

사람의 배아와 중기 태아기의 뇌 발달에 따른 세포증식과 세포자멸사의 양상

최석진 · 김정란

동국대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2001년 11월 2일
게재승인 : 2002년 1월 14일

책임저자 : 김 정 란
우 780-714 경북 경주시 석장동 707
동국대학교 의과대학 병리학교실
전화: 054-770-8282
Fax: 054-770-2431
E-mail: pathjrk@dumc.or.kr

*본 연구는 동국대학교 전문학술지 논문
게재연구비 지원으로 수행되었음.

The Pattern of Cell Proliferation and Apoptosis in Human Embryonic and Fetal Brain

Suk Jin Choi and Jung Ran Kim

Department of Pathology, College of Medicine, Dongguk University, Kyongju, Korea

Background : Cell proliferation and apoptosis account for the major morphogenetic mechanisms during development of the central nervous system. We investigated these processes in developing human brains. **Methods** : We examined human embryonic and fetal brains. Cell proliferation was analysed by classical histology and MIB-1 immunohistochemistry; cell death was investigated by the TdT-mediated dUTP-biotin nick end labelling method. **Results** : Most proliferating cells were observed in the ventricular zone (VZ) in the 3rd-10th week of gestational age (GA), and in both the VZ and the subventricular zone (SV) in the 19-24th week of GA. The proliferation index of the VZ was highest in the 8th week of GA and then decreased as the GA advanced. Apoptotic cells were observed in the VZ as early as the 5th week of GA. They were also observed in the intermediate zone in the 19-24th week of GA, although they were significantly lower in amount compared to that in the VZ and SV. **Conclusions** : These results suggest that apoptosis occurring early in the embryonic period is related to a cellular mechanism which selects and determines the cells that are committed to migration and differentiation during the development of the human brain.

Key Words : Central Nervous System-Development-Ki-67-Apoptosis-In Situ Nick-End labeling

중추신경계의 발달은 각 단계별로 특이한 유전자의 조절을 받는다고 알려져 있다. 또, 여러 발생학적 과정들 즉, 세포증식과 세포사의 조절, 세포의 계열 결정, 그리고 세포 이동 등 일련의 사건이 배아와 태아의 중추신경계 발달 기간에 일정한 순서에 따라 시·공간적으로 조화롭게 일어난다.¹ 포유류의 중추신경계 발달에서 세포증식은, 뇌실의 내면을 피복하는 신경상피에서 일어나며 여기에서 기원한 세포가 증식과 이동 및 분화 등의 발달 과정을 거쳐 중뇌의 피질을 구성하게 된다. 또 뇌실 영역은 여러 단계의 증식성 세포로 이루어져 있으며 이곳에서 세포 수, 세포의 계열, 그리고 층판구조의 결정과 같은 신경계 발달의 중요한 단계들이 결정된다.² 척추동물의 경우 뇌 발달 과정에 이행 영역을 형성하는데, 특히 뇌실하 영역은 세포증식이 활발하며² 뇌실 영역과 함께 증식대라고 한다. 이 영역은 비교적 늦게 분화되어 국소 회로를 담당하는 신경세포가 이 영역에서 기원하고,^{3,4} 발달 후기에는 여기에서 교세포가 분화한다고 알려져 있다.⁵ 생쥐의 대뇌 발달 과정에서 세포증식은 증식대뿐만 아니라 이행 영역인 중간대와 피질판하 영역에서도 활발하게 일어나며,⁶

사람과 원숭이의 뇌 발달 과정에서는 원시 신경상피에서 기원한 세포가 뇌실 영역에서 유사분열을 통하여 증식한 후 분열이 끝난 신경모세포가 피질판하 영역으로 이동하며 분화과정을 통하여 다른 세포들과 시냅스를 이룬다.⁷ Kendler와 Golman⁸은 사람의 뇌 발달 과정에서 중간대에서의 유사분열이 태아 말기까지 관찰되며 이 영역에서 증식하고 있는 세포들 중 일부는 교세포로 분화한다고 주장하고 있다.

한편 세포자멸사를 통하여 이루어지는 세포 수의 조절은 척추동물의 중추신경계 발생에서 공통된 발달기전으로 알려져 있다.⁹ 최근에 병아리 배아의 후뇌 발달 과정 중 신경관 형성 단계와 중뇌 형성 단계 등 중추신경계 형성의 여러 단계에서 세포자멸사를 통한 세포사가 확인되었고, 이 현상이 전구세포의 선택과정에 관련될 것이라는 가설이 제시된 바 있다.¹⁰ 생쥐에서도 배아의 신경모세포가 세포자멸사를 통하여 광범위하게 제거되며 이때 세포자멸사는 세포증식이 일어나는 증식대에서 주로 일어난다고 한다.^{6,11} 또 세포자멸사와 관련된 유전자인 *ced-3*의 동족 유전자인 *CPP32*를 제거한 생쥐의 배아는 세포증식에 관련

된 조절기전에는 이상이 없지만 뇌 발달 초기에 심한 뇌 조직의 과형성을 유발한다는 보고가 있다.¹² 생쥐나 흰쥐의 뇌 발달 과정에서는 세포자멸사가 중기 태생기부터 관찰되기 시작해서 생후 1주에 최고치에 이른다고 보고되었다.^{13,14} 사람의 중추신경계는 동물과 가장 큰 차이를 보이는 기관으로 발달 과정도 서로 다를 가능성이 매우 크다. 중추신경의 발달 과정에 대한 연구는 주로 동물을 사용하고 있으며 사람은 태생 중기 및 후기의 태아를 이용한 소수의 연구가 있을 뿐이다.¹⁵ 본 연구는 세포증식이 활발한 사람의 배아 및 초기 태아와 세포 이동이 활발한 중기 태아의 뇌 조직을 이용하여 사람의 뇌에서 세포증식과 세포자멸사의 양상을 관찰하고자 하였다.

