

붕어육의 단백질 열수추출물이 흰쥐의 혈청중 Insulin-like Growth Factor-I(IGF-I)과 IGF-Binding Proteins에 미치는 영향

권미진 · 류홍수 · 김경숙 · 변재형 · 남택정*

부경대학교 식품생명과학과

Effects of *Carassius carassius* Hot-Water Extracts on Serum Insulin-like Growth Factor-I(IGF-I) and IGF-Binding Proteins in Rats.

Mi-Jin Kwon, Hong-Soo Ryu, Kyung-Sook Kim, Jae-Hyeung Pyeun and Taek-Jeong Nam*

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 concentrations of these peptides are regulated by quantity and nutritional quality of dietary proteins. The aim of this study was to compare the effects of two diets, which differed in their protein source, *Carassius carassius*(CC), *Carassius carassius* hot-water extract(CCHE), for 4 weeks. Body weight was significantly increased in the CC group(74.14 ± 12.00 to 266.31 ± 36.62 g; $p < 0.01$). Likewise, IGF-I concentration of CC group(101.76 ± 15.90 ng/ml) was significantly higher than that of CCHE group(38.50 ± 11.20 ng/ml; $p < 0.05$). By western immunoblot analysis, especially IGFBP-1, -2 levels are increased, whereas IGFBP-3 level was de-creased in CCHE group. After extraction of browning material from each samples, the extractive was filtered and absorbance at 420nm was measured. The absorbance of CCHE group was significantly higher than that of CC group. These results suggest that IGF-I can be employed as an index of protein metabolism, particularly as a simple index in the assessing the status of protein nutrition.

Key words: insulin-like growth factors(IGFs), IGF binding proteins, protein nutrition

서 론

담수어류는 예로부터 건강보약식품으로 널리 알려져 있으며 민간요법으로 손쉽게 조리하여 허약자, 노약자 및 산후조리시에 애용되어온 전통건강보조식품이지만, 영양학적인 측면에서 볼 때 고온가열처리에 따른 영양성분의 변화를 종합적으로 검토한 연구를 비롯하여 체내에서 어떠한 대사작용을 가지는지에 대한 연구는 거의 없다.

Insulin-like growth factors(IGFs, IGF-I과 IGF-II)는 proinsulin과 구조적으로 유사한 single chain polypeptides로(1) DNA, RNA, 그리고 세포질 단백질을 포함하여 세포의 성장에 관여하는 반응들을 촉진하며(2) insulin과 유사한 대사효과를 발휘한다(3). 체장에서 주로 생산되는 insulin과는 달리, IGFs는 주로 간에서 생

산되나 섬유아세포를 포함한 많은 세포내에서도 분비되어 국부적으로 세포성장을 촉진할 뿐만 아니라(4) 연골, 근육 등의 손상된 세포내에서도 치유될 때까지 신속하게 합성, 분해된다(5). 이때 단백질을 포함한 식이섭취는 IGFs 합성을 조절함으로써 이러한 국부적인 변화를 조절하여 IGFs의 endocrine작용 뿐만 아니라 autocrine/paracrine작용을 가능케한다. 또한 vascular compartment로부터의 유출, 세포표면의 receptors와의 결합 등 IGFs수송을 중재, 그 availability를 조절하는 IGF binding proteins(IGFBPs)도 단백질 및 칼로리 섭취상태에 따라 혈중농도가 조절된다(6). 그리고 IGFBPs은 IGF-I활성에 영향을 미치므로 다양한 영양상태에 따른 IGFBPs의 변화에 대한 설명은 사람의 영양상태, 특히 단백질이 결핍된 어린이나 여러 가지 질병으로 체단백질을 소모시키는 환자들의 추정에 있어 매우 중요하다.

