

신체지표 및 비만도의 결정 요인으로서 IGFBP-3 Promoter Polymorphism

연세대학교 의과대학 내과학교실, BK21 의과학사업단¹

박종숙 · 장운수 · 유경남¹ · 남주영 · 김철식 · 김뜰미 · 조민호
박진아 · 안철우 · 차봉수 · 임승길 · 김경래 · 이현철

Relations Between IGFBP-3 Promoter Polymorphism and Body Composition Parameters and Obesity

Jong Suk Park, Yoon Soo Chang, Kyeong Nam Yoo¹,
Joo Young Nam, Chul Sik Kim, Dol Mi Kim, Min Ho Cho,
Jina Park, Chul Woo Ahn, Bong Soo Cha, Sung Kil Lim,
Kyung Rae Kim, Hyun Chul Lee

*Department of Internal Medicine, Brain Korea 21 Project for Medical Sciences¹,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

요 약

연구배경: Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 (IGFBP-3)는 혈액내 IGFs와 결합하여 활성도를 조절하는 역할을 한다. 혈액내 IGFs 및 IGFBP-3의 농도는 개인별로 다양하며 질병에 따라 영향을 받는다. 본 연구에서는 IGFBP-3 유전자형에 따른 신체 지표 및 질병과의 관계를 알아보고자 한다.

방법: 국민건강보험공단에서 일반인을 대상으로 시행하는 검진을 위해 내원한 사람 중에 40세 이상 262명을 무작위로 선택하여 체중, 신장 등의 신체 계측 및 생화학적 검사를 시행하였으며 문진을 통한 과거력, 약물 복용력, 가족력을 조사하였고 말초 혈액에서 DNA를 추출하여 IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism을 검사하였다.

결과: IGFBP-3 promoter -202 locus의 유전자형의 빈도수는 AA 115 명(43.9%), AC 125 명(47.7%), CC 22명(8.4%)이었다. 통계학적으로 유의 수준에 도달하지는 못하였지만 남녀 모두에서 CC 유전자군의 신장이 가장 큰 반면에 AC 유전자군이 체중, BMI, BSA가 가장 컸다. 여자에서 유전자형에 따른 제2형 당뇨병의 유병률 및 공복시 혈당에 차이가 없었지만 남자에서는 AC 유전자군이 제2형 당뇨병의 유병률 및 공복시 혈당이 높게 나왔다(P=0.016, P=0.106).

교신저자: 안철우, 서울시 강남구 도곡동 146-92, 연세대학교 의과대학 영동세브란스병원 내과학교실

Tel: 02)3497-3339, Fax: 02)3463-3882, E-mail: acw@yumc.yonsei.ac.kr, Mobile: 016-210-0097

결론: IGFBP-3의 혈청 농도 및 IGFs의 활성도를 결정하는 IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism은 남자의 경우 제2형 당뇨병의 유병률과 관계가 있으며 비록 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았지만 남녀 모두에서 CC 유전자군이 신장이 컸고 AC 유전자군이 체중, BSA 및 BMI가 큰 것으로 보아 IGFBP-3는 신체 지표를 결정하는데도 중요한 역할을 하는 것으로 보인다.

