

Белки CRABP – родственники или однофамильцы?

Е.М. Чевкина, И.А. Фаворская

Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»;
Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Елена Максимовна Чевкина tchevkina@mail.ru

Ретиноевая кислота (РК) – наиболее активный метаболит витамина А (ретинола), регулирующий широкий спектр физиологических процессов в организме, в том числе эмбриональное развитие, формирование иммунного ответа, гемопоэз, метаболизм глюкозы и липидов и др. РК участвует в регуляции важнейших аспектов жизнедеятельности клеток, включая дифференцировку, пролиферацию и программируемую клеточную гибель. Обзор посвящен сравнению 2 высокоомологичных представителей семейства внутриклеточных липидсвязывающих белков CRABP1 и CRABP2, основная и единственно установленная на сегодняшний день функция которых – внутриклеточное связывание РК. Однако значение данного связывания, по-видимому, различно. Связывание CRABP2 с РК приводит к активации ядерных рецепторов (RAR/RXR), являющихся транскрипционными факторами, и последующей стимуляции экспрессии целого ряда ретиноид-респонсивных генов. Значение связывания CRABP1 с РК менее понятно. Есть свидетельства сходного действия белков CRABP1 и CRABP2 в отношении усиления эффекта РК, однако большая часть данных указывает на противоположную роль CRABP1 – снижение внутриклеточной концентрации и/или уменьшение биодоступности РК за счет усиления ее метаболизма или секвестрирования в цитоплазме. Результаты последних исследований указывают на то, что у белков CRABP могут быть функции, не связанные с проведением сигнала от РК. Также противоречивы данные о роли этих белков в канцерогенезе и опухолевой прогрессии. В обзоре рассматриваются функции РК и молекулярные механизмы, опосредующие ее активность, включая различные аспекты функционирования рецепторов РК, приводится сравнительный анализ структурно-функциональных характеристик белков CRABP и рассматриваются возможные механизмы их внутриклеточной активности, как связанные с РК, так и независимые от ретиноевого сигналинга. Особое внимание уделено анализу данных о связи белков CRABP с канцерогенезом и их участием в опухолевой прогрессии, в том числе указывающих как на опухоль-супрессорную функцию, так и на протуморогенную активность.

Ключевые слова: ретиноевая кислота, рецепторы ретиноевой кислоты, ретиноид-респонсивные гены, белок CRABP1, белок CRABP2, опухолевая прогрессия

DOI: 10.17 650/2313-805X. 2015.2.2.6–16

CRABP proteins – relatives or homonyms?

E. M. Tchevkina, I. A. Favorskaya

Research Institute of Carcinogenesis, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Retinoic acid being the most active metabolite of vitamin A (retinol) regulates the wide spectrum of physiological processes including embryonic development, development of immune response, hematopoiesis, glucose and lipids metabolism, etc. Retinoic acid participates in the regulation of such important aspects of life-sustaining activity as cell differentiation, proliferation and programmed cell death. This review is focused on comparison of two highly homologous members of lipid-binding proteins family, CRABP1 and CRABP2. Although binding of retinoic acid is the only known function of these proteins the physiological meaning this interaction seems to be rather different. CRABP2 binding of retinoic acid leads to the activation of RAR/RXR nuclear receptors, that act as transcription factors, and further stimulation of expression of numerous retinoic responsive genes. The meaning of CRABP1 binding of retinoic acid is less clear. Some data evidences for the similar action of CRABP1 and CRABP2 in regard to the potentiation of the retinoic acid effect, while the majority of data points on the opposite role of CRABP1, that is reduction of intracellular concentration of retinoic acid and/or decrease of retinoic acid bioavailability through the potentiation of its catabolism or sequestration in the cytosol. The most recent publications also suggest some additional functions of these proteins that could be independent of retinoic acid signalling. The data concerning the roles of these proteins in carcinogenesis and tumor progression are contradictory as well. This review covers the functions of retinoic acid as well as the molecular mechanisms mediating its activity including the different aspects of retinoic acid receptors activity. The review also comprises the comparative structural-functional analysis of CRABP proteins and probable mechanisms of their intracellular activity including those associated with retinoic acid signalling and retinoic acid-independent. A special attention is drawn to the analysis of the data on the involvement of CRABP proteins in the carcinogenesis and tumor progression. The data pointing on either oncogenic or tumor-suppressive functions are given for each protein.

Key words: retinoic acid, retinoic acid receptors, retinoic-responsive genes, protein CRABP1, protein CRABP2, tumor progression

Введение

Белки CRABP (cellular retinoic acid binding proteins) относятся к семейству iLBPs (intracellular lipid binding proteins), представленному небольшими белками,

обладающими очень сходной структурой, но селективно связывающими лиганды (различные липофильные молекулы) [1–3]. В частности, белки CRABP1 и CRABP2 связывают ретиноевую кислоту (РК),

в то время как другие белки *iLBP*, более известные как *FABPs* (fatty acid binding proteins), связывают различные жирные кислоты и их производные. Несмотря на то, что белки *CRABP* играют большую роль в реализации эффекта РК, а также, согласно последним данным, обладают и другими важнейшими активностями, не связанными с ретиновым сигналингом, они исследованы недостаточно, а имеющиеся немногочисленные данные очень противоречивы. Удивительно, но эти близкородственные белки, обладая большим сходством (как по аминокислотной последовательности, так и по третичной структуре), могут выполнять противоположные функции как в аспекте проведения сигналов от РК, так и в целом в отношении малигнизации клеток. Ситуация осложняется еще и тем, что каждый из 2 белков *CRABP* также может выполнять как протуморогенную, так и супрессорную функцию, что, по-видимому, зависит от конкретного гистологического типа опухоли и клеточного контекста. В данном обзоре мы попытались систематизировать имеющиеся данные и сравнить белки *CRABP1* и *CRABP2* в отношении их биологической активности и функционального значения в аспекте канцерогенеза и опухолевой прогрессии.

Основные функции ретиновой кислоты

РК, будучи наиболее активным производным витамина А (ретинола), играет важную роль в самых различных биологических процессах. Прежде всего, она активно участвует в процессах эмбриогенеза, являясь первым обнаруженным морфогеном хордовых животных [4]. РК важна для развития органов и тканей позвоночных благодаря своей способности вызывать дифференцировку клеток и регулировать апоптоз [5]. Показано, что РК играет важную роль в развитии центральной нервной системы [6], легких [7], в формировании конечностей [8], а также в процессах гемопоеза [9].

РК, как и ретинол, участвует в формировании иммунного ответа и способна модулировать широкий спектр иммунных реакций организма. В частности, РК стимулирует дифференцировку В-клеток в плазмциты, тем самым повышая титр антител [10]. Также известно, что РК усиливает тканеспецифичный хоуминг В- и Т-лимфоцитов [11].

Функциональная активность РК в клетке реализуется посредством специфичных ядерных рецепторов, являющихся транскрипционными факторами. С помощью этих белков РК может регулировать экспрессию более 500 генов-мишеней. Среди последних можно выделить гены, участвующие в метаболизме и транспорте самой РК, такие как *CRBP1/2*, *CRABP1/2*, *CYP26A1*, белки *RAR*; ряд генов семейства *HOX*, определяющих формирование переднезадней оси в период эмбрионального развития; ген *17β*-гидроксистероиддегидрогеназы *EDH17B2*, задействованной в синтезе стероидов; гены, кодирующие ряд белков внеклеточ-

