

정상배란성 월경주기에서 혈청 인슐린유사 성장인자 결합단백질의 양상

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

정재훈 · 김정구

Serum Insulin-like Growth Factor Binding Proteins Profiles During the Normal Oulatory Menstrual Cycle

Jae Hoon Jeong and Jung Gu Kim

*Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine,
Seoul National University, Seoul 110-744, Korea*

= Abstract =

The insulin-like growth factor (IGF)s are believed to one of several growth factors that play an adjunctive role in ovarian follicular development. These factors circulate bound to a family of IGF-binding protein (IGFBP)s. It is known that circulating IGFBPs are involved in the transport of IGFs to tissues and modulate IGFs actions at local tissue. The purposes of this study were to evaluate changes in serum IGFBPs profiles during normal ovulatory menstrual cycle and to compare serum IGFBPs profiles in periovulatory phase of between normal ovulatory menstrual cycle and controlled hyperstimulated cycle. Fasting blood samples were obtained from 15 normal healthy women throughout normal ovulatory menstrual cycle and on the day of aspiration of oocyte from 10 patients undergoing ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization-embryo transfer. Serum IGFBP-1 - IGFBP-4 were measured by western ligand blot and immunoprecipitation. Serum 17 β -estradiol was determined by radioimmunoassay. Type and molecular weight of serum IGFBP did not changed during normal ovulatory menstrual cycle. No significant variation in the relative proportion and level of each IGFBP was found throughout normal ovulatory menstrual cycle. Also, the relative proportion and level of each IGFBP did not correlated with serum 17 β -estradiol level. There was no significant difference in the relative proportion and level of each serum IGFBP between on the day of ovulation in normal ovulatory menstrual cycle and on the day of aspiration of oocyte in controlled hyperstimulated cycle. Our data indicate that IGFBPs have regulatory functions in ovary through an paracrine and autocrine rather than endocrine mechanism during normal ovulatory menstrual cycle.

Key Words: IGFBP, 17 β -estradiol, Normal ovulatory menstrual cycle

서 론

인슐린유사 성장인자 (insulin-like growth factor:

이하 IGF로 약함)는 난소과립막세포, 난포막세포에서 여러 종류의 성스테로이드 호르몬 생합성과정과 과립막세포의 발생을 통하여 난포성숙에 영향을 준다고 알려져 있다 (Giudice, 1995). 이러한

** 이 논문은 1996년도 서울대학교병원 지정연구비 (과제번호: 2- 96- 92) 지원에 의해 이루어진 것임

대상 및 방법

1. 연구대상

서울대학교 병원 불임상담실에 등록된 환자 중 남성인자로 인하여 임신이 되지 않고 과거 3개월간 규칙적인 월경주기 (27~30일)을 보였으며 자궁내막조직검사 및 기초체온표 등에 의하여 정상배란성 월경주기가 확인된 여성 15명과 양측성 난관절제술로 인하여 임신이 되지 않아 체외수정 및 배아이식술을 시행하는 환자 10명을 대상으로 하였다. 체외수정 및 배아이식술 대상자들에서는 D-Trp-6-LHRH (Decapeptyl, Ferring Malmö, Sweden) 0.1 mg을 황체기중기에 피하주사 시작하여 혈중 17β -estradiol 농도가 30 pg/ml이고 난포의 직경이 10 mm 미만인 경우 human menopausal gonadotropin (이하 hMG로 약함) /follicle stimulating hormone (FSH)를 각각 150 unit씩 주사하는 방법을 사용하여 과배란유도하였다. 이러한 연구대상자들의 연령은 27~35세이었다. 또한 임신중이 아닌 20~30세의 폐경 전 정상 여성 10명, 정상 정액검사 소견을 가진 정상 남성 5명이 Western ligand blot의 대조검체를 채취하기 위하여 포함되었다.

