

NOTE

농약에 대한 피부자극성 대체시험법 적용연구

정미혜* · 김미경¹ · 박수진 · 유아선 · 홍순성 · 박경훈 · 박재읍

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 농자재평가과, ¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과

(Received on June 10, 2012. Revised on August 20, 2012. Accepted on August 27, 2012)

The application of alternative methods for skin irritation evaluation on pesticides

Mihye Jeong*, Mi Kyoung Kim¹, Soo Jin Park, Are Sun You, Soon Sung Hong, Kyung-Hun Park, and Jae-Eup Park

Agro-Material Safety Evaluation Division, Department of Agro-Food Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

¹Crop Protection Division, Department of Agro-Food Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

Abstract It is common to use many experiment animals to evaluate the toxicity of chemicals including pesticides. For protecting animal, the concepts of 3R (Reduction, Replacement, Refinement) were introduced and *in vitro* alternatives methods actively have been developed all over the world. Many experimental animals for toxicological tests have been used, so that it is important to establish the alternative methods. In this study, the alternative method using reconstituted human skin model (KeraskinTM) was conducted for classification of skin irritation on pesticides. Sixteen formulations selected on the basis of the degree of irritation were treated by KeraskinTM test. The percent of cell viability was measured into the culture medium collected after treatment of the pesticides for 24-72 hrs. The skin irritations of formulations were evaluated by the cell viability. In this study, The 4 formulations with mild irritation in rabbits were evaluated as non-irritant, the 6 formulations with moderate and severe irritation were evaluated as irritant in human skin model test. We suggest that the alternative test using KeraskinTM model could be used as toxicity evaluation for primary irritation index (P.I.I.) score of greater than or equal to 2.1 of pesticides. The further studies should be required to apply for hazardous assessment of pesticides on alternative skin irritation methods because of the interindividual variability of the sensitivity of skin irritation on pesticides.

Key words Alternative method, Skin Irritation, Skin model

서 론

농약 등을 포함한 화학물질의 독성을 평가하기 위해 많은 실험동물을 사용하고 있다. 최근 각국에서 동물실험에 대한 생명윤리 강화와 3R 원칙(Reduction, Replacement, Refinement) 으로 실험동물 보호를 위해 동물시험에 대하여 규제를 강화하고 있으며, 실험동물 대체법에 대한 연구가

활발히 진행되고 있다 (Botham, 2004; Fentem, 2001; Kimber, 1999).

현재 동물시험을 대체하려는 연구는 유럽 ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods) 및 ICCVAM(Intergency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) 등을 중심으로 진행되고 있고(EC, 1999), 국내에서는 KoCVAM(Korean center for the Validation of Alternative Methods) 중심으로 진행되고 있다(Sohn et al., 2010).

외국의 경우 피부자극성 대체시험법에서 사용되는 Epiderm 은 MatTek(USA)에서 개발한 세포로 정상인체에서 얻은

*Corresponding author

Tel: +82-31-290-0593, Fax : +82-290-0508

E-mail: mhjeong@korea.kr

epidermal keratinocytes(NHEK)를 Millicell cell culture insert에서 배양시켜 multi-layered, differentiated *in vitro* human epidermis를 형성시켜 사용한다. Episkin은 Episkin-SNC(france)에서 개발한 Dermis에 해당하는 type I, III collagen 층 위에 type IV human collagen 층을 넣고 그 위에 human keratinocyte로 이루어 epidermis층을 구성된 것이다(ECVAM, 2007a, 2007b). 국내에서도 동물대체시험법에 대한 다양한 논의 및 연구가 진행되고 있다. 그 중 피부자극성대체시험은 국내기업인 (주)엠씨티티의 Human epidermal keratinocyte 피부모델 Keraskin, Human keratinocyte와 melanocyte로 이루어진 3차원 피부모델 Melaskin, 태고사이언스의 Fibroblast와 collagen gel로 구성된 진피, multi-layered keratinocyte로 표피를 구성한 인체 3차원 피부모델 등을 개발하여 검증연구 중에 있다 (Tornier, 2006).