*To whom all correspondence should be addressed

본 연구는 최근 고온가열처리로 인한 어육단백질의 질적인 저하를 초래한다는 보고(7)를 토대로 붕어육 단백질의 열수추출물이 체내에 미치는 영향을 혈중 IGF-I과 IGFBPs의 변화를 측정하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육과 식이

평균체중이 75g인 수컷 흰쥐를 20마리 구입하여 제 품으로 나오는 사료(삼양유지사료(주) 20kg 실험동물 I, 마우스 사료, Extruder Pellet 등록번호 제 322-2호)로 3일간 예비사육하여 적응시킨 후, 10마리씩 2그룹으로 나누어 30일간 실험사육하였으며, 사료는 자유급이 시켰다. 실험식이 조성은 Table 1과 같이 기본적으로 AO-AC법(8)에 따라 조제하였으며 사육기간 동안 3일에 1번씩 체중을 측정하였다.

단백질원 및 열수추출물

실험식에 사용된 단백질원은 민물어류인 붕어(*Carassius carassius*: CC)와 그 열수추출물(*Carassius carassius* hot-water extract: CCHE)이다. 생시료로 사용된 붕어는 육질만을 slice처리한 후, 동결건조하였고(Vacuum freeze dryer, SFDAM24L, Samwon Freezing Co.), 열수추출물은 가압추출기(고려한약추출기, 세동 Co.)를 사용하여 136.7°C에서 7시간 가압가열, 그 추출물은 여과(Toyo No 2)하여 동결건조하였다.

혈액채취 및 혈청분리

실험사육 28일째, 최종적으로 체중을 측정하고 그룹별로 5마리씩 임의로 추출하여 혈액을 채취하였다. 단 두하여 혈액을 채취한 후 약 30분 정도 얼음 중에 방치했다가 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리했다.

혈액 중 IGF-I 농도 측정

IGF-I IRMA kit시약(Nichols Institute, Kit USA)

을 사용하여 radioisotope assay로 측정하였다. Tube에 standard(reagent C~H), control(reagent J, K), acidified samples를 각각 50μl씩 넣었다. 여기서 사용된 standard용액은 각각 0, 30, 95, 275, 560, 1000ng/ml의 농도를 나타내고 control은 75~135, 200~352ng/ml 농도범위를 가진다. Biotin antibody solution reagent B1 100μl와 ¹²⁵I antibody solution reagent B2(<10μCi Per Kit or <370kBq) 100μl를 취하고 vortex한 후 avidin coated bead reagent A를 tube당 1개씩 넣었다. 18~25°C 실온에서 4시간 동안 incubation시킨 후 beads는 wash solution reagent I 2ml로 세척하고 gamma counter (Wallac 1470 wizard, Pharmacia)로 측정하였다.

Western ligand blot analysis

Hossenlopp 등의 방법(9)을 일부 변형하여 실시하였다. 혈청 2μl를 12.5% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동한 후 건조시킨 membrane을 0.1% IGEPAL-630을 넣은 LBB(Ligand blot buffer A)로 15분, 1% BSA를 넣은 LBB(Ligand blot buffer B)로 6시간, 0.1% tween 20을 함유하는 LBB(Ligand blot buffer C)로 10분간 blocking하였다. ¹²⁵I-IGF-I으로 incubation(저온실에서 overnight)한 후 LBB C에서 10분간 3번, 1X LBB(Ligand blot buffer; 10mM Tris, 150mM NaCl, 0.5% Na azide, pH 7.4)에서 15분간 2번 세척하여 건조시켰다. 건조된 membrane을 -70°C에서 필름을 저장, 필름 자동현상기(FUJIFILM FPM-100A)로 bands를 확인하였다.

Western immunoblot analysis

Western ligand blot analysis와 마찬가지로 전기영동을 실시한 후 membrane을 1X Tris-buffered saline (TBS; 50mM Tris, 200mM NaCl, pH 7.4)으로 세척하고, 3% BSA로 blocking하여 1:1000으로 희석한 1차 항체로 하룻밤 incubation하였다. 1X TBS+0.1% IGEPAL-630+0.03% Triton X-100으로 세척하고 1X TBS로 세척 후 1:2000으로 희석한 2차 항체(anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate, Sigma Chemical Co.,

Table 1. Compositions of the experimental diet

Ingredients	Carbohydrate	CC ¹⁾	CCHE ²⁾	Corn oil	Cellulose	Mineral mixture ³⁾	Vitamin mixture ⁴⁾	Moisture (%)
CC ¹⁾	70	10.43	-	8	1	5	1	5
CCHE ²⁾	70	-	10.78	8	1	5	1	5

