

## 건강기능식품 원료의 실험동물을 이용한 안전성 평가법

강 종 구

충북대학교 수의과대학

### 서 론

지난 20세기는 여러 약물의 약화사건과 더불어 환경오염이 큰 사회문제가 되었던 시대였다. 1960년대 임신구토 진정제로 사용된 thalidomide에 의한 phocomelia(해표지증) 및 유기수은이 문제가 된 Minamata(水俣)병이나 카드뮴이 문제가 된 Itai-Itai병은 공장 폐수에서 방출된 중금속이 어류나 농작물에 축적되고 이를 섭취한 사람에서 신경 및 생식장해를 일으킨다는 대표적인 예이다. 최근 dioxin을 중심으로 하는 많은 화학물질 및 농약들이 내분비장애물질(Endocrine disrupting chemicals, EDs)으로 밝혀지고, 광우병등 축산물의 안전성 여부가 문제되고 건강기능성 식품이 새로운 고부가 가치 산업으로 부각됨에 따라 이런 물질이 사람에 사용되기 전 미리 독성을 예측하는 안전성 시험에 대한 중요성이 높아지고 있다<sup>1)</sup>.

실험동물은 의약품, 건강기능식품, 화장품, 화학물질 등의 안전성 및 유효성 평가를 위해 사용되므로 “살아 있는 시약”이라 불리운다. 최근 국민의 건강에 대한 관심이 높아지고, 식품에 요구되는 기능이 다양해지면서, 여러 기능을 표방한 다종·다양한 식품을 개발되고 있다. 이런 건강지향적 식품은 특별한 가능성을 기대하여 섭취하고 있으며, 이들 제품에는 대개 특정 성분의 함량이 강화되어 장기섭취에 의한 위험이 있을 수 있고, 소비계층이 다양하고 넓으며, 위해 발생시 의약품 보다 광범위한 피해가 발생할 수 있으므로 이들에 대한 안전성 평가의 중요성은 크게 부각되고 있다. 이에 본 연재에서는 건강기능식품 개발과정에서 실험동물의 역할을 소개하고 아울러 이들 제품의 개발과정을 안전성 평가를 중심으로 개괄적으로 서술하고자 한다.

### 신물질의 개발과 동물실험

#### 1. 실험동물

현재 동물실험에서 사용하고 있는 SPF(specific pathogen free)동물이란 병원체인 기생충, 세균 혹은 바이러스를 보유하지 않는 동물이다<sup>2)</sup>. 동물시험에 가장 일반적으로 사용되고 있는 설치류인 랫드와 마우스, 기니피, 햄스터 및 비설치류인 토끼, 비글견, 웨렛트, 저빌, 영장류, 어류 등이 있다. 이런 실험동물은 항생제, 염증약, 진통제, 항암제 및 화학요법제의 개발에 널리 사용되고 있다. 최근 사람의 질환 가운데 선천적 또는 후천적으로 유발되는 난치성 질환인 당뇨병, 간질, 치매등의 연구를 위하여 KK, NOD마우스, NIH-III 마우스, nude마우스, SCID 마우스 및 Lewis 랫드 등과 같은 다양한 질환모델 동물들이 널리 활용되고 있다. 특히 사망요인 1위로 알려진 심장 및 심혈관 질환의 연구가 증가함에 따라 SHR 랫드, WKY 랫드, 미니

돼지, 비비원숭이와 고양이가 동물모델로 쓰이고 있다. 최근에는 RNA/DNA 분자차원에서의 하이테크의 기술을 활용한 유전자도입 및 유전자 조작동물 모델을 사용한 연구가 널리 수행되고 있다<sup>3)</sup>.

## 2. 동물실험의 의미

일반적으로 동물실험이란 어떤 인위적인 처리가 첨가된 동물의 반응을 관찰하는 것이다. 사람과 마우스의 유전자는 85%이상이 같으며 침팬지의 유전자는 99%이상이 유사하므로 실험동물로서의 가치가 있다. 동물실험을 진행하는 이유는 (1)인체실험의 대체 (2)정확한 의학·생물학의 정보수집 (3)경제성의 3가지 점으로 집약된다.

