

IGF-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И ИХ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ПРОТЕОЛИЗ КАК МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ IGF В НЕРВНОЙ ТКАНИ

©2023 г. Г. А. ДЯ, О. И. КЛЫЧНИКОВ,
Д. А. АДАШЕВА, Е. А. ВЛАДЫЧЕНСКАЯ,
А. Г. КАТРУХА, Д. В. СЕРЕБРЯНАЯ

*Кафедра биохимии, Биологический факультет, Московский
государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва*

I. Введение. II. Роль IGF-системы в регуляции функционирования нервной ткани. III. Влияние IGF на подвижность и выживаемость клеток нервной ткани. IV. IGF и IGFBP: структура и функции. V. Протеолиз IGFBP как механизм регуляции биодоступности в нервной ткани. VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Система инсулин-подобных факторов роста (insulin-like growth factor – IGF) регулирует в организме процессы клеточного роста, пролиферации, выживаемости клеток и оказывает влияние практически на каждый орган/систему/ткань организма. IGF-система опосредует такие формы биологической подвижности клеток, как миграция и

Принятые сокращения: IGF (insulin-like growth factor) – инсулиноподобный фактор роста; IGFBP (insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit) – кислотолабильная субъединица, взаимодействующая с белками, связывающими инсулиноподобные факторы роста; IGF-IR (insulin-like growth factor-I-receptor) – рецептор инсулиноподобного фактора роста I; IGF-I, IGF-II – гомологичные белки семейства IGF; IGFBP (insulin-like growth factor binding protein) – белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста; IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6 – гомологичные белки семейства IGFBP; IR (insulin receptor) – инсулиновый рецептор; M6P/IGFIR (mannose-6-phosphate/IGF-II-receptor) – маннозо-6-фосфат/IGF-II-рецептор; MMP (matrix metalloproteinases) – матриксные металлопротеиназы; MMP-2, MMP-7, MMP-9 – гомологичные белки семейства MMP; PAPP (pregnancy associated plasma protein) – ассоциированный с беременностью белок плазмы; PAPP-A, PAPP-A2 – изоформы A и A2 белка PAPP.

Адрес для корреспонденции: e-mail – dariaserebryanaya@gmail.com, Серебряная Дарья Владимировна.

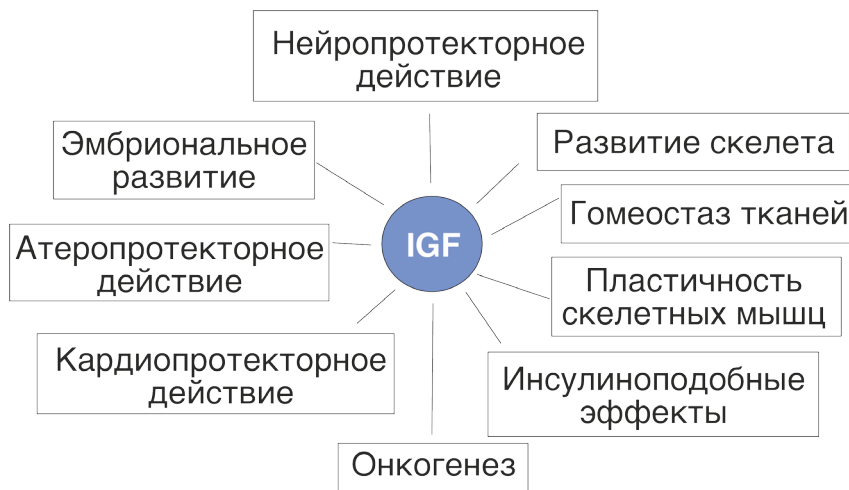


Рис. 1. Функции IGF-системы в организме человека.

пролиферация, запускает эффекты, стимулирующие рост и развитие, поддерживает выживаемость клеток, влияет на клеточный метаболизм, а также оказывает нейропротекторное и кардиопротекторное действие (рис. 1) [1].

В составе IGF-системы эукариот можно выделить несколько лиганд-рецепторных подсистем с частично пересекающимися афинностями, а также шесть IGF-связывающих белков (IGFBP) и расщепляющие их специфически протеазы (рис. 2А, Б). В их состав входят: лиганды IGF-I с высокой афинностью к рецептору IGF-IR и гибриднему рецептору IR/IGF-IR, IGF-II, способный связываться с рецепторами IGF-IIR, и маннозо-6-фосфат/IGF-II-рецептором, а также инсулин со своим рецептором IR [2].

Компоненты IGF-системы экспрессируются практически во всех органах и тканях, при этом для большинства тканей экспрессия этих компонентов в эмбриональный период существенно выше, чем во взрослом состоянии [3].

На уровне регуляции в целом организме инсулиноподобные факторы роста (IGF-I и IGF-II или соматомедины С и А, соответственно) опосредуют тканевые эффекты гормона роста (growth hormone, GH) или соматотропного гормона, так как последний индуцирует экспрессию IGF-I в печени, запуская, таким образом, их действие. В процессе эмбрионального развития IGF известен как активатор «ростовых эффектов» плода, особенно в случае костной и мышечной

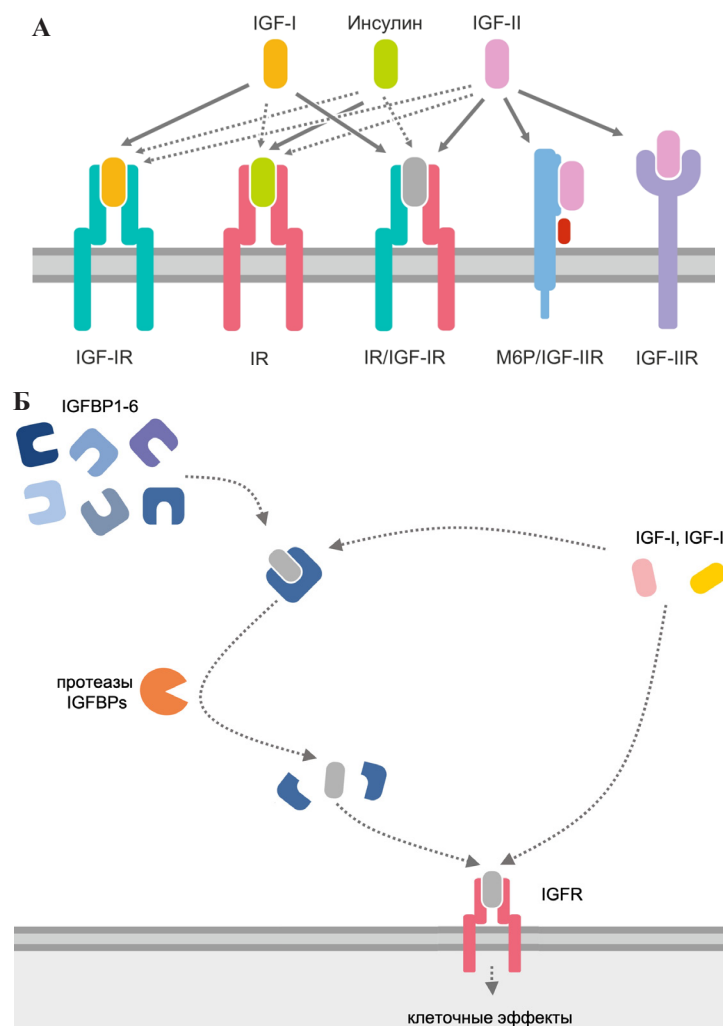


Рис. 2. Компоненты IGF-системы.

А – Лиганды и рецепторы IGF-системы. На рисунке обозначены основные лиганды и рецепторы IGF-системы и их взаимодействие между собой. Высокоаффинные взаимодействия лигандов и рецепторов показаны сплошными линиями, взаимодействия между лигандами и рецепторами, характеризующиеся более низкой аффинностью, – пунктирными линиями.

Б – Механизм высвобождения IGF из комплексов с IGF-связывающими белками. IGF-связывающие белки 1-6 взаимодействуют с IGF-I либо IGF-II, что приводит к снижению биодоступности IGF для клеток. Протеазы IGF-связывающих белков специфически расщепляют IGFBP в комплексе с IGF, что приводит к высвобождению IGF и активации его клеточных эффектов

тканей, а также в случае тканей молочной и предстательной желез [4]. Концентрации IGF-I в сыворотке крови матери увеличивается с ростом и развитием плода, и IGF в виде мРНК или белкового продукта присутствуют на различных стадиях его развития – от стадии пре-имплантации до полностью сформированного эмбриона. В постнатальном периоде IGF также опосредует процессы роста и ремоделирования различных тканей. Ключевую роль в постнатальном периоде IGF-система играет в развитии репродуктивной системы, а именно – в развитии ооцитов, процессе определения пола, нормальном функционировании яичек и выработке спермы, нормализации овуляции, стероидогенезе, выживаемости фолликула и формировании плаценты при беременности [5]. Также функционирование IGF-системы является важным фактором для развития скелетной мышечной ткани. Было показано, что нарушения в последовательностях генов IGF-I и IGF-II приводят к замедлению роста и нарушению формирования скелетной мускулатуры [6]. Недостаток IGF негативно отражается на развитии нервной системы. Так, дети с недостатком IGF-I вследствие нечувствительности к гормону роста обладали когнитивными способностями, не отличающимися от сверстников, однако у них присутствовали черепно-лицевые аномалии [7, 8]. У детей со сниженной паракринной и аутокринной активностью IGF-I вследствие мутаций в генах IGF-I или IGF-IR наблюдалась микроцефалия и снижение когнитивных способностей [9, 10].

На клеточном уровне IGF-I и IGF-II являются активаторами таких процессов, как миграция, пролиферация, дифференцировка и ангиогенез. В нескольких исследованиях было показано, что IGF может запускать практически одновременно как пролиферацию, так и дифференцировку клеток. Таков, например, ответ клеток миобластов при дифференцировке в миоциты под воздействием IGF. Также IGF может быть фактором, запускающим только дифференцировку. Таков ответ клеток остеокластов, хондроцитов и клеток нервной ткани при обработке IGF [6–13]. IGF повышают выживаемость клеток и обладают анти-апоптотическим действием. Активация данных процессов под действием IGF была показана на широком спектре клеточных линий [14–17].

На уровне биохимической регуляции внутриклеточных процессов IGF-система также известна как регулятор метаболических путей. IGF активируют синтез белков и ингибируют их протеолитическое расщепление, что стимулирует клеточный рост [18]. В клеточных экспериментах *in vivo* и *in vitro* было показано, что IGF-I стимулирует транспорт глюкозы внутрь клетки, что способствует поддержанию постоянной концентрации глюкозы в клетке и вне ее [19]. IGF также

активируют включение свободных жирных кислот в метаболизм и подавляют секрецию инсулина и гормона роста. При этом IGF повышают чувствительность клеток к инсулину. Низкая концентрация IGF-I в крови ассоциирована с развитием резистентности клеток к инсулину [20].

Участие IGF-I и IGF-II было показано в развитии и предотвращении развития различных патологических состояний. В большом количестве проведенных исследований показано, что IGF играют немаловажную роль в канцерогенезе. В частности, было показано, что IGF-I и IGF-II усиливают пролиферацию раковых клеток [21]. Продемонстрировано, что высокие уровни IGF-I коррелируют с развитием рака поджелудочной и молочной железы, а также рака печени и колоректального рака [22–25]. Было обнаружено, что у пациентов с акромегалией – заболеванием, которое сопровождается избыточной продукцией гормона роста – риск развития раковых заболеваний пищеварительного тракта в 2 раза выше, чем в случае нормы [26]. Также при некоторых видах опухолей IGF-I экспрессируется в малигнизующих участках различных тканей при развитии опухолевого процесса и повышает жизнеспособность клеток, из которых они состоят. Кроме этого, было продемонстрировано, что IGF-I и IGF-II оказывают активирующее действие на метастазирование опухолей [21].

В случае сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний IGF, напротив, предотвращают развитие некоторых патологических состояний. Как агент, повышающий чувствительность клеток к инсулину, IGF-I используют для терапии пациентов с выраженной инсулиновой резистентностью в случае диабета 1 и 2 типов, что приводит к улучшению гликемического контроля, понижению содержания глюкозы в крови и повышению чувствительности к инсулину [27]. В сердечной ткани IGF-I и IGF-II выполняют защитную функцию. В ряде работ показано их кардиопротекторное и атеропротекторное действие [28–30]. Было показано, что пониженный уровень IGF-I в крови коррелирует с развитием ишемической болезни сердца и инсульта [28]. В настоящий момент, IGF-I является перспективным терапевтическим агентом для возможной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. В нервной ткани IGF-I и IGF-II повышают выживаемость клеток, в частности, нейронов [31]. Было продемонстрировано их нейропротекторное действие при болезнях Хантингтона [32] и Альцгеймера [33].

Таким образом, IGF-система оказывает влияние на множество различных процессов в организме и осуществляет это на клеточном,

тканевом и органном уровнях. В настоящем обзоре мы представляем новые данные о роли IGF и IGF-связывающих белков в развитии и поддержании жизнеспособности нервной системы, механизме высвобождения IGF при специфическом протеолизе IGFBP, приводящего к активации биологической подвижности и поддержанию жизнеспособности всех типов клеток нервной ткани, и в особенности нейронов.

II. РОЛЬ IGF-СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ

ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬ КОМПОНЕНТОВ IGF-СИСТЕМЫ В НЕРВНОЙ ТКАНИ В ЭМБРИОНАЛЬНОМ И ВЗРОСЛОМ СОСТОЯНИИ

В центральной нервной системе гены IGF и их рецепторов (IGF-IR, рецептор IGF-I, и М6Р/IGFIR, маннозо-6-фосфатный рецептор/IGF-II-рецептор) экспрессируются в ходе эмбрионального развития в разных областях мозга в разной степени. Экспрессия IGF-I наблюдается во всех областях центральной нервной системы, как в нейронах, так и во всех типах глиальных клеток. Высокие уровни IGF в мозге коррелируют с пролиферацией нейтральных предшественников. Было показано, что максимальный уровень экспрессии IGF-I приходится на ранние этапы постнатального развития. Затем его уровень экспрессии снижается, но сохраняется в течение всей жизни. Зачастую максимальная экспрессия IGF-I наблюдается в тех отделах нервной системы, где происходит активная пролиферация, дифференциация и рост нервных клеток. Кроме этого, во многих случаях IGF-I и IGF-IR обнаруживаются на поверхности клетки в пространственной близости друг от друга, подтверждая идею о том, что IGF-I может выполнять роль паракринного и аутокринного фактора в развитии мозга [34, 35].

