

## 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 혈청 중 Insulin-Like Growth Factor-Binding Proteins(IGFBPs)의 분포 및 IGFBP-3의 분해

이화진 · 김성현 · 권미진 · 남택정<sup>†</sup>

부경대학교 식품생명과학과

### Distribution of Insulin-Like Growth Factor-Binding Proteins(IGFBPs) and IGFBP-3 Proteolysis in Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus Serum

Hwa-Jin Lee, Sung-Hyun Kim, Mi-Jin Kwon and Taek-Jeong Nam<sup>†</sup>

Dept. of Food and Life Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

#### Abstract

The insulin-like growth factors(IGFs) are bound to several binding proteins(IGFBPs) that appear to regulate IGF transport, receptor binding, and its action. The concentration of these peptides are altered by catabolic conditions. To determine IGF-I and IGFBP levels in noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM), sera was obtained from 5 patients and 7 controls. Serum levels of IGF-I in NIDDM were lower than those in either of the controls. By western immunoblot analysis, especially IGFBP-1 levels are increased, whereas IGFBP-3 levels decreased and their fragments was increased in NIDDM serum. IGFBP-3 proteolytic activity in NIDDM sera was inhibited by phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), aprotinin, and ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA). This pattern of inhibition was consistent with a metal-dependent serine protease. By gelatin zymography, these proteolytic enzymes were identified as the size of 97 and 69 kDa. IGFBP-1, which is primarily insulin regulated, was increased in NIDDM and may modulate circulating IGF-I levels by regulating capillary passage of IGF-I. IGFBP-3 proteolysis markedly reduces its affinity for the IGFs, particularly for IGF-I. This accelerates their kinetics of dissociation, thereby increasing the proportions of IGF-I in free form and its availability to the cells.

**Key words:** noninsulin-dependent diabetes mellitus, insulin-like growth factor binding proteins, IGFBP-3 proteolysis, protease inhibitor

#### 서 론

당뇨병은 그 발병 기전에 따라 인슐린 의존형과 인슐린 비의존형으로 나뉜다. 인슐린 비의존형 당뇨병(Non-insulin-Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM)은 인슐린 의존형 당뇨병과는 달리, 췌장에서 insulin이 분비되는 것은 하지만 분비량이 상대적으로 부족하거나 insulin 작용이 원활하지 않아 발병하며 당질대사 및 지질대사 그리고 단백질대사의 이상을 초래한다(1,2).

Insulin-like growth factors(IGF-I과 IGF-II)는 insulin과 구조적으로 유사한 peptides로(3,4), 세포의 성장, 분화, 대사 조절에 중요한 역할을 한다. 췌장에서 주로 생산되는 insulin과는 달리, IGFs는 주로 간에서 생산되

나 신체 전반의 여러 조직에서 합성되고 있으며, 그 생물학적 작용은 세포 표면에 위치하는 고친화성 receptor 들 및 IGF binding proteins(IGFBPs)와의 결합을 통해 중재된다. 이들 IGFBPs는 IGFs에 대한 저장형 pool을 제공하고 순환하는 IGFs의 생물학적 반감기를 연장하며, 성장인자들과 복합체를 이룸으로써 IGFs의 작용을 저해하거나 강화하는 것으로 알려져 있다(5).

성인 혈청에서 대부분의 IGFs는 IGFBP-3와 결합하고 85kDa의 acid-labile subunit와 함께 150kDa의 삼원 복합체를 형성하며 극히 소수만이 capillary barrier를 통과한다. 최근 혈청 IGFBPs(특히 IGFBP-3)가 임신이나 특정 병리현상에서 부분적으로 분해된다는 사실이 보고되고 있다(6-9). 이러한 IGFBP-3의 분해는 IGFBP-

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

3의 IGFs에 대한 친화력을 감소시킴으로써 복합체로부터 IGFs가 해리되도록 촉진하는 작용을 하고 그 결과 IGFs의 체내 이용률을 증대시킨다(10).

