

생식 · 발생독성시험의 방법적 고찰과 최신 연구 동향

곽승준 · 조대현
국립독성연구원

The Recommended Approaches and Recent Trends in Reproductive and Developmental Toxicology

Seung Jun Kwack and Dae Hyun Cho

National Institute of Toxicological Research, #5, Nokbun-dong, Eunpyung-gu, Seoul 122-704, Korea

Received November 24, 2005; Accepted December 15, 2005

ABSTRACT. Reproductive and developmental toxicology is concerned with various physical or chemical agents interfering with fertility in both gender or normal growth of offsprings. Reproductive and developmental toxicology is rather a complex science, with many fields, i.e., various endpoints are involved and many different mechanisms of action. For that reason, diverse aspects must be considered when attempting to assess possible adverse health effects in the area of reproductive and developmental toxicology. The thalidomide tragedy made it clear to regulatory authorities around the world that systematic, comprehensive evaluation of the reproductive cycle was needed to adequately evaluate the potential of medicinal drugs to impair the process of reproduction or the development of embryos, fetuses, and children. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) and U.S. Food and Drug Administration (FDA) developed a guideline to assess the reproductive and developmental toxicity. Also these guidelines have since been applied to the detection and regulation of environmental toxicants, food additives, and so on. Although it was hoped that testing procedures of guideline would be updated constantly to reflect the current state of the science in reproductive and developmental toxicology, it was not until this decade that regulatory guidelines and testing methods have been altered in a significant way. In this paper, we would like to present the recommended approaches and recent trends for improvement of testing guidelines or experimental methods in reproductive and developmental toxicology.

Keywords: Reproductive and developmental toxicology, Guideline, Recent trends.

서 론

과학 및 산업의 발달로 현대사회는 고도 성장을 이루었으나 이에 따른 환경의 파괴와 인류의 피해도 적지 않다. 수많은 유해물질들이 인류의 건강을 위협하고 있으며, 특히 생식 · 발생독성을 나타내는 유해물질들은 인류의 미래에 큰 영향을 미칠 수 있다. 생식 · 발생독성은 친세대의 생식능 또는 차세대의 발달에 유해영향을 미치는 물질들

과 관련이 있다. 유해영향은 남성의 정자생성을 저해하는 것처럼 직접적으로(예 : 1,2-dibromo-3-chloropropane, DBCP), 또는 성호르몬의 항상성을 저해하여 유해영향을 나타내는 것처럼 간접적으로(예 : phthalate ester) 나타날 수 있다(Grasso *et al.*, 1993; Kawaguchi *et al.*, 2002; Meistrich *et al.*, 2003). 따라서 대상물질의 생식 · 발생독성을 평가하기 위해서는 다양한 실험방법과 평가항목이 요구되며, 각각의 실험결과를 종합적으로 판단하여 유해영향을 결정해야 한다. 생식 · 발생독성 평가방법은 ICH 가이드라인, 미국 FDA 규정, 대한민국 식품의약품안전청(KFDA) 규정 등 국가별 규정이 따로 있지만 대부분 유사한 내용으로 구성이 되었다. 우리나라의 경우 식품의

Correspondence to: Dae Hyun Cho, National Institute of Toxicological Research, #5, Nokbun-dong, Eunpyung-gu, Seoul 122-704, Korea
E-mail: dhcho@kfda.go.kr

약품안전청고시 「의약품등의 독성시험기준」에 “생식·발생독성시험”에 대한 내용이 규정되어 있으며, 이 내용은 ICH 가이드라인과 유사하다. 하지만 이 시험방법은 수십 년 전부터 사용되었던 것으로 최근의 새로운 연구기법 또는 명확한 독성기전 규명을 위한 평가항목 등에 대한 보완이 필요한 실정이다. 최근 사회적으로 문제가 되었던 내분비계장애물질의 경우처럼 호르몬과 관련한 시험법이 필요한 경우도 있으며, 유전자재조합식품처럼 다세대 독성시험이 요구되는 경우도 있다. 또한 DNA나 RNA와 같은 유전체 발현을 이용한 시험법, 단백질 발현을 이용한 시험법, 시스템생물학을 이용한 평가방법 등 최신 실험기법들에 대한 반영 여부도 하나의 관심사가 되고 있다. 본 미니총설(Mini-review)에서는 국내외 생식·발생독성시험 기준, 최근 관련 연구 동향 및 시험방법 등에 대하여 예를 들어 설명하고자 하였다.

국내외 생식·발생독성시험기준

국내 시험기준

우리나라의 경우 생식·발생독성시험기준은 “식품의약품안전청고시 제2005-601호, 2005. 10. 21” 「의약품등의 독성시험기준」에 따라 실시하고 있다. 이 규정은 약사법 제26조 및 34조, 같은 법 시행규칙 제23조, 제27조 및 제83조 제1항, 의약품등의 안전성·유효성심사에 관한 규정 제6조 제1항 제4호에 의거하여 비임상 독성시험의 표준적인 실시방법에 따라 시험결과와 신뢰성을 확보하도록 하고 있다. 이 규정에 따라 실시하는 생식·발생독성시

험은 연속적인 생식·발생과정을 다음의 단계로 세분화하여 한 세대의 수정에서부터 다음 세대의 수정까지 지속적인 관찰을 목적으로 하고 있다.

