

실험동물의 복지를 고려한 동물실험의 기본원칙(3R)

가. 기본 개념

1) 개념 소개

가) 연구, 교육 및 검사 등에 사용되는 동물의 통증과 고통에 대한 문제는 오랫동안 일반 대중과 사려깊은 연구자들의 관심사이었으며, 이러한 관심과 기초 및 응용 연구에서의 동물 수의 증가가 Russell과 Burch로 하여금 동물 사용방법을 어떻게 결정하여야 하는가에 대하여 검토하게 하였다.

나) Russell과 Burch는 1959년 출판된 그들의 저서 “The Principles of Humane Experimental Technique”에서 대체(Replacement), 감소(Reduction) 및 개선(Refinement)의 소위 3Rs의 개념을 도입하면서 3Rs을 적용할 수 있는 모든 동물 사용 연구는 평가를 해야 한다고 제안하였다.

- 그들은 동물을 다른 연구재료로 교체하는 것이 바람직한 목적이긴 하지만, 동물 사용 수를 줄이고 동물에 적용되는 기법들의 개선을 통한 인도적인 과학에서도 상당한 이득을 만들 수 있다는 것을 인지하였다.
- 지난 40여년간 3Rs은 동물 관련 과학의 수행 시에 심도있게 고려될 수 있는 윤리 원칙으로 폭넓게 받아들여져 왔다.

다) 대안법(Alternatives)이란 용어는 영국의 생리학자 David Smyth가 1978년 출판된 그의 저서 “Alternatives to Animal Experiments”에서 처음으로 사용하였다.

- 이 책에서 Smyth는 3Rs 대안법의 정의를 다음과 같이 제공하였다.
“동물실험의 필요성을 완전히 대체할 수 있고, 필요한 동물의 수를 줄일 수 있거나, 사람과 동물의 필수적인 요구조건들을 충족시킴으로써 동물이 겪는 고통과 통증을 완화시킬 수 있는 모든 절차”

2) 대체(Replacement), 감소(Reduction) 및 개선(Refinement)의 의미

- 앞에서 기술한 바와 같이, 대안법(Alternatives)이란 용어는 동물을 대체하거나, 사용되는 동



윤 문 석
 농림수산검역검사본부
 동물보호과 농업연구관
 yoonms@korea.kr



물의 수를 줄이거나, 또는 동물의 감소, 대체 또는 동물의 고통, 통증 및 스트레스를 감소시킬 수 있는 실험기술을 개선할 수 있는 현행 실험절차에 대한 어떤 변경을 표현하는데 사용된다.

가) 동물실험 대체법(Replacement)

- 대체법은 흔히 대안으로 무생물 시스템(예 : 컴퓨터 모델 또는 프로그램, 마네킹 등)의 이용을 말한다.
- 또한 지각력이 있는 동물(흔히 척추동물)을 지각력이 낮은 동물(흔히 기생충, 세균 등과 같은 무척추동물)로 대체하거나, 세포 및 조직 배양법 등을 이용하는 것도 포함한다.

나) 동물 사용수의 감소(Reduction)

- 감소(Reduction)는 실험결과 얻을 수 있는 유용한 정보의 손실이 없이 이전에 사용되던 동물의 수 보다 줄이는 것을 의미한다.
- 이는 적절한 실험설계, 유전적으로 균일한 동물의 사용, 실험조건의 엄격한 관리 등을 통하여 실험에 대한 변수를 줄임으로써 가능하다.

다) 동물 관리 · 취급 및 실험절차의 개선(Refinement)

- 개선(Refinement)은 동물을 대체하거나, 사용되는 동물의 수를 줄이거나, 또는 동물의 감소, 대체 또는 동물의 고통, 통증 및 스트레스를 감소시킬 수 있는 실험의 몇 가지 요소들에 대한 변경을 의미한다.
- 동물에 고통 또는 통증을 야기할 가능성이 있는 실험을 조정하기 위한 조기 실험종료시점 (Early endpoints)의 설정은 개선의 좋은 예이다.

나. 3R의 세부내용

1) 대체대안법(Replacement)

가) 연구 및 검사에서의 대체대안법(Replacement) 관련 일반원칙

- 배양한 세포, 세균 및 무생물 모델 등은 생체의 전 부분에 걸쳐 존재하므로 특정 프로세스를 연구하기 위해서는 이용할 수가 없다.

