

노동자 건강보호를 위한 최신 유전독성학 연구전략

임경택[†]

안전보건공단 산업안전보건연구원 산업화학연구실

Novel Genotoxic Strategies for Efficiently Detect Chemicals' Carcinogenicity

Kyung-Taek Rim[†]

Chemicals Research Bureau, Occupational Safety and Health Research Institute, KOSHA #339-30, Expo-ro Yuseong-Gu, Daejeon 34122, Korea

ABSTRACT

Objectives: Effective genetic toxicology and molecular biology research techniques and strategies that are highly correlated with the carcinogenic inhalation toxicity test and related research are required. The aim of this study was to maximize the utilization of chemical substances to prevent workers' occupational diseases.

Methods: We surveyed the literature, domestic and international references, and the status of relevant domestic and foreign professional organizations. Expert advisory opinions were reflected, and experts were consulted by participating in domestic and overseas academic conferences.

Results: The current status of domestic and international genotoxic toxicity evaluation was examined through various documents from related organizations. Cell models for *in vitro* lung toxicology were investigated and summarized, and the human resources and performance results of genetic toxicity studies and pilot projects were compared and analyzed by holding an advisory meeting. We examined domestic and international genotoxicity guidelines and investigated new test methods for the development of genotoxicity and carcinogenicity. Ultimately, we described long-term future predictions, including the implementation of our researchers' recommendations and occupational genetic toxicology forecasts for future worker health protection.

Conclusions: This research project aims to establish current genetic toxicology and molecular biology research techniques and strategies that can maximize the linkage with the carcinogenic inhalation toxicity test and research in the future. We expanded the study of genetic toxicity and establish a foundation for genetic toxicity in accordance with research trends in Korea and abroad.

Keywords: Development, genotoxic, strategies, chemicals, carcinogenicity

1. 서론

최근의 과학기술 및 산업의 눈부신 발달은 우리 인류를 경제 성장에 따른 전례 없는 풍요로움을 누리게 하였지만, 이런 발전을 위한 수단으로서 많은 화학물질들이 사용되게 되었고 필요에 따라 새로이

만들어지기도 하였으며, 이 화학물질들은 미처 예상하지 못한 곳에서 인간의 생활 및 건강을 위협하고 있다. 선진 외국은, 미국 EPA 등 자국 내에서 생산, 유통되는 화학물질들을 엄격하게 관리 감독하고 있으며, 유럽공동체간의 관리규정을 제정·시행하고 있다. 또한 일본은 「화학물질의 심사 및 제조 등의

[†]**Corresponding author:** Chemicals Research Bureau, Occupational Safety & Health Research Institute, Korea Occupational Safety & Health Agency, Daejeon 34122, Republic of Korea, Tel: +82-42-869-0321, E-mail: rim3249@kosha.or.kr
Received: 15 January 2018, Revised: 09 February 2018, Accepted: 20 February 2018

규제에 관한 법률」에 의거 신규화학물질의 제조·수입에 대해서 사전에 엄격한 조사를 통한 안전성 평가를 수행하고 있다. 유해화학물질의 독성 및 안전성 평가에 관한 규제의 미비는 자국 내의 유해 산업유치 및 유해화학물질의 범람이라는 엄청난 국민적인 피해를 감수해야하는 경우가 발생할 수 있으며,¹⁾ 제약산업, 바이오산업 등의 발전으로 물질개발의 초기에 유전독성을 검색함으로써 인력 및 경제적 낭비를 막을 수 있어, 화학물질 안전성 확보를 위한 규격설정 및 규제가 제도화되고 있다.

유전독성시험은 의약품 개발 초기단계에서 물질스크리닝 및 발암성 예측을 위한 시험으로 많이 이용되고 있으며, 최신 과학기술 발달에 따라 많은 변화가 진행되어 왔으며, 지난 수십 년 동안 새로운 유전독성 시험법이 개발되고 그에 따른 시험결과 정보가 넘쳐남에 따라 시험법 가이드라인의 중요성 및 수정의 필요성이 입증되고 있다. 시험관 내(*In vitro*) 포유류세포시험(Mammalian cell test)에서의 MLA(Mouse Lymphoma Assay) 또는 염색체이상시험(Chromosomal aberration test) 결과에서 나타나는 높은 비율의 양성반응과 생체내(*In vivo*) 유전독성 시험의 3R's (대체, Replacement; 감소, Reduction; 개선, Refinement)와 같은 이유들로 유전독성 시험법 수정논의가 촉발되었다. Kirkland 등(2005)²⁾에 따르면 시험관 내(*In vitro*) 포유류세포시험에서 높은 민감도(Sensitivity)와 낮은 특이도(Specificity)를 확인함으로써 그것이 더욱 명확해졌다. Kirkland 등(2005)³⁾은 발암물질로 분류된 372종의 물질이 복귀돌연변이시험과 생체 내(*In vivo*) 소핵시험을 조합한 결과에서 민감도는 94%로 높고, 특이도는 12%로 낮게 나타나며 복귀돌연변이시험과 시험관 내(*In vitro*) 마우스림포마시험의 조합시험에서는 발암물질 436종을 이용하여 분석한 결과에서 89%의 민감도와 32%의 특이도를 확인하였다. 또한 복귀돌연변이시험, 시험관 내(*In vitro*) 소핵시험, 시험관 내(*In vitro*) 마우스림포마시험 결과를 조합한 결과, 민감도가 91%로 높고 특이도는 5%로 낮게 나타나는 것을 보고하였다. 이와 같이 포유류 배양세포를 이용한 유전독성시험에서 높은 위 양성(False positive)이 관찰되어 이의 해결책에 대한 전 세계적인 논의가 지속되어 왔다. 이에 따라 ICH에서는 *in vitro* 유전독성시험에서 유전자의 수적이상 유발물질 검출의 한계점, 동

물복지 차원에서의 동물 수 감소, 양성결과에 대한 후속시험의 명확화, 의약품 개발 초기 단계에서의 장벽 감소를 위한 무의미한 결과의 감소 및 결과 해석의 명확화 등을 해결하기 위하여 2011년 기존 유전독성 가이드라인인 S2A와 S2B를 통합하여 '의약품의 안전성평가를 위한 유전독성시험 및 자료해석 가이드라인(S2 (R1))'을 개정하여 유전독성 조합시험법, 시험결과 평가 등에 대한 명확한 평가기준을 제시하였다.³⁾ 화학물질 유전독성 평가는 ICH와 OECD 가이드라인이 국제 표준으로 인식되어 있다. OECD는 2010년에 실무작업반 회의를 통해 새로운 유전독성시험법 개발 및 기존 시험법의 개칭 필요성에 대한 논의를 하였으며, 2014년에 DNA 손상을 평가할 수 있는 생체 내(*In vivo*) 코멧(Comet) 시험(Assay)(TG 489)이 제정, 기존 생체 내(*In vivo*) 소핵시험 및 시험관 내(*In vitro*) 염색체이상시험 등이 개정되었으며, 전 세계적으로 활용빈도가 매우 낮은 일부 유전독성시험 가이드라인(6종류)을 폐기하였다. 또한 2015년에는 돌연변이원성을 검색할 수 있는 기존의 포유류 세포를 이용한 시험관 내(*In vitro*) 유전자 돌연변이 시험을 Hprt 및 xprt 유전자를 이용한 방법(TG 476)과 thymidine kinase 유전자를 이용한 방법(TG 490)으로 분리하였다.

