

랫트 뇌에서의 galectin-3의 검출

이유경¹ · 강해은 · 우희중*

서울대학교 수의과대학 면역학교실

¹식품의약품 안전청

(게재승인: 2004년 2월 7일)

Expression of galectin-3 in rat brain

Yoo-Kyoung Lee¹, Hae Eun Kang, and Hee Jong Woo*

Laboratory of Immunology, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

¹Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Accepted: February 7, 2004)

Abstract : Galectin family, endogenous β -galactoside-binding animal lectins, is known for the role in cell differentiation, morphogenesis, apoptosis and tumorigenesis. Galectin-3, one of family member, has been studied for its role in cell differentiation and tumor metastasis, and for its expression on epithelial cells of colon and mast cells but not in brain. Several reports, however, suggest its expression in brain including as a prion binding protein. In this report we explored possibility of galectin-3 expression in brain tissue. With Western blot and RT-PCR with rat brain tissues, we could detect galectin-3 that was not shown by conventional immunohistochemistry. Our results indicated galectin-3 was expressed in brain, and substantiate the previous report on galectin-3 as a prion-related protein in brain.

Key words : galectin-3, brain, prion binding protein, RT-PCR

서 론

Galectin family는 생체 내의 β -galactoside-binding lectin 들로서 세포의 성장, 부착, 이동 등에 관여하는 것으로 알려져 있다. 최근까지는 최소한 14종류의 galectin이 발견되었고, 이들 중 3개의 galectin, 즉 galectin-1, 3, 4에 대해서는 특히 많은 연구가 진행되고 있다 [1-4, 15].

Thioglycollate로 활성화된 macrophage에서 처음 발견된 galectin-3는 [10] 여러 장기에 분포하는 분자량 26-35 kDa의 monomer로서 세포간 그리고 세포/기질간 작용과 정상 조직의 중앙화와 중앙의 전이 등 생체내 여러 기전에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 특히 laminin에 특이적으로 결합하는 것으로 알려져 있다 [17, 29, 30]. Galectin-3 단백질은 진화상 잘 보존되어 있으며 종간 유사성이 인정되어 mouse, rat, 그리고 human에서 보고된 galectin-3 단백질과 최근에 발견된 hamster의 galectin-3 단백질은 핵산 수준에서 80% 이상 유사성을

보이고 있다 [3, 5, 11].

Galectin-3는 세포 표면 뿐 아니라 세포내 즉, 세포질과 핵 등에도 분포하며, 또한 세포외로도 분비된다 [22, 28]. 기존의 면역화학염색에 의하면 galectin-3는 활성화된 tissue macrophages, dendritic cells, alveolar cells 또는 Kupper cells 등을 포함한 macrophage 계통의 세포들과 [8] 소화관, 신장, 폐의 상피세포에서 다량 발현이 되며 또한 분비된다 [12, 16]. 반면 뇌 조직에서는 태아의 발생 중 일시적인 특이적 발현이 보고되어 있으나 [3], 정상 성체에서는 검출되지 않는다 [8]. 따라서 galectin-3는 면역염색법에 의한 검출을 기준으로 볼 때 dorsal root ganglion neurons [19] 제외한 신경세포나 성체의 뇌에서는 발현되지 않는 것이 정설로 되어 있다.

Galectin-3는 세포질에서 핵내로 이동할 때 탈인산화 과정이 일어나며, 핵내에서는 CBP70과 결합되어 있으나 lactose를 첨가할 경우 galectin-3는 RNA와 결합하고 CBP70은 홀로 남게 됨이 관찰되어 있기에 galectin-3의

*Corresponding author: Hee Jong Woo

Laboratory of Immunology, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
[Tel: +82-2-880-1262, Fax: +82-2-877-8284, E-mail: hjwoo@snu.ac.kr]

N-terminal이 hnRNP와 유사한 구조일 것으로 예상하고 있다 [23, 27]. 또한 galectin-3는 nuclear ribonucleoprotein과 복합체를 형성하여 prion protein (PrP) mRNA와 결합하는 단백질로 보고되었다 [24]. 그러므로 핵내에서 galectin-3가 prion의 발현이나 복제에 작용할 것으로 추측되며 pre-mRNA substrate에 작용하여 splicing에 관여함으로써 mRNA processing과 관련된 것으로 추정되고 있다 [7]. 또한 scrapie에 감염된 hamster의 뇌 조직에서 pre-mRNA와 결합된 galectin-3가 발견되었고 [20], 이외에도 68 kDa의 laminin binding proteins가 prion 결합 단백질로 보고되고 있다 [25].

