Mechanisms of Cytotoxic Activity of Lectins

レクチンの細胞傷害活性のメカニズム

Gorelik, Elieser

Pittsburgh Cancer Institute and Department of Pathology, School of Medicine, University of Pittsburgh,
Pittsburgh, PA 15213, USA, FAX: 1-412-624-7736

Key Words: apoptosis, cytotoxic activity, lectins, T-lymphocytes

Abstract

The biological effects of various plant lectins have been extensively investigated over the last 30 years. This interest was stimulated by initial findings made in 60s that some lectins are able to induce proliferation of human and animal lymphocytes. It was demonstrated that in parallel with their mitogenic ability lectins were able to induce the cytotoxic activity in T lymphocytes. Lectin-induced cytotoxicity of T lymphocytes was found to be antigen nonspecific and directed against various normal and malignant cells. The mechanisms of lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity (LDCC) was recently clarified and was found to be due to the ability of some lectins to bind and activate the T-cell receptor and trigger the intracellular signaling with activation of various genes resulting in production of various lymphokines. Some lectins were found to be directly cytotoxic and lysed various normal or malignant cells in the absence of lymphocytes. The mechanisms responsible for this direct lectin cytotoxicity remain unclear. Some experimental data indicate that lectins are able to kill cells via the induction of programmed cell death (apoptosis). This review will summarize studies of cytotoxic activities of lectins, mechanisms of their cytotoxicity and analyze possible biological significance of lectin cytotoxicity in humans and animals.

要 約

様々な植物レクチンの生物活性はこの30年間盛んに研究されてきた。レクチンがヒトや他の動物のリンパ球の増殖を誘導できることが1960年代に発見されてから、レクチンに対して世界的に関心が高まってきた。植物レクチンがマイトジェン活性だけでなく、Tリンパ球に対し細胞傷害活性を誘導させることも示された。こうして誘導されたTリンパ球の細胞傷害活性は抗原非特異的であり、様々な正常細胞や悪性化細胞に対して発揮される。LDCC(細胞を介したレクチン依存的細胞傷害活性)のメカニズムは最近明らかにされた。レクチンがT細胞レセプターに結合して、細胞内情報伝達系の引き金を引くことにより、様々な遺伝子が活性化され、様々なリンホカインが産生されることによりLDCCが生じる。レクチン自身が細胞傷害活性をもち、リンパ球非存在下で様々な正常細胞や悪性化細胞を破壊する場合もある。レクチンが直接に細胞毒性を発揮するメカニズムは今のところ不明である。プログラムされた細胞死(アポトーシス)を誘導することによりレクチンが細胞を殺す、という実験データもある。この総説ではレクチンの細胞傷害活性とそのメカニズムの研究についてまとめ、そのことの動物における生物学的重要性について考察する。

A. Introduction

The ability of certain plant extracts to induce cell aggregation has been known for century. Later it was demonstrated that aggregation activity of plant extracts is associated with certain proteins or glycoproteins and was due to the ability of these proteins to specifically and reversibly bind to cell surface carbohydrate (1-3). These proteins were termed lectins (from the Latin *legere*, to select or choose) (3). The major interest in lectins was stimulated by the finding made by Nowel in 1960 that the phytohemagglutinin (PHA) lectin isolated from the red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) is capable of inducing proliferation of peripheral blood lymphocytes (4). This simple observation had paramount importance in various areas of cell biology. Stimulation of human lymphocytes with PHA for the first time allowed to determine the diploid number

A. はじめに

ある種の植物の抽出液が細胞凝集をおこすことは100年以上前から知られている。後になって、植物抽出液の凝集活性は、ある種のタンパク質または糖タンパク質が細胞表面の糖鎖と特異的かつ可逆的に結合する能力と結びついていることが示された(1-3)。このようなタンパク質がレクチンと名付けられた(ラテン語で"選び出す"を意味する *legere* からきている)(3)。1960年に Nowel が、インゲンマメから単離された植物凝集素(PHA)は末梢血リンパ球の増殖を誘導できることを発見したのをきっかけにレクチンが大いに注目されるようになった(4)。この単純な観察結果が細胞生物学の様々な分野において重大な意味を持ったのである。ヒトリンパ球をPHAで刺激することにより、ヒト正常細胞における染色体の二倍体数が決定された。この発見以前には、増殖性が

of chromosome in normal human cells. Before this finding, karyotype analysis was possible only in highly proliferative malignant cells that usually contain abnormal chromosomes. Thus, PHA stimulation of lymphocytes laid a methodological ground for human cytogenetic and karyotypic analysis of human chromosomes. Secondly, it inspired investigations of various lectins for their ability to stimulate mitogenic responses of peripheral blood lymphocytes, and that brought new insights into biology of lymphocytes and cellular immunology. It was soon discovered that some plant lectins such as PHA and Con A are able to stimulate proliferation of exclusively T lymphocytes, whereas PWM (pokeweed mitogen) is mitogenic for B lymphocytes (5). Evaluation of lymphocyte responses to lectin stimulation became an useful approach for assessment of functional activity of lymphocytes and immunological status of patients and normal individuals (5, 6). In 1976 Morgan *et al.* (7) reported that stimulation of human peripheral blood lymphocytes with PHA results in production of the factor that stimulate proliferation of human T lymphocytes. This T-cell growth factor was later termed interleukin-2 (IL-2). In 80s it became apparent that lectins are able to stimulate lymphocytes to produce various lymphokines that might induce proliferation and differentiation of T and B lymphocytes as well as other hematopoietic cells (8). In parallel with their mitogenic effects, it was found that some lectins are able to induce cytotoxic activity of lymphocytes or exerted direct cytotoxic activity (5, 9, 10).

Investigations of the biological effects of lectins were extended over various nonlymphoid normal and malignant cells. Initial studies were performed using plant-derived lectins. In the 1970s it became apparent that lectins are widely presented in all living organisms including microorganisms, insects, animals and humans. The results of these studies are summarized in several excellent reviews (1-3). Present review is concentrated exclusively on studies and analysis of the cytotoxic properties of lectins and mechanisms responsible for their cytotoxic activity.

B. Lectin-dependent Cell-mediated Cytotoxicity (LDCC)

Antigenic stimulation of the immune system results in a production of humoral antibodies and/or generation of cytotoxic T lymphocytes (CTLs). It was found that CTLs are able to lyse target cells that presented the antigenic determinants in association with class I major histocompatibility antigen (MHC). Thus, cytotoxic activity of CTLs is antigen specific and MHC restricted (5). Numerous experimental data demonstrate that lectins are able to induce cytotoxic activity of lymphocytes after short incubation with lymphocytes and tumor cells. This cytotoxic activity was termed lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity (LDCC) (5, 9, 10).

