

제2장 독성 분야

제1절 독성연구 분야

제2절 약리연구 분야

제3절 위해성 분야

제4절 실험동물자원 관리 및 연구 분야

제2장 독성 분야

제1절 독성연구 분야

제1항 발전 및 정책 방향¹⁰⁰⁾

경제성장으로 인해 국민소득 및 생활이 선진국 수준으로 향상됨에 따라 식품·의약품 등에 관한 국민의 관심이 안전·질·기능 및 질병 예방 중심으로 모이고 있다. 이러한 생활의 변화를 반영하듯 방송 등 대중매체를 통해 보도되는 오염물질의 미량 검출에 대해 국민들의 관심과 불안감이 고조되고 있다. 또한 각국에서는 첨단 과학 기술의 발전에 힘입어 기존의 화학적 합성에 의한 의약품 외에 생명공학 기술을 이용한 의약품 및 식품 개발이 활발히 진행되는데, 이들 제품의 안전성에 대한 국민의 우려도 높아지고 이에 따른 새로운 개념의 독성 평가 기술 개발도 함께 요구되고 있는 실정이다.

독성연구부에서는 식품·의약품 및 유해물질의 안전성에 대한 지속적인 연구·평가를 통해 자료를 축적하고 전문성을 확보하여 국민 복지 증진과 관련된 정책 방향을 뒷받침할 수 있는 과학적인 기초 자료를 제공하고 있다.

식품·의약품 및 유해물질 등에 대한 안전성 연구를 수행하고 있는 독성연구부는 일반독성과, 생식독성과, 유전독성과, 면역독성과, 독성병리과 등 5개과로 구성되어 있다. 여기서는 일반, 신경, 생식기관 및 발

100) 일반독성과 과장 김옥희

생, 유전, 면역, 독성병리 등의 독성연구와 식품·의약품 및 유해물질 등의 체계적인 관리를 위한 독성물질국가관리를 수행하고 있고 독성유전체 기술 및 유전자 치료제에 대한 연구 등 전문적인 독성연구를 수행하고 있다.

이러한 전문적인 지식과 기술을 바탕으로 식품·의약품 및 유해물질로부터 국민의 건강을 지킬 수 있는 과학적 정보를 제공하고 국가적 차원의 유해물질 관리와 산·학·연 협력하에 연구개발 및 생산된 독성정보의 교류를 위해 노력하고 있다. 독성연구부에서는 ‘독성물질 국가관리 사업’ ‘독성 유전체 기술을 이용한 안전성·유효성 평가 기술 개발 사업’ 및 ‘유전자 치료제의 안전성 연구 사업’ 등을 주요 사업으로 진행하고 있다.

제2항 주요 사업

1. 독성물질 국가관리 사업(KNTP)¹⁰¹⁾

최근 식품·의약품 등 화학물질의 대량생산, 중금속의 오염 및 한약재 등의 오·남용 등으로 인해 유해 가능 물질의 혼입 가능성이 급속하게 증가하고 있음에도 불구하고 이들 화학물질이나 식품 오염물질, 생약 성분 등은 안전성 평가나 독성 정보가 명확하게 규명되지 않은 상태에서 생산·유통·사용되고 있다. 또한 기준에 안전하다고 판단하여 널리 사용되고 있는 물질의 경우에서도 과학이 발달함에 따라서 추가적으로 새로운 독성이 발견되고 있다.

정부에서는 이러한 각종 유해물질이 국민 건강과 환경에 미치는 영향을 파악하고 환경상의 위해(危害)를 예방하기 위해서 소관 부처별로 관련 법률이 정하는 바에 따라 안전관리 대책을 수립·시행하고 있다.

101) 일반독성과 연구관 염영나

그러나 국내 산업구조의 발달과 함께 OECD 회원국으로서의 화학물질에 대한 안전성 평가를 적극적으로 이행하여야 함에도 불구하고 독성시험 및 위해성 평가 기반과 전문 기술 인력·제도 등 전반적인 인프라의 미비로 인하여 유해물질의 관리에 효과적인 대응이 미흡한 실정이다.

미국을 비롯한 주요 선진국 및 WHO 등 국제기구에서는 범부처 또는 회원국이 참여하는 국가 차원 및 회원국 간 독성물질 관리 시스템을 이미 구축하고 이를 효율적으로 운영함으로써 필요한 모든 기관 및 일반 대중에게 유해물질 평가 및 위해 정보를 신속하고 정확하게 제공하고 있다.

【표2-2-1】 부처별 유해물질 관리 법률

구 분	대 상	관련 법률	비 고
식품의약품안전청 (보건복지부)	식품·의약품 등	식품위생법, 약사법, 건강기능식품에 관한 법률 등	http://www.kfda.go.kr
환경부	화학물질	유해화학물질관리법	http://www.me.go.kr
농림부	농약	농약관리법	http://www.maf.go.kr
노동부	작업환경 중 유해물질	산업안전보건법	http://www.molab.go.kr

따라서, 미국 등 선진국 수준의 독성물질 국가관리 프로그램 (NTP) 구축과 화학물질 등의 효율적인 안전관리를 위해서는 식품의약품안전청, 환경부, 노동부, 산업자원부 및 농림부 등 관련 부처 간 협력 체계가 우선 마련되어야 하며 나아가서 일반 국민들을 비롯한 산·학·연 전문가 모두가 적극적으로 참여하는 국가 차원의 체계적인 안전관리 정책이 필요한 실정이다.

【표2-2-2】 나라별 · 국제기구별 유해물질 관리 현황

구 분	관리 조직 · 기구	비 고
미 국	○ NTP (National Toxicology Program)	관련 부처 참여
영 국	○ COT (Committee on Toxicology, mutagenicity, carcinogenicity of chemicals in food, consumer products and the environment)	"
캐나다	○ PSAP (Priority Substances Assessment Program)	"
일 본	○ 화학물질평가전문위원회	"
W HO	○ IPCS (International Programme on Chemical Safety)	회원국 참여
OECD	○ SIDs (Screening Information Data sheet)	"

이를 위하여 국립독성연구원에서는 기존의 일반독성 및 특수독성시험 연구와 함께 2002년부터 국내에서 생산·유통 중인 식품·의약품 등의 효율적인 안전관리체계를 구축하고, 국내 독성시험 연구 분야의 기반 기술 구축 및 향상을 도모하고자 독성물질 국가관리 체계 구축 사업(KNTP, National Toxicology Program in Korea)을 추진 중에 있다.

평가 대상 물질을 선정할 때 일반 국민, 산·학·연 전문가 및 관련 부처의 의견을 적극 반영하기 위하여 인터넷 등을 통하여 물질 추천 기회를 확대하고 있다. 또한 선정위원회를 통하여 정부 주도로 관리할 수밖에 없는 유해 가능 물질, 비상업적 물질, 오래 전부터 시판되고 있

으나 안전성 평가가 부족한 물질, 제조업체에 책임 지을 수 없는 혼합물질, 연간 생산량이 많은 물질, 국민의 관심도가 높고 긴급하게 국가의 관리가 필요한 물질들이 선정될 수 있도록 추진해 나가고 있다.

독성물질 국가관리 체계의 조기 정착을 위하여 세부적으로 독성 정보 수집·공유 및 평가를 위한 정보 체계 구축을 추진하는 한편 화학물질, 미생물, 약용식물 등 국내 발생 유해 가능 물질에 대한 독성연구와 발암성시험, 대체시험법 개발 등의 정책 지원·연구를 수행하고 있으며, 선진국 수준의 독성 평가 발전을 위한 협력연구센터(TRC, Toxicology Research Consortium) 지원·연구 추진과 함께 미국 NTP와 유해물질 독성 평가 기술, 인적 교류 및 정보 공유 등의 협력 체계 구축을 위한 양해각서(MOU)를 체결하여 국제적 협력 체계를 구축하였다.

이는 미국의 NTP, OECD(SIDs), WHO(IPCS) 등에서 작성되는 독성 정보를 수집·분석·활용하는 것과 더불어 자료를 구할 수 없는 화학물질, 식품오염물질, 생약 등 천연물질과 그 밖의 유해 가능 물질을 대상으로 정부 차원에서 한국의 식·의약 생활을 반영하는 독성 평가·연구를 추진함으로써 유해 가능 화학물질의 모니터링, 독성시험 및 위해도 평가를 통한 식품·의약품 등의 과학적 안전관리를 위한 기준·규격 설정과 함께 위해 가능 물질에 의한 사고를 미연에 방지하고, 더 나아가 국민의 안전한 식품·의약품 생활을 보장할 수 있도록 하고자 하는 것이다.

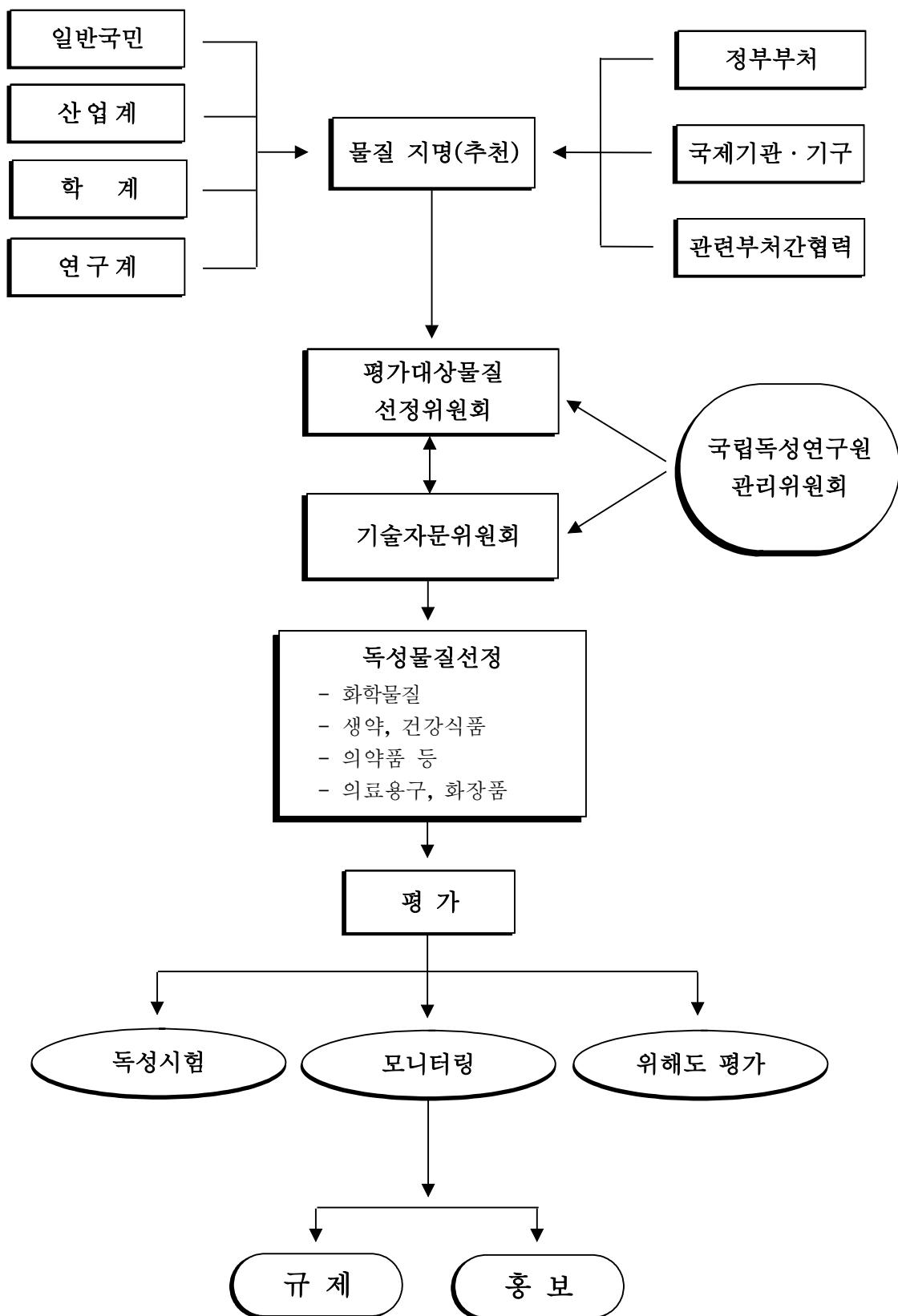
1) 독성물질 국가관리 사업 연차별 추진 계획

‘독성물질 국가관리 사업’의 연차별 실행 및 계획, 사업 추진 체계는 아래와 같으며, 국내 독성 평가 시험 연구 기반 확대와 국제 기술교류 활성화를 위하여 저명한 해외 과학자 초청 국제세미나 및 2003년 수행 연구결과 발표회를 개최하였다. 2004년 추진 계획으로 유해물질 등의

독성 정보의 수집·공유 및 평가를 위한 정보 체계 보강, 화학물질, 발암성시험, 약용식물, 미생물 등 분야별 독성연구 및 위해도 평가 실시, 독성 평가 발전을 위한 기반 지원 연구, 협력연구센터 지원을 통한 협력연구 및 연구 인프라 확대(생식독성, Mycotoxin, 독성 평가 모델 동물 등)등을 전문화, 세분화하여 좀 더 구체적이고 실질적인 성과를 얻을 수 있도록 추진하고자 한다.

