

文章编号: 1004-0374(2009)03-0377-06

心肌锚定重复序列蛋白 CARP 的研究进展

马国达^{1*}, 肖兴军²

(1 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319;

2 哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科, 哈尔滨 150086)

摘要: CARP 是新发现的具有锚定重复序列, 并在哺乳类动物中呈心肌特异性表达的蛋白, 它在肌肉发育过程中对转录调控、肌纤维组装和拉伸信号传递等方面发挥重要的作用。本文综述了 CARP 基因与蛋白质结构、CARP 的表达模式及其表达调控、参与调节 CARP 的细胞内信号转导通路、CARP 在肌肉发育中的作用, 以及 MARP 家族其他成员。

关键词: 心肌锚定重复序列蛋白; 表达调控; 肌肉发育

中图分类号: Q51; Q71 **文献标识码:** A

Progress in the study on cardiac ankyrin repeat protein

MA Guo-da^{1*}, XIAO Xing-jun²

(1 College of Biological Science & Technology, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319, China; 2 Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract: A novel ankyrin-repeated protein, CARP, is specifically expressed in cardiac muscle in mammals. It has been proposed that CARP plays a critical role in transcriptional regulation, myofibrillar assembly and stretch sensing during muscle development. This paper reviews the structure of CARP and its functional role during striated muscle development. The signal pathway involved in CARP expression, and the other members of MARP family.

Key words: cardiac ankyrin repeat protein; expression regulation; muscle development

心脏是胚胎发育过程中形成最早的器官。胚胎发育时期, 心血管系统发育异常所致的心脏先天性畸形被认为是最常见的引起心脏出生缺陷(congenital heart disease)的原因^[1,2]。在胚胎期心肌细胞增殖分化过程中的基因表达异常会引起心肌肥大, 甚至心脏的重塑和稳态被破坏, 进而导致出生缺陷。此外, 在病理情况下, 胚胎期心脏高表达的一些基因会在成年期心脏中再度表达, 进而导致心肌肥大和心脏机能下降。从分子水平考虑, 心肌的分化过程和胚胎发育中其他组织器官的形成过程类似, 均始于某个或某些关键基因的启动, 通常这些基因的蛋白产物都是转录因子或与转录因子相互作用的蛋白。它们可以使下游的靶基因呈级联式的激活, 直至分化完成。人们通常将这一类关键基因产物称为组织器官发育的重要节点分子。另外, 心肌和骨骼

肌的发育可能是由不同的或重叠的途径控制。在分子水平上理解控制肌肉发育过程中的重要因子, 有助于分析复杂的肌肉发育过程, 也有助于进一步了解肌肉疾病和心血管疾病的发病机制。因此, 寻找和鉴定在心脏发育及心肌肥大等过程中关键的节点分子, 无疑对先天性心脏病、病理性心肌肥大等疾病的早期诊断和治疗具有重要的理论和实践意义。心肌锚定蛋白CARP(cardiac ankyrin repeat protein)就是这样一个与心血管系统发育和重塑密切相关的关键节点分子。

Chu等^[3]通过差异筛选白介素(IL1A)和肿瘤坏死

收稿日期: 2008-12-29; 修回日期: 2009-03-02

基金项目: 国家自然科学基金(30770750)

*通讯作者: E-mail: sihan1107@126.com

因子(TNF)刺激的人真皮微血管内皮细胞 cDNA 文库,分离了一种可被诱导的转录调节因子,编码 CARP 的全长 cDNA,他们命名其为 C-193。随后 1997 年,三个独立的实验室分别得到了大鼠的 CARP: Jeyaseelan 等^[4]通过 DD-PCR 的方法,在心肌细胞中研究阿霉素(doxorubicin)的靶基因时,鉴定到了一种对阿霉素极其敏感的、心脏特异表达的蛋白,因此他们把这种蛋白命名为心脏阿霉素反应性蛋白 CARP(cardiac adriamycin responsive protein)。Zou 等^[5]采用酵母二元杂交的方法筛选与 YB-1(Y-box-binding protein 1)相互作用的共转录因子时鉴定了同样的分子。通过在小鼠胚胎中的原位杂交,他们证实了 CARP mRNA 在心脏中特异表达, CARP cDNA 编码的氨基酸序列显示有四个重复锚定序列。因此又称为心肌锚定重复序列蛋白(cardiac ankyrin repeat protein, CARP)。Baumeister 等^[6]克隆得到了一种在成年大鼠骨骼肌中被诱导的基因,命名为 MARP(muscle ankyrin repeat protein)。基因比对结果表明,上述基因为同一基因,该基因也被称为 ALRP(ankyrin-like repeat protein)、Ankrdl(ankyrin repeat domain 1)。

