

---

**EU의 화학물질 위해성평가제도  
국내 적용방안 연구  
(개인과정)**

---

2022. 07. 26.



**환 경 부**

**[엄 익 춘]**

## 국외교육개요

1. 파견국가 : 프랑스

2. 교육기관명 : 파리시떼대학교 (Univerisité Paris Cité)



3. 교육분야 : 환경

4. 교육기간 : 2021.12.29. ~ 2022.06.26.

## 교육기관 소개서

명 칭	파리시떼대학(佛 Université de Paris, 英 University of paris) * 자연과학부 산하 “T3S (environmental toxicity, therapeutic targets, cellular signaling and biomarkers)” 연구소(Unit)	
교육기관 성 격	국립대학 부설 연구소	
소재지	파리 (프랑스)	
홈페이지	<ul style="list-style-type: none"> <li>• WWW.U-paris.fr</li> <li>• WWW.t3s-1124.biomedicale.parisdescarte.fr</li> </ul>	
설립목적	2020년 1월 1일 이전의 단과대학 중심의 파리5대학 데카르트(Descartes), 파리 7대학 디드로(Diderot), 파리 물리연구소(Institut de physique du globe de paris)가 통합하여 종합대학 형태로 발족한 국립고등교육기관	
조 직	5만 8,000명의 학생, 4,500명의 연구원, 30,000명의 행정, 기술직원과 156개 연구소(Unit)로 구성	
주요인사 인적사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 연구소장 : Dr. Robert BAROUKI</li> <li>○ 훈련담당 연구실장 : Dr. karine AUDOUZE*</li> <li>* OECD 분자스크리닝 및 독성유전체학 확대 전문가회의 프랑스 대표</li> </ul>	
교섭창구	Dr. Karine AUDOUZE, Associate Professor	
	전화	33-1-42-86-40-10
	E-mail	karine.audouze@u-paris.fr

## 〈 훈련결과보고서 요약서 〉

성 명	업 익 준	직 급	연구관
소 속	환경부 국립환경과학원 위해성평가연구과		
파견국가	프랑스	교육기간	2021.12.29. ~ 2022.06.26
교육기관	파리대학교	교육구분	단기
교육목적	EU의 화학물질 위해성평가 제도 국내 적용방안 연구	보고서매수	매
내용요약	<p>실험동물보호 원칙·규정 강화추세에 따라 유럽연합 등 글로벌 독성시험의 패러다임이 변하고 있다. 유럽연합(REACH)의 경우 현행 동물실험위주에서 세포, 컴퓨터기술 등 비동물시험을 포함하는 방식으로 점진적 전환입장을 표명하고 있다. 일부 독성종말점의 경우 이미 비동물시험기법을 규제 목적으로 활용하고 있다. 다만, 아직까지 반복독성과 생식발달독성 등 전신독성 평가의 경우 REACH하에서 적지않은 동물실험에 의존하고 있는 실정이다. 금번 훈련을 통해 EU 화학물질관리체계하에서 최신 화학물질 위해성평가기법에 대한 현황을 평가하고, 규제정책 관점에서 비동물시험기법 도입에 따른 한계점 및 시사점, 향후방향 등을 중심으로 국내 적용가능성을 고찰하였다. 아울러, 최근에 유럽연합 화학물질관리체계내에서 활용중인 다양한 비동물위해성평가기법의 전망에 대해서도 리뷰하였다. 우리나라의 경우에도 비동물시험기법 활용에 관한 법제화는 완료되었지만, 아직 EU에 비해 실질적인 활용도가 저조한 실정이다. 우리나라도 EU의 정책사례를 참고하여 비동물평가기법의 개발 촉진과 국내 확산을 위한 정부의 지원과 실행방안 제공 등에 일관성 있는 입장을 견지해 나가야 할 필요가 있다. 본문에서 고찰한 바와 같이 비동물시험평가기법의 경우 규제정책내에 반영하기 곤란한 제한점이 있는 것은 사실이다. 그럼에도 불구하고 EU를 중심으로 세계 각국은 향후 세포주, 오가노이드 등 더욱 많은 새로운 대체시험법 모델 개발 및 평가기술력 확보에 주력할 것으로 전망되기 때문이다.</p>		



# 목 차



국외훈련 개요 .....	2
훈련기관 개요 .....	3
훈련결과 보고서 요약 .....	4
I. 서론 .....	6
II. 유럽연합 비(非) 시험 위해성평가 기법 현황 .....	9
III. EU 화학물질 규제체계내 비동물 위해성평가기법 .....	18
IV. 비동물 위해성평가기법의 한계, 시사점 및 향후전망 .....	37
V. 결론 및 정책제언 .....	53

[붙임 1] 참고문헌

[붙임 2] 비동물시험법 관련 국외기관

# 1. 서론

2021년 9월에 환경부는 동물대체시험법 활성화 실행계획 토론회를 개최하고 ‘화학물질 안전성평가에 있어서 동물대체시험 활성화를 위한 태스크포스’를 구성하고 ‘2030 화학안전과 함께 하는 동물복지 실현 비전’을 발표했다.

동물대체시험은 동물을 사용하지 않는 실험방법 또는 데이터 분석 등을 통한 예측을 하는 접근방법(approach)을 말한다. 인체세포 유래의 시험관 시험(in vitro), 오가노이드, 장기칩(organ-on-a-chip)을 포함한 미세체테조직시스템연구, 독성발현경로(Adverse Outcome Pathway) 연구, 통합접근시험평가(IATA) 등이 동물대체 시험에 해당한다(아래그림 참조).

(출처: 한국 휴메인 소사이어티 인터내셔널)

### 동물실험을 대신하는 대체방법

**A 3D 각막 바이오프린트**

1970년대부터 연구자들은 살아있는 동물 대신 사람의 세포를 이용하여 독성 시험을 시작했습니다. 토끼의 눈에 강제로 화장품 원료를 넣어 동물의 각막이 손상되는 것을 보는 것이 아니라 이제는 연구실에서 배양된 세포로 만든 인체 각막 바이오프린트로 화학물질의 반응을 관찰할 수 있습니다.

**B 3D 프린트 피부 모델**

토끼를 이용하여 화장품 원료를 실험하는 드레이즈 피부 시험법은 사람의 피부에 화학물질을 시험하는 방법으로 바뀌고 있습니다. 배양세포가 사람의 각 피부층에 바이오프린트되는 방식으로, 피부의 민감성이나 알레르기 시험도 기니피그에 화학물질을 주입하는 방법이 아닌 세포를 이용한 시험과 컴퓨터 모델링을 이용하는 방법으로 바뀌고 있습니다.

**C 장기칩 (Organ on a chip)**

실지류로 독성물질을 실험했다면 이제는 비동물 방법의 최신 기술인 사람의 장기를 배양한 작은 실리콘 칩을 이용하여 독성실험을 합니다. 이 장기칩을 이용해 연구자는 간, 폐, 뇌와 같은 개별 장기 또는 여러 장기가 함께 화학물질에 대해 어떻게 반응하는지 볼 수 있습니다.

**D 생체 현상을 지도화하여 독성 경로 규명**

1989-90년에 연구된 사람의 유전체 분석은 연구자가 RNA와 DNA의 분자단계에서 화학물질이 사람에게 어떤 영향을 주는지 보는 것을 가능하게 했습니다. 이렇게 사람 피부에 물질이 닿을 시 경로를 컴퓨터 시뮬레이션 방법으로 구현하여 기존의 토끼실험을 대체합니다.

**개별 장기 칩**

칩 내의 구조가 유희적으로 효력도독 하는 플루이드

자주개만한 크기의 칩 안에는 3차원 배양세포가 유희적인 기능을 하고 있고 개별 장기(원쪽) 또는 여러 장기 시스템(오른쪽)을 모사.

**멀티 장기 칩**

다양한 장기 칩을 하나의 칩에 통합하여 실험 가능

**독성물질 노출** → **분자** → **세포, 조직** → **장기** → **개인** → **집단**

컴퓨터 모델링은 화학물질에 노출 시 피부세포에서 나타나는 반응뿐 아니라 사람의 신체 장기에서 나타나는 반응을 보여줌.

환경부는 2017년과 2019년에 국제적 흐름에 따라 ‘화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률(약칭 화평법)’ 과 ‘생활화학제품 및 살생물제의 안전관리에 관한 법률(약칭 화학제품안전법)’ 개정을 통해 화학물질 위해성평가를 위해서 새로운 과학기술을 이용하여 동물실험을 대신하는 방법의 활용을 지원·확대하고 있다.

동물대체시험은 화학물질, 화장품, 의약품, 농약 등 다양한 분야에서 활용되고 있다. 하지만 현재 유럽연합은 화학물질 유해성 평가에 동물대체시험 자료를 57% 활용하고 있는 반면에, 한국은 12%에 불과한 실정으로 아직 화학물질은 초기 단계에 머무르고 있다.

이에 환경부는 2021.10월에 2030년까지 선진국 수준의 대체시험법 기술력을 확보하고 관련 인프라를 확충해 화학물질 유해성 자료 중 60%를 동물대체시험으로 생산할 수 있도록 하는 것을 목표로 중장기 비전을 발표하였다.

**“동물대체시험 기술, 2030년까지 선진국 수준 확보”**

2021년 9월 환경부는 동물대체시험법 활성화 실행계획 토론회를 온라인으로 개최했다. 환경부는 지난해 초 한정애 장관 취임 이후로 ‘화학안전평가에 있어 동물대체시험법 활성화’ 논의를 위한 태스크포스(TF)를 꾸린 데 이어, 이번 토론회에서 ‘2030 화학안전과 ...

2022-01-21 10:30:25

(출처: 한겨레신문)

(출처: 환경부)

**로드맵 목표 실현을 위한 4대 중점과제와 8개 세부 추진과제**

- ① 국가 주도의 대체시험 인프라 구축
  - 공공 GLP 구축·운영, 획득기술의 민간이전
  - 사용자 접근성을 강화한 한국형 QSAR 및 비실험법 활용지침서 개발·보급
- ② 인적역량 강화
  - 특성화대학원을 통해 신규 전문인력 양성
  - 공공GLP 주관으로 공동훈련센터 운영 및 실무자 교육 실시
- ③ 대체시험법 개발 및 유해성 평가체계 고도화
  - 인공지능을 활용한 대체독성시험법 개발
  - 비시험법 증거력평가 정량지표 개발
- ④ 대체시험법 활용 촉진 및 대내외 협력 강화
  - 정부·민간 합동 OECD 시험가이드라인 등재 추진
  - 동물대체시험법 다부처 공동연구 추진

아울러, 환경부 소속 국립환경과학원(이하 환경과학원)도 비시험(非試驗)자료<sup>1)</sup>를 활용하여 동물시험을 줄이고 효과적으로 화학물질 위해성을 평가할 수 있는 절차를 마련하기 위해 관련 연구사업을 확대할 예정이라고 2022. 4월에 발표하였다.

환경과학원은 2020년부터 화학물질 위해성을 평가할 때 동물시험 자료가 필요한 항목을 대상으로 ‘비시험(非試驗)적 방법<sup>2)</sup>을 활용한 화학물질 위해성평가 연구’ 및 독성자료의 ‘증거력 평가(weight of evidence ; 이하 WoE)<sup>3)</sup>’ 등에 관한 연구사업 등을 추진중에 있다.

한편, 유럽연합(이하 EU) 집행위원회는 ‘European Green Deal’의 일환으로 제로오염목표를 달성하는 핵심전략인 ‘지속가능성을 위한 화학전략’을 2020.10월에 발표하였으며 동 전략을 통해서 안전하고 지속가능한 화학물질을 위한 혁신, 환경·건강 관련 법률 강화, 화학물질에 대한 광범위한 지식기반 등을 추진하고 있다.

특히, 생활화학제품내 위해우려물질 최소화, 물질·재료·제품의 순생애 주기를 고려하는 위해성평가방법 개발을 통한 유해화학물질 제거, 위해우려물질 최소화·대체 등이 동 전략의 핵심사항으로 평가되고 있다.

국내 주요 화학물질 평가제도(약칭 화평법과 화학제품안전법)가 유럽연합의 신(新)화학물질관리제도 REACH<sup>4)</sup>(2007년 시행) 제도를 모델로 제정되어 시행(2015년 화평법 제정 등) 되고 있음을 고려하여 EU의 새로운 화학전략 시행에 따른 후속조치 등 이행방안에 대한 평가가 필요한 실정이다.

금번 직무훈련을 통해 유럽연합의 화학물질 위해성평가에 관한 새로운 접근방법 추진전략(New Approach Methodology)<sup>5)</sup>에 대한 현황, 주요 이슈와 실행 방안 등

- 
- 1) 자료를 수집하는 시점에 추가로 시험을 수행하지 않고 확보가능한 문헌자료(기존에 존재하고 있는 동물시험자료 포함) 와 예측자료.
  - 2) 화학물질을 평가하는 시점에 추가로 동물시험을 하지 않고도 확보할 수 있는 문헌자료와 예측결과 등 비시험자료를 활용한 독성평가법을 의미.
  - 3) 동물대체자료 등 다수의 자료를 활용하여 화학물질을 평가할 때 시험법, 시험수행기관, 노출경로 등을 고려하여 어떤 자료가 증거로서 더 중요한지 결정하는 방법.
  - 4) Registration, Evaluation, Authorisation & Restriction of Chemicals(화학물질의 평가, 허가, 제한). 화학물질의 양과 위해성에 따라 등록, 평가, 허가, 제한하는 EU의 신 화학물질관리제도이다('07.6.1. 시행). EU로 연간 1톤 이상 수출하는 국내 기업은 EU 내 수입자나 등록 대리인을 통해 유럽화학물질청에 해당물질 등록을 의무화.
  - 5) 새로운 접근 방법(NAM)은 동물 실험을 사용하지 않고도 위해성 및 유해성 평가 결정을 할 수 있는 기술과 접근 방식(컴퓨터 모델링, 체외 측정법, 대체 동물 종을 사용한 시험평가법 등)을 총칭하는 용어.



에 대해서 고찰하고 향후 우리나라 화학물질 위해평가 기반 및 역량 강화, 관련 제도 개선과 정책방향 수립에 기여하고자 한다.

## II. 유럽연합 비(非)시험 위해성평가 기법 현황

### 1. 화학물질 등록(REACH) 규정내 동물실험의 의의

유해화학물질로부터 높은 수준의 인간건강 및 환경을 보호하는 것이 EU REACH 규정의 제정 목적이다. REACH는 동물시험을 통한 유해화학물질에 대한 새로운 정보 생산과 불필요한 동물시험 배제 사이의 균형과 조화를 추구한다. 따라서 척추동물 시험은 최후의 마지막 수단이라는 원칙을 확립하고 있다.

REACH는 EU역내에서 이미 유통중인 화학물질에 대한 유해성 및 위해성 정보 확보 필요성에서 제정된 규정이다. 다량 유통 화학물질의 기초적인 유해성 정보가 부재시에 화학물질 의무 등록자는 위해성평가 및 적절한 위해저감방안 수립이 어렵기 때문이다. 특히, 만성노출에 따른 독성, 발암성, 생식독성, 만성 수생태독성 자료 등이 부족한 실정이다.

REACH 등록자는 화학물질의 모든 가용한 정보를 규제당국에 제출해야 한다. 제출 정보 규모는 제조 또는 수입되는 화학물질의 유통량에 따라 차별적으로 적용된다. 다량 유통 화학물질은 인간건강이나 환경에 대한 위해성이 높을 것으로 예상되기 때문이다. REACH 부속서 규정에 따르면 연간 1톤, 10톤, 100톤, 1000톤 이상 화학물질로 구분하여 달리 적용하고 있다.

기본적인 핵심자료가 부재할 경우 등록자는 시험자료를 생산하여 제공할 의무를 지고 있다. 아울러, 시험 수행 이전에 행정당국(유럽 화학물질청 ; European Chemical Agency<sup>6)</sup>, 이하 ECHA)에 시험계획서를 제출하여 승인받도록 하고 있다. 동물실험의 경우 일반적으로 쥐(rat, mouse), 토끼, 기니피그, 어류 및 드물게 조류와 영장류 등이 이용되고 있다.

6) REACH에 의거한 EU내 모든 화학물질에 대한 관리를 전담하게 되며, 회원국들에 화학물질에 대한 과학적이고 기술적인 자료 등을 제공하기 위해 REACH 규정 발효와 함께 발족하였으며 본부는 헬싱키에 있음.

REACH는 동물실험은 동물보호규정(Directive 2010/63/EU)을 준수하여 수행할 것을 요구하고 있다. 해당 규정은 실험동물 보호 및 과학적으로 타당한 방법 적용에 관한 요구조건을 포함하고 있으며, 특히 새로운 과학적으로 타당한 방법에 의해 시험자료가 확보가능한 경우 원칙적으로 동물실험을 금지하고 있다.

EU 시험방법 규정(EC No 440/2008)은 REACH 규정에 적용 가능한 표준시험법, 비(非)표준시험법 및 비(非)시험 기법 등 적용가능한 여러 옵션(선택권)을 기술하고 있다.

REACH는 불필요한 동물실험을 배제하기 위해 특히, 시험자료 공유와 대체시험법 활용, 예측기법 등 다양한 시나리오들을 제시하고 있다. 아울러, 필요한 경우 새로운 동물시험 수행을 허용하고 있다.

등록자는 먼저 모든 가용한 시험자료와 비(非)시험자료를 확인해야한다. 인체노출 및 역학자료, 유사구조물질 정보를 토대로 예측자료 및 컴퓨터 모델 예측자료(quantitative structure activity relationships ; QSAR<sup>7)</sup>) 등이 여기에 포함된다. 다만, 비시험자료의 경우 화학물질의 분류, 위해성평가, 위해정보소통 등에 적합한 평가기법을 활용해야 한다.

등록자에게 물질 유해성과 위해성평가, 분류표시, 이에 대한 과학적 근거 제시 등의 의무가 있으며 필요한 경우, ECHA는 등록자료 평가 기간 중에 동물시험자료를 포함하여 누락된 자료가 있는 경우 제출을 요구할 수 있다.

ECHA는 REACH 규정 충족여부를 판단하기 위한 등록서류의 적합성 검사를 수행한다. 이 경우, 동물시험결과를 포함하여 추가정보 요구 등에 관한 평가결과 초안이 등록자에게 통보된다. 아울러, ECHA는 평가결과 등 관련 정보를 웹사이트에 공개한다. 비정부기구(NGOs) 및 기업 등 이해관계자는 45일내에서 의견을 제출할 수 있다.