따라서, 본 연구에서는 인슐린 비의존형 당뇨병 환자가 대사과정상 성장 인자들이 많이 필요하리라는 점에 착안하여 혈청 중 IGF-I의 수준을 측정하고, western ligand blot analysis로 IGFFBPs의 분포를 확인하며, IGFBP-3의 분해에 관해 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 대상

정상대조군(7명)의 혈청은 연세대학교 의과대학 부속병원으로부터, 인슐린 비의존성 당뇨병 환자(5명)의 혈청은 부산 침례병원으로부터 제공받아 실험하였다.

### 혈액채취 및 처리

5명의 NIDDM 환자군은 모두 혈액 채취 전날 12시간 overnight fasting하여 각 환자들의 정맥혈에서 4~5ml씩 채취하였다. 병실에서 채취한 혈액은 즉시 병원 검사실에서 3000rpm으로 5분 동안 원심분리(2번)하여 혈청만 분리하여 -70°C 초저온냉동고에 보관하였다.

### 혈당 측정

GL ZYME "Eiken" Enzymatic GOD-POD법 시약을 사용하였다. 시약매김에는 탈이온수 20μl를, standard에는 표준액 20μl를, 검체에는 serum 20μl를 tube에 취하고 효소시약 3.0ml를 vortex하여 37°C로 맞춘 water bath에 15분 incubate하였다. 60분 이내에 파장 500nm에서 흡광도를 측정하여 혈당치를 계산하였다.

$$\text{Glucose(mg/dl)} = (\text{검체의 흡광도} / \text{표준액의 흡광도}) \times 400^*$$

(\*표준용액의 농도)

### 혈액 중 IGF-I 농도 측정

IGF-I IRMA Kit 시약(Nichols Institute, California)을 사용하여 사람 혈청내 IGF-I의 양을 측정하였다. 즉, Standard(Reagent C~H), control(Reagent J, K), acidified samples 각각 50μl에 biotin antibody solution reagent B1 100μl와 <sup>125</sup>I antibody solution reagent B2 100μl를 넣은 후 vortex 하였다. Avidin coated bead reagent A를 1개씩 넣고 18~25°C에서 180±10rpm으로 4시간 동안 incubation 시켰다. Wash solution reagent I 2ml로

aspirating하여 beads를 3번 세척하고 gamma counter (Wallac 1470 wizard, Pharmacia)로 측정하였다.

### Western ligand blot analysis

Hossenlopp 등의 방법(11)을 조금 변형하여 실시하였다. Serum 1μl를 12.5% discontinuous SDS-polyacrylamide gel에 전기영동한 후 건조시킨 membrane을 3% Nonidet P-40을 넣은 Ligand blot buffer(LBB; 10mM Tris, 150mM NaCl, 0.5mg/ml Na azide, pH 7.4) A로 15분, 1% BSA를 넣은 LBB B로 2시간, 0.1% Tween 20을 함유하는 LBB C로 10분간 blocking하였다. <sup>125</sup>I-IGF-I 또는 <sup>125</sup>I-IGF-II(500,000cpm)로서 incubation(저온실, overnight)시킨 후 LBB C에서 10분간 3번(저온실), LBB로 15분간 2번(저온실) 세척하여 건조하였다. 건조된 membrane을 -70°C에서 film에 develop시킨 후 필름 자동현상기로 IGF binding proteins의 bands를 확인하였다.

### Western immunoblot analysis

Western ligand blot analysis와 마찬가지로 전기영동 실시한 후 membrane을 1×Tris-buffered saline(TBS; 50mM Tris, 200mM NaCl, pH 7.4)으로 세척하고, 3% BSA로 blocking하여 1차 항체로 밤새도록 shaking하였다. 1×TBS+0.1% NP-40+0.03% Triton X-100으로 세척하고, 1×TBS로 세척 후 2차 항체(anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)와 반응시켰다. 1×TBS+0.1% NP-40+0.03% Triton X-100으로 세척하고, 1×TBS로 세척 후 color substrate solution(NBT/BCIP, Promega)으로 발색한 후 Stop buffer로 반응을 종결시켰다.

### Gelatin zymography

Serum을 gelatin을 함유하는 10% gel에 전기영동하고 Triton X-100과 탈이온수로 세척하여 50mM Tris buffer(pH 7.4)와 함께 37°C에서 하룻밤 반응시켰다. 7% acetic acid와 40% methanol로 고정하고 7% acetic acid, 40% methanol, 그리고 0.1% bromophenol blue로 염색하여 7% acetic acid와 20% methanol로 band를 탈색시켰다. 7% acetic acid에 담겼다 사진촬영하였다.

