

Human Cell Atlas (HCA) 프로젝트의 연구동향

박 봉 수

미국국립보건원, 노화연구소

E-mail: genomicspark@gmail.com

요약문

인간의 모든 세포를 단일 세포(Single-cell) 수준으로 이해하고자 하는 시도는 매우 도전적인 과제이다. 최근에는 단일 세포 기술 시퀀싱의 발전으로 전사체 및 후생 유전체를 이용하여 인간의 건강한 세포와 질병의 양상을 통합적으로 이해하고자 하는 시도가 이루어지고 있다. 2016년에 결성된 Human Cell Atlas (HCA) 프로젝트는 4년이 지난 지금 인체의 각종 세포의 단일 세포 전사체 레퍼런스를 만드는 첫 번째 단계의 프로젝트를 마무리하고, 국제 과학 협력기구로 나아가는 두 번째 단계로 진행하는 중이다. 이번 동향리포트에서는 지난 3년 동안에 HCA 컨소시엄에서 발표된 연구 결과들을 요약 및 정리하고 앞으로 진행되는 프로젝트의 방향을 살펴 보았다. 그리고 이와 함께 2020년도에는 COVID-19 바이러스로 인한 팬데믹과 관련되어 HCA에서 단일 세포 전사체 연구를 병행하고 있다. 출판된 연구 결과 및 빅데이터를 웹사이트를 이용하여 살펴볼 수 있도록 만들었는데 그것에 대한 소개도 함께하였다. 단일 세포 수준에서 세포의 이질성을 다루는 이러한 연구 결과는 기초 생물학과 의학에 있어서 다음 10년을 준비하는 새로운 패러다임으로 작용할 것으로 보인다.

Key Words: Transcriptome, Single-cell, HCA, COVID-19

목 차

1. 서론
2. 본론
 - 2.1. 단일세포 연구 결과
 - 2.2. COVID-19 연구 결과
 - 2.3. 방법론 요약
3. 결론
4. 참고문헌

1. 서론

2016년 10월 영국 런던에서는 세계를 이끄는 석학들이 모여 인간의 단일 세포의 큰 그림을 그리는 Human Cell Atlas (HCA) 프로젝트에 관한 논의를 하였다. 그 당시에는 여러 가지 단일 세포 분석 방법들이 새롭게 소개되고 있었고 새로운 기술을 이용하여 생명체의 가장 기초적인 단위가 되는 세포 수준에 관한 분석이 시작되는 시기였다. 모든 세포를 아우르는 인간의 단일 세포의 지도를 만들자는 프로젝트는 매우 도전적인 연구 주제였다. 만약 이것이 성공적으로 완성된다면, 단일 세포 수준에 관한 인간 유전체지도는 생명 현상을 이해하고 질병에 대처하고 예방하는 데 있어서 매우 큰 공헌을 할 것이다. 실제로 암의 발병이나 질병의 진전은 단일 세포 수준에서 일어나기 때문에, 더욱 정교한 전사체의 분석은 질병의 기작을 이해하는데 큰 도움을 줄 것이다.



그림 1. Human Cell Atlas Project 로고(출처: <https://www.humancellatlas.org/>).

2016년 이후로, 단일 세포 수준에서의 연구들은 전 세계적으로 산업계, 학계, 국가 공립연구소의 광범위한 지원을 받으며 진행 중이다. 이러한 대규모의 공동 연구 노력은 앞으로 기초 생물학과 의학의 발전에 기반을 놓으며, 앞으로의 발전을 도울 것으로 기대된다. 2020년을 기준으로 처음 계획했던 HCA 프로젝트 1단계의 여러 연구들이 완료되었고 이에 따른 37개의 논문이 출판 혹은 출판 준비 중이다. 이번 동향 리포트에서는 최근에 발표된 여러 가지 연구논문을 간략하게 정리하고 앞으로의 HCA 프로젝트의 방향성에 대해서 살펴 보고자 한다.

아래의 **그림 2**는 HCA 프로젝트 백서에 나와 있는 2016-2018년도 까지의 계획표를 나타낸다. 2016년부터 지난 4년 동안 프로젝트의 진행 사항을 보여주고 있다. 백서에서는 가장 기초가 되는 세포 아틀라스의 뼈대를 만드는 기술적 혹은 분석적 방법에 대한 논의를 하고 있다. 단일 세포의 분석인 막대한 시퀀싱 데이터를 양산할 것으로 예상되며, 무엇보다도 Data Coordination Platform (DCP)을 만들어 그동안 만들어진 데이터를 정리하는데 초점을 맞추고 있다. 이로 인해서, 여러 가지 단일 세포 자료를 통합적으로 분석하는데 필요한 플랫폼을 제공하며 새로운 단일세포 유전체 자료가 출판될 때 기존의 결과물과 비교분석을 돕는데 중점을 두고 있다.