기업은 평가단계 중에도 의견을 제출할 수 있으며, 관계 회원국에도 검토 및 의

---

7) " 유사한 분자적 구조를 가지면 유사한 활성을 나타낸다 " 는 가정을 기반으로 물질의 물리화학적 구조와 생물학적 활성간의 관계를 말한다. 여기서 생물학적 활성이란, 목표로 하는 타겟(수용체/효소 등)에 docking, binding (결합) 하는 정도에 기반하여, 특정 신호전달 또는 대사경로에 영향을 미치는 수준으로 표현된다. 물질의 물리화학적 구조와 생물학적 활성간의 정량적인 관계를 수학적으로 도식화하는 분류 또는회귀모델을 일반적으로 QSAR (Quantitative Structure-Activity relationships, 정량적 구조활성상관관계)라고 말함.

견진술 기회가 부여된다. 평가결과 초안에 대해 회원국간 만장일치로 의견이 합의되지 않은 경우에 ECHA는 집행위원회로 해당 안전을 송부한다. 이와 같은 과정을 통해서 최적의 시험자료 평가 및 불필요한 동물시험 배제 등을 확보하려고 노력한다.

분류표시 규정(Classification, Labelling and Packaging ; 이하 CLP)은 새로운 동물시험수행을 요구하지 않는다. 기업은 모든 가용한 시험자료를 수집해서 CLP 기준에 따라서 화학물질 또는 혼합물을 적절하게 분류하기 위해서 평가한다. 이 경우 물질안전보건자료(Safety Data Sheets 이하 SDS)를 제공해야 한다. 실제로 이 과정을 통해서 많은 물질들이 REACH 등록자료들을 근거로 분류될 수 있다.

최근에 다수의 시험관 기법(in vitro)들이 REACH 등록목적에 적합하여 공식적인 시험방법 규정으로 채택되었다. 하지만, 현재 REACH내에 발암성, 변이원성, 생식독성(Carcinogenicity, mutagenicity or reproductive toxicity ; 이하 CMR)과 같은 높은 수준의 독성시험를 대체할 수 있는 시험관 이나 체외(ex vivo) 기법, 통합시험법은 아직 존재하지 않는다. 다만, 불필요한 동물실험 배제 목적으로 증거력 평가 또는 분류표시 경우에 부분적으로 활용할 수 있다.

화학물질의 유해성이 종종 in silico 방법(가령, QSAR 또는 SAR), 즉 컴퓨터 모델을 통해 예측 가능한 경우 동물실험을 대신 할 수 있다. 현재, REACH 등록을 위해 컴퓨터 모델 예측기법이 WoE 평가 또는 CLP 분류시에 부분적으로 활용 가능하지만 단독으로 만성독성, CMR 독성 예측목적으로는 적절하지 않은 것으로 평가되고 있다.

화학물질 유해성을 상관성 방식(Read-across)<sup>8)</sup>에 의한 유사구조 물질의 시험자료를 활용하거나 카테고리(Category) 기법을 이용한 물질군 평가에 활용할 수 있다. 등록자는 등록물질 동물실험자료 대신에 앞서의 기법을 활용한 예측 특성이 적절하다는 과학적 증거를 제시할 책임이 있다. 상관성 방식과 카테고리 평가기

8) 상관성 방식이란, 등록하고자 하는 물질의 시험자료를 동일한 그룹 내의 물질의 시험자료로부터 내삽법(이미 알고 있는 값들로부터 그 중간에 있는 어느 값을 알아내는 방법)을 통해 예측하는 것을 말한다. 이때, 그룹화 요소가 분명하지 않다면, 참조 물질을 복수의 물질을 이용해야 한다. 상관성 방식은 등록하려는 물질의 특정 시험항목에 대한 자료가 없어 유해성 정보를 알 수 없을때 사용하는 기법이다. Read-across 방식을 이해하기 위해 먼저 물질 그룹화를 알아야 한다. 그룹화에 적용되는 유사성은 아래의 그룹화 요소에서 기인한다. ①공통적인 관능기 (그룹 내의 화학적 특성의 유사성. ex. aldehyde, epoxide, ester etc), ②물리적, 생물학적 과정을 통한 공통적인 전구체 또는 분해산물 (분해 전 구조는 다르지만, 반응 후 분해산물이 유사한 구조인 경우), ③그룹 내 특성의 일정한 패턴 (ex. 사슬 길이에 따라 일정하게 증가하는 끓는점과 같은 물리적 특성 등) 구조적, 물리화학적, 생물학적 특성이 유사한 물질끼리 그룹화한 경우에는 같은 그룹 내에서 Data gap 을 Read-across (상관성 방식)으로 채울 수 있다.

법은 만성독성과 CMR 특성을 예측할 수 있는 아주 유망한 기법이다. 다만, 충분한 정보가 이러한 예측 결과를 뒷받침하기 위해서 제시되어야 한다.

	Chemical 1	Chemical 2	Chemical 3	Chemical 4	
Structure	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	
Property 1	● → ○		● → ○		SAR/Read-across
Property 2	● → ○		○ ← ●		Interpolation
Property 3	○ ← ●		● → ○		Extrapolation
Activity 1	● → ○		● → ○		SAR/Read-across
Activity 2	● → ○		○ ← ●		Interpolation
Activity 3	○ ← ●		● → ○		Extrapolation

● Existing data point   ○ Missing data point

(출처: OECD 웹사이트)

ECHA는 예측 모델(Tool)을 사용하는데 있어서 REACH 등록에 적합한지 여부를 확인하도록 등록자들에 주의를 환기시키고 있다. 아울러, 예측 도구들의 한계점에 대해서도 숙지하도록 권고하고 있다. 그렇지만, REACH 목적으로 적절하게 화학물질 특성을 예측하는 것은 어렵더라도 혁신적인 예측도구들이 증거력평가 및 통합시험전략(Integrated Testing Strategy ; 이하 ITS)에 부분적으로 유용한 것으로 평가하고 있다.

다수의 세포(in vitro) 기반 대체시험법들이 표준시험지침으로 신뢰도와 적절성 평가를 위해 개발·검증 진행중에 있다. EU 동물대체시험법 검증센터(The European Center for the Validation of Alternative Methods ; 이하 ECVAM)은 동물실험의 3Rs<sup>9)</sup> 원칙 기반의 대체시험법 검증을 주관하고 있다.

검증된 시험법의 규제당국의 신속한 채택이 새로운 RARERE (Preliminary analysis of regulatory relevance) 절차 강화로 가속화될 것이다. 대체시험지침 개발단계에서 ECVAM은 EU 회원국 및 ECHA 등 관련 국제기구와의 협력체계를 강화하고 있다.

9) 대체(Replacement), 감소(Reduction), 실험절차 개선(Refinement)

등록서류의 적절성 확인 및 시험계획서 검토외에도 불필요한 동물실험을 회피하는 동시에 적절한 화학물질의 위해성평가 결과 확보 등 제도적으로 수많은 요구조건을 충족시키는 있어서 ECHA는 많은 역할을 하고 있다. 또한, 대체시험법에 관한 충분한 정보를 등록의무자에게 제공함으로써 규제목적으로 활용가능한 동물대체시험의 확산에도 기여하고 있다. 주요한 활동상황은 아래와 같다.

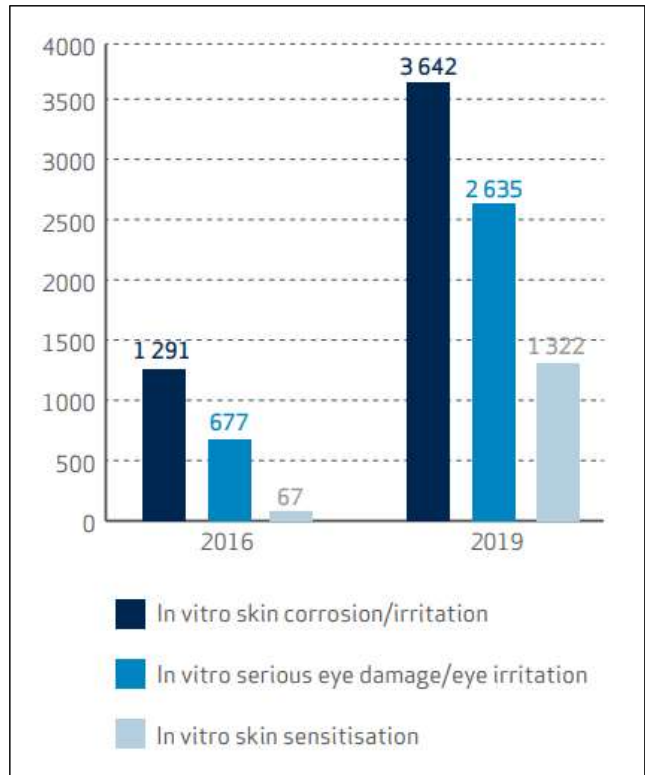
- 물질정보교환포럼 (Substance Information Exchange Fora ; SIEFs)을 통한 기업간 동물시험자료 공유 활성화
- 동물실험 저감 및 시험자료 공유 등에 관한 안내서 개발·보급
- 불필요한 동물실험 회피 및 등록자들의 적절한 물질평가 등록서류 품질 개선을 위한 권고사항 등에 관한 연례보고서 발간
- REACH 등록을 위한 동물대체시험 활용에 관한 특별 보고서를 3년 단위로 발간
- 등록단계에서 수집된 정보 및 홈페이지 수록 자료 등 예비 등록자들에게 기존시험자료 확인, 공유 및 예측기법 개발 등에 관한 정보 제공
- 전세계 국가 또는 국제기구에서 보유한 동물실험 자료 등 화학물질 유해성 시험자료 및 데이터베이스(DB)에 대한 일반인의 자유로운 접근을 보장하는 전용 웹사이트(eChemPortal) 운영
- OECD QSAR Toolbox 등 화학물질 특성예측 모델 개발에 적극 참여
- 등록정보, 컴퓨터모델링 QSARs, 상관성분석, 시험계획서 등 문의 응대를 위한 전용 도움말센터(Helpdesk) 운영
- 정기적인 워크숍과 이해관계자와 대화의 날 개최, 웨비나<sup>10)</sup>, 웹 기반 정보 및 툴 제공 등 동물보호국제기구 및 관련 이해당사자와의 소통채널 구축.
- 국제적으로 합의된 동물대체시험법의 표준화 참여를 위한 화학물질 위해성평가와 관련된 EU와 OECD 실무작업반 그룹 적극 참가, EU 회원국 및 산학공동연구센터와 협력체계 구축.

10) 웹(Web)과 세미나(seminar)의 합성어로 인터넷의 웹상에서 행해지는 세미나를 말한다.

## 2. REACH 등록을 위한 동물대체시험법의 활용

등록자들은 불필요한 동물시험 반복을 회피하기 위해 기존 시험자료 및 대체 시험법을 활용하고 있다. REACH에서 규정한 시험지침에 따른 실험자료를 활용한 비율은 전체 등록물질의 대략 27 % 정도이다. 따라서 약 70 % 정도의 물질이 등록을 위해 적어도 한가지 이상의 동물실험회피를 위한 방법 적용 노력을 한 것으로 평가하고 있다.

2016년 및 2017년 REACH 부속서 개정에 따라 기업들은 일부 독성종말점(endpoints)에 대해 의무적으로 비(非)동물실험 (in vitro, in chemico)법을 활용해야 한다. 등록서류를 분석한 결과, 피부 자극/부식성의 경우 3배, 눈 자극/부식성의 경우 4배, 피부 과민성의 경우 약 20배 정도 비동물시험사용 비율이 증가하였다.

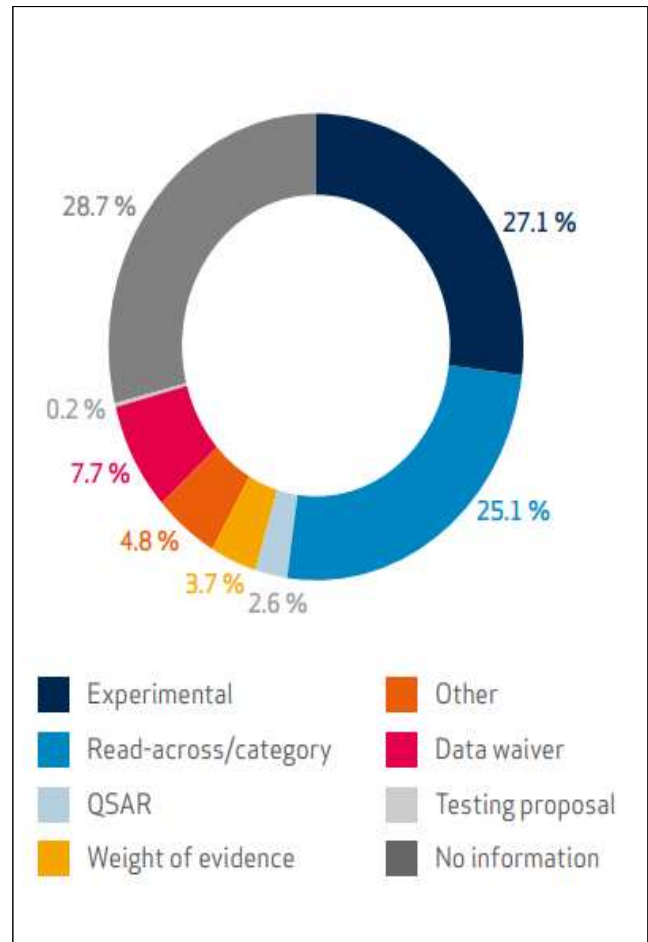


유사구조물질에 대한 정보를 이용하여 물질특성을 예측하는 상관성분석이 대체시험법 중 여전히 가장 많이 사용되고 있는 방법으로 평가되고 있다. 2017년 기준으로 4물질 중 1물질은 상관성분석을 활용하였다. 상관성분석을 적절하게 사용함으로써 동물실험에 대한 필요성을 낮출수 있다.

그렇지만, 상관성분석은 여전히 개선할 여지가 있다. 예를들면, 등록자들은 항상 시험자료를 적절하게 평가하지 못하는 경우가 있다. 또한 물질 동질성 확인도 충분하지 못하는 경우가 많으며, 시험자료에 중대한 결함이 있는 사례도 간혹 있다.

상관성분석 이외에 흔히 활용되는 대체시험법에는 다음과 같은 것이 있다.

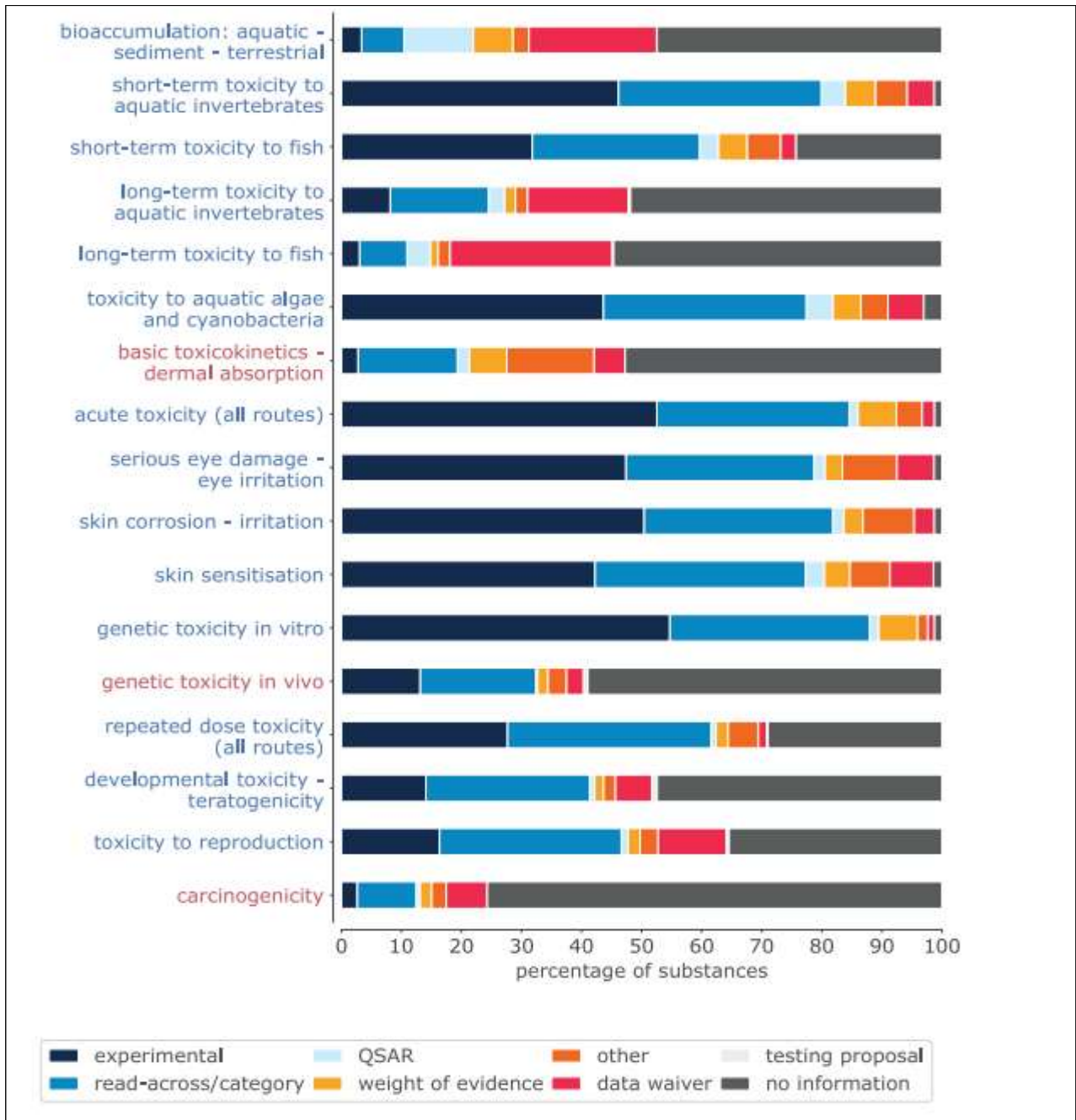
- 시험자료 면제(시험자료 생략에 대한 타당성 제출) : 7.7 %
- 증거력 평가(여러 시험자료에 대한 정보를 통합 평가) : 3.7 %
- 컴퓨터 모델링 QSAR를 활용하여 유사구조 물질로 부터 예측 : 2.6 %



2019년과 2016년을 비교할 경우, 등록자들이 사용한 방법간 차이는 크지 않다. 일반적으로 2018년 등록기한까지 등록된 저(低)톤수 물질 (연간 1~10톤 및 10~100톤)의 경우도 고(高)톤수 물질의 경향과 유사하였다.

