

Mobilisering av det mesenkymale infeksjonsforsvar

Bakgrunn. De fleste infeksjoner blir nedkjempet i kroppens epitel og i overflatenært bindevev lenge før antistoffer og antigenspesifikke drepeceller er blitt dannet, dvs. før det spesifikke infeksjonsforsvaret har rukket å komme til unnsetning. Mikrobielle stoffer som aktiverer og modulerer dette non-spesifikke førstelinjeforsvaret i og nær kroppens overflater kan gi økt sykdomsmotstand, hovedsakelig ved stimulering av epitelens produksjon av antimikrobielle substanser og ved lokal aktivering av vevsmakrofager.

Materiale og metode. Det finnes mange mikrobielle stoffer som kan aktivere makrofager. Beta-1,3-glukaner fra sopp og gjær er de mest aktuelle kandidater for farmasøytisk utvikling fordi kjemisk sammensetning og virkemåte er godt klarlagt.

Resultater. I renfremstilt form gir beta-1,3-glukaner svært effektiv beskyttelse av dyr mot infeksjon av virus, bakterier, sopp og parasitter. Denne virkningen oppnås både når stoffet injiseres og når det påføres slimhinner eller gis oralt. Beta-1,3-glukaner motvirker også giftvirkningen av bakterielle endotoksiner og stimulerer kroppens evne til å kvitte seg med kreftceller.

Fortolkning. Aktivering av non-spesifikk immunitet i epitel og i bindevev med isolerte mikrobielle substanser tilsvarer tidlige trinn i et naturlig infeksjonsforløp, og fører til økt infeksjonsmotstand hos dyr. Denne måten å øke sykdomsresistensen på, praktiseres med hell i husdyrbruket med beta-1,3-glukaner som gis oralt eller påføres slimhinner. Tilsvarende bruk innen humanmedisinen er en realistisk mulighet, i tillegg til bruk av mikrobielle immunmodulatorer som adjuvans sammen med slimhinnevaksiner.

Når uttrykket immunitet blir brukt, tenker de fleste på lymfocytter, antistoffer og det infeksjonsforsvar som utvikler seg noen uker etter en infeksjon eller som følge av vaksina-

Rolf Seljelid

Avdeling for eksperimentell patologi
Institutt for medisinsk biologi
Universitetet i Tromsø
9037 Tromsø

Jan Raa

Biotec Pharmacon ASA
Arbins gate 4
0253 Oslo

Seljelid R, Raa J.

Mobilisation of mesenchymal infection defence.

Tidsskr Nor Lægeforen 2002; 122: 2891-4

Background. Most infections are arrested in epithelial and superficial connective tissues long before antibodies and antigen specific killer cells have been induced; i.e. before the specific defence system has had time enough to come to the rescue. Microbial substances that activate and modulate this non-specific first-line defence in and near the body surfaces may enhance disease resistance, mainly by stimulating the production of anti-microbial substances by epithelia and by local activation of tissue macrophages.

Material and methods. There are many different microbial substances that can activate macrophages. Beta-1,3-glucans from yeast and mushrooms are the most obvious candidates for pharmaceutical development because their chemical composition and mode of action has been clarified in great detail.

Results. Beta-1,3-glucans in purified form provide efficient protection of animals against infections by virus, bacteria, fungi and parasites. Such enhanced protection is obtained after injection as well as after oral or mucosal administration. Beta-1,3-glucans also counteract the toxic effects of bacterial endotoxins and enhance the body's capacity to destroy cancer cells.

Interpretation. Activation of non-specific immunity in epithelia and in connective tissues by purified microbial substances corresponds to early events in a natural infection process and renders animals more resistant to infections. This way to enhance resistance to microbial infections has been applied with success in animal husbandry with beta-1,3-glucans administered orally or onto mucosal surfaces. Corresponding use in human medicine is a realistic possibility, in addition to the use of microbial immune modulators as adjuvants in mucosal vaccines.

sjon. Men dette spesifikke, eller adaptive, immunforsvaret utgjør bare en liten del av kroppens forsvarsverk, og i biologien som helhet er det nærmest for et unntak å regne –

spesifikk immunitet finnes bare hos om lag 3 % av alle dyreslag.

