

Обзорная статья

Влияние АНСС® , стандартизированного экстракта культивируемого мицелия *Lentinura edodes*, на естественные клетки-киллеры и Т-клетки в норме и при заболеваниях: обзоры исследований на людях и животных

Min Sun Shin,¹ Hong-Jai Park,¹ Takahiro Maeda,² Hiroshi Nishioka,² Hajime Fujii,² and Insoo Kang¹

¹ Кафедра внутренних болезней, Медицинский факультет Йельского университета, Нью-Хейвен, Коннектикут, 06520, США

² Отдел исследований и разработок, Amino Up Co., Ltd., 004-0839 Саппоро, Япония

Грибы использовались для лечения различных заболеваний в течение многих лет традиционной медициной, практикуемой в разных регионах мира, хотя точное влияние экстрактов грибов на иммунную систему до конца не изучено. АНСС® представляет собой стандартизированный экстракт культивируемого мицелия шиитакэ или *Lentinula edodes* (ECLM), который содержит смесь питательных веществ, включая олигосахариды, аминокислоты и минералы, полученные с помощью жидкой культуры. Сообщается, что АНСС® модулирует количество и функции иммунных клеток, включая естественные киллеры (NK) и Т-клетки, которые играют важную роль в защите хозяина, что предполагает возможное влияние его добавок на защиту хозяина от инфекций и злокачественных новообразований посредством модуляции иммунной системы. Здесь мы рассматриваем эффекты АНСС® *in vivo* и *in vitro* на NK- и Т-клетки человека и животных в норме и при заболеваниях, обеспечивая платформу для лучшего понимания иммуноопосредованных механизмов и клинических последствий АНСС®.

1. Введение

В течение многих лет в сфере традиционной медицины, практикуемой в разных регионах мира, считалось, что грибы могут оказывать благотворное влияние на здоровье и болезни [1]. Хотя точные биологические механизмы, лежащие в основе таких эффектов, еще предстоит выяснить, экстракты из группы определенных грибов в настоящее время используются в качестве пищевых добавок и функциональных продуктов питания при состояниях здоровья, которые могут быть

связаны с нарушениями иммунной регуляции, включая такие как инфекции, воспалительные заболевания и злокачественные образования. [1]. Воздействие грибов на иммунную систему связано с биоактивными полисахаридами, такими как бета-(β-) глюканы или в грибах полисахаридные комплексы, поскольку эти молекулы, влияют на врожденные и адаптивные иммунные реакции [2, 3].

Кроме того, в исследованиях сообщалось об активации естественных киллеров (NK) и Т-клеток альфа-(α -) глюканами, извлеченными из съедобных грибов, таких как *Tricholoma matsutake* и *maitake* (*Grifola frondosa*) [4,5], что так же подтверждает роль α -глюканов в регуляции иммунной системы. АНСС® представляет собой стандартизированный экстракт культивируемого мицелия шиитаке или *Lentinula edodes* (АНСС®), который содержит смесь питательных веществ, включая олигосахариды, аминокислоты и минералы, полученные в процессе культивирования мицелия шиитаке [6,7]. Он производится компанией Amino Up Co., Ltd. (Саппоро, Япония) под торговой маркой «АНСС®». В дальнейшем АНСС® и ECLM используются в рукописи взаимозаменяемо. Мицелий шиитаке, используемый для АНСС®, культивируется в жидкой среде, где мицелий размножается и образует шаровидные грибковые тела, но не плодовые тела [8].

АНСС® производится с помощью уникального производственного процесса культивирования мицелия с последующим разделением, стерилизацией и сушкой вымораживанием [8]. Наиболее распространенным компонентом АНСС® являются олигосахариды, которые составляют около 74% сухой массы АНСС® [6,7]. Из олигосахаридов в препарате АНСС® около 20% составляют α -1,4-глюканы, часть которых частично ацилирована, со средней молекулярной массой около 5000 дальтон [6, 7]. О влиянии АНСС® на иммунные клетки человека и животных сообщалось в разных исследованиях *in vitro* и *in vivo*, что свидетельствует о помощи его добавок в защите организма от инфекций и злокачественных новообразований посредством модулирования иммунной системы [6, 9]–28].

Этот обзор посвящен сообщениям о влиянии АНСС® на естественные киллеры (NK) и Т-клетки, учитывая их роль в защите хозяина и воспалении [29–34], предоставляя платформу для понимания иммуноопосредованных механизмов и клинических последствий приема АНСС® и, возможно, других медицинских грибов в норме и при болезни.

2. Влияние АНСС® на естественные клетки-киллеры (NK) при инфекциях и злокачественных новообразованиях

NK-клетки представляют собой крупные гранулярные лимфоциты, которые считаются первой линией защиты от вирусных инфекций и, возможно злокачественных новообразований посредством секреции цитокинов и экспрессии цитотоксических молекул [30, 34, 35].

