



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

2009년 2월

석사학위논문

비계 상에 배양된 골수기질세포에서
혈관내피세포로의 분화 시 혈관 내피
성장인자의 효과

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

차 상 훈

비계 상에 배양된 골수기질세포에서
혈관내피세포로의 분화 시 혈관 내피
성장인자의 효과

The Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on
Endothelial Cell Differentiation from Bone Marrow
Stromal Cell cultured on scaffold

2009년 2월 25일

조선대학교대학원

치의학과

차상훈

비계 상에 배양된 골수기질세포에서
혈관내피세포로의 분화 시 혈관 내피
성장인자의 효과

지도교수 장 현 선

이 논문을 치의학 박사학위신청 논문으로 제출함.

2008년 10월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

차 상 훈

차상훈의 석사학위 논문을 인준함.

위원장 조선대학교 교 수 김 흥 중 인

위 원 조선대학교 교 수 김 병 옥 인

위 원 조선대학교 교 수 장 현 선 인

2008 년 11월 일

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT	v
I. 서 론	1
II. 연구재료 및 방법	3
III. 연구결과	5
IV. 총괄 및 고안	7
V. 결 론	9
참고문헌	10

도 목 차

Fig. 1. A. Control group(1 week) ; Only dBMSCs were observed..(X40,000) B. Experimental group(1 week) ; The endothelial like cells were differentiated.(X40,000), C. Control group(2 weeks) ; Only dBMSCs were observed.(X80,000), D. Experimental group(2 weeks) ; The endothelial like cells were differentiated.(X40,000) 6

ABSTRACT

The Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on Endothelial Cell Differentiation from Bone Marrow Stromal Cell cultured on scaffolds

Sang Hoon Cha

Advisor: Prof. Hyun-Seon Jang, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

The angiogenesis is essential to most human life process including tissue development, regeneration, and repair. A variety of growth factors that promote the angiogenesis have been identified, and among these factors, vascular endothelial growth factor(VEGF) shows enhance the vascularization of engineered tissue. In this study, we evaluated the potential of VEGF and bone marrow stromal cell(BMSC) to modulate the growth and differentiation activities of blood vessel precursors, endothelial cells(ECs) on absorbable collagen membrane. The dog bone marrow stromal cells (dBMSCs) were obtained from beagle dog. The dBMSCs were cultured in a medium containing Dulbecco's modified Eagle medium supplemented with 10% fetal bovine serum and 100ug/ml 1 X Antibiotics with absorbable collagen scaffold(Bio Guide[®] Perio, Geistlich, Swiss) at 37°C in humidified air with 5% CO₂. Human endothelial growth factor(hVEGF) was applied. We evaluated the angiogenesis on absorbable collagen scaffold by

transmission electron microscope(TEM). The addition of hVEGF enhanced angiogenesis on absorbable collagen scaffold. And hVEGF was added to dBMSC absorbable collagen cultures, organization of endothelial like cells. The dBMSCs and hVEGF can enhance the growth and differentiation of endothelial cells in an in vitro model of angiogenesis. The VEGF is necessary for dBMSC CM to enhance EC survival and differentiation.

Key word : bone marrow stromal cell, endothelial cell, vascular endothelial growth factor

I. 서 론

상실된 조직의 재생은 치주 질환의 치료에서 궁극적인 목적이며, 성공적인 치주재생은 백악질, 치주인대, 치조골 그리고 치은을 포함하는 다양한 조직의 복합적인 재생이다^{1,2)}. 치주 결손부위 재생이 일어나기 위해서는 다양한 세포와 성장인자 등을 포함한 일련의 잘 조절된 과정이 필수적이다²⁾. 최근 조직공학은 이러한 치주재생, 특히 골재생의 영역에서 큰 잠재력을 지니고 있다고 평가되고 있다³⁾. 이러한 조직 재생 기법은 현재 치과 영역에서 그 활용 영역을 넓혀 가고 있으며, 특히 골유도 재생술 등과 같은 재생술 영역에서 매우 활용도가 높은 술식으로 평가 받고 있다. 특히 세포 이식은 조직 공학 영역에서 널리 이용되고 있는 방법이다³⁾.