Det non-spesifikke (= medfødte, på engelsk «innate») immunforsvar er langt det viktigste i biologien, og dette urgamle infeksjonsforsvaret er sannsynligvis det viktigste også hos mennesker. Det er selvsagt vanskelig å belegge en slik påstand kvantitativt, men de fleste førstegangsinfeksjoner blir nedkjempet i løpet av timer til noen få dager, lenge før antistoffer eller antigenspesifikke drepeceller er blitt dannet, dvs. før det spesifikke infeksjonsforsvaret har rukket å komme til unnsetning (fig 1).

Betydningen av non-spesifikk immunitet kan også illustreres ved å vise til at evertebrater som snegler, skalldyr, insekter, osv. som ikke har lymfocytter og derfor ikke kan vaksineres på samme måte som høyerestående dyr, har et jevnbyrdig eller bedre forsvar mot infeksjon enn det vi har. Vi har gjennom evolusjonen beholdt i hovedsak de samme non-spesifikke forsvarssystemer som disse har, og i tillegg utviklet spesifikk immunitet.

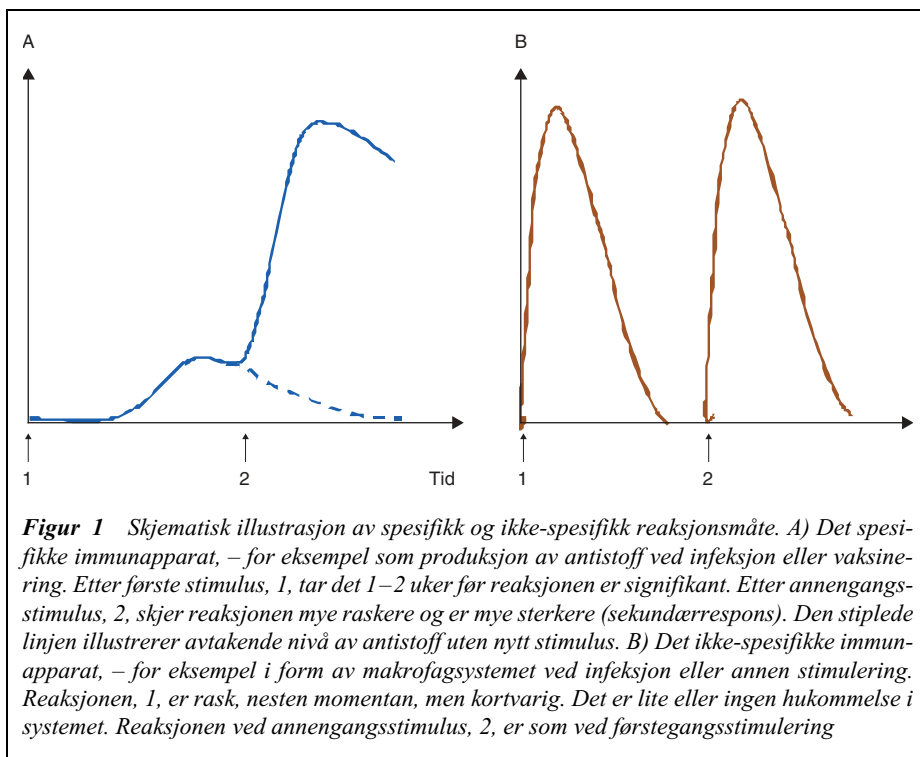
Vårt infeksjonsforsvar faller i tre nokså tydelige forsvarslinjer. Den første dannes av epitelene, den neste ligger i bindevevet, det såkalte mesenkymale forsvar, og den tredje forsvarslinjen er det spesifikke immunsystem knyttet til lymfocyttenes funksjon.

Det er et tett funksjonelt samspill mellom det medfødte og det adaptive infeksjonsforsvaret. Den non-spesifikke forsvarsreaksjonen nær overflatene fører til at det dannes signalstoffer (cytokiner) som aktiverer det spesifikke immunforsvar. I neste omgang fører dette til at det dannes cytokiner som virker tilbake på det medfødte infeksjonsforsvaret og gjør det mer effektivt.

Epiteloverflatens forsvar

Huden på et voksent menneske er ca. 2 m², mens slimhinnene har en overflate på ca. 400 m². Nesten alle mikrober som fremkaller sykdom, benytter en av kroppens slimhinner som inngangsport, og de fleste mikrober blir tatt hånd om der før de rekker å trenge videre inn.