ного матрикса, например, $\beta 3$ -интегрин и ламинин В1. К генам-мишеням также относят ряд сигнальных молекул и гормонов, мембранных рецепторов, в частности эритропоэтин, гормон роста, тканевой активатор плазминогена, рецептор интерлейкина-2 α и др. [12, 13]. Таким образом, РК регулирует экспрессию целого спектра различных генов, что отражает ее вовлеченность во многие биологические процессы. Важно отметить, что существуют различные виды рецепторов, с которыми РК специфически взаимодействует в различных клетках (см. ниже). С учетом пролиферационной активности РК считают, что в аспекте канцерогенеза она выполняет опухоль-супрессорную функцию. Действительно, многочисленные исследования подтверждают способность РК стимулировать дифференцировку опухолевых клеток [5, 14, 15], а также подавлять клеточную пролиферацию [16, 17]. Так, РК стимулирует остановку клеточного цикла и миелоидную дифференцировку клеток HL-60 (промиелоцитарный лейкоз) [15, 18], дифференцировку клеток В-16 (меланома) [14] и F9 (эмбриональная тератоканцинома) [19], апоптоз зрелых клеток острого промиелоцитарного лейкоза NB4 [20]. Для ряда клеток карциномы молочной железы показано ростиингибирующее действие РК посредством остановки клеточного цикла и/или апоптоза [21–23]. Исследования доказывают способность РК подавлять пролиферацию опухолевых клеток [16, 17, 24], а также ингибировать ангиогенез [25, 26]. Способность стимулировать апоптоз также продемонстрирована на целом ряде опухолевых клеток различного происхождения [27–29]. Показано, что РК активирует экспрессию некоторых проапоптотических генов, в частности каспаз-7 и -9 [30], однако механизм РК-зависимой активации программированной клеточной гибели до конца не ясен. На сегодняшний день известно, что РК способна воздействовать на различные стадии апоптоза. Так, РК и ее производные вызывают повышение активации стрессорных MAPK-киназ (в основном JNK), что стимулирует апоптоз в различных клеточных культурах [27]. В клеточных культурах гастроинтестинальных опухолей РК вызывает повышение экспрессии проапоптотического белка Вах и снижает экспрессию известного ингибитора каспаз – белка BIRC5 (сурвивинна) [31]. Важно отметить, что в этом случае не наблюдается активации стрессорных MAPK-киназ. Наконец, РК вызывает повышение экспрессии p21, что в зависимости от клеточного контекста может приводить не только к подавлению пролиферации, но и вызывать апоптоз [24]. В настоящее время активно предпринимаются попытки использования РК и ее аналогов для терапии различных онкологических заболеваний, таких как опухоли головы и шеи [32], шейки матки, яичников и нейробластомы [33], а также саркомы Капоши [34].

Нужно отметить, что есть данные, свидетельствующие о том, что РК может способствовать выживанию

и пролиферации клеток, и даже усиливать формирование опухолей. Это прежде всего относится к клеткам кожи [35–37] и нейронам [38–41].

Считается, что РК обладает преимущественно проапоптотической и стимулирующей дифференцировку активностью, что обуславливает ее опухолепрессионную функцию. При этом РК может способствовать и выживанию опухолевых клеток. Данные различия в действии РК обеспечиваются, по-видимому, ее взаимодействием с различными ядерными рецепторами, что, в свою очередь, определяет активацию транскрипции различных генов-мишеней.

Рецепторы ретиноевой кислоты

Рецепторы РК относятся к семейству стероидных и тиреоидных гормонов и являются лигандзависимыми транскрипционными факторами. Наиболее известны 2 основных класса ретиноидных рецепторов: RAR (retinoic acid receptor) и RXR (retinoid x receptor). С белками RAR связываются транс-РК и 9-цис-РК, с RXR — только 9-цис-РК. Но так как транс-РК способна превращаться в 9-цис-РК, высокие концентрации транс-РК также активируют RXR [42]. Доставку РК до RAR и RXR осуществляют белки CRABP, строение и особенности функционирования которых будут рассмотрены ниже.

В состав каждого класса рецепторов входят 3 подтипа: α , β и γ , кодируемые различными генами. Строение этих белков хорошо охарактеризовано: каждый из них состоит из слабоструктурированного и вариабельного N-концевого домена и 2 высококонсервативных доменов: центрального ДНК-связывающего и C-концевого, ответственного за взаимодействие с РК, димеризацию и взаимодействие с активаторами транскрипции [43]. Белки RXR могут связываться с ДНК и активировать транскрипцию в виде гомодимера, в то время как активация транскрипции белками RAR обычно осуществляется в составе гетеродимера с RXR. После присоединения лиганда (РК) гетеродимер RAR–RXR связывается с определенной последовательностью ДНК в промоторе ретиноид-респонсивных генов — RARE (retinoic acid response element). Последовательность RARE достаточно хорошо охарактеризована, она состоит из 2 гексамерных повторов [A/G]G[G/T]TCA, разделенных 5 (DR5), 2 (DR2) или 1 (DR1) нуклеотидом [44]. В настоящее время предложен следующий механизм регуляции транскрипции гетеродимером RAR–RXR. В отсутствие РК гетеродимер RAR–RXR связан с комплексом белков, ответственных за репрессию транскрипции и конденсацию хроматина [45]. Связывание с РК приводит к изменению конформации в лигандсвязывающем домене гетеродимера, что, в свою очередь, приводит к высвобождению репрессоров и связыванию коактиваторов транскрипции [46]. После модификации гистонов к промотору привлекается РНК-полимераза II и начинается транскрипция.

Помимо белков RAR и RXR РК может связываться и с другими ядерными рецепторами. Показано, что РК является лигандом для рецептора PPAR β/δ [47, 48], который принадлежит к подклассу рецепторов, также включающему PPAR α и PPAR γ , функционирующих, подобно RAR, в гетеродимере с RXR. Селективное связывание РК с PPAR β/δ было предположено на основе данных о существенно большей аффинности взаимодействия РК с PPAR β/δ по сравнению с PPAR α или PPAR γ [47].

Доставку РК к ядерным рецепторам осуществляют вышеупомянутые белки семейства iLBP. Недавние исследования показали, что 3 белка семейства iLBP: CRABP2, FABP5 и FABP4 (основные представители семейства, способные связывать РК) избирательно взаимодействуют с ядерными рецепторами RAR α , PPAR β/δ и PPAR γ соответственно.

Функции белков, связывающих жирные кислоты

Белки iLBP в отсутствие связывания с лигандом находятся в цитоплазме. Связывание с лигандами (в частности, с РК) приводит к конформационным изменениям, активирующим сигнал ядерной локализации, и белки перемещаются в ядро. В ядре происходит взаимодействие с соответствующим рецептором, формируется комплекс, и РК «передается рецептору». Таким образом, белки iLBP не только облегчают связывание РК с соответствующими рецепторами, но и усиливают их транскрипционную активность [49–53]. Активируя ядерный рецептор RAR или PPAR β/δ , РК индуцирует экспрессию различных ретиноид-респонсивных генов. Важно подчеркнуть, что репертуар генов, находящихся под контролем РК, включает в себя RAR- и PPAR β/δ -зависимые. Исследования показали, что распределение РК между этими 2 рецепторами регулируется родственными iLBPs: CRABP2 доставляет РК к RAR, в то время как FABP5 транспортирует ее к PPAR β/δ . Следует отметить, что аффинность взаимодействия комплекса CRABP2–RAR с РК выше, чем у FABP5–PPAR β/δ [49, 53, 54]. Это объясняет тот факт, что в большинстве клеток действие РК через RAR доминирует, и активация FABP5/PPAR β/δ -пути возможна только в клетках с большим соотношением FABP5/CRABP2. Так, например, в клетках линии MCF-7, характеризующихся низким соотношением FABP5/CRABP2, РК активирует RAR, при этом кератиноциты, которые характеризуются высоким соотношением FABP5/CRABP2, отвечают на РК преимущественной активацией PPAR β/δ . Что касается CRABP1, вопрос его функционального значения в отношении РК и ее доставки к рецепторам остается открытым, и имеющиеся представления будут рассмотрены ниже. Интересно, что, хотя FABP5 кроме РК способен связывать еще целый ряд лигандов, только связывание РК вызывает его ядерную транслокацию и дальнейшее связывание с PPAR β/δ [53].

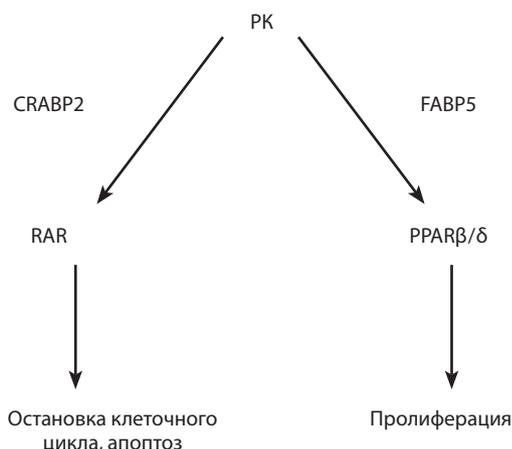


Рис. 1. Эффекты PK, опосредуемые взаимодействием с различными рецепторами

Связывание PK с разными рецепторами вызывает активацию разных генов и, соответственно, оказывает различные эффекты. Так, RAR преимущественно активируют гены, индуцирующие дифференцировку, апоптоз или остановку клеточного цикла [30, 55–60], а PPAR β/δ – гены, ответственные за выживание, пролиферацию и ангиогенез [48, 61–64]. В соответствии с этим PK ингибирует рост клеток карцином, в которых высоко экспрессирован CRABP2 [48, 50, 52, 59, 65], но усиливает онкогенный потенциал клеток, экспрессирующих PPAR β/δ [48, 66, 67]. Схематично действие PK, опосредуемое взаимодействием с разными белками iLBP, представлено на рис. 1.

