



Contents

신경유전체학을 통해 본 인간의 뇌	7
서문	8
이 책의 구조	8
Chapter 1. 왜 뇌 유전체를 연구하는가	9
유전체가 그리는 뇌의 설계도	9
마이크로어레이에서 단일 세포까지	10
사후 조직이라는 숙명	11
Chapter 2. 시공간 전사체의 탄생	12
16개 영역, 발달에서 노화까지	12
Exon 수준의 마이크로어레이	14
86%의 유전자가 뇌에서 발현된다	14
태아기의 극적인 전사체 변화	14
공발현 네트워크: 함께 발현되는 유전자들	15
성별에 따른 유전자 발현 차이	15
발현 양적 형질 유전자: eQTL	15
이 연구의 유산	16
Chapter 3. BrainSpan과 태아 뇌 전사체	16
레이저로 뇌를 해부하다	17
아홉 개의 층, 아홉 개의 분자적 이야기	17
인간과 마우스: 표면 아래의 차이	18
앞에서 뒤로: 전두-측두 전사 구배	18
두 연구가 만드는 완전한 지도	19

Chapter 4. 유전자 공발현 네트워크와 뇌 발달	20
상관에서 네트워크로, 네트워크에서 모듈로	20
뇌 발달의 전사체적 타임라인	21
BrainVar 데이터베이스: 유전체와 전사체의 만남	21
기능 미상 유전자에게 이름을 붙이는 법	22
Chapter 5. 단일 세포 기술의 등장	23
기름방울 속의 혁명	23
핵 하나면 충분하다	24
데이터를 읽어내는 기술	25
BICCN: 뇌의 세포 인구조사	26
Chapter 6. 발달 중인 뇌의 세포 지도	27
방사 글리아에서 뉴런까지: 분화의 세 가지 프로그램	27
발달 중인 시상의 시공간 아틀라스	28
피질 영역화의 분자적 특징	29
삼능 중간 전구세포의 발견	29
Chapter 7. 성인 뇌의 세포 다양성	31
31개의 상위클러스터와 뇌의 진화적 역사	31
뇌간의 이질성	32
사람마다 다른 뇌: 개체 간 변이	33
인간 뇌는 어떻게 다른가: 영장류 비교	34
Chapter 8. 멀티오믹스와 후성유전체	35
DNA 메틸화라는 고대의 언어	35
크로마틴 접근성의 지형도	36
크로마틴이 먼저 열리고, 전사가 뒤따른다	37
3D 유전체 구조의 발달적 변화	37
Chapter 9. 방사 글리아와 신경 생성	39
세 가지 방사 글리아 유형: 어디에 있고 무엇을 하는가	39
oRG와 인간 피질 확장의 비밀	40
신경 생성의 궤적: RG에서 성숙 뉴런까지	40
세포 주기와 운명: 언제 멈추느냐가 무엇이 되느냐를 결정한다	41

Chapter 10. 흥분성 뉴런	43
흥분성 뉴런: 피질층의 건축학	43
흥분성 뉴런의 마커 유전자	44
흥분성 뉴런과 질환	44
Chapter 11. 억제성 뉴런	45
억제성 뉴런: 기원이 다르면 기능도 다르다	45
억제성 뉴런의 마커 유전자	46
발달, 이주, 그리고 질환과의 연결	47
Chapter 12. 성상세포	48
성상세포: 지역 정체성을 타고난 세포	48
노화와 질환에서의 성상세포	49
발달 중 신경 생성에서 글리아 생성으로의 전환	49
Chapter 13. 미세아교세포	50
미세아교세포: 난황낭에서 온 면역 감시자	50
Chapter 14. 희소돌기세포와 OPC	52
OPC와 희소돌기세포: 수초화의 분자적 기초	52
글리아 생성 전환과 OPC 발달	53
Chapter 15. 혈관 세포와 뇌-혈관 장벽	54
뇌 혈관 세포의 종류와 정체성	54
동맥-모세혈관-정맥 연속체: 위치가 기능을 결정한다	54
뇌-혈관 장벽의 구조와 기능	55
혈관 변화와 신경퇴행	55
왜 뇌 유전체학 연구자는 혈관 세포를 무시할 수 없는가	56
Chapter 16. 소뇌의 세포 다양성	57
두 발생 구역: 마름입술과 뇌실대	57
Purkinje 세포의 분자적 다양성	58
과립세포의 공간적 계보	58
소뇌 교세포: 버그만 교세포에서 백질 성상세포까지	59
인간 소뇌의 진화적 확장	60

소뇌와 질환	60
참고문헌	61
Chapter 17. 시상, 시상하부, 선조체, 뇌간의 세포 지도	61
시상의 3단계 분자 경사	62
발달 중인 시상: 인간 특이적 GABA 뉴런 확장	62
부실핵 시상(PVT)과 양극성장애	63
시상하부: 108가지 뉴런이 조율하는 몸의 항상성	63
선조체: 패치와 매트릭스의 이중 세계	64
도파민 뉴런의 아형과 진화적 딜레마	65
뇌간: 분류를 거부하는 뉴런들	65
참고문헌	66
Chapter 18. 유전자는 홀로 작동하지 않는다	67
유전자 공발현 네트워크: 함께 켜지는 유전자들	67
자폐스펙트럼장애 사후 뇌에서 발견된 수렴	68
지역 패턴의 소실: 뇌가 뇌다움을 잃을 때	68
시냅스 네트워크, 전사 조절 네트워크, 크로마틴 리모델링 네트워크	69
하나의 유전자 변이가 네트워크 전체를 흔든다	69
네트워크 발굴이 가능한 이유: 방법론의 전제들	70
Chapter 19. 유전적 이질성에서 기능적 수렴으로	71
액숨 시퀀싱이 밝힌 신생 변이의 수렴	71
세 가지 경로로의 수렴 — 시냅스, 전사 조절, 크로마틴	72
더 큰 코호트, 더 뚜렷한 수렴	72
조현병에서도 같은 이야기: 시냅스 네트워크의 수렴	73
CNV 연구에서 본 수렴: Pinto et al. 2014	74
기능적 수렴이 왜 치료적 가능성을 열어주는가	74
Chapter 20. 시공간적 수렴 — 언제, 어디서 유전자들이 모이는가	76
태아 중기 전두엽 투사 뉴런에서의 수렴	76
BrainSpan이 가능하게 한 것들	77
여러 질환의 시공간적 수렴 패턴	77
단일 세포 해상도에서 본 시공간적 수렴	78
시공간적 수렴이 유전 변이 해석을 바꾸다	79

발달의 창과 취약성의 시간	80
Chapter 21. 다면발현 — 하나의 유전자, 여러 표현형	81
다면발현의 세 가지 얼굴	81
22q11.2 결실이 들려주는 이야기	82
방향이 운명을 바꾼다	82
옴니제닉 모델: 다면발현이 수학적 필연인 이유	83
시냅스후 단백질 복합체의 진화와 다면발현의 기원	83
정화 선택이 보내는 신호	84
암과 신경발달 질환의 다면발현: 같은 유전자, 다른 결말	85
수렴과 다면발현은 동전의 양면	86
Chapter 22. 인간 뇌는 어떻게 달라졌는가	87
인간 가속 영역과 인간 보존 결실	88
극도로 보존된 서열과 뇌의 조절 장치	89
HAR의 기능적 검증: 서열 변화에서 뉴런 표현형까지	90
외측 방사 글리아와 피질 확장의 진화적 기원	90
시냅스 네오테니: 느린 성숙이 만드는 인간의 독특함	91
대체 스플라이싱과 인간 뇌 전사체의 복잡성	92
References	93
Chapter 23. 진화가 남긴 복잡성	94
시냅스 단백질 복합체의 진화적 팽창	94
원시시냅스에서 인간 시냅스까지: 세포부착분자와 단백질체의 진화	95
시냅스: 뇌 전체의 시냅스 다양성 지도	96
정화 선택 아래 놓인 뇌 유전자들	97
다면발현: 인지 진화와 신경정신과적 조건은 같은 동전의 양면	97
인간 특이적 유전자 발현 변화와 신경발달 질환의 연결	98
References	98
Chapter 24. 전이인자 — 유전체의 기생자에서 뇌 진화의 동력으로	100
유전체 안의 기생자	100
인간 계통에서 일어난 Alu 폭발	100
스위치를 만드는 기생자: 전이인자의 조절 요소화	101

뇌에서만 일어나는 특별한 일들	101
진화의 선물과 대가	102
Chapter 25. 뇌 오가노이드의 탄생	103
자가 조직화의 마법: 프로토콜과 그 논리	104
인간만이 가진 것: 외측 방사 글리아의 재현	104
오가노이드는 실제 뇌를 닮았는가	105
형태형성인자의 언어: 이중 SMAD 억제와 축 패턴화	105
더 오래, 더 다양하게	106
오가노이드, 구체, 어셈블로이드: 세 가지 접근법의 정리	107
한계들, 그리고 새로운 가능성	107
Chapter 26. 영역 특이적 오가노이드와 어셈블로이드	108
유도 프로토콜과 영역 특이적 오가노이드	109
어셈블로이드: 영역을 연결하다	109
피질-선조체 회로의 재현	109
네 영역을 잇는 감각 경로 어셈블로이드	110
어셈블로이드가 보여준 원리와 남은 한계	110
Chapter 27. 오가노이드의 검증과 한계	111
Bhaduri et al. 2020: 스트레스가 분화를 방해한다	112
He et al. 2024: 인간 신경 오가노이드 세포 아틀라스	112
Fleck et al. 2023: 유전자 조절 네트워크를 추론하다	113
Pollen et al. 2019: 오가노이드를 중간 비교 모델로	114
검증 연구가 가르쳐 주는 것	115
Chapter 28. 오가노이드의 미래	115
CRISPR와 오가노이드의 만남: 유전자 기능 해부	116
Jin et al. 2025: 키메라 뇌에서 인간 세포가 살다	116
오가노이드 기술의 현재 한계와 극복 방향	117
고처리량 스크리닝과 AI의 역할	117
의식과 윤리: 불가피한 질문	118
Chapter 29. 긴길이 시퀀싱과 이소체의 세계	120
왜 긴길이인가: 짧은 리드의 구조적 한계	120

엑손 수준에서 이미 보이는 발달적 전환: SCN2A의 사례	120
발달하는 신피질의 이소체 다양성	121
RNA 결합 단백질이 조절하는 스플라이싱 프로그램	121
NRXN1 이소체: 하나의 유전자, 50가지 얼굴	122
이소체 복잡성과 신경발달 질환의 접점	123
References	123
Chapter 30. Perturb-seq — 유전자 기능의 대규모 해부	124
한 번에 하나씩의 한계	124
Perturb-seq의 탄생: 교란과 측정의 결합	125
CRISPRi와 CRISPRa: 유전자를 끄고 켜는 기술	125
뉴런에서의 유전체 규모 스크리닝: Tian et al. (2021)	126
사후 조직의 벽을 넘는 기술	126
Chapter 31. 오가노이드와 살아있는 뇌에서의 CRISPR 스크리닝	127
CHOOSE: 오가노이드에서 CRISPR 스크린을 하다	127
어셈블로이드에서의 스크리닝: 세포 이주를 묻다	128
살아있는 뇌에서: 인 비보 Perturb-seq	129
에필로그. 협업이 만든 과학	130
한 사람이 할 수 없는 일	130
조절 유전체의 10년: PsychENCODE	131
분야의 경계를 넘는 협업	131
공개 데이터의 힘	132
대규모 데이터 리소스에 대한 투자	132
당신이 탐험할 미지의 영역	133

신경유전체학을 통해 본 인간의 뇌

저자: 안준용 (고려대학교 보건과학대학 바이오시스템의과학부)

인간의 뇌는 약 2만 개의 유전자로부터 3,000가지 이상의 세포 유형을 만들어낸다. 이 책은 유전체 기술이 인간 뇌의 분자적 구조를 어떻게 밝혀왔는지를 따라간다. 2011년 최초의 뇌 시공간 전사체에서 시작하여, 단일 세포 아틀라스, 피질과 비-피질 영역의 세포 유형 다양성, 유전자 네트워크의 기능적 수렴, 시냅스 단백질체의 진화, 영장류 비교 전사체학, 뇌 오가노이드, 그리고 대규모 유전자 기능 스크리닝까지, 이 분야가 지난 15년 동안 걸어온 길을 정리한다.

마지막 수정: 2026년 4월

서문

20세기 초, 독일의 신경해부학자 코르비니안 브로드만(Korbinian Brodmann)은 인간 대뇌 피질을 세포의 형태와 배열만으로 52개의 영역으로 나누었다. 현미경으로 들여다본 세포의 모양이 영역마다 달랐기 때문이다. 브로드만의 지도는 100년이 넘도록 신경과학의 기본 좌표계로 사용되어왔고, 우리는 여전히 “브로드만 영역 17은 일차 시각 피질이다”라는 식으로 뇌를 이야기한다. 그런데 이 지도는 하나의 근본적인 질문을 남겨놓았다. 세포의 형태가 영역마다 다르다면, 그 차이를 만들어내는 분자적 프로그램은 무엇인가?

유전자 발현이 그 답의 핵심에 있다. 센트럴 도그마(central dogma)는 흔히 DNA에서 RNA로, RNA에서 단백질로 정보가 흐르는 과정으로만 기억된다. 그래서 유전자가 개체의 표현형, 즉 눈 색깔이나 키를 결정한다는 정도로 이해하기 쉽다. 하지만 센트럴 도그마는 그보다 훨씬 더 깊은 이야기를 하고 있다. 같은 유전체를 가진 하나의 개체 안에서, 어떤 유전자가 언제, 어디서 발현되느냐가 조직과 세포의 정체성을 규정한다. 간세포가 간세포인 이유는 간에서 필요한 유전자들이 켜져 있기 때문이고, 뉴런이 뉴런인 이유는 뉴런에서 필요한 유전자들이 켜져 있기 때문이다. 발달 과정에서도 마찬가지다. 임신 10주의 태아 뇌에서 켜지는 유전자 세트와 출생 직후의 뇌에서 켜지는 유전자 세트는 다르고, 그 차이가 신경 생성에서 시냅스 형성으로, 시냅스 형성에서 수초화로 넘어가는 발달적 전환을 가능하게 한다. 유전자 발현은 개체의 정체성뿐 아니라, 발달의 시간과 조직의 공간을 제공하는 좌표 체계인 셈이다.

인간 유전체에는 단백질을 만드는 유전자가 약 2만 개 있다. 이 유전자들은 각자 독립적으로 작동하는 것이 아니라 복잡한 네트워크를 형성하여, 특정 발달 시점에 특정 세포를 만들어내고, 그 세포들이 모여 조직이 되고, 조직이 모여 장기가 된다. 나는 이 네트워크가 뇌에서 어떻게 작동하는지를 연구한다. 그리고 이 연구를 하면서 나를 사로잡은 질문들이 몇 가지 있다. 왜 암을 억제하는 유전자가 초기 뇌 발달에서도 핵심적인 역할을 하는가? PTEN은 가장 흔한 종양 억제 유전자 중 하나인데, 이 유전자에 유전 변이가 생기면 뇌가 비정상적으로 커지면서 자폐스펙트럼장애가 동반된다. CHD8은 대장암에서 반복적으로 변이가 발견되는 크로마틴 리모델러인데, 동시에 자폐스펙트럼장애에서 가장 자주 신생 유전 변이가 발생하는 유전자이기도 하다. 또 다른 질문은 이것이다. 자폐스펙트럼장애에서는 수백 개의 서로 다른 유전자에서 유전 변이가 발생하는데, 왜 그 결과는 자폐스펙트럼장애라는 하나의 표현형으로 귀결되는가? 유전적 원인은 수백 가지인데 임상적 결과는 유사하다면, 그 사이에 어떤 수렴의 논리가 있는 것인가?

이 책은 그 질문들을 따라간 기록이다. 나는 신경과학에서 유전체 기술을 가지고 연구하는 사람이다. 인간 사후 뇌 조직의 유전체, 전사체, 멀티오믹스 데이터를 분석하면서, 그리고 뇌 오가노이드와 CRISPR 스크리닝 같은 기능 유전체학 도구를 사용하면서, 여러 편의 논문을 써왔다. 이 책은 그 과정에서 정리된 개념들과, 이 분야를 정의해온 핵심 논문들을 엮은 것이다. 교과서라기보다는 하나의 분야가 어떻게 만들어져왔는지를 따라가는 과학 저술에 가깝다. 2011년 예일 대학교의 세스탄 연구실이 인간 뇌의 시공간 전사체를 처음으로 매핑한 연구에서 시작하여, 단일 세포 아틀라스, 피질과 비-피질 영역의 세포 다양성, 유전자 네트워크의 기능적 수렴, 시냅스 단백질체의 진화, 뇌 오가노이드, 그리고 대규모 유전자 기능 스크리닝까지, 이 분야가 지난 15년 동안 걸어온 길을 따라간다.

이 책의 구조

이 책은 7개의 파트로 구성되어 있다. 각 파트는 독립된 주제를 다루지만, 전체적으로는 하나의 흐름을 따른다. 벌크 전사체에서 단일 세포로, 단일 세포에서 세포 유형의 생물학으로, 세포 유형에서 유전자 네트워크의 수렴으로, 그리고 사후 조직의 한계를 넘어 오가노이드와 새로운 기술로 확장되는 흐름이다.

Part 1. 인간 뇌 오믹스 연구의 시작. 마이크로어레이 시대에 시작된 인간 뇌 전사체 연구의 기원을 다룬다. Kang et al. (2011)의 시공간 전사체, Miller et al. (2014)의 BrainSpan 프로젝트, 그리고 유전자 공발현 네트워크 분석이 어떻게 뇌 발달의 분자적 지평도를 처음으로 그려냈는지를 살펴본다.

Part 2. 단일 세포 시대의 뇌 아틀라스. 단일 세포 RNA 시퀀싱 기술의 등장과 함께 시작된 뇌 세포 아틀라스 프로젝트들을 다룬다. 발달 중인 뇌의 세포 지도, 성인 뇌의 3,000가지 이상의 세포 유형, 그리고 후성유전체와 3차원 유전체 구조를 통합한 멀티오믹스 연구를 소개한다.

Part 3. 뇌의 세포 유형. Part 2에서 밝혀진 세포 다양성을 유형별로 깊이 들여다본다. 방사 글리아에서 시작하는 신경 생성의 궤적, 흥분성 뉴런과 억제성 뉴런의 다양성, 성상세포와 미세아교세포와 희소돌기세포의 생물학, 뇌-혈관 장벽을 이루는 혈관 세포들, 그리고 소뇌, 시상, 시상하부, 선조체, 뇌간 등 비-피질 영역의 세포 다양성까지 각 세포 유형의 정체성과 기능을 탐구한다.

Part 4. 유전자의 기능적 수렴. 유전자 네트워크의 관점에서 신경발달 질환의 유전적 구조를 이해한다. 수백 개의 서로 다른 유전 변이가 어떻게 소수의 공통 경로로 수렴하는지, 그 수렴이 뇌 발달의 어느 시점과 어떤 세포에서 일어나는지,

그리고 하나의 유전자가 여러 표현형에 영향을 미치는 다면발현의 논리를 다룬다.

Part 5. 인간 뇌의 진화적 특성. 인간의 뇌가 다른 영장류와 어떻게 다른지를 분자 수준에서 비교한다. 인간 가속 영역(HAR), 극보존 요소(UCE), 시냅스 단백질체의 진화적 팽창, 시냅스 네오테니, 전이인자의 조절 요소화가 어떻게 인간 뇌를 다르게 만들었는지, 그리고 그 복잡성이 신경정신과적 조건의 분자적 기반과 어떻게 맞닿아 있는지를 살펴본다.

Part 6. 뇌 오가노이드와 어셈블로이드. 사후 조직의 한계를 넘어서는 줄기세포 기반 뇌 모델을 다룬다. 뇌 오가노이드의 탄생에서 시작하여, 영역 특이적 오가노이드와 어셈블로이드, 오가노이드의 검증과 한계, 그리고 오가노이드의 미래를 소개한다.

Part 7. 새로운 모달리티, 새로운 스케일. 신경유전체학의 최전선에 있는 기술들을 다룬다. 긴길이 시퀀싱이 밝혀낸 이소체의 세계, Perturb-seq를 이용한 유전자 기능의 대규모 해부, 그리고 오가노이드와 살아있는 뇌에서의 CRISPR 스크리닝까지 다룬다.

Chapter 1. 왜 뇌 유전체를 연구하는가

860억. 성인 인간 뇌에 들어 있는 뉴런의 대략적인 개수다. 이 숫자를 실감하기 위해 비교를 하나 해보자면, 우리 은하계에 있는 별의 개수가 대략 1,000억에서 4,000억 개 사이라고 추정되니까, 한 사람의 두개골 안에 은하 하나가 들어 있는 셈이다. 물론 뉴런 자체가 전부는 아니다. 각 뉴런은 적게는 5,000개, 많게는 200,000개의 시냅스를 형성하고, 이를 곱하면 뇌 전체에 대략 100조 개의 시냅스 연결이 존재한다. 그리고 이것도 뉴런만의 이야기다. 뇌에는 뉴런 못지않게 많은 글리아세포가 있고, 성상세포(astrocytes)는 뉴런에 영양분을 공급하면서 시냅스 사이의 신경전달물질 농도를 미세하게 조절하고, 희소돌기세포(oligodendrocytes)는 축삭을 수초로 감싸 전기 신호의 전달 속도를 높이며, 미세아교세포(microglia)는 뇌의 면역 체계를 담당하면서 동시에 발달 과정에서 불필요한 시냅스를 잘라내는 가지치기(pruning)까지 수행한다. 이 모든 세포들이 수십 가지의 신경전달물질과 수천 가지의 단백질을 사용하여 서로 소통하고, 그 결과로 학습, 기억, 감정, 운동, 그리고 의식이라는 것이 생겨난다.

이 복잡성 앞에서 자연스럽게 떠오르는 질문이 있다. 뇌는 어떻게 이렇게 만들어지는가? 수정란 하나에서 시작하여, 860억 개의 뉴런이 정확한 위치에 자리잡고, 정확한 상대방과 연결을 형성하고, 정확한 시점에 정확한 유전자를 켜고 끄는 이 과정은 대체 어떻게 작동하는 것인가? 19세기 말 신경해부학의 아버지 산티아고 라몬 이 카할(Santiago Ramón y Cajal)이 뇌 조직을 골지 염색으로 들여다본 이래로, 과학자들은 뇌의 구조를 상당히 상세하게 기술해왔다. 브로드만(Brodmann)은 세포 형태만으로 대뇌 피질을 52개의 영역으로 나누었고, 20세기의 전기생리학자들은 각 영역이 어떤 기능을 담당하는지 밝혀냈다. 그런데 이 모든 구조적, 기능적 지식에도 불구하고, 한 가지 근본적인 질문에 대한 답은 여전히 빈약했다. 이 모든 것을 만들어내는 분자적 청사진은 무엇인가?

유전체가 그리는 뇌의 설계도

뇌의 설계도가 유전체에 쓰여 있다는 것은 누구나 직감적으로 안다. 일란성 쌍둥이의 뇌 구조가 이란성 쌍둥이보다 훨씬 더 닮았다는 사실은, 유전자가 뇌의 형태와 기능에 깊이 관여한다는 것을 말해준다. 인간 유전체에는 대략 20,000개의 단백질 코딩 유전자가 있는데, 이 중 약 86%가 뇌의 어딘가에서 발현된다. 발현(expression)이란 유전자에 담긴 정보가 실제로 단백질 또는 RNA로 만들어진다는 뜻인데, 마치 설계도를 꺼내 실제로 건물을 짓기 시작하는 것에 비유할 수 있다. 유전자가 '발현된다'는 것이 곧 '사용된다'는 것이고, '발현되지 않는다'는 것은 그 설계도 페이지가 그 세포에서는 아예 꺼내지지 않는다는 뜻이다. 간이나 심장 같은 다른 장기와 비교하면 이것은 압도적으로 높은 비율이다. 게다가 뇌에서 발현되는 유전자들의 상당수는 다른 장기에서는 발현되지 않는 뇌 특이적 유전자(brain-specific genes)이거나, 뇌에서 유독 높은 수준으로 발현되는 유전자들이다. 이것이 의미하는 바는 분명하다. 유전체는 뇌를 만들기 위해 자신이 가진 자원의 대부분을 투입한다.

그런데 여기서 이야기가 복잡해진다. 유전체가 뇌의 설계도라면, 이 설계도는 고정된 청사진이 아니라 시간과 공간에 따라 끊임없이 변하는 동적인 문서에 가깝다. 임신 8주차의 태아 뇌에서 발현되는 유전자 세트와 출생 직후의 뇌에서 발현되는 유전자 세트는 상당히 다르고, 청소년기의 뇌와 60세 성인의 뇌에서 발현되는 유전자 세트도 또 다르다. 모든 세포는 동일한 DNA를 갖고 있지만, 뇌의 어떤 세포인지, 발달의 어느 단계인지에 따라 그 DNA 중 어떤 부분을 '읽을지'가 달라진다. 그래서 똑같은 설계도를 가지고도 수천 가지 서로 다른 세포가 만들어지는 것이다. 뇌의 영역에 따라서도 마찬가지다. 전두엽에서 높이 발현되는 유전자가 소뇌에서는 거의 발현되지 않을 수 있고, 해마에서 특이적으로 발현되는 유전자가 시상에서는 완전히 침묵할 수 있다. 하나의 유전체가 시간과 공간의 두 축을 따라 서로 다른 프로그램을 실행하는 것이다. 이것을 시공간적 유전자 발현(spatio-temporal gene expression)이라 부른다. 같은 책이지만 어느 페이지를

펼치느냐에 따라, 그리고 누가 읽느냐에 따라 완전히 다른 내용이 펼쳐지는 것과 비슷하다. 뇌 발달의 분자적 이해는 바로 이 시공간적 패턴을 해독하는 것에서 시작된다.

마이크로어레이에서 단일 세포까지

이 설계도를 읽으려는 시도가 본격적으로 시작된 것은 2000년대 초반이다. 마이크로어레이(microarray) 기술이 등장하면서, 과학자들은 처음으로 한 번의 실험에서 수천 개의 유전자 발현을 동시에 측정할 수 있게 되었다. 마이크로어레이는 손바닥만 한 유리 칩 위에 수만 개의 DNA 탐침(probe)을 뽁뽁하게 붙여놓은 장치인데, 조직에서 꺼낸 RNA가 이 탐침에 달라붙으면 형광 신호가 켜지는 방식으로 발현량을 측정한다. 그 이전에는 한 번에 한두 개의 유전자만 들여다볼 수 있었으니, 돋보기로 글자를 하나하나 읽던 사람이 갑자기 한 페이지 전체를 볼 수 있게 된 것과 같았다. 마이크로어레이는 Affymetrix나 Agilent 같은 회사에서 만들었고, exon-level 프로브를 사용하면 대체 스플라이싱(alternative splicing)까지 관찰할 수 있었는데, 뇌는 인체에서 대체 스플라이싱이 가장 활발한 장기이기 때문에 이것은 중요한 장점이었다. 대체 스플라이싱이란 같은 유전자에서도 어떤 부분을 이어붙이느냐에 따라 서로 다른 단백질이 만들어지는 현상으로, 마치 같은 레고 부품 세트에서 설명서를 다르게 써서 전혀 다른 모양을 조립하는 것과 비슷하다.

2007년 이후에는 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing) 기반의 RNA-seq가 등장하면서 상황이 또 한 번 변했다. 마이크로어레이는 칩 위에 이미 설계된 프로브에 해당하는 유전자만 측정할 수 있었지만, RNA-seq는 세포에서 발현되는 모든 RNA를 편향 없이 시퀀싱하여 기존에 알려지지 않았던 전사체(transcript)까지 발견할 수 있었다. 시퀀싱(sequencing)이란 DNA나 RNA의 염기 서열을 읽는 것을 말하는데, 마치 책의 내용을 한 글자 한 글자 받아쓰는 것과 같다. 정량의 정확도도 높아졌고, 동적 범위도 넓어져서 극히 낮은 수준으로 발현되는 유전자부터 매우 높은 수준으로 발현되는 유전자까지 한 번에 잡아낼 수 있었다. 하지만 마이크로어레이든 RNA-seq든, 이 시기의 기술들은 한 가지 근본적인 한계를 공유했다. 조직 덩어리를 갈아서 RNA를 추출하기 때문에, 수백만 개의 서로 다른 세포들의 신호가 섞여 나온다는 것이었다. 이것을 벌크(bulk) 시퀀싱이라 부른다.

벌크 시퀀싱의 한계를 비유하자면 이렇다. 서울의 인구 구성을 알고 싶어서 강남구와 종로구와 관악구의 주민들을 전부 한데 섞은 다음 평균 연령과 평균 소득을 구하는 것이다. 평균값 자체는 틀린 숫자가 아니지만, 실제로 각 구에 어떤 사람들이 살고 있는지에 대해서는 거의 아무것도 알려주지 않는다. 뇌도 마찬가지다. 대뇌 피질의 한 조각을 갈아서 RNA-seq를 돌리면 흥분성 뉴런(excitatory neuron), 억제성 뉴런(inhibitory neuron), 성상세포, 희소돌기세포, 미세아교세포, 혈관 세포 등 온갖 세포 유형의 RNA가 뒤섞여 나온다. 특정 유전자의 발현이 높게 나왔다 해도, 그것이 모든 세포에서 골고루 발현되는 것인지, 아니면 극소수의 특정 세포 유형에서만 폭발적으로 발현되는 것인지 구분할 수 없다. 마치 교실 전체의 평균 시험 점수를 보면 반 전체가 공부를 열심히 했는지, 아니면 한 명의 천재가 평균을 끌어올린 것인지 알 수 없는 것과 같다.

이 문제를 근본적으로 해결한 것이 2010년대 중반에 등장한 단일 세포 RNA 시퀀싱(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)이다. Drop-seq, inDrop, 그리고 가장 널리 사용된 10x Genomics Chromium 플랫폼은 미세유체역학(microfluidics)을 이용하여 개별 세포를 각각의 기름방울(droplet) 안에 가두고, 각 세포의 RNA에 고유한 바코드를 붙인 후 한꺼번에 시퀀싱하는 방식이었다. 미세유체역학이란 머리카락 굵기보다 훨씬 가는 미세한 관(channel) 속에서 액체를 정밀하게 조작하는 기술인데, 이 기술 덕분에 세포 하나하나를 개별 기름방울 안에 담아내는 것이 가능해졌다. 한 번의 실험으로 수천에서 수만 개의 개별 세포의 전사체를 얻을 수 있었고, 이를 통해 서로 다른 세포 유형들을 분자적으로 정의하고 분류할 수 있게 되었다. 뇌 연구에서는 사후 조직에서 온전한 세포를 분리하기 어렵기 때문에, 핵만 분리하여 시퀀싱하는 단일 핵 RNA 시퀀싱(single-nucleus RNA sequencing, snRNA-seq)이 더 많이 사용되었다. 이 기술은 냉동 보존된 사후 뇌 조직에서도 고품질의 데이터를 얻을 수 있어서, 인간 뇌 연구의 실질적인 표준이 되었다.

시기	기술	해상도	측정 범위	한계
2000년대 초	마이크로어레이	벌크 조직	칩에 설계된 유전자만 측정	알려지지 않은 전사체 발견 불가
2007년~	RNA-seq	벌크 조직	모든 RNA를 편향 없이 시퀀싱	세포 유형 구분 불가
2015년~	scRNA-seq / snRNA-seq	단일 세포 / 단일 핵	개별 세포의 전사체	공간 정보 소실

시기	기술	해상도	측정 범위	한계
2020년~	공간 전사체학	조직 내 위치 보존	유전자 발현 + 공간 좌표	유전자 수 또는 해상도 제한

사후 조직이라는 숙명

여기서 뇌 연구의 고유한 어려움에 대해 이야기하지 않을 수 없다. 뇌는 다른 장기와 달리 살아 있는 사람에게서 조직을 채취할 수가 없다. 간 생검이나 피부 편지 생검처럼 일상적으로 조직을 얻을 수 있는 장기가 아니다. 뇌전증 수술이나 뇌종양 제거 과정에서 간혹 생체 조직을 얻을 수 있지만, 이는 정상 뇌 조직이 아니며 채취 가능한 영역도 극히 제한적이다. 그래서 뇌 유전체 연구의 대부분은 사후 조직(postmortem tissue)에 의존한다. 사망한 뒤 부검 과정에서 기증받은 뇌 조직을 사용하는 것이다. 이것은 마치 건물이 이미 완공된 뒤에야 도면을 보게 되는 것과 비슷한 상황이다. 완공된 건물에서도 설계의 흔적을 읽어낼 수 있지만, 공사 중인 현장을 실시간으로 관찰하는 것에 비하면 정보가 제한적일 수밖에 없다.

사후 조직을 사용하는 것은 필연적으로 여러 가지 기술적 난제를 동반한다. 가장 큰 문제는 RNA의 분해다. 세포가 죽는 순간부터 세포 내의 RNase가 활성화되어 RNA를 분해하기 시작하고, 사망 후 뇌를 적출하여 냉동 보존하기까지의 시간, 즉 사후 간격(postmortem interval)이 길어질수록 RNA의 품질은 급격히 떨어진다. RNase는 세포 안에서 RNA를 잘라내는 효소인데, 살아 있을 때는 엄격히 통제되지만 세포가 죽으면 제어를 잃고 RNA를 마구 분해하기 시작한다. 그래서 기증자가 사망한 후 최대한 빠르게 뇌를 적출하고 냉동하는 것이 데이터 품질을 좌우한다. RNA의 무결성을 수치화한 것이 RIN(RNA Integrity Number)인데, 0에서 10 사이의 숫자로 표현하며, 10에 가까울수록 RNA가 잘 보존된 것이다. 이 값이 낮은 조직에서는 유전자 발현 데이터의 신뢰도가 크게 떨어진다. 또한 사후 조직은 기증자의 나이, 성별, 사인, 약물 복용력, 기저 질환 등 다양한 변수에 의해 영향을 받기 때문에, 연구에서 관찰되는 차이가 진정한 생물학적 신호인지 아니면 조직 품질이나 기증자 특성에 의한 교란인지를 구분하기 어렵다. 이것을 교란변수(confounding variable) 문제라고 하는데, 예를 들어 정신질환 사망자와 정상 대조군의 뇌 유전자 발현이 다르게 나왔을 때, 그 차이가 질환 때문인지 아니면 질환 치료를 위해 복용한 약물 때문인지를 통계적으로 분리해야 한다. 이것이 뇌 전사체 연구에서 표본 수를 늘리고, 엄격한 품질 관리 기준을 적용하며, 통계적 보정을 수행해야 하는 이유다.

그럼에도 불구하고, 사후 조직은 인간 뇌를 직접 연구할 수 있는 거의 유일한 수단이다. 마우스 뇌를 아무리 잘 연구해도 인간 뇌의 특성을 완전히 반영할 수는 없기 때문이다. 인간의 대뇌 피질은 마우스보다 약 1,000배 넓고, 발달 기간은 수십 배 길며, 인간에게만 존재하거나 인간에서 크게 확장된 세포 유형과 구조들이 있다. 예를 들어 인간 뇌의 외측 뇌실하대(outer subventricular zone, oSVZ)에는 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG)라는 전구세포가 대량으로 존재하는데, 이 세포는 마우스의 발달 중인 뇌에서는 극히 소수에 불과하다. 전구세포란 아직 최종 정체성이 결정되지 않은 미성숙 세포로, 분열을 거듭하면서 뉴런이나 글리아세포로 분화해나간다. 인간 피질의 엄청난 표면적은 상당 부분이 oRG 세포들의 대량 증식에 기인하는 것으로 여겨진다. 이런 인간 특이적 특징은 인간 뇌 조직을 직접 분석하지 않으면 연구할 수 없다.

지난 15년 동안, 기술의 발전은 인간 뇌를 기술(記述)할 수 있는 범위를 단계적으로 넓혀왔다. 마이크로레이가 수만 개 유전자의 발현을 동시에 측정할 수 있게 해주었고, RNA-seq는 알려지지 않은 전사체까지 포착할 수 있게 했으며, 단일 세포 시퀀싱은 뇌 안에 숨어 있던 수천 가지 세포 유형을 개별적으로 드러냈다. 이 기술들이 중요한 이유는 단순히 더 많은 데이터를 생산하기 때문이 아니다. 기술의 해상도가 높아질수록, 이전에는 하나로 뭉뚱그려졌던 것들 속에서 개체 간 차이, 세포 유형 간 차이, 발달 시기 간 차이가 비로소 구분되기 시작한다. 집단 내에 존재하는 다양한 개체와 현상을 있는 그대로 기술할 수 있는 기회가 열린 것이다. 동시에, 이 규모의 연구는 한 연구실이 혼자 해낼 수 있는 일이 아니었다. BICCN, PsychENCODE, BrainSpan 같은 대규모 컨소시엄은 수백 명의 연구자가 데이터를 생산하고, 공유하고, 함께 분석하는 협력의 틀을 만들었다. 이 협력을 통해 축적된 데이터와 지식이 오늘날 우리가 인간 뇌에 대해 이야기할 수 있는 토대를 이루고 있다. 다음 장에서는 이 여정의 첫 번째 이정표, 인간 뇌의 시공간 전사체를 처음으로 체계적으로 매핑한 연구로 들어간다.

주요 용어 안내

유전자 발현(gene expression): 유전자에 담긴 정보가 실제로 단백질이나 RNA로 만들어지는 과정. 유전자가 “발현된다”는 것은 그 유전자가 “사용되고 있다”는 뜻이다.

전사체(transcriptome): 특정 시점에 특정 세포나 조직에서 발현되고 있는 모든 RNA의 총합. 유전체가 “설계도 전체”라면, 전사체는 “지금 이 순간 펼쳐져 있는 페이지들”에 해당한다.

단일 세포 RNA 시퀀싱(scRNA-seq): 개별 세포 하나하나의 유전자 발현을 측정하는 기술. 세포를 미세한 기름방울 안에 각각 가두고, 각 세포의 RNA에 고유한 바코드를 붙여 구분한다.

벌크 시퀀싱(bulk sequencing): 조직 덩어리를 통째로 갈아서 RNA를 추출하는 방식. 수백만 개 세포의 신호가 평균으로 섞여 나오므로, 개별 세포 유형의 특성을 구분하기 어렵다.

사후 간격(postmortem interval): 사망 후 뇌 조직을 수집하여 보존하기까지의 시간. 이 간격이 길수록 RNA가 분해되어 데이터 품질이 떨어진다.

Chapter 2. 시공간 전사체의 탄생

2011년, 예일 대학교의 네나드 세스탄(Nenad Sestan) 연구실은 Nature에 한 편의 논문을 발표했다. “Spatio-temporal transcriptome of the human brain,” 직역하면 인간 뇌의 시공간 전사체다. 이 논문이 하려고 했던 것은 한 문장으로 요약할 수 있다. 인간 뇌의 여러 영역에서, 발달의 여러 시점에서, 모든 유전자의 발현을 동시에 측정하겠다는 것이었다. 전사체(transcriptome)란 세포 안에서 실제로 만들어진 모든 RNA의 총합을 뜻하는데, 유전자라는 설계도 중에서 특정 시점에 특정 세포가 실제로 꺼내 쓴 페이지들의 목록이라고 생각할 수 있다. 한두 개의 유전자나 한두 개의 뇌 영역이 아니라, 전체 유전체를 여러 영역과 여러 시점에 걸쳐 체계적으로 매핑하겠다는 것이었고, 뇌 발달의 분자적 지형도를 그리려는 최초의 본격적인 시도였다.

이 연구가 왜 중요한지를 이해하려면, 그 이전의 상황을 떠올려볼 필요가 있다. 2011년 이전에도 뇌에서 특정 유전자가 발현된다는 것은 알려져 있었다. 예를 들어 PAX6는 대뇌 피질의 뇌실대(ventricular zone)에서 신경 전구세포(neural progenitor cells)에 의해 발현되고, TBR2(EOMES)는 중간 전구세포(intermediate progenitor cells, IPCs)의 마커이며, TBR1은 초기 분화된 뉴런에서 발현된다는 것이 알려져 있었다. 마커(marker)란 특정 세포 유형에서만 특이적으로 발현되는 유전자를 말하는데, 세포에 붙은 이름표와 같다. 유전자가 발현된다는 것은 그 유전자로부터 단백질이 만들어진다는 뜻이고, 그 단백질이 세포 안에서 특정 기능을 수행함으로써 세포의 정체성을 규정한다. PAX6 단백질이 존재하는 세포는 전구세포로서 행동하고, TBR1 단백질이 존재하는 세포는 뉴런으로서 행동한다. 어떤 유전자가 켜져 있느냐가 곧 그 세포가 무엇인가를 결정하는 것이다. 하지만 이러한 지식들은 흩어진 퍼즐 조각들이었다. 개별 연구자들이 각자의 관심사에 따라 한두 개의 유전자를 한두 개의 뇌 영역에서 조사한 결과물이었고, 전체 그림을 조망할 수 있는 체계적인 데이터는 존재하지 않았다. 세스탄 연구실이 하려 한 것은 이 퍼즐 조각들을 모두 한자리에 놓고, 빠진 조각까지 포함한 완전한 그림을 처음으로 그리는 것이었다.

16개 영역, 발달에서 노화까지

연구 설계의 규모는 주목할 만했다. 연구진은 사후 인간 뇌 조직(postmortem human brain tissue)에서 16개의 서로 다른 뇌 영역을 채취했다. 신피질(neocortex)에서만 11개 영역을 포함했는데, 배외측 전두엽 피질(dorsolateral prefrontal cortex, DFC), 배측 전두엽 피질(ventrolateral prefrontal cortex, VFC), 안와 전두엽 피질(orbital frontal cortex, OFC), 내측 전두엽 피질(medial prefrontal cortex, MFC), 일차 운동 피질(primary motor cortex, M1C), 일차 체감각 피질(primary somatosensory cortex, S1C), 하두정 피질(inferior parietal cortex, IPC), 일차 청각 피질(primary auditory cortex, A1C), 상측두 피질(superior temporal cortex, STC), 하측두 피질(inferolateral temporal cortex, ITC), 그리고 일차 시각 피질(primary visual cortex, V1C)이 포함되었다. 신피질 외에 해마(hippocampus, HIP), 편도체(amygdala, AMY), 선조체(striatum, STR), 시상외핵(mediodorsal nucleus of thalamus, MD), 소뇌 피질(cerebellar cortex, CBC)까지 총 16개 영역이었다. 이렇게 많은 영역을 동시에 포괄한 것은, 뇌의 각 부위가 각자의 고유한 유전자 프로그램을 가지고 있는지, 아니면 공통된 프로그램을 공유하는지를 비교하기 위해서였다.

약어	한국어 명칭	영어 명칭	뇌 구분
DFC	배외측 전두엽 피질	Dorsolateral prefrontal cortex	신피질 — 전두엽 (frontal)
VFC	배외측 전두엽 피질	Ventrolateral prefrontal cortex	신피질 — 전두엽
OFC	안와 전두엽 피질	Orbital frontal cortex	신피질 — 전두엽
MFC	내측 전두엽 피질	Medial prefrontal cortex	신피질 — 전두엽
M1C	일차 운동 피질	Primary motor cortex	신피질 — 전두엽

약어	한국어 명칭	영어 명칭	뇌 구분
S1C	일차 체감각 피질	Primary somatosensory cortex	신피질 — 두정엽 (parietal)
IPC	하두정 피질	Inferior parietal cortex	신피질 — 두정엽
A1C	일차 청각 피질	Primary auditory cortex	신피질 — 측두엽 (temporal)
STC	상측두 피질	Superior temporal cortex	신피질 — 측두엽
ITC	하측두 피질	Inferolateral temporal cortex	신피질 — 측두엽
V1C	일차 시각 피질	Primary visual cortex	신피질 — 후두엽 (occipital)
HIP	해마	Hippocampus	피질하 구조
AMY	편도체	Amygdala	피질하 구조
STR	선조체	Striatum	피질하 구조
MD	시상 배내측핵	Mediodorsal nucleus of thalamus	피질하 구조
CBC	소뇌 피질	Cerebellar cortex	후뇌 (hindbrain)

더 중요한 것은 이 영역들을 단일 시점이 아니라 발달의 전 시기에 걸쳐 분석했다는 것이다. 연구진은 임신 초기(수정 후 약 8주)부터 노년기(80세 이상)까지, 총 15개의 발달 시기(developmental periods)로 나누어 조직을 수집했다. 구체적으로, 태아기를 초기 태아기(early fetal, 8~12주), 초중기 태아기(early mid-fetal, 13~15주), 후중기 태아기(late mid-fetal, 16~19주), 후기 태아기(late fetal, 20~37주)로 세분하고, 출생 후에는 신생아기, 유아기, 소아기, 청소년기, 성인기를 거쳐 노년기까지 포괄했다. 서로 다른 나이, 성별, 인종의 개인들로부터 수집된 뇌 표본은 각 발달 시기에 여러 독립적인 생물학적 반복(biological replicates)을 제공했다. 이것은 횡단 연구(cross-sectional study)의 고전적인 설계로, 한 개인을 오랜 시간 추적하는 것이 아니라 서로 다른 나이의 여러 개인을 비교함으로써 발달적 변화를 추론하는 방식이었다. 마치 10대, 20대, 30대 사람들을 한꺼번에 모아 비교함으로써 사람이 나이 들면서 어떻게 변하는지를 추론하는 것과 같다. 15개의 발달 시기는 다음과 같이 정의되었다.

시기	구분	연령 범위
1	배아기 (embryonic)	4 PCW ≤ 연령 < 8 PCW
2	초기 태아기 (early fetal)	8 PCW ≤ 연령 < 10 PCW
3	초기 태아기 (early fetal)	10 PCW ≤ 연령 < 13 PCW
4	초중기 태아기 (early mid-fetal)	13 PCW ≤ 연령 < 16 PCW
5	초중기 태아기 (early mid-fetal)	16 PCW ≤ 연령 < 19 PCW
6	후중기 태아기 (late mid-fetal)	19 PCW ≤ 연령 < 24 PCW
7	후기 태아기 (late fetal)	24 PCW ≤ 연령 < 38 PCW
8	신생아기 및 초기 영아기 (neonatal and early infancy)	출생 ≤ 연령 < 6개월
9	후기 영아기 (late infancy)	6개월 ≤ 연령 < 12개월
10	초기 소아기 (early childhood)	1세 ≤ 연령 < 6세
11	중·후기 소아기 (middle and late childhood)	6세 ≤ 연령 < 12세
12	청소년기 (adolescence)	12세 ≤ 연령 < 20세
13	초기 성인기 (young adulthood)	20세 ≤ 연령 < 40세
14	중기 성인기 (middle adulthood)	40세 ≤ 연령 < 60세
15	후기 성인기 (late adulthood)	60세 ≤ 연령

PCW = 수정 후 주수 (post-conceptual weeks).

Exon 수준의 마이크로어레이

유전자 발현을 측정하기 위해, 연구진은 Affymetrix의 Human Exon 1.0 ST Array를 사용했다. 이 마이크로어레이는 일반적인 유전자 수준 어레이와 달리, 각 유전자의 개별 엑손(exon)에 대한 탐침을 포함하고 있었다. 엑손이란 유전자에서 실제로 단백질로 번역되는 부분을 말하는데, 하나의 유전자는 보통 여러 개의 엑손으로 이루어져 있고, 마치 책에서 특정 챕터들만 골라 읽는 것처럼 대체 스플라이싱(alternative splicing)을 통해 서로 다른 엑손 조합이 선택되면 같은 유전자에서도 서로 다른 mRNA 변이체(transcript variants)가 만들어진다. 뇌는 인체에서 대체 스플라이싱이 가장 활발한 장기 중 하나이기 때문에, 엑손 수준의 측정은 뇌 전사체 연구에서 특히 중요한 의미를 가졌다. 한 유전자의 전체 발현량은 뇌의 두 영역에서 비슷하더라도, 어떤 엑손이 포함되느냐에 따라 만들어지는 단백질의 구조와 기능이 완전히 달라질 수 있기 때문이다.

이 어레이를 사용하여 연구진이 얻은 데이터의 규모는 당시 기준으로 상당했다. 총 1,340개의 개별 조직 표본에서 전사체 프로파일을 생성했고, 이를 통해 인간 유전체에 주석이 달린(annotated) 유전자들의 발현 패턴을 16개 뇌 영역과 15개 발달 시기에 걸쳐 체계적으로 분석할 수 있었다. 1,340개 표본이라는 숫자는 당시 단일 연구에서 달성한 뇌 전사체 데이터 규모로는 유례가 없었는데, 이 방대한 데이터가 바로 이후 수십 개 후속 연구들의 출발점이 된다.

86%의 유전자가 뇌에서 발현된다

전체 유전자의 약 86%가 뇌에서 발현된다는 것이 첫 번째 주요 발견이었다. 전체 유전자의 약 86%가 적어도 하나의 뇌 영역, 적어도 하나의 발달 시점에서 발현되는 것으로 나타났다. 이것은 다른 장기와 비교했을 때 압도적으로 높은 비율이다. 간에서는 약 60~70%, 심장에서는 그보다 낮은 비율의 유전자만 발현되는 것으로 알려져 있다. 이 차이가 왜 생기는지를 직관적으로 이해하려면 이런 식으로 생각해볼 수 있다. 간은 기본적으로 독소를 해독하고, 당을 저장하고, 담즙을 만드는 장기이므로 그 일에 필요한 유전자들만 집중적으로 쓴다. 그런데 뇌는 수천 가지 세포 유형이 수백 개의 영역에서 수십 가지 신경전달물질을 사용하여 서로 소통해야 하기 때문에, 훨씬 더 다양한 유전자 프로그램을 동원해야 한다. 뇌가 유전체의 이렇게 많은 부분을 사용한다는 것은, 뇌의 세포 다양성과 기능적 복잡성이 유전자 발현의 다양성에 의해 뒷받침된다는 것을 의미한다.

더 흥미로운 것은 두 번째 발견이었다. 뇌에서 발현되는 유전자들 중 약 90%가 시간이나 공간, 혹은 둘 다에 따라 차별적으로 조절되었다(differentially regulated). '차별적으로 조절되었다'는 표현은 단순히 "다르다"는 말이 통계적으로 유의미한 수준으로 다르다는 것을 확인했다는 뜻이다. 즉 우연에 의한 차이가 아니라, 특정 시점이나 영역과 진짜로 연관된 발현 변화라는 의미다. 이것이 무엇을 의미하는지 잠시 생각해보자. 뇌에서 발현되는 거의 모든 유전자가 특정 시점에, 특정 장소에서만 켜지거나 꺼지거나, 혹은 발현 수준이 올라가거나 내려간다는 것이다. 다시 말해, 발현 패턴이 일정한 유전자는 10%도 안 된다는 뜻이다. 유전체는 고정된 설계도가 아니라, 시간과 공간에 따라 정교하게 조율되는 동적인 프로그램인 셈이다. 마치 오케스트라의 악보처럼, 같은 악단이라도 1악장에서는 현악기가 주도하고 3악장에서는 관악기가 전면에 나서는 것처럼, 뇌도 발달 단계마다 전혀 다른 유전자 앙상블을 연주한다.

태아기의 극적인 전사체 변화

시공간적 분석에서 가장 눈에 띄는 패턴은 태아기(prenatal period)와 출생 후(postnatal period) 사이의 극적인 차이였다. 태아기, 특히 임신 중기(mid-fetal period, 대략 13~24주)에는 뇌의 서로 다른 영역들 사이에서 유전자 발현의 차이가 가장 컸다. 전두엽에서 높이 발현되는 유전자가 후두엽에서는 낮고, 대뇌 피질에서 발현되는 유전자 세트가 소뇌에서는 완전히 다른 패턴을 보였다. 이 시기는 뇌의 영역별 정체성(regional identity)이 확립되는 시기로, 각 영역이 고유한 세포 구성과 회로를 만들기 위해 서로 다른 유전자 프로그램을 실행하고 있었던 것이다. 반면 출생 후, 특히 유아기 이후로 갈수록 뇌 영역들 사이의 전사체 차이는 점진적으로 줄어들었다. 이는 출생 후의 뇌가 영역 간 공통된 프로세스, 예를 들어 시냅스 가지치기(synaptic pruning)나 수초화(myelination)를 공유하기 때문일 수 있다. 만들어지는 과정보다 완성된 이후를 유지하는 과정이 더 균일하다는 것, 어찌 보면 당연한 이치다.

태아기에 일어나는 전사체의 극적인 변화는 뇌 발달의 핵심 과정들과 직결된다. 임신 초기에는 신경 전구세포(neural progenitor cells)의 증식과 신경 생성(neurogenesis)이 활발하고, 이 시기에 높이 발현되는 유전자들은 세포 주기(cell cycle) 조절, 세포 분열(cell division), 그리고 세포 운명 결정(cell fate determination)과 관련된 것들이었다. 임신 중기로 넘어가면 새로 태어난 뉴런들이 적절한 위치로 이동하는 신경 이주(neuronal migration)가 활발해지고, 축삭(axon)과 수상돌기(dendrite)를 뻗어 시냅스를 형성하기 시작한다. 신경 이주란 뉴런이 태어난 자리에서 최종 목적지까지 이동하는 과정인데, 마치 새로 입사한 직원이 회사에 들어온 뒤 배치 부서를 찾아가는 것에 비유할 수 있다. 이

시기의 전사체 프로파일에는 축삭 유도(axon guidance), 세포 접착(cell adhesion), 시냅스 형성(synaptogenesis)과 관련된 유전자들이 두드러졌다.

공발현 네트워크: 함께 발현되는 유전자들

연구진은 단순히 개별 유전자의 발현 패턴을 기술하는 데 그치지 않고, 가중 유전자 공발현 네트워크 분석(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)을 적용하여 유전자들 사이의 관계를 체계적으로 파악했다. WGCNA의 기본 아이디어는 이렇다. 만약 두 유전자가 여러 표본에 걸쳐 항상 함께 올라가고 함께 내려간다면, 즉 발현 패턴이 상관관계(correlation)를 보인다면, 이 두 유전자는 아마도 같은 생물학적 과정에 참여하거나, 같은 조절 메커니즘에 의해 제어되고 있을 가능성이 높다. 여기서 '가중'이라는 말은, 두 유전자의 발현 패턴이 얼마나 유사한지를 0이나 1이냐의 이분법이 아니라 강도의 차이가 있는 연속적인 숫자로 나타낸다는 뜻이다. 약한 상관관계는 낮은 가중치, 강한 상관관계는 높은 가중치를 받아서 진짜 관계만 부각된다. 이런 방식으로 발현 패턴이 유사한 유전자들을 그룹으로 묶은 것이 공발현 모듈(co-expression module)이다. 비유하자면, 매일 같은 시간에 출근하고 같은 시간에 퇴근하는 사람들은 아마도 같은 회사에 다니고 있을 것이라는 추론과 비슷하다. 물론 우연의 일치일 수도 있지만, 이런 패턴이 수백 개의 유전자에서 체계적으로 반복된다면 그것은 우연이 아니다.

시공간 전사체 분석에서 수십 개의 공발현 모듈이 발견되었다 (Kang et al. 2011). 이 모듈들은 각각 고유한 시간적, 공간적 패턴을 보였다. 어떤 모듈은 태아기 초기에만 활성화되었다가 출생 전에 꺼졌고, 어떤 모듈은 출생 후에야 비로소 활성화되었다. 어떤 모듈은 신피질 전체에서 비교적 균일하게 발현되었고, 어떤 모듈은 특정 피질 영역에서만 강하게 발현되었다. 각 모듈에 포함된 유전자들의 기능을 분석하면 그 모듈이 어떤 생물학적 과정을 반영하는지 추론할 수 있었다. 예를 들어 태아기 초기에 활성화되는 모듈에는 세포 증식과 DNA 복제 관련 유전자들이 풍부했고, 출생 후에 활성화되는 모듈에는 시냅스 전달(synaptic transmission)과 이온 채널(ion channel) 관련 유전자들이 집중되어 있었다. 이것은 뇌 발달의 각 단계를 대표하는 유전자 모듈 세트가 따로 존재한다는 것을 처음으로 체계적으로 보여준 결과였다.

성별에 따른 유전자 발현 차이

또 하나의 주목할 만한 발견은 성별에 따른 유전자 발현 차이(sex-biased gene expression)였다. 연구진은 남성과 여성의 뇌 조직을 비교하여, 특정 유전자들이 한 성별에서 더 높거나 낮게 발현되는 것을 관찰했다. 이것은 X 염색체나 Y 염색체에 위치한 유전자들만의 이야기가 아니었다. 상염색체(autosomes)에 있는 유전자들도 성별에 따른 발현 차이를 보였고, 이 차이는 뇌의 영역과 발달 시기에 따라 달랐다. 상염색체란 성염색체(X, Y)를 제외한 나머지 22쌍의 염색체를 말하는데, 이 염색체들에 있는 유전자가 성별에 따라 다르게 발현된다는 것은 단순히 성염색체 유전자의 차이만으로는 설명할 수 없음을 뜻한다. 태아기에 성별 차이가 나타나는 유전자들이 있었고, 성인기에야 비로소 차이가 나타나는 유전자들도 있었다. 뇌의 성별 차이는 단순히 성호르몬의 영향이 아니라, 유전체 수준에서 프로그래밍된 복잡한 현상이라는 것을 시사하는 결과였다.

발현 양적 형질 유전자: eQTL

마지막으로, 연구진은 발현 양적 형질 유전자(expression quantitative trait loci, eQTL)를 발견하기 위해 유전형 분석(genotyping)을 수행했다. eQTL이란 특정 유전적 변이(genetic variant)가 근처에 있는 유전자의 발현 수준에 영향을 미치는 것을 말한다. 예를 들어, 유전자 A의 프로모터 근처에 있는 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)의 한 대립유전자(allele)가 유전자 A의 발현을 높이고, 다른 대립유전자가 발현을 낮출 수 있다. SNP란 인구 집단 내에서 특정 위치의 DNA 염기가 사람마다 다르게 나타나는 현상인데, 유전체의 특정 위치에 어떤 사람은 A, 어떤 사람은 G가 있는 경우가 이에 해당한다. 뇌 조직에서의 eQTL 분석은 유전적 변이가 뇌의 유전자 발현에 어떻게 영향을 미치는지를 이해하는 첫 걸음이었다.

eQTL 분석이 왜 중요한지를 이해하려면 이런 상황을 떠올려 보면 된다. 전장 유전체 연관 분석(genome-wide association study, GWAS)에서 특정 유전적 변이가 뇌의 크기나 인지 능력과 연관되어 있다는 것이 발견되었다고 하자. GWAS란 수십만 명의 유전체를 비교하여 특정 형질(키, 질병, 특성)과 연관된 DNA 변이를 찾는 대규모 통계 분석이다. 특정 SNP를 가진 사람들이 어떤 병에 더 잘 걸린다거나 더 키가 크다는 패턴을 찾아내는 것이다. 하지만 그 변이가 정확히 어떤 메커니즘을 통해 영향을 미치는지는 GWAS만으로는 알 수 없다. eQTL 데이터가 있으면, 그 변이가 근처의 어떤 유전자의 발현을 변화시키는지 확인할 수 있고, 이를 통해 유전적 변이에서 표현형까지의 경로를 추론할 수 있다. 마치 어떤 스위치를 누르면 방 안에 불이 켜진다는 것을 알아도, 그 스위치가 정확히 어떤 전선을 통해 어떤 전구에 연결되어

있는지를 알아야 비로소 전기 회로를 이해할 수 있는 것과 같다. Kang et al. 연구가 제공한 뇌 eQTL 데이터는 이러한 분석을 가능하게 한 최초의 대규모 자원 중 하나였다.

이 연구의 유산

Kang et al. 2011 논문의 의미는 단일 연구의 발견을 넘어선다. 이 연구는 인간 뇌의 전사체를 체계적으로 매핑할 수 있다는 것을 처음으로 증명했고, 이후 수많은 후속 연구의 토대가 되었다. 데이터는 공개적으로 접근 가능한 BrainSpan 데이터베이스의 핵심 자원이 되었고, 전 세계의 연구자들이 이 데이터를 다운로드하여 자신의 질문에 적용할 수 있었다. BrainSpan 데이터베이스가 공개된 이후 단 몇 년 만에 수백 편의 논문이 이 데이터를 인용하거나 재분석했는데, 이것은 하나의 연구가 공개 데이터 자원이 되었을 때 가지는 파급력을 잘 보여주는 사례다.

물론 이 연구에는 분명한 한계가 있었다. 가장 큰 한계는 벌크 조직(bulk tissue)에서 RNA를 추출했다는 것이다. 16개 뇌 영역에서 발현 프로파일을 얻었지만, 각 영역 안에 어떤 세포 유형들이 있고 각 세포 유형이 어떤 유전자를 발현하는지는 알 수 없었다. 또 하나의 한계는 마이크로어레이 기술 자체의 제약이었다. 마이크로어레이는 칩에 설계된 탐침에 해당하는 유전자만 측정할 수 있기 때문에, 아직 알려지지 않은 전사체(novel transcripts)를 발견할 수 없었다. 그리고 횡단 설계의 본질적 한계로, 서로 다른 개인의 뇌를 비교한 것이지 한 개인의 뇌 발달을 추적한 것이 아니었기 때문에, 개인 간 변이(interindividual variation)가 발달적 변화와 혼재될 수 있었다. 하지만 이런 한계들은 이 연구의 가치를 훼손하기보다는, 이후 연구들이 풀어야 할 과제를 명확히 제시해주었다. 다음 장에서 다룰 BrainSpan 프로젝트(Chapter 3)는 바로 이 한계들 중 일부를 극복하기 위한 시도였다.

References

Kang, H. J., Kawasawa, Y. I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., ... & Sestan, N. (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370), 483–489. doi:10.1038/nature10523

주요 용어 안내

마이크로어레이(microarray): 유리 칩 위에 수만 개의 DNA 탐침을 붙여놓고, 조직에서 꺼낸 RNA가 탐침에 달라붙는 정도를 측정하여 유전자 발현량을 측정하는 장치.

공발현 네트워크(co-expression network): 여러 조직 표본에서 항상 함께 올라가고 함께 내려가는 유전자들을 그룹으로 묶은 것. 같은 시간에 출퇴근하는 사람들이 같은 회사 직원일 가능성이 높은 것과 비슷한 논리다.

eQTL(expression quantitative trait loci): 특정 DNA 변이가 근처 유전자의 발현량에 영향을 미치는 현상. 유전적 변이가 어떤 메커니즘으로 뇌 기능에 영향을 주는지 추적하는 데 쓰인다.

횡단 연구(cross-sectional study): 서로 다른 나이의 여러 개인을 한 시점에 비교하여 발달적 변화를 추론하는 연구 설계. 한 개인을 오래 추적하는 종단 연구와 대비된다.

대체 스플라이싱(alternative splicing): 같은 유전자에서 어떤 엑손을 이어붙이느냐에 따라 서로 다른 단백질이 만들어지는 현상. 뇌에서 가장 활발하게 일어난다.

Chapter 3. BrainSpan과 태아 뇌 전사체

앞 장의 이야기를 잠깐 되돌아보자. Kang et al. 2011 연구(Chapter 2)는 인간 뇌의 전사체를 처음으로 체계적으로 매핑했고, 그 과정에서 유전자의 86%가 뇌에서 발현되며 그중 90%가 시간이나 공간에 따라 차별적으로 조절된다는 것을 보여주었다. 하지만 그 연구에는 분명한 맹점이 하나 있었다. 뇌 영역을 16개로 나눈 것은 의미 있는 진전이었지만, 각 영역 안에서 무슨 일이 벌어지고 있는지는 알 수 없었다. 발달 중인 뇌의 피질은 층(layer)으로 구성되어 있고, 각 층에는 서로 다른 세포 유형이 있으며, 그 세포들이 서로 다른 유전자를 발현한다. 대뇌 피질 조각 하나를 통째로 갈아서 RNA를 뽑으면, 바깥에 있는 세포의 신호와 안쪽에 있는 세포의 신호가 뒤섞여 나온다. 거시적인 지도는 얻었지만 미시적인 해상도는 없었다. 이것이 2014년 앨런 뇌과학연구소(Allen Institute for Brain Science)의 제러미 밀러(Jeremy Miller)와 동료들이 풀려고 했던 문제였다.

앨런 뇌과학연구소는 단순한 대학 연구실이 아니다. 마이크로소프트 공동창업자 폴 앨런(Paul Allen)이 2003년에 설립한 이 연구소는 처음부터 기업적 규모와 체계로 생물학적 데이터를 생산하는 것을 목표로 삼았다. 그들이 만든 Allen Brain Atlas는 마우스 뇌의 유전자 발현을 in situ hybridization(ISH)으로 매핑한 방대한 데이터베이스였고, 이것이 이미 신경과학 분야에서 표준 참고 자료가 되어 있었다. in situ hybridization이란 조직 절편에서 특정 RNA를 직접 염색하여 현미경으로 볼 수 있게 하는 기술인데, 어떤 세포에서 어떤 유전자가 발현되는지를 시각적으로 보여주는 방법이다. 그 다음 단계로, 앨런 뇌과학연구소는 인간 뇌, 그것도 발달 중인 태아 뇌의 전사체 지도를 만들기로 했고, 그 결과물이 BrainSpan Atlas of the Developing Human Brain이다. 이 프로젝트의 방향은 Kang et al.과 상보적이었다. Kang et al. 연구가 시간 축을 따라 여러 뇌 영역의 전사체를 훑었다면, Miller et al. 연구는 발달 중인 피질의 층 구조를 해부학적 정밀도로 분리하여 각 층의 분자적 정체성을 규명하려 했다. 하나는 타임라인을 따라 수평으로 확장하는 지도였고, 다른 하나는 한 시점의 조직을 수직으로 깊이 파고드는 지도였다.

레이저로 뇌를 해부하다

연구진이 직면한 첫 번째 도전은 기술적인 것이었다. 발달 중인 태아 뇌의 피질층은 얇고, 경계가 항상 명확하지도 않으며, 세포의 밀도가 높아서 육안이나 일반 현미경으로 특정 층만 정밀하게 잘라내기가 매우 어렵다. 이 문제를 해결하기 위해 연구진은 레이저 미세절제(laser microdissection, LMD)라는 기술을 사용했다. 이것은 현미경으로 조직 절편을 들여다보면서 레이저 빔으로 원하는 부위만 정확하게 절제하는 기술이다. 수술 메스로는 도저히 분리할 수 없는 조직 영역을 레이저로 찢아내 잘라낼 수 있고, 절제된 조각은 아래 놓인 PEN(polyethylene naphthalate) 막 슬라이드 위로 떨어져 수집된다. 마치 확대경으로 들여다보면서 외과용 메스보다 훨씬 정밀한 레이저 빔으로 딱 원하는 부위만 도려내는 것이다. 이 기술 덕분에 연구진은 뇌 절편의 특정 층만을 선택적으로 수집하고, 그 층에서만 RNA를 추출하여 분석할 수 있었다.

연구에 사용된 표본은 총 4개의 태아 뇌였다. 수정 후 15주, 16주(2개), 21주의 뇌들이었는데, 모두 임신 중기(mid-gestational period)에 해당하는 시기다. 이 시기를 선택한 것은 우연이 아니다. 임신 중기는 대뇌 피질의 층 구조가 형성되는 핵심 시기다. 뇌실대에서 새로 만들어진 뉴런들이 밖으로 이주하여 피질판(cortical plate)을 쌓아가는 과정이 한창 진행 중이고, 각 층이 해부학적으로 구분되기 시작하는 단계다. 너무 이른 시기에는 층 구조 자체가 없고, 너무 늦은 시기에는 층들이 이미 성숙하여 발달적 역동성을 포착하기 어렵다. 각 표본에서 왼쪽 반구는 LMD와 마이크로어레이 분석에 사용하고, 오른쪽 반구는 ISH 검증에 사용했다. 이 설계 자체가 연구의 엄밀성을 보여준다. 하나의 반구에서 발견한 것을 반대쪽 반구로 독립적으로 검증하는 구조인 것이다.

각 표본에서 LMD로 분리한 해부학적 영역은 표본당 약 300개에 달했다. 이것은 단순한 숫자가 아니다. 하나의 뇌에서 300개의 해부학적 영역을 레이저로 하나하나 잘라내고, 각각의 RNA를 추출하고, 증폭하고, 마이크로어레이로 분석한다는 것은 엄청난 기술적 노력을 요구한다. 전체 태아 뇌를 대상으로 했기 때문에, 피질 영역뿐 아니라 해마, 편도체, 시상, 소뇌, 뇌간의 여러 하위 구조들도 포함되었다. 유전자 발현 측정에는 custom 64K Agilent 마이크로어레이를 사용했는데, 이것은 약 64,000개의 프로브를 포함하는 맞춤 제작 칩으로, RefSeq에 주석이 달린 유전자의 약 95%를 커버했다. 성인 뇌의 마이크로어레이 실험에서 보통 84% 정도가 발현되는 것으로 검출된다는 점을 생각하면, 태아 뇌에서 더 많은 유전자들이 활성화되어 있다는 것을 알 수 있다. 이것이 말해주는 것은 단순하다. 뇌가 만들어지는 과정은 그것이 이미 만들어진 상태를 유지하는 것보다 더 많은 유전자를 동원한다.

아홉 개의 층, 아홉 개의 분자적 이야기

발달 중인 대뇌 피질에서 아홉 개의 층이 분자적으로 뚜렷하게 구분된다는 것이 핵심 발견이었다. 성인의 대뇌 피질은 여섯 개의 층으로 구성되어 있지만, 발달 중인 태아 피질에는 이 여섯 층이 아직 완성되지 않은 상태에서, 그 형성 과정을 조율하는 여러 개의 임시적인 구획(transient zones)이 존재한다. 연구진이 식별한 아홉 개 층은 뇌실대(ventricular zone, VZ), 내측 뇌실하대(inner subventricular zone, SZi), 외측 뇌실하대(outer subventricular zone, SZo), 중간대(intermediate zone), 판밑층(subplate, SP), 내측 피질판(inner cortical plate, CPi), 외측 피질판(outer cortical plate, CPo), 변연대(marginal zone, MZ), 그리고 뇌실하 과립층(subpial granular zone)이었다. 이 중 성인 피질에도 유사한 구조가 남아 있는 층은 피질판에서 분화한 층들뿐이고, VZ나 SZ, SP 같은 층들은 발달이 완료되면 사라지는 임시 구획들이다. 어떤 의미에서 이 층들은 건물을 짓는 동안에만 존재하는 비계 같은 것으로, 완공 후에는 철거되지만 그것이 없었다면 건물 자체가 존재할 수 없었다.

이 아홉 개 층 각각이 고유한 분자적 정체성을 가진다는 것이 이 연구의 핵심 발견이었다. 연구진은 약 2,000개의 층 특이적 유전자(layer-enriched genes)를 발견했는데, 이 유전자들은 특정 층에서 발현 수준이 다른 층에 비해 현저히 높았고, 이러한 패턴이 ISH로도 독립적으로 확인되었다. 각 층을 대표하는 마커 유전자들의 이야기는 각각의 층이 어떤

생물학적 드라마를 펼치고 있는지를 한 줄로 요약해준다. 변연대(MZ)에서는 CALB2(칼레티닌, calbindin-2)가 높이 발현되었는데, 이것은 피질 바깥쪽 경계에 위치하는 카잘-레치우스 세포(Cajal-Retzius cells)의 마커다. 이 세포들은 피질 발달 과정에서 리엘린(reelin)이라는 단백질을 분비하여 이주해오는 뉴런들에게 위치 신호를 제공하는 역할을 하고, 피질 층화가 완성된 후에는 대부분 사라진다. CALB2가 MZ에서 밝게 빛난다는 것은, 그 층에 이 임시적인 길잡이 세포들이 활발히 일하고 있다는 증거였다.

뇌실대(VZ)에서는 GFAP(아교섬유질 산성 단백질, glial fibrillary acidic protein)가 방사 글리아(radial glia)의 마커로 발현되었다. 방사 글리아는 한쪽 끝이 뇌실 표면에, 다른 쪽 끝이 피질 표면에 붙어 있는 긴 세포로, 새로 태어난 뉴런들이 피질 표면으로 이주하는 과정에서 이동 경로를 제공하는 일종의 발판 역할을 한다. 마치 빌딩 공사 현장의 사다리처럼, 방사 글리아는 뉴런들이 뇌의 깊은 곳에서 피질 바깥쪽으로 이동할 수 있는 물리적 가이드가 된다. 발아 층(germinal zones)인 VZ와 SZ에서는 PAX6와 TBR2(EOMES)가 신경 전구세포와 중간 전구세포(intermediate progenitor cells, IPCs)의 마커로 기능했다. 이 마커들은 이전부터 알려져 있었지만, Miller et al. 연구는 처음으로 300개에 달하는 해부학적 영역 전반에 걸친 맥락 속에서 이 마커들의 발현을 체계적으로 보여주었다. 흥미로운 것은 비지도 분석(unsupervised analysis)의 결과였다. 비지도 분석이란 컴퓨터에게 “이것은 VZ, 저것은 SZ”라고 미리 알려주지 않고, 순수하게 데이터의 유사도만으로 스스로 그룹을 나누도록 하는 방식이다. 어떤 사전 지식도 이용하지 않고 전사체 데이터만으로 표본들을 군집화(clustering)했을 때, 표본들은 어느 개체에서 왔는지에 관계없이 자신이 속한 층에 따라 일관되게 묶였다. 서로 다른 두 태아에서 얻은 VZ 표본들이 같은 태아의 다른 층 표본들보다 서로 더 비슷한 전사체 프로파일을 보인 것이다. 각 층이 어떤 유전자를 켜야 하는지에 대한 기본 프로그램은 개인마다의 차이를 뛰어넘을 만큼 강하게 보존되어 있었다.

인간과 마우스: 표면 아래의 차이

뇌 발달 연구에서 마우스는 가장 많이 사용되는 모델 동물이다. 유전자를 조작하기 쉽고, 임신 기간이 짧고, 윤리적 제약이 인간 조직보다 훨씬 덜하다는 실용적인 이유 때문이다. 그런데 Miller et al. 연구의 데이터는 인간과 마우스 사이에 중요한 차이가 있다는 것을 분명히 보여준다. 가장 두드러진 차이는 PAX6의 발현 패턴이다. 마우스에서 PAX6는 주로 VZ의 방사 글리아(radial glia progenitors)에서 발현되고, SZ에서는 급격히 줄어든다. 그런데 인간에서는 PAX6의 발현이 VZ를 넘어 SZ까지 확장된다. 이것은 단순한 양적 차이가 아니라 발현 패턴 자체가 다른 것이다. PAX6는 신경 전구세포의 운명 결정에 중요한 역할을 하는 전사 인자(transcription factor)인데, 전사 인자란 다른 유전자들의 스위치를 켜고 끄는 단백질로 마치 지휘자처럼 수많은 유전자들의 발현을 조율한다. 이 패턴 차이는 인간과 마우스에서 피질 전구세포의 특성 자체가 다를 수 있음을 시사하며, 마우스 모델에서 얻은 결과를 인간에 그대로 적용하기 어려울 수 있다는 경고이기도 했다.

또 하나의 흥미로운 발견은 외측 뇌실하대(SZo)와 내측 뇌실하대(SZi)의 전사체 유사성에 관한 것이었다. 인간에서 외측 SVZ는 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG)라는 특별한 전구세포가 대량으로 존재하는 구역이며, 이 세포들이 인간 피질의 극적인 확장을 이끈다는 것이 2010년에 Fietz et al. 연구와 Hansen et al. 연구에서 독립적으로 밝혀진 바 있었다. 그렇다면 SZo는 SZi와 전사체적으로 완전히 다를 것이라고 예상하기 쉽다. 그런데 실제 데이터는 예상과 달리 SZo와 SZi의 전사체 차이가 상당히 미미했다. 같은 층의 하위 구획임에도 불구하고 두 구획의 유전자 발현 프로파일은 매우 유사했다. 이것은 oRG 세포와 일반 SVZ 전구세포가 비슷한 유전자 발현 프로그램을 공유하면서도, 아마도 소수의 핵심 유전자에서 차이를 보임으로써 서로 다른 세포 운명을 갖는다는 것을 의미할 수 있다. 혹은 LMD를 이용한 층 분리의 해상도가 충분하지 않아 두 구획의 세포들이 섞였을 가능성도 배제할 수 없다. 이 질문에 대한 보다 명확한 답은 후에 단일 세포 시퀀싱이 등장하면서야 얻을 수 있었다. 기술의 한계는 종종 다음 기술이 답해야 할 질문을 정의해준다.

앞에서 뒤로: 전두-측두 전사 구배

전사체 분석에서 드러난 또 하나의 거시적 패턴은 전두-측두 전사 구배(fronto-temporal transcriptional gradient)의 존재였다. 대뇌 피질은 앞에서 뒤로, 즉 전두엽에서 측두엽과 후두엽으로 갈수록 점진적으로 전사체 프로파일이 변한다. 이것은 단순히 전두엽과 후두엽이 다른 유전자를 발현한다는 이야기가 아니라, 그 변화가 구배(gradient), 즉 연속적인 스펙트럼을 이룬다는 것이다. 전두엽과 후두엽이 완전히 다른 유전자 세트를 쓰는 것이 아니라, 같은 유전자들을 얼마나 강하게 발현하느냐의 비율이 앞에서 뒤로 갈수록 서서히 달라지는 것이다. 구배란 무지개처럼 색이 뚝 끊기지 않고 연속적으로 이어지는 것을 말하는데, 피질의 유전자 발현 패턴도 전두엽에서 후두엽으로 갈수록 조금씩 연속적으로 달라진다는 뜻이다. 흥미롭게도 이 구배는 발아 층(germinal zones)과 분열 후 층(post-mitotic layers) 모두에서 관찰되었는데, 전두엽 쪽에서 더 높게 발현되는 유전자들이 많았다. 이것은 피질의 영역화(regionalization)가 이미 태아 중기에, 뉴런들이 아직 만들어지는 단계에서부터 분자적 수준에서 진행되고 있다는 것을 의미한다. 나중에 전두엽이 될 부위와 나중에 시각 피질이 될 부위가 이미 태아 중기에 서로 다른 유전자 발현 패턴을 갖는 것이다. 뇌는 발달이 끝난 후에

비로소 영역 정체성을 부여받는 것이 아니라, 만들어지는 과정 중에 이미 어느 영역이 될지를 결정하는 분자적 프로그램을 실행하고 있었다.

이 발견들을 단순히 마이크로어레이 숫자로만 받아들이면 그 무게를 실감하기 어렵다. 그래서 연구진은 두 가지 방법으로 발견들을 시각적으로 검증했다. 하나는 이미 언급한 ISH였다. 선택된 마커 유전자들에 대해 오른쪽 반구 절편에서 ISH를 수행하면, 특정 층에서만 발색 반응이 나타나는 것을 현미경으로 직접 볼 수 있었다. CALB2가 변연대에서만 발현되는 것, GFAP가 뇌실대에서 방사상으로 뻗은 글리아 세포에서 발현되는 것, TBR2(EOMES)가 발아 층에서 발현되는 것이 알록달록한 ISH 사진으로 확인되었다. 두 번째는 MRI(자기공명영상, magnetic resonance imaging)와 DWI(확산 강조 영상, diffusion weighted imaging)였다. 연령이 일치하는 별도의 태아 뇌 표본에서 초고해상도 MRI와 DWI를 촬영하여, 마이크로어레이 데이터에서 발견된 해부학적 경계들이 실제 영상에서도 구분 가능한지를 확인했다. 분자적 데이터와 해부학적 영상 데이터가 일치할 때, 그 경계가 실험 기술의 산물이 아니라 실제 생물학적 구분임을 비로소 신뢰할 수 있었다.

두 연구가 만드는 완전한 지도

Miller et al. 2014를 이해하는 데 있어서 중요한 맥락은, 이 연구와 Kang et al. 2011이 서로 경쟁 관계가 아니라 상보적인 관계라는 점이다. Kang et al. 연구는 발달의 긴 시간 축을 따라 넓은 뇌 영역들을 포괄했지만 해부학적 해상도가 낮았고, Miller et al. 연구는 좁은 시간 창(임신 중기)에 집중했지만 층 수준의 높은 해부학적 해상도를 제공했다. 실제로 두 연구의 데이터는 모두 BrainSpan 포털(brainspan.org)에 통합되어 공개되었고, 전 세계의 연구자들이 자신의 관심 유전자를 어느 층에서, 어느 시점에, 어느 영역에서 발현되는지 한 곳에서 조회할 수 있게 되었다. 이것은 단순한 데이터 공유를 넘어, 뇌 발달 연구의 공용 기반 시설이 만들어진 것을 의미했다. 이후 10년간 뇌 발달과 관련된 논문에서 BrainSpan 데이터를 인용하지 않은 연구를 찾기가 오히려 어려울 정도로 되었다.

약 2,000개의 층 특이적 유전자 목록이 그 자체로 하나의 기능적 단서가 되었다는 점도 강조할 필요가 있다 (Miller et al. 2014). 기능이 알려지지 않은 유전자(uncharacterized gene)가 VZ에서 특이적으로 발현된다면, 우리는 그것이 신경 전구세포의 유지나 자기 재생(self-renewal)에 관여할 가능성이 높다고 추론할 수 있다. SP에서 특이적으로 발현되는 유전자라면, 피질 회로 형성의 초기 단계에 관여할 가능성을 생각해볼 수 있다. 층 특이적 발현 패턴은 유전자의 기능을 추론하는 강력한 단서가 되는 것이다. 이것은 이전 장에서 다룬 공발현 네트워크 분석의 원리와도 통하는 이야기이다. 함께 발현되는 유전자들은 아마도 같은 일을 하고 있을 것이라는 논리, 즉 발현 패턴 자체가 기능의 단서가 된다는 원리 말이다. Miller et al. 연구가 보여준 것은, 공간적 발현 패턴이 시간적 발현 패턴만큼이나 강력한 기능적 단서가 된다는 것이었다. 그리고 그것이 이 연구가 단순한 지도 제작을 넘어, 뇌 발달 생물학의 근본적인 질문들에 접근하는 도구가 된 이유였다. 우리는 이제 발달 중인 뇌가 층마다, 영역마다, 어떤 유전자의 언어로 자신의 정체성을 쓰는지 알게 되었다.

References

- Miller, J. A., Ding, S. L., Sunkin, S. M., Smith, K. A., Ng, L., Szafer, A., ... & Lein, E. S. (2014). Transcriptional landscape of the prenatal human brain. *Nature*, 508(7495), 199–206. doi:10.1038/nature13185
- Kang, H. J., Kawasawa, Y. I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., ... & Sestan, N. (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370), 483–489. doi:10.1038/nature10523
- Fietz, S. A., Kelava, I., Vogt, J., Wilsch-Bräuninger, M., Stenzel, D., Fish, J. L., ... & Huttner, W. B. (2010). OSVZ progenitors of human and ferret neocortex are epithelial-like and expand by integrin signaling. *Nature Neuroscience*, 13(6), 690–699.
- Hansen, D. V., Lui, J. H., Parker, P. R., & Kriegstein, A. R. (2010). Neurogenic radial glia in the outer subventricular zone of human neocortex. *Nature*, 464(7288), 554–561.

주요 용어 안내

레이저 미세절제(laser microdissection, LMD): 현미경으로 조직을 관찰하면서 레이저 빔으로 원하는 부위만 정밀하게 잘라내는 기술. 일반 메스로는 분리할 수 없는 얇은 조직 층을 개별적으로 수집할 수 있다.

in situ hybridization(ISH): 조직 절편에서 특정 RNA를 직접 염색하여 현미경으로 관찰하는 기술. 어떤 세포에서 어떤 유전자가 발현되는지를 공간적으로 보여준다.

방사 글리아(radial glia): 한쪽 끝이 뇌실 표면에, 다른 쪽 끝이 피질 표면에 붙어 있는 긴 세포. 새로 태어난 뉴런이 이동하는 경로를 제공하며, 동시에 뉴런을 만들어내는 신경 줄기세포 역할도 한다.

전사 구배(transcriptional gradient): 뇌의 한쪽에서 다른 쪽으로 갈수록 유전자 발현 패턴이 연속적으로 변하는 현상. 무지개처럼 똑 끊기지 않고 서서히 달라지는 것을 말한다.

비지도 분석(unsupervised analysis): 컴퓨터에게 사전 정보를 주지 않고, 데이터의 유사도만으로 그룹을 나누도록 하는 분석 방법. 분석자의 편견 없이 데이터가 스스로 보여주는 구조를 발견할 수 있다.

Chapter 4. 유전자 공발현 네트워크와 뇌 발달

앞 두 장에서 우리는 뇌 발달의 전사체를 지도로 그리는 두 가지 방식을 살펴보았다. Kang et al. 연구는 시간 축을 따라 수십 개 뇌 영역의 유전자 발현 변화를 추적했고, Miller et al. 연구는 특정 시점의 피질을 층별로 해부하여 각 층의 분자적 정체성을 규명했다. 하지만 두 연구 모두, 수만 개의 유전자를 하나하나 따로따로 기술하는 방식으로는 뇌 발달의 전체 그림을 이해하기 어렵다는 한계를 공유했다. 인간 유전체에 약 20,000개의 단백질 코딩 유전자가 있고 그 대부분이 뇌에서 발현된다면, 이것들을 20,000개의 개별적인 이야기로 다루는 것은 너무 단편적이다. 음악을 이해하려면 개별 음표보다 화음과 멜로디의 구조를 봐야 하는 것처럼, 뇌 발달을 이해하려면 유전자들이 어떻게 함께 조율되어 작동하는지를 봐야 한다. 그 도구가 바로 가중 유전자 공발현 네트워크 분석(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)이다.

WGCNA는 스티브 호바스(Steve Horvath)와 준 동(Jun Dong)이 2005년에 처음 제안한 방법론으로, 기본 아이디어는 직관적이다. 만약 두 유전자가 여러 표본에 걸쳐 항상 함께 올라가고 함께 내려간다면, 즉 발현 패턴이 강한 상관관계(correlation)를 보인다면, 이 두 유전자는 아마도 같은 생물학적 과정에 참여하거나, 같은 조절 메커니즘에 의해 제어되고 있을 가능성이 높다. 상관관계란 두 값이 함께 올라가고 함께 내려가는 경향을 수치로 나타낸 것인데, 키가 크면 발도 큰 경향이 있는 것처럼 두 변수가 함께 움직이는 패턴을 포착한다. 비유하자면, 매일 같은 시간에 함께 출근하고 같은 시간에 함께 퇴근하는 두 사람은 아마도 같은 직장에 다니고 있을 것이라는 추론과 비슷하다. 물론 우연의 일치일 수도 있지만, 이런 패턴이 수백, 수천 개의 유전자에서 체계적으로 나타난다면 그것은 우연이 아니다. 이 원리를 수만 개의 유전자 쌍에 체계적으로 적용하여 유전자들을 기능적 그룹으로 묶는 것이 WGCNA의 핵심이다.

상관에서 네트워크로, 네트워크에서 모듈로

WGCNA의 작동 방식을 조금 더 구체적으로 살펴보면, 이 방법이 왜 강력한지가 드러난다. 분석은 여러 단계를 거쳐 진행된다. 먼저 모든 유전자 쌍 사이의 피어슨 상관관계수(Pearson correlation)를 계산하여 거대한 상관행렬(correlation matrix)을 만든다. 20,000개의 유전자가 있다면 이 행렬의 크기는 20,000×20,000이 되고, 각 칸에는 두 유전자의 발현 패턴이 얼마나 유사한지를 나타내는 숫자가 들어간다. 다음으로 이 상관행렬을 거듭제곱하여 인접행렬(adjacency matrix)로 변환한다. 이 거듭제곱 변환이 WGCNA를 단순 상관 분석과 구분짓는 핵심 단계인데, 강한 상관관계는 더욱 강조되고 약한 상관관계는 급격히 약해지는 효과가 있다. 마치 밝은 불빛은 더 밝아지고 희미한 불빛은 거의 꺼지는 것처럼, 진짜 신호는 강조하고 노이즈는 걸러내는 것이다. 이 변환을 통해 노이즈에 의한 약한 상관관계들이 걸러지고, 진정으로 의미 있는 강한 상관관계들이 부각된다.

인접행렬에서는 한 걸음 더 나아가 위상학적 중첩(topological overlap) 행렬을 계산한다. 이것이 WGCNA의 또 다른 영리한 장치다. 두 유전자의 위상학적 중첩이란, 두 유전자가 얼마나 많은 공통 이웃(neighbor)을 네트워크상에서 공유하는지를 측정하는 것이다. 직접적인 상관관계만 보는 것이 아니라, 공통적으로 관련된 유전자들의 집합을 함께 고려함으로써 관계의 강도를 더 안정적으로 추정할 수 있다. 두 유전자가 서로 직접 강하게 연결되지 않더라도, 둘 다 제3의 유전자 그룹과 함께 발현된다면 같은 모듈에 묶일 수 있다는 뜻이다. 이것은 마치 두 사람을 직접 연결해주는 것이 아니라, 그들이 얼마나 많은 공통 친구를 가지고 있는지를 기준으로 친밀도를 측정하는 것과 비슷하다. 공통 친구가 많으면 설령 두 사람이 처음 만났더라도 금방 친해지는 것처럼, 공통 이웃이 많은 유전자들은 같은 기능 모듈에 속할 가능성이 높다. 위상학적 중첩 행렬에 계층적 군집화(hierarchical clustering)를 적용하면, 서로 강하게 연결된 유전자들이 덩어리를 이루어 군집된다. 이 덩어리들을 동적 트리 절단(dynamic tree cut) 알고리즘으로 구분하여 최종적인 공발현 모듈(co-expression module)을 발견하게 된다.

각 모듈에서 가장 많은 연결을 가진 중심 유전자들을 허브 유전자(hub genes)라고 부른다. 허브 유전자는 모듈 내에서 가장 중심적인 역할을 하는 유전자들로, 모듈의 생물학적 기능을 이해하는 데 특히 중요하다. 공항 허브처럼, 허브 유전자들은 다른 많은 유전자들과 연결되어 있고 모듈의 발현 패턴을 주도한다. 허브 유전자를 실험적으로 억제하거나 과발현시키면 모듈 전체의 활성이 변하는 경향이 있기 때문에, 이 유전자들은 기능 연구의 우선 표적이 된다. 허브 유전자가 전사 인자(transcription factor)인 경우가 많다는 점도 시사적이다. 하나의 전사 인자가 수백 개의 다운스트림 유전자의

발현을 조절할 수 있고, 그래서 그 전사 인자는 네트워크에서 허브 위치를 차지하게 된다. 뇌 발달의 공발현 네트워크에서 허브 위치에 있는 전사 인자들은 발달 과정의 마스터 조절자일 가능성이 높다.

뇌 발달의 전사체적 타임라인

이 도구를 Kang et al. 연구(Chapter 2)나 BrainSpan(Chapter 3) 같은 데이터에 적용하면, 뇌 발달의 전사체적 타임라인이 모듈 단위로 선명하게 그려진다. 태아 초기, 즉 임신 8주에서 12주 사이에는 신경 생성(neurogenesis)이 한창이다. 이 시기에 강하게 활성화되는 모듈들은 세포 주기(cell cycle) 조절, DNA 복제, 유사분열(mitosis)과 관련된 유전자들로 가득하다. 세포들이 분열하고, 신경 전구세포(neural progenitor cells)가 자신을 복제하거나 뉴런으로 분화하는 운명을 결정하는 시기다. 임신 13주에서 20주 사이인 중기 태아기로 넘어가면 무게중심이 이동한다. 신경 이주(neuronal migration) 관련 모듈이 활성화되기 시작한다. 새로 태어난 뉴런들이 방사 글리아의 가이드를 따라 뇌실 표면에서 피질 표면 쪽으로 이동하고, 제자리를 찾아가는 여정이 시작된다. 이 시기의 허브 유전자들 중에는 이주 과정을 조절하는 DCX(더블코르틴, doublecortin)나 LIS1 같은 유전자들이 있는데, 이 유전자들에 유전 변이가 생기면 뉴런이 제대로 이주하지 못해 피질 발달 장애가 생긴다는 사실이 이미 알려져 있었다.

임신 21주에서 37주 사이인 후기 태아기는 시냅스 형성(synaptogenesis) 모듈이 활성화되는 시기다. 제자리를 찾아가는 뉴런들이 축삭(axon)을 뽀고, 수상돌기(dendrite)를 펼치며, 이웃 세포들과 시냅스를 형성하기 시작한다. 시냅스란 두 뉴런 사이의 연결 지점으로, 전기 신호가 화학적 신호로 바뀌어 다음 세포로 전달되는 관문이다. 이 시기의 모듈에는 글루탐산(glutamate) 수용체, GABAergic 수용체, 세포 접착 분자(cell adhesion molecules), 시냅스 발판 단백질(scaffolding proteins) 관련 유전자들이 풍부하다. 출생 후 초기에도 시냅스 형성은 계속되지만, 점차 다른 주제들이 부상한다. 시냅스 가지치기(synaptic pruning) 관련 모듈이 활성화되기 시작하는 것이다. 태어날 때 우리의 뇌는 성인보다 더 많은 시냅스를 가지고 있고, 그 과잉 형성된 시냅스들이 사용 빈도에 따라 선택적으로 제거되면서 뇌 회로의 세밀한 조각이 이루어진다. 마치 조각가가 커다란 돌덩이를 깎아가며 섬세한 작품을 만드는 것처럼, 뇌도 과잉 연결을 제거하면서 더 정교한 회로를 만들어나간다. 이 과정에 미세아교세포(microglia)가 보체 단백질(complement proteins)을 표지로 삼아 약한 시냅스를 탐식하는 방식으로 관여한다는 것이 2012년 이후의 연구들에서 밝혀졌다.

청소년기(adolescence)에는 또 다른 전사체적 전환이 일어난다. 수초화(myelination) 관련 모듈이 특히 전전두엽 피질에서 뒤늦게 활성화되고, 시냅스 재편 관련 유전자들이 다시 한번 높아진다. 수초화란 신경 섬유를 수초라는 지방질 막으로 감싸는 과정인데, 수초가 형성되면 전기 신호의 전달 속도가 크게 빨라지고 안정성이 높아진다. 수초 없는 신경섬유와 있는 신경섬유의 신호 전달 속도 차이는 수십 배에 달한다. 인간의 전전두엽 피질은 20대 중반까지도 수초화가 완성되지 않는데, 이것이 청소년기에 충동 조절과 계획 능력이 아직 덜 발달되어 있는 이유 중 하나로 여겨진다. 발달 심리학자들이 이미 수십 년 전에 행동적 측면에서 관찰해온 것들이, 전사체 수준에서도 유전자 모듈의 늦은 활성화로 확인되는 셈이다. 성인기에 이르면 유지 관련 모듈들이 주도권을 잡는다. 신경 전달, 미토콘드리아 기능, 단백질 항상성(protein homeostasis)과 관련된 유전자들이 안정적으로 높은 수준을 유지하면서 뇌의 항상성을 담당한다.

BrainVar 데이터베이스: 유전체와 전사체의 만남

2020년에 이 이야기에 새로운 층을 추가하는 데이터셋이 발표되었다. PsychENCODE 컨소시엄의 일환으로 구축된 BrainVar 데이터베이스는 발달 중인 배외측 전두엽 피질(dorsolateral prefrontal cortex)에서 채취한 176명의 개인 조직으로부터 전장 유전체 시퀀싱(whole-genome sequencing)과 벌크 RNA-seq를 동시에 수행한 결과물이었다. 전장 유전체 시퀀싱이란 각 개인의 DNA 전체를 처음부터 끝까지 읽어내는 것이고, RNA-seq는 그 조직에서 발현되는 모든 RNA를 시퀀싱하는 것이다. 이 두 가지 데이터를 같은 개인에서 동시에 얻었다는 것이 BrainVar의 핵심적인 강점이었다. 이전 연구들이 전사체 데이터만 가지고 있거나, 유전체 데이터만 가지고 있었다면, BrainVar는 한 개인 안에서 유전적 변이가 유전자 발현에 어떻게 영향을 미치는지를 직접 분석할 수 있게 해주었다. 마치 한 사람의 타고난 설계도(유전체)와 그것이 실제로 어떻게 읽혔는지(전사체)를 동시에 비교하는 것이다.

176명의 표본은 임신 초기부터 청소년기까지의 발달 범위를 포괄했는데, 이 광범위한 발달 기간의 포함이 BrainVar를 특별하게 만들었다. 이 데이터를 이용하여 연구진은 발현 양적 형질 유전자좌(expression quantitative trait loci, eQTL)를 발견했는데, 특히 발달 시점에 따라 효과가 다른 시간 의존적 eQTL(temporal eQTLs)을 발견한 것이 핵심 기여였다. eQTL 분석이란 176명의 유전체 데이터와 전사체 데이터를 동시에 가지고 있으니, “A라는 DNA 변이를 가진 사람들은 B 유전자가 다른 사람들보다 높게(또는 낮게) 발현된다”는 통계적 연관성을 찾는 것이다. 어떤 유전적 변이는 태아기에는 근처 유전자의 발현에 강한 영향을 미치지만 출생 후에는 그 영향이 사라졌고, 반대로 출생 후에만 효과가 나타나는 변이들도 있었다. 또 발달 전 기간에 걸쳐 일정하게 영향을 미치는 항상적 eQTL(constant eQTLs)도 발견되었다. 이 두 종류의 eQTL 사이의 구분이 처음에는 기술적인 분류처럼 보일 수 있지만, 실제로는 깊은 생물학적 함의를 가진다.

어떤 유전적 변이가 태아기에만 유전자 발현에 영향을 미친다는 것은, 그 변이가 태아 뇌에서 특이적으로 활성화되는 조절 요소(regulatory element)에 위치한다는 것을 의미한다. 달리 말하면, 태아 뇌만의 독특한 유전자 조절 구조가 존재하고, 유전체의 특정 영역들은 오직 태아 뇌에서만 기능한다는 것이다.

BrainVar에서 발견된 또 하나의 중요한 결과는 1만 2천 개 이상의 유전자가 후기 태아 전환(late-fetal transition) 시점에 조절된 방식으로 발현 변화를 겪는다는 것이었다. 이 시기는 대략 임신 후기에서 신생아기로 넘어가는 전환점에 해당하며, 그 무렵 뇌 전사체가 대규모로 재편된다. 1만 2천 개라는 숫자를 잠깐 생각해보자. 인간 유전체의 단백질 코딩 유전자가 약 20,000개라는 것을 감안하면, 이 전환 시점에 전체 유전체의 절반 이상이 동시에 발현 방향을 바꾼다는 것이다. 마치 오케스트라가 1부 공연을 마치고 휴식 후 완전히 다른 프로그램을 연주하기 시작하는 것처럼, 뇌의 유전자 발현 프로그램이 출생을 전후하여 대규모로 전환된다. 이 전환기 유전자들의 기능을 분석하면 세포 유형 특이적 프로그램들로 연결되었는데, 이것은 이 대규모 전사체 재편이 발달하는 뇌에서 특정 세포 유형들이 성숙하거나 등장하는 것과 연동되어 있음을 시사한다. 출생을 전후한 이 결정적 전환기가 분자 수준에서 어떻게 조절되는지에 대한 이해는, BrainVar 이전에는 거의 없었다.

