

A Guide to Signaling Pathways Connecting Protein-Glycan Interaction with the Emerging Versatile Effector Functionality of Mammalian Lectins

タンパク質・グリカン相互作用と多機能エフェクターとしての
動物レクチンの働きを基盤としたシグナル伝達経路への入門

Villalobo, Antonio^{*}; Nogales-González, Aitor^{*}; and Gabius, Hans-J.[§]

^{*}Instituto de Investigaciones Biomédicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas,
and Universidad Autónoma de Madrid, Arturo Duperier 4, E-28029 Madrid, Spain
FAX: 34-91-585-4401, E-mail: antonio.villalobo@iib.uam.es

[§]Institut für Physiologische Chemie, Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztliche Fakultät,
Veterinärstrasse 13, D-80539 München, Germany
FAX: 49-89-2180-2508, E-mail: gabius@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Key Words: anoikis, apoptosis, caspases, cell adhesion, cell cycle, galectins, integrins, proliferation, selectins

Abstract

The plasma membrane establishes the interface for the communication of cells with the environment. Thus, surface determinants govern the reactivity and capacity of cells to respond to external signals. Changes in their profile, for example in malignant transformation, and manifestation of cell-type-specific features apparently hold inspiring lessons in store for us on how they are translated into cellular responses. But before turning to the signaling routes the biochemical modes for coding signals warrant a comment, as proteins are often unduly portrayed as the decisive hardware. In contrast, and actually prominent among the biochemical systems to store information, carbohydrate epitopes of cellular glycoconjugates favorably combine high-density coding with strategic positioning, rendering them readily accessible for interactions with adaptor molecules. The interaction with lectins is the ignition key to start glycoconjugate-mediated biosignaling. Several plant lectins, especially due to their mitogenicity, have become a popular type of laboratory tool to elicit cell responses and to analyze biochemical pathways leading from initial binding to measured activity such as enhanced proliferation. With emerging insights into the roles of mammalian (endogenous) lectins and the promising perspective for medical applications, emphasis in this area is shifting from model studies with plant proteins toward work with the physiological effectors. By targeting branch-end epitopes of glycan chains two classes of endogenous lectins, *i.e.* galectins and selectins, are remarkably well suited to establish initial contacts with the cell surface. Indeed, these lectins – in their interplay with certain cognate binding partners – are being defined as potent signal inducers. Consequently, we can take aspects of their activity profiles as incentive to dissect underlying routes of signal transmission with an eye more on principles than on intricate case-specific

要 約

細胞膜は細胞と外部環境との間のコミュニケーションのためのインターフェイスとしてゆるぎない役割をもつ。したがって外部シグナルに対する細胞の反応性や応答能力は、細胞表面の決定基により支配される。たとえば細胞が悪性化した場合、それらのプロファイルがどのように変化するか、細胞の型に特有などのような糖鎖が出現するかを検討することから、糖鎖情報がどのように細胞の応答をもたらすか、刺激に満ちた知識を得られるだろう。しかしとかくタンパク質がすべてをにぎるハードウェアとして過大評価されがちなので、シグナル経路を検討する前に、シグナルをコードする生化学的モードを見ておく必要がある。細胞がもつ複合糖質上の糖質エピトープは、実際に情報を貯える生化学的システムの中でも特異なもので、タンパク質とは対照的で、高密度のコード化を達成できる有利な立場にあり、アダプター分子と容易に接触して相互作用できる状況にある。複合糖質が関わる生命シグナルの始動スイッチはレクチンとの相互作用である。細胞分裂促進作用をもつレクチンは、細胞の応答を誘発させ、結合を起点として、目に見える増殖促進にいたるまでの生化学的経路を解析するための道具として研究に有効に使われてきた。哺乳動物の(内在性)レクチンの役割が明らかになり、医学的応用への期待が高まるにつれ、植物のタンパク質を使ったモデル実験から、生理的意味をもつエフェクターを用いた研究へと重点が移動しつつある。細胞表面との最初の接触を成立させるには、末端が枝別れしたグリカン鎖エピトープを標的とする2つのレクチン(ガレクチンとセレクチン)がもっとも適している。これらのレクチンは、似かよった結合相手と相互作用してシグナルを誘起する有力な物質としての地位が確定している。したがってこれらのレクチンの活性プロファイルは、シグナル伝達経路の基本構造を、細かい各論はさておいて、原理に着目しつつ解析する出発点として

details. Hence, regulation of cell growth by cascades of mitogen-activated protein kinases (MAPKs), cyclins/cyclin-dependent kinases and inhibitors thereof, of cell survival by the phosphatidylinositol 3'-OH kinase (PI3K)/Akt pathway, the remodeling of the cytoskeleton by integrin-mediated cell adhesion, the implication of p53 in regulating cell fate and details of programmed cell death by the intrinsic and extrinsic routes for induction of apoptosis will be discussed. Moreover, we will look at selectin-induced signaling during leukocyte homing. Explicitly, it is the aim of our review to familiarize glycoscientists, whose main interest is to scrutinize the structural aspects or to develop applications, with basic concepts of cellular signaling triggered by these interactions.

A. Introduction

Their chemistry confers unique properties to carbohydrates for handling biological information. In marked contrast to amino acids and nucleotides, the synthesis of linear oligomers is in this case not at all restricted to a single way to join the individual building blocks. Variability in anomeric linkage (α, β) and in the connections via glycosidic linkages involving the four pairs of hydroxyl groups at positions 1-2, 1-3, 1-4, and 1-6 for hexopyranoses is a crucial factor to explain the unsurpassed capacity of oligosaccharides to store information (1, 2). Thus, the sequence of an oligosaccharide is determined by the order of its building blocks and then by the way they are linked in the chain. When looking at glycogen and cellulose, the importance of the difference between α - and β -linkages becomes apparent. Next, the presence of several, rather equivalent adaptor points in a monosaccharide has a further important consequence. Known from ABH blood-group epitopes (3), branching is a common feature of glycan epitopes, another appealing structural talent of carbohydrates in bioinformatics. This ability for high-density coding, "ideal for generating compact units with explicit informational properties" (4), is a boon to present a large array of biochemical signals within the limited space of the cell surface. Automatically, the notion suggesting that spatially accessible epitopes at the branch ends of glycan chains such as those of the mentioned ABH system are likely relevant to serve as code words arises. To meet the demand for generating a wide panel of signals, frequent structural variations in this region should be detectable, a hypothesis put to experimental test using plant lectins in histochemistry.

Indeed, histochemical monitoring and also structural analysis have amply illustrated occurrence of cell-type-characteristic glycomic profiles, to which the concept of the sugar code is now ascribing a functional meaning (5-23). As a prerequisite to be able to realize the theoretical coding potential, an adequate set of glycosyltransferases must

利用できる。そこで、マイトゲン活性化プロテインキナーゼ (MAPK)、サイクリン、サイクリン依存性キナーゼおよび阻害分子による細胞成長の調節を先ず取り上げ、次いでホスファチジルイノシトール 3'-OH キナーゼ (PI3K)/AK 経路、インテグリン介在細胞接着による細胞骨格のリモデリング、細胞の運命制御に対する p53 の関与、および内因性および外因性経路によるプログラム細胞死と関連づけた細胞の生き残りについて検討する。更に白血球のホーミングに際してセレクチンで誘導されるシグナルについても取り上げる。構造に主として興味をもつ糖質研究者、あるいは応用に主として興味をもつ糖質研究者に、糖質に関わる相互作用が誘起する細胞シグナル伝達の基本的概念に親しんでもらうことが本総説の目的である。

A. はじめに

糖質が生物学的情報に関わる際に示す特徴は、その化学的性質に由来する。アミノ酸やヌクレオチドとは大きく違って、オリゴマーを段階的に生合成するに際して、構成単位を結合する様式がいくつもある。アノマー結合 (α, β) や、ヘキサピラノースの場合の 4 通りのヒドロキシ基の位置関係からくるグリコシド結合の多様性 (1L, 1U, 1D, 1F 結合) から、オリゴ糖が驚くほどの情報貯蔵能力を持ちうるものが直ちに理解できる (1, 2)。したがってオリゴ糖鎖の配列は、構成単位の順番と、鎖の結合様式で決まる。グリコーゲンとセルロースを比較すればわかるように、 α 結合と β 結合では根本的な違いが生まれる。次に重要なのは、単糖には複数のアダプターとなりうる部位があることである。ABH 血液型エピトープのように (3)、枝分かれがあることがグリカンエピトープに共通した特徴であり、バイオインフォーマティクスにおいてに糖鎖構造が有用かわかる。「豊富な情報提示能力を持つ小さい単位として最適 (4)」と言われるように、高密度のコードを形成する能力により、細胞表面の限られた領域内に大量の生化学的シグナルを提示できる利点がある。そこで、ABH システムなどのような、空間的な意味で接触可能な、枝分かれをもつグリカン鎖上のエピトープが、コード言語の役割をもつという概念が生まれてくるのは当然である。多種多様なシグナルが実際に機能するためには、グリカン鎖の構造の多様な変化を検出できることが必要であるが、これは植物レクチンを用いた組織化学的実験で検証されている。

組織化学的観察および構造解析により、細胞の型に特徴的なグライコムプロファイルが実際に確認され、糖鎖コードという概念でその役割が説明されるようになった (5-23)。理論上のコード生成能力を現実化するためには、細胞内に糖転移酵素のセットがそろっている必要がある。複雑だろうと予想されていた酵素の研究が発展したおかげで、特に枝分かれした末端にさまざまな置換糖を導入できるようになり

be present in the cell. Supporting this idea to link glycan structures to function (*functional glycomics*), the predicted complex enzymology has in fact developed to introduce a conspicuous level of substitutions especially to branch ends of glycoconjugates (19, 24-32). In principle, a single enzyme would be sufficient to accomplish the addition for example of fucose to a glycan chain. To use this letter for generation of many code words, one would expect diversity at the level of fucosyltransferases. The number of genes for enzymes with this activity will thus be a clear sign as to whether diversity in sugar code word generation is worth the expense in required genomic coding space. In fact, 13 different genes for fucosyltransferases have been identified in the human genome, the proteins attaching fucose in α 1-2, α 1-3, α 1-4 or α 1-6 positions to glycans or directly to proteins to establish *O*-fucosylation (33, 34). As fucosyltransferases are just a representative example, the requirement to equip the cell surface with a large variety of signals is in principle satisfied. Beyond sequence variations, the already enormous molecular diversity is even further enhanced by introducing substituents such as a sulfate group, a modification whose pivotal importance for example in inflammation will be discussed in section H. Yet the talents of carbohydrates as “letters” do not end with structural variability in two dimensions. In fact, carbohydrates also harbor a favorable characteristic in the third dimension.

The potency of a biomolecule which is destined to serve as ligand and to transmit its encoded information underlies the rules of thermodynamics. The sum of entropic factors has an inevitable bearing on the affinity of any intermolecular recognition. A major contribution in this respect stems from the intramolecular flexibility of the ligand, which is arrested by a snug fit into the cognate lectin's binding site. In order to reduce an entropic penalty upon actual complex formation with its receptor it is favorable to reduce the inherent flexibility of the ligand. Indeed, oligosaccharides qualify as notably suitable ligands in this respect too, because their rather bulky pyranose rings can generally be spatially accommodated to each other in solution in only a few energetically favorable conformations (35-42). They can thus be compared to “a bunch of keys” (43), in which only distinct key-like conformations are selected in biorecognition (42). As a consequence, the noted entropic penalty to arrest a flexible ligand is avoided, and recent examples of differential conformer selection for bacterial, plant and animal lectins illustrate the way key-like conformations fit into receptor sites and even attest its potential for drug design (36, 44-48).

On the cell surface not only the described three aspects of the sugar code (linear sequence and branching as well as three-dimensional shape) determine the extent of ligand reactivity. Beyond the properties of the epitope itself spatial

(19, 24-32), グリカンの構造と機能とを結びつけた *functional glycomics* の概念が確立した。たとえばフコース残基をグリカン鎖に付加するには、原理的には 1 つの酵素だけで十分であろう。しかしこのフコースという文字を多様なコードに利用するには、フコース転移酵素のレベルで多様性が要求される。この活性をもつ酵素の遺伝子の数を知れば、多様な糖鎖コード言語生成のために、遺伝子のスペースを相当に消費していることがわかる。ヒトゲノムでは 13 のフコース転移酵素(フコースをグリカン鎖の α 1₂, α 1₃, α 1₄, α 1₆ に導入するもの、および *O*-フコシル化を行うもの)の遺伝子が知られている(33, 34)。この例ひとつを見ても、細胞表面に多様なシグナルを配置するのに、原理的に十分な種類がある。配列の多様性ばかりか、さらに硫酸基などによる置換が加わって膨大な分子多様性がもたらされ、たとえば炎症ではこのような置換が大いに意味をもつ(H項で議論する)。さらに糖質の「文字」としての有能さは、2次元構造に多様性をもたらすだけでなく、3次元でも発揮される。

リガンドとして働き、コード化された情報を伝達する生体分子の能力は、熱力学の法則という土台の上で成り立っている。分子間認識における親和力には、エントロピーの収支が必然的な影響を与える。リガンドの分子内柔軟性(レクチンの結合部位にきちんとはまり込んだとき固定される)が主な要素になる。レセプターと複合体を形成した結果もたらされるエントロピー罰を軽くするには、リガンドの本来の柔軟性が低いことが望ましい。オリゴ糖鎖はこの観点からもリガンドとして好都合な性質を持っている。なぜなら、かなりかさばるピラノース環が空間的にぶつかるのを避けるためには、エネルギー的に可能ないくつかのコンホーメーションしかとれないからである(35-42)。たとえば言えば、生物学的な認識現象は、鍵束の中から特定のコンホーメーションをもったものだけを選ぶことであり(42, 43)、その結果、柔軟なリガンドを拘束するするようなエントロピー罰を回避できる。最近の知見により、細菌、植物および動物のレクチンが異なるコンフォーマーを選別する際に、鍵となるコンホーメーションがどのようにレセプターの結合部位に適合するかが示されており、ドラッグデザインへの応用も可能になってきた(36, 44-48)。

先に挙げた糖鎖コードの 3 つの特徴(直鎖状配列、枝分かれ、3次元の形状)が細胞表面におけるリガンドの反応性を決める。エピトープ自体の性質に加えて、空間的な因子も考慮する必要がある。たとえば置換糖が糖鎖の柔軟性に影響を与える。NIグリカンの場合、コア構造のフコシル化、あるいは

factors also matter, *i.e.* the conformational flexibility of the chain regulated for example by common glycan substitutions. Core fucosylation or the introduction of a bisecting *N*-acetylglucosamine residue appear to act like molecular switches in the case of *N*-glycans to modulate their ligand affinity (49–51). The arrangement in two to six antennae for *N*-glycans, a role model for the glycoside cluster effect (42, 52, 53), or in clusters typical for mucins and the formation of microdomains with the possibility to modulate the glycan density are also relevant (54–56). In sum, the astounding versatility which the hardware of carbohydrates allows and the emerging dimensions of the modulation of information transfer are main driving forces to change the perception of the virtues of glycans which are often underestimated.

Learning from nature's ways to efficiently modulate affinity, spatial factors are also being considered in the design of glyco-inhibitors (57–68). As implied by using terms such as rational affinity regulation or glyco-inhibitors the complexity of the hardware system to store information with the alphabet of sugar units (letters) is matched by an elaborated network of receptors, mostly lectins. Starting with the discovery that the plant lectin phytohemagglutinin, a simple tool to obtain leukocytes from blood by agglutinating erythrocytes, is mitogenic for normal leukocytes (69), plant lectins have widely served as elicitors of signaling, resulting in proliferation of immune and tumor cells, differentiation or mediator release from immune cells (70–76). Evidently, cell binding and ensuing glycan cross-linking trigger a series of signaling events *en route* to the measured effect (72, 77–79). With the growing realization that plant lectins take the position of proof-of-principle models for glycan functionality and that endogenous lectins are key players in cell physiology (for summary of functions, please see Table I), the issues to delineate the specificity of cell binding, the topology of glycan presentation essential for functionality and the biochemical route of signaling are attracting increasing attention. As documented in Table I, lectins homing in on branch-end glycans, *i.e.* substituted β -galactosides such as ABH or Lewis determinants, are frequently listed. This correlation underscores the implied functional importance of the terminal epitopes of glycan antennae. Lectins named in Table I as extracellular effectors are, among others, members of the galectin and selectin families (for further general information, please see (80–96)).

Equating plant lectins as signal inducers, these endogenous lectins pique an increasing interest with the challenge to fathom intracellular events controlled by lectin-glycan binding and the long-term perspective to eventually exploit the effects of non-immunogenic proteins in the clinic. In sum, these developments usher us into a significant transition in the way we look at glycan complexity from

バイセクティング *N*-アセチルグルコサミン残基の導入が、リガンドに対する親和性を左右する分子スイッチになる可能性がある(49–51)。*N*-グリカンがもつ、(本)のアンテナの配置、糖類のクラスター効果(42, 52, 53)、ムチンに特徴的なクラスター配置、グリカン密度を支配するマイクロドメインの形成なども重要な影響をもつ(54, 55)。糖質のハードウェア自体のもつ驚くべき多様性創出能力、解明が進行中の情報伝達系の調節の多次元性が、これまで過小評価されてきた糖質の長所を見直させる主たる推進力となっている。

親和性の効率的調節のために自然が行っているやり方をよく学び、グライコインヒビターを設計する際には、空間的要素をよく考慮すべきである(57–68)。親和力の合理的調節とか、グライコインヒビターとかの言葉が示唆しているように、単糖単位(文字)をアルファベットとして情報を保存するこの複雑なハードウェアシステムは、レクチンを主とするレセプターの緻密なネットワークで支えられている。植物レクチンのヘマグルチニンは、かつては血液中の赤血球を凝集させて簡便に白血球を得るための手段として使われたが(69)、正常白血球の分裂を促進する能力が発見され、植物レクチンがシグナルを誘導して、免疫細胞やガン細胞の増殖、分化、免疫細胞からのメディエーター放出などをもたらすことがわかった(70–76)。レクチンが細胞へ結合したり、グリカンを架橋したりすると、一連のシグナル現象の引き金が引かれ、目に見える効果が現れる(72, 77–79)。糖質の機能原理を証明する目的に植物レクチンをモデルとして利用できること、また動物の内在性レクチンが細胞生理の鍵を握る競技者であること(機能の要約については表Iを参照)が急速に認識され、細胞に対する結合特異性の解明、機能の発揮につながる糖鎖発現トポロジー、シグナル伝達の生化学的道筋などについて、関心が高まっている。表Iには、枝分かれした糖鎖(ABHあるいはLewis決定基などのような置換された β -ガラクトシド)へ帰巢するレクチンが多数挙げられており、グリカンアンテナの末端エピトープが機能上重要であることがわかる。表Iで細胞外エフェクターとして挙げたレクチンとしては、ガレクチンファミリーおよびセレクトインファミリーがある(より詳しい一般的情報については(80–96)を参照)。これらの内在性レクチンは、シグナル誘導因子として植物レクチンと同等の働きを示すので、レクチンとグリカンの結合により調節される細胞内現象の研究への挑戦意欲をかきたて、また免疫原性のないタンパク質を効果的に医療に利用できる長期的展望もでてきた。このような発展の結果、単なる現象論から、定義がはつ

Table I. Functions of animal lectins.

Activity	Example of Lectin
recognition of stem region of N-glycans, a signal for ubiquitin conjugation when accessible in incorrectly folded glycoproteins	F-box proteins Fbx1/2 (Fbx2/FBG1, Fbx6b/FBG2) as a ligand-specific part of SCF ubiquitin ligase complexes
ligand-selective molecular chaperones in endoplasmic reticulum (ER)	calnexin, calreticulin
targeting of misfolded glycoproteins to ER-associated degradation	EDEM/Mnl1 (Htm1)
intracellular routing of glycoproteins and vesicles	ERGIC-53 and VIP-36 (probably also ERGL and VIPL), P-type lectins, comitin
intracellular transport and extracellular assembly	non-integrin 67 kDa elastin/laminin-binding protein
inducer of membrane superimposition and zippering (formation of Birbeck granules)	langerin (CD207)
cell type-specific endocytosis	hepatic and macrophage asialoglycoprotein receptors, dendritic cell and macrophage C-type lectins (mannose receptor family members (tandem-repeat type) and single CRD ^a lectins such as langerin/CD207), cysteine-rich domain of the dimeric form of mannose receptor for GalNAc-4-SO ₄ -bearing glycoprotein hormones in hepatic endothelial cells, P-type lectins
recognition of foreign glycans (β 1,3-glucans, LPS)	CR3 (CD11b/CD18), dectin-1, <i>Limulus</i> coagulation factors C and G, earthworm CCF
recognition of foreign or aberrant glycosignatures on cells (incl. endocytosis or initiation of opsonization or complement activation)	collectins, L-ficolin, C-type macrophage and dendritic cell receptors, α / θ -defensins, pentraxins (CRP, limulin), tachylectins
targeting of enzymatic activity in multimodular proteins	acrosin, <i>Limulus</i> coagulation factor C
bridging of molecules	homodimeric and tandem-repeat-type galectins, cytokines (e.g. IL-2: IL-2R and CD3 of TCR), cerebellar soluble lectin
induction or suppression of effector release (H ₂ O ₂ , cytokines etc.)	galectins, selectins and other C-type lectins such as CD23, BDCA-2 and dectin-1
cell growth control and induction of apoptosis/anoikis	galectins, C-type lectins, amphoterin-like protein, hyaluronic acid-binding proteins, cerebellar soluble lectin
cell migration and routing	selectins and other C-type lectins, I-type lectins, galectins, hyaluronic acid-binding proteins (RHAMM, CD44, hyalectans/lecticans)
cell-cell interactions	selectins and other C-type lectins (e.g. DC-SIGN), galectins, I-type lectins (e.g. siglecs, N-CAM, P ₀ or L1)
cell-matrix interactions	galectins, heparin- and hyaluronic acid-binding lectins including hyalectans/lecticans, calreticulin
matrix network assembly	proteoglycan core proteins (C-type CRD and G1 domain of hyalectans/lecticans), galectins (e.g. galectin-3/hensin), non-integrin 67 kDa elastin/laminin-binding protein

^acarbohydrate recognition domain; from reference (42), extended and modified

phenomenological monitoring to its definition as biochemical signals. As with the signaling language of peptide growth factors (97), the carbohydrate language is contextual and combinatory.

In what follows we briefly discuss basic principles on how signaling events can converge and be intertwined as a

きりした生化学的シグナルへと、グリカンの複雑性に対する見方が大きく変わる。ペプチド性成長因子のシグナル言語(97)と同様に、糖質言語も状況依存性であり、また統合的である。シグナル現象がどのように統合され、噛み合わされてゆくのかについて、以下で先ず基本的原理を簡単に述べ、次

general introduction which is then followed by case studies on lectin-dependent signaling. They epitomize the signaling concept of the sugar code.

B. Principles of Cell Signaling

It is instructive to first look at principles for the definition of information, because its transfer can occur in various biochemical forms, *e.g.* from a glycan to a lectin and then passed on to intracellular pathways using cascades of phosphorylation. An appealing consensus thesis in the fundamental sense is that information is physical in nature, as defined by the late Rolf Landauer. A distinguished member of the computer science community mainly charting the fundamental physical limits of computation, he summarized his position in a seminal article published in May of 1991 in the journal *Physics Today* (98). In this context, but within the realm of biology, it is reasonable to define cell signaling as information transfer along strategically positioned modules. A measurable change in a biochemical parameter after the initial recognition step embodies the directional flow of information. Explicitly, a ligand-induced change of conformation (please note that a sugar ligand can alter a lectin's shape in solution, as demonstrated by small angle neutron scattering (99)) or of spatial vicinity by clustering (100) is converted into a different "biochemical language". A panel of means of intermolecular communication is at a cell's disposal: a) changes in the concentration of components involved in signaling pathways (*i.e.* extracellular ligands for cell surface receptors or intracellular second messengers such as Ca^{2+} , cyclic nucleotides and phosphoinositides), b) physical interactions between diverse signaling components (*i.e.* protein-protein, protein-phosphoprotein or protein-phospholipid interactions, among others), c) subsequent conformational changes of macromolecules (*i.e.* allosteric or non-allosteric intramolecular rearrangements of signaling proteins) or d) chemical changes of signaling components (*i.e.* posttranslational modifications of proteins such as phosphorylation, *O*-GlcNAcylation, acylation or methylations, among others). In our context, the initial signal can also be altered by glycan remodeling at the cell surface, which alters a code word's meaning. Depending on the connection of the initial response element to intracellular pathways, one or several routes of information flow in different languages are possible. This complex scenario explains why it should not be expected that a lectin will elicit the same response profile in different cell types.