Действительно, NK-клетки вооружены рецепторами, которые воспринимают сигналы от клеток мишеней, таких как инфицированные или опухолевые клетки, что приводит к их гибели [31, 34]. Нарушение функции или дефицит NK-клеток связано с повышенным риском инфекций и злокачественных новообразований у людей и животных [34, 35]. Предполагается, что продукты из грибов модулируют активность NK-клеток в отношении инфицированных или опухолевых клеток [36]. Недавнее исследование показало, что жидкие экстракты культивируемого мицелия могут оказывать различное влияние на цитотоксичность, опосредованную NK-клетками. Водные экстракты культивированного мицелия лекарственных грибов, в том числе *Agaricus blazei* и *Ganoderma lucidum*, усиливают цитотоксическую активность в линиях NK-клеток организма человека путем усиления цитотоксических молекул перфорина и гранулизына, а также рецепторов NK-клеток группы естественных киллеров 2D (NKG2D) и рецепторов естественной цитотоксичности. (НКР) [37]. Однако этанольные экстракты мицелия тех же грибов ингибировали экспрессию этих молекул теми же NK-клетками [37].

Эти данные подтверждают мнение о том, что способ экстракции лекарственных грибов может влиять на иммуномодулирующее действие грибов на NK-клетки [37]. О возможных эффектах АНСС® на NK-клетки человека и мышей сообщалось в различных клинических условиях, включая инфекции и различные злокачественные новообразования. В исследованиях на людях АНСС® вводили перорально в дозе 3 г в день, в то время как в большинстве исследований на мышах использовали пероральный прием АНСС® в диапазоне 0,1-0,48 г/кг/день, за исключением двух исследований, где дозы составляли 1 и 3 г/кг/день соответственно.

В последнем исследовании АНСС® оценивали при колите у мышей. Примечательно, что 0,1-0,48 г/кг/день АНСС® для мышей эквивалентны 0,0081-0,039 г/кг/день АНСС® для людей на основании рекомендаций US FDA [38, 39]. Эти дозы аналогичны рекомендуемым дозам АНСС® 1-3 г в день (0,017-0,05 г/кг/день в зависимости от веса 60 кг) для человека. Результаты этих исследований обобщены в следующих разделах (см. также Таблицу 1).

Таблица 1: Влияние АНСС® на естественные клетки-киллеры (NK) в норме и при патологии.

	Состояние	Доза АНСС	Эффект	Референс
Мышь	Грипп (H1N1)	Перорально 1г/кг/день (25мг/день)	Увеличение % и активности NK-клеток, улучшение выживаемости, целостности легких и титров вируса	24
Мышь	Грипп (H1N1)	Перорально 0.1г/кг/день (2.5мг/день)	Повышенная литическая эффективность NK-клеток. Улучшение выживаемости с улучшенным клиренсом вируса	22
Мышь	Меланома	Перорально 12мг/день (0.48г/кг/день)	Увеличение количества NK-клеток, γ Т-клеток и специфичных к опухолевому антигену CD8+Т-клеток, продуцирующих IFN- γ	16
Мышь	Меланома	Перорально 10мг/день с внутрибрюшным и без введением CpG ODN	Замедление развития меланомы (размер) у мышей, получавших только АНСС® или АНСС® и CpG ODN. Иммунные клетки не анализировались	18
Мышь	Гепатома	Перорально 0.36г/кг/день с 5-FU(мг/день)	Повышенный % NK-клеток. Увеличение процентного содержания CD4+ Т-клеток. Потенцирование эффекта 5-ФУ на массу и раз-р опухоли с помощью АНСС®	13
Человек	Рак	Перорально 3г/день	Повышенная активность NK - клеток	17
Человек	Здоровый	Перорально 3г/день или плацебо	Нет разницы в активности NK-клеток между группой АНСС® и плацебо	26

2.1. Инфекции

Вирус гриппа является одной из наиболее серьезных вирусных инфекций, вызывающих значительную смертность и заболеваемость у пожилых людей, детей и людей с ослабленным иммунитетом [40].

Было изучено влияние АНСС® на вирусную инфекцию гриппа, что показало положительный эффект, особенно за счет воздействия на NK-клетки [24]. Пероральное введение мышам АНСС® (1 г/кг/день) улучшало выживаемость и целостность легких при интраназальном заражении вирусом гриппа (H1N1) [24]. У мышей, получавших АНСС®, было повышено процентное содержание и активность NK-клеток, измеренные в отношении клеток-мишеней YAC-1, наряду со снижением титров

вируса в легких [24]. Первый вывод может быть потенциальным механизмом, ответственным за положительный эффект АНСС® в этой мышинной модели, поскольку предполагалось, что NK-клетки играют роль в контроле вирусной инфекции гриппа путем секреции цитокинов и экспрессии цитотоксических молекул [30]. Улучшение выживаемости с усиленным клиренсом вируса и литической эффективностью NK-клеток также было обнаружено у мышей, инфицированных вирусом гриппа, которым дополнительно вводили низкие дозы АНСС® (0,1 г/кг/день) [22]. Следует отметить, что у пациентов с тяжелым гриппом H1N1 был обнаружен временный дефицит NK- и Т-клеток [41].