- 1) 교배 전에서 수정까지(성숙한 암·수동물의 생식능, 배우자의 발생 및 성숙, 교미행동, 수정)
- 2) 수정에서 착상까지(성숙한 암컷동물의 생식기능, 착상 전 발생, 착상)
- 3) 착상에서 경구개가 닫히는 시기까지(성숙한 암컷동물의 생식기능, 배자 발생, 주요기관의 형성)
- 4) 경구개가 닫히는 시기에서 임신종료까지(성숙한 암컷동물의 생식기능, 태자의 발생과 성장, 기관 발생과 발달)
- 5) 출생에서 이유까지(성숙한 암컷동물의 생식기능, 출생자의 출생 후 생활에 대한 적응, 이유 발달과 성장)
- 6) 이유에서 성적 성숙까지(이유 후 발달과 성장, 독자적인 생활적응, 완전한 성기능의 확립)

시험방법은 가장 일반적으로 표준시험법(Most probable option)이 권장되고 있다. 이 시험방법은 1) 수태능 및 초기배 발생시험, 2) 출생 전·후 발생 및 모체기능시험, 3) 배·태자 발생에 미치는 영향시험으로 구성되어 있으며 각 시험의 평가항목, 투여기간 및 관찰항목 등은 「표 1」에 정리하였다. 수태능 및 초기배 발생시험은 암·수 동물에 대하여 교배 전부터 교미, 착상까지 시험물질을 투여하여 나타나는 독성 및 장애의 검사를 목적으로 암컷에서는 성주기, 수정, 난관 내 수송, 착상 및 착상 전 단계의 배자발생에 미치는 영향을 검사하고, 수컷에서는 생식기관에 대한 병리조직검사에서 검출되지 않는 기능적인 영향(성적 충동, 부고환 내 정자성숙) 등을 검사한다. 출생 전·후 발

표 1. KFDA의 생식·발생독성시험법(표준시험법 기준)

시험법	구성	평가항목	투여기간	관찰항목*
표준시험법	수태능 및 초기배 발생**	생식세포의 성숙 교미행동 수정 배자의 착상전 단계 착상	암컷 : 교배 전 2주~착상까지 수컷 : 교배 전 4주~임신확인까지***	황체수 및 착상수 생존 및 사망배(태)자수
	출생 전·후 발생 및 모체기능	비임신 암컷 동물과 비교할 때 독성 영향 출생 전·후의 배·태자 및 차산자의 사망 성장 및 발달의 변화 행동, 성성숙 및 생식기능(차세대)을 포함한 차산자의 기능장애	착상부터 이유기까지	임신기간 및 분만상태 착상 형태이상 출산 시 체중 및 생존율 이유 전·후의 생존율성 장, 체중 성숙 및 수태능 감각기능 및 반사기능 운동 및 학습기능의 발달
	배·태자 발생에 미치는 영향	비임신 암컷 동물과 비교할 때 독성 영향 배·태자의 사망 성장의 변화 형태학적인 변화	착상부터 경구개의 폐쇄까지	황체수, 생존태자수 사망 배·태자수태자의 개체 체중태자의 이상

* 일반증상 및 사망여부, 체중 및 체중변화량, 사료섭취량, 부검시 육안적 관찰, 관련조직의 보관은 각 시험의 공통 관찰 항목임.

** 정자검사는 관찰된 영향을 확인 또는 상세한 결과를 얻기 위하여 실시 가능.

*** 4주간의 반복투여독성시험에서 생식장기에 대한 영향이 없다고 판단될 경우.

생 및 모체기능시험은 암컷에 착상부터 이유까지 시험물질을 노출시켜 임신/수유기의 암컷, 수태산물 및 차산자의 발생에 미치는 독성 검사를 목적으로 차산자의 성적 성숙기까지 관찰한다. 배·태자 발생시험은 착상부터 경구개개 폐쇄되는 시기까지 임신 중의 암컷에 시험물질을 투여하여 모체와 배·태자의 발생에 미치는 영향을 검사한다. 배·태자 발생시험은 다른 시험과 달리 실험동물을 2종 이상 사용하여야 하며, 1종은 설치류로 랫드가 권장되고 다른 1종은 비설치류로 토끼나 개가 사용된다. 일반적으로 생식·발생독성시험에서는 표준시험법이 사용되고 있으나, 시험계획, 시험물질, 평가목적에 따라 시험방법의 조합이 가능하다. 중요한 점은 전체적으로 생식·발생과정의 모든 단계에 걸쳐 직접 또는 간접적인 평가가 이루어져야 하며, 선택한 시험방법의 타당성이 검증되어야 한다. 표준시험법 외에 단일시험법(Single study design)과 조합시험법(Two study design)이 실시될 수 있다. 단일시험법은 수태능 및 초기배 발생시험과 출생 전·후 발생 및 모체기능시험의 투여기간을 하나로 통합하여 실시하는 것으로, 이 시험에서 태자검사를 실시하여 충분히 높은 용량에서도 명백하게 독성영향이 나타나지 않는 경우에는 더 이상의 추가시험이 요구되지 않는다. 조합시험법은 수태능 및 초기배 발생시험과 태자검사를 포함한 출생 전·후 발생 및 모체기능시험 간의 조합, 또는 수태능 및 초기배 발생시험에서 암컷 동물에 대한 투여를 경구개의 폐쇄까지 계속하고 태자를 검사하는 시험과 출생 전·후 발생 및 모체기능시험을 조합하는 방법 등 각 시험의 조합에 따라 시험방법이 달라질 수 있다. 표준시험법에서 요구되는 제2종 동물에 대한 배·태자 발생시험은 단일시험법 및 조합시험법에서도 반드시 실시되어야 한다. KFDA의 생식·발생독성시험은 외국의 경우와 비교할 때, ICH 가이드라인과 매우 유사하게 구성되어 있다.