2. 혈청, 정장의 채취 및 처리

정상배란성 월경주기가 확인된 여성에서 월경주기 제 3일에 혈액을 채취하였고 제 7~9일부터 1~2일 간격으로 3.5 mHz의 realtime sector scanner를 이용하여 난포의 발전을 관찰하면서 혈액을 채취하였다. 난포의 위축이 확인이 된 일을 배란일로 하였고 배란 후 제 2~3일, 제 9~10일에 혈액을 추가 채취하였다. 체외수정 및 배아이식술을 시행하는 환자에서는 난자흡인일에 채취된 혈액을 실험에 사용하였다. 혈액채취는 모든 연구대상자들로부터 오전 7시와 9시 사이에 시행하였고 원심분리하여 혈청을 모아서 -70°C 에 보관하였다가 실험에 사용하였다. 또한 3일간 금욕을 한 정상 건강 남성에서 채취된 정액을 혈액 처리와 같은 방법으로 원심분리하여 상층액과 정장을 분리하여 모은 후 소량씩 -70°C 에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

3. IGFBP들의 측정

IGFBP들 측정을 위하여 본 연구자 등 (Kim & Lee, 1996)이 이미 보고한 Western ligand blot의 방

작용을 하는 IGF-I의 배란 전 난포 및 고호트 난포에서의 농도는 혈액에서보다 낮고 혈청 IGF-I과 유의한 상관관계가 있다고 한다 (Rabinovici *et al.*, 1990; Hamori *et al.*, 1991). 또한 IGF-I 전령리보핵산 (messenger ribonucleic acid: 이하 mRNA로 약함)이 배란 전 난포 및 크기가 작은 고호트로부터의 과립막세포에서 발현되지 않는다고 보고되었다 (El-Roiey *et al.*, 1993, 1994; Zhou & Bondy, 1993). 이러한 보고들은 IGF-I이 혈액으로부터 난포 내로 전달될 가능성 즉 IGF-I의 내분비학적 작용 가능성을 시사한다. 그러나 정상월경주기를 가진 여성에서 혈청 IGF-I를 측정한 최근 보고들에 의하면 주기적 변화를 하지 않는다고 한다 (Wang *et al.*, 1995; Van Dessel *et al.*, 1996; Blake *et al.*, 1997).

한편 IGF계의 다른 일원인 IGF 결합단백질 (IGF binding protein: 이하 IGFBP로 약함)에는 현재 IGFBP-1 - IGFBP-6 6종이 있다. 이러한 IGFBP가 혈중에서 IGF와 복합체를 형성하여 IGF의 반감기를 증가시키거나 표적세포에 IGF 전달을 유지 (storage IGFBP) 또는 그 이동을 더 용이하게 (transport/shuttle IGFBP) 하는 작용을 한다는 것 (Jones & Clemmons, 1995)을 고려할 때 정상월경주기에서 혈중 IGF가 변화하지 않았다는 결과는 월경주기에 따른 혈중 IGFBP들 양상의 변화 가능성을 시사하는 소견일 수 있다. 최근 일부 연구자들에 의하여 정상월경주기에서 혈중 IGFBP-1과 IGFBP-3의 변화양상만이 연구되었으나 그 결과에 차이가 있다 (Wang *et al.*, 1995; Van Dessel *et al.*, 1996; Blake *et al.*, 1997; Helle *et al.*, 1998). 또한 혈중 IGFBP-3와 달리 저 분자량의 IGFBP, 즉 IGFBP-2, IGFBP-4는 모세혈관내피를 통과하므로 (Jones & Clemmons, 1995) 이러한 IGFBP들이 난소조직에 IGF들의 전달 및 난소조직에서의 직접적 작용에 중요할 수 있는데 지금까지 혈중 이러한 IGFBP들의 변화양상에 대한 보고는 발표된 바 없다.

이에 본 연구자 등은 정상배란성 월경주기에서 순환계 내 IGFBP-1 - IGFBP-4의 내분비학적 역할을 알아보기 위하여 월경주기의 시기에 따른 이런 IGFBP의 변화양상을 분석하고 정상배란성 월경주기의 배란일 및 과배란유도주기의 난자채취일에서의 IGFBP 양상을 비교 분석하였다.