1 CARP 基因与蛋白质结构

在人类基因组中, *CARP* 定位在 10q23.1, 这个基因共含有 9 个外显子, 在 CARP 的 mRNA 3'-UTR 包含一个串联的 ATTTA 的重复序列, 是与降低 mRNA 的稳定性有关。实验表明, CARP 的 3'-UTR 缺失能够显著提高 mRNA 的积累^[6]。

在 CARP 的近端启动子, 含有在骨骼肌和心肌细胞中调节转录的几个 E-box 和几个 CCAC-box, 还有重要的 GATA-4 结合位点, 并且 Nkx2.5 可能通过间接调控 GATA-4 来共同调节 CARP 转录。另外, 还有几个 M-CAT box, 它是转录增强子 1(TEF-1)的结合位点, 需要它激活心肌和骨骼肌特异的基因。启动子缺失实验证实从 +47--166 的 213bp 序列能

够充分保证 CARP 的心肌特异性表达^[7]。

CARP 基因编码一条含有 319 个氨基酸的多肽, 通过计算机预测的蛋白的相对分子质量为 36.2k, 但实际约为 40k。其基因的第 5、6、7、8 外显子分别编码一个串联的 33 个氨基酸的锚定重复序列。另外, 还分别含有一个核定位信号(NLS)、一个出核信号(NES), 以及负责蛋白降解的 PEST 序列。据生物信息学软件分析, 还可能具有弯曲螺旋区(CC)和 caspase-3 作用位点(CASP3)^[8](图1)。预测这个蛋白含有几个蛋白激酶的磷酸化位点, 蛋白的磷酸化可能与其活性有关, 但尚未有实验证实^[4]。

目前认为锚定重复序列的功能是与其他蛋白质的相互作用和共定位有关。CARP 含有 4 个锚定重复序列, 此重复序列在 I κ B 家族中已经有较好的研究, 在 I κ B 中 ANK 重复序列与核因子 κ B(NF- κ B) 结合, 在功能上抑制转录因子活性。与之相类似, 在心肌中 CARP 结合转录因子 YB-1, 在平滑肌和上皮细胞中 CARP 也可能是转录因子的负调节因子。尽管 ANK 重复序列最开始的报道是介导蛋白之间的相互作用, 但它们的功能是多样的。这种序列在 400 多种蛋白中都有, 包括细胞周期素依赖性激酶抑制因子、转录调节因子、细胞骨架组织因子、发育调节因子和毒素^[9]。因此, ANK 重复序列在 CARP 的功能中起到关键作用, 它通过与其他蛋白相互作用行使具体功能。

PEST 序列作为蛋白水解的信号, 在许多蛋白中存在, 包括新陈代谢的酶类、转录因子、蛋白激酶和细胞周期素。含有 PEST 序列的蛋白在细胞内易于被快速降解, 它在包括 c-myc、c-fos 和 cyclinD1 在内的许多短寿命的蛋白中表达^[10]。

在 CARP 基因的 3' 非翻译区(3'-UTR)含有串联的 mRNA 降解信号(ATTTA 序列), 导致 mRNA 具有不稳定性。它和保守的 PEST 序列一起共同调节 CARP 自身的功能, 也表明在转录后和翻译后水平

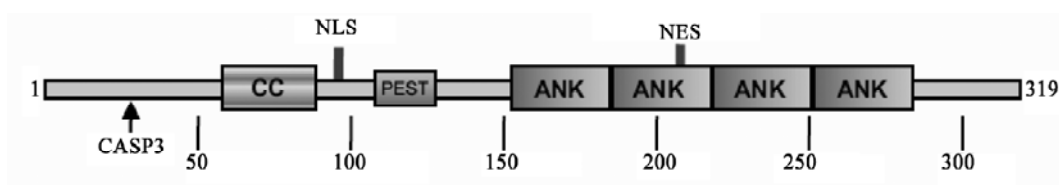


图1 心肌重复锚定序列蛋白的结构示意图^[8]