우리나라의 유전독성분야 연구 및 시험은 발암성 흡입독성시험 및 연구와의 연계성이 높은 최신의 효율적인 유전독성학과 분자생물학적 연구기법 및 전략이 필요한 시점이다. 세부적으로는 분자독성연구, 즉 독성물질의 생체 내 분자적 손상 등 독성기전(Toxic mechanism) 연구의 수행이 필요하며, 또한 대체독성연구로 최근 선진국을 중심으로 동물실험의 대체시험에 관한 연구가 활발히 진행되고 있어 실험동물의 희생을 최소화하고 다수의 화학물질에 대한 독성자료를 단기간 내에 확보하기 위한 동물대체시험법 개발이 요구되고 있다.⁴⁾ 시스템독성학(Systems Toxicology) 등을 비롯한 세포·분자생물학 기술의 발전에 따른 새로운 대체시험법의 수행가능성에 대한 고찰이 필요하며, 2014년 이후 OECD 독성시험 가이드라인의 현실화 추세 및 추가된 유전독성시험(대체시험법 등) 수행가능성에 대한 고찰 필요한 시점이다.⁵⁾

따라서 본 연구에서는 미래지향적 GLP 유전독성 시험의 발전을 위해 국내의 관련 문헌 및 발표자료

등을 이용한 최신 유전독성 및 분자생물학적 연구기법(대체시험법 등) 동향 조사를 수행하고, 국내 관련 연구기관을 조사하여 정리하였으며, 궁극적으로 산업화학물질의 초기 발암성 예측에 초점을 둔 미래지향적 유전독성 및 발암성 예측 연구 및 시험전략을 고찰하고자 하였다.

II. 연구 방법

국내의 관련문헌 및 발표자료 등을 이용한 최신 유전독성 및 분자생물학적 연구기법(대체시험법 등) 동향 조사를 수행하고, 국내 관련 연구기관을 조사하여 정리하였으며, 궁극적으로 산업화학물질의 초기 발암성 예측에 초점을 둔 유전독성 및 발암성 예측 연구전략을 고찰하고자 하였다.

1. 문헌조사 및 국내외 참고자료의 정리 등

1) 독성시험법에 대한 국제기준, 가이드라인 등의 고찰 국제적 공인 시험법을 제공하고 있는 OECD, ICH 등을 비롯하여, 미국 국립생물공학정보센터(National Center for Biotechnology Information)인 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 국내의 논문 검색 및 생명과학, 생물의학에 관한 참고문헌 및 초록을 담고 있는 MEDLINE 데이터베이스인 PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 및 사이언스 다이렉스(ScienceDirect; <http://www.sciencedirect.com/>), Google 학술검색(Google scholar; <https://scholar.google.co.kr/>) 등의 학술정보 검색 사이트를 이용하여 국내외 활용 중인 유전독성 및 발암성 시험법들에 대한 검색을 하였고, 미래에 유망하게 활용될 독성대체 및 집단독성시험법을 분석·활용하였다.

2. 관련 국내의 전문기관 현황조사 등

1) 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원(특수독성과) 등 국내 유전독성 및 발암성 시험 관련 전문 연구·시험기관 현황 조사를 통해 우리나라의 미래지향적 유전독성 및 발암성 연구·시험 마스터플랜을 제시하였다.

2) 국내 화학물질 독성시험 및 연구기관인 안전성평가연구소(KIT), (주)켄온, 바이오톡스텍, 한국건설생활환경시험연구원(KCL), 한국화학융합시험연구원(KTR)의 유전독성 및 발암성 시험을 비롯한 독성시

험기관 운영 및 시험법 등에 대해 조사하였다.

3) 일본 바이오앗세이 연구센터, 미국 Battelle 연구소, 영국 Huntingdon life sciences, 미국 The Hamner Institutes for Health Sciences, Lovelace Respiratory Research Institute 및 Harlan Laboratories, Inc. 의 유전독성 및 발암성 시험을 비롯한 독성시험기관 운영 및 시험법 등에 대해 조사하여, 본 연구의 목표인 우리나라의 미래지향적 유전독성 및 발암성 연구·시험 마스터플랜을 제시하였다.

3. 전문가 자문의견 반영 등

1) 가칭 “유전독성연구회” 등 기존에 활동하고 있던 유전독성 시험 및 연구관련 기관 협의모임을 통해, 본 연구의 원활한 추진 및 유전독성 연구/시험 분야 관련 최신 정보교류를 통하여 연구과제의 전문성 및 효율성 제고를 기하였다.

4. 국내외 관련 학술대회 참여 및 전문가 협의

1) 한국비임상시험연구회 등 유전독성 연구기관 및 시험운영 기관들의 연구진이 참여하는 국내외 학술대회 참여 및 발표로 그 결과내용을 본 연구에 활용하였다.

2) 특히 미래지향적 유전독성 및 발암성 연구의 방향을 제시하기 위한 목적으로 진행된 국제학술대회인 OpenTox Asia 2017 및 세계발암원학회/아시아발암원학회(ICEM/ACEM 2017)의 참석 및 발표는 본 연구의 수행을 위해 가장 중요한 학술대회로 활용하였다.

5. 발암성 예측·평가 효율성 제고를 위한 유전독성 연구·시험 발전방안 및 전략 마련

1) 단기적 전략으로 발암성 예측·평가 관련 각종 세포주 등의 활용동향 및 동물모델의 동향조사 및 효과적 활용에 대해 고찰하였다.

2) 중·장기적 전략으로 전산(Computation) 기법 등을 활용한 미래지향적 발암성 예측·평가 동향을 조사하고, 기타 발암성 예측 효율화를 위한 세포·분자생물학적 연구기법 조사 및 활용방안을 고찰하였다.

3) 산업화학물질의 유전독성 및 발암성예측 분야 발전전략 작성은 연구 및 GLP시험분야를 구분하여 효과적인 연구·시험 전략 등을 제시하고자 하였다.