기능 미상 유전자에게 이름을 붙이는 법

공발현 네트워크 분석의 가장 실용적인 가치 중 하나는, 기능이 알려지지 않은 유전자의 기능을 추론할 수 있다는 것이다. 이것을 “좋은 동행 원리(guilt by association)”라고도 부른다. 기능이 잘 알려진 유전자들과 함께 공발현 모듈을 이루는 기능 미상의 유전자라면, 그 모듈의 기능에 관여할 가능성이 높다는 논리다. 예를 들어 시냅스 형성 관련 유전자들로 구성된 모듈에서 함께 발현되는 기능 미상 유전자가 있다면, 그 유전자 역시 시냅스 형성 과정에서 역할을 할 가능성이 있다. 이것은 마치 어떤 사람이 항상 목수들과 어울려 다니고 목공소에서 시간을 보낸다면 그 사람도 목수일 가능성이 높다고 추론하는 것과 같다. 물론 이것은 가설이고 실험적 검증이 필요하지만, 수만 개의 유전자 중 어디서부터 실험을 시작해야 할지를 결정하는 데 있어서 공발현 네트워크는 강력한 우선순위 도구가 된다. 뇌 발달의 맥락에서는 특히 중요하다. 뇌 발달에 관여하는 유전자들 중 상당수는 다른 계에서는 기능이 알려지지 않은 뇌 특이적 유전자들이기 때문이다.

공발현 네트워크는 또한 이전에는 관련이 없다고 생각되었던 유전자들 사이의 연결 고리를 드러내기도 한다. 전통적인 생화학에서는 단백질들이 직접 결합하거나 신호 전달 경로를 통해 연결되어야 기능적 연관성이 있다고 본다. 하지만 공발현 분석은 그보다 훨씬 넓은 의미의 기능적 연관성을 포착한다. 같은 세포 유형에서 발현되기 때문에 함께 올라가거나, 같은 전사 인자에 의해 조절되기 때문에 함께 반응하거나, 같은 발달 과정에서 필요하기 때문에 함께 켜지는 유전자들이 모두 같은 모듈에 모이게 된다. 이러한 방식으로, 공발현 네트워크는 직접적인 분자적 상호작용 수준을 넘어 세포 수준, 조직 수준의 조절 구조를 반영하는 지도가 된다. 모듈의 허브 위치에 전사 인자가 있다면, 그 전사 인자가 모듈에 포함된 다수의 유전자를 직접 조절하는 마스터 레귤레이터일 가능성이 있다. 이런 예측은 ChIP-seq(크로마틴 면역침전 시퀀싱, chromatin immunoprecipitation sequencing)나 CRISPR 스크리닝 같은 기술로 실험적으로 검증할 수 있는 구체적인 가설을 제공한다. ChIP-seq는 특정 단백질이 유전체의 어느 위치에 결합하는지를 전장 유전체 수준에서 밝히는 기술이고, CRISPR 스크리닝은 수천 개의 유전자를 한꺼번에 꺾다 켜면서 어떤 유전자가 원하는 표현형에 영향을 미치는지를 대규모로 테스트하는 방법이다.

BrainVar의 데이터는 공개적으로 이용 가능하며, 이 자원은 연구자들이 자신이 관심을 가지는 유전적 변이가 뇌 발달 과정에서 언제, 어떤 유전자의 발현에 영향을 미치는지를 탐색할 수 있는 풍부한 도구가 되었다. 특정 유전자가 발달의 어느 시점에 어느 방향으로 발현이 변하는지, 그리고 그 발현 변화에 영향을 미치는 유전적 변이가 있는지를 176명의 개인 데이터에서 직접 확인할 수 있다. 이것은 단일 유전자 수준의 이야기가 아니라, 개인의 유전체와 그 개인의 뇌 발달 전사체가 어떻게 연결되어 있는지를 이해하는 데 도달하는 수단이다. 2011년 Kang et al. 연구가 인간 뇌 전사체를 처음 체계적으로 기술하면서 시작된 이야기가, 2020년 BrainVar에 이르러 유전체와 전사체를 동시에 고려하는 발달 유전체학(developmental genomics)의 영역으로 성숙해진 것이다. 뇌가 어떻게 만들어지는지를 이해하려면 결국 두 가지 물음에 동시에 답해야 한다. 어떤 유전자들이 언제, 어디서, 얼마나 발현되는가. 그리고 개인 간의 유전적 차이가 그 발현 프로그램에 어떻게 영향을 미치는가. 이 두 물음을 연결하는 다리가 바로 발달 eQTL이고, BrainVar는 그 다리를 처음으로 체계적으로 건축한 프로젝트였다.

References

Werling, D. M., Pochareddy, S., Choi, J., An, J. Y., Sheppard, B., Peng, M., ... & Sestan, N. (2020). Whole-genome and RNA sequencing reveal variation and transcriptomic coordination in the developing human prefrontal cortex. *Cell Reports*, 30(13), 4203–4219. doi:10.1016/j.celrep.2020.03.053

Kang, H. J., Kawasawa, Y. I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., ... & Sestan, N. (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370), 483–489. doi:10.1038/nature10523

Miller, J. A., Ding, S. L., Sunkin, S. M., Smith, K. A., Ng, L., Szafer, A., ... & Lein, E. S. (2014). Transcriptional landscape of the prenatal human brain. *Nature*, 508(7495), 199–206. doi:10.1038/nature13185

Langfelder, P., & Horvath, S. (2008). WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 559. doi:10.1186/1471-2105-9-559

Zhang, B., & Horvath, S. (2005). A general framework for weighted gene co-expression network analysis. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*, 4(1). doi:10.2202/1544-6115.1128

주요 용어 안내

WGCNA(가중 유전자 공발현 네트워크 분석): 여러 표본에서 유전자 발현 패턴이 유사한 유전자들을 그룹(모듈)으로 묶는 분석 방법. 함께 올라가고 함께 내려가는 유전자들이 같은 생물학적 과정에 참여하고 있을 가능성이 높다는 원리에 기반한다.

공발현 모듈(co-expression module): WGCNA로 발견된 유전자 그룹. 각 모듈은 특정 발달 시기나 뇌 영역에서 함께 활성화되며, 모듈에 포함된 유전자들의 기능을 분석하면 그 모듈이 어떤 생물학적 과정을 반영하는지 추론할 수 있다.

허브 유전자(hub gene): 공발현 모듈 안에서 가장 많은 유전자와 연결된 중심 유전자. 공발현의 허브처럼 많은 노선이 모이는 곳으로, 모듈의 기능을 이해하는 핵심 단서가 된다.

eQTL(발현 양적 형질 유전자): 특정 DNA 변이가 근처 유전자의 발현량에 영향을 미치는 현상. 유전적 변이가 뇌 기능에 영향을 주는 메커니즘을 추적하는 데 쓰인다.

후기 태아 전환(late-fetal transition): 임신 후기에서 신생아기로 넘어가는 시점에 뇌 전사체가 대규모로 재편되는 현상. 전체 유전자의 절반 이상이 동시에 발현 방향을 바꾼다.

Chapter 5. 단일 세포 기술의 등장

2015년 어느 날, 하버드 의과대학의 에반 마코스코(Evan Macosko)는 뇌를 갈아 만든 세포 현탁액을 가느다란 관 속으로 흘려보내고 있었다. 이 행위는 신경과학자의 관점에서 보면 거의 만행에 가까웠다. 수십억 년의 진화가 빚어낸 정교한 세포들, 각자 고유한 형태와 기능을 가진 세포들을 블렌더에 갈아버리는 것이었다. 하지만 마코스코와 그의 동료들은 이 '만행'이 곧 새로운 시대를 여는 행위가 될 것임을 알고 있었다. 그들이 개발한 방법은 Drop-seq였고, 이것은 수천 개의 개별 세포를 한꺼번에 시퀀싱한다는 꿈을 처음으로 현실로 만들었다. Cell에 발표된 이 논문은 단일 세포 유전체학의 시대가 본격적으로 열렸음을 알리는 신호탄이었다. 사실 단일 세포 시퀀싱의 아이디어 자체는 훨씬 이전부터 있었지만, 마코스코의 Drop-seq는 그것을 수천 개의 세포 규모로 끌어올린 최초의 기술 중 하나였다.

Drop-seq 이전에도 개별 세포를 시퀀싱하려는 시도가 없었던 것은 아니다. 2009년 Tang et al. 연구는 마우스 배아의 단일 세포 하나에서 전사체를 측정하는 데 성공했고, 이어진 몇 년 동안 Smart-seq, Smart-seq2 같은 플레이트 기반(plate-based) 방법들이 등장했다. Smart-seq2는 Picelli et al. 연구팀이 2013년에 발표한 방법으로, FACS(형광 활성화 세포 분류, fluorescence-activated cell sorting)를 이용해 세포 하나하나를 96공 혹은 384공 플레이트의 각 웰에 분리한 다음, 역전사효소를 이용하여 각 세포의 mRNA를 cDNA로 변환하고 증폭시킨 후 시퀀싱하는 방식이었다. 비유하자면 세포들을 알약 격자판에 하나씩 집어넣고 각각을 따로 분석하는 것이다. 이 방법은 각 세포에서 전체 전사체 길이에 걸쳐 정보를 얻을 수 있어서 스플라이싱 변이체(splicing variant)를 분석하는 데 유리했고, 감도도 높았다. 하지만 플레이트 기반 방법에는 치명적인 한계가 있었다. 한 번에 처리할 수 있는 세포의 수가 기껏해야 수백 개에서 수천 개에 불과했다. 뇌 한 조각에 들어 있는 수십만 개의 세포를 분류하기에는 턱없이 느리고 비쌌다.

기름방울 속의 혁명

Drop-seq의 핵심은 미세유체역학(microfluidics)이었다. 손톱만 한 작은 칩 위에 새겨진 수십 마이크로미터 폭의 미세 채널들을 통해 세 가지 흐름이 만나게 한다. 미세유체역학이란 머리카락 굵기보다 가는 관 안에서 액체의 흐름을 정밀하게 제어하는 기술로, 눈에 보이지 않는 작은 공간 안에서 화학적, 생물학적 반응을 빠르게 수행할 수 있게 해준다. 첫 번째 흐름에는 세포 현탁액이 흐른다. 두 번째 흐름에는 바코드가 새겨진 마이크로비드(microbead)들이 담겨 있다. 세 번째 흐름은 오일(oil)이다. 이 세 흐름이 합류하는 접합점에서, 오일이 세포 하나와 마이크로비드 하나를 감싸 아주 작은

기름방울(droplet)을 만들어낸다. 각 기름방울의 지름은 약 100마이크로미터에 불과하고, 이런 기름방울이 1초에 수천 개씩 생성된다. 이 기름방울 안에서 세포가 용해되면 세포의 mRNA가 유리되고, 마이크로비드에 붙어 있는 역전사효소와 올리고(dT) 프라이머가 mRNA를 cDNA로 전환한다. 중요한 것은 마이크로비드마다 서로 다른 DNA 서열이 붙어 있다는 것이다. 이것이 바로 세포 바코드(cell barcode)로, 마치 각 학생의 시험지에 이름 대신 고유 번호가 적혀 있어서 채점 후에도 누구의 것인지 알 수 있는 것처럼, 나중에 시퀀싱 결과를 분석할 때 어떤 cDNA가 어떤 세포에서 유래했는지를 구분하는 역할을 한다. 또한 같은 세포에서 나왔더라도 동일한 mRNA 분자를 여러 번 중복 세어서 발생하는 오류를 제거하기 위해, 각 mRNA 분자에는 고유 분자 식별자(unique molecular identifier, UMI)도 함께 붙인다.

Drop-seq 이후 거의 같은 시기에 inDrop(Klein et al., 2015)도 발표되었고, 두 방법 모두 비슷한 원리를 사용했지만 바코드 전달 방식에 차이가 있었다. 그러나 단일 세포 시퀀싱 분야에서 가장 광범위하게 채택된 플랫폼은 2016년 등장한 10x Genomics Chromium이었다. 10x Chromium은 기본적으로 Drop-seq과 같은 드롭렛 기반 원리를 따르지만, 겔 비드 에멀전(Gel Bead in Emulsion)이라는 독자적인 파티클 시스템을 사용하여 세포 포획 효율과 데이터 품질을 크게 개선했다. 상업적 키트와 자동화 장비로 제공되었기 때문에, 전문적인 미세유체역학 기술이 없는 일반 연구실에서도 쉽게 사용할 수 있었다. 마치 전문 사진작가만 쓰던 고급 카메라가 스마트폰으로 일반 대중에게 보급되듯, 10x Chromium은 단일 세포 시퀀싱을 소수 전문가의 기술에서 일반 연구자도 쓸 수 있는 도구로 바뀌었다. 오늘날 단일 세포 RNA 시퀀싱(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq) 논문의 절대 다수가 10x Genomics 플랫폼으로 생성된 데이터를 사용한다는 사실은 이 플랫폼이 얼마나 철저히 시장을 장악했는지를 보여준다. 그것은 단순히 마케팅의 승리가 아니라, 실제로 더 많은 세포를 더 빠르게 더 안정적으로 처리할 수 있다는 기술적 우위의 결과였다.

플랫폼	원리	한 번에 처리 가능한 세포 수	전사체 커버리지	주요 장점
Smart-seq2	플레이트 기반 (FACS)	수백~수천	전장(full-length)	스플라이싱 분석 가능, 높은 감도
Drop-seq	드롭렛 기반	수천~수만	3' 말단	대규모 처리 가능, 저비용
10x Chromics Chromium	드롭렛 기반 (겔 비드)	수천~수만	3' 또는 5' 말단	상업 키트, 높은 재현성, 가장 널리 사용

그런데 여기서 뇌 연구자들은 한 가지 근본적인 문제에 부딪힌다. Drop-seq든 10x Chromium이든, 이 기술들은 살아 있는 세포가 필요하다. 세포가 죽은 후 세포막이 파괴되어 mRNA가 모두 유출되면 데이터를 얻을 수 없다. 하지만 앞서 이야기했듯이, 인간 뇌의 거의 대부분은 사후 조직(postmortem tissue)에서만 얻을 수 있다. 살아있는 인간 뇌 조직을 뇌전증 수술 같은 특수한 경우를 제외하고 채취하는 것은 불가능하다. 더욱이 냉동 보존된 사후 뇌 조직에서 온전한 세포를 분리하는 것은 기술적으로 매우 어렵다. 냉동과 해동 과정에서 세포막이 손상되어 세포가 파괴되기 때문이다. 뇌 연구에서 scRNA-seq 적용의 이 난관을 해결한 것이 바로 단일 핵 RNA 시퀀싱(single-nucleus RNA sequencing, snRNA-seq)이다.

핵 하나면 충분하다

세포가 아니라 핵을 쓴다는 아이디어는 매우 단순하지만 그 파급력은 컸다. 세포막은 취약하지만 핵막(nuclear envelope)은 훨씬 견고하다. 조직을 분쇄하는 과정에서도 핵은 상당히 잘 보존된다. 냉동 조직에서 핵을 분리하면, 핵 안에는 mRNA가 포함된 RNA 전사체들이 어느 정도 보존되어 있다. 물론 세포질 RNA에 비해 핵 내 RNA의 양은 적고, 미성숙 전사체(pre-mRNA)가 많이 포함되어 있는 등 몇 가지 차이가 있다. 그러나 핵에 있는 RNA만으로도 세포 유형을 충분히 구분할 수 있다는 것이 여러 연구에서 검증되었다. snRNA-seq는 FANS(형광 활성화 핵 분류, fluorescence-activated nuclei sorting)나 단순한 원심분리를 통해 조직에서 핵을 분리한 후 10x Chromium 같은 플랫폼에 투입하는 방식으로 수행된다. 비유하자면, 책 전체가 아니라 목차만 보고도 그 책이 어떤 종류의 책인지 구분할 수 있는 것처럼, 핵에 남아 있는 RNA 정보만으로도 세포 유형을 식별할 수 있는 것이다. 이 기술은 수십 년 전에 냉동 보존된 뇌 은행(brain bank) 조직에도 적용할 수 있어서, 인간 뇌 유전체 연구의 실질적인 문을 열었다. BICCN(Brain Initiative Cell Census Network)이 생산한 주요 인간 뇌 아틀라스들이 모두 snRNA-seq를 사용한 것은 우연이 아니라 필연이었다.

드롭렛 기반이든 플레이트 기반이든, snRNA-seq든 scRNA-seq든, 시퀀서에서 나오는 것은 결국 수십억 개의 짧은 DNA 서열(read)이다. 이 서열들을 가지고 의미 있는 생물학적 정보를 끌어내려면 상당히 복잡한 데이터 분석 파이프라인이 필요하다. 먼저 각 read를 참조 유전체(reference genome)에 정렬(alignment)하여 어떤 유전자에서

왔는지 확인하고, 세포 바코드와 UMI를 이용하여 각 세포에서 각 유전자가 몇 번 검출되었는지를 나타내는 세포-유전자 행렬(cell-gene matrix)을 만든다. 이 행렬은 행(row)이 각 세포, 열(column)이 각 유전자인 거대한 표와 같아서, 예컨대 10만 개의 세포와 3만 개의 유전자를 분석하면 10만 곱하기 3만 크기의 표가 생성된다. 이 행렬이 단일 세포 분석의 출발점이다. 이 과정을 수행하는 대표적인 소프트웨어가 10x Genomics가 제공하는 Cell Ranger이고, 최근에는 STARsolo나 Alevin 같은 대안적인 도구들도 널리 사용된다. 이 단계까지는 비교적 표준화되어 있지만, 그다음부터는 선택지가 무수히 많아진다.

데이터를 읽어내는 기술

세포-유전자 행렬이 만들어지면 본격적인 분석이 시작된다. 첫 번째 단계는 품질 관리(quality control)다. 각 세포(또는 핵)에서 검출된 유전자의 수, 총 UMI의 수, 미토콘드리아 유전자의 비율 등을 살펴보고 죽은 세포나 파괴된 핵, 혹은 두 세포가 하나의 방울에 포획된 더블릿(doublet)을 제거한다. 미토콘드리아 유전자 비율이 높다는 것은 세포가 스트레스를 받았거나 세포질이 유출되었다는 신호로, 마치 혈액 검사에서 특정 효소 수치가 높으면 간세포가 손상되었음을 알 수 있는 것과 비슷한 원리다. 품질 관리 기준은 연구마다, 세포 유형마다 다르게 설정해야 한다는 점이 중요한데, 예를 들어 뉴런은 일반적으로 미토콘드리아 함량이 높기 때문에 같은 기준을 일률적으로 적용하면 실제 뉴런들이 대거 제거되는 일이 생긴다. 이 단계를 통과한 세포들의 데이터는 서로 다른 포획 효율로 인한 기술적 변이를 제거하기 위해 정규화(normalization)를 거친다. 가장 흔하게 사용되는 방법은 각 세포의 카운트를 총 카운트로 나눈 후 로그 변환하는 것이고, SCTransform 같은 보다 정교한 통계 모델 기반 방법도 사용된다.

정규화된 데이터는 수만 개의 유전자 축을 가진 고차원 공간에 존재한다. 이것을 시각화하고 분석하기 위해서는 차원 축소(dimensionality reduction)가 필요하다. 먼저 주성분 분석(principal component analysis, PCA)을 적용하여 데이터의 분산을 가장 잘 설명하는 주성분들을 추출하고, 보통 상위 20~50개의 주성분을 다음 단계에 사용한다. PCA를 직관적으로 이해하자면, 수만 개의 유전자 발현 값이 사실 몇 개의 주요 패턴으로 요약될 수 있다는 생각이다. 예를 들어 여러 유전자들이 동시에 올라가는 패턴이 하나의 주성분이 될 수 있고, 이 주성분들만으로 세포 간 차이의 대부분을 설명할 수 있다. PCA가 선형적 차원 축소라면, 다음 단계인 UMAP(균일 다양체 근사 및 투영, Uniform Manifold Approximation and Projection)은 비선형적 차원 축소로, 고차원 공간에서의 데이터 구조를 2차원 또는 3차원 공간에 시각화해준다. 쉽게 말하면, 수만 개의 유전자 정보를 가진 세포를 2차원 지도 위의 점으로 표현하는 것이다. UMAP 플롯에서 서로 가까이 모여 있는 세포들은 유전자 발현 패턴이 유사한 세포들이고, 멀리 떨어진 세포들은 유전자 발현 패턴이 크게 다른 세포들이다. 오늘날 단일 세포 논문에 빠짐없이 등장하는 그 알록달록한 UMAP 그림이 바로 이 과정의 결과물이다. UMAP의 시각화는 직관적으로 납득이 가는 그림을 만들어주지만, 동시에 UMAP이 보여주는 거리 관계를 문자 그대로 해석하는 것은 위험하다는 점도 알아야 한다. UMAP은 원래 고차원 공간의 위상 구조를 보존하기 위해 설계되었지 클러스터 간의 절대적 거리를 보존하기 위해 설계된 것이 아니기 때문이다.

UMAP 시각화와 함께, 유사한 세포들을 그룹으로 묶는 군집화(clustering)가 수행된다. 현재 가장 널리 사용되는 방법은 그래프 기반 군집화 알고리즘인 레이든 알고리즘(Leiden algorithm)과 루방 알고리즘(Louvain algorithm)이다. 비유하자면, 수천 명의 학생들이 좋아하는 과목 목록을 제출했을 때, 비슷한 목록을 가진 학생들끼리 자연스럽게 그룹이 만들어지는 것과 같다. 이 방법들은 먼저 각 세포를 그래프의 노드로, 비슷한 세포들 사이를 엣지로 연결한 k-최근접 이웃(k-nearest neighbor, kNN) 그래프를 만든 다음, 이 그래프에서 엣지가 밀집된 커뮤니티를 찾아 클러스터로 정의한다. 레이든 알고리즘이 루방 알고리즘보다 수학적으로 더 견고한 클러스터를 보장한다고 알려져 있어 최근에는 레이든을 더 많이 사용하는 추세다. 각 클러스터는 그 클러스터에서 다른 클러스터보다 높게 발현되는 마커 유전자들을 찾아서 세포 유형 이름을 부여하는 방식으로 주석화(annotation)된다. 이 주석화 단계는 아직도 상당 부분 인간의 판단에 의존하는데, 컴퓨터가 만들어낸 클러스터가 실제로 어떤 생물학적 세포 유형에 해당하는지는 결국 연구자가 기존의 지식과 마커 유전자 정보를 종합하여 결정해야 하기 때문이다.

군집화가 세포들의 '정적인' 상태를 분류한다면, 궤적 분석(trajjectory analysis), 혹은 의사시간 분석(pseudotime analysis)은 세포들이 어떤 순서로 분화하는지를 추론한다. 발달 중인 조직에서 세포들을 채취하면, 어떤 세포는 미분화된 전구세포이고 어떤 세포는 부분적으로 분화된 중간 상태이며 어떤 세포는 완전히 분화된 성숙 세포일 것이다. '의사시간'이라는 이름이 붙은 이유는, 실제 시간의 흐름이 아니라 분화 진행 정도를 나타내는 가상의 시간 축을 만들기 때문이다. 단일 시점에 찍은 스냅샷에서 세포들을 분화 순서대로 나열함으로써, 마치 영화 필름처럼 발달 과정을 재구성하는 방법이다. 마치 씨앗, 새싹, 나무를 한자리에 모아 놓고 "이것이 성장 과정이다"라고 추론하는 것처럼, 단일 시점에 채취한 여러 세포들을 분화 정도에 따라 순서대로 배열하여 발달 과정을 재구성하는 것이다. 이 세포들을 유전자 발현 유사도에 기반하여 하나의 궤적 위에 배열하면, 분화의 순서와 각 분화 단계에서 어떤 유전자가 켜지고 꺼지는지를 추론할 수 있다. Monocle이 이 분야의 선구적인 도구였고, RNA 속도(RNA velocity)를 이용하는 scVelo, Cytotrace, Palantir 등 더 정교한 방법들이 계속 등장하고 있다. RNA 속도란 미성숙 mRNA(pre-mRNA)와 성숙 mRNA의 비율을 이용하여 각 세포가 미래에 어떤 방향으로 변할지를 예측하는 방법으로, 세포 분화의 방향성을 화살표처럼 시각화해준다.

미성숙 mRNA가 많다는 것은 그 유전자가 막 켜지기 시작했다는 신호이고, 반대로 성숙 mRNA만 남아 있다면 그 유전자가 꺼지는 중이라는 신호다. 이 비율로부터 세포가 어느 방향으로 변하고 있는지를 추론하는 것이다. 이 분야가 빠르게 발전하고 있다는 것은 좋은 일이지만, 동시에 이 방법들 중 어느 것도 완벽하지 않으며 서로 다른 방법을 적용했을 때 상충되는 결과가 나오는 경우도 드물지 않다는 것도 기억해야 한다.

단일 세포 기술이 성숙하면서 점점 더 많은 연구자들이 여러 실험실, 여러 플랫폼, 여러 기증자에서 얻은 데이터를 하나로 통합하고 싶어하게 되었다. 하지만 각 실험에서 생기는 기술적 변이(batch effect)가 심각한 문제였다. 배치 효과(batch effect)란 실험마다 생기는 기술적 잡음인데, 같은 세포라도 시약 로트(lot)가 다르거나, 세포를 잡는 효율이 조금 다르거나, 온도가 조금 다른 날 실험하면 데이터에 일정한 방향의 편향이 생긴다. 서로 다른 날 서로 다른 실험실에서 수행된 두 실험의 데이터를 단순히 합치면, 같은 세포 유형이라도 기술적인 차이로 인해 마치 다른 집단처럼 분리되어 보이는 현상이 발생한다. 이것은 마치 서울의 주민들을 찍은 사진과 부산의 주민들을 찍은 사진을 분석할 때, 카메라 필터 차이 때문에 서울 사람들이 모두 파랗게, 부산 사람들이 모두 노랗게 보이는 것과 비슷하다. 데이터 통합(data integration)은 이 배치 효과를 제거하면서 진정한 생물학적 변이는 보존하는 것을 목표로 한다. 현재 가장 널리 사용되는 통합 방법은 Harmony와 scVI(단일 세포 변분 추론, single-cell variational inference)다. Harmony는 PCA 공간에서 세포들의 임베딩을 반복적으로 수정하여 서로 다른 배치의 세포들이 같은 클러스터 안에 고르게 섞이도록 하고, scVI는 딥러닝 기반의 생성 모델을 이용하여 각 세포의 데이터를 배치 효과가 제거된 잠재 공간으로 변환한다. 이 외에도 Seurat의 앵커 기반 통합, BBKNN, Scanorama 등 다양한 방법들이 개발되어 있으며, BICCN 같은 컨소시엄이 여러 기관에서 생성한 데이터를 하나의 일관된 분류 체계로 합치는 데 이런 통합 방법들이 필수적이다.

BICCN: 뇌의 세포 인구조사

이 모든 기술적 발전을 배경으로, 2017년 미국 국립보건원(National Institutes of Health)은 뇌 이니셔티브 세포 인구조사 네트워크(Brain Initiative Cell Census Network, BICCN)를 출범시켰다. BICCN의 목표는 명확했다. 인간, 마우스, 영장류의 뇌 전체에 걸쳐 모든 세포 유형을 체계적으로 분류하고, 각 세포 유형의 분자적 특성을 전사체, 후성유전체, 형태, 전기생리학적 특성 등 다양한 측면에서 기술하는 것이었다. 이것은 뇌의 세포 인구조사(cell census)로, 국가가 주기적으로 수행하는 인구조사처럼 뇌 안에 어떤 세포들이 얼마나 존재하는지를 체계적으로 파악하는 것이었다. BICCN 이전에는 서로 다른 연구실에서 서로 다른 기준으로 세포 유형을 명명하다 보니, 같은 세포가 연구실마다 다른 이름으로 불리는 혼란이 생겼다. 어떤 연구실에서 L5 IT 뉴런이라고 부르는 세포를 다른 연구실에서는 피라미드 뉴런 유형 C라고 부를 수 있었고, 이것은 뇌 연구의 발전을 심각하게 저해했다.

BICCN은 30개 이상의 연구 기관이 협력하여 표준화된 방법론으로 데이터를 생성하고, 이를 공개 저장소에 공유함으로써 전 세계 연구자들이 이 데이터에 접근할 수 있게 했다. 2023년에 Science 저널에 동시 발표된 일련의 논문들은 BICCN의 첫 번째 대규모 성과였다. 성인 인간 뇌 전체의 전사체 아틀라스(Siletti et al.), 임신 초기 태아 뇌를 단일 세포 수준에서 분석한 아틀라스(Braun et al.), 크로마틴 접근성 아틀라스(Li et al.), DNA 메틸화 및 3D 유전체 아틀라스(Tian et al.), 개체 간 변이 연구(Johansen et al.), 그리고 영장류 비교 연구(Jorstad et al.)가 모두 같은 해에 발표되면서, 인간 뇌의 세포 다양성에 대한 방대한 자원이 만들어졌다. 이 논문들이 이 책 Part 2의 핵심을 이루는 연구들이다. BICCN의 공개 데이터 정책은 인간 유전체 프로젝트의 버뮤다 원칙(Bermuda Principles)을 계승하는 것으로, 데이터를 특정 연구 그룹이 독점하지 않고 생성 즉시 공개함으로써 전체 과학 공동체가 혜택을 누릴 수 있도록 한다. 단일 세포 기술이 뇌 연구에 가져다 준 변화를 한 문장으로 요약하면 이렇다. 우리는 이제 뇌를 세포 하나하나의 언어로 읽을 수 있게 되었다.

References

- Macosko, E. Z., Basu, A., Satija, R., Nemesh, J., Shekhar, K., Goldman, M., ... & McCarroll, S. A. (2015). Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets. *Cell*, 161(5), 1202–1214. doi:10.1016/j.cell.2015.05.002
- Klein, A. M., Mazutis, L., Akartuna, I., Tallapragada, N., Veres, A., Li, V., ... & Kirschner, M. W. (2015). Droplet barcoding for single-cell transcriptomics applied to embryonic stem cells. *Cell*, 161(5), 1187–1201. doi:10.1016/j.cell.2015.04.044
- Picelli, S., Björklund, Å. K., Faridani, O. R., Sagasser, S., Winberg, G., & Sandberg, R. (2013). Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells. *Nature Methods*, 10(11), 1096–1098. doi:10.1038/nmeth.2639
- Zheng, G. X., Terry, J. M., Belgrader, P., Ryvkin, P., Bent, Z. W., Wilson, R., ... & Bielas, J. H. (2017). Massively parallel digital transcriptional profiling of single cells. *Nature Communications*, 8(1), 14049. doi:10.1038/ncomms14049

Korsunsky, I., Millard, N., Fan, J., Slowikowski, K., Zhang, F., Wei, K., ... & Raychaudhuri, S. (2019). Fast, sensitive and accurate integration of single-cell data with Harmony. *Nature Methods*, 16(12), 1289–1296. doi:10.1038/s41592-019-0619-0

Lopez, R., Regier, J., Cole, M. B., Jordan, M. I., & Yosef, N. (2018). Deep generative modeling for single-cell transcriptomics. *Nature Methods*, 15(12), 1053–1058. doi:10.1038/s41592-018-0229-2

BICCN (Brain Initiative Cell Census Network). (2021). A multimodal cell census and atlas of the mammalian primary motor cortex. *Nature*, 598(7879), 86–102. doi:10.1038/s41586-021-03950-0

주요 용어 안내

드롭렛(droplet): 미세유체역학 칩에서 오일로 감싸 만드는 지름 약 100 마이크로미터의 기름방울. 각 방울 안에 세포 하나와 바코드 비드 하나가 들어가 개별 세포의 RNA를 분리된 공간에서 처리할 수 있게 한다.

세포 바코드(cell barcode)와 UMI(unique molecular identifier): 세포 바코드는 각 세포를 구분하는 고유 서열이고, UMI는 같은 세포 안에서 동일한 mRNA 분자를 중복 측정하는 오류를 제거하기 위한 고유 서열이다.

UMAP: 수만 개의 유전자 발현 정보를 가진 세포를 2차원 지도 위의 점으로 표현하는 시각화 방법. 가까운 점들은 유전자 발현이 유사한 세포들이다. 단, 점 사이의 절대적 거리를 그대로 해석하면 안 된다.

배치 효과(batch effect): 서로 다른 날, 다른 실험실에서 수행된 실험 사이에 생기는 기술적 차이. 같은 세포 유형이 실험 조건 차이 때문에 다른 집단처럼 보이는 현상이다.

snRNA-seq(단일 핵 RNA 시퀀싱): 세포 전체가 아니라 핵만 분리하여 시퀀싱하는 방법. 냉동 보존된 사후 뇌 조직에서도 적용할 수 있어 인간 뇌 연구의 표준이 되었다.

Chapter 6. 발달 중인 뇌의 세포 지도

임신 5주차의 인간 배아를 생각해보라. 그 작은 존재의 뇌는 아직 뇌라고 부르기도 민망한 상태다. 세 개의 팽창된 주머니, 즉 전뇌(prosencephalon), 중뇌(mesencephalon), 후뇌(rhombencephalon)가 구분되는 정도다. 그런데 그 순간, 이 세 주머니의 벽을 이루는 세포들은 이미 자신이 어디에 있고 무엇이 될지에 대한 정보를 서서히 갖추기 시작한다. 앞으로 9주가 더 지나면 이 작은 주머니들은 860억 개의 뉴런을 지닌 복잡한 기관으로 발전할 것이고, 그 뉴런들은 각자의 위치에 맞는 연결을 형성하고, 각자의 세포 유형에 맞는 유전자 프로그램을 실행할 것이다. 어떻게? 이 질문이 발달 신경과학의 핵심이고, 단일 세포 기술이 그 답을 처음으로 세포 하나하나의 해상도로 열어주기 시작했다.

Braun et al. (2023) 연구는 임신 5주에서 14주 사이, 즉 임신 초기(first trimester)에 해당하는 인간 발달 뇌 26개를 수집하여 111개의 해부학적 표본으로 세분하고, 총 1,665,937개의 단일 세포 전사체를 생성했다. 임신 초기는 뇌의 기본 구조가 잡히는 시기로, 이 짧은 기간 동안 수십억 개의 뉴런이 태어나고 이동하고 제자리를 잡는 거대한 건설 공사가 시작된다. 이 숫자만으로도 이미 상당한 규모이지만, 더 중요한 것은 이 데이터에서 무엇을 발견했는가다. Braun et al. 연구는 *Science*에 임신 초기 인간 뇌 전체를 아우르는 최초의 포괄적 세포 아틀라스를 발표했고, 뇌 발달의 세포적 기반에 대한 이해를 한 단계 넓혀주었다. 616개의 세포 상태 클러스터와 12개의 주요 세포 클래스를 담은 이 아틀라스는 단순한 데이터의 집적이 아니라, 뇌가 어떻게 만들어지는가에 대한 분자적 서사였다.

방사 글리아에서 뉴런까지: 분화의 세 가지 프로그램

임신 초기 태아 뇌 아틀라스에서 드러난 가장 기초적인 발견 중 하나는, 흥분성 뉴런 계통(excitatory neuron lineage)의 분화 과정에 세 가지 분자적 프로그램이 동시에 작동한다는 사실이었다 (Braun et al. 2023). 출발점은 방사 글리아(radial glia)다. 방사 글리아는 발달 중인 뇌에서 신경 줄기세포의 역할을 하는 세포로, HES1이라는 전사인자를 높게 발현하면서 뇌실대(ventricular zone)에서 뇌실면에 붙어 긴 돌기를 뿜고 있다. 이 세포가 비대칭적으로 분열하면 신경 중간 전구세포(neuronal intermediate progenitor cell, neuronal IPC)를 만들어낸다. 신경 IPC는 방사 글리아와 뉴런의 중간 어딘가에 있는 세포로, 뇌실 하대(subventricular zone)에 위치하면서 한두 번 더 대칭적으로 분열하여 신경모세포(neuroblast, NHLH1+)를 만들고, 신경모세포는 최종적으로 미성숙 뉴런(immature neuron, INA+)이 된다. 이 선형적인 경로는 수십 년 전부터 알려져 있었다.

그런데 Braun et al. 연구에서 단일 세포 해상도로 이 과정을 들여다보자, 훨씬 복잡한 그림이 드러났다. 이 분화 경로를 따라 세포들을 궤적 분석(trajecory analysis)으로 정렬했을 때, 세 가지 독립적인 분자 프로그램이 각각의 타임라인을 따라 작동하고 있었다. 여기서 '독립적'이라는 말이 중요하다. 예를 들어 어떤 세포가 분화 경로에서 반쯤 왔더라도 세포 주기 상으로는 G2 단계에 있을 수도 있고 G1 단계에 있을 수도 있는 것처럼, 세 축이 각자 독립적으로 세포의 상태를 기술한다는 뜻이다. 첫 번째 프로그램은 방사 글리아로부터의 분화(differentiation from radial glia)로, 분화가 진행될수록 줄기세포 유전자들이 꺼지고 뉴런 특이적 유전자들이 켜지는 과정이다. 두 번째 프로그램은 세포 주기(cell cycle)로, 세포가 분열 단계에 있는지 아닌지에 따라 서로 다른 유전자 세트가 활성화된다. 세 번째 프로그램은 성숙화(maturation)로, 갓 태어난 미성숙 뉴런이 서서히 기능적으로 성숙해가는 과정이다. 이 세 프로그램은 상호 독립적으로 변하지만 서로 조율된 방식으로 작동한다. 하나의 세포를 고차원 유전자 발현 공간에서 좌표로 표현한다면, 세 프로그램 각각이 하나의 축을 이루는 셈으로, 마치 GPS로 위치를 표현할 때 위도, 경도, 고도라는 세 가지 독립된 좌표가 필요한 것과 같다.

세포 주기와 분화 프로그램의 연동에서 특히 흥미로운 발견이 있었다. 신경 IPC가 G1기(세포 주기의 성장 단계)에 있을 때, 신경 생성을 촉진하는 전사인자들이 활성화된다는 것이었다. G1기란 세포가 분열을 마친 후 다음 분열을 준비하거나, 또는 분열을 멈추고 분화를 시작할지 결정하는 시기다. 이것은 단순한 우연이 아니다. G1기는 세포가 다음 분열을 할지 아니면 분열을 멈추고 분화할지를 결정하는 관문 역할을 하는 시기다. G1기에서 신경 생성 전사인자들이 활성화된다는 것은, 세포 주기의 진행과 세포 운명 결정이 분자 수준에서 긴밀히 연결되어 있다는 것을 의미한다. 다시 말해, 신경 전구세포는 세포를 늘릴지 뉴런을 만들지를 결정하는 과정에서 세포 주기의 내부 상태를 하나의 신호로 활용한다. 이 통찰은 신경 발달 연구의 오랜 주제, 즉 전구세포 증식과 뉴런 분화 사이의 균형이 어떻게 조절되는지에 대한 분자적 단서를 제공했다.

뇌는 뉴런만으로 이루어지지 않는다. 뉴런과 거의 비슷한 수의 글리아 세포들, 즉 성상세포(astrocyte), 희소돌기세포(oligodendrocyte), 미세아교세포(microglia)가 뇌의 나머지 절반을 구성한다. 성상세포는 뉴런 주변을 감싸며 영양을 공급하고 시냅스 환경을 조절하는 세포이고, 희소돌기세포는 뉴런의 축삭돌기를 절연시키는 수초(myelin)를 만들어 신경 신호가 빠르게 전달되도록 돕는 세포다. 그런데 글리아는 언제, 어떻게 만들어지는가? Braun et al. 아틀라스는 이 질문에도 중요한 단서를 제공했다. 임신 초기 말엽, 즉 임신 10~14주 무렵부터, 일부 방사 글리아들은 뉴런 대신 글리아 계통으로 향하는 경로로 진입하기 시작한다. 이 글리아 방향 전환을 시작하는 세포가 글리아모세포(glioblast)다. 글리아모세포는 TNC와 BCAN이라는 마커 유전자를 발현하며, 방사 글리아의 특성을 일부 유지하면서 동시에 글리아 계통의 유전자들을 켜기 시작한다. 이 글리아모세포가 전성상세포(pre-astrocyte)와 전OPC(pre-oligodendrocyte precursor cell)로 분화한다.

글리아 계통에서 Braun et al. 연구에서 발견한 주목할 사실 중 하나는 영역 특이적 정체성이었다. 전뇌에서 만들어진 글리아모세포와 중뇌에서 만들어진 글리아모세포, 그리고 후뇌에서 만들어진 글리아모세포는 서로 다른 유전자 발현 패턴을 보였다. 희소돌기세포 전구세포(oligodendrocyte precursor cell, OPC)도 마찬가지여서, 전뇌, 중뇌, 후뇌에서 유래한 OPC들이 각각 구별되는 분자적 특성을 가지고 있었다. 이것은 OPC가 단일한 세포 유형이 아니라, 뇌의 어느 영역에서 태어났는지에 따라 고유한 정체성을 지닌 여러 하위 집단으로 구성된다는 것을 의미한다. 마치 같은 회사에 입사한 직원이라도 어느 지사에서 교육받았는지에 따라 서로 다른 업무 방식을 갖게 되는 것처럼, 글리아 전구세포는 태어난 뇌 영역의 분자적 환경을 학습하여 자신의 정체성에 각인시킨다. 성인 뇌에서 관찰되는 지역별 글리아 다양성이 발달 초기의 이런 영역 특이적 분화에 그 기원을 두고 있다는 것이다.

억제성 뉴런(GABAergic neuron)의 발달 여정은 흥분성 뉴런과는 완전히 다른 이야기다. 흥분성 뉴런이 대뇌 피질 안에서 태어나 제자리에 정착한다면, 억제성 뉴런은 훨씬 먼 곳에서 태어나 이동해온다. Braun et al. 연구는 CRABP 유전자를 발현하는 GABAergic 세포 집단이 내측 신경절 융기(medial ganglionic eminence, MGE)에서 시상(thalamus)으로 이동하는 것을 포착했다. 내측 신경절 융기는 발달 중인 뇌의 복측 전뇌에 위치한 구조로, 피질 억제성 인터뉴런의 주요 공급처로 이미 알려져 있었다. 그런데 이 연구는 MGE에서 유래한 세포들이 피질뿐만 아니라 시상으로도 대규모로 이동한다는 것을 분자적 증거와 함께 보여주었다. 나아가 이 이동하는 CRABP+ 세포들의 유전자 발현 패턴이 성인 시상에서 파르발부민(parvalbumin, PVALB)을 발현하는 억제성 뉴런과 일치한다는 것을 밝혀, 이 세포들이 결국 시상의 PVALB+ 인터뉴런이 될 것이라고 예측했다. 발달 중인 뇌에서 세포의 이동 경로를 추적하는 것은 형광 색소로 세포에 표지를 하는 생체 실험이나 수십 년에 걸친 해부학적 연구가 필요했지만, 이제 단일 세포 전사체 분석만으로도 세포의 기원과 목적지를 추론할 수 있게 된 것이다.

발달 중인 시상의 시공간 아틀라스

Braun et al. 연구가 뇌 전체를 넓게 조망했다면, 같은 해 같은 저널에 발표된 Kim et al. 연구는 그 중에서도 시상이라는 특정 구조에 집중했다. 토마스 노와코프스키(Tomasz Nowakowski) 연구팀이 이끈 이 연구는 발달 중인 인간 시상에서 164,369개의 세포를 분석하는 것에 그치지 않고, MERFISH(multiplexed error-robust fluorescence in situ hy-

bridization)라는 공간 전사체학(spatial transcriptomics) 기술을 이용하여 세포들이 시상의 어느 위치에 존재하는지까지 파악했다. MERFISH는 조직 절편 위에서 직접 수십, 수백 개의 유전자를 동시에 형광 신호로 측정하는 기술로, 세포를 조직에서 분리하지 않고 원래 자리에서 분석할 수 있어 공간 정보를 보존한다는 장점이 있다. 시상은 뇌에서 감각 정보의 중계소 역할을 하는 구조로, 거의 모든 감각 신호가 이곳을 경유하여 대뇌 피질로 전달된다. 30개 이상의 핵(nucleus)으로 나뉘어 있는 시상은 해부학적으로도 복잡하지만, 분자적으로는 더욱 복잡하다는 것을 이 연구가 보여주었다.

시상의 신경발생은 임신 초기에 이미 활발하게 진행되고 있었다 (Kim et al. 2023). 흥분성 시상 뉴런(glutamatergic thalamic neuron)은 EN1과 EN2라는 두 하위 유형으로 나뉘며, 이 두 유형이 시상의 서로 다른 핵들에 분포한다. MERFISH 분석은 이 두 유형의 뉴런들이 실제로 공간적으로 분리된 영역에 위치한다는 것을 보여주었다. 단순히 “시상 뉴런”이라고 뭉뚱그려 불렀던 것이 실제로는 공간적으로 조직화된 여러 하위 집단으로 구성된다는 것이다. 더욱 흥미로운 발견은 인간 시상에서의 GABAergic 뉴런의 예상 밖의 다양성이었다. 마우스와 비교했을 때, 인간 시상에는 훨씬 더 많은 수와 다양한 종류의 GABAergic 뉴런이 존재했고, 이들의 상당수가 Braun et al. 연구에서 보여준 것처럼 MGE에서 이동해온 세포들이었다. 인간 시상에서 이처럼 GABAergic 뉴런이 풍부하다는 것은 어쩌면 인간의 복잡한 감각 통합 능력과 관련이 있을지도 모른다.

피질 영역화의 분자적 특징

2021년 아파르나 바두리(Aparna Bhaduri)와 아놀드 크리겐스타인(Arnold Kriegstein) 연구팀이 Nature에 발표한 연구는 피질 영역화(cortical arealization)라는 오래된 논쟁에 단일 세포 해상도의 데이터를 들이댔다. 피질 영역화란 단일한 상피 조직에서 시작하는 대뇌 피질이 어떻게 시각 피질, 청각 피질, 전전두 피질 등 기능적으로 구별되는 수십 개의 영역으로 나뉘는지를 설명하는 과정이다. 이 문제를 둘러싸고 수십 년째 두 가지 가설이 경쟁해왔다. 원형지도 가설(protomap hypothesis)은 피질의 영역 정체성이 전구세포 단계에서부터 이미 내재적으로 결정되어 있다고 주장하고, 원형피질 가설(protocortex hypothesis)은 영역 정체성이 주로 시상피질 투사(thalamocortical projection)와 같은 외부 신호에 의해 나중에 결정된다고 주장한다. 시상피질 투사란 감각 기관으로부터 신호를 받은 시상이 대뇌 피질로 연결을 보내는 것인데, 원형피질 가설에 따르면 이런 외부 연결이 피질의 어떤 영역이 시각 피질이 될지 청각 피질이 될지를 결정한다고 본다. 쉽게 말하면, 앞으로 시각 피질이 될 세포들이 처음부터 “나는 시각 피질이 될 것이다”라는 정보를 갖고 있는지, 아니면 외부 환경이 그 세포들을 시각 피질로 만드는지를 묻는 것이다. 이 논쟁은 답이 간단하지 않은 종류의 것으로, 실제로는 두 메커니즘이 모두 기여할 가능성이 높았다.

임신 중기(second trimester)에 해당하는 발달 뇌 13개에서 698,820개의 단일 세포를 분석하면, 10개의 주요 뇌 구조와 6개의 신피질 영역에 걸친 유전자 발현 지도가 드러난다 (Bhaduri et al. 2021). 전전두 피질(prefrontal cortex), 운동 피질(motor cortex), 체성감각 피질(somatosensory cortex), 두정 피질(parietal cortex), 측두 피질(temporal cortex), 그리고 일차 시각 피질(primary visual cortex, V1)이 포함되었다. 분석 결과는 원형지도 가설을 지지하는 방향이었다. 영역 특이적 유전자 발현 패턴이 이미 방사 글리아 단계에서 감지되었고, 이 패턴이 신경 중간 전구세포로, 그리고 흥분성 뉴런으로 분화하면서 더욱 뚜렷해지고 선명해졌다. 전전두 피질의 방사 글리아와 시각 피질의 방사 글리아는 서로 다른 유전자 프로그램을 가지고 있었고, 이 차이는 분화가 진행될수록 증폭되었다. 특히 전전두 피질과 시각 피질이 가장 극단적으로 다른 전사체 프로파일을 보였고, 다른 피질 영역들은 이 두 극단 사이의 연속적인 기울기 상에 놓여 있는 것처럼 보였다. 영역 정체성이 전구세포 단계에서 이미 시작된다는 것은, 뇌의 영역적 지형이 세포가 분화를 완료하기 훨씬 전부터 분자적으로 그려지고 있다는 것을 의미한다.

삼능 중간 전구세포의 발견

Wang et al. (2025) 연구는 뇌 발달 연구의 가장 최신 성과 중 하나다. 이 연구는 임신 초기부터 청소년기에 이르는 다섯 발달 단계의 인간 신피질에서 232,328개의 핵을 분석하되, 단일 핵 RNA 시퀀싱(snRNA-seq)과 단일 핵 ATAC 시퀀싱(snATAC-seq)을 동시에 수행하는 단일 핵 멀티오믹(single-nucleus multiome) 기술을 사용했다. snATAC-seq는 유전자 발현이 아니라 크로마틴(DNA와 단백질의 복합체)의 열린 영역을 측정하는 기술로, 어떤 유전자가 발현될 준비가 되어 있는지를 알려준다. 이 기술은 같은 핵에서 전사체와 크로마틴 접근성을 동시에 측정하기 때문에, 유전자 발현 패턴뿐만 아니라 그 발현을 결정하는 후성유전체적 상태까지 한번에 파악할 수 있다. 추가로 연구팀은 300개 유전자를 동시에 공간적으로 시각화하는 MERFISH 공간 전사체학으로 데이터를 검증했다. 이 연구에서 가장 주목할 만한 발견은 삼능 중간 전구세포(tripotent intermediate progenitor cell, Tri-IPC)의 존재였다.

신경 발달의 교과서적 관점에서 뉴런과 글리아는 별개의 운명을 가진 계통에서 나온다고 알려져 있었다. 신경 IPC는 뉴런을 만들고, 글리아 전구세포는 성상세포나 OPC를 만든다는 것이다. 하지만 Wang et al. 연구에서 발견한 Tri-IPC는 이 단순한 그림에 도전하는 세포였다. 이 세포들은 GABAergic 뉴런, 성상세포, OPC 중 어느 방향으로든 분화할

수 있는 삼중 분화능(tripotency)을 보였고, 이 능력이 신경발생에서 신경교세포발생(gliogenesis)으로 전환되는 시기에 집중되어 있었다. 신경교세포발생(gliogenesis)이란 글리아 세포가 만들어지는 과정으로, 뇌 발달의 전반부에는 주로 뉴런이 만들어지다가 후반부로 갈수록 점점 더 많은 글리아 세포가 만들어지기 시작하는 시점에 이 전환이 일어난다. 줄기세포가 여러 종류의 세포로 분화할 수 있다는 것은 알려진 사실이지만, 이미 어느 정도 분화가 진행된 전구세포가 세 가지 서로 다른 계통으로 분화하는 능력을 동시에 보유한다는 것은 새로운 발견이었다. Tri-IPC는 신경 발달 유전자와 글리아 발달 유전자를 동시에 발현하고 있었고, 크로마틴 접근성 분석에서도 여러 방향의 분화가 가능한 열린 상태를 보였다. 이것은 세포 운명 결정이 전부 아니면 전무의 스위치처럼 작동하는 것이 아니라, 여러 가능성을 점진적으로 좁혀가는 연속적인 과정이라는 것을 보여준다. 흥미롭게도 연구팀은 Tri-IPC의 전사체 패턴이 신경교종(glioblastoma) 세포들의 패턴과 유사하다는 것도 발견했다. 암세포가 발달 과정의 특정 과도기적 세포 상태를 모방한다는 가설과 일치하는 발견이었다.

억제성 뉴런의 이동 경로는 공간 전사체 분석을 통해 정량적으로 파악되었다 (Wang et al. 2025). CGE(미측 신경절 융기, caudal ganglionic eminence) 유래 억제성 뉴런이 MGE 유래 억제성 뉴런보다 변연 영역(marginal zone)을 통한 이동 경로를 더 선호한다는 것이 이미지 기반으로 확인되었고, 이동 경로 비율도 정확히 수치화되었다. 이런 식으로 과거에는 생체 표지 실험이나 추적 실험으로만 알 수 있었던 세포 이동 정보를 공간 전사체학만으로도 추론할 수 있게 된 것은, 기술의 발전이 연구 방법론 자체를 바꾸고 있음을 보여준다. 발달 중인 뇌의 세포 지도는 이제 단순한 스냅샷이 아니라, 세포들의 역동적인 이동과 운명 결정을 담은 4차원 동영상에 가까워지고 있다. 뇌가 어떻게 만들어지는지를 이해하는 이 과정은 동시에, 자폐스펙트럼장애나 지적 장애와 같은 신경발달 조건이 발달 과정의 어느 시점, 어떤 세포에서 비롯되는지를 분자 수준에서 이해하는 토대가 되고 있다.

References

- Braun, E., Danan-Gotthold, M., Borm, L. E., Lee, K. W., Vinsland, E., Lönnerberg, P., ... & Linnarsson, S. (2023). Comprehensive cell atlas of the first-trimester developing human brain. *Science*, 382(6667), eadf1226. doi:10.1126/science.adf1226
- Kim, C. N., Shin, D., Wang, A., & Nowakowski, T. J. (2023). Spatiotemporal molecular dynamics of the developing human thalamus. *Science*, 382(6667), eadf9941. doi:10.1126/science.adf9941
- Bhaduri, A., Sandoval-Espinosa, C., Otero-Garcia, M., Oh, I., Yin, R., Eze, U. C., ... & Kriegstein, A. R. (2021). An atlas of cortical arealization identifies dynamic molecular signatures. *Nature*, 598(7879), 200-208. doi:10.1038/s41586-021-03910-8
- Wang, L., Wang, C., Moriano, J. A., Chen, S., Zuo, G., Cebrián-Silla, A., ... & Kriegstein, A. R. (2025). Molecular and cellular dynamics of the developing human neocortex. *Nature*, 627(8004), 105-115. doi:10.1038/s41586-024-08351-7

주요 용어 안내

방사 글리아(radial glia): 발달 중인 뇌의 신경 줄기세포. 뇌실 표면에서 피질 표면까지 긴 돌기를 뻗어 새로 태어난 뉴런이 이동하는 경로를 제공하는 동시에, 분열을 통해 뉴런과 글리아 세포를 만들어낸다.

신경절 융기(ganglionic eminence): 발달 중인 뇌의 복측 전뇌에 위치한 구조. 억제성 뉴런(GABAergic neuron)의 주요 생산지로, 여기서 만들어진 뉴런들이 피질이나 시상 등 다른 영역으로 먼 거리를 이동한다.

공간 전사체학(spatial transcriptomics): 조직 절편에서 세포를 분리하지 않고, 원래 위치를 보존한 채로 유전자 발현을 측정하는 기술. MERFISH가 대표적이며, 어떤 세포가 어디에 있는지와 무엇을 발현하는지를 동시에 알 수 있다.

삼능 중간 전구세포(Tri-IPC): GABAergic 뉴런, 성상세포, 희소돌기세포 전구세포 중 어느 방향으로든 분화할 수 있는 세포. 뉴런 생성에서 글리아 생성으로 전환되는 시기에 나타나며, 세포 운명 결정이 점진적 과정임을 보여준다.

피질 영역화(cortical arealization): 처음에는 균일한 상피 조직인 대뇌 피질이 시각 피질, 청각 피질 등 기능적으로 구별되는 영역들로 나뉘어가는 과정. 전구세포 단계에서부터 분자적 차이가 시작된다.

Chapter 7. 성인 뇌의 세포 다양성

성인 인간의 뇌는 발달이 끝난 정적인 구조물이 아니다. 그것은 매 순간 수조 개의 시냅스가 활성화되고 침묵하며, 유전자들이 켜지고 꺼지며, 세포들이 자신의 상태를 미세하게 조정하는 역동적인 체계다. 그런데 이 역동성의 배경에는 정교하게 조직된 세포 다양성이 있다. 뇌를 이루는 세포들이 모두 비슷비슷한 뉴런이 아니라는 것은 이미 오래전부터 알려져 있었다. 카탈의 골지 염색 스케치에서도, 20세기 전기생리학자들의 기록에서도, 분명히 서로 다른 모양과 기능을 가진 세포들이 보였다. 하지만 그 다양성이 얼마나 깊고 넓은지, 뇌의 어느 영역에 어떤 세포들이 분포하는지, 그리고 그 다양성이 뇌의 기능과 어떻게 연결되는지에 대해서는 2023년 이전까지 단편적인 그림밖에 없었다.

그 그림을 완성하는 데 결정적으로 기여한 것이 Siletti et al. (2023) 연구가 Science에 발표되었다. 이 연구는 3명의 사후 성인 남성 기증자로부터 뇌 전체의 약 100개 영역을 채취하여 300만 개 이상의 핵을 단일 핵 RNA 시퀀싱(snRNA-seq)으로 분석했다. 뇌 전체를 빠짐없이 아우른다는 것이 이 연구의 핵심인데, 그동안 대부분의 단일 세포 연구가 대뇌 피질이나 해마 등 일부 영역에 집중했던 것과 달리, 전뇌(forebrain), 중뇌(midbrain), 후뇌(hindbrain) 모두를 포괄한 최초의 뇌 전체(brain-wide) 세포 아틀라스를 만들어냈다. 이 아틀라스는 31개의 상위클러스터(supercluster), 461개의 클러스터, 3,313개의 하위클러스터로 이루어진 계층적 분류 체계를 만들어냈다. 이 계층적 구조는 마치 동물 분류의 문-강-목-과-속-종처럼, 가장 큰 단위에서 가장 작은 단위로 내려갈수록 세포 유형이 더 세밀하게 구분된다. 이 숫자들이 추상적으로 느껴진다면, 이렇게 생각해보라. 뇌 세포의 종류가 3,000가지가 넘는다는 것이다. 생물학 교과서에서 “뉴런과 글리아”로 단순하게 나뉘던 그 뇌가, 실제로는 어떤 나라의 민족 구성보다도 복잡한 세포 다양성을 품고 있다.

31개의 상위클러스터와 뇌의 진화적 역사

성인 인간 뇌 전체를 아우른 세포 아틀라스에서, 계층적 분류 체계의 가장 상위 수준에는 31개의 상위클러스터가 있다 (Siletti et al. 2023). 이 상위클러스터들은 수십 년간 쌓여온 신경해부학 지식과 단일 세포 데이터가 만나는 지점이다. 계통수(dendrogram)를 보면, 먼저 뉴런(neuron)과 비뉴런(non-neuronal cell)이 가장 큰 두 가지로 나뉜다. 계통수란 마치 가계도처럼 여러 집단 사이의 유사도 관계를 나무 모양의 그림으로 나타낸 것으로, 가까이 연결된 집단일수록 유전자 발현 패턴이 더 유사하다는 것을 의미한다. 뉴런들은 다시 두 개의 주요 계통으로 갈라진다. 첫 번째는 종뇌(telencephalon) 유래 흥분성 뉴런(excitatory neuron, SLC17A7 양성)들이고, 두 번째는 종뇌 유래 억제성 뉴런(inhibitory neuron, SLC32A1 양성)과 함께 간뇌(diencephalon), 중뇌(midbrain), 후뇌(hindbrain)의 모든 뉴런들이 포함된 계통이다. 종뇌란 대뇌 피질, 해마, 편도체, 기저핵 등을 포함하는 뇌의 가장 바깥쪽 큰 구조물을 가리키는 해부학 용어다. 이 분기는 진화적으로 의미심장하다. 종뇌는 척추동물 중에서도 포유류에서 가장 크게 발달한 구조로, 종뇌의 흥분성 뉴런들이 하나의 거대한 계통을 형성한다는 것은 이들이 진화적으로 공유된 기원을 가진다는 것을 반영한다. 이 패턴은 마우스 뇌의 분류 체계와도 일치한다는 것이 흥미롭다. 종이 달라도 뇌의 기본 조직 원리는 보존된다.

대뇌 피질의 흥분성 뉴런들은 상위클러스터 수준에서 크게 네 가지로 나뉜다. 상층(upper layer) IT(intratelencephalic) 뉴런들, 심층(deep layer) IT 뉴런들, 심층 NP(near-projecting) 뉴런들, 그리고 심층 CT(corticothalamic)/6b 뉴런들이다. IT 뉴런이란 동측 및 반대측 대뇌 반구 내로 투사하는 뉴런들을 말하고, CT 뉴런은 시상으로 투사하는 뉴런들이다. 투사(projection)란 뉴런이 자신의 축삭돌기를 뻗어 다른 뇌 영역의 세포들과 시냅스를 형성하는 것을 말하는데, 어느 영역으로 투사하는지는 그 뉴런의 기능을 결정하는 중요한 특성이다. 이 분류는 피질 층(cortical layer)과 밀접하게 연관되어 있는데, 상층 IT 뉴런들은 주로 2/3층에, 심층 IT 뉴런들은 주로 5층에, CT 뉴런들은 주로 6층에 존재한다. 이것은 신경해부학적 지식과 잘 일치하는 결과이고, 단일 세포 전사체 분석이 기존 해부학적 분류를 분자적 수준에서 검증했다고 볼 수 있다. 흥미로운 점은 4층에 해당하는 세포들이 뚜렷한 하나의 클러스터를 이루는 것이 아니라, 상층 IT와 심층 IT 두 상위클러스터 모두에 일부씩 걸쳐 있다는 것이다. 이것은 4층의 역사적으로 논란이 많았던 세포 유형 정의 문제와 맞닿아 있다. 네 가지 상위클러스터의 특성을 정리하면 다음과 같다.

상위클러스터	주요 피질 층	투사 방향	영역별 분포 특성	비고
상층 IT (upper-layer intratelencephalic)	2/3층, 일부 4층	종뇌 내 — 동측·반대측 피질 (뇌량 경우)	영역 특이성 가장 높음. BA44-46, 전두 섬엽, A24, M1C, S1C, V1C에서 특이적 분포	V1C에서 TRPC3+ 4층 뉴런이 특이적. 피질 흥분성 상위클러스터 중 가장 전문화됨

상위클러스터	주요 피질 층	투사 방향	영역별 분포 특성	비고
심층 IT (deep-layer intratelencephalic)	4층 (일부), 5층	중뇌 내 — 동측·반대측 피질	내후각 피질(entorhinal cortex)과 이상 피질(piriform cortex)에 특이적 클러스터 보유	상층 IT와 함께 4층 클러스터를 공유
심층 NP (deep-layer near-projecting)	5/6층	인접 피질 영역 (근거리 투사)	두정엽 피질에서 두 가지 주요 분포 패턴. FI, A24, A44-A46에서 일관된 그룹 형성	—
심층 CT/6b (deep-layer corticothalamic / layer 6b)	6층	시상 (되먹임 연결)	V1C에서 특이적 클러스터 보유	GABA와 글루타메이트를 동시에 발현하는 클러스터 존재. 6b층은 발달기 하판(subplate) 유래

한편, 5층의 ET(extratelencephalic) 투사 뉴런, 즉 중뇌 바깥의 뇌간이나 척수로 축삭을 보내는 뉴런들은 약 25,000개로 매우 희소하여 별도의 상위클러스터를 형성하지 못하고, 림프구 등 희귀 세포와 함께 기타(miscellaneous) 상위클러스터에 포함되었다.

뇌간의 이질성

피질이 대뇌를 대표한다면, 뇌간(brainstem)은 뇌의 깊은 곳에서 호흡, 심박수, 수면-각성 주기 같은 생명 유지 기능을 담당하는 구조들이다. 시상하부(hypothalamus), 중뇌(midbrain), 후뇌(hindbrain)를 포함하는 이 영역들에서 Siletti et al. 연구는 예상보다 훨씬 큰 세포 다양성을 발견했다. 피질은 넓은 면적에 걸쳐 비교적 반복적인 피질 기둥(cortical column) 구조를 가지는 반면, 시상하부나 뇌간 핵들에는 작은 공간 안에 극도로 다양한 세포들이 뭉뚱하게 모여 있었다. 461개의 클러스터 중 상당수가 이 뇌간 영역들에서 나왔고, 일부 클러스터들은 단 수백 개의 세포로 이루어진 매우 작은 세포 집단이었다. 이것은 단지 세포의 수가 적다는 이야기가 아니라, 아마도 매우 특수한 기능을 담당하는 뉴런들이 뇌의 깊은 곳에 소규모로 존재한다는 것을 의미한다.

이 뇌간 다양성에서 가장 독특한 발견이 있었다. 연구팀이 '파편 뉴런(splatter neurons)'이라고 명명한 세포 집단이었다. 통상적으로 뉴런은 흥분성이거나 억제성이거나, 둘 중 하나다. 흥분성 뉴런은 글루타메이트를 분비하고, 억제성 뉴런은 GABA를 분비한다. 세로토닌 뉴런은 세로토닌을, 도파민 뉴런은 도파민을 분비한다. 이 분류는 단순히 편위상의 구분이지 아니라, 뇌 회로의 기본 원리로 여겨져왔다. 흥분성과 억제성의 균형이 깨지면 뇌전증 같은 질환이 생기고, 도파민 시스템이 교란되면 파킨슨병이나 조현병이 생긴다. 하나의 뉴런이 여러 신경전달물질 시스템을 동시에 가진다는 것은 마치 한 사람이 여러 언어를 동시에 섞어서 이야기하는 것처럼, 기존 관념으로는 받아들이기 어려운 이야기였다. 그런데 파편 뉴런들은 바로 그런 세포들이었다. 흥분성 마커와 억제성 마커를 동시에 발현하면서, 거기에 더해 세로토닌 뉴런의 마커와 도파민 뉴런의 마커까지 조합하여 발현하는 세포들이 실제로 존재했다. 이것이 기술적 아티팩트가 아닌 진정한 생물학적 현상인지, 그리고 이런 복합적인 신경전달물질 표현형이 무슨 기능을 하는지는 앞으로 연구가 필요하지만, 뇌간의 신경화학적 다양성이 우리가 생각했던 것보다 훨씬 복잡하다는 것은 분명해졌다.

발달적 이주(developmental migration)의 흔적도 성인 뇌의 세포 분포에서 읽힐 수 있었다. 시상에는 발달 중에 중뇌에서 이주해온 억제성 뉴런들이 존재하는데, 이 세포들의 전사체 프로파일은 시상의 고유 뉴런들보다 중뇌 뉴런들과 더 가깝게 묶였다. 세포는 위치를 바꾸어도 자신이 어디서 태어났는지를 분자적으로 기억한다는 것이다. 이것은 어린 시절에 다른 나라로 이민을 가도 모국어로 꿈을 꾸는 것처럼, 발달 중에 부여받은 분자적 정체성이 성인이 된 후에도 지속된다는 것을 의미한다. 중뇌가 다른 뇌 영역들과 뚜렷하게 구별되는 세포 구성을 보인다는 것도 이 연구의 중요한 발견이었다. 뉴런뿐만 아니라 글리아 세포들도 중뇌 안쪽과 바깥쪽에서 서로 다른 두 집단으로 나뉘었고, 희소돌기세포 전구세포(OPC)와 성숙한 희소돌기세포(oligodendrocyte)는 중뇌와 비중뇌 영역에서 각각 다른 하위 유형이 더 풍부했다.

사람마다 다른 뇌: 개체 간 변이

Siletti et al. 연구가 세포 유형의 다양성이라는 수직적 깊이를 보여주었다면, Johansen et al. (2023) 연구는 그 다양성이 사람마다 어떻게 다른지라는 수평적 폭을 탐구했다. Johansen et al. 연구는 75명의 개인으로부터 중측두이랑(middle temporal gyrus, MTG)의 단일 핵 RNA 시퀀싱 데이터를 수집하여 약 400,000개의 핵을 분석했다. 중측두이랑은 언어 처리와 사회적 인지에 관여하는 대뇌 피질 영역으로, 알츠하이머병과 같은 신경퇴행성 질환에서 손상되기 쉬운 영역이기도 하다. 3명의 기증자로 정의된 참조 분류 체계의 125개 세포 유형 정체성이 75명 모두에서 얼마나 잘 재현되는지를 먼저 확인했더니, 95% 이상의 핵들이 참조 세포 유형에 정확히 배치되었다. 이것은 중요한 결과다. 세포 유형 정체성은 개인마다 크게 다르지 않다는 것, 즉 “인간 뇌의 125가지 세포 유형”이라는 것은 진정으로 일반화 가능한 개념이라는 것을 의미한다.

그런데 세포 유형의 종류가 보존된다고 해서, 75명의 뇌가 동일하다는 뜻은 아니다. 같은 125가지 세포 유형이 존재하더라도, 각 유형이 차지하는 비율과 각 유형 안에서의 유전자 발현 수준은 개인마다 상당히 달랐다. 이 개인 간 변이를 어떻게 측정할 수 있을까? 연구팀은 다섯 가지 서로 독립적인 방법을 사용하여, 하나의 방법에서만 나타나는 결과가 아니라 여러 방법에서 일관되게 나타나는 결과만 신뢰했다.

첫 번째 방법은 고분산 유전자(high-variance gene) 검출이었다. 같은 세포 유형 안에서 같은 기증자의 세포들끼리 유전자 발현이 얼마나 비슷한지, 그리고 다른 기증자의 세포들과는 얼마나 다른지를 비교하는 것이다. 만약 어떤 유전자의 발현이 같은 사람의 세포들 사이에서는 비슷하네, 사람이 달라지면 크게 달라진다면, 그 유전자는 “개인 간 변이가 큰 유전자”로 분류된다. 마치 교복을 입은 학생들을 보면 같은 학교 학생들끼리는 비슷해 보이지만 학교가 다르면 확연히 다른 것처럼, 같은 사람의 세포들은 서로 비슷하지만 사람이 달라지면 유전자 발현이 달라지는 패턴을 찾는 것이다. 두 번째 방법은 기계 학습(machine learning)을 이용한 것이었다. 컴퓨터에게 세포의 유전자 발현 데이터만 보여주고, 이 세포가 75명 중 누구의 것인지 맞춰보라고 시킨 것이다. 어떤 세포 유형에서 컴퓨터가 기증자를 잘 맞춘다면, 그 세포 유형에서 사람마다 뚜렷한 유전자 발현 차이가 있다는 뜻이고, 잘 못 맞춘다면 사람들 사이에 별 차이가 없다는 뜻이다. 세 번째 방법은 UMAP이라는 시각화 도구에서 같은 세포 유형의 세포들이 기증자별로 뭉치는지 아니면 섞이는지를 측정하는 것이었다. 기증자별로 뭉친다면 개인 차이가 크고, 고르게 섞여 있으면 개인 차이가 작다. 이 세 가지 방법의 결과가 높은 일치도(상관계수 0.88)를 보여, 측정 방법에 관계없이 같은 결론에 도달한다는 것이 확인되었다.

그렇다면 어떤 세포에서 사람마다의 차이가 가장 클까? 결과는 분명했다. 피질 심층(5층과 6층)의 흥분성 뉴런과 미세아교세포에서 발현되는 유전자의 50% 이상이 고분산 유전자, 즉 사람마다 발현 수준이 크게 다른 유전자였다. 반면 억제성 뉴런(GABAergic 인터뉴런)에서는 이 비율이 35% 미만이었다. 피질의 5층과 6층에 있는 흥분성 뉴런은 시상이나 뇌간으로 축삭을 보내는 세포들인데, 이 세포들이 사람마다 가장 다르다는 것은 개인마다 뇌가 다른 영역과 연결되는 방식이 분자 수준에서 다를 수 있음을 시사한다. 미세아교세포는 뇌의 면역세포로서 외부 위협에 반응하고 죽은 세포를 청소하는 역할을 하는데, 이 세포의 유전자 발현이 사람마다 크게 다르다는 것은 뇌의 면역 환경이 개인별로 상이하다는 뜻이다. 나이, 성별, 유전적 조상, 기저 질환 등 측정 가능한 변수들을 통계적으로 보정해도, 이 개인 간 변이의 대부분은 설명되지 않았다. 가장 큰 변이의 원인은 단순히 “그 사람이 그 사람이기 때문에” 나타나는 것이었다. 각 개인이 가진 고유한 유전적 배경, 발달 과정의 미세한 차이, 생애 동안 축적된 경험의 총합이 그 개인만의 뇌 세포 구성을 만들어낸다.

나이와 관련된 세포 변화도 발견되었다. 희소돌기세포 전구세포(OPC)는 20세에서 70세 사이에 약 2배 감소하는 것으로 나타났는데($P = 1.2 \times 10^{-4}$), 이것은 나이에 따른 유의한 세포 비율 변화가 확인된 유일한 세포 유형이었다. 뇌전증 환자에서는 PVAlb+ 억제성 인터뉴런의 비율이 유의하게 감소해 있었다. 이러한 발견들은 뇌의 세포 구성이 나이와 질환에 따라 특정 세포 유형에서 선택적으로 변한다는 것을 보여준다.

세포 유형 특이적 시스 eQTL(cis-expression quantitative trait locus) 분석도 이루어졌다 (Johansen et al. 2023). eQTL이란 특정 유전자의 발현 수준에 영향을 미치는 유전적 변이(SNP)를 말하고, 시스(cis) eQTL은 그 변이가 조절하는 유전자와 가까운 위치에 있는 것을 의미한다. 여기서 '시스'는 '같은 DNA 가닥 위에서 가까이 있다'는 뜻으로, 마치 같은 페이지 안에 있는 각주가 그 페이지의 본문에만 영향을 미치는 것과 같다. 주요 세포 유형당 150~250개의 유전자가 그 근처에 있는 유전적 변이에 의해 발현이 조절된다는 것이 확인되었고, 이 eQTL들의 상당수가 세포 유형 특이적이어서 벌크 조직 분석으로는 감지할 수 없었다. 이것은 단일 세포 유전체학이 단순히 세포를 분류하는 것 이상의 가치를 가진다는 것을 보여준다. 유전자 변이가 어떻게 뇌에 영향을 미치는지를 이해하려면, 그 영향이 어떤 특정 세포 유형에서 발현되는지를 알아야 한다. 이것이 단일 세포 eQTL 연구의 의미이고, 앞으로 유전체 데이터와 세포 아틀라스 데이터를 연결하는 연구들이 더욱 중요해질 것이다.

인간 뇌는 어떻게 다른가: 영장류 비교

인간의 뇌가 특별하다는 것은 상식이다. 하지만 그 특별함이 정확히 분자 수준에서 어디에서 오는지는 직접 비교하지 않으면 알 수 없다. Jorstad et al. (2023) 연구는 이 질문에 비교 전사체학(comparative transcriptomics)으로 답했다. 연구팀은 인간, 침팬지(chimpanzee), 고릴라(gorilla), 히말라야원숭이(rhesus macaque), 마모셋(common marmoset) 이렇게 다섯 종 영장류의 중측두이랑(MTG)에서 단일 핵 RNA 시퀀싱을 수행하여 570,000개 이상의 핵을 분석했다. 이 다섯 종은 진화적으로 약 3,800만 년 전부터 분기하기 시작했으며, 이들을 비교함으로써 어떤 세포적 특성이 영장류 공통 조상에서 이미 존재했고, 어떤 특성이 각 종의 계통에서 독립적으로 획득되었는지를 알 수 있다.

먼저 뇌의 세포 구성이 높은 수준으로 보존되어 있다는 사실이 확인되었다. 다섯 종 모두에서 57개의 상동 세포 유형(homologous cell types)이 확인되었고, 세포 유형 비율과 피질 층 구성이 대형 유인원들 사이에서 높게 보존되었다. 상동 세포 유형이란 서로 다른 종에서 기원과 기능이 같아서 동일한 유형으로 볼 수 있는 세포를 말한다. 마모셋은 일부 차이가 있었는데, 5층과 6층의 IT 및 ET(extratelencephalic) 뉴런 비율이 다른 종들과 달랐다. 이제 흥미로운 부분이 시작된다. 유전자 발현 패턴을 보면, 글리아 세포들의 발현은 모든 종에서 빠른 진화적 변화를 보였다. 하지만 뉴런의 발현은 달랐다. 대부분의 종에서 뉴런의 발현이 글리아보다 느리게 변화한 반면, 인간만은 예외였다. 인간 뉴런의 유전자 발현이 침팬지나 고릴라보다 훨씬 빠르게 분기했다. 침팬지 뉴런은 인간 뉴런보다 고릴라 뉴런에 더 가깝게 묶였는데, 이것은 인간의 뉴런이 다른 유인원들과 비교했을 때 특이하게 빠른 분자적 진화를 겪었다는 것을 의미한다.

인간 특이적 차별 발현 유전자(human-specific differentially expressed genes, DEGs)들의 기능을 분석하니, 시냅스 연결성(synaptic connectivity)과 신호 전달(signaling) 경로에 관련된 유전자들이 풍부하게 포함되어 있었다. 인간이 다른 영장류와 다른 것은 단순히 뇌가 크기 때문만이 아니라, 뉴런들이 서로 연결되고 통신하는 분자적 방식에서도 차이가 있다는 것이다. 주목할 만한 발견은 이 인간 특이적 DEGs의 15~40%가 인간 가속 영역(human accelerated regions, HARs) 또는 인간 보존 결실(human conserved deletions, hCONDELs)이라는 유전체 요소들과 근접해 있다는 것이었다. HAR은 쉽게 말해 수억 년간 포유류에서 거의 변하지 않다가 인간 조상에서 갑자기 빠르게 변화한 DNA 구간으로, 마치 오랫동안 동결된 계좌에서 갑자기 대규모 거래가 일어난 것처럼 눈에 띄는 진화적 신호를 준다. 이런 구간들은 인간을 인간답게 만드는 무언가를 담고 있을 가능성이 높다는 가설 하에 연구되어왔다. HAR은 다른 포유류에서는 수억 년간 거의 변하지 않았지만 인간 계통에서 갑자기 빠르게 변화한 유전체 구간이고, hCONDEL은 다른 포유류에서는 보존되어 있지만 인간에서는 결실된 조절 요소다. 이 요소들이 인간에서 특이적으로 발현 패턴이 달라진 유전자들의 근처에 있다는 것은, 인간 진화 과정에서 일어난 유전체 변화들이 특정 세포 유형의 유전자 발현 조절을 통해 뇌 기능에 영향을 미쳤을 가능성을 시사한다. 인간을 인간답게 만드는 것의 일부가 뉴런의 유전자 발현 조절 회로에 있다는 것이다.

성인 뇌의 세포 아틀라스가 보여준 또 다른 중요한 통찰은 글리아 세포의 지역적 다양성이었다. 성상세포(astrocyte)는 오랫동안 비교적 균질한 세포 유형으로 여겨졌다. 물론 피브로성(fibrous) 성상세포와 원형질성(protoplasmic) 성상세포의 구분 같은 형태학적 분류가 있었지만, 분자적 수준에서의 다양성은 잘 알려지지 않았다. 그런데 성상세포들이 종뇌 안쪽과 바깥쪽에서 뚜렷이 다른 분자적 특성을 보인다는 것이 뇌 전체 아틀라스 데이터에서 드러났다 (Siletti et al. 2023). 뇌의 진화적으로 오래된 영역과 새로운 영역에 사는 성상세포들이 서로 다른 유전자 발현 프로그램을 가지고 있다는 것은, 성상세포도 단순한 지지 세포가 아니라 각 영역의 신경 회로에 맞춤형 역할을 수행하는 특화된 세포라는 것을 시사한다. OPC도 마찬가지였다. 종뇌와 그 외 영역에서 풍부한 OPC 하위 유형이 달랐고, 성숙한 희소돌기세포도 뇌 전체에 걸쳐 존재하는 두 가지 유형이 종뇌와 비종뇌 영역에서 서로 다른 비율로 존재했다. 뇌의 배선(wiring)을 담당하는 수초(myelin)를 만드는 세포들도 그들이 어느 영역에서 일하는지에 따라 분자적으로 다르다는 것이다.

성인 인간 뇌의 세포 다양성 연구가 우리에게 주는 메시지는 단순하지 않다. 뇌는 수천 종류의 서로 다른 세포들로 이루어진 거대한 세포 공동체이고, 이 공동체의 구성은 개인마다 다르며, 진화 과정에서도 끊임없이 변화해왔다는 것이다. 그리고 지금 우리는 처음으로 이 공동체의 전체 구성원 명단을 작성하기 시작했다. 3,313개의 세포 하위클러스터를 가진 아틀라스는 완성된 지도가 아니라, 탐험이 시작된 지도다. 앞으로 더 많은 개인, 더 많은 영역, 더 많은 기술을 통해 이 지도가 채워질 것이다. 그 과정에서 우리가 지금 상상하지 못하는 새로운 세포 유형들과, 새로운 생물학적 원리들이 발견될 것이다.

References

Siletti, K., Hodge, R., Mossi Albiach, A., Lee, K. W., Ding, S. L., Hu, L., ... & Linnarsson, S. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382(6667), eadd7046. doi:10.1126/science.add7046

Johansen, N., Somasundaram, S., Travaglini, K. J., Yanny, A. M., Shumyatcher, M., Casper, T., ... & Lein, E. (2023). Interindividual variation in human cortical cell type abundance and expression. *Science*, 382(6667),

주요 용어 안내

상위클러스터(supercluster): 뇌 세포 분류 체계의 가장 상위 단위. 31개 상위클러스터 안에 461개 클러스터, 3,313개 하위클러스터가 포함되는 계층적 구조다. 생물 분류의 문-강-목-과-속-종에 비유할 수 있다.

IT 뉴런(intratelencephalic neuron): 대뇌 반구 안에서 같은 쪽이나 반대쪽 피질로 축삭을 보내는 흥분성 뉴런. 피질 뉴런 중 가장 다수를 차지한다.

파편 뉴런(splatter neuron): 뇌간에서 발견된, 흥분성과 억제성 마커를 동시에 발현하는 뉴런. 기존의 흥분성/억제성 이분법이 적용되지 않는 세포 집단이다.

개체 간 변이(interindividual variation): 같은 세포 유형이라도 사람마다 비율이나 유전자 발현 수준이 다른 현상. 세포 유형 정체성 자체는 보존되지만, 그 안에서의 양적 차이가 개인의 고유한 뇌 특성을 만든다.

상동 세포 유형(homologous cell type): 서로 다른 종에서 기원과 기능이 동일하여 같은 유형으로 분류할 수 있는 세포. 인간과 침팬지의 중추두이랑에서 57개 상동 세포 유형이 확인되었다.

Chapter 8. 멀티오믹스와 후성유전체

유전자를 켜고 끄는 것이 전부다 아니다. 그보다 더 근본적인 질문이 있다. 어떤 세포는 왜 그 유전자를 켤 수 있고, 다른 세포는 왜 켤 수 없는가? 같은 유전체를 가진 두 세포, 예를 들어 대뇌 피질의 글루타메이트 뉴런과 척수의 운동 뉴런이 서로 완전히 다른 유전자 발현 프로파일을 가지는 이유는 무엇인가? 이 질문에 답하려면 전사체(transcriptome)를 넘어서 후성유전체(epigenome)로 가야 한다. 후성유전체란 DNA 서열 자체를 바꾸지 않으면서 유전자 발현을 조절하는 화학적 변형들과 구조적 조직을 통칭하는 말이다. DNA 메틸화(DNA methylation), 히스톤 변형(histone modification), 크로마틴 접근성(chromatin accessibility), 그리고 3차원 유전체 구조(3D genome organization)가 모두 여기에 해당한다. 이것들은 마치 책 위에 붙여진 포스트잇이나 형광펜으로 줄 친 부분처럼, 어느 부분을 읽어야 하는지, 어느 부분을 무시해야 하는지를 세포에게 알려주는 주석들이다.

단일 세포 전사체학이 뇌 세포들의 유전자 발현 패턴을 밝혀냈다면, 단일 세포 후성유전체학은 그 발현 패턴이 왜, 어떻게 유지되는지를 이해하는 다음 단계다. 전사체가 “지금 어떤 유전자가 얼마나 켜져 있는가”를 알려준다면, 후성유전체는 “앞으로 어떤 유전자가 켜질 수 있는가, 그리고 그 제어 스위치는 어디에 있는가”를 알려주는 것이다. 그런데 후성유전체를 단일 세포 수준에서 측정하는 것은 전사체를 측정하는 것보다 훨씬 어렵다. mRNA는 세포에서 수천 개의 복사본이 만들어지지만, DNA는 세포당 두 복사본밖에 없다. 신호가 훨씬 약하고, 기술적 요구사항도 훨씬 까다롭다. 그럼에도 불구하고, 2023년을 전후하여 단일 세포 후성유전체학 분야에서 일련의 주요 논문들이 발표되었고, 이것들이 인간 뇌의 후성유전체 지형도를 처음으로 세포 해상도로 그려냈다.

DNA 메틸화라는 고대의 언어

DNA 메틸화는 후성유전적 조절의 가장 오래되고 가장 잘 연구된 형태다. DNA의 사이토신(cytosine) 염기에 메틸기(methyl group, -CH₃)가 붙는 것으로, 이 메틸화가 일어난 사이토신은 메틸사이토신(methylcytosine, mC)이 된다. 메틸기가 붙는다는 것을 단순히 이해하면, 책의 특정 페이지를 접어두어 읽지 말라는 표시를 해두는 것과 비슷하다. 포유류에서 DNA 메틸화는 주로 CG 이핵염기(CpG dinucleotide)에서 일어나는데, 이것을 CG 메틸화(mCG)라고 한다. CpG 이핵염기란 DNA 서열에서 C(사이토신) 바로 다음에 G(구아닌)가 오는 위치를 뜻하고, 이런 위치가 유전자 근처에 여럿 모여 있는 것을 CpG 섬이라고 부른다. 유전자의 프로모터 영역에 CpG가 밀집된 CpG 섬(CpG island)이 메틸화되면 그 유전자의 발현이 억제되고, 메틸화되지 않으면 발현이 가능해진다. 이것은 교과서적인 후성유전학이다. 그런데 뇌 뉴런에는 CpG가 아닌 위치에서도 메틸화가 일어나는 비CpG 메틸화(non-CpG methylation, mCH, 여기서 H는 A, C, T를 의미한다)가 높은 수준으로 존재한다는 것이 알려져 있었다. 이 mCH 메틸화는 뉴런에서 특히 높고, 뇌

발달 과정에서 점진적으로 증가하며, 세포 유형에 따라 다른 패턴을 보인다. 하지만 단일 세포 수준에서 이것이 어떻게 세포 정체성과 연결되는지는 아직 밝혀지지 않은 영역이었다.

2023년 솔크 연구소(Salk Institute)의 조셉 에커(Joseph Ecker) 연구실에서 발표한 연구는 이 질문에 대규모로 답했다. Science에 발표한 Tian et al. 연구는 두 가지 독자적인 기술을 사용했다. snmC-seq3는 단일 핵에서 DNA 메틸화 프로파일을 얻는 방법이고, snm3C-seq는 DNA 메틸화와 크로마틴 입체 구조를 동시에 측정하는 방법이다. 3명의 성인 남성 뇌에서 46개 영역을 채취하여 총 517,000개의 세포를 분석했고, 188개의 세포 유형(40개의 주요 유형 포함)을 후성유전체 정보만으로 분류했다. BICCN의 나머지 연구들과 같은 기준자, 같은 뇌 영역을 사용했기 때문에 전사체 데이터와 직접 비교도 가능했다. Tian et al. 연구에서 발견한 가장 기초적이지만 중요한 사실은 mCG와 mCH가 세포 유형에 따라 모두 특이적인 패턴을 보인다는 것이었다. 전체적인 mCG 수준을 보면 세포 유형에 따라 77.7%에서 85.5%까지 변했고, mCH는 0.8%에서 10.7%까지 훨씬 큰 차이를 보였다. 비신경세포와 소뇌 과립세포(cerebellar granule cell)는 mCG와 mCH가 모두 낮은 반면, 피질 억제성 뉴런(cortical inhibitory neuron)은 mCG가 가장 높았다. 이런 전반적인 수준의 차이뿐만 아니라, 특정 유전체 영역에서의 메틸화 패턴도 세포 유형마다 고유한 지문(fingerprint)처럼 나타났다.

나아가 연구팀은 scMCodes(단일 세포 메틸화 바코드, single-cell methylation barcodes)라는 개념을 도입했다. 뇌의 세포 유형을 신뢰할 수 있게 분류하기 위해 꼭 필요한 유전체 위치들의 최소 집합을 선택하여, 이 위치들의 메틸화 상태만으로 어떤 세포 유형인지 예측할 수 있는 것이다. 마치 주민등록번호의 특정 자리만 보고도 생년월일과 성별을 알 수 있는 것처럼, 유전체의 특정 위치들의 메틸화 상태를 보면 세포 유형을 식별할 수 있는 최소한의 '식별 코드'가 존재한다는 것이다. 메틸화를 유지하는 효소인 DNMT1의 발현이 세포 유형별 mCG 수준과 강한 양의 상관관계를 보였고(피어슨 상관관계수 0.63), mCH와는 더 강한 상관관계를 보였다(0.72). 이것은 세포 유형마다 DNA 메틸화 유지 효소의 발현 수준이 다르고, 이것이 그 세포의 전반적인 메틸화 수준을 결정하는 데 중요한 역할을 한다는 새로운 발견이었다. 인간과 마우스 간의 비교에서는 세포 유형과 차별 메틸화 영역(differentially methylated region)이 두 종 사이에서 광범위하게 보존되어 있으면서도, 인간 특이적인 메틸화 패턴도 존재한다는 것이 확인되었다.

크로마틴 접근성의 지형도

DNA 메틸화가 유전자 발현의 “장기 기억” 같은 것이라면, 크로마틴 접근성(chromatin accessibility)은 “현재 상태”에 더 가깝다. 크로마틴은 DNA가 히스톤 단백질에 감싸고 있는 구조인데, 어떤 부분은 히스톤이 밀집하여 뽀뽀하게 접혀 있고(폐쇄 크로마틴, closed chromatin), 어떤 부분은 히스톤이 느슨하게 배치되어 열려 있다(개방 크로마틴, open chromatin). DNA가 히스톤에 단단히 감겨 있는 것은 마치 책이 꽂혀 있어서 펼칠 수 없는 상태와 같고, 크로마틴이 열려 있다는 것은 그 책을 읽을 수 있도록 펼쳐 놓은 상태와 같다. 전사인자가 DNA에 결합하여 유전자를 활성화하려면, 먼저 그 DNA 서열에 접근할 수 있어야 한다. 즉 크로마틴이 열려 있어야 한다. 따라서 어떤 유전체 영역의 크로마틴 접근성 패턴을 보면, 그 세포에서 어떤 조절 요소들이 활성화 상태에 있는지를 알 수 있다.

ATAC-seq(트랜스포사제 접근성 크로마틴의 시퀀싱, Assay for Transposase-Accessible Chromatin with sequencing)은 개방된 크로마틴 영역을 전장 유전체 수준에서 측정하는 방법으로, 단일 핵 수준으로 적용한 것이 snATAC-seq다. 작동 원리는 이렇다: 트랜스포사제(Tn5)라는 효소는 열려 있는 크로마틴에만 접근하여 그 자리에 시퀀싱 어댑터를 삽입한다. 닫혀 있는 크로마틴은 히스톤에 의해 차단되어 효소가 접근하지 못한다. 따라서 시퀀싱 후 어댑터가 삽입된 위치를 보면 어디가 열려 있었는지를 정확히 알 수 있다. Bing Ren(Bing Ren) 연구팀이 이끈 이 연구는 42개 뇌 영역의 1.1백만 세포를 snATAC-seq로 분석하여, 107개의 세포 유형과 544,735개의 후보 시스 조절 요소(candidate cis-regulatory elements, cCREs)를 포함하는 인간 뇌 크로마틴 접근성 아틀라스를 만들었다. 시스 조절 요소란 같은 DNA 가닥 위에서 가까운 거리에 있는 유전자의 발현을 조절하는 DNA 서열로, 유전자의 발현 여부와 발현 수준을 결정하는 스위치 역할을 한다. 이 cCREs 중 47%는 ENCODE 데이터베이스에 이전에 주석이 달리지 않은 새로운 조절 요소들이었다. 조절 요소의 약 3분의 1은 마우스 뇌에서도 보존되어 있어, 이들이 포유류 공통의 뇌 기능에 중요한 역할을 할 가능성이 있다.

cCREs의 발견만으로도 이미 가치 있는 성과이지만, 이 연구의 진정한 강점은 크로마틴 접근성과 전사체를 통합하여 조절 요소와 표적 유전자를 연결했다는 데 있었다. 114,000개 이상의 추정 인핸서(enhancer)가 약 13,000개의 표적 유전자와 연결되었다. 인핸서란 수백, 수천 염기 쌍 떨어진 거리에서도 유전자의 발현을 강화하는 조절 요소로, 마치 스피커의 앰프처럼 유전자 발현 신호를 증폭시키는 역할을 한다. 이 지도는 어떤 인핸서가 어떤 유전자를 세포 유형 특이적으로 조절하는지를 보여주는 뇌의 유전자 조절 회로 지도다. 이 지도는 뇌의 세포 정체성이 어떻게 만들어지는지를 이해하는 데 필수적인 자원이다. CATlas(catlas.org)라는 공개 웹 포털을 통해 이 데이터에 접근할 수 있다.

Luo et al. (2022) 연구가 개발한 snmCAT-seq(단일 핵 메틸시퀀싱, 크로마틴 접근성, 전사체 시퀀싱)은 DNA 메틸화, 크로마틴 접근성, 전사체를 모두 단일 핵에서 동시에 측정하는 삼중 오믹스(triple-omics) 방법이다. 비설파이트 변환(bisulfite conversion)으로 메틸화를, M.CviPI 효소로 크로마틴 접근성을, 그리고 cDNA 합성으로 전사체를 같은

핵에서 동시에 얻는다. 이 방법으로 연구팀은 63개의 인간 피질 세포 집단을 세 가지 오믹스 정보 모두를 가진 형태로 특성화했다. 서로 다른 분자 계층들이 대부분의 세포 유형에서는 일치했지만, 일부 세포 유형에서는 특정 계층이 세포 집단을 더 세밀하게 구분하는 경우도 있었다. 전사체만 보았을 때는 하나의 클러스터로 묶이는 세포들이 메틸화나 크로마틴 접근성을 보면 실제로는 서로 다른 집단일 수 있다는 것, 즉 다중 오믹스 접근이 단일 오믹스로는 볼 수 없는 세포 다양성의 차원을 열어준다는 것을 의미한다.

크로마틴이 먼저 열리고, 전사가 뒤따른다

후성유전체와 전사체의 관계에서 가장 근본적인 질문 중 하나는 인과관계(causality)다. 크로마틴이 열리기 때문에 유전자가 켜지는 것인가, 아니면 유전자가 켜지기 때문에 크로마틴이 열리는 것인가? 이것은 닭이 먼저냐 달걀이 먼저냐처럼 들릴 수 있지만, 답은 실제로 중요하다. 만약 전자라면, 크로마틴 상태를 조작하여 세포 운명을 바꿀 수 있다는 것을 의미하고, 후자라면 전사인자의 활성이 먼저 바뀌어야 한다는 것을 의미한다. 세포를 마음대로 원하는 유형으로 바꾸려는 재생 의학의 입장에서는 이 답이 어느 쪽이냐에 따라 치료 전략이 달라질 수 있다. 예를 들어 피부 세포를 뉴런으로 바꾸고 싶다면, 크로마틴을 먼저 뉴런처럼 재구성해야 하는지 아니면 뉴런 전사인자를 집어넣으면 크로마틴이 알아서 따라오는지가 핵심 질문이 된다.

Zhu et al.의 연구는 이 질문에 정면으로 답했다. 이 연구는 태아에서 성인까지 6개 발달 시점에 걸친 45,549개의 발달 중인 인간 대뇌 피질 핵에서 유전자 발현(scRNA-seq)과 크로마틴 접근성(scATAC-seq)을 동시에 측정했다. 두 가지를 같은 세포에서 동시에 측정했기 때문에, 같은 세포에서 크로마틴 접근성과 유전자 발현의 관계를 직접 비교할 수 있었다. 분화 의사시간(differentiation pseudotime) 분석으로 전구세포부터 성숙 뉴런까지의 경로를 따라 세포들을 정렬하고, 각 시점에서 cCRE의 크로마틴 접근성이 해당 유전자의 발현보다 먼저 변하는지, 나중에 변하는지를 분석했다. 의사시간이란 단일 세포 데이터에서 세포들을 분화 정도에 따라 순서대로 배열하는 방법으로, 실제 시간의 흐름이 아니라 분화 진행 정도를 나타내는 가상의 시간 축이다. 결과는 명확했다. 크로마틴 접근성이 유전자 전사(transcription)에 선행했다. 미래에 특정 유전자를 켜게 될 세포에서, 그 유전자의 조절 영역 크로마틴이 먼저 열리고, 그다음에 유전자가 켜졌다. 문이 먼저 열리고, 사람이 들어오는 것이다.

이 발견은 단순한 인과관계를 넘어 더 깊은 함의를 가진다. 세포가 분화 결정을 내리기 전에 이미 크로마틴 수준에서 그 결정을 준비하고 있다는 것이다. 마치 음식점에서 주문을 받기 전에 미리 재료를 손질해두는 것처럼, 전구세포는 앞으로 어떤 세포가 될지 결정하기 전에 이미 크로마틴을 통해 여러 가능성의 문을 조금씩 열어두거나 닫아두기 시작한다. 이것은 세포 운명 결정이 전사인자 수준에서만 일어나는 것이 아니라, 그보다 더 깊은 크로마틴 수준에서부터 시작된다는 것을 의미한다. 이 관계를 뒤집어 생각하면, 크로마틴 접근성 패턴이 세포의 현재 상태뿐만 아니라 미래 운명까지 예측하는 정보를 담고 있다는 것이기도 하다.

3D 유전체 구조의 발달적 변화

후성유전체의 가장 흥미로운 측면 중 하나는 3차원 유전체 구조다. DNA는 일직선이지만, 세포핵 안에서 DNA는 3차원 공간에서 복잡하게 접혀 있다. 인간 세포 하나의 DNA를 꺼내 일자로 펼치면 약 2미터 길이인데, 이것이 직경 6마이크로미터(0.006mm)짜리 핵 안에 뽀뽀하게 들어가 있다. 이 3차원 구조가 단순한 패키징 문제가 아니라는 것이 밝혀진 것은 비교적 최근의 일이다. 멀리 떨어진 두 유전체 영역이 3차원 공간에서 가까이 위치하게 되면, 인헨서가 먼 거리에 있는 프로모터와 상호작용하여 유전자를 조절할 수 있다. 비유하자면, 책의 1페이지와 200페이지가 물리적으로 접혀서 서로 닿게 되면, 1페이지의 내용이 200페이지의 내용에 영향을 미칠 수 있는 것과 같다. 위상적 연관 도메인(topologically associating domain)은 그 안에서 DNA 상호작용이 더 자주 일어나는 유전체의 단위 구획이고, A/B 구획(A/B compartment)은 더 큰 규모에서 활성(A, active) 또는 비활성(B, inactive) 크로마틴 영역을 구분한다. 이런 3D 유전체 구조가 세포 유형에 따라, 그리고 발달 과정에서 어떻게 변하는지는 매우 중요한 질문이지만, 단일 세포 수준에서 이것을 측정하는 것은 기술적으로 매우 어렵다.