¹⁾*Carassius carassius*, ²⁾*Carassius carassius* hot-water extract

³⁾ICN Biomedical, INC. Mineral mixture, ⁴⁾ICN Biomedical, INC. Vitamin mixture

St. Louis, MO)와 반응시켰다. 1X TBS+0.1% IGEPAL-630+0.03% Triton X-100으로 세척하고 1X TBS로 세척 후 color substrate solution(NBT/BCIP, Promega)으로 발색하였다. 보라색의 band를 확인한 후 stop buffer(20mM Tris, 5mM EDTA, pH 8.0)로 반응을 종결시켰다.

¹²⁵I-IGF-I 과 혈액중 IGFBPs의 Cross linking

¹²⁵I-IGF-I(100,000cpm)을 혈청 20μl와 혼합하여 4°C에서 16시간 incubation시킨 후 disuccimydyl substrate solution을 첨가하여 상온에서 30분 incubation하였다. 이 혼합물을 가지고 SDS-PAGE를 실시하였다. 전기영동을 한 후 그 gel은 gel dryer로 건조시켜 autoradiography로 gel의 radioactivity를 측정하였다.

갈변반응 측정

식이에 사용된 단백질을 시험관에 정확하게 0.5g 씩 취한 다음 탈이온수 10ml를 취하여 1시간 동안 실온에 방치시켰다. 3G4 glass filter로 여과한 후 탈이온수를 사용하여 반으로 희석시킨 다음 420nm에서 흡광도를 측정하였다(Ultrospec 2000, Phamacia).

통계처리

측정된 결과는 Mean±S.E.로 비교분석하였다. 유의성 검정은 t-test로 실시하였다.

결과 및 고찰

체중 비교

실험사료의 질적인 상태를 실험동물의 체중변화로 추정하기 위해 붕어육 열수추출물을 급여시킨 후 흰쥐의 체중상태를 Table 2에 나타내었다. 생사료 섭취군의 급여전 체중이 74.14±12.00g에서 급여후에는 266.31±36.62g으로 증가한 반면, 열수추출물 섭취군은 급여전 73.79±3.75g에서 급여후 80.02±5.20g으로 거의 증가

Table 2. Initial and final body weight rats fed the experimental diets for 4 weeks

Samples ¹⁾	Body weight(g)	
	Initial	Final
CC	74.14±12.00 ²⁾ *	266.31±36.62
CCHE	73.79± 3.75	80.02± 5.20

¹⁾Refer to footnote in Table 1.

²⁾Values are the mean±SE(n=5).

*p<0.01

하지 않았다. 각 실험군간의 식이조성중 단백질원을 제외한 다른 성분의 변화가 없었으며, 각 실험군간의 사료 섭취량의 차이도 유의성이 없었음(결과 미제시)에도 불구하고 체중증가량이 열수추출물 섭취군에서 유의적으로 낮은 것으로 보아 단백질 급원에 따른 질적 차이가 원인으로 생각된다. 이와 같이 제조한 단백질사료의 질적인 것은 이미 Rhu 등의 보고(7)에서 고온처리로 인하여 식이 단백질의 영양적 가치가 감소하고 있음을 검토한바 있다.

혈중 IGF-I수준 비교

혈청내 단백질 농도는 일반적으로 단백질이 부족하면 감소하는데 이러한 단백질 type에 속하는 IGF-I또한 단백질 결핍상태일 때 감소한다(10,11). 그러나 단백질을 적절하게 섭취한다 할지라도 칼로리가 부족하게 되면 (-)nitrogen balance가 나타날 뿐만 아니라 체중 감소와 함께 혈중 IGF-I농도는 감소하게 된다(11-13). Table 3에서 나타난 바와 같이 붕어의 생사료 섭취군에서는 혈중 IGF-I수준이 101.76±15.90ng/ml인 반면에 열수추출물 섭취군에서는 38.50±15.90ng/ml였다. Table 2에 나타난 체중변화와 함께 고려해 볼 때, 식이단백질의 영향을 받는 혈중 IGF-I수준 또한 체중변화와 비슷한 경향을 띠고 있음을 알 수 있다. 즉, 열수추출물 중에 함유되어 있는 단백질의 질적인 저하가 많이 발생한 것을 추정할 수 있다.

