Alternat Med* 2004;1:259-67.
- 26 Bernardshaw S, Hetland G, Ellertsen LK, Aaland Tryggestad AM, Johnson E. An extract of the medicinal mushroom Agaricus blazei Murill differentially stimulates production of pro-inflammatory cytokines in human monocytes and human vein endothelial cells in vitro. *Inflammation* 2005;29:147-53.
- 27 Kim GY, Lee MY, Lee HJ et al. Effect of water-soluble proteoglycan isolated from Agaricus blazei on the maturation of murine bone marrow-derived dendritic cells. *Int Immunopharmacol* 2005;5:1523-32.
- 28 Ellertsen LK, Hetland G, Johnson E, Grinde B. Effect of a medicinal extract from Agaricus blazei Murill on gene expression in a
- 368 Effects of the Medicinal Mushroom Agaricus blazei Murill G. Hetland et al.**

.....  
\_ 2008 The Authors

Journal compilation \_ 2008 Blackwell Publishing Ltd. *Scandinavian Journal of Immunology* 68, 363-370

- 29 Bernardshaw S, Johnson E, Hetland G. An extract of the mushroom Agaricus blazei Murill administered orally protects against systemic Streptococcus pneumoniae infection in mice. *Scand J Immunol* 2005;62:393-8.
- 30 Nakajima A, Ishida T, Koga M, Takeuchi T, Mazda O, Takeuchi M. Effect of hot water extract from Agaricus blazei Murill on antibody-producing cells in mice. *Int Immunopharmacol* 2002;2:1205-11.
- 31 Chan Y, Chang T, Chan CH et al. Immunomodulatory effects of Agaricus blazei Murill in Balb/cByJ mice. *J Microbiol Immunol Infect* 2007;40:201-8.
- 32 Rainard P, Riollot C, Poutrel B, Paape MJ. Phagocytosis and killing of Staphylococcus aureus by bovine neutrophils after priming by tumor necrosis factor-alpha and the des-arginine derivative of C5a. *Am J Vet Res* 2000;61:951-9.
- 33 Kisich KO, Higgins M, Diamond G, Heifets L. Tumor necrosis factor alpha stimulates killing of Mycobacterium tuberculosis by human neutrophils. *Infect Immun* 2002;70:4591-9.
- 34 Yuminamochi E, Koike T, Takeda K, Horiuchi I, Okumura K. Interleukin-12- and interferon-gamma-mediated natural killer cell activation by Agaricus blazei Murill. *Immunology* 2007;121:197-206.
- 35 Kuo YC, Huang YL, Chen CC, Lin YS, Chuang KA, Tsai WJ. Cell cycle progression and cytokine gene expression of human peripheral blood mononuclear cells modulated by Agaricus blazei. *J Lab Clin Med* 2002;140:176-87.
- 36 Miller LJ, Bainton DF, Borregaard N, Springer TA. Stimulated mobilization of monocyte Mac-1 and p150,95 adhesion proteins from an intracellular vesicular compartment to the cell surface. *J Clin Invest* 1987;80:535-44.
- 37 Grinde B, Hetland G, Johnson E. Effects on gene expression and viral load of a medicinal extract from Agaricus blazei in patients with chronic hepatitis C infection. *Int Immunopharmacol* 2006;6:1311-4.
- 38 Chen L, Shao HJ, Su YB. Coimmunization of Agaricus blazei Murill extract with hepatitis B virus core protein through DNA vaccine enhances cellular and humoral immune responses. *Int Immunopharmacol* 2004;4:403-9.
- 39 Chen L, Shao HJ. Extract from Agaricus blazei Murill can enhance immune responses elicited by DNA vaccine against foot-and-mouth disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2006;109:177-82.
- 40 Shimizu S, Kitada H, Yokota H et al. Activation of the alternative complement pathway by Agaricus blazei Murill. *Phytomedicine* 2002;9:536-45.
- 41 Bernardshaw S, Lyberg T, Hetland G, Johnson E. Effect of an extract of the mushroom Agaricus blazei Murill on expression of adhesion molecules and production of reactive oxygen species in monocytes and granulocytes in human whole blood ex vivo. *APMIS*