### 통계처리

측정된 결과는 Mean±SE로 비교분석하였다. 혈당과 IGF-I의 수준은 t-test로 유의성 검정하였다. IGFFBPs

**Table 1. Glucose and IGF-I concentrations(mean ± SE) in healthy subjects and patients with NIDDM**

	Control	NIDDM
Glucose(mg/dl)	78 ± 6.20 <sup>a</sup> (n=7)	184 ± 18.94 <sup>b</sup> (n=5)
IGF-I(μg/ml)	9.32 ± 1.48 <sup>b</sup> (n=5)	4.19 ± 0.84 <sup>b</sup> (n=4)

<sup>a,b</sup>p<0.05

의 bands는 scan densitometer(Pharmacia Biotech Co.)로 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**혈당과 IGF-I의 수준 비교**

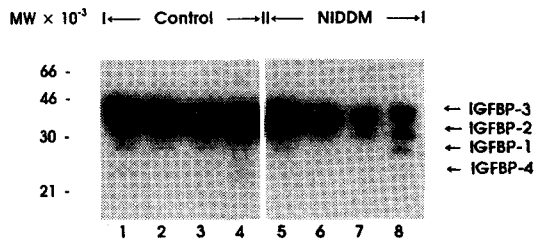
대상자들의 혈청 중 glucose와 IGF-I의 수준은 Table 1과 같다.

일반적으로 혈당은 호르몬의 영향이 크며 췌장의 랭게르한스섬에 위치하는 β-세포에서 분비되는 insulin의 작용을 받고 glycogen형으로 간에 저장된다. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자는 정상대조군에 비해 혈당치가 유의적으로 높았다. 따라서 이와 같은 고혈당은 insulin 분비의 감소, 간에서의 glucose 방출 증가 및 말단 조직의 insulin resistance 등이 복합적으로 나타난 결과이다(12). IGF-I은 proinsulin과 구조적으로 유사하고 insulin과 유사한 혈당 저하효과를 가지나 1/12 수준이며(13) 정상대조군에서 insulin의 분비를 억제한다. 정상대조군에 비해 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 IGF-I의 수준이 유의적으로 낮았다. 이는 Bang 등의 연구보고(14)와 일치하며, 일반적으로 치료받지 않은 당뇨병 환자에서 IGF-I은 감소하는 것으로 알려져 있다(15,16). 이는 간내 IGF-I mRNA의 발현감소(17-19), IGF-I clearance 증대, growth hormone(GH)의 농도 감소, peripheral insulin resistance에 따른 glucose의 수송감소, 세포내 기질 결핍 등에 기인하여 부분적으로 생기는 듯하다.

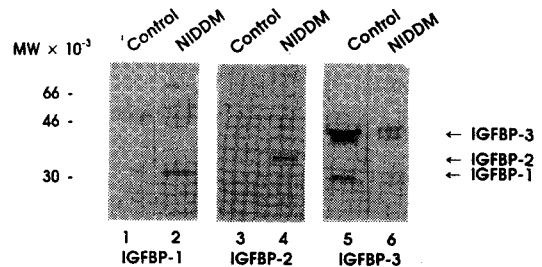
**IGFBPs의 비교분석**

IGFBPs는 현재 여섯 종류가 밝혀져 있으며 이들은 IGFs의 수송과 receptor와의 결합을 조절하는 듯하다(20). 농도, 세포 환경, posttranslational modifications에 따라 IGFs에 의해 중개되는 세포의 성장과 대사 작용을 저해하기도 하고(21) 강화하기도 한다(22). Fig. 1의 Western ligand blot analysis 및 Fig. 2와 3의 Western immunoblot analysis 결과, 정상대조군에 비해 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 IGFBP-1과 -2는 증가(각각 4.2배, 2배)한 반면 IGFBP-3, -4, -5는 감소(각각 47%, 74%, 98%)하였다. IGFBP-1은 주로 insulin의

