농약과학회지 제8권 제4호(2004)
The Korean Journal of Pesticide Science
Vol. 8, No. 4. pp.239~254(2004)

총 설

2년 장기 발암성 검색법의 이슈

손우찬 · 김배환[1] · 장동덕[2] · 한범석[2] · 김종춘[3] · 이제봉[4] · 신진섭[4] · 김형진[5*]

Huntingdon Life Sciences, Woolley Road, Alconbury, Huntingdon, UK, [1](주)태평양 기술연구원 전임상연구센타
[2]국립 독성 연구원 독성연구부, [3]전남대학교 수의과 대학 독성학 교실, [4]농업과학 기술원 농산물 안전성부
[5]한국생명공학연구원 질환동물모델평가연구실

요약 : 2년 발암성 독성시험의 실시와 평가에 대해서는 많은 논란이 있었다. 2년 발암성 시험의 유용성에 대한 많은 비판에도 불구하고 설치류를 이용한 발암성 시험은 사람의 발암성을 예측 할 수 있는 유일한 평가 시스템으로 인식되어 있으며, 아직 이를 대체할 만한 평가 방법은 없다고 할 수도 있다. 그간 규제기관과 학계에서는 다양한 발암성 평가모델을 제시해 왔지만 이런 시험 모델들이 과학적 타당성과 검증된 데이터에 근거하는지에 대해서는 논란이 있다. 2년 설치류 발암성 시험에 제기되는 문제들 즉, 종 및 품종의 선택, 용량설정, 시험기간, 군당 동물의 수, 배경병변, 검사항목, 시험 종료시 측정항목, 병리의 피어리뷰, 통계, 대체시험 모델, 종양의 평가, 그리고 위해성 평가 등에 대하여 검토하였다.(2004년 11월 11일 접수, 2004년 12월 20일 수리)

화학발암의 이론적 배경 및 검색방법

암은 아직도 현대의학의 과제로 남아있으며 인간의 약 30%가 암에 걸리는 것으로 조사되었다. 이러한 암을 정복하기 위하여 막대한 규모의 연구가 진행되어 왔지만 아직까지 치료의 획기적인 변화는 없었다.

암세포가 하나의 기원세포로부터 확장성 분화를 거듭하여 생성된다는 것은 잘 알려진 사실이지만 이런 발암 이론이 정립되기까지는 순탄하지만은 않았다(Mastorides와 Maronpot, 2002). 19세기 후반 까지만 해도 두 가지 서로 다른 이론, 즉 유전적인 원인에 의한 암 발생 이론과 오늘날 화학적 발암 이론의 기원이 된 지속적 자극에 의한 암 발생 이론이 대립되었었다. 여기서 화학물질에 의한 발암은 암의 다양한 원인 중 하나이고 대부분의 종양 유발 화학물질은 DNA와 반응하는 것으로 알려져 있다(Williams와 Weisburger, 1991). 화학물질에 의한 암 발생은 이미 산업혁명 이전에도 보고가 있었다. 우라늄 광산 광부의 높은 암 발생률과 굴뚝 청소부의 잦은 고환낭 암 발생이 바로 그 예이다. 아무래도 화학적 발암이론의 획기적인 계기는 마우스 피부도포 모델이 알려지면서부터이며 이 방법으로 환경에 존재하는 여러 가지 강력한 발암물질을 검색하게 되었고, 또한 발암성은 성, 품종, 연령 등에 따라 감수성의 차이가 있다는 중요한 사실도 알게 되었다(Mastorides와 Maronpot, 2002). 화학발암은 개시(initiation)와 촉진(promotion)의 2 단계로 발생한다고 알려져 있다(Mastorides와 Maronpot, 2002). Rous와 Kidd는 토끼의 귀에 발암물질을 바르는 실험을 하던 도중 물질을 바르다가 중단하면 암이 끝까지 지속되지 않지만, 다시 바르기 시작하면 발암의 단계로 이어진다는 사실에 주목하게 되었다. 이것을 바탕으로 한 것이 개시-촉진 이론이다(Rous 등, 1952). 그 이후 1950년대에 발암에 대한 연구가 상당히 진척되면서, 환경에서 발암물질을 제거하는 것이 가장 중요한 암의 예방법이라고 생각하게 되었다(Cohen과 Ellwein, 1991). 또한 발암물질을 찾아내는 유일한 방법은 동물실험이라고 생각하고 동물을 이용한 장기적인 시험을 통하여 화학적 발암물질을 발견해 냈으며, 그 이후 좀더 합리적이며 보완된 발암성 시험 프로그램이 정형화 되고 정책적으로 사용을 규제하기 시작하였다(Page, 1977). 1961년 미국 National Institute of Cancer, NCI)에서 발암성 검색을 시작한 이후, NCI와(National Toxicology Program, NTP)는 마우스와 랫드에 2년 동안 화학물질을 투여하는 방법을 통해서 많은 수의 발암성 물질들을 발견하고 규제하기 시작하였다(Weisburger와 Williams, 1984). 발암성 시험을 통하여 발견한 화학물질에 대한 규제조치도 발암

*연락저자

성에 대한 지식의 확충으로 많은 진보가 있었다. 또한 당시의 큰 이슈는 농약 또는 식품에 잔류된 식품관련 화학물질 오염원을 제거하는 것이었다. 당시 뉴욕의 국회의원이었던 James Delaney는 식품안전 관계 법령을 만들었는데 이 식품안전 관계 법령은 원천적으로 발암원을 차단하려고 한 것이며, 동물시험에서 발암성이 인정되면 그 화학물질은 식품에 유입되지 못하고 영원히 퇴출시킨다는 것이 골자였다. 그러나 이 법은 현대의학의 수준에서 보면 비과학적인 면이 많은 법이었다(Weisburger, 1996). 예를 들어, 감미료인 사카린은 랫드에서 방광암을 일으킨다는 이유로 강력하게 규제를 받았지만 그 이후 랫드의 방광에서만 사카린에 의해 크리스탈이 만들어지고 이 크리스탈에 의한 물리적 자극이 랫드의 방광암을 일으킬 뿐, 사람에서는 방광암 유발성이 전혀 없다는 것이 알려지게 되었다. 이 같은 비과학적인 법으로 인해 사카린 생산 판매업자와 저 칼로리의 당이 필요한 당뇨 환자들만 피해를 보게 된 것이다. 이외에도 이런 비합리적인 규제의 예는 수없이 많았다

유전독성 발암물질에는 역치(threshold)를 적용하여야 한다는 과학적 사실에 근거하여 1996년이 되어서야 Delany Clause에 의해 새로운 법령인 Food Quality Protection Act(FQPA)로 개정되게 되었다. 과학자들의 끈질긴 요구에도 불구하고 이 비합리적인 법이 최근까지 존재하였던 이유는, 미국에서도 규제하는 법은 만들기 쉬워도 규제를 푸는 법은 없애기 힘들다는 단순한 이유 때문이었다고 한다. 그렇다면 발암물질을 어떻게 찾아내고 그 방법에서의 비 과학적인 요소는 무엇이며, 발암성시험에서 중요한 역할을 담당하는 현대 독성 병리학의 이해수준은 어떠한가에 대해 알아보기로 한다. 현재 발암성을 검색하는 동물시험으로 설치류를 이용한 2년 투여 시험이 사용되고 있다. 이 검색법을 간략히 설명하면, 실험동물에게 2년 동안 시험 물질을 투여한 후 부검을 통해 모든 내부 장기를 적출하고 조직 병리학적인 진단을 실시하여 발암성 여부를 확인하는 것이다. 랫드의 수명은 약 3년이기 때문에 2년이면 노년기까지 투여하는 것이라고 할 수 있다. 최종적으로는 배경병변의 범위를 벗어나는 종양의 발생 수, 희귀종양의 발생 예, 종양 발생시기 등을 검토하여 평가한다. 이 방법은 많은 긍정적인 측면에도 불구하고 또한 많은 단점이 지적되고 있는데 그 중 첫번째 문제점은 용량 설정이다. 발암성 시험의 투여 용량은 보통 90일 시험에서 얻어진 최대내성용량(Maximally Tolerated Dose, MTD)을 이용하여 정하는데 이 용량설정이 사람의 위해성을 평가하는데는 적합하지 않다. 두번째 문제점은, 사용하는 동물의 품종에 따라서 특정 종양이나 병변에 대한 반응이 각기 다르다는 것이며, 세번째로 지적되는 문제점은, 이 발암성 시험결과가 유전독성 기전으로 인해서 증가된 발암인지 아니면 비유전 독성 물질의 기전을 가지는 발암성인지를 분간하기가 어렵다는 것이다(Ochoa, 2002). 이 외에도 시험결과의 재현성이 낮다는 것 등의 문제점이 있다. 심지어는 1970년대 초반까지 이 시험방법에 의해 발견된 물질들의 상당 수가 사람에서의 발암과 관련이 없었다는 것이다(ICH guideline S1B, 1997). 또한 이 방법으로 한가지 물질의 발암성을 검색하는데 약 40억원의 시험비용이 들고, 적어도 3년 이상의 기간이 필요하다. 그러나, 이러한 단점에도 불구하고 사람의 발암성 위해성을 평가하기 위한 매우 중요한 방법으로 받아들여지고 있으며 이 시험법을 대체할 만한 발암성 시험법은 없다고 할 정도이다(Ochoa, 2002; Mastorides와 Maronpot, 2002). 그래서 미국의 EPA와 FDA 혹은 유럽의 규제기관에서는 좀 더 합리적인 발암성 시험 프로토콜을 정형화 하기 위한 노력을 하고 있는데 아직도 발암성시험의 시험-계획단계, 시험-실시과정, 병리평가 및 통계, 그리고 시험의 결과를 가지고 최종적으로 사람의 위해성을 평가하는 과정에서 많은 이슈가 제기되고 있다.