In contrast to CTLs obtained after antigenic stimulation, LDCC was found to be highly nonspecific. In the presence of

高く異常な染色体をもつ悪性化細胞でしか核型分析はできなかった。それゆえ、リンパ球のPHA刺激という手法は、ヒト染色体の細胞遺伝学的解析と核型分析の方法的基礎を確立した。それに続いて、末梢血リンパ球の増殖応答を刺激する能力を持つレクチンが盛んに検索され、リンパ球の生物学と細胞免疫学に新たな知見をもたらした。すぐに、PHAやCon Aのような植物レクチンが、もっぱらTリンパ球の増殖を刺激し、PWM(アメリカヤマゴボウマイトジェン)がBリンパ球に対してマイトジェン活性を持つことが発見された(5)。レクチン刺激に対するリンパ球の応答の様子から、リンパ球の機能活性や、患者及び健康人の免疫学的状態を評価する有効なアプローチ法が生まれた(5, 6)。1976年にMorganらはヒト末梢血リンパ球をPHAで刺激すると、Tリンパ球の増殖を促進する因子が産生されることを報告している(7)。このT細胞増殖因子は後にインターロイキン-2(IL-2)と名付けられた。レクチンがリンパ球を刺激して、Tリンパ球やBリンパ球、その他の造血系細胞の増殖や分化を誘導するリンホカインを産生させることが1980年代に入って明らかになった(8)。マイトジェン活性と並行して、レクチンがリンパ球の細胞傷害活性を誘導したり、自身が直接、細胞傷害活性をもつことが見出された。

レクチンの生物学的効果の研究は、様々な非リンパ系の正常細胞及び悪性化細胞に対象が広がっていった。最初は植物由来のレクチンを用いて研究が行われた。1970年代になってレクチンが、微生物、昆虫、動物、そしてヒトに至るまでの全ての生物に広く存在していることが明らかとなった。これらの研究の結果は優れた総説にまとめられている(1-3)。この総説ではレクチンの細胞傷害活性とそのメカニズムについての研究及び分析にしばって述べる。

B. 細胞を介したレクチン依存性細胞傷害活性(LDCC)

免疫系を抗原刺激すると、体液性の抗体が産生されたり、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)が生じる。この2つが同時に起こることもある。CTLはクラスI主要組織適合抗原(MHC)と結合した抗原決定基を提示した標的細胞を溶解できる。それゆえ、CTLの細胞傷害活性は抗原特異的でMHCにより制約を受ける(5)。リンパ球および腫瘍細胞をレクチンと短時間インキュベートすると、リンパ球の細胞傷害活性が誘導されるという実験データは非常に多い。この細胞傷害活性は、細胞を介したレクチン依存性細胞傷害活性(LDCC)の名付けられた(5, 9, 10)。

抗原刺激を受けたCTLとは対照的にLDCCは特異性が高くはない。レクチンが存在すると、様々な抗原決定基をもった互い

lectin, lymphocytes were able to kill unrelated target cells, with various antigenic determinants. This lysis was MHC-nonrestricted and was also efficient against cells that do not express class I MHC molecules (5, 9, 10).

It was initially proposed that this nonspecific lysis is due to the ability of the lectin to "bridge" between the effector and target cells by multivalent binding to the specific carbohydrates on the surface of these cells, bypassing the need for specific receptor-antigen interaction and thus accounting for the non-specific character of this lytic reaction (5, 9, 10). However, this hypothesis failed to explain why only some of the lectins were able to induce LDCC, whereas other lectins are ineffective. These doubts were particularly relevant since aggregation of lymphocytes and target cells was found with all lectins but LDCC was induced only by some of lectins such as Con A, PHA or lentil lectins and paralleled with the ability of these lectins to induce T lymphocytes proliferation. In contrast, nonmitogenic lectins such as PNA or SBA failed to induce LDCC (5). Furthermore, some lectins like PWM that are mitogenic for B lymphocytes were unable to induce LDCC (5). Thus, it became apparent that in order to induce LDCC, lectins have to be capable of activating T cells in addition to their ability to bridge the effector and target cells (5).

The mechanisms responsible for LDCC were clarified with the progress in understanding the mechanisms of specific recognition and lysis mediated by the CTLs that emerge after active immunization. It was demonstrated that T cell recognition of foreign antigen is mediated *via* interaction between T cell receptor (TCR) on T lymphocytes and small peptides (8-10 amino acids) associated with class I major histocompatibility complex (MHC) molecule on the target cells. TCR is a heterodimer containing α and β chains associated with CD3 complex (11). Interaction between TCR and antigen peptide/MHC complex results in a series of early biochemical events that delivers a signal from the TCR to the nucleus leading to activation of T cells and lysis of the target cells (11). Evidently that activation of TCR is a key event in this lysis. It was found that activation of TCR can be achieved by monoclonal antibodies against TCR or TCR-associated CD3 complex resulting in generation of T lymphocytes cytotoxic against various target cells (12). Nonspecific T cell-mediated lysis induced by anti-CD3 antibodies resembles LDCC. It was proposed that LDCC might be also a result of nonspecific activation of TCR due to the binding of lectins to the glycosylated portion of TCR (12).

It was found that both α - and β -chains of TCR are glycoproteins (12). All the N-linked carbohydrates on the α chain are of the complex type and are resistant to endoglycosidase H. In contrast, the β subunit of TCR carries 2 or 3 endoglycosidase H-sensitive (high mannose) oligosaccharides (12). Expression of carbohydrates specifically reacting with Con A lectin on TCR was utilized for isolation of TCR on Con A-

に無関係な標的細胞を殺すことができた。この細胞溶解はMHCの制約を受けず、クラスI MHC分子を提示していない細胞に対しても起こった(5、9、10)。

レクチンによる非特異的な細胞の溶解は、エフェクター細胞と標的細胞の表面にある特異的な糖鎖にレクチンが多価性の結合をして、これらの細胞を"架橋"できるからおこると考えられた。抗原とその受容体の特異的な相互作用を回避することにより、この細胞溶解が非特異的に起こるというのである(5、9、10)。しかしながら、この仮説はLDCCを誘導できるレクチンもあれば、効果のないレクチンもあることを説明できなかった。リンパ球と標的細胞の凝集は全てのレクチンで見出されたのに対し、LDCCは、Con AやPHA、レンズマメレクチンなど限られたレクチンにより誘導された。しかもこの誘導能は、レクチンによるTリンパ球増殖の誘導能と関連していた。マイトジェン活性をもたないPNAやSBAのようなレクチンはLDCCを誘導できなかった(5)。さらに、Bリンパ球に対してマイトジェン活性を示すPWMのようなレクチンもLDCCを誘導できなかった(5)。それゆえ、LDCCを誘導するには、エフェクター細胞と標的細胞を架橋する能力に加えて、T細胞を活性化できなければならないことが明らかになった(5)。

能動免疫後に起こる、CTLを介した特異的認識と細胞溶解のメカニズムが解明されるにつれて、LDCCのメカニズムも明らかにされていった。Tリンパ球上のT細胞レセプター(TCR)と、標的細胞上のクラスI主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子と結合した小さなペプチド(8から10個のアミノ酸からなる)との間で起こる相互作用によって、T細胞は外来の抗原を認識する。TCRは α 鎖と β 鎖からなるヘテロ2量体で、CD3複合体と結合している(11)。TCRと抗原ペプチド/MHC複合体が相互作用すると、TCRから核にシグナルを伝える生化学的変化が起き、T細胞が活性化され標的細胞が溶解される(11)。溶解においては、TCRの活性化がカギとなっている。TCRまたはTCRと結合したCD3複合体に対するモノクローナル抗体によりTCRを活性化でき、様々な標的細胞に対して傷害活性をもつTリンパ球が生じる(12)。抗CD3抗体によって誘導され、T細胞を介した非特異的な溶解はLDCCと似ている。LDCCは、レクチンがTCRのグリコシル化された部位に結合することにより、TCRが非特異的に活性化された結果であるともいわれている(12)。

TCRの α 鎖と β 鎖はともに糖タンパク質である(12)。 α 鎖上のN-結合型糖鎖は全て複合型であり、エンドグリコシダーゼHに耐性である。一方、 β 鎖は2本または3本のエンドグリコシダーゼH感受性の(高マンノース型)オリゴ糖を持つ(12)。Con Aと特異的に反応する糖鎖を発現しているため、TCRはCon A-

Sephrose column (12).

