

## 연구실 탐방

# 서울대학교 유전공학연구소 신경회로 연구실(Neural Circuit Lab)



김성연

서울대학교 자연과학대학 생물물리및 화학생물학과 / 유전공학연구소

✉ [sungyonkim@snu.ac.kr](mailto:sungyonkim@snu.ac.kr)

### 연구실 개요



뇌 신경회로의 구조와 기능, 활동 패턴을 연구하기 위한 각종 유전학적 기술이 최근 급속히 개발되면서 신경과학, 특히 신경회로 연구 분야는 혁명기를 맞이하고 있다. 이들 기술이 다양한 모델 동물에 적용되어 활발하게 신경회로가 연구됨으로써 지각, 인지, 학습과 기억 등 전통적으로 심리학에서 다루어지던 뇌의 근본적인 기능에 대한 과학적 이해에 새로운 지평이 열리고 있다. 여러 가지 뇌기능 중 감정(emotion)은 매우 흥미로우면서도 잘 연구되어 있지 않은 기능으로, 매일 우리가 경험하고 표현하듯 감정은 내적으로 성찰해 보았을 때에는 그 뜻이 너무나 자명하지만, 객관적으로 정의내리기가 어려워 과학적으로 연구하기에는 매우 까다로운 연구 주제이다.

감정은 개체 내·외부의 자극에 의해 유도되는 내적 상태로 정의할 수 있으며, 기능적으로는 상황에 대한 개체의 본능적인 판단이라고 할 수 있다. 감정은 인지, 사고, 행

동 및 신체의 생리학적 상태에 강하게 영향을 미치고, 감정의 부적절한 조절은 여러 신경 및 정신 질환으로 연결된다. 지난 수백 년간 많은 과학자들이 다양한 감정을 연구했지만, 어떻게 뇌 신경회로의 작용으로 감정이 만들어지고 조절되는지에 대한 근본적이고 중요한 질문들은 미제로 남아 있다. 예를 들어, 어떻게 여러 경로를 통해 들어오는 각각 정보들이 불안(anxiety)과 같은, 하나의 일관된 감정 상태를 만들어낼까? 어느 뇌 부위들이 이 과정에서 중요한 역할을 하고, 어떤 정보가 그 부위들 간에 전달될까? 불안해지면 나타나는 여러 심리적·생리적 변화들은 어떤 기작으로 일어날까? 불안과 공포(fear)처럼 유사한 감정들 사이에는 어떠한 공통점이 있으며 이들이 구분되는 원리는 무엇일까? 이들 신경 회로가 제대로 작동하지 않을 경우 어떻게 우울증(depression), 불안장애(anxiety disorders), 조울증(bipolar disorder)등의 감정 질환(affective disorder)으로 이어질까?

이와 같은 근본적인 질문에 답하기 위해, 본 연구진은



다양한 최신 신경 회로 분석 기술을 개발 및 응용하여 불안, 공포, 스트레스 등 서로 다르지만 밀접하게 관련되어 있는 감정 상태들을 연구한다. 본 연구책임자는 광유전학(optogenetics)과 조직 투명화 기술(CLARITY 등)이 개발된 곳에서 박사과정 및 박사후 연구를 수행하며 각종 신경회로 연구 기술을 개발하고 감정의 신경회로망 연구에 적용한 바 있다. 이를 확장 및 발전시켜 본 연구실에서는 광유전학, 조직 투명화, 염색, 팽창 등 가공 기술(CLARITY, SWITCH, stochastic electrotransport 등), *ex vivo* 및 *in vivo* 전기 생리학(electrophysiology), 마우스 행동 실험 및 생리학적 측정, 약리학적 방법, 초소형 현미경 및 광섬유 광도 측정법(fiber photometry)을 이용한 *in vivo* 칼슘 이미징 실험 및 엔지니어링된 바이러스 벡터 등을 총동원하여 불안, 공포, 스트레스 및 이와 관련된 감정 상태들을 이해하는 데 핵심적인 질문들을 던지고 해결하고자 한다. 이를 통해 우리 뇌에서 감정이 어떻게 처리되는지 완전히 이해하고, 감정 질환 등 뇌질환의 새로운 치료법을 개발하는 데 기여하는 것이 연구의 궁극적 목표이다.