- 즉 배양한 심장세포는 심장세포가 심장 전 부위에 위치하기 때문에 모든 다양한 심장세포들 간의 상호작용을 드러낼 수 없을 뿐만 아니라, 정상적으로 심장세포에 영향을 미치는 신경계, 내분비계 및 면역계와의 상호작용 및 혈류와 혈압을 포함한 전체 생체 내에 존재하는 많은 다른 요인 및 신호 등의 영향도 드러낼 수 없기 때문에, 배양한 심장세포는 생체 내 심장세포와 비교될 수가 없다.
- 행동학적 반응은 단순한 세포배양법으로 연구할 수 없다. 세균 및 선충류와 같은 간단한 생물체의 행동은 연구가 가능하지만, 그것으로 좀더 복잡한 생물체와의 관련성을 추정하기는 매우 힘들다. 동일선 상에서, 종 특이성 및 성 특이현상 등에 대한 연구도 불가능하다.
- 세포 혹은 분자의 특정 프로세스를 관찰하거나 분리 등에 이용할 필요가 있을 경우, 세포/조직/기관 배양법 또는 세균배양법과 같은 대체대안법이 훌륭한 수단이 될 수 있다.
 - 순수한 동물실험을 복잡하게 만드는 변이성 요인 중 일부는 세포배양법, 세균 등을 이용할 때 감소하며, 빛, 음향, 잠재성 감염 등이 이러한 요인에 속한다.
 - 물론, 전체적으로 무생물 대안법이 사용될 경우에는 이러한 형태의 변이성은 전혀 문제가 되지 않는다.
- 신선한 세포 라인이 필요할 경우, 모든 동물을 연구에 사용하는 경우보다 각각의 동물로부터 더 많은 수의 배양체를 얻을 수 있어 더 많은 수의 실험이 가능하다.
- 컴퓨터와 같은 무생물시스템을 대안법으로 이용할 경우에는 컴퓨터에 입력할 자료를 얻기 위해 적은 수의 동물을 사용할 필요가 있다.
 - 자료의 질이 우수해야 할 필요가 있으며, 그렇지 못할 경우, 쓰레기가 들어가면 쓰레기가 나온다는 하나의 사례가 될 수 있다.
- 생물학적 시스템은 그 복잡성과 인공물(artefacts) 생성에 따른 예상치 못한 방식으로의 작동 능력 등이 알려져 있다.
 - 세포 라인과 같은 훨씬 더 간단한 시스템은 세포가 적절한 환경에서 유지된다면 인공물을 생성하지는 않는 것으로 보인다.
- 인공물 생성 문제는 세포 환경의 변화 및 순수 동물에서는 반복될 수 없는 작동방식에 있어서의 단순성이 그 원인으로 추정된다.

- 그들의 변화 영향을 연구하기 위해 배양액의 pH, 이온 함량, 산소 수준 등을 변경하는 것이 좋은 예이다.
- 연구의 재현성은 모든 잠재적 변수들을 잘 관리할 때 더욱 커진다.
- 대안법 사용 비용은 순수 동물을 사용하는 것보다 적을 것으로 보이지만 반드시 그렇지 않다.
 - 컴퓨터, 소프트웨어, 세포/조직/기관 배양 장비 등은 동물의 가격을 초과한다.

나) 연구에 있어서의 대체대안법

(1) 기초연구

- 생물학 기초원리의 연구를 위하여 동물이 광범위하게 사용되어왔다.
- 연구자들은 흔히 동물의 생리기능과 생화학적 조성이 사람과 유사한 경우에는 동물을 이용하고자 노력한다.
- 기본적인 프로세스의 대부분은 무척추동물을 포함한 광범위한 생물체에서 일반적이다.

(2) 대안법

- 지각능력이 높은 동물을 대체하는 수단으로 특히 무척추동물과 같은 지각능력이 낮은 하등동물의 사용을 고려하여야 한다.
 - 선충류인 *Caenorhabditis elegans*는 기초신경기능의 연구에 널리 사용된다.
 - 이것은 신경계 내에 302개의 신경단위(neuron)을 가지고 있어서 각 신경단위의 기능과 다른 신경단위과의 상호작용을 연구하는데 적당하다.
 - 비슷한 맥락에서, 유전학자들은 과일미의 자료를 오랫동안 사용해왔다.
- 그 외 주요 대체대안법
 - 가장 일반적이며 유용한 방법은 단클론항체의 생산을 위한 설치류 사용방법을 *in vitro* 방법으로 대체하는 것이다.

(3) 안전성 및 유효성 검사에서의 대체대안법

- 지난 40여년 동안 신제품의 안전성 및 유효성 검사를 위한 동물의 사용이 급격하게 증가하였다.
 - 제품을 생산하는 기업체는 물론 소관 관청이나 소비자 모두 제품 사용 시 안전이 확실할 것을 원한다.