【표2-2-3】 독성물질 국가관리 사업 연차별 추진 계획

구 분	사업 목표 및 내용	소요예산 (백만원)
2002년 실적	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유해물질 모니터링·독성시험 ○ 국내 항생물질 내성균 모니터링 ○ 식품 중 오염물질의 독성 및 위해도 평가 ○ 독성정보 데이터베이스 구축 	2,500
2003년 실적	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유해물질 및 한약재의 모니터링·독성시험 ○ 식품 중 오염물질의 독성 및 위해도 평가 ○ 독성정보 데이터베이스 구축 ○ 협력센터용역연구를 통해 독성 평가 기술 개발 	3,200
2004년 추진	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유해물질 및 한약재의 모니터링·독성시험 ○ 식품 중 오염물질의 독성 및 위해도 평가 ○ 독성정보 데이터베이스 구축 ○ 협력센터용역연구를 통해 독성 평가 기술 개발 ○ 독성물질 연구 기반 및 국가관리시스템 구축 	3,700
2005년 계획	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생약제 및 식품 중 오염물질의 독성 및 위해도 평가 지속 추진 ○ 협력센터용역연구를 통해 독성 평가 기술 개발 ○ 부처간 협력 체계 구축 ○ 독성정보 데이터베이스의 공유 ○ OECD수준의 GLP관리를 위한 지원연구 	미정



【그림2-2-1】 독성물질 국가관리 사업 추진 체계

2) 2003년도 독성물질 국가관리 사업 추진 과제 현황

2003년도 수행과제는 아래 표와 같으며, 국내 독성 평가 시험연구기반 확대와 국제 기술교류 활성화를 위하여 저명한 해외과학자 초청 국제세미나 및 2003년 수행연구결과 발표회를 개최하였다. 또한, 국립독성연구원에서는 식품·의약품 및 유해물질 등의 체계적인 관리를 위한 독성물질국가관리에 대한 일반 대중에게 유해물질 평가 및 위해 정보를 제공하고자 홈페이지(<http://kntp.nitr.go.kr>)를 운영하고 있다.

【표2-2-4】 2003년도 독성물질 국가관리 사업 추진 과제 현황

<총괄>

구 분	과제(건)	예산(백만원)	비 고
계	43	3,200	
자체연구	13	1,350	
용역 연구	30	1,850	

구 분	과 제 명	소 속
자체연구	3-MCPD의 일반독성시험에 관한 연구(II)	일반독성과
	페류독의 신경독성연구	신경독성과
	안전성 평가를 위한 발암성시험 연구 : 3-MCPD의 음수를 통한 랫드에서 발암성시험(II)	조직병리과
	NTP 정보화 DB구축 사업(II)	위해도 평가과
	PAHs 화합물의 생체지표(biomarker)를 활용한 내적용량(internal dose)산출과 위해성 평가	위해도 평가과
	3-MCPD가 수컷의 생식능에 미치는 영향 연구	생식독성과
	Chrysin의 유전독성에 관한 연구	유전독성과
	MCPD가 면역기능에 미치는 영향에 관한 연구	면역독성과
	MCPD의 신장독성유발 기전에 대한 연구(II)	안전성 평가과
	NTP 정보화 DB구축 사업(II)	부산지방청
	NTP 정보화 DB구축 사업(II)	서울지방청
	NTP 정보화 DB구축 사업(II)	경인지방청
	독성물질 국가관리 사업 운영	일반독성과
용역연구	죽염의 90일 반복투여 독성시험 및 면역독성시험	바이오톡스텍
	갈근의 90일 반복투여 독성시험	바이오톡스텍
	유해물질 및 한약재의 독성시험/ 홍화씨의 90일 반복투여 독성시험	서울대
	감초의 90일 반복투여 독성시험	한국화학 시험연구원
	Dimethylamine의 F344 랫드에서의 90일간 흡입독성시험	서울대
	방역용 의약외품의 인체 유해성 및 환경 위해성 평가기법 연구	서울대
	비소의 안정성 연구	중앙대
	폐암환자 암세포내 BLV 오염도 조사	가톨릭대
	식품 중 무기비소에 관한 연구	한국과학 기술원
	유전자발현 및 단백체학 기법을 이용한 간독성 유형별 특 이 분자생체지표 및 간독성 평가 유전자 칩 개발 (TRC)	한양대

구 분	과 제 명	소 속
용역연구	생식.발생독성 평가 및 작용기전 연구 (TRC)	충북대
	곰팡이독소의 국가 안전관리체계 구축을 위한 연구 - 아플라톡신을 중심으로 (TRC)	경상대
	유방암 독성을 평가를 위한 MMTV/c-Neu 형질전환 생쥐모델 개발 (TRC)	이화여대
	Luciferase gene expression bioassay 및 gene expression 데이터베이스를 이용한 대체시험의 개발	제주대
	독성 평가 발전을 위한 기반 지원연구 - COX-2 stably transfected cell line을 이용한 tumor promoter 검색시험법 개발 연구	서울대
	중추신경계의 발달과정에 따른 도모이산의 신경독성	전남대
	건강기능식품의 발암 촉진 유발 연구	인하대
	다환방향족 탄화수소류의 면역독성 기작 연구	영남대
	환경 중 납 노출에 대한 수학적 인체거동모델 (PBPK) 개발	가톨릭대
	화학물질의 연속투여에 의한 주요독성지표의 변화 및 그 기전	서울대
	실험동물의 관리 연구 -실험동물의 미생물학적 관리 연구	서울대
	mycoplasma 연구 및 모니터링 -mycoplasma 오염도 조사 및 대책 제시	서울대
	기능성 식품재료 및 생약유의 원료들의 안정성 평가를 위한 독성연구	강원대
	국내에서 발생되는 패류독소 및 그 오염실태에 관한 조사	부경대
	1,3-Dichloro-2-propanol (DCP)의 흡입독성시험 연구	산업안전 보건연구원
	국내 유통 한약재 (청목향 등)의 안전성 평가를 위한 독성 시험 연구	안전성 평가연구원
	한약재의 독성시험 연구를 위한 장기 연용 한약재의 국내 사용 현황 및 실태에 관한 조사연구	경희대
	독성시험 동물대체법 개발 및 기전연구	
	가. 독성시험 동물대체법 개발 및 기전연구	서울대
	나. p53 결손 람다-LIZ 형질전환 동물개발을 통한 유전독성물질의 대체시험법 개발 및 독성기전 상관관계 규명	서강대

2004년도에는 연구사업비 37억을 확보하여 내·외부 연구과제를 수행할 예정이며, 사업 내용은 화학물질, 중금속, 한약재 등에 대한 독성시험 연구, 인체유해 모니터링, 위해성 평가 및 국내·외 독성정보의 수집, 분석과 독성물질국가관리 홈페이지 운영 및 독성 정보 자료 update 및 연구사업 관리 및 국제 심포지엄 개최 등이다.

2. 독성 유전체 기술을 이용한 안전성·유효성 평가 기술 개발 사업¹⁰²⁾

최근 과학 기술 발달과 시장개방에 따라 식품 및 의약품 등 국민 보건과 관련된 화학물질의 안전성·유효성 평가 영역이 점차 확대될 것으로 전망되고 있어 이들 물질들에 대한 신속, 정확한 안전성·유효성 평가 기술 개발이 절실히 요구되고 있다.

독성유전체 기술은 유전자 발현 패턴에 기초하여 기지 및 미지 독성물질의 독성발현 기전에 대해 genomics와 proteomics, bio-informatics 기술을 융합시켜 동정·정량, 확인해 가는 차세대 첨단 생명공학 기술이다. 독성유전체 기술을 이용하면 단기간에 많은 화학물질의 안전성 및 유효성 여부를 정확히 예측·판정할 수 있으며 기존의 독성시험법의 단점을 보완 (예를 들어 발암성시험의 경우 기간 단축, 비용 절감 및 시험에 필요한 동물 수를 대폭 감축할 수 있음)할 수 있다.

최근 미국, 일본 등 선진국에서는 정부차원에서 연간 수백억 원의 예산을 투자하여 독성유전체 기술을 집중적으로 개발하고 있다. 또한, 독성유전체 기술을 먼저 개발하는 나라가 관련 제품 및 기술에 대한 특허를 취득하게 되고 향후 화학물질의 안전성·유효성 평가 분야에 독점적인 우위를 차지할 수 있으며 이로 인해 생기는 경제적인 이익은 막대할 것으로 추정되고 있다.

우리나라에서는 국가 기술지도 (2002년 11월 제 11차 국가과학 기술위원회에서 최종 확정된 국가적 전략 기술개발의 청사진) 보고서에 독성유전체 기술을 포함시켜 향후 국가핵심전략 기술의 하나로 평가하

102) 유전독성과 연구관 강호일

고 있으며, 2004년도부터 국립독성연구원 유전독성과에서는 산·학·연·관 공동으로 “독성 유전체 기술을 이용한 안전성·유효성 평가 기술 개발 사업”的 일환으로, 독성 유전체 기술을 이용한 간독성, 유전독성, 생식독성 평가 기술 개발 연구 등을 계획하고 있다.

향후 중장기 계획으로는 산·학·연·관 공동으로 각 독성 및 항암제 유효성 평가에 특이적인 지표유전자 및 단백질을 발굴하기 위한 안전성·유효성 평가 데이터베이스를 구축하고, 국내·외 관련 기관과의 네트워크 구축 및 안전성·유효성 평가용 DNA chip 및 단백질 chip 표준화 사업 계획을 병행 추진하고자 한다.

3. 유전자 치료제 안전성 연구 사업¹⁰³⁾

인간게놈계획(Human Genome Project)의 완성이 2000년 6월 미국에서 발표되면서 세계 각국에서는 유전자 기능 분석 연구가 활발히 진행되고 있으며, 유전자 발현을 조절하는 유전자 치료제를 개발하여 난치병을 극복하고자 하는 개발연구가 매년 급증하는 추세에 있다.

유전자치료는 1990년 미국 NIH에서 처음으로 임상시험을 시작한 이후 세계적으로 현재까지 약 920여 건의 임상시험 계획서가 승인되어 임상시험 중에 있으며 그 중 75% 이상은 아직 안전성을 확인하는 Phase I 단계이다.

그 동안 유전자치료의 여러 성공적인 시도에도 불구하고 안전성과 관련하여 1999년 미국 펜실베니아 대학에서 OTC (Ornithine Transcarbamylase) 결핍환자 (Jesse Gelsinger, 18세)에게 아데노바이러스를 매개로 하는 유전자치료 임상시험을 실시하여 환자가 사망하는 일이 발생하였고, 2002년 프랑스 파리 넥커병원에서는 선천성면역결핍 유전질환인 X-SCID 환자에게 레트로바이러스 벡터를 이용한 유전자 치료 임상시험 도중 백혈병 유사증상이 발생하여 안전성에 대한 연구의 중요성이 부각되고 있다.

103) 면역독성과 연구관 김형수

국내에서도 암에 대한 유전자 치료제 연구는 물론 단일유전성질환과 혈관질환에 대한 연구가 활발히 진행되어 임상시험에 대비하는 안전성 확보를 위한 유전자 치료제의 효율적인 안전관리체계의 확립이 시급히 요구되고 있다. 국립독성연구원에서는 유전자 치료제의 안전성·유효성 및 품질 평가를 위한 기술기반을 구축하여 국제적인 심사기준을 마련하기 위하여 2000년부터 유전자 치료제 안전성 연구 사업을 수행하고 있으며, 2003년도에는 5억 원의 연구 사업비를 확보하여, 유전자 치료제의 안전성·유효성 평가를 위한 자체 및 용역연구로서 총 10과제를 수행하며, 국제 심포지엄 개최 및 기술 연수 등을 통하여 국제 협력을 도모하였다. 2004년에는 유전자 치료제 안전성 연구 사업으로 생식·발생독성 및 면역독성 등 안전성 확보를 위한 정책지원 연구를 수행하며, 외부용역 지정과제로서 제품화 지원을 우선으로 하고, 안전성을 유효성보다 비중을 두어 총 8과제(5억)를 수행하며, 산·학·연의 협력을 위한 유전자 치료제 관련 세미나를 통하여 국내 전문가와의 교류를 활발히 하여 동 분야의 제품화 및 산업화를 유도하고자 한다.

제3항 분야별 연구결과 및 계획

1. 일반독성¹⁰⁴⁾

1) 개요

일반독성연구는 식품·의약품 등의 단회 또는 반복투여 독성에 관한 시험을 통해 수행되고 있으며, 생체내 각종 장기에 미치는 독성영향 평가, 혈액병리 및 혈청생화학적 연구결과를 포함함으로서 유해물질의 독성작용 기전연구를 위한 가장 기본적이고 실질적인 독성자료를 생산

104) 일반독성과 연구관 김준규

한다. 그러므로 일반독성연구는 신경독성, 유전독성, 생식독성, 면역독성, 발암성 등 특수독성연구를 위한 전단계 기초연구에 해당하며 이러한 일반독성연구자료만으로도 식품·의약품의 안전관리를 위한 기본적인 안전성 평가 자료로 충분히 활용이 가능하다고 볼 수 있다.

또한 식품·의약품 등의 안전관리를 위한 인체 위해 가능 물질 및 위해유발작용에 대해 이들 물질의 기초독성 평가 자료 생산과 함께 이와 관련된 생체정보 제시를 목적으로 수행되며, 최신의 독성 평가 기법을 도입·검증함으로써 새로운 독성 평가 시험법 개발에 대한 가이드라인을 제시하여 독성학과 관련한 학계 및 민간 연구기관의 연구수행 능력을 국제적 수준으로 높이는데 있다. 일반독성연구를 통하여 얻어진 결과는 의학, 약학, 독성학, 생물공학 관련 학계 및 산업계에 직접적으로 이용됨으로써 국내외 기초과학의 성장과 함께 경제적 발전에도 크게 기여하는 역할을 할 것으로 판단된다.