**첫 번째** : 동물실험은 사람에게 사용하는 건강기능식품 등의 안전성을 예측하는 것으로 사람을 위해 실시되므로 사람을 이용하는 것이 이상적이지만 생물활성의 강도나 방향이 미지인 신물질을 처음부터 사람에게 적용하는 것은 비과학적이며 비윤리적이므로 사람에게 적용하기 전에 동물실험을 실시하는 것이다.

**두 번째** : 동물실험의 최대 목적인 정확한 데이터의 수집이다. 동물실험에서는 일정한 실험 조건(주령, 체중, 성별 등)의 실험동물을 동시에 다량 이용할 수 있으므로 정확한 데이터의 수집이 가능하다.

**세 번째** : 사람을 이용한 임상실험과 비교해서 동물실험에 드는 경비가 대폭적으로 절약된다는 점이 중요하다. 통상, 체중 2kg의 토끼에 드는 사료, 사육관리, 투여약품 등의 경비는 체중 60kg인 사람의 1/30이며, 마우스의 체중은 약 20g이므로 토끼보다 훨씬 적은 1/100이다. 반면 의약품 개발에 있어서 임상실험의 경비는 동물실험의 수십배 이상이다<sup>4)</sup>.

## 3. 동물실험의 한계

인간, 동물에는 각각 특유한 반응의 차가 있다. 이런 특이성(종차)이 동물실험의 한계이다. 신생아에 해표지증(phocomelia)을 유발시키는 thalidomide는 사람, 원숭이 및 토끼에서도 해표지증을 일으키지만 설치류인 마우스 및 랫드에서 기형이 유발되지 않는 것은 종 차이의 중요한 예이다. 이 사건을 계기로 최기형(배·태자발생) 시험에는 동물실험의 중요성이 인식되어 토끼의 사용이 의무화되었다. 동물실험을 하는 것은 동물에서의 작용이 그대로 사람에서도 적용되리라는 전제하에 수행되지만 현단계에서 예지성이 충분치 못하며 어떤 통계에서는 76.7%에 지나지 않는다고 한다.<sup>5)</sup> 그러나 최근에 radioisotope나 flow cytometry의 이용, 면역학적 수법의 응용 등으로 약물대사에 있어서의 종차를 알게되고 병태동물의 이용으로 많은 문제점을 해결하였지만 사람과 동물의 차이를 완전히 극복할 수 없는 한계가 있다.

## 유효성의 검토

건강기능 식품은 소비자에게 효능을 나타내어 개선효과가 있어야 한다. 이러한 유효성 검정을 위하여 약효·약리시험이 수행되는데 이때 건강동물을 사용하기도 하지만, 사람에서의 abnormal한 상태와 매우 유사한 병태동물을 사용하여 검체투여 후 normal해지는지를 측정하

는 동물실험이 더 효과적이다. Abnormal한 상태의 동물은 인공적으로 실험동물에 만들 수도 있으며 선천적 질환모델동물을 사용하기도 한다. 각종질환모델동물은 Table 1에 나타난 바와 같이 자연발병동물과 transgenetic동물로 나눌수 있다<sup>6)</sup>. 자연발병모델로서 마우스에서는 MRL/1, 랫드에서는 SHR, 토끼에서는 WHHL가 잘 알려져 있다.

Table 1. 각종 질환 모델동물

1. 자연발병동물		
동물종	계통명	특성
마우스	KK	당뇨병, 비만
	NZB	자가면역, SLE
	EL	간질(癲癇)
	MRL/1	자가면역, SLE
	NOD	비성인성당뇨병, 자가면역
	SL/N	혈관염
랫드	dy	근 dystrophy
	SHR	고혈압
	SHRSP	고혈압, 뇌졸중
모래쥐(gerbil)	WBN/kob	수컷에서만 고혈당, 당뇨, 백내장
		간질, 뇌경색
토끼	WHHL	고지혈증
2. transgenetic동물		
1) 특정유전자도입동물		
a. Big Blue 마우스 : lacI 유전자도입동물 개체수준에서 화학물질의 변이원성을 검사한다.		
b. Muta Mouse : lacZ 유전자도입동물		
2) 암억제유전자의 knock out동물		
항암제 및 발암제의 screening 시험에 이용한다.		
예 : p53 knock out 마우스		

### 전임상시험(preclinical study)

신물질의 개발 단계에서 최종적으로 사람의 임상시험에서 유효성과 안전성을 확인하여야 한다. 이를 위해 임상시험 전에 실험동물을 사용하여 안전성과 유효성을 예측하여야만 한다. 이를 위하여 수행되는 일련의 시험을 전임상시험이라 한다<sup>1)</sup>. 이런 전임상시험은 안전성 확보의 최대 목적이지만, 실험동물과 사람사이의 유해작용의 질과 양에 모두 관계되는 화학물질의 대사속도와 경로에 종적차이가 나타나므로 실험동물에서 얻은 정보가 사람에 대한 이용가치, 즉 실험동물로부터 사람에의 외삽에는 한계가 있다는 것을 유의하여야만 한다.