Учитывая увеличение количества НК-клеток у мышей, получавших АНСС® [24], было бы интересно проверить, может ли АНСС® увеличить количество НК-клеток у пациентов с гриппом H1N1. Эффект АНСС® может превосходить грипп H1N1. Повышение выживаемости при приеме добавок АНСС® наблюдалось у мышей, инфицированных вирусом птичьего гриппа H5N1, который может инфицировать людей и домашнюю птицу [15]. На самом деле уровень смертности от птичьего гриппа H5N1 намного выше, чем от предыдущих пандемий гриппа, и достигает 60% [42]. Имеющиеся данные подтверждают участие НК-клеток в борьбе с вирусом гриппа путем повышения количества и функции НК-клеток, что поднимает вопрос о возможном изучении клинической полезности АНСС® для вирусных инфекций гриппа, включая инфекцию птичьего гриппа.

2.2. Злокачественные новообразования

Иммунная система, играющая важную роль в развитии и контроле злокачественных новообразований, может стать толерантной к опухолевым клеткам с помощью множества механизмов [36]. Считается, что различные методы, такие как цитокины и пищевые добавки, повышают иммунитет НК-клеток при лечении рака [3, 36].

Действительно, в исследованиях сообщалось о возможных полезных эффектах добавок АНСС® в борьбе с раком, особенно в сочетании с другими противоопухолевыми методами лечения, такими как химиотерапия [23]. В обсервационном исследовании без плацебо-контроля прием АНСС® (3 г/день) повышал активность НК-клеток у числа пациентов с различными видами рака, включая рак предстательной железы [17]. Также изучалась возможная роль АНСС® в подавлении развития меланомы и иммунных механизмов, участвующих в этом процессе. Фактически, противоопухолевый иммунитет имеет решающее значение для борьбы с меланомой, о чем свидетельствует недавнее введение иммунотерапии, специфически усиливающей функцию Т-клеток путем блокирования молекул ингибиторных контрольных точек, экспрессируемых на Т-клетках [43, 44]. В мышинной модели меланомы АНСС® значительно замедлял развитие опухоли после инокуляции меланомы B16-F0 [16]. Этот феномен сопровождался увеличением числа НК-клеток, опухолевых антиген-специфических CD8+ Т-клеток, продуцирующих IFN- γ , и гамма-дельта Т-клеток [16].

Благоприятный эффект от АНСС на мышинной меланоме B16 дополнительно подтверждается

недавним исследованием, в котором сообщалось об уменьшении размеров меланомы у мышей, получавших препарат АНСС® с CpG-олигодезоксинуклеотидом (ODN) или без него, который, как известно, активирует врожденный иммунитет и служит иммунологическим адьювантом [18]. Противоопухолевые эффекты низких доз 5-фторурацила (5-ФУ) усиливались с помощью АНСС® у мышей с опухолью гепатомы (22) за счет модуляции иммунной функции, включая увеличение процентного содержания НК-клеток [13]. Однако между здоровыми добровольцами, принимавшими АНСС® (3 г/день \times 4 недели), и плацебо не было обнаружено значительных различий в активности НК-клеток, что может быть связано с небольшими размерами выборки (n = 10 и 11 для АНСС®) и группы плацебо соответственно [26]. Учитывая потенциальное влияние АНСС® на количество и функцию НК-клеток, которые играют важную роль в иммунном надзоре за злокачественными новообразованиями, необходимы дальнейшие исследования на людях и животных противоопухолевых эффектов АНСС®, опосредованных НК-клетками.

3. Влияние АНСС® на Т-клеточный иммунитет при инфекциях, воспалениях и злокачественных новообразованиях

3.1. Т-клеточные иммунные ответы.

Т-клетки, компонент адаптивного иммунитета, играют решающую роль в защите хозяев от микроорганизмов и злокачественных новообразований [29]. CD4+ Т-клетки представляют собой Т-хелперные (Th) клетки, способные стимулировать функцию других иммунных клеток, таких как В-клетки и макрофаги, путем секреции цитокинов и экспрессии костимулирующих молекул [45, 46]. CD8+ Т-клетки, которые представляют собой цитотоксические Т-клетки, вооруженные цитотоксическими молекулами перфорином и гранзимами, могут убивать инфицированные или опухолевые клетки [47]. Сообщается, что экстракты грибов, особенно полисахариды, стимулируют иммунный ответ на опухоль, влияя на функции Т-клеток и других иммунных клеток [3]. Олигосахариды являются наиболее распространенным компонентом АНСС®, на долю которого приходится около 74% его сухого веса [6] [7]. Действительно, влияние АНСС® на Т-клеточный иммунитет наблюдается у людей и животных (обобщение см. в Таблице 2).