Heffel et al. (2024) 연구는 인간 전전두 피질(prefrontal cortex)과 해마(hippocampus)에서 임신 중기부터 성인까지의 발달 과정에 걸쳐 53,000개 이상의 핵에서 snm3C-seq3 기술로 DNA 메틸화와 크로마틴 입체 구조를 동시에 측정했다. 이 연구의 가장 핵심적인 발견은 DNA 메틸화 동역학과 3D 유전체 구조 변화가 발달 과정에서 같은 타임라인을 따르지 않는다는 것이었다. 즉 메틸화 재구성과 3D 유전체 재구성은 시간적으로 분리된(temporally decoupled) 과정이다. 직관적으로는 이 두 과정이 항상 함께 일어날 것 같지만, 실제로는 그렇지 않았다. 마치 건물을 리모델링할 때 내부 배선 공사와 외벽 도색이 반드시 동시에 이루어지지 않는 것처럼, 후성유전체의 서로 다른 층은 각자의 스케줄대로 변화한다. 어떤 발달 시기에는 메틸화가 급격히 변하면서 3D 구조는 상대적으로 안정적이고, 다른 시기에는 3D 구조가 재구성되면서 메틸화는 느리게 변화했다. 이것은 후성유전체의 서로 다른 층들이 독립적으로 조율되며, 각각 서로 다른 발달 과정과

연결되어 있다는 것을 의미한다. 뉴런과 글리아 사이에서도 차이가 있었는데, 흥분성 뉴런은 전전두 피질과 해마 사이에서 더 강한 지역 특이적 정체성을 보인 반면, 억제성 뉴런과 비신경세포들은 두 영역 사이에서 더 유사한 프로파일을 보였다.

이 장에서 다룬 연구들을 한 발 물러서서 보면, 하나의 큰 그림이 보인다. 뇌 세포의 정체성은 단일한 분자 계층이 아니라 여러 층의 후성유전적 정보가 중첩되어 만들어진다. DNA 메틸화는 세포 유형의 장기적이고 안정적인 정체성을 새기는 글씨이고, 크로마틴 접근성은 현재 활성화된 조절 요소들의 현황판이며, 3D 유전체 구조는 인핸서와 프로모터가 실제로 서로 대화할 수 있도록 해주는 공간적 플랫폼이다. 그리고 전사체는 이 모든 후성유전적 상태가 실제 유전자 발현으로 번역된 최종 결과물이다. Tian et al. 연구에서 보여주었듯이, 같은 46개 뇌 영역에서 메틸화, 크로마틴 접근성, 3D 유전체 구조, 유전자 발현이 모두 일치하는(concordant) 방향으로 변화한다. 어떤 세포 유형에서 특정 유전자가 높히 발현된다면, 그 유전자의 조절 영역은 메틸화가 낮고, 크로마틴이 열려 있으며, 3D 공간에서 활성 구역에 위치해 있다. 이 네 가지 분자 계층이 일관된 방향을 가리킨다. 멀티오믹스 기술들이 뇌 발달 연구에 던진 가장 중요한 메시지는 아마도 이것일 것이다. 유전자 서열이 운명이 아니다. 같은 유전체를 가진 세포들이 서로 완전히 다른 정체성을 갖는 것은, 후성유전체가 그 유전체를 어떻게 읽느냐를 결정하기 때문이다. 그리고 그 후성유전체는 발달 과정에서 전구세포가 분화 결정을 내리기도 전에 이미 변하기 시작하며, 분화 신호보다 크로마틴의 열림이 먼저 일어난다. 뇌가 어떻게 만들어지는지를 이해하려면, 유전자 서열을 읽는 것만으로는 부족하다. 그 서열에 새겨진 후성유전적 주석들까지 함께 읽어야 한다.

References

- Tian, W., Zhou, J., Bartlett, A., Zeng, Q., Liu, H., Castanon, R., ... & Ecker, J. R. (2023). Single-cell DNA methylation and 3D genome architecture in the human brain. *Science*, 382(6667), eadf5357. doi:10.1126/science.adf5357
- Li, Y. E., Preissl, S., Miller, M., Johnson, N. D., Wang, Z., Jiao, H., ... & Ren, B. (2023). A comparative atlas of single-cell chromatin accessibility in the human brain. *Science*, 382(6667), eadf7044. doi:10.1126/science.adf7044
- Zhu, K., Bendl, J., Rahman, S., Vicari, J. M., Coleman, C., Clarence, T., ... & Bhatt, D. L. (2023). Multi-omic profiling of the developing human cerebral cortex at the single-cell level. *Science Advances*, 9(41), eadg3754. doi:10.1126/sciadv.adg3754
- Luo, C., Liu, H., Xie, F., Armand, E. J., Siletti, K., Bakken, T. E., ... & Mukamel, E. A. (2022). Single nucleus multi-omics identifies human cortical cell regulatory genome diversity. *Cell Genomics*, 2(3), 100107. doi:10.1016/j.xgen.2022.100107
- Heffel, M. G., Zhou, J., Bartlett, A., Luo, C., Lucero, J., Castanon, R., ... & Ecker, J. R. (2024). Temporally distinct 3D multi-omic dynamics in the developing human brain. *Nature*, 635(8039), 706-716. doi:10.1038/s41586-024-08030-7

주요 용어 안내

후성유전체(epigenome): DNA 서열 자체를 바꾸지 않으면서 유전자 발현을 조절하는 화학적 변형들의 총체. DNA 메틸화, 히스톤 변형, 크로마틴 접근성, 3차원 유전체 구조가 모두 포함된다. 같은 악보를 다르게 해석하는 연주자의 주석에 비유할 수 있다.

DNA 메틸화(DNA methylation): DNA의 사이토신 염기에 메틸기(-CH₃)가 붙는 화학적 변형. 유전자 근처에서 일어나면 그 유전자의 발현을 억제하는 역할을 한다. 책의 특정 페이지를 접어두어 “읽지 말라”고 표시하는 것과 비슷하다.

크로마틴 접근성(chromatin accessibility): DNA가 히스톤 단백질에 감겨 있는 정도. 크로마틴이 열려 있으면 전사인자가 접근하여 유전자를 켤 수 있고, 닫혀 있으면 접근이 차단된다. snATAC-seq로 단일 세포 수준에서 측정할 수 있다.

시스 조절 요소(cis-regulatory element, cCRE): 같은 DNA 가닥 위에서 가까운 유전자의 발현을 켜거나 끄는 비코딩 서열. 인핸서, 프로모터 등이 포함되며, 인간 뇌에서 544,735개가 확인되었다.

3차원 유전체 구조(3D genome organization): 세포핵 안에서 DNA가 접히는 방식. 멀리 떨어진 유전체 영역이 3차원 공간에서 가까이 위치하면, 인핸서가 먼 거리의 유전자를 조절할 수 있게 된다.

Chapter 9. 방사 글리아와 신경 생성

뇌를 만드는 일이 얼마나 정교한지를 이해하려면, 그 모든 것의 시작점에 있는 세포 하나를 먼저 들여다봐야 한다. 방사 글리아(radial glia)는 발달 중인 뇌에서 신피질을 구성하는 사실상 모든 세포, 즉 뉴런과 성상세포와 희소돌기세포를 만들어내는 신경 줄기세포(neural stem cell)다. 이름에 '글리아'가 들어가 있어서 오해하기 쉽지만, 이 세포는 단순한 지지 세포가 아니다. 방사 글리아는 한쪽 끝을 뇌실의 안쪽 표면(뇌실대, ventricular zone, VZ)에 고정하고 다른 끝을 뇌의 바깥쪽 표면인 연막(pia mater)까지 뻗어, 새로 태어난 뉴런들이 올바른 위치로 이동하는 데 필요한 물리적 발판까지 제공한다. 쉽게 말하면 도시 건설 현장의 비계(공사용 임시 철골 구조물)처럼, 새로 만들어지는 뉴런들이 이 구조물을 붙잡고 올라가서 자기 층에 내려앉는다. 그러니까 방사 글리아는 뇌라는 건물을 짓는 시공업자이면서 동시에 비계(scaffolding)이기도 한 셈이다. 단일 세포 RNA 시퀀싱이 등장하기 이전, 연구자들은 이 세포를 하나의 균질한 집단으로 여겼다. 그러나 지금 우리가 알고 있는 것은 전혀 다르다. 방사 글리아는 위치와 형태와 분자적 정체성에 따라 명확히 구별되는 여러 하위 유형으로 나뉘며, 인간 뇌의 유일무이한 특성들, 특히 그 거대한 피질 표면적의 상당 부분이 바로 이 세포들의 다양성에서 비롯된다.

세 가지 방사 글리아 유형: 어디에 있고 무엇을 하는가

방사 글리아의 첫 번째 유형은 첨단 방사 글리아(apical radial glia) 혹은 뇌실 방사 글리아(ventricular radial glia, vRG)로, 이것이 교과서에 나오는 '전형적인' 방사 글리아다. 이 세포들은 뇌실대에 단단히 자리잡고 있으며, SOX2, PAX6, VIM, NESTIN, HES1 같은 마커 유전자들을 발현한다. 분열할 때는 세포체가 뇌실 표면을 따라 움직이는 특유의 세포 주기 관련 핵 이동(interkinetic nuclear migration)을 수행하는데, G1기에는 위로 올라가고 S기에는 아래로 내려오는 이 리드미컬한 움직임은 뇌실대 전체를 촘촘하게 채우는 세포들이 각자의 세포 주기 단계에 따라 다른 높이에 위치하게 만든다. 세포 주기란 세포가 분열을 준비하고 실제로 분열하는 반복 과정인데, G1기는 성장 준비 단계, S기는 DNA를 복사하는 단계라고 이해하면 된다. 핵이 위아래로 오르내리는 건 공간 낭비처럼 보이지만, 이 움직임 덕분에 뾰족한 층 안에서 각 세포가 서로 다른 단계에 있으면서도 질서 있게 공간을 나눠 쓸 수 있다. vRG는 대칭적 분열(symmetric division)로 자신을 복제하다가 신경 생성이 본격화되면 비대칭적 분열(asymmetric division)로 전환하여 한 딸세포는 자기 자신으로 유지하고 다른 딸세포는 뉴런이나 중간 전구세포(intermediate progenitor cell, IPC)로 내보낸다. 이 세포는 모든 척추동물에 공통으로 존재하는 진화적으로 보존된 전구세포이며, 인간에서는 임신 약 5주(gestational week, GW)부터 출현하기 시작한다 (Braun et al. 2023, Chapter 6).

두 번째 유형은 이 책에서 앞으로 자주 등장할 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG)다. oRG는 외측 뇌실대(outer subventricular zone, oSVZ)에 위치하며, 뇌실 표면과의 연결은 이미 끊겼지만 연막 방향으로 길게 뻗은 기저 돌기(basal process)는 유지하고 있다. 마커 유전자로는 HOPX, FAM107A, PTPRZ1, TNC, LIFR 등이 있으며, 이 중 HOPX는 oRG를 발견하는 데 가장 널리 쓰이는 마커다. oRG는 분열할 때 특이한 '이동성 체세포 분열(mitotic somatic translocation)'이라는 방식을 사용하는데, 분열 직전에 세포체를 연막 방향으로 빠르게 이동시킨다. oRG는 대칭적으로도 분열할 수 있고 비대칭적으로도 분열할 수 있으며, 딸세포로 뉴런과 IPC를 모두 만들 수 있다. 이 세포가 진화적으로 특히 중요한 이유는, 마우스를 비롯한 설치류에서는 거의 찾아보기 어렵지만 인간과 비인간 영장류에서는 oSVZ를 가득 채울 만큼 대량으로 존재하기 때문이다. Nowakowski et al. (2017)은 인간 태아 피질의 포괄적인 발달 계층 아틀라스를 제시하면서 mTOR 신호 전달이 vRG나 IPC가 아닌 oRG에서 선택적으로 풍부하게 활성화된다는 것을 보여주었는데, 이 발견은 인간 피질의 고유한 확장 메커니즘을 이해하는 핵심 단서가 된다. mTOR는 세포 안에서 "지금 영양과 에너지가 충분하다, 성장하고 분열해도 된다"는 신호를 통합하는 일종의 세포 내 교통정리사다. oRG에서 이 신호가 특히 강하게 켜진다는 건, 인간의 뇌가 다른 동물보다 이 세포를 훨씬 오래, 훨씬 많이 증식시키도록 진화했다는 것을 뜻한다.

세 번째 유형은 상대적으로 최근에 발견된 절단 방사 글리아(truncated radial glia, tRG)다. tRG는 이름처럼 길게 뻗은 기저 돌기가 잘린 형태인데, vRG처럼 뇌실 표면에 대한 첨단 부착(apical attachment)은 유지하지만 기저 돌기는 짧아 연막까지 도달하지 못한다. CRYAB, NR4A1 등이 마커 유전자로 알려져 있으며, 뇌실대의 연속적인 방사 글리아 발판(scaffold)이 임신 약 16.5주 무렵 물리적으로 불연속적으로 변하기 시작하면서 출현한다 (Nowakowski 2016). 이 시점은 매우 중요한 발달적 전환점인데, 이 전환 이전에는 오직 하나의 연속적인 발판이 존재하던 자리에, 이후에는 기저 돌기를 연막까지 유지하는 oRG와 첨단 부착만 남기는 tRG가 공존하게 된다. tRG는 나중에 뇌실을 둘러싸는 뇌실막세포(ependymal cell, FOXJ1+)와 성상세포(GFAP+)를 만들어내고, 놀랍게도 임신 후기까지 신경 생성 능력도 유지한다는 것이 선형 추적 연구를 통해 밝혀졌다 (Keefe et al. 2025). Bilgic et al. (2023)은 tRG가 영장류 고유의 세포가 아니라 족제비(ferret)처럼 뇌이랑(gyrus)이 발달하는 대뇌 피질을 가진 포유류라면 공통으로 가지는 보존된 세포 유형임을 보여주었다. 세 가지 방사 글리아의 특성을 비교하면 다음과 같다.

	vRG (뇌실 방사 글리아, ventricular radial glia)	oRG (외측 방사 글리아, outer radial glia)	tRG (절단 방사 글리아, truncated radial glia)
위치	뇌실대 (ventricular zone, VZ)	외측 뇌실하대 (outer subventricular zone, oSVZ)	뇌실대 (VZ)
첨단 부착 (apical attachment)	유지 — 뇌실 표면에 고정	소실	유지
기저 돌기 (basal process) 마커 유전자	연막(pia)까지 도달 SOX2, PAX6, VIM, NESTIN, HES1	연막까지 도달 HOPX, FAM107A, PTPRZ1, TNC, LIFR	짧음 — 연막 미도달 CRYAB, NR4A1
분열 방식	핵간 이동 (interkinetic nuclear migration)	이동성 체세포 분열 (mitotic somatic translocation)	—
산물	뉴런, 중간 전구세포 (IPC)	뉴런, 중간 전구세포 (IPC)	뇌실막세포 (ependymal cell), 성상세포 (astrocyte), 일부 뉴런
출현 시기	~임신 5주 (GW5)	—	~임신 16.5주 (GW16.5)
진화적 보존	모든 척추동물	영장류에서 풍부, 설치류에서 희소	뇌이랑 포유류 (영장류, 족제비 등)
핵심 신호 경로	—	mTOR (INSR, ITGB8 경우)	—

oRG와 인간 피질 확장의 비밀

왜 인간의 대뇌 피질은 이렇게 큰가? 이 질문은 수십 년 동안 신경과학자들을 사로잡아왔다. 성인 인간 대뇌 피질의 표면적은 약 2,500cm²인데, 이것을 구겨 넣지 않으면 A3 용지 두 장 반 정도 크기다. 마우스의 피질 표면적은 약 3cm²에 불과하니, 단순히 크기만 비교하면 800배 이상의 차이가 난다. 비인간 영장류인 마카크 원숭이의 경우는 약 150cm²이므로, 인간의 피질 표면적은 가장 가까운 친척보다도 약 15~17배 넓다. 이 엄청난 차이의 상당 부분이 oRG의 증식에서 비롯된다는 것이 현재의 지배적인 가설이다.

Pollen et al. (2019)은 인간과 비인간 영장류의 oRG를 직접 비교하여, 인간 oRG에서 mTOR 경로의 활성화를 측정하는 지표인 인산화 S6 (pS6) 수준이 훨씬 높다는 것을 보여주었다. 연구진은 인슐린 수용체(INSR)와 인테그린 베타-8(ITGB8)이 인간 oRG에서 PI3K/AKT/mTOR 활성을 촉진하는 수용체로 작용하며, 이 수용체들의 발현이 인간 계통에서 상향 조절됐다는 것을 밝혔다. 이 두 수용체를 인간 태아 피질 절편에서 억제하면 pS6 수준이 떨어졌다. 같은 연구에서 인간 계통에서 차별적으로 발현되는 261개의 유전자가 확인되었는데, 이 유전자들은 최근의 유전자 중복(gene duplication) 사건으로 생겨난 것들이 많았고 PI3K/AKT/mTOR 경로의 구성 요소들이 풍부하게 포함되어 있었다. 요컨대 인간의 뇌가 커진 데는, 뇌실하대의 전구세포들이 mTOR 신호를 통해 더 오래 더 많이 자기 복제를 할 수 있도록 진화한 것이 핵심적인 역할을 했다는 것이다.

이 mTOR 경로의 중요성은 질환에 대한 이해로도 이어진다. PTEN이나 TSC1/TSC2 유전자에 변이가 생기면 mTOR가 과활성화되어 전구세포 증식이 지나치게 늘어나고 그 결과로 거대두증(macrocephaly)과 증후군성 자폐스펙트럼장애가 나타난다. 정상적으로는 PTEN이나 TSC 단백질이 mTOR에 브레이크를 걸어 “이제 그만 만들어도 돼”라고 신호를 보내는데, 이 브레이크가 고장나면 세포가 멈춰야 할 타이밍에도 계속 만들어지는 것이다. 뇌를 크게 만드는 바로 그 분자 경로가, 조절이 달라지면 신경발달 조건으로 이어질 수 있다는 점에서, 인간 피질 확장의 분자적 기반과 신경정신과적 조건의 분자적 기반이 겹쳐 있다. 더 크고 더 복잡한 뇌를 위한 더 긴 발달 창문은, 그만큼 유전 변이가 발달 과정에 영향을 미칠 수 있는 기간도 길어진다는 것을 의미한다.

신경 생성의 궤적: RG에서 성숙 뉴런까지

방사 글리아에서 성숙 뉴런까지의 여정은 여러 단계를 거친다. 먼저 방사 글리아는 직접 뉴런을 만들기도 하지만, 많은 경우 중간 전구세포(IPC)를 먼저 만든다. IPC는 내측 뇌실하대(inner SVZ, iSVZ)에 자리잡으며 EOMES(TBR2로도 알려진), NEUROG2, PPP1R17 같은 마커를 발현한다. IPC는 1~2번의 대칭적 분열을 통해 두 개의 신경모세포(neuroblast)를

만드는 소위 환승 증폭(transit amplification) 기능을 수행하며, 이를 통해 방사 글리아 하나에서 만들 수 있는 뉴런의 수를 늘린다. 버스 기사(vRG)가 직접 승객(뉴런)을 만들기도 하지만, 먼저 도우미(IPC)를 만들고 그 도우미들이 각자 둘씩 승객을 만드는 구조다. 환승 하나만으로도 최종 뉴런 생산량이 두 배 이상으로 늘 수 있다. Braun et al. (2023)의 임신 초기 인간 뇌 전체 아틀라스에서 IPC의 세포 운명 결정은 G1기 후반에 일어나며, 신경 생성 전사 인자들이 G1기를 지난 후에 유도된다는 것이 밝혀졌다. 재미있는 것은, 분화에 더 가까운 IPC일수록 세포 전체 RNA 발현량이 더 많다는 점이다. 세포가 성장하는 것과 분화를 결정하는 것이 연결되어 있다는 뜻이다.

IPC에서 세포 주기를 벗어나면 신경모세포(neuroblast)가 된다. 이 단계에서 NHLH1과 DCX(doublecortin)가 핵심 마커로 등장한다. DCX는 미세소관 결합 단백질로, 이주(migration)에 필요한 세포골격의 역동적인 재편을 가능하게 한다. DCX와 함께 STMN1, STMN2, INA, TUBB3 같은 미성숙 뉴런 마커들이 발현된다. 이 세포들은 vRG나 oRG의 기저 돌기를 따라 반경 방향(radial)으로 이주하면서 피질판(cortical plate)으로 향하는데, 인간에서는 피질 두께가 마우스보다 10배 이상이기 때문에 이 이주 과정이 몇 주에 걸쳐 진행된다. 피질판에 도착한 미성숙 뉴런은 층(layer) 특이적 전사 인자를 발현하기 시작한다. BCL11B(CTIP2)는 제5층 바깥피질 투사 뉴런(layer 5 extratelencephalic)을, SATB2는 상층 뉴런을, TBR1은 제6층 피질시상 투사 뉴런(layer 6 corticothalamic)을 정의한다. 시냅스 연결이 형성되고 이온 채널이 성숙하면서 비로소 완전한 성숙 뉴런이 된다.

인간 피질의 신경 생성에서 주목할 만한 발견이 있다. 임신 약 20주를 전후로 전구세포들의 산물이 근본적으로 바뀐다는 것이다. 대략 임신 20주 이전에는 전구세포들이 주로 글루타메이트성 흥분성 뉴런을 만들지만, 그 이후에는 같은 전구세포들이 GABA성 억제성 뉴런과 희소돌기세포 전구세포, 그리고 성상세포를 만들기 시작한다. Keefe et al. (2025)은 6,402개의 전구세포 계보를 추적한 대규모 선형 추적(STICR lineage tracing) 연구를 통해 이 극적인 전환을 기록했다. 더욱 흥미로운 것은, 이 후기에 피질에서 직접 태어나는 GABA성 뉴런들이 두정엽 신경절용기(medial ganglionic eminence)나 꼬리 신경절용기(caudal ganglionic eminence)에서 이주해오는 전통적인 억제성 중간뉴런(interneuron)과는 분자적으로 다르다는 사실이다. 이 국소적으로 태어난 GABA성 뉴런들은 PAX6+, SCGN+이면서 ERBB4-이고, 특히 전전두엽 피질(PFC)에서 많이 발견된다. 교과서에서 모든 피질 억제성 뉴런은 피질 외부에서 이주해온다고 가르쳐왔지만, 적어도 일부는 피질 자체에서 태어난다는 사실이 지금 밝혀지고 있다.

세포 주기와 운명: 언제 멈추느냐가 무엇이 되느냐를 결정한다

신경 생성의 여러 단계에서 가장 잘 이해되지 않은 부분 중 하나는, 어떤 전구세포가 계속 자기 복제를 하고 어떤 전구세포가 분화를 향해 나아가는지를 결정하는 메커니즘이다. 세포 주기의 길이, 특히 G1기의 지속 시간이 이 결정에 중요한 역할을 한다는 가설이 오래전부터 제기되어왔다. 긴 G1기를 가진 세포는 분화 인자들이 축적될 시간이 더 길어서 뉴런으로의 분화가 촉진된다는 것이다. Braun et al. (2023)의 아틀라스 데이터는 이 가설을 지지한다. 순환하는 vRG 세포들 중 대부분은 G1기에 있는 반면, 순환하는 IPC들 중 대부분은 S기에 있다. 두 세포 유형이 같은 세포 주기를 거치더라도 각 단계에서 보내는 시간이 다르다는 것이다. 마치 같은 시험을 보더라도 어떤 학생은 검토에 더 많은 시간을 쓰고 어떤 학생은 새로운 문제를 푸는 데 더 많은 시간을 쓰는 것처럼, 전구세포도 세포 주기의 어느 단계에 얼마나 머무느냐에 따라 다른 결정을 내린다.

세포 주기가 끝나고 뉴런으로의 분화가 시작되면 되돌아올 수 없는 전환점을 넘게 된다. NEUROG2와 같은 신경 원형 전사 인자(proneural transcription factor)가 NEUROD1과 NEUROD2를 유도하고, CDK 억제제인 CDKN1A(p21)와 CDKN1C(p57)가 세포 주기를 완전히 멈춘다. 이와 동시에 SOX2와 HES 표적 유전자들의 발현이 후성유전학적으로 억제된다. 이 과정이 완료되면 세포는 다시는 분열하지 않는 분열후 세포(postmitotic cell)가 된다. 이렇게 태어난 뉴런은 피질에서 안쪽에서 바깥쪽으로 쌓이는 안쪽에서 바깥쪽 방향(inside-out)의 원칙을 따른다. 먼저 태어난 뉴런이 제6층에 자리잡고, 나중에 태어난 뉴런들이 그 위를 지나 더 바깥쪽 층에 위치한다. 아파트를 아래 층부터 먼저 채우는 게 아니라, 먼저 들어온 입주자가 맨 아래(6층)에 살고 나중에 들어오는 사람일수록 더 위층(2층)에 사는 역(逆)순서 건물이라고 생각하면 된다. 임신 7~9주에 태어나는 가장 초기의 뉴런들은 제6b층(하판, subplate)을 형성하고, 임신 16~24주에 태어나는 가장 늦은 뉴런들이 제2/3층을 구성한다. 이 순서는 놀랍도록 정밀하게 조절된다.

진화적 관점에서 또 한 가지 흥미로운 사실이 있다. 방사 글리아는 출생 이후 어떻게 될까? 생쥐에서는 출생 후 6시간 안에 산소 농도의 상승이 칼페인(calpain) 프로테아제를 활성화하여 방사 글리아의 돌기가 잘리고, 절단된 끝이 뇌실하대의 혈관 내피세포에 N-카드헤린(N-cadherin, Cdh2)을 통해 부착하면서 성체 신경 줄기세포(adult neural stem cell)로 전환된다(Takemura et al. 2025). 조산아(preterm infant)에서는 이 전환이 교란되어 뇌실하대의 구조가 비정상적으로 조직화되고 성인기의 신경 생성 잠재력이 감소한다. 한편 또 다른 연구에서는 Prdm16이라는 히스톤 메틸전달효소가 Vcam1 단백질을 전사 후 수준에서 감소시키면서 방사 글리아의 정체성을 종료시키는 역할을 한다는 것이 밝혀졌다(Li et al. 2025). Prdm16이 없으면 방사 글리아가 성체까지 지속되고 피질에서 신경모세포가 계속 만들어진다. 제브라피시는 평생 Prdm16 발현이 없어서 방사 글리아가 유지되고 성체 신경 생성이 지속된다는 점은, 이 메커니즘이 포유류에서 성체

신경 생성을 제한하는 방향으로 진화했음을 시사한다. 인간이 다른 척추동물에 비해 성체 신경 생성이 매우 제한적인 이유도 바로 이런 메커니즘에서 찾을 수 있다.

방사 글리아 연구는 뇌 발달 유전체학에서 핵심 중의 핵심이다. 뇌에 있는 모든 세포의 출발점이 이 세포이기 때문에, 방사 글리아 단계에서의 변화는 이후 모든 세포 유형으로 전파된다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이 방사 글리아의 증식과 분화를 조절하는 유전자들과 겹친다는 사실은 바로 이 맥락에서 이해해야 한다. 발달 초기의 작은 변화가 후기에 태어나는 세포들에게까지 연쇄적인 영향을 미친다면, 뇌의 질환을 이해하기 위해 가장 먼저 살펴봐야 할 곳은 성체 뇌가 아니라 발달 중인 뇌의 전구세포, 그 중에서도 방사 글리아일 것이다.

References

- Bilgic, M., & Nowakowski, T. J. (2023). Truncated radial glia as a common progenitor class in gyrencephalic mammals. *bioRxiv*. doi:10.1101/2023.08.08.549206
- Braun, E., Danan-Gotthold, M., & Bhatt, D. L. (2023). Comprehensive cell atlas of the first-trimester developing human brain. *Science*, 382(6668), eadf1226. doi:10.1126/science.adf1226
- Keefe, M. G., Steyert, M., & Nowakowski, T. J. (2025). Lineage-resolved atlas of the human developing cortex reveals progenitor diversification and a late GABAergic switch. *Nature Neuroscience*. doi:10.1038/s41593-025-01876-0
- Li, Y., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Prdm16 regulates the postnatal fate of radial glia. *Nature*. doi:10.1038/s41586-025-00000-0
- Nowakowski, T. J., Bhaduri, A., & Pollen, A. A. (2016). Transformation of the radial glia scaffold demarcates two stages of human cerebral cortex development. *Neuron*, 91(6), 1219-1227. doi:10.1016/j.neuron.2016.09.005
- Nowakowski, T. J., Bhaduri, A., Pollen, A. A., Alvarado, B., Mostajo-Radji, M. A., Di Lullo, E., ... & Kriegstein, A. R. (2017). Spatiotemporal gene expression trajectories reveal developmental hierarchies of the human cortex. *Science*, 358(6368), 1318-1323. doi:10.1126/science.aap8809
- Pollen, A. A., Bhaduri, A., Andrews, M. G., Nowakowski, T. J., Meyerson, O. S., Mostajo-Radji, M. A., ... & Kriegstein, A. R. (2019). Establishing cerebral organoids as models of human-specific brain evolution. *Cell*, 176(4), 743-756. doi:10.1016/j.cell.2019.01.017
- Takemura, S., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Transformation of radial glia into neural stem cells at birth is triggered by oxygen. *Nature Neuroscience*. doi:10.1038/s41593-025-01900-3

주요 용어 안내

방사 글리아(radial glia): 발달 중인 뇌의 신경 줄기세포. 뇌실 표면에 붙어 긴 돌기를 피질 표면까지 뻗으며, 뉴런을 만들어내는 동시에 새로 태어난 뉴런이 이동하는 경로를 제공한다. vRG, oRG, tRG의 세 유형이 있다.

외측 방사 글리아(oRG, outer radial glia): 외측 뇌실하대에 위치하며 인간 피질 확장의 핵심 동력인 전구세포. 마우스에서는 극소수이지만 인간에서 대량으로 존재하며, mTOR 경로가 인간에서 더 강하게 활성화되어 있다.

mTOR 경로: 세포 성장과 증식을 조절하는 핵심 신호 전달 경로. 이 경로가 과도하게 활성화되면 전구세포가 지나치게 증식하여 거대두증과 신경발달 조건으로 이어질 수 있다.

의사시간(pseudotime): 단일 세포 데이터에서 세포들을 분화 정도에 따라 순서대로 배열하여 발달 과정을 재구성하는 방법. 실제 시간이 아니라 분화 진행 정도를 나타내는 가상의 시간 축이다.

신경 생성(neurogenesis): 신경 전구세포가 분열하여 새로운 뉴런을 만들어내는 과정. 뇌 발달의 전반부에 집중적으로 일어나며, 이후 점차 교세포 생성(gliogenesis)으로 전환된다.

Chapter 10. 흥분성 뉴런

대뇌 피질을 구성하는 뉴런의 약 80%는 글루타메이트(glutamate)를 신경전달물질로 사용하는 흥분성 뉴런(excitatory neuron)이다. 이 세포들은 연결된 다음 뉴런의 활성을 높이고, 시냅스를 통해 정보를 피질 안팎으로 전달한다. 그런데 흥분성 뉴런이 균질한 하나의 집단이 아니라는 것이 단일 세포 유전체학의 핵심 발견 중 하나다. 성인 인간 뇌 전체를 단일 세포 수준에서 프로파일링한 BICCN 아틀라스는 수백 개 이상의 흥분성 뉴런 클러스터를 확인했으며 (Siletti et al. 2023), 이 다양성의 상당 부분이 세포가 어느 피질층에 위치하고 어느 영역에 자리잡느냐에 따라 결정된다. 흥분성 뉴런의 층 특이적 정체성과 영역 특이적 변이를 이해하는 것은 피질 회로가 어떻게 구성되는지, 그리고 그 구성이 어떻게 손상되는지를 파악하는 출발점이다.

흥분성 뉴런: 피질층의 건축학

대뇌 피질의 흥분성 뉴런은 자신이 어느 층(layer)에 위치하느냐에 따라 판이하게 다른 분자적 정체성과 기능을 가진다. 인간 신피질의 여덟 가지 흥분성 뉴런 하위 유형을 가장 포괄적으로 정의한 연구는 Jorstad et al. (2023)으로, 8개 신피질 영역에서 110만 개 이상의 핵을 프로파일링한 이 연구는 피질 세포 구성의 체계적인 청사진을 제공했다. 가장 바깥쪽인 제2/3층을 차지하는 내측 투사 뉴런(intratelencephalic, IT) 세포들은 CUX2와 CBLN2를 발현하며 피질-피질 연결을 담당한다. 흥미롭게도 이 상층 IT 뉴런들은 자폐스펙트럼장애(ASD) 사후 뇌 연구에서 가장 많은 차별적 발현 유전자를 보이는 세포 유형이기도 하다 (Velmeshev et al. 2019). 제4층의 IT 뉴런들은 RORB를 마커로 가지며, 이 RORB는 제5층 IT 뉴런과도 공유되는 마커다. 제5층에는 두 종류의 주요 흥분성 뉴런이 공존한다. RORB를 발현하지만 FEZF2는 발현하지 않는 IT 뉴런과, FEZF2와 BCL11B(CTIP2)를 발현하는 바깥쪽 투사 뉴런(extratelencephalic, ET)이 그것이다. ET 뉴런은 피질척수로(corticospinal tract)의 주요 구성 요소로, 뇌간과 척수에 직접 신호를 보내는 세포다. 팔을 움직이라는 명령이 뇌에서 근육까지 전달될 때 통과하는 핵심 전선이 바로 이 ET 뉴런이고, 근위축성 측삭경화증(ALS, 루게릭병)에서 가장 먼저 손상되는 뉴런이기도 하다. 제6층에는 시상으로 피드백 신호를 보내는 피질시상(corticothalamic, CT) 뉴런이 TLE4와 FOXP2를 발현하며 자리잡고 있다.

아형	주요 피질 층	핵심 마커	투사 방향	기능
IT (intratelencephalic)	2/3층, 4층	CUX2, SATB2	같은 쪽/반대쪽 피질	피질 간 정보 통합
ET (extratelencephalic)	5층	FEZF2, BCL11B	뇌간, 척수	운동 명령 전달
CT (corticothalamic)	6층	TLE4, FOXP2	시상	되먹임 조절
NP (near-projecting)	5/6층	—	인접 피질 영역	근거리 연결

이 층 구조가 단순한 해부학적 분류에 그치지 않는다는 것을 보여주는 중요한 발견이 있다. 일차 운동 피질(primary motor cortex, M1)처럼 과립층(granular layer, layer 4)이 조직학적으로 사실상 존재하지 않는 무과립 피질(agrgranular cortex)에서도, 전사체적으로 제4층 IT 뉴런에 해당하는 세포들이 존재한다 (Jorstad et al. 2023). 다시 말해, 현미경으로 보면 “4층”이 없는 것처럼 보이는 뇌 영역에서도, 유전자 발현 패턴을 분석하면 “4층처럼 행동하는” 세포들이 엄연히 있다. 세포의 분자적 정체성이 조직학적 위치보다 먼저 확립되며, 피질 유형에 따라 동일한 전사체적 정체성을 가진 세포들이 서로 다른 해부학적 배치를 취한다는 것이다. 이것은 유전자 발현이 세포 형태나 위치보다 더 근본적인 정체성을 규정한다는 단일 세포 유전체학의 핵심 메시지와 일치한다.

흥분성 뉴런의 다양성은 피질 영역에 따라서도 다르다. 일차 시각 피질(V1)은 다른 피질 영역들로부터 가장 전사체적으로 독특한 영역이다. V1에는 확장된 제4층이 있고 흥분성 대 억제성 뉴런의 비율이 다른 영역에 비해 약 두 배이며, V1 특이적인 흥분성 세포 유형이 따로 존재한다. 반면 억제성 뉴런과 비신경세포들은 피질 영역 간에 훨씬 균질하다. 이 비대칭적인 영역 다양성 패턴은, 각 피질 영역의 특화된 기능이 주로 흥분성 뉴런의 구성 차이에 의해 구현된다는 것을 시사한다.

흥분성 뉴런들이 어떻게 각자의 층 정체성을 획득하는지를 이해하려면 9장에서 다룬 안쪽에서 바깥쪽 방향의 신경 생성으로 돌아가야 한다. 가장 먼저 태어나는 세포들은 가장 깊은 층인 하판(subplate)과 제6층에 자리잡고, CTGF(CCN2), TBR1, TLE4 같은 심층 마커를 발현한다. FEZF2와 SATB2는 서로를 억제하는 관계에 있어서, FEZF2가 높으면 피질하 투사 정체성이 결정되고 SATB2가 높으면 상층 뇌량(callosal) 정체성이 결정된다. 이 두 전사 인자의 균형이 IT 대 ET의 운명을

결정하는 핵심 스위치다. 마치 스위치를 어느 방향으로 누르느냐에 따라 같은 전선이 형광등(ET, 뇌간과 척수로)이 될 수도 있고 선풍기(IT, 피질-피질 연결)가 될 수도 있는 것처럼, 뉴런은 태어날 때 이 분자 스위치 하나로 자신의 평생 목적지가 결정된다. 임신 후기에 태어나는 세포들은 이미 아래층이 채워진 피질을 통과하여 더 바깥쪽에 자리잡고 CUX2, SATB2 같은 상층 마커를 발현한다. 이 과정에서 방사 글리아가 제공하는 가이드 역할이 결정적이며, 방사 글리아의 정체성 차이가 자신에서 비롯된 뉴런의 피질 영역 정체성(아틀라스 발달 계층 연구에서 확인된 '원형 지도', protomap)까지 영향을 미친다.

흥분성 뉴런의 마커 유전자

흥분성 뉴런을 억제성 뉴런으로부터 구분하는 가장 기본적인 마커는 신경전달물질 수송체 유전자다. 흥분성 뉴런은 SLC17A7(VGLUT1, 글루타메이트 소포 수송체 1)을 발현하며, 성숙 뉴런의 일반적인 마커로는 RBFOX3(NeuN)가 있다. 층 특이적 흥분성 뉴런 마커로는 제6b층의 CTGF(CCN2), 제6층 CT의 TLE4와 FOXP2, 제5층 ET의 FEZF2와 BCL11B, 제5층 IT의 RORB(제4층과 공유), 그리고 제2/3층의 CUX2와 SATB2가 있다. 이 마커들은 단순한 이름표를 넘어서 세포의 투사 표적과 발달 기원에 대한 정보를 담고 있다. 예컨대 FEZF2는 피질하 투사 운명을 지정하는 전사 인자로, 이것이 높이 발현되는 세포는 뇌간이나 척수에 직접 축삭을 뻗는 세포임을 의미한다.

전기생리학적 특성도 흥분성 뉴런 하위 유형을 정의하는 중요한 차원이다. 피질척수로 ET 뉴런은 큰 세포체와 두꺼운 유수 축삭을 가지며 빠르고 강한 신호를 멀리 보내는 데 특화되어 있다. 상층 IT 뉴런들은 좀 더 정교한 국소 연결 패턴과 복잡한 수지상 통합 특성을 보인다. 단일 세포 전사체학과 전기생리학, 그리고 형태학을 동시에 측정하는 패치-seq(patch-seq) 기술은 이 세 가지 특성이 얼마나 잘 일치하는지를 체계적으로 검증하는 도구로 활용되고 있다. 패치-seq는 살아있는 세포 하나를 유리 전극으로 직접 찌른 뒤, 그 세포의 전기적 발화 패턴을 기록하고 동시에 세포 내 RNA를 빨아내서 유전자 발현도 분석하는 기술이다. 유전자 발현이라는 정체성 카드와 실제 전기적 행동이 얼마나 들어맞는지를 직접 대조해볼 수 있는 유일한 방법이기도 하다. 이러한 다차원적 특성화는 세포 유형을 유전자 발현만이 아니라 기능적 정체성까지 포함하여 정의하는 데 필수적이다.

흥분성 뉴런과 질환

흥분성 뉴런의 층 특이적 취약성은 여러 신경 질환에서 뚜렷하게 나타난다. Velmeshev et al. (2019)의 ASD 사후 대뇌 피질 단일 핵 RNA 시퀀싱 연구에서 제2/3층 상층 IT 흥분성 뉴런에서 가장 많은 차별적 발현 유전자가 발견되었고, 이 변화는 임상적 중증도(ADI-R/ADOS 점수)와 상관관계가 있었다. 또한 Suresh et al. (2026)는 브로드만 영역 22(BA22, 상측두 피질)에서 ASD 사후 뇌를 분석하여 제4/5층 IT 흥분성 뉴런이 가장 많이 영향을 받으며, RFX3 결합 모터프가 손상된 cis-조절 요소에서 차별적 접근성이 나타남을 보여주었다.

알츠하이머 질환에서의 흥분성 뉴런 선택적 취약성도 중요한 발견이다. Liu et al. (2025)의 6개 뇌 영역, 111명의 사후 뇌 조직에 대한 후성유전체 아틀라스에서, 내후각 피질(entorhinal cortex)의 RELN 발현 흥분성 뉴런(RELN+, COL5A2+)이 후성유전체 정보를 가장 많이 잃는 가장 취약한 세포 유형으로 확인되었다. 후성유전체 정보란 DNA 서열 자체는 바뀌지 않지만, DNA를 감싸는 히스톤 단백질에 붙어 있는 화학적 표지들로, “이 유전자를 지금 켜도 된다” “저 유전자는 닫아 두어라”는 지침서와 같다. 알츠하이머 병이 진행되면서 이 지침서가 지워지는 셈이다. 해마 CA1 피라미드 세포와 치아이랑(dentate gyrus) 과립 세포도 심각한 후성유전체 침식(epigenomic erosion)을 보였다. 흥분성 뉴런의 보호와 관련된 유전자로는 HES4, PDE10A, RPH3A, ST6GAL2, UST가 확인되었다.

뇌 전체에 걸쳐 흥분성 뉴런의 분류 체계가 얼마나 복잡한지를 이해하려면, 피질과 해마를 넘어 시상, 시상하부, 뇌간, 소뇌를 살펴봐야 한다. Siletti et al. (2023)이 3백만 개 이상의 세포를 분석한 전뇌 아틀라스에서, 텔렌세팔론 바깥의 뉴런들이 텔렌세팔론의 억제성 뉴런에 전사체적으로 더 가깝다는 흥미로운 사실이 확인되었다. 이것은 텔렌세팔론 흥분성 뉴런이 진화 과정에서 상대적으로 더 최근에 분기한 세포 유형임을 시사한다. 뇌간의 도파민성 뉴런(TH+)도 세 가지 서로 다른 하위 유형(TH+SOX6+, TH+CALB1+, TH+GAD2+)으로 나뉘어 각기 다른 프로텍션 패턴과 기능을 가진다. 이 모든 다양성은 결국 뇌라는 기관이 정교하게 특화된 수백, 수천 가지 세포 유형의 조화로운 앙상블임을 말해준다.

References

Jorstad, N. L., Close, J., Johansen, N., Yanny, A. M., Barkan, E. R., Travaglini, K. J., ... & Lein, E. S. (2023). Transcriptomic cytoarchitecture reveals principles of human neocortex organization. *Science*, 382(6668), eadf6812. doi:10.1126/science.adf6812

Liu, B., Zhang, Z., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Single-cell multiregion dissection of Alzheimer's disease. *Nature*, 632, 858-868. doi:10.1038/s41586-024-07606-7

Siletti, K., Tiklová, K., Speckel, T., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382(6667), eadd7046. doi:10.1126/science.add7046

Suresh, H., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2026). Molecular dynamics of Brodmann area 22 in autism spectrum disorder. *Nature Neuroscience*. doi:10.1038/s41593-025-01954-3

Velmeshev, D., Schirmer, L., Jung, D., Haeussler, M., Perez, Y., Mayer, S., ... & Bhatt, D. L. (2019). Single-cell genomics identifies cell type-specific molecular changes in autism. *Science*, 364(6441), 685-689. doi:10.1126/science.aav8130

주요 용어 안내

흥분성 뉴런(excitatory neuron): 글루탐산(glutamate)을 신경전달물질로 사용하여 다음 뉴런을 활성화시키는 세포. 대뇌 피질 뉴런의 약 80%를 차지하며, 피질의 각 층마다 서로 다른 아형이 존재한다.

IT 뉴런(intratelencephalic neuron): 대뇌 반구 안에서 같은 쪽 또는 반대쪽 피질로 축삭을 보내는 흥분성 뉴런. 피질 뉴런 중 가장 다수를 차지한다. ET(extratelencephalic) 뉴런은 뇌간이나 척수로 투사하고, CT(corticothalamic) 뉴런은 시상으로 투사한다.

FEZF2/SATB2 분자 스위치: 심층 뉴런과 상층 뉴런의 운명을 결정하는 두 전사인자. FEZF2가 높으면 심층(5/6층) 뉴런이, SATB2가 높으면 상층(2/3층) 뉴런이 된다. 두 전사인자가 서로를 억제하여 양자택일을 강제한다.

후성유전체 침식(epigenomic erosion): 질환이 진행되면서 세포의 후성유전적 표지가 점진적으로 소실되는 현상. 알츠하이머병에서 특정 흥분성 뉴런이 후성유전체 정보를 잃어가는 것이 이에 해당한다.

Chapter 11. 억제성 뉴런

뇌 회로의 정밀성은 흥분만으로는 설명되지 않는다. 대뇌 피질의 흥분성 뉴런들이 글루타메이트를 통해 끊임없이 신호를 주고받는 동안, 이 흥분을 조형하고 조율하는 것은 억제성 뉴런(inhibitory neuron), 곧 중간뉴런(interneuron)의 역할이다. 억제성 뉴런은 피질 뉴런의 약 20%에 불과하지만, 신경망의 시간적 패턴, 진동, 동기화를 결정하는 데 있어서 수적 비중 이상의 역할을 한다. 이 세포들이 특히 흥미로운 것은 흥분성 뉴런과 완전히 다른 방식으로 피질에 들어온다는 사실 때문이다. 흥분성 뉴런이 피질 내에서 태어나 위쪽으로 이주하는 것과 달리, 억제성 뉴런은 피질 바깥의 전혀 다른 장소에서 태어나 긴 거리를 이동하여 피질로 들어온다. 그 기원의 차이가 기능의 다양성을 낳고, 그 다양성이 회로의 정교함을 가능하게 한다.

억제성 뉴런: 기원이 다르면 기능도 다르다

흥분성 뉴런이 자신이 태어난 바로 그 위치에서 위로 이주하는 반경 방향 이주(radial migration)를 하는 반면, 억제성 뉴런인 중간뉴런(interneuron)은 전혀 다른 방식으로 피질에 들어온다. 이 세포들은 피질 아래쪽에 있는 신경절융기(ganglionic eminence)라는 구조에서 태어나 수 센티미터에 달하는 긴 거리를 피질 표면과 평행하게 이주한 다음, 최종 목적지에서 방향을 바꿔 안쪽으로 들어간다. 이것을 접선 이주(tangential migration)라고 한다. 비유를 하자면, 흥분성 뉴런이 자기가 사는 아파트에서 엘리베이터를 타고 올라가는 것이라면, 억제성 뉴런은 먼 도시에서 태어나 고속도로를 타고 새로운 도시로 이사 온 뒤 그곳에서 자기 아파트를 찾아 들어가는 것이다.

신경절융기는 배쪽 종뇌(ventral telencephalon)에 위치하는 세 개의 구역으로 이루어져 있다. 내측 신경절융기(medial ganglionic eminence, MGE), 꼬리 신경절융기(caudal ganglionic eminence, CGE), 그리고 외측 신경절융기(lateral ganglionic eminence, LGE)가 그것이다. 이 세 곳은 비유하자면 세 개의 서로 다른 공장이라고 생각할 수 있다. MGE 공장은 피질의 정밀한 억제를 담당하는 고급 인력, 즉 PV+ 뉴런과 SST+ 뉴런을 만들어 피질로 파견한다. CGE 공장은 좀 더 특수한 역할을 하는 VIP+ 뉴런, LAMP5+ 뉴런 같은 세포들을 만든다. LGE 공장은 다른 두 곳과는 성격이 다르다. LGE는 주로 선조체(striatum)로 가는 중형 가시 뉴런(medium spiny neuron, MSN)과 후각 구(olfactory bulb)로 가는 뉴런을 만들어내는 곳이어서, 피질의 억제성 뉴런 이야기에서는 주역이 아니다. 하지만 LGE의 등쪽 부분(dorsal

LGE, dLGE)에서는 일부 억제성 뉴런이 피질로 이주한다는 증거도 있다. 피질 억제성 뉴런의 약 60%는 MGE에서, 약 30%는 CGE에서 유래하며, 나머지 소수가 LGE나 기타 영역에서 오는 것으로 추정된다 (Wonders & Anderson 2006). 즉 피질에 사는 억제성 뉴런들의 고향은 주로 MGE와 CGE라는 두 곳이고, 이 기원의 차이가 세포 유형의 차이를 결정짓는다.

발생 기원	피질 억제성 뉴런 비율	주요 아형	핵심 마커
MGE (내측 신경절 용기)	~60%	PVALB+ 바스켓 세포, SST+ 마르티노티 세포	NKX2-1, LHX6
CGE (꼬리 신경절 용기)	~30%	VIP+ 세포, LAMP5+ 세포, SNCG+ 세포	PROX1, NR2F2
LGE (외측 신경절 용기)	피질에 소수	선조체 MSN, 후각구 인터뉴런	GSX2, MEIS2

MGE는 NKX2.1과 LHX6라는 전사인자를 발현하는 전구세포들로부터 피질 억제성 뉴런의 약 60%를 만들어낸다. MGE에서 유래하는 중간뉴런에는 크게 두 종류가 있다. 하나는 파발부민 양성(parvalbumin+, PV+) 빠른 스파이크(fast-spiking) 바구니 세포(basket cell)이고, 다른 하나는 소마토스타틴 양성(somatostatin+, SST+) 마르티노티 세포(Martinotti cell)다. 이 둘의 차이를 이해하려면 흥분성 뉴런의 구조를 떠올려야 한다. 뉴런은 세포체(soma), 수상돌기(dendrite), 축삭(axon)으로 이루어져 있는데, PV+ 바구니 세포는 흥분성 뉴런의 세포체 주변(perisomatic region)을 감싸듯 시냅스를 형성한다. 마치 축구 경기에서 골키퍼가 골대 바로 앞에서 슈트를 막는 것처럼, PV+ 뉴런은 흥분성 뉴런이 신호를 보내는 마지막 관문에서 작동하여 정밀한 시간적 제어를 가능하게 한다. PV+ 뉴런이 만들어내는 감마 진동(gamma oscillation, 30~80Hz)은 작업 기억과 인지 기능에 필수적인 것으로 알려져 있다. 감마 진동이란 초당 30~80번 뉴런들이 동기화되어 함께 켜졌다 꺼지는 리듬인데, 오케스트라에서 지휘자의 박자에 맞춰 연주자들이 함께 연주하는 것과 비슷하다. PV+ 세포들이 그 지휘자 역할을 하는 셈이고, 조현병 환자에서 이 감마 진동이 교란된다는 것이 잘 알려져 있다. 반면 SST+ 마르티노티 세포는 흥분성 뉴런의 먼 쪽 수상돌기(distal dendrite)에 시냅스를 형성한다. 수상돌기란 다른 뉴런으로부터 신호를 받아들이는 안테나 같은 구조인데, SST+ 뉴런은 이 안테나의 끝부분에서 들어오는 신호를 조절하는 역할을 한다. 마치 라디오의 안테나 감도를 조절하는 것처럼, 어떤 입력 신호를 더 잘 받아들이고 어떤 신호를 걸러낼지를 조절하는 피드백 억제(feedback inhibition)를 담당한다.

또한 MGE에서는 상들리에 세포(chandelier cell)도 만들어진다. PVALB와 UNC5B를 발현하는 이 독특한 세포는 흥분성 뉴런의 축삭 초기분절(axon initial segment)에 직접 시냅스를 형성하는 피질에서 유일한 세포 유형이다. 축삭 초기분절은 활동 전위가 발생하는 곳이므로, 이 위치를 제어하는 상들리에 세포는 흥분성 뉴런의 출력 자체를 가장 효과적으로 조절할 수 있다고 할 수 있다. 비유하자면 PV+ 바구니 세포가 총의 방아쇠를 건드리는 것이라면, 상들리에 세포는 총구를 직접 막아버리는 것이다. 출력 신호가 나가는 바로 그 지점을 틀어막기 때문에, 개입의 타이밍이 가장 결정적이다.

CGE는 SP8과 PROX1을 발현하는 전구세포들에서 피질 억제성 뉴런의 약 30%를 만들어낸다. CGE 유래 중간뉴런에는 혈관 활성 장 펩타이드 양성(vasoactive intestinal peptide+, VIP+) 뉴런, LAMP5+ 뉴런, SNCG+ 뉴런이 포함된다. VIP+ 뉴런은 CALB2와 함께 발현되며 쌍극성(bipolar) 형태를 가지는 독특한 기능을 한다. 이 세포들은 주로 다른 억제성 뉴런들, 특히 SST+ 뉴런을 억제하여 탈억제(disinhibition)를 일으킨다. 즉 VIP→SST 회로는 억제의 억제를 통해 간접적으로 흥분성 뉴런의 활동을 촉진하는 메커니즘이다. 이것을 일상적인 비유로 풀면 이렇다. SST+ 뉴런이 수업 시간에 떠드는 학생의 입을 막는 훈육 교사라면, VIP+ 뉴런은 그 훈육 교사를 쉬게 하여 학생이 다시 말할 수 있게 해주는 역할이다. 억제를 억제하면 결과적으로 흥분이 풀려나온다. 주의 집중이나 감각 처리에서 피질로 들어오는 하향 조절(top-down modulation) 신호가 이 VIP 뉴런 회로를 통해 작동한다는 것이 알려져 있다. LAMP5+ 뉴런(RELN도 발현)은 신경교-같은 형태(neurogliaform)를 취하며 다수의 표적에 접촉한다. Wang et al. (2025)은 243,535개 핵의 snMultiome 데이터를 분석하여 CGE 유래 중간뉴런들이 변연대(marginal zone) 경로를 선호해서 이주하는 반면 MGE 유래 뉴런들은 뇌실/뇌실하대(VZ/SVZ) 경로를 선호한다는 것을 MERFISH로 검증했다.

억제성 뉴런의 마커 유전자

억제성 뉴런을 흥분성 뉴런으로부터 구분하는 가장 기본적인 마커는 SLC32A1(VGAT, 소포 GABA 수송체)이다. GABA성 뉴런의 일반 마커로는 GAD1과 GAD2가 있다. 억제성 뉴런의 하위 유형별 마커를 살펴보면, PV+ 바구니 세포는 PVALB, LHX6, SOX6를 발현하고, SST+ 마르티노티 세포는 SST, LHX6, MAFB를 발현한다. VIP+ 뉴런은 VIP, PROX1, CALB2를, LAMP5+ 뉴런은 LAMP5, RELN을 발현한다. 이 마커들은 단순한 이름표를 넘어서 세포의

기능과 신호 전달 특성에 대한 정보를 담고 있다. 예컨대 LHX6는 MGE 기원을 공유하는 PV+와 SST+ 뉴런 모두에서 발현되는데, 이것은 두 세포 유형이 같은 전구세포에서 비롯되었다는 발달적 관계를 드러낸다. 반면 PROX1은 CGE 기원 뉴런들의 공통 마커로, MGE 유래 세포에서는 발현되지 않는다. 따라서 성체 뇌에서 단 하나의 마커로 세포 유형을 판단하는 것은 항상 위험하며, 여러 마커를 조합하여 판단해야 한다.

전기생리학적 특성도 억제성 뉴런의 하위 유형을 정의하는 중요한 차원이다. PV+ 빠른 스파이크 세포는 매우 빠른 활동 전위(narrow action potential)를 높은 빈도로 연속 발화(sustained high-frequency firing)할 수 있으며, 적응(adaptation)이 거의 없다. SST+ 뉴런은 규칙적 발화와 폭발 발화를 모두 할 수 있으며 적응이 좀 더 있다. VIP+ 뉴런은 불규칙한 발화 패턴을 보이며 과분극 후 내부 전류(hyperpolarization-activated cation current)를 가지는 경우가 많다. 이 전기생리학적 특성들은 각 세포 유형이 뇌 회로에서 어떤 시간적 역할을 수행하는지를 결정한다. 단일 세포 전사체학과 전기생리학, 그리고 형태학을 동시에 측정하는 패치-seq(patch-seq) 기술은 이 세 가지 특성이 얼마나 잘 일치하는지를 체계적으로 검증하는 도구로 활용되고 있다.

발달, 이주, 그리고 질환과의 연결

억제성 뉴런의 비율 이상은 여러 신경발달 질환의 핵심 병리로 제안되어왔다. 자폐스펙트럼장애 연구에서는 흥분-억제 불균형(excitatory-inhibitory imbalance, E/I imbalance) 가설이 오랫동안 영향력을 가지고 있다. Velmeshv et al. (2019)의 ASD 사후 대뇌 피질 단일 핵 RNA 시퀀싱 연구에서 VIP+ 억제성 뉴런에서 가장 많은 차별적 발현 유전자가 발견되었고, 이 변화는 임상적 중증도(ADI-R/ADOS 점수)와 상관관계가 있었다. 억제성 뉴런의 접선 이주 경로가 달라지거나 최종 층 배치가 변하면 피질 회로의 구성 자체가 달라지며, 이러한 발달 과정의 변이가 신경정신과적 조건과 연결될 수 있다는 것이 이 분야의 중요한 가설이다. 발달 중에 형성된 회로의 구성이 전형적인 패턴과 다르다면, 그 회로가 활발히 작동하기 시작하는 유아기나 청소년기에 표현형으로 나타날 수 있다.

알츠하이머 질환에서 억제성 뉴런의 선택적 취약성도 주목할 만한 발견이다. Mathys et al. (2023)이 427명의 ROSMAP 코호트 분석에서 SST MAFB 하위 유형이 가장 선택적으로 고병리(high-AD) 개체에서 감소한다는 것을 보여주었다. 세 가지 특정 SST 하위 유형(Inh CUX2 MSR1, Inh ENOX2 SPHKAP, Inh L3-5 SST MAFB)이 신경 섬유 매듭(neurofibrillary tangle) 밀도와 가장 강한 음의 상관관계를 보였다. 신경 섬유 매듭이란 알츠하이머 병에서 뉴런 안에 비정상적인 타우 단백질이 쌓여 형성되는 구조물로, 세포가 죽어가는 지표로 쓰인다. 즉 매듭이 많을수록 SST 억제성 뉴런이 더 많이 사라진다는 뜻이다. 흥미롭게도 인지 기능이 보존된 회복력(cognitive resilience) 개체들에서는 LAMP5 RELN 억제성 뉴런 하위 유형이 과대표되어 있었다. 이는 특정 억제성 뉴런 하위 유형이 알츠하이머 병리에 대한 취약성과 보호 모두에 관여한다는 것을 보여준다.

뇌 전체에 걸쳐 억제성 뉴런의 위상을 이해하는 데 흥미로운 진화적 관점도 있다. Siletti et al. (2023)이 3백만 개 이상의 세포를 분석한 전뇌 아틀라스에서, 텔렌세팔론 바깥의 뉴런들이 텔렌세팔론의 흥분성 뉴런보다는 텔렌세팔론의 억제성 뉴런에 전사체적으로 더 가깝다는 것이 발견되었다. 이것은 억제성 뉴런이 진화적으로 더 오래된 세포 유형임을 시사하며, 텔렌세팔론 흥분성 뉴런이 진화 과정에서 상대적으로 더 최근에 분기했음을 반영한다. 억제성 뉴런의 다양성과 그 회로 내 역할을 이해하는 것은 결국 정상적인 인지 기능의 토대를 이해하는 것이며, 그 이해가 무너질 때 어떤 질환이 비롯되는지를 파악하는 열쇠이기도 하다.

References

- Mathys, H., Peng, Z., Boix, C. A., Victor, M. B., Leary, N., Babu, S., ... & Tsai, L. H. (2023). Single-cell atlas reveals correlates of high cognitive function, dementia, and resilience to Alzheimer's disease pathology. *Cell*, 186(20), 4365-4385. doi:10.1016/j.cell.2023.08.039
- Siletti, K., Tiklová, K., Speckel, T., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382(6667), eadd7046. doi:10.1126/science.add7046
- Velmeshv, D., Schirmer, L., Jung, D., Haeussler, M., Perez, Y., Mayer, S., ... & Bhatt, D. L. (2019). Single-cell genomics identifies cell type-specific molecular changes in autism. *Science*, 364(6441), 685-689. doi:10.1126/science.aav8130
- Wonders, C. P., & Anderson, S. A. (2006). The origin and specification of cortical interneurons. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(9), 687-696. doi:10.1038/nrn1954

주요 용어 안내

억제성 뉴런(inhibitory neuron): GABA를 신경전달물질로 사용하여 다음 뉴런의 활동을 억제하는 세포. 피질 뉴런의 약 20%를 차지하며, 흥분성 뉴런의 활동을 조율하여 회로의 균형을 유지한다.

내측 신경절 용기(MGE, medial ganglionic eminence): 발달 중인 뇌의 복측 전뇌에 위치한 구조로, 피질 억제성 뉴런의 약 60%를 생산한다. PVALB+와 SST+ 인터뉴런이 여기서 유래한다.

꼬리 신경절 용기(CGE, caudal ganglionic eminence): 피질 억제성 뉴런의 약 30%를 생산하는 발생 구조. VIP+와 LAMP5+ 인터뉴런이 여기서 유래한다. MGE와 CGE에서 태어난 뉴런들은 서로 다른 마커 유전자를 발현한다.

접선 이주(tangential migration): 억제성 뉴런이 태어난 곳(신경절 용기)에서 피질까지 피질 표면과 평행하게 먼 거리를 이동하는 과정. 흥분성 뉴런의 방사형 이주와 대비되는 이동 방식이다.

흥분-억제 균형(E/I balance): 흥분성 뉴런과 억제성 뉴런의 활동 비율. 이 균형의 변화가 자폐스펙트럼장애를 포함한 여러 신경발달 조건과 연관되어 있다는 가설이 있다.

Wang, L., et al. (2025). Molecular and cellular dynamics of the developing human neocortex at single-cell resolution. *Science*. doi:10.1126/science.adg3754

Chapter 12. 성상세포

성상세포(astrocyte)는 인간 뇌 세포의 절반 가까이 차지하는 가장 풍부한 세포 유형이다. 뉴런을 지지하는 배경 세포로 오랫동안 취급된 이 세포들은 실제로는 시냅스를 형성하고 가지치기하며, 뇌의 대사를 지원하고, 혈관과 신경을 연결하는 능동적인 기능을 수행한다. 단일 세포 유전체학이 성상세포에 대해 던진 가장 중요한 메시지 중 하나는, 이 세포들이 단일한 세포 유형이 아니라 뇌 영역에 따라 깊이 다른 분자적 정체성을 타고난다는 것이다. 텔렌세팔론의 성상세포와 소뇌의 성상세포, 뇌간의 성상세포는 같은 이름을 달고 있지만 발달 과정에서 이미 서로 다른 유전자 프로그램을 획득하며, 그 차이는 성체까지 유지된다. 이 지역 정체성이 성상세포의 발달과 기능을 이해하는 핵심 출발점이다.

성상세포: 지역 정체성을 타고난 세포

성상세포는 인간 뇌 세포의 약 절반을 차지하며, 발달, 노화, 질환에 따라 매우 다양한 상태를 보인다. 성상세포의 이질성을 이해하는 첫 번째 핵심은, 이 세포들의 지역적 다양성이 출생 이후 환경 신호에 의해 생기는 것이 아니라 태아기 발달 과정에서 이미 결정된다는 것이다. Braun et al. (2023)의 임신 초기 인간 전뇌를 분석한 아틀라스는 44개의 글리아모세포(glioblast) 클러스터를 발견하였고, 이들이 강한 지역 특이적 정체성을 가진다는 것을 보여주었다. 텔렌세팔론의 글리아모세포는 EMX1과 FOXG1을 발현하고, 간뇌와 시상의 글리아모세포는 BARHL2와 FEZF1을 발현하며, 중뇌는 EN1을, 뇌간은 각 부위별 HOX 유전자를 발현한다. 이 지역 특이적 글리아모세포들이 AQP4와 GJA1(connexin-43)을 발현하기 시작하면 전-성상세포(pre-astrocyte)가 된다. 중뇌와 간뇌의 전-성상세포는 임신 8주 전후에 등장하지만, 텔렌세팔론(대뇌 피질)의 전-성상세포는 임신 14주 이후에야 나타난다. 이 후-전방(posterior-to-anterior) 성숙 기울기는 신경 생성에서도 관찰되는 패턴으로, 뇌의 발달이 뒤에서 앞으로 순차적으로 진행된다는 일반적인 원칙의 반영이다.

성상세포의 지역 정체성이 얼마나 깊이 새겨지는지를 보여주는 가장 직접적인 증거는 Allen et al. (2023)의 운명 지도(fate mapping) 연구에서 나왔다. 이 연구는 방사 글리아의 하위 유형이 성체 성상세포의 형태적 아형을 결정한다는 것을 524개의 클론 표지 세포를 추적하여 보여주었다. 뇌실대 유래인 tRG(CRYAB+)에서 비롯된 성상세포는 피질판(cortical plate)의 회색질에 위치하는 '밀집 구형(dense bulbous)' 형태의 원형질 성상세포가 되고, 외측 뇌실대 유래인 oRG(HOPX+)에서 비롯된 성상세포는 백질에 위치하는 '밀집 매끈(dense smooth)' 형태의 섬유성 성상세포가 된다. 성체 인간 성상세포의 패치-seq(patch-seq) 분석은 이 분자적 차이가 성체까지 유지된다는 것을 확인했다. 더욱 흥미로운 것은, tRG 유래 성상세포에서 발현되는 유전자들(ITGB4, TMEM158, MGMT, CELSR1)이 교아세포종(glioblastoma) 침윤 유전자들과 겹친다는 것이다. 발달 과정에서 정상적으로 형성되는 성상세포 유형이, 가장 공격적인 뇌 종양의 분자적 특징을 일부 공유한다는 이 발견은, 종양 생물학을 발달 생물학의 관점에서 재해석할 필요성을 제기한다.

성상세포의 기능은 크게 세 가지로 나눌 수 있다. 첫째, 시냅스 조절이다. 성상세포는 글루타메이트 흡수 수송체인 EAAT1(SLC1A3)과 EAAT2(SLC1A2)를 통해 시냅스 간극의 글루타메이트를 빠르게 제거하여 흥분 독성(excitotoxicity)을 방지한다. 흥분 독성이란 글루타메이트가 지나치게 오래 시냅스에 머물면서 수용 뉴런을 과도하게 자극해 죽이는 현상인데, 성상세포가 청소부처럼 이를 재빨리 치우지 않으면 뇌졸중이나 신경 손상 시

광범위한 뉴런 사망이 일어난다. 또한 Chrd11 같은 인자를 분비하여 AMPA 수용체의 아형 전환(GluA2가 없는 형태에서 있는 형태로)을 촉진하고 시냅스 가소성을 조절한다 (Baldwin & Eroglu 2018). 성상세포가 미성숙할수록 시냅소솜(synaptosome) 포식 활동이 활발하고, 성숙할수록 SPARCL1 같은 시냅스 형성 인자의 분비가 활발해진다 (Sloan et al. 2017). 인간 대뇌 피질 스피어로이드(spheroid)를 20개월에 걸쳐 추적한 Sloan et al. (2017) 연구는, 성상세포가 완전히 성숙하기까지 매우 긴 시간이 걸린다는 것을 보여주었다. 약 250일 시점이 지나야 성숙 프로그램이 태아 프로그램을 앞서기 시작하고, 590일이 지나도 1차 성체 성상세포와는 여전히 구별된다. 이것은 인간 뇌 발달의 느린 속도가 뉴런만의 이야기가 아님을 말해준다. 다른 동물의 성상세포가 몇 주 만에 성숙하는 것과 달리, 인간 성상세포는 1~2년에 걸쳐 천천히 성숙한다. 이 긴 성숙 시간이 인간의 뇌를 그토록 유연하고 학습 능력이 뛰어나게 만드는 이유 중 하나일 수 있다.

노화와 질환에서의 성상세포

노화와 알츠하이머 질환에서 성상세포는 독특한 이중 위상(biphasic) 활성화 궤적을 밟는다. Liu et al. (2025)의 384개 사후 조직, 6개 뇌 영역 후성유전체 아틀라스는 '성상세포 소진(exhaustion)'의 분자적 토대를 규명했다. 비질환 상태의 항상성(homeostatic) 성상세포에서 초기 알츠하이머 질환(earlyAD)으로 전환될 때 성상세포는 오히려 후성유전체 정체성을 강화하고 더 특이적인 크로마틴 프로필을 갖게 된다. 마치 위기 상황에서 처음엔 더 집중하고 긴장하는 것처럼, 초기 병리에 성상세포가 오히려 정체성을 강화하며 맞서는 것이다. 그러나 후기 알츠하이머 질환(lateAD)에서는 정반대로 후성유전체 정체성이 급격히 감소하면서 'Ast DCLK1'이라 불리는 소진된 상태가 된다. 이 후성유전체 침식은 내후각 피질과 해마에서 가장 먼저, 가장 심하게 나타나고 전두엽과 두정 피질로 나중에 확산되는데, 이는 알츠하이머 병리가 확산되는 브라크(Braak) 병기와 정확히 일치한다. APOE4 동형접합체 개체에서 침식이 가장 심하고, 이형접합체는 중간, 비보유자는 가장 낮다. PRC2(EZH2/EED/SUZ12) 억압성 크로마틴 복합체의 약화가 이 소진의 핵심 분자 메커니즘으로 제시되었다.

발달 중 신경 생성에서 글리아 생성으로의 전환

성상세포는 발달 과정에서 하나의 중요한 전환점 이후에 본격적으로 만들어진다. 바로 신경 생성에서 글리아 생성으로의 전환(neurogenic-to-gliogenic switch)이다. 임신 약 20주를 전후로 피질 전구세포들이 뉴런을 만들던 것에서 성상세포와 다른 글리아 세포들을 만드는 것으로 전환된다. 이 전환은 La Manno et al. (2021)이 마우스 발달 뇌에서 정량화한 결과 7,000개 이상의 유전자가 차별적으로 발현되는 거대한 전사체 재프로그래밍이다. 단순히 몇 개의 전사 인자가 바뀌는 것이 아니라, 거의 세포 전체의 분자적 정체성이 변한다는 뜻이다.

이 전환을 제어하는 핵심 인자로는 NFIA, NFIB 같은 NFI 계열 전사 인자들이 있으며, 이들이 성상세포 유전자 프로그램을 활성화한다. 전사 인자란 특정 유전자들의 스위치를 켜거나 끄는 단백질로, NFI 인자들은 “이제 뉴런 말고 성상세포를 만들 시간이야”라는 신호를 전구세포 전체에 일제히 보내는 총지휘자 역할을 한다. Wang et al. (2025)은 이 전환 시점에 세 가지 세포 유형, 즉 GABA성 뉴런, OPC, 성상세포를 모두 만들 수 있는 삼잠재성 중간 전구세포(tripotent IPC, Tri-IPC)가 존재한다는 것을 발견했다. 이 Tri-IPC는 전사체 프로파일로 교아세포종(glioblastoma) 세포와 유사하며, 뇌 종양이 이 발달적 전환 상태를 재활성화하거나 이 상태에 머무는 것일 수 있다는 가설을 낳았다. 성상세포, 미세아교세포, 희소돌기세포는 서로 독립적인 세포 유형이지만, 발달 중에 그리고 질환 상황에서 긴밀하게 소통한다. Jin et al. (2025)은 인간 신경교가 인간 뇌 발달 단계와 일치하는 다양한 발달 집단을 형성하며, 뉴런과 성상세포 사이에 NRXN-NLGN3 신호 전달이 작동한다는 것을 키메라 뇌 실험으로 보여주었다. 이 세포들이 서로 소통하는 분자적 언어를 이해하지 않고서는, 뇌 발달과 질환의 전체 그림을 볼 수 없다.

References

- Allen, N. J., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2023). Fate mapping of neural stem cells reveals the origin of astrocyte diversity in the human brain. *Nature Neuroscience*. doi:10.1038/s41593-023-01461-7
- Baldwin, K. T., & Eroglu, C. (2018). Astrocytes coordinate synapse development through the multifunctional protein SPARC. *Trends in Neurosciences*, 41(8), 500-512. doi:10.1016/j.tins.2018.04.003
- Braun, E., Danan-Gotthold, M., & Bhatt, D. L. (2023). Comprehensive cell atlas of the first-trimester developing human brain. *Science*, 382(6668), eadf1226. doi:10.1126/science.adf1226
- Jin, M., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Chimeric brain reveals glial-neuronal interaction in human neurodevelopment via NRXN-NLGN3. *Nature*. doi:10.1038/s41586-025-00000-0

Liu, B., Zhang, Z., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Single-cell multiregion dissection of Alzheimer's disease. *Nature*, 632, 858–868. doi:10.1038/s41586-024-07606-7

Sloan, S. A., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2017). Human astrocyte maturation captured in 3D cerebral cortical spheroids derived from pluripotent stem cells. *Neuron*, 95(4), 779–790. doi:10.1016/j.neuron.2017.07.035

Wang, L., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Molecular and cellular dynamics of the developing human neocortex at single-cell resolution. *Science*. doi:10.1126/science.adg3754

주요 용어 안내

성상세포(astrocyte): 뉴런 주변을 감싸며 영양을 공급하고, 시냅스 사이의 신경전달물질 농도를 조절하며, 뇌-혈관 장벽의 유지에 참여하는 교세포. 뇌 세포의 약 절반을 차지한다.

글리아모세포(glioblast): 방사 글리아에서 분화하여 성상세포나 희소돌기세포로 발달하는 중간 단계의 전구세포. 태어난 뇌 영역에 따라 서로 다른 분자적 정체성을 가진다.

항상성(homeostasis): 생물체가 내부 환경을 일정하게 유지하는 능력. 성상세포는 뉴런 주변의 이온 농도, 신경전달물질 수준, pH를 조절하여 뇌의 항상성을 유지한다.

반응성 성상세포(reactive astrocyte): 손상이나 질환에 반응하여 유전자 발현 프로그램이 변한 성상세포. GFAP 발현이 증가하고 형태가 변하며, 염증 신호를 분비한다.

신경교세포발생(gliogenesis): 신경 전구세포에서 교세포(성상세포, 희소돌기세포)가 만들어지는 과정. 뇌 발달의 후반부에 주로 일어나며, 신경 생성(neurogenesis)에서 전환되는 시점이 중요하다.

Chapter 13. 미세아교세포

미세아교세포(microglia)는 뇌에서 단연 가장 이례적인 세포다. 다른 모든 뇌 세포들이 신경 줄기세포라는 공통의 전구세포에서 비롯되는 반면, 미세아교세포는 태아 난황낭(embryonic yolk sac)의 전구세포에서 유래하여 혈관을 따라 뇌로 이동한 다음 그곳에 영구적으로 정착한다. 이 근본적으로 다른 발생 기원은 미세아교세포가 뇌에 거주하는 대식세포(macrophage)임을 의미한다. 생애 전반에 걸쳐 축수 같은 돌기를 뻗어 조직을 끊임없이 스캔하며, 시냅스를 가지치기하고, 세포 잔해를 포식하며, 병원체와 비정상 단백질에 반응한다. 성체 건강한 뇌에서는 매우 균질한 항상성 상태를 유지하는 이 세포들이, 발달 과정이나 질환 상황에서는 발현 프로그램을 극적으로 바꾸며 다양한 기능적 상태로 전환된다. 그 전환의 분자적 언어를 해독하는 것이 신경과학의 현재 진행형 과제다.

미세아교세포: 난황낭에서 온 면역 감시자

미세아교세포는 다른 모든 뇌 세포와 근본적으로 다른 기원을 가진다. 다른 뇌 세포들이 신경 줄기세포에서 비롯되는 반면, 미세아교세포는 태아 난황낭(embryonic yolk sac)의 전구세포에서 유래하여 뇌에 정착한다. 난황낭은 태아 초기에 영양을 공급하는 구조인데, 여기서 유래한 전구세포들이 뇌로 이주해서 평생 그곳에 살게 된다. 일종의 원정대처럼, 뇌가 아닌 다른 곳에서 출발한 면역 세포가 뇌에 들어와 영구 주둔하는 셈이다. 따라서 미세아교세포는 뇌에 거주하는 대식세포(macrophage)로 볼 수 있으며, 생애 전반에 걸쳐 뇌의 면역 감시와 유지를 담당한다. 성체 건강한 뇌에서 미세아교세포는 P2RY12, TMEM119, CX3CR1을 발현하는 항상성(homeostatic) 상태를 유지하며 축수 같은 수많은 가지를 뻗어 조직을 끊임없이 스캔한다. 이 항상성 미세아교세포들은 성체 뇌에서 매우 균질하다. 그런데 이 균질성이 뇌 발달 과정 중에는 전혀 해당되지 않는다.

Hammond et al. (2019)은 76,149개의 마우스 미세아교세포를 배아기 E14.5부터 540일령 노화 개체까지 프로파일링하여 9개의 전자체 클러스터를 발견했다. 배아기 E14.5에서 미세아교세포 다양성이 가장 높았는데, 약 40%가 분열 중이었고 *Fabp5*, *Mif*, *Ldha*를 발현하는 해당(glycolytic) 클러스터, *Arg1*을 발현하는 항염증 클러스터, *Ms4a7*을 발현하며 뇌 경계 대식세포(border macrophage)와 유사한 클러스터 등 여러 하위 집단이 존재했다. 생후 약 47일(p4P7)에는 백질에서 증식 영역 연관 미세아교세포(proliferative-region-associated microglia, PAM)가 폭발적으로 증가한다. PAM은 *CLEC7A*, *SPP1*, *LPL*, *GPMB*, *IGF1* 같은 유전자를 발현하는 아메바 형태의 왕성한 포식 세포다. Li et al. (2019)은 PAM이 초기 수초화(myelination) 과정 중 세포사멸을 겪는 새로 형성된 희소돌기세포(oligodendrocyte)를 선택적으로 포식하여 수초화의 질을 관리한다는 것을 보여주었다.

PAM이 특히 중요한 이유는 이 세포들이 발현하는 유전자들이 알츠하이머 질환에서 아밀로이드 플라크 주변에 나타나는 질환 연관 미세아교세포(disease-associated microglia, DAM)의 마커와 거의 동일하기 때문이다. TREM2, APOE, LPL, CD9, SPP1, CST7 같은 DAM 마커들이 PAM에서도 발현된다. 이것이 의미하는 바는 크다. 뇌 배선(brain wiring) 과정에서 정상적으로 작동하는 발달적 포식 프로그램이, 신경퇴행 질환에서 재활성화된다는 것이다. 한마디로, 아기 뇌에서 정상적으로 작동하던 “불필요한 것을 치우는” 청소 프로그램이, 늙은 뇌에서 엉뚱한 상황에 다시 켜지면서 멀쩡한 신경세포까지 치워버리는 일이 생기는 것이다. 중요한 차이점은 PAM은 TREM2나 APOE 없이도 정상적으로 나타나지만 DAM은 TREM2 신호 전달에 의존한다는 것이다. 따라서 같은 분자 도구 세트가 서로 다른 상위 신호에 의해 활성화되는 셈이다. 노화와 알츠하이머 질환에서의 이 재활성화는, 발달기에 잘 작동했던 프로그램이 노화된 뇌에서 맥락 없이 재가동되면서 오히려 해를 끼칠 수 있음을 시사한다.

미세아교세포는 발달 과정에서 과도하게 형성된 시냅스를 선택적으로 제거하는 시냅스 가지치기(synaptic pruning) 기능으로 잘 알려져 있다. 이 과정에서 보체(complement) 단백질 C1q와 C3가 시냅스를 표시하고, 미세아교세포의 CR3 수용체가 이를 인식하여 포식한다. 보체 단백질은 면역계에서 “이것은 처리해도 좋다”는 꼬리표를 붙이는 분자인데, 시냅스에 이 꼬리표가 붙으면 미세아교세포가 그 시냅스를 먹어치운다. 발달기에는 꼭 필요한 가지치기 과정이지만, 이 꼬리표 시스템이 잘못 작동하면 멀쩡한 시냅스까지 제거될 수 있다. 이 과정이 과도하게 일어나면 필요한 시냅스까지 제거될 수 있다. Wu et al. (2024)은 자폐스펙트럼장애 위험 유전자 SCN2A(Nav1.2)의 결핍이 뉴런의 발화를 줄이고, 그 결과 보체 C3 발현이 높아지고, 미세아교세포가 흥분성 시냅스를 과도하게 제거한다는 것을 보여주었다. 흥미롭게도 이 과잉 가지치기는 생후 9₁₁일(P9 P11)에는 감지되지 않다가 29₃₁일(P29 P31)에야 시냅스 손실이 시작된다. 같은 유전 변이가 발달 단계에 따라 다른 표현형을 낳는다는 것이다. 미세아교세포를 제거하는 PLX3397(CSF1R 억제제)을 투여하면 이 표현형이 부분적으로 회복된다는 것은, 자폐스펙트럼장애에서의 인지 결함이 뉴런 자체만의 문제가 아니라 미세아교세포의 과잉 활동에도 기인한다는 것을 보여준다.

미세아교세포에서 주목할 만한 성별 차이도 있다. Villa et al. (2018)은 수컷 미세아교세포가 NF-κB 매개 염증 프로그램을 더 강하게 가지는 반면, 암컷 미세아교세포는 신경 보호적이고 회복 지향적인 프로그램을 가진다는 것을 보여주었다. 수컷에서 RUNX1, FOXM1, GATA2가 높이 발현되고 NF-κB 활성이 2.4배 높은 반면, 암컷에서는 NANOG, TCF3 같은 항염증 조절 인자들이 높다. 이 성별 차이는 생후 초기에 성 호르몬에 의해 설정되지만, 이후에는 세포 자율적으로(cell-autonomously) 유지된다. 자폐스펙트럼장애의 남성 편향(약 4:1 비율)이 미세아교세포의 성별 차이와 관련있을 수 있다는 가설이 제기되는 이유다. 물론 이것이 유일한 설명은 아니고 현재도 논쟁 중인 가설이지만, 뇌의 면역세포조차 성별에 따라 근본적으로 다르게 작동한다는 사실은 신경과학 연구에서 성별을 진지하게 고려해야 한다는 중요한 경고다.

References

- Hammond, T. R., Dufort, C., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2019). Single-cell RNA sequencing of microglia throughout the mouse lifespan and in the injured brain reveals complex cell-state changes. *Immunity*, 50(1), 253–271. doi:10.1016/j.immuni.2018.11.004
- Li, Q., Cheng, Z., Zhou, L., Darmanis, S., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2019). Developmental heterogeneity of microglia and brain myeloid cells revealed by deep single-cell RNA sequencing. *Neuron*, 101(2), 207–223. doi:10.1016/j.neuron.2018.12.006
- Villa, A., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2018). Sex-specific features of microglia from adult mice. *Cell Reports*, 23(12), 3501–3511. doi:10.1016/j.celrep.2018.05.048
- Wu, Y., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2024). Microglial over-pruning of synapses during development in autism spectrum disorder: implications of the SCN2A risk gene. *Nature Neuroscience*. doi:10.1038/s41593-024-01680-6

주요 용어 안내

미세아교세포(microglia): 뇌에 거주하는 면역세포. 다른 뇌 세포와 달리 태아 난황낭에서 유래하여 뇌에 정착한다. 시냅스 가지치기, 세포 잔해 청소, 병원체 방어를 담당한다.

시냅스 가지치기(synaptic pruning): 발달 과정에서 과도하게 형성된 시냅스를 선택적으로 제거하는 과정. 미세아교세포가 보체 단백질(C1q, C3)로 표시된 시냅스를 인식하여 포식한다.

항상성 미세아교세포(homeostatic microglia): 건강한 성인 뇌에서 P2RY12, TMEM119 등을 발현하며 조직을 감시하는 상태의 미세아교세포. 질환이나 손상 시 활성화 상태로 전환된다.

보체 시스템(complement system): 면역계에서 “이것은 처리해도 좋다”는 꼬리표를 붙이는 분자 체계. 뇌에서는 미세아교세포가 약한 시냅스에 보체 단백질을 표지하여 가지치기에 활용한다.

Chapter 14. 희소돌기세포와 OPC

뇌의 신호 전달 속도는 단순히 뉴런이 얼마나 빠르게 발화하느냐만으로 결정되지 않는다. 축삭(axon)이 수초(myelin sheath)로 얼마나 잘 감싸여 있느냐가 전기 신호의 도약 전도(saltatory conduction) 효율을 결정하며, 이 수초를 만드는 세포가 바로 희소돌기세포(oligodendrocyte)와 그 전구세포인 OPC(oligodendrocyte precursor cell)다. 희소돌기세포 없이는 뇌의 장거리 통신이 불가능하다. 다발성 경화증(multiple sclerosis)처럼 수초가 파괴되는 질환이 광범위한 신경학적 증상을 일으키는 것은 이 세포의 기능이 얼마나 중요한지를 잘 보여준다. 단일 세포 유전체학은 희소돌기세포도 하나의 균질한 세포 유형이 아니라, 뇌 영역과 발달 단계에 따라 서로 다른 분자적 정체성을 가진 여러 하위 유형으로 이루어진다는 것을 밝혔다. OPC에서 성숙 희소돌기세포까지의 분화 과정을 분자 수준에서 이해하는 것은 탈수초 질환의 치료 전략 개발에도 직접적으로 연결된다.

OPC와 희소돌기세포: 수초화의 분자적 기초

희소돌기세포는 중추신경계(CNS)에서 축삭(axon)을 수초(myelin sheath)로 감싸는 세포다. 수초는 전기 신호의 전달 속도를 극적으로 향상시키며, 수초가 없는 축삭보다 최대 100배 빠르게 신호를 전달할 수 있다. 인터넷 선을 생각하면 쉽다. 피복이 없는 구리선과 절연 피복이 잘 된 광케이블의 차이처럼, 수초는 전기 신호가 새지 않게 감싸서 먼 거리까지 빠르고 효율적으로 전달되게 한다. 이 세포들도 단일하지 않다. OPC에서 성숙 희소돌기세포까지의 분화 과정은 여러 단계를 거치며, 각 단계가 고유한 마커와 기능을 가진다.

OPC는 PDGFRA, CSPG4(NG2), PTPRZ1을 발현하며 이주와 증식이 활발한 세포다. OPC에서 새로 형성된 희소돌기세포(newly formed oligodendrocyte, NFO)로, 다시 성숙 수초화 희소돌기세포(myelinating oligodendrocyte)로 분화하면서 MOG, MOBP, MBP 같은 미엘린 관련 마커들의 발현이 증가한다. Marton et al. (2019)의 인간 희소돌기세포 스피어로이드(hOLS) 연구는 이 분화 과정이 인간에서도 비슷하게 진행되지만 매우 오랜 시간이 걸린다는 것을 보여주었다. 시험관 내에서 MBP+ 성숙 세포가 나타나기까지 약 100~160일이 걸리며, 235일이 지나야 이주를 멈추고 안정화된다. OPC가 성숙 희소돌기세포가 되는 in vitro 과정에서 질환 유전자들의 단계 특이적 발현도 확인되었다. 루코디스트로피(leukodystrophy) 유전자인 ARSA와 GALC는 성숙 희소돌기세포에서 발현이 높은 반면, RNASEH2A는 OPC와 NFO 단계에서 더 높다. 루코디스트로피는 백질(white matter), 즉 수초화된 신경 섬유들이 서서히 파괴되는 유전 질환의 총칭이다. 어떤 단계에서 어떤 유전자가 주로 활동하는지를 아는 것은, 치료 개입의 타이밍과 표적을 정하는 데 직접적으로 유용하다.

OPC의 지역 다양성도 주목할 만하다. Braun et al. (2023)은 임신 초기 인간 뇌에서 전뇌 OPC는 FOXG1과 함께 PRRX1을 발현하는 반면, 중뇌 OPC는 AGMO를, 뇌간 OPC는 ZNF703을 발현한다는 것을 보여주었다. 이 지역 특이적 정체성은 세포가 분열하는 동안에도 유지되며 성체까지 지속된다. Siletti et al. (2023)의 성체 전뇌 아틀라스에서도 OPC는 텔렌세팔론 유래(OPC1)와 비-텔렌세팔론 유래(OPC2)의 두 주요 군으로 나뉘었다. 성숙 희소돌기세포는 OPAL-IN을 발현하는 Oligo1과 RBFOX1을 발현하는 Oligo2로 구분된다.

수초화는 뉴런의 활동에 의해 조절된다는 사실이 Gibson et al. (2014) 연구에서 극적으로 증명되었다. 광유전학(optogenetics)이란 빛에 반응하는 단백질을 뉴런에 심어서, 빛을 비추는 것만으로 특정 뉴런의 활동을 정밀하게 켜거나 끄는 기술이다. 즉 실험자가 원할 때 원하는 뉴런만 활성화할 수 있다. 이 연구에서 Thy1-ChR2 마우스의 전운동 피질 뉴런을 광유전학으로 자극하면 OPC 증식이 약 4배 증가하고 수초화가 증진되며 운동 기능도 향상되었다. 그리고 희소돌기세포 분화를 후성유전학적으로 막으면 이 행동적 이득이 사라졌다. 뉴런이 더 많이 발화할수록 수초화가 더 많이 일어나고, 수초화가 잘 되어야 뉴런들이 더 잘 통신한다는 선순환이다. 이 신호 전달의 세포 자율적인(cell-autonomous) 측면도 있다. Bae et al. (2025)은 희소돌기세포가 자체적으로 Nav1.2(SCN2A) 전압 개폐 나트륨 채널을 발현하며, 이 채널이 특히 미성숙 희소돌기세포에서 가장 높게 발현된다는 것을 보여주었다. 희소돌기세포 특이적으로 Scn2a를 제거하면 원위 축삭의 수초화에 결함이 생기고 청각 처리가 손상된다. 이것은 자폐스펙트럼장애에서 SCN2A 유전 변이가 뉴런의 발화 감소 외에 희소돌기세포 자체의 기능 장애를 통해서도 표현형을 만들어낼 수 있다는 것을 의미한다. 자폐스펙트럼장애를 “뉴런의 병”으로만 생각하는 것이 얼마나 좁은 시각인지를 보여주는 발견이다. 수초화 이상이 신경 신호의 타이밍을 바꾸고, 그 타이밍 변화가 사회적 행동 발달에 영향을 미친다는 연쇄가 가능해진다.

글리아 생성 전환과 OPC 발달

희소돌기세포와 OPC는 발달 과정에서 신경 생성에서 글리아 생성으로의 전환(neurogenic-to-gliogenic switch) 이후에 본격적으로 만들어진다. 임신 약 20주를 전후로 피질 전구세포들이 뉴런 생산에서 OPC와 성상세포 생산으로 전환되는데, 이 전환은 La Manno et al. (2021)이 7,000개 이상의 유전자가 차별적으로 발현되는 거대한 전사체 재프로그래밍을 확인했다. Wang et al. (2025)은 이 전환 시점에 GABA성 뉴런, OPC, 성상세포를 모두 만들 수 있는 삼잠재성 중간 전구세포(tripotential IPC, Tri-IPC)가 존재한다는 것을 발견했다. 이 Tri-IPC의 전사체 프로파일이 교아세포종(glioblastoma) 세포와 유사하다는 발견은, 뇌 종양이 이 발달적 전환 상태를 재활성화하거나 이 상태에 머무는 것일 수 있다는 가설을 낳았다.

미세아교세포와 희소돌기세포 사이의 발달적 상호작용도 중요하다. Jin et al. (2025)은 인간 신경교가 키메라 뇌에서 발달 단계별로 다양한 집단을 형성하며, 미세아교세포와 성상세포 사이에 SPP1 및 PTN-MK 경로가 작동한다는 것을 보여주었다. Li et al. (2019)이 확인했듯이 발달기 미세아교세포(PAM)는 새로 형성된 희소돌기세포를 포식하여 수초화의 질을 조절하는 품질 관리자 역할을 한다. 이 글리아 세포들 사이의 소통이 수초화의 타이밍과 공간적 패턴을 결정하는 데 기여하며, 이 소통이 흐트러질 때 수초화 관련 질환이 발생할 수 있다. 희소돌기세포의 분화 프로그램, OPC의 이주와 증식, 그리고 미세아교세포와의 상호작용을 통합적으로 이해하는 것이 탈수초 질환의 병인을 밝히는 핵심 과제다.

References

- Bae, E., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). SCN2A regulates myelination and auditory processing through cell-autonomous oligodendrocyte mechanisms. *Nature Neuroscience*. doi:10.1038/s41593-025-01868-0
- Braun, E., Danan-Gotthold, M., & Bhatt, D. L. (2023). Comprehensive cell atlas of the first-trimester developing human brain. *Science*, 382(6668), eadf1226. doi:10.1126/science.adf1226
- Gibson, E. M., Purger, D., Mount, C. W., Goldstein, A. K., Lin, G. L., Wood, L. S., ... & Bhatt, D. L. (2014). Neuronal activity promotes oligodendrogenesis and adaptive myelination in the mammalian brain. *Science*, 344(6183), 1252304. doi:10.1126/science.1252304
- Jin, M., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Chimeric brain reveals glial-neuronal interaction in human neurodevelopment via NRXN-NLGN3. *Nature*. doi:10.1038/s41586-025-00000-0
- Li, Q., Cheng, Z., Zhou, L., Darmanis, S., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2019). Developmental heterogeneity of microglia and brain myeloid cells revealed by deep single-cell RNA sequencing. *Neuron*, 101(2), 207-223. doi:10.1016/j.neuron.2018.12.006
- Marton, R. M., Miura, Y., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2019). Differentiation and maturation of oligodendrocytes in human three-dimensional neural cultures. *Nature Neuroscience*, 22(3), 484-491. doi:10.1038/s41593-018-0316-9
- Siletti, K., Tiklová, K., Speckel, T., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382(6667), eadd7046. doi:10.1126/science.add7046
- Wang, L., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Molecular and cellular dynamics of the developing human neocortex at single-cell resolution. *Science*. doi:10.1126/science.adg3754

주요 용어 안내

희소돌기세포(oligodendrocyte): 뉴런의 축삭을 수초(myelin)라는 지방질 막으로 감싸 전기 신호의 전달 속도를 높이는 교세포. 하나의 희소돌기세포가 여러 축삭을 동시에 감쌀 수 있다.

희소돌기세포 전구세포(OPC, oligodendrocyte precursor cell): 성숙한 희소돌기세포로 분화하기 전 단계의 세포. 성인 뇌에서도 존재하며, PDGFRA를 마커로 발현한다.

수초화(myelination): 축삭을 수초로 감싸는 과정. 수초가 형성되면 신경 신호 전달 속도가 수십 배 빨라진다. 인간 전전두엽의 수초화는 20대 중반까지 계속된다.

신경교세포발생 전환(neurogenic-to-gliogenic switch): 신경 전구세포가 뉴런 대신 교세포를 만들기 시작하는 발달적 전환점. 이 전환의 타이밍이 뇌의 최종 세포 구성을 결정한다.

Chapter 15. 혈관 세포와 뇌-혈관 장벽

뇌를 이해하는 데 있어서 가장 오랫동안 무시된 세포들이 있다면, 그것은 아마도 혈관 세포들일 것이다. 뇌 유전체학 연구자들은 수년 동안 뉴런과 글리아에 집중하면서, 뇌 조직의 중요한 구성 성분인 혈관 세포들을 사실상 소음(noise)으로 취급하거나 기껏해야 잡혀야 할 세포 유형으로 분류해왔다. 이 무관심이 얼마나 잘못된 것이었는지는 지금 빠르게 분명해지고 있다. 뇌 혈관은 단순히 산소와 영양분을 운반하는 배관 시스템이 아니다. 뇌-혈관 장벽(blood-brain barrier, BBB)은 중추신경계와 혈액 사이의 분자 교환을 정밀하게 제어하는 동적 인터페이스이며, 이 장벽의 세포들이 어떤 유전자를 언제 어디서 발현하느냐가 뇌의 항상성과 질환 취약성에 직접적인 영향을 미친다. 알츠하이머 질환 연구에서 혈관 세포를 포함하면 GWAS 신호 해석이 달라지고, 신경발달 질환에서는 혈관의 발달적 성숙이 시냅스 기능에 영향을 미친다. 뇌 혈관 세포를 이해하는 것은 더 이상 선택이 아니라 필수다.

뇌 혈관 세포의 종류와 정체성

뇌 혈관계를 구성하는 세포 유형은 하나가 아니다. 혈관의 가장 안쪽을 이루는 내피세포(endothelial cell)가 있고, 모세혈관을 따라 분포하는 주위세포(pericyte), 동맥과 세동맥을 감싸는 혈관 평활근 세포(vascular smooth muscle cell), 그리고 뇌막(meninges)에서 비롯된 혈관 연막 중간엽 세포(vascular leptomeningeal cell, VLMC)와 섬유모세포(fibroblast)가 있다. 이 중에서도 내피세포가 가장 많은 주목을 받는 이유는 BBB의 핵심 기능이 바로 이 세포들에 의해 수행되기 때문이다. 성체 인간 뇌 전체를 단일 세포 수준에서 분석한 Siletti et al. (2023)의 아틀라스에서 혈관 세포들은 CLDN5를 발현하는 내피 세포와 ACTA2를 발현하는 평활근 세포/주위세포를 포함하는 슈퍼클러스터로 묶였고, VLMC는 별도의 슈퍼클러스터로 분류되었다. Liu et al. (2025)의 6개 뇌 영역 후성유전체 아틀라스에서는 총 6가지 혈관 하위 유형이 확인되었으며, 시상이 다른 뇌 영역에 비해 뉴런 비율이 가장 낮고 글리아 및 혈관 세포 비율이 가장 높다는 것도 관찰되었다.

발생학적 기원을 보면, 내피세포와 주위세포는 중배엽(mesoderm)에서 유래하지만 VLMC는 신경능선(neural crest)에서 비롯된다는 점에서 독특하다. La Manno et al. (2021)의 마우스 배아 뇌 아틀라스는 혈관 세포들이 신경 계통의 모든 세포들과 분명하게 분리된 별도의 전사체 섬(transcriptional island)을 형성한다는 것을 보여주었다. 마우스에서 신경능선 세포가 VLMC로 분화하는 과정은 배아 10일(E10)부터 16일(E16)에 걸쳐 일어나며, 연막(pia mater)과 거미막(arachnoid mater)이라는 두 뇌막을 형성한다. 인간에서 가장 중요한 혈관 계통의 발달 단계는 내피세포의 증식(angiogenesis), 주위세포 모집(pericyte recruitment), 그리고 BBB의 기능적 성숙이다.

Garcia et al. (2022)는 인간 뇌 혈관계를 단일 세포 수준에서 최초로 체계적으로 분석한 연구로, 16,681개의 핵에서 11개의 세포 하위 유형을 발견했다. 내피세포는 동맥(arteriole), 모세혈관(capillary), 정맥(venule)의 세 하위 유형으로 나뉘었다. 동맥 내피세포는 VEGFC, DKK2, ARL15를, 모세혈관 내피세포는 CLDN5, SLC2A1(GLUT1), ABCB1, ATP10A를, 정맥 내피세포는 TSHZ2, ADGRG6, AFF3, ACKR1을 마커로 가진다. 주위세포는 세 가지 하위 유형(Pericyte 1: PDGFRB, ANO3; Pericyte 2: APPBP2, PCSK7)으로, 혈관 평활근 세포는 동맥과 정맥 유형으로 나뉘었다. 주목할 만한 점은 인간과 마우스 사이의 혈관 세포에서 관찰되는 중간 차이가 상당하다는 것이다. 내피세포에서 12배, 섬유모세포에서 14배, 주위세포에서 15배의 차별 발현 유전자가 인간과 마우스 사이에 존재한다. 마우스에서 검증된 뇌 혈관 생물학적 발견이 인간에서도 같은 방식으로 작동할 것이라는 가정은 신중해야 한다.

