creative commons

COMMONS DEED

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

dCollection

[UCI]I804:24011-200000237887

2009년 2월

박사학위논문

피부 각질세포의 과증식성 병변에서 Ki-67, p27, p53 단백 계열과 bcl-2의 발현

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

류 려 선

피부 각질세포의 과증식성 병변에서 Ki-67, p27, p53 단백 계열과 bcl-2의 발현

Expression of Ki-67, p27, p53 protein family and bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

2009년 2월 25일

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

류 려 선

피부 각질세포의 과증식성 병변에서 Ki-67, p27, p53 단백 계열과 bcl-2의 발현

지도교수 : 서 재 홍

이 논문을 의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2008년 10월

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

류 려 선

류려선의 박사학위 논문을 인준함

위원장 : 조선대학교 교 수 도 남 용 인

위 원 : 조선대학교 교 수 기 근 홍 인

위 원 : 조선대학교 교 수 임 성 철 인

위 원 : 조선대학교 교 수 이 미 자 인

위 원 : 조선대학교 교 수 서 재 홍 인

2008년 12월

조선대학교 대학원

목 차

표목차 ---------- ii

도목차 ---------- iii

영문초록 --------- ---------- 1

I. 서 론 ---------- ---------- 3

Ⅱ. 연구재료 및 방법 ------- ---------- 5

Ⅲ. 결 과 ---------- 8

Ⅳ 고 찰 ---------- 12

V. 결 론 ---------- 17

참고문헌 ---------- 18

표 ---------- 23

사진부도 ---------- 30

표 목 차

Table 1. Expression profiles of Ki-67 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Table 2. Expression profiles of p27 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Table 3. Expression profiles of p53 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Table 4. Expression profiles of p63 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Table 5. Expression profiles of p73 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Table 6. Expression profiles of bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Table 7. Correlation between the expression of Ki-67 and the expression of p27, p53, p63, p73 and bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

도 목 차

Fig. 1. Ki-67 immunostain. Seborrheic keratosis shows 1+ (A) and Bowen's disease shows 2+ (B).

Fig. 2. p27 immunostain. Seborrheic keratosis shows 2+ (A) and Bowen's disease shows 3+ (B).

Fig. 3. p53 immunostain. Keratoacanthoma shows 1+ (A) and actinic keratosis shows 2+ (B).

Fig. 4. p63 immunostain. Squamous cell carcinoma shows 3+ (A) and Bowen's disease shows 3+ (B).

Fig. 5. p73 immunostain. Keratoacanthoma shows 1+ (A) and actinic keratosis shows 3+ (B).

Fig. 6. bcl-2 immunostain. Actinic keratosis shows 1+ (A) and Bowen's disease shows 2+ (B)

ABSTRACT

Expression of Ki-67, p27, p53 protein family and bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

Ryu, Reou-Sun
Advisor: Prof. Suh, Chae-Hong, Ph.D.
Department of Medicine,
Graduate School, Chosun University

Background: Ki-67 is a nuclear antigen expressed in actively cycling cells but not the resting Go cells, and is frequently used as a marker for cell proliferation in tissue sections. P27 is a member of a family of CDK inhibitors that bind to cyclin/CDK complexes and arrest cell division. There is a considerable evidence that p27 plays an important role in multiple fundamental cellular proceses, including cell proliferation, cell differentiation and apoptosis. The p53 protein family is essential for the regulation of cell proliferation and its aberrant accumulation is usually seen in malignant tumors, but also occurs in squamous epithelium of inflammatory skin diseases characterized by hyperproliferation. P53, p63 and p73 are a tumor suppressors that likely play a role in the development of squamous cell carcinoma and possibly benign skin tumors. Several proteins of the bcl-2 gene family have been implicated in the regulation of programed cell death and cell proliferation. The keratinocytic hyperpoliferative skin lesions encompass wide of noncancerous, precancerous and cancerous. ***Methods;*** Immunohistochemical studies were performed on formalin-fixed,

paraffin-embedded tissue sections. This study was compared the immunohistochemical findings using antibodies for Ki-67, p27, p53, p63, p73 and bcl-2 protein, in 15 cases of seborrheic keratosis, 11 cases of keratoacanthoma, 12 cases of actinic keratosis, 7 cases of Bowen's diseases and 11 cases of squamuos cell carcinomas (SCC). ***Results:*** Expression of Ki-67 was increased in actinic keratosis, Bowen's disease and SCC than in seborrhric keratosis and keratoacanthoma. The significantly higher p27 expression were observed in actinic keratosis, Bowen's disease and SCC than in seborrhric keratosis and keratoacanthoma. P53 & p73 expression were increased in actinic keratosis, Bowen's disease and SCC. P63 expression was increased in seborrheic keratosis, actinic keratosis, Bowen's disease and SCC. Expression of bcl-2 was slightly increased in seborrheic keratosis and actinic keratosis. There was a significant positive correlations among the expression of Ki-67, p27, p53, p63 and p73 in seborrheic keratosis, keratoacanthoma, actinic keratosis, Bowen's disease and SCC. ***Conclusion:*** These results demonstrate that increased expression of the Ki-67, p27 and p53 family protein (p53, p63 and p73) is a common finding in actinic keratosis, Bowen's disease and SCC of the skin. These findings suggest that Ki-67, p27, p53 family (p53, p63 p73) protein may play an important role of oncogenesis and ketatinocyte proliferation and differentiation in the skin neoplasms.

I. 서 론

종양 증식과 진행은 흔히 비정상적인 세포 주기를 동반하며, 세포 주기는 여러 가지 유전자에 의하여 조절된다. 세포 주기에 관여하는 인자들을 두 가지로 분류할 수 있는데 하나는 세포증식을 조절하는 유전자이고, 다른 하나는 세포자멸사를 조절하는 것이다. 신생물은 세포증식이나 세포자멸사의 억제에 의해서 형성된다. 세포자멸사를 억제하는 bcl-2, bcl-x와 세포자멸사를 촉진하는 p53, bax 등 세포자멸사와 관련된 여러 유전자가 밝혀졌다. 세포 주기를 조절하는 유전자로는 Ki-67, Rb, p53 family, p27, cyclin A 등이 있다.[1-3)]

Ki-67은 세포의 증식에 관여하는 것으로 휴지기인 G_0시기를 제외한 G_1기, S기 및 M기 등 주로 세포 주기의 활성기에 출현하므로 Ki-67 발현이 많은 종양은 빠른 증식을 보이며 생물학적 형태상 악성도가 높은 것으로 알려졌다.[4-6)]

p27은 세포 주기 억제 인자로 증식 억제신호에 반응하여 세포주기를 정지시키는 브레이크기능을 가지고 있다. 이는 p21, p53과 더불어 Cip/Kip 족에 속하는데, 대부분 CDK에 대한 억제 작용을 가지고 있어 발현이 증가하면 배양세포에서 G_1기가 정지를 일으킨다.[7-9)]

p53 단백은 *p53* 유전자에 의해 생성되는 단백으로, 손상된 DNA를 복구하거나 고사시켜 세포 증식을 억제하는 종양 억제 유전자로 알려졌다.[10,11)] 변이형의 p*53*은 암유전자로 작용하여 많은 종류의 암세포에서 과발현되므로 악성종양의 발생과 진행에 관여하고 있다.[11-13)] p53 단백의 가족에는 p53, p63 그리고 p73이 있다.[14-16)]