В исследованиях на людях АНСС® вводили перорально в дозе 3 г в день (0,05 г/кг/день в расчете на вес 60 кг), в то время как в большинстве исследований на мышах использовали пероральный прием АНСС® в диапазоне 0,36–1 г/кг/день, что эквивалентно 0,029–0,081 г/кг/день АНСС® для человека на основании рекомендаций US FDA [38, 39].

В обсервационном исследовании здоровых взрослых в возрасте 50 лет и старше прием добавок АНСС® (3 г/день в течение 60 дней) повышал частоту периферических CD4+ и CD8+ Т-клеток, продуцирующих IFN- γ и/или TNF- α , на 30 и 60 дни ELCM. добавки по сравнению с исходным уровнем [28]. Такой результат все еще наблюдался через 30 дней после прекращения приема АНСС®. Однако необходимы дополнительные исследования для определения влияния АНСС® на другие функции Т-клеток. Воздействие АНСС® на Т-клетки может быть опосредовано воздействием на клетки врожденного иммунитета, поскольку известно, что олигосахариды, включая α -глюканы и β -глюканы, стимулируют клетки врожденного иммунитета, такие как моноциты, макрофаги и дендритные клетки, которые могут модулировать активацию и дифференцировку Т-клетки [5, 48–51]. Недавно мы сообщили о стимулировании клеток Th 1 и 17, которые преимущественно продуцируют IFN- γ и IL-17, соответственно, с помощью АНСС® путем индукции продукции IL-1 β моноцитами у человека [20].

В соответствии с этим важным открытием, культуральные супернатанты мышинных моноцитарных клеток J744.2, обработанных АНСС®, стимулировали продукцию TNF- α из Т-клеток селезенки мышей [12], в то время как АНСС® индуцировала продукцию IL-8 из человеческих миелоцитарных клеток THP-1. клеток посредством активации митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) и путей NF- κ B [14]. В исследовании на мышах введение АНСС® повышало выработку цитокинов в кишечной жидкости в зависимости от TLR2 и TLR4, что свидетельствует об участии этих молекул в иммуномодуляции, опосредованной АНСС® [52].

Кроме того, увеличение количества циркулирующих дендритных клеток (ДК) было обнаружено у здоровых взрослых после приема АНСС® (3 г/день \times 4 недели), что указывает на возможное участие АНСС® в стимулировании иммунных ответов посредством модуляции ДК [26]. В целом данные подтверждают, что АНСС® может частично модифицировать Т-клеточный иммунитет путем активации врожденных иммунных клеток, способных стимулировать активацию Т-клеток.

3.2. Злокачественные новообразования, инфекции и воспаления.

Возможные эффекты АНСС® на Т-клеточный иммунитет могут иметь биологическое значение в развитии иммунных ответов на антигены.

Об этом свидетельствует исследование, сообщающее об увеличении NKT-клеток и CD8+ Т-клеток наряду с повышением титров защитных антител к гриппу В у здоровых людей, получавших вакцину против гриппа и добавки АНСС® (3 г/день \times 3 недели) [25]. Кроме того, в мышинной модели энцефалита Западного Нила у мышей, получавших АНСС® (600 мг/кг через день), наблюдалась экспансия γ Т-клеток, которые играли важную роль в борьбе с вирусной инфекцией Западного Нила, наряду со снижением вирусемии [27].

Потенциальные положительные эффекты препарата АНСС® на иммунную систему и бактериальную инфекцию ранее сообщались в модели условий космического полета мышей с разгрузкой задних конечностей, которые могут неблагоприятно повлиять на иммунную систему [9, 10, 53].

Действительно, недавнее исследование с использованием той же мышинной модели показало тенденцию к увеличению пролиферации Т-клеток у мышей, получавших АНСС®, по сравнению с контрольными мышами [54]. Влияние АНСС® на CD4+ Т-клетки было обнаружено у мышей с опухолью гепатомы 22 [13]. По сравнению с мышами, получавшими 5-ФУ, у мышей, получавших 5-ФУ и АНСС®, было повышено процентное содержание CD4+ Т-клеток и уровень ИЛ-2, фактора роста Т-клеток, в периферической крови [13]. Это наблюдение повышает вероятность того, что противоопухолевый эффект АНСС® может быть частично опосредован модуляцией функции Т-клеток.