Epitelets forsvar består først av en tett mekanisk barriere. I noen epitel har cellene cilier, som koster mikrober mot kroppsåpningene. Dernest lager epitelcellene slim med innhold av karbohydrater som hindrer mikrober i å feste seg til overflatene. Vik-



Figur 1 Skjematiske illustrasjoner av spesifikk og ikke-spesifikk reaksjonsmåte. A) Det spesifikke immunapparat, – for eksempel som produksjon av antistoff ved infeksjon eller vaksinerings. Etter første stimulus, 1, tar det 1–2 uker før reaksjonen er signifikant. Etter annengangsstimulus, 2, skjer reaksjonen mye raskere og er mye sterkere (sekundærrespons). Den stiplede linjen illustrerer avtakende nivå av antistoff uten nytt stimulus. B) Det ikke-spesifikke immunapparat, – for eksempel i form av makrofagsystemet ved infeksjon eller annen stimulering. Reaksjonen, 1, er rask, nesten momentant, men kortvarig. Det er lite eller ingen hukommelse i systemet. Reaksjonen ved annengangsstimulus, 2, er som ved førstegangsstimulering

tigst er likevel cellenes produksjon av peptidantibiotika, jernbindende substanser og lysozym. Virkninger av peptidantibiotika er godt beskrevet i oversiktsartikler (1–3).

Peptidantibiotika, for eksempel defensiner, har svært bredspektret virkning og en effektivitet per mol omtrent på linje med tetrasykliner. Det er ikke påvist ervervet resistens mot naturlige defensiner, noe som kan henge sammen med stoffenes grove virkningsmekanisme: oppløsning av mikrobenes cellemembraner. Produksjonen av defensiner og andre peptidantibiotika er for det meste konstitutiv, dvs. den foregår uanstendig, uten åpenbar stimulering. Det er imidlertid vist at mengden av defensiner øker under infeksjon (2), hvilket må bety at de i alle fall til en viss grad kan induseres.

En åpenbart viktig oppgave for medisinsk forskning i fremtiden vil være å finne substanser som, når de blir tilført slimhinner, kan stimulere til økt produksjon av defensiner når det er ønskelig. Det samme gjelder for lysozym og for de jernbindende substansene, for eksempel laktoferrin, som konkurrerer om dette mineralet som er så viktig for mikrobenes metabolisme og formeringssevne.

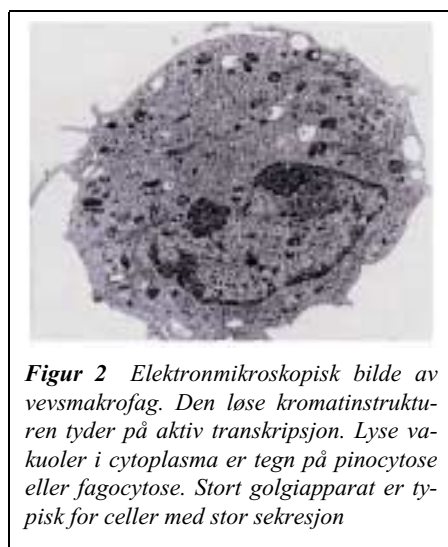
Det mesenkymale forsvar

Begrepet «mesenkym» brukes om bindevev, blodårer og blodceller – alt dette som fungerer samlet og koordinert i forsvar mot mikrober, i betennelser, tilhelingsprosesser og i stromautvikling i svinger. Alvorlige genetiske, medfødte feil i det mesenkymale system forekommer ikke, antakelig fordi et individ med en slik feil ikke engang er livsdyktig i fosterlivet og vil bli abortert.

Det mesenkymale infeksjonsforsvar er

først og fremst knyttet til vevsmakrofagens funksjon. Vevsmakrofager finnes overalt i kroppen hvor det finnes bindevev og årer – inklusive i hjernen hvor de kalles mikroglia.

Vevsmakrofagene (fig 2) er fagocytter. De sluker mikrober og oppløser dem. Men de er også vaktposter. Hvis et lite antall mikrober kommer inn i bindevevet, vil de raskt og fullstendig bli eliminert av makrofagene ved fagocytose. Hvis flere mikrober har trengt inn, vil makrofagene – i tillegg til fagocytose – reagere ved å produsere cytokiner, særlig interleukin 1 (IL-1) og tumornekrosefaktor (TNF), som inducerer forandringer i venumenes endotel og setter i gang en akutt betennelse. Derved tilkalles granulocytter med enorm kapasitet for fagocytose og bakteriedrap. Lokal akutt betennelse i liten skala må



Figur 2 Elektronmikroskopisk bilde av vevsmakrofag. Den løse kromatinstrukturen tyder på aktiv transkripsjon. Lyse vakuoler i cytoplasma er tegn på pinocytose eller fagocytose. Stort golgiapparat er typisk for celler med stor sekresjon

sees på som en normal prosess. Antakelig har alle mennesker til enhver tid en svak betennelse et eller annet sted i kroppen, som ledd i balansen mellom fredelig sameksistens og farlig infeksjon.