중독, 호흡장애 등 부작용이 심하다. 이후 유사 약물이 계속 개발되었으나, 효율성과 부작용을 유의미하게 개선한 약물은 없어 (비단 불안장애뿐 아니라 정신 질환 전반에 걸쳐 획기적인 치료제의 개발이 전무했다.) 지난 50년간은 정신 질환 치료제 개발에 있어 침체기로 평가된다. 이는 신경회로를 이해하지 못한 채 뇌 지역과 회로의 구분 없이 세포 내 분자나 이온 채널 및 수용체 등에서 표적을 찾기 위해 집중했기 때문으로, 이러한 한계를 극복하기 위하여 불안을 조절하는 신경회로의 구조 및 기능을 이해하고 회로 수준에서의 병태생리를 밝혀내는 것이 시급하다고 여러 학자들이 천명한 바 있다. 정신 질환의 원인과 치료법을 신경회로에서 찾으려는 것은 최근 학계 및 제약업계의 큰 흐름으로, 이는 2005년 광유전학, 2013년 CLARITY 등 최근 빠르게 발전하고 있는 신경회로 분야의 신기술 덕분에 최근에야 비로소 가능해지고 있다.

지난 수십 년간 사람에서의 fMRI 이미징 연구와 동물에서의 손상(lesion) 및 약리학 연구 등을 통해 편도체(amygdala)와 확장된 편도체(extended amygdala) 등이 불

## 연구 배경 및 내용



### 1. 확장된 편도체 및 각종 피질하 영역의 불안, 공포 및 스트레스 조절 기전 연구

불안, 공포 및 스트레스는 위협에 대응하여 각성, 긴장 등 다양한 행동적, 생리적, 심리적 반응을 유도하는 부정적인 감정의 상태이다. 각기 다르면서도 밀접하게 연관된 이들 감정은 불확실한 환경에서의 생존을 돕는 중요한 기능을 하지만, 그 강도나 지속 기간이 정상 범위를 넘어서면 심한 정신적 고통과 신체적 장애를 초래하고, 불안장애로 발전할 수 있다. 불안장애는 현재 전 세계적으로 가장 흔한 정신 질환으로(미국 28%, 유럽 14%; 한국 8.7%) 막대한 사회, 경제적 비용을 초래하고 있다(미국의 경우 연간 420억 달러). 그러나 불안, 공포 및 스트레스의 신경회로 수준에서의 정확한 처리 기작 및 불안장애의 발병 원인은 거의 알려져 있지 않고, 불안장애에 대해 1950년대에 개발되어 현재까지도 널리 처방되는 벤조다이아제핀(benzodiazepine) 계열 약물 등 기존 치료제들은 효과가 일관적이지 않거나