Важно отметить, что немногочисленные типы клеток с высоким соотношением FABP5/CRABP2, в которых происходит преимущественная активация PPAR β/δ , тем не менее сохраняют способность экспрессировать некоторые гены-мишени RAR, в частности *Cyp26a*, продукт которого катализирует PK. Таким образом, возможно, происходит регулировка, предохраняющая клетку от избыточной PK-зависимой активации PPAR β -сигнального каскада [68].

Эта схема представляется достаточно упрощенной и не объясняет недавно появившиеся данные о PK-зависимой активации генов, стимулирующих прохождение клеточного цикла и пролиферацию, включая циклинзависимые киназы и циклин D1, посредством активации рецепторов RAR/RXR [69].

Строение и функции белков CRABP1 и CRABP2

Рассмотрим подробнее основные характеристики белков CRABP1 и CRABP2. Эти высококонсервативные белки очень сходны как по первичной (74 % гомологии по аминокислотной последовательности), так и по третичной структуре. Ген *CRABP1* локализован на длинном плече 15-й хромосомы (15q24), с него транскрибируется одна матричная РНК (мРНК). Белок CRABP1 состоит из 137 аминокислот и имеет молекулярную массу 15,5 кДа. CRABP1 обладает характерной для всех белков семейства трехмерной

структурой, состоящей из 4 β -слоев. Активный центр белка CRABP1 представлен 3 аминокислотами, лежащими на поверхности «бочонка», образованного β -слоями. Главную роль в связывании CRABP1 с PK играет аргинин в 131-м положении, так как его положительно заряженный боковой радикал напрямую взаимодействует с карбоксильной группой PK [70].

Ген *CRABP2* располагается на 1-й хромосоме (1q21.3). С него транскрибируются 3 различные мРНК. Белок CRABP2 состоит из 138 аминокислот и имеет молекулярную массу 15,7 кДа. Как уже говорилось, оба белка CRABP обладают сходной третичной структурой, имеют сигнал ядерной локализации и даже связывают PK со сходной аффинностью (константа диссоциации различается всего в 2 раза) [49]. Важно отметить, что оба гена, кодирующие белки CRABP, в свою очередь, сами являются мишенями PK, и их экспрессия регулируется PK наряду с другими генами, задействованными в ее метаболизме и транспорте, включая *CRBP1/2*, *CRABP1/2*, *CYP26A1*, белки RAR и др. Существуют и другие способы регуляции белков CRABP, во всяком случае, это показано для CRABP2, о котором в литературе имеется больше данных. Так, экспрессия CRABP2 может напрямую регулироваться эстрогеном (в клетках матки крысы) за счет имеющегося в промоторе CRABP2 сайта, связывающего эстрогеновые рецепторы [71], и эта регуляция происходит независимо от PK. Сходные данные получены на нескольких клеточных линиях карциномы молочной железы, где эстроген усиливает экспрессию CRABP2 [72].

Белки CRABP обнаружены у всех позвоночных, при этом уровни экспрессии CRABP1 и CRABP2 широко варьируют в зависимости от стадии онтогенеза и типа ткани. В тканях эмбрионов оба белка CRABP экспрессируются достаточно широко, хотя считают, что обычно одновременно они не встречаются в одних и тех же клетках [7, 73]. У взрослых особей CRABP1 экспрессируется убиквитарно, но уровень его экспрессии достаточно низок (за исключением сетчатки глаза). CRABP2 экспрессируется преимущественно в коже, матке, яичниках, яичках [74–76] и сосудистом сплетении мозга [77]. Очевидно, что основная функция белков CRABP (как и других внутриклеточных липидсвязывающих белков) – солюбилизация и транспорт липофильного лиганда (в данном случае PK) в водной фазе цитоплазмы. При этом различия паттернов экспрессии белков CRABP позволяют предположить различие ролей CRABP1 и CRABP2 в реализации функциональной активности PK в организме.

Функции CRABP2

Основная доказанная функция белка CRABP2 – транспорт PK из цитоплазмы в ядро к RAR, что, в свою очередь, вызывает активацию RAR-зависимых генов, большая часть которых участвует в антипролиферативных и/или проапоптотических процессах

в клетке. К одной из таких мишеней относится р53-зависимый ген В-клеточной транслокации *Btg2* [59]. В его промоторе был найден РК-связывающий участок, взаимодействующий с гетеродимером RXR–РК и, следовательно, ответственный за РК-индуцированную активацию *Btg2*. Антипролиферативный эффект *Btg2* опосредован его подавляющим действием на экспрессию циклина D1.

Другими мишенями, опосредующими РК-индуцированный апоптоз (показано на клетках MCF-7), являются гены каспаз-7 и -9 и их сериновые протеазы [30]. При этом экспрессия каспазы-7 активируется через ряд посредников, а ген каспазы-9 – прямая мишень RAR. Существует еще целый ряд генов, контролируемых РК посредством активации RAR, включая *UBE1L* (ubiquitin-activating enzyme E1-like protein), *C/EBPepsilon* (CCAAT/enhancer binding protein), и TNF-зависимый белок TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, также известный как Apo-2L) [20, 78, 79]. Кроме того, на клетках карциномы молочной железы показано снижение экспрессии ряда генов, ассоциированное с РК-зависимым подавлением пролиферации, таких как *Bcl-2* и сурвивин [80, 81], а также повышение экспрессии опухолевого супрессора PDCD4 и транскрипционного фактора SOX9 [55, 56]. К сожалению, детальный механизм РК-зависимой активации этих генов остается до конца не выясненным.

В соответствии с основной пролиферативной и антипролиферативной функцией РК предполагается, что и CRABP2 является опухоль-супрессорным фактором. В пользу этой гипотезы свидетельствует ряд данных. В частности, показано, что отсутствие экспрессии белка CRABP2 ассоциировано с неблагоприятным прогнозом при плоскоклеточном раке головы и шеи [82]. Снижение продукции белка CRABP2 коррелирует с увеличением степени злокачественности астроцитарных глиом и неблагоприятным прогнозом для пациентов [83]. Кроме того, обнаружено, что гиперэкспрессия CRABP2 усиливает чувствительность клеток карциномы молочной железы MCF-7 к РК-обусловленной остановке пролиферации [50] и стимулирует TNF- α -зависимый апоптоз после обработки РК кератиноцитов линии HaCaT [48]. Снижение экспрессии CRABP2 также ассоциировано с эндометриозом, что подтверждает роль данного белка в регуляции пролиферации эпителиальных клеток [84]. Наши собственные данные также свидетельствуют в пользу супрессорной роли CRABP2 при немелкоклеточном раке легкого. Так, мы доказали, что снижение экспрессии CRABP2 в образцах опухолей по сравнению с условно нормальной тканью коррелирует с наличием метастазов в регионарные лимфатические узлы [85].

С другой стороны, есть и данные, свидетельствующие о вовлеченности CRABP2 в прогрессию опухолей. В частности, показано увеличение его экспрессии на поздних стадиях рака молочной железы (PMЖ). Ги-

перэкспрессия CRABP2 обнаружена в клетках PMЖ в сравнении с нормальной тканью [86]. Такая же картина наблюдается в клетках лейомиомы матки [87] и промиелоцитарного лейкоза [88, 89]. Кроме того, высокий уровень CRABP2 продемонстрирован при раке мочевого пузыря [90]. Повышенная экспрессия CRABP2 характерна для ретинобластом с выраженными инвазивными свойствами [91]. Интересно, что ранее, в 1998 г. было показано, что экспрессия антисмысловой мРНК CRABP2 в клетках плоскоклеточного рака головы и шеи приводит к снижению инвазивной активности клеток [92]. Гиперэкспрессия CRABP2 также обнаружена в клетках MCF-7, устойчивых к мелфалану [93], и кератиноцитах, устойчивых к форболовому эфиру, что свидетельствует о возможной роли данного белка в приобретении клетками лекарственной устойчивости.