Samtidig med produksjon av signalsubstanser av typen interleukin 1 og tumornekrosefaktor, produserer makrofagene små mengder komplement og store mengder prostaglandiner og leukotriener. Akutt betennelse, i liten eller stor skala, er en komplisert prosess med mange komponenter, men ganske lett å forstå prinsipielt, hvis man tar utgangspunkt i vevsmakrofagens funksjon som vaktposter og signalprodusenter.

Aktivering av det non-spesifikke infeksjonsforsvaret

Makrofager kan enten være hvilende – det er det normale – eller aktiverte. Aktivering kan skje gjennom påvirkning av gammainterferon, produsert av andre immunceller, oftest som følge av en reaksjon i det spesifikke immunapparat, eller direkte av bakterie- og soppprodukter. Reaksjonen på mikrobielle produkter er eksempel på at evolusjonen har utviklet mekanismer som raskt registrerer stoffer som er særegne for mikrober, og som følgelig er pålitelige kjemiske alarmsignaler om infeksjon. Eksempler på bakterieprodukter som kan aktivere makrofager direkte, er lipopolysakkarider, peptidoglykaner, lipoteichoinsyre, lipoarabinomannan, beta-1,3-glukaner og lipopeptider. Eksempler på stimulerende komponenter av sopp eller protozoer er glukaner, kitin, mannan og glykosylfosfatidylinositol. Det finnes også substanser som demper makrofagens reaksjonsevne, for eksempel lipofosfoglykan fra *Leishmania donovani* (4).

Den naturlige introduksjonen i kroppen av mikrobielle makrofagaktiverende substanser skjer i form av intakte mikrober – bakterier, virus, sopp eller protozoer, og ved naturlig og uunngåelig inntak av mikrobielle produkter fra det miljø vi lever i. Kanskje er kroppen gjennom evolusjonen blitt avhengig av et visst inntak av mikrobielle produkter for å fungere adekvat (5).

I mange år har det vært forsøkt å renfremstille stoffer som kan aktivere det mesenkymale forsvar uten selv å lede til infeksjon eller alvorlig betennelse. Lipopolysakkarider kan vanskelig benyttes fordi de er for toksiske – antakelig mest fordi de stimulerer til altfor kraftig produksjon av tumornekrosefaktor.

Mest lovende er bakterie- og soppkomponenter av typen beta-1,3-glukan (fig 3). Stoffer av denne typen har i eksperimentelle systemer vist seg ekstremt effektive som infeksjonsbeskyttere mot virus, bakterier, sopp og parasitter (6–9), og de har ingen toksisk virkning i konsentrasjoner som ligger langt over det som er aktuelt å bruke til infeksjonsbeskyttelse. Beta-1,3-glukaner virker ikke bare ved å øke organismens evne til mikrobedrap, men beskytter (fig 4) også mot

sjokk forårsaket av bakterielle endotoksiner (lipopolysakkarider), noe som kan henge sammen med at beta-1,3-glukan motvirker endotoksinindusert produksjon av tumornekrosefaktor (10) og lipopolysakkaridindusert toksisitet (11, 14).

Det mesenkymale system er viktig ikke bare i forhold til infeksjon. Makrofager produserer vekstfaktorer og regulerer dermed sårtilheling og arrdannning, og denne prosessen kan også påskyndes av beta-1,3-glukan (15).

Eksperimentelle studier har vist slående antitumoreffekter av makrofagstimulerende stoffer (16, 17). I Japan er beta-1,3-glukan i bruk for å motvirke immunsuppresjon som følge av strålebehandling og bruk av cellegifter, og til å stimulere kroppens egen evne til å kvitte seg med kreftceller (18). De fleste studier av dette slag er gjort ved å injisere beta-1,3-glukan, men erfaringer fra Japan tyder på at også oral tilførsel kan gi virkning. BCG som også er en makrofagstimulator, brukes som kjent i behandling av blærepapillomer.

