Galectins as Molecules of Danger Signal, which could Evoke an Immune Response to Infection

ガレクチン—感染時に免疫反応を誘起する“Danger Signal”を送ることができるレクチン

Sato, Sachiko

Glycobiology Laboratory, Centre de Recherche en Infectiologie du CHUL,
2705 boul. Laurier, Ste-Foy, Québec, Canada, G1V 4G2
FAX: 418-654-2715, E-mail: Sachiko.Sato@crchul.ulaval.ca

Key Words : cytokine, danger signal, galectin, infectious disease, innate immunity

Abstract

Galectins are members of a family of proteins defined by their conserved peptide sequence elements, which are crucial for their affinities to β -galactosides. Unlike other lectins, galectins are cytosolic proteins but can be actively secreted from inflammatory macrophages and can also be passively released when cells expressing galectins are damaged. In recent years, numbers of papers have demonstrated that galectins can act as immunomodulators or proinflammatory factors, implying their roles in immunity against infections. In the initial stage of infection, innate immunity must recognize invasive infections and initiate a defence system efficiently to clear the infection without the aid of acquired immunity. Until recently, discrimination between self and nonself by innate immunity has been considered as the most important element, which can trigger immunity against infections. A novel model, called ‘the Danger model’, has been proposed recently and has since gained much attention and support as the initial recognition mechanism for infection. In the Danger model, innate immunity is more concerned with damage induced by invading pathogens than with the ‘foreignness’ of invading pathogen, immunity is then called into action by alarm signals (danger signals) from injured cells. As galectins can be considered as a new type of proinflammatory factors, secretion and release of which is closely associated with the timing in which the immune system is required to send ‘danger signals’, in this review, the potential roles of galectins as molecules of danger signals will be discussed.

要 約

ガレクチンは、 β -ガラクトシドに親和性のある遺伝的に保存されたペプチド配列を分子内に有することで定義される一連のタンパク質である。ガレクチンは他のレクチンとは異なり、通常は細胞質に存在している。細胞質タンパク質であるにも関わらず、ガレクチンは炎症性マクロファージによって能動的に分泌、もしくは損傷を受けたガレクチン発現細胞から受動的に放出される。近年の研究からガレクチンが免疫調節活性や炎症誘発活性を有することが示唆されており、ガレクチンが感染時の免疫反応において重要な働きを担っていることが推察される。感染初期においては、先天性免疫は侵入した病原体を獲得免疫の助けなしに感知し、その病原体を除くために防御機構を始動させなければならない。病原体に対する防御を始動するためには、先天性免疫によって自己と非自己を区別して認識することが最も重要であると近年まで考えられていた。この説に対し“Danger signal”説が最近提唱され、感染の初期認識を行う機構として注目と支持を集めている。“Danger signal”説によれば、先天性免疫は、侵入する病原体が非自己であることよりもむしろ侵入する病原体によって引き起こされた損傷を認識する。そして損傷した細胞からのアラームシグナル(“Danger signal”)によって防御を開始する。ガレクチンは免疫系が“Danger signal”を送るべきタイミングに付随して分泌、または放出されるような新しい型の炎症誘発因子と考えられるため、本総説では“Danger signal”分子としてのガレクチンの役割について仮説を提唱したいと思う。

A. The Danger Model and Cytoplasmic Galectins

Our immune system is composed of innate immunity and acquired immunity, which are responsible for the protection against pathogen invasion into our body. Thus, the immune defense system is initiated when the immunity recognizes such invasion. What initiates our immunity system? Recent advances

A. “Danger signal”説と細胞質に存在するガレクチン

病原体の侵入から我々の体を防御する免疫機構は先天性免疫と獲得免疫からなる。病原体の体内への侵入を感知した時に免疫防御機構が作動するが、我々の免疫系はどのようにして作動するのだろうか。最近の免疫学の進歩から2つのモデルが提

in immunology have resulted in the development of two models; one model based on the self-nonsel self discrimination (1) and the Danger model (2). In the concept of self-nonsel self model of immunity (3), immunity is initiated when lymphocytes recognize the invasion of a 'nonsel self' entity such as a pathogen with the aid of antigen presenting cells. The response can also be initiated by the innate immunity system, in which the nonsel self entity is recognized by phagocytic leukocytes (macrophages, dendritic cells and possibly neutrophils) through Toll-like receptors, and humoral molecules such as complement molecules and collectins. Collectins are C-type lectins, which can distinguish between the glycans that decorate self glycoproteins and the glycans expressed on the surface of pathogens (4). In contrast to the classical self-nonsel self model, the Danger model, elaborated by Matzinger in 1994 (2), proposes that our immune system is more concerned with the damage and the destruction caused by the entity—in the case of infection, pathogen—than the foreignness of the invading entity (5,6). Thus, the crucial element in this Danger model is cell destruction, which then triggers the evocation of a cascade of immune responses, including recruitment of leukocytes to the affected sites. The release of intracellular molecules from the damaged cells is one of the results of cell destruction and there is a growing list of such intracellular molecules which can potentially initiate immune responses, including DNA (7), RNA (5), cytoplasmic heat shock proteins (8), hem (9) and thioredoxin (10). Notably, recent sets of data indicate that various lectins that are present in the cytoplasm can also trigger such immune responses (11–13).

Galectins are β -galactoside binding lectins that are found in the cytoplasm of various cells, including phagocytic leukocytes, endothelial cells and thymic epithelial cells (14–19). Although galectins are not sorted into the classical secretory pathway, it has been well established that galectins are released from cells. As discussed below, galectin release is often regulated in a differentiation or activation-dependent manner (20). Moreover, the cytoplasmic location (thus free from the majority of galectin's oligosaccharide ligands) serves as a unique reservoir of galectin, which can release the lectins when cells are damaged by infections. As recent evidence indicates that galectins are potential immunomodulators in various immune responses, in this review I would like to try to shed light on and discuss the roles of galectins as Danger signal molecules, which could be

唱されている。1つは自己と非自己の認識を要とするモデルであり(1)、もう1つは“Danger signal”説と呼ばれるモデルである(2)。自己—非自己認識モデル(3)では、リンパ球が抗原提示細胞の介助のもとで病原体などの非自己物質の侵入を認識した時に免疫機構が作動するとされている。この応答は先天性免疫機構のみによっても誘起される。この場合、非自己物質は、Toll-like receptor を介して、あるいは補体やコレクチンなどの体液性の分子を介して貪食細胞（マクロファージ、樹状細胞、好中球）に認識される。コレクチンはC型レクチンであり、我々の自己細胞表面の糖鎖と病原体上に表現されている糖鎖を見分けることができる(4)。古典的な自己—非自己モデルとは対照的に、1994年に Matzinger により提唱された“Dangerモデル”によれば、我々の免疫機構は侵入したものが非自己であるということよりも、むしろ感染によって引き起こされた組織の損傷または破壊に対して応答する(2)。したがって、“Dangerモデル”における決定的な要素は細胞の破壊であり、これが白血球の感染巣への遊走などの免疫反応カスケードを始動させる。細胞破壊の結果として傷害された細胞から細胞内分子が放出されるが、細胞内分子でこのように免疫応答を作動させ得るようなものが多数報告されている(5,6)。DNA(7)やRNA(5)、熱ショックタンパク質(8)、ヘム(9)、チオレドキシン(10)などである。興味深いことであるが、最近の一連のデータから細胞内に存在する多様なレクチンも同様に免疫応答を誘起することができることが示されている(11–13)。

ガレクチンは、貪食白血球や血管内皮細胞、胸腺上皮細胞などの細胞内にある β -ガラクトシド結合タンパク質である(14–19)。ガレクチンは通常の分泌タンパク質のように細胞内の分泌経路に入らないにもかかわらず、細胞外に放出されることがわかっている。以下で述べるが、ガレクチンの細胞外への分泌は分化あるいは活性化状態に依存して制御されている(20)。さらに、ガレクチンが細胞質に存在する（したがって、細胞内にあるのは複合糖鎖を含むガレクチンのリガンドから隔離されている）ので、この細胞質はガレクチンの貯蔵庫となる。感染などで細胞が損傷を受けた時にはガレクチンがこの貯蔵庫から放出されるであろう。最近の研究ではガレクチンが種々の免疫反応においてその免疫調節因子となる可能性が示されているため、本総説では、ガレクチンが感染時に細胞外に分泌され免疫

¹ Recent work reveals that intracellular galectin-3 can act as an anti-apoptotic protein, possibly through a mechanism involving the prevention of cytochrome C release from mitochondria (21). In galectin-3 knock out mice, it appears that galectin-3 deficiency in macrophages results in increased tendency to apoptosis (22). In contrast to macrophages, Colnot suggests that galectin-3 does not participate actively in the regulation of apoptosis of granulocytes (23). Thus, roles of galectin-3 as antiapoptotic protein may vary depending on the cell types, but such intracellular roles should also contribute to the regulation of immunity.

¹最近の研究から、細胞質内のガレクチン-3は抗アポトーシスタンパク質として機能することがわかっている。これはおそらくミトコンドリアからのシトクロムCの放出を阻害することによるものである(21)。ガレクチン-3欠損マウスを用いた実験では、マクロファージにおけるガレクチン-3の欠損はアポトーシスの頻度を高める(22)。これに対しColnotはガレクチン-3は好中球のアポトーシス調節には積極的に関与していないことを示唆している(23)。ガレクチン-3の抗アポトーシス活性は細胞の種類により異なるようだが、このような細胞内での役割は免疫機構の調節に寄与するものである。

evocative of an immune response to infection. Thus, some of galectins' extracellular biological functions related to immunity will be reviewed but I will not be able to cover the potential intracellular roles of galectins in the immune system¹ or extracellular roles of galectins in non-immune systems. Readers would be recommended to look at the recent reviews on galectins on those functions (14–19).

B. Structures of Galectins

Galectins belong to a β -galactoside binding protein family defined by the conserved peptide sequence elements involved in the carbohydrate binding activity of those lectins (24). Up to fourteen galectins (galectin-1–14) have been found in mammals so far as well as many in other phyla including birds, amphibians, fish, nematodes, *Drosophila*, sponges and fungi (14–19,25–28). While all galectins share a core sequence (carbohydrate recognition domain CRD) consisting of ~130 amino acids, galectins exhibit interesting structural differences in the presentation of the CRD (Fig. 1). While some galectins contain one CRD (prototype), and exist as monomers (galectin-5, 7, 10) or dimers (galectin-1, 2, 11, 13, 14), other galectins, such as galectin-4, 6, 8, 9, 12 contain two CRD connected by a short linker region (tandem repeat) (29). In contrast, galectin-3 uniquely occurs as a chimeric protein with one CRD and an additional non-CRD domain, which is involved in the oligomerization of galectin-3 (30–32).