신경독성연구에서는 의약품, 식품, 식품첨가물, 식품 성분 및 오염물질에 대한 신경독성 관련 정책적인 연구의 수행뿐만 아니라 국민들의 평균수명이 연장됨으로 인하여 증가하는 퇴행성 신경계질환을 유발시킬 수 있는 독성물질에 대한 기초연구를 통하여 신경독성 데이터베이스를 구축하고 나아가서 국민보건증진을 위한 자료를 제공하고자 한다.

2) 연구 사업별 추진내용 및 발전방향

일반적으로 대상 물질(시험물질)에 대한 일반독성시험은 랫드와 마우스 등의 설치류 및 개 등 비설치류를 이용하여 단회투여 독성시험을 통해 개략의 치사량(approximate LD)을 확인하고 14일, 28일 및 90일 반복투여 독성시험을 실시하여 대상물질에 의해 야기되는 조직병리학적, 임상생화학적 및 혈액학적 변화를 관찰하고 무독성용량(no-toxic dose)을 결정하게 된다. 이러한 독성결과는 장기 발암성시험을 위한 용량설정, 표적장기별 생체지표 개발연구 및 혈액생화학적 지표인자를 이용한 유해물질 스크리닝 등에 이용되고 궁극적으로는 국민보건 정책

수립에 활용하게 된다.

(1) 식품성분의 안전성 연구

최근 보고에 의하면 우리의 식생활에서 빼놓을 수 없는 식품 중 김치는 면역증강 효과 및 암 억제 효과가 있다고 알려져 있다. 김치에 함유된 특수성분 중 고추의 capsaicin은 암 세포에만 특이하게 세포자살을 자극하며 마늘의 주성분인 diallyl disulfide는 유방암 및 위암 발생을 억제한다는 보고가 있으나, 이와는 달리 김치의 재료로 사용되는 고추와 마늘의 매운 맛의 특성이 오히려 고혈압을 증가시키며 위궤양 및 위암을 일으킨다는 상반된 연구도 보고되고 있다.

본 연구에서는 capsaicin 및 diallyl disulfide에 대한 안전성 및 기능을 확보하는 실험의 일환으로 사람의 정상 세포주에 대한 capsaicin 및 diallyl disulfide의 세포독성을 조사하여 김치등에서 서로 상호작용을 나타낼 수 있는 고추와 마늘의 두 성분의 안전성을 과학적으로 확인하고자 한다. 또한 capsacain 및 diallyl disulfide가 암세포의 침윤활성 및 이동성에 미치는 영향을 분자생물학적인 방법으로 조사하여 고추 및 마늘 성분의 암전이 억제기전을 검토하여 새로운 기능 활성을 규명함으로써 소비자들의 식품안전에 대한 불안감을 해소하고 국민보건향상에 기여하고자 한다.

(2) 3-Monochloropropane-1,2-diol(MCPD)에 의한 일반독성시험 연구(III)

3-Monochloropropane-1,2-diol(3-MCPD)는 식물단백의 산가수분해 과정에서 부수적으로 생성되는 식품오염물질로, 2002년 3-MCPD의 90 일 반복투여 독성시험을 통해 MCPD의 주요독성이 신장독성임을 확인된 바 있다. 2003년도는 최신 연구방법인 단백체 연구기법을 도입하여 1주에서 4주까지의 투여기간과 용량에 따른 신장독성의 진행과정을 이해하고, 최신 독성연구방법으로 제시되고 있는 독성단백질체 연구방법과 고전적인 독성시험의 연구방법과 병행 연구하여 신장독성병변의 진

행과 관련 있는 생체지표를 개발하고자 하였다.

3-MCPD 노출에 따라 체중감소, 신장상대증량증가, 혈중 blood urea nitrogen(BUN) 수치증가와 kidney cortex tubular necrosis 및 근위세뇨관 세포의 변성 등 조직병리학적 결과 등에서 용량의존성과 시간의존성의 신장독성이 재확인 되었고, 신장의 cortex 부분을 분리하여 이차원전기영동 후 이미지 분석한 결과 대조군과 비교하여 3-MCPD 고농도 투여군에서 발현 증감을 보이는 단백질이 다수 존재함이 확인되었다. 발현변화가 있는 단백질의 질량분석을 통해 검정된 단백질에서 증가된 것은 ATP synthase beta chain(mitochondrial precursor), dnaK-type molecular chaperone, hsc73, gro EL precursor, vimentin, tropomyosin isoform 6 등이고, 감소된 단백질로는 pyruvate dehydrogenase (lipoamide) beta-chain, Calbindin (Vitamin D-dependent calcium binding protein), ornithine aminotransferse 등 이었으며, 이들 단백질들에 대한 western blotting과 면역조직염색 등에 의한 확인작업이 2004년 진행되어야 한다. MCPD의 신장독성진행의 주요 특징은 스트레스 시 발현이 증가된다고 알려진 heat shock protein 류 (hsc73, chaperone, chaperonin groEL 등)level의 증가와 calcium 대사에 관련 있는 calbindin의 감소로 calcium의 낭비 가능성 및 ornithine aminotransferase 의 감소로 암모니아 해독억제로 인한 암모니아 독성이 유발될 가능성이 높다. 본 연구를 통해 독성단백체학 연구방법이 확립되었고, 독성단백체 연구방법은 독성물질의 독성기전이해에 많은 도움을 주리라 확신된다.

(3) 신경독성을 평가할 위한 동물 모델 개발

일반적으로 유해물질에 대한 독성시험은 실험동물을 이용한 생체내 시험법을 주로 사용하고 있다. 1990년대 후반부터 미국 등 선진국에서는 기존의 독성시험법에 비해 경제적이면서 신속하게 독성기전을 평가할 수 있는 동물 대체시험법의 개발에 집중해왔다. 이러한 연구

는 인간게놈서열이 완성되면서 더욱 가속화되었으며, 특히 인간유전자를 발현하는 실험동물을 개발하여 인간에게서 나타나는 발병기전을 연구하는 데 많은 도움이 되고 있다. 따라서 발암 혹은 질환 관련 유전자를 발현하는 모델동물(알쓰하이머동물모델, p53(+/-), Ha-ras발현동물모델등)의 생산은 질환의 발병기전 및 치료약물 개발 등에 활용될 것이다.

과학과 의학의 발달로 인간수명이 연장되어 점차 고령화 사회로 접어들면서 노인성 질환인 치매는 국가적 차원에서 관리되어야 할 분야이다. 외국의 경우 국가적 차원에서 오랫동안 치매의 원인, 치료, 예방등에 많은 연구를 투자해왔으나 아직 확실한 원인이 밝혀지지 않고 있다. 또한 알쓰하아이머병과 관련된 많은 모델동물들이 개발되었음에도 불구하고 아직까지 인간질환을 정확히 표현하는 동물모델이 확립되지 못한 실정이다. 일반독성과에서는 2002년부터 퇴행성뇌질환의 병인 기전과 동물 모델 개발 사업 수행을 통해 알쓰하이머병에 관련된 원인 유전자들과 병인기전중 주요 지표 인자를 함께 발현하는 질환 모델을 개발하고자 하였다. 유전적인 결함으로 인해 중년에서부터 발병되는 가족형치매(Familiar AD)와 뇌신경세포 사멸의 주요 원인인 만성염증 과의 상관관계를 연구하기 위해 인간유전자 (hCox-2)를 뇌신경에서 과 발현하는 형질전환 마우스를 생산하여 알쓰하이머질환 형질전환 마우스(humanAPPswe/humanPS-2mt 유전자를 뇌특이적으로 발현하는 Tg)와의 교배를 통하여 Triple 형질전환 마우스를 생산 중에 있다. 본 연구에서 개발 중에 있는 Triple 모델 동물이 확립되면 관련 산학연등에 인간 질환의 발병기전을 표현하는 질환 동물 모델 생산 기술의 이전을 통해 질병 치료를 위한 치료약 검증 및 새로운 약물 개발 등에 활용될 수 있을 것이다.

(4)내분비계장애물질에 의한 신경계손상에 미치는 영향에 대한 연구

내분비계장애물질은 주로 내분비계와 생식기계 등에 장애를 유발하

는 물질로서 현재 세계에서 이 물질들의 관리에 만전을 기하고 있으며, 또 새로운 내분비계 교란물질 들을 규명하기 위하여 수많은 연구들이 수행 중에 있다. 그러나 이 연구들은 정상적인 사람을 기준으로 한 연구가 대부분이기 때문에 특정질병 및 특정세대에 대한 적절한 대처가 미흡한 것이 사실이다. 특정질병에서는 똑같은 양의 독성물질을 노출시키더라도 그 독성영향은 정상인에 비하여 상당히 크게 나타나고 있다. 그러므로 이들에 대한 위해성 평가를 더욱 객관화하기 위하여 특정질병군에 대한 연구는 시급하게 진행되어야 한다.

2002년 9월 통계청의 발표중 2001년 사망원인 순위는 암(1위), 뇌혈관질환(2위), 심장질환(3위), 당뇨병(4위), 간질환(5위) 순으로 나타났으며 4대 사망원인(암, 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병)이 전체 사망의 50.4%차지하고 있다. 그리고 연간 뇌졸중 의료비용이 1조 2000억원 추정되며 2030년경 노인인구 급증에 따른 비용 증가하여 현재의 2배 수준으로 추정되어 진다. Ischemia는 여러 원인에 의해서 발생되며 Transient ischemic attacks, Embolism, Hypertensive hemorrhage 등으로 인해 많은 환자들이 발생하고 있다. Ischemia 등 신경계 장애 내분비계장애물질에 의한 신경계손상의 증가에 미치는 영향이 문제시 될 수 있다. 고혈압이나 혈관질환의 소인을 가진 사람에게서의 내분비계 장애물질 노출은 그렇지 아니한 사람들 보다 ischemia의 발생의 그 정도가 더욱 커질 것으로 생각된다. ischemia 뿐만 아니라 다른 신경성장애에서도 역시 같은 결과가 나타나리라 사료되므로 이들의 영향에 관한 연구를 통해 그 위해성을 여부를 확보하는 것이 중요하다고 사료된다. 이러한 배경으로 내분비계장애물질 연구 사업의 일환으로 일반독성과에서 수행 중인 내분비계장애물질이 중추신경계손상에 미치는 영향에 관한 연구는 현재 문제시 되고 있는 뇌혈관질환과 관련지어 이들의 위해성 평가 자료로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

2. 생식독성¹⁰⁵⁾

1) 개요

생식·발생독성연구는 사회의 다변화로 인한 환경오염물질, 의약품, 식품 등 화학물질 노출의 증가 및 스트레스로 기형 및 불임 인구의 증가 등 국가적인 사전 예방 노력이 필요한 분야로서 식품·의약품 및 유해물질 등이 실험동물의 생식기능 전반에 미치는 영향뿐만 아니라 후세대의 분화·발생·성장 및 기능 발달에 미치는 영향, 다세대 생식·발생 독성시험 등 이들 연구를 정확히 이해하기 위해 새로운 독성 시험 개발 및 다른 분야와의 접목 등 많은 변화가 요구되고 있다.

생식독성과에서는 알코올 등 인체 내에서 유해하게 작용할 수 있는 물질이 기형 유발에 미치는 영향, 유전자재조합식품, 유전자 치료제, 내분비계장애물질과 같은 의약품·식품 등 화학물질이 생식·발생에 미치는 영향, 독성유전체 및 줄기세포를 이용한 새로운 독성 평가 기술 개발 등에 관한 연구를 진행하고 있다.

2) 연구 사업별 추진 내용 및 발전 방향

(1) 임신 중 알코올 섭취에 의한 기형 유발 기전에 관한 연구

생식독성과에서는 독성연구 사업으로 임신 중 알코올 섭취에 의한 기형 유발 기전에 관한 연구를 수행하고 있다. 임신 중에 만성적으로 음주한 산모의 태아는 중추신경계 손상으로 인한 특징적인 이상증상인 소두증, 안면이상, 정신발육장애 등 태아 알코올 증후군(fetal alcohol syndrome, FAS)을 나타나는 것으로 알려져 있으나 분자생물학적 측면에서의 유발 기전은 명확하게 밝혀져 있지 않다. 지금까지 수행한 연구결과, 안면발생과 연관된 ‘plunc(palate, lung, and nasal epithelium

105) 생식독성과 연구관 이규식

clone)' 유전자와 신경발생과 관련된 'Nfl(neurofilament)' 와 같은 유전자가 알코올에 의해 발현이 변화되는 것으로 밝혀졌다. 이들 유전자에 대하여 reverse transcription-polymerase chain reaction과 whole-mount *in situ* hybridization등의 방법을 이용하여 발현의 변화정도와 위치를 파악한 결과, 'plunc' 유전자는 안면의 눈, 코와 위·아래턱을 중심으로 많이 발현하고 기관형성기 말에 특히 더 많이 발현하는 것을 알 수 있었고, 'Nfl' 유전자는 배자머리부터 세로축을 따라 신경관에 많이 발현하는 결과를 보였다. 또한 이들 유전자 모두 알코올 노출에 의하여 그 발현이 현저히 저하되었다.

이러한 결과를 토대로, 앞으로 알코올에 의해 그 발현이 변화되었던 유전자에 대하여 임신 전체 기간에 걸쳐 단계별로 변화되는 유전자의 시기특이적 발현을 파악하고, 또한 mRNA 수준에서가 아닌 단백질 수준의 발현 변화를 측정하여 결과를 비교함으로써 알코올 섭취에 따른 임신 기간별 위해성을 평가하고 임신 중 음주로 인한 태아알코올증후군의 심각성 홍보를 위한 과학적 근거 자료로 제공하고자 한다.