Максимальный уровень экспрессии IGF-II в нервной ткани наблюдается в эмбриональном периоде. Во взрослом организме IGF-II экспрессируется в мозговых оболочках и сосудистых сплетениях желудочков мозга [34]. Экспрессия гена IGF-II возрастает в гипоталамусе, гиппокампе и мозжечке крысы при введении в кровь гормона роста или соматотропин-рилизинг-гормона [36].

Рецепторы IGF-I и рецептор инсулина (IR), с которыми могут взаимодействовать IGF, обнаруживаются во многих областях нервной системы. В постнатальный период экспрессия генов рецепторов IGF-I и IR снижается по сравнению с эмбриональным периодом [37].

Гены IGF-связывающих белков экспрессируются в нервной системе различным образом. IGFBP-1 не экспрессируется в мозге в норме, но может экспрессироваться при некоторых патологиях, например, в случае глиобластомы [38]. IGFBP-2 и IGFBP-5 являются одними из наиболее представленных IGF-связывающих белков в мозге. Наиболее высокий уровень экспрессии IGFBP-2 наблюдается в астроцитах коры больших полушарий [39]. Экспрессия IGFBP-2 возрастает в астроцитах, по-видимому, за счет активации NMDA-рецепторов [40]. IGFBP-4 экспрессируется в различных областях мозга в процессе эмбрионального развития и в постнатальный период, предположительно играя роль в поддержании пластичности мозжечка [41]. IGFBP-3 в виде белкового продукта в нервной системе не обнаруживается, но этот белок может проникать в мозг через гематоэнцефалический барьер [42].

В центральной нервной системе во время эмбрионального развития крыс мРНК IGF-I обнаруживается в нейронах, в шейно-грудном отделе спинного мозга и эпителии вентральной пластинки дна спинного мозга [43, 44]. IGF-I и -II экспрессируются в зонах нервных мишеней, включая группы клеток предшественников конечностей, но не в развивающихся периферических нервах [45]. IGF-I и IGF-IR регистрируются в нейронах развивающихся тройничных ганглиев [43] и их аксональных зонах-мишенях в клетках кожи лица [46]. IGF-II преимущественно экспрессируется в глиальных клетках ствола головного мозга и нейральных клетках вентральной пластинки [47]. У мыши IGF-II экспрессируется в нервном гребне и его производных [48], включая черепные сенсорные, дорсальные корневые и симпатические ганглии, а также мозговое вещество надпочечников [49]. Во взрослом состоянии IGF-I обнаруживается в вентральном роге, симпатических и дорсальных корневых ганглиях, а также в аксонах и шванновских клетках седалищного нерва [50].

Система IGF играет одну из ключевых ролей в развитии нервной системы, поддержании клеточного гомеостаза, адаптации к стрессорным факторам и нейропластичности. Различные аспекты действия компонентов IGF-системы на нервную систему описаны в следующих разделах, а также суммированы на рис. 3 [34, 35, 42].

IGF-СИСТЕМА И НЕЙРОГЕНЕЗ

IGF-I стимулирует нейрогенез, начиная с 3-й недели эмбриональной жизни, когда нервные стволовые клетки начинают размножаться, мигрировать из субвентрикулярной зоны и дифференцироваться сложным образом, производя нейротрансмиттерные и нейротрофические факторы. IGF-I активирует все вышеперечисленные процессы, а

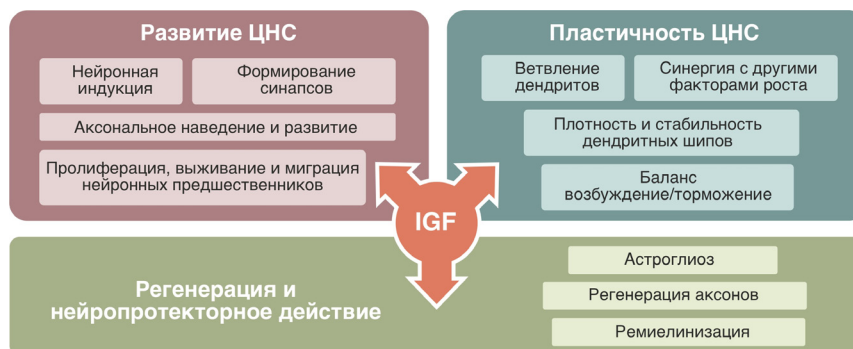


Рис. 3. Роль IGF в нервной системе. На рисунке суммированы основные процессы в нервной системе, на которые влияет IGF.

также процессы, приводящие к образованию синаптических контактов (аксоны и дендриты). В послеродовой период IGF-I продолжает оказывать стимулирующее действие на нейрогенез, поскольку нейрогенез продолжается в течение всей взрослой жизни в определенных областях мозга: зубчатой извилине гиппокампа (важна для обучения и памяти), субвентрикулярной зоне (в экспериментах на мышах было показано, что клетки мигрируют в обонятельную луковицу) и полосатом теле (произвольный моторный контроль) [51]. IGF-I активирует пролиферацию, миграцию и созревание глиальных клеток (олигодендроцитов, астроцитов и микроглии) на протяжении всего ювенильного периода, а также принимают участие в поддержании жизнеспособности глиальных предшественников во взрослом мозге. Также IGF-I способствуют дифференцировке глиальных клеток в ответ на тканевые повреждения [52]. Локальные паракринные/аутокринные источники IGF-I необходимы для нормального развития нервной системы в целом. Дети со сниженным эндокринным IGF-I из-за нечувствительности к GH, как правило, имеют нормальную когнитивную функцию, несмотря на черепно-лицевые аномалии, в то время как дети с делецией IGF-I или мутациями рецептора IGF-I и, следовательно, сниженной паракринной/аутокринной активностью IGF-I, имеют микроцефалию и когнитивные нарушения [53]. Тем не менее, эндокринное действие IGF также играет важную роль. У недоношенных детей уровни циркулирующего IGF-I и IGFBP-3 в постнатальном периоде коррелируют с объемами головного мозга [54].

Меньше известно о роли IGF-II в развитии нервной системы. Тем не менее, есть данные, что гиперметилирование гена IGF-II, импринтированного по материнской линии, было идентифицировано как потенциальный фактор риска развития дефектов нервной трубки [55].

ЭКСПЕРИМЕНТЫ С ОВЕРЭКСПРЕССИЕЙ/НОКАУТОМ КОМПОНЕНТОВ IGF-СИСТЕМЫ В КЛЕТКАХ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Оверэкспрессия гена IGF-I в организме мышей приводит к увеличению общего количества клеток мозга, и, как следствие, его росту [56], а у мышей, нокаутированных по гену IGF-I, наблюдается нарушенный рост тел и дендритов нейронов [57]. При оверэкспрессии гена IGF-II, равно как и при нокауте гена IGF-II, не было обнаружено значительных изменений в развитии мозга [58, 59]. Было показано, что нокаут гена IGF-IR приводит к нарушениям развития многих органов, в том числе головного мозга, что выражается в недоразвитии нервных волокон, уменьшении объема и увеличении числа нервных клеток [60]. Нокаут гена IR не оказывает значительного влияния на функционирование нервной системы [61]. На моделях мышей, оверэкспрессирующих IGF-I, было показано, что IGF-I способствует увеличению числа нейронов за счет увеличения пролиферации и подавления апоптотических процессов, а также стимуляции синаптогенеза на протяжении всего развития нервной системы [62]. Передача сигналов IGF-I взаимосвязана с сигнальными путями, которые запускают другие факторы, необходимые для функционирования нервной системы. К ним относятся факторы роста (например, факторы роста фибробластов (FGFs), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)) и нейротрофические факторы мозга (BDNF), которые вместе поддерживают пролиферацию нервных стволовых клеток, а также нейротрансмиттеры и факторы транскрипции, которые регулируют нейрогенный процесс [63].

Изменение уровня экспрессии генов IGF-связывающих белков (IGFBP) во многих случаях не приводит к нарушениям развития мозга, однако, есть исключения. Оверэкспрессия гена IGFBP-1 в мозге приводит к задержке развития мозга и снижению пролиферации глиальных клеток в ответ на травматические повреждения [64]. Оверэкспрессия гена IGFBP-5 оказывает ингибирующее действие на рост мозга [65]. Оверэкспрессия гена IGFBP-6 в мозге приводит к задержке развития структур мозжечка [66].

Таким образом, IGF и их регуляция под действием IGFBP являются необходимыми факторами развития организма в эмбриональном, постнатальном и взрослом состоянии. Клеточные эффекты, оказываемые IGF-I и IGF-II, в процессе развития центральной и периферической нервных систем, вызваны, в том числе, активацией миграции, пролиферации и дифференцировки, а также поддержанием жизне-способности различных типов нервных клеток.

III. ВЛИЯНИЕ IGF НА ПОДВИЖНОСТЬ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК НЕРВНОЙ ТКАНИ

НЕЙРОНЫ

Аксональное наведение и рост аксонов

IGF-I оказывает специфическое воздействие на аксональное наведение в обонятельных нейронах. IGF-I и IGF-IR экспрессируются в развивающейся обонятельной луковице в эмбриональном состоянии. В случае первичных культур обонятельных нейронов и нейронов мозжечковой гранулы IGF-I действует как хемоаттрактант. В анализах поворота конуса роста *in vitro* конусы роста нейронов как обонятельных, так и мозжечковых гранул демонстрируют значительный положительный таксис в сторону градиента IGF-I.

Экспрессия IGF-I и -II в клетках нервного гребня и зонах нервных мишеней указывает на важность этих факторов в миграции нейронов, аксональном наведении и нейротрофическом поддержании этих процессов [67]. Рост аксонов является важным аспектом развития нейронов, особенно для периферических выступающих двигательных и сенсорных нейронов. Передача сигналов IGF-I через IGF-IR играет определенную роль в этом процессе. В дополнение к стимулированию роста аксонов, IGF-I индуцирует подвижность в двух типах клеточных линий NBL, нейрональных SH-SY5Y и шванновских клеткоподобных клетках SHEP [68].

Нейроны ганглиев дорсального корня цыпленка, выращенные в 2% эмбриональной сыворотке телёнка, выживают и демонстрируют увеличение роста аксонов в ответ на IGF-I [69]. Рост аксонов в нейронах кишечного сплетения активируется как под действием IGF-I, так и под действием IGF-II [70]. В экспериментах Кимпински и Меароу были продемонстрированы эффекты IGF-I на рост аксонов в культивируемых ганглиях дорсального корня взрослой крысы. IGF-I сравнивали с EGF, FGF и фактором роста нервов (NGF). IGF-I оказывал такое же влияние на рост аксонов, как и NGF. Также было показано, что IGF-I способствует расширению аксонов в кортикоспинальных двигательных нейронах и вестибулоспинальных нейронах [71]. В случае дендритов IGF-I и IGF-II стимулируют их ветвление, а также повышают плотность и стабильность дендритных шипов [35].

Восстановление повреждений периферического нерва и регенерация тканей

Экспрессия IGF коррелирует с восстановительными процессами после повреждения периферического нерва. Было обнаружено, что

в седалищном нерве IGF-I обнаруживается в аксонах и шванновских клетках и после разрушения нерва накапливается в поврежденных аксонах в течение 2 часов после травмы [72]. Также было показано, что количество IGF-I в очаге повреждения достигает максимума через 2 недели после перерезания седалищного нерва крысы. Присутствие IGF-I также способствует увеличению длины регенерирующих аксонов [73].

АСТРОЦИТЫ

Астроциты составляют основную популяцию клеток головного мозга (среднее соотношение астроцит/нейрон у млекопитающих составляет около 10/1). Тело нейрона, за исключением синаптических контактов, полностью покрыто астроцитарными мембранами. Астроциты продуцируют большое разнообразие нейропротекторных молекул, и диада астроцит – нейрон представляет собой систему, состоящую из функциональной клетки и ее нейропротектора. Астроциты обеспечивают физическую и питательную поддержку нейронов, а также участвуют в поддержании гематоэнцефалического барьера и модуляции синаптической передачи. Неудивительно, что компоненты IGF-системы не только представлены в астроцитах, но играют комплексную роль в поддержании функционирования всей нервной ткани. IGF-I активирует пролиферацию астроцитов, влияет на уровень экспрессии белков цитоскелета, таких, как глиальный кислый белок и виментин, увеличивает активность ядерных и митохондриальных ферментных систем, стимулирует продукцию факторов роста, таких, как эритропоэтин, увеличивает экспрессию белков межклеточных контактов, таких как коннексин-43, регулирует транспорт глутамата в клетку, регулирует внутриклеточный сигналинг в клетках и активирует метаболизм глюкозы [74].

ОЛИГОДЕНДРОЦИТЫ И КЛЕТКИ МИКРОГЛИИ

Дифференцировка олигодендроцитов связана с повышенной экспрессией миелина и выработкой трофических факторов, которые важны для выживания нейронов и целостности аксонов. IGF-I усиливает дифференцировку клеток-предшественников олигодендроцитов и, следовательно, миелинизацию. Имеются существенные доказательства того, что IGF играют роль в дифференцировке и выживании олигодендроцитов и синтезе миелина, а также в выживании и подвижности шванновских клеток. После эпилептического припадка экспрессия IGF-I в микроглии повышается и может играть роль в минимизации повреждения клеток [75].