The basic elements forming a simple signaling chain initiated by a stimulus are a signal-receiver/receptor, a signal-transducer and a signal-amplifier (101). The signal-receiver defines its nature due to specific molecular interactions between the ligand and its receptor (*i.e.* protein-protein or protein-carbohydrate binding events, as described in the

いでレクチン依存性のシグナル伝達の各論に移り、糖鎖コードによるシグナルの概念の把握を目指そう。

B 細胞シグナル伝達の原理

情報の伝達は生化学的にさまざまな形で起こるので(たとえばグリカンからレクチンへ、そしてリン酸化のカスケードを使った細胞内経路へ) 先ず情報を定義する原則を検討しておこう。基本的な共通認識として、故 Rolf Landauer が定義したように、情報とは本質的に物理的なものである。彼はコンピューター科学集団の有力メンバーの一人として、コンピューターの根本的な物理的限界をもっぱら提唱したが、大きな影響をおよぼした論文を *Physics Today* の 1991 年 5 月号に発表した(98)。これに沿えば(ただし生物学の枠の中で) 細胞におけるシグナル伝達を、計画的に配置された分子を情報が伝わってゆくことと定義できる。最初の認識段階に追隨して生化学的パラメーターに観測可能な変化が起こり、方向性のある情報の流れが実現する。リガンド結合により誘導されるコンホメーション変化が(糖リガンドは溶液中のレクチンの形を変化させる。中性子小角散乱による証拠(99)あるいはクラスター形成による分子同士の空間的局在(100)など) 「別種の生化学的言語」へと転換される。分子間コミュニケーションの手段として以下に示すうちのどれが採用されるかは細胞によりさまざまである。a)シグナル伝達経路に關与する成分(細胞表面レセプターに対する細胞外リガンド、あるいは Ca^{2+} 、環状ヌクレオチド、ホスホイノシチドのような細胞内セカンドメッセンジャー)の濃度変化。b)多様なシグナル伝達成分間での物理的相互作用(たとえばタンパク質・タンパク質、タンパク質・リンタンパク質、タンパク質・リン脂質、その他)。c)高分子のコンホメーション変化(たとえばシグナル伝達タンパク質のアロステリックあるいは非アロステリックな分子内構造変化)。d)シグナル伝達因子の化学的变化(たとえばリン酸化、*O*-GlcNAcylation、アシル化、メチル化、その他によるタンパク質の翻訳後修飾)。状況によっては細胞表面のグリカンをリモデリングして、最初のシグナルを変更することもでき、その結果、コードの意味が変わる。最初に応答する分子の細胞内経路への接続のされ方によって、異言語による複数の情報流通経路へとつながる。このように筋書きが複雑なので、細胞の型が変わった場合、同じレクチンでも同じ応答を誘導するとは限らない。

刺激に対する単純なシグナル伝達鎖を構築する基本的要素は、シグナル受容体、シグナル変換器、シグナル増幅器である(101)。シグナル受容体の性質は、リガンドとその受容体間の特異的分子間相互作用の種類「はじめに」で述べた、タンパク質・タンパク質間結合、あるいはタンパク質・糖質間結合) あるいは受容体の化学変化(たとえば光受容体の補欠分

Introduction) or by a chemical modification of the receptor (*i.e.* light-induced isomerisation of a prosthetic group in a photoreceptor such as the 11-*cis*-retinal to all-*trans*-retinal conversion in rhodopsin) (102). Directional flow of information reaches the transducer. This is responsible to translate the binding event into a readily propagated chemical reaction (*i.e.* GDP/GTP exchange in target proteins or protein phosphorylation events usually carried out by specific kinase cascades as we will discuss below), while the amplifier enhances the intensity and/or duration of the generated signal (*i.e.* the increased concentration of second messengers such as Ca^{2+} by the opening of Ca^{2+} channels, of cyclic nucleotides by the activation of adenylate/guanylate cyclases or of phosphoinositides by the activation of specific phospholipases, to name a few examples that will be explained below). Finally, the signal-effector at the signaling chain's end triggers the cellular function (*e.g.* the production of light by the luciferine/luciferase system, cell migration mediated by cytoskeletal reorganization or the expression of genes under the control of a particular set of transcription factors). As a refinement of this elementary system, signal-modulators are implemented as feedback and/or feed-forward control of the pathway enhancing or decreasing the impact of the signaling event (*e.g.* regulatory protein kinases and phosphatases which modulate the activity of major proteins in signaling pathways or proteases which degrade and therefore remove signaling proteins at a distinct time of physiological relevance).

Albeit we knowingly have simplified the complexity, this basic scheme is helpful as an Ariadne's thread when faced with multifarious events triggered by a lectin. To give an example on refinements necessary to let our model fit reality we mention a case where the roles of receptor and ligand are mutually interchangeable for two interacting molecules on the surface of adjacent cells, because both of them generate signaling events in the corresponding cell, *i.e.* the Eph (erythropoietin-producing human hepatocellular carcinoma cell receptors) receptor/ephrin system (103, 104). In another occasion, the common sequence of events in which the message travels from a receptor to a transducer and finally to an amplifier is subverted. In the case of the receptor for epidermal growth factor (EGFR) its activation by one of its multiple ligands will generate a transient Ca^{2+} -flux (105), and a canonical sequence of events can be predicted: from the receptor (EGFR) to the transducer (*i.e.* the phospholipase $\text{C}\gamma$ which produces inositol-1,4,5-trisphosphate) and then to the amplifier (the cytosolic Ca^{2+} level increases, because inositol-1,4,5-trisphosphate opens Ca^{2+} channels in the endoplasmic reticulum). In contrast, when a glutamate receptor which itself is a Ca^{2+} -channel protein is activated upon binding of its ligand (106), the sequence of events is now shortened, and the message travels from the receptor (the glutamate receptor)

子族の光誘導異性化反応、すなわちロドプシン中での 11 シスレチナルから全トランスレチナルへの転換)に依存する(102)。方向性をもつ情報は変換器に到達する。変換器は結合という物理現象を、拡大しやすい化学的反応へと翻訳する役割をもつ(たとえば標的タンパク質における GDP/GTP 交換反応、あるいは特異的なキナーゼのカスケードによって遂行されるタンパク質のリン酸化。後で更に議論する)。それと共に、シグナル増幅器が生成したシグナルの強度あるいは持続時間を高める(たとえば Ca^{2+} チャンネルの開放によるセカンドメッセンジャー Ca^{2+} 濃度の増加、アデニル酸シクロ化酵素/グアニル酸キナーゼの活性化による環状ヌクレオチド濃度の増加、あるいは特異的ホスホリパーゼの活性化によるホスホイノシチド濃度の増加。後で更に説明する)。最後にシグナル鎖の終点にあるシグナル効果器が細胞活動の引き金を引く(たとえばルシフェラーゼ/ルシフェリンシステムによる光の発生、細胞骨格の再構成による細胞移動、特定の転写因子セットの制御のもとでの遺伝子発現)。この基本的システムをさらに洗練させるためにシグナル調節器が用意されており、シグナル発生の衝撃を減弱あるいは増強させるフィードバックあるいはフィードフォワード制御経路を形成する(たとえばシグナル経路中の主要なタンパク質の活性を調節する調節性プロテインキナーゼやホスファターゼ、あるいは生理的に適切な時間間隔でシグナルタンパク質を分解し除去するプロテアーゼ)。

ここでは意図的に単純化した説明をしたが、レクチンが誘導するさまざまな現象を見ると、このような基本概念がアリアドネの糸として役に立つ。現実にはこうしたモデルをあてはめるには更なる考察が必要である。隣接する細胞の表面上の 2 つの相互作用する分子について、レセプターとリガンドの役割を互いに交換できる場合がある。双方が対応する細胞にシグナル現象を発生させるもので、Eph(erythropoietin-producing human hepatocellular carcinoma cell receptor)レセプター-エフェリンシステム(103, 104)のような例がある。またその他に、メッセージがレセプターから変換器へ、そして増幅器へと移る一般的な順序が変更される場合もある。上皮細胞増殖因子(EGFR)のレセプターの場合なら、何種類かのリガンドのうちの 1 つで活性化されると、一過性の Ca^{2+} 流出が起こり、それ以後に起こることは予想可能である(105)。つまりレセプター(EGFR)から変換器(イノシトール 1,4,5-トリリン酸を生成するホスホリパーゼ $\text{C}\gamma$)、次いで増幅器(イノシトール 1,4,5-トリリン酸が小胞体の Ca^{2+} チャンネルを開くことによる細胞質ゾルの Ca^{2+} レベルの上昇)。それに対して、それ自身が Ca^{2+} チャンネルタンパク質であるグルタミン酸レセプターがリガンド結合により活性化された場合(106)、一連の出来事は短縮され、メッセージはレセプター(グルタミン酸レセプ

directly to the amplifier (the Ca^{2+} level rising due to the activity of the intrinsic channel component of the receptor).

As known from sociology, information processing is not an isolated process. The intricacies and interconnections of the multiple signaling pathways of the cell together with the regulation on the level of the signal receiver account for the observed pleiotropicity in cell responses and the observation that cells may only be responsive in a particular spatiotemporal situation (77, 78). As we will discuss below, only activated T cells undergo galectin-dependent apoptosis, whereas resting cells are protected. As emphasized recently (107), caution is to be exercised to draw predictions of events from knowledge on interconnections without thoroughly considering the details of the given case. Having so far looked at the components of signaling cascades, we will now briefly comment on routes.

A signal from the extracellular space can be routed into the cell interior in a mono-directional or bi-directional manner (78). In the first case, the mono-directional signal flow can start from different settings: a) a free growth factor such as the mature EGF inducing receptor dimerization or a lectin binding and cross-linking surface glycans (the case of certain cytokines illuminates linking of receptor-binding and lectin activities for combined target selectivity (108, 109)), b) a growth factor still attached to the plasma membrane of a neighboring cell such as the precursors of the TGF- α/β (transforming growth factors α/β), where its positioning on the cell surface in a suitable manner for proteolytic activation depends on a protein-carbohydrate interaction involving a P-type lectin and a mannose-6-phosphate group as molecular postal code for TGF- β (110), and c) matrix-bound proteins such as fibronectin, laminin, vitronectin and collagen, each one engaging their cognate receptors but often also interacting with endogenous lectins as non-integrin-type binding partners (111-113). The receptors for the peptide motif are located in the plasma membrane of the responsive cell, the interface of signal transfer to the cytoplasm. In the second case, bi-directional signaling occurs between two neighboring cells. Upon contact, homotypic molecules such as cadherins (114, 115) or heterotypic molecules such as Eph receptors and ephrins (103, 104) or pairs of lectin-glycan binding partners are recruited for building molecular bridges, and both cells transduce these mutual signals by potentially divergent signaling pathways into their interior, leading to coordinated but divergent responses. As further example for bi-directional signaling routes, the direct exchange of second messengers such as Ca^{2+} , cyclic nucleotides and phosphoinositides between the cytosols of connected cells is possible via intercellular gap junction channels formed by connexins (116).

For signaling, convergence is a key step. It enables different intracellular pathways to meet by common signaling elements. To give an example, two distinct receptors activated

ター)から直接に増幅器(レセプターに固有のチャンネル成分の活性にもとづく Ca^{2+} レベルの上昇)へ伝わる。

社会学で知られているように、情報の加工は他とは無関係な過程ではない。細胞のシグナル経路が多重で複雑にからまりあっているため、シグナル受容体レベルでの調節以外にも、多面的な細胞応答が起こることや、特定の空間と時間という状況下でのみ細胞が応答できると納得できる(77, 78)。以下で議論するが、ガレクチンによりアポトーシスを起こすのは、活性化された細胞のみで、休止細胞は保護されている。個々の場合について十分に検討し、何が起こるか注意深く予測するべきである(107)。ここまでシグナルカスケードを構成する部品を見てきたので、これからルートを概観しよう。

細胞外空間からのシグナルは一方方向性あるいは二方向性の方式で細胞内に導かれる(78)。一方方向性のシグナルの流れは、いくつかの異なる設定で開始される。a)単独の成長因子(たとえばレセプター)を二量体化させる成熟 EGF、あるいは表面のグリカンに結合し架橋するレクチン(サイトカインの場合、レセプターとの結合とレクチンとしての活性の組み合わせで、標的細胞に対する全体的な特異性を説明できる)(108, 109)。b)IGF α/β の前駆体のように、隣接する細胞の細胞質膜に接着している成長因子。細胞表面でタンパク質分解により活性化される配置をとるためには、IGF β の郵便番号にあたるマンノース(リン酸とF型レクチン)の間で、タンパク質-糖質相互作用が行われる必要がある(110)。c)細胞間マトリックスに結合しているタンパク質。たとえばフィブロネクチン、ラミニン、ビトロネクチン、コラーゲンなど。それぞれが定まったレセプターと結合しているが、非インテグリン型の結合相手としての内在性レクチンと相互作用することが多い(111-113)。ペプチドモチーフに対するレセプターは、応答する細胞の細胞質膜(細胞質へのシグナル伝達のための接触面)に分布している。一方、二方向性シグナル伝達の場合は、2つの隣接する細胞の間で行われる。接触にともなって、カドヘリンのようなホモ反応性の分子(114, 115)あるいは Eph レセプターやエフェリンのようなヘテロ反応性の分子(103, 104)あるいはレクチンとグリカンのような結合性ペアが、分子架橋を作るために集められる。そして、2つの細胞はこれらの共通のシグナルを、おそらく違う道をたどるシグナル伝達経路で変換して細胞内へ伝え、関連はあるが異なった応答を導く。二方向性のシグナル伝達経路の別の例では、コネクシンが形成する細胞間ギャップジャンクションチャンネルを介して、接着している細胞の細胞質ゾルの中で、セカンドメッセンジャーである Ca^{2+} 、環状ヌクレオチド、ホスホイノシチドが直接的に交換される(116)。

シグナル伝達の鍵となる段階として収斂がある。これによって別々の細胞内経路が、共通したシグナル因子に遭遇できる。たとえばチロシンキナーゼレセプター(EGFで活性化

by their ligands such as a tyrosine kinase receptor (*i.e.* the EGFR by EGF) (112) and a G-protein-coupled receptor (*i.e.* the lysophosphatidic acid receptor by lysophosphatidic acid) (117) as well as integrins upon engagement with cognate extracellular matrix proteins (118) all activate the Ras/ MAPK pathway (please see Fig. 1 for additional details). Furthermore, the way we look at integrins has been subject to a significant broadening. Initially described as receptors for an extracellular matrix component via protein-protein interaction, an integrin can as well be a sensor via its glycans

される EGFR (112)と、Gタンパク質共役型レセプター（リゾホスファチジン酸で活性化されるリゾホスファチジン酸レセプター (117)は、それぞれ別のリガンドで活性化されるが、いずれも Ras/MAPK 経路を活性化する。細胞外マトリックスタンパク質に結びついているインテグリンも同様である(詳しくは図 1 を参照)。インテグリン経路はきわめて広範である。インテグリンは最初はある細胞外マトリックスに対するレセプターとして、タンパク質-タンパク質相互作用に関わるも

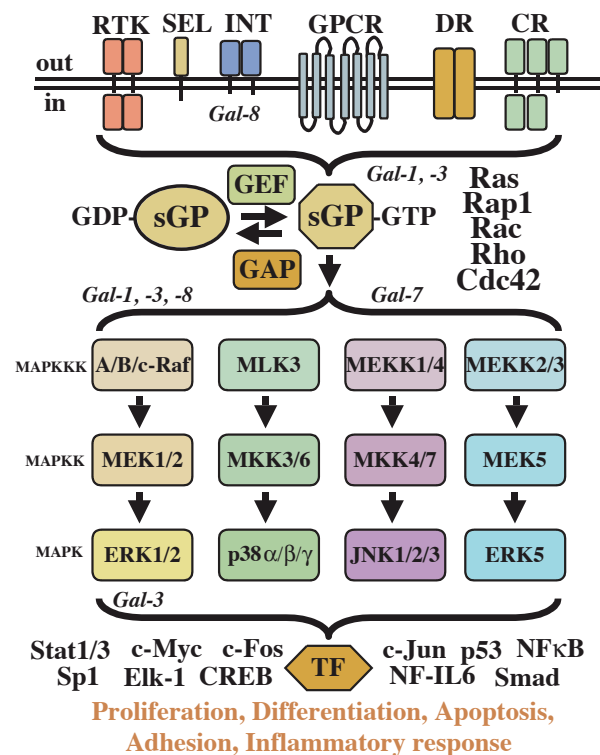


Fig. 1. Signaling by mitogen-activated protein kinase pathways. Activation of a large set of cell surface receptors including receptor tyrosine kinases (RTKs), selectins (SELs), integrins (INTs), G protein-coupled receptors (GPCRs), death receptors (DRs) and cytokine receptors (CRs), among others, triggers four major mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways. They engage intermediary biochemical switches from the family of small G proteins (sGPs) as for example Ras, Rap1, Rac, Rho, and Cdc42. The inactive GDP-containing G protein is converted to its active form with GTP instead of GDP by a guanine nucleotide exchange factor (GEF), and the reverse reaction is catalyzed by the intrinsic GTPase activity of the G protein. GDP production is accelerated by a GTPase-activating protein (GAP). The active G protein initiates signal transfer by the protein kinase cascade. It starts with a MAPK kinase kinase (MAPKKK), proceeds to a MAPK kinase (MAPKK) and then reaches the MAPK level by sequential phosphorylations. The four independent pathways described regulate: a) the extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2 (ERK1/2); b) the p38MAPK α , β and γ ; (p38 $\alpha/\beta/\gamma$); c) the c-Jun N-terminal kinases 1, 2 and 3 (JNK1/2/3) and d) the extracellular signal-regulated protein kinase 5 (ERK5). The upstream MAPKKs implicated in these pathways are the MAPK/ERK kinases 1 and 2 (MEK1/2), the MAPK kinases 3 and 6 (MKK3/6), the MAPK kinases 4 and 7 (MKK4/7) and the MAPK/ERK kinase 5 (MEK5), respectively. Further upstream at the level of the MAPKKKs we find the kinases c-Raf, Raf-A or Raf-B (A/B/c-Raf), the mixed lineage kinase 3 (MLK3) among others, the MEK kinases 1 and 4 (MEKK1/4) and the MEK kinases 2 and 3 (MEKK2/3), respectively. Additional upstream MAPKKK kinases which communicate with G proteins could also be a part of the signaling cascade (not shown here). The targets of the diverse MAPKs, directly or via further interposed accessory protein kinases, are a defined array of transcription factors (TFs). Hereby, specific modulation of the level of gene transcription results in desired biological responses such as proliferation, differentiation, apoptosis, cell adhesion or inflammatory responses. Examples for transcription factors or co-transcriptional modulators involved are the Stat1/3 (signal transducer and activators of transcription 1 and 3), c-Myc, c-Fos, Sp1, Elk-1, CREB (cAMP-responsive element binding protein), c-Jun, p53, NF- κ B (nuclear factor κ B), NF49 IL6 (nuclear factor for interleukin 6), and Smad. Selected examples for roles of galectins (Gals) in this system are indicated (please see text for details).

(as we will see below) and a lectin via its I domain, as proven for $\alpha_M\beta_2$ -integrin (CR3, CD11/CD18b, Mac-1) (119, 120). Intriguingly, a single signal-initiation element, EGFR for example, can feed different signals into divergent signaling pathways such as the activation of both the mitogenic Ras/MAPK pathway (121) and the cell survival PI3K/Akt pathway (122, 123), both activated by this receptor (please see Fig. 1 and Fig. 4 for further details). What has been unravelled for peptide growth factors is now beginning to turn up also when examining lectins as signal inducers. So far, our discussion raises the impression that important signals invariably came from the extracellular space. For the proper understanding of the intimately integrated function of the cell machinery we must yet not neglect the importance of intracellularly initiated signaling. Mitochondria, the cytoplasm and the nucleus are all active compartments in this respect. The emerging functional relevance of translocation of extracellular growth factors, cytokines and even plasma membrane-bound receptors from the cytosol to the nucleus has been described recently (124, 125). Of note, we wish to sensitize the reader to the idea that a certain effector such as a lectin can have more than one function in signaling. Members of the galectin family will serve as instructive examples to illustrate this point.

Having herewith outlined principles of signaling, we now proceed to the case studies on the involvement of lectins in signaling pathways. Our selection has been guided by the aim to place emphasis on routes crucial for the control of important cellular functions such as cell proliferation, survival, intercellular recognition, motility, differentiation and apoptosis/anoikis.

C. The Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathways

As the definition already implies, this signaling cascade of phosphorylation events was originally detected as intracellular response to receiving mitogenic signals at the cell surface. As shown in Fig. 1, a panoply of receptors is engaged in transmitting respective signals from the cell surface across the membrane (126). When reading the term "integrins", we have indicated above that protein-protein interaction is only a part of these glycoproteins' functional spectrum. Thus, they should be considered to act as sensors for peptide motifs in cognate ligands and for lectins binding their glycans (please see below). Following an integration step involving small G proteins at the cytoplasmic side of the membrane as transducers, the cascades branch and reach several effectors, namely extracellular signal-regulated kinases (ERKs), p38MAPKs and c-Jun N-terminal kinases (JNKs), the latter also known as stress-activated protein kinases (SAPKs). Their enzymatic activity, posttranslationally modifying transcription factors, gives gene expression the required direction to respond adequately to the incoming

のとして記載されたが、グリカンを介したセンサーともなりうる。 $\alpha_M\beta_2$ -インテグリンは、ドメインを介してレクチンとしても働く(CR3, CD11/CD18b, Mac-1) (119, 120)。興味深いことに、種類のシグナルだけを発するEGFRが、発散性のシグナル経路に対してシグナルを提供でき、細胞分裂促進性のRas/MAPK経路(121)および細胞の生き残りに関係するPI3K/Akt(122, 123)経路の両方を活性化できる(詳しくは図および図を参照)。レクチンがシグナル誘導因子として、ペプチド性成長因子と同じような働きをする例も知られた。ここまでの記述は、重要なシグナルは常に細胞外からもたらされるという印象を与えかねないが、各種の装置が密接に組み合わせられた細胞の機能を正しく理解するには、細胞内で開始されるシグナル経路の重要性も軽視できない。そこではミトコンドリア、サイトソル、核のいずれもが活動に関わっている。細胞外の成長因子、サイトカイン、更には細胞膜に結合したレセプターまでも、機能を果たすためにサイトソルから核へ移行することが重要だと考えられるようになった(124, 125)。シグナル伝達においては、レクチンなどのエフェクターが2つ以上の機能を持ちうるという概念に慣れてほしい。ガレクチンファミリーのメンバーはその良い例になる。

シグナル伝達の原理を概観したところで、レクチンの関与を事例から検討しよう。重要な細胞活動、すなわち細胞増殖、生き残り、細胞間認識、細胞運動、分化、アポトーシス、アノイキスなど、を制御する不可欠な経路を特に対象として例を選んだ。

C 分裂促進因子により活性化されるプロテインキナーゼ(MAPK)経路

定義からも想像がつくが、リン酸化によるシグナルカスケードは、最初は細胞表面での分裂促進シグナル受容に対する細胞内応答として検出された。シグナルを細胞表面から細胞膜を越えて伝達するために、一そろいのレセプターが関与している(図を参照)。「インテグリン」について、タンパク質-タンパク質相互作用が、この糖タンパク質のもつ諸機能の一部にすぎないことを既に述べた。つまりリガンド分子中のペプチドモチーフ、あるいはしかるべき糖鎖を結合するレクチンに対するセンサーの役割をもつと考えるべきである(下を参照)。膜のサイトソル側で変換器として働く低分子Gタンパク質が関わる段階で統合された後、カスケードは分岐し、複数の効果器、すなわち細胞外シグナルで調節されるキナーゼ(ERK)、p38MAPK、c-Jun N末端キナーゼ(JNK)などに到達する。JNKはストレスで活性化されるプロテインキナーゼ(SAPK)としても知られている。これらの酵素活性が翻訳後修

signal. In detail, the ERK1/2(MAPK) (121), the p38MAPK (127, 128), the JNK(MAPK) (129), and the ERK5(MAPK) (130) pathways can act combinatorially to accomplish fine-tuning and integration of diverse signals. For this purpose, the initial integration step at the level of small G proteins of the Ras and related families is subject to intimate control mechanisms. A dynamic equilibrium between the inactive (GDP-containing) and active (GTP-containing) forms of a G protein is maintained by guanine nucleotide exchange factors (GEFs), which catalyze the formation of the active form, and GTPase-activating proteins (GAPs), which increase the intrinsic GTPase activity of the G protein and hereby produce the GDP-containing inactive form (131). Of note, the specific introduction of mono-*O*-glucosylation at a single threonine residue of small GTPases such as Rho, Rac, Cdc42 or R-Ras is the common mode of action of large clostridial cytotoxins (132). This modification by the bacterial toxin inactivates the versatile signal transducers and hereby impairs various signaling pathways. The case studies on plant lectins as mitogens for B and/or T lymphocytes have shown that glycan binding and clustering can make its mark on proliferation (75). Starting with the mitogenic effect of chicken and eel galectins on mouse/rabbit lymphocytes (133-135), the studies were then extended to the effect of mammalian galectin-1 on smooth muscle and hepatic stellate cells (136-139) and also to galectin-3. Albeit being predominantly monomeric in solution, galectin-3 forms pentamers with suitable glycan display to cross-link cell surface glycoligands (65, 140). When acting on fibroblasts, this process engenders growth with potential relevance in angiogenesis and cardiac fibrosis (141, 142). To give an example for a clinically relevant endpoint of signaling initiated by a lectin, galectin-3 not only stimulates proliferation of cardiac fibroblasts but also enhances collagen I production under the control of the transcription factor Sp1 (142). Deposition of this rather stiff fibrillar protein is likely to promote fibrosis what contributes to explain the correlation of galectin-3 expression to heart dysfunction in hypertrophy (142). In these given instances, the lectin binds to a cell surface ligand such as an integrin of the β_1 -subfamily *en route* to the final response, in hepatic stellate cells using the MEK1/2-ERK1/2 pathway ((139); please see left side of Fig. 1). The $\alpha_3\beta_1$ and $\alpha_6\beta_1$ integrins are the targets for the tandem-repeat-type galectin-8 to convey the initial message to CHO cells to form F-actin microspikes via GTP loading onto Ras and phosphorylation of ERK1/2 (143, 144). Clearly, cytoskeletal remodeling, as likewise operative in glioblastoma cells as invasion-promoting process under direction of galectin-1 ((145, 146); please see section D and Fig. 3 for further information), is as effectively regulated by lectin signaling as is cell proliferation. These results also shape the concept mentioned above: to consider integrins