중심단어: IGFs, IGFBP-3, IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism

서 론

IGFs는 상피세포 및 암세포의 성장에 필요한 중요한 분열 촉진 물질이다¹⁾. 분열 촉진 효과뿐만 아니라 apoptosis를 억제하고 다른 분열 촉진 인자 및 스테로이드와 상호 작용을 하기도 한다²⁾. IGFs는 216~289개의 아미노산으로 구성되어 있고 혈액내 IGFs의 주 저장소이며 IGFs를 말초 조직으로 이동시키거나 활성도를 조절하는 역할을 한다. IGFBP-3는 IGF-1이 수용체에 결합하는 것을 억제함으로써 세포의 성장, 분화, 형질 전환 및 apoptosis에 관여하는 IGF-1의 작용을 억제하게 된다^{3~6)}. IGFBP-1,-2,-4는 내피세포를 통과하여 IGFs를 말초 조직 안으로 이동시킬 수 있다. 반면 혈액내 IGFs 중 가장 많은 IGFBP-3는 IGF-1과 결합했을 때 분자량이 150KD이 된다. 따라서 내피세포를 통과하기가 어렵고 혈액내 IGFs의 농도의 항상성을 유지하는 것이 주 역할이다^{3,7)}. IGFBP-3는 IGF-1의존적인 기능뿐만 아니라 IGF-1 비의존적인 방식으로 증식 억제 및 pro-apoptosis 기능을 가지고 있으며 이는 서로 별개의 기전에 의한 것으로 보인다⁸⁾. 이중 첫번째 기전은 IGFBP-3가 transforming growth factor- β (TGF- β) 수용체와 작용하는 것으로 멩크의 폐 상피세포에서 IGFBP-3가 type V TGF- β 수용체 (TGF- β RV)에 결합한다는 보고가 있었다^{9,10)}. 최근의 보고에 따르면 동일한 방식으로 저밀도 지단백 수용체 관련 단백질에 작용을 한다는 사실이 밝혀졌다¹¹⁾. 또한 IGFBP-3는 TGF- β RI 및 TGF- β RII에 결합하여 세포내 신호 전달 체계를 활성화시키기도 한다^{12~14)}. T47D 유방암 cell line에서 TGF- β 1, TGF- β RI 및 TGF- β RII 수용체를 통해 Smad2와 MADH2의 활성화 및 성장

억제에 관여한다¹³⁾. β -importin pathway를 통해 수용체 없이 IGFBP-3의 핵내 전위가 가능하며 IGFBP-3는 핵내 retinoid X 수용체, RXR- α 에 결합하여 직접 주머니쥐의 신장 세포, A549 폐암 세포, T47D 유방암 세포 및 여러 세포 등의 성장을 억제한다^{15~17)}. 이외에 IGFBP-3는 TGF- β , retinoic acid, tumor necrosis factor- α (TNF- α), p53, 항에스트로젠, flavonoid antioxidant silibinin, paclitaxel 및 histone deacetylase inhibitor trichostatin A 등의 성장 억제 신호 전달 체계에도 관여하는 것으로 알려져 있다^{18~23)}. 이 외에도 IGF axis의 변화로 인해 당뇨병성 신증, 허혈성 심질환 후 remodeling, 동맥 경화성 혈관 질환, 종양 등에도 영향을 준다는 보고가 있어 IGFBP-3의 발현을 조절하는 기전에 대한 연구가 활발히 진행 중이다²⁴⁾. 최근 유전자 검사에서 -202 locus A/C polymorphism이 혈액내 IGFBP-3 농도를 조절하고 promoter 활성도와 관련되어 있다고 보고된 바 있다²⁵⁾. IGFBP-3 promoter내의 5군데 polymorphism 중에 -202 locus A/C polymorphism은 IGFBP-3의 혈청 농도를 조절하고 종양의 발생 및 신체 지표에도 영향을 미친다는 가능성이 제시되고 있다^{25,26)}. 이러한 IGFBP-3의 효과를 고려해 볼 때 IGFBP-3의 유전자 다형성이 당뇨병, 고혈압, 허혈성 심질환 등의 질병과도 연관성이 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서 저자들은 한국의 일반인 중 40세 이상을 대상으로 하여 IGFBP-3 promoter의 -202 locus 유전자형과 신체 지표 및 IGF axis의 변화와 연관된 질병과의 관계를 알아보고자 하였다.

방 법

1. 대상 및 혈액 검사

2003년 1월 1일부터 2003년 12월 31일까지 국민건강보험공단에서 일반인을 대상으로 시행하는 검진을 위해 내원한 1038명의 사람들 중에 40세 이상 262명을 무작위로 선택하였다. 127명의 남자와 135명의 여자로 구성되어 있으며 참가자의 평균 연령은 58.4 ± 9.48 세 (range; 40~85 yrs)였다. 신장과 체중을 측정하고 공복시 혈당, 혈색소, 콜레스테롤, ALT, AST, γ -GT 및 소변 검사를 시행하였으며 문진표를 통해 개인병력, 약물 복용력 및 가족력을 확인하였다. 체표면적은 DuBois formula를 이용하여 $BSA (m^2) = 0.007184 \times \text{신장 (cm)}^{0.725} \times \text{체중 (kg)}^{0.425}$ 로 계산하였다.