따라서 본 연구에서는 지금까지 뇌에서 발현되지 않는다는 기존의 연구결과에 반하여 신경세포에서의 prion 결합단백으로 작용하기 위해서는 galectin-3가 뇌 조직에서 발현되어야 한다는 점에서 RT-PCR 법과 Western blot analysis를 이용함으로써 기존의 면역 염색방법으로는 지금까지 확인하지 못했던 뇌조직에서의 galectin-3 발현을 확인하였다.

재료 및 방법

RNA 추출

생후 5-6주령의 Sprague-Dawley 종의 수컷 rat의 뇌와 폐조직에서 RNA를 추출하기 위해 acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform법을 사용하였다 [6]. 추출된 RNA를 ethidium bromide가 첨가된 1%의 agarose gel에 전기영동하여 분리한 후 OD₂₆₀에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. RNA를 다루는 모든 실험에 있어 사용된 증류수와 초자기구들은 diethylpyrocarbonate를 처리한 후 사용하였다.

RT-PCR

RT-PCR을 통하여 galectin-3에 특이한 RNA를 검출하기 위해 각각 특이적인 염기서열의 oligonucleotide primer 들을 고안(Table 1), 합성하여 이용하였다. 각각 sense와 antisense의 primer 들을 제조하였으며 제작은 Takara사 (Shiga, Japan)에 의뢰하였다.

Reverse transcription solution (dNTP 2 mM, random

primer, MgCl₂ 1.5 mM, reverse transcriptase, RNase inhibitor)에 RNA를 첨가한 후, 25°C에서 15분간, 42°C에서 60분간, 94°C에서 5분간 반응시켜 cDNA를 합성하였다.

PCR은 thermal cycler (Perkin Elmer, USA)를 이용하여 30 cycle 반응을 수행하였으며 마지막 cycle 후에는 증폭된 DNA를 72°C에서 10분간 신장시켰다. PCR 산물은 2% Nusieve agarose gel (FMC Co. Ltd., USA)에 전기영동하였다.

한편, 사용한 primers의 sequence(5' → 3')는 다음과 같다. 전방의 primer로서 (위치; 415-495) G3F (actgactagtgcctacgatatgccctgcc)를, 후방의 primer로서 (위치; 815-846) G3R (gccaccctctggcttaga)을 실험에 사용하였다.

Southern blot analysis

RT-PCR 산물이 원하던 mRNA에 의한 것임을 확인하기 위해 Southern blot analysis를 수행하였다. RT-PCR 산물을 2% agarose gel에 전기영동한 후, MeOH로 활성화시킨 nylon membrane (Boehringer-Mannheim, Germany)에 옮기고 UV를 5분간 쬐어 고정하였다. 이 membrane을 prehybridization solution (50% formamide, 0.5% Tween-20, 5X Denhardt's solution)에 담가 45-55°C에서 20분간 반응시킨 다음 100 ug/ml sonicated salmon sperm DNA와 digoxigenin-labelled specific oligonucleotides가 들어 있는 hybridization solution에 담가 45-55°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. Membrane은 anti-digoxigenin alkaline phosphatase conjugate antibody가 첨가된 TBST (Tris-buffered saline, 1% Tween-20)에 반응시킨 후, p-nitroblue tetrazolium chloride과 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate가 포함된 TBS로 발색시켰다.