Тем не менее в целом большая часть данных указывает на опухолесупрессорное действие CRABP2 путем доставки РК к RAR и активации экспрессии проапоптотических или пролиферативных генов. Однако не так давно появились данные о том, что этот белок способен проявлять свою активность независимо от РК и ее рецепторов [94]. Например, доказано, что, хотя экспрессия фактора, активирующего апоптотические пептидазы (apoptotic peptidase-activating factor 1, Apaf-1), главного белка апоптосом, не контролируется РК и RAR, эктопическая экспрессия CRABP2 увеличивает его содержание как в культуре клеток, так и *in vivo* [30, 65, 94]. Было обнаружено также, что экспрессия CRABP2 в клетках PMЖ в отсутствие РК усиливает процессинг некоторых каспаз, что демонстрирует проапоптотическую активность этого белка в отсутствие лиганда [30, 94]. Вообще РК-независимая функция CRABP2 показана на нескольких типах клеток, например на клетках карциномы молочной железы [50, 52] и промиелоцитарного лейкоза [88, 89].

Таким образом, оба вопроса: можно ли считать CRABP2 опухолевым супрессором, и связана ли активность CRABP2 с его основной функцией – связыванием РК, – остаются открытыми.

Как может реализовываться РК-независимая функция CRABP2? Недавно обнаружено, что CRABP2 взаимодействует с белком HuR, одним из наиболее охарактеризованных членов семейства Hu-белков, вовлеченных в посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов у животных [95], и это взаимодействие усиливает функциональную активность HuR. HuR – убиквитарно экспрессирующийся белок, связывающий РНК. Он имеет множество биологических функций, среди которых сплайсинг РНК, ядерный экспорт, стабилизация транскриптов. Он осуществляет их, связываясь с AU-богатыми элементами 3'-UTR областей целевой мРНК, тем самым защищая их от деградации и усиливая их экспрессию [96–98]. CRABP2 кооперирует с HuR в стабилизации определенных мРНК, повышая аффинность HuR к некоторым

транскриптам. CRABP2 таким образом увеличивает экспрессию некоторых генов, включая *Araf-1*, *Casp7*, а также самого *HuR*. Важно отметить, что эта функция выполняется белком CRABP2 независимо от PK и RAR. Это было доказано в эксперименте с использованием мутантного белка CRABP2, у которого отсутствовал сигнал ядерной локализации. Показано, что обе формы белка (как дикого типа, так и мутантный) в равной степени повышают экспрессию *Araf-1* как на уровне мРНК, так и на уровне белка [94].

Интересно, что и протуморогенная активность CRABP2 не зависит от его функции связывания PK. И в этом случае она, по-видимому, также реализуется при участии белков семейства Nu. В частности, показано значительное повышение уровня CRABP2 в нейробластомах, где имеется амплификация *MycN* (данная амплификация считается основным критерием неблагоприятного клинического прогноза при нейробластомах). При этом авторы демонстрируют, что *MycN* напрямую активирует экспрессию CRABP2, связываясь с определенным сайтом в промоторе CRABP2, и этот эффект является PK-независимым. CRABP2 с помощью не совсем понятного механизма увеличивает продукцию белков HuD и HuB, и это сопровождается усилением экспрессии *MycN*. Соответственно, возникает петля положительной обратной связи, приводящая к усилению малигнизации клеток. Авторы даже предлагают использовать CRABP2 в качестве мишени для таргетной терапии при данном заболевании [99].

В целом с учетом возможности альтернативных вариантов активации самого CRABP2 (включая RAR, эстрогеновый рецептор, *MycN*), а также возможности ядерной локализации данного белка можно предположить, что CRABP2 может функционировать в качестве некоего транскрипционного коактиватора и/или мишени определенных транскрипционных факторов и что совокупный эффект этого белка в клетке может определяться тем, какие именно транскрипционные факторы задействованы в конкретном случае.

Функции CRABP1

Функции CRABP1 на сегодняшний день исследованы еще меньше. Известно, что, помимо классической локализации в цитоплазме, CRABP1 обнаруживается в митохондриях [100] и в перинуклеарном пространстве [101]. Как уже упоминалось, у этого белка, как и у CRABP2, имеется сигнал ядерной локализации. По нашим и по некоторым данным других авторов [102], он, как и CRABP2, может присутствовать в ядрах. При этом в литературе есть сведения, что CRABP1, в отличие от CRABP2, в ядре отсутствует [50].

В целом можно выделить 2 группы данных, одна из которых указывает на различия в функциональной активности CRABP1 по сравнению с CRABP2

и их разное влияние на PK-зависимый эффект, другая — на схожесть функций CRABP1 и CRABP2. Прежде всего, механизм передачи PK от белков CRABP1 и CRABP2 к рецепторам RAR принципиально различается (рис. 2). Как уже говорилось, CRABP2 напрямую взаимодействует с белками RAR, и это взаимодействие существенно облегчает формирование активного комплекса белков RAR—PK, а также усиливает транскрипционную активность рецепторов RAR [103]. CRABP1 не способен взаимодействовать с RAR, и для передачи PK от белка CRABP1 к рецепторам требуется диссоциация комплекса CRABP1—PK с последующей ассоциацией PK с RAR [49].

В соответствии с этой концепцией обнаружено, что экспрессия CRABP2, в отличие от CRABP1, усиливает транскрипцию генов, содержащих последовательности RARE (RAR-responsive elements). Интересно, что в третичной структуре этих 2 белков обнаружены различия непосредственно в участке перед лигандсвязывающим «карманом», а результаты направленного мутагенеза показали, что присутствующие в CRABP2 аминокислотные остатки (GLN75, PRO81 и LYS102), соответствующие этому участку, обеспечивают трансфер PK от CRABP2 к RAR и усиливают транскрипционную активность рецептора [104]. Таким образом, если CRABP1 способен усиливать передачу сигнала от PK, он осуществляет это менее эффективно.

Более того, есть гипотеза, согласно которой CRABP1 выполняет противоположную функцию — не усиливает PK-зависимый эффект, а участвует в регуляции (снижении) внутриклеточного уровня PK, в частности за счет ее метаболизма. Так, показано, что PK в комплексе с CRABP1 гораздо эффективнее взаимодействует с ферментами метаболизма PK, такими как CYP26 [106–108]. Также установлено, что скорость деградации PK в клетках тератокарциномы F9 возрастает по мере увеличения уровня экспрессии CRABP1 [109]. Дальнейшие исследования выявили обратную корреляцию между уровнем экспрессии CRABP1 и PK-опосредованной дифференцировкой

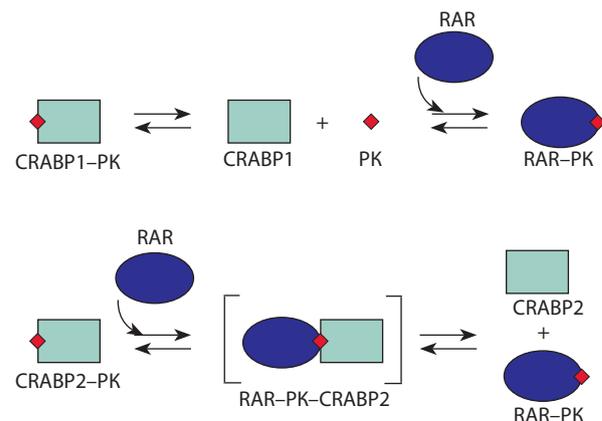


Рис. 2. Различия в механизмах передачи PK от белков CRABP1 и CRABP2 к рецепторам RAR. Адаптировано из [105]

данных клеток. Кроме того, гиперэкспрессия CRABP1 приводила к подавлению экспрессии таких связанных с дифференцировкой ретиноид-респонсивных генов, как *RAR β* , ламинин В1 и коллаген IV типа [110]. Кроме того, экспрессия гена *CRABP1* в клетках линии плоскоклеточного рака головы и шеи АМС-НН-7 увеличивала количество продуктов метаболизма РК (полярных метаболитов РК). Более того, клетки данной линии становились менее чувствительными к РК, а транскрипционная активность рецепторов РК в них даже снижалась [111].