발암성 평가 시험의 계획의 이슈

시험의 기간

발암성 시험은 보통 랫드에서 104주, 마우스에서는 78주 동안 실시하며, 경우에 따라서는 전 생애기간(life-time)을 시험 기간으로 하는 경우도 있다. 그러나 이 시험기간은 전통적으로 해왔기 때문에 관습에 따라서 하는 것이지 투여기간에 대한 뚜렷하고 과학적인 근거가 있는 것은 아니다라는 비판이 있었다(Ochoa, 2002). 발암성 시험에서 투여기간을 늘리는 이유는, 짧은 시험기간 내에 검색이 잘 되지 않는 종양을 검출하기 위한 것이다. 그러나 화학물질의 종양은 생애 말기보다는 24개월 이전에 발생하게 되므로 시험기간을 늘리는 데에는 이견의 여지가 있다. 오히려 시험기간을 늘려서 자연발생 종양에 의한 의양성

(false positive)의 가능성만 높아지고, 이로 인한 결과 해석의 혼란만 가중될 수도 있는 것이 사실이다 (Ochoa, 2002). 비유전독성 발암물질로 여겨지는 시험물질인 경우에는 시험기간을 좀 늘려 실시하는 것이 의미 있을 수도 있다. 투여 종료 후 일정한 기간동안 회복기간을 두는 경우가 있는데, 시험물질 투여로 형성된 종양이 비가역적인 병변이므로 회복기간을 두어도 종양성 병변이 소실하지 않고 남아 있어 발암성 평가를 용이하게 해줄 것으로 생각되기 때문이다. 그러나 시험기간이 길어져서 자연발생 종양이 더 많이 발생되면, 결과적으로 평가에 지장을 줄 수도 있다.

시험 실시 시기

발암성 시험 실시 시기에 대해서도 논란이 많았지만, 의약품의 경우 임상 시험이 실시되기 전에 마칠 필요는 없고, 가능한 한 빨리 시작하여 New Drug Approval(NDA) 제출 전에 끝낸다는 데에 합의하였다.

투여용량의 결정 : 발암성 시험에서 고용량군의 용량을 결정하는 방법은 시험 주체에 따라서 차이가 있는데 정부기관은 고용량 폭로가 얼마나 해로운지를 보는 것이 주 관심사이며, 기업 등에서는 화학물질이 치료제 혹은 농약으로 사용될 때 과연 안전한가를 보는 것이 주목적이므로, 입장에 따라서 다르게 볼 수 있다. 즉 정부기관에서는 투여용량을 높게 하여 발암성을 확인하고 싶어하고, 기업 등에서는 발암성이 나오지 않는 용량을 선호하므로 발암성 시험의 투여 용량설정은 매우 어렵다. 발암성 시험에서 용량설정을 너무 높게 하면 독성이 나타나게 되고, 이로 인해서 실험동물이 너무 많이 사망할 가능성이 있으며, 이들 독성때문에 발암성 결과가 잘못 해석되는 경우도 있다. 의약품의 발암성 시험에서 고용량을 설정 할 때 이상적으로 생각하는 기준은, 의약품을 사람에게 사용하는 양보다는 약간 높고, 동시에 적절한 안전 계수가 확보되며, 또한 동물의 생리적 변화를 너무 심하게 일으키지 않는 수준으로 보고 있다(Bode, 1994). 발암성 시험의 투여용량을 결정할 때에는 통상 Maximally Tolerated Dose(MTD, 최대내성용량)의 개념이 이용된다(Derelanko, 2000). MTD는 발암성시험에 있어서 사망률을 변화시키지 않으면서 최소한의 독성 작용이 발현될 것으로 예상되는 용량이며, 90일간 용량설정시험의 결과로부터 예측되는 경우가 많다. MTD는 주로 미국에서 전통적으로 사용하는 방법이고, 유럽과 일본에서는 MTD의 대체 방법으로 임상 사용 용량의 100배를 고용량으로 설정하는 방법을 제시하기도 하였다. 유럽과 미국의 용량설정 방법이 상이함에 따라 ICH에서는 발암성시험의 고용량 선택 방법에 대해 독성학적 지표, 약물동태학적 지표, 흡수의 포화, 약물역학적 지표, 투여가능최대량, 기타 지표 등을 고려하여 설정 하도록 합의하기도 하였다 (ICH guideline S3B, 1994; ICH guideline S1C(R), 1997). International Life Sciences Institute(ILSI) 에서는 MTD에 전적으로 의존하여 용량결정을 하는 방법이 불합리하다고 지적하고, 발암성 시험의 투여용량을 결정하는데 필요한 원칙을 발표하였다(Foran and ILSI Risk Sciences Working Group on Dose Selection, 1997; The OECD guideline, ENV/JM/MONO(2002)19, 2002). 첫째, 독성시험에서 나온 작용기전 등의 정보를 바탕으로 독성학적 원칙에 의하여 결정해야 하고, 둘째, 위음성 결과를 피하기 위해서 각 시험물질의 독성 작용 기전에 따라 과학적으로 설명 할 수 있어야 하며, 셋째, 중간 농도군과 저농도군의 용량을 고농도군의 용량의 몇 분의 1로 나누는 방법보다는 독성 동태시험결과, 작용 기전 등을 고려한 사람의 위해성 평가를 염두에 두고서 설정해야 한다. 넷째, 아만성 시험의 결과에서 나온 조직병리, 독성동태, 생리학적 변화나 항상성의 변화, 기타 독성학적 지표를 고려하여 설정해야 하며 다섯째, 고농도군의 용량설정시 시험물질의 물리화학적 성질, 생물학적 이용률, 사료의 맛의 변화, 투여부위의 자극성 등을 고려하여 영양, 물리적, 자극성 등의 영향을 최소화 시켜야 한다고 하였다. 최근에는 분자 생물학이 발전되어 시험물질의 작용기전을 보다 더 명확하게 설명 할 수 있으므로, MTD에 의한 용량 설정이 필요한 경우는 점점 적어지고 있다(Ochoa, 2002; Bode, 1994).

시험군의 수

발암성 시험에서도 일반 독성시험에서와 마찬가지로 대조군과 최고 농도군을 포함하여 모두 세 개의 투여군을 두며, 경우에 따라서는 양성 대조군을 두기도 한다. 같은 시험내 두개의 대조군 사이에서도 자연발생 종양이 각각 다르다는 것은 잘 알려진 사실이다(Gopinath, 1994). 발암성 시험의 결과는 매우 변이

가 심하고, 발암의 양상도 다르게 나타나며, 시간과 비용이 많이 들어서 실험을 재현하기도 힘들기 때문에, 같은 시험에서 두개의 대조군을 두어 자연발생 종양의 변이로 인한 잘못된 평가의 오차를 줄이는 시도를 하기도 한다. 즉, 한 개의 대조군과 비교해 보고 만일 처치군에 통계적으로 유의한 종양증가가 나타나면, 다른 대조군과 비교를 실시하며, 두개의 대조군을 같이 합하여 비교하기도 한다. 여기서 어느 하나에서라도 종양의 빈도가 증가하지 않는 것이 있으면 시험물질에 의한 종양 증가가 아니라고 판단하는 방법이다. 이 방법의 사용에 대해서는 이견이 있기는 하나 유용한 방법으로 받아들여지고 있다(Ochoa, 2002). 발암성 시험을 자주 실시하지 않는 시험시설이라면 대조군의 동물 수를 늘려서 부족한 배경 데이터를 보완하는 것이 합리적이다(Woolley, 2003).

사양관리

동물의 사양관리는 종양 발생률에 영향을 미친다(Gopinath, 1994). 발암성 시험에서 미국과 유럽의 차이는 사육 상자 당 동물의 수에서 나타나는데 미국에서는 대부분 하나의 사육상자에 한 마리의 동물을 수용하지만 유럽에서는 하나의 사육상자에 두 마리 이상을 사육한다. 동물은 사회성이 강해서 각각 수용하면 격리로 인한 스트레스를 심하게 받게 되며, 이 스트레스는 곧 시험에 영향을 미치고 극단적으로는 수명을 단축시킬 수도 있다. 그러나 여러 마리 수컷 마우스를 한 사육상자에 사육하면 공격성이 강해지고, 서로 싸워 죽는 동물이 생길 수 있다(Son, 2003a). 사육상자 바닥의 상태가 망인지 평평한 형태인지에 따라서도 시험 결과가 달라질 수 있다. 바닥이 평평하면 사료가 깔짚에 섞이게 되어 정확한 사료 소비량 측정이 어렵고, 이는 동물의 체중변화에 정확히 반영되지 못해 종양 발생율에 영향을 줄 수 있다. 맛이 써서 동물이 사료를 기피하게 될 경우도 동물의 체중 증가가 억제되어 종양발생율이 떨어질 수 있다. 또한 동물의 체중이 10%이상 낮아지면 시험물질에 의해 나타난 독성으로 오인할 수도 있다(Woolley, 2003). 그러나 금속 망으로 된 사육상자를 사용하는 경우 사료 섭취량을 비교적 정확히 측정 할 수 있다는 장점은 있지만 동물의 발에 궤양이 생길 수 있고 이로 인한 사망률이 높아질 수 있다는 단점이 있다.