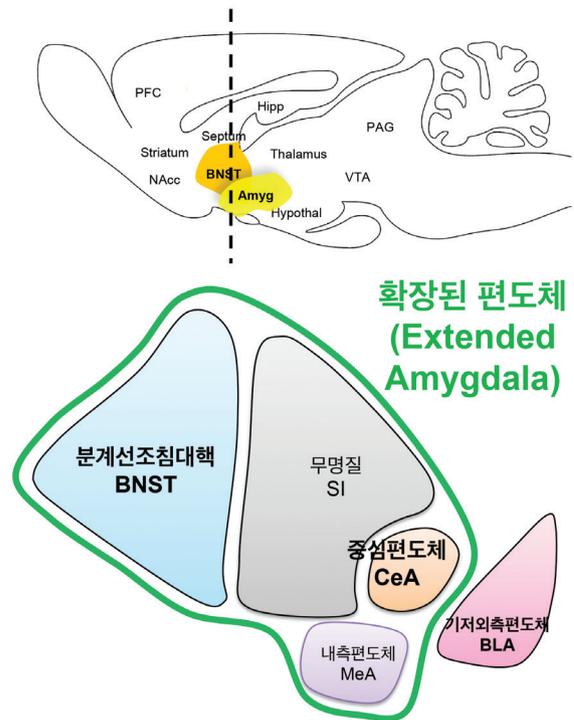


그림 1. 확장된 편도체의 구조

안, 공포 및 스트레스를 조절하는 핵심적 뇌부위로 확립되었다. 확장된 편도체는 편도체의 중심핵(central nucleus, CeA)에서 분계선조침대핵(bed nucleus of the stria terminalis, BNST)까지 이어진 여러 뇌 부위를 통틀어 이르는 말인데, 이 부위들은 세포의 모양과 종류(cell type), 신경화학적 조성, 다른 뇌부위와의 연결(connectivity)과 발생학적 기원이 유사하다(그림 1). 특히 확장된 편도체는 그 기능이 정상적 불안과 공포뿐 아니라 및 병적인 불안과 공포에도 영향을 미치는 것으로 밝혀져 왔고, 여러 스트레스를 조절하는 부위와 연결되어 있어서, 앞서 제기한 질문들을 신경회로망 수준에서 해결하기 위한 매우 좋은 출발점이 된다. 기존의 연구는 확장된 편도체의 극히 복잡한 내·외부(intrinsic/extrinsic) 회로들과 수많은 신경화학물질들의 존재(gamma-aminobutyric acid(GABA), corticotropin-releasing hormone(CRH), neurotensin(NT), enkephalin(Enk), dynorphin(Dyn) 등)를 밝혀냈지만, 그들이 실제 행동하는 쥐에서 언제 활성화되며 각 신경회로가 정확히 어떤 기능을 하는지는 거의 알려진 바가 없었다.

2000년도를 전후하여, 기존의 간접 증거들을 종합하여, 기저외측편도체(basolateral amygdala; BLA)가 환경 정보를 받아들여 처리한 후 확장된 편도체 내의 CeA와 BNST로 정보를 보내 각각 공포와 불안을 조절한다는 이분적 모델이 주류 가설로 제시되었다. 특히 기존의 연구 결과에 기반하여 이들 BLA-CeA와 BLA-BNST회로가 공포와 불안을 증가시키는 것으로 생각되었다. CeA와 BNST는 위험 회피 행동, 심박수, 호흡 속도 등 불안 및 공포의 여러 요소를 조절하는 중뇌, 뇌간 및 시상하부 등의 공통된 하위 지역으로 투사(project)하는, 확장된 편도체의 주요 출력부(output)로 추정되는 뇌지역이다.

최근 본 연구책임자는 광유전학과 함께 행동실험, *in vivo* 및 *ex vivo* 전기생리학 등을 통합적으로 이용하여, BLA-CeA회로와 BLA-BNST회로가 둘 다 불안을 조절할 수 있다는 것을 보여 이분법적인 단순한 모델이 틀림을 보이고, 놀랍게도 이들 회로가 불안을 증가시키는 대신 반대로 감소시킨다는 것을 밝혀내었다(Tye\*, Prakash\*, Kim\* *et al.*, *Nature* 2011; Kim *et al.*, *Nature* 2013). 뿐만