III. 결 과

1. 각종 문헌을 통한 국내외 유전독성 평가 동향조사

1) 국내·외 기술개발 현황

(1) 국외

미국을 비롯한 유럽 각국에서의 화학물질의 유전독성 평가기법은 최근 분자생물학의 발달에 힘입어 발전된 세포분자독성학(Cellular and Molecular Toxicology) 개념에서의 세포 및 유전자 활용을 통한 신속·정확한 유전독성 평가기법 연구로서, 특히, 미국 FDA, EPA, NIH, NIEHS, NCTR 및 CIIT, 영국의 대학 및 연구소, 일본 국립위생시험소 등 연구기관 등이 활발하게 연구하고 있으며, 새로 개발·정립된 방법을 이미지화 또는 자동화하는 관련기기 개발 및 소프트웨어의 상품화로 연결하고 있다.⁶⁾ 또한 DNA 손상을 지표로 개발된 단일세포 겔 전기영동법(Single Cell Gel Electrophoresis)이나 FISH (Fluorescence *in situ* Hybridization), Cytokinesis blocking 시험관 내 시험(*In vitro* assay)이 선진국에서 수행되어 왔으며, 현재는 최신 분자생물학 기법을 사용하여 민감도(Sensitivity)와 특이도(Specificity)가 개선된 신규 시험법 개발을 위한 노력을 계속하고 있다.

(2) 국내

우리나라가 OECD에 가입하면서, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals에 근거하여 각 실험법에 대해 보완 또는 추가되고 있다. 우리나라도 동물보호에 대한 의식 변화 등으로 2009년 11월 한국동물대체시험법검증센터(Korean Center for the Alternative Test Methods; 이하 KoCVAM)를 설립하였다.⁶⁾ KoCVAM은 실험동물에 관한 법률 제정(2008.03.28)에 따라 식품의약품안전처장의 의무인 '동물대체시험법 개발·인정에 관한 정책 수립 및 추진' 업무를 위해 설립되었으며, KoCVAM의 미션은 크게 세 가지로, 안전성 평가 규제과학 분야에 3R 적용·증진, 첨단과학에 근거한 대체시험법 활용으로 국민 건강보호 및 동물복지 증대, 국내외 협력증진을 통한 국제조화 실현으로 나누어져 있다. 또한 KoCVAM의 역할을 크게 4가지(동물대체시험법의 개발, 인정에 관한 정책 지원, 제·개정된 동물대체시험법의 검증, 전문평가, 가이드라인 제안 총

괄, 대체시험법 관련 국내 기관과의 협력체계 구축 및 연구협력, 대체시험법 관련 국내·외 정보제공 및 교육 실시 업무 추진)로 나누어 수행하고 있다.

2. 해외 관련기관 현황 조사

1) 대체시험법 관련 해외 기관

대체시험법은 실험동물의 수를 줄이거나, 고통을 경감, 동물을 사용하지 않거나, 발생학적으로 하등한 동물로 대체실험하는 3R의 개념(대체, 감소, 개선)을 도입한 것으로, 유럽연합(EU)에서는 2003년 화장품법을 개정하면서 2013년까지 단계적으로 화장품 원료 및 제품에 대하여 검증된 대체시험법이 있는 경우 동물실험을 금지하는 법안을 발효하였다.⁶⁾ 유럽연합(EU)의 공동연구센터(Joint Research Center, JRC) 산하 보건소비자보호연구소(Institute for Health and Consumer Protection, IHCP)에 유럽 동물대체시험법검증센터(European Center for the Alternative Test Methods, ECVAM)를 1991년에 설립하고, EU의 화장품과 화학물질의 안전정책을 지원, 대체시험법 개발, 사전검증 등을 수행하며 데이터베이스를 구축하고 있다.⁷⁾ 또한 미국에서는 1997년 미국 국립환경보건과학연구소(National Institute of Environmental Health and Science, NIEHS) 산하 국가독성프로그램 대체독성시험법 평가센터(National Toxicological Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods, NICEATM)를 설치하여 관계부처 간 동물대체시험법 검증조정위원회(Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, ICCVAM)를 추진하고 있는데, NICEATM/ICCVAM에서는 대체시험법의 검증·평가, 지침 제공, 워크숍 개최, 대체시험법 관련 국제조화 등의 업무를 하고 있다. 아시아에서는 일본이 2004년 복지후생성 산하 국립의약품식품위생연구소(National Institute of Health Sciences)에 일본 동물대체시험법검증센터(Japanese Center for the Validation of Alternative Methods, JaCVAM)를 설치, 대체시험법 개발, 검증, 평가, 보고서 작성 및 기획, 국제협력 등의 업무를 하고 있다. 2009년 4월 개발된 대체시험법의 국제적 검증 및 OECD 가이드라인 제안을 위해 미국 NICETAM/ICCVAM, 유럽 ECVAM, 일본 JaCVAM, 캐나다 Health Canada 등이 함께 동물대체시험법 국제협력

체(International Cooperation on Alternative Test Methods, ICATM)를 구성, 협력각서(Memorandum of Cooperation, MoC)에 서명하는 등 국제 협조체계를 확실히 하고 있다.

3. 유전독성 규명을 위한 새로운 *in vitro* 유전독성시험법

기존의 시험관 내 표준 유전독성시험의 개선이 조사 중이나 새로운 방법과 전략이 계속 개발되고 있다(Table 1). 3D 인간 재건피부 모형의 소핵시험(RSMN)은 시험관 내 유전독성 시험에서 나타난 “특이성” 문제를 해결하고 새로운 화장품의 요구사항에 의해 제시된 과제를 해결하는 것을 목표로 하는 유망한 새로운 시험방법 중 하나이며, 이 시험법은 피부노출을 시험하기 위해 생리학적으로 보다 관련이 높은 접근법, 특히 대사특성에 대한 가능성을 제공하는 다층 인간 표피세포 시스템을 사용한다.

4. 발암성 분야 발전을 위한 새로운 시험법들

1) 발암성 예측 효율화를 위한 새로운 연구기법들
유전공학적으로 조작된 마우스⁸⁾ 및 쥐(Rat)는 인

간 표현형 및 병리를 보다 정확하게 모델링하도록 구성되어 연구자가 메커니즘을 탐색하고 발견된 결과의 고찰을 더욱 쉽게 할 수 있도록 해준다. 최신 기술을 사용하여 연구에 적합한 모델을 선택, 종양학, 심혈관 질환, 신경퇴행성 대사장해 등의 유전자 변이 모델을 이용할 수 있다(Table 2).