により転写因子を修飾し、与えられたシグナルに適切に応答できるような方向へと遺伝子を発現させる。詳しく言えば、ERK1/2 MAPK (121)、p38MAPK (127, 128)、JNK (MAPK) (129)、ERK5 MAPK (130) 経路が協同して、さまざまなシグナルを細かく同調させ統合させる。この目的に対して、低分子 Gタンパク質 Ra および関連タンパク質による最初の統合段階が、制御機構に密接に関わっている。不活性型 Gタンパク質 (GDP 結合状態) と活性型 Gタンパク質 (GTP 結合状態) の間の動的平衡を支配するのは、Gタンパク質の GTPアーゼ活性を上昇させて GDP 結合型 (不活性型) に転換させるグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) である (131)。高分子型クロストリディウム毒素は、Rhc、Ra、Cdc42、R1Ra などの低分子 Gタンパク質の特定の 1 つのトレオニン残基を *O*-グルコシル化するという共通した作用をもつ (132)。さまざまなシグナル変換器がこの細菌毒素による修飾を受けて不活性化され、いくつものシグナル伝達経路が損傷される。

植物レクチンが T リンパ細胞や B リンパ細胞の分裂を促進させることから、グリカンへの結合とクラスター形成が増殖の出発点であることがわかる (75)。ニワトリおよびウナギのガレクチンが、マウスまたはウサギのリンパ細胞の分裂を促進すること (133-135) が出発点となり、哺乳動物のガレクチン β_1 の平滑筋細胞や肝臓の星細胞 (136-139) への効果、さらにガレクチン β_1 へと研究が拡大した。ガレクチン β_1 は溶液中では主に単量体として存在するが、しかるべき糖鎖が発現しているときには五量体となって細胞表面の糖鎖リガンドを架橋する (65, 140)。繊維芽細胞に作用すると増殖が始まり、血管新生や心臓の繊維化などに関わる (141, 142)。レクチンが開始させるシグナル伝達が医療に役立ちそうな例を挙げると、ガレクチン β_1 は心臓の繊維芽細胞の増殖を促進するだけでなく、転写因子 Sp1 の制御のもとでコラーゲンの生産も促進する (142)。このかなり固い繊維タンパク質が沈着して繊維化を促進するので、心臓の肥大による障害にガレクチン β_1 が関連することが説明できる。この場合、レクチンはたとえば β_1 サブファミリーのインテグリンなどの細胞表面リガンドに結合して、最終的な応答につなげている (肝臓星細胞の場合なら MEK1/2-ERK1/2 経路を使っている (139) (図 1 の左半分を参照))。 $\alpha_3\beta_1$ および $\alpha_6\beta_1$ インテグリンはタンデムリピート型のガレクチン β_1 の標的であり、CHC 細胞に対する最初のメッセージを、Ra に GTP を結合させ ERK1/2 をリン酸化する経路を経て、Fアクチンのミクロスライク形成へとつなげる (143, 144)。細胞増殖の場合と同じように、レクチンによるシグナル伝達においても、細胞骨格のリモデリングが効果的に調節されている。グリオブラストマ細胞でもガレクチン β_1 の指令のもとでの浸潤促進過程で同じことが起こっている (145, 146) (詳細は E 項および図 3 を参照)。これらの結果から、インテグリンやレクチン反応性のグリカン決定基を持つ

(and also other cell surface glycoproteins with lectin-reactive glycan determinants; (111)) as bifunctional molecules with interaction sites in protein and glycan moieties, the latter ones being sensed, for instance, by galectins. Fittingly, expression levels of galectins are themselves under intricate control. In the case of galectin-3 the culture conditions *in vitro* and more specifically the effectors H-Ras, p53, Jun, NF- κ B and growth factors such as nerve growth factor (NGF) are regulators with the Ras/MAPK pathway involved in controlling this gene's activity (147-152). Beyond galectins other lectins are similarly regulated, the modulation of transcriptional control of selectins by pro-inflammatory cytokines or of the tandem-repeat-type macrophage mannose receptor by interleukin-4 being cited as examples (153, 154). Ras-dependent signal transfer can reach the nucleus via the MEK1/2-ERK1/2 pathway and/or the p38MAPK pathway depending on the cell type (macrophage differentiation of THP-1 cells or differentiation of phaeochromocytoma cells (151, 152); please see Fig. 1 for details). The MAPK pathway is also responsible for inducing the expression of a lectin from a different family, as for example the asialoglycoprotein receptor of macrophages, following treatment with phorbol ester, a protein kinase C activator (155).

Thus, these lectins are signal inducers by glycan binding following secretion and cell surface binding and objects of gene regulation during differentiation, and there is a further dimension in the activity profile. As underscored by recent measurements with peptide libraries, galectin functionality is not restricted to their lectin activity but can include peptides as ligand (156-159). Monitoring the binding of labeled galectins as histochemical tools reveals intracellular staining, in agreement with its presence and function within the cell (10, 160-168). Among peptide ligands for galectin-3, several proteins including Bcl-2, Alix/AIP-1, Gemin4, CBP70, Chrp, synexin, TTF-1, nucling, Sufu and β -catenin have shown up in respective searches (156, 159, 169-171). In this context, the role of galectin-1, a transforming agent (172, 173), for the proper placement of oncogenic H-Ras at the cell membrane signifies activity at different sites in the cell.

Intracellular galectin-1 has been shown to interact with H-Ras(12V), an oncogenic constitutively active variant of H-Ras, and promotes the farnesyl-moiety-dependent anchorage of Ras-GTP to the plasma membrane activating the MAPK(ERK) pathway (173). In detail, this galectin stabilizes H-Ras interactions to non-raft microdomains (174). As a consequence, H-Ras/galectin-1 and K-Ras4B/galectin-1 co-transfectants both present enhanced and prolonged EGF-dependent increase of active Ras-GTP and MAPK(ERK) stimulation, but decrease EGF-dependent phosphoinositide 3-kinase (PI3K) stimulation (175) (please see separate paragraph in section E and Fig. 4 for information on PI3K).

細胞表面糖タンパク質を、タンパク質とグリカン部分の双方に対する相互作用部位をもつ二価性分子とみなすという先に述べた概念が支持される(111)。そのグリカン部分はたとえばガレクチンにより感知されるが、ガレクチンの発現レベル自体も複雑な制御を受けている。ガレクチン β の場合、*in vitro*では培養条件で影響を受けやすい。詳しく言えば、エフェクターである H1R α 、p53、Jur、NF κ B、成長因子である神経成長因子(NGF)が、ガレクチン β の遺伝子活性の制御に関わる Ras/MAPK 経路の調節因子となっている(147-152)。ガレクチン以外のレクチンでも同様な制御が行われている。炎症促進性サイトカインによるセレクトインの転写制御、インターロイキン β によるタンデムリピート型マクロファージマンノースレセプターの転写制御などの例がある(153-154)。Ras 依存性のシグナル伝達は、細胞の型によって違うが、THP1 細胞のマクロファージへの分化、あるいは phaeochromocytoma cell の分化(151, 152) (詳細は図1参照)、MEK1/2/ERK1/2 経路、あるいは p38MAPK 経路を介して核に到達する。MAPK 経路はまた異なるファミリーのレクチンの発現促進にも関わっている。たとえばプロテインキナーゼCのアクティベーターであるホルボールエステルで処理したマクロファージで、アシアロ糖タンパク質レセプター発現が促進される(155)。

レクチンはこのように、分泌された後でグリカン結合により細胞表面に結合するシグナル誘導因子であり、分化過程における遺伝子制御の対象となるが、それ以上の次元での活性もある。最近、ペプチドライブラリーの検索から、ガレクチンがレクチンとしての機能だけではなく、ペプチドモリガンドとしうるということがわかった(156-159)。標識ガレクチンを組織化学的ツールとして調べたところ、細胞内が染色されることがわかり、ガレクチンが細胞内に存在し機能しているという従来からの知見(10, 160-168)とも一致した。ガレクチン β に対するペプチドリガンドとして、Bcl2、Alix/AIP1、Gemin4、CBP70、Chrp、synexin、TTF1、nucling、Sufu、 β カテンinなどが見つかっている(156, 159, 169-171)。このような背景から、形質転換因子となりうるガレクチン β が、原ガン因子 H1R α が細胞膜に正しく配置することに貢献しているなど(172, 173) 細胞内のさまざまな部位で重要な役割を果たすことが示唆される。

細胞内ガレクチン β は、構成的に活性型でガン原性をもつ H1R α の変異タンパク質 H1R α (12V)と結合し、RasG12V がファルネシル基を使って細胞膜へのアンカー結合するのを促進して、MAPK(ERK)経路を活性化することが知られた(173)。詳しく言えば、ガレクチンが H1R α と非ラフトマイクロドメインとの相互作用を安定化している(174)。その結果、H1R α ガレクチン β または K1R α 4B ガレクチン β の同時形質導入を受けた細胞では、EGF 依存性の活性型 RasG12V および MAPK(ERK)が持続的に増強される。しかし EGF 依存性

A galectin-1 mutant with a leucine to alanine substitution at position 11, designed by modeling of an assumed lipid(farnesyl)-binding site for H-Ras, with unaffected carbohydrate-binding capacity inhibits both the formation of Ras-GTP and the activation of the MAPK(ERK) pathway (176). In addition, this lectin mutant impairs placement of H-Ras(G12V) in microdomains of the plasma membrane, hereby attenuating cell transformation by this oncogenic variant protein (176). Underscoring the general importance of this aspect of galectin functionality, the chimera-type galectin-3 shows selectivity for activated K-Ras (177). Signaling encompasses Raf-1 and PI3K activation and attenuation of ERK activity, an indication for selectivity of downstream effects inherent to Ras-galectin interplay (177).

The given example of an intracellular impact of galectins at the integration step of the cascade shown in Fig. 1 is not the only so far known case for a lectin affecting distinct MAPK pathways. Galectin-7, a homodimeric homologue of galectin-1 referred to as p53-induced gene-1 (178, 179) (please see section F and Fig. 5 for further information), enhances JNK but not p38MAPK activity after transfection into HeLa cells, a step toward accomplishing its pro-apoptotic activity (180). The way galectins influence the MAPK pathways at different sites warrants a summarizing statement: distinct cell surface glycan epitopes, for example those from integrins or gangliosides, are encoded signals read by lectins. Hence, the ensuing message, originating from carbohydrate-dependent binding, can follow the route via small G proteins to the MAPK pathways, which eventually modulate gene transcription in a quantitative and qualitative manner. Moreover, lectin effectors such as galectins are themselves under transcriptional control by these signals. These pathways affect as diverse activities as proliferation, differentiation, cell adhesion/attachment and cell migration. Furthermore, galectins influence the signaling capacity by intracellular interaction with oncogenic H-Ras proteins or regulation upstream of JNK, as we have outlined above.

Besides galectins, the potency of selectins which are depicted in Figs. 1 and 7, and glycosaminoglycan/hyaluronan receptors to regulate adhesion and migration via Rac1/2 and JNK, ERK1/2 or p38MAPK attests the versatility both for the induction of signaling along MAPK pathways and the exploitation of individual routes by various glycan epitopes (79, 85, 181-185). Looking more closely at proliferation, mammalian lectins can affect cell cycle control, an aspect that warrants a detailed analysis of the underlying biochemical mechanisms in the next section.

D. Cell Cycle Control

Progression of the cell cycle to its S-phase, when DNA synthesis takes place, is under the control of the

のホスホイノシチド：キナーゼ(PI3K)促進は低下する(175) (PI3KについてはE項および図4を参照)。HLRa:の脂質部分(ファルネシル基)に対する結合部位と考えられている11位のロイシンをアラニンに変えた変異ガレクチン11は、糖結合活性には変化はないが、RasG12Vの生成とMAPK(ERK)経路の活性化を妨害した(176)。さらにこのレクチン変異体はHLRa:(G12V)が細胞膜のマイクロドメインに配置されるのも妨げ、このガン原性変異タンパク質による細胞の形質転換を低下させた(176)。このようなガレクチンの注目すべき機能のひとつとして、キメラ型ガレクチン11は活性化されたHLRa:に選択性を示す(177)。シグナル伝達によりRafおよびPI3Kの活性化とERK活性の減弱が起こるが、これはRafとガレクチンの相互作用に付随する下流効果に選択性があることを示している(177)。

図1に細胞内カスケードの統合に対するガレクチンの影響を示したが、このほかにもMAPK経路に影響するレクチンが知られている。ガレクチン11はホモ二量体ガレクチン11の類縁タンパク質で、p53誘導遺伝子11とも呼ばれるが(178, 179)(F項および図5参照)。HeLa細胞に形質導入すると、p38MAPKではなく、JNK活性を上昇させる(180)。これはアポトーシス促進への第一歩である。ガレクチン類によるMAPK経路の各段階への影響を要約しよう。ガレクチンが解読するシグナルは、細胞表面の特定のグリカンエピトープ、たとえばインテグリンに結合したもの、あるいはガングリオシドに結合したものである。そして糖に依存した結合で確認されたメッセージは、低分子ヒタンパク質からMAPK経路のルートに乗り、最終的には遺伝子の転写を定性的かつ定量的に変化させる。さらにガレクチンのようなレクチンエフェクター自体が、これらのシグナルによって転写レベルで制御されている。これらの経路が、増殖、分化、細胞接着、細胞移動などのさまざまな活動に影響を与える。さらにガレクチンはガン原性のHLRa:タンパク質との細胞内での相互作用、あるいはJNKの上流での制御によって、シグナル伝達能力に影響を与える。

ガレクチン以外にも、図7と7に挙げたように、セレクチンやグリコサミノグリカンヒアルウロナンレセプターが、Rac1/2、JNK、ERK1/2、p38MAPKを介して接着や移動を制御することができ、MAPK経路によるシグナル誘導、あるいはさまざまなグリカンエピトープが関係した独自のルートなどで、多彩な働きをしている(79, 85, 181-185)。増殖を詳しく見ると、哺乳動物レクチンは細胞周期の制御にも関わっている。以下にその基礎となる生化学的機構を詳しく分析しよう。

E 細胞周期の制御

細胞周期のDNA合成開始期への移行は、レチノブラストーマタンパク質(pRb)および同じファミリーの関連タン

retinoblastoma protein (pRb) and related proteins of the same family (p107 and p130). This protein is subject to phosphorylation, a process that has a marked impact on its activity (please see Fig. 2 for details). The enzymes responsible for these phosphorylations are cyclin-dependent kinases (CDKs). Their activity is modulated by cyclins, the regulatory subunits of these kinases. As this name implies, they undergo an oscillatory expression during the different phases of the cell cycle. pRb acts as a transcriptional inhibitor, affecting different transcription factors, among them E2F. Predictably, a host of genes with functions in cell cycle control or DNA replication is regulatable by E2F (186). Upon phosphorylation by cyclin-dependent kinases (CDK4/6 and CDK2), which are activated by diverse cyclins (CycD1/2 and CycE, respectively), pRb is released from the complex with E2F. Hereby, gene expression of proteins relevant for G₁/S transition, the progression to the S-phase and cell proliferation are no longer blocked. In this interplay, the downregulation of diverse cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs) is also relevant to allow the CDKs to work properly, and it comes

バック質(p107, p130)による制御を受ける。このタンパク質はリン酸化の標的となっており、活性が顕著に変わる(詳細は図2を参照)。リン酸化を行うのはサイクリン依存性キナーゼ類(CDK)であり、それらの活性は調節サブユニットであるサイクリンで制御される。名前からわかるように、これらの酵素は細胞周期の各フェーズを通じて、振動的な発現をする。pRbは転写阻害因子として働き、各種の転写因子に影響を与えるが、その中に E2Fがある。細胞周期の制御あるいは DNAの複製に関わる遺伝子群が E2Fにより制御されているらしい(186)。さまざまなサイクリン(CycD1および CycE)によって活性化されるサイクリン依存性キナーゼ(CDK4および CDK2)によって pRbがリン酸化を受けると、pRbは E2Fとの複合体から遊離する。それによって、G₁移行、S期の進行、および細胞増殖に関わるタンパク質の遺伝子の発現の制限が解除される。この相互作用においては、CDK群が適切に働くために、種々のサイクリン依存性阻害剤(CKI)のダウンレギュレーションも必要である。当然ながら、このネットワークは

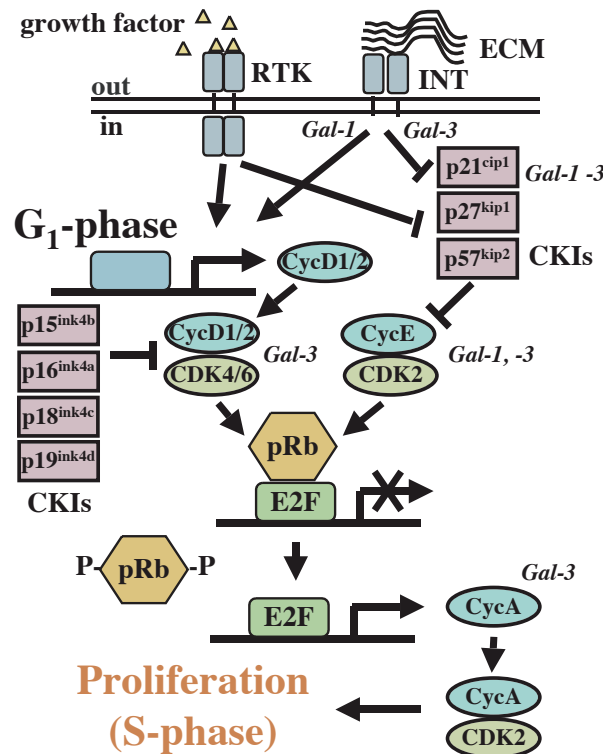


Fig. 2. Cell cycle control by the retinoblastoma protein. The cooperation between a receptor tyrosine kinase (RTK) activated by a growth factor and integrins (INTs) upon interaction with extracellular matrix (ECM) glycoproteins such as fibronectin or laminin generates signaling events which result in the expression of cyclins D1 and D2 (CycD1/2). They also cause the downregulation of different types of cyclin kinase inhibitors (CKIs): p21^{cip1/waf1}, p27^{kip1} and p57^{kip2}, which act on cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) as well as p15^{ink4b}, p16^{ink4a}, p18^{ink4c} and p19^{ink4d}, which affect cyclin-dependent kinases 4 and 6 (CDK4/6). The formation of the CycD1/2-CDK4/6 plus the CycE-CDK2 complexes leads to phosphorylation of the retinoblastoma protein (pRb) by CDK4/6 and CDK2. This modification of pRb impairs its activity as inhibitor of the transcription factor E2F. Having harmed the negative regulator, gene expression, especially of cyclin A (CycA), is made possible by this transcription factor. The ensuing formation of the CycA-CDK2 complex favors the progression of the cell cycle to its S-phase. Selected examples for roles of galectins (Gals) in this system are indicated (please see text for details).

without surprise that this network is altered in tumor cells (187, 188). The CKIs are divided into two families – INK4 and CIP1/KIP2 – which inhibit either CDK4/6 or CDK2 and additional CDKs. Fig. 2 depicts the fundamental role of pRb during the G₁/S transition induced by the cooperative signaling of tyrosine kinase receptors and integrins mediating contact to the extracellular matrix. Due to its central role in preventing unrestricted cell proliferation, pRb is also referred to as a tumor suppressor (189). The CKIs such as p16^{ink4a} among others also have this status. Notably, this CKI, similar to CIP/KIP proteins (190), has functions beyond inhibiting CDKs, in this case upregulating the fibronectin receptor ($\alpha_5\beta_1$ integrin) (191).

The connection to integrins, illustrated in Fig. 2, and the mentioned aspect of p16^{ink4a} functionality has prompted to examine whether growth regulation is exerted via this pathway. In fact, galectin-1 – by binding to glycans of the fibronectin receptor – can cause the arrest of the cell cycle at its G₁ phase, funneling the signal via the Ras/MEK/ERK1/2 pathway inhibition to Sp1 and increased p27^{kip1} presence which then blocks CDK2 activity (192). In line with experiments by atomic force microscopy measuring rupture forces in the range of 34-37 pN for this lectin in complex with glycoligands galectin-integrin interplay in this case is more suited for signaling than adhesion (193), as also noted above for galectin-3 (142). This member of the galectin family can also trigger effective modulations in the cell cycle network (please see Fig. 2 for details). Working with transfected tumor

腫瘍細胞では変化している(187, 188)。CDK群は、INK4およびCIP1/KIP2という二つのファミリーに分かれ、それらはCDK4/6あるいはCDK2、さらにそれ以外のCDKを阻害する。図2にG₁/S移行過程に対するpRbの基本的役割を描いた。これはチロシンキナーゼレセプターとインテグリン(細胞外マトリックスとの接触を仲介する)が協同して行うシグナル伝達によって誘導される。pRbは無制限な細胞増殖を抑える重要な役割をもつので、腫瘍抑制因子とも考えられている(189)。CKI群の中でp16^{ink4a}も同じような意味をもつ。このCKIは、CIP1/KIPタンパク質(190)と同様にCDKを阻害するだけでなく、フィブロネクチンレセプター($\alpha_5\beta_1$ インテグリン)のアップレギュレーションも行っている(191)。

図2に示したインテグリンとの関連や、p16^{ink4a}の機能にもとづいて、この経路が実際に増殖制御に関わっているのかが調べられた。ガレクチン1はフィブロネクチンレセプターのグリカンに結合し、実際に細胞周期をG₁で停止させた。その際、シグナルをRas/MEK/ERK1/2経路を阻害してSp1にしぼり込み、p27^{kip1}を増加させ、これがCDK2活性を阻害する(192)。ガレクチン1と糖鎖リガンドとの複合体について、結合切断に要する力を原子間力顕微鏡で測定したところ34/37 pNという結果が得られているので、ガレクチンとインテグリンの相互作用は、接着よりもシグナル伝達に向いていることがわかる(193)。ガレクチン1についても同様で(142)、細胞周期ネットワークの制御に対して効果がある(詳細は図2参照)。形質転換された腫瘍細胞を用いた研究によると、

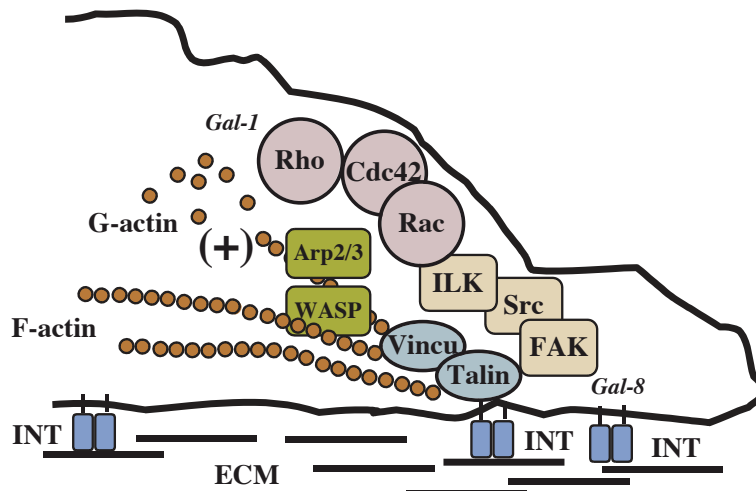


Fig. 3. Integrin-mediated cytoskeleton dynamics. Polymerization of globular actin (G-actin) forming fibrillar actin (F-actin) occurs at the barbed end (+) of these fibrils, a process that is modulated by the Arp2/3 complex, a nucleator of the polymerization process. Arp2/3 is in turn under the control of the Wiskott-Aldrich Syndrome protein (WASP). The engagement of integrins (INTs) with glycoproteins from the extracellular matrix (ECM) induces the attachment of fibrilles from the actin cytoskeleton to points of adhesion of the cell to the substratum. A panel of adaptor proteins such as talin and vinculin (Vincu), among others, bridge points of focal adhesions with F-actin. The dynamics of the actin cytoskeleton at the level of these adhesion points is modulated by a series of tyrosine kinases such as the focal adhesion kinase (FAK) and c-Src as well as a serine/threonine kinase named integrin-linked kinase (ILK), and also a set of small G proteins such as Rho, Cdc42 and Rac. Selected examples for roles of galectins (Gals) in this system are indicated (please see text for details).

cells increased CycD1 expression and inhibition of anoikis by cell cycle arrest at G₁ via p21^{cip1}/p27^{kip1} upregulation and downregulation of CycE and CycA were determined, cellular responses which favor malignancy in overexpressing breast cancer cell lines tested (194-199). Of relevance, these regulatory events should not only be interpreted in the framework of Fig. 2, when considering consequences for the malignant phenotype. Regarding p27^{kip1} its cytosolic presence also affects cell migration via the small G protein RhoA, a process that may contribute to the invasiveness and metastatic spread of tumor cells (200). For a galectin as effector, remodeling the actin cytoskeleton of high-grade astrocytoma cells suited for invasion was correlated to enhanced expression of RhoA, another example for a lectin markedly regulating cytoskeletal organization (146) (please see Fig. 3 and its legend for details). This case documents a clinical correlation between galectin and tumor invasion/survival in animal models (145, 146). It also illustrates the complexity of protein functions initially considered to be assigned to only one distinct task and underscores the need to exercise caution to derive simple conclusions from particular experimental data. In the regulation of both the cell cycle and cell survival the central role of the PI3K pathway, already alluded to above, warrants further discussion, which will be given in the next section.

