



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 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  
석사학위 논문

생쥐 피부에서 모낭 주기에 따른  
MUDENG의 발현연구

조선대학교 대학원

의 학 과

김미성

생쥐 피부에서 모낭 주기에 따른  
MUDENG의 발현연구

The study of MUDENG expression in mouse skin hair  
follicle cycle

2009년 2월 25일

조선대학교 대학원

의 학 과

김 미 성

생쥐 피부에서 모낭 주기에 따른  
MUDENG의 발현연구

지도교수 김 태 형

이 논문을 의학 석사학위신청 논문으로 제출함

2008년 12월 1일

조선대학교 대학원

의 학 과

김 미 성

# 목차

도목차	III
ABSTRACT	1
I. 서론	2
II. 실험 재료와 방법	7
1. 조직채취	7
1) 검체	7
2) 조직 채취 및 고정, 파라핀 절편	7
2. Immunohistochemistry	7
1) 항체 및 시약	7
2) IHC 과정	7
III. 결과	11
1. Mouse 각 장기에서 MUDENG의 발현 양상	11
1) 생식기계에서 MUDENG의 발현양상	11
2) 위장관계에서 MUDENG의 발현양상	11
3) 면역계에서 MUDENG의 발현양상	12
4) 폐와 이자에서 MUDENG의 발현양상	12
5) 혈관과 피부에서 MUDENG의 발현양상	17
2. Mouse 피부에서 주령에 따른 MUDENG 발현 변화	19
1) BALB/c 피부에서 주령에 따른 MUDENG 발현 변화	19
(1) BALB/c 4주령 피부에서 MUDENG 발현	19
(2) BALB/c 8주령 피부에서 MUDENG 발현	19
(3) BALB/c 12주령 피부에서 MUDENG 발현	20
(4) BALB/c 24주령 피부에서 MUDENG 발현	20
2) Hairless mouse 피부에서 주령에 따른 MUDENG 발현 변화	23
(1) Hairless mouse 2주령 피부에서 MUDENG 발현	23

(2) Hairless mouse 3주령 피부에서 MUDENG 발현 .....	23
(3) Hairless mouse 4주령 피부에서 MUDENG 발현 .....	23
<b>IV. 고찰</b> .....	28
<b>참고문헌</b> .....	29

# 도목차

그림 1. BALB/c 생식기관에서 MUDENG의 발현.....	10
그림 2. BALB/c 위장관에서 MUDENG 발현.....	11
그림 3. BALB/c 면역계에서 MUDENG 발현.....	13
그림 4. BALB/c 폐와 이자에서 MUDENG 발현.....	14
그림 5. BALB/c 혈관과 피부에서 MUDENG 발현.....	16
그림 6. BALB/c 4주령 피부에서 MUDENG 발현.....	18
그림 7. BALB/c 8주령 피부에서 MUDENG 발현.....	19
그림 8. BALB/c 12주령 피부에서 MUDENG 발현.....	21
그림 9. BALB/c 24주령 피부에서 MUDENG 발현.....	22
그림 10. Hairless mouse에서 주령에 따른 털의 분포.....	24
그림 11. Hairless mouse 2주령 피부에서 MUDENG 발현.....	25
그림 12. Hairless mouse 3주령 피부에서 MUDENG 발현.....	26
그림 13. Hairless mouse 4주령 피부에서 MUDENG 발현.....	27

# ABSTRACT

## The study of MUDENG expression in mouse skin hair follicle cycle.

Mi Sung Kim

Advisor : Prof. Kim Tae-Hyang Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

Cell death is a key pathway to remove the damaged cells, harmful cells, and unnecessary cells. Apoptosis is a well-defined type of cell death in terms of morphological changes and associated-known factors. Mu-2 related death-inducing gene (MUDENG) was found as an effort to identify an apoptosis-inducing factor. It has been shown that ectopic expression of MUDENG induces apoptosis in various cells including Jurkat T cells. To examine the role of MUDENG, the expression patterns of MUDENG in various mouse tissues using MUDENG monoclonal antibody were investigated by immunohistochemical staining. I found that MUDENG is expressed in most of tissues including intestine, immune system, lung, testis, ovary and skin. Especially in skin, MUDENG is highly expressed in sebaceous gland, some regions in outer root sheath but little or not in other cell types of hair follicle. Outer root sheath shows the different expression patterns in the stages of hair follicle. These results suggest that MUDENG plays a role in sebaceous gland metabolism and hair follicle cycle. Altogether MUDENG may take part in developing alopecia.

# I. 서론

생명체는 발생해서 자라나고, 늙어서 죽는 삶의 주기를 갖는다. 이 주기 동안 환경과 생명체는 끊임없이 상호작용하며, 자극을 주고받는다. 생명체가 이러한 자극으로부터 자신의 특질을 유지하는 것을 항상성이라고 한다. 생명체의 항상성 유지에 다양한 기전이 작용한다. 그 중 손상된 부분이나, 불필요한 부분 혹은 유해한 부분을 제거하는 기전이 세포단위 죽음(세포사)이다.

세포사는 그것의 형태학적 분자생물학적 특성에 따라 나눌 수 있다.<sup>1)</sup> 그중 4가지가 비교적 명확히 정의되어 있다.

첫째, apoptosis 이다. Apoptosis가 일어난 세포는 둥근 모양이 되고, 위축이 사라진다. 또한, 세포와 핵의 크기가 작아지고(pyknosis), 핵이 조각난다(karyorrhexis). 그리고 소기관과 세포막은 비교적 유지되면서, 세포막 표면에 특징적인 bleb이 나타난다. 결국 세포가 조각나 apoptotic body로 나뉘며, 생체 내에서 주변의 탐식세포에 의해 제거된다.<sup>2)</sup> Apoptosis는 다세포 생물에서 발생과 형태형성(e.g. 태생기 손가락 형성에서 손가락사이 조직 소실<sup>3)</sup>), 항상성 유지(e.g. 림프구 발달 과정에서 양성□음성 선택에서 부적합한 림프구 제거<sup>4)</sup>), 유해하거나 손상된 세포 제거(e.g. 암세포나 감염된 세포제거) 기능을 수행한다.

둘째, autophagy 이다. Autophagy가 일어난 세포는 염색질의 응축이 없고, 세포질에 이중막 구조를 가진 autophagic vacuole이 다수 나타난다.<sup>5)6)</sup> 그리고 autophagy 형태로 죽은 세포는 탐식세포에 의해 탐식되지 않는다. Autophagy는 오래된 단백질과 소기관을 대량으로 제거하기 위해 정상적으로 일어나는 과정이다. Yeast의 경우 기아상태에 처하면 autophagy가 증가하여 불필요한 부분을 제거하고 필요한 부분을 보호한다. 그 외에 세포의 내부 구조 재편성에도 autophagy가 증가한다.<sup>7)</sup>

셋째, necrosis 이다. Necrosis가 일어난 세포는 세포크기가 커지고(oncosis), 소기관들이 부풀어 오르면서, 세포막이 터지면서 세포 내용물이 유출된다. 유출된 세포질은 염증세포를 끌어들여 생체내에서 염증반응이 동반된다.<sup>1)</sup> Necrosis의 대표적인 예는 ischemia - reperfusion 손상(장기의 허혈상태가 지속되었다가 다시 혈행이 공급되면서 일어나는 손상)이다. 오랫동안 necrosis는 특정한 세포 전달체계와 무관한 apoptosis 나 autophagy의 특징이 없는 세포사로 인식되었다. 그러나 근

래에 와서 특정 세포 신호전달 체계에 의해 일어나며, 에너지가 사용되는 과정이라는 연구가 발표되었다.<sup>8)9)</sup>

넷째, cornification 이다. Cornification이 일어난 세포는 세포 소구조물이 사라지고, 세포막이 변화한다. 그리고 지방이 F와 L 과립에 축적되며, 세포 밖으로 빠져나간다. Cornification은 표피에서 일어나는 특징적인 세포사로 표피세포가 각질화되는 과정이다. 이 과정에 apoptosis와 관련된 인자가 작용하는데 특히 caspase가 활성화된다.<sup>1)</sup>

이외에도 그 성상이 명확히 정립되지 않은 비정형적인 세포사들 있다.<sup>1)</sup>

Mitotic catastrophe는 세포가 mitosis 과정에서 오류를 일으키면 일어난다. 특징적으로 작은 핵이나 다중 핵이 나타나고, 죽는 양상은 apoptosis나 necrosis 어느 쪽이던 나타날 수 있다.<sup>1)</sup>

Anoikis는 세포가 주변 기질이나 세포에서 떨어져서 유발된 apoptosis를 의미한다.<sup>10)</sup> Anoikis에 작용하는 인자는 apoptosis와 유사하다.<sup>11)</sup>

Excitotoxicity는 신경세포가 흥분성 아미노산(e.g. glutamate)에 노출되어 일어난다. Glutamate는 신경세포의 N-methyl-D-aspartate Ca<sup>2+</sup>-permeable 통로를 열어 신경세포 내 Ca<sup>2+</sup> 농도를 올리고, 증가된 Ca<sup>2+</sup>는 세포사를 일으킨다.<sup>12)</sup>

Wallerian degradation은 신경세포에서 세포체를 제외한 부분이 손상되었을 때 일어나는 현상이다. 하지만 이 현상이 발생한 세포가 죽지 않으므로 정확한 의미의 세포사는 아니다.<sup>13)</sup>

Paraptosis는 초기에는 programmed cell death 중 apoptosis의 양상과 다른 세포사를 지칭하기 위해 만들어진 용어이다. 여러 가지 세포에서 insulin like growth factor receptor 1이 발현되어 촉발되며 세포질에 다수의 공포가 발생하고 mitochondria가 부풀어 오른다. Paraptosis 과정은 Caspase inhibitor와 Bcl-2-like 단백질로도 억제할 수 없다<sup>14)</sup>.