재료와 방법

재료

1992년부터 1999년 사이에 동국대 경주병원에서 난관 임신이나 자궁경부 무력증으로 자연유산 및 치료적 임신중절술로 얻은 배아 및 태아를 대상으로 하였으며, 배아 4예(태령 3, 5, 6, 7주 각 1예) 및 초기 태아 3예(태령 8, 9, 10주 각 1예), 중기 태아 5예(태령 19, 21, 22, 23, 24주 각 1예)의 뇌 조직을 이용하였다 (Table 1). 검체의 태령은 최종월경일과 정돈장을 이용하여 계산하였다. 태아의 부검은 사망 후 24시간 이내에 시행하였으며 심한 저산소 손상이나 물리적 뇌 손상을 받은 검체와 뇌 기형이 있는 검체는 대상에서 제외하였다.

방법

검체처리 및 광학현미경 검사

태령 10주 이전의 검체는 바로 10% 중성 포르말린에 24시간 고정된 후 검체 전체를 파라핀에 포매하였고 4 μm 두께로 연

Table 1. Age distribution and cause of death of 12 cases of human embryos and fetuses

GA	No. of case	Cause of death
3	1	Tubal gestation
5	1	Tubal gestation
6	1	Tubal gestation
7	1	Tubal gestation
8	1	Tubal gestation
9	1	Tubal gestation
10	1	Tubal gestation
19	1	IIOC
21	1	IIOC
22	1	IIOC
23	1	IIOC
24	1	IIOC

GA: Gestational age (week). IIOC: Incompetent internal os of uterine cervix.

속 박절하여 통상적인 HE 염색을 시행하였다. 또 중기 태아는 부검 시 뇌를 적출한 후 2-4주간 10% 중성 포르말린에 고정된 후 관상으로 잘라서 측두엽과 뇌실, 그리고 해마가 포함된 절편을 선택하여 파라핀에 포매하였으며 역시 4 μm 두께로 박절하여 HE 염색을 시행하였다.

면역조직화학 염색 및 세포 증식지수

파라핀에 포매된 조직을 4 μm 두께로 박절하여 통상의 탈파라핀 및 항원노출 과정(고온가압멸균)을 거친 다음, 3% 과산화수소수로 5분간 처리하여 내인성 과산화효소의 작용을 차단하였다. 증류수와 Tris 완충액으로 수세한 후 Ki-67 항원의 단클론성 항체인 MIB-1 (Immunotech, Marseille Cedex, France)을 1:200으로 희석하여 표본에 가한 후 30분간 반응시켰다. 이차 항체로 LSAB plus kit (Dako, Carpinteria, CA, U.S.A.)를 사용하였고, 3,3-diaminobenzidine으로 발색한 후 Mayer hematoxylin으로 대조염색하고 합성 봉입제 (Immu-Mount®, Shandon, U.S.A.)로 봉입하여 검경하였다. 면역조직화학 염색의 해석은 핵이 갈색으로 염색되는 세포를 양성 세포로 하였다. 세포 증식지수는 1,000개의 세포당 핵이 양성인 세포를 세어 백분율(%)로 표시하였다.

TUNEL을 이용한 세포자멸사의 관찰과 판독

TUNEL (TdT-mediated dUTP-biotin nick end labelling)을 시행하기 위하여 파라핀에 포매된 조직을 4 μm로 박절하여 탈파라핀과 함수과정을 거친 다음 proteinase K (20 μg/mL)로 37°C에서 25분간 처리한 후 증류수로 수세하였다. 2% 과산화수소수로 내인성 과산화효소의 작용을 차단한 후 ApoTag® Plus Peroxidase kit (S7101-kit, Intergen, U.S.A.)를 이용하여 세포자멸사를 일으킨 세포를 표지하였다. 방법을 요약하면, Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)와 dATP가 섞인 반응액을 도포하여 37°C에서 30분간 반응시켜, TdT를 이용하여 절단된 DNA의 3'-OH 끝에 digoxigenin이 표지된 dUTP가 결합하게 한 후 anti-digoxigenin-peroxidase와 상온에서 30분간 반응시켰다. 그리고 3,3-diaminobenzidine으로 2분간 발색시킨 다음 Mayer hematoxylin으로 대조염색을 하였다. 판독은 핵이 짙은 갈색으로 표지되는 세포를 양성으로 하였으며 세포자멸사의 수는 고배율(×400) 시야 10군데를 검색하여 핵에 표지된 세포 수의 합으로 표시하였다. 양성 대조군으로 사람의 편도선 조직을 이용하였다.

