



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 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.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 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

박사학위논문

장상피화생, 위샘종 그리고
위샘암에서 p27과 p53 family에
대한 면역조직화학적 연구

조선대학교 대학원

의학과

최종환

장상피화생, 위샘종 그리고 위샘암에서
p27과 p53 family에 대한
면역조직화학적 연구

The expression of p27 and the p53 protein family in intestinal metaplasia with or without helicobacter pylori infection, tubular adenoma(low, high grade) and adenocarcinoma of the stomach.

2009년 2월 25일

조선대학교 대학원

의학과

최종환

장상피화생, 위샘종 그리고 위샘암에서
p27과 p53 family에 대한
면역조직화학적 연구

지도교수 서 재 홍

이 논문을 의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2008년 10월

조선대학교 대학원

의 학 과

최 중 환

최종환의 박사학위논문을 인준함

위원장	전남대학교 교수	<u>정 상 우 인</u>
위 원	조선대학교 교수	<u>문 경 래 인</u>
위 원	조선대학교 교수	<u>박 상 학 인</u>
위 원	조선대학교 교수	<u>최 광 주 인</u>
위 원	조선대학교 교수	<u>서 재 홍 인</u>

2008 년 12 월

조선대학교 대학원

목 차

표목차	-----	i
도목차	-----	ii
영문초록	-----	iii
I. 서 론	-----	1
II. 재료 및 방법	-----	3
III. 결 과	-----	5
IV. 고 찰	-----	8
V. 결 론	-----	12
참고문헌	-----	14
표 및 사진부도	-----	17

표 목 차

1. Table 1. Expression profiles of p27 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, Tubular adenoma and Adenocarcinoma of the Stomach
2. Table 2. Expression profiles of p53 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, Tubular adenoma and Adenocarcinoma of the Stomach
3. Table 3. Expression profiles of p63 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, Tubular adenoma and Adenocarcinoma of the Stomach
4. Table 4. Expression profiles of p73 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, Tubular adenoma and Adenocarcinoma of the Stoma
5. Table 5. Relationship between expression p27 and that of p53, p63, p73 in intestinal metaplasia, tubular adenoma and adenocarcinoma of the stomach(%)
6. Table 6. Relationship between expression p53 and that of p63, p73 in intestinal metaplasia, tubular adenoma and adenocarcinoma of the stomach(%)

도 목 차

1. Fig.1 Intestinal metaplasia with H. pylori showed 1+ immnostaining for p27(X200).
2. Fig.2 Low grade, tubular adenoma showed 3+ immnostaining for p27(X200).
3. Fig.3 Intestinal metaplasia with H. pylori showed 1+ immnostaining for p53(X200).
4. Fig.4 High grade, tubulaar adenoma showed 3+ immnostaining for p53(X200).
5. Fig.5 Intestinal metaplasia with H. pylori showed 2+ immnostaining for p63(X200).
6. Fig.6 Adenocarcionma, intestinal type showed 3+ immnostaining for p63(X200).
7. Fig.7 High grade, tubular adenoma showed 3+ immnostaining for p73(X200).
8. Fig.8 Adenocarcionma, intestinal type showed 3+ immnostaining for p73(X200).

ABSTRACT

The expression of p27 and the p53 protein family in intestinal metaplasia with or without helicobacter pylori infection, tubular adenoma(low, high grade) and gadenocarcinoma of the stomach.

Choi, Chong-Hwan

Advisor:Prof. Suh, Chae-Hong, Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School, Chosun University

p27 is a member of a family of CDK inhibitors that bind to cyclin/CDK complexes and arrest cell division. There is considerable evidence that p27 plays an important role in multiple fundamental cellular processes, including cell proliferaion, cell differentiation, and apoptosis.

Although the p53 tumor suppressor has been extensively studied, many critical questions remain unanswered about the biological functions of p53 homologs, p73 and p63. Accumulating evidence suggests that both p73 and p63 play important roles in regulation of apoptosis and cell differentiation.

However, there are very few reports on the immunohisto- chemical expression of p27, p53 protein family in intestinal metaplasia, gastric adenoma and its significance in the progression of gastric adenomas to gastric adenocarcinomas is unclear,

We therefore performed an immnohistochemical study for p27, p53, p63, p73 expression in intestinal metaplasia, gastric adenoma with low- and high grade dysplasia, early gastric cancer and advanced gastric adenocarcinoma

The characteristics of positive staining for p27, p53 homologs, p73 and p63 was evaluated in 47 intestinal metaplasia with or without H. pylori 33 tubular adenoma, gastic adenocarcinoma classified into early stage (19), and advanced stage (38), and that classified into intestinal (47), and diffuse type (10).

The aim of this study was to evaluate the value of overexpression of p27, p53, p73 and p63 as gastric cacinogenesis and prognostic factors in intestinal metaplasia, tubular adenoma and gastric adenocarconoma.

p27 immunoreactivity was significantly increased in intestinal metaplasia with H. pylori, tubular adenoma(low grade, high grade) and adenocarcinoma, intestinal type.

Expression of p53 was increased in intestinal metaplasia with H. pylori, tubulas adenoma(low grade, high grade), and adenocarcinoma, in testinal type p53 expression was significantly increased in high grade, tubular adenoma, Adenocarcinoma, intestinal type.

Expression p63 was increased in intestinal metaplasia with H. pylori, tubular adenoma(low grade, high grade), and expression was similar in early gastric carcinoma and advanced gastric carcinoma.

p73 expression was signifcally increased in tubular adenoma, low

and high grade.

In conclusion p53 protein family, p73 and p63 may be useful as an indicator of development and progression in tubular adenoma (low grade high grade) early stage gastric cancers but this is not the case for advanced stage gastric adenocarcinoma.

There results suggest that the p27 and p53 family may play a role in the epithelial cell response to H. pylori.