기업들이 반복독성과 생식독성스크리닝시험을 위해서 반복·발달독성스크리닝 시험과 반복독성병합시험법(OECD 시험지침 422)의 사용이 증가하면서부터 시험비용과 동물시험 사용 마리수의 급격한 감소가 있었다. 최근 3년간 등록서류의 적합성 검사 및 시험계획서에 대한 결정이 동물실험, 즉 in vivo 발달독성 시험과 (아)만성반복독성시험의 둔화된 증가세를 설명해주고 있다.

1~10톤 범주의 신규 등록서류의 경우, 새로운 시험이나 상관성분석보다 증거력 평가, QSAR 및 시험자료생략의 비율이 더욱 높다. 저용량 등록을 위해서는 낮은 수준의 시험자료가 요구되며, 등록자들은 다른 고용량 등록 경우에 비해 대체시험법의 활용비율이 상대적으로 높았다.



10~100톤 범주의 신규 등록서류의 경우에도 고용량 등록의 경우와 유사한 경향을 보였다. 급성독성의 경우는 예외적으로 신규실험보다 증거력평가, QSAR 및 시험자료 생략 비율이 더욱 높았다. 대체시험법의 적용이 효과적으로 이루어지면서 어류급성독성의 신규시험비율이 2016년 이후 감소하였다. 그렇지만 만성독성시험의 경우 약간 증가 추세를 보였다.

여전히 많은 등록서류들이 자발적으로 또는 ECHA의 결정에 따라서 개선이 필요한 부적합한 것으로 평가되었다. QSAR 예측결과 등록서류의 적합성여부 평가결과, 상당히 많은 등록서류가 부적합한 것으로 나타났다. 등록자들은 평가



진행 과정중에 ECHA 지침서, 웨비나 및 규제당국의 권고 등 가용한 정보자원을 이용하여 대체시험법 적용 확대에 대한 노력을 하도록 권고하고 있다.

ECHA 등록 DB는 향후 동물대체시험법 개발에 유용한 지식베이스를 구축하기 위한 출발지점으로 활용할 수 있다. 이와 같은 지식베이스는 EU의 독성물질제로(Zero) 환경 및 순환경제 수립을 위한 정책을 포함하여 유럽연합 녹색성장 및 디지털 아젠다의 목표 달성을 지원하고, 화학물질의 지속가능한 전략하에 실행력을 강화하는데 유용한 통합자원으로 활용될 수 있을 것으로 평가되고 있다.

ECHA는 지침서, 웹 콘텐츠 및 웨비나 등을 통해 대체시험법을 활성화하기 위해 등록보고서 평가결과를 활용한다. ECHA는 등록자 지원을 위한 다양한 툴, 지침서 및 웹콘텐츠 개발 등을 통해 비(非)동물시험법의 활성화를 촉진시키기 위해 보고서 평가결과를 계속하여 활용해나갈 계획임을 표명하고 있다.

아울러, OECD에서 개발사업에 지속적인 참여와 지원, 신뢰성이 검증된 경우 규제영역으로 비(非)동물시험법을 도입하기 노력을 계속해 나갈 예정이다. 비(非)동물시험법을 활성화하기 위해 ECHA는 컴퓨터독성학 및 화학물질 위해성 평가 영역에서 활용성이 점차 증대되고 있는 OECD QSAR Toolbox 및 소프트웨어 툴 등의 개발을 적극 지원할 것이라고 발표하였다.

또한, ECHA는 규제영역에서 새로운 접근방법<sup>11)</sup> (new approach methodologies ; 이하 NAMs)의 활용성을 강화하기 위해서도 검토 및 평가를 진행하고 있다. 이를 위해서, NAMs 관련 다양한 국제협력사업을 주도하거나 강화해나가고 있다. NAMs는 동물실험 필요성을 최소화하면서 동시에 인간건강과 환경보호를 위한 최선의 결정을 제공할 수 있다는 점에서 향후 필요성이 점진적으로 증대될 것으로 예상하기 때문이다.

최근에 EU는 화학물질의 분류표시(CLP) 이행을 위해 REACH, BPR(Biocidal Products Regulation) 규정하에서 현재 비(非)동물(Non-animal approaches ; 이하 NAAs) 평가기법의 규제적용성을 검토하였다. ECHA는 정기적으로 기업들이 REACH 등록을 위해 NAAs 활용여부에 대해 평가한 결과<sup>12)</sup>를 EU집행위원회에

11) 새로운 접근 방법은 동물을 사용하지 않거나 획기적으로 줄이면서, 화학물질의 유해성과 사람에 대한 노출정보를 생산할 수 있는 기술, 시험방법, 접근법 또는 이러한 방법들을 복합하는 방식을 총칭한다. NAM은 유해성 독성경로를 밝히는 기존의 생체 내 연구 방식에 반대되며, 기본적인 물리·화학적 방법, 단순한 세포 배양, 3D로 정교하게 구성된 인간조직에 이르는 모든 기술이 포함될 수 있다

12) The use of alternative to testing on animals for the REACH Regulation ; 2011, 2014 and, 2017

보고하고 있다.

해당 보고서에 따르면 불필요한 동물실험 중복을 회피하기 위한 가장 효율적인 수단, 즉 시험자료 공유가 잘 작동하고 있다고 평가하고 있다. 등록의무자는 상관성분석, 증거력평가, 컴퓨터모델링 및 세포(in vitro) 시험법 등 NAAs를 활용하고 있다. 하지만, 적지 않은 경우에 등록자 제출정보의 품질이 법적 기준을 충족하지 못하고 척추동물실험을 대체할 정도로 걱정하지 않은 것으로 평가하고 있다.

ECHA는 NAAs를 활성화시키기 위해 등록자에게 신뢰성있는 평가툴을 제공하고 있으며 주기적으로 지침서, 실무안내서, 사례집 발간 및 웨비나 개최 등을 통해 지원하고 있다.

### III. EU 화학물질 규제체계내 비(非)동물 위해성평가기법

#### 가. 개요

척추동물시험은 최후의 수단으로 고려한다는 규정은 REACH, BPR 및 CLP 규정에 포함되어 있다. 앞서 세 화학물질 법령에서 동물실험 3Rs 원칙에 따른 비(非)동물평가법(NAAs)의 활용을 명문화하고 있다. 따라서, 등록의무자는 시험자료생산 및 유해성 분류시에 NAAs의 활용 가능성을 고려해야 한다. REACH 등 관련 규정하에서 등록자료 작성방법은 ECHA 지침서들에 상세하게 설명되어 있다. ECHA는 주기적으로 새로운 시험방법을 업데이트<sup>13)</sup>하여 웹사이트에 공개하고 있다.

인체역학자료를 포함하여 NAAs는 REACH, CLP 및 BPR에서 다양한 방식으로 적용되고 있다. REACH와 BPR 규정에서는 시험자료로 포함된다. 예를들면, 상관성 분석 및 증거력 평가의 경우처럼 표준 시험자료의 보충자료로 제출된다. 또한, REACH 및 BPR에서 추가적인 정보생산 및 BPR에서는 독성작용기작 조사의 근거자료로서도 제시된다.

아울러 CLP 기준에 따라서 화학물질 분류시에 핵심이나 보충자료로 평가되고, 고위험우려물질(Substances of very high concern ; SVHCs) 목록 추가 및 위해성평가 등에 활용된다.

13) <https://www.echa.europa.eu/support/oecd-eu-test-guidelines>

NAAs 기법의 축진은 REACH, CLP 및 BPR 규정의 주요 목표중의 하나이지만, 이를 위해 ECHA는 높은 수준으로 인체건강과 환경을 보호라는 REACH의 기본 원칙을 훼손하지 않는다는 입장을 표명하고 있다. ECHA는 REACH 규정 Article 117(3)에 따라 등록시 NAAs의 적용여부 등 동물대체 시험사용에 관한 평가결과 보고서를 매 3년 주기로 일반에 공개·발표하고 있다.

REACH와 BPR 규정은 등록자에게 일정범위(즉, 기존자료, 증거력평가, QSAR, 세포, 그룹핑 및 상관성분석)에서 자료대체(adaptation)를 허용해주고 있다. 가령, 표준시험자료의 일부를 생략, 대체 및 새로운 방식에 따라 적용하는 것이 가능하다. 다만 등록의무자는 이 경우에 과학적 타당성에 대한 자료를 제시해야 한다. 새로운 시험법이 위원회 미(未)승인 또는 시험법 미(未)등재 경우에도 REACH 규정에 따라 증거력평가에 활용이 가능하다.

CLP 규정에 비동물시험자료 사용에 관한 조항이 있지만, 현실적으로 화학물질 분류목적으로 사용하기에는 제한점이 존재한다. CLP 규정에는 인체건강 종말점에 대해서 in vitro에 따른 기준값을 명확하게 제시하고 있지 못하기 때문이다. 그렇지만, CLP는 전문가 판단으로 증거력평가에 따른 분류표시 결정을 허용하고 있다.

#### 나. 법령내 근거 조항

REACH 규정 Article 13(1)은 동물시험 저감을 위한 세포시험법, QSAR, 그룹핑 및 상관성분석 등의 적용 가능성을 명시하고 있다. 아울러, 척추동물시험이외의 방법을 “대체시험법(Alternative methods)”으로 정의하고 있다. 통합시험평가전략(IATA ; Integrated approach to testing and assessment)<sup>14)</sup> 기법의 경우처럼 여러 NAAs를 조합하여 사용하는 방식도 증거력 평가를 위해서 가능하다. IATA는 여러 다양한 자료원(예시 ; 동물시험, 세포시험, QSAR, 독성발현경로 등)의 정보를 통합한다.

REACH 및 BPR 규정은 표준시험자료(예시 ; 생식독성)의 동일한 규제 결론 또는 비슷한 수준의 신뢰도를 가진 유(위)해성 결과를 도출해주는 다른 정보로 대체

14) 잠재적 위험 및/또는 위험, 추가 시험의 필요성 등에 대한 정보 제공을 위해 모든 관련 데이터를 전략적으로 통합하고 가중치를 부여하는 구조화된 접근 방식. 개별 또는 군별 화학물질에 대한 유해성 확인(잠재적), 유해성 특성화(역가) 및/또는 안전성평가(잠재/역가 및 노출)를 위해 척추동물 실험에 사용되는 동물 실험을 최소화하는 방향 추구.

가 가능하다. NAAs는 아직 REACH 및 BPR 규정에서 표준시험자료와 동일한 자료가 아닌 그룹핑 및 상관성평가 또는 증거력 평가시에 보충자료로서로서 인정받고 있다.

REACH 및 BPR 규정에 명시적으로 동물실험 3Rs 원칙이 포함되어 있지 않지만 동물실험 관련 조항의 근거를 이루고 있다. Russel and Burch에 의해 1959년 도입된 3Rs 원칙은 과학적 목적 및 동물실험에 관련된 규정에 따라 사용되는 동물 보호에 관한 규정(Directive 2010/60/EU)의 기본 원칙으로 모든 안전성 평가시에 고려해야되는 의무사항이다.

EU 공동연구센터(European Commission' s Joint Research Center)는 NAAs에 관한 데이터베이스(DB-ALM)를 제공하고 있다. DB-ALM는 생명의학과 독성학 분야에서 연구 또는 규제목적으로 개발 및 응용단계에 있는 NAAs에 관한 정보 및 동향 보고서 등을 제공하고 있다.

#### 다. 독성발현경로(AOP) 및 작용기작

AOP(Adverse outcome pathway)는 OECD에 따르면 “건강 또는 생태독성 효과를 초래하는 다양한 생물학적 조직 수준에서 인과적으로 연결된 사건을 순차적으로 연결하여 설명하는 분석 구조. AOP는 독성학적 지식 프레임워크의 핵심 요소로서, 기계적 추론을 기반으로 하는 화학적 위해 평가를 지원하기 위해 구축”으로 정의하고 있다.

AOP는 일반적으로 화학물질과 생물학적 조직(예시. 세포단백질)과의 상호작용을 의미하는 분자수준단계 영향(molecular initiating event ; MIE)에서 시작한다. MIE는 체내 영향을 유발하는 생물학적 과정의 일련의 연쇄적인 생체내 반응(key events ; KEs)을 유발한다. 이러한 일련반응은 궁극적으로 생체 조직/기관, 개체(군) 수준에서 유해영향을 유발시킨다.

작용기작(Mode of action ; MoAs)은 체내 영향을 유발하는 독성학적 경로를 의미한다. MoAs와 AOPs는 유사한 부분도 있지만 기본적으로 다른 프레임워크이다. AOP는 물질 특이적이지 않은 생물학적 경로이며 최종 결과는 유해영향이다. 그에 비해, MoAs는 물질특이적이며 동역학, 대사 같은 요소들을 포함하고 있으

며 유해성이 MoA를 설명하기 위한 요구조건은 아니다. MoAs 정보들은 같은 작용기작을 가지고 있다면 일련의 화학물질군의 상관성 분석을 설명하는데 사용될 수 있다. 정량적인 정보가 가능하다면 유해성 확인(분류) 및 위해성평가를 위해서도 활용될 수 있다.

AOP에 기반한 방법 개발을 제한하는 것은 다양한 현상의 MoA 및 AOPs 정보가 부족하기 때문이다. MIE 와 KEs가 어떻게 서로 연결되어 유해영향을 유발하는지에 대한 정보없이 AOP를 개발하는 것은 불가능하다. 아울러, 화학물질 분류 기준을 설정하는 것도 또 하나의 장애요인이다.

피부과민성이 OECD에서 처음으로 승인된 AOP 사례이며 제안된 통합시험평가 전략은 주요 KEs에 대한 생체외 및 아미노산 유도체 결합성을 이용한 피부감작 시험법(in chemico)을 토대로 하고 있다. 일반적으로 AOP 개발에 있어서 가장 큰 어려움은 작용기작에 대한 정부 부족이다. 특히 복잡한 독성 종말점인 경우가 더욱 그러하다. 복잡한 종말점인 경우 기본적으로 모델링하기 쉽게 여러 과정으로 나누지만 아직 여전히 다수의 생물학적 과정에 대한 정보가 불확실한 실정이다. 따라서 복잡한 종말점인 경우 현재 NAAs를 통한 예측이 쉽지 않다.

결론적으로 AOPs는 복잡하지 않은 일부 단순한 독성종말점을 대상으로 개발되고 있으며 완료에는 상당히 많은 시간과 노력을 요구한다. 향후 실질적인 문제점은 개별 AOPs의 개발이 아니라 유해영향과 관련있는 모든 가능한 메커니즘을 해석할 수 있는 통합적인 AOPs의 개발에 있다. 이 부분은 유해영향 없음이라는 신뢰성 있는 예측결과가 AOP 또는 관련 평가기법으로 도출되었을 경우에 특히 중요하다.

OECD는 관련 웹사이트에서 AOPs 관한 상세한 정보를 제공하고 있으며, AOPWiki는 AOPs 개발에 정보를 수집·공개하고 있으며, AOP 교육프로그램에 대해서도 제공하고 있다.

## 라. In silico 방법

In silico는 정성적 또는 정량적 (Q)SAR 및 생리학적 체내 동태모델(Physiologically-based toxicokinetic (PBTK) 모델링 또는 전문가시스템 같은 컴퓨터 방법을 말한다. 일

부 in silico 툴이 생태 또는 인체독성을 예측하기 위해 개발되어 활용중이다. QSARs는 정량적인 방식으로 물성, (생태)독성, 환경거동 등 연속적인 화학물질 (군)별 결과를 예측하기 위해 사용된다. QSAR 모델에서 관심 종말점에 관한 구조 또는 분자기술자(descriptor)정보 및 실험자료 등이 수집되어 상관관계를 도출해내기 위한 기초정보로 활용된다. 이러한 관계는 주어진 물질과 동일한 특성을 가진 탐색물질의 예측에 적용될 수 있다(즉, 탐색물질예측이 모델의 적용범위내에 있는 경우에 한한다).

전문가시스템(expert system)은 전문 지식이나 통계처리에 의해 도출해낸 규칙에 근거한다. 일부 시스템은 (Q)SAR 모델 및 상관성 분석을 포함하고 있다. 이들 시스템은 다양한 소스(source)로부터 전형적으로 확보된 시험자료를 토대로 시험 결과를 예측한다. 독성학적 잠재력에 따라서 높은 수준의 위해성평가를 제공해 줄 수 있다.

일부 QSAR 모델은 화학물질군 결과를 제공하도록 개발된다. 탐색대상물질이 즉, 복귀돌연변이 실험에서 변이원성과 같은 독성학적 특징을 나타내고 있는지 예측된다. 앞서 모델들은 스크리닝 및 우선순위결정에서 사용될 수 있다. 그렇지만, 하나의 SAR 시스템에서 경고(alert)가 없다는 점을 근거로 독성을 배제하는 것은 가능하지 않다. 왜냐하면 모델에 탑재되지 않은 작용기작이 있을 수 있기 때문이다. 따라서, 규제목적으로 QSAR 활용은 도전적일 수 있다. 모델이 독성영향을 예측한다면 경보를 감지하지만, 무해영향으로 예측한 독성을 배제하도록 허용하기 위해서만 활용되는 경우에는 그러하지 않을 수도 있다.

또 하나의 제한점은 위해성평가에 필요한 용량-반응정보(예; N(L)OAL)가 QSAR 모델로부터 도출할 수가 없다는 것이다. 그렇지만, 생태독성평가를 위해서 많은 QSAR모델이 급성독성, 특히 물벼룩과 어류 및 조류, 을 예측하도록 개발되었다, 앞서 모델들은 독성분류 및 수생태 위해성평가를 위해 기본적으로 EC50 수치 및 LC50을 예측한다. 일부 모델들은 생물농축성 평가에 필요한 생물농축계수 (Bioconcentration factor ; BCF) 수치를 예측할 수 있다.

QSAR 모델은 다음의 조건하에서 사용 가능하다.

- OECD QSAR 검증원칙 준수 등 모델의 과학적 타당성(즉, 신뢰도와 타당성) 확립
- 탐색물질이 모델의 적용범위내 해당
- 예측이 규제목적에 적합(즉, 분류표시 및 위해성평가 등)

- 적용 방법이 체계적으로 정리

QSAR 모델결과는 증거력 평가시에 또는 상관성 분석시에 다른 시험자료와 복합적으로 평가 및 분류표시, IATA와 같은 통합시험평가 전략내에서 보충자료로 사용이 가능하다. 다만, 현재 수준에서 복잡한 독성 종말점에 대해서 QSAR 예측모델이 적절한 것으로 평가되지는 않는다. 예를 들면, 생식독성, 발달독성 등은 QSAR 또는 다른 비동물시험기법으로 현행 OECD 시험지침(TG 414 및 443) 요구하는 수준의 정보를 제공할 수 없다. 추가적으로 모든 독성이 적절하게 평가되었다는 보충 증거없이 QSAR 무영향 독성 예측결과만으로 인정받기가 곤란할 것이다.