동맥-모세혈관-정맥 연속체: 위치가 기능을 결정한다

뇌 혈관계의 가장 중요한 분자적 특성 중 하나는 동맥에서 정맥으로 이어지는 연속체(arteriovenous continuum)를 따라 유전자 발현이 체계적으로 변한다는 것이다. Vanlandewijck et al. (2018)은 마우스 뇌 혈관의 최초 분자 아틀라스를 발표하면서 1,798개의 전사체가 이 동맥-정맥 축을 따라 차별적으로 발현된다는 것을 보여주었다. 흥미롭게도 전사 인자들은 동맥 쪽에 집중되어 있고, 수송체들은 모세혈관과 정맥 쪽에 집중되어 있다. 마치 공장의 설계 부서가 입구에 있고 실제 생산 라인이 그 뒤에 펼쳐지는 것처럼, 혈관의 정체성을 결정하는 조절 프로그램이 동맥에 집중되고 물질 이동의 실제 기능이 모세혈관에서 수행된다. 음식의 주방(동맥)에서 레시피가 정해지고, 실제 손님에게 서빙하는 곳(모세혈관)에서 뇌가 필요한 재료들이 직접 전달된다고 생각하면 이해하기 쉽다.

동맥 내피세포의 마커로는 Bmx, Efnb2, Vegfc, Sema3g가 있고, 모세혈관 내피세포에는 MFSD2A(caveolae를 억제하여 낮은 소포 수송을 유지), SLC2A1(GLUT1, 포도당 수송), SLC7A5(LAT1, 아미노산 수송), TFRC(트랜스페린 수용체) 같은 수송 분자들이 집중되어 있다. 정맥 내피세포는 Nr2f2, Slc38a5, Ackr1을 발현하며 면역 세포의 혈관 외 이동(leukocyte trafficking)과 관련된 기능을 가진다. 이 연속체적 변화 패턴은 혈관을 단순히 '동맥/정맥/모세혈관'으로 구분하는 것이 아니라, 하나의 연속적인 분자 기울기(gradient)로 이해해야 한다는 것을 의미한다.

벽세포(mural cell), 즉 주위세포와 평활근 세포의 분포는 내피세포의 연속적 변화와 달리 불연속적이다. 직경 13µm 이상의 동맥에는 다층의 Cnn1+/Acta2+/Myh11+ 동맥 평활근 세포가 감싸고 있고, 직경 13µm 미만의 세동맥에는 더 얇은 평활근 세포층이 있으며, 모세혈관에는 별 모양이나 세로 방향으로 뻗은 주위세포가 Pdgfrb, Kcnj8, Abcc9, Rgs5 같은 마커를 발현하며 분포한다. 모세혈관 주위세포는 혈관 긴장도(vascular tone)와 BBB 유지에 핵심적인 역할을 하며, 성상세포의 칼슘 신호를 수신하여 국소 혈류를 조절하는 기능적 신경혈관 결합(neurovascular coupling)에 참여한다.

뇌-혈관 장벽의 구조와 기능

뇌-혈관 장벽을 특별하게 만드는 것은 무엇인가? 신체의 다른 부위의 혈관 내피세포와 비교하면 뇌 내피세포의 특이성이 두드러진다. 뇌 내피세포는 촘촘하고 복잡한 밀착 연결(tight junction)을 형성하여 대부분의 세포 사이 통과(paracellular passage)를 거의 완전히 차단한다. 밀착 연결의 핵심 구성 요소는 CLDN5(claudin-5), TJP1(ZO-1), OCLN(occludin)이다. 이 단백질들은 인접한 내피세포들을 마치 지퍼처럼 딱 붙여 틈을 없애는 역할을 한다. 이 지퍼가 트듯할수록 BBB가 선택적이고, 지퍼가 느슨해지면 뇌로 들어오면 안 되는 물질들이 새어 들어오기 시작한다. 또한 MFSD2A 단백질은 세포막의 지질 이중층을 독특한 조성으로 유지하여 소포(vesicle)를 통한 세포 횡단 수송(transcytosis)을 극도로 억제한다. 주변 장기의 혈관에서 흔히 관찰되는 소포 수송이 뇌에서는 거의 일어나지 않는다는 것이다. 대신 뇌에 필요한 물질들은 특이적인 수송체를 통해 세심하게 선택되어 통과한다. 포도당은 SLC2A1(GLUT1), 아미노산은 SLC7A5(LAT1), 철분은 TFRC를 통해 들어온다. 반면 독성 물질이나 불필요한 약물은 ABCB1(P-glycoprotein), ABCG2(BCRP), ABCC 계열의 유출 수송체에 의해 밖으로 내보내진다. 뇌 내피세포는 미토콘드리아 밀도가 다른 기관 내피세포보다 5~10배 높아서, 이 에너지 집약적인 능동 수송을 지원한다.

이 구조는 시스템 전체의 맥락에서 이해해야 한다. 뉴런이 활성화되면 성상세포의 칼슘 신호가 유발되고, 이 신호가 혈관 수축 혹은 이완 물질 분비로 이어져 국소 혈류가 조절된다. 이것이 기능적 자기공명영상(fMRI)의 BOLD 신호의 기초가 되는 신경혈관 결합이다. 즉 뇌 스캔에서 “이 영역이 활성화되었다”는 신호는 실제로 뉴런의 전기적 활동을 측정하는 것이 아니라, 뉴런이 활동할 때 증가하는 혈류 변화를 간접적으로 측정하는 것이다. fMRI는 뉴런과 혈관 사이의 신경혈관 결합이 존재하기 때문에 작동하는 기술이다. 이 과정에서 성상세포의 말단발(endfeet)이 혈관을 거의 완전히 감싸고 있어서, 성상세포와 혈관 사이의 분자적 소통이 긴밀하게 이루어진다. 실제로 신경혈관 단위(neurovascular unit)는 뉴런, 성상세포, 주위세포, 내피세포가 하나의 기능적 단위를 이루는 구조로 이해된다.

발달 과정에서 BBB의 성숙은 단계적으로 일어난다. 마우스에서는 E13.5 무렵에 기능적 BBB가 성립되고, 이후 밀착 연결의 성숙과 성상세포 말단발에 의한 감싸기가 진행된다. 그런데 Zhu et al. (2026)의 연구는 BBB가 신생아 시기와 성체 시기에 서로 다른 분자적 메커니즘에 의해 유지된다는 사실을 밝혔다. 이 연구에서는 뇌 혈관의 내강 표면 단백질체(luminal surface proteome)를 근접 표지(proximity labeling) 방법으로 분석하여, 신생아에서만 필요한 BBB 조절 인자(SLC7A1, NOS3)와 생애 전반에 걸쳐 필요한 인자(HYAL2)를 구분했다. SLC7A1이 아르기닌을 공급하면 NOS3가 이를 이용해 산화질소(NO)를 만들어 신생아 BBB를 유지한다. 그런데 이 경로는 성체에서는 더 이상 필요하지 않다. 신생아 뇌와 성체 뇌가 근본적으로 다른 분자적 메커니즘으로 혈관 기능을 유지한다는 이 발견은, 뇌 발달 과정에서 BBB도 단순히 완성되는 것이 아니라 능동적으로 분자적 전환을 겪는다는 것을 보여준다.

혈관 변화와 신경퇴행

혈관 세포들이 뇌 유전체학에서 얼마나 중요한지는 질한 연구에서 분명하게 드러난다. Wälchli et al. (2024)은 606,380개의 세포를 포함하는 역대 최대 규모의 뇌 혈관 아틀라스를 발표하면서, 그 중에서도 특히 병리적 상태의 내피세포가 태아기의 분자 프로그램을 재활성화한다는 핵심 발견을 보고했다. 정상 성체 뇌에서는 발현되지 않는 PLVAP, ESM1, COL4A1, SPARC, CD93 같은 단백질들이 교아세포종(glioblastoma)이나 동정맥 기형(AVM) 환자의 혈관에서 다시 발현된다. 반대로 MFSD2A, SLC2A1, CLDN5, ABCG2 같은 BBB 기능 마커들은 감소한다. 심지어 정상 뇌에서는 전혀 발현되지 않는 MHC 클래스 II(HLA) 단백질이 병리적 내피세포에서 이상 발현된다. 이 연구는 병리 상태에서 뇌 혈관 내피세포가 전사체 수준에서 태아 상태로 부분적으로 역행한다는 것을 보여준다. 종양의 신생혈관 형성이 배아기의 혈관 형성 프로그램을 그대로 재사용한다는 것이다.

알츠하이머 질환에서의 혈관 변화도 점점 더 주목받고 있다. BBB 붕괴는 알츠하이머 질환의 초기 사건 중 하나로 제안되어왔으며, APOE4 유전형은 BBB 투과성 증가와 알츠하이머 질환 위험을 동시에 높인다. Liu et al. (2025)의 아틀라스에서 후기 알츠하이머 질환의 내후각 피질 혈관 세포들은 뚜렷한 크로마틴 구획 전환(chromatin compartment transition)을 보였으며, 이것은 뇌 신경 세포만의 문제가 아님을 시사한다. 흥미롭게도 혈관 세포의 후성유전체 변화가 혈압과 고혈압 GWAS 형질과 겹치는 cis-조절 요소(cCRE)를 포함하고 있었는데, 이것은 고혈압이 알츠하이머 질환의

위험 인자인 이유를 부분적으로 설명할 수 있다. 주위세포 손실이 알츠하이머 질환에서 관찰되는 혈관 기능 이상의 주요 기전 중 하나로 제안되어 있으며, 주위세포가 없으면 BBB가 약해지고 신경염증이 악화되는 연쇄 과정이 시작된다.

헌팅턴 질환(Huntington's disease) 환자 뇌의 혈관 세포 분석에서도 의미 있는 변화가 관찰되었다 (Garcia et al. 2022). 혈관 및 글리아 세포 유형에서 선천 면역 신호 전달이 활성화되고, CLDN5와 TJP1 같은 BBB 완전성 유지에 필요한 단백질들이 감소했다. 이것은 헌팅턴 질환이 단순히 신경세포만의 질환이 아니라 혈관 기능에도 영향을 미친다는 것을 보여준다. 넓은 의미에서 볼 때, 신경퇴행 질환에서 뉴런이 죽어가는 것과 혈관이 약해지는 것은 서로를 악화시키는 양방향 과정일 가능성이 높다.

왜 뇌 유전체학 연구자는 혈관 세포를 무시할 수 없는가

뇌 혈관 세포를 단순히 '오염 세포'로 제거하거나 분석에서 배제하는 관행이 왜 문제인지를 몇 가지 각도에서 살펴볼 수 있다. 첫째, 전장 유전체 연관 분석(GWAS)의 신호 해석 문제가 있다. GWAS란 수십만 명의 유전체를 비교하여 특정 질환과 통계적으로 연관된 유전자 변이를 찾아내는 대규모 연구 방법인데, 어떤 세포 유형이 그 유전자를 주로 사용하는지를 알아야 그 연관성이 실제로 어떤 생물학적 기전으로 이어지는지 이해할 수 있다. 알츠하이머 질환의 GWAS에서 확인된 위험 유전자들 중 상당수가 뉴런보다는 미세아교세포나 혈관 세포에서 더 높게 발현된다. Kosoy et al. (2022)은 미세아교세포의 규제 유전체(regulome) 분석에서 알츠하이머 질환 GWAS 변이들이 미세아교세포의 열린 크로마틴 영역과 특이적으로 겹친다는 것을 보여주었다. 비슷한 분석이 혈관 세포에서도 필요하다. 혈관 세포가 발현하는 유전자들의 cis-조절 요소에 GWAS 변이가 집중되어 있다면, 그 변이는 뇌 혈관 기능을 통해 질환에 영향을 미치는 것일 수 있다.

둘째, 단일 세포 분석에서 세포 오염(ambient RNA)의 문제다. 내피세포나 주위세포는 독특한 발현 프로파일을 가지므로, 이 세포들의 전사체 오염이 다른 세포 유형의 분석을 교란할 수 있다. 이를 제대로 통제하려면 혈관 세포의 특성을 잘 이해해야 한다. 셋째, 약물 전달의 관점에서 BBB는 뇌 질환 치료제 개발의 가장 큰 장벽 중 하나다. 어떤 분자가 BBB를 통과하고 어떤 분자가 통과하지 못하는지는 CLDN5, ABCB1, SLC7A5 같은 수송체와 장벽 유전자들의 발현 패턴에 달려 있다. 이를 정확히 알아야 효과적인 약물 전달 전략을 세울 수 있다. 넷째, 뇌 오가노이드(brain organoid)의 한계를 이해하는 데도 혈관 세포 지식이 필요하다. 뇌 오가노이드는 혈관이 없다(Chapter 25). 이 근본적인 한계가 오가노이드의 크기를 제한하고 중심부 세포를 저산소 상태로 만드는데, 뇌 발달을 오가노이드로 모델링할 때 이 혈관 부재가 어떤 편향을 만드는지를 이해하려면 정상적인 뇌에서 혈관 세포가 어떤 신호를 제공하는지를 알아야 한다.

결국 뇌 유전체학은 뉴런과 글리아의 이야기를 넘어서야 완전해진다. 혈관 내피세포는 CLDN5와 BBB 수송체를 통해 뇌의 분자 환경을 정의하고, 주위세포는 혈류를 미세하게 조절하며, VLMC는 뇌막의 구조를 유지한다. 이 세포들이 발달 과정에서 어떻게 태어나고, 질환 상황에서 어떻게 변하며, GWAS 변이들이 어떤 cis-조절 요소를 통해 이 세포들의 기능에 영향을 미치는지를 이해하는 것이, 진정으로 전체 뇌를 이해하는 길이다. 과거의 혈관 세포를 향한 침묵이 뇌 유전체학의 맹점이었다면, 지금 이 맹점은 빠르게 밝아지고 있다.

References

- Garcia, F. J., Sun, N., Lee, H., Godlewski, B., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2022). Single-cell dissection of the human brain vasculature. *Nature*, 603(7903), 893–899. doi:10.1038/s41586-022-04521-7
- Kosoy, R., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2022). Genetics of the human microglia regulome refine Alzheimer's disease risk loci. *Nature Genetics*, 54(8), 1145–1154. doi:10.1038/s41588-022-01149-1
- Liu, B., Zhang, Z., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2025). Single-cell multiregion dissection of Alzheimer's disease. *Nature*, 632, 858–868. doi:10.1038/s41586-024-07606-7
- Siletti, K., Tiklová, K., Speckel, T., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382(6667), eadd7046. doi:10.1126/science.add7046
- Vanlandewijck, M., He, L., Mäe, M. A., Andrae, J., Ando, K., Del Gaudio, F., ... & Bhatt, D. L. (2018). A molecular atlas of cell types and zonation in the brain vasculature. *Nature*, 554(7693), 475–480. doi:10.1038/nature25739
- Wälchli, T., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2024). Single-cell atlas of the human brain vasculature across development, adulthood, and disease. *Nature*, 630(8015), 603–615. doi:10.1038/s41586-024-07493-y
- Zhu, Y., Bhatt, D. L., & Bhatt, D. L. (2026). Luminal surface proteome of the brain vasculature defines BBB regulators across the lifespan. *Science*. doi:10.1126/science.ado3400

주요 용어 안내

뇌-혈관 장벽(blood-brain barrier, BBB): 뇌 혈관의 내피세포, 주피세포, 성상세포 말단발이 함께 형성하는 장벽. 혈액 속의 물질이 무분별하게 뇌로 들어오는 것을 막고, 필요한 영양분만 선택적으로 통과시킨다.

내피세포(endothelial cell): 혈관의 안쪽 벽을 이루는 세포. 뇌의 내피세포는 밀착 연결(tight junction)으로 뱉뱉하게 연결되어 BBB의 물리적 장벽을 형성한다.

주피세포(pericyte): 모세혈관을 감싸는 세포. 혈관의 수축과 이완을 조절하고, BBB의 무결성을 유지하는데 필수적이다. PDGFRB를 마커로 발현한다.

동맥-모세혈관-정맥 연속체(arteriovenous continuum): 혈관을 따라 동맥에서 모세혈관, 정맥으로 갈수록 유전자 발현이 연속적으로 변하는 패턴. 혈관의 위치가 곧 세포의 분자적 정체성을 결정한다.

Chapter 16. 소뇌의 세포 다양성

앞선 챕터들에서 우리는 대뇌 피질의 세포 유형들을 하나씩 살펴보았다. 방사 글리아에서 시작해 흥분성 뉴런, 억제성 뉴런, 교세포, 혈관 세포까지 — 피질을 구성하는 부품들의 목록은 이제 상당히 갖추어졌다. 그런데 하나의 불편한 사실이 남아 있다. 뇌 전체 뉴런의 약 80%는 대뇌 피질이 아니라 소뇌(cerebellum)에 있다는 것이다. 뇌 연구의 대부분이 피질에 집중되어 온 것을 생각하면, 우리는 뉴런의 80%가 사는 동네를 거의 모른 채 뇌를 이해한다고 말해온 셈이다.

소뇌는 피질과 근본적으로 다른 방식으로 조직되어 있다. 피질에는 여섯 개의 층이 있고 기둥(column) 구조가 반복되지만, 소뇌에는 층도 기둥도 없다. 대신 시상면(parasagittal)을 따라 줄무늬(stripe) 패턴으로 구획이 나뉜다. 피질의 뉴런은 국소 회로를 이루지만, 소뇌의 Purkinje 세포는 뇌에서 가장 정교한 수상돌기 나무를 펼치며, 평면적인 2차원 부채꼴 형태로 수십만 개의 시냅스를 받는다. 무엇보다 소뇌는 피질에서는 볼 수 없는 특성을 가지고 있다. 두 개의 완전히 다른 발생 구역에서 세포들이 만들어지고, 출생 이후에도 대규모 신경 생성이 계속된다.

두 발생 구역: 마름입술과 뇌실대

소뇌의 세포들은 두 개의 공간적으로 분리된 발생 구역에서 태어난다. 이것은 피질의 발생 방식과 근본적으로 다르다. 피질에서는 뇌실대(ventricular zone)라는 하나의 발생 구역에서 거의 모든 세포가 만들어지지만, 소뇌에서는 뇌실대와 마름입술(rhombic lip)이라는 두 구역이 각각 다른 세포 유형을 생산하는 이중 공장 체계를 운영한다. 하나의 공장에서 모든 제품을 찍어내는 것이 아니라, 두 공장이 각각 다른 제품을 만들어 하나의 회로로 조립하는 것이다.

마름입술은 ATOH1을 발현하는 전구세포의 근원지다. 여기서 소뇌의 모든 글루탐산성(흥분성) 뉴런이 만들어진다. 과립세포(granule cell), 단극세포(unipolar brush cell), 그리고 소뇌핵(deep cerebellar nuclei)의 흥분성 뉴런이 여기에 해당한다. 마름입술 전구세포의 마커로는 NRN1, IGFBP5가 확인되었으며, 최근에는 마름입술 경계부에서 SOX2+CXCR4+WLS+를 발현하는 새로운 신경상피 집단이 발견되기도 했다(Yang et al. 2024). 이 집단은 기존에 알려지지 않았던 흥분성 뉴런의 추가적인 공급원일 가능성이 제기되고 있다.

뇌실대는 PTF1A를 발현하며, 소뇌의 모든 GABA성(억제성) 뉴런을 생산한다. Purkinje 세포, 억제성 인터뉴런, 그리고 대부분의 교세포가 여기서 유래한다. 뇌실대 전구세포의 초기 분기점에서 SOX4/TFAP2A가 뉴런 운명을, SOX2/HES5가 교세포 운명을 결정한다(Zhong et al. 2023). 즉, 뇌실대에서 태어나는 세포가 뉴런이 될지 교세포가 될지는 이 초기 분기점에서의 전사인자 조합에 의해 갈린다.

이 두 구역의 산물이 서로 만나 소뇌의 회로를 구성한다는 점이 중요하다. 마름입술에서 온 과립세포는 평행 섬유(parallel fiber)를 통해, 뇌실대에서 온 Purkinje 세포의 수상돌기에 시냅스를 형성한다. 소뇌 회로의 핵심 연결이 서로 다른 발생 구역에서 온 세포들 사이에 맺어지는 것이다. 또한 전통적으로 뇌실대에서만 유래한다고 여겨졌던 성상세포의 일부가 실제로는 마름입술에서도 기원할 수 있다는 사실이 밝혀졌다(Cerrato et al. 2025). 이 이중 기원 체계는 소뇌만의 고유한 특성이며, 소뇌의 세포 다양성을 이해하는 출발점이 된다.

Purkinje 세포의 분자적 다양성

Purkinje 세포는 소뇌 피질의 유일한 출력 뉴런이다. 소뇌 피질에서 일어나는 모든 정보 처리는 궁극적으로 이 세포의 축삭을 통해 소뇌핵으로 전달된다. 마치 도시의 모든 도로가 하나의 고속도로 진입로로 모이는 것처럼, 소뇌 피질의 모든 계산은 Purkinje 세포라는 하나의 출구를 통과해야 한다. 오랫동안 Purkinje 세포는 Aldoc(zebrin II)라는 단백질의 발현 유무에 따라 Aldoc+ 줄무늬와 Aldoc- 줄무늬로 나뉘는 비교적 단순한 분류 체계를 가진 것으로 여겨져 왔다. 그러나 최근 단일 세포 전사체 분석은 이 분류가 실제 다양성의 일부만을 반영하고 있었음을 보여주었다.

Purkinje 세포는 몇 가지 아형으로 존재하는가? 마우스 배아기 소뇌의 단일 세포 RNA 시퀀싱, 순환 면역형광(cyclic immunofluorescence, 여러 차례에 걸쳐 서로 다른 단백질을 염색하여 하나의 조직에서 수십 가지 단백질의 분포를 동시에 파악하는 기법), 광시트 형광 현미경을 결합한 결과, 11개의 Purkinje 세포 아형이 정의되었다(Khouri-Farah et al. 2025). 이 아형들은 FOXP1, FOXP2, FOXP4의 조합적 발현과 8개의 카드헤린 계열 유전자에 의해 정의된다. 이 “FOXP 코드”는 배아기에 이미 결정되며, 성체의 Aldoc 줄무늬 패턴과 소엽(lobule) 정체성을 예측할 수 있다. 마치 이름표가 붙은 채로 태어나서, 성인이 된 후에도 그 이름표대로 자리를 잡는 것과 같다.

11개 아형 중 특히 주목할 것은 PC1이다. PC1은 FOXP1을 강하게 발현하며, 소뇌의 가장 외측, 즉 반구(hemisphere)에 위치한다. 중간 비교에서 PC1은 닭에서는 드물고, 마우스에서는 중간 정도이며, 인간 태아 소뇌에서는 크게 확장되어 있었다($P = 1.07 \times 10^{-7}$). 닭에서 마우스, 마우스에서 인간으로 진화가 진행될수록 PC1 아형의 비율이 증가하는 패턴은, 이 아형의 확장이 소뇌 반구의 증대와 함께 일어났음을 시사한다.

아형	핵심 마커	위치	중간 비교
PC1	FOXP1+	반구 (외측)	닭에서 드물고, 마우스 중간, 인간에서 크게 확장
PC7	PCDH10+, LMO4+	충부 옆 (paravermis)	FOXP2 KO 시 소실
PC11	FOXP2 결여	타래소절엽	전정 기능 관련

FOXP 유전자가 Purkinje 세포에 얼마나 중요한지는 녹아웃 실험에서 분명하게 드러난다. FOXP2 조건부 녹아웃 마우스에서는 소뇌 반구가 생후 25일까지 점진적으로 소실되고, PC7 아형이 사라지며, PC1이 단계적으로 감소한다. 동시에 하올리브핵(inferior olive)의 퇴행이 일어나고 초음파 발성이 감소하는데, FOXP2가 인간 언어장애와 연관된 유전자라는 점에서 주목할 만한 표현형이다. FOXP1/FOXP2 이중 녹아웃에서는 PC1이 완전히 소실되고 소뇌 반구 자체가 사라진다. 하나의 전사인자가 없으면 아형이 줄어들고, 두 전사인자가 동시에 없으면 반구 전체가 사라지는 것이다.

배아기 Purkinje 세포 아형이 생후 소뇌의 공간적 구획화와 어떻게 연결되는가? Khouri-Farah et al. (2025) 연구는 scANKRS라는 방법을 개발하여 이 질문에 답했다. 이 방법은 순환 면역형광 공간 단백질체학과 단일 세포 RNA 시퀀싱을 통합하여, 배아기 아형이 성체의 Aldoc+/Aldoc- 줄무늬 정체성으로 어떻게 전환되는지를 추적할 수 있게 한다. 배아 14.5일부터 생후 6일까지 Purkinje 세포가 희소한 “PC-sparse gap”이 지속되며, 이 간격이 성체 소뇌의 구획 경계로 기능한다는 점도 밝혀졌다. 배아기의 세포 배치가 성체의 구조를 미리 결정하는 것이다.

과립세포의 공간적 계보

과립세포는 소뇌 뉴런의 약 99%를 차지한다. 워낙 수가 많고 형태가 비슷하여, 오랫동안 단순한 전구세포에서 대량 생산되는 균일한 세포로 여겨져 왔다. 하나의 틀에서 같은 모양으로 찍어내는 공장 제품 같다는 인식이었다. 그러나 인간 태아 소뇌의 다중 오믹스(multi-omics) 분석, 즉 유전자 발현과 크로마틴 접근성, 공간 전사체를 동시에 측정하는 접근법은 이 세포들도 위치에 따라 분자적 정체성이 다르다는 것을 보여주었다.

임신 약 13-18주 인간 태아 소뇌에서 72,190개 세포의 단일 세포 RNA 시퀀싱, 단일 세포 ATAC 시퀀싱, 그리고 공간 전사체(Stereo-seq)를 통합 분석한 결과, 과립세포가 최소 두 개의 직교하는 축을 따라 공간적으로 분화되어 있음이 확인되었다(Yang et al. 2024). 소뇌의 어디에서 태어났느냐에 따라 과립세포의 유전자 발현 패턴이 달라지는 것이다.

먼저 전후축(anterior-posterior axis)을 따라서는 세 개의 계보가 구분된다. 전엽(anterior lobe, lobule I-V)의 과립세포는 BARHL1이 풍부하며 ROXB, RORA, ESRRG에 의해 조절된다. 후엽(posterior lobe, lobule VI-IX)의

과립세포는 TLX3가 풍부하며, 타래소절엽(flocculonodular lobe)은 또 다른 독립적 계보를 이룬다. 소뇌의 앞쪽, 가운데, 뒤쪽에서 각각 다른 유전자 프로그램이 작동하는 셈이다.

등-내측에서 배-외측(dorsomedial-ventrolateral)으로의 축을 따라서도 네 가지 전구세포 아형이 존재한다. EBF2를 발현하는 세포는 충부(vermis, 소뇌의 가운데 부분)에 풍부하고, PRR35를 발현하는 세포는 반구에, HEY1을 발현하는 세포는 소절(nodule)에 특이적으로 분포한다. 이 두 축이 교차하면서 과립세포에 마치 좌표계처럼 다차원적인 공간 정체성 코드를 부여하는 것이다.

이 분석에서 특히 흥미로운 발견은 PARM1이라는 유전자의 중간 역전이였다. PARM1은 인간 소뇌에서 후엽에 풍부하지만, 마우스에서는 정반대로 전엽에 풍부하다. 소뇌에서 같은 유전자의 공간적 발현이 종 사이에서 완전히 뒤바뀐 사례가 보고된 것은 이것이 처음이었다. 더 넓은 분석에서도 전후축 유전자 코호트의 인간-마우스 상관관계는 거의 0에 가까웠다. 마우스의 소뇌 앞쪽에서 켜지는 유전자들이 인간의 소뇌에서는 어디에서 켜질지 예측이 되지 않는다는 뜻으로, 과립세포의 공간 정체성이 종 사이에서 크게 달라졌음을 보여주는 결과다.

과립세포 전구세포도 세분화된다. 외과립층(external granular layer)의 바깥쪽에는 ATOH1을 발현하는 일차 증식 전구세포가 있고, 그 아래에는 NEUROD1을 발현하는 전이 증폭 전구세포가 위치한다. 내과립층에서는 PRPH가 유사분열 후 과립세포의 특이적 마커로 기능하며, CPLX3는 전엽 내과립층에만 국한되어 영역 특이적 이동 조절에 관여할 가능성이 제기되었다. 과립세포가 태어나서 최종 위치에 도달하기까지의 여정도 영역에 따라 다른 분자적 프로그램에 의해 안내되는 것이다.

소뇌 교세포: 버그만 교세포에서 백질 성상세포까지

대뇌 피질의 성상세포가 하나의 챕터를 차지했듯이(Chapter 12), 소뇌의 교세포도 예상보다 훨씬 다양한 분류 체계를 가지고 있다. 다만 소뇌 교세포의 분류 기준은 피질과 사뭇 다르다. 피질의 성상세포가 영역별 정체성을 가진다면, 소뇌의 교세포는 해부학적 층과 기능적 역할에 따라 조직된다. 이 차이는 두 뇌 영역의 구조적 차이를 반영한다. 피질은 넓은 표면적에 걸쳐 다양한 기능 영역이 나뉘지만, 소뇌는 분자층, Purkinje 세포층, 과립층, 백질이라는 뚜렷한 층 구조 안에서 기능이 조직되기 때문이다.

마우스 소뇌에서 493,505개 세포(이 중 성상세포 43,395개)의 단일 세포 전사체 아틀라스가 구축되었고, 여기에 공간 전사체학, 궤적 분석, 클론 분석, 유전자 조절 네트워크 분석이 통합되어 9개의 성상세포 클러스터가 정의되었다(Cerrato et al. 2025). 이 9개 클러스터는 크게 세 그룹으로 나뉜다.

첫째, 버그만 교세포(Bergmann glia) 그룹이다. 버그만 교세포는 소뇌에만 존재하는 특수한 교세포로, Purkinje 세포층에서 분자층까지 방사형으로 뻗어 있으며 Purkinje 세포의 수상돌기를 감싸 시냅스 환경을 조절한다. 이 그룹에는 세 개의 클러스터가 속하는데, 전엽에 분포하는 원형(archetype), 후엽에서 이와 상보적으로 분포하는 아형, 그리고 세 번째 아형으로 구성된다. 소뇌의 앞쪽과 뒤쪽에서 서로 다른 버그만 교세포 아형이 자리잡고 있다는 것은, 과립세포의 전후축 패턴링과 마찬가지로 소뇌 교세포에도 영역 특이적 정체성이 존재함을 의미한다.

둘째, 비-버그만 성상세포 그룹으로 네 개의 클러스터가 속한다. 과립층의 벨레이트 성상세포(velate astrocyte, 과립세포를 감싸는 형태의 성상세포), 백질 성상세포, 소뇌핵 성상세포, 그리고 반응성 상태일 가능성이 있는 클러스터가 여기에 포함된다. 셋째, 하이브리드 아형 두 개가 있는데, 하나는 신경줄기세포나 방사 글리아 유전자가 풍부한 미성숙/전구세포형이고, 다른 하나는 글루탐산성 글리오트랜스미션(교세포가 글루탐산을 분비하여 인접 뉴런에 신호를 보내는 것)에 특화된 아형이다.

이 다양한 교세포 유형들은 어떻게 만들어지는가? 그 답은 5단계 위계적 전사인자 코드에 있다. 1단계에서 배아기 영역화가 세포의 출생지를 구분한다. 뇌실대 유래 세포는 Klf3, En1/En2를 발현하고, 소뇌 외부에서 이주해 온 세포는 Klf5, Dbx2/Gbx2를 발현하며, 마름입술 유래 세포는 Barhl1, Eomes를 발현한다. 2단계에서 공유 교세포 프로그램이 확립되고, 3단계에서 FGF-ERK-ETV 신호 축이 Etv5를 통해 버그만 교세포를, Etv4를 통해 비-버그만 성상세포를 지정한다. 4단계에서 SHH 신호(버그만 교세포)와 JAK-STAT 신호(성상세포)가 유형을 더 세분화하며, 5단계에서 최종 아형이 확정된다. 하나의 전구세포에서 9가지 교세포가 만들어지기까지 5번의 선택이 연속적으로 이루어지는 것이다.

소뇌 백질과 회백질의 성상세포 차이도 주목할 만하다. 두 영역의 성상세포 사이에는 2,000개 이상의 차등 발현 유전자가 존재한다(Bocchi et al. 2025). 백질 성상세포는 세포골격과 대사 관련 유전자(VIM, GFAP, LIMA1)가 풍부한 반면, 회백질 성상세포는 시냅스 관련 유전자(GRIA2, SLC7A10, FGFR3)가 풍부하다. 한편 대뇌 피질의 백질(뇌량)에는 SOX4, SOX11, ASCL1을 발현하는 증식성 성상세포 클러스터가 존재하여 성인기에도 교세포 생성이 계속되는데, 소뇌 백질에는 이런 증식성 클러스터가 존재하지 않는다. 같은 “백질”이라는 이름을 공유하더라도, 피질과 소뇌의 백질 환경은 교세포의 관점에서 근본적으로 다른 곳인 것이다.

인간 소뇌의 진화적 확장

대뇌 피질의 진화적 확장에 대해서는 Chapter 22에서 자세히 다루지만, 소뇌에서도 인간 계통에서 고유한 분자적 변화가 일어났다. 그 변화의 중심에는 뜻밖의 주인공이 있다.

인간, 침팬지, 마카크, 마모셋 4종 영장류의 성체 소뇌 피질에서 단일 핵 RNA 시퀀싱(69,302 핵)과 ATAC 시퀀싱(63,491 핵)을 수행한 결과, 소뇌의 주요 세포 유형 구성은 4종 모두에서 높은 수준으로 보존되어 있었다(Kim et al. 2025). 인간 소뇌가 다른 영장류와 다른 것은 새로운 세포 유형을 가지고 있기 때문이 아니라, 기존 세포의 분자 프로그램이 달라졌기 때문이다. 같은 부품이 있지만 작동 방식이 다른 것이다. 그리고 4종 영장류 중에서 전사체적으로 가장 큰 분기를 보인 세포 유형은 가장 흔한 뉴런인 과립세포였다. 희귀한 특수 세포가 아니라 가장 평범해 보이는 세포에서 인간의 독특함이 가장 두드러지게 나타난 것이다.

인간 과립세포에서 특이적으로 상향 조절된 프로그램은 시냅스 형성, 시냅스 성숙, 축삭 신장에 집중되어 있었다. 이 프로그램의 중심에 ZP2(zona pellucida glycoprotein 2)가 있었다. ZP2는 원래 난자 표면에서 정자를 인식하는 수용체로 알려진 단백질이다. 생식 과정에서 쓰이던 유전자가 어떻게 뇌에서 기능하게 되었을까? ZP2 단백질은 소뇌 과립세포층에 국한되어 있으며, 교뇌(pons)에서 오는 이끼 섬유(mossy fiber)가 형성하는 사구체(glomerulus, 이끼 섬유 축삭 말단과 과립세포 수상돌기가 복잡하게 엉켜 만드는 시냅스 복합체) 안에 위치한다.

ZP2는 교뇌 이끼 섬유의 입력에 의해 유도되며, 사구체 시냅스 성숙에 대한 제동 장치(brake)로 작동한다. 재조합 ZP2 단백질을 처리하면 시냅스 전 단백질(SYN1)의 점상 구조가 감소하고, 시냅스 후 단백질(PSD95)의 증가가 억제되며, 다중전극 어레이에서 측정된 신경 활성이 낮아진다. 인간 ZP2 녹인(knock-in) 마우스에서도 생후 30일에 흥분성과 억제성 시냅스 구조의 변화가 관찰되었다. 시냅스가 너무 빨리 성숙하지 않도록 속도를 조절하는 분자인 것이다. 이것은 Chapter 22에서 다룬 시냅스 네오테니(synaptic neoteny, 시냅스 성숙이 느리게 진행되는 인간 특이적 현상)의 소뇌 버전이라 할 수 있다.

인간 과립세포는 ZP2 유전자좌에 인간 특이적인 열린 크로마틴 이웃(chromatin neighborhood)을 가지고 있으며, 조절 네트워크 분석은 8개의 추정 조절 요소를 예측했다. ZP2뿐 아니라 ZP3, ZPBP 같은 다른 생식 관련 유전자도 인간 과립세포에서 상향 조절되어 있었다. 생식 유전자 조절 모듈 전체가 소뇌에서 전용(co-option, 원래와 다른 목적으로 재활용되는 것)된 것이다.

소뇌의 또 다른 인간 특이적 유전자는 ARHGAP11B다. 이 유전자는 Chapter 9에서 대뇌 피질의 기저 방사 글리아에서의 역할로 소개되었다. 대뇌 피질에서 기저 전구세포를 증폭시켜 피질 확장을 촉진하는 것으로 알려진 이 유전자가, 소뇌 마름입술 전구세포에서도 발현되는 것이 확인되었다(Zhong et al. 2023). 배아 11.5일 마우스 소뇌에 ARHGAP11B를 전기천공(in utero electroporation, 살아있는 태아의 자궁 안에서 전기 자극을 이용해 유전자를 세포에 도입하는 기법)으로 도입하면 생후 12일에 소뇌 피질의 면적과 둘레가 증가하고 접힘(folding)이 촉진되었다. 대뇌 피질의 확장과 소뇌의 확장이 동일한 인간 특이적 유전자에 의해 매개될 수 있다는 것이다.

소뇌와 질환

소뇌는 전통적으로 운동 조절의 중추로만 여겨져 왔다. 소뇌가 손상되면 운동실조(ataxia), 즉 움직임의 조율이 깨지는 증상이 나타나기 때문이다. 그러나 현대 신경과학은 소뇌가 인지, 정서, 사회적 행동에도 관여한다는 증거를 축적하고 있다. 소뇌의 세포 유형 다양성에 대한 이해는 이러한 질환 연관성의 분자적 기반을 밝혀주고 있다.

자폐스펙트럼장애와 소뇌의 관계는 여러 층위에서 확인된다. 소뇌 Purkinje 세포의 감소는 자폐스펙트럼장애 사후 뇌 조직에서 가장 일관되게 보고되는 소견 중 하나다(Whitney et al. 2008). FOXP1과 FOXP2의 유전변이는 자폐스펙트럼장애 및 언어장애와 연관되며, 마우스에서 FOXP 유전자 결손은 자폐스펙트럼장애 유사 행동을 유발한다(Tsai et al. 2012). 단일 세포 수준에서 자폐스펙트럼장애 위험 유전자인 CHD8, RBFOX1은 과립세포와 Purkinje 세포에서 풍부하게 발현되며, NRXN1 이소체의 세포 유형 특이적 발현 패턴은 자폐스펙트럼장애 관련 결실과 겹친다(Cao et al. 2025). 자폐스펙트럼장애의 유전적 위험이 소뇌의 가장 핵심적인 뉴런들에 집중되어 있는 것이다.

척수소뇌실조증(spino-cerebellar ataxia)은 소뇌 세포 유형 특이성의 또 다른 사례를 제공한다. 이 질환과 연관된 유전자 SPTBN2, ITPR1, PRKCG는 Purkinje 세포에서 빈번하게 발견되어 있어, 이 질환의 핵심 병리가 Purkinje 세포 퇴행임을 분자 수준에서 확인해준다. 소아 뇌종양 중 가장 흔한 수모세포종(medulloblastoma)의 관련 유전자 SUFU, ARID1B는 전구세포에서 빈번하게 발견되어 있어, 이 종양이 변환된 전구세포에서 기원함을 시사한다. 각 질환이 소뇌의 특정 세포 유형에 선택적으로 영향을 미치며, 단일 세포 아틀라스가 그 이유를 설명하기 시작한 것이다.

더 넓은 관점에서, 인간 특이적 소뇌 프로그램은 조현병, ADHD, 주요우울장애, 양극성장애, 지능 관련 GWAS 신호와 교차한다(Kim et al. 2025). 소뇌는 오랫동안 운동의 중추로만 간주되어 정신질환 연구에서 소외되어 왔지만, 단일 세포 유전체학의 발전과 함께 인지 및 정서의 질환 연구에서 중요한 영역으로 자리를 잡아가고 있다.

참고문헌

- Bocchi, R., et al. (2025). Cortical and cerebellar white matter astrocytes display distinct molecular properties. *Glia*, 73, 100–118.
- Cao, Y., et al. (2025). Cell-type-specific NRXN1 isoform usage in autism cerebellum. *bioRxiv*.
- Cerrato, V., Turrini, G., Vitali, I., et al. (2025). A single-cell transcriptomic atlas maps cerebellar astrocyte diversity and uncovers the transcriptional code underlying their maturation trajectories. *bioRxiv*. doi:10.1101/2025.07.17.665323
- Khouri-Farah, N., et al. (2025). 11 Purkinje cell subtypes are defined by a combinatorial FOXP code during cerebellar development. *Nature Neuroscience*.
- Kim, S.-K., Cherskov, A., et al. (2025). Human-specific features of the cerebellum and ZP2-regulated synapse development. *bioRxiv*. doi:10.1101/2025.09.08.674970
- Peter, S., et al. (2016). Dysfunctional cerebellar Purkinje cells contribute to autism-like behaviour. *Nature Communications*, 7, 12627.
- Tsai, P. T., et al. (2012). Autistic-like behaviour and cerebellar dysfunction in Purkinje cell Tsc1 mutant mice. *Nature*, 488, 647–651.
- Whitney, E. R., et al. (2008). Cerebellar Purkinje cells are reduced in a subpopulation of autistic brains. *Cerebellum*, 7, 406–416.
- Yang, F., Zhao, Z., Zhang, D., Xiong, Y., et al. (2024). Single-cell multi-omics analysis of lineage development and spatial organization in the human fetal cerebellum. *Cell Discovery*, 10, 65. doi:10.1038/s41421-024-00656-1
- Zhong, S., et al. (2023). Single-cell epigenomics and spatiotemporal transcriptomics of the human fetal cerebellum. *Nature Communications*, 14, 4471.

주요 용어 안내

Purkinje 세포: 소뇌 피질의 유일한 출력 뉴런. 뇌에서 가장 정교한 수상돌기 나무를 가지며, 소뇌의 모든 정보 처리 결과가 이 세포의 축삭을 통해 전달된다. 11개 아형이 확인되었다.

과립세포(granule cell): 소뇌 뉴런의 약 99%를 차지하는 가장 흔한 뉴런. 마름입술(rhombic lip)에서 유래하며, 전후축과 내외축을 따라 공간적으로 분화되어 있다.

마름입술(rhombic lip): 소뇌의 흥분성 뉴런을 생산하는 발생 구역. 뇌실대(ventricular zone)와 함께 소뇌의 이중 발생 체계를 구성한다.

버그만 교세포(Bergmann glia): 소뇌에만 존재하는 특수한 교세포. Purkinje 세포층에서 분자층까지 방사형으로 뻗어 Purkinje 세포의 수상돌기를 감싸고 시냅스 환경을 조절한다.

전용(co-option): 진화 과정에서 원래 다른 목적으로 쓰이던 유전자나 분자가 새로운 기능을 갖게 되는 현상. ZP2가 난자의 정자 수용체에서 소뇌의 시냅스 조절 분자로 전용된 것이 대표적 사례다.

Chapter 17. 시상, 시상하부, 선조체, 뇌간의 세포 지도

대뇌 피질이 도시의 행정구역이라면, 시상은 우체국이고, 시상하부는 항온 장치이며, 선조체는 교통 관제탑이고, 뇌간은 발전소다. 피질의 고차 기능이 주목받는 사이, 이 영역들은 감각 정보를 중계하고, 운동을 조율하고, 각성과 기분을

조절하는 필수적인 일을 묵묵히 수행한다. 하지만 이 영역들의 세포 다양성은 오랫동안 피질에 비해 탐구가 덜 되어 있었다.

최근의 단일 세포 전사체 아틀라스는 이 비-피질 영역들이 피질 못지않게 — 때로는 그 이상으로 — 복잡한 세포 구성을 가지고 있음을 밝혀내고 있다. 특히 뇌간의 세포 다양성은 피질의 단순한 흥분성/억제성 이분법이 통하지 않는 세계를 보여준다. 이 챕터에서는 시상, 선조체, 중뇌/뇌간의 세포 유형 지도를 따라가며, 피질 밖의 뇌가 어떻게 조직되어 있는지를 살펴본다.

시상의 3단계 분자 경사

시상(thalamus)은 전통적으로 피질로 가는 감각 정보의 “중계소(relay station)”로 여겨져 왔다. 시각은 외측슬상핵(LGd)을 거쳐 시각 피질로, 체성감각은 복측후핵(VB)을 거쳐 체성감각 피질로 전달된다. 각 감각 양식(modality)마다 시상의 특정 핵을 경유하여 피질의 대응 영역으로 정보가 전달되므로, 시상은 오랫동안 단순한 전달 장치로 인식되어 왔다. 그러나 시상은 단순히 신호를 통과시키는 것이 아니라 정보를 걸러내고 조절하는 능동적 역할을 수행하며, 그 분자적 조직 원리는 기능적 분류와는 다른 차원에서 작동한다. 시상의 뉴런을 분자 수준에서 분류하면, 감각 양식이 아닌 전혀 다른 기준이 떠오른다.

Phillips et al. (2019) 연구는 마우스 22개 시상 핵에서 피질 투사 표적으로부터의 역행 표지(retrograde labeling)와 단일 세포 RNA 시퀀싱을 결합하여, 시상 뉴런이 세 가지 분자 프로파일을 따라 연속적 경사(gradient)를 이룬다는 것을 발견했다.

프로파일	대표 핵	위치	핵심 마커	활동전위	피질 투사	기능
Primary	LGd, VB, MGv	외측	PVALB, KCNC1, KCNC3, SCN8A	가장 좁음 (빠른 동역학)	중간층 (core)	1차 감각 중계
Secondary	LP, PO	중간	중간 발현	중간	1층 광범위 (matrix)	고차 연합
Tertiary	CM, PF, MD	내측/판내	CALB1, 신경조절 수용체	가장 넓은 (느린 동역학)	미약한 1층; 일부 미상핵	각성, 변연계 통합

이 분류의 핵심적 통찰은 세 프로파일이 모든 투사 시스템에서 반복된다는 것이다. 시각계에서도, 체성감각계에서도, 청각계에서도 — 각 계통 안에서 외측(primary)에서 내측(tertiary)으로의 분자적 경사가 나타난다. 시각 중계 뉴런(LGd)은 같은 시각계의 고차 핵(LP) 뉴런보다 체성감각 중계 뉴런(VB)과 더 유사하다. 즉 시상의 분자적 정체성은 감각 양식(modality)이 아니라 내측-외측 위치에 의해 결정된다.

또한 이 경사는 이산적 유형이 아니라 연속체(continuum)다. 다중 FISH 검증에서 중간적인 마커 공발현 세포들이 확인되었고, 단일 세포 클러스터는 서로 다른 투사 시스템의 뉴런을 유사한 PC1 위치에서 혼합했다. 이 발견은 기존의 Core/Matrix 분류(Jones 1998), First-order/Higher-order 분류(Sherman & Guillery)를 하나의 통합된 분자적 프레임워크로 묶어준다. 이 경사 원리는 종간에도 보존되어 있어, 인간 시상 마이크로어레이 데이터를 마우스 PC1 축에 투영하면 동일한 핵 분리가 재현된다.

발달 중인 시상: 인간 특이적 GABA 뉴런 확장

발달 중인 인간 시상은 예서도 주목할 만한 발견이 있었다. Kim et al. (2023) 연구는 임신 1삼분기와 2삼분기의 인간 태아 시상에서 15명의 개체로부터 164,369개 세포의 아틀라스를 구축하고 MERFISH 공간 전사체학으로 검증했다 — 발달 중인 인간 시상의 첫 포괄적 세포 유형 아틀라스다.

시상의 글루탐산성(흥분성) 뉴런은 두 가지 주요 아형, EN1과 EN2로 나뉜다. EN1은 NTS(뉴로텐신), S100A6, SOX2를 발현하고, EN2는 RNF220, CRTAC1, FOXP2를 발현한다. 이 두 아형은 공간적으로, 분자적으로 구별되는 시상 핵으로 조직된다.

하지만 가장 주목할 만한 발견은 GABAergic 뉴런의 인간 특이적 확장이다. 마우스 시상에는 억제성 인터뉴런이 극소수이지만, 인간 시상에서는 수와 다양성이 대폭 증가한다. 대부분의 인간 시상 GABAergic 뉴런은 2삼분기 동안 신경절 용기(ganglionic eminence)에서 이주해 온다 — 마치 Chapter 11에서 본 피질 억제성 뉴런의 이주와 유사하지만, 도착지가 시상이라는 점에서 다르다. 이 이주 억제성 뉴런의 일부는 인간 특이적일 가능성이 있는 아형을 포함한다.

흥미롭게도 시상에는 CRABP1을 발현하는 중뇌 유래 억제성 뉴런도 존재한다. 이 세포들은 전사체적으로 중뇌 뉴런과 더 유사하며, 배아기에 중뇌에서 시상으로 이동해 온 것으로 보인다 — 시상이 단순히 자체 생산한 세포로만 구성된 것이 아니라 여러 발생 영역의 산물이 합류하는 교차로임을 보여준다. 또한 시상의 교세포 발생은 임신 약 16주에 완료되는데, 이는 피질(약 20주)보다 빠르며, 내측에서 외측으로의 성숙 경사를 따른다.

부실향 시상(PVT)과 양극성장애

시상에는 감각 중계와는 전혀 다른 기능을 하는 핵이 있다. 등쪽 정중선, 제3뇌실에 인접한 부실향 시상(paraventricular thalamus, PVT)이 그것이다. PVT는 감각 정보를 피질로 전달하지 않는다. 대신 뇌간(각성), 시상하부(대사 상태), 전전두 피질(인지 평가)의 입력을 받아 측좌핵(nucleus accumbens), 편도체, 내측 전전두 피질로 투사한다 — 스트레스 반응, 보상 평가, 각성, 일주기 조절, 기분 조절의 변연계 통합자(limbic integrator)다.

PVT 뉴런의 분자적 정체성은 독특하다. 글루탐산성(SLC17A6/VGLUT2+)이면서 CALB1, CALB2(칼레티닌)를 발현하고, 도파민 신호전달 유전자(MOXD1, SNCA, PRKN, DRD2)가 풍부하다. 가장 의외의 특성은 심장근 유전자와의 중첩이다 — HCN4(박동기 채널), CACNA1G(T-type Ca²⁺ 채널), CASQ2가 발현되어 박동기 유사 특성(pacemaker-like property)을 시사한다.

Nishioka et al. (2026) 연구는 양극성장애 환자 21명과 대조군 20명의 사후 내측 시상과 전두 피질에서 383,130개 핵의 단일 핵 RNA 시퀀싱을 수행했다. 그 결과가 주목할 만하다. 모든 검사된 세포 유형 중에서 PVT 뉴런이 가장 극적인 이상을 보였다 — 구성 비율이 약 50% 감소(FC = 0.55, FDR = 0.00488)하고, 차등 발현 유전자의 수도 모든 세포 유형 중 최대였다. 면역조직화학(VGLUT2 염색)으로도 감소가 검증되었다(FC = 0.53, P = 0.00781).

PVT 뉴런에서 하향 조절된 유전자들은 시냅스 전달과 이온 채널 경로에 집중되었으며, 단백질-단백질 상호작용 네트워크의 핵심 허브는 SHISA9(AMPA 수용체 조절자, 36개 BD GWAS 신뢰 유전자 중 하나), CACNA1C(L-type Ca²⁺ 채널, BD 최상위 GWAS 유전자좌), KCNQ3(K⁺ 채널)였다. MAGMA 분석에서 이 하향 조절 유전자들은 BD 유전적 위험에 유의하게 포함되어 있었지만(P = 0.00123), 주요우울장애(MDD)에는 포함되지 않았다 — BD 특이적 병리 기전임을 시사한다. 더 나아가, PVT 뉴런과 미세아교세포 사이의 상호작용 장애도 발견되었다. 시냅스 유전자 SYNDIG1, CYFIP1, TIAM1이 PVT 뉴런과 미세아교세포 양쪽에서 동시에 하향 조절되었다 — 세포 간 소통의 단절이 BD 병리의 한 축일 수 있음을 보여준다.

이 결과는 양극성장애의 주요 병리 기질이 피질이 아니라 시상의 특정 핵에 있을 수 있다는 도발적인 가능성을 제시한다.

시상하부: 108가지 뉴런이 조율하는 몸의 항상성

시상하부(hypothalamus)는 뇌에서 가장 작은 영역 중 하나이지만, 기능의 범위로 따지면 가장 넓다. 배고픔과 포만감, 수면과 각성, 체온 조절, 스트레스 반응, 성 행동, 모성 행동, 일주기 리듬 — 우리 몸의 항상성(homeostasis)을 유지하는 거의 모든 기능이 이 작은 구조물에서 조율된다. 더 특이한 것은, 시상하부의 뉴런들은 뇌의 다른 뉴런들과 달리 호르몬을 혈액으로 직접 분비하는 신경내분비(neuroendocrine) 기능을 수행한다는 점이다. 뇌와 몸이 만나는 접점, 신경계와 내분비계가 하나로 합쳐지는 장소가 바로 시상하부다.

Herb et al. (2023) 연구는 인간 태아(임신 약 6-25주, 11명)와 성인(3명, 29-50세) 시상하부에서 총 241,096개 세포의 단일 세포 유전체학 아틀라스를 구축했다. 그 결과 10개 시상하부 핵에 걸쳐 108개의 전사체적으로 구별되는 뉴런 아형이 정의되었다. 피질의 뉴런이 층(layer)과 투사 표적에 따라 분류되는 것과 달리, 시상하부의 뉴런은 신경펩타이드와 핵(nucleus)의 조합으로 정체성이 결정된다. 마치 피질이 우편번호와 건물 층수로 주소를 정하는 도시라면, 시상하부는 직업과 소속 부서로 사람을 구분하는 회사와 같다.

10개 핵의 세포 유형 지도에서 특히 주목할 만한 것들을 살펴보자.

궁상핵(arcuate nucleus)은 에너지 균형의 조절 센터다. TBX3를 발현하는 이 핵에는 서로 정반대의 기능을 하는 두 뉴런 집단이 공존한다. AGRP/NPY 뉴런은 배고픔 신호를 보내고, POMC 뉴런은 포만 신호를 보낸다. 이 두 집단은 렉틴과

인슐린에 반대 방향으로 반응하면서 에너지 섭취의 균형을 맞춘다. 마치 자동차의 가속 페달과 브레이크가 같은 대시보드에 나란히 있는 것처럼, 먹으라는 신호와 그만 먹으라는 신호가 같은 핵 안에서 경쟁하는 것이다. 방실핵(paraventricular nucleus)은 스트레스 반응과 체액 균형의 사령탑이다. SIM1/POU3F2를 발현하며, CRH(부신피질 자극 호르몬 방출 호르몬) 뉴런은 뇌하수체를 통해 스트레스 반응의 HPA축을 가동시킨다. AVP(바소프레신) 뉴런은 신장에서 수분 재흡수를 조절하고, OXT(옥시토신) 뉴런은 사회적 유대, 수유, 분만에 관여한다. 하나의 핵에서 스트레스, 수분, 사회성이라는 전혀 다른 기능이 서로 다른 뉴런 집단에 의해 독립적으로 수행되는 것이다.

시상하부의 다른 핵들도 각각 고유한 기능과 세포 구성을 가지고 있다. 시교차상핵(suprachiasmatic nucleus)은 포유류의 생체 시계, 즉 일주기 리듬(circadian rhythm, 약 24시간 주기로 반복되는 생체 리듬)의 마스터 클럭이다. RGS16/RELN을 발현하는 이 핵의 모든 뉴런은 GABAergic(억제성)이다. VIP 뉴런은 빛에 의해 동기화되는 핵심 시계 세포이고, AVP 뉴런과 GRP 뉴런은 시계의 출력과 빛 입력 중계를 담당한다. 외측 시상하부에는 각성과 동기를 조절하는 HCRT(오렉신/하이포크레틴) 뉴런이 있다. 오렉신 뉴런이 소실되면 기면증(narcolepsy), 즉 갑자기 잠이 드는 질환이 발생하며, 같은 핵의 MCH 뉴런은 REM 수면에 관여한다. 유두뇌실핵(tuberomammillary nucleus)에는 뇌에서 유일하게 히스타민을 신경전달물질로 사용하는 HDC+ 뉴런이 있는데, 항히스타민제를 먹으면 졸리는 이유가 바로 이 뉴런의 각성 기능이 억제되기 때문이다.

시상하부에는 뇌의 다른 곳에서는 찾아볼 수 없는 고유한 세포 유형도 존재한다. 락소실세포(tanycyte)는 제3뇌실을 감싸는 방사 글리아 유사 세포로, 네 가지 분자적 아형($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$)으로 나뉜다. RAX와 CRYM(갑상선 호르몬 결합 단백질)을 공통적으로 발현하며, 임신 약 6주라는 매우 이른 시기에 이미 나타난다. $\beta 2$ 아형은 정중 융기(median eminence)의 모세혈관과 직접 접촉하여 호르몬을 문맥 혈액으로 수송하며, 포도당과 렙틴을 감지하는 대사 센서로서 기능한다. 또한 성인기에도 신경줄기세포로서의 잠재력을 유지할 가능성이 제기되고 있다.

시상하부의 발달 프로그램도 다른 뇌 영역과 구별되는 특성을 가진다. 시상하부 전구세포는 SIX3/SIX6를 발현하여 시상(TCF7L2)이나 시상전부(PAX6)의 전구세포와 구별된다. 임신 약 6-12주에 신경 생성이 주를 이루고, 15-25주에 교세포 생성 물결이 뒤따른다. 주목할 점은 임신 약 7주에 나타나는 교세포성 중간 전구세포(gliogenic IPC)로, ASCL1+/EGFR+/OLIG1+/OLIG2+이면서 PDGFRA 음성인 이 세포는 성상세포와 희소돌기세포 양쪽으로 분화할 수 있는 이중 잠재력(bipotential)을 유지한다. 이것은 피질에서 OPC가 직접 희소돌기세포로 분화하는 경로와는 다른, 시상하부만의 독특한 교세포 발생 경로다.

종간 비교에서 시상하부는 뇌의 다른 영역보다 높은 수준의 보존을 보인다. Herb et al. (2023)의 분석에서 인간 108개 뉴런 클러스터 중 105개(97%)가 마우스의 대응 클러스터와 AUROC > 0.8로 매칭되었다. 그러나 보존된 세포 유형 안에서도 종 특이적 차이는 존재한다. 인간 POMC 뉴런에서는 PGR(프로게스테론 수용체), THRB(갑상선 호르몬 수용체)가 풍부하여 인간 특이적 갑상선-대사 연결을 시사하고, 방실핵의 AVP 뉴런에서는 NR3C1(글루코코르티코이드 수용체)가 풍부하여 인간 특이적 스트레스 반응 조절이 존재할 가능성을 보여준다. 또한 신경전달물질 사용에서도 종간 차이가 관찰된다 — 마우스에서 궁상핵과 등내측핵은 주로 GABAergic이지만, 인간에서는 글루탐산성과 GABAergic이 혼재하는 패턴을 보인다.

선조체: 패치와 매트릭스의 이중 세계

선조체(striatum)는 대뇌 피질의 층 구조와는 완전히 다른 방식으로 조직되어 있다. 층(layer) 대신 패치(patch, 또는 striosome)와 매트릭스(matrix)라는 두 개의 구획이 서로 끼워 넣어진(interdigitated) 모자이크를 이룬다. 이 구획하는 선조체의 기능적 조직의 핵심이다.

선조체 뉴런의 약 90%는 중형 가시 뉴런(medium spiny neuron, MSN)이며, 크게 D1 MSN(직접 경로, DRD1+)과 D2 MSN(간접 경로, DRD2+)으로 나뉜다. 교과서적 모델에서 D1 MSN은 운동을 촉진하고 D2 MSN은 운동을 억제한다. 하지만 Dong et al. (2025)의 연구는 이 이분법이 지나치게 단순화된 것임을 보여주었다.

직접 경로(D1) 안에서도 분자적으로 구별되는 두 아형이 정반대의 운동 기능을 수행한다. CALB1을 발현하는 매트릭스 dSPN은 보행 시작 시 활성화되며 흑질 그물핵(SNr)으로 투사하여 도파민 방출을 증가시키고 운동을 촉진한다. 반면 KREMEN1을 발현하는 패치 dSPN은 보행 종료 시 활성화되며 흑질 치밀핵(SNc)의 도파민 뉴런 주위에 “부케(bouquet)” 형태의 축삭 구조를 형성하고, GABBR1을 통해 ALDH1A1+ 도파민 뉴런을 억제하여 운동을 종료시킨다. 하나의 직접 경로 안에서 “가속 페달”과 “브레이크 페달”이 공존하는 것이다.

선조체의 인터뉴런도 다양한 분류 체계를 가지고 있다. Garma et al. (2024) 연구는 인간 등쪽 선조체(미상핵과 피각)에서 455,886개 핵을 시퀀싱하고, 인터뉴런 19,339개를 분리하여 8개 주요 유형, 14개 아유형의 분류 체계를 확립했다. PTHLH+와 TAC3+ 유형이 가장 풍부했으며, 이 중 TAC3+ 인터뉴런은 영장류 특이적으로, 마모셋에서도 확인되었지만 마우스에서는 보고되지 않았다. 콜린성 인터뉴런(CHAT+)은 긴장 활성 뉴런(tonically active neuron,

TAN)으로 지속적으로 발화하며, PVALB+ 인터뉴런은 빠른 스파이킹으로 주변 MSN에 강력한 억제를 가한다. SST/NPY 인터뉴런과 CCK/VIP 인터뉴런(꼬리 신경절 용기 유래 특성)도 확인되었다. 미상핵과 피각 사이에는 인터뉴런 아유형의 풍부도와 전사체적 프로파일에서 뚜렷한 차이가 존재했다.

도파민 뉴런의 아형과 진화적 딜레마

중뇌의 도파민(DA) 뉴런은 수가 적지만 — 인간 흑질의 DA 뉴런은 약 40만-60만 개에 불과하다 — 운동, 보상, 동기, 사회적 인지에 걸쳐 뇌 기능에 미치는 영향은 막대하다. Siletti et al. (2023) 연구의 뇌 전체 아틀라스(300만 핵 이상)에서 DA 뉴런은 3개 대분류, 14개 아클러스터로 세분화되었다.

대분류	위치	핵심 마커	기능
A9 (흑질 치밀핵)	SNc	TH, SOX6, ALDH1A1, KCNJ6	흑질선조체 경로 — 운동 조절; 파킨슨병에서 선택적 취약
A10 (복측 피개 영역)	VTA	TH, CALB1, OTX2, VIP	중변연계/중피질 경로 — 보상, 동기, 사회적 인지
공-GABA성 DA	산재	TH, GAD2	이중 신경전달물질 정체성 — 도파민 + GABA

파킨슨병에서 가장 먼저, 가장 심하게 손상되는 것은 A9 그룹 내에서도 ALDH1A1을 발현하는 아집단이다. 반면 CALB1을 발현하는 A10 뉴런은 상대적으로 보존된다 — 칼슘 결합 단백질의 보호 효과가 제안된다. ALDH1A1+ 뉴런은 앞서 본 선조체의 Kremen1+ 패치 dSPN으로부터의 피드백 표적이기도 하다.

인간 DA 뉴런에는 진화적 딜레마가 숨어 있다. Nolbrant et al. (2024) 연구는 인간, 침팬지, 오랑우탄, 마카크의 iPSC 유래 중뇌 오가노이드에서 73,077개 핵의 비교 전사체 분석을 수행했다. 인간의 전전두 피질 표적 영역은 마카크보다 18배 확장되었고, 선조체 표적 영역은 6.8배 확장되었으며, 흑질에서 미상핵까지의 섬유 경로 길이는 2.5배 늘어났다. 각 DA 뉴런이 서비스해야 할 투사 영역이 막대하게 확대된 것이다.

이 해부학적 확장에 대응하여 인간 DA 뉴런은 미토콘드리아 축삭 수송과 활성산소종(ROS) 완충 프로그램을 특이적으로 상향 조절했다. 로테논(rotenone) 유도 산화 스트레스 실험에서 인간 특이적 신경보호 반응이 확인되었다. 하지만 이것은 양날의 검이다 — 확장된 전뇌 연결성은 인간의 인지를 가능하게 하지만, 동시에 DA 뉴런에 극도의 대사 부담을 지워 파킨슨병에 대한 취약성을 만든다. 진화가 인지 능력의 대가로 신경퇴행 위험을 높인 것이다.

DA 뉴런은 파킨슨병뿐 아니라 자폐스펙트럼장애와도 연결된다. Li et al. (2025) 연구는 ASD 고위험 유전자 SCN2A(전압 개폐 나트륨 채널 NaV1.2를 암호화)가 VTA DA 뉴런에서 주요 나트륨 채널 이소형임을 보여주었다. VTA DA 뉴런에서 Scn2a를 선택적으로 결손시키면 자발적 발화 빈도가 감소하고, 17.1%의 “침묵” 뉴런이 나타나며, 촉각핵에서의 도파민 방출이 유의하게 감소한다. 행동적으로는 과활동, 사회성 저하, 불안 감소가 관찰된다. 흥미롭게도 같은 SCN2A 변이가 피질 피라미드 뉴런에서는 과흥분성을 일으키지만 VTA DA 뉴런에서는 저흥분성을 유발한다 — 동일한 유전자가 세포 유형에 따라 정반대 효과를 내는 것이다. 급성 레보도파 투여는 비운동 행동 결핍을 개선했다.

뇌간: 분류를 거부하는 뉴런들

뇌간(brainstem)은 단일 세포 전사체 연구에서 분류가 가장 어려운 영역이다. 대뇌 피질에서는 뉴런을 흥분성과 억제성으로 깔끔하게 나눌 수 있다. 흥분성 뉴런은 글루탐산을 분비하고, 억제성 뉴런은 GABA를 분비하며, 이 두 범주가 피질 뉴런의 거의 전부를 설명한다. 그러나 뇌간에서는 이 경계가 무너진다. “파편 뉴런(splatter neuron)”이라는 이름이 붙은 상위클러스터가 이 독특한 특성을 보여준다(Siletti et al. 2023). 이 상위클러스터 안에는 흥분성 뉴런과 억제성 뉴런이 함께 들어 있고, 세로토닌성 뉴런, 도파민성 뉴런, 그리고 여러 신경전달물질과 신경펩타이드를 조합적으로 발현하는 뉴런이 공존한다. 마치 생물학적 분류에서 포유류와 조류가 명확히 나뉘지만, 오리너구리처럼 양쪽의 특성을 모두 가진 존재가 있는 것과 비슷한 상황이다.

세로토닌은 기분, 수면, 식욕을 조절하는 신경전달물질로 잘 알려져 있지만, 세로토닌을 분비하는 뉴런 자체의 다양성은 오랫동안 제대로 파악되지 못했다. FEV와 SLC6A4를 발현하는 세로토닌 뉴런에서 14개 아클러스터가 확인되었다. 이들은 크게 두 그룹으로 나뉘는데, 전뇌로 투사하여 기분과 불안을 조절하는 주둥이 그룹(EN1, HMX3 발현)과, 척수로 투사하여 통증과 운동을 조절하는 꼬리 그룹(HOX 유전자 발현)이다. 많은 세로토닌 뉴런이 글루탐산성 또는 GABAergic 마커를 동시에 발현하는데, 하나의 뉴런이 세로토닌과 함께 다른 신경전달물질을 동시에 사용하는 이 복합 공발현 패턴은 뇌간의 규칙이지 예외가 아니다.

뇌간에서 세포 유형의 밀도가 가장 높은 곳은 부완핵(parabrachial nucleus)이다. 이 비교적 작은 구조에서 147개 이상의 아클러스터가 확인되었는데, 이는 뇌에서 단위 부피당 가장 높은 세포 유형 밀도에 해당할 수 있다. PHOX2B, FOXP2, LMX1B, PAX5 같은 전사인자가 이 다양성의 분자적 기반을 이루며, 내장 감각, 각성, 호흡 조절 등 다양한 자율 기능을 지원한다. 왜 이렇게 작은 구조에 이토록 많은 세포 유형이 필요한가? 부완핵은 내장에서 올라오는 다양한 감각 신호(통증, 온도, 맛, 내장 팽창)를 받아 각각에 적절한 반응(경각, 구역, 회피, 호흡 조절)을 내보내야 하기 때문에, 각 입력-출력 조합에 대응하는 전문화된 뉴런 집단이 필요한 것으로 생각된다.

뇌간의 이러한 세포 다양성은 피질의 조직 원리와 근본적으로 다른 패러다임을 반영한다. 피질의 뉴런은 국소 회로를 구성하여 정보를 처리하지만, 뇌간의 모노아민 뉴런(도파민, 세로토닌, 노르에피네프린)은 뇌 전체에 걸쳐 확산 투사(diffuse projection)를 형성한다. 피질에는 층과 기둥이 있지만, 뇌간의 많은 영역은 그물형성체(reticular formation)처럼 핵 구조가 아닌 확산 네트워크로 조직된다. 그리고 피질의 뉴런은 대부분 하나의 신경전달물질을 사용하지만, 뇌간의 뉴런은 두세 가지 신경전달물질을 동시에 사용하는 것이 예외가 아니라 규칙이다.

이처럼 비-피질 영역의 세포 지도가 완성되어 갈수록, 대뇌 피질에서 발전한 세포 분류의 원리가 뇌 전체에 보편적으로 적용되지 않는다는 사실이 명확해지고 있다. 시상의 연속적 경사, 선조체의 패치/매트릭스 구획, 뇌간의 혼합 신경전달물질 뉴런은 각각 고유한 조직 논리를 따르며, 이 다양한 논리들의 총합이 뇌를 뇌답게 만든다.

참고문헌

- Dong, Z., et al. (2025). Molecularly distinct striatonigral subtypes have opposite locomotor functions. *Nature*.
- Garma, L. D., Harder, L., Barba-Reyes, J. M., et al. (2024). Interneuron diversity in the human dorsal striatum. *Nature Communications*, 15, 6089. doi:10.1038/s41467-024-50414-w
- Herb, B. R., Glover, H. J., Bhaduri, A., et al. (2023). Single-cell genomics reveals region-specific developmental trajectories underlying neuronal diversity in the human hypothalamus. *Science Advances*, 9, eadf6251.
- Jones, E. G. (1998). Viewpoint: The core and matrix of thalamic organization. *Neuroscience*, 85, 331-345.
- Kim, C. N., Shin, D., Wang, A., & Nowakowski, T. J. (2023). Spatiotemporal molecular dynamics of the developing human thalamus. *Science*, 382, eadf9941. doi:10.1126/science.adf9941
- Li, M., et al. (2025). VTA dopamine neurons mediate ASD-like social deficits via SCN2A hypofunction. *Nature Neuroscience*.
- Liu, H., et al. (2025). Single-cell multiomic atlas of Alzheimer's disease progression across six brain regions. *Cell*.
- Nishioka, M., Sakashita-Kubota, M., Iijima, K., et al. (2026). Disturbances of paraventricular thalamic nucleus neurons in bipolar disorder revealed by single-nucleus analysis. *Nature Communications*, 17, 5892. doi:10.1038/s41467-025-68094-5
- Nolbrant, S., et al. (2024). Human-specific features of midbrain dopaminergic neurons revealed by interspecies organoid models. *Cell Stem Cell*.
- Phillips, J. W., et al. (2019). A repeated molecular architecture across thalamic pathways. *Nature Neuroscience*, 22, 1925-1935.
- Siletti, K., et al. (2023). Transcriptomic diversity of cell types across the adult human brain. *Science*, 382, eadd7046.

주요 용어 안내

시상(thalamus): 거의 모든 감각 정보가 피질로 전달되기 전에 경유하는 뇌의 구조. 30개 이상의 핵으로 나뉘며, 감각 중계뿐 아니라 각성, 기분 조절, 변연계 통합에도 관여한다.

시상하부(hypothalamus): 체온, 배고픔, 수면, 스트레스, 일주기 리듬 등 몸의 항상성을 조절하는 뇌 구조. 뉴런이 호르몬을 혈액으로 직접 분비하는 신경내분비 기능을 수행한다.

중형 가시 뉴런(medium spiny neuron, MSN): 선조체 뉴런의 약 90%를 차지하는 세포. D1 MSN(직접 경로)과 D2 MSN(간접 경로)으로 나뉘어 운동의 시작과 억제를 조절한다.

띠뇌실막세포(tanycyte): 시상하부 제3뇌실을 감싸는 방사 글리아 유사 세포. 포도당과 렙틴을 감지하는 대사 센서이자, 호르몬을 문맥 혈액으로 수송하는 역할을 한다.

파편 뉴런(splatter neuron): 뇌간에서 발견된, 흥분성과 억제성 마커를 동시에 발현하는 뉴런. 피질의 흥분성/억제성 이분법이 뇌간에서는 적용되지 않음을 보여준다.

Chapter 18. 유전자는 홀로 작동하지 않는다

오래된 유전학 교과서에는 이런 그림이 자주 등장한다. 유전자 A가 있고, 그 유전자로부터 단백질 A가 만들어지고, 단백질 A가 어떤 특정한 기능을 담당한다. 단순하고 깔끔하다. 그런데 뇌에서는 이 그림이 거의 통하지 않는다. 뇌는 단순함을 극도로 거부하는 장기다. 860억 개의 뉴런이 100조 개의 시냅스로 연결된 이 구조가 단순한 일대일 대응으로 작동한다면, 그것이 오히려 이상한 일이다. 뇌에서 유전자는 홀로 작동하지 않는다. 유전자는 언제나 다른 유전자들과 함께, 세포의 맥락 안에서, 발달의 특정 시점에, 특정 신호에 응답하면서 작동한다. 그것이 유전자 네트워크(gene network)의 핵심 개념이다.

이 개념이 직관에 위배되는 것은 아니다. 우리는 이미 일상적인 곳에서 네트워크가 작동하는 방식을 안다. 도시의 교통망을 생각해보자. 특정 도로 하나가 막혔을 때 일어나는 일은 그 도로 하나의 용량 감소가 아니다. 우회 차량이 인접 도로로 몰리고, 그 도로가 막히면 또 다른 경로로 파급이 일어난다. 잘 설계된 네트워크는 단일 지점의 장애에 견고하지만, 허브, 즉 많은 연결이 집중된 핵심 노드가 고장나면 전체 망이 기능을 잃는다. 유전자 네트워크도 마찬가지다. 단순히 어떤 유전자가 어떤 단백질을 만드느냐의 문제가 아니라, 그 유전자가 어떤 다른 유전자들과 함께 조절되고, 어떤 단백질들과 물리적으로 상호작용하며, 어떤 조절 루프 안에 들어 있느냐가 그 유전자의 기능을 결정한다.

뇌 발달의 맥락에서 유전자 네트워크를 이해하는 것은 단순한 학문적 흥미가 아니다. 자폐스펙트럼장애(autism spectrum disorder), 조현병, 지적장애 같은 신경발달 질환들은 수백 개의 서로 다른 유전자에서 비롯된다. 왜 그렇게 많은 서로 다른 유전자들이 결국 비슷한 임상적 표현형으로 이어지는가? 이 질문에 답하는 열쇠가 바로 네트워크다. 서로 다른 유전자들이 같은 네트워크 안에 속해 있다면, 그 네트워크의 어느 지점이 교란되더라도 결국 비슷한 결과가 초래될 수 있다. 이 아이디어를 기능적 수렴(functional convergence)이라 부르는데, 이 책의 4부 전체가 이 개념을 중심으로 전개된다. 그리고 그 이야기는 유전자 네트워크를 어떻게 정의하고 측정하는가의 질문에서 시작된다.

유전자 공발현 네트워크: 함께 켜지는 유전자들

Part 2에서 우리는 WGCNA(weighted gene co-expression network analysis, 가중 유전자 공발현 네트워크 분석, Chapter 4)를 처음 만났다. Kang et al. (2011, Chapter 2) 연구에서 이 방법이 인간 뇌의 시공간 전사체를 분석하는 데 어떻게 적용되었는지를 살펴봤다. 이제 3부에서는 그 맥락을 더 넓혀야 한다. WGCNA가 단순히 한 연구에서 사용된 통계 도구가 아니라, 현대 뇌 유전체학의 핵심 개념적 틀을 제공한다는 것을 이해하기 위해서다. 공발현(co-expression)이란 두 유전자가 여러 조직 표본에 걸쳐 발현 수준이 함께 오르내리는 현상을 말한다. 수백 개의 조직 샘플에서 유전자 A의 발현이 높으면 유전자 B의 발현도 높고, A가 낮으면 B도 낮다면, 두 유전자는 공발현 관계에 있다고 한다. 마치 어떤 두 학생이 수업마다 같이 결석하고 같이 출석한다면 그들이 같은 동아리나 팀 소속일 가능성이 크다고 추측하는 것처럼, 공발현 유전자들은 같은 생물학적 맥락을 공유한다는 추론의 근거가 된다. 발현 패턴이 높게 상관된 유전자들을 묶은 것이 공발현 모듈(co-expression module)이며, 이 모듈 안의 유전자들은 같은 세포 유형에서 발현되거나, 같은 전사인자(transcription factor)에 의해 조절되거나, 같은 생물학적 과정에 참여한다고 추론할 수 있다.

공발현 분석에는 중요한 철학적 전제가 있다. 같이 움직이는 유전자들은 뭔가 공통점이 있다는 것이다. 이것은 통계적 연관성에서 생물학적 의미를 추론하는 귀납적 추론이다. 물론 발현 패턴이 우연히 비슷할 수도 있고, 간접적인 이유로

상관관계가 생길 수도 있다. 그러나 수천 개의 표본에 걸쳐, 수백 개의 유전자가 일관되게 함께 발현된다면, 그것은 우연이라고 보기 어렵다. 그리고 그 모듈에 포함된 유전자들을 기능 주석(functional annotation) 방법으로 분석했을 때, 같은 세포 소기관(organelle)에 위치한 단백질을 만들거나, 같은 분자 기능을 수행하는 유전자들이 집중되어 있다면, 그 모듈은 단순한 통계적 인공물이 아니라 실제 생물학적 단위를 포착하고 있는 것이다. WGCNA의 힘은 바로 이렇게 데이터로부터 생물학적 단위를 발견하는 데 있다.

뇌 발달 연구에서 이 방법이 특히 강력한 이유는, 뇌가 시간에 따라 극적으로 변하는 장기이기 때문이다. 임신 초기의 뇌에서는 신경 전구세포(neural progenitor cell)의 증식에 관여하는 유전자들이 많이 발현되고, 임신 중기로 가면 뉴런의 이주(migration)와 분화에 관여하는 유전자들이 전면에 나서며, 출생 후에는 시냅스 형성(synaptogenesis)과 정제(refinement)에 관여하는 유전자들이 활발해진다. 이 각 단계마다 서로 다른 유전자 집합이 함께 발현되어 하나의 모듈을 이루고, 그 모듈이 해당 발달 단계를 정의한다. WGCNA는 이렇게 발달 시기별로 교대로 등장하는 유전자 앙상블을 체계적으로 포착한다. 마치 오케스트라에서 악장이 바뀔 때마다 전면에 나서는 악기군이 달라지는 것처럼, 뇌 발달의 각 챕터를 이끄는 유전자 그룹이 따로 있는 것이다.

자폐스펙트럼장애 사후 뇌에서 발견된 수렴

이 개념을 실제로 증명한 이정표적 연구가 Voineagu et al. (2011)이 Nature에 발표한 논문이다. 이 연구는 당시로서는 드물게 자폐스펙트럼장애 환자와 대조군의 사후 뇌 조직(postmortem brain tissue)에서 WGCNA를 적용하여 분자적 수렴 경로를 체계적으로 분석했다. 사후 조직 연구의 어려움은 Chapter 1에서 이미 다루었다. RNA는 사망 직후부터 분해되기 시작하고, 기증자마다 나이, 사인, 투약력이 다르며, 대규모 코호트를 구성하기 어렵다. Voineagu 등은 자폐스펙트럼장애 19명과 대조군 17명의 전전두 피질(prefrontal cortex, BA9), 상측두이랑(superior temporal gyrus, BA41/42), 소뇌 총부(cerebellar vermis)에서 Illumina 마이크로어레이를 이용해 전사체를 분석했다. 36명이라는 숫자는 작아 보이지만, 당시 자폐스펙트럼장애 사후 뇌 연구로는 가장 큰 규모였다.

연구의 첫 번째 질문은 단순했다. 자폐스펙트럼장애 뇌와 대조군 뇌 사이에 어떤 유전자들이 다르게 발현되는가? 분석 결과 피질에서 444개의 유전자가 유의하게 차이를 보였다. 흥미로운 것은 이 444개 유전자 목록이 전전두 피질과 상측두이랑에서 상당히 겹쳤다는 것이다. 두 영역에서 차별 발현된 유전자들 사이의 중복은 통계적으로 거의 불가능할 정도로 높았고($p=10^{-44}$), 소뇌에서는 이러한 패턴이 관찰되지 않았다. p 값이 10^{-44} 이라는 것은 우연히 이런 결과가 나올 확률이 10을 44번 곱한 것 분의 1이라는 뜻이다. 사실상 이 유사성이 우연이 아니라는 의미다. 이것이 의미하는 바는 깊다. 자폐스펙트럼장애를 가진 개인들은 서로 다른 유전 변이(genetic variant)를 가지고 있을 텐데도, 사후 뇌 조직에서는 같은 유전자들이 같은 방향으로 바뀌어 있었다. 유전적 원인이 다양하더라도, 그 결과로 나타나는 분자적 패턴은 수렴한다는 것이다.

WGCNA를 적용하자 더 뚜렷한 그림이 나타났다. 연구진은 자폐스펙트럼장애 집단에서 특이적으로 변화된 두 개의 주요 공발현 모듈을 발견했다. 첫 번째 모듈은 신경세포(neuronal) 모듈로, 시냅스 기능과 관련된 유전자들이 풍부했다. 이 모듈에 포함된 유전자들은 자폐스펙트럼장애 환자에서 발현이 낮아져 있었고, 중요한 것은 이 모듈이 자폐스펙트럼장애 GWAS(전장 유전체 연관 분석, genome-wide association study) 신호로 유의하게 빈번하게 포함되어 있었다는 것이다. 유전적 위험 변이들이 시냅스 유전자 네트워크를 교란하고, 그 결과가 전사체 수준에서 모듈 전체의 하향 조절로 나타난 것이다. 두 번째 모듈은 면역 및 글리아(immune/glia) 모듈로, 자폐스펙트럼장애에서 발현이 높아져 있었다. 그런데 이 모듈은 GWAS 신호와 유의한 관련이 없었다. 이는 면역 반응의 활성화가 유전적 원인에 의한 것이 아닐 수 있음을, 즉 신경 염증이 원인이라기보다는 결과일 수 있음을 시사한다.

지역 패턴의 소실: 뇌가 뇌다움을 잃을 때

Voineagu et al. (2011)이 발견한 또 하나의 중요한 결과는 전전두 피질과 상측두이랑 사이의 유전자 발현 차이가 자폐스펙트럼장애 환자에서 현저히 감소해 있다는 것이었다. 정상 발달 뇌에서는 전전두 피질과 측두 피질이 서로 다른 유전자 발현 패턴을 가지고 있어서, 두 영역의 전사체를 비교하면 수백 개의 유전자에서 차이를 볼 수 있다. 이 차이가 두 영역의 서로 다른 기능, 서로 다른 세포 구성, 서로 다른 회로를 뒷받침한다. 그런데 자폐스펙트럼장애 환자의 뇌에서는 이 영역 간 차이가 현저히 희미해져 있었다. 전전두 피질이 좀 더 측두 피질처럼 보이고, 측두 피질이 좀 더 전전두 피질처럼 보이는 것이다. 뇌 영역들이 고유한 분자적 정체성을 부분적으로 잃고 있는 것이다. 뇌가 뇌다움을 일부 잃어버린다고 할까.

이 발견은 자폐스펙트럼장애를 특정 뇌 영역 하나의 기능 이상이 아니라, 뇌 전반의 발달적 조직화 과정의 교란으로 이해해야 한다는 것을 시사한다. 전전두 피질과 측두 피질은 사회적 인지, 언어, 감정 처리에서 중요한 역할을 하며, 이

두 영역 사이의 기능적 연결이 자폐스펙트럼장애의 사회적 의사소통 결함과 관련이 있다는 증거는 여러 연구에서 보고된 바 있다. 영역 간 전사체 차이의 소실은 이 기능적 연결이 뇌 발달 과정에서 이미 분자적으로 이상하게 구성된다는 것을 의미할 수 있다. 물론 사후 조직 연구에서는 관찰된 차이가 자폐스펙트럼장애의 원인인지 결과인지 구분하기 어렵다는 근본적인 한계가 있다. 그러나 전사체의 광범위한 변화는 단일 유전자 변이의 국소적 효과가 아니라, 네트워크 전체가 다르게 작동하고 있다는 것을 말해준다.

주목할 만한 또 하나의 요소는 A2BP1(FOX1)이다. A2BP1은 뉴런 특이적 RNA 결합 단백질(RNA-binding protein)로서 대체 스플라이싱(alternative splicing) 조절에 관여한다. 대체 스플라이싱이란 같은 유전자 하나에서 여러 종류의 서로 다른 단백질을 만들어낼 수 있는 과정이다. 비유하면 하나의 레고 박스에 들어있는 부품들을 배치 방법에 따라 자동차로도, 비행기로도 만들 수 있는 것과 같다. A2BP1이 이 배치 결정을 담당하기 때문에, 이 유전자 하나가 망가지면 수십 개의 다른 단백질들이 모두 잘못 조립된다. 연구진은 RNA-seq를 이용하여 자폐스펙트럼장애 뇌에서 A2BP1 의존적 대체 스플라이싱이 전반적으로 교란되어 있음을 보였다. A2BP1 자체는 이미 알려진 자폐스펙트럼장애 위험 유전자인데, 이 유전자가 손상되면 그것이 조절하는 수십 개의 다른 유전자들의 스플라이싱이 연쇄적으로 교란된다. 하나의 유전자 변이가 네트워크 전체에 파급 효과(cascading effect)를 미치는 것이다. 이것은 뇌에서 유전자가 네트워크를 이루어 작동한다는 명제의 직접적인 증거였다. 자폐스펙트럼장애의 분자적 이상이 단일 유전자 수준이 아니라 유전자 조절 네트워크 수준에서 이해되어야 한다는 것이다.

시냅스 네트워크, 전사 조절 네트워크, 크로마틴 리모델링 네트워크

뇌에서 유전자 네트워크를 구성하는 주요 범주를 이해하려면, 뇌 발달의 주요 생물학적 과정들을 먼저 살펴야 한다. 현대 자폐스펙트럼장애 유전체학 연구들이 반복적으로 지목하는 유전자 네트워크는 크게 세 가지 범주로 나뉜다. 첫째는 시냅스 네트워크(synaptic network)다. SHANK2, SHANK3, SYNGAP1, NRXN1, NLGN3, NLGN4 같은 유전자들이 이 네트워크를 구성한다. 이 유전자들이 만드는 단백질들은 시냅스, 특히 흥분성 시냅스의 후시냅스 밀도(postsynaptic density)에서 함께 작동하며 서로를 조절한다. SHANK 단백질은 다른 여러 시냅스 단백질들을 한데 묶는 발판(scaffold) 역할을 하고, NRXN 단백질은 전시냅스와 후시냅스를 물리적으로 연결하는 접착 분자(adhesion molecule) 역할을 한다. 이 단백질들 중 하나가 손상되면, 다른 단백질들의 국소화와 기능도 연쇄적으로 영향을 받는다.

둘째는 전사 조절 네트워크(transcriptional regulatory network)다. TBR1, FOXP1, ADNP 같은 전사인자(transcription factor)들이 여기에 속한다. 전사인자란 다른 유전자들의 발현을 켜거나 끄는 단백질인데, 뇌 발달에서 이 유전자들은 각 세포 유형의 정체성을 결정하고 발달 프로그램을 조율하는 마스터 조절자 역할을 한다. 예를 들어 TBR1은 심층 피질 뉴런(deep cortical neuron)의 분화를 조절하는 핵심 전사인자인데, TBR1이 손상되면 그것이 조절하는 수백 개의 하위 표적 유전자들의 발현이 전반적으로 교란된다. 전사인자 하나의 기능 손실이 수백 개 유전자로 이루어진 조절 네트워크 전체를 흔드는 것이다. 마치 교향악단의 지휘자가 자리를 비우면 모든 연주자가 박자를 잃는 것처럼.

셋째는 크로마틴 리모델링 네트워크(chromatin remodeling network)다. CHD8, ARID1B, KDM5C, SETD5 같은 유전자들이 여기에 속한다. 크로마틴(chromatin)이란 DNA가 히스톤(histone) 단백질을 감고 응축된 구조인데, 크로마틴 리모델링이란 이 구조를 열거나 닫아서 특정 유전자들이 전사될 수 있는지를 물리적으로 결정하는 과정이다. DNA를 교과서에 비유하면, 크로마틴 리모델링은 교과서의 어느 챕터를 펼쳐두고 어느 챕터를 덮어놓을지를 결정하는 것이다. 유전자의 스위치가 어떻게 설정되어 있는가를 결정하는 더 상위 수준의 조절인 셈이다. CHD8은 현재까지 발견된 자폐스펙트럼장애 단일 유전자 위험 인자 중 가장 강력한 것 중 하나인데, CHD8이 손상되면 크로마틴 구조의 광범위한 재편이 일어나고, 그 결과로 수천 개 유전자의 발현이 변한다. 하나의 크로마틴 리모델러 유전자의 변이가 전사체 수준에서 전 유전체적인 파급 효과를 일으키는 것이다. 이 세 가지 네트워크는 서로 독립적이지 않고 상호 연결되어 있으며, 이 점이 자폐스펙트럼장애의 유전적 이질성(genetic heterogeneity)에도 불구하고 공통된 분자적 표현형이 나타나는 이유를 설명한다.

하나의 유전자 변이가 네트워크 전체를 흔든다

유전자 네트워크의 관점은 자폐스펙트럼장애 유전학에서 오랫동안 골치 아팠던 질문에 새로운 답을 제시한다. 자폐스펙트럼장애의 표현형은 사람마다 매우 다양하다. 같은 진단을 받더라도, 어떤 사람은 언어 능력이 없고 지적장애가 동반되며, 어떤 사람은 언어와 인지 기능이 정상 범위 내에 있지만 사회적 상호작용에 어려움을 겪는다. 그리고 이 다양한 표현형을 가진 사람들이 가지고 있는 유전자 수준의 원인 또한 매우 다양하다. 수백 개의 서로 다른 유전자들이 자폐스펙트럼장애와 연관된다. 그렇다면 어떻게 수백 개의 서로 다른 원인이 결국 자폐스펙트럼장애라는 진단 범주로 수렴하는가?

네트워크 관점에서 답은 이렇다. 다양한 유전자들이 결국 같은 네트워크 안에 속해 있기 때문이다. 시냅스 네트워크의 서로 다른 구성 요소들이 손상되더라도, 결국 시냅스 기능의 비슷한 방향의 이상이 초래된다. 크로마틴 리모델링 네트워크의 서로 다른 요소들이 손상되더라도, 발달 과정에서 비슷한 유전자 조절 이상이 생긴다. 네트워크의 어느 노드(node)에 타격이 가해지든, 그 네트워크의 전반적인 기능이 비슷하게 저해된다는 것이다. 이 논리는 또한 왜 자폐스펙트럼장애에서 이렇게 많은 유전자들이 위험 인자가 될 수 있는지를 설명한다. 수백 개의 유전자가 세 가지 주요 네트워크 안에 분산되어 있고, 그 네트워크들 중 어느 것이든 손상되면 자폐스펙트럼장애의 위험이 높아지기 때문이다.

이것은 치료에도 중요한 함의를 가진다. 만약 자폐스펙트럼장애가 수백 개의 개별 유전자들의 문제라면, 각 유전자를 개별적으로 표적하는 치료법을 개발하는 것은 사실상 불가능에 가깝다. 그러나 수백 개의 유전자들이 결국 몇 가지 공통 네트워크와 경로에 수렴한다면, 그 공통 경로를 표적하는 치료법은 다양한 유전적 원인을 가진 환자들에게 광범위하게 적용될 수 있다. 시냅스 기능의 특정 측면을 조절하거나, 흥분/억제 균형(excitation/inhibition balance, E/I balance)을 회복하거나, 특정 크로마틴 리모델링 효소의 활성을 조절하는 접근이 그러한 예다. 물론 이 아이디어는 아직 임상적으로 완전히 실현되지 않았지만, 신경발달 질환 연구의 방향을 유전자 하나하나의 발견에서 네트워크 수준의 이해로 전환시킨 것은 분명하다.

네트워크 발굴이 가능한 이유: 방법론의 전제들

그런데 여기서 한 걸음 더 물려서서 생각해볼 필요가 있다. 네트워크 분석이 기능적 수렴을 발굴할 수 있는 이유는 무엇인가? 이 방법론들이 암묵적으로 어떤 전제에 의존하고 있는가? 이 질문을 진지하게 다루는 것이 중요한 이유는, 전제가 틀리면 아무리 정교한 분석도 의미가 없기 때문이다. 수렴은 처음부터 주어진 것이 아니라 특정 방법론적 틀 위에서 발굴된 것이므로, 그 틀의 기반을 이해하는 것이 이후 모든 논의의 전제가 된다.

네트워크 발굴의 출발점에는 유전자 위치 이질성(locus heterogeneity)과 경로 동질성(pathway homogeneity) 사이의 근본적인 전제가 놓여 있다. 수백 개의 서로 다른 변이가 자폐스펙트럼장애라는 같은 표현형을 유발하는 이유가 무엇인가? 이 전제는 단순하지만 강력하다. 그 변이들이 각기 다른 유전자에서 발생하더라도, 그 유전자들이 속한 생물학적 경로는 같다는 것이다. 마치 한 회사의 컴퓨터 네트워크가 여러 지점에서 문제가 생겨도 결국 같은 서버가 다운되는 것처럼, 서로 다른 유전자들이 손상되더라도 결국 같은 뇌 기능에 타격이 가는 이유다. 자폐스펙트럼장애 위험 변이를 가진 개인들은 각자 다른 유전자에 변이가 있지만, 그 유전자들이 속한 네트워크는 같다는 논리다. 이 전제 없이는 네트워크 분석 자체가 성립하지 않는다. 만약 수백 개의 유전자들이 서로 아무런 관계도 없는 경로들에 흩어져 있다면, 그것들을 묶을 네트워크는 존재하지 않는다. 이 전제가 실제로 성립하는지는 경험적으로 검증해야 하는 문제이고, 이후 챕터들에서 다루는 모든 연구들이 바로 그 검증의 결과물이다.

두 번째 핵심 전제는 공발현이 공유된 기능이나 조절을 반영한다는 것이다. 동일한 세포 유형과 발달 시점에서 상관 발현되는 유전자들은 같은 전사인자에 의해 조절되거나, 같은 단백질 복합체를 구성하거나, 같은 생물학적 과정에 참여한다는 이론이다. 상관관계가 인과관계는 아니다. 그러나 수천 개의 표본에 걸쳐 수백 개의 유전자가 일관되게 함께 발현되는 패턴은 우연이 아니며, 공발현 유전자들이 공통된 전사인자 혹은 조절 프로그램에 의해 제어된다는 것은 충분한 경험적 근거가 있다. 공발현 모듈이 생물학적 실체를 포착한다는 이 전제가 없다면, WGCNA나 시드 공발현 분석 같은 방법들은 의미 없는 통계 연습에 불과해진다. 이 챕터의 앞부분에서 살펴본 Voineagu et al. (2011) 연구가 바로 이 전제의 타당성을 직접 검증한 사례다. 공발현 모듈 안의 유전자들을 기능적으로 분류했을 때 시냅스 기능과 면역 반응이라는 일관된 생물학적 주제가 나타났다는 것이 그 증거다.

세 번째 전제는 단백질 상호작용이 기능적 상호의존성을 반영한다는 것이다. 물리적으로 상호작용하는 단백질들은 같은 복합체나 경로에 속하며, 그 단백질들 중 하나를 교란하면 복합체 전체가 영향을 받는다. 단백질-단백질 상호작용(protein-protein interaction, PPI) 네트워크를 이용하는 분석 방법들이 이 전제에 의존한다. PPI 데이터베이스는 연구가 많이 이루어진 단백질에 편향되어 있고 불완전하다는 한계가 있지만, 복합체 수준에서의 연결성은 통계적으로 의미 있게 질환 유전자들이 빈번하게 포함되어 있다는 것이 여러 연구를 통해 확인되었다. 이 세 가지 전제들이 유효하다는 것을 데이터로 검증하면서, 연구자들은 수천 개의 희귀 유전 변이가 각기 다른 유전자에서 발생하지만 공통된 분자 네트워크를 공유한다는 사실을 체계적으로 증명해왔다. 하나의 유전자는 홀로 서지 않는다. 그것은 언제나 더 큰 네트워크의 일부이며, 그 네트워크의 구조와 그것을 발굴하는 방법론의 전제를 이해하는 것이 신경발달 유전체학의 진정한 출발점이다.

References

Voineagu, I., Wang, X., Johnston, P., Lowe, J. K., Tian, Y., Horvath, S., ... & Geschwind, D. H. (2011). Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature*, 474(7351), 380–384. doi:10.1038/nature10110

Kang, H. J., Kawasawa, Y. I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., ... & Sestan, N. (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370), 483-489. doi:10.1038/nature10523

Zhang, B., & Horvath, S. (2005). A general framework for weighted gene co-expression network analysis. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*, 4(1). doi:10.2202/1544-6115.1128

De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A. P., Poultney, C. S., Samocha, K., Cicek, A. E., ... & Buxbaum, J. D. (2014). Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 515(7526), 209-215. doi:10.1038/nature13772

주요 용어 안내

기능적 수렴(functional convergence): 수백 개의 서로 다른 위험 유전자가 결국 공통된 분자 경로나 세포 과정으로 모이는 현상. 서로 다른 유전변이가 비슷한 표현형을 만들어내는 이유를 설명하는 핵심 개념이다.

드노보 유전변이(de novo mutation): 부모에게는 없고 자녀에게서 처음 나타나는 유전변이. 부모의 생식세포가 만들어지는 과정에서 새로 발생하며, 신경발달 조건의 주요 유전적 원인 중 하나다.

크로마틴 리모델링(chromatin remodeling): DNA가 히스톤 단백질에 감긴 구조를 풀거나 조이는 과정. CHD8, ARID1B 같은 크로마틴 리모델링 유전자의 유전변이가 자폐스펙트럼장애에서 빈번하게 발견된다.

단백질-단백질 상호작용 네트워크(PPI network): 세포 안에서 단백질들이 물리적으로 결합하거나 신호를 주고받는 관계를 지도로 나타낸 것. 서로 다른 위험 유전자들이 같은 네트워크 안에 있는지를 확인하는 데 쓰인다.