종 및 품종의 선택

발암성 시험에 이용되는 동물 종으로는 랫드, 마우스, 햄스터 등이 주로 사용된다. 그러나 햄스터는 동면(hibernation)의 문제와 배경 병변이 부족하다는 이유 때문에 사용에 어려움이 있다(Woolley, 2003). 랫드와 마우스의 경우 품종간 종양의 발생양상, 수명, 질병 감수성, 동물의 크기 등이 다르다. 즉, 같은 랫드라도 Ochratoxin A 처치에 의해 DA 랫드가 Lewis 랫드보다 신장 종양에 대한 감수성이 높은 반면, 같은 조건에서 유선 종양은 Lewis 랫드가 DA 랫드보다 발생율이 높게 나타나는 등의 품종간에 종양발생의 차이가 존재한다(Son 등, 2003). 그러므로 동물의 특징을 참고로 하여 품종(strain)을 선택할 수 있다. 마우스의 경우 발암성 시험에는 대개 CD-1 마우스와 C57BL/6 마우스를 주로 사용하고 랫드의 경우 주로 사용하는 품종은 지역에 따라 약간 다른데, 유럽에서는 Wistar 랫드를, 그리고 미국에서는 Sprague-Dawley(SD) 혹은 Fischer 344(F344) 랫드를 주로 사용한다(Ochoa, 2002). F344 랫드는 정소의 간질세포 선종(interstitial cell adenoma)과 백혈병이 많이 발생하고 SD 랫드와 F344 랫드는 뇌하수체 선종(pituitary adenoma)이 많이 발생한다고 알려져 있다(Gopinath, 1994). F344 랫드는 미국의 NTP 에서 오랫동안 사용되어져 왔기 때문에 배경병변이 충분하며, SD 랫드보다 몸집이 작아서 시험물질 사용량이 적고, 사료를 적게 먹으며, 시험과정 중에 다루기 쉽고 비교적 사망률도 적다는 점 등 발암성 시험에 유리한 품종으로 여겨지고 있다. 그러나 특정 종양에 대한 감수성이 크다는 점은 이에 못지 않은 큰 단점으로 인식되어질 수 있다. 빈발 종양이 많으면 시험물질에 의해 발생되는 종양을 예민하게 검색해 내기 어렵기 때문이다(Woolley, 2003). 그러므로 시험물질의 대사적 특성을 평가하여 사람과 유사한 품종을 찾아 시험하는 것이 가장 합리적일 것이다(Woolley, 2003). 하나의 시험에 여러 가지 서로 다른 품종을 사용하는 것에 대한 유용성이 제기 되기도 하였다 (Festing, 1995). 품종에 따라서 종양 감수성이 각기 다르므로 서로 다른 품종을 사용하면 미약한 발암성을 검색 할 수 있다는 장점이 있다고 주장하였다(Festing, 1979). 그러나 서로 다른 품종을 사용하면 대규모의 시험이 불가피하게 된다는 문제가 있다. 어느 한가지 품종에서만 발암성

의 증거가 발견되어도 이 자체가 사람의 위해성에 경고를 주기에 충분한 결과라고 할 수 있다.

시험의 실시

시험검사 항목

보통 만성 독성 시험에서는 혈액학적 검사, 혈청 생화학 검사, 그리고 뇨검사 등을 실시한다. 그러나 OECD, EPA, ICH 가이드라인 등에서는 발암성시험의 경우 혈청 생화학적 검사와 요검사 등은 실시하지 않는 것으로 되어 있다. 투여기간 중 동물에 부담이 가는 검사는 최소화 시킨다는 원칙 때문이다. 하지만 발암성 시험에서 혈구 혹은 골수 감별검사가 각종 혈액종양을 감별진단 하는데 도움을 줄 경우 혈액학적 검사를 선별적으로 실시하기도 한다. 2002년 EMEA는 발암성 시험 중 혈액학적 검사뿐만 아니라, 혈액생화학적 검사와 요검사를 시험기간 중에 실시하는 것을 고려 해야 하며(EMEA/CPMP/SWP/2877/00, 2002) 안검사도 실시해야 한다고 하였다. 안검사를 실시하는 시기는 약 52주부터 100주 사이에 대조군 및 고용량 투여군에서 20마리씩 선별하여 실시하며, 필요에 따라 군당 20마리에 제한하지 않고 전 동물에 대해서 검사를 실시한다. 시험실시 기관마다 조금씩 다르지만 일반적으로 투여물질에 관련된 병변이 발견되면 중간용량 및 저용량 투여군에 대해서 안검사를 실시한다.

대조군의 시험물질의 오염 감시

CPMP 가이드라인(EMEA/CPMP/SWP/1094/04/Corr, 2004)에서는 대조군에 시험물질을 잘못 투여할 경우를 확인하기 위해 대조군의 혈액도 분석해야 한다고 발표하였다. 종종 투여물질을 투여하지 않은 동물의 혈액에서 투여물질이 발견되었기 때문이다. 실제 발암성 시험을 실시하는 시험기관에서는 대조군 중 일정수의 동물에서 1년, 78-80주 및 102-104주째에 혈액을 채취하여 혈중 시험물질 함유 정도를 분석한다.
농약, 사료 첨가제 등과 같이 사료에 혼합하여 시험물질을 투여 할 경우에는 공기의 흐름에 의해서도 오염이 일어 날 수 있으므로 더욱 주의 하여야 한다. 이 경우 대조군 동물은 별도의 동물실에서 사육하거나, 같은 동물실이라도 시험물질 투여군과는 완전히 격리된 시설을 이용하여, 대조군 동물의 시험물질 투여 가능성을 차단하여야 한다. 대조군의 동물을 별도의 동물실에서 사육하는 경우에는 시험물질의 오염으로부터 철저한 격리방안이 되기는 하지만 시험환경이 같아야 한다는 일반적인 준수사항을 소홀히 할 수 있으므로 가능하면 같은 동물실의 환경내에서 시험물질로부터 오염되는 것을 방지 할 수 있는 장치를 설치하는 것이 더 좋은 방법이다. 동일한 동물실의 공기흐름에 의해서도 오염이 일어 날 수 있으므로, 만일 흡입경로로 발암성시험을 실시 할 경우에는 공기 및 대조물질 폭로 챔버에서 주 1회 정도 정기적으로 시료를 채취하여 시험물질이 검출되는지를 분석하여 감시하여야 한다.

사망률

규제기관에서는 발암성 시험이 끝나는 시점에 고용량 투여군의 동물은 시험 시작시 대비 최소한 50% 이상이 살아 있어야 한다고 규정하고 있다(Lang, 1991). 이것은 충분한 과학적 검증이 된 타당성 있는 이론이라기 보다는 발암성 데이터를 검토하는 관련자들이 편의상 이렇게 요구하게 된 것이라는 비판이 있었다(Ochoa, 2002; Woolley, 2003). 실제 발암성 시험에서 각 군당 생존률을 50% 이상으로 유지하는 것은 쉽지 않을 때가 많다. 일반적으로 발암성 시험에서 한 군당 약 50마리의 동물을 사용하여 고용량 군에서 2년 시점에 25마리가 살아 있도록 시험을 실시 하는데, 일부 시험기관에서는 한 군당 좀더 많은 65마리를 가지고 시험을 시작하기도 한다(Ochoa, 2002). CPMP의 가이드 라인(EMEA/CPMP/SWP/2877/00, 2002)에서도 시험 종료 시 25마리가 생존할 것을 명시하고 시험 시작 시 동물수의 50%가 생존 할 것을 요구하지는 않고 있다. 발암성 시험에 많이 사용하는 SD 랫드는 과거 20년 동안 생존률이 급격히 감소 하였다(Ochoa, 2002; Haseman과 Rao, 1992; Keenan, 1992; Lang, 1991; Rao 등, 1990). 동물의 생존률 감소 이유는 실험동물을 공급하는 사람들이 동물을 번식 하는데에 문제가 있었기 때문이다(Ochoa, 2002). 동물 번식 회사들은 실험동물을 선발할 때 고전적인 축산학의 원리에 너무 충실하여, 출산율과 산자수가 많은 동물을 우선적으로 선발하는 방식의 육종 방법을 사용하였는데, 이로 인해 결국 덩치가 큰 실험 동물을

만들었고, 사료를 많이 먹는 덩치 큰 동물들은 수명이 감소하게 되었던 것이다. 이런 현상은 특히 수컷에서 두드러졌다(Ochoa, 2002). 실 예로 사료를 자유섭취시킨 F344 랫드와 사료를 제한 급이 시킨 랫드 간의 수명 비교에서, 자유롭게 사료를 먹게 하여 체중이 늘게 된 큰 동물이 사료를 적게 먹인 동물보다 수명이 단축되었다(Thurman 등, 1994). 이런 결과에 착안하여, 사료를 적게 공급하여 에너지 섭취를 제한시킴으로서 자연적 종양의 발생을 줄이고, 비종양성 질병도 감소시키며 결과적으로 수명도 연장시키게 되었다(Maeda 등, 1985; Masoro, 1992). 그러나 이런 방법에 의해서 수명을 연장시킨 동물이 독성평가에 다른 영향을 줄 수도 있다는 논쟁은 계속되고 있는 실정이다(Ochoa, 2002). 일부 실험동물 회사는 SD 랫드의 생산군에서 체중이 많이 나가는 선발 방법을 중지하고, 수명을 보다 연장시키려는 유전적 조작을 하기도 하였다(Ochoa, 2002; CD (SD) IGS study group, 1998, 1999). 요즈음에는 사양관리 기술이 발달하였기 때문에, 실험도중에 실험동물이 질병으로 죽는 예는 거의 없다(Son, 2003b). 그러나 품종간의 생존률에서는 큰 차이가 있어서, Wistar 랫드는 SD 나 F344 랫드에 비해 높은 생존률을 보인다.