Таким образом, IGF играет важную роль в развитии и поддержании жизнедеятельности нервной ткани. Клеточные эффекты IGF-I и IGF-II опосредованы их взаимодействием с рецепторами. Важными механизмами регуляции биодоступности IGF-I и IGF-II для рецепторов является с одной стороны их взаимодействие с IGF-связывающими белками, ингибирующее доступность IGF для их рецепторов, а с другой стороны – протеолитическая деградация IGFBP под действием специфических протеаз, приводящая, напротив, к высвобождению IGF и активации их эффектов. Следующий раздел будет посвящен рассмотрению структурных особенностей IGF, IGF-связывающих белков, а также основному механизму активации биодоступности IGF-I и IGF-II – протеолитической деградации IGF-связывающих белков и его реализации в нервной ткани.

IV. IGF И IGFBP: СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

IGF

IGF-I и IGF-II относят к семейству регуляторных белков, в которое входят инсулин, релаксин и некоторые гормоны беспозвоночных [76, 77]. IGF структурно и функционально напоминают инсулин. IGF и инсулин активируют сходные сигнальные пути, однако конечные эффекты этих воздействий различны: действие инсулина преимущественно активирует регуляцию клеточного метаболизма, в то время как в результате действия IGF запускаются процессы роста, развития и дифференцировки клеток [78].

IGF-I представляет из себя полипептид из 70 аминокислотных остатков с молекулярной массой 7649 Да и содержит в своей структуре 3 дисульфидные связи. [79]. Молекула IGF-II состоит из 67 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу 7471 Да [80]. Структурная гомология между IGF-I и IGF-II составляет 62 %, а между IGF и инсулином – порядка 50 % [80].

В структуре IGF выделяют А, В, С и D домены (рис. 4). Трехмерная структура IGF схожа с инсулином: как и в молекуле инсулина, в молекулах IGF присутствуют три α -спирали: одна в В-домене и две в А-домене. Остальные участки их аминокислотных последовательностей не образуют элементов вторичной структуры [81]. А-домен представлен второй и третьей α -спиралью, а В-домен – первой α -спиралью, если считать от N-конца молекул IGF. В молекулах IGF домены В и А гомологичны В- и А-цепям инсулина, соответственно. А- и В-домены IGF и инсулина содержат большое количество высококонсервативных аминокислотных замен, что обуславливает

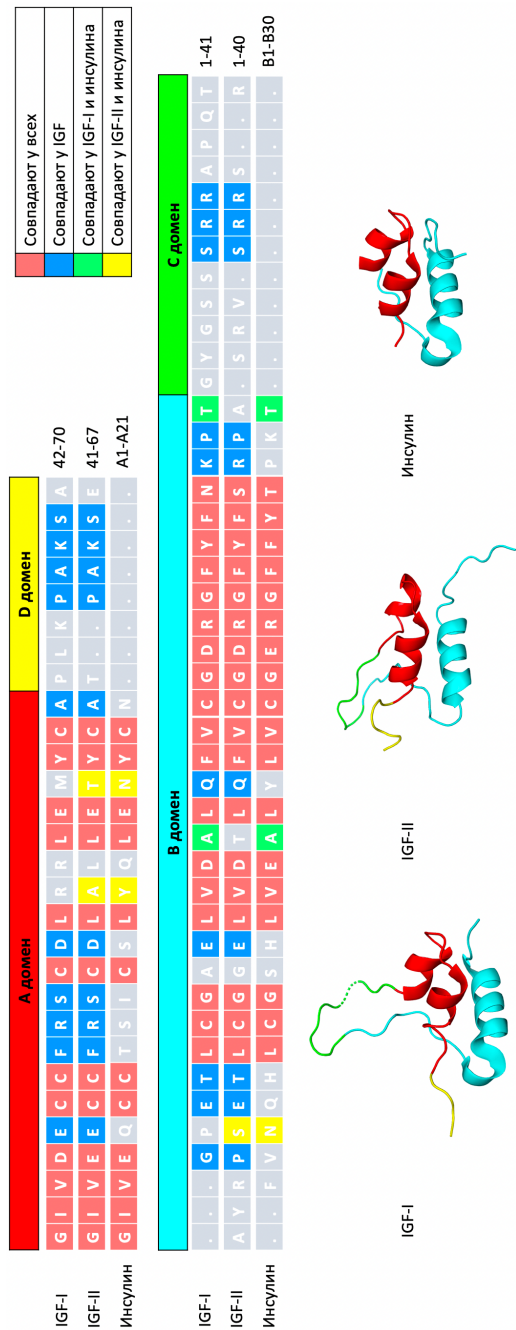


Рис. 4. Сравнение последовательностей IGF-I, IGF-II и инсулина.

На рисунке представлен сравнительный анализ последовательностей IGF-I, IGF-II и инсулина. Сходство по аминокислотным остаткам между всеми тремя белками обозначено розовым цветом, между IGF – синим цветом, между IGF-I и инсулином – зелёным цветом, между IGF-II и инсулином – жёлтым цветом. Аминокислотные остатки, не совпадающие у всех трёх белков обозначены серым цветом. Отсутствующие в аминокислотных последовательностях всех трёх белков остатки обозначены точками. Буквенные обозначения A1-A21 и B1-B30 соответствуют номерам аминокислотных остатков в A- и B-доменах инсулина, соответственно.

Ниже представлены структуры всех трёх белков (PDB структуры 2C8R, 1GZR, 2L29). A – домен обозначен красным цветом, D – домен обозначен жёлтым цветом, B – домен обозначен голубым цветом, C – домен обозначен зелёным цветом (по [82] с изменениями).

сходство их пространственных структур. Также в молекулах IGF присутствуют С- и D-домены, которые отсутствуют в структуре проинсулина [79, 80] (рис. 4). Несмотря на высокую структурную гомологию, существенные структурные отличия между IGF-I и IGF-II наблюдаются в С-концевом участке их молекул, а также в участке, который располагается поблизости от начала третьей α -спирали, что, возможно, определяет более высокое сродство IGF-рецептора II-го типа к IGF-II, чем к IGF-I [81].

IGF-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ (IGFBPs)

Ключевым свойством семейства белков IGFBP является их способность специфично связывать IGF с высоким сродством. В основном, взаимодействие с IGFBP ингибирует биологические эффекты IGF [83], но в некоторых случаях, напротив, возможна активация действия IGF [84]. Ингибирующее действие IGFBP может быть основано на том, что связывание с IGF создает стерические затруднения для последующего связывания IGF с их рецепторами, механизмы активации IGF под действием IGFBP неизвестны [85]. Идентифицировано семь IGF-связывающих белков (IGFBP-1/.../7) с молекулярной массой от 22,8 до 31,3 кДа, состоящих из 216–289 аминокислот [86]. Структура различных IGFBP построена по общему плану и включает в себя три схожих по размеру домена: высококонсервативные N- и С-концевые домены, а также линкерный L-домен, структура которого отличается у различных IGFBP (рис. 5А).

Все IGFBP способны образовывать с IGF бинарные комплексы [83]. За высокоаффинное связывание с IGF ответственны N- и С-концевые домены IGFBP. L-домен не участвует в прямом взаимодействии с IGF и содержит регуляторные участки, которые могут подвергаться гликозилированию и фосфорилированию, а также участки протеолитического расщепления (рис. 5). Фрагменты IGFBP, включающие в себя N- или С-концевой домен взаимодействуют с IGF со значительно более низким сродством, чем полноразмерные белки. Так, N-концевой фрагмент в 10 – 1000 раз слабее связывается с IGF, чем IGFBP [87]. Роль L-домена заключается во взаимодействии с поверхностью клетки, гепарином и сывороточным белком IGFBP (Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit, кислотолабильная субъединица, взаимодействующая с белками, связывающими инсулиноподобные факторы роста) [83].

Посттрансляционные модификации и адгезия к компонентам внеклеточного матрикса могут оказывать влияние на сродство IGFBP к IGF, влияя тем самым на доступность IGF для клеток. Большая часть циркулирующего пула IGF находится в связанном с IGFBP

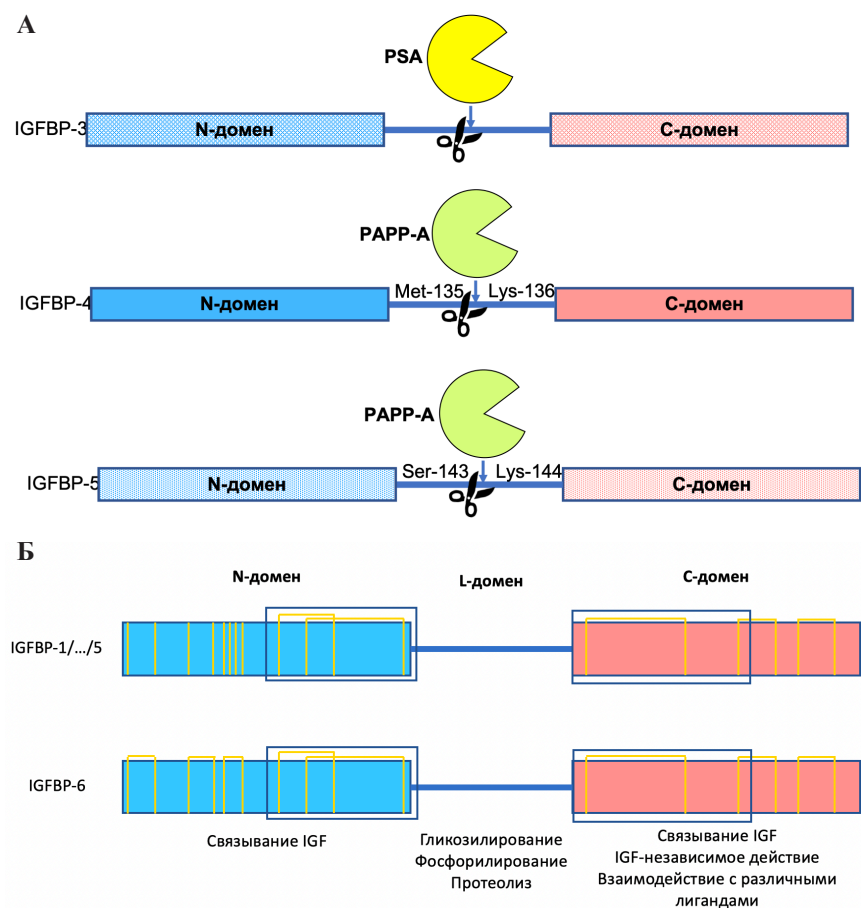


Рис. 5. Протеолиз (А) и структура (Б) белков семейства IGFBP.

А – Протеолитическое расщепление некоторых представителей семейства IGFBP по специфическим участкам.

Б – Структура белков семейства IGFBP. Участки взаимодействия с IGF обозначены синей рамкой. Жёлтые вертикальные линии указывают на положение остатков цистеина, а горизонтальные – на дисульфидные связи. Из [87] с изменениями.

состоянии. При этом взаимодействие с IGFBP влияет на стабильность IGF в плазме крови. Особенно устойчивыми являются тройные комплексы, в состав которых помимо IGF и IGFBP входит IGFBP-6 [88, 89]. N-концевой домен всех IGFBPs, кроме IGFBP-6, содержит 6 дисульфидных связей в своей структуре (IGFBP-6 содержит 5 дисульфидных связей) и консервативный мотив GCGCC, а в структуре IGFBP-6 отсутствует два соседних участка цистеина в этом мотиве [85, 90]. N-концевой домен IGFBPs содержит высоко-аффинный сайт связывания IGFs, включающий в себя трехцепочечный β -складчатый слой, стабилизированный двумя дисульфидными связями [91, 92]. C-концевой домен всех IGFBP содержит три дисульфидные связи [93]. На примере IGFBP-6 было показано, что C-концевой домен имеет структуру, схожую с тиреоглобулином первого типа, и состоит из α -спирали, трехцепочечного β -складчатого слоя и трех петель: первая – между α -спиралью и β -складчатым слоем, вторая разделяет цепи β -складчатого слоя, третья – после β -складчатого слоя. Предполагается, что C-концевой домен отвечает за многие IGF-независимые эффекты IGFBP. Так, в C-концевом домене IGFBP-1 и -2 найдены мотивы, связывающие интегрины [94]. Мотивы, богатые основными аминокислотными остатками, присутствуют в структуре IGFBP-3 и -5. Эти мотивы участвуют в связывании гепарина, IGFBP-6 [95, 96], ингибитора активатора плазминогена-1 [97], трансферрина, а также участвуют в ассоциации с клеточной поверхностью и внеклеточным матриксом [98] и отвечают за транспорт IGFBP в ядро [99].

IGFBP-1

Молекулярная масса IGFBP-1 составляет 28 кДа [100]. IGFBP-1 взаимодействует с IGF-I и IGF-II с одинаковым сродством [101]. Фосфорилирование IGFBP-1 по остаткам серина в линкерном (серин-101, -119) и C-концевом домене (серин-169) увеличивает его сродство к IGF-I [102]. Серин-101 является основным сайтом фосфорилирования IGFBP-1 [102]. Таким образом, фосфорилирование IGFBP-1 усиливает взаимодействие с IGF-I, а дефосфорилирование, напротив, активирует высвобождение IGF-I из комплекса [103]. Была показана связь между снижением активности сигнального пути mTOR при недостатке питательных веществ и активацией казеин-киназы 2, что в свою очередь приводит к увеличению концентрации фосфорилированной формы IGFBP-1, снижению доступности IGF для клеток и задержке роста в эмбриональный период [104]. Высокий уровень экспрессии IGFBP-1 и его высокая концентрация в плазме крови наблюдается в эмбриональный период и в раннем детстве, во взрослом возрасте уровень экспрессии IGFBP-1 снижается [105].

