



만성 및 발암성 동물시험의 가이드라인 소개



산업안전보건연구원
산업화학연구실 병리검사부 연구위원
조은상

최근의 화학물질 노출에 의한 재해는 다량의 화학물질에 급성으로 노출되는 사고보다 저용량, 저농도의 화학물질에 오랜 기간 노출되어 만성적으로 발생하는 경우가 많아 이에 대한 장기간의 지속적인 연구가 필요한 시점이다.

만성 또는 장기간 화학물질 노출에 의한 영향을 알아보기 위한 OECD 가이드라인을 소개하고자 한다.

화학물질의 시험적 탐색 (TG, Guidelines for the Testing of Chemicals)을 위해 제공되는 다양한 기준 중 세계적으로 가장 많이 사용되고 있는 OECD(Organization for Economic Co-operation and Development) 가이드라인은 시험물질에 대한

노출 방법 및 기간에 따라 다양하게 제공된다. 경구 실험의 경우 급성은 OECD TG 420, TG 423 및 TG 425를 사용하며, 아급성 독성 시험 가이드라인으로는 28일 반복투여독성 시험(TG 407) 및 반복투여독성 컴바인 시험(TG 422)을 사용한다. 흡입 실험을 위한 가이드라인은 급성의 경우 TG 403 또는 TG 436을 이용하고, 28일 및 90일의 경우 각각 TG 412 및 TG 413을 사용하고 있다. 만성 및 발암성 시험의 경우, 경구, 경피 및 흡입 등의 투여 방법별 분류는 이뤄지지 않고 만성(TG 452), 발암성(TG 451), 만성과 발암성 복합(TG 453) 가이드라인으로 제공되고 있다. 각각의 가이드라인들은 새로운 기술의 발달 및 지속적인 탐색을 통해 제·개정이 이뤄지고 있다.

TG 451, TG 452 및 TG 453의 소개(Carcinogenicity Studies, Chronic Toxicity Studies, and Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies, 2009년 9월 7일 개정)

TG 451, TG 452 및 TG 453은 1981년 최초 채택된 이후 지속해서 개정됐으며 이러한 갱신은 세 시험법이 유기적으로 연결되어 진행됐다. 대부분의 만성 및 발암성 시험이 설치류를 이용하여 수행되므로, TG 451, 452 및 453 역시 우선적으로 설치류를 적용하였고, 만약 비설치류를 이용한 실험이 필요하다면 TG 409(비 설치류에서의 90일 반복투여 경구독성시험)에서 수행된 내용을 적용해야 한다. 시험의 3가지 주요 투여 경로는 경구, 경피, 흡입 노출이지만 사실상 경구를 통한 노출에 중점을 두어 설명하고 있다. 그러나 경피 및 흡입 노출 경로별 급성, 아급성, 아만성 시험법에 의한 결과가 항상 고려되어야 한다.

이 시험들은 시험에 따라 각각 시험물질의 독성에 의한 악영향무해용량(NOAEL)의 평가 또는 종양 반응(tumor response)에 대한 비관측 역효과 수준의 평가를 제공함을 목적으로 한다. 각 시험을 위한 최초 고려 사항으로 시험물질에 대한 가용 정보 판단을 위해 시험지침서 116을 참고할 것을 권고하고 있으며, 시험 설계에 도움이 되는 모든 정보들(유전독성시험을 포함한 기타 독성 시험의 결과, QSAR 데이터, 구조적으로 관련이 있는 물질의 독성학적 데이터 등)을 고려할 것과 결과 분석 특히 통계적 방법에 대한 국제적으로 인정되는 적절한 처리를 위해 시험지침서 116 및 시험지침서 35를 참고할 것을 권한다. 기본적으로, 발암성 시험이나 만성독성 시험을 각각 수행하는 것보다 두 시험이 결합된 형태인 TG 453을 우선적으로 수행할 것이 권고된다.

각 시험의 수행은 일반적인 반복 시험과 마찬가지로 설정된 몇 개의 시험 동물군에 대해 차등된 용량으로 매일 투여되는 것을 원칙으로 하며, 시험 도중 죽거나 중간인락사(만성의 경우 6개월, 발암성시험의 경우 12개월에 실시할 수 있음)된 동물, 생존 동물에 대해 부검을 실시하게 된다. 동물은 암수 모두 사용하여 최소 3개의 투여군과 대조군을 성별별로 군당 최소 50마리 이상(만성 시험의 경우 20마리, 만성과 발암성 복합 시험의 경우 단계별 10/50마리)을 포함해야 한다.

만성의 경우 12개월을 중심으로 6~24개월의 시험을 계획할 수 있고, 발암성 시험의 경우 보통 설치류에 대해 24개월로 설정되지만 동물 종 계통의 수명(AKR/J, C3H/J or C57BL/6J 등 마우스의 경우 18개월)에 의존적으로 타당성 있게 설정되어야 한다.

시험 물질에의 노출은 경구 시험의 경우 7일/주 또는 5일/주 일정으로 투여할 수 있으며, 경피 시험의 경우 6시간/일, 7일/주 적용이 가능하다. 흡입 노출의 경우 6시간/일, 7일/주 또는 5일/주 계획을 수립할 수 있다. 최대 노출 기간은 각 시험별 최대 기간과 일치한다.