최근 각질세포 과증식성 종양에서 세포주기를 조절하는 유전자와 세포자멸사를 억제하는 유전자의 이상 발현이 종양의 성장과 진행에 있어 중

요성이 강조되고 상호 연관성이 밝혀지고 있는 가운데 본 연구에서는 피부의 양성 상피종양으로 지루각화증과 각질극세포종을, 전암성 병변으로 광선각화증과 보웬병을, 악성 종양으로 편평세포암종을 대상으로 Ki-67, p27, p53, p63, p73 및 bcl-2에 대한 면역조직화학 염색을 시행하고 이들의 발현 형태를 비교 조사하여 피부종양의 성장과 진행에 관여하는 인자를 알아보고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

2001년 1월부터 2008년 8월까지 조선대학교 병원 병리과에서 진단된 환자 중 임상 기록과 병리조직표본의 검토가 잘 보존된 환자에 한하여 지루각화증 15예, 각질극세포종 11예, 광선각화증 11예, 보웬병 8예, 편평세포암종 11예 그리고 정상피부 10예로 총 66예를 대상으로 하였다.

2. 연구방법

1) 병리조직학적 검색

10% 중성 포르마린에 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였다. 각 예에서 H&E 염색된 유리 슬라이드를 모두 검색하였고, 종양이 충분히 포함된 조직을 선택하였다.

2) 면역조직화학염색

10% 중성 포르마린 고정, 파라핀에 포매한 조직으로 통상적인 면역조직화학적 검색인 streptavidin-biotin peroxidase 검색법(LSAB, Dako Co., Denmark)을 시행하였다. 일차항체로는 Ki-67는 MIB-1 (Immunotech, Marsiella, France)을 1:50으로 희석하여 사용하였고 p27은 다클론 항체 (Santa cruz Biotechnology, Santa cruz, CA)를 1:200으로 희석한 후 사용하였다. P53 단백은 Do-7 (DAKO, Carpinteria, CA)을 1:100으로 희석하여 사용하였으며 p63 단백 (Vision biosystems, NOVO castra Co, UK)은 1:50으로 희석하여 사용하였다. P73 (Zymed, San Francisco, CA)과 bcl-2 (124 monoclonalantibody, Dako Co, Denmark)는 1:50으로 희석한

후 사용하였다.

염색 방법은 5㎛ 두께로 파라핀 포매조직을 박절하고 60℃ 보온기에서 30분간 처리 후 자일렌(xylene)에서 5분간 탈파라핀 시킨 후 100%, 95%와 75% 알코올을 순차적으로 3분간 처리 후 증류수로 수세하였다. 10 mM citrate buffer에 조직 절편을 담그고 극초단파를 이용하여 10분간 2회 끓인 후 내인성 과산화효소(peroxidase)의 활성을 억제하기 위해 0.3% hydrogen peroxide에 10분간 처리하였으며 phosphate-buffered saline (PBS)로 수세하였다. 일차항체를 37℃에서 1시간 반응시키고 PBS로 수세 후 biotin이 부착된 이차항체에 20분 동안 반응시키고 수세한 후 다시 streptavidin peroxidase로 20분간 처리하였다. DAB (diaminobenzidine)를 5-10분간 도포하여 발색하고 10% Mayer's hematoxylin으로 대조 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다. 양성 대조군으로는 대장의 샘암종 조직과 유방의 섬유샘종 조직을 사용하였고, 음성 대조군으로는 정상 식염수를 사용하였다.

3) 면역조직화학 염색의 판정

염색 결과는 객관성을 얻기 위해 두 명의 관찰자에 의해 판독하였다. Ki-67, p27, p53, p63과 p73에 대한 양성 반응은 양성 대조군으로 사용한 대장의 샘암종 조직과 유방의 섬유샘종 조직에서의 염색 반응과 마찬가지로 암 실질조직 세포 내 핵이 진한 갈색으로 염색된 경우만 양성으로 하였고, bcl-2에 대한 양성반응은 세포질에 갈색으로 염색된 경우로 판정하였다. 염색 정도는 Shea등[17]의 방법에 따라 양성 반응을 보이는 암세포가 암 실질 조직세포내 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 분류하였다.

4) 통계분석

양성 종양인 지루각화증과 각질극세포종, 전암성 병변인 광선각화증과 보웬병, 악성 종양인 편평세포암종에서 Ki-67, p27, p53 단백계열 및 bcl-2 발현의 차이와 상관성은 Pearson chi-square test와 Fisher's exact test로 검정하였다. 모든 통계 검증은 p값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였으며 SPSS 프로그램(version 12.0)을 사용하였다.

III. 결 과

1. Ki-67 발현

1+ 이상의 Ki-67 단백에 양성반응을 보인 경우에는 지루각화증 15예 중 4예(Fig. 1A), 각질극세포종 11예 중 5예였다. 광선각화증은 12예 중 10예, 보웬병은 7예 모두, 편평세포암종은 11예 중 6예였다. 2+ 이상의 Ki-67 양성 반응을 보인 경우는 각질극세포종 11예 중 1예, 광선각화증 12예 중 8예(Fig. 1B), 보웬병은 7예 모두, 편평세포암종 11예 중 5예였다. 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서 Ki-67 발현이 보다 현저하여 통계학적으로 유의한 상관성이 있었다($p<0.05$, Table 1). 정상 상피 편평세포에서는 음성이었다.

2. p27 발현

1+ 이상의 p27 단백 양성반응을 보인 경우에는 지루각화증 15예 중 7예, 각질극세포종 11예 중 6예, 광선각화증 12예 중 11예, 보웬병 7예 중 6예 그리고 편평세포암종은 11예 중 9예였다. 2+ 이상의 p27 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증 15예 중 4예(Fig. 2A), 각질극세포종 11예 중 2예, 광선각화증 12예 중 8예, 보웬병은 7예 중 6예 그리고 편평세포암종 11예 중 6예(Fig. 2B)였다. 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 p27단백 발현이 보다 현저하여 통계학적으로 유의한 상관성이 있었다($p<0.05$, Table 2). 정상 상피 편평세포에서 p27 발현은 음성이었다.

3. p53 발현

1+ 이상의 p53 단백 양성반응을 보인 경우에는 지루각화증 15예 중 13

예, 각질극세포종 11예 중 10예(Fig. 3A), 광선각화증 12예 중 10예, 보웬병 7예 모두 그리고 편평세포암종은 11예 중 8예였다. 2+ 이상의 p53 단백의 양성 반응을 보인 경우는 지루각화증 15예 중 3예, 각질극세포종 11예 중 1예, 광선각화증 12예 중 8예(Fig. 3B), 보웬병은 7예 모두 그리고 편평세포암종 11예 중 7예였다. 이는 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서 p53 발현이 보다 현저하여 통계학적으로 유의한 상관성이 있었다($p<0.05$, Table 3).