결론적으로 예측특성 및 규제목적에 따라서 적합하고 적절한 QSAR 시험자료만으로 충분할 수도 있고 결론도출을 위해 다른 종류의 시험자료가 보충되어야 할 필요도 있다. 이들 시험자료는 잠재적 유해성 및 추가 시험 필요성을 의미한다.

OECD QSAR Toolbox, EPISUITE, VEGA, T.E.ST. Metaprint-2-D-calc., SPARC, 등 QSAR/전문시스템이 무료로 활용가능하다. JRC는 웹사이트에 QSAR 모델 데이터베이스를 제공하고 있다. ECHA는 매년 QSAR 사용시 오류 및 모범사례 등에 대한 평가보고서를 발간하고 있다.

#### 마. 생체외 (in vitro) 및 in chemico 기법

In vitro 방법은 기관, 조직, 세포 및 생화학적 시스템을 총칭하며, 일반적으로 유사하거나 다른 세포 또는 조직배양을 토대로 하는 방법을 의미한다. 일부 시험방법은 생체외 소규모 조직배양에 토대로 하고 있으며 동물이나 인체 외부에서 배양되기 때문에 종종 ex vivo라 불린다. 소각막을 이용한 안점막자극시험법(OECD TG 437)이 ex vivo 방법의 사례이다.

한편, In chemico 방법은 화학적 활성을 측정하는 비(非)생물적 시험방법이다. 주로 활용되는 분야는 피부자극성, 수생태독성 및 간독성 등이다.

세포실험은 일반적으로 암세포 불멸화세포주를 이용하고 있으며, 최근 신경발달 독성시험용 배아줄기세포 등 다양한 줄기세포를 활용한 기술이 개발중에 있다.

세포배양은 단일층, 이중층 또는 복잡한 다층구조로 배양된다. 생체기관을 모사한 가장 최신방법으로 3D 피부모델 또는 생체장기칩(organs-on-a-chip; 이하 오간온어칩)이 있다. 오간온어칩은 다채널 3D 미세유체반투명 세포배양기술로 제조된 인공적 소형 기관이다. 오간온어칩은 폐 호흡 또는 장내 연동운동 등을 모사하며 단일기관 또는 혈관으로 연결된 다기관(human body-on-a-chip)의 기능이 나 생체반응을 연구하기 위해 활용되고 있다. 현재 방법론에 대한 연구활동이 활발하게 이루어지고 있으며, 일부 모델이 상용화중이다.

현재까지 소개되고 있는 오간온어칩은 심장, 폐, 신장, 동맥, 피부 등이며 신약개발 및 다양한 생활사 단계에 적용가능한 미래형 유망한 독성예측 도구로 기대받고 있다. 유일한 제한점은 오간온어칩 기관의 크기, 즉 너무 적은 세포수이다. 규제목적으로 활용되기 위해서는 여전히 표준화 및 검증 등의 문제가 해결되어야 한다. 현재, 오간온어칩의 결과가 상관성분석 및 증거력평가의 일부로서 활용될 수 있다. 다만, 시험대상 생체기관에 대한 정보 부족으로 반복독성이나 특이한 기관독성을 보이지 않는다고 결론을 도출할 수는 없다.

현재 REACH 및 BPR 규정에서 피부 자극/부식성, 눈 손상/자극, 돌연변이시험 등은 in vitro 시험을 적용해야 한다. 다수의 in vitro, ex vivo 및 in chemico 시험법이 OECD 시험법으로 채택되었으며, REACH 등 규정 이행을 위해 해당 시험법을 적용해야 한다. In vitro 방법은 이미 알려진 영향을 예측할 수 있으며 미지의 영향을 탐색하기 위한 목적으로 사용은 어렵다.

이론적으로는 in vitro 결과를 외삽으로 in vivo 유해영향용량을 도출할 수 있다. 아직 in vitro에서 in vivo 정량적인 외삽(Quantitative in vitro to in vivo extrapolation ; QIVIVE)을 위한 정보가 제한되어 있다는 점에서 현재까지는 대부분 정성적인 위해성평가에 활용되고 있다.

QIVIVE 기법은 PBPK 모델링을 사용하며 in vitro 용량반응관계를 상응하는 in vivo 또는 인체내 용량반응관계를 도출하여 위해성평가에 필요한 노출기준치를 결정하는 유용한 도구이다. 그렇지만 이 경우에 몇가지 사항이 고려되어야 한다.

먼저 다른 배경 및 체내 변형가능성 때문에 세포주가 생체내 체포와 다른 체내 반응을 유발할 수도 있다는 점이다. 산소농도, 매질구성, 조직간 상호작용 등 체내와 체외 조건은 상이하다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 세포 배양법 등 개



선이 필요하다. 두 번째로 배양세포는 대사능이 결여되어 있고 대사균형성도 보유하고 있지 않다는 점이다. 일부 시험법에서 대사활성체(예 ; 설치류 간 형질액에서 추출한 S9 fraction)를 넣어 해결하고 있다. 잘 대사되지 않는 물질의 국소 영향을 평가하는 경우에는 대사능이 항상 중요한 요소는 아니다.

독성종말점에 따라서 in vitro 시험의 적절성에 대한 가능한 의문은 세포, 조직 및 기관 등 전신영향을 반영하고 있는지 여부이다. 대부분의 모델이 전신영향을 모사하지 않고 있기 때문이다. 3D 피부모델 및 오간온어칩 등이 일부 이러한 의문점에 답을 줄 수 있을 것이다.

생식독성과 같은 복잡한 독성에 대한 in vitro 시험법 설계는 많은 수의 잠재적 대상 및 기작과 관련되어 있기 때문에 특히 더욱 어려운 문제이다. 복잡한 종말점을 in vitro로 대체하는 문제는 체내 대사 및 전체 조직간 상호작용을 반영하기 위한 설계나 전략을 요구한다. 또한 종 특이성도 고려되어야 한다. 다수의 시험법이 대사 및 생체전환 양상을 고려하지만 여전히 조직간 상호작용 또는 장기간 안정성에 관한 제한점에 노출되고 있다.

앞서의 고려사항이 in vitro 시험법의 정보를 불충한 것으로 보이게 할 수 있지만 전신적인 영향에 대한 정보가 중요하지 않을 경우에는 그렇지 않을 수도 있다. 피부자극성 같은 경우가 하나의 사례이다. NAAs중에서 in vitro 방법은 종종 종말점에 따라서 독립적인 정보(예 ; 자극성, 돌연변이성 등) 또는 Defined approach(이하 DA)<sup>15)</sup>, AOP 및 IATAs에서 독성기작에 관한 보충적인 정보를 제공할 수 있는 종말점 맞춤형 방법이다.

결론적으로 in vitro 시험법은 목적 및 요구되는 정보에 따라서 독립적인 정보, DA의 일부분, 증거력평가의 하나의 요소로 활용할 수 있다. 또한 작용기작에 관한 중요한 정보를 제공하며 상관성 분석을 보충할 수 있다. AOP 및 오간온어칩 기술을 토대로 새로운 in vitro 방법과 QIVIVE 기술 개발이 광범위하게 진행중이다.

---

15) 시험평가에 대한 정의된 접근방식을 말하며, 이는 규정된 일련의 정보를 이용하여 생산된 시험자료를 해석하기 위해 사용된 고정데이터 해석 절차로 구성되어 있다. 이 경우 규정된 정보는 특정 규제 요구를 충족하기 위해 단독으로 또는 IATA 내에서 다른 정보와 함께 사용된다.

## 바. 오믹스(-omics) 기법

오믹스는 생물학적, 독성학적 기작을 이해하기 위해서 사용될 수 있는 대용량 분석기술 방법을 말한다. 오믹스에 기반한 방법은 화학물질 노출 후 세포 반응을 나타내는 프로파일 또는 지문(fingerprints)을 제공하고, 세포에서 생산된 일련의 특이적 생물학적 분자들을 그룹화하기 위해 사용된다. 이와 같은 방법들은 세포반응을 검출하지만 이와 같은 반응들이 유해성 또는 적응성 반응과 연계되어 있는지 어떻게 용량/농도와 관련되는지 변화는 가역적인지 또는 비가역적인지 등은 결과로부터 예측할 수 없다. 하지만, tipping point<sup>16)</sup>, 즉 더 이상 가역적이지 않고 유해영향을 유발하는 물질의 용량이나 농도, 확인은 가능하다. 분석은 동물 또는 in vitro 시료를 대상으로 이루어진다. 연구범위에 따라 다양한 분석이 수행될 수 있다.

- 게놈은 생명체의 유전자 총체를 말한다. 게놈은 유전자(DNA 코딩 부위) 및 non-coding DNA로 구성되어 있다. 이에 상응하는 오믹스 기법을 유전체(genomics)라 한다.
- 전사(transcriptome)는 하나 또는 특정 군집 세포단위내 모든 mRNA 분자를 말한다. 이는 특정 순간의 유전자 발현을 의미하며 환경조건에 따라 가변적이다. 이에 상응하는 오믹스 기법을 전사체(transcriptomics)라 한다.
- 단백질유전정보는 주어진 시간 및 조건하에서 게놈에 의해 표현되는 단백질 총체를 의미한다. mRNA 수준이 그들이 발현하는 코딩하는 단백질 표현 수준에 직접 비례하지는 않는다. 이에 상응하는 오믹스 기법을 단백질체(proteomics)라 한다.
- Metabolome은 생물체, 조직 또는 세포내에서 발견되는 모든 작은 분자들, 즉 대사물을 말한다. 내생(內生)형 대사물질 및 외생형 대사물질을 포함한다. 이에 상응하는 오믹스 기법을 대사체(metabolomics)라 한다.
- 후생유전자(epigenome)는 염색체 구조 변화, DNA 메틸화 또는 히스톤 아세틸레이션을 통한 유전자 발현 조절을 포함한 특이적 유전적 변화를 의미한다. 이에 상응하는 오믹스 기법을 후생유전체(epigenomics)라 한다.
- Regulome은 유전자 발현 조절에 관련된 전사 인자 및 관련 물질을 말한다. 이에 상응하는 오믹스 기법을 regulomics라 한다.

---

16) 작은 변화들이 어느 정도 기간을 두고 쌓여, 이제 작은 변화가 하나만 더 일어나도 갑자기 큰 영향을 초래할 수 있는 상태가 된 단계

기능성 유전체학(functional genomics)<sup>17)</sup>는 유전자 기능 및 상호작용을 연구하는 분야이다. 돌연변이, 다형(多形)성<sup>18)</sup> 및 전사체, 단백질 및 대사체 기법을 이용한 분자활성과 같은 유전체의 기능 관련 특성을 연구한다. 따라서, 기능성 유전체학은 시간(예; 생물체 성장) 및 공간(예; 생물체 부위)에 따른 유전자 전사, 번역, 발현조절 및 단백질-단백질 상호작용, 세포반응의 동적인 양상에 집중한다. 아울러, 유전자, 염색체, RNAs 또는 단백질에 영향을 주는 자연적 또는 실험적 기능 교란 현상에 대한 연구도 관심 있는 영역이다.

오믹스 분석은 시험동물 또는 세포로부터 확보한 정보를 확장하기 위해 양적인 측면(대량정보) 및 질적인 측면(심층적인 기작 고찰)에서 in vivo 연구 또는 in vitro 시험결과와 통합할 수 있다.

오믹스 기술에 기반한 NAAs는 아직은 연구 및 개발단계에 있다. 분석 및 결과 해석이 아직 표준화되어 있지 않다. 따라서, 규제영역에 활용을 위해서 더욱 연구개발이 진행될 필요가 있다. 하지만 오믹스 분석은 REACH, CLP 및 BPR 등에서 상관성 분석과 증거력 평가를 보완할 수 있을 것으로 기대되며, 원칙적으로 분석 결과가 체내 기관, 조직 및 생물계에 대한 독성을 나타내고 있다면 이들 목적에 적용될 수 있다.

결론적으로, 다양한 오믹스 기술은 체내 독성기작 이해를 높이고 다양한 연구수준에서 생물체 프로파일 정보를 제공해주며, 추가적인 규제조치를 위한 선별 및 우선순위 결정을 위한 도구(툴 ; tool)을 제공해준다. 이들 방법들은 또한 화학물질 발현 또는 생물학적 영향에 대한 잠재적인 생체지표를 확인해낼 수 있다. 유해영향에 대한 직접적인 영향을 제공해주는 않지만, 유해영향을 유발할 수 있는 잠재적인 독성경로를 알려줄 수는 있다.

오믹스 기술에 기반한 분석기술, 해당 기술을 통합한 기법 및 관련 결과들 해석 분야는 여전히 개발중에 있으며 아직 규제 목적으로 표준화되어 있지 않은 실정이다.

#### 사. AOP 및 오간온어칩 기술 등의 시사점

17) DNA chip(혹은 microarray) 등의 기술을 이용하여 서로 상호관계를 가지고 발현되는 모든 유전자들을 동시에 연구하는 방법이다.

18) 같은 종의 생물이지만, 모습이나 고유한 특징이 다양한 성질을 말한다.

다수의 NAAs기법이 현재 활용중에 있다. AOP 개념은 유해영향과 관련된 장애 현상과 생물학적 경로정보를 이용하는 비동물평가기법의 적용 가능성을 상당히 높이고 있다. 오믹스 분석 기술은 독성 관련 경로에 대한 정확환 정보 제공 및 화학물질에 의한 다양한 분자 및 잠재적인 세포내 기능변화에 대한 종합적인 정보를 제공해줄 수 있다.

오간온어칩 기술은 기관 독성예측을 위한 미래 전망있는 평가법으로 다양한 기관 간 상호작용 정보를 제공해줄수 있다. 이들 대부분의 기술들은 현재 개발진행중이며 일부 종말점에 대한 독립적인 정보 또는, 상관성분석을 위한 보충적인 정보로서 활용되고 있다. 이러한 평가수행을 위한 표준화된 규칙, 해석방법 및 규제목적으로 활용성 등이 중요한 해결과제이다.

in vitro, in chemico, in silico 및 오믹스 분석기술 등 NAAs을 총칭하여 특히, 시험자료가 고속스크리닝 방법(HTS) 및 고용량방법(HCMs)을 이용하여 확보된 경우, 새로운 접근방법(new approach methodologies ; NAMs)으로 명명하기도 한다. HTS 및 오믹스 방법은 그 자체 독성시험법은 아니며 새로운 종말점, 패턴분석, 대용량 등을 통해 in vivo 또는 in vitro 독성시험을 향상시킬수 있는 분석기술로 분류한다. 이들 방법들은 IATAs와 같은 통합적 접근방법으로 상관성 분석을 위한 보충정보 및 증거력 평가의 한 요소로서, 작용기작을 제시하거나 AOP 개발에 사용가능한 종말점 확인해내면서 화학물질 검색 및 우선순위 설정에 활용될 수 있다.

최근에 REACH 규정 및 여타 국제화학물질 규제영역에서 NAA의 잠재 가능성이 인정받기 시작하고 있다. NAAs은 고전적, 생물체 기반의 독성에 기작 정보를 보완해줄 수 있다. NAAs는 위해성 기반 접근방식에서 큰 활용 가능성을 가진 것으로 인정된다. 일반적으로, 독성효과는 오믹스 정보의 도움을 받으면 더 잘 해석될 수 있다. ECHA는 유해성 및 위해성 평가시에 우선순위 선정 및 보충증거로서 이들 기법 활용성을 더욱 연구해 나갈 예정이다.

현재 시점에서 NAA는 동물시험의 결과를 예측할 수 없고, 단기적으로 동물연구를 직접적으로 대체할 수 없을 것으로 간주된다. 그렇지만 생물체 또는 그 일부에 대한 화학물질 노출영향에 관한 정보를 제공한다. 이와 같은 정보는 잠재적으로는 안전노출수준을 결정하기 위해서 사용될 수 있다. 이들 개념은 화학물질의 우선순위 설정에 적용할 수 있고 부분적으로는 화학물질관리시스템에 포함될

수도 있다. 이들 평가기법이 특히 현재의 동물실험위주 체계에 비해서 어느 정도의 보호수준을 제공해 줄 수 있는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다. 아울러, 과보호(over-protection) 또는 지나친 규제(over-regulation)에 대한 이슈도 이와 관련하여 신중한 고려가 필요하다.

#### 아. 가용한 기존 정보의 활용, 통합 및 증거력 평가 기법

##### 1) 순차 시험, IATA 및 정의된 기법(defined approaches)

기존 정보 활용 및 새로운 시험자료 생산의 조합을 이용한 다양한 기법들이 존재한다. 이들 기법들이 얼마나 구조화 및 정의되었는지 여부에 따라서 일반적으로 여러 다양한 용어가 사용된다.

통합시험평가접근(Integrated approach to testing and assessment ; IATA)법은 실용적, 과학적인 유해성 확인 및 특성화 접근방식이다. 이 방법은 새로운 시험자료 생산과 연계하여 기존정보의 통합적인 분석에 의존한다. IATA는 서로간 개별적인 정보원에 토대를 두고 있으며, 예를 들면 제공된 정보형태 (즉, in vitro, in vivo, physicochemical properties 등), 정보의 기작 수준 (즉, 독성동태, AOP KEs 관련 동역학 자료)에 따라서 그룹화된다. IATA는 반드시 자료 증거력 평가시에 전문가 판단을 포함한다.

IATA의 기존 정보수집 및 NAA 정보 활용은 결정 구조에 상관없이 유사하다. 그렇지만, 새로운 시험자료 생산(즉 in chemico, in vitro 방법)은 IATA 및 수집된 증거의 범위에 따라서 다를 수 있다. 새로운 시험자료 생산은 결론의 불확실성을 줄이는 방향으로 설계되어야한다. 기존정보 평가 또는 IATA내 추가자료 생산은 비공식적 증거력 평가 방법 또는 DA(defined approaches)와 같은 사전에 정의된 구조적 접근방식 또는 그들의 조합방식을 토대로 수행될 수 있다.

순차시험전략(sequential testing strategy ; STS)은 시험결과에 따라서 중간에 결정단계를 포함하면서 시험자료를 입수하고 평가하기 위한 고정된 단계적 접근방식이며, 순차적인 단계에서 진행여부에 대한 예측 또는 결정하기 위해서 활용될 수 있다.