법을 약간 변형하여 시행하였다. 즉 혈청을 포함한 검체 등을 95℃에서 5분간 가열한 후 비연속성 sodium dodecyl sulfate (SDS) polyacrylamide 겔에서 전기영동 후 semidry-electrotransfer 기기 (Pharmacia, LKB, Sweden)를 사용하여 니트로셀룰로스막에 전이시켰다. 3% Nonidet P-40, 1% 우혈청 알부민 (bovine serum albumin: 이하 BSA로 약함), 0.1% Tween-20이 함유된 식염수 용액에서 세척하고 비닐주머니 안에서 1% BSA, 0.1% Tween-20를 함유한 식염수 용액 및 125 I-IGF-I (10^6 cpm) 등과

함께 4℃에서 18시간 반응시켰다. 그후 다시 세척 건조시킨 니트로셀룰로스막을 BAS 영상판 (imaging plate)과 함께 BAS 카세트 2040에 넣어 24시간 노출시킨 후 영상판상의 각 IGFBP 띠의 강도를 Bio-imaging analyzer system (BAS 2000, Fuji Film Co. Ltd., Japan)과 Tina 2.0 프로그램을 이용하여 측정하였다. Western ligand blot상 IGFBP-3 양성 대조군으로 폐경 전 정상 건강 여성 혈청, IGFBP-2 양성 대조군으로 정상 건강 남성의 정장이 사용되었다. IGFBP 상대강도 측정의 interassay variation은 5.1%이었다. 또한 IGFBP의 유형을 확인하기 위하여 본 연구자 등 (Kim & Lee, 1996)이 이미 보고한 방법과 거의 동일하게 면역침전법 (Immunoprecipitation)을 시행하였다.

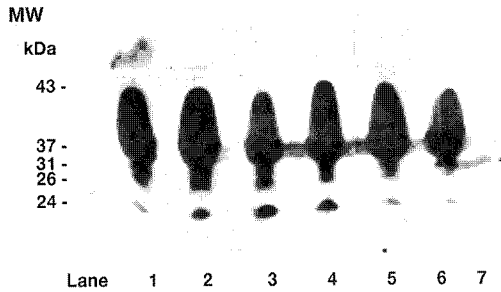


Fig. 1. An autoradiograph of a western ligand blot of serum samples from a woman with normal ovulatory menstrual cycle: 10 day (lane 1), 4 day (lane 2), 2 day (lane 3) before ovulation, day of ovulation (lane 4), 10 day (lane 5) after ovulation. Controls included pooled normal nonpregnant healthy women sera (lane 6) and seminal plasma (lane 7). Molecular weights are shown in kDa.

4. 17 β -estradiol 측정

정상월경주기를 가진 여성에서는 배란 전 제 1~4일에 채취된 혈청 25례에서 estradiol kit (Serenio Diagnostics, Switzerland)를 이용한 방사면역측정법으로 17 β -estradiol을 측정하였다. 이 계측의 민감도는 20~2000 pg/ml이고 estrone과의 교차반응도는 1.3%, estriol과는 0.4%이었으며 intrassay variance는 5.5%이었다.