4. p63 발현

1+ 이상의 p63 단백 양성반응을 보인 경우에는 지루각화증 15예 중 12예, 각질극세포종 11예 중 10예, 광선각화증 12예 중 12예, 보웬병 7예 중 5예 그리고 편평세포암종은 11예 중 7예였다. 2+ 이상의 p63 단백에 양성 반응을 보인 경우는 지루각화증 15예 중 11예, 각질극세포종 11예 중 2예, 광선각화증 12예 중 11예(Fig. 4A), 보웬병은 7예 중 5예(Fig. 4B) 그리고 편평세포암종 11예 중 4예였다. 지루각화증, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 p63단백 발현이 보다 현저하여 통계학적으로 유의한 상관성이 있었다($p<0.05$, Table 4).

5. p73 발현

1+ 이상의 p73 단백 양성반응을 보인 경우에는 지루각화증 15예 중 11예, 각질극세포종 11예 중 10예, 광선각화증 12예 중 12예, 보웬병 7예 모두 그리고 편평세포암종은 11예 중 10예(Fig. 5A)였다. 2+ 이상의 p73 단백에 양성 반응을 보인 경우는 지루각화증 15예 중 6예, 각질극세포종 11예 중 1예, 광선각화증 12예 중 9예, 보웬병은 7예 모두 그리고 편평세포암종 11예 중 4예(Fig. 5B)였다. 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서

p73 단백의 발현이 보다 현저하여 통계학적으로 유의한 상관성이 있었다 ($p<0.05$, Table 5)였다.

6. Bcl-2 발현

1+ 이상의 bcl-2 단백 양성반응을 보인 경우에는 지루각화증 15예 중 6예, 각질극세포종 11예 중 1예, 광선각화증 12예 중 15예(Fig. 6A), 보웬병 7예 중 2예 그리고 편평세포암종은 11예 중 0예였다. 2+ 이상의 bcl-2에 양성 반응을 보인 경우는 지루각화증 15예 중 2예, 각질극세포종 11예 중 0예, 광선각화증 12예 중 2예, 보웬병은 7예 중 1예(Fig. 6B) 그리고 편평세포암종 11예 중 0예였다. 이는 지루각화증, 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서 bcl-2 단백 발현 정도와는 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다(p=0.052, Table 6).

7. Ki-67과 p27, p53, p63, p73 그리고 bcl-2 발현과의 관계

지루각화증 15예, 광선각화증 12예, 보웬병 7예, 각질극세포증 11예, 그리고 편평세포암종 11예을 포함한 전체 56예에서 Ki-67 발현이 음성인 경우 24예였으며 p27 단백 음성이 18예, p53 음성이 8예, p63 음성 10예, p73 음성6예 그리고 bcl-2 음성 42예였다.

Ki-67 발현 1+ 인 경우 11예였으며 p27 단백 1+ 12예, p53 1+ 22예, p63 1+ 13예, p73 1+ 23예 그리고 bcl-2 1+ 9예였다.

Ki-67 발현 2+ 인 경우 11예였으며 p27 단백 2+ 13예, p53 2+ 7예, p63 2+ 11예, p73 2+ 14예 그리고 bcl-2 2+ 4예였다.

Ki-67 발현 3+ 인 경우 10예였으며 p27 단백 3+ 13예, p53 3+ 19예, p63 3+ 22예, p73 3+ 13예 그리고 bcl-2 3+ 1예였다.

통계학적으로 비교하면 Ki-67 양성이 증가할수록 p27, p53, p63, p73

단백 발현이 증가하였다(Table 7).

IV. 고 찰

피부상피종양은 노령인구, 자외선 노출, 지구 발암 요인 등의 증가에 의해 점차 증가되는 추세에 있으며 이에 따라 연구도 활발히 진행되어지고 있다. 악성종양은 흔히 비정상적인 세포주기를 동반하며, 세포주기는 여러 가지 유전자에 의하여 조절된다. 세포주기에 관여하는 암 유전자들은 두 가지로 대별할 수 있는데 그 한 부류는 세포증식을 조절하는 유전자이고, 다른 한 부류는 세포자멸사를 조절하는 것이다.[1,8)]

Ki-67은 세포 증식에 관여하는 것으로 휴지기인 G_0 시기를 제외한 G_1기, S기, G_2기 및 M기 등 주로 세포 주기의 활성기에 출현하므로 Ki-67 발현이 많은 종양은 빠른 증식을 보이며 생물학적 형태상 악성도가 높은 것으로 알려졌다.[4-6)] 또한 정상표피 조직에서는 드물게 기저층에 염색이 되는 것으로 알려졌고 피부상피 종양의 염색에서는 편평세포암종, 보웬병, 광선각화증에서 양성반응을 보였고 각질극세포종에서는 비교적 양성반응이 적었다. 종양의 성장과 진행에 있어서 세포증식의 증가 뿐 아니라 세포자멸사의 억제도 중요한 역할을 하며, Ki-67과 p53 단백 발현은 피부종양의 악성도에 비례 한다고 하였다.[18,19)]

본 연구에서 1+ 이상의 Ki-67 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종이었고, 2+ 이상 미만성으로 Ki-67 양성반응을 보인 경우는 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종이었고 특히 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서 보다 더욱 Ki-67 발현이 현저하였다. 이러한 소견은 종양의 성장과 진행에서 세포증식과 분화에 Ki-67이 중요한 역할을 하는 것으로 생각되며 Ki-67 발현이 악성 변화의 표지자로 이용할 수 있다고 보고한 내용을 뒷받침한다.[18,19)]

p27은 CDK(cyclin-dependent kinase)를 억제하는 단백으로 세포 주기 조절에 중요한 역할을 한다. p27은 증식억제 신호에 반응하여 세포주기를 정지시키는 브레이크 기능을 가지고 있다. 포유동물에는 두 부류 즉, cip/kip(kinase inhibitory protein)족과 INK4X/ARF(specific inhibitors of cdk4)족이 있다. p27은 p21, p53과 더불어 cip/kip 족에 속하는데, 발현이 증가하면 배양세포에서 G_1기 정지를 일으킨다. p27은 CDK를 억제하는 단백으로 Cyclin E/CDK2 complex와 결합하여 주로 종양이나 정상조직에서 성장이 중지된 세포들에 발현 되는 것으로 알려졌으며, 정상 그리고 종양 각질세포의 증식 조절에 중요한 역할을 하고, 종양발생과 생물학적 행태와 연결되었다. 또한 세포발생과 분화에 관련되었다.[7-9] p27의 발현은 조직학적으로 이형성 편평상피의 표면과 발달 분화 세포들에 제한되어 관찰되었다.[20] 보웬병, 광선각화증 그리고 편평세포암종에서 미만성으로 양성 반응을 보여 성장이 중지 되었거나 고사가 억제된 세포가 많은 중심부에서 p27에 강양성 소견을 보인 것으로 보고하였다.[21] p27 발현은 주로 조직학적으로 정상상피와 종양발생에서 세포분화와 관련되었고 p27의 과발현은 양성상피 표면에서 세포주기 조절과 증식에서 중요한 역할을 보인다 하였다.[20]

본 연구결과 1+ 이상의 p27 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평상피세포암에서 발현되었고, 2+ 이상 미만형으로 p27 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증과 각질극세포종에서보다 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 발현이 현저하였다. 이러한 소견은 p27 단백이 종양 발생과 진행에 관여하며 특히 세포 증식과 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 생각한다.

