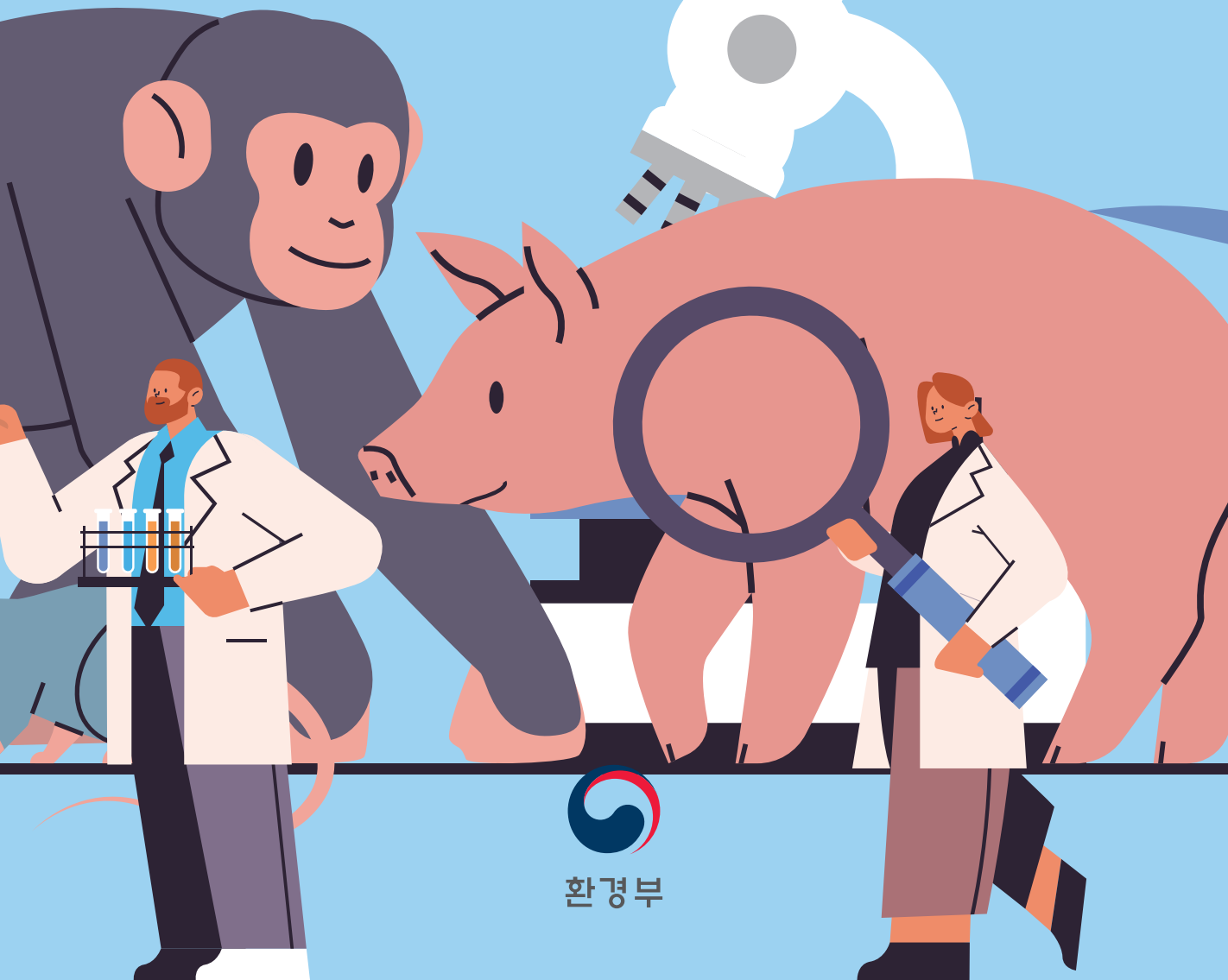


동물대체시험법의 적용

지은이 김광만 김배환 김상화 김 진 김창열 나이랑 동미숙
박대의 박상희 박창언 석승혁 신계호 안 나 안수선
이수현 이지민 이진수 정미숙



본 교재(강의자료)는 환경부 「2023년 화학물질 안전관리
특성화대학원 사업」의 지원을 받아 제작되었습니다.