제1장 서론

위암은 우리나라에서 전체 악성종양중 발생율이 가장 높으며 음식물 내에 있는 nitrosamine이나 nitrosamide, 만성위축성 위염, Helicobacter pylori(H. pylori) 감염, A형 혈액형 등의 위험인자와 관련이 있다.

특히 H. Pylori를 포함한 세균이 amine-nitrate 결합의 촉매 역할을 함으로서 발암기전에 중요한 역할을 담당한다고 알려졌다.1-5)

위암의 전구병변으로 만성위축성 위염, 장상피형화생 그리고 위샘종 등이 있다. 많은 위샘종 환자들에서 광범위한 장상피화생과 위축된 위점막을 가지고있다.6)

위샘종은 현미경적으로 대장의 샘종과 유사하며 관상샘종과 유두상 샘종으로 대별되나 대부분 전자에 속한다.

이들은 한 층 또는 여러층으로 구성된 원주형의 이형성 세포로 배열되어 있으나, 구조적 이형성은 없다.

위샘종에서 이형성은(dysplasia) 보통 저등급(low grade) 또는 고등급(high grade)로 분류한다.

저등급 이형성 위샘종은 핵들이 가늘고 긴 과염색성이고, 조밀하게 밀집되어 있다.

고등급 이형성은 cribriforming 구조, 현저하게 밀집된 선상, 구성 세포들의 심한 비정형이 보인다.

위샘종에서 발생한 위샘암종의 빈도는 2.5%에서 50%이상 다양하게 보고 되었다.7-9)

최근 종양의 증식과 진행은 흔히 비정상적인 세포주기를 동반하며, 세포 주기는 여러 가지 유전자에 의하여 조절된다 세포 주기에 관여하는 인자들을 두가지로 분류할 수 있는데 한 부류는 세포증식을 조절하는 유전자이고, 다른 한 부류는 세포 자멸사를 조절하는 것이라고 보고되고 있어 이에 대한 관심이 높다.

세포 잠를 조절하는 유전자는 bcl-2, bcl-x와 p53등이 있고, 세포주기를 조절하는 유전자로는 Ki-67, Rb, p53 family, p27 그리고 cyclin A등이 있다.10-11)

p27은 in vitro 상에서 cyclin dependent kinase complex(CDK complex) 를 억제

시키는 작용을 하여 궁극적으로 진행세포를 휴지기 상태에 머무르게 하는 작용을 한다.11-15)

p53 유전자에 의하여 발현되는 p53 단백질은 종양억제유전자의 산물로 발암작용에서의 역할이 다양하다. p53 유전자 변이 및 결손은 어느 특정 암에서만 일어나는 것이 아니라 인체의 거의 모든 암종에서 나타나는 가장 흔한 유전자 변이의 한 형태로 인정되고 있다.

야생형 p53 단백질이 종양세포의 성장을 억제하는 기전은, 세포주기중 G₁ 후반기에 작용하여 세포의 분열을 억제하는 세포분열 과정에서의 음성조절자로 알려져 있다.16-18)

p63, p73 유전자는 p53 유전자 가족군에 속하며 단백질의 구조가 서로 비슷하다, p63과 p73에서는 DNA-binding domain에서 p53과 동일한 약 60% amino acid를 공유하고 있다.

p73과 p63이 과발현되었을때 생물학적 활성도가 p53과 비슷하다, p73과 p63은 세포주기 조절과 세포자연사에 관여 하는 많은 p53 표적 유전자들의 전사를 활성화 한다.19)

이에 저자는 면역조직화학 염색을 이용하여 H. pylori 감염된 위점막 장상피화생, 위샘종(저등급 이형성, 고등급 이형성), 위샘암종(조기위샘암, 진행형위샘암)에서 휴지기 세포 표지자인 p27의 발현양상과 p53 단백질 가족군인(p53, p63, p73)의 발현양상을 비교함으로써 위샘암종의 발생과 진행, 그리고 생물학적 특성 차이를 알아보고자 하였다.

제2장 재료 및 연구방법

2005년1월부터 2008년7월까지 조선대학교병원 병리과에서 확진된 H. pylori에 감염된 장상피화생 15예, H. pylori에 감염 안된 장상피화생 15예, 저등급 이형성 (Dysplasia)을 동반한 위샘종 15예, 고등급 이형성을 동반한 위샘종 18예, 그리고 위샘암종(장형 47예, 미만형 10예)로 총 120예를 대상으로 하였다.

1. 병리조직학적 검색

10% 중성 포르마린에 12시간 이상 고정후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였다.

각 예에서 H&E 염색된 유리슬라이드를 모두 검색하였고, 종양이 충분히 포함된 조직을 선택하였다.

2. 면역조직화학 염색

면역조직화학 염색에 사용한 일차 항체로는 항27 다클론 항체(santa cruz Biotechnology, santa cruz, CA, USA)를 1:200으로 희석한 후 사용하였으며, p53 단백 염색을 위해 Do-7(DAKO사, USA)을 1:100으로 희석하여 사용하였고, P63 단백을 염색을 위해 (N대-Markers, Fremont, CA)을 1:40으로 희석하여 사용하였으며, p73 단백 염색을 위해 (Zymed, san Francisco, CA, USA)을 1:20으로 희석하여 사용하였다.

염색 방법을 간단히 기술하면 다음과 같다.

먼저 파라핀 포매조직 슬라이드를 Xylene으로 탈파라핀화 한 후 계열별로 희석한 알콜올로 함수 시켰다. 그 후 10mM 구연산 완충액에 담긴 다음 autoclave를 이용하여 120℃에서 10분간 방치하였다.