골수에서 기원한 줄기 세포의 두 주요한 부차 집단으로는 적혈구, 혈소판, 단핵구, 과립구, 림파구로 분화할 수 있는 조혈줄기세포와 근육, 골, 연골 및 지방 조직으로 분화할 수 있는 비조혈 줄기세포가 있으며 이러한 골수 기원 비조혈 줄기세포 중 하나인 골수간질세포(bone marrow stromal cells, BMSCs)들은 다분화성 골수 간엽 세포로 조직 재생 영역에 적용될 수 있는 잠재력을 지니고 있는 것으로 평가되고 있다^{4,5,6)}.

빠른 혈관 신생은 조직의 발생, 재생 및 치유와 같은 인체의 과정에서 필수적인 요소이며, 특히 골의 형성에서 혈관 신생의 중요성을 잘 알려져 있다^{7,8)}. 혈관내피세포(endothelial cell)는 이러한 혈관 신생 과정에서 중요한 역할을 하는 세포이며 최근 혈관내피세포가 골형성 세포와의 직접적으로 상호 작용을 통하여 골의 발생과 형성에 직접적인 역할을 한다고 보고되고 있다^{9,10)}. 이러한 혈관 내피 세포 발현에 영향을 미치는 인자인 혈관내피성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)는 신생 조직에서 혈관화를 향상 시키는 중요한 분자이다¹¹⁾.

본 연구에서는 흡수성 교원질 막을 비계로 사용하여 골수 간질 세포들

에 혈관 내피 성장 인자를 첨가하였을 때 혈관 내피 세포의 분화 여부를 살펴보고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

A. 개의 장골에서 골수 채취 및 배양

Mongrel dog을 tiletamine-zolazepam(Zoletil 50[®], VIRBAC Lab, France, 5-10mg/Kg, intramuscular)와 xylazine HCL(Rompun[®], Bayer, Korea, 0.15ml/Kg, intramuscular)을 근주하여 진정마취를 시행하였다. 그 후 장골부위를 삭모하고, 포타딘을 이용하여 표면소독을 시행하였다. 골수 흡인기를 이용하여 2ml의 골수를 흡인하였다. 원심 분리기를 이용하여 혈액과 골수 기질 세포를 분리하였다.

채취한 골수 기질 세포를 10% fetal bovine serum(FBS, GIBCO BRL, USA) 및 1XAntibiotic-Antimycotic(AA, GIBCO BRL, USA)가 포함된 Dulbeco's Modified Eagles Medium(DMEM, GIBCO BRL, USA)을 배지로 사용하여 37°C, 5% CO₂, 100% 습도 조건하에서 계대배양하였다.

B. 골수 기질 세포 배양 및 혈관 내피 성장 인자 첨가

2세대 골수 기질 세포를 사용하였으며 비계로는 흡수성 교원질 막(Bio Guide[®] Perio, Geistlich, Swiss)을 사용하였다. 10% fetal bovine serum와 Dulbeco's Modified Eagles Medium과 1X Antibiotic-Antimycotic를 혼합한 배지에 비계로서 흡수성 교원질막을 위치시키고 2세대 골수 기질 세포를 37°C, 5% CO₂, 100% 습도 조건하에서 1, 2주 군으로 나누어 배양하였다.

배지는 이틀에 한 번씩 교체하고 실험군에는 0, 2, 4, 6일 째에 혈관 내피 성장 인자를 50ng/ml 씩 첨가하였으며 대조군에는 첨가하지 않았다.