2. DNA 추출 및 IGFBP-3 유전자형의 결정

말초 혈액에서 DNA를 추출하고²⁷⁾ Polymerase chain reaction을 시행하였다. Primer로 5-CTGAGTTGGC-CAGGAGTGACT-3와 5-CGAGCTCGGGGGCGTG-CA-3를 이용하였다. genomic DNA 100 ng, 1% dimethyl sulfoxide, dNTP (각 200 μ M), 1.5 mM $MgCl_2$, 0.4 μ M PCR primer, 0.25 U TaqBio thermTMstar DNA polymerase (GeneCraft, Germany)를 섞어 총 25 μ L 용액을 준비하였다. thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 95°C에서 10분간 DNA amplification을 한 후 94°C에서 30초, 66°C에서 1분, 72°C에서 1분의 과정을 40회 시행하고 72°C에서 5분간 extension을 시행 후 종료하였다. PCR 생성물의 반은 2.5% agarose gel에서 전기영동을 하여 168 bp의 PCR 생성물을 확인하였고 나머지는 Fsp1 (NEB, M.A, USA)을 이용하여 37°C에서 4시간동안 digestion 후 전기영동하여 AA, AC, CC 유전자형을 확인하였다.

3. 분석 방법

모든 결과는 평균 \pm 표준 편차로 나타내었다. 연속변수 분석은 one way ANOVA test를 이용하였고 명목변수 분석은 chi-square test를 이용하여 분석하였다. 양측 검정상 P value 0.05 미만을 통계학적으로 유의하다고 평가하였다.

결 과

1. 한국인에서 IGFBP-3 promoter 내 -202 locus polymorphism의 빈도수

IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism은 AA, AC, CC 세 유전자형으로 분류할 수 있다. 연구 대상자들의 유전자 다형성의 빈도수는 AA 115명 (43.9%), AC 125명 (47.7%), CC 22명 (8.4%)이었다. 다인종으로 구성된 북아메리카에 거주하고 있는 사람들을 대상으로 한 연구에서는 AA 120명 (22.9%), AC 247명 (47.1%), CC 157명 (30%)으로 본 연구와 다른 결과를 보였으나^{25,28)} 일본에서 시행된 동양 남자를 대상으로 한 연구에서의 결과와 유사하였다²⁹⁾.

2. IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 신체 지표와의 관계

평균 연령은 남자 127명의 경우 58.5 ± 10.37 세 (range; 40~83)이고 여자 135명은 58.3 ± 8.61 세 (range; 41~85)였다. 신장 및 체중은 남자의 경우 167.0 ± 5.87 cm와 68.1 ± 9.28 kg이고 여자의 경우 153.7 ± 6.35 cm와 57.8 ± 8.74 kg였다. 이 결과는 8500명의 Korean Agency for Technology and Standards 2003에 발표된 평균 신장 및 체중과 유사하였다. 남녀 모두에서 연령을 보정후 CC 유전자형군이 다른 유전자형군보다 신장이 컸으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. 반면에 통계학적으로 유의하지는 않았지만 체중, BMI, BSA는 남녀 모두에서 AC 유전자형군이 더 컸다 (Table 1).

3. IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 제2형 당뇨병과의 관계

혈청내 포도당의 항상성을 유지시키는데 IGFBP-3가 연관되어 있다는 보고가 있어 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 제2형 당뇨병과의 관계를 평가하고자 하였다³⁰⁾. 262명의 대상자중에 27명이 당뇨병으로 현재 투약 받는 환자였고 이는 한국 당뇨병 학회에서 발표한 유병률과 유사하였다³¹⁾. 연구에 참여한 127명의 남자 중 9명 (7.1%), 135명의 여자 중 18명 (13.3%)이 당뇨병 환자였다. 남자에서는 비록 통계

Table 1. Relationship Between IGFBP-3 Promoter -202 Locus A/C Polymorphism and Body Constitutional Parameters

Gender	Variables	Genotype			P-value
		AA	AC	CC	
Male	No. of cases	54	55	18	
	Height (cm)	166.7±6.90	167.1±5.05	167.3±5.08	0.916
	Weight (kg)	67.3±9.20	68.8±9.05	68.0±10.52	0.697
	BSA (m ²)	1.75±0.135	1.77±0.125	1.77±0.142	0.733
	BMI (kg/m ²)	24.2±2.90	24.6±2.76	24.3±3.10	0.749
Female	No. of cases	61	70	4	
	Height (cm)	152.8±6.35	154.3±6.26	154.6±10.47	0.400
	Weight (kg)	57.0±8.50	58.6±8.86	56.4±11.22	0.518
	BSA (m ²)	1.53±0.128	1.56±0.122	1.54±0.189	0.406
	BMI (kg/m ²)	24.3±3.05	24.6±3.54	23.5±3.55	0.730

Data are means±SD.