Regardless of the presentation of the CRD in the galectin molecule, galectins can cross-link their ligands (Fig. 2) because the majority of galectins are intrinsically divalent (with the exception of galectin-3, 5, 7, and 10). Galectin-3, which exists as a monomer, also mediates cross-linking of its ligands through its oligomerization. Upon binding to its glycoconjugate ligands at the cell surface, the conformation of galectin-3 appears to be altered in a concentration and time-dependent manner, and galectin-3 begins to oligomerize through the self-assembly of the *N*-terminal regulatory domain of the galectin-3 molecules (31,32). It has been suggested that *C*-terminal domain of galectin-3 is also implicated in the oligomerization (33). The

反応を誘起する“Danger signal”を送ることのできるレクチンである、という観点から考察を行ってみたい。したがって、免疫系における細胞内ガレクチンの役割、及び、免疫系以外におけるガレクチンの細胞外での役割については本総説では残念ながら紹介できない。これらの機能については最近のガレクチンの総説を参照されたい(14–19)。

B. ガレクチンの構造

ガレクチンは、糖鎖認識活性に必要な保存されたペプチド配列を有することで定義される β -ガラクトシド結合タンパク質のファミリーの一員である(24)。哺乳動物においては現時点で14種のガレクチンが見い出されており、鳥、両生類、魚、線虫、ショウジョウバエ、海綿、カビといったその他の門においても存在が確認されている(14–19,25–28)。すべてのガレクチンは、約130アミノ酸からなる糖鎖認識ドメイン (carbohydrate recognition domain, CRD) を含むが、興味深いことに、CRDのガレクチン分子内における配置は異なっている(Fig. 1)。プロト型のガレクチンは1分子に1個のCRDを含み、単量体(ガレクチン-5、6、7)あるいは二量体(ガレクチン-1、2、11、13、14)として存在する。タンデムリピート型のガレクチンは2個のCRDが短いリンカーによりつながって存在する(29)。これらのガレクチンと異なり、ガレクチン-3はキメラ型であり、1分子に1個のCRDと、分子の多量体形成の鍵をにぎる非CRDドメインからなっている(30–32)。

分子内におけるCRDの配置の違いに関わらず、ガレクチンは細胞表面の糖タンパク質リガンドを架橋することができる(図2)。これは多くのガレクチンがもともと2価であることによる(ガレクチン-3、5、7、10は例外)。ガレクチン-3は通常単量体として存在するが、多量体化してリガンドを架橋することができる。細胞表面上の複合糖鎖リガンドに結合するとガレクチン-3は濃度および時間依存的にその立体構造を変化させるが、その結果、*N*末端の非CRD部位である調節ドメインを介してこれが多量体化し(31,32)、CRDを数個(主に2個)もつ分子を形成するということがその理由である。このガレクチン-3の多量体化にはC末端ドメインも関与していることが明らかになっている

Fig. 1. Galectin structures.

Fig. 2. Different cellular effects induced by galectin-mediated cross-link of galectin ligands on cell surfaces. Cross-linking of galectin ligands expressed on cells results in cell-cell adhesion (A) triggering signal transduction (B) or the formation of surface multivalent galectin lattice (C).

oligomerization results in the formation of a galectin-3 molecule which possesses multivalent CRDs. This dynamism between monomer and oligomer to regulate ‘lectin activity’ (activity to cross-link ligands) is a very unique feature of galectin-3, as the majority of galectins do not alter their multivalency.

Once they are released extracellularly, galectins could cross-link their surface glycoprotein ligands (Fig. 2). As discussed later, the cross-linking of galectin ligands induces various activities, including cell adhesion (Fig. 2A), signal transduction through receptor clustering (Fig. 2B) and the formation of multivalent galectin-glycoprotein lattices on cell surface, which could negatively regulate the movement of surface receptors (Fig. 2C) (16–19). Many of those reported functions of galectins are closely related to immunity, implying the roles played by galectins during infection. However, in order to cross-link surface ligands to exert their activities, galectins, the majority of which are found in the cytoplasm, have to be released extracellularly (20).

(33). 多量体化によりガレクチン-3分子は多価のCRDを有するようになる。大多数のガレクチンでは価数が変化することがないため、単量体型から多量体型に変化してレクチン活性（架橋型リガンドに対する結合活性）を動的に制御するのはガレクチン-3特有の性質である。

ガレクチンは細胞外に放出された後、細胞表面の糖タンパク質リガンドを架橋することができる(図2)。後で議論するが、ガレクチンリガンドの架橋により、細胞接着(図2A)、受容体の架橋によるクラスター形成を介したシグナル伝達(図2B)、細胞表面の受容体の側方拡散を抑制する細胞表面上の多価のガレクチン-糖タンパク質の格子の形成(図2C)といった種々の生物活性が誘導される(16–19)。これまでに報告されたガレクチンの活性の多くは免疫反応に密接に関わっており、感染過程におけるガレクチンの役割を示唆している。しかしながら、上記の活性を誘導するような細胞表面リガンドの架橋が生じるためには、細胞質内に存在するガレクチンが細胞外に放出されることが必要である(20)。

C. Extracellular Release of Galectins; Passive Release and Active Secretion

Since it is known that galectins are found in the extracellular space and at the cell surface, galectin molecules have to be exported from those cells (20). The majority of the secretory proteins contain either signal sequences or potential transmembrane domains, which are essential in order for them to be sorted to the secretory pathway for secretion. However, most members of the galectin family² do not contain any of those sequences. Thus, galectin molecules are synthesized on free ribosomes and first accumulate in the cytosol (20,35,36). There could be at least two ways for cytosolic molecules to be released; release caused by cell necrosis (passive release) and active secretion from live cells through 'leaderless' (alternative) secretory pathway (see below for details), as it is proposed in the case of some cytoplasmic cytokines or cytokine-like molecules proteins, such as interleukin (IL)-1 (37–39), fibroblast growth factors (FGF) (40–42), thioredoxin (43) and possibly some of the S100 protein family (44).

In chronic or severe acute infections, various cells could be damaged by exudated leukocytes or infectious agents, resulting in the release of cellular contents. Thus, in some cases of severe infections, cell necrosis could result in passive release of intracellular components such as galectins. Interestingly, release of some cytoplasmic molecules, such as thioredoxin, IL-1, heat shock proteins (HSPs) and calreticulin are recognized by immunity as 'danger signals' and those molecules can trigger various immune responses (8,10,45). As galectins also play roles as immunomodulators (see details below), it is likely that some of the galectin molecules can be released through necrosis at the infected sites by this passive mechanism and those extracellular galectin molecules could also serve as 'danger signals'.

Historically speaking, it had been casually postulated by the majority of the immunology community, that cytosolic cytokines, such as IL-1 and fibroblast growth factors are released by this passive mechanism, which is triggered by cell necrosis, but not by active secretion. However, various lines of investigation over the secretion mechanism of IL-1 and FGF have now established the solid bases that cells are able to actively secrete some cytosolic cytokines through the 'leaderless' secretory pathway, without compromising membrane integrity (20).

Active secretion of galectins (galectin-1, 3 and 9) from live cells has also been well demonstrated by various reports (20,46). It appears that galectin-3 utilizes, at least in part, the same 'leaderless' secretory pathways that is used by FGF and IL-1 (20). The secretion of galectins is regulated in a differentiation-dependent manner (36, 47–49). For example, we, as well as others, have demonstrated that inflammatory macrophages

C. ガレクチンの細胞外放出—受動的放出と能動的分泌

ガレクチンは細胞外部分や細胞表面にも認められるため、この分子はガレクチン産生細胞から細胞外へ運び出される必要がある(20)。大多数の分泌タンパク質にはシグナルペプチドもしくは膜貫通ドメインがあり、分子が分泌経路へソートされるためにこれらの存在が必要である。しかしながら、ガレクチンファミリーのほとんどはこのような配列を含まない²。したがって、ガレクチン分子は遊離型リボソームで合成されてまず細胞質に蓄積される(20,35,36)。それにもかかわらず、ガレクチンは細胞外部分や細胞表面に存在しているので、通常の分泌経路を経ずに細胞から放出されているものと考えられている(20)。細胞質内の分子が放出される経路として少なくとも2通りのものがあり得る。細胞のネクロシスの結果として起きる受動的な放出、及び“リーダレス”（オルタナティブ）分泌経路を介する能動的な分泌である（詳細は以下に記す）。この“リーダレス”分泌経路については、インターロイキン-1 (IL-1, 37–39)、繊維芽細胞増殖因子(FGF, 40–42)、チオレドキシン(43)、S100プロテインファミリーの一部(44)のような細胞質内サイトカインやサイトカイン様分子の分泌にも関与していることが指摘されている。

慢性感染症や重篤な急性感染症の病巣では血管から浸出した白血球や感染菌などにより種々の細胞が損傷を受け、ここから細胞内成分が放出される。重篤な感染時には細胞のネクロシスによってガレクチンなどの細胞内成分が受動的に放出されることが考えられる。興味深いことに、細胞外に放出される細胞質内タンパク質、例えばチオレドキシン、熱ショックタンパク質、カルレチキュリンは免疫機構により“Danger signal”として認識され、種々の免疫反応を誘発する(8,10,45)。ガレクチンも免疫調節因子として作用する（以下で述べる）ため、ガレクチン分子の一部は感染部位のネクロシスによって受動的に放出され、細胞外で同様に“Danger signal”の一つになるものと考えられる。

歴史的には、免疫学者の大多数は IL-1 や FGF などの細胞質内サイトカインが能動的な分泌ではなく、ネクロシスで始動する受動的な機構で放出されると考えていた。しかし、IL-1 や FGF の分泌機構についての研究から、これらの細胞質内サイトカインは“リーダレス”分泌経路を介して、細胞膜の損傷を伴わずに能動的に分泌されることが明らかにされている(20)。

ガレクチン（ガレクチン-1、3、9）が生細胞から能動的に分泌されることは多数の研究から示されている(20,46)。ガレクチン-3 は FGF や IL-1 で使用されるのと同じ“リーダレス”分泌経路の少なくとも一部を利用していた(20)。ガレクチンの分泌は分化依存的に調節されている(36,47–49)。例えば、腹腔内へのチオグリコレート注入により腹腔に浸潤する炎症性マクロファージは、全細胞におけるガレクチン-3 の約 40% を細胞外に

² A recent report suggesting that alternative spliced forms of galectin-3 which contains transmembrane domain have been detected in chicken osteoblast-like cells and intestine (34).

² 最近の報告によると、トリの骨芽様細胞及び腸において膜貫通ドメインを有するガレクチン-3 のオルタナティブスプライシング体の存在が示唆されている(34)。

that are exudated to peritoneal cavities by thioglycollate secrete ~40% of their total galectin-3, while peritoneal resident macrophages, monocytes and alveolar macrophages are unable to secrete galectin-3 actively and retain it intracellularly (48,50,51). From the point of view that galectin-3 acts as a potential molecule to send 'danger signals', the differentiation-specific secretion of galectin-3 from macrophages is intriguing. When infectious pathogens or some stimulants are introduced in the body, the first population of leukocytes to be recruited at the affected sites are not inflammatory macrophages but neutrophils, which are able to control the majority of mild infections such as *E. coli* infections. Interestingly, it appears that neutrophils³ cannot secrete galectin-3 through the leaderless secretory pathway leaving very little extracellular galectin-3 available (51). In contrast to neutrophils, "activated" inflammatory macrophages, which can secrete galectin-3 (48,52,53), generally emigrate to the affected sites when the infections are persistent and have not been controlled by the exudated neutrophils (23,54–56). Thus, the emigration of inflammatory macrophages itself is one of the situations where our primary defense system is to send the 'danger signals' to the general immunity for further protection. Since galectin-3 is actively secreted from inflammatory macrophages but not from resident peritoneal macrophages, such strict control of galectin's secretion could also be a clear indication that galectins are molecules of 'danger signals' for the innate immunity.