E. Signaling by Phosphoinositides

In order to illustrate the noted aspect of an active cross-talk occurring in the cell among different signaling pathways the phosphoinositides pathway provides an attractive example. As shown in Fig. 4, this signaling route also reaches the CKIs p21^{cip1}/p27^{kip1} negative regulators of the cell cycle, as discussed above and depicted as well in Fig. 2. Among the signal receivers at the cell surface, receptor tyrosine kinases (RTKs), cytokine receptors (CRs), integrins (INTs), G protein-coupled receptors (GPCRs), the B-cell receptors (BCRs) or the T-cell receptor (TCR)-CD3 complex transmit their information to the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt protein kinase B (Akt/PKB) system (201-205). Fig. 4 shows that the primary components of this system are PI3K (122), a producer of phosphatidyl inositol 3-phosphate (PtdIns-3-P), phosphatidyl inositol 3,4-bisphosphate (PtdIns-3,4-P₂), and phosphatidyl inositol 3,4,5-triphosphate (PtdIns-3,4,5-P₃), as well as Akt/PKB (123). This latter kinase is recruited, by its pleckstrin homology (PH) domain, to the cell membrane presenting suitable phosphoinositides. Other important players in this system are the 3'-phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK-1), which also associates, via its PH domain, to phosphoinositides when exposed on the cytosolic side of the cell membrane, leading to its enhanced phosphorylation and thus activity of Akt/PKB (206), and the phosphoprotein

p21^{cip1}/p27^{kip1} のアップレギュレーションと、CycE および CycA のダウンレギュレーションを介した G₁ 期での細胞周期停止により、CycD 発現が増加し、アノキスが阻害されることがわかった。このような細胞応答は過剰発現乳がん細胞株の悪性度を高める(194-199)。悪性の表現型での結果を考慮に入れると、これらの制御現象を図2の枠組みの中だけで説明するには無理がある。p27^{kip1} が細胞質に存在すると、低分子 G タンパク質 RhoA を介して浸潤や転移に影響を与える(200)。亢進した星状細胞腫でガレクチンがエフェクターとして働くと、RhoA 発現が上昇し、アクチン細胞骨格が浸潤に適した状態に再構成される。細胞骨格の組織化にレクチンが関わることも明らかになった例のひとつである(146)(詳細については図3およびその説明を参照)。ガレクチンと腫瘍浸潤・生き残りとの間に、医療に役立ちそうな関連性が見つかった動物モデルと言える(145, 146)。最初はひとつと見なされていたタンパク質の機能が、実際には複雑であったこと、また限られた実験結果から単純な結論を導き出すのは要注意だということを強調したい。細胞周期および細胞の生き残りの制御において、上で示唆した PI3K 経路が中心的役割をもつか否かについては更なる議論が必要であり、次の項で取り上げる。

E. ホスホイノシチドによるシグナル伝達

ホスホイノシチド経路は、さまざまなシグナル伝達経路の間で行われる活発なクロストークを説明するのに適した例である。図4に示すように、この経路も細胞周期の負の調節因子である CKIs p21^{cip1}/p27^{kip1} (図2参照)に到達する。細胞表面のシグナル受容体のうちで、受容体チロシンキナーゼ群 (RTK)、サイトカインレセプター群 (CR)、インテグリン群 (INT)、G タンパク質共役レセプター群 (GPCR)、B 細胞レセプター群 (BCR) あるいは T 細胞レセプター (TCR)-CD3 複合体が、情報をホスホイノシチド 3 キナーゼ (PI3K) Akt プロテインキナーゼ B (Akt/PKB) システムに伝達する(201-205)。このシステムの最初の成分は PI3K である(122)。これはホスホイノシチド 3 リン酸 (PtdIns(3)P)、ホスファチジルイノシトール 3,4-ビスリン酸 (PtdIns(3,4)P₂)、およびホスファチジルイノシトール 3,4,5-トリリン酸 (PtdIns(3,4,5)P₃) と共に Akt/PKB (123) を生成させる。Akt/PKB はプレクストリン類似 (PH) 領域を含むため、適切なホスホイノシチドが提示された細胞膜に召集される。これ以外にこのシステムで働く重要な因子は、3'-ホスホイノシチド依存性キナーゼ 1 (PDK1) で、細胞膜の細胞質側にホスホイノシチドが露出されたときに、やはり PH 領域を介して結合し、Akt/PKB と、Akt/PKB を標的としてその活性を消去するホスホプロテインホスファターゼ A

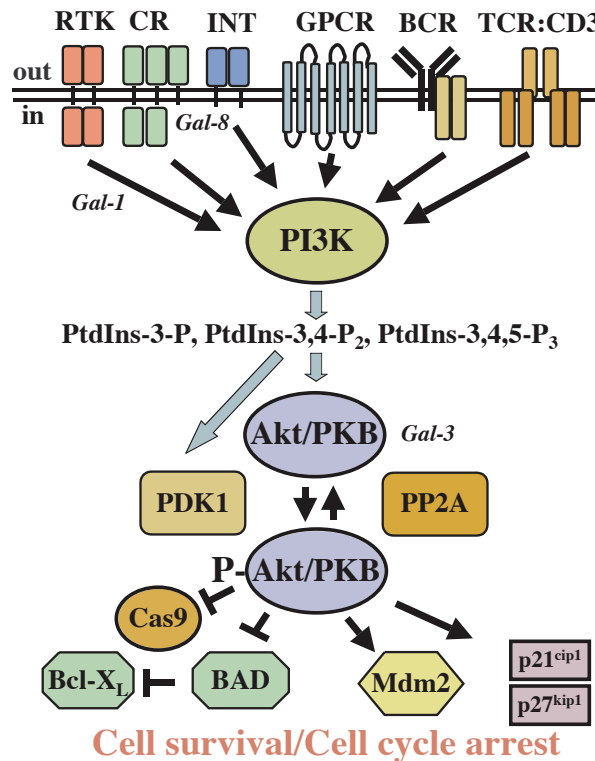


Fig. 4. Survival signals induced by the PI3K/Akt system. Stimulation of an array of cell surface receptors including receptor tyrosine kinases (RTKs), cytokine receptors (CRs), integrins (INTs), G protein-coupled receptors (GPCRs), B-cell receptors (BCRs) and the T-cell receptor/CD3 complex (TCR/CD3) stimulate phosphoinositide 3-kinases (PI3Ks). Its activity produces several types of phosphoinositides, *i.e.* phosphatidyl inositol 3-phosphate (PtdIns-3-P), phosphatidyl inositol 3,4-bisphosphate (PtdIns-3,4-P₂) and phosphatidyl inositol 3,4,5-triphosphate (PtdIns-3,4,5-P₃). Their presence in cell membranes will recruit proteins containing pleckstrin homology (PH) domains to this site. The serine/threonine kinase Akt, also named protein kinase B (Akt/PKB), and 3'-phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK-1) both associate to the cell membrane by this mechanism, and PDK-1 phosphorylates Akt/PKB. This modification induces its activation and hereby that of its protein substrates. Dephosphorylation of Akt/PKB by phosphoprotein phosphatase 2A (PP2A) is also illustrated. Activated Akt/PKB is a pleiotropic modulator of cell survival signaling pathways. Its target spectrum includes caspase-9 (Cas9) hereby causing its inhibition (please see Fig. 6 for further information) and the proapoptotic regulatory protein BAD, which otherwise could inactivate the antiapoptotic protein Bcl-X_L and upregulate Mdm2, a modulatory protein responsible for the degradation of p53 (not shown) (please see Fig. 5 for information on p53). The Akt/PKB-dependent arrest of the cell cycle is attained by the upregulation of the cyclin kinase inhibitors p21^{cip1/waf1} and p27^{kip1} (please see also Fig. 2 for further information). Selected examples for roles of galectins (Gals) in this system are indicated (please see text for details).

phosphatase A2 (PPA2), which targets Akt/PKB as substrate to switch off its activity.

Activation of Akt/PKB induces cell survival. It has an antiapoptotic effect and also induces cell cycle arrest. As shown in Fig. 4, these pleiotropic effects are modulated as follows: a) the arrest of cell proliferation is due to upregulation of the CKIs p21^{cip1/waf1} and p27^{kip1} (please see Fig. 2 for further details), and b) the inhibition of apoptosis is either due to upregulation of Mdm2, a regulatory protein involved in the degradation of the tumor suppressor p53 (please see also Fig. 5), or the inhibition of caspase-9 and the pro-apoptogenic regulatory protein BAD, an inhibitor of Bcl-X_L, a major anti-apoptotic effector (please see also Fig. 6). Recent studies have shed light on endogenous lectins affecting this signaling route. Briefly referred to in section C when illustrating the

(PPA2) をリン酸化し、前者の活性を上昇させる (図 4)。

Akt/PKB が活性化されると細胞は生き残る。これにより抗アポトーシス効果が現れ、細胞周期が停止する。この多面的効果は以下のように調節される (図 4)。 a) CKI の p21^{cip1/waf1} および p27^{kip1} (詳細は図 2 参照) のアップレギュレーションにより細胞増殖が停止する。 b) Mdm2 (腫瘍抑制因子 p53 の分解に関わる調節タンパク質、図 5 も参照) のアップレギュレーション、またはカスパーゼ 9 およびアポトーシス促進性調節タンパク質 BAD (主要な抗アポトーシスエフェクターである Bcl-X_L の阻害剤、図 6 も参照) の阻害により、アポトーシスが妨害される。最近の研究で、この経路に影響を与える内在性レクチンが脚光を浴びた。 C 項でガン遺伝子 Rb と関係があるガレクチン R の細胞内役割について簡単に述べたが、ガレクチン

intracellular role of galectin-1 connected to oncogenic Ras, galectin-1, through binding to active Ras, has been shown to divert the EGFR-mediated activation not to the PI3K pathway but rather to the Raf-1/ERK pathway (175). When a galectin-3-negative cell line is transfected and overexpresses galectin-3, dephosphorylation of Akt/PKB is favored (207). This process is under the control of the phosphoprotein phosphatase 2A (PP2A) (please see Fig. 4). In this special cell system, galectin-3 appears to downregulate survival signals. In contrast, galectin-8, upon interaction with integrins, activates the PI3K-Akt/PKB and PI3K-p70 S6 kinase pathways, hereby increasing cell survival as well as cytoskeletal reorganization (144) (please see Figs. 3 and 4 for further details). These results teach us the salient lesson that different members of this lectin family can exert diverse functions on cells. It is indispensable, therefore, to monitor the galectin profile of a given cell type biochemically or immunohistochemically prior to reaching conclusions about the expected spectrum responses to a stimulus (94, 160, 208-221). The Akt/PKB pathway is also linked to the p53 activity spectrum. Therefore, we proceed to illustrate this aspect in the next section.

F. p53 as a Master Regulator of Cell Survival

When defects in cells, for example caused during exposure to genotoxic hazards that damage DNA, accumulate beyond a limit, the tumor suppressor protein p53 (222-224) and other related proteins such as p73 and p63 come into action (please see Fig. 5). Damage of DNA by UV-light, X-rays and γ -radiation activates the DNA-dependent protein kinase (DNAPK) and the poly(ADPribose) polymerase (PARP), which are biochemical systems that upregulate/activate p53. In the same manner, mutations responsible for chromosomal instability and alterations in the DNA repair systems, as occurring in the Fanconi anemia syndrome (FAS), the Nijmegen breakage syndrome (NBS), the ataxia telangiectasia mutation (ATM) or Bloom's syndrome (BLS), generate a series of gene products that alert the p53 system. The tetrameric p53 acts as a transcription factor that upregulates the expression of proteins controlling the cell cycle such as the CKI p21^{cip1} (please see also Fig. 2), and proteins required for the entry of the cell into apoptosis, such as the proapoptotic regulatory protein Bax, and the death receptors Fas and DR5 (please see also Fig. 6). The action of p53 is kept in check by the modulatory protein Mdm2 (please see also Fig. 4, bottom). Mdm2 controls the proteolytic degradation of p53 by an ubiquitin-dependent pathway under normal conditions. After p53 activation, however, Mdm2 loses its activity, hereby facilitating unimpeded transcriptional upregulation of genes controlling cell cycle arrest and apoptosis as well as the actual transcription of Mdm2 itself to provide a negative feedback loop on its operation (225).

は活性型 Ra と結合することによって、EGFR で仲介される活性化を、PI3K 経路ではなく、Raf/MEK 経路へと変える (175)。ガレクチン は陰性細胞株でガレクチン を過剰発現させると、Akt/PKB の脱リン酸化が促進される (207)。この過程はホスホプロテインホスファターゼ 2A (PP2A) で制御を受ける (図 4 参照)。この特殊な細胞系では、ガレクチン は生き残りのためのシグナルをダウンレギュレートしているらしい。それとは対照的に、ガレクチン がインテグリンと相互作用すると、PI3K/Akt/PKB および PI3K/p70 S6 キナーゼが活性化され、細胞骨格の再構成、細胞の生き残りが促進される (144) (詳細は図 3 と 4 を参照)。これらの結果から、ガレクチンファミリーの各メンバーが細胞に多種多様な作用を及ぼしていることがわかる。したがって、ある刺激に対して予期どおりの応答パターンが得られたとしても、対象細胞のガレクチンプロファイルを生化学的、免疫化学的に確認してから結論をくだすべきである (94, 160, 208-221)。Akt/PKB 経路はまた p53 の活性パターンとも関連しているため、次項で取り上げる。

F. 細胞が生き残るための主要な調節分子 p53

DNA に障害を与える遺伝子毒性物質に暴露され、限界を越えて細胞内に欠陥が蓄積すると、ガン抑制タンパク質 p53 (222-224) および他の関連タンパク質 (p73 や p63 など) が活動を開始する (図 5 参照)。UV、X 線、 γ 線による損傷により、DNA 依存性プロテインキナーゼ (DNAPK) およびポリ ADPribose ポリメラーゼ (PARP) が活性化される。これらは p53 をアップレギュレートあるいは活性化する生化学的システムである。染色体を不安定化させたり、DNA 修復系に変化をもたらす突然変異は、Fanconi anemia syndrome (FAS)、Nijmegen breakage syndrome (NBS)、ataxia telangiectasia mutation (ATM) および Bloom's syndrome (BLS) などで見られるが、p53 システムを変える一連の遺伝子産物を作り出す。四量体の p53 は細胞周期を制御するタンパク質 (たとえば CK1p21^{cip1} (図 2 も参照) の発現を上昇させる転写因子として働く。またアポトーシス促進性制御タンパク質 Bax や、細胞死レセプター Fas および DR5 (図 6 末尾も参照) などのアポトーシス誘導タンパク質の発現も上昇させる転写因子として働く。p53 の作用は調節タンパク質 Mdm2 が常に監視している (図 4 末尾参照)。正常な状態では Mdm2 はユビキチン依存性経路による p53 のタンパク分解を制御している。しかし p53 が活性化された後には Mdm2 は活性を失い、その結果、細胞周期停止およびアポトーシスを制御する遺伝子の転写が促進され、同時に Mdm2 自身の転写のネガティブフィードバックループ形成も促進される (225)。p53 の欠如や機能不全は、多くのヒトガン細胞の

Fittingly, absence or malfunction of p53 in many human tumor cells is directly responsible for their malignant properties. When examining p53-dependent alteration of transcriptional profile in DLD-1 colon cancer cells prior to the onset of apoptosis, 14 out of 7,202 transcripts were identified, among them that for galectin-7 (178). It is noteworthy in this respect to recall that this galectin is referred to as p53-induced gene 1, as we have mentioned above in section C. In line with this result from serial analysis of gene expression (SAGE) screening, p53-dependent overexpression of galectin-7 results in apoptotic cell death of keratinocytes upon UV-light exposure, a model system mimicking sunburn lesions (226), research that could have its implication in melanomagenesis when this system fails. Galectin-7 is also a negative growth regulator for neuroblastoma cells, where ganglioside GM₁ is the surface target (48, 179, 227). The connection between galectins and the tumor suppressor p53 is further strengthened, because the chimera-type galectin-3 can be also a target for p53-dependent regulation, as briefly noted above in section C. This regulation of galectin-3 encompasses a peculiar aspect of

悪性化の直接的な原因となる。DLD-1 結腸ガン細胞でアポトーシス開始以前の p53 依存性転写プロファイルの変化を検討した結果、7,202 例のうちの 14 例での転写産物が確認され、その中にガレクチン 7 があつた (178)。C 項でも触れたが、ガレクチン 7 は p53 で誘導される遺伝子第 1 号と言われている。遺伝子発現 (SAGE) スクリーニングから得られた結果の他、ガレクチン 7 を p53 依存的に過剰発現させたケラチノサイトでは、UV 照射によってアポトーシスが起こる。これは日焼け障害のモデルとなり (226)、この制御系が機能しない場合に起こる色素細胞肥大化と関係している。またガレクチン 7 は神経細胞腫細胞の負の増殖制御因子であり、細胞表面の標的分子はガングリオシド GM₁ である (48, 179, 227)。ガレクチン群とガン抑制因子 p53 との関連はさらに深い。C 項でも述べたが、キメラ型のガレクチン 3 は p53 依存性制御の標的である。ここで見られるガレクチン 7 の制御は、遺伝子コードの節約という観点からも特異である。この遺伝子の第 2 イントロンに、

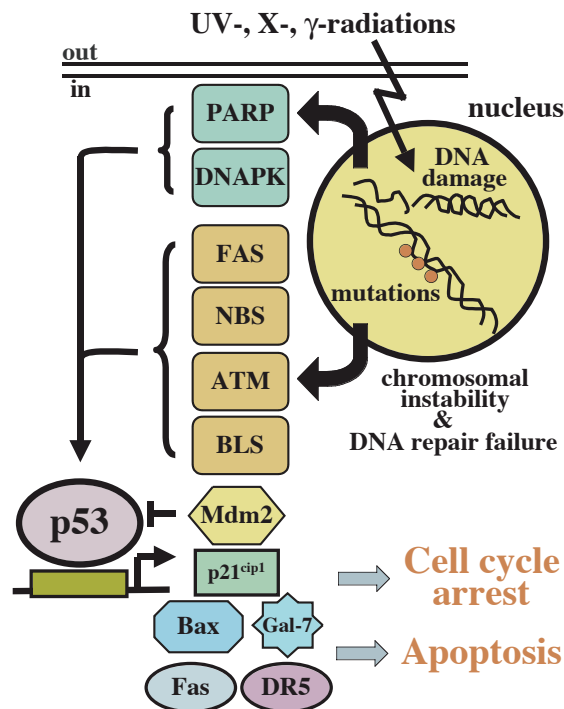


Fig. 5. Signaling by the tumor suppressor p53. DNA damage by ionizing radiation (*i.e.* UV light, X-rays, γ -rays) or mutations resulting in chromosomal instability and/or failure in DNA repair, among other genotoxic stresses, induce the activation of p53 expression. Mediators of this process are the DNA-dependent protein kinase (DNAPK) and the poly(ADP-ribose) polymerase (PARP). They can be activated by broken DNA strands or a series of altered gene products as for example those responsible for the Fanconi anemia syndrome (FAS), the Nijmegen breakage syndrome (NBS), the ataxia telangiectasia mutation (ATM) or Bloom's syndrome (BLS). The p53-dependent transcriptional upregulation of the cyclin kinase inhibitor p21^{cip1/waf1} induces the arrest of the cell cycle at the G₁/S transition (please see also Fig. 2). The transcriptional upregulation of the genes for the proapoptotic regulatory protein Bax and the death receptors Fas and DR5, among other proteins, paves the way toward apoptosis (please see also Fig. 6). The regulatory protein Mdm2 is involved in the degradation of p53 after its ubiquitination, at the same time that its transcriptional upregulation is under the control of p53. The upregulation of galectin-7 (Gal-7), referred to as p53-induced gene 1, by this system is indicated (please see text for details).

coding economy. Intriguingly, the second intron of this gene harbors a p53-regulatable promoter for an internal gene with an out-of-frame coding sequence relative to galectin-3 (228, 229). A product of this gene, which is termed galig, promotes cytochrome c release, hereby achieving the status of a cell death gene antagonized by Bcl-X_L overexpression (230). These events drive the cell into apoptosis/anoikis, guiding us to look more closely at signaling cascades directed toward programmed cell death in the next section.

G. Cell Death

Programmed cell death by apoptosis/anoikis has become a pervasive theme in studies of cell biology, reflecting the fundamental position of these mechanisms for the physiological cell fate. Matching this prominent position, various signaling cascades have a bearing on starting the route toward this kind of cell death. As examples from our set of already discussed figures, small G proteins and MAPK pathways, distinct transcription factors, PI3K and tumor suppressors such as p53 or pRb are connected to the induction of apoptosis (231). When the contact to the extracellular matrix is essential and this contact is lost, the cells are subject to anoikis, a distinct version of apoptosis (232). Since the signals that induce cell death are multifarious, there are different principal routes to run through the process to induce apoptosis (233-235) (please see Fig. 6). Globally, the classical extrinsic pathway engages a subset of tumor necrosis factor (TNF) receptors, so-called death receptors, and their ligands (236-238). In addition, the intrinsic or mitochondria-mediated route can be induced by a variety of apoptogenic stimuli (239, 240). A third way to attain programmed cell death, coined collectively as paraptosis, apoptosis-like cell death or non-classical apoptosis, is also operative. It includes the caspase-2-dependent pathway induced by DNA-damaging agents with ensuing participation of mitochondria (241, 242) and the caspase-independent pathway mediated by perforin/granzymes and an endoplasmic reticulum-located signaling machinery (243).