NLS: 核定位信号; NES: 出核信号; ANK: 锚定重复序列; PEST: PEST 序列;
CC(coiled-coil): 弯曲螺旋区; CASP3: caspase-3 酶切位点

上调调控 CARP 表达。

2 CARP 的表达模式

CARP 是一种主要在心脏中表达的核蛋白, 尽管在诸如骨骼肌、血管、脐带等组织中有痕量水平的表达。在胚胎发育过程中, CARP 在心脏中高水平表达, 出生后及成年表达水平降低。因此, 它是心肌的早期分化标志。在心肌细胞中, CARP 蛋白绝大部分定位在细胞核部分, 这表明它在基因表达中可能起作用。另外, 在肌肉细胞系中, CARP 随着细胞的分化上调。总之, 可以认为 CARP 在心脏分化中起作用。

CARP 在心脏中特异表达, 而且在各种原因引起的心肌肥大中 CARP mRNA 的水平迅速上升, 并且长时间维持高表达, 因此, CARP 可以作为心肌肥大的分子标志。这种表达与其他肥大诱导的核因子 (*c-fos*、*c-jun*、*c-myc* 和 *egr-1*) 表现出明显的不同, 这些因子都是普遍表达的, 而且对心脏超载做出的反应都是瞬时上升的。在这点上, *CARP* 基因的诱导表达表明其在心肌肥大中心脏基因表达调节中的作用。在心肌细胞中, 腺病毒过表达 CARP 可能会通过诱导 p21^{WAF/CIP1} 来抑制 DNA 合成。过量表达 CARP 抑制蛋白合成和心肌细胞肥大, 因此认为 CARP 对心肌肥大产生抑制性影响^[11]。考虑到在心肌肥大过程中, 作为抗肥大 CARP 被诱导, 可能是一种适应机制。

通过代表性差异分析 (RDA), Zollik 等^[12]发现大的 CARP 在心衰的心肌中上调表达。分析 33 个扩张或局部缺血的心肌患者表明 CARP 在左心室中上调 1.8 倍, 而 CARP 在心房中的表达不变。

尽管 CARP 在成年骨骼肌中不表达, 但在去神经条件下, 在骨骼肌中能够快速诱导大量的 CARP 表达^[6]。Yang 等^[13]研究肌肉生长抑制素 (*myostatin*) 的下游靶基因时发现, 在鸡胚胎成肌细胞中, CARP 是受 *myostatin* 负调控的下游靶基因。此外, 在鸡中进行的表达模式分析显示, 鸡 CARP 的表达具有骨骼肌组织特异性, 这与在哺乳动物中不同, 或许暗示了 CARP 在禽类骨骼肌发育过程中所特有的功能。Nakada 等^[14]发现在注射了丁哌卡因大鼠的退化肌肉中 CARP 被强烈地诱导表达, 并在注射 3 d 后, 表达水平达到最高峰。然后表达开始下调, 直至 28 d 后将检测不到。他们还分析了来自于 14 名肌肉萎缩患者的肌肉组织切片中 CARP 的表达情况, 结果在其中 13 个样品中检测到 CARP 的高表

达。相对于 DMD (杜克型肌肉萎缩) 患者, 在先天性肌肉萎缩的患者中检测到更多的 CARP 阳性肌纤维。他们发现 CARP 特异性地在能够表达胚胎 MHC 小的再生肌纤维中高水平表达, 这暗示 CARP 可以作为 DMD 中肌肉再生的标记。Laure 等^[15]发现在各种肌肉萎缩的小鼠模型中发现 CARP 的表达都显著上调, 并长时间持续, 并且发现 p21^{WAF/CIP1} 与 CARP 的表达模式一致。P21^{WAF/CIP1} 表达上调, 会导致肌细胞退出细胞周期、刺激分化和保护细胞免于凋亡。他们还发现, 在小鼠肌肉组织过表达 CARP, 并没有引起肌纤维数量和功能的改变。在横纹肌肉瘤、脊髓侧索硬化 (ALS) 患者的骨骼肌中 CARP 被诱导表达^[16, 17]。Bang 等^[18]研究表明 CARP 也有部分定位在再生骨骼肌和心肌的肌节中部的 I 带, 认为 CARP 通过定位在肌纤维 I 带与 Titin、myopalladin 相互作用以维持肌节的结构和肌纤维完整性, 它可能在损伤的肌纤维中具有保护功能。因此推测, 为了维持病变肌肉的结构和功能, CARP 可能在病变的肌肉中诱导表达。