D. Potential Galectins' Ligands Involved in Immune Responses

Once galectins are secreted or released extracellularly, galectins bind to their ligands, which are expressed on the cell surface (Fig. 2). While galectins were categorized as β -galactoside binding lectin, the majority of galectins, with the exception of galectin-10 (57), show a preference for lactose/*N*-acetyllactosamine (Gal β 1-3(4)Glc(NAc)) structures which are ubiquitously found in mammalian cells (16–19). Studies on the protein structures of galectins have also revealed that the carbohydrate binding pockets of the CRD differ among galectins; for example, galectin-3 appears to have an extended binding pocket compared to galectin-1 (58–60). Such a structural difference could be related to the different carbohydrate binding specificity observed among galectins; extension at the non-reducing terminal lactosamine units with Gal α 1-3, GalNAc α 1-3, Fuc α 1-2 or Neu5Ac α 2-3 substituents enhances affinity to some galectins such as galectin-3 but has a lesser effect or reduces binding of others, such as galectin-1 (61–63). Hence, some of the surface glycoconjugate ligands could be recognized by various galectins, while others could be relatively specific to a particular galectin (14). Various surface ligands of galectins that are implicated in

分泌する。これに対し、腹腔内常在性マクロファージ、単球、肺胞マクロファージは、ガレクチン-3を細胞質内に貯えたままでこれを能動的に分泌することはない(48,50,51)。ガレクチン-3が“Danger signal”を送ることのできるレクチンであるという観点から見ると、マクロファージが分化特異的にガレクチン-3を分泌することは非常に興味深い。感染源である細菌や炎症性物質が体内に侵入した場合、最初に感染(炎症)巣に浸潤する白血球はマクロファージではなく好中球である。多くの軽度の感染(例えば、一部の大腸菌や緑膿菌による急性感染)の場合は、初期に浸潤した好中球のみで感染を抑えることができる(通常は炎症性マクロファージの組織浸潤は起きない)。興味深いことに、好中球は“リーダレス”分泌経路を利用してガレクチン-3を分泌することができないため、細胞外で作用し得るガレクチン-3は極めてわずかなになる(51)。好中球とは対照的に、ガレクチン-3を分泌することのできる活性化炎症性マクロファージ(48,52,53)は、感染が長引いて好中球だけでは感染を抑えられない場合に感染巣に浸潤してくる(23,54–46)。したがって、感染巣へ炎症性マクロファージが浸潤してくる状況とは、我々の一次防御機構がいわゆる免疫機構に防御への参加を要請するために“Danger signal”を送っている状況の一例なのである。ガレクチン-3は炎症性マクロファージからは能動的に分泌されるが腹腔常在性マクロファージからは分泌されない。このような厳密なガレクチンの分泌調節は、ガレクチンが先天性免疫に対して“Danger signal”を送る分子であることを明確に示しているのかもしれない。

D. 免疫反応に関与するガレクチンのリガンド

ガレクチンが細胞外に放出されると、ガレクチンは細胞表面のリガンドに結合する(Fig. 2)。ガレクチンは β -ガラクトシドに結合するレクチンであるが、ガレクチン-10(57)を除くほとんどのガレクチンは、哺乳類細胞に一般的に存在するラクトースやラクトサミン(Gal β 1-3(4)Glc(NAc))構造に強い親和性を示す(16–19)。ガレクチンのタンパク質構造研究により、CRDの糖鎖の結合するポケットの構造がガレクチンにより異なることが明らかになっている。例えば、ガレクチン-3はガレクチン-1に比べて糖鎖の結合するポケットがやや拡張していることが判明している(58–60)。このポケットの構造的相違が種々のガレクチンにおける糖鎖結合特異性の相違に関連していると考えられる。非還元末端側のラクトサミンにGal α 1-3, GalNAc α 1-3, Fuc α 1-2やNeu5Ac α 2-3といった置換が入ると、いくつかのガレクチン(例えばガレクチン-3)への親和性は増すが、他のガレクチンに対してはその親和性が変化しないか、もしくは減少する(例えば、ガレクチン-1)(61–63)。したがって、ラクトサミンを含んでいるリガンドであっても、複数のガレクチンにより認識されるリガンドもあれば特定のガレクチン特異的に認識されるリガンドもある(14)。免疫反応に関与していると考えられているガレ

³ Human neutrophils express galectin-3 intracellularly while mouse neutrophils do not appear to contain a significant amount of galectin-3.

³ ヒト好中球は細胞質にガレクチン-3を発現するが、マウス好中球は有意な量のガレクチン-3を含有していない。

the regulation of immune responses include CD2, 3 (64), 7 (65), 11b (66), 43, 45 (65), lysosomal associated membrane glycoproteins (LAMP) 1, 2 (67,68), Thy-1 (69) and laminin (70) in the case of galectin-1. Galectin-3 can bind to CD11b (71), CD32 (FcγRII) (72), CD49a/CD29 (73), CD66 (74,75), CD98 (71), LAMP (71,74,76), laminin (62,77–79), and fetal tissue-derived but not plasma fibronectin (62).

E. Immunomodulative Activity of Galectins

Galectins either autocrinely bind back to the cells or paracrinely bind to the adjacent cells once released or secreted. The number of reports on galectins- inducing various activities related to immune responses has overwhelmingly increased in the last decade and it has begun to be difficult to decipher the biological significance of all those activities (16–19). Some clues might rest in the fact that galectins are soluble cytosolic proteins, the extracellular release of which is controlled in various ways, as discussed above. Thus when and where galectins are released or secreted is important in order for them to exert their activities. Another clue would be the fact that soluble galectins could cross-link the surface ligands in at least three different ways (Fig. 2A, B and C), although those ways are not mutually exclusive. Although important, it remains to be established how the cross-linking of ligands on cell surface by galectins preferentially induces one way over the others. In each case, the way galectins mediate the cross-linking appears to determine how the cells respond to extracellular galectin.

F. Cell Adhesion

One of the initial innate immune responses to infection is leukocyte recruitment to the sites of infection—this process requires strict coordination of cell-cell adhesion. The recruited leukocytes are required to engulf the pathogenic entity by phagocytosis, and release various bactericidal factors, to control the infection, and cytokines, which regulate the subsequent response towards the infection. Leukocyte recruitment to the infected/inflammatory sites involves their movement from the bloodstream to the infected sites through an extravasation process, called emigration or diapedesis. Cell adhesion molecules play a critical role in this recruitment process by mediating the interaction of leukocytes with the vascular endothelial cell barrier separating them from the infected tissue (80–82). As shown in Fig. 3, tight adhesion of leukocytes to the vascular endothelium is required prior to actual diapedesis in order to withstand the shear stress imparted by blood flow (80–82).

Recent reports have demonstrated that galectins promote leukocyte adhesion to extracellular matrices, dendritic cells and the vascular endothelium (16–19,51,83). Galectin-1 mediates the adhesion of splenocytes to the extracellular matrix protein,

クチン-1のリガンドとしては、CD2, CD3(64), CD7(65), CD11b (66), CD43, CD45(65), lysosomal associated membrane glycoproteins (LAMP)-1, -2(67,68), Thy-1(69) やラミニン(70) が挙げられている。ガレクチン-3のリガンドとしては、CD11b(71), CD32 (FcγRII)(72), CD49a/CD29(73), CD66(74,75), CD98(71), LAMP (71,74,76), ラミニン(62,77–79)そして胎児組織由来のフィブロネクチン(62)が挙げられている。

E. ガレクチンの免疫調節活性

細胞外に分泌されたガレクチンは、分泌した細胞にオートクリンに結合するかまたはパラクリンに近傍の細胞に結合する。免疫反応においてガレクチンが誘導する様々な活性に関する報告の数は過去10年間で急増しており、これらすべての活性が生物学的にどのように免疫機構に組み入れられているかを解明することが難しくなり始めている(16–19)。謎解きの手がかりのひとつはガレクチンが可溶性の細胞質タンパク質であり、細胞外への放出が上記の様々な方法で制御されているという事実にあるのかもしれない。ガレクチンの活性発現にとっては、いつどこでガレクチンが分泌または放出されるかという点が重要である。他の手がかりとしては、可溶性のガレクチンは互いに排他的ではない少なくとも3通りの様式で細胞表面のリガンドを架橋するという事実が挙げられる(図2A, B, C)。細胞表面のリガンドがこの3通りのうちのどの様式が優勢になって架橋されるかということは重要な点であるが、まだ明らかになっていない。どの場合についても、ガレクチンが架橋を引き起こす様式は細胞外のガレクチンに対する細胞の反応を決定するものであるようだ。

F. 細胞接着

感染に対する初期の先天性免疫反応の一つに、感染巣への白血球の浸潤がある。この浸潤過程には細胞接着(細胞-細胞外マトリックス結合、及び細胞間結合)の厳密な調節が必要である。感染巣へリクルートされた白血球は、感染体を貪食し、また感染を調節するために種々の殺菌性因子やサイトカインを分泌する。この結果、感染に対して生じる応答を制御することができる。感染巣または炎症巣へ浸潤する際には、白血球は血管外遊出(emigration, diapedesis)過程を介して血流中から感染巣へ移動する。細胞接着因子は感染巣から血管を隔てている血管内皮細胞層のバリアと白血球との相互作用に介在することにより、浸潤過程において重要な役割を果たしている(80–82)。図3に示すが、血流による剪断ストレス(shear stress)に抵抗するため、白血球は血管外遊出に先立ち予め血管内皮細胞層に固く結合することが必要である(80–82)。

最近の研究により、ガレクチンが白血球の細胞外マトリックス、樹状細胞、および血管内皮細胞への接着に関与することが明らかにされている(16–19,51,83)。ガレクチン-1は脾臓由来細胞のラミニン(細胞外マトリックス)への接着(84)、Tリンパ

⁴ Julie Nieminen and Sachiko Sato; unpublished observation, manuscript in preparation

⁴ Julie Nieminen and Sachiko Sato; 未発表データ、投稿準備中

Fig. 3. Neutrophil emigration to infected lungs. Alveolar infection with pathogen induces neutrophil emigration. Infection with some pathogens, such as *E. coli* induces neutrophil emigration, which is mediated by β_2 -integrins and selectins, while neutrophil emigration induced by infection with other pathogens, such as *S. pneumoniae* is mediated in a manner independent of β_2 -integrins and selectins.