통합시험전략(Integrated testing strategy ; ITS)은 다양한 특이적 방법론을 적용하여 수집된 정보를 예측결과로 전환하기 위해 다양한 시험자료 및 정보원이 동시에 평가되는 기법을 위해서 사용되는 용어이다. 이를 위해, 통계적 및 수학적 모델 등 다양한 특이적 방법들이 적용될 수 있다. IATA 및 ITS 개념이 종종 동의어로 사용되지만, IATA는 증거력평가를 사용하기 때문에 평가부분에 관한 한 ITS에 비해 다소 넓은 범위를 가지고 있다. 적절한 IATA 평가를 위해 IATA내에 사용된 구성요소 및 정보원들이 적절하게 특성화가 이루어지고 적용성, 한계 및 평가능력에 관한 보고서 작성이 이루어져야 한다. 이를 위해 시험평가, 개별적 정보출처, QSARs, 상관성 분석 및 비(非)표준화 시험방법 DA 보고서용 OECD 템플레이트가 보급된 바 있다.

OECD는 피부 부식성/자극성, 심한 눈손상/눈자극, 피부과민성 등에 관한 일부 IATAs 또는 DA 사례를 발간하였고, 비(非)유전 발암성 IATAs는 개발중에 있다. REACH 규정내 피부자극평가를 위한 특이적 전략이 OECD 지침문서를 토대로 개발되었다. IATA 구성요소가 엄격하게 표준적인 정보요구에 해당되지 않는 한 REACH 및 BPR 규정내 IATA 사용은 증거력평가에 제한한 경우가 대부분이다. 이들 사례는 피부부식성/자극성 및 심한눈손상/눈자극 등에서 볼 수 있다. REACH 규정에서 in vivo 실험이 아직 상수인 독성종말점에 대해서 IATA는 증거력평가를 구조화하기 위해 사용될 수 있다. 모든 경우에 있어서 IATA가 적절한 정보들을 평가하고 있는지, 대상물질이 IATA 사용방법의 적용범위에 들어가 있는지 등에 주의가 필요하다.

## 2) 증거력 평가

증거력평가 기법에서 모든 관련 정보는 수집되고 추가적인 연구없이 결론을 도출하기에 충분해야 한다. 증거력평가는 REACH, CLP 및 BPR 규정내에서 유해성 평가 요구자료를 위해 모든 가용한 정보를 고려하는 일반적인 방식이다.

증거력평가는 다음과 같이 정의한다. 증거력평가는 일반적으로 사전에 규정된 신뢰도를 갖고서 특별한 문제에 대한 해결방안을 도출하기 위한 증거수집 및 평가하는 단계적인 절차/접근법이라 한다. 증거력평가는 여러 목적을 위해 사용될 수 있다. 예를들면,

- 위해 우려의 정당화 및 추가정보 필요 여부 판정

- 유해성 분류 같은 규제 결론 도출
- 기존정보를 활용하여 새로운 동물실험 대응(즉, 시험자료 제출요구 충족)하기 위해서 여러 다양한 계통의 증거를 통해 동물실험을 감소

증거력평가는 여러 단계로 구분된다.

- ① 문제구성
- ② 정보수집
- ③ 개별정보의 품질(신뢰도) 평가
- ④ 모든 정보의 통합 및 평가
- ⑤ 신뢰도 수준 및 불확실성 평가
- ⑥ 결론

먼저 문제구성에서 증거력평가의 규제 대상, 목표가 정의되어야 한다. 증거력 평가 목적을 정의한 후에 개별 정보가 개별적으로 수집하고 신뢰도를 평가한다. 정보는 낮은 신뢰도를 이유로 무시되지 않아야 하기 때문에 이단계가 중요하다. 필요하다면 중요도가 작거나 무시할 정도가 아니라는 것이 제시되어야 한다. 이것은 모든 정보가 고려되어야 한다는 투명성 원칙 때문이다. 같은 특성을 나타내는 여러 증거(예 ; 발달독성에 대한 특이적 독성기작을 기술하는 QSAR 모델 예측 및 in vitro 시험자료) 들이 있다면, 이들 정보들은 해당 독성기작의 일관된 증거로서 함께 일련의 독성기작에 따라 그룹화되어야 한다. 이러한 정보의 일관성이 고려되어야 한다.

전체적인 모든 정보의 통합 및 평가 동안에 개별 증거는 다른 모든 증거에 상대적으로 평가되어야 하고 모든 증거합이 검토되어 정량화(예 ; 신뢰도 수준의 합)될 수 있다. 정보의 일관성도 평가되어야 하며 개별 증거의 품질도 평가시에 고려되어야 한다. 타당성(신뢰성)과 인체 적합성도 고려되어야 한다. 이단계에서 정보요구를 고려하여 증거력 평가 결과에 영향을 줄 수 있는 누락 가능 결과들이 있는지를 비평적으로 평가한다는 의미에서의 조사증거의 완결성이 함께 고려된다.

증거력평가 (그리고 CLP에서 언급되는 증거력결정)은 일반적으로 전문가 판단을 요구한다. 투명하고 타당성 있는 전문가 판단을 사용하여 증거력평가를 하기 위해서는 사용된 모든 정보, 평가 및 도출된 결론이 완전하게 정리되고 정당화되어야 하는 것이 매우 중요하다. 예를 들면, 증거력평가의 목적은 화학물질의 독성학적 특성이 분류될 필요성이 있는지 또는 CLP 규정하에서 그렇지 않은지를 결정하는 것이다.

CLP 규정은 유해성 결정을 위해 다음사항을 요구한다. 분류기준을 직접 입수가 가능한 정보에 적용할 수 없을 때, 또는 일부 정보만이 활용 가능할 경우에 전문가 판단을 활용한 증거력 결정이 적용될 수 있다. 증거력 결정은 유해성을 나타내는 모든 가용한 정보가 통합적으로 고려되어야 한다는 것을 의미한다. 여기에는 적절한 in vitro 시험결과, 동물시험자료, 그룹핑 및 상관성 평가 같은 category 평가 정보, QSAR 결과, 직업노출자료, 역학, 임상, 사고 등 인체 관련 자료 등이 해당된다. 시험자료의 품질 및 일관성은 적절한 평가결과가 부여될 것이다. 물질 또는 혼합물 정보는 작용기작 및 작용부위 연구결과 등이 적절한지에 관해서 평가될 것이다. 양성이든 음성이든 모든 결과들은 단일한 증거력결정시에 함께 다루어질 것이다.

증거력평가가 표준시험 필요성을 대체하거나 대안제시를 위해 사용할 때, 증거력 적용은 물질 및 사례 특이적, 유해성 토대로 이루어져야 할 필요가 있다. 또한 적용된(즉, 종말점 특이적) 적절한 표준 정보요구를 제시해야 한다. 증거력 적용은 정보요구(종말점) 특이적이며, 정보가 가용한 요소들은 정보요구에 따라 가변적이다. 예를 들면, 반복독성에 대해 대상 체내기관은 적절하게 확인되었고 독성의 심각도가 조사되었다는 것이 중요하다.

아울러, 합리성과 논리적인 추론으로, 적절하고 신뢰성 있게 작성된 보고서가 제출되어야 한다. 정보요구의 특이적 고려는 적절한 종말점 하위단계에서 제시된다. 이러한 증거력 적용에서 독립적인 정보원들은 화학물질이 특정한 유해성을 가지고 있거나 그렇지 않다는 과학적으로 타당한 가정과 결론을 도출할 수 있도록 수집된다. 평가자는 증거력적용을 토대로 추가적인 정보가 필요하지 않거나 화학물질 특정 유해성 있다는 결론을 내릴 수 있다.

정보요구에 관한 모든 주요 인자 또는 요소들은 증거력 적용시에 설명되어야 한다. 요구된 증거 완결성의 수준은 다양한 특성, 예를 들면 관찰된 효과, 특성 및 심각도, 화학물질의 독성학적 프로파일 등에 따라 다르다. REACH 및 BPR 규정에 따라 적절한 증거력 평가의 사용과 실제 표준시험자료 사용이 유사한 규제적 성과를 도출할 것으로 예상되어야 한다. REACH 평가 과정에서 ECHA는 증거력 평가 사용을 등록대상자에 의해 제안된 시험자료 요구 중 하나의 대안으로 평가한다. 제출증거들은 정보요구에 대한 적절성, 적합성에 대해서 개별적으로 또는 통합적으로 평가된다.



REACH 및 BPR 규정에서 증거력평가는 화학물질의 본질적인 유해성을 분류하는 것이 목적이며 위해성 기반 접근법으로 고려되지는 않는다. 따라서, 노출 관련 증거들이 증거력 평가시에 구성요소로 사용될 수는 없다. 증거력 평가시에 새로운 시험법에 따른 결과들도 또한 여러 가용한 증거의 하나로서 또는 국제기구 및 회원국에 공인된 시험법을 통한 독립적인 정보로서 고려될 수 있다.

### 3) 그룹핑 및 상관성 분석(Grouping and Read-across)

상관성분석은 특정 화학물질의 특성이나 시험결과를 측정하는 대신에 다른 물질의 시험결과를 토대로 하여 예측하는 것을 의미한다. 화학물질 그룹핑은 구조적인 유사성으로 인하여 물리화학적특성, 인체·생태독성학적 특성이 서로 유사하거나 일정한 규칙적인 패턴을 따르는 일련의 물질 군/집합체 구성을 의미한다. 그룹개념 적용은 물리화학적 특성, 인체건강영향 및 환경독성 또는 거동 등을 그룹내 참고물질의 자료를 이용하여 외삽을 통해 그룹내 다른 물질 특성을 예측할 수 있다는 것이다(상관성 분석기법).

상관성 분석은 물질마다 모든 종말점에 대해서 시험할 필요성을 줄일 수 있다. 물질군 / 집합체 중 일부 정보가 부족하다면, 이 부분의 값을 채우기 위해서 상관성 분석을 할 수 있다. 물질 그룹핑과 상관성 분석은 REACH 및 BPR 규정에 따른 물질등록시 시험자료 제출을 위해 일반적으로 가장 많이 이용되는 방법이다. 그룹핑 및 상관성 분석이 적절하게 적용된다면 그룹내 모든 화학물질을 시험할 필요성이 없으므로 신규 실험수요를 줄여줄 수 있다.

#### ■ REACH 또는 BPR 규정에 따른 기본 요소

상관성 분석기법의 적용 전제조건은 과학적으로 타당한 상관성 분석 가설(즉, 정당성)과 충분한 시험자료가 활용 가능해야 한다는 것이다. 정당성은 왜, 어떻게 상관성분석이 검토중인 특성을 위해 적용가능한지가 설명되어야 한다. 상관성분석의 원칙은 REACH 규정에 따르며, BPR에 대해서도 동일한 기준이 적용된다.

등록의무자가 상관성분석을 제안하면 그에 따른 수용성이 기존 또는 새로운 시험자료가 활용가능할 경우에만 완벽하게 평가될 수 있다. 그러므로, 독성동역학적 고려를 토대로 한 상관성분석은 그에 따른 자료가 사용가능해야 한다는 것을 전제로 한다.

상관성분석은 두 물질사이에서 사용될 수 있으며, 물질그룹간에도 적용할 수 있다. 앞서 두 경우 모두, 물질은 물리화학적특성, 인체독성 및 생태독성이 유사하거나 일정한 패턴을 따른다고 가정할 수 있을 정도로 구조적으로 유사할 필요가 있다. 그룹내에서 시험자료 갭 채우기(data gap filling)는 하나 또는 그 이상의 참고물질, 또다른 유사한 물질의 시험자료를 선택함으로써 고려된다. 이 경우에, 참고물질의 정량적인 시험결과 뿐만아니라 독성분류를 포함하여 모든 영향을 함께 고려한다.

시험자료 갭 채우기 목적에 적절하고 신뢰성 있는 적어도 하나의 참고물질의 시험결과가 있어야 한다. 그렇지만 대체로, 상관성분석이 생체내 반응결과 공통적인 대사물질로 전환되지 않는 경우에는, 신뢰성 있는 예측을 위해 조금 더 많은 참고물질의 시험자료가 필요할 것이다.

REACH와 BPR 규정에 따르면, 대체시험 결과들은 다음에 따라야 한다.

- 분류표시 및 위해성평가에 적합
- 시험법에 상응하는 충분하고 신뢰성 있는 주요 요소들을 설명
- 시험법에 상응하는 또는 그 이상의 노출기간을 설명
- 적절하고 신뢰성 있는 보고서

정보가 분류표시에도 적합해야 한다는 요구조건이 중요하다는 것을 인식하고 있어야 한다.

#### ■ 분류표시(CLP) 규정에 따른 상관성 분석

CLP 규정하에서 상관성분석은 REACH와 BPR과 반드시 동일한 원칙을 따르지는 않는다. CLP는 대상물질과 화학적으로 관련 있는 물질을 언급하는 반면에, REACH와 BPR은 더욱 상세한 요구조건을 기술하고 있다. CLP 규정의 상관성분석은 물질그룹내 확인가능한 작용기와 작용기작이 동일한 독성분류를 허용한다 (예 ; 항응고제와 중금속). 구조적 유사성은 증거력 평가에서는 덜 중요하다.

독성 작용기작이 화학물질 그룹에 잘 설명되어질 경우(예 ; pyrethroids, 유기인 및 중금속), 잘 알려진 물질의 독성 특성은 미지의 유사물질로부터 예측될 수 있다. 복잡할지라도, 모든 필요한 고려사항이 설명될 경우에 유해성 분류에 상관성 분석을 사용하는 것이 가능하다. 그렇지만, 작용기작이 잘 설명되지 않는 경우에는 더욱 어려워질 것이다. 살생물제가 아닌 산업용화학물질 또는 인체건강정보

가 많이 알려지지 않은 경우가 여기에 해당된다.

#### ■ 그룹핑 및 QSAR Toolbox

구조유사물질을 검색하고 가설을 설정할 때, QSAR 적용이 유용할 것이다. QSAR 프로그램은 잠재적 상관성 분석을 위해 구조에 기반하여 물질들을 그룹핑하기 위해 사용될 수 있다. 그룹핑과 상관성 분석에 QSAR를 적용하는 방법에 관한 ECHA 지침서에 잘 설명이 되어 있다. 이 지침서는 그룹핑에 관한 OECD 지침서와 밀접하게 연계되어 있으며 2014년에 개정된 바 있다. 기업들이 REACH 규정에 따라 등록할 경우에 물질 그룹핑과 상관성 분석의 예시가 ECHA 홈페이지에서 제시되어 있다. 상관성분석을 지원하기 위한 대사체학에 대한 사례집도 발간된바 있다.

#### ■ Bridging data (보충 시험자료)

복잡한 독성종말점(예 : 반복독성, 생식독성)의 경우에 in vivo Bridging data가 대개 상관성분석을 지원하기 위해 사용된다. 예를 들면, 90일 아만성 정보를 상관성분석하기 위해서 해당물질 및 참고물질 모두에 대한 28일 아급성 반복독성이 일반적으로 확보되어야 한다. 이러한 정보가 유사한 전신독성 잠재력을 예측하는데 도움이 될 것이다.

REACH 시험요구에 관한 한, 상관성분석은 in vivo 자료(예 ; 높은 수준의 종말점) 확보가 불충한 경우에는 문제가 될 수 있다. 그러므로, 그 자체 충분하지 않더라도, 다른 보완적인 정보가 수집되어야 한다. 여기에는 in vitro, in silico, -omics 또는 동역학 방법들이 해당된다. 28일 반복독성 또는 스크리닝 study(OECD TGs 421/422) 자료를 상관성 분석하기 위해 유일하게 활용가능한 in vivo 정보가 급성독성 결과일 수 있다. 그렇지만, 이러한 정보는 반복독성에 예측력이 다소 낮을 수 있으며, 비동물시험 자료 및 동역학 정보가 추가적으로 보완될 필요성이 있다.

동역학 시험자료는 모든 경우에, 특히 in vivo 전신노출, 특히 반복 및 생식독성 경우에 상관성 분석을 보완하는데 중요하다. 동역학 자료는 대사/전환율, 예를 들어 체내에서 동일한 물질(독성물질)로 분해될 수 있는 물질인 경우에도 상관성분석을 보완하는데 일반적으로 중요하다.

유사하게 그룹핑과 상관성분석을 통해 환경영향을 예측할 경우, 대상 및 참고물

질의 환경거동 정보가 매우 중요하다. 대상이나 참고물질이 환경중에서 왜 유사하게 거동하는 이유에 대해서 타당한 설명이 있어야 한다. 생물체에 동일한 체내 이용을 또는 물질 특성상 제한된 체내 이용을 경향을 보이는 부분도 설명이 되어야 한다. 아울러, 가수분해 및 분해특성, 수용해도, 휘발성, 분배계수 등 물리화학적 특성에 관한 정보도 확보되어야 한다.

환경영향을 예측에 관하여 bridging data는 상관성분석을 보완하기 위해서 일반적으로 필요하다. 예를 들면, 어류 만성독성 정보를 상관성 분석하기 위해서 대상 및 참고물질 모두에 대해 어류 급성독성정보가 확보되어 있어야 한다.

### ■ 상관성분석의 한계와 시사점

상관성분석이 빈번하게 불필요한 동물실험을 줄이기 위해 활용되고 있음에도, 고려되어야 할 제한점이 있다. 우선, 상관성분석은 종말점 특이적이다. 이것은 상관성분석이 반복독성을 예측할지라도, 자동적으로 다른 독성종말점(예 ; 생식독성)에 대해서 적용 가능하다는 것을 의미하지는 않는다. 다른 물질의 정보가 또 다른 물질의 유해성을 예측하기 위해 사용될 경우에 항상 불확실성이 있다. 하지만, 어떤 방식으로 정보가 생산되든지 간에 규제 측면의 결과물이 유사해야 한다.

상관성분석이 활용가능한 정보에 따라서 수용될 수 있지만 어떤 경우에는 새로운 정보가 기존에 인정된 상관성분석 결과와 상이할 수도 있어 재검토가 필요할 수도 있다. 물질의 주요성분 차이외에도 여타 성분과 불순물에 있어서 적지 않은 차이가 있을 수도 있다. UVCB(substances of unknown or variable composition, complex reaction products or biological materials) 물질인 경우에, 모든 성분, 구조 및 함량을 모르고 유해성도 또한 알려져 있지않는 경우에 상관성 분석하기가 용이하지 않은 상황이다. 불확실성을 줄이기 위해 최악의 시나리오 접근법이 상관성분석에 활용된다.