동물대체시험법의 적용

집행부 : 석승혁 (서울대학교 의과대학)

나이랑 (서울대병원)

이지민 (서울대학교)

김상화 (강원대학교)

안나 (경희대학교)

펴낸날 : 2024년 11월 11일

지은이 : 김광만 김배환 김상화 김진 김창열 나이랑 동미숙 박대의 박상희

박창언 석승혁 신계호 안나 안수선 이수현 이지민 이진수 정미숙

발행처 : 환경부

편집 & 인쇄처 : (주)라이프사이언스

서울시 광진구 뚝섬로35길 9(자양동, 한라상가 A동 303호)

ISBN: 979-11-977774-7-9 03510

[비매품]

주요 차례

1	비시험자료-구조 활성관계 예측 프로그램(QSAR)	0
2	비시험자료-상관성 방식(Read-across)	20
3	급성경구독성	60
4	피부자극부식성	104
5	피부광독성	138
6-1	피부 과민성 1 펩티드결합성시험	170
6-2	피부 과민성 2 생체외 피부 과민성시험(ARE-Nrf2 루시퍼라제시험)	196
7-1	피부 과민성 3 생체외 피부 과민성시험(인체세포주활성화시험, h-CLAT)	220
7-2	피부 과민성 4 피부 과민성시험(국소림프결시험, LLNA: BrdU-ELISA)	270
8	급성흡입독성	310
9	눈 자극성/부식성	338
10	유전독성	366
11	생식 및 발달독성	390
12	동물대체시험법의 적용-화학물질 유해성 평가	422
13	동물대체시험법의 적용-화장품 안전성 평가	444
	찾아보기(국문 · 영문)	461

차례

1	비시험자료—구조 활성관계 예측 프로그램(QSAR)	0
01	들어가기	0
02	본론	2
	I. OECD QSAR Toolbox 설치 개요 및 컴퓨터 요구사항	2
	OECD QSAR Toolbox 설치 개요 및 컴퓨터 요구사항	2
	II. QSAR Toolbox 설치 방법	2
	III. QSAR Toolbox 사용법	10
	1. 화학물질 정보 입력(Input) - “Target chemical” 정의	11
	2. 프로파일링(Profiling)	13
	3. 데이터(Data)	15
	4. 결과 리포트(Report)	16
	5. QSAR Toolbox에서 제공하는 Build QSAR 모델 매뉴얼	17
03	마무리	18
	요약	18
	연습문제	18
	정답 및 해설	19
	참고문헌	19
2	비시험자료—상관성 방식(Read-across)	20
01	들어가기	20
02	본론	22
	I. 상관성 방식(Read-across)의 개념	22
	1. 상관성 방식(Read-across)의 정의	22
	2. 상관성 방식(Read-across)의 배경	22
	II. 상관성 방식(Read-across)의 활용	23
	1. 데이터 갭 메우기	23
	2. 상관성 방식(Read-across)	29

III. 상관성 방식(Read-across)의 절차	34
1. 아날로그 접근법을 이용한 상관성 방식의 단계적 접근 방식	34
2. 카테고리 형성에 대한 단계적 접근 방식	39
IV. 상관성 방식(Read-across) 보고 형식	48
1. 아날로그 접근법에 대한 보고 형식	48
2. 카테고리 접근법에 대한 보고 형식	51
03 마무리	56
요약	56
연습문제	56
정답 및 해설	57
참고문헌	58
3 급성경구독성	60
01 들어가기	60
02 본론	62
I. TG 420: 급성경구독성시험(고정용량법)	62
1. 개요	62
2. 시험	65
3. 시험결과 및 보고	70
4. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체시험법과의 비교	72
5. 시험법 주요 Trouble shooting	73
II. TG 423: 급성경구독성시험(독성등급법)	73
1. 개요	73
2. 시험	75
3. 시험결과 및 보고	80
4. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체시험법과의 비교	82
5. 시험법 주요 Trouble shooting	82
III. TG 425: 급성경구독성시험(용량고저법)	83
1. 개요	83
2. 시험	85
3. 시험결과 및 보고	93
4. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체시험법과의 비교	97
5. 시험법 주요 Trouble shooting	98

03	마무리	99
	요약	99
	연습문제	100
	정답 및 해설	102
	참고문헌	102
4	피부자극부식성	104
01	들어가기	104
02	본론	106
	I. 피부자극부식	106
	1. 피부의 해부생리조직학적 특징	106
	2. 피부자극부식의 발생기전, 독성발현경로	107
	3. 피부자극부식성 확인의 필요성	110
	II. 시험관내 피부부식성시험(인체피부모델시험)	110
	1. 개요	110
	2. 시험	111
	3. 시험결과 및 보고	116
	III. 시험관내 피부자극성시험(인체피부모델시험)	120
	1. 개요	120
	2. 시험	120
	3. 시험결과 및 보고	126
	IV. 시험관내 피부자극성시험(인체피부모델시험)	128
	1. 개요	128
	2. 시험	128
	3. 시험결과 및 보고	133
03	마무리	135
	요약	135
	연습문제	135
	정답 및 해설	136
	참고문헌	137