Pyroptosis와 Pyronecrosis는 탐식세포가 특정 세균(e.g. Salmonella typhimurium, Shigella flexneri etc.)에 의해 감염되어 일어난다<sup>15)16)</sup>. Pyroptosis와 Pyronecrosis의 차이는 전자는 caspase-1이 필요하고 후자는 필요 없다는 점이다.

위의 다양한 형태의 세포사는 모두 생존에 필수적이므로 과정에 이상이 있다면 질병이 발생한다. 따라서 세포사의 과정을 조절할 수 있다면 질병 치료에 획기적인 진보가 일어날 것이다. 이런 이유로 세포사에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

그중 apoptosis 과정에 대한 연구는 오래전부터 활발히 진행되어 대체적인 과정이 밝혀져 있다.

Apoptosis는 세포 내부와 외부의 여러 가지 자극에 의해 시작되지만, 세포 안에서는 공통의 경로를 거친다. Apoptosis와 관련된 인자 중에서 가장 중요한 것은 caspase (cysteine-dependent aspartate-specific proteases)로, 세포가 전형적인 apoptotic cell death 모습을 보이려면 caspase에 의해 세포가 죽어야한다.<sup>17)</sup> Caspase는 initial caspase가 executioner caspase를 순차적으로 활성화 시키는 cascade를 이루며, 일단 initial caspase가 활성화 되면 cascade를 내려간다. Initial caspase가 무엇에 의해 활성화 되느냐에 따라 extrinsic pathway와 intrinsic pathway로 나뉜다.

Extrinsic pathway는 initial caspase가 세포막 수용체인 death receptor (DR)에 의해 활성화된다. Death receptor는 tumor necrosis receptor (TNFR) 무리에 속하며, TNFR-1 과 Fas/CD95, TRAIL 수용체 DR-4 와 DR-5 가 있다<sup>18)</sup>. 각각의 수용체는 세포 밖 부분에 자신의 ligand를 인식하는 영역이 있으며 이곳에 특이적인 ligand가 부착하면 활성화 된다<sup>19)</sup>. 활성화된 DR의 세포 안 부분에 있는 death domain (DD)에 역시 DD를 가진 FADD나 TRADD 같은 연결 물질이 모여들어 death inducing signaling complex (DISC)를 형성한다. DISC형성으로 DD와 연결물질에 있는 death effector domain (DED)가 homotypic interaction을 일으키면 procaspase-8가 모여든다. Procaspase-8가 서로 가까워지면 autoproteolysis가 일어나 활성화되어 caspase-8이 된다. Caspase-8은 procaspase-3을 활성화 시키고, caspase-3은 procaspase-6과 procaspase-7을 활성화시켜 caspase cascade가 일어난다.<sup>20)</sup> 만약, DISC에서 caspase-8의 농도가 procaspase-3을 활성화시키기에 부족하다면 mitochondria를 통해 신호의 증폭이 일어난다. 이때 Caspase-8과 mitochondria를 연결시키는 물질이 Bid이다. Caspase-8은 Bid를 쪼개서 tBid로 만든다. tBid는 mitochondria로 이동하여 Bcl-2 무리 중 세포사를 일으키는 Bak 그리고 Bax 와 작용하여 cytochrome c를 세포질로 내보낸다.<sup>21)</sup> Apaf-1에 cytochrome c가 결합하면 apoptosome을 형성하고, apoptosome은 procaspase-9를 활성화한다.<sup>22)23)</sup> Caspase-9는 procaspase-3를 활성화 시키고, Caspase-3는 다음 단계의 procaspase들을 활성화 시켜 caspase cascade를 내려간다.<sup>24)25)</sup>

Intrinsic pathway에서는 initial caspase가 mitochondria에 의해 활성화 된다. 세

포 내부에서 유래한 자극은 일반적으로 mitochondria의 inner transmembrane potential ( $\Delta\psi$ )을 손상시키는데, 이로 인하여 mitochondria inner membrane의 투과성이 높아지는 현상을 permeability transition (PT)라고 한다. 이로 인해 삼투압이 발생하여 mitochondria 내부로 물이 들어온다. 결국, outer membrane이 터지고, mitochondria 내부에 있는 물질들이 세포질로 유리된다.<sup>26)27)</sup> 대표적인 물질은 cytochrome c 이고, 이외에도 apoptosis inducing factor(AIF)<sup>28)</sup>, endonuclease endoG<sup>29)</sup>, Smac/Diablo<sup>30)</sup> 그리고 Htr/Omi<sup>31)</sup> 등이 있다. 유리된 cytochrome c는 세포질에서 apoptosome을 형성한다.  $\Delta\psi$  와 PT는 그 외에도 다양한 현상을 일으키는데, mitochondria 기능 상실로 ATP 생산이 중단되고, 환원 반응이 소실되며, reactive oxygen species가 증가한다.<sup>32)33)</sup> 이 현상들 모두 세포에 유해한 자극으로 세포사 유발원인이다. 따라서  $\Delta\psi$ 와 PT 조절은 내부경로에서 매우 중요하며, 이것을 담당하는 것이 Bcl-2 무리이다.

이렇듯 apoptosis는 여러 가지 인자에 의해 엄격하게 조절되는 기전이다. 따라서 각 인자가 어떻게 조절되는지 알아낸다면 궁극적으로 apoptosis 자체를 조절할 수 있을 것이다. 세포사에 관여하는 인자 연구는 새로운 인자를 찾아내는 것에서 시작한다. 찾아내는 방법에는 여러 가지가 있는데 크게 기존에 알려진 인자를 이용하는 것과 이용하지 않는 것으로 나눌 수 있다.

기존에 알려진 인자를 이용하여 연구하는 방법으로, yeast two hybrid를 통해 기존 인자들과 상호작용하는 것을 찾거나<sup>34)</sup>, gene bank에서 기존의 인자와 유전서열 상 유사성이 있는 유전자를 찾는 방법<sup>35)</sup> 등이 있다. 기존 인자를 사용하지 않는 방법은 gain of function과 loss of function 기법이다.

Gain of function은 세포사 억제인자를 연구할 때 주로 사용된다. 실험방법은 동물세포에 cDNA 라이브러리를 transfection하여 해당 인자를 과발현 시키고, 세포사를 일으키는 자극을 준다. 이때 자극에서 살아남은 세포가 가지고 있는 cDNA는 세포사 억제인자로 선별된다. 그러나 세포사 유발인자는 다른 방법으로 찾아야한다. 그 이유는 세포사 유발인자가 과발현 되면 세포가 죽어버리기 때문이다. 따라서 세포사 유발인자 연구에는 loss of function을 이용한다. 실험은 개체의 특정 유전자를 제거 혹은 억제하여 해당 개체가 세포사 유발자극에도 살아남으면 그 유전자를 세포사 유발인자로 선별하는 방식이다. 기법으로 dsRNA interference를 이용

한 knock-down 과 homologue recombination을 이용한 knock-out이 있다. 이 중 knock-down은 knock-out에 비하여 확정적이지 않지만 시간과 돈이 적게 들어 널리 쓰인다. 물론 최근 논문 중 dsRNA interference를 이용한 knock-down이 원하는 인자 외의 인자도 억제시킨다는 결과가 있지만, 대체할 방법이 나오지 않는 이상 세포사 유발인자 연구의 주요 기법이다.<sup>36)</sup>

MUDENG은 dsRNA interference를 이용한 knock-down system을 이용하여 발견되었다. 2002년 Taira 와 Kawasaki이 randomized hybrid-ribozyme library system을 이용하여 Fas와 관련된 apoptosis를 유발하는 인자를 찾아냈다. 전체 50개의 관련된 gene 중 43개가 알지 못하는 gene 이었으며, 각 gene는 20base pair의 염기 서열이 제시되었다.<sup>37)</sup> 이를 토대로 2008년 Mi-Rha Lee 등이 염기서열을 Genbank 에서 blast 하여, RT-PCR에서 성공적으로 증폭된 7개의 유전자를 cloning 했다. Cloning된 7개의 유전자를 GFP와 동시에 HCT 116에 transfection 했고, 그중 한 유전자에서 cell death가 일어남을 확인했다. 이 유전자는 AP1 complex의  $\mu 2$  subunit에 adaptin domain과 유사한 서열을 가지고 있어서, Mu-2 related death-inducing gene (MUDENG)이라 명명했다.