그러나 우리나라에서는 아직 대체시험법 개발의 연구가 미흡하여 안전성 평가를 위한 제시와 규제를 위한 연구가 시급하다. OECD에서는 OECD 화학물질시험기준과 방법중 피부자극성에 대한 대체시험법으로 인공피부세포를 이용한 시험법인 시험번호 439 인공피부모델(Reconstructed human epidermis model) 시험법이 2010년 승인되었다(OECD, 2010).

본 연구에서는 피부자극성에 대체시험법을 농약에 대한 피부자극성시험법으로의 적용 가능성을 평가하기 위하여 국내에서 개발되어 검증한 엠씨티티의 KeraSkin™을 이용하여 OECD TG 439 인공피부모델 시험법을 실시하였다(Moon et al., 2007, 2010).

재료 및 방법

시험물질

본 시험에 사용된 농약은 등록된 농약제품으로 기존 토끼를 이용한 피부 자극성시험에서 피부반응을 평점화하여 산출한 피부 1차 자극지수(P. I. I.)를 Table 1의 기준에 따라 자극성 정도를 고려하여 선발하였다(RDA, 2012a).

시험농약은 비자극성 농약으로 Kasugamycin-thiophanate-methyl SC, Bensulfuron-methyl-Mefenacet SC, Carbosulfan-halosulfuron-methyl-mefenacet GR, Bifenazate SC, Carbosulfan EW, Metolachlor-Pendimethalin EC 6품목, 경도 자극성 농약으

Table 1. Classification criteria of skin primary irritation in rabbit in korea

Classification	P. I. I. ^{a)}
Non-irritation	≤ 1.0
Mild irritation	1.1~2.0
Moderate irritation	2.1~5.0
Severe irritation	≥ 5.1

^{a)}Primary irritation index = Sum of means of scores marked at 24 and 72 hr

Table 2. Evaluation and Index of P.I.I. of selected pesticides

Pesticides	<i>In vivo</i> (P. I. I.) ^{a)}	
	Evaluation	Index
Kasugamycin-thiophanate-methyl SC		0
Bensulfuron-methyl-Mefenacet SC		0
Carbosulfan-halosulfuron-methyl-mefenacet GR	Non-irritation	0.50
Bifenazate SC		0.79
Carbosulfan EW		0.80
Metolachlor-Pendimethalin EC		1.00
Metalaxyl-M SL		1.35
Glyphosate-Ammonium SL	Mild irritation	1.46
Benfluralin-Isoxaben WP		1.6
Dithianon-Kasugamycin WG		1.96
Pentoxazone EC		2.10
Edifenphos-Isoprothiolane EC	Moderate irritation	2.50
Etofenprox-Fenobucarb EC		4.70
Chlorfenapyr-Clothianidin EC		5.70
Mecoprop-PSL	Severe irritation	6.00
Chlorpyrifos-Cypermethrin EC		6.70
Sodium Lauryl sulphate (SLS) (20%)	Irritation	-

^{a)}Primary irritation index EC; Emulsifiable concentrate, EW; Emulsion in Water, GR; Granule, SC; Suspension concentrate, SL; Soluble concentrate, WG; Water dispersible granule, WP; Wetttable power

로 Metalaxyl-M SL, Glyphosate-Ammonium SL, Benfluralin-Isoxaben WP, Dithianon-Kasugamycin WG 4품목, 중도 자극성 농약으로 Pentoxazone EC, Edifenphos-Isoprothiolane EC, Etofenprox-Fenobucarb EC 3품목, 강도 자극성 농약 Chlorfenapyr-Clothianidin EC, Mecoprop-P SL, Chlorpyrifos-Cypermethrin EC 3품목 등 다양한 제형의 농약 16품목을 사용하였다(Table 2). 음성대조물질로 PBS(Phosphate buffered saline)를 사용하였으며, 양성대조 물질로는 SLS(Sodium lauryl sulfate)를 20% 농도로 사용하였다(Robinson and Perkins, 2002).