Все это говорит в пользу уменьшения эффектов воздействия РК на клетку в присутствии CRABP1, в частности за счет усиления катаболизма РК или секвестрирования ее в цитоплазме. Таким образом, одна из возможных функций CRABP1 – защита клетки от избытка РК.

Тем не менее существуют исследования, свидетельствующие о противоположном влиянии CRABP1 на передачу сигнала от РК, т.е. указывающие на схожесть функций с CRABP2 в РК-зависимой активации генов. Например, Х.Н. Tang et al. обнаружили, что гиперэкспрессия CRABP1 в супрабазальных кератиноцитах мыши усиливает физиологическое действие РК на клеточную пролиферацию [112]. Эти данные с учетом обнаружения CRABP1 в ядре и наличия у него сигнала ядерной локализации позволяют предположить сходство функций CRABP1 и CRABP2: связывание РК предохраняет ее от ферментативного разрушения, и белок CRABP1 осуществляет ее доставку в ядро, обеспечивая эффективное взаимодействие с ядерными рецепторами.

Есть исследования, в которых экспрессия CRABP1 не влияла на эффекты РК. В работе А.С. Chen et al. показано, что гомозиготная делеция CRABP1 в эмбриональных стволовых клетках мыши АВ1 не влияет на экспрессию таких ретиноид-респонсивных генов, как *HOXA-1*, *RAR β* , ламинин В1 и коллаген IV типа (α 1), а также на кинетику метаболизма РК, но вызывает снижение внутриклеточной концентрации РК [113]. Помимо этого, обнаружено, что введение CRABP1 в линии COS-7 и CV-1 не влияет на транскрипционную активность рецепторов РК [49, 114].

Отдельные данные свидетельствуют о том, что у CRABP1, как и у CRABP2, могут быть функции, не опосредуемые RAR. Так, S.D. Persaud et al. показали, что CRABP1 необходим для RAR-независимой (происходящей в цитоплазме) активации ERK1/2 РК в эмбриональных стволовых клетках [115]. Результаты наших исследований также свидетельствуют о наличии альтернативных, не связанных с РК, функциях белка CRABP1. В частности, мы впервые обнаружили протуморогенный эффект CRABP1 на экспериментальной модели *in vivo* и с помощью направленного мутагенеза показали независимость этого эффекта от способности данного белка связывать РК [116].

В целом данные о роли CRABP1 в канцерогенезе и опухолевой прогрессии неоднозначны и противоречивы. В ряде работ выявлено снижение экспрессии CRABP1 в солидных опухолях, обусловленное прежде всего метилированием промотора данного гена. Гиперметилирование промотора CRABP1 (островки CpG) часто обнаруживают при раке толстой кишки и раке печени, что коррелирует со степенью злокачественности опухоли [117]. При этом гиперметилирование промотора CRABP1 ассоциируется с неблагоприятным прогнозом течения заболевания и, таким образом, может служить прогностическим фактором для больных [118]. Метилирование промотора CRABP1 также выявлено при раке пищевода. Низкая экспрессия белка CRABP1 по данным иммуногистохимического исследования ассоциировалась с низкой дифференцировкой клеток и наличием метастазов в лимфатических узлах. Авторы предполагают, что в клетках эпителия пищевода CRABP1 может выполнять функцию опухолевого супрессора [119]. Уровень мРНК CRABP1 снижается и при папиллярном раке щитовидной железы за счет гиперметилирования промотора гена [120]. L. Hawthorn et al. оценили профиль экспрессии генов при папиллярном раке щитовидной железы и выделили снижение экспрессии CRABP1 как возможный молекулярный маркер данного типа опухоли [121]. Снижение уровня мРНК и белка CRABP1 также характерно и для фолликулярного рака щитовидной железы [122]. Снижение уровня белка CRABP1 наблюдается в образцах рака почки [123], а также при серозном и светлоклеточном раке яичников. Безрецидивная выживаемость при серозной и светлоклеточной аденокарциноме со сниженной экспрессией CRABP1 оказалась значительно ниже, чем в случаях, когда экспрессия CRABP1 была сохранена. Многофакторный анализ показал, что снижение экспрессии CRABP1 является важным прогностическим фактором в случае данных типов опухолей [124].

В то же время для ряда других опухолей, напротив, характерна повышенная экспрессия CRABP1, которая зачастую коррелирует с агрессивным течением заболевания. Так, высокая экспрессия CRABP1 ассоциирована с неблагоприятным прогнозом при немелкоклеточном раке легкого и глиомах [125]. Выраженное повышение уровня мРНК CRABP1 также отмечается в образцах лейомиомы матки по сравнению с тканью миометрия [126]. Повышение уровня мРНК CRABP1 характерно для эндометриоидного рака яичников [127] и отмечается при синовиальных саркомах и злокачественных опухолях оболочек периферических нервов [128]. Данные наших собственных исследований также свидетельствуют в пользу проканцерогенной активности CRABP1. Так, помимо обнаружения уже упомянутой протуморогенной и прометастатической активности данного белка в экспериментальной модели трансформированных фибробластов, мы показали, что высокий уровень белка CRABP1 характе-

рен для синовиальных сарком, причем в бифазных саркомах экспрессия CRABP1 присутствует только в мезенхимальном компоненте. Кроме того, с учетом данных о влиянии гиперэкспрессии CRABP1 на частоту формирования спонтанных нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы (НЭО ПЖ) у мышей [129] мы сравнили уровень экспрессии данного белка в образцах НЭО ПЖ человека и показали, что увеличение продукции CRABP1 коррелирует с низкой дифференцировкой и высокой степенью злокачественности данного типа опухолей, а также с процессом метастазирования в регионарные лимфатические узлы [116].

Заключение

Следует отметить, что на сегодняшний день функции белков CRABP, особенно CRABP1, недостаточно охарактеризованы, а данные о роли этих белков в формировании ответа на воздействие РК и ее метаболизме противоречивы. Остается открытым вопрос о том,

являются ли функции этих белков сходными, но осуществляемыми в разных типах клеток, или противоположными: с одной стороны, направленными на проведение РК-зависимых сигналов, с другой — на ограничение активности РК. Дальнейшие исследования необходимы для определения роли данных белков в канцерогенезе. Надо сказать, что большая часть приведенных здесь данных получена при сравнении уровней мРНК и основана преимущественно на скрининговых исследованиях с использованием технологий профилирования транскриптомов. Исследований, посвященных анализу функциональной активности данных белков и молекулярных механизмов ее реализации, очень немного. Наряду с этим часто обнаруживаемые и значимые изменения экспрессии CRABP в опухолях человека говорят об их активном участии в процессах опухолевой прогрессии. Очевидно, что молекулярные механизмы, определяющие биологическую активность этих белков и их роль в канцерогенезе, требуют дальнейшего всестороннего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