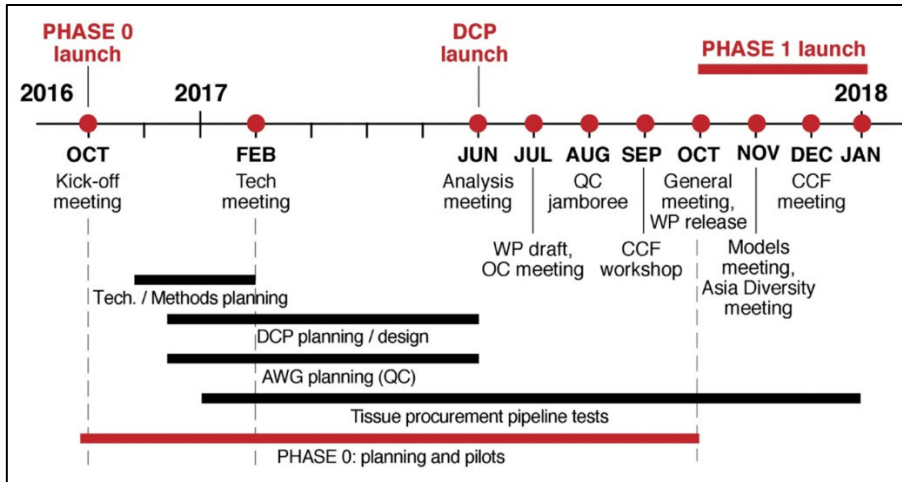


그림 2. HCA프로젝트 백서에 나와있는 2016-2018년도까지의 계획표.

2020년 10월 현재까지 4.5백 만개의 세포와 33개의 장기, 289명의 참가자를 통한 데이터가 축적되어 있다. 이는 28개의 프로젝트와 81개의 연구실의 공동연구의 결과물이고 모든 자료가 웹사이트를 통해서 공개되게 된다. HCA 프로젝트는 모든 프로젝트를 주관하는 위원회와 워킹그룹으로 나누어져 있는데, Organizing Committee (OC), Joint Coordinating Committee (JCC)를 통해서 실무 분야별로 전문가를 모으는 일을 한다. 워킹 그룹은 Analysis Working Group (AWG), Ethics Working Group (EWG), EQUITY Working group (EQWG), and Standard and Technology working group (STWG) 이렇게 구성되어진다. 실제 전문가들의 소통을 돕기 위해서, 아래의 정리된 것과 같이 17개의 생물학적 주제별로 네트워크가 형성되어 있다. HCA 연구팀들은 최근에는 COVID-19와 관련한 연구 그룹도 형성되어 다양한 연구를 수행하여, 관련된 연구 논문들이 출판 되었다

Box 1. BIOLOGICAL NETWORKS (세부 네트워킹 그룹)

1. Adipose
2. Breast
3. Development
4. Eye
5. Genetic Diversity
6. Gut
7. Heart
8. Immune
9. Kidney
10. Liver
11. Lung
12. Nervous System
13. Oral & Craniofacial
14. Organoids
15. Pancreas
16. Reproduction
17. Skin

2. 본론 (연구논문 정리)

HCA 컨소시엄이 형성되어 지난 4년 동안 많은 연구의 진전이 있었다. 표 1에서는 2018년부터 2020년도 까지 출판되거나, 준비 중인 연구논문을 정리하여 보았다. 이를 통해, 진행 중인 연구의 결과들과 방향들을 정리 요약하였다. 다양한 인체의 조직에 있어서 여러 가지 연구들이 진전되었음을 볼 수 있다. 요약해 보면, 총 37개의 논문 중에 20개의 연구논문과 12개의 방법론에 대한 논문, 1개의 리뷰 논문 그리고 4개의 White Paper (백서)가 포함되어 있다. 또한 2020년에는 Covid-19에 관련된 연구논문이 6개가 진행됨을 볼 수 있는데 (표 2) 단일 세포 수준에서의 전사체를 통해서 Covid를 겪은 환자들의 상태를 세부적으로 파악하는 외에도 매우 도움이 될 것으로 보인다. COVID-19는 “HCA Research on COVID-19”, “HCA-Lifetime Alliance on COVID-19” 두 가지 세부그룹으로 나뉘어서 현재 진행 중이다. 이는 병의 양상을 연구할 뿐 아니라 질병을 겪은 이후에 환자들이 어떤 변화가 있는지도 함께 살펴볼 예정이다. 이를 위해서 EMBL-EBI, Broad Institute 등이 협력하여 환자들의 정보를 정리할 것으로 보인다. 여러 가지 질병들의 기작을 이해하기 위한 기초연구도 활발했다. 예를 들어, 인간과 실험용 동물 등을 비교 분석한 내용들은 앞으로 다양한 병의 기작을 밝히는 데에 도움을 줄 것으로 예상된다. 또한, 실험 방법론과 분석 방법론에 관한 연구 진행도 매우 활발했다. 실험실 환경에서는 Fresh한 세포를 이용한 연구가 가능하지만, 실제 임상에서는 Frozen clinical 샘플이 많다. 따라서 냉장 보관한 샘플들을 비교 분석한 연구 결과도 눈에 흥미로웠다. 표 3에서는 단일 세포 수준에서의 연구는 방법론(12개)을 정리해 보았다. 이처럼 많은 새로운 방법론 연구가 진행되는 이유는, 단일 세포 수준에서의 데이터를 어떻게 다루고, 처리하며 생물학적인 결론을 도출할 것인가에 대한 새로운 시도가 많았기 때문이다. 통계학자와 컴퓨터 공학자들과의 협력을 통한 연구 결과는 더욱 더 학제 간의 교류 협력이 중요해지고 있다는 것을 반증한다.