5. 기타 연구기법 및 시험법의 활용

1) 예측독성 및 전산독성 시험·연구

현재 전 세계적으로 유통되고 있는 화학물질의 수는 7천만여 종에 이르며 국내에서는 4만5천여 종 이상의 화학물질이 유통되고 있다. 또한 매년 400여종이 국내시장에 진입되어 화학물질의 사용이 꾸준히 증가하고 있다.⁹⁾ 특히 새로운 공정기술을 필요로 하는 전자산업에서는 핵심 기능을 담당할 금속 전구체 등 새로운 소재의 개발이 요구되며, 현재 다양한 신규화학물질이 제조공정에 사용되고 있다.¹⁰⁾ 이처럼 전자산업에 적극적으로 대응해 나가기 위한 산업보건학적 연구는 매우 중요한 부분이지만, 아직 관련 국내외 사업장에는 관리기준조차 없는 화학물질이 대부분이다. 따라서 사전예방의 원칙(Precautionary

Table 1. Non-standard *in vitro* tests and novel methods for genotoxicity and carcinogenicity

Test	Model	End points	Applications
Micronucleus test	Three-Dimensional Human Skin Reconstruct Model	Micronucleus induction, Structural and numerical chromosome aberration	Genotoxic evaluation
Comet Assay	Three-Dimensional Human Skin Reconstruct Model	DNA damages from cell or tissue	Genotoxic evaluation
Hen Micronucleus test (HET-MN)	Fertilized egg	Micronucleus induction from peripheral blood in arteria umbilicalis	Genotoxic evaluation
HTS test	TK human lymphocyte expressed GFR/luciferase HepG2 cell-expressed luciferase DNA repair-deficient chicken DT40 cell	DDR expression Response genes: GADD45A, RAD51, CSTA, TP53, NFE2L etc.	High throughput screening
CTAs	SHE, BALB/c 3T3, C3H10t1/2, Bhas42 cell	Genetic transformation	Genotoxic and Nongenotoxic carcinogenicity evaluation
Toxicogenomics	Various rodents and human cells	Gene expression profiling	Genotoxic and Nongenotoxic carcinogenicity evaluation
Mechanism study	Various systems such as cell line, cell extract, mitochondria, nucleus extract etc.	GAP junction inhibition, Oxidative stress, Protein-binding, Endocrine disturbance, Oxygen consumption, metabolism level, etc.	Cellular mechanism, Evidence-based nongenotoxic carcinogenicity

Table 2. Genetically modified mouse and rat model and its application field

Animal	Model	Applications
Mouse	B6 D931A Mouse	Oncology, Pregnancy
	B6 D933A Mouse	Oncology, Metabolism, Angiogenesis
	B6 flox Mouse	Pregnancy
	B6 lacZ D931A Mouse	Oncology, Pregnancy
	B6 lacZ Mouse	Oncology, Metabolism, Angiogenesis
	B6 S1039A Mouse	Immunology
	B6 D910A Mouse	Immunology, Autoimmunity, B&T cell function, Allergy
	Immortomouse®	Oncology
	lacZ B6J Mouse	Oncology, Immunology, Angiogenesis, Neurology
	OT I Mouse	Immunology, Inflammation and autoimmunity
	OT II Mouse	T-cell biology
	p110alpha flox Mouse	Oncology, Metabolism, Angiogenesis
	p110beta flox Mouse	Oncology, Metabolism, Angiogenesis
	PGP-deficient Mouse	Complex drug sensitivity (MDS), Toxicology, Morphology, Changes in intestinal epithelial cell lymphocyte development
	RIP-HAT Mouse	diabetes
	TARGATT™ Mouse	Humanized model, Gene deletion (siRNA expressing transgenes), Reporter gene, Gene overexpression
Rat	RNU (Nude rat)	Cancer biology, Immunology and Xenotransplantation studies
	SHRSP	Stroke, ADHD model, Nephropathy, Hypertension, Osteoporosis
	OPRL1	Neurobiology, Sensory motor (pain), Behavioral and learning deficits, Toxicology
	SERT	Neurophysiology, Anxiety, Depression, Toxicology, Behavioral and Neurophysiology
	BDIX	Leukemia, Malignant tumor
	Buffalo	Cancer and Oncology
	Noble	Prostate Cancer Model, Oncology
	Wistar Furth	Chronic kidney disease, Giant thrombocytopenia, Oncology, Carcinoma, Leukemia
	p53 TGEM Knockout	Oncology, Toxicology, Carcinogenesis
	RIP-HAT Rat	Diabetes research
	GK	Diabetes research
	SHHF	Heart failure, Hypertension, diabetes
	ZSF1	Hypertension, Diabetes, Neuropathy, Metabolic syndrome

principle)에 기초하여 사람의 건강에 대한 위해를 예방하기 위하여 유해성·위험성 등의 평가를 수행하여야 하고, 이를 위해서는 시험자료를 이용하여야 한다. 그러나, 동물을 이용한 독성시험의 비용과 시간 때문에 대부분의 화학물질에 대한 독성 데이터가 매우 부족하므로, 그 대안으로 QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship, 정량적 구조-활성관계)의 필요성이 증가되고 있다.¹¹⁾ QSAR이란 화학물질이 구조와 물리화학적 성질이나 생물체에의 영향

정도간의 상관관계 또는 관련성을 이용하여 실제 시험을 수행하지 아니하고 물질 고유의 성질이나 독성을 예측하는 기술을 말한다.¹²⁾ 선진국의 화학물질 평가는 기본적으로 동물시험을 줄이면서 정보가 부족한 화학물질에 대한 유해성을 빠르고 효과적으로 스크리닝하기 위한 QSAR를 활용하고 있다.^{10,13)} EU는 REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemical, 신화학물질 관리정책)를 도입하여 제시된 신뢰성 조건을 만족한다면 QSAR 결과가 시험하는

것을 대신할 수 있다고 명시하고 있다. 그 외에 우리나라, 일본, OECD, 산업계 등에서도 QSAR의 활용성에 대한 연구가 진행 중이다.¹⁴⁻¹⁹⁾ 또한 현재 이용 가능한 독성 예측 프로그램은 EPI Suite, DEREK (Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge), TOPKAT (Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology), Oncologic™, OECD Toolbox 등이 있다.²⁰⁻²³⁾

화학물질 독성연구에서 주로 사용하는 독성 예측 프로그램은 TOPKAT 및 Oncologic™이다. QSAR 프로그램은 국내외에서 적용되고 있으며 다양한 화학물질의 유해성 평가에 활용되고 있다. 이러한 기법은 화학물질을 취급하는 사업장에서도 적절하게 활용되어 화학물질로 인한 노동자 건강장해 예방대책 수립에 도움이 될 수 있다(Table 3).²⁴⁾ 유전독성 시험 항목의 예측력을 검토하기 위하여 DEREK 및 TOPKAT 프로그램의 예측력을 비교한 연구에서는 400여종의 유기화합물을 대상으로 각 프로그램에서 65% 및 73%의 비교적 낮은 일치율을 나타냈다.²¹⁾

또한 컴퓨터 기술의 발달로, 대용량의 화학물질 자료를 분석하여 스크리닝을 수행할 때, 최첨단 장비를 활용하여 놀라운 속도로 빨리 처리할 수 있게 되었으며, 이 같은 고속 대용량 스크리닝(High Throughput Screening (HTS))은 다수 물질에 대한 분석을 동시에 고속으로 수행하여 고효율의 물질을 탐색하는 방법으로, 질병을 일으키는 세포의 배양에서부터 화학물질 처리 및 분석까지 세포를 기반으로 한 유해성 평가를 초고속-대용량으로 분석할 수 있게 하는 장비와 방법을 말한다.