C. 투과 전자 현미경(*Transmission electron microscope, TEM*) 관찰

투과전자현미경 관찰을 위해 조직을 2.5% glutaraldehyde에 사전 고정을 하였고 세절 후 0.1M 의 phosphate buffer로 수세하였다. 이 후 4℃ 하에서 2시간 동안 2% osmic acid solution(OsO_4)으로 후고정을 시행하였고 50%, 70%, 90%, 95%, 100%(I), 100%(II)순으로 점차 농도를 높게 한 에틸알코올에 각각 10분씩 통과시켜 탈수 시킨 후 에폭시 레진에 포매하였다.

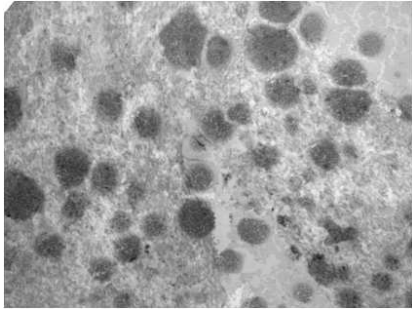
포매한 조직을 세절한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 투과전자현미경(HITACH S-4800, Japan)으로 관찰하였다.

Ⅲ. 연구결과

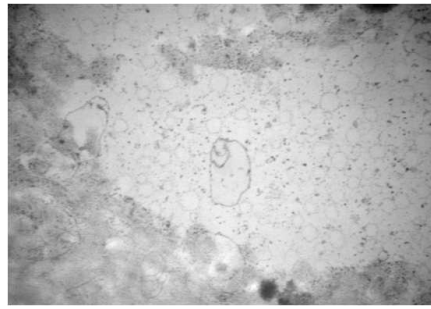
1주 대조군은 투과 전자 현미경상에서 비계 표면의 거의 대부분에서 핵이 검은 색으로 진하게 염색된 골수 기질 세포들만 관찰되고 있으며 특별한 형태로 분화되는 세포를 관찰할 수는 없었다. 1주 실험군의 경우 혈관 내피 세포와 유사한 형태를 갖는 분화 중인 세포들이 관찰되었다.

2주 대조군은 투과 전자 현미경상에서 1주 군과 유사하게 거의 대부분에서 핵이 검은 색으로 진하게 염색된 골수 기질 세포들이 관찰되고 있으며 특별한 형태로 분화되는 세포도 관찰할 수 있었다. 2주 실험군의 경우 혈관 내피 세포와 유사한 형태를 갖는 분화 중인 세포들이 관찰되었으며 1주군 실험군에 비해 그 양상이 더욱 뚜렷해지고 있음을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1).

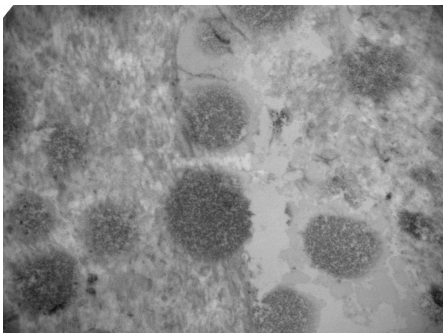
A.



B.



C.



D.

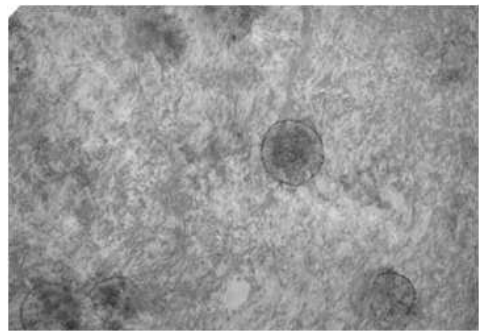


Fig. 1. A. Control group(1 week) ; Only dBMSCs were observed..(X40,000) B. Experimental group(1 week) ; The endothelial like cells were differentiated.(X40,000), C. Control group(2 weeks) ; Only dBMSCs were observed.(X80,000), D. Experimental group(2 weeks) ; The endothelial like cells were differentiated.(X40,000)

