



Galektin-3, prekürsör B-hücreli akut lenfoblastik lösemide ilaç direncini indükler

Cansu Yıldırım ¹

1 Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 03030, Afyonkarahisar, Türkiye

Geliş: 24.06.2025; Revizyon: 03.11.2025; Kabul Tarihi: 04.11.2025

Öz

β -galaktozid bağlayıcı protein ailesinin bir üyesi olan Galektin-3 (Gal-3), prekürsör B-hücreli akut lenfoblastik lösemi (pre-B ALL) hücreleri tarafından yüksek düzeyde ifade edilmekte ve salgılanmakta olup, bu durum ilaç direncine ve lösemnin ilerlemesine yol açmaktadır. Tedavi direnci, akut lösemi ile ilişkili ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Kemik iliği mikroçevresindeki pre-B ALL hücreleri ile stromal hücreler arasındaki etkileşimler antineoplastik tedavi duyarlılığını engeller. Ortaya çıkan kanıtlar, kemik iliği mezenkimal stromal hücrelerinin (BM-MSK'ler) ekzosomlarda paketlenmiş veya çözünür bir protein olarak Gal-3 ürettiğini ve bunun pre-B ALL hücreleri tarafından içselleştirildikten sonra pre-B ALL hücrelerinde de novo endojen Gal-3 ekspresyonunun indüklenmesini desteklediğini göstermektedir. Ayrıca, pre-B ALL hücrelerinin antineoplastik ilaçları ile uzun süreli tedavisi de novo endojen Gal-3 ekspresyonunu indükler ve kemik iliği stromal hücreler tarafından indüklenen Gal-3 ekspresyonunu daha da artırır. Yüksek hücre içi Gal-3, pre-B ALL hücrelerinin hayatta kalmasını, hücre döngüsü ilerlemesini ve çoğalmasını uyarırken, yüksek hücre dışı Gal-3, pre-B ALL hücrelerinin kemik iliği stromal hücrelerine göçünü ve yapışmasını teşvik eder. Tüm bu süreçler ilaç direncine ve lösemi ilerlemesine katkıda bulunabilir. Bu derlemede, Gal-3'ün pre-B ALL hücrelerinde ilaç direncini nasıl desteklediğinin kritik moleküler yolları açıklanmakta ve bu da Gal-3'ü pre-B ALL hastalarında ilaç direncini ve hastalığın tekrarlamasını baskılamak için ideal bir aday hedef protein haline getirmektedir.

Anahtar kelimeler: Galektin-3; Prekürsör B-hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi; Mezenkimal stromal hücre; Ekzosom; İlaç direnci

DOI: 10.5798/dicletip.1841297

Yazışma Adresi / Correspondence: Cansu Yıldırım, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 03030, Afyonkarahisar, Türkiye e-mail: cansu.yalcin@afsu.edu.tr

Galectin-3 induces drug resistance in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia

Abstract

Galectin-3 (Gal-3), a member of the β -galactoside binding protein family, is highly expressed and secreted by precursor B cell acute lymphoblastic leukemia (pre-B ALL) cells, leading to drug resistance and leukemia progression. Treatment resistance remains a leading cause of death associated with acute leukemia. Interactions between pre-B ALL cells and stromal cells in the bone marrow microenvironment impede antineoplastic therapy sensitivity. Emerging evidence suggests that bone marrow mesenchymal stromal cells (BM-MSCs) produce Gal-3 as a protein packaged in exosomes or as a soluble protein, which promotes the induction of de novo endogenous Gal-3 expression in pre-B ALL cells after internalization by pre-B ALL cells. Furthermore, long-term treatment of pre-B ALL cells with antineoplastic drugs induces de novo endogenous Gal-3 expression and further increases Gal-3 expression induced by bone marrow stromal cells. High intracellular Gal-3 stimulates survival, cell cycle progression, and proliferation of pre-B ALL cells, whereas high extracellular Gal-3 promotes migration and adhesion of pre-B ALL cells to bone marrow stromal cells. All of these processes may contribute to drug resistance and leukemia progression. This review describes the critical molecular pathways of how Gal-3 promotes drug resistance in pre-B ALL cells, making Gal-3 an ideal candidate target protein to suppress drug resistance and disease relapse in pre-B ALL patients.

Keywords: Galectin-3; Precursor B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia; Mesenchymal stromal cell; Exosome; Drug resistance.

GİRİŞ

Akut lenfoblastik lösemi (ALL), çocuklarda en sık görülen malignitedir ve pediatrik kanserlerin yaklaşık %25'idir. Vakaların %85'i B hücre öncüllerinin (B-ALL), %15'i ise T hücre öncüllerinin (T-ALL) çoğalmasından kaynaklanmaktadır¹. ALL'li çocuklarda genel sağkalım oranı 1960'larda %10 iken günümüzde ise %90'dır². Ayrıca, pediatrik ALL hastalarının nüks oranı %20 olup, bu nüks eden hastaların sağ kalma oranı %30-50'dir. Bu nedenle çocuklarda ALL ile ilişkili ölümlerin başlıca nedeni nüks olabilir³. ALL olan yetişkin hastaların %30-40'ı uzun vadede hastalıksız sağ kalım elde eder ve iyileşmiş olarak kabul edilebilir. Geri kalanlarda ise hastalık tekrarlar ve hastalığın ilerlemesi veya diğer sonuçlar nedeniyle ölür^{4,5}. ALL'de nüks, ilaç direncinin gelişimiyle yakından ilişkilidir. İlaç direnci, kemoterapi veya diğer antineoplastik ilaçların lösemik hücreleri etkili bir şekilde öldürememesi anlamına gelir. Bu direnç, lösemik hücrelerin ilaç tedavisinden kaçınmasını sağlayan genetik mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler yoluyla ortaya çıkar. Bu tür değişiklikler, ilaç atılımını artırabilir,

apoptozu engelleyebilir veya ilaç hedeflerini değiştirerek tedavi etkinliğini azaltabilir⁶⁻⁸. Nüks en sık kemik iliğinde başlar⁹. Kemik iliği mikroçevresindeki stromal hücreler, spontan apoptozu inhibe ederek¹⁰ ALL hücrelerini ilaç tedavisinin sitotoksik etkilerine karşı korur¹¹ ve böylece lösemik hücrenin hayatta kalmasını ve hastalığın tekrarlamasını teşvik eder. Stromal hücrelerin ALL hücrelerini, antineoplastik tedaviden nasıl koruduğunun anlaşılması ve bu mekanizmayı inhibe eden yaklaşımların geliştirilmesi, gelecekte nüksü tedavi edebilir ve bu hastaların sonuçlarını iyileştirebilir. ALL hücrelerinde in vivo ilaç direncinin gelişimi, ilaç maruziyeti sırasında ısınlanmış stromal hücrelerin varlığında ALL hücrelerinin kök kültürü ile modellenenebilir. Mikroçevre aracılı ilaç direnci (EMDR) olarak bilinen bu olgu, ilaca duyarsız lösemik hücrelerin büyümesine olanak tanır¹².

Galectinler (Gal), β -galaktozid içeren glikanlara yüksek afiniteyle bağlanan karbonhidrat tanıma alanından (CRD) oluşan bir lektin ailesidir. Memelilerde şu ana kadar 15 galectin ailesi üyesi tanımlanmış olup, moleküler yapılarına

göre üç alt tipe ayrılmıştır. Prototip galektinler; bir CRD içerir, tandem repeat galektinler; bir bağlayıcı peptit ile bağlanan iki CRD içerir ve kimerik tip Gal-3; C-terminal ucunda bir CRD ve bağlanma aviditesini artırmak için multimerler oluşturabilen bir N-terminal uzantısı içerir. Galektinler, bağışıklık hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinde yaygın olarak ifade edilen proteinlerdir. Galektinlerin fonksiyonları hücre büyümesinin, apoptozun, hücre döngüsünün, çoğalmanın, ön-mRNA işlenmesinin, hücre-hücre ve hücre-matriks yapışmasının, hücre polaritenin, hücre hareketliliğinin, hücre göçünün, farklılaşmanın, transformasyonun, sinyal iletiminin, doğal/kazanılmış bağışıklık yanıtlarının, tümör oluşumunun, tümör ilerlemesinin ve metastazın düzenlenmesini içerir¹³. İnsanlarda Gal-3,¹⁴. kromozomun q21-q22 lokusunda bulunan LGALS3 adlı gen tarafından kodlanır¹⁴. Gal-3 sitoplazma, mitokondri ve çekirdekte bulunur ve klasik salgılama sinyal dizisinden yoksun olduğundan hücre yüzeyine, hücre dışı boşluğa ve dolaşıma klasik olmayan salgılama yoluyla taşınır¹⁵. Gal-3, diyabet, fibrozis ve kanser gibi birçok hastalıkta rol oynayan bir proteindir¹⁶. Önceki araştırmalar Gal-3 ekspresyonunun birçok hematolojik malignitede rol oynadığını göstermektedir¹⁷⁻¹⁹. Gal-3'ün aşırı ekspresyonu, pre-B ALL hücrelerinde ilaç direncine yol açmaktadır^{18,20,21}. Bu nedenle, Gal-3'ün daha yüksek salgılanması, pre-B ALL hastalarında nüks için potansiyel bir biyobelirteç görevi görebilir. Bu derlemede Gal-3'ün pre-B ALL hücrelerini hücrel ve moleküler mekanizmalar yoluyla antineoplastik ilaçlardan nasıl koruduğu açıklanmakta ve Gal-3 hedefli tedavilerin geliştirilmesinde transkripsiyonel potansiyelini açıkça ortaya koymaktadır.