5. 통계분석

월경주기의 각 시기는 배란일을 기준일로 하여 표시하였으며 모든 자료는 평균 \pm 표준편차로 표

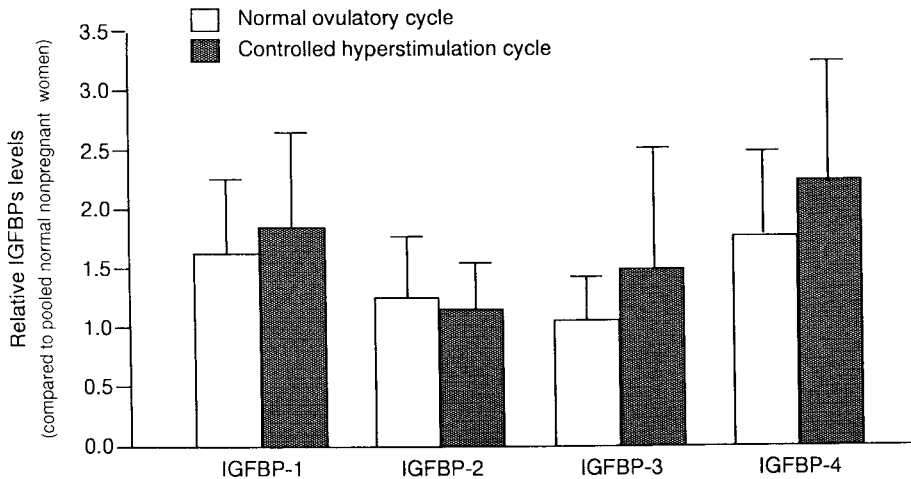


Fig. 2. The relative levels (Mean+SD) of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) on the day of aspiration in controlled hyperstimulation cycle (n=10) and on the day of ovulation in normal ovulatory menstrual cycle (n=15).

시하였다. 통계분석은 SAS program 내 repeated measures ANOVA test, student's t-test을 이용하여 분석하였고 $p < 0.05$ 인 경우만 유의하게 판정하였다.

결 과

정상배란성 월경주기를 가진 여성의 혈청 내에 37/43 kDa, 31 kDa, 26 kDa, 24 kDa의 IGFBP들이 존재하였는데 항 IGFBP-1 항체, 항 IGFBP-2 항체, 항 IGFBP-3 항체, 항 IGFBP-4 항체를 사용한 면역침전법에서 특이적 침전이 일어나서 37/43 kDa IGFBP가 IGFBP-3, 31 kDa IGFBP가 IGFBP-2, 26 kDa IGFBP가 IGFBP-1, 24 kDa IGFBP가 IGFBP-4로 확인되었고 정상배란성 월경주기에서 혈청 내에 나타나는 IGFBP의 종류 및 분자량의 크기는 월경주기의 시기에 따른 차이가 없었다 (Fig. 1). 연구대상자들의 혈청 내 IGFBP의 강도를 Western ligand blot 실험간의 오차를 줄이기 위해서 실험시마다 임신하지 않은 폐경 전 정상 여성 10명으로부터 채취하여 모든 혈청 내 각 IGFBP의 강도를 1로 하였을 때의 상대강도로 표시하였는데 정상배란성 월경주기에서의 혈청 IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, 및 IGFBP-4의 상대강도도 월경주기의 시기에 따른 유의한 변화가 없었다 (Table 1). 정상배란성 월경주기의 각 시기에서의 혈청 내 총 IGFBP들의 강도에 대한 각 IGFBP 강도의 비로 나타낸 IGFBP들의 분포양상은 Table 2와 같았는데

월경주기의 시기에 따른 유의한 변화가 없었다 (Table 2). 배란 전 제 1~4일에 채취된 혈청 내 각 IGFBP들의 상대강도와 총 혈청 IGFBP에 대한 그 분포비는 각각 혈청 estradiol 농도와 유의한 상관관계가 없었다.

과배란유도 월경주기를 가진 환자에서 난자채취일의 혈청 내 각 IGFBP의 상대강도 (Fig. 2) 및 혈청 내 총 IGFBP들의 강도에 대한 각 IGFBP 강도의 분포비 (Fig. 3)도 정상배란성 월경주기를 가진 여성의 배란일에서의 혈청 내 것과 각각 유의한 차이가 없었다.

고 찰

난포성장에 중요한 역할을 하는 난소 내 IGF는 국소적 생산 뿐만 아니라 순환계의 IGF에 기인될 수 있으나 순환계에 존재하는 IGF의 난소조직 내 전달에 관여할 가능성이 있는 혈중 IGFBP-2, IGFBP-4 농도를 이제까지 측정할 바가 없었는데 본 연구에서는 최초로 이러한 IGFBP들이 정상배란성 월경주기에서 변화하지 않는다는 소견을 얻었다.