전임상시험의 주체인 독성시험은 건강기능식품의 시장 유통시 사람의 건강에 대한 악영향

의 방지를 목적으로 한다. 때문에 시험물질에 대하여 예견되는 독성을 검출하기에 적절한 생물(시험계)을 사용하고 그 생물에 대한 독성의 강도를 계측하여 사람에게 대한 외삽을 산출한다.

#### \* 독성시험의 항목

독성시험은 실험동물에 대한 시험물질의 전반적인 작용을 검출하는 것을 목적으로 일반독성시험과 특수독성시험으로 크게 대별하는데 의약품이나 건강기능식품 등에 있어서 독성시험 기준은 “의약품 등의 독성시험기준”(식품의약품안전청고시 제 1999-61호)<sup>7)</sup>이 적용되는데 제시된 독성시험의 항목을 요약하면 다음과 같다.

- ① “단회투여독성시험”이라 함은 시험물질을 시험동물에 단회투여(24시간이내의 분할 투여하는 경우도 포함) 하였을 때 단기간 내에 나타나는 독성을 질적·양적으로 검사하는 시험을 말한다. 단회독성시험의 최대목적은 시험물질이 나타내는 독성의 성격을 조사하고, 50%치사량(50% lethal dose, LD<sub>50</sub>)을 찾아내는 것이다. 50%약효량을 ED<sub>50</sub>(50% effective dose)으로 할 경우, LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>을 안전역이라 하며, 그 값이 클수록 안전하다.
- ② “반복투여독성시험”이라 함은 시험물질을 시험동물에 반복투여하여 중·장기간 내에 나타나는 독성을 질적, 양적으로 검사하는 시험을 말한다. 건강기능식품 원료에 있어서는 비교적 긴 기간인 3개월 이상(13주) 동안 시험물질을 반복투여하여 최대무작용량을 찾아내므로써 사람이 장기간 연속섭취 했을 경우에 나타나는 유해 작용을 예측하고 개략의 안전량을 추측하는 것을 목적으로 한다.
- ③ “생식·발생독성시험”이라 함은 시험물질이 포유류의 생식·발생에 미치는 영향을 규명하는 시험을 말하며 수태능 및 초기배 발생시험, 출생 전·후 발생 및 모체기능시험, 배·태자 발생시험 등이 있다.
  - 1) “수태능 및 초기배 발생시험”이라 함은 암·수 동물에 대하여 교배전부터 교미, 착상까지 시험물질을 투여할 때 나타나는 독성 및 장애를 검사하는 시험을 말한다
  - 2) “출생 전·후 발생 및 모체기능시험”이라 함은 암컷에 착상부터 이유기까지 시험물질을 노출시켜 임신·수유기의 암컷, 수태산물 및 출생자의 발달에 미치는 독성을 검사하는 시험을 말한다.
  - 3) “배·태자 발생시험”이라 함은 착상부터 경구개가 닫히는 시기까지 암컷에 시험물질을 노출시킬 때 임신동물 및 배태자 발생에 미치는 영향을 검사하는 시험을 말한다.
- ④ “유전독성시험”이라 함은 시험물질이 유전자 또는 유전자의 담체인 염색체에 미치는 상해작용을 검사하는 시험을 말한다. 시험항목에는 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험, 포유류 배양세포를 이용한 체외 염색체이상 시험 및, 설치류 조혈세포를 이용한 체내 소핵시험 등이 있다. 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험에는 Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537 또는 TA97, 및 Salmonella typhimurium TA102 또는 E. Coli WP2 uvrA 또는 E. Coli WP2uvrA(pKM101)를 사용한다. 포유류 배양세포를 이용한 체외 염색체이상 시험에는 CHL 또는 CHO세포를 이용한다.
- ⑤ “면역독성시험”이라 함은 시험물질이 면역계에 작용하여 나타나는 이상면역반응을 검

사하는 시험으로서 항원성시험과 기타면역독성시험으로 구분한다. 항원성시험으로 아나필락시스 쇼크 반응시험 및 수동 피부 아나필락시스 반응시험 등을 실시한다.