Protein extraction and purification

Ether 처리한 생후 5-6주령의 Sprague-Dawley 종의 수컷 rat의 뇌와 폐조직을 채취하여 homogenizer (M. Zipperer, Germany)로 파쇄한 후, 14,000 g로 30분 동안 1차 원심분리하여 상청액을 회수하였다. 다시 20,000 g로 1시간 동안 원심분리 하여 얻은 상청액을 asialofetuin을 이용한 affinity chromatography로 분획되었다. Asialofetuin affinity column은 수화시킨 cyanate-activated sepharose 4B beads (Sigma, St. Louis, USA)를 asialofetuin 50 mg/ml을 포함한 PBS (pH 8.0)에 담가 4°C에서 하룻밤 동안 반응시킨 다음 phosphate buffer (10 mM phosphate with 2 mM dithiothreitol (DTT), 1 mM MgSO₄, 0.2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 그리고 0.2% NaN₃, pH 7.2)로 평형을 맞춰 작성하였다. Column

Table 1. Design of primers for RT-PCR

Primer	Sequence(5'→3')	Size	Location
G3F	actgactagtgcctacgatatgccctgcc	30 bp	415-495
G3R	gccaccctctggcttaga	21 bp	815-846
RPF	ggctctatagccaagaagcactg	23 bp	1045-1068
RPR	ttatgagacagacctaattctagc	25 bp	1387-1411

을 통한 단백질 함유액은 다시 column에 흘려주어 회수율의 증대를 꾀하였고, 3-5배의 column volume의 phosphate buffer로 세척하였다. Asialofetuin과 결합된 galectin-3는 0.4 M lactose와 2 mM DTT를 함유한 PBS로 회수하였다. 정제 과정 중의 얻어진 분획 내의 단백질 양은 Lowry법에 따라 정량되었다. 한편, 양성 대조군으로는 *E. Coli* system을 이용하여 본 실험실에서 제조한 유전자 재조합 human galectin-3를 사용하였다 [13].

SDS-PAGE와 Western blot analysis

조직에서 추출한 단백질과 affinity chromatography로 정제한 단백질은 Laemmli 방법에 따라 제조된 sodium dodecyl sulfate (SDS) 12% polyacrylamide gel과 3.5% stacking gel을 사용하여 환원 조건하에서 수행되었다. 전기영동이 끝난 gel 상의 band는 PVDF membrane에 30 V에서 3시간 동안 이동시켰으며, galectin-3를 확인하기 위해 특이적인 M3/38 hybridoma 세포배양 상청액을 1차 항체로서 이용하였다 [10]. 2차 항체로서는 horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rat antibody (Promega Biotec, Adison, WI)를 사용하였고, 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride solution으로 상온에서 30초 동안 발색시켰다 [21].

결 과

Fig. 1A는 폐와 뇌 조직 시료에서 galectin-3 특이적인 primer를 이용한 RT-PCR의 결과이다. 폐 조직 (lane 1)

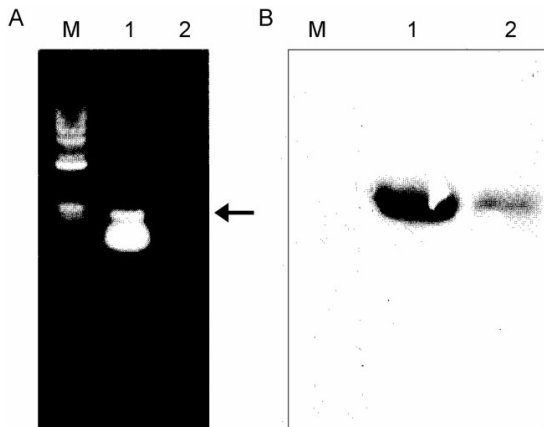


Fig. 1. Expression of galectin-3 mRNA in rat tissues. (A) RT-PCR products separated on 2% agarose gel. (B) Southern blot analysis of RT-PCR products with internal probes. The bands were 431 bp: lane1; 1 kb marker, lane 2; lung, lane 3; brain.