2008년 Mi-Rha Lee 등이 진행한 연구에서 MUDENG은 사람, 개, 소, 생쥐, 쥐에서 높은 염기서열 일치성을 보였다. 그리고 MUDENG 단일항체를 이용한 western blot에서 대부분의 세포주에서 발현되나 그 양상이 각기 다르며, 생쥐의 조직 중 특히 소장과 고환에서 강하게 발현됨을 확인했다. 또한, MUDENG은 단독으로 Jurkat T cell과 HeLa cell에서 유의한 세포사를 일으켰다.<sup>38)</sup>

이전의 실험 결과를 토대로 MUDENG이 세포사와 관련 있으며, 특정 장기에서 중요한 기능을 할 것 이라 추정했다. 따라서 MUDENG의 장기별 발현양상을 살펴보고 특히 피부에서 hair follicle cycle에 따라 MUDENG의 발현양상이 어떻게 달라지는지 알아보려고 연구를 계획했다. 실험은 생쥐 각 조직을 채취하여 MUDENG 단일항체로 immunohistochemistry 시행하는 방법으로 이루어졌다. 결과는 MUDENG의 발현 양상이 장기별로 특히 피부에서는 hair follicle stage에 따라 어떻게 달라지는 지 현미경으로 확인했다.

## II. 실험 재료와 방법

### 1. 조직 채취

#### 1) 검체

실험에 사용한 mouse중 BALB/c 종은 샘타코 바이오 코리아에서 구매하여 사용하였으며, 7주령 이상의 검체는 실험에 사용할 주령까지 조선대학교 동물실험실에서 키워서 실험에 사용했다. Hairless mouse는 최후균 교수님의(조선대학교 약대 약리학) 도움으로 조선대학교 동물실험실에서 키우는 개체를 분양받았다.

#### 2)조직 채취 및 고정, 파라핀 절편

채취된 조직은 embedding cassette에 label과 같이 넣어 10% Formaldehyde 용액에(JUSEI,500-00-01) 1주일간 고정시켰다. 고정된 검체는 파라핀 포매(탈수-투명-침투-포매-삭정-박절)를 거쳐 블록을 만들었다. 파라핀 절편은 X-tra slide glass (Surgipath, Winnipeg, Manitoba)위에 만들었다.

## 2. Immunohistochemistry

#### 1)항체 및 시약

IHC에 사용된 항체는 MUDENG의 중간부분을 인지하는 MUDENG 단일항체 M3H9를 사용했다. 상기 항체는 오재욱 교수님에게(조선대학교 의대 해부학) 제공받아 사용했다. IHC에 사용한 시약은 Cap-Plus detection kit을(Invitrogen-Zymed laboratories) 사용했다.

#### 2) IHC 과정

IHC는 가장 먼저 파라핀 절편을 xylene에 평균 3분×3회 담가 파라핀을 제거한다. 그 후 ethanol 100%에서 70%까지 순차적으로 담가 조직에 수분을 공급한 후 증류수에 씻는다. 이 후 항원성 회복을 위해 10 mM citrate buffer (citric acid : sodium citrate = 9 : 41, pH 6.0)에 121℃에서 10분간 처리한다. 그러나 skin의 경우 이 과정을 거치면서 절편이 손상되고, 생략하고 IHC를 진행하여도 과정을 거친 절편과 결과에 차이가 없으므로 생략했다. Citrate 처리가 끝나면 상온에서 식혀,

TBS(Tris buffered saline without phenol red, pH 7.4)에 3분간 씻는다. 이 후 절편에 물기를 제거하고, 차후에 사용할 시약이 흐르는 것을 막기 위해 파라핀 펜(Zymed)으로 조직을 표시한다. 이 후 조직 자체의 peroxidase를 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 5분~15분 처리하여 제거한다. 위 절편을 TBS로 3분 × 3회 씻고, 비특이적인 항원 항체 반응을 막기 위해 Cap-Plus detection kit에 포함된 blocking agent로 10분간 처리한다. 절편의 용액을 제거하고 세척 없이 일차항체(MUDENG monoclonal antibody)를 검체의 종류에 따라 희석하여(M3H9; 1:50~1:100, N13; 1:10~1:30) 4℃에서 밤새 반응시킨다. 일차항체를 TBS로 5분×3회 씻어내고, 이차항체(biotinylated secondary antibody)를 실온에서 15분간 반응시킨다. 이차항체를 TBS로 3분×3회 씻어내고, 삼차항체(streptavidin-HRP-conjugated tertiary antibody)를 실온에서 10분간 반응시킨다. 다시 TBS로 3분×3회 씻어내고, 발색제(AEC)를 실온에서 처리하여 각 절편의 발색의 정도에 따라 반응 시간을 결정한다. 반응을 마친 절편은 TBS로 3분간 씻고, hematoxylin으로 10초간 대조염색을 한 후 흐르는 물에서 염색액을 씻어낸다. 절편에 물기를 제거한 후 mounting하여 상온에서 30분간 말린 후 현미경으로 조직 상태 및 염색 상태를 확인한다. 그 후, 절편을 광학현미경(Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰했다.

### III. 결과

#### 1. Mouse 각 장기에서 MUDENG의 발현 양상

BALB/c의 각 장기에서 IHC를 통해 MUDENG의 발현양상을 확인했다. 각 장기 중 특히 흥미로운 장기를 범주별로 모았다.

##### 1) 생식기계에서 MUDENG의 발현양상

수컷의 testis 조직에서 MUDENG은 생식세포에서 주로 발현된다(그림1.a). 수컷 생식세포는 빠르게 증식하는 세포이다. 암컷의 난소 조직은 종의 특성상 여러 주기의 난포가 보이는데, MUDENG은 각 follicle의 주기와 무관하게 follicular cell 에서 강하게 발현한다(그림1.b). Uterine tube 에서는 MUDENG이 점막상피에서 강하게 발현되며(그림1.c), Uterus 에서는 endometrium에서 강하게 발현된다(그림1.d). 암컷 생식기계에서 MUDENG을 발현하는 세포는 월경주기에 따라 쇠퇴와 증식이 반복되는 곳이다. Mouse 생식기계에서 MUDENG을 발현하는 부위는 세포주기가 빠른 곳이다.

##### 2) 위장관계에서 MUDENG의 발현양상

Stomach에서 MUDENG은 parietal cell 을 제외한 mucosa에서 발현되고 있다(그림2.a). Duodenum 에서는 MUDENG이 mucosa에서 고르게 발현되고 있으며, lamina propria mucosae (mucosa 와 lamina muscularis mucosae 사이 성긴 조직)의 일부 세포에서 MUDENG이 발현된다(그림2.b). Small intestine 과 large intestine 또한 MUDENG의 발현양상이 duodenum 과 일치한다(그림2.c, d). 위장관계에서 MUDENG의 발현양상을 분석해보면, 특정 세포(parietal cell)를 제외하고 세포 주기가 빠른 mucosa에서 흔하게 분포한다. 그리고 duodenum 이후의 lamina propria mucosae에서 MUDENG을 발현하는 세포가 있다.

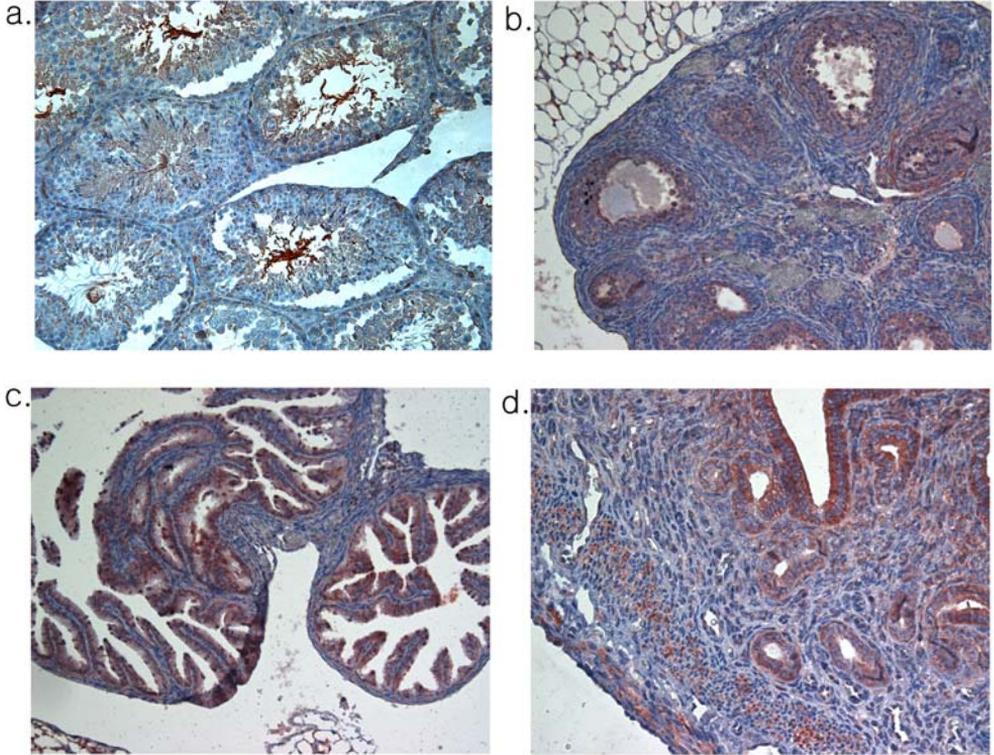


그림 1. BALB/c 생식기관에서 MUDENG의 발현.