TARTIŞMA

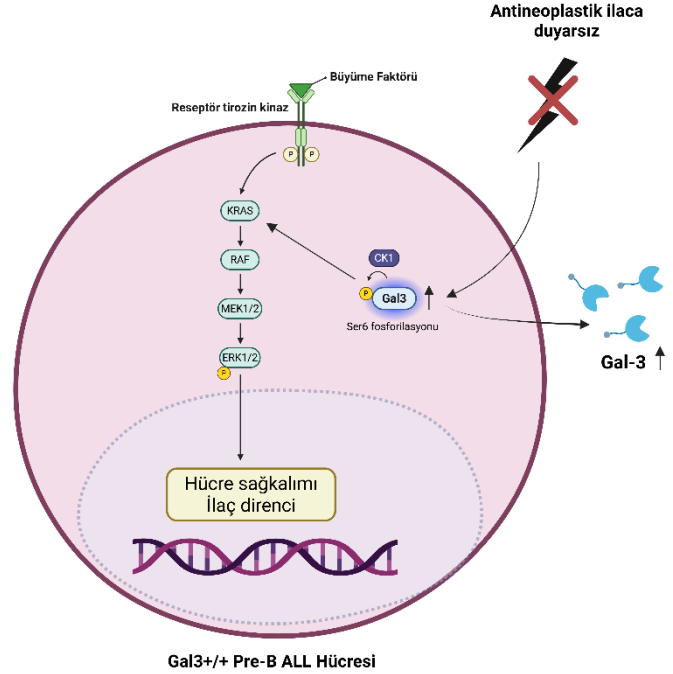
Artan Gal-3 düzeyleri pre-B ALL hücrelerini ilaç kaynaklı sitotoksisteye karşı korur

Feldhahn ve arkadaşları, Gal-3 geninin (Lgals3) transkript düzeylerinin Bcr/Abl hedefli tirozin kinaz inhibitörü nilotinib'e karşı direnç gelişmesi üzerine fare Bcr/Abl pozitif prekürsör B-hücreli akut lenfoblastik lösemi (pre-B ALL) hücre hatlarında önemli ölçüde arttığını ve 8 gün boyunca nilotinib ile tedavi edilen BCR/ABL transgenik farelerin kemik iliğinden izole edilen pre-B ALL hücrelerinde de benzer bir yukarı regülasyonun gözlemlendiğini gösterdi²². Bu nedenle Fei ve arkadaşları, Gal-3'ün pre-B ALL hücrelerindeki rolünü araştırdılar. Pre-B ALL hastalarının kemik iliğinden alınan pre-B hücrelerinde Gal-3 protein ekspresyonunu gösterdiler. Pre-B ALL hastalarında dolaşımdaki Gal-3 seviyelerini değerlendirmek için, pre-B ALL hastalarından ve sağlıklı kontrollerden kemik iliği aspirasyon sıvısı örnekleri toplandı ve pre-B ALL hastalarının kemik iliğindeki Gal-3 düzeylerinin sağlıklı kontrollerden önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulundu. Gal-3 seviyelerinin hangi koşullar altında arttığını daha fazla araştırmak için, ışınlanmış fare kemik iliği kökenli stromal hücre hattının varlığında insan pre-B ALL hücre hatlarını kültürlediler. Özellikle, stromal hücrelerle doğrudan temas halinde olan insan pre-B ALL hücreler yüksek miktarda yüzey veya hücre içi Gal-3 proteini ifade ederken, stromal hücreler olmadan kültürlenen insan pre-B ALL hücreler düşük Gal-3 proteini ifadesine sahipti. İlginç olarak, stromal hücreler Gal-3 salgılıyordu ve bu pre-B ALL hücrelerinde tespit edilen Gal-3'ün bir kısmı stromal kökenliydi¹⁸.

Gal-3'teki serin kalıntısı 6 (S6)'nın fosforilasyonu, insan meme kanseri hücre hattında sisplatin kaynaklı apoptoza karşı koruma sağlar²³. Ayrıca, Gal-3'ün S6'da kazein kinaz 1 (CK1) tarafından fosforilasyonu, çekirdekte sitoplazmaya taşınmasını teşvik ederek kemoterapiye yanıt olarak anti-apoptotik aktivitesini düzenler²⁴. İnsan pre-B ALL hücre hattında S6 fosforilasyonunda kusurlu bir Gal-3 mutantının (GAL3S6A)

retroviral aşırı ekspresyonu, stromal hücreler olmadan kültüre edildiğinde spontan apoptoza yol açtı. Ayrıca, Gal-3'ün retroviral aşırı ekspresyonu, insan pre-B ALL hücre hattının hem nilotinib hem de vinkristin'e karşı ilaç direncini artırırken, Gal3S6A mutant insan pre-B ALL hücre hattı ilaç tedavisine daha duyarlıydı. Bu durum, hücre içi Gal-3 ekspresyonunun artmasının ilaç tedavisine karşı direnci artırdığını, S6'da fosforile olma yeteneğinin ortadan kalkmasının ise ilaç direncinin azalmasına yol açtığını göstermektedir. ALL hücrelerinde endojen olarak üretilen Gal-3'ün fonksiyonunu değerlendirmek için, Bcr/Abl ile retroviral transdüksiyon yoluyla Gal3+/+ ve Gal3-/- fare kemik iliği hücrelerinden pre-B ALL hücreleri ürettir. Bu modelle Gal-3 eksikliğinin pre-B ALL hücrelerinin ilaç direncine olan etkisi incelenabilmektedir. Fare Gal3+/+ ve Gal3-/- pre-B ALL hücreleri, hücre sayımı ve hücre döngüsü analizi ile değerlendirilen benzer bir proliferasyon oranına sahipti. Ayrıca fare Gal3-/- pre-B ALL hücrelerinin ERK yolu aktivasyonunda spesifik bir zayıflama olduğunu, bunun fosforile edilmiş ERK1/2 düzeylerinde belirgin bir azalma ile gösterildiğini buldular. İlaç duyarlılığını karşılaştırmak için fare Gal3+/+ ve Gal3-/- pre-B ALL hücreleri nilotinib veya vinkristin ile tedavi edildi. Beklendiği gibi, fare Gal3-/- pre-B ALL hücreleri, fare Gal3+/+ pre-B ALL hücrelerine kıyasla nilotinib veya vinkristin tedavisine önemli ölçüde daha duyarlıydı çünkü fare Gal3-/- pre-B ALL hücrelerinde hücre canlılığı azalmıştı¹⁸.

Genel olarak kemik iliği aspirasyon sıvısında ve pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 düzeylerinin artmasının pre-B ALL hücrelerini ilaç tedavisine karşı koruduğu gösterilmiştir (Figür 1).



Figür 1: Pre-B ALL hücreleri Gal-3 proteinini eksprese etmez ve salgılamaz, ancak Gal3+/+ pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 düzeylerinin retroviral olarak artması, bu hücreleri nilotinib ve vinkristin gibi antineoplastik ilaçlara duyarlı hale getirir. Gal-3'ün kazein kinaz 1 (CK1) tarafından serine-6 (S6) fosforilasyonu, stromal hücrelerin yokluğunda Gal3+/+ pre-B ALL hücrelerinde ERK1/2 yolunu aktive ederek pre-B ALL hücrelerinin hayatta kalmasını sağlar (BioRender'da oluşturuldu).

Kemik iliği mezenkimal stromal hücreleri, Gal-3 upregülasyonu yoluyla ALL hücrelerinde ilaç direncini indükler.

Kemik iliği mikroçevresi lösemik hücrelere ev sahipliği yapar ve bu durum ilaç direncine ve hastalığın nüksetmesine yol açabilir²⁵. Önceki çalışmalar kemik iliği mikroçevresindeki stromal hücrelerin lösemi oluşumunda ve ilerlemesinde önemli rol oynadığını göstermiştir²⁶. Gal-3'ün kemik iliği mikroçevresiyle etkileşimleri yoluyla Akut Myeloid Lösemi (AML) ve Kronik Miyeloid Lösemide (KML) ilaç direncini artırdığı bildirilmiştir^{19,27}. Hu ve arkadaşları tarafından insan pre-B ALL ve T-ALL hücre hatları gibi ALL hücre hatlarında kemik iliği mikroçevresinin neden olduğu ilaç direncinde Gal-3'ün rolünü araştırılmıştır. Bu çalışmada kemik iliği

mikroçevresini in vitro taklit etmek için normal insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal stromal hücreleri (hBM-MSC) kullanılmıştır. İnsan ALL hücre hatlarında hBM-MSC'lerin ilaç direnci üzerindeki etkileri ve bu etkiyle ilişkili olası mekanizmalar araştırılmış, özellikle Gal-3'ün insan ALL hücre hatlarındaki rolüne vurgu yapılmıştır. İnsan ALL hücre hatları İdarubisin (IDA) ve Etoposide (VP-16) gibi sitotoksik ilaçlara maruz bırakıldığında, hBM-MSC'lerin hayatta kalan insan ALL hücre hatlarının mutlak sayısını önemli ölçüde artırdığı ve insan ALL hücre hatlarının apoptozunu önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Böylece, hBM-MSC'ler insan ALL hücrelerini sitotoksik ilaçların neden olduğu apoptozdan korur. Ayrıca, hBM-MSC'ler tarafından koşullandırılmış insan ALL hücre hatlarında, koşullandırılmamış olanlara kıyasla Gal-3'ün hem gen hem de protein ifade düzeyinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu da hBM-MSC'lerin insan ALL hücrelerinde Gal-3 aşırı ekspresyonunu indüklediğini göstermektedir. İnsan ALL hücre hatlarında hBM-MSC'nin neden olduğu Gal-3 aşırı ekspresyonunun ilaç direncindeki kesin rolünü açıklamak için, Gal-3 antisens kısa saç tokası RNA (shRNA) ile transfeksiyon yoluyla insan ALL hücre hatlarında Gal-3 ekspresyonu susturulmuştur. Gal-3 susturulmuş insan ALL hücre hatlarında apoptozun sitotoksik ilaç varlığında arttığını ve hBM-MSC'lerin sitotoksik ilaca karşı koruyucu etkisinin insan ALL hücre hatlarında Gal-3 susturulmasıyla zayıfladığını buldular.²⁸