표 1. 연구논문 (2018-2020).

논문 제목	요약	저널/ 분류
cell atlas of human thymic development defines T-cell repertoire formation	Thymus (흉선) 에서 생성되는 T-cell을 세부적으로 분류함. 생성기, 소년기, 어른에 이르는 다양한 샘플을 이용하였음.	Science 2020 연구논문PMID: 32079746 [1]
Cells and gene expression programs in the adult human heart	건강한 어른의 6가지의 심장 부분을 단일 세포 기술로 분석함(left and right atria and ventricles, apex and interventricular septum).	bioRxiv 연구논문
Construction of a human cell landscape at single-cell level	Single-cell landscape 분석 방법론을 이용하여 여러 가지 인간과 실험용 쥐의 세포를 비교 분석함. 그 결과, 줄기세포(Stem Cells)는 스토케스틱(Stochastic)한 분포를 보이는 반면, 분화된 세포는 구별된(Distinct) 모습을 보임.	Nature 2020 연구논문PMID: 32214235 [2]

Re-evaluation of human BDCA-2+ DC during acute sterile skin inflammation	acute sterile skin inflammation에서 발생하는 Plasmacytoid dendritic cells (pDCs)세포에서의 전사체를 분석하였으며 BDCA-2, CD123세포의 종류들이 pDCs와 유사함을 보임.	Journal of Experimental Medicine 2020 연구논문PMID: 31845972 [3]
Single cell profiling of immature human postnatal thymocytes resolves the complexity of intra-thymic lineage differentiation and thymus seeding precursors	CITEseq 기법을 이용하여 골수세포에서 발생하는 T-cell의 초기 분화 세포들을 자세하게 연구함. 70.000 CD34+ thymocytes 세포들을 이용하여 T-cell의 분화를 살펴보고 분화를 돕는 Transcription Factor를 연구함.	bioRxiv 연구논문
Spatial and single-cell transcriptional landscape of human cerebellar development	뇌의 한 부분인 Cerebellum (소뇌)에 관한 단일세포 전사체 지도를 완성하였고 이를 통해 뇌세포 손상에 의한 질병의 발병 기작의 토대를 마련함.	bioRxiv 연구논문
A single-cell atlas of the human healthy airways	Human airway epithelium에 관련한 단일 세포 분석을 통해 세부 세포들의 분포를 정리함 10명의 참가자를 통해 77,969개의 세포를 분석함.	bioRxiv 연구논문
A single-cell and single-nucleus RNA-Seq toolbox for fresh and frozen human tumors	40개의 샘플을 통해서 216,490개의 세포를 메타분석하였으며, 이를 바탕으로 클리닉에서 나온 종양세포를 단일 세포 수준에서 분석함. 또한 냉동보관한 샘플과 그렇지 않은 샘플을 동시에 처리하여 정리함.	Nature Medicine 연구논문PMID: 32405060 [4]
Distinct microbial and immune niches of the human colon	결장(colon)에서의 마이크로 마이옴과 단일 세포 유전체 분석을 통해서 면역세포 T-cell 의 발현과 분화 기작을 정리하였음.	Nature Immunology 2020 연구논문PMID: 32066951 [5]
Single nucleus and in situ RNA sequencing reveals cell topographies in the human pancreas	Pancreas(최장)를 이용하여 12만 개의 단일 세포를 분석함. single-nucleus 전사체 분석 방법을 이용해서 최적의 결과를 도출함.	bioRxiv 연구논문
Systematic Comparison of High-throughput Single-Cell and Single-Nucleus Transcriptomes during Cardiomyocyte Differentiation	Human induced pluripotent stem cells (iPSCs) 이 cardiomyocyte로 분화되는 과정을 단일 세포 분석 방법을 이용하여 연구함. Drop-seq, DroNc-seq두가지 다른 전사체 실험방법을 이용하여 6개의 동일한 세포 클러스터링을 도출함.	Scientific Reports 2020 연구논문PMID: 32001747 [6]
A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma	천식 환자에서 폐 세포를 이용하여 단일 유전체 분석을 함. Type2 helper T-cell (TH2) 가 병원성에 관여함을 발견하였고 Type-2 사이토카인이 세포의 상태. 변화에 관여함으로 보임.	Nature Medicine 2019 연구논문PMID: 31209336. [7]
The enteric nervous system of the human and mouse colon at a single-cell resolution	RASIN RNA-seq 방법을 통해서 ribosome-bound mRNA를 찾아내는 기술을 만들어 쥐와 사람의 신경 시스템에 적용함.	bioRxiv 연구논문