### ■ 정보제공

REACH 규정에 따라 물질등록시 상관성 분석 적용실태가 3년주기로 동물대체시험법 활용에 관한 보고서에서 공개된다. 상관성 분석시 오류 및 모범사례에 권고사항이 ECHA 평가보고서에 매년 수록된다. 다양한 과학적 설명이 상관성 분석에 사용되기 때문에, ECHA는 인체건강 및 환경 독성종말점을 포함하는 RAAF(Read-Across Assessment Framework) 문서를 개발했다. RAAF는 상관성분석 사

례에 대한 과학적 해석을 위한 체계적인 프레임워크와 원리를 제공하고 있다.

RAAF는 상관성분석 예측이 다양한 시나리오를 만들어 구성할 수 있다. 프레임워크는 상관성분석의 신뢰도를 평가하기 위한 중요한 요소들을 구성할 수 있는 유용한 근거를 제공해주고 있다. 따라서, 상관성 분석 및 그룹핑을 보완할 목적으로 새로운 실험법을 확인하고 적용하기 위한 프레임워크로서도 유용하다. 반복독성의 상관성분석사례를 통한 교훈에 관한 보고서도 공개되었다. 다성분 및 UVCB에 대한 상관성분석을 위한 특별한 고려사항들도 RAAF보고서에 포함되어 있다.

#### **IV. 비(非)동물 위해성평가기법의 한계, 시사점 및 향후 전망**

##### 가. 중점 이슈분야별 시사점

동물실험과 같은 예측력을 가지지 못할 것이라는 세포를 이용한 비동물시험법(NAAs)에 대한 우려가 계속되어왔다. 현재까지 일부 국소 독성, 즉 낮은 단계의 동물실험이 세포실험으로 대체되었다. REACH 규정하에서, 눈 손상/눈 자극성, 피부 자극성/피부 부식성, 피부 과민성 등이 여기에 해당된다. 이러한 대체는 동물복지 또는 현행 규제과학과 접목된 새로운 과학발전 이라는 측면에서 매우 중요한 성과이다.

하지만, 전신독성에 관한 동물실험이 세포실험으로 대체된 사례는 극히 일부에 불과하다. 현재까지, 동물시험으로 이루어지는 자궁비대반응시험이 유일하게 일련의 세포실험들로 대체되어, 화학물질 스크리닝 목적에 활용되고 있다. 복잡한 전신독성의 특성으로 인해 척추동물시험을 대체할 수 있는 NAAs는 아직 없으며 가까운 장래에도 쉽지 않아 보인다. 아울러, 현재 적용가능한 NAAs가 그 자체 독립적인 시험법이 아니므로 일대일로 매칭 할 수 있는 시험법 대체도 쉽지 않은 것으로 보인다. 오히려 NAAs를 시험평가 전략에 포함시키는 혼합방식이 복잡한 종말점을 평가하기 위한 일부 어려움을 해소할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

NAAs 활용과 규제 적용성을 고려할 때 다음의 2가지 방안이 매우 적절한 것으로 평가된다. 동물실험 원칙 3R 모델의 현행 불확실성을 줄이기 위해 동물

과 비동물 시험자료의 공유(산업계), 시험자료 공유를 위한 플랫폼 구축 (정부 당국) 이다. 세포실험의 동물실험으로 외삽과 같은 방법론 개발이 이루어졌지만, 여전히 보완해야 할 부분이 많다. 시험자료 공유는 이미 REACH에서 척추 동물시험 수요를 줄이고 있는 핵심적인 요소이다. 하지만, 시험자료공유가 쏠 세계적으로 확산될 필요가 있다. 등록의무자는 적절한 기존 자료를 이용하고 아울러, 상관성 분석과 같은 시험전략도 활용할 수 있다.

현행 적용가능한 대부분의 시험법이 독립적으로 활용가능하지 않으므로 증거력평가는 현행 동물실험을 대체할 수준으로 강화할 필요가 있다. OECD의 경우 향후 시험 전략의 규제 적용성과 시험자료 상호인정 방안 수립에 주력해야 할 것이다. NAAs 시험결과 해석, 인체건강 및 규제목적 타당성이 왜 전신독성의 NAAs 개발 및 수용이 쉽지 않은 것임을 설명할 수 있을 것이다.

#### ■ 작용기작 이해와 기술 개발

세포실험 시스템은 정상적인 세포에 비해 거동, 반응, 대사, 상호작용 및 작용기작 등에서 다른 차이를 나타낸다. 이것은 세포실험계 및 다양한 방법 활용한 결과해석시에 고려해야 할 필요가 있다. 대사활성계 효소를 이용한 대사능 등 일부 문제점은 쉽게 해결할 수 있다. 공 배양(co-culture)도 일정부분 세포 상호작용을 설명할 수 있고, 동적 배양조건을 현저하게 개선한 생체칩 (organs-on-a-chip) 기법도 다양한 생체기관의 역동적인 상호작용에 대한 연구를 가능하게 한다.

#### ■ 생체칩 기술 (organs- and body-on-a-chips)

생체칩 기법은 in vitro 기능 기관 및 기관계 모델로서, 화학물질 반응이 단순한 세포배양시스템보다 생리학적으로 더욱 적합한 것으로 예상되고 있다. 이 기술은 또한 화학물질의 체내기관의 기능에 미치는 직접적인 관찰을 가능하게 하며, 또한 잠재적 유해영향과 작용기작의 확인에도 유용할 수 있다. 현재 관련된 체내기관 독성 및 용량-반응평가와 유해영향을 예측할 수 있는 방법에 대한 개발이 진행중이다. 여전히, 최적화, 표준화 및 검증 등의 과정이 필요하다.

이 방법은 in vitro 생리학적 반응을 모사하기 위해 요구되는 조건을 달성하기 위해서 미세가공, 초소형전자공학과 미세역학 기술 접목이 필요하다. in vitro 연구에서 생체역학에 관한 정보는 PBPK 모델링을 활용하여 정량적 in vitro에서 in vivo 외삽론을 개선할 수 있다.

NAAs 기법중에서 in vitro 방법이 독립적(예: 자극성과 유전독성시험), 또는 규정된 평가전략(IATA, DA 및 AOP) 하에서는 일부 종말점에 대해서는 종종 최적의 시험법이다. in vitro 방법은 AOP 또는 IATA에서 세포영향, 수용체 결합 등 특정 관련정보를 제공해줄 수 있다.

높은 수준의 전신독성 종말점에 공통적인 주요 제한점 중의 하나가 다양한 과정들이 관련되어 있고 독성물질이 다른 작용기작을 통해 영향을 준다는 것이다. 앞서의 종말점을 모사할 수 있는 NAAs를 개발하기 위해서는 더욱 종합적인 유해성 작용기작에 대한 이해가 필요하다. 이 경우에 동물실험 설계에도 마찬가지이다. 작용기작 정보는 최종적으로 in vitro 효과를 규제목적상 의미있는 요소로 전환시키기 위한 최종적인 전제조건이다.

#### ■ 연구 활성화 (Research activities)

EU-ToxRisk 프로젝트는 위해성평가를 위해 화학물질의 인과관계에 관한 인체 세포반응과 종합적인 작용기작 이해에 근거한 위해성평가를 위해 동물시험 일방주의를 지양하는 독성학적 시험 패러다임의 대전환이 주요 목적이다. 해당 프로젝트는 반복독성, 발달 생식독성을 중심으로 세포생물학의 오믹스 기술, 시스템 생물학 및 컴퓨터 모델링 등 최신 기술을 통합하고 있다. 최종적인 목표는 화학물질의 신뢰성이 확보된 동물실험 없는 유해성 및 위해성평가 전략을 수립하는 것이다. 오믹스와 같은 고성능 비동물시험으로부터 확보한 정보를 어떻게 해석하는지에 대한 문제점은 여전히 존재한다.

예를 들면, 다양한 유전자 발현이 다른 생체 기관과 조직내에서 달리 상위조절과 하위조절될 수 있다. 효능 특성과 그와 같은 반응이 적응과정인지 유해영향의 일환인지는 여전히 명확하지 않을 수 있다.

#### ■ AOPs (독성발현경로)

일부 유해영향의 복잡성을 설명하는 방법으로서 AOPs 개발은 독성영향에 대한 신뢰성 있는 정보를 제공해주는 in vitro와 in silico 기법을 개발하는데 도움이 될 것으로 기대된다. AOP 기반 평가 시스템은 복잡한 생물학적 네트워크보다는 일부 주요 체내 반응현상(KEs ; key events) 중심으로 설명하고 있기 때문에 내용면에서는 단순하다. 피부 자극성 AOP가 하나의 사례이다. 하지만, 다양한 시험법으로 AOP의 여러 KEs를 포함하는 경우에는 결과 해석을 포함한 전체 평가과정의 복잡성이 증가할 수도 있다.

유해영향에 대한 종합적인 평가는 일부 종말점의 경우에는 설명이 쉽지 않은 체내 작용기작과 KEs이 완전체 AOPs 네트워크에 의해서 충분히 설명될 수 있다는 점을 의미하고 있다. 어떤 작용기작의 신뢰성 있는 증거는 잠재적인 유해영향을 의미할 수 있고, 새로운 시험수행 없이 상관성분석 결과를 보완할 수 있다(예 ; colinesterase inhibition, inhibition of pituitary hormones). 현재 일부 작용기작의 정보는 아직 유해영향 예측을 위해서 아직 활용하기 어려운 실정이다.

예를 들면, 화학물질의 성호르몬 특성이 자동적으로 생식독성을 예측할 수는 없고, 작용기작의 정보가 단순히 생식독성이 가장 심한 그룹의 정보와 화학물질의 유해성을 분류하기 위해서 사용될 수 없다. 이것은 작용기작에 대한 유해성분류가 아직 없기 때문이다. 따라서, 작용기작에 대한 정보가 관련 유해영향(예 ; 생식독성)에 유사한 위해성 관리조치를 제공해 줄 수 있는 유해성 분류에까지 접근하기는 어렵다.

그렇지만, 유전독성과 돌연변이원성, 발암성 사이에는 특별한 관계가 있다. 현재, REACH 규정하에서 돌연변이원성은 유전독성을 통한 발암성의 신뢰성 있는 예측도구로 이미 사용되고 있다. 따라서, in vivo 발암성 시험이 이미 분류되어 생식세포돌연변이원, 즉 1B그룹에 해당되는 유전독성물질에 대해서 일반적으로 요구되지 않는다. 하지만 돌연변이원성연구만으로 발암성 분류를 이끌어낼 수는 없고, 위해저감조치와 하위사용 결과들은 생식세포돌연변이원과 유전독성 발암원들에 대해서 동일하다.

향후 유해영향의 신뢰성 있는 예측결과가 일부 특성에 대해 개발될 수 있으며, 적어도 유해영향에 일반적인 현상이지만, 현재 그러한 예측결과가 in vivo 유해성을 대체할 수는 없다.

#### ■ In vitro to In vivo 외삽과 인체건강 외삽

비동물 위해성평가기법에서 규제목적으로 시험자료의 접근성을 결정하는 중요한 특성이, 특히 in vitro (세포) 시험법, in vivo 와 인체건강영향으로 결과 외삽이다. in vivo 시험자료 해석과 외삽에 관한 한, 중간 차이가 in vitro 결과를 평가할 때에 고려되어야 한다. 고등 척추동물사이에 유사성이 크다고 가정하는 것은 타당하지만, 남아있는 차이가 종종 위해성평가에서 불확실성을 유발한다.



in vivo 시험결과를 인체건강으로 외삽하기 위해서는 종간차이 (주로 독성동역학과 독성역학의 차이)은 종내차이에 관한 불확실성 및 물질특성 관련 추가적인 불확실성 계수를 사용하여 반영되어야 한다.

in vitro 시험결과를 인체건강으로 외삽하기 위해서는 사용된 세포원 (동물 또는 인체)이 중요한 역할을 하며, 특정한 경우에 종간차이를 이해하고 인체 적합성을 더욱 잘 해석하기 위해서 동물세포와 인체세포 모두 시험결과를 비교하고, 동물실험결과와 비교하는 방법이 유용하다.

그렇지만, 외삽시에 다른 인자들도 고려되어야 한다. in vitro 시험에서 사용된 세포 종류와 인체 또는 동물세포 종류, 외삽 목표 종 (동물 또는 인체), 용량-반응 관계, 화학물질 투여 방법과 in vivo 또는 인체 노출 경로 등이 여기에 해당한다. 이들 대부분의 인자들은 PBPK 모델링을 통해 반영할 수 있다. 종간차이로부터 정보의 체계적인 평가는 동물시험 및 in vitro 방법의 불확실성에 대한 정보를 제공하는 것이다. In vitro 종간 일치 및 종간 차이 검토도 OECD에서는 필요한 것으로 간주하고 있다. In vitro 독성동역학 정보는 또한 가장 적합한 종 선정에 대한 근거를 제공해 줄 수 있으며, 대체시험법 부재시에 동물시험 필요성을 감소시킬 수 있다.

국소독성의 경우가 아니라면 독성동역학, 시험대상 기관과 화학물질 독성이 노출경로 (즉, 경구, 경피 또는 호흡)에 따라서 다르기 때문에, 노출경로 특성 반영을 위한 비동물평가기법의 역량 또한 고려될 필요가 있다. 시험목적이 화학물질 고유의 특성을 확인하는 것이라면, 노출경로 특이적 특성이 알려져 있지 않더라도 비동물 평가기법은 적절하게 전신독성을 확인할 수 있다. 그러나 비동물평가법이 반드시 특정 노출경로에 대한 유해성 분류 및 위해성평가 인체 무영향수준값 (DNEL) 도출에 적합하다고 할 수는 없다.

비동물평가기법 정보해석에 관한 또 하나의 문제점이 대사 및 조직반응과 별개로 분자와 생리학적 생체지표들을 위해성평가에 필요한 정량적인 인자로 변환하는 것이다. 동물실험할 경우, 용량-반응 선정이 유해영향을 나타내고 유해성을 확인할 수 있는 정도로 충분히 높은 농도를 포함하여 독성을 보여야 한다. 필요한 경우에, 유해성 분류 및 무영향농도값 산출, 인체무영향값 산출이 가능하도록 한계농도 수준까지 포함해야 한다.

동물실험을 대체 또는 보류하기 위해서는 비동물평가방법은 용량/농도/반응 정보, 동일 또는 별도의 평가법을 통한 유해성분류 정보를 제공해 줄 수 있어야 한다. *in vitro* 세포 시험농도를 인체 또는 동물에 상응하는 농도 수준으로 연계하는 어려움도 해결해야 하는 과제이다.

QIVIVE 모델링 기법이 이러한 문제점을 극복하기 위해 개발되었으며, *in vitro* 기반 유해성평가에 중요한 역할을 하고 있다. 하지만, 아직 규제목적으로 앞서 방법을 적용하기 위해서는 조금 더 많은 연구가 필요하다. 일부 모델이 유해성 평가에 대한 가능성을 보여주고 있지만, 유해성분류를 목적으로 QIVIVE 활용 방법론에 대하여 현재 단계에서는 명확하지 않다.

#### ■ 물질 특이성

물질특성도 고려되어야 한다. REACH와 BPR 규정에서 부식성 물질 동물시험에서 부식성이 나타나는 용량/농도에서 수행되지 않다고 하는 것과 같이 제출 정보의 특정 변경사항을 언급하고 있다. 물질특성은 비동물평가법 사용을 고려할 때 반영이 되어야 한다. 불순물이 독성에 영향을 줄 수 있어서, 단일성분물질인 경우에도 하나의 분자구조로 설명되지 않는다.

UVCBs (substances of unknown or variable composition, complex reaction products or biological materials)은 알려지지 않았거나 가변적인 구성성분, 복합반응 생성물 및 생물학적 물질을 의미한다. 다성분 물질은 다른 독성, 독성동역학, 환경거동 특성을 보일 수 있으며, 적용범위, 용해도, 비의도적 결합, 구성성분의 대사과정 불균일성 등 제한사항 때문에 아직 시험법이 충분히 확립되어 있지 않다.

대사 및 무생물적 분해 특성은 비동물평가법 적용시에 관련된 독성물질 결정(상관성분석을 위한 목표로서)과 다성분 물질이 비동물평가법의 적용범위에 포함되는지 검토하는 과정에서 매우 중요하다. *In vivo* 또는 *In vitro* 독성동역학 정보 확보는 다성분 및 UVCB 물질에게 상당히 어려운 부분이다. 알려지지 않은 대사와 무생물학적 분해특성이 비동물평가법과 그룹핑/상관성분석 활용을 제한할 수 있다.

상관성분석을 위해서 대사학적으로 적절한 세포 시스템의 오믹스와 같은 보충적인 시험자료가 고려될 수 있다. 동물실험 자료간 연결도 또한 오믹스 자료 활용으로 개선될 수 있다. 다성분 및 UVCB 물질의 상관성분석에 관한 ECHA 보고서는 이와 같은 물질의 상관성분석의 복잡성을 평가하고 설명하면서 중요한

이슈를 제기하고 사례도 제공하고 있다.

### ■ 나노물질

나노물질은 자연적으로 또는 제조에 의해서 결합되지 않고 집합체(aggregate or agglomerate)로서 나노크기의 입자를 포함하고 있는 물질이다. 나노물질은 3차원의 외형치수 중 최소 1차원의 크기가 1~100나노미터 (nm)인 입자의 개수가 50% 이상인 물질을 의미한다. 다만, 앞서 크기 범주를 벗어나는 나노물질도 있다.

나노물질은 일반물질과 유사한 특성을 가지고 있는 것으로 간주된다. 하지만, 나노형태의 물질이 벌크형태의 물질과 다른 독성 특성을 가질 수 있는 것으로 예상되며, 따라서 개별적으로 평가가 이루어져야 한다. 독성동역학 같은 특성 평가시에 특별한 고려가 필요할 수 있다. 기존 표준시험법은 나노물질에 적합하게 개선될 필요가 있다. 일부 시험은 나노물질 적합하게 개정되었고, 일부(예 ; 용해성)는 아직도 개정할 필요가 있다.

작용기작과 연계된 나노물질의 일부 특성은 in vitro 배양법과 같은 예측방법을 활용하여 평가할 수 있다. 나노물질 In vitro 시험은 많은 한계점을 보여주고 있으며, 이러한 부분이 고려될 필요가 있다. JRC는 나노물질에 대한 컴퓨터 방법론의 적용성에 대한 보고서를 발간하였다. 아울러, REACH는 나노물질 지침서 등을 홈페이지에 공개하고 있다.