Thus, the major mechanisms involved in LDCC include bridging the effector and target cells and triggering T cell activation as a result of lectin binding to TCR/CD3 receptor which activates the intracellular second signal. Transduction of this signal leads to activation of several genes coding various lymphokines such as IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, interferon-gamma and tumor necrosis factor (11). Production of IL-2 stimulates proliferation of T lymphocytes and makes them highly cytotoxic against various target cells (8). These findings explain the mitogenic properties of lectins and their ability to induce LDCC. This also explains the previous observation of close association between T cell mitogenic properties of some lectins and LDCC. Failure of nonmitogenic lectins to induce LDCC might be due to their failure to bind and activate TCR/CD3 complex and induce lymphokine production.

Although LDCC was found to be mediated *via* lectin-induced activation of T lymphocytes, some results indicate that incubation of macrophages with tumor cells in the presence of some lectins also might lead to activation and stimulation of macrophages making them capable of destruction of tumor cells (13).

C. Direct Lectin Cytotoxicity

The ability of lectins to affect function of various normal or malignant cells has been extensively investigated (1-2). In a process of this study it was found that incubation of some lectins with normal or malignant cells might lead to cell death (14-18). This lectin-mediated cytotoxicity is observed in the absence of lymphocytes and thus it is obviously distinguishable from LDCC and can be termed as direct lectin cytotoxicity. It was found that Con A, PHA, WGA, GS1A4, GS1B4, lens culinaris (LCA), ricin (RIC) and abrin lectins are cytotoxic to various cells (14-18). Cytotoxic properties of these lectins were widely utilized in order to isolate lectin resistant variants. Selected lectin resistant cell variants were used for analysis of glycoproteins and glycolipids biosynthesis in mammalian cells, investigation of the biological role of cell surface carbohydrates in regulation of cell-to-cell interactions and metastatic behavior of malignant cells (15-20). For many cultured cell lines the frequency of lectin resistant variants was found to be about 10^{-5} - 10^{-6} . Some cell lines require mutagenization in order to obtain lectin resistant cell variants (15,17). Analysis of mechanisms responsible for lectin resistance revealed that some lectin resistant variants appeared as a result of a loss of the specific glycosyltransferase activity with a consequent loss of the cell surface carbohydrate expression and lectin bindings (15-18). However, in some cases no loss of cell surface carbohydrates, lectin binding or cell agglutination was found in cells selected for resistance to lectin cytotoxicity (15). This might indicate that resistance of tumor cells to lectin cytotoxicity is not solely

Sephroseカラムで精製できる(12)。

これまで述べたように、LDCCの主要なメカニズムは、効果細胞と標的細胞の架橋、TCR/CD3受容体にレクチンが結合しておこるT細胞の活性化、その結果起こる細胞内の2次情報の活性化である。そして、IL-2、IL-4、IL-10、IL-12、インターフェロン- γ 、腫瘍壊死因子などのリンホカインをコードする遺伝子が活性化される(11)。IL-2が産生されるとTリンパ球の増殖が刺激され、Tリンパ球の標的細胞に対する細胞傷害活性が非常に高くなる(8)。レクチンがマイトジェン活性を持ちLDCCを誘導できることはこれらの発見から説明できる。また、レクチンのT細胞に対するマイトジェン活性とLDCCが深く関係しているという観察結果も説明できる。マイトジェン活性をもたないレクチンがLDCCを誘導できないのは、そのレクチンがTCR/CD3複合体との結合・活性化ができず、リンホカインの産生を誘導できないからかもしれない。

LDCCはレクチンによるTリンパ球の活性化を介しているが、ある種のレクチンの存在下でマクロファージを腫瘍細胞とインキュベートすると、マクロファージが活性化されて腫瘍細胞を破壊できるようになる(13)。

C. レクチンによる直接の細胞傷害活性

レクチンが正常細胞及び悪性化細胞の機能に影響を与えることが詳細に報告されている(1-2)。この一連の研究の結果、正常細胞や悪性化細胞とインキュベートすると細胞死を引き起こすレクチンが存在することもわかった(14-18)。レクチンを介した細胞傷害活性はリンパ球非存在下で観察されるのでLDCCと容易に区別がつき、レクチンによる直接細胞傷害活性と名付けられる。Con A、PHA、WGA、GS1A4、GS1B4、レンズマメ (lens culinaris)レクチン(LCA)、リシン(RIC)、アブリンは様々な細胞に対して細胞傷害活性を示す(14-18)。これらのレクチンの細胞傷害活性を利用して、レクチン耐性を示す変異体が単離されている。レクチン耐性細胞変異体は、哺乳類細胞における糖タンパク質や糖脂質の生合成の解析や、細胞表面糖鎖が細胞間相互作用や悪性細胞の転移にいかに関わっているか、その調節における生物学的な役割の探求に利用されている(15-20)。多くの培養細胞株において、レクチン耐性変異体が生じる確率はおよそ 10^{-5} から 10^{-6} である。レクチン耐性細胞変異体を得るために突然変異誘発が必要となる細胞株もある(15、17)。レクチンに耐性になるメカニズムを解析した結果による、ある種のレクチン耐性変異体では、特異的に糖転移酵素の活性が失われて細胞表面の糖鎖発現が抑えられ、レクチンが結合できなくなる(15-18)。しかしながら、レクチンの細胞傷害活性に耐性を示す細胞でも、細胞表面上の糖鎖が失われておらず、レクチンの結合や細胞の凝集にも変化が見られない例もあった(15)。つまり、腫瘍

based on the loss of cell surface carbohydrates reacting with this lectin and some postbinding events are probably involved in regulation cell sensitivity to lectin cytotoxicity. The precise nature of these lectin-postbinding events as well as mechanisms of cytotoxic action of various lectins mostly remains unknown. However, for some lectins such as ricin and abrin the major mechanisms involved in cell lysis have been identified.