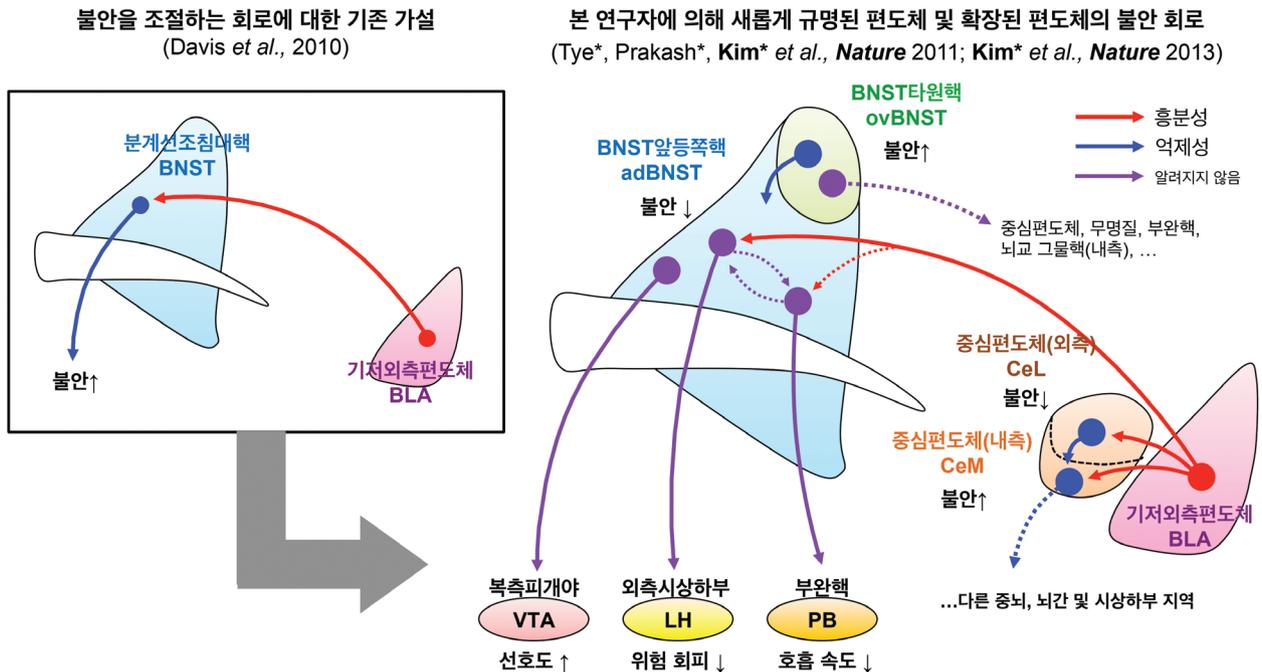


그림 2. 기존의 불안 회로 모델과 본 연구책임자의 연구로 새롭게 정립된 불안 회로 모델



아니라 BNST의 여러 하위핵들 중 타원핵(oval nucleus; ovBNST)과 앞등쪽핵(anterodorsal BNST; adBNST)이 각각 불안을 증가 및 감소시키고, adBNST에서 중뇌와 시상하부, 뇌교의 여러 핵으로 분기하는(diverging) 회로가 불안 상태의 여러 요소(위험 회피 행동, 호흡 속도, 선택도 등)를 개별적으로 조절할 수 있는 것을 규명하였다(그림 2). 이와 같은 연구는 확장된 편도체에 대한 이해를 넓혔고, BNST를 불안 상태의 여러 요소들을 조절하는 핵심적인 허브로 확립하였다. 본 연구실에서는 이 결과를 바탕으로 불안, 공포, 스트레스의 메커니즘과 그들의 상호작용이 확장된 편도체에서 정확히 어떻게 일어나는지 알아내기 위하여 확장된 편도체 회로의 세부 구조와 기능을 계속하여 연구하고 있다.

