

## Insulin-like Growth Factor System의 생식기능에서의 역할: 자궁편

진주산업대학교 국제축산개발학과

이 철 영

### Roles of the Insulin-like Growth Factor System in the Reproductive Function: Uterine Connection

Chul Young Lee

*Department of International Livestock Industry, Chinju National University,  
Chinju, Korea*

#### =Abstract=

It has been known for a long time that gonadotropins and steroid hormones play a pivotal role in a series of reproductive biological phenomena including the maturation of ovarian follicles and oocytes, ovulation and implantation, maintenance of pregnancy and fetal growth & development, parturition and mammary development and lactation. Recent investigations, however, have elucidated that in addition to these classic hormones, multiple growth factors also are involved in these phenomena. Most growth factors in reproductive organs mediate the actions of gonadotropins and steroid hormones or synergize with them in an autocrine/paracrine manner. The insulin-like growth factor(IGF) system, which is one of the most actively investigated areas lately in the reproductive organs, has been found to have important roles in a wide gamut of reproductive phenomena. In the present communication, published literature pertaining to the intrauterine IGF system will be reviewed preceded by general information of the IGF system.

The IGF family comprises of IGF-I & IGF-II ligands, two types of IGF receptors and six classes of IGF-binding proteins(IGFBPs) that are known to date. IGF-I and IGF-II peptides, which are structurally homologous to proinsulin, possess the insulin-like activity including the stimulatory effect of glucose and amino acid transport. Besides, IGFs as mitogens stimulate cell division, and also play a role in cellular differentiation and functions in a variety of cell lines. IGFs are expressed mainly in the liver and mesenchymal cells, and act on almost all types of tissues in an autocrine/paracrine as well as endocrine mode. There are two types of IGF receptors. Type I IGF receptors, which are tyrosine kinase receptors having high-affinity for IGF-I and IGF-II, mediate almost all the IGF actions that are described above. Type II IGF receptors or IGF-II/mannose-6-phosphate receptors have two distinct binding sites; the IGF-II binding site exhibits a high affinity only for IGF-II. The principal role of the type II IGF receptor is to destroy IGF-II by targeting the ligand to the lysosome. IGFs in biological fluids are mostly bound to IGFBP. IGFBPs, in general, are IGF storage/carrier proteins or modulators of IGF actions; however, as for distinct roles for individual IGFBPs, only limited information is available. IGFBPs inhibit IGF actions under most *in vitro* situations, seemingly because affinities of IGFBPs for IGFs are greater than those of IGF receptors. How IGF is released from IGFBP to reach IGF receptors is

not known; however, various IGFBP protease activities that are present in blood and interstitial fluids are believed to play an important role in the process of IGF release from the IGFBP. According to latest reports, there is evidence that under certain *in vitro* circumstances, IGFBP-1, -3, -5 have their own biological activities independent of the IGF. This may add another dimension of complexity of the already complicated IGF system.

Messenger ribonucleic acids and proteins of the IGF family members are expressed in the uterine tissue and conceptus of the primates, rodents and farm animals to play important roles in growth and development of the uterus and fetus. Expression of the uterine IGF system is regulated by gonadal hormones and local regulatory substances with temporal and spatial specificities. Locally expressed IGFs and IGFBPs act on the uterine tissue in an autocrine/paracrine manner, or are secreted into the uterine lumen to participate in conceptus growth and development. Conceptus also expresses the IGF system beginning from the peri-implantation period. When an IGF family member is expressed in the conceptus, however, is determined by the presence or absence of maternally inherited mRNAs, genetic programming of the conceptus itself and an interaction with the maternal tissue. The site of IGF action also follows temporal (physiological status) and spatial specificities. These facts that expression of the IGF system is temporally and spatially regulated support indirectly a hypothesis that IGFs play a role in conceptus growth and development. Uterine and conceptus-derived IGFs stimulate cell division and differentiation, glucose and amino acid transport, general protein synthesis and the biosynthesis of mammatropic hormones including placental lactogen and prolactin, and also play a role in steroidogenesis. The suggested role for IGFs in conceptus growth and development has been proven by the result of IGF-I, IGF-II or IGF receptor gene disruption(targeting) of murine embryos by the homologous recombination technique. Mice carrying a null mutation for IGF-I and/or IGF-II or type I IGF receptor undergo delayed prenatal and postnatal growth and development with 30-60% normal weights at birth. Moreover, mice lacking the type I IGF receptor or IGF-I plus IGF-II die soon after birth. Intrauterine IGFBPs generally are believed to sequester IGF ligands within the uterus or to play a role of negative regulators of IGF actions by inhibiting IGF binding to cognate receptors. However, when it is taken into account that IGFBP-1 is expressed and secreted in primate uteri in amounts assessedly far exceeding those of local IGFs and that IGFBP-1 is one of the major secretory proteins of the primate decidua, the possibility that this IGFBP may have its own biological activity independent of IGF cannot be excluded. Evidently, elucidating the exact role of each IGFBP is an essential step into understanding the whole IGF system. As such, further research in this area is awaited with a lot of anticipation and attention.

## 요 약

여포와 난포의 성숙, 배란과 착상, 임신의 유지와 태아의 성장·발달, 분만 및 유선발육과 비유 등 일련의 생식현상에서 있어서 성선자극호르몬과 스테로이드 호르몬의 작용이 중추적인 역할을 한다는 사실은 오래 전부터 알려져왔다. 그러나 이러한 일련의 현상에 고전적인 호르몬 외에도 다수의 성장인자가 관여되고 있음이 최근의

연구 결과 밝혀지고 있다. 생식기관에서 성장인자들은 대부분 autocrine/paracrine mode로 작용하여, 성선자극호르몬과 스테로이드 호르몬의 작용을 매개하거나 이들 호르몬 등과 교호적인 작용(synergy)을 한다. 생식기관 내 insulin-like growth factor(IGF) system은 최근 가장 활발히 연구된 분야 중의 하나로 생식현상의 전반에 걸쳐 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀졌다. 본 지면에서는 IGF system에 관한 개괄적인 정보를 소개하고 현재까지 보고된 intrauterine IGF system에 관

한 연구 결과를 요약하고자 한다.

IGF family는 IGF-I과 IGF-II ligands, 두종류의 IGF receptors(수용체), 그리고 지금까지 발견된 6종류의 IGF-binding proteins(IGFBPs)로 이루어져 있다. IGF-I과 IGF-II는 proinsulin과 상동한 구조를 가진 peptide로서 포도당과 아미노산 운반을 자극하는 등 insulin과 유사한 작용을 한다. 이외에도 IGFs는 세포분열촉진제(mitogens)로서 여러 형태의 세포에 걸쳐 세포증식을 자극하고, 세포의 분화(differentiation)와 세포기능의 발현에 관여한다. IGFs는 간과 주로 mesenchymal cells에서 발현되어 endocrine mode는 물론 autocrine/paracrine mode로 거의 모든 조직에 작용한다. IGF 수용체는 두종류가 알려져 있는데 type I IGF receptor는 tyrosine kinase로서 IGF-I과 IGF-II에 공히 high-affinity를 나타내고, 상기한 대부분의 IGFs의 작용을 매개한다. Type II IGF receptor 혹은 IGF-II/mannose-6-phosphate receptor는 두개의 서로 다른 binding sites를 가지고 있는데 IGF-II binding site는 IGF-II에만 high-affinity를 나타낸다. Type II IGF receptor의 주요 역할은 IGF-II를 lysosomal targeting하여 ligand를 파괴하는데 있다. 체액 속의 IGFs는 대부분 IGFBP에 결합되어 있다. IGFBPs는 IGF의 저장/운반체 혹은 IGF 작용을 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있으나 개개 IGFBP의 역할에 대해서는 지극히 제한된 정보만이 알려져 있다. IGFBPs의 IGF ligands에의 affinity는 IGF receptors의 IGFs에의 affinity보다 크기 때문에 대부분의 *in vitro* 상황 하에서 IGFBPs는 IGF 작용을 억제한다. IGFBP에 결합되어 있는 IGF가 어떤 기작에 의해 IGFBP로부터 분리되어 IGF receptor에 도달하는지는 알려지지 않고 있으나, 혈액과 조직액에 들어있는 불특정 IGFBP protease activity는 IGF의 방출과정에서 일 역할을 하는 것으로 믿어지고 있다. 최근 연구보고에 의하면 특정 *in vitro* 상황 하에서 IGFBP-1, -3, -5 등은 IGF와 무관한 작용도 있다는 증빙이 있어 IGF system의 또 다른 차원을 예고하고 있다.

IGF family members의 mRNAs & proteins는 영양류, 설치류 및 가축의 자궁조직과 수태물(conceptus)에서 발현되어 자궁과 태아의 성장·발달에 중요한 역할을 한다. 자궁조직의 IGF system의 발현은 성선호르몬, 국소 생리조절인자 등에 의해 발현시기와 장소의 특이성이 결정되며, 발현된 IGFs와 IGFBPs는 autocrine/paracrine mode

로 자궁조직에 작용하기도 하고, 자궁강에 분비되어 수태물의 성장·발달에 관여한다. 착상을 전후하여 수태물에서도 IGF system이 발현되는데 개개 IGF family member의 발현 시기는 모체로부터 유래된 mRNA의 유무, 수태물 자체의 genetic programming, 모체와의 상호작용 등에 의해 결정되고, IGFs의 작용 부위 역시 시간(생리적 상태)과 장소의 특이성이 있다. 이와같이 conceptus IGF system의 발현이 시간적, 공간적으로 조절되고 있다는 사실은 IGFs가 수태물의 성장·발달에 일역을 한다는 가설을 간접적으로 지지해 준다. 자궁조직과 수태물에서 발현된 IGFs는 세포의 증식과 분화, 포도당과 아미노산의 운반과 단백질합성, placental lactogen과 prolactin 등과 같은 유선자극호르몬의 생성을 자극하고 스테로이드 호르몬의 합성에도 관여한다. 태아의 성장·발달에 있어서 IGFs의 역할은 embryo의 IGF-I, IGF-II, 혹은 IGF receptor gene을 homologous recombination technique에 의해 파괴(gene targeting)하였을 때의 결과로써 입증되었다. 생쥐의 IGF and/or IGF-II gene 혹은 IGF receptor gene을 파괴했을 때 출생 전후 모두 성장·발달이 지연되며 출생시 무게는 정상치의 30-60% 수준에 머물고, 특히 type I IGF receptor gene 혹은 IGF-I과 IGF-II genes를 모두 파괴했을 경우에는 출생 후 곧 치사한다. 자궁 내의 IGFBPs는 IGF ligands를 자궁 내에 제한시키거나 IGFs의 receptor binding을 억제하는 negative regulators 역할을 하는 것으로 믿어지고 있다. 그러나 영장류의 자궁에서 IGFBP-1과 같은 특정 IGFBP는 IGFs보다 월등히 많은 양이 발현·분비되고 있는 것으로 추산되고 있으며, 또한 이 단백질은 모체탈락막세포에서 분비되는 주요 단백질 중의 하나라는 점을 감안할 때 IGFBP-1이 IGF와 무관한 작용이 있을 가능성도 배제할 수 없다. 따라서 IGFBPs의 역할 규명은 IGF system을 이해하는데 중요한 부분을 차지하고 있어 향후 이 분야의 연구에 많은 기대와 촉진이 모여지고 있다.

## 서 론

포유류의 생식기능의 발현에 있어서 고전적인 성선자극호르몬과 스테로이드 호르몬이 중추적인 역할을 한다는 사실은 오래 전부터 알려져 왔으나 최근들어 성장인자에 관한 연구가 진척됨

에 따라 성장인자들 또한 생식기능의 발현에 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀지고 있다. 난소에서는 epidermal growth factor(EGF), transforming growth factor- $\alpha$  and  $\beta$  (TGF- $\alpha$  and  $\beta$ ), fibroblast growth factor(FGF), platelet-derived growth factor(PDGF) 등이 발현되어 여포의 성숙, 스테로이드 호르몬의 생성, 난포의 성숙 등에 관여한다 (Giordano et al., 1992; Giudice & Saleh, 1995).

Embryo 발달과정에 있어서 성장인자의 역할은 embryo culture 실험으로부터 입증되었다. 간단한 배양액에서 embryo는 *in vivo* 상태에 비해 발달이 지연되나, EGF 혹은 TGF- $\alpha$  를 첨가하면 embryo의 발달과 hatching이 촉진되고(Paria & Dey, 1990), 자궁분비액(uterine luminal fluid)이나 생식관 조직의 배양액(conditioned culture medium)은 지연된 embryo의 발달을 정상화해 준다 (Giudice & Saleh, 1995). 이러한 결과들로부터 EGF family 성장인자는 물론 다른 성장인자들도 embryo의 성장발달에 관여될 것으로 유추되었다.