### ■ 우수성 및 표준화

종간 차이로 인한 낮은 예측성과 같은 표준 동물시험법의 높은 복잡성과 한계로 인해 비동물평가법에서 극복되어야 할 성능의 기준점이 아주 높지는 않으며 오히려 성공할 가능성이 증가하고 있다는 주장은 여전히 논쟁중이다. 하지만, 현재까지 성능의 기준을 비교할 수 있는 증거는 없다.

화학물질규정에 관한 한 한계수준과 분류표시를 위해서 사전예방주의 접근법이 더욱 강화되어야 한다는 것이 제안되어왔다. 이 점에서, 아주 정확한 유해영향의 예측과 유해영향 수준이 다양성이 높은 인간집단에 대한 안전 노출범주를 확인하는 것보다 더 중요하지는 않다. 그렇지만, 현재의 규제시스템은 앞서와 같은 방향으로 설정되지 않았다. 궁극적으로는 최종목표는 화학물질의 안전사용이며, 비동물평가법의 성능기준이 이러한 목표를 충족해야 한다.

## ■ 다양성

또 하나의 이슈 분야는 다른 비동물평가법 간 넓은 다양성이다. 이것은 개념적으로는 동물실험에 관하여 보다 넓은 다양성이 활용되어야 한다는 원칙과 유사하다. 그렇지만, 많은 독성종말점과 측정인자들이 하나의 시험지침내에 통합되었기 때문에 현재까지 높은 수준의 조화가 이루어졌다.

반대로, 개별 독성종말점을 시험하는 비동물평가법은 대개 독립적인 방법으로 활용될 수 없다. 따라서 여러 생체내 주요반응 및 그에 따른 관계에 관한 시험들을 통합하기 위해서는 조화 또는 일치이 더욱 필요하다.

이와 같은 규정된 접근방법의 성능은 적용범위, 정확도, 정밀도, 여타 관련 특성과 한계점 등이 충분히 확인되어야 한다. 예를 들면, EU와 OECD 시험지침에 명시된 바와 같이 비동물평가법의 검증과정에서도 수행되어야 한다. 이 사항이 완결될 때까지는 이러한 규정된 평가법의 결과 해석과 적용이 여전히 논쟁으로 남아있다.

아울러, 여러 목적에 적용 가능한 하나의 평가법 확립이 반드시 가능한 것은 아니므로 몇몇의 비동물평가법은 위해성평가, 분류표시 및 물질군 결정을 위해 개선될 필요가 있다. 따라서, 규제범주에서 비동물평가법의 정보를 적용하는 방법론에 대해서 추가적인 개발이 필요하다.

결론적으로 전신독성 규제 요구에 정보를 적절하게 제공하기 위해서는 비동물평가법에 대해서 아직 여러 가지 해결되어야 할 과학적 이슈들이 많다. 그렇지만, 과학적 접근법 개발을 위한 여러 최신 혁신적인 방법들이 이러한 한계점을 나타내고 있다 (예 : AOPs 및 생체칩). 독성동력학 정보, AOP와 작용기작에 관한 지식 및 인체 생물학과의 연결고리 정보들이 독립적인 위치에서 비동물평가법에 규제적 타당성을 부여하는데 많은 도움이 될 것이다. 일반적으로, 비동물평가법은 여러 규제 목적에 활용 가능하며, 향후 위해성 평가체계에 변화를 초래하면서 혁신적으로 유연하게 적용될 것이다.

## 나. 비동물평가법의 검증

검증은 특정한 접근기법, 방법, 절차 또는 평가의 신뢰성과 적절성이 특정 목적에 맞게 확립되는 과정으로 정의된다. 검증된 *in vitro* 시험법은 국제적으로

합의된 기준에 따라 개발될 경우 적합한 것으로 간주된다. EU에서는 공동연구센터(JRC) 산하 동물대체시험법 검증·평가 기관(EURL ECVAM)이 시험법 검증 과정 총괄과 과학적이고 규제 타당성 촉진 등 업무를 수행하고 있다.

EURL ECVAM의 공식적인 검증 절차 4단계는 다음과 같다.

- 제안 시험법 평가 및 의견 수렴 (사전 규제 타당성 평가 네트워크, 이해관계자 포럼 등 의견수렴)
- 검증연구 계획 수립 및 시행 (검증 연구소 네트워크와 협업)
- 독립적 과학 전문가 그룹 검토 (자문위원회)
- 시험법 검증결과 및 권고사항 공개 (이해관계자, 대체법 국제협의회 의견 수렴)

개별적인 비동물시험법의 검증은 특정목적에 대한 타당성과 신뢰성을 평가하며, 적용범위와 한계점의 명확화를 포함한다. 여기에는 민감도와 특이성 고려도 포함되며 시험법은 해당 영향을 과잉 또는 과소평가하지 말아야 한다. 사용목적에 따라 생산된 시험자료의 타당성과 신뢰도를 평가할 수 있으며, 규제 적용성도 고려된다. OECD의 검증절차도 동일한 원칙을 따르며, OECD 시험지침 승인에 앞서 필수요건이다.

타당성과 신뢰도는 검증절차의 핵심 요소이다. 또한 규제목적에 수용 가능해야 하며 비동물시험법도 마찬가지로 검증되고 과학적으로 타당성을 평가받아야 한다. 어떤 경우에 아직 검증되지않은 방법이 가령 증거력평가시에 양성 효과를 예측할 수 있는지 고려될 수 있다. 하지만, 일부 비동물시험법은 공식적으로 전통적인 절차에 따라서 검증이 가능하지 않고, 검증 절차가 너무 복잡한 것도 사실이다. 이 경우에는 다른 절차를 따른다.

예를 들면, QSAR 방법은 예측결과와 함께 보고되어야 하는 적용범위를 포함한 OECD 5대 원칙에 따라 정형화된다. 다른 시험법의 경우에는 성능인자를 토대로 정형화가 사용된다. 검증이란 용어는 다른 의미, 즉 예를 들면 발달생식독성 보고서 사례처럼 작용기작적 검증, 로 종종 사용된다.

비동물시험법 검증을 위해 동물시험자료가 종종 활용되는 반면에, 피부과민성 평가법과 같은 경우에는 인체역학자료도 활용된다. 검증에 인체에서 확보된 자료가 필요한 경우, 고차원 독성종말점의 비동물시험법 검증은 한계점이 있다. 위와 같은 의미에서 인체역학자료의 존재는 필수요건은 아니지만 매우 큰 이점을 가지고 있다.

시험법 검증은 표준화 정도, 작용기작 정보의 확보, 충분한 시험자료 확보, 표준참고물질 등에 따라 다르다. 검증은 장기간 고비용 소요 과정이며 절차를 촉진시키고 신속히 할 수 있는 방법에 대한 해결책은 명확하지 않다. 일반적으로 현재 활용가능한 대부분 시험법들이 독립성이 부족하기 때문에 증거력평가가 현재의 동물실험을 대체하기 위해서 통합적시험평가전략(IATA)에 활용될 필요가 있다.

향후 OECD 중요한 도전과제들은 시험전략의 규제 타당성, 여기에서 도출된 시험자료의 상호인정이 될 것으로 예측된다. 결론적으로 상관성분석과 증거력평가만이 규제적 합의사항, 원칙 및 지침서에 기반하고 있다. 규제 타당성을 확보하기 위하여 검증된 시험법들 또한 목적에 따른 적합성을 보여주어야 한다.

#### 다. 품질

비동물평가법을 포함하여 수집된 정보를 평가할 때 고려해야 할 중요한 사항은 시험자료의 품질이다. 시험자료의 평가는 아래의 평가를 포함한다.

- 유해성, 위해성평가 및 분류표시 목적에 충분
- 특정 유해성 확인 및 위해성 결정에 타당
- 결과의 명확성과 타당성에 관한 한 신뢰

기존 시험자료(비임상자료, 물성, 그룹핑, QSARs 및 전문가 시스템, in vitro, 역학자료 및 동물실험) 평가 지침은 CLP 기준 적용에 관한 지침서 (Guidance on the Application of the CLP Criteria, Guidance on IR & CSA) 등에 자세히 기술되어 있다. 시험자료의 품질, 즉 시험지침에 따른 시험자료의 신뢰도는 Klimisch 기준을 사용하여 평가된다. 다른 여타 자료 (예 : QSAR, 상관성분석, 세포실험 등)에 대해서 ECHA는 지침서를 제공하고 있다.

아울러, in vivo와 in vitro 독성자료에 대해 CRED (Criteria for Reporting and Evaluating ecotoxicity Data) 및 ToxRTool (Toxicological data Reliability Assessment Tool)과 같은 틀이 있으며, 시험자료의 본질적인 품질 평가에 도움이 되며 평가과정의 투명성을 높일 수 있다. SciRAP (Science in Risk Assessment and Policy) 틀 기준이 in vivo 독성과 생태독성 문헌자료의 전문가 리뷰 활용을 촉진시키기 위해서 개발되었다.

하나의 독성종말점에 대하여 하나 이상의 연구자료가 존재하는 경우에는 가장 타당성 있고 신뢰도가 높은 자료에 가중치가 높게 부여된다. 품질을 평가하기 위해서 정보는 완결되고 필요한 형태와 수준의 상세한 자료를 보고해야 한다. 정보완결성은 REACH와 BPR 규정에서 가용한 정보와 요구되는 정보사이의 비교에 관한 결론을 말한다.

#### 라. 시험자료 상호인정

최근에 대체시험자료, 특히 통합적시험평가접근법(IATA), 를 이용한 유해성 자료의 국제적 상호인정을 촉진하는 방법에 대해서 활발하게 논의중이다. 아직 OECD 시험자료 상호인정 원칙(MAD, Mutual acceptance of data)<sup>19)</sup>에 정의된 접근방법(DA : defined approaches) 포함에 관한 합의는 아직 이루어지지 않았다. 하지만, 현재 OECD 시험지침에 대해 이루어지고 있는 것과 유사한 방향으로 진행될 수도 있다.

MAD는 원칙적으로 정의된 접근방법(DA)으로 수행된 예측자료들에도 적용이 가능하지만, 여타 표준화되지 않은 방법, 이 경우 불가피하게 평가 과정중에 전문가 판단을 활용하여 일부 증거력 평가를 포함한 경우, 으로 구성된 IATA를 적용하여 도출한 결과에는 적용될 수 없다. OECD는 최근에 MAD 체계내에 DA에 시험지침의 활용가능성에 대해서 조사하는 과제를 포함한 바 있다.

#### 마. 스크리닝 또는 등록자료 요구

유해물질 정보는 다른 규제목적으로 사용될 수 있다. 기본적으로 평가물질 선별 및 우선순위 설정과 유해성 분류와 위해성평가를 위한 기초정보 제공이다. 물질의 안전사용 의무에 따른 시험자료 요구는 일반적으로 추가 평가를 위한 우선순위 설정정보다는 높은 수준의 신뢰도를 요구한다.

선별과 우선순위 설정을 위해 위해우려 때문에 추가적으로 평가될 필요가 있는 물질을 선정하는 것이 중요하다. 사용방법은 빠르고, 값싸고 많은 물질과 특성을 스크린할 수 있어야 한다. 독성기작에 대한 특성의 상세한 통찰을 제공

---

19) 1981년 5월 OECD 이사회는 화학물질의 안전성 평가에 이어서 시험자료상호인정(MAD)을 결정하였다. MAD란 중복시험으로 인한 시간과 비용부담을 덜기 위한 목적으로 OECD 회원국이 OECD GLP 원칙 및 OECD 시험법가이드라인에 따라 실시한 비임상시험 결과를 서로 다른 회원국이 인정하는 것을 말한다.

해줄 수 있는 초고속탐색기술(High throughput technologies)을 활용하고 있는 여러 비동물시험법들이 앞서의 목적으로 사용하기에 적합하다.

다만, 한계점은 복잡한 유해성이 다양한 작용기작에서 기인하고, 이 모든과정들이 현재 상용중인 비동물평가법으로 완전하게 해석될 수 없다는 점이다. 따라서, 특정 작용기작을 조사하는 많은 비동물평가법은 스크리닝 목적에 적합하고 규제 의사결정에 요구되는 유해성을 예측할 수 없다. 스크리닝 목적 활용 사례가 효소활성, 유전자 발현과 수용체 결합 등을 측정하는 방법이 있다.

비동물평가법은 독성영향이 없거나 약한 경우보다 강력한 영향을 나타내는 물질을 더욱 잘 검출할 수 있다. 그리고 이러한 방법들은 아래와 같은 이유로 단지 부분적인 물질정보만을 제시해줄 수 있다.

- 약한 영향을 유발하는 물질은 검출할 수 없다.
- 무해영향이 항상 신뢰 받을 수 없다.
- 해당 방법은 물질 분류에 필요한 정보를 제공해주지 못한다.

비동물평가법이 세포수준에서 단지 특정 작용기작 또는 효과를 다룬다는 사실로 인해 앞서의 한계점이 방법의 적용성 범위에 연계될 수 있는 반면에, 무영향을 결론내기 위해서는 훨씬 정교한 시험전략을 활용하는 방법들이 필요할 수 있다. 무해영향의 독성에 대한 예측은 매우 높은 수준의 신뢰도를 요구하기 때문이다.

특정 종말점에 대한 in chemico/in silico/in vitro 시험자료 외삽의 경우에는 정성적으로 그리고 정량적으로 일정부분 불확실성이 존재한다. 이러한 불확실성으로 인해 독자적인 등록자료보다는 추가적으로 확정단계가 뒤따르는 스크리닝, 우선순위 및 증거력평가 활용에 더욱 적절한 것으로 평가하고 있다.

#### 바. 유해성 확인, 유해성 분류 및 위해성 평가

CLP 규정에 따라 화학물질 분류표시를 위해 모든 적절한 유해성 증거들 (인체, 동물실험, in vitro, in silico)은 증거력 평가에서 분류기준에 따라서 세밀하게 검토되어야 한다. 현존하는 인체 역학자료에 가중치가 더 부여되어야 한다. 하지만 분류기준과 비교 가능한 신뢰성 있는 자료가 부족할 때, 어떤 정보가 어느 정도 분류표시 및 시험자료로 필요한지를 결정하는 것은 상당히 어려운 문제이다. 특히, 분류기준에 적합한 비동물시험 자료 적용이 아직 표준화 되지 않았기 때문이다.



많은 비동물평가법의 제한점 중의 하나가 분류기준의 근거가 되는 in vivo 유해성과 용량반응관계와 연결된 정량적인 정보를 제공할 수 없다는 것이다. 또 다른 문제는 유해성 분류에 비동물시험자료들이 인체 및 동물시험자료와 동일한 가중치를 부여되지 않으며, 모든 범주의 영역을 다룰수 없다는 것이다.

비동물시험자료 사용을 확대하기 위해서 독립적인 또는 대체기준이 설정되어야 한다. 즉, 비동물시험자료에 근거하거나 유해성 예측에 관련된 기준설정이 여기에 해당한다. 유해성예측을 위한 독성시작점을 정의하기 위해서 티핑 포인트<sup>20)</sup>가 개개 비동물시험법에 대해 결정될 필요가 있다.

동물과 비동물시험자료들을 GHS/CLP 기준과 조화시키는 것이 현재 이슈로 대두되고 있다. UN GHS 산하 소위원회는 잠재적으로 비동물시험(예 ; 상관성분석, in vitro 등)에 근거한 기준치 포함을 위해 모든 인체건강기준을 리뷰하고 있다. 피부자극성/부식성을 시작으로 인체건강영향 종말점에 대해 어떻게 비동물시험정보들을 적용할 수 있는지에 대해서 논의하고 있다.

일부 비동물시험법들은 유해성 확인 목적인 경우에는 적용가능하지만, 유해성 분류 및 화학물질군 분류(categorisation)에는 적절하지 않다. 분류 표시 목적에 적합한 유해성 정보는 정량적 또는 정성적 유해성 확인 경우에만 사용될 수 있으며, 위해성평가에는 적절하지 않다. 독성참고치(예: NOAEL, LOAEL, NOEC, EC<sub>10</sub> 등) 도출 없이 피부/눈 자극성, 피부 과민성, 급성 독성 등이 여기에 해당된다.

정성적인 또는 반(半)정량적인 위해성평가가 가능하다. 국소 영향을 평가하기 활용되는 비동물시험법(예 ; 피부 자극성/부식성 등)은 국소적인 안전노출수준 도출 또는 정성적인 위해성평가에 적용가능하다. REACH 및 BPR 시험자료들은 위해성평가 및 유해성 분류에 적합해야 한다. 유해성 의심이 될 때 예측방법을 사용하는 것은 적절한 분류가 가능하다면 규제관점에서 볼 때 타당하다.

과잉 또는 과소분류 가능성을 줄이기 위해 검증되고 보증된(양/음성 대조군)비동물시험법 사용을 하는데 유의해야 한다. 분류표시 및 위해성평가에 관한 한, 등록시험자료와 비동물시험결과 모두 유사한 규제성과를 도출해야 한다. 현재,

---

20) 작은 변화들이 어느 정도 기간을 두고 쌓여, 이제 작은 변화가 하나만 더 일어나도 갑자기 큰 영향을 초래할 수 있는 상태가 된 단계.

고등 종말점에 대한 비동물시험법은 충분히 신뢰할 만한 유해성 확인, 결정 등에 필요한 신뢰할 정도의 예측력을 보여주지 못하고 있다.

#### 사. 비동물시험법 사용 의무

화학물질등록의무자는 과학적인 전문지식, 특정한 경우 비싼 가격, 추가적인 정보요구 우려 등으로 인하여 동물실험을 선호하는 경향이 있다. 하지만, 새로운 평가방법 및 기술을 적용하는데 요구되는 비용이나 경험은 방법이 얼마나 확립되어 있는지와 시간을 단축할 수 있는지에 달려있다. 아울러, 비동물시험법은 더욱 재현성, 예측성이 우수하고 인체 및 환경영향에 적절할 수 있다. 무엇보다도 중요한 사항은 규제목적 사용에 검증된 비동물시험법이 있는 경우에, 과학적인 타당성이 결여되지 않은 한, 등록을 위한 활용은 의무사항이라는 점이다.

ECHA는 등록서류 검토단계에서 동물실험으로 규정된 시험항목을 비동물시험으로 대체하도록 요구하지 않는다. 다만, ECHA는 등록의무자에게 적용가능한 비동물시험법에 대해서 고지해주며, 동물시험이 제안될 경우에 등록자는 비동물시험법에 대한 고려여부 및 타당성에 대한 근거를 요구한다.