Иммунная система, включая Т-клетки, может стать толерантной к опухолевым клеткам с помощью нескольких механизмов [36]. Вероятно, наиболее известным механизмом является подавление активации и эффекторной функции Т-клеток путем запуска молекул ингибиторных контрольных точек, включая CTLA-4 (антиген 4, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами) и PD-1 (белок 1 запрограммированной гибели клеток), экспрессируемых на Т-клетки [43, 44]. Иммуноterapia, нацеленная на эти молекулы, оказала существенное влияние на онкологию, улучшив выживаемость пациентов с такими видами рака, как немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря и меланома [32, 44]. Однако влияние экстрактов грибов на молекулы ингибиторных контрольных точек в Т-клетках в значительной степени неизвестно.

Таблица 2: Влияние АНСС® на Т-клетки в норме и при заболевании.

	Состояние	Доза АНСС	Эффект	Референс
Мышь	Грипп (H1N1)	Перорально 1г/кг/день (25мг/день)	Увеличение % и активности НК-клеток, улучшение выживаемости, целостности легких и титров вируса	24
Мышь	Грипп (H1N1)	Перорально 0.1г/кг/день (2.5мг/день)	Повышенная литическая эффективность НК-клеток. Улучшение выживаемости с улучшенным клиренсом вируса	22
Мышь	Меланома	Перорально 12мг/день (0.48г/кг/день)	Увеличение количества НК-клеток, $\gamma\delta$ Т-клеток и специфичных к опухолевому антигену CD8+Т-клеток, продуцирующих IFN- γ	16
Мышь	Меланома	Перорально 10мг/день с внутрибрюшным и без введением CpG ODN	Замедление развития меланомы (размер) у мышей, получавших только АНСС® или АНСС® и CpG ODN. Иммунные клетки не анализировались	18
Мышь	Гепатома	Перорально 0.36г/кг/день с 5-FU(мг/день)	Повышенный % НК-клеток. Увеличение процентного содержания CD4+ Т-клеток. Потенцирование эффекта 5-ФУ на массу и раз-р опухоли с помощью АНСС®	13
Человек	Рак	Перорально 3г/день	Повышенная активность НК - клеток	17
Человек	Здоровый	Перорально 3г/день или плацебо	Нет разницы в активности НК-клеток между группой АНСС® и плацебо	26

Хотя точный механизм того, как АНСС® влияет на Т-клетки, еще предстоит продемонстрировать, препарат АНСС® может стимулировать функцию Т-клеток посредством активации врожденных иммунных клеток, особенно с олигосахаридами, такими как экстракты других грибов [3, 12, 14, 20, 26]. В недавнем исследовании сообщалось, что добавка АНСС® (75 мг/день) улучшала течение колита, вызванного лимфоцитами, у мышей с дефицитом рекомбинационного гена 1-(RAG-1-), пересаженных CD4+CD62L+ Т-клетками [21]. В этом исследовании продукция IL-6, IL-17 и IL-10 клетками мезентериальных лимфатических узлов, а также STAT4 фосфорилирование в CD4+ Т-клетках селезенки были снижены у мышей с колитом, получавших АНСС®.

Следует отметить, что мы заметили подавление продукции цитокинов человеческими CD4+ Т-клетками, активированными антителами против CD3 и CD28, *in vitro* в присутствии АНСС® (Kang et al., неопубликованные данные). Этот подавляющий эффект АНСС® оказался сильнее в отношении IL-10, IL-17 и IFN- γ .

Однако АНСС® не влиял на пролиферацию и выживание CD4+ Т-клеток человека, активированных антителами против CD3 и CD28. Мы также определили влияние АНСС® на фактор транскрипции FOXP3, который сильно активируется в Т-клетках с регуляторной функцией [29]. Никакого влияния АНСС® на экспрессию FOXP3 в CD4+ Т-клетках человека не наблюдалось (Kang et al., неопубликованные данные).

Как упоминалось выше, поскольку АНСС® может стимулировать функцию Т-клеток путем активации врожденных иммунных клеток, возможно, что эффекты АНСС® на Т-клетки могут зависеть от контекста активации самого иммунитета.

Например, АНСС® может непосредственно подавлять продукцию цитокинов, которые активированными Т-клетками, в то время как функция Т-клеток может усиливаться клетками врожденного иммунитета в присутствии продукта АНСС®.

4. Выводы

АНСС®, который представляет собой экстракт культуры мицелия шиитакэ (*Lentinula edodes*), который оказывает широкий спектр действия на иммунную систему, включая NK- и Т-клетки. Такие эффекты могут быть выполнены путем прямого изменения количества и функций этих клеток, а также путем воздействия на функцию моноцитов, макрофагов и DC, способных стимулировать функцию Т-клеток. Кроме того, эффекты АНСС® на NK- и Т-клетки, по-видимому, имеют биологические последствия, о чем свидетельствуют результаты клинических исследований и исследований на животных *in vivo* при инфекциях, воспалениях и опухолях.

Исследования

Проводимые исследования дополнительных иммунологических эффектов препарата АНСС® и механизмов, лежащих в основе этих эффектов в норме и при патологии является оправданным. Следует отметить, что кишечный микробиом был предметом интенсивных исследований в области пищевых добавок и лекарственных продуктов, включая экстракты грибов.