검체를 포르말린 10%에 7일간 고정 시킨 후 파라핀 블록을 만들었다. 블록을 5 $\mu$ M 두께의 절편으로 만들어, citrate처리를 동반한 IHC를 수행했다. 발색반응 후 mounting 하여 200배에서 촬영했다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. 수컷 16주령 고환. b. 암컷 4주령 난소. c. 암컷 4주령 자궁관. d. 암컷 4주령 자궁.

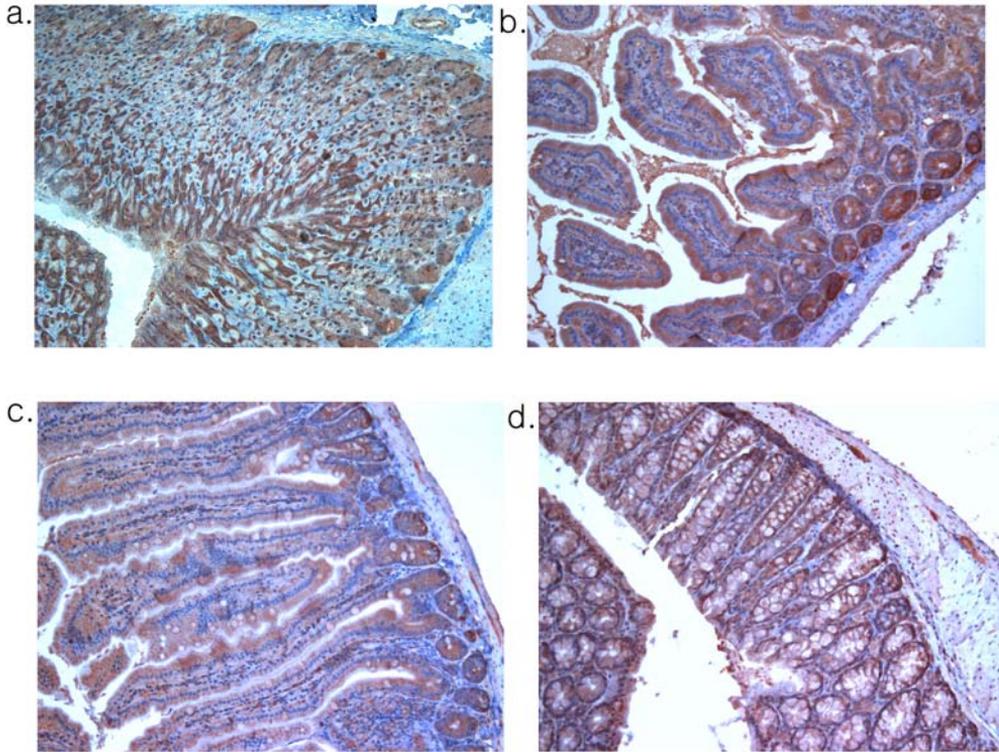


그림 2. BALB/c 위장관에서 MUDENG 발현.

실험은 그림 1과 같은 방법으로 수행되었으며, IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

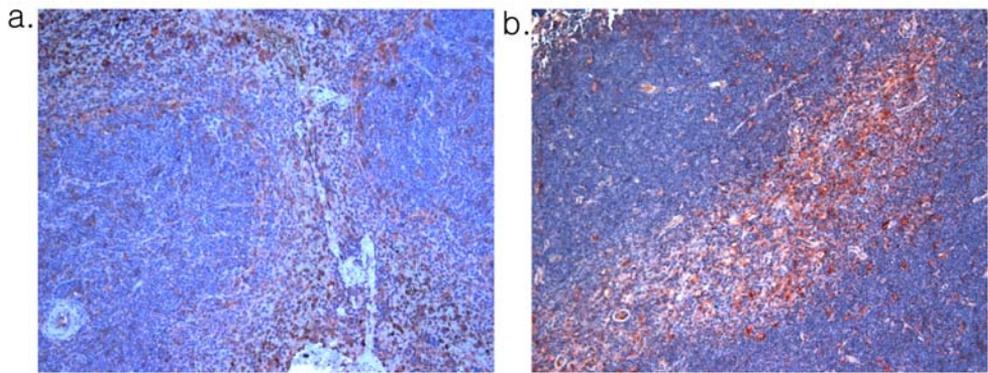
a. 수컷 16주령 위. b. 수컷 16주령 샘플자. c. 수컷 16주령 작은창자. d. 수컷 16주령 큰창자.

### 3) 면역계에서 MUDENG의 발현양상

Spleen 에서 red pulp 과 marginal zone (white pulp 와 red pulp 경계부위)에서 MUDENG을 발현하는 세포가 다수 분포한다(그림3.a). Thymus 에서는 corticomeullary junction (cortex 와 medulla 경계부위)에 위치한 혈관 주변에 MUDENG을 발현하는 세포가 다수 분포한다(그림3.b). Spleen과 thymus에서 MUDENG을 발현하는 세포의 분포양상이 macrophages와 일치한다. 그런데 이전 실험 결과 중 lymphocyte에서 기원한 세포주(Jurkat cell, BJAB cell)에서 western bolt 상 MUDENG이 강하게 발현되었던 것과 달리, spleen 과 thymus 모두 lymphocyte에서 MUDENG이 발현 되지 않고 있다.

### 4) 폐와 이자에서 MUDENG의 발현양상

Lung에서 MUDENG은 기관지 나무를 덮고 있는 epithelium에서 고르게 발현된다. 하지만 alveolus에서는 대부분을 차지하는 type I pneumocyte에서는 MUDENG을 발현하지 않고, 그 외의 세포에서 발현한다(그림4.a). Alveolus 상부 (terminal bronchiole 까지)의 epithelium은 외부로부터 유입된 자극에 방어역할을 하므로 세포주기가 빠른 곳이다. 이에 비하여 alveolus의 type I pneumocyte는 가스 교환이 주요작용으로 비교적 세포주기가 안정된 곳이다. Alveolus에 분포하는 MUDENG을 발현하는 세포는 분포양상으로 보아 type II pneumocyte이거나 alveolar macrophages일 것이다. Pancreas 에서는 Langerhans island 에서 MUDENG이 약하게 발현되고 있다. Langerhans island 는 A( $\alpha$ , glucagon 분비), B( $\beta$ , insulin 분비), C(clear), D( $\delta$ , somatostatin 분비) 세포가 존재하는데 각 세포 사이에 차이는 보이지 않는다(그림4.b).



**그림 3. BALB/c 면역계에서 MUDENG 발현.**

실험은 그림 1과 같은 방법으로 수행되었으며, IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. 수컷 16주령 지라. b. 암컷 4주령 가슴샘.

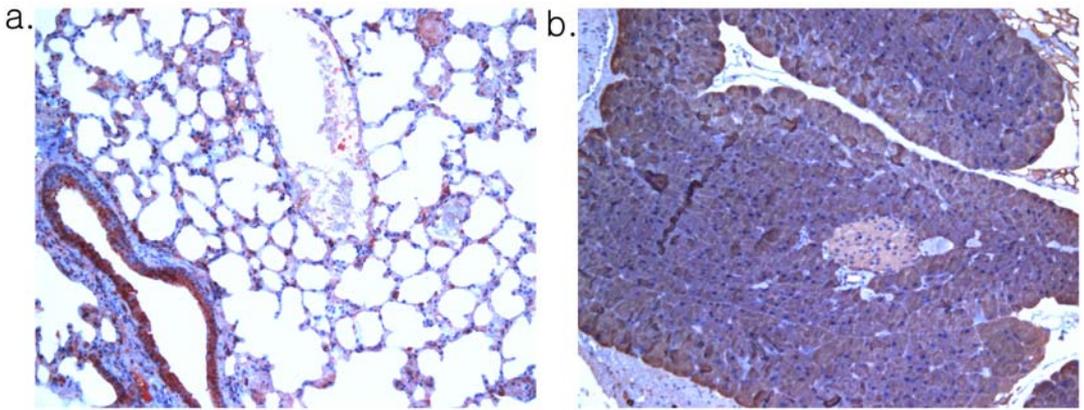


그림 4. BALB/c 폐와 이자에서 MUDENG 발현.

실험은 그림 1과 같은 방법으로 수행되었으며, IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. 암컷 4주령 폐. b. 암컷 4주령 이자.

## 5) 혈관과 피부에서 MUDENG의 발현양상

Blood vessel의 endothelium에서 MUDENG이 발현한다(그림4.a). Endothelium은 세포주기가 빠르며 그 외에도 혈액응고인자 생산 혈관 재구성 등 다양한 기능을 담당한다. Mouse 피부에서 MUDENG은 sebaceous gland와 hair follicle의 outer root sheath 하부에서 강하게 발현된다(그림4.b). 특히, sebaceous gland는 하부에서 MUDENG을 강하게 발현하고, 상부로 갈수록 약하게 발현한다. Sebaceous gland는 holocrine gland로 성숙하면서 핵이 위축되고 결국 세포가 터져서 sebum을 만든다. 그리고 hair follicle의 outer root sheath 하부는 hair follicle cycle에 따라 쇠퇴와 증식을 반복하는 부위이다. Mouse 피부에서도 MUDENG의 발현이 세포주기가 빠른 부분에서 두드러진다.