국외 시험기준

외국의 경우 생식·발생독성시험기준으로 사용되는 규정 중 가장 대표적인 것은 미국 FDA 규정과 ICH 가이드라인이다.

미국 FDA는 1959년에 처음으로 생식·발생독성시험에 대한 규정을 발표하였으나 이 시험법은 반복투여독성시험을 기본으로 3세대까지 평가하는 내용이었으며, 현재의 규정 내용은 1966년에 완성되었다. 미국 FDA는 생식·발생독성시험을 위한 평가 단계를 Segment I, II, III로 명명하여 다음과 같이 구분하고 있다(Collins *et al.*, 1999a, b).

- 1) Segment I - Fertility and General Reproductive Performance
- 2) Segment II - Embryo-Fetal Development(Teratology)
- 3) Segment III - Perinatal/Postnatal Evaluation

각 segment에 해당되는 시험내용은 KFDA의 독성시험기준에 따르는 항목과 거의 같다.

ICH는 미국, 일본, 유럽연합이 주도하여 의약품 허가에 필요한 과학적 기술적 요구사항에 대한 합의를 위해 1990년 설립된 국제회의 기구로서, 미국 FDA, 일본 노동후생성(Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan, MHLW), 유럽연합(EC-EU) 등의 국가 규제기관과 Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA), Japan Pharmaceutical Manufacturers Association(JPMA), European Federation of Pharmaceutical Industries Association(EFPIA) 등의 제약 관련 단체 및 International Federation of Pharmaceutical Manufacturers Association(IFPMA)가 참여하고 있다. ICH에서 제시하는 생식·발생독성시험 가이드라인은 세계 각국에서 많이 활용되고 있으며 우리나라의 시험기준도 ICH 가이드라인에 따라 제정되었다. ICH 가이드라인에

표 2. ICH 가이드라인에 따른 미국 FDA와 국가별 생식·발생독성시험기준 비교

미국 FDA 구분	규제 국가			
	미국 FDA	영국	유럽연합	일본
ICH 가이드라인 구분				
Segment I				
투여기간	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B
평가기간	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D
Segment II				
투여기간	C	C	C	C+1/2D
평가기간	C, D	C, D	C, D	C, D, E, F
Segment III				
투여기간	D, E	D, E	D, E	1/2D, E
평가기간	D, E	D, E	D, E	1/2D, E, F

A, pre mating to conception; B, conception to implantation; C, implantation to closure of the hard palate; D, closure of the hard palate to the end of pregnancy; E, birth to weaning; F, weaning to sexual maturity.

따르면 생식·발생과정을 다음과 같이 6단계로 세분화하여 평가하도록 되어 있다.

- 1) Stage A - Premating to Conception
- 2) Stage B - Conception to Implantation
- 3) Stage C - Implantation to Closure of the Hard Palate
- 4) Stage D - Closure of the Hard Palate to the End of Pregnancy
- 5) Stage E - Birth to Weaning
- 6) Stage F - Weaning to Sexual Maturity

ICH, 미국 FDA 가이드라인 외에도 영국, 유럽연합, 일본 등도 독자적인 가이드라인을 갖고 있으나, 시험물질의 투여기간 또는 평가기간 간의 차이가 있을 뿐 대부분 유사한 내용으로 구성되어 있다(표 2).

이와 같은 생식·발생독성시험기준은 의약품 외에 살충제 또는 산업화학물질 등에 대한 시험방법 및 평가항목의 개선을 목적으로 여러 규제기관에서 추가적인 변경이 진행되어 왔다. 1991년 미국 EPA(Environmental Protection Agency)에서는 신경발달에 대한 독성시험방법(EPA, 1991) 및 살충제에 대한 시험방법(EPA, 1998)의 개선을 제시하였으며, 미국 FDA는 의약품의 소아에 대한 평가시험기준(FDA, 1998) 및 식품첨가물 및 착색제에 대한 시험방법(FDA, 2000) 등을 제시하였다.

최근 연구동향 및 시험방법

1970년대에는 대부분의 생식·발생독성연구는 정부 규제기관 및 산업계에 의해 주도적으로 수행되었으며 독성영향에 대한 서술적 결과 또는 생물학적 지표의 확인이 주된 목적이었다(Boekelheide and Chapin, 1997). 1980년대에는 기존 독성시험 결과 자료와 그 자료를 이용한 기전연구의 발달로 많은 정보들이 생산되었다. 이후 생식·발생독성연구는 1990년대 중반에 내분비계장애물질(또는 환경호르몬)에 대한 사회적 관심에 의해 관련 연구자의 양적 증가 외에도 연구대상물질, 연구방법의 개발 등에서 많은 발전이 있었다. 21세기에 이르러서도 생식·발생독성연구에 대한 새로운 변화 및 발전에 대한 요구는 끊임없이 요구되고 있다.