(2) 유전자재조합식품의 다세대 생식·발생연구

유전자재조합식품 안전관리 사업의 일환으로 유전자재조합식품의 다세대 생식·발생 연구를 통한 안전성 연구를 진행하고 있다. 새로운 품종을 효율적으로 개발하기 위해 유전자재조합식품의 개발이 점차 진행되면서 전 세계적으로 유전자재조합식품의 생산·유통이 증가하는 반면, 그 안전성에 대해서는 아직도 논란의 대상이 되고 있어 여러 세대에 걸친 장기간 노출에 따른 생식발생 독성시험의 지속적인 연구가 필요하다.

본 연구에서는 제초제내성 유전자와 해충내성 유전자가 혼합된 옥수수와 제초제내성 유전자를 함유한 유전자재조합 감자를 교배 전 10주간 3세대 랫드에 투여하고 4세대까지 미치는 다세대 생식독성연구를

통해 생식기능의 변화를 평가하였다. 암수 모두에서 생식 능력, 혈청학적 호르몬 변화, 조직병리학적 변화, 임상적인 특이성, 성성숙 지표, 체중변화 및 사료 섭취량, 차세대 동물의 생존율, 생식장기 무게, 내장기형 및 외표기형 등에서 대조군과 비교시 특이할 만한 변화가 나타나지 않았고 GMO 옥수수 및 GMO 감자 투여군의 생식장기로부터 DNA를 추출하여 PCR로 확인한 결과, 삽입유전자가 검출되지 않았다. 앞으로 옥수수는 5세대, 감자는 4세대부터 5세대까지 미치는 생식기능의 변화를 평가하여, 유전자재조합식품의 안전성을 확보하고자 한다.

(3) 유전자 치료제의 생식·발생 독성 평가를 위한 연구

유전자 치료제의 안전성에 대한 연구로 유전자 치료제의 생식·발생독성 평가 연구를 수행하고 있다. 세계적으로 주목 받고 있는 생명공학산업 중 특히 유전자 치료 분야의 연구개발은 질병 치료에 획기적인 영향을 미칠 것으로 예상되고 있으나, 개개의 유전자 치료제에 대한 안전성 평가를 위한 표준화된 구체적인 독성시험법을 제시하기 어려우며, 생식세포 및 모체를 통해 태아에게 전달될 가능성이 있기 때문에 모체와 태아에게 나타날 수 있는 위험성에 대한 연구가 필요한 실정이다.

본 연구는 유전자 치료제의 생식세포와 차세대에 대한 영향 및 생식·발생독성을 평가하기 위해 유전자치료에 많이 이용되는 adeno-virus에 암 억제 유전자인 p53을 삽입한 adenoviral vector를 제조하여 이를 투여 시 나타나는 생식장기를 포함한 주요 장기조직에의 분포와 생식세포를 통한 차세대로의 전달 가능성(Germ-line transmission) 등의 생식·발생독성을 평가하기 위한 시험법을 연구하였다. 그 결과 간 및 비장과 같은 일반 장기에서도 주입한 외부유전자의 DNA가 검출되거나 RNA가 발현되었을 뿐만 아니라, 정낭, 부고환, 전립선, 난소, 자궁 등의 생식장기에서도 주입한 외부유전자가 검출되거나 발현되는 것으로 확인하였으며, real-time PCR을 이용하여 생체내 바이러스 벡

터 변화량을 측정하였다. 아데노바이러스 벡터 투여 후 교배시켜 얻은 어떤 배자에서도 아데노바이러스 삽입 유전자가 검출되지 않아 아데노바이러스를 매개로 한 유전자 치료제의 경우 Germ-line transmission 가능성은 매우 낮은 것으로 사료된다. 앞으로는 숙주 염색체에 삽입(integration) 될 수 있는 레트로바이러스 매개 유전자 치료제가 생식·발생에 미치는 영향 연구를 통하여 유전자 치료제의 안전성에 대한 과학적 근거자료로 제공하고자 한다.

(4) Pyrethroid 화합물의 안드로겐 활성 및 신생아기 노출이 차산자 발달에 미치는 영향에 관한 연구

Pyrethroid계 살충제는 유기인계 또는 유기염소계 등 기존의 살충제에 비하여 살충 효과는 큰 반면, 인간을 포함한 포유동물에 대하여는 독성이 적다고 하여 개발된 천연 피레트린(pyrethrins)의 합성유도체이다. 그러나 이들 pyrethroid계 살충제는 최근 전 세계적으로 그 사용이 증가 추세에 있어 환경 중 노출 가능성 또한 커지고 있다. 특히 기존에 널리 사용되었던 유기인제 및 유기염소제 등 여러 종류의 살충제가 각종 호르몬 활성을 통하여 야생동물을 포함한 생태계뿐만 아니라, 랫드 등 포유동물의 생식·발생에도 영향을 미치는 것으로 보고되어 내분비계장애물질로 분류되고 있는 반면, pyrethroid계 살충제의 호르몬 활성, 특히 에스트로겐 또는 항에스트로겐과 안드로겐 또는 항안드로겐 등 성 호르몬 활성에 대하여는 극히 일부 연구가 보고되어 있을 뿐 정확히 밝혀져 있지 않다. 이런 점에서 본 연구에서는 permethrin, cypermethrin, tetramethrin 및 sumithrin 등 이들 pyrethroid계 살충제에 대하여 안드로겐과 항안드로겐 활성을 조사하고, 수컷 랫드를 중심으로 한 *in vivo* 및 랫드 전배자 배양을 통한 *in vitro* 발생독성연구를 수행하였다. 안드로겐 활성 검색을 위한 Hershberger assay에서 시험에 사용한 모든 pyrethroid계 살충제는 안드로겐 활성이 관찰되지 않았으며, 항안드로겐 활성 검색을 위한

Hershberger assay에서는 permethrin과 cypermethrin이 testosterone propionate에 의해 증가된 정낭, 전립선, 항문거근 및 구두요선의 무게를 통계적으로 유의하게 감소시켜 항안드로겐 활성을 나타내었다. Pyrethroid계 살충제를 신생아 기간에 노출시켜 수컷 랫드를 중심으로 실시한 *in vivo* 발생독성연구에서는 이들 물질이 사춘기(귀두포피분리로 확인) 이후인 출생 후 45일과 60일에 측정한 수컷 랫드의 생식기관 무게에 영향을 나타내지 않았으며, 출생 후 60일에 측정한 정자 수 및 운동성에도 아무런 영향을 나타내지 않았다. 또한, 본 연구에서는 이들 pyrethroid 살충제의 배자발생에 미치는 영향이 전혀 알려져 있지 않은 점에서 배자독성의 *in vitro* 단기검색법인 전배자 배양법을 사용하여 이들 물질의 배자독성을 평가하였다. permethrin은 전배자 배양시, 난황막 순환과 심장 및 전지를 제외한 모든 측정지표에서 배자의 성장·발달을 용량 의존적으로 유의하게 저해시켰으며, 특히 0.4 mg/ml 이상의 permethrin 처리군에서는 후측 신경관(posterior neural tube)이 완전히 닫히지 않고 열려있는 배자가 흔히 관찰되고 고용량(0.8 mg/ml) 처리군에서는 전측 신경관(interior neural tube)이 열려있는 배자도 발견되어 동 물질의 신경관 발생 이상 초래 가능성을 시사하였다. Pyrethroid 살충제의 성 호르몬 활성과 배자를 포함한 발생에 미치는 영향을 조사한 지금까지의 연구결과를 요약하면, permethrin과 cypermethrin은 암컷 랫드에서 에스트로겐 활성을, 수컷에서는 항안드로겐 활성을 나타내며 tetramethrin은 암컷 랫드에서 항에스트로겐 활성을 갖는 것으로 보인다. 이러한 연구결과는 pyrethroid계 살충제의 사용증가에 따른 신생아기 노출 위해성 홍보자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다. 2004년도부터 향후 수년간에 걸쳐 조직의존적으로 에스트로겐 또는 항에스트로겐 활성을 나타내는 것으로 알려져 있는 에스트로겐수용체 선택적조절물질(SERMs)에 대하여 생식기계 발달에 미치는 조직특이적인 영향과 그 작용 기전을 연구할 계획이며, 1차년도인 2004년에는 암컷 생식기관을 중심으로 이들물질의 생식기관별 조

직특이성과 그 작용 기전을 연구하고자 한다. SERM 가능성이 보고되어 있거나 우리과의 기준 연구결과 에스트로겐 수용체 발현 변화가 확인된 물질에 대하여 임신 중 또는 임신 중 및 신생아 기간 노출에 따른 출생전 배·태자와 차산자 생식기관 세포의 증식 및 사망을 측정하고자 한다. 또한 생식 기관별 에스트로겐수용체 발현변화 및 Hox, Wnt gene 등 생식기관의 발생 관련 유전자를 포함한 생체지표의 발현 변화를 측정하여 이들 물질이 생식기관별 조직특이성에 미치는 작용 기전을 연구할 계획이다. 본 연구결과는 SERMs의 생식기관별 발생독성 및 조직 특이성 확립을 위한 기초 자료로 제공할 수 있을 것으로 보이며, 이들 물질의 개발 증가에 따른 생식기관별 위해성 평가에도 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

(5) 줄기세포를 이용한 생식·발생에 관한 연구

줄기세포는 우리 신체를 구성하는 약 210종의 세포나 조직으로 분화가 가능한 만능 세포이기 때문에 분화에 대한 기전이 이해된다면 다양한 질병 치료에 응용 할 수 있고 간, 피부, 췌장 등 조직을 대체할 새로운 재생의학의 핵심 연구로서 중요성이 인정되고 있다.

현재 신약이나 독성물질 스크리닝 방법은 임신한 동물을 독성 유발 가능 물질에 노출시켜 태자발생 단계에서 이상 유무의 확인이 가능하나 줄기세포의 이용은 발생단계의 세포분화 초기단계에서 발생 이상을 유발시킬 수 있는 물질을 확인 가능케 함으로써 신약 개발비용 절감 및 독성시험에 매우 가치 있게 활용될 수 있다. 줄기세포 연구는 발생학적 단계를 이해하고 조직 분화에 대한 이해를 촉진하는 *in vitro* 모델을 제공하여 불임, 유산 및 선천성기형 등 발생 이상 질환에 대한 치료기반을 마련 할 수 있어 국제 경쟁력이 있는 기술 축적이 시급하다.

본 연구에서는 마우스의 blastocyst의 ICM에서 분리한 줄기세포를 이용하여 multidifferentiation 구조를 가진 배상체(embryoid body)를 형성하였으며, endothelial cell로의 분화유도에 성공하였다. 또한 10%

FBS가 첨가된 일반 DMEM media 군보다는 EGM-2 media를 이용한 군에서 endothelial cell의 분화가 더 잘 되었다. ES-D3 cell의 differentiation assay를 이용한 *in vitro* embryotoxicity test는 기존의 *in vivo* test나 whole embryo culture test와 유사한 결과를 나타내어 생식·발생독성물질의 검색시험법으로 이용 가능성을 제시하고 있다. 향후, embryoid body의 분화를 이용하여 특정 장기로의 분화에 따른 관련 인자 및 상관관계 연구, 그리고 다양한 조건이 분화과정에 미치는 영향을 연구하여 줄기세포를 이용한 독성 분야의 연구기반을 확보하며, 독성물질 스크리닝 방법으로의 가능성을 제시하고자 한다.

(6) 3-MCPD가 수컷의 생식기능에 미치는 영향 연구

독성물질의 국가관리 체계 구축 사업에 참여하여 3-MCPD¹⁰⁶⁾의 생식발생독성 기전에 관한 연구를 수행하였다. 3-MCPD는 식물성 단백질의 산 분해 생성물로 산 분해 양조간장, 빵, 수도물 등에서 검출되는 식품 오염 물질로서 국내에서도 산 분해 양조간장에서 허용량 이상이 검출되어 3-MCPD의 안전성에 문제가 제기되고 있다. 지금까지 연구 결과에서 수컷의 생식기능 및 정자의 운동성 감소 등 3-MCPD가 생식독성 영향을 나타내는 것으로 관찰되어, 본 연구에서는 3-MCPD가 생식기관 또는 생식세포 내 생체물질에 미치는 영향 및 생식호르몬에 미치는 영향에 대한 연구를 수행함으로써 3-MCPD가 수컷의 불임을 유발하는 기전을 규명하고자 하였다. 3-MCPD에 의한 생식호르몬의 유의적인 변화가 나타나지 않았으며, 생식기관 및 생식세포에서의 apoptosis 유도 작용도 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 3-MCPD가 생식장기 및 세포에 직접적인 독성을 나타내지 않는다는 것을 의미하고 있다. 3-MCPD에 의한 생식장기에 대한 영향 중 본 실험에서 관찰된 것은 부고환에서의 H⁺-ATPase 발현 감소이다. 정자는 부고환 내에서 완전한 성숙과 운동성을 획득하게 되므로 pH의 변화는 정자에 심

106) 3-Monochloro-1,2 Propanediol, α-chlorohydrin

각한 영향을 미치게 된다. 본 실험에서 3-MCPD 투여에 의한 랫드 부고환 미부의 ciliated epithelium에서 H⁺-ATPase의 농도의존적인 감소가 관찰되었으며, 이로 인한 부고환 내 pH level의 변화가 정상적인 정자의 성숙 및 운동성 획득을 저해했을 것으로 판단된다. 이와 같은 결과는 지금까지의 연구결과에서 나타난 정자의 운동성 저해 및 수컷 생식기능 저하의 원인으로 설명할 수 있으며, 3-MCPD의 수컷에 대한 생식독성 기전으로 설명될 수 있을 것으로 생각된다.