통계학적 검정

Mann-Whitney U 검정을 이용하여 배아(태령 3주에서 7주), 태아 초기(태령 8주에서 10주) 그리고 태아 중기(태령 21주에서 24주)에서 시기별로 세포 증식지수와 세포자멸사 수를 비교하였고, p 값이 0.05 미만인 경우를 의미 있는 것으로 간주하였다.

결 과

배아 및 초기 태아의 뇌 발달

태령 3주 배아의 뇌 조직은 뇌실 영역과 변연층으로 이루어진 신경관 구조를 이루었다. 신경관의 가운데에는 신경수관이 관찰되었으며 양측에는 신경절에 해당하는 신경능선이 구별되었다. 뇌실 영역은 뇌실막층과 외투층으로 구성되어 있으며 뇌실막층에서 다수의 유사분열상이 보였다. 외투층은 10-15층의 충실성 세포로 구성되어 있었고 외투층 바깥에 있는 변연층은 세포 성분이 없는 섬유성 물질로 구성되어 있었다(Fig. 1, 2A). 이 시기에 신경관 전 층에서 MIB-1 양성 세포가 산재하였고 내강 쪽에 가까운 세포에서 더 강하게 염색되었으며 증식지수는 53%였다(Fig. 2B, 3). TUNEL에 표지되는 세포는 관찰되지 않았다.

태령 5주의 배아는 종뇌와 간뇌의 구분이 뚜렷한 뇌 소포를 형성하였으며 종뇌는 뇌실 영역과 변연층으로 이루어져 있었다. 뇌실 영역은 충실성 세포로 이루어졌으며 뇌실 영역의 두께는 다양하여 종뇌 후방에서는 4층으로 얇았으나 전방으로 갈수록 대략 20여 층까지 두터워졌다. 변연층은 개개로 흩어진 소수의 세포와 성긴 섬유상 물질로 구성되어 있었다. 태령 3주와 비슷하게 뇌실막층에서 다수의 유사분열상이 관찰되었으며 뇌실 영역의 세포 증식지수는 55%였다. 그리고 세포자멸사는 고배율 10시야에서 5개가 관찰되었다(Fig. 3-5).

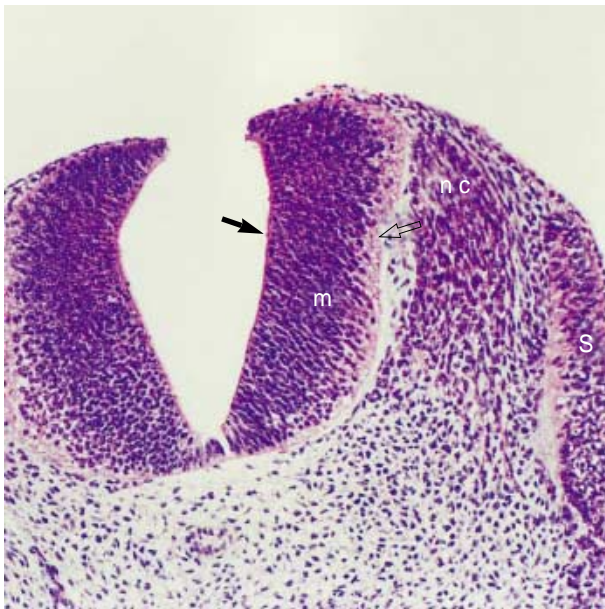


Fig. 1. Microphotograph of the neural tube at the 3rd week of gestational age. It consists of inner ventricular (arrow) and outer mantle zone (m). The marginal zone (open arrow) is acellular, composed of neurites projected from the neuroblasts in mantle zone. The neural crest (nc) is formed at the dorsolateral portion of the neural tube. Somite (s) is also identified.

태령 6주에서 8주의 배아는 뇌실 영역과 변연층의 구분이 더 뚜렷해졌다. 뇌실 영역은 5주에 비하여 두터워져 종뇌 후방은 6층, 전방부위는 25층 정도, 기저부는 35층 정도의 밀집된 충실성 세포로 구성되었으며 뇌실막층에서는 유사분열 세포들이 산재해 있었다. 뇌실 영역의 세포 증식지수는 6주에 59%, 7주에 72%, 8주에 93%였고 세포자멸사 수는 고배율 10시야당 각각 5개, 9개, 19개였다(Fig. 3, 5). 변연층에는 MIB-1에 양성인 세포나 TUNEL에 표지되는 세포는 관찰되지 않았다. 태령 9주의 배아에서는 세포 증식지수가 88%, 세포자멸사 수는 16개로 8주에 비해 증식지수와 세포자멸사가 모두 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3, 5).

태령 10주에는 뇌실 영역과 변연층 사이에 중간대와 피질판을 형성하였다(Fig. 6A). 이 시기에도 종뇌 뇌실 영역의 두께는 부위에 따라 차이를 보였는데, 후방의 뇌실 영역은 20층 정도였으나 전방으로 가면서 40층까지 두터워졌다. MIB-1 양성 세포는 뇌실 영역 전층에 걸쳐 분포하였으며 뇌실에 가까운 세포에서 강하게 염색되었다(Fig. 6B). 세포 증식지수는 68%이며 세포자멸사는 고배율 10시야당 10개가 관찰되어 9주에 비하여 감소하였다(Fig. 3, 5, 6C). 중간대는 다른 영역에 비하여 세포의 밀도가 낮았으며 주로 섬유성 물질로 구성되어 있었다. 세포 증식지수는 8%였으며 TUNEL에 표지되는 세포는 관찰되지 않았다. 피질판은 2-3층의 등글거나 타원형의 세포로 구성되어 있었으며 MIB-1에 양성인 세포나 TUNEL에 표지되는