자궁과 수태물(conceptus)에서도 이들 성장인자는 물론 여러 종류의 cytokines가 발현 되어 자궁조직을 증대시키고 태아의 성장·발달에도 관여한다(Simmen & Simmen, 1991; Schultz et al., 1993; Giudice & Saleh, 1995). 이들 성장인자들은 대체로 고전적인 성선자극호르몬이나 스테로이드호르몬의 작용을 매개하거나 이들 호르몬과 교호적인 작용을 한다. 이러한 성장인자들은 유선조직에서도 발현되어 유선발육에 관여함은 물론 유즙에 분비되어 신생아의 초기 발육에까지 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(Forsyth, 1989, 1991; Grosvenor et al., 1992). Insulin-like growth factor(IGF) system은 생식계에서 가장 많이 연구된 growth factor systems 중의 하나로 생식계의 여러 분야에 걸쳐 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀졌다.

IGF system은 IGF-I과 IGF-II ligands, 두 종류의 IGF receptors와 6종류의 IGF-binding proteins (IGFBPs)로 이루어진 복합성장인자계라 할 수 있다. 난소에서 IGF는 follicle stimulating hormone(FSH), estrogen 및 luteinizing hormone(LH) 등과 교호적으로 여포의 성숙과 estrogen 및 progesterone의 합성 등에서 큰 역할을 하고(Adashi et al., 1985; Adashi, 1992; Giordano et al., 1992; Giudice, 1992), 정소에서도 이와 상응하는 역할을 한다(Spiteri-Grech & Nieschlag, 1992). 유선 조

직에서 IGF는 상피세포(parenchyma)의 증식과 유단백질 합성을 자극하는 것으로 알려졌다(Forsyth, 1989; Lee, 1992). 자궁조직과 태아는 IGF system의 발현이 활발한 곳으로 IGFs는 자궁의 증대와 수태물의 성장·발달에 관여한다 (Murphy & Ghahary, 1990; Heyner et al., 1993; Simmen et al., 1993).

본 지면은 먼저 IGF system에 대한 개괄적인 정보를 소개하고 IGF system의 생식기능에서의 역할 중 자궁의 발육과 수태물의 성장·발달에서의 역할을 요약·정리하고자 한다.

## Insulin-like Growth Factor System

IGF의 역사는 Salmon과 Daughaday(1957)의 rat costal cartilage explant culture에서 성장호르몬의 sulfate uptake에의 효과 실험으로 거슬러 올라간다. 이미 그 당시만 하여도 성장호르몬이 골격 성장을 촉진한다는 사실이 알려져 있었기 때문에 성장호르몬이 sulfate uptake를 자극할 것으로 기대 되었으나 배양액에 넣은 성장호르몬은 효과가 없었고, 반면 정상 쥐의 혈청은 sulfate uptake를 자극하였다. 그러나 뇌하수체를 절제한 [hypophysectomized (hypox)] 쥐의 혈청은 효과가 없었고, 성장호르몬을 투여한 hypox rats로부터 얻은 혈청은 sulfate uptake를 자극하였다. 이러한 결과를 토대로 그들은 성장호르몬의 골격 성장 촉진 효과는 성장호르몬의 자극에 의해 제 3조직(간)에서 생산된 "sulfation activity"에 의해 매개 (mediation)된다고 하는 이른바 somatomedin hypothesis를 제시하였다. 그뒤 혈청으로부터 부분 정제된 sulfation factor는 한때 somatomedin으로 개칭되어 somatomedin-A와 somatomedin-C가 정제 되었으나 이들은 IGF-I(아래 참조)과 같은 물질 임이 밝혀졌다 (Klapper et al., 1983; Enberg et al., 1994). Somatomedin과는 별도로 1960, 1970년대 스위스 그룹 연구자들은 혈청에 들어있는 Non-Suppressible Insulin-Like Activity(NSILA)를 정제하여 IGF-I과 IGF-II를 분리하였고 (Rinderknecht & Humbel, 1978a,b), 제 3그룹은 혈청의 multiplication-stimulating activity(MSA)를 정제하였는데 IGF-II와 동일한 물질임이 밝혀졌다 (Marquardt et al., 1981). 이와 같이 IGF는 용어 상의 혼돈의 여지가 있어 현재는 연구자들의 협의에 의해 IGF-I과 IGF-II라는 용어만이 쓰이고 있

다(Daughaday et al., 1987). 1980년대 들어 분자생물학의 발달과 함께 recombinant IGFs가 대량생산됨에 따라 무수한 임상 및 동물실험 결과 IGF-I이 성장호르몬 작용의 매개 역할을 한다는 사실이 밝혀져 somatomedin hypothesis가 증명되었다. IGF-II도 somatomedin(성장호르몬 작용의 매개물질) activity는 있지만 성장호르몬에의 의존성이 거의 없기 때문에 somatomedin으로 칭하기는 어렵다.

IGF receptors는 1970년대 후반부터 연구되기 시작하여 1980년대 초에는 두종류의 IGF receptors가 정제되었고(Massague & Czech, 1982), 그 뒤 분자생물학의 발달과함께 cDNAs 및 genomic DNAs가 cloning되었다. Receptors의 신호전달계에 있어서 type I IGF receptor는 세포막 주변에서 일어나는 전달체계의 일부가 밝혀졌으나 type II IGF receptor의 신호전달계가 있는지의 여부는 불분명하고 이 receptor는 단지 IGF-II ligand를 lysosomal targeting하여 ligand를 파괴하기 위한 기능만이 명확하게 밝혀졌다.

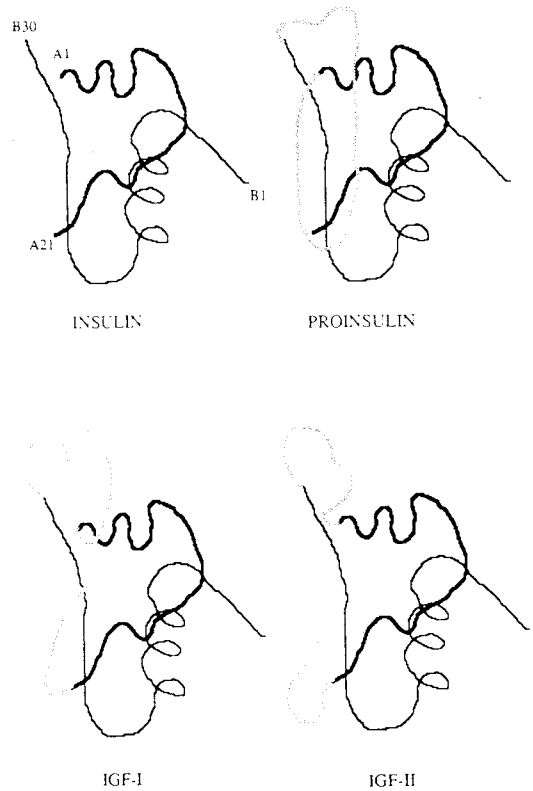
IGFBPs 역시 1970년대 후반부터 알려지기 시작하여 1980년대 IGFBP가 정제되기 전까지 한때 IGF inhibitors로 불리기도 하였다. 현재까지 구조/기능적으로 상동한 6종류의 IGFBPs가 정제되고 cloning되어 IGFBP-1, -2, -3, -4, -5, -6로 명명되었다. 일반적으로 IGFBPs는 IGFs의 저장/운반체 혹은 IGF 작용의 조절 역할을 하는 것으로 믿어지고 있으나 최근 보고에 의하면 특정 IGFBP는 IGF와 무관한 작용을 가지고 있다는 가설이 제기되어 이 분야의 연구 결과에 많은 관심이 모이고 있다.

IGF system에 관해서는 이미 많은 총설 문헌이 발표되었기 때문에 본 지면에서는 IGFs, IGF receptors 및 IGFBPs에 대한 개괄적인 내용과 최근의 발전 부분만을 소개하고자 한다. IGF system 전반에 관한 자세한 총설은 Sara와 Hall(1990), Jones와 Clemmons(1995) 등에 의해 잘 정리되었다. IGF 세부 분야에 관한 본문에서는 연구논문을 일일이 열거하기보다는 총설을 우선적으로 인용하였다.

## 1. IGFs

### 가. 구조

IGF-I과 IGF-II는 7.5 kDa의 peptides로서 proinsulin과 상동한 구조를 갖는다 (Rinderknecht &



**Fig. 1.** Schematic diagrams showing structural homology among insulin, Proinsulin, IGF-I and IGF-II. [Reproduced from T. L. Blundell & R. E. Humbel: Nature 287:781, 1990].

Humbel, 1978a,b; Fig. 1). IGFs는 proinsulin과 같이 B-chain과 A-chain이 C-chain(connecting peptide)과 3개의 disulfide bonds로 연결되어 있다. IGFs가 proinsulin 혹은 insulin과 다른 점은 A-chain의 C-terminal 부분에 D-chain이 있다는 점과 C-chain이 제거되지 않았다는 점이다. IGFs와 insulin의 1차 구조는 >45% 상동하고, IGF-I과 IGF-II는 >80% 같다. 따라서 IGF-I, IGF-II와 insulin의 cross-reactivity(IGF receptor section 참조)는 이들 세 peptides의 구조적 상동성에 기인한다.

### 나. 발현

IGF-I mRNAs는 태아의 거의 모든 조직에서 발견되고 주로 결합조직과 mesenchymal cells에 많이 분포되어 있다(Han et al., 1987). 쥐에서 IGF-I mRNAs는 생후 발육과 함께 간을 제외한 거의 모든 조직에서 줄어들고, 반대로 간에서는 생후 IGF-I mRNAs가 증가하여 조직 중 가장 높은 수준이 발현되고 혈중 IGF-I의 농도도 함께 증가한

다. 이러한 생후의 변화와 동시에 일어나는 현상으로 간에서는 성장호르몬(growth hormone; GH) receptor protein이 발현되어 somatotropic axis(GH → IGF-I → 체조직)가 성숙한다. 따라서 GH receptor가 발현되지 않는 태아기의 IGF-I 발현은 genetic programming에 의한 것으로 추측된다. IGF-II mRNAs는 간과 근육 등에서 높은 수준이 발현되고 생후 발육과 함께 급격히 감소하여 성숙한 쥐에서는 leptomeninge와 choroid plexus를 제외하고는 발현되지 않는다. 1980년대 많은 IGF 연구자들은 이러한 결과를 토대로, 1) IGFs는 태아기에는 주로 autocrine/paracrine mode로 작용하고, 생후 endocrine mode로 전환한다. 2) IGF-II는 태아기의 IGF 이고 IGF-I은 생후의 IGF 이다. 3) 간이 혈중 IGFs의 주요 분비원 이라고 제안하였다. 그러나 인간과 돼지에서의 결과는 제안 1)과는 부합되나 2)와 3)과는 부합되지 않는다. 쥐와는 반대로 인간과 돼지는 생후 IGF-II의 혈중 농도가 증가하므로(Daughaday & Rotwein, 1989; Lee et al., 1991) IGF-II를 단적으로 태아기의 IGF라고 할 수 없다. 쥐는 혈중 IGFs 농도와 간의 IGFs mRNAs 수준이 상관관계가 있으나 돼지는 생후 IGFs 혈중 농도는 증가하지만 간의 IGF-I mRNAs 수준은 크게 변하지 않고 IGF-II mRNAs 수준은 급격히 감소(Lee et al., 1993)하기 때문에 간이 혈중 IGFs의 주요 분비원 이라는 근거가 없다.

#### 다. IGF의 생물학적 작용

IGFs의 *in vitro* actions는 Nissley와 Rechler (1984)에 의해 자세히 보고되었으므로 현 지면에서는 대표적인 작용만을 소개하고자 한다. 먼저 IGF는 표적세포의 종류가 무수히 많아 전신성장인자라 할 수 있다. IGF-I과 IGF-II는 type I IGF receptor(IGF receptors 참조)를 통하여 세포의 증식을 자극한다. IGF-I은 IGF-II에 비해 1-20배, insulin에 비해 100-1,000배의 역가가 있는데 이는 이들 ligands의 type I IGF receptor에의 상대적인 affinity를 반영한다. 따라서 고문헌에서 발견되는 고농도 insulin의 세포증식 효과는 대부분 type I IGF receptor를 통하여 매개된 것으로 믿어지며, 생리학적 수준에서 insulin의 세포증식 효과는 경미한 수준인 것으로 추측된다. Cell cycle에서 IGF는 직접적으로 DNA 합성을 촉진한다. Stiles 등(1979)의 학설에 의하면 cell cycle 중 PDGF나

bFGF 등은 G<sub>0</sub> phase에서 G<sub>1</sub> phase까지 진척되게 하는 "competence factor" 역할을 하고, IGF-I은 G<sub>1</sub> phase에서 S phase(DNA 합성)로 진척 시키는 "progression factor" 역할을 한다 하였다. 이 이론이 제기된 후 PDGF, FGF, EGF 등은 IGF 혹은 IGF receptor 발현을 유도하여 이들 성장인자에 의한 세포분열자극 효과는 IGF에 의해 매개된다는 실험적 증빙이 보고되어 Stiles 등의 cell cycle 이론은 신빙성 있게 받아들여지고 있다. IGFs는 세포증식 작용 외에 신경세포나 hematopoietic cells 등에서는 세포의 사멸(apoptosis)을 억제하는 작용도 있고, 유선 상피세포에서는 survival factor 역할을 하는 것으로도 보고되었다(Hansen & Knudsen, 1991).