(7) 독성유전체 기술을 이용한 생식·발생 독성 평가 기술 개발 연구

생식발생독성시험은 실험 기간 및 자원이 많이 소요되어 기존의 안전성 평가법에 비해 신속하고 정확한 예측 및 판정이 가능한 새로운 평가 기술이 요구되고 있다. 생식발생독성 연구는 그 특성상 유전적 요인과 밀접한 관련이 있으므로 독성유전체 기술을 이용한 평가법 개발 및 데이터베이스 구축은 관련 연구에 있어서 매우 유용할 것으로 판단된다. 현재 신약이나 독성물질 스크리닝 방법은 임신한 동물을 독성 유발 가능 물질에 노출시켜 태자발생 단계에서 이상 유무가 확인 가능하나 독성유전체 기술의 이용은 유전자 발현 이상을 유발시킬 수 있는 물질을 확인 가능케 함으로써 신약 개발 비용 절감 및 독성시험에 매우 가치 있게 활용 될 수 있다. 독성유전체 기술을 이용한 독성 평가 기술 개발 연구는 생식장기 이상, 불임, 유산 및 선천성기형 등 생식발생독성 평가에 새로운 개념의 방법을 제시할 수 있으므로 이에 대한 기술 축적이 시급하다.

본 연구에서는 생식발생독성 유발물질을 투여한 마우스 유전체를 분리하여 이상적 발현을 나타내는 유전자를 밝혀냄으로써 생식발생독성 예측 및 평가용 Toxchip 개발에 필요한 자료를 확보하고, 독성유전체 기술을 이용한 안전성 평가 데이터베이스 구축에 활용하고자 한다.

3. 유전독성¹⁰⁷⁾

1) 개요

유전독성과에서는 식품·의약품 등의 유전독성시험, 유전독성 유발·억제 작용 기전, 발암 기전 및 암 예방에 관한 연구 등을 수행하고 있다.

첫째, 식품·의약품 등의 유전독성에 관한 시험·연구로서 ICH에서 권장하고 있는 4가지 유전독성시험법을 이용하여 화학물질의 유전독성을 검색하고 있으며, 새로운 유전독성시험법의 확립·개발 사업 등을 병행하여 진행하고 있다.

둘째, 식품·의약품 등의 유전독성 유발·억제의 작용 기전에 관한 연구로서 각종 분자생물학적인 기법을 사용하여 DNA 손상 및 수복과 관련된 각종 유전자 이상을 조사함으로써 화학물질이 유전독성에 미치는 영향을 분자수준에서 해석하는 연구를 진행하고 있다.

셋째, 식품·의약품 등의 발암 기전 및 암 예방에 관한 연구로서 암 세포의 신호전달 체계에 관한 연구, 배양세포 및 실험동물을 이용한 암전이 촉진/억제 연구, 마우스 피부암 모델을 이용한 발암촉진 및 암 예방 연구, 조기 암 진단을 위한 생물학적 지표에 관한 연구를 진행하고 있다.

넷째, 최근 과학 기술 발달과 시장 개방에 따라 식품 및 의약품 등 국민 보건과 관련된 화학물질의 안전성·유효성 평가 영역이 점차 확대될 것으로 전망되고 있어 이들 물질들에 대한 안전성·유효성 여부를 단기간에 정확히 예측·판정할 수 있는 새로운 차원의 첨단 평가 기술을 개발하기 위하여, 유전독성과에서는 독성유전체 기술을 이용한 안전성·유효성 평가 기술 개발 사업을 기획하고 총괄·운영하고 있다.

107) 유전독성과 연구관 강호일

2) 연구 사업별 추진 내용 및 발전 방향

(1) Capsaicin의 암전이 작용에 관한 연구 (III)

고추의 매운 성분인 capsaicin은 발암물질로 작용할 가능성이 있다는 것과 발암을 억제한다는 상반된 결과가 발표되고 있다. 따라서 이와 같이 발암성에 대해 상반된 활성을 보이는 capsaicin의 안전성을 정확히 평가하는 것은 대단히 중요하다. 2002년도부터 다단계 발암 과정 중 암전이 과정에 미치는 capsaicin의 효과를 연구하기 위하여 마우스를 이용한 암전이시험법을 확립하고 capsaicin이 암 전이를 효과적으로 억제할 수 있음을 확인하였다.

금년도에는 capsaicin이 세포의 부착성, 신생혈관형성, 세포 사멸에 미치는 영향을 분자생물학적인 방법으로 조사함으로써 capsaicin의 암전이 억제 기전을 규명하여 국민보건 향상에 기여하고자 하였다. 그 결과, capsaicin은 세포 사멸을 유도하였으며 세포의 부착성을 억제하고 혈관신생인자의 발현을 억제시키는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 capsaicin은 혈관신생인자의 발현을 감소시켜 암세포의 신생혈관형성을 효과적으로 억제시키고, 부수적으로 세포사멸을 유도하여 암 전이를 억제할 가능성이 있는 것으로 생각된다.

암화된 세포는 DNA 손상 등의 자극에 대하여 오히려 고감수성을 나타내어 세포사멸을 일으키기 쉽게 된다. 따라서 2004년도에는 세포의 생존 및 사멸의 신호전달 경로상의 세포내인자를 표적으로 하는 암 억제 물질의 검색을 시도하고자 하며, 이들 물질이 세포내 증식인자 또는 증식억제인자의 활성 또는 발현과 어떻게 관련되어 있는가를 밝힘으로써 암예방 및 치료의 단서를 얻어내고자 한다.

(2) 아데노바이러스 벡터를 이용한 유전자 치료제의 안전성 연구

암, 유전질환, AIDS 등 난치병에 대한 새로운 치료 수단인 유전자 치료제는 세계적으로 910여 건이 임상시험 중에 있어 관심과 기대가

모아지고 있다. 그러나 최근 유전자 치료의 부작용으로 환자가 사망하거나 백혈병이 발생하는 등 안전성 문제가 대두되고 있어 유전자 치료제의 안전성 평가 기술 기반 확립이 시급한 실정이다. 또한 최근에는 암 유전자 치료에서, 유전자의 전달 효율을 증가시켜 치료 효과를 높이기 위하여 유전자 치료제와 약제를 병용 투여하는 시도가 크게 증가하고 있으나, 이러한 병용 여부에 따른 안전성 평가에 관한 연구는 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 암 억제 유전자인 p16^o 삽입된 아데노바이러스 벡터와 항암효과를 가지는 trichostatin A를 폐암에 병용 투여한 다음, 유전자 전달 효율의 변화 및 *in vitro* / *in vivo* 안전성 평가를 수행하였다. 우선 본 연구에서 사용한 아데노바이러스 벡터 (Ad5CMV-p16, Ad5CMV-*LacZ*)에 증식성 아데노바이러스 및 mycoplasma 오염이 없음을 확인하였다. 사람 비소세포폐암세포 (A549) 및 정상 폐세포 (CCD-16 Lu, MRC-9)에 대하여 trichostatin A와 아데노바이러스 벡터를 병용 처리하였을 때 A549세포에 대해서 trichostatin A는 Ad5CMV-*LacZ*의 전달 효율을 다소 증가시켰다. 폐암 유발 마우스 모델에 trichostatin A와 아데노바이러스 벡터를 병용 처리하고 biodistribution의 변화를 조사한 결과 간, 신장, 비장, 폐에서 β -galactosidase의 발현이 나타났고, trichostatin A에 의하여 폐로의 유전자 전달이 증가됨을 관찰하였다. 또한 각 조직을 적출하여 H&E 염색한 다음 조직병리학적으로 독성을 조사한 결과 약한 염증반응 외에는 병용 투여에 의한 독성이 관찰되지 않았다. 이상의 결과로서, trichostatin A는 폐암유발 마우스 모델에서 아데노바이러스 벡터의 전달 효율을 증가시켰으며, 아데노바이러스 벡터의 titer를 낮출 수 있음을 확인하였다. 본 연구 결과는 아데노바이러스 벡터와 약제를 병용 투여했을 때 유전자 치료제의 비임상시험 연구의 기초 자료로 활용되리라 사료된다.

(3) 암 전이 억제 유전자가 삽입된 아데노바이러스 벡터의 안전성 연구

암세포 침입과 암 전이는 MMPs (metrix metalloproteinases)에 의해 세포외 기질 성분을 분해하여 복잡한 다단계로 진행된다. TIMP-1은 MMPs의 저해제로서, 세포외 기질의 성분을 보호함으로써 암세포의 침입과 전이를 방해하는 것으로 알려져 있어, 2002년도에 TIMP-1 유전자가 삽입된 아데노바이러스 벡터 (Ad5CMV-TIMP-1)를 제작하였다. 이를 이용하여 2003년도에는 유전자 치료제의 안전성 평가 연구를 수행하여 다음과 같은 연구 결과를 얻었다. (1) 사람의 간암세포주 (Huh-7)에서 Ad5CMV-TIMP1 벡터에 의한 세포 증식 억제 효과를 조사한 결과, wound migration assay에서 30% 정도 migration이 억제되었다. (2) B16F10 melanoma 세포를 C57Bl/6 마우스에 투여하여 폐전이 암 모델을 만들어 Ad5CMV-TIMP-1를 투여한 결과 대조군에 비하여 폐암 nodule이 감소함을 관찰하였다. (3) 사람의 간세포 (WRL68)와 간암세포주 (Huh-7)에서 Ad5CMV-TIMP-1 벡터에 의한 유전자 발현 변화를 cDNA 칩 (8000개 유전자)을 이용하여 조사한 결과, 각 세포주에 대해서 총 19개 및 46개 유전자의 발현 변화를 나타내었으며, 이들 유전자의 발현 변화는 종양과 관련이 없는 것으로 사료된다. 본 연구에서는 Ad5CMV-TIMP-1이 암세포 전이를 억제하는 유전자 치료제로 응용될 수 있음을 시사하였으며, 안전성 평가를 위한 기초 자료를 제공하였다.

(4) Chrysin의 유전독성에 관한 연구

독성물질의 국가관리 체계 구축 사업의 일환으로, 일상생활에서 사용하는 의약품, 식품, 농약 등에 포함되어 있는 각종 위해가능 물질을 선정하여 유전독성에 대한 평가 자료를 제공하고자, 금년도에는 일부 식품 중에 함유되어 있는 식물성 에스트로겐인 chrysin에 대한 유전독성시험을 실시하였다.

Chrysin에 대해 4가지의 유전독성시험 (복귀돌연변이시험, 염색체이상시험, 소핵시험, 8-OHdG 측정시험)을 실시한 결과, *Salmonella*

typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102)를 이용한 박테리아 복귀돌연변이시험에서 대사활성화 여부에 관계없이 유전독성이 없는 것으로 나타났다. 또한 CHL 세포를 이용한 염색체이상시험에서 대사활성 유무와 관계없이 염색체의 구조적 이상 및 수적 이상을 나타내지 않았으며, 소핵시험에서도 chrysin을 체중당 0.5, 1.0, 2.0g/kg의 용량으로 ICR 마우스에 경구 투여한 결과 소핵다염성적혈구가 증가하지 않았다. ICR 마우스에 chrysin을 투여한 후 간에서 산화적 손상의 대표적 생체지표인 8-OHdG 레벨이 2배 높게 관찰되었으나 시간에 따른 8-OHdG 수준 변화를 조사한 결과 chrysin (2g/kg) 투여 48시간 후부터 감소하여 7일후에는 다시 대조군 수준으로 감소되었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 chrysin은 유전독성이 없는 것으로 보인다.

(5) 내분비계장애물질의 유전독성 및 발암성에 관한 연구

내분비계장애물질은 내분비계작용을 방해하는 외인성 물질로서 내분비 조절인자들과 작용하여 호르몬에 민감한 조직과 생식기에 암과 같은 퇴행성질환을 일으킬 수 있어 사회적으로 안전성 문제가 제기되고 있다. 특히 다이옥신의 일종인 TCDD¹⁰⁸⁾는 대표적인 내분비계장애물질로서 국제암연구기관 (IARC)이 규정한 제1급의 발암물질 (human carcinogen)로 알려져 있다. 그러나 TCDD는 DNA와 직접 반응하거나 돌연변이를 일으키는 등 직접적인 유전독성을 나타내지 않아 TCDD가 어떤 기전으로 암을 일으키는지에 대해서는 정확히 알려져 있지 않다.

대부분의 암 촉진제는 그 자체로는 발암성이 없지만 암이 개시화된 세포에 작용하여 유전자의 표현형 (phenotypic expression)을 바꿀 수 있으며, 조직의 염증이나 산화적 스트레스를 유도할 수 있는 것으로 보고되고 있다. 금년도에는 비유전독성 물질로서 암 촉진제로 알려져 있는 TCDD의 작용 기전을 연구하기 위하여 사람 유래의 배양 세포계에서 염증 반응, 세포성장 및 신호 전달계에 미치는 TCDD의 영향을

108) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin

조사하였다. 사람 간세포유래의 WRL68 및 HepG2 세포에서 TCDD가 CYP1A1 및 염증 관련 인자들 (COX-2, c-jun, p65, Erk1/2)의 발현이 증가되는 것을 관찰함으로써 TCDD는 COX-2와 관련된 염증전달 과정 및 염증반응이 관여하는 암 촉진 과정에 관여할 가능성이 있는 것으로 나타났다. 또한 사람의 정상 피부세포 유래의 Detroit 551 및 폐세포 유래의 WI38 세포에서 MAPKs 및 Akt의 인산화와 관련된 일부 신호 전달 과정과의 관련성을 관찰한 결과, TCDD는 일부 신호 전달 과정을 조절함으로써 세포 성장 및 발암 과정에 영향을 주는 것으로 나타났다.