독성동태시험

발암성 독성동태 시험에 대해서는 ICH guideline S3A(CPMP/ICH/384/95,1995)에 잘 기술되어 있다. 발암성 시험의 용량결정을 위해서는 이전 시험에서 종간 혹은 품종간의 차이가 보였는지 또는 이전에 실시되지 않았던 새로운 투여 경로인지도 신중히 고려하여야 한다. 먼저 예비 시험인 용량 범위 확인 시험을 실시하여 독성 동태를 확인한 후 본 시험의 용량 결정에 참고해야 한다. 약물 및 독성동태 시험을 통해 화합물 또는 대사체가 여러 가지 다른 용량수준에서 폭로되는 양을 추측 할 수 있으며, 본 시험에서의 처치 지침, 종 및 품종 등을 결정할 수 있다. 그러나 일반적으로 시험에 사용되는 종 및 품종이 랫드와 마우스로 정해져 있기 때문에 사람과 동물 모델간에 폭로를 서로 비교하는 관점에서 고려해야 한다. 경우에 따라서는 종간의 단백질 결합, 수용체 성질 등의 차이를 고려하기도 한다(Bode, 1994). 발암성 독성 동태 시험시 정상적인 시험에 방해가 되지 않는다면 가능한 여러 단계에서 시료채취를 다양하게 할수록 많은 정보를 얻을 수 있다. 시료 채취 횟수는 이전 시험의 결과를 참고하여 외삽이 가능하다고 생각되는 정도로 정할 수 있다. 본 시험에서는 일반적으로 시험 초기에 시료채취를 자주하고 1년 시점 및 시험 종료 시에 한 차례씩 한다. 시험이 1년이 지나게 되면, 비록 개체차가 심하기는 하지만 노화에 따른 각종 질병에 이환된다. 더군다나 랫드의 경우 만성 진행성 콩팥증(chronic progressive nephrosis, CPN)에 걸려서 독성 동태 결과의 의미를 퇴색시킬 수 있다. 그러므로 가이드라인에서는 독성동태 시험에 필요한 분석물 채취는 주로 6개월 이하에서만 하도록 하고(CPMP/ICH/384/95), 노화 등의 생리적 변화를 반영할 경우 1년 이후의 적절한 시점에서 동태를 파악해 보는 것도 필요하다고 하였다. 발암성 시험에서는 완전한 독성 동태를 보는 것이 목적이 아니므로 프로파일링(profiling) 을 보기 보다는 흡수상태를 확인하는 것에 주안점을 둔다. 예비시험에서 13주 까지는 프로파일링을 하므로 본 시험의 경우 작은 위성군을 추가로 두어 4, 13, 26 혹은 52 주에 채취 후 분석을 실시하여 흡수의 정도를 확인한다. 만일 발암성 예비시험에서 프로파일링을 하지 않았다면, 좀더 많은 수의 위성군을 본 시험에 두어서 4, 26 혹은 13, 26 주에 시료 채취 후 분석한다. 마우스를 이용한 발암성 시험을 할 때에는 독성 동태시험이 좀더 확장되어야 한다. ICH guideline S3A(CPMP/ICH/384/95, 1995)에서는 같은 물질의 개발 시 다른 독성시험에 사용되지 않았던 동물을 처음 사용하는 시험에서는 독성 동태를 철저히 볼 것을 요구하고 있으므로 26주차 프로파일링을 반드시 보아야 한다. 이것은 적어도 26주차 까지 사육하는 위성군을 반드시 두는 것을 의미한다. 그러므로 마우스 발암성 시험의 경우 예비시험에서 1일차, 13주차에 프로파일링을 보고, 본 시험에서는 4주차 및 26주차에 프로파일링을 보는 것도 합리적인 방법으로 여겨진다.

병리검사

발암성 시험에 대해 최근의 CPMP 가이드 라인에서는(EMEA/CPMP/SWP/2877/00, 2002) 기존의 가이드라인과는 다르게 몇 가지 큰 변화를 제시 하였다. 종전의 가이드 라인에서, 대조군과 고농도 투여군을 먼저 검사하고, 종양이나 독성의 증가 양상이 발견된

장기에 한해서만 저농도와 중간농도 동물들을 검사하는 방식을 취한데 반해, 새 가이드 라인에서는 처음부터 모든 장기에 대하여 조직 검사를 실시 할 것을 요구하고 있다. 이는 종전의 발암성 시험 가격을 2배로 올리는 계기가 되었지만 흔히 발견되지 않는 종양의 검색이라는 긍정적인 측면도 가져왔다. 그리고 병리 검사 시 peer review에 대해서도 구체적으로 규정하고 있다(Son 등, 2004). 즉 모든 표적장기, 전체 종양의 10%, 그리고 각 군당 10% 의 동물에 대해서 검사를 하고, peer review 담당자는 전문의 또는 이에 준하는 자격을 가진 자로 한정하고 있다. 만일 2명 이상의 병리 담당자가 한 개의 발암성 시험에 관여하는 경우에는 될 수 있으면 검사 대상 동물을 골고루 할당하고, peer review를 철저히 할 것도 명시 하였다.

Peer review

안전성 평가 시 대부분의 결과는 독성병리학적 결과에 의존하게 된다. 병리학적 진단은 주관적인 판단이기 때문에 진단이 맞았는지 틀렸는지는 전적으로 개개 독성병리학자의 훈련정도에 달려있다(Ward 등, 1995). 병변의 해석도 병리학자의 판단에 거의 의존하게 되는데(McConnell과 Eustis, 1994) 병리진단 용어를 서로 다르게 사용하고, 병리학자간에 경험의 정도가 다르고, 훈련, 교육도 차이가 나기 때문에 병리학자의 진단 능력은 발암성 시험에 영향을 주는 중요한 인자 중의 하나이다(Gopinath, 1994; Son 등, 2004). Peer review 라는 것은 한 사람의 병리학자의 판단에 맡기지 않고, 결과를 서로 다른 사람이 같이 평가한다는 제도이다. Peer review 제도는 독성병리 진단과 독성병리 보고서의 완전성을 크게 높인 제도로서, 미국 및 유럽 등의 규제기관에는 가이드라인에 peer review 제도에 대해 구체적인 방법을 명시하고 있다 (EMEA/CPMP/SWP/2877/00, 2002; The OECD guideline, ENV/JM/MONO(99)35, 1999; The OECD guideline, ENV/JM/MONO(99)4, 1999, ENV/JM/MONO(2002)19, 2002; U.S. EPA, Pesticide Regulation(PR) Notice 87-10, 1987; U.S. EPA, Pesticide Regulation(PR) 94-5, 1994).

배경병변

발암성 시험에서 나온 결과는 일차적으로 대조군과 비교를 한다(Gopinath, 1994). 그러나 자연발생 종양과 시험물질 유발 종양을 분별하고, 희귀 발생 종양을 검색하기에는 동물의 수가 너무 부족하므로 데이터베이스와 비교하여 평가하는 방법을 사용한다. 데이터 베이스는 동일한 조건에서 동일한 품종으로 실시된 시험과 비교하여야 하고 또한 시간의 흐름에 따른 유전적인 변화가 없는 최근 10 년 혹은 5년 이내에 실시된 배경병변을 참고하는 것이 좋다(Gopinath, 1994).

수탁시험기관에서는 대규모의 시험결과로 자체 종양 데이터를 만들어서 활용하는데, 이는 동일한 조건에서 만들어진 데이터 베이스이므로 활용가치가 매우 높다(Son과 Gopinath, 2004). 이런 필요성 때문에 여러 시험기관이 연합하여 배경 데이터를 축적하여 활용하기도 한다. 예를 들어 미국의 NACAD(The North American Control Animal Data Base)와 독일을 중심으로 한 유럽의 RENI는 학문적 가치가 높은 데이터 베이스로 알려져 있다 (Mohr와 Morawietz, 1995; Mohr, 1999; Morawietz 등, 1992; EMEA/CPMP/SWP/ 2877/00, 2002).

병리진단 용어

일관성 있는 결과를 얻기 위해서는 진단의 기준과 진단명의 통일이 필요하다. 미국에서는 미국 독성병리학회(The Society of Toxicologic Pathology, STP)와 미 육군의 AFIP(The Armed Forces Institute of Pathology)가 협력하여 진단 기준을 발표하였고, WHO에서도 IARC(International Agency for Research for Research on Cancer)를 통하여 진단기준을 제정한 바 있다(IARC, 1992-1997).

통계학적 고려

과거 발암성 시험을 계획 할 때 가장 중요하게 생각한 것은 양적 개념에 근거한 반응, 즉 발암성이 있는가 없는가 였다(Gad와 Rousseaux, 2002). 그러나 아주 발생빈도가 낮은 동물에서의 종양 발현을 사람에게 외삽하는 위해성 평가를 위해서는 보다 많은 정보가 필요하게 되어, 종양의 발현 시점, 초기 종양발현 시기, 사망률 등이 중요한 발암성 평가의 요소로 여겨지고 있다.