식이단백질이 혈청중 IGFBPs에 미치는 영향

혈중에서 IGFs는 고친화성 결합단백질(IGF binding proteins, IGFBPs)과 결합하여 순환한다(14,15). 이들 결합단백질은 IGF-I clearance, transfort action을 조절하며(15,16), 이들 또한 식이에 영향을 받는다. Fig. 1은 각각의 serum에 대한 western ligand blot분석결과로 열수추출물 섭취군의 혈청내 IGFBP-3는 감소했고, IGFBP-2는 증가했다. IGF-I과 마찬가지로, 순환하는 IGFBP-3는 growth hormone과 식이에 의해 조절되지만(16,17), 본 결과는 growth hormone 결핍시나 당뇨병

Table 3. Insulin-like growth factor-I levels of rats fed the experimental diets for 4 weeks

Samples ¹⁾	IGF-I(ng/ml)
CC	101.76±15.90 ²⁾ *
CCHE	38.50±11.12

¹⁾Refer to footnote in Table 1.

²⁾Values are the mean±SE(n=5).

*p<0.05

환자(18,19), 혹은 단백질 제한과 같은 이화상태에서 IGF-I감소(20,21), growth hormone resistance(22), IGFBP-3의 단백질해증(23,24), 그리고 에너지제한으로 인한 IGF-I resistance 등의 원인으로 혈중농도가 감소한다는 보고와 일치하였다(19). 이와는 반대로 IGFBP-2는 생시료 섭취군에 비해 열수추출물 섭취군에서 두드러지게 증가함을 볼수 있다. 앞서 말한 바와 같이 단백질 결핍시 IGFBP-2 농도상승은 절식시 보여지는 것과 유사하다(25). 이것은 단백질 결핍시 hepatic IGFBP-2 mRNA abundance상승으로 그 혈중농도 또한 증가한다는 보고와 일치한다(26). 그리고 Fig. 1과 2를 살펴보면 열수추출물 섭취군에서 IGFBP-3는 감소했고, IGFBP-1은 증가했다. 본 결과는 단백질의 영양학적인 관점에서 단백질 결핍시 나타나는 현상과 같으며, 이는 단백질 대사에 있어서 IGF-I과 IGFBPs간의 상호작용을 나타낸다. 다시 말해서 IGFBP-1과 IGF-I이 복합체를 형성함으로써 IGF-I의 반감기를 연장시키고 조직으로부터 IGF-I유리를 차단해서 IGF-I 활성을 나타내지 않은 채 그대로 유지되다가 영양상태가 회복되면 IGFBP-3와 복합체를 형성하여 생리적 활성을 가지는 듯 하다(27-29). Fig. 3은 혈액내 IGFs와 결합되어 있지 않는 IGFBPs을 ¹²⁵I-IGF-I과 cross-link시킴으로써 total IGFBPs의 양과 더불어 IGFs 및 IGFBPs간의 친화력을 살펴본 것이다. Fig. 2에서 나타난 결과와 마찬가지로 식이단백질의 질적인 저하로 인해 IGFBP-2의 증가현상이 cross-linking실험에서도 같은 현상을 보여주

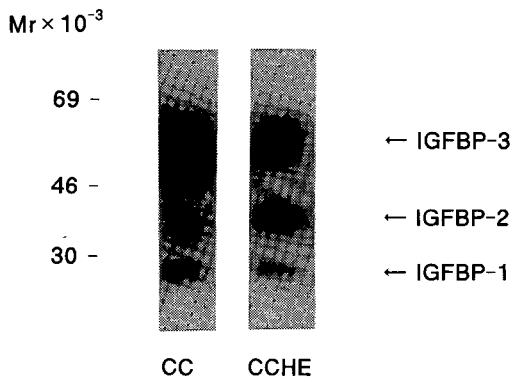


Fig. 1. Western ligand blot analysis of serum IGFBPs in rats fed the experimental diets.