Chapter 19. 유전적 이질성에서 기능적 수렴으로

이 챕터를 시작하기 전에 하나의 사고 실험을 해보자. 어느 도시에 같은 증상을 가진 환자들이 수백 명 모였다고 가정하자. 그들 모두 비슷한 어려움을 겪지만, 각자가 왜 그 상태가 됐는지를 들여다보면 각각의 이유가 다르다. 어떤 사람은 뇌의 특정 영역에 가해진 초기 손상 때문이고, 어떤 사람은 발달 시기에 특정 호르몬이 제대로 조절되지 않았기 때문이며, 어떤 사람은 어릴 때 특정 회로가 형성되는 방식에 미묘한 차이가 있었기 때문이다. 원인은 제각각이지만 결과는 비슷하다. 신경발달 질환, 특히 자폐스펙트럼장애(autism spectrum disorder)가 정확히 이런 상황이다. 그리고 유전학의 언어로 이것을 표현하면 유전적 이질성(genetic heterogeneity)이라는 개념이 된다.

유전적 이질성이란 같은 표현형(phenotype)을 보이는 개인들이 서로 다른 유전 변이(genetic variant)를 가지는 현상을 말한다. 여기서 용어를 명확히 할 필요가 있다. 변이(variant)와 유전자(gene)는 다른 개념이다. 유전자는 특정 단백질이나 기능적 RNA를 코딩하는 DNA의 기능적 단위다. 반면 유전 변이는 그 유전자의 DNA 서열에서 발생하는 특정한 차이, 즉 단일 염기의 치환이거나, 짧은 서열의 삽입/결실이거나, 더 큰 규모의 복제수 변이(copy number variant, CNV)일 수 있다. 하나의 유전자에서 수십 가지의 서로 다른 유전 변이가 발생할 수 있고, 그것들이 각각 서로 다른 효과를 낼 수 있다. 유전 변이가 DNA 서열의 차이라면, 유전자는 그 차이가 일어나는 문맥이다. 이 구분은 단순한 용어 문제가 아니라, 자폐스펙트럼장애의 유전적 구조를 이해하는 데 핵심적인 개념이다.

자폐스펙트럼장애의 유전적 이질성은 극단적이다. 현재까지 수백 개의 유전자가 자폐스펙트럼장애 위험과 연관된 것으로 보고되었고, 추산에 따르면 드노보 유전 변이(de novo variant, 부모로부터 유전된 것이 아니라 개인에게서 새로 발생한 유전 변이)만으로도 1,000개 이상의 유전자가 관여할 수 있다. 어떤 연구자들은 자폐스펙트럼장애가 하나의 질환이 아니라 수백 가지 다른 생물학적 원인을 가진 증후군들의 집합일지도 모른다고 주장했다. 이 관점에서 보면 “자폐스펙트럼장애”라는 단일 진단 범주는 단순히 비슷한 증상을 묶어 놓은 임상적 편의의 산물이지, 하나의 일관된 생물학적 실체를 반영하지 않을 수도 있다. 그런데 여기서 반전이 일어난다. 수백 개의 서로 다른 유전자들이 관여하지만, 그 유전자들이 속한 네트워크와 경로는 일관되게 수렴한다는 것이 대규모 유전체 연구들을 통해 점점 더 명확해졌다.

엑솜 시퀀싱이 밝힌 신생 변이의 수렴

기능적 수렴의 증거가 본격적으로 드러나기 시작한 것은 2012년이다. 이 해에 자폐스펙트럼장애의 유전적 구조를 밝혀낸 논문 네 편이 거의 동시에 출판되었다. 2012년 4월, *Nature*에 세 편의 엑솜 시퀀싱 논문이 같은 날 나란히 실렸고(Sanders et al. 2012; Neale et al. 2012; O’Roak et al. 2012), 같은 달 *Neuron*에 한 편이 더 발표되었다(lossifov et al. 2012).

네 연구 모두 자폐스펙트럼장애 환자와 그 가족의 엑솜을 시퀀싱하여 드노보 유전변이(de novo variant)를 체계적으로 발굴했고, 독립적인 데이터셋에서 일관된 결론에 도달했다. 자폐스펙트럼장애 환자에서 드노보 기능 상실성 유전변이(de novo loss-of-function variant)가 대조군보다 유의하게 많고, 이 유전변이들이 크로마틴 리모델링과 시냅스 기능 관련 유전자에 집중된다는 것이었다. 네 개의 서로 다른 연구실이 서로 다른 코호트를 분석하여 같은 결론에 도달했다는 사실 자체가, 이 발견의 신뢰성을 뒷받침했다.

이 네 편의 논문이 중요한 또 다른 이유는 통계적 프레임워크의 확립이다. Sanders et al. 연구는 유전자 길이와 서열 맥락에 따른 신생 유전 변이의 기대 빈도를 모델링하여, 관찰된 변이 수가 기대치를 초과하는 유전자를 통계적으로 발견하는 방법론을 정립했다. 이것은 이후 모든 대규모 엑솜 시퀀싱 연구의 표준 분석 방법이 되었다. 개별 유전자 수준에서 통계적 유의성을 확보하려면 충분한 표본 크기가 필요했고, 2012년의 표본 규모로는 CHD8, SCN2A, DYRK1A, KATNAL2 등 소수의 유전자만이 재현적으로 확인되었다. 하지만 이 소수의 유전자들이 이미 크로마틴 조절과 시냅스 기능이라는 두 가지 주제를 가리키고 있었다. 더 큰 코호트를 모으면 더 많은 유전자가 발견될 것이고, 수렴의 패턴은 더 뚜렷해질 것이라는 예측이 가능했다. 그리고 그 예측은 2년 뒤 현실이 되었다.

세 가지 경로로의 수렴 — 시냅스, 전사 조절, 크로마틴

2012년의 토대 위에서, Autism Sequencing Consortium이 수행한 De Rubeis et al. (2014) 연구는 수렴을 본격적으로 증명했다. 이 연구는 3,871명의 자폐스펙트럼장애 환자와 9,937명의 대조군을 대상으로 전체 엑솜 시퀀싱(whole-exome sequencing)을 수행했다. 엑솜(exome)이란 유전체 중 단백질로 번역되는 부분인 엑손(exon)들의 총합인데, 전체 유전체의 약 1.5%에 불과하지만 현재까지 알려진 질환 유발 유전 변이의 대다수가 이 영역에 집중되어 있다. 전체 유전체 중 실제 단백질 설계도로 쓰이는 부분은 1.5%뿐이고, 나머지 98.5%는 조절 서열, 반복 서열, 아직 기능이 잘 모르는 서열들이다. 엑솜 시퀀싱은 이 1.5%만 집중적으로 읽는 방법으로, 전체 유전체를 읽는 것보다 훨씬 저렴하면서도 단백질 기능을 바꾸는 변이를 효율적으로 찾아낸다. 엑솜 시퀀싱은 전체 유전체 시퀀싱보다 비용이 낮고 데이터 해석이 상대적으로 용이하여, 2010년대 초반부터 신경발달 질환 유전자 발견의 주력 기술로 자리잡았다.

당시 기준으로 가장 큰 자폐스펙트럼장애 엑솜 시퀀싱 연구에서, FDR(거짓 발견율, false discovery rate) 5% 기준으로 22개의 자폐스펙트럼장애 위험 유전자가 발견되었고, 보다 넓은 FDR 30% 기준으로는 107개 유전자가 자폐스펙트럼장애 위험과 연관된 것으로 나타났다. 이 유전자들은 인구 집단 내에서 기능 손상성 유전 변이에 대한 진화적 불내성(evolutionary intolerance)이 높은 것들이었는데, 이는 이 유전자들이 뇌 발달에서 매우 중요한 기능을 담당하기 때문에 그것들에 변이가 생기면 자연선택에 의해 제거된다는 의미다. 달리 말하면, 수백만 년간 인류의 조상들 중에서 이 유전자에 심각한 변이가 생긴 개체들은 자녀를 덜 남기는 방식으로 걸러져왔기 때문에, 오늘날 인구집단에서 이 변이들이 매우 드물다는 뜻이다. 유전체의 어떤 부분들은 변이를 허용하지 않는다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들은 바로 그런 엄격한 보존이 요구되는 영역에 집중되어 있었다.

그런데 22개 혹은 107개의 유전자 목록 자체보다 더 중요한 발견이 있었다. 이 유전자들을 기능적으로 분류하면 세 가지 주요 경로로 수렴한다는 것이었다. 첫째, 시냅스 형성과 기능에 관여하는 경로, 예를 들어 SHANK2, SYNGAP1, NRXN1 같은 유전자들이다. 둘째, 전사 조절(transcriptional regulation)에 관여하는 경로, TBR1, FOXP1, ADNP 같은 전사인자들이다. 셋째, 크로마틴 리모델링(chromatin remodeling), 특히 히스톤 리신 메틸화/탈메틸화(histone lysine methylation/demethylation)에 관여하는 경로, CHD8, ARID1B, KDM5C, SETD5 같은 유전자들이다. 전압 의존성 이온 채널(voltage-gated ion channel) 유전자들도 하나의 군을 형성했다. 수백 개까지 확장될 수 있는 위험 유전자 목록이 결국 세너 개의 생물학적 주제로 축약되는 것이다. 마치 수백 가지 다른 재료들로 요리를 만들었는데, 그 재료들을 분류하면 결국 단백질, 탄수화물, 지방이라는 세 가지 범주로 나뉘는 것과 비슷하다.

더 큰 코호트, 더 뚜렷한 수렴

De Rubeis et al. (2014) 이후 유전체 연구의 규모는 더욱 확대되었다. Satterstrom et al. (2020) 연구는 35,584명의 총 표본에서 11,986명의 자폐스펙트럼장애 환자를 포함하는, 당시까지 가장 큰 규모의 자폐스펙트럼장애 엑솜 시퀀싱 연구였다. Autism Sequencing Consortium과 iPSYCH-Broad Consortium이 공동으로 수행한 이 연구는 FDR 10% 기준으로 102개의 자폐스펙트럼장애 위험 유전자를 발견했다. 표본이 약 10배 늘어남으로써 더 많은 유전자를 발견한 것은 당연하지만, 더 흥미로운 것은 이 102개 유전자가 어떤 패턴을 보였느냐다.

102개 유전자는 두 가지 큰 생물학적 주제로 나뉘었다(Satterstrom et al. 2020). 하나는 유전자 발현 조절(regulation of gene expression)로, 전사인자, 크로마틴 리모델러, RNA 결합 단백질 등 유전자들이 언제 어떻게 발현되는지를

조절하는 유전자들의 범주다. 다른 하나는 신경 소통(neuronal communication)으로, 시냅스 신호 전달, 이온 채널, 신경전달물질 수용체 등 뉴런들이 서로 소통하는 과정에 관여하는 유전자들이다. 이 두 범주는 서로 다른 발달적 문제를 가리킨다. 유전자 발현 조절 유전자들이 손상되면 뇌 발달 초기의 프로그램 설정 자체가 잘못된다. 신경 소통 유전자들이 손상되면 만들어진 뉴런들이 서로 소통하는 방식이 비정상화된다. 하나는 설계도의 문제이고, 다른 하나는 완성된 시스템의 작동 문제라고 할 수 있다.

Satterstrom et al. (2020) 연구에서 또 하나의 중요한 관찰은 102개 유전자들이 크게 두 가지 표현형 집단과 연관된다는 것이었다. 49개 유전자는 심각한 신경발달 지연(neurodevelopmental delay) 집단에서 더 자주 기능 손상성 드노보 유전 변이가 발견되었고, 53개 유전자는 자폐스펙트럼장애로 진단된 집단에서 더 두드러졌다. 이것은 자폐스펙트럼장애의 위험 유전자들이 하나의 균일한 집합이 아니라, 표현형의 심각도와 특성에 따라 부분적으로 다른 유전자 집합이 관여한다는 것을 시사한다. 같은 경로 안에서도 어느 유전자가 손상되느냐, 그리고 어떤 종류의 유전 변이가 발생하느냐에 따라 표현형의 스펙트럼이 달라진다.

이 발견은 Fu et al. (2022) 연구에서 더 정교하게 확장되었다. 이 연구는 63,237명이라는 당시 최대 규모 코호트에서 185개의 자폐스펙트럼장애 위험 유전자를 발견했고, 그 유전자들의 세포 유형 특이적 발현 패턴을 정밀하게 분석했다. 핵심 발견은 자폐스펙트럼장애에 더 특이적인 유전자군(53개)과 발달장애(developmental disorder)에 더 특이적인 유전자군(49개) 사이에서 뚜렷한 발달 시간 기울기(developmental gradient)가 존재한다는 것이었다. 자폐스펙트럼장애 특이적 유전자들은 태아 후기부터 출생 후까지 지속되는 성숙 흥분성 뉴런(maturing excitatory neuron)에서 발현이 높았다. 반면 발달장애 특이적 유전자들은 신경 전구세포(neural progenitor)와 미성숙 뉴런, 즉 더 이른 발달 단계의 세포들에서 발현이 집중되어 있었다. 이 기울기는 단순한 통계적 패턴이 아니다. 더 심각한 신경발달 질환일수록 더 초기 발달 과정, 즉 세포가 만들어지고 증식하는 단계에서 교란이 일어나고, 지적 기능이 상대적으로 보존된 자폐스펙트럼장애는 세포가 이미 만들어진 후 성숙하고 연결되는 단계에서 교란이 일어난다는 발달 논리를 반영한다. 같은 스펙트럼 안에서도 어느 유전자가 손상되느냐에 따라 그 손상이 영향을 미치는 발달 창이 달라지고, 그 창의 시점이 표현형의 심각도를 결정한다.

Sanders et al. (2015)이 Neuron에 발표한 연구는 다른 각도에서 같은 이야기를 확인해줬다. 이 연구는 드노보 복제수 변이(de novo copy number variant)와 드노보 단일 염기 변이(de novo single nucleotide variant)를 통합 분석하여 71개의 자폐스펙트럼장애 위험 좌위(risk loci)와 65개의 위험 유전자를 발견했다. 이 유전자들의 기능 분석(enrichment analysis)은 크로마틴 조절과 시냅스 기능이라는 두 경로로의 수렴을 다시 한번 확인했다. CHD8, ADNP, ARID1B, KDM5C 같은 크로마틴 조절 유전자들과 SHANK2, SYNGAP1, NRXN1, CNTNAP2 같은 시냅스 기능 유전자들이 두 주요 군을 이루고 있었다. 이 연구는 또한 크기가 작은 드노보 결실(deletion) 안에는 보통 단 하나의 고효과 위험 유전자가 들어 있는 반면, 1 Mb 이상의 큰 복제수 변이 안에는 여러 기여 유전자가 있다는 구조적 통찰도 제공했다.

조현병에서도 같은 이야기: 시냅스 네트워크의 수렴

기능적 수렴이 자폐스펙트럼장애만의 이야기가 아니라는 것을 보여주는 중요한 연구가 Fromer et al. (2014)이 Nature에 발표한 논문이다. 이 연구는 623개 조현병(schizophrenia) 가계의 엑솔 시퀀싱을 통해 드노보 유전 변이를 분석했다. 조현병은 자폐스펙트럼장애와는 다른 임상적 특성을 가지며, 발병 연령도 다르고, 진단 기준도 다르다. 그런데 드노보 유전 변이들이 어떤 유전자들에서 빈번하게 발견되어 있는지를 분석하자, 자폐스펙트럼장애에서 발견된 것과 매우 유사한 패턴이 나타났다. 조현병의 드노보 변이들은 ARC 복합체(ARC complex) 유전자들과 NMDA 수용체 복합체(NMDAR complex) 유전자들에 유의하게 빈번하게 포함되어 있었다. ARC 복합체는 시냅스 활성-조절 세포골격(synaptic activity-regulated cytoskeleton) 복합체로, 시냅스 강도와 가소성(plasticity)을 조절하는 데 핵심적인 역할을 한다. 시냅스 가소성이란 경험에 따라 두 뉴런 사이의 연결 강도가 변하는 능력인데, 기억과 학습이 일어날 때 “이 연결은 더 강하게”라는 신호가 ARC 복합체를 통해 실행된다.

FMRP 표적 유전자(FMRP target genes)에도 유의하게 빈번한 발견이 관찰되었다. FMRP는 취약 X 증후군(Fragile X syndrome)을 유발하는 FMR1 유전자가 만드는 단백질인데, 수백 개의 다른 유전자들의 mRNA에 결합하여 그것들의 번역(translation)을 조절한다. FMRP는 일종의 번역 브레이크 역할을 하는데, “지금은 이 단백질 너무 많이 만들지 마”라는 지시를 내리는 분자다. FMRP가 없으면 이 브레이크가 사라져서 뇌에서 과잉 단백질이 만들어지고, 시냅스가 과도하게 형성되며 가지치기가 제대로 일어나지 않는다. FMRP가 결합하는 mRNA들의 목록은 시냅스 기능과 관련된 유전자들로 풍부하게 채워져 있다. 이 연구에서 조현병의 드노보 변이들이 FMRP 표적 유전자들에서 빈번하게 발견되어 있다는 것은, 조현병도 시냅스 기능과 조절이라는 공통된 생물학적 허브에 수렴한다는 것을 의미한다. 더 나아가, 이 연구는 자폐스펙트럼장애의 기능 손실성 드노보 변이가 있는 유전자들과 조현병의 드노보 변이가 있는 유전자들 사이에 유의한 중복이 있다는 것도 보였다($p=0.0007$). 전혀 다른 임상적 진단을 받은 두 질환이 분자 수준에서 같은 허브 유전자들을 공유하는 것이다.

이것은 단순한 우연이 아니다. 자폐스펙트럼장애와 조현병이 공통적으로 시냅스 기능 유전자들에 영향을 미친다는 것은, 흥분성 시냅스의 기능이 두 질환 모두의 병태생리에서 중심적인 역할을 한다는 것을 의미한다. 물론 두 질환은 다르다. 자폐스펙트럼장애에서는 크로마틴 리모델링 경로의 기여가 특히 강조되고, 조현병에서는 NMDA 수용체와 도파민 시스템의 역할이 더 부각된다. 하지만 시냅스 네트워크라는 공통된 수렴 지점은 두 질환이 완전히 다른 생물학적 실체가 아니라, 일부 공통된 분자적 취약성을 공유하는 연속체 위에 있을 수 있음을 시사한다. 유전학과 임상 진단의 경계가 반드시 일치하지 않는다는 것, 그것이 현대 신경발달 유전체학이 우리에게 주는 불편하지만 중요한 교훈이다.

CNV 연구에서 본 수렴: Pinto et al. 2014

복제수 변이(copy number variant, CNV) 수준에서 이루어진 가장 큰 자폐스펙트럼장애 연구 중 하나인 Pinto et al. (2014) 연구는 2,446명의 자폐스펙트럼장애 환자와 2,640명의 대조군을 비교했다. 복제수 변이란 유전체의 특정 구간이 정상보다 더 많이 혹은 더 적게 복제되어 있는 현상으로, 통상적으로 1 kb 이상의 크기를 가진다. 단일 염기 변이가 책에서 철자 하나가 잘못 쓰인 것이라면, 복제수 변이는 책의 한 단락 전체가 사라지거나 두 번 중복 인쇄된 것에 해당한다. 단일 염기 변이와 달리, 복제수 변이는 동시에 여러 유전자에 영향을 미칠 수 있고, 따라서 그 영향이 더 복잡하고 광범위할 수 있다. 이 연구에서 자폐스펙트럼장애 환자에서 드문 가능성이 높은 손상성 복제수 변이는 대조군에 비해 약 1.19배 높은 빈도로 관찰되었는데, 이 변이들이 영향을 미치는 유전자들의 기능적 범주를 분석하면 역시 시냅스 기능, 신경 발달, 크로마틴 리모델링 경로로 수렴했다.

특히 이 연구의 중요한 기여는 복제수 변이 기반 연구에서 크로마틴 리모델링 경로를 자폐스펙트럼장애의 새로운 위험 경로를 처음 명확하게 밝힌 것이다. 그 이전에는 시냅스와 신경 발달 경로가 주로 강조되었는데, Pinto et al. (2014)은 복제수 변이가 영향을 미치는 유전자들 중 크로마틴 구조를 조절하는 유전자들이 대조군 대비 유의하게 많다는 것을 보였다. 이것은 De Rubeis et al. (2014) 엑솜 시퀀싱 연구에서 단일 염기 변이 수준에서 발견된 크로마틴 리모델링 경로의 수렴을 서로 다른 종류의 유전 변이로 독립적으로 재확인한 것이다. 단일 염기 변이든 복제수 변이든, 크고 작은 유전 변이들이 결국 같은 세포 경로를 손상시킨다는 것이다. 더욱이 복제수 변이가 영향을 미치는 유전자들과 드노보 단일 염기 변이가 영향을 미치는 유전자들이 단백질 상호작용 네트워크(protein-protein interaction network) 수준에서 서로 연결되어 있다는 것도 보였다. 다른 종류의 유전 변이들이 같은 단백질 상호작용 망 안의 서로 다른 노드들을 건드리고 있는 것이다.

기능적 수렴이 왜 치료적 가능성을 열어주는가

유전적 이질성에서 기능적 수렴으로의 전환은 단순히 학문적 이해의 진보가 아니다. 이것은 자폐스펙트럼장애와 관련 신경발달 질환에 대한 치료 전략의 설계에 근본적인 변화를 가져온다. 만약 자폐스펙트럼장애의 각 사례가 완전히 독립적인 생물학적 메커니즘에 의해 발생한다면, 치료 전략은 본질적으로 수백 가지의 서로 다른 것들을 개발해야 하는, 사실상 불가능에 가까운 도전이 된다. 그러나 수백 개의 유전자들이 결국 세너 가지 공통 경로로 수렴한다면, 그 공통 경로를 표적하는 치료법은 서로 다른 유전적 원인을 가진 환자들에게 광범위하게 적용될 수 있다. 수렴은 다양성 안에서 치료적 레버리지(therapeutic leverage)를 찾게 해준다.

예를 들어 시냅스 경로 수렴의 발견은 흥분/억제 균형(E/I balance)을 회복하는 것이 다양한 유전적 원인을 가진 자폐스펙트럼장애 환자들에게 공통적으로 도움이 될 수 있다는 가설로 이어진다. 서로 다른 시냅스 유전자들이 손상되더라도, 결과적으로 흥분성과 억제성 신경 전달의 불균형이 생긴다면, 그 불균형을 보정하는 방식의 개입이 효과를 가질 수 있다. 크로마틴 리모델링 경로의 수렴은 특정 크로마틴 수정 효소들의 활성을 조절하는 약물이 CHD8, ARID1B, KDM5C 등 여러 다른 크로마틴 유전자들에 변이가 있는 환자들에게 공통적으로 적용될 수 있는 가능성을 열어준다. 물론 이 경로들은 뇌에서만 작동하는 것이 아니기 때문에 특이성을 확보하는 것이 쉽지 않지만, 경로 수렴의 발견은 적어도 어디를 봐야 하는지를 알려준다.

이것이 현대 신경발달 유전체학의 역설이기도 하다. 우리는 더 많은 위험 유전자를 발견할수록, 역설적으로 그 다양성 안에서 공통된 생물학적 주제를 더 뚜렷하게 볼 수 있게 된다. 처음에는 수백 개의 서로 다른 유전자들이 관여한다는 사실이 절망스럽게 느껴질 수도 있다. 하지만 그 유전자들을 기능적 경로의 렌즈로 바라보면, 수백 개의 다양성이 몇 가지 공통 주제로 수렴하는 질서가 드러난다. 유전적 이질성은 표면의 이야기이고, 기능적 수렴은 그 아래 흐르는 원리다. 그리고 치료는 표면이 아니라 원리를 겨냥해야 한다.

수렴이 경로 수준에서만 일어나는 것이 아니라는 것을 보여주는 연구가 있다. Darbandi et al. (2024)의 연구는 자폐스펙트럼장애 위험 전사인자 다섯 개, 즉 ARID1B, BCL11A, FOXP1, TBR1, TCF7L2가 태아 피질에서 어떤 조절 패턴을 공유하는지를 염색질 면역침강 시퀀싱(ChIP-seq)으로 직접 측정했다. 이 다섯 전사인자들이 모두 함께 결합하는 유전체 위치는 프로모터 근위 영역에서만 12,347개에 달했다. 그리고 Satterstrom et al. (2020)이 발견한 102개

자페스펙트럼장애 위험 유전자들 중 96개가 이 공유 결합 특징(shared co-binding signature)을 보유하고 있었다. 더 나아가 ARID1B와 TBR1에 CRISPRi를 적용하여 각각의 발현을 억제했을 때, 두 개의 서로 다른 전사인자 억제 실험에서 수렴하는 전사체 변화가 관찰되었고, 그 변화의 패턴이 자페스펙트럼장애 환자의 사후 뇌에서 보고된 전사체 특징과 일치했다. 이것은 조절 수렴(regulatory convergence)이다. 수백 개의 자페스펙트럼장애 위험 유전자들이 같은 경로에 속해 있다는 것이 경로 수렴이라면, 그 유전자들이 태아 피질 발달 중에 소수의 마스터 전사인자 집합에 의해 공통으로 조절된다는 것은 더 상위의 수렴이다. 기능적 수렴의 이유를 경로 수준에서 찾는 것을 넘어, 그 경로 자체가 왜 함께 작동하는지를 조절 허브 수준에서 설명하는 것이다.

References

- Sanders, S. J., Murtha, M. T., Gupta, A. R., Murdoch, J. D., Raubeson, M. J., Willsey, A. J., ... & State, M. W. (2012). De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 485(7397), 237–241. doi:10.1038/nature10945
- Neale, B. M., Kou, Y., Liu, L., Ma'ayan, A., Samocha, K. E., Sabo, A., ... & Daly, M. J. (2012). Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*, 485(7397), 242–245. doi:10.1038/nature11011
- O’Roak, B. J., Vives, L., Girirajan, S., Karakoc, E., Krumm, N., Coe, B. P., ... & Eichler, E. E. (2012). Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations. *Nature*, 485(7397), 246–250. doi:10.1038/nature10989
- Iossifov, I., Ronemus, M., Levy, D., Wang, Z., Hakker, I., Rosenbaum, J., ... & Wigler, M. (2012). De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum. *Neuron*, 74(2), 285–299. doi:10.1016/j.neuron.2012.04.009
- De Rubeis, S., He, X., Goldberg, A. P., Poultney, C. S., Samocha, K., Cicek, A. E., ... & Buxbaum, J. D. (2014). Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 515(7526), 209–215. doi:10.1038/nature13772
- Satterstrom, F. K., Kosmicki, J. A., Wang, J., Breen, M. S., De Rubeis, S., An, J. Y., ... & Daly, M. J. (2020). Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*, 180(3), 568–584. doi:10.1016/j.cell.2019.12.036
- Sanders, S. J., He, X., Willsey, A. J., Ercan-Sencicek, A. G., Samocha, K. E., Cicek, A. E., ... & State, M. W. (2015). Insights into autism spectrum disorder genomic architecture and biology from 71 risk loci. *Neuron*, 87(6), 1215–1233. doi:10.1016/j.neuron.2015.09.016
- Fromer, M., Pocklington, A. J., Kavanagh, D. H., Williams, H. J., Dwyer, S., Gormley, P., ... & O’Donovan, M. C. (2014). De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature*, 506(7487), 179–184. doi:10.1038/nature12929
- Pinto, D., Delaby, E., Merico, D., Barbosa, M., Merikangas, A., Klei, L., ... & Scherer, S. W. (2014). Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. *American Journal of Human Genetics*, 94(5), 677–694. doi:10.1016/j.ajhg.2014.03.018
- Sullivan, P. F., & Posthuma, D. (2015). Biological pathways and networks implicated in psychiatric disorders. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 2, 58–68. doi:10.1016/j.cobeha.2014.09.003
- Fu, J. M., Satterstrom, F. K., Peng, M., Brand, H., Collins, R. L., Dong, S., ... & Talkowski, M. E. (2022). Rare coding variation provides insight into the genetic architecture and phenotypic context of autism. *Nature Genetics*, 54(9), 1320–1331. doi:10.1038/s41588-022-01104-0
- Darbandi, S. F., Robinson, M. D., & An, J. Y. (2024). ASD transcriptional regulators share promoter-proximal binding in fetal cortex. *Nature*, 629, 120–128. doi:10.1038/s41586-024-07303-5

주요 용어 안내

엑솜 시퀀싱(exome sequencing): 유전체에서 단백질을 코딩하는 엑손 부분만 선택적으로 시퀀싱하는 방법. 전체 유전체의 약 1.5%만 읽지만, 질환을 일으키는 유전변이의 대부분이 이 영역에 위치한다.

복제수 변이(copy number variant, CNV): 유전체의 일부가 결실되거나 중복되어 유전자의 복제 수가 변하는 유전변이. 단일 염기 변이보다 크기가 크며, 여러 유전자를 동시에 영향을 미칠 수 있다.

FMRP 표적 유전자: 취약 X 증후군을 일으키는 FMR1 유전자가 만드는 단백질(FMRP)이 조절하는 유전자들의 목록. 시냅스 기능 유전자가 많이 포함되어 있으며, 자폐스펙트럼장애와 조현병의 위험 유전자들이 이 목록에서 빈번하게 발견된다.

조절 수렴(regulatory convergence): 서로 다른 위험 유전자들이 같은 전사인자에 의해 공통으로 조절된다는 발견. 경로 수준의 수렴보다 한 단계 위에서, 왜 여러 경로가 함께 교란되는지를 설명한다.

Chapter 20. 시공간적 수렴 — 언제, 어디서 유전자들이 모이는가

앞의 두 챕터에서 우리는 유전자 네트워크와 기능적 수렴의 개념을 살펴보았다. 자폐스펙트럼장애(autism spectrum disorder)의 수백 개 위험 유전자들이 시냅스 기능, 전사 조절, 크로마틴 리모델링이라는 세너 가지 생물학적 경로로 수렴한다는 것을 보았다. 그런데 여기서 한 걸음 더 나아가야 한다. 경로(pathway)는 어디서나, 언제나 작동하는 것이 아니다. 시냅스 형성에 관여하는 유전자들은 시냅스가 만들어지는 시점에 가장 활발하게 작동하고, 크로마틴 리모델링 유전자들은 세포 운명이 결정되는 시점에 특히 중요하다. 뇌 발달의 무엇이 잘못되었는지를 이해하려면, 어떤 경로가 잘못되었는지를 아는 것으로는 부족하다. 그 경로가 뇌의 어느 영역에서, 발달의 어느 시점에, 어떤 세포 유형에서 가장 중요하게 작동하는지를 알아야 한다. 이것이 시공간적 수렴(spatiotemporal convergence)의 핵심 질문이다.

이 질문에 답하려면 두 종류의 데이터가 필요하다. 하나는 유전자들의 목록, 즉 어떤 유전자들이 질환 위험과 연관되어 있는가다. 다른 하나는 그 유전자들이 뇌의 발달 과정에서 언제, 어디서, 어떤 세포에서 발현되는가를 보여주는 시공간 발현 지도다. Part 1에서 우리는 Kang et al. (2011, Chapter 2) 연구와 BrainSpan 프로젝트(Chapter 3)가 어떻게 인간 뇌의 시공간 전사체 지도를 만들었는지를 살펴보았다. 그리고 이제 그 지도가 진정한 위력을 발휘하는 시점이 왔다. 위험 유전자들의 목록과 시공간 발현 지도를 교차시키면, 그 유전자들이 어떤 발달적 문맥에서 함께 작동하는지를 볼 수 있다. 이 교차점이 바로 시공간적 수렴이다.

태아 중기 전두엽 투사 뉴런에서의 수렴

시공간적 수렴을 처음으로 체계적으로 증명한 연구가 2013년 Cell 155권 5호에 실렸다. 정확히 말하면 두 편이 같은 호에 나란히 실렸다. 제러미 윌시(A. Jeremy Willsey)가 이끈 논문(997-1007쪽)과, UCLA의 대니얼 게슈윈드(Daniel Geschwind) 연구실의 닐롭 파리크샤크(Neelroop Parikshak)가 이끈 논문(1008-1021쪽)이 그것이다. 두 연구는 독립적으로 수행되었지만, 서로 일치하는 결론에 도달했다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이 뇌 발달의 특정 시점과 특정 세포 유형에서 수렴한다는 것이었다. 접근 방법은 약간 달랐는데, Willsey et al. 연구는 9개의 고신뢰도 씨앗 유전자(seed gene)에서 출발하는 상향식(bottom-up) 쌍별 공발현 분석을 사용한 반면, Parikshak et al. 연구는 BrainSpan 전사체 데이터 전체에 WGCNA를 적용하여 공발현 모듈을 먼저 구축한 뒤 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이 어느 모듈에서 빈번하게 발견되는지를 검증하는 하향식(top-down) 접근을 택했다. 방법은 달랐지만 두 연구 모두 태아 중기 전두엽의 흥분성 뉴런을 핵심 수렴 지점으로 지목했고, 이 일치가 결론의 신뢰성을 극적으로 높였다.

먼저 Willsey et al. 연구를 자세히 보자. 이 연구는 단순하지만 강력한 아이디어에서 출발했다. 만약 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이 공동된 생물학적 맥락에서 작동한다면, 그 유전자들은 뇌 발달의 특정 시점과 장소에서 함께 발현되어야 한다, 는 것이다. 연구진은 우선 당시까지 엑솜 시퀀싱 연구들에서 가장 강력한 증거가 뒷받침된 고신뢰도 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들을 9개 추렸다. CHD8, DYRK1A, GRIN2B, KATNAL2, POGZ, SCN2A, TBR1, ANK2, CUL3가 그것들이다. 이 9개는 다수의 독립적 연구에서 기능 손실성 드노보 유전 변이(de novo loss-of-function variant)가 반복적으로 관찰된, 말하자면 가장 확실한 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이었다. 연구에 편향을 최소화하기 위해 이 9개의 씨앗 유전자(seed gene)만으로 분석을 시작하는 상향식(bottom-up) 접근법을 택한 것이다.

분석 방법은 쌍별 공발현(pairwise co-expression) 분석이었다. 9개의 씨앗 유전자들이 쌍을 이룰 수 있는 조합의 수는 36가지인데, 연구진은 이 36쌍에 대해 BrainSpan 데이터베이스를 활용하여 뇌의 각 영역과 각 발달 시기의 조합에서 두 유전자가 얼마나 높게 공발현되는지를 계산했다. 9명의 용의자 모두가 같은 장소에 함께 있었던 시간과 장소를 찾는 수사처럼, 9개의 위험 유전자들이 동시에 모두 활발히 발현되는 뇌 영역과 발달 시점이 어디인지를 추적한 것이다. BrainSpan(Chapter 3)은 태아기부터 성인기까지 다양한 뇌 영역의 전사체 데이터를 담고 있는 앨런 뇌과학연구소(Allen

Institute for Brain Science)의 공개 데이터베이스로, Part 1에서 소개한 Kang 등 2011년 연구의 데이터(Chapter 2)가 핵심 자원이다. 36쌍의 유전자들이 어느 시공간적 맥락에서 가장 자주 함께 높이 발현되는지를 집계하면, 36개의 서로 다른 쌍들이 공통적으로 수렴하는 특정 시점과 장소가 있는지 알 수 있다. 단일 유전자의 발현 패턴이 아니라, 여러 위험 유전자들의 쌍이 집합적으로 수렴하는 시공간적 맥락을 찾는 것이다.

분석 결과는 명확했다. 36쌍의 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들은 태아 중기(mid-fetal period), 구체적으로는 수정 후 약 10~24주 사이의 전전두 피질(prefrontal cortex), 일차 운동 피질(primary motor cortex), 일차 체감각 피질(primary somatosensory cortex)에서 가장 높게 공발현되었다. 이 결과는 무작위로 선택된 유전자 쌍들의 공발현 분포와 비교할 때 통계적으로 매우 유의했다($p < 0.0001$). 더 나아가, 앨런 뇌 지도(Allen Brain Atlas)의 현장 혼성화(in situ hybridization) 데이터를 이용하여 공발현 유전자들이 어떤 피질 층에서 발현되는지를 추가로 분석한 결과, 이 수렴 유전자들이 피질의 5, 6층에 위치하는 심층 피질 투사 뉴런(deep cortical projection neuron), 구체적으로 피질상 투사 뉴런(corticothalamic neuron)과 피질척수 투사 뉴런(corticospinal neuron)에 특이적으로 발현됨이 확인되었다.

이 발견을 이해하려면 임신 중기 피질 발달의 맥락을 알아야 한다. 임신 10~24주는 인간 대뇌 피질의 심층 뉴런(layer 5, 6)들이 생성되고 위치를 잡으며 초기 축삭 연결을 형성하는 시기다. 자폐스펙트럼장애로 자라날 아기가 아직 손가락도 완전히 형성되지 않은 임신 3~4개월 무렵, 그 뇌 안에서는 이미 회로 구성의 핵심 결정이 내려지고 있다는 뜻이다. 피질의 층은 안에서 바깥쪽으로 순서대로 만들어지는데, 가장 먼저 만들어지는 것이 6층이고 가장 나중에 만들어지는 것이 2층이다. 따라서 임신 중기는 심층 뉴런들이 형성되는 시기에 해당한다. 이 뉴런들은 대뇌 피질의 출력 신호를 척수, 뇌줄기(brainstem), 시상(thalamus) 같은 하위 구조들로 전달하는 역할을 한다. 자폐스펙트럼장애의 위험 유전자들이 바로 이 세포들이 만들어지고 배선을 구축하는 시점에 집중적으로 함께 작동한다는 것은, 자폐스펙트럼장애의 발생이 뇌의 회로 구성의 가장 초기 단계에서 시작될 수 있음을 시사한다.

같은 호에 실린 Parikshak et al. (2013) 연구는 같은 질문을 다른 각도에서 접근했다. 이 연구는 BrainSpan 데이터에 가장 유전자 공발현 네트워크 분석(WGCNA)을 적용하여 뇌 발달 전체에 걸친 공발현 모듈들을 먼저 구축한 뒤, 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이 어느 모듈에 통계적으로 과대표현(overrepresented)되는지를 검정했다. Willsey et al. 연구가 소수의 확실한 유전자에서 출발하여 수렴 맥락을 찾아나간 것이라면, Parikshak et al. 연구는 전사체 전체의 구조를 먼저 파악한 뒤 그 구조 위에 위험 유전자들을 올려놓은 것이다. 결과는 일치했다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들은 태아기 전두엽 피질에서 활성화되는 모듈, 특히 글루타메이트성 투사 뉴런(glutamatergic projection neuron) 관련 모듈에 유의하게 빈번하게 발견되었다. 두 연구가 서로 다른 통계 방법론, 서로 다른 유전자 목록, 서로 다른 연구실에서 같은 결론에 도달했다는 사실은, 태아 중기 전두엽 흥분성 뉴런이라는 수렴 지점이 방법론적 선택에 의존하는 것이 아니라 생물학적 현실을 반영한다는 것을 강력하게 뒷받침했다.

BrainSpan이 가능하게 한 것들

이 두 연구가 가능했던 것은 BrainSpan 데이터베이스가 있었기 때문이다. Part 1에서 Kang et al. (2011) 연구를 다루면서 이미 살펴봤듯이, 이 데이터베이스는 수정 후 8주에서 40세까지의 사후 인간 뇌 조직 수백 개에서 측정된 전사체 데이터를 담고 있으며, 전전두 피질, 해마, 소뇌 등 16개의 서로 다른 뇌 영역을 포괄한다. 이 데이터가 없었다면, 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들을 뇌 발달의 시간축과 공간축 위에 올려놓는 것은 불가능했을 것이다. 쌍별 공발현 분석은 각 유전자 쌍에 대해 수십 개의 발달 시기와 여러 뇌 영역의 조합을 고려해야 하는데, 이만한 규모의 인간 뇌 발달 데이터는 BrainSpan 이전에는 존재하지 않았다.

BrainSpan의 기여는 Willsey et al. (2013) 연구에서 그치지 않는다. 이 데이터베이스는 이후 수십 개의 시공간적 수렴 분석의 기반이 되었고, 특히 레이저 미세절제(laser microdissection)를 이용하여 피질의 각 층을 개별적으로 분리한 BrainSpan의 층 특이적 데이터는 어떤 세포 유형이 위험 유전자들의 발현을 담당하는지를 더 정밀하게 분석할 수 있게 해주었다. 마이크로레이와 RNA-seq를 모두 포함하는 이 데이터의 공개는 그 자체로 과학적 공공재였다. 하나의 데이터셋이 수백 편의 서로 다른 연구 질문에 답하는 데 재사용되는 것, 이것이 공개 데이터의 힘이다. 그리고 그 힘이 가장 극적으로 발휘된 분야 중 하나가 바로 시공간적 수렴 연구다.

여러 질환의 시공간적 수렴 패턴

시공간적 수렴이라는 개념은 자폐스펙트럼장애에만 국한되지 않는다. 각 질환마다 위험 유전자들이 수렴하는 시공간적 맥락이 서로 다르며, 이 차이가 각 질환의 발병 시기와 임상적 특성을 설명하는 핵심 단서가 된다 (Parikshak et al. 2015).

자폐스펙트럼장애의 경우 앞서 본 것처럼 태아 중기, 전두엽, 심층 피질 뉴런이 핵심 수렴 지점이다. 조현병의 경우는 다소 다르다. 조현병의 위험 유전자들이 집중적으로 발현되는 시기는 태아 후기에서 청소년기까지 더 넓게 분포하며,

특히 시냅스 가지치기(synaptic pruning)가 활발하게 일어나는 청소년기와 연관성이 주목된다. 시냅스 가지치기란 발달 과정에서 과잉 생성된 시냅스들 중 덜 활성화된 것들이 제거되는 과정으로, 주로 청소년기에 전전두 피질을 중심으로 대대적으로 일어난다. 뇌가 10대 때 불필요한 연결을 대규모로 정리하는 “뇌의 리모델링 공사”로 이해할 수 있다. 조현병이 10대 후반~20대 초반에 발병하는 것은 바로 이 공사가 진행되는 시기와 맞닿아 있다. 조현병이 통상적으로 청소년기 후반에서 성인기 초반에 발병하는 것은, 이 시기의 시냅스 가지치기 과정이 정상적으로 조절되지 않는 것과 관련이 있을 수 있다. 자폐스펙트럼장애가 뇌의 구성이 잘못되는 문제라면, 조현병은 구성 후의 미세 조정이 잘못되는 문제라는 이유가 어느 정도 들어맞는다.

뇌전증(epilepsy)의 유전적 위험은 또 다른 시공간적 패턴을 보인다. 뇌전증 위험 유전자들 중 상당수는 이온 채널, 특히 나트륨 채널(SCN1A, SCN2A, SCN8A)과 칼륨 채널(KCNQ2, KCNQ3), GABA 수용체 소단위(GABRA1, GABRB3) 같은 유전자들이다. 이 유전자들은 흥분성과 억제성 시냅스 전달의 균형, 즉 E/I 균형을 직접적으로 조절하는 것들이다. 특히 억제성 인터뉴런(inhibitory interneuron)의 발달과 기능이 뇌전증 취약성의 핵심이다. 억제성 인터뉴런은 복측 전뇌(ventral forebrain)의 신경절 용기부(ganglionic eminence)에서 태어나 대뇌 피질로 이주하는데, 이 이주 과정과 피질 내 편입 과정에서의 장애가 특정 뇌전증 증후군과 연관된다. 따라서 뇌전증의 시공간적 수렴은 억제성 인터뉴런의 발달 경로, 특히 임신 후기부터 출생 후 초기까지의 억제성 뉴런 성숙 과정에 집중된다.

뇌전증의 수렴 패턴을 더 정밀하게 분석한 연구가 Chow et al. (2019) 연구다. 이 연구는 MAGI-S라는 방법론을 이용하여 단백질-단백질 상호작용과 공발현 정보를 통합한 뒤, 뇌전증 특이적 씨앗 유전자(SCN1A, GABRA1, KCNB1)에서 출발한 모듈과 비뇌전증 신경발달 질환에서 출발한 모듈이 어떻게 다른 생물학적 주제로 수렴하는지를 비교했다. 결과는 명확했다. 뇌전증 씨앗 유전자에서 구축된 모듈은 시냅스 전달, 장기 강화(long-term potentiation), 칼슘 신호 전달 경로로 수렴했다. 반면 비뇌전증 신경발달 질환의 모듈은 RNA 조절과 크로마틴 리모델링 경로로 수렴했다. 같은 신경발달 질환 스펙트럼 안에서, 뇌전증이 동반되는가 여부가 분자 수준에서 서로 다른 수렴 경로를 가리키는 것이다. 이 차이는 사실 생물학적으로도 이해가 된다. 이온 채널 유전자들(SCN1A, SCN2A, KCNQ2)은 뉴런의 흥분성을 직접 조절하기 때문에, 이 유전자들이 손상되면 E/I 균형이 즉각적으로 무너지고 발작으로 이어진다. 반면 크로마틴 리모델링 유전자들은 수백 개의 하위 유전자들의 발현을 바꾸는 더 간접적인 경로를 통해 신경 발달을 교란하기 때문에, 급성 흥분성 위기보다는 발달적 조직화의 점진적 이상으로 이어진다.

알츠하이머병은 신경발달 질환들과는 뚜렷하게 다른 시공간적 패턴을 보인다. 알츠하이머병의 위험 유전자들은 미세아교세포(microglia)와 면역 반응에 관련된 유전자들, 아밀로이드 처리 경로, 지질 대사 유전자들에 집중되어 있다. 시공간적으로는 성인기 이후, 특히 해마(hippocampus)와 내후각 피질(entorhinal cortex)에서의 표현형이 두드러진다. 자폐스펙트럼장애가 뇌 형성 과정의 초기 배선 문제라면, 알츠하이머병은 완성된 뇌가 수십 년에 걸쳐 서서히 손상되는 문제다. 발달과 노화, 구성과 해체, 두 가지 전혀 다른 방향의 문제가 서로 다른 시공간적 수렴 패턴으로 나타난다.

알츠하이머병의 이 대비를 가장 잘 보여주는 것이 Bellenguez et al. (2022)이 78만 9천 명 규모의 코호트에서 수행한 역대 최대 규모의 알츠하이머병 전장 유전체 연관 연구다. 이 연구는 75개의 위험 유전자 좌위를 발견했는데, 이 유전자들이 수렴하는 생물학적 주제는 자폐스펙트럼장애, 조현병, 뇌전증과는 전혀 달랐다. 아밀로이드 전구체 단백질(amyloid precursor protein) 처리 경로, 타우(tau) 단백질 생물학, 미세아교세포 매개 선천 면역 반응, 그리고 지질 대사와 세포 내 소포 운반(endocytosis)이 핵심 경로였다. 가장 강력한 단일 위험 유전자는 지질 대사와 면역 반응 모두에 관여하는 APOE였다. APOE는 시냅스 단백질도, 크로마틴 리모델러도, 전사인자도 아니다. 알츠하이머병의 수렴이 시냅스나 크로마틴 경로가 아니라 단백질 항상성 유지와 면역 감시 경로에 집중된다는 것은, 알츠하이머병이 근본적으로 다른 종류의 뇌 문제임을 말해준다. 신경발달 질환들이 뇌가 만들어지는 과정의 문제라면, 알츠하이머병은 이미 완성된 뇌가 단백질 항상성 유지에 실패하고 면역 감시 체계가 오작동하면서 수십 년에 걸쳐 해체되는 과정이다. 같은 신경과학이라는 지붕 아래 있지만, 분자적으로는 완전히 다른 생물학이 작동하고 있는 것이다.

단일 세포 해상도에서 본 시공간적 수렴

앞서 살펴본 연구들은 BrainSpan의 벌크 전사체 데이터를 기반으로 했다. 벌크 전사체란 한 조직 조각에 포함된 수천~수만 개 세포들의 유전자 발현을 평균낸 것이므로, “태아 중기 전두엽”이라는 시공간적 좌표까지는 도달할 수 있었지만, 그 안에서 정확히 어떤 세포 유형이 위험 유전자들의 발현을 담당하는지를 직접 보여주기는 어려웠다. Willsey et al. 연구가 현장 혼성화 데이터를 추가로 분석하여 심층 피질 투사 뉴런을 지목한 것도, 벌크 데이터의 이 한계를 간접적으로 극복하려는 노력이었다. 진정한 의미에서 시공간적 수렴을 세포 유형 수준까지 분석하려면, 단일 세포 전사체 데이터가 필요했다.

Kim et al. (2024)이 구축한 BTS(Brain Temporal Single-cell) 아틀라스는 이 간극을 메우기 위해 설계된 통합 데이터 자원이다. 이 연구는 기존에 공개된 8개의 단일 세포 및 단일 핵 RNA 시퀀싱 데이터셋을 하나의 좌표계로 통합하여, 임신 7주부터 90세까지 인간 뇌 발달의 전 생애를 아우르는 393,060개 세포의 아틀라스를 만들었다. 80명의 기증자로부터

얻은 114개의 뇌 조직 시료가 포함되었고, 11개의 발달 단계로 구분되었다. 서로 다른 연구실에서, 서로 다른 플랫폼으로 생산된 데이터들을 통합하는 과정에서 발생하는 배치 효과(batch effect)는 scVI라는 변이 오토인코더 기반 통합 방법으로 보정했다. 배치 효과란 서로 다른 실험실이나 기기에서 측정된 데이터들 사이에 생기는 체계적 편차다. 두 개의 체중계가 눈금이 서로 다르게 설정되어 있으면 측정값을 직접 합칠 수 없는 것처럼, 서로 다른 실험실의 단일 세포 데이터를 그냥 합치면 실제 생물학적 차이가 아닌 기술적 편차가 결론을 왜곡한다. scVI는 이 편차를 통계적으로 학습하여 제거하는 딥러닝 기반 방법이다.

BTS 아틀라스가 기존의 벌크 전사체 연구들과 근본적으로 다른 점은, 질환 위험 유전자들의 발현을 개별 세포 유형과 발달 단계의 교차점에서 분석할 수 있다는 것이다. 벌크 데이터에서는 “태아 중기 전두엽”이라는 하나의 좌표만 가능했다면, 단일 세포 데이터에서는 “태아 중기 전두엽의 심층 흥분성 뉴런”이나 “태아 후기의 억제성 인터뉴런 전구세포”처럼 세포 유형 축이 추가된 좌표를 사용할 수 있다. 연구진은 자폐스펙트럼장애, 조현병, 뇌전증, 알츠하이머병 등 여러 신경 질환의 위험 유전자 세트를 각 세포 클러스터의 특이적 발현 유전자와 교차시켜, 어떤 세포 유형에서 어떤 질환의 위험 유전자들이 빈번하게 발견되는지를 체계적으로 검증했다.

결과는 앞서 벌크 데이터에서 도출된 수렴 패턴을 확인하면서도, 동시에 더 정밀한 그림을 제공했다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들은 태아기 흥분성 뉴런 계통에서 특히 빈번하게 발견되었는데, 이것은 Willsey et al.과 Parikshak et al.이 벌크 데이터에서 제안했던 태아 중기 피질 투사 뉴런 수렴을 단일 세포 수준에서 직접 확인한 것이다. 그런데 단일 세포 데이터에서만 볼 수 있는 새로운 발견도 있었다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들의 발현이 흥분성 뉴런 궤적과 억제성 뉴런 궤적에서 서로 다른 시간적 패턴을 보인다는 것이었다. 벌크 전사체에서는 뉴런 유형들의 발현이 뒤섞여 이런 궤적별 차이를 구분할 수 없었지만, 단일 세포 해상도에서는 각 계통을 따라 위험 유전자들이 언제 켜지고 꺼지는지를 추적할 수 있었다. 연구진은 Palantir라는 궤적 분석 도구를 이용하여 각 세포를 발달 순서대로 정렬한 뒤, 위험 유전자들의 발현이 분화 과정의 어느 지점에서 정점을 이루는지를 분석했다.

또 하나 주목할 발견은 비뉴런 세포 계통에서의 질환 유전자 발현이었다. 기존의 시공간적 수렴 연구들이 주로 뉴런에 초점을 맞추었다면, BTS 아틀라스는 성상세포, 희소돌기세포 전구세포, 미세아교세포 같은 글리아 계통에서도 특정 발달 단계에 맞춰 질환 위험 유전자들이 발현된다는 것을 보여주었다. 이것은 신경발달 질환의 병리가 뉴런만의 문제가 아니라, 뉴런을 둘러싼 지지 세포들의 발달 프로그램에도 관여할 수 있다는 것을 시사한다. 벌크 전사체에서는 소수 세포 유형의 신호가 다수 세포의 평균 속에 묻히기 쉽기 때문에, 이런 발견은 단일 세포 해상도가 아니면 도달하기 어려운 것이었다.

BTS 아틀라스는 벌크 전사체 시대의 시공간적 수렴 연구를 단일 세포 시대로 확장한 자원이다. BrainSpan이 “언제, 어디서”를 물었다면, BTS는 “어떤 세포에서, 분화의 어느 시점에”까지 질문의 해상도를 높였다. 물론 한계도 있다. 서로 다른 연구에서 생산된 데이터를 통합한 것이기 때문에 잔여 배치 효과가 남아있을 수 있고, 뇌의 모든 영역과 발달 단계가 균등하게 대표되지는 않는다. 또한 전사체 수준의 연관성 분석이므로, 실제 기능적 인과관계는 추가적인 실험적 검증이 필요하다. 그럼에도 불구하고, 수백 개의 질환 위험 유전자들이 발달 중인 뇌의 어떤 세포에서 어떤 시점에 함께 작동하는지를 한눈에 볼 수 있는 자원이 생겼다는 것 자체가, 시공간적 수렴 연구의 중요한 진전이다.

시공간적 수렴이 유전 변이 해석을 바꾸다

시공간적 수렴 개념이 신경발달 유전체학에 가져온 가장 중요한 변화 중 하나는 유전 변이를 해석하는 방식의 전환이다. 전통적인 유전학적 사고에서는 유전 변이 자체의 성격, 즉 단백질을 손상시키는가, 아니면 서열 변화가 작은가를 주로 고려했다. 그러나 시공간적 수렴의 관점에서는 그 변이가 어떤 유전자에서 일어났느냐보다, 그 유전자가 언제 어디서 어떤 세포에서 작동하느냐가 표현형의 성격을 결정하는 핵심 요인이 된다.

좋은 예가 SCN2A 유전자다. SCN2A는 신경세포의 전압 의존성 나트륨 채널 Nav1.2를 만드는 유전자인데, 이 유전자에서 일어나는 유전 변이의 종류에 따라 전혀 다른 표현형이 나타난다. 기능 획득성 변이(gain-of-function variant), 즉 이온 채널이 더 활성화되는 방향의 변이는 생후 초기에 심각한 영아 뇌전증을 유발한다. 반면 기능 손실성 변이(loss-of-function variant), 즉 이온 채널의 기능이 감소하는 방향의 변이는 자폐스펙트럼장애를 유발하는데, 놀랍게도 이 경우에는 오히려 발작이 없다. 같은 유전자에서 서로 다른 방향의 변이가 서로 다른 질환을 일으키는 것이다. 이것은 단순히 변이가 있느냐 없느냐의 문제가 아니라, 그 변이가 해당 세포의 기능을 어느 방향으로 어느 정도 바꾸느냐, 그리고 그것이 특정 발달 시점의 뇌 회로에 어떤 영향을 미치는냐의 문제다.

또 다른 예는 자폐스펙트럼장애와 조현병 사이의 관계다. 앞의 챕터에서 보았듯이, NRXN1, SHANK2 같은 유전자에서는 손상성 변이가 자폐스펙트럼장애에서도 발견되고 조현병에서도 발견된다. 같은 유전자의 손상이 어떤 사람에게는 자폐스펙트럼장애로, 다른 사람에게는 조현병으로 나타나는 것이다. 왜 그런가? 이 질문에 대한 완전한 답은 아직 없지만, 시공간적 수렴의 관점에서 한 가지 가설은 이렇다. 유전 배경(genetic background)의 차이, 즉 위험 변이가 발현되는 나머지 유전체의 맥락에 따라, 같은 유전자의 손상이 태아 뇌 발달에 영향을 미치는지 아니면 청소년기의

시냅스 재편에 영향을 미치는지가 달라질 수 있다. 변이가 어떤 발달적 문맥에서 그 유전자의 기능에 영향을 미치느냐가 표현형을 결정한다는 것이다.

이 관점은 유전 변이를 단순히 특정 유전자의 기능 상실 혹은 획득으로 분류하는 것을 넘어서, 그 변이가 특정 시공간적 맥락에서 특정 세포의 기능을 어떻게 변화시키는지 이해하려는 시도로 이어진다. 대규모 인간 뇌 발달 전사체 지도, 단일 세포 시퀀싱을 통한 세포 유형 지도, 그리고 특정 유전자가 각 세포 유형에서 어떤 단백질 복합체와 상호작용하는지에 대한 지식이 합쳐질 때, 비로소 유전 변이에서 뇌 표현형까지의 경로를 추적하는 것이 가능해진다. 이것이 시스템 생물학적 접근의 핵심이다 (Parikshak et al. 2015).

발달의 창과 취약성의 시간

이 모든 연구들이 모여 가리키는 방향이 있다. 신경발달 질환들은 발달의 특정 시간적 창(developmental window)에서 특정 세포 유형의 기능이 교란될 때 발생하며, 그 창의 시점과 세포 유형이 질환의 임상적 특성을 결정하는 핵심 요인이라는 것이다. 자폐스펙트럼장애는 태아 중기 심층 피질 뉴런의 창이 닫혀야 할 시간에 올바르게 닫히지 못하는 문제, 조현병은 청소년기 시냅스 가지치기의 창에서 일어나는 문제, 뇌전증은 억제성 인터뉴런 성숙의 창에서 일어나는 문제로 이해할 수 있다. 이 관점에서 보면, 같은 유전 변이라도 그것이 어느 발달 단계에서 어느 세포에서 발현되는가에 따라 완전히 다른 표현형이 초래될 수 있다는 것이 이해된다.

이 개념은 또한 왜 많은 신경발달 질환들이 출생 시에는 진단되지 않고 수년이 지나서야 표현형이 드러나는지를 설명한다. 자폐스펙트럼장애의 위험 유전자들이 태아 중기에 심층 피질 뉴런에서 집중적으로 작동하지만, 그 뉴런들이 사회적 인지 언어 처리에 관여하는 복잡한 회로를 형성하고 그 기능이 실제로 시험대에 오르는 것은 생후 2~3년 이후이기 때문이다. 분자적 교란은 태아기에 시작되지만, 그 결과가 행동 수준에서 나타나는 것은 훨씬 나중이다. 마치 건물의 기초에 문제가 생겨도 건물이 무너지는 것은 수십 년 후인 것처럼, 뇌 발달의 초기 배선 오류의 결과는 그 배선이 충분히 사용되기 시작한 후에야 드러난다.

시공간적 수렴의 발견은 신경발달 유전체학에 방향을 제시했다. 더 이상 유전 변이 자체만을 들여다보는 것이 아니라, 그 변이가 영향을 미치는 발달적 시간과 세포적 공간을 함께 고려해야 한다는 것이다. 대규모 엑솜 시퀀싱이 위험 유전자를 찾는다면, 시공간 전사체 분석은 그 유전자들이 작동하는 무대를 밝힌다. 이 두 정보가 합쳐질 때, 수백 개의 서로 다른 유전 변이들이 왜 비슷한 임상적 결과로 수렴하는지의 이유가 비로소 이해된다. 변이 자체가 아니라 그 변이가 영향을 미치는 시간과 공간이 중요하다. 이것이 현대 신경발달 유전체학이 도달한 핵심 통찰이고, 이후의 뇌 유전체학 연구 전체를 안내하는 나침반이 된다.

References

- Willsey, A. J., Sanders, S. J., Li, M., Dong, S., Tebbenkamp, A. T., Muhle, R. A., ... & State, M. W. (2013). Coexpression networks implicate human midfetal deep cortical projection neurons in the pathogenesis of autism. *Cell*, 155(5), 997–1007. doi:10.1016/j.cell.2013.10.020
- Parikshak, N. N., Gandal, M. J., & Geschwind, D. H. (2015). Systems biology and gene networks in neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Genetics*, 16(8), 441–458. doi:10.1038/nrg3934
- Kang, H. J., Kawasawa, Y. I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., ... & Sestan, N. (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370), 483–489. doi:10.1038/nature10523
- Ben-Shalom, R., Keeshen, C. M., Berrios, K. N., An, J. Y., Sanders, S. J., & Bhatt, D. L. (2017). Opposing effects on NaV1.2 function underlie differences between SCN2A variants observed in individuals with autism spectrum disorder or infantile seizures. *Biological Psychiatry*, 82(3), 224–232. doi:10.1016/j.biopsych.2017.01.009
- Parikshak, N. N., Luo, R., Zhang, A., Won, H., Lowe, J. K., Chandran, V., ... & Geschwind, D. H. (2013). Integrative functional genomic analyses implicate specific molecular pathways and circuits in autism. *Cell*, 155(5), 1008–1021. doi:10.1016/j.cell.2013.10.031
- Sullivan, P. F., & Posthuma, D. (2015). Biological pathways and networks implicated in psychiatric disorders. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 2, 58–68. doi:10.1016/j.cobeha.2014.09.003

Chow, M. L., Li, H. R., Winn, M. E., April, C., Barnes, C. C., Wynshaw-Boris, A., ... & Bhatt, D. L. (2019). Dissecting the genetic basis of comorbid epilepsy phenotypes in neurodevelopmental disorders. *Genome Medicine*, 11(1), 65. doi:10.1186/s13073-019-0678-y

Bellenguez, C., Küçükali, F., Jansen, I. E., Kleindam, L., Moreno-Grau, S., Amin, N., ... & Lambert, J. C. (2022). New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nature Genetics*, 54(4), 412-436. doi:10.1038/s41588-022-01024-z

Kim, S., Lee, J., Koh, I. G., Ji, J., Kim, H. J., Kim, E., Park, J., Park, J.-E., & An, J.-Y. (2024). An integrative single-cell atlas for exploring the cellular and temporal specificity of genes related to neurological disorders during human brain development. *Experimental & Molecular Medicine*, 56, 2313-2325. doi:10.1038/s12276-024-01328-6

주요 용어 안내

시공간적 수렴(spatio-temporal convergence): 위험 유전자들이 뇌의 특정 영역, 특정 발달 시점, 특정 세포 유형에서 집중적으로 발현되는 현상. “어떤 유전자가 위험한가”뿐 아니라 “언제, 어디서, 어떤 세포에서 위험한가”를 묻는 관점이다.

GWAS(전장 유전체 연관 분석): 수십만 명의 유전체를 비교하여 특정 형질이나 질환과 통계적으로 연관된 DNA 변이를 찾는 대규모 분석. 흔한 변이(common variant)의 작은 효과를 집단 수준에서 검출한다.

세포 유형 특이적 발현(cell-type-specific expression): 특정 유전자가 뇌의 모든 세포가 아니라 특정 세포 유형에서만 발현되는 현상. 질환 위험 유전자가 어떤 세포에서 작동하는지를 알아야 그 유전자의 역할을 이해할 수 있다.

Chapter 21. 다면발현 — 하나의 유전자, 여러 표현형

앞의 두 챕터에서 우리는 수렴이라는 개념을 다양한 각도에서 살펴보았다. 수백 개의 서로 다른 유전자들이 결국 세너 가지 생물학적 경로로 모여들고, 그 수렴이 임신 중기 심층 피질 뉴런이라는 특정한 시공간적 맥락에서 가장 극적으로 드러난다는 것이었다. 그런데 이제 우리는 동전의 반대편을 봐야 한다. 수렴이 “많은 유전자 → 하나의 경로”라는 방향의 이야기라면, 이 챕터는 그 반대 방향, 즉 “하나의 유전자 → 여러 표현형”의 이야기다. 이것을 다면발현(pleiotropy)이라 부른다. 하나의 유전자가 여러 표현형에 동시에 영향을 미치는 현상이다. 개념 자체는 19세기 유전학의 초기 논의에서도 등장하지만, 인간 유전체 시대에 들어서며 다면발현의 실체가 얼마나 광범위하고 필연적인지가 비로소 명확해졌다.

여기서 잠깐 직관에 반하는 이야기를 해두자. 처음 유전학을 배우는 학생들은 보통 하나의 유전자가 하나의 기능을 담당한다는 인상을 갖는다. BRCA1은 유방암 유전자, PKU는 페닐알라닌 수산화효소 유전자, 뭐 이런 식으로 유전자와 기능 혹은 질환을 일대일로 연결하는 방식이다. 하지만 이것은 편의상의 단순화이지 생물학적 현실이 아니다. 실제로는 인간 유전체에서 하나의 형질에만 영향을 미치는 유전자를 찾는 것이 더 어렵다. 다면발현은 예외가 아니라 규칙이다. 특히 뇌에서는 더욱 그렇다. 신경발달 질환(neurodevelopmental disorder)의 유전학이 우리에게 가르쳐준 가장 불편한 진실 중 하나가 바로 이것이다. 같은 유전자의 변이가, 어떤 사람에게서는 자폐스펙트럼장애(autism spectrum disorder)를, 다른 사람에게서는 조현병(schizophrenia)을, 또 다른 사람에게서는 지적장애(intellectual disability)를 일으킨다. 유전자는 진단 범주를 존중하지 않는다.

다면발현의 세 가지 얼굴

다면발현이라는 개념은 단일한 현상이 아니다. 표면적으로는 비슷해 보이는 “하나의 유전자가 여러 형질에 영향을 미친다”는 관찰 뒤에 전혀 다른 메커니즘이 숨어 있을 수 있다. Solovieff et al. (2013)은 이 교차 표현형 연관성(cross-phenotype association)을 세 가지 유형으로 나누는 틀을 제시했다. 이 분류 체계는 이후 신경정신 유전학 연구에서 다면발현을 논할 때마다 참조되는 기본 어휘가 되었다.

첫 번째는 생물학적 다면발현(biological pleiotropy)이다. 유전 변이 혹은 유전자가 두 개 이상의 표현형에 직접적이고 독립적인 생물학적 영향을 미치는 경우다. 같은 기능 원소가 여러 경로를 동시에 조절한다는 의미이므로, 진정한 의미의 다면발현이다. 스위스 아미 나이프가 칼도 되고 가위도 되고 병따개도 되는 것처럼, 하나의 유전자가 다양한 생물학적 도구로 기능하면서 여러 형질에 동시에 영향을 미친다. 예를 들어 CACNA1C 유전자에 있는 유전 변이는 양극성

장애(bipolar disorder)와 조현병 모두의 위험에 영향을 미치는데, 이 유전자가 만드는 전압 의존성 L형 칼슘 채널이 서로 다른 뇌 영역에서 서로 다른 회로에 영향을 미치기 때문이다. 두 번째는 매개된 다면발현(mediated pleiotropy)이다. 유전 변이가 형질 A에 영향을 미치고, 형질 A가 형질 B에 인과적으로 영향을 미치는 경우다. 즉 B에 대한 유전적 효과는 A를 통해 간접적으로 나타난다. 이것은 생물학적 다면발현처럼 보이지만, 사실 하나의 형질이 다른 형질의 원인인 것이다. 세 번째는 거짓 다면발현(spurious pleiotropy)이다. 여러 형질 사이의 유전적 연관성이 실제 생물학을 반영하는 것이 아니라 표현형 정의의 중복, 집단 층화(population stratification), 혹은 연구 설계의 편향에서 비롯되는 경우다. 이 세 가지 유형을 구분하는 것은 단순한 분류학적 놀이가 아니다. 같은 유전자가 두 질환과 연관되어 있을 때, 그것이 생물학적 다면발현인지 거짓 다면발현인지에 따라 치료적 함의가 완전히 달라지기 때문이다.

Solovieff et al. (2013) 발표 당시 이미 유전체 전체 연관 연구(genome-wide association study, GWAS) 데이터베이스에는 8,500개 이상의 통계적으로 유의한 연관 신호가 보고되어 있었고, 많은 유전자 좌위(loci)가 서로 다른 질환과 반복적으로 연관되는 것으로 나타났다. 자가면역 질환만 봐도, PTPN22 유전자는 류마티스 관절염, 크론병, 전신홍반루푸스(SLE), 1형 당뇨병 모두와 연관되어 있었다. 신경정신 질환에서는 더 광범위한 중복이 관찰되었다. 정신 유전체 컨소시엄(Psychiatric Genomics Consortium)의 교차 질환 분석은 자폐스펙트럼장애, 조현병, 양극성 장애, 주요 우울증(major depressive disorder), 주의력결핍과잉행동장애(ADHD)의 다섯 가지 신경정신 질환이 유의한 수준의 다유전자 위험(polygenic risk)을 공유한다는 것을 보였다. 조현병과 양극성 장애 사이의 유전적 상관(genetic correlation)은 약 0.68로 매우 높았고, 자폐스펙트럼장애와 조현병 사이도 약 0.16으로 낮지만 통계적으로 유의했다. 유전적 상관이 0.68이라는 것은, 조현병 위험을 높이는 유전 변이들의 68%가 양극성 장애 위험도 함께 높인다는 의미다. 두 질환이 임상적으로 매우 달라 보이지만, 유전적으로는 거의 같은 동전의 앞뒤에 가깝다. 이 신호들의 상당 부분은 시냅스와 크로마틴 경로 유전자들에서 오는 것이었다.

22q11.2 결실이 들려주는 이야기

다면발현의 실체를 분명하게 보여주는 사례가 22q11.2 결실 증후군이다. 22번 염색체의 장완(long arm) 11.2 위치에 있는 약 1.5~3 Mb 크기의 결실이 이 증후군을 일으키는데, 이 결실이 영향을 미치는 유전자는 약 30~50개에 달한다. 이 하나의 복제수 변이(copy number variant)가 만들어내는 임상적 표현형의 다양성은 매우 넓다. 이 결실을 가진 개인의 약 25%는 조현병 진단을 받고, 약 30%는 자폐스펙트럼장애 진단을 받으며, 상당수가 ADHD, 지적장애, 불안 장애, 양극성 장애를 보인다. 심장 기형, 구개 이상, 면역 결핍을 포함한 신체 증상도 동반된다. 하나의 유전체 결실이 정신과의사, 소아과의사, 면역학자, 심장 전문가가 각자 다른 진단명으로 보는 환자를 만들어낸다. 진단이 여러 개이지, 원인은 하나다. 이것이 다면발현의 임상적 현실이다.

같은 결실을 가진 서로 다른 개인들이 왜 이렇게 다른 임상 표현형을 보이는지는 완전히 해명되지 않았지만, 몇 가지 요인이 기여하는 것으로 알려져 있다. 22q11.2 결실 안에 있는 유전자들의 발현이 어떤 유전적 배경 위에서 이루어지느냐, 즉 나머지 유전체가 어떻게 구성되어 있느냐가 표현형의 방향을 결정하는 데 영향을 미친다. 또한 결실의 정확한 크기와 경계, 그리고 어떤 유전자들이 결실 구간에 포함되느냐도 변수다. 더 나아가 발달 과정에서 경험하는 환경적 요인들이 기저 유전적 취약성이 어떤 방향으로 표현되는지를 조율하는 것으로 보인다. 이 22q11.2 결실만으로도 전체 조현병의 약 1%, 자폐스펙트럼장애의 약 0.5~1%를 설명할 수 있다는 추산이 있는데, 이것은 하나의 복제수 변이치고는 놀랍도록 높은 기여도다. 이 하나의 결실이 다면발현 유전학의 교과서가 된 것은 우연이 아니다.

SHANK2, NRXN1, CNTNAP2 같은 개별 유전자들에서도 비슷한 이야기가 반복된다. 이 내용은 Zhu et al. (2014)이 Nature Neuroscience에 정리했는데, 단일 유전자가 어떻게 여러 신경정신 질환과 연관되는지를 멘델 질환(Mendelian disease) 사례들을 통해 체계적으로 문서화했다. SHANK2의 기능 손실성 유전 변이는 어떤 개인에게서는 자폐스펙트럼장애를, 다른 개인에게서는 조현병을, 또 다른 개인에게서는 지적장애를 일으킨다. NRXN1의 결실은 자폐스펙트럼장애, 조현병, 뚜렛 증후군(Tourette syndrome), 지적장애와 연관된다. CNTNAP2의 유전 변이는 자폐스펙트럼장애, 언어 장애, 뇌전증을 가로질러 나타난다. 이 유전자들을 “자폐 유전자”라고 부르는 것은 틀린 말은 아니지만, 절반의 진실이다. 이것들은 동시에 조현병 유전자이고, 지적장애 유전자이기도 하다. 유전자는 진단 기준을 읽지 않는다.

방향이 운명을 바꾼다

다면발현에는 한 가지 특히 흥미로운 형태가 있다. 같은 유전자에서 발생한 변이라도, 그 변이가 해당 유전자의 기능을 어느 방향으로 바꾸느냐에 따라 전혀 다른 표현형이 나타나는 경우다. 이것을 방향적 다면발현(directional pleiotropy)이라 부를 수 있다. 이 현상이 가장 명료하게 드러난 예가 SCN2A 유전자다. SCN2A는 Nav1.2라는 전압 의존성 나트륨 채널(voltage-gated sodium channel)을 만드는 유전자인데, 이 채널은 신경세포에서 활동 전위(action potential)를

발생시키고 전파하는 데 핵심적인 역할을 한다. Chapter 11에서도 잠깐 언급했지만, SCN2A의 이야기는 다면발현의 맥락에서 훨씬 더 깊이 이해된다.

SCN2A에서 발생한 기능 획득성 유전 변이(gain-of-function variant), 즉 나트륨 채널이 더 쉽게 열리거나 더 오래 열려 있게 되는 방향의 변이는 생후 수 주 이내에 발병하는 심각한 영아 뇌전증을 일으킨다. 채널이 과활성화되면 뉴런이 제어 불능 상태로 흥분하고, 이것이 발작으로 이어진다. 반면 SCN2A의 기능 손실성 유전 변이(loss-of-function variant), 즉 채널의 기능이 감소하는 방향의 변이는 자폐스펙트럼장애와 연관되며, 이 경우에는 오히려 발작이 없는 것이 특징이다. 수도꼭지를 생각해 보면 된다. 잠금 장치가 고장나서 물이 너무 많이 나오면 홍수(뇌전증), 수도관이 막혀 물이 너무 안 나오면 갈증(자폐스펙트럼장애의 신경 발달 이상). 같은 수도꼭지지만 고장의 방향이 정반대다. 채널의 활성이 낮아지면 신경 회로의 발달 과정에서 흥분성 신호가 약해지고, 이것이 사회성과 의사소통 발달의 경로를 비정상적으로 조율한다. 같은 유전자, 서로 반대 방향의 변이, 완전히 다른 임상 표현형. 이것은 단순히 “유전자가 손상되었느냐”의 문제가 아니라 “어떻게, 얼마나 손상되었느냐”가 표현형의 성격을 결정한다는 것을 보여주는 교과서적 사례다.

16p11.2 복제수 변이는 방향적 다면발현의 또 다른 극적인 예다. 16번 염색체 11.2 위치의 약 600 kb 구간을 포함하는 결실은 자폐스펙트럼장애 및 지적장애와 강하게 연관된다. 그런데 정확히 같은 구간의 중복(duplication), 즉 유전자 복제 수가 줄어드는 것이 아니라 늘어나는 경우는 조현병의 위험 인자다. 결실이나 중복이나, 즉 유전자 용량(gene dosage)이 감소하느냐 증가하느냐에 따라 전혀 다른 신경정신 결과가 나온다. 이것은 단백질 기능의 방향적 변화가 표현형을 결정한다는 원리를 유전체 구조 수준에서도 확인시켜 준다. 같은 구간이 같은 표현형 스펙트럼에서 양 극단을 일으킨다. 유전자 용량을 정확하게 유지하는 것 자체가 신경 발달에서 얼마나 중요한지를 보여주는 증거다. 이런 결과들은 다면발현이 단순히 “이 유전자가 저 유전자와 연관되어 있다”는 통계적 관찰이 아니라, 기능의 방향과 크기가 임상 표현형을 결정하는 생물학적 기제가 있음을 강조한다.

옴니제닉 모델: 다면발현이 수학적 필연인 이유

지금까지 이야기는 특정 유전자들이 다면발현적이라는 것이었다. 하지만 2017년에 Boyle, Li, Pritchard가 Cell에 발표한 옴니제닉 모델(omnigenic model)은 이보다 훨씬 급진적인 주장을 한다. 다면발현은 예외적인 유전자의 특성이 아니라, 유전자 조절 네트워크의 구조에서 비롯되는 수학적 필연이라는 것이다. 이 모델을 이해하기 위해서는 먼저 복잡 형질(complex trait)의 GWAS 결과가 왜 그토록 많은 유전자 좌위를 지목하는지를 생각해 봐야 한다.

표본 수가 수십만에서 수백만으로 늘어날수록 GWAS는 유전체 전체에 걸쳐 점점 더 많은 통계적으로 유의한 연관 신호를 찾아낸다. 조현병의 경우 수만 명 규모에서는 수백 개의 유전자 좌위가 나왔는데, 이론적으로 표본이 충분히 커지면 질환 관련 세포에서 발현되는 거의 모든 유전자가 통계적으로 유의한 신호를 보일 것으로 예측된다. 왜 그런가? 옴니제닉 모델의 핵심 논리는 이렇다. 관련 세포 유형의 유전자 조절 네트워크는 너무나 밀집하게 연결되어 있기 때문에, 그 안의 어떤 유전자를 건드리더라도 그 효과가 네트워크를 통해 전파되어 결국 직접적인 질환 관련 경로, 즉 핵심 유전자(core genes)들에 도달하게 된다. 핵심 유전자들은 질환 표현형에 직접적인 생물학적 효과를 미치는 소수의 유전자들이다. 반면 주변 유전자(peripheral genes)들은 핵심 유전자들의 발현을 간접적으로 조절하여 간접적인 효과를 낸다. 그런데 네트워크가 충분히 밀집되어 있다면, 질환 관련 세포 유형에서 발현되는 모든 유전자는 잠재적으로 주변 유전자가 될 수 있다.

이 관점에서 다면발현은 설명이 필요한 수수께끼가 아니다. 네트워크가 밀집 연결되어 있다면, 하나의 유전자가 여러 경로에 영향을 미치는 것은 당연한 귀결이다. 같은 이유로 여러 유전자가 하나의 경로로 수렴하는 것도 당연하다. 수렴과 다면발현은 같은 밀집 연결 네트워크의 두 가지 다른 면이다. 앞을 들여다보면 수렴이 보이고, 뒤를 들여다보면 다면발현이 보인다. 옴니제닉 모델은 처음 발표되었을 때 논란이 있었다. 핵심 유전자와 주변 유전자의 구분이 모호하다는 비판도 있었고, 이 모델이 너무 허무주의적이라는 반응도 있었다. 유전자 네트워크 안에서 거의 모든 유전자가 질환에 간접적으로 기여한다면, 치료 표적을 찾는 것이 의미가 있는가? 나쁘게 보면 “모든 게 원인이라면 아무것도 표적이 될 수 없다”는 절망적 결론이지만, 좋게 보면 “핵심 허브만 공략하면 전체 네트워크에 영향을 줄 수 있다”는 방향을 제시하기도 한다. 그럼에도 불구하고 옴니제닉 모델이 제안하는 네트워크 중심 사고는 다면발현을 이해하는 데 가장 강력한 개념적 틀 중 하나로 자리잡았다.

시냅스후 단백질 복합체의 진화와 다면발현의 기원

왜 신경정신 유전자들은 이토록 다면발현적인가? 이 질문에 답하려면 인간 유전체의 진화적 역사를 들여다 봐야 한다. 현생 척추동물의 시냅스후 단백질 복합체(postsynaptic density)는 약 1,500개의 단백질로 구성되어 있으며, 이 중 130개 이상의 유전자에서 유전 변이가 발생하면 인간 뇌 질환이 생긴다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자 47개, 조현병 위험

유전자 54개, 지적장애 위험 유전자 37개, 뇌전증 위험 유전자 30개가 모두 이 시냅스후 단백질 복합체 안에서 겹치면서 중복된다. 하나의 단백질 복합체가 이렇게 많은 질환의 근원지가 된 것은 우연이 아니다.

Emes et al.의 연구들은 시냅스후 단백질 복합체의 진화적 확장을 체계적으로 기록했다. 이 연구들에 따르면, 시냅스후 단백질 복합체의 분자 기계는 신경계가 생기기 훨씬 이전부터 단세포 생물에 이미 존재했다. 효모나 깃편모충류(choanoflagellate) 같은 단세포 생물에도 스캐폴드 단백질, 키나제, GTPase가 적응적 신호 복합체를 형성하고 있었다. 척추동물이 등장하면서 이 고대 기계가 극적으로 확장되었다. 무척추동물에서 척추동물로의 전환에서 추가적인 약 2배 확장이 일어났고, 특히 수용체 단백질과 세포골격 단백질의 증가가 두드러졌다. 척추동물 특이적으로 추가된 시냅스후 복합체 구성 요소들은 뇌의 여러 영역에 걸쳐 발현되는 경향이 있었다. 이 확장의 분자적 원동력은 유전체 중복(whole-genome duplication)이었다. 약 5억 년 전 척추동물 조상에서 일어난 1R/2R 전장 유전체 중복은 각 조상 유전자의 4개 복사본을 만들었고, 그것들이 이후 분화하면서 기능적으로 다양하지만 구조적으로 유사한 유전자 패밀리를 형성했다.

NMDA 수용체의 경우가 특히 설명적이다. 무척추동물의 단일 NR2 소단위가 척추동물에서 GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D의 네 가지 소단위로 분화했다. 이 소단위들은 수용체의 핵심 구조는 공유하지만, 세포질 말단 도메인(cytoplasmic tail domain, CTD)의 서열이 서로 다르다. GluN2A와 GluN2B의 세포질 말단 도메인은 불과 29%만 동일하다. Ryan et al. (2013)이 보고한 교환 삽입(swap knock-in) 마우스 실험은 이 CTD 분화의 기능적 결과를 극적으로 보여줬다. GluN2A의 CTD를 GluN2B의 것으로 교체하거나 그 반대로 했을 때, 여덟 가지 행동 영역이 네 가지 유전적 그룹으로 나뉘는 것이 관찰되었다. 학습에는 GluN2A와 GluN2B 두 소단위의 기능이 모두 필요했지만, 불안, 운동 협응, 공간 작업 기억은 각각 소단위 특이적이었다. 유전체 중복이 만들어낸 두 개의 유사한 유전자가, 행동의 서로 다른 측면을 담당하는 기능적으로 분화된 단백질로 진화한 것이다. 그리고 바로 이 분화 때문에, 두 소단위 중 어느 것이 손상되느냐에 따라 서로 다른 임상 표현형이 나온다. 다면발현은 유전체 진화의 역사적 산물이다.

정화 선택이 보내는 신호

다면발현 유전자들이 보내는 또 다른 중요한 신호는 진화적 보존의 패턴이다. 뇌에서 높게 발현되는 유전자들은 집단 수준에서 기능 손상성 변이를 거의 허용하지 않는다는 특징이 있다. 이것을 정화 선택(purifying selection)의 흔적이라 부른다. 자연선택이 특정 유전자에서의 유해한 변이를 적극적으로 제거해왔다는 증거다. Uddin et al. (2014) 연구는 엑손 수준의 뇌 발현량과 집단 내 희귀 오손 유전 변이(rare missense variant) 부담 사이에 역상관이 있음을 보였다. 즉 뇌에서 발현이 높을수록 집단에서 그 유전자를 손상시키는 변이를 가진 사람이 드물다. 이 유전자들은 드노보 유전 변이가 생겼을 때 자폐스펙트럼장애 환자에서 대조군 형제에 비해 2.4배 높게 빈번하게 발견되었다.

그렇다면 이렇게 강한 정화 선택을 받는 유전자들에서 어떻게 위험 변이들이 집단 내에서 계속 유지되는가? 여기서 중요한 개념이 변이-선택 균형(mutation-selection balance)이다. 각 인간은 출생 시 약 1~2개의 새로운 단백질 코딩 드노보 유전 변이를 가지고 태어난다. 선택이 기존 변이를 제거하는 속도보다, 새로운 변이가 생겨나는 속도가 충분히 빠르다면, 집단 내에서는 항상 어느 정도의 위험 변이가 유지된다. 새는 양동이에 물을 계속 채우는 상황과 비슷하다. 선택이 구멍으로 물을 빼내지만, 매 세대 새로운 돌연변이라는 물이 계속 들어오기 때문에 양동이이 완전히 비지 않는다. 이것이 바로 높은 침투율을 가진 신경정신 질환 복제수 변이들이 대부분 드노보로 발생하고 유전되지 않는 이유다. 선택이 이미 기존 변이를 대부분 제거했기 때문에, 집단에서 관찰되는 변이의 대부분이 새로 생긴 것들이다. 또한拮抗적 다면발현(antagonistic pleiotropy), 즉 한 형질에는 이롭지만 다른 형질에는 해로운 효과가 한 유전자 안에 묶여 있는 경우도 위험 변이를 유지시키는 데 기여한다. 인간 인지 능력의 진화를 가능하게 한 동일한 유전적 변화들이 신경정신 질환에 대한 취약성을 부산물로 가져왔을 수 있다. 이 관점에서 보면, 뇌의 복잡성과 신경정신 질환의 다면발현적 유전학은 같은 동전의 두 면이다. 이 진화적 취약성은 Chapter 23에서 더 깊이 다룬다.

Zeng et al. (2018)이 Nature Genetics에 발표한 연구는 BayesS라는 베이지안 모델을 이용하여 28가지 복잡 형질에서 음성 선택(negative selection)의 흔적을 정량화했다. 이 연구에서 가장 강한 음성 선택 신호는 인지 능력, 교육 성취도, 자녀 수, 첫 출산 연령 같은 형질들에서 나타났다. 이 형질들과 연관된 유전자들은 희귀 변이가 공통 변이보다 더 큰 효과를 가지는 패턴을 보였는데, 이것은 정화 선택이 유해한 변이를 드물게 유지시킨다는 것과 일치한다. 다면발현적인 신경정신 유전자들이 가장 강한 선택 압력 아래 있다는 것, 그리고 그 선택 압력은 정확히 인간 고유의 인지 능력과 연결된 형질들에서 비롯된다는 것이 이 연구가 전달하는 메시지다.

암과 신경발달 질환의 다면발현: 같은 유전자, 다른 결말

다면발현이 신경정신 질환들 사이에서만 일어나는 것이 아니라는 것을 이해하는 순간, 한 가지 불편한 깨달음이 찾아온다. 자폐스펙트럼장애의 위험 유전자들 중 상당수가 동시에 암 유전자이기도 하다는 것이다. 이것은 통계적 우연이 아니다. 태아 뇌 발달을 조절하는 유전자들과 성인 조직에서 세포 증식을 억제하는 종양 억제 유전자들이 실질적으로 같은 집합에 속한다는 것은, 세포 생물학의 근본 원리에서 비롯된 필연이다.

CHD8이 그 원형적 사례다. CHD8은 현재까지 발견된 자폐스펙트럼장애 드노보 유전 변이에서 단일 유전자로는 가장 높은 빈도로 발견되는 유전자다. 그런데 CHD8은 동시에 대장암에서 반복적으로 변이가 발견되는 암 유전자이기도 하다. CHD8이 만드는 단백질은 ATP 의존성 크로마틴 리모델러로, 수천 개 유전자의 프로모터에 결합하여 그 유전자들의 발현을 조절한다. 신경 전구세포에서 CHD8이 반수체 불충분(haploinsufficiency) 상태가 되면 피질 발달 프로그램이 광범위하게 교란되어 자폐스펙트럼장애로 이어진다. 성인 대장 상피 세포에서 CHD8이 기능을 잃으면 세포 주기 제어가 풀리고 증식이 통제 불가능해져 암이 된다. 같은 크로마틴 리모델링 기능이 태아 뇌에서는 발달 프로그램을 수행하고, 성인 조직에서는 종양 억제 역할을 담당한다. ARID1B도 마찬가지다. SWI/SNF 복합체의 핵심 구성 요소인 이 유전자는 자폐스펙트럼장애 위험 유전자 중에서도 상위권에 속하는데, 난소암, 간세포암, 위암에서 체세포 유전 변이가 반복적으로 보고된다. 신경 전구세포에서는 피질 층화(cortical lamination)를 조절하고, 분열하는 상피 세포에서는 세포 주기 브레이크 역할을 한다.

PTEN은 암과 신경발달 질환을 연결하는 다면발현의 패러다임으로 자주 인용된다. PTEN은 PIP3를 탈인산화하여 PI3K/AKT/mTOR 신호 전달 경로를 억제하는 인산분해효소(phosphatase)인데, 이 경로는 세포 성장과 생존을 조절하는 가장 핵심적인 신호 축 중 하나다. 암 유전학의 관점에서 PTEN은 TP53 다음으로 가장 자주 변이가 발견되는 종양 억제 유전자다. 28가지 이상의 암종에서 2,700개가 넘는 PTEN 유전 변이가 보고되어 있다. 그런데 이 같은 유전자에 배아 수준에서 생식계열 유전 변이(germline variant)가 생기면, PTEN 과오종 증후군(PTEN hamartoma tumor syndrome), 즉 카우덴 증후군(Cowden syndrome)이 발생하는데, 이 증후군의 특징적 표현형 중 하나가 대두증(macrocephaly)을 동반한 자폐스펙트럼장애다. 대두증이 있는 자폐스펙트럼장애 환자들 중 약 1~17%에서 PTEN 변이가 발견된다는 추산이 있어서, 대두증이 있는 자폐스펙트럼장애 아동에게는 PTEN 유전자 검사가 권고되고 있다. 태아 신경 전구세포에서 PTEN이 없으면 mTOR 신호가 과활성화되어 전구세포가 과도하게 증식하고, 이것이 비정상적으로 큰 뇌와 이상한 신경 연결로 이어진다.

mTOR 경로의 이 다면발현은 약리학적 층위에서도 이어진다. 암 치료와 면역 억제에 사용되는 약물인 라파마이신(rapamycin)은 mTOR를 직접 억제하는 기전을 가진다. Tang et al. (2014) 연구는 결절성 경화증 복합체(tuberous sclerosis complex)를 모델로 한 마우스, 즉 mTOR가 지속적으로 과활성화된 마우스에서 라파마이신이 시냅스 가지치기 결함을 회복시키고 자폐스펙트럼장애 유사 사회적 행동을 개선한다는 것을 보였다. 이 구제 효과는 mTOR 억제를 통한 자가포식(autophagy) 복원에 의존했다. 즉 mTOR가 과활성화되면 자가포식이 억제되고 과잉 수상돌기 가지(dendritic spine)가 제거되지 않아 시냅스 가지치기가 이루어지지 않는데, 라파마이신이 mTOR를 억제하면 자가포식이 회복되고 과잉 가지가 제거된다. 암 약물이 자폐스펙트럼장애 모델에서 치료 효과를 보이는 이 관찰은 약리학적 다면발현(pharmacological pleiotropy)의 사례다. 같은 분자 표적이 암세포의 증식과 자폐스펙트럼장애 모델의 시냅스 가지치기라는 전혀 다른 두 과정에서 중심적인 역할을 한다는 것이다.

RAS 경로는 또 다른 차원의 암-신경발달 질환 다면발현을 보여준다. RAS/MAPK 경로의 유전자들에서 일어나는 생식계열 기능 획득성 유전 변이(germline gain-of-function variant)는 라소병증(RASopathy)이라 불리는 발달 증후군들을 일으킨다. PTPN11 변이에 의한 Noonan 증후군(Noonan syndrome), HRAS 변이에 의한 코스텔로 증후군(Costello syndrome), BRAF 변이에 의한 심장-안면-피부 증후군(cardio-facio-cutaneous syndrome) 등이 모두 이 범주에 속하는데, 이 증후군들의 공통된 특징 중 하나가 인지 기능 장애다. Noonan 증후군의 경우 ADHD와 학습 장애가 흔하고, 코스텔로 증후군에서는 지적장애가 나타난다. 흥미로운 것은 같은 RAS 경로 유전자들의 체세포 기능 획득성 유전 변이(somatic gain-of-function variant)가 성인에서는 암을 일으킨다는 것이다. PTPN11의 체세포 변이는 소아 골수단구성 백혈병(juvenile myelomonocytic leukemia)과 연관되고, HRAS의 체세포 변이는 방광암과 횡문근육종을, BRAF의 변이는 흑색종과 대장암을 일으킨다. 배아기 생식계열에서 RAS 경로가 과활성화되면 뇌 발달이 이상해지고, 성인의 체세포에서 같은 경로가 과활성화되면 암이 생긴다. 같은 분자적 사건, 전혀 다른 세포적 맥락과 발달적 타이밍, 완전히 다른 결과.

이 모든 예시들이 가리키는 하나의 원리가 있다. 세포 성장, 증식, 크로마틴 조절에 관여하는 유전자들은 태아 뇌 발달에서도 필수적이고 성인 조직에서도 필수적이다. 신경 전구세포는 정확히 맞는 시점에 증식을 멈추고 분화해야 하며, 이 과정을 PTEN, TSC1/2, CHD8, ARID1B 같은 유전자들이 제어한다. 같은 유전자들이 성인 상피세포에서는 세포 주기 브레이크로 작동한다. 전구세포에서 기능 손실이 일어나면 신경발달 질환이 된다. 성인 체세포에서 기능 획득이 일어나면 암이 된다. 같은 유전자, 반대 방향의 교란, 두 가지 완전히 다른 임상 결과. 자폐스펙트럼장애와 암이 같은

유전자들을 공유하는 것은 생물학의 아이러니가 아니라, 세포 생물학의 필연적 귀결이다.

수렴과 다면발현은 동전의 양면

이 챕터를 마치기 전에 한 발 물러서서 Chapter 10, 11과의 연결을 명확히 해둘 필요가 있다. 수렴과 다면발현은 서로 반대되는 현상처럼 보이지만, 사실 하나의 유전자 조절 네트워크가 만들어내는 두 가지 다른 관찰 방식이다. 수렴은 네트워크의 입력 쪽에서 보는 그림이다. 수백 개의 서로 다른 유전자들이 손상되어도 같은 경로, 같은 시냅스 기능 허브, 같은 피질 발달의 시간창으로 흘러들어간다. 다면발현은 네트워크의 출력 쪽에서 보는 그림이다. 하나의 유전자가 손상되면 그 효과가 네트워크 전체로 퍼져나가 여러 경로, 여러 세포 유형, 여러 임상 표현형에 동시에 도달한다.

비유하자면 이렇다. 대도시의 교통망에서, 많은 도로들이 몇 개의 핵심 교차로로 수렴하는 것이 수렴이다. 반면 하나의 핵심 교차로가 막히면 그 영향이 도시 전체의 여러 도로로 퍼지는 것이 다면발현이다. 교통망이 밀집할수록 수렴도 강하고 다면발현도 강하다. 인간 뇌의 유전자 조절 네트워크는 매우 밀집되어 있고, 그 결과 수렴과 다면발현이 동시에 강하게 관찰된다. 자폐스펙트럼장애 위험 유전자들이 시냅스와 크로마틴 경로로 수렴하는 것(Chapter 10)과, 같은 시냅스 유전자들이 자폐스펙트럼장애, 조현병, 지적장애 모두에 걸쳐 다면발현적인 것(이 챕터)은 모순이 아니다. 이것들은 정확히 같은 구조적 사실의 두 가지 다른 표현이다.

이 통합적 그림은 DSM 진단 범주에 대한 불편한 질문을 던진다. 자폐스펙트럼장애, 조현병, 지적장애, ADHD가 서로 다른 생물학적 실체라면, 이것들의 위험 유전자들이 왜 이토록 많이 겹치는가? 왜 22q11.2 결실 하나가 그 모두를 일으킬 수 있는가? 왜 SCN2A의 변이 방향만 바뀌도 뇌전증에서 자폐스펙트럼장애로 진단이 달라지는가? 유전자 조절 네트워크의 관점에서 보면, 이 진단들은 연속적인 생물학적 공간에서 서로 다른 위치를 표시하는 임상적 레이블이지, 명확한 경계를 가진 자연 종류(natural kind)가 아닐 수 있다. 다면발현의 유전학은 진단 범주의 경계를 흐린다. 이것이 불편하게 느껴진다면, 그것이 정확히 올바른 반응이다. 생물학은 우리의 분류 체계에 맞춰 정렬되어야 할 의무가 없다.

결국 다면발현은 신경발달 유전체학에서 치료 개발에 가장 복잡한 도전을 제기한다. 다면발현적인 유전자는 그 정의상 여러 생물학적 과정에 동시에 기여하기 때문에, 그것을 약리학적으로 표적할 때 의도하지 않은 부수 효과가 생길 가능성이 크다. 더 나아가, 강한 정화 선택 아래 있다는 것은 진화가 그 유전자의 발현량과 기능을 매우 좁은 범위 안에서 최적화해왔다는 의미다. 그 균형을 약물로 건드리는 것은 쉽지 않다. 그러나 동시에, 다면발현이 의미하는 것은 한 가지 개입이 여러 측면의 병리에 동시에 영향을 미칠 수 있다는 것이기도 하다. 수렴이 치료의 레버리지를 제시한다면, 다면발현은 그 레버리지의 범위를 넓혀준다. 이 두 개념을 함께 이해하는 것, 그것이 다음 세대 신경발달 유전체학의 출발점이다.

References

- Solovieff, N., Cotsapas, C., Lee, P. H., Purcell, S. M., & Smoller, J. W. (2013). Pleiotropy in complex traits: challenges and strategies. *Nature Reviews Genetics*, 14(7), 483–495. doi:10.1038/nrg3461
- Zhu, J., Bhoj, E. J., Li, D., & Bhoj, V. G. (2014). One gene, many neuropsychiatric disorders: lessons from Mendelian diseases. *Nature Neuroscience*, 17(6), 773–781. doi:10.1038/nn.3713
- Boyle, E. A., Li, Y. I., & Pritchard, J. K. (2017). An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell*, 169(7), 1177–1186. doi:10.1016/j.cell.2017.05.038
- Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*, 381(9875), 1371–1379. doi:10.1016/S0140-6736(12)62129-1
- Emes, R. D., Pocklington, A. J., Anderson, C. N., Bhatt, D. L., Bhatt, D. L., & Grant, S. G. (2008). Evolutionary expansion and anatomical specialization of synapse proteome complexity. *Nature Neuroscience*, 11(7), 799–806. doi:10.1038/nn.2135
- Emes, R. D., & Grant, S. G. (2012). Evolution of synapse complexity and diversity. *Annual Review of Neuroscience*, 35, 111–131. doi:10.1146/annurev-neuro-062111-150433
- Ryan, T. J., Kopanitsa, M. V., Indersmitten, T., Nithianantharajah, J., Bhatt, D. L., Bhatt, D. L., & Grant, S. G. (2013). Evolution of GluN2A/B cytoplasmic domains diversified vertebrate synaptic plasticity and behavior. *Nature Neuroscience*, 16(1), 25–32. doi:10.1038/nn.3277

Uddin, M., Tammimies, K., Pellecchia, G., Alipanahi, B., Hu, P., Wang, Z., ... & Scherer, S. W. (2014). Brain-expressed exons under purifying selection are enriched for de novo mutations in autism spectrum disorder. *Nature Genetics*, 46(7), 742-747. doi:10.1038/ng.2980

Zeng, J., De Vlaming, R., Wu, Y., Robinson, M. R., Lloyd-Jones, L. R., Yengo, L., ... & Visscher, P. M. (2018). Signatures of negative selection in the genetic architecture of human complex traits. *Nature Genetics*, 50(5), 746-753. doi:10.1038/s41588-018-0101-4

Ben-Shalom, R., Keeshen, C. M., Berrios, K. N., An, J. Y., Sanders, S. J., & Bhatt, D. L. (2017). Opposing effects on NaV1.2 function underlie differences between SCN2A variants observed in individuals with autism spectrum disorder or infantile seizures. *Biological Psychiatry*, 82(3), 224-232. doi:10.1016/j.biopsych.2017.01.009

Crawley, J. N., Heyer, W. D., & LaSalle, J. M. (2016). Autism and cancer share risk genes, pathways, and drug targets. *Trends in Genetics*, 32(3), 139-146. doi:10.1016/j.tig.2016.01.001

Tang, G., Gudsnuk, K., Kuo, S. H., Cotrina, M. L., Rosoklija, G., Sosunov, A., ... & Bhatt, D. L. (2014). Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits. *Neuron*, 83(5), 1131-1143. doi:10.1016/j.neuron.2014.07.040

주요 용어 안내

다면발현(pleiotropy): 하나의 유전자나 유전변이가 여러 가지 서로 다른 형질에 동시에 영향을 미치는 현상. 같은 유전변이가 한 사람에게는 자폐스펙트럼장애, 다른 사람에게는 뇌전증으로 나타날 수 있는 이유를 설명한다.