Результаты исследований, изучающих влияние АНСС® на иммунную систему и/или микробиом, приведут к улучшению нашего понимания полезности медицинских грибов, включая АНСС®, особенно в контексте недавно введенных иммунотерапевтических средств, нацеленных на ингибирующую контрольную точку молекулы, включая CTLA-4 и PD-1.

Конфликт интересов

Профессор Инсу Кан получил неограниченное финансирование исследований от Amino Up Co., Ltd., Саппоро, Япония, производителя АНСС®, который обсуждался в этой работе, и является консультантом Amino Up Co., Ltd. Такахиро Маэда, Хироши Нисиока и Фуджи Хадзуме — сотрудники Amino Up Co., Ltd.

Благодарности

Эта работа была частично поддержана неограниченным исследовательским фондом Amino Up Co., Ltd., Саппоро, Япония.

Используемая литература

[1] S. P. Wasser, “Medicinal mushroom science: current perspectives, advances, evidences, and challenges,” *Biomedical Journal*, vol. 37, no. 6, pp. 345–356, 2014.

[2] Y. K. Mohanta, S. K. Singdevsachan, U. K. Parida, H. Bae, T. K. Mohanta, and S. K. Panda, “Green synthesis and antimicrobial activity of silver nanoparticles using wild medicinal mushroom *Ganoderma applanatum* (Pers.) pat. from Similipal biosphere reserve, Odisha, India,” *IET Nanobiotechnology*, vol. 10, no. 4, pp. 184–189, 2016.

[3] X. Meng, H. Liang, and L. Luo, “Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities,” *Carbohydrate Research*, vol. 424, pp. 30–41, 2016.

[4] Y. Masuda, Y. Nakayama, A. Tanaka, K. Naito, and M. Konishi, “Antitumor activity of orally administered maitake α -glucan by stimulating antitumor immune response in murine tumor,” *PLoS One*, vol. 12, no. 3, p. e0173621, 2017.

[5] H. Hoshi, Y. Yagi, H. Iijima, K. Matsunaga, Y. Ishihara, and T. Yasuhara, “Isolation and characterization of a novel immunomodulatory alpha-glucan-protein complex from the mycelium of *Tricholoma matsutake* in basidiomycetes,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 23, pp. 8948–8956, 2005.