인공피부 모델시험

인공피부는 국내의 엠씨티티에서 판매되는 KeraSkin™을 사용하였다. 약 4°C 상태로 배송 후 well 당 0.9 mL의 assay media를 넣은 6 well plate로 옮겨 37°C 5% CO₂ incubator에서 약 24시간 동안 전 배양과정을 거쳤다. 약제 당 5분 간격으로 액상수화제, 유제 등 액상인 경우 30 ul를 적용, 입상수화제, 수화제 등 고상인 경우 PBS 30 ul로 표면을 적신 후 30 mg을 넣고 상온에서 30분간 적용하였다. 각각의 well을 PBS로 overflowing 하여 물질을 제거하고, 여과지를 이용하여 물질 및 PBS를 제거하였다. 12 well plate에 각각의 cell을 넣고 PBS로 overflowing 시킨 상태에서 1분간 정체

Table 3. Cell viability (%) results in KeraSkin™

Pesticides	Cell viability (%) ^{a)}				Grade ^{b)}
	Run 1	Run 2	Run 3	Mean	
Kasugamycin-thiophanate-methyl SC ^{c)}	97.1	90.0	100.0	95.7±5.1	NI
Bensulfuron-methyl-Mefenacet SC	97.6	101.6	92.6	97.3±4.5	NI
Carbosulfan-halosulfuron-methyl-mefenacet GR	86.8	89.2	103.3	93.1±8.9	NI
Bifenazate SC	79.7	85.6	89.4	85.0±4.9	NI
Carbosulfan EW	90.2	91.9	94.5	92.2±2.2	NI
Metolachlor-Pendimethalin EC	110.7	94.6	65.0	90.1±23.2	NI
Metalaxyl-M SL	84.2	84.3	67.9	78.8±9.4	NI
Glyphosate-Ammonium SL	94.0	87.3	96.9	92.8±4.9	NI
Benfluralin-Isoxaben WP	111.5	103.6	83.6	99.5±14.4	NI
Dithianon-Kasugamycin WG	110.4	98.8	88.0	99.1±11.2	NI
Pentoxazone SC	7.8	7.9	8.2	7.9±0.2	I
Edifenphos-Isoprothiolane EC	8.7	7.9	9.0	8.5±0.6	I
Etofenprox-Fenobucarb EC	12.4	9.5	32.6	18.2±12.6	I
Chlorfenapyr-Clothianidin EC	7.6	7.2	7.2	7.3±0.2	I
Mecoprop-P SL	7.6	11.0	8.0	8.9±1.9	I
Chlorpyrifos-Cypermethrin EC	9.9	11.3	17.1	12.7±3.8	I
Sodium Lauryl sulphate (SLS) (20%)	7.3	7.4	8.0	7.6±0.4	I

^{a)}% of control

^{b)}NI, non-irritation; I, irritation

^{c)}EC; Emulsifiable concentrate, EW; Emulsion in Water, GR; Granule, SC; Suspension concentrate, SL; Soluble concentrate, WG; Water dispersible granule, WP; Wetttable power

시킨 후 꺼내면서 shaking 하였다. KeraSkin™cell안팎으로 PBS로 세척한 후 티슈로 PBS를 제거하였다. 세척한 KeraSkin™cell은 well 당 0.9 mL의 media를 넣은 6 well plate에 옮겨 37°C, 5% CO₂ incubator에서 후 배양을 42시간 동안 하였다.