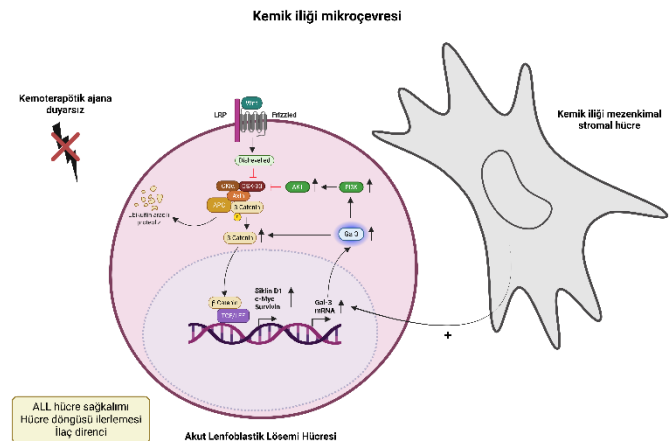
Gal-3'ün, β -katenin ile etkileşime girerek kolon ve pankreas kanseri hücre hatlarında hücre döngüsü ilerlemesi ve hücre canlılığının teşvikiyle ilişkili olan Wnt sinyallemesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir^{29,30}. Wnt sinyalizasyonu normal hematopoezin sürdürülmesinde önemlidir ve düzensizliği lösemi gelişiminde nedensel olarak rol oynar³¹. Lökogenenez için Wnt/ β -katenin yolu gereklidir³². Buna göre, Hu ve arkadaşları

Wnt/ β -katenin sinyal yolunun insan ALL hücre hatlarında hBM-MSC kaynaklı ilaç direncinde rol oynayıp oynamadığını araştırdılar. İnsan ALL hücre hatlarında hBM-MSC'ler tarafından Gal-3'ün aşırı ekspresyonu, insan ALL hücre hatlarında protein düzeyinde β -katenin ekspresyonunu artırdı ancak mRNA düzeyinde artırmadı; bu durum Gal-3 aşırı ekspresyonunun, muhtemelen yıkımını önleyerek, insan ALL hücre hatlarında β -katenin'i stabilize ettiğini düşündürmektedir. LGALS3 shRNA tarafından Gal-3'ün susturulması, hBM-MSC'lerle birlikte kültürlendiğinde insan ALL hücre hatlarında β -katenin protein ekspresyonunu azalttı. Gal-3-stabilize β -katenin'in ALL ilaç direncindeki rolünü daha fazla araştırmak için, insan ALL hücre hatlarına spesifik bir Wnt/ β -katenin sinyal inhibitörü olan ICG-001 uygulandı ve bunun insan ALL hücre hatlarında sitotoksik ilacın apoptotik etkilerine karşı hBM-MSC'lerin koruyucu etkisini önemli ölçüde azalttığını buldular. Tüm bu veriler, hBM-MSC'lerin ALL hücre hatlarında Gal-3 aşırı ekspresyonunu uyarmasının, ALL hücre hatlarında β -katenin stabilizasyonunu desteklediğini ve ALL ilaç direnci için kritik olan Wnt/ β -katenin sinyal yolunu aktive ettiğini göstermektedir. Wnt/ β -katenin yolunun hedef genleri olan siklin D1, c-Myc ve survivin'in ekspresyonu hBM-MSC ile koşullandırılmış insan ALL hücre hatlarında artarken, hBM-MSC ile koşullandırılmış insan ALL hücre hatlarında Gal-3 susturulmasından sonra azaldı. Bununla birlikte, Wnt/ β -katenin yolu hedef genlerinin ifadesi, tek başına kültürlenmiş insan ALL hücre hattında Gal-3 susturulmasından etkilenmemiştir²⁸; bu durum Gal-3 aşırı ekspresyonunun, ALL hücre hatlarında Wnt/ β -katenin yolunun aktivasyonunu ve hedef genlerinin transkripsiyonunu başlatmak için gerekli olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, hBM-MSC'lerin yokluğunda, az miktarda Gal-3'ün ALL hücrelerinde Wnt/ β -katenin yolunun ve ilgili genlerin aktivasyonunu tetiklemediği

muhtemel görünmektedir. Önceki çalışmalar, Gal-3 tarafından PI3K/AKT (fosfoinositid 3-kinaz/protein kinaz B) sinyalleşmesinin aktivasyonunun glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK-3 β) fosforilasyonunu artırdığını, bunun da bu serin/treonin kinazı inaktive ederek β -katenin fosforilasyonunu ve yıkımını azalttığını, böylece β -katenini stabilize ederek nükleer seviyelerini artırdığını göstermiştir^{29,30}. Hu ve diğerleri ayrıca Gal-3'ün yukarı düzenlenmesinin hBM-MSC ile koşullandırılmış insan ALL hücre hatlarında AKT ve GSK-3 β fosforilasyonunu uyardığını buldu. İnsan ALL hücre hatlarında β -katenin proteininin yukarı düzenlenmesi GSK-3 β fosforilasyonundan sonra gerçekleşti ve bu da Gal-3'ün hBM-MSC'lerle koşullandırılmış insan ALL hücre hatlarında GSK-3 β fosforilasyonu yoluyla β -katenin'i stabilize ettiğini düşündürmektedir. hBM-MSC ile koşullandırılmış insan ALL hücre hattının, spesifik bir PI3K/AKT sinyal inhibitörü olan LY294002 ile tedavisi, hBM-MSC ile koşullandırılmış insan ALL hücre hattında Gal-3 ekspresyonunu etkilemezken β -katenin proteininin aşırı ekspresyonunu inhibe etti. Bu sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, hBM-MSC'ler ile koşullandırılmış insan ALL hücre hatlarında Gal-3 protein ekspresyonunun artmasının, AKT ve GSK-3 β fosforilasyonunu uyarak β -katenin yıkımını azalttığını, bunun sonucunda β -katenin hedef genlerinin transkripsiyonunun arttığını ve dolayısıyla ALL ilaç direncinin arttığını göstermektedir. Hu ve arkadaşları, Gal-3 artışının insan ALL hücre hatlarında in vitro hBM-MSC kaynaklı ilaç direncinde önemli olduğunu gösterdikleri için, bunun ALL hastaları için de geçerli olup olmadığını araştırdılar. İlginç bir şekilde, refrakter/relaps ALL hastalarından alınan kemik iliği mononükleer hücreleri, primer ALL hastalarına kıyasla daha yüksek seviyelerde Gal-3 mRNA ifade etti. Ayrıca hBM-MSC'ler ALL hastalarının primer malign hücrelerinde Gal-3 ve β -katenin protein ekspresyonunu indükledi²⁸. Bu çalışmada ALL hasta

popülasyonlarının alt tipleri ve genetik geçmişlerine göre sınıflandırılmamış olması çalışmanın bir eksikliği olarak değerlendirilebilir ve gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutabilir.

Mevcut literatür bulguları doğrultusunda, hBM-MSC'lerin insan ALL hücrelerinde Gal-3 protein ekspresyonunu artırarak bu hücrelerde ilaç direncini indüklediğini göstermektedir. Ancak hBM-MSC'lerin ALL hücreleriyle etkileşim şekli ve hBM-MSC'lerin ALL hücrelerinde Gal-3 aşırı ekspresyonunu indüklediği yukarı akış yolları hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Genel olarak, insan ALL hücre hatlarında hBM-MSC tarafından Gal-3'ün aşırı ekspresyonu, GSK-3 β 'yi fosforile eden PI3K/AKT yolunun aşırı aktivasyonu yoluyla β -katenin yıkımını engeller. Bu, β -katenin'in stabilizasyonuna ve nükleer taşınmasına yol açar, ardından hedef genlerinin transkripsiyonunu tetikler ve ALL hücrelerini ilaca dirençli hale getirir (Figür 2). Benzer mekanizma AML hücre hattında da bildirilmiştir²⁷. Bu nedenle Gal-3, BM-MSC kaynaklı ALL hücre ilaç direncinin tedavisinde olası bir terapötik hedef olabilir.



Figür 2: Kemik iliği mikroçevresindeki mezenkimal stromal hücreler, İdarubisin ve Etoposid gibi kemoterapötik ajanların sitotoksik etkilerinden ALL hücrelerini korur ve ilaç direncine yol açar. Kemik iliği mezenkimal stromal hücreleri Gal-3'ün gen ve protein ekspresyonunu artırarak ALL hücrelerinde ilaç direncini indükler. ALL hücrelerinde kemik iliği mezenkimal stromal hücre kaynaklı Gal-3 aşırı ekspresyonu, GSK-3 β 'yi inaktive eden PI3K/AKT yolunun aktivasyonunu

artırarak β -katenin'in fosforilasyonunu ve yıkımını azaltıp β -katenin protein ekspresyonunu artırır. Böylece β -katenin Gal-3 tarafından stabilize edilir. Artan Gal-3, β -katenin ile etkileşime girerek ALL hücrelerinde hücre döngüsü ilerlemesinin ve hücre sağ kalımının teşvikiyle ilişkili olan Wnt sinyalleşmesinin aktivasyonunda önemli bir rol oynar. Kemik iliği mezenkimal stromal hücrelerinin varlığında ALL hücrelerinde Wnt/ β -katenin yolunun hedef genleri olan siklin D1, c-Myc ve survivin'in transkripsiyonu artar (BioRender'da oluşturuldu).