Ricin and abrin are weak agglutinins, but their cytotoxicity by 1,000-2,000 times higher than other cytotoxic lectins (16, 17, 21, 22). Ricin and abrin were found to consist of two chains (A and B) joined by disulfide bonds. The B chain possesses the carbohydrate-binding site specific for galactose or *N*-acetylgalactosamine, whereas the A chain unable to bind carbohydrates but manifests strong ability to inhibit protein synthesis by catalytically interacting with 60S ribosomal subunits (16, 21). Thus, binding of ricin and abrin to cell surface carbohydrates is mediated by B chain. After binding, ricin and abrin molecules are internalized by endocytosis and the A chain inhibits protein synthesis leading to cell death. It was found that small proportion of cells incubated with ricin might survive. These ricin resistant variants were isolated from various culture cell lines (16, 17, 21, 22). Analysis of the mechanisms responsible for resistance to ricin revealed that none of isolated ricin resistant variants were resistant to the toxic effects of ricin at the level of protein synthesis. The ricin resistance was actually associated with a masking of Gal/GalNAc residues by sialic acid or was due to a loss of ricin binding cell surface carbohydrates (16, 18, 21, 22). This loss of galactose and *N*-acetylglucosamine on cell surface of ricin resistant CHO cells was associated with a loss of *N*-acetylglucosaminyltransferase activity in these cells (16-18, 21, 22).

Precise mechanisms of cytotoxic action of other lectins, besides abrin and ricin are mostly unclear. It remains unknown how binding of these lectins to cell surface carbohydrates results in cell lysis, whereas binding of other lectins does not lead to cell death. It is believed that cells may be killed by various modalities *via* induction of necrosis or programmed cell death (apoptosis) (23-25). Necrotic type of cell death is a result of pore formation in cell membrane, with a balloon-like increase in cell volume and cell disruption. Cell lysis by antibodies and complement is an example of necrotic type of cell death (23). Apoptosis is characterized by induction of plasma and nuclear membrane blebbing, chromatin condensation and DNA fragmentation that is a result of activation of an endogenous endonuclease that cleaves cell DNA at the internucleosomal linker regions and produces oligonucleosome-length fragments (multiple of 180 bp) (23-25). Apoptosis is a common mechanism of cell elimination in the multicellular organism and occurs during embryonic development, as well as in a variety of adult normal and malignant tissues (23-25). Apoptosis can be induced by various signals such as exposure to corticosteroids, cytotoxic T

細胞がレクチンの細胞傷害活性に対して耐性を示すのは、レクチンと反応する細胞表面の糖鎖が失われたことだけが原因ではなく、レクチンが糖鎖に結合した後に起こる出来事もレクチンに対する感受性を決めていると考えられる。レクチンが結合した後に起こる出来事や、種々のレクチンの細胞傷害活性のメカニズムはほとんど何もわかっていない。しかし、リシンやアブリンなどのレクチンでは、細胞溶解の主要なメカニズムは解明されている。

リシンやアブリンは凝集素としては弱い、細胞傷害活性は他のレクチンに比べて1,000から2,000倍強い(16、17、21、22)。リシンやアブリンはジスルフィド結合でつながった2本の鎖(AとB)からできている。B鎖はガラクトースやN-アセチルガラクトサミンに特異的な糖結合部位を持つ。一方、A鎖には糖結合能はないが、60Sリボソームサブユニットに触媒的に相互作用することにより強力なタンパク質合成阻害活性を示す(16、21)。つまり、リシンやアブリンの細胞表面糖鎖への結合はB鎖を介して起こる。細胞表面に結合後、リシンやアブリン分子はエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、A鎖がタンパク質合成を阻害し、細胞を死に至らしめる。リシンとインキュベートしてもごく一部の細胞は生き残る。このようなリシン耐性変異体は様々な培養細胞株から単離されている(16、17、21、22)。リシンに対する耐性のメカニズムを解析すると、タンパク質合成のレベルでのリシンの毒性に耐性を示す変異体は一つもなかった。リシンに対する耐性はガラクトース/N-アセチルガラクトサミン残基がシアル酸によってマスクされることによるか、リシンが結合する細胞表面糖鎖が失われているためであった(16、18、21、22)。リシン耐性CHO細胞の表面からガラクトースとN-アセチルグルコサミンが失われたのは、この細胞からN-アセチルグルコサミン転移酵素活性が失われたためであった(16-18、21、22)。

リシンやアブリン以外の他のレクチンの細胞傷害活性の詳細なメカニズムはほとんどわかっていない。なぜリシンやアブリンが細胞表面の糖鎖に結合すると細胞の溶解を起こすのに、他のレクチンの結合は細胞死を招かないのかわからないままである。細胞は、壊死やプログラムされた細胞死(アポトーシス)の誘導により様々な死に方をすると考えられている(23-25)。細胞の壊死は、細胞膜に穴があき、細胞の体積が風船のように増えて細胞が破裂して起こる。抗体と補体による細胞の溶解は壊死による細胞死の例である(23)。アポトーシスの場合、形質膜と核膜のblebbingの誘導、クロマチンの凝集とDNAの断片化によって特徴づけられる。DNAの断片化においては、内在性のエンドヌクレアーゼが活性化されて、ヌクレオソームの間のリンカー部位のDNAが切断され、オリゴヌクレオソームの長さ(180 bpの倍数)の断片が生じる(23-25)。アポトーシスは多細胞生物で共通してみられる細胞排除のメカニズムであり、胚発生の途上にも、成熟した個体の正常および悪性化組織でも見られる(23-25)。アポトーシスはコルチコステロイドや細胞傷害Tリンパ

lymphocytes, tumor necrosis factor (TNF), and some cytotoxic drugs. In addition, apoptosis can be triggered in some cells by hormone or lymphokine deprivation (23-25). The precise biochemical events leading to apoptosis remain obscure. Recently several genes were identified that are involved in regulation of programmed cell death (25).

We recently hypothesized that cytotoxic lectin might kill tumor cells by triggering programmed cell death (26). To test this hypothesis we analyzed cytotoxic properties of GS1B₄ and WGA lectins against various murine tumor cells and their ability to induce DNA fragmentation in tumor cells (26). GS1B₄ lectin was isolated and extensively characterized by Goldstein and associates (27-28). It was shown that GS1B₄ lectin is cytotoxic and can lyse 3T3 cells, but not Ehrlich ascites tumor cells (13, 27). The GS1B₄ lectin is specific for non-reducing α -D-galactopyranosyl termini (27, 28). Almost all murine normal or malignant cells express α -galactosyl epitopes which are capable of binding GS1B₄ lectin (29). We have recently found that BL6 murine melanoma cells do not bind GS1B₄ lectin (30, 31). The absence of α -galactosyl epitopes on the cell surface of BL6 melanoma cells was found to be due to the down-regulation of α 1,3 galactosyltransferase (α 1,3GT) gene. This gene was up-regulated in BL6 melanoma clones that expressed the endogenous or transfected class I H-2K^b gene (31). Analysis of cytotoxic activity of GS1B₄ and WGA lectins against various murine malignant cell lines revealed that these lectins do not lyse tumor cell lines that fail to express GS1B₄- or WGA-binding sites (BL6 melanoma and YAC-1 lymphoma respectively). However, some cultured cell lines such as YAC-1 lymphoma cells that expressed α -galactosyl epitopes showed low sensitivity to lysis by GS1B₄ (26). These data indicate that presence of lectin binding sugars is necessary, but not sufficient for lectin-mediated cytotoxicity. This conclusion is confirmed by experiments in which BL6-8 melanoma cells were transfected with the cDNA coding α 1,3GT. Reconstitution of α -galactosyl epitopes expression in BL6-8 melanoma cells after transfection with α 1,3GT gene did not render them susceptible to GS1B₄ lectin cytotoxicity (26). However, numerous tested cell lines that expressed GS1B₄ and WGA binding sites manifested high sensitivity to these lectin cytotoxicity. To determine the possible mechanisms responsible for lectin cytotoxicity, we investigated whether binding of GS1B₄ and WGA lectins to cell surface carbohydrates is triggering programmed cell death.