2) 시스템 독성학(Systems Toxicology)의 활용

시스템독성학²⁵⁾은 시스템생물학²⁶⁾의 독성학 및 화학과의 교차점에 존재하며, 독성학 및 화학적 접근법을 네트워크 모델 및 여러 수준의 생물학적 조직에서 발생하는 분자 및 기능 변화의 정량적 측정과 통합하여, 분자측정 및 고처리량 스크리닝 방법(HTS), 전산독성학 및 생물정보학에서 가장 최근의 개발결과들을 활용하게 된다.²⁷⁾ 이 새로운 메커니즘 기반의 독성시험 패러다임은 모든 종들에서, 단기 연구와 장기영향, 시험관 내 및 생체 내 시스템, 장기간 시험 및 장기효과와 같은 중요한 문제를 해결할 수 있는 잠재력을 가지고 있으며, 향상된 안전성 평가 및 모

니터링을 위한 새로운 바이오마커의 식별 및 적용을 가능하게 한다.

3) 분자영상(Molecular Imaging)의 적용 및 전망

분자영상은 생체 내에서 분자수준과 세포수준에서 일어나는 변화를 영상화하는 것으로서, 분자세포생물학과 첨단영상기술이 발전하여 접목된 새로운 분야이다. 분자영상은 형광, 생물발광, SPECT, PET, MRI, Ultrasound 등의 영상 기법들을 이용하여 유전자치료 모니터링, 세포추적, 세포 치료 모니터링, 항체영상, 분자상호작용 영상, 근적외선 형광물질을 이용한 암형광영상, 박테리아를 이용한 중앙표적 영상, 치료효과 조기 평가²⁸⁾ 및 예측 등에 적용되고 있으며, 나노기술과 결합된 분자영상으로도 발전하고 있다. 분자영상은 생체조직을 손상시키지 않고 반복적으로 영상화할 수 있으며, 세포수준의 연구를 임상에 활용할 수 있도록 하는 중개연구(Translation research)로서 그 활용이 확대되고 있다. 분자영상을 이용한 중개연구가 중요한 이유는 영상획득의 대상이 살아있는 상태에서 세포 또는 분자수준에서 일어나는 현상들을 영상을 통하여 직접 확인할 수 있게 하며, 확인된 현상들을 정량화하여 분석할 수 있도록 해주기 때문이다.²⁹⁾ 세포를 체외에서 표지하여 체내 투여하면 전이, 줄기세포 이식, 림프구의 반응 등 세포의 이동을 추적하여 영상화할 수 있다.³⁰⁾ 이 방법으로 세포의 이동경로와 생존정도를 평가함으로써 항암이나 면역치료의 평가에 사용할 수 있을 것이다. 세포 내 입자간 상호작용을 영상화하는 것으로, 단백질의 상호작용은 신호전달 등의 생물학적 기전을 규명하거나, 약물의 작용기전을 규명하는 데 매우 중요하다.

4) 합성 생물학과 직업성 위해도

1975년 2월, ‘Asilomar Conference on Recombinant DNA’³¹⁾에서는 재조합 DNA 기술을 이용한 실험의 안전한 수행을 위한 원칙을 수립하여 1980년대에 생명공학 산업의 창출을 촉진시켰다. 그 이후 생명공학은 “합성 생물학(Synthetic biology)”이라고도 불리는 2세대로 발전했으며, 공학 및 화학 설계의 원리를 생물 시스템에 적용하는 것과 관련하여 밀접한 관련 기능을 모두 포함하고 있다. 합성 생물학을 사용하려면 현재 생물안전성 연구에 관여하지 않는 산업안전보건 종사자가 합성 생물학 관련 노동자에 대

Table 3. EPA toxicity prediction program (Toxicity ForeCaster (ToxCast™))<https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-forecaster-toxcasttm-data>

Data Set	Explanation	Public date	DB version
ToxCast & Tox21 Chemicals Distributed Structure-Searchable Toxicity Database (DSSTox files)	Details of 8,599 unique substances (GSID) and DSSTox standard chemicals (chemical name, CAS number, structure, etc.) for EPA ToxCast chemicals and larger Tox21 chemicals list. It also includes chemical mapping files and quality control classes for chemicals.	Oct. 2015	DSSTox_20151019
ToxCast & Tox21 high-throughput assay information	Analysis Annotation ToxCast high-efficiency analysis information including user guide, analysis target information, research design information, and quality statistics for analysis	Oct. 2015	invitrodb_v2
Standard Laboratory Protocol for Tox21 Assays	Tox21 analysis, data describing standard laboratory protocols for Tox21 analysis, including a description of all assays (references, quality control, procedures and performance) and analytical data	Mar. 2016	-
ToxCast & Tox21 Summary Files	A pair of single chemical endpoint data for thousands of chemicals and 821 analysis endpoints for 20 variables including activity or hit, activity concentration, and whether chemicals were tested in a particular assay.	Oct. 2015	invitrodb_v2
MySQL Database	Downloadable database that provides user access to all ToxCast and Tox21 high-efficiency in vitro materials. The downloadable ToxCast Data Pipeline Overview file provides a summary of how EPA processes and analyzes ToxCast data.	Oct. 2015	invitrodb_v2
R Package	R computer program package is used to process and model all EPA ToxCast and Tox21 chemistry screening data. The file includes documentation that provides an overview of the R pipeline and R packages as well as the R programming packages used.	May 2016	tcpl_1.2.2
ToxCast & Tox21 Data Spreadsheet	EPA's analysis of selected chemicals through ToxCast and Tox21 collaboration Spreadsheets include EPA activities and review of over 8,000 chemicals.	Oct. 2015	invitrodb_v2
ToxCast & Tox21 Concentration Response Plots	Concentration response plot of all ToxCast and Tox21 tests	Oct. 2015	invitrodb_v2
Collaborative Estrogen Receptor Activity Prediction Project Data	Data and auxiliary files for CERAPP (large modeling project) demonstrating the effectiveness of using predictive calculation models trained on high-efficiency analytical data to assess estrogen-related activities and thousands of chemicals. CERAPP combines several models developed jointly with 17 groups in the US and Europe to predict the ER activity of a common set of 32,464 chemical structures. A quantitative structure-activity relationship model and docking approach were used to construct a total of 40 category models and 8 consecutive models for binding, agonist and antagonist ER activities.	Jan 2016	invitrodb_v1
High-throughput screening data for estrogen receptor model	The estrogen receptor model data is from a manuscript titled Judson et al, an integrated model of chemical perturbation of biological pathways using 18 in vitro high-throughput screening tests on estrogen receptors published in Toxicological Science.	Aug. 2015	invitrodb_v1

Table 3. EPA toxicity prediction program (Toxicity ForeCaster (ToxCast™)) (continued)
<https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-forecaster-toxcasttm-data>

Data Set	Explanation	Public date	DB version
Animal Toxicity Studies: Effects and Endpoints (Toxicity Reference Database-ToxRefDB files)	Provides results from thousands of animal toxicity studies: -No Effect Level (NEL)/Lowest Effect Level (LEL) and/or -No Observed Adverse Effect Level (NOAEL)/Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL)	Oct. 2014	toxrefdb_v1
Previously Published ToxCast Data	Previously published ToxCast data files do not recommend using this data for new analysis, but they provide the file for the user in case they need it for ongoing analysis.	Various	Various

한 위험에 대해 교육받아야 하며, NIOSH는 작업장 안전에 이 접근법을 채택했다. NIOSH는 합성 생물학이 생겨나면서 산업안전보건에 관한 연구를 전담하는 유일한 미국 정부 기관으로서 작업장에서 합성 생물학의 안전을 보장하기 위한 노력을 이끌고 있다.