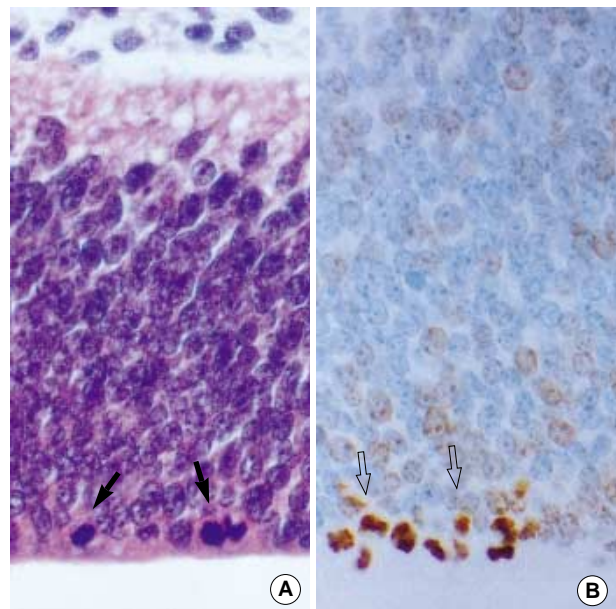


Fig. 2. (A) At the 3rd week of gestational age, neural canal is lined by ependymal cells showing several mitotic features (arrows). (B) Immunohistochemical stain for MIB-1 demonstrates strong nuclear stain (open arrows) in ependymal layer.

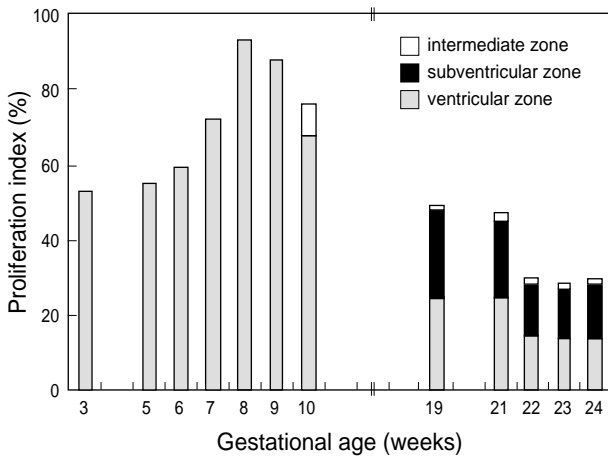


Fig. 3. Proliferation index according to the gestational age. The proliferation index was significantly higher at embryonal and early fetal period (the 3rd-10th week of gestational age (GA) than that at mid fetal period (the 19-24th week of GA). The ventricular zone of the 8th week of GA shows the highest proliferation index. Intermediate zone appears at the 10th week of GA. Mid fetal period is characterized by high proliferation index in subventricular zone. The intermediate zone shows low but constant proliferating activity.

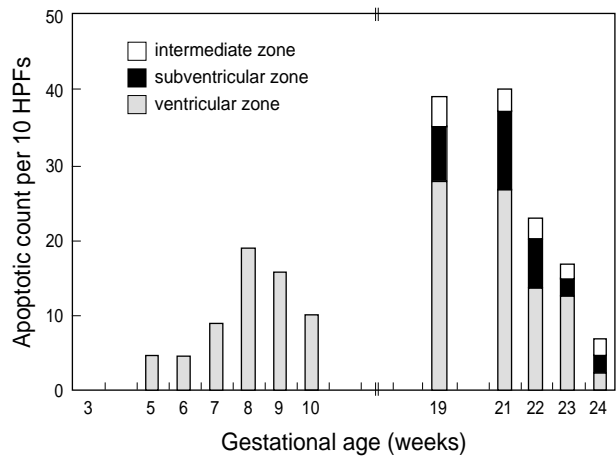


Fig. 5. Apoptotic count according to the gestational age in 10 HPFs (high power fields). The apoptotic cells are observed in ventricular zone as early as at the 5th week of gestational age (GA). The apoptotic count is higher in ventricular and subventricular zone of the 19th-21st week of GA than that of the 22nd-24th week of GA ($p < 0.05$). In the mid fetal period, intermediate zone shows low but constant numbers of apoptotic cells.