IGFs는 여러 형태의 세포에 걸쳐 분화(differentiation)를 촉진한다. IGFs의 세포분화촉진 효과는 Florini 등에 의해 myoblast cell model에서 잘 연구되었다(Florini & Magri, 1989). IGFs는 myoblast의 증식을 자극함은 물론 terminal differentiation을 유도하여 근육세포 특이 유전자 발현과 myotube 형성을 자극한다.

IGF, 특히 IGF-I의 발현은 일차적으로 GH의 증속을 받으나, TSH(Takahashi et al., 1990), FSH & LH(Adashi et al., 1985), ACTH(Penhoat et al., 1990) 혹은 성선스테로이드 호르몬(Metzer et al., 1994) 등의 표적세포에서도 이들 호르몬의 자극에 의해 IGF가 직접 혹은 간접적으로 발현되어 이들 호르몬의 작용을 매개하거나 호르몬과 교호적인 작용을 한다.

세포의 대사에 있어서 IGFs는 insulin과 유사한 작용을 한다. Insulin과 같이 IGFs 역시 포도당 & 아미노산의 운반과 단백질합성을 자극하고 단백질분해를 억제한다. 지방세포에서 IGFs는 지방합성을 촉진하고 분해를 억제한다(Zapf et al., 1978). 그러나 지방세포에서 IGFs의 역가는 insulin의 역가에 비해 수십배 낮기 때문에 IGFs가 insulin receptor를 통하여 작용했을 가능성을 배제할 수 없으며 또한 지방세포에는 IGF receptors의 발현 수준이 낮기(Massague & Czech, 1982) 때문에 *in vivo*에서 IGFs의 지방대사 조절기능은 경미할 것으로 추측된다.

IGF-I의 *in vivo* somatomedin activity는 동물실험과 임상실험을 통하여 잘 증명되었다. IGF-I은 hypox rats에서 뼈 성장을 포함한 전체적인 체성장을 높여주고(Schoenle et al., 1985), GH receptor

결핍증에 의한 왜소증(Laron type dwarfism) 아동의 체성장을 높여주었다(Laron et al., 1992). 또한 GH null mice (GH-/IGF-I-) background에서 IGF-I-transgenic mice(GH-/IGF-I+)는 GH-null mice의 낮은 성장율을 정상화하였다(Behringer et al., 1990). 이러한 IGF-I의 somatomedin activity에 있어서 주목할 것은 체성장 촉진 효과에 있어서 GH이 IGF-I보다 우월하고 IGF-I은 단지 신장과 면역기관(비장, 흉선)에서만 GH보다 효과가 크다. 이는 IGF-I이 GH의 성장 촉진 작용의 일부를 매개하나 GH은 IGF-I과 무관한 고유의 성장 촉진 효과가 있음을 의미한다. Nixon과 Green(1984)이 제시한 'dual effector theory'에 의하면 전구세포(progenitor cell)가 분화되는 과정에는 GH이 필요하고, 분화된 세포의 증식에는 IGF-I이 필요한데 *in vivo* 상태에서는 GH의 작용에 의해 전구세포가 분화하는 과정중 IGF-I이 발현되어 GH은 결과적으로 전구세포와 분화된 세포에 작용할 수 있는 반면, GH이 결핍된 상태에서 IGF-I은 분화된 세포에만 작용할 수 있다. 이들의 이론은 상당한 실험적 증거가 제시되어 성장촉진 효과 상 GH이 IGF-I보다 우월한 이유의 일부를 설명해 준다. IGF-I과 GH은 *in vivo*에서 공히 지방분해를 높여 주나(Thompson et al., 1995) 그 작용기전은 각각 다르다. GH은 지방조직에 직접 작용하여 지방분해를 촉진하는 반면 IGF의 지방분해 효과는 IGF에 의한 insulin 분비 억제 효과(Leahy & Vandekerkhove, 1990)에 기인한 간접적인 결과로 사료된다(Laager et al., 1993).

IGF-II의 태아기 성장인자로서의 역할은 gene targeting 실험에 의해 증명 되었다(DeChiara et al., 1990). 그러나 생후 IGF-II의 역할은 불명료하다. IGF-II가 hypox rats에서 IGF-I에 버금가는 somatomedin activity를 보였으나(Schoenle et al., 1985) 쥐는 생후 IGF-II가 발현되지 않기 때문에 쥐의 결과를 인간이나 가축에 적용하기는 어렵다. 사실상 Koea 등(1992)은 양에 IGF-I과 IGF-II를 동시에 주사하였더니 IGF-II는 IGF-I에 의한 단백질 분해 억제 효과를 소멸 시켰다는 결과를 토대로 IGF-II는 IGF-I action의 negative regulator 역할을 한다고 제안하였다.

## 2. IGF receptors

### 가. type I IGF receptor

Type I IGF receptor 혹은 IGF-I receptor는 in-

sulin receptor와 같이  $\alpha_2\beta_2$  heterotetrameric structure를 가지고 있다(LeRoith et al., 1995; Fig. 2).  $\alpha$ ,  $\beta$  subunits는 하나의 유전자로부터 전사되어 1367 아미노산으로 번역된 다음 가수분해 되어  $\alpha$ -subunit,  $\beta$ -subunit와 두 subunits 사이를 이어주던 tetrapeptide로 나뉘어진다.  $\alpha$ ,  $\beta$  subunits는 disulfide bonds로 연결되어  $\alpha\beta$ -half receptor가 형성되고 두 개의 half receptors는 다시 disulfide bonds로 연결되고 당이 첨가되어  $\alpha_2\beta_2$  form의 완전한 receptor가 형성된다.  $\alpha$ -subunit(120-140 kDa)는 extracellular protein으로서 ligand binding domain이 있고, 상대적인 ligand affinity는 IGF-I > IGF-II > insulin 순서이다.  $\beta$ -subunit는 transmembrane, tyrosine kinase로서  $\alpha$ -subunit로부터 받은 신호를 세포 안으로 전달하는 역할을 한다.

Type I IGF receptor의 세포막 부근에서 일어나는 신호전달경로는 insulin receptor의 신호전달경로와 거의 같다. Ligand가  $\alpha$ -subunit에 binding하면 두개의  $\beta$ -subunits 간에는 serine과 tyrosine residues가 cross-phosphorylation되어  $\beta$ -subunit의 tyrosine kinase domain이 활성화 된다. 활성화된

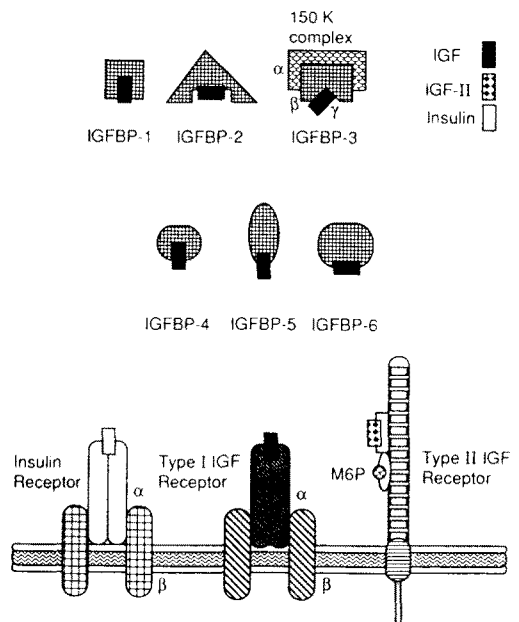


Fig. 2. Schematic diagrams showing IGF peptides(IGF-I, IGF-II), IGF-II peptide, and insulin, six known IGF-binding proteins(IGFBPs), and the insulin and type I and type II IGF receptors. [Reproduced from P. Cohen et al.: Acta Endocrinol(Copenh) [Suppl 2] 124:74, 1991 and D. O. Morgan et al.: Nature 329:301, 1987].

$\beta$ -subunit를 통한 신호전달경로는 크게 두길로 갈라진다. 첫 번째로, 활성화된  $\beta$ -subunit는 insulin receptor substrate-1(IRS-1)의 tyrosine residues을 인산화하여 IRS-1을 활성화한다. 활성화된 IRS-1은 Nck, phosphatidylinositol-3(PI-3) kinase, phosphotyrosine phosphatase(Syp)를 인산화하여 이들을 활성화시킨다. 이들 IRS-1 substrates를 통한 다음의 경로는 밝혀지지 않았다. 또한 활성화된 IRS-1은 growth factor receptor-bound protein-2(Grb2), Son of Sevenless(Sos)와 순차적으로 결합하여 IRS-1-Grb2-Sos complex는 Ras protein을 활성화한다. 활성화된 Ras protein의 신호는 Ras  $\rightarrow$  Raf  $\rightarrow$  MEK  $\rightarrow$  MAP kinase를 거쳐 핵에 신호가 전달된다.  $\beta$ -subunit의 두 번째 경로는 Src homology domain-containing protein(Shc)을 인산화하여 활성화 하고, Shc는 Grb2, Sos와 순차적으로 결합하여 Ras를 활성화한다. 이들 각각의 신호전달 경로에 의한 최종 반응은 미확인 되었으나 전술한 대부분의 IGF 작용을 매개한다.

조직에 따라서는 IGF-I half receptor/insulin half receptor 형태의 hybrid receptor가 존재하는데 이 hybrid receptor의 형성 정도는 세포내 IGF half receptor와 insulin half receptor의 절대농도와 상대적인 농도 비율에 의해 결정된다. Insulin/IGF-I hybrid receptor는 태반과 태아의 근육에서 많이 발견되고, insulin 보다 IGF-I에 15-50배의 높은 affinity를 지니기 때문에 이 receptor를 통해서는 insulin 보다는 IGF-I에 가까운 작용이 매개된다.

#### 나. type II IGF receptor

Type II IGF Receptor는 IGF-II receptor 혹은 IGF-II/mannose-6-phosphate(M6P) receptor로도 불리우는 250kDa의 single-chain, transmembrane glycoprotein으로서 IGF-I receptor와는 구조 및 기능적으로 근본적으로 다르다(Fig. 2). IGF-II/M6P는 IGF-II binding site와 M6P binding site 두 개의 서로 다른 binding sites를 가지고 있다. IGF-II binding site는 IGF-II에만 high-affinity를 나타내며 이 site의 주요 역할은 IGF-II를 lysosomal targeting하며 ligand를 파괴하고자 하는데 있다. IGF-II receptor를 통한 ligand 파괴의 중요성은 gene targeting 실험 결과 잘 증명되었다. IGF-II gene이 파괴된 생쥐는 정상보다 작게 태어나 (정상치의 60%) "runt" 형태의 발육을 하나 IGF-II receptor gene이 파괴된 생쥐는 자궁속에서 치사한다(Baker et al., 1993; Liu et al., 1993). 그러나

IGF-II와 IGF-II receptor genes를 동시에 파괴하면 치사로부터 구출되어 IGF-II gene만을 파괴했을 때와 유사하게 태어나 "runt" 형 발육을 한다. 이러한 결과는 IGF-II가 태아의 성장·발달에 일역을 하지만 IGF-II receptor를 통하여 제거되지 않으면 치명적인 결함을 초래한다는 사실을 의미한다.

IGF-II receptor의 신호전달경로와 이 receptor를 통해 매개되는 작용은 불분명하다. Nishimoto 등 (1987)은 EGF-primed BALB/c 3T3 cell에서 IGF-II는 IGF-II receptor에 binding하여 pertussis toxin-sensitive  $G_{12}$  protein을 통하여 신호가 전달되어  $Ca^{++}$  유입을 유도하고 세포 증식을 자극하였다고 보고하였으나 신호전달경로로서의 일반성이 확인되지 않았다. 이 외에도 IGF-II receptor를 통하여 매개되는 작용이 몇몇 경우 보고된 바는 있으나 기실 대부분의 *in vitro* 실험에서 IGF-II의 작용은 IGF-I receptor를 통하여 매개된다.