Statistical analyses were performed by one way ANOVA test and chi-square test

Abbreviations : BSA body surface area, BMI body mass index.

Table 2. Relationship Between IGFBP-3 Promoter -202 Locus A/C Polymorphism and Various Medical conditions

Gender	Medical conditions	Genotype			P-value
		AA	AC	CC	
Male	No. of cases	54	55	18	
	History of type 2 DM (%)	1 (1.9)	8 (14.5)*	0 (0)	0.016
	fasting blood glucose (mg/dL)	103.2±19.94	113.0±30.83	105.3±13.01	0.106
	Hypertension (%)	9 (16.7)	12 (21.8)	4 (22.2)	0.762
	Ischemic heart disease (%)	2 (3.7)	2 (3.6)	2 (11.1)	0.387
	Cerebrovasuclar accident (%)	2 (3.7)	1 (1.8)	2 (11.1)	0.211
	History of cancer (%)	0	0	0	
Female	No. of cases	61	70	4	
	History of type 2 DM (%)	9 (14.8)	9 (12.9)	0	0.692
	fasting blood glucose (mg/dL)	107.4±40.12	105.1±24.86	97.8±11.44	0.805
	Hypertension (%)	19 (31.1)	12 (17.1)	1 (25.0)	0.170
	Ischemic heart disease (%)	1 (1.6)	2 (2.9)	0 (0)	0.864
	Cerebrovasuclar accident (%)	1 (1.6)	0 (0)	0 (0)	0.453
	History of cancer (%)	1 (1.6)	3 (4.3)	0 (0)	0.631

Data are means±SD, no or %.

Statistical analyses were performed by one way ANOVA test and chi-square test.

* : P < 0.05 versus AA and CC

학적으로 유의한 수준에 도달하지 못하지만 AC 유전자형군에서 공복시 혈당이 다른 유전자형군보다 높게 나왔고 또한 제2형 당뇨병의 유병률이 높았다(P=0.016). 여자의 경우 유전자형에 따른 제2형 당뇨병의 유병률은 차이가 없었다(Table 2).

4. IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 IGFBP-3와 연관된 질병과의 관계

IGFBP-3는 동맥 경화, 허혈성 심질환의 remodeling, 압등과 연관되어 있다는 보고가 있어 이러한 질병과 IGFBP-3 promoter -202 locus 유전자형과의 관계를 알아보고자 하였다. 개인 병력은 문진표를 통해 확인하였고 그 결과 허혈성 심질환, 고혈압, 뇌혈관 질환과 유전자형과는 연관성이 없었다(Table 2). 4명의 여자 환자가 과거 병력상 대장암, 유방암, 자궁내막암 및 자궁경부암으로 치료받았던 환자였으나 IGFBP-3 promoter -202 locus 유전자형에 따라 암의 유병률의 차이를 보이지 않았다.

고 찰

한국인에서 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism의 빈도수는 북아메리카 코카시안의 빈도수와는 차이를 보이고 있다. 북아메리카에 거주하는 424명을 대상으로 한 연구에서 각 유전자형의 빈도수는 AA 120명 (22.9%), AC 247명 (47.1%), CC 157명 (30%) 이었고 Schernhammer 등이 발표한 내용도 유사하였다^{25,28}. Wang 등이 일본인 남자 272명을 대상으로 한 연구에서 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism의 빈도수는 AA 152명 (55.9%), AC 105명 (38.6%), CC 15명 (5.5%)으로 본 연구 결과와 유사하였다. 이처럼 동양인의 경우 IGFBP-3 promoter의 CC 유전자형의 빈도수가 코카시안에 비해 낮은데 이는 코카시안과 동양인의 신장의 차이를 일으키는 원인의 하나로 작용할 수 있을 것이다.

IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism은 IGFBP-3의 혈청 농도를 조절하는데 질병의 유병률과 IGFBP-3 농도간에 연관성이 있는 것으로 알려져 있

다. 예를 들면 전립선암, 폐암, 대장암 등은 낮은 농도의 혈청 IGFBP-3와 관련이 있다고 하며 따라서 IGFBP-3 promoter의 CC 유전자형이 고혈압과 연관성이 있을 것이라는 가정하에 연구를 진행하였다^{32,33}. 이 외에 허혈성 심질환, 고혈압, 뇌혈관 질환 등도 IGF axis의 이상과 연관이 있는 것으로 보고되어 있으나 본 연구에서는 유전자형에 따른 각 질환별 유병률의 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 체중, BMI, BSA 및 공복시 혈당이 높은 AC 유전자형 남자에서 제2형 당뇨병 유병률이 높은 결과를 보였다. 이는 IGFBP-3가 혈당의 항상성을 유지하는 역할과 연관이 있는 것으로 설명할 수 있다. 제1형 및 2형 당뇨병 환자에서는 IGF-1 및 IGFBP-3가 감소되어 있으며 제 2형 당뇨병 환자에게 IGF-1/IGFBP-3를 투여했을 경우 공복시 혈당과 인슐린 투여량이 감소했다는 보고가 있었다³⁰. 여자인 경우에는 IGFBP-3 promoter polymorphism과 공복시 혈당 및 당뇨병과의 연관성이 남자에 비해 낮은 것으로 나왔는데 이는 아마도 폐경전후기 때 호르몬의 변화로 인해 혈당에 영향을 미치는 IGFBP-3의 변화가 생기기 때문으로 생각된다. 실제로 경구 피임제 및 호르몬 대체 요법 등의 에스트로젠 제제는 IGF-1 뿐만 아니라 IGFBP-3의 농도에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 성별에 따른 IGF-1과 IGFBP-3 농도의 변화 외에 연령도 IGFBP-3 polymorphism과 질병 상태와의 관계에 영향을 미치는 인자이다. 혈청 IGF-1과 IGFBP-3 농도는 사춘기 때 최고로 높아졌다가 그 후로는 점차 감소한다²⁶. 여자의 경우 폐경전후기 때 혈청 IGF-1의 농도는 급격히 감소하고 반면에 IGFBP-3의 농도는 서서히 감소하게 된다. 남자의 경우는 IGF-1과 IGFBP-3 농도가 서서히 감소하는 것으로 알려져 있다²⁶.

결론적으로 한국인에서 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism의 빈도수는 코카시안과는 다른 결과를 보이며 CC 유전자형의 빈도가 적은 일본인과는 유사한 결과를 보여 이러한 빈도수의 차이는 인종의 차이에 기인한다고 볼 수 있겠다. 연구에 참여했던 남자의 경우 AC 유전자형이 제2형 당뇨병의 유병률이 높았으며 IGFBP-3가 혈당의 항상성을 유지하는 역할과 연관이 있는 것으로 설명할 수 있다. 여자에서는 유전자형

간의 제2형 당뇨병의 유병률 차이가 없었는데 아마도 폐경기전후의 호르몬 변화에 의한 것으로 사료된다. 비록 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았지만 CC 유전자형군이 신장이 컸고 AC 유전자형군이 체중, BSA 및 BMI가 큰 것으로 보아 IGFBP-3는 신체 지표를 결정하는데에도 중요한 역할을 하는 것으로 보인다.

ABSTRACT

Background: Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 (IGFBP-3), which binds to the IGFs in the circulation and acts as a main reservoir of them, regulates their biologic activities either in a IGF receptor dependent or independent manner. Circulating levels of IGF-1 and IGFBP-3 vary considerably among individuals and have been implicated in various medical conditions.

Methods: Single nucleotide polymorphism at the -202 locus of the IGFBP-3 promoter, which influences transcriptional activities and is related with circulating IGFBP-3 levels, was genotyped for 262 samples from a study population who is older than 40 years.