IGFBP-2

Согласно данным об аминокислотной последовательности, молекулярная масса IGFBP-2 рассчитывается как 31,3 кДа [94]. IGFBP-2 взаимодействует с IGF-II со сродством в 10 – 20 раз превосходящим сродство к IGF-I [101]. В структуре С-концевого домена IGFBP-2, как и в структуре IGFBP-1, присутствует мотив аргинин-глутамат-аспартат, который отвечает за связывание с интегринами клеточной мембраны [94]. В состав линкерного домена IGFBP-2 входит гепарин-связывающий мотив PKKLRP [106], предположительно участвующий в связывании IGFBP-2 с гликозаминогликанами на поверхности клеток [107]. Взаимодействие IGFBP-2 с компонентами внеклеточного матрикса играет роль в обеспечении пролиферации и миграции клеток, индуцируемых IGFBP-2 при его проникновении в ядро [108]. Было показано *in vitro*, что при взаимодействии с гликозаминогликанами сродство IGFBP-2 к IGF-I снижается примерно в 3 раза, что облегчает взаимодействие IGF-I с рецептором [107]. Гепарин-связывающий мотив опосредует взаимодействие IGFBP-2 с рецепторной тирозинфосфатазой- β (RPTP β) [109]. В составе С-концевого домена IGFBP-2 также присутствует другой гепарин-связывающий мотив [110]. В состав линкерного домена IGFBP-2 входит NLS-последовательность ($_{179}$ PKKLRPP $_{185}$), обеспечивающая взаимодействие IGFBP-2 с α -импортином и его последующий транспорт в ядро. Попадая в ядро, IGFBP-2 активирует экспрессию VEGF и, тем самым, стимулирует ангиогенез [111]. В структуре IGFBP-2 не обнаружено сайтов гликозилирования [112]. Фосфорилирование IGFBP-2 не было отмечено несмотря на то, что в структуре IGFBP-2 присутствуют сайты, которые потенциально могли бы быть фосфорилированы [113]. В нервной системе IGFBP-2 играет важную роль в регуляции активности IGF (см. раздел «Специфический протеолиз IGFBP в нервной ткани») [114].

IGFBP-3

Большая часть циркулирующего пула IGF-I и IGF-II в плазме крови обнаруживается в составе высокомолекулярного комплекса с кажущейся массой около 150 кДа, состоящего из IGFBP-3, с кажущейся массой порядка 85 кДа, IGFBP-3 и IGF. Стабильность IGF в составе таких тройных комплексов значительно выше, чем в свободной форме или в составе бинарных комплексов с IGFBP [88]. IGFBP-3 – единственный из белков IGFBP, который транспортирует IGF в составе тройного комплекса [83]. Кажущаяся молекулярная масса IGFBP-3 составляет примерно 50 кДа. В плазме крови IGFBP-3 циркулирует в форме гликопротеина [115].

IGFBP-3 связывает IGF-I и IGF-II примерно с одинаковым сродством [115]. В структуре N-концевого домена IGFBP-3 присутствуют сайты фосфорилирования [116] и гликозилирования [112]. IGFBP-3 может как ингибировать, так и активировать действие IGF [117]. Благодаря NLS-последовательности, локализованной в С-концевом домене, IGFBP-3 транспортируется в ядро импортин- β -зависимым путем [99]. В ядре IGFBP-3 взаимодействует с такими рецепторами, как RXR- α , PPAR- γ , рецептор витамина D, Nur77, оказывая влияние на такие процессы, как апоптоз, пролиферация и дифференциация клеток [118]. Фосфорилирование IGFBP-3 дцДНК-зависимой киназой (DNA-PK) усиливает накопление IGFBP-3 в ядре и взаимодействие с компонентами ядра. В то же время фосфорилирование ослабляет сродство IGFBP-3 к IGF-I, что может приводить к высвобождению IGF-I в ядре после фосфорилирования [119]. Взаимодействие IGFBP-3 с DNA-PK и рецептором EGF в ядре может усиливать ответ клетки на ДНК-повреждающие агенты [120]. В составе С-концевого домена IGFBP-3 и IGFBP-5 присутствует гепарин-связывающий мотив, обеспечивающий связывание IGFBP-3 и IGFBP-5 с поверхностью клеток [98]. Возможно, посредством гепарин-связывающего мотива IGFBP-3 и IGFBP-5 связываются с фибриногеном и фибрином. Это может обеспечивать накопление IGF-I в местах механического повреждения тканей [121]. Гепарин-связывающий мотив участвует в связывании IGFBP-3 с плазминогеном [122]. В то же время одной из протеаз, расщепляющих IGFBP-3, является плазмин [123]. Кроме того, IGFBP-3 связывается с фибронектином [124]. При адгезии IGFBP-3 на поверхности клетки его сродство к IGF-I снижается в 10 раз, что может обеспечивать стимулирующий эффект IGFBP-3 на активность IGF-I [125]. *In vitro* IGFBP-3 ингибирует IGF-зависимую пролиферацию и поддержание жизнеспособности клеток – процессы, приводящие к канцерогенезу [126]. IGFBP-3 может как ингибировать [127], так и стимулировать ангиогенез [128].

IGFBP-4

IGFBP-4 является самым небольшим по молекулярному весу среди IGF-связывающих белков: белок состоит из 237 аминокислотных остатков, а его молекулярная масса составляет 25 кДа. В сыворотке человека присутствует как негликозилированная, так и гликозилированная форма IGFBP-4, масса которой чуть больше и составляет 30 кДа [129]. В составе С-концевого домена IGFBP-4 находится сайт N-гликозилирования – аспарагин-104 [130, 131]. Гликозилирование IGFBP-4 по данному остатку не влияет на связывание IGFBP-4 с IGF [132]. По сравнению с другими IGFBP, в структуре которых

присутствуют 18 остатков цистеина, IGFBP-4 содержит два дополнительных остатка цистеина в линкерном домене [129, 132]. Сродство IGFBP-4 к IGF-II (константа диссоциации $K_D = 0,2$ nM) более чем в 10 раз превышает сродство IGFBP-4 к IGF-I ($K_D = 4,5$ nM) [166]. IGFBP-4 имеет общий сайт связывания IGF-I и IGF-II [134]. Под действием металлопротеиназы PAPP-A IGFBP-4 подвергается специфическому протеолизу в участке между метионином-135 и лизином-136 в линкерном домене, что приводит к увеличению биодоступности IGF и активации его эффектов [135]. Протеолиз IGFBP-4 является IGF-зависимым; предполагается, что после связывания с IGF, в особенности с IGF-II, IGFBP-4 становится гораздо более предпочтительным субстратом для PAPP-A, чем свободный IGFBP-4 [136]. Кроме PAPP-A, протеолиз IGFBP-4 может осуществляться, металлопротеазами матрикса, такими как MMP-2, MMP-7 и MMP-9 [137]. В основном, IGFBP-4 оказывает ингибирующее действие на активность IGF-I/IGF-II, но может и усиливать их эффекты.

IGFBP-5

Молекулярная масса IGFBP-5 составляет 28,5 кДа [138]. Около половины циркулирующего пула IGFBP-5 входит в состав тройных комплексов с IGFBP-4 и IGF-I/IGF-II; остальная часть представлена в виде двойных комплексов с IGF-I или IGF-II или находится в свободной форме [83]. Основной сайт связывания IGFBP-5, содержащий остатки основных аминокислот, находится в С-концевом домене IGFBP-5 [139]. В центральном домене IGFBP-5 также присутствует сайт связывания IGFBP-5 [140]. Сродство IGFBP-5 к IGF-II в 3 – 10 раз выше, чем к IGF-I [129]. Адгезия IGFBP-5 на внеклеточном матриксе снижает сродство IGFBP-5 к IGF-I в 7 раз. Компоненты внеклеточного матрикса оказывают ингибирующее действие на протеолиз IGFBP-5. Таким образом, взаимодействуя с внеклеточным матриксом, IGFBP-5 делает возможным накопление IGF-I на поверхности клеток и стимулирует воздействие IGF-I на клеточные рецепторы [141, 142]. IGFBP-5 связывается с такими компонентами внеклеточного матрикса, как гликозаминогликаны, входящие в состав некоторых протеогликанов, коллаген III и IV типа, ламинин, фибронектин, ингибитор активатора плазминогена I, тромбоспондин и остеопонтин [97, 141, 143]. В составе линкерного и С-концевого домена IGFBP-5 найдены консервативные мотивы, содержащие остатки основных аминокислот и обеспечивающие связывание IGFBP-5 с гликозаминогликанами, в частности, с гепарином. При этом, связывание IGFBP-5 с гепарином снижает сродство IGFBP-5 к IGF-I в 17 раз [144]. Фосфорилирование и О-гликозилирование IGFBP-5 в

линкерном домене снижают эффективность связывания IGFBP-5 с гепарином, но не влияют на связывание с IGF и IGFBP-5. В состав С-концевого домена IGFBP-5 входит NLS-последовательность, обеспечивающая транспорт IGFBP-5 в ядро импортин- β -зависимым путем [99, 146]. В ядре IGFBP-5 воздействует на экспрессию генов посредством N-концевого участка [147]. IGFBP-5 взаимодействует с ядерным белком FHL2, который участвует в активации транскрипции определенных генов, а также с ядрышковым белком нуклеолином. Металлопротеиназы PAPPA и PAPPA2 осуществляют протеолиз IGFBP-5 по одному и тому же специфическому участку в линкерном домене независимо от присутствия IGF [148].

IGFBP-6

IGFBP-6 представляет собой гликопротеин, молекулярная масса которого была определена как 34 кДа [149]. При этом масса белковой части IGFBP-6 составляет 22,847 кДа. Сродство IGFBP-6 к IGF-II в 10–100 раз превышает сродство к IGF-I [150]. Как уже упоминалось, структура N-концевого субдомена IGFBP-6 отличается от других белков семейства IGFBP. IGFBP-6 ингибирует IGF-II-индуцированную пролиферацию, жизнеспособность клеток и метаболические эффекты в случае некоторых клеточных линий [151, 152]. Таким образом, IGFBP-6 выступает в роли относительно специфического ингибитора эффектов IGF-II [153]. О-гликозилирование IGFBP-6 в линкерном домене ингибирует связывание IGFBP-6 с гликозаминогликанами и клеточными мембранами, а также протеолиз IGFBP-6, что способствует поддержанию ингибирующего влияния IGFBP-6 на IGF-II. Однако само по себе гликозилирование не влияет на связывание IGF-II с IGFBP-6 [154]. IGFBP-6 подвергается протеолизу под действием кислотоактивируемой катепсин D-подобной протеазы, которая катализирует протеолиз не только IGFBP-6, но и IGFBP-3 [155]. Все IGFBP подвергаются протеолизу под действием матриксной металлопротеазы-7, что обеспечивает доступность IGF для рецептора IGF-I [156]. IGFBP-6 подвергается протеолизу под действием металлопротеиназ матрикса-9 и -12, что может приводить к увеличению биодоступности IGF-I для рецептора IGF-IR и устранять ингибирующий эффект IGFBP-6 на созревание олигодендроцитов [157]. Кроме того, IGFBP-6 подвергается протеолизу под действием металлопротеиназы матрикса-2, что может приводить к активации процесса ангиогенеза [158].

V. ПРОТЕОЛИЗ IGFBP КАК МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ БИОДОСТУПНОСТИ IGF В НЕРВНОЙ ТКАНИ

Как уже упоминалось, протеолиз IGFBP, находящихся в комплексе с IGF, обеспечивает биодоступность IGF для рецепторов на клеточной мембране, и, как следствие, является позитивным регулятором миграции и пролиферации клеток, а также способствует поддержанию их жизнеспособности. Ввиду того, что такие клетки нервной системы, как, например, нейроны, не способны самостоятельно поддерживать свою жизнеспособность и используют астроциты в качестве доноров нейротрофических факторов и IGF, протеолитическая деградация IGFBP под действием специфических протеаз, способствующая накоплению IGF в примембранном пуле клеток, приобретает особую важность в нервной ткани.

ПРОТЕАЗЫ, СПЕЦИФИЧЕСКИ РАСЩЕПЛЯЮЩИЕ IGFBP

Белки семейства IGFBP подвергаются специфическому протеолизу под действием разнообразных протеаз. IGFBP-1 подвергается протеолизу под действием протеазы, секретируемой клетками децидуальной оболочки. При этом протеолизу подвергается только нефосфорилированная форма IGFBP-1 [159]. IGFBP-3 подвергается расщеплению под действием плазмина [123], PSA (prostate-specific antigen, антиген, специфичный для простаты), сериновой протеазы, выделенной из семенной жидкости и являющейся представителем семейства калликреина [160], фактора роста нервов, который обладает высоким структурным сходством с PSA [161], а также катепсин-D-подобной протеазы [155]. Металлопротеаза PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A) осуществляет специфический протеолиз IGFBP-4 [135]. Кроме PAPP-A, протеолиз IGFBP-4 может осуществляться металлопротеазами матрикса (ММР), такими как ММР-2, ММР-7 и ММР-9 [137, 156]. Металлопротеиназы PAPP-A и PAPP-A2 осуществляют протеолиз IGFBP-5 по одному и тому же специфическому участку в линкерном домене независимо от присутствия IGF [148]. Кроме IGFBP-4 и IGFBP-5 субстратом для PAPP-A является IGFBP-2 [162]. Как и IGFBP-3, IGFBP-6 подвергается протеолизу под действием кислотоактивируемой катепсин D-подобной протеазы [155]. Кроме этого, IGFBP-6 подвергается протеолизу под действием матриксной металлопротеиназы -2, что может приводить к высвобождению IGF и активации процесса ангиогенеза [158]. Все IGFBP подвергаются протеолизу под действием матриксной металлопротеазы-7, что обеспечивает доступность IGF для рецептора IGF-I

[156]. Как активатор роста и жизнеспособности клеток, протеолиз IGFBP-связывающих белков играет важную роль в выживаемости опухолевых клеток и прогрессии раковых опухолей. Последние данные указывают, что в особенности в этих процессах играют роль IGFBP-2 и IGFBP-4.

СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ПРОТЕОЛИЗ IGFBP В НЕРВНОЙ ТКАНИ

В нервной ткани протеолиз IGFBP активно изучается в настоящее время, и, как нам кажется, является важным механизмом, способствующим накоплению IGF в примембранном пуле клеток, поскольку не все типы клеток, представленные в нервной ткани, могут обеспечивать собственную жизнеспособность. В этой связи, протеолиз IGFBP, усиливающий биодоступность IGF, является важным механизмом поддержания функционирования клеток нервной ткани. Этот механизм в особенности важен для поддержания жизнеспособности таких клеток, как нейроны, поскольку им для поддержания жизнеспособности требуются дополнительные трофические факторы. Существующие в литературе данные о протеолизе белков семейства IGFBP в нервной ткани указывают на то, что: 1) IGF, высвобождающийся в результате протеолиза IGFBP, обладает нейротрофическим действием, 2) протеолиз локализован преимущественно на поверхности астроцитов под действием секретируемых ими специфических протеаз, что делает возможным накопление IGF в примембранном пуле и делает его доступным для рецепторов, локализованных в мембране нейронов. Некоторые примеры специфического протеолиза IGFBP в нервной ткани описаны ниже. IGFBP-2 расщепляется в пролиферирующих астроцитах, но в дифференцирующих астроцитах протеолиза IGFBP-2 обнаружено не было [114]. IGFBP-5, один из наиболее представленных IGF-связывающих белков в мозге, подвергается протеолизу под действием тканевого калликреина. При этом структуры мозга, где экспрессируется ген IGFBP-5, локализованы с местами экспрессии гена данной протеазы. Таким образом, не исключена роль калликреина в локальной регуляции биодоступности IGF [163]. Фактор роста фибробластов 2 (FGF2) активирует протеолиз IGFBP-2 под действием сериновой протеазы во внеклеточной жидкости и в примембранном пуле IGFBP-2, что приводит к увеличению биодоступности IGF для их рецепторов [164]. Было показано, что глиальные клетки, полученные из мезенхимальных стволовых клеток, секретируют IGFBP-4, который повышал выживаемость нейронов, испытывавших недостаток кислорода и глюкозы, регулируя уровень внеклеточных IGF-I и IGF-II. Кроме того, в этих клетках была показана экспрессия RAPP-A

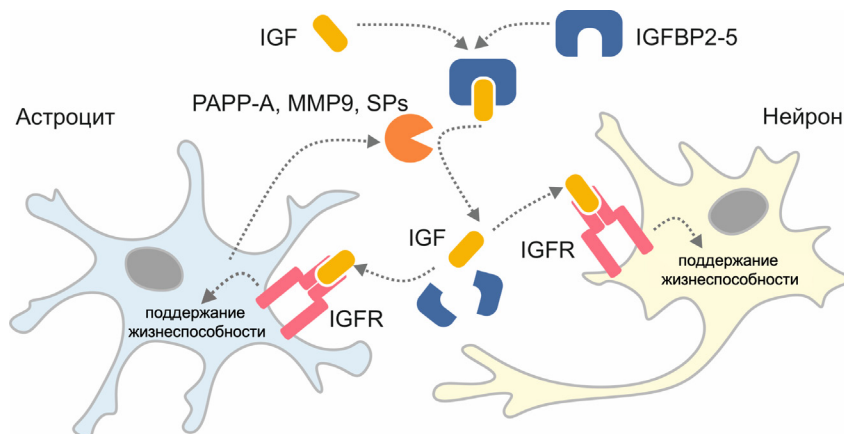


Рис. 6. Роль протеолиза IGFBP-связывающих белков в нервной ткани.

Во внеклеточном пространстве в нервной ткани IGF преимущественно находится в комплексе с IGF-связывающими белками. Астроциты секретируют различные протеазы, которые осуществляют протеолитическую деградацию IGFBP, находящихся в комплексе с IGF, что способствует повышению концентрации IGF в примембранном пуле нейронов и астроцитов, и, как следствие, его взаимодействию с клеточными рецепторами и реализации его клеточных эффектов.

[165], который, как уже упоминалось, осуществляет протеолиз IGFBP-4 в определенном сайте, увеличивая биодоступность IGF для клеток [135]. IGFBP-6 подвергается в нервной ткани протеолизу под действием матриксных металлопротеаз-9 и -12, что может приводить к увеличению биодоступности IGF-I для рецептора IGF-IR и устранять ингибирующий эффект IGFBP-6 на созревание олигодендроцитов [157]. Кроме этого, есть данные, что в некоторых случаях нейроны сами могут инициировать протеолиз IGFBP. Так, электрическая активность нейронов в определенных участках нервной системы инициирует активацию металлопротеиназы-9, осуществляющей протеолиз IGFBP-3, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), что приводит к образованию фрагментов IGFBP-3 и высвобождению IGF-I [166].

Таким образом, IGF, высвобождающийся в результате протеолиза IGFBP, под действием специфических протеаз, секретируемых астроцитами, и накапливающийся в примембранном пуле нейронов может играть значимую роль в поддержании жизнеспособности нейронов, а в некоторых случаях нейроны сами могут инициировать этот процесс (рис. 6).

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Физиологической особенностью нервной ткани является то, что в поддержании функционирования нейронов ключевую роль играет их микроокружение – астроциты, которые поддерживают экстраклеточный гомеостаз, вырабатывая, секретируя, а также интернализируя различные трофические факторы. В нашем обзоре мы показываем, что в нервной ткани свободный экстраклеточный IGF может иметь два основных источника: 1) клеточная секреция и 2) специфический протеолиз IGF-связывающих белков с высвобождением с IGF. Удивительным фактом является то, что в отличие от чисто секреторного механизма накопления IGF, в котором принимают участие как клетки нейронов, так и астроциты, в механизме протеолитического высвобождения IGF в основном участвуют клетки астроцитов, секретируя специфические протеазы. Свободный IGF взаимодействует со специфическими рецепторами и запускает передачу сигнала внутрь клетки и активацию клеточных процессов. Как происходит такая коммуникация между клетками разных типов, каким образом астроциты «узнают» о том, что необходимо увеличить или уменьшить концентрацию свободного IGF данного типа пока остается *terra incognita*. Принимая во внимание ключевую роль инсулиноподобных факторов в стимуляции ростовой и пролиферативной активности нервных клеток, а также их нейропротекторные эффекты, мы уверены, что дальнейшее изучение механизма IGF сигнальной сети в нервной ткани позволит пролить свет на фундаментальные механизмы адаптации нервной ткани и нервной системы в целом.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают искреннюю благодарность В. Е. Адашеву за помощь в создании рисунков для настоящего обзора, а также О.И. Клычников благодарит за финансовую поддержку научно-образовательную школу МГУ «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Annunziata, M., Granata, R., and Ghigo, E. (2011) The IGF system, *Acta Diabetologica*, **48**, 1–9, doi: 10.1007/s00592-010-0227-z.
2. Bach, L.A. (2004) The insulin-like growth factor system: towards clinical applications, *Clinical Biochemist Reviews*, **25**, 155–164.
3. Kiepe, D., Ciarmatori, S., Haarmann, A., and Tönshoff, B. (2006) Differential expression of IGF system components in proliferating vs. differentiating growth plate chondrocytes: the functional role of IGFBP-5, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **290**, E363–371, doi: 10.1152/ajpendo.00363.2005.
4. Le Roith, D.L. (2003) The Insulin-Like Growth Factor System, *Experimental Diabetes Research*, **4**, 205–212, doi: 10.1155/EDR.2003.205.
5. Neirijnck, Y., Papaioannou, M.D., and Nef, S. (2019) The Insulin/IGF System in Mammalian Sexual Development and Reproduction, *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, E4440, doi: 10.3390/ijms20184440.
6. Clemmons, D.R. (2009) Role of IGF-I in skeletal muscle mass maintenance, *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **20**, 349–356, doi: 10.1016/j.tem.2009.04.002.
7. Kornreich, L., Horev, G., Schwarz, M., Karmazyn, B., and Laron, Z. (2002) Craniofacial and brain abnormalities in Laron syndrome (primary growth hormone insensitivity), *European Journal of Endocrinology*, **146**, 499–503, doi: 10.1530/eje.0.1460499.
8. Kranzler, J.H., Rosenbloom, A.L., Martinez, V., and Guevara-Aguirre, J. (1998) Normal intelligence with severe insulin-like growth factor I deficiency due to growth hormone receptor deficiency: a controlled study in a genetically homogeneous population, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **83**, 1953–1958, doi: 10.1210/jcem.83.6.4863.
9. Abuzzahab, M.J., Schneider, A., Goddard, A., Grigorescu, F., Lautier, C., Keller, E., Kiess, W., Klammt, J., Kratzsch, J., Osgood, D., Pfäffle, R., Raile, K., Seidel, B., Smith, R.J., Chernausk, S.D., and Intrauterine Growth Retardation (IUGR) Study Group. (2003) IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation, *The New England Journal of Medicine*, **349**, 2211–2222, doi: 10.1056/NEJMoa010107.
10. Woods, K.A., Camacho-Hübner, C., Savage, M.O., and Clark, A.J. (1996) Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene, *The New England Journal of Medicine*, **335**, 1363–1367, doi: 10.1056/NEJM199610313351805.
11. Feng, J., and Meng, Z. (2021) Insulin growth factor-1 promotes the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells through the Wnt/ β -catenin pathway, *Experimental and Therapeutic Medicine*, **22**, 891, doi: 10.3892/etm.2021.10323.
12. Zhang, X., Zhang, L., Cheng, X., Guo, Y., Sun, X., Chen, G., Li, H., Li, P., Lu, X., Tian, M., Qin, J., Zhou, H., and Jin, G. (2014) IGF-1 Promotes Brn-4 Expression and Neuronal Differentiation of Neural Stem Cells via the PI3K/Akt Pathway, *PLoS ONE*, **9**, e113801, doi: 10.1371/journal.pone.0113801.
13. Zhou, Q., Li, B., Zhao, J., Pan, W., Xu, J., and Chen, S. (2016) IGF-I induces adipose derived mesenchymal cell chondrogenic differentiation in vitro and enhances chondrogenesis in vivo, *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal*, **52**, 356–364, doi: 10.1007/s11626-015-9969-9.
14. Beneit, N., Martín-Ventura, J.L., Rubio-Longás, C., Escibano, Ó.,

- García-Gómez, G., Fernández, S., Sesti, G., Hribal, M.L., Egido, J., Gómez-Hernández, A., and Benito, M. (2018) Potential role of insulin receptor isoforms and IGF receptors in plaque instability of human and experimental atherosclerosis, *Cardiovascular Diabetology*, **17**, 31, doi: 10.1186/s12933-018-0675-2.
15. Dupont, J., Fernandez, A.M., Glackin, C.A., Helman, L., and LeRoith, D. (2001) Insulin-like growth factor 1 (IGF-1)-induced twist expression is involved in the anti-apoptotic effects of the IGF-1 receptor, *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 26699–26707, doi: 10.1074/jbc.M102664200.
16. Gehmert, S., Sadat, S., Song, Y.-H., Yan, Y., and Alt, E. (2008) The anti-apoptotic effect of IGF-1 on tissue resident stem cells is mediated via PI3-kinase dependent secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) release, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **371**, 752–755, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.04.151.
17. Han, Y., Wang, S., Wang, Y., and Zeng, S. (2019) IGF-1 Inhibits Apoptosis of Porcine Primary Granulosa Cell by Targeting Degradation of BimEL, *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, E5356, doi: 10.3390/ijms20215356.
18. LeRoith, D., and Yakar, S. (2007) Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1, *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, **3**, 302–310, doi: 10.1038/ncpendmet0427.
19. Saukkonen, T., Shojaaee-Moradie, F., Williams, R.M., Amin, R., Yuen, K.C., Watts, A., Acerini, C.L., Umpfeby, A.M., and Dunger, D.B. (2006) Effects of Recombinant Human IGF-I/IGF-Binding Protein-3 Complex on Glucose and Glycerol Metabolism in Type 1 Diabetes, *Diabetes*, **55**, 2365–2370, doi: 10.2337/db05-1646.
20. Ohlsson, C., Mohan, S., Sjögren, K., Tivesten, Å., Isgaard, J., Isaksson, O., Jansson, J.-Ö., and Svensson, J. (2009) The Role of Liver-Derived Insulin-Like Growth Factor-I, *Endocrine Reviews*, **30**, 494–535, doi: 10.1210/er.2009-0010.
21. Pollak, M. (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia, *Nature Reviews Cancer*, **8**, 915–928, doi: 10.1038/nrc2536.
22. Christopoulos, P.F., Msaouel, P., and Koutsilieris, M. (2015) The role of the insulin-like growth factor-1 system in breast cancer, *Molecular Cancer*, **14**, 43, doi: 10.1186/s12943-015-0291-7.
23. Stuver, S.O., Kuper, H., Tzonou, A., Lagiou, P., Spanos, E., Hsieh, C.C., Mantzoros, C., and Trichopoulos, D. (2000) Insulin-like growth factor 1 in hepatocellular carcinoma and metastatic liver cancer in men, *International Journal of Cancer*, **87**, 118–121, doi: 10.1002/1097-0215(20000701)87:1<118::aid-ijc17>3.0.co;2-w.
24. Trajkovic-Arsic, M., Kalideris, E., and Siveke, J.T. (2013) The role of insulin and IGF system in pancreatic cancer, *Journal of Molecular Endocrinology*, **50**, R67-74, doi: 10.1530/JME-12-0259.
25. Vigneri, P.G., Tirrò, E., Pennisi, M.S., Massimino, M., Stella, S., Romano, C., and Manzella, L. (2015) The Insulin/IGF System in Colorectal Cancer Development and Resistance to Therapy, *Frontiers in Oncology*, **5**, doi: 10.3389/fonc.2015.00230.
26. Jenkins, P.J. (2006) Cancers associated with acromegaly, *Neuroendocrinology*, **83**, 218–223, doi: 10.1159/000095531.
27. Ezzat, V.A., Duncan, E.R., Wheatcroft, S.B., and Kearney, M.T. (2008) The role of IGF-I and its binding proteins in the development of type 2 diabetes and cardiovascular disease, *Diabetes, Obesity and Metabolism*,