Stromal hücre kaynaklı ekzojen Gal-3 ve uzun süreli ilaç tedavisi, pre-B ALL hücrelerinde endojen Gal-3'ü indükleyerek ilaç direncine yol açar.

Fei ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada, Gal-3'ün hücrese kökenini, pre-B ALL hücre hatlarını stromal hücre hatlarıyla birlikte kültüre ederek belirlediler. İlk olarak stromal hücrelerdeki Gal-3 seviyeleri tespit edildi. İnsan ve fare stromal hücreleri hücre yüzeyinde Gal-3 proteinini eksprese etti ve salgıladı. Ayrıca, insan pre-B ALL hücre hattının Gal-3 proteinini ifade etmediğini ve salgılamadığını buldular. İlginç bir şekilde, fare stromal hücre hattının insan pre-B ALL hücre hattı ile ortak kültüründe, kültür süpernatantında fare stromal hücre hattına kıyasla daha fazla Gal-3 proteini vardı. Bu durum Gal-3 salgılanmasının iki hücre tipi arasındaki etkileşimle uyarıldığını göstermektedir. Daha sonra farklı fare stromal hücre hatları ile oluşturulan ortak kültürlerden elde edilen insan pre-B ALL hücre hatlarındaki Gal-3 protein düzeylerini belirlediler. İnsan pre-B ALL hücre hatları Gal-3 proteini içermiyordu, ancak farklı fare stromal hücre hatlarıyla birlikte kültürlendiğinde önemli ölçüde arttı.

Daha sonra Gal-3'ün stromal hücreler tarafından üretilen ekstraselüler veziküller aracılığıyla taşınabilme olasılığı araştırıldı²⁰. Ekzosomlar, çok çeşitli normal ve malign hücreler tarafından salgılanan küçük veziküllerdir ve hücreler arası iletişimin temel araçları olarak giderek daha fazla tanınmaktadır³³. Hem fare stromal hücre

hatları hem de insan pre-B ALL hücre hatları ekzosomlar üretti, ancak Gal-3 yalnızca stromal hücrelerden kaynaklanan mikroveziküllerde mevcuttu. Fare stromal hücrelerinden kaynaklanan ekzosomların içeriklerini pre-B ALL hücrelerine taşıyıp taşıyamayacağını belirlemek için, öncelikle fare stromal hücre hattı kaynaklı ekzosomlar exo-green ile işaretlendi ve insan pre-B ALL hücre hatları bu ekzosomlara maruz bırakıldı. Konfokal mikroskopi, stromal ekzosom içeriğinin insan pre-B ALL hücre hatlarına aktarıldığını ortaya koydu. Buna karşılık, işaretli pre-B ALL ekzosomları fare stromal hücre hattına bağlanabildi ve içeriklerini aktarabildi. Ayrıca, fare stromal ekzosomları uygulanan insan pre-B ALL hücre hatlarında, Gal-3 protein ekspresyonu, fare stromal ekzosomları olmayan insan pre-B ALL hücre hatlarına kıyasla arttı. Fare stromal ekzosomlarına maruz bırakılan insan pre-B ALL hücre hattında, kendi ekzosomlarına maruz bırakılan insan pre-B ALL hücre hattına kıyasla NF- κ B alt birimlerinin (p65, p100 ve p52) daha yüksek protein ekspresyonu da tespit edildi. Bu çalışma, pre-B ALL hücreleri ile stromal destek hücreleri arasında ekzosomlar aracılığıyla iki yönlü bir iletişim ve materyal değişiminin kanıtını sunmaktadır.

İnsan pre-B ALL hücrelerinde ekstraselüler Gal-3 ile uyarımla indüklenen sinyal iletim yollarını tanımlamak için, stromasız insan pre-B ALL hücre hatlarını rekombinant insan Gal-3 veya GST-Gal-3 ve kontrol olarak rekombinant GST ile uyardılar. Öncelikle, fare stromal hücreleri olmadan kültüre edilen insan pre-B ALL hücre hattında hücre yüzeyinde Gal-3 protein ekspresyonu görülmedi. İlginç bir şekilde, Gal-3, stromanın sürekli yokluğunda rekombinant insan Gal-3 veya GST-Gal-3'e maruz bırakılan insan pre-B ALL hücre hattının yüzeyinde tespit edildi ve bu, ekzojen olarak eklenen Gal-3'ün insan pre-B ALL hücrelerinin yüzeyindeki yapılarla kararlı bir şekilde bağlandığını

gösterdi. Düşük afiniteli bir karbonhidrat ligandı olmasına rağmen, Gal-3 bağlanmasının laktoz ile rekabet yoluyla inhibisyonu, etkileşimlerin kısmen karbonhidrat-lektin bağımlı olup olmadığını belirlemek için kullanılabilir. GST-Gal-3'ün insan pre-B ALL hücre hattına bağlanması laktoz tarafından kısmen azaltıldı; bu da Gal-3'ün pre-B ALL hücre yüzeyine yerleşmesinin en azından kısmen hücre yüzeyindeki glikozillenmiş moleküllere bağlanma yoluyla gerçekleştiğini göstermektedir. Daha sonra stromasız kültüre edilmiş pre-B ALL hücrelerini laktoz varlığında ve yokluğunda GST-Gal-3 ile muamele ettiler ve ekzojen Gal-3'ün endositozlanıp çekirdeğe taşınıp taşınmadığını veya parçalanıp parçalanmadığını belirlemek için sitoplazmik ve nükleer fraksiyonlar hazırladılar. GST-Gal-3'ün bir kısmının nükleer hale geldiğini ve laktozla birlikte inkübasyonun hem sitoplazmik hem de nükleer seviyeleri azalttığını gösterdiler²⁰. T hücrelerinin ekstraselüler Gal-3 ile muamelesinin apoptozu uyardığı bildirilmiş olduğundan³⁴, Fei ve arkadaşları, insan pre-B ALL hücre hattının ekstraselüler Gal-3 ile muamelesinin bu hücre tipinde de apoptozu açıp açmayacağını araştırmışlardır. T hücreleri üzerinde bildirilen etkilerin aksine, insan pre-B ALL hücre hattının en yüksek GST-Gal-3 konsantrasyonu ile muamelesinin apoptoz üzerinde anlamlı bir etkisi yoktu.

Daha sonra, ekzojen Gal-3 ile uyarımın insan pre-B ALL hücre hatlarında hücre içi sinyal iletim yollarını aktive edip etmediğini incelediler. Ancak, insan pre-B ALL hücre hattının ekzojen Gal-3 ile uyarılması, fare stroması üzerinde kültür yoluyla uyarılan insan pre-B ALL hücre hattından oluşan pozitif bir kontrole kıyasla ERK1/2, p38 veya AKT'nin fosforilasyonunda artışa neden olmadı. Ayrıca NF- κ B yolağının aktivasyonunu değerlendirdiler ve insan pre-B ALL hücre hattının GST-Gal-3 ile uyarılmasının bu hücrede sitoplazmik p100 ve nükleer p100/p52, c-Rel ve

p65 protein ekspresyonunu artırdığını buldular. Daha sonra GST-Gal-3 ile uyarılan insan pre-B ALL hücre hattının sitoplazmik ve nükleer fraksiyonlarını karşılaştırarak NF- κ B aktivasyonunun kinetiğini daha ayrıntılı olarak incelediler. GST-Gal-3'ün birinci saatte hem sitoplazmada hem de çekirdekte bulunması, ekzojen Gal-3'ün hızlı endositozunu ve taşınmasını göstermektedir²⁰. Gal-3 çoğunlukla sitoplazmada bulunur ve en az iki yolla çekirdeğe taşınabilir: pasif difüzyon ve/veya aktif taşıma. GST-Gal-3 ile uyarılan insan pre-B ALL hücre hattında, sitoplazmik ve nükleer p100 ve nükleer p65 proteinlerindeki artışlar sadece 24 saat sonra belirginleşti.

Pre-B ALL hücre ve fare stromal hücre ortak kültürleri, tek başına kültürlenmiş fare stromal hücrelerine göre daha yüksek Gal-3 protein seviyelerine sahip olduğundan, Gal-3'ün kendi gen transkripsiyonunu uyarabilme olasılığını test ettiler. Bu nedenle insan pre-B ALL hücre hatları ekzojen Gal-3 ile uyarıldı. İnsan pre-B ALL hücre hatları çok düşük seviyelerde LGALS3 mRNA içeriyordu. Ancak, kontrol GST proteini ile uyarılmaya kıyasla, Gal-3 ve GST-Gal-3 proteinleri insan pre-B ALL hücre hatlarında endojen LGALS3 mRNA transkripsiyonunu önemli ölçüde artırdı. Ekzojen Gal-3 uyarılı Gal-3 gen transkripsiyonunun Gal-3'ün hücre yüzeyi glikoproteinlerine bağlanmasına ne ölçüde bağımlı olduğunu ele almak için, bu deneyi hücre dışına eklenen rekabetçi laktoz varlığında da gerçekleştirdiler. Laktoz eklenmesi insan pre-B ALL hücre hatlarında LGALS3 mRNA indüksiyonunu azalttı, ancak ortadan kaldırmadı. Bu sonuç, laktozun GST-Gal-3 hücre yüzeyine bağlanmasını ve internalizasyonunu tam olarak engelleyememesiyle tutarlıdır. Bu durum Gal-3 bağlanmasının, internalizasyonunun ve nükleer taşınmasının bir kısmının karbonhidrattan bağımsız olabileceğini göstermektedir.