- ⑥ “**발암성시험**”이라 함은 시험물질을 시험동물에 장기간 투여하여 암(종양)의 유발여부를 질적, 양적으로 검사하는 시험을 말한다.

## 안전성 시험 실시규범

신물질의 연구개발에 있어서 동물을 이용한 비임상시험은 신물질이 임상시험에 도입할 수 있는지를 확인하고, 사람에서의 유효성 안전성을 예측하는 데 중요한 정보를 제공하는 것이다. 이런 동물실험에서 의약품의 승인신청 및 신의약품 등의 재심사신청을 위해 행해지는 안전성에 관한 비임상시험을 대상으로 의약품의 안전성시험의 실시에 관한 기준, 즉 시험실시규범(Korea good laboratory practice, KGLP)이 국내에서 제정되어 1987년부터 실시하고 있다. 또한 2003년도 1월부터 식약청에서는 의약품등의 신물질에 있어서 GLP기관에서 수행된 자료만 신물질의 허가자료로서 인정케 되어 GLP제도는 이제 새로운 국면에 접어들었다. 그러나 건강기능식품의 GLP적용 여부는 아직 검토단계에 있다.

GLP라 함은 의약품, 식품 및 화학물질 등의 안전성 평가를 위하여 실시하는 각종 독성시험에 대한 재반 준수사항을 준수함으로써 시험과정 및 시험결과에 대한 신뢰성 확보를 목적으로 한다. GLP는 크게 시설, 설비에 관한 (1)hard방면과 시험의 실시 및 직원, 조직에 관한 (2)soft방면으로 구분된다. 즉 (1)hard방면에서는 시험시설의 각종설비에 대한 구조, 규모, 배치 등에 관한 규정, 시험데이터의 수집, 측정 또는 해석에 사용되는 기기 및 시설의 환경제어에 사용하는 기기 등에 관한 규정이 (2) soft방면에서는 시험시설의 직원과 조직에 관한 규정, 시험의 적정실시, 신뢰성 보증부문, 시험조작의 표준화에 관한 규정, 피검물질 및 대조물질의 취급에 관한 규정, 시험계획의 입안, 실시에 관한 규정, 시험의 보고 및 기록의 보존에 관한 규정이 상세히 포함되어 있다<sup>8)</sup>.

## 동물실험과 동물복지

신물질의 안전성평가에는 동물실험이 불가결하지만 동물실험을 행할 때에는 동물복지의 관점에서 항상 아래의 요점에 주목하여야 한다.

### 1. 동물실험의 필요성 확인

사람의 건강과 행복을 확보하기 위해 충분한 객관적 사정이 있을 경우에만 동물실험을 인정한다는 것이다.

### 2. 인도적 배려

필요성을 인식되어 동물실험을 실시할 때에는 동물복지의 정신을 기반으로 사육관리를 하고, 인도적으로 적절한 실험방법에 의하여 동물의 스트레스를 감소시키고 실험 후에는 안락사

등에 있어서도 배려하여야 한다.

### 3. 사용동물수의 감소

적절한 실험계획을 기초로 적절한 품질의 동물사용에 의하여 실험에 사용하는 동물수를 감소하기 위하여 노력해야 한다.

### 4. 대체법의 개발과 보급

일련의 독성시험 중에 시험계에 의해서 동물을 가능한 감각이 없는 재료(조직배양이나 세포 배양 등)로 치환할 수 있다. 금후 이러한 대체법(alternatives)의 개발에 더욱 노력하고, 그것을 보급하기 위해 노력하여야 한다.

### 5. 동물복지에 관한 법규

지금까지 국내에서 제정한 동물복지관련 법규에는 아래에 기입한 것들이 있다.