- 10, 198–211, doi: 10.1111/j.1463-1326.2007.00709.x.
28. Colao, A. (2008) The GH-IGF-I axis and the cardiovascular system: clinical implications, *Clin Endocrinol (Oxf)*, **69**, 347–358, doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03292.x.
29. Higashi, Y., Sukhanov, S., Anwar, A., Shai, S.-Y., and Delafontaine, P. (2010) IGF-1, oxidative stress and atheroprotection, *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **21**, 245–254, doi: 10.1016/j.tem.2009.12.005.
30. Suleiman, M.-S., Singh, R.J.R., and Stewart, C.E.H. (2007) Apoptosis and the cardiac action of insulin-like growth factor I, *Pharmacology & Therapeutics*, **114**, 278–294, doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.03.001.
31. Torres-Aleman, I. (2010) Toward a comprehensive neurobiology of IGF-I, *Developmental Neurobiology*, **70**, 384–396, doi: 10.1002/dneu.20778.
32. Humbert, S., Bryson, E.A., Cordelières, F.P., Connors, N.C., Datta, S.R., Finkbeiner, S., Greenberg, M.E., and Saudou, F. (2002) The IGF-1/Akt pathway is neuroprotective in Huntington's disease and involves Huntingtin phosphorylation by Akt, *Developmental Cell*, **2**, 831–837, doi: 10.1016/s1534-5807(02)00188-0.
33. Carro, E., Trejo, J.L., Gomez-Isla, T., LeRoith, D., and Torres-Aleman, I. (2002) Serum insulin-like growth factor I regulates brain amyloid-beta levels, *Nature Medicine*, **8**, 1390–1397, doi: 10.1038/nm1202-793.
34. Chaker, Z., Aid, S., Berry, H., and Holzenberger, M. (2015) Suppression of IGF-I signals in neural stem cells enhances neurogenesis and olfactory function during aging, *Aging Cell*, **14**, 847–856, doi: 10.1111/accel.12365.
35. O'Kusky, J., and Ye, P. (2012) Neurodevelopmental effects of insulin-like growth factor signaling, *Frontiers in Neuroendocrinology*, **33**, 230–251, doi: 10.1016/j.yfrne.2012.06.002.
36. Frago, L.M., Pañeda, C., Dickson, S.L., Hewson, A.K., Argente, J., and Chowen, J.A. (2002) Growth hormone (GH) and GH-releasing peptide-6 increase brain insulin-like growth factor-I expression and activate intracellular signaling pathways involved in neuroprotection, *Endocrinology*, **143**, 4113–4122, doi: 10.1210/en.2002-220261.
37. Baron-Van Evercooren, A., Olichon-Berthe, C., Kowalski, A., Visciano, G., and Van Obberghen, E. (1991) Expression of IGF-I and insulin receptor genes in the rat central nervous system: a developmental, regional, and cellular analysis, *Journal of Neuroscience Research*, **28**, 244–253, doi: 10.1002/jnr.490280212.
38. Nijaguna, M.B., Patil, V., Urbach, S., Shwetha, S.D., Sravani, K., Hegde, A.S., Chandramouli, B.A., Arivazhagan, A., Marin, P., Santosh, V., and Somasundaram, K. (2015) Glioblastoma-derived Macrophage Colony-stimulating Factor (MCSF) Induces Microglial Release of Insulin-like Growth Factor-binding Protein 1 (IGFBP1) to Promote Angiogenesis, *Journal of Biological Chemistry*, **290**, 23401–23415, doi: 10.1074/jbc.M115.664037.
39. Bonham, L.W., Geier, E.G., Steele, N.Z.R., Holland, D., Miller, B.L., Dale, A.M., Desikan, R.S., Yokoyama, J.S., and Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2018) Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 2 Is Associated With Biomarkers of Alzheimer's Disease Pathology and Shows Differential Expression in Transgenic Mice, *Frontiers in Neuroscience*, **12**, 476, doi: 10.3389/fnins.2018.00476.
40. Holmin, S., Mathiesen, T., Langmoen, I.A., and Sandberg Nordqvist, A.C. (2001) Depolarization induces insulin-like growth factor binding protein-2 expression in vivo via NMDA receptor stimulation, *Growth*

- Hormone & IGF Research*, **11**, 399–406, doi: 10.1054/ghir.2001.0252.
41. Jiang, X., Zhao, J., Ju, L., Liu, Y., Wang, B., Zou, X., and Xu, C. (2013) Temporal expression patterns of insulin-like growth factor binding protein-4 in the embryonic and postnatal rat brain, *BMC Neuroscience*, **14**, 132, doi: 10.1186/1471-2202-14-132.
 42. Lewitt, M.S., and Boyd, G.W. (2019) The Role of Insulin-Like Growth Factors and Insulin-Like Growth Factor-Binding Proteins in the Nervous System, *Biochemistry Insights*, **12**, 117862641984217, doi: 10.1177/1178626419842176.
 43. Rotwein, P., Burgess, S.K., Milbrandt, J.D., and Krause, J.E. (1988) Differential expression of insulin-like growth factor genes in rat central nervous system, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **85**, 265–269, doi: 10.1073/pnas.85.1.265.
 44. Santos, A., Yusta, B., Fernández-Moreno, M.D., and Blázquez, E. (1994) Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor gene in rat brain and liver during development and in regenerating adult rat liver, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **101**, 85–93, doi: 10.1016/0303-7207(94)90222-4.
 45. Streck, R.D., Wood, T.L., Hsu, M.S., and Pintar, J.E. (1992) Insulin-like growth factor I and II and insulin-like growth factor binding protein-2 RNAs are expressed in adjacent tissues within rat embryonic and fetal limbs, *Developmental Biology*, **151**, 586–596, doi: 10.1016/0012-1606(92)90196-n.
 46. Ayer-le Lievre, C., Ståhlbom, P.A., and Sara, V.R. (1991) Expression of IGF-I and -II mRNA in the brain and craniofacial region of the rat fetus, *Development*, **111**, 105–115, doi: 10.1242/dev.111.1.105.
 47. Wood, T.L., Brown, A.L., Rechler, M.M., and Pintar, J.E. (1990) The expression pattern of an insulin-like growth factor (IGF)-binding protein gene is distinct from IGF-II in the midgestational rat embryo, *Molecular Endocrinology*, **4**, 1257–1263, doi: 10.1210/mend-4-8-1257.
 48. Lee, J.E., Pintar, J., and Efstratiadis, A. (1990) Pattern of the insulin-like growth factor II gene expression during early mouse embryogenesis, *Development*, **110**, 151–159, doi: 10.1242/dev.110.1.151.
 49. Stylianopoulou, F., Efstratiadis, A., Herbert, J., and Pintar, J. (1988) Pattern of the insulin-like growth factor II gene expression during rat embryogenesis, *Development*, **103**, 497–506, doi: 10.1242/dev.103.3.497.
 50. Hansson, H.A., Rozell, B., and Skottner, A. (1987) Rapid axoplasmic transport of insulin-like growth factor I in the sciatic nerve of adult rats, *Cell and Tissue Research*, **247**, 241–247, doi: 10.1007/BF00218305.
 51. Ernst, A., and Frisén, J. (2015) Adult neurogenesis in humans- common and unique traits in mammals, *PLOS Biology*, **13**, e1002045, doi: 10.1371/journal.pbio.1002045.
 52. Jessen, K.R. (2004) Glial cells, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **36**, 1861–1867, doi: 10.1016/j.biocel.2004.02.023.
 53. Witsch, J., Szafranski, P., Chen, C.-A., Immken, L., Simpson Patel, G., Hixson, P., Cheung, S.W., Stankiewicz, P., and Schaaf, C.P. (2013) Intragenic deletions of the IGF1 receptor gene in five individuals with psychiatric phenotypes and developmental delay, *European Journal of Human Genetics*, **21**, 1304–1307, doi: 10.1038/ejhg.2013.42.
 54. Puche, J.E., and Castilla-Cortázar, I. (2012) Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency, *Journal of Translational Me-*

- dicine*, **10**, 224, doi: 10.1186/1479-5876-10-224.
55. Wu, L., Wang, L., Shangguan, S., Chang, S., Wang, Z., Lu, X., Zhang, Q., Wang, J., Zhao, H., Wang, F., Guo, J., Niu, B., Guo, J., and Zhang, T. (2013) Altered methylation of IGF2 DMR0 is associated with neural tube defects, *Molecular and Cellular Biochemistry*, **380**, 33–42, doi: 10.1007/s11010-013-1655-1.
 56. Mathews, L.S., Hammer, R.E., Behringer, R.R., D'Ercole, A.J., Bell, G.I., Brinster, R.L., and Palmiter, R.D. (1988) Growth enhancement of transgenic mice expressing human insulin-like growth factor I, *Endocrinology*, **123**, 2827–2833, doi: 10.1210/endo-123-6-2827.
 57. Cheng, C.M., Mervis, R.F., Niu, S.-L., Salem, N., Witters, L.A., Tseng, V., Reinhardt, R., and Bondy, C.A. (2003) Insulin-like growth factor I is essential for normal dendritic growth, *Journal of Neuroscience Research*, **73**, 1–9, doi: 10.1002/jnr.10634.
 58. van Buul-Offers, S.C., de Haan, K., Reijnen-Gresnigt, M.G., Meinsma, D., Jansen, M., Oei, S.L., Bonte, E.J., Sussenbach, J.S., and Van den Brande, J.L. (1995) Overexpression of human insulin-like growth factor-II in transgenic mice causes increased growth of the thymus, *Journal of Endocrinology*, **144**, 491–502, doi: 10.1677/joe.0.1440491.
 59. Dikkes, P., Hawkes, C., Kar, S., and Lopez, M.F. (2007) Effect of kainic acid treatment on insulin-like growth factor-2 receptors in the IGF2-deficient adult mouse brain, *Brain Research*, **1131**, 77–87, doi: 10.1016/j.brainres.2006.11.022.
 60. Liu, J.P., Baker, J., Perkins, A.S., Robertson, E.J., and Efstratiadis, A. (1993) Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type I IGF receptor (Igf1r), *Cell*, **75**, 59–72.
 61. Schubert, M., Gautam, D., Surjo, D., Ueki, K., Baudler, S., Schubert, D., Kondo, T., Alber, J., Galldiks, N., Küstermann, E., Arndt, S., Jacobs, A.H., Krone, W., Kahn, C.R., and Brüning, J.C. (2004) Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **101**, 3100–3105, doi: 10.1073/pnas.0308724101.
 62. Carson, M.J., Behringer, R.R., Brinster, R.L., and McMorris, F.A. (1993) Insulin-like growth factor I increases brain growth and central nervous system myelination in transgenic mice, *Neuron*, **10**, 729–740, doi: 10.1016/0896-6273(93)90173-O.
 63. Zielinski, R., Przytycki, P.F., Zheng, J., Zhang, D., Przytycka, T.M., and Capala, J. (2009) The crosstalk between EGF, IGF, and Insulin cell signaling pathways – computational and experimental analysis, *BMC Systems Biology*, **3**, 88, doi: 10.1186/1752-0509-3-88.
 64. Murphy, L.J. (2000) Overexpression of insulin-like growth factor binding protein-1 in transgenic mice, *Pediatric Nephrology*, **14**, 567–571, doi: 10.1007/s004670000347.
 65. D'Ercole, A.J., Ye, P., and O'Kusky, J.R. (2002) Mutant mouse models of insulin-like growth factor actions in the central nervous system, *Neuropeptides*, **36**, 209–220, doi: 10.1054/npep.2002.0893.
 66. Bienvenu, G., Seurin, D., Grellier, P., Froment, P., Baudrimont, M., Monget, P., Le Bouc, Y., and Babajko, S. (2004) Insulin-like growth factor binding protein-6 transgenic mice: postnatal growth, brain development, and reproduction abnormalities, *Endocrinology*, **145**, 2412–2420, doi: 10.1210/en.2003-1196.
 67. Leventhal, P.S., Shelden, E.A., Kim, B., and Feldman, E.L. (1997) Tyrosine phosphorylation of paxillin and

- focal adhesion kinase during insulin-like growth factor-I-stimulated lamellipodial advance, *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 5214–5218, doi: 10.1074/jbc.272.8.5214.
68. Meyer, G.E., Shelden, E., Kim, B., and Feldman, E.L. (2001) Insulin-like growth factor I stimulates motility in human neuroblastoma cells, *Oncogene*, **20**, 7542–7550, doi: 10.1038/sj.onc.1204927.
 69. Bothwell, M. (1982) Insulin and somatomedin MSA promote nerve growth factor-independent neurite formation by cultured chick dorsal root ganglionic sensory neurons, *Journal of Neuroscience Research*, **8**, 225–231, doi: 10.1002/jnr.490080212.
 70. Mulholland, M.W., Romanchuk, G., Simeone, D.M., and Flowe, K. (1992) Stimulation of myenteric plexus neurite outgrowth by insulin and insulin-like growth factors I and II, *Life Sciences*, **51**, 1789–1796, doi: 10.1016/0024-3205(92)90049-u.
 71. Kimpinski, K., and Mearow, K. (2001) Neurite growth promotion by nerve growth factor and insulin-like growth factor-I in cultured adult sensory neurons: role of phosphoinositide 3-kinase and mitogen activated protein kinase, *Journal of Neuroscience Research*, **63**, 486–499, doi: 10.1002/jnr.1043.
 72. Zochodne, D.W., and Cheng, C. (2000) Neurotrophins and other growth factors in the regenerative milieu of proximal nerve stump tips, *Journal of Anatomy*, **196** (Pt 2), 279–283, doi: 10.1046/j.1469-7580.2000.19620279.x.
 73. Nachemson, A.K., Lundborg, G., and Hansson, H.A. (1990) Insulin-like growth factor I promotes nerve regeneration: an experimental study on rat sciatic nerve, *Growth Factors*, **3**, 309–314, doi: 10.3109/08977199009003673.
 74. Noriega-Prieto, J.A., Maglio, L.E., Zegarra-Valdivia, J.A., Pignatelli, J., Fernandez, A.M., Martinez-Rachadell, L., Fernandes, J., Núñez, Á., Araque, A., Alemán, I.T., and de Sevilla, D.F. 2020. IGF-I Governs Cortical Inhibitory Synaptic Plasticity By Astrocyte Activation. *Neuroscience*. 02.11.942532; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.942532>.
 75. Long, K.L.P., Breton, J.M., Barraza, M.K., Perloff, O.S., and Kaufer, D. (2021) Hormonal Regulation of Oligodendrogenesis I: Effects across the Lifespan, *Biomolecules*, **11**, 283, doi: 10.3390/biom11020283.
 76. Kawakami, A., Kataoka, H., Oka, T., Mizoguchi, A., Kimura-Kawakami, M., Adachi, T., Iwami, M., Nagasawa, H., Suzuki, A., and Ishizaki, H. (1990) Molecular cloning of the Bombyx mori prothoracicotropic hormone, *Science*, **247**, 1333–1335, doi: 10.1126/science.2315701.
 77. Lagueux, M., Lwoff, L., Meister, M., Goltzené, F., and Hoffmann, J.A. (1990) cDNAs from neurosecretory cells of brains of Locusta migratoria (Insecta, Orthoptera) encoding a novel member of the superfamily of insulins, *European Journal of Biochemistry*, **187**, 249–254, doi: 10.1111/j.1432-1033.1990.tb15302.x.
 78. Hakuno, F., and Takahashi, S.-I. (2018) IGF1 receptor signaling pathways, *Journal of Molecular Endocrinology*, **61**, T69–T86, doi: 10.1530/JME-17-0311.
 79. Rinderknecht, E., and Humbel, R.E. (1978) The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin, *Journal of Biological Chemistry*, **253**, 2769–2776.
 80. Rinderknecht, E., and Humbel, R.E. (1978) Primary structure of human insulin-like growth factor II, *FEBS Letters*, **89**, 283–286, doi: 10.1016/0014-5793(78)80237-3.
 81. Torres, A.M., Forbes, B.E., Aplin, S.E., Wallace, J.C., Francis, G.L., and Norton, R.S. (1995) Solution structure