Microscopic examination of tumor cells exposed with GS1B₄ or WGA lectins revealed morphological changes typical for apoptosis with condensation of chromatin and cell blebbing. Fragmentation of cellular DNA is the most typical feature of apoptosis (23). Therefore, the ability of GS1B₄ and WGA lectins to induce DNA fragmentation of tumor cells was investigated. Tumor cells were labelled with ³H-thymidine (1 μ Ci/

球、腫瘍壊死因子(TNF)、細胞傷害活性を持ったいくつかの薬物など様々なシグナルによって誘導できる。ホルモンやリンホカインの枯渇によってアポトーシスを誘導できる細胞もある(23-25)。アポトーシスに至るまでの正確な生化学的事象ははっきりしていない。最近、プログラムされた細胞死の調節に関わるいくつかの遺伝子が同定された(25)。

最近我々は、細胞傷害活性をもつレクチンは、プログラムされた細胞死の引き金を引くことにより腫瘍細胞を殺すという仮説をたてた(26)。この仮説を検証するために、GS1B₄とWGAについて、様々なマウス腫瘍細胞に対する細胞傷害活性と、DNA断片化の誘導能を解析した(26)。GS1B₄はGoldsteinらによって単離され詳細に解析されている(27-28)。GS1B₄は細胞傷害活性をもち、3T3細胞を溶解できたがエールリヒ腹水腫瘍細胞は溶解できなかった(13, 27)。GS1B₄は非還元末端側の α -D-ガラクトピラノシル残基を特異的に認識する(27, 28)。マウスの正常及び悪性化細胞のほとんど全てが、GS1B₄を結合できる α -ガラクトースエピトープを発現している(29)。最近我々は、BL6マウスメラノーマ細胞にGS1B₄が結合しないことを見出した(30, 31)。BL6メラノーマ細胞表面に α -ガラクトースエピトープが存在しないのは、 α 1,3ガラクトース転移酵素(α 1,3GT)遺伝子のダウンレギュレーションによるものであることがわかった。この遺伝子は、内在性の、あるいはトランスフェクションしたクラスI H-2K^b遺伝子が発現しているBL6メラノーマ細胞のクローンではアップレギュレーションされていた(31)。様々なマウス悪性化細胞株に対するGS1B₄レクチンやWGAレクチンの細胞傷害活性を解析してみると(GS1B₄はBL6メラノーマ、WGAはYAC-1リンパ腫で調べた)、レクチン結合部位を発現できなかった腫瘍細胞株は溶解しないことがわかった。しかしながら、 α -ガラクトースエピトープを発現しているYAC-1リンパ腫のようないくつかの培養細胞株は、GS1B₄による溶解に対して低い感受性を示した(26)。すなわち、レクチンが結合する糖鎖は必要であるが、それだけではレクチンを介した細胞傷害活性には充分ではないことがわかる。この結論は、BL6-8メラノーマ細胞に α 1,3GTをコードするcDNAをトランスフェクションした実験で確かめられた。BL6-8メラノーマ細胞に α -ガラクトースエピトープが再び発現するようにしても、GS1B₄は細胞傷害活性を示さなかった(26)。しかし、GS1B₄とWGA結合部位を発現している多数の細胞株では、これらのレクチンの細胞傷害活性に対して感受性が高かった。レクチンの細胞傷害活性のメカニズムを明らかにするために、GS1B₄とWGAが細胞表面糖鎖へ結合することによって、プログラムされた細胞死の引き金が引かれるかどうかを調べた。

GS1B₄あるいはWGAを添加した腫瘍細胞を顕微鏡で観察してみると、クロマチンの凝集と細胞のblebbingというアポトーシスの典型的な形態上の変化が見られた。細胞DNAの断片化はアポトーシスの最も典型的な特徴である(23)。そこで、GS1B₄とWGAの腫瘍細胞におけるDNAの断片化の誘導能を調べた。腫瘍細胞を³H[チミジンで標識(1 μ Ci/ml)し、GS1B₄またはWGA(20

ml) and incubated with GS1B₄ or WGA (20 µg/ml) for 16h. Cells were lysed and the DNA was assayed for fragmentation. Incubation of [³H]thymidine-labeled tumor cells with GS1B₄ or WGA lectins indeed resulted in DNA fragmentation of lectin sensitive, but not resistant cell lines (26). When gel electrophoresis of DNA isolated from tumor cells incubated with GS1B₄ or WGA lectins was performed a ladder-like pattern of fragmented DNA, typical for apoptosis was found. In the presence of the specific inhibitory sugar methyl α-D-galactopyranoside, GS1B₄ lectin did not induce DNA fragmentation and cell death (26). Thus, these data indicate that cytotoxic lectins lyse tumor cells by triggering programmed cell death. Binding of lectins to cell surface carbohydrates is an essential step in lectin cytotoxicity.

However, it is not clear whether lectin binding to cell surface carbohydrates is sufficient to trigger apoptosis. To study this, tumor cells were incubated with GS1B₄ lectin conjugated to agarose beads. Tumor cells readily bound to GS1B₄ conjugated beads, but they were not lysed (26). Based on these data it was concluded: i) lectin binding to cell surface carbohydrates is not sufficient to trigger tumor cells lysis; ii) cytotoxic activity of the lectins is mediated by soluble but not immobilized lectins and thus it may require lectin internalization.

To determine how rapidly lectin binding leads to irreversible events resulting in tumor cell lysis, tumor cells were incubated with GS1B₄ lectin (20 µg/ml) for 1, 2 and 4 hrs. Cells were washed to remove unbound lectin and the lectin-specific inhibitory sugar, methyl α-D-galactopyranoside (10 mM), was added to remove cell bound lectin. The cells were then cultured for up to 48 hrs. It was found that after 1-2 hr of cells exposure to lectin the haptenic sugar was able to protect from lysis only 50% of cells. Methyl α-D-galactopyranoside completely failed to prevent tumor cell lysis when cells were preincubated with the lectin for 4 hrs (26). These results suggest that after 4h of incubation with GS1B₄ lectin the cytotoxicity signal was irreversible, possibly due to completion of a postbinding events such as lectin-receptor complex internalization or intracellular signaling leading to apoptosis. The precise intracellular mechanisms involved in program cell death triggered by lectins remain unknown.

It should be noted that selection of tumor cells for resistance to GS1B₄ lectin-mediated lysis did not result in selection of cells that lost α-galactosyl epitopes. Although these selected variants manifested resistance to the relatively high concentrations of GS1B₄ lectin (160 µg/ml) they were found to be highly sensitive to lysis by human serum containing anti-Gal antibodies and complement (unpublished observations). Thus, resistance of tumor cells to GS1B₄ lectin cytotoxicity does not confer them resistance to anti-Gal antibody and complement that induce a necrotic type of death.