세포 주기 조절에 관여하는 p53 단백은 세포 증식의 조절에 필수적이고, Rb 유전자와 더불어 잘 알려진 종양 억제 전사 인자이다. 이는 17번

염색체의 단완에 위치한다. *p53* 유전자 산물인 p53 단백은 정상세포에서는 wild type으로 존재하며 세포의 성장을 억제하고 있으나, 그 양이 매우 적어 일반적인 면역조직화학 염색에서는 잘 발현되지 않는다. 반면에 p53 단백의 돌연변이형은 암유전자로 작용하여 많은 종류의 암세포에서 과발현되므로 악성종양의 발생과 진행에 관여하고 있다고 추정하고 있다.[22] p53 단백 계열에는 p53, p73 그리고 p63이 포함되어 있으며 그들은 암발생에 중요한 역할을 한다. p53단백 발현은 보통 악성종양과 과증식 특징을 보이는 염증성 피부질환의 편평상피에서 양성 반응을 보인다.[23] 조직학적으로 p53 양성세포들은 보통 편평세포암종, 보웬병, 광선각화증, 각화극세포종의 종양소엽의 바깥층에서부터 나타나며 강양성 반응을 보인다. 정상 피부의 기저층 세포들에서 드물게 양성반응을 보인다.[24-27]

본 연구 결과 1+ 이상의 p53 단백 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 발현이 많았고, 2+ 이상 미만형으로 p53 단백 양성반응을 보인 경우는 지루각화증과 각질극세포종보다 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서 보다 현저하게 발현되었다. 이러한 소견은 악성 종양의 발생과 진행에서 특히 세포의 증식과 분화에 p53 단백이 관여하는 것으로 생각할 수 있으며, p53 단백의 발현이 초기 악성 변화의 표지자로 사용 될 수 있을 것으로 생각한다.

p63은 골격근, 태반, 유방샘, 전립샘, 기관지, 흉성, 타액샘, 자궁, 심장과 폐 그리고 드물게 피부에서 발현된다. p63은 실험적으로 정상 그리고 종양성 각질세포들에서 발현되고 증식능을 가진 각질세포에 대한 표지자로 알려졌다. p63을 포함한 세포들의 수와 p63 분포는 편평세포암종 분화의 정도에 따라 좌우된다. 잘 분화된 편평세포암종은 말단 분화의 범위 가까이에 있는 기저층에 국한되어서 p63이 발현 되며 편평세포암종은 발현이 증가되고 미만성 발현을 보인다.[28,29] 각질 세포내에서 p63은 상피 발생의

재생능력에 대해 필요한 전사인자로 보이며, 그들이 일시적으로 증폭되는 결과로부터 인체 각질 줄기세포들을 구별할 수 있다.[30] 편평세포암종은 정상피부에 비해 큰 범위에서 p63이 발현되며 광선각화증과 지루각화증에서도 발현이 증가한다. 광선각화증과 지루각화증에서 p63 발현이 기저층에 국한되어서 발현이 될 뿐만 아니라 미만성 발현도 관찰되었다. 미만성 발현이 강력한 악성도의 지침으로만 생각할 수 없고 오직 이 병변의 증식능력을 강조하는 것으로 생각된다.[31,32]

본 연구결과 1+ 이상의 p63 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 발현되었고, 2+ 이상 미만형으로 p63 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 보다 더 현저하게 발현되었다. 이러한 소견은 다른 연구와 비슷한 p63 단백 발현율을 보였으며 보고한 내용을 뒷받침 한다 하겠다. p63 단백이 각질세포의 증식능력과 분화에 관여한다고 생각된다.

p73은 염색체 11번 단완에 위치하여 p53과 구조적으로 매우 유사한 염기서열을 공유한다. p53과 비슷하게 p73 단백도 대략 3개의 주요 영역으로 나뉘는데, 구조적으로 N-terminal transactivation domain(TA), Central core DNA-binding domain (DBD), Carboxy-terminal oligomerzation domain (OD)으로 나뉘며, 이들은 각각 p53과 29%, 63%, 42% 유사하다.[33-35] 또한 최근의 실험적 연구에 의하면, 과발현된 p73이 G_1 세포주기를 정지시키고 세포자멸사를 이끌며, p21을 포함한 p53의 표적유전자의 전사를 활성화 시킨다고 하는데, 이런 사실들은 p73이 p53과 기능적으로도 유사하다는 것을 보여준다.[33,36] p73이 p53처럼 종양억제 유전자로서 종양형성과 진행에 관여할 것이라고 생각하였다. 그러나 이런 유사성과는 달리 차이점도 부각되고 있다.[37-39] 신경모세포종, 대장암종,

유방암종, 전립샘암종을 비롯한 몇몇 종양에서 p73 돌연변이를 찾을 수 없었으며, 오히려 야생형 p73 과발현이 관찰되었다.[40] 그리하여 p73은 p53과는 다른 기전으로 종양형성에 기여할 것으로 생각하였다.

본 연구결과 1+ 이상의 p73 단백에 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 발현이 많았고, 2+ 이상 미만형으로 p73에 양성반응을 보인 경우는 편평세포암종, 광선각화증 그리고 보웬병으로 p73 단백 발현이 각질극세포종, 지루각화증에 비해 보다 현저하였다. 이러한 소견은 p73이 p53처럼 종양 형성과 진행에서 p73 단백이 각질 세포의 증식 능력과 분화에 관여하는 것으로 생각되며 광선각화증과 보웬병에서 초기 악성 표지자로 사용할 수 있을 것으로 생각되고 p73 단백이 각질 세포의 증식능력과 분화에 관여 한다고 생각한다.

Bcl-2 유전자의 산물인 bcl-2 단백은 세포내 미토콘드리아의 외막, 핵막, 세포질막, 내형질세포망 등에 위치하며, 비록 정확한 생화학적 작용기전은 밝혀지지 않았지만 세포의 발달과 분화, 조직 항상성, 형태발생에 중요한 역할을 하고 계획된 세포자멸사를 억제함으로서 세포의 수명을 연장시켜 종양발생에 관여하는 것으로 알려졌다. Bcl-2는 태아의 피부나 모발에서도 발견되어 줄기세포 표식자로 추측되고 있다. Bcl-2의 발현은 지루각화증의 각질세포에서 저 수준으로 관찰되며 광선각화증, 보웬병, 편평세포암종에서 고 수준으로 나타난다 하였다.[41-43]

본 연구결과 1+ 또는 2+이상의 bcl-2 단백 양성반응을 보인 경우는 지루각화증, 광선각화증과 보웬병이었다. 이러한 소견은 bcl-2가 세포 증식과 분화에 관여하는 것으로 추정할 수 있으나 통계학적인 의미가 없어 추후 연구가 더 필요할 것으로 생각한다.