세포 생존율 측정시험

후 배양이 끝난 후 세포생존율 측정을 위하여 MTT[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma] assay를 실시하였다. 0.3 mg/mL의 농도로 조제된 MTT를 well 당 300 ul씩 24 well plate에 넣고 KeraSkin™ cell처리한 후 37, 5 CO₂ incubator에서 3시간 배양하였다. 배양 후 MTT를 제거하고 KeraSkin™ cell을 새로운 24 well plate에 옮긴 후 Isopropyl alcohol을 2 mL씩 처리하여 2시간 동안 실온에서 교반하였다. Formazan 추출 후 250 ul씩 96 well plate에 옮겨 Multiskan spectrum(Thermo, USA) 을 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

KeraSkin™모델의 피부자극성 판정은 MTT assay를 이용한 세포생존율을 이용하였다. 세포생존율은 대조군을 100%으로 기준하여 계산하였으며, 세포생존율은 Table 3에 나타내었다. 자극성 평가는 세포생존율이 50% 미만인 경우 자극성물질, 50% 이상인 경우 비자극성물질로 판정하였다

(OECD, 2010).

상기의 결과를 바탕으로 *in vitro* KeraSkin™모델의 MTT assay 시험결과와 자극성분류 결과와 *in vivo* 시험결과와의 비교 평가하기 위하여 *in vitro* 시험결과가 비자극성일 때 비자극성으로 판정되는 비율, 자극성일 때 자극성 자극성로 판정하는 비율을 백분율(%)로 산출하여 기존의 시험의 자극성 분류와의 유사성정도를 평가하였다.

결과 및 고찰

세포 생존율 측정

MTT assay를 이용하여 세포생존율을 측정한 결과, 자극성이 없는 농약 6 품목 Kasugamycin-thiophanate-methyl SC은 95.7%, Bensulfuron-methyl-Mefenacet SC 97.3%, Carbosulfan-halosulfuron-methyl-mefenacet GR 93.1%, Bifenazate SC 85.0%, Carbosulfan EW 92.2%, Metolachlor Pendimethalin EC 90.1%의 세포생존율은 나타내었다. 경도의 자극성 농약 4품목 Metalaxyl-M SL은 78.8%, Glyphosate-Ammonium SL 92.8%, Benfluralin - Isoxaben WP 99.5%, Dithianon-Kasugamycin WG 99.1%의 세포생존율은 나타내었다. 중도의 자극성 농약 3품목인 Pentoxazone EC는 7.9%, Edifenphos-Isoprothiolane EC 8.5%, Etofenprox-

Fenobucarb EC 18.2%의 세포생존율은 나타내었다. 강도의 자극성 농약 3품목인 Chlorfenapyr-Clothianidin EC 7.3%, Mecoprop-P SL 8.9%, Chlorpyrifos-Cypermethrin EC 12.7%의 세포생존율을 나타내었다.

양성대조군인 Sodium Laurly sulphate(SLS)(20%)는 7.6%의 세포생존율을 나타내어 강도의 자극성을 나타내었다. 중도이상의 자극성 있는 농약 Pentoxazone EC등 6종은 양성대조군과 비슷한 세포생존율을 보였다.

인공피부모델시험 및 토끼 피부자극성시험과의 결과 비교

인공피부모델시험은 실험동물을 이용하지 않고 세포를 이용하여 피부자극성을 평가할 수 있는 시험으로 실험동물 대체시험법이다. 본 연구에서 사용한 인공피부세포는 국내에서 검증된 것으로 알려진 (주)엠티에서 개발된 인공피부모델 Keraskin™을 사용하여 MTT assay를 실시하였다.

농약에 대한 피부자극성시험의 목적은 농작업자 뿐만 아니라 제조, 수송 등 농약을 취급함에 있어서 취급제한기준을 설정하는 것이다. 최근 실험동물에 대한 대체시험법이 지속적으로 개발되고 있고, 농약관리에 있어서도 동물보호 추세에 맞추어 농약의 등록시험 시 실험동물대체법 적용이 가능한지 평가가 필요하였다.