순환계 내 IGFBP는 IGF와 마찬가지로 주로 간에서 합성된 것에 기인된다. 혈중 IGFBP-1은 새벽에 가장 높은 농도가 되고 오후에 매우 낮게 되는 일내변동 (diurnal fluctuation)을 보이고 공복시 그 농도가 증가되고 음식 섭취시 감소되는 등의 식이적 요인에 의해서 영향을 받을 수 있다고

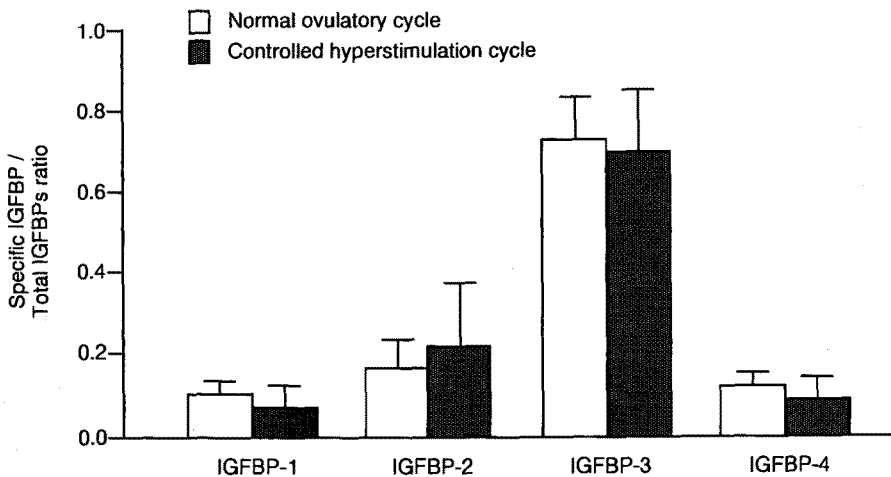


Fig. 3. The relative proportions (Mean+SD) of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) on the day of aspiration in controlled hyperstimulation cycle (n=10) and on the day of ovulation in normal ovulatory menstrual cycle (n=15).

Table 1. The relative levels of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) in normal ovulatory menstrual cycles (n=15)

	Cycle day (ovulation=0)						
	-(10~12)	-(7~8)	-(3~4)	-(1~2)	0	+(2~3)	+(9~10)
IGFBP-1	1.67 ±0.56	1.60 ±0.42	1.66 ±0.51	1.63 ±0.44	1.58 ±0.64	1.69 ±0.49	1.48 ±0.29
IGFBP-2	1.30 ±0.61	1.38 ±0.70	1.34 ±0.68	1.29 ±0.68	1.24 ±0.47	1.14 ±0.29	1.17 ±0.54
IGFBP-3	0.99 ±0.34	1.01 ±0.31	0.94 ±0.36	1.05 ±0.37	1.13 ±0.31	1.02 ±0.38	1.09 ±0.41
IGFBP-4	1.50 ±0.38	1.70 ±0.44	1.72 ±0.62	1.67 ±0.81	1.74 ±0.64	1.78 ±0.81	1.56 ±0.78

Table 2. The relative proportions of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) in normal ovulatory menstrual cycles (n=15)

	Cycle day (ovulation=0)						
	-(10~12)	-(7~8)	-(3~4)	-(1~2)	0	+(2~3)	+(9~10)
IGFBP-1 /Total IGFBPs	0.09 ±0.04 ^a	0.08 ±0.03	0.08 ±0.03	0.07 ±0.03	0.07 ±0.02	0.06 ±0.02	0.07 ±0.02
IGFBP-2 /Total IGFBPs	0.17 ±0.11	0.16 ±0.08	0.17 ±0.11	0.18 ±0.09	0.14 ±0.08	0.15 ±0.07	0.13 ±0.04
IGFBP-3 /Total IGFBPs	0.64 ±0.18	0.67 ±0.13	0.65 ±0.18	0.67 ±0.11	0.71 ±0.11	0.70 ±0.08	0.72 ±0.06
IGFBP-4 /Total IGFBPs	0.10 ±0.05	0.10 ±0.04	0.10 ±0.06	0.08 ±0.03	0.09 ±0.04	0.09 ±0.03	0.08 ±0.04

^a; Mean ± SD

한다 (Jones & Clemmons, 1995). 그러나 오전 중 혈청 IGFBP-1의 감소는 공복시 일어나지 않으므로 본 연구에서는 공복상태로 오전 9시 이전에 채혈된 혈액을 사용하여 IGFBP들을 Western ligand blot으로 측정하였는데 정상배란성 월경주기에서 혈청 내에 나타나는 IGFBP의 종류, 분자량의 크기는 월경주기의 시기에 따른 유의한 변화가 없었다.