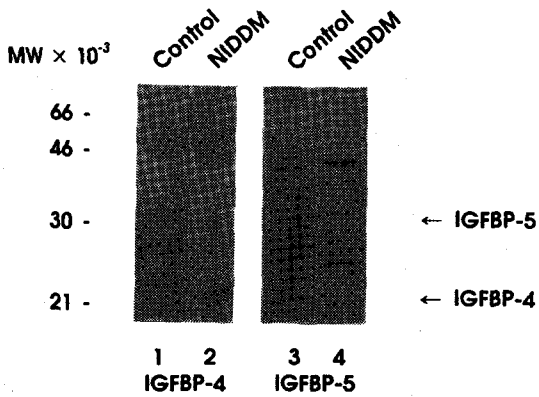
분비(23)와 substrate availability에 의해 조절되어 현저한 diurnal variation을 보이며(24), IGF-I과 IGF-II의 효과를 방해하여 glucose와 counter-regulation을 나타낸다. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 혈청 중 IGFBP-1의 증가는 다른 연구보고(25-27)와 일치하며 이러한 현상은 gene transcription의 증가를 반영하는 듯하고, IGF의 capillary passage를 조절함으로써 순환하는 IGF-I을 조절하는 듯하다(28). 순환하는 IGFBP-3의 농도는 GH와 영양공급에 의해 조절되어지며(29) 혈청 중 대부분의 IGFs와 결합되어 있다. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에 있어 혈청 중 IGFBPs의 분포 변화는 반감기가 15시간으로 추정되는(30,31) 150kDa의 복합체에 비해 반감기가 30~90분으로 추정되는(30) 분자량이 낮은 운반 단백질에 결합되는 IGFs의 양이 많아지는 것으로 해석되며 그 결과, peripheral site로의 IGF-I 수송을 증가시켜 IGF-I의 혈당 저하효과에 대한 sensitivity를 증대시키는 것으로 추정된다.



**Fig. 1. Western ligand blot analysis of serum IGFBPs in normal adults and NIDDM subjects.** Following SDS-PAGE(12.5% gel, 1.5μl pooled serum sample per slot) and transfer to immobilon-PS<sup>Q</sup> membrane, IGFBPs were detected by incubation with [<sup>125</sup>I]IGF-I to identify the different forms of IGFBP(see Materials and Methods). Molecular markers are indicated on the left.



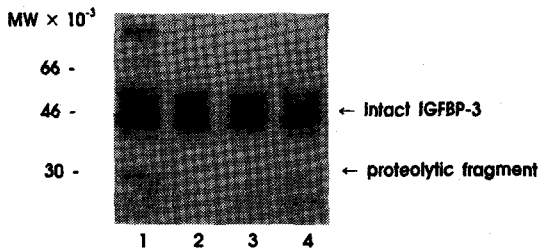
**Fig. 2. Western immunoblot analysis of serum IGFBPs in normal adults and NIDDM subjects.** Pooled serum samples(1.5μl per slot) were submitted to SDS-PAGE(12.5% gels) and then transferred onto immobilon-PS<sup>Q</sup> membrane. The membranes were incubated with each anti-IGFBP antibodies and the protein-antibody complexes were detected by immunoenzymatic reaction. Molecular markers are indicated on the left.



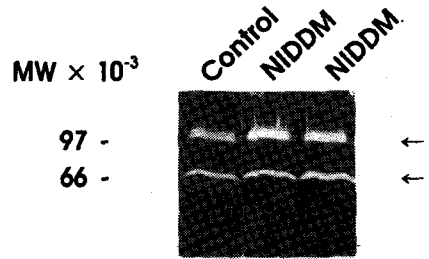
**Fig. 3. Western immunoblot analysis of serum IGFBP-4 in normal adults and NIDDM subjects.** Pooled serum samples (1.5µl per slot) were submitted to SDS-PAGE (12.5% gels) and then transferred onto Immobilon-PS<sup>Q</sup> membrane. The membranes were incubated with each anti-IGFBP antibodies and the protein-antibody complexes were detected by immunoenzymatic reaction. Molecular markers are indicated on the left.