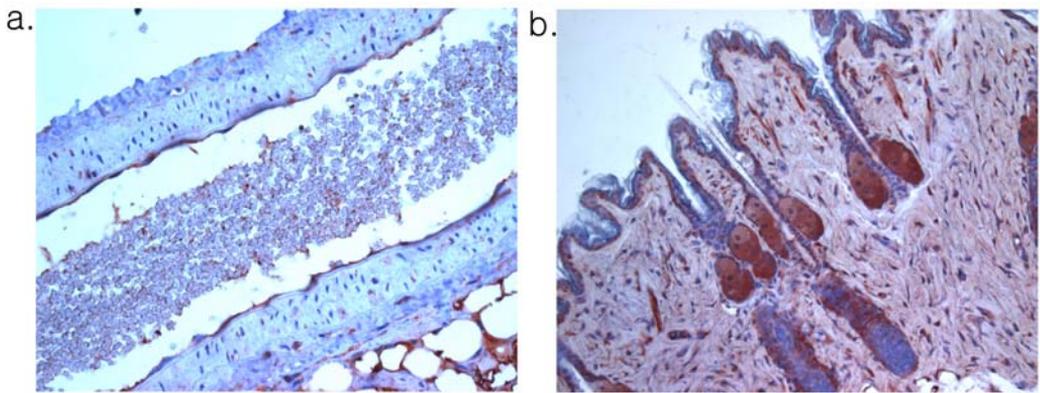


그림 5. BALB/c 혈관과 피부에서 MUDENG 발현.

혈관은 그림 1과 같은 방법으로 수행되었으나 피부는 IHC 과정 중 citrate처리 과정이 생략되었다. a. 수컷 16주령 혈관. b. 수컷 16주령 피부

## 2. Mouse 피부에서 주령에 따른 MUDENG 발현 변화

### 1) BALB/c 피부에서 주령에 따른 MUDENG 발현 변화

Hair follicle은 세포가 증식하는 anagen, 쇠퇴과정인 catagen, 쇠퇴 후 휴지기인 telogen의 주기를 갖는다. 이 주기 동안 hair follicle은 기모근이 붙은 부위를 중심으로 상부는 주기에 관계없이 유지되고, 하부는 주기에 따라 증식(anagen)과 쇠퇴(catagen)를 반복한다.<sup>39)</sup> 이를 토대로 outer root sheath에서 MUDENG의 발현이 주기에 따라 변할 것이라 예상했다. BALB/c mouse는 배쪽 중앙 피부의 hair follicle cycle이 4주령에는 anagen, 8주에는 telogen, 12주에는 다시 anagen, 그 이후에는 anagen과 telogen이 섞여서 나타난다.<sup>40)</sup> 이를 바탕으로 BALB/c 피부에서 4주령, 8주령, 12주령과 24주령에서 주령에 따른 MUDENG의 발현을 확인했다. 그 결과 anagen인 4주와 8주에서 outer root sheath에서 MUDENG이 telogen에 비하여 약하게 발현되고 있다. 24주령에는 hair follicle의 형태상 telogen은 아니었으나, anagen중기 이후부터 catagen 중기까지 형태가 거의 유사 하므로 주기 구분은 할 수 없다. 그러나 outer root sheath에서 MUDENG이 강하게 발현하는 것으로 보아 catagen이라 추정된다. 그리고 sebaceous gland에서 MUDENG의 발현은 주기와 관계없이 강하게 유지된다.

#### (1) BALB/c 4주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle 주기 상 anagen으로 기모근 이하 부위에서 세포가 활발히 증식하는 시기이다. 전체적으로 기모근 이하 부위의 구조가 유지되고 있다(그림6.a, b). Hair follicle의 outer root sheath에서 MUDENG이 약하게 발현된다(그림6.a). sebaceous gland에서 MUDENG이 강하게 발현된다(그림6.b).

#### (2) BALB/c 8주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle 주기 상 telogen으로 catagen에서 쇠퇴한 기모근 이하 부위가 휴지 상태에 있는 시기이다. 전체적으로 기모근 이하 부위 구조는 소실되어있다(그림7.a, b). Hair follicle의 outer root sheath에서 MUDENG이 강하게 발현된다(그림7.b). 4주령과 마찬가지로 sebaceous gland에서 MUDENG이 강하게 발현된다(그림7.a).

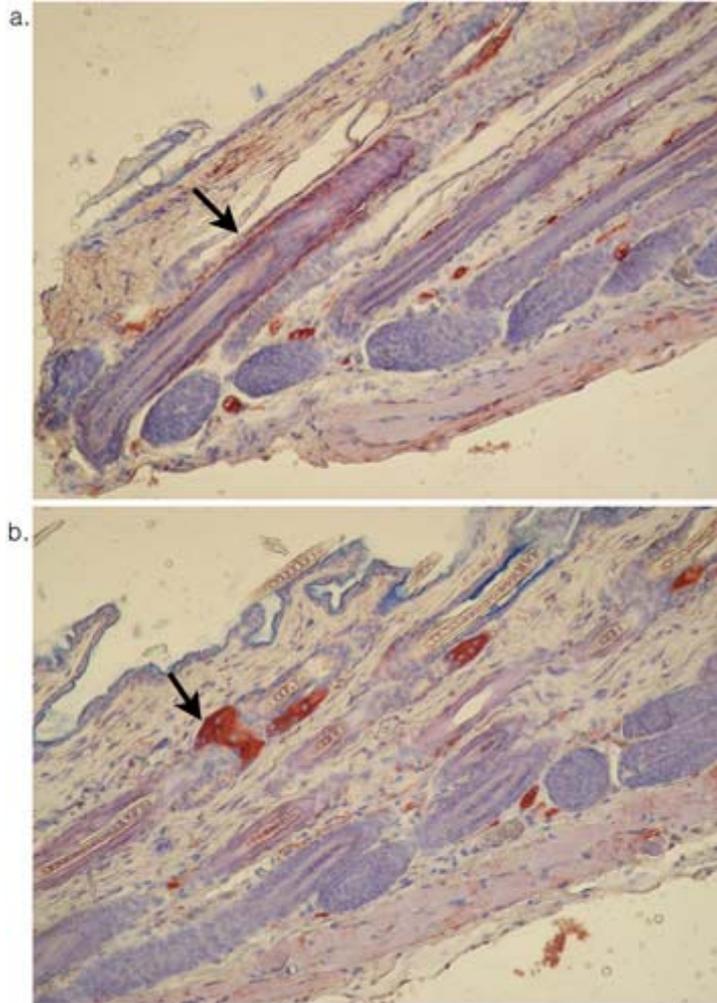


그림 6. BALB/c 4주령 피부에서 MUDENG 발현. BALB/c 4주령에서 복부 중앙 피부를 채취했다. 이 후 실험은 그림 1에서 사용한 방법과 같으나, IHC과정 중 citrate 처리를 생략했다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. hair follicle의 outer root sheath. b. sebaceous gland

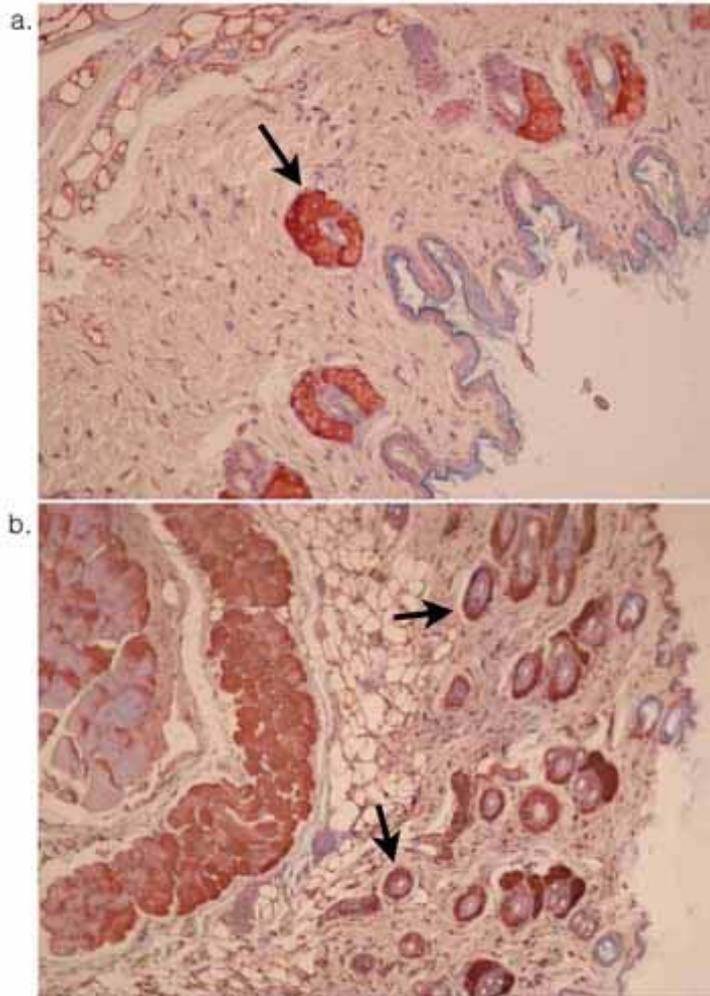


그림 7. BALB/c 8주령 피부에서 MUDENG 발현.  
 실험은 그림 5에서 사용한 방법과 같다. IHC에 사용된  
 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.  
 a. sebaceous gland. b. hair follicle의 outer root  
 sheath

### (3) BALB/c 12주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle 주기 상 anagen으로 hair follicle에서 주기에 따라 변화하는 부분도 유지되고 있다(그림8.a, b). 4주령과 같이 Hair follicle의 outer root sheath에서 MUDENG이 약하게 발현된다(그림8.b). 이전 주령과 같이 sebaceous gland에서 MUDENG이 강하게 발현된다.