IGF-II/M6P receptor의 또다른 기능은 M6P를 함유하는 glycoprotein을 M6P binding site를 통하여 세포안으로 불러들여 lysosomal targeting하는데 있다. M6P는 lysosomal proteins의 marker로서 많은 lysosomal acid hydrolases에 함유되어 있다. 이들 acid hydrolases는 자가소화효소로서 IGF-II와 같이 tissue remodeling이 왕성한 곳에서 많이 발견되어 구조적의 소화와 신조직의 생성에 중요한 역할을 하는 것으로 믿어진다(Sklar et al., 1989). 이러한 과정에서 IGF-II/M6P receptor는 lysosomal targeting을 회피하여 세포밖으로 분비된 hydrolases 등을 회수하는 역할을 한다.

### 3. IGF-binding proteins(IGFBPs)

혈액을 포함한 모든 체액의 IGFs는 거의 모두 IGFBP에 결합되어 있다(Rechler, 1993; Fig. 2). IGFBP는 IGF의 저장/운반체 역할을 하고 IGF 작용을 조절하는 기능이 있다. 현재까지 IGFBP-1, -2, -3, -4, -5, -6가 순차적으로 정제되었고 그들의 유전자가 밝혀졌다. 최근 cloning 수준에서 IGFBP와 상동한 cDNA(mac25)가 발견되었으나 (Swisshelm et al., 1995) 단백질 수준에서의 발현 여부와 특성이 밝혀지지 않아 아직은 IGFBP로서의 위치를 차지하지 못하고 있다.

#### 가. 구조

모든 IGFBPs는 단백질 및 유전자 수준에서 상



동한 구조를 가지고 있을 뿐더러 기능적으로도 high-affinity IGF-binding 특성이 있기 때문에 IGFBP genes는 하나의 유전자로부터 유래된 것으로 추측된다. 구조적으로 IGFFPs는 N-terminal 과 C-terminal 부분 특히 16-18개의 cysteine residues는 잘 보존되었고 peptide의 가운데 부분은 보존정도가 낮아 각각 IGFFP의 특이성을 나타내는 부분으로 믿어진다. IGFFP-1과 IGFFP-2는 순수한 peptides 이고 IGFFPs-3, -4, -5, -6는 glycoproteins 이며 그 크기는 IGFFP-3만이 40-45kDa 이고 나머지 IGFFPs는 ~30kDa 이다. IGFFPs-1과 -2는 C-terminal 부분에 integrin binding의 marker인 Arg-Gly-Asp(RGD) sequence가 존재하나 이들 IGFFPs가 실제 RGD sequence를 통하여 세포막의 integrin에 binding하는지는 아직 불분명하다. IGFFPs는 IGF-I 혹은 IGF-II와 1:1로 결합하고 이들 중 IGFFP-3는 혈액 중에서 ~85kDa의 acid-labile subunit(ALS)와 결합하여 ~140kDa(역사적으로는 150kDa) complex를 형성한다.

#### 나. 발현과 분포

IGFFPs 역시 거의 모든 조직에서 발현된다. 태아의 혈중에는 IGFFP-2가 가장 많으나 생후 somatotrophic axis가 성숙하면서 IGFFP-3에 의해 대체된다. 이는 IGFFP-2가 GH의 negative regulation을 받는 반면 IGFFP-3는 직·간접적으로 GH에 종속하기 때문이다. IGFFP-4는 혈중 두번째로 많은 IGFFP 이다. 혈액 속에는 이들 외에 다른 IGFFPs도 발견되나 그 비율은 매우 작다. IGFFPs는 혈액은 물론 거의 모든 체액과 조직의 추출물에서도 발견된다.

#### 다. 기능

첫째, IGFFPs는 순환계 혹은 국소 IGF의 운반 기능을 갖는다.

둘째, IGFFPs 특히 IGFFP-3는 IGF의 plasma half-life를 늘여줌으로써 혈중에 IGFs를 저장하는 기능이 있다. Free IGF 혹은 ~40kDa IGF:IGFBP complex의 plasma half-life는 2-30분 정도에 지나지 않으나 150kDa IGFFP-3 complex에 결합된 IGF의 half-life는 12-14시간으로 연장된다. 같은 맥락으로 돼지의 혈중 IGFs의 농도는 간이나 조직의 IGF mRNAs 수준보다는 혈중 IGFFP-3의 농도와 더 높은 상관관계가 있었다(Lee et al., 1993).

셋째, 150kDa IGFFP-3 complex는 대부분의 혈중 IGFs를 결합하여 혈관 내에 제한함으로써

free IGF 혹은 ~40kDa IGF:IGFBP complex의 acute insulin-like action에 의한 hypoglycemia의 위험으로부터 생체를 보호해 주는 역할도 한다.

넷째, IGFFPs는 IGF 작용을 조절하는 기능이 있다. IGFFPs의 IGF ligand에의 affinity는 IGF receptors의 ligands에의 affinity보다 1-2차원이 높기 때문에 대부분의 경우 IGFFPs는 IGF ligand의 receptor binding을 저해함으로써 IGF 작용을 저해한다. 그러나 특정 *in vitro* 상황에서 특정 IGFFP는 IGF 작용을 증강(potential)시키기도 한다. 이 경우 IGFFP는 세포막에 붙거나 부분분해(partial proteolysis), 혹은 IGFFP-1의 경우는 dephosphorylation되어 IGF ligand에의 affinity가 줄어든다. 그러나 *in vivo* 상황에서 IGFFP가 IGF 작용을 증강시킬 수 있는지의 여부는 밝혀지지 않았고 사실상 IGFFP-1 transgenic mice는 정상에 비해 체성장이 지연되었다고 보고되었다(Rajkumar et al., 1995). 상기한 역할 외에 특정 IGFFP는 IGF를 특정기관에 targeting하는 역할이 있다는 가설이 제기되기도 하였으나 아직 *in vivo* 실험적 근거는 없다.

#### 라. IGF의 방출

IGFFP에 결합되어 있는 IGF가 어떻게 방출되어 조직의 IGF receptor에 도달하는지는 미지수로 남아있다. 먼저 혈중 총 IGFs의 60~90%가 저장된 150kDa IGFFP-3 complex로부터 어떻게 IGF가 방출되는지는 큰 관심사가 아닐 수 없다. 쥐는 혈중에 존재하는 IGFFP-3 protease activity가 150kDa complex 내에서 IGFFP-3를 부분분해하여 IGF ligand에의 affinity를 떨어뜨림으로써 IGF의 방출에 일익을 할 것으로 사료되나(Lee & Rechler, 1995, 1996), IGFFP-3 protease activity가 거의 없는 human plasma에서의 IGF 방출기작은 실마리가 잡히지 않고 있다.

IGFFP-3 protease activity 외에도 IGFFP-1, -2, -4, -5 protease activity가 혈청이 아닌 체액 혹은 세포배양액(conditioned culture medium) 등에서도 발견되었다. 이들 IGFFP protease의 작용을 받아 부분분해된 IGFFP의 공통적인 특징은 ligand에의 affinity가 현저히 줄어든다는 사실이다. 따라서 조직수준에서 IGFFP protease activity는 IGF 방출에 중요한 역할을 할 것으로 추측된다.

IGFFP와 세포막의 상호작용에 의해서도 IGF ligand가 방출될 가능성도 있다. IGFFP-1, -2, -3, -5는 특정한 *in vitro* 상황에서 세포막 혹은 ex-

tracellular matrix(ECM)에 흡착된다. 세포 주변에 흡착된 IGFBP는 ligand에의 affinity가 줄어들고 종종 IGF 활성을 증강시키기도 하여 IGFBP의 세포주변 흡착이 IGF 방출과정 일 가능성을 높여 준다.

#### 마. IGF와 무관한 IGFBP의 작용

최근 특정 IGFBP는 그 자체로서 생물학적 작용이 있다는 가설이 제기되어 관심을 끌고 있다. Jones 등(1993)은 IGFBP-1은 CHO fibroblast cell에서 IGF ligand의 존재 유무에 관계없이  $\alpha_5\beta_1$  integrin에 binding하여 세포이동을 자극하였다고 보고하였다. Oh 등(1993)은 Hs578T human breast cancer cell에서 IGFBP-3는 IGFBP-3 receptor에 binding하여 세포증식을 방해한다고 하였다. 그러나 그들이 부분 정제한 IGFBP-3 receptor가 공인된 receptor로서의 위치를 차지하기 위해서는 receptor를 완전 정제하고 신호전달계를 밝혀야 하는 일이 숙제로 남아있다. Bautista 등(1991)은 IGFBP-5는 IGF 없이도 빠르게 증식을 자극하였다고 보고하여 IGFBP-5 receptor의 존재여부가 관심이다. 이상의 예비 결과들은 IGFBP가 IGF와 무관한 작용이 있을 가능성을 보여주고 있어 앞으로 이 분야의 연구결과에 많은 관심과 기대가 모이고 있다.

### Intrauterine IGF System

자궁은 태아의 발달을 위한 영양, 성장인자 및 생리조절인자 등을 제공하는 곳이다. 다수의 성장인자가 자궁조직 추출액 혹은 자궁분비액 [uterine luminal fluid(ULF)]에서 발견되고, 이들 성장인자는 태아의 발달에 중요한 역할을 한다는 사실이 밝혀지고 있으며, 그중에서도 IGF는 아마도 최근 10년간 가장 많이 연구된 성장인자이었던 것으로 사료된다. 다음은 intrauterine IGF system의 발현, 조절 및 역할에 대한 요약이다.

#### 1. IGF receptors

##### 가. 자궁

자궁에서 Type I IGF receptor는 mRNA & protein 수준에서 발현된다(Murphy & Ghahary, 1990; Talavera et al., 1990; Yallampalli et al., 1992; Simmen et al., 1993). Type I IGF receptor의 발현은 조직, 생리적 상태에 따라 변하고 종간에도 차이가 있다. 쥐와 돼지에서는 Type I IGF receptor가

endometrium보다 myometrium에서 더 많이 발현되는(Ghahary & Murphy, 1989; Hofig et al., 1991) 반면, baboon에서는 endometrium에서 더 많이 발현된다(Hild-Petito et al., 1994). Baboon 자궁에서 Type I IGF receptor는 glandular epithelium에 많이 분포되어 있고 임신 19일에 이르러서는 trophoblasts와 접하는 stromal cells에서 많이 발현된다. 즉 임신초기 IGFs는 자궁 조직과 수태물의 접촉부위가 주요 작용장소임을 의미한다.

쥐(Ghahary & Murphy, 1989)와 baboon(Hild-Petito et al., 1994)에서 type I IGF receptor 발현은 estrogen 수준이 높은 proliferative phase에 높다. 그러나 인간과 돼지는 cycle중 자궁조직의 type I IGF receptor 발현 수준이 변하지 않을뿐더러 돼지의 경우는 estrogen이나 progesterone 투여에 의해서도 변하지 않는다(Hofig et al., 1991).

쥐에서 Type I IGF receptor의 발현은 뇌하수체 호르몬(들)에 의해 negative regulation 되는 것 같다. Yallampalli 등(1992)은 hypox에 의해 쥐의 자궁조직의 IGF binding(IGF receptor abundance)은 늘어난다고 보고하였다.

##### 나. Embryo

Embryo에서 type I IGF receptor는 착상을 전후하여 발현된다. Smith 등(1993), Zhang 등(1994), Green 등(1995)은 각각 reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) 방법을 이용하여 8-cell stage rat embryo, preimplantation rat embryo, pig blastocysts에서 type I IGF receptor mRNAs를 찾아내었고, Corps 등(1990)은 preimplantation pig trophectoderm에서 type I IGF receptor protein을 찾아내었다.

Type II IGF receptor 역시 embryo에서 발현된다. Zhang 등(1994)은 preimplantation rat embryo에서, Watson 등(1992)은 oocyte stage bovine embryo에서 type II IGF receptor mRNA를 찾아내었다.

#### 2. IGFs

##### 가. 자궁에서의 발현

###### 1) 개 팔

자궁은 IGF-I이 활발하게 발현되는 곳이다. 전체 자궁은 물론 자궁의 endometrium에서 IGF-I이 발현되어 자궁 조직 및 자궁강에 분비된다. 쥐(Murphy et al., 1987a), 돼지(Tavakkol et al., 1988), 인간(Giudice et al., 1993), 소(Geisert et al., 1991)의 자궁 혹은 endometrium에서 IGF-I mRNAs가

발견되었다. IGF-I peptide 역시 쥐의 자궁 추출액 (D'Ercole et al., 1984), 돼지의 ULF(Letcher et al., 1989; Simmen et al., 1989, Ko et al., 1994), 소의 ULF(Geisert et al., 1991), 양의 ULF(Ko et al., 1991)에서 발견되었다. IGF-II mRNAs도 인간 (Giudice et al., 1993), 돼지(Simmen et al., 1992)와 소(Geisert et al., 1991)의 자궁 조직에서 발견되고 IGF-II peptide 역시 자궁강에 분비된다(Geisert et al., 1991; Ko et al., 1991, 1994).