<p>A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors</p>	<p>건강한 사람에서 간세포를 단일 세포에서 연구하였고 이와 비교해서 간암에 있어서 어떠한 차이가 있는지 연구함. 기존에 알려지지 않은 subtypes of endothelial cells, Kupffer cells, and hepatocytes등을 발견함. TROP2int progenitor 세포 등은 오가노이드 연구에 활용될 것으로 기대함.</p>	<p>Nature 2019 연구논문PMID: 31292543 [8]</p>
<p>A single cell transcriptome atlas of the adult human retina</p>	<p>Retina에서 발생하는 건강한 사람의 단일 세포 전사체 분석함. 18개의 구별된 세포 그룹으로 나누어 세부적인 연구가 가능함.</p>	<p>The EMBO Journal 2019 연구논문PMID: 31436334 [9]</p>
<p>Decoding human fetal liver haematopoiesis</p>	<p>Fetal liver에서 발생하는 조혈세포의 분화를 단일세포 수준에서 연구함.</p>	<p>Nature 2019 연구논문PMID: 31597962 [10]</p>
<p>Resolving the fibrotic niche of human liver cirrhosis at single-cell level</p>	<p>간경변증(Liver cirrhosis)를 100,000개의 세포를 단일 세포 전사체로 분석함 TREM2+CD9+ 발현하는 Macrophage등을 통해서 질병 발생시 TNFRSF12A, PDGFR, NOTCH시그널을 발견함.</p>	<p>Nature 2019 연구논문PMID: 31597160 [10]</p>
<p>single cell transcriptome atlas of immune cells in human small intestine and in celiac disease</p>	<p>자가 면역 질환의 일종인 celiac Disease (소아지방병증)에 대한 단일 세포 분석을 하였고 그 결과 면역세포의 분포가 질병상태에서 많은 변화를 보임. CD3zeta expressing NK-T-cell이 소아지방병증에는 매우 적게 발현함.</p>	<p>bioRxiv 연구논문</p>
<p>Single-Cell Transcriptomic Analysis of Human Lung Provides Insights into the Pathobiology of Pulmonary Fibrosis</p>	<p>Human lung pulmonary fibrosis를 분석하기 위해서 단일 세포 전사체 기법을 사용함 Fibrosis 샘플에서 Alveolar Macrophage세포를 구분하였음 발병 중에 Airway stem cell, Senescent cell 등이 발생함을 단일세포에서 발견.</p>	<p>American journal of respiratory and critical care medicine 2019 연구논문PMID: 30554520 [11]</p>
<p>Intra- and Inter-cellular Rewiring of the Human Colon during Ulcerative Colitis</p>	<p>18명의 Ulcerative Colitis 환자와 12명의 건강한 참가자를 대상으로 366,650개의 세포를 분석함 이를 바탕으로 GWAS와 비교 분석하여 유전적으로 위험도가 있는 부분을 찾음.</p>	<p>Cell 2019 연구논문PMID: 31348891 [12]</p>
<p>Single cell dissection of plasma cell heterogeneity in symptomatic and asymptomatic myeloma.</p>	<p>40명의 참가자를 이용하여 myeloma (골수종)의 단일세포 전사체 분석을 함. 사람마다 전사체 종류가 달라서 초기 암 검진에 개인화된 접근이 필요함을 밝힘.</p>	<p>Nature medicine 2018 연구논문PMID: 30523328 [13]</p>
<p>Single cell RNA sequencing of human liver reveals distinct intrahepatic macrophage populations.</p>	<p>단일세포 분석기술을 이용하여 20가지 종류의 간에서의 세부 세포의 종류와 면역세포를 분류함.</p>	<p>Nature medicine 2018 연구논문PMID: 30348985 [14]</p>

Molecular Architecture of the Mouse Nervous System	실험용 쥐를 이용한 전사체의 통합적 분석. 7가지 분별이 되는 astrocyte (성상세포)의 정리.	Cell 2018 연구논문PMID: 30096314 [15]
Conserved cell types with divergent features between human and mouse cortex	Single-nucleus 전사체 분석 방법을 이용해서 middle temporal gyrus of human cortex (대뇌피질) 분석함. 또한 실험용 쥐와 비교하여 유사점/차이점을 정리함.	bioRxiv 2018 Nature 2019 연구논문PMID: 31435019 [16]
Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans	태반과 산모의 혈액을 이용하여 임신중에 발생하는 면역반응에 대한 단일 세포에서의 발현을 살펴보았음.	Nature 2018 연구논문PMID: 30429548 [17]