### (4) BALB/c 24주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle 주기가 섞여있으나 단면이므로 hair follicle별 주기 구분은 힘들다. 그러나 hair follicle의 outer root sheath에서 MUDENG이 강하게 발현되는 것으로 미루어 anagen은 아닌 것으로 추정된다. sebaceous gland에서 MUDENG이 발현은 강하게 유지된다.

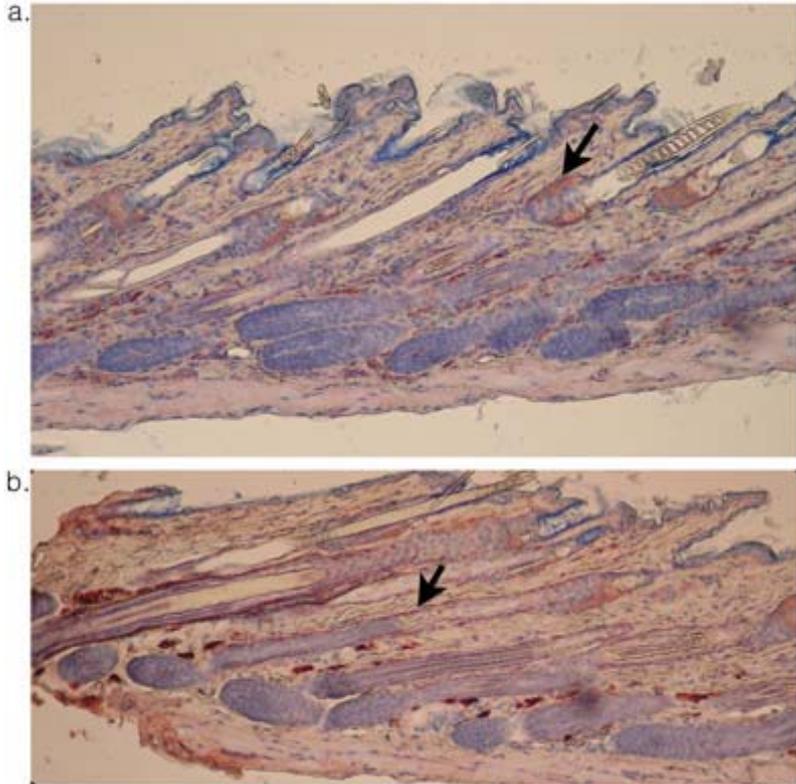


그림 8. BALB/c 12주령 피부에서 MUDENG 발현.

실험은 그림 5에서 사용한 방법과 같다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. sebaceous gland. b. hair follicle의 outer root sheath

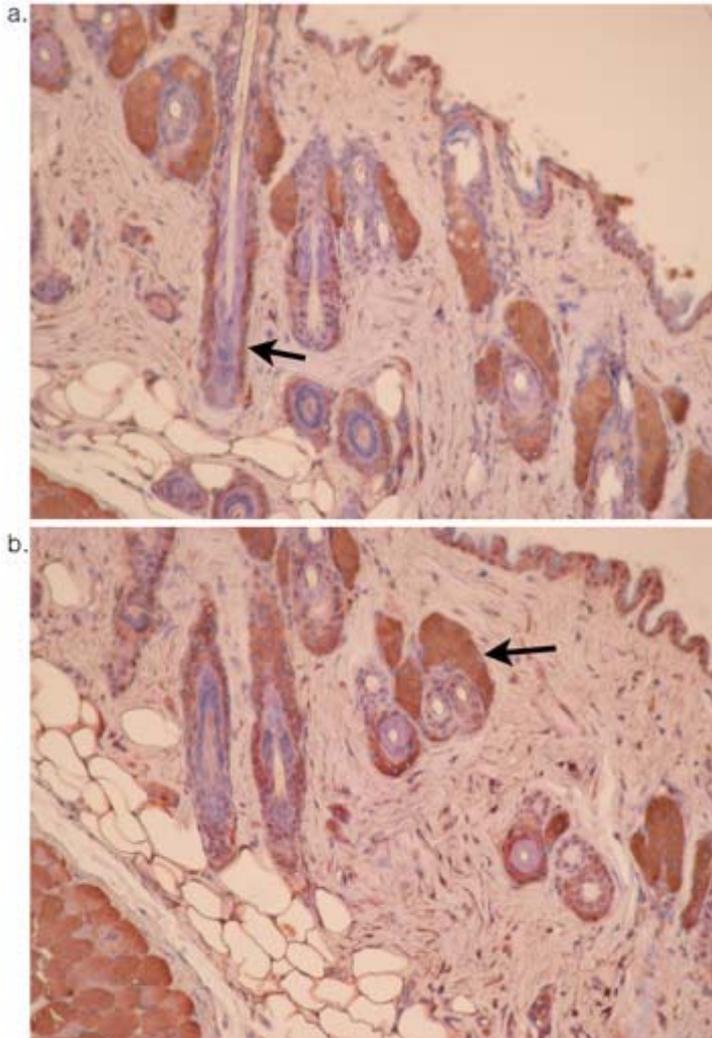


그림 9. BALB/c 24주령 피부에서 MUDENG 발현.  
실험은 그림 5에서 사용한 방법과 같다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.  
a. hair follicle의 outer root sheath b. sebaceous gland

## 2) Hairless mouse 피부에서 주령에 따른 MUDENG 발현 변화

Hairless mouse는 2주령부터 머리에서부터 탈모되지 시작한다(그림 10.a). 3주령이 되면 탈모가 진행되어 등 절반까지 탈모된다(그림 10.b). 4주령에는 전신의 털이 모두 사라진다(그림 10.c). Hairless mouse에서 2주령, 3주령, 4주령 털의 유무에 따른 MUDENG의 발현을 확인했다. 그 결과 outer root sheath에서 MUDENG의 발현은 주령과 관계없이 일정한 양상을 보였다. 특히, BALB/c의 telogen시기와 유사한 hair follicle 형상을 보이는 3주령과 4주령에도 별다른 변화가 없었다. Sebaceous gland는 BALB/c에서와 동일하게 주령과 관계없이 MUDENG을 강하게 발현했다.

### (1) Hairless mouse 2주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle는 유지되어있고, outer root sheath에서 MUDENG이 약하게 발현된다. 그리고 sebaceous gland에서 MUDENG의 발현은 강하게 유지된다. BALB/c에서 결과를 참조할 때 anagen으로 추정된다.

### (2) Hairless mouse 3주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle의 기모근 아래 부분이 소실되어있다. Outer root sheath에서 MUDENG이 약하게 발현되고 있으나, sebaceous gland에서 MUDENG의 발현은 강하게 유지된다. BALB/c에서 결과와 다른 양상으로, BALB/c의 telogen과 hairless의 탈모에서 MUDENG의 역할이 달라서 일어난 현상으로 보인다.

### (3) Hairless mouse 4주령 피부에서 MUDENG 발현

Hair follicle 수가 감소되어 있으며, 기모근 아래 부분이 소실되어있다. Outer root sheath에서 MUDENG이 약하게 발현되고 있으나, sebaceous gland에서 MUDENG의 발현은 강하게 유지된다. BALB/c에서 결과와는 다르나 hairless mouse의 3주령과 같은 양상이다.

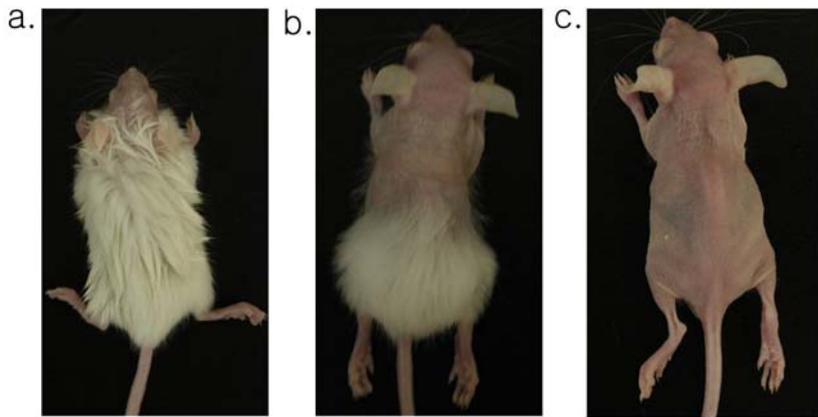


그림 10. Hairless mouse에서 주령에 따른 털의 분포.

a. 2주령. b. 3주령. c. 4주령.