- Gutierrez-Gonzalez L.H., Ludwig C., Hohoff C. et al. Solution structure and backbone dynamics of human epidermal-type fatty acid-binding protein (E-FABP). *Biochem J* 2002;364(Pt 3):725–37.
- Kleywegt G.J., Bergfors T., Senn H. et al. Crystal structures of cellular retinoic acid binding proteins I and II in complex with all-trans-retinoic acid and a synthetic retinoid. *Structure* 1994;2(12):1241–58.
- Veerkamp J.H., Maatman R.G. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: their structure and genes. *Prog Lipid Res* 1995;34(1):17–52.
- Thaller C., Eichele G. Identification and spatial distribution of retinoids in the developing chick limb bud. *Nature* 1987;327(6123):625–628.
- Spinella M.J., Kerley J.S., White K.A. et al. Retinoid target gene activation during induced tumor cell differentiation: human embryonal carcinoma as a model. *J Nutr* 2003;133(1):273S–6S.
- Maden M. Role and distribution of retinoic acid during CNS development. *Int Rev Cytol* 2001;209:1–77.
- Maden M. Retinoids in lung development and regeneration. *Curr Top Dev Biol* 2004;61:153–89.
- Thaller C., Eichele G. Retinoid signaling in vertebrate limb development. *Ann NY Acad Sci* 1996;785:1–11.
- Collins S.J. The role of retinoids and retinoic acid receptors in normal hematopoiesis. *Leukemia* 2002;16(10):1896–905.
- Morikawa K., Nonaka M. All-trans-retinoic acid accelerates the differentiation of human B lymphocytes maturing into plasma cells. *Int Immunopharmacol* 2005;5(13–14):1830–8.
- Iwata M. Retinoic acid production by intestinal dendritic cells and its role in T-cell trafficking. *Semin Immunol* 2009;21(1):8–13.
- Rhinn M., Dolle P. Retinoic acid signalling during development. *Development* 2012;139(5):843–58.
- Theodosiou M., Laudet V., Schubert M. From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway. *Cell Mol Life Sci* 2010;67(9):1423–45.
- Huang Y., Boskovic G., Niles R.M. Retinoic acid-induced AP-1 transcriptional activity regulates B16 mouse melanoma growth inhibition and differentiation. *J Cell Physiol* 2003;194(2):162–70.
- Breitman T.R., Selonick S.E., Collins S.J. Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980;77(5):2936–40.
- Wu S., Donigan A., Platsoucas C.D. et al. All-trans-retinoic acid blocks cell cycle progression of human ovarian adenocarcinoma cells at late G1. *Exp Cell Res* 1997;232(2):277–286.
- Singh B., Murphy R.F., Ding X.Z. et al. On the role of transforming growth factor-beta in the growth inhibitory effects of retinoic acid in human pancreatic cancer cells. *Mol Cancer* 2007;6:82.
- Battle T.E., Roberson M.S., Zhang T. et al. Retinoic acid-induced b1r1 expression requires RARalpha, RXR, and MAPK activation and uses ERK2 but not JNK/SAPK to accelerate cell differentiation. *Eur J Cell Biol* 2001;80(1):59–67.
- Strickland S., Mahdavi V. The induction of differentiation in teratocarcinoma stem cells by retinoic acid. *Cell* 1978;15(2):393–403.
- Altucci L., Rossin A., Raffelsberger W. et al. Retinoic acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand TRAIL. *Nat Med* 2001;7(6):680–6.
- Elstner E., Muller C., Koshizuka K. et al. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells *in vitro* and in BNX mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(15):8806–11.
- Toma S., Isnardi L., Riccardi L. et al. Induction of apoptosis in MCF-7 breast carcinoma cell line by RAR and RXR selective retinoids. *Anticancer Res* 1998;18(2A):935–42.
- Mangiarotti R., Danova M., Alberici R., Pellicciari C. All-trans retinoic acid (ATRA)-induced apoptosis is preceded by G1 arrest in human MCF-7 breast cancer cells. *Br J Cancer* 1998;77(2):186–91.
- Luo P., Lin M., Lin M. et al. Function of retinoid acid receptor alpha and p21 in all-trans-retinoic acid-induced acute T-lymphoblastic leukemia apoptosis. *Leuk Lymphoma* 2009;50(7):1183–9.
- Kini A.R., Peterson L.A., Tallman M.S. et al. Angiogenesis in acute promyelocytic leukemia: induction by vascular endothelial growth factor and inhibition by all-trans retinoic acid. *Blood* 2001;97(12):3919–24.

26. Kim M.S., Kim Y.K., Eun H.C. et al. All-trans retinoic acid antagonizes UV-induced VEGF production and angiogenesis via the inhibition of ERK activation in human skin keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2006;126(12):2697–706.
27. Pfahl M., Piedrafita F.J. Retinoid targets for apoptosis induction. *Oncogene* 2003;22(56):9058–62.
28. Sadikoglou E., Magoulas G., Theodoropoulou C. et al. Effect of conjugates of all-trans-retinoic acid and shorter polyene chain analogues with amino acids on prostate cancer cell growth. *Eur J Med Chem* 2009;44(8):3175–87.
29. Lee J.H., Yoon J.H., Yu S.J. et al. Retinoic acid and its binding protein modulate apoptotic signals in hypoxic hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett* 2010;295(2):229–35.
30. Donato L.J., Noy N. Suppression of mammary carcinoma growth by retinoic acid: proapoptotic genes are targets for retinoic acid receptor and cellular retinoic acid-binding protein II signaling. *Cancer Res* 2005;65(18):8193–9.
31. Hoang T.C., Bui T.K., Taguchi T. et al. All-trans retinoic acid inhibits KIT activity and induces apoptosis in gastrointestinal stromal tumor GIST-T1 cell line by affecting on the expression of survivin and Bax protein. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:165.
32. Khuri F.R., Lippman S.M., Spitz M.R. et al. Molecular epidemiology and retinoid chemoprevention of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(3):199–211.
33. Zuccari G., Carosio R., Fini A. et al. Modified polyvinylalcohol for encapsulation of all-trans-retinoic acid in polymeric micelles. *J Control Release* 2005;103(2):369–80.
34. Caselli E., Galvan M., Santoni F. et al. Retinoic acid analogues inhibit human herpesvirus 8 replication. *Antivir Ther* 2008;13(2):199–209.
35. Kang S., Duell E.A., Fisher G.J. et al. Application of retinol to human skin *in vivo* induces epidermal hyperplasia and cellular retinoid binding proteins characteristic of retinoic acid but without measurable retinoic acid levels or irritation. *J Invest Dermatol* 1995;105(4):549–56.
36. Verma A.K., Conrad E.A., Boutwell R.K. Differential effects of retinoic acid and 7,8-benzoflavone on the induction of mouse skin tumors by the complete carcinogenesis process and by the initiation-promotion regimen. *Cancer Res* 1982;42(9):3519–25.
37. Zouboulis C.C. Retinoids—which dermatological indications will benefit in the near future? *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14(5):303–15.
38. Henion P.D., Weston J.A. Retinoic acid selectively promotes the survival and proliferation of neurogenic precursors in cultured neural crest cell populations. *Dev Biol* 1994;161(1):243–50.
39. Jacobs S., Lie D.C., DeCicco K.L. et al. Retinoic acid is required early during adult neurogenesis in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(10):3902–7.
40. Plum L.A., Parada L.F., Tsoulfas P. et al. Retinoic acid combined with neurotrophin-3 enhances the survival and neurite outgrowth of embryonic sympathetic neurons. *Exp Biol Med* 2001;226(8):766–75.
41. Rodriguez-Tebar A., Rohrer H. Retinoic acid induces NGF-dependent survival response and high-affinity NGF receptors in immature chick sympathetic neurons. *Development* 1991;112(3):813–20.
42. Heyman R.A., Mangelsdorf D.J., Dyck J.A. et al. 9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell* 1992;68(2):397–406.
43. Duong V., Rochette-Egly C. The molecular physiology of nuclear retinoic acid receptors. From health to disease. *Biochim Biophys Acta* 2011;1812(8):1023–31.
44. de The H., Vivanco-Ruiz M.M., Tiollais P. et al. Identification of a retinoic acid responsive element in the retinoic acid receptor beta gene. *Nature* 1990;343(6254):177–80.
45. Perissi V., Jepsen K., Glass C.K., Rosenfeld M.G. Deconstructing repression: evolving models of co-repressor action. *Nat Rev Genet* 2010;11(2):109–23.
46. le Maire A., Teyssier C., Erb C. et al. A unique secondary-structure switch controls constitutive gene repression by retinoic acid receptor. *Nat Struct Mol Biol* 2010;17(7):801–7.
47. Shaw N., Elholm M., Noy N. Retinoic acid is a high affinity selective ligand for the peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta. *J Biol Chem* 2003;278(43):41589–92.
48. Schug T.T., Berry D.C., Shaw N.S. et al. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors. *Cell* 2007;129(4):723–33.
49. Dong D., Ruuska S.E., Levinthal D.J. et al. Distinct roles for cellular retinoic acid-binding proteins I and II in regulating signaling by retinoic acid. *J Biol Chem* 1999;274(34):23695–8.
50. Budhu A.S., Noy N. Direct channeling of retinoic acid between cellular retinoic acid-binding protein II and retinoic acid receptor sensitizes mammary carcinoma cells to retinoic acid-induced growth arrest. *Mol Cell Biol* 2002;22(8):2632–41.
51. Sessler R.J., Noy N. A ligand-activated nuclear localization signal in cellular retinoic acid binding protein-II. *Mol Cell* 2005;18(3):343–53.
52. Manor D., Shmidt E.N., Budhu A. et al. Mammary carcinoma suppression by cellular retinoic acid binding protein-II. *Cancer Res* 2003;63(15):4426–33.
53. Tan N.S., Shaw N.S., Vinckenbosch N. et al. Selective cooperation between fatty acid binding proteins and peroxisome proliferator-activated receptors in regulating transcription. *Mol Cell Biol* 2002;22(14):5114–27.
54. Sussman F., de Lera A.R. Ligand recognition by RAR and RXR receptors: binding and selectivity. *J Med Chem* 2005;48(20):6212–9.
55. Afonja O., Raaka B.M., Huang A. et al. RAR agonists stimulate SOX9 gene expression in breast cancer cell lines: evidence for a role in retinoid-mediated growth inhibition. *Oncogene* 2002;21(51):7850–60.
56. Afonja O., Juste D., Das S. et al. Induction of PDCD4 tumor suppressor gene expression by RAR agonists, antiestrogen and HER-2/neu antagonist in breast cancer cells. Evidence for a role in apoptosis. *Oncogene* 2004;23(49):8135–45.
57. Zacheis D., Dhar A., Lu S. et al. Heteroarotinoids inhibit head and neck cancer cell lines *in vitro* and *in vivo* through both RAR and RXR retinoic acid receptors. *J Med Chem* 1999;42(21):4434–45.
58. Soprano D.R., Qin P., Soprano K.J. Retinoic acid receptors and cancers. *Annu Rev Nutr* 2004;24:201–21.
59. Donato L.J., Suh J.H., Noy N. Suppression of mammary carcinoma cell growth by retinoic acid: the cell cycle control gene Btg2 is a direct target for retinoic acid receptor signaling. *Cancer Res* 2007;67(2):609–15.
60. Noy N. Between death and survival: retinoic acid in regulation of apoptosis. *Annu Rev Nutr* 2010;30:201–17.
61. Di-Poi N., Michalik L., Tan N.S. et al. The anti-apoptotic role of PPARbeta contributes to efficient skin wound healing. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85(2–5):257–65.
62. Di-Poi N., Tan N.S., Michalik L. et al. Antiapoptotic role of PPARbeta in keratinocytes via transcriptional control of the Akt1 signaling pathway. *Mol Cell* 2002;10(4):721–33.
63. Aggarwal B.B., Sethi G., Ahn K.S. et al. Targeting signal transducer and activator of transcription-3 for prevention and therapy of cancer: modern target but ancient solution. *Ann NY Acad Sci* 2006;1091:151–69.
64. Montagner A., Delgado M.B., Tallichet-Blanc C. et al. Src is activated by the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta in ultraviolet radiation-induced skin cancer. *EMBO Mol Med* 2014;6(1):80–98.
65. Schug T.T., Berry D.C., Toshkov I.A. et al. Overcoming retinoic acid-resistance of mammary carcinomas by diverting retinoic acid from PPARbeta/delta to RAR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(21):7546–51.
66. Morgan E., Kannan-Thulasiraman P., Noy N. Involvement of Fatty Acid Binding Protein 5 and PPARbeta/delta in Prostate Cancer Cell Growth. *PPAR Res* 2010;2010.
67. Levi L., Lobo G., Doud M.K. et al. Genetic ablation of the fatty acid-binding protein FABP5 suppresses HER2-induced mammary tumorigenesis. *Cancer Res* 2013;73(15):4770–80.