2018-2020년 사이에 발표된 논문들을 살펴보면 그 적용 범위가 매우 다양하다. 방법론적으로 질병의 예측, 진단, 진전 양상 등의 연구가 가능하고, 타겟이 되는 세포의 종류로 혈액, 뇌, 심장, 간, 최장, 폐, 피부, 근육 등 다양한 부분의 연구가 진행되었다. 분화된 세포와 줄기세포(조혈세포, 근육모세포) 수준에서의 연구도 함께 진행 중이다. 또한 실험용 동물과 인간 환자의 세포를 통한 비교 연구는 생물학적인 기작 및 병의 진전을 설명하는 데 도움을 주었다. 특히 인간의 몸에 존재하는 면역반응에 관한 연구는 다양한 면역세포를 단일 세포 단위로 분석함으로써 정확도를 높힐 수 있다. 임신 중 면역반응, 간과 폐에 존재하는 면역세포(Macrophage)에 연구 등은 조직과 면역세포와의 밀접한 연관 관계를 정리해 주었다. 기존의 벌크 전사체(Bulk RNA-seq)로는 이러한 분리 분석이 불가능하다. 뇌 세포에 관한 연구는 내뇌 피질, 성상세포 등의 세포 발견 정도를 자세히 살펴볼 수 있도록 도와주었다. 흥미로운 점은 단일 세포 데이터와 다른 멀티오믹스(마이크로바이옴, 후생유전체, GWAS)와의 통합 분석을 통한 연구도 이미 활발히 진행되고 있었다.

표 2. COVID-19 관련 연구발표(2020).

논문 제목	요약	저널/ 분류
Integrated analyses of single-cell atlases reveal age, gender, and smoking status associations with cell type-specific expression of mediators of SARS-CoV-2 viral entry and highlights inflammatory programs in putative target cells	코로나 바이러스에 연관성을 가지는 유전자들(ACE2, TMPRSS2, CTSL)를 대규모의 전사체와 단일 세포 전사체를 가지고 분석을 함. 특별히 22개의 폐 관련 샘플과 16개의 airways (nasal) 샘플을 이용하여 세포들의 손상 정도를 확인하였다. 아이들의 경우 ACE2발현정도가 어른에 비해 작았다.	bioRxiv 연구논문
Myocyte Specific Upregulation of ACE2 in Cardiovascular Disease: Implications for SARS-CoV-2 mediated myocarditis	근육세포에 존재하는 ACE2유전자 분석을 통해 Covid-19 감염에 있어서 발현 정도를 단일 세포 수준에서 정리함.	medRxiv 연구논문

SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells	COVID-19를 겪은 16명의 참가자로부터 폐 세포에 존재하는 ACE2, TMPRSS2세포의 발현 정도를 정리함. RHO GTPase와의 관련성을 보고함으로 Covid 환자의 감염의 취약성을 분석함.	The EMBO Journal 2020 연구논문PMID: 32246845 [18]
SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes	COVID-19환자로부터 폐세포와 nasal epithelial 세포를 분석하여 정리함(www.COVID-19cellatlas.org).	Nature Medicine 2020 연구논문PMID: 32327758 [19]
SARS-CoV-2 Receptor ACE2 is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Enriched in Specific Cell Subsets Across Tissues	인간과 모델 동물들의 단일 세포 메타분석을 통해 SARS-CoV-2의 타겟이 될만한 부분을 연구함. 사람 세포에서는 Interferon, influenza가 ACE2 발현을 증가시킴. 반면에 동물실험은 같은 결과를 보여주지 않음.	Cell 2020 연구논문PMID: 32413319 [20]
Single-cell atlas of a non-human primate reveals new pathogenic mechanisms of COVID-19	Non-human primate모델을 이용하여 COVID-19에 관한 단일세포, 면역세포에 관한 세부 분석을 함.	bioRxiv 연구논문

COVID-19와 관련되어서 컨소시엄에서는 6가지의 연구 결과를 발표하였다. 실제 COVID 환자의 데이터부터 모델 동물을 통한 연구 결과까지 다양한 내용을 포함한다. 3가지의 연구들은 이미 출판이 완료되었으며 3개의 연구 결과는 리뷰가 진행되는 것으로 보인다. 대부분의 연구 결과들은 폐 세포의 단일 세포 분석을 주로 이루었으나, 바이러스의 통로가 되는 Nasal 세포에 관한 연구와 근육세포에 관한 추가적인 연구도 진행되었다.

표 3. 방법론 및 리뷰 2018-2020.