연구에 사용된 농약은 토끼를 이용한 시험 결과를 토대로 현행 피부자극성분류기준에 따라 분류된 자극성이 없는 농약 6품목, 경도 4품목, 중도 3품목, 강도 3품목을 선발하였으며, 본 시험에 사용한 인공피부 KeraSkin™모델의 피부자극성시험과 기존의 토끼를 이용한 *in vivo* 피부자극성 시험의 결과를 비교하여 Table 4에 나타내었다.

In vivo 시험에서 자극성이 없는 농약은 *in vitro* 시험에서 85% 이상의 세포생존율을 보였고, 경도의 자극성이 있는 농약 또한 78.8%이상의 세포생존율을 나타내었다. 따라서 세포생존율이 50% 이상일 경우 자극성이 없는 물질로 분류되는 기준에 따라 자극성 없는 농약과 경도의 자극성 농약은 비자극성 물질로 평가되었다.

In vivo 시험에서 중도 및 강도의 자극성 농약인 경우는 세포생존율이 18.2% 이하의 세포생존율을 나타내어 세포생존율이 50% 이하일 경우 자극성이 있는 물질로 분류되는 기준에 따라 중도, 강도의 농약인 경우는 자극성물질 분류하였다.

In vivo 시험과 *in vitro* 시험 결과 간의 민감성을 평가하기 위하여 *in vitro* 시험결과가 비자극성일 때 비자극성으로 판정되는 비율, 자극성일 때 자극성으로 판정하는 비율을 백분율(%)로 산출하여 기존의 시험의 자극성 분류와의 유

Table 4. Comparison of skin irritations between skin irritation test in rabbit and on artificial cell results

Pesticides ^{a)}	Skin irritation test				Sensitivity ^{f)}
	<i>In vivo</i> test ^{a)}		<i>In vitro</i> test ^{b)}		
	P.I.I ^{e)}	Classification	Cell viability (%)	Grade ^{d)}	
Kasugamycin-thiophanate-methyl SC	0		95.7	NI	
Bensulfuron-methyl-Mefenacet SC	0		97.3	NI	
Carbosulfan-halosulfuron-methyl-mefenacet GR	0.50	Non-irritation (NI)	93.1	NI	100% (6/6)
Bifenazate SC	0.79		85.0	NI	
Carbosulfan EW	0.80		92.2	NI	
Metolachlor-Pendimethalin EC	1.00		90.1	NI	
Metalaxyl-M SL	1.35		78.8	NI	
Glyphosate-Ammonium SL	1.46	Mild irritation (MI)	92.8	NI	0% (0/4)
Benfluralin-Isoxaben WP	1.6		99.5	NI	
Dithianon-Kasugamycin WG	1.96		99.1	NI	
Pentoxazone SC	2.10	Moderate irritation (I)	7.9	I	
Edifenphos-Isoprothiolane EC	2.50		8.5	I	
Etofenprox-Fenobucarb EC	4.70		18.2	I	100% (6/6)
Chlorfenapyr-Clothianidin EC	5.70	Severe irritation (I)	7.3	I	
Mecoprop-P SL	6.00		8.9	I	
Chlorpyrifos-Cypermethrin EC	6.70		12.7	I	
Sodium Laurly sulphate (SLS) (20%) ^{e)}	-	Irritation	7.6	I	

^{a)}Skin irritation test on rabbit ^{b)}Keraskin™ test ^{c)}primary irritation index ^{d)}NI, non-irritation; I, irritation ^{e)}Position control ^{f)}ratio of *in vitro* test ^{g)}EC; Emulsifiable concentrate, EW; Emulsion in Water, GR; Granule, SC; Suspension concentrate, SL; Soluble concentrate, WG; Water dispersible granule, WP; Wetttable powder.