laminin (84), T lymphoblastoid cells to thymic epithelial cells (85) and neutrophils to the endothelium⁴. Galectin-3 can also promote the binding of L-selectin-triggered lymphocytes to dendritic cells (83) and the adhesion of neutrophils to laminin (86), and to the endothelium (51). Such galectin promotion of cell adhesion is induced in at least two ways: (i) direct cross-linking of the surface ligands expressed on the different cells (Fig. 2A) and (ii) the activation of classical cell adhesion molecules integrins through galectins' ligand clustering (Fig. 2B) (18). While data indicate that both mechanisms (Fig. 2A and B) participate to promote leukocyte adhesion, some reports have demonstrated that a significant proportion of galectin promotion of cell adhesion is mediated directly through cross-linking of the cells (51,86). As a matter of fact, galectin promotion of cell adhesion could be observed either at 4 °C, at which temperature cells could not transduce inside-out signal efficiently to activate integrins, or in the absence of cations, which are essential for the integrin activity (51,86). The series of reports employing in

芽球の胸腺上皮細胞への接着(85)、好中球の血管内皮細胞への接着⁴を仲介する。またガレクチン-3はL-セレクトリンで刺激したリンパ球の樹状細胞への結合(83)、好中球のラミニン(86)や、血管内皮細胞への結合(51)を仲介する。このようなガレクチンによる細胞接着は少なくとも2つの機構によって誘導される。(i)異なる細胞に発現するガレクチンの細胞表面リガンド同士を架橋する(図2A)、(ii)ガレクチンリガンドの凝集を介して典型的な細胞接着分子であるインテグリンが活性化(図2B)(18)。ガレクチンによる白血球の接着には上記の2つの機構が共に関与することが示されているが、いくつかの報告によれば、ガレクチンによる白血球の接着には細胞間のガレクチンによる直接の架橋が介在していることが示唆されている(51,86)。実際、ガレクチンによる細胞接着は細胞がインテグリンの活性化に必要なinside-outシグナルを伝達できない4 °Cにおいても、またインテグリンの活性に必須のカチオンが存在しない条件でも観察される(51,86)。いずれの機構を介するにしても、様々な *in vitro* の

vitro cell adhesion assay have demonstrated that galectin can promote the leukocyte adhesion process.

The pioneer work of Cohnheim in 1877 using intravital microscopy revealed a sequence in leukocyte emigration events (Fig. 3) (87). First leukocytes begin rolling by adhering to the vascular endothelium inside the blood vessel adjacent to the infection/inflammation site. They tether and form tight adhesion with the endothelium, and begin crawling until they reach the intracellular junction of the endothelium, where they insert their pseudopods in between the tightly apposed endothelial cells and “crawl” through—an action termed transendothelial migration. Transinterstitial migration follows as the leukocyte continues migrating through the connective tissues (interstitium). Finally, in transepithelial migration, the leukocyte completely exits by passing through the epithelium into the surrounding tissue where it can participate in the inflammatory response against infection. More than 100 years after the initial observations of leukocyte extravasation, we know that two cell adhesion molecules, selectins and integrins mediate leukocyte recruitment to the affected site in the case of general infected tissues (skin and peritoneal cavity) and acute lung inflammation (80–82,88–91). If those adhesion molecules that are stably integrated to the plasma membrane always play critical roles in leukocyte emigration, how can we implicate the unique soluble adhesion molecules, galectins in the paradigm of leukocyte emigration? If galectins can act as adhesion molecules, when and how is such mediation initiated during inflammation?

The series of studies using mice lacking classical neutrophil adhesion molecules, β_2 -integrins⁵ or selectins, and the observation of patients with leukocyte adhesion deficiency-1, who lack the expression of β_2 -integrins, have now demonstrated that in some infections and chronic inflammations, those classical adhesion molecules do not necessarily play critical roles in neutrophil emigration (92–97). For example, neutrophils are recruited to the lungs infected with *Streptococcal pneumoniae*⁶ in a β_2 -integrins and selectins independent manner (91–98). Since tight adhesion of neutrophils to the endothelium is essential prior to the emigration from bloodstream, other adhesion proteins are expected to be involved in the process. We have recently suggested that galectin-3 could act as a unique adhesion molecule in the recruitment of neutrophils in lungs infected by *S. pneumoniae* (51). Upon this infection, galectin-3 is released

系においてガレクチンが白血球の細胞接着の過程を促進することが示されている。

1877年にCohnheimは、生きた状態の生体の顕微鏡観察により白血球の血管遊出の過程を初めて明らかにした(Fig. 3, 87)。白血球は感染または炎症巣近傍の血管内腔でまず血管内皮細胞層に接着し、その上を転がる（ローリング）。移動速度の低下した白血球は、次に血管内皮細胞に密に接着して細胞間接着部位に到達するまで上皮細胞の上を移動した後、そこで強固に接着した細胞間に偽足をのばして血管内皮細胞層を通り抜ける(transendothelial migration)。血管外に出た白血球は血管内皮細胞層下の結合組織を移動し(transinterstitial migration)、最後に外部に面している上皮細胞層を通りぬける(transepithelial migration)ことにより感染または炎症巣にたどり着き、感染に対する炎症反応に参加する。白血球の浸潤が初めて観察されてから100年以上経過した現在、通常の感染巣（皮膚、腹腔）や急性の肺炎症巣への白血球の浸潤に2種類の細胞接着分子、セレクチンとインテグリンが介在していることを我々は知っている(80–82,88–91)。もし、構成的に形質膜に発現するこれらの接着分子が常に白血球の感染巣への浸潤に関わっているとしたならば、可溶性の接着分子として他に例を見ないこのガレクチンは浸潤過程にどのように関わるのであろうか？もしガレクチンが接着分子として機能するならば、炎症時のどの時期にどのように関与するのであろうか？

好中球の典型的な接着分子である β_2 -インテグリン⁵やセレクチンを欠損したマウスを用いた研究、また β_2 -インテグリンの発現が欠損している患者(leukocyte adhesion deficiency-1)の観察から、感染や慢性炎症によっては、典型的な好中球の接着分子が必ずしもその浸潤に重要な役割を果たしていない場合のあることが明らかになった(92–97)。例えば、肺炎球菌に感染した肺（肺炎球菌性肺炎⁶）への好中球の浸潤は、 β_2 -インテグリンやセレクチン非依存的であった(91–98)。血流からの好中球の遊出に先立ち、好中球が血管内皮細胞層へ強く接着することが必須である。したがって、血管外遊出の過程には何らかの接着因子が関与しているはずである。我々は肺炎球菌性肺炎を起こした肺への好中球の浸潤に、ガレクチン-3が接着分子として関与する可能性を示した(51)。ガレクチン-3はこのような感染時に肺胞マクロファージなどの肺胞組織から放出される。この放出され

⁵ β_2 -Integrins are the adhesion molecules, which expressed dominantly in peripheral blood neutrophils.

⁶ *S. pneumoniae* is responsible for the majority of community-acquired pneumonia cases, which account for 40,000 deaths yearly in USA. Despite the availability of numerous antibiotics, (which can in fact render the lungs quasi-sterile) the overall adult mortality rate from streptococcal (pneumococcal) pneumonia remains close to 30%. It is an exaggerated host immune response including neutrophil emigration against pulmonary pneumococcal infections that is blamed, in part, for the high mortality rate of pneumonia (108,109).

⁵ β_2 -インテグリンは接着分子である。末梢血好中球に優位に発現している。

⁶ アメリカにおいて年間約4万人にのぼる市中肺炎の多くは、肺炎球菌の肺感染によるものである。有効な抗生物質（実際に肺をほとんど殺菌することができる）が多数利用できる状況にありながら、北米における肺炎球菌性肺炎の致死率は30%近くである。肺炎球菌による感染に対して好中球の遊走を含む過剰な免疫反応が生じるが、これが高い致死率の原因のひとつであると推定されている(108,109)。

from alveolar tissues, including resident alveolar macrophages, and our data suggest that the galectin-3 participates as an adhesion molecule in the initial step of β_2 -integrin-independent neutrophil emigration. The regulation of galectin-3-dependent adhesion is apparently unique compared to the regulation of β_2 -integrin activity, which is regulated by the neutrophils inside-out signal induced by chemoattractants released and presented on the endothelium at the affected sites (80,82). Without alveolar infection with *S. pneumoniae*, galectin-3 is absent on the surface of neutrophils or endothelial cells, as they cannot secrete galectin-3. Once the *S. pneumoniae* infection is initiated in the lungs, preexisting lung macrophages and possibly other alveolar parenchymal cells secrete galectin-3, which binds immediately to neutrophils and endothelial cells (both express galectin-3 ligands) resulting in neutrophil adhesion.

β_2 -Integrin-independent neutrophil emigration is also observed in some peritonitis models and interestingly, the presence of inflammatory macrophages in the peritoneal cavity appears to be prerequisite for the induction of this β_2 -Integrin-independent pathway (99,100). As discussed above, such inflammatory peritoneal macrophages, but not resident peritoneal macrophages, actively secrete galectin-3 (48). Thus, it is possible that galectin-3 secreted from inflammatory macrophages plays a role as an adhesion molecule in β_2 -integrin-independent neutrophil emigration and it is the secretion of galectin-3 from differentiated macrophages that initiates neutrophil adhesion. We therefore propose that macrophage release of galectin-3 at the site of inflammation represents a crucial factor in the induction of β_2 -integrin-independent, galectin-3-dependent, neutrophil emigration (51).

Recently, galectin-3 null mutant mice were established (22,23). While the results obtained from two independent lines of galectin-3 null mice show some differences in their results, a line of galectin-3 null mice exhibit reduction in neutrophil emigration into the peritoneal cavity in the late stage of inflammation (4 days after induction). In contrast, neutrophil recruitment in the acute stage (1-3 days after induction) is not affected, suggesting a role for macrophage-secreted galectin-3 in neutrophil emigration (23). Characterization of galectin-3 null mice has not been extensively carried out yet. Therefore, it is not yet clear whether the reduced rate of peritoneal neutrophil emigration found in those mice is strictly related to the lack of galectin-3 or results from secondary systemic phenotypic alterations, which have now been evoked in some adhesion molecules knockout mice (93,95,101). However, Poirier's group has demonstrated that the robust reduction of neutrophil emigration into the inflamed peritoneal cavities is not the result of a role of galectin-3 in either neutrophil apoptosis or phagocytic uptake by macrophages (23). Thus, considering the reports mentioned above, which suggest that inflammatory macrophages are prerequisite for the induction of β_2 -integrin independent emigra-

たガレクチン-3が β_2 -インテグリン非依存性の好中球浸潤の初期過程において血管内皮細胞への接着分子として機能する可能性が示されている。 β_2 -インテグリンの場合、感染部位の内皮細胞から分泌、提示された走化性物質によって inside-out シグナルが入り、これによってインテグリンの活性調節がされる(80,82)が、ガレクチン-3 依存性の細胞接着の調節はこれとは明らかに異なるようである。感染のない状態では好中球や血管内皮細胞はガレクチン-3を分泌できないため、その細胞表面には存在しないことになる。肺炎球菌が肺に感染すると、肺常在マクロファージやおそらく他の肺実質細胞などからガレクチン-3が分泌され、これがすでにリガンドを発現している好中球や血管内皮細胞に直ちに結合することによって好中球の血管内皮細胞への接着が誘導されると考えられる。