정상월경주기에서 IGFBP-1, IGFBP-3의 농도의 변화 유무에 대하여는 연구자에 따라 다르게 보고되고 있다. 본 연구에서 정상배란성 월경주기에서 혈청 IGFBP-1의 상대강도가 월경주기의 시기에 따라 유의하게 변화하지 않았는데 이러한 결과는 배란직전과 월경 제 1일에 혈청 IGFBP-1 농도의 정점 (peak)을 보고하고 있는 Wang 등 (1995)의 결과와 상반되나 다른 연구자들 (Van Dessel *et al.*, 1996;

Helle *et al.*, 1998)의 결과와 일치된다. 본 연구에서는 더욱이 이제까지의 보고자들과 달리 IGFBP의 분포비를 측정하였는데 이 또한 월경주기에 따라 유의한 변화를 하지 않았다. IGFBP-1은 간에서의 인슐린 감수성을 반영하며 역으로 인슐린이 이런 조직에서 IGFBP-1의 발현을 조절한다는 보고 (Lee *et al.*, 1993)로 볼 때 본 연구결과는 인슐린 감수성이 월경주기에 의존적이지 아니라는 것을 시사하는 소견일 수 있다. 한편 월경주기에 이상이 있는 다낭성 난포증 환자에서는 정상월경주기 여성보다 혈청 IGFBP-1 농도가 낮으며 이것으로 인하여 난소조직에서 IGF에 의한 안드로겐 합성이 더욱 증가될 수 있다고 주장되고 있다 (Tiitinen *et al.*, 1993). 본 연구에서 혈청 IGFBP-3의 상대강도는 Wang 등 (1995), Van Dessel 등 (1996)의 결과와 일치하나, IGFBP-3가 난포기에 가장 높고 황체기 및 월경기

에 낮다고 한 Helle 등 (1998)의 결과와 상반된다. IGFBP-3는 성인 혈청 내 주요 IGFBP이며 성장호르몬 (growth hormone: 이하 GH로 약함) 의존적이라고 생각되고 있는데 (Jones & Clemmons, 1995) 본 연구 결과는 정상월경주기에서 혈중 GH의 주기적 변화를 관찰하지 못하였다는 Juul 등 (1997)의 결과에 의하여 더욱 지지된다.

순환계에서 IGFBP-3는 IGF와 결합된 150 kDa의 복합체를 형성하여 존재하므로 모세혈관내피를 통과하지 못하는데 반하여 저 분자량의 IGFBP, 즉 IGFBP-2, IGFBP-4는 모세혈관내피를 통과하므로 (Jones & Clemmons, 1995) 이러한 IGFBP들이 난소조직에 IGF들의 전달 및 난소조직에서의 직접적 작용에 중요할 수도 있다. 퇴화난포 또는 다낭성난포의 난포액 내 정상 우성난포에 비하여 IGFBP-2, IGFBP-4 등이 높다는 것이 관찰되어 이러한 IGFBP의 증가가 IGF의 유용성을 감소시켜 난포의 퇴화를 초래할 수 있다고 생각되고 있다 (Cataldo & Giudice, 1992; San Roman & Magoffin, 1993). 더욱이 본 연구자 등 (Kim & Lee, 1996)은 골다공증을 가진 자연폐경 여성에서 자연폐경 후 정상 여성에 비하여 혈청 IGFBP-2 상대강도와 그 분포비가 증가하고 이러한 IGFBP-2의 양상이 골밀도와 상관성을 관찰하여 골대사에 순환 IGFBP-2의 내분비학적 기능을 제시한 바 있다. 이와 대조로 본 연구에서의 정상배란성 월경주기를 가진 여성에서는 혈청 IGFBP-2, IGFBP-4의 상대농도 및 분포비의 주기적 변화를 관찰하지 못하였다.