본 연구책임자의 연구를 예로 들었듯이, 최신 신경 회로 분석 기술을 이용하면 감정이 처리되는 기작을 상세히 밝혀낼 수 있다. 세련된 회로 연구를 통해 최근 전 세계의 신경과학자들이 불안, 공포, 스트레스 등이 처리되는 핵심적인 신경회로를 뇌 여러 부위에서 찾아내고 있는데, 이는 편도체와 확장된 편도체를 넘어서서, 복측 해마(ventral hippocampus), 내측전두엽(medial prefrontal cortex)과 같이 전통적으로 잘 알려진 지역뿐 아니라 뇌실 주위 시상핵(periventricular thalamus), 상구(superior colliculus)와 같이 잘 알려지지 않은 지역을 아우르고 있다. 이는 특정 부위가 불안, 공포, 스트레스와 같은 상태를 도맡아서 처리한다기보다, 서로 연결된 신경회로망에서의 동적인(dynamic) 신호 전달이 감정 상태의 조절에 필수적이라는 방향으로 패러다임의 변화를 이끌고 있다. 이에 따라 본 연구실에서도 피질하 영역의 다양한 뇌 부위가 불안, 공포 및 스트레스를 조절하는 데 중요한 역할을 한다고 보고 기존에 잘 연구되지 않은 각종 신경회로를 표적하여 그 구조와 기능을 체계적으로 밝혀내는 연구를 진행중으로, 최근 매우 흥미로운 여러 예비 결과들을 얻고 있다. 이들 신경회로 요소가 어떻게 상호작용하여 하나의 일관된 감정 상태를 만들어내고, 어떻게 여러 가지 감정 상태들이 서로를 조절하는지를 밝히는 것은 앞으로 도전해야 할 재미난 숙제이다. 본 연구실에서는 이와 같은 노력을 통해, 궁극적으로 인간이 느끼는 고차원적이고 복잡한 감정이 우리 뇌에서 어떻게 나타나는지 과학적으로 이해하고자 한다.

## 2. 조직 투명화 및 염색 등 조직 가공 기술의 개발과 신경회로망에 대한 응용

한편 광유전학 등의 기술을 이용하여 특정 신경회로의 기능을 결정하고자 한다면, 먼저 “특정” 신경회로를 해부학적으로 규정(define)하고 표적하여야 한다. 개별 요소들이 어떻게 조직되고 구성되어 신경회로를 이루고 있는지를 모르면서 그 기능을 결정할 수는 없는 일이기 때문에, 위에서 설명한 기능 연구와 함께 구조 연구를 동시에 진행해야 우리 뇌가 어떻게 정신 작용을 만들어내는지 이해할 수 있다. 그러나 현재 우리는 뇌 전체의 신경회로망에 대한 완전한 해부학적 지식은 커녕, 몇 개의 신경회로조차도 3차원 뇌조직 상에서 상세하고 정확하게 매핑(mapping)할 수 있는 기술조차 없다. 특정 신경회로를 구조적으로 정확히 규정하자면, 신경회로 내 각각의 뉴런들에서 나오는 모든 투사 패턴을 완벽히 추적하고, 수천 갈래로 나뉜 각 투사의 중간 혹은 말단에서 다음 뉴런의 어느 위치로 어떤 종류의 시냅스가 맺어지는지를 종합적으로 파악해야 한다. 하지만 뉴런에서 사방으로 뻗어 나오는 수천 갈래의 축삭돌기들은 대개 매우 가늘고(지름 1  $\mu\text{m}$  이하) 긴데다가(흔히 수 mm에서 cm길이), 다음 뉴런과 맺는 시냅스는 그 크기가 매우 작기 때문에(약 20 nm), 이 목표를 이루기 위해서는 수 mm에서 cm에 달하는 범위의 뇌 조직에서 얇은 투사를 추적하고 시냅스를 결정할 수 있는 조직 가공, 표지/염색 및 이미징 기술이 필요하다.