사상정도를 평가한 결과, *in vivo* 시험에서 무자극성 농약 6 품목 *in vitro* 시험에서도 무자극성을 나타내어 100%의 동일한 결과를 나타내었다. 경도의 자극성 농약 4품목은 *in vitro* 시험에서 무자극성을 나타내어 0%를 나타내어 결과의 유사성은 없는 것으로 평가되었다. 중도 및 강도의 자극성 농약 6품목은 *in vitro* 시험에서도 자극성으로 분류되어 100% 동일한 결과를 나타내어 유사성이 높은 것으로 평가되었다.

이상의 결과에서 중도 이상의 농약의 경우 *in vivo* 시험과 *in vitro* 시험의 결과간의 유사성이 인정되었으며, KeraSkin™ 모델로도 피부자극성 평가가 가능한 것으로 판단되었다.

그러나 현행 기준과 같이 토끼를 이용한 *in vivo* 시험에서는 자극성은 비자극성, 경도, 중도 및 강도로 4등급으로 분류되거나 세포를 이용한 자극성은 비자극성 및 자극성 물질 2단계로 분류되어 특히 경도자극성에 대한 평가가 불분명한 결과를 보였다. Moon et al., 2007의 결과에서도 경도자극성 물질에 대해서 무자극성으로 분류되거나 평가가 부정된 결과를 나타내었고, 무자극성과 중도이상의 자극성 물질은 민감도가 높은 것으로 평가되었다.

본 연구를 통해 인공피부모델시험은 실험동물을 이용하지 않고 또한 용이한 사용방법으로 피부의 자극성 정도를 분류할 수 있는 시험으로는 인정되었으나, 시험수행 및 자극성 평가에 있어서 문제점이 제시되었다.

농약은 다양한 형태의 제품으로 생산되고 있는데 유제, 액상수화제 등의 액상 형태는 시험수행에 있어서 문제점이 없었으나, 수화제, 입제 등이 고상형태의 경우에는 세포전체에 도포되면서 약제에 의한 영향보다는 배양이 어려운 문제가 발생되었으며, 경도의 자극성을 가진 농약에 대한 *in vitro* 인공피부모델시험은 비자극성물질로 분류되어 *in vivo* 시험과의 차이를 나타내어 민감도 부분에서는 단점으로 평가되었다.

농약의 피부노출은 특히 농작업자가 농약을 살포시 자주 그리고 직접적으로 노출되는 경로이며 농약의 피부자극성의 경우 민감도가 사람에 따라 많은 차이를 보이기 때문에 피부자극성 대체시험법 적용여부는 추후 추가적인 검토가 필요할 것으로 판단되며, 앞으로 농약안전성평가를 위한 동물 실험을 대체할 수 있는 시험법에 대하여 지속적인 검증연구를 통해 농약등록 시험기준과 방법을 개선할 필요성이 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 기관고유사업 과제(PJ006881)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Literature Cited