Daha sonra stromal ve ALL hücrelerinin ortak kültürlerinde tirozin kinaz inhibitörü ve kemoterapinin Gal-3 düzeyleri üzerindeki etkisini araştırdılar. Nilotinib veya vinkristin tedavisi fare stromal hücre hatlarında Gal-3 protein düzeylerini etkilemedi. Stromal bağımlı fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücreleri bir fare stromal hücre hattı ile birlikte kültüre edildiğinde ve kısa bir süre (0-4. gün) nilotinib ile tedavi edildiğinde, lösemi hücrelerinin canlılığı azaldı ve çoğalmaları ortadan kalktı. Ancak uzun süreli tedavi (4-8. gün) ve stromal desteğin devam etmesiyle fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücreleri çoğalma yeteneğini yeniden kazanır ve ilaca karşı direnç geliştirir. Ayrıca, fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücreleri, fare stromal hücre hattına yeni eklendiğinde başlangıçta düşük seviyelerde Gal-3 proteini içeriyordu. Fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücreleri, bir fare stromal hücre hattıyla uzun süreli birlikte kültürlendiğinde ve eş zamanlı olarak nilotinib ile tedavi edildiğinde, Gal-3 protein ekspresyonu fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinde 0. güne kıyasla yaklaşık 4 kat arttı. İnsan pre-B ALL hücre hattı, ısıtılmış fare stromal hücre hattının varlığında uzun süreli tedaviden (2-3 hafta) sonra vinkristin'e karşı direnç geliştirdi; bu durum artan canlılıkla ölçüldü, ancak vinkristin hücre sayılarının daha düşük olmasıyla sitostatik olmaya devam etti. Uzun süreli kemoterapi sırasında fare stromal hücre hattının varlığında insan pre-B ALL hücre hattında da Gal-3 protein ekspresyonu arttı.

Stroma ile ALL hücreleri arasında hücre temasının, gözlenen ilaç kaynaklı Gal-3 protein artışı için gerekli olup olmadığını belirlemek amacıyla, ilaç tedavisi sırasında stromal hücrelerden transwell membran ile ayrılan ALL hücrelerinde Gal-3 protein düzeyleri ölçüldü. Nilotinib tedavisi sırasında fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 proteininin ekspresyonu, bu hücreler fare stromal hücrelerinden ayrıldığında artmadı; bu da

gözlenen ilaç kaynaklı Gal-3 protein artışı için stroma ile ALL hücreleri arasında hücre temasının gerekli olduğunu gösterdi. İlaç tedavisinin Gal-3 protein düzeylerini stroma varlığına bağlı düzeylerin üzerine çıkardığını göstermek için yan yana bir karşılaştırma gerçekleştirildi. İlginç bir şekilde, nilotinib tedavisi veya fare stromal hücre hattıyla temas, fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 protein ekspresyonunu artırdı ve stromal destek varlığında nilotinib ile tedavi en yüksek Gal-3 protein ekspresyonuyla sonuçlandı. Benzer sonuçlar, fare stromal hücre hattının varlığında nilotinib ile tedavi edilen insan Philadelphia (Ph)-pozitif pre-B ALL hücre hattında elde edildi. Bu sonuçlar, ilaç tedavisinin Gal-3 protein düzeylerini, stroma varlığına bağlı düzeylerin üzerine çıkardığını göstermektedir.

Stromal hücre desteği altındaki ALL hücrelerin ilaç tedavisiyle strese girdiğinde endojen Gal-3 proteini üretebildiğini daha fazla göstermek için, fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerini lgals3^{-/-} ve lgals3^{+/+} fare stromal hücre hatlarıyla birlikte kültür halindeyken uzun süreli nilotinib (14 gün boyunca) ile tedavi ettiler. Nilotinib tedavisi, ilaçsız tedavi edilen hücrelere kıyasla daha fazla Gal-3 proteini indükledi ve bunun bir kısmı, Gal-3^{-/-} fare stromal hücre hattıyla kültürlenilen hücrelerde de ölçüldüğü için fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinde Gal-3'ün endojen olarak üretildiği tespit edildi. Ayrıca, uzun süreli nilotinib tedavisinden sonra, pERK1/2 protein düzeylerinin lgals3^{-/-} fare stromal hücre hattıyla birlikte kültüre edilen fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinde arttığını, ancak pERK1/2 düzeylerinin lgals3^{+/+} fare stromal hücre hattıyla kültüre edilen fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinden daha düşük olduğunu buldular. Sonuç olarak, stromal bağımlı pre-B ALL hücrelerinin ilaç tedavisi ile strese maruz kaldığında endojen Gal-3 proteini ürettiği gösterilmiştir.

İlaçla tedavi edilen ALL hücrelerinde Gal-3 indüksiyonunda ERK aktivasyonunun yer alıp almadığını belirlemek için fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerine MEK inhibitörü trametinib uygulandı. Trametinib, uzun süreli ilaç tedavisi uygulanan hücrelerde görülen ERK aktivasyonunu azaltabilmiş ve ilginç bir şekilde endojen ALL Gal-3 protein seviyelerini de baskılamıştır. Kültür yeniden çoğalmaya başladığında, ışınlanmış bir fare stromal hücre hattının varlığında, uzun süreli nilotinib tedavisinden (10. Gün) sonra fare Bcr/Abl-pozitif pro/pre-B ALL hücrelerinde Lgals3 mRNA önemli ölçüde arttı. Kısa ve uzun süreli vinkristin ile tedavi edilen insan pre-B ALL hücre hattında LGALS3 mRNA düzeyleri, kontrol ile tedavi edilen hücrelere kıyasla önemli ölçüde daha yüksekti. Kısa süreli nilotinib veya vinkristin ile tedavi edilen bir fare stroma hücre hattı ile birlikte kültürlenilen insan Ph-pozitif ve -negatif pre-B ALL hücre hatlarında da yükselmiş LGALS3 mRNA seviyeleri gözlemlendi. Fare ve insan pre-B ALL hücrelerinin stromal hücrelerle doğrudan temas halinde antineoplastik ilaçla tedavi edilmesi durumunda LGALS3 mRNA indüksiyonunun ortak bir özellik olduğu sonucuna vardılar²⁰. İlaçlarla tedavi edilen insan pre-B ALL hücrelerindeki sonuçlarla tutarlı olarak²⁰, Lgals3 gen ekspresyonu, uzun süreli nilotinib ile tedavi edilen lösemik Bcr/Abl p190 transgenik farelerin kemik iliğinden izole edilen öncül B hücrelerinde de indüklendi³⁶.

Pre-B ALL hücrelerinin ekzojen Gal-3 ile uyarılması NF- κ B'yi aktive ettiğinden ve Gal-3 transkripsiyonunu indüklediğinden, BMS345541 inhibitörü kullanılarak kanonik NF- κ B'nin inhibisyonunun Gal-3 ekspresyonunu etkileyip etkilemeyeceğini araştırdılar. Bu nedenle, insan pre-B ALL hücre hattını, fare stromal hücre hattının varlığında ve yokluğunda 24 saat boyunca inhibitörle muamele ettiler ve insan pre-B ALL hücrelerini ortamdaki topladılar. Kanonik NF- κ B yolunun

kısa süreli inhibisyonunun Gal-3 nükleer taşınması veya protein düzeyleri üzerinde hiçbir etkisi olmadı. Ancak inhibitör uygulaması sonrası c-Rel ve p65 proteinlerinin toplam düzeylerinde azalma tespit edildi. Ayrıca BMS345541 uygulamasından 72 saat sonra fare stromal hücre hattının varlığında insan pre-B ALL hücre çoğalmasını ve canlılığını ölçtüler. BMS345541, stromal destek varlığında bile insan pre-B ALL hücre hatlarında düşük konsantrasyonda sitostatikti. Yüksek konsantrasyonda ise sitotoksik olup, uygulama süresince insan pre-B ALL hücre hatlarının canlılığını azalttı. BMS345541'in nilotinib ile kombinasyonu, fare stroması ile birlikte kültüre edilen insan pre-B ALL hücre hattının çoğalmasını ve hayatta kalmasını daha da baskıladı. Ayrıca, insan pre-B ALL hücre hattının hem vinkristin hem de düşük doz BMS345541 ile ışınlanmış fare stromal hücre hattının varlığında uzun süreli tedavisi hem hücre çoğalmasını hem de canlılığını etkili bir şekilde engelledi.

Genel olarak Fei ve arkadaşları, yüzeylerinde Gal-3 ifade eden, çözünür protein olarak salgılayan ve ekzosomlarında bulunan stromal hücrelerden kaynaklanan pre-B ALL hücre içinde ve hücre üzerinde Gal-3 proteini tespit ettiler. Ayrıca, pre-B ALL hücreleri tarafından üretilen ekzosomlarda herhangi bir Gal-3 tespit etmediler. Stromal hücrelerin Gal-3'ü pre-B ALL hücrelerine nasıl sunduğu bilinmemektedir. Yüksek düzeyde stromal Gal-3'ün pre-B ALL hücrelerine etkili bir şekilde aktarılması için yakın hücre-hücre temasının önemli olduğunu buldular, çünkü stromaya bağlı olmayan pre-B ALL hücreleri önemli miktarda Gal-3 kaybediyor. Stromadan salgılanan Gal-3, pre-B ALL hücrelerinin çekirdeğine taşınır. Gal-3 ile pre-B ALL hücrelerinin uyarılması NF- κ B'yi aktive etti. Ayrıca, ekstraselüler Gal-3 ile pre-B ALL hücrelerinin uyarılması, bu hücrelerdeki Gal-3 mRNA seviyelerini artırdı²⁰. NF- κ B transkripsiyon faktörleri diğer hücre tiplerinde

Gal-3 gen ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunduğu³⁷, Gal-3 transkripsiyonu doğrudan NF- κ B tarafından aktive edilebilir. Ancak Gal-3 proteini çekirdeğe göç ettiği ve burada ön-mRNA işlenmesini düzenleyebildiği için³⁸, Gal-3 mRNA düzeylerinin düzenlenmesi ve NF- κ B aktivasyonunun dolaylı olarak bağlantılı olması mümkündür. Antineoplastik ilaç tedavisinin stresine maruz kaldıklarında ve stromal hücrelerle temas halinde olduklarında, pre-B ALL hücrelerinde güçlü de novo endojen Gal-3 mRNA ve protein ekspresyonu indüksiyonu bulundu. De novo Gal-3 indüksiyonu birkaç gün içinde gerçekleşti, bu durum ERK aktivasyonu ve ilaç toleransının ortaya çıkmasıyla ilişkilendirildi²⁰.