- 이런 제품의 대부분에 대해서는 의학적 치료로 원만하게 수습이 가능하지만, 자동차 및 가정용 세제, 살충제, 화장품 등과 같은 제품들의 안전도 반드시 입증되어야 한다.
- 옛날에는 개코원숭이(baboon)이 충돌시험이 사용되었지만, 그 대안으로 기구 마네킹(충돌 테스트 인형)을 사용하는데 동물을 사용하는 것보다 훨씬 더 정확하고 많은 정보를 얻을 수 있다.
- 제품 안전성에 대한 일반대중의 관심이 검사 증가의 필요성을 이끌었다면, 현재에는 안전성 검사에 동물을 어떻게 사용할 것인가에 대한 일반대중의 관심이 대안법을 탐구할 필요성을 이끌고 있다.
- 새로운 화합물을 검사하기 위한 대안법을 제안한 사람이 취할 수 있는 중요한 노력 중 하나는 그 대안법이 대체하고자 하는 동물 사용 방법만큼 효과적이라는 것을 입증하는 것이다.

(4) 교육 및 훈련에 있어서의 대체대안법

(가) 실기 훈련

- 혈액 샘플링과 같은 간단한 테크닉부터 복강경 수술과 같은 복잡한 수술절차까지의 기술을 익힌다는 것은 의료 및 수의 인력의 훈련에 있어서 매우 중요한 부분이며, 이러한 훈련에 동물이 지속적으로 사용되고 있다.
- 상처봉합술과 같은 기술은 동물을 사용하지 않고도 진전될 수 있다.
- 폐기된 태반은 미세수술 테크닉을 익히는데 사용될 수 있다.
- 다음과 같은 무생물 모델들이 실험절차를 훈련하는데 사용될 수 있다.
 - Koken rat : 미정맥 주사 실습
 - 마네킹 및 컴퓨터 활용 기술 : 외과 의사의 복강경 수술 훈련
- 훈련을 위해 이러한 무생물체를 사용하는 것은 훈련 시에 느끼는 촉감이나 느낌이 살아 있는 생물체를 사용할 때에 경험하는 것과 유사할 경우에 허용된다.

(나) 교육

- 동물은 생물학 원리의 교육 및 증명을 위해 널리 사용되어 왔지만, 최근에는 대안법의 채택으로 인하여 동물 수가 유의하게 감소하였다.
- 매우 다양한 재료들이 교육에서 동물을 대체하여 사용될 수 있다.

- 시청각 보조재 및 컴퓨터 관련 프로그램은 학생들에게 다양한 장기 시스템의 작동 효과를 볼 수 있게 한다.
- 다수의 대화식 컴퓨터 프로그램은 학생들이 그 '실험'에 참여할 수 있게 한다.
- 예를 들면, 마취법에 대한 대화식 프로그램은 학생들의 마취 심도 평가 및 마취제의 용량과 투입방법 계산 등을 가능하게 한다.

2) 동물 사용수의 감소(감소대안법 : Reduction)

- 실험의 불필요한 중복을 방지하기 위해서는 문헌 검색이 매우 중요하다.
- 일부 중복연구는 연구의 결과가 다른 연구실의 다른 연구자에 의해 재현이 가능하다는 것을 확증할 것이 요구되지만, 계속해서 연구를 반복할 필요는 없다.
- 연구자가 연구에 사용되는 동물의 수를 줄이기 위해 시도할 수 있는 방법은 여러 가지가 있다.
 - 사용할 동물(시험구 및 대조구 모두)의 적절한 수를 확인하는 것이 중요한데, 이것은 연구의 통계학적 설계가 연구가 시작되기 전에 면밀하게 검토되어야 한다는 것을 의미하며, 필요할 경우, 통계전문의가의 자문을 받을 수 있다.
 - 적절한 자료 수집 및 분석과 함께 훌륭한 실험설계는 사용 동물의 수를 최소화할 것이다.
- 연구책임자로부터 동물관리자까지 잘 훈련된 연구팀은 모든 연구 관련 절차 및 주변 절차의 표준화를 확증할 것이다.
 - 팀 구성원들을 자기 전공분야 및 필요에 따라 부과되는 추가적인 전문기술에 대해 잘 훈련하는 것이 중요하다.
 - 예를 들면, 연구에 특정 수술절차가 필요한데 그것에 대해 훈련된 사람이 없을 경우에는, 경험이 있는 외과의사의 도움이 필요하다.
 - 동물에 적용되는 모든 실험절차에 대한 훈련은 프로젝트가 시작되기 전에 이루어져야 한다.
- 동물을 이용하는 실험실 강의에서, 훈련된 교수가 동물을 준비하는 것이 훈련이 되지 않은 학생이 하는 것에 비해 수업의 성공도가 훨씬 증가한다.
- 실험동물군의 크기를 크게 하는 원인 중의 하나는 실험조건이 열악하게 관리될 때에 발생할 수 있는 변이성 때문이다.