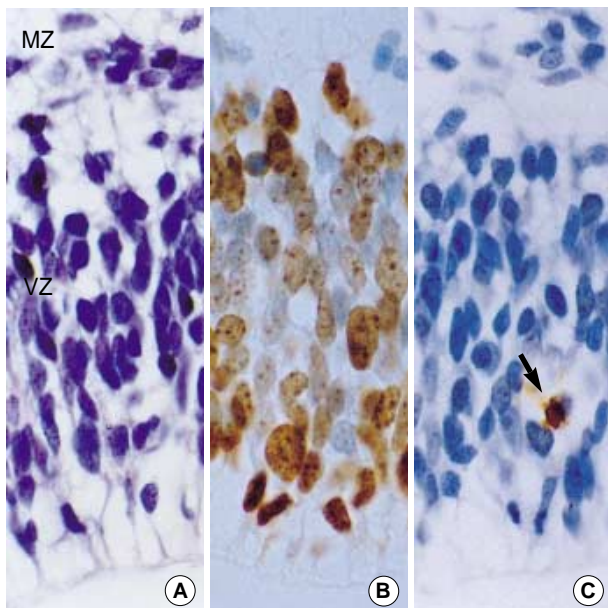


Fig. 4. Cell proliferation and apoptotic feature in whole thickness of dorsomedial portion of telencephalic wall at the 5th week of gestational age. (A) The ventricular zone (VZ) consists of neuroblasts, a few of which show mitotic features at the ventricular layer. The marginal zone (MZ) shows loose fibrills admixed with a few cellular component. (B) Immunohistochemical stain for MIB-1 shows that most of the cells in the ventricular zone are immunoreactive to MIB-1. (C) An apoptotic cell showing an intense signal in the nucleus (arrow) is demonstrated by TdT-mediated d-UTP-biotin nick end labelling method.

세포는 관찰되지 않았다. 변연층은 8주에 비해 다소 두터워졌으나 세포밀도는 9주와 비슷하였고 세포증식과 세포자멸사는 관찰되지 않았다(Fig. 3, 5, 6). 즉, 발달 초기의 뇌는 세포 증식수가 태령 8-10주가 태령 3-7주에 비하여 유의하게 높았으며 ($p < 0.05$), 세포자멸사 수도 배아기보다 초기 태아기에서 더 높았다($p < 0.05$).

중기 태아의 뇌 발달

중기 태아(19-24주)의 뇌는 이행 영역인 뇌실하 영역, 중간대, 피질관하 영역을 형성하였으며 변연층 바깥에 유막하 과립 세포층이 새로 형성되어 뇌실에서 바깥쪽으로 뇌실 하 영역, 중간대, 피질관하 영역, 피질판, 변연층 및 유막하 과립세포층으로 구성되어 있었다. 유막하 과립세포층은 2-5층의 등근 세포로 구성되어 있고, 변연층은 배아기에 비하여 세포밀도와 두께가 현저히 증가하였다. 피질관하 영역은 태령 19주에 이미 약 0.5 mm 두께로 관찰되었으며 24주에는 1-2 mm로 두터워졌다. 구성세포는 15-25층의 등글거나 약간 타원형이었고 중간대는 초기 태아에 비하여 세포밀도가 고도로 증가되어 있었다. MIB-1에 표지되는 세포와 세포자멸사를 보이는 세포는 뇌실 영역과 뇌실하 영역뿐 아니라 중간대에서도 관찰되었다(Fig. 3, 5, 7). 피질관하 영역에는 1% 미만의 날개로 흩어진 증식세포가 관찰되었으나 세포자멸사를 보이는 세포는 관찰되지 않았다. 피질판, 변연층 및 유막하 과립층에서는 MIB-1 및 TUNEL에 표지되는 세포가 관찰되지 않았다.

뇌실 영역의 증식지수는 태령 19주에 25%, 21주에 25%, 22주에 14%로 태령이 증가함에 따라 감소하였으며, 22주 이후에

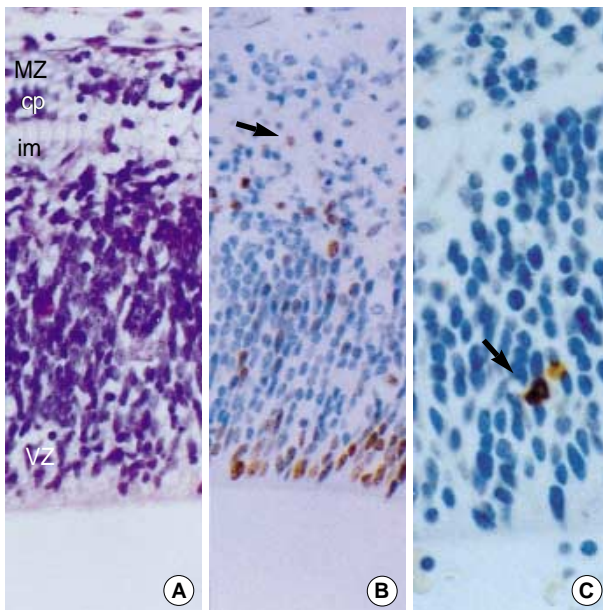


Fig. 6. Cell proliferation and apoptotic feature in whole thickness of telencephalic wall at the 10th week of gestational age (GA). (A) The cortical plate (cp) composed of 2-3 layers of round to ovoid cells, is clearly demarcated from the fibril-rich intermediate zone (im). Loosely fibrillar cell-sparse marginal zone (mz) is also identified. (B) Immunohistochemical stain for MIB-1 demonstrates several cells in intermediate zone are positive for MIB-1 (arrow). Compared to that of the 8th week of GA, the proportion of proliferating cells in ventricular zone is decreased. (C) An intense signal is observed in the nucleus of a few apoptotic cells (arrow, TdT-mediated d-UTP-biotin nick end labelling methods) in the ventricular zone.