5	피부광독성	138
	01 들어가기	138
	02 본론	140
	I. 개요	140
	1. 피부의 해부생리조직학적 특징과 자외선	140
	2. 피부광독성의 발생기전, AOP	141
	3. 피부광독성 확인의 필요성	143
	4. 시험 개요	144
	II. 시험	146
	1. 생체외 3T3 NRU 광독성시험(OECD TG 432)	146
	2. 생체외 인체피부모델(RhE) 광독성시험(OECD TG 498)	151
	3. 시험결과 및 보고	155
	III. 그 외 다른 광독성 동물대체시험법	162
	1. AOP와 시험법	162
	2. 제도 적용 시, 다른 평가 항목과의 연계	163
	3. 기관에서 시험법 도입 시 고려해야 할 사항	164
	4. 기존 동물실험 시험법과의 비교동등성, 우월성, 비열등성 확인	164
	IV. 시험법 주요 Trouble shooting	164
	03 마무리	166
	요약	166
	연습문제	167
	정답 및 해설	168
	참고문헌	168
6-1	피부 과민성 1 펩티드결합성시험	170
	01 들어가기	170
	02 본론	172
	I. 개요	172
	1. 피부 과민성의 이해 및 발생기전(AOP)	172
	2. 피부 과민성 확인의 필요성—독성학적, 제도적 측면	174

II. 시험	175
1. 시험방법	175
2. 시험결과 및 보고	180
III. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체시험법과의 비교	182
1. 아미노산유도체 결합성시험(ADRA)	182
2. 동력학적 펩티드 결합성시험(KDPRA)	187
03 마무리	192
요약	192
연습문제	192
정답 및 해설	193
참고문헌	193
6-2 피부 과민성 2 생체외 피부 과민성시험(ARE-Nrf2 루시퍼라제시험)	196
01 들어가기	196
02 본론	199
I. 개요	199
1. 피부 과민성의 이해 및 발생기전(AOP)	199
2. 피부 과민성 확인의 필요성-독성학적, 제도적 측면	199
II. 시험	201
1. 시험방법	201
2. 시험결과 및 보고	206
III. 유사 대체시험법, LuSens 시험	210
목적	210
03 마무리	216
요약	216
연습문제	217
정답 및 해설	217
참고문헌	218

7-1 피부 과민성 3 생체외 피부 과민성시험(인체세포주활성화시험, h-CLAT)	220
01 들어가기	220
02 본론	222
I. 피부 과민성 통합독성평가	222
1. 피부 과민성 통합독성평가 전략(Defined Approaches Skin Sensitization)	222
2. OECD TG Guideline No. 497	224
II. 개요	230
시험목적과 특징	230
III. 국내 인증현황 및 고시	230
1. 국내 인증현황	230
2. 시험법 현황	231
3. 시험용어 정의	232
IV. 시험소개	233
1. 시험원리	233
2. 시험목적	233
3. 시험준비	233
4. 시험방법	235
V. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체시험법과 비교	253
1. 대체시험법	253
2. AOP 적용 시 다른 평가 항목과 연계	254
VI. 기관에서 시험법 도입 시 고려해야 할 사항	257
1. 시험구축목적	257
2. 장비구축	257
3. 인력	257
VII. 기존 동물실험 시험법과의 비교동등성, 우월성, 비열등성 확인	258
VIII. Trouble shooting	259
1. 시험물질 표준원액 및 사용용액 조제 시 농도 주의	259
2. CV75 최고농도 설정	260
3. 농도설정시험 시 주의해야 할 점	260

4. 세포반응성시험 결과가 실패하는 경우	260
5. CD86, CD54 측정결과가 상이하게 출력되는 경우	261
6. 반복한 CD86, CD54 측정결과RK 일치하지 않은 경우	261
7. 각 기관별 고시 용어 주의 및 시험방법	261

부록 1. 유세포분석장비 262

03 마무리 267

요약	267
연습문제	267
정답 및 해설	268
참고문헌	269

7-2 피부 과민성 4 피부 과민성시험(국소림프절시험, LLNA: BrdU-ELISA) 270

01 들어가기 270

02 본론 272

I. 피부 과민성 통합독성평가 272

1. 피부 과민성 통합독성평가 전략(Defined Approaches Skin Sensitization)	272
2. OECD TG(Test Guideline) No. 497	274