Toplamda, stroma kökenli Gal-3, pre-B ALL hücrelerinde endojen Gal-3 üretimiyle desteklenir ve bu da pre-B ALL hücrelerini antineoplastik ilaç tedavisine karşı korur (Figür 3). Bu nedenle Gal-3, stromanın koruyucu etkilerini ortadan kaldırmak için olası bir hedef olabilir. Ancak translasyonel potansiyeli güçlendirmek için, insan pre-B ALL hücrelerinin insan primer kemik iliği MSC'leri ile birlikte kültürlenmesi yoluyla temel bulguların tekrarlanması gerekmektedir.

Stromal hücre kaynaklı Gal-3, pre-B ALL hücrelerinin göçünü, yapışmasını, sağkalımını ve çoğalmasını uyararak bu hücrelere ilaç direnci kazandırır

Pre-B ALL'de çevresel aracılı ilaç direnci, nükse önemli ölçüde katkıda bulunur. Pre-B ALL hastalarında tedavi başarısızlığının başlıca nedeni nükstür³⁹. Kemik iliği mikroçevresi, pre-B ALL hücrelerinde göçü, sağkalımı, çoğalmayı ve ilaç tedavisine yanıtı düzenlediği için nükse katkıda bulunan önemli bir faktördür⁴⁰. Daha önce kemik iliği mikroçevresindeki stromal hücrelerin Gal-3 salgılayarak pre-B ALL hücrelerini koruduğu bildirilmişti. Gal-3, pre-B ALL hücreleri ile stroma arasında bir iletişim aracı olarak görev yapar: sadece pre-B ALL

hücrelerinin hücre yüzeyine bağlanmakla kalmaz, aynı zamanda onlar tarafından aktif olarak hücre içine alınır^{18,20}. Kemik iliği mikroçevresi tarafından üretilen Gal-3'ün pre-B ALL hücreleri üzerindeki fizyolojik etkisi bilinmemektedir. Bu nedenle Tarighat ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, pre-B ALL hücre fonksiyonlarının herhangi birinin stromal hücre tarafından üretilen Gal-3 tarafından düzenlenip düzenlenmediği araştırılmıştır²¹. Pre-B ALL'li pediatrik hastalardan alınan kemik iliği örneklerinde, remisyon indüksiyon tedavisinin bitiminden sonra Gal-3 mRNA'sında anlamlı bir artış olması⁴¹, antineoplastik ilaç tedavisinin kemik iliğinde Gal-3 miktarını artırdığını düşündürmektedir. Daha yüksek Gal-3 mRNA düzeyleri, bu tür indüksiyon tedavisinin sonunda minimal rezidüel hastalık (MRD) pozitif olma olasılığının daha yüksek olmasıyla da ilişkilidir²¹. Bu çalışmayla uyumlu olarak, pre-B ALL hastalarının kemik iliği aspirasyon sıvısında Gal-3 düzeylerinin normal kontrollerle karşılaştırıldığında yüksek olduğu bildirilmiştir¹⁸. BM-MSCLerinin Gal-3 üretilip üretilmediğini belirlemek için, primer insan kemik iliğinden MSC çoğalttılar ve bunların Gal-3 proteinini eksprese ettiğini buldular. Mitotik olarak inaktive edilmiş insan BM-MSCLeri ve fare kemik iliğinden elde edilen stromal hücre hattı, insan pre-B ALL hücre hattıyla birlikte kültürlendiğinde hem insan hem de fare kemik iliği kökenli stromal hücreler insan pre-B ALL hücre hattını canlı tutabildi. Ancak ilginç bir şekilde, fare kemik iliği stromal hücre hattı, insan BM-MSCLerine kıyasla daha fazla hücre çoğalmasına izin verdi ve ayrıca vinkristin ile kemoterapi tedavisine karşı koruma sağlamada üstündü. Fare kemik iliği stromal hücre hattı, pre-B ALL hücrelerinin daha iyi büyümesine olanak sağladığı, primer MSC'lerden daha uzun bir ömre sahip olduğu ve kendi büyümesinde daha tutarlı olduğu için, bu hücreleri sonraki deneylerde kullandılar.

Primer insan kemik iliği pre-B ALL hücreleri değişken bir oranda Gal-3 proteinini ifade etti, ancak primer insan kemik iliği pre-B ALL hücrelerinin ışınlanmış bir fare kemik iliği stromal hücre hattıyla birlikte kültürü, primer insan kemik iliği pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 protein ifadesini artırdı. Daha sonra insan pre-B ALL hücre hatları, fare kemik iliği stromal hücre hattının varlığında veya yokluğunda kültüre edildi. İnsan pre-B ALL hücre hatlarında Gal-3 protein ekspresyonu yoktu, ancak fare kemik iliği stromal hücre hattıyla birlikte kültürlendiğinde Gal-3 proteinini ekspresyonu görüldü. Stromal hücre kaynaklı Gal-3'ün etkisini incelemek için, bir fare kemik iliği stromal hücre hattında Gal-3'ü yok etmek amacıyla CRISPR/Cas9 aracılı genom düzenleme yöntemi kullanıldı. İnsan pre-B ALL hücre hatları, boş vektörle transdüksiyonlanmış fare kemik iliği stromal hücre hattı (fare kemik iliği stromal-EV hücre hattı) veya fare kemik iliği stromal-Gal3-knockout (KO) hücre hattıyla birlikte kültürlendi. Fare kemik iliği stromal-Gal3-KO hücre hattıyla birlikte kültüre edilen insan pre-B ALL hücre hatları Gal-3 proteinini ifade etmedi, ancak fare kemik iliği stromal-EV hücre hattıyla birlikte kültüre edilen aynı hücreler fare kökenli Gal-3 proteinini ifade etti²¹.

Gal-3'ün hem normal hem de tümör hücresi hareketliliğini düzenlemede rol oynadığı bilindiğinden⁴², Tarighat ve arkadaşları hücre dışı Gal-3 düzeylerinin pre-B ALL hücre hareketliliği üzerindeki düzenleyici etkilerini incelemişlerdir. Öncelikle, fare kemik iliği stromal-EV hücre hattıyla kıyasla fare kemik iliği stromal Gal3-KO hücre hattına önemli ölçüde daha az sayıda insan pre-B ALL hücre hatlarının yapıştığını ve tersine, insan pre-B ALL hücre hatları fare kemik iliği stromal-Gal3-KO hücre hattıyla birlikte kültürlendiğinde daha fazla insan pre-B ALL hücresinin ortamda yüzer halde kaldığını buldular. Bunun Gal-3'e bağlı olduğunu göstermek için, fare kemik iliği

stromal-Gal3-KO hücre hattını insan Gal-3 ile transdükletiler. Gal-3 protein ekspresyon düzeyleri vahşi tip fare kemik iliği stromal hücre hattına göre daha düşük olmasına rağmen, insan pre-B ALL hücre hatlarının fare kemik iliği stromal hücre hattına yeniden yapışmasını sağlamak için yeterliydi. Ayrıca, kontrol fare kemik iliği stromal-EV hücre hattına kıyasla daha az sayıda insan pre-B ALL hücre hattının fare kemik iliği stromal-Gal3-KO hücre hattına göç ettiğini buldular²¹. Bu bulgular, stromal hücreler tarafından üretilen Gal-3'ün, kemik iliği mikroçevresindeki pre-B ALL hücrelerinin stromal hücrelere yapışmasını ve göçünü desteklemede önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Stromal hücreler tarafından üretilen Gal-3'ün pre-B ALL hücre göçünü nasıl desteklediği henüz açıklanamamıştır, ancak HeLa hücrelerinde Gal-3 aracılı ERK1/2 yolağının aktivasyonunun hücre göçü için gerekli olduğu gösterilmiştir⁴³.

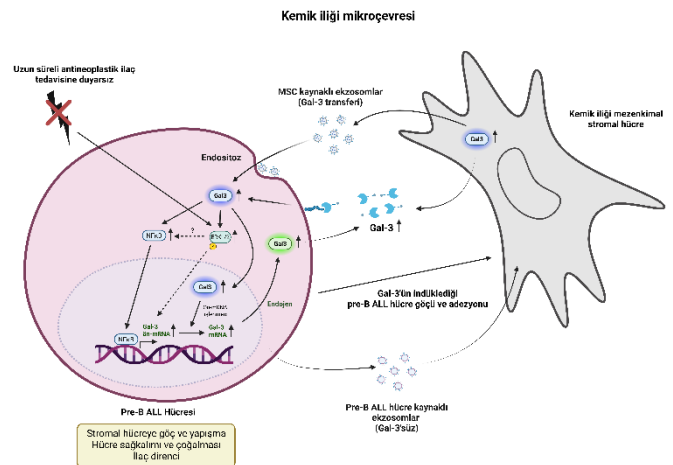
Daha sonra Tarighat ve arkadaşları stromal hücre tarafından üretilen Gal-3'ün insan pre-B ALL hücrelerinin ilaç duyarlılığı üzerindeki düzenleyici etkilerini incelemişlerdir. Bu nedenle, insan pre-B ALL hücre hatları, vinkristin veya nilotinib varlığında fare kemik iliği stromal-Gal3-KO hücre hattı veya kontrol fare kemik iliği stromal-EV hücre hattı ile uzun süreli kültürlendi. Fare kemik iliği stromal hücre hattında Gal-3 eksikliği, kontrol fare kemik iliği stromal-EV hücre hattına kıyasla, insan pre-B ALL hücre canlılığının daha düşük olmasıyla ölçüldüğü üzere, insan pre-B ALL hücre hatlarının antineoplastik ilaçlara duyarlılığını artırdı. Bu veriler doğrultusunda, ekstraselüler Gal-3'ün pre-B ALL hücrelerinde ilaç direnci sağlayabileceği düşünülmektedir. Antineoplastik ilaç tedavisinin yokluğunda, fare kemik iliği stromasının Gal-3 durumundan bağımsız olarak, insan pre-B ALL hücre hatlarının canlılığı etkilenmedi. Fare kemik iliği stromal-Gal3-KO hücre hattında insan Gal-3 ekspresyonu, ilaç tedavisi sırasında insan pre-B

ALL hücre hattının canlılığını artırabildi. Tarighat ve arkadaşları, Gal-3'ün, pre-B ALL hücrelerinde ilaç tedavisine karşı mikroçevre aracılı desteğe katkıda bulunduğunu ve Gal-3'ün inhibe edilmesinin pre-B ALL hücrelerinin antineoplastik ilaçlara duyarlılığını artırabileceği sonucuna vardılar²¹.