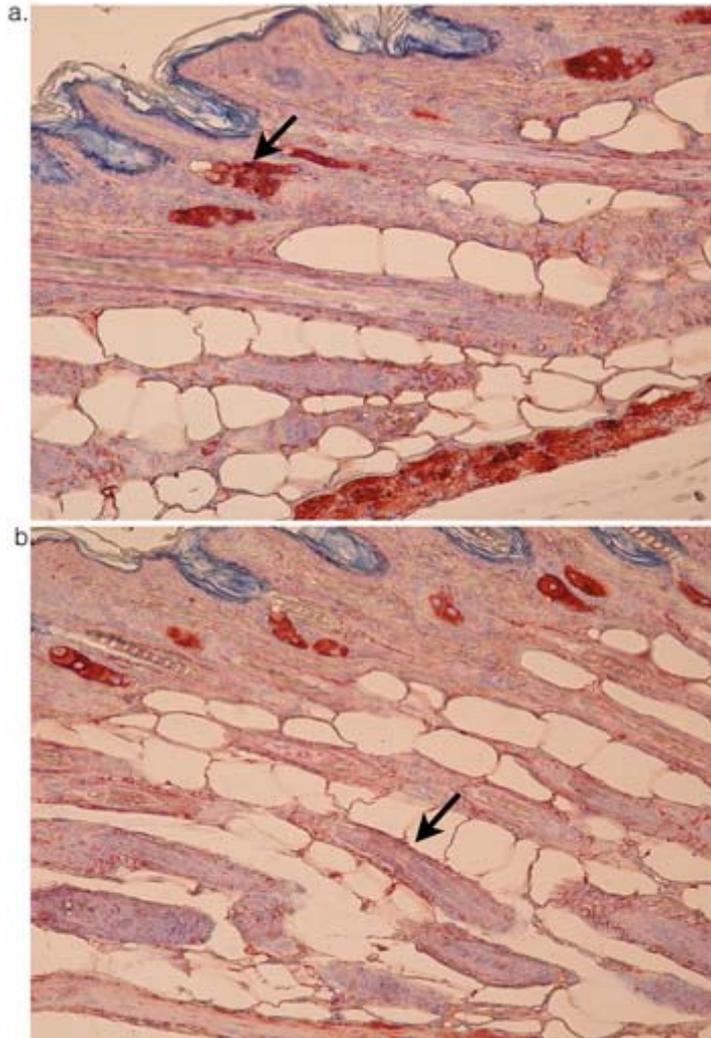


그림 11. Hairless mouse 2주령 피부에서 MUDENG 발현.

실험은 그림 5에서 사용한 방법과 같다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. sebaceous gland. b. hair follicle의 outer root sheath

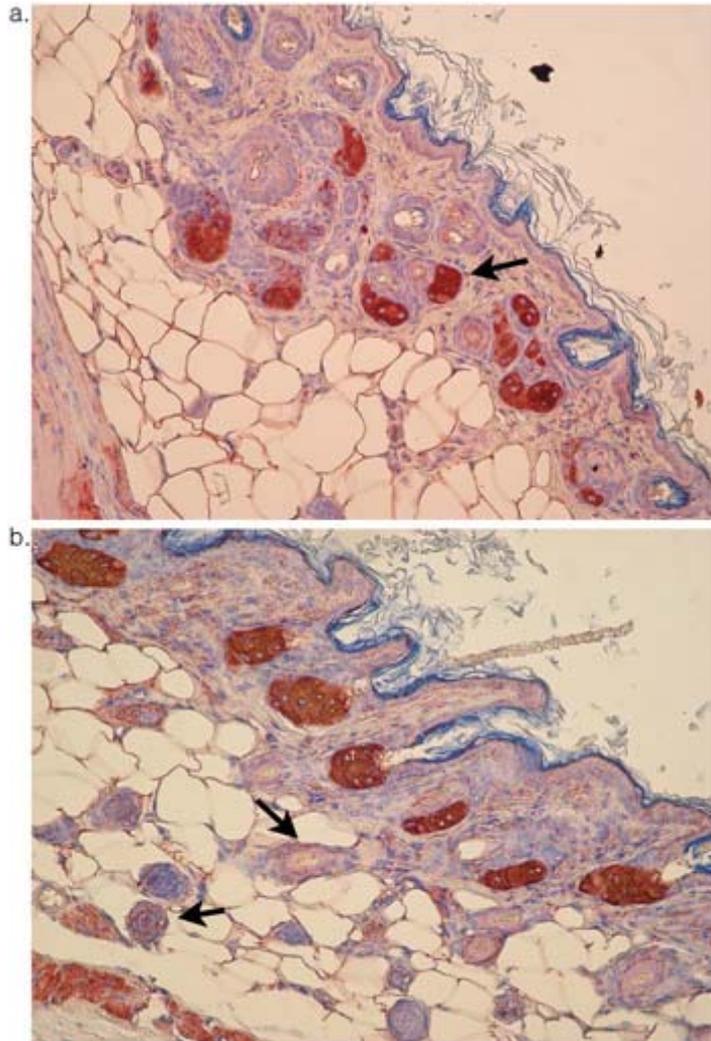


그림 12. Hairless mouse 3주령 피부에서 MUDENG 발현.

실험은 그림 5에서 사용한 방법과 같다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. sebaceous gland. b. hair follicle의 outer root sheath

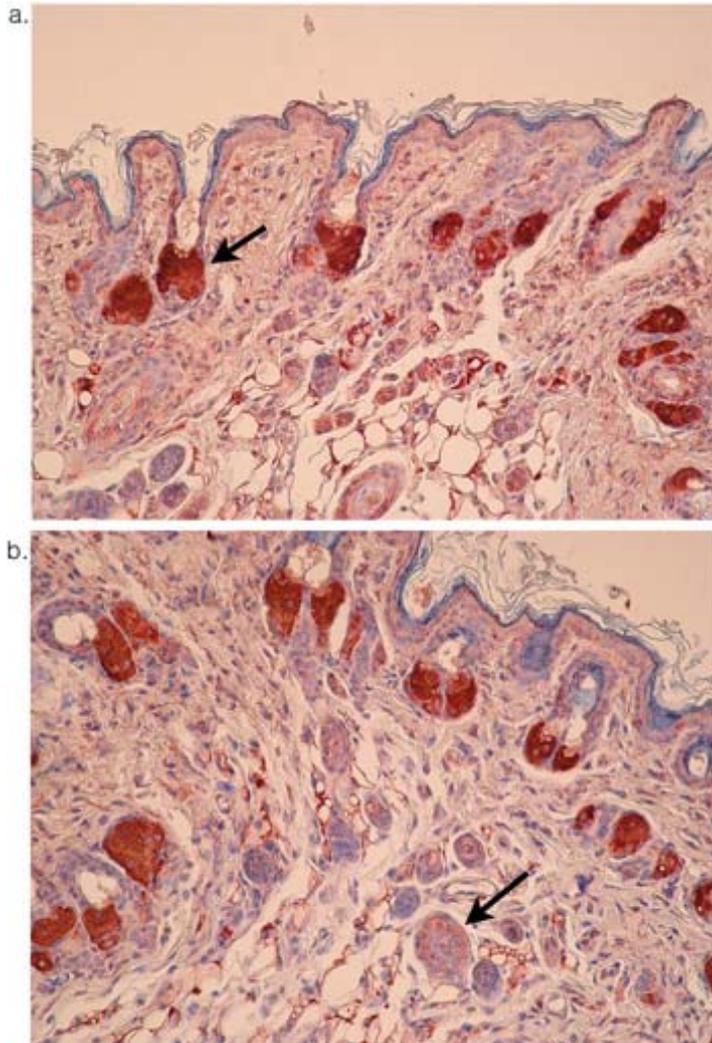


그림 13. Hairless mouse 4주령 피부에서 MUDENG 발현.

실험은 그림 5에서 사용한 방법과 같다. IHC에 사용된 MUDENG 단일항체는 M3H9이다.

a. sebaceous gland. b. hair follicle의 outer root sheath

### III. 고찰

MUDENG은 각 장기에서 ectoderm에서 기원한 세포 중 분비기능을 가진 것에서 강하게 발현된다. 이들은 보통 세포주기가 활발한 세포로 MUDENG의 발현이 세포주기에 의한 것일 수도 있고, 같은 기원에서 유래했기 때문일 수도 있다. 따라서 이 둘을 감별하기 위해 배아에서 MUDENG이 어떻게 발현되는지 확인해야 한다.

피부에서 outer root sheath의 기모근 아래 부위에서 MUDENG의 발현이 BALB/c의 anagen과 telogen에 따라 다른 양상을 보이며 이러한 차이가 hairless mouse에서는 소실되어 있다. 그런데 hair follicle 주기에서 anagen과 telogen의 이행기인 catagen에서 세포사가 일어난다.<sup>41)</sup> 그리고 hairless mouse에서는 정상적인 hair follicle cycle이 아니라 영구적인 탈모를 보인다. 이러한 결과로 보아 MUDENG이 hair follicle의 생활사와 관계있을 것이다. 하지만 보다 명백한 결과를 위해서는 hair follicle cycle을 좀 더 세분화 하여 정확히 어떤 시기에 발현되며 정확히 어떤 세포에서 발현하는 지 확인해야 하고, 좀 더 명백한 alopecia model을 가지고 alopecia 진행에 따라 MUDENG이 어떻게 변화하는지 확인해야 한다.