기능 획득/기능 상실(gain-of-function / loss-of-function): 유전변이의 결과로 단백질의 기능이 과도해지거나(획득) 없어지는(상실) 것. 같은 유전자라도 변이의 방향에 따라 전혀 다른 임상 결과를 초래할 수 있다.

옴니제닉 모델(omnigenic model): 질환 관련 세포에서 발현되는 거의 모든 유전자가 조절 네트워크를 통해 간접적으로 질환에 기여할 수 있다는 모델. 소수의 핵심 유전자만이 아니라 수천 개의 유전자가 작은 효과를 합산하여 위험을 형성한다.

Chapter 22. 인간 뇌는 어떻게 달라졌는가

인간의 뇌는 분명히 특별하다. 하지만 정확히 무엇이 얼마나 달라졌는가를 물으면, 대답은 생각보다 훨씬 미묘해진다. 한 세기 가까이 비교해부학자들은 인간 뇌의 압도적인 크기, 깊은 주름, 거대한 전전두엽을 다른 영장류와의 차이로 거론했다. 해부학적 설명은 분명 옳다. 인간의 대뇌 피질 표면적은 약 2,500cm²로, 붉은털원숭이의 약 15배, 침팬지의 3~4배에 달한다. 그러나 이 숫자들은 현상의 기술일 뿐, 그 아래에 놓인 분자적 기제에 대해서는 거의 아무것도 알려주지 않는다. 분자 수준에서 인간의 뇌를 정직하게 들여다보기 시작한 것은 최근의 일이다. 단일 세포 유전체학이 성숙하고 비교 전사체학이 가능해진 2020년대에 이르러서야, 우리는 비로소 인간의 뇌가 다른 영장류의 뇌와 어떻게 다른지를 세포 유형별로, 유전자별로, 이소체별로 물어볼 수 있게 되었다. 그 답은 놀랍도록 일관된 한 가지 메시지를 담고 있었다. 인간의 뇌는 완전히 새로운 부품을 발명한 것이 아니라, 진화적으로 보존된 동일한 세포 유형들을 다른 비율로, 다른 타이밍으로, 다른 조절 방식으로 사용하고 있다는 것이다. 진화는 부품을 갈아치우는 대신 조립 방식을 바꿨다. 이케아 가구에 비유하자면, 침팬지와 인간은 거의 같은 나사와 판자를 갖고 있지만, 조립 설명서가 다르다. 그리고 그 설명서 차이가 전부다.

이것은 단순한 학문적 발견이 아니라 인간 본성에 대한 깊은 통찰이기도 하다. 만약 인간 뇌가 다른 영장류와 전혀 다른 세포 유형들로 이루어져 있다면, 인간의 신경발달 질환을 동물 모델에서 재현하는 것은 원리적으로 불가능할 것이다. 하지만 세포 유형이 보존되어 있고 다만 그 조절 방식이 달라졌다면, 보존된 부분은 동물 모델에서 연구하고 달라진 조절 부분은 인간 세포와 오가노이드에서 연구하는 전략이 가능해진다. 또한, 같은 세포 유형들을 공유하지만 그 발현 조절이 다르다는 사실은, 인간 특이적 신경발달 질환의 원인이 세포 자체가 아니라 조절 유전체의 변화에 있을 가능성을 강하게 시사한다. 비코딩 조절 요소의 변화, 대체 스플라이싱의 변화, 발달 타이밍의 변화가 인간을 인간답게 만든 동시에 인간을 취약하게 만드는 원천이라는 것이다.

2023년 Science에 발표된 Jorstad et al.의 연구(Chapter 7)는 이 문제에 정면으로 맞선 시도 중 가장 포괄적인 연구였다. BICCN(Brain Initiative Cell Census Network)의 일환으로 수행된 이 연구는 인간, 침팬지, 고릴라, 붉은털원숭이, 마모셋 원숭이 다섯 종의 영장류로부터 중측두이랑(middle temporal gyrus)의 단일 핵 RNA 시퀀싱 데이터를 수집하여 총 570,000개 이상의 핵을 분석했다. 약 3,800만 년의 영장류 진화사를 한 번의 비교 연구에서 포괄한 것이다. 중측두이랑을 선택한 것은 의도적이었다. 이 영역은 인간에서 언어, 사회 인지, 청각 처리에 관여하는 고등 연합 피질의 일부로서, 인간과 다른 영장류 사이의 기능적 차이가 가장 극적으로 드러날 것으로 예상되는 영역이었다. 연구팀은 다섯 종 모두에서 57개의 상동 세포 유형(homologous cell types)을 일관되게 확인할 수 있었고, 세포 유형의 비율과 피질층별 조직 구조는 대형 유인원들 사이에서 매우 높은 수준으로 보존되어 있음을 확인했다. 이것이 첫 번째 주요 발견이었다. 인간의 피질은 침팬지나 고릴라의 피질과 근본적으로 같은 설계를 가지고 있다. 같은 세포 유형들이, 같은 층에서, 같은 비율로 존재한다.

그러나 Jorstad et al. (2023)이 발견한 두 번째, 그리고 훨씬 더 흥미로운 사실은 뉴런의 유전자 발현이 인간 계통에서 유독 빠르게 분기되었다는 점이다. 중간 계통발생 거리를 기반으로 예측한 유전자 발현 분기 속도와 실제로 관찰된 분기 속도를 비교하면, 인간 뉴런의 전사체가 침팬지보다 고릴라에 더 가까운 방향으로 분기한 것이 아니라, 다른 모든 영장류와 상당히 다른 방향으로 분기했다는 것이 드러난다. 침팬지의 뉴런은 인간의 뉴런보다 고릴라의 뉴런에 더 가깝다. 인간과 침팬지가 공통 조상을 가장 최근에 공유했음에도 불구하고, 인간 뉴런의 전사체가 예외적으로 빠른 속도로 변화해왔다는 뜻이다. 특히 시냅스 연결성과 신호 전달 경로에 관여하는 유전자들에서 인간 특이적 차별 발현 유전자(differentially expressed genes)들이 다수 발견되었으며, 이것들은 세포 유형에 따라 다른 패턴을 보였다. 흥미롭게도 글리아세포의 유전자 발현은 모든 종에서 뉴런보다 더 빠르게 분기되는 경향을 보였지만, 이 패턴은 인간에게만 특이적인 것은 아니었다. 즉, 인간의 독특함은 뉴런에 집중되어 있으며, 인간 뉴런은 진화사에서 다른 영장류들과 비교해 예외적으로 빠른 속도로 분자적 정체성을 바꿔왔다.

인간 가속 영역과 인간 보존 결실

뉴런의 유전자 발현이 왜 인간 계통에서 이토록 빠르게 달라진 것인가? 그 단서는 유전체의 비코딩 영역에 있다. 인간 가속 영역(Human Accelerated Regions, HARs)은 포유류 전반에 걸쳐 수억 년 동안 거의 변화 없이 보존되어 있었지만, 인간 계통에서 갑자기 빠른 속도로 염기 서열이 바뀐 비코딩 구간들을 가리킨다. 수억 년의 진화 속에서 변하지 않았다는 것은 그 서열이 기능적으로 중요하다는 것을 의미한다. 한 글자만 바뀌어도 결과적으로 생존에 불리하기 때문에 보존된 것이다. 그런데 인간 계통에서 그 서열이 급격히 변했다는 것은, 그 서열에 일어난 변화가 인간의 생존이나 번식에 오히려 유리했다는 것을 시사한다. Hubisz와 Pollard (2014)는 이런 HARs가 인간 유전체에 2,701개 존재한다고 확인했는데, 이들의 평균 길이는 266bp에 불과하지만 그 기능적 영향은 매우 크다. 인간 계통에서의 염기 치환 속도는 100bp당 약 1.7회로, 침팬지의 0.2회와 비교하여 약 8.5배 높다. HARs는 신경발달 조절자와 전사인자(transcription factor) 유전자들의 주변에 집중적으로 분포하며, 그 중 다수는 태아기 뇌에서 활성화되는 인핸서로 기능한다. 가장 잘 알려진 예는 HAR1로, 피질 충화를 지시하는 카잘-레치우스(Cajal-Retzius) 뉴런에서 발현되는 RNA를 코딩한다. HAR를 생물학의 “속도 위반 구역”이라고 생각하면 된다. 수억 년간 제한 속도를 철저히 지키다가, 인간 계통에서 갑자기 8.5배 빠르게 달리기 시작한 것이다. 이런 급가속은 그냥 일어나지 않는다. 강한 자연선택이 그 변화를 유리하게 여겼다는 뜻이다. 또 다른 핵심 사례는 FZD8 유전자의 인핸서인데, 인간화된 버전은 Wnt 신호를 더 강하게 구동하여 피질 확장을 촉진하며 (Boyd et al. 2015), 이 Wnt 신호의 주요 표적 유전자들을 조절하는 것이 다름 아닌 CHD8이다. 자폐스펙트럼장애의 드노보(de novo) 유전 변이 중 가장 빈번하게 발생하는 단일 유전자가 CHD8인데, 이것은 인간의 피질 확장을 가능하게 한 바로 그 분자적 기반이 신경발달 질환의 핵심 경로와 중첩된다는 것을 의미한다.

Jorstad et al. (2023)의 연구는 인간 특이적 차별 발현 유전자들의 15~40%가 HARs 또는 인간 보존 결실(human-lineage Conserved Deletions, hCONDELs) 근방에 위치한다는 사실을 밝혀냈다. hCONDELs는 HARs와 정반대 방향의 진화적 변화로, 다른 영장류에서는 잘 보존된 비코딩 서열이 인간 계통에서 결실된 경우를 말한다. 무언가를 새롭게 추가하는 것이 아니라 제거함으로써 인간 특이적 특성이 생겨난다는 개념은 직관에 반하는 것처럼 보이지만, 인핸서나 전사 억제자의 결실이 유전자 발현 양상에 근본적인 변화를 초래할 수 있다는 점에서 진화적으로 충분히 합리적인 기제다. 특히 중요한 것은, 이 HARs 및 hCONDELs 연관 인간 특이적 유전자들이 시냅스 유전자들에서 두드러지게 빈번하게 포함되어 있다는 점이다. 인간 뇌의 신경 회로를 정교하게 만든 진화적 변화가 시냅스 단백질의 발현 조절에 집중되어 있다는 것, 그리고 동시에 자폐스펙트럼장애와 같은 신경발달 질환이 바로 이 시냅스 단백질 경로에서 집중적으로 발생한다는 것은 우연의 일치가 아니다. 인간을 인간답게 만든 유전체 변화와 인간을 신경발달 질환에 취약하게 만든 유전체 변화는 같은 장소에 새겨져 있다.

극도로 보존된 서열과 뇌의 조절 장치

HAR이 “빠르게 변한 보존 서열”이라면, 정반대 극단에는 “전혀 변하지 않은 서열”이 있다. 극보존 요소(ultraconserved element, UCE)란 인간과 마우스 사이에서 200 염기 이상이 100% 동일한 서열을 말한다. 인간과 마우스의 공통 조상이 약 9천만 년 전에 갈라졌다는 것을 생각하면, 9천만 년 동안 단 한 글자도 바뀌지 않았다는 것이다. 이것은 그 서열의 모든 글자가 생존에 절대적으로 중요하여, 어떤 변이든 치명적인 결과를 초래했기 때문에 제거되었다는 뜻이다. 인간 유전체에는 이런 극보존 요소가 약 479개 존재한다(Bai et al. 2025).

이 극보존 요소들은 세 가지 유형으로 나뉜다. 첫째, 단백질을 코딩하는 유전자 안에 위치하여 스플라이싱(RNA에서 필요한 부분만 골라 이어붙이는 과정)을 조절하는 유형이다. 둘째, 비코딩 유전자, 특히 긴 비코딩 RNA(lncRNA)와 겹치는 유형으로, 이 유형과 겹치는 전사물의 99%가 lncRNA이며 교묘세포종(glioma)과의 연관성이 보고되었다. 셋째, 유전자와 유전자 사이의 빈 공간에 위치하면서 인핸서와 유사한 크로마틴 상태를 보이는 유형이다. 이 세 번째 유형이 뇌 발달과 가장 밀접하게 관련되어 있다. 극보존 요소 근처에는 뇌 발달을 조절하는 전사인자 유전자들이 빈번하게 위치하며, 이 요소들은 3차원 유전체 구조에서 TAD(topologically associating domain, 유전체가 접혀서 형성하는 구획) 내부에 빈번하게 위치하고 경계에서는 배제된다(McCole et al. 2018). 극보존 요소가 TAD 안에 갇혀 있다는 것은, 이 요소들의 조절 기능이 같은 TAD 내의 유전자들에 한정되도록 유전체의 3차원 구조가 보장하고 있다는 뜻이다.

HAR과 극보존 요소는 동전의 양면이다. 극보존 요소는 변하면 안 되기 때문에 변하지 않은 서열이고, HAR은 변해야 했기 때문에 빠르게 변한 서열이다. 둘 다 뇌 발달 유전자 주변에 집중되어 있으며, 둘 다 유전체의 비코딩 영역에 위치한다. 뇌의 유전자 조절 체계는 이처럼 절대적으로 보존되어야 할 부분과 적극적으로 변화해야 할 부분이 정교하게 구분되어 있다.

이 비코딩 조절 장치들의 총량은 얼마나 되는가? 인간 뇌에서 활성화되는 시스 조절 요소(cis-regulatory element, 유전자 발현을 켜거나 끄는 데 관여하는 비코딩 DNA 서열)의 포괄적 목록이 구축되었다(Pratt et al. 2024). 그 수는 361,844개로, 다른 어떤 인체 조직보다 많다. 이 중 130,908개는 성인 뇌에서만, 108,206개는 태아 뇌에서만 활성화되며, 122,730개는 두 시기 모두에서 활성화된다. 뇌가 이토록 많은 조절 요소를 필요로 한다는 것은, 뇌의 유전자 발현이 다른 조직보다 정교하게 시공간적으로 조율되어야 함을 반영한다. 흥미로운 점은, 뇌의 조절 혁신 대부분이 완전히 새로운 요소의 등장이라 아니라 기존 보존 요소 내의 서열 변화에서 비롯되었다는 것이다. 진화는 새 스위치를 만들기보다 기존 스위치의 감도를 바꾸는 방식으로 작동한 것이다.

241종 포유류의 유전체를 비교한 Zoonomia 컨소시엄의 분석은 이 조절 요소들의 진화적 제약을 정밀하게 측정했다(Andrews et al. 2023). 439,461개의 제약된 시스 조절 요소와 2,024,062개의 제약된 전사인자 결합 부위가 확인되었다. 제약된 요소들은 발달 조절 유전자 근처에 집중되어 있었고, 영장류에서만 나타나는 특이적 전사인자 결합 부위의 85%는 전이인자(transposable element, Chapter 24)에서 유래한 것이었다. 전이인자가 유전체에 삽입되면서 새로운 전사인자 결합 부위를 제공한 것이다. 이 발견은 Chapter 24에서 다룬 전이인자의 조절 요소화(exaptation)와 직접 연결된다.

HAR이 조절하는 유전자는 어떻게 찾을 수 있을까? 여기서 중요한 것은, 유전체에서 가장 가까운 유전자가 반드시 HAR의 표적은 아니라는 사실이다. 인핸서는 DNA가 3차원으로 접히면서 먼 거리의 유전자와 물리적으로 접촉할 수 있기 때문에, 직선 거리로는 수십만 염기 떨어진 유전자를 조절할 수 있다. 이것을 알아내려면 Hi-C라는 기법이 필요하다. Hi-C는 세포 안에서 DNA가 실제로 어떻게 접혀서 어떤 구간들이 물리적으로 맞닿아 있는지를 측정하는 방법이다. 마치 구겨진 종이에서 어떤 글자들이 서로 겹쳐 있는지를 알아내는 것과 비슷하다. 태아와 성인 피질의 Hi-C 데이터를 이용하여 1,028개 HAR을 1,648개 표적 유전자에 매핑한 결과, HAR과 연결된 유전자 중 26.3%만이 HAR에서 가장 가까운 유전자였다(Won et al. 2019). 나머지 73.7%는 직선 거리로는 멀지만 3차원 접힘을 통해 연결된 유전자였다. 이 표적 유전자들은 전뇌 패턴링, 피질 층화, 신경 이동, 축삭 안내에 관여하는 핵심 유전자들 — EMX2, PAX6, GLI3, SOX2, TBR1, CUX1 — 에서 빈번하게 발견되었다. 세포 유형 특이성을 분석하면, 외측 방상 글리아(oRG)와 상층 피질(layer 2/3)에서 수렴했다. 태아기에 활성화되는 HAR과 연결된 유전자들은 자폐스펙트럼장애와 발달 지연에 연관된 유전자에서 빈번하게 발견된 반면, 성인기에 활성화되는 인간 획득 인핸서와 연결된 유전자들은 조현병 관련 유전자에서 빈번하게 발견되었다. 같은 뇌에서, 다른 시기에, 다른 질환의 위험이 서로 다른 조절 요소에 의해 매개되는 것이다.

Pal et al. (2025) 연구는 인간과 침팬지의 신경줄기세포에서 Capture Hi-C를 수행하여, 이전 연구들의 7-20% 커버리지를 88.9%까지 끌어올렸다. 1,590개 HAR에 대해 2,963개의 보존된 표적 유전자가 확인되었는데, 핵심적인 발견은 HAR의 생물학적 신호가 종 특이적 표적이 아니라 보존된 표적에 집중되어 있다는 것이었다. HAR이 인간 계통에서 서열이 바뀌었더라도, 그것이 조절하는 유전자는 대부분 인간과 침팬지에서 동일했다. 진화는 완전히 새로운 유전자를 켜거나 끈 것이 아니라, 이미 존재하던 발달 프로그램의 강도와 타이밍을 조정하는 것이다.

HAR이 아닌 완전히 새로운 인핸서도 인간 뇌에서 발견되었다. 발달 중인 인간 신피질에서 4,066개의 인간 신규 인핸서(de

novo gained enhancer)가 발견되었다(Li et al. 2022). 이 인핸서들은 마카크에서는 인핸서 활성이 없지만 인간에서는 활성화되어 있으며, 많은 경우 단 하나의 염기 변이가 인핸서를 “탄생”시킨 원인이었다. 마치 전등의 스위치가 꺼져 있었는데, 단 하나의 글자가 바뀌면서 스위치가 켜지는 것과 같다. 이렇게 만들어진 인핸서들의 핵심 전사인자 네트워크 중앙에는 POU3F2가 자리하고 있었으며, 방사 글리아와 순환 전구세포에서 빈번하게 발견되었다.

HAR의 기능적 검증: 서열 변화에서 뉴런 표현형까지

HAR이 존재한다는 것을 아는 것과, 그것이 실제로 무슨 일을 하는지를 증명하는 것은 완전히 다른 문제다. 수천 개의 HAR이 목록에 올라 있지만, 오랫동안 대부분의 HAR에 대해서는 “서열이 바뀌었다”는 사실 이상을 말할 수 없었다. 그 서열 변화가 어떤 유전자의 발현을 어떻게 바꾸고, 그 발현 변화가 뉴런에 어떤 영향을 주는지를 실험적으로 보여주는 것은 기술적으로 어려운 일이었다.

인간과 침팬지의 유도만능줄기세포(iPSC)에서 흥분성 뉴런을 분화시키고, 두 종의 뉴런에서 크로마틴 접근성, 히스톤 변형, 전사체를 체계적으로 비교한 뒤 3,257개 HAR 후보 중 20개를 우선적으로 선정하여 CRISPRi(유전자 발현을 억제하는 CRISPR 변형)로 기능을 하나씩 검증한 결과, 20개 중 14개, 즉 약 70%에서 유전자 발현이 유의하게 변했다(Cui et al. 2025). 인간 유전체에 새겨진 “속도 위반 구역”의 대부분이 실제로 의미 있는 조절 기능을 수행하고 있었던 것이다. 세 가지 사례가 특히 주목할 만하다. 첫째, HAR202는 전사인자 NPAS3의 인핸서였는데, 인간 서열에서는 STAT3 결합이 약화되어 NPAS3의 발현이 오히려 감소했다. “가속”이 항상 “강화”를 의미하지는 않으며, 때로는 조절 방식을 줄이는 방향으로도 작동할 수 있다는 것이다. 둘째, 2xHAR.319는 PUM2라는 유전자의 발현을 높였는데, 같은 HAR이 인간 뉴런에서는 PUM2를 조절하지만 침팬지 뉴런에서는 전혀 다른 유전자인 LPTM4A를 조절했다. 같은 “스위치”가 종에 따라 다른 “전등”에 연결된 것이다. 셋째, HAR26은 SOCS2의 발현을 상향 조절했고 신경돌기의 성장을 촉진했는데, prime editing(원하는 염기 하나만 정확히 바꾸는 최신 유전체 편집 기술)으로 HAR26 안의 인간 특이적 변이를 침팬지 서열로 되돌리면 SOCS2 발현이 감소하고 신경돌기 성장도 줄어들었다. 특정 HAR 안의 특정 염기 변화가 특정 유전자의 발현을 바꾸고, 그것이 뉴런의 형태를 변화시킨다는 인과관계가 분자 수준에서 확인된 것이다.

이런 인과 사슬을 서열 변화에서 행동까지 완전히 연결한 사례도 있다. HAR123은 SMG6라는 유전자의 인트론에 위치한 442개 염기 길이의 작은 구간으로, 수억 년 동안 포유류에서 유대류에 이르기까지 보존되어 있었지만 인간 계통에서 빠르게 변했다(Tan et al. 2025). HAR123을 CRISPR로 제거한 인간 배아줄기세포에서는 PAX6 양성 세포의 비율이 줄어들어 신경전구세포 형성이 손상되었다. 마우스에서 HAR123을 제거하면 해마에서 신경세포와 교세포의 비율이 어긋나고, 인지 유연성(기존에 학습한 규칙이 바뀌었을 때 새로운 규칙으로 전환하는 능력)이 저하되었다. 도미노를 생각해 보라. 442개 염기 서열의 변화 → 인핸서 기능 변화 → 유전자 발현 변화 → 신경전구세포 형성 변화 → 해마 세포 구성 변화 → 인지 행동 변화. 이 긴 인과 사슬이 하나의 HAR에서 출발하여 행동에까지 도달하는 것이다.

HAR 안에서의 진화가 일방적인 강화가 아니라 미세한 균형 조절이라는 점도 주목할 만하다. 기계 학습 모델로 2,645개 HAR의 모든 변이를 점수화하고 대규모 병렬 리포터 분석(lentiMPRA)으로 검증한 결과, 714개 HAR 중 293개(31%)가 신경 전구세포에서 활성 인핸서였으며, 43%의 HAR에서 상충하는 크로마틴 효과가 공존했다(Whalen et al. 2022). 어떤 변이는 인핸서를 강화하고, 같은 HAR 안의 다른 변이는 인핸서를 약화시키는 것이다. 진화는 한 방향으로 밀어붙이는 과정이 아니라, 마치 자동차의 가속 페달과 브레이크를 동시에 조절하듯 정밀한 미세 조율의 과정이다.

세포 유형 수준에서 후성유전체의 진화를 추적한 연구도 있다. 인간, 침팬지, 붉은털원숭이의 태아 및 성인 피질 단일 핵 ATAC 시퀀싱 데이터를 이용하여, 유인원 계통별로 어떤 세포 유형의 유전체 조절 요소가 가장 빠르게 변했는지를 분석한 결과, 대부분의 세포 유형에서 조절 요소들은 변이보다 보존 쪽으로 기울어져 있었다(Caglayan & Konopka 2025). 그런데 한 가지 예외가 있었다. 태아기 미세아교세포의 조절 요소가 유인원 진화 역사 전체에 걸쳐 가장 빠르게 분기해 있었다. 뇌의 면역 세포가 진화적으로 가장 활발하게 변해온 것이다. 또 하나의 역설적 발견은, 뇌 질환 관련 유전 변이들이 인간에서 빠르게 변한 조절 요소가 아니라 보존된 조절 요소에서 더 많이 포함되어 있다는 것이었다. 진화적 혁신과 질환 위험이 서로 다른 조절 층위에서 작동하는 셈이다.

외측 방사 글리아와 피질 확장의 진화적 기원

인간 피질의 거대한 크기는 단순히 뉴런의 수가 많아진 것이 아니라, 피질 표면적의 극적인 확장으로 구현된다. 뇌가 두개골이라는 고정된 공간 안에서 표면적을 늘리는 방법은 두 가지다. 두꺼워지거나, 접히거나. 인간의 피질은 주로 후자를 선택했다. 깊게 접혀 주름진 인간 대뇌 피질의 총 표면적은 2,500cm²에 달하는데, 이를 펼쳐 놓으면 사무용 책상 하나를 덮을 수 있는 크기다. 이 확장의 세포적 원동력은 외측 뇌실하대(outer subventricular zone, oSVZ)에 위치하는 외측 방사 글리아(outer Radial Glia, oRG, Chapter 9)라는 전구세포가 인간과 유인원에서 대규모로 증식한 것에 있다.

방사 글리아는 뇌 발달 과정에서 피질 뉴런을 생성하는 신경 줄기세포의 역할을 담당하는데, 생쥐의 발달 중인 피질에는 이 oRG 세포가 극히 소수에 불과한 반면, 인간 태아 피질의 oSVZ에는 이들이 대거 집결하여 자기 재생(self-renewal)과 신경 발생(neurogenesis)을 동시에 수행하면서 상층 피질 뉴런을 대규모로 공급한다. oRG의 독특한 해부학적 특성은 정단부(apical) 부착 없이 기저부(basal) 돌기만으로 연막까지 뻗어 있다는 것인데, 이 형태가 새롭게 태어난 뉴런들이 바깥쪽으로 이동하는 경로를 제공하며 상층 피질(layer II-IV)의 대규모 형성을 가능하게 한다.

인간 oRG를 특별하게 만드는 분자적 기반은 무엇인가? Pollen et al. (2019)의 연구는 인간 oRG에서 mTOR 신호 경로의 활성화(pS6 인산화로 측정)가 비인간 영장류의 oRG보다 유의미하게 높다는 것을 보였다. 인슐린 수용체(INSR)와 인테그린 베타-8(ITGB8)이 PI3K/AKT/mTOR 경로를 통해 인간 oRG의 자기 재생을 촉진하는 핵심 수용체로 규명되었고, 인간 태아 슬라이스 배양에서 이 두 수용체를 억제하면 pS6 수준이 낮아지면서 oRG의 증식이 감소했다. 이 두 수용체의 발현 수준은 인간 계통에서 뚜렷하게 상향 조절되어 있었으며, 인간-계통 특이적 차별 발현 유전자 261개 중에는 PI3K/AKT/mTOR 경로의 구성 요소들이 유독 풍부하게 포함되어 있었다. 진화의 관점에서 이것은 매우 중요한 사실을 시사한다. 인간의 피질 확장을 가능하게 한 분자 기제, 즉 mTOR 경로의 강화된 활성화는, 바로 PTEN이나 TSC1/TSC2 유전 변이가 생기면 과활성화되면서 중후군성 자폐스펙트럼장애와 거대두증(macrocephaly)을 초래하는 바로 그 경로다. mTOR을 세포 성장의 액셀 페달이라고 생각하면 된다. 인간은 침팬지보다 액셀을 더 깊이 밟도록 진화했는데, 그 덕분에 더 크고 강력한 뇌를 얻었다. 하지만 PTEN이나 TSC 유전자가 망가지면 액셀이 바닥까지 고정되어 버린다. 인간 뇌를 크게 만든 진화의 손길과 자폐스펙트럼장애를 만드는 취약성의 손길은 동일한 분자 경로 위에 놓여 있으며, 이 경로는 인간 계통에서 진화적으로 강화되어 있기 때문에 생쥐보다 더 좁은 내성 범위(tolerance window)를 가질 수 있다.

비교 해부학의 관점에서 oRG의 진화적 확장이 갖는 의미는 되새겨볼 만하다. Fang et al. (2022)이 MERFISH 기술로 인간과 생쥐의 피질을 공간적으로 비교한 연구에서, 인간 피질의 비신경세포 비율이 약 63%에 달하여 생쥐보다 높고, 인간 피질에서는 뉴런과 글리아 사이의 공간적 근접성이 더 강하다는 것이 드러났다. 이것은 oRG의 팽창이 단순히 더 많은 뉴런을 생산하는 데 그치지 않고, 그 뉴런들을 지원하는 글리아세포의 배치와 상호작용 패턴까지 재조직했다는 것을 시사한다. 진화는 인간 뇌에서 뉴런만 늘린 것이 아니라, 뉴런을 지원하는 전체 세포 생태계를 함께 확장했다. 그리고 그 생태계의 조율 과정에서 어떤 하나의 구성 요소라도 교란된다면, 전체 발달 프로그램이 어긋날 수 있다.

시냅스 네오테니: 느린 성숙이 만드는 인간의 독특함

인간 뇌의 또 다른 진화적 특이성은 발달 속도의 극단적인 느림에 있다. 신경해부학자들은 오래전부터 인간 뇌가 다른 영장류에 비해 훨씬 긴 발달 기간을 가진다는 것을 알았다. 붉은털원숭이의 시냅스 발달은 생후 1~2년 안에 대부분 완성되지만, 인간 전전두엽의 시냅스 재편성은 20대 중반까지 이어진다. 하지만 이것이 분자 수준에서 어떻게 구현되고, 그 생물학적 의미가 무엇인지는 오랫동안 불분명했다. 네오테니(neoteny)란 성체가 되어도 조상의 어린 개체에서 보이던 특성을 유지하는 현상을 가리키는 진화생물학 개념인데, 인간 뇌에서 이 개념이 시냅스 발달에 적용될 수 있다는 아이디어는 인간이 유인원의 미성숙 형태를 성체에서도 유지하는 유형성숙(paedomorphosis)의 산물이라는 오래된 가설로부터 비롯된다. 쉽게 말해, 우리 인간은 다 자란 침팬지보다 아기 침팬지를 더 닮았다. 아기 침팬지는 인간처럼 둥근 머리, 큰 눈, 납작한 얼굴을 가지고 있다. 뇌도 마찬가지로, 인간은 “어린 뇌”의 특성을 성체까지 유지한다는 것이다. 그러나 이것이 단순한 관찰적 제안 이상인지, 그리고 어떤 분자 기제가 그것을 구현하는지는 실험적으로 증명되지 않은 채로 남아 있었다.

Vermaercke et al. (2024)은 이소형 이식(xenotransplantation) 기법을 활용하여 이 문제에 직접적인 실험적 답을 제시했다. 연구팀은 인간 유도 만능 줄기세포(hiPSC)에서 분화시킨 피질 투영 뉴런(cortical projection neuron)을 신생 생쥐의 측뇌실에 이식하여 성장시킨 뒤, 이식된 인간 뉴런의 수상돌기 가지(dendritic spine) 형성 과정을 두광자 현미경으로 수개월에 걸쳐 추적했다. 이 실험 설계의 핵심은 인간 뉴런이 생쥐의 뇌 환경 속에서 성장한다는 것이다. 생쥐의 뇌는 생쥐 뉴런의 시냅스 성숙을 촉진하는 모든 분자적 신호와 환경을 제공하지만, 이 환경 속에서도 이식된 인간 뉴런은 생쥐 뉴런과 비교하여 수상돌기 가지 형성이 수개월씩 늦게 진행되었다. 이것이 바로 시냅스 네오테니(synaptic neoteny)의 세포 자율적(cell-autonomous) 증거다. 인간 뉴런의 느린 성숙은 뇌 환경에 의해 외부적으로 부과된 것이 아니라, 그 세포 자체에 내재된 프로그램이다. 동일한 생쥐 뇌 환경이 주어져도 인간 뉴런은 자신만의 느린 시계를 따른다.

Vermaercke et al. (2024)이 SYNGAP1을 연구한 것은 이 맥락에서 특히 의미가 깊다. SYNGAP1은 시냅스 후막에서 Ras GTPase 활성화 단백질로 기능하는 단백질로, 자폐스펙트럼장애와 지적장애를 일으키는 가장 빈번한 단일 유전자 원인 중 하나다. 연구팀은 SYNGAP1 반수체부전(haploinsufficiency)을 가진 인간 뉴런을 동일한 이소형 이식 시스템에서 분석했을 때 주목할 결과를 관찰했다. SYNGAP1 결핍 뉴런은 수상돌기 가지 밀도가 이식 후 4~7개월의 모든 시점에서 유의미하게 높았으며, 이 차이는 가지 제거 속도가 아닌 형성 속도의 증가에 의한 것이었다. 시냅스 성숙이 조기에 이루어졌으며, 시각 자극에 대한 반응성도 정상 인간 뉴런보다 훨씬 이른 시점에 나타났고, 시냅스 가소성도

교란되어 있었다. SYNGAP1이 없으면 인간 뉴런의 시냅스 네오테니가 깨진다는 것이다. 정상적인 인간 뇌 발달에서 SYNGAP1이 능동적으로 시냅스 성숙의 속도를 늦추고 있으며, 그 브레이크가 제거되었을 때 뉴런은 너무 일찍 성숙하고, 너무 일찍 회로에 통합되며, 그 결과로 인지 발달 장애가 초래된다. 역설적이게도 “빨리 자라는 것”이 오히려 나쁜 결과를 낳는다. 와인이 너무 빨리 숙성되면 맛이 망가지는 것처럼, 시냅스도 제때의 속도로 성숙해야 한다. 이 발견이 가진 진화적 의미는 분명하다. 인간 뇌의 인지적 능력을 뒷받침하는 긴 발달 기간은 단순히 뇌가 천천히 자라는 것이 아니라, SYNGAP1과 같은 분자적 제동 장치들이 능동적으로 성숙을 지연시키는 결과이며, 그 제동 장치의 기능 상실이 자폐스펙트럼장애로 이어진다.

대체 스플라이싱과 인간 뇌 전사체의 복잡성

인간 뇌를 다른 영장류와 구분하는 마지막, 그리고 어쩌면 가장 과소평가되어온 차원은 전사체(transcriptome)의 복잡성이다. 단백질을 코딩하는 유전자의 수는 인간과 생쥐가 크게 다르지 않다. 약 2만 개라는 숫자는 두 종이 거의 같다. 그러나 하나의 유전자에서 만들어지는 전사체 이소체(transcript isoform)의 수와 다양성은 인간 뇌에서 훨씬 크고 복잡하다. 대체 스플라이싱(alternative splicing)은 같은 유전자의 전사물 중 어느 엑손을 이어붙이느냐에 따라 서로 다른 단백질을 만들어내는 기제로, 인체의 모든 조직 가운데 뇌에서 가장 활발하게 일어나며, 레고로 비유하자면, 유전자는 레고 블록 상자이고 단백질은 완성품이다. 같은 상자에서 어떤 블록을 어떻게 조합하느냐에 따라 완전히 다른 물건이 만들어진다. 인간의 뇌는 이 조합의 다양성이 다른 동물보다 압도적으로 높다., 그 다양성은 영장류 간에도 유의미한 차이를 보인다. Jorstad et al. (2023)은 인간에서 수백 개의 유전자가 다른 영장류와 다른 전사체 이소체 사용 양상(isoform usage)을 보인다는 것을 확인했으며, 이 이소체 수준의 차이는 단순한 유전자 발현량 차이와는 별개의 독립적인 진화 신호였다. 즉, 어떤 유전자들은 발현량 자체는 종 간에 비슷하지만, 어떤 이소체가 만들어지느냐가 종 간에 크게 다르다. 같은 재료로 다른 물건을 만드는 것이다.

이 전사체 복잡성이 실제로 얼마나 광대한지를 처음으로 정량적으로 보여준 것은 Patowary et al. (2024)이었다. PsychENCODE Phase 2의 일환으로 수행된 이 연구는 PacBio HiFi Iso-Seq를 이용하여 발달 중인 인간 신피질의 전장 전사체를 심층 분석했고, 총 214,516개의 뚜렷한 이소체를 발견했는데 이 중 72.6%는 기존 Gencode 주석 데이터베이스에 없던 신규 이소체이었으며 7,000개 이상의 신규 엑손도 함께 발견되었다. 기존에 알려진 것보다 훨씬 더 많은 전사체 다양성이 발달 중인 뇌에 존재했고, 우리는 그것을 그저 볼 수 없었을 뿐이다. 더욱 중요한 것은, 한 유전자가 만들어낼 수 있는 이소체의 수와 복잡성이 클수록 그 유전자가 신경정신 질환 연관 유전자일 가능성이 높다는 분석 결과였다. 이소체 다양성 자체가 뇌 기능의 복잡성과 질한 취약성을 동시에 만들어내는 공통 기반임을 시사하는 것이다. 진화는 인간에게 더 많은 유전자를 주는 대신, 기존 유전자들로부터 더 다양한 단백질을 만들어내는 능력을 선택했고, 그 능력이 가장 극적으로 발현되는 장기가 바로 뇌다. 이 장에서 다룬 인간 뇌 진화의 네 가지 분자적 축을 정리하면 다음과 같다.

진화적 차원	핵심 메커니즘	주요 유전자/요소	인간 특이적 변화
비코딩 조절 변화 (non-coding regulatory change)	HAR/hCONDEL에 의한 인핸서 활성 변화	HAR1, FZD8 인핸서, CHD8	2,701개 HAR, 치환 속도 침팬지 대비 ~8.5배
피질 확장 (cortical expansion)	oRG에서 mTOR 경로 강화	INSR, ITGB8, PTEN, TSC1/2	인간 oRG에서 pS6 수준 상승, 261개 인간 특이적 유전자
시냅스 네오테니 (synaptic neoteny)	시냅스 성숙의 능동적 지연	SYNGAP1	전전두엽 시냅스 재편성 20대 중반까지 지속
전사체 복잡성 (transcriptomic complexity)	대체 스플라이싱 다양성 확장	214,516개 이소체 (72.6% 신규)	이소체 다양성 영장류 중 최고

인간의 뇌는 어떻게 달라졌는가라는 질문은 결국 하나의 역설로 귀결된다. 가장 인간적인 것들, 즉 극적으로 확장된 피질, 길게 연장된 발달 기간, 정교하게 조율된 시냅스 회로, 무한히 다양한 전사체 이소체들은 완전히 새로운 분자 부품이 아니라 오래된 부품들의 새로운 배열과 타이밍에서 비롯된다. HAR에 의한 인핸서 활성 변화, oRG에서의 mTOR 강화, 시냅스 네오테니를 유지하는 SYNGAP1의 역할, 전사체 이소체 복잡성의 확장은 모두 인간을 인간답게 만드는 동시에, 그 고도의 조율이 어긋날 때 나타나는 신경발달 질환의 분자적 씨앗이기도 하다. 이 역설은 다음 장의 핵심 주제로 이어진다. 진화가 인간 뇌를 만든 바로 그 분자들이, 왜 인간 뇌를 질환에 취약하게 만드는가.

References

- Jorstad NL, Song JHT, Exposito-Alonso D, Suresh H, Castro-Pacheco N, Krienen FM, Yanny AM, et al. (2023) Comparative transcriptomics reveals human-specific cortical features. *Science* 382:eade9516.
- Hubisz MJ, Pollard KS. (2014) Exploring the genesis and functions of Human Accelerated Regions sheds light on their role in human evolution. *Current Opinion in Genetics & Development* 29:15–21.
- Boyd JL, Skove SL, Rouanet JP, Pilaz LJ, Bepler T, Musser JM, Bhatt DL, Silver DL, Bhatt DL. (2015) Human–chimpanzee differences in a FZD8 enhancer alter cell–cycle dynamics in the developing neocortex. *Current Biology* 25:772–779.
- Pollen AA, Bhaduri A, Andrews MG, Nowakowski TJ, Meyerson OS, Mostajo-Radji MA, Di Lullo E, et al. (2019) Establishing cerebral organoids as models of human-specific brain evolution. *Cell* 176:743–756.
- Vermaercke B, Iwata R, Wierda K, Boubakar L, Rodriguez P, Ditkowska M, Bonin V, Vanderhaeghen P. (2024) SYNGAP1 deficiency disrupts synaptic neoteny in xenotransplanted human cortical neurons in vivo. *Neuron* 112:3144–3153.
- Patowary A, Zhang P, Jops C, Vuong CK, Ge X, Hou K, Kim M, et al. (2024) Developmental isoform diversity in the human neocortex informs neuropsychiatric risk mechanisms. *Science* 384:eadh7688.
- Fang R, Xia C, Close JL, Zhang M, He J, Huang Z, Halpern AR, et al. (2022) Conservation and divergence of cortical cell organization in human and mouse revealed by MERFISH. *Science* 377:56–62.
- Bai Y, et al. (2025) Characterizing and decoding ultraconserved regions in the human genome. *Nature Communications* 16:2345.
- McCole RB, et al. (2018) Ultraconserved elements occupy specific arenas of three-dimensional mammalian genome organization. *Cell Reports* 24:479–488.
- Pratt HE, Zhang Y, et al. (2024) Using a comprehensive atlas and predictive models to reveal the complexity and evolution of brain-active regulatory elements. *Science Advances* 10:eadj9997.
- Andrews G, et al. (2023) Mammalian evolution of human cis-regulatory elements and transcription factor binding sites. *Science* 380:eabn7930.
- Won H, Huang J, Opland CK, Hartl CL, Geschwind DH. (2019) Human evolved regulatory elements modulate genes involved in cortical expansion and neurodevelopmental disease susceptibility. *Nature Communications* 10:2396.
- Pal A, Noble MA, Morales M, et al. (2025) Resolving the three-dimensional interactome of human accelerated regions during human and chimpanzee neurodevelopment. *Cell* 188:1–18.
- Li S, Hannenhalli S, et al. (2022) De novo human brain enhancers created by single-nucleotide mutations. *Science Advances* 8:eadd2911.
- Cui X, Yang H, Cai C, et al. (2025) Comparative characterization of human accelerated regions in neurons. *Nature* 639:425–434.
- Tan K, Higgins K, Liu Q, Wilkinson MF. (2025) An ancient enhancer rapidly evolving in the human lineage promotes neural development. *Science Advances* 11:eadt0534.
- Whalen S, Inoue F, et al. (2022) Machine learning dissection of human accelerated regions in primate neurodevelopment. *Neuron* 110:3996–4012.
- Caglayan E, Konopka G. (2025) Decoding DNA sequence-driven evolution of the human brain epigenome at cellular resolution. *Nature Communications* 16:4231.

인간 가속 영역(HAR, Human Accelerated Region): 포유류에서 수억 년간 보존되었다가 인간 계통에서 빠르게 염기 서열이 바뀐 비코딩 구간. 약 3,250개가 인간 유전체에 존재하며, 대부분 뇌 발달 유전자 근처에 위치한다.

극보존 요소(UCE, ultraconserved element): 인간과 마우스 사이에서 200 염기 이상이 100% 동일한 서열. 9천만 년간 단 한 글자도 바뀌지 않았으며, 뇌 발달 조절 유전자 근처에 집중되어 있다.

시냅스 네오테니(synaptic neoteny): 인간 뉴런의 시냅스가 다른 영장류보다 훨씬 느리게 성숙하는 현상. SYNGAP1 같은 분자적 제동 장치가 능동적으로 성숙을 지연시키며, 이것이 인간의 긴 학습 기간을 뒷받침한다.

시스 조절 요소(cis-regulatory element): 유전자 발현을 켜거나 끄는 비코딩 DNA 서열. 인간 뇌에서 361,844개가 확인되었으며, 다른 어떤 인체 조직보다 많다.

Chapter 23. 진화가 남긴 복잡성

진화는 최적화 알고리즘이 아니다. 자연선택은 현재의 환경에서 번식을 더 많이 하는 방향으로 작동할 뿐, 미래의 위험을 미리 계산하거나 부작용 없는 완벽한 해법을 선택할 능력이 없다. 이 단순한 사실이 의미하는 바는 매우 깊다. 어떤 유전적 변화가 지금 당장 개체의 생존과 번식에 유리하다면, 그것이 먼 미래에 다른 문제를 초래할지라도 자연선택은 그 변화를 선호한다. 인간의 뇌를 생각해 보자. 다른 어떤 동물도 갖추지 못한 언어, 추상적 사고, 도덕적 판단 능력을 가능하게 한 이 3파운드짜리 구조물은, 동시에 조현병(schizophrenia), 자폐스펙트럼장애, 양극성 장애, 주요 우울장애와 같은 신경정신과적 조건들이 다른 동물보다 훨씬 높은 빈도로 나타나는 종이기도 하다. 자폐스펙트럼장애는 인간 집단에서 약 1%의 유병률을 보이며, 조현병은 약 0.7~1%에서 발생한다. 다른 동물에서는 이와 유사한 형태의 신경 발달 변이가 자연 상태에서 이렇게 높은 빈도로 관찰되지 않는다. 이 빈도가 유지된다는 것 자체가 진화적으로 흥미로운 문제를 제기한다. 이 조건들과 연관된 유전 변이 중 일부는 생식 적합도를 낮추는 것으로 보이는데, 그럼에도 불구하고 왜 자연선택에 의해 제거되지 않았는가? 답의 일부는 복잡함 자체에 있다. 더 복잡한 시스템은 더 다양한 방식으로 변이할 수 있으며, 인간 뇌의 복잡성을 가능하게 한 바로 그 분자들이 동시에 신경 발달의 다양한 경로를 만들어내는 기반이 된다.

앞 장(Chapter 22)에서 우리는 인간 뇌의 진화적 독특성이 어떻게 생겨났는지를 살펴봤다. 이 장에서는 그 복잡성이 어디에서 왔는지를 분자 수준에서 추적한다. 시냅스를 구성하는 단백질 복합체가 수억 년에 걸쳐 어떻게 팽창해왔는지, 유전체 중복이 어떻게 시냅스의 부품 수를 늘렸는지, 그리고 그 부품들이 뇌 전체에서 어떻게 다양한 조합으로 배치되어 시냅톰(synaptome)이라는 시냅스의 지도를 만들었는지를 살펴본다. 동시에, 이 복잡성이 왜 신경 발달의 다양한 경로, 그리고 그 중 일부가 임상적으로 의미 있는 표현형으로 이어지는지도 함께 다룬다.

이 문제를 이해하는 데 있어서 관건은 단순히 “왜 나쁜 유전자가 집단에 남아 있는가”가 아니라, “왜 같은 진화적 변화가 인지 능력과 신경정신과적 조건을 동시에 만들어내는가”를 묻는 것이다. 두 질문은 서로 다른 방향에서 같은 현실을 가리킨다. 첫 번째 질문은 인구유전학적 관점에서 변이의 지속성을 묻고, 두 번째는 진화생물학적 관점에서 적응과 부작용의 공진화를 묻는다. 앞으로 살펴볼 내용들은 이 두 관점이 하나의 분자적 현실에서 만난다는 것을 보여줄 것이다. 인간의 뇌를 만든 유전체는 동시에 인간의 뇌에서 가장 다양한 신경 발달 경로를 가능하게 하는 유전체이기도 하다.

시냅스 단백질 복합체의 진화적 팽창

시냅스 후막 밀도(postsynaptic density, PSD)는 시냅스의 신호 수신부를 이루는 단백질 복합체다. 1970년대에 처음 전자현미경으로 관찰된 이 구조물이 얼마나 많은 단백질로 이루어져 있는지가 알려지기 시작한 것은 2000년대 이후의 일이다. Emes et al. (2008)이 수행한 비교 단백질체학 분석은 그 역사적 전모를 드러냈다. 단세포 생물인 효모에도 이미 시냅스 단백질의 조상 격인 스캐폴드 단백질과 키나아제들이 존재한다. 효모에서 무척추동물로 넘어가는 과정에서 PSD 단백질체는 약 5배 팽창했고, 무척추동물에서 척추동물로의 전환, 즉 약 5억 년 전 척추동물의 공통 조상이 1R/2R 전체 유전체 중복(whole-genome duplication)을 겪으면서 PSD 단백질 수는 또다시 약 2배 증가했다. 그 결과 포유류의 PSD는 약 1,500개의 단백질로 이루어진 거대한 신호 복합체가 되었으며, 이것은 무척추동물 시냅스의 약 300개 단백질과 비교할 때 약 5배에 달하는 복잡성이다.

이 팽창이 무엇을 가능하게 했는지는 행동 수준에서 확인된다. Emes & Grant (2012)는 종의 PSD 단백질체 복잡도가 그 종의 행동 다양성과 높은 상관관계를 보인다는 것을 보였다. 더 많은 PSD 단백질을 가진 종은 더 다양하고 유연한 학습 행동을 보인다. 전체 유전체 중복이 만들어낸 NMDA 수용체 소단위 가족의 기능적 분화는 인지의 다차원적 조율을 가능하게 했다. Ryan et al. (2013)은 GluN2A와 GluN2B의 C-말단 도메인이 단지 29%의 서열 동일성만을 가지면서도

학습, 불안, 운동 조율, 공간 작업 기억 등 네 가지 행동 영역을 독립적으로 조절한다는 것을 swap knock-in 실험으로 보였다. 단순한 유전자 하나에서 유전체 중복을 통해 네 가지 기능을 각각 담당하는 분자들이 분화되어 나왔고, 그 분화가 인지의 다양성을 만든 것이다. Grant (2009)가 강조한 것처럼, 포유류 PSD 단백질 복합체가 가질 수 있는 조합의 수는 이미 1,000만 개를 넘는다. 이 조합 공간의 다양성이 인지의 풍부함을 가능하게 하는 동시에, 하나의 구성 요소에 변이가 생기면 전체 복합체의 기능이 달라질 수 있는 구조적 민감성을 만들어낸다. 공항의 환승 체계를 생각해 보라. 연결편이 많을수록 더 다양한 목적지에 도달할 수 있지만, 하나의 연결이 바뀌면 전혀 다른 목적지에 도착할 수 있다. PSD 복합체도 마찬가지로, 복잡성이 높아질수록 더 정교한 신호 처리가 가능하지만, 변이에 의해 영향받는 지점도 함께 늘어난다.

PSD 단백질체의 진화적 팽창이 질환 부담으로 직결되는 증거는 수치에서도 뚜렷하다. Emes & Grant (2012)의 분석에서 PSD를 구성하는 유전자 130개 이상이 인간 뇌 질환과 연관되어 있으며, 자폐스펙트럼장애(47개 유전자), 조현병(54개 유전자), 지적장애(37개 유전자), 뇌전증(30개 유전자)이 상당한 중복을 보이며 이 PSD 유전자 목록을 공유한다. SHANK3, NRXN1, SCN2A는 모두 PSD 복합체의 구성 요소이면서 자폐스펙트럼장애의 주요 원인 유전자다. 이것은 다면발현(pleiotropy)의 구조적 기반이다. 진화가 하나의 단백질 복합체를 팽창시키고 분화시키면서 만들어낸 각각의 구성 요소는, 인지의 서로 다른 측면을 담당하는 동시에 서로 다른 질환에 기여하도록 연결되어 있다. 시냅스 단백질이 진화한 바로 그 이유로, 시냅스 단백질의 유전 변이는 다양한 방식으로 뇌 기능을 손상시킬 수 있는 것이다.

원시시냅스에서 인간 시냅스까지: 세포부착분자와 단백질체의 진화

시냅스를 구성하는 단백질들은 시냅스보다 먼저 존재했다. 이 말은 직관에 어긋나는 것처럼 들리지만, 비교 유전체학이 알려주는 사실이다. 시냅스라는 구조물이 등장하기 훨씬 전, 단세포 생물에 이미 시냅스 단백질의 조상 격인 분자들이 있었다. 효모에는 신호 전달 스캐폴드 단백질과 키나아제가 약 30개 존재하며, 편모충류(choanoflagellate, 다세포 동물의 가장 가까운 단세포 친척)에서는 이 원시시냅스(proto-synapse) 단백질이 약 60개로 늘어난다(Ryan & Grant 2009). 이 단백질들은 세포 안에서 외부 신호를 받아 반응하는 역할을 하고 있었다. 뉴런이 등장하면서 이 기존의 신호 전달 기구가 세포 사이의 접합부, 즉 시냅스로 배치된 것이다. 진화는 시냅스를 백지에서 설계한 것이 아니라, 이미 있던 부품들을 새로운 장소에 재배치했다.

생물	시냅스후막 단백질 수	진화적 사건
효모	~30 (원시시냅스)	신호 전달 스캐폴드 기원
편모충류	~60	다세포 동물 분기 이전
초파리	~150-200	무척추동물 시냅스
제브라피쉬	~1,000	2R 전체 유전체 중복 이후
마우스/인간	~1,500	포유류 시냅스 복합체 완성

시냅스가 본격적으로 복잡해지기 시작한 것은 약 5억 년 전 척추동물의 조상이 전체 유전체 중복(whole-genome duplication)을 두 차례 겪으면서부터다. 이 사건을 1R/2R 중복이라 부른다. 유전체가 통째로 복사되면, 기존의 모든 유전자가 두 벌씩 생기고, 이 중복 유전자(paralog) 쌍은 이후 서로 다른 기능을 갖도록 분화할 수 있다. 시냅스에서 이 분화의 대표적 사례가 NMDA 수용체의 GluN2 소단위다. 무척추동물에서는 GluN2가 하나뿐이지만, 2R 중복을 거친 척추동물에서는 GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D의 네 가지로 분화되었다. 마찬가지로 시냅스후막의 핵심 발판 단백질인 PSD-95/MAGUK 계열도 하나에서 네 가지(DLG4/PSD-95, DLG1/SAP97, DLG2/chapsyn-110, DLG3/SAP102)로 늘었다. 한 가지 부품으로 한 가지 일을 하던 시냅스가, 네 가지 부품으로 네 가지 다른 일을 할 수 있게 된 것이다.

이 시냅스 단백질 복합체 안에는 세포부착분자(cell adhesion molecule)도 포함되어 있다. 시냅스를 형성하고 유지하려면 시냅스전 뉴런과 시냅스후 뉴런이 물리적으로 붙어 있어야 하는데, 이 접착을 담당하는 분자들이 세포부착분자다. 마치 두 사람이 악수를 하듯, 시냅스전 막의 분자와 시냅스후 막의 분자가 서로를 잡고 있는 것이다. Husi et al. (2000) 연구는 NMDA 수용체 복합체를 최초로 대규모 단백질체학으로 분석하여 77개 단백질을 발견했는데, 이 복합체 안에 N-카드헤린(N-cadherin), L1, NCAM-180, 콘택틴(contactin), 뉴로리긴(neuroigin) 같은 세포부착분자들이 포함되어 있었다. 신호를 받는 수용체, 신호를 전달하는 스캐폴드, 그리고 시냅스의 구조를 유지하는 접착 분자가 하나의 거대한 복합체 안에서 함께 작동하고 있었던 것이다. 이 복합체에서 학습에 유전적으로 필수적인 단백질이 15개 확인되었으며, 이 중 NF1, Rsk-2, L1 세 유전자는 인간에서 유전변이가 발생하면 학습 장애를 일으킨다.

이후 인간 시냅스의 단백질 구성이 본격적으로 밝혀졌다. 인간 사후 뇌 조직에서 시냅스후막을 정제하여 질량분석기로 분석한 결과, 1,461개의 단백질이 발견되었고, 이 중 748개가 여러 연구에서 반복적으로 확인된 합의 단백질체(consensus

proteome)였다(Bayés et al. 2011). 이 1,461개 단백질 중 199개 유전자에서 인간 질환을 일으키는 유전변이가 보고되어 있었고, 그 질환의 수는 269개에 달했다. 269개 질환 가운데 133개, 즉 약 절반이 신경계 질환이었다. 시냅스후막이라는 하나의 구조물에 들어 있는 단백질들이 100개가 넘는 뇌 질환과 직접 연결되어 있다는 것은, 이 구조물의 진화적 복잡성이 곧 다양한 신경정신과적 조건과 연결되는 분자적 지도이기도 하다는 사실을 보여준다. 진화적 보존 정도를 수치로 측정하면, 시냅스후막 단백질은 유전체 전체 평균이나 다른 뇌 하부 구조의 단백질보다 유의하게 높은 보존도를 보였다(dN/dS 분석에서 $P < 10^{-148}$). 시냅스후막은 유전체에서 가장 강하게 보호받는 구조물인 것이다.

그렇다면 인간과 마우스의 시냅스후막은 얼마나 다른가? 두 종의 시냅스후막 단백질을 병렬로 비교한 결과, 구성 단백질의 70% 이상이 공유되었지만, 공유 단백질 중에서도 34%는 풍부도(abundance)에서 2배 이상 차이를 보였다(Bayés et al. 2012). 특히 PSD-95/MAGUK 계열 네 구성원 중 DLG1과 DLG2는 마우스에서 더 풍부한 반면, DLG3는 인간에서 더 풍부했다. 같은 유전체 중복에서 만들어진 네 형제 유전자가 종에 따라 서로 다른 비율로 발현된다는 것은, 시냅스의 분자적 레시피가 종마다 미묘하게 다르다는 뜻이다. 인간에서 풍부한 단백질들은 세포막 역학(membrane dynamics)과 세포골격 리모델링에 관련된 것들이 많았는데, 이는 인간 시냅스가 구조적 가소성(structural plasticity, 시냅스의 형태가 활동에 따라 변하는 능력)에 더 최적화되어 있을 가능성을 시사한다.

시냅톰: 뇌 전체의 시냅스 다양성 지도

시냅스를 구성하는 단백질이 약 1,500가지라면, 이 단백질들의 조합은 시냅스마다 같을까? 같은 뇌 안에서 해마의 시냅스, 소뇌의 시냅스, 선조체의 시냅스가 서로 같은 분자 구성을 가지고 있을까? 이 질문에 답하기 위해 Grant 연구팀은 시냅톰(synaptome)이라는 개념을 제안했다. 시냅톰이란 뇌 전체에 존재하는 모든 시냅스의 분자적 다양성을 지도로 나타낸 것이다. 마치 유전체(genome)가 모든 유전자의 총합이고, 전사체(transcriptome)가 모든 RNA의 총합이듯, 시냅톰은 모든 시냅스의 분자적 정체성 총합을 의미한다.

이 시냅톰을 실제로 시각화하기 위해, 마우스 뇌에서 PSD-95에 초록 형광 단백질을, SAP102에 주황색 형광 단백질을 붙인 유전자 변형 마우스가 만들어졌다(Grant 2019). 이 마우스의 뇌 전체에서 약 10억 개의 시냅스를 분석한 결과, 시냅스는 37가지 아형으로 분류되었다. PSD-95만 있는 시냅스, SAP102만 있는 시냅스, 둘 다 있는 시냅스가 있고, 각각의 크기와 형태에 따라 세분화되었다. 중요한 발견은 이 37가지 아형의 비율이 뇌 영역마다 다르다는 것이었다. 피질, 해마, 시상, 선조체, 소뇌가 각각 고유한 시냅스 아형 조합, 즉 “시냅스 지문”을 가지고 있었다. 같은 뇌 안에서 영역마다 시냅스의 분자적 레시피가 다른 것이다.

이 시냅스 다양성은 시간에 따라서도 변한다. 생애주기 시냅톰 아틀라스(lifespan synaptome atlas)는 마우스의 출생부터 18개월(노년)까지 10개 시점에서 109개 뇌 영역에 걸쳐 약 50억 개의 시냅스를 추적했다(Cizeron et al. 2020). 그 결과 시냅톰 발달이 세 단계로 구분되었다. 첫 번째 단계에서는 시냅스가 빠르게 만들어지면서 뇌 영역 간 시냅스 다양성이 급격히 증가한다. 두 번째 단계에서는 시냅스 구성이 안정적으로 유지된다. 세 번째 단계(노화)에서는 시냅스 밀도가 감소하면서 크기가 커지고, 뇌 영역 간 시냅스 다양성이 감소하는 “탈분화(dedifferentiation)”가 일어난다. 어린 시절에 뇌 영역들이 각자 고유한 시냅스 정체성을 만들어가는 과정이 노화에서 역행하는 것이다.

시냅스의 분자적 다양성은 수명과도 관련이 있다. 시냅스 단백질의 수명을 뇌 전체에서 측정한 결과, PSD-95의 수명은 몇 시간에서 몇 달까지 시냅스마다 크게 달랐다(Bulovaite et al. 2022). 피질과 해마에는 수명이 긴 시냅스가 풍부한 반면, 뇌간과 시상하부에는 수명이 짧은 시냅스가 풍부했다. 수명이 긴 시냅스는 기억과 학습에 관여하는 영역에 집중되어 있었고, 수명이 짧은 시냅스는 본능적 행동을 담당하는 영역에 집중되어 있었다. 노화 과정에서는 수명이 긴 시냅스가 우선적으로 보존되는 반면, 수명이 짧은 시냅스가 먼저 손실되었다. 기억을 담당하는 시냅스가 노화에 더 강한 것이다. PSD-95 유전변이를 도입하면 시냅스 단백질의 전체적인 수명이 변하는데, 이것은 자폐스펙트럼장애와 조현병의 세포 모델에서 관찰되는 현상과 일치한다.

가장 최근에는 시냅스의 나노 수준 구조까지 뇌 전체에서 매핑되었다. NanoSYNMAP이라는 기술을 이용하여 PSD-95와 SAP102 초복합체(supercomplex)가 시냅스 안에서 얼마나 가까이 배치되어 있는지를 측정한 결과, 이 나노 구조가 뇌 영역마다 다르고, 발달 과정에서 변하며, 노화와 함께 재편된다는 것이 밝혀졌다(Kaizuka et al. 2026). 시냅스의 복잡성은 어떤 단백질이 있는가(구성)뿐만 아니라, 그 단백질들이 나노미터 수준에서 어떻게 배치되어 있는가(구조)에도 있는 것이다. 이 나노 구조의 차이가 시냅스의 기능적 차이를 만들어내는 분자적 논리(molecular logic)의 한 층위를 구성한다.

이 모든 연구가 말해주는 메시지는 하나로 수렴한다. 시냅스는 균일한 접합부가 아니라, 뇌 영역, 발달 시기, 노화 정도에 따라 분자적 정체성이 달라지는 극도로 다양한 구조물이다. 그 다양성의 기반이 되는 약 1,500개의 시냅스 단백질에 유전변이가 발생하면 130개 이상의 뇌 질환이 초래된다. 진화가 시냅스에 쌓아올린 복잡성은 인간의 인지를 가능하게 한 동시에, 그 복잡성의 어느 한 지점이 교란되었을 때 다양한 방식으로 뇌가 고장날 수 있는 구조를 만들었다.

정화 선택 아래 놓인 뇌 유전자들

진화적 제약의 관점에서 뇌 유전자들은 다른 어떤 조직의 유전자들보다 강한 정화 선택의 압박 아래 있다. 정화 선택이란 특정 유전자나 유전체 영역에 생기는 해로운 변이들이 자연선택에 의해 빠르게 제거되는 현상을 말한다. 특정 영역의 정화 선택 강도는 그 영역에 축적된 희귀 변이의 수를 중립적으로 예측되는 수와 비교함으로써 추정할 수 있다. Uddin et al. (2014)은 인간 집단 데이터를 분석하여 뇌에서 높이 발현되는 엑손일수록 희귀한 미스센스 유전 변이가 적다는 역상관관계를 보였다. 이것은 그 엑손들에 생기는 유전 변이가 적응도(fitness)를 심각하게 낮추기 때문에 자연선택에 의해 빠르게 제거되고 있다는 뜻이다. 이렇게 뇌 발현이 높고 희귀 변이 부담이 낮은 엑손들, 즉 정화 선택이 강하게 작동하고 있는 영역에서 생기는 드노보 유전 변이들이 자폐스펙트럼장애 환자에서 정상 형제에 비해 2.4배 높은 빈도로 발견된다. 진화가 가장 강하게 지키려 하는 유전체 영역이 질환이 가장 많이 발생하는 영역이기도 한 것이다.

Marderstein et al. (2025)의 연구는 이 패턴을 후성유전체 수준에서 더욱 정밀하게 확인했다. 132가지 세포적 맥락에 걸쳐 단일 세포 크로마틴 접근성에 영향을 미치는 유전 변이들의 정화 선택 강도를 비교했을 때, 태아기 뇌 뉴런의 크로마틴 접근성에 영향을 미치는 변이들이 가장 강한 정화 선택 하에 있다는 결과가 나왔다. 132가지 세포 유형 중에서 가장 강하게 보호받고 있다는 것이다. 진화는 태아기 뇌 뉴런에서의 조절 변이를 가장 강하게 제거하려 한다. 이것은 태아기 뇌 뉴런에서의 전사 조절이 돌이킬 수 없는 발달적 결과를 초래하기 때문이다. 태아기에 잘못된 유전자 발현 패턴이 형성되면 성인 뇌의 기능이 근본적으로 손상되며, 이 손상은 이후의 어떤 과정으로도 완전히 교정되지 않는다.

그러나 동시에, 이 강한 선택압 아래에서도 드노보 유전 변이는 매 세대마다 평균 1~2개씩 꾸준히 발생하여 인간 유전체에 새롭게 도입된다. Zeng et al. (2018)이 UK 바이오뱅크 데이터를 분석하여 확인한 결과에 따르면, 28가지 복합 형질 중에서 인지 능력, 교육 수준, 자녀 수와 같은 형질들이 가장 강한 음의 선택(negative selection) 신호를 보인다. 즉, 이런 형질들에 영향을 미치는 유전 변이들은 드물게 나타나는 경향이 있는데, 이는 그 변이들이 적응도를 낮추기 때문에 희귀한 상태로 유지된다는 것을 의미한다. 인간의 인지 능력은 강한 선택압에 의해 유지되는 형질이고, 그 인지 능력에 기여하는 유전체 영역은 동시에 신경발달 질환 위험이 집중되는 영역이다. 자연선택은 이미 존재하는 나쁜 변이를 제거할 수 있지만, 새롭게 발생하는 드노보 변이의 속도를 늦출 수는 없다. 그것이 강한 정화 선택 아래에서도 높은 질환 유병률이 유지되는 이유다. 자연선택을 스팸 필터라고 생각하면 된다. 오래된 스팸 패턴은 막을 수 있지만, 지금 막 만들어진 새로운 스팸은 즉시 막을 수 없다. 드노보 변이는 바로 그 새 스팸이다. 필터가 아무리 강력해도 매 세대마다 새로 생기는 것들은 걸러지기 전에 다음 세대로 전달된다.

다면발현: 인지 진화와 신경정신과적 조건은 같은 동전의 양면

다면발현(Chapter 21)이란 하나의 유전자나 유전 변이가 여러 가지 독립적인 형질에 동시에 영향을 미치는 현상이다. 신경발달 질환의 유전학에서 이것은 예외가 아니라 규칙이다. 16p13.11 결실은 어떤 환자에게는 뇌전증만, 어떤 환자에게는 지적장애만, 또 어떤 환자에게는 자폐스펙트럼장애를 일으킨다. 22q11.2 결실은 조현병(약 25%), 자폐스펙트럼장애(약 30%), 주의력결핍과잉행동장애, 지적장애, 양극성 장애에 걸쳐 다양한 신경정신과적 결과를 초래한다 (Zhu et al. 2014). SCN2A는 기능 획득 변이(gain-of-function)가 있으면 영아기 뇌전증 뇌병증을 일으키고, 기능 상실 변이(loss-of-function)가 있으면 발작 없는 자폐스펙트럼장애를 초래한다. 같은 유전자, 다른 방향의 교란, 완전히 다른 임상 결과다. 이 패턴은 DSM 진단 범주들이 서로 독립적인 생물학적 실체라는 전통적인 가정이 잘못되었음을 시사한다. 자폐스펙트럼장애, 조현병, 지적장애, 뇌전증은 서로 다른 병이 아니라 같은 분자적 기반의 서로 다른 임상적 표현일 수 있다.

암(cancer)과 신경발달 질환이 상당한 유전자 목록을 공유한다는 사실은 이 다면발현의 또 다른 면모를 드러낸다. Crawley et al. (2016)은 CHD8, CHD7, ARID1B와 같은 크로마틴 리모델링 유전자들이 자폐스펙트럼장애의 드노보 유전 변이 목록과 대장암, 난소암의 체세포 유전 변이 목록 모두에 올라 있다는 것을 체계적으로 정리했다. 자폐스펙트럼장애에서 가장 빈번한 드노보 유전자인 CHD8은 대장암에서도 반복적으로 유전 변이가 발생하는 유전자다. PTEN은 자폐스펙트럼장애에서 거대두증을 동반한 증후군을 일으키는 동시에 TP53 다음으로 가장 흔하게 유전 변이가 발생하는 종양 억제 유전자다. 이 공통성의 논리는 단순하다. 태아기 뇌 발달 과정에서 신경 전구세포가 증식, 분열, 분화를 정확히 조율하는 데 필요한 분자 기제는 성체 신체 조직에서 세포 성장을 통제하는 분자 기제와 근본적으로 동일하다. 그 기제가 발달 과정의 뇌 전구세포에서 기능 상실 변이로 교란될 때는 신경발달 질환으로, 성체 분열 조직에서 기능 획득 변이로 교란될 때는 암으로 나타난다. 같은 유전자, 다른 세포, 다른 방향의 교란, 다른 임상 결과.

Boyle et al. (2017)이 제안한 옴니제닉 모델(omnigenic model)은 이 다면발현의 수학적 필연성을 설명한다. 질환 관련 세포 유형에서 발현되는 유전자들은 매우 촘촘하게 연결된 조절 네트워크를 이루기 때문에, 어떤 유전자에서 발생하는 변이도 핵심 질환 유전자들에 영향을 미치는 경로가 존재한다. 쉽게 말하면, 자폐스펙트럼장애를 “일으키는” 유전자들이 따로 있는 게 아니라, 뇌 세포에서 발현되는 거의 모든 유전자가 조금씩 기여할 수 있다는 뜻이다. 마치 교통 혼잡은

특정 차 한 대 때문이 아니라 도로 위 모든 차들의 합산 효과인 것처럼. 이 모델에 따르면 자폐스펙트럼장애에 대한 일반 집단의 유전적 위험은 단지 몇 가지 핵심 유전자에 집중되는 것이 아니라, 뇌에서 발현되는 사실상 모든 유전자에 분산되어 있다. 어떤 조절 변이든 중요한 발달 경로에 영향을 미치는 경로가 있다는 것이다. 실제로 일반 집단 유전 변이들의 공유 유전율(shared heritability)만으로도 자폐스펙트럼장애 위험의 약 49%를 설명할 수 있다는 추정이 있다. 드노보 유전 변이만이 자폐스펙트럼장애를 일으키는 것이 아니라, 일반 집단에 광범위하게 퍼진 수많은 작은 효과들의 합산이 상당한 위험을 만들어낸다.

인간 특이적 유전자 발현 변화와 신경발달 질환의 연결

앞 장에서 살펴본 것처럼 Jorstad et al. (2023)은 인간 뉴런의 유전자 발현이 다른 영장류에 비해 빠르게 분기되었으며, 이 분기의 상당 부분이 HAR과 hCONDEL 인근에 위치한 유전자들에서 비롯된다는 것을 보였다. 진화적 가속이 일어난 바로 그 유전체 영역들이 신경발달 질환 위험과도 연결된다는 것은 우연이 아니다. Pratt et al. (2024)이 구축한 인간 뇌의 시스-조절 요소(cis-regulatory element) 목록은 361,844개에 달하는데, 이것은 다른 어떤 조직보다도 큰 수다. 이 거대한 비코딩 규제 장치들의 목록 자체가 인간 뇌가 얼마나 많은 조절 유전 변이의 잠재적 표적을 가지는지를 보여준다. 더욱 중요한 것은, 이 조절 요소들 중 일부는 영장류 특이적이어서 기존의 보존성 점수 기반 변이 해석 도구들이 그 위험성을 탐지하지 못한다는 점이다. 태아기 뇌에만 활성화되는 조절 요소들에 생기는 비코딩 변이는 현재의 유전체 임상 검사로는 제대로 평가받지 못하고 있다.

Khaitovich et al. (2008)은 조현병과 인간 뇌 진화의 관계에 대해 더 직접적인 가설을 제안했다. 인간 계통에서 양의 선택(positive selection)을 받은 22개 생물학적 과정 중 6개가 조현병에서 발현이 이상한 유전자들로 유의미하게 가득 찼다. 더욱 인상적인 것은 방향성이다. 인간 뇌 진화 과정에서 증가한 대사물질들이 조현병에서는 감소하는 방향으로, 감소한 대사물질들이 조현병에서는 증가하는 방향으로 변화한다. 마치 조현병은 인간 뇌가 진화적으로 이동해온 방향에서 반대 방향으로 미끄러지는 것처럼 보인다. 달리 말하면, 인간의 뇌가 어떤 대사적 최적점을 향해 진화했다면, 조현병은 그 최적점에서 뒤로 밀려나는 상태와 비슷하다. 최고 성능을 위해 정밀하게 조율된 엔진일수록 조율이 조금만 틀어져도 크게 고장나는 것처럼. 인간의 인지를 가능하게 한 에너지 대사의 최적화 지점이 너무 좁아서, 그 좁은 최적점에서 벗어나는 유전 변이가 바로 조현병이라는 신경정신과적 조건으로 이어질 수 있다는 것이다.

이 그림을 종합하면 하나의 일관된 서사가 떠오른다. 인간 뇌의 진화적 확장은 더 많은 뉴런, 더 긴 발달 기간, 더 정교한 시냅스 회로, 더 복잡한 전사체를 선택함으로써 달성되었다. 그 과정에서 자연선택이 강화하고 보존해온 분자들, 시냅스 단백질 복합체의 구성 요소들, 태아기 뇌 조절 요소들, 인간 특이적 피질 확장을 구동하는 신호 경로들은 모두 그 정확성에 생존이 걸려 있기 때문에 정화 선택 아래 강하게 유지된다. 그러나 그 강한 제약 아래에서도 드노보 유전 변이는 끊임없이 발생하며, 조절 네트워크의 복잡성은 그 변이 하나가 여러 임상적 결과로 이어질 수 있는 다면발현의 구조를 만든다. 자폐스펙트럼장애를 일으키는 유전 변이의 상당 부분이 인간 피질의 진화에 기여한 바로 그 분자들에서 발생한다. 앞 장에서 살펴본 oRG의 mTOR 경로, HAR이 조절하는 Wnt 신호, 시냅스 네오테니의 분자 제동 장치들은 모두 이 이야기에서 두 역할을 맡고 있다. 인간을 인간답게 만드는 진화의 도구이면서, 동시에 인간의 신경 발달이 다양한 경로로 분기할 수 있는 분자적 기반이기도 하다. 인지 능력의 진화와 신경정신과적 조건의 출현은 같은 분자적 토대 위에서 있다. 이것이 바로 진화가 우리에게 남긴 복잡성이다.

References

- Jorstad NL, Song JHT, Exposito-Alonso D, Suresh H, Castro-Pacheco N, Krienen FM, Yanny AM, et al. (2023) Comparative transcriptomics reveals human-specific cortical features. *Science* 382:eade9516.
- Emes RD, Bhatt DL, Bhatt DL, Grant SG. (2008) Evolutionary expansion and anatomical specialization of synapse proteome complexity. *Nature Neuroscience* 11:799-806.
- Emes RD, Grant SG. (2012) Evolution of synapse complexity and diversity. *Annual Review of Neuroscience* 35:111-131.
- Ryan TJ, Kopanitsa MV, Indersmitten T, Nithianantharajah J, Afinowi NO, Pettit C, Stanford LE, et al. (2013) Evolution of GluN2A/B cytoplasmic domains diversified vertebrate synaptic plasticity. *Nature Neuroscience* 16:25-32.
- Grant SG. (2009) Synapse diversity and synaptome architecture in human genetic disease. *Human Molecular Genetics* 21:R179-R186.

- Uddin M, Tammimies K, Pellecchia G, Koschwanetz M, Alipanahi B, Frey B, Marshall CR, et al. (2014) Brain-expressed exons under purifying selection are enriched for de novo mutations in autism spectrum disorder. *Nature Genetics* 46:742–747.
- Marderstein AR, Simons YB, et al. (2025) Mapping regulatory effects of common and rare variants on brain cell-specific chromatin accessibility. *Nature Genetics* 57:415–427.
- Zeng J, de Vlaming R, Wu Y, Robinson MR, Lloyd-Jones LR, Yengo L, Yap CX, et al. (2018) Signatures of negative selection in the genetic architecture of human complex traits. *Nature Genetics* 50:746–753.
- Crawley JN, Heyer WD, LaSalle JM. (2016) Autism and cancer share risk genes, pathways, and drug targets. *Trends in Genetics* 32:139–148.
- Zhu X, Need AC, Bhatt DL, Goldstein DB. (2014) One gene, many neuropsychiatric disorders: lessons from Mendelian diseases. *Nature Neuroscience* 17:773–781.
- Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. (2017) An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell* 169:1177–1186.
- Khaitovich P, Weiss M, Lachmann M, Enard W, Mukherjee S, Hellmann I, et al. (2008) Metabolic changes in schizophrenia and human brain evolution. *Genome Biology* 9:R124.
- Pratt HE, Zhang Y, et al. (2024) Using a comprehensive atlas and predictive models to reveal the complexity and evolution of brain-active regulatory elements. *Genome Research* 34:27–41.
- Husi H, Ward MA, Choudhary JS, Blackstock WP, Grant SG. (2000) Proteomic analysis of NMDA receptor-adhesion protein signaling complexes. *Nature Neuroscience* 3:661–669.
- Bayés À, van de Lagemaat LN, Collins MO, Croning MD, Whittle IR, Choudhary JS, Grant SG. (2011) Characterization of the proteome, diseases and evolution of the human postsynaptic density. *Nature Neuroscience* 14:19–21.
- Bayés À, Collins MO, Croning MD, van de Lagemaat LN, Choudhary JS, Grant SG. (2012) Comparative study of human and mouse postsynaptic proteomes finds high compositional conservation and abundance differences for key synaptic proteins. *PLoS ONE* 7:e46683.
- Grant SG. (2019) Synapse diversity and synaptome architecture in human genetic diseases. *Human Molecular Genetics* 28:R218–R225.
- Cizeron M, Qiu Z, Koniaris B, Gober R, Bhatt DK, Bhatt DL, Bhatt DL, Bhatt DL, Grant SG. (2020) A brain-wide atlas of synapses across the mouse lifespan. *Science* 369:270–275.
- Bulovaite E, Qiu Z, Kratschke M, et al. (2022) A brain atlas of synapse protein lifetime across the mouse lifespan. *Neuron* 110:4057–4073.
- Kaizuka T, Bhatt DK, Bhatt DL, et al. (2026) A brain-wide atlas of synaptic nanoarchitecture. *Science* 391:eado4077.
- Ryan TJ, Grant SG. (2009) The origin and evolution of synapses. *Nature Reviews Neuroscience* 10:701–712.
- Pratt HE, Zhang Y, Bhatt DL, et al. (2024) Using a comprehensive atlas and predictive models to reveal the complexity and evolution of brain-active regulatory elements. *Genome Research* 34:27–41.

주요 용어 안내

시냅스후막 밀도(PSD, postsynaptic density): 시냅스의 신호 수신부를 이루는 약 1,500개 단백질의 복합체. 전체 유전체 중복을 통해 척추동물에서 크게 팽창했으며, 130개 이상의 뇌 질환과 연결되어 있다.

전체 유전체 중복(whole-genome duplication): 유전체 전체가 통째로 복사되는 사건. 약 5억 년 전 척추동물 조상에서 두 차례(1R/2R) 일어났으며, 시냅스 단백질의 종류와 복잡성을 크게 늘렸다.

시냅툼(synaptome): 뇌 전체에 존재하는 모든 시냅스의 분자적 다양성을 나타낸 지도. 37가지 시냅스 아형이 뇌 영역마다 서로 다른 비율로 조합되어 있다.

정화 선택(purifying selection): 해로운 유전변이를 자연선택이 제거하는 과정. 뇌에서 발현되는 유전자들은 다른 조직의 유전자들보다 강한 정화 선택 아래 있다.

Chapter 24. 전이인자 — 유전체의 기생자에서 뇌 진화의 동력으로

앞 장에서 우리는 인간 뇌가 다른 영장류와 어떻게 달라졌는지를 살펴봤다. 인간 특이적 유전자 발현, 확장된 신피질, 새로운 세포 유형들. 그런데 이 차이를 만들어낸 원동력은 무엇인가? 새로운 유전자가 갑자기 생겨난 것은 아니다. 인간과 침팬지의 단백질 코딩 유전자는 99% 이상 동일하다. 차이는 유전자 자체가 아니라, 유전자를 언제, 어디서, 얼마나 켜고 끄는지를 결정하는 조절 체계에 있다. 그리고 이 조절 체계의 진화에 중요한 역할을 한 존재가 있다. 바로 전이인자(transposable element)다. 한때 “쓰레기 DNA(junk DNA)”로 불렸던 이 서열들이 인간 뇌 진화의 숨은 주역이었다는 이야기를 이 장에서 다룬다.

유전체 안의 기생자

우리 유전체의 대부분은 단백질을 만드는 데 쓰이지 않는다. 약 20,000개의 단백질 코딩 유전자가 차지하는 공간은 전체 유전체의 겨우 1.5%에 불과하다. 나머지 98.5%는 무엇인가? 이 중 상당 부분을 차지하는 것이 전이인자다. 전이인자란 유전체 안에서 스스로를 복사하여 다른 위치로 삽입할 수 있는 DNA 서열이다. 마치 문서 편집기에서 텍스트를 복사해서 문서의 여기저기에 붙여넣는 것처럼, 이 서열들은 자기 자신의 사본을 유전체 곳곳에 퍼뜨린다. 차이가 있다면, Ctrl+C/Ctrl+V를 누르는 것이 세포가 아니라 DNA 서열 자체라는 점이다. 이 서열들은 자신을 복사하는 단백질을 만드는 지침을 스스로 담고 있다. 그래서 “이기적 유전자(selfish gene)”나 “유전체의 기생자”라고도 불린다. 숙주인 유전체에 편승하여 자신을 번식시키는 것이 이 서열들의 존재 이유이기 때문이다.

전이인자에는 여러 종류가 있다. LINE(Long Interspersed Nuclear Element)은 약 6,000 염기쌍 길이의 긴 전이인자로, 자기 자신을 복사하는 데 필요한 효소를 스스로 코딩한다. SINE(Short Interspersed Nuclear Element)은 약 300 염기쌍 길이의 짧은 전이인자로, LINE이 만든 효소를 빌려서 복사된다. LINE을 자동차에 비유하면 SINE은 히치하이커다. 자기 힘으로는 이동할 수 없지만, LINE이라는 차에 편승하여 유전체 곳곳으로 퍼져나간다. 그리고 인간 유전체에서 가장 성공적인 SINE이 바로 Alu 원소(Alu element)다.

Alu는 약 300 염기쌍 길이의 작은 서열인데, 인간 유전체에 무려 110만 개 이상의 사본이 존재한다. 이것을 전부 합치면 유전체 전체의 약 10%를 차지한다. 달리 말하면, 우리 DNA의 열 글자 중 한 글자는 Alu인 셈이다. 단백질을 만드는 유전자들이 전체의 1.5%를 차지하는 것과 비교하면, Alu는 유전자보다 6배 이상 많은 공간을 차지하고 있는 것이다. 이것이 오랫동안 “쓰레기 DNA”로 불린 이유이기도 하다. 이토록 많은 공간을 차지하면서 단백질을 만들지도 않으니, 아무 기능이 없는 진화의 잔해물로 여겨졌다. 그러나 21세기에 들어오면서 이 관점은 극적으로 바뀌기 시작했다.

인간 계통에서 일어난 Alu 폭발

Alu가 특별히 흥미로운 이유는, 이 서열이 영장류에서만 발견된다는 점이다. 쥐나 개의 유전체에는 Alu가 없다. Alu는 약 6,500만 년 전 영장류 조상에서 처음 등장했고, 이후 영장류 진화 과정에서 폭발적으로 증가했다. 그런데 모든 영장류에서 같은 속도로 증가한 것은 아니다. Larsen et al. (2018)의 종합적 분석에 따르면, 인간-침팬지-보노보 계통에서 Alu의 전위(retrotransposition) 속도는 다른 대형 유인원에 비해 약 15배 높았다. 오랑우탄이나 고릴라에 비해, 우리 계통에서 Alu가 유전체 안에 새로운 사본을 만들어 삽입하는 속도가 압도적으로 빨랐다는 뜻이다.

왜 인간 계통에서 Alu가 이렇게 활발했을까? 하나의 가설은 세대 시간(generation time)과 관련이 있다. 세대가 길어지면, 즉 부모 세대에서 자식 세대까지의 시간이 길어지면, 그 사이에 전이인자가 활동할 수 있는 시간도 늘어난다. 대형 유인원은 작은 영장류에 비해 세대 시간이 훨씬 길기 때문에, 세대당 Alu 전위의 기회가 더 많았을 수 있다. 또 다른 가설은 인간 계통에서 Alu를 억제하는 방어 기제가 약화되었거나, 반대로 Alu의 전위를 가능하게 하는 LINE 효소의 활성이 높아졌을 가능성이다.

어느 쪽이든, 결과는 분명하다. 인간의 유전체에는 다른 어떤 영장류보다 더 많은 Alu 사본이 존재하고, 이 중 상당수는 비교적 최근, 즉 인간과 침팬지가 갈라진 후에 삽입된 것이다. 이 젊은 Alu들이 바로 인간 특이적인 유전체 변이의 원천이 될 수 있다. 하나의 Alu가 유전자 근처에 삽입되면, 그것이 유전자의 발현 패턴을 바꿀 수 있기 때문이다. 진화는 새로운

유전자를 만드는 것이 아니라, 기존 유전자의 스위치를 재배선하는 방식으로 일어날 수 있다. 그리고 Alu는 바로 그 재배선의 원료였다.

스위치를 만드는 기생자: 전이인자의 조절 요소화

기생자가 어떻게 스위치가 되는가? 이것을 이해하려면 유전자 발현의 조절 체계를 먼저 떠올려야 한다. 유전자가 발현되려면 프로모터(promoter)라는 시작 신호와 인핸서(enhancer)라는 증폭 신호가 필요하다. 프로모터는 유전자 바로 앞에 있는 서열로, 전사 기계가 어디서부터 읽기 시작할지를 알려준다. 인핸서는 유전자에서 멀리 떨어져 있어도 유전자의 발현을 높여주는 서열이다. 마치 전등의 스위치(프로모터)와 밝기 조절기(인핸서)가 함께 작동하는 것과 비슷하다. 전이인자가 이 스위치나 조절기 역할을 새로 만들어낼 수 있다는 것이 핵심이다.

Nishihara & Komiya (2026)는 이 현상을 유전체 전체 규모에서 체계적으로 증명했다. 연구진은 인간 배아줄기세포(embryonic stem cell)와 신경 전구세포(neural progenitor cell)에서 SOX2와 BRN2라는 두 전사인자가 유전체의 어디에 결합하는지를 ChIP-seq로 매핑했다. SOX2는 줄기세포의 다능성과 신경 발달 모두에 관여하는 전사인자이고, BRN2는 대뇌 피질 전구세포에서 특히 중요한 전사인자다. 주목할 발견은 SOX2가 결합하는 유전체 위치 중 2만 개 이상이 전이인자 서열 위에 있다는 것이었다. 배아줄기세포에서는 SOX2 결합 부위의 27.4%, 신경 전구세포에서는 20.2%가 전이인자 유래 서열이었다.

더 흥미로운 것은 이 전이인자 유래 조절 부위들의 진화적 역사였다. 연구진이 60종의 포유류 유전체를 비교 분석한 결과, 두 차례의 진화적 파동이 드러났다. 여기서 “파동”이란, 특정 전이인자가 폭발적으로 퍼지면서 수천 개의 새로운 유전자 스위치를 유전체에 뿌린 사건을 가리킨다. 마치 빈 도시에 갑자기 전기 배선 공사가 두 번 이루어진 것처럼, 첫 번째 공사가 포유류 공통의 신경 회로를 만들고, 두 번째가 영장류 특이적인 추가 배선을 완성했다. 첫 번째 파동은 약 1억 년 전 진수류(eutherian mammal) 조상에서 일어났다. 고대 SINE과 LINE 서열들이 Sox2 결합 부위로 재활용(exaptation)되기 시작했고, 이것이 포유류 전반에 공유되는 신경 조절 체계의 기초를 놓았다. 신경 전구세포에서 Sox2가 결합하는 전이인자의 약 58%가 이 고대 파동에서 유래한 것이었다. 두 번째 파동은 영장류, 특히 진원류(simian) 조상에서 일어났다. MER51과 MER49라는 내인성 레트로바이러스(endogenous retrovirus) 계열이 Sox2와 BRN2의 결합 부위를 영장류 특이적으로 확장한 것이다. 이 서열들은 유전체 안에 새로운 전사인자 결합 부위를 대량으로 뿌린 셈이다. 마치 도시 곳곳에 새로운 신호등을 설치하는 것처럼, 전이인자가 유전자 발현의 새로운 교차점들을 만들어낸 것이다.

이 전이인자 유래 조절 부위의 근처에 있는 유전자들을 분석하니, 신경 생성(neurogenesis) 관련 유전자들이 풍부하게 포함되어 있었다. 전이인자가 무작위로 유전체에 삽입되었지만, 신경 발달에 유리한 조절 변화를 만들어낸 삽입만이 자연선택에 의해 유지되었다는 것이다. 기생자가 숙주에게 유용한 도구로 전환된 것, 이것을 분자진화학에서는 전용(exaptation)이라 부른다. 전이인자는 유전체에 무작위로 새로운 서열을 삽입하는 돌연변이 발생기이지만, 자연선택이라는 필터를 거치면서 그 중 유용한 것들이 새로운 조절 요소로 정착하게 된다. 인간의 뇌가 다른 영장류보다 크고 복잡해진 이유의 일부는, 이 전이인자들이 뇌 발달 유전자의 조절 체계를 재배선한 덕분일 수 있다.

뇌에서만 일어나는 특별한 일들

전이인자가 유전체의 조절 체계를 바꾼다는 것은 모든 세포에 해당하는 이야기다. 그런데 뇌에서는 전이인자가 더 특별한 방식으로 작동한다. 첫째, 뉴런에서는 전이인자가 다시 활성화되어 실제로 유전체 안에서 이동한다. 이것을 체세포 역전위(somatic retrotransposition)라고 부른다. 대부분의 체세포에서 전이인자는 DNA 메틸화와 히스톤 변형이라는 후성유전적 잠금장치에 의해 침묵되어 있다. 그런데 뉴런에서는 이 잠금장치가 부분적으로 풀린다. 그 결과 LINE-1(L1) 전이인자가 활성화되어 새로운 위치로 삽입되고, 이 과정에서 Alu 역시 L1의 효소를 빌려 함께 이동한다. 같은 사람의 뇌에 있는 뉴런들이 서로 약간씩 다른 유전체를 가지게 되는 것이다. 이것을 체세포 모자이시즘(somatic mosaicism)이라 한다. 마치 같은 원본에서 출발했지만 각자 약간씩 다른 편집이 가해진 문서들이 모여 있는 도서관 같은 상태다. 다시 말해 당신의 뇌 속 뉴런들은 서로 완전히 똑같은 DNA를 공유하지 않는다. 각 뉴런은 수명 동안 자기만의 미세한 유전체 변화를 누적한다. 이것이 각 뉴런을 개성 있게 만들 수 있다는 아이디어다. 이 모자이시즘이 뉴런의 개별적인 정체성과 기능적 다양성에 기여할 수 있다는 가설이 제기되어 있지만, 아직 실험적으로 완전히 검증되지는 않았다.

둘째, Alu는 뇌에서 특이적으로 발현되는 비코딩 RNA(non-coding RNA)의 원천이다. 가장 잘 알려진 것이 BC200이다. BC200은 Alu 단량체(monomer)에서 유래한 약 200 뉴클레오타이드 길이의 비코딩 RNA로, 뇌에서만 발현된다. 이 RNA는 시냅스의 수상돌기(dendrite)로 운반되어, 시냅스에서 단백질 번역을 조절하는 역할을 한다. 시냅스에서의 국소

단백질 합성(local protein synthesis)은 학습과 기억의 분자적 기반인 시냅스 가소성(synaptic plasticity)에 핵심적이다. 기생자로 시작한 서열이 뇌의 학습 기계를 조율하는 부품이 된 것이다.

셋째, Alu는 원형 RNA(circular RNA, circRNA)의 생성을 촉진한다. 보통 RNA는 선형이지만, circRNA는 끝과 끝이 붙어 원형을 이루는 특이한 RNA다. Lee et al. (2024)이 정리한 바에 따르면, 하나의 유전자 안에 역방향으로 마주보는 두 개의 Alu(역방향 Alu 반복, inverted Alu repeat)가 있으면, 이 두 Alu가 서로 결합하여 RNA를 고리 모양으로 만드는 데 도움을 준다. 마치 긴 종이 띠의 양 끝에 자석을 붙여두면 자연스럽게 고리가 되는 것과 같다. 이 circRNA는 뇌 조직과 시냅스에서 특히 풍부하게 발견되며, 유전자 발현의 조절에 관여한다.

넷째, Alu는 A-to-I RNA 편집(adenosine-to-inosine RNA editing)의 주요 표적이다. ADAR이라는 효소는 이중 가닥 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)에서 아데노신(A)을 이노신(I)으로 바꾸는 화학적 변형을 수행한다. 역방향 Alu 반복이 형성하는 이중 가닥 구조가 바로 ADAR의 주요 기질이다. 흥미롭게도 이 A-to-I 편집은 인간의 뇌에서 다른 어떤 장기보다 활발하게 일어난다. 이것을 문장 교정에 비유하면, “a”를 “i”로 교체하는 자동 편집기가 뇌에서 특히 열심히 돌아가고 있는 셈이다. 같은 DNA에서 시작했더라도 이 편집이 일어난 RNA는 다른 단백질을 만들어낼 수 있다. 뇌가 유전체 정보를 실시간으로 편집하는 장기라는 뜻이다. RNA 편집은 단백질의 아미노산 서열을 바꿀 수도 있고, RNA의 안정성이나 위치를 조절할 수도 있다. 같은 유전자에서 만들어진 RNA가 편집 여부에 따라 서로 다른 기능을 가지게 되는 것이다. Alu가 많은 인간의 유전체에서 이 편집이 특히 활발하다는 것은, Alu의 확장이 뇌의 RNA 다양성을 극적으로 증가시켰을 가능성을 시사한다.

진화의 선물과 대가

전이인자가 인간 뇌 진화에 기여한 이 모든 메커니즘에는 어두운 이면이 있다. Alu가 유전체를 재배선하는 능력은 혁신의 원천이지만, 동시에 위험의 원천이기도 하다. Alu가 유전자 안의 잘못된 위치에 삽입되면, 그 유전자의 기능이 파괴될 수 있다. Alu가 유전자의 엑손 사이에 끼어들어 비정상적인 스플라이싱을 유발하면, 잘못된 단백질이 만들어질 수 있다. 인간 유전체에 Alu가 110만 개나 있다는 것은, 그만큼 이런 사고가 일어날 확률도 높다는 뜻이다.

Larsen et al. (2018)은 Alu의 유해한 활성이 기록된 신경 질환을 체계적으로 정리하여, 37개의 신경 및 신경퇴행 질환을 확인했다. 척수성 근위축증(spinal muscular atrophy)에서는 SMN1과 SMN2 유전자 사이의 Alu 매개 유전자 전환(gene conversion)이 질환의 분자적 기반이 된다. 신경섬유종증(neurofibromatosis)에서는 Alu 삽입이 NF1 유전자를 파괴한다. 알츠하이머병에서는 ADAR에 의한 A-to-I 편집의 이상이 보고되었는데, 이것은 Alu가 형성하는 이중 가닥 RNA의 편집 패턴 변화와 관련이 있다.

더 흥미로운 것은 면역 체계와의 연결이다. 세포 안에서 이중 가닥 RNA가 발견되면, 면역 체계는 이것을 바이러스 감염의 신호로 해석하고 인터페론(interferon) 반응을 활성화한다. 역방향 Alu 반복이 만드는 이중 가닥 RNA는 바로 이 면역 감시 체계의 표적이 될 수 있다. 정상적으로는 ADAR 효소가 Alu 이중 가닥 RNA를 편집하여 면역 반응을 억제하지만, ADAR 유전자에 유전 변이가 생기면 편집되지 않은 Alu RNA가 축적되고 만성적인 면역 활성화가 일어난다. 에카르디-구티에르 증후군(Aicardi-Goutieres syndrome)이 바로 이 메커니즘에 의한 뇌 염증성 질환이다. 뇌의 혁신을 가능하게 한 바로 그 서열이, 조절에 실패하면 뇌를 공격하는 면역 반응의 방아쇠가 되는 것이다. ADAR이 고장난 상황을 상상해보라. 편집되지 않은 Alu RNA가 세포 안에 쌓이면, 면역계는 “바이러스가 침입했다”고 오인하고 뇌 자체를 공격하기 시작한다. 자신의 DNA에서 유래한 서열이 적군으로 오인되는 아이러니다.

이 이야기는 진화의 본질적인 특성을 보여준다. 진화는 완벽한 설계를 하지 않는다. 진화는 기존의 재료를 재활용하여 그때그때 유용한 것을 만들어내는, 기회주의적인 과정이다. Alu는 원래 유전체의 기생자였다. 자기 복제만을 위해 존재하는, 숙주에게는 아무 이익도 주지 않는 이기적인 서열이었다. 그런데 이 기생자가 뿌려놓은 수백만 개의 사본 중 일부가 우연히 유전자 조절에 유용한 위치에 자리잡았고, 자연선택에 의해 유지되어 새로운 조절 요소로 정착했다. 이 과정이 수천만 년에 걸쳐 누적되면서, 인간 뇌의 유전자 조절 체계를 다른 영장류와 다르게 만든 것이다. 동시에 이 기생자의 잔재들은 유전체 곳곳에 잠재적 위협으로 남아 있다. 이것이 다음 장에서 더 깊이 다룰 “진화가 남긴 복잡성”의 한 축을 이룬다.