Following SDS-PAGE(12.5% gel, 2 μ l pooled serum samples per slot) and transfer to immobilon-PS^Q membrane. IGFBPs were detected by incubation with [¹²⁵I] IGF-I to identify the different forms of IGFBP(see Material and Methods). Molecular markers are indicated on the left.
CCHE: *Carassius carassius* hot-water extract
CC: *Carassius carassius*

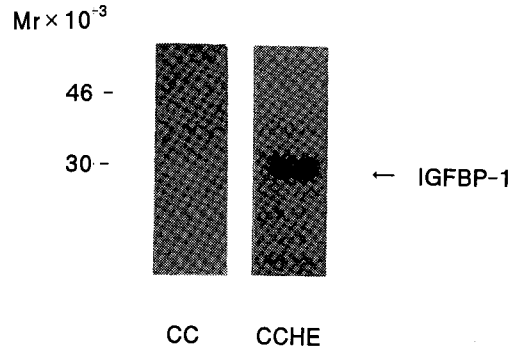


Fig. 2. Western immunoblot analysis of serum IGFBPs in rats fed the experimental diets.

Pooled serum samples(2.0 μ l per slot) were submitted to SDS-PAGE(12.5% gels) and then transferred onto immobilon-PS^Q 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.
CCHE: *Carassius carassius* hot-water extract
CC: *Carassius carassius*

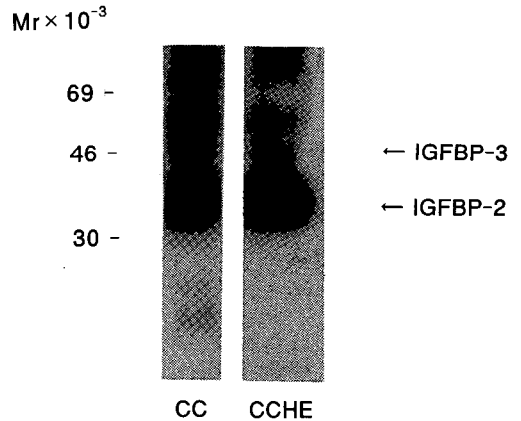


Fig. 3. Cross linking of ¹²⁵I-IGF-I with IGFBP of serum IGFBPs in rats fed the experimental diets.

IGFBP detected by autoradiography after sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of the serum mixed with IGF-I(approximately 100,000 cpm). After mixing with ¹²⁵I-IGF-I, the serum IGFBP were covalently linked with the labelled IGF-I by means of disuccimidyl substrate (DSS).
CCHE: *Carassius carassius* hot-water extract
CC: *Carassius carassius*

고 있다. 즉, ¹²⁵I-IGF-I이 열수추출물을 섭취한 흰쥐의 혈액 중에 증가된 유리 IGFBP-2와 결합된 양을 나타낸 것이다.

갈변반응 측정

단백질원 제조가공 중에 일어날 수 있는 갈변반응 정

감사의 글

본 논문은 교육부 지방대 특성화사업(해양식량자원 개발) 연구비 지원과제임.

문헌

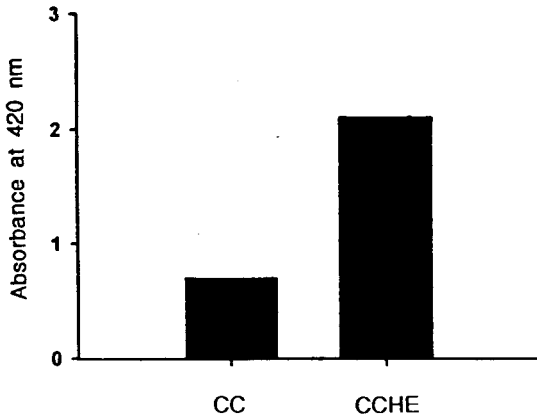


Fig. 4. Variation of absorbance, at 420nm, of browning mixture in protein species at experimental diets. After extraction of browning material at each samples, the extractive was filtered and absorbance, at 420nm, of the filtrate was measured with a spectrophotometer.
CCHE: *Carassius carassius* hot-water extract
CC: *Carassius carassius*

도를 측정해본 결과, Fig. 4에서 열수추출물의 경우, 유의적으로 갈변반응이 더 많이 일어났음을 나타내고 있다. 이 결과를 체중 및 혈중 IGF-I수준과 비교해 볼 때 같은 경향을 나타내는 것으로 보아, 가수분해 공정중 하나인 열처리로 인해 생체내 대사에 좋지 못한 영향을 미치는 갈변반응이 유도되어 체중을 감소시키는 원인 중의 하나라고 생각된다.