- of human insulin-like growth factor II. Relationship to receptor and binding protein interactions, *Journal of Molecular Biology*, **248**, 385–401, doi: 10.1016/s0022-2836(95)80058-1.
82. Papaioannou, A., Kuyucak, S., and Kuncic, Z. (2016) Elucidating the Activation Mechanism of the Insulin-Family Proteins with Molecular Dynamics Simulations, *PLoS ONE*, **11**, e0161459, doi: 10.1371/journal.pone.0161459.
83. Firth, S.M., and Baxter, R.C. (2002) Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins, *Endocrine Reviews*, **23**, 824–854, doi: 10.1210/er.2001-0033.
84. Rechler, M.M. (1993) Insulin-like growth factor binding proteins, *Vitamins and Hormones*, **47**, 1–114, doi: 10.1016/s0083-6729(08)60444-6.
85. Sitar, T., Popowicz, G.M., Siwanowicz, I., Huber, R., and Holak, T.A. (2006) Structural basis for the inhibition of insulin-like growth factors by insulin-like growth factor-binding proteins, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **103**, 13028–13033, doi: 10.1073/pnas.0605652103.
86. Rajaram, S., Baylink, D.J., and Mohan, S. (1997) Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions, *Endocrine Reviews*, **18**, 801–831, doi: 10.1210/edrv.18.6.0321.
87. Bach, L.A., Headey, S.J., and Norton, R.S. (2005) IGF-binding proteins—the pieces are falling into place, *Trends Endocrinol Metab.*, **16**, 228–234, doi: 10.1016/j.tem.2005.05.005.
88. Frystyk, J., Hussain, M., Skjaerbaek, C., Pøksen, N., Froesch, E.R., and Orskov, H. (1999) The pharmacokinetics of free insulin-like growth factor-I in healthy subjects, *Growth Hormone & IGF Research*, **9**, 150–156, doi: 10.1054/ghir.1999.0100.
89. Guler, H.P., Zapf, J., Schmid, C., and Froesch, E.R. (1989) Insulin-like growth factors I and II in healthy man. Estimations of half-lives and production rates, *Acta endocrinologica (Copenh)*, **121**, 753–758, doi: 10.1530/acta.0.1210753.
90. Chandrashekar, I.R., Yao, S., Wang, C.C., Bansal, P.S., Alewood, P.F., Forbes, B.E., Wallace, J.C., Bach, L.A., and Norton, R.S. (2007) The N-terminal subdomain of insulin-like growth factor (IGF) binding protein 6. Structure and interaction with IGFs, *Biochemistry*, **46**, 3065–3074, doi: 10.1021/bi0619876.
91. Kalus, W., Zweckstetter, M., Renner, C., Sanchez, Y., Georgescu, J., Grol, M., Demuth, D., Schumacher, R., Dony, C., Lang, K., and Holak, T.A. (1998) Structure of the IGF-binding domain of the insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5): implications for IGF and IGF-I receptor interactions, *The EMBO Journal*, **17**, 6558–6572, doi: 10.1093/emboj/17.22.6558.
92. Zesławski, W., Beisel, H.G., Kamionka, M., Kalus, W., Engh, R.A., Huber, R., Lang, K., and Holak, T.A. (2001) The interaction of insulin-like growth factor-I with the N-terminal domain of IGFBP-5, *The EMBO Journal*, **20**, 3638–3644, doi: 10.1093/emboj/20.14.3638.
93. Headey, S.J., Keizer, D.W., Yao, S., Brasier, G., Kantharidis, P., Bach, L.A., and Norton, R.S. (2004) C-terminal domain of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-6: structure and interaction with IGF-II, *Molecular Endocrinology*, **18**, 2740–2750, doi: 10.1210/me.2004-0248.
94. Binkert, C., Landwehr, J., Mary, J.L., Schwander, J., and Heinrich, G. (1989) Cloning, sequence analysis and expression of a cDNA encoding a novel insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-2), *The EMBO Journal*, **8**, 2497–2502.

95. Firth, S.M., Ganeshprasad, U., and Baxter, R.C. (1998) Structural determinants of ligand and cell surface binding of insulin-like growth factor-binding protein-3, *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 2631–2638, doi: 10.1074/jbc.273.5.2631.
96. Twigg, S.M., Kiefer, M.C., Zapf, J., and Baxter, R.C. (1998) Insulin-like growth factor-binding protein 5 complexes with the acid-labile subunit. Role of the carboxyl-terminal domain, *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 28791–28798, doi: 10.1074/jbc.273.44.28791.
97. Nam, T.J., Busby, W., and Clemmons, D.R. (1997) Insulin-like growth factor binding protein-5 binds to plasminogen activator inhibitor-I, *Endocrinology*, **138**, 2972–2978, doi: 10.1210/endo.138.7.5230.
98. Booth, B.A., Boes, M., Andress, D.L., Dake, B.L., Kiefer, M.C., Maack, C., Linhardt, R.J., Bar, K., Caldwell, E.E., and Weiler, J. (1995) IGFBP-3 and IGFBP-5 association with endothelial cells: role of C-terminal heparin binding domain, *Growth Regulation*, **5**, 1–17.
99. Schedlich, L.J., Le Page, S.L., Firth, S.M., Briggs, L.J., Jans, D.A., and Baxter, R.C. (2000) Nuclear import of insulin-like growth factor-binding protein-3 and -5 is mediated by the importin beta subunit, *Journal of Biological Chemistry*, **275**, 23462–23470, doi: 10.1074/jbc.M002208200.
100. Baxter, R.C., Martin, J.L., and Wood, M.H. (1987) Two immunoreactive binding proteins for insulin-like growth factors in human amniotic fluid: relationship to fetal maturity, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **65**, 423–431, doi: 10.1210/jcem-65-3-423.
101. Oh, Y., Müller, H.L., Lee, D.Y., Fielder, P.J., and Rosenfeld, R.G. (1993) Characterization of the affinities of insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins 1–4 for IGF-I, IGF-II, IGF-I/insulin hybrid, and IGF-I analogs, *Endocrinology*, **132**, 1337–1344, doi: 10.1210/endo.132.3.7679979.
102. Jones, J.I., Busby, W.H., Wright, G., Smith, C.E., Kimack, N.M., and Clemmons, D.R. (1993) Identification of the sites of phosphorylation in insulin-like growth factor binding protein-1. Regulation of its affinity by phosphorylation of serine 101, *Journal of Biological Chemistry*, **268**, 1125–1131.
103. Yu, J., Iwashita, M., Kudo, Y., and Takeda, Y. (1998) Phosphorylated insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-1 (IGFBP-1) inhibits while non-phosphorylated IGFBP-1 stimulates IGF-I-induced amino acid uptake by cultured trophoblast cells, *Growth Hormone & IGF Research*, **8**, 65–70, doi: 10.1016/s1096-6374(98)80323-7.
104. Abu Shehab, M., Damerill, I., Shen, T., Rosario, F.J., Nijland, M., Nathanielsz, P.W., Kamat, A., Jansson, T., and Gupta, M.B. (2014) Liver mTOR controls IGF-I bioavailability by regulation of protein kinase CK2 and IGFBP-1 phosphorylation in fetal growth restriction, *Endocrinology*, **155**, 1327–1339, doi: 10.1210/en.2013-1759.
105. Liu, F., Powell, D.R., Styne, D.M., and Hintz, R.L. (1991) Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins in the developing rhesus monkey, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **72**, 905–911, doi: 10.1210/jcem-72-4-905.
106. Cardin, A.D., and Weintraub, H.J. (1989) Molecular modeling of protein-glycosaminoglycan interactions, *Arteriosclerosis*, **9**, 21–32, doi: 10.1161/01.atv.9.1.21.

107. Russo, V.C., Bach, L.A., Fosang, A.J., Baker, N.L., and Werther, G.A. (1997) Insulin-like growth factor binding protein-2 binds to cell surface proteoglycans in the rat brain olfactory bulb, *Endocrinology*, **138**, 4858–4867, doi: 10.1210/endo.138.11.5472.
108. Russo, V.C., Schütt, B.S., Andaloro, E., Ymer, S.I., Hoefflich, A., Ranke, M.B., Bach, L.A., and Werther, G.A. (2005) Insulin-like growth factor binding protein-2 binding to extracellular matrix plays a critical role in neuroblastoma cell proliferation, migration, and invasion, *Endocrinology*, **146**, 4445–4455, doi: 10.1210/en.2005-0467.
109. Xi, G., Shen, X., Rosen, C.J., and Clemmons, D.R. (2019) IRS-1 Functions as a Molecular Scaffold to Coordinate IGF-I/IGFBP-2 Signaling During Osteoblast Differentiation, *The Journal of Bone and Mineral Research*, **34**, 2331, doi: 10.1002/jbmr.3800.
110. Kuang, Z., Yao, S., Keizer, D.W., Wang, C.C., Bach, L.A., Forbes, B.E., Wallace, J.C., and Norton, R.S. (2006) Structure, dynamics and heparin binding of the C-terminal domain of insulin-like growth factor-binding protein-2 (IGFBP-2), *Journal of Molecular Biology*, **364**, 690–704, doi: 10.1016/j.jmb.2006.09.006.
111. Azar, W.J., Zivkovic, S., Werther, G.A., and Russo, V.C. (2014) IGFBP-2 nuclear translocation is mediated by a functional NLS sequence and is essential for its pro-tumorigenic actions in cancer cells, *Oncogene*, **33**, 578–588, doi: 10.1038/onc.2012.630.
112. Firth, S.M., and Baxter, R.C. (1999) Characterisation of recombinant glycosylation variants of insulin-like growth factor binding protein-3, *Journal of Endocrinology*, **160**, 379–387, doi: 10.1677/joe.0.1600379.
113. Coverley, J.A., and Baxter, R.C. (1997) Phosphorylation of insulin-like growth factor binding proteins, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **128**, 1–5, doi: 10.1016/s0303-7207(97)04032-x.
114. Chesik, D., De Keyser, J., and Wilczak, N. (2007) Insulin-like growth factor binding protein-2 as a regulator of IGF actions in CNS: implications in multiple sclerosis, *Cytokine & Growth Factor Reviews*, **18**, 267–278, doi: 10.1016/j.cytogfr.2007.04.001.
115. Martin, J.L., and Baxter, R.C. (1986) Insulin-like growth factor-binding protein from human plasma. Purification and characterization, *Journal of Biological Chemistry*, **261**, 8754–8760.
116. Hoeck, W.G., and Mukku, V.R. (1994) Identification of the major sites of phosphorylation in IGF binding protein-3, *Journal of Cellular Biochemistry*, **56**, 262–273, doi: 10.1002/jcb.240560220.
117. Martin, J.L., Lin, M.Z., McGowan, E.M., and Baxter, R.C. (2009) Potentiation of growth factor signaling by insulin-like growth factor-binding protein-3 in breast epithelial cells requires sphingosine kinase activity, *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 25542–25552, doi: 10.1074/jbc.M109.007120.
118. Baxter, R.C. (2015) Nuclear actions of insulin-like growth factor binding protein-3, *Gene*, **569**, 7–13, doi: 10.1016/j.gene.2015.06.028.
119. Schedlich, L.J., Nilsen, T., John, A.P., Jans, D.A., and Baxter, R.C. (2003) Phosphorylation of insulin-like growth factor binding protein-3 by deoxyribonucleic acid-dependent protein kinase reduces ligand binding and enhances nuclear accumulation, *Endocrinology*, **144**, 1984–1993, doi: 10.1210/en.2002-220798.