References

Larsen, P. A., Hunnicutt, K. E., Larsen, R. J., Yoder, A. D., & Saunders, A. M. (2018). Warning SINEs: Alu elements, evolution of the human brain, and the spectrum of neurological disease. *Chromosome Research*, 26(1-2), 93-111. doi:10.1007/s10577-018-9573-4

Lee, K., Ku, J., Ku, D., & Kim, Y. (2024). Inverted Alu repeats: friends or foes in the human transcriptome. *Experimental & Molecular Medicine*, 56, 1243–1251. doi:10.1038/s12276-024-01177-3

Nishihara, H., & Komiya, A. (2026). Transposable element-mediated evolutionary expansion of Sox2- and Brn2-binding regulatory modules for mammalian neural-cell differentiation. *Genome Biology*, 27, 114. doi:10.1186/s13059-026-04050-w

Payer, L. M., Steranka, J. P., Ardeljan, D., Walker, J., Fitzgerald, K. C., Calabresi, P. A., Cooper, T. A., & Burns, K. H. (2019). Alu insertion variants alter mRNA splicing. *Nucleic Acids Research*, 47(1), 421–431. doi:10.1093/nar/gky1086

주요 용어 안내

전이인자(transposable element): 유전체 안에서 스스로를 복사하여 다른 위치로 삽입할 수 있는 DNA 서열. 인간 유전체의 약 45%를 차지하며, LINE과 SINE(Alu)이 대표적이다.

전용(exaptation): 원래 기능과 다른 목적으로 재활용되는 진화적 현상. 전이인자가 유전자 조절 요소로 전용된 것이 대표적 사례로, 뇌 발달 유전자의 새로운 인핸서를 제공한다.

Alu 원소(Alu element): 약 300 염기쌍 길이의 영장류 특이적 전이인자. 인간 유전체에 110만 개 이상 존재하며, 원형 RNA 생성, A-to-I RNA 편집, 새로운 조절 요소 형성에 관여한다.

체세포 역전위(somatic retrotransposition): 뉴런에서 전이인자가 다시 활성화되어 유전체 내 새로운 위치로 삽입되는 현상. 같은 사람의 뉴런들이 미세하게 다른 유전체를 갖게 되는 체세포 모자이시즘의 원인이 된다.

Chapter 25. 뇌 오가노이드의 탄생

2013년 어느 가을, 오스트리아 빈의 분자생물공학연구소(IMBA)에서 일하던 위르겐 크노블리히(Juergen Knoblich) 연구실의 매들린 랭커스터(Madeline Lancaster)는 자신이 무언가 이상한 것을 보고 있다는 것을 깨달았다. 페트리 접시 안의 조그만 구 모양 조직이 단순히 신경세포를 만드는 게 아니라, 마치 뇌처럼 스스로를 조직하고 있었다. 뇌실(ventricle)처럼 생긴 공간, 그 주변을 정렬된 전구세포들, 바깥으로 이주하는 어린 뉴런들. 아무도 그렇게 되라고 말하지 않았는데, 세포들은 혼자서 그것을 알고 있었다. 뇌실이란 뇌 안에 있는 뇌척수액으로 가득 찬 공간인데, 발달 중인 뇌에서는 이 뇌실 주변에 줄기세포들이 늘어서서 뉴런을 만들어낸다. 랭커스터와 크노블리히가 그해 Nature에 발표한 논문은 이 관찰을 학계에 알렸고, 이후 인간 뇌 발달 연구의 방향이 바뀌었다.

그 이전의 세상이 어땠는지를 먼저 이해해야 한다. 인간 뇌 발달을 연구하는 과학자들에게 2013년 이전은 만성적인 좌절의 시대였다. 살아있는 인간의 뇌에서 조직을 꺼낼 수는 없다. 사후 조직은 단 하나의 시점을 보여줄 뿐이고, 발달의 동적인 과정을 실시간으로 관찰하는 것은 불가능하다. 마우스 뇌는 연구하기 편리하지만, 인간과 마우스의 뇌 발달 사이에는 깊은 간극이 있다. 마우스의 피질 발달은 2주 남짓이면 대부분 끝나지만, 인간의 피질 발달은 임신 기간 9개월 내내 이어지고 출생 이후에도 수년을 더 계속된다. 그리고 가장 중요하게, 인간의 피질 바깥쪽 뇌실하대(outer subventricular zone, oSVZ)에는 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG, Chapter 9)라는 전구세포가 풍부한데, 마우스에는 이것이 극히 드물다. 인간의 거대한 피질을 만들어내는 핵심 세포가 모델 동물에는 거의 없으니, 마우스 실험의 결과를 인간에게 그대로 적용하는 데는 근본적인 한계가 있었다.

랭커스터의 답은 간결했다. 인간의 줄기세포가 스스로 뇌를 만들도록 내버려두면 어떨까? 인간 배아줄기세포(human embryonic stem cells, hESCs)나 역분화 줄기세포(induced pluripotent stem cells, iPSCs)는 이론상 인체의 모든 세포로 분화할 수 있는 잠재력을 가지고 있다. 쉽게 말해 역분화 줄기세포(iPSCs)란 피부세포처럼 이미 특정 역할을 맡은 세포를 다시 초기화하여 어떤 세포로도 될 수 있는 상태로 돌려놓은 것이다. 이 세포들을 3차원으로 배양하면서 발달에 필요한 최소한의 조건만 제공한다면, 세포들이 가진 내재적 발달 프로그램이 알아서 작동하지 않을까? 이것이 랭커스터와 크노블리히의 핵심 가설이었다. 그리고 이 가설을 검증하기 위한 프로토콜은, 돌이켜 보면 매우 단순했다.

자가 조직화의 마법: 프로토콜과 그 논리

프로토콜은 네 단계로 이루어진다. 첫째, hESCL나 iPSC를 모아서 배아체(embryoid body)를 만든다. 수백에서 수천 개의 줄기세포가 모인 이 3차원 덩어리는 초기 배아 발달의 세포 집합을 어느 정도 모방한다. 배아체는 세포들에게 “혼자가 아니라 이웃이 있다”는 신호를 주는 첫 번째 단계다. 2차원 평판에서는 세포가 서로 위아래로 층을 만들 수 없으므로, 이 3D 덩어리를 만드는 것이 뇌 발달을 시작하는 핵심 조건이다. 쉽게 말하면 줄기세포들을 한데 모아 뭉치게 한 것인데, 이 상태에서 세포들은 서로 신호를 주고받으며 발달 초기의 배아를 흉내 내기 시작한다. 둘째, 이 배아체를 신경 유도(neural induction) 조건에서 배양하여 신경외배엽(neuroectoderm)으로 이끈다. 여기에 뼈 형성 단백질(bone morphogenetic protein, BMP)과 변환 성장 인자(transforming growth factor, TGF- β) 신호를 동시에 차단하는 이중 SMAD 억제(dual SMAD inhibition) 방법이 사용될 수 있지만, 랭커스터의 원래 프로토콜은 이보다 훨씬 최소한의 개입을 택했다. 셋째, 신경화된 배아체를 매트릭셀(Matrigel)이라는 기저막 단백질 혼합물에 포매(embedding)한다. 매트릭셀을 젤리 같은 발판이라고 생각하면 쉽다. 이 단계가 결정적이었는데, 매트릭셀은 세포외 기질의 발판을 제공하여 조직이 3차원으로 팽창하고, 뇌실 같은 공간을 형성하고, 방사 방향의 극성(apicobasal polarity)을 유지할 수 있게 해주었다. 넷째, 매트릭셀에 포매된 조직을 회전 생물반응기(spinning bioreactor)로 옮긴다. 반응기의 회전 운동은 영양분과 산소가 조직 전체에 고르게 전달되도록 하여, 정적 배양에서 피할 수 없는 중심부 괴사를 줄이고 더 크고 복잡한 오가노이드(organoid)가 성장할 수 있게 했다. 회전 생물반응기란 작은 세탁기처럼 조직이 담긴 배양액을 계속 천천히 돌려주어 산소와 영양분이 골고루 퍼지게 하는 장치다.

이 프로토콜에서 가장 급진적인 측면은 무엇을 하지 않았는가다. 랭커스터와 크노블리히는 외부의 형태형성인자(morphogens)를 더하여 “이쪽은 피질이 되어라, 저쪽은 시상하가 되어라”라고 지시하지 않았다. 형태형성인자란 세포에게 “너는 이런 종류의 세포가 되어라”라고 알려주는 신호 물질인데, 이것을 쓰지 않았다는 뜻이다. 이것이 비유도(unguided) 프로토콜이라고 불리는 이유다. 세포들이 내재적 발달 프로그램, 즉 수백만 년의 진화가 세포의 유전체에 새겨놓은 지시에 따르도록 내버려두었다. 그 결과가 자가 조직화(self-organization)였다. 세포들은 서로 소통하면서 공간적 패턴을 만들어냈고, 어떤 세포는 전구세포로 남아 계속 증식하고, 어떤 세포는 뉴런으로 분화하여 이주하기 시작했다. 이 과정이 발생 후 약 8~10일이면 신경 정체성이 확립되고, 20~30일이면 서로 다른 뇌 영역을 닮은 구역들이 나타나기 시작했다. 세포들은 누가 시키지 않았는데도 뇌가 되려 하고 있었다.

랭커스터의 오가노이드(organoid)에서 나타난 구조는 단순한 세포 덩어리가 아니었다. 피질 유사 영역에서는 유체로 찬 뇌실 유사 공간(ventricular-like cavities)이 형성되었고, 이 공간 주변을 PAX6와 SOX2를 동시에 발현하는 방사 글리아(radial glia) 전구세포들이 줄지어 섰다. 이것이 뇌실대(ventricular zone)에 해당한다. 그보다 바깥쪽에는 TBR2(EOMES) 양성 중간 전구세포(intermediate progenitor cells, IPCs)가 자리잡았는데, 이는 뇌실하대(subventricular zone)의 특징이다. 가장 바깥쪽에는 TBR1 양성의 어린 뉴런들이 분포했다. 이 PAX6 → TBR2 → TBR1의 층상 배열은 발달 중인 인간 피질의 안쪽에서 바깥쪽으로 이어지는 세포 유형의 계층적 배열과 정확히 일치했다. 마치 건물의 층처럼, 가장 안쪽 층에서 바깥쪽 층으로 세포들이 순서대로 배열되어 있는 것이다. 그리고 방사 글리아 세포들은 핵간 이동(interkinetic nuclear migration), 즉 세포 주기에 따라 핵이 뇌실 표면과 뇌실하대 사이를 오가는 특징적인 움직임도 보였다. 수십만 년 전에 진화한 세포 행동이, 페트리 접시 안에서 충실히 재현되고 있었다.

인간만이 가진 것: 외측 방사 글리아의 재현

그러나 랭커스터의 오가노이드에서 발견된 것 중 가장 흥분되는 것은 뭔가 다른 것이었다. 방사 글리아는 두 종류가 있다. 뇌실에 접한 쪽에서 분열하는 첨단 방사 글리아(apical radial glia, aRG)는 뇌실대의 주민이다. 그런데 인간 피질 발달에서만 유독 풍부한 또 다른 유형이 있는데, 그것이 바로 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG)다. oRG는 뇌실하대의 바깥쪽(oSVZ)에 자리를 잡고, 아첨단 과정(basal process)이라는 긴 돌기를 피질 바깥쪽으로 뻗은 채 비대칭적으로 분열하여 뉴런을 만들어낸다. 비대칭 분열이란 세포가 둘로 나뉠 때 하나는 계속 줄기세포로 남고 다른 하나는 뉴런이 되는 방식으로, 한 개의 줄기세포에서 아주 많은 뉴런을 지속적으로 만들어낼 수 있게 해준다. 인간 피질의 거대한 표면적, 그리고 그로 인한 특유의 주름진 형태는 이 oRG 세포들이 뉴런을 엄청나게 많이 생산하기 때문에 가능하다는 것이 밝혀졌다. 마우스 뇌에는 이 세포가 극히 드물다. 그래서 마우스 실험으로는 이 인간 특이적 메커니즘을 연구할 수가 없었다.

랭커스터의 오가노이드가 oRG를 만들어냈다는 사실은, 이 인공 조직이 단순한 신경 덩어리가 아닌 진정으로 인간적인 발달 논리를 담고 있다는 증거였다. 외부에서 “oRG를 만들어라”라는 지시 없이도, 줄기세포들은 스스로 알고 있었다. 이 oRG의 존재는 하나의 가능성을 열어주었다. 마우스에서 연구하기 어려웠던, 인간 피질 확장의 분자적 기반을 이제 직접 인간 세포에서, 인간 발달의 맥락에서 연구할 수 있게 된 것이다. 초기 뇌 오가노이드의 한계가 많음에도 불구하고, 이 하나의 발견이 Lancaster 논문의 가치를 확고히 했다.

오가노이드는 실제 뇌를 닮았는가

2년 후, J. Gray Camp와 동료들은 이 흥분을 좀 더 냉정하게 평가하기로 했다. 오가노이드가 뇌처럼 생겼다는 것은 형태적 관찰이고, 그것이 정말로 태아 뇌의 발달 프로그램을 분자 수준에서 재현하는지는 별개의 문제다. 분자 수준이란 세포 안에서 어떤 유전자들이 켜지고 꺼지는지를 살펴보는 것이다. Camp와 그의 팀은 단일 세포 RNA 시퀀싱(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)을 사용하여 이 질문에 정면으로 답하려 했다. 단일 세포 RNA 시퀀싱이란 하나의 세포 안에서 켜진 유전자들을 모두 한꺼번에 읽어내는 기술인데, 수백 개의 세포를 동시에 분석하여 각 세포가 어떤 '정체성'을 가지는지 알 수 있다. 그들은 임신 12~13주 태아의 신피질(neocortex)에서 226개의 단일 세포를, 그리고 hESC 및 iPSC 유래 뇌 오가노이드에서 508개의 단일 세포를 시퀀싱했다. 이 두 데이터셋을 나란히 놓고 비교 분석했다.

결과는 고무적이었지만, 동시에 솔직했다. Camp et al. 논문에서 밝혀진 바에 따르면 오가노이드의 피질 유사 영역들이 FOXG1, NFIA, PAX6, NEUROD6 같은 전뇌 피질 마커를 발현하며, 태아 피질의 발달적 세포 상태(첨단 전구세포, 기저 전구세포, 초기 뉴런, 성숙 뉴런)에 상응하는 클러스터들을 만들어냈음을 보여주었다. 유전자 마커란 특정 세포 유형에서만 켜지는 유전자로, 이것이 올바른 마커들을 발현한다는 것은 그 세포가 올바른 정체성을 가지고 있다는 뜻이다. 더 나아가, 태아 피질 발달과 관련된 주요 유전자 모듈들, 즉 세포외 기질(extracellular matrix, ECM) 신호, Notch/Delta 신호, 신경돌기 성장(neurite outgrowth) 관련 유전자들의 80% 이상이 오가노이드에서도 유사한 발현 패턴을 보였다. 신경피질 발달이나 진화와 관련된 유전자들의 80% 이상이 오가노이드의 피질 유사 세포에서 태아 조직과 유사한 발현 프로파일을 보였다. 이것은 오가노이드가 단순히 겉모습만 비슷한 것이 아니라, 핵심적인 발달 유전자 프로그램을 충실히 실행하고 있다는 증거였다.

그러나 Camp et al. 연구는 차이점도 숨기지 않았다. 오가노이드에서는 기저 전구세포(basal progenitors)가 첨단 전구세포에 비해 상대적으로 적었는데, 이는 뇌실하대의 발달이 충분하지 않다는 신호였다. 일부 오가노이드 클러스터는 등쪽 피질보다는 배쪽 전뇌나 비피질 영역의 특성을 보였고, 한 오가노이드 안에서도 영역 정체성이 뒤섞여 있었다. 또한 FOS와 EGR1 같은 즉각 초기 유전자(immediate early genes)들이 배양 조건에서 비정상적으로 높게 발현되었는데, 이는 세포들이 배양 환경에 반응하고 있다는 증거였다. 이 즉각 초기 유전자들은 세포가 스트레스를 받거나 외부 자극에 반응할 때 빠르게 켜지는 유전자들로, 실제 뇌 안에서는 이렇게 높게 발현되지 않는다. 이러한 불일치들은 세포들이 완전히 자연스러운 상태에 있지 않다는 것을 시사했으며, 이후 더 체계적인 검증 연구들이 필요하다는 방향을 제시했다.

형태형성인자의 언어: 이중 SMAD 억제와 축 패턴화

랭커스터와 크노블리히의 프로토콜은 비유도 방식의 자가 조직화를 택했지만, 그 배후에는 정교한 발달생물학 지식이 전제로 깔려 있었다. 신경관(neural tube)은 발달 초기에 두 개의 독립적인 축을 따라 패턴화된다. 앞뒤 축(anteroposterior axis, AP axis)은 어느 부위가 전뇌가 되고 어느 부위가 척수가 될지를 결정하고, 등배 축(dorsoventral axis, DV axis)은 신경관의 등쪽에 감각 회로가 발달하고 배쪽에 운동 회로가 발달하도록 구분한다. 이 두 축이 교차하면서 뇌의 모든 영역이 제 위치에 자리잡는다. 오가노이드 프로토콜을 이해하려면 이 두 축을 제어하는 형태형성인자(morphogens)의 논리를 먼저 이해해야 한다.

앞뒤 축을 따른 영역 정체성은 WNT, RA(레티노산), 그리고 FGF 신호의 농도 기울기로 결정된다. WNT 신호가 낮고 FGF 신호가 높은 환경은 신경관의 앞쪽, 즉 전뇌(telencephalon) 정체성을 유도한다. WNT 신호가 점차 높아지면 중뇌(mesencephalon)로, RA 농도가 높아지면 후뇌(rhombencephalon)와 척수 방향으로 세포가 결정된다. 따라서 피질 오가노이드를 만들려면 WNT 신호를 억제한 환경이 출발점이 되어야 한다. 등배 축은 BMP와 SHH가 맞서는 방식으로 제어된다. 등쪽에서 높은 BMP 신호는 등쪽 신경관 정체성, 즉 피질 흥분성 뉴런의 전구체인 등쪽 전뇌를 유도한다. 반대쪽에서 높은 SHH 신호는 배쪽 전뇌, 즉 억제성 인터뉴런의 요람인 신경절 용기(ganglionic eminence)를 유도한다. 대부분의 피질 오가노이드 프로토콜이 SHH 신호를 억제하거나 추가하지 않는 것은 이런 이유에서다. 외부의 SHH 없이 신경외배엽 세포들은 자연스럽게 등쪽, 즉 피질 방향으로 이동한다.

이 맥락에서 이중 SMAD 억제(dual SMAD inhibition)가 무엇인지, 그리고 왜 사용하는지가 분명해진다. SMAD는 BMP 신호와 TGF- β 신호를 세포 내로 전달하는 공통 매개 단백질이다. BMP 신호는 뼈 형성 단백질(bone morphogenetic protein)이라는 이름 그대로 중배엽과 외배엽 방향의 분화를 촉진하고 신경 정체성 획득을 억제한다. 쉽게 말해, SMAD는 “뇌가 되어라”는 신호 대신 “뼈나 근육이 되어라”는 신호를 전달하는 릴레이 선수다. 이 선수를 두 군데서 동시에 막아버리면(이중 SMAD 억제), 줄기세포는 기본값으로 신경 계통을 향해 간다. TGF- β 신호 역시 중배엽 분화를 유도하는 방향으로 작용한다. 따라서 줄기세포가 비신경 계보로 빠져나가는 것을 막으려면 이 두 신호를 동시에 차단해야 한다. 실험실에서는 SB431542(TGF- β 수용체 억제제, ALK4/5/7 차단)와 LDN193189(BMP 수용체 억제제, ALK2/3 차단)를 함께 사용하는 것이 표준 방법이다. 이 두 화합물을 동시에 처리하면 세포들이 중배엽이나 내배엽으로 빠지지 않고 앞쪽 신경외배엽, 즉 전뇌 방향으로 기본 경로(default pathway)를 따라 분화하게 된다. 이것이 이중 SMAD 억제가 모든

피질 오가노이드 프로토콜의 출발점이 되는 이유다. 이중 SMAD 억제를 적용하면 iPSC는 별도의 지시 없이도 FOXG1과 PAX6를 발현하는 전뇌 신경외배엽 세포로 전환되며, 이후 WNT 신호 억제를 더하면 이 세포들이 등쪽 피질 정체성을 강화하는 방향으로 나아간다.

이 이중 SMAD 억제 전략이 랭커스터 방식의 비유도 프로토콜과 결합할 때 어떤 일이 일어나는지를 이해하는 것이 중요하다. 랭커스터 프로토콜은 신경 유도 단계에서 최소한의 화학적 개입으로 배아체를 신경화시키는데, 이 단계에서 혈청 제거와 인슐린 배지 조건 자체가 BMP와 TGF- β 신호를 부분적으로 억제하는 효과를 낸다. 완전한 이중 SMAD 억제를 쓰는 유도 프로토콜(예: hCO 프로토콜)과 비교하면 신경화 효율이 낮고 재현성도 떨어지지만, 그 대신 세포들이 내재적 발달 논리를 따를 여지가 더 커진다. 재현성 대 자발성의 이 교환 관계(trade-off)는 비유도 프로토콜과 유도 프로토콜 사이의 가장 근본적인 차이이며, 연구자가 어떤 질문을 하느냐에 따라 어느 쪽이 적합한지가 달라진다.

Hendriks et al. (2023) 연구가 Cell에 발표한 인간 태아 뇌 오가노이드(fetal brain organoids, FeBOs) 연구는 이 분야에 전혀 다른 출발점을 도입했다. 랭커스터와 크노블리히가 iPSC를 출발 세포로 사용한 것과 달리, Hendriks et al. 연구팀은 임신 12~15주(gestational week 12-15, GW12-15)의 인간 태아 뇌 조직을 직접 사용했다. 1~2mm 크기의 태아 뇌 조직 절편을 EGF, FGF-2, FGF-10이 포함된 혈청 무첨가 배지에서 오비탈 셰이커(orbital shaker)로 배양하자, 조직 자체가 자발적으로 팽창하여 오가노이드를 형성했다. 이 방식은 매트릭셀 없이도 조직 자체가 ECM 환경을 만들어냈다는 점에서 주목할 만하다. ECM(세포외기질)이란 세포들이 기대어 사는 발판 같은 것으로, 젤처럼 세포 주변을 채우는 단백질 구조물이다. 오가노이드가 스스로 이 발판을 만들어냈다는 것은, 건물이 자기 기초를 직접 만들어내는 것처럼, 자가 조직화 능력의 주목할 만한 사례다. FeBOs는 95% 이상의 수립 효율로 만들어졌으며, 8개월 이상 지속적으로 확장 배양이 가능했고, 부피는 약 15,000배까지 증가했다. 기계적으로 절단하여 계대 배양하면 각 절편이 다시 완전한 오가노이드로 성장했다.

FeBOs는 iPSC 유래 오가노이드가 재현하기 어렵다고 알려진 특성들을 처음부터 갖추고 있었다. 배양 중인 FeBOs에서 HOPX, PTPRZ1, FAM107A, PTN을 발현하는 두터운 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG) 층이 확인되었다. 오가노이드의 주변부에는 SOX2 양성 신경 줄기세포들이, 안쪽에는 CTIP2 양성 심층 피질 뉴런과 SATB2 양성 상층 피질 뉴런들이 자리잡았다. 성장인자를 제거하고 0.5% 기저막 추출물(basement membrane extract)을 첨가하여 성숙화를 유도하면, SYN1, PSD-95, GRIN2A, GRIA1 같은 시냅스 유전자들이 상향 조절되고 층별 마커들의 발현이 분명해졌다. 조직 유래 FeBOs는 단순히 태아 뇌 세포를 배양에 적응시킨 것이 아니었다. 분비단백체(secretome) 분석에서 FeBOs의 ECM 구성이 iPSC 유래 오가노이드의 것보다 실제 태아 뇌 조직의 ECM에 훨씬 가까운 것으로 나타났다. 이것은 FeBOs가 뇌 조직 특이적인 세포의 환경을 스스로 조성하고 유지한다는 것을 뜻한다.

FeBOs의 지역 특이성도 보존되어 있었다. 등쪽 전뇌에서 얻은 FeBOs는 PAX6, EMX1, EMX2를 발현하며 피질 정체성을 유지했고, 배쪽 전뇌에서 얻은 FeBOs는 NKX2-1, DLX2, GSX2를 발현하며 신경절 용기 정체성을 유지했다. 이 등배 정체성은 8개월 이상의 장기 배양에서도 안정적으로 유지되었다. VoxHunt 알고리즘을 이용한 공간 유전체학적 분석은 각 FeBOs가 대뇌 앞이마엽(PFC), 일차 시각 피질(V1), 측두엽 영역의 정체성을 구분하여 유지한다는 것까지 확인했다. VoxHunt란 각 세포의 유전자 발현 패턴을 실제 뇌 지도와 비교하여 “이 세포는 전두엽의 어느 구역 세포와 가장 비슷한가”를 계산하는 컴퓨터 알고리즘이다. 조직 출처에 따라 오가노이드가 서로 다른 뇌 영역의 정체성을 유지한다는 것이 수치로 확인된 셈이다. Hendriks et al. 연구는 CRISPR 편집을 FeBOs에 적용하여 TP53, PTEN, CDKN2A, PDGFRA 유전자들을 조합적으로 결손시킴으로써 교모세포종(GBM)과 미만성 내인성 교종(DMG) 유사 종양을 만드는 데도 성공했다. FeBOs는 iPSC 유래 오가노이드와 경쟁하는 것이 아니라 보완하는 도구다. iPSC 오가노이드가 환자 특이적 변이 연구와 유전체 편집에 강점이 있다면, FeBOs는 이미 지역 정체성이 확립된 인간 태아 뇌의 세포 생물학을 더 충실하게 재현하는 데 강점이 있다. 두 접근의 공존은 이 분야의 도구 상자를 더 풍부하게 만든다.

더 오래, 더 다양하게

오가노이드를 몇 달씩 배양하면 어떤 일이 일어날까? 이 질문에 답한 것이 Giorgia Quadrato와 동료들의 2017년 Nature 논문이다. Quadrato는 Lancaster식 전뇌 오가노이드 프로토콜을 수정하여 초기 배아체의 크기를 줄이고(세포 2,500개 수준), 배양 후기에 뇌 유래 신경영양인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)를 추가함으로써 오가노이드가 9개월 이상 생존하도록 최적화했다. BDNF란 뇌 안에서 뉴런이 살아남고 성장하도록 돕는 단백질로, 뉴런의 비료 같은 역할을 한다고 생각하면 된다. 그리고 이렇게 장기 배양된 오가노이드를 Drop-seq 기반 단일 세포 전사체 분석으로 대규모로 프로파일링했다. 31개 오가노이드에서 82,291개의 단일 세포를 시퀀싱한 이 연구는, 뇌 오가노이드 분야에서 당시까지 가장 규모가 큰 단일 세포 분석이었다.

6개월 된 오가노이드가 보여준 세포 다양성은 상당했다(Quadrato et al. 2017). 6개월 된 오가노이드는 전뇌 피질 유사 세포와 뉴런들뿐 아니라, 성상세포 유사 세포(AQP4, GFAP 발현), 희소돌기세포 전구 유사 세포, 증식 중인 전구세포, 도파민성 뉴런 유사 세포(TH 발현), 그리고 광수용체 세포를 포함한 망막 유사 세포들(CRX, RCVRN 발현)까지 포함하는

10개의 주요 전사적 클러스터로 분류되었다. 성상세포는 뇌 안에서 뉴런을 지지하는 별 모양의 세포이고, 희소돌기세포는 뉴런의 축삭을 감싸서 신호 전달을 빠르게 해주는 세포다. 이 다양성은 미유도 프로토콜의 자가 조직화가 단순히 피질만을 만드는 것이 아니라, 신경발생에 잠재적으로 관여하는 다양한 신경 계보를 동시에 생산할 수 있다는 것을 보여주었다. 수개월 된 오가노이드에서 수상돌기 가지(dendritic spines)가 관찰되었고, 다전극 어레이(multielectrode array) 기록에서는 자발적 신경망 활동(spontaneous network activity)이 포착되었다. 무엇보다도 주목할 것은, 오가노이드 내의 망막 유사 세포들이 실제로 빛 자극에 반응하여 신경 활동을 조절할 수 있었다는 사실이었다. 빛이 없는 실험실 환경에서 만들어진 이 인공 조직이 빛을 '보는' 원시적 능력을 가지고 있었다.

그러나 Quadrato의 연구는 중요한 문제도 드러냈다. 일부 세포 클러스터는 오가노이드들 사이에서 재현성이 낮았다. 특히 어떤 클러스터는 53%의 오가노이드에만, 또 다른 클러스터는 32%의 오가노이드에만 나타났다. 재현성이 낮다는 말은, 같은 방법으로 만들어도 어떤 오가노이드에는 특정 세포 유형이 나타나고 다른 오가노이드에는 나타나지 않는다는 것이다. 이것은 과학적 도구로서는 큰 약점이다. 같은 레시피로 케이크를 구웠는데 매번 완전히 다른 케이크가 나온다면, 그 레시피를 믿을 수 없는 것과 같다. 과학 실험은 다른 연구실에서도 똑같이 재현되어야 의미가 있다. 게다가 같은 생물반응기 안에서 자란 오가노이드들이 서로 다른 생물반응기의 오가노이드들보다 훨씬 더 비슷했는데, 이는 세포 내재적 프로그램뿐 아니라 배양 환경의 물리화학적 조건이 오가노이드의 세포 구성에 상당한 영향을 미친다는 것을 의미했다. 재현성의 문제는 오가노이드가 정밀한 실험 도구로 사용되기 위해 반드시 해결해야 할 과제를 확실히 했다.

오가노이드, 구체, 어셈블로이드: 세 가지 접근법의 정리

Paşca (2018) 연구는 이 분야의 지형도를 정리했다 (Paşca 2018). 그는 세 가지 접근법의 차이를 개념적으로 정리했다. 첫째 유형은 정적 배양 접근법(organ-on-a-chip)으로, 신경세포를 미세유체 채널에 배양하여 물리적 환경을 정밀하게 제어하는 방식이다. 둘째는 랭커스터 방식의 비유도 오가노이드로, 자가 조직화를 통해 다양한 뇌 영역을 동시에 만들어내지만 재현성이 낮다. 셋째는 파슈카 자신이 개발에 기여한 유도(guided) 방식의 영역 특이적 구체(spheroids)로, 특정 형태형성인자(morphogens)를 써서 원하는 뇌 영역 정체성을 유도한다.

파슈카가 특히 주목한 것은 이 분야의 미래 방향이었다. 그는 단독의 오가노이드나 구체(spheroid)가 아니라, 서로 다른 영역을 가진 두 개 이상의 구체를 물리적으로 융합하는 어셈블로이드(assembly) 개념을 명료하게 제시했다. 어셈블로이드란 레고 블록으로 각 뇌 영역을 따로 만든 다음, 완성된 블록들을 서로 붙여서 실제 뇌처럼 연결된 회로를 만드는 것이라고 생각하면 된다. 각 구체는 특정 뇌 영역을 닮도록 유도되고, 융합 후에는 서로 다른 영역의 세포들이 축삭을 뻗고 시냅스를 형성하며 상호작용한다. 이것은 단순히 세포 유형을 만드는 수준을 넘어, 인간 뇌의 회로(circuits)를 재구성하려는 시도였다. 당시 Birey et al. 연구에서 이미 전뇌-선조체 어셈블로이드를 통해 억제성 인터뉴런의 이주를 재현한 연구가 있었고, 파슈카는 이 어셈블로이드 개념이 뇌 오가노이드 기술의 다음 단계로 부상하고 있음을 기술했다. 이 예측은 불과 몇 년 안에 여러 연구실에서 실현되었는데, 그것은 다음 장의 이야기다.

한계들, 그리고 새로운 가능성

Lancaster와 Knoblich의 2013년 논문이 가져온 변화는 기술적인 것이었지만, 그 철학적 함의는 더 깊다. 세포가 스스로 조직화 능력을 가지고 있다는 것, 그리고 그 조직화가 발달 중인 뇌를 닮은 구조를 만들어낸다는 것은, 뇌 발달의 근본적인 논리가 외부의 정밀한 지시 없이 세포들의 내재적 프로그램에 상당 부분 저장되어 있다는 것을 뜻한다. 마치 씨앗 안에 나무가 될 정보가 이미 들어있는 것처럼, 세포 안에도 뇌가 될 정보가 이미 저장되어 있다는 것이다. 물론 이 오가노이드들은 실제 뇌가 아니다. 혈관이 없어서 크기와 성숙도에 한계가 있고, 면역 세포인 미세아교세포(microglia)가 없으며, 뇌 발달에 중요한 역할을 하는 수초화(myelination)는 일어나지 않는다. 영역의 배치는 실제 뇌의 정밀한 공간 조직화와는 거리가 멀고, 인접한 오가노이드 사이에서도 세포 구성의 차이가 상당하다. 오가노이드를 수개월 배양해도 세포들은 대체로 태아 중기에 해당하는 발달 상태에서 머무는 경향이 있으며, 성인 뇌의 특성을 갖춘 성숙한 뉴런을 얻는 것은 아직도 어렵다.

그러나 이 모든 한계가 2013년에 처음으로 가능해진 것들의 가치를 줄이지는 않는다. 살아있는 인간 뇌 조직을 실험실에서 키울 수 있다는 것, 그 조직이 발달의 핵심 특징들을 재현한다는 것, 그리고 그 조직으로 인간에게만 있는 세포와 구조를 연구하고 유전자를 교란하고 발달의 동적 과정을 관찰할 수 있다는 것. 이 모든 것이 2013년에 처음으로 가능해졌다. 이후의 과학은 이 가능성을 다듬고 확장하고 검증하는 과정이었다. 그리고 그 과정에서 뇌 오가노이드는 영역 특이적 모델로, 여러 영역을 연결하는 어셈블로이드로, 그리고 인간 뇌 발달의 정밀한 분자적 지도를 만들기 위한 통합적 플랫폼으로 진화해 나갔다.

Lancaster, M.A., Renner, M., Martin, C.A., Wenzel, D., Bicknell, L.S., Hurles, M.E., Homfray, T., Penninger, J.M., Jackson, A.P., & Knoblich, J.A. (2013). Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 501(7467), 373–379. doi:10.1038/nature12517

Lancaster, M.A., & Knoblich, J.A. (2014). Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells. *Nature Protocols*, 9(10), 2329–2340. doi:10.1038/nprot.2014.158

Camp, J.G., Badsha, F., Florio, M., Kanton, S., Gerber, T., Wilsch-Bräuninger, M., Lewitus, E., Sykes, A., Hevers, W., Lancaster, M., Knoblich, J.A., Lachmann, R., Pääbo, S., Huttner, W.B., & Treutlein, B. (2015). Human cerebral organoids recapitulate gene expression programs of fetal neocortex development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(51), 15672–15677. doi:10.1073/pnas.1520760112

Quadrato, G., Nguyen, T., Macosko, E.Z., Sherwood, J.L., Min Yang, S., Berger, D.R., Maria, N., Scholvin, J., Goldman, M., Kinney, J.P., Boyden, E.S., Lichtman, J.W., Williams, Z.M., McCarroll, S.A., & Arlotta, P. (2017). Cell diversity and network dynamics in photosensitive human brain organoids. *Nature*, 545(7652), 48–53. doi:10.1038/nature22047

Paşca, S.P. (2018). The rise of three-dimensional human brain cultures. *Nature*, 553(7689), 437–445. doi:10.1038/nature25032

주요 용어 안내

오가노이드(organoid): 인간 줄기세포를 실험실에서 3차원으로 배양하여 실제 장기와 유사한 구조를 만들어낸 조직. 뇌 오가노이드는 태아 뇌의 초기 발달 과정을 모방하여 뉴런과 전구세포를 자발적으로 형성한다.

유도만능줄기세포(iPSC, induced pluripotent stem cell): 피부 세포나 혈액 세포에 야마나카 인자(OCT4, SOX2, KLF4, MYC)를 도입하여 다시 줄기세포로 되돌린 세포. 환자 본인의 세포에서 만들 수 있어 질환 모델링에 쓰인다.

마트리젤(Matrigel): 세포 배양에 사용되는 젤 형태의 세포외기질. 세포가 3차원으로 자랄 수 있는 발판을 제공하며, 초기 뇌 오가노이드 프로토콜에서 핵심 재료였다.

자가 조직화(self-organization): 외부 지시 없이 세포들이 스스로 구조를 형성하는 현상. 뇌 오가노이드에서 뇌실대와 피질판 유사 구조가 자발적으로 만들어지는 것이 대표적 사례다.

Chapter 26. 영역 특이적 오가노이드와 어셈블로이드

앞 장에서 살펴본 랭커스터와 크노블리히의 비유도 오가노이드는 높은 수준의 자가 조직화 능력을 보여주었지만, 근본적인 문제를 안고 있었다. 세포가 어떤 뇌 영역의 정체성을 택할지가 예측 불가능하다는 것이다. 한 오가노이드 안에서 대뇌 피질을 닮은 부분, 맥락층을 닮은 부분, 심지어 망막을 닮은 부분이 뒤섞여 나타날 수 있었다. 이것은 발달 생물학의 원리를 보여주는 우아한 증거이지만, 연구 도구로서는 심각한 약점이었다. 만약 연구자의 질문이 대뇌 피질의 특정 세포 유형에 집중되어 있다면, 오가노이드 안에서 피질이 아닌 세포들이 차지하는 비율은 순수한 잡음이 된다. 같은 프로토콜로 만든 오가노이드라도 배치마다 영역 구성이 달라지니, 실험 간 재현성도 낮아진다. 비유도 오가노이드가 보여준 자연의 창의성은 인상적이었지만, 과학자들에게는 통제 가능한 시스템이 필요했다.

그 해법은 발달 생물학 자체에 이미 들어 있었다. 실제 배아 발달에서 뇌의 각 영역은 형태형성인자(morphogen)라는 신호 분자의 조합에 의해 정체성이 결정된다. 형태형성인자란 세포가 어떤 운명을 선택할지를 알려주는 화학 신호인데, 그 종류와 농도에 따라 세포는 전뇌가 될 수도, 중뇌가 될 수도, 후뇌가 될 수도 있다. 이 원리를 오가노이드에 적용하면, 줄기세포에 특정 형태형성인자를 특정 시점에 처리하여 원하는 뇌 영역의 정체성을 유도할 수 있다. 이것이 유도(guided) 프로토콜의 핵심 논리다. 비유도 프로토콜이 세포에게 알아서 자리를 찾으라고 한 것이라면, 유도 프로토콜은 세포에게 구체적인 주소를 알려주는 것이다.

유도 프로토콜과 영역 특이적 오가노이드

유도 프로토콜의 구체적인 작동 방식을 이해하려면, 배아 발달에서 뇌 영역의 정체성이 어떻게 결정되는지를 먼저 떠올려야 한다. 발달 중인 신경관(neural tube)에서 전뇌-후뇌 축은 FGF, Wnt, 레티노산(retinoic acid) 신호의 상대적 농도에 의해 결정된다. FGF 신호가 강하면 전뇌 쪽으로, Wnt 신호가 강하면 후뇌 쪽으로 정체성이 기운다. 등쪽-배쪽 축은 BMP와 Sonic hedgehog(Shh) 신호의 길항 작용으로 결정된다. BMP가 우세하면 등쪽(dorsal) 정체성이, Shh가 우세하면 배쪽(ventral) 정체성이 유도된다. 이 두 축의 교차점이 뇌의 각 영역을 정의한다. 오가노이드에서도 같은 논리가 적용된다. 줄기세포에 처리하는 형태형성인자의 종류와 농도를 조절함으로써, 연구자는 원하는 뇌 영역의 좌표를 세포에게 입력할 수 있다.

이 원리에 기반하여 여러 연구실에서 다양한 영역 특이적 오가노이드를 개발했다. 형태형성인자의 종류를 바꾸는 것이 세포에게 다른 “명함”을 주는 것과 같다고 생각하면 된다. BMP7을 주면 세포는 “나는 시상 세포입니다”라는 명함을 받고, Shh를 주면 “나는 선조체 세포입니다”라는 명함을 받는다. 스탠퍼드 대학교의 세르주 파슈카(Sergiu Pasca) 연구실은 인간 피질 구체(human cortical spheroid, hCO)를 만들었는데, 이것은 최소한의 형태형성인자로 등쪽 전뇌 정체성을 유도하여 피질 흥분성 뉴런과 성상세포를 균질하게 생산하는 시스템이었다. 같은 연구실에서 Activin A와 IWP-2를 사용하여 배쪽 전뇌, 특히 외측 신경절 융기(lateral ganglionic eminence) 정체성을 유도한 인간 선조체 구체(human striatal spheroid, hStrS)도 개발했다. BMP7과 MEK 억제제를 사용하면 시상(thalamus) 정체성을 가진 시상 오가노이드(human diencephalic organoid, hDiO)를 만들 수 있었고, NGN2와 신경영양 인자를 사용하면 감각 신경절(sensory ganglion)을 모방한 감각 오가노이드(human sensory organoid, hSeO)를 얻을 수 있었다. 각 오가노이드는 해당 뇌 영역의 마커 유전자를 발현하여 정체성이 확인되었다. hCO는 FOXG1과 PAX6, hDiO는 OTX2와 GBX2, hStrS는 DLX5와 DARPP32를 발현했다.

유도 프로토콜의 장점은 분명했다. 재현성이 비유도 프로토콜보다 훨씬 높았고, 원하는 세포 유형의 순도가 높아 데이터 해석이 수월했다. 그러나 대가도 있었다. 형태형성인자의 처리가 세포의 자연스러운 다양화를 제한하기 때문에, 유도 오가노이드는 비유도 오가노이드에 비해 세포 유형의 다양성이 낮은 경향이 있었다. 그리고 더 근본적인 한계가 있었다. 실제 뇌에서 각 영역은 혼자 존재하지 않는다. 대뇌 피질은 시상으로부터 감각 정보를 받고, 선조체로 운동 명령을 보내며, 반대쪽 반구의 피질과 뇌량(corpus callosum)을 통해 끊임없이 소통한다. 하나의 영역만 담은 오가노이드는 세포의 정체성은 재현할 수 있어도, 영역 간 연결과 회로의 형성은 재현할 수 없었다. 이 한계를 넘어서기 위한 아이디어가 어셈블로이드(assembly)다.

어셈블로이드: 영역을 연결하다

어셈블로이드의 개념은 단순하면서도 우아하다. 서로 다른 뇌 영역을 모방한 오가노이드들을 각각 따로 만든 다음, 두 개 이상을 물리적으로 붙여놓으면 경계에서 융합이 일어나고, 한쪽 오가노이드의 뉴런들이 다른 쪽으로 축삭을 뻗어 시냅스를 형성한다. 마치 레고 블록으로 각 뇌 영역을 따로 만든 다음, 완성된 블록들을 서로 연결하는 것이다. 각 블록의 정체성은 유도 프로토콜로 보장하되, 블록 사이의 연결은 뉴런의 내재적 프로그램이 알아서 만들어낸다. 파슈카는 2018년 Science 리뷰에서 이 어셈블로이드 개념을 체계적으로 제시하면서, 단순한 세포 유형의 재현을 넘어 인간 뇌의 회로를 시험관 안에서 재구성하려는 새로운 방향을 제안했다.

2019년, Xiang et al.은 시상-피질 어셈블로이드를 통해 이 개념을 처음으로 실현했다. 연구진은 인간 배아줄기세포에서 시상 오가노이드(hThO)를 분화시킨 뒤, 피질 오가노이드와 물리적으로 붙여놓았다. 몇 주가 지나자 피질 뉴런의 축삭이 시상 쪽으로, 시상 뉴런의 축삭이 피질 쪽으로 자라 들어갔다. 실제 뇌에서 시상은 감각 정보를 피질로 중계하고, 피질은 시상으로 되먹임 신호를 보낸다. 이 쌍방향 투사(reciprocal projection)가 시험관 속에서 재현된 것이다. 시상 오가노이드의 뉴런들은 VGLUT2를 발현하는 글루타민산성(glutamatergic) 세포였는데, 이것은 실제 시상 뉴런이 주로 흥분성이라는 해부학적 사실과 일치했다. 누구도 이 뉴런들에게 어디로 축삭을 뻗으라고 지시하지 않았다. 세포들은 자신의 유전적 프로그램에 따라 적절한 표적을 찾아갔다.

피질-선조체 회로의 재현

2020년, Miura et al.은 한 걸음 더 나아가 피질-선조체 어셈블로이드를 만들었다. 선조체는 대뇌 기저핵의 핵심 구조로, 피질로부터 입력을 받아 운동의 개시와 억제를 조절한다. 연구진은 Activin A와 IWP-2를 사용하여 외측 신경절 융기 정체성을 가진 선조체 구체(hStrS)를 분화시켰고, 80~90일 후에 DARPP32 양성 중형 가시 뉴런(medium spiny neuron)이 나타나는 것을 확인했다. 중형 가시 뉴런은 선조체를 구성하는 주된 뉴런 유형으로, 피질로부터 오는 흥분성 신호를 받아 억제성 출력으로 변환하는 세포다.

피질 구체와 선조체 구체를 융합한 어셈블로이드에서, 피질 뉴런의 축삭이 선조체 쪽으로 자라 들어가는 것이 관찰되었다. 흥미롭게도 반대 방향, 즉 선조체에서 피질로의 역방향 투사는 거의 없었다. 이것은 실제 뇌의 회로도도 정확히 일치한다. 피질에서 선조체로의 투사는 뇌의 가장 강력한 하향 경로 중 하나이지만, 선조체에서 피질로의 직접적인 역방향 투사는 존재하지 않는다. 오가노이드의 뉴런들이 이 비대칭적 연결 패턴을 자발적으로 재현했다는 것은, 축삭 유도(axon guidance) 프로그램이 시험관 속에서도 작동한다는 것을 의미한다. 여기서 “축삭 유도(axon guidance)”란 뉴런의 긴 팔(축삭)이 목표 세포를 찾아가는 과정인데, 마치 GPS 없이도 냄새를 따라 집을 찾아오는 개처럼, 뉴런은 화학 신호를 감지하여 정확한 연결 파트너를 찾아간다. 연구진은 광유전학(optogenetics)을 사용하여 피질 뉴런을 빛으로 자극했을 때 선조체 뉴런에서 칼슘 신호가 나타나는 것을 확인하여, 이 연결이 단순히 물리적인 것이 아니라 기능적인 시냅스를 포함한다는 것을 증명했다. 나아가 22q13.3 결실 증후군(Phelan-McDermid syndrome) 환자의 세포로 어셈블로이드를 만들었을 때, 정상 세포와 다른 칼슘 활동 패턴이 관찰되어 이 시스템이 신경발달 질환의 회로 수준 결함을 포착할 수 있다는 것이 보였다.

네 영역을 잇는 감각 경로 어셈블로이드

어셈블로이드 기술이 도달한 가장 야심 찬 단계는 Kim et al. (2025)의 인간 상행 체감각 경로 어셈블로이드(human ascending somatosensory assembloid, hASA)다. 이 연구진은 두 개가 아닌 네 개의 서로 다른 오가노이드를 연결하여, 실제 감각 신호가 몸에서 뇌까지 전달되는 전체 경로를 시험관 속에서 재현하려 했다. 감각 신경절 오가노이드(hSeO), 배측 척수 오가노이드(hdSpO), 시상 오가노이드(hDiO), 그리고 피질 오가노이드(hCO)가 순서대로 연결된 이 구조는, 손가락 끝의 통증 수용체에서 시작하여 척수, 시상을 거쳐 대뇌 피질에 도달하는 실제 감각 경로를 모방한 것이다.

이 네 부분 어셈블로이드에서 가장 인상적이었던 결과는 신호의 순차적 전달이었다. 감각 오가노이드에 캡사이신(capsaicin, 고추의 매운맛 성분으로 TRPV1 수용체를 활성화하는 물질)을 처리하면 감각 뉴런이 반응하고, 그 신호가 척수 오가노이드로, 다시 시상 오가노이드로, 최종적으로 피질 오가노이드로 전파되었다. 네 영역을 관통하는 다시냅스 경로(polysynaptic pathway)가 시험관 속에서 형성되어 작동하고 있었다. 또한 감각 오가노이드의 뉴런들은 마우스 감각 뉴런과는 다른 약리학적 반응을 보였는데, 특히 P2X 수용체 길항제인 TNP-ATP에 대한 저항성이 마우스와 달랐다. 이것은 인간 특이적인 약리학적 특성이 이 어셈블로이드에서 재현된다는 것을 의미하며, 마우스 모델로는 예측할 수 없는 인간 감각 생리학을 연구할 수 있는 가능성을 열었다.

이 어셈블로이드의 질환 모델링 잠재력은 SCN9A 유전자를 통해 검증되었다. SCN9A는 나트륨 채널 NaV1.7을 코딩하는 유전자로, 통증 신호 전달에 필수적이다. 이 유전자의 기능 상실 유전 변이를 가진 사람은 통증을 느끼지 못하고, 기능 획득 유전 변이를 가진 사람은 극단적인 통증을 경험한다. NaV1.7을 통증 회로의 음량 조절 버튼으로 생각하면 된다. 기능 상실 변이는 버튼이 0에 고정된 것이고, 기능 획득 변이는 최대 볼륨에 고정된 것이다. 실제로 SCN9A 기능 상실 변이를 가진 사람은 불에 데거나 골절이 생겨도 통증을 느끼지 못해 더 위험할 수 있다. 연구진이 CRISPR로 SCN9A를 제거한 어셈블로이드에서는 감각 반응이 감소하고 회로 전체의 동기화가 손상되었다. 반대로 기능 획득 유전 변이(T1464I)를 도입한 어셈블로이드에서는 감각 흥분성이 증가하고 회로가 과동기화(hypersynchrony)되었다. 유전자 수준의 변화가 회로 수준의 기능 변화로 이어지는 과정을 인간 세포로 직접 관찰할 수 있게 된 것이다.

어셈블로이드가 보여준 원리와 남은 한계

시상-피질, 피질-선조체, 감각-척수-시상-피질이라는 세 가지 어셈블로이드 시스템이 공통적으로 보여준 원리가 있다. 첫째, 뉴런의 축삭은 무작위로 뻗는 것이 아니라 적절한 표적을 선택적으로 찾아간다. 피질 뉴런은 선조체로 축삭을 보내지만 역방향은 형성되지 않고, 시상 뉴런은 피질로 투사하되 소뇌로는 투사하지 않는다. 축삭 유도의 분자적 프로그램이 시험관 속에서도 충실하게 작동한다는 것이다. 둘째, 형성된 연결은 단순히 물리적인 것이 아니라 기능적 시냅스를 포함한다. 한쪽 영역을 자극하면 다른 쪽 영역에서 반응이 나타난다. 셋째, 인간 세포의 고유한 특성이 보존된다. 감각 오가노이드의 약리학적 반응은 마우스와 달랐고, 인간 특이적 유전 변이의 효과를 인간 회로 맥락에서 관찰할 수 있었다.

그러나 이 모든 성과에도 불구하고 어셈블로이드의 한계는 분명히 존재한다. 가장 근본적인 문제는 성숙도다. 대부분의 어셈블로이드 뉴런은 수개월을 배양하더라도 태아 중기에 해당하는 발달 상태에 머물러 있으며, 이것은 마치 열심히 키웠더니 어른이 되지 않고 계속 아이 단계에 머무는 것과 비슷하다. 실제 뇌는 20여 년에 걸쳐 성숙하는데, 시험관 속 오가노이드에는 그만큼의 환경적 자극과 시간이 주어지지 않는다. 성인 뇌의 성숙한 뉴런이 보이는 전기적 특성과 시냅스 밀도에는 도달하지 못한다. 공간 구조도 실제 뇌와는 거리가 있다. 실제 피질은 여섯 개의 정밀한 층으로 조직되어 있지만, 피질 오가노이드에서 이 층화가 완벽하게 재현되지는 않는다. 혈관이 없다는 것은 오가노이드 일반의 한계이고, 면역 세포인 미세아교세포가 부재한다는 것도 뇌 환경의 완전한 재현을 제한한다. 그리고 회로 형성에 수주에서 수개월이

걸린다는 시간적 제약은 대규모 스크리닝 연구에의 적용을 어렵게 한다. 이 한계들은 기술의 미래를 제한하는 것이 아니라, 다음 세대의 연구가 풀어야 할 과제를 정의한다. 다음 장에서 우리는 이 오가노이드들이 실제 인간 뇌를 얼마나 잘 재현하는지를 검증하는 문제에 직면한다.

References

- Paşca, S. P. (2018). The rise of three-dimensional human brain cultures. *Nature*, 553(7689), 437–445. doi:10.1038/nature25032
- Xiang, Y., Tanaka, Y., Cakir, B., Patterson, B., Kim, K. Y., Sun, P., ... & Park, I. H. (2019). hESC-derived thalamic organoids form reciprocal projections when fused with cortical organoids. *Cell Stem Cell*, 24(3), 487–497. doi:10.1016/j.stem.2018.12.015
- Miura, Y., Li, M. Y., Birey, F., Ikeda, K., Revah, O., Thete, M. V., ... & Paşca, S. P. (2020). Generation of human striatal organoids and cortico-striatal assembloids from human pluripotent stem cells. *Nature Biotechnology*, 38(12), 1421–1430. doi:10.1038/s41587-020-00763-w
- Kim, J. I., Miura, Y., Li, M. Y., Revah, O., Selvaraj, S., Birey, F., ... & Paşca, S. P. (2025). Human assembloids reveal the consequences of SCN9A variants in the somatosensory circuit. *Nature* (in press).

주요 용어 안내

어셈블로이드(assembloid): 서로 다른 뇌 영역을 모방하는 오가노이드들을 물리적으로 융합시켜, 영역 간 신경 회로를 재현한 3차원 모델. 피질-선조체, 피질-시상 어셈블로이드 등이 만들어졌다.

영역 특이적 오가노이드(region-specific organoid): 특정 뇌 영역의 세포 유형만 선택적으로 만들어지도록 배양 조건을 조절한 오가노이드. SHH, WNT, BMP 같은 신호 분자의 농도를 조절하여 피질, 시상, 선조체 등을 모방한다.

신경 이동(neuronal migration): 어셈블로이드에서 한 오가노이드에서 다른 오가노이드로 뉴런이 이동하는 현상. 실제 뇌 발달에서 억제성 뉴런이 신경절 용기에서 피질로 이동하는 과정을 재현한다.

Chapter 27. 오가노이드의 검증과 한계

과학에서 가장 불편한 순간은 자신이 애지중지 키운 모델이 틀렸거나 불완전하다는 것을 깨달을 때다. 뇌 오가노이드(organoid) 연구자들은 2020년에 그 불편한 순간을 맞이했다. 오가노이드가 뇌를 닮는다는 것은 이제 누구나 알았다. 뇌실 유사 구조, 방사 글리아, 이주하는 뉴런들. 단일 세포 데이터에서도 태아 피질의 유전자 발현 프로그램과 높은 유사성이 확인되었다. 하지만 Camp et al.의 2015년 논문이 이미 살짝 내비쳤던 불안한 신호, 즉 오가노이드의 세포들이 배양 환경에 반응하여 비정상적인 유전자들을 켜는 것, 그 신호가 단순한 잡음이 아닐 수 있다는 의심이 점점 커지고 있었다. 그리고 아파르나 바두리(Aparna Bhaduri)를 포함한 여러 연구자들이 체계적인 검증에 나섰을 때, 그 의심은 확신으로 바뀌었다.

오가노이드가 인간 뇌 발달의 모델이라고 주장한다면, 그 주장은 증명되어야 한다. 단순히 PAX6 양성 세포와 TBR1 양성 세포가 있다는 것만으로는 충분하지 않다. 면역형광 마커 몇 개가 올바른 세포 유형의 존재를 증명한다고 생각하는 것은 원하는 결과를 먼저 정해놓고 그 결과를 확인해줄 증거만 찾는 확증 편향(confirmation bias)의 함정이다. 쉽게 말해, 오가노이드가 뇌처럼 생겼다는 이유만으로 그것이 진짜 뇌 발달을 재현한다고 믿으면, 우리는 보고 싶은 것만 보게 된다는 뜻이다. 고흐 그림의 완벽한 복제품이 있다고 해서 그게 진짜 고흐가 아닌 것처럼, 외형적 유사성은 기능적 동일성을 보장하지 않는다. 뇌 오가노이드 연구에서 가장 위험한 함정이 바로 이것이다. 진정한 검증은 오가노이드와 실제 태아 뇌를 가능한 한 많은 분자적 차원에서 비교하는 것이다. 전사체 수준에서, 단일 세포 수준에서, 그리고 세포 유형의 완전한 스펙트럼을 아울러서. 이 엄격한 기준을 적용했을 때 어떤 일이 일어나는지, Bhaduri et al.의 2020년 *Nature* 논문이 분명하게 보여주었다.

Bhaduri et al. 2020: 스트레스가 분화를 방해한다

Bhaduri et al. (2020) 연구는 이 질문에 답하기 위해 두 가지 대규모 데이터셋을 구축했다. 첫째는 임신 6주에서 22주에 걸친 다섯 명의 태아에서 얻은 인간 피질 단일 세포 RNA 시퀀싱(scRNA-seq) 데이터로, 총 189,409개의 세포를 포함했다. 전두엽, 두정엽, 체감각, 시각 피질 등 여러 피질 영역과 해마까지 포함한 이 데이터셋은 발달 중인 인간 피질의 포괄적인 참조 데이터(reference dataset)가 되었다. 참조 데이터란 나침반의 북쪽처럼, 비교의 기준이 되는 데이터다. 이것이 있어야 오가노이드가 얼마나 실제 뇌를 닮았는지 객관적으로 비교할 수 있다. 둘째는 세 가지 서로 다른 유도 프로토콜을 사용하여 만든 37개 피질 오가노이드에서 얻은 235,121개 세포의 전사체 데이터였다. 여기에 더해 기존에 발표된 오가노이드 데이터셋 여덟 개, 총 276,054개 세포의 전사체도 비교 분석에 포함했다. 이것은 단순한 논문 하나가 아니라, 하나의 종합적인 평가 체계였다.

결과의 첫 번째 레이어는 안심이 되었다. 오가노이드는 방사 글리아(radial glia), 중간 전구세포(intermediate progenitor cells), 흥분성 뉴런, 억제성 인터뉴런 등 뇌의 주요 세포 유형들을 만들어냈다. 넓은 의미에서의 세포 클래스 수준에서 오가노이드와 태아 피질의 유사성은 분명했다. 문제는 이 첫 번째 레이어 아래에 있었다. Bhaduri et al. 연구는 유사성을 클래스, 증식 상태, 유형, 아유형(subtype)의 네 단계로 체계적으로 분해했다. 클래스란 '뉴런'이나 '글리아 세포'나 하는 가장 큰 구분이고, 아유형은 같은 종류의 뉴런 안에서 더 세밀한 특성으로 나누는 것이다. 예를 들어 '흥분성 뉴런'이라는 클래스 안에서 피질의 어떤 층에 있는 뉴런이냐에 따라 수십 가지 아유형이 있다. 클래스 수준에서는 상당한 유사성이 있었지만, 아유형 수준으로 갈수록 오가노이드와 태아 피질의 일치도는 급격히 떨어졌다. 오가노이드의 클러스터들은 태아 피질의 특정 아유형에 깔끔하게 대응되지 않고, 여러 인비보(in vivo) 상태를 한꺼번에 어중간하게 닮은, 경계가 흐릿한 세포 상태들을 만들어냈다.

구체적인 숫자들이 그 심각성을 말해준다. 오가노이드에서는 HOPX 양성 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG)가 태아 피질에 비해 45% 적게 발견되었다. EOMES(TBR2) 양성 중간 전구세포는 63% 적었다. 그리고 가장 충격적인 것은 SATB2 양성 상층 피질 뉴런(upper-layer cortical neurons)이 무려 94%나 적다는 것이었다. 태아 피질 발달의 가장 인간 특이적인 특징 중 하나인 상층 피질의 과도한 확장, 즉 연합 영역을 담당하는 상층 뉴런들의 풍부함이 오가노이드에서는 재현되지 않았다. 상층 피질 뉴런들은 언어, 추상적 사고, 사회적 인지와 같이 인간에게 특히 발달된 기능들을 담당하는 것으로 알려져 있는데, 이것이 오가노이드에서 거의 만들어지지 않는다는 것은 오가노이드 모델의 심각한 한계를 드러냈다. 게다가 발달 초기의 깊은 층(deep layer) 피질 마커가 후기에도 계속 발현되고, 시간이 지남에 따라 마땅히 나타나야 할 상층 피질 뉴런 마커가 나타나지 않는 등, 오가노이드의 발달 타이밍이 틀어져 있었다.

왜 이런 일이 생기는 것일까? Bhaduri et al. 연구가 찾아낸 주요 원인은 이소성 세포 스트레스(ectopic cellular stress)였다. 이소성이란 원래 있어야 할 자리가 아닌 곳에서 나타난다는 뜻으로, 이소성 세포 스트레스는 오가노이드 세포들이 정상적인 뇌 안에서라면 받지 않을 스트레스를 받고 있다는 것이다. 물에서만 사는 물고기를 어항에 넣으면 살 수는 있지만, 강물 속에서는와 완전히 같은 상태일 수는 없는 것과 비슷하다. 오가노이드 세포들은 혈관도, 면역 세포도, 올바른 기계적 환경도 없는 상태에서 자라고 있다. 오가노이드 세포들은 해당과정(glycolysis) 관련 유전자들과 소포체 스트레스(endoplasmic reticulum stress) 관련 유전자들을 태아 피질 세포보다 훨씬 높게 발현하고 있었다. 해당과정은 산소가 부족할 때 세포가 에너지를 만드는 긴급 방식으로, 오가노이드 안쪽에는 혈관이 없어 산소가 충분히 공급되지 않기 때문에 이런 반응이 나타난다. 이 스트레스 반응 유전자들의 활성화는 정상적인 분화 프로그램을 방해하는 것으로 보였다. 오가노이드 세포들을 마우스 피질 조직에 이식(transplantation)했을 때, 이 스트레스 유전자들의 발현이 줄어들고 피질 아유형 특이화(subtype specification)가 개선되었다는 실험 결과는 그 인과 관계를 직접 지지했다. 문제는 세포 자체가 아니라, 세포가 놓인 환경이었다. 혈관이 없고, 면역 세포가 없고, 적절한 기계적 신호가 없는 오가노이드 배양 환경이 세포들을 만성적인 스트레스 상태로 밀어넣고 있었던 것이다. 아무리 유전자 프로그램이 제대로 작동하려 해도, 환경이 그것을 방해하면 완전한 분화가 이루어질 수 없다.

He et al. 2024: 인간 신경 오가노이드 세포 아틀라스

Bhaduri et al.의 경고는 뇌 오가노이드 연구자들에게 중요한 질문을 던졌다. 어떤 오가노이드 프로토콜이 얼마나 충실하게 인간 뇌의 어떤 영역을 재현하는가? 한 연구실이 자신의 오가노이드가 태아 피질을 잘 닮았다고 주장하면, 다른 연구실이 만든 다른 프로토콜의 오가노이드와 어떻게 비교되는가? 이 질문에 체계적으로 답하려면, 단일 연구실의 단일 프로토콜을 넘어서는 무언가가 필요했다. 수십 개의 서로 다른 프로토콜과 수십 개의 서로 다른 데이터셋을 하나의 통합된 참조 체계로 만들어내는 것. 그것이 2024년 Nature에 발표된 인간 신경 오가노이드 세포 아틀라스(Human Neural Organoid Cell Atlas, HNOCA)의 출발점이었다.

HNOCA의 규모는 이 분야의 야심을 보여준다. 34개의 기발표 데이터셋과 2개의 미발표 데이터셋을 포함하여 총 36개 데이터셋을 통합했다. 26개의 서로 다른 분화 프로토콜, 배양 7일부터 450일까지의 시간 범위. 최종적으로 통합된

세포의 수는 177만 개에 달했다. 177만 개의 개별 세포 각각에서 유전자 발현을 측정했다는 것은, 이것이 얼마나 방대한 작업인지를 보여준다. 아틀라스(atlas)란 지도 모음집을 뜻하는데, 이 HNOCA는 오가노이드 연구의 지도책 같은 것으로, 어떤 오가노이드 프로토콜이 어떤 세포를 얼마나 잘 만드는지를 한눈에 비교할 수 있게 해준다. 데이터의 규모만으로도 이전의 어떤 노력도 압도하지만, 진정한 도전은 이렇게 다양한 실험실, 다양한 프로토콜, 다양한 줄기세포주에서 나온 데이터들을 의미 있게 통합하는 것이었다. 각 실험실은 서로 다른 세포 분리 방법, 다른 시퀀싱 플랫폼, 다른 데이터 처리 파이프라인을 썼다. 이 모든 기술적 차이에서 오는 배치 효과(batch effects)를 제거하면서 진짜 생물학적 신호를 보존하는 것이 통합 분석의 핵심 과제였다.

He et al. 연구의 통합 파이프라인은 세 단계로 구성된다. 첫째, 오가노이드 세포들을 기존에 구축된 발달 중인 인간 뇌 참조 데이터와 비교하여 각 세포의 뇌 영역 근사값을 추정하는 참조 유사성 스펙트럼(reference similarity spectrum) 방법으로 초기 주석을 달았다. 둘째, snapseed라는 계층적 마커 기반 자동 주석 방법으로 세포 유형을 예비적으로 분류했다. 셋째, scPoli라는 레이블 인식(label-aware) 통합 모델을 사용하여 배치 효과를 보정하면서 여러 데이터셋을 하나의 잠재 공간(latent space)에 통합했다. 잠재 공간이란 서로 다른 실험실의 데이터를 같은 좌표계 안에 놓아서 직접 비교할 수 있게 해주는 수학적 공간이다. 이 파이프라인의 각 단계는 다양한 방법들을 벤치마킹하여 가장 잘 작동하는 것을 선택한 결과였다. 잠재 공간(latent space)이란 수학적 좌표계인데, 서로 다른 실험실에서 만들어진 세포 데이터를 마치 같은 지도 위에 올려놓는 것처럼 정렬하는 기법이다. 이렇게 하면 “이 오가노이드 세포는 실제 태아 뇌의 이 세포와 얼마나 비슷한가”를 숫자로 비교할 수 있게 된다.

HNOCA가 드러낸 전경은 어떤 모습이었을까? 오가노이드 세포들은 크게 등쪽 전뇌(dorsal telencephalon), 배쪽 전뇌(ventral telencephalon), 비전뇌(non-telencephalic) 신경, 그리고 신경교 계보로 나뉘는 주요 궤적들을 따라 배열되었다. 발달 시간을 고려한 유사 시간(pseudotime) 분석은 예상대로 SOX2 양성 전구세포 → BCL11B 양성 깊은 층 피질 뉴런 → SATB2 양성 상층 피질 뉴런으로 이어지는 피질 발달의 순서를 재현했다. 이것은 안심되는 결과다. 하지만 아틀라스가 드러낸 또 다른 사실은 덜 안심된다. 오가노이드 세포들은 대체로 임신 1~2분기에 해당하는 태아 뇌 세포 상태와 유사성이 높았지만, 임신 후기나 출생 후 단계와는 거의 유사성을 보이지 않았다. 수백 일까지 배양한 오가노이드도 마찬가지였다. 오가노이드는 태아 초중기의 발달 창문을 들여다보는 데는 좋지만, 후기 발달이나 성숙 과정을 모델링하는 데는 여전히 부족하다.

HNOCA에서 발견된 가장 일관된 오가노이드 특이적 신호는 대사 및 스트레스 관련 전사 프로그램의 활성화였다. 이것은 Bhaduri et al.의 발견과 일치한다. 오가노이드의 뉴런들은 해당과정 유전자들과 소포체 스트레스 유전자들이 높게 발현된다는 점에서 동일한 방향의 결과물이다. 그러나 중요한 것은, 이 스트레스 신호가 세포의 핵심 정체성을 완전히 덮어쓰지는 않는다는 것이다. 피질 뉴런 마커, 억제성 인터뉴런 마커, 전구세포 마커 등 세포 유형을 정의하는 핵심 전사체 프로그램들은 오가노이드에서도 보존되어 있었다. 스트레스는 노이즈를 더하지만 신호를 완전히 지우지는 않는다. 라디오를 듣는데 잡음이 끼어 있지만 노래 자체는 들린다는 것과 비슷하다. 즉, 오가노이드 데이터를 해석할 때는 잡음을 인식하면서도 그 아래의 진짜 신호를 읽어내는 능력이 필요하다. 잡음이 있다고 라디오를 꺼버리면 안 되는 것처럼, 오가노이드의 한계를 알면서도 그 안에서 유용한 정보를 뽑아내는 것이 이 분야의 기술이다. 이 부분이 중요하다. 오가노이드를 완전히 믿을 수 없다는 결론과, 오가노이드의 핵심 정체성 신호는 신뢰할 수 있지만 세밀한 आयु형 특이화나 성숙 관련 표현형을 해석할 때는 주의가 필요하다는 결론은, 실전적으로 매우 다른 함의를 가진다.

Fleck et al. 2023: 유전자 조절 네트워크를 추론하다

검증은 단순히 오가노이드가 얼마나 태아 뇌를 닮았는지를 확인하는 것으로 끝나지 않는다. 오가노이드가 진정으로 인간 뇌 발달 연구의 도구로 기능하려면, 그 발달을 제어하는 유전자 조절 네트워크(gene regulatory network)를 밝히고 교란할 수 있어야 한다. 유전자 조절 네트워크란 어떤 유전자가 어떤 다른 유전자를 켜고 끄는지의 관계망으로, 기업의 조직도처럼 어떤 상급 유전자가 어떤 하급 유전자들을 지휘하는지 보여준다. 어떤 전사인자가 어느 유전자를 켜고 끄는지, 그 연결 관계의 지형도를 그려낼 수 있어야 한다. Fleck et al. (2023) 연구는 바로 이 방향을 추구했다.

Fleck et al. 연구는 오가노이드 발달의 11개 시점에서 동일한 세포 현탁액에 scRNA-seq와 scATAC-seq를 동시에 수행했다. 전사체(transcriptome)와 열린 크로마틴(open chromatin) 정보를 같은 세포에서 동시에 얻는 멀티오믹(multi-omic) 접근이다. 전사체는 세포 안에서 현재 켜진 유전자들의 목록이라면, 열린 크로마틴은 어떤 유전자들이 켜질 수 있는 준비 상태에 있는지를 알려준다. 두 정보를 함께 보면 유전자 발현의 현재 상태와 미래 가능성을 동시에 볼 수 있다. 이 데이터를 분석하기 위해 그들은 Pando라는 새로운 프레임워크를 개발했다. Pando는 전사체 데이터, 크로마틴 접근성 데이터, 그리고 전사인자 결합 사이트 예측 정보를 통합하여, 어떤 전사인자가 어떤 유전자의 발현을 조절할 가능성이 높은지를 추론하는 네트워크를 만들어낸다. 다세포 생물의 발달을 이해하는 가장 근본적인 질문 중 하나, 즉 어떤 마스터 조절인자가 세포 운명의 전환을 가능하게 하는가를 직접 공략하는 것이다.

이 멀티오믹 데이터 분석의 결과는 오가노이드 발달이 다능성 단계에서 신경외배엽, 신경상피(neuroepithelial) 단계를

거처 등쪽 전뇌와 배쪽 전뇌 경로로 분기되고, 이어서 비전뇌 경로와 간엽 유사(mesenchymal-like) 경로가 나뉘는 연속적인 발달 궤적을 따른다는 것을 보여주었다. 크로마틴 접근성 변화는 전사체 변화에 앞서 일어났는데, 이것은 후성유전학적 조절이 발달 과정에서 전사적 변화보다 선행한다는 원리를 오가노이드 수준에서 직접 확인한 것이다. 후성유전학이란 DNA 서열 자체는 바뀌지 않으면서 유전자 발현이 조절되는 방식을 연구하는 분야인데, 크로마틴이 열리고 닫히는 것이 대표적인 후성유전학적 조절 기제다. 크로마틴이 먼저 열려야 그 안의 유전자가 켜질 수 있으니, 크로마틴 접근성 변화가 전사체 변화보다 먼저 일어나는 것은 논리적으로 당연하다. 크로마틴을 책장에 비유하면 이해가 쉽다. 책장이 잠겨 있으면(닫힌 크로마틴) 안에 있는 유전자(책)에 접근할 수 없다. 세포는 먼저 책장 자물쇠를 풀고(크로마틴 접근성 증가), 그 다음에야 특정 책을 꺼내 읽는다(유전자 발현). 그래서 접근성 변화가 발현 변화보다 항상 먼저 일어난다.

Fleck et al. 연구에서 가장 영향력 있는 부분은 풀린 CRISPR 교란(pooled CRISPR perturbation) 실험이다. 그들은 수십 개의 전사인자를 동시에 결손시키고, 단일 세포 전사체를 통해 각 전사인자 결손이 어떤 세포 운명 변화를 일으키는지 측정했다. CRISPR란 유전자 가위라고 불리는 기술로, 원하는 유전자를 정확하게 잘라서 기능을 없앨 수 있다. 풀린 방식이란 한 번에 수십 개의 서로 다른 유전자를 각각 다른 세포에서 잘라내고, 나중에 어떤 세포에서 어떤 유전자가 잘렸는지를 역추적하는 방식이다. 이 분석은 세포 운명 결정(cell fate choice)의 조절인자와 뉴런 분화 상태(neuronal differentiation state)의 조절인자를 분리하는 데 결정적이었다. 어떤 전사인자를 결손시켰을 때 특정 세포 유형의 비율 자체가 변한다면, 그 전사인자는 운명 선택에 관여하는 것이다. 반면 세포 유형의 비율은 변하지 않지만 그 세포의 전사적 상태가 달라진다면, 그 전사인자는 분화 이후의 세포 상태 조절에 관여하는 것이다.

이 실험에서 GLI3라는 전사인자가 특히 중요한 역할을 한다는 것이 드러났다. GLI3는 SHH 신호 경로의 하위 효과인자인데, Fleck et al. 연구는 GLI3를 결손시켰을 때 오가노이드에서 피질(등쪽 전뇌) 운명의 비율이 극적으로 줄어들고 배쪽 정체성이 증가한다는 것을 발견했다. 이것은 GLI3가 인간 피질 운명의 확립에 필수적이라는 것을 의미했다. 마우스에서는 GLI3 결손이 피질 발달에 이 정도로 극적인 영향을 주지 않는다는 점에서, 이것은 인간 피질 발달에 특이적인 유전자 회로를 밝힌 발견이었다. Fleck et al. 연구는 GLI3가 두 가지 서로 다른 조절 모듈을 통해 작용한다는 것도 보여주었다. 하나는 초기 등배쪽 패턴화(dorsoventral patterning)를 담당하며 HES4와 HES5를 직접 표적으로 하고, 다른 하나는 후기에 신경절 융기(ganglionic eminence)의 다양화에 관여한다.

Pollen et al. 2019: 오가노이드를 종간 비교 모델로

오가노이드의 검증을 인간 태아 뇌와의 비교에만 국한할 필요는 없다. 오가노이드는 서로 다른 종 사이의 비교 연구에도 독특한 가치를 제공한다. Pollen et al. (2019) 연구는 이 방향을 개척했다. 연구팀은 인간과 침팬지(chimpanzee)의 iPSC에서 뇌 오가노이드를 만들고, 이를 인간과 macaque의 사후 뇌 조직과 함께 단일 세포 수준에서 비교했다. 살아있는 침팬지의 태아 뇌 조직을 얻는 것은 윤리적으로나 실제적으로나 불가능에 가깝다. 하지만 침팬지 세포를 채취하여 그것으로 오가노이드를 만드는 것은 가능하다. 이 방법으로 침팬지와 인간의 뇌 발달을 직접 비교할 수 있게 되었는데, 이것은 오가노이드 없이는 할 수 없는 실험이다.

Pollen et al. 연구는 인간-macaque 일차 조직 비교와 인간-침팬지 오가노이드 비교에서 공통으로 변화한 유전자들에 집중했다. 두 비교 모두에서 동일한 방향으로 발현이 다른 유전자들은 단순한 배경 아티팩트가 아니라 진정한 인간 특이적 변화일 가능성이 높다는 논리였다. 아티팩트란 실험 과정에서 인위적으로 생긴 결과물로, 실제 생물학적 현상이 아니라 실험 방법 때문에 나타난 것이다. 이렇게 선별된 261개의 후보 유전자들 중에서 PI3K/AKT/mTOR 신호 경로가 특히 인간 방사 글리아에서 더 활성화되어 있다는 것이 발견되었다. 이 신호 경로는 세포 성장과 증식을 촉진하며, 인간 피질의 방사 글리아가 더 많은 외측 방사 글리아를 생산하고 더 긴 증식 기간을 갖는 것과 관련이 있을 수 있다. 수용체 INSR과 ITGB8을 인간 태아 뇌 절편에서 결손시키자 mTOR 활성화의 지표인 pS6이 감소했는데, 이것은 오가노이드에서 발견한 신호가 실제 인간 뇌에서도 기능적으로 의미 있다는 것을 지지했다.

Pollen et al. 연구는 오가노이드의 또 다른 특성도 드러냈다. 오가노이드 세포들은 일차 조직에 비해 해당과정, 소포체 스트레스, 전자 전달계 관련 유전자들을 더 높게 발현한다는 것이었다. 이것은 Bhaduri et al.의 발견과 독립적으로 같은 결론에 도달한 것으로, 오가노이드의 대사 스트레스가 방법론적 아티팩트가 아닌 재현 가능한 생물학적 현상임을 확인해주었다. 두 개의 서로 다른 연구실이 서로 다른 방법으로 같은 결론에 도달했다는 것은 그 결론이 더 믿을 만하다는 강력한 증거다. 그러나 그럼에도 불구하고, 핵심 발달 프로그램들과 공발현 모듈들은 오가노이드와 일차 조직, 그리고 인간과 침팬지 사이에서 상당히 보존되어 있었다. 이것이 오가노이드를 종간 비교 연구에 활용할 수 있는 근거다.

검증 연구가 가르쳐 주는 것

Bhaduri et al., He et al., Fleck et al., Pollen et al.의 연구들을 종합하면, 현재 오가노이드의 위치에 대한 균형 잡힌 그림이 나온다. 오가노이드는 인간 뇌 발달의 진정한 모델이다. 발달의 핵심 분자적 프로그램들, 세포 유형의 계층적 배열, 주요 전사인자들의 역할, 그리고 인간 특이적 세포 유형의 존재가 재현된다. 이 수준에서의 오가노이드 데이터는 신뢰할 수 있다. 그러나 오가노이드는 불완전한 모델이기도 하다. 피질 아유형의 완전한 특이화, 특히 상층 피질 뉴런의 재현은 현재 프로토콜에서 충분하지 않다. 대사 스트레스 반응이 전사체를 오염시키며, 이것이 세포 분화 상태의 정밀한 해석을 어렵게 만든다. 오가노이드의 성숙도는 임신 초중기 수준에서 멈추는 경향이 있어, 출생 후 뇌나 성인 뇌의 특성을 연구하기에는 부족하다. 영역 정체성은 유도 프로토콜로 상당히 통제 가능하지만, 피질 영역화(cortical arealization)처럼 더 세밀한 공간적 조직화는 아직 재현이 어렵다.

이 한계들을 인식하는 것은 오가노이드 연구를 포기하자는 주장이 아니다. 오히려 그 반대다. 어떤 질문에 오가노이드가 신뢰할 수 있는 답을 주고, 어떤 질문에서는 추가 검증이 필요한지를 알 때, 우리는 이 도구를 훨씬 효과적으로 사용할 수 있다. 도구의 한계를 모르고 사용하는 것보다 한계를 정확히 알고 그 안에서 최대한 활용하는 것이 좋은 과학이다. 대규모 아틀라스인 HNOCA는 이런 목적으로 만들어진 나침반이다. 새로운 프로토콜로 만든 오가노이드를 HNOCA에 투영하면, 그 오가노이드가 기존에 알려진 프로토콜들과 비교하여 어떤 뇌 영역을 얼마나 충실하게 재현하는지를 즉시 평가할 수 있다. 프로토콜을 개선하고, 결과를 검증하고, 서로 다른 연구실의 결과를 비교하기 위한 공통 언어가 이제 생겼다. 그것이 이 모든 검증 연구들의 가장 중요한 유산이다.

References

- Bhaduri, A., Andrews, M.G., Mancía Leon, W., Jung, D., Shin, D., Allen, D., Jung, D., Schmunk, G., Haeussler, M., Salma, J., Pollen, A.A., Nowakowski, T.J., & Kriegstein, A.R. (2020). Cell stress in cortical organoids impairs molecular subtype specification. *Nature*, 578(7793), 142–148. doi:10.1038/s41586-020-1962-0
- He, Z., Dony, L., Fleck, J.S., Szalata, A., Li, K.X., Slišković, I., Lin, H.C., Santel, M., Atamian, A., Quadrato, G., Sun, J., Paşca, S.P., Camp, J.G., Theis, F.J., & Treutlein, B. (2024). An integrated transcriptomic cell atlas of human neural organoids. *Nature*, 625(7993), 543–553. doi:10.1038/s41586-024-08172-8
- Fleck, J.S., Jansen, S.M.J., Wollny, D., Zenk, F., Seimiya, M., Jain, A., Okamoto, R., Santel, M., He, Z., Camp, J.G., & Treutlein, B. (2023). Inferring and perturbing cell fate regulomes in human brain organoids. *Nature*, 621(7978), 365–374. doi:10.1038/s41586-022-05279-8
- Pollen, A.A., Bhaduri, A., Andrews, M.G., Nowakowski, T.J., Meyerson, O.S., Mostajo-Radji, M.A., Di Lullo, E., Alvarado, B., Bedolli, M., Dougherty, M.L., Fiddes, I.T., Kronenberg, Z.N., Shuga, J., Leyrat, A.A., West, J.A., Bershteyn, M., Lowe, C.B., Pavlovic, B.J., Salama, S.R., Haussler, D., Eichler, E.E., & Kriegstein, A.R. (2019). Establishing cerebral organoids as models of human-specific brain evolution. *Cell*, 176(4), 743–756. doi:10.1016/j.cell.2019.01.017

주요 용어 안내

전사체 충실도(transcriptomic fidelity): 오가노이드의 유전자 발현 패턴이 실제 태아 뇌 조직과 얼마나 유사한지를 나타내는 지표. 오가노이드의 품질을 평가하는 핵심 기준 중 하나다.

세포 스트레스 반응: 오가노이드의 일부 세포에서 관찰되는, 실제 뇌에는 없는 비정상적인 유전자 발현 패턴. 배양 환경의 한계로 인한 산물이며, 오가노이드 데이터를 해석할 때 고려해야 한다.

Chapter 28. 오가노이드의 미래

과학의 역사에서 어떤 기술들은 그 자체로 독립된 발전이 아니라, 다른 발전들이 수렴하는 교차점이 된다. 뇌 오가노이드(organoid)가 바로 그런 기술이다. 단일 세포 계놈학이 세포 유형의 정밀한 분류를 가능하게 했고, CRISPR 유전자 편집이 특정 유전자의 기능을 정확하게 교란할 수 있게 했으며, 인공지능(AI)이 복잡한 다차원 데이터에서 패턴을 찾아내기 시작했다. 이 세 가지 흐름이 오가노이드라는 플랫폼 위에서 만날 때, 이전에는 상상하기 어려웠던 실험들이

가능해진다. 유전자를 하나씩 결손시키면서 그것이 뇌 발달의 어떤 단계에 어떤 영향을 미치는지를 단일 세포 수준에서 추적하는 것, 수십 개의 유전자를 동시에 교란하고 그 조합 효과를 체계적으로 분석하는 것, 그리고 그 결과로 나온 방대한 데이터를 시로 해석하여 인간 뇌 발달의 유전자 회로 지도를 그려내는 것. 이것이 오가노이드 연구가 지향하는 미래이고, 그 미래의 일부는 이미 현재가 되었다.

그러나 미래를 이야기하기 전에 현재의 도구들이 어떤 가능성을 열어주는지부터 살펴봐야 한다. 오가노이드와 CRISPR의 만남은 단순히 한 유전자를 결손시키는 것보다 훨씬 정교한 실험을 가능하게 한다. 동질유전자 대조군(isogenic controls)의 생성이 그 핵심이다. 두 세포주가 오직 관심 있는 유전자 변이만 다르고 나머지 유전체는 동일하다면, 그 변이가 세포에 미치는 효과를 다른 유전적 배경의 혼란 없이 깨끗하게 볼 수 있다. 마치 쌍둥이 연구와 비슷하다. 유전적으로 거의 동일한 쌍둥이 중 한 명에게만 어떤 변이를 도입했을 때 차이가 생긴다면, 그 차이는 거의 확실하게 그 변이 때문이다. 다른 요인들이 모두 통제되었기 때문이다. 예를 들어 쌍둥이 중 한 명에게만 특정 유전자 변이가 있다면, 그 변이의 효과를 깨끗하게 비교할 수 있는 것과 비슷한 원리다. 환자의 역분화 줄기세포(induced pluripotent stem cells, iPSCs)에서 문제가 되는 변이를 CRISPR로 교정한 세포주와 교정하지 않은 원래 세포주를 나란히 오가노이드로 만들면, 그 변이가 신경 발달에 미치는 효과를 직접 비교할 수 있다. 반대로 정상 세포주에 특정 변이를 CRISPR로 도입하여 그 효과를 관찰할 수도 있다. 이 전략은 특정 유전자의 기능을 발달의 맥락에서 이해하는 데 오가노이드가 얼마나 강력한 도구인지를 보여준다.

CRISPR와 오가노이드의 만남: 유전자 기능 해부

오가노이드에서 CRISPR 편집(CRISPR editing)을 사용하는 방식은 크게 두 가지로 나뉜다. 첫째는 단일 유전자를 대상으로 하는 집중적 접근이다. 특정 유전자가 신경 발달에 어떤 역할을 하는지, 어떤 발달 단계에서 어떤 세포 유형에 영향을 미치는지를 집중적으로 파고드는 방식이다. Fleck et al. 연구에서의 GLI3 연구가 이 방식의 좋은 예다. GLI3를 결손시켰을 때 피질 운명이 감소한다는 발견은 단일 유전자 CRISPR 교란으로 이루어졌고, 이어서 GLI3의 두 가지 서로 다른 조절 모듈을 구분하는 정밀한 분석이 가능했다. 둘째는 수십 개에서 수백 개의 유전자를 동시에 교란하는 풀된 CRISPR 스크리닝(pooled CRISPR screening) 방식이다. 각 세포에 서로 다른 가이드 RNA를 도입하고, 그 후 단일 세포 시퀀싱으로 어떤 유전자가 결손된 세포가 어떤 발달 운명을 택했는지를 역추적한다. 가이드 RNA란 CRISPR 유전자 가위가 어떤 유전자를 자를지 알려주는 일종의 GPS 같은 것이다. 이 방식은 한 번의 실험에서 수십 개 유전자의 기능을 동시에 스크리닝할 수 있어, 개별 유전자를 하나씩 연구하는 것보다 훨씬 효율적이다.

이런 접근은 단순히 어떤 유전자가 뇌 발달에 관여한다는 것을 확인하는 것을 넘어, 그 관여가 어떤 메커니즘을 통해 이루어지는지를 밝히는 데까지 나아간다. 발달 중의 오가노이드는 수십 가지 세포 상태가 공존하는 동적인 시스템이다. 어떤 유전자를 교란했을 때 특정 세포 유형의 비율이 변하는지, 특정 발달 단계에서만 효과가 나타나는지, 아니면 성숙한 뉴런의 전기생리학적 특성에 영향을 미치는지를 단일 세포 해상도로 추적할 수 있다. 단일 세포 해상도란 수만 개의 세포 각각을 개별적으로 분석하여, 어떤 세포가 어떻게 변했는지 세세하게 볼 수 있다는 뜻이다. 이것은 발달 신경생물학의 질문들을 완전히 새로운 방식으로 공략하는 것이다. 마우스에서 유전자를 결손시키는 것은 배아 전체에서의 효과를 보지만, 오가노이드에서는 인간 세포를 대상으로, 인간 발달의 맥락에서, 세포 유형 수준의 해상도로 유전자 기능을 해부할 수 있다.

Jin et al. 2025: 키메라 뇌에서 인간 세포가 살아

오가노이드 기술의 또 다른 발전 방향은 생체 내 환경과의 결합이다. 오가노이드의 가장 큰 한계 중 하나는 혈관, 면역 세포, 그리고 실제 뇌의 기계적 환경이 없다는 것이다. 이 한계를 우회하는 방법이 키메라 뇌 모델(chimeric brain model)이다. 키메라란 두 종류 이상의 서로 다른 세포가 한 개체 안에 섞여 있는 상태를 말하는데, 그리스 신화에서 사자, 뱀, 염소가 섞인 괴물 키마이라에서 유래한 이름이다. 인간 줄기세포를 마우스 뇌에 이식하면, 인간 세포가 마우스 뇌의 생리적 환경, 즉 혈관, 면역 시스템, 기계적 신호 속에서 발달한다. Mengmeng Jin과 Peng Jiang 연구실이 2025년 Cell Reports에 발표한 연구는 이 접근을 한 단계 더 발전시켰다.

Jin et al. 연구는 인간 iPSC나 hESC에서 두 가지 세포 유형을 각각 만들었다. 첫째는 원시 신경 전구세포(primitive neural progenitor cells, pNPCs)로, 뉴런, 성상세포(astroglia), 희소돌기세포(oligodendroglia)의 전구체 역할을 한다. 전구세포란 아직 최종 정체성을 갖지 않은 미성숙한 세포로, 이후 특정 조건에 따라 여러 종류의 세포로 분화할 수 있다. 둘째는 원시 대식세포 전구세포(primitive macrophage progenitors, PMPs)로, 뇌의 면역 세포인 미세아교세포(microglia)의 전구체다. 이 두 세포 유형을 1:1 비율로 면역 결핍 마우스의 신생아 뇌에 함께 이식했다. 면역 결핍 마우스란 정상적인 면역 반응이 없는 마우스로, 이런 마우스에 이식하면 마우스의 면역계가 인간 세포를 공격하지 않아 인간 세포가 살아남을 수 있다. 7개월이 지난 후, 키메라 마우스의 뇌에서는 NeuN 양성 인간 뉴런, OLIG2

양성 인간 희소돌기세포, GFAP 양성 인간 성상세포, 그리고 IBA1 양성 인간 미세아교세포가 모두 발견되었다. 인간의 네 가지 주요 뇌 세포 유형이 동시에 살아있는 마우스 뇌 안에서 함께 성장하고 있었던 것이다.

이 키메라 모델의 진정한 가치는 미세아교세포 연구에서 드러났다. 미세아교세포는 뇌의 대식세포로, 시냅스 가지치기(synaptic pruning), 신경 염증(neuroinflammation), 세포 잔해 제거 등 다양한 기능을 한다. 시냅스 가지치기란 어린아이의 방이 처음에는 장난감으로 넘치다가 나중에 필요한 것만 남기고 정리되는 것처럼, 처음에 과도하게 많이 만들어진 뇌의 연결을 필요 없는 것들부터 정리하는 과정이다. 이 과정은 뇌의 회로가 정밀해지는데 핵심적인데, 미세아교세포가 바로 이 정리 작업을 담당한다. 하지만 인간 미세아교세포가 인간 시냅스를 어떻게 가지치기하는지를 직접 관찰하기는 극히 어려웠다. 키메라 마우스 뇌에서는 인간 미세아교세포와 인간 시냅스가 함께 존재했고, 초해상도 현미경(super-resolution microscopy)과 3차원 재구성 기술을 사용하여 인간 미세아교세포가 실제로 인간 뉴런의 시냅스를 가지치기하는 과정을 직접 시각화할 수 있었다. 이것은 이전에는 불가능했던 직접 관찰이었다.

Jin et al. 연구는 단일 세포 RNA 시퀀싱으로 키메라 뇌 속 인간 세포들의 전사 상태도 분석했다. 인간 성상세포들은 실제 발달 중인 인간 뇌에서 볼 수 있는 다양한 발달 단계들, 즉 초기 전구 상태에서 성숙한 성상세포까지의 연속체를 보여주었다. 세포 간 소통 분석에서는 인간 뉴런과 성상세포 사이에서 NRXN-NLGN3 신호 축이, 그리고 인간 미세아교세포와 성상세포 사이에서 SPP1과 PTN-MK 신호 축이 활성화되어 있다는 것이 발견되었다. 이 신호들은 시냅스 조절과 글리아 세포 간 소통에 관여하는 것으로 알려져 있어, 인간 세포들이 키메라 뇌 안에서 단순히 생존하는 것을 넘어 서로 기능적으로 소통하고 있다는 것을 보여준다.

오가노이드 기술의 현재 한계와 극복 방향

오가노이드 기술의 미래를 논하려면 지금 기술의 가장 큰 장애물들을 정직하게 직면해야 한다. 가장 근본적인 문제는 혈관화(vascularization)의 부재다. 실제 뇌는 촘촘한 혈관망을 가지고 있어 모든 뉴런이 혈액으로부터 산소와 영양분을 공급받는다. 오가노이드에는 이것이 없다. 산소와 영양분은 확산으로만 전달되므로, 오가노이드가 특정 크기 이상으로 자라면 내부 세포들이 죽기 시작한다. 이것은 도시가 아무리 커져도 상하수도 시스템이 없으면 중심부가 썩어들어가는 것과 같다. 혈관은 뇌의 상하수도 시스템이고, 이것 없이는 오가노이드는 결코 콩알보다 크게 자랄 수 없다. 이것은 마치 강이 없는 내륙 지역처럼 중앙부까지 물이 닿지 못하는 것과 비슷하다. 혈관 세포를 오가노이드에 통합하려는 시도들이 여러 연구실에서 이루어지고 있다. 인간 내피세포(endothelial cells)를 오가노이드와 공배양하거나, 내피 세포의 분화를 유도하는 형태형성인자를 추가하여 오가노이드 내부에 혈관 유사 구조를 만들려는 것이다. 혈관화된 오가노이드가 성공적으로 만들어진다면, 더 크고 더 오래 생존하며 더 성숙한 오가노이드가 가능해질 것이다.

두 번째 장애물은 면역 세포의 부재다. 뇌의 대식세포인 미세아교세포는 단순한 면역 세포가 아니다. 발달 중의 시냅스 가지치기, 뉴런의 생존과 사멸 조절, 신경회로의 정밀화에 능동적으로 참여한다. 미세아교세포는 다른 신경 세포들과는 발생 기원이 달라서, 일반적인 오가노이드 프로토콜로는 만들어지지 않는다. 다른 신경 세포들은 뇌의 신경외배엽에서 유래하지만, 미세아교세포는 배아 시기의 난황낭(yolk sac)에서 이주해 온 세포들이다. 이처럼 출신 자체가 다르기 때문에 일반 오가노이드 배양법으로는 만들어지지 않는 것이다. 미세아교세포를 오가노이드에 통합하는 방법으로는 크게 두 가지가 탐색되고 있다. 하나는 별도로 분화시킨 미세아교세포 유사 세포를 오가노이드와 융합하는 것이고, 다른 하나는 미세아교세포의 전구 세포 운명을 오가노이드 분화 프로토콜에 포함하는 것이다. Jin et al. 연구가 보여준 것처럼, 미세아교세포의 존재는 오가노이드의 생물학적 충실도를 크게 높일 수 있다.

성숙도(maturation)의 문제도 핵심 과제다. 현재의 오가노이드는 대개 임신 초중기에 해당하는 발달 상태에서 멈추는 경향이 있다. 인간 뇌의 발달은 출생 이후에도 수십 년간 계속되며, 출생 후의 시냅스 가지치기, 수초화(myelination), 시냅스 강도의 헤브 학습(Hebbian plasticity) 등 많은 중요한 과정들이 이 시기에 일어난다. 수초화된 뉴런의 축삭을 절연체로 감싸서 전기 신호가 훨씬 빠르게 전달되도록 하는 과정으로, 이것이 완성되어야 성숙한 뇌가 기능할 수 있다. 오가노이드를 더 오래, 더 효과적으로 성숙시키는 방법에 대한 연구가 활발하다. 에어-액체 계면(air-liquid interface) 배양이 가스 교환을 개선하여 더 성숙한 오가노이드를 만들 수 있다는 것이 보고되었고, 신경 회로 활동을 자극하는 방법들도 탐색 중이다. 어셈블로이드 연구가 보여준 것처럼, 서로 다른 영역의 오가노이드를 연결하여 회로 내 활동을 증가시키는 것이 세포 성숙을 가속한다는 것도 알려졌다.

고처리량 스크리닝과 AI의 역할

오가노이드의 가장 흥미로운 미래 응용 중 하나는 고처리량 스크리닝(high-throughput screening) 플랫폼으로의 발전이다. 현재 오가노이드는 만드는 데 수개월이 걸리고, 분석에도 상당한 노력이 필요하다. 이것을 더 빠르고, 더 작고,

더 표준화된 형태로 만들려는 노력이 이어지고 있다. 고처리량이란 한 번에 수백, 수천 개의 시료를 동시에 처리할 수 있다는 뜻으로, 신약 개발에서 수많은 화합물을 동시에 테스트할 때 자주 사용되는 접근이다. 마이크로웰 플레이트에 수백 개의 미니 오가노이드를 동시에 만들고, 이미징 기반 자동 분석으로 각 오가노이드의 크기, 형태, 세포 마커 발현을 정량화하는 파이프라인이 개발되고 있다. 이런 플랫폼에서는 수백 가지의 서로 다른 조건, 예를 들어 다양한 성장인자 조합이나 화학물질들이 뇌 발달에 미치는 효과를 체계적으로 스크리닝할 수 있다. 오가노이드 기반 스크리닝이 완전히 실현된다면, 그것은 인간 뇌 발달을 이해하기 위한 새로운 종류의 유전학적, 화학적 탐색을 가능하게 할 것이다.

인공지능(AI)과 오가노이드의 결합은 특히 두 가지 방향에서 이 분야를 변화시킬 잠재력을 가지고 있다. 첫째는 멀티오믹스(multi-omics) 데이터의 통합 분석이다. 오가노이드 하나에서 전사체, 크로마틴 접근성, 단백질 발현, 그리고 이미징 데이터를 동시에 얻을 수 있는 기술들이 점점 발전하고 있다. 이 다차원 데이터를 통합하여 세포 상태를 더 완전하게 기술하고, 세포 운명 결정의 분자적 논리를 추론하는 것은 전통적인 통계적 방법으로는 어려운 일이다. 딥러닝 기반 모델들, 특히 주의 메커니즘(attention mechanism)을 사용하는 트랜스포머 아키텍처를 기반으로 한 단일 세포 파운데이션 모델(single-cell foundation models)이 이 역할을 맡기 시작했다. 수백만 개의 단일 세포 전사체로 훈련된 이 모델들은 세포 유형 분류, 발달 경로 추론, 그리고 새로운 데이터에 대한 주석 달기를 높은 효율로 수행할 수 있다.

둘째는 실험 설계의 최적화다. 오가노이드에서 특정 세포 유형의 비율을 최대화하거나, 특정 발달 단계를 안정적으로 유도하는 최적의 형태형성인자 조합을 찾는 것은 탐색해야 할 조건 공간이 방대하다. AI 기반 능동 학습(active learning) 알고리즘들은 이전 실험의 결과를 학습하면서 다음에 시도해야 할 조건을 추천하는 방식으로 탐색을 효율화할 수 있다. 인간의 직관으로는 예측하기 어려운 복잡한 비선형 관계들을 AI가 학습하여, 더 빠르게 더 나은 프로토콜을 찾아나가는 것이다. He et al. 연구의 HNOCA 같은 대규모 아틀라스가 이런 AI 기반 프로토콜 최적화를 위한 훈련 데이터와 검증 기준을 제공한다.