**IGFBP-3의 분해에 관여하는 효소의 성질 및 크기**

사람 혈청 중 IGFBP-3의 특이적 분해에 대해서는 term pregnancy(7,8), severe illness(10), 수술 후(11,32) GH receptor 결핍(33)에서 보고된 바 있어 이에 관여하는 효소의 성질을 알아보고자 몇 가지 protease inhibitors로 실험한 결과(Fig. 4), serine protease inhibitor인 PMSF, aprotinin과 cation-chelating agent인 EDTA에 의해 저해(각각 98%, 88%, 73%)되어 30kDa의 fragment의 생성이 정상대조군에 비해 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에게서 현저히 저해되었다. 이러한 저해형태는 metal-



**Fig. 4. Western immunoblot analysis of serum IGFBP-3 in NIDDM subjects in the presence of protein inhibitors.** Incubation with NIDDM subjects pooled serum (lane 1), incubation with NIDDM pooled serum in the presence of 10mM PMSF (lane 2), 2mg/ml aprotinin (lane 3), 10mM EDTA (lane 4). Molecular markers are indicated on the left. PMSF: Phenylmethylsulfonyl fluoride EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid



**Fig. 5. Characterization of gelatin-degrading proteinase activity in normal adult and NIDDM subject serums.** Serums (0.7µl per slot) were analyzed by gelatin-substrate zymography. In brief, samples were electrophoresed on 10% SDS-polyacrylamide gels was rinsed multiple times in 2.5% Triton X-100 to remove SDS and then incubated overnight at 37°C. After fixing, staining and destaining, take a photograph of gel. Areas of lysis (clear zone) represent gelatin-degrading proteinase activity in the sample. Molecular markers are indicated on the left.

dependent serine proteases와 일치한다. Insulin resistance는 IGF-I resistance를 수반한다고 보고되었으므로(34,35), IGFBP-3의 분해는 지나친 이화상태에 대처하기 위한 하나의 기전으로, 순환하는 IGFs의 대부분이 결합되어있는 150kDa의 복합체로부터 IGF-I의 방출을 촉진시킴으로써 표적세포에서의 IGF-I 효과를 증대시키는 듯하다.

앞서 확인한 IGFBP-3 proteases가 cation dependent였으므로 metalloproteases의 크기를 알아보기 위해 gelatin-substrate zymography를 실시하였더니(Fig. 5), 97, 66kDa의 gelatinases가 관여하며 탈색된 band의 면적(97kDa의 경우 87% 증가, 66kDa의 경우 25% 증가)으로 보아 정상대조군에 비해 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에게서 효소 활성이 큼을 확인하였다.

**요 약**

이상의 결과를 요약하면, 혈당값은 정상대조군 78±6.20mg/dl, 인슐린 비의존형 당뇨병 환자 184±18.94mg/dl로 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 혈당값이 유의적으로 높았다. IGF-I의 수준은 정상대조군 9.32±1.48µg/ml, 인슐린 비의존형 당뇨병 환자 4.19±0.84µg/ml로 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 IGF-I 수준이 유의적으로 낮았다. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 혈청 중 IGFBP-1, -2는 증가한 반면, IGFBP-3, -4, -5는 감소하였다. IGFBP-3의 분해에 관여하는 효소는 PMSF, aprotinin, EDTA에 의해 저해되어 metal-dependent serine proteases임을 확인하였고, 효소의 크기가 대략 97, 66kDa이었으

며 효소활성이 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에게서 크  
을 확인하였다.