De Waard 等^[19]用原位杂交的方法, 在动脉粥样硬化损伤主动脉或回肠动脉的患者的内皮细胞或 SMC 细胞中 CARP 呈阳性, 并且发现与在人类中所见的表达模式相似。原位杂交分析, CARP 在动脉粥样硬化的两种大、小鼠模型中表达。

综上所述, 在肌肉疾病和损伤中, 都能改变 CARP 表达。用抗肿瘤试剂阿霉素处理心肌细胞导致 CARP 的表达在转录水平上下调, 最近提出 CARP 在阿霉素对心肌细胞毒性中起作用。这些发现表明 CARP 可能与肌肉病理改变有关。在 DMD 中, CARP 在转录水平和蛋白水平都升高; 在缺失 Titin 蛋白处于 M 线结构域的小鼠模型中引起 CARP 上调^[20]。因此, 包括遗传、毒性、肌纤维拉伸和非 Titin 相关的许多继发性肌病中的许多机制中都能诱导 CARP 反应。在特殊情况下, 如 MDM 鼠和一系列人类肌肉萎缩中都能诱导 CARP 蛋白结合到 Titin 的 N2A 区。CARP 在骨骼肌中诱导可能是对 Titin 损伤的一种总体反应。

3 CARP 的基因功能

3.1 CARP 作为转录共抑制因子 据报道, CARP 不是直接结合 DNA, 而是作为转录共抑制因子, 与转录因子 YB-1 结合, 在心肌发育过程中调节 *MLC-2v* 基因表达^[5]。YB-1 是具有冷休克结构域 (CSD) 超家族成员, 它完成各种细胞内的功能, 包括转录调

节、翻译调节、DNA 修复、药物抗性和细胞外信号对应激的反应等^[21]。现在已经证明 CARP 对许多心肌基因,如 β -肌浆球蛋白重链、肌浆球蛋白轻链、心肌的肌钙蛋白 C 和脑钠素(ANP)的表达具有调控作用^[4]。这些发现表明,增加 CARP 表达可能改变心肌相关蛋白的表达,因此可以改变心肌的收缩功能。CARP 在心肌肥大的细胞中,可被多条信号通路激活,在心肌肥大过程中 CARP 的激活可以抑制导致心衰基因的表达。

3.2 CARP 作为结构蛋白维持肌节的完整性,并在信号转导过程中起到桥梁分子的作用 CARP 与肌节蛋白 myopalladin 的氨基端相结合,它们共同定位在横纹肌肌节中央的 I 带, CARP 定位在肌节的 I 带,它可能参与肌纤维的收缩功能。过表达与 CARP 相连接 myopalladin 的氨基端区,在心肌细胞中,导致肌节的各种成分的严重解离,表明在 I 带中央的 myopalladin-CARP 复合物对维持肌节的完整性有重要作用^[18]。与之相一致的是, CARP 结合在 Titin 的 N2A 区。在 Titin 的 N2A 区缺失的遗传肌炎性肌肉萎缩(MDM)的小鼠模型中,显著的诱导 CARP 表达(30倍),在肌纤维内, CARP、myopalladin 和 calpain/p94 形成 Titin-N2A 的信号复合物,推测这个复合物通过感受拉力调控 CARP, CARP 再调节肌肉基因表达。对 MDM 鼠的骨骼肌基因表达谱分析表明,包括 CARP 在内的 4 个受影响最显著的基因,全部是 Nkx2.5 依赖信号的成员,可以认为 CARP 诱导表达与抑制 Nkx2.5 途径功能相关^[20, 22]。最近报道, CARP 同源家族的另一成员 ARPP 既能同转录因子 p53 相互作用,又能同 Titin 相互作用,通过调控 p21 基因表达,进而影响细胞周期^[23-25]。这进一步说明 CARP 可能在信号传导过程中起“分子信使”的作用。