µg/ml)と16時間インキュベートした後、細胞を破壊し、DNAの断片化状況を調べた。 [³H]チミジンで標識した腫瘍細胞をGS1B₄またはWGAとインキュベートすると、レクチン感受性細胞ではDNAの断片化が起こったが、レクチン耐性細胞ではそれが見られなかった(26)。前者のDNAをゲル電気泳動すると、アポトーシスに典型的な、断片化したDNAのはしご状のパターンが見られた。特異的な阻害糖であるメチル α-D-ガラクトピラノシド存在下では、GS1B₄はDNAの断片化と細胞死をもたらさなかった(26)。よって、これらのデータから、細胞傷害活性をもつレクチンは、プログラムされた細胞死を誘導することにより腫瘍細胞を溶解することがわかる。レクチンが細胞表面の糖鎖に結合することは、レクチンの細胞傷害活性に不可欠なステップである。

しかし、レクチンが細胞表面の糖鎖に結合することがアポトーシスを引き起こすのに充分であるかどうかははっきりしない。このことを調べるために、腫瘍細胞を、アガロースビーズに固定化したGS1B₄とインキュベートした。腫瘍細胞はGS1B₄を固定したビーズに容易に結合したが溶解されなかった(26)。これらのデータから以下の結論が得られた。 i) 細胞表面の糖鎖にレクチンが結合するだけでは腫瘍細胞の溶解を引き起こせない。 ii) レクチンの細胞傷害活性は可溶性のレクチンではみられたが、固定化されたレクチンではみられず、レクチンの細胞内への取り込みを必要とするのかもしれない。

レクチンが結合してからどれくらいの時間がたつと不可逆的に腫瘍細胞溶解まで進んでしまうのかを決めるために、腫瘍細胞をGS1B₄(20 µg/ml)と1、2、または4時間インキュベートした。結合しなかったレクチンを除くために細胞を洗い、GS1B₄に特異的な阻害糖メチル α-D-ガラクトピラノシド(10 mM)を加えて細胞に結合したレクチンを除いた。その細胞を48時間培養した。細胞をレクチンと1時間、あるいは2時間インキュベートしたときには、ハプテン糖は細胞の溶解を50%阻害した。細胞をレクチンと4時間インキュベートすると、メチル α-D-ガラクトピラノシドは腫瘍細胞の溶解を全く阻害できなかった(26)。この結果から、GS1B₄と4時間インキュベートすると、アポトーシスに至るレクチン-受容体複合体の取り込みや細胞内情報伝達のような一連のステップが終了し、細胞傷害のシグナルが不可逆的になることが示唆される。レクチンによって引き起こされるプログラムされた細胞死の詳細な細胞内メカニズムは未だ不明のままである。

GS1B₄によって引き起こされる溶解に耐性な腫瘍細胞を選択しても、α-ガラクトースエピトープを失った細胞を選択したことにはならなかったことは記憶にとどめておく必要がある。このようにして選択された変異体は、比較的高い濃度(160 µg/ml)のGS1B₄に対しても耐性を示したが、抗ガラクトース抗体と補体を含むヒト血清には非常に感受性が高く、溶解された(未発表データ)。腫瘍細胞がGS1B₄の細胞傷害活性に対して耐性を示すからといって、壊死型の細胞死をもたらす抗ガラクトース抗体と補体に耐性ということにはならない。

D. The Biological Significance of Lectin Cytotoxicity?

Lectin cytotoxicity was demonstrated exclusively *in vitro* and the question is whether this is solely an *in vitro* phenomenon or does it have any *in vivo* biological significance. Lectin cytotoxicity has been analyzed with plant lectins against animal or human cells. This may seem to be an artificial and irrelevant system for having some biological significance for humans or animals. However, there are many possibilities for interactions of plant lectins with human and animals cells. Many plant products that consumed by humans and animals contain a variety of lectins (32). Lectins are present in beans, soybeans, nuts, wheat germ, peas, potatoes, tomatoes and other widely used vegetables and fruits. Accumulated experimental data indicate that lectins are often highly resistant to degradation by gastric acid and intestinal enzymes and can be recovered in an active form from feces after digestion of wheat germ or peanuts by human volunteers (33, 34). These findings suggest the potential interactions between plant lectins and cell surface carbohydrates of the epithelial cells of gastro-intestinal tract with possible physiologic and pathogenic implications in animals and humans. It was recently demonstrated that dietary PNA lectin recovered from feces of volunteers after ingestion of peanuts is mitogenic for normal epithelial cells in colon as well as for human HT29 colorectal cancer cells (34). It is of interest that PNA in combination with epidermal growth factor (EGF) had additive or synergistic effect on proliferation of HT29 colorectal cancer cell line. It was proposed that dietary PNA lectin might promote tumor cell growth (34). The possible involvement of dietary PNA or other lectins in malignant growth in human has not attracted sufficient attention. However, the epidemiological studies in New York State showed an association between ingestion of peanut butter and increased risk for rectal carcinoma (35). This association was not confirmed however by other studies.

If to extrapolate the observed PNA lectin-gastrointestinal cell interaction over other lectins, particular those with cytotoxic ability it is expected that these lectin might be cytotoxic to normal or malignant cells. Indeed, some dietary lectins were found to be harmful to the gastrointestinal mucosa of experimental animals (36, 37). Direct analysis of the effects of WGA and Con A lectins administrated into the intestinal lumen of rats revealed that these lectins accelerated brush border membrane degradation, decreased membrane surface area, and caused cell lysis and exfoliation (36). There is no direct confirmation on the occurrence of this phenomenon in humans. This possibility is likely as suggested by the finding that dietary WGA lectin is resistant to gastrointestinal digestion (33). Thus dietary WGA lectin can be potentially cytotoxic to normal or malignant intestinal cells.

It is therefore possible that dietary lectins might interact with the intestinal normal or malignant cells and influence their

D. レクチンの細胞傷害活性は生物学的に重要か？

レクチンの細胞傷害活性はもっぱら *in vitro* で示されている。これが単に *in vitro* のみで見られる現象なのか、それとも *in vivo* での生物学的な重要性を持つのだろうか？ レクチンの細胞傷害活性は、植物レクチンの動物細胞に対する作用が解析されている。動物にとって生物学的な重要性があるかどうかを調べるには、この系は不自然で見当違いとも思える。しかし、植物レクチンが動物細胞と相互作用する可能性は多々ある。動物の餌となる植物の生産物の多くに様々なレクチンが含まれている (32)。レクチンはソラマメ、ダイズ、クルミ、コムギ胚、エンドウマメ、ジャガイモ、トマト、その他の日常的な野菜や果物に含まれている。レクチンは胃酸や腸の酵素に対する耐性が非常に高いことが多く、コムギ胚やピーナツを消化したヒトのボランティア被験者の排泄物からも、レクチンが活性型で回収できる (33, 34)。これらの結果は、消化管の上皮細胞表面上の糖鎖と植物レクチンとの相互作用が、生理学的病理学的な意味をもった形で起きている可能性を示唆している。ピーナツを摂取したボランティア被験者の排泄物から回収したPNAが、結腸の正常上皮細胞やヒトHT29結腸直腸癌細胞株に対してマイトジェン活性をもつことがわかった (34)。面白いことに、PNAを上皮成長因子(EGF)と同時に与えると、HT29結腸直腸癌細胞株に対して相加的もしくは相乗的な効果を示した。食餌中のPNAは腫瘍細胞の増殖を促進するかもしれないといわれている (34)。ヒトでの悪性腫瘍の増殖における食物中のPNAや他のレクチンの関与の可能性についてはまだそれほど注目されていない。しかし、ニューヨーク州における疫学的な調査によれば、ピーナツバターの摂取と直腸癌の危険率の増加の相関性が示されている (35)。しかし、この相関性は他の研究では確かめられなかった。