과 뇌 조직에서 확인된 band들의 크기는 대략 430 bp로 나타났다. 한편, 이렇게 얻어진 band가 galectin-3의 mRNA에서 증폭되었는지를 확인하기 위해 cDNA를 특이적으로 인식하는 internal probe를 이용한 Southern blot analysis를 수행하였다. Fig. 1B에서 관찰된 바와 같이 증폭된 band는 galectin-3의 mRNA에서 유래되었음이 확인되었고, RT-PCR에 의해 얻어진 결과를 densitometric analysis로 (Molecular analyst, Bio-Rad, USA) 정량적으로 분석해 보았을 때 뇌 조직 band의 농도는 폐 조직에 비해 8분의 1 정도인 것으로 확인되었다.

한편, 세포에 있어서 발현된 mRNA가 기능적 단백질

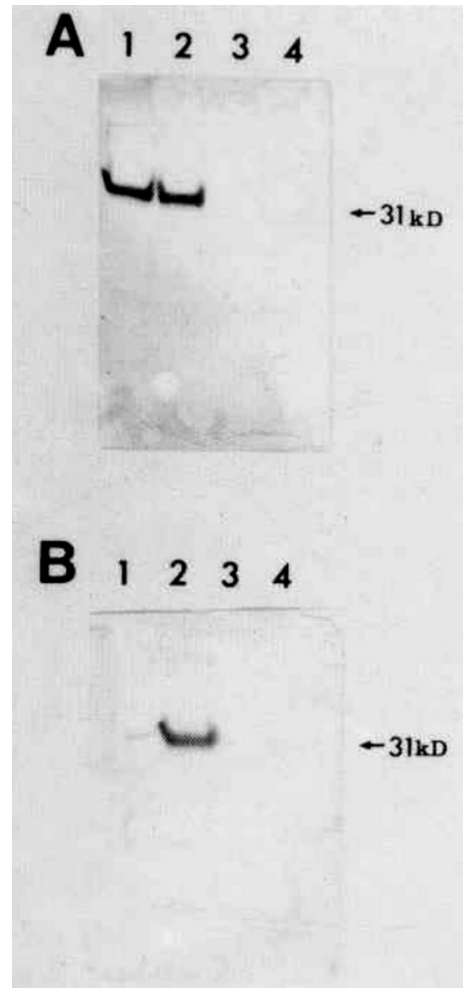


Fig. 2. Western blot analysis of galectin-3 was done on 12 % SDS-PAGE. (A) with crude extracts, lane 1; control, lane 2; lung, lane 3; brain, lane 4; marker. (B) with affinity purified proteins, lane 1; brain, lane 2; lung, lane 3; unbound lung protein, lane 4; marker.

로 정상적인 translation 과정을 거치지 않는 경우는 이미 잘 알려져 있는 사실이므로 Western blot analysis를 실시하여 galectin-3 단백질의 발현을 확인하였다. 조직에서 단백질을 추출한 후 전기영동하여 galectin-3 단백 분성 항체를 이용하여 검증하였을 때, 양성 대조군으로 사용한 recombinant galectin-3와 폐 조직에서 추출한 시료에서만 galectin-3의 30 kDa 부위에서 발색 반응을 확인할 수 있었다(Fig. 2A).

그러나 이미 보고된 바와 같이 prion 단백질의 발현에 관련되기 위해서는 뇌에서의 발현이 필수적이기에 galectin-3가 lactose에 결합하는 성질을 이용하여 asialofetuin affinity chromatography를 실시함으로써 뇌 조직에서의 galectin-3의 정제를 시도하였다. 그 결과 정제된 뇌 조직시료와 폐 조직의 시료에서 단백질 분성 항체로 인식되는 단백질이 Western blot analysis에 의해 확인되었다(Fig. 2B).