논문 제목	요약	저널/ 분류
Besca, a single-cell transcriptomics analysis toolkit to accelerate translational research	단일 세포 전사체 분석 방법을 위한 머신러닝 방법론을 개발하였음(Besca).	bioRxiv 방법론
Sampling artifacts in single-cell genomics cohort studies	단일세포 전사체(scRNA-seq) 및 오픈 크로마틴(ATAC-seq) 분석에 있어서 샘플 간의 차이점으로 재현성의 문제가 있으므로 보고하고 이를 극복할 실험적/분석적 방법을 소개함.	bioRxiv 방법론

scConsensus: combining supervised and unsupervised clustering for cell type identification in single-cell RNA sequencing data	scConsensus 분석 방법을 통해서 Supervised, unsupervised 클러스터링을 통합 분석하는 방법을 개발. 혈액 세포를 통해서 분석툴의 유용성을 검증함.	bioRxiv 방법론 Nature communications 2020 방법론PMID: 32788667 [21]
Benchmarking single-cell RNA-sequencing protocols for cell atlas project	HCA 및 생물정보학 커뮤니티에서 개발된 여러 가지 분석 방법을 비교하였다.	Nature Biotechnology 2020 방법론 PMID: 32518403 [22]
Toward a Common Coordinate Framework for the Human Body	단일 세포의 분석방법 동향에 대한 리뷰.	Cell 2019 리뷰PMID: 31835027 [23]
Deep generative model embedding of single-cell RNA-Seq profiles on hyperspheres and hyperbolic spaces	'scSphere'라는 분석 기법을 동원하여 단일 세포 분석에 있어서 배치효과(batch effect)을 고려하고, 세포의 분화작용등을 예측하는 분석 방법론 개발.	bioRxiv 방법론
Gene set inference from single-cell sequencing data using a hybrid of matrix factorization and variational auto-encoders	머신러닝 기법을 이용하여 발현된 유전자 세트, 실험적인 배치효과, 안정적인 유전자 확인 등을 향상시키는 방법론 도출.	bioRxiv 방법론
Lung, spleen and oesophagus tissue remains stable for scRNAseq in cold preservation	냉장보관한 세포와 그 기한에 따른 단일 세포 전사체의 변화를 살펴봄 5 명의 지원자로 부터 받은 Lung, spleen and oesophagus tissue 을 이용하여 24 시간 혹은 72 시간 냉동보관 후 비교.	bioRxiv 실험방법론
Segmentation-free inference of cell types from in situ transcriptomics data	SSAM (Spot-based Spatial cell-type Analysis by Multidimensional mRNA density estimation)방법을 통해서 <i>in situ</i> transcriptome 데이터 분석함.	bioRxiv 방법론
Systematic comparative analysis of single cell RNA-sequencing methods	단일 세포 분석에 이용되는 7 가지의 분석방법을 비교분석하여 정리함.	Nature Biotechnolgy 2020 방법론 [24]
Characterization of cell fate probabilities in single-cell data with Palantir	'Palantir'라는 방법을 이용해서 뼈의 골수 세포에서 발생하는 전사체를 분석함. 조혈세포 분화의 과정을 정리해주며 다른 세포형태에도 적용할 수 있음을 밝힘.	bioRxiv 2018 Nature Biotechnology 2019, 방법론 PMID: 30899105 [25]
Nuclei multiplexing with bar-coded antibodies for single-nucleus genomics	'DemuxEM'이라는 분석 방법을 이용하여 single-nucleus RNA-seq 이용하여 대량의 샘플을 바코드를 이용하여, 체계적으로 분석할 수 있는 방법을 개발함.	Nature Communications 2019 방법론 PMID: 31266958 [26]

3. 결론

최근 3년 동안 HCA 컨소시엄에서 출판된 결과물을 통해서 인체 조직의 여러 부분에 단일 세포 수준의 전사체의 도입이 기존에 해결하지 못한 세포의 이질성과 다양성의 문제들을 많이 다루었음을 볼 수 있었다. 각각의 워킹그룹으로 나뉘어서 각자의 세포에 최적화된 실험 방법과 분석을 하였으며, 이러한 여러 가지의 시도가 매우 우수한 양질의 논문으로 출간되었다.