- 2007;1157:19–25.
- 42 Izawa S, Inoue Y. A screening system for antioxidants using thioredoxin-deficient yeast: discovery of thermostable antioxidant activity from *Agaricus blazei* Murill. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004;64:537–42.
- 43 Watanabe T, Nakajima Y, Konishi T. In vitro and in vivo anti-oxidant activity of hot water extract of basidiomycetes-X, newly identified edible fungus. *Biol Pharm Bull* 2008;31:111–7.
- 44 Reynolds JA, Castello MD, Harrington DG et al. Glucan-induced enhancement of host resistance to selected infectious diseases. *Infect Immun* 1980;30:51–7.
- 45 Seljelid R, Rasmussen LT, Larm O, Hoffman J. The protective effect of beta 1-3D-glucan-derivatized plastic beads against *Escherichia coli* infection in mice. *Scand J Immunol* 1987;25:55–60.
- 46 Babineau TJ, Hackford A, Kenler A et al. A phase II multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of three dosages of an immunomodulator (PGG-glucan) in high-risk surgical patients. *Arch Surg* 1994;129:1204–10.
- 47 Hetland G, Ohno N, Aaberge IS, Løvik M. Protective effect of b-glucan against systemic *Streptococcus pneumoniae* infection in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000;27:111–6.
- 48 Sorimachi K, Ikehara Y, Maezato G et al. Inhibition by *Agaricus blazei* Murill fractions of cytopathic effect induced by western equine encephalitis (WEE) virus on VERO cells in vitro. *Biosci Biotechnol Biochem* 2001;65:1645–7.
- 49 Tryggstad AMA, Espevik T, Førland DT, Ryan L, Hetland G. The Medical Mushroom *Agaricus blazei* Murill Activates NF- $\kappa$ B via TLR2. 13th International Congress of Immunology, Rio de Janeiro, 2007: P2.23 INI-02 Signalling pathways of innate immune receptors; P1193.
- 50 Nielsen KF. Mycotoxin production by indoor moulds. *Fungal Genet Biol* 2003;39:103–17.
- 51 Gravesen S, Nielsen PA, Iversen R, Nielsen KF. Microfungal contamination of damp buildings – examples of risk constructions and risk materials. *Environ Health Perspect* 1999;107 (Suppl.):505–8.
- 52 Bernardshaw S, Hetland G, Grinde B, Johnson E. An extract of the mushroom *Agaricus blazei* Murill protects against lethal septicemia in a mouse model for fecal peritonitis. *Shock* 2006;25:420–5.
- 53 Seljelid R. A water-soluble aminated beta-1-3D-glucan derivative causes regression of solid tumours in mice. *Biosci Rep* 1986;6:845–51.
- 54 Chihara G. Recent progress in immunopharmacology and therapeutic effects of polysaccharides. *Dev Biol Stand* 1992;77:191–7.
- 55 Kobayashi H, Matsunaga K, Oguchi Y. Antimetastatic effects of PSK (Krestin), a protein-bound polysaccharide obtained from basidiomycetes: an overview. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4:275–81.
- 56 Ooi VE, Liu F. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Curr Med Chem* 2000;7:715–29.
- 57 Yazawa Y, Yokota M, Sugiyama K. Antitumor promoting effect of an active component of *Polyporus*, ergosterol and related compounds on rat urinary bladder carcinogenesis in a short-term test with concanavalin A. *Biol Pharm Bull* 2000;11:1298–302.
- 58 Kimura Y, Kido T, Takaku T, Sumiyoshi M, Baba K. Isolation of an anti-angiogenic substance from *Agaricus blazei* Murill: its antitumor and antimetastatic actions. *Cancer Sci* 2004;95:758–64.
- 59 Torisu M, Hayashi Y, Ishimitsu T et al. Significant prolongation of disease-free period gained by oral polysaccharide K (PSK) administration after curative surgical operation of colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1990;31:261–8.
- 60 Toi M, Hattori T, Akagi M et al. Randomized adjuvant trial to evaluate the addition of tamoxifen and PSK to chemotherapy in patients with primary breast cancer. 5-Year results from the Nishi-Nippon Group of the Adjuvant Chemoendocrine Therapy for Breast Cancer Organization. *Cancer* 1992;70:2475–83.
- 61 Nakazato H, Koike A, Saji S, Ogawa N, Sakamoto J. Efficacy of immunochemotherapy as adjuvant treatment after curative resection of gastric cancer. Study Group of Immunochemotherapy with PSK for Gastric Cancer. *Lancet* 1994;343:1122–6.
- 62 Iino Y, Yokoe T, Maemura M et al. Immunochemotherapies versus

chemotherapy as adjuvant treatment after curative resection of operable breast cancer. *Anticancer Res* 1995;15:2907–11.

63 Ahn WS, Kim DJ, Chae GT et al. Natural killer cell activity and quality of life were improved by consumption of a mushroom extract, *Agaricus blazei* Murill Kyowa, in gynecological cancer patients undergoing chemotherapy. *Int J Gynecol Cancer* 2004;14:589–94.