II. 개요 280

시험목적과 특징	280
----------	-----

III. 국내 인증현황 및 고시 281

1. 국내 인증현황	281
2. 시험법 현황	281
3. 시험용어 정의	282

IV. 시험소개 283

1. 시험원리	283
2. 시험목적	283
3. 시험준비	284
4. 시험방법	286

V. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체시험법과 비교 298

1. 유사 대체시험법	298
2. AOP 적용 시 다른 평가 항목과 연계	300

VI. 기관에서 시험법 도입 시 고려해야 할 사항	302
1. 시험구축목적	302
2. 동물사육실 구축	302
3. 장비구축	302
4. 인력	303
VII. 기존 동물실험 시험법과의 비교동등성, 우월성, 비열등성 확인	303
VIII. Trouble shooting	303
1. 두께 측정 시 측정하는 시험자마다 측정값이 불일치하는 경우	303
2. 피부 반응 점수 측정 시 시험자마다 불일치하는 경우	305
3. ELISA OD 값이 측정되지 않은 경우	305
4. 음성대조군 OD 값이 0.1~0.2 사이에 측정되지 않은 경우	305
5. 각 기관별 고시 용어 주의 및 시험방법	305
03 마무리	306
요약	306
연습문제	306
정답 및 해설	307
참고문헌	307
8 급성흡입독성	310
01 들어가기	310
02 본론	312
I. 호흡기계의 해부생리학적 이해	312
1. 기도(air way)	312
2. 폐(lung)	313
II. 흡입독성의 발생기전	313
1. 호흡기계 노출 유해인자 분류	313
2. 유해인자의 축적기전	314
III. 흡입독성시험의 필요성	315
1. 제도적 측면에서의 필요성	315
2. 흡입독성 발생 피해 사례	316
3. 흡입독성시험의 필요성	316

IV. 급성흡입독성시험의 개요	317
1. 급성흡입독성 독성등급법(OECD TG 436)의 시험목적과 특징	317
2. 급성흡입독성 고정농도법(OECD TG 433)의 시험목적과 특징	317
3. 인증현황	318
4. 용어 정의	319
V. 항목별 시험방법	321
1. 급성흡입독성 독성등급법(OECD TG 436)	321
2. 급성흡입독성 고정농도법(OECD TG 433)	324
VI. 시험결과 및 보고	328
1. 급성흡입독성 독성등급법(OECD TG 436)	328
2. 급성흡입독성 고정농도법	330
VII. 동물실험 및 유사 대체시험법	331
우리나라 흡입독성시험 현황	331
VIII. 흡입독성시험방법에 대한 신뢰성 확보	334
03 마무리	335
요약	335
연습문제	335
정답 및 해설	336
참고문헌	336
9 눈 자극성/부식성	338
01 들어가기	338
02 본론	340
I. 각막의 해부생리학적 이해	340
II. 눈 자극성/부식성의 발생기전	341
III. 눈 자극성/부식성 확인의 필요성	342
1. 독성학적 측면	342
2. 제도적 측면	343

IV. 개요	344
1. 시험목적과 특징	344
2. 인증현황	346
3. 용어 정의	347
V. 시험	347
1. 생체외 눈 자극 및 손상시험(인체각막모델시험)	347
2. 비트리젤(Vitrigel [®])을 이용한 눈 자극성시험	353
VI. 시험결과 및 보고	357
1. 생체외 눈 자극 및 손상시험(인체각막모델시험)	357
2. 비트리젤(Vitrigel [®])을 이용한 눈 자극성시험	359
VII. 눈 자극성/부식성의 동물실험과 동물대체시험법	360
VIII. 시험법의 주요 트러블슈팅	362
03 마무리	363
요약	363
연습문제	363
정답 및 해설	364
참고문헌	364
10 유전독성	366
01 들어가기	366
02 본론	368
I. 유전에 대한 이해	368
1. 핵산(Nucleic acid)	368
2. DNA의 구조	368
3. 염색체	369
II. 유전독성의 발생기전	369
1. DNA의 손상 및 유전자 변이	369
2. 염색체의 손상	370