IV. 총괄 및 고안

지금까지 많은 재생형 치료들이 재생 과정의 복잡성 때문에 항상 예지성 있는 결과를 얻을 수는 없었다^{12,13}). 최근 조직공학이 상실된 조직의 회복을 위해 여러 전문 분야에서 사용되고 있으며 특히 치과 영역에서 그 응용이 증가하고 있는 추세이다¹⁴). 특히 치주과학 영역에서 조직공학은 손상된 치주 기관을 회복시키는 데 적용되고 있으며^{15,16,17,18}), 임상 시술에서 수용할 만한 결과들이 보고되고 있다^{19,20,21,22}). 조직 공학은 일반적으로 1) 세포, 2) 신호 분자(signaling molecule), 3) 비계의 세 가지 중요한 요소로 구성된다고 보고되고 있으며 이러한 조직의 성장에 있어서 혈관 신생은 필수적으로 알려져 있다¹⁴).

세포의 생존은 산소 및 영양 공급, 대사 산물의 처리가 필수적이며 혈관계는 이러한 과정에 필수적인 부분이다^{23,24,25}). 기능성 혈관계가 생성되지 않을 경우 세포들은 확산에 의해서만 혈액공급을 받게되며, 이런 경우 조직의 질은 표면에서 하방으로 갈수록 떨어지게 된다^{26,27}). Folkman 등²⁸)의 연구에서 기능적 혈관화가 촉진되지 않을 경우 조직 이식은 2-3mm³ 이상 할 수 없다고 보고하였다. 따라서, 조직 공학은 새로운 조직 구조 내에 새로운 혈관망을 형성하는 혈관신생에 의존한다고 할 수 있다¹⁴).

혈관내피성장 인자는 태생기 및 골격 성장, 재생 과정에서 생리적 혈관신생의 주요 조절 인자로 저산소 환경에서 발현된다고 알려져 있으며, 혈관 투과성을 증가시키고 혈관 내피 세포의 발현을 유도하는 가장 강력한 분자 중 하나로 알려져 있다^{8,29,30}). 혈관내피성장 인자는 혈관내피세포의 증식과 세포 이주를 증진 시키고 혈관벽의 식작용을 억제하여 혈관신생을 조절하는 주요 인자로서 역할을 수행한다고 알려져 있다^{29, 30}).

혈관내피성장인자에 의해 발현되는 혈관 내피 세포는 혈관을 형성시켜 재생된 조직에 신생혈관형성을 증가시킬 수 있는 잠재력을 갖고 있다고 평가되고 있다^{31,32,33}). Kaigler 등³)의 연구에 따르면 혈관내피세포를 이식했을 경우 혈관신생이 일어나나 골수 기질 세포만을 이식했을 경우에 비

교했을 때 전반적인 혈관 신생의 양에서 유의한 차이가 나타나지 않았지만 세포 이식을 하지 않고 비계만 사용한 경우에 비해 통계적으로 유의할 만한 혈관신생을 보였다고 보고하였다.

본 연구에서는 비계로서 흡수성 교원질 막(Bio Guide[®] Perio, Geistlich, Swiss)을 이용하여 개의 골수 기질 세포(dBMSCs)를 이식하였으며 혈관 내피 세포의 생성을 촉진시키기 위해 혈관 내피 성장 인자를 첨가하여 1,2주간 관찰하였다. 대조군인 흡수성 교원질 막의 비계 상에 개의 골수 기질 세포만 이식한 군에서는 혈관 내피 세포로 인정할 만한 세포의 분화를 확인할 수 없었으나 실험군인 혈관 내피 세포 성장 인자 첨가 군에서는 혈관 내피 세포와 유사한 형태의 분화 중인 세포를 관찰 할 수 있었다. 이는 골수 기질 세포에 혈관 내피 성장 인자를 첨가하였을 때 혈관 신생이 일어날 수 있음을 시사한다. 또한, 재생 요법에 흔히 사용되는 흡수성 교원질막과 혈관 내피 성장 인자의 적용이 임상에서 빠르고 많은 양의 조직재생을 이룰 수 있는 기반이 되리라 생각된다.