이 후 0.3% 과산화수소를 조직 내의 내재성 과산화효소의 활성을 억제하였다 또한 단백질과의 비 특이적인 결합을 억제하기 위하여 조직을 DAKO LSAB Kit 의 blocking reagent로 5분간 작용시켰다. 이후, 각각 면역조직화학적 염색을 위한

일차 항체를 실온에서 40분간 반응 시키고 이들을 모두 tris 완충액에 세척하였다, 그 다음 biotin과 결합된 항생쥐 면역혈청인 이차 항체로 10분간 반응시킨 후 다시 tris 완충액에 세척하고 streptavidin peroxidase를 10분간 작용 시킨 후 diaminobenzidine을 첨가하여 3분 정도 발색될 때까지 작용을 시켰다.

그 후 Mayer's Hemtoxylin으로 대조 염색하고 balsam으로 봉입한 후 광학 현미경으로 관찰하였다. 양성 대조군으로 대장의 선암종 조직과 유방의 섬유선종 조직을 사용하였고, 음성 대조군으로는 정상피부 조직을 사용하여 같은 방법으로 염색하였다.

3. 면역조직화학 염색의 판정

p27, p53, p63, p73 염색은 세포내 핵이 염색되는 경우 양성반응으로 하였다.

염색정도는 조직 내에서 양성반응을 보이는 세포가 차지하는 백분율을 측정하여 1%미만은 음성(0), 1-25%는 1+(주로 기저세포층에서 과 발현), 26-50%는 2+(기저세포층과 상부에 과 발현), 51-100%는 3+로 등급을 분류 하였다.

4. 통계처리

면역조직화학 염색에서 H-pylori 감염 유무에 따른 장상피화생, 저등급, 고등급 이형성을 보인 위샘종 그리고 위샘암종(장형, 미만형)과 p27, p53, p63, p73 단백질 발현의 차이를 알고자 통계 프로그램(spss system for window V.10.0, SPSS Inc., Licenced to Korea University)을 사용하였다.

p27, p53, p63, p73 단백질 발현정도와 상관관계는 X²-test와 Fisher's exact test를 이용하여 검정하였으며, p<0.05 일때 유의성을 부여하였다.

제3장 결 과

1. p27 단백질 발현 (Table 1)

1+ 이상의 p27 단백질 양성반응을 보인 경우에는 H. pylori에 감염 않된 장상피 화생 15예 중 4예, H. pylori에 감염이 된 장상피화생 15예 중 14예(Fig.1).

저등급 이형성 위샘종 15예 중 15예, 고등급 이형성 위샘종 15예 중 10예, 장형 위샘암 47예 중 14예 그리고 미만형 위샘암은 10예 중 0예였다.

조기 위샘암 19예 중 5예, 진행형 위샘암 38예 중 9예였다.

2+ 이상의 p27 단백질 양성 반응을 보인 경우는 저등급 이형성 위샘종 15예 중 14예(Fig.2), 고등급 이형성 위샘종 18예 중 7예, 장형 위샘암 47예 중 4예, 조기 위샘암 19예 중 1예 진행형 위샘암 38예 중 3예였다.

H. pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 그리고 장형 위샘암에서 p27 단백질 발현이 현저하였다.

H. pylori에 감염 않된 장상피화생, H. pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암, 미만형 위샘암, 조기 위샘암, 진행형 위샘암과 p27 단백질 발현 정도와는 통계학적으로 유의한 관련이 있었다.

2. p53 단백질 발현 (Table 2)

1+ 이상의 p53 단백질 양성반응을 보인 경우에는 H. pylori에 감염 않된 장상피 화생 15예 중 3예, H. pylori에 감염이 된 장상피화생 15예 중 14예(Fig.3), 저등급 이형성 위샘종 15예 중 12예, 고등급 이형성 위샘종 18예 중 15예, 장형 위샘암 47예 중 39예 그리고 미만형 위샘암은 10예 중 4예, 조기 위샘암 19예 중 12예 그리고 진행형 위샘암 38예 중 31예였다.

2+ 이상의 p53 단백질 양성 반응을 보인 경우는 저등급 이형성 위샘종 15예 중 5예, 고등급 이형성 위샘종 18예 중 11예(Fig.4), 장형 위샘암 47예 중 34예, 미만형 위샘암은 10예 중 3예, 조기 위샘암 19예 중 11예, 그리고 진행형 위샘암 38예 중 26예였다.

H. pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암에서 p53 단백질이 발현되었으나 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암에서 보다 더 발현이 현저하였다.

조기 위샘암과 진행형 위샘암은 p53에 발현이 현저하였으나 특이한 차이는 없었다.

H. pylori에 감염 안된 장상피화생, H. pylori에 감염된 장화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암, 미만형 위샘암, 조기위샘암, 진행형 위샘암과 p53 단백질 발현 정도와는 통계학적으로 유의한 관련이 있었다($P < 0.001$)

3. p63 단백질의 발현 (Table 3)

1+ 이상의 p63 단백질 양성반응을 보인 경우에는 H. pylori에 감염 안된 장상피화생 15예 중 8예, H. pylori에 감염이 된 장상피화생 15예 중 14예, 저등급 이형성 위샘종 15예 중 13예, 고등급 이형성 위샘암 18예 중 17예, 장형 위샘암 47예 중 29예 그리고 미만형 위샘암은 10예 중 4예, 조기 위샘암 19예 중 11예, 그리고 진행형 위샘암 38예 중 32예였다.

2+ 이상의 p63 단백질의 양성 반응은 H.pylori에 감염된 장상피화생 15예 중 10예(Fif.5), 저등급 이형성 위샘종 15예 중 9예, 고등급 이형성 위샘종 18예 중 12예, 장형 위샘암 47예 중 34예(Fig.6), 미만형 위샘암은 10예 중 2예, 조기 위샘암 19예 중 10예, 그리고 진행형 위샘암 38예 중 26예였다.

H.pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 및 고등급 위샘종, 그리고 장형 위샘암에서 보다 더 p63 단백질 발현이 현저하였다.