## 문 헌

1. Wahren, J., Felig, P., Cerasi, E. and Luft, R. : Splanchnic and peripheral glucose amino acid metabolism in diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, **51**, 870(1972)
2. Saudek, C. D. and Eder, H. A. : Lipid metabolism in diabetes mellitus. *Am. J. Med.*, **66**, 843(1979)
3. Rinderknecht, E. and Humbel, R. E. : The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J. Biol. Chem.*, **253**, 2769(1978)
4. Rinderknecht, E. and Humbel, R. E. : Primary structure of human insulin-like growth factor II. *FEBS Lett.*, **89**, 283(1978)
5. Baxter, R. C. and Martin, J. L. : Binding proteins for the insulin-like growth factors: Structure, regulation and function. *Prog. Growth Factor Res.*, **1**, 49(1989)
6. Hossenlopp, P., Segovia, B., Lassarre, C., Roghani, M., Bredon, M. and Binoux, M. : Evidence of enzymatic degradation of insulin-like growth factor-binding proteins in the 150K complex during pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **71**, 797(1990)
7. Giudice, L. C., Farrell, E. M., Pham, H., Lamson, G. and Rosenfeld, R. G. : Insulin-like growth factor binding proteins in maternal serum throughout gestation and in the puerperium : Effects of a pregnancy-associated serum protease activity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **71**, 806(1990)
8. Davies, S. C., Wass, J. A., Ross, R. J., Cotterill, A. M., Buchanan, C. R., Coulson, V. J. and Holly, J. M. : The induction of a specific proteinase for insulin-like growth factor binding protein-3 in the circulation during severe illness. *J. Endocrinol.*, **130**, 469(1991)
9. Davenport, M. L., Isley, W. L., Pucilowska, J. B., Beaty, Pemberton, L., Lyman, B., Underwood, L. E. and Clemmons, D. R. : Insulin-like growth factor binding protein-3 proteolysis is induced following elective surgery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **75**, 590(1992)
10. Binoux, M., Hossenlopp, P., Lassarre, C. and Segovia, B. : Degradation of IGF binding protein-3 by proteinases : Physiological implications. In "Modern concepts of insulin-like growth factors" Spencer, E. M.(ed.), Proc 2nd Int Symp Insulin-Like Growth Factors/Somatomedins, Elsevier, p.329(1991)
11. Hossenlopp, P., Seurin, D., Segovia-Quinson, B., Hardouin, S. and Binoux, M. : Analysis of serum insulin-like growth factor binding proteins using Western blotting : use of the method for titration of the binding proteins and competitive binding studies. *Anal. Biochem.*, **154**, 138(1986)
12. Henry, R. P., Wallace, P. and Olefsky, J. M. : Effects of weight loss on mechanisms of hyperglycemia in obese non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes*, **35**, 990(1986)
13. Guler, H. P., Zapf, J. and Froesch, E. R. : Short-term metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor-I in healthy adults. *N. Engl. J. Med.*, **317**, 137(1987)
14. Bang, P., Brismar, K., Rosenfeld, R. G. and Hall, K. : Fasting affects serum insulin-like growth factors(IGFs) and IGF-binding proteins differently in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus versus healthy nonobese and obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **78**, 960(1994)
15. Baxter, R. C. and Martin, J. L. : Radioimmunoassay of growth hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein in human plasma. *J. Clin. Invest.*, **78**, 1504(1986)
16. Baxter, R. C. : The somatomedins : Insulin-like growth factors. *Adv. Clin. Chem.*, **25**, 49(1986)
17. Maes, M., Underwood, L. E. and Ketelslegers, J. M. : Plasma somatomedin-C in fasted and refed rats : close relationship with changes in the liver somatogenic but lactogenic binding sites. *J. Endocrinol.*, **97**, 243(1983)
18. Thissen, J. P., Triest, S., Moats-Staats, B. M., Underwood, L. E., Mauerhoff, T., Maiter, D. and Ketelslegers, J. M. : Evidence that pretranslational and translational defects decrease serum insulin-like growth factor-I concentrations during dietary protein restriction. *Endocrinology.*, **129**, 429(1991)
19. Elmer, C. A. and Schalch, D. S. : Nutritional-induced changes in hepatic insulin-like growth factor I(IGF-I) gene expression in rats. *Endocrinology*, **120**, 832(1987)
20. Hardouin, S., Gourmelen, M., Noguez, P., Seurin, D., Roghani, M., Bouc, Y. L., Povoas, G., Merimee, T. J., Hossenlopp, P. and Binoux, M. : Molecular forms of serum insulin-like growth factor(IGF)-binding proteins in man : relationships with growth hormone and IGFs and physiological significance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **69**, 1291(1989)
21. Ritvos, O., Ranta, T., Talkanen, J., Suikkari, A. M., Voutilainen, R., Bohn, H. and Rutanen, E. M. : Insulin-like growth factor(IGF) binding protein from human decidua inhibits the binding and biological action of IGF-I in cultured choriocarcinoma cells. *Endocrinology.*, **122**, 2150(1988)
22. Elgin, R. G., Busby, Jr. W. H. and Clemmons, D. R. : An insulin-like growth factor(IGF) binding protein enhances the biological response to IGF-I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 3254(1987)
23. Bang, P. and Hall, K. : IGFs as endocrine and paracrine hormones. In "The insulin-like growth factors : structures and biological function" Schofield, P. N.(ed.), Oxford : Oxford University Press, p.151(1992)
24. Lewitt, M. S. and Baxter, R. C. : Inhibitors of glucose uptake stimulate the production of insulin-like growth factor-binding protein 1(IGFBP-1) by human fetal liver. *Endocrinology*, **126**, 1527(1990)
25. Brismar, K., Gutniak, M., Povoas, G., Werner, S. and Hall, K. : Insulin regulates the 35kDa IGF binding protein in patients with diabetes mellitus. *J. Endocrinol. Invest.*, **11**, 599(1988)
26. Holly, J. M. P., Biddlecombe, R. A., Dunger, D. B., Edge, J. A., Amiel, S. A., Howell, R., Chard, T., Röss, L. H.