68. White J.A., Guo Y.D., Baetz K. et al. Identification of the retinoic acid-inducible all-trans-retinoic acid 4-hydroxylase. *J Biol Chem* 1996;271(47):29922–7.
69. Liu H.X., Ly I., Hu Y., Wan Y.J. Retinoic acid regulates cell cycle genes and accelerates normal mouse liver regeneration. *Biochem Pharmacol* 2014;91(2):256–65.
70. Chaudhuri B.N., Kleywegt G.J., Broutin-L'Hermite I. et al. Structures of cellular retinoic acid binding proteins I and II in complex with synthetic retinoids. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 1999;55(Pt 11):1850–7.
71. Li X.H., Ong D.E. Cellular retinoic acid-binding protein II gene expression is directly induced by estrogen, but not retinoic acid, in rat uterus. *J Biol Chem* 2003;278(37):35819–25.
72. Lu M., Mira-y-Lopez R., Nakajo S. et al. Expression of estrogen receptor alpha, retinoic acid receptor alpha and cellular retinoic acid binding protein II genes is coordinately regulated in human breast cancer cells. *Oncogene* 2005;24(27):4362–9.
73. Maden M. Retinoid signalling in the development of the central nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2002;3(11):843–53.
74. Bucco R.A., Zheng W.L., Davis J.T. et al. Cellular retinoic acid-binding protein(II) presence in rat uterine epithelial cells correlates with their synthesis of retinoic acid. *Biochemistry* 1997;36(13):4009–14.
75. Wardlaw S.A., Bucco R.A., Zheng W.L., Ong D.E. Variable expression of cellular retinol- and cellular retinoic acid-binding proteins in the rat uterus and ovary during the estrous cycle. *Biol Reprod* 1997;56(1):125–32.
76. Zheng W.L., Ong D.E. Spatial and temporal patterns of expression of cellular retinol-binding protein and cellular retinoic acid-binding proteins in rat uterus during early pregnancy. *Biol Reprod* 1998;58(4):963–70.
77. Yamamoto M., Drager U.C., Ong D.E., McCaffery P. Retinoid-binding proteins in the cerebellum and choroid plexus and their relationship to regionalized retinoic acid synthesis and degradation. *Eur J Biochem* 1998;257(2):344–50.
78. Kitareewan S., Pitha-Rowe I., Sekula D. et al. UBE1L is a retinoid target that triggers PML/RARalpha degradation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(6):3806–11.
79. Park D.J., Chumakov A.M., Vuong P.T. et al. CCAAT/enhancer binding protein epsilon is a potential retinoid target gene in acute promyelocytic leukemia treatment. *J Clin Invest* 1999;103(10):1399–408.
80. Pratt M.A., Niu M., White D. Differential regulation of protein expression, growth and apoptosis by natural and synthetic retinoids. *J Cell Biochem* 2003;90(4):692–708.
81. Raffo P., Emionite L., Colucci L. et al. Retinoid receptors: pathways of proliferation inhibition and apoptosis induction in breast cancer cell lines. *Anticancer Res* 2000;20(3A):1535–43.
82. Calmon M.F., Rodrigues R.V., Kaneto C.M. et al. Epigenetic silencing of CRABP2 and MX1 in head and neck tumors. *Neoplasia* 2009;11(12):1329–39.
83. Campos B., Centner F.S., Bermejo J.L. et al. Aberrant expression of retinoic acid signaling molecules influences patient survival in astrocytic gliomas. *Am J Pathol* 2011;178(5):1953–64.
84. Pavone M.E., Reierstad S., Sun H. et al. Altered retinoid uptake and action contributes to cell survival in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(11):E300–9.
85. Favorskaya I., Kainov Y., Chemeris G. et al. Expression and clinical significance of CRABP1 and CRABP2 in non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2014;35(10):10295–300.
86. Bertucci F., Houlgatte R., Benziane A. et al. Gene expression profiling of primary breast carcinomas using arrays of candidate genes. *Hum Mol Genet* 2000;9(20):2981–91.
87. Tsibris J.C., Segars J., Coppola D. et al. Insights from gene arrays on the development and growth regulation of uterine leiomyomata. *Fertil Steril* 2002;78(1):114–21.
88. Delva L., Cornic M., Balitrand N. et al. Resistance to all-trans retinoic acid (ATRA) therapy in relapsing acute promyelocytic leukemia: study of *in vitro* ATRA sensitivity and cellular retinoic acid binding protein levels in leukemic cells. *Blood* 1993;82(7):2175–81.
89. Zhou D.C., Hallam S.J., Lee S.J. et al. Constitutive expression of cellular retinoic acid binding protein II and lack of correlation with sensitivity to all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia cells. *Cancer Res* 1998;58(24):5770–6.
90. Jin B.Y., Fu G.H., Jiang X. et al. CRABP2 and FABP5 identified by 2D DIGE profiling are upregulated in human bladder cancer. *Chin Med J (Engl)* 2013;126(19):3787–9.
91. Mallikarjuna K., Sundaram C.S., Sharma Y. et al. Comparative proteomic analysis of differentially expressed proteins in primary retinoblastoma tumors. *Proteomics Clin Appl* 2010;4(4):449–63.
92. Vo H.P., Crowe D.L. Transcriptional regulation of retinoic acid responsive genes by cellular retinoic acid binding protein-II modulates RA mediated tumor cell proliferation and invasion. *Anticancer Res* 1998;18(1A):217–24.
93. Hathout Y., Riordan K., Gehrman M., Fenselau C. Differential protein expression in the cytosol fraction of an MCF-7 breast cancer cell line selected for resistance toward melphalan. *J Proteome Res* 2002;1(5):435–42.
94. Vreeland A.C., Levi L., Zhang W. et al. Cellular retinoic acid-binding protein 2 inhibits tumor growth by two distinct mechanisms. *J Biol Chem* 2014;289(49):34065–73.
95. Hinman M.N., Lou H. Diverse molecular functions of Hu proteins. *Cell Mol Life Sci* 2008;65(20):3168–81.
96. Brennan C.M., Steitz J.A. HuR and mRNA stability. *Cell Mol Life Sci* 2001;58(2):266–77.
97. Chen C.Y., Xu N., Shyu A.B. Highly selective actions of HuR in antagonizing AU-rich element-mediated mRNA destabilization. *Mol Cell Biol* 2002;22(20):7268–78.
98. Lopez de Silanes I., Zhan M., Lal A. et al. Identification of a target RNA motif for RNA-binding protein HuR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(9):2987–92.
99. Gupta A., Williams B.R., Hanash S.M., Rawwas J. Cellular retinoic acid-binding protein II is a direct transcriptional target of MycN in neuroblastoma. *Cancer Res* 2006;66(16):8100–8.
100. Ruff S.J., Ong D.E. Cellular retinoic acid binding protein is associated with mitochondria. *FEBS Lett* 2000;487(2):282–6.
101. Levadoux-Martin M., Li Y., Blackburn A. et al. Perinuclear localisation of cellular retinoic acid binding protein I mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;340(1):326–31.
102. Gaub M.P., Lutz Y., Ghyselinck N.B. et al. Nuclear detection of cellular retinoic acid binding proteins I and II with new antibodies. *J Histochem Cytochem* 1998;46(10):1103–11.
103. Jing Y., Waxman S., Mira-y-Lopez R. The cellular retinoic acid binding protein II is a positive regulator of retinoic acid signaling in breast cancer cells. *Cancer Res* 1997;57(9):1668–72.
104. Budhu A., Gillilan R., Noy N. Localization of the RAR interaction domain of cellular retinoic acid binding protein-II. *J Mol Biol* 2001;305(4):939–49.
105. Noy N. Retinoid-binding proteins: mediators of retinoid action. *Biochem J* 2000;348 Pt 3:481–95.
106. Fiorella P.D., Napoli J.L. Expression of cellular retinoic acid binding protein (CRABP) in *Escherichia coli*. Characterization and evidence that holo-CRABP is a substrate in retinoic acid metabolism. *J Biol Chem* 1991;266(25):16572–9.
107. Napoli J.L. Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1999;1440(2–3):139–62.
108. Napoli J.L., Posch K.P., Fiorella P.D., Boerman M.N. Physiological occurrence, biosynthesis and metabolism of retinoic acid: evidence for roles of cellular retinol-binding protein (CRBP) and cellular retinoic acid-binding protein (CRABP) in the pathway of retinoic acid homeostasis. *Biomed Pharmacother* 1991;45(4–5):131–43.
109. Boylan J.F., Gudas L.J. The level of CRABP-I expression influences the amounts and types of all-trans-retinoic acid metabolites in F9 teratocarcinoma stem cells. *J Biol Chem* 1992;267(30):21486–91.
110. Boylan J.F., Gudas L.J. Overexpression of the cellular retinoic acid binding protein-I (CRABP-I) results in a reduction in differentiation-specific gene expression in F9 teratocarcinoma cells. *J Cell Biol* 1991;112(5):965–79.
111. Won J.Y., Nam E.C., Yoo S.J. et al. The effect of cellular retinoic acid binding protein-I