조기 위샘암과 진행형 위샘암은 p63에 발현이 현저하였으나 서로 특이한 차이는 없었다.

H. pylori에 감염 안된 장상피화생, H. pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암, 미만형 위샘암, 조기위샘암, 진행형 위샘암과 p63 단백질 발현 정도와는 통계학적으로 유의한 관련이 있었다

4. p73 단백질 발현 (Table 4)

1+ 이상의 p73 단백질 양성반응을 보인 경우에는 H. pylori에 감염 안 된 장상피화생 15예 중 0예, H. pylori에 감염이 된 장상피화생 15예 중 1예, 저등급 이형성 위샘종 15예 중 11예, 고등급 이형성 위샘종 18예 중 14예, 장형 위샘암 47예 중 4예, 미만형 위샘암은 10예 중 1예, 조기 위샘암 19예 중 4예 그리고 진행형 위샘암 38예 중 1예였다.

2+ 이상의 p73 단백질의 양성 반응은 저등급 이형성 위샘종 15예 중 8예, 고등급 이형성 위샘종 18예 중 11예(Fig.7), 장형 위샘암 47예 중 4예(Fig.8), 조기 위샘암 19예 중 3예, 그리고 진행형 위샘암 38예 중 1예였다.

저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종에서 p73 단백질에 대한 발현이 현저 하였으나 H. pylori 감염이 된 장상피화생, H. pylori 감염이 안 된 장상피화생에서 p73 단백질에 대한 발현이 적었다.

H. pylori에 감염 안된 장상피화생, H. pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암, 미만형 위샘암, 조기위샘암, 진행형 위샘암과 p73 단백질 발현 정도와는 통계학적으로 유의한 관련이 있었다

5. p27과 p53, p63, 그리고 p73 단백질과의 관계 (Table 5)

p53 단백질은 H. pylori에 감염안된 장상피화생 15예, H. pylori 에 감염된 장상피화생 15예, 저등급 이형성 위샘종 15예, 고등급 이형성 위샘종 18예, 조기위샘암 19예, 진행형 위샘암 38예, 장형위샘암 47예, 그리고 미만형 위샘암 10예, 전체 177예에서 p27 발현이 음성인 경우 63예였으며 p53 음성 33예, p63 음성 25예, p73 음성 87예였다. p27 발현이 3+ 인 경우 8예였고 p53 3+ 26예, p63 3+ 42예, p73 3+ 5예로 p27 발현이 증가 할수록 p53, p63, p73 단백질 발현이 증가 하였다.

6. p53과 p63 그리고 p73 단백질 발현과의 관계 (Table 6)

p53 발현이 음성인 경우 33예였으며 p63 음성 25예, p73 음성 89예였다. p53 발현 3+ 인 경우 36예였고 p63 3+ 42예, p73 3+ 5예로 p53 발현이 증가할수록 p63, p73 단백질 발현이 증가 하였다.

제4장 고찰

세계적으로 위암 발생율은 꾸준히 감소되어 오는 추세이지만 여전히 위암에 의한 사망률은 아직도 높다.

특히 한국에서 위암은 암 발생률중이 1위이고, 사망 원인 중에서는 2위를 차지한다. 위샘암종 발생은 특이 위험요인 중 H. pylori 감염, 알콜을 섭취, 흡연, 염분과 질산염 섭취, 항산화 비타민 섭취의 결핍등과 관련되어 있다. 특히 H. pylori를 포함한 세균이 amine-nitrite 결합의 촉매 역할을 하거나 nitrate를 nitrite로 환원시킴으로써 발암 기전에 중요한 역할을 담당한다고 알려졌다..2-4)

H. pylori가 위암을 일으키는 기전은 두가지로 설명되는데, 이 세균이 세포에 자극을 일으켜서 촉진자로 작용한다는 것과 이 세균에 의해 유발된 만성위염과 장상피화생이 암을 유발한다는 것이다.3)

외적 인자들의 지속적인 자극은 여러 가지 종양 유전자와 종양억제 유전자의 변이를 유발하여 암을 발생시키는 것으로 알려졌다.

위암의 전구병변으로 만성 위축성 위염, 장상피 화생 그리고 이형성등이 잘 알려져있다. 인체 위점막의 H.pylori colonization은 특이적 염증성 조직 반응을 일으켜서 만성 활동성 위염을 일으키며, 환경의 영양과 내적 인자들 밑에 만성 활동성 위염은 만성위축성 위염과 장상피화생을 만들고 위암 발생의 다단계 모델에 따라서 전암병변으로 고려된다.

위샘암 모두에서 H. pylori 처음 작용하고 미만형의 경우는 기저막의 소실에 의해서 장형의 경우는 위축성 병변, 장상피화생, APC 및 P53 단백질의 작용 그리고 이형성의 과정을 거쳐서 위샘암이 된다.20.21)

최근 종양의 성장과 진행은 종양 세포의 증식과 세포 자연사에 의해 결정될 수 있다고 보고 되고 있다. 세포 자멸사와 관련된 유전자로 P53 유전자와, box와 bcl-2등이 있다. 세포 주기를 조절해서 세포성장을 유발하는 유전자로 Ki-67, Rb, p53 family, p27 그리고 cyclin A 등이 있다.10.11)

p53은 많은 종양 연구 대상 가운데 대표적인 종양억제 인자이다. p53의 비정상 발현 정도는 여러 종양들의 재발과 진행에 관한 예후 척도로 보고되고 있다.

p53 단백질은 염색체 17P13에 위치하는 p53 유전에 의해 생성되는 단백질로, 손상된 DNA를 복구하거나 고사시켜 세포증식을 억제하는 종양 억제 유전자로 알려져 있다. 그러나 변이형의 P53 단백질은 구조상 변화가 생겨 고유의 세포증식 억제기능을 상실하게 되므로 암세포의 증식을 유발하여 여러 암종의 발생과 진행에 관여하고 있다고 추정하고 있다.16-18)

본 연구결과 1+이상 p53 단백질 양성반응을 H. pylori에 감염 안된 장상피화생보다 H. pylori에 감염된 장상피화생에서 보다 발현이 많았고, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형위샘암에서 p53 단백질이 발현되었으나 2+이상 p53 단백질 양성반응은 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암에서 발현이 더 현저하였다.