3.3 CARP 在血管生成中的作用 Shi 等^[26]的首次研究表明 CARP 能够促进创伤中血管生成(血管壁形成), CARP 在实验性创伤中起到关键性作用,增加 CARP 的表达,导致产生新的血管并提高创伤区域的血液循环,这是非常重要的。例如,在对糖尿病患者中由于毛细血管微循环障碍引起的足部坏疽(这种微小血管病通常导致截肢)的治疗具有重要意义。

3.4 CARP 与细胞凋亡 Han 等^[27]的实验结果表明,在组织缺氧造成的心肌细胞凋亡中,过表达 GADD153 能够诱导细胞凋亡,同时能够在转录水

平下调 CARP 表达,过表达 CARP 能够拮抗 GADD153 诱导的凋亡。Scurr 等^[28]检测了肿瘤细胞系对化疗药物——顺铂敏感性发现:在乳腺和卵巢肿瘤细胞系中 CARP 的表达水平与对顺铂的敏感性呈负相关,通过 RNA 干扰(RNAi)降低细胞系中 CARP 的表达水平能够提高顺铂的敏感性,过表达 CARP 能够增强肿瘤细胞的顺铂耐受性;并且通过检测 71 位卵巢癌患者活检组织中的 CARP 的表达水平发现: CARP 与患者的存活期呈负相关。

4 CARP 的表达调控

CARP 最初作为一种可诱导的细胞因子被鉴定出来,后来报道在心肌细胞中作为 Nkx2.5 下游分子。Kanai 等^[29]用 RT-PCR 的方法发现 CARP 在大鼠的动脉组织中表达,并且随着损伤表达上升。在血管平滑肌细胞中, CARP 作为 TGF- β /Smad 信号通路的下游靶基因。这种 TGF- β 的影响是通过 Smad 蛋白结合到 CARP 的启动子来实现的。他们对细胞质中 CARP mRNA 半衰期的分析以及 CARP 启动子/荧光素酶瞬时转染的研究结果表明, TGF- β 可以在转录水平上调 CARP 基因的表达,转染编码 Smads 蛋白的表达载体显著地改变 CARP 启动子/荧光酶的活性。CARP 启动子的缺失分析和定点突变表明, TGF- β 应答元件定位在相对于转录起始位点 108bp 的 CAGA 基序(motif)。转染了能够表达 CARP 的腺病毒载体的细胞 DNA 合成明显减少。过量表达 CARP 增强了 TGF- β 介导的 DNA 合成抑制作用,表明 CARP 参与了 TGF- β 介导的抑制血管平滑肌细胞增殖。

目前,研究相对清楚的另一信号传导通路是,在压力应激的情况下,在心肌细胞系中激活 CARP 表达。在压力超载上调 CARP 机制的研究中,通过瞬时转染 p38 和 Rac1 能够显著诱导 CARP 的启动子活性,在 p38 抑制剂 SB203580 存在时, CARP 启动子活性显著削弱。启动子缺失和迁移分析的结果表明位于 -40bp 处的 M-CAT 元件在 p38 和 Rac1 诱导 CARP 表达过程中起重要作用^[11]。

在心肌细胞中,阿霉素抑制 CARP 基因转录是通过产生具有氧化性的压力来实现的,过氧化氢酶能够减弱这种抑制效果,超氧化歧化酶抑制剂介导了这种抑制 CARP 的表达。H7(一种强大的丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂)显著地阻断阿霉素介导的下调 CARP 表达,瞬时转染一系列的 5' 缺失和位点特异性突变的质粒表明:在人 CARP 启动子 -37bp 处的

M-CAT元件是阿霉素抑制CARP表达的反应元件^[11,30]。

另外,由于在CARP的3'UTR存在串联的去稳定信号(ATTTA)序列,改变CARP mRNA的稳定性提供了调节CARP mRNA表达的另外一种机制。在具有和缺少TGF- β 时,CARP的半衰期分别是11.3h和8.5h。在加入异丙肾上腺素时,mRNA的半衰期由8h增加到12h^[31]。因此,调节CARP的表达可能发生在转录水平和转录产物的周转或降解水平。

5 与CARP同源的基因家族——MARPs

MARPs(muscle ankyrin repeat proteins)保守的基因家族包括CARP、ankrd-2/Arpp和DARP三个成员。结构中都含有核定位信号(NLS)、串联锚定重复序列和PEST序列,且这些序列在不同种属中高度保守。