- expression on the CYP26-mediated catabolism of all-trans retinoic acid and cell proliferation in head and neck squamous cell carcinoma. *Metabolism* 2004;53(8):1007–12.
112. Tang X.H., Vivero M., Gudas L.J. Overexpression of CRABPI in suprabasal keratinocytes enhances the proliferation of epidermal basal keratinocytes in mouse skin topically treated with all-trans retinoic acid. *Exp Cell Res* 2008;314(1):38–51.
113. Chen A.C., Yu K., Lane M.A., Gudas L.J. Homozygous deletion of the *CRABPI* gene in AB1 embryonic stem cells results in increased *CRABPII* gene expression and decreased intracellular retinoic acid concentration. *Arch Biochem Biophys* 2003;411(2):159–73.
114. Venepally P., Reddy L.G., Sani B.P. Analysis of the effects of CRABP I expression on the RA-induced transcription mediated by retinoid receptors. *Biochemistry* 1996;35(31):9974–82.
115. Persaud S.D., Lin Y.W., Wu C.Y. et al. Cellular retinoic acid binding protein I mediates rapid non-canonical activation of ERK1/2 by all-trans retinoic acid. *Cell Signal* 2013;25(1):19–25.
116. Kainov Y., Favorskaya I., Delektorskaya V. et al. CRABP1 provides high malignancy of transformed mesenchymal cells and contributes to the pathogenesis of mesenchymal and neuroendocrine tumors. *Cell Cycle* 2014;13(10):1530–9.
117. Lind G.E., Kleivi K., Meling G.I. et al. ADAMTS1, CRABP1, and NR3C1 identified as epigenetically deregulated genes in colorectal tumorigenesis. *Cell Oncol* 2006;28(5–6):259–72.
118. Lee H.S., Kim B.H., Cho N.Y. et al. Prognostic implications of and relationship between CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009;15(3):812–20.
119. Tanaka K., Imoto I., Inoue J. et al. Frequent methylation-associated silencing of a candidate tumor-suppressor, CRABP1, in esophageal squamous-cell carcinoma. *Oncogene* 2007;26(44):6456–68.
120. Huang Y., de la Chapelle A., Pellegata N.S. Hypermethylation, but not LOH, is associated with the low expression of MT1G and CRABP1 in papillary thyroid carcinoma. *Int J Cancer* 2003;104(6):735–44.
121. Hawthorn L., Stein L., Varma R. et al. TIMP1 and SERPIN-A overexpression and TFF3 and CRABP1 underexpression as biomarkers for papillary thyroid carcinoma. *Head Neck* 2004;26(12):1069–83.
122. Fontaine J.F., Mirebeau-Prunier D., Raharijaona M. et al. Increasing the number of thyroid lesions classes in microarray analysis improves the relevance of diagnostic markers. *PLoS One* 2009;4(10):e7632.
123. Pfoertner S., Goelden U., Hansen W. et al. Cellular retinoic acid binding protein I: expression and functional influence in renal cell carcinoma. *Tumour Biol* 2005;26(6):313–23.
124. Miyake T., Ueda Y., Matsuzaki S. et al. CRABP1-reduced expression is associated with poorer prognosis in serous and clear cell ovarian adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137(4):715–722.
125. Lu Y., Lemon W., Liu P.Y. et al. A gene expression signature predicts survival of patients with stage I non-small cell lung cancer. *PLoS Med* 2006;3(12):e467.
126. Wu X., Blanck A., Norstedt G. et al. Identification of genes with higher expression in human uterine leiomyomas than in the corresponding myometrium. *Mol Hum Reprod* 2002;8(3):246–54.
127. Banz C., Ungethuen U., Kuban R.J. et al. The molecular signature of endometriosis-associated endometrioid ovarian cancer differs significantly from endometriosis-independent endometrioid ovarian cancer. *Fertil Steril* 2010;94(4):1212–7.
128. Ishibe T., Nakayama T., Aoyama T. et al. Neuronal differentiation of synovial sarcoma and its therapeutic application. *Clin Orthop Relat Res* 2008;466(9):2147–55.
129. Perez-Castro A.V., Tran V.T., Nguyen-Huu M.C. Defective lens fiber differentiation and pancreatic tumorigenesis caused by ectopic expression of the cellular retinoic acid-binding protein I. *Development* 1993;119(2):363–75.