6. 장기적 미래 예측: 노동자의 유전자 검사 필요성과 개인 유전정보의 보호(산업안전보건법 시행규칙 별표의 개정을 위한 분야간 협업연구, 다차원적 정책수립을 위한 연구 필요)

유전자 검사가 보편화 되어 있지 않는 우리나라의 경우 이러한 이슈가 생소할 지도 모르지만, 미국의 경우 개인 유전자 검사가 많이 시행되고 있다. 미래에는 유방암에 관련된 유전자를 가지고 있다고 해서 해고를 당하거나 유전자가 열성이라는 이유로 면접에서 제외되는 일들이 우리나라에서도 일어날지 모른다. 이러한 유전자 차별을 금지하는 법안이 바로 GINA (Genetic Information Non-discrimination Act of 2008), 유전정보 차별 금지법이다. 유전자 검사에 대해 부정적인 생각을 많이 가지고 있는 사람들이 ‘검사 했다가 불이익을 당하지 않을까?’ 걱정하지만 유전자 검사는 단순히 예방을 위한 기초자료로 자신의 유전정보를 확인하는데 목적이 있으며, 이러한 유전자 검사가 안전하게 정착되기 위해 우리나라도 유전자 차별 금지법의 시행이 필요할 것이다. 미국에는 유전자 검사를 의무화하는 연방법이나 주법은 없지만, 노동자를 보호하기 위해 제정된 법률로 평등 고용기회법(Equal Employment Opportunity Act)은 연령, 성별 또는 민족적 배경에 근거한 차별로부터 노동자를 보호하는 연방법이다. 겸상적혈구 형질은 평등고용기회법에 따라 아프리카계 미국인과 관련되

며, 사업주는 겸상적혈구 형질을 보유할 가능성이 있다고 해서 아프리카계 미국인을 차별할 수 없으며 노동자가 겸상적혈구 형질을 가지고 있더라도 유전형이 직업병 발병 위험에 기여하지 않을 수도 있다. 2009년의 유전정보 차별금지법(Genetic Information Nondiscrimination Act; Table 4)에 따르면 사업주는 고용조건으로 작업장에서 유전자 검사를 요구해서는 안 되며 고용기회를 거부하는 방식으로 차별대우해서는 안 된다. 그러나 사업주는 유전자 손상을 일으킬 수 있는 작업장 노출이 있고 불리한 노동조건을 통제하고 노동자들에게 해를 입히지 않도록 할 수 있는 경우 노동자의 건강을 모니터링하기 위해 유전자 검사를 허용할 수 있다. 의료기록의 기밀성을 유지하고 정보가 입각한 동의를 제공하는 것은 사용자의 의무이다. 국제노동기구(ILO)는 유전자 검사가 차별의 한 형태로 사용될 수 있다는 우려를 제기하고 사업주는 유전정보를 사용하여 고위험으로 간주되는 노동자를 차별하는 데 사용해서는 안 된다고 명시하고 있다. 예를 들어 호주의 경우 암 환자의 위험을 결정하기 위해 유전자 검사가 사용되고 있지만 작업장에서는 노동자를 보호하기 위해 유전자 검사를 사용할 수 있으며 유전자 검사는 대부분 특정한 직업병이 특정 기간에 발생할 확률을 예측하고 의학적으로 실행에 사용된다. 작업장에서의 유전자 검사는 유전자 감수성을 가진 노동자의 위험을 보호하기 위한 특정 임계값에 대한 정보를 제공할 수 있으나, 위험 노동자를 식별하는 단일 위험평가가 도구 아닐 수도 있어서, 차별과 개인정보 보호에 대한 우려뿐만 아니라 직장에서의 유전자 검사의 효과 및 효율 면에서 미국과 국제적으로 논쟁이 계속되고 있다.

기술발전이 반드시 우리를 편하게 해주는 것은 아

Table 4. U.S. Genetic Information Non-discrimination Act of 2008 (GINA)

Division	Contents
	Since the 1964 US Civil Rights Act was enacted in 1964 (Title VII of the U.S. Civil Right Act), the United States has made great efforts to guarantee human dignity and value and to achieve equality in the Constitution. As a result, (ENDA) has been enacted.
	The GINA (Genetic Information Non-discrimination Act of 2008) is also the result of this effort, which is based on the inadequate use of genetic information in the insurance and employment sectors. One of them, Ted Kennedy, commented, "The first major new civil rights bill of the new century, which came into force in the new century."
Section I	Prohibition of denying health insurance or inserting surcharges for health insurance simply because it has genes that can develop into future diseases - Prohibition of discrimination based on genetic information in the Group Health Plan (Article 101) - Prohibition of discrimination based on genetic information in health insurance (Article 102) - Discrimination against genetic electronic information in supplementary health insurance (Medicare supplemental policy) - Measures for the protection of genetic information in other health insurance (Articles 105 and 106)
Section II	Prohibited employers from reflecting workers' genetic information in employment, dismissal, personnel and promotion - Employment practices, employers, employment agencies, labor organizations, labor councils - Disparate impact based on genetic information does not constitute the reason for complaint under the Act through revision of related regulations ※ Six years after the enactment of the law, the Genetic Nondiscrimination Study Commission (the "Committee on the Prevention of Gene Discrimination"), in consultation with the Parliament on whether to discriminate the resultant employment discrimination as a reason for complaints under the Act, Includes content to establish
Section III	It shall be stated that it does not affect any provisions other than those raised if an unconstitutional matter relating to this Act is filed,

니며, 대표적인 예가 바로 '개인정보' 관련 문제이다. 통신기술의 발전은 생활의 편리를 가져왔지만 개인정보가 쉽게 노출됨으로써 경제적, 정신적 손해가 커졌기 때문이다. 이러한 개인정보는 지속적으로 침해가 이어지면서 또 다른 피해를 유발하여 더욱 심각해질 수 있다. '유전자' 또한 보호되어야 할 중요 개인정보이며, 적절히 보호받지 못하게 되면 보험 및 채용과 관련한 불가피한 피해를 발생시킬 수 있다. 이런 점에서 '유전정보 차별금지법(GINA)'은 매우 중요하다고 볼 수 있다.