### 2) 조직에 따른 발현

IGFs는 endometrium과 myometrium에서 발견되고, endometrium에서는 대체로 stromal cells에서 발현되어 paracrine mode로 epithelial cells 혹은 trophoblasts에 작용한다.

쥐와 돼지에서 IGF-I은 endometrium보다 myometrium에서 더 많이 발현된다(Ghahary & Murphy, 1989; Simmen et al., 1992). 쥐에서는 IGF-I receptor 역시 endometrium보다 myometrium에서 더 많이 발현되기 때문에 cycle 중 IGF-I은 myometrium이 주요 작용조직인 것 같다. 그러나 영장류의 자궁에서는 IGF-I mRNAs가 endometrium에서 가장 많이 발현된다(Giudice et al., 1993; Hild-Petito et al., 1994).

IGF-II mRNAs는 돼지의 경우 주로 luminal and glandular epithelium에서 발견되고(Simmen et al., 1992), 인간은 cycle 중 secretory phase 중 후반 endometrium과 임신 후기 모체탈락막(decidua)에서 많이 발현되는 것으로 비추어 볼 때 IGF-II가 주로 세포분화에 관여할 것으로 추측된다(Giudice et al., 1993).

### 3) 생리학적 상태에 따른 발현

Menstrual cycle 중 IGF-I mRNAs는 secretory endometrium보다 proliferative endometrium에서 더 많이 발견되고 임신중에는 주로 stromal cells에서 발현된다(Giudice et al., 1993). 임신한 생쥐에서 IGF-I mRNAs는 임신 1-2일에는 glandular and luminal epithelium에, 3-4일에는 stromal cells에, 5-6일에는 decidual cells에서 많이 발견된다(Kapur et al., 1992). 임신돈의 endometrium에서는 수태물의 발달이 왕성한 임신 12일에 IGF-I mRNAs 수준이 가장 높다(Simmen et al., 1992). IGF-II mRNAs는 임신부와 임신돈의 자궁조직에서 임신이 진행됨에 따라 증가하고(Ohlsson et al., 1989; Simmen et al., 1992), 소의 endometrium에서는 수태물의 성장(elongation)이 왕성한 임신

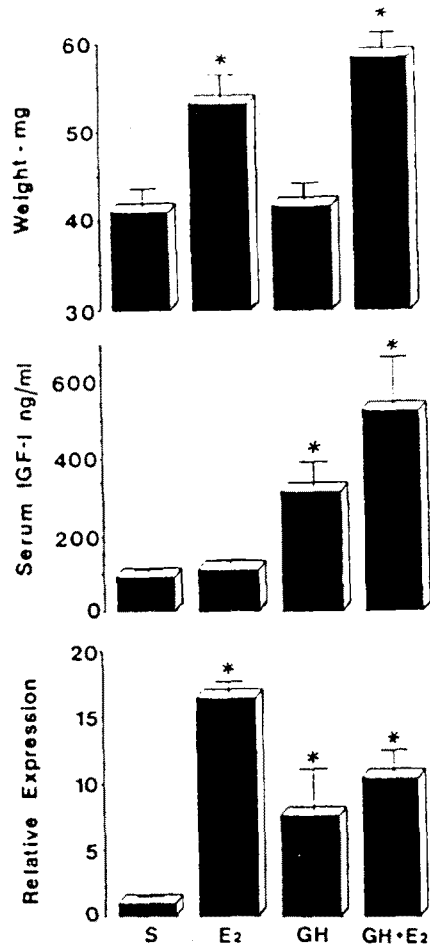


Fig. 3. Effects of acute administration of estrogen and GH on uterine weight and IGF-I gene expression in mature, ovex-hypox rats. Estradiol(E<sub>2</sub>; 5µg/100g BW), hGH(GH; 100µg/100g BW), E<sub>2</sub> + GH, or vehicle(S; saline) was intraperitoneally administered to mature, ovex-hypox rats 9h before death. Uterine IGF-I gene expression was measured by dot-blot hybridization. [Reproduced from L. J. Murphy et al.: Mol Endocrinol 1:445, 1987].

15-18일에 높게 발현되었다(Geisert et al., 1991).

### 4) IGF 발현의 조절

Endometrial IGF-I expression은 estrogen과 progesterone에 의해 up-regulation 된다. 난소가 절제된[ovariectomized(ovex)] 혹은 ovex-hypox rats에서 uterine IGF-I mRNAs 수준은 estradiol 투여 후 증가한다(Murphy et al., 1987b; Murphy & Friesen, 1988; Fig. 3). 이러한 결과를 토대로 Murphy 등은 자궁에서는 IGF-I이 estromedin[Sirbasku & Benson(1979)]이라 제안하였다. 이들의 제안은 완전

히 증명되지는 않았으나 신빙성 있게 받아들여지고 있고 estrogen의 IGF-I 발현 효과는 동물과 인체 실험에서도 재현되었다. Simmen 등(1990)은 ovex pigs에서 estradiol and/or progesterone 투여후 endometrial IGF-II mRNAs 수준에는 변화없이 IGF-I mRNAs 수준이 높아 졌다 보고하였고, Kapur 등(1992)은 ovex mice에서 estradiol은 epithelial IGF-I mRNAs 수준을, progesterone은 stromal IGF-I mRNAs 수준을 증가시켰다고 보고하였다. 인간의 menstrual cycle 중 uterine IGF-I mRNAs 수준은 혈중 estrogen 수준이 높은 proliferative phase에 높고(Giudice et al., 1993), uterotrophic agent인 tamoxifen은 자궁의 IGF-I mRNAs 수준을 증가시킨다고 보고되었다(Huynh & Polak, 1993).

GH도 쥐의 uterine IGF-I mRNA expression을 약간 높이는 효과가 있는 것 같으나 estrogen의 효과보다 훨씬 낮고, estrogen과 같은 uterotrophic activity(자궁성장자극 효과)가 없다(Murphy et al., 1987b; Murphy & Friesen, 1988). 이들 호르몬 외에 EGF도 uterine IGF-I mRNAs 발현을 증가시킨다고 보고되었다(Hana & Murphy, 1994).

#### 나. 수태물에서의 발현

IGF-I은 태아의 조직과 태반에서 널리 발현되나(Han et al., 1987; Wang et al., 1988) IGF-I mRNAs의 발현 개시는 중간에 차이가 있다. IGF-I mRNAs는 bovine oocyte(Watson et al., 1992)와 porcine blastocysts에서 발견되었으나(Green et al., 1995) 착상전 mouse blastocysts에서는 발견되지 않았다(Zhang et al., 1994). 따라서 임신초기 소와 돼지의 embryo는 자체적으로 발현된 (autocrine) IGF-I과 uterine endometrium에서 분비된 (paracrine) IGF-I이 이용되는 반면 쥐의 embryo/blastocyst는 모체로부터 분비된 IGF-I이 이용될 것이다. 사실상 Smith 등(1993)은 mouse embryo는 모체에서 분비된 IGF-I을 transcytosis한다는 것을 발견하였다.

IGF-II mRNAs는 2-cell stage murine embryos(Rappolee et al., 1990), bovine oocytes(Watson et al., 1992)에서 발견되었고, Hemmings 등(1991)은 human blastocysts로부터 IGF-II peptide의 분비를 확인하였다. 이상을 종합하면 IGF-II는 IGF-I 보다 일찍 발현되기 시작하고, IGF-II와 IGF-I은 공히 autocrine mode는 물론 paracrine mode로 수태물에 작용한다는 것을 알 수 있다.

## 다. IGFs의 작용

### 1) 자궁조직

IGF-I의 세포증식 작용은 estrogen 존재하의 쥐의 자궁 조직배양에서 혹은 estrogen-primed 미성숙 쥐의 자궁 조직배양에서 확인되었다(Murphy & Ghahary, 1990). 세포 기능 면에서 IGF-I은 인간의 모체탈락막 세포배양에서 prolactin 합성을 촉진하였다(Thrailkill et al., 1988). 생쥐 자궁에서 IGF-I은 *in vivo* EGF mRNA 발현을 촉진하였고 역으로 EGF는 IGF-I 발현을 촉진하였다(Hana & Murphy, 1994). 생쥐 자궁에서 IGF-I은 주로 stromal cells에서 발현되고 EGF는 주로 epithelial cells에서 발현되므로 이들 두 성장인자는 자궁의 epithelium과 stroma의 상호작용에 일역을 하는 것으로 해석된다.

### 2) 수태물

#### 가) 세포증식과 분화

IGFs는 태아 세포의 증식과 분화에 관여한다(Harvey & Kaye, 1992). IGF-I은 mouse embryo의 inner cell mass(Smith et al., 1993)와 ectoplacental cone cell(EPC)(Kanai-Azuma et al., 1993)의 세포증식을 자극하였다고 보고되었다. 세포분화에 있어서 IGF-I은 인간 태반세포의 hypertrophy와 cytotrophoblasts 형성을 촉진하였다(Bhaumick et al., 1992). IGF-II 역시 mouse embryo의 세포증식을 자극하고(Rappolee et al., 1992), EPC를 trophoblastic giant cell로 변형시키는 작용이 있는 것으로 보고되었다(Kanai-Azuma et al., 1993).

#### 나) 대사

IGF는 수태물 세포에 의한 포도당과 아미노산의 운반과 단백질 합성을 증진시킨다. IGF-I은 mouse blastocysts에서 포도당운반을 자극하고(Pantaleon & Kaye, 1996), human placental trophoblasts에서 아미노산운반을 자극하였고(Karl, 1995), pig embryonic disc culture와 mouse embryo culture에서 단백질합성을 자극하였다(Estrada et al., 1991; Shi et al., 1994). IGF-II의 단백질합성 자극 효과는 mouse embryo culture에서 관찰되었다(Rappolee et al., 1992).

#### 다) 세포기능

IGFs는 태반(placenta) 세포에 의한 단백질호르몬과 스테로이드호르몬의 합성/분비에 관여한다. IGF-I은 인간의 태반 세포배양에서 placental lactogen 분비를 자극하였고(Bhaumick et al., 1992),

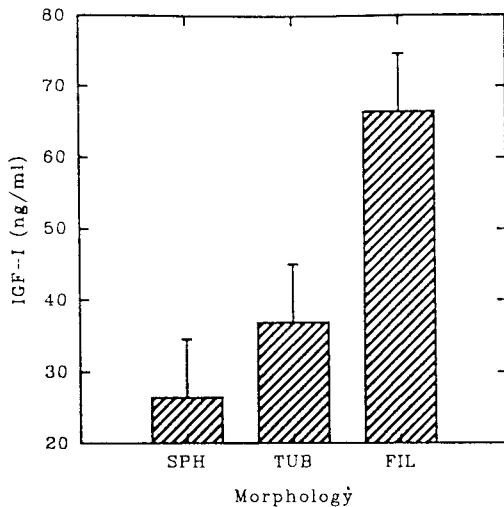
**Table 1.** Effects of IGFs on oTP-1 secretion *in vitro*

	oTP-1(ng/ml)
Control	69.0 ± 44.5
IGF-I (100ng/ml)	39.5 ± 44.7
IGF-II (100ng/ml)	51.9 ± 43.0
IGF-I/-II (50, 50ng/ml)	195.6 ± 43.0*

Day 13 conceptuses(n=5 per group) were cultured without IGFs for 6h followed by change to medium containing IGFs for 24h at 37°C. Amounts of ovine trophoblast protein-1(oTP-1) in conceptus-conditioned culture media were measured by RIA.

\*P < 0.01

[Extracted from Ko et al. (1991)]



**Fig. 4.** Relationship between IGF-I concentration in uterine luminal fluid and pig conceptus morphology on day 12 of pregnancy(onset of estrus = day 0). [Reproduced from M. L. Green et al.: *Endocrinology* 136:3961, 1995].

human placental cytotrophoblasts에서 스테로이드 합성(steroidogenesis)에 관여하는 cytochrome P<sub>450</sub> SCC activity(Nestler, 1987)와 3-β-hydroxysteroid dehydrogenase (3-β-HSD) activity(Nestler, 1989)를 높여 주었으나 estradiol 합성에 관여하는 P<sub>450</sub> aromatase activity를 억제하였다(Nestler, 1987). 계속되는 연구에서 Nestler(1990)는 IGF-II는 type II IGF receptor를 통하여 P<sub>450</sub> aromatase activity를 억제하였다고 보고하였다. 그러나 이들 결과는 IGF가 쥐의 과립세포(Adashi et al., 1985)와 돼지의 배반포(Green et al., 1995)에서 aromatase activity를 높여준다는 결과와는 상반된다.