조직을 얇게 잘라 수많은 박편을 만들고 각각의 박편을 일일이 염색 및 이미징하는 기존의 조직학적 방법으로는 이러한 야심찬 목표를 설정하는 것 자체가 불가능하다고 여겨졌지만, 최근 눈부시게 발전하는 조직 가공 및 이미징 기술들은 점차 이와 같은 목표를 달성 가능한 것으로 생각하게끔 하고 있다. 특히 최근 급부상하고 있는 조직 및 장기 전체를 투명화, 염색 및 이미징하는 기술은 신경과학을 넘어서서 모든 의·생명과학 분야의 학자들에게 넓은 범위에 걸쳐 고해상도로 고품량의 생분자 및 구조 정보를 추출할 수 있다는 가능성을 보여 주고 있다(본 연구책임자가 게재한 2016년 3월 한국분자·세포생물학회 웹진의 “최근연구소식” 참고). 이는 구체적으로, 이 기술이 계속 발전하면 연구자들이 하나의 조직 샘플에서, 수 mm에서 cm미터 범위에 걸쳐, 빛의 회절 한계 혹은 이미징 기술에 의한 해상도 한계 내에서, 수백에서 수천 가지 이상의 분자 정보를 추출할 수 있을 것이

라는 비전이다. 본 연구책임자는 대표적인 조직 투명화 기술인 CLARITY기술의 개발에 참여하고, 확률적 전기수송 (stochastic electrotransport)이라는 새로운 조직 투명화 및 염색 기술을 개발한 바 있다(Chung, Wallace, Kim *et al.*, *Nature* 2013, Kim *et al.*, *PNAS* 2015) (그림 3). 이를 이용하면 각각의 뉴런들의 축삭돌기를 모두 추적하여 3차원 투사 패턴을 알아낼 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구실에서는 조직 투명화 및 염색 기술을 개발하고 응용한 경험을 바탕으로, 더욱 나은 조직 가공 기술을 개발하고 이를 뇌조직에 응용하여 특정 불안, 공포 및 스트레스를 처리하는 데 중요한 역할을 하는 신경회로의 구조를 완전히 분석하고자 한다.

한편, 광학 현미경으로는 해상도 한계 때문에 시냅스를 정확히 볼 수 없어, 조직 투명화 기술 등으로 조직을 처리하더라도 뉴런들 간의 연결성을 결정하기 어렵다. 여기에 대한 해법으로 한국과학기술연구원(KIST) 기능커넥토믹스연구단 김진현 단장 연구진이 mGRASP(mammalian GFP

reconstitution across synaptic partners)기술을 개발 및 발전시키고 있는데, 이는 광학 현미경으로도 시냅스의 유무와 위치 정보를 결정할 수 있게 해 주는 기술이다. 따라서 mGRASP는 본 연구진의 조직 가공 기술과 상보적인 역할을 하며 강력한 시너지 효과를 낼 수 있어, 현재 본 연구진은 KIST연구진과 활발히 공동연구를 진행하며 광학 현미경으로 넓은 범위에 걸쳐 3차원 투사 패턴 및 시냅스 위치와 종류를 정확히 결정할 수 있는 차세대 신경회로 구조 결정 기술을 개발 중이다.

향후 연구 전망



본 연구책임자는 감정이 어떻게 처리되는지 완전히 이해하고자 한다. 완벽히 이해한다는 건 무엇인지, 가능하기는 한지는 현재 시점에서 정확히 정의하기는 어려우나, 최소한 감정이 처리되는 뇌 신경회로의 구조와 기능을 포괄적이면