Bruk av makrofagstimulerende stoffer i husdyrbruket

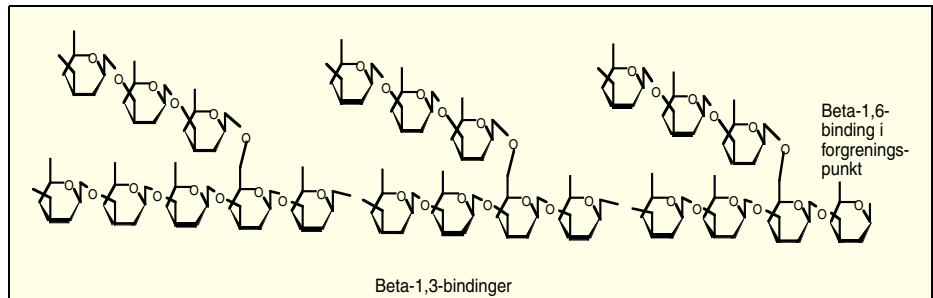
Beta-1,3-glukan har i mer enn ti år vært brukt med stort hell som sykdomsforebyggende middel i akvakultur og tradisjonelt husdyrhold, for det meste som fôrtilsetning, men også som adjuvans i vaksiner og til dyppbehandling av småfisk og oppdrettsreker. Resultatene er entydige etter bruk verden over med mange forskjellige dyreslag, både akvatiske og landdyr: Beta-1,3-glukan fører til økt sykdomsresistens (reduert dødelighet) og, muligens som en følge av dette, til bedre vekst og fôrutnyttelse.

Figur 5 viser resultatet fra ett av svært mange kontrollerte smitteforsøk som demonstrerer virkningsgraden av beta-1,3-glukan tilsatt fôr til laks (19).

Beta-1,3-glukan brukes i fôr til spedgris og kalv for å redusere infeksjonsplagene i avvenningsfasen, til kylling og broiler mot virus- og bakterieinfeksjoner og til hund mot infeksjonstrelaterte leddplager. Bedringen i helsetilstand hos smågris er korrelert med redusert nivå av haptoglobin i blod (20).

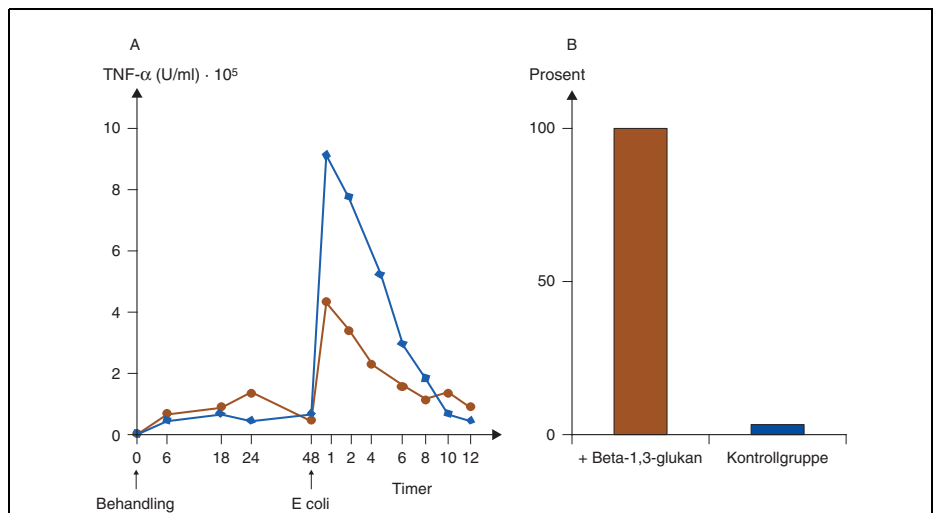
Til grunn for den praktiske bruken av beta-1,3-glukan i husdyrproduksjon ligger det en omfattende vitenskapelig dokumentasjon som har relevans også i humanmedisinen. Det gjelder for eksempel studier som viser at beta-1,3-glukan virker som adjuvans for både injeksjons- og mukosalvaksiner, til og med når det gis oralt eller mukosalt, mens vaksineantigenet gis ved injeksjon.

Det er grunn til å merke seg at beta-1,3-glukan i høymolekylær og mikropartikulær form ikke blir sugd opp fra tarmen i påviselige mengder og transportert rundt med blodet. Likevel fremkaller stoffet en systemisk virkning på dyr. Dette kan skyldes at stoffet reagerer med reseptorer på utløpere fra makrofager og dendritiske celler i underliggende lymfoide vev (21).