고 찰

Galectin-3는 폐, 신장, 소화관 등 여러 장기, 여러 세포에 걸쳐 분포되어 있으며 그 기능에 대해서는 다양하게 제시되고 있기는 하지만 정확히 규명되어 있지는 못한 상태이다. 그럼에도 불구하고, 최근 galectin-3와 더불어 일련의 laminin binding protein들이 prion protein과 결합하여 prion 단백질의 발현 조절기능 가능성이 제시됨에 따라 [24] 본 실험에서는 galectin-3의 rat 뇌 조직에서의 발현을 검토하였다. 본 실험에서는 이를 위하여 우선 galectin-3의 발현을 mRNA와 단백질 수준에서 검증하였다. 본 실험에서는 뇌 조직내에 축적되어 있는 galectin-3의 양이 극히 적어 검출이 어려울 것이 예상되었으므로 미량의 mRNA의 발현의 확인과 발현량의 검증을 위해서 보다 민감도가 높은 RT-PCR을 이용하여 mRNA의 발현을 확인하였고 Southern blot analysis를 수행하여 이를 검증하는 방법을 선택하였다. Galectin-3에 대한 특이 primer 쌍 (G3F과 G3R)으로 cDNA를 증폭시켰을 경우 예상되는 PCR 반응 산물의 크기는 약 430 bp 정도로 예상된다. 본 연구의 결과는 galectin-3 mRNA의 뇌 조직에서 발현 정도는 폐 조직에 비해 낮은 기존의 방법으로 검출되지 않았던 이전의 결과와 일치한다 [8].

한편, 조직에서 추출한 단백질을 affinity chromatography로 정제한 후 Western blot analysis를 수행한 결과 뇌 조직의 단백질에서도 폐 조직에서 분리된 단백질에서 검출된 것과 일치하는 크기의 band가 발현되는 것이 확인되었다. 이는 galectin-3의 뇌에서의 발현은 비록 기존의 면역화학염색법이나 Western blot 등의 통상적인 방법으

로는 검출이 되지 않을 정도로 낮지만, affinity를 이용한 chromatography와 분자생물학적 방법을 이용함으로써 검출할 수 있으며, 또한 생체 내에서 galectin-3는 극소량으로도 생리활성을 나타내고 있음을 시사하고 있다.

이전부터 galectin-3가 핵내에 존재하면서 mRNA splicing factor로 작용한다는 가능성이 거론되어 왔으나 [14], galectin-3와 직접적으로 작용하는 핵내 물질에 대해서는 확실히 규명된 바가 없었다. 최근 핵내 pre-mRNA 기질이나 small nuclear RNA들이 galectin-3와 결합함이 보고되면서 galectin-3의 mRNA splicing factor로서 역할이 확실히 되고 있다 [27]. 특히 단독으로는 prion mRNA에 결합하지 못하는 정상 prion 단백질 (PrP^c)이 galectin-3와 결합하면 prion mRNA에 결합할 수 있음은 흥미로운 결과이다 [7]. 소의 BSE, 양의 scrapie, 사람에서의 vCJD 등과 같은 prion 성 질병에서는 정상적인 PrP^c가 scrapie form (PrP^{sc})으로 전환되면서 질병이 진행되기에, 이와 같은 일련의 사실들에 의거하면 galectin-3가 prion disease의 병리기전에 관여될 가능성을 시사하고 있다.

한편, glioma 나 astrocytoma에서 galectin-3가 발현되었다는 보고가 있기 때문에 [9, 26] 본 연구에서의 결과가 brain 신경세포에 의한 것이 아니고 뇌조직 중에 존재하는 macrophage성 세포에 의하여 양성으로 나왔을 가능성도 생각할 수 있지만, 그러한 보고는 종양세포에서 관찰된 것으로서 세포의 종양화 과정에서 galectin-3의 발현 증가 현상은 이미 잘 알려져 있기에 [16, 30] 정상 뇌 조직을 이루고 있는 다양한 세포에서의 galectin-3 발현에 대한 면밀한 연구는 앞으로 검토해야 될 부분으로 남아 있다.