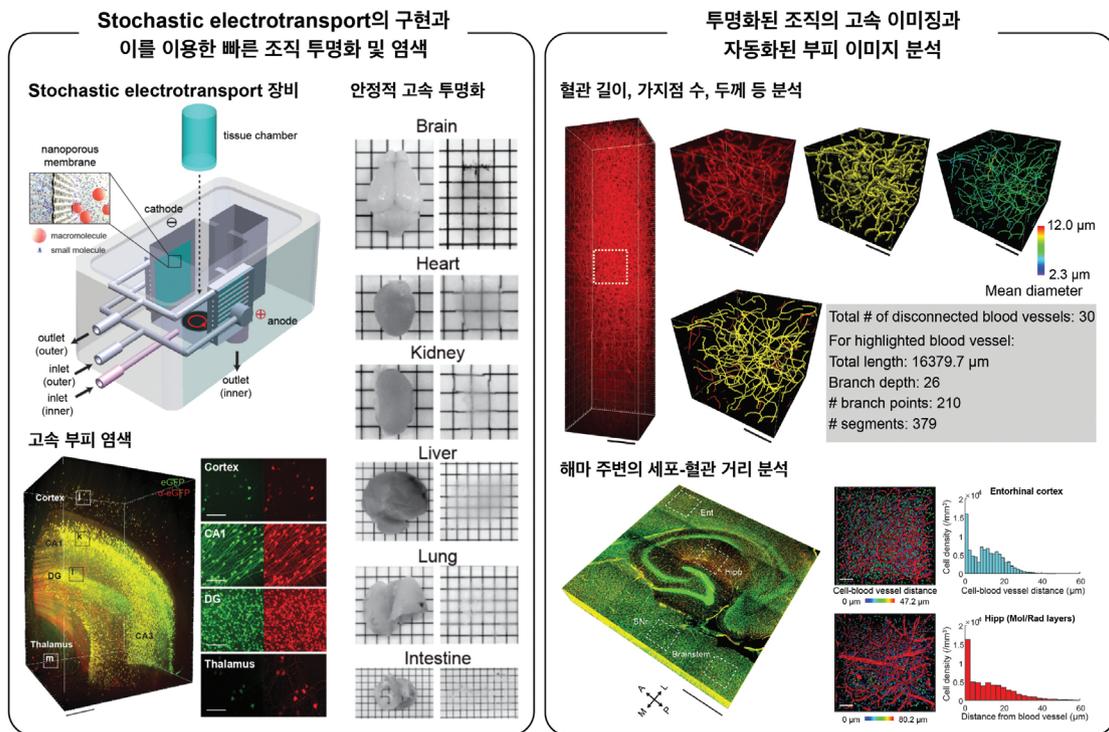


그림 3. 본 연구진이 보유 및 개발중인 조직 투명화, 염색, 이미징, 분석 등의 가공 기술



신경회로 연구 기술의 개발 및 응용, 감정의 신경회로 연구

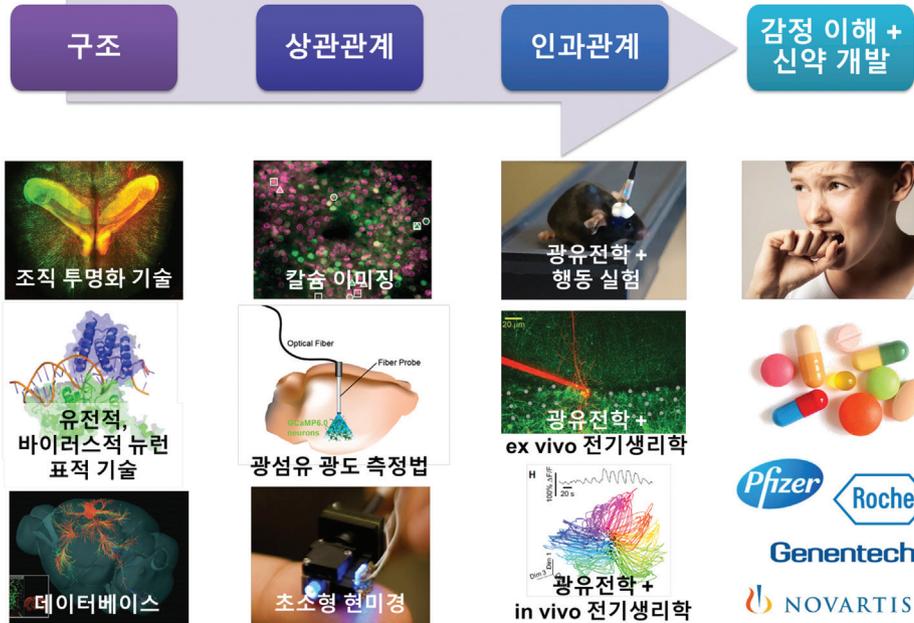


그림 4. 본 연구진의 연구 추진 체계

서도, 매우 자세하게 파악하는 것이 선결 조건일 것이다. 이를 위해 본 연구진은 먼저 연구하고자 하는 특정 감정과 관련된 뇌 지역과 회로 요소들을 찾고, 이들의 정확한 3차원 구조, 분자생물학적 조성, 상관관계적 기능, 인과적 기능을 보임으로써 이들 회로의 해부학적 구조와 신경신호 전달 기작뿐 아니라 신경회로망 및 개체 수준에서의 기능을 밝히고자 한다(그림 4). 다행히도, 이러한 야심찬 목표를 실현하기에 지금 동시대의 신경과학은 너무나 좋은, 매우 신나는 환경에 있다. 각종 신경회로 연구 기술들이 폭발적으로 발전하며, 각 단계에서 5년, 10년 전에는 상상할 수도 없었던 연구들이 기술적으로 가능해지고 있다. 더욱 신나는 사실은 우리 뇌에는 아직도 이제까지 연구되어 밝혀진 것보다 앞으로 연구해서 밝혀내야 할 것이 너무나도 많다는 것이다. 본 연구진은 계속하여 빠른 속도로 발전하고 있는 신경회로 연구 기술들을 받아들이고(이 글에서 소개하지 않은 칼슘 이미징, 광섬유 광도 측정법, 초소형 현미경, 초고속 3차원 부피 이미징 기술 등) 기 보유중인 광유전학, 조직 투명화 및 가공 기술과 통합적으로 사용하여, 감정 처리 과정에 대한 우리의 이해에 새로운 전기를 마련하고자 한다.

대표논문

1. Kim, S.-Y., Adhikari, A., Lee, S. Y., Marshel, J. H., Kim, C. K., Mallory, C. S., ... Deisseroth, K. (2013). Diverging neural pathways assemble a behavioural state from separable features in anxiety. *Nature*, 496(7444), 219–223. <http://doi.org/10.1038/nature12018>
2. Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S.-Y., Frenzo, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., ... Deisseroth, K. (2011). Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature*, 471(7338), 358–362. <http://doi.org/10.1038/nature09820>
3. Chung, K., Wallace, J., Kim, S.-Y., Kalyanasundaram, S., Andalman, A. S., Davidson, T. J., ... Deisseroth, K. (2013). Structural and molecular interrogation of intact biological systems. *Nature*, 497(7449), 332–337. <http://doi.org/10.1038/nature12107>
4. Kim, S.-Y., Cho, J. H., Murray, E., Bakh, N., Choi, H., Ohn, K., ... Chung, K. (2015). Stochastic electrotransport selectively enhances the transport of highly electromobile molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(46), E6274–6283. <http://doi.org/10.1073/pnas.1510133112>
5. Seo, J., Choe, M., & Kim, S.-Y. (2016). Clearing and Labeling Techniques for Large-Scale Biological Tissues. *Molecules and Cells*, in press.

## 저자약력

### 김 성 연

2003 - 2009 서울대학교 화학부, 생명과학부 학사  
2009 - 2013 Stanford University, Neurosciences Ph.D. Program, 박사  
2013 - 2015 Massachusetts Institute of Technology, Institute for Medical Engineering and Science, 박사후 연구원  
2015 - 현재 서울대학교 자연과학대학, 조교수  
2016 - 현재 서울대학교 유전공학연구소, 조교수

## 연구원 구성

- 석박사 통합과정 : 김동윤, 박한얼, 구동준, 최민진
- 학부생 및 인턴 : 이성호, 소재우, 안명모, 서진영, 이수정, 이명선