Talopiranozid-tabanlı küçük molekül antagonistleri Cpd14 ve Cpd17'nin Gal-1'e bağlanma afiniteleri oldukça düşük olduğundan Gal-3'e karşı oldukça spesifiklerdir⁴⁴. Tarighat ve arkadaşları, Cpd14 ve Cpd17'nin Gal-3 tarafından düzenlenen hücre aktiviteleri üzerindeki etkilerini test ettiler. Öncelikle, Cpd14'ün insan pre-B ALL hücre hatlarında fibronektin (FN) aracılı yapışma üzerindeki etkilerini test ettiler ve etkilerini, karbonhidrat yapılarına bağlanmada Gal-3'ün doğal bir rakibi olan β -laktozun etkileriyle karşılaştırdılar. Cpd14 monosakkarit-tabanlı bir bileşik olmasına rağmen, insan pre-B ALL hücre hatlarının FN'ye yapışmasını, disakkarit laktozdan yaklaşık 12 kat daha düşük bir konsantrasyonda engelleyebilmiştir²¹. Cpd14 ayrıca insan pre-B ALL hücre hatlarının hem bir fare kemik iliği stromal hücre hattına hem de stromal hücre kaynaklı bir kemokin olan SDF1- α 'ya 45 göçünü engelledi²¹. Ayrıca, Cpd14'ten önemli ölçüde daha düşük bir IC50'ye sahip olan Cpd17'nin 44, insan pre-B ALL hücre hattının bir fare kemik iliği stromal hücre hattına yapışmasını engellediğini buldular. Hem Cpd14 hem de Cpd17 ile tedavi, insan pre-B ALL hücre hatlarının apoptozunu artırdı. Ayrıca, Cpd17 tedavisi fare kemik iliği stromal hücre hattının varlığında insan pre-B ALL hücre çoğalmasında canlılığını baskıladı.

Daha sonra, uzun süreli Cpd17 ve vinkristin kombinasyon tedavisinin, fare kemik iliği stromal hücre hattının varlığında insan pre-B ALL hücre hatlarının proliferasyonu ve canlılığı üzerindeki etkisini test ettiler. Vinkristin ile kısa süreli tedavi, fare kemik iliği stromal hücre hattının varlığında insan pre-B ALL hücre

hatlarının çoğalmasında canlılığını baskıladı, ancak uzun süreli tedaviden sonra insan pre-B ALL hücre hatları hayatta kalıp çoğalmaya devam ettikçe nüksler meydana geldi. İlginç olarak, vinkristin ve Cpd17 ile uzun süreli kombinasyon tedavisi, kombinasyon tedavisine karşı direnç gelişimi ile birlikte relapsları baskılamış, ancak tamamen ortadan kaldırmamıştır. Bunun nedeni Gal-3 inhibitörlerinin sadece hücre dışı Gal-3'ü hedeflemesi ve ilaç kaynaklı endojen Gal-3'ü hedeflememesi olabilir. Nilotinib, kontrol tedavisine kıyasla insan pre-B ALL hücre hattında çoğalmayı azalttı, ancak nilotinib'e Cpd17 eklenmesi pre-B ALL hücre hattının çoğalmasında daha da azalttı²¹. Bu bulgular toplu olarak, stromal hücre tarafından üretilen Gal-3'ün, pre-B ALL hücrelerinin stromaya göçünü ve yapışmasını teşvik ederek ilaç tedavisine karşı koruduğunu ve Gal-3 inhibisyonunun antineoplastik ilaçlarla kombinasyonunun pre-B ALL hücrelerini antineoplastik ilaçlara karşı duyarlı hale getirebileceğini göstermektedir (Figür 3). Nüks olan pre-B ALL hastalarında Gal-3 inhibisyonunun uygulanabilirliğini belirlemek için, prelinik bulguların iyi tasarlanmış klinik çalışmalar yoluyla klinik ortama aktarılması esastır.



Figür 3: Stromal hücre kaynaklı Gal-3, pre-B ALL hücrelerinin göçünü, yapışmasını, sağkalımını ve çoğalmasında uyararak bu hücrelere ilaç direnci kazandırır. Kemik iliği mezenkimal stromal hücre Gal-3 proteinini eksprese eder ve ekzosomlar aracılığıyla

veya serbest çözünür protein olarak mikroçevreye salgılar. Serbest çözünür Gal-3 pre-B ALL hücre yüzeyindeki glikoproteinlere bağlanabilir. Pre-B ALL hücreleri Gal-3 proteinini ifade etmez ve salgılamaz, ancak kemik iliği mezenkimal stromal hücre ile pre-B ALL hücre arasındaki etkileşim, pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 protein ekspresyonunu ve salgılanmasını artırır.

Kemik iliği mezenkimal stromal hücre tarafından üretilen Gal-3, pre-B ALL hücre içine endositoz yoluyla taşınır ve hem sitoplazmada hem de çekirdekte bulunur. Hücre içine alınan ekzojen Gal-3 (mavi), pre-B ALL hücrelerinde NF- κ B alt birimlerin protein düzeyini artırarak NF- κ B yolağını aktive eder. NF- κ B ise Gal-3 gen transkripsiyonunu aktive edebilir. Ekzojen Gal-3, pre-B ALL hücrelerinde çekirdeğe göç eder ve burada Gal-3 ön-mRNA işlenmesini uyarıp, endojen Gal-3 mRNA (yeşil) düzeylerini artırır. Pre-B ALL hücreleri de ekzosomlar üretir, ancak Gal-3 içermezler ve içeriklerini kemik iliği mezenkimal stromal hücrelerine aktarabilirler. Antineoplastik ilaç tedavisi, Gal-3 protein ekspresyonunu pre-B ALL hücrelerinde stromal hücrelerinin yokluğunda artırmaz; bu da gözlenen ilaç kaynaklı Gal-3 protein artışı için stroma ile ALL hücreleri arasında hücre temasının gerekli olduğunu gösterir. Ancak stromal destek varlığında antineoplastik ilaç ile uzun süreli tedavi, pre-B ALL hücrelerinde en yüksek Gal-3 mRNA ve protein ekspresyonu ile sonuçlanmakta ve bunun bir kısmı üretilen de novo endojen Gal-3' tür. Uzun süreli antineoplastik ilaç tedavisi ve stromal destek ile sağlanan Gal-3, pre-B ALL hücrelerinde pERK1/2 protein düzeylerini ve ERK aktivasyonunu artırır. ERK, pre-B ALL hücrelerinde endojen Gal-3 mRNA ve protein ekspresyonunu artırır (BioRender'da oluşturuldu).

SONUÇ

Çok işlevli bir β -galaktozid bağlayıcı lektin olan Gal-3, pre-B ALL hücrelerinin hayatta kalmasında, çoğalmasında, ilaç direncinde ve stromal etkileşiminde önemli bir rol oynar. Çalışmalar, Gal-3'ün öncelikle kemik iliği

stromal hücreleri tarafından salgılandığını (ya çözünür bir protein olarak ya da ekzosomlar içinde) ve daha sonra pre-B ALL hücreler tarafından içselleştirildiğini, burada çekirdeğe taşındığını ve kendi geninin (LGALS3) transkripsiyonunu teşvik ederek kendini güçlendiren bir sağkalım döngüsü oluşturduğunu tutarlı bir şekilde göstermektedir. Antineoplastik ilaç kaynaklı stres altında (örneğin, vinkristin veya nilotinib), pre-B ALL hücrelerinde Gal-3 ekspresyonu belirgin şekilde yükselir, ancak bu artış stromal destekle doğrudan temasa bağlıdır. İşlevsel olarak Gal-3, ERK1/2, PI3K/AKT, β -katenin ve NF- κ B dahil olmak üzere kritik sinyal yollarını aktive ederek pre-B ALL hücre göçünü, yapışmasını, sağkalımını ve çoğalmasını uyararak bu hücrelere ilaç direnci kazandırır.