120. Lin, M.Z., Marzec, K.A., Martin, J.L., and Baxter, R.C. (2014) The role of insulin-like growth factor binding protein-3 in the breast cancer cell response to DNA-damaging agents, *Oncogene*, **33**, 85–96, doi: 10.1038/onc.2012.538.
121. Campbell, P.G., Durham, S.K., Hayes, J.D., Suwanichkul, A., and Powell, D.R. (1999) Insulin-like growth factor-binding protein-3 binds fibrinogen and fibrin, *Journal of Biological Chemistry*, **274**, 30215–30221, doi: 10.1074/jbc.274.42.30215.
122. Campbell, P.G., Durham, S.K., Suwanichkul, A., Hayes, J.D., and Powell, D.R. (1998) Plasminogen binds the heparin-binding domain of insulin-like growth factor-binding protein-3, *American Journal of Physiology*, **275**, E321–331, doi: 10.1152/ajpendo.1998.275.2.E321.
123. Angeloz-Nicoud, P., and Binoux, M. (1995) Autocrine regulation of cell proliferation by the insulin-like growth factor (IGF) and IGF binding protein-3 protease system in a human prostate carcinoma cell line (PC-3), *Endocrinology*, **136**, 5485–5492, doi: 10.1210/endo.136.12.7588299.
124. Gui, Y., and Murphy, L.J. (2001) Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 (IGFBP-3) binds to fibronectin (FN): demonstration of IGF-I/IGFBP-3/fn ternary complexes in human plasma, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 2104–2110, doi: 10.1210/jcem.86.5.7472.
125. Conover, C.A. (1991) Glycosylation of insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) is not required for potentiation of IGF-I action: evidence for processing of cell-bound IGFBP-3, *Endocrinology*, **129**, 3259–3268, doi: 10.1210/endo-129-6-3259.
126. Baxter, R.C. (2014) IGF binding proteins in cancer: mechanistic and clinical insights, *Nature Reviews Cancer*, **14**, 329–341, doi: 10.1038/nrc3720.
127. Liu, B., Lee, K.-W., Anzo, M., Zhang, B., Zi, X., Tao, Y., Shiry, L., Pollak, M., Lin, S., and Cohen, P. (2007) Insulin-like growth factor-binding protein-3 inhibition of prostate cancer growth involves suppression of angiogenesis, *Oncogene*, **26**, 1811–1819, doi: 10.1038/sj.onc.1209977.
128. Granata, R., Trovato, L., Lupia, E., Sala, G., Settanni, F., Camussi, G., Ghidoni, R., and Ghigo, E. (2007) Insulin-like growth factor binding protein-3 induces angiogenesis through IGF-I- and SphK1-dependent mechanisms, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **5**, 835–845, doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02431.x.
129. Kiefer, M.C., Masiarz, F.R., Bauer, D.M., and Zapf, J. (1991) Identification and molecular cloning of two new 30-kDa insulin-like growth factor binding proteins isolated from adult human serum, *Journal of Biological Chemistry*, **266**, 9043–9049.
130. Konev, A.A., Smolyanova, T.I., Kharitonov, A.V., Serebryanaya, D.V., Kozlovsky, S.V., Kara, A.N., Feygina, E.E., Katrukha, A.G., and Postnikov, A.B. (2015) Characterization of endogenously circulating IGFBP-4 fragments – Novel biomarkers for cardiac risk assessment, *Clinical Biochemistry*, **48**, 774–780, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.05.010.
131. Konev, A.A., Serebryanaya, D.V., Koshkina, E.V., Rozov, F.N., Filatov, V.L., Kozlovsky, S.V., Kara, A.N., Katrukha, A.G., and Postnikov, A.B. (2018) Glycosylated and non-glycosylated NT-IGFBP-4 in circulation of acute coronary

- syndrome patients, *Clinical Biochemistry*, **55**, 56–62, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.004.
132. Chelius, D., Baldwin, M., Lu, X., and Spencer, E. (2001) Expression, purification and characterization of the structure and disulfide linkages of insulin-like growth factor binding protein-4, *Journal of Endocrinology*, **168**, 283–296, doi: 10.1677/joe.0.1680283.
 133. Laursen, L.S., Kjaer-Sorensen, K., Andersen, M.H., and Oxvig, C. (2007) Regulation of Insulin-Like Growth Factor (IGF) Bioactivity by Sequential Proteolytic Cleavage of IGF Binding Protein-4 and -5, *Molecular Endocrinology*, **21**, 1246–1257, doi: 10.1210/me.2006-0522.
 134. Qin, X., Strong, D.D., Baylink, D.J., and Mohan, S. (1998) Structure-Function Analysis of the Human Insulin-like Growth Factor Binding Protein-4, *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 23509–23516, doi: 10.1074/jbc.273.36.23509.
 135. Boldt, H.B., Bale, L.K., Resch, Z.T., Oxvig, C., Overgaard, M.T., and Conover, C.A. (2013) Effects of Mutated Pregnancy-Associated Plasma Protein-A on Atherosclerotic Lesion Development in Mice, *Endocrinology*, **154**, 246–252, doi: 10.1210/en.2012-1552.
 136. Laursen, L.S., Overgaard, M.T., S  e, R., Boldt, H.B., Sottrup-Jensen, L., Giudice, L.C., Conover, C.A., and Oxvig, C. (2001) Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF: implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A, *FEBS Letters*, **504**, 36–40, doi: 10.1016/S0014-5793(01)02760-0.
 137. Prudova, A., auf dem Keller, U., Butler, G.S., and Overall, C.M. (2010) Multiplex N-terminome Analysis of MMP-2 and MMP-9 Substrate Degradomes by iTRAQ-TAILS Quantitative Proteomics, *Molecular & Cellular Proteomics*, **9**, 894–911, doi: 10.1074/mcp.M000050-MCP201.
 138. Shimasaki, S., Shimonaka, M., Zhang, H.P., and Ling, N. (1991) Identification of five different insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) from adult rat serum and molecular cloning of a novel IGFBP-5 in rat and human, *Journal of Biological Chemistry*, **266**, 10646–10653.
 139. Firth, S.M., Clemmons, D.R., and Baxter, R.C. (2001) Mutagenesis of basic amino acids in the carboxyl-terminal region of insulin-like growth factor binding protein-5 affects acid-labile subunit binding, *Endocrinology*, **142**, 2147, doi: 10.1210/endo.142.5.8284.
 140. Twigg, S.M., Kiefer, M.C., Zapf, J., and Baxter, R.C. (2000) A central domain binding site in insulin-like growth factor binding protein-5 for the acid-labile subunit, *Endocrinology*, **141**, 454–457, doi: 10.1210/endo.141.1.7375.
 141. Jones, J.I., Gockerman, A., Busby, W.H., Camacho-Hubner, C., and Clemmons, D.R. (1993) Extracellular matrix contains insulin-like growth factor binding protein-5: potentiation of the effects of IGF-I, *Journal of Cell Biology*, **121**, 679–687, doi: 10.1083/jcb.121.3.679.
 142. Nam, T.J., Busby, W.H., and Clemmons, D.R. (1994) Human fibroblasts secrete a serine protease that cleaves insulin-like growth factor-binding protein-5, *Endocrinology*, **135**, 1385–1391, doi: 10.1210/endo.135.4.7523096.
 143. Nam, T.-J., Busby, W.H., Rees, C., and Clemmons, D.R. (2000) Thrombospondin and Osteopontin Bind to Insulin-Like Growth Factor

- (IGF)-Binding Protein-5 Leading to an Alteration in IGF-I-Stimulated Cell Growth, *Endocrinology*, **141**, 1100–1106, doi: 10.1210/endo.141.3.7386.
144. Hodgkinson, S.C., Napier, J.R., Spencer, G.S.G., and Bass, J.J. (1994) Glycosaminoglycan binding characteristics of the insulin-like growth factor-binding proteins, *Journal of Molecular Endocrinology*, **13**, 105–112, doi: 10.1677/jme.0.0130105.
 145. Graham, M.E., Kilby, D.M., Firth, S.M., Robinson, P.J., and Baxter, R.C. (2007) The in Vivo Phosphorylation and Glycosylation of Human Insulin-like Growth Factor-binding Protein-5, *Molecular & Cellular Proteomics*, **6**, 1392–1405, doi: 10.1074/mcp.M700027-MCP200.
 146. Schedlich, L.J., Young, T.F., Firth, S.M., and Baxter, R.C. (1998) Insulin-like Growth Factor-binding Protein (IGFBP)-3 and IGFBP-5 Share a Common Nuclear Transport Pathway in T47D Human Breast Carcinoma Cells, *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 18347–18352, doi: 10.1074/jbc.273.29.18347.
 147. Zhao, Y., Yin, P., Bach, L.A., and Duan, C. (2006) Several Acidic Amino Acids in the N-domain of Insulin-like Growth Factor-binding Protein-5 Are Important for Its Transactivation Activity, *Journal of Biological Chemistry*, **281**, 14184–14191, doi: 10.1074/jbc.M506941200.
 148. Overgaard, M.T., Boldt, H.B., Laursen, L.S., Sottrup-Jensen, L., Conover, C.A., and Oxvig, C. (2001) Pregnancy-associated Plasma Protein-A2 (PAPP-A2), a Novel Insulin-like Growth Factor-binding Protein-5 Proteinase, *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 21849–21853, doi: 10.1074/jbc.M102191200.
 149. Martin, J.L., Willetts, K.E., and Baxter, R.C. (1990) Purification and properties of a novel insulin-like growth factor-II binding protein from transformed human fibroblasts, *Journal of Biological Chemistry*, **265**, 4124–4130.
 150. Bach, L.A., Hsieh, S., Sakano, K., Fujiwara, H., Perdue, J.F., and Rechler, M.M. (1993) Binding of mutants of human insulin-like growth factor II to insulin-like growth factor binding proteins 1-6, *Journal of Biological Chemistry*, **268**, 9246–9254.
 151. Leng, S.L., Leeding, K.S., Whitehead, R.H., and Bach, L.A. (2001) Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-6 inhibits IGF-II-induced but not basal proliferation and adhesion of LIM 1215 colon cancer cells, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **174**, 121–127, doi: 10.1016/S0303-7207(00)00444-5.
 152. Schmid, C., Schlapfer, I., Keller, A., Waldvogel, M., Froesch, E.R., and Zapf, J. (1995) Effects of Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Proteins (BPs)-3 and -6 on DNA Synthesis of Rat Osteoblasts: Further Evidence for a Role of Auto-/Paracrine IGF I but Not IGF II in Stimulating Osteoblast Growth, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **212**, 242–248, doi: 10.1006/bbrc.1995.1962.
 153. Bach, L. (1999) Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-6: The «Forgotten» Binding Protein?, *Hormone and Metabolic Research*, **31**, 226–234, doi: 10.1055/s-2007-978723.
 154. Shalamanova, L., Kübler, B., Storch, S., Scharf, J.-G., and Bräulke, T. (2008) Multiple post-translational modifications of mouse insulin-like growth factor binding protein-6 expressed in epithelial Madin-Darby canine kidney cells, *Molecular and Cellular Endocri-*

- nology, **295**, 18–23, doi: 10.1016/j.mce.2008.08.034.
155. Marinaro, J.A., Hendrich, E.C., Leeding, K.S., and Bach, L.A. (1999) HaCaT human keratinocytes express IGF-II, IGFBP-6, and an acid-activated protease with activity against IGFBP-6, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **276**, E536–E542, doi: 10.1152/ajpendo.1999.276.3.E536.
 156. Nakamura, M., Miyamoto, S., Maeda, H., Ishii, G., Hasebe, T., Chiba, T., Asaka, M., and Ochiai, A. (2005) Matrix metalloproteinase-7 degrades all insulin-like growth factor binding proteins and facilitates insulin-like growth factor bioavailability, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **333**, 1011–1016, doi: 10.1016/j.bbrc.2005.06.010.
 157. Larsen, P.H. (2006) Myelin Formation during Development of the CNS Is Delayed in Matrix Metalloproteinase-9 and -12 Null Mice, *Journal of Neuroscience*, **26**, 2207–2214, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1880-05.2006.
 158. Dean, R.A., Butler, G.S., Hamma-Kourbali, Y., Delbé, J., Brigstock, D.R., Courty, J., and Overall, C.M. (2007) Identification of Candidate Angiogenic Inhibitors Processed by Matrix Metalloproteinase 2 (MMP-2) in Cell-Based Proteomic Screens: Disruption of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)/Heparin Affin Regulatory Peptide (Pleiotrophin) and VEGF/Connective Tissue Growth Factor Angiogenic Inhibitory Complexes by MMP-2 Proteolysis, *Molecular and Cellular Biology*, **27**, 8454–8465, doi: 10.1128/MCB.00821-07.
 159. Gibson, J.M., Aplin, J.D., White, A., and Westwood, M. (2001) Regulation of IGF bioavailability in pregnancy, *Molecular Human Reproduction*, **7**, 79–87, doi: 10.1093/molehr/7.1.79.
 160. Cohen, P., Graves, H.C., Peehl, D.M., Kamarei, M., Giudice, L.C., and Rosenfeld, R.G. (1992) Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **75**, 1046–1053, doi: 10.1210/jcem.75.4.1383255.
 161. Rajah, R., Bhala, A., Nunn, S.E., Peehl, D.M., and Cohen, P. (1996) 7S nerve growth factor is an insulin-like growth factor-binding protein protease, *Endocrinology*, **137**, 2676–2682, doi: 10.1210/endo.137.7.8770886.
 162. Monget, P. (2002) Pregnancy-Associated Plasma Protein-A Is Involved in Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP-2) Proteolytic Degradation in Bovine and Porcine Preovulatory Follicles: Identification of Cleavage Site and Characterization of IGFBP-2 Degradation, *Biology of Reproduction*, **68**, 77–86, doi: 10.1095/biolreprod.102.007609.
 163. Iwadata, H., Sugisaki, T., Kudo, M., and Kizuki, K. (2003) Actions of insulin-like growth factor binding protein-5 (IGFBP-5) are potentially regulated by tissue kallikrein in rat brains, *Life Sciences*, **73**, 3149–3158, doi: 10.1016/j.lfs.2003.06.010.
 164. Russo, V.C., Rekaris, G., Baker, N.L., Bach, L.A., and Werther, G.A. (1999) Basic fibroblast growth factor induces proteolysis of secreted and cell membrane-associated insulin-like growth factor binding protein-2 in human neuroblastoma cells, *Endocrinology*, **140**, 3082–3090, doi: 10.1210/endo.140.7.6771.
 165. Son, J.-W., Park, J., Kim, Y.E., Ha, J., Park, D.W., Chang, M.-S., and Koh, S.-H. (2019) Glia-Like Cells from Late-Passage Human MSCs Protect Against Ischemic Stroke

- Through IGFBP-4, *Molecular Neurobiology*, **56**, 7617–7630, doi: 10.1007/s12035-019-1629-8.
166. Nishijima, T., Piriz, J., Duflot, S., Fernandez, A.M., Gaitan, G., Gomez-Pinedo, U., Verdugo, J.M.G., Leroy, F., Soya, H., Nuñez, A., and Torres-Aleman, I. (2010) Neuronal activity drives localized blood–brain-barrier transport of serum insulin-like growth factor-I into the CNS, *Neuron*, **67**, 834–846, doi: 10.1016/j.neuron.2010.08.007.