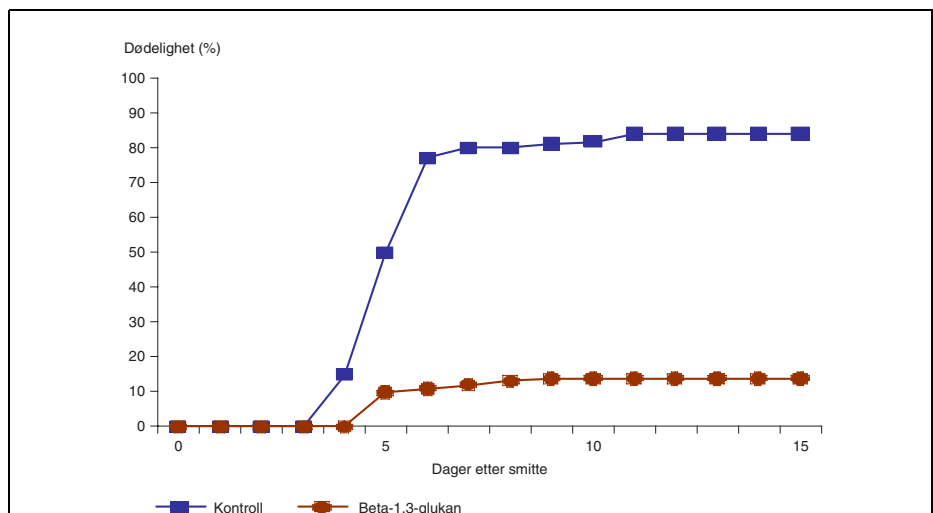


Beta-1,3-bindinger

Figur 3 Kjemisk oppbygning av beta-1,3-glukan. Glukosemolekyler er koblet sammen i glykosidbinding mellom hydroksylgruppen i betaposisjon på karbon 1 og hydroksylgruppen i karbon 3 (beta-1,3-binding). Beta-1,3-glukaner med immunmodulerende evne har sidegrener fra 6-posisjonen. Lengden på beta-1,3-glukankjedene og antall sidegrener er bestemt av den biologiske kilden for glukaset, og av fremgangsmåten for utvinning



Figur 4 Virkningen av beta-1,3-glukan på TNF-α og dødelighet hos mus. A) Konsentrasjon av TNF-α i peritonealvæsken hos mus, før og etter injeksjon av *Escherichia coli*. I den ene gruppen av mus var beta-1,3-glukan blitt injisert 48 timer på forhånd (sirkler), i den andre (kontroll) fysiologisk saltvann (firkanter). B) Overlevelse (%) av mus 12 timer etter injeksjon av *E. coli* (tilsvarende grupper som i A). Hentet fra Seljelid og medarbeidere (10)



Figur 5 Virkningen av beta-1,3-glukan på dødelighet av smålaks som ble smittet med *Vibrio salmonicida*. To grupper fisk (à 40 stk. individuelt merket) med gjennomsnittsstørrelse på 50 g, ble føret i 35 dager på et standard fiskefôr uten (= kontrollfisk) og med beta-1,3-glukan (1 g/kg). Deretter ble fisken i de to gruppene overført til samme tank, smittet gjennom vannet med *Vibrio salmonicida*. Hentet fra Robertsen og medarbeidere (19)

Skepsis i humanmedisinen?

Muligheten for bruk av beta-1,3-glukan i humanmedisinen har vært møtt med skepsis. Dette kan komme av at en del resultater fra kliniske forsøk ikke har latt seg reproducere. Antakelig skyldes dette diskrepanser i dosering og applikasjonsvei, i tillegg til at de stoffer som har vært brukt, ofte ikke har vært presist nok karakterisert kjemisk. Det er for eksempel ikke nok å henvise til at et stoff er et beta-1,3-glukan. Man må kjenne molekylstrukturen for å kunne si noe om virkning, fordi det er en forutsetning for effektiv makrofagaktiverende og biologisk virkning av et beta-1,3-glukan at molekylet har forgreninger i 6-posisjon på beta-1,3-glukankjeden. I tillegg varierer virkningsgraden av et beta-1,3-glukan med hyppighet og lengde på slike sidegrener.

En annen grunn til skepsis kan være at forskere som er vant med tenkningen fra spesifikk immunologi, simpelthen ikke har hatt tro på, eller har oversett, betydningen av de urgamle, bredspektrede non-spesifikke forsvarssystemer. En forandring er inntruffet i de siste år, etter klarleggingen av strengt definerte molekylære mekanismer som ligger til grunn for virkningene (4, 22–24).