는 비교적 일정하게 유지되었고 배아기 및 초기 태아(3-10주)에 비하여 통계적으로 유의하게 낮았다(Fig. 3, $p < 0.05$). 뇌실하 영역에서는 증식지수가 19주에 23%, 21주에 20%였고 22-24주에는 13-14%로 뇌실 영역과 비슷하였다. 중간대의 세포 증식지수는 19주에 1%, 21-24주에 2%였고 피질판하 영역에서 세포 증식지수는 1% 미만이었다(Fig. 3). 세포자멸사는 뇌실 영역에서 19-21주에 고배율 10시야당 27-28개, 22-23주는 13-14개, 24주에는 3개가 관찰되어 태령이 증가할수록 급격히 감소하였다. 뇌실하 영역에서는 19주에 7개, 21주에는 10개, 22주는 6개, 23주 및 24주에는 2개가 관찰되어 뇌실 영역에 비하여 낮게 표지되었다. 중간대는 19주에 4개, 21-22주에 3개, 23-24주에 2개로, 증식대에 비하여 TUNEL에 표지되는 세포 수가 적었으나 일정한 수를 유지하였다(Fig. 5).

고 찰

중추신경계의 발생 과정 중 세포 수의 조절은 세포의 증식, 세포의 이동 그리고 세포사를 통해 이루어진다. 이 중에서 세포

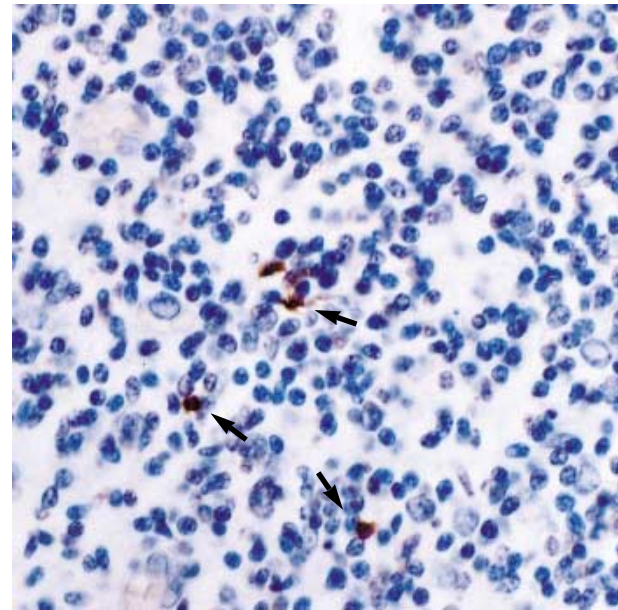


Fig. 7. Single or clusters of apoptotic cells labelled with TdT-mediated d-UTP-biotin nick end labelling method are observed mainly in subventricular zone (arrows) at the 21st week of gestational age.

증식과 세포사는 척추동물의 중추신경계 발달에서 뇌 피질의 발생을 조절하는 가장 중요한 기전으로 알려져 있으며,¹⁶ 이들 기전에 의하여 대뇌 피질의 신경세포 수와 신경세포의 층판내 위치가 결정된다. 본 연구에서는 MIB-1을 이용한 면역조직화학 염색과 TUNEL법으로 사람의 뇌 발달에 따른 세포증식지수의 변화와 세포사의 하나인 세포자멸사의 양상을 알아보았다.

Simonati 등¹⁵과 Kjeld 등¹⁷은 PCNA (proliferation cell nuclear antigen)를 이용하여 각각 태령 12-24주 및 태령 6.5-20주의 사람 배아 및 태아 뇌에서 세포증식을 연구하였는데, Simonati 등¹⁵은 12-15주의 뇌실 영역의 세포 증식지수가 16주 이후에 비해 크게 높다고 보고하였고, Kjeld 등¹⁷은 세포 증식지수가 6-8주 배아에서 가장 높다고 보고하였다. 본 연구에서 태령 3주에서 10주 및 19주에서 24주의 뇌를 조사한 결과 뇌실 영역의 세포증식지수가 8주에 가장 높았으며 이는 Kjeld 등¹⁷의 연구와 일치하였다.

뇌실하 영역은 척추동물에서 세포증식이 활발하며 국소 회로를 담당하는 신경세포와 교세포가 이 영역에서 분화한다.³⁴ 그 뿐만 아니라 사람의 태아에서도 중추신경계의 다른 구조에 존재하는 신경세포의 축삭이 이행 영역으로 자라 들어와서 뇌 발달 동안에 일시적인 신경연접이 이루어진다고 알려져 있다.⁷ 본 연구에서는 19주 이후 중기 태아에서 이미 뇌실하 영역이 구별되었고 세포증식지수가 뇌실 영역과 비슷하여 다른 연구자들과^{8,15} 일치하였다.