ARPP(ankyrin repeat protein with PEST and proline-rich region)在心肌和在I型骨骼肌中优先表达,它在胚胎期仅痕量表达,但在成年期却很高,表明ARPP在人类中表达随发育阶段上调。ARPP与CARP的氨基酸序列高度同源(52.7%),与CARP不同的是在ARPP的3'-UTR区不含有去稳定序列(ATTTA)^[32]。

DARP(diabetes-related ankyrin repeat protein)编码一种由306个氨基酸,在心脏、骨骼肌和褐色脂肪中表达,新的核组成的核蛋白^[33]。

6 展望

对CARP的深入研究,不仅有助于阐明肌肉发育的分子机制,而且可为药物干预防治心血管疾病提供新思路,从而为将来开发出有效治疗心血管疾病的药物打下基础。另外,从分子水平上研究CARP基因,对于探讨心脏病变机理和利用基因治疗手段来治疗人类遗传性心脏病,具有重要的理论及实践意义。

[参 考 文 献]

- [1] Harvey RP. Patterning the vertebrate heart. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(7): 544-56
- [2] Srivastava D. Making or breaking the heart: from lineage determination to morphogenesis. *Cell*, 2006, 126(6): 1037-48
- [3] Chu W, Burns BD, Swerlicks RA, et al. Identification and characterization of a novel cytokine-inducible of a novel cytokine-inducible nuclear protein from human endothelial cell. *J Biol Chem*, 1995, 270(17): 10236-45
- [4] Jeyaseelan R, Poizat C, Baker RK, et al. A novel cardiac-restricted target for doxorubicin. CARP, a nuclear modulator of gene expression in cardiac progenitor cells and cardiomyocytes. *J Biol Chem*, 1997, 272(36): 22800-8
- [5] Zou Y, Evans S, Chen J, et al. CARP, a cardiac ankyrin repeat protein, is downstream in the Nkx2.5 homeobox gene pathway. *Development*, 1997, 124(4): 793-804
- [6] Baumeister A, Arber S, Caroni P. Accumulation of muscle ankyrin repeat protein transcript reveals local activation of primary myotube end compartments during muscle morphogenesis. *J Cell Biol*, 1997, 139(5): 1231-42
- [7] Kuo H, Chen J, Ruiz-Lozano P, et al. Control of segmental expression of the cardiac-restricted ankyrin repeat protein gene by distinct regulatory pathways in murine cardiogenesis. *Development*, 1999, 126(19): 4223-34
- [8] Mikhailov AT, Torrado M. The enigmatic role of the ankyrin repeat domain 1 gene in heart development and disease. *Int J Dev Biol*, 2008, 52(7): 811-21
- [9] Sedgwick SG, Smerdon SJ. The ankyrin repeat: a diversity of interactions on a common structural framework. *Trends Biochem Sci*, 1999, 24(8): 311-6
- [10] Aihara Y, Kurabayashi M, Arai M, et al. Molecular cloning of rabbit CARP cDNA and its regulated expression in adriamycin-cardiomyopathy. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1447(2-3): 318-24
- [11] Aihara Y, Kurabayashi M, Saito Y, et al. Cardiac ankyrin repeat protein is a novel marker of cardiac hypertrophy: role of M-CAT element within the promoter. *Hypertension*, 2000, 36(1): 48-53
- [12] Zolk O, Frohme M, Maurer A, et al. Cardiac ankyrin repeat protein, a negative regulator of cardiac gene expression, is augmented in human heart failure. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(5): 1377-82
- [13] Yang W, Zhang Y, Ma GD, et al. Identification of gene expression modifications in myostatin-stimulated myoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 326(3): 660-6
- [14] Nakada C, Oka A, Nonaka I, et al. Cardiac ankyrin repeat protein is preferentially induced in atrophic myofibers of congenital myopathy and spinal muscular atrophy. *Pathol Int*, 2003, 53(10): 653-8
- [15] Laure L, Suel L, Roudaut C, et al. Cardiac ankyrin repeat protein is a marker of skeletal muscle pathological remodelling. *FEBS J*, 2009, 276(3): 669-84
- [16] Nakamura K, Nakada C, Takeuchi K, et al. Altered expression of cardiac ankyrin repeat protein and its homologue, ankyrin repeat protein with PEST and proline-rich region, in atrophic muscles in amyotrophic lateral sclerosis. *Pathobiology*, 2002, 70(4): 197-203
- [17] Ishiguro N, Motoi T, Araki N. Expression of cardiac ankyrin repeat protein, CARP, in malignant tumors: diagnostic use of CARP protein immunostaining in rhabdomyosarcoma. *Human Pathol*, 2008, 39: 1673-9
- [18] Bang ML, Mudry RE, McElhinny AS, et al. Myopalladin, a novel 145-kilodalton sarcomeric protein with multiple roles in Z-disc and I-band protein assemblies. *J Cell Biol*, 2001, 153(2): 413-27
- [19] de Waard V, van Achterberg TA, Beauchamp NJ et al. Cardiac ankyrin repeat protein (CARP) expression in human and murine atherosclerotic lesions: activin induces CARP in smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003,