The balance between cell survival and apoptosis is under strict and delicate control. Inasmuch as normal cells rely on the action of multiple systems to control apoptosis, dysfunction of these regulatory mechanisms will result in resistance to apoptosis/anoikis and subsequent tumorigenesis and tumor progression (244-246). In general, the apoptotic pathways can share common signaling components, and crosstalk between them occurs to a significant extent. In order to introduce major constituents and the interconnection of the classical extrinsic receptor-mediated and the intrinsic mitochondria-mediated routes to the readers, Fig. 6 provides an overview of the caspase system which comprises central components *en route* to accomplish programmed cell death

ガレクチン₃とは読み枠がずれた内部遺伝子に対するプロモーターが隠れており、それが p53 で制御を受けるのは興味深い(228, 229)。この遺伝子はガリグというシトクロム c 遊離促進タンパク質をコードし、細胞死遺伝子としての地位が確立されており、Bcl-X_L の過剰発現と競合する(230)。これらが細胞をアポトーシス/アノイクシスに導く。次項でプログラム細胞死へのシグナルカスケードを検討する。

G 細胞死

アポトーシス/アノイクシスによるプログラム細胞死は、細胞の基本的な生理学的運命のひとつなので、細胞生物学の重要な研究テーマとなった。その重要性にふさわしく、さまざまなシグナルカスケードが細胞死の開始に関係している。これまで取り上げたもののうちでは、低分子 G タンパク質と MAPK 経路、ある種の転写因子、PI3K、p53 や pRb 等のガン抑制因子などがある(231)。細胞外マトリックスと接触している必要がある細胞では、接触が失われた場合、細胞はアポトーシスの一変形であるアノイクシスへ向かう(232)。細胞死を誘導するシグナルは多様で、アポトーシスにつながる主要ルートはいくつもある(233-235) (図 6 参照)。古典的な外因性経路に参与するのは、いわゆる死レセプターである TNF レセプターのサブセットとそれらに対するリガンドである(236-238)。その他にもさまざまなアポトーシス促進因子が、内因性経路あるいはミトコンドリア経路を誘導する(239, 240)。プログラム細胞死をもたらす第 3 のルートとして、パラトーシスという言葉でくられるアポトーシス類似細胞死、あるいは非古典的アポトーシスもある。それにはカスパーゼ₂依存性経路(DNA 損傷から始まりミトコンドリアが必ず関与する)(241, 242) とカスパーゼ非依存性経路(パーフォリン/グランザイムおよび小胞体局在シグナル機構が関与する)(243)が含まれる。

細胞の生き残りとおアポトーシスのバランスは厳密かつ繊細に制御されている。正常細胞はいくつものアポトーシス制御系の働きに依存しているので、これらの制御機構が故障するとアポトーシス/アノイクシスに対して抵抗性になり、発ガンやガン亢進につながる(244-246)。一般にいくつかのアポトーシス経路がシグナルを共有し、かなりお互いにクロストークを行っている。図 6 にプログラム細胞死を遂行するための中心的成分を含むカスパーゼ系の全体像を示し、主要な因子や古典的経路(外因性レセプターが仲介する)と内因性の経路(ミトコンドリアが仲介する)の間の相互関連がわかるようにした。上でも述べたが、カスパーゼ非依存性機構では、グランザイム型のプロテアーゼも働いている(244, 250)。細胞内タン

(247, 248). As mentioned above, proteases of the granzyme type are also operative in caspase-independent mechanisms (249, 250). Two sets of caspases are assigned to the task to initiate the intracellular cascade of proteolysis and to actually account for enzymatic cleavage of cell constituents. Thus, multiple target proteins, denoted death substrates, are processed. To name a few and the obvious consequences of processing, the inhibitor of the caspase-activated DNase (ICAD) promoting DNA cleavage, nuclear lamins resulting in chromatin condensation, and integrity of the cytoskeletal regulatory and structural proteins (including gelsolin, plectin, focal adhesion kinase, p21-activated kinase 2, Rho kinase 1, keratins and actin) are impaired inducing the collapse of the cytoskeleton (247, 248) (please see also Fig. 3 for

パク質分解カスケードを始動させ、また各種の細胞成分を酵素的に分解するために、2セットのカパーゼがあげられている。死基質と呼ばれるいくつかの標的タンパク質が処理される。たとえばカパーゼで活性化される DNA アーゼ (ICAD) の阻害剤 (DNA 分解の促進)、核ラミン (クロマチンが凝縮) などがある。細胞骨格の制御タンパク質および構造タンパク質 (ゲルゾリン、プレクチン、フォーカルアドヒージョンキナーゼ、p21 で活性化されるキナーゼ、Rho キナーゼ、クラチン、アクチン) が損傷すると細胞骨格が崩壊する (247, 248) (インテグリンを介する細胞骨格の変動の詳細については図 3 参照)。その結果、DNA の断片化、クロマチンの凝縮、細胞膜の泡沫化、細胞の収縮、アポトーシス体の最終的の形成、そして

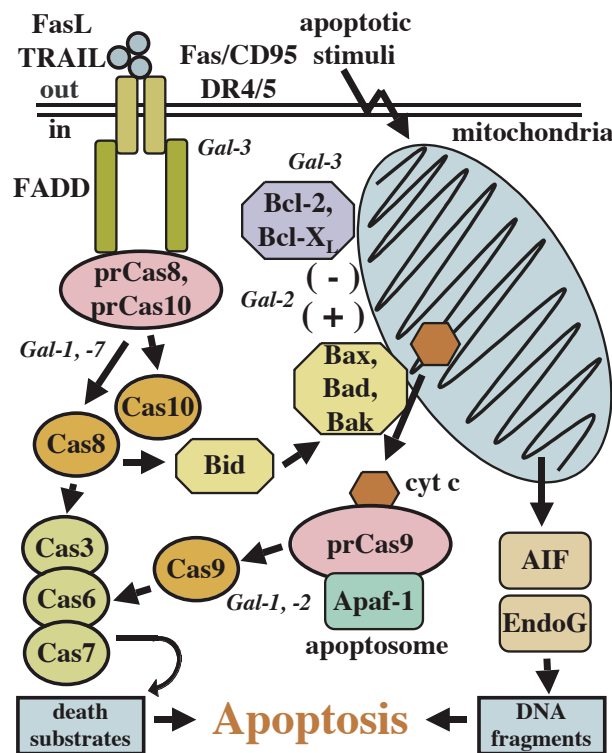


Fig. 6. The extrinsic and intrinsic apoptosis pathways. The extrinsic apoptosis pathway is initiated by the respective activation of death receptors such as Fas/CD95 by the Fas ligand (FasL) and DR4/5 by the tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). This process entails the recruitment of the adaptor Fas-associated death domain protein (FADD). The resulting signaling complex recruits procaspases 8 and 10 (prCas8 and prCas10), which are then converted to their active species caspases 8 and 10 (Cas8 and Cas10) by auto(trans)proteolysis. The formation of the initiator Cas8 enables to turn the inactive procaspases 3, 6 and 7 (not shown) into their corresponding active forms (Cas3, Cas6 and Cas7). These executioners or effector caspases degrade a large group of target proteins, referred to as death substrates, a salient step toward completing apoptotic cell death (please see text). The intrinsic apoptosis pathway centrally involves mitochondria. By disturbing their membrane potential, proapoptotic (+) regulatory proteins (Bax, Bad, and Bak, among others) trigger the release of several mitochondrial compounds including cytochrome c (cyt c). In the cytosol, cyt c associates with procaspase 9 (prCas9) and the apoptosis-activating factor-1 (Apaf-1) to build apoptosomes. They are the source of active caspase 9 (Cas9). Cas9 (functionally equivalent to Cas8 and Cas10, please see above) is an initiator protease that accounts for generating the effectors Cas3, Cas6 and Cas7 from their functionally silent precursors. Additional proteins released from the mitochondria are the apoptosis-inducing factor (AIF) and endonuclease G (EndoG). The former participates in chromatin condensation, and the latter rather likely in DNA degradation. Antiapoptotic (-) regulatory proteins such as Bcl-2 and Bcl-X_L counteract the intrinsic pathway. Crosstalk between the extrinsic and intrinsic pathways is possible through the regulatory protein Bid. Upon its proteolysis by Cas8, Bid is translocated to the mitochondria, where it can promote the release of cyt c. Selected examples for roles of galectins (Gals) in this system are indicated (please see text for details).

details on integrin-mediated cytoskeleton dynamics). As a consequence, the fragmentation of DNA, the condensation of chromatin, plasma membrane blebbing, cell shrinkage and the final formation of apoptotic bodies, which are removed by phagocytes without any inflammatory reaction, are the major hallmarks of the apoptotic process. Interestingly, lectin-mediated mechanisms have been implicated in phagocytic clearance of apoptotic neurons by microglia, apoptotic leukemic cells by macrophages and of apoptotic neutrophils by alveolar macrophages (251-254). The surfactant collectins A and D can even home in on DNA present on apoptotic cells, clearing this cell debris and preventing inflammation (255). Equally interesting, lectins are inducers of apoptosis (please see Fig. 6 for details).

In studies to explore the functionality of galectin-1 in the immune system its beneficial effect in two autoimmune disease models (myasthenia gravis in rabbits and encephalomyelitis in rats) pointed to a role of this galectin in affecting the T cell population (135, 256). The detection of this lectin in normal and malignant T cells (257), the 10-fold upregulation of its mRNA in a leukemic T cell line (CEM) during glucocorticoid-induced apoptosis (258) and the demonstration of induction of apoptosis in activated T cells (73, 259-261) with clinical relevance for its contribution to certain diseases such as the Sézary syndrome or acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) (262, 263) guided to the question on intracellular signaling following the initial binding of galectin-1 to the partner in the death pair, *i.e.* CD7 (264) and the T-cell receptor (TCR) complex (265). To clarify the intriguing target specificity of the galectin despite the presentation of a large variety of β -galactosides, the recently available crystal structure of this immunomodulatory effector can serve as template to dock the target glycans (266). In fact, sites different from the galactose residue in contact with the central Trp ring system in the binding site can explain exquisite target selection (219, 227, 267). At the level of the target cell, the latter process results in activation of the ERK2 pathway (please see Fig. 1 for more details) (265) and of the AP-1 transcription complex as well as the downregulation of Bcl-2 (268). Moreover, the characteristic rapid exposure of phosphatidylserine on the outer layer of the cell plasma membrane, an additional typical sign of apoptosis, has been observed in cells treated with galectin-1 (264, 269). How caspases come into play in galectin-induced apoptosis is explained in the next paragraph.

Fig. 6 summarizes important aspects of the signaling cascades involved in apoptosis. Caspases-3, -8 and -9 showed increased activity in human and murine T cells after activation by galectin-1 (270, 271). The versatile way on how even closely related galectins differ in effector properties is underscored by scrutinizing galectin-2 in this respect. This

炎症反応をまったく伴わないファゴサイトーシスによる除去、といったアポトーシスに特徴的な過程が達成される。アポトーシスを起こした神経細胞、白血球、好中球のファゴサイトーシスによる除去(それぞれミクログリア、マクロファージ、肺胞マクロファージが行う)には、レクチンが仲介する機構が示唆されている(25-254)。界面活性作用のあるコレクチン A および D は、アポトーシス細胞内の DNA に結合することができ、細胞の残渣を除去し、炎症を防ぐ(255)。レクチンがアポトーシスの誘導因子であることも興味深い(詳細は図6参照)。

免疫系におけるガレクチン D の機能の研究途上で、2つの自己免疫疾患モデル(ウサギ重症筋無力症、ラット脳脊髄炎)に対する有効性が観察され、T細胞群に対するガレクチンの役割が提唱された(135, 256)。正常および悪性のT細胞でガレクチンが検出される(257)、グルコシルコリドで誘導される白血病T細胞のアポトーシスでガレクチンの mRNA が10倍にアップレギュレーションされる(258)、ガレクチンが活性化T細胞のアポトーシスを誘導する(73, 259-261)などの現象も知られている。これらの現象は、Sézary症候群や AIDSなどの治療に貢献する可能性がある(262, 263)。ガレクチン D が細胞死ペアのパートナーである CD7 (264) や T細胞レセプター複合体(265)へ結合した後、どのように細胞内シグナル伝達が行われるのであろうか。細胞が多種多様な β -ガラクトシドを提示しているのに、ガレクチンは免疫調節因子として驚くべき標的特異性を示す。最近解明された結晶構造によれば、標的となるグリカンをもっとはめ込む鑄型となっていることがわかった(266)。結合部位の中心に位置するトリプトファン環と接触するガラクトース残基ではなく、それ以外の糖鎖部分により精妙な標的選択能力が説明される(219, 227, 267)。ガレクチンが結合した後、標的細胞では ERK2経路(265)(詳細は図1参照)および AP-1転写複合体の活性化が行われ、また Bcl-2のダウンレギュレーションも起こる(268)。さらにガレクチン D で処理された細胞では、典型的なアポトーシスで見られる、細胞膜外層へのホスファチジルセリンの急速な露出も観察されている(264, 269)。ガレクチンで誘導されるアポトーシスに、カスパーゼがどのように参加するかは次項で述べる。

図6にアポトーシスに含まれるシグナルカスケードの重要な面をまとめた。ヒトおよび齧歯類のT細胞では、ガレクチン D で活性化された後、カスパーゼ3, 8, 9 および Bcl-2の活性が上昇する(270, 271)。ガレクチン D を調べると、ガレクチンファミリーの一員であっても、個々の効果には違いがあることがわかる。ガレクチン D は CD3/CD7とは反応できな

galectin fails to react with CD3/CD7, a remarkable case for a qualitative difference in target selection between two closely related effectors, and activates a different spectrum of caspases with caspases-3 and -9 as major components (271). Galectin-7 treatment, in contrast, activates caspases-1, -3 and -8, in accord with differences in aggregation of various types of blood cells by galectins-1 and -7, while the tandem-repeat-type galectin-9 exploits the Ca^{2+} -calpain-caspase-1 pathway (271-273). In the case of galectin-2, the detection of opposite regulation by increasing the presence of pro-apoptotic Bax versus antiapoptotic Bcl-2, disruption of the mitochondrial membrane potential and release of cytochrome c are strong reasons to attribute this galectin-induced apoptosis to the intrinsic pathway (271). Of note, the chimera-type galectin-3 is also an inducer of CD7-dependent apoptosis via cytochrome c release and caspase-3 activation (274). Cell surface cross-linking of glycan ligands, made possible by the small extent of pentamer formation (65, 140, 275), is likely important in this case, whereas galectin-3 blocks inhibition of cell growth by homodimeric lectins in neuroblastoma cells (276). As noted above, galectins are effectors on the surface and in different compartments within the cells.

In the cell, galectin-3 has the ability to function as an anti-apoptotic molecule. The binding capacity to peptide motifs highlighted above is crucial for this activity. The protective action of galectin-3 concerns nitric-oxide-induced apoptosis of breast adenocarcinoma cells (277), C_2 -ceramide-induced apoptosis (274) and nucling-mediated apoptosis, as cells from KO mice deficient in this apoptosome-associated molecule and cells overexpressing galectin-3 are resistant to pro-apoptotic stress (169). The protective action of galectin-3 on nitric-oxide-induced apoptosis deserves further studies. Of note, nitric oxide is a versatile effector with a wide spectrum in ways to be functional such as arresting cell proliferation due in part to the reversible S-nitrosylation of the EGFR (278-280), activating the p38MAPK pathway and inhibiting a p38MAPK-regulated phosphotyrosine phosphatase which dephosphorylates the active EGFR (280). Leukemic T cells transfected with galectin-3 become resistant to apoptosis by a process that includes the interaction of galectin-3 with Bcl-2 (194). In contrast, galectin-3 can promote TRAIL-induced apoptosis in transfected breast adenocarcinoma cells by favoring Akt dephosphorylation, as described previously (please see Fig. 4), most likely through a redox mechanism in which glutathione is implicated (206). Therefore, cell type and its physiological context are important factors to be reckoned with precluding to reach reliable predictions easily. Regarding the technical approach it is also necessary to keep an eye on other properties of cells subjected to transfection. Breast adenocarcinoma cells with increased galectin-3 expression exhibit strong matrix adhesion, because

い。よく似たエフェクターであっても、標的選択性には差がある例のひとつである。その代わりにカスパーゼ 3 と 9 を中心とする別のセットのカスパーゼを活性化する(271)。対照的にガレクチン 7 で処理すると、カスパーゼ 1, 3, 8 が活性化され、さまざまな赤血球に対して、ガレクチン 7 と 9 では凝集作用が違うという観察とも合っている。一方、タンデムリピート型のガレクチン 9 は、 Ca^{2+} -カルパイン-カスパーゼ 1 経路を活性化する(271-273)。ガレクチン 2 の場合、アポトーシス抑制性の Bcl-2 に対抗してアポトーシス促進性の Bax 量を上昇させるという逆向きの制御を行い、ミトコンドリア膜電位を破壊してシトクロム c を遊離させるので、この場合のアポトーシスは内因性経路による可能性が高い(271)。キメラ型のガレクチン 3 もまた CD7 依存性のアポトーシスの誘導因子であり、シトクロム c 遊離とカスパーゼ 3 を介して進行する(274)。少量のペンタマーが生成すれば、細胞表面グリカン鎖を架橋できるようになり、このことが重要らしい(65, 140, 275)。一方、ホモダイマーレクチンによる神経芽腫細胞の増殖抑制をガレクチン 3 は妨害する(276)。以上のように、ガレクチンは細胞表面および細胞内の各種コンパートメント内でエフェクターとして働いている。

ガレクチン 3 は細胞内でアポトーシス抑制因子としての機能をもつ。先に強調したペプチドモチーフを結合する能力が、この活性にとって重要である。酸化窒素で誘導される乳腺腫瘍細胞のアポトーシス(277)、 C_2 セラミドで誘導されるアポトーシス(274)および nucling によるアポトーシスをガレクチン 3 は抑制する。これらのアポトソーム関連分子を欠くノックアウトマウス由来細胞や、ガレクチン 3 を過剰発現した細胞は、アポトーシス促進性ストレスに抵抗性である(159)。酸化窒素で誘導されるアポトーシスに対するガレクチン 3 の防護的作用は更に研究する価値がある。酸化窒素は広いスペクトルをもつ多面的なエフェクターであり、EGFR を可逆的に S-ニトロ化し、p38MAPK 経路を活性化し、p38MAPK で制御されるホスホチロシンホスファターゼ(活性 EGFR を脱リン酸化する)を阻害して、細胞増殖を停止させる機能などがある(278-280)。白血病 T 細胞にガレクチン 3 を遺伝子導入すると、ガレクチン 3 と Bcl-2 の相互作用によりアポトーシス抵抗性になる(194)。対照的に、前にも述べたが、遺伝子導入された乳腺腫瘍細胞では、ガレクチン 3 が Akt の脱リン酸化を促進して、TRAIL で誘導されるアポトーシスを促進する(図 4 参照)。この過程にはグルタチオンが関わる酸化還元機構がおそらく関係している(206)。したがって細胞の型および生理的状況を重要な因子として考慮しなければならず、信頼に足る予測は簡単ではない。技術的な点からは、形質導入を受ける細胞の諸性質にも注意する必要がある。ガレクチン 3 の発現が上昇している乳腺腫瘍細胞は、 $\alpha_5\beta_1$ インテグリンの発現が上昇しているため、強いマトリックス接着性を示すが、これ

the expression of $\alpha_4\beta_7$ integrin is elevated, a property quite reasonably relevant also for cell survival (281). After all, integrin presentation, highlighted above, can be a decisive factor for apoptosis/anoikis regulation. Looking at galectin-7, its intracellular presence is linked to cytochrome c release and caspase-3 activation (180), indicating a similarity of effector functions at different sites for this galectin. When the profile of gene expression for galectin-7-overexpressing HeLa cells was monitored, upregulation of an integrin subunit (α_1) and also $\alpha 2,6$ -sialyltransferase, which synthesizes a cap for galectin ligands (89, 282), was detected, two proteins with potential impact on adhesion and galectin susceptibility (180). As listed in Table I, cell adhesion is a process where protein-carbohydrate recognition clearly rivals protein-protein recognition in importance (42, 283).

In addition to galectins, the C-type lectin group of selectins is essential for lymphocyte homing, and it has thus become a target for drug design (284). Because the initial intercellular contact is swiftly followed by leukocyte migration, cell interaction with selectin ligands should convey more information than just the docking process, as already attested by its influence on signaling which we briefly outlined in the chapter on cell cycle control. Using site-specific inhibitors for signal transducers, a valuable tool also for analysis of signaling for plant-lectin-mediated cell aggregation (285, 286), and reagents to pinpoint changes in signaling cascades such as antibodies for distinct phosphoproteins, effects of selectin-carbohydrate interaction have been delineated for the leukocyte and the endothelial cell as will be discussed in the next section.

H. Selectin-Induced Signaling during Leukocyte/Endothelial Cell Interaction

Leukocyte trafficking encompasses sugar-code-guided migration to sites of inflammation or entry into lymphatic tissues. Contact and transient attachment of leukocytes to endothelial cells of the vessel wall are prerequisites for firm adhesion and extravasation (86, 96, 287). The mechanics of binding is suited to establish a molecular brake for the cells in blood flow, a process mediated by selectin recognition of distinct ligands (96, 288-292). The key molecular event underlying the initial process is the interaction of selectins with sialylated/sulfated determinants of Lewis blood group epitopes (90, 96, 283, 293, 294). The high degree of diversification of sulfotransferases, briefly noted in the introduction, with tasks in generating potent selectin determinants is another clear case of mutual complexity for a biological purpose, allowing us to give further credit to the concept of the sugar code (42, 295-297). Two *in vivo* lines of evidence are promising indicators that this research area is a fertile field for potential applications: a) the induction of phenotypes with impaired

は細胞の生き残りにとってきわめて合理的である(281)。最後に、先にも強調したがインテグリンの提示はアポトーシス アノイクシス制御にとって決定的な要因である。ガレクチン II の細胞内存在は、シトクロム C 遊離、カスパーゼ II 活性化と関連しており(180)、このガレクチンの場合、場所は違っても、エフェクターとして同じ効果をもつことがわかる。ガレクチン II が過剰発現している HeLa 細胞の遺伝子発現プロファイルを見ると、接着性とガレクチン感受性に潜在的影響を持つ 2 つのタンパク質、すなわちインテグリンサブユニットのうちのひとつ (α_1) および $\alpha 2,6$ シアル酸転移酵素(ガレクチンのリガンドを遮蔽する(89, 282))のアップレギュレーションが見られた(180)。表 1 から明らかなように、細胞接着においては、タンパク質-糖質間の識別と、タンパク質-タンパク質間の識別とが競合している(42, 283)。

ガレクチンに加えて、C型レクチン群のセレクトインはリンパ細胞のホーミングにとって不可欠であり、ドラッグデザインの標的にもなっている(284)。最初の接触に引き続き直ちに白血球の移動が始まるので、細胞とセレクトインリガンドが相互作用すると、ドッキングだけではなく、それ以上の情報が伝達されるに違いない。細胞の接触がシグナル伝達に影響を与えることは細胞周期調節の項でも触れた。セレクトインと糖鎖の相互作用が白血球および上皮細胞にどのような効果をもたらすかについては、シグナル変換器に対する部位特異的な阻害剤を使った研究がなされており、次項で議論する。植物レクチンを介した細胞凝集の場合におこるシグナル伝達についても、これらの阻害剤が有効な解析手段となっており(285, 286)。たとえば特異的なリンタンパク質抗体はシグナルカスケードに生じた変化を点単位で特定できる。

H) 白血球と上皮細胞の相互作用においてセレクトインで誘導されるシグナル伝達

白血球は糖鎖コードに導かれて炎症部位へ到達したり、リンパ組織内に入って行く。白血球が先ず血管上皮細胞と接触あるいは一時的に接着することが、強い接着と血管外遊出の前提条件である(86, 96, 287)。特定のリガンドをセレクトインが認識することが、血流中の細胞にとっての分子的ブレーキとなる(96, 288-292)。分子レベルでの最初の鍵となるのは、シアル酸と硫酸で修飾されたルイス血液型エпитープとセレクトインの相互作用である(96, 96, 283, 293, 294)。はじめにも述べたが、高度に多様化したスルホトランスフェラーゼにより、セレクトインに対して多様な決定基が生成している。生物における目的達成には複雑性が不可分であり、糖鎖コードという考え方をさらに強く支持している(42, 295-297)。この分野が応用面でも有望なことを支持する *in vivo* での証拠が 2 つある。a)セレクトインリガンドの合成に関わる糖転移酵素を欠いたマウスでは、免疫的防御不全をもつ表現型が発生する、b)GDF

immune defence in mice deficient for glycosyltransferases participating in synthesis of selectin ligands and b) the reduced fucosylation resulting from mutation in a gene encoding a GDP-fucose transporter as cause for immunodeficiency in the congenital disease named leukocyte adhesion deficiency II (19, 298–301). Moreover, the detection of binding sites for Lewis epitopes on colon cancer cells points to engagement of these determinants as signals also for tumor cells (302). Having introduced the cell biological and structural aspects of selectin binding, we can proceed to epitomize the interplay at the cell surface as depicted in Fig. 7.

L-Selectin (CD62L) is positioned in the leukocyte plasma membrane with its lectin headgroup serving as

フコーストランスポーターをコードする遺伝子が突然変異してフコシル化が低下すると、白血球接着欠損 I と呼ばれる免疫不全の先天性疾患の原因になる(19, 298B01)。結腸ガン細胞上にはルイスエpiteープに対する結合部位が検出されるので、これらはガン細胞に対するシグナルにもなりうる事が指摘された(302)。以上、セレクトイン結合の生物学的および構造的側面を紹介したところで、図7に示す細胞表面での相互作用に移ろう。

L-セレクトイン(CD62L)は、頭部がドッキング部位のセンサーとなるように白血球のプラズマ膜中に配置している。このタンパク質はいわばモザイク状で、ブレーキとしての役割

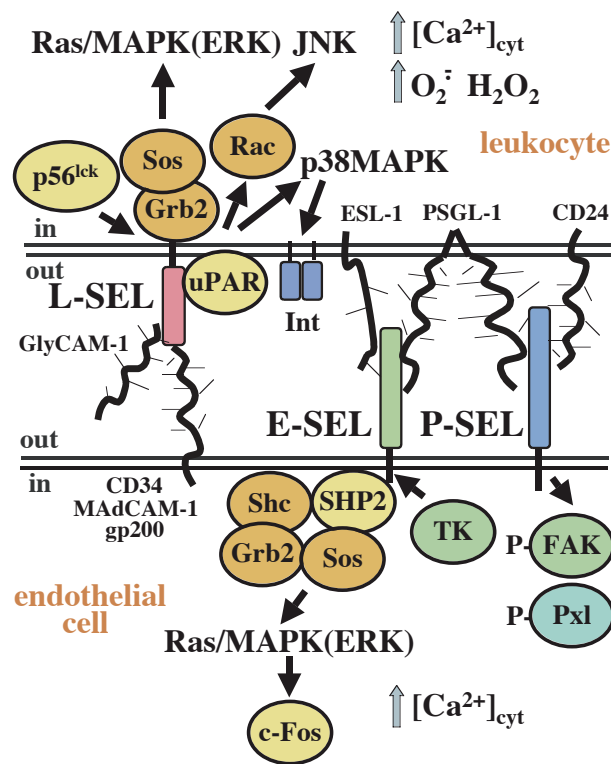


Fig. 7. Signaling mediated by selectins. The interaction of leukocyte L-selectin (L-SEL) with ligands located in the endothelial cell plasma membrane including sialomucin antigen CD34, mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MadCAM-1) and glycoprotein gp200 as well as with the extracellular glycosylated cell adhesion molecule-1 (GlyCAM-1) triggers a series of signaling events in leukocytes. They lead for example to increases of the cytosolic concentration of the free calcium ion ([Ca²⁺]_{cyt}), potentiation of the oxidative burst generating anion superoxide (O₂⁻) and hydrogen peroxide (H₂O₂), interaction with the urokinase plasminogen activator receptor (uPAR), activation of the cytosolic tyrosine kinase p56^{lck} and stimulation of the Ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK)/extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway, the Rac/Jun N-terminal kinase (JNK) pathway and the p38MAPK pathway (please see Fig. 1 for further information). This latter route in turn increases the binding affinity of integrins (INTs) to extracellular matrix glycoproteins. On the endothelial cell side, signaling depends on the interaction of P-selectin (P-SEL) with its leukocyte ligand P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) and the adhesion molecule CD24 as well as on the interaction of E-selectin (E-SEL) with its leukocyte ligand E-selectin ligand-1 (ESL-1) and also PSGL-1. Both E- and P-selectins activation have been shown to increase the [Ca²⁺]_{cyt}. P-selectin engagement results in autophosphorylation, activation of the focal adhesion kinase (FAK) and tyrosine phosphorylation of paxillin (Pxl) (please see also Fig. 3 for additional information on FAK). E-selectin, in addition, has been shown to be phosphorylated by a tyrosine kinase (TK). Presence of this new determinant (the phosphotyrosine residues) recruits the SH2-containing protein-tyrosine phosphatase 2 (SHP2). The Ras/MAPK(ERK) pathway is activated by SHP2 through a molecular complex formed by the SH2-domain-containing α 2-collagen-related (Shc) protein, the adaptor protein Grb2 and a GTP-exchanger factor named son-of-sevenless (Sos) which activates Ras. This G-protein is therefore an essential effector for the final increase in gene expression, with the transcription factor c-Fos as mediator (please see also Fig. 1).

sensor for docking sites. The other modules in the mosaic-like protein, *i.e.* the EGF-like domain and two complement regulatory-like units (six for E- and nine for P-selectins), position this C-type lectin domain distal from the membrane surface, in full accordance with a braking mechanism. Binding with sialomucin CD34, mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MadCAM-1) and glycoprotein gp200, all of them located in the endothelial cell plasma membrane, is spatially unimpeded (87, 90, 96, 292, 293). In addition, L-selectin interacts with extracellular glycosylated cell adhesion molecule-1 (GlyCAM-1), a peripheral addressin of mucin-like nature in specialized high endothelial venules (87, 96, 292). An emerging topic on selectins, as is likewise occurring in other C-type lectin groups such as the surfactant collectins, is the realization that expression of *e.g.* L-selectin is not as restricted as initially thought. Its presence in human trophoblasts is a new aspect for implantation of the embryo in the uterus (96, 303). Also, L-selectin together with P-selectin (and also E-selectin) can be recruited to be involved in tumor spread (96, 304, 305). Signaling mechanisms are thus likely to be operative in other cell types beyond leukocytes/endothelial cells, the latter presenting E- and P-selectins.