고등급 이형성 위샘종, 조기 위샘암과 진행형 위샘암은 p53 발현이 현저하였으나 서로 특이한 차이는 없었다.

이러한 소견은 p53이 암세포의 증식을 유발하고 위샘암의 발생과 진행에 관여하는 것으로 생각되며 H. pylori에 감염 안된 장상피화생보다, 감염된 장상피화생에서 p53 단백질 양성반응이 보다 현저하여 H. pylori가 위점막 장상피세포의 증식과 분화에 영향을 미쳐 위샘암 발생에 관여하는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 여러 저자들이 보고한 문헌과 비슷하다.

최근 p53의 상동체로 p63, p73이 보고되고 있는데 이는 p53과 마찬가지로 종양 억제 유전자로 여겨지고 있다.

이의 염기서열은 p53과 유사하며 암 발생에서 유전자의 변이, 결손, methylation 등이 관찰되며, 몇몇 종양세포와 정상 사람의 혈청에서 발현된다.19)

p63과 p73은 세포자멸사의 조절과 세포 분화에서 중요한 역할을 한다. p63은 골격근, 태반, 유방샘, 전립샘, 기관지, 흉성, 타액샘, 자궁, 심장과 폐 그리고 드물게 피부에서 발현된다.22)

p63은 두경부 편평상피세포암의 80% 이상에서 과발현되어 나타나고 폐, 식도와 장궁경부에서 발생한 편평상피세포암에서, 침윤성 유방암, 방광암등 p63 발현의 소실은 종양의 진행에서 침입 그리고 전이, 나쁜예후와 관련되었다.23)

p63과 발현은 분화가 안좋은 위샘암에서 나타나며 p63이 종양 분화의 정도에 따라서 분포를 보인다 하였다.24.25)

본 연구 결과에 의하면 1+ 이상의 p63 단백 양성반응은 H. pylori에 감염이 안된 장상피화생 보다 감염된 장상피화생에서 발현이 많았고 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘암, 위샘암(장형>미만형)에서 발현을 보였다.

2+ 이상의 p63 단백 양성반응은 H. pylori에 감염된 장상피화생, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘암, 위샘암(장형>미만형)에서 현저하게 발현을 보였다.

조기 위샘암과 진행형 위샘암은 p53 발현이 현저하였으나 특이한 차이가 없었다. 이러한 소견은 p63이 종양의 발생과 특히 종양 분화를 조절하는데 더 관여할 것으로 생각된다.

p73은 p53과 구조적으로 매우 유사한 염기서열을 공유한다, p53과 비슷하게 p73 단백질도 대략 3개의 주요 영역으로 나뉘는데, 그중 첫 번째가 N-terminal transactivation domain, 두 번째가 sequence-specific DNA binding domain, 세 번째가 tetramerization domain으로 p53과 각각 29%, 63%, 42%에서 동일하다. 또한 최근의 실험적 연구에 의하면, 과발현된 p73이 G1 세포주기를 정지시키고 세포고사를 이끌며, P21을 포함한 P53의 표적 유전자의 전사를 활성화시킨다고 하는데. 이런 사실들은 p73이 p53과 기능적으로도 유사하다는 것을 보여준다.

그러나 이런 유사성과는 달리 차이점도 부각되고 있다. p73과 p53의 염기서열을 분석했을때 가장 유사한 부분이 DNA binding Domain인데, P53에서는 이제까지 이 부위의 돌연변이는 많은 연구에도 불구하고 발견되지 않고 있다.²⁶⁻²⁹⁾

p73은 기능적으로 p53이 부족했을때 종양세포들에서 세포 자멸사를 증진시키며 위샘암의 강력한 병인의 역할을 한다.³⁰⁻³²⁾

본 연구결과에 의하면

1+ 이상 p73 단백 양성 반응을 보인 경우는 장상피화생에서는 발현이 적었으나, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암에서 발현이 관찰되었고. 2+ 이상 p73 단백 양성 반응은 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암에서 발현되었다.

조기 위샘암과 진행형 위샘암에서 p73 단백에 대한 양성 반응은 특별한 차이가 없었다.

이러한 소견은 P63의 기능과 비슷하게 종양의 발생과 종양세포 분화를 조절하

는데 더 관여할 것으로 생각된다.

P27은 세포주기 억제인자로 증식억제 신호에 반응하여 세포주기를 정지시키는 브레이크 기능을 가지고 있다.

포유동물에는 두 부류가, 즉 cip/kip(kinase inhibitory protein)족과 INK42/ARF(specific inhibitors of cdk4) 족이 있다.

p27은 p21, p53과 더불어 cip/kip족에 속하는데, 대부분의 CDK에 대한 억제작용을 가지고 있어 발현이 증가되면 배양세포에서 G1기가 정지를 일으킨다.

p27의 주요 기능은 세포의 진행과정에서 증식, 분화와 세포 자멸사를 조절한다.33.35)

주로 p27은 세포 주기의 진행과 분화 프로그램에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다.36.37)

p27의 위점막에서 발현 증가는 화상상피의 증식능의 촉진과 화생부위에서 상피세포들에 의해 예정된 분화 프로그램의 변화에 기인한 것으로 되었다.

p27은 주로 종양이나 정상적인 조직에서 성장이 중지된 세포에 염색이되는 것으로 알려졌다.38-40)

본 연구결과에서는

1+ 이상의 p27 단백질 양성반응은 H. pylori에 감염된 장상피화생에서 감염이 안된 장상피화생 보다 더 발현이 많았고, 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종, 장형 위샘암에서 발현이 많았다.