Toll-reseptorer

Man har til nå funnet i alt ni såkalte «Toll-like receptors» (TLR) (4). Disse reseptorene formidler den aktiverende effekten av henholdsvis lipopolysakkarider (TLR 4) og beta-1,3-glukaner (TLR 2 og/eller 6). Man kjenner bare delvis det intracellulære signalapparatet som er knyttet til disse reseptorene, likeså reguleringen av deres funksjon. Men signalene som dannes er forskjellige, avhengig av hvilken reseptor som er involvert; lipopolysakkarider gir andre signaler enn beta-1,3-glukan. Man må også regne med at de ni Toll-reseptorene som til nå er identifisert, ikke representerer siste fase i saken, men at funnene er begynnelsen på en omfattende molekylær forståelse av makrofagstimulering og dermed av en vesentlig del av den naturlige, medfødte immunitet. Det er også funnet andre reseptorer for beta-1,3-glukaner (25). Hvordan disse forholder seg molekylært til Toll-reseptorene er ikke klart. Det er nylig rapportert at Toll-reseptor nummer 9 ser ut til å være en generell reseptor i pattedyrceller for bakterielt DNA (26), en mekanisme som gjør det mulig for pattedyrceller å gjenkjenne og reagere på bakteriell-DNA, i motsetning til eget DNA.

Det spesifikke immunsystem

Kroppens tredje forsvarslinje er det spesifikke immunsystem, knyttet til lymfocyttenes funksjon. Lymfocyttsystemet er karakterisert av ekstrem spesifisitet og hukommelse. Vaksinasjon gir svært effektiv beskyttelse mot akkurat den spesielle mikroben, men ikke mot andre. Hukommelsen, det vil si varigheten av effekten, kan være årevis eller livslang.

Aktivering av det spesifikke immunsys-

tem har kraftig virkning og studiene av dette systemet har gitt mange verdifulle impulser også til andre forskningsfelter enn selve immunologien. Det er derfor lett å overse at det non-spesifikke infeksjonsforsvar knyttet til epitel og mesenkymalt vev har vesentlig større betydning enn det spesifikke immunsystemet i biologien generelt og i vårt daglige forsvar mot infeksjon.

Det mesenkymale system og lymfocyttsystemet samarbeider ved at celler i det mesenkymale system som oftest må presentere antigener til lymfocytene for å få en effektiv immunisering. I den fremtidige utvikling av vaksiner synes det derfor å være riktig strategi å prøve å etterlikne den naturlige infeksjonsprosessen ved å aktivere TLR-systemet i det mesenkymale vev ved hjelp av naturens egne «faresignaler» (patogenassosierte molekylløstoffer). På den måten søker man å oppnå en mer naturlig og effektiv adjuvansvirkning enn med dagens injeksjonsvaksiner.

Non-spesifikt forsvar og alvorlig infeksjon

Det foregår en viktig diskusjon om kampen mot alvorlige infeksjoner og strategien for utvikling av ny antiinfeksjonsbehandling. Som et innspill til denne diskusjon har vi pekt på muligheten som ligger i å stimulere kroppens egne non-spesifikke forsvarssystemer på en måte som tilsvarer tidlige trinn i det naturlig infeksjonsforløp i slimhinner og mesenkymalt vev. Erfaringer med dyr er gode. Det gjelder å finne måter å stimulere produksjon av antimikrobielle peptider og vevsmakrofagenes mikrobedrap og produksjon av signalsubstanser. Særlig når det gjelder det siste; i form av fokusert lokal aktivering av makrofager med immunstimulatorer, for eksempel beta-1,3-glukaner, kan praktisk anvendelse i humanmedisinen være like om hjørnet.

Biotech Pharmacon ASA er produsent av ulike beta-1,3/1,6-glukanprodukter. Professor Rolf Seljelid er knyttet til selskapet som konsulent. Jan Raa (tidligere professor ved Universitetet i Tromsø) er nå fagdirektør i samme selskap.