◎ 동물보호법(법률 제 4379호(1991년 5월 31일))

◎ 동물실험지침(대한의학회제정 2000년 3월)

## *In vivo* 독성시험과 *in vitro* 독성시험

*In vivo* 시험과와 *in vitro* 시험의 차이점은 Table 2에 제시하였다. 그러나 *in vitro* 시험은 단기간에 저비용으로 수행할 수 있고, 더우기 3Rs (동물시험의 대체 Replacement, 동물수 감소 Reduction, 고통감소 Refinement)의 경우 사용 동물수의 감소에도 도움이 되지만 궁극적으로 *in vitro* 시험에는 한계가 있어 현시점에서는 *in vivo* 시험을 모두 교체한다는 것은 불가능하다.

Table 2. *In vivo* (생체내) 시험과 *in vitro* (시험관내) 시험의 비교

	<i>in vivo</i> 시험	<i>in vitro</i> 시험
장점	1. 전신성독성을 파악할 수 있다. 2. 생체에 대한 약제의 흡수, 분포, 대사, 배설이 명확해졌다. 3. 약제를 섭취한 때의 중독증상(설사, 체온저하 등)을 확인할 수 있다.	1. 단기간에 시험할 수 있다. 2. 저가로 시험할 수 있다. 3. 1마리의 동물에서 다수의 검체처리를 할 수 있다(사용동물의 감소). 4. 좁은 곳에서 실시할 수 있다.
단점	1. 고가이다. 2. 다수의 동물을 이용한다. 3. 넓은 곳과 사육설비를 필요로 한다. 4. 생체의 개체차의 영향을 받는다.	검체의 용해도 등의 다른 혹은 생체내의 여러 종류의 요인(호르몬, 효소등)의 관여에 의해 <i>in vivo</i> 시험과의 상관성이 낮다.

다. *In vitro*로부터 *in vivo*에의 외삽과 동물과 사람사이의 외삽으로 적용에 이중으로 곤란을 가하므로 데이터의 최종평가에 대한 공헌도는 어디까지나 부분적인 것이다. 최근 신경, 면역, 호르몬 등의 조절하에서 유발되는 여러 역할이 규명되므로써 “whole body effect”의 의미가 주요한 생체장애에 대한 *in vivo* 시험의 중요성이 더욱 부각될 것이다. 이러한 실험동물을 이용한 *in vivo* 시험은 표적장기의 영향 검색, 더욱이 발암억제의 기전을 근거한 억제나 암의 예방대책에 귀중한 재료를 제공할 수 있고 한편, 독성관련의 데이터도 생체장해기구의 해명과 그 대책에 공헌할 수 있는 것 등은 생명과학의 발전을 위한 불가결한 것이다<sup>8)</sup>.

## 결 론

최근 국내 최고의 고부가치 산업으로 떠오르는 건강기능식품의 개발에 관심이 되고 있는 실험동물을 이용한 유효성 평가 기술과 이들 결과를 바탕으로 실시된 안전성시험(독성시험)은 제품화 과정에 가장 필수적인 시험으로서 이들 결과를 토대로 사람의 유효성 및 안전성 여부를 확인하여 새로운 건강기능식품으로 제품화되므로써 기업의 수익을 증대하고 우리의 생활을 보다 풍요롭고 건강하게 공헌한다는 면에서, 이 안전성 및 효능평가 기술은 바이오 기술 중 portal site에 위치한 기본이 되는 주요 기술로서 바이오 산업의 증가에 따라 크게 증가될 전망이다.

## 참 고 문 헌

1. 土井邦雄(1997) : 毒性學, pp 2-16, 山島書店, 東京
2. 이영순(1989) : 실험동물의학, 서울대학교 출판부.
3. Richard C, S, Lee(1993) : Current global status of laboratory animals, the 4 th ARRC international symposium, pp 155-164, Animal Resources Research Center Kon-Kuk Univ.
4. 前島一淑·下田耕治·伊藤勇夫(1993) : 동물실험의 과학적 근거와 연구자의 논리적 책임. 축산의 연구, 47. 1151-1158.
5. Lee Yong-Soon(1993) : Utilization of laboratory animals for pharmacological R & D. the 4 th ARRC international symposium, pp 215-219, Animal Resources Research Center Kon-Kuk Univ.
6. 安全性試驗と實驗動物技術(1997) : 食品農醫藥品安全性評價center, pp5-12, 東京
7. “의약품 등의 독성시험 기준”(1999) : 식품의약품안전청고시 제 1999-61호.
8. 새 천년 한국농업과학의 방향(2001) : 농업생명공학의 세계적 동향과 한국농업. pp 325-337. 한국농업과학협회.