Results: The frequency of each polymorphic variation at the -202 locus in these study population was AA =115 (43.9%), AC=125 (47.7%), and CC=22 (8.4%). In both genders, the subjects with the CC genotype were taller, whereas those with AC genotype had higher weight, BMI and BSA comparing those with the other genotypes, but these facts did not reach statistical significance. The prevalence of type 2 DM and the mean fasting blood glucose level did not differ among genotypes in the female gender. In the male population, however, the prevalence of type 2 DM was higher in the subjects with the AC genotype ($p=0.016$, chi-square-test), which is reflected by the elevated mean fasting glucose level ($p=0.106$, One-way ANOVA).

Conclusion: IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism, which reflects its serum level and further implicates IGFs bioactivity, was associated with a higher prevalence of type 2 DM in the male gender. Although it did not reach statistical significance, the subjects with the CC genotype were the tallest among the genotypes and the subjects with the AC genotype had the highest BMI and weight, suggesting that IGFBP-3 might well play a role in body composition.

Key Words: Insulin-like growth factor (IGF), Insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3), IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism.

참 고 문 헌

1. Cullen KJ, Lippman ME, Chow D, Hill S, Rosen N, Zwiebel JA. Insulin-like growth factor-II overexpression in MCF-7 cells induces phenotypic changes associated with malignant progression. *Mol Endocrinol* 1992;6:91-100.
2. Brodt P, Samani A, Navab R. Inhibition of the type I insulin-like growth factor receptor expression and signaling: novel strategies for anti-metastatic therapy. *Biochem Pharmacol* 2000;60:1101-7.
3. Stewart CE, Rotwein P. Growth, differentiation and survival; multiple physiological functions for insulin-like growth factors. *Physiol Rev* 1996;76:1005-26.
4. Jones JJ, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins; biological actions. *Endocr Rev* 1995;16:3-34.
5. Baxter RC. Signaling pathways involved in anti-proliferate effects of insulin-like growth factor binding protein-3. *Mol Pathol* 2001;54:145-8.
6. Baxter RC. Molecular aspects of insulin-like gro-

- with factor binding proteins. In LeRoith D, Ed. *Advances in molecular and cellular endocrinology* 1997;1:123-59.
7. Burroughs KD, Dunn SE, Barrett JC, Taylor JA. Insulin-like growth factor-I: a key regulator of human cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1999;91: 579-81.
 8. Kuemmerle JF, Murthy KS, Bowers JG. IGFBP-3 activates TGF- β receptors and directly inhibits growth in human intestinal smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 10: [Epub ahead of print].
 9. Leal SM, Huang SS, Huang JS. Interactions of high affinity insulin-like growth factor-binding proteins with the type V transforming growth factor-beta receptor in mink lung epithelial cells. *J Biol Chem* 1999;274:6711-7.
 10. Leal SM, Liu Q, Huang SS, Huang JS. The type V transforming growth factor beta receptor is the putative insulin-like growth factor-binding protein 3 receptor. *J Biol Chem* 1997;272:20572-6.
 11. Huang SS, Ling TY, Tseng WF, Huang YH, Tang FM, Leal SM, et al. Cellular growth inhibition by IGFBP-3 and TGF-beta1 requires LRP-1. *FASEB J* 2003;17:2068-81.
 12. Fanayan S, Firth SM, Baxter RC. Signaling through the Smad pathway by insulin-like growth factor-binding protein-3 in breast cancer cells. Relationship to transforming growth factor-beta 1 signaling. *J Biol Chem* 2002;277:7255-61.
 13. Fanayan S, Firth SM, Butt AJ, Baxter RC. Growth inhibition by insulin-like growth factor-binding protein-3 in T47D breast cancer cells requires transforming growth factor- β (TGF- β) and the type II TGF- β receptor. *J Biol Chem* 2000; 275:39146-51.
 14. Oh Y, Muller HL, Lamson G, Rosenfeld RG. Insulin-like growth factor (IGF)-independent action of IGF-binding protein-3 in Hs578T human breast cancer cells. Cell surface binding and growth inhibition. *J Biol Chem* 1993;268:14964-71.
 15. Li W, Fawcett J, Widmer HR, Fielder PJ, Rabkin R, Keller GA. Nuclear transport of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in opossum kidney cells. *Endocrinology* 1997;138:1763-6.
 16. Schedlich LJ, Le Page SL, Firth SM, Briggs LJ, Jans DA, Baxter RC. Nuclear import of insulin-like growth factor-binding protein-3 and -5 is mediated by the importin beta subunit. *J Biol Chem* 2000;275:23462-70.
 17. Schedlich LJ, Young TF, Firth SM, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP)-3 and IGFBP-5 share a common nuclear transport pathway in T47D human breast carcinoma cells. *J Biol Chem* 1998;273:18347-52.
 18. Gucev ZS, Oh Y, Kelley KM, Rosenfeld RG. Insulin-like growth factor binding protein-3 mediates retinoic acid and transforming growth factor 2-induced growth inhibition in human breast cancer cells. *Cancer Res* 1996;56:1545-50.
 19. Martin JL, Coverley JA, Pattison ST, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-3 production by MCF-7 breast cancer cells: stimulation by retinoic acid and cyclic adenosine monophosphate and differential effects of estradiol. *Endocrinology* 1995;136:1219-26.
 20. Buckbinder L, Talbott R, Velasco-Miguel S, Takenaka I, Faha B, Seizinger BR, et al. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein-3 by p53. *Nature* 1995;377:646-8.
 21. Zi X, Zhang J, Agarwal R, Pollak M. Silibinin up-regulates insulin-like growth factor-binding protein 3 expression and inhibits proliferation of androgen-independent prostate cancer cells. *Cancer Res* 2000;60:5617-20.
 22. Fowler CA, Perks CM, Newcomb PV, Savage PB, Farndon JR, Holly JM. Insulin-like growth