β_2 -インテグリンに依存しない好中球の浸潤の例が腹膜炎で報告されている。興味深いことに、腹腔内に炎症性マクロファージが存在することは、 β_2 -インテグリン非依存的な好中球の浸潤を誘導するのに不可欠であった(99,100)。先に述べたように、腹腔の炎症性マクロファージは腹腔常在性マクロファージとは異なり、ガレクチン-3を活発に分泌している(48)。したがって、炎症性マクロファージから分泌されたガレクチン-3が β_2 -インテグリン非依存性の好中球の浸潤に関与する可能性が考えられる。この場合に好中球の接着を誘導するには、ガレクチン-3が分化したマクロファージから分泌されることが必要である。我々は、炎症巣におけるマクロファージのガレクチン-3分泌が β_2 -インテグリン非依存的・ガレクチン-3 依存的な好中球の血管外遊出の重要因子であると考えている(51)。

ガレクチン-3 欠損マウスが最近樹立された(22,23)。2つの独立な系統でその結果は多少異なるが、片方の系統ではガレクチン-3 欠損マウスで炎症後期(誘導4日後)における好中球の腹腔浸潤が減少していた。好中球浸潤の減少は炎症前期(誘導1-3日後)には見られないことから、マクロファージが分泌するガレクチン-3が好中球の組織浸潤に関与することが示唆される(23)。ガレクチン-3 欠損マウスの詳細な解析は始まったばかりなので、このマウスでみられた好中球浸潤の減少がガレクチン-3の欠損に直接結びつくものなのか、他の接着分子欠損マウスで見られるように全身の表現型が二次的に変化したことによるものかは明らかでない(93,95,101)。しかしながら Poirier のグループは、炎症状態の腹腔への好中球の浸潤がこのマウスで強く抑制されたのは、ガレクチン-3の欠損が好中球のアポトーシスや、マクロファージによる貪食に影響したためではないということを示している(23)。 β_2 -インテグリン非依存性の好中球の浸潤に炎症性のマクロファージが必須であるという報告を考慮すると、このマウスで炎症性マクロファージからのガレクチン-

tion of neutrophils, lack of galectin-3 release from inflammatory macrophage in galectin-3 null mice could affect the integrin-independent neutrophil emigration process. Together, in some infections, it is likely that galectin initiated cross-linking of ligands could directly ligate cells leading to cell-adhesion, which could in turn initiate leukocyte emigration.

G. Surface Galectin-Glycoprotein Lattice, which could Modulate Leukocyte Adhesion and Immunity

Cell migration comprises successive cycles of adhesion and de-adhesion whereby cells attach to adhesive substances at their migration fronts, then simultaneously extend a pseudopod and release the posterior point of attachment. While various work suggest that galectin acts as an adhesion molecule, there are reports suggesting clearly that galectin acts as an anti-adhesion molecule in the interaction between cells and extracellular matrix (ECM), thereby mediating the de-adhesion process. For example, the presence of galectin-1 inhibits adhesion of IL-2 stimulated T cells to extracellular matrices, such as laminin, and fibronectin (102). In the case of non-leukocyte cell lines, galectin-3 and 8 could induce biphasic effects (adhesion-promoting and anti-adhesion) on cell adhesion process depending on the condition. Preincubation of carcinoma cell lines or BHK cells with galectin-3 inhibits cell-adhesion to ECM proteins, laminin, fibronectin and collagen (62,73). The presence of galectin-3 also promotes carcinoma cell migration through ECM, also suggesting that galectin-3 acts as an anti-adhesive molecule as efficient crawling /migration through matrices comprises successive cycles of adhesion and de-adhesion (103). Galectin-8 inhibits carcinoma cell adhesion to ECM when galectin-8 is not immobilized to the adhesive substances (104). The simplest interpretation for the anti-adhesive activity of galectin is that the cell adhesion process is sterically hindered by a multivalent galectin lattice that is formed by the binding of galectin to either cell adhesion molecules or cell matrices. For example, the ECM protein laminin contains from 13 to 30% carbohydrate distributed throughout the molecule (105) and cell adhesion molecules, such as Mac-1, a β_2 -integrin are heavily glycosylated containing ~20% carbohydrate in molecular weight-wise. As ECM proteins or integrins contain multiple oligosaccharide chains on the molecule, they are intrinsically multivalent. Cross-linking of bivalent galectin and multivalent ligands leads to the formation of two- and three-dimensional cross-linked complexes, galectin lattices (106,107). Thus, the formation of multivalent galectin-

3の分泌がみられないことが、 β_2 -インテグリン非依存性の好中球の腹腔浸潤過程に影響を及ぼした可能性がある。肺炎球菌性肺炎や慢性腹膜炎などの感染・炎症においては、ガレクチンによる細胞表面リガンドの架橋が白血球の血管内皮細胞への接着を直接誘導し、白血球の浸潤を開始させるようである。

G. 白血球の接着や免疫反応を調節することのできるガレクチン-リガンド格子 (galectin lattice)

細胞の遊走は細胞接着と脱着との繰り返しである。移動前方では細胞は接着性の基質に接着して同時に偽足を伸ばすが、それと同時に移動後方では細胞は接着点から離れている。近年の種々の報告はガレクチンが接着分子として作用することを示唆している。その一方で、ガレクチンが細胞と細胞マトリックス (ECM) との接着を阻害し、その結果としてこれが脱着の過程に介在するような“抗”接着分子として作用することを示唆する報告もある。例えば、ガレクチン-1によってIL-2で刺激されたT細胞の細胞外マトリックス (ラミニンやフィブロネクチンなど) への接着が阻害される(102)。白血球系以外の培養細胞株では、ガレクチン-3および8が細胞接着過程において状況に応じて二相性作用 (接着を促進する、もしくは阻害する) を示す。上皮細胞性がん細胞株やBHK細胞をガレクチン-3とブレインキューベーションすると、ラミニン、フィブロネクチン、コラーゲンなどのECMタンパク質への接着が阻害される(62,73)。また、ガレクチン-3が存在するとECMを介する上皮細胞性がん細胞株の遊走が促進される。細胞が効率よく遊走するためには接着と脱着が繰り返し起こることが必要であるので、この事実はガレクチン-3が抗接着分子としても機能することを示唆している(103)。ガレクチン-8は接着性の基質に固相化されていない時には上皮細胞性がん細胞のECMへの接着を阻害する(104)。接着阻害活性についての最も簡潔な解釈としては、ガレクチンが接着分子や細胞外マトリックスに結合して多価のガレクチン格子が形成され、これが細胞接着の過程を立体的に障害する、というものが考えられる。例えば、ECMタンパク質のラミニンは分子量にして13~30%の糖鎖を分子全体に有している(105)。ECMタンパク質やインテグリンは多数の糖鎖を分子内に有しているため、本質的には多価である。2価のガレクチンと多価のリガンドによって、2次元あるいは3次元に架橋された複合体であるガレクチン格子が形成される(106,107)。ECMや細胞表面にガレクチン-糖タンパク質リガンドからなる多価の格子が形

⁷ In the case of galectin-8, it is noteworthy that ECM incorporated galectin-8 does not inhibit cell adhesion but rather that the immobilized galectin-8 can support cell adhesion.

⁸ Recent findings by the group of Al-Awpqti demonstrated that galectin-3 mediating oligomerization of a ECM protein, hensin is involved in the terminal differentiation of kidney epithelial cells (108). Such a role of ECM incorporated galectin-3 is also suggested in the early stage of kidney tube formation (124,125).

⁷ ガレクチン-8の場合、ECMに取り込まれたガレクチン-8は細胞接着を阻害しない。むしろ、固定化されたガレクチン-8は細胞の接着を誘導する。

⁸ Al-Awpqtiグループの最近の報告によれば、ガレクチン-3によって多量体化するヘンシン (ECMタンパク質の一つ) が腎臓上皮細胞の終末分化に関与する(108)。ECMに取り込まれたガレクチン-3が初期の腎尿管の形成に関与していることも示唆されている(124,125)。

glycoprotein ligand lattices either on ECM or cell surfaces could inhibit cell adhesion process through the steric hindrance. It is suggested that the anti-adhesive activities of galectin-3 or galectin-8 appear to be evident when the carcinoma cells are either pretreated with the galectin, which is not immobilized to adhesive substances⁷ (104). Thus, those reports may suggest that galectin-glycoprotein lattices on the cell surfaces rather than the ECM⁸ play critical roles in the anti-adhesive activities of galectins.

The potential roles of the surface multivalent galectin lattices are not limited to the cell migration process and its regulatory role in immune responses has attracted much attention recently (109). Demetriou *et al* recently suggested that T cells also contain multivalent galectin-3-glycoprotein lattice on their surface (109). Formation of galectin lattices is partly achieved through the binding of galectin-3 to polylactosamine on *N*-glycans, synthesis of which are regulated by β 1,6 *N*-acetylglucosaminyltransferase V (Mgat5)⁹. It is indicated that T cells from mice deficient in Mgat5 have lower thresholds for T-cell activation and that the hyperactivation of T cells is induced directly by enhancing T cell receptor (TCR) clustering. Their data also suggested that the surface multivalent galectin lattices that contain TCR are missing on the surface of T cells from Mgat5 deficient mice. Treatment of T cells from wild-type mice with lactose, which can remove surface galectin lattice, also induces hyperactivation of T cells. As it is expected that galectin lattice could have the potential to restrict the lateral movement of certain receptors involved in immune responses, the presence of a lattice could raise the threshold for ligand-dependent receptor clustering and signal transduction. Thus, hyperactivation of T cells observed in Mgat5 deficient mice is likely caused by the lack of the multivalent two- or three-dimensional galectin lattice, which could robustly restrict TCR clustering/movement (19,109).