ECHA는 새로운 척추동물을 수행여부를 결정하기에 앞서 등록의무자에게 활용가능한 비동물시험법을 고려할 필요가 있다는 점을 적극적으로 권고한다. 또한, 척추동물시험계획서를 제출하기 앞서 어떻게 비동물시험을 고려했는지를 요구한다. BPR 규정에서는 시험계획서는 없지만 등록자는 비동물정보 생산에 대한 고려를 포함하여 자료제출방법에 대해서 관계당국과 논의한다. 등록서류 평가시에 비동물평가법이 위해우려를 적절하게 나타내는 것으로 판단되면 ECHA에서 요구할 수 있다.

#### 아. 시사점

일부 비동물평가법 (예: QSAR 예측)은 일부 시험요구자료에 독립적으로 활용될 수 있지만 아직 모든 항목, 특히 높은 수준의 종말점, 에 대해서는 불가능하다. 이것은 적용 범위, 모든 적절한 종말점 특이적 작용기작의 설명 또는 새로운 기술의 검증/표준화와 관련된 제한점 때문이다.

몇몇 방법을 혼합하는 통합접근법이 반복독성 또는 생식독성 같은 조금 더 복

잡한 항목에 대해서 시도되었고, 증거력평가에 사용되고 있다. 이 경우 비동물 평가법 (NAAs)은 영향 해석을 용이하게 하고 유해성 존재여부 예측을 강화하기 위해 보충적인 정보로 사용되어야 한다. NAAs은 활용가능하지만 현재의 표준시험지침을 따르지 않거나 일부 정보가 결여된 오래된 시험자료를 보충하기 위해서도 사용될 수 있다.

신뢰성있는 NAAs 개발은 쉽지않은 문제이다. 한계와 제한점이 동물시험과는 다르며, 방법, 종말점 등에 따라서 다른 양상과 크기를 보인다. 일부 종말점에 대해서 in vitro / in chemico 시험 또는 단계적 접근법이 대부분의 경우 동물 시험을 필요성을 줄여준다.

많은 새로운 NAAs들이 개발되고 있으며 점차로 많은 in vitro 시험법이 규제목적으로 활용되고 있거나 표준화 과정에 있다. 많은 NAAs들이 그룹핑과 상관성 분석, 증거력평가의 일부분으로 사용될 수 있으며, 물질 특성(예: 내분비계 영향)을 선별(스크리닝)하기 위해서도 활용될 수 있다. 다만, 선별자체는 REACH 및 BPR에서 요구되는 항목은 아니다.

REACH 등록을 위해 가장 많이 활용되는 상관성분석에 관련하여 해당 기술의 활용을 제한하는 주요 이유는 과학적인 타당한 설명과 수용 가능한 보충자료의 부족이다. 동일한 종말점의 시험자료가 하등생물로부터 활용이 가능하다면, 조사 대상과 참고물질의 특성을 비교, 상관성분석에 대한 타당한 과학적 보충 설명을 제공할 수 있는 것으로 인정되고 있다. 예를 들면, 90일 반복독성시험 결과를 상관성분석으로 도출하고자 한다면, 유사구조물질의 28일 자료가 활용될 수 있다.

하지만, 이와 같은 연결고리 정보가 부족하다면 다른 보충적인 정보가 확보되어야 한다. 예를 들면, 대상물질과 참고물질 간 유사한 작용기작, 동일한 체내 목표 기관 등이 여기에 해당된다. 모든 경우에 연결고리 정보들은 두 물질간 유사한 독성을 나타낸다는 충분한 신뢰도를 가지고 있어야 한다. 유사한 방법과 변수를 사용하여 연결고리 정보가 생산되어야 하는 점도 유의해야 한다.

NAAs 활용성을 강화하기 위해 해결되어야 할 주요 요소들은 다음과 같다.

- 생산된 정보의 적용성에 대한 신뢰성/명확성을 제고
- 종말점 특이적 표준화/검증된 NAAs 개발

- NAAs 시험자료 사용을 표준화하기 위한 기준 합의

현재의 GHS/CLP 기준과 같은 표준화된 프레임워크에서는 NAA 정보 사용이 어려울 수 있다. 완전한 동물실험 대체를 위해서는 예를 들면, 현행 유해성분 류기준에 더해서 새로운 GHS/CLP in vitro 작용기작 유해성 분류기준과 같은 현재의 규제 접근법의 변경이 제안되고 있다. 이 경우에 많은 물질들을 in silico 및 in vitro 시험결과에 기반하여 유해성 분류가 가능할 것이다.

종합적으로 중요한 것은 국제적으로 인증된 표준화/검증된 시험법과 평가기법들이다. 현재의 NAAs는 증거를 뒷받침하는 방식으로 종말점 특이적 체내 주요 반응을 반영하는 검증된 시험법을 적용하는 단계적, 지능형 시험전략을 위주로 하고 있다. 이러한 전략은 일정부분 조직내 반응과 대사를 설명할 수 있다. 적절하다면, 이러한 전략은 규제 의사 결정을 뒷받침하는데 활용될 수 있다. 개발 단계별로 또는 이미 규제목적에 적용가능한 NAAs 인벤토리 구축이 궁극적으로는 규제목적에 더욱 적합한 NAAs 개발을 촉진하고 적용성을 강화할 것이다.

## IV. 결론 및 정책제언

최근에 화학물질 위해성평가 분야에서 비동물실험으로 척추동물실험을 대체하려는 많은 노력이 있었다. 통합시험평가 (Intergrated approach to testing and assement) 및 독성발현경로 (Adverse outcome pathway) 기법 등 독성평가를 위해 다양한 비동물 기법(NAAs) 개발에 성과를 이루었다. 위와 같은 과학적인 진보는 일부 동물실험 축소의 결과로 나타났고 우리나라, EU 등 각국에서 적극적으로 동물실험 3Rs 원칙을 추진해날 갈 수 있는 원동력이 되었다.

NAAs 기법개발에 관한 국제적인 협력을 통해 일부 시험자료, 예를 들면 피부 자극/부식, 눈 손상/자극, 피부 과민성, 의 경우는 세포, IATA 및 AOP 개념 같은 NAAs 기법이 규제당국에 의해 인정되고 있고, 이미 우리나라를 포함하여 각국 관련 법령(시험지침)에 도입이 되어 있다.

현재 화학물질 등록시험자료들 대부분이 동물실험에 의존하고 있지만 현행 우리나라 화평법 및 EU REACH 법령에서는 최후의 수단임을 강조하고 있다. 아울러, 일부 변형된 대체평가기법, 예를 들면 상관성분석, 증거력평가도 허용하고 있다. 다만, 우리나라의 경우 EU에 비해서 상대적으로 등록 등에 실제 활용도가 저조하므로 관련 인프라를 확대하여 산업계 등에 확산시킬 필요성이 있다.

일반적으로 변형기법은 낮은 수준의 독성종말점, 단순한 독성기작을 가진 물질 예측 등에 더욱 효과적인 것으로 평가된다. 다만, 아직 규제적용 가능여부에 대해 일부 논란 및 우려 등이 있는 것도 사실이다. 그럼에도 불구하고, NAAs 시험자료들은 상관성 분석 등을 위한 보충자료로 제한적으로 사용할 수 있는 것으로 평가받고 있다.

한편, 분류표시(CLP) 규정의 경우에 유해성분류에 필요한 정보는 독성등급에 따라 구분하며 범주는 다음 정보에 의해 구분이 된다.

- 약 영향 유발 용량이나 농도(급성독성, 피부 과민성 및 국소 독성)
- 독성영향의 심각성 정도(피부 부식/자극성, 눈 손상/자극성)
- 독성영향에 관한 증거의 크기(유전독성, 발암성, 생식독성)

일반적으로 분류기준이 인간이나 동물시험자료를 의미하므로 현재시점에서 NAAs 시험자료로 외삽·비교하는 단계에서 여러 문제가 발생할 수 있다.

동물실험결과는 REACH 및 살생물제(BPR) 규정에서 인체물질의 노출에 따른 안전수준을 평가하기 위한 출발점을 제공해준다. REACH에서는 무영향수준값(Derived no-effect levels ; DNELs) 및 예측무영향농도(Predicted no-effect concentrations ; PNECs), BPR에서는 허용노출수준(Acceptable exposure levels ; AELs)이 산출된다. 일부 국소영향에 대해 NAAs 시험자료로 산출가능한 반면에 전신독성 산출시에는 여러 문제점을 발생하는 것으로 알려져 있다.

이것은 일부 NAAs는 정량적인 정보 생산이 곤란하고 특히, 만성독성 등 전신독성종말점의 경우에 NAAs에서 생체내(in vivo) 수준으로 외삽이 어렵기 때문이다. 앞서의 제한점에 불구하고 향후 세포주, 오가노이드 등 더욱 많은 대체시험법 모델이 개발될 것으로 전망된다. 우리나라도 EU, OECD 등 관련 작업반에 적극 참여하여 국제적인 패러다임 전환 흐름에 선제적으로 적절한 대응이 요구된다.

전신독성을 대체할 수 있는 NAAs는 가까운 장래에 개발되기가 쉽지 않을 것으로 예상되나, 변형기법들이 현재 활발하게 새로운 동물실험 수요를 줄이는데 유용하게 활용되고 있다. 현재 활발한 국제적인 연구 추진에 불구하고, 복잡한 전신독성 종말점을 대체할 수 있는 NAAs는 아직 없다. NAAs의 명확한 특성도 아직 확립되어 있지 않다.

아울러, 예를 들면 용량반응 관계 및 악영향 등 현행 동물실험과 같은 수준의 정보를 제공하는 것도 어렵다. 다만, 우리나라 화학 관련 법령 이행(등록)과 별도로 규제 우선순위 선정을 위한 스크리닝 목적으로 NAAs은 독성기작, 생물유용성, 체내의 노출 등에 유용한 정보를 제공해줄 수 있으므로 적극적으로 평가기법을 국내에 도입하여 활용할 필요가 있다.

국제적으로 새로운 NAAs, 예를 들면 세포 마이크로시스템(in vitro microsystem)와 고효율시스템(high-throughput<sup>21)</sup>/high-content methods<sup>22)</sup>, 개발진행중에 있으며, 기존 NAAs 보다 더욱 독성기작에 대한 심층적인 정보 제공을 목표로 하고 있다. 하지만 표준화, 특히 결과 해석 및 검증, 가 규제목적으로 활용에 앞서 선결조건이다. 예를 들면, CLP 규정에서 유해성 또는 독성 분류에 관한 정보를 직접

21) High-throughput screening (HTS) ; 생화학적, 유전적 또는 약리학적 검사를 신속하게 수행하기 위해 데이터 처리, 제어 소프트웨어 및 자동화 운영 플랫폼을 포함하는 방법, 일반적으로 동시에 많은 물질 테스트가 가능함.

22) High-content method (HCM) : HCM 방식이란 High-content screening method(HCS) 또는 High-content analysis를 말함. 다중 매개변수 이미지 처리 및 시각화 도구를 사용하여 세포군집의 정량적 데이터를 추출하는 자동화된 현미경 검사법,

적으로 제공하지 않는 NAAs로부터 증거 사용방법에 대한 명확화 또는 위해성 평가시 무영향 수준을 결정할 수 있는 방법 제시 등이 해결되어야 한다.

규제목적으로 NAAs 확대를 위해서는 NAAs 결과가 현행 독성 분류 또는 위해성 평가가 인체나 동물에 미치는 영향 정보를 토대로 이루어지고 있음을 고려하여 어떻게 규제 목적으로 적용될 수 있는지 광범위한 연구개발 프로그램<sup>23)</sup>이 유럽 연합을 중심으로 진행중이다.

아울러, 유럽연합 산하 동물대체시험법 검증 및 평가기관 (EURL ECVAM) 주도로 산학관련 간 정보공유 및 확산을 위한 플랫폼 구축 사업<sup>24)</sup>도 활발하게 시행중이다. 관련 규제 적합성과 과학적 성과물의 우리나라로 신속한 확산을 담보하기 위한 국내 연구계 및 정책당국간 지속적인 소통과 대화 채널 구축과 국내 중장기 연구개발 사업과의 접목이 중요할 것으로 판단된다.

마지막으로 우리나라도 EU 정책사례를 참고하여 비동물평가기법의 개발 촉진과 확산을 위한 정부의 지원과 실행방안 제공 등에 아래와 같은 일관성 있는 입장을 견지해 나가는 것이 궁극적으로 국내에 신속한 개발과 적용을 촉진시키는 많은 도움이 될 것이다.

- 적용가능한 NAA 평가 정보를 활용할 수 있는 최적의 기법을 탐색하기 위한 국제적 협력을 강화하고 과학적 진보를 규제 영역에 수용.
- NAA 정보의 위해성 분류 적용 방안에 관한 국제 포럼 등 논의에 적극 참여.
- NAA 동향에 관한 최신 정보, 지침서 및 웹사이트 등 정기적으로 제공을 통해 국내 등록의무자(산업계)의 규제 이행에 대한 정보 제공 및 이해도 제고.
- 국내 화학물질평가 담당자, 과학계 및 이해당사자 등에게 NAA의 지속적인 환기 및 활성화 노력 지원.
- EU, OECD 등 국제적인 NAA 관련 법령의 개정 동향 등에 대한 국내 이해관계자에게 지속적인 과학적, 기술적 대응방안 지원.

23) SEURAT-1 ([www.seurat-1.eu](http://www.seurat-1.eu)), EU-ToxRisk ([www.eu-toxrisk.eu](http://www.eu-toxrisk.eu)), EuroMix ([www.euromixproject.eu](http://www.euromixproject.eu)), EDC-MixRisk (<http://edcmixrisk.ki.se/>), HBM4EU ([www.hbm4eu.eu](http://www.hbm4eu.eu))

24) BEAMS (BridgE Across Methods in bioSciences)

1. Animal testing under REACH :

<http://echa.europa.eu/web/guest/chemicals-in-ourlife/animal-testing-under-reach>

2. The use of alternatives to testing on animals for the REACH Regulation (2020) :

<https://echa.europa.eu/about-us/the-waywe-work/plans-and-reports?panel=animaltesting-reports#animal-testing-reports>

3. How to avoid unnecessary testing on animals : <https://echa.europa.eu/support/registration/how-to-avoid-unnecessarytesting-on-animals>

4. Practical guide: How to use alternatives to animal testing :

<https://echa.europa.eu/practical-guides>

5. OECD and EU test guidelines :

<https://echa.europa.eu/support/oecd-eutest-guideline>



**붙임 2**

**비동물시험법 관련 국외기관**

기관명	국가	웹사이트
OECD (Organization for Economic Cooperation and Development)		- 화학물질 평가 표준지침 제정 및 관련 지침서 제공 - <a href="http://www.oecd.org/env/ehs/testing">www.oecd.org/env/ehs/testing</a>
EPA (Environmental Protection Agency)	미국	- 유해물질에 관한 법, 지침, 시험법 등 제정 - <a href="http://www.epa.org">www.epa.org</a>
NICEATM / ICCVAM (NTP Interagency center for the Evaluation of Alternative toxicological methods / Interagency Coordination Committee on the Validation of Alternative methods)	미국	- (NTP) 동물대체시험법 개발 및 평가 - (ICCVAM) 16개 연방정부기관 협의체 - <a href="http://ntp.niehs.nih.gov">http://ntp.niehs.nih.gov</a>
EURL ECVAM (European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing)	유럽연합	- 동물대체시험법 개발 및 평가 - <a href="http://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam">http://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam</a>
JaCVAM (Japanese Center for Validation of Alternative Methods)	일본	- 동물대체시험법 개발 및 평가 - <a href="http://jacvam.jp/en">http://jacvam.jp/en</a>
ICH (The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)	국제기구	- 제약분야 국제표준시험법 개발 및 평가 - <a href="http://ich.org.ich01.nine.ch">http://ich.org.ich01.nine.ch</a>
Alttox-Nonanimal methods for toxicity testing	미국	- 동물대체시험법 정보공유 포럼 - <a href="http://alttox.org">http://alttox.org</a>
Francopa	프랑스	- 동물대체시험법 플랫폼 - <a href="http://www.francopa.fr">http://www.francopa.fr</a>
ISO (International Organization for Standardization)	국제기구	- 국제표준화기구 - <a href="http://www.iso.org">http://www.iso.org</a>
BraCVAM (Brazillan Center for Validation of Alternative Methods)	브라질	- 동물대체시험법 개발 및 평가 - <a href="http://www.incqs.fiocruz.br">http://www.incqs.fiocruz.br</a>
TSAR (Tracking Systems for Alternative methods towards Regulatory acceptance)	유럽연합	- 유럽연합 동물대체시험 공동연구소 - <a href="http://tsar.jrc.ec.europa.eu">http://tsar.jrc.ec.europa.eu</a>

기관명	국가	웹사이트
DB-ALM (DataBase Service on Alternative Methods to animal experimentation)	유럽연합	- ECVAM - <a href="http://cidportal.jrc.ec.europa.eu">http://cidportal.jrc.ec.europa.eu</a>
Watchfrog	프랑스	- 내분비계장애물질 관련 대체시험법 개발 - <a href="http://watchfrog.fr">http://watchfrog.fr</a>
PubChem Bioassays	미국	- NIH(국립보건원) 공공 DB - <a href="http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov">http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov</a>
ToxCast (toxicity forecaster) and Tox21 (Toxicity testing in the 21 <sup>st</sup> Century)	미국	- EPA 연구개발 프로그램 - <a href="http://www.epa.org">www.epa.org</a>
National Center for Computational Toxicology (NCCT)	미국	- EPA 산하 연구소
BioAssay Research Database (BARD)		- 데이터베이스
OpenFoodTox		- 유럽연합 식품안전청(EFSA) 운영 - <a href="http://www.efsa.europa.eu/en">http://www.efsa.europa.eu/en</a>
Toxin and Toxin Target Database (the Toxic Exposome Database, T3DB)	캐나다	- 생물정보학 정보 제공 - <a href="http://www.t3db.ca">http://www.t3db.ca</a>
Toxicology Network	미국	- 국립의학도서관 정보 제공 - <a href="http://www.nlm.nih.gov/toxnet">http://www.nlm.nih.gov/toxnet</a>
CompTox	미국	- EPA 데이터베이스 - <a href="http://comptox.epa.gov/dashboard">http://comptox.epa.gov/dashboard</a>
The Adverse Outcome Pathway (AOP) Wiki (AOP-Wiki)		- OECD 독성발현경로 프로그램 포털 - <a href="http://aopwiki.org">http://aopwiki.org</a>