2+ 이상의 p27 단백질 양성반응은 저등급 이형성 위샘종, 고등급 이형성 위샘종 그리고 장형 위샘암에서 발현이 현저하였다. 조기 위샘암과 진행형 위샘암에서 p27 단백질 양성반응을 보였으나 서로 차이는 없었다.

이러한 소견은 P27 단백질은 세포의 진행과정에서 증식 및 분화에 더 관여 할 것으로 생각된다

이상을 종합하면 P53, P63, P73. 단백질은 위샘종(저등급 이형성, 고등급 이형성) 위샘암의 발생과 진행에 작용하며, H. pylori 역시 위점막 세포의 증식과 분화에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

제5장 결 론

위점막 장상피화생(H. pylori 감염 안됨, 감염됨), 위샘종(저등급 이형성, 고등급 이형성) 그리고 위샘암종(장형, 미만형, 조기, 진행형)에서 p53, p63, p73 그리고 p27 단백질의 발현 양상을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) p53, p63, p73 그리고 p27 단백질은 위샘종(저등급 이형성, 고등급 이형성), 위샘암종(장형>미만형) 그리고 위샘암종(조기=진행)에서 발현이 관찰되어 종양세포의 증식과 분화에 관여하는 것으로 생각되며 초기 종양세포 변화 표지자 및 악성 변화의 표지자로 이용 될 수 있다고 생각된다.

2) H. pylori에 감염된 장상피화생이 감염 안된 장상피화생 보다 세포 증식, 세포 고사와 분화에 기능을 가진 p27, p63 그리고 p53 단백질에 발현이 현저하여 H. pylori가 위점막 장상피세포의 증식과 분화에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

References

1. The Korean Society of Pathologists. Text book of pathology. 4th ed. Seoul: Komoonsa, 2000;189-200.
2. Kneller RW, Yo WC, Chang YS, et al. Cigarette smoking and other risk factors for progression of precancerous stomach lesions. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1261-6.
3. Baik SC, Youn HS, Chung MH, et al. Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Cancer Res* 1996;56:1279-82.
4. You WC, Zhang I, Yang CS, Chang YS, Issaq H, Fox SD. Nitrite, N-Nitroso compounds, and other analytes in physiological fluids in relation to precancerous gastric lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:47-52.
5. Shirin H, Sordillo EM, Oh SH, et al. *Helicobacter pylori* inhibits the G1 to S transition in AGS gastric epithelial cells. *Cancer Res* 1999;59:2277-2281.
6. Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia in the stomach of Colombian migrants. *J Natl Cancer Inst* 1970;44:297-306.
7. Nakamura K, Sakaguchi H, Enjoji M. Depressed adenoma of the stomach. *Cancer* 1988;62:2197-202.
8. Sakurai S, Sano T, Nakajima T. Clinicopathologic and molecular biologic studies of gastric adenomas with special reference to p53 abnormality. *Pathol Int* 1995;45:51-7.
9. Ito H, Yokozaki H, Ito M, Tahara E. Papillary adenoma of the stomach. Pathologic and immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:1030-4.
10. Cohen JJ. Apoptosis. *Immunology Today* 1993;14:126-130.
11. Saito T, Nakajima T, Moji K. Immunohistochemical analysis of cell cycle-associated proteins p16, pRb, p53, p27 and Ki-67 in oral cancer

and precancer with special reference to verrucous carcinoma. J oral Pathol Med 1999;28(5):226-232.

12. Wrone-smith T, Bergstrom J, Quevedo ME, Reddy V, Gutierrez-steil C, Nickoloff BJ Differential expression of cell survival and cell cycle regulatory proteins in cutaneous squamoproliferative lesions J Dermatol Sci 1999;19(1):53-67.
13. Inohara S, Kitagawa K, Kitano Y. Coexpression of p21Waf1/Cip1 and p53 in sun-exposed normal epidermis, but not in neoplastic epidermis. Br J Dermatol 1996;135:717-720.
14. Ahmed NU, Ueda M, Ichihashi M. p21WAF1/CIP1 expression in non-melanoma skin tumors. J Cutan Pathol 1998;24(4):223-227.
15. Kikuchi A, Amagai M, Hayakawa K, Ueda M, Hirohashi S, Shimizu N, Nishikawa T. Association cells in various skin tumors. Br J Dermatol 1990;123:49-58.
16. Levin AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. Nature 1991;351:453-456.
17. Petrenko O, Moll UM. The MDM2-p53 interaction. Mol Canc Res 2003;1:1001-1008
18. Oren M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. J Biol Chem 1999;274:36031-36034.
19. Batinac T, Zamolo G, Jonjic N, Gtuber F, Perovecki M. p53 protein expression and cell proliperation in non neoplastic. Tumori. 2004;90(1):120-7.
20. 여말희, 함기백. Helicobacter pylori 연구동향 및 전망: Helicobacter pylori에 의한 위질환 발생의 분자생물 기전. 대한 소화기학회지 2003;41:77-86.
21. Kang JY, Finlayson C, Maxwell JD, Neild P. Risk of gastric carcinoma in patients with atrophic gastritis and intestinal metaplasia. Gut

2002;51:899.