V. 결 론

피부의 각질세포 과증식 병변 중 양성 상피종양인 지루각화증과 각질극세포종을, 전암성 병변으로 광선각화증과 보웬병을, 악성 종양으로 편평세포암종을 대상으로 피부 종양들의 병인론적 역할과 감별에 도움이 되는지 알아보고자 Ki-67, p27, p53, p63, p73 그리고 bcl-2를 이용한 면역조직화학염색을 시행하였고 각각 발현 양상을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

Ki-67, p27, p53, p63 그리고 p73은 지루각화증과 각질극세포종, 광선각화증, 보웬병 그리고 편평세포암종에서 발현이 관찰되었으나 양성 상피종양보다는 전암성 병변 이상인 광선각화증, 보웬병과 편평세포암종에서 보다 발현이 더 현저하여 종양의 형성과 진행에서 각질세포의 증식 능력과 분화에 관여하는 것으로 생각되며 초기악성 표지자로 사용할 수 있을 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Cohen JJ. Apoptosis. Immunology Today 14:126-130. 1993.
2. Balasubramanian S, Ahmad N, Jeedigunta S, Mukhtar H. Alterations in cell cycle regulation in mouse skin tumors. Biochem Biophys Res Commun. 243:744-748. 1998.
3. Wrone-smith T, Bergstrom J, Quevedo ME, Reddy V, Gutierez-steil C, Nickoloff BJ. Differential expression of cell survival and cell cycle regulatory proteins in cutaneous squamoproliferative lesions. J Delmatol Sci. 19:53-67, 1999.
4. Szekeres G, de Giacomoni P. Ki-67 and p53 expression in cutaneous Bowen's disease: an immunohistochemical study of fixed-embeded tissue sections. Acta Derm Venereol. 74:95-97, 1994.
5. Smolle J, Sojer H. Proliferative activity of cutaneous melanocytic tumors defined by Ki-67 monoclonal antibody: a quantitative immunohistochemical study. Am J Dermatopathol. 11:301-307, 1980.
6. Brown DC, Gatter KC. Ki-67 prtein: the immaculate deeption? Histopathology 40:2-11, 2002.
7. Loda M, Cukor B, Tam SW, Lavin P, Fiorentino M, Draetta GF, Jessup JM, Pagano M. Increased proteasomedependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinoma. Nat Med. 3:331-234, 1997.
8. Steeg PS and Abrams JS. Cancer prognostics: past, present, and p27. Nat Med. 3:152-154 1997.
9. Tsihlias J, Kapusta LR, De Boer G, et al. Loss of cyclindependent kinase inhibitor p27(kip1) is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. Cancer Res. 58:542-548,1998.

10. Prives C, Hall PA. The p53 pathway. J Pathol 187:112-126, 1999.
11. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. Nature 351:453-456. 1991.
12. Petrenko O, Moll UM. The MDM2-p53 interaction. Mol Cancer Res. 1:1001-1008, 2003.
13. Oren M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. J Biol Chem. 274:36031-36034, 1999.
14. van Bokhoven H, McKeon F. Mutations in the p53 homolog p63: allele-specific developmental syndromes in humans. Trends Mol Med. 8:133-139, 2002.
15. Senoo M, Tsuchiya I, Matsumura Y, Mori T, Saito Y, Kato H, Okamoto T, Habu S. Transcriptional dystegulation of the p73L/p63 /p51/p40/KET gene in human squamous cell carcinoma: expression of Delta Np73L, a novel dominantnegative isoform, and loss of expression of the potential tumour suppressor p51. Br J Camcer 84:1235-1241, 2001.
16. Batinac T, Zamolo G, Jonjic N, Gtuber F, Perovecki M. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases. Tumori. 90:120-127, 2004.
17. Shea CR, McNutt NS, Volkenandt M, Lugo J, Prolev PG, Albino AP: Overexpression of *p53* protein in basal cell carcinomas of human skin. Am J Pathol. 141:25-29, 1992.
18. Lu S, Tiekso J, Hietanen S, et al. Epression of cell-cycle proteins p53, p21 (WAF-1), PCNA, and Ki-67 in benign, premalignant and malignant skin lesions with implicated HPV involvement. Acta Derm Venereol. 79:268-273, 1999.
19. Matsuta M, Kimura S, Kosegawa G, Kon S, Matsuta M. Immunohistochemical detection of Ki-67 in epithelial skin tumors in

formalin-fixed paraffinemvbedded tissue sections using a new monoclonal antibody (MIB-1). J Dermatol. 23:147-152, 1996.
20. Bruecks AK, Kalia S, Trotter MJ. Overexpression of p27KIP1 in seborrheic keratosis. J Cutan Med Surg. 11:174-178, 2007.
21. Oh CW, Penneys N. p27 and mib-1 expression in actinic keratosis, Bowen's disease, and squamous cell carcinoma. Am J Dermatopathol. 26:22-26, 2004.
22. 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. 28:53-67, 1999.
23. Lu S, Tiekso J, Hietanen S, Syrjanen K, Havu VK, Syrjanen S. Expession of cell-cycle proteins p53, p21 (WAF1), PCNA and Ki-67 in benign, premalignant and malignant skin lesions with implicated HPV involvement Acta Dermatol Vejereol. 79:268-273, 1999.
24. Onodera H, Nakamura S, Sugai T. Cell proliferation and p53, protein expression in cutaneous epithelial neoplasms. Am J Dermatopathol. 18:580-588, 1996.
25. Sim CS, Slaer SD, McKee PH. Mutant p53 is expression in Bowen's disease. Am J Dermatopathol. 14:195-199, 1992.
26. Moles JP, Moyret C, Guillot B, Jeanteur P, Guilhou JJ. Theillet C, Bassett-Seguin N. p53 gene ,mutations on human epithelial skin cancers. Oncngene 8:583-588, 1993.
27. Urano Y, Oura H, Sakaki A, Nagae H, Matsumoto K, Fukuhara K, Nagae T, Arase S, Ninomiya Y, Nakanishi H, Shigemi F, Takeda K: Immunohistological analysis of p53 exptession in human skin tumors. J Dermatol Sci. 4:69-75, 1992.
28. 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 19:3439-3444, 2000.

29. Reis -Filho JS, Torio B, Albergaria A, Schmitt FC. p63 expression in normal skin and usual cutaneous carcinomas J Cutan Pathol. 29:517-523, 2002.
30. Parsa R, Yang A, McKeon F, Green H. Association of p63 with proifreative potential in normal and neoplastic human keratinocytes. 113:1099-1105, 1999.
31. Tsujita-kyutoku M, Kuchi K, Danvara N, et al. p63 expression in normal human epidermis and epidermal appemdages and their tumors. J Cutan Pathol. 30:11-7, 2003.
32. Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, et al. p63 expression in basal cell carcinoma. Exp Dermatol. 8:494-501, 2002.
33. Jost CA, Marin MC, Kaelin WG Jr. p73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. Nature 389:191-194, 1997.
34. Oren M. Lonely no more: p53 finds its kin in a tumor suppressor haven. Cell 90;829-832, 1997.
35. Kaelin WG Jr. The emerging p53 gene family. J Natl Cancer Inst 91:594-598, 1999.
36. Zhu J, Jiang J, Zhou W, Chen X. The potential tumor suppressor p73 differentially regulates cellular p53 target genes. Cancer Res. 58:5061-5065, 1998.
37. Linzer DI, Levine AJ. Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cell and uninfected embryonal carcinoma cells. Cell 17:43-52, 1979.
38. 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. 18:6316-6324, 1998.