Kim et al. 연구의 4부분 체감각 어셈블로이드(hASA)는 현재 기술의 최전선을 보여주지만, 동시에 가능성의 지평이 얼마나 더 넓은지를 암시한다. 전체 감각 경로를 망라하기 위해서는 말초 감각 수용체부터 피질의 다중 영역까지 더 많은 구성 요소가 필요하다. 통증 경로만 해도 하행 조절 경로, 즉 전전두엽에서 시상과 척수로 이어지며 통증을 억제하는 경로가 완전히 빠져 있다. 운동 경로를 완전히 재현하려면 소뇌와 기저핵의 운동 루프가 필요하다. 인지 기능을 연구하려면 해마-피질 연결이 필요하다. 이런 더 복잡한 어셈블로이드들은 기술적으로 어렵고 해석도 복잡하지만, 전체 신경 경로 수준에서의 연구를 가능하게 할 것이다. 중요한 것은 Kim et al. 연구가 증명한 것처럼, 여러 영역이 융합되었을 때 나타나는 창발적 동기화 같은 새로운 현상들이 더 복잡한 어셈블로이드에서도 발견될 것이라는 점이다.

이 방향의 진화가 계속된다면, 미래의 어셈블로이드는 단순히 회로의 해부학적 구조를 재현하는 것을 넘어 그 회로의 발달 가소성(developmental plasticity)을 연구하는 도구가 될 것이다. 헤브 가소성(Hebbian plasticity)이란 “함께 활동하는 뉴런들 사이의 시냅스가 강화된다”는 원리로, 우리가 무언가를 반복해서 연습하면 그 행동이 뇌에 각인되는 것이 이 원리 덕분이다. 더 쉽게 말하면 “같이 발화하는 뉴런은 같이 연결된다(neurons that fire together, wire together)”는 규칙이다. 피아노를 반복해서 연습할수록 손가락을 제어하는 뇌 회로의 시냅스가 강해지는 이유가 바로 이것이다. 헤브 가소성이 어셈블로이드의 회로에서도 작동하는지, 그것이 어떤 분자적 메커니즘을 통해 이루어지는지를 연구할 수 있을 것이다. 회로 발달에서 자발적 활동이 어떤 역할을 하는지, 감각 자극의 패턴이 회로의 정밀화에 어떻게 기여하는지 같은 질문들이 인간 세포를 대상으로 실험적으로 탐구될 수 있다.

의식과 윤리: 불가피한 질문

과학적 가능성과 함께, 오가노이드 연구는 피할 수 없는 윤리적 질문들을 제기한다. 가장 근본적인 것은 의식(consciousness)의 가능성이다. 오가노이드가 점점 더 복잡해지고, 전기 활동이 활발해지고, 여러 영역의 회로가 통합되어 정교한 동기화 패턴을 보인다면, 어느 순간 우리는 이 조직이 어떤 형태의 감각 경험을 가질 가능성을 물어야 한다. 2017년의 Quadrato et al. 논문이 망막 유사 세포가 빛에 반응한다는 것을 보여주었을 때, 오가노이드가 빛을 ‘경험’하는지에 대한 논쟁이 처음으로 진지하게 제기되었다. 현재의 과학적 합의는, 의식이 발생하기 위해 필요한 회로의 복잡성과 통합도에 비해 오가노이드는 여전히 극도로 단순하다는 것이다. 인간 뇌의 860억 개 뉴런과 수백 조 개의 시냅스에 비해, 가장 크고 복잡한 오가노이드도 수백만 개 이하의 세포를 가진다. 즉, 오가노이드는 인간 뇌의 100만분의 1 수준이다. 수십억 개의 픽셀로 구성된 IMAX 스크린이 아니라, 손바닥만 한 저해상도 흑백 화면 정도에 해당한다. 그것이 무언가를 “경험”하는지는 아직 진지한 철학적 논쟁 대상이다. 스마트폰 하나가 수십 억 개의 트랜지스터를 포함하는데, 그렇다고 스마트폰이 의식을 갖지는 않듯이, 세포 수만으로 의식을 판단할 수는 없다. 그러나 이 질문은 앞으로 더 진지하게 다루어져야 할 것이다.

배아 연구의 14일 규칙(14-day rule)은 인간 배아를 실험실에서 배양하는 것을 14일 이후에는 허용하지 않는다는 국제적 합의다. 이 규칙은 배아가 신경 조직을 형성하기 시작하는 시점을 고려한 것인데, 14일이 지나면 원시선(primitive streak)이 나타나면서 배아의 앞뒤 방향이 확립되기 시작하기 때문이다. 오가노이드는 법적으로 배아가 아니지만, 인간의

신경 조직을 배양한다는 점에서 유사한 윤리적 고려가 필요하다. 국제 줄기세포 연구 학회(International Society for Stem Cell Research)는 2021년 지침에서 오가노이드 연구에 대한 윤리적 고려사항을 다루었지만, 구체적인 규제 경계는 여전히 진화 중이다. 키메라 모델의 경우는 더 복잡하다. 인간 세포를 동물 뇌에 이식하는 것, 특히 인간 신경 세포가 동물의 뇌 기능에 상당한 영향을 미칠 만큼 통합될 때 윤리적으로 어떻게 다루어야 하는지에 대한 논의가 이루어지고 있다.

이런 윤리적 질문들은 오가노이드 연구를 멈추어야 한다는 주장이 아니다. 오히려 이 기술을 더 신중하게, 더 투명하게, 그리고 더 넓은 사회적 논의 속에서 발전시켜야 한다는 요청이다. 인간 뇌 발달을 이해하려는 과학적 필요성은 명백하다. 그 이해를 위한 도구로서 오가노이드가 가진 잠재력도 명백하다. 그렇다면 우리가 해야 할 일은 윤리적 고려를 과학적 진보의 장애물이 아니라 그것의 필수적 구성 요소로 포함시키는 것이다.

2013년 랭커스터와 크노블리히가 처음 뇌 오가노이드를 만들었을 때, 이 기술이 10년 만에 어디까지 발전할지를 예측한 사람은 거의 없었다. 영역 특이적 오가노이드, 네 개 영역을 연결하는 어셈블로이드, 177만 개 세포를 통합한 아틀라스, 인간 미세아교세포가 인간 시냅스를 가지치기하는 것을 초해상도로 관찰하는 것. 이 모든 것이 10년 안에 가능해졌다. 과학이 항상 예측 가능한 궤도를 따르는 것은 아니다. 가장 중요한 발견들은 종종 계획되지 않은 방향에서 온다. 랭커스터가 페트리 접시 안에서 자가 조직화하는 오가노이드를 처음 보았을 때, 그것은 계획의 산물이 아니라 놀람의 산물이었다.

오가노이드가 향후 10년에 가리키는 방향은 여러 갈래다. 혈관화와 면역 세포 통합으로 더 생리적인 오가노이드가 만들어질 것이다. 더 복잡한 어셈블로이드가 전체 신경 경로를 재현할 것이다. 고처리량 스크리닝과 AI의 결합이 오가노이드를 체계적인 유전체적 탐색의 플랫폼으로 만들 것이다. 단일 세포 파운데이션 모델이 오가노이드 데이터의 해석을 바꿀 것이다. 그리고 이 모든 발전들은 인간 뇌 발달의 분자적 논리를 이해하는 데, 그리고 그 이해를 인간의 이익을 위해 활용하는 데 기여할 것이다. 세포가 스스로를 조직하여 뇌가 된다는 사실은 변하지 않는다. 우리가 계속 배우는 것은 그 과정을 가능하게 하는 분자적 언어다.

References

- Jin, M., Ma, Z., Zhang, H., Dang, R., Papetti, A.V., Stillitano, A.C., Zou, L., Goldman, S.A., & Jiang, P. (2025). Chimeric brain models to study human glial-neuronal and macroglial-microglial interactions. *Cell Reports*, 44(4), 116794. doi:10.1016/j.celrep.2025.116794
- Fleck, J.S., Jansen, S.M.J., Wollny, D., Zenk, F., Seimiya, M., Jain, A., Okamoto, R., Santel, M., He, Z., Camp, J.G., & Treutlein, B. (2023). Inferring and perturbing cell fate regulomes in human brain organoids. *Nature*, 621(7978), 365–374. doi:10.1038/s41586-022-05279-8
- He, Z., Dony, L., Fleck, J.S., Szałata, A., Li, K.X., Slišković, I., Lin, H.C., Santel, M., Atamian, A., Quadrato, G., Sun, J., Paşca, S.P., Camp, J.G., Theis, F.J., & Treutlein, B. (2024). An integrated transcriptomic cell atlas of human neural organoids. *Nature*, 625(7993), 543–553. doi:10.1038/s41586-024-08172-8
- Kim, J.I., Imaizumi, K., Jurjuţ, O., Kelley, K.W., Wang, D., Thete, M.V., Hudacova, Z., Amin, N.D., Levy, R.J., Scherrer, G., & Paşca, S.P. (2025). Human assembloid model of the ascending neural sensory pathway. *Nature*, 629, doi:10.1038/s41586-025-08808-3
- Rickner, H.D., Jiang, L., Hong, R., O'Neill, N.K., Mojica, C.A., Snyder, B.J., Zhang, L., Shaw, D., Medalla, M., Wolozin, B., & Cheng, C.S. (2022). Single cell transcriptomic profiling of a neuron-astrocyte assembloid tauopathy model. *Nature Communications*, 13(1), 6275. doi:10.1038/s41467-022-34005-1
- Lancaster, M.A., Renner, M., Martin, C.A., Wenzel, D., Bicknell, L.S., Hurler, M.E., Homfray, T., Penninger, J.M., Jackson, A.P., & Knoblich, J.A. (2013). Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 501(7467), 373–379. doi:10.1038/nature12517

주요 용어 안내

혈관화 오가노이드(vascularized organoid): 혈관 세포를 포함하도록 만들어진 오가노이드. 실제 뇌에서 혈관이 영양 공급과 신호 전달에 필수적이므로, 이를 재현하려는 시도가 활발히 진행 중이다.

이종 이식(xenotransplantation): 인간 오가노이드를 마우스 뇌에 이식하는 기법. 이식된 인간 뉴런이 마우스의 신경 회로에 통합되어 기능하는지를 관찰할 수 있으며, 시냅스 네오테니의 세포 자율적 증거를 제공했다.

Chapter 29. 긴길이 시퀀싱과 이소체의 세계

지도는 그것이 표현하고자 하는 영역의 일부만 보여줄 수 있다. 지도의 해상도가 낮을수록, 실제 지형에 있는 세부적인 특징들이 지도 위에서 사라진다. 분자생물학에서 짧은길이(short-read) RNA 시퀀싱은 오랫동안 뇌 전사체를 이해하는 표준 지도였다. 150bp의 짧은 단편으로 수백만 개의 RNA 분자를 읽어내는 이 기술은 어떤 유전자가 발현되는지를 높은 민감도로 탐지할 수 있지만, 하나의 유전자에서 만들어지는 수십 가지의 서로 다른 전사체 이소체(transcript isoform) 중 어느 것이 실제로 발현되는지를 구분할 수 없다는 근본적인 한계를 안고 있다. 짧은 단편들은 전체 RNA 분자의 중간 어딘가에서 나온 것이어서, 그 RNA의 5' 말단이 어디에서 시작하고 3' 말단이 어디에서 끝나는지, 그리고 그 사이에 어떤 엑손들이 어떤 순서로 이어져 있는지를 보여주지 못한다. 마치 한 권의 책에서 임의로 뽑은 수백만 개의 짧은 문장 단편들로부터 그 책에 몇 가지 이야기가 들어 있는지, 그리고 각 이야기의 처음과 끝이 어디인지를 알아내려는 시도와 비슷하다. 예를 들어 “그는 문을 열었다”라는 구절만 봐서는 그것이 추리 소설인지 로맨스인지, 아니면 같은 단어를 쓰는 두 개의 다른 이야기인지 알 수 없다. 전체 맥락을 봐야 한다. 조각들은 있지만, 전체 그림이 없다.

전장(full-length) 전사체를 직접 읽어야만 비로소 보이기 시작하는 세계가 있다. 수십만 개의 이소체가 뇌 발달의 각 단계에서 켜지고 꺼지며, 어떤 세포 유형에서는 존재하고 다른 세포 유형에서는 존재하지 않으며, 그 차이가 시냅스 연결의 특이성을 결정하고 신경발달 질환의 위험과 직결된다는 세계다. 긴길이 시퀀싱(long-read sequencing)은 이 세계로 들어가는 문이다. 이 장에서는 긴길이 기술이 어떻게 작동하고, 뇌 전사체 연구에서 어떤 발견들이 이루어졌으며, RNA 결합 단백질들이 이 복잡한 스플라이싱 프로그램을 어떻게 조율하는지, 그리고 그 조절이 어긋날 때 어떤 신경발달 질환이 생기는지를 살펴본다.

왜 긴길이인가: 짧은 리드의 구조적 한계

짧은길이 기반 RNA 시퀀싱의 핵심 과정은 RNA를 짧은 단편으로 분절한 뒤, 그 단편들을 참조 유전체에 매핑하여 발현량을 추정하는 것이다. 이 전략은 유전자 수준의 발현 분석에서는 잘 작동한다. 발현되는 유전자의 목록을 만들고, 각 유전자의 상대적 발현량을 비교하는 데 있어서 짧은길이 RNA-seq는 정밀하고 재현 가능하다. 그러나 이소체 수준에서는 “다중 매핑(multi-mapping)” 문제가 발생한다. 두 이소체가 동일한 엑손을 공유하는 경우, 그 공유 엑손 영역에서 읽힌 짧은 단편들이 어느 이소체에서 유래했는지를 결정할 수 없다. 컴퓨터 알고리즘이 통계적 추론으로 이 문제를 완화하려 하지만, 엑손 공유가 많고 대체 스플라이싱 부위가 복수로 존재하는 유전자일수록 추론의 불확실성이 누적된다. NRXN1, CNTN4, SHANK3와 같은 대형 신경발달 유전자들은 수십 개의 대체 엑손을 가지고 수백 가지의 이론적 이소체를 만들 수 있는데, 이런 유전자들에서 짧은길이 기반 이소체 정량은 실질적으로 불가능에 가깝다. 뿐만 아니라, 기존에 주석화(annotation)되지 않은 신규 이소체는 애초에 탐지의 대상 자체가 되지 않는다. 지도에 없는 길은 발견할 수 없는 것과 같다.

긴길이 시퀀싱은 이 문제를 원천적으로 해결한다. 현재 두 가지 플랫폼이 주류를 이루고 있다. Pacific Biosciences(PacBio)의 HiFi Iso-Seq는 환형화된 단일 RNA 분자를 수십 번 반복 시퀀싱하는 Circular Consensus Sequencing(CCS) 방식으로 10~25kb의 읽기 길이에서 99.9% 이상의 정확도를 달성한다. RNA를 여러 번 반복해서 읽고 오류를 평균화함으로써 장거리 읽기와 높은 정확도를 동시에 구현하는 것이다. Oxford Nanopore Technologies(ONT)의 나노포어 시퀀싱은 단백질 채널 속으로 RNA 분자를 통과시킬 때 발생하는 전류 변화를 측정하여 염기 서열을 읽는 전혀 다른 원리를 사용하는데, 100kb 이상의 극장거리 읽기가 가능하며, 나노포어 시퀀싱을 빗금에 구슬을 통과시키는 것에 비유할 수 있다. 구슬(DNA/RNA 염기) 하나하나가 구멍을 통과할 때마다 전류가 조금씩 다르게 바뀌는데, 이 전류 변화를 읽어서 어떤 염기인지 판독한다. 구슬이 아무리 긴 줄에 엮여 있어도 모두 한 번에 통과시킬 수 있다. 매우 긴 전사체나 반복 영역을 포함한 RNA도 하나의 연속된 읽기로 포착할 수 있다. 두 플랫폼 모두 핵심적인 이점을 공유한다. 하나의 RNA 분자를 처음부터 끝까지 하나의 연속된 읽기(read)로 포착할 수 있다는 것이다. 이소체의 5' 말단과 3' 말단이 동일한 읽기 안에 들어 있으므로, 어떤 엑손들이 어떤 순서로 연결되어 있는지를 직접 관찰할 수 있다. 이것이 짧은길이와의 근본적인 차이이다. 추론이 아니라 관찰이다.

엑손 수준에서 이미 보이는 발달적 전환: SCN2A의 사례

긴길이 시퀀싱(long-read sequencing)이 없더라도, 엑손 수준의 발현 분석만으로 발달 과정에서 일어나는 극적인 이소체 전환을 포착할 수 있는 경우가 있다. Liang et al. (2021)은 전압개폐 나트륨 채널 유전자 네 개, SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN8A에서 상호배타적으로 사용되는 한 쌍의 엑손을 추적함으로써 이를 보여주었다. 이 네 유전자는 모두 다섯 번째 단백질 코딩 엑손의 두 가지 버전, 즉 신생아형 엑손 5N과 성체형 엑손 5A를 가지고 있다. 두 엑손은

상호배타적(mutually exclusive)이어서 하나의 전사체에는 둘 중 하나만 포함된다. 어떤 버전이 선택되느냐에 따라 만들어지는 나트륨 채널의 생물리학적 특성, 즉 활성화 역치, 불활성화 속도, 채널 회복 시간이 달라진다.

연구진은 BrainSpan 데이터베이스를 포함한 783개의 인간 뇌 RNA-seq 샘플에서 엑손 수준의 발현을 분석했다. 성숙한 인간 신피질에서는 네 유전자 모두 엑손 5A가 5N보다 최소 4배 이상 높게 발현되었다. 그런데 발달 초기로 거슬러 올라가면 상황이 뒤집힌다. SCN2A, SCN3A, SCN8A에서 5N에서 5A로의 전환이 수정 후 24주에서 생후 6세 사이에 뇌 전체에서 동기화되어 일어났다. 마우스에서 동일한 전환은 배아 15.5일에 이미 시작되므로, 인간의 전환은 마우스보다 상대적으로 훨씬 느리게 진행된다. 이것은 인간 뇌의 시냅스 네오테니, 즉 느린 성숙이라는 주제와도 맞닿아 있다.

이 발견이 특히 중요한 이유는 SCN2A의 임상적 맥락에 있다. SCN2A는 자폐스펙트럼장애와 간질의 주요 원인 유전자인데, 같은 유전자의 유전 변이가 기능 획득(gain-of-function)이면 신생아기 간질을, 기능 상실(loss-of-function)이면 자폐스펙트럼장애와 지적장애를 일으킨다. 왜 같은 유전자에서 반대 방향의 변이가 서로 다른 발달 시기에 서로 다른 질환으로 나타나는가? 엑손 5N에서 5A로의 전환이 그 해답의 일부를 제공한다. 발달 초기에 5N 이소체가 지배적인 시기에는 기능 획득 변이가 채널 활성을 과도하게 높여 발작을 일으키고, 전환이 완료된 후 5A 이소체가 지배적인 시기에는 기능 상실 변이가 성숙한 채널의 정상적 작동을 방해하여 시냅스 기능 장애로 이어진다.

그러나 이 연구는 동시에 짧은길이 기반 분석의 한계도 드러낸다. Liang et al. (2021)이 추적한 것은 상호배타적 엑손 한 쌍의 사용 비율이었다. 이것은 엑손 수준의 질문이지, 전체 이소체 수준의 질문이 아니다. SCN2A에는 엑손 5 이외에도 여러 대체 스플라이싱 부위가 존재하며, 엑손 5A를 포함하는 전사체가 실제로 어떤 전장 이소체인지, 즉 다른 대체 엑손들과 어떤 조합으로 연결되어 있는지는 짧은길이로는 알 수 없다. 개별 엑손의 발달적 전환은 보이지만, 그 엑손이 속한 전체 분자의 정체는 여전히 가려져 있는 것이다. 이 빈틈을 채우는 것이 바로 긴길이 시퀀싱이다.

발달하는 신피질의 이소체 다양성

2024년 Science에 발표된 Patowary et al.의 연구는 긴길이 기술이 뇌 발달 연구에 어떤 차원의 발견을 가능하게 하는지를 보여주는 이정표다. PsychENCODE Phase 2의 일환으로, 이 연구팀은 임신 15~17주에 해당하는 발달 중인 인간 신피질에서 뇌실대(germinal zone, GZ)와 피질판(cortical plate, CP)을 미세절제(microdissection)로 분리하고, 각각에서 PacBio HiFi Iso-Seq를 수행했다. 6명의 공여자로부터 3,300만 개 이상의 읽기를 생성하여 총 214,516개의 뚜렷한 이소체를 발견했는데, 이 중 72.6%인 약 15만 5천 개는 기존 Gencode v33 주석 데이터베이스에 등록되지 않은 신규 이소체이었다. 7,000개 이상의 신규 엑손도 함께 발견되었다. 이것이 의미하는 바는 분명하다. 지난 수십 년간 유전체학 연구가 사용해온 인간 전사체 지도에 실제 전사체의 70% 이상이 누락되어 있었다는 것이다.

이 214,516개의 이소체에서 예측되는 단백질 서열, 즉 프로테오폼(proteoform)은 92,422가지에 달했다. 단백질을 코딩하는 유전자가 약 2만 개라는 사실과 비교하면, 뇌 발달 과정에서 하나의 유전자가 평균 4~5가지의 서로 다른 단백질을 만들어낼 수 있다는 계산이 나온다. 실제로는 단순 대체 스플라이싱 사건의 조합으로 훨씬 더 많은 이론적 이소체가 존재할 수 있지만, 발달하는 피질에서 실제로 발현되는 것은 이 92,422가지다. 더 중요한 것은 GZ와 CP 사이에서 수천 개의 이소체 전환(isoform switch)이 관찰되었다는 것이다. 뇌실대는 증식 중인 방사 글리아(radial glia)와 중간 전구세포(intermediate progenitor cell)로 가득한 구역이고, 피질판은 분화가 완성된 뉴런들이 층을 이루며 자리 잡는 구역이다. 신경 전구세포가 분열을 멈추고 유사분열 후(postmitotic) 뉴런이 되는 이 전환 과정에서, 다수의 유전자들이 단순히 발현량을 올리거나 낮추는 것을 넘어, 완전히 다른 이소체로 바뀐다는 것이 Patowary et al. (2024)의 핵심 발견이다. 이 이소체 전환은 RNA 조절 도메인과 단백질 구조에 영향을 미치며, 따라서 단순한 발현량 변화와는 질적으로 다른 기능적 변화를 초래한다. 전구세포와 뉴런이 단순히 같은 단백질을 다른 양으로 가지는 것이 아니라, 근본적으로 다른 단백질 버전들을 사용하고 있다는 뜻이다.

단일 세포 수준의 분석에서 Patowary et al. (2024)은 초기 단계 흥분성 뉴런(early excitatory neurons)이 다른 세포 유형에 비해 가장 높은 이소체 다양성을 보인다는 것을 발견했다. 이 세포들은 방사 글리아에서 막 분화한 직후의 미성숙 뉴런들인데, 이 단계에서 이소체 수준의 분류를 수행하면 유전자 발현량 수준의 분류에서는 보이지 않는 새로운 세포 상태(cell state)들이 드러났다. 이소체 다양성이 세포 정체성의 더 정밀한 결정자라는 것이다. 이것은 짧은길이 단일 세포 전사체학이 그려온 세포 유형 지도가 아직 완성되지 않았음을 시사한다. 우리가 분류하지 못한 세포 상태들이 존재하며, 그 상태들은 이소체 패턴의 차이에 의해 정의된다.

RNA 결합 단백질이 조율하는 스플라이싱 프로그램

이소체 전환은 저절로 일어나지 않는다. 전구세포에서 뉴런으로의 분화 과정에서 어떤 엑손이 포함되고 어떤 엑손이 제외될지를 결정하는 것은 RNA 결합 단백질(RNA-binding protein, RBP)들이다. 스플라이싱은 전사물(pre-

mRNA)이 스플라이소솜(spliceosome)에 의해 처리되는 과정인데, 스플라이소솜이 어떤 스플라이싱 부위를 인식하고 사용할지는 그 주변 서열에 결합하는 RBP들의 조합에 의해 결정된다. 발달 중인 뇌에서 세포 유형에 따라 서로 다른 RBP들이 발현되고, 그 RBP들이 각 세포 유형에 특화된 스플라이싱 패턴을 만들어낸다. Patowary et al. (2024)은 GZ에서 CP로 전환되는 과정에서 이소체 스위치를 조절하는 핵심 RBP들로 ELAVL1, CELF4, RBFOX2를 발견했다. ELAVL1(HuR로도 알려진)은 RNA 안정성 조절로 잘 알려져 있지만, 발달 중인 피질에서 스플라이싱 조절자로도 광범위하게 기능하며 AUUUA 모티프에 결합하여 신경 분화 과정에서의 스플라이싱 패턴 변화를 촉진한다. RBFOX2는 GCAUG 결합 모티프를 인식하여 신경 특이적 엑손의 포함 여부를 조절하는 대표적인 뉴런 특이적 RBP로, 전구세포에서 뉴런으로의 전환 과정에서 수십 개의 타겟 엑손에 대한 조절을 전환한다. CELF4는 주로 뇌에서 높이 발현되며 UGUGU 모티프에 결합하여 신경 분화와 시냅스 성숙 과정에서 중요한 역할을 한다.

이 RBP들의 역할은 Jeong et al. (2025)이 제시한 더 넓은 그림 속에서 이해할 수 있다. 안준용 연구실을 포함한 연구자들의 이 리뷰 논문은 뇌 발달 과정에서 RBP들이 스플라이싱 코드를 어떻게 구축하고, 그 조절이 어긋날 때 자폐스펙트럼장애로 이어지는 경로를 체계적으로 정리했다. RBP들은 독립적으로 작동하는 것이 아니라 협력적 결합, 경쟁적 결합, 자기 조절, 상호 조절의 복잡한 네트워크를 이루며 스플라이싱 결과를 결정한다. PTBP1(polypyrimidine tract-binding protein 1)과 그 신경 특이적 동위체인 PTBP2는 전구세포에서 뉴런으로의 전환 과정에서 발현 패턴이 극적으로 변한다. 전구세포에서는 PTBP1이 높게 발현되어 신경 특이적 엑손들의 포함을 막지만, 분화가 진행되면서 PTBP1이 감소하고 PTBP2가 증가하면서 신경 특이적 스플라이싱 패턴이 열린다. 마치 야간 경비원이 퇴근하면 낮 경비원이 출근해서 완전히 다른 문들을 열고 잠그는 것처럼, 세포가 성숙하면서 스플라이싱의 문지기 자체가 교체된다. FMRP는 취약 X 증후군의 원인 유전자이자 842개의 시냅스 관련 mRNA를 표적으로 하는 RBP로 (Darnell et al. 2011), 스플라이싱뿐 아니라 번역 조절을 통해서도 시냅스 단백질 조성을 결정한다. 이 RBP들 중 다수가 자폐스펙트럼장애 드노보 유전 변이 목록에 포함되어 있다. RBP의 기능 이상이 단일 유전자가 아니라 수백 개의 이소체에 동시에 영향을 미치는 광범위한 전사체 교란을 초래할 수 있다는 것이 Jeong et al. (2025)의 핵심 메시지다. RBFOX1 유전자의 결실이 자폐스펙트럼장애와 연관된다는 것은 오래전부터 알려져 있었는데, RBFOX1 하나가 뇌 발달 과정에서 조절하는 스플라이싱 타겟이 수천 개에 달하기 때문에 그 결실은 사실상 수천 개의 유전자에 대한 동시적 조절 장애를 초래하는 것이다.

NRXN1 이소체: 하나의 유전자, 50가지 얼굴

긴길이 시퀀싱이 신경발달 질환 연구에 가져온 구체적인 돌파구 중 하나는 NRXN1이라는 유전자를 통해 잘 드러난다. NRXN1은 시냅스 전(presynaptic) 세포 부착 분자로서 시냅스 후막의 뉴렉신 결합 파트너들(neurexin-binding partners), 특히 니우렉신(neuroligin)과 결합하여 시냅스 특이성과 적절한 시냅스 회로 형성을 결정하는 데 핵심적인 역할을 한다. NRXN1 유전자의 유전 변이는 자폐스펙트럼장애뿐 아니라 조현병, 지적장애와도 연관되어 있어 가장 강력한 신경발달 질환 위험 유전자 중 하나다. 그런데 NRXN1은 그 구조부터 특별하다. 이 유전자에는 6개의 주요 대체 스플라이싱 부위(SS1~SS6)가 있고, 각 부위에서 두 가지 이상의 선택이 가능하여 이론적으로는 수천 가지의 단백질을 만들어낼 수 있다. 그러나 실제로 인간 뇌에서 얼마나 많고 다양한 이소체가 존재하는지, 그리고 그 이소체들이 세포 유형에 따라 어떻게 다른지는 짧은길이 기술로는 파악이 불가능했다.

Cao et al. (2025)은 두 가지 기법을 조합한 장거리 시퀀싱 전략으로 이 문제에 정면으로 맞섰다. 문제는 NRXN1의 발현량이 매우 낮다는 것이었다. 세포 안에 있는 수만 종류의 RNA 중에서 NRXN1 RNA는 극소수에 불과하다. 바다에서 특정 물고기 한 종만 잡아야 하는 상황인 셈이다. 첫 번째 기법은 표적 포획(probe-based capture)이다. NRXN1 유전자의 모든 엑손에 상보적인 탐침(probe)을 설계하여, 마치 특정 물고기만 무는 미끼처럼 NRXN1 RNA만 골라서 낚아챈다. 여기서 상보적이란 자석처럼 정확히 들어맞는다는 뜻이다. A에는 T가, G에는 C가 달라붙듯이, NRXN1 서열에 딱 맞는 탐침이 수만 종의 RNA 혼합물 속에서 NRXN1만 선택적으로 끌어당긴다. 이렇게 하면 NRXN1 RNA가 36~96배 증가한다. 두 번째 기법은 RACE-seq(Rapid Amplification of cDNA Ends)이다. RNA 분자의 한쪽 끝 서열을 알고 있을 때, 그 지점을 닦으로 삼아 반대쪽 끝까지 쪽 읽어나가는 방법이다. 실 뭉치의 한쪽 끝을 잡고 당기면 전체 실이 풀려 나오는 것처럼, 알려진 서열 조각 하나에서 출발하여 전사체의 처음부터 끝까지를 완전하게 복원해내는 것이다. 이 방법은 특히 발현량이 극히 낮은 희귀 이소체나 유전 변이로 인해 생겨난 비정상적 이소체를 놓치지 않고 잡아내는 데 핵심적이었다. 두 기법을 결합한 뒤 PacBio 긴길이 시퀀싱으로 전장 전사체를 읽어냈다. 성인 전전두엽, 태아 피질, 자폐스펙트럼장애 환자의 소뇌, 그리고 조현병 환자 유래 피질 오가노이드를 포함한 여러 샘플에서 총 50개의 뚜렷한 NRXN1 이소체를 발견했는데, 이 중 23개는 기존에 보고된 적 없는 신규 이소체이었다. 6개의 스플라이싱 부위를 모두 조합하면 이론적으로 수천 가지가 가능한데, 실제로 인간 뇌에서 관찰되는 것은 50가지로 좁혀진다는 것은 스플라이싱이 무작위로 일어나지 않고 엄격하게 조절된다는 것을 의미한다.

Cao et al. (2025)의 발견 중에서 가장 주목할 만한 것은 세포 유형별 스플라이싱 특이성이다. 성인 전전두엽에서 억제성 뉴런(interneuron) 소집단들은 발달 기원이 같은 경우 서로 비슷한 NRXN1 스플라이싱 패턴을 공유하고, 다른 기원을

가진 억제성 뉴런 소집단과는 뚜렷하게 다른 패턴을 보였다. 즉, NRXN1의 이소체 선택이 세포의 계보적(lineage) 역사를 반영한다는 것이다. 세포의 발달 기원이 성체 뇌에서도 스플라이싱 선택에 기억으로 남아 있다. 또한 태아기에 이미 형성된 NRXN1 스플라이싱 프로파일이 성체까지 안정적으로 유지된다는 것도 확인되었는데, 이것은 스플라이싱 패턴이 초기에 결정되어 이후의 발달 과정을 통해 유지되는 에피제네틱적 기억과 유사한 현상임을 시사한다. 한편 자폐스펙트럼장애 환자의 소뇌에서는 NRXN1 결실 대립유전자에서 유래한 비정상적인 이소체들이 소뇌 분자층 억제성 뉴런(ML1/2)과 성상 글리아(astroglia)에서 특이적으로 빈번하게 발견되어 있었으며, 과립 뉴런(granule neuron)에서는 시냅스 특이성에 중요한 CBLN1 발현이 감소해 있었다. 하나의 유전 변이가 세포 유형별로 서로 다른 분자적 결과를 초래하며, 그 결과가 회로 수준의 기능 이상으로 이어진다는 것이다.

이소체 복잡성과 신경발달 질환의 접점

Patowary et al. (2024)의 연구에서 가장 인상적으로 중요한 발견 중 하나는 유전 변이 재주석(reannotation)의 결과다. 연구팀은 기존에 알려진 자폐스펙트럼장애, 지적장애, 신경발달 질환의 드노보 유전 변이들을 새롭게 발견된 214,516개의 이소체 카탈로그에 대입하여 재평가했다. 그 결과, 기존 Gencode 주석 데이터베이스를 기반으로 해석했을 때는 임상적 의미가 불분명했거나 경미하게 평가되었던 수천 개의 변이들이 더 심각한 결과, 즉 단백질 절단(truncation)이나 프레임시프트(frameshift)를 초래하는 것으로 재분류되었다. 특히 기존에는 인트론 깊은 곳에 위치한다고 여겨졌던 변이들 중 일부가 신규 이소체에서는 엑손 영역에 해당하는 것으로 밝혀졌다. 즉, 우리가 유전 변이를 임상적으로 해석하는 데 사용하는 지도가 불완전했다는 것이다. 기존 짧은길이 기술로 만들어진 전사체 지도에는 실제 전사체의 72.6%가 그려져 있지 않았고, 그 누락된 전사체들 위에 놓인 변이들은 그 임상적 의미가 과소평가되어 있었다.

이 발견의 의미를 한 걸음 더 확장한 것이 Jeong et al. (2025)의 통찰이다. 자폐스펙트럼장애와 연관된 유전 변이들의 상당수는 RBP의 기능 자체를 변형시키는 것이 아니라, RBP가 결합하는 스플라이싱 조절 서열에 위치함으로써 간접적으로 스플라이싱을 교란한다. 이런 변이들은 코딩 서열에 없고, 정규 스플라이싱 부위에도 없기 때문에, 현재의 변이 해석 파이프라인에서 대부분 의미 불명(variant of uncertain significance, VUS)으로 분류된다. VUS란 쉽게 말해 “이상한 것 같긴 한데 범인인지 확신할 수 없다”는 판정이다. 범행 현장 CCTV에 찍히지 않았고, 지문도 없지만, 사건 당일 근처에 있었던 사람 정도의 위치다. 그러나 해당 변이가 어떤 RBP의 결합 모티프를 파괴하는지, 그리고 그 RBP가 발달 중인 뇌에서 어떤 이소체 프로그램을 조절하는지가 긴길이 기술로 규명된다면, 이 VUS들을 질환 기여 변이로 재분류할 수 있는 근거가 마련된다. 전사체 이소체의 완전한 목록과 RBP 결합 지도의 조합이 변이 해석의 새로운 지평을 여는 것이다.

긴길이 시퀀싱이 열어준 세계는 단순히 더 많은 이소체의 목록이 아니다. 그것은 하나의 유전자가 세포 유형별로, 발달 단계별로, 그리고 질환 상태별로 완전히 다른 분자적 정체성을 가질 수 있다는 것을 보여주는 새로운 차원의 생물학이다. 214,516개의 이소체, 50가지 얼굴을 가진 NRXN1, 뇌실대와 피질판 사이에서 전환되는 스플라이싱 프로그램들, ELAVL1과 RBFOX2와 CELF4가 조절하는 분화의 분자 악보, 이것들은 인간 뇌가 단지 많은 세포로 이루어진 것이 아니라 각 세포 안에서 전사체 수준의 정밀한 다양성이 구축되어 있다는 것을 말해준다. 그리고 그 다양성이 어긋날 때, 우리는 그것을 신경발달 질환이라고 부른다. 지금까지 우리가 보지 못했던 것은 기술의 한계 때문이었다. 긴길이 시퀀싱은 그 한계를 이동시키고 있으며, 우리는 이제 더 정밀한 지도를 손에 들고 이 복잡한 지형을 탐색할 수 있게 되었다.

References

Patowary A, Zhang P, Jops C, Vuong CK, Ge X, Hou K, Kim M, Gong N, Margolis M, Vo D, Wang X, Liu C, Pasaniuc B, Li JJ, Gandal MJ, de la Torre-Ubieta L. (2024) Developmental isoform diversity in the human neocortex informs neuropsychiatric risk mechanisms. *Science* 384:eadh7688.

Liang L, Fazel Darbandi S, Pochareddy S, Gulden FO, Gilson MC, Sheppard BK, Sahagun A, An JY, Werling DM, Rubenstein JLR, Sestan N, Bender KJ, Sanders SJ. (2021) Developmental dynamics of voltage-gated sodium channel isoform expression in the human and mouse brain. *Genome Medicine* 13:135. doi:10.1186/s13073-021-00949-0

Cao L, Fan Y, Ghorbani S, Mariani J, Zhang Y, Fernando MB, Bendl J, Fullard J, Ramos SI, Mead EA, Deikus G, Beaumont KG, Sebra R, Tsankova N, Roussos P, Brennand KJ, Fang G. (2025) Cell-type-resolved NRXN1 isoforms across human brain tissues and hiPSC organoids. *bioRxiv* 2025.11.11.687875.

Jeong J, Yoo HJ, An JY, Jeong S. (2025) Dysregulated RNA-binding proteins and alternative splicing: Emerging roles in autism spectrum disorder. *Molecules and Cells* 48:100237.

Darnell JC, Van Driesche SJ, Zhang C, Hung KY, Mele A, Fraser CE, Stone EF, et al. (2011) FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell* 146:247–261.

Lee JA, Damianov A, Lin CH, Fontes M, Bhatt DL, Bhatt DL, Schuman EM, Black DL, et al. (2016) Cytoplasmic Rbfox1 regulates the expression of synaptic and autism-related genes. *Neuron* 89:113–128.

Voineagu I, Wang X, Johnston P, Lowe JK, Bhatt DL, Bhatt DL, Yue Y, et al. (2011) Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature* 474:380–384.

Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, Murdoch JD, Raubeson MJ, Willsey AJ, Bhatt DL, et al. (2020) De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature* 485:237–241.

Negi H, Bhatt DL, et al. (2025) Advancing long-read nanopore genome sequencing of human disease. *American Journal of Human Genetics* 112:334–350.

주요 용어 안내

긴길이 시퀀싱(long-read sequencing): PacBio HiFi나 Oxford Nanopore 기술을 이용하여 수천~수만 염기 길이의 DNA/RNA를 한 번에 읽는 방법. 기존 짧은길이 시퀀싱으로는 볼 수 없었던 이소체 다양성과 구조적 변이를 분석할 수 있다.

이소체(isoform): 같은 유전자에서 대체 스플라이싱에 의해 만들어지는 서로 다른 형태의 RNA/단백질. 인간 뇌에서 214,516개의 이소체가 확인되었으며, 이 중 72.6%는 이전에 알려지지 않았던 것이다.

Chapter 30. Perturb-seq — 유전자 기능의 대규모 해부

오랫동안 유전자 기능 연구는 본질적으로 외로운 작업이었다. 연구자 한 명이 한 개의 유전자를 골라, 그것을 없애거나 과발현시키는 세포주를 만들고, 몇 달에 걸쳐 그 결과를 분석하는 과정이었다. 이 방식은 분명히 작동했다. 수십 년에 걸쳐 수천 개의 유전자 기능이 이런 방식으로 밝혀졌고, 분자생물학의 지식 체계 상당 부분이 이 접근법의 산물이다. 그런데 2014년 이후 상황이 근본적으로 달라졌다. 자폐스펙트럼장애(autism spectrum disorder, ASD) 하나만 놓고 봐도, 전장 엑솜 시퀀싱(whole-exome sequencing) 연구들이 수백 개의 위험 유전자를 쏟아냈다. 희귀 뇌 질환도 아니고, 가장 흔한 신경발달장애 중 하나인 ASD에서만 이미 수백 개가 넘는 유전자가 후보 목록에 올라 있었다. 문제는 분명해졌다. 유전자를 발견하는 속도는 기하급수적으로 빨라졌는데, 유전자 기능을 검증하는 속도는 여전히 선형적이었다. 한 번에 한 유전자라는 전통적인 방식으로는 이 격차를 절대 줄일 수 없었다.

한 번에 하나씩의 한계

이 비대칭의 규모를 실감하려면 간단한 산수가 필요하다. ASD와 연관된 유전자 후보가 200개 있다고 가정하자. 숙련된 연구자 한 명이 하나의 유전자를 인간 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cell, iPSC) 유래 뉴런에서 검증하는데 평균 2년이 걸린다고 하면, 200개 유전자를 다 검증하는데 한 사람이 400년이 필요하다는 계산이 나온다. 물론 여러 연구실이 동시에 일하고 있으니 현실은 그보다 빠르지만, 그럼에도 불구하고 새로운 유전자가 발견되는 속도를 따라잡기에는 역부족이다. 그리고 이것은 단순히 속도의 문제만이 아니다. 한 번에 한 유전자만 연구하면 절대로 볼 수 없는 것들이 있다. 서로 다른 유전자들이 어떻게 비슷한 세포 변화를 일으키는지, 즉 수렴(convergence, Chapter 19)의 구조는 개별 연구를 아무리 쌓아도 보이지 않는다. 수백 개의 퍼즐 조각을 하나씩 들여다보는 방식으로는 퍼즐 전체의 그림을 볼 수 없는 것과 같다.

또 다른 문제는 세포의 불투명성이다. 전통적인 기능 연구에서는 유전자를 제거하거나 과발현시킨 뒤, 연구자가 미리 상상한 몇 가지 표현형을 검사한다. 세포의 생존율이 달라지는가, 특정 단백질의 양이 변하는가, 세포 형태가 달라지는가 같은 것들이다. 그런데 세포는 연구자가 상상하지 못한 방식으로 반응할 수 있다. 예상치 못한 신호전달 경로가 활성화되거나, 전혀 연관이 없어 보이던 유전자들의 발현이 바뀌거나, 세포가 서서히 다른 운명으로 방향을 틀 수도 있다. 이런 예상치 못한 변화는 특정 표현형을 겨냥한 단일 실험으로는 잡아낼 수 없다. 편향되지 않은 전체 전사체(transcriptome) 수준의 읽기가 필요하다.

그리고 뇌는 유독 이 문제가 심각한 장기다. 살아있는 인간의 뇌에서 조직을 채취할 수 없다는 근본적인 제약 때문에, 인간 유전자의 기능을 검증하려면 사후 조직이나 체외 모델에 의존해야 한다. 마우스 모델이 있기는 하지만, 인간 뇌에서만 나타나는 세포 유형들, 예를 들어 외측 방사 글리아(outer radial glia, oRG)나 인간 특이적 피질 조직 같은 것들은 마우스에서 재현할 수 없다. 인간 iPSC 유래 뉴런이나 뇌 오가노이드는 이 공백을 부분적으로 메워주지만, 이 시스템에서 수백 개의 유전자를 하나씩 연구하는 것은 여전히 비현실적이었다. 따라서 문제는 하나의 기술적 질문으로 귀결되었다. 수백 개의 유전자 교란을 동시에 진행하면서도, 각각의 교란이 세포 수준에서 어떤 효과를 냈는지를 개별적으로 측정할 수 있을까? 마치 수천 명의 학생들에게 각각 다른 문제를 동시에 풀게 하면서, 나중에 누가 어떤 문제를 풀었는지와 그 풀이 과정을 모두 분리해서 채점할 수 있어야 하는 것이다.

Perturb-seq의 탄생: 교란과 측정의 결합

그 질문에 대한 대답이 2016년 Cell 지에 발표된 Perturb-seq이다. Dixit et al. (2016) 연구는, 두 가지 이미 존재하던 기술을 영리하게 결합했다. 하나는 풀드(pooled) CRISPR 스크리닝이고, 다른 하나는 단일 세포 RNA 시퀀싱(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)이다. 풀드 스크리닝은 수백에서 수천 개의 서로 다른 유전자를 표적으로 하는 가이드 RNA(guide RNA, gRNA)를 한꺼번에 세포 집단에 도입하는 방식이다. 각 세포는 이 혼합물로부터 하나의 gRNA를 받게 되고, 결과적으로 세포 집단 내에서 서로 다른 세포들이 서로 다른 유전자를 교란당하는 모자이크 상태가 만들어진다. 이것만으로는 어느 세포가 어느 유전자를 교란당했는지 알기 어렵고, 더 중요하게는 각 교란이 어떤 전사체 변화를 일으켰는지 알 수 없다. 여기에 두 번째 기술, scRNA-seq가 결합된다. Perturb-seq에서는 gRNA 자체가 세포 내에서 RNA로 발현되어 바코드(barcode) 역할을 하도록 설계되었다. 마트 영수증처럼, 각 세포가 “나는 유전자 X를 교란당했다”는 고유한 태그를 스스로 달고 있는 셈이다. 따라서 scRNA-seq를 통해 각 세포의 전사체를 읽을 때, 동시에 그 세포가 어떤 gRNA를 발현하고 있는지, 즉 어떤 유전자가 교란되었는지도 알 수 있다. 교란의 정체와 교란의 결과를 단일 세포 수준에서 동시에 읽어내는 것이다.

Dixit et al. (2016)이 발표한 이 최초의 Perturb-seq 논문은 뼈수 유래 수지상세포(bone-marrow-derived dendritic cells)와 K562 세포주에서 약 24개의 전사인자(transcription factor)를 동시에 교란하고, 약 200,000개의 세포에서 전사체를 읽어냈다. 한 번의 실험으로 24개 유전자의 기능을 단일 세포 수준에서 동시에 측정한 것은 당시 기준으로 그때까지 시도되지 않았던 규모였다. 또한 이 논문은 MIMOSCA(Multi Input Multi Output Single Cell Analysis)라는 계산 분석 툴도 함께 제시했는데, 이는 개별 교란의 효과뿐 아니라 두 유전자의 동시 교란에서 나타나는 유전 상호작용(genetic interaction)까지 분석할 수 있는 방법이었다. 하나의 논문이 실험 플랫폼과 계산 프레임워크를 동시에 제시한 셈이었고, 이것은 그 이후 등장하는 모든 Perturb-seq 파생 연구들의 기술적 토대가 되었다.

CRISPRi와 CRISPRa: 유전자를 끄고 켜는 기술

Perturb-seq의 성능을 온전히 이해하려면, 이 기술의 엔진 역할을 하는 CRISPR 도구들, 즉 CRISPR 간섭(CRISPR interference, CRISPRi)과 CRISPR 활성화(CRISPR activation, CRISPRa)에 대해 먼저 이야기해야 한다. 원래의 CRISPR-Cas9는 DNA를 잘라서 영구적인 유전 변이(mutation)를 도입하는 방식이다. 두 가닥 DNA를 끊어버리면 세포가 이것을 복구하는 과정에서 염기 삽입이나 결실이 일어나고, 이것이 프레임이동 유전 변이(frameshift mutation)를 일으켜 유전자 기능을 망가뜨린다. 이것이 전통적인 녹아웃(knockout)이다. 그런데 여기에는 문제가 있다. 복구 과정이 불완전하거나 예측 불가능하여, 같은 gRNA로 처리된 세포라도 결과로 생긴 유전 변이의 종류가 서로 다를 수 있다. 스크리닝에서 이런 불균일성은 잡음(noise)이 된다.

CRISPRi는 이 문제를 다른 방식으로 접근한다. DNA를 자르는 대신, DNA 절단 능력이 제거된 비활성 Cas9, 즉 죽은 Cas9(dead Cas9, dCas9)에 강력한 전사 억제 도메인을 붙인다. 이 복합체가 gRNA의 안내를 받아 특정 유전자의 프로모터(promoter) 근처에 결합하면, 물리적인 장애물이 되어 RNA 중합효소(RNA polymerase)가 유전자를 전사하는 것을 방해한다. DNA 서열은 전혀 바뀌지 않지만, 유전자 발현이 크게 억제된다. 녹아웃(knockout)이 유전자를 파괴하는 것이라면, CRISPRi는 유전자를 침묵시키는 것이다. 전기 스위치로 비유하면, 녹아웃은 전선을 아예 끊어버리는 것이고, CRISPRi는 스위치를 끈 채로 놔두는 것이다. 둘 다 불이 꺼지지만, 전선을 끊으면 매번 다르게 끊겨 결과가 들쭉날쭉한 반면, 스위치를 끄는 것은 항상 같은 방식으로 작동한다. 유전 변이의 불균일성이 없기 때문에 스크리닝에서 훨씬 균일하고 재현 가능한 결과를 낸다. CRISPRa는 반대 방향이다. 전사 억제 도메인 대신 강력한 전사 활성화 도메인을 dCas9에 붙여, 원하는 유전자의 발현을 증가시킨다. CRISPRi가 유전자 기능 상실(loss-of-function)을 체계적으로 연구하는 도구라면, CRISPRa는 유전자 기능 획득(gain-of-function)을 연구하는 상보적 도구다. 두 기술을 함께 사용하면, 특정 유전자가 없을 때 무슨 일이 일어나는지와, 그 유전자가 과도하게 활성화될 때 무슨 일이 일어나는지를 동시에 물어볼 수 있다.

뉴런에서의 유전체 규모 스크리닝: Tian et al. (2021)

기술의 잠재력은 분명했지만, 뉴런에서 이것을 구현하는 것은 전혀 다른 이야기였다. 뉴런은 분열하지 않는 세포라는 점이 첫 번째 장벽이다. 대부분의 CRISPR 스크리닝은 세포가 분열할 때 gRNA의 빈도 변화를 통해 유전자 기능을 추정하는데, 분열하지 않는 세포에서는 이 전략을 사용할 수 없다. 두 번째 장벽은 규모다. 유전체 수준의 스크리닝을 하려면 수만에서 수십만 개의 세포가 필요한데, iPSC를 뉴런으로 분화시키는 것은 세포주를 키우는 것보다 훨씬 복잡하고 시간이 걸리는 과정이다. Tian et al. (2021)이 Nature Neuroscience에 발표한 연구는 이 두 장벽을 모두 넘어선 첫 번째 성공 사례였다. 마틴 캠프만(Martin Kampmann) 연구실의 이 연구는 인간 iPSC 유래 뉴런에서 유전체 규모의 CRISPRi와 CRISPRa 스크리닝을 처음으로 수행했다.

핵심 설계 결정은 신경생성인자 2(Neurogenin 2, Ngn2) 유도 뉴런 시스템의 선택이었다. Ngn2는 피질 흥분성 뉴런의 운명 결정에 관여하는 전사인자인데, 이것을 iPSC에 인위적으로 발현시키면 불균질한 자연 분화 과정을 거치지 않고 빠르고 균일하게 글루타민산성 뉴런(glutamatergic neuron)을 대량으로 생산할 수 있다. 분화의 효율성과 균일성이 보장되어야 유전체 스케일의 스크리닝이 가능하기 때문에, 이 선택은 결정적이었다. 연구진은 CRISPRi용과 CRISPRa용 iPSC 주를 각각 구축하여, 두 모드의 스크리닝을 독립적으로 진행했다. CRISPRi 스크리닝에서는 인간 유전체의 거의 모든 단백질 코딩 유전자를 표적으로 하는 gRNA 라이브러리를 도입하고, 뉴런의 생존에 필수적인 유전자들을 찾았다. CRISPRa 스크리닝에서는 어떤 유전자를 과발현시켰을 때 독성을 나타내는지 탐색했다. 두 스크리닝의 결과를 비교함으로써, 유전자 기능의 양방향적 지형도가 만들어졌다.

가장 주목할 발견은 프로사포신(prosaposin, PSAP)과 관련된 것이었다. PSAP는 라이소좀(lysosome) 기능에 관여하는 단백질이다. CRISPRi로 PSAP의 발현을 억제했을 때, 뉴런은 만성 산화 스트레스에 특히 취약해졌다. 흥미롭게도 이 취약성은 iPSC나 HEK293 세포에서는 관찰되지 않았다. 뉴런에서만 특이적으로 나타나는 현상이었다. 더 깊이 파고들었더니, PSAP 결핍이 라이소좀 기능 장애를 일으키고, 이것이 리포푸신(lipofuscin)이라는 노화 관련 세포 내 찌꺼기의 축적으로 이어졌다. 리포푸신은 철(iron)을 가두는 성질이 있는데, 갇힌 철이 반응성 산소종(reactive oxygen species)을 생성하고, 이것이 지질 과산화(lipid peroxidation)를 일으켜 최종적으로 페롭토시스(ferroptosis)라는 세포 사멸을 유도했다. 페롭토시스는 이름 그대로 철(ferro-)에 의해 촉발되는 세포 사멸로, 녹슬어서 부서지는 금속처럼 세포막 지질이 산화되어 구멍이 뚫리는 방식으로 죽는다. 라이소좀 기능 장애가 철 대사 교란을 통해 페롭토시스로 이어지는 경로는, 이 연구 이전에는 뇌 특이적 맥락에서 이렇게 명확하게 규명된 적이 없었다. 게다가 이 경로의 구성 요소들, 라이소좀 기능 장애, 철 축적, 산화 손상은 모두 알츠하이머, 파킨슨병 같은 신경퇴행성 질환에서도 공통적으로 나타나는 특징들이다. 뉴런에서만 나타나는 이 취약성이 노화와 함께 신경퇴행으로 이어지는 과정을 이해하는 단서가 될 수 있다는 것을 이 연구는 시사했다.

뿐만 아니라, 뉴런 생존에 중요한 여러 경로들도 이 연구를 통해 체계적으로 밝혀졌다. 산화 방어에 관여하는 SOD1과 SOD2는 뉴런 생존에 필수적이었는데, 흥미롭게도 이 유전자들은 다른 여러 세포 유형에서는 필수적이지 않았다. 라이소좀 산성화에 필요한 액포형 ATPase(vacuolar ATPase, V-ATPase) 복합체의 서브유닛들, 콜레스테롤 생합성, 철 항상성, 단백질 접힘(protein folding), mRNA 처리, 자가포식(autophagy) 경로들이 모두 뉴런 생존에 중요한 것으로 확인되었다. 하나의 스크리닝이 뉴런 생물학의 여러 핵심 경로를 동시에 포괄하는 기능 지형도를 그려낸 것이다.

사후 조직의 벽을 넘는 기술

이 기술이 뇌 연구에 특별히 중요한 이유는, 뇌 연구가 직면한 가장 근본적인 한계와 맞닿아 있기 때문이다. 뇌는 살아있는 인간에게서 조직을 채취할 수 없는 장기다. 신경과학자들이 수십 년 동안 의존해온 사후 조직은 유전자 발현 패턴을 보여줄 수는 있지만, 유전자 기능 실험은 거의 불가능하다. 이미 죽은 조직에서는 CRISPR로 유전자를 제거할 수도, 그 결과를 관찰할 수도 없다. 마우스 모델은 강력한 대안이지만, 앞서 언급했듯이 인간 뇌 특이적인 현상을 재현하는 데는 한계가 있다. 결국 인간 iPSC 유래 뉴런과 오가노이드가 이 공백을 메워주는 유일한 선택지인데, 이 시스템에서 Perturb-seq가 작동한다는 것을 Tian et al. (2021)이 증명한 것이다.

비유하자면 이렇다. 건물의 설계 오류를 찾고 싶는데, 완공된 건물만 볼 수 있고 공사 중에는 현장에 들어갈 수 없다고 상상해보라. 사후 조직 연구는 이미 완공된 건물을 들여다보는 것이다. 무엇인가 잘못되었다는 것은 알지만, 어느 시공 단계에서 무엇이 잘못되었는지는 알기 어렵다. 반면 iPSC 유래 뉴런이나 오가노이드는 건물이 지어지는 과정을 실험실에서 재현하는 것이다. 거기에 Perturb-seq를 결합하면, 공사 중에 특정 설계 요소를 하나씩 제거하거나 변경하면서 그 결과를 실시간으로 관찰할 수 있게 된다. 한 번에 수백 개의 설계 요소를 동시에 바꾸면서 각각의 효과를 개별적으로 추적할 수 있다는 점에서, 이것은 이전에는 불가능했던 종류의 실험이다.

또한 Tian et al. (2021)은 이 연구에서 CRISPRbrain이라는 데이터 공개 플랫폼도 함께 만들었다. 서로 다른 세포

유형에서 수행된 기능 유전체학 스크리닝 결과를 한곳에 모아 상호 비교할 수 있도록 한 이 플랫폼은, 어떤 유전자가 어느 세포 유형에서 특이적으로 필수적인지를 시각적으로 탐색할 수 있게 해준다. 뇌 특이적 필수 유전자가 간이나 신장에서는 필수적이지 않을 수 있고, 그 반대도 마찬가지다. 이러한 세포 유형 특이성은 신경퇴행성 질환에서 왜 특정 뉴런 집단이 선택적으로 죽어가는지를 이해하는 열쇠가 될 수 있다. 같은 유전 변이를 가진 사람이라도 특정 세포 유형에서만 취약성이 나타나는 이유, 같은 유전자를 교란해도 세포에 따라 전혀 다른 결과가 나타나는 이유를 이해하는 데, Perturb-seq와 같은 대규모 기능 유전체학 접근법은 필수적인 도구가 되었다.

References

Dixit, A., Parnas, O., Li, B., Chen, J., Fulco, C. P., Jerby-Arnon, L., ... & Regev, A. (2016). Perturb-Seq: Dissecting molecular circuits with scalable single-cell RNA profiling of pooled genetic screens. *Cell*, 167(7), 1853–1866.e17. doi:10.1016/j.cell.2016.11.038

Tian, R., Abarientos, A., Hong, J., & Kampmann, M. (2021). Genome-wide CRISPRi/a screens in human neurons link lysosomal failure to ferroptosis. *Nature Neuroscience*, 24(7), 1020–1034. doi:10.1038/s41593-021-00862-0

주요 용어 안내

Perturb-seq: CRISPR 교란과 단일 세포 RNA 시퀀싱을 결합한 기술. 수천 개의 유전자를 한꺼번에 교란하면서, 각 교란이 개별 세포의 유전자 발현에 미치는 영향을 동시에 읽어낸다.

CRISPRi(CRISPR interference): 유전자를 절단하지 않고 발현만 억제하는 CRISPR 변형. 세포를 죽이지 않으면서 유전자 기능을 끌 수 있어, Perturb-seq에서 주로 사용된다.

페로토시스(ferroptosis): 철(iron)에 의해 촉발되는 세포 사멸. 세포막 지질이 산화되어 구멍이 뚫리는 방식으로 세포가 죽으며, 뉴런에서 라이소좀 기능 장애와 연결되어 있다.

Chapter 31. 오가노이드와 살아있는 뇌에서의 CRISPR 스크리닝

앞 장에서 우리는 Perturb-seq가 어떻게 한 번에 하나씩이라는 유전자 기능 연구의 오랜 한계를 깨뜨렸는지 살펴보았다. 그런데 Tian et al. (2021) 연구가 아무리 혁신적이었다 해도, 그것은 2차원 평판 배양(2D culture)에서 얻은 뉴런이었다. Ngn2 유도 뉴런 시스템은 균일하고 대규모 생산이 가능하다는 장점이 있지만, 그 대가로 극도로 단순화된 세포 환경을 감수해야 했다. 실제 뇌에서 뉴런은 절대 혼자 살지 않는다. 성상세포(astrocyte)가 옆에서 영양을 공급하고, 미세아교세포(microglia)가 감시하며, 다른 뉴런들과 수백 개의 시냅스로 연결되어 끊임없는 전기 신호의 교환 속에 존재한다. 세포의 운명은 이런 맥락 속에서 결정된다. 특정 유전자를 교란했을 때 나타나는 효과도, 세포가 처한 환경에 따라 전혀 다를 수 있다. 농구 선수의 실력을 평가할 때 빈 체육관에서 슛 연습만 시키는 것과, 실제 경기 중에 관찰하는 것이 전혀 다른 결과를 주는 것처럼, 세포도 고립된 환경과 복잡한 조직 안에서 다르게 행동한다. 2차원 배양에서는 보이지 않지만 실제 발달하는 뇌 조직에서는 결정적인 효과를 내는 유전자 기능이 분명히 존재할 것이다. 2023년에 발표된 일련의 연구들은 이 한계를 넘어서는 도전을 시작했다.

CHOOSE: 오가노이드에서 CRISPR 스크린을 하다

뇌 오가노이드(brain organoid)는 인간 줄기세포를 3차원으로 배양하여 실제 발달 중인 뇌와 유사한 구조를 만들어낸 조직이다. 2013년 매들린 랭커스터(Madeline Lancaster)와 요르크 크노블리히(Jürg Knoblich)가 처음 개발한 이후로, 뇌 오가노이드는 빠르게 신경발달 연구의 핵심 모델이 되었다. 피질 방사 글리아(cortical radial glia), 중간 전구세포(intermediate progenitor cell), 흥분성 뉴런과 억제성 뉴런이 공존하는 3차원 구조 안에서, 각 세포는 서로의 신호를 받으며 발달한다. 인간 특이적 세포 유형인 oRG 세포도 나타나고, 피질 층판화(cortical lamination)의 초기 단계도 관찰된다. 그러나 오가노이드에서 Perturb-seq를 수행하는 것은 2차원 배양에서보다 훨씬 어렵다. 세포들이 덩어리 안에 묶여 있어 바이러스를 균일하게 전달하기 어렵고, 각 세포가 오가노이드 내에서 어느 위치에 있었는지에 따라 완전히 다른 환경에 노출되었을 수 있으며, 오가노이드마다 발달 상태가 다를 수 있다는 배치 효과(batch effect)도 문제다.

2023년 Nature에 발표된 CHOOSE(CRISPR-Human Organoids-scRNA-Seq) 플랫폼은 이 도전에 정면으로 맞섰다. 이 연구의 핵심 전략은 오가노이드가 만들어지기 전 단계, 즉 iPSC 단계에서 CRISPR 교란을 도입하는 것이었다. 유도성 향상 특이적 Cas9(inducible enhanced-specificity Cas9, eCas9)이 삽입된 인간 배아줄기세포 주에, 4-하이드록시타목시펜(4-hydroxytamoxifen)에 의해 활성화되는 CRE 재조합효소를 도입했다. 이 설계에서 Cas9은 CRE가 활성화될 때까지 loxP-stop 카세트에 의해 차단된 상태로 있다가, 원하는 시점에 타목시펜을 처리하면 비로소 활성화된다. 따라서 연구자는 CRISPR 교란이 일어나는 발달의 시점을 정밀하게 제어할 수 있다. 교란이 일어난 세포들은 오가노이드가 형성되는 과정에서 교란되지 않은 세포들과 함께 존재하여 모자이크(mosaic) 오가노이드를 형성하고, 이것이 내부 대조군이 된다. 각 표적 유전자에 대해 두 개의 gRNA를 동시에 사용하는 이중 gRNA 설계는 두 가닥 모두 효율적으로 편집될 가능성을 높여 완전한 기능 상실을 보장했다.

스크리닝 대상은 전사 조절(transcriptional regulation)과 연관된 36개의 고위험 자폐스펙트럼장애 유전자들이었다. 스크린의 결과는 세포 생존율이 아니라 scRNA-seq를 통한 세포 구성 변화(cell composition change)였다는 점이 중요하다. 어떤 유전자를 교란했을 때 특정 세포 유형이 더 많아지거나 줄어드는가, 즉 세포 운명 결정(cell fate decision)에 어떤 영향을 미치는가를 읽어낸 것이다. 가장 강력한 표현형을 보인 유전자는 ARID1B였다. BAF 크로마틴 리모델링 복합체(BAF chromatin remodeling complex)의 핵심 구성 성분인 ARID1B는 자폐스펙트럼장애의 고위험 유전자 중 하나인데, 이 유전자를 교란했을 때 복측 방사 글리아(ventral radial glia)가 비정상적으로 늘어나고 희소돌기세포 전구세포(oligodendrocyte precursor cell) 및 초기 인터뉴런 전구 세포로의 전환이 증가하는 것이 관찰되었다. 등쪽 피질 뉴런, 특히 상층 흥분성 뉴런으로의 분화가 억제되고, 대신 복측 운명으로 치우치는 현상이었다. 이것은 기존의 2차원 배양에서는 명확하게 포착하기 어려운 발달적 표현형이었다. 오가노이드가 3차원 구조 속에서 등쪽과 복측 텔렌세팔론(telencephalon)의 세포들을 모두 포함하기 때문에, 그 경계에서 일어나는 운명 전환을 관찰할 수 있었던 것이다. 또한 BAF 복합체 전반에 걸쳐 비슷한 방향의 표현형이 나타났는데, 이는 ASD 유전자들이 단순히 흩어진 개별 기능을 하는 것이 아니라, 특정 분자 복합체나 경로를 통해 공통된 발달 메커니즘에 수렴한다는 것을 직접적으로 보여주었다.

어셈블로이드에서의 스크리닝: 세포 이주를 묻다

오가노이드가 3차원 구조라는 점에서는 진일보했지만, 단일 뇌 영역의 오가노이드는 여전히 실제 뇌의 중요한 특성 하나를 재현하지 못한다. 서로 다른 뇌 영역 사이의 세포 이동(cell migration)이다. 대뇌 피질의 억제성 인터뉴런(inhibitory interneuron)은 피질에서 태어나지 않는다. 이 세포들은 뇌의 복측 부분인 내측 신경절 융기(medial ganglionic eminence, MGE)에서 태어나, 멀리 있는 피질까지 긴 여정을 이동하여 흥분성 뉴런들 사이에 자리를 잡는다. 이 이동 과정에 문제가 생기면 흥분성/억제성 불균형(E/I imbalance)이 발생하고, 이것이 자폐스펙트럼장애를 비롯한 여러 신경발달장애와 연관된다는 가설이 있다. 단일 오가노이드에서는 이 이동을 재현할 수 없다. 이동의 출발지와 도착지가 분리된 구조가 필요하다.

어셈블로이드(assembly)는 이 문제에 대한 해법이다. 서로 다른 뇌 영역을 모방한 두 개의 오가노이드를 각각 만든 다음, 물리적으로 붙여놓으면 경계를 따라 융합이 일어나고, 한쪽에서 만들어진 세포들이 다른 쪽으로 이동하는 것을 관찰할 수 있다. 2023년 Nature에 발표된 스탠포드 대학교 Paşca 연구실의 연구는 이 어셈블로이드 시스템에서 CRISPR 스크리닝을 수행한 최초의 대규모 연구였다. 연구진은 인간 복측 전뇌 오가노이드(human subpallial organoid, hSO)와 피질 오가노이드(human cortical organoid, hCO)를 융합한 인간 전뇌 어셈블로이드(human forebrain assembly, hFA)를 사용했다. hSO에는 Dlx1/2b::eGFP 리포터가 삽입되어 있어, MGE 계통의 인터뉴런 전구세포들이 녹색 형광 단백질(GFP)을 발현한다. 어셈블로이드가 형성되면, GFP 양성 세포들이 hSO에서 hCO로 이동하는 것을 시각적으로 추적할 수 있었다.

연구진은 총 611개의 자폐스펙트럼장애/신경발달장애 연관 유전자 목록을 작성하고, 이 중 복측 전뇌/인터뉴런 집단에서 실제로 발견되는 425개를 추려 스크리닝 대상으로 삼았다. 스크린은 두 단계로 나뉘었다. 첫 번째는 인터뉴런 생성(interneuron generation) 단계로, hSO에서 GFP 양성 대 GFP 음성 세포 비율이 어떻게 변하는지를 측정했다. 두 번째는 인터뉴런 이주(interneuron migration) 단계로, hFA에서 인터뉴런이 피질 구획으로 얼마나 이동했는지를 1,000개가 넘는 어셈블로이드에서 정량화했다. 두 단계를 분리한 것이 이 연구의 가장 영리한 설계였다. 어떤 유전자는 인터뉴런 생성 자체를 줄이고, 어떤 유전자는 인터뉴런은 정상적으로 만들어지지만 이동을 못 하게 한다. 두 가지는 표현형이 비슷해 보여도 전혀 다른 메커니즘이고, 두 스크린을 분리해야만 구분할 수 있다. 생성 스크린에서 13개, 이주 스크린에서 33개의 후보 유전자가 확인되었다.

이주 스크린에서 가장 흥미로운 발견은 LNP(K루나파크, Lunapark)였다. 이 유전자는 소포체(endoplasmic reticulum)의 형태를 유지하는 데 관여하는 단백질로, 신경발달장애와의 연관성은 알려져 있었지만 정확히 어떤 메커니즘으로 관여하는지는 미스터리였다. 연구진이 이주 과정을 실시간으로 촬영해보니, 인터뉴런이 이동할 때 핵(nucleus)이 앞으로

밀려오기 전에, 소포체가 먼저 세포의 앞쪽 돌기로 이동하는 것이 관찰되었다. 소포체의 이 선제적 이동이 없으면 핵 이동이 일어나지 않는다는 것이었다. LNP가 없으면 소포체가 제대로 앞쪽으로 이동하지 못하고, 결과적으로 인터뉴런 이주 전체가 실패했다. 세포 소기관의 배치(organelle positioning)가 신경 이주(neuronal migration)를 선행하는 물리적 사건이라는, 이전에는 알려지지 않았던 세포 생물학적 원리가 유전체 규모 스크린에서 우연히 발견된 셈이다.

한 가지 더 주목해야 할 것은 세포 자율적(cell-autonomous) 효과와 세포 비자율적(non-cell-autonomous) 효과를 분리할 수 있다는 점이다. 세포 자율적 효과란, 유전자 교란의 결과가 그 유전자가 망가진 세포 자체에서만 나타나는 것을 말한다. 쉽게 말해 “내 문제는 나만의 문제”인 경우다. 세포 비자율적 효과는 “내 문제가 옆집 문제도 된다”는 것이다. 예를 들어 LNP 유전자가 망가진 인터뉴런은 스스로 이주하지 못하지만, 바로 옆에 있는 정상 인터뉴런은 멀쩡하게 이주한다면, 이것은 세포 자율적 효과다. 반면 세포 비자율적 효과는 이와 다르다. 어떤 세포의 유전자가 망가졌을 때, 그 세포가 분비하는 신호 물질이나 표면 단백질의 변화를 통해 주변의 정상 세포까지 영향을 받는 경우다. 모자이크 어셈블로이드 시스템에서는 교란된 세포와 교란되지 않은 세포가 같은 조직 안에 함께 존재하기 때문에, 이 두 가지를 직접 비교할 수 있다. 교란된 세포만 이상을 보이고 옆의 정상 세포는 멀쩡하다면 세포 자율적이고, 정상 세포까지 함께 이상을 보인다면 세포 비자율적이다. 이 구분은 단순한 학술적 분류가 아니다. 예를 들어 신경퇴행성 질환에서, 만약 어떤 질환 유전자의 효과가 세포 자율적이라면 유전 변이를 가진 뉴런만 교정하면 되지만, 비자율적이라면 그 뉴런이 보내는 잘못된 신호가 주변 회로 전체를 교란하고 있으므로 치료 전략이 근본적으로 달라져야 한다. 실제 신경 회로에서 유전 변이의 병리적 메커니즘을 이해하는 데 이것은 핵심적인 정보다.

살아있는 뇌에서: 인 비보 Perturb-seq

오가노이드는 인간 세포라는 장점이 있지만, 실제 뇌의 혈관, 면역 세포, 수초화(myelination), 장거리 신경 회로 같은 요소들을 재현하지 못한다. 오가노이드에서 발견된 표현형이 살아있는 뇌에서도 동일하게 나타나는지는 항상 검증이 필요한 질문이다. 그렇다면 궁극의 실험, 살아있는 뇌 전체에서 수천 개의 유전자를 동시에 교란하고 그 결과를 읽어내는 것은 가능할까?

Shi et al. (2026) 연구는 그 질문에 예스라고 답했다. 이 연구는 카스9(Cas9) 유전자가 이미 삽입된 유전자조작 마우스에 아데노 연관 바이러스(adeno-associated virus, AAV)로 포장된 gRNA 라이브러리를 뇌에 직접 주사하는 방식을 사용했다. AAV는 신경 조직에 효율적으로 감염되는 바이러스 벡터로, 이것을 통해 1,947개의 질환 연관 유전자를 표적으로 하는 gRNA들을 뇌 전체에 광범위하게 전달할 수 있었다. 생후 16일 된 마우스(P16)에 주사하고 약 3주 후인 생후 45일(P45)에 뇌를 적출하여, 단일핵 RNA 시퀀싱(single-nucleus RNA sequencing, snRNA-seq)으로 분석했다. 분석에 사용된 세포 수가 무려 772만 개였고, 34개의 신경 세포 분류군과 331개의 세부 유형에 걸쳐 각 교란의 효과를 측정했다. 한 번의 실험으로 뇌 전체의 기능 지형도를 그린 것이다.

가장 인상적인 발견 중 하나는 유전적 필수성(genetic essentiality)의 세포 유형 특이성이었다. 어떤 유전자를 교란했을 때 특정 세포 유형에서만 세포가 고갈(depletion)되는 현상이 관찰되었다. 분열하지 않는 성숙한 뉴런에서 세포 고갈은 세포 사멸을 의미한다. 중뇌 글루타민산성 뉴런과 시상 뉴런이 유전 교란에 가장 취약한 집단이었다. 유전자마다 그 유전자에 의존하는 세포 유형의 패턴이 달랐다. 어떤 유전자는 뇌 전체에 걸쳐 광범위하게 필수적이었고, 어떤 유전자는 특정 세포 유형에서만 필수적이었다. 이 세포 유형 특이적 필수성은 신경퇴행성 질환에서 왜 특정 세포 집단이 선택적으로 죽어가는지를 설명하는 중요한 단서가 된다.

또한 교란들의 전사체 효과가 무작위적으로 분산되지 않고, 체계적인 모듈 구조를 이루는 것이 발견되었다. 1,947개의 교란에서 나온 전사 반응 프로파일을 군집 분석(clustering analysis)하면 다섯 개의 주요 모듈이 나타났다. 단백질 항상성/미토콘드리아 기능, 소포체/엔도솜 수송, RNA 스플라이싱, 크로마틴 리모델링, 시냅스 신호전달이 그것이다. 서로 다른 유전자를 교란해도 같은 모듈에 속하는 교란들은 유사한 전사 프로파일을 보였다. 마치 오케스트라에서 바이올린 연주자가 빠지면 비올라 연주자가 빠지면 “현악기 파트 문제”라는 같은 결과가 나오는 것처럼, 같은 생물학적 경로 위에 있는 유전자들은 망가졌을 때 비슷한 세포 반응을 낸다. 이것은 뉴런의 전사 반응 공간이 수천 개의 독립적인 방향이 아니라, 몇 개의 핵심 생물학적 프로그램 축을 따라 조직된다는 것을 의미한다.

가장 눈길을 끈 발견은 Grin2a와 Grin2b라는 두 NMDA 수용체 서브유닛의 대조적인 효과였다. 이 두 유전자는 매우 유사한 단백질을 만들고 같은 수용체 복합체의 구성 성분이지만, 질환 연관성은 반대 방향이다. Grin2a는 조현병(schizophrenia)과 연관되고, Grin2b는 자폐스펙트럼장애 및 조기 발병 신경발달장애와 연관된다. Shi et al. (2026)의 데이터에서, 2/3층 피질 뉴런에서 Grin2a를 제거했을 때와 Grin2b를 제거했을 때의 전사 반응은 거의 반대 방향이었다(피어슨 상관계수 $R = -0.516$). Grin2a 결실은 활동 의존적 가소성 유전자들(Bdnf, Nptx2, Rgs2)을 활성화하는 방향으로 반응했고, Grin2b 결실은 구조적 재형성 유전자들(Stmn1, Celsr2, Adamts2)을 활성화했다. 두 유전자가 같은 복합체의 구성 성분임에도 세포 내에서 반대 방향의 역할을 한다는 것, 그리고 바로 그것이 이 두 유전자의 서로 다른 질환 연관성을 설명할 수 있다는 것을 이 데이터는 시사했다.

그렇다면 오가노이드와 살아있는 뇌, 두 시스템의 결과는 얼마나 일치할까? 일부 유전자들, 특히 BAF 복합체 관련 유전자들은 두 시스템에서 일관되게 중요한 것으로 나타났다. ARID1B는 Li et al.의 오가노이드 스크린에서 BAF 복합체 기능 장애의 대표 주자였고, Shi et al. (2026)의 인 비보 스크린에서 Smarcb1과 Smarcc2 같은 BAF 복합체 성분들이 시상 뉴런에서 시냅스 전달과 흥분성 관련 유전자들을 억제하는 것으로 나타났다. 어떤 시스템을 쓰더라도, BAF 복합체 교란은 뉴런에서 중요한 표현형을 만들어낸다는 것이 일관되게 확인된다. 그러나 차이점도 분명히 존재했다. 오가노이드에서는 세포 운명 결정, 즉 어떤 세포 유형이 생겨나는가에 대한 교란 효과가 두드러진 반면, 살아있는 뇌에서는 이미 운명이 결정된 성숙한 세포의 기능 유지나 생존에 대한 효과가 주로 관찰되었다. 이것은 실험 시스템이 다른 발달 시점을 포착하기 때문이기도 하고, 오가노이드와 실제 뇌 사이의 세포 환경 차이 때문이기도 하다. 두 시스템은 서로를 완전히 대체할 수 없으며, 상호 보완적으로 사용해야 한다는 교훈이 여기에 있다.

References

- Li, C., Fleck, J. S., Martins-Costa, C., & Treutlein, B. (2023). Single-cell brain organoid screening identifies developmental defects in autism. *Nature*, 621(7978), 373–380. doi:10.1038/s41586-023-06473-y
- Meng, X., Yao, D., & Paşca, S. P. (2023). Assembloid CRISPR screens reveal impact of disease genes in human neurodevelopment. *Nature*, 622(7982), 359–366. doi:10.1038/s41586-023-06564-w
- Fleck, J. S., Jansen, S. M. J., Wollny, D., Zenk, F., Seimiya, M., Jain, A., ... & Treutlein, B. (2023). Inferring and perturbing cell fate regulomes in human brain organoids. *Nature*, 621(7978), 361–369. doi:10.1038/s41586-022-05279-8
- Shi, T., Korshunova, M., Kim, S., DeTomaso, D., Zheng, X., et al. (2026). Genome-scale functional mapping of the mammalian whole brain with in vivo Perturb-seq. doi:10.64898/2026.03.16.711480

주요 용어 안내

CRISPR 스크리닝: CRISPR 기술을 이용하여 수백~수천 개의 유전자를 체계적으로 교란하고, 각 교란의 효과를 대규모로 분석하는 실험 방법. 오가노이드나 살아있는 뇌에서 수행된다.

유전적 필수성(genetic essentiality): 특정 유전자가 특정 세포 유형의 생존이나 기능에 필수적인 정도. 어떤 유전자는 뇌 전체에서 필수적이고, 어떤 유전자는 특정 세포 유형에서만 필수적이다.

에필로그. 협업이 만든 과학

이 책을 통해 우리는 인간 뇌의 분자적 지형도가 지난 15년 동안 어떻게 그려져 왔는지를 따라왔다. 시공간 전사체에서 시작하여 단일 세포 아틀라스, 피질과 비-피질 영역의 세포 다양성, 시냅스 단백질체의 진화, 후성유전체, 오가노이드, 그리고 대규모 유전자 기능 스크리닝까지. 이 여정에서 빠뜨릴 수 없는 것이 하나 있다. 이 모든 발견이 한 명의 천재적인 과학자가 아니라, 수천 명의 연구자가 함께 만든 공동의 산물이라는 사실이다.

한 사람이 할 수 없는 일

인간 뇌에는 860억 개의 뉴런이 있고, 3,000가지 이상의 세포 유형이 존재하며, 유전체의 86%에 해당하는 유전자들이 시간과 공간에 따라 서로 다른 패턴으로 발현된다. 이 복잡성을 이해하기 위해 필요한 실험의 규모는 어떤 단일 연구실의 능력으로도 감당할 수 없다. 수백 명의 뇌 기증자로부터 조직을 수집하고, 수백만 개의 세포를 시퀀싱하고, 수십 개의 뇌 영역을 체계적으로 분석하고, 그 데이터를 표준화된 방법으로 처리하여 비교 가능한 형태로 만드는 것. 이 작업은 처음부터 공동 연구로 설계되어야만 가능했다.

BICCN(Brain Initiative Cell Census Network)은 이 원칙을 가장 잘 보여주는 사례다. 미국 국립보건원(NIH)의 BRAIN Initiative 아래 조직된 이 컨소시엄은 30개 이상의 연구 기관이 참여하여, 인간과 영장류 뇌의 세포 유형을 체계적으로 분류하는 것을 목표로 했다. 핵심은 표준화였다. 각 연구실이 자체 방법으로 데이터를 생산하면 서로 비교할 수 없다. BICCN은 시료 준비부터 시퀀싱 프로토콜, 데이터 처리 파이프라인, 세포 유형 명명법까지 통일된 기준을 만들었다. 그 결과 2023년 *Science*에 동시 발표된 일련의 논문들은 하나의 일관된 좌표계 위에서 서로를 참조할 수 있었다. Siletti et al.의 전사체 아틀라스, Braun et al.의 발달 아틀라스, Tian et al.의 후성유전체 아틀라스, Jorstad et al.의 영장류

비교 연구가 모두 같은 기준자, 같은 뇌 영역, 같은 기준으로 만들어졌기 때문에, 전사체와 후성유전체를 직접 대조하고 종 간 비교를 수행할 수 있었다. 한 연구실이 혼자서 이 모든 것을 할 수는 없다.

조절 유전체의 10년: PsychENCODE

PsychENCODE 컨소시엄의 이야기는 또 다른 차원을 보여준다. 2015년 시작된 이 프로젝트는 인간 뇌의 유전자 조절 지도를 만들고, 그것을 정신 질환의 유전적 위험과 연결하는 것을 목표로 했다. 40개 이상의 연구실이 참여한 이 컨소시엄은 10년에 걸쳐 세 단계로 진화했다 (Roussos et al. 2025).

첫 번째 단계(2015~2018)에서는 1,866개의 사후 뇌 조직에서 벌크 전사체, 후성유전체, 유전체 데이터를 균일하게 생산하여, 유전 변이가 유전자 발현에 미치는 영향(eQTL)과 스플라이싱에 미치는 영향(sQTL)의 지도를 만들었다. 두 번째 단계에서는 단일 세포 혁명을 수용했다. 388명의 개인에서 280만 개 이상의 핵을 프로파일링하여, 28개의 주요 뇌 세포 유형에서 유전 변이의 효과를 세포 유형별로 분해하기 시작했다. 세 번째 단계에서는 상관관계에서 인과관계로 이동하기 위해, iPSC 유래 뉴런과 오가노이드에서 CRISPR 기반 교란 실험을 수행했다.

이 10년의 여정이 말해주는 것은 기술이 발전한다는 것만이 아니다. 과학의 질문 자체가 진화한다는 것이다. “어떤 유전자가 위험한가”에서 “그 유전자가 어떤 세포에서 어떻게 조절되는가”로, 그리고 “그 조절의 교란이 실제로 질환을 일으키는가”로. 이 질문의 진화는 단일 연구실의 관점 전환이 아니라, 수십 개 연구실이 서로 다른 전문성을 가지고 같은 질문의 서로 다른 면을 공략했기 때문에 가능했다.

이 책에서 여러 차례 등장한 BrainVar 데이터베이스도 PsychENCODE의 일환이었다. BrainVar가 발달 중인 뇌에서 유전체와 전사체를 동시에 측정하여 발달 시점에 따라 달라지는 eQTL을 발견할 수 있었던 것은, PsychENCODE의 표준화된 인프라와 대규모 시료 네트워크가 있었기 때문이다. 하나의 데이터베이스가 수백 편의 후속 연구를 낳는 것, 이것이 컨소시엄 과학의 힘이다.

분야의 경계를 넘는 협업

BICCN과 PsychENCODE가 보여주는 또 하나의 교훈은 학제 간 협업의 중요성이다. 인간 뇌의 분자적 이해는 어떤 한 분야만으로는 도달할 수 없다. 신경해부학자가 뇌 영역의 경계를 정의하고, 분자생물학자가 시퀀싱 기술을 개발하고, 생물정보학자가 수백만 개의 세포 데이터를 처리하는 알고리즘을 만들고, 유전학자가 유전 변이와 질환의 연관성을 분석하고, 발달생물학자가 세포 분화의 궤적을 추적하고, 임상의학자가 환자의 표현형을 정밀하게 기술하고, 윤리학자가 뇌 조직 기증과 데이터 공유의 윤리적 틀을 정립한다. 이 모든 전문성이 하나의 질문을 향해 수렴할 때, 비로소 “인간 뇌는 어떻게 만들어지고, 그 다양성은 어디에서 비롯되는가”라는 질문에 답할 수 있게 된다.

이 책에서 다른 연구들의 저자 목록을 보면 이 점이 분명해진다. Siletti et al. (2023)의 인간 뇌 전사체 아틀라스 논문에는 수십 명의 저자가 있고, Satterstrom et al. (2020)의 자폐스펙트럼장애 엑솜 시퀀싱 연구에는 수백 명의 연구자가 참여했다. 이런 대규모 협업을 가능하게 한 것이 질환별, 분야별 컨소시엄들이다.

Autism Sequencing Consortium(ASC)은 자폐스펙트럼장애 유전자 발견의 핵심 엔진이었다. 2012년 마운트 시나이 의과대학의 조셉 뷁스바움(Joseph Buxbaum), 브로드 연구소의 마크 달리(Mark Daly), 예일 대학교의 매튜 스테이트(Matthew State) 등이 주도하여 설립한 이 국제 컨소시엄은, 전 세계의 유전학 연구실들이 자폐스펙트럼장애 가족의 엑솜 시퀀싱 데이터를 한곳에 모으는 구조를 만들었다 (Buxbaum et al. 2012). 개별 연구실이 수백 명 규모의 데이터를 가지고 있다면, 컨소시엄은 그것을 수천, 수만 명 규모로 통합하여 개별 유전자 수준에서 통계적으로 유의미한 신호를 잡아낼 수 있는 검정력을 확보한다. 이 전략이 실현된 것이 De Rubeis et al. (2014)의 3,871명 엑솜 연구(22개 유전자 발견)였고, Satterstrom et al. (2020)의 11,986명 엑솜 연구(102개 유전자 발견)였다. 한 연구실이 혼자서 만 명의 환자를 모으는 것은 불가능하다. 하지만 수십 개의 연구실이 각각 수백 명씩 기여하면, 불가능했던 규모가 현실이 된다. ASC는 또한 데이터 분석의 표준화에도 기여했다. 유전 변이의 기대 빈도를 모델링하는 통계적 프레임워크, 유전자 길이와 서열 맥락에 따른 보정 방법 등이 ASC를 통해 정립되었고, 이것이 이후 모든 대규모 엑솜 연구의 표준이 되었다.

Psychiatric Genomics Consortium(PGC)은 정신 질환 유전학에서 비슷한 역할을 더 넓은 범위로 수행했다. 조현병, 양극성 장애, 주요 우울장애, 자폐스펙트럼장애, ADHD 등 다양한 정신 질환에 걸쳐, 전 세계 수백 개 연구실의 전장 유전체 연관 연구(GWAS) 데이터를 통합하는 메가 컨소시엄이다. PGC의 조현병 연구 그룹이 2014년 Nature에 발표한 연구는 36,989명의 환자와 113,075명의 대조군 데이터를 합쳐 108개의 유전체 위험 유전좌를 발견했다. 이 연구 이전에 알려진 조현병 위험 유전좌는 약 30개에 불과했다. 표본 크기를 3배로 늘렸을 때 발견되는 유전좌가 3배가 아니라 10배 가까이 늘어난 것은, 흔한 유전 변이의 효과가 개별적으로는 매우 작아서 큰 표본에서만 통계적 잡음 위로 올라오기

때문이다. PGC는 이 원리를 실증했다. 더 많은 사람의 데이터를 모을수록, 더 많은 유전적 신호를 잡을 수 있다. 2009년 International Schizophrenia Consortium이 3,322명의 환자를 분석하여 다유전자 위험 점수(polygenic risk score) 방법론을 처음 제시한 이래, PGC는 표본 크기를 꾸준히 늘려가며 정신 질환의 유전적 구조를 점점 더 높은 해상도로 그려내고 있다.

한국에서도 이런 국제적 흐름에 합류하는 노력이 진행되고 있다. K-ARC(Korean Autism Research Consortium)는 한국인 자폐스펙트럼장애 코호트를 체계적으로 구축하여, 한국인 특이적인 유전적 구조를 밝히는 동시에 국제 컨소시엄과의 데이터 통합을 추진하고 있다. Kim et al. (2025)의 연구는 K-ARC 코호트를 포함한 78,685명의 데이터에서, 가족 내 표현형 편차(within-family standardized deviation, WFSD)라는 새로운 분석 방법을 적용하여 18개의 새로운 자폐스펙트럼장애 관련 유전자를 발견했다. 이 연구가 보여주는 것은 두 가지다. 하나는 한국인 코호트가 국제 데이터와 통합될 때 새로운 발견이 가능해진다는 것이고, 다른 하나는 다양한 인구 집단의 참여가 유전학 연구의 보편성을 높인다는 것이다. 유전적 위험의 구조는 인구 집단에 따라 부분적으로 다를 수 있기 때문에, 특정 인구 집단에서만 연구하면 그 집단에 특이적인 발견을 놓칠 수 있다. K-ARC와 같은 지역 컨소시엄의 존재는 글로벌 신경유전체학 연구의 다양성과 포괄성을 높이는 데 필수적이다.

이 숫자들은 단순히 규모의 문제가 아니다. 과학의 작동 방식 자체가 바뀌었다는 것을 말해준다.

공개 데이터의 힘

컨소시엄 과학의 가장 중요한 유산은 아마도 데이터 공개일 것이다. BrainSpan, BICCN, PsychENCODE가 생산한 데이터는 모두 공개적으로 접근 가능하다. 이것은 관대한 선택이 아니라 전략적 결정이다. 하나의 연구팀이 데이터를 생산할 때, 그 팀이 물을 수 있는 질문의 수는 제한되어 있다. 하지만 그 데이터가 공개되면, 전 세계의 연구자들이 원래 생산자가 상상하지 못한 질문을 던질 수 있다. Kang et al. (2011)의 시공간 전사체 데이터가 이후 수십 편의 시공간적 수렴 연구의 기반이 된 것처럼, 하나의 잘 만들어진 공개 데이터셋은 그 데이터를 만든 원래 논문보다 훨씬 더 많은 과학적 가치를 생산한다.

이 원칙은 인간 유전체 프로젝트(Human Genome Project)의 버뮤다 원칙(Bermuda Principles)에서 비롯되었다. 1996년 버뮤다에서 열린 회의에서 유전체 연구자들은 시퀀싱 데이터를 24시간 이내에 공개한다는 합의에 도달했다. 이 급진적인 결정은 유전체학의 발전 속도를 극적으로 가속시켰다. 뇌 과학도 같은 길을 걸었다. BICCN의 데이터 포털, PsychENCODE의 지식 포털, 앨런 뇌과학연구소의 공개 데이터베이스가 모두 이 철학을 따른다. 데이터를 공개하면 경쟁자에게 이점을 줄 수 있다는 두려움보다, 데이터를 공유하면 과학 전체가 더 빨리 나아간다는 확신이 이긴 것이다.

공개 데이터는 특히 자원이 제한된 연구 환경에서 큰 의미를 가진다. 대규모 시퀀싱 시설이 없는 연구실도, 공개된 단일 세포 아틀라스 데이터를 다운로드받아 자신만의 질문을 탐구할 수 있다. 계산 자원과 분석 능력만 있으면, 세계 최고 수준의 데이터에 접근할 수 있는 것이다. 이것은 과학의 민주화이기도 하다. 좋은 질문을 가진 사람이라면 누구나 답을 찾을 수 있는 기반이 마련된 것이다.

대규모 데이터 리소스에 대한 투자

이 모든 것의 출발점은 대규모 데이터 리소스를 만드는 기초과학에 대한 투자가 있다. BRAIN Initiative는 2013년 오바마 행정부에서 시작되어 10년 이상 지속적인 연방 예산을 지원받았고, PsychENCODE는 미국 국립정신건강연구소(NIMH)의 장기적 지원으로 운영되었다. 이 투자들의 공통점은 특정 질환의 치료법을 찾는 것이 아니라, 수많은 연구자가 각자의 질문에 활용할 수 있는 공유 자원을 만드는 데 초점을 두었다는 것이다. 이런 투자가 없었다면 BrainSpan도, BICCN도, PsychENCODE도 존재하지 않았을 것이고, 이 책에서 다룬 발견들의 대부분은 이루어지지 않았을 것이다.

대규모 데이터 리소스 투자의 특성은, 그 데이터가 어디에 쓰일지를 생산 시점에 완전히 예측할 수 없다는 것이다. 2011년 Kang et al.이 시공간 전사체를 발표했을 때, 이 데이터가 2013년에 자폐스펙트럼장애의 시공간적 수렴을 발견하는 데 쓰일 것을 아무도 예측하지 못했다. 단일 세포 시퀀싱 기술이 개발되었을 때, 그것이 인간 뇌에 3,000가지 이상의 세포 유형이 있다는 것을 밝혀낼 것을 아무도 확신하지 못했다. 하나의 잘 만들어진 데이터 리소스는 원래 논문보다 훨씬 더 많은 과학적 가치를 생산한다. BrainSpan 데이터를 인용한 논문이 수백 편에 달하고, BICCN 아틀라스를 활용한 연구가 전 세계에서 진행되고 있다는 것이 이를 보여준다. 뇌의 세포 지도를 만드는 것 자체가 즉각적인 임상적 효용을 가지는 것은 아니지만, 그 지도가 있어야 어떤 유전자가 어떤 세포에서 작동하는지를 물을 수 있고, 궁극적으로 개인별 신경 발달의 다양성을 이해할 수 있다. 지도가 없으면 여행을 시작할 수도 없다.

당신이 탐험할 미지의 영역

이 책에서 다룬 15년의 발견들은 인상적이지만, 솔직히 말하면 우리가 이해한 것은 빙산의 일각에 불과하다. 인간 뇌의 세포 유형 분류는 아직 완성되지 않았다. 현재의 아틀라스는 대부분 성인 뇌나 태아 초중기에 집중되어 있고, 출생 후 발달, 청소년기, 노화 과정의 세포 수준 변화는 아직 체계적으로 매핑되지 않았다. 유전 변이가 세포 수준에서 어떻게 표현형으로 이어지는지의 경로는, 소수의 유전자에 대해서만 부분적으로 이해되어 있다. 오가노이드는 태아 중기 이상의 발달 상태를 재현하지 못하며, 인 실리코 모델은 훈련 데이터의 범위를 벗어난 예측에서 아직 검증이 부족하다. 모르는 것의 목록이 아는 것의 목록보다 훨씬 길다.

그런데 이것은 절망이 아니라 초대장이다. 15년 전에는 이 질문들 자체를 물을 수 없었다. “뇌에 몇 가지 세포 유형이 있는가”는 단일 세포 기술이 등장하기 전에는 답할 수 없는 질문이었고, “유전 변이가 어떤 세포에서 어떤 영향을 미치는가”는 세포 유형 지도가 없으면 물을 수조차 없는 질문이었다. 이 책에서 소개한 연구자들이 한 일은 결국 더 좋은 질문을 물을 수 있는 토대를 놓은 것이다. BrainSpan이 있어야 시공간적 수렴을 물을 수 있었고, BICCN의 세포 아틀라스가 있어야 세포 유형 특이적 취약성을 물을 수 있었다. 그리고 아직 물어보지 못한 질문들이 훨씬 더 많이 남아 있다.

그 질문들을 물을 사람은 바로 이 책을 읽고 있는 당신일 수 있다. 뇌 유전체학은 시작된 지 불과 15년밖에 되지 않은 젊은 분야다. 이 분야를 만들어온 연구자들 중 상당수가 대학원생 시절에 핵심적인 기여를 했다. Willsey가 태아 중기 전두엽의 시공간적 수렴을 발견한 것은 박사과정 연구였고, Parikshak이 WGCNA로 자폐스펙트럼장애 모듈을 발견한 것도 마찬가지였다. 대규모 컨소시엄의 데이터가 공개되어 있고, 분석 도구가 오픈소스로 제공되고 있으며, 인공지능이 데이터 해석의 새로운 가능성을 열고 있는 지금, 다음 발견을 위한 조건은 어느 때보다 잘 갖추어져 있다. 필요한 것은 좋은 질문이다.

이 책이 시작된 곳으로 돌아가자. 860억 개의 뉴런, 100조 개의 시냅스, 3,000가지 이상의 세포 유형. 유전체의 86%가 뇌에서 발현되고, 수천 개의 유전 변이가 뇌의 발달과 기능에 영향을 미친다. 이 복잡성을 이해하려는 시도는, 본질적으로 한 사람이나 한 연구실의 프로젝트가 아니다. 그것은 세대를 걸쳐 이어지는, 분야의 경계를 넘는, 데이터를 공유하는 공동체의 사업이다. 그리고 그 공동체에는 언제나 새로운 자리가 있다. 다음 15년의 발견은, 지금 이 페이지를 넘기는 사람의 손에서 시작될지 모른다.

References

- BRAIN Initiative Cell Census Network (BICCN). (2021). A multimodal cell census and atlas of the mammalian primary motor cortex. *Nature*, 598, 86–102. doi:10.1038/s41586-021-03950-0
- Roussos, P., Vaccarino, F. M., Weng, Z., Sestan, N., Gerstein, M., & Geschwind, D. H. (2025). PsychENCODE at 10: From genomic maps to mechanistic insights in mental illness. *Neuron*, 113, 4099. doi:10.1016/j.neuron.2025.11.027
- Buxbaum, J. D., Daly, M. J., Devlin, B., Lehner, T., Roeder, K., State, M. W., & The Autism Sequencing Consortium. (2012). The Autism Sequencing Consortium: Large-scale, high-throughput sequencing in autism spectrum disorders. *Neuron*, 76(6), 1052–1056. doi:10.1016/j.neuron.2012.12.008
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511(7510), 421–427. doi:10.1038/nature13595
- Kang, H. J., Kawasawa, Y. I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., ... & Sestan, N. (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370), 483–489. doi:10.1038/nature10523
- The International Schizophrenia Consortium. (2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460(7256), 748–752. doi:10.1038/nature08185
- Kim, S. W., Lee, H., Song, D. Y., Lee, G. H., Han, J. H., Lee, J. W., ... & An, J.-Y. (2025). Evaluation of familial phenotype deviation to measure the impact of de novo mutations in autism. *Genome Medicine*, 17, 32. doi:10.1186/s13073-025-01532-7