대체 발암성 동물시험

단기간에 동물을 모델로 발암성을 평가한다는 것은 많은 한계가 있다. 발암성이 강한 물질은 단 몇 주만에 전암성 병변 혹은 증식병변을 나타내지만 발암성이 약한 물질이 증식병변을 나타내려면 오랜 시간이 걸린다. 최근 2년 시험의 비용부담 및 장기간의 시험기간 등의 단점을 보완하기 위해 유전자 변형 마우스를 이용하여 발암성을 평가하는 시험법이 규제기관에 의해서 승인되었지만 아직 활발히 이용되는 상태는 아니다(Mastorides와 Maronpot, 2002). 또한 추가적인 동물 시험을 통해 장기발암성 시험결과를 보충 또는 보완 할 수 있는데, 설치류를 이용하여 단기 혹은 중기 발암성 시험을 하거나, 제 2의 설치류 종을 이용하여 장기 발암성 시험을 실시하는 방법이 있다(ICH guideline, S1B, 1997). 중기 발암성 시험은 화학물질의 대사, 조직의 다양성, 호르몬의 반응, 수복기전 등을 근거로 하는 것으로, 여러 사람들로부터 다양하게 주장되고 또한 검증되어 왔다. 이와 같은 중기 및 단기 발암성 모델은 설치류를 사용한 2년 시험의 결과와 일치하지는 않지만 발암물질의 특성을 파악하는 데에는 유용한 수단이 된다. 즉 화학물질이 개시인자(initiator)인지 혹은 촉진인자(promotor)인지를 이해하고 이들 시험으로부터 발암성의 강도를 파악하는데 유용한 정보를 주며, 화학 발암성의 발암 메커니즘을 밝히는데 좋은 모델이 될 수 있다.

설치류의 중기 및 단기 발암성 시험평가에는 개시-촉진 모델이나 형질전환 마우스, 설치류 태자를 이용하는 모델을 사용한다. 대표적인 모델로 Strain A 마우스 폐종양 시험, 랫드 유선종양 시험, 마우스 피부도포 시험, 랫드 간 증식성 병변 모델, 랫드 방광암 모델, 랫드 췌장암 모델, 소화기암 모델, 랫드 갑상선암 모델, 어류 간종양 모델 등이 소개되어 발암성 과정에 대한 이해를 높이고 있다. 개시-촉진 모델의 예로서 간 발암성 시험을 들 수 있는데, 개시인자를 수주간 투여한 후에 시험물질을 투여하는 모델이다. 5가지 개시인자를 투여 한 후에 수개월 동안 시험물질을 투여하는 다장기 발암성 모델도 있다. 이 밖에 주로 사용되는 형질전환 마우스 모델에는, p53+/- 모델, Tg.AC 모델, TgHras2 모델, XPA 모델 등이 개발되어 소개되고 있다. 형질전환 마우스는 미국에서는 많이 사용되지만 유럽에서는 흔하게 사용되지 않는다(Woolley, 2003).

형질전환 마우스 모델은 시험기간을 단축시킨다는 장점은 있지만, 랫드 2년 발암성 시험을 필수적으로 실시하여야 하므로 결론적으로 신물질 개발 기간을 단축시키지는 못하며, 또한 과학적 밸리데이션과 새로운 모델의 개발이 진행중이다. 형질전환 마우스를 이용한 모델은 발암성 기전을 기본으로 하여 사람의 위해성 평가에 초점이 맞추어져 있기 때문에, 유전독성 발암물질 검색에는 유효하지만 비유전독성 발암물질의 검색에서 일부 모델에서는 회의적이며, 특정 종양의 발현으로만 검색한다는 단점도 지적되고 있다.

추가시험을 고려 할 때에는 시험의 유용성, 복지 차원에서의 사용동물 수, 경제적인 측면도 고려 하여야 하며(ICH guideline, S1B, 1997) 동시에 왜 이런 모델을 사용해야 하는지에 대한 충분한 설명을 하여야 한다. 즉, 특정한 추가 시험을 통해서 장기 발암성 시험에서 얻을 수 없었던 정보를 얻을 수 있고, 이들 정보가 사람의 위해성을 평가하는데 유용한 정보이며, 약물의 대사가 위해성 평가에 유용하고, 약물 폭로 정도가 사람의 폭로양상과 비교하였을 때 적절하였는가 등을 설명 할 수 있어야 한다. 또한 새로운 모델을 사용하여 발암성 현상을 설명할 때에는 시험이 애초 목적하는 의도와 얼마나 부합되는가를 심도있게 평가하여야 하며, 이런 추가적 발암성 시험이 발암성 증거의 정도(weight of evidence)를 얼마나 설명할 수 있는가에 촛점이 맞추어져야 한다(ICH guideline, S1B, 1997).

발암성의 위해성 평가

독성의 위해성 평가는 제한적인 데이터를 가지고 환경이나 대중의 안전성에 대하여 외삽시키는 과정이라고 할 수 있다. 데이터에는 역학조사, 임상결과 혹은 동물을 이용하거나 시험관 시험을 통한 안전성 시험 결과 등이 해당된다. 이번에는 발암성 평가 방법에 대한 역사적 고찰과 비유전 독성에 대한 평가의 오류에 대하여 살펴본다.

델라니 법령 적용의 대표적인 오류 사례

비유전독성 발암물질의 위해성을 평가 할 때에는 화학물질의 구조분석, 유전독성 시험, DNA adducts의

형성 등 몇 가지 기전시험을 실시하여 평가 가능한 비유전독성 발암물질의 기전을 밝혀야 하며, 동물에서 종양을 일으키는 양과 일으키지 않는 양이 실험을 통하여 용량-반응의 정보를 확실하게 보여 줄 수 있어야 한다.

d-Limonene을 투여하면 수컷 랫드의 신장에서만 alpha-2-u-globulin으로 잘 알려진(Kanerva 등, 1987; Webb 등, 1989) 단백질 복합체인 유리질 방울(hyaline droplet)이 발견되지만(Kanerva 등, 1987, Hard와 Whysner, 1994), 암컷 랫드나 다른 종에서는 alpha-2-u-globulin 신증이 나타나지 않아 사람의 발암성과는 관련이 없다는 것이 증명 되었다(U.S. EPA/625/3-91/019F, 1991). Butylated Hydroxyanisole(BHA)는 설치류의 전위에서만 촉진인자로 작용하여(Williams, 1986) 특이적으로 편평상피 암을 유발시키는 물질이다(IARC, 1987). 그러나 사람의 위는 이런 해부학적인 구조를 가지고 있지 않아서 모든 유전독성 시험에서 음성결과를 나타내었고(Williams, 1986), DNA 결합성이나 DNA adducts를 형성한다는 증거도 없다(Hirose 등, 1987). BHA는 일일 섭취량의 수백배 농도에서 세포 증식을 일으키기 때문에 일반적인 극소량 섭취시 사람에서의 감수성은 거의 없다고 할 수 있다.

Pentobarbital(PB)은 CF1 마우스에 생애기간 동안 투여 시 양성 간 종양과 간세포 암종이 발견되었으나 C3H 마우스와 랫드에서는 오직 양성 간 종양만 발생하였다(IARC, 1987). 설치류의 간은 여러 가지 측면에서 사람의 간과 유사하지만 특정 마우스 품종에서 자연발생 간 종양이 높게 나타나며, 마우스 간 종양은 간경화 소견이 없는데 비해 사람의 간 종양은 대부분이 간 경화를 동반한다는 차이점이 있다. 설치류에서는 화학물질에 노출되지 않아도 간세포에 변이 세포소(foci of cellular alteration)가 발생되어 향후 종양세포로 발전하지만, 사람에서는 이런 변이 세포소가 발견 보고되고는 있지만 설치류에서 발견되는 것과 동일한 것인지에 대해서는 논란이 있다(Su and Bannasch, 2003).

인공 감미료로 사용되는 사카린염도 대표적인 오류의 사례로 기억되고 있다. Na Sac를 태생기부터 2 세대에 걸쳐서 생애 전체 기간동안 투여 시 방광의 이행상피세포 암종이 발견되었다(Taylor 등, 1980). 그러나 사람과 설치류의 요단백 구성에는 차이가 있어 사람은 랫드에 비해 감수성이 떨어져서 사카린염에 의한 종양발생의 위험은 없는 것으로 알려져 있다. 또한 수컷 랫드 방광의 세포증식과 종양형성에 대한 NOEL은 각각 1%와 3% 미만인데, 이것은 각각 500과 1500 mg/kg/day에 해당하는 양이다. 사람의 경우 사카린의 식이성 섭취가 5 mg/kg/day로 추정되므로 노출에 의한 발암성 위험은 없다고 할 수 있다.

이들 결과와 같이 BHA, PB 및 사카린염 등은 기전시험과 용량-반응 시험시 역치가 존재한다는 것이 밝혀져 있으므로 이 역치 이하에서는 사람의 위해성이 없다고 판단된다(Weisburger, 1996).

유전독성 및 비유전독성 발암물질

유전독성 발암물질은 DNA에 영향을 주어서 발암의 과정을 나타내는 것을 말한다. 이들 화학 물질들은 DNA와 반응하여 아주 극미량으로도 영향을 주며, 이런 영향은 매우 정교한 기술로만 검출이 가능하다. 이들의 효과는 축적성이 있으며 DNA 수복이 가능하기는 하나 제한적이며 비가역적이다.

호르몬 또는 면역억제제 등 몇몇 발암물질들은 비유전독성 발암물질로 분류된다. 비유전독성 발암물질의 경우 세포의 제어가 정상적으로 이루어지지 않는데, 이것은 특정 임계점 이상의 농도에 노출 되었을 때를 말한다. 즉, 고용량 군에서만 나타난 비유전독성 종양은 약동력학적, 혹은 대사적인 과부하로 인해서 생기기 때문에 이 같은 현상이 그 이하의 용량수준에서는 나타나지 않을 수 있다.