64 Moradali MF, Mostafavi H, Ghods S, Hedjaroude GA. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int Immunopharmacol* 2007;7:701–24.

65 Fujimiya Y, Suzuki Y, Oshiman K et al. Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extracted from the basidiomycete, *Agaricus* G. Hetland et al. Effects of the Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murill 369

.....  
\_ 2008

sis.

*Cancer Immunol Immunother* 1998;46:147–59.

66 Oshiman K, Fujimiya Y, Ebina T, Suzuki I, Noji M. Orally administered beta-1,6-D-polyglucose extracted from *Agaricus blazei* results in tumor regression in tumor-bearing mice. *Planta Med* 2002;68:610–4.

67 Kobayashi H, Yoshida R, Kanada Y et al. Suppressing effects of daily oral supplementation of beta-glucan extracted from *Agaricus blazei* Murill on spontaneous and peritoneal disseminated metastasis in mouse model. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005;131:527–38.

68 Garay RP, Viens P, Bauer J et al. Cancer relapse under chemotherapy: why TLR2/4 receptor agonists can help. *Eur J Pharmacol* 2007;563:1–17.

69 Ebina T, Fujimiya Y. Antitumor effect of a peptide-glucan preparation extracted from *Agaricus blazei* in a double-grafted tumor system in mice. *Biotherapy* 1998;11:259–65.

70 Gao L, Sun Y, Chen C, Xi Y, Wang J, Wang Z. Primary mechanism of apoptosis induction in a leukemia cell line by fraction FA-2-b-ss prepared from the mushroom *Agaricus blazei* Murill. *Braz J Med Biol Res* 2007;11:1545–55.

71 Tian X, Lun Z, Wang J, Ito H, Simura K. Clinical observation on treatment of acute nonlymphocytic leukemia with *Agaricus blazei* Murill. *J Lanzhou Med College* 1994;20:169–71.

72 Martins de Oliveira J, Jordão BQ, Ribeiro LR, Ferreira da Eira A, Mantovani MS. Anti-genotoxic effect of aqueous extracts of sun mushroom (*Agaricus blazei* Murill lineage 99/26) in mammalian cells in vitro. *Food Chem Toxicol* 2002;40:1775–80.

73 Bellini MF, Giacomini NL, Eira AF, Ribeiro LR, Mantovani MS. Anticlastogenic effect of aqueous extracts of *Agaricus blazei* on CHO-k1 cells, studying different developmental phases of the mushroom. *Toxicol In Vitro* 2003;17:465–9.

74 Kubo N, Myojin Y, Shimamoto F et al. Protective effects of a watersoluble extract from cultured medium of *Ganoderma lucidum* (Reishi) mycelia and *Agaricus blazei* murill against X-irradiation in B6C3F1 mice: increased small intestinal crypt survival and prolongation of average time to animal death. *Int J Mol Med* 2005;15:401–6.

75 Sorimachi K, Akimoto K, Koge T. Inhibitory Effect of *Agaricus blazei* Murill Components on Abnormal Collagen Fiber Formation in Human Hepatocarcinoma Cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008;72:621–3.

76 Takaku T, Kimura Y, Okuda H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action. *J Nutr* 2001;131:1409–13.

77 Murakawa K, Fukunaga K, Tanouchi M, Hosokawa M, Hossain Z, Takahashi K. Therapy of myeloma in vivo using marine phospholipid in combination with *Agaricus blazei* Murill as an immune respond activator. *J Oleo Sci* 2007;56:179–88.

78 Lee IP, Kang BH, Roh JK, Kim JR. Lack of carcinogenicity of lyophilized *Agaricus blazei* Murill in a F344 rat two year bioassay. *Food Chem Toxicol* 2008;46:87–95.

79 Kvitte B. Reddet av japansk soppekstrakt. *Mat & Helse* 2003;10:34–5.

80 Lin Hm Yu-Hing S, Cassileth B, Sirotnak F, Cunningham Rundles

S. Maitake beta-glucan MD-fraction enhances bone marrow colony formation and reduces doxorubicin toxicity in vitro. *Int Immunopharmacol* 2004;4:91–9.

81 Lin H, Cheung SWY, Nesin M, Cassileth B, Cunningham-Rundles

S. Enhancement of umbilical cord blood cell hematopoiesis by Maitake beta-glucan is mediated by granulocyte colony-stimulating factor production. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:21–7.

82 Kerrigan RW. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. *Mycologia* 2005;97:12–24.

370 Effects of the Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murill G. Hetland et al.

.....  
\_ 2008 The Authors

Journal compilation