임신 초기 가축 수태물의 성장·발달에 있어서 IGF의 역할은 Simmen과 공동연구자들에 의

해 많이 연구되었다. 임신한 양의 수태물은 임신 13-14일 경 왕성하게 성장(elongation)하고 모체성 임신확인(maternal recognition of pregnancy) 물질인 ovine trophoblast protein-1(oTP-1)을 분비한다. 이와 때를 같이하여 ULF의 IGF-I과 IGF-II의 함량은 임신 14일에 가장 높고, 양의 수태물 배양에서 IGF-I 혹은 IGF-II 홀로는 효과가 없었으나 IGF-I + IGF-II는 oTP-1 분비를 자극하였다(Ko et al., 1991; Table 1)

돼지의 수태물은 임신 10-12일에 세포증식이 활발하여 형태적으로 spherical → tubular → filamentous 형태로 발달하고 수태물로부터는 돼지의 모체성 임신확인 물질 역할을 하는 estrogen 이 다량 분비된다. 이와 때를 같이하여 ULF의 IGF-I 함량은 임신 12일에 가장 높고, 임신 12일 수태물의 발달상태는 ULF IGF-I 함량과 상관관계가 있고(Fig. 4) IGF-I은 배반포의 aromatase activity를 높여준다(Green et al., 1995). 여기에서 또하나 흥미로운 것은 배반포의 aromatase activity는 ULF IGF-I의 절대량보다 IGF-I/IGF-II 비율과 더 큰 상관관계가 있다(Ko et al., 1994). 같은 맥락에서 임신 12일령 태아 생존율이 높은 만주계 Meishan pig endometrium의 IGF-I mRNAs 수준은 white pig endometrium의 IGF-I mRNAs 수준보다 높은 반면 IGF-II와 IGFBP-2 mRNAs 수준은 white pig endometrium에서 높았다(Simmen et al., 1992). 이러한 결과들은 아직 원인과 결과의 관계 인지는 밝혀지지 않았으나 돼지의 수태물 발달에 있어서 IGF-I은 positive regulator 역할을 IGF-II와 IGFBP-2는 negative regulators 역할을 한다는 가설을 제기해 준다.

### 3. IGF-binding proteins(IGFBPs)

다른 체액이나 조직 추출액에서와 같이 ULF 나 자궁조직 추출액에서도 다수의 IGFBPs가 발견된다(Murphy & Barron, 1993). 착상전 ULF IGFBPs의 발현장소는 자궁조직 인 것 같다. 물론 착상전 mouse embryo에서 IGFBP-2와 IGFBP-6 mRNAs가 발견되기도 하였으나(Hahnel & Schultz, 1994), 작은 embryo로 부터 분비되는 IGFBPs의 양으로는 ULF에서 발견되는 IGFBPs의 양을 설명하기는 어렵다. 반면 자궁조직과 ULF에서는 상당한 양의 IGFBPs가 발견되고 그 조성은 혈액의 IGFBPs 조성과는 다르다. 즉 IGFBPs가 자궁조직에서 발현되어 자궁강에 분

비됨을 의미한다. 쥐의 uterine extract와 ULF에서는 IGFBP-3로 추정되는 ~40kDa IGFBP와 IGFBP-1으로 추정되는 ~30kDa IGFBP가 가장 많이 발견되었다(Murphy & Ghahary, 1990; Yallampalli et al., 1993). 이와는 약간 대조적으로 소와 돼지의 ULF는 ~40kDa IGFBP-3가 가장 많고 수태물 발달과 함께 이들 IGFBPs의 절대량과 조성도 변한다(C. Y. Lee et al., unpublished results).

#### 가. IGFBP-1

자궁에서 발현/분비되는 IGFBPs 중 IGFBP-1은 가장 많이 연구된 IGFBP이다. IGFBP-1은 사람의 양수에서 처음 발견되었고(Chochinov et al., 1977), 역사적으로 placental protein 12(PP12) (Bohn & Kraus, 1980), pregnancy-associated  $\alpha$ 1-globulin( $\alpha$ 1-PEG)(Bell & Keyte, 1988), BP-28(Baxter et al., 1987), BP-25(Lee et al., 1988) 등으로 불리웠다. 영장류에서 임신 중 IGFBP-1은 decidua에서 분비되는데 초창기 연구에서는 태반 조직배양에서 이 IGFBP가 발견되어 PP12라는 이름이 붙었으나 뒤늦게 이 protein은 태반으로부터 완전히 제거되지 않은 모체탈락막에 의해 분비되었다는 것이 밝혀져 사실상 PP12는 오칭(misnomer)이라 할 수 있다.

IGFBP-1의 분비상 주목할만한 사실은 이 단백질이 모체탈락막에서 분비되는 주요 단백질 중의 하나라는 점이다(Bell & Keyte, 1988; Fazleabas et al., 1989a). 그 결과로 모체탈락막으로부터 유래된 것으로 믿어지는 양수 속의 IGFBP-1 농도는 혈중 IGFBP-1 농도보다 2-3차원 높고 혈중 IGFs 농도보다도 월등히 높다.

지금까지 자궁의 IGFBP-1은 IGFs를 binding함으로써 IGF 작용을 억제(Rutanen et al., 1988; Frost et al., 1993)하거나 IGFs를 자궁 내에 농축시키는 역할을 하는 것으로 제안되었으나, 이러한 역할로서는 자궁에서 분비되는 IGFBP-1의 방대한 양을 설명하기 어렵고, 또한 이 단백질이 모체탈락막의 주요 분비 단백질이란 점을 감안할 때 아마도 IGFBP-1은 IGF와 무관한 작용이 있을지도 모른다는 추측을 자아내게 한다.

임신부 자궁에서 IGFBP-1 protein은 stomal cells에서 발견되고(Waites et al., 1990), baboon에서는 glandular epithelium에서 발견된다(Fazleabas et al., 1989b; Tarantino et al., 1992). 임신 초기 baboon에서 IGFBP-1은 수태물과 태반의 접착부위에서 가장 많이 발현되고(Tarantino et al., 1992),

쥐에서는 luminal & stromal glandular epithelium에서 발견된다(Ghahary et al., 1993). 반면 돼지의 endometrium에서는 IGFBP-1이 발현되지 않는다(Song et al., 1996). 여기서 주시할 만한 사실은 영장류와 쥐는 모두 invasive hemochorial type placentation을 하고, 돼지는 ininvasive epitheliochorial type placentation을 한다는 점이다. 물론 이러한 결과는 placentation type과 IGFBP-1 발현의 유무가 원인과 결과의 관계는 아니지만, 아마도 hemochorial type placentation에서 IGFBP-1이 일의 할 가능성을 추측하게 한다.

IGFBP-1의 발현은 progesterone에 의해 자극되고 estrogen에 의해 억제된다. Menstrual cycle 중 luteal phase에 IGFBP-1의 발현과 분비가 가장 높고(Bell et al., 1986), human endometrial culture에서 progesterone은 IGFBP-1의 분비를 자극하였다(Rutanen et al., 1986). Cycling rat에서 uterine IGFBP-1 mRNA 수준은 estrogen 수준의 높은 proestrus와 estrus 때 가장 낮고(Ghahary et al., 1993), estradiol 투여 후 uterine extract에서 IGFBP-1으로 추정되는 IGFBP의 함량이 낮아졌다(Yallampalli et al., 1993).

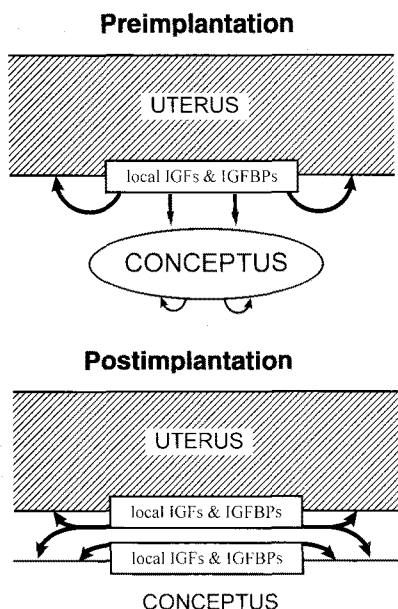
#### 나. IGFBP-2

자궁조직에서 IGFBP-2의 발현은 스테로이드 호르몬의 영향을 받는 것 같다. menstrual cycle 중 uterine IGFBP-2 mRNA 수준과 IGFBP-2 protein 분비는 proliferative phase보다 secretory phase에 더 높다(Giudice et al., 1991a,b). 이와는 약간 대조적으로 endometrial stromal cell culture에서는 progesterone은 물론 estrogen +/- progesterone 역시 IGFBP-2 분비를 촉진하였다. Cycling 혹은 임신 중 소의 endometrial IGFBP-2 mRNA 수준은 혈중 progesterone 수준과 상관관계가 있었으나(Geisert et al., 1991), 임신돈은 progesterone 수준이 낮은 임신 후반부에 endometrial IGFBP-2 mRNA 수준이 가장 높았다(Simmen et al., 1992; Song et al., 1996).

이상을 종합하면 uterine IGFBP-2 발현은 steroid hormone 수준은 물론 아마도 estrogen/ progesterone의 비율에 의해 결정되는 것 같다(Song et al., 1996).

#### 다. IGFBP-3

IGFBP-3 mRNA & protein은 인간(Giudice et al., 1991a,b), 쥐(Murphy & Ghahary, 1990; Yallampalli et al., 1993), 소와 돼지(C. Y. Lee et al., unpublished



**Fig. 5.** A schematic diagram of the intrauterine IGF system. During the preimplantation period, conceptus receives IGFs primarily from the uterine tissue period, Uterine IGFs also act on endometrium in an autocrine/paracrine manner. IGFBPs are believed to modulate IGF actions. After implantation, conceptus receives its own IGFs. Maternal IGFs, in addition to acting on endometrium, also act on the placenta; however, no evidence for a reverse flow of IGFs has been reported.

results) 등의 ULF 혹은 자궁추출액에서 발견되었다. Menstrual cycle 중 uterine IGFBP-3의 발현은 IGFBP-2와 같이 proliferative phase보다 secretory phase에 높고, *in vitro* culture에서는 estrogen and/or progesterone에 의해 발현이 증가된다(Giudice et al., 1991a,b).

Uterine IGFBP-3 발현은 GH에 의해 positive regulation되는 것 같고, estrogen에 의해서는 negative regulation된다. 쥐에서 hypox 혹은 estrogen 투여후 자궁 추출액의 IGFBP-3 함량이 낮아졌다고 보고되었다(Yallampalli et al., 1993). 쥐에 estradiol 혹은 tamoxifen과 같은 uterotrophic agent를 투여하면 uterine IGF- I mRNAs 수준은 높아지는 반면 IGFBP-3 mRNA는 낮아진다(Huynh & Pollak, 1994). 이 연구에서 IGFBP-3 mRNA 수준과 자궁의 무게와는 역관계가 있다는 것도 관찰되었다. 이들 결과는 estrogen의 자궁성장자극 작용 중 IGF-I은 세포분열 촉진제(estromedin)의 역할을, IGFBP-3는 estromedin의 negative regulator

역할을 하는 것으로 해석될 수 있다.

#### 라. Other IGFBPs

이상 설명된 IGFBPs 외에 자궁조직에서는 IGFBP-4, -5, -6가 발현되나(Song et al., 1996) 이들 각각의 IGFBP 발현의 조절과 역할이 밝혀지기까지는 좀 더 많은 연구가 진행되어야 할 것 같다.

### 결론

IGF-I은 자궁 조직에서 발현되어 autocrine/paracrine mode로 자궁세포의 증식, 분화와 대사 및 세포기능의 발현에 관여한다. Cycle중 IGF-I은 estrogen에 의해 up-regulation되어 estrogen의 자궁 성장 자극 작용의 일부를 매개하는 것으로 믿어진다. GH도 자궁의 IGF-I 발현을 증가시키나 그 효과는 estrogen의 효과에 비해 미미하고 자궁성장자극 효과도 없다. IGF-II도 자궁 조직에서 발현되어 세포증식과 분화 등에 관여하나 cycle 중 IGF-II의 발현이 어떻게 조절되는지 알려지지 않았다.

임신초기 자궁조직에서 발현된 IGFs의 일부는 자궁강으로 분비되어 수태물의 성장·발달에 관여한다. 본 지면에서는 소개하지 않았으나 IGF는 난포의 성숙을 촉진시키기도 한다. 수태물에서도 IGFs가 발현되나 임신 초기 IGFs의 주공급원은 endometrium이고 착상 후부터는 태반조직(trophectoderm)에서도 IGFs가 발현되어 수태물의 세포증식과 세포기능의 발현에 관여한다. 이상을 종합하면 IGFs는 난포의 성숙과 수태물의 성장·발달 전과정에 걸쳐 관여한다(Fig. 5).

IGFBPs 역시 자궁 조직과 수태물에서 발현되어 autocrine/paracrine mode로 대체로 IGF 작용을 억제한다. 그러나 IGFBPs가 IGF와 무관한 역할을 할 가능성도 배제할 수 없어 향후 이 분야의 연구결과에 귀추가 주목되고 있다.