Galectin-3 was originally found by Ho and Springer as a surface marker called Mac-2, which is present on the cell surface of inflammatory macrophages (52). They reported that 2×10^5 galectin molecules per cell are present on the surface of inflammatory macrophages, suggesting that inflammatory macrophages possess surface galectin-3 lattices. The robust restriction of the lateral mobility of receptors is not limited to TCR (110,111). First, as discussed above, the presence of surface galectin lattice, which could contain cell adhesion receptors, negatively regulates the cell adhesion cascade. Further, reports that galectin-1 or 3 can inhibit some immune responses suggest that galectin-1 or 3 lattices on the leukocytes could induce such inhibition. Galectin-1 inhibits biosynthesis of tumor necrosis

成されることにより、その立体障害によって細胞接着過程が阻害されるかもしれない。ガレクチン-3やガレクチン-8の抗接着活性は、接着性の基質に固相化されていないガレクチンで細胞をあらかじめ前処理したときに観察されるようである⁷ (104)。したがって、ガレクチンの抗接着活性には、マトリックス上のガレクチン格子ではなく⁸細胞表面上のガレクチン格子による立体障害が重要な役割を果たしていると考えられる。

細胞表面に形成された多価のガレクチン格子の役割は細胞の遊走のみに限らない。ガレクチン格子の免疫反応を制御する役割が最近注目されている(109)。最近、DemetriouらはT細胞の表面上にも多価のガレクチン-3格子が存在することを示した(109)。ガレクチン格子の形成には、ガレクチン-3と*N*-結合型糖鎖のポリラクトサミンとの結合が一部関与している。このポリラクトサミン鎖の合成は、 β 1,6-*N*-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼV(Mgat5)活性によって制御されている⁹。Mgat5欠損マウスのT細胞では活性化の閾値が低いため、T細胞受容体(TCR)の凝集を亢進することによりT細胞の過剰な活性化が誘導された。このデータからMgat5欠損マウスではT細胞表面のTCRを含む多価のガレクチン格子が欠けていることが示唆された。野生型マウスのT細胞をラクトース処理すると細胞表面上のガレクチン格子を除くことができるが、このときにもT細胞の過剰な活性化が観察された。細胞表面のガレクチン格子は免疫反応に関与する種々の受容体の側方拡散を拘束すると考えられるので、ガレクチン格子の存在はリガンド依存的な受容体の凝集や、シグナル伝達を起こす閾値を高める。したがって、Mgat5欠損マウスのT細胞で見られた過剰な活性化は、TCRの凝集や運動を強く制限するガレクチン格子が細胞表面上にないことによって生じたものと思われる(19,109)。

ガレクチン-3はもともとHoやSpringerにより炎症性マクロファージの細胞表面に存在するMac-2として見いだされた表面マーカーである(52)。彼らによれば炎症性マクロファージの細胞表面には細胞1個あたり約20万分子のMac-2が存在する。このことから、炎症性マクロファージの細胞表面にはガレクチン格子が存在していると考えられる。受容体の側方拡散の拘束はTCRのみに限定されるわけではない(110,111)。既に述べたように、細胞接着分子を含む細胞表面のガレクチン格子は細胞接着過程を負に制御する。さらにガレクチン-1、-3が免疫反応の一部を阻害することから、白血球の細胞表面のガレクチン格子がそのような阻害に関与しているのかもしれない。ガレクチン-

⁹ Mgat5 catalyses the addition of β -1,6-GlcNAc to *N*-linked glycans in the medial Golgi and the modification by this enzyme leads to the *N*-glycans with two or more polymeric lactosamine repeat units, which show high affinity towards galectins.

⁹ Mgat5は中間ゴルジ体において*N*-結合型糖鎖にGlcNAcを β 1-6結合で付加する。この付加の結果、*N*-結合型糖鎖は最終的には2個以上のラクトサミンリピートを側鎖にもつ構造になる。ガレクチンの一部はこのラクトサミンリピートに対して高い親和性を持つ。

factor- α (TNF α) and interferon- γ (IFN- γ) in IL-2 activated T cells (102) or LPS-activated spleen macrophages (112). Galectin-3 also inhibits granulocyte-macrophage colony stimulating factor-induced bone marrow cell proliferation and gene transcription (113). Thus, the presence of surface multivalent galectin lattice on leukocytes could influence immune responses negatively by raising the threshold for ligand-dependent receptor clustering and signal transduction.

As the efficient crawling through tissues for leukocyte emigration comprises successive cycles of adhesion and de-adhesion, roles played by the galectin lattice in cell adhesion process are closely associated with the hypothesis that galectin is a molecule of 'danger signal' to immunity. In contrast, the inter-relationship between the robust immune-suppressive activity mediated by the lattice and the potential of galectin as a 'danger signal' may require further discussion in the future. However, if the formation of galectin lattice is regulated by the amount of extracellular unbound galectin, which would be more evident in the end of infection—in other words, when immunity begins to control infection—than in the beginning of infection, such immune suppressive regulation played by the galectin lattice would be beneficial to the integrity of our body. An exaggerated and uncontrolled host immune response against infection is to be blamed, in part, for the high mortality rate and the delay of recovery from infection observed in several infectious diseases.

H. Receptor Clustering by Galectin and Signal Transduction

Cross-linking of galectin ligands on cell surface also results in the formation of linear (one-dimensional) clusters, inducing signal transduction, some of which are implicated in innate immunity. For example, galectin-1 induces apoptosis of activated T cells (114) and triggers oxidative burst in neutrophils (115). Cross-linking of galectin-3's ligands by galectin-3 leads to the induction of Ca²⁺ influx in T lymphocytes and monocytes (116,117), triggering oxidative burst in macrophages and neutrophils (53,75,118), the augmentation of IL-1 production in monocytes (119), the initiation of degranulation in mast cells (120), selective down-regulation of IL-5 expression in eosinophils, peripheral mononuclear cells and CD4⁺ T cells through the interaction with low affinity IgG receptor (Fc γ II/CD32) (121). Galectin-3 is a chemoattractant for monocytes, macrophages and endothelial cells (117,122). Galectin-3 could stimulate capillary tube formation and induce angiogenesis, which is closely associated with inflammation (122). Together, extracellularly released galectins trigger several immune reactions through receptor clustering, implying the important role of galectin-3 as a molecule of danger signal in innate immunity against infection.

1は、IL-2 活性化T細胞やLPSで活性化した脾臓のマクロファージにおいてTNF α 、IFN- γ の合成を阻害する(102,112)。ガレクチン-3も同様に、GM-CSFで誘導される骨髄細胞の増殖や遺伝子転写を阻害する(113)。したがって、白血球細胞表面の多価のガレクチン格子は、リガンド依存的な受容体の凝集とシグナル伝達の閾値を上げることで免疫反応を負に制御することができる。

遊走白血球が組織内で効率よく運動するためには接着と脱着を繰り返すことが必要である。したがってガレクチン格子の細胞接着過程における役割は、ガレクチンが免疫系に“Danger signal”を送ることのできるレクチンである、という仮説に合致する。これに対し、ガレクチン格子による強い免疫抑制活性と、免疫反応を誘起する“Danger signal”としての活性がどのように関係するのかという点は今後の検討課題である。しかしながら、細胞外の未結合のガレクチン量が増えるのは感染初期ではなく終期、すなわち免疫反応が感染を制御し始める頃である。ガレクチン格子の形成が細胞外の未結合ガレクチンの量によって調節されるならば、この免疫抑制調節は我々の体を守るために有益であろう。なぜなら一部の重篤な感染症でみられるように、感染に対して免疫反応が調節されぬまま過剰にはたらくと、これは高い致死率や感染からの回復が遅延する原因のひとつとなるからである。

H. ガレクチンによる受容体のクラスター形成と情報伝達

細胞表面におけるガレクチンリガンドの架橋は一次元のクラスターを形成してシグナル伝達を誘起するが、その一部は先天性免疫に関与している。例えば、ガレクチン-1は活性化T細胞のアポトーシスを誘導し(114)、好中球の活性酸素産生を誘起する(115)。ガレクチン-3によるリガンドの架橋は、T細胞や単球の細胞内カルシウム上昇の誘導(116,117)、マクロファージや好中球の活性酸素産生の誘導(53,75,118)、単球のIL-1産生増強(119)、マスト細胞の脱顆粒反応の誘導(120)、好酸球、末梢血単核細胞、CD4陽性T細胞において低親和性IgG受容体(Fc γ RII/CD32)との相互作用を介したIL-5産生の抑制(121)を誘導する。さらに、ガレクチン-3は単球、マクロファージ、及び血管内皮細胞に対する走化性因子である(117,122)。ガレクチン-3は、炎症に伴うであろう毛細血管形成、血管新生を誘導する(122)。このように、細胞外に放出されたガレクチンは受容体のクラスター形成を介して免疫反応を誘導する。この事実は、ガレクチン-3が感染に対抗して先天性免疫に“Danger signal”を送るための重要な役割を担っていることを示唆する。

¹⁰ Pelletier, I., Nieminen, J. and Sato, S. unpublished observation

¹⁰ Pelletier, I., Nieminen, J. and Sato, S. 未発表データ

I. Galectins as Lectinocytokines, which Could Send ‘Danger Signals’ to Immunity?

As discussed above, galectins appear to exhibit various roles in immune responses. It is noteworthy as well that injection of galectins *in vivo* could induce leukocyte emigration (117)¹⁰. Thus, when galectin is released and paracrinely binds to the neighboring cells, it is likely that galectin acts as proinflammatory cytokine. As discussed above, inside cells, galectin is segregated from its glycoconjugate ligands, which are present in the secretory pathway and on the plasma membrane. When the severe infection or chronic infection/inflammation occurs, galectin could either be released from cells damaged by infection or secreted from alveolar resident macrophages in the lung or inflammatory macrophages emigrated in the setting of chronic infection/inflammation. Thus, galectin is released from cells when our defense system should receive several ‘danger signals’ to initiate immunity. Thus, it is intriguing to propose that galectin acts as a molecule, which can send a ‘danger signal’ to innate immunity. Interestingly, it has been recently suggested that several proinflammatory cytokine or factors existing in the cytoplasm are also lectins. IL-1 β , a classical proinflammatory cytokine, which resides in cytoplasm, is a lectin with an affinity for mannose 6-phosphate and its phosphodiester or glycans containing *N*-acetylglucosamine residue and sulfate residue (12,13). Recent reports by Srikrishna *et al* demonstrate that a heterodimer complex (S100A8/9) of the S100 family (migration inhibitory factor-related protein) recognizes novel carboxylated *N*-glycans present on the activated endothelial cells (11). S100A8/9 is a proinflammatory protein dimer, which is also retained in the cytoplasm of neutrophils (123). Thus, while further investigations are necessary, the number of cytoplasmic carbohydrate binding proteins which can send danger signals to innate immunity is increasing, implying that those would be categorized as new cytokine group—cytoplasmic lectinocytokine. Galectin should be listed at the top of this new cytokine category.

Acknowledgements

We would like to express our appreciation to our colleagues and collaborators for discussion and all their support. I would also like to thank Dr. Akira Kobata for letting me learn how sweet sugar could be and Dr. R. Colin Hughes for making me experience the sweet taste of galectin-3.