- 예를 들면, 사용되는 동물이 유전적으로 균일한 집단이거나, 병발증(intercurrent diseases)에 걸리지 않았거나, 관리조건이 안정적일 경우에는 대형군(large group)의 크기는 감소한다.
- 대조군의 동물은 연구에 사용되는 동물의 최대 50%까지 가능하지만, 연구자는 대조군의 동물 수를 최소화하기 위해 노력하여야 하는데, 각 시험군마다 하나의 대조군을 두는 것보다 몇 개의 시험군에 하나의 대조군을 두는 것이 하나의 방법일 수도 있다.
- 한 실험실에서 특정한 실험절차가 반복해서 사용될 경우에는 해당 실험절차에 대한 대조군의 역사적 기록들이 남아 있을 것이다.
 - 따라서, 그 실험절차를 이용하는 연구의 경우, 전체 대조군을 사용 것보다 매우 적은 수의 대조군을 사용하여 대조군의 역사적 한도 이내에서의 감소를 제사하는 것이 가능하다.

가) 목적 동물 모델(Targeted animal models)

- 과거에는 암과 같은 사람의 상황을 정확하게 모방하는 동물 모델을 찾기가 힘들었다.
 - 유방암 동물 모델이 있었지만 암의 원인이나 생물학적 행태는 사람의 것과 차이가 있었다.
 - 따라서 동물 모델에 대한 치료가 반드시 사람에게 적용되지는 않았다.

나) 대안법

- 면역기능이 손상된 동물의 개발은 사람에서 유래한 세포가 숙주의 면역 억제를 할 필요도 없이 동물 체내에서 자랄 수 있다는 것을 의미한다.
- 현재 동물 모델 체내 종양의 행동 양식 및 치료법은 사람 체내의 상태를 나타낸다.
 - 이와 같은 정확한 표적 동물 모델(Targeted animal models)은 동물 모델의 변이는 줄이고 연구결과의 유용성은 증가시키므로써 전체 동물 사용수는 감소시킬 것이다.
- 유전자변형(GM)동물(유전자 도입, 녹아웃 및 돌연변이)은 사람 질병의 이해를 위해 필요한 좀더 적절한 연구결과를 제공할 수 있는 대표적 대안법이지만, GM동물의 기초 축군 조성을 위한 육종에 여전히 많은 수의 동물이 필요하기 때문에 초기에는 사용 동물수의 감소나 대체대안법의 적용이 매우 어려울 수 있다.
 - GM동물로부터 얻은 연구결과를 개선(Refinement)한다면 좀더 적은 수의 동물을 사용하면서도 사람질병의 이해 및 치료에 있어서 빠른 진전을 이끌어 낼 수 있을 것이다.

3) 동물 관리 · 취급 및 실험절차의 개선(개선대안법 : Refinement)

- 개선대안법(Refinement)은 동물수가 가장 중요한 통계일 경우 동물 사용에 있어서 가장 확실한 변화를 가져올 수 있기 때문에 3Rs 중에서 가장 매력 있는 대안법이다.
 - 실험 테크닉의 개선은 연구, 교육 및 검사에 있어서 동물수의 감소와 대체 모두에 매우 중요한 역할을 가지고 있다.
 - 개선된 테크닉은 실험결과의 측면에서 결과물을 향상시키고 변이성을 줄일 것이다.
 - 예를 들면, 사용법에 대해 잘 훈련된 연구자와 함께 새롭고 좀더 안전한 마취제를 도입한 다면 마취로 인해 폐사되는 동물수를 줄일 수 있다.
 - 통계적 분석 기술의 개선으로 연구자들은 중요한 정보의 손실이 없이 좀더 적은 수의 동물을 사용할 수 있다.
- 개선대안법(Refinement)은 동물의 고통과 통증의 감소에 가장 큰 영향력을 가지고 있다.
- 마취제, 진정제 및 기타 치료법의 적절한 사용은 침습성 연구(Invasive studies)에 있어서 매우 중요한 개선대안법이다.
- 동물 관리방법의 개선, 특히 사회적 물리적 환경의 복잡성 증가는 실험동물의 복지를 향상시킨다.
- 많은 연구(예를 들면, 백신 검사)에 있어서 과학적으로 적합한 종료시점(Endpoints)의 설정은 연구결과의 신뢰성에 영향이 없이 동물이 고통을 덜 받게 하여야 한다는 것을 의미한다.
- 동물(고통과 통증 최소화 측면에서)과 과학연구의 결과 모두에 영향을 미치는 않는 개선대안법의 사례는 많이 있다.