39. Parabhu NS, Somasundram K, Satyamoorthy K, Herlyn M, KI-Deiry WS. p73beta, unlike p53, suooresses growth and induces apoptosis of human papillomavirus E6-expressing cancer cells. Int J Oncol. 13:5-9, 1998.

40. DeYoung MP, Ellisen LW. p63 and p73 in human cancer: definding the network. Oncogene 26:5169-5183, 2007.

41. Sellheyer K, Krahl D, Ratech H. Distribution of bcl-2 and bax in embryonic and fetal human skin. Am J Dermatopathol 23:1-7, 2001.

42. Nakagawa K, Yamamura K, Maeda S, Ichihashi M. Bcl-2 expression in epidermal keratinocytic disease. Cancer 74:1720-1724, 1994.

43. Hussein MR, AI-Badaiwy JH, Guirguis MN. Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the non-tumorigenic, pretumorigenec, and tumorigenic keratinocytic hyperproliferrative lesions. J Pathol. 31:643-651, 2004.

Table 1. Expression profiles of Ki-67 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

	Ki-67				Total
	0	1+	2+	3+	
Normal skin	10(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
SK	11(73.3)	4(26.7)	0(0.0)	0(0.0)	15(100.0)
KA	6(54.5)	4(36.4)	0(0.0)	1(9.1)	11(100.0)
AK	2(16.7)	2(16.7)	7(58.3)	1(8.3)	12(100.0)
BD	0(0.0)	0(0.0)	1(14.3)	6(85.7)	7(100.0)
SCC	5(45.5)	1(9.1)	3(27.3)	2(18.2)	11(100.0)
Total	34(51.5)	11(16.6)	11(16.6)	10(15.3)	66(100.0)

SK: Seborrheic keratosis, AK: Actinic keratosis, KA: keratoacanthoma, BD: Bowen's disease, SCC; Squamous cell carcinoma

Table 2. Expression profiles of p27 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

	p27				Total
	0	1+	2+	3+	
Normal skin	8(80.0)	2(20.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
SK	8(53.3)	3(20.0)	3(20.0)	1(6.7)	15(100.0)
KA	5(45.5)	4(36.4)	1(9.1)	1(9.1)	11(100.0)
AK	1(8.3)	3(25.0)	6(50.0)	2(16.7)	12(100.0)
BD	1(14.3)	0(0.0)	2(28.6)	4(57.1)	7(100.0)
SCC	3(27.3)	2(18.2)	1(9.1)	5(45.5)	11(100.0)
Total	26(39.4)	14(21.4)	13(19.6)	13(19.6)	66(100.0)

SK: Seborrheic keratosis, AK: Actinic keratosis, KA: keratoacanthoma, BD: Bowen's disease, SCC; Squamous cell carcinoma

Table 3. Expression profiles of p53 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

	p53				Total
	0	1+	2+	3+	
Normal skin	9(90.0)	1(10.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
SK	2(13.3)	10(66.7)	3(20.0)	0(0.0)	15(100.0)
KA	1(9.1)	9(81.8)	1(9.1)	0(0.0)	11(100.0)
AK	2(16.7)	2(16.7)	2(16.7)	6(50.0)	12(100.0)
BD	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	7(100.0)	7(100.0)
SCC	3(27.3)	1(9.1)	1(9.1)	6(54.5)	11(100.0)
Total	17(25.7)	23(34.8)	7(10.6)	19(28.9)	66(100.0)

SK: Seborrheic keratosis, AK: Actinic keratosis, KA: keratoacanthoma, BD: Bowen's disease, SCC; Squamous cell carcinoma

Table 4. Expression profiles of p63 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

	p63				Total
	0	1+	2+	3+	
Normal skin	8(80.0)	2(20.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
SK	3(20.0)	1(6.7)	5(33.3)	6(40.0)	15(100.0)
KA	1(9.1)	8(72.7)	1(9.1)	1(9.1)	11(100.0)
AK	0(0.0)	1(8.3)	4(33.3)	7(58.3)	12(100.0)
BD	2(28.6)	0(0.0)	0(0.0)	5(71.4)	7(100.0)
SCC	4(36.4)	3(27.3)	1(9.1)	3(27.3)	11(100.0)
Total	18(27.3)	15(22.6)	11(16.6)	22(33.5)	66(100.0)

SK: Seborrheic keratosis, AK: Actinic keratosis, KA: keratoacanthoma, BD: Bowen's disease, SCC; Squamous cell carcinoma

Table 5. Expression profiles of p73 in keratinocytic proliferative lesions of the skin.

	p73				Total
	0	1+	2+	3+	
Normal Skin	7(70.0)	3(30.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
SK	4(26.7)	5(33.3)	5(33.3)	1(6.7)	15(100.0)
KA	1(9.1)	9(81.8)	0(0.0)	1(9.1)	11(100.0)
AK	0(0.0)	3(25.0)	8(66.7)	1(8.3)	12(100.0)
BD	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	7(100.0)	7(100.0)
SCC	1(9.1)	6(54.5)	1(9.1)	3(27.3)	11(100.0)
Total	13(19.7)	26(39.4)	14(21.3)	13(19.6)	66(100.0)

SK: Seborrheic keratosis, AK: Actinic keratosis, KA: keratoacanthoma, BD: Bowen's disease, SCC; Squamous cell carcinoma

Table 6. Expression profiles of bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin.