E- and P-selectins are both engaged in the ligation of particular leukocyte glycoproteins. P-Selectin homes preferentially on P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) and the glycosylphosphatidylinositol-anchored surface mucin CD24, while E-selectin interacts with E-selectin ligand-1 (ESL-1) or also the PSGL-1 (87, 90, 283, 292, 293, 306). PSGL-1 reaches its exquisite affinity by the strategic positioning of two tyrosine sulfates (tyrosine residues 7 and 10), which add hydrogen bonding and stacking to the carbohydrate-mediated contact (307). Aside from the regulation of ligand synthesis their accessibility is subject to alteration by soluble selectins present in serum. In the case of P-selectin, this soluble form derived from shedding is involved in hemostasis after binding to leukocyte PSGL-1 triggering the release of tissue factors which engender thrombus formation (308). As indicated above, concerted action of glycosyltransferases and sulfotransferases is responsible for specific posttranslational modifications of different proteins to transform them into selectin ligands (290). The intimate way the sulfotransferases, which are responsible for generating the high-affinity ligands for selectins comparable to the synthesis of the antithrombin III-binding site in heparin, are regulated to orchestrate the display of the suitable ligands adds to the arguments for the sugar code concept given in the Introduction (295, 309, 310). In view of the explanations of basic concepts in biosignaling given in section B and most explicitly in the preceding sections, we will next look at principles of the intracellular responses to the carbohydrate-dependent docking of the leukocyte. Fig. 7 presents an insight into the reactivity

を發揮しやすくするために、EGF様領域や2つの補体制御単位(E-セレクトインでは6個、P-セレクトインでは9個)などの領域が、C型レクチン領域を膜表面からある程度浮かせている。そのため上皮細胞の膜にあるシアロムチン CD34、ムコ多糖アドレシン細胞接着因子 μ (MadCAM μ) および糖タンパク質 gp200などが、空間的な妨害なしに結合することができる(87, 90, 96, 292, 293)。さらにL-セレクトインは細胞外に存在する糖鎖で修飾された細胞接着分子(GlyCAM μ 、特定の高内皮性毛細管のムチンに似た性質をもつ末梢アドレシン)とも相互作用する(87, 96, 292)。L-セレクトインは当初考えられていたほどには発現が限定的ではないらしいことがわかってきた。このことは界面活性作用をもつコレクチンなど他のC型レクチンにもあてはまる。ヒト栄養膜にL-セレクトインが存在することが発見され、胚の子宮着床に関して新しい見方ができた(96, 303)。またガンの浸潤に際して、L-セレクトインと共に、E-セレクトイン(E-セレクトインも)が召集される(96, 304, 305)。したがって、E-セレクトインおよびP-セレクトインを提示する上皮細胞と白血球との間ばかりでなく、他の細胞の場合でもシグナル機構が稼働していると思われる。

E-セレクトインおよびP-セレクトインのいずれもが、白血球の糖タンパク質との結合に関与する。P-セレクトインはP-セレクトイン糖タンパク質リガンド(PGSL μ)およびグリコシルホスファチジルイノシトールアンカーをもつ表面ムチンCD24に優先的に結合する。一方、E-セレクトインは、E-セレクトインリガンド μ (ESL μ)またはPSGL μ と相互作用する(87, 90, 283, 292, 293, 306)。PGSL μ は親和性が最高になるように2個のリン酸化チロシン(チロシン残基 Y と Y')を配置している。これらにより糖との接触に水素結合とスタッキング効果が付加される(307)。リガンドへの接触に影響するのは、リガンド生合成の制御のほか、血中に存在する可溶性セレクトインがある。P-セレクトインの場合には、切断されて生じる可溶性型が、白血球PSGL μ へ結合して血栓形成促進性の組織因子を遊離させて止血に関与する(308)。タンパク質を翻訳後修飾してセレクトインリガンドへ転換させるのは、糖転移酵素と硫酸転移酵素との協同作業であることは前に述べた(290)。セレクトインに対する高親和性リガンドを作るには硫酸転移酵素が必要で、これはヘパリン分子中にアンチトロンビン II 結合部位を作るときと似ている。適切なリガンドを提示するために、これらの酵素は綿密に制御されており、「はじめに」で述べた糖鎖コードの概念(295, 309, 310)の正当性を支持している。E項以降で生命におけるシグナル伝達の基本概念を説明してきたので、その観点から白血球の糖鎖依存的ドッキングに対する細胞内応答の原理に移る。図7にセレクトインのリガ

of the two cell types when encountering ligands for selectins.

On the leukocyte side, L-selectin engagement generates a transient increase in the cytosolic concentration of free Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$) and the oxidative burst associated with degranulation of neutrophils, the source of highly oxidant anion superoxide radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2) (85, 311, 312). Fluctuations of the Ca^{2+} -level can be sensed by calmodulin, an ubiquitous intracellular calcium sensor in eukaryotic cells (313). Hereafter, the Ca^{2+} /calmodulin complex interacts with the intracellular domain of L-selectin and is implicated in the regulation of selectin shedding following proteolytic cleavage (314). The Ca^{2+} /calmodulin complex can also directly bind to tyrosine kinase receptors such as the EGFR, hereby negatively modulating its intrinsic tyrosine kinase activity (315-318), and to the ErbB2 receptor (319). This aspect reveals the versatile role of calmodulin as a transducer of the Ca^{2+} signal. As calmodulin is known to be phosphorylated by a variety of serine/threonine and tyrosine kinases including the EGFR (320), modulating the effector's activity on multiple calmodulin-binding proteins (321), it will be pertinent to answer the question as to whether calmodulin phosphorylation could affect L-selectin shedding.

As further signals, tyrosine phosphorylation of multiple proteins and activation of the Ras/MAPK(ERK) pathway are associated with L-selectin ligation (312) (please see Fig. 1 for additional details). An effector for L-selectin-dependent phosphorylation is the tyrosine kinase p56^{lck} and the recruitment of a complex formed by the adaptor growth factor receptor-bound protein 2 (Grb2) and the GTP exchanger factor son-of-sevenless (Sos) which activates Ras (322) (please see Fig. 7). L-Selectin binding also stimulates JNK via p56^{lck} and the small G proteins Rac1/2 (181). In addition, the ensuing activation of the p38MAPK pathway by L-selectin will eventually control leukocyte degranulation and integrin activation (183). As additional selectin binder, the urokinase plasminogen activator receptor (uPAR/CD87) directly associates with L-selectin, an interaction likely affecting uPAR-mediated pericellular proteolysis and leukocyte extravasation (323). The mentioned mechanisms are illustrated in Fig. 7, also letting the convergence of signaling pathways become apparent when Ras/MAPK(ERK) is depicted.

Looking at the vascular endothelium, the interaction of P- and E-selectins with their cognate ligands located in the leukocyte plasma membrane equally triggers signaling events. To be responsive the endothelial cells had to be activated by cytokines such as interleukin- 1β (IL- 1β) or tumor necrosis factor- α (TNF- α) and other proinflammatory stimuli, for example bacterial endotoxins, to present these selectins at the cell surface. Cell surface expression is regulated at the transcriptional and cellular level to direct them from storage sites (Weibel-Palade bodies) to the surface (154). Similar to

ンドに遭遇したとき、双方の細胞がどのように反応するかを示した。

白血球が L-セレクトインと出会うと、細胞質の遊離 Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$)濃度が一時的に上昇し、好中球は脱顆粒して酸化バーストを起こす。これにより酸化力の高いスーパーオキシドアニオンラジカル($\text{O}_2^{\cdot-}$)と過酸化水素(H_2O_2)が供給される(85, 311, 312)。 Ca^{2+} レベルは真核細胞の普遍的カルシウムセンサーであるカルモジュリン(313)により検知される。この後、 Ca^{2+} カルモジュリン複合体が、L-セレクトインの細胞内領域と相互作用し、タンパク質分解によるセレクトインの切り離しを制御する(313)。 Ca^{2+} カルモジュリン複合体は、また直接に EGF のようなチロシンキナーゼレセプターに結合し、内因性のチロシンキナーゼ活性(315-318)を負に制御し、また ErbB2レセプター(319)にも結合する。このようにカルモジュリンは Ca^{2+} シグナル変換器として多面的な役割をもっている。カルモジュリンは EGFR も含めたさまざまなチロシンキナーゼやセリン/トレオニンキナーゼでリン酸化され(320)、いくつかのカルモジュリン結合タンパク質に対するエフェクター活性を変調させること(321)が知られているので、カルモジュリンのリン酸化により L-セレクトインの切り離しがどう影響されるかが解明される必要がある。

L-セレクトインの結合にともなって、更なるシグナルとして、複数のタンパク質のチロシンのリン酸化や Ras/MAPK (ERK)経路の活性化が起こる(312)(詳細は図1参照)。L-セレクトイン依存性のリン酸化のエフェクターは、チロシンキナーゼ p56^{lck} であり、アダプター成長因子レセプター結合タンパク質 (Grb2) と GTP 交換因子 son-of-sevenless (Sos) から形成される複合体が召集され、Ras を活性化する(322)(図7参照)。L-セレクトインの結合はさらに p56^{lck} を介して JNK を、また低分子 G タンパク質 Rac1/2 を刺激する(181)。それに加えて、L-セレクトインは p38MAPK 経路を確実に活性化し、最終的に白血球の脱顆粒とインテグリンの活性化を制御するのである(183)。それに加えて L-セレクトインはウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーターレセプター (uPAR/CD87) にも直接に結合し、細胞周辺での uPAR 依存的なタンパク質分解と白血球の組織浸入に影響を与えるらしい(323)。図7にこの機構を描いた。シグナル伝達経路の焦点化をわかりやすくするために Ras/MAPK (ERK) も描いてある。

血管内皮側を見ると、E-セレクトインおよび L-セレクトインが白血球プラズマ膜に分布するそれぞれのリガンドと相互作用すると、同じようにシグナル伝達を始動させる。内皮細胞が応答性を示すためには、これらのセレクトインが細胞表面に提示されるよう活性化されねばならない。活性化を行うのは

L-selectin action, P/E-selectin-dependent transient increase in the $[Ca^{2+}]_{cyt}$, resulting in cytoskeletal reorganization due to formation of stress fibers, has been observed (324) (please see Fig. 3 for additional information), and E-selectin exploits the Ras/MAPK(ERK) pathway with upregulation of the transcription factor c-Fos (325) (please see Fig. 1 for additional information). The primary route of activation of the Ras/MAPK(ERK) pathway is initiated by the phosphorylation of a distinct tyrosine residue in the short intracellular domain of E-selectin, the recruitment of the SH2-containing protein-tyrosine phosphatase 2 (SHP2) to this phosphotyrosine residue and the bridging provided by a molecular complex formed with the adaptors SH2-domain-containing $\alpha 2$ -collagen-related (Shc) protein and Grb2 with the GTP exchanger factor Sos that activates Ras, a process evocative of L-selectin-dependent mechanisms (326) (please see Fig. 7). On its part, P-selectin engagement induces tyrosine phosphorylation of different proteins including the autophosphorylation and activation of the focal adhesion kinase (FAK) and paxillin (Px1), a focal adhesion-associated adaptor protein (327) (please see Fig. 3 and Fig. 7 for additional information). Px1 is also known to translocate to the nucleus where it may play a role in the regulation of gene transcription (328). Illustrating the vivid cross-talk between signaling routes with lectins as inducers, there is evidence for an interplay of selectin/galectin recognition systems. The triggering of lymphocytes by L-selectin increases ligand presentation for galectin-3, hereby strengthening the contact to dendritic cells (329). This example points to the possibility to define new targets for a therapeutic intervention of undesirable cell contacts. In fact, efforts have been devoted to the development of specific selectin inhibitors structurally related to the sialyl Lewis^x determinant but yielding improved affinity (330, 331). They can be complemented by exploiting knowledge about post-binding events. In this sense, the careful analysis of lectin-dependent signaling has potential to define new targets to block an undesired activity in situations when the initial binding step cannot be impaired with sufficient specificity.

I. Concluding Remarks

We have started this review with the basic concept that the cell surface presents signals relevant for cell communication. The multitude of signals required for diverse responses calls for structurally rather compact units (messages) to fit into the limited space available. Their chemical properties endow carbohydrates with the unsurpassed capacity for high-density coding, and the elaborated enzymatic machinery for fine-tuned glycan assembly inspired the notion that the structure of the epitopes matters by bearing distinct information. Developmental and malignancy-associated regulation of glycomic profiles can thus not only

インターロイキン β ($IL\beta$)や腫瘍壊死因子 α ($TNF\alpha$)などのサイトカイン、細菌のエンドトキシンのような炎症促進性刺激物質である。細胞表面での発現は、転写レベルで制御され、また細胞レベルでも貯蔵部位 (WeibelPalade bodies) から表面へ移動させる過程で制御される (154)。Lセレクトインの作用と同様に、Eセレクトイン依存性の $[Ca^{2+}]_{cyt}$ の一時的な上昇が見られ、ストレス繊維形成による細胞骨格の再構成が起こる (324)。そしてEセレクトインが Ras/MAPK (ERK) 経路を利用して、転写因子 c-Fos をアップレギュレートする (325) (更なる情報は図 1 参照)。Ras/MAPK (ERK) 経路の活性化の主要ルートは、Eセレクトインの短い細胞内領域の特定のチロシン残基のリン酸化から始まる。次いで、このリン酸化チロシン残基へ SH2 を含むタンパク質チロシンホスファターゼ (SHP2) が召集され、アダプター SH2 領域を含む $\alpha 2$ コラーゲン関連タンパク質 (Shc)、Grb2、GTP 交換因子 Sos の複合体が結びついて Ras を活性化する。これは Lセレクトイン依存性機構と似ている (326) (図 7 参照)。Eセレクトインの方では、さまざまなタンパク質のリン酸化が誘導され、その中には自己リン酸化や、局所接着キナーゼ (FAK) や局所接着関連アダプタータンパク質であるパキリン (Px) の活性化がある (327) (図 3 および 7 参照)。Px は核に移行して、遺伝子の転写の制御にも関わっているらしい (328)。レクチンを誘導因子としたシグナル伝達経路間の活発なクロストークを描いてみると、セレクトイン/ガレクチンによる認識システムの相互関係が見えてくる。Lセレクトインでリンパ細胞を刺激すると、ガレクチン β に対するリガンド提示が上昇し、樹状細胞との接触が強まる (329)。この例から、治療のために細胞接触を避けたい場合の新しい標的を定めうる可能性が見えてくる。実際に、シアリル Lewis^x に似た構造をもつ、親和性が改善された特異的セレクトイン阻害剤を開発しようという努力がなされている (330, 331)。結合後に起こることがもっとわかってくれば、さらに改善されるであろう。この観点から、レクチン依存性のシグナル伝達を注意深く解析すれば、最初の結合段階を十分特異的に抑えることができない状況でも、好ましくない活性を抑えるための新しい標的を定めうる可能性がある。

1 結 語

細胞間コミュニケーションにとって必要なシグナルを細胞表面が提示するという基本概念から本総説を始めた。多様な応答に必要な膨大な数のシグナルが、空間的制約に応じてコンパクトな単位構造 (メッセージ) を取らねばならない。限りなく高密度なコード化が可能な糖質の化学的性質、緻密に調整された糖鎖集合体を作り上げる精巧な酵素機構、これらによってエピトープ構造に明確な情報が付与される。発生や細胞の悪性化に伴うグリコームプロファイルを制御することにより、形式的な単なる署名のようなものではなく、機能

be a signature-like phenomenological feature but a functional marker, utilizing the system of endogenous lectins as signal translator (please see Table I for summary of lectin functions). The lectin superfamily even harbors members which are either explicitly classified as growth factors or as cytokines such as basic fibroblast growth factor (bFGF) or interleukin-2 (IL-2) (108, 332) or involved in growth factor activation such as the cation-independent mannose-6-phosphate receptor for TGF- β as noted in section B (110). Signal presentation for lectins and the meaning of the messages can be modulated at different levels starting with their synthesis or transient modification and also encompassing topological aspects such as context of presentation. A major basic lesson to be learned is to consider cell surface glycoproteins as at least bifunctional molecules, with the protein and glycan parts acting as signalers.

Having introduced the two sides of information transfer in the sugar code, it is a major challenge to map the interaction of the binding partners structurally and to delineate the molecular chain of events from binding of the effector to completing the cellular response. Our review has focused on the latter aspect, illustrating crucial pathways in seven figures deliberately tailored to focus on key elements. These figures, too, point to arising insights into the way endogenous lectins trigger such cascades. It is fair to say that it is no longer a question whether but how lectins are operative at this level. Our presentation thus details advances for selected examples within the schemes. Moving beyond the individual pathways, it has become apparent that cross-talk between the different pathways is vivid. Depending on the nature of the signals which are being transmitted the flow of information can be subject to quantitative regulation or diverted into particular directions, in a way that can be summarized by the terms “contextual” and “combinatory”. The results of this analysis will not only have merit for their integration into the scheme hereby being continuously refined. They also signify the identification of targets for intervention at early steps in signaling, in cases where it is difficult to hit the initial binding step. Alternatively, a lectin with known capacity to block signal flow at a distinct site could be exploited to renormalize aberrant signaling. Toward this special end, the application of chemically designed mini-lectins constitutes a long-term aim, unless their target specificity is compromised by size reduction (333, 334). It is this emerging potential for fertile applications that connects the advances in our knowledge on lectin-dependent signaling with chemical/biochemical, cell biological and clinical aspects of glycosciences and inspires innovative approaches to rationally manipulate cell behavior.

Acknowledgments

This work was generously supported by grants from the Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología

と結びついたマーカーとしての役割が生まれる。ここでシグナル翻訳者として内在性レクチンシステムが利用される(表参照)。レクチンスーパーファミリーには、成長因子あるいはサイトカインとして分類されてきたもの(塩基性繊維芽細胞成長因子(bFGF)や、インターロイキン α (IL α) (108, 332))あるいはE項で触れたTGF β に対するカチオン非依存性マンノース β -リン酸レセプターのような成長因子活性化に関わるものも含まれる。レクチンへのシグナルの提示、メッセージの意味などは、さまざまなレベル(合成、一時的修飾、提示状況のトポロジーなど)で変調されうる。細胞表面の糖タンパク質は、少なくとも二機能性の分子ととらえられるべきで、タンパク質部分およびグリカン部分がシグナル発信者の役割を果たしている。

糖鎖コードがもつ情報伝達の二つの面がわかれば、結合パートナー同士の相互作用を図式化し、エフェクターの結合から細胞応答の完結に到る出来事の分子鎖を並べることが次の大きな課題になる。この総説では後者に焦点をあて、基本的経路のかなめに焦点があたるよう工夫した二枚の図を使った。内在性レクチンがそれぞれのカスケードを始動させる過程に関して理解が進みつつある状況を図には取り入れている。レクチンがこのレベルで働きうるかどうかはすでに議論の余地はなく、どのように働くかが問題であると言ってさしつかえない。図式の中のいくつかを選び詳しく進歩を述べた。個々の経路に止まらず、異なる経路間のクロストークが知られるようになった。実際に運ばれているシグナルの性質に応じて、情報の流れは定量的に制御されたり、特定の方向へと方向転換される。それをわれわれは「状況依存的」とか「連携的」などと要約表現する。こうした解析は、ここで示した図式(常に改善しているが)に統合できることだけが利点ではない。最初の結合段階を標的にするのが困難な場合でも、シグナル伝達の初期に介入可能な標的を定めうる意義がある。それ以外にも、ある特定の位置でシグナル伝達を止めうる既知のレクチンを、異常なシグナル伝達を正常化するのに利用できるかも知れない。科学的に設計したミニレクチンをこうした特別な目的に向けて開発することも(サイズを小さくしても特異性が変わらないことが条件であるが)、長期的目標となろう(333, 334)。この実り多い応用を期待できる潜在能力によって、レクチン依存性シグナル伝達について科学的・生物学的な知識を進歩させ、糖鎖科学の細胞生物学的・医療的側面と結びつけ、細胞の行動を合理的に操作するための新しい取り組みを推進することができるだろう。

(帝京大学薬学部 笠井 献一 訳)

(SAF2005-00631), Instituto Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias (RTICCC C03/10) (to AV); and the Mizutani Foundation for Glycoscience (to H-JG). This work was completed within the framework of an EC Marie Curie Research Training Network grant (contract no. MCRTN-CT-2005-19561).