IV. 고 찰

1. 유전독성 및 발암성에 대한 미래지향적 *in vitro* 시험법들

화학물질의 잠재적 유전독성에 대한 적절한 평가를 위해 유전독성시험은 유전자 돌연변이 유발 및 구조적 및 수적 염색체 이상을 유발하는 세 가지 주요 종점(End point)을 다루어야 하며, 이런 각 시험

들은 현재 개별검사로 모든 종점을 다루지 않으므로 여러 검사(즉, Battery 시험)를 사용해야 한다. 이 Battery 시험에서 양성 반응을 보이는 화합물은 사람의 돌연변이 유발물질 및 또는 발암물질이 될 가능성을 보여준다. 설치류에서의 생체 내(*In vivo*) 2년 발암성 시험은 인간에 대한 발암 위험을 예측하는 데 몇 가지 제한이 있는 것으로 알려져 있지만, 암 위험 및 역가를 평가하는 데 있어 기준으로 널리 인식되고 있다. 이 과정은 간단하고 독특한 시험관 내(*In vitro*) 시험에서는 복잡하고 어렵기 때문에 기존의 시험관 내 시험을 개선할 뿐만 아니라 이 분야에 대한 새로운 시험을 개발할 필요가 있다. 인간 유전체 분석(Human genome sequencing), 기능성 유전체학(Functional genomics), 컴퓨터 생명공학, 초고속 *in vitro* 스크리닝을 위한 로봇 자동화 등이 그 예로, 최첨단 과학기술이 생명공학 분야에 새로운 시대를 열고 있다. 이러한 혁신적인 기술의 발전은 화학물질과 약물이 인체 내 세포와 분자 단계에서 어떻게 작용하는지 알아낼 수 있는 새로운 가능성을

제시하고 있으며, 정보를 해석·통합한 개인과 인구 집단간의 연구로 화학물질의 안전성과 위해성에 대한 예측은 동물실험보다 더욱 현실성 있는 자료를 제시한다.

2007년 미국 National Research Council (NRC)에서 발표한 보고서³²⁾는 관례적인 동물실험에서 독성을 평가하는 방법을 “시간 소비가 많고, 많은 자원을 요구하며 현대사회가 요구하는 많은 요건을 맞추는데 어려움이 있다”라고 했으며, 컴퓨터를 사용하거나 세포를 기반으로 하는 *in vitro* 시험법을 이용한 새로운 연구는 과학을 기초로 한 독성학의 발전을 돕고, 효율적인 비용으로 시험가능한 화학물질의 수도 급격히 늘어날 것이라고 한다. 예를 들면 고효율 및 고성능의 자동화 스크리닝 테스트는 제약회사가 하루에 십만 개 이상의 물질을 스크리닝 하는 것을 가능하게 하고³³⁾, 이 기술 방법은 안전성 시험에도 적용될 수 있다. *In vitro* 시험과 컴퓨터 분석을 이용한 데이터가 축적됨에 따라 유전자, 단백질, 독성 경로, 인간과 환경에 미치는 영향에 대한 이해도 높아지고 있으며, 인간과 자연을 보호하기 위해 화학물질 배출, 분산에 대한 모니터링과 인간의 주변 등에 미치는 영향을 파악할 수 있는 새로운 접근법이 사용된다.

화학물질 노출로 인한 직업성 암의 사전예방은 그 발생률과 사망률을 줄이기 위한 가장 유망한 전략으로 남아 있다.³⁴⁾ 40년이 넘는 기간 동안 역학, 기초 연구 및 임상시험에서 얻은 발견은 암 예방에 대한 라이프스타일 및 의학적 접근의 발전을 이루었으며, 미래에는 암의 개시 및 발병과 관련된 경로를 확인하고 암의 원인에 대한 연구를 발전시키기 위한 유전학적, 단백질학적 및 기타 분자적 접근법이 개발 될 것이다.

V. 결 론

본 연구에서는 화학물질이 유전자 또는 염색체에 미치는 독성영향을 평가하는 분야인 유전독성 연구 및 시험을 통해 화학물질의 발암성을 규명하는 과정에서 잠재적인 발암성 물질과 유전독성(변이원성) 물질을 검출하기 위한 시험 및 연구 분야의 발전을 도모하고자, 국내외 관련문헌 및 발표자료 등을 이용한 최신 유전독성 및 분자생물학적 연구기법(대체시

험법 등) 동향을 조사하고, 국내 관련 연구기관을 조사하여 정리하였으며, 궁극적으로 산업화학물질의 초기 발암성 예측에 초점을 둔 유전독성 및 발암성 예측 연구 및 시험전략을 마련하고자 하였다. 우리나라의 유전독성분야 연구 및 시험은 지난 1990년대 초반부터 시작되었으며, 최근 가습기살균제 등 환경·산업화학물질의 유해성·위험성에 대한 관심 증대에 따라 흡입독성시험이 활성화되고 있어, 화학물질의 초기 발암성 스크리닝의 중요성도 대두되고 있다. 이에 발암성 흡입독성시험 및 연구와의 연계성이 높은 최신의 효율적인 유전독성학과 분자생물학적 연구기법 및 전략이 필요한 시점이며, 이의 수립을 통해 우리나라의 화학물질에 의한 노동자 직업성 질환예방의 활용성을 극대화하고자 하였다.

특히 제품성능 향상을 위해 지속적인 신규화학물질의 개발이 요구되고, 현재 다양한 신규화학물질들이 제조공정에 사용되고 있는 전자 및 반도체산업의 변화 속도에 적극적으로 대응해 나가기 위한 신규화학물질의 인체영향에 대한 시험/연구는 산업보건학적으로 상당히 시급하고 중요한 부분이며, 독성평가에 첨단기술(유전공학, 분자생물학 등)을 접목하는 연구를 통해 그 유해성을 빠르고 정확하게 예측하는 기술을 개발·응용하는 데 주력하여 신규화학물질 독성평가에 따른 실험동물의 희생을 상당부분 줄일 수 있는 등 진보된 연구 분야의 수행이 필요하다. 우리 연구원에서도 세부적으로는 분자독성연구, 즉 독성물질의 생체 내 분자적 손상기전 등 독성기전 (Toxic mechanism) 연구 및 대체독성연구를 중심으로, 많은 화학물질에 대한 독성시험 결과를 단시간 내에 확보하기 위한 대체시험법 개발이 요구되고 있다. 이런 차원에서 인실리코(*In silico*) 독성연구는 예측독성의 미래라고 할 수 있으며, 독성예측모델 개발, 시스템(통합)독성학 기반 독성네트워크 분석 및 가상 장기모델 개발, 시험관 내(*In vitro*) 및 *in silico* 연계 독성평가 연구의 수행이 필요하다. 또한 시험관 내(*In vitro*) 시스템 독성학(Systems Toxicology) 등을 비롯한 세포·분자생물학 기술의 발전에 따른 새로운 대체시험법의 수행가능성을 높여야 할 시점이다.

감사의 글

본 논문은 2017년도 안전보건공단 산업안전보건연

구원 자체연구과제의 수행 결과보고서에서 발췌하여 정리된 내용임을 밝힙니다.