- factor binding protein-3 (IGFBP-3) potentiates paclitaxel-induced apoptosis in human breast cancer cells. *Int J Cancer* 2000;88:448-53.
23. Gray SG, Kytola S, Lui WO, Larsson C, Ekstrom TJ. Modulating IGFBP-3 expression by trichostatin A: potential therapeutic role in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Med* 2000;5:33-41.
24. Spagnoli A, Chiarelli F, Vorwerk P, Boscherini B, Rosenfeld RG. Evaluation of the components of insulin-like growth factor (IGF)-IGF binding protein (IGFBP) system in adolescents with type 1 diabetes and persistent microalbuminuria: relationship with increased urinary excretion of IGF-BP-3 18 kD N-terminal fragment. *Clin Endocrinol* 1999;51:587-96.
25. Deal C, Ma J, Wilkin F, Paquette J, Rozen F, Ge B, et al. Novel promoter polymorphism in insulin-like growth factor-binding protein-3: correlation with serum levels and interaction with known regulators. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1274-80.
26. Jernstrom H, Deal C, Wilkin F, Chu W, Tao Y, Majeed N, et al. Genetic and nongenetic factors associated with variation of plasma levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-3 in healthy premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:377-84.
27. Kim SK, Ro JY, Kemp BL, Lee JS, Kwon TJ, Fong KM, et al. Identification of three distinct tumor suppressor loci on the short arm of chromosome 9 in small cell lung cancer. *Cancer Res* 1997;57:400-3.
28. Schernhammer ES, Hankinson SE, Hunter DJ, Blouin MJ, Pollak MN. Polymorphic variation at the -202 locus in IGFBP3: Influence on serum levels of insulin-like growth factors, interaction with plasma retinol and vitamin D and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2003;107:60-4.
29. Wang L, Habuchi T, Tsuchiya N, Mitsumori K, Ohyama C, Sato K, et al. Insulin-like growth factor-binding protein-3 gene -202 A/C polymorphism is correlated with advanced disease status in prostate cancer. *Cancer Res.* 2003;63:4407-11.
30. R.I.G.Holt, H.L.Simpson, P.H.Sonksen. The role of the growth hormone insulin-like growth factor axis in glucose homeostasis. *Diabet Med* 2003; 20:3-15.
31. Cho NH. Diabetes epidemiology in Korean. *J Kor Diabet Assoc* 2001;25:1-10.
32. Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, Chan JM, Tao Y, Hennekens CH, et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:620-5.
33. Yu H, Spitz MR, Mistry J, Gu J, Hong WK, Wu X. Plasma levels of insulin-like growth factor-I and lung cancer risk: a case-control analysis. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:151-6.