References

- Laine, R. A. (1997) in *Glycosciences: Status and Perspectives* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp. 1–14, Chapman & Hall, London, Weinheim
- Rüdiger, H., Siebert, H.-C., Solís, D., Jiménez-Barbero, J., Romero, A., von der Lieth, C.-W., Díaz-Mauriño, T., and Gabius, H.-J. (2000) *Curr. Med. Chem.* **7**, 389–416
- Watkins, W. M. (1999) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **11**, 391–411
- Winterburn, P. J., and Phelps, C. F. (1972) *Nature* **236**, 147–151
- Caseltz, J. (1987) *Curr. Top. Pathol.* **77**, 245–278
- Damjanov, I. (1987) *Lab. Invest.* **57**, 5–20
- Gabius, H.-J., and Nagel, G. A. (eds) (1988) *Lectins and Glycoconjugates in Oncology*. Springer Verlag, Heidelberg
- Gabius, H.-J., and Gabius, S. (1990) *Naturwissenschaften* **77**, 505–514
- Gabius, H.-J., and Gabius, S. (eds) (1991) *Lectins and Cancer*. Springer Verlag, Heidelberg
- Gabius, H.-J., and Gabius, S. (1992) *Adv. Lectin Res.* **5**, 123–157
- Spicer, S. S., and Schulte, B. A. (1992) *J. Histochem. Cytochem.* **40**, 1–38
- Egea, G. (1993) in *Lectins and Glycobiology* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp.215–233, Springer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York
- Gabius, H.-J., Gabius, S., Zemlyanukhina, T. V., Bovin, N. V., Brinck, U., Danguy, A., Joshi, S. S., Kayser, K., Schottelius, J., Sinowatz, F., Tietze, L. F., Vidal-Vanaclocha, F., and Zanetta, J.-P. (1993) *Histol. Histopathol.* **8**, 369–383
- Sumar, N., Bodman, K. B., and Rudd, P. M. (1993) in *Lectins and Glycobiology* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp. 158–174, Springer Verlag, Heidelberg
- Cummings, R. D. (1997) in *Glycosciences: Status and Perspectives* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp. 191–199, Chapman & Hall, London, Weinheim
- Brinck, U., Korabiowska, M., Bosbach, R., and Gabius, H.-J. (1998) *Acta Anat.* **161**, 219–233
- Brockhausen, I., Schutzbach, J., and Kuhns, W. (1998) *Acta Anat.* **161**, 36–78
- Kobata, A. (1998) *Glycoconjugate J.* **15**, 323–331
- Reuter, G., and Gabius, H.-J. (1999) *Cell. Mol. Life Sci.* **55**, 368–422
- Gabius, H.-J. (2000) *Naturwissenschaften* **87**, 108–121
- Gabius, H.-J. (2001) *Anat. Histol. Embryol.* **30**, 3–31
- Holíková Z., Hrdliková-Cela, E., Plzák, J., Smetana, K. Jr., Betka, J., Dvoránková B., Esner, M., Wasano, K., André, S., Kaltner, H., Motlík, J., Hercogová J., Kodet, R., and Gabius, H.-J. (2002) *APMIS* **110**, 845–856
- Manning, J. C., Seyrek, K., Kaltner, H., André, S., Sinowatz, F., and Gabius, H.-J. (2004) *Histol. Histopathol.* **19**, 1043–1060
- Brockhausen, I., and Schachter, H. (1997) in *Glycosciences: Status and Perspectives* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp.79–113, Chapman & Hall, London, Weinheim
- Sharon, N., and Lis, H. (1997) in *Glycosciences: Status and Perspectives* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp.133–162, Chapman & Hall, London, Weinheim
- Furukawa, K., and Sato, T. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* **1473**, 54–66
- Gabius, H.-J., André, S., Kaltner, H., and Siebert, H.-C. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 165–177
- Hennet, T. (2002) *Cell. Mol. Life Sci.* **59**, 1081–1095
- Spiro, R. G. (2002) *Glycobiology* **12**, 43R–56R
- Furukawa, K., Tokuda, N., Okuda, T., Tajima, O., and Furukawa, K. (2004) *Sem. Cell Dev. Biol.* **15**, 389–396
- Haltiwanger, R. S., and Lowe, J. B. (2004) *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 491–537
- Hirabayashi, J. (2004) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **16**, 63–85
- Miyoshi, E., Noda, K., Yamaguchi, Y., Inoue, S., Ikeda, Y., Wang, W., Ko, J. H., Uozumi, N., Li, W., and Taniguchi, N. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* **1473**, 9–20
- Becker, D. J., and Lowe, J. B. (2003) *Glycobiology* **13**, 41R–53R
- Carver, J. P. (1993) *Pure & Appl. Chem.* **65**, 763–770
- Gabius, H.-J. (1998) *Pharmaceut. Res.* **15**, 23–30
- von der Lieth, C.-W., Siebert, H.-C., Kozár, T., Burchert, M., Frank, M., Gilleron, M., Kaltner, H., Kayser, G., Tajkhorshid, E., Bovin, N. V., Vliegthart, J. F. G., and Gabius, H.-J. (1998) *Acta Anat.* **161**, 91–109
- Imberty, A., and Pérez, S. (2000) *Chem. Rev.* **100**, 4567–4588
- Solís, D., Jiménez-Barbero, J., Kaltner, H., Romero, A., Siebert, H.-C., von der Lieth, C.-W., and Gabius, H.-J. (2001) *Cells Tissues Organs* **168**, 5–23
- Shimizu, H. (2003) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **15**, 221–233
- Siebert, H.-C., Jiménez-Barbero, J., André, S., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2003) *Methods Enzymol.* **362**, 417–434
- Gabius, H.-J., Siebert, H.-C., André, S., Jiménez-Barbero, J., and Rüdiger, H. (2004) *ChemBioChem* **5**, 740–764
- Hardy, B. J. (1997) *J. Mol. Struct.* **395–396**, 187–200

44. Siebert, H.-C., Gilleron, M., Kaltner, H., von der Lieth, C.-W., Kozár, T., Bovin, N. V., Korchagina, E. Y., Vliegthart, J. F. G., and Gabius, H.-J. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **219**, 205–212
45. Asensio, J. L., Espinosa, J. F., Dietrich, H., Cañada, F. J., Schmidt, R. R., Martín-Lomas, M., André, S., Gabius, H.-J., and Jiménez-Barbero, J. (1999) *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 8995–9000
46. Siebert, H.-C., André, S., Asensio, J. L., Cañada, F., Dong, X., Espinosa, J.-F., Frank, M., Gilleron, M., Kaltner, H., Kozar, T., Bovin, N. V., von der Lieth, C.-W., Vliegthart, J. F. G., Jiménez-Barbero, J., and Gabius, H.-J. (2000) *ChemBioChem* **1**, 181–195
47. Alonso-Plaza, J. M., Canales, M. A., Jimenez, M., Roldan, J. L., Garcia-Herrero, A., Iturrino, L., Asensio, J. L., Cañada, F. J., Romero, A., Siebert, H.-C., André, S., Solís, D., Gabius, H.-J., and Jiménez-Barbero, J. (2001) *Biochim. Biophys. Acta* **1568**, 225–236
48. Siebert, H.-C., André, S., Lu, S.-Y., Frank, M., Kaltner, H., van Kuik, J. A., Korchagina, E. Y., Bovin, N. V., Tajkhorshid, E., Kaptein, R., Vliegthart, J. F. G., von der Lieth, C.-W., Jiménez-Barbero, J., Kopitz, J., and Gabius, H.-J. (2003) *Biochemistry* **42**, 14762–14773
49. André, S., Unverzagt, C., Kojima, S., Dong, X., Fink, C., Kayser, K., and Gabius, H.-J. (1997) *Bioconjugate Chem.* **8**, 845–855
50. Unverzagt, C., Andre, S., Seifert, J., Kojima, S., Fink, C., Srikrishna, G., Freeze, H., Kayser, K., and Gabius, H.-J. (2002) *J. Med. Chem.* **45**, 478–491
51. André, S., Unverzagt, C., Kojima, S., Frank, M., Seifert, J., Fink, C., Kayser, K., von der Lieth, C.-W., and Gabius, H.-J. (2004) *Eur. J. Biochem.* **271**, 118–134
52. Lee, R. T., and Lee, Y. C. (1997) in *Glycosciences: Status and Perspectives* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp.55–77, Chapman & Hall, London, Weinheim
53. Lee, R. T., and Lee, Y. C. (2000) *Glycoconjugate J.* **17**, 543–551
54. Wu, A. M., Wu, J. H., Tsai, M. S., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2001) *Biochem. J.* **358**, 529–538
55. Wu, A. M., Wu, J. H., Tsai, M.-S., Liu, J.-H., André, S., Wasano, K., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2002) *Biochem. J.* **367**, 653–664
56. Wu, A. M., Wu, J. H., Liu, J.-H., Singh, T., André, S., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2004) *Biochimie* **86**, 317–326
57. Gabius, H.-J. (1988) *Angew. Chem. Int. Ed.* **27**, 1267–1276
58. Bovin, N. V., and Gabius, H.-J. (1995) *Chem. Soc. Rev.* **24**, 413–421
59. Danguy, A., Kayser, K., Bovin, N. V., and Gabius, H.-J. (1995) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **7**, 261–275
60. André, S., Cejas Ortega, P. J., Alaminio Perez, M., Roy, R., and Gabius H.-J. (1999) *Glycobiology* **9**, 1253–1261
61. André, S., Frisch, B., Kaltner, H., Desouza, D. L., Schuber, F., and Gabius, H.-J. (2000) *Pharmaceut. Res.* **17**, 985–990
62. Yamazaki, N., Kojima, S., Bovin, N. V., André, S., Gabius, S., and Gabius, H.-J. (2000) *Adv. Drug Deliv. Rev.* **43**, 225–244
63. Yamazaki, N., Jigami, Y., Gabius, H.-J., and Kojima, S. (2001) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **13**, 319–329
64. André, S., Pieters, R. J., Vrasidas, I., Kaltner, H., Kuwabara, I., Liu, F.-T., Liskamp, R. M. J., and Gabius, H.-J. (2001) *ChemBioChem* **2**, 822–830
65. André, S., Liu, B., Gabius, H.-J., and Roy, R. (2003) *Org. Biomol. Chem.* **1**, 3909–3916
66. André, S., Kaltner, H., Furuike, T., Nishimura, S.-I., and Gabius, H.-J. (2004) *Bioconjugate Chem.* **15**, 87–98
67. Roy, R. (2003) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **15**, 291–310
68. Pieters, R. J. (2004) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **16**, 243–254
69. Nowell, P. C. (1960) *Cancer Res.* **20**, 462–466
70. Sharon, N., and Lis, H. (1972) *Science* **177**, 949–959
71. Sharon, N., and Lis, H. (1989) *Science* **246**, 227–234
72. Borrebaeck, C. A. K., and Carlsson, R. (1989) *Adv. Lectin Res.* **2**, 1–27
73. Gabius, H.-J. (2001) *Biochimie* **83**, 659–666
74. Gabius, H.-J., Darro, F., Rimmelink, M., André, S., Kopitz, J., Danguy, A., Gabius, S., Salmon, I., and Kiss, R. (2001) *Cancer Invest.* **19**, 114–126
75. Rüdiger, H., and Gabius, H.-J. (2001) *Glycoconjugate J.* **18**, 589–613
76. Timoshenko, A. V., Lan, Y., Gabius, H.-J., and Lala, P. K. (2001) *Eur. J. Cancer* **37**, 1910–1920
77. Villalobo, A., Horcajadas, J. A., André, S., and Gabius, J.-H. (1997) in *Glycosciences: Status and Perspectives* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp.485–496, Chapman & Hall GmbH, Weinheim
78. Villalobo, A., and Gabius, H.-J. (1998) *Acta Anat.* **161**, 110–129
79. Hébert, E. (2000) *Biosci. Rep.* **20**, 213–237
80. Gabius, H.-J. (1987) *Cancer Investig.* **5**, 39–46
81. Gabius, H.-J. (1991) *Biochim. Biophys. Acta* **1071**, 1–18
82. Kasai, K., and Hirabayashi, J. (1996) *J. Biochem.* **119**, 1–8
83. Gabius, H.-J. (1997) *Eur. J. Biochem.* **243**, 543–576
84. Hirabayashi, J. (ed.) (1997) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **9**, 1–180
85. Crockett-Torabi, E. (1998) *J. Leukocyte Biol.* **63**, 1–14
86. Fukuda, M., Hiraoka, N., and Yeh, J.-C. (1999) *J. Cell Biol.* **147**, 467–470
87. Vestweber, D., and Blanks, J. E. (1999) *Physiol. Rev.* **79**, 181–213
88. Cooper, D. N. W. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 209–231
89. Hirabayashi, J., Hashidate, T., Arata, Y., Nishi, N., Nakamura, T., Hirashima, M., Urashima, T., Oka, T., Futai, M., Müller, W. E. G., Yagi, F., and Kasai, K.-i. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 232–254
90. Kannagi, R. (2002) *Curr. Opin. Struct. Biol.* **12**, 599–608
91. Rabinovich, G. A., Rubinstein, N., and Toscano, M. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 274–284
92. Sato, S. (2002) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **14**, 285–301
93. Sato, S., Ouellet, N., Pelletier, I., Simard, M., Rancourt, A., and Bergeron, M. G. (2002) *J. Immunol.* **168**, 1813–1822
94. Lahm, H., André, S., Hoefflich, A., Kaltner, H., Siebert, H.-C., Sordat, B., von der Lieth, C.-W., Wolf, E., and Gabius, H.-J. (2004) *Glycoconjugate J.* **20**, 227–238
95. Leffler, H., Carlsson, S., Hedlund, M., Qian, Y., and Poirier, F. (2004) *Glycoconjugate J.* **19**, 433–440
96. Rosen, S. D. (2004) *Annu. Rev. Immunol.* **22**, 129–156

97. Sporn, M. B., and Roberts, A. B. (1988) *Nature* **332**, 217–219
98. von Baeyer, H. C. (2003) *Information: the New Language of Science*. Weidenfeld & Nicolson, London, pp.258
99. He, L., André, S., Siebert, H.-C., Helmholz, H., Niemeyer, B., and Gabius, H.-J. (2003) *Biophys. J.* **85**, 511–524
100. Brewer, C. F. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 255–262
101. Dhanasekaran, N. (1998) *Oncogene* **17**, 1329–1330
102. Filipek, S., Stenkamp, R. E., Teller, D. C., and Palczewski, K. (2003) *Annu. Rev. Physiol.* **65**, 851–879
103. Dodelet, V. C. and Pasquale, E. B. (2000) *Oncogene* **19**, 5614–5619
104. Klein, R. (2001) *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 196–203
105. Villalobo, A., Ruano, M. J., Palomo-Jiménez, P. I., Li, H., and Martín-Nieto, J. (2000) in: *Calcium: The Molecular Basis of Calcium Action in Biology and Medicine* (Pochet, R., Donato, R., Haiech, J., Heizmann, C., and Gerke, V., eds.), pp.287–303, Kluwer Academic Publishers, Boston MA
106. Mayer, M. L., and Armstrong, N. (2004) *Annu. Rev. Physiol.* **66**, 161–181
107. Dumont, J. E., Pécasse, F., and Maenhaut, C. (2001) *Cell Signal.* **13**, 457–463
108. Cebo, C., Vergoten, G., and Zanetta, J.-P. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 422–434
109. Yamashita, K., and Fukushima, K. (2004) *Glycoconjugate J.* **21**, 31–34
110. Dahms, N. M., and Hancock, M. K. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 317–340
111. André, S., Kojima, S., Yamazaki, N., Fink, C., Kaltner, H., Kayser, K., and Gabius, H.-J. (1999) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **125**, 461–474
112. Jorissen, R. N., Walker, F., Pouliot, N., Garrett, T. P. J., Ward, C. W., and Burgess, A. W. (2003) *Exp. Cell Res.* **284**, 31–53
113. Lee, J. W., and Juliano, R. (2004) *Mol. Cells* **17**, 188–202
114. Wheelock, M. J., and Johnson, K. R. (2003) *Curr. Opin. Cell Biol.* **15**, 509–514
115. Nelson, W. J., and Nusse, R. (2004) *Science* **303**, 1483–1487
116. Evans, W. H., and Martin, P. E. M. (2002) *Mol. Membr. Biol.* **19**, 121–136
117. Moolenaar, W. H., van Meeteren, L. A., and Giepmans, B. N. G. (2004) *BioEssays* **26**, 870–881
118. Slack-Davis, J. K., and Parsons, J. T. (2004) *J. Cell. Biochem.* **91**, 41–46
119. Ross, G. D. (2002) *Immunol. Res.* **25**, 219–227
120. Hoffmeister, K. M., Josefsson, E. C., Isaac, N. A., Clausen, H., Hartwig, J. H., and Stossel, T. P. (2003) *Science* **301**, 1531–1534
121. Peyssonnaud, C., and Eychène, A. (2001) *Biol. Cell* **93**, 53–62
122. Foster, F. M., Traer, C. J., Abraham, S. M., and Fry, M. J. (2003) *J. Cell Sci.* **116**, 3037–3040
123. Hanada, M., Feng, J., and Hemmings, B. A. (2004) *Biochim. Biophys. Acta* **1697**, 3–16
124. Olsnes, S., Klingenberg, O., and Wiedlocha, A. (2002) *Physiol. Rev.* **83**, 163–182
125. Villalobo, A., García-Andrés, C., and Molina-Ortiz, P. (2003) *Rev. Oncol.* **5**, 381–389
126. Chang, L., and Karin, M. (2001) *Nature* **410**, 37–40
127. Ono K., and Han, J. (2000) *Cell Signal.* **12**, 1–13
128. Nebreda, A. R., and Porras A. (2000) *Trends Biochem. Sci.* **25**, 257–260
129. Chen, Y.-R., and Tan, T.-H. (2000) *Int. J. Oncol.* **16**, 651–662
130. English, J. M., Pearson, G., Baer, R., and Cobb, M. H. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 3854–3860
131. Matozaki, T., Nakanishi, H., and Takai, Y. (2000) *Cell. Signal.* **12**, 515–524
132. Schirmer, J., and Aktories, K. (2004) *Biochim. Biophys. Acta* **1673**, 66–74
133. Lipsick, J. S., Beyer, E. C., Barondes, S. H., and Kaplan, N. O. (1980) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **97**, 56–61
134. Pitts, M. J., and Yang, D. C. H. (1981) *Biochem. J.* **195**, 435–439
135. Levi, G., Tarrab-Hazdai, R., and Teichberg, V. I. (1983) *Eur. J. Immunol.* **13**, 500–507
136. Sanford, G. L., and Harris-Hooker, S. (1990) *FASEB J.* **4**, 2912–2918
137. Moiseeva, E. P., Javed, Q., Spring, E. L., and de Bono, D. P. (2000) *Cardiovasc. Res.* **45**, 493–502
138. Moiseeva, E. P., Williams, B., Goodall, A. H., and Samani, N. J. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **310**, 1010–1016
139. Maeda, N., Kawada, N., Seki, S., Arakawa, T., Ikeda, K., Iwao, H., Okuyama, H., Hirabayashi, J., Kasai, K., and Yoshizato, K. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 18938–18944
140. Ahmad, N., Gabius, H.-J., André, S., Kaltner, H., Sabesan, S., Liu, B., Macaluso, F., and Brewer, C. F. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 10841–10847
141. Inohara, H., Akahani, S., and Raz, A. (1998) *Exp. Cell Res.* **245**, 294–302
142. Sharma, U. C., Pokharel, S., van Brakel, T. J., van Berlo, J. H., Cleutjens, J. P. M., Schroen, B., André, S., Crijs, H. J. G. M., Gabius, H.-J., Maessen, J., and Pinto, Y. M. (2004) *Circulation* **110**, 3121–3128
143. Hadari, Y. R., Arbel-Goren, R., Levy, Y., Amsterdam, A., Alon, R., Zakut, R., and Zick, Y. (2000) *J. Cell Sci.* **113**, 2385–2397
144. Levy, Y., Ronen, D., Berchadsky, A. D., and Zick, Y. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 14533–14542
145. Rorive, S., Belot, N., Decaestecker, C., Lefranc, F., Gordower, L., Micik, S., Maurage, C.-A., Kaltner, H., Ruchoux, M.-M., Danguy, A., Gabius, H.-J., Salmon, I., Kiss, R., and Camby, I. (2001) *Glia* **33**, 241–255
146. Camby, I., Belot, N., Lefranc, F., Sadeghi, N., de Launoit, Y., Kaltner, H., Musette, S., Darro, F., Danguy, A., Salmon, I., Gabius, H.-J., and Kiss, R. (2002) *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **61**, 585–596
147. Gabius, H.-J., and Vehmeyer, K. (1988) *Biochem. Cell Biol.* **66**, 1169–1176
148. Gabius, H.-J., Gabius, S., Fritsche, M., and Brandner, G. (1991) *Naturwissenschaften* **78**, 230–232
149. Gaudin, J. C., Arar, C., Monsigny, M., and Legrand, A. (1997) *Glycobiology* **7**, 1089–1098
150. Dumic, J., Lauc, G., and Flögel, M. (2000) *Cell Physiol. Biochem.* **10**, 149–158
151. Kim, K., Mayer, E. P., and Nachtigal, M. (2003) *Biochim. Biophys. Acta* **1641**, 13–23
152. Kuklinski, S., Vladimirova, V., Waha, A., Kamata, H., Pesheva, P., and Probstmeier, R. (2003) *J. Neurochem.* **87**, 1112–1124
153. Egan, B. S., Abdolrasulnia, R., and Shepherd, V. L. (2004) *Arch. Biochem. Biophys.* **428**, 119–130
154. Geng, J.-G., Chen, M., and Chou, K.-C. (2004) *Curr. Med. Chem.* **11**, 2153–2160
155. Katsuyama, R., Morioka, A., Oka, S., and Kawasaki, T. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **280**, 1269–1273
156. Liu, F.-T., Patterson, R. J., and Wang, J. L. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1572**, 263–273

157. André, S., Arnusch, C. J., Kuwabara, I., Russwurm, R., Kaltner, H., Gabius, H.-J., and Pieters, R. J. (2005) *Bioorg. Med. Chem.* **13**, 563–573
158. Arnusch, C. J., André, S., Valentini, P., Lensch, M., Russwurm, R., Siebert, H.-C., Fischer, M. J. E., Gabius, H.-J., and Pieters, R. J. (2004) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 1437–1440
159. Liu, F.-T. (2004) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **16**, 255–264
160. Gabius, H.-J., Brehler, R., Schauer, A., and Cramer, F. (1986) *Virch. Arch. [Cell. Pathol.]* **52**, 107–115
161. Gabius, H.-J., Wosgien, B., Hendry, M., and Bardosi, A. (1991) *Histochemistry* **95**, 269–277
162. Gabius, H.-J., Wosgien, B., Brinck, U., and Schauer, A. (1991) *Pathol. Res. Pract.* **187**, 839–847
163. Kayser, K., and Gabius, H.-J. (1997) *Progr. Histochem. Cytochem.* **32**, 1–106
164. Schwarz, G., Rimmelink, M., Decaestecker, C., Gielen, I., Budel, V., Burchert, M., Darro, F., Danguy, A., Gabius, H.-J., Salmon, I., and Kiss, R. (1999) *Am. J. Clin. Pathol.* **111**, 623–631
165. Kayser, K., Zink, S., André, S., Schüring, M.-P., Hecker, E., Klar, E., Bovin, N. V., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2002) *APMIS* **110**, 435–446
166. Pukrábková, T., Smetana, K. Jr., Dvoránková, B., Holíková, Z., Böck, C., Lensch, M., André, S., Pytlík, R., Liu, F.-T., Klíma, J., Smetana, K., Motlík, J., and Gabius, H.-J. (2003) *Biol. Cell* **95**, 535–545
167. Chouvanec, M., Smetana, K. Jr., Dvoránková, B., Plzáková, Z., André, S., and Gabius, H.-J. (2004) *Anat. Histol. Embryol.* **33**, 348–354
168. Plzák, J., Betka, J., Smetana, K. Jr., Chouvanec, M., Kaltner, H., André, S., Kodet, R., and Gabius, H.-J. (2004) *Eur. J. Cancer* **40**, 2324–2330
169. Liu, L., Sakai, T., Sano, N., and Fukui, K. (2004) *Biochem. J.* **380**, 31–41
170. Paces-Fessy, M., Boucher, D., Petit, E., Paute-Briand, S., and Blanchet-Tournier, M.-F. (2004) *Biochem. J.* **378**, 353–362
171. Shimura, T., Takenaka, Y., Tsutsumi, S., Hogan, V., Kikuchi, A., and Raz, A. (2004) *Cancer Res.* **64**, 6363–6367
172. Yamaoka, K., Ohno, S., Kawasaki, H., and Suzuki, K. (1993) in *Lectins and Glycobiology* (Gabius, H.-J., and Gabius, S., eds.), pp. 492–499, Springer Publ. Co., Heidelberg
173. Paz, A., Haklai, R., Elad-Sfadia, G., Ballan, E., and Kloog, Y. (2001) *Oncogene* **20**, 7486–7493
174. Prior, I. A., Muncke, C., Parton, R. G., and Hancock, J. F. (2003) *J. Cell Biol.* **160**, 165–170
175. Elad-Sfadia, G., Haklai, R., Ballan, E., Gabius, H.-J., and Kloog, Y. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 37169–37175
176. Rotblat, B., Niv, H., André, S., Kaltner, H., Gabius, H.-J., and Kloog, Y. (2004) *Cancer Res.* **64**, 3112–3118
177. Elad-Sfadia, G., Haklai, R., Balan, E., and Kloog, Y. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 34922–34930
178. Polyak, K., Xia, Y., Zweier, J. L., Kinzler, K. W., and Vogelstein, B. (1997) *Nature* **389**, 300–305
179. Kopitz, J., André, S., von Reitzenstein, C., Versluis, K., Kaltner, H., Pieters, R. J., Wasano, K., Kuwabara, I., Liu, F.-T., Cantz, M., Heck, A. J. R., and Gabius, H.-J. (2003) *Oncogene* **22**, 6277–6288
180. Kuwabara, I., Kuwabara, Y., Yang, R.-Y., Schuler, M., Green, D. R., Zuraw, B. L., Hsu, D. K., and Liu, F.-T. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 3487–3497
181. Brenner, B., Weinmann, S., Grassm H., Lang, F., Linderkamp, O., and Gulbins, E. (1997) *Immunology* **92**, 214–219
182. Mishra-Gorur, K., Delmolino, L. M., and Castellot, J. J. Jr. (1998) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **10**, 193–210
183. Smolen, J. E., Petersen, T. K., Koch, C., O'Keefe, S. J., Hanlon, W. A., Seo, S., Pearson, D., Fossett, M. C., and Simon, S. I. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 15876–15884
184. Toole, B. P. (2002) *Glycobiology* **12**, 37R–42R
185. Turley, E. A., Noble, P. W., and Bourguignon, L. Y. W. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 4589–4592
186. Bracken, A. P., Ciro, M., Cocito, A., and Helin, K. (2004) *Trends Biochem. Sci.* **29**, 409–417
187. Ortega, S., Malumbres, M., and Barbacid, M. (2002) *Biochim. Biophys. Acta* **1602**, 73–87
188. Semczuk, A., and Jakowicki, J. A. (2004) *Cancer Lett.* **203**, 1–12
189. Classon, M., and Harlow, E. (2002) *Nature Rev. Cancer* **2**, 910–917
190. Denicourt, C., and Dowdy, S. F. (2004) *Genes Develop.* **18**, 851–855
191. Plath, T., Detjen, K., Welzel, M., von Marschall, Z., Murphy, D., Schirner, M., Wiedenmann, B., and Rosewicz, S. (2000) *J. Cell Biol.* **150**, 1467–1477
192. Fischer, C., Sanchez Ruderisch, H., Welzel, M., Wiedenmann, B., Sakai, T., André, S., Gabius, H.-J., Detjen, K., and Rosewicz, S. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 37266–37277
193. Dettmann, W., Grandbois, M., André, S., Benoit, M., Wehle, A. K., Kaltner, H., Gabius, H.-J., and Gaub, H. E. (2000) *Arch. Biochem. Biophys.* **383**, 157–170
194. Yang, R. Y., Hsu, D. K., and Liu, F. T. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 6737–6742
195. Kim, H.-R. C., Lin, H.-M., Biliran, H., and Raz, A. (1999) *Cancer Res.* **59**, 4148–4154
196. Lin, H.-M., Moon, B.-K., Yu, F., and Kim, H.-R. C. (2000) *Carcinogenesis* **21**, 1941–1945
197. Yamazaki, K., Kawai, A., Kawaguchi, M., Hibino, Y., Li, F., Sasahara, M., Tsukuda, K., and Hiraga, K. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **280**, 1077–1084
198. Yoshii, T., Fukumori, T., Honjo, Y., Inohara, H., Kim, H.-R. C., and Raz, A. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 6852–6857
199. Lin, H.-M., Pestell, R. G., Raz, A., and Kim, H.-R. C. (2002) *Oncogene* **21**, 8001–8010
200. Besson, A., Gurian-West, M., Schmidt, A., Hall, A., and Roberts, J. M. (2004) *Genes Develop.* **18**, 862–876
201. Datta, S. R., Brunet, A., and Greenberg, M. E. (1999) *Genes Develop.* **13**, 2905–2927
202. Cantrell, D. A. (2001) *J. Cell Sci.* **114**, 1439–1445
203. Cantley, L. C. (2002) *Science* **296**, 1655–1657
204. Storz, P. and Toker, A. (2002) *Front. Biosci.* **7**, 886–902
205. Wymann, M. P., Zvelebil, M., and Lafargue, M. (2003) *Trends Pharmacol. Sci.* **24**, 366–376
206. Toker, A., and Newton, A. C. (2000) *Cell* **103**, 185–188
207. Lee, Y. J., Song, Y. K., Song, J. J., Siervo-Sassi, R. R., Kim, H.-R. C., Li, L., Spitz, D. R., Lokshin, A., and Kim, J. H. (2003) *Exp. Cell Res.* **288**, 21–34
208. Gabius, H.-J., Engelhardt, R., Rehm, S., and Cramer, F. (1984) *J. Natl. Cancer Inst.* **73**, 1349–1357