2003년도 미국 NTP(National Toxicology Program)의 통계조사에 따르면 현재 약 80,000여개의 화학물질이 상업적으로 사용되고 있으며, 매년 2,000여개의 신종 화학물질이 증가하고 있다. 또한 식품·의약품 산업의 발달, 시장개방의 확대 및 환경오염의 증가로 인한 새로운 개념의 식품·의약품(유전자재조합식품, 바이오제품) 및 신종 위해가능물질(신종 마약류, 식품첨가물 및 산업환경화학물질)

등이 급격히 증가하고 있어 이에 대한 안전성평가가 시급히 요구되고 있다. 기존의 국내·외 독성시험기준에 의해 각각의 독성영향에 대한 평가가 이루어지고 있으나 시험결과의 판정에 대한 모호성, 평가항목의 부족, 시험방법에 대한 요구 등의 문제가 대두되고 있는 실정이다.

최근 2~3년 동안 생식·발생독성 관련 학회에서 발표된 연구내용을 살펴보면 기존의 생식·발생독성시험에 대한 세부적이고 구체적인 시험방법의 제시(예: 고환독성 평가법, 유전자재조합식품에 대한 시험법 등) 및 'omics' 관련 기술 등 첨단기술을 이용한 많은 연구들이 발표되고 있으며, 최종적으로는 세포신호전달체계, 생물정보학, 유전자기능 검색 등이 종합된 시스템 생물학(Systems biology)을 이용한 생식·발생독성에 대한 전반적인 이해를 목적으로 하고 있다(Andersen *et al.*, 2005). 화학물질의 노출에 따른 독성영향을 예측하기 위한 세포신호전달체계 모델 개발 등 시스템 생물학은 독성분야에 통합적인 연구방법을 제시하고 있으며, 유전자발현을 이용한 검색법, 생물정보학 기법 및 네트워크 작성 기법(Network mapping technology) 등은 세포신호전달체계 모델을 구체화 시킬 수 있는 관련 기술이다.

KFDA의 생식·발생독성시험기준에 의하면 정자검사는 관찰된 영향의 확인 또는 상세한 결과를 얻기 위한 경우에 실시하도록 되어 있으나, 수컷의 생식기능은 여러 가지의 약물이나 유해물질에 의해 손상받기 쉽고, 그 중 고환은 가장 민감한 장기 중의 하나이다(Overstreet *et al.*, 1988). 최근 사람에 있어서 정자생산 능력과 생식능력의 감소가 전 세계적인 문제가 되고 있으며, 특히 내분비계 장애물질과 같은 환경오염물질에 의한 노출은 심각한 사회문제로 대두되고 있다. 생식·발생독성시험 중 고환독성 평가에 대한 중요성이 강조되면서 규제기관의 가이드라인에도 권고 또는 직접적인 삽입이 이루어지고 있다(Lanning *et al.*, 2002; ICH Guidelines(S5A), 1996, 2000). 또한 세부적이고 구체적인 방법으로 정자생성 주기법 등을 이용한 고환독성 평가법이 요구되고 있다(Son *et al.*, 2003).

유전자재조합식품은 1994년 미국 Calgene사에서 성숙 시기를 조절한 토마토를 개발하여 상품화한 이후에 콩, 옥수수 등으로 확대되어 수많은 식품 또는 그 식품원료가 사용되고 있다. 식품에 대한 안전성 평가의 경우, 전통적인 식품은 독성시험이 요구되지 않고 유해물질의 허용농도 규제 정도가 검사되고 있으며, 식품첨가물이나 잔류농약과 같은 경우는 식품 자체가 아닌 그 물질에 대한 독성시험으로 평가되고 있다. 그러나 유전자재조합식품의 경우 기존의 독성시험기준에 의한 평가법 및 위해성평가 과정의 적용이 어렵기 때문에 새로운 접근 방법이 요구되고 있다. OECD에서는 유전자재조합식품에 대한 기존 식

품과의 실질적 동등성을 고려하여 안전성을 평가하도록 권고하고 있으나, 비임상시험에서도 동물실험에 대해 시험물질의 투여기간, 투여량, 평가항목 등에 대한 논란이 있다. 최근 유전자재조합식품의 유전자 이동 가능성, 생식·발생독성, 다음 세대에 미치는 영향 등을 평가하기 위한 다세대 생식·발생독성시험이 수행되어 유전자재조합식품의 안전성평가에 대한 방법을 제시하였다(Rhee *et al.*, 2005).

이처럼 기존의 생식·발생독성시험에 대한 새로운 또는 추가적이고 세부적인 시험법의 요구는 인체에 대한 안전성을 최우선적으로 고려하여 가장 과학적인 근거에 의한 평가를 수행하고자 하는 노력의 일환으로 이해되어야 할 것이다.

대상물질들에 대해 생식·발생독성이 확인되고 그 특성이 밝혀지면서 유해영향을 나타내는 원인 규명이 필요함에 따라, 그 물질이 영향을 미치는 표적장기 또는 세포, 생체 내 생물학적 경로 등을 확인하는 기전연구의 중요성이 부각되고 있다. 여러 분야에서 광범위하게 이용되고 있는 분자생물학적 기법이 생식·발생독성의 기전연구에도 많은 도움이 되고 있으며, 또한 실험동물 분야에서 개발된 형질전환동물들(Transgenic animal)도 이러한 연구에 적지 않은 기여를 하고 있다(Rulli *et al.*, 2003; Froment *et al.*, 2004).