Takahashi 등¹⁸은 BRDU (bromodeoxy uridine)와 삼중수소가 표지된 thymidine 전구체를 이용하여 생쥐의 발생 중기

뇌 발달에 따른 세포증식의 양상을 관찰하였으며 그 뇌실하 영역뿐만 아니라 중간대에서도 뇌실하 영역에 비해서는 낮지만 일정한 수의 세포들이 증식한다고 하였다. 또 Simonati 등¹⁵은 태령 22-24주의 중간대와 피질관하 영역의 PCNA 양성 세포수는 태령 12-15주에 비해 더 높으나 증식대보다는 낮다고 하였다. 본 연구에서도 중간대는 태령 10주에 처음 관찰되었으며 증식지수는 8%였다. 태령 19-24주에는 1-2%로 뇌실 영역과 뇌실하 영역을 포함한 증식대의 세포증식지수(13-25%)에 비교하면 유의하게 낮았으나($p < 0.05$), 발생 초기의 사람의 뇌에서도 일정한 수준의 세포증식이 중간대에서 관찰됨을 알 수 있었다. 또 피질관하 영역에서는 MIB-1 양성인 세포가 1% 미만에서 관찰되어 증식대에 비하여 낮았으며($p < 0.05$), 전층에 걸쳐 날개로 산재해 있었다. Kendler 등⁸은 중기 태아 뇌의 중간대에서 관찰되는 PCNA 양성인 세포의 일부는 GFAP (glial fibrillary acid protein)를 발현하기 때문에 교세포로 분화할 것이라고 주장하였다.

피질관은 본 연구에서 태령 10주에 처음 관찰되었고, 피질관을 구성하는 세포는 모든 시기에서 MIB-1에 음성 반응을 보여 Simonati 등¹⁵의 결과와 일치하였다. 피질관에서 MIB-1 또는 PCNA에 양성인 세포가 관찰되지 않는 것은 Caviness와 Takahashi¹⁹의 주장과 마찬가지로 발달 과정 중인 뇌의 피질관은 이미 유사분열을 마친 세포들로 구성되어 있기 때문이라고 생각되었다.

세포자멸사는 다세포 생물의 발달과 성장, 조직 분화 및 항상성 유지에 있어 중요한 역할을 한다.²⁰ 즉, 세포증식과 더불어 세포자멸사는 하등 척추동물에서뿐 아니라 포유류의 중추신경계 발달에서도 세포 구성을 조절하는 중요한 현상으로,^{21,22} 뇌 발달 기간 중 모든 종류의 세포들이 세포자멸사를 통하여 세포사에 이르며²³ 이 기간 중 약 50% 정도의 신경세포가 세포자멸사를 통하여 제거된다고 알려져 있다.²⁴ Simonati 등²⁵은 TUNEL법을 이용하여 태령 12-23주 사람 태아의 뇌에서 일어나는 세포자멸사를 관찰한 바 있다. 이들에 따르면 세포자멸사는 주로 뇌실 영역과 뇌실하 영역에서 일어나며 태령 12주에 처음 관찰되기 시작해서 뇌실 영역과 뇌실하 영역에서 각각 18주와 21주에 최고에 이르며 21주 이후에는 피질관하 영역과 중간대에서도 일어난다고 보고하였다. 그러나 Rakic과 Zecevic²⁶은 세포자멸사가 태령 4.5주에 뇌실 영역에 산재해 나타나고 17-21주 최고치를 보인다고 하였다. 본 연구에서도 Simonati 등²⁵보다는 빠르지만 Rakic과 Zecevic²⁶의 연구 결과와 비슷한 시기인 태령 5주에 뇌실 영역에서 처음 관찰되었고 태령 8주에 최고치를 보이다가 이후 다소 감소하였다. 중기 태아에서는 Simonati 등²⁵과 비슷하게 뇌실 영역과 뇌실하 영역을 포함한 증식대에서 세포자멸사가 관찰되었으며 세포자멸사 수는 Simonati 등²⁵이나 Rakic과 Zecevic²⁶과 같이 19주 및 21주에 가장 높았고 이후 감소하였다. 사람의 뇌 발달 과정 중 세포자멸사가 뇌 발생 초기부터 증식대에서 관찰되는 것은 세포이동이 일어나기 전인 선택 과정에

세포자멸사가 관여할 것을 시사한다.

한편 본 연구에서 세포자멸사의 발생시기는 중간대에서 10군데의 고배율 시야당 19주에 4개, 21-22주에 3개가 관찰되어 Simonati 등²⁵의 보고보다 약간 빨랐으며, 이 시기에 뇌 발달 과정 중 두 번째 세포 이동이 완료된 후 뇌실 영역과 뇌실하 영역이 퇴화한다.³ 즉, 증식대에서 기원한 세포는 심부의 피질하 신경핵이나 뇌 피질로 이동하는 과정에 중간대와 피질관하 영역의 다른 세포들과 시냅스를 형성하며,²⁷ 이들 영역에서 시냅스를 형성하지 못하는 세포들은 세포자멸사를 통해 제거될 것으로 생각된다. 그러므로 뇌실 영역과 뇌실하 영역의 세포자멸사 수가 태령 19주 및 21주에 가장 높은 것은 뇌 발달 과정과 잘 부합하는 조건이라고 생각되었다.

피질관하 영역은 모든 포유류의 뇌 발달에서 공통적인 구조로 피질관과 중간대 사이에 형성되는 이행 영역의 하나이다. 동물의 경우에는 생후에 소실된다고 알려져 있다.²⁸ 사람과 원숭이의 뇌 발달에 있어서 피질관하 영역은 태생 12-13주에 피질관의 심층부위의 세포밀도가 높아지면서 형성되기 시작하여 15-18주 사이에 크게 두터워지고 20-35주에는 비교적 일정한 두께를 이루다가 35주 이후부터는 점차 퇴화하여 출생 후 2개월에 이르면 없어진다고 알려져 있다.²⁹ 본 연구에서는 초기 태아에서(5-10주)는 피질관과 피질관하 영역이 구별되지 않았으며, 태령 19주에는 이미 이들 영역이 뚜렷하게 구분되었고 증식지수는 1% 미만이었다. 세포자멸사는 전 연구 기간에 걸쳐 관찰되지 않았으며 이런 이유는 본 연구의 관찰 시기(태령 19-24주)가 피질관하 영역이 위축을 시작하기 이전으로 비교적 일정한 두께를 이루는 시기이기 때문이라고 생각하였다.