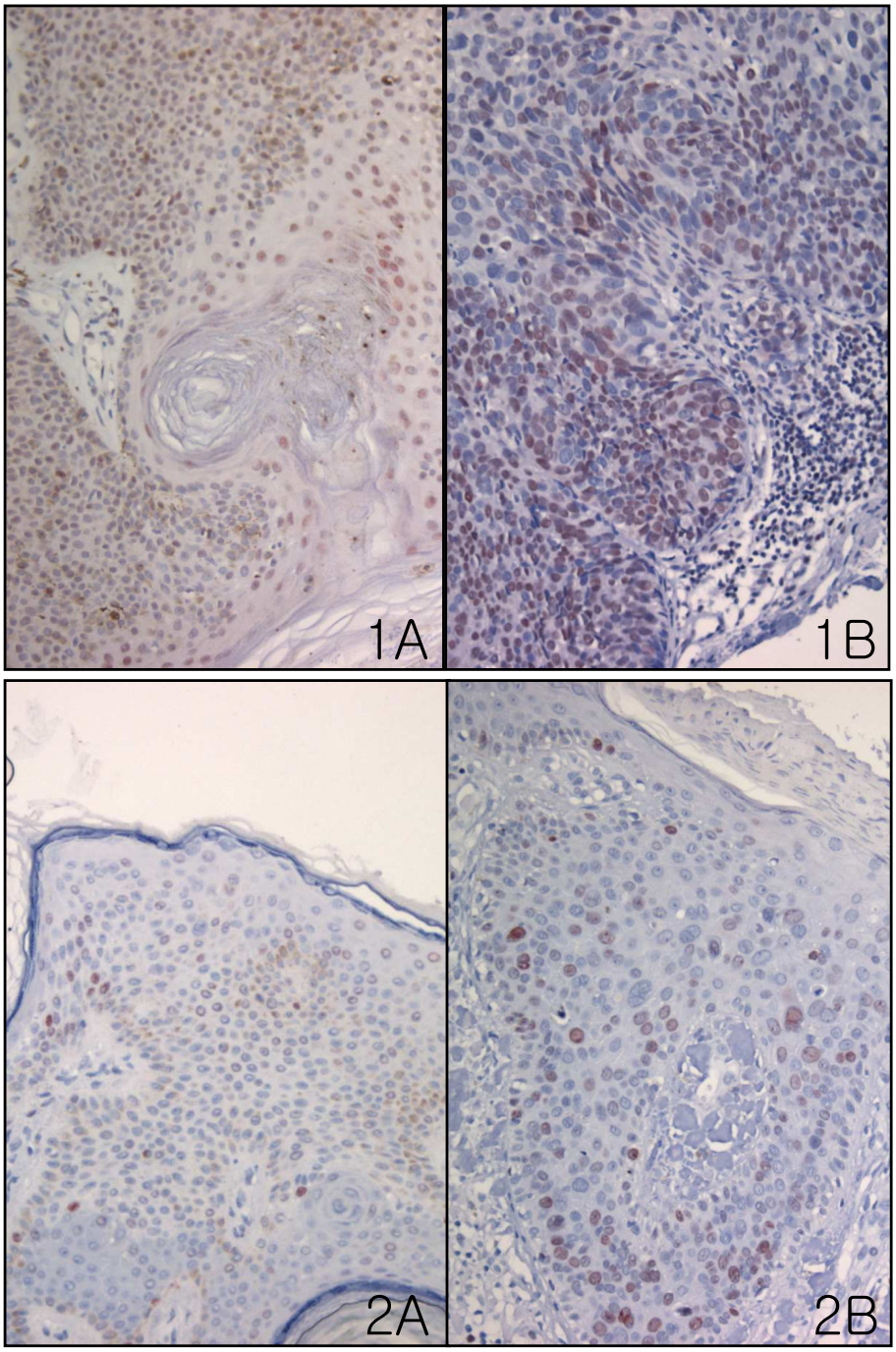
	bcl-2				Total
	0	1+	2+	3+	
Normal skin	10(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	10(100.0)
SK	9(60.0)	4(26.7)	2(13.3)	0(0.0)	15(100.0)
KA	10(90.9)	1(9.1)	0(0.0)	0(0.0)	11(100.0)
AK	7(58.3)	3(25.0)	2(16.7)	0(0.0)	12(100.0)
BD	5(71.4)	1(14.3)	0(0.0)	1(14.3)	7(100.0)
SCC	11(100.0)	0(0.0)	0(0.00	0(0.0)	11(100.0)
Total	52(78.6)	9(13.6)	4(6.2)	1(1.6)	66(100.0)

SK: Seborrheic keratosis, AK: Actinic keratosis, KA: keratoacanthoma, BD: Bowen's disease, SCC; Squamous cell carcinoma

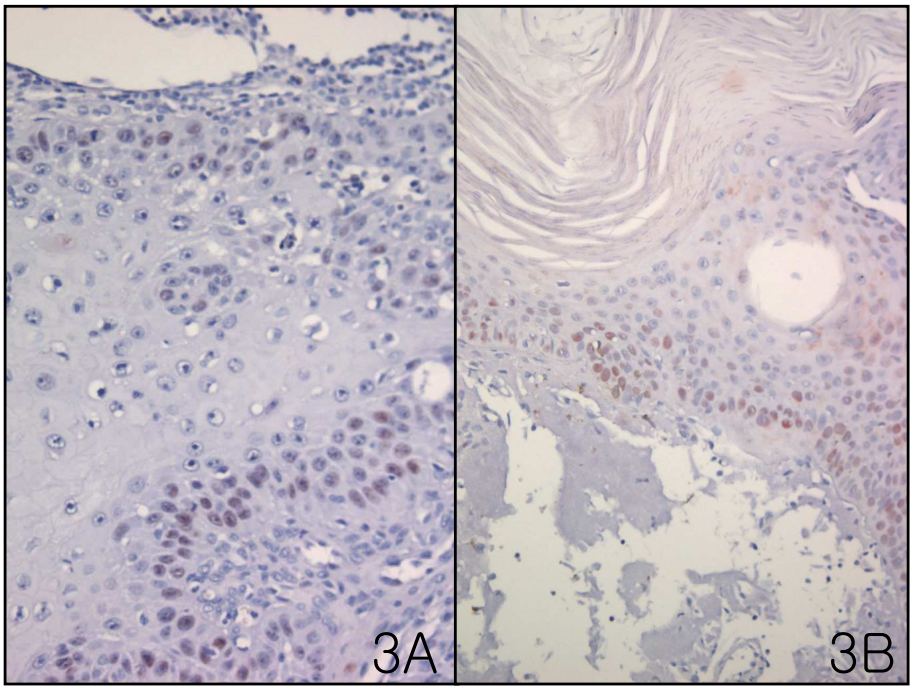
Table 7. Correlation between the expression of Ki-67 and the expression of p27, p53, p63, p73 and bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin

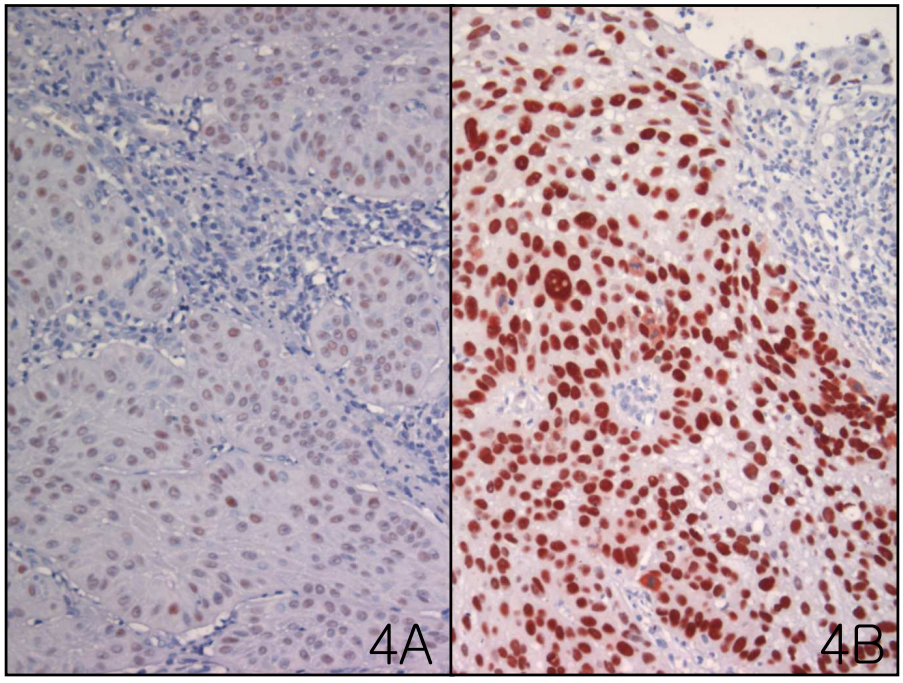
		Ki-67					
		0	1+	2+	3+	Total	
p27	0	14(58.3)	3(27.3)	1(9.1)	0(0.0)	18(32.1)	
	1+	5(20.8)	4(36.4)	3(27.3)	0(0.0)	12(21.4)	
	2+	4(16.7)	3(27.3)	4(36.4)	2(20.0)	13(23.2)	
	3+	1(4.2)	1(9.1)	3(27.3)	8(80.0)	13(23.2)	
Total		24(100.0)	11(100.0)	11(100.0)	10(100.0)	56(100.0)	P<0.05
p53	0	6(25.0)	0(0.0)	1(9.1)	1(10.0)	8(14.3)	
	1+	12(50.0)	9(81.8)	0(0.0)	1(10.0)	22(39.3)	
	2+	4(16.7)	2(18.2)	1(9.1)	0(0.0)	7(12.5)	
	3+	2(8.3)	0(0.0)	9(81.8)	8(80.0)	19(33.9)	
Total		24(100.0)	11(100.0)	11(100.0)	10(100.0)	56(100.0)	P<0.05
p63	0	5(20.8)	1(9.1)	1(9.1)	3(30.0)	10(17.9)	
	1+	8(33.3)	5(45.5)	0(0.0)	0(0.0)	13(23.2)	
	2+	6(25.0)	2(18.2)	3(27.3)	0(0.0)	11(19.6)	
	3+	5(20.8)	3(27.3)	7(63.6)	7(70.0)	22(39.3)	
Total		24(100.0)	11(100.0)	11(100.0)	10(100.0)	56(100.0)	P<0.05
p73	0	5(20.8)	0(0.0)	0(0.0)	1(10.0)	6(10.7)	
	1+	13(54.2)	8(72.7)	2(18.2)	0(0.0)	23(41.1)	
	2+	4(16.7)	3(27.3)	6(54.5)	1(10.0)	14(25.0)	
	3+	2(8.3)	0(0.0)	3(27.3)	8(80.0)	13(23.2)	
Total		24(100.0)	11(100.0)	11(100.0)	10(100.0)	56(100.0)	P<0.05
bcl-2	0	19(79.2)	9(81.8)	8(72.7)	6(60.0)	42(75.0)	
	1+	4(16.7)	1(9.1)	2(18.2)	2(20.0)	9(16.1)	
	2+	1(4.2)	1(9.1)	1(9.1)	1(10.0)	4(7.1)	
	3+	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(10.0)	1(1.8)	
Total		24(100.0)	11(100.0)	11(100.0)	10(100.0)	56(100.0)	P=0.052