- Botham, P. A. (2004) The validation of *in vitro* methods for skin irritation. *Toxicology Letter* 149:387~390.
- EC (European Communities) (1999): Council Directive 76/778/EEC in *CosmetLex Vol. I. Cosmetics legislation*, pp. 1-68.
- ECVAM (2007a) Skin Irritation Validation Study Phase : Analysis of the primary endpoint MTT and the secondary endpoint IL-1alpha.
- ECVAM (2007b) Performance standards for applying human skin models to *in vitro* skin irritation testing, Final draft performance standards version 25 May 2007.
- Fentem, J. H., D. Briggs, C. Chesne, G. R. Elliott, J. W. Harbell, J. R. Heylings, P. Portes, R. Roguet, van de Sandt JJ and P. A. Botham (2001) A prevalidation study on *in vitro* test for acute skin irritation: results and evaluation by the Management Team, *Toxicology in Vitro* 15:57~93.
- Kimber, I., J. S. Pichowski, D. A. Basketter, and R. J. Dearman (1999) Immune responses to contact allergens novel approaches to hazard evaluation. *Toxicol. Lett.*, 106, 237~246.
- OECD (2010) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Test No. 439: *In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method*
- Moon, J. Y., E. H. Maeng, H. S. Park, M. Kwon, D. H. Jang, Y. M. Cho, E. O. Koh, H. J. Sung, and C. B. Park (2007) Efficacy of reconstructed skin for replacement of skin irritation test using animal model. *Journal of Alternatives to Animal Experiments*, 1(1):17~23
- Moon, J. Y., S. H. Lee, H. S. Jung, Y. H. Ryu, K. M. Jung, K. M. Lim and C. B. Park (2010) Interlaboratory validation of KeraSkin™. for replacement of skin irritation test using animal model. *Journal of Alternatives to Animal Experiments* 4(2):5~13
- Robinson M. K. and M. A. Perkins (2002) A Strategy for skinirritation testing. *Am J Contact Dermat* 13(1): 21-29.
- RDA (Rural Development administration) (2012a) Agrochemicals control act. p229. R.D.A., Korea.
- RDA (Rural Development administration) (2012b) Agrochemicals control act p594-597. R.D.A., Korea.
- Sohn, S. J., H. J. Cha, Y. K. Lee, Y. N. Yum and S. Y. Han (2012) Establishment and International Cooperation of Korean Center for the Validation of Alternative Methods. *Journal of Alternatives to Animal Experiments* 4(2):29~32.
- Tornier C., M. Rosdy and H. I. Maibach (2006). *In vitro* skin irritation testing on reconstituted human epidermis : Reproducibility for 50 chemicals tested with two protocols. *Toxicology In Vitro* 20(4):401~416.

농약에 대한 피부자극성 대체시험법 적용연구

정미혜* · 김미경¹ · 박수진 · 유아선 · 홍순성 · 박경훈 · 박재음

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 농자재평가과,

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과

요 약 농약을 포함한 화학물질의 독성을 평가하기 위하여 많은 실험동물이 사용되고 있다. 최근 동물실험에 대한 규제 강화와 실험동물의 윤리적 보호를 위해 동물실험을 대체하려는 동물대체시험법 연구가 활발히 진행되고 있다. 우리나라에서 화학농약 등록 시 급성경구독성시험, 급성경피독성시험, 피부자극성시험 등 여러 시험에서 실험동물을 이용하여 인축독성평가를 하고 있다. 세계적인 추세에 맞춰 농약의 안전성 평가를 위한 동물대체시험법 연구제시와 규제가 시급한 실정이다. 본 연구는 국제적으로 승인된 대체시험법 중 인공피부모델을 이용한 피부자극성평가 적용 가능성을 검토하기 위하여 실시하였다. 시험물질은 기존의 토끼를 이용한 피부자극성시험에서 피부반응을 평점화하여 산출한 피부 1차 자극지수(P. I. I.) 0-7(구분:없음-강도) 값을 가진 농약제품 16종을 선발, 인공피부(KeraSkin™)를 이용하여 피부자극성평가를 수행하였다. 그 결과, 중도이상의 농약인 경우 세포생존율 50% 이하로 자극성 물질로 나타났으며, 경도 이하의 농약인 경우 세포생존율 50% 이상으로 비자극성 물질로 나타났다. 피부의 자극성이 있는 경도에서 강도의 농약의 경우 현재 농촌진흥청 고시 농약표시 기준에 따라 주의사항을 표시하게 되어 있고(RDA, 2012b), 농약의 피부자극성의 경우 민감도가 사람에 따라 많은 차이를 보이기 때문에 피부자극성 대체시험법 적용여부는 추후 추가적인 검토가 필요할 것으로 판단되며, 앞으로 농약안전성평가를 위한 동물실험을 대체할 수 있는 시험법 검증연구를 통해 농약등록 시험기준과 방법을 개선할 필요성이 있다고 사료된다.

색인어 실험동물대체법, 피부자극성, 인공세포