PNAレクチンと消化管の細胞との間で観察される相互作用を、他のレクチン、特に細胞傷害活性を持つレクチンにあてはめると、こういったレクチンも正常細胞や悪性化細胞に細胞傷害活性を持っているかもしれない。実際、食餌中のレクチンには実験動物の消化管の粘膜に対し有害なものもある (36, 37)。ラットの消化管内腔に投与したWGAとCon Aの効果を直接分析してみると、これらのレクチンは刷子縁膜の変質を加速し、膜の表面積を減らし、細胞の溶解と剥脱を引き起こすことがわかった (36)。直接の証拠はないが、食餌中のWGAが消化管における消化に耐性であること (33) から示唆されるように、この現象がヒトでも起こる可能性がある。従って、WGAは正常もしくは悪性化した腸の細胞に対して細胞傷害活性をもちうる。

結果として食餌中のレクチンは、腸の正常もしくは悪性化細胞と相互作用してその増殖や生存にポジティブもしくはネガ

proliferation and survival in both a positive and negative way. So far there is no direct confirmation for these possibilities. It should be noted that food processing (cooking) might substantially reduced the amount of dietary lectins potentially capable of interacting with the intestinal epithelial cells. Furthermore, the biological activity of dietary lectins can be abrogated by the sugar-containing vegetable fibers that compete for lectin binding (34). All this might complicate evaluation of the possible biological effects of various diet and dietary lectins.

Lectins that were originally found in plants have been recently identified in various other species including mammals (2, 38, 39). Plant and animal lectins are structurally diverse class of protein without any homology in amino acid sequences. It seems that genes for animal lectins have evolved *de novo*. In spite of their differences in amino acid sequences, plant and animal lectins share the ability to bind specifically and reversibly to carbohydrates (2, 39). Depending on requirement for Ca^{++} , endogenous animal lectins have been divided into 2 groups: C-type (Ca^{++} -dependent) and S-type (Ca^{++} -independent) (39). S-Type animal lectins are generally assayed in the presence of thiols because oxidation inhibits their carbohydrate-binding activity (39). Both C- and S-types of lectins exist in 2 forms: cell membrane associated and soluble (39, 40). The physiological role of the endogenous lectins in humans and in animals remains unclear. It is believed that endogenous lectins play a role in intercellular interactions, cell migration, adhesion and endocytosis of glycoproteins (1-3, 39, 40). There are no evidences so far that animal lectins are cytotoxic. Since plant and animal lectins share many properties it is possible that some animal lectins might have cytotoxic activity. Although cytotoxic lectins in plant have been identified, their role in the organism also remains unknown. It is evident that the lectins are not cytotoxic to the plants producing them. It is believed that in general lectins might be involved in protection of plants from bacterial, viral or fungal infection (1, 2, 40-42). If this hypothesis is correct, it raise the question of whether the endogenous lectins found in animals and humans might also have a protective role. Recent studies have indicated that some endogenous lectins are indeed involved in host defence against pathogens. Recently mammalian mannose-binding proteins (MBP) have been isolated from various mammalian sera, including human serum, and have been identified as C-type lectin. The gross structure of the serum MBP is remarkably homologous with that of C1q complement factor capable of binding directly to antigen-antibody complex and initiate the activation of complement *via* the classical pathway (43). It was found that MBP lectin can bind to oligomannose cell surface oligosaccharides of various bacteria and fungi and neutralize these microorganisms by complement-mediated lysis even in the absence of the specific antibodies (43). MBP were found in serum as well as associated with liver cells. Despite structural

タイプに働きうる。いまのところ直接の証拠はない。食物の処理(調理)は、腸の上皮細胞と相互作用できるレクチンの含量をかなり下げている可能性を考えておかねばならない。さらに、食餌中のレクチンの生物活性は、レクチン結合に拮抗する糖を含む野菜繊維によって失われているかもしれない(34)。こうしたもろもろの事情が、食餌中のレクチンの生物学的効果についての評価を複雑にしている。

最初、植物で見出されたレクチンは、最近、哺乳類や様々な他の種で同定されてきた(2, 38, 39)。植物レクチンと動物レクチンは構造的に別個のクラスのタンパク質であり、アミノ酸配列の相同性は全くない。動物レクチンの遺伝子は新たに進化してきたと思われる。アミノ酸配列は違っても植物レクチン、動物レクチンのいずれも糖鎖と特異的かつ可逆的に結合できる(2, 39)。 Ca^{2+} に対する要求性の違いから、内在性の動物レクチンは2つのグループ、すなわちC型(Ca^{2+} 依存性)とS型(Ca^{2+} 非依存性)に分けられる(39)。S型の動物レクチンは通常、チオールが存在下に活性を調べる。というのも、酸化によって糖結合活性が失われるからだ(39)。C型とS型両レクチンは2つの型で存在する。膜結合型と可溶性である(39, 40)。動物における内在性レクチンの生理学的な役割は不明なままである。内在性のレクチンは、細胞間相互作用や細胞の遊走、接着、糖タンパク質のエンドサイトーシスにおいて役割を担っていると考えられている(1-3, 39, 40)。動物レクチンに細胞傷害活性があるという証拠はいまのところない。植物レクチンと動物レクチンには共通の性質が数多くあるので、動物レクチンで細胞傷害活性をもっているものがあるかもしれない。細胞傷害活性をもつレクチンが植物で同定されているが、その役割については不明なままである。細胞傷害性レクチンは、そのレクチンを産生する植物には働かないのは明らかである。植物レクチンは、バクテリアやウイルス、菌類の感染からの植物の保護に関わっているかもしれないと一般的に考えられている(1, 2, 40-42)。もしこの仮説が正しいとすると、動物で発見された内在性のレクチンも生体防禦的な役割をもっているのかという疑問がわいてくる。最近の研究の結果、病原体からのホストの生体防禦に、実際に内在性レクチンが関わっていることが示されている。最近、ヒトを含む様々な哺乳類の血清からマンノース結合タンパク質(MBP)が単離され、C型レクチンであると同定された。血清MBPの構造はC1q補体成分と相同性が非常に高い。C1q補体成分は抗原抗体複合体と直接結合して古典的経路を介して補体を活性化できる(43)。MBPは、様々なバクテリアや菌類のオリゴマンノース構造をもつ細胞表面糖鎖に結合でき、特異的抗体が存在しなくても補体を介した溶解によりこれらの微生物を中和する(43)。MBPは血清以外には肝臓細胞と結合したかたちで見出される。

similarities of serum and liver MBP, only serum MBP is capable of complement activating (43). It was also demonstrated that serum MBP are able to enhance opsonization of bacteria and helping their clearance (44). These results suggest that lectins might play a role in first line defense against certain pathogens.