과배란유도주기의 경우 정상월경주기에서의 내분비학적 소견과 다를 수 있는데 이제까지 과배란유도주기에서 혈청 IGFBP-1에 대한 연구만이 극소수 이루어졌다. 성선자극호르몬 유리호르몬 협동제 (gonadotropin releasing hormone agonist) 및 hMG를 사용한 과배란유도주기의 후기 증식기에 혈청 IGFBP-1 농도가 정상월경주기보다 높다고 보고되었는데 (Martikainen *et al.*, 1991; Arthur *et al.*, 1994) 이러한 결과는 정상배란성 월경주기를 가진 여성의 배란일에서의 혈청 내 각 IGFBP의 상대강도 및 분포양상이 과배란유도주기에서 난자채취일의 혈청 내 것과 각각 유의한 차이가 없었다는 본 연구결과와 상반된다. 향후 과배란유도주기의 전 기간에서 IGFBP의 변화양상과 난포내 IGFBP와의 상관성 등에 연구가 필요하다.

난소세포에서 IGFBP-1 - IGFBP-5 mRNA가 발견되며 (El-Roiey *et al.*, 1993, 1994) 황체화 과립막세

포의 무혈청 배양액에서 IGFBP-1 - IGFBP-4를 검출할 수 있다고 보고되었다 (김 등, 1996). 이런 보고들과 함께 정상배란성 월경주기에서 혈청 IGFBP-1 - IGFBP-4 농도의 변화가 없었다는 본 연구결과는 IGFBP가 난소기능 조절에서 내분비역활보다는 측분비 (paracrine) 또는 방분비 (autocrine) 역할로 IGF의 작용을 조절하거나 직접 난소세포에 작용할 수 있다는 것을 시사한다. 즉 난소조직 내로 순환계 IGF의 전달에 IGFBP가 관여하기보다는 다른 인자 즉 혈중 IGFBP 단백질분해효소, 난소조직 내 pH 같은 환경적 인자, IGF계의 주기적 변화 및 혈관 침투성 (vascular permeability) 등이 관여할 수 있는데 향후 이에 대한 연구가 필요하다 고 사료된다.

결 론

정상배란성 월경주기에서 순환계내 IGFBP-1 - IGFBP-4의 내분비학적 역할을 알아보고자 정상배란성 월경주기를 가진 여성 15명 및 과배란유도 후 체외수정 및 배아이식을 시행하는 환자 10명에서 혈청 IGFBP-1 - IGFBP-4와 17 β -estradiol을 각각 Western ligand blot, 면역침전법, 방사면역법으로 측정하여 정상배란성 월경주기에서 혈청 내 IGFBP들의 변화양상과 17 β -estradiol과의 상호연관성을 분석하고 정상배란성 월경주기의 배란일 및 과배란유도주기의 난자채취일에서의 IGFBP 양상을 비교 분석하였다. 정상배란성 월경주기에서 혈청 내에 나타나는 IGFBP의 종류, 분자량의 크기, 상대강도 및 분포양상은 월경주기의 시기에 따른 유의한 변화가 없었다. 각 IGFBP들의 상대강도와 분포비 또한 혈청 17 β -estradiol 농도와 유의한 상관관계가 없었다. 정상배란성 월경주기를 가진 여성의 배란일에서의 혈청 내 각 IGFBP의 상대강도 및 분포양상도 과배란유도주기에서 난자채취일의 혈청 내 것과 각각 유의한 차이가 없었다. 이상의 결과는 IGFBP는 난소기능 조절에서 내분비역활보다는 측분비 또는 방분비 역할을 통하여 작용한다 것을 시사한다.