### 인용문헌

- Adashi EY: Intraovarian Regulation: the IGF-I Example. *Reprod Fertil Dev* 1992, 4, 497-504.  
 Adashi EY, Resnick CE, D' Ercole AJ, Svoboda ME & Van Wyk JJ: Insulin-like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cell growth and function. *Endocr Rev* 1985, 6, 400-

420.

- Baker J, Liu J-P, Robertson EJ & Efstratiadis A: Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 1993, 10, 73-82.
- Bautista CM, Baylink DJ & Mohan S: Isolation of a novel insulin-like growth factor(IGF) binding protein from human bone: a potential candidate for fixing IGF-II in human bone. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 176, 756-763.
- Baxter RC, Martin JL & Wood MH: Two immunoreactive binding proteins for insulin-like growth factors in human amniotic fluid: relationship to fetal maturity. *J Clin Endocrinol Metab* 1987, 65, 423-431.
- Behringer RR, Lewin TM, Quaife CJ, Palmiter RD, Brinster RL & D'Ercole AJ: Expression of insulin-like growth factor I stimulates normal somatic growth in growth hormone-deficient transgenic mice. *Endocrinology* 1990, 127, 1033-1040.
- Bell CS & Keyte JW: N-terminal amino acid sequence of human pregnancy-associated endometrial  $\alpha$ 1-globulin, an endometrial insulin-like growth factor (IGF) binding protein-evidence for two small molecular weight IGF-binding proteins. *Endocrinology* 1988, 123, 1202-1204.
- Bell SC, Patel SR, Kirwan PH & Drife JO: Protein synthesis and secretion by the human endometrium during the menstrual cycle and the effects of progesterone in vitro. *J Reprod Fert* 1986, 77, 221-231.
- Bhaumick B, George D & Bala RM: Potentiation of epidermal growth factor-induced differentiation of cultured human placental cells by insulin-like growth factor-I. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 74, 1005-1011.
- Bohn H & Kraus W: Isolierung und Charakterisierung eines neuen plazenta-spezifischen Proteins(PP12). *Arch Gynecol* 1980, 229, 279-291.
- Chochinov RH, Mariz IK, Hajek AS & Daughaday WH: Characterization of a protein in mid-term human amniotic fluid which reacts in the somatomedin-C radioreceptor assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1977, 44, 902-908.
- Corps AN, Brigstock DR, Littlewood CJ & Brown KD: Receptors for epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on preimplantation trophoderm of the pig. *Development* 1990, 110, 221-227.
- Daughaday WH, Hall K, Salmon Jr WD, Van den Brande JL & Van Wyk JJ: On the nomenclature of the somatomedins and insulin-like growth factors. *J Clin Endocrinol Metab* 1987, 65, 1075-1076.
- Daughaday WH & Rotwein P: Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev* 1989, 10, 68-91.
- DeChiara TM, Efstratiadis A & Robertson EJ: A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature* 1990, 345, 78-80.
- D'Ercole AJ, Stiles AD & Underwood LE: Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984, 81, 935-939.
- Enberg G, Carlquist M, Jornvall H & Hall K: The characterization of somatomedin A, isolation by microcomputer-controlled chromatography, reveals an apparent identity to insulin-like growth factor I. *Eur J Biochem* 1984, 143, 117-124.
- Estrada JL, Jones EE, Johnson BH & Petters RM: Effect of insulin-like growth factor-I on protein synthesis in porcine embryonic discs cultured in vitro. *J Reprod Fert* 1991, 93, 53-61.
- Fazleabas AT, Jaffe RC, Verhage HG, Waites G & Bell SC: An Insulin-like growth factor-binding protein in the baboon(*papio anubis*) endometrium: synthesis, immunocytochemical localization, and hormonal regulation. *Endocrinology* 1989b, 124, 2321-2329.
- Fazleabas AT, Verhage HG, Waites G & Bell SC: Characterization of an insulin-like growth factor binding protein, analogous to human pregnancy-associated secreted endometrial  $\alpha$ <sub>1</sub>-globulin, in decidua of the baboon(*papio anubis*) placenta. *Biol Reprod* 1989a, 40, 873-885.



- Florini JR & Magri KA: Effects of growth factors on myogenic differentiation. *Am J Physiol* 1989, 256, C701-C711.
- Forsyth IA: Growth factors in mammary gland function. *J Reprod Fert* 1989, 85, 759-770.
- Forsyth IA: The mammary gland. *Bailliere's Clin Endocrinol Metab* 1991, 5, 809-832.
- Frost RA, Mazella J & Tseng L: Insulin-like growth factor binding protein-1 inhibits the mitogenic effect of insulin-like growth factors and progestins in human endometrial stromal cells. *Biol Reprod* 1993, 49, 104-111.
- Geisert RD, Lee C-Y, Simmen FA, Zavy MT, Fliss AE, Bazer FW & Simmen RCM: Expression of messenger RNAs encoding insulin-like growth factor-I, -II, and insulin-like growth factor binding protein-2 in bovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol Reprod* 1991, 45, 975-983.
- Ghahary A, Luo J & Murphy LJ: Expression and regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 in the rat uterus throughout estrous cycle. *Mol Cell Biochem* 1993, 124, 43-49.
- Ghahary A & Murphy LJ: Regulation of uterine insulin-like growth factor receptors by estrogen and variation throughout the estrous cycle. *Endocrinology* 1989, 125, 597-604.
- Giordano G, Barreca A & Minuto F: Growth factors in the ovary. *J Endocrinol Invest* 1992, 15, 689-707.
- Giudice LC: Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr Rev* 1992, 29, 641-669.
- Giudice LC, Dsupin BA, Jin IH, Vu TH & Hoffman AR: Differential expression of messenger ribonucleic acids encoding insulin-like growth factors and their receptors in human uterine endometrium and decidua. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, 76, 1115-1122.
- Giudice LC, Milkowski DA, Fielder PJ & Irwin JC: Characterization of the steroid-dependence of insulin-like growth factor-binding protein-2 synthesis and mRNA expression in cultured human endometrial stromal cells. *Hum Reprod* 1991a, 6, 632-640.
- Giudice LC, Milkowski DA, Lamson G, Rosenfeld RG & Irwin JC: Insulin-like growth factor binding proteins in human endometrium: steroid-dependent messenger ribonucleic acid expression and protein synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1991b, 72, 779-787.
- Giudice LC & Saleh W: Growth factors in reproduction. *Trends Endocrinol Metab* 1995, 6, 60-69.
- Green ML, Simmen RCM & Simmen FA: Developmental regulation of steroidogenic enzyme gene expression in the periimplantation porcine conceptus: a paracrine role for insulin-like growth factors-I. *Endocrinology* 1995, 136, 3961-3970.
- Grosvenor CE, Picciano MF & Baumrucker CR: Hormones and growth factors in milk. *Endocr Rev* 1992, 14, 710-728.
- Hahnel A & Schultz A: Insulin-like growth factor binding proteins are transcribed by preimplantation mouse embryos. *Endocrinology* 1994, 134, 1956-1959.
- Han VKM, D'Ercole AJ, Lund PK: Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in human fetus. *Science* 1987, 336, 193-197.
- Hana V & Murphy LJ: Interdependence of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I expression in the mouse uterus. *Endocrinology* 1994, 135, 107-112.
- Hansen HO & Knudsen J: Lactating goat mammary gland cells in culture. *Comp Biochem Physiol* 1991, 99A, 129-135.
- Harvey MB & Kaye PL: Insulin-like growth factor-I stimulates growth of mouse preimplantation embryos in vitro. *Mol Reprod Dev* 1992, 31, 195-199.
- Hemmings R, Langlais J, Falcone T, Bourque J, Granger L, Miron P & Guyda HJ: Human embryos produce transforming growth factor alpha and insulin-like growth factor II. *Fertil Steril* 1991, 58, 101-104.
- Heyner S, Shi C-Z, Garside WT & Smith RM: Functions of the IGFs in early mammalian development. *Mol Reprod Dev* 1993, 35, 421-426.

- Hild-Petito S, Verhage HG & Fazleabas AT: Characterization, localization, and regulation of receptors for insulin-like growth factor I in the baboon uterus during the cycle and pregnancy. *Biol Reprod* 1994, 50, 791-801.
- Hofig A, Michel FJ, Simmen FA & Simmen RCM: Constitutive expression of uterine receptors for insulin-like growth factor-I during the peri-implantation period in the pig. *Biol Reprod* 1991, 45, 533-539.
- Huynh H & Pollak M: IGF-I gene expression in the uterus is stimulated by tamoxifen and inhibited by the pure antiestrogen ICI 182780. *Cancer Res* 1993, 53, 5585-5588.
- Huynh H & Pollak M: Uterotrophic actions of estradiol and tamoxifen are associated with inhibition of uterine insulin-like growth factor binding protein 3 gene expression. *Cancer Res* 1994, 54, 3115-3119.
- Jones JI & Clemmons DR: Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995, 16, 3-34.
- Jones JI, Gockerman A, Busby WH, Wright G & Clemmons DR: Insulin-like growth factor binding protein 1 stimulates cell migration and binds to the  $\alpha_5\beta_1$  integrin by means of its Arg-Gly-Asp sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90, 10553-10557.
- Kanai-Azuma M, Kanai Y, Kurohmaru M, Sakai S & Hayashi Y: Insulin-like growth factor (IGF)-I stimulates proliferation and migration of mouse ectoplacental cone cells, while IGF-II transforms them into trophoblastic giant cells *in vitro*. *Biol Reprod* 1993, 48, 252-261.
- Kapur S, Tamada H, Dey SK & Andrews GK: Expression of insulin-like growth factor-I(IGF-I) and its receptor in the peri-implantation mouse uterus, and cell-specific regulation of IGF-I gene expression by estradiol and progesterone. *Biol Reprod* 1992, 46, 208-219.
- Karl PI: Insulin-like growth factor-1 stimulates amino acid uptake by the cultured human placental trophoblast. *J Cell Physiol* 1995, 165, 83-88.
- Klapper DG, Svoboda ME & Van Wyk JJ: Sequence analysis of somatomedin-C: confirmation of identity with insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1983, 112, 2215-2217.
- Ko Y, Choi I, Green ML, Simmen FA & Simmen RCM: Transient expression of the cytochrome P450 aromatase gene in elongating porcine blastocysts is correlated with uterine insulin-like growth factor levels during peri-implantation development. *Mol Reprod Dev* 1994, 37, 1-11.
- Ko Y, Lee CY, Ott TL, Davis MA, Simmen RCM, Bazer FW & Simmen FA: Insulin-like growth factors in sheep uterine fluids: concentrations and relationship to ovine trophoblast protein-1 production during early pregnancy. *Biol Reprod* 1991, 45, 135-142.
- Koea JB, Breier BH, Shaw JHF & Gluckman PD: A possible role for IGF-II: evidence in sheep for *in vivo* regulation of IGF-I mediated protein anabolism. *Endocrinology* 1992, 130, 2423-2425.
- Laager R, Ninnis R & Keller U: Comparison of the effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and Insulin on glucose and leucine kinetics in humans. *J Clin Invest* 1993, 92, 1903-1909.
- Laron Z, Anin S, Klipper-Aurbach Y & Klinger B: Effects of insulin-like growth factor on linear growth, head circumference, and body fat in patients with Laron-type dwarfism. *Lancet* 1992, 339, 1258-1262.
- Leahy JL & Vandekerckhove KM: Insulin-like growth factor-I at physiological concentrations is a potent inhibitor of insulin secretion. *Endocrinology* 1990, 126, 1593-1598.
- Lee C-Y: Expression of porcine messenger ribonucleic acids encoding proteins of the insulin-like growth factor(IGF) system in multiple tissues during fetal and postnatal development and in mammary glands during pregnancy: relationships to serum levels of IGFs and IGF-binding proteins and roles for IGFs and estrogen in mammary development. PhD dissertation 1992, University of Florida
- Lee CY, Bazer FW, Etherton TD & Simmen FA: Ontogeny of insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) and IGF-binding proteins in porcine serum during fetal and postnatal development.