209. Gabius, H.-J., Engelhardt, R., Cramer, F., Bätge, R., and Nagel, G. A. (1985) *Cancer Res.* **45**, 253–257
210. Gabius, H.-J. (1997) *Cancer Investig.* **15**, 454–464
211. Kayser, K., Zink, S., Schneider, T., Dienemann, H., André, S., Kaltner, H., Schüring, M.-P., Zick, Y., and Gabius, H.-J. (2000) *Virchows Arch.* **437**, 284–292
212. Lahm, H., André, S., Höflich, A., Fischer, J. R., Sordat, B., Kaltner, H., Wolf, E., and Gabius, H.-J. (2001) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **127**, 375–386
213. Sheikholeslam-Zadeh, R., Decaestecker, C., Delbrouck, C., Danguy, A., Salmon, I., Zick, Y., Kaltner, H., Hassid, S., Gabius, H.-J., Kiss, R., and Choufani, G. (2001) *Laryngoscope* **111**, 1042–1047
214. Nagy, N., Bronckart, Y., Camby, I., Legendre, H., Lahm, H., Kaltner, H., Hadari, Y., Van Ham, P., Yeaton, P., Pector, J. C., Zick, Y., Salmon, I., Danguy, A., Kiss, R., and Gabius, H.-J. (2002) *Gut* **50**, 392–401
215. Nagy, N., Legendre, H., Engels, O., André, S., Kaltner, H., Wasano, K., Zick, Y., Pector, J.-C., Decaestecker, C., Gabius, H.-J., Salmon, I., and Kiss, R. (2003) *Cancer* **97**, 1849–1858
216. Wollina, U., Graefe, T., Feldrappe, S., André, S., Wasano, K., Kaltner, H., Zick, Y., and Gabius, H.-J. (2002) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **128**, 103–110
217. Kayser, K., Höft, D., Hufnagl, P., Caselitz, J., Zick, Y., André, S., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2003) *Histol. Histopathol.* **18**, 771–779
218. Kayser, K., Nwoye, J. O., Kosjerina, S., Goldmann, T., Vollmer, E., Kaltner, H., André, S., and Gabius, H.-J. (2003) *Lung Cancer* **42**, 171–182
219. André, S., Kaltner, H., Lensch, M., Russwurm, R., Siebert, H.-C., Fallsehr, C., Tajkhorshid, E., Heck, A. J. R., von Knebel-Döberitz, M., Gabius, H.-J., and Kopitz, J. (2005) *Int. J. Cancer* **114**, 46–57
220. Legendre, H., Decaestecker, C., Gbenou, M. G., Nagy, N., Hendlisz, A., André, S., Pector, J.-C., Kiss, R., and Gabius, H.-J. (2004) *Int. J. Oncol.* **25**, 269–276
221. Kopitz, J., Russwurm, R., Kaltner, H., André, S., Dotti, C. G., Gabius, H.-J., and Abad-Rodríguez, J. (2004) *Mol. Brain Res.* **153**, 1043–1060
222. Agarwal, M. L., Taylor, W. R., Chernov, M. V., Chernova, O. B., and Stark, G. R. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 1–4
223. Vousden, K. H. (2000) *Cell* **103**, 691–694
224. Fridman, J. S., and Lowe, S. W. (2003) *Oncogene* **22**, 9030–9040
225. Vargas, D. A., Takahashi, S., and Ronai, Z. (2003) *Adv. Cancer Res.* **89**, 1–34
226. Bernerd, F., Sarasin, A., and Magnaldo, T. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 11329–11334
227. Kopitz, J., von Reitzenstein, C., Burchert, M., Cantz, M., and Gabius, H.-J. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 11205–11211
228. Raimond, J., Rouleux, F., Monsigny, M., and Legrand, A. (1995) *FEBS Lett.* **363**, 165–169
229. Guittaut, M., Charpentier, S., Normand, T., Dubois, M., Raimond, R., and Legrand, A. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 2652–2657
230. Duneau, M., Boyer-Guittaut, M., Gonzalez, P., Charpentier, S., Normand, T., Dubois, M., Raimond, J., and Legrand, A. (2005) *Exp. Cell Res.* **302**, 194–205
231. Vermeulen, K., Berneman, Z. N., and van Bockstaele, D. R. (2003) *Cell Prolif.* **36**, 165–175
232. Frisch, S. M., and Screaton, R. A. (2001) *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 555–562
233. Leist, M., and Jäättelä, M. (2001) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **2**, 589–598
234. Orrenius, S., Zhivotovsky, B., and Nicotera, P. (2003) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **4**, 552–565
235. Guimaraes, C. A., and Linden, R. (2004) *Eur. J. Biochem.* **271**, 1638–1650
236. Ashkenazi, A., and Dixit, V. M. (1998) *Science* **281**, 1305–1308
237. Goodwin, R. G., and Smith, C. A. (1998) *Apoptosis* **3**, 83–88
238. Nagata, S. (1999) *Annu. Rev. Genet.* **33**, 29–55
239. Green, D. R., and Reed, J. C. (1998) *Science* **281**, 1309–1312
240. Mignotte, B., and Vayssiere, J.-L. (1998) *Eur. J. Biochem.* **252**, 1–15
241. Lassus, P., Opitz-Araya, X., and Lazebnik, Y. (2002) *Science* **297**, 1352–1354
242. Robertson, J. D., Enoksson, M., Suomela, M., Zhivotovsky, B., and Orrenius, S. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 29803–29809
243. Trapani, J. A., and Smyth, M. J. (2002) *Nature Rev. Immunol.* **2**, 735–747
244. Zörnig, M., Hueber, A.-O., Baum, W., and Evan, G. (2001) *Biochim. Biophys. Acta* **1551**, F1–F37
245. Igney, F. H., and Krammer, P. H. (2002) *Nature Rev. Cancer* **2**, 277–288
246. Johnstone, R. W., Ruefli, A. A., and Lowe, S. W. (2002) *Cell* **108**, 153–164
247. Thornberry, N. A., and Lazebnik, Y. (1998) *Science* **281**, 1312–1316
248. Wolf, B. B., and Green, D. R. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 20049–20052
249. Kam, C.-M., Hudig, D., and Powers, J. C. (2000) *Biochim. Biophys. Acta* **1477**, 307–323
250. Trapani, J. A. (2001) *Genome Biol.* **2**, 3014.1–3014.7
251. Witting, A., Müller, P., Herrmann, A., Kettenmann, H., and Nolte, C. (2000) *J. Neurochem.* **75**, 1060–1070
252. Schagat, T. L., Wofford, J. A., and Wright, J. R. (2001) *J. Immunol.* **166**, 2727–2733
253. Nauta, A. J., Raaschou-Jensen, N., Roos, A., Daha, M. R., Madsen, H. O., Borrias-Essers, M. C., Ryder, L. P., Koch, C., and Garred, P. (2003) *Eur. J. Immunol.* **33**, 2853–2863
254. Saevarsdottir, S., Vikinsdottir, T., and Valdimarsson, H. (2004) *Scand. J. Immunol.* **60**, 23–29
255. Palaniyar, N., Nedesalingam, J., Clark, H., Shih, M. J., Dodds, A. W., and Reid, K. B. M. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 32728–32736
256. Offner, H., Celnik, B., Bringman, T. S., Casentini-Borocz, D., Nedwin, G. E., and Vandenbark, A. A. (1990) *J. Neuroimmunol.* **28**, 177–184
257. Gabius, S., Hellmann, K. P., Ciesiolka, T., Nagel, G. A., and Gabius, H.-J. (1989) *Blut* **59**, 165–170
258. Goldstone, S. D., and Lavin, M. F. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **178**, 746–750
259. Perillo, N. L., Pace, K. E., Seilhamer, J. J., and Baum, L. G. (1995) *Nature* **378**, 736–739
260. Schneller, M., André, S., Cihak, J., Kaltner, H., Merkle, H., Rademaker, G. J., Haverkamp, J., Thomas-Oates, J., Löscher, U., and Gabius, H.-J. (1995) *Cell. Immunol.* **166**, 35–43

261. Rabinovich, G. A., Modesti, N. M., Castagna, L. F., Landa, C. A., Riera, C. M., and Sotomayor, C. E. (1997) *J. Biochem.* **122**, 365–373
262. Rappl, G., Abken, H., Muehe, J. M., Sterry, W., Tilgen, W., André, S., Kaltner, H., Ugurel, S., Gabius, H.-J., and Reinhold, U. (2002) *Leukemia* **16**, 840–845
263. Lantéri, M., Giordanengo, V., Hiraoka, N., Fuzibet, J.-G., Auberger, P., Fukuda, M., Baum, L. G., and Lefebvre, J.-C. (2003) *Glycobiology* **13**, 909–918
264. Pace, K. E., Lee, C., Stewart, P. L., and Baum, L. G. (1999) *J. Immunol.* **163**, 3801–3811
265. 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
266. López-Lucendo, M. F., Solís, D., André, S., Hirabayashi, J., Kasai, K.-i., Kaltner, H., Gabius, H.-J., and Romero, A. (2004) *J. Mol. Biol.* **343**, 957–970
267. Siebert, H.-C., Adar, R., Arango, R., Burchert, M., Kaltner, H., Kayser, G., Tajkhorshid, E., von der Lieth, C.-W., Kaptein, R., Sharon, N., Vliegthart, J. F. G., and Gabius, H.-J. (1997) *Eur. J. Biochem.* **249**, 27–38
268. Rabinovich, G. A., Alonso, C. R., Sotomayor, C. E., Durand, S., Bocco, J. L., and Riera, C. M. (2000) *Cell Death Differ.* **7**, 747–753
269. Dias-Baruffi, M., Zhu, H., Cho, M., Karmakar, S., McEver, R. P., and Cummings, R. D. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 41282–41293
270. Santucci, L., Fiorucci, S., Rubinstein, N., Mencarelli, A., Palazzetti, B., Federici, B., Rabinovich, G. A., and Morelli, A. (2003) *Gastroenterology* **124**, 1381–1394
271. Sturm, A., Lensch, M., André, S., Kaltner, H., Wiedenmann, B., Rosewicz, S., Dignass, A. U., and Gabius, H.-J. (2004) *J. Immunol.* **173**, 3825–3837
272. Kashio, Y., Nakamura, K., Abedin, M. J., Seki, M., Nishi, N., Yoshida, N., Nakamura, T., and Hirashima, M. (2003) *J. Immunol.* **170**, 3631–3636
273. Timoshenko, A. V., Gorudko, I. V., Maslakova, O. V., André, S., Kuwabara, I., Liu, F.-T., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2003) *Mol. Cell. Biochem.* **350**, 139–149
274. Fukumori, T., Takenaka, Y., Yoshii, T., Kim, H.-R. C., Hogan, V., Inohara, H., Kagawa, S., and Raz, A. (2003) *Cancer Res.* **63**, 8302–8311
275. Morris, S., Ahmad, N., André, S., Kaltner, H., Gabius, H.-J., Brenowitz, M., and Brewer, C. F. (2004) *Glycobiology* **14**, 293–300
276. Kopitz, J., von Reitzenstein, C., André, S., Kaltner, H., Uhl, J., Ehemann, V., Cantz, M., and Gabius, H.-J. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 35917–35923
277. Moon, B. K., Lee, Y. J., Battle, P., Jessup, J. M., Raz, A., and Kim, H. R. (2001) *Am. J. Pathol.* **159**, 1055–1060
278. Estrada, C., Gómez, C., Martín-Nieto, J., de Frutos, T., Jiménez, A., and Villalobo, A. (1997) *Biochem. J.* **326**, 369–376
279. Murillo-Carretero, M., Ruano, M. J., Rodríguez-Matarredona, E., Villalobo, A., and Estrada, C. (2002) *J. Neurochem.* **83**, 119–131
280. Ruano, M. J., Hernández-Hernando, S., Jiménez, A., Estrada, C., and Villalobo, A. (2003) *Eur. J. Biochem.* **270**, 1828–1837
281. Matarrese, P., Fusco, O., Tinari, N., Natoli, C., Liu, F. T., Semeraro, M. L., Malorni, W., and Iacobelli, S. (2000) *Int. J. Cancer* **85**, 545–554
282. Ahmad, N., Gabius, H.-J., Kaltner, H., André, S., Kuwabara, I., Liu, F.-T., Oscarson, S., Norberg, T., and Brewer, C. F. (2002) *Can. J. Chem.* **80**, 1096–1104
283. Kaltner, H., and Stierstorfer, B. (1998) *Acta Anat.* **161**, 162–179
284. Simanek, E. E., McGarvey, G. J., Jablonowski, J. A., and Wong, C.-H. (1998) *Chem. Rev.* **98**, 833–862
285. Timoshenko, A. V., Gorudko, I. V., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (1999) *Mol. Cell. Biochem.* **197**, 137–145
286. Timoshenko, A. V., Gorudko, I. V., Cherenkevich, S. N., and Gabius, H.-J. (1999) *FEBS Lett.* **449**, 75–78
287. Gowans, J. L., and Knight, E. J. (1964) *Proc. R. Soc. London Series B* **159**, 257–282
288. Lawrence, M. B. (1999) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**, 659–664
289. Zak, I., Lewandowska, E., and Gnyp, W. (2000) *Acta Biochim. Pol.* **47**, 393–412
290. Lowe, J. B. (2002) *Immunol. Rev.* **186**, 19–36
291. Lowe, J. B. (2003) *Curr. Opin. Cell Biol.* **15**, 531–538
292. Ley, K. (2003) *Trends Mol. Med.* **9**, 263–268
293. Varki, A. (1997) *J. Clin. Invest.* **99**, 158–162
294. Ley, K., and Kansas, G. S. (2004) *Nature Rev. Immunol.* **4**, 1–11
295. Fukuda, M., Hiraoka, N., Akama, T. O., and Fukuda, M. N. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 47747–47750
296. Negishi, M., Pedersen, L. G., Petrotchenko, E., Shevtsov, S., Gorokhov, A., Kakuta, Y., and Pedersen, L. C. (2001) *Arch. Biochem. Biophys.* **390**, 149–157
297. Grunwell, J. R., and Bertozzi, C. R. (2002) *Biochemistry* **41**, 13117–13126
298. Muramatsu, T. (2000) *J. Biochem.* **127**, 171–176
299. Furukawa, K., Takamiya, K., Okada, M., Inoue, M., and Fukumoto, S. (2001) *Biochim. Biophys. Acta* **1525**, 1–12
300. Wild, M. K., Lühn, K., Marquardt, T., and Vestweber, D. (2002) *Cells Tissues Organs* **172**, 161–173
301. Lowe, J. J., and Marth, J. D. (2003) *Annu. Rev. Biochem.* **72**, 643–691
302. Hittelet, A., Camby, I., Nagy, N., Legendre, H., Bronckart, Y., Decaestecker, C., Kaltner, H., Nifant'ev, N. E., Bovin, N. V., Pector, J.-C., Salmon, I., Gabius, H.-J., Kiss, R., and Yeaton, P. (2003) *Lab. Invest.* **83**, 777–787
303. Genbacev, O. D., Ppakoophol, A., Foulk, R. A., Krtolica, A. R., Ilic, D., Singer, M. S., Yang, Z.-Q., Kiessling, L. L., Rosen, S. D., and Fisher, S. J. (2003) *Science* **299**, 405–408
304. Borsig, L., Wong, R., Hynes, R. O., Varki, N. M., and Varki, A. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 2193–2198
305. Laferriere, J., Houle, F., and Huot, J. (2002) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **973**, 562–572
306. Varki, A. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 7390–7397
307. Somers, W. S., Tang, J., Shaw, G. D., and Camphausen, R. T. (2000) *Cell* **103**, 467–479
308. André, P. (2004) *Br. J. Haematol.* **126**, 298–306
309. Honke, K., and Taniguchi, N. (2002) *Med. Res. Rev.* **22**, 637–654
310. Brockhausen, I. (2003) *Biochem. Soc. Transact.* **31**, 318–325
311. Kownatzki, E., and Uhrich, S. (1991) *Agents Actions* **32**, 41–45
312. Waddell, T. K., Fialkow, L., Chan, C. K., Kishimoto, T. K., and Downey, G. P. (1995) *J. Biol. Chem.* **270**, 15403–15411

313. Chin, D., and Means, A. R. (2000) *Trends Cell Biol.* **10**, 322–328
314. Kahn, J., Walcheck, B., Migaki, G. I., Jutila, M. A., and Kishimoto, T. K. (1998) *Cell* **92**, 809–818
315. San José, E., Benguría, A., Geller, P., and Villalobo, A. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 15237–15245
316. Martín-Nieto, J., and Villalobo, A. (1998) *Biochemistry* **37**, 227–236
317. Li, H., and Villalobo, A. (2002) *Biochem. J.* **362**, 499–505
318. Li, H., Ruano, M. J., and Villalobo, A. (2004) *FEBS Lett.* **559**, 175–180
319. Li, H., Sánchez-Torres, J., del Carpio, A., Salas, V., and Villalobo, A. (2004) *Biochem. J.* **381**, 257–266
320. Benguría, A., Hernández-Perera, O., Martínez-Pastor, M. T., Sacks, D. B., and Villalobo, A. (1994) *Eur. J. Biochem.* **224**, 909–916
321. Benaim, G., and Villalobo, A. (2002) *Eur. J. Biochem.* **269**, 3619–3631
322. Brenner, B., Gulbins, E., Schlottmann, K., Koppenhoefer, U., Busch, G. L., Walzog, B., Steinhausen, M., Coggeshall, K. M., Linderkamp, O., and Lang, F. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 15376–15381
323. Sitrin, R. G., Pan, P. M., Blackwood, R. A., Huang, J., and Petty, H. R. (2001) *J. Immunol.* **166**, 4822–4825
324. Lorenzon, P., Vecile, E., Nardon, E., Ferrero, E., Harlan, J. M., Tedesco, F., and Dobrina, A. (1998) *J. Cell Biol.* **142**, 1381–1391
325. Hu, Y., Kiely, J.-M., Szente, B. E., Rosenzweig, A., and Gimbrone, M. A. Jr. (2000) *J. Immunol.* **165**, 2142–2148
326. Hu, Y., Szente, B., Kiely, J.-M., and Gimbrone, M. A. Jr. (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 48549–48553
327. Haller, H., Kunzendorf, U., Sacherer, K., Lindschau, C., Walz, G., Distler, A., and Luft, F. C. (1997) *J. Immunol.* **158**, 1061–1067
328. Wang, Y., and Gilmore, T. D. (2003) *Biochim. Biophys. Acta* **1593**, 115–120
329. Swarte, V. V., Mebius, R. E., Joziase, D. H., van den Eijnden, D. H., and Kraal, G. (1998) *Eur. J. Immunol.* **28**, 2864–2871
330. Kaila, N., and Thomas, B. E. IV (2002) *Med. Res. Rev.* **22**, 566–601
331. Chhabra, S. R., Rahim, A. S., and Kellam, B. (2003) *Mini Rev. Med. Chem.* **3**, 679–687
332. Gallagher, J. T. (1998) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **10**, 137–144
333. Siebert, H.-C., Lu, S. Y., Frank, M., Kramer, J., Wechselberger, R., Joosten, J., André, S., Rittenhouse-Olson, K., Roy, R., von der Lieth, C.-W., Kaptein, R., Vliegenthart, J. F. G., Heck, A. J. R., and Gabius, H.-J. (2002) *Biochemistry* **41**, 9707–9717
334. Siebert, H.-C., Born, K., André, S., Frank, M., Kaltner, H., von der Lieth, C.-W., Heck, A. J. R., Jiménez-Barbero, J., Kopitz, J., and Gabius, H.-J. (2006) *Chem. Eur. J.* **12**, 388–402

Received on December 22, 2004, accepted on February 1, 2005

Profile of the Authors



Antonio Villalobo was born in Seville (1948) and studied Medicine at the University of Seville where he got a M.D. degree in 1974, and his Ph.D. in 1976. Thereafter, he was Postdoctoral Fellow in Physiological Chemistry at The Johns Hopkins University School of Medicine in Baltimore MD, USA (1977-1979), Postdoctoral Fellow and Research Associate at the Laboratory of Enzymology University of Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium (1979-1982) and Research Associate and Research Scientist at the Faculty of Pharmaceutical Sciences The University of British Columbia, Vancouver BC, Canada (1982-1988). He returned to Madrid in 1988 at the Institute for Biomedical Research (Spanish National Research Council and Autonomous University of Madrid) as a tenure Staff Researcher, where he established his own laboratory. In 1989 he was promoted to Research Scientist and in 2006 to Research Professor. He continuous working in the same Institute as a head of a small group of enthusiastic postdoctoral fellows and graduate students. He is also Honorary Professor of Biochemistry at the Autonomous University of Madrid since 1992 and spent a sabbatical year (1995) at the Brigham & Women's Hospital Harvard Medical School, Boston MA, USA. His present research interests include the study of signaling processes in normal and tumor cells, with special emphasis in the action of calmodulin on ErbB receptors and associated downstream signaling proteins controlling cell proliferation and cell migration, metastasis formation and tumor-associated angiogenesis. Additional interests are the action of nitric oxide on cell proliferation, intercellular communication mediated by gap junction channels, and in collaboration with Prof. H.-J. Gabius the role of lectins in cell signaling. As an amateur, he also has an interest in Cosmology, Astronomy and Exobiology.

★★★★★★★★



Aitor Nogales-González was born in Madrid (1981). He graduated in Biochemistry from the Autonomous University of Madrid in 2004, and spent a year in the laboratory of Prof. A. Villalobo at the Institute for Biomedical Research (Spanish National Research Council and Autonomous University of Madrid) as a Trainee Student working on a joint project with Prof. H.-J. Gabius on the role of galectins in cell proliferation. In January 2005 he moved to the National Center of Biotechnology (Spanish National Research Council) as a Graduate Student working for his Ph.D. on coronavirus replication under the supervision of Dr. L. Enjuanes to pursue a career in Virology.

His hobbies are reading literature and sports.

★★★★★★★★



Hans-Joachim Gabius was born in Bad Bevensen, Germany. He obtained his M.Sc. in 1980 and his Ph.D. in 1982 for chemical and biochemical studies on the proofreading mechanisms of aminoacyl-tRNA synthetases, under the direction of F. Cramer, Max-Planck-Institute for Experimental Medicine in Goettingen. 1981 was mostly spent in the laboratory of J. Abelson (Department of Chemistry) of the UC San Diego, investigating tRNA splicing. After starting work in tumor lectinology in 1983 at the Max-Planck-Institute in Goettingen, post-doctoral research in the group of S. H.

Barondes at UC San Diego (1984-1985) and appointments as assistant professor for biochemistry at the Max-Planck-Institute for Experimental Medicine in Goettingen (1987), as associate professor for pharmaceutical chemistry at the University of Marburg (1991) and as head of the Institute for Physiological Chemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Munich (1993) followed. Research awards include the Otto-Hahn-Medal (1983), the Award of the Dr.C.-Duisberg-Foundation (1988) and the award of the Paul-Martini-Foundation (1990). His research interests comprise chemical, biophysical and biochemical analysis of protein-carbohydrate interactions with relevance to biological and medical fields, such as the development of glycoscientific strategies for tumor diagnosis and therapy and the elucidation of functions of mammalian lectins. His research led to prominent placement in the ranking by number of hot papers by the Institute of Scientific Information in 1998 (http://www.the-scientist.library.upenn.edu/yr1999/june/hotresearch_p1_990621.html). He has served as Overseas Associate Editor for TIGG since 2000. (The photo was taken together with the translator K. Kasai)