그러나 현재까지 TCDD에 특이적으로 반응하는 유전자는 아직 보고되어 있지 않아, 2004년도에는 TCDD의 작용에 필수적인 것으로 알려진 Ah receptor가 knockout ($AhR^{-/-}$)된 마우스와 wild type ($AhR^{+/+}$) 마우스에서의 유전자 발현 profile을 서로 비교, 분석하여 $AhR^{+/+}$ 마우스에서는 TCDD에 의해 발현이 변화되나 $AhR^{-/-}$ 마우스에서는 발현이 변화되지 않는 TCDD 특이 유전자를 발굴하고자 한다. 최종적으로는 TCDD의 활성을 정량적으로 검색할 수 있는 생체지표를 개발하고, 새로운 암 치료제 및 내분비계장애 억제 물질의 개발에 기여하고자 한다.

4. 면역독성¹⁰⁹⁾

1) 개요

면역독성은 인체가 식품·의약품 등을 통하여 생체 이물질(의약품, 화학물질, 생물학적 물질 등)에 노출되어 표적 장기로서 면역계 장기의 구조나 기능에 일어나는 바람직하지 않은 작용에 대해 연구하는 분야로, 이러한 유해 작용은 이물질(또는 대사체)이 직접 또는 간접으로 면역계에 영향을 미쳐서 일어난다. 생체가 의약품 등의 이물질에 노출되

109) 면역독성과 연구관 김형수

었을 때 면역 능력의 저하를 초래하여 감염증, 악성종양 등의 발현 빈도가 증가되거나, 면역계 항상성 균형의 파괴에 따라 면역계의 적절치 못한 향진이 발생하여 자기 항원에 대한 자가면역질환이 유발되거나 이물질이 항원 또는 불완전항원으로 작용하여 아나필락시스 쇼크반응 또는 과민반응을 일으키는 것이다.

따라서 2003년도 면역독성과에서는 식품 분야에서 건강기능식품법의 시행에 따른 국민이 자주 이용할 건강기능 식품의 면역 증가 작용 및 적절치 못한 향진성 여부를 연구하여 소비자의 권익을 보호하고자 하였으며, 일반 국민이 섭취할 수밖에 없는 잔류농약의 안전성 확보를 위한 면역기능 저하 작용을 연구하여 안전한 식품의 유통을 구축하기 위한 기반연구를 기본 사업으로 수행하였다. 또한, 최근 문제시되고 있는 유전자변형 농산물을 가공하여 생산하는 유전자재조합식품으로부터 국민의 건강을 보호하고자 이들 식품에 의한 알레르기 유발성 변화와 가공 효과에 의한 알레르기 유발성 변화를 연구하였다.

화장품 분야에서는 주름 개선 화장품으로 인해 유발되는 피부 감작성 연구를 국제적인 안전성 평가 기술 동향에 맞춰서 수행함으로서 국내 화장품산업의 안전 평가 기술의 지원을 병용하여 국제적인 규제 독성의 시대적 조류를 능동적으로 대처할 수 있도록 국소임파절시험법의 비방사선시험법으로서 유동세포분석기법의 개발 등을 추진하였다.

2004년도에도 유해물질로서 식품 잔류농약의 면역독성을 독성유전체방법으로 평가하여 국민이 안심하고 섭취할 수 있는 식품 생활을 보장하기 위한 정책기반 연구와 아울러, 자외선 차단 화장품 원료의 안전성 확보로 기능성의 범위 확대 기반을 조성하며, 생명공학 기술 제품으로 생성되는 의약품의 안전성 평가법을 확립하고 국내 BT산업의 실용화에 이바지함을 목적으로 유전자 치료제를 주요 사업으로 운영하며, 국가독성관리 사업의 일환으로 생약의 면역독성을 평가하는 등으로 국민의 생활과 직결되는 안전성 분야의 연구를 경주해 나아가며, 식품·의약품산업 육성을 위한 관리 체계를 구축함에 공헌하고자 한다.

2) 연구 사업별 추진 내용 및 발전 방향

(1) 유기인계 농약에 대한 *in vitro* 면역독성 연구

우선 국민이 안심하고 섭취할 수 있는 건전한 식품의 유통을 보장하기 위하여 식품 원료인 농산물에 잔류하는 유기인계 농약의 면역기능 저하작용을 *in vitro* 방법으로 연구하였다.

유기인계 농약은 유기염소계 농약에 비해 환경 잔류성이 낮고 상대적으로 독성이 약한 것으로 알려져 있어 농작물의 생산 증대 및 보존 그리고 보건위생상의 목적으로 널리 사용되어지고 있다. 따라서 직·간접적으로 인체가 유기인계 농약에 노출될 위험성도 증가하고 있다. 본 연구에서는 유기인계 농약 중 pirimiphos-methyl 및 methidathion에 대한 *in vitro* 면역독성을 평가함으로써 유기인계 농약에 대한 면역독성 연구 자료를 확보함은 물론 마우스 T 세포주인 EL-4 세포에 대해 *in vitro* 면역독성 평가를 위한 세포 모델로서의 유용성도 조사하고자 하였다.

마우스 비장세포를 사용한 *in vitro* 면역독성 연구 결과, pirimiphos-methyl은 10 μ M 이상의 농도에서 비장세포 및 비장 T 세포에 대한 세포독성을 나타내었으나 methidathion은 50 μ M 까지도 거의 비장세포에 대한 독성을 나타내지 않았다. 또한 pirimiphos-methyl은 2 μ M 이상의 농도에서 T 세포에 의한 cytokine 생산, CD28 및 CD40L 등 표면 항원 발현을 억제함으로써 T 세포의 기능에도 부정적 영향을 주는 것으로 나타났다. 한편 methidathion은 T 세포 기능에 대한 영향 평가 결과, 영향을 주지 않거나 고농도인 25 또는 50 μ M에서만 기능 억제 작용을 나타내었다. 따라서 본 연구 결과, 적어도 모화합물에 의한 면역독성은 pirimiphos-methyl이 methidathion에 비해 훨씬 강한 것으로 평가되었으며 이는 두 유기인계 농약의 알려진 일반독성 평가 결과와는 정반대의 결과이다. 한편 마우스 T 세포주인 EL-4 세포에 대한 독성 평가에서도 pirimiphos-methyl이 methidathion에 비해 훨씬 강한 독성을 나타내었지만 일부 평가 지표에서의 반응이 비장세포와는 다르게 나타나

in vitro 면역독성 평가를 위한 세포주 모델로서 EL-4 세포의 유용성은 제한적인 것으로 평가되었다.

연구 결과 4주간 경구 투여한 여러 면역독성지표들에서 의미 있는 변화를 관찰할 수 없었으나 pirimiphos-methyl 고용량 (120 mg/kg) 투여했을 때, 비장의 상대적 무게 및 세포 수, 비장 T세포 분열 능력 등이 유의하게 감소되는 경향을 나타났다. 한편 유기인계 농약이 신경내분비계를 통해 간접적으로 면역기능에 영향을 줄 가능성을 조사하기 위한 혈중 ACTH 양의 변화를 측정하였으나 차이가 없었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때, LD₅₀으로 보면 비교적 안전한 pirimiphos-methyl이 methidathion에 비해 Balb/c 마우스의 면역계에 미치는 부정적 영향은 보다 큰 것으로 사료되어 독성 기전연구를 통해 보다 명확하고 넓은 시각에서 평가하여 국민의 건강한 생활 보장에 기여하고자 한다.

(2) 기능성식품이 면역계에 미치는 영향에 관한 연구

최근 세계적으로 인구의 노령화 및 생활수준 향상으로 인하여 건강기능식품 섭취를 통해 질병 예방 또는 건강 증진의 효과를 얻고자 하는 수요가 증가되고 있다. 건강기능식품의 면역 증진작용을 다각적으로 평가하여 합리적인 방법을 확립하고자 본 연구에서는 면역 생리 활성 물질로 알려진 bis-carboxyethyl germanium sesquioxide (Ge-132)를 대상으로 면역계에 미치는 영향을 평가하고 건강기능식품의 면역조절기능 평가법을 제시하고자 하였다.

132를 암컷 Balb/c 마우스에 2주간 경구투여 후 체중 및 면역 장기의 무게 변화, 혈청 중 IgM, IgG 항체가 및 IgG1, IgG2a 항체가 측정, 비장세포의 싸이토카인 분비기능, 비장세포 중 macrophage 및 NK 세포의 분포비를 평가한 결과, Ge-132 고용량 투여군에서 IgM 항체가 유의성 있게 감소됨을 관찰 할 수 있었으며, IFN- γ 의 분비기능을 유의성 있게 증가시킴을 관찰 할 수 있었으나, IL-4의 분비기능의 경우는 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 그러나 anti-CD3 항체로 T세

포를 자극하고자 한 경우에는 싸이토카인 IFN- γ 및 IL-4가 유의성 있게 증가됨을 관찰 할 수 있었다. 또한 flow cytometry를 이용하여 비장세포 중 NK 및 macrophage의 분포비를 평가한 결과 NK 세포비는 증가하는 경향은 보였으나 유의성 있는 변화는 관찰할 수 없었으며, macrophage의 경우는 투여군에서 대체로 증가하는 경향을 나타내었다.

이상의 연구 결과로 보아 Ge-132는 주로 T세포 및 macrophage에 영향을 주어 면역 조절 작용을 나타내는 한편, 싸이토카인 분비기능의 증가 및 항체 생성기능의 변화를 나타냄을 알 수 있었으며, 2003년도 건강기능식품에 관한 법률의 시행에 따라 ‘기능성식품이 면역계에 미치는 영향’연구에 flow-cytometry, PCR 등의 첨단 방법을 활용한 세포 성 및 체액성 면역기능의 변화를 측정하고 기능성 및 안전성을 평가하는 등 면역조절기능을 가진 식품성분의 기능성 평가에 종합적으로 활용함으로서 소비자의 권익을 보호하는 한편 확립된 시험법을 통하여 국내 기능성 식품 산업의 활성화를 도모하고 합리적인 건강기능 식품 관리를 위한 정책 자료를 제공하고자 한다.

(3) MCPD가 면역기능에 미치는 영향에 관한 연구

3-MCPD (3-monochloro-1, 2-propanediol)는 산분해 간장 제조시 부산물로 생성되거나 산분해 식물성 단백질(acid-hydrolyzed vegetable protein)의 대사 산물로 생식독성, 신경독성, 유전독성 및 발암성 등은 보고되었으나, 아직 면역계에 미치는 영향에 대해서는 보고되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 3-MCPD가 면역계에 미치는 영향을 평가하기 위하여 3-MCPD를 암컷 Balb/c 마우스에 0, 25, 50, 100, 120 mg/kg/day 용량으로 14일간 경구 투여한 후 장기 무게, 혈액학적 변화 및 조직병리학적 변화, concanavalin A(Con A)와 anti-CD3 antibody 및 lipopolysaccharide (LPS)에 대한 비장세포 증식기능과 비장세포의 표면항원 변화, sheep red blood cell(SRBC)에 대한 plaque forming cell(PFC)수를 분석하였다. 3-MCPD를 투여한 모든

군에서 대조군에 비해 적혈구, 백혈구 등 혈액학적인 변화는 유의성이 없었다. 비장, 흉선, 림프절 등에 대하여 조직병리학적인 검사를 실시한 결과, 대조군에 비하여 3-MCPD를 투여한 군에서 유의성 있는 변화를 관찰 할 수 없었다. 비장세포에 대한 표면항원의 변화를 flow cytometry로 측정한 결과 3-MCPD 투여군에서 대조군에 비해 CD3+, CD45R+, CD4+, CD8+ 세포 등에 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. 3-MCPD 투여에 의한 장기의 상대중량 변화를 측정한 결과, 체중감소가 나타나지 않는 용량(50 mg/kg/day, 100 mg/kg/day)에서 흉선의 상대중량이 대조군에 비해 각각 20.5%, 44.6% 유의성 있게 감소하였으며 비장의 상대 중량도 체중 변화가 없는 100 mg/kg/day 용량군에서 대조군에 비해 15.4% 감소하여 유의성 있는 감소 결과를 보였다. 또한, 3-MCPD에 의해 흉선과 비장의 세포수도 유의성 있게 감소하였으며, 특히 흉선 세포수의 경우 용량 의존적으로 감소하였고 고용량에서 유의성 있는 변화를 보였다. 3-MCPD가 비장 세포 증식기능에 미치는 영향을 평가한 결과 LPS와 Con A에 대한 비장세포 증식기능은 뚜렷한 변화를 보이지 않았으나, 고용량의 3-MCPD투여에 의해 SRBC 항원에 대한 PFC 생성능이 감소되어 100 mg/kg/day와 120 mg/kg/day 용량군에서의 PFC 수가 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 이상의 결과 100mg/kg/day 이상의 3-MCPD 2주 경구 투여는 Balb/c 마우스에서 면역기능을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

(4) 유전자 재조합 콩 가공식품의 알레르기 유발성 연구

유전자 변형 농산물을 가공한 유전자 재조합 식품의 안전성 확보를 위한 주요 항목은 알레르기 유발성에 있다. 인종, 나이, 개인차 등 여러 요인에 따라 달라질 수 있는 알레르기는 소비국의 식생활과 밀접한 관계가 있으므로 자국민을 위하여 자체적인 연구가 특히 필요한 실정이다.

우리나라에서는 콩을 원료로 하는 식품이 많으며, 식경험이 많아서 콩 또한 주요 알레르기 유발원 중 하나이다. 따라서, 면역독성과에서는 유전자 재조합 콩식품의 안전성 확보를 위하여 유전자 변형 콩(GM soybean: Roundup ReadyTM) 및 일반 콩(국산 콩, non-GMO 콩)과 콩으로 제조한 이유식 및 된장 (GMO)의 알레르기 유발성을 비교하여 평가하고자 하였다.