이들은 보통 특정 조직에 한정되고, 고용량의 하나의 성별에 한정되는 경우가 많다. 이런 경우에는 설치류의 실험결과 나타난 종양의 발생 결과가 사람과의 연관성이 적다는 이유로 무시된다. 그러한 예로서 methylene chloride 의 투여로 인해 발생되는 마우스의 폐 종양, 그리고 peroxisome 증식에 의해서 생기는 마우스 간 종양을 들 수 있다. 유전독성 발암물질의 경우 일반적으로 크게 볼 때 일반독성의 결과와 일치하는데, 명확한 용량-반응관계를 나타내며, 암수 모두에서 종양이 형성된다. 이론적으로 유전독성 발암물질일 경우 하나의 세포에서 일어난 영향이 종국엔 종양으로 이어지는데, 이런 반응은 역치를 보이지 않는다. 그러나 생물학 자체가 흑백 혹은 이분법의 논리로 설명되지 않는 경우가 많이 있듯이 이런 이론으로 설명이 잘 되지 않는 경우가 많이 있다. 비록 영향을 받은 DNA라도, 세포가 분열을 하지 않거나 혹은 향후

증식으로 이어지지 않는 경우에는 암으로 진행되지 않는다.

독성시험에서 발견되는 대부분의 내분비성 종양은 비유전독성 발암물질에 의한 것이다. 이들 물질은 일차적인 DNA 손상을 유발시키지 않고, 지속적인 자극에 의한 자연적인 DNA 손상을 야기 시키며, 이로 인한 확장성 성장으로 종양을 일으킨다. 내분비계의 이상으로 야기되는 종양은 대부분 종 및 품종 차이를 나타낸다. 이들이 종양으로 되기 위해서는 많은 양의 호르몬 분비가 전제 되어야 하므로 독성시험에서는 종양을 유발 시키나 역치의 개념으로 사람에게 외삽할 경우 사람에서의 위해성은 매우 낮아진다 (Thomas와 Williams, 1991). 특히 흔히 사용되는 설치류는 다른 종의 동물보다 호르몬에 대한 감수성이 높아서 더욱 사람에의 영향은 적게 평가 되어야 하고, 이런 이유로 설치류를 이용한 발암성 시험은 사람의 발암성을 평가하는데 이상적이지 못한 종으로 생각되어지고 있다 (Alison 등, 1994; Gopinath, 1995). 설치류를 이용한 발암성 시험에서 대부분의 경우 이미 작용기전이 알려져 있지만, 작용기전이 명확하게 이해되지 않은 경우에는 기전 시험을 통하여 사람의 위해성 여부를 평가하여야 한다(표 1). 그러므로 발암성 시험 후에 결과로 나타나는 내분비계 종양에 대해서는 명확한 기전을 밝히는 시험이 병리학자, 내분비 학자, 임상가, 그리고 독성학자가 참여하는 공동연구로 이루어지는 것이 필요하다 (Gopinath, 1999).

발암성 시험결과에 의한 물질의 분류

2년 설치류 발암성 시험의 평가방법

2년 설치류 발암성 시험 결과를 해석할 때에는 매우 복잡하고 어려우므로 여러 가지 영향요소를 고려하여 사람의 위해성을 판단하여야 한다. 종간의 차이, 품종간의 차이, 시험 시설간의 차이, 사양관리의 차이, 그리고 병리학자의 진단기준의 차이 등에 따라 결과가 달라질 수 있기 때문이다. 그리고 잘 계획되고 실시된 시험결과라도 화학물질 자체의 위해성을 평가할 때에는 발암성 증거의 비중(weight of evidence)에 따라서 다르게 평가한다. 미국 NTP 에서는 1996년 발암성 결과를 가지고 판단 할 때 사용되는 기준을 새롭게 발표하였다(NIEHS, 1996). 발암성의 위해성 평가는 크게 두 가지 단계를 거쳐서 실시한다. 첫번째는 모든 역학조사, 동물시험, 그리고 기타 실시된 관련시험에 대한 정성적인 평가이며 이런 화학물질에 대한 발암성 분류는 사람에 대한 영향을 고려하여 결과의 심각성 혹은 중요성에 따라서 분류한다. 두번째 단계는 발암의 위해성을 정량적으로 분류하는데, 수학적 기법을 사용하여 실험에 사용된 고용량을 환경의 저용량으로 외삽시키는 단계이다.

EPA 와 IARC 에서는 분류의 기준을 제시하였는데 두 기준은 크게 다르지 않다. 분류의 기준은 크게 역학적인 조사결과 위해성의 증거가 있었는가에 초점이 맞추어져 있다. 동물시험결과에서도 어느 한 종에서 양성결과가 나온 것 보다는 두 종류 이상의 동물 종의 시험결과가, 그리고 한가지 시험보다는 두 가지 이상의 시험결과에서 발암성 양성결과를 보인 것을 기준으로 동물에서의 적합한 증거가 있는지를 평가한다. 그러나 하나의 시험결과 일지라도 종양의 발생빈도가 높거나 보통 사용한 동물에서 흔히 발견되지 않는 발생빈도가 낮은 종양이 시험물질의 영향으로 발견되는 경우에는 동물에서의 증거가 있는 것으로 판단한다. 하나의 시험, 한가지 품종, 그리고 한가지 동물에서만 나온 양성 결과는 명확한 증거라고 보기가

Table 1. Examples of additional mechanistic studies

Tests	Methods
DNA adducts	Unscheduled DNA synthesis, Comet assay
Gene expression	Proteomics
Apoptosis	In-situ hybridization, immunohistochemistry
Cell proliferation marker	BrdU, PCNA
Tubuline polymerisation	Aneugenesis
Hormone	Hormonal balance. Secondary tumours
Cell to cell communication	Gap-junction

adapted from Woolley, 2003

어렵다고 판단 하는 것이 보통의 경우이다. Group A 혹은 B로 분류하려면 정량적인 분석이 이루어진 것이며, Group C 는 사례별로 위해성을 분석하여 분류한 것이라고 할 수 있다. 발암물질을 분류하는 방식이 나라와 지역에 따라서 조금씩 상이하였다. 이를 개선하여 통일된 분류를 하기 위하여 OECD에서는 회의(Joint meetings of the chemicals committee and the working party on chemicals)를 열어 1998년 28차 회의부터 2001년 32차 회의에서 합의된 방안을 발표하였다(OECD, ENV/JM/MONO(2001)6). 이 문서에서 사람과 연관성이 없는 발암성 결과를 나타낸 물질을 발암물질의 분류에 포함시키지 않았다. 발암성 결과로 나타난 증거의 정도와 중요성에 따라서 단순화 시켜서 분류하였다(표 2; OECD guidelines, 2001). 즉 카테고리 1과 2로 나누고, 카테고리 1은 다시 A와 B로 분류하여 A 는 사람에서 역학적으로 명확히 발암물질로 분류된 물질이며, B 는 동물실험에서 명백한 발암성이 인정된 물질로 분류하였다. 카테고리 2에는 사람의 발암성이 의심되는 물질로서 카테고리 1에 포함시키기엔 증거가 부족한 물질을 포함시키게 하였다. 발암물질 분류의 기준이 되는 발암성 증거의 정도(strength of evidence)는 발암성 독성시험의 결과에서 나타난 결과가 얼마나 통계적으로 유의성이 있으며, 대조군과 비교하였을 때 어느 정도로 차이가 나는 발암성이었는지를 말한다. 사람의 경우에는 폭로와 발암성과의 관련을 의미한다. 발암성 물질의 분류 근거의 또 하나의 기준인 추가적인 고려(additional considerations)는 다른 말로 증거의 무게 (weight of evidence) 라고 할 수 있다. 얼마나 발암성을 나타내는지 이외의 다른 영향요소 즉, 종양의 배경병변, 종양의 종류, 다발성의 여부, 양성에서 악성으로의 변화단계, 종양발생 연령 등은 매우 중요하게 고려하는 요소들이다.

이 밖에도 종양이 암 수 양성에서 발생하였는지의 여부, 발암성을 보인 동물 종의 수, 화학구조 측면에서의 분석, 물질의 흡수, 분포, 대사 및 배설의 정보, 발암물질의 노출방법, 화학물질의 과도한 투여여부, 발암성 발현기전과 사람에의 관련성 등을 함께 고려한다. 이중에서도 특히 중요하게 고려하여야 하는 것은 동물에서의 유전독성 결과이다. 발암성은 유전 독성학적인 관점에서 중요하게 이해되어야 하기 때문이다. 그러나 이런 기준의 적용은 화학물질 각개의 경우의 특성에 따라 각각 사례별로 적절히 적용하여야 한다.

역학

사람의 역학적 데이터는 발암성을 이해하는데 가치있는 증거로 사용된다. 서로 다른 수준으로 폭로된 사람들이 서로 다른 종양 발생율을 보였다면 확연한 증거로 활용될 것이다. 그런 현실적인 측면에서 이런 증거를 확보하는 것은 매우 어려우며 매우 다양한 영향인자가 관여하기 때문에 이를 정량화 시키기 어렵다. 왜냐하면 역학적 조사가 이루어지기 전에도 특정 원인 화학물질에 대하여 폭로되고 있었을 가능성이 있기 때문이다.

서로 다른 시험계획과 서로 다른 판단기준에 의해서 실시된 수많은 시험결과가 데이터 베이스로 총괄적인 해석을 하기도 또한 매우 어렵다.