결 론

본 실험에서는 기존의 일반적인 면역 염색 방법으로는 검출되지 않았던 뇌 조직에서의 galectin-3 발현을 galectin-3의 정제 및 Western blot과 RT-PCR 방법으로 확인하였다. RT-PCR을 이용한 뇌 조직에서의 galectin-3 mRNA의 발현 정도는 폐 조직에 비해 8분의 1 정도인 것으로 확인되었다. 뇌 조직에서 추출한 단백질을 asialofetuin affinity chromatography로 정제한 후 Western blot analysis를 수행한 결과 폐 조직에서 분리된 단백질에서 검출된 것과 동일한 크기의 galectin-3가 발현되는 것을 확인하였다. 이러한 본 연구 결과는 지금까지 중추 신경조직에서는 발현되지 않는 것으로 알려진 galectin-3가 뇌조직에서 발현되고 있다는 것을 보여주고 있기에 galectin-3가 뇌신경세포에서 prion에 결합하는 단백질 중의 하나라는 연구 결과를 지지하는 것으로서 앞으로

prion 성 질병 연구에 있어서 galectin-3의 역할 규명이 필요함을 제시하고 있다.

참고문헌

1. **Barondes, S.** Bifunctional properties of lectins: Lectins redefined. *Trends Biochem. Science.* 1998, **13**, 480-482.
2. **Barondes, S. H., Cooper, D. N. W., Gitt, M. A. and Leffler, H.** Galectins: Structure and function of a large family of animal lectins. *J. Biol. Chem.* 1994, **269**, 20807-20810.
3. **Brule, F. A. V. D., Fernandez, P. L., Bricu, C., Liu, F.-T, Jackers, P., Lambotte, R. and Castronovo, V.** Differential expression of galectin first trimester human embryogenesis. *Dev. Dynamics.* 1997, **209**, 399-405.
4. **Cherayil, B. J., Weiner, S. J. and Phillai, S.** The Mac-2 antigen is a galactose-specific lectin that binds IgE. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990, **170**, 1959-1972.
5. **Cherayil, B. J., Chaitovitz, S., Wong, C. and Pillai, S.** Molecular cloning of a human macrophage lectin specific for galactose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990, **87**, 7324-7328.
6. **Chomczynski, P. and Sacchi, N.** Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987, **162**, 156-159.
7. **Dagher, S. F., Wang, J. L. and Patterson, R. J.** Identification of galectin-3 as a factor on pre-mRNA splicing. *J. Biol. Chem.* 1995, **92**, 1213-1217.
8. **Flotte, T. J., Springer, T. A. and Thorbecke, G. J.** Dendritic cell and macrophage staining by monoclonal antibodies in tissue sections and epidermal sheets. *Am. J. Pathol.* 1983, **111**, 112-124.
9. **Gordower, L., Decaestecker, C., Kacem, Y., Lemmers, A., Gusman, J., Burchert, M., Danguy, A., Gabius, H., Salmon, I., Kiss, R. and Camby, I.** Galectin-3 and galectin-3-binding site expression in human adult astrocytic tumours and related angiogenesis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1999, **25**, 319-330.
10. **Ho, S. and Springer, T. A.** Monoclonal antibody analysis of complex biological systems. Combination of cell hybridization and immunoadsorbents in a novel cascade procedure and its application to the macrophage cell surface. *J. Biol. Chem.* 1981, **256**, 3833-3839.
11. **Hsu, D. K., Zubery, R. I. and Liu, F.-T.** Biochemical and biophysical characterization of human recombinant IgE binding protein, an S-type animal lectin. *J. Biol. Chem.* 1992, **267**, 14167-14174.
12. **Huflejt, M. E., Jordan, E. T., Gitt, M. A., Barondes, S. H. and Leffler, H.** Strikingly different localization of galectin-3 and galectin-4 in human colon adenocarcinoma T84 cells. Galectin-4 is localized at sites of cell adhesion. *J. Biol. Chem.* 1997, **272**, 14294-14303.
13. **Kim, B. G. and Woo, H. J.** Expression and characterization of the recombinant human galectin-3. *Korean J. Immunol.* 1997, **37**, 547-554.
14. **Laing, J. G. and Wang, J. L.** Identification of carbohydrate binding protein 35 in heterogenous nuclear ribonucleoprotein complex. *Biochemistry.* 1988, **27**, 5329-5334.
15. **Liu, F. T., Patterson, R. J. and Wang, J. L.** Intracellular functions of galectins. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002, **1572**, 263-273.
16. **Lotz, M. M., Andrews, C. W. Jr., Korzelius, C. A., Lee, E. C., Steel, G. D. Jr., Clarke, A. and Mercurio, A. M.** Decreased expression of Mac-2 (carbohydrate binding protein 35) and loss of its nuclear localization are associated with the neoplastic progression of colon carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993, **90**, 3466-3470.
17. **Nangia-Makker, P., Ochieng, J., Christman, J. K. and Raz, A.** Regulation of the expression of galactoside-binding lectin during human monocytic differentiation. *Cancer Res.* 1993, **53**, 5033-5037.
18. **Ochieng, J., Platt, D., Tait, L., Hogan, V., Raz, T., Carmi, P. and Raz, A.** Structure-function relationship of a recombinant human galactoside-binding protein. *Biochemistry.* 1993, **32**, 4455-4460.
19. **Pesheva, P., Kuklinski, S., Biersack, H. J. and Probstmeier, R.** Nerve growth factor-mediated expression of galectin-3 in mouse dorsal root ganglion neurons, *Neurosci. Lett.* 2000, **293**, 37-40.
20. **Rieger, R., Edenhofer, F., Lasmezas, C. I. and Weiss, S.** The human 37-kDa laminin receptor precursor interacts with the prion protein in eukaryotic cells. *Nat. Med.* 1997, **3**, 1383-1398.
21. **Rosenberg, I., Cherayil, B. J., Isselbacher, K. J. and Pillai, S. J.** Mac-2-binding glycoproteins. *J. Biol. Chem.* 1991, **266**, 18731-18736.
22. **Sato, S., Burdett, I. and Hughes, R. C.** Secretion of the baby hamster kidney 30kDa galactose-binding lectin from polarized and nonpolarized cells: a pathway independent of the endoplasmic reticulum-Golgi