인 용 문 헌

Arthur ID, Anthony FW, Masson GM, Thomas EJ:
The influence of ovarian follicular activity on late proliferative phase serum IGFBP-1 in down-

- regulated assisted conceptional cycles. *Human Reprod* 1994, 9, 1417-1420.
- Blake EJ, Adel T, Santoro N: Relationship between insulin-like growth factor-I and estradiol in reproducing aging. *Fertil Steril* 1997, 67, 697-701.
- Cataldo NA, Giudice LC: Insulin-like growth factor binding protein profiles in human ovarian follicular fluid correlate with follicular functional status. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 74, 821-829.
- El-Roeiy A, Cheu X, Roberts VJ, LeRoith D, Roberts CT, Yen SCC: Expression of insulin-like growth factor (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, 77, 1411-1418.
- El-Roeiy, Chen X, Roberts VJ, Shimasaki S, Ling N, LeRoith D, Roberts CT: Expression of the genes encoding the insulin-like growth factors (IGF-I and II), the IGF and insulin receptors, and IGF-binding proteins-1-6 and the localization of their gene products in normal and polycystic ovary syndrome ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994, 78, 1488-1496.
- Giudice LC: The insulin-like growth factor system in normal and abnormal human ovarian follicle development. *Am J Med* 1995, 98, 485-545.
- Hamori M, Blum WF, Torok A, Stehle R, Waibel E, Cledon P, Ranke MB: Insulin-like growth factors and their binding proteins in human follicular fluid. *Hum Reprod* 1991, 6, 313-318.
- Helle SI, Anker GB, Meadows KA, Holly JMP, Lonnig PE: Alterations in the insulin-like growth factor system during menstrual cycle in normal women. *Maturitas* 1998, 28, 259-265.
- Jones JJ, Clemmons DR: Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological actions. *Endo Rev* 1995, 16, 3-34.
- Juul A, Scheika T, Pedersen AT, Main KM, Andersson AM, Pedersen LM, Skakkebek NE: Changes in serum concentrations of growth hormone, insulin, insulin-like growth factor and insulin-like growth factor-binding protein 1 and 3 and urinary growth hormone excretion during the menstrual cycle. *Hum Reprod* 1997, 10, 2133-2128.
- Kim JG, Lee JY: Serum insulin-like growth factor binding protein profiles in postmenopausal women: their correlation with bone mineral density. *Am J Obstet Gynecol* 1996, 174, 1511-1517.
- 김정구, 김석현, 최영민, 신창재, 문신용, 장윤석, 이진용: 성장인자들이 인간의 황체화 과립막 세포에서의 인슐린유사성장인자 및 그 결합 단백질의 생성의 조절에 관한 연구. 대한 산부회지 1996, 39, 261-278.
- Lee PDK, Conover CA, Powell DR: Regulation and function of Insulin-like growth factor binding protein-1. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993, 204, 4-29.
- Martikainen H, Tapanainen J, Ronnberg L, Kauppala A, Selenius P, Seppala M: Insulin-like growth factor binding protein-1 and ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1991, 6, 1220-1222.
- Rabinovici J, Dandekar P, Angle MJ, Rosenthal S, Martin MC: Insulin-like growth factor I (IGF-I) levels in follicular fluid from human preovulatory follicles : correlation with serum IGF-I levels. *Fertil Steril* 1990, 54, 428-433.
- San Roman GA, Magoffin DA: Insulin-like growth factor-binding proteins in healthy and atretic follicles during normal menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 76, 625-632.
- Tiitinen AE, Laatikainen TJ, Seppala MT: Serum levels of insulin-like growth factor binding protein-1 and ovulatory response to clomiphene citrate in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1993, 60, 58-62.
- Van Dessel HJHM, Chandrasekher Y, Stephanie GW, Lee PDK, Hintz RL, Faessen GHJ, Braat DDM, Fauser BCJM, Giudice LC: Serum and follicular levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II and IGF-binding protein-1 and -3 during the normal menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, 81, 1224-1231.
- Wang HS, Lee JD, Soong YK: Serum levels of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein-1 and -3 in women with regular menstrual cycle. *Fertil Steril* 1995, 63, 1204-1209.
- Zhou J, Bondy CA: Anatomy of the human ovarian insulin-like growth factor system. *Biol Reprod* 1993, 48, 467-482.