그러나 본 연구에서는 실제 혈관의 형성을 확실히 관찰 할 수 없어 앞으로 장기간의 연구 및 생체 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

혈관신생은 조직재생에서 매우 중요한 요소이며 이러한 혈관신생에 있어 혈관내피세포의 중요성은 잘 알려져 있다. 본 연구에서는 혈관내피세포의 분화 시 혈관내피성장인자의 역할을 확인하기 위하여 비계로서 흡수성 교원질 막(BioGuide[®] Perio, Geistlich, Swiss)을 이용하고 개의 골수기질 세포(dBMSCs)를 이식하였으며 혈관 내피 성장 인자를 첨가한 실험군과 첨가하지 않은 대조군으로 하여 1,2주간 관찰하였다. 그 결과 혈관내피성장인자가 골수기질세포에서 혈관내피세포로의 분화를 촉진시킬 수 있을 것으로 생각된다. 이렇게 분화된 혈관내피세포는 혈관생성을 촉진시키고 이는 조직 이식을 동반한 재생치료에서 매우 효율적으로 적용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Wikesjö U, Selvig K. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol 2000* 1999;19:21-39.
2. Cochran D., Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol 2000*. 1999;19:40-58.
3. Kaigler D, Krebsbach PH, Wang Z, West ER, Horger K, Mooney DJ. Transplanted endothelial cells enhance orthotopic bone regeneration 2006;85(7):633-642.
4. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-147.
5. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2000;97:3213-3218.
6. Kresbach PH, Kuznetsov SA, Satomura K, Emmons RV, Rowe DW, Robey PG. Bone formation in vivo: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation* 1997;63:1059-1069.
7. Folkman J, Cotran R. Relation of vascular proliferation to tumor growth. *Int Rev Exn Pathol.* 1976;1:207.
8. Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat Med.* 1999;5:623-628.
9. Bouletreau PJ, Warren SM, Spector JA, Peled ZM, Gerrets RP, Greenwald JA. Hypoxia and VEGF up-regulate BMP-2 mRNA and

- protein expression in microvascular endothelial cells: implications for fracture healing. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:2384-2397.
10. Villars F, Guillotin B, Amedee T, Dutoya S, Bordenave L, Bareille R. Effect of HUVEC on human osteoprogenitor cell differentiation needs heterotypic gap junction communication, *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;282:C775-C785.
 11. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Eur J Cancer* 1996;32A:2413.
 12. Amar S. Implication of cellular and molecular biology advances in periodontal regeneration. *Anat Rec.* 1996;245:361-373.
 13. Bartold PM, McCulloch CAG, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: A new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol* 2000. 2000;24:253-269.
 14. Srisuwan T, Tilkorn DJ, Wilson JL, Morrison WA, Messer HM, Thomson EW, Abberton KM. Molecular aspects of tissue engineering in the dental field. *Periodontol* 2000. 2006;41:88-108.
 15. Bogue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV, Wozney JM, Purchio A, Hartmann D, Lesot H. Effects of dentin proteins, transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) and bone morphogenetic protein 2(BMP2) on the differentiation of odontoblast in vitro. *Int J Dev Biol* 1992;364:491-503.
 16. Nakahara T, Nakamura T, Kobayasi E, Inoue M, Shigeno K, Tabata Y, Eto K, Shimizu Y. Nobel approach to regeneration of periodontal tissues based on in situ tissue engineering: effects of controlled release of basic fibroblast growth factor from a sandwich membrane. *Tissue Eng* 2003;91:153-162.
 17. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nat Biotechnol*

2003;219:1025-1032.