첨단기술을 이용한 생식·발생독성 평가법도 지속적으로 개발되고 있다. 생식장기의 경우 여러 종류의 세포로 구성되어 있어 시험물질에 의한 영향을 개별적인 세포의 수준에서 관찰하기 어려웠으나, 'Laser capture' 기술의 개발로 표본장기로부터 원하는 세포만을 단독으로 분리하여 관찰할 수 있게 되었다(Li *et al.*, 2005). 또한 'DNA microarray'와 같은 기술은 시험물질에 의한 영향을 유전자 단계에서 대량으로 신속하게 검색하고, 변화된 유전자들에 의한 생체 내 생물학적 경로의 확인이 가능해짐에 따라 위해가능물질의 'Screening' 방법에 매우 큰 변화를 초래하였다(Endo *et al.*, 2002; Daston and Naciff, 2005). 'Laser capture'나 'DNA microarray'와 같이 많이 발전하지는 않았지만 'Proteomics'와 관련된 기술들도 생식·발생독성연구에 큰 기여를 할 것으로 기대되고 있다. 이 기술이 상용화되면 독성영향과 관련된 단백질 또는 펩타이드의 분석이 가능해짐으로써 관련 유전자와의 상관성 연구 및 세포 내 분자적 기전 연구에도 매우 유용할 것으로 사료된다(Brewis, 1999).

생식·발생독성연구에 있어서 독성동태연구의 중요성도 부각되고 있다. 기존의 시험에서는 독성동태연구를 참고 자료 정도로 요구하고 있으나, 최근에는 시험물질의 대만 통과, 차산자료의 유즙이행 등에 대한 중요성이 강조되어

적절한 독성동태시험을 요구하고 있다. 이에 대해 생식·발생독성시험에서의 독성동태모델 개발, 독성동태 파라미터의 다양성 연구 등이 진행되고 있으며, 이를 이용한 시험대상물질의 정확한 생식·발생독성 평가법이 개발되고 있다(Schwartz, 2001).

반면, 지금까지 각종 위해가능물질에 대한 생식·발생독성연구는 여러 연구기관에서 다양한 방법으로 수행되고 그 시험방법에 대한 새로운 시도와 개발도 꾸준히 지속되고 있으나, 기존의 생식·발생독성시험기준은 단일세대 또는 일부 차세대에 한정되어 있다. 그러나 최근 첨단 생명공학기술 등을 이용한 식품·의약품 및 신중 유해물질 중에는 인체의 유전적 요인에 영향을 미칠 가능성이 우려되고 있으므로 몇 세대 간에 걸쳐 나타날 수 있는 독성영향을 연구하여 연속적으로 후세대에 미치는 유해영향을 연구하고 관리할 필요가 있다.

미국 NTP-CERHR(Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction)은 미국 국립보건원 산하의 센터로서 환경 중 인체에 노출되는 물질이 인간의 생식·발생에 미치는 유해영향 가능성에 대한 정부차원의 과학적이고 정확한 평가 및 이에 따른 규제 의 필요성에 의해 1998년 설립되었다(그림 1). CERHR은 자체적으로 수행한 평가결과를 정부규제기관, 관련단체 및 일반국민에 제공하여, 위해가능물질에 대해 현재는 물론 후세대영향까지 체계적으로 관리·교육·홍보하고 있다(그림 2). 또한 미국 NTP에서는 1980년대 초반부터 생식·발생독성물질에 대한 평가방법으로 RACB(Reproductive Assessment by Continuous Breeding)를 도입하여 후세대에 대한 영향을 시험하고 있다(Chapin and Sloane, 1997). RACB에 의한 평가법은 의약품 등의 평가에 적합한 기존의 생식·발생독성시험기준을 화학물질의 평가에 적합하도록 변경·추가하여 실시하는 것으로 다음과 같은 4단계로 구

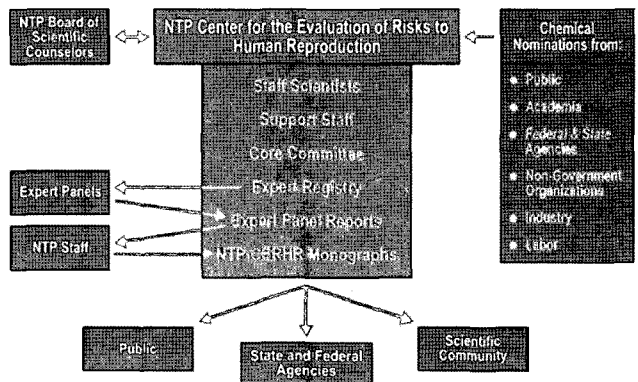


그림 1. CERHR(Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction)의 조직 구성도(CERHR homepage, <http://cerhr.niehs.nih.gov/>).