요약

붕어육의 단백질 열수추출물을 급여한 쥐의 혈청내 IGF-I 및 IGF-BPs수준을 생시료 섭취군과 비교분석한 결과, 체중은, 생시료 섭취군은 유의적으로 증가하였지만 열수추출물 섭취군에서는 큰 변화가 없었다. IGF-I 수준은 체중변화에 비례하여 생시료 섭취군이 열수추출물 섭취군보다 유의적으로 높았고, 혈중 glucose수준은 생시료 섭취군에서 약간 높게 나타났지만 유의적인 차이는 없었다. Western blot analysis분석결과, 열수추출물 섭취군에서 IGF-BP-1, -2수준은 증가하였지만, IGF-BP-3수준은 감소했다. 생시료와 열수추출물의 갈변물질을 추출후, 420nm에서 흡광도를 측정하였는데 열수추출물 급여군에서 유의적으로 높게 나타났다. 결론적으로 가열에 의해 추출된 어육 단백질원은 혈청중의 IGF-I의 감소를 유발하였으며, 쥐의 성장도 저해하고 있음을 알 수 있다. 따라서 어육 단백질의 이용을 위해서는 열수에 의한 추출방법들을 재검토할 필요가 있다고 생각한다.

1. Froesch, E. R. and Zapf, J. : Insulin-like growth factors and insulin: Comparative aspects. *Diabetologica*, **28**, 485-493(1985)
2. Van Wyk, J. J., Underwood, L. E., Hintz, R. I., Voina, S. J. and Weaver, R. P. : The somatomedins: A family of insulin-like hormones under growth hormone control. *Rec. Prog. Horm. Res.*, **30**, 259-318(1974)
3. Caro, J. F., Poulos, J., Ittop, O., Porties, W. J., Flickinger, E. G. and Singa, M. K. : Insulin-like growth factor I binding in hepatocytes from human liver, human hepatoma, and normal, regenerating and fetal rat liver. *J. Clin. Invest.*, **81**, 976-981(1988)
4. Sera, V. R. and Hall, K. : Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol. Rev.*, **70**, 591-614 (1990)
5. Rotwein, P., Folz, R. H. and Gordon, J. I. : Biosynthesis of human insulin-like growth factor I(IGF-I). *J. Biol. Chem.*, **262**, 11807-12(1987)
6. Clemmons, D. R. and Underwood, L. E. : Nutritional regulation of IGF-I and IGF-binding proteins. *Annu. Rev. Nutr.*, **11**, 393-412(1991)
7. Rhu, H. S., Moon, J. H., Hwang, E. Y. and Yoon, H. D. : High Temperature-cooking effects on protein quality of fish extracts. *J. Food Sci. Nutr.*, **3**, 241-247(1998)
8. AOAC : *Official methods of analysis*. Protein efficiency Ratio Rat Bioassay, p.237(1990)
9. Hossenlopp, P., Seurin, D., Segovia-Quinson, B., Hardouin, S. and Binou, 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**, 138-143(1986)
10. Clemmons, D. R., Klibanski, A., Underwood, L. E., McArthur, J. W., Ridgway, E. C., Beitins, I. Z. and Van Wyk, J. J. : Reduction of plasma immunoreactive somatomedin-C during fasting in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **53**, 1247-1250(1981)
11. Maes, M., Amand, Y., Underwood, L. E., Maiter, D. and Ketelslegers, J. M. : Decreased serum insulin-like growth factor I response to GH in hypophysectomized rats fed a low protein diets: Evidence for a post receptor defect. *Acta Endocrinol.*, **117**, 320-26(1988)
12. Manson, J. M. and Wilmore, D. W. : Positive nitrogen balance with growth hormone and hypocaloric intravenous feeding. *Surgery*, **100**, 188-97(1986)
13. Prewett, T. E., D'Ercole, A. J., Switzer, B. R. and Van Wyk, J. J. : The relationship of serum immunoreactive somatomedin-C to dietary protein and energy in the growing rat. *J. Nutr.*, **112**, 144-150(1982)
14. 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**, 1504-12(1986)
15. Bar, R. S., Clemmons, D. R., Boes, M., Busby, W. H., Booth, B. A., Dake, B. L. and Sangra, A. : Transcapillary permeability and subendothelial distribution of endothelial and amniotic fluid IGF binding proteins in rat heart. *Endocrinology*, **127**, 1078-1086(1990)
 16. Blum, W. F., Jenne, E. W., Reppin, F., Kietzman, K., Ranke, M. B. and Bierich, J. R. : Insulin-like growth factor I(IGF-I) binding protein complex is a better mitogen than free IGF-I. *Endocrinology*, **125**, 766-772(1989)