Gal-3'ün aşırı ekspresyonu ilaç direncini güçlendirirken, genetik delesyon (CRISPR/Cas9 yoluyla) veya farmakolojik inhibisyon (örneğin, glikomimetik bileşikler Cpd14 veya Cpd17 ile) pre-B ALL hücreleri tedaviye karşı duyarlı hale getirir ve koruyucu mikroçevre ile etkileşimlerini bozar. Ancak, Cpd14 ve Cpd17 inhibitörlerinin kimyasal olarak kararsız ve suda çözünmez olmaları nedeniyle in vivo preklinik çalışmalara uygun hale gelmeleri için daha fazla optimizasyona ihtiyaç duyulmaktadır²¹. Tüm bu bulgular, Gal-3'ün hem mikroçevre aracılı ilaç direncinin bir aracısı hem de güçlendiricisi olduğunu ve pre-B ALL'de tedavi etkinliğini artırmak için umut vadeden bir terapötik hedef olduğunu vurgulamaktadır. Etkili Gal-3 inhibitörlerinin hem hücre içi etki ederek hücre-içi kaynaklı Gal-3'ü inhibe etmesi hem de kemik iliği mikroçevresinde stromal hücreler tarafından üretilen Gal-3'ü etkisiz hale getirmesi gerekmektedir.

Gal3'ün farmakolojik hedeflenmesi, refrakter/nüks AML için yeni bir tedavi olarak önerilmiştir. TD139 (GB0139) ve selvigaltin (GB1211) gibi sentetik küçük moleküllü

inhibitörler, Gal-3 CRD'sine daha yüksek seçicilik ve afinite ile bağlanarak hem klinik öncesi modellerde hem de erken klinik çalışmalarda güçlü anti-fibrotik, anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkiler göstermiş olup, bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri gibi diğer terapilerin etkinliğini artırma yeteneğine sahiptir²⁷.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Çalışma için herhangi bir kurumdan finansal destek alınmamıştır.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declared No conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received from any institution for the study.

KAYNAKLAR

1. Dander E, Palmi C, D'Amico G, et al. The Bone Marrow Niche in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: The Role of Microenvironment from Pre-Leukemia to Overt Leukemia. *Int J Mol Sci* 2021; 22(9): 4426.
2. Sun W, Malvar J, Sposto R, et al. Outcome of children with multiply relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia: a therapeutic advances in childhood leukemia & lymphoma study. *Leukemia* 2018; 32(11): 2316–25.
3. Yu K, Wang J, Lu T, et al. Overexpression of heme oxygenase-1 in microenvironment mediates vincristine resistance of B-cell acute lymphoblastic leukemia by promoting vascular endothelial growth factor secretion. *J Cell Biochem* 2019; 120(10): 17791–810.
4. Stock W. Current treatment options for adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2010; 51(2): 188–98.
5. Pui C-H, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006; 354(2): 166–78.
6. Housman G, Byler S, Heerboth S, et al. Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancers (Basel)* 2014; 6(3): 1769–92.
7. Jędraszek K, Malczewska M, Parysek-Wójcik K, et al. Resistance Mechanisms in Pediatric B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci* 2022; 23(6): 3067.
8. Mengxuan S, Fen Z, Runming J. Novel Treatments for Pediatric Relapsed or Refractory Acute B-Cell Lineage Lymphoblastic Leukemia: Precision Medicine Era. *Front Pediatr* 2022; 10: 923419.
9. Nguyen K, Devidas M, Cheng SC, et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *Leukemia* 2008; 22(12): 2142–50.
10. Manabe A, Coustan-Smith E, Behm F, et al. Bone marrow-derived stromal cells prevent apoptotic cell death in B- lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1992; 79(9): 2370–7.
11. Ayala F, Dewar R, Kieran M, et al. Contribution of bone microenvironment to leukemogenesis and leukemia progression. *Leukemia* 2009; 23(12): 2233–41.
12. Zhang B, Groffen J, Heisterkamp N. Increased resistance to a farnesyltransferase inhibitor by N-cadherin expression in Bcr/Abl-P190 lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia* 2007; 21(6): 1189–97.
13. Chou FC, Chen HY, Kuo CC, et al. Role of Galectins in Tumors and in Clinical Immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2018; 19(2): 430.
14. Wang L, Guo XL. Molecular regulation of galectin-3 expression and therapeutic implication in cancer progression. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2016; 78: 165–71.
15. Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Nuclear transport of galectin-3 and its therapeutic implications. *Semin Cancer Biol* 2014; 27: 30–8.
16. Ahmed R, Anam K, Ahmed H. Development of Galectin-3 Targeting Drugs for Therapeutic Applications in Various Diseases. *Int J Mol Sci* 2023; 24(9): 8116.
17. Cheng CL, Hou HA, Lee MC, et al. Higher bone marrow LGALS3 expression is an independent unfavorable prognostic factor for overall survival in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 121(16): 3172–80.

18. Fei F, Abdel-Azim H, Lim M, et al. Galectin-3 in pre-B acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2013; 27(12): 2385–8.
19. Yamamoto-Sugitani M, Kuroda J, Ashihara E, et al. Galectin-3 (Gal-3) induced by leukemia microenvironment promotes drug resistance and bone marrow lodgment in chronic myelogenous leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(42): 17468–73.
20. Fei F, Joo EJ, Tarighat SS, et al. B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia and stromal cells communicate through Galectin-3. *Oncotarget* 2015; 6(13): 11378–94.
21. Tarighat SS, Fei F, Joo EJ, et al. Overcoming Microenvironment-Mediated Chemoprotection through Stromal Galectin-3 Inhibition in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci* 2021; 22(22): 12167.
22. Feldhahn N, Arutyunyan A, Stoddart S, et al. Environment-mediated drug resistance in Bcr/Abl-positive acute lymphoblastic leukemia. *Oncoimmunology* 2012; 1(5): 618–629.
23. Yoshii T, Fukumori T, Honjo Y, et al. Galectin-3 Phosphorylation Is Required for Its Anti-apoptotic Function and Cell Cycle Arrest. *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277(9): 6852–7.
24. Takenaka Y, Fukumori T, Yoshii T, et al. Nuclear export of phosphorylated galectin-3 regulates its antiapoptotic activity in response to chemotherapeutic drugs. *Mol Cell Biol* 2004; 24(10): 4395–406.
25. Tabe Y, Konopleva M. Advances in understanding the leukaemia microenvironment. *Br J Haematol* 2014; 164(6): 767–78.
26. Azizidoost S, Babashah S, Rahim F, et al. Bone marrow neoplastic niche in leukemia. *Hematology* 2014; 19(4): 232–8.
27. Yıldırım C. Galectin-3 Release in the Bone Marrow Microenvironment Promotes Drug Resistance and Relapse in Acute Myeloid Leukemia. *Life* 2025; 15(6): 937.
28. Hu K, Gu Y, Lou L, et al. Galectin-3 mediates bone marrow microenvironment-induced drug resistance in acute leukemia cells via Wnt/ β -catenin signaling pathway. *J Hematol Oncol* 2015; 8(1): 1.
29. Song S, Mazurek N, Liu C, et al. Galectin-3 Mediates Nuclear β -Catenin Accumulation and Wnt Signaling in Human Colon Cancer Cells by Regulation of Glycogen Synthase Kinase-3 β Activity. *Cancer Res* 2009; 69(4): 1343–9.
30. Kobayashi T, Shimura T, Yajima T, et al. Transient gene silencing of galectin-3 suppresses pancreatic cancer cell migration and invasion through degradation of β -catenin. *Int J Cancer* 2011; 129(12): 2775–86.
31. Luis TC, Ichii M, Brugman MH, et al. Wnt signaling strength regulates normal hematopoiesis and its deregulation is involved in leukemia development. *Leukemia* 2012; 26(3): 414–21.
32. Kuek V, Hughes AM, Kotecha RS, et al. Therapeutic Targeting of the Leukaemia Microenvironment. *Int J Mol Sci* 2021; 22(13): 6888.
33. Kumar B, Garcia M, Weng L, et al. Acute myeloid leukemia transforms the bone marrow niche into a leukemia-permissive microenvironment through exosome secretion. *Leukemia* 2018; 32(3): 575–87.
34. Hsu DK, Chen HY, Liu FT. Galectin-3 regulates T-cell functions. *Immunol Rev* 2009; 230(1): 114–27.
35. Balan V, Nangia-Makker P, Jung YS, et al. Galectin-3: A novel substrate for c-Abl kinase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2010; 1803(10): 1198–205.
36. Fei F, Zhang M, Tarighat SS, et al. Galectin-1 and Galectin-3 in B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci* 2022; 23(22): 14359.
37. Dumić J, Dabelić S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760(4): 616–35.
38. Haudek KC, Spronk KJ, Voss PG, et al. Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 2010; 1800(2): 181–9.
39. Choi S, Henderson MJ, Kwan E, et al. Relapse in children with acute lymphoblastic leukemia involving selection of a preexisting drug-resistant subclone. *Blood* 2007; 110(2): 632–9.
40. Chiarini F, Lonetti A, Evangelisti C, et al. Advances in understanding the acute lymphoblastic leukemia bone marrow microenvironment: From

biology to therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1863(3): 449–63.

41. Yeoh AEJ, Li Z, Dong D, et al. Effective Response Metric: a novel tool to predict relapse in childhood acute lymphoblastic leukaemia using time-series gene expression profiling. *Br J Haematol* 2018; 181(5): 653–63.

42. Fortuna-Costa A, Gomes AM, Kozłowski EO, et al. Extracellular Galectin-3 in Tumor Progression and Metastasis. *Front Oncol* 2014; 4: 138.

43. Gao X, Balan V, Tai G, et al. Galectin-3 induces cell migration via a calcium-sensitive MAPK/ERK1/2 pathway. *Oncotarget* 2014; 5(8): 2077–84.

44. Bum-Erdene K, Collins PM, Hugo MW, et al. Novel Selective Galectin-3 Antagonists Are Cytotoxic to Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Med Chem* 2022; 65(8): 5975–89.

45. Fallati A, Di Marzo N, D’Amico G, et al. Mesenchymal Stromal Cells (MSCs): An Ally of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL) Cells in Disease Maintenance and Progression within the Bone Marrow Hematopoietic Niche. *Cancers (Basel)* 2022; 14(14): 3303.