참고문헌

1. Rubenstein JLR, Beachy PA. Patterning of the embryonic forebrain. *Curr Opin Neurobiol* 1998; 8: 18-26.
2. McConnell SK. Constructing the cerebral cortex: neurogenesis. *Neuron* 1995; 15: 761-8.
3. Sidman R, Rakic P. Neuronal migration, with special reference to the developing human brain. *Brain Res* 1973; 63: 1-35.
4. Levinson SW, Goldman JE. Both oligodendrocytes and astrocytes develop from progenitors in the subventricular zone of the postnatal rat forebrain. *Neuron* 1993; 10: 201-12.
5. Boulder committee. Development and modifiability of the cerebral cortex. *Anat Rec* 1970; 166: 257-62.
6. Takahashi T, Nowakowski RS, Caviness VS. Mode of cell proliferation in the developing mouse neocortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 375-9.
7. Kostovic I, Rakic P. Developmental history of the transient subplate zone in the visual and somatosensory cortex of the macaque

- monkey and human brain. *Comp Neurol* 1990; 297: 441-70.
8. Kandler A, Golman JA. Progenitor cell proliferation outside the ventricular and subventricular zones during human brain development. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55: 1253-8.
 9. Raff MC, Barres BA, Burne JF, Coles HS, Ihizaki Y, Jacobson MD. Programmed cell death and the control of survival: lessons from the nervous system. *Science* 1993; 262: 695-700.
 10. Graham A, Heyman I, Lumsden A. Even-numbered rhombomeres control the apoptotic elimination of neural crest cells from odd-numbered rhombomeres in the chick hindbrain. *Development* 1993; 119: 233-45.
 11. Blaschke AJ, Staley K, Chun J. Widespread programmed cell death in proliferative and postmitotic regions of the fetal cerebral cortex. *Development* 1996; 122: 1165-74.
 12. Kuida K, Zheng TS, Na S, *et al.* Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice. *Nature* 1996; 384: 368-72.
 13. Oppenheim RW. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1991; 14: 453-501.
 14. Spreafico R, Frasoni C, Arcelli P, Selvaggio M, De Biasi S. In situ labeling of apoptotic cell death in the cerebral cortex and thalamus of rats during development. *J Comp Neurol* 1995; 363: 281-95.
 15. Simonati A, Tosati C, Rosso T, Piazzola E, Rizzuto N. Cell proliferation and death: morphological evidence during corticogenesis in the developing human brain. *Microsc Res Tech* 1999; 45: 341-52.
 16. Rakic P, Caviness VS. Cortical development: view from neurological mutants two decades later. *Neuron* 1995; 14: 1101-4.
 17. Mollgard K, Schumacher U. Immunohistochemical assessment of cellular proliferation in the developing human CNS using formalin-fixed paraffin-embedded material. *J Neurosci Methods* 1993; 46: 191-6.
 18. Takahashi T, Nowakowski RS, Caviness VS. Early ontogeny of the secondary proliferative population of the embryonic murine cerebral wall. *J Neuroscience* 1995; 15: 6058-68.
 19. Caviness VS, Takahashi T. Proliferative events in the cerebral ventricular zone. *Brain Dev* 1995; 17: 159-63.
 20. Clarke PGH. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanism. *Anat Embryol (Berl)* 1990; 181: 195-213.
 21. Ferrer I, Soriano E, Del Rio JA, Alcantara S, Auladell C. Cell death and removal in the cerebral cortex during development. *Prog Neurobiol* 1992; 39: 1-43.
 22. Voyvodic JT. Cell death in cortical development: How much? Why? So what?. *Neuron* 1996; 16: 693-6.
 23. Burek MJ, Oppenheim RW. Programmed cell death in the developing nervous system. *Brain Pathol* 1996; 6: 427-46.
 24. Jacobson MD, Weil M, Raf MC. Programmed cell death in animal development. *Cell* 1997; 88: 347-54.
 25. Simonati A, Rosso T, Rizzuto N. DNA fragmentation in normal development of the human central nervous system: a morphological study during corticogenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1997; 23: 203-11.
 26. Rakic S, Zecevic N. Programmed cell death in the developing human telencephalon. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 2721-34.
 27. Blaschke AJ, Weiner JA, Chun J. Programmed cell death is a universal feature of embryonic and postnatal neuroproliferative regions throughout the central nervous system. *J Comp Neurol* 1998; 396: 39-50.
 28. Chun JJ, Shatz CJ. Interstitial cells of the adult neocortical white matter are the remnant of the early generated subplate neuron population. *Comp Neurol* 1989; 282: 555-69.
 29. Kostovic I, Raki P. Cytology and time of origin of interstitial neurons in the white matter in infant and adult human and monkey telencephalon. *J Neurocytol* 1980; 9: 219-42.