가) 동물관리

- 과거에는 흔히 실험동물을 정상적인 행동을 위한 바닥면적 또는 공간이 극히 적은 케이지 또는 우리에서 개별적으로 사육하였다.
- 대부분의 실험동물은 행동이 사회적이기 때문에 격리는 그들에게 스트레스를 야기한다.

(대안법)

- 대부분의 동물은 정상적인 형태로 행동할 수 있도록 복잡한 환경에서 사회적 그룹으로 사육하여야 한다.

- 많은 문헌들이 이러한 형태의 동물관리의 이점에 대해 기술하고 있다.
 - 사회적 물리적으로 복잡한 환경에서 사육되고 있는 랫드는 격리 사육되고 있는 랫드에 비해 수상돌기간 연결(Dendritic connections)이 많아 대뇌피질이 두껍다.
 - 작은 케이지에서 사육한 어린 토끼는 근육과 뼈가 성장하는 시기에 뛰고 달릴 수가 없어서 골격 이상을 일으킨다.

나) 혈액 샘플링 기법에 대한 대안법

- 특히 설치류와 같은 소형 동물의 안구 정맥동(Retro-orbital sinus)은 비교적 많은 양의 샘플을 편리하게 채취할 수 있는 부위이었다.
 - 그러나 특히 반복 채취할 경우 눈을 다치는 등의 위험이 있고, 고통이 따른다.
 - 따라서 미정맥(Tail vein), 복재정맥(Saphenous vein) 및 경정맥(Jugular vein)으로부터의 혈액 샘플링을 포함한 여러 가지 대안법이 개발되었다.
 - 이러한 대안법들을 효과적으로 수행하기 위해서는 약간의 기술이 필요하긴 하지만 동물에 심각한 손상을 일으킬 위험은 크게 감소하였다.

다) 심각한 고통 또는 죽음을 야기하는 실험

- 백신 검사, 전염병, 종양, 장기이식 거부반응 등과 관련된 연구의 경우 과거에는 동물의 종료시점을 질병으로부터 죽음으로 설정해왔다.
 - 동물은 죽음이 가까워짐에 따라 사료섭취 및 음수를 중단하고 급속하게 탈수되므로, 소수의 사례를 제외하고, 동물이 사료섭취 및 음수를 중단하는 시점으로부터 짧은 시간 이내에 죽을 수 있다는 것을 예견할 수 있다.

(대안법)

- 실험이 동물에 심각한 고통이나 죽음을 야기할 것으로 예측될 경우에는 종료시점을 고통의 크기를 제한하고 죽음을 예견할 수 있도록 설정하여야 한다.
 - 가능하다면, 동물의 고통이 시작되기 전에 실험을 끝내면서 과학적 목적도 달성할 수 있는 최대한 빠른 시점을 찾기 위하여 예비실험(Pilot studies)을 이용하여야 한다.
 - 최소한 예비실험을 이용하여 종료시점에 도달했거나 동물의 죽음이 불가피한 때를 가장 적절하게 나타내는 임상증상을 결정하여야 한다.

라) 독성시험

- 반수치사량 검사(LD50 test)는 새로운 화합물의 독성로 평가로 규제 당국이 요구하는 실험이다.
- 반수치사량(LD50)은 글자 그대로 동물의 50%을 죽일 수 있는 양으로, 사람에게 대한 독성과의 관련성이 입증되지 않았는데도 많은 동물이 이 양(LD50)을 정확하게 찾기 위하여 사용되어왔다.

(대안법)

- 독성시험에 대한 여러 가지 개선대안법(Refinements)이 개발되어 경제개발협력기구(OECD)의 가이드라인으로 채택되었다.
- 급성 독성시험을 위한 Fixed dose procedure(Tg420), Acute toxic class method(Tg423) 및 Up and down procedure(Tg425)가 현재 OECD회원국들에 의해 채택되었다.
- 반수치사량 검사(Tg401)는 현재 사용이 중지되었고 OECD는 회원국들의 규제 당국에게 3가지 대안법 가이드라인 중 하나를 사용하여 생산한 정보를 채택할 것을 요구하고 있다. 