- [6] B. W. Ritz, "Supplementation with active hexose correlated compound increases survival following infectious challenge in mice," *Nutrition Reviews*, vol. 66, no. 9, pp. 526–531, 2008.
- [7] K. Sato and M. Kashimoto, "Profile summary of AHCC: composition," in *Clinician's Guide to AHCC*, A. D. Kulkarni, P. C. Calder, and T. Ito, Eds., pp. 24–33, International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, 2017.
- [8] N. Fujii and S. Kudo, "Profile summary of AHCC: manufacturing progress," in *Clinician's Guide to AHCC: International Congress on Nutrition and Integrative Medicine*, A. D. Kulkarni, P. C. Calder, and T. Ito, Eds., pp. 21–23, International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, 2017.
- [9] H. Aviles, T. Belay, K. Fountain, M. Vance, B. Sun, and G. Sonnenfeld, "Active hexose correlated compound enhances resistance to *Klebsiella pneumoniae* infection in mice in the hindlimb-unloading model of spaceflight conditions," *Journal of Applied Physiology*, vol. 95, no. 2, pp. 491–496, 2003.
- [10] H. Aviles, T. Belay, M. Vance, B. Sun, and G. Sonnenfeld, "Active hexose correlated compound enhances the immune function of mice in the hindlimb-unloading model of spaceflight conditions," *Journal of Applied Physiology*, vol. 97, no. 4, pp. 1437–1444, 2004.
- [11] H. Aviles, P. O'Donnell, J. Orshal, H. Fujii, B. Sun, and G. Sonnenfeld, "Active hexose correlated compound activates immune function to decrease bacterial load in a murine model of intramuscular infection," *American Journal of Surgery*, vol. 195, no. 4, pp. 537–545, 2008.
- [12] T. Belay, C. L. Fu, and A. Woart, "Active hexose correlated compound activates immune function to decrease *Chlamydia trachomatis* shedding in a murine stress model," *Journal of Nutritional Medicine and Diet Care*, vol. 1, no. 1, 2015.
- [13] Z. Cao, X. Chen, L. Lan, Z. Zhang, J. Du, and L. Liao, "Active hexose correlated compound potentiates the antitumor effects of low-dose 5-fluorouracil through modulation of immune function in hepatoma 22 tumor-bearing mice," *Nutrition Research and Practice*, vol. 9, no. 2, pp. 129–136, 2015.
- [14] A. Daddaoua, E. Martínez-Plata, M. Ortega-González et al., "The nutritional supplement active hexose correlated compound (AHCC) has direct immunomodulatory actions on intestinal epithelial cells and macrophages involving TLR/MyD88 and NF- κ B/MAPK activation," *Food Chemistry*, vol. 136, no. 3-4, pp. 1288–1295, 2013.
- [15] H. Fujii, H. Nishioka, K. Wakame, and B. Sun, "Nutritional food active hexose correlated compound (AHCC) enhances resistance against bird flu," *Japanese Journal of Complementary and Alternative Medicine*, vol. 4, no. 1, pp. 37–40, 2007.
- [16] Y. Gao, D. Zhang, B. Sun, H. Fujii, K. Kosuna, and Z. Yin, "Active hexose correlated compound enhances tumor surveillance through regulating both innate and adaptive immune responses," *Cancer Immunology, Immunotherapy*, vol. 55, no. 10, pp. 1258–1266, 2006.
- [17] M. Ghoneum, M. Wimbly, F. Salem, A. McKlain, N. Attallah, and G. Gill, "Immunomodulatory and anticancer effects of active hemicellulose compound (AHCC)," *International Journal of Immunotherapy*, vol. 11, no. 1, pp. 23–28, 1995.
- [18] R. M. Ignacio, C. S. Kim, Y. D. Kim, H. M. Lee, X. F. Qi, and S. K. Kim, "Therapeutic effect of active hexose-correlated compound (AHCC) combined with CpG-ODN (oligodeoxynucleotide) in B16 melanoma murine model," *Cytokine*, vol. 76, no. 2, pp. 131–137, 2015.
- [19] H. ISHIBASHI, T. IKEDA, S. TANSHO et al., "Prophylactic efficacy of a basidiomycetes preparation AHCC against lethal opportunistic infections in mice," *Yakugaku Zasshi*, vol. 120, no. 8, pp. 715–719, 2000.
- [20] W. W. Lee, N. Lee, H. Fujii, and I. Kang, "Active Hexose Correlated Compound promotes T helper (Th) 17 and 1 cell responses via inducing IL-1 β production from monocytes in humans," *Cellular Immunology*, vol. 275, no. 1-2, pp. 19–23, 2012.
- [21] C. Mascaraque, M. D. Suárez, A. Zarzuelo, F. S. de Medina, and O. Martínez-Augustin, "Active hexose correlated compound exerts therapeutic effects in lymphocyte driven colitis," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 58, no. 12, pp. 2379–2382, 2014.
- [22] S. Nogusa, J. Gerbino, and B. W. Ritz, "Low-dose supplementation with active hexose correlated compound improves the immune response to acute influenza infection in C57BL/6 mice," *Nutrition Research*, vol. 29, no. 2, pp. 143–149, 2009.