류려선의 사진부도 (1)

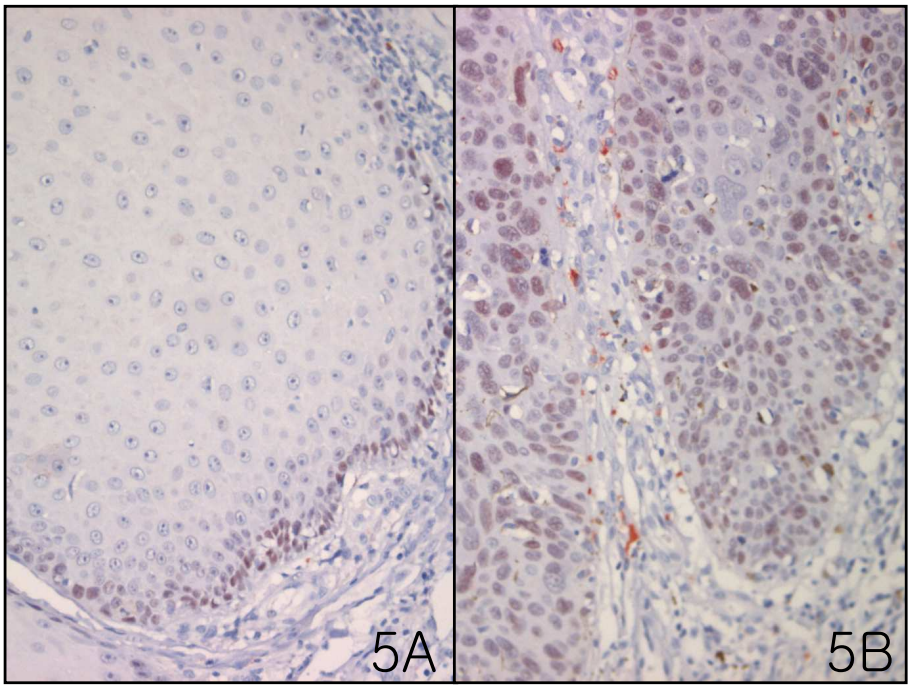


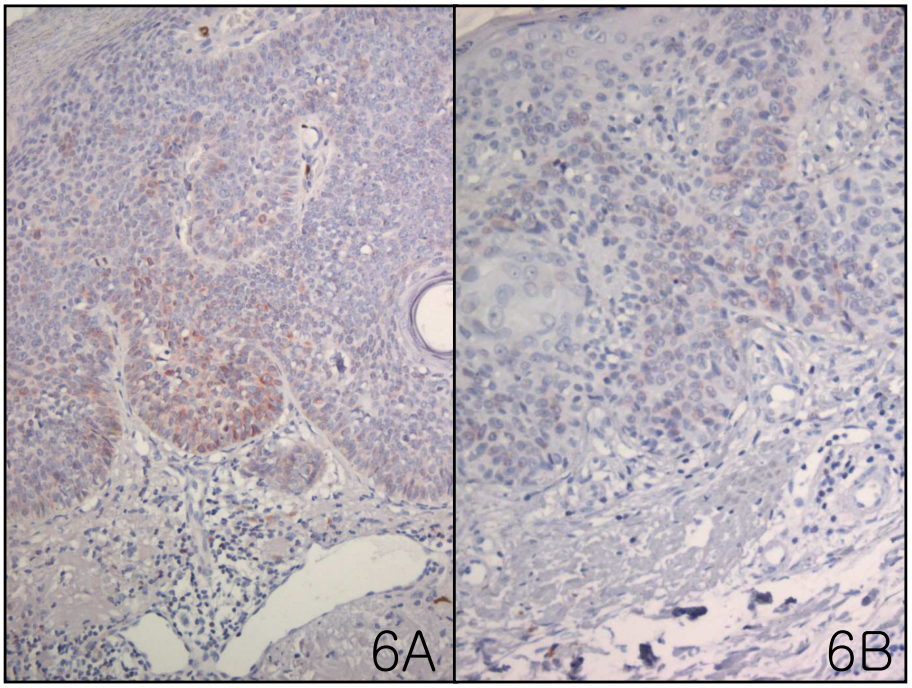
류려선의 사진부도 (2)





류려선의 사진부도 (3)





저작물 이용 허락서

학 과	의 학	학 번	20077367	과 정	박 사
성 명	한글: 류려선 한문 :柳麗善 영문 :Ryu Reuo-Sun				
주 소	광주광역시 광산구 송치동 439-1				
연락처	E-MAIL : lifemdr@hanmail.net				
논문제목	한글: 피부 각질세포의 과증식성 병변에서 Ki-67, p27, p53 단백 계열과 bcl-2의 발현 영어: Expression of Ki-67, p27, p53 protein family and bcl-2 in keratinocytic proliferative lesions of the skin				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조대학교가 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 의사표시가 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(0) 반대( )

2009년 2 월 일

저작자: 류 려 선 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하