22. Crook T, Nicholls JM, Brooks L, O'Nions J, Allday MJ. High level expression of delta N-p63. a mechanism for the inactivation of p53 in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma (NPC)? *Oncogene* 2000;19:3439-44.
23. Reis -Filho JS, Torio B, Albergaria A, Schmitt FC. p63 expression in normal skin and usual cutaneous carcinomas *J Cutan Pathol* 2002;29:517-23.
24. Glickman JN, Yang A, Shahsafaei A, McKeon F, Odze RD. Expression of p53-related protein p63 in gastrointestinal tract. *Hum pathol.* 2001;32(11):1157-65.
25. Tannapfel A, Schmelzer S, Benicke M, Klimpfinger M, Kohlhaw K, Mossner J, Engeland K, Wittekid C. Expression of the p53 homologues p63 and p73 in multiple simultaneous gastric cancer.
26. Jost CA, Marin MC, Kaelin WG Jr. p73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature* 1997;389:191-4.
27. Oren M. Lonely no more: p53 finds its skin in a tumor suppressor haven. *Cell* 1997;90:829-32.
28. Kaelin WG Jr. The emerging p53 gene family. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:594-8.
29. Zhu J, Jiang J, Zhou W, Chen X. The potential tumor suppressor p73 differentially regulates cellular p53 target genes. *Cancer Res* 1998;58:5061-5.
30. Linzer Of, Levine AJ. Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cell and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 1979;17:43-52.
31. Marin MC, Jost CA, Irwin MS, DeCaprio JA, Caput D, Kaelin WG Jr. Viral oncoproteins discriminate between p53 and the p53 homolog p73. *Mol Cell*

Biol 1998;18:6316-24.

32. Arabhu NS, Somasundram K, Satyamoorthy K, Herlyn M, Kl-Deiry WS. p73beta, unlike p53, suppresses growth and induces apoptosis of human papillomavirus E6-expressing cancer cells. *Int J Oncol* 1998;13:5-9.
33. Loda M, Cukor B, Tam Sw, et al: Increased proteasomedependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinoma. *Nat Med* 3:331-234,1997.
34. Steeg PS and Abrams JS; Cancer prognostics: past, present, and p27. *Nat Med* 3:152-154 1997.
35. sihlhas J, Kapusta LR, De Boer G, et al: Loss of cyclin dependent kinase inhibitor p27(kip1) is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Res* 58:542-548,1998.
36. Wiksten JP, Lundin J, Nordling S, Kokkola A. von Boguslawski K. Haglund C. The prognostic value of p27 in gastric cancer. *Oncology* 2002;63:180-4.
37. Poter PL, Malone KE, Heagerty PJ, et al. Expression of the cell-cycle regulators p27 and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival in young breast cancer patients. *Nat Med* 1997;3:222-5.
38. Yasui W, Kudo Y, Semba S, Yokozaki H, Tahara E, Reduced expression of cuclin-dependent kinase p27 is associated with advanced stage and invasiveness of gastric carcinomas. 1997;88:625-9.
39. Kim DH, Lee HI, Nam ES, et al. Reduced expression of the cell cycle inhibitor p27 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma. *Histopathology* 2000;36:245-51.
40. Ohtani M, Isozaki H, Fuji K, et al. Impact of the expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27 and apoptosis in tumor cells on the overall survival of patients with non-early stage gastric carcinoma. *Cancer* 1999;85:1711-8.

Table 1. Expression profiles of p27 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, tubular adenoma and adenocarcinoma of the Stomach.(%)

	p 27				Total
	0	1+	2+	3+	
Intestinal metaplasia without H. pylori	11(73.3)	4(26.7)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0%)
Intestinal metaplasia, with H. pylori	1(6.7)	14(93.3)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0%)
Tubular adenoma, Low grade dysplasia	0(0.0)	1(6.7)	7(46.7)	7(46.7)	15(100.0%)
Tubular adenoma, High grade dysplasia	8(44.4)	3(16.7)	6(33.3)	1(5.6)	18(100.0%)
Early gastric adenocarcinoma	14(73.7)	4(21.1)	1(5.3)	0(0.0)	19(100.0%)
Advanced gastric adenocarcinoma	29(76.3)	6(15.8)	3(7.9)	0(0.0)	38(100.0%)
Intestinal type gastric adenocarcinoma	33(70.2)	10(21.3)	4(8.5)	0(0.0)	47(100.0%)
Diffuse type gastric adenocarcinoma	10(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100,0%)
Total	106(60.0)	42(24.0)	21(12.0)	8(4.0)	177(100.0%)

P<0.001

Table 2. Expression profiles of p53 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, tubular adenoma and adenocarcinoma of the Stomach.(%)

	p 53				Total
	0	1+	2+	3+	
Intestinal metaplasia without H, pylori	12(80.0)	3(20.0)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0)
Intestinal metaplasia, with H. pylori	1(6.7)	14(93.3)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0)
Tubular adenoma, Low grade dysplasia	3(20.0)	7(46.7)	5(33.3)	0(0.0)	15(100.0)
Tubular adenoma, High grade dysplasia	3(16.7)	4(22.2)	10(55.6)	1(5.6)	18(100.0)
Early gastric adenocarcinoma	7(36.8)	1(5.3)	3(15.8)	8(42.1)	19(100.0)
Advanced gastric adenocarcinoma	7(18.4)	5(13.2)	9(23.7)	17(44.7)	38(100.0)
Intestinal type gastric adenocarcinoma	8(17.0)	5(10.6)	12(25.5)	22(46.8)	47(100.0)
Diffuse type gastric adenocarcinoma	6(60.0)	1(10.0)	2(20.0)	1(10.0)	10(100.0)
Total	47(26.6)	40(22.5)	41(23.3)	49(27.8)	177(100.0)