위해성 평가

독성학적 입장에서 발암성 시험을 본다면 사람들이 위해성 혹은 발암성이 있다고 여겨지는 화학물질에

Table 2. Harmonised OECD cancer classification system for the chemicals

Category		Descriptions
1 Known or presumed human carcinogens	A	Known to have carcinogenic potential for humans; the placing of chemical is largely based on human evidence
	B	Presumed to have carcinogenic potential for humans; the placing of a chemical is largely based on animal evidence
2 Suspected human carcinogens	Done on the basis of evidence obtained from human and/or animal studies, but which is not sufficiently convincing to place the chemical in Category	

adapted from OECD guidelines, 2001

의해 노출되거나 혹은 영향을 받는 기회는 매우 적다고 할 수 있다. 종양은 그 자체가 노화의 일환으로 발생되는 것이므로 어떤 특정 화학물질이 특정집단 혹은 개인의 종양발생에 전적으로 기여하였다고 판단하기에는 어려움이 있다. 또한 잘 알려진 발암물질이지만 자연에 존재하는 중금속 등은 이런 판단을 더욱 어렵게 하고 있다. 더군다나 모든 화학물질을 발암성 혹은 비 발암성 물질로 구분 지으려 하는 것도 무리가 있다.

발암성에 영향을 주는 인자는 크게 식이, 유전적 특성, 생활습관, 직업, 생체의 면역변화 등을 들 수 있다. 그렇지만 일상생활 패턴에 연관된 것이나 혹은 식이습관에 관련된 발암인자를 제거시키는 것은 매우 어렵다. 반면 작업장에서 과도하게 노출되는 발암물질이 인지되었다면 이를 제거하는 것은 크게 어려운 일은 아니다. 작업장에서 발암물질에 노출되는 것은 흔히 무시되거나 혹은 지식의 부족에서 오는 경우가 많다. 가령 니켈 제련공이 작업 후 매일 코를 씻어주는 방법으로 비인두 종양의 발생율을 줄일 수 있었으며(Doll 등, 1970) 서양의 굴뚝 청소부들의 무지로 인해서 청소작업 후 씻어주는 일을 게을리 하여 벤젠 및 사이클로스포린에 노출되어 고환암 발생이 증가하는 것에서 알 수 있는 것처럼, 교육과 지식의 부재로 인해서 예방이 가능함에도 불구하고 노출에 의한 해를 입는 경우가 있다. 이런 경우에는 발암성에 대한 이해의 부족, 낮은 발생률, 역학적 조사의 미비 등의 이유로 작업자의 위해성이 무시되는 경향이 있다. 같은 위해성의 문제에 대해서도 관련 당사자간에는 입장의 차이가 분명하다(Woolley, 2003). 상업적 이윤을 추구하려는 기업에서는 가능한 작업자의 비용을 아끼려는 입장 때문에 비용이 드는 예방에 게을리 하게 되고, 정부에서는 위해성이 의심되는 모든 영역에 연구비용을 지원하기 어려운 입장이며, 또한 공공의 입장에서는 원인결과를 밝혀서 보상을 받아내는 데에만 관심을 집중시킨다. 이런 이유로 인하여 지식의 확충과 예방이 주 목적이 되어야 하는 위해성 평가는 원활하지 않을 수 있다.

결 언

암은 생체내외의 복합적인 환경에 의해 복잡한 단계를 거쳐서 형성된다. 현재까지의 이론은 DNA의 변형, 세포내의 환경변화, 성장요소의 비정상적인 발현, 세포간 신호전달 등의 생체내의 환경변화에 따라서 암이 발생하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 발암성을 평가하기 위해서 현재까지는 설치류를 이용한 2년 발암성 시험이 주로 사용되고 있는데, 비용이 많이 들고 시험기간이 오래 걸린다는 단점이 있다. 발암성 시험에서 일단 양성으로 판명되면 판매 또는 사용허가에 제약이 강하게 가해지므로 신중하게 실시되어야 하며 발암성 시험이 중요한 만큼 결과에 대해서도 많은 비판이 가해져서 경우에 따라서는 시험을 다시 해야만 하는 경우도 생기지만(Ochoa, 2002), 일단 한번 실시된 발암성 시험은 비용과 시간적인 문제 등 때문에 다시 반복하기는 매우 어렵다. 현재의 발암성 시험은 설치류를 이용한 2년 발암성 시험이 오랫동안 황금률로 인식되어 왔으며 거의 유일한 발암성 평가 방법으로 받아들여지고 있다(Woolley, 2003). 하지만 발암성 시험 방법의 상세한 부분을 분석해 보면 과학적인 근거에 의존 하였다기 보다는 전통과 규제기관의 편리에 의하여 정해진 것들도 많다. 또한 발암성 시험에서 품종을 선택할 때 이론적으로는 동물 품종의 대사적 특성을 고려하여 사람과의 유사성이 큰 품종을 선택하는 것이 맞지만, 현실적으로는 생존률과 종양발생 양상만을 참고하는데 급급한 것이 사실이다(Woolley, 2003). 그러므로 기존 시험방법의 단점을 많이 보완하는 새로운 검색법의 개발이 요구되어지고 있다. 발암성 시험의 결과를 토대로 위해성을 평가할 때에도 종래의 일괄적 규제방식에서 벗어나 보다 합리적인 근거에 의해서 이루어져야 한다.

감사의 글

본 연구는 과기부 독성평가기술개발사업(M1-0312-00-0002)의 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

Alison, R.H., C.C. Capen and D.E. Prentice (1994) Neoplastic lesions of questionable significance to humans. Toxicol. Pathol. 22: 179~186.

Bode, G. (1994) Toxicokinetics in long term toxicity and carcinogenicity studies. Drug Information Journal

28: 213~220.

CD(SD)IGS study group (1999) Biological reference data on CD(SD)IGS rats. 1999. (Matsuzawa T, Hiroyuki Inoue, ed). Yamanouchi Pharmaceutical Co. Ltd., Japan.

CD(SD)IGS study group (1998) Biological reference data on CD(SD)IGS rats. 1998. (Matsuzawa T, Hiroyuki Inoue, ed). Yamanouchi Pharmaceutical Co. Ltd., Japan.

Cohen, S.M. and L.B. Ellwein (1991) Genetic errors, cell proliferation, and carcinogenesis. Cancer Res. 51: 6495~6505.

Derelanko, M.J. (2000) Toxicologist's Pocket Handbook. CRC Press, Boca Raton, Fla.

Doll, R., L.G. Morgan and F.E. Speizer (1970) Cancers of the lung and nasal sinuses in nickel workers. Br. J. Cancer 24: 623~632.

EMEA(The European Agency for the Evaluation of medicinal products Evaluation of medicines for human use London) (2004) CPMP/SWP/1094/04/Corr: Guideline on the evalution of control samples for toxicokinetic parameters in toxicology studies: checking for contamination with the test substance.

EMEA(The European Agency for the Evaluation of medicinal products Evaluation of medicines for human use London) (2002) CPMP/SWP/2877/00, Committee for proprietary medicinal products (CPMP), Note for guidance on carcinogenic potential. (issued 25 July 2002).

NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences) (1996) (Volume 61, Number 188) Federal Register: The National Toxicology Program (NTP) Revises criteria and process for listing substances in the biennial report on carcinogens (issued 26 September, 1996)

Festing, M.F. (1979) Properties of inbred strain and outbred stocks with special reference to toxicity testing. J. Toxicol. and Environm. Health 5: 53~68.

Festing, M.F. (1995) Use of a multistrain assay could improve the NTP carcinogenesis bioassay. Environmental Health Perspectives 103: 44~52.

Foran, J.A. & The International Life Sciences Institute (ILSI) Risk Sciences Working Group on Dose Selection (1997) Principles for the selection of doses in chronic rodent bioassays. Env. Hlth. Persp. 105: 18 - 20.

Gad, S.C. and C.G. Rousseaux (2002) Use and misuse of statistics in the design and interpretation of studies. In: Handbook of toxicologic pathology.

Gopinath, C. (1994) Spontaneous tumour rates: their use to support rodent bioassays. Toxicol. Pathol. 22: 160~164.

Gopinath, C. (1995) The predictive value of pathological findings in animal toxicity studies. J. Toxicol. Pathol. 8: 89~100.

Gopinath, C. (1999) Comparative endocrine carcinogenesis. In. Endocrine and hormonal toxicology, (PW Harvey, K Rush, A Cockburn, eds.) Wiley, Chichester. pp.155~167.

Hard, G.C. and J. Whysner (1994) Risk assessment of d Limonene: an example of male rat specific renal tumorigens. Crit. Rev. Toxicol. 24: 231~254.

Haseman, J.K. and G.R. Rao (1992) Effects of corn oil, time related changes and inter laboratory variability on tumor occurrence in control Fischer 344 (F344/N) rats. Toxicol. Pathol. 20:52~60.

Hirose, M., A. Hagiwara and K. Inoue (1987) Metabolism of 2 and 3 tert butyl 4 hydroxyanisole (2 and 3 BHA) in the rat (I): Excretion of BHA in urine, feces and expired air and distribution of BHA in the main organs. Toxicology 139~147.

IARC (1992 - 1997): International Classification of Rodent Tumours, Part 1. The Rat (set of 10 fascicles). Mohr U (Ed). IARC Scientific Publications 122, Lyon.

IARC (eds) (1987): IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. The overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC monographs. vol. 1 to 42. Supplement 7. IARC Lyon, 40~42. .

ICH (1995): Guideline S3A: Notes for Guidance on Toxicokinetics. The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies. US FDA, CDER/CBER,

Rockville, Md.