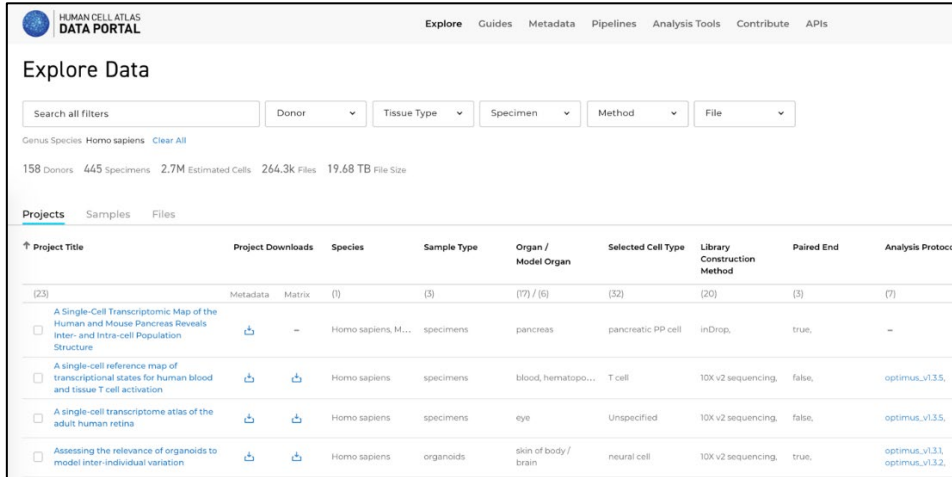


그림 3. Single Cell Atlas Portal web-site (<https://data.humancellatlas.org/>).

1단계 연구의 결과물들은 대부분 오픈되어 있으며 여러 가지 데이터를 통합적으로 볼 수 있는 웹 포털 사이트도 개발되었다 (그림 3) 데이터 포털사이트에서는 19 테라 바이트가 넘는 시퀀싱 데이터가 공개되어있으며 이를 연구자들이 다운받아서 여러 가지 메타 분석이 가능하도록 되어있다. 또한 브로드 연구소에서는 추가적으로 단일 세포 관련 데이터를 방대한 양을 정리해서 사용할 수 있도록 인터넷 기반 툴을 만들었다. EBI 연구소에서도 출간된 연구 결과를 바탕으로 인터넷 기반 단일 세포 분석 툴을 만들어 공개하고 있다 (14종, 172연구 결과, 3,523,470세포).

Box 2. 인터넷 기반 단일 세포 데이터 포털사이트

- HCA Portal Site: <https://data.humancellatlas.org/>
- 하버드/MIT 브로드 연구소: https://singlecell.broadinstitute.org/single_cell
- 유럽연합 생물정보 연구소: <https://www.ebi.ac.uk/gxa/sc/home>

이러한 단일 세포 수준에서의 분석으로 인해서 세포수준에서의 정확한 전사체의 발현 정도를 측정할 수 있게 되었다. 컨소시엄에서는 학제 간의 연구를 통해서 단일 세포 분석을 위한

기존의 방법과는 차별되는 새로운 방법론들을 소개하였다. 기존에 발표된 기술들과 함께 새로운 분석 방법론과의 비교 논문은 매우 유용하다. 또한, 실험적인 부분과 분석방법론에서도 많은 부분의 진전이 있었다. 실험적은 부분에 있어서는 냉장보관을 한 샘플을 이용한 단일 세포 전사체의 분석비교 등 머신러닝을 이용하여 배치효과(Batch Effects)를 줄이고 더 정확한 분석을 하는 작업 등이 포함된다.

단일 세포 분석을 통해서 이전에는 발견하지 못한 여러 가지 세포 내에 상주하면서 작용하는 면역세포들의 변화를 볼 수 있었다. 예를 들어, 폐에 존재하는 Macrophage에 관한 연구로 인해서 Fibroblast 병의 진전과정을 정리한 연구 결과 등이 흥미롭다. 단일세포 분석은 병의 진단, 병의 진전 과정, 병의 치료를 위한 약물개발등에 다양하게 사용될 것으로 보인다. 비교적 분석이 용이한 혈액세포부터 연구가 힘든 뇌 세포까지 분석이 가능하다. 단일 세포 분석을 통해서 건강한 상태에서의 인간 세포, 실험용 동물 세포, 오가노이드 그리고 실제로 질병이 발생하고 있는 세포의 변화까지 비교분석하면서 앞으로 많은 연구방향에 큰 변화를 줄 것으로 예상된다. 이처럼 인간의 모든 세포를 연구해 보고자 하는 도전에서 시작된 HCA (Human Cell Atlas) 프로젝트는 계속 진행될 예정이다. 이를 위해서 매달 원격으로 모임을 진행하며 교류 협력이 한창이다. 최근에는 COVID-19에 관련된 연구들이 단일 세포수준에서의 병의 진전 양상을 밝히는데 초점을 두고 있다. 이러한 시도는 바이러스에 인한 여러 부분의 신체의 손상과 치료법을 개발하는데 매우 도움이 될 것으로 생각된다. HCA 컨소시엄을 기반으로 단일 세포 수준에서 세포의 이질성을 다루는 이러한 연구 결과는 기초 생물학과 의학에 있어서 다음 10년을 준비하는 새로운 패러다임으로 작용할 것으로 보인다.