References

1. Janeway, C. A., Jr. (1989) Cold Spring Harb. Symp. Quant Biol. **54**, 1–13
2. Matzinger, P. (1994) Annu. Rev. Immunol. **12**, 991–1045
3. Medzhitov, R., and Janeway, C. A., Jr. (2002) Science **296**, 298–300
4. Hoffmann, J. A., Kafatos, F. C., Janeway, C. A., and Ezekowitz, R. A. (1999) Science **284**, 1313–1318
5. Matzinger, P. (1998) Semin. Immunol. **10**, 399–415
6. Matzinger, P. (2002) Science **296**, 301–305
7. Yi, A. K., Tuetken, R., Redford, T., Waldschmidt, M., Kirsch, J., and Krieg, A. M. (1998) J. Immunol. **160**, 4755–4761
8. Wallin, R. P., Lundqvist, A., More, S. H., von Bonin, A., Kiessling, R., and Ljunggren, H. G. (2002) Trends Immunol. **23**, 130–135
9. Graca-Souza, A. V., Arruda, M. A., de Freitas, M. S., Barja-Fidalgo, C., and Oliveira, P. L. (2002) Blood **99**, 4160–4165

I. ガレクチンは“Danger signal”を送ることのできるレクチノサイトカインか？

既に述べてきたように、ガレクチンは免疫反応において様々な役割を果たしている。注目すべきは *in vivo* でガレクチンを投与すると白血球の組織浸潤が誘導されることである¹⁰ (117)。したがって、細胞外に分泌されて近傍の細胞や組織にバクリンに結合することにより、ガレクチンは炎症誘発性サイトカインとして作用すると考えられる。既に述べたように、ガレクチンリガンドは分泌経路や形質膜上に存在するが、一方、ガレクチンは細胞内に存在するためにこれらリガンドから隔絶されている。重篤な感染症や慢性感染・炎症が生じると、ガレクチンは感染によって損傷した細胞から放出されるか、あるいは慢性炎症や感染時において肺常在性マクロファージや病巣に浸潤した炎症性マクロファージから能動的に分泌される。すなわち、ガレクチンが細胞から放出されるのは、生体防御システムが“Danger signal”を先天性免疫に送らなければならない時である。従って、ガレクチンは“Danger signal”を送ることのできる免疫調節因子であると提唱できるのではないだろうか。興味深いことに、炎症誘発性のサイトカインや因子の一部が細胞質に存在し、レクチン活性を有することが近年報告されている。IL-1 β は細胞質に存在する典型的な炎症誘発性サイトカインであるが、この分子はマンノース 6 リン酸やそのホスホジエステル体、または *N*-アセチルグルコサミンと硫酸残基を持つ糖鎖に親和性を示すレクチンである(12,13)。Srikrishnaらは最近、S100ファミリー(migration inhibitory factor-related protein (MRP))に属するヘテロ二量体S100A8/9が活性化血管内皮細胞上に存在する新規なカルボキシル化 *N*-結合型糖鎖を認識するレクチンであることを示した(11)。S100A8/9は炎症誘発活性を持つタンパク質で、好中球の細胞質に保持されている(123)。さらなる検討が必要である一方、実際には、細胞質内に存在し、先天性免疫に“Danger signal”を送ることのできる糖鎖結合タンパク質が次々と発見されている。すなわち、これらの分子を新しいサイトカイン群—細胞質レクチノサイトカインとして分類することができるとはならないだろうか。その場合、ガレクチンはレクチノサイトカインのリストのトップに位置づけられるべきものである。

謝 辞

この場を借りて、共同研究者、そして様々なサポートやアドバイスをいただきました研究者に改めて感謝したいと思います。また、私に糖鎖生物学がいかによばらしい(sweet)ものかを教えて下さった木幡陽先生、そしてガレクチン-3の甘味を教えてくださいました Dr. R. Colin Hughes に深く感謝します。

10. Bertini, R., Howard, O. M., Dong, H. F., Oppenheim, J. J., Bizzarri, C., Sergi, R., Caselli, G., Pagliei, S., Romines, B., Wilshire, J. A., Mengozzi, M., Nakamura, H., Yodoi, J., Pekkari, K., Gurunath, R., Holmgren, A., Herzenberg, L. A., and Ghezzi, P. (1999) *J. Exp. Med.* **189**, 1783–1789
11. Srikrishna, G., Panneerselvam, K., Westphal, V., Abraham, V., Varki, A., and Freeze, H. H. (2001) *J. Immunol.* **166**, 4678–4688
12. Fukushima, K., Hara-Kuge, S., Ohkura, T., Seko, A., Ideo, H., Inazu, T., and Yamashita, K. (1997) *J. Biol.Chem.* **272**, 10579–10584
13. Tandai-Hiruma, M., Endo, T., and Kobata, A. (1999) *J. Biol.Chem.* **274**, 4459–4466
14. Perillo, N. L., Marcus, M. E., and Baum, L. G. (1998) *J. Mol. Med.* **76**, 402–4012
15. Cooper, D. N., and Barondes, S. H. (1999) *Glycobiology* **9**, 979–984
16. Rabinovich, G. A. (1999) *Cell Death Differ.* **6**, 711–721
17. Liu, F. T. (2000) *Clin. Immunol.* **97**, 79–88
18. Hughes, R. C. (2001) *Biochimie* **83**, 667–676
19. Lowe, J. B. (2001) *Cell* **104**, 809–812
20. Hughes, R. C. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* **1473**, 172–185
21. Yu, F., Finley, R. L., Jr., Raz, A., and Kim, H. R. (2002) *J. Biol.Chem.* **277**, 15819–15827
22. Hsu, D. K., Yang, R. Y., Pan, Z., Yu, L., Salomon, D. R., Fung-Leung, W. P., and Liu, F. T. (2000) *Am. J. Pathol.* **156**, 1073–1083
23. Colnot, C., Ripoche, M. A., Milon, G., Montagutelli, X., Crocker, P. R., and Poirier, F. (1998) *Immunology* **94**, 290–296
24. Barondes, S. H., Castronovo, V., Cooper, D. N., Cummings, R. D., Drickamer, K., Feizi, T., Gitt, M. A., Hirabayashi, J., Hughes, C., Kasai, K., and et al. (1994) *Cell* **76**, 597–598
25. Yang, R. Y., Hsu, D. K., Yu, L., Ni, J., and Liu, F. T. (2001) *J. Biol.Chem.* **276**, 20252–20260
26. Visegrady, B., Than, N. G., Kilar, F., Sumegi, B., Than, G. N., and Bohn, H. (2001) *Protein Eng.* **14**, 875–880
27. Dunphy, J. L., Barcham, G. J., Bischof, R. J., Young, A. R., Nash, A., and Meeusen, E. N. (2002) *J. Biol.Chem.* **277**, 14916–14924
28. Pace, K. E., Lebestky, T., Hummel, T., Arnoux, P., Kwan, K., and Baum, L. G. (2002) *J. Biol.Chem.* **277**, 13091–13098
29. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1993) *Glycobiology* **3**, 297–304
30. Cherayil, B. J., Weiner, S. J., and Pillai, S. (1989) *J. Exp. Med.* **170**, 1959–1972
31. Massa, S. M., Cooper, D. N., Leffler, H., and Barondes, S. H. (1993) *Biochemistry* **32**, 260–267
32. Hsu, D. K., Zuberi, R. I., and Liu, F. T. (1992) *J. Biol.Chem.* **267**, 14167–14174
33. Barboni, E. A., Bawumia, S., Henrick, K., and Hughes, R. C. (2000) *Glycobiology* **10**, 1201–1208
34. Gorski, J. P., Liu, F. T., Artigues, A., Castagna, L. F., and Osdoby, P. (2002) *J. Biol.Chem.* **277**, 18840–18848
35. Wilson, T. J., Firth, M. N., Powell, J. T., and Harrison, F. L. (1989) *Biochem. J.* **261**, 847–852
36. Cooper, D. N., and Barondes, S. H. (1990) *J. Cell Biol.* **110**, 1681–1691
37. Rubartelli, A., Cozzolino, F., Talio, M., and Sitia, R. (1990) *EMBO J.* **9**, 1503–1510
38. Muesch, A., Hartmann, E., Rohde, K., Rubartelli, A., Sitia, R., and Rapoport, T. A. (1990) *Trends Biochem. Sci.* **15**, 86–88
39. Andrei, C., Dazzi, C., Lotti, L., Torrisi, M. R., Chimini, G., and Rubartelli, A. (1999) *Mol. Biol. Cell* **10**, 1463–1475
40. Friesel, R., and Maciag, T. (1999) *Thromb. Haemost.* **82**, 748–754
41. Mignatti, P., Morimoto, T., and Rifkin, D. B. (1992) *J. Cell Physiol.* **151**, 81–93
42. Florkiewicz, R. Z., Majack, R. A., Buechler, R. D., and Florkiewicz, E. (1995) *J. Cell Physiol.* **162**, 388–399
43. Rubartelli, A., Bajetto, A., Allavena, G., Wollman, E., and Sitia, R. (1992) *J. Biol.Chem.* **267**, 24161–24164
44. Rammes, A., Roth, J., Goebeler, M., Klempt, M., Hartmann, M., and Sorg, C. (1997) *J. Biol.Chem.* **272**, 9496–9502
45. Dinarello, C. A. (1996) *Blood* **87**, 2095–147
46. Chabot, S., Kashio, Y., Seki, M., Shirato, Y., Nakamura, K., Nishi, N., Nakamura, T., Matsumoto, R., and Hirashima, M. (2002) *Glycobiology* **12**, 111–8
47. Lutowski, D., Fouillit, M., Bourin, P., Mellottee, D., Denize, N., Pontet, M., Bladier, D., Caron, M., and Joubert-Caron, R. (1997) *Glycobiology* **7**, 1193–9
48. Sato, S., and Hughes, R. C. (1994) *J. Biol.Chem.* **269**, 4424–4430
49. Sato, S., and Hughes, R. C. (1994) *Eur. J. Immunol.* **24**, 216–221
50. Kasper, M., and Hughes, R. C. (1996) *J. Pathol.* **179**, 309–316
51. Sato, S., Ouellet, N., Pelletier, I., Simard, M., Rancourt, A., and Bergeron, M. G. (2002) *J. Immunol.* **168**, 1813–1822
52. Ho, M.-K., and Springer, T. A. (1982) *J. Immunol.* **128**, 1221–1227
53. Liu, F. T., Hsu, D. K., Zuberi, R. I., Kuwabara, I., Chi, E. Y., and Henderson, W. R. (1995) *Am. J. Pathol.* **147**, 1016–1028
54. Louahed, J., Zhou, Y., Maloy, W. L., Rani, P. U., Weiss, C., Tomer, Y., Vink, A., Renauld, J., Van Snick, J., Nicolaides, N. C., Levitt, R. C., and Haczku, A. (2001) *Blood* **97**, 1035–1042
55. Bergeron, Y., Ouellet, N., Deslauriers, A. M., Simard, M., Olivier, M., and Bergeron, M. G. (1998) *Infect. Immun.* **66**, 912–922
56. Fillion, I., Ouellet, N., Simard, M., Bergeron, Y., Sato, S., and Bergeron, M. G. (2001) *J. Immunol.* **166**, 7353–7361
57. Swaminathan, G. J., Leonidas, D. D., Savage, M. P., Ackerman, S. J., and Acharya, K. R. (1999) *Biochemistry* **38**, 13837–13843
58. Lobsanov, Y. D., Gitt, M. A., Leffler, H., Barondes, S. H., and Rini, J. M. (1993) *J. Biol.Chem.* **268**, 27034–27038
59. Seetharaman, J., Kanigsberg, A., Slaaby, R., Leffler, H., Barondes, S. H., and Rini, J. M. (1998) *J. Biol.Chem.* **273**, 13047–13052
60. Henrick, K., Bawumia, S., Barboni, E. A., Mehul, B., and Hughes, R. C. (1998) *Glycobiology* **8**, 45–57
61. Sparrow, C. P., Leffler, H., and Barondes, S. H. (1987) *J. Biol.Chem.* **262**, 7383–90
62. Sato, S., and Hughes, R. C. (1992) *J. Biol.Chem.* **267**, 6983–6990
63. Ahmed, H., Allen, H. J., Sharma, A., and Matta, K. L. (1990) *Biochemistry* **29**, 5315–5319
64. Walzel, H., Blach, M., Hirabayashi, J., Kasai, K. I., and Brock, J. (2000) *Glycobiology* **10**, 131–140
65. Pace, K. E., Lee, C., Stewart, P. L., and Baum, L. G. (1999) *J. Immunol.* **163**, 3801–3811
66. Avni, O., Pur, Z., Yefenof, E., and Baniyash, M. (1998) *J. Immunol.* **160**, 6151–6158
67. Do, K. Y., Smith, D. F., and Cummings, R. D. (1990) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **173**, 1123–1128
68. Ohannesian, D. W., Lotan, D., and Lotan, R. (1994) *Cancer Res.* **54**, 5992–6000
69. Symons, A., Cooper, D. N., and Barclay, A. N. (2000) *Glycobiology* **10**, 559–63
70. Zhou, Q., and Cummings, R. D. (1990) *Arch. Biochem. Biophys.* **281**, 27–35