만성 시험과 만성과 발암성 복합 시험의 경우 시험 중인 모든 동물군은 시험 시작 전 안과학적 검사를 하고, 시험 종료 전 안과학적 검사는 최소한 정상군과 최고 용량 노출군에서 다시 한번 실시되어야 한다. 모든 동물의 임상 증상 검사는 시험 시작 전과 관찰 계획에 따라 달라질 수도 있지만 매달 실시되어야 한다. 또한, 각 시험에서 체중 및 사료량 측정은 최초 13주까지는 매주 1회, 그 이후로는 매달 1회 실시한다.

혈액학적 검사는 발암성 시험의 경우 작용기작 고려 등을 위해 시험 책임자의 재량으로 실시하며 추가적으로 중간안락사 시에도 수행될 수 있다. 그러나 만성 및 만성과 발암성 복합 시험의 경우 암수 각 군별 최소 10마리씩 동일 동물을 사용하여 3달, 6달, 12달 시험 종료일에 수행한다 (90일 시험의 결과가 있다면 3달째는 실시하지 않을 수 있다). 필수적으로 수행되어야 할 항목은 <표 1>과 같다.

<표 1> 혈액학적 검사 시 필수적으로 수행되어야 할 항목

혈액학적/응고능 검사	혈액생화학적 검사
총백혈구	혈당
감별 백혈구 수	혈액요소 질소
적혈구 수	크레아티닌
혈소판 수	총단백
헤모글로빈 농도	알부민
헤마토크리트치	칼슘
평균 적혈구 용적	나트륨
평균 적혈구 헤모글로빈량	칼륨
평균 적혈구 헤모글로빈 농도	총콜레스테롤
프로트롬빈 시간	알라닌 아미노기 전이효소, 아스파탐산 아미노기 전이효소, 글루탐산 탈수소효소, 총담즙산 중 택2
활성화 부분 트롬보플라스틴 시간	알칼리인 포스파타아제, 감마글루타밀 전이효소, 5'-뉴클레오티드 가수분해효소, 총빌리루빈, 총담즙산 중 택2

노검사의 경우 만성 및 만성과 발암성 복합 시험에서 혈액검사와 동일한 기간에 암수 군별 최소 10마리 이상에서 실시되어야 하며, 필요 항목은 성상, 양, 비중, pH, 요단백, 요당이지만 추가

적인 검사가 필요할 수 있다.

모든 시험에서 병리학적 조직 검사는 전체 동물에 대해 육안적 검사를 실시하며, 발암성 시험의 경우 노화에 의한 변화 또는 종양의 발달에 따른 무게 변화로 인해 장기 무게는 일반적으로 유용한 정보로 취급되지 않는다. 그러나 만성시험 및 만성과 발암성 복합 시험의 경우 부신, 뇌, 부고환, 심장, 신장, 간, 난소, 비장, 고환, 갑상선, 자궁에 대해 장기무게를 측정한다.

조직학적 검사를 위해 적출된 조직은 적절하게 고정되어 조직병리학적 검사를 수행해야 한다. 세 가지 시험에 대해 보존되어야 하는 장기의 목록은 <표 2>와 같다(네모 괄호 내 조직은 선택사항이나, 흡입연구에서 상부 기도 등 호흡기 조직들은 TG 412 및 TG 413에 따라 보존 및 검사되어야 한다).

<표 2> 보존되어야 하는 장기 목록

모든 병소	십이지장	공장	식도	직장	위	자궁
부신	부고환	신장	[후신경구]	침샘	[치아]	[요관]
대동맥	눈 (망막 포함)	눈물샘	난소	주요 근육	고환	[요도]
뇌	[대퇴골 (관절 포함)]	간	췌장	골격근	가슴샘	질
맹장	담낭 (렛드 외)	폐	부갑상샘	피부	갑상샘	골수
자궁경부	하더샘	임파절	말초 신경	척수	[허]	
응고샘	심장	유선	뇌하수체	비장	기도	
결장	회장	[상부 기도]	전립샘	[홍골]	방광	

각 시험의 보고서는 공통으로 시험물질(대조물질), 시험 동물, 시험 환경에 대한 정보, 사망률, 체중변화, 사료섭취, 안과학적 검사, 혈액검사 육안 및 조직병리 소견 등의 결과를 정리된 표와 개체 데이터로 제공해야 한다. OECD TG 451, 452 및 453은 시험 수행 방법에 큰 차이가 있지 않지만, 각 시험별로 시험물질에 의한 만성 노출에 의한 독성학적 변화를 보거나 전생애기 노출에 대한 암 발생 여부 및 종류를 확인하는 등의 차이가 있기 때문에 만성 혹은 발암성 시험 수행 전 시험 목적 및 효율에 따라 시험 선택의 유용한 가이드로 활용될 수 있다. 🐾

참고문헌

1. OECD (2009), Carcinogenicity Studies, Test Guideline No. 451, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.
2. OECD (2009), Chronic Toxicity Studies, Test Guideline No. 452, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.
3. OECD (2009), Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies, Test Guideline No. 453, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.