Litteratur

1. Vorland L. Naturlig forekommende antimikrobielle peptider – lovende nye antibiotika eller ris til egen bak? *Tidsskr Nor Lægeforen* 2001; 121: 3191–6.
2. Ganz T, Lehrer RI. Antimicrobial peptides in innate immunity. I: Karl Lohner, red. *Development of novel antimicrobial agents: emerging strategies*. Norfolk: Horizon Scientific Press, 2001: 139–47.
3. Hancock REW, Scott MG. The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8856–61.
4. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2001; 406: 782–7.
5. Rook GAW, Stanford JL. Give us this day our daily germs. *Immunol Today* 1998; 19: 113–6.
6. Seljelid R, Rasmussen LT, Larm O, Hoffmann J. The protective effect of beta-1,3-D-glucan derivatized plastic beads against *Escherichia coli* infection in mice. *Scand J Immunol* 1987; 25: 55–60.

7. Kaneko Y, Chihara G. Potentiation of host resistance against microbial infections by lentinan and its related polysaccharides. I: Friedman H, Klein TW, Yamaguchi H, red. *Microbial infections: role of biological response modifiers*. New York: Plenum Press, 1992: 201–15.
8. Maeda YY, Yonekawa H, Chihara G. Application of lentinan as cytokine inducer and host defence potentiator in immunotherapy of infectious diseases. I: Masihi N, red. *Immunotherapy of infections*. New York: Marcel Dekker, 1994: 261–79.
9. Williams DL, Mueller A, Browder W. Glucan-based macrophage stimulators: a review of their anti-infective potential. *Clin Immunotherapy* 1998; 5: 392–9.
10. Seljelid R, Gao Q, Berge A, Ugelstad J. Biological effects of the immunomodulator beta-1,3-D-polyglucose are strongly potentiated by conjugation to biodegradable microbeads. *Scand J Immunol* 1997; 45: 683–7.
11. Williams DL, Mueller A, Browder W. Preclinical and clinical evaluation of carbohydrate immunopharmaceuticals in the prevention of sepsis and septic sequelae. *Journal of Endotoxin Research* 1995; 2: 203–8.
12. Vereschagin EI, Lambalgen AAV, Dushkin MI, Schwartz YS, Polyakov L, Heemskerck A et al. Soluble glucan protects against endotoxin shock in the rat: the role of the scavenger receptor. *Shock* 1998; 9: 193–8.
13. Rylander R, Holt PG. (1–3)-beta-D-Glucan and endotoxin modulate immune response to inhaled antigen. *Mediators of Inflammation* 1998; 7: 105–10.
14. Soltys J, Quinn MT. Modulation of endotoxin- and enterotoxin-induced cytokine release by *in vivo* treatment with beta-(1,6)-branched beta-(1,3)-glucan. *Infect Immun* 1999; 67: 244–52.
15. Portera CA, Love EJ, Memore L, Zhang L, Müller A, Browder W et al. Effect of macrophage stimulation on collagen biosynthesis in the healing wound. *Am Surg* 1997; 63: 125–31.
16. Seljelid R. Tumor regression after treatment with aminated beta-1,3-D-polyglucose is initiated by circulatory failure. *Scand J Immunol* 1989; 29: 181–92.
17. Sveinbjörnsson B, Rushfeldt R, Seljelid R, Smedsrød B. Inhibition of establishment and growth of mouse liver metastases after treatment with interferon gamma and beta-1,3-D-glucan. *Hepatology* 1998; 27: 1241–8.
18. Jong SC, Birmingham JM. Medicinal and therapeutic value of the Shiitake mushroom. *Adv Appl Microbiol* 1993; 39: 153–84.
19. Robertsen B, Rørstad G, Engstad R, Raa J. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Journal of Fish Diseases* 1990; 13: 391–400.
20. Dritz SS, Shi J, Kielian TL, Goodband RD, Nelssen JL, Tokach MD. Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *J Anim Sci* 1995; 73: 3341–50.
21. Nagler-Anderson C. Man the barrier! Strategic defences in the intestinal mucosa. *Nat Rev Immunol* 2001; 1: 59–67.
22. Levy JA. The importance of the innate immune system in controlling HIV infection and disease. *Trends Immunol* 2001; 22: 312–6.
23. Gura T. Innate immunity. Ancient system gets new respect. *Science* 2001; 291: 2068–71.
24. Kimbrell DA, Beutler B. The evolution and genetics of innate immunity. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 256–67.
25. Willment JA, Gordon S, Brown GD. Characterization of the human Beta-glucan receptor and its alternatively spliced isoform. *J Biol Chem* 2001; 276: 43818–23.
26. Medzhitov R. CpG-DNA: a security code for host defense. *Nature Immunol* 2001; 2: 15–6.