ICH (1994). Guideline S3B: Guidance on Repeat Dose Tissue Distribution Studies. US FDA, CDER/CBER, Rockville, Md.

ICH (1997) Guidance for Industry S1B Testing for carcinogenicity of pharmaceuticals. US FDA, CDER/CBER, Rockville, Md.

ICH (1997). Guideline S1C(R). : Addendum to "dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals" Addition of a limit dose and related notes. US FDA, CDER/CBER, Rockville, Md.

Kanerva, R.L., G.M. Ridder and F.R. Lefever (1987) Comparison of short term renal effects due to oral administration of decali or d limonene in young adult male Fischer 344 rats. Food Chem. Toxicol. 25: 345~353.

Keenan K.P. (1992) The effects of diet and calorically optimization (calorically restriction) on rat survival and carcinogenicity. Proceeding from the 43rd annual meeting of the American college of veterinary pathologists, San Diego, CA, November 15~21, p. 227.

Lang, P.L. (1991) Changes in life span of research animals leading to questions about validity of toxicologic studies. Chem. Reg. Rep. 14:1518~1520.

Maeda, H., C.A. Gleiser, E.J. Masoro, I. Murata, C.A. McMahan, and B.P. Yu (1985) Nutritional influences on aging of Fischer 344 rats: II. Pathology. J. Gerontol. 40(6):671~688.

Masoro, E.J. (1992) Restriction of aging processes by food restriction: An experimental tool. Am. J. Clin. Nutr. 55:12505~12525.

Mastorides, S. and R.R. Maronpot (2002) Carcinogenesis. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA: Handbook of toxicologic pathology. Vol. 1, pp. 83~122.

Mcconnell, E.E. and S. Eustis (1994) Peer review in carcinogenicity bioassays: uses/ abuses. Toxicol. Pathol. 22:141~144.

Mohr, U. and G. Morawietz (1995) Recent progress in the field of toxicologic pathology in Europe and the need for standardisation. J. Toxicol. Pathol. 8: 219 - 226.

Mohr, U. (1999) RITA - Registry of Industrial Toxicology Animal data: Optimization of carcinogenicity bioassays. Exp. Toxic. Pathol. 51:461~475 (editorial).

Morawietz, G., S. Rittinghausen and U. Mohr (1992) RITA - Registry of Industrial Toxicology Animal data - Progress of the working group. Exp. Toxic. Pathol. 44: 301 - 309.

Ochoa, R. (2002) Pathology issues in the design of toxicology studies. In: Handbook of toxicologic pathology. 2nd ed. Ed Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig, MA, pp. 307~326.

Page, N, (ed) (1977) Concepts of a bioassay program in environmental carcinogenesis. In: Advances in Medical Toxicology, HF Kraybill and HA Mehlman (ed). Wiley and Sons, New York, pp. 87~171.

Rao, G.N., J.K. Haseman, S. Grumbein, D.D. Crawford and S.L. Eustis (1990) Growth, body weight, survival and tumor trends in F344/N rats during an eleven year period. Toxicol. Pathol. 18: 61~70.

Rous, P., J.G. Kidd and W.E. Smith (1952) Experiments on the cause of the rabbit carcinomas derived from virus induced papillomas. II. Loss by the Vx2 carcinoma of the power to immunize hosts against the papilloma virus. J. Exp. Med., 96(2): 159~74.

Son, W.C. (2003a) Analysis of fighting associated wounds causing death of young male CD 1 mice in carcinogenicity studies. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 30(3): 101~111.

Son, W.C. (2003b) Factors contributory to early death of young CD 1 mice in carcinogenicity studies. Tox. Letters 145(1): 88~98.

Son, W.C. and C. Gopinath (2004) Early occurrence of spontaneous tumors in CD 1 mice and Sprague Dawley rats. Toxicol. Pathol. 32(4): 371~374.

Son, W.C., K. Kamino, Y.S. Lee and K.S. Kang (2003) Strain specific mammary proliferative lesions development following life time oral administration of Ochratoxin A in DA and Lewis rats. International Journal of Cancer 105(3):305~311.

Son, W.C., B.H. Kim, D.D. Jang, B.S. Han, K.H. Yang and Y.S. Lee (2004) Importance of peer review in

toxicological pathology and its practical approach. J. Toxicol. Pub. Health, 20(1): 1~11.

Su, Q and P. Bannasch (2003) Relevance of hepatic preneoplasia for human hepatocarcinogenesis. Toxicol. Pathol. 31(1): 126~133.

Taylor, J.M., M.A. Weisburger and L. Friedman (1980) Chronic toxicity and carcinogenicity to the urinary bladder of sodium saccharin in the in utero exposed rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 54: 57~75.

The OECD guideline (1999): ENV/JM/MONO(99)35, Series on testing and assessment No. 35, Environment directorate joint meeting of the committee and the working party on chemicals. Environmental health and safety publications.

The OECD guideline, (1999): ENV/JM/MONO(99)4, Series on pesticides No. 14, Environment directorate joint meeting of the committee and the working party on chemicals. Environmental health and safety publications. Guidance notes for analysis and evaluations of chronic toxicity and carcinogenicity studies. (issued 17 Feb., 1999).

The OECD guidelines, (2001): ENV/JM/MONO(2001)6, Series on the testing and assessment, Number 33, Harmonised integrated classification system for human health and environmental hazards of chemical substances and mixtures.(issued 2001).

The OECD guideline, (2002): ENV/JM/MONO(2002)19, Environment directorate joint meeting of the committee and the working party on chemicals, pesticides and biotechnology(issued 4 Sep., 2002).

Thomas, G.A. and E.D. Williams (1991) Evidence for possible mechanisms for nongenotoxic carcinogens in the rodent thyroid. Mutat. Res. 248: 357~370.

Thurman, J.D., T.J. Bucci, R.W. Hart and A. Thrturro (1994) Survival, body weight, and spontaneous neoplas in ad libitum fed and food restricted Fischer 344 rats. Toxicol. Pathol. 22: 1~9.

U.S. Environmental Protection Agency(EPA) (1987): Pesticide Regulation (PR) Notice 87 10, Pathology raw data definitions as it relates to pathology trails and independent pathology peer review system(issued Oct., 9, 1987).

U.S. Environmental Protection Agency(EPA) (1994): Pesticide Regulation (PR) Notice 94 5, Notice to Registration of Pesticide Products(issued Aug., 24, 1994).

U.S. Environmental Protection Agency(EPA) (1991): Alpha 2u globulin: Association with chemically induced renal toxicity and neoplasia in the male rat. US Environmental Protection Agency, EPA/625/3 91/019F, September 1991.

Ward, J.M., J.F. Hardisty, J.R. Hailey and C.S. Streett (1995) Peer review in toxicologic pathology. Toxicol. Pathol. 23: 226~234.

Webb, D.R., G.M. Rider and C.L. Alden (1989) Acute and subchronic nephropathy of d limonene in Fischer 344 rats. Food Chem. Toxicol. 27: 639~649.

Weisburger, J.H. and G.M. Williams (1984) Bioassay of carcinogens: In vitro and in vivo tests. In: Chemical Carcinogens, CE Searle (ed). American Chemical Society, Washington, D. C., pp. 1323~1373.

Weisburger, J.H. (1996) The 37 year history of the Delaney clause. Exp. Toxic. Pathol., 48: 183~188.

Williams, G.M. and J.H. Weisburger (1991) Chemical carcinogenesis. In: Amdur MO, Douli J, Klaasen CD (eds).: Casarett and Doull's Toxicology, The basic Science of Poisons. Pergamon Press New York pp. 127~200.

Williams, G.M. (1986) Epigenetic promoting effects of butylated hydroxyanisole. Food. Chem. Toxicol. 24: 1163~1166.

Wolley, A. (2003) A guide to practical toxicology, evaluation, prediction and risk. Taylor and Francis, London and New York.

Issues in 2-year Long-term in vivo Carcinogenicity Assay

Woo-Chan Son, Bae-Hwan Kim[1], Dong-Deuk Jang[2], Beom-Seok Han[2], Jong-Choon Kim[3], Je-Bong Lee[4], Jin-Sup Shin[4] and Hyoung-Chin Kim[5]*(*Huntingdon Life Sciences, Pathology, Woolley Road, Alconbury, Huntingdon, PE27 4HS, UK,* [1]*Pre-clinical Research Center, AMOREPACIFIC R&D CENTER, Kyeonggi, 449-729, Korea,* [2]*Division of Toxicological Research, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, Seoul, 122-704, Korea,* [3]*Department of Toxicology, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, 300 Yongbong-Dong, Gwangju 500-757, Korea,* [4]*National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration, Kyeonggi, Su-Won, 441-707, Korea,* [5]*Lab of Animal Model Evaluation, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), PO Box 115, Yusong, Taejon 305-600, Korea*)

Abstract : It has been debating about conducting and interpretating of 2-year rodent carcinogenicity bioassay. Although some criticisms arising in usefulness, it has been still known that long-term carcinogenicity studies using rodents would be the only assay system to predict any possible human risks, which would not be replaced. Both regulatory agencies and academies have developed some assay models, however, there have been controversy whether those study designs and interpretations are based on sound scientific rationale and validated data. Such kinds of issues including choice of species/strain, dose level selection, duration of study, number of animals per group, historical control data, monitoring parameters, terminal investigations, peer review, statistics, alternative assay models, interpretation of neoplastic lesions, and risk assessments, were reviewed.

Key words :

*Corresponding author (Fax : +82-42-860-4609, E-mail : hckim@kribb.re.kr or bhkim@amorepacific.com)