- Endocrinology* 1991, 128, 2336-2344.
- Lee CY, Chung CS & Simmen FA: Ontogeny of the porcine insulin-like growth factor system. *Mol Cell Endocrinol* 1993, 93, 71-80.
- Lee CY & Rechler MM: A major portion of the 150-kilodalton insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) complex in adult rat serum contains unoccupied, proteolytically nicked IGFBP-3 that binds IGF-II preferentially. *Endocrinology* 1995, 136, 668-678.
- Lee CY & Rechler MM: Proteolysis of insulin-like growth factor(IGF)-binding protein-3(IGFBP-3) in 150-kilodalton IGFBP complexes by a cation-dependent protease activity in adult rat serum promotes the release of bound IGF-I. *Endocrinology* 1996, 137, 2051-2058.
- Lee Y-L, Hintz RL, James PM, Lee PDK, Shively JE & Powell DR: Insulin-like growth factor (IGF) binding protein complementary deoxyribonucleic acid from human HEP G2 hepatoma cells: predicted protein sequence suggests an IGF binding domain different from those of IGF-I and IGF-II receptors. *Mol Endocrinol* 1988, 2, 404-411.
- LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D & Roberts Jr CT: Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 1995, 16, 143-163.
- Letcher R, Simmen RCM, Bazer FW & Simmen FA: Insulin-like growth factor-I expression during early conceptus development in the pig. *Biol Reprod* 1989, 41, 1143-1151.
- Liu J-P, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ & Efstratiadis A: Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I(Igf-1) and type 1 IGF receptor(Igf1r). *Cell* 1993, 75, 73-82.
- Marquardt H, Todaro GJ, Henderson LE & Oroszlan S: Purification and primary structure of a polypeptide with multiplication-stimulating activity from rat liver cell cultures. *J Biol Chem* 1981, 256, 6859-6865.
- Massague J & Czech MP: The subunit structures of two distinct receptors for insulin-like growth factors I and II and their relationship to the insulin receptor. *J Biol Chem* 1982, 257, 5038-5045.
- Metzger DL, Kerrigan JR & Rogol AD: Gonadal steroid hormone regulation of the somatotrophic axis during puberty in humans. Mechanisms of androgen and estrogen action. *Trends Endocrinol Metab* 1994, 7, 290-296.
- Murphy LJ & Barron DJ: The IGFs and their binding proteins in murine development. *Mol Reprod Dev* 1993, 35, 376-381.
- Murphy LJ, Bell GI & Friesen HG: Tissue distribution of insulin-like growth factor I and II messenger ribonucleic acid in the adult rat. *Endocrinology* 1987a, 120, 1279-1282.
- Murphy LJ & Friesen HG: Differential effects of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the ovariectomized hypophysectomized rat. *Endocrinology* 1988, 122, 325-332.
- Murphy LJ & Ghahary A: Uterine insulin-like growth factor-I: regulation of expression and its role in estrogen-induced uterine proliferation. *Endocr Rev* 1990, 11, 443-453.
- Murphy LJ, Murphy LC & Friesen HG: Estrogen induces insulin-like growth factor-I expression in the rat uterus. *Mol Endocrinol* 1987b, 1, 445-450.
- Nestler JE: Modulation of aromatase and P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme activities of human placental cytotrophoblasts by insulin and insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1987, 121, 1845-1852.
- Nestler JE: Insulin and insulin-like growth factor-I stimulate the 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity of human placental cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1989, 125, 2127-2133.
- Nestler JE: Insulin-like growth factor II is a potent inhibitor of the aromatase activity of human placental cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1990, 127, 2064-2070.
- Nishimoto I, Hata Y, Ogata E & Kojima I: Insulin-like growth factor II stimulates calcium influx in competent BALB/c 3T3 cells primed with epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1987, 262, 12120-12126.

- Nissley SP & Rechler MM: Insulin-like growth factors: biosynthesis, receptors, and carrier proteins. In: Li CH, eds. *Hormonal Proteins and Peptides* 1984, 12, 127-201, Academic Press, New York.
- Nixon BT & Green H: Growth hormone promotes the differentiation of myoblasts and preadipocytes generated by azacytidine treatment of 10T1/2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984, 81, 3429-3432.
- Oh Y, Muller HL, Pham H & Rosenfeld RG: Demonstration of receptors for insulin-like growth factor binding protein-3 on Hs578T human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1993, 268, 26045-26048.
- Ohlsson R, Larsson E, Nilsson O, Wahlstrom T & Sundstrom P: Blastocyst implantation precedes induction of insulin-like growth factor II gene expression in human trophoblasts. *Development* 1989, 106, 555-559.
- Pantaleon M & Kaye PL: IGF-I and insulin regulate glucose transport in mouse blastocysts via IGF-I receptor. *Mol Reprod Dev* 1996, 44, 71-76.
- Paria BC & Dey SK: Preimplantation embryo development in vitro: cooperative interactions among embryos and role of growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87, 4756-4760.
- Penhoat A, Jaillard C & Saez JM: Synergistic effects of corticotropin and insulin-like growth factor I on corticotropin receptors and corticotropin responsiveness in cultured bovine adrenocortical cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 165, 355-359.
- Rajkumar K, Barron D, Lewitt MS & Murphy LJ: Growth retardation and hyperglycemia in insulin-like growth factor binding protein-1 transgenic mice. *Endocrinology* 1995, 136, 4029-4034.
- Rappolee DA, Sturm KS, Behrendtsen O, Schultz GA, Pedersen RA & Werb Z: Insulin-like growth factor II acts through an endogenous pathway regulated by imprinting in early mouse embryos. *Genes Dev* 1992, 6, 939-952.
- Rappolee DA, Sturm KS, Schultz GA, Pedersen RA & Werb Z: The expression of growth factor ligand and receptors in preimplantation mouse embryos. In: Heyner S, Wiley LM, eds. *Early Embryo Development and Paracrine Relationships*, UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series vol 117. New York: Alan R. Liss, Inc., 1990, 11-25.
- Rechler MM: insulin-like growth factor binding proteins. *Vitam Horm* 1993, 47, 1-114.
- Rinderknecht E & Humbel RE: The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem* 1978a, 253, 2769-2776.
- Rinderknecht E & Humbel RE: Primary structure of human insulin-like growth factor-II. *FEBS Lett* 1978b, 89, 283-286.
- Rutanen E-M, Koistinen R, Sjoberg J, Julkunen M, Wahlstrom T, Bohn H & Seppala M: Synthesis of placental protein 12 by human endometrium. *Endocrinology* 1986, 118, 1067-1071.
- Rutanen E-M, Pekonen F & Makinen T: Soluble 34K binding protein inhibits the binding of insulin-like growth factor I to its cell receptors in human secretory phase endometrium: evidence for autocrine/paracrine regulation of growth factor action. *J Clin Endocrinol Metab* 1988, 66, 173-180.
- Salmon Jr WD & Daughaday WH: A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med* 1957, 49, 825-836.
- Sara VR & Hall K: Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol Rev* 1990, 70, 591-614.
- Schoenle E, Zapf J, Hauri C, Steiner T & Froesch ER: Comparison of in vivo effects of insulin-like growth factors I and II and of growth hormone in hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol* 1985, 108, 167-174.
- Schultz GA, Hahnel A, Arcellana-Panlilio M, Wang L, Goubau S, Watson A & Harvey M: Expression of IGF ligand and receptor genes during preimplantation mammalian development. *Mol Reprod Dev* 1993, 35, 414-420.
- Shi CZ, Collins HW, Buettger CW, Garside WT, Matschinsky FM & Heyner S: Insulin family growth factors have specific effects on protein

- synthesis in preimplantation mouse embryos. *Mol Reprod Dev* 1994, 37, 398-406.
- Simmen FA & Simmen RCM: Peptide growth factors and proto-oncogenes in mammalian conceptus development. *Biol Reprod* 1991, 44, 1-5.
- Simmen FA, Simmen RCM, Geisert RD, Martinat-Botte F, Bazer FW & Terqui M: Differential expression, during the estrous cycle and pre- and postimplantation conceptus development, of messenger ribonucleic acids encoding components of the pig uterine insulin-like growth factor system. *Endocrinology* 1992, 130, 1547-1556.
- Simmen RCM, Simmen FA, Hofig A, Farmer SJ & Bazer FW: Hormonal regulation of insulin-like growth factor gene expression in pig uterus. *Endocrinology* 1990, 127, 2166-2174.
- Simmen RCM, Ko Y & Simmen FA: Insulin-like growth factors and blastocyst development. *Theriogenology* 1993, 39, 163-175.
- Simmen RCM, Simmen FA, Ko Y & Bazer FW: Differential growth factor content of uterine luminal fluids from large white and prolific Meishan pigs during the estrous cycle and early pregnancy. *J Anim Sci* 1989, 67, 1538-1545.
- Sirbasku DA & Benson RH: Estrogen-inducible growth factors that may act as mediators (estromedins) of estrogen-promoted tumor cell growth. In: Sato GS, Ross R, eds. *Hormones and Cell Culture* 1979, 447-490, Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Sklar MM, Kiess W, Thomas CL & Nissley SP: Developmental expression of the insulin-like growth factor II/mannose 6-phosphate receptor in the rat. *J Biol Chem* 1989, 264, 16733-16738.
- Smith RM, Garside WT, Aghayan M, Shi C-Z, Shah N, Jarett L & Heyner S: Mouse preimplantation embryos exhibit receptor-mediated binding and transcytosis of maternal insulin-like growth factor I. *Biol Reprod* 1993, 49, 1-12.
- Song S, Lee CY, Green ML, Chung CS, Simmen RCM & Simmen FA: The unique endometrial expression and genomic organization of the porcine IGFBP-2 gene. *Mol Cell Endocrinol* 1996, 120, 193-202.
- Spiteri-Grech J & Nieschlag E: The role of growth hormone and insulin-like growth factor I in the regulation of male reproductive function. *Horm Res* 1992, 38(Suppl 1), 22-27.
- Stiles CD, Capone GT, Scher CD, Antoniadis HN, Van Wyk JJ & Pledger WJ: Dual control of cell growth by somatomedins and platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979, 76, 1279-1283.
- Swisshelm K, Ryan K, Tsuchiya K & Sager R: Enhanced expression of an insulin growth factor-like binding protein(mac25) in senescent human mammary epithelial cells and induced expression with retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92, 4472-4476.
- Takahashi S-I, Conti M & Van Wyk JJ: Thyrotropin potentiation of insulin-like growth factor-I dependent deoxyribonucleic acid synthesis in FRTL-5 cells: mediation by an autocrine amplification factor(s). *Endocrinology* 1990, 126, 736-745.
- Talavera F, Reynolds RK, Roberts JA & Menon KMJ: Insulin-like growth factor I receptors in normal and neoplastic human endometrium. *Cancer Res* 1990, 50, 3019-3024.
- Tarantino S, Verhage HG & Fazleabas AT: Regulation of insulin-like growth factor-binding proteins in the baboon (*Papio anubis*) uterus during early pregnancy. *Endocrinology* 1992, 130, 2354-2362.
- Tavakkol A, Simmen FA & Simmen RCM: Porcine insulin-like growth factor-I (pIGF-I): complementary deoxyribonucleic acid cloning and uterine expression of messenger ribonucleic acid encoding evolutionarily conserved IGF-I peptides. *Mol Endocrinol* 1988, 2, 674-681.
- Thompson JL, Butterfield GE, Marcus R, Hintz RL, Loan MV, Ghiron L & Hoffman AR: The effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and growth hormone on body composition in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995, 80, 1845-1852.
- Thraillkill KM, Golander A, Underwood LE & Handwerger S: Insulin-like growth factor I stimulates the synthesis and release of prolactin

- from human decidual cells. *Endocrinology* 1988, 123, 2930-2934.
- Waites GT, James RFL, Walker RA & Bell SC: Human pregnancy-associated endometrial  $\alpha_1$ -globulin', a 32 kDa insulin-like growth factor-binding protein: immunohistological distribution and localization in the adult and fetus. *J Endocrinol* 1990, 124, 333-339.
- Wang CY, Daimon M, Shen SJ, Engelman GL & Ilan J: Insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid in the developing human placenta and in term placenta of diabetics. *Mol Endocrinol* 1988, 2, 217-229.
- Watson AJ, Hogan A, Hahnel A, Wiemer KE & Schultz GA: Expression of growth factor ligand and receptor genes in the preimplantation bovine embryo. *Mol Reprod Dev* 1992, 31, 231-240.
- Yallampalli C, Osuampke C & Nagamani M: Regulation of insulin-like growth factor I binding in the rat uterus by growth hormone and thyroxine. *J Reprod Fert* 1992, 94, 405-410.
- Yallampalli C, Rajaraman S & Nagamani M: Insulin-like growth factor binding proteins in the rat uterus and their regulation by oestradiol and growth hormone. *J Reprod Fert* 1993, 97, 501-505.
- Zapf J, Schoenle E & Froesch ER: Insulin-like growth factors I and II: some biological actions and receptor binding characteristics of two purified constituents of nonsuppressible insulin-like activity of human serum. *Eur J Biochem* 1978, 87, 285-296.
- Zhang X, Kidder GM, Watson AJ, Schultz GA & Armstrong DT: Possible roles of insulin and insulin-like growth factors in rat preimplantation development: investigation of gene expression by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Reprod Fert* 1994, 100, 375-380.
-