콩에 알레르기 반응을 나타내는 20명의 환자 및 4명의 정상인 혈청을 이용하여 알레르기 유발성을 비교·검토하였다. 각각의 콩 및 콩 가공식품인 두부와 두유에서의 알레르겐을 확인하기 위하여 인산 완충액(pH7.0)으로 조추출물(crude extract)을 제조한 후, anti-EPSPS 항체를 사용하여 EPSPS의 존재를 확인하고, 환자의 혈청을 사용하여 각각의 시료를 조항원으로 하는 ELISA 및 2D-immunoblot을 실시하여 혈청 중 콩 알레르겐에 대한 특이 IgE 및 IgG4 반응성을 평가하였다. 각 시료의 단백 성분을 12% SDS-PAGE로 분리하여 유전자 재조합 식품과 일반 식품과의 단백질 분리 양상은 다소의 차이는 있으나 알레르기 유발성에 미치는 영향은 미미할 것으로 사료되며, 이유식 및 된장에서 단백질 밴드가 콩에 비해 저분자량 부분에서 더 많이 관찰되었다.

SDS-PAGE 실시한 후 anti-EPSPS를 사용하여 immunoblot를 수행한 바, 유전자 변형 콩에서만 EPSPS가 강하게 발현되는 것을 관찰할 수 있었다. Crude extract에 대한 환자 혈중 특이 IgE 및 IgG4 반응성을 ELISA로 평가한 결과 유전자 변형 콩과 일반 콩의 차이는 나타나지 않았으며, 이유식과 된장에서 혈중 알레르기 반응과 관련하는 IgE 및 IgG4 반응성의 차이가 나타나지 않았다. 그러나 유전자 재조합 두유와 두부가 유전자 변형 콩보다 혈중 특이 IgE 및 IgG4 반응성이 감소되는 것을 확인할 수 있어 가공 효과에 의해 알레르기 유발성이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다.

현재까지의 연구결과 유전자 변형 콩은 기존 일반 콩과 알레르기 유발성을 비교하여 본 바 알레르기를 일으킬 수 있는 가능성은 크지 않

다고 사료되지만, 유전자 변형 콩을 섭취한 횟수의 증가에 따라 다소의 변화는 있을 수 있다고 생각되며, 유전자 재조합 식품으로 이유식과 된장을 사용하여 가공 효과 등에 의한 알레르기 유발성을 비교하여 본 바, 알레르기 유발성은 가공 효과에 의해서 증가되지 않으므로 현재로서는 유전자 재조합이 콩식품의 알레르기 유발성을 변화시킬 가능성은 크지 않다고 생각된다.

(5) 기능성 화장품의 안전성 평가에 관한 연구

국민이 안심하고 사용할 수 있는 화장품과 화장품 산업 육성을 위한 관리 체계 구축을 위하여 주름 개선 화장품 원료의 안전성 평가를 위한 피부 감작성시험을 현재 화장품업계에서 현안으로 떠올라 있는 LLNA (local lymph node assay)법을 확립·보급하기 위하여 ‘주름 개선 화장품 원료의 안전성 평가 대체시험법 연구’를 수행하여 국제적인 안전성 평가 기술 동향에 맞춰서 대체시험법으로서의 LLNA의 가능성을 파악하는 한편 국제적인 규제 독성의 시대적 조류를 능동적으로 대처할 수 있도록 생체 지표를 탐색, 개발함으로써 비방사선시험방법의 다른 생체 지표의 이용 가능성을 파악하고자 하였다.

주름 개선 화장품의 경우는 비타민 A와 관련된 Retinoid 제품(대표적으로 retinoic acid, retinol, retinyl palmitate)이 주로 개발되어 있는데, 이들은 피부세포의 증식과 분화에 영향을 주고 손상된 콜라겐(collagen)과 엘라스틴(elastin)의 회복을 촉진시켜 준다. 그러나 이들 물질이 이 과정에서 피부가 건조해서 가렵게 되고 피부가 따끔거리는 자극성을 나타내는 부작용이 있는데, 이러한 주름 개선 화장품 원료들이 피부 감작성을 나타내는지는 충분한 연구가 되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 주름 개선 화장품 원료의 안전성 평가를 위하여 주로 문제시되는 피부 감작성 평가를 위하여 현재 화장품업계에서 현안으로 떠올라 있는 LLNA(local lymph node assay)법으로 평가하고자 하였다. 아울러 피부

감작에 대한 생체 지표를 탐색, 개발함으로써 비방사선시험방법의 다른 생체 지표의 이용 가능성을 파악하고자 하였다.

알레르기유발 물질인 DNCB, TDI, HCA와 자극성 물질인 SLS를 사용하여 Balb/c 마우스의 귀에 LLNA시험방법에 따라 노출시킨 후 림프절에서 림프구 표면항원을 flowcytometry로 분석하였다. B cell 지표인 B220에 양성이면서 CD23에 양성인 세포가 DNCB, TDI 노출군에서 대조군에 비하여 증가하였다. 알레르기유발 물질인 DNCB, TDI, HCA에 의해 B220+CD86+ 세포와 B220+CD40+ 세포는 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였으나, 강한 자극제인 SLS에서는 B220+CD23+ 세포, B220+CD86+ 세포는 대조군에 비하여 용량 의존적인 증가 경향을 관찰할 수 없었다. Intracellular cytokine의 변화를 이용한 생체 지표를 탐색하기 위하여 IL-2+, IFN- γ +, IL-4+, IL-10+, CD4+, CD8+ 세포의 변화를 측정하였는데, IL-2+, CD4+세포는 알레르기유발군에서 유의성 있게 증가하였다. 이상의 결과 알레르기 유발 물질과 피부자극 물질을 구별하기 위해서 림프구에서의 표면항원 B220+CD23+, B220+CD86+, B220+CD40+의 측정과 intracellular cytokine중 IL-2, IFN- γ 의 양을 측정함으로써 구별할 수 있음을 제시하였다. 또한 주름 개선 화장품 원료인 retinoic acid(RA), retinol(R), retinyl palmitate(RP), adenosine(A)에 대하여 LLNA를 이용하여 시험을 실시하였다. RA, R, RP, A를 AOO(acetone-olive oil) 또는 DMF(dimethylformide)에 용해하여 Balb/c 마우스에 3일간 도포한 후, 6일째에 부검하여 이 개 림프절에서의 림프구 증식 정도를 BrdU에 대한 면역조직화학염색(immunohistochemistry) 방법으로 평가하였다. RA, R, RP군에서 대조군에 비해 림프절 중량의 유의적인 증가가 관찰되었다. BrdU 면역조직화학염색결과 R, RP, A군 모두 림프절의 전체 반응에서 SI가 3이상 증가되는 양성 반응은 관찰되지 않았다. 본 연구 결과 피부 미백 화장품 원료의 안전성시험 및 안전성 평가 지침안을 제시하여 고시·예규 등의 정책 기초 자료로의 활용을 도모하였다.

자외선 차단 화장품은 피부 노화 및 주름의 주요 요인으로 추정되는 자외선을 차단하는 것으로 광범위하게 사용되고 있다. 자외선 차단제는 그 사용이 점차 증가하고 있어 이에 대한 안전성 평가가 필요한 실정이며, 최근 유럽 및 미국 등 선진국에서 동물 보호론자 및 유관 단체들이 안전성 평가에 있어 실험동물 사용에 대한 반대 입장을 공공연하게 밝힘에 따라 유럽연합(EU)은 2002년 6월 화장품 원료 및 화장품에 대한 동물시험을 금지시키고, 동물시험을 거친 화장품의 시판도 금지시키는 법안을 통과시켰으며, 대체시험법이 개발되어 있지 않은 동물시험의 경우에도 2005년부터 동물시험 금지와 함께 동물시험을 거친 화장품의 시판 금지를 시행하도록 할 예정이어서 국내 화장품 사업의 육성을 위해 서도 이에 대한 대비가 시급한 실정이다. 따라서 자외선 차단 화장품 원료의 장단기 노출에 따른 피부의 안전성을 평가하고 화장품 안전성 평가에 있어서 최대의 현안인 동물 대체시험법을 수행하고자 한다.

(6) 바이오 제품의 면역독성 평가 연구

21세기는 생물공학 기술의 발전과 함께 최근에 이루어진 인간 유전체 사업 (human genome project)의 완료는 질병의 예방과 치료를 통한 인류의 건강한 삶과 수명 연장에 대한 기대를 증대시키는 post-genome 시대로서 생물공학 기술이 적용되어 개발된 의약품(바이오 제품 또는 바이오의약품)으로서 DNA 백신, 유전자 치료제, 세포치료제와 같은 신 개념의 의약품이 일부 생산되어 소비시장에 나오고 있다.

의료목적의 바이오 제품은 인류를 괴롭히고 있는 질병 중 가장 문제가 되고 있는 암의 예방 및 치료와 관련된 것이며 이들의 작용 기전의 바탕은 면역기능의 증진에 있다. 특히 면역기능조절물질인 cytokine은 그 자체가 면역기능을 조절하는 바이오 의약품인 동시에 반대로 체내의 면역조절기능의 균형을 파괴하거나 면역기능을 과도하게 증진시킴으로써 오히려 인체에 유해한 부작용을 초래할 수도 있다. 따라서 2003년도에 추가된 사업인 ‘바이오 제품의 면역독성 평가 연구’는 바이

오 의약품 관련 cytokine의 면역학적 안전성을 Balb/c 마우스에 종양을 유발시킨 후에 바이오 제품을 적용시키는 임상적인 조건을 맞추고 면역계의 적절치 못한 항진이 발생하여 자기 항원에 대한 자가면역질환이 유발되거나 이물질로서 항원 또는 불완전항원으로 작용하여 아나필락시스 쇼크반응 또는 과민반응을 일으키는지 여부를 평가하였다.

T 세포(Th1)가 생성하는 lymphokine의 일종인 Interleukin-2의 면역기능을 항진시켜 항암 요법으로 신장암 세포주인 'renca 세포주'로 고형암을 유발시킨 BALB/c 마우스를 실험동물 모델로 하여 바이오의약품인 rmIL-2에 의한 항암 요법시 발생되는 면역학적 부작용을 평가하였다. 그 결과, rmIL-2 투여군은 rmIL-2 비투여군과 비교하여 체중, 비장의 상대적 중량 및 세포 수 그리고 흉선 T 세포아군들의 분포비에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. rmIL-2 투여 마우스에서의 혈중 histamine 농도는 일시적으로 2배 증가하였으며, IgE의 혈중 농도는 음성대조군에 비해 rmIL-2 투여군에서 유의한 증가를 나타내었다. 한편 자가면역반응 유발 가능성 평가와 관련된 지표인 ANA, anti-dsDNA, anti-histone 등 자가항체에 대한 면역반응 평가 결과에서는 anti-histone만이 rmIL-2 투여로 인하여 유의하게 증가되었다. 또한 flow cytometry를 이용하여 흉선세포 중 T세포의 분포비를 평가한 결과, rmIL-2 투여와 상관없이 고형암 유무에 따라 흉선 T세포 아군중의 CD3+CD4-CD8-세포는 증가하였고 CD3+CD4+CD8+세포는 급격히 감소하였다.

면역 증강 바이오의약품은 면역기능 과증진으로 인한 부작용이 유발될 개연성이 높은 것으로 사료되며, BALB/c 마우스를 사용한 고형암 모델에서 면역기능 과증진 평가 활용 가능성을 열어놓았다. 또한, 과면역기능으로 인한 혈중 자가항체가 면역독성 평가 지표로서 유용할 것으로 사료되며, 향후 면역독성 평가 지표의 개발과 BT산업 육성을 위한 관리 체계를 구축하고자 한다.

(7) 전임상시험 국제화를 위한 표준작업 지침서 제정

최근 전 세계적으로 과학 기술의 발달로 다양한 화학물질과 생화학물질이 창조되어 식품·의약품 등으로 활용되어 인체에 적용되고 있다. 따라서 안전성 평가를 위하여 실시하는 전임상시험법도 다양화되어 가고 새로운 시험법 등이 속속 개발되고 있어, 전임상시험의 표준작업 지침서를 최근의 국제적인 독성시험 추세와 아울러 새로운 학문적인 환경 변화에 발맞춰 규제 독성학적인 시험법과 아울러 분자생물독성학적인 시험법도 포괄하는 범위로 하여, ‘독성·약리·병리시험 표준작업 지침서’를 국제화 수준으로 작성하여, 지침서 및 정보를 신속·정확하게 제공하여 규제 독성의 전임상시험을 수행하는 모든 시험자에게 보다 신뢰성 있는 시험 결과를 도출하는 데 필요한 정보를 교류하는 정보의 장이 되고자 합니다. 또한, 지식 정보화 시대를 맞이하여 국제적 독성연구 동향과 우리 연구부에서 수행하는 연구사업을 통해 얻어진 새로운 지식·정보를 신속하게 전달하여 안전성 연구 분야의 인프라를 강화하며, 독성 분야의 산업화에 기여하는 한편, 국민의 보건향상과 독성연구의 발전에 공헌하고자 동물 대체시험법의 개발 및 바이오산업의 활성화로 새롭게 등장하는 생물학적인 평가법을 활용하는 방법의 개발과 국제화에 맞추어 표준작업 지침서를 개정해 나아갈 것이다.

5. 독성병리¹¹⁰⁾

1) 개요

독성병리과에서는 식품·의약품 등의 안전성 평가를 위한 독성병리학적 연구를 수행하고 있으며, 주요 연구업무로는 발암성시험, 발암성 대체시험법을 이용한 발암성시험(형질전환동물을 이용한 발암성시험, 다장기 발암 모델을 이용한 발암성시험), 발암 기전에 관한 연구, 내분비계장애물질 평가연구, 독성병리 표준화에 관한 연구 그리고 안전성

110) 독성병리과 연구관 김철규

평가를 위한 독성병리 연구를 수행하고 있다.