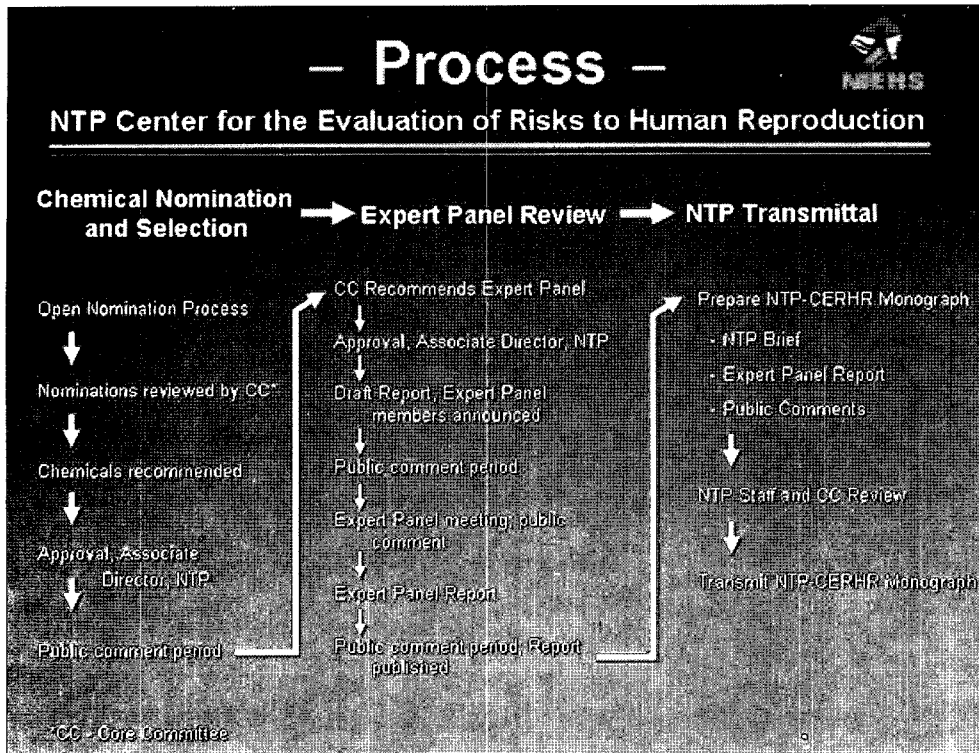


그림 2. CERHR의 유해가능물질에 대한 대상물질의 선정 및 평가 순서도(CERHR homepage, <http://cerhr.niehs.nih.gov/>).

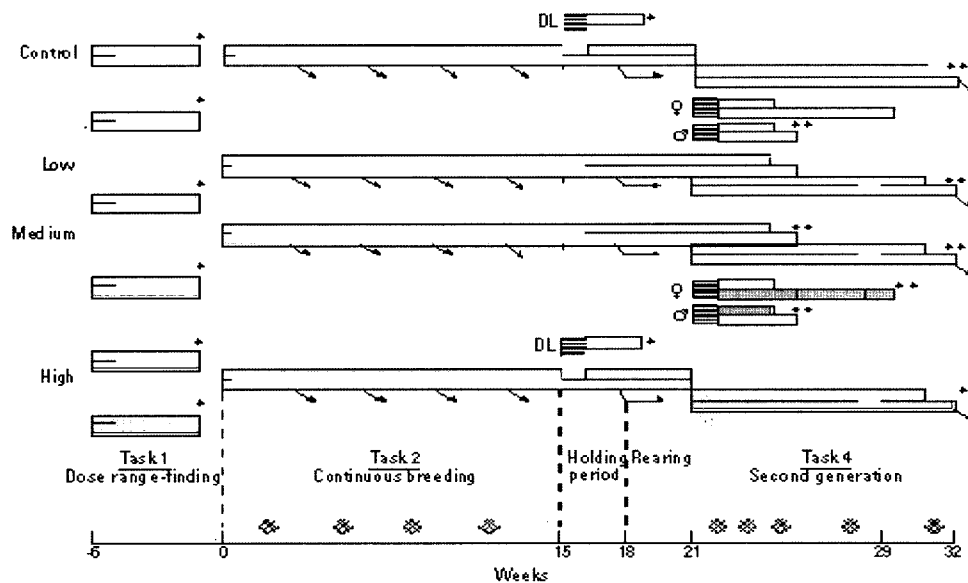


그림 3. US NTP의 RACB 시험구성도(Chapin and Sloane, 1997). 실험기간을 나타내는 막대안의 실선은 비동거기간, 그 외는 동거기간, 화살표는 차산자의 출생시기를 의미, DL, dominant lethal, *, limited necropsy, **, full necropsy.

성되어 있다.

- 1) Task 1 : Dose range-finding(DRF) portion of an RACB study
- 2) Task 2 : Main portion of an RACB study
- 3) Task 3 : Crossover mating trial

- 4) Task 4 : Evaluation of the second generation
- RACB에 의한 평가법 중 기존 생식·발생독성시험기준과 크게 다른 점은 연속번식의 범위가 수평적(동일 모체에서 4~5번의 F1 생산) 및 수직적(F1, F2, F3, 필요시 다음세대까지 연장 가능)으로 확대되었다는 것이다. 이로

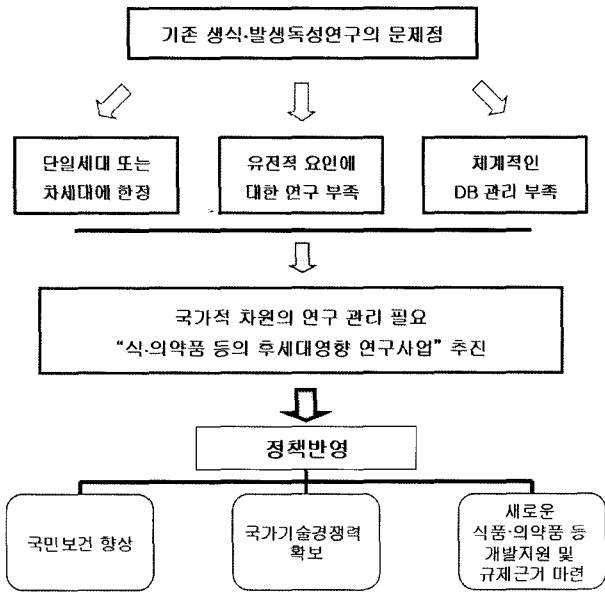


그림 4. 식품의약품안전청 국립독성연구원 「식·의약품 등의 후세대영향 연구사업」 추진 목적.