- complex. *Exp. Cell Res.* 1993, **207**, 8-18.
23. **Sato, S. and Hughes, R. C.** Regulation of secretion and surface expression of Mac-2, a galactoside-binding protein of macrophages. *J. Biol. Chem.* 1994, **269**, 4424-4430.
 24. **Scheffer, U., Okamoto, T., Forrest, J. M., Rytik, P. G., Muller, W. E. and Schroder, H. C.** Interaction of 68-kDa TAR RNA-binding protein and other cellular proteins with prion protein-RNA stem-loop. *J. Neurovirol.* 1995, **1**, 391-398.
 25. **Shmakov, A. N., Bode, J., Kilshaw, P. J. and Ghosh, S.** Diverse patterns of expression of the 67-kD laminin receptor in human small intestinal mucosa: potential binding sites for prion proteins? *J. Pathol.* 2000, **191**, 318-322.
 26. **Strik, H. M., Deininger, M. H., Frank, B., Schluesener, H. J. and Meyermann, R.** Galectin-3: cellular distribution and correlation with WHO-grade in human gliomas. *J. Neurooncol.* 2001, **53**, 13-20.
 27. **Wang, L., Inohara, H., Pienta, K. J. and Raz, A.** Galectin-3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, **217**, 292-303.
 28. **Woo, H.-J.** Secretion of Macrophage Differentiation Antigen Mac-2. *Kor. J. Immunol.* 1993, **53**, 61-68.
 29. **Woo, H.-J., Lotz, M. M., Jung, J. U. and Mercurio, A. M.** Carbohydrate binding protein 35 (Mac-2), a laminin binding lectin, forms functional dimers using cysteine. *J. Biol. Chem.* 1991, **265**, 18419-18422.
 30. **Woo, H.-J., Shaw, L. M., Messier, J. M. and Mercurio, A. M.** The major non-integrin laminin binding protein of macrophages is identical to carbohydrate binding protein 35 (Mac-2). *J. Biol. Chem.* 1990, **265**, 7097-7104.