 17. Young, S. C. J., Smith-Banks, A., Underwood, L. E. and Clemmons, D. R. : Effects of recombinant IGF-I and GH treatment upon serum IGF binding proteins in calorically restricted adults. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **75**, 603-608(1992)
 18. Oscarsson, J., Johannsson, G., Johannsson, J. O., Lundberg, P. A., Lindstedt, G. and Bengtsson, B. A. : Diurnal variation in serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein-3 concentrations during daily subcutaneous injections of recombinant human growth hormone in GH-deficient adults. *Clinical Endocrinology*, **46**, 63-68(1997)
 19. Clemmons, D. R., Thissen, J. P., Maes, M., Ketelslegers, J. M. and Underwood, L. E. : Insulin-like growth factor-I infusion into hypophysectomized or protein-deprived rats induces specific IGF binding proteins in serum induces specific IGF binding proteins in serum. *Endocrinology*, **125**, 2967-72(1989)
 20. 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 during pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **71**, 797-805(1990)
 21. Guidice, 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 protease activity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **71**, 806-816(1990)
 22. Cotterill, A. M., Holly, J. M. P. and Taylor, A. M., Davies, S. C., Coulsn, V. J., Preece, M. A., Wass, J. A. and Savage, M. O. : The insulin-like growth factor (IGF) binding proteins and IGF bioactivity in Laron-type dwarfism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **74**, 56-63(1992)
 23. Davies, S. C., Wass, J. A. H., Ross, R. J. M., Cotterill, A. M., Buchanan, C. R., Coulson, V. J. and Holly, J. M. : The induction of a specific protease for insulin-like growth factor binding protein-3 in the circulation during severe illness. *J. Endocrinol.*, **130**, 469-473(1991)
 24. Davenport, M. L., Isley, W. L., Pucilowska, J. B., Pemberton, L. B., Lyman, B., Underwood, L. E. and Clemmons, D. R. : Insulin-like growth factor-binding protein-3 proteolysis is induced after elective surgery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **75**, 590-595(1992)
 25. Clemmons, D. R., Busby, W. H. and Snyder, D. K. : Variable controlling the secretion of insulin-like growth factor binding protein-2 in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **73**, 727-733(1991)
 26. Straus, D. S. and Takemoto, C. D. : Effect of dietary protein deprivation on insulin-like growth factor (IGF)-I and -II, IGF binding protein-2, and serum albumin gene expression in rat. *Endocrinology*, **127**, 1849-1860(1990)
 27. Snyder, D. K. and Clemmons, D. R. : Insulin dependent regulation of insulin-like growth factor binding protein-1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **71**, 1632-1636(1990)
 28. Takenaka, A., Mitsuko, H., Masamichi, M., Sanae, Y., Yutaka, M., Kato, H., Takahashi, S.-I. and Noguchi, T. : Effect of protein nutrition on the mRNA content of insulin-like growth factor binding protein-1 in liver and kidney of rats. *British Journal of Nutrition*, **69**, 73-82(1993)
 29. Kaufmann, U., Zapf, J. and Froesch, E. R. : Growth hormone dependence of non-suppressible insulin-like activity(NSILA) and of NSILA-carrier protein in rats. *Acta Endocrinology*, **87**, 716-727(1978)

(1999년 3월 24일 접수)