References

- Seo Y, Lee YJ, Lee JH, Chung SW, JY Kwon, Chung HJ, et al. Study on the establishment of evaluation system for genotoxicity using genotoxic biomarker genes. Report to Korea Food & Drug Administration; 2007.
- Kirkland, D, Aardema M, Henderson L, Müller L. Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens: I. Sensitivity, specificity and relative predictivity. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2005; 584(1-2): 1-256.
- Sohn SJ, Kim TS, Kim JH, Lee JS, Ko KW, Ahn IY, et al. A study on the introduction of internationally adopted genotoxicity testing battery and guidelines for pharmaceuticals. Report to Korea Food & Drug Administration; 2015.
- Seo JW, Hyun SA, Hyun SW, Kim BR, Kim KS, Kang SW, et al. Development of Safety Pharmacology method using 3D cardiac tissue model with Human iPS-induced cardiomyocyte. Report to Korea Food & Drug Administration; 2016.
- Kim J, Seo JW, Kim T, Kim HK, Park S, Kim PJ. Prediction of Human Health and Ecotoxicity of Chemical Substances Using the OECD QSAR Application Toolbox. *J Environ Health Sci.* 2013; 39(2):130-137.
- Ryu JC, Kim MS, Kim YJ, Jun HK, Cho EM, Song M, et al. Study on next generation toxicological tools of molecular biomarker(s) and risk assessment to environmental hazardous chemicals. Report to Ministry of Environment, ROK; 2008
- Sohn SJ, Cha HJ, Lee YK, Yum YN, Han SY. Establishment and International Cooperation of Korean Center for the Validation of Alternative Methods. *Journal of Alternatives to Animal Experiments* 2010; 4(2): 29-32.
- Ralph Meuwissen, Anton Berns. Mouse models for human lung cancer. *Genes & Development* 2005; 19: 643-664.
- Ministry of Environment. WHITE PAPER OF ENVIRONMENT. Gwacheon: Ministry of Environment Press; 2012. p. 240-272.
- Kim JY, Choi KM, Kim KS, Kim DI. QSAR Approach for Toxicity Prediction of Chemicals Used in Electronics Industries. 2014; 40(2): 105-113.
- Kim J, Choi K, Kim K, Kim D. QSAR Approach for Toxicity Prediction of Chemicals Used in Electronics Industries. *J Environ Health Sci.* 2014; 40(2): 105-113
- OECD. OECD series on testing and assessment Number 34, Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment, EN/JM/MONO 14; 2005.
- Environmental Protection Agency. User's Guide for The Toxicity Estimation Software Tool: U.S. Washington: Environmental Protection Agency Press; 2012.
- In YY, Lee SK, Kim PJ, No KT. Prediction of Acute Toxicity to Fathead Minnow by Local ModelBased QSAR and Global QSAR Approaches. *Bull Korean Chem Soc* 2012; 33(2): 613-619.
- Furuhama A, Toida T, Nishikawa N, Aoki Y, Yoshioka Y, Shiraiishi H. Development of an ecotoxicity QSAR model for the KAshinhou Tool for Ecotoxicity(KATE) system, March 2009 version. *SAR QSAR Environ Res* 2010; 21(5-6): 403-413.
- Pizzo F, Lombardo A, Manganaro A, Benfenati E. In silico models for predicting ready biodegradability under REACH: A comparative study. *Sci Total Environ* 2013; 463-464: 161-1688.
- Teubner W, Mehling A, Schuster PX, Guth K, Worth A, Burton J, et al. Computer models versus reality: how well do in silico models currently predict the sensitization potential of a substance. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013; 67(3): 468-485.
- Kovarich S, Papa E, Li J, Gramatica P. QSAR classification models for the screening of the endocrine disrupting activity of perfluorinated compounds. *SAR QSAR Environ Res* 2012; 23(3-4): 207-220.
- Freidig AP, Dekkers S, Verwei M, Zvinavashe E, Bessems JGM, Sandt JJM. Development of a QSAR for worst case estimates of acute toxicity of chemically reactive compounds. *Toxicol Lett* 2007; 170(3): 214-222.
- Yang SY, Maeng SH, Lee JY, Lee YM, Chung HK, Chung HW, et al. Comparison of QSAR mutagenicity prediction data with Ames test results. *Environmental Mutagens & Carcinogens* 2000; 20(1): 21-25.
- Cariello NF, Wilson JD, Britt BH, Wedd DJ, Burlinson B, Gombar V. Comparison of the computer programs DEREK and TOPKAT to predict bacterial mutagenicity. *Mutagenesis* 2002; 17(4): 321-

- 329.
22. Mombelli E. An evaluation of the predictive ability of the QSAR software packages, DEREK, HAX-ARDEXPERT and TOPKAT, to describe chemically-induced skin irritation. *Altern Lab Anim* 2008; 36(1): 15-24.
 23. Devillers J, Mombelli E. Evaluation of the OECD QSAR Application Toolbox and Toxtree for estimating the mutagenicity of chemicals. Part 1. Aromatic amines. SAR QSAR *Environ Res* 2010; 21(7-8): 753-769.
 24. Weed DL. Weight of Evidence: A Review of Concept and Method. *Risk Anal* 2005; 25(6): 1545-1557.
 25. Sturla SJ, Boobis AR, FitzGerald RE, Hoeng J, Kavlock RJ, Schirmer K, et al. Systems toxicology: from basic research to risk assessment. *Chem Res Toxicol* 2014; 27(3): 314-329.
 26. Peitsch MC, de Graaf D. A decade of systems biology: where are we and where are we going to? *Drug Discov Today* 2014; 19(2): 105-107.
 27. Andersen ME, Krewski D. Toxicity testing in the 21st century: bringing the vision to life. *Toxicol Sci* 2009; 107(2): 324-330.
 28. Choi GR, Lee SB. Application and Prospects of Molecular Imaging. 2014; 8(3): 123-136.
 29. Choi K, et al., "Molecular Imaging", Vol. 6, 2007. p. 75-84.
 30. Wu JC, Tseng JR, Gambhir SS. Molecular imaging of cardiovascular gene products. *J Nucl Cardiol* 2004; 11: 491-505.
 31. Howard, J, Murashov V, Schulte P. Synthetic Biology and Occupational Risk. *J Occ Env Hyg* 2017; 14(3): 224-236.
 32. National Research Council of the National Academies. Toxicity Testing in the 21st Century-A Vision and A Strategy. The National Academies Press. Washington, D.C. 2007.
 33. Andersen ME, Betts K, Dragan Y, Fitzpatrick S, Goodman JJ, Hartung T, et al. Developing micro-physiological systems for use as regulatory tools-challenges and opportunities. *ALTEX* 2014; 31(3): 364-367.
 34. Umar A, Dunn BK, Greenwald P. Future directions in cancer prevention. *Nat Rev Cancer* 2012; 12(12): 835-848.

RETRACTED