- [23] B. Ritz, "Active hexose correlated compound (AHCC) and immune outcomes in humans: a review," *Natural Medicine Journal*, vol. 3, no. 1, pp. 3–7, 2011.
- [24] B. W. Ritz, S. Nogusa, E. A. Ackerman, and E. M. Gardner, "Supplementation with active hexose correlated compound increases the innate immune response of young mice to primary influenza infection," *The Journal of Nutrition*, vol. 136, no. 11, pp. 2868–2873, 2006.
- [25] B. E. Roman, E. Beli, D. M. Duriancik, and E. M. Gardner, "Short-term supplementation with active hexose correlated compound improves the antibody response to influenza B vaccine," *Nutrition Research*, vol. 33, no. 1, pp. 12–17, 2013.
- [26] N. Terakawa, Y. Matsui, S. Sato et al., "Immunological effect of active hexose correlated compound (AHCC) in healthy volunteers: a double-blind, placebo-controlled trial," *Nutrition and Cancer*, vol. 60, no. 5, pp. 643–651, 2008.
- [27] S. Wang, T. Welte, H. Fang et al., "Oral administration of active hexose correlated compound enhances host resistance to West Nile encephalitis in mice," *The Journal of Nutrition*, vol. 139, no. 3, pp. 598–602, 2009.
- [28] Z. Yin, H. Fujii, and T. Walshe, "Effects of active hexose correlated compound on frequency of CD4+ and CD8+ T cells producing interferon- γ and/or tumor necrosis factor- α in healthy adults," *Human Immunology*, vol. 71, no. 12, pp. 1187–1190, 2010.
- [29] N. Lee, M. S. Shin, and I. Kang, "T-cell biology in aging, with a focus on lung disease," *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 67A, no. 3, pp. 254–263, 2012.
- [30] S. Schultz-Cherry, "Role of NK cells in influenza infection," *Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol. 386, pp. 109–120, 2015.
- [31] M. G. Morvan and L. L. Lanier, "NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks," *Nature Reviews. Cancer*, vol. 16, no. 1, pp. 7–19, 2016.
- [32] P. Sharma and J. P. Allison, "Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential," *Cell*, vol. 161, no. 2, pp. 205–214, 2015.
- [33] J. E. Craft, "Follicular helper T cells in immunity and systemic autoimmunity," *Nature Reviews Rheumatology*, vol. 8, no. 6, pp. 337–347, 2012.
- [34] A. Cerwenka and L. L. Lanier, "Natural killer cell memory in infection, inflammation and cancer," *Nature Reviews. Immunology*, vol. 16, no. 2, pp. 112–123, 2016.
- [35] J. S. Orange, "Natural killer cell deficiency," *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 132, no. 3, pp. 515–525, 2013, quiz 526.
- [36] D. S. Vinay, E. P. Ryan, G. Pawelec et al., "Immune evasion in cancer: mechanistic basis and therapeutic strategies," *Seminars in Cancer Biology*, vol. 35, Suppl, pp. S185–S198, 2015.
- [37] C. C. Lu, Y. J. Hsu, C. J. Chang et al., "Immunomodulatory properties of medicinal mushrooms: differential effects of water and ethanol extracts on NK cell-mediated cytotoxicity," *Innate Immunity*, vol. 22, no. 7, pp. 522–533, 2016.
- [38] A. B. Nair and S. Jacob, "A simple practice guide for dose conversion between animals and human," *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, vol. 7, no. 2, pp. 27–31, 2016.
- [39] Guidance for Industry, "Estimating the maximum tolerated starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers," in Administration US DoH and HSFaD, M. D. Rockville, Ed., p. 7, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2005.
- [40] S. Ghebrehewet, P. MacPherson, and A. Ho, "Influenza," *BMJ*, vol. 355, p. i6258, 2016.
- [41] A. Fox, L. N. M. Hoa, P. Horby et al., "Severe pandemic H1N1 2009 infection is associated with transient NK and T deficiency and aberrant CD8 responses," *PLoS One*, vol. 7, no. 2, p. e31535, 2012.
- [42] F. C. Li, B. C. Choi, T. Sly, and A. W. Pak, "Finding the real case-fatality rate of H5N1 avian influenza," *Journal of Epidemiology and Community Health*, vol. 62, no. 6, pp. 555–559, 2008.
- [43] D. M. Pardoll, "The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy," *Nature Reviews Cancer*, vol. 12, no. 4, pp. 252–264, 2012.
- [44] S. Farkona, E. P. Diamandis, and I. M. Blasutig, "Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer?," *BMC Medicine*, vol. 14, no. 1, 2016.
- [45] K. M. Murphy and B. Stockinger, "Effector T cell plasticity: flexibility in the face of changing circumstances," *Nature Immunology*, vol. 11, no. 8, pp. 674–680, 2010.
- [46] S. L. Reiner, "Development in motion: helper T cells at work," *Cell*, vol. 129, no. 1, pp. 33–36, 2007.
- [47] W. Cui and S. M. Kaeck, "Generation of effector CD8+ T cells and their conversion to memory T cells," *Immunological Reviews*, vol. 236, pp. 151–166, 2010.
- [48] F. Gerosa, B. Baldani-Guerra, L. A. Lyakh et al., "Differential regulation of interleukin 12 and interleukin 23 production in human dendritic cells," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 205,

- [49] V. C. B. Bittencourt, R. T. Figueiredo, R. B. da Silva et al., "An alpha-glucan of *Pseudallescheria boydii* is involved in fungal phagocytosis and toll-like receptor activation," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 281, no. 32, pp. 22614–22623, 2006.
- [50] A. Estrada, C. H. Yun, A. Van Kessel, B. Li, S. Hauta, and B. Laarveld, "Immunomodulatory activities of oat beta- glucan in vitro and in vivo," *Microbiology and Immunology*, vol. 41, no. 12, pp. 991–998, 1997.
- [51] R. Nisini, A. Torosantucci, G. Romagnoli et al., "Beta-glucan of *Candida albicans* cell wall causes the subversion of human monocyte differentiation into dendritic cells," *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 82, no. 5, pp. 1136–1142, 2007.
- [52] J. F. Mallet, E. Graham, B. W. Ritz, K. Homma, and C. Matar, "Active hexose correlated compound (AHCC) promotes an intestinal immune response in BALB/c mice and in primary intestinal epithelial cell culture involving toll-like receptors TLR-2 and TLR-4," *European Journal of Nutrition*, vol. 55, no. 1, pp. 139–146, 2016.
- [53] G. Sonnenfeld, "The immune system in space, including earth-based benefits of space-based research," *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 6, no. 4, pp. 343–349, 2005.
- [54] M. Kogiso, K. Wakame, T. Sakai, S. Yamamoto, A. Sundaresan, and A. D. Kulkarni, "Active hexose correlated compound and T cell response in hind-limb-unloaded BALB/c mice," *International Journal of Surgery and Research*, vol. 2, no. 5, pp. 32–38, 2015.