써 위해가능물질에 대한 실질적인 후세대영향 평가가 가능하게 된다(그림 3).

국내에서도 인체의 생식·발생에 유해영향 가능성이 있는 물질들을 시험·평가하고자 식품의약품안전청 국립독성연구원에서는 2005년부터 「식·의약품 등의 후세대영향 연구사업」을 진행하고 있으며, 이 연구사업의 목적은 1) 후세대 위해가능물질에 대한 국내외 정보수집 및 분석, 2) 후세대영향 안전성평가기술 개발 및 확립, 3) 후세대 위해가능물질의 모니터링 연구, 4) 안전성평가 데이터베이스 구축, 5) 국제협력 네트워크 구축 등이다(그림 4). 식품의약품안전청에서는 국민 실생활과 밀접한 물질부터 우선적으로 선정하여 후세대 유해영향물질에 대한 규제 및 안전성 홍보를 위한 과학적인 근거자료를 제공하여 국민 보건 향상에 기여하고 있다.

결 론

본 미니총설에서는 국내외 생식·발생독성시험기준, 최근 관련 연구 동향 및 시험방법 등에 대하여 설명하고, 이를 통해 관련 연구자들에게 생식·발생독성연구 및 후세대영향연구의 나아갈 방향을 제시함으로써 관련 국내연구의 발전을 모색하고자 하였다.

생식·발생독성시험은 다른 독성시험에 비해 시험기간, 연구인력, 시험항목 및 평가항목 등이 많이 요구되는 시험방법으로써 지속적인 연구범위의 확대가 이루어지고 있다. 우리나라의 생식·발생독성시험기준은 식품의약품안전

청고시에 따라 수행되고 있으며 미국의 FDA 가이드라인 또는 ICH 가이드라인과 그 내용 및 범위가 매우 유사하게 구성되어 있다. 이처럼 각 국가별로 생식·발생시험독성기준을 마련하고 있으나, 신개념의 대상물질에 대한 시험법이 요구됨에 따라 시험법에 대한 지속적인 개발 및 보완이 요구되고 있는 실정이다. 국내에서도 생식·발생독성시험에서 보완이 요구되는 정자독성 평가항목, 수컷의 생식능, 독성동태연구에 대한 새로운 의견 제시 및 첨단 기술을 이용한 생식·발생독성 시험방법 등에 대한 평가가 활발히 진행되고 있다. 미국에서는 FDA 가이드라인 외에 위해가능 화학물질을 평가하기 위해 NTP에서 20여년 전부터 RACB 시험방법을 개발하여 사용하고 있으며, NTP-CERHR에서는 유해물질들에 대한 지속적인 관리 및 홍보를 하고 있다. 또한 각국에서 사용되는 독성시험기준에 대한 보완이 ICH, OECD, USEPA 등의 각 규제기관에서 이루어지고 있다. 국내에서도 식품의약품안전청 국립독성연구원에서는 기존의 생식·발생독성시험기준 외에 식·의약품 등의 후세대에 미치는 영향을 평가하기 위한 안전성 평가기술 개발 및 관련 연구를 진행하고 있다.

‘omics’ 관련 기술 및 ‘시스템 생물학’과 같은 첨단 기술은 기존의 독성시험에 대해 좀 더 나은 평가방법 및 항목을 제시해줄 수 있는 가능성이 매우 크다. 국내외 연구기관들도 이러한 첨단 기술을 접목하여 향상된 평가방법을 개발하고자 노력하고 있으며, 실제로 미국 FDA에서는 의약품 등에 대한 ‘Toxicogenomics’ 자료를 부가적인 자료로 검토하고 있는 실정이다.

현대 사회 인류는 건강을 위협하는 수 많은 유해물질에 둘러싸여 있다고 해도 과언이 아니며, 특히 인류의 생존에 지대한 영향을 미치는 생식·발생독성물질에 대한 현명한 대처는 전 세계적인 과제라고 할 수 있다. 이처럼 중요한 연구분야에 종사하는 생식·발생독성 연구자들은 끊임 없는 연구와 개발을 통해 인류의 건강에 이바지할 수 있는 성과를 위해 노력해야 할 것이다.

참고문헌

Andersen, M.E., Thomas, R.S., Gaido, K.W. and Conolly, R.B. (2005): Dose-response modeling in reproductive toxicology in the systems biology era. *Reprod. Toxicol.*, **19**, 327-337.

Boekelheide, K. and Chapin, R.E. (1997): Male reproductive toxicology. In: Sipes, I.G., McQueen, C.A., Gandolfi, A.J., eds. *Comprehensive toxicology*, vol. 10. Elsevier Science, New York, p.1-3.

Brewis, I.A. (1999): Proteomics in reproductive research: the potential importance of proteomics to research in reproduction. *Hum. Reprod.*, **14**, 2927-2929.