III. 유전독성 확인의 필요성	370
1. 유전독성의 독성학적인 측면	370
2. 유전독성의 제도적 측면	371
IV. 유전독성시험의 개요	372
1. 유전독성시험의 목적과 특징	372
2. 유전독성시험 국내외 인증 및 규제 현황	373
3. 유전독성시험 용어 정의	375
V. 유전독성시험법	376
1. 박테리아를 이용하는 복귀돌연변이시험	376
2. 포유류 배양세포를 이용하는 염색체 이상시험	378
3. 시험관내 포유류세포 유전자돌연변이시험	380
VI. 유전독성시험결과 및 보고	382
1. 시험결과 평가의 기본원칙	382
2. 박테리아를 이용하는 복귀돌연변이시험결과의 판단 및 보고	382
3. 포유류 배양세포를 이용하는 염색체 이상시험 시험결과의 판단 및 보고	383
4. 생체외 포유류세포 유전자돌연변이시험 결과의 판단 및 보고	383
VII. 유전독성시험의 동물실험 및 유사 대체시험법과 비교	384
1. 유전독성시험의 분류	384
2. 화학물질 등록을 위한 유전독성시험 자료 제출	385
3. 기관에서 유전독성시험법 도입 시 고려해야 할 사항	386
4. 시험관내(<i>in vitro</i>) 유전독성시험과 생체내(<i>in vivo</i>) 유전독성시험의 비교	386
03 마무리	387
요약	387
연습문제	387
정답 및 해설	388
참고문헌	389
11 생식 및 발달독성	390
01 들어가기	390
02 본론	392
I. 생식·발달독성 및 내분비계 장애물질에 대한 이해	392
1. 생식·발달독성 및 내분비계 장애	392

2. 생식·발달독성 및 내분비계 장애와 관련성	393
3. 내분비계 장애 발생기전	394
4. 내분비계 장애물질을 측정하기 위한 OECD 대체 실험법 소개	395
II. 생식 및 발달독성의 발생기전 AOP	396
III. 내분비계 장애물질 확인의 필요성	397
1. 독성학적 측면	397
2. 제도적 측면	397
IV. 개요	398
1. 에스트로겐수용체 매개 전사활성시험(OECD TG 455)의 목적과 특징	398
2. 인증현황	399
3. 용어 정의	400
V. 시험	400
1. 원리	400
2. 시험준비(준비물)	402
3. 시험방법	403
VI. 시험결과 및 보고	410
1. 시험결과의 처리	410
2. 시험결과의 보고	413
VII. 동물실험 및 유사 대체시험법, 해당 평가분야 내 다른 대체 시험법과의 비교	415
1. AOP와 시험법	415
2. 제도 적용 시, 다른 평가 항목과의 연계	416
3. 기관에서 시험법 도입 시 고려해야 할 사항	417
4. 기존 동물실험 시험법과의 비교동등성, 우월성, 비열등성 확인	417
VIII. 시험법 주요 Trouble shooting	418
03 마무리	419
요약	419
연습문제	419
정답 및 해설	420
참고문헌	421

12 동물대체시험법의 적용—화학물질 유해성 평가 422

01 들어가기 422

02 본론 424

I. 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 424

- | | |
|---|-----|
| 1. 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」의 내용 | 424 |
| 2. 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 분야의 자료 제출 현황 | 430 |
| 3. 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 분야의 인체 유해성 시험항목 | 432 |

II. 「생활화학제품 및 살생물제의 안전관리에 관한 법률」 435

- | | |
|------------------------------|-----|
| 「생활화학제품 및 살생물제의 안전관리에 관한 법률」 | |
| 분야의 인체 유해성 시험 항목 | 436 |

03 마무리 440

- | | |
|---------|-----|
| 요약 | 440 |
| 연습문제 | 440 |
| 정답 및 해설 | 441 |
| 참고문헌 | 442 |

13 동물대체시험법의 적용—화장품 안전성 평가 444

01 들어가기 444

02 본론 446

I. 세계 주요 국가에서의 화장품 분야 동물대체시험법 적용 446

- | | |
|-----------------------------|-----|
| 1. 유럽연합(European Union, EU) | 446 |
| 2. 미국(USA) | 447 |
| 3. 중국 | 448 |
| 4. 그 밖의 나라들 | 449 |

II. 혁신적 안전성 평가기술(New Approach Methodologies, NAMs) 450

III. 우리나라 「화장품법」 내에서의 동물대체시험법 451

- | | |
|-------------------|-----|
| 1. 「화장품법」 | 451 |
| 2. 「화장품법」 제15조의 2 | 454 |

IV. 화장품 등 동물대체시험법 가이드라인	455
1. OECD 시험 가이드라인(OECD Test Guideline, OECD TG)	455
2. 국내 가이드라인	455
03 마무리	458
요약	458
연습문제	458
정답 및 해설	459
참고문헌	460
찾아보기(국문 · 영문)	461