4. 참고문헌

- [1] Park, J.E., et al., A cell atlas of human thymic development defines T cell repertoire formation. *Science*, 2020. 367(6480).
- [2] Han, X., et al., Construction of a human cell landscape at single-cell level. *Nature*, 2020. 581(7808): p. 303-309.
- [3] Chen, Y.L., et al., Re-evaluation of human BDCA-2+ DC during acute sterile skin inflammation. *J Exp Med*, 2020. 217(3).
- [4] Slyper, M., et al., A single-cell and single-nucleus RNA-Seq toolbox for fresh and frozen human tumors. *Nat Med*, 2020. 26(5): p. 792-802.
- [5] James, K.R., et al., Distinct microbial and immune niches of the human colon. *Nat Immunol*, 2020. 21(3): p. 343-353.
- [6] Selewa, A., et al., Systematic Comparison of High-throughput Single-Cell and Single-Nucleus Transcriptomes during Cardiomyocyte Differentiation. *Sci Rep*, 2020. 10(1): p. 1535.
- [7] Vieira Braga, F.A., et al., A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma. *Nat Med*, 2019. 25(7): p. 1153-1163.

- [8] Aizarani, N., et al., A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors. *Nature*, 2019. 572(7768): p. 199-204.
- [9] Lukowski, S.W., et al., A single-cell transcriptome atlas of the adult human retina. *EMBO J*, 2019. 38(18): p. e100811.
- [10] Popescu, D.M., et al., Decoding human fetal liver haematopoiesis. *Nature*, 2019. 574(7778): p. 365-371.
- [11] Reyfman, P.A., et al., Single-Cell Transcriptomic Analysis of Human Lung Provides Insights into the Pathobiology of Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019. 199(12): p. 1517-1536.
- [12] Smillie, C.S., et al., Intra- and Inter-cellular Rewiring of the Human Colon during Ulcerative Colitis. *Cell*, 2019. 178(3): p. 714-730 e22.
- [13] Ledergor, G., et al., Single cell dissection of plasma cell heterogeneity in symptomatic and asymptomatic myeloma. *Nat Med*, 2018. 24(12): p. 1867-1876.
- [14] MacParland, S.A., et al., Single cell RNA sequencing of human liver reveals distinct intrahepatic macrophage populations. *Nat Commun*, 2018. 9(1): p. 4383.
- [15] Zeisel, A., et al., Molecular Architecture of the Mouse Nervous System. *Cell*, 2018. 174(4): p. 999-1014 e22.
- [16] Hodge, R.D., et al., Conserved cell types with divergent features in human versus mouse cortex. *Nature*, 2019. 573(7772): p. 61-68.
- [17] Vento-Tormo, R., et al., Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. *Nature*, 2018. 563(7731): p. 347-353.
- [18] Lukassen, S., et al., SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO J*, 2020. 39(10): p. e105114.
- [19] Sungnak, W., et al., SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med*, 2020. 26(5): p. 681-687.
- [20] Ziegler, C.G.K., et al., SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*, 2020. 181(5): p. 1016-1035 e19.
- [21] Lebrigand, K., et al., High throughput error corrected Nanopore single cell transcriptome sequencing. *Nat Commun*, 2020. 11(1): p. 4025.
- [22] Mereu, E., et al., Benchmarking single-cell RNA-sequencing protocols for cell atlas projects. *Nat Biotechnol*, 2020. 38(6): p. 747-755.
- [23] Rood, J.E., et al., Toward a Common Coordinate Framework for the Human Body. *Cell*, 2019. 179(7): p. 1455-1467.
- [24] Ding, J., et al., Systematic comparison of single-cell and single-nucleus RNA-sequencing methods. *Nat Biotechnol*, 2020. 38(6): p. 737-746.
- [25] Setty, M., et al., Characterization of cell fate probabilities in single-cell data with Palantir. *Nat Biotechnol*, 2019. 37(4): p. 451-460.
- [26] Gaublotte, J.T., et al., Nuclei multiplexing with barcoded antibodies for single-nucleus genomics. *Nat Commun*, 2019. 10(1): p. 2907.



저자 박봉수 (미국국립보건원, 노화연구소)

Ph.D in Bioinformatics and Genomics at Penn State University
Research Associate at Johns Hopkins School of Public Health
Bioinformatics Scientist at National Institute on Aging

약력 펜실베니아 대학교 박사과정 (2008-2013)
펜실베니아 대학교 박사후 연구원 (2013-2017)
존스홉킨스 보건대학교 연구원 (2017-2019)
미국 국립 보건원 노화 연구소 (2019-2020)

주 연구 분야 (1) 조혈줄기세포
(2) 노화
(3) 생물정보학
(4) 유전체학
(5) 후생유전체학

The views and opinions expressed by its writers do not necessarily reflect those of the Biological Research Information Center.

박봉수(2020). Human Cell Atlas (HCA) 프로젝트의 연구동향. BRIC View 2020-T39
Available from <https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=report&id=3632> (Nov. 03, 2020)

Email: member@ibric.org