- and Wass, J. A. H. : Circadian variation of GH-independent IGF-binding protein in diabetes mellitus and its relationship to insulin. A new role for insulin? *Clin. Endocrinol.*, **29**, 667(1988)
27. Unterman, T. G., Patel, K., Mahathre, V. K., Rajamohan, G., Oehler, D. T. and Becker, R. E. : Regulation of low molecular weight insulin-like growth factor binding proteins in experimental diabetes mellitus. *Endocrinology.*, **126**, 2614(1990)
  28. Bar, R. S., Boes, M., Clemmons, D. R., Busby, W. H., Sandra, A., Dake, B. L. and Booth, B. A. : Insulin differentially alters transcapillary movement of intravascular IGFBP-1, IGFBP-2 and endothelial cell IGF-binding proteins in the rat heart. *Endocrinology.*, **127**, 496(1990)
  29. Clemmons, D. R. : Structural and functional analysis of insulin like growth factors. *Br. Med. Bull.*, **45**, 465 (1989)
  30. Hodgkinson, S. C., Davis, S. R., Burleigh, B. D., Henderson, H. V. and Gluckman, P. D. : Metabolic clearance rate of insulin-like growth factor-I in fed and starved sheep. *J. Endocrinol.*, **115**, 233(1987)
  31. Zapf, J., Hauri, C., Waldvogel, M. and Froesch, E. R. : Acute metabolic effects and half-lives of intravenously administered insulin-like growth factors I and II in normal and hypophysectomized rats. *J. Clin. Invest.*, **77**, 1768(1986)
  32. Cwyfan Hughes, S. C., Cotterill, A. M., Molly, A. R., Cassell, T. B., Braude, N., Hinds, C. J., Wass, J. A. and Holly, J. M. : The induction of specific proteases for insulin-like growth factor-binding proteins following major heart surgery. *J. Endocrinol.*, **135**, 135(1992)
  33. Fielder, P. J., Guevara-Aguirre, J., Rosenbloom, A. L., Carlsson, L., Hintz, R. L. and Rosenfeld, R. G. : Expression of serum insulin-like growth factors(IGFs), IGF-binding proteins(IGFBPs), and the growth hormone-binding protein(GHBP) in heterozygote relatives of Ecuadorian GH-receptor deficient patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **74**, 743(1992)
  34. Dohm, G. L., Elton, C. W., Raju, M. S., Mooney, N. D., DiMarchi, R., Pories, W. J., Flickinger, E. G., Atkinson, S. M. Jr. and Caro, J. F. : IGF-I-stimulated glucose transport in human skeletal muscle and IGF-I resistance in obesity and NIDDM. *Diabetes*, **39**, 1028(1990)
  35. Flier, J. S., Moller, D. E., Moses, A. C., O'Rahilly, S., Chaiken, R. L., Grigorescu, F., Elahi, D., Kahn, B. B., Weinreb, J. E. and Eastman, R. : Insulin-mediated pseudoacromegaly : clinical and biochemical characterization of a syndrome of selective insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **76**, 1533(1993)

(1997년 1월 23일 접수)