피부의 sebaceous gland에서는 hair follicle cycle 과 관계없이 강하게 발현되고, 성숙할수록 MUDENG의 발현이 감소한다. Sebaceous gland는 holocrine gland로 세포가 죽어 sebum을 분비하는데, 이 과정과 MUDENG이 관계있을 수 있다. 그러나 확실한 결과를 위해서 sebocyte와 MUDENG의 관계에 대한 추가 연구가 필요하다.

그리고 위장관이나 면역계 혹은 폐포 등의 장기는 특정 세포에서 MUDENG을 발현하고 있다. 이러한 장기에서 세포 특이적 표지자를 이용하여 MUDENG이 정확히 어떤 세포에서 발현되는지 확인한다면 MUDENG의 세포 안에서 기능을 이해하는데 도움이 될 것이다.

## 참고문헌

1. Kroemer, G., et al., *Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009*. Cell Death Differ, 2008.
2. Kerr, J.F., A.H. Wyllie, and A.R. Currie, *Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics*. Br J Cancer, 1972. **26**(4): p. 239–57.
3. Rathmell, J.C. and C.B. Thompson, *Pathways of apoptosis in lymphocyte development, homeostasis, and disease*. Cell, 2002. **109 Suppl**: p. S97–107.
4. Zuzarte-Luis, V. and J.M. Hurle, *Programmed cell death in the developing limb*. Int J Dev Biol, 2002. **46**(7): p. 871–6.
5. Baehrecke, E.H., *Autophagy: dual roles in life and death?* Nat Rev Mol Cell Biol, 2005. **6**(6): p. 505–10.
6. Clarke, P.G., *Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms*. Anat Embryol (Berl), 1990. **181**(3): p. 195–213.
7. Yorimitsu, T. and D.J. Klionsky, *Autophagy: molecular machinery for self-eating*. Cell Death Differ, 2005. **12 Suppl 2**: p. 1542–52.
8. Golstein, P. and G. Kroemer, *Cell death by necrosis: towards a molecular definition*. Trends Biochem Sci, 2007. **32**(1): p. 37–43.
9. Festjens, N., T. Vanden Berghe, and P. Vandenabeele, *Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise: signalling cascades, important mediators and concomitant immune response*. Biochim Biophys Acta, 2006. **1757**(9–10): p. 1371–87.
10. Gilmore, A.P., *Anoikis*. Cell Death Differ, 2005. **12 Suppl 2**: p. 1473–7.
11. Grossmann, J., *Molecular mechanisms of "detachment-induced apoptosis—Anoikis"*. Apoptosis, 2002. **7**(3): p. 247–60.
12. Orrenius, S., B. Zhivotovsky, and P. Nicotera, *Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003. **4**(7): p. 552–65.
13. Raff, M.C., A.V. Whitmore, and J.T. Finn, *Axonal self-destruction and neurodegeneration*. Science, 2002. **296**(5569): p. 868–71.
14. Sperandio, S., I. de Belle, and D.E. Bredesen, *An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(26): p. 14376–81.
15. Brennan, M.A. and B.T. Cookson, *Salmonella induces macrophage death by caspase-1-dependent necrosis*. Mol Microbiol, 2000. **38**(1): p. 31–40.
16. Willingham, S.B., et al., *Microbial pathogen-induced necrotic cell death mediated by the inflammasome components CIAS1/cryopyrin/NLRP3 and ASC*. Cell Host Microbe, 2007. **2**(3): p. 147–59.

17. Leist, M. and M. Jaattela, *Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001. **2**(8): p. 589–98.
18. Ashkenazi, A., *Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily*. Nat Rev Cancer, 2002. **2**(6): p. 420–30.
19. Naismith, J.H. and S.R. Sprang, *Modularity in the TNF-receptor family*. Trends Biochem Sci, 1998. **23**(2): p. 74–9.
20. Scaffidi, C., et al., *Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways*. EMBO J, 1998. **17**(6): p. 1675–87.
21. Luo, X., et al., *Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors*. Cell, 1998. **94**(4): p. 481–90.
22. Acehan, D., et al., *Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation*. Mol Cell, 2002. **9**(2): p. 423–32.
23. Salvesen, G.S. and M. Renatus, *Apoptosome: the seven-spoked death machine*. Dev Cell, 2002. **2**(3): p. 256–7.
24. Slee, E.A., et al., *Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner*. J Cell Biol, 1999. **144**(2): p. 281–92.
25. Denault, J.B. and G.S. Salvesen, *Caspases: keys in the ignition of cell death*. Chem Rev, 2002. **102**(12): p. 4489–500.
26. Bernardi, P., et al., *Mitochondria and cell death. Mechanistic aspects and methodological issues*. Eur J Biochem, 1999. **264**(3): p. 687–701.
27. Loeffler, M. and G. Kroemer, *The mitochondrion in cell death control: certainties and incognita*. Exp Cell Res, 2000. **256**(1): p. 19–26.
28. Susin, S.A., et al., *Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor*. Nature, 1999. **397**(6718): p. 441–6.
29. Li, L.Y., X. Luo, and X. Wang, *Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria*. Nature, 2001. **412**(6842): p. 95–9.
30. Verhagen, A.M., et al., *Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins*. Cell, 2000. **102**(1): p. 43–53.
31. Verhagen, A.M., et al., *HtrA2 promotes cell death through its serine protease activity and its ability to antagonize inhibitor of apoptosis proteins*. J Biol Chem, 2002. **277**(1): p. 445–54.
32. Kroemer, G., N. Zamzami, and S.A. Susin, *Mitochondrial control of apoptosis*. Immunol Today, 1997. **18**(1): p. 44–51.
33. Hsu, H., J. Xiong, and D.V. Goeddel, *The TNF receptor 1-associated*

- protein TRADD signals cell death and NF- $\kappa$ B activation.* Cell, 1995. **81**(4): p. 495-504.
34. Wiley, S.R., et al., *Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis.* Immunity, 1995. **3**(6): p. 673-82.
  35. Cullen, B.R., *Induction of stable RNA interference in mammalian cells.* Gene Ther, 2006. **13**(6): p. 503-8.
  36. Kawasaki, H. and K. Taira, *A functional gene discovery in the Fas-mediated pathway to apoptosis by analysis of transiently expressed randomized hybrid-ribozyme libraries.* Nucleic Acids Res, 2002. **30**(16): p. 3609-14.
  37. Lee, M.R., et al., *A novel protein, MUDENG, induces cell death in cytotoxic T cells.* Biochem Biophys Res Commun, 2008. **370**(3): p. 504-8.
  38. Stenn, K.S. and R. Paus, *Controls of hair follicle cycling.* Physiol Rev, 2001. **81**(1): p. 449-494.
  39. Tokura, Y., et al., *Spontaneous hair follicle cycling may influence the development of murine contact photosensitivity by modulating keratinocyte cytokine production.* Cell Immunol, 1997. **178**(2): p. 172-9.
  40. Lindner, G., et al., *Analysis of apoptosis during hair follicle regression (catagen).* Am J Pathol, 1997. **151**(6): p. 1601-17.
  41. Edeling, M.A., C. Smith, and D. Owen, *Life of a clathrin coat: insights from clathrin and AP structures.* Nat Rev Mol Cell Biol, 2006. **7**(1): p. 32-44.

## 감사의 글

석사 2년을 마치면서 고마운 분들이 너무 많습니다. 부족한 저를 끝까지 이끌어주신 김태형 교수님. 힘들 때 많은 조언해주셨던 차종희 교수님, 작은 질문에도 자상하게 설명해주셨던 박재운 교수님. 그리고 제 선택을 믿어 주신 이병래 교수님. 정말 감사드립니다. 인사드리면 항상 반갑게 맞아 주셨던 오재욱 교수님. 그리고 실험뿐만 아니라 인생을 어떻게 살아야하는지 몸소 보여주셨던 문애란 박사님. 지금은 멀리 떠나있지만 항상 성실하고 차분한 모습으로 귀감이 되었던 선영이. 실험하는데 여러 가지 도움을 주셨던 미라언니(득남을 축하드려요.) 이런 저런 실험의 방법을 알려주셨던 Sujana Piya님(결혼축하드려요). 역시 멀리 떨어져 계시지만 열심히 사시는 모습이 멋있으셨던 영원한 우리의 만언니 진나언니(득녀를 축하드려요.) 그리고 모자란 저에게 관심 가져주셨던 선배님들과 후배님들 감사합니다. 항상 곁에 있어주었던 가족들 고마워요. 그 외에 관심 가져주셨던 많은 분들께 감사드립니다. 이번 한 해는 기쁜 소식이 많은 한 해였습니다. 하지만 그와 더불어 그리운 사람들이 많은 한 해이기도 했습니다. 다음 한 해도 기쁜 소식이 많은 한 해이길 바랍니다.

# 저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학 번	20077141	과 정	석사
성 명	한글: 김미성	한문: 金美成	영문: Mi-Sung, Kim		
주 소	광주광역시 동구 산수2동 동산로알맨션 11동 608호				
연락처	E-mail : bugypop0@gmail.com				
논문제목	한글 : 생쥐 조직에서 MUDENG단백질의 발현과 그의 임상적 의의 연구				
	영문 : The study of MUDENG expression in mouse tissue and its clinical importance.				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억 장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 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 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의( 0 )    반대(    )

2009년 2월 25일

저작자:            김미성 (인)

## 조선대학교 총장 귀하