18. Owen GR, Jackson J, Chehroudi B, Burt H, Brunette DM. A PLGA membrane controlling cell behavior for promoting tissue regeneration. *Biomaterials*. 2005;2635:7447-7456.
19. Mauro S, Orlando L, Panzoni R, Orlando PF. Platelet gel biotechnology applied to regenerative surgery of intrabony defects in patients with refractory generalized aggressive periodontitis. Case report. *Minerva Stomatol* 2003;527-8:401-412.
20. Okuda K, Momose M, Murata M, Saito Y, Inoie M, Shinohara C, Wolff LF, Yoshie H. Treatment of chronic desquamative gingivitis using tissue-engineered human cultured gingival epithelial sheets: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004;242:119-125.
21. Sculean A, Berakdar M, Chiantella GC, Donos N, Arweiler NB, Brex M. Healing of intrabony defects following treatment with a bovine-derived xenograft and collagen membrane. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2003;301:73-80.
22. Stoller NH, Johnson LR, Garrett S. Periodontal regeneration of a class II furcation defect utilizing a bioabsorbable barrier in a human. A case study with histology. *J Periodontol*. 2001;722:238-242.
23. Hirschi KK, Skalak TC, Peirce SM, Little CD. Vascular assembly in natural and engineered tissue. *Ann N Y Acad Sci* 2002;961:223-242.
24. Ishaug SL, Crane GM, Miller MJ, Yasko AW, Yazemski MJ, Mikos AG. Bone formation by three-dimensional stromal osteoblast culture in biodegradable polymer scaffolds. 1997;361:17-28.
25. Yang S, Leong KF, Du Z, Chua CK. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factor. *Tissue Eng*.

- 2001;76:679-689.
26. Eiselt P, Kim BS, Chacko B, Isenberg B, Peters MC, Greene KG, Roland WD, Loeb sack AB, Burg KJ, Culberson C, Halberstadt CR, Holder WD, Mooney DJ. Development of technologies aiding large-tissue engineering. *Biotechnol Prog* 1998;141:134-140.
 27. Kellner K, Liebsch G, Klimant I, Wolfbeis OS, Blunk T, Schulz MB, Gopferich A. Determination of oxygen gradients in engineered tissue using a fluorescent sensor. *Biotechnol Bioeng* 2002;801:73-83.
 28. Folkman J, Hochberg M. Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med.* 1973;1384:745-753.
 29. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med* 1999;77:527-543.
 30. Ferrara N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis. *EXS* 2005;94:209-231.
 31. Schechner JS, Nath AK, Zheng L, Kluger MS, Hughes CC, Sierra-Honigmann MR, et al. In vivo formation of complex microvessels lined by human endothelial cells in an immunodeficient mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:9191-9196.
 32. Nor JE, Peters MC, Christensen JB, Sutorik MM, Linn S, Khan MK, et al. Engineering and characterization of functional human microvessels in immunodeficient mice. *Lab Invest* 2001;81:453-463.
 33. Peters MC, Polverini PJ, Mooney DJ. Engineering vascular networks in porous polymer matrices. *J Biomed Mater Res* 2002;60:668-678.

저작물 이용 허락서

학 과	치의학과	학 번	20077187	과 정	석사
성 명	한글: 차상훈 한문 : 車 尙 勳 영문 : Cha Sang Hoon				
주 소	광주광역시 남구 진월동 아남아파트 104동 401호				
연락처	E-MAIL : nuvellevague@naver.com				
논문제목	한글 : 비계 상에 배양된 골수기질세포에서 혈관내피세포로의 분화 시 혈관 내피 성장인자의 효과 영어 : The Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on Endothelial Cell Differentiation from Bone Marrow Stromal Cell cultured on scaffold				

본인이 저작권 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함.
다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(○) 반대()

2009년 2월 일

저작자: 차 상 훈 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하