71. Dong, S., and Hughes, R. C. (1997) *Glycoconj. J.* **14**, 267–274
72. Cortegano, I., Pozo, V., Cardaba, B., Arrieta, I., Gallardo, S., Rojo, M., Aceituno, E., Takai, T., Verbeek, S., Palomino, P., Liu, F. T., and Lahoz, C. (2000) *Glycobiology* **10**, 237–42
73. Ochieng, J., Leite-Browning, M. L., and Warfield, P. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **246**, 788–791
74. Ohannesian, D. W., Lotan, D., Thomas, P., Jessup, J. M., Fukuda, M., Gabius, H. J., and Lotan, R. (1995) *Cancer Res.* **55**, 2191–2199
75. Yamaoka, A., Kuwabara, I., Frigeri, L. G., and Liu, F. T. (1995) *J. Immunol.* **154**, 3479–3487
76. Inohara, H., and Raz, A. (1994) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **201**, 1366–1375
77. Woo, H.-J., Shaw, L. M., Messier, J. M., and Mercurio, A. M. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 7097–7099
78. Cherayil, B. J., Chaitovitz, S., Wong, C., and Pillai, S. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **87**, 7324–7328
79. Ochieng, J., and Warfield, P. (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **217**, 402–406
80. Butcher, E. C., and Picker, L. J. (1996) *Science* **272**, 60–66
81. Carlos, T. M., and Harlan, J. M. (1994) *Blood* **84**, 2068–2101
82. Springer, T. A. (1994) *Cell* **76**, 301–314
83. Swarte, V. V., Mebius, R. E., Joziassse, D. H., Van den Eijnden, D. H., and Kraal, G. (1998) *Eur. J. Immunol.* **28**, 2864–2871
84. Ramkumar, R., and Podder, S. K. (2000) *J Mol Recognit* **13**, 299–309
85. Baum, L. G., Pang, M., Perillo, N. L., Wu, T., Delegeane, A., Uittenbogaart, C. H., Fukuda, M., and Seilhamer, J. J. (1995) *J. Exp. Med.* **181**, 877–887
86. Kuwabara, I., and Liu, F. T. (1996) *J. Immunol.* **156**, 3939–3944
87. Cohnheim, J. (1889) *Lectures on general pathology: A handbook for practitioners and students* (London: the New Sydenham Society)
88. Doerschuk, C. M., Quinlan, W. M., Doyle N., A., Bullard, D., C., Vestweber, D., Jones, M., L., Takei, F., Ward, P., A., and Beaudet, A., L. (1996) *J. Immunol.* **157**, 4609–4614
89. Mulligan, M. S., Wilson, G. P., Todd, R. F., C.W., S., Anderson, D. C., Varani, J., Issekutz, T. B., Miyasaka, M., Tamatani, T., Rusche, J. R., Vaporciyan, A. A., and Ward, P. A. (1993) *J. Immunol.* **150**, 2407–2417
90. Mulligan, M. S., Paulson, J. C., De-Frees, S., Zheng, Z. L., Lowe, J. B., and Ward, P. A. (1993) *Nature* **364**, 149–151
91. Doyle, N. A., Bhagwan, S. D., Meek, B. B., Kutkoski, G. J., Steeber, D. A., Tedder, T. F., and Doerschuk, C. M. (1997) *J. Clin. Invest.* **99**, 526–533
92. Mizgerd, J., P., Meek, B. B., Kutkoski, G. J., Bullard, D., C., Beaudet, A., L., and Doerschuk, C., M. (1996) *J. Exp. Med.* **184**, 639–645
93. Mizgerd, J. P., Horwitz, B. H., Quillen, H. C., Scott, M. L., and Doerschuk, C. M. (1999) *J. Immunol.* **163**, 995–999
94. Doerschuk, C., M., Winn, R., K., Coxson, H., O., and Harlan, J., M. (1990) *J. Immunol.* **144**, 2327–2333
95. Mizgerd, J., P., Kubo, H., Kutkoski, G. J., Bhagwan, S., D., Scharffetter-Kochanek, K., Beaudet, A., L., and Doerschuk, C., M. (1997) *J. Exp. Med.* **186**, 1357–1364
96. Hogg, J. C., and Doerschuk, C. M. (1995) *Annu. Rev. Physiol.* **57**, 97–114
97. Kumasaka, T., Doyle, N. A., Quinlan, W. M., Graham, L., and Doerschuk, C. M. (1996) *Am. J. Pathol.* **148**, 1297–1305
98. Bullard, D. C., Qin, L., Lorenzo, I., Quinlan, W. M., Doyle, N. A., Bosse, R., Vestweber, D., Doerschuk, C. M., and Beaudet, A. L. (1995) *J. Clin. Invest.* **95**, 1782–1788
99. Mileski, W., Harlan, J., Rice, C., and Winn, R. (1990) *Circ. Shock* **31**, 259–267
100. Winn, R. K., and Harlan, J. M. (1993) *J. Clin. Invest.* **92**, 1168–1173
101. Collins, R. G., Jung, U., Ramirez, M., Bullard, D. C., Hicks, M. J., Smith, C. W., Ley, K., and Beaudet, A. L. (2001) *Blood* **98**, 727–735
102. Rabinovich, G. A., Ariel, A., Hershkoviz, R., Hirabayashi, J., Kasai, K. I., and Lider, O. (1999) *Immunology* **97**, 100–106
103. Le Marer, N., and Hughes, R. C. (1996) *J. Cell. Phys.* **168**, 51–58
104. Levy, Y., Arbel-Goren, R., Hadari, Y. R., Eshhar, S., Ronen, D., Elhanany, E., Geiger, B., and Zick, Y. (2001) *J. Biol.Chem.* **276**, 31285–31295
105. Fujiwara, S., Shinkai, H., Deutzmann, R., Paulsson, M., and Timpl, R. (1988) *Biochem J* **252**, 453–461
106. Lee, R. T., and Lee, Y. C. (2000) *Glycoconj J* **17**, 543–551
107. Sacchettini, J. C., Baum, L. G., and Brewer, C. F. (2001) *Biochemistry* **40**, 3009–15
108. Hikita, C., Vijayakumar, S., Takito, J., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Al-Awqati, Q. (2000) *J. Cell Biol.* **151**, 1235–1246
109. Demetriou, M., Granovsky, M., Quaggin, S., and Dennis, J. W. (2001) *Nature* **409**, 733–739
110. Vespa, G. N., Lewis, L. A., Kozak, K. R., Moran, M., Nguyen, J. T., Baum, L. G., and Miceli, M. C. (1999) *J. Immunol.* **162**, 799–806
111. Chung, C. D., Patel, V. P., Moran, M., Lewis, L. A., and Carrie Miceli, M. (2000) *J. Immunol.* **165**, 3722–3729
112. Santucci, L., Fiorucci, S., Cammilleri, F., Servillo, G., Federici, B., and Morelli, A. (2000) *Hepatology* **31**, 399–406
113. Krugluger, W., Frigeri, L. G., Lucas, T., Schmer, M., Forster, O., Liu, F. T., and Boltz-Nitulescu, G. (1997) *Immunobiology* **197**, 97–109
114. Perillo, N. L., Pace, K. E., Seilhamer, J. J., and Baum, L. G. (1995) *Nature* **378**, 736–739
115. Almkvist, J., Dahlgren, C., Leffler, H., and Karlsson, A. (2002) *J. Immunol.* **168**, 4034–4041
116. Dong, S., and Hughes, R. C. (1996) *FEBS Lett* **395**, 165–169
117. Sano, H., Hsu, D. K., Yu, L., Apgar, J. R., Kuwabara, I., Yamanaka, T., Hirashima, M., and Liu, F. T. (2000) *J. Immunol.* **165**, 2156–2164
118. Karlsson, A., Follin, P., Leffler, H., and Dahlgren, C. (1998) *Blood* **91**, 3430–3438
119. Jeng, K. C., Frigeri, L. G., and Liu, F. T. (1994) *Immunol. Lett.* **42**, 113–116
120. Frigeri, L. G., Zuberi, R. I., and Liu, F.-T. (1993) *Biochemistry* **32**, 7644–7649
121. Cortegano, I., del Pozo, V., Cardaba, B., de Andres, B., Gallardo, S., del Amo, A., Arrieta, I., Jurado, A., Palomino, P., Liu, F. T., and Lahoz, C. (1998) *J. Immunol.* **161**, 385–389
122. Nangia-Makker, P., Honjo, Y., Sarvis, R., Akahani, S., Hogan, V., Pienta, K. J., and Raz, A. (2000) *Am. J. Pathol.* **156**, 899–909
123. Kerkhoff, C., Klempt, M., and Sorg, C. (1998) *Biochim. Biophys. Acta* **1448**, 200–211
124. Bao, Q., Hughes, R. C. (1995) *J. Cell. Sci.* **108**, 2791–800
125. Bao, Q., and Hughes, R. C. (1999) *Glycobiology* **9**, 489–495

Received on June 28, 2002, accepted on August 6, 2002

Profile of the Authors

Sachiko Sato graduated in Pharmaceutical Science at Chiba University and obtained her Ph.D. from Tokyo University (Drs. A. Kobata, and S. Takasaki). She had worked in the laboratory of Dr. R. Colin Hughes (research on galectin-3) at MRC; National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, U. K., as a post-doctoral fellow in the laboratory of Dr. R. Ron Kopito (ER quality control system), Stanford University, USA and in the laboratory of Dr. M. G. Bergeron (Infectious diseases), Laval University, Canada. In 1999, she started a glycobiology laboratory in the Research Centre for Infectious Disease, Laval University Medical Centre, Québec, Canada and since then she has been a principle investigator and assistant professor in Laval University. She has been currently investigating the roles of galectins in innate immunity against infections. She is also interested in the intracellular roles of glycoconjugates. She loves to see Japanese animations produced by H. Miyazaki and chat about anything.