- 23(1): 64-8
- [20] Witt CC, Ono Y, Puschmann E, et al. Induction and myofibrillar targeting of CARP, and suppression of the Nkx2.5 pathway in the MDM mouse with impaired titin-based signaling. *J Mol Biol*, 2004, 336(1): 145-54
- [21] Kohno K, Izumi H, Uchiumi T, et al. The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1. *Bioessays*, 2003, 25(7): 691-8
- [22] Otey CA, Rachlin A, Moza M, et al. The palladin/myotilin/myopalladin family of actin-associated scaffolds. *Int Rev Cytol*, 2005, 246: 31-58
- [23] Kojic S, Medeot E, Guccione E, et al. The Ankrd2 protein, a link between the sarcomere and the nucleus in skeletal muscle. *J Mol Biol*, 2004, 339(2): 313-25
- [24] Tsukamoto Y, Hijiya N, Yano S, et al. Arpp/Ankrd2, a member of the muscle ankyrin repeat proteins (MARPs), translocates from the I-band to the nucleus after muscle injury. *Histochem Cell Biol*, 2008, 129(1): 55-64
- [25] Bean C, Facchinello N, Faulkner G, et al. The effects of Ankrd2 alteration indicate its involvement in cell cycle regulation during muscle differentiation. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(6): 1023-35
- [26] Shi Y, Reitmaier B, Regenbogen J, et al. CARP, a cardiac ankyrin repeat protein, is up-regulated during wound healing and induces angiogenesis in experimental granulation tissue. *Am J Pathol*, 2005, 166(1): 303-12
- [27] Han XJ, Chae JK, Lee MJ, et al. Involvement of GADD153 and cardiac ankyrin repeat protein in hypoxia-induced apoptosis of H9c2 cells. *J Biol Chem*, 2005, 280(24): 23122-9
- [28] Scurr LL, Guminski AD, Chiew YE, et al. Ankyrin repeat domain1, ANKRD1, a novel determinant of cisplatin sensitivity expressed in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6924-32
- [29] Kanai H, Tanaka T, Aihara Y, et al. Transforming growth factor- β /Smads signaling induces transcription of the cell type-restricted ankyrin repeat protein CARP gene through CAGA motif in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 2001, 88(1): 30-6
- [30] Aihara Y, Kurabayashi M, Tanaka T, et al. Doxorubicin represses CARP gene transcription through the generation of oxidative stress in neonatal rat cardiac myocytes: possible role of serine/threonine kinase-dependent pathways. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32(8): 1401-14
- [31] Zolk O, Marx M, Jackel E, et al. β -adrenergic stimulation induces cardiac ankyrin repeat protein expression: involvement of protein kinase A and calmodulin-dependent kinase. *Cardiovasc Res*, 2003, 59(3): 563-72
- [32] Tsukamoto Y, Senda T, Nakano T, et al. Arpp, a new homolog of carp, is preferentially expressed in type I skeletal muscle fibers and is markedly induced by denervation. *Lab Invest*, 2002, 82(5): 645-55
- [33] Ikeda K, Emoto N, Mastsuo M, et al. Molecular identification and characterization of a novel nuclear protein whose expression is up-regulated in insulin-resistant animals. *J Biol Chem*, 2003, 278(6): 3514-20