Chapin, R.E. and Sloane, R.A. (1997): Reproductive assess-

- ment by continuous breeding: evolving study design and summaries of ninety studies. *Environ. Health Perspect.*, **105**, 199-205.
- Coliins, T.F., Sprando, R.L., Shackelford, M.E., Hansen, D.K. and Welsh, J.J. (1999a): Food and Drug Administration proposed testing guidelines for reproduction studies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **30**, 29-38.
- Coliins, T.F., Sprando, R.L., Shackelford, M.E., Hansen, D.K. and Welsh, J.J. (1999b): Food and Drug Administration proposed testing guidelines for developmental toxicity studies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **30**, 39-44.
- Daston, G.P. and Naciff, J.M. (2005): Gene expression changes related to growth and differentiation in the fetal and juvenile reproductive system of the female rat: evaluation of microarray results. *Reprod. Toxicol.*, **19**, 381-394.
- Endo, M., Matsubara, H., Kokubun, T., Masuko, H., Takahata, Y., Tsuchiya, T., Fukuda, H., Demuta, T. and Watanabe, M. (2002): The advantages of cDNA microarray as an effective tool for identification of reproductive organ-specific genes in a model legume, *Lotus japonicus*. *FEBS Lett.*, **514**, 229-237.
- Environmental Protection Agency (EPA) (1991): Pesticide assessment guidelines, subdivision F. Hazard evaluation: human and domestic animals. Addendum 10: Neurotoxicity, series 81, 82, and 83. Office of Prevention, Pesticides and Toxic substances, Washington, DC. EPA 540/09-91-123.
- Environmental Protection Agency (EPA) (1998): Guidelines for neurotoxicity risk assessment; notice. *Fed. Regist.*, **63**, 26926-26954.
- Food and Drug Administration (FDA) (1998): Regulations requiring manufacturers to assess the safety and effectiveness of new drugs and biological products in pediatric patients. *Fed. Regist.*, **63**, 66632-66672.
- Food and Drug Administration (FDA) (2000): Toxicological principles for the safety of food ingredients, Redbook 2000, US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Froment, P., Staub, C., Hembert, S., Pisselet, C., Magistrini, M., Delaleu, B., Seurin, D., Levine, J.E., Johnson, L., Binoux, M. and Monget, P. (2004): Reproductive abnormalities in human insulin-like growth factor-binding protein-1 transgenic male mice. *Endocrinology*, **145**, 2080-2091.
- Grasso, P., Heindel, J.J., Powel, C.J. and Reichert, L.E. Jr. (1993): Effects of mono(2-ethylhexyl) phthalate, a testicular toxicant, on follicle-stimulating hormone binding to membranes from cultured rat Sertoli cells. *Biol. Reprod.*, **48**, 454-459.
- Kawaguchi, M., Funabashi, T., Aiba, S. and Kimura, F. (2002): Butyl benzyl phthalate, an endocrine disrupter, inhibits pulsatile luteinizing hormone secretion under an insulin-induced hypoglycaemic state in ovariectomized rats. *J. Neuroendocrinol.*, **14**, 486-491.
- Lanning, L.L., Creasy, D.M., Chapin, R.E., Mann, P.C., Barlow, N.J., Regan, K.S. and Goodman, D.G. (2002): Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity. *Toxicol. Pathol.*, **30**, 507-520.
- Li, S.H., Lee, R.K., Chen, P.W., Lu, C.H., Wang, S.H. and Hwu, Y.M. (2005): Differential expression and distribution of alternatively spliced transcripts of PDGF-A and PDGF receptor-alpha in mouse reproductive tissues. *Life Sci.*, **77**, 2412-2424.
- Meistrich, M.L., Wilson, G., Shuttlesworth, G.A. and Porter, K.L. (2003): Dibromochloropropane inhibits spermatogonial development in rats. *Reprod. Toxicol.*, **17**, 263-271.
- Overstreet, J.W., Samules, S.J. and Day, P. (1988): Early indicators of male reproductive toxicity. *Risk Analysis*, **8**, 21-26.
- Rhee, G.S., Cho, D.H., Won, Y.H., Seok, J.H., Kim, S.S., Kwack, S.J., Lee, R.D., Chae, S.Y., Kim, J.W., Lee, B.M., Park, K.L. and Choi, K.S. (2005): Multigeneration reproductive and developmental toxicity study of bar gene inserted into genetically modified potato on rats. *J. Toxicol. Environ. Health*, **68**, 2263-2276.
- Rulli, S.B., Ahtainen, P., Makela, S., Toppari, J., Poutanen, M. and Huhtaniemi, I. (2003): Elevated steroidogenesis, defective reproductive organs, and infertility in transgenic male mice overexpressing human chorionic gonadotropin. *Endocrinology*, **144**, 4980-4990.
- Schwartz, S. (2001): Providing toxicokinetic support for reproductive toxicology studies in pharmaceutical development. *Arch. Toxicol.*, **75**, 381-387.
- Son, W.C., Kim, J.C. and Yu, I.J. (2003): The recommended approaches for the evaluation of testicular toxicity with awareness of the spermatogenic cycle and quantitative testicular toxicity evaluation methods. *J. Toxicol. Pub. Health*, **19**, 83-90.
- The ICH Guidelines for Detection of Toxicity to Reproduction for Medical Products (S5A) Including Addendum S5B and S5M(M): Toxicity on Male Fertility (issued October 1996 and November 2000, Respectively).