Although animal lectins with direct cytotoxic activity have not been identified yet, it is expected based on the data obtained with plant lectins, that soluble lectins rather than immobilized cell membrane-associated lectins should be cytotoxic. These lectins might bind and lyse cells with altered cell membrane carbohydrates composition. If this hypothesis is correct it is possible to assume that endogenous soluble lectins with cytotoxic activity might represent a primitive non-immunological mechanism for elimination of the aberrant somatic cells as well as invading microorganisms. Since alteration of cell membrane carbohydrates is a very common feature of malignant cells, this lectin-mediated cytotoxicity might play a role in the host's antitumor and antimetastatic defense.

Acknowledgements

The author would like to thank Dr. Uri Galili (Department of Microbiology and Immunology, Medical College of Pennsylvania) for critical review of the manuscript, comments and fruitful suggestions.

血清MBPと肝臓MBPは構造は似ているが、血清MBPだけが補体を活性化できる(43)。血清MBPはバクテリアのオプソニン化を増強でき、バクテリアの排除を助ける(44)。これらの結果は、レクチンがある種の病原体に対する生体防禦の第一の砦としての役割を担っていることを示唆している。

直接の細胞傷害活性をもつ動物レクチンはまだ同定されていないが、植物レクチンについて得られたデータを基にすると、固定化された膜結合型のレクチンよりも可溶性のレクチンの方が細胞傷害活性を持つことが期待される。これらの可溶性レクチンは細胞膜上の糖鎖構成が変化してしまった細胞に結合して溶解するかもしれない。もしこの仮説が正しいなら、細胞傷害活性をもった内在性の可溶性レクチンは、異常な体細胞や侵入してきた微生物の排除において、原始的な非免疫学的メカニズムとしての役割を担っていると仮定することもできる。悪性化細胞においては、細胞膜上の糖鎖の変化は共通に起こることなので、レクチンを介した細胞傷害活性は、ホストの抗腫瘍および抗転移防禦において役割を担っているかもしれない。

帝京大学・薬学部・生物化学教室
荒田 洋一郎 訳

References

- Liener, I., Sharon, N., and Goldstein, I., eds. (1986) *The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*, Academic Press, Orlando, FL
- Sharon, N., and Lis, H. (1990) *FASEB J.* **4**, 3198-3208
- Goldstein, I., Hughes, R., Monsigny, M., Osawa, T., and Sharon, N. (1980) *Nature* **285**, 66-70
- Nowell, P.C. (1960) *Cancer Res.* **20**, 462-466
- Berke, G. (1989) in: *Fundamental Immunology* (Paul, W., ed) pp.735-764, Raven Press Ltd., New York
- Heegaard, P.M.H., and Muller, K. (1988) *J. Immunol. Immunopharmacol.* **8**, 239-247
- Morgan, D., Russetti, F., and Gallo, R. (1976) *Science* **193**, 1007-1008
- Smith, K. (1988) *Science* **240**, 1169-1176
- Forman, J., and Muller, G. (1973) *J. Exp. Med.*, **138**, 672-685
- Bevan, M.J. and Cohn, M. (1975) *J. Immunol.* **114**, 559-565
- Klausner, R. and Samelson, L. (1991) *Cell* **64**, 875-881.
- Hubbard, C., Kranz, D., Longmore, G., Sitkovsky, M., and Eisen, H. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **83**, 1852-1856
- Maddox, D., Goldstein, I., and Lobuglio, A. (1982) *Cell. Immunol.* **71**, 202-207
- Chen, Y., Boland, R., Kraus, E., and Goldstein, I. (1994) *Int. J. Cancer* **57**, 561-567
- Stanley, P. (1981) In: *The biochemistry of glycoproteins and proteoglycans*, Lennarz, W., ed., Plenum Press, New York, pp. 161-189
- Gottlieb, C., Skinner, A., and Kornfield, S. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **71**, 1078-1082
- Meager, A., Ungkitchanukit, A., Nairn, R., and Hughes, R. (1975) *Nature* **257**, 137-141
- Stanley, P., Caillibo, V., and Siminovitch, L. (1975) *Cell* **6**, 121-129
- Tao, T., and Burger, M. (1977) *Nature* **270**, 437-438
- Reading, C., Belloni, P., and Nicolson, G. (1980) *J. Natl. Cancer Inst.* **64**, 1241-1249
- Olsnes, S., Refsnes, K., and Pihl, A. (1974) *Nature* **249**, 627-631
- Gottlieb, C., and Kornfield, S. (1976) *J. Biol. Chem.* **251**, 7761-7772
- Wyllie, A., Kerr, J., and Currie, A. (1980) *Int. Rev. Cytol.* **68**, 251-305
- Gerschenson, L., and Rotello R. (1992) *FASEB J.* **6**, 2450-2455.
- Williams G., and Smith, C. (1993) *Cell* **74**, 777-779.
- Kim, M., Rao, V., Twardy, D., Prakash, M., Galili, U., and Gorelik, E. (1994) *Glycobiol.* **3**, 447-453
- Stanley, W., Peters, B., Blake, D., Yep, D., Chu, E., and Goldstein, I. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 303-307
- Goldstein, I., Blake, D., Ebisu, S., Williams, T., and Murphy, L. (1981) *J. Biol. Chem.* **256**, 3890-3893
- Galili, U., Shohet, S., Kobrin, E., Stults, C., and Macher, B. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 17755-17762
- Gorelik, E., Jay, G., Kim, M., Hearing, V., DeLeo, A., and McCoy, P. (1991) *Cancer Res.* **51**, 5212-5218

31. Gorelik, E., Kim, M., Duty, L., Henion, T., and Galili, U. (1994) Clin. Exp. Metastasis **11**, 439-452
32. Nachbar, M., and Oppenheim, J. (1980) Am. J. Clin. Nutr. **33**, 2338-2345
33. Brady, P., Vanner, A., and Banwell, J. (1978) Gastroenterology **75**, 236-239
34. Ryder, S., Smith, J., and Rhodes, J. J. Natl. Cancer Inst. (1992) **84**, 1410-1416
35. Graham, S., Dayal, H., Swanson, M., et al. (1978) J. Natl. Cancer Inst. **61**, 709-714
36. Lorenzonn, V., and Olsen, W. (1982) Gastroenterol. **82**, 838-848
37. Weaver, L., and Bailey, D. (1987) J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. **6**, 445-453
38. Raz, A., Meromsky, L., and Lotan, R. (1987) Cancer Res. **46**, 3667-3672
39. Drickamer, K. (1988) J. Biol. Chem. **263**, 9557-9560
40. Barondes, S. (1984) Science **223**, 1254-1264
41. Pistole, T. (1981) Ann. Rev. Microbiol. **3**, 4-9
42. Monsigny, M. (1984) Biol. Cell **51**, 113-294.
43. Ikeda, K., Sannoh, T., Kawasaki, N., Kawasaki, T., and Yamashina I. (1988) J. Biol. Chem. **262**, 7451-7454
44. Kunlman, M., Joiner, K., and Ezekowitz, A. (1989) J. Exp. Med. **169**, 1733-1745

Received on August 9, 1994, accepted on September 1, 1994.