P<0.001

Table 3. Expression profiles of p63 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, tubular adenoma and adenocarcinoma of the Stomach.(%)

	p 63				Total
	0	1+	2+	3+	
Intestinal metaplasia without H. pylori	7(46.7)	8(53.3)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0)
Intestinal metaplasia, with H. pylori	1(6.7)	4(26.7)	10(66.7)	0(0.0)	15(100.0)
Tubular adenoma, Low grade dysplasia	2(13.3)	4(26.7)	4(26.7)	5(33.3)	15(100.0)
Tubular adenoma, High grade dysplasia	1(5.6)	5(27.8)	4(22.2)	8(44.4)	18(100.0)
Early gastric adenocarcinoma	8(17.0)	5(10.6)	7(14.9)	27(57.4)	47(100.0)
Advanced gastric adenocarcinoma	6(60.0)	2(20.0)	0(0.0)	2(20.0)	10(100.0)
Intestinal type gastric adenocarcinoma	8(17.0)	5(10.6)	12(25.5)	22(46.8)	47(100.0)
Diffuse type gastric adenocarcinoma	6(60.0)	1(10.0)	0(0.0)	3(30.0)	10(100.0)
Total	39(22.1)	34(19.2)	37(20.9)	67(37.8)	177(100.0)

P<0.001

Table 4. Expression profiles of p73 protein in intestinal metaplasia, with or without Helicobacter pylori, Tubular adenoma and Adenocarcinoma of the Stomach.(%)

	p 73				Total
	0	1+	2+	3+	
Intestinal metaplasia without H. pylori	15(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0)
Intestinal metaplasia, with H. pylori	14(93.3)	1(6.7)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0)
Tubular adenoma, Low grade dysplasia	4(26.7)	3(20.0)	6(40.0)	2(13.3)	15(100.0)
Tubular adenoma, High grade dysplasia	4(22.2)	3(16.7)	8(44.4)	3(16.7)	18(100.0)
Early gastric adenocarcinoma	15(78.9)	1(5.3)	3(15.8)	0(0.0)	19(100.0)
Advanced gastric adenocarcinoma	37(97.3)	0(0.0)	1(2.6)	0(0.0)	38(100.0)
Intestinal type gastric adenocarcinoma	43(91.5)	0(0.0)	4(8.5)	0(0.0)	47(100.0)
Diffuse type gastric adenocarcinoma	9(90.9)	1(10.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
Total	141(79.7)	9(5.1)	22(12.4)	① 5(2.8)	177(100.0)

P<0.001

Table 5. Relationship between expression p27 and that of p53, p63, p73 in intestinal metaplasia, tubular adenoma and adenocarcinoma of the stomach(%)

		p27				
		0	1+	2+	3+	Total
p53	0	22(34.9)	6(18.8)	4(23.5)	1(12.5)	33(27.5)
	1+	11(17.5)	16(50.0)	4(23.5)	3(37.5)	34(28.3)
	2+	11(17.5)	5(15.6)	7(41.2)	4(50.0)	27(22.5)
	3+	19(30.2)	5(15.6)	2(11.8)	0(0.0)	26(21.7)
Total	63(100.0)	32(100.0)	17(100.0)	8(100.0)	120(100.0)	P<0.007
p63	0	20(31.7)	3(9.4)	1(5.9)	1(12.5)	25(20.8)
	1+	14(22.2)	9(28.1)	2(11.8)	3(37.5)	28(23.3)
	2+	7(11.1)	9(28.1)	7(41.2)	2(25.0)	25(20.8)
	3+	22(34.9)	11(34.4)	7(41.2)	2(25.0)	42(35.0)
Total	63(100.0)	32(100.0)	17(100.0)	8(100.0)	120(100.0)	P<0.003
p73	0	55(87.3)	26(81.3)	6(35.3)	2(25.0)	89(74.2)
	1+	1(1.6)	3(9.4)	3(17.6)	1(12.5)	8(6.7)
	2+	5(7.9)	3(9.4)	2(29.4)	5(62.5)	18(15.0)
	3+	2(3.2)	0(0.0)	3(17.6)	0(0.0)	5(4.2)
Total	63(100.0)	32(100.0)	17(100.0)	8(100.0)	120(100.0)	P<0.001

Table 6. Relationship between expression p53 and that of p63, p73 in intestinal metaplasia, tubular adenoma and adenocarcinoma of the stomach(%)

		p53				
		0	1+	2+	3+	Total
p63	0	16(48.5)	1(2.9)	6(22.2)	2(7.7)	25(20.8)
	1+	7(21.2)	12(35.3)	4(14.8)	5(19.2)	28(23.3)
	2+	3(9.1)	13(38.2)	7(25.9)	2(7.7)	25(20.8)
	3+	7(21.2)	8(23.5)	10(37.0)	17(65.4)	42(35.0)
Total	33(100.0)	34(100.0)	27(100.0)	26(100.0)	120(100.0)	P<0.001
p73	0	29(87.9)	23(67.6)	16(59.3)	21(80.0)	89(74.2)
	1+	1(3.0)	4(11.8)	3(11.1)	0(0.0)	8(6.7)
	2+	1(3.0)	6(17.6)	6(22.2)	5(19.2)	18(15.0)
	3+	2(6.1)	1(2.9)	2(7.4)	0(0.0)	5(4.2)
Total	33(100.0)	34(100.0)	27(100.0)	26(100.0)	120(100.0)	P<0.076

저작물 이용 허락서

학 과	의 학	학 번	20077452	과 정	박 사
성 명	한글: 최종환 한문 :崔 宗 煥 영문 :Choi Chong-Hwan				
주 소	광주광역시 북구 운암1동 352-6				
연락처	E-MAIL : clinics@paran.com				
논문제목	<p>한글: 장상피화생, 위샘종 그리고 위샘암에서 p27과 p53 family에 대한 면역조직학적 연구.</p> <p>영어:The expression of p27 and the p53 protein family in intestinal metaplasia with or without Helicobacter pylori infection, tubular adenoma(low, high grade) and adenocarcinoma of the stomach.</p>				
<p>본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.</p> <p style="text-align: center;">- 다 음 -</p> <ol style="list-style-type: none"> 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. <p style="text-align: center;"> 동의여부 : 동의(0) 반대() 2009년 2 월 일 저작자: 최 중 환 (서명 또는 인) </p> <p style="text-align: center; font-weight: bold; font-size: 1.2em;">조선대학교 총장 귀하</p>					