독성물질이 생체에 미치는 영향을 혈액 및 혈청생화학적 검사와 현미경 관찰을 통하여 판독함으로써 미지의 화학물질이 보유하고 있는 안전성의 본질을 파악·평가하는 것이 안전성 연구의 핵심이자 독성병리 분야의 본연의 업무이다. 따라서 일반적인 독성시험은 병리 검사를 거쳐야 최종적인 안전성을 평가할 수 있게 된다. 이러한 독성병리의 학문적 성격은 안전성뿐만 아니라 생체조직에 이로움을 주는 식품·의약품 등의 검색에도 유용하게 이용되고 있다.

2) 연구 추진 내용 및 발전 방향

(1) 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD)의 음수를 통한

랫드에서의 발암성시험 (II)

3-MCPD는 간장 제조 과정에서 다량 생성되며, 그 독성 작용으로는 유전독성, 생식독성 (불임, 고환위축 및 퇴화 등), 신장독성 및 신경독성 등이 있다. 그리고 기존에 F344 랫드를 이용한 발암성이 보고되었으나 그 결과가 종 특이적인 자연발생종양에 국한되어 아직까지 논란의 여지가 존재한다. 따라서 다른 종인 SD 랫드를 이용한 발암성시험을 본과에서 수행하고 있으며, B6C3F1 마우스를 이용한 3-MCPD의 13주 독성시험을 통한 마우스 발암성시험 용량 설정을 하였다. B6C3F1마우스를 이용한 3-MCPD의 발암성시험은 장기간 소요 (2년간)되는 관계로 외부 용역 과제로 수행하고 있다.

(2) 만성염증이 종양 발생에 미치는 영향에 관한 연구 (I)

발암 기전연구는 암의 발생 원인을 규명하고 발암의 억제, 지연 및 예방을 목적으로 한다. 기존의 연구에 의하면 지속적인 염증은 발암을 촉진한다고 한다. 따라서 *Helicobacter pylori*에 의한 만성염증이 위암

에 미치는 영향 및 기전을 연구하고자 하였다. *Helicobacter pylori*의 지속적인 감염은 우리나라에서 호발하는 위암을 촉진하였으며, 만성염증 시 증가되는 염증매개인자 중 COX-2만을 특이적으로 억제하는 celecoxib를 투여하여 실험한 결과 대조군에 비해 유의성 있게 위암발생을 줄였다. COX-2는 헬리코박터 감염에 의한 위암 발생에서 중요한 표적인자로 증명되었다.

(3) 성호르몬이 간암 발생에 미치는 영향에 관한 연구 (III)

– Nonylphenol이 간암 발생에 미치는 영향

2003년도 연구에서 내분비계장애물질인 노닐페놀이 화학적으로 유발된 간 발암에 대한 영향에 대한 연구를 수행하였으며, 조직병리학적 진단 및 간전암표지물질인 GST-P와 세포 증식 기능을 나타내는 BrdU에 대한 면역조직화학적 연구 결과, 저농도의 시험물질 투여군에서 간암의 발생에 억제가 관찰되어 내분비계장애물질에 대한 간에 대한 위해성 평가 자료로 제공되었다. 현재는 알킬페놀류인 비스페놀 A의 간암 발생에 미치는 영향에 대한 연구를 수행하고 있으며, 간암 발생에 대한 내분비계장애물질의 위해도 평가의 기초 자료 제공 및 간암 치료에 대한 새로운 가능성을 제시할 수 있을 것으로 생각된다.

(4) 발암성 대체시험법 수행

1999~2002년까지 수행한 플라스틱가소제의 일종인 DIDP의 발암성 시험 결과, DIDP가 간암 발생에 영향을 주지 않는다는 결과가 도출되었다(이는 여타 플라스틱가소제가 발암성이 있는 것과는 반대의 결과임). 따라서 이를 재확인하기 위하여 다장기 발암 모델 (랫드)을 이용한 DIDP의 발암성시험을 수행하고 있다. 다장기 발암 모델은 발암성 대체시험법으로 각종 장기에 종양을 유발하는 발암물질 (DMBDD)을 투여하여 전체 장기에 암을 유발시키고 대상 물질을 투여하여, 그 물

질이 암에 미치는 영향을 가늠하는 시험법으로 이 시험을 통하여 DIDP가 랫드에 미치는 영향을 재확인함으로써 이 물질이 인체에 미치는 영향을 평가하는 기초 자료로 활용할 예정이다. 또한 형질전환마우스를 이용하여 DIDP가 마우스에 미치는 영향을 확인하여, 두 종류 이상의 동물을 사용해야 하는 발암성시험에서 시험의 완전성을 확보하고자 한다.

(5) 독성병리 표준화 사업

본 사업은 독성병리 분야에서 사용되는 전문용어 및 진단을 표준화하고 데이터 해석의 일관성을 기함으로써 식품·의약품 등의 안전성 평가에 신뢰성을 부여하기 위한 사업이다. 이 사업을 통해 매년 1권 이상의 책자를 발간하고 있으며, 2003년에는 ‘독성병리용어집’을 발간하였다. 본 서적은 최근 의학용어가 순우리말로 바뀌고 있는 추세에 맞추어, 부검소견용어 및 병리조직소견용어 위주로 용어를 표준화하는 데 중점을 두었다. 본 서적을 통하여 독성병리학자, 실험동물을 이용하는 연구자, 실험동물전문수의사, 의학 관련 학과 학생 등에게 유익한 정보를 제공 할 것으로 생각한다. 특히 독성시험에서 얻어지는 중요한 정보에 대한 독성병리 평가에서 활용도가 높을 것으로 생각된다 (독성병리학 도감, 실험동물 병리학 등 7종 및 광우병백서 7권).

3) 독성병리연구회 운영

본 연구회는 1995년에 자생적인 능력 개발과 직무연구발전을 위해 자발적으로 형성된 민관 공동연구 모임으로서 독성병리 진단명에 대한 다양성으로 인한 문제를 해결하고자 국립독성연구원 독성병리과에서 주관하여 결성된 식품·의약품 등의 안전성 평가를 위한 독성병리 연구를 주요 목적으로 하는 전문연구 모임이다.

독성연구원에서는 본 연구회를 통하여 국내 독성병리 표준화를 위한 로드맵(Road Map)을 제시하고자 인체 각 장기별 독성병리 및 종양성 병변에 대한 연구 결과의 세미나 발표 및 슬라이드 컨퍼런스를 통하여 진단 용어에 대한 혼동과 기술적인 부분을 교정하는 노력을 계속적으로 하고 있다.

2003년에는 10회의 슬라이드 컨퍼런스 및 세미나 그리고 5회의 외부 초청 강좌를 개최함으로써 한 편으로는 연구 결과를 보급하고, 다른 한 편으로는 전문가로서 연구회 참가자들의 능력을 한 단계 더 배양하고자 하였다. 올해는 특히 기능성식품 관련 외부 초청 강좌를 통하여 정책 반영에 기여하고자 하였다.

제2절 약리연구 분야

제1항 발전 및 정책 방향¹¹¹⁾

새로운 물질이 개발되어 신약으로 탄생하기까지 많은 시간과 노력, 예산이 필요함은 주지의 사실이다. 신약 개발이 어렵고 힘든 분야지만 새로운 신약 개발을 통해 얻어지는 부가가치가 막대함을 인식하여 최근 우리나라에서도 연구에 박차를 가하고 있는 실정이다.

신약 개발은 우리나라에 있어서 매우 중요한 과제이므로 우리 약리부에서는 의약품 허가 관련 절차 및 규정의 세계적 변화에 능동적으로 대처하기 위하여 ICH 및 각국의 의약품 안전성·유효성 심사에 관한 가이드라인의 과학적 측면과 기술적 측면을 검토하는 연구를 수행하고 있다. 이러한 연구 결과를 식품·의약품·화장품 등의 안전성·유효성 심사 평가에 적용하여 식품·의약품 등의 안전관리 수준을 보다 체계적으로 정비하고 과학화함으로써 국가 경쟁력을 강화하고자 한다.

약리부의 수행 업무는 크게 의약품 등의 안전성·유효성 심사 및 이와 관련된 연구사업으로 나누어져 있다. 업무의 효율적인 수행을 위하여 직제를 일반약리과, 약효약리과, 생화학약리과, 안전성 평가과, 의약품동등성 평가과 등 5개과로 나누어, 일반약리과, 약효약리과, 생화학약리과에서는 유효성 평가를 효능별로 나누어 진행하고, 안전성 평가과에서는 안전성 평가를 전담하고 있으며, 의약품동등성 평가과에서는 의약분업에 따른 의약품의 생물학적 동등성 및 시험관내 동등성에 대한 평가를 수행하고 있다. 또한 각과에서는 평가 업무를 기술적으로 지원하기 위한 주요 연구사업을 수행하고 있다.

111) 일반약리과 연구관 최기환

1. 의약품 등의 안전성·유효성 심사

의약품등의안전성·유효성심사에관한규정(식품의약품안전청고시)에 따라 의약품, 의약외품, 식품 및 화장품의 안전성·유효성 심사 및 의약품 동등성 확보를 위한 생물학적 동등성시험 평가를 수행하고, 새롭게 임상시험계획승인제도(IND 제도: investigational new drug)가 도입되어, 의약품임상시험계획승인지침에 따라 국내에서 실시되는 임상시험 계획서의 적정성 여부를 평가하고 있다.

【표2-2-5】 안전성·유효성 심사 관련 민원서류 검토 현황

(단위 : 건)

연 도	총계	전년 이월	접수	처 리	진행
2000	945	88	857	837	108
2001	1,250	108	1,142	1,112	138
2002	863	138	725	795	68
2003	1,798	68	1,730	1,544	254

구 분	접 수	완 료	자료 요청	이 관
계	1,730	1,476	108	146
신 약	58	50	4	4
자료 제출 의약품	566	440	61	65
임상시험 계획서	216	182	12	22
생물학적 동등성시험 관련	863	787	21	55
식 품	18	8	10	·
화 장 품	9	9	·	·

2. 연구사업

1) 약리연구

국내외에서 작성된 시험 가이드라인을 제시하여 줌으로써 우수한 의

약품의 국제적인 연구개발을 촉진시키며 국내 실정에 맞는 적절한 가이드라인을 개정 및 보완함으로써 신약 및 연구개발에 일조를 하는 것을 목표로 한다. 또한 내실 있는 데이터베이스를 구축하여 국내 임상시험 수준 및 제약산업 발전을 도모하고자 한다. 조사연구를 통해 세계 각국의 허가 관련 규정 및 임상시험 실시와 관련된 정보를 수집하여 국내외 현황을 파악하고 관련 자료에 대한 데이터베이스를 구축하여 우리나라 현실에 맞게 재정비하는 것을 목표로 한다.

2) 오·남용 약물 관리 사업

사회문제로 대두되고 있는 오·남용 약물에 대해 체계적이고 종합적인 대책을 세우기 위하여 국가 주도로 마약류, 항생물질 등의 약물 오·남용에 의한 피해 및 실태를 조사하고, 오·남용 약물 중독 및 발현기전을 연구함으로써 중독자의 치료 및 예방 교육을 위한 과학적인 기초 자료를 제공하여 오·남용 약물의 피해 확산을 방지하고자 한다.

3) 약물 유전체 연구

약물의 효과 및 이상 반응은 개개인마다 다를 수 있는데 이는 약물의 대사효소, 약물수송체 및 약물수용체에 관여하는 유전자가 사람마다 같지 않은 데 그 원인이 있다. 또한 의약품 시장이 글로벌화 함에 따라 의약품에 대한 민족적 감수성 차이에 대한 평가 방법이 새로운 주요 현안으로 대두되었다. 이에 약물 유전체 연구를 통하여 한국인의 약물 유전 정보를 제공함으로써 의약품의 평가는 물론 의약품 개발에도 활용토록 하며, 나아가 개인별 특성에 따른 의약품 사용 지침을 제시하여 약효의 극대화와 이상 반응 발생의 최소화에 기여하고자 한다.

4) 바이오 제품의 약리·임상 평가에 관한 연구

최근 급속히 발전되고 있는 첨단 바이오 의약품에 대해 미국, 유럽,

일본 등 주요 바이오 선진국의 허가제도와 평가 지침을 비교·분석하고, 관련 연구사업을 수행하여 국내 실정에 맞는 안전성·유효성 평가 지침 마련을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

5) OECD 수준의 GLP 관리 사업

국내 독성시험기관이 GLP에 따른 시험을 실시하고 시험 보고서가 국제적으로 인정받을 수 있도록 GLP 제도 개선을 지원하고 국내 GLP 기관을 육성하도록 한다.

6) 의약품 동등성 관리 사업

대체조제를 위해서 생물학적 동등성 입증이 요구되는 의약품에 대한 성분별 생물학적 동등성시험 표준지침을 제공함으로써 의약품 동등성이 확보된 의약품의 유통 촉진 및 의약분업 조기정착 유도와 더불어 의약품의 안전성·유효성 평가의 효율성 및 객관성을 제고하고자 한다.

제2항 세부 연구 방향

1. 일반약리¹¹²⁾

1) 개요

일반약리과는 의약품 등의 안전성·유효성 평가와 관련하여 대사성 의약품, 항암제, 신경계 의약품, 감각기관용약, 알레르기용약, 혈액·체액용약, 인공관류용제, 당뇨병용제, 소염진통제, 비타민제 등에 대한 유효성 및 임상시험 관련 평가 업무 및 이와 관련된 국내외 허가 현황을 파악하고 각국의 관련 규정을 조사하여 우리나라 현실에 맞게

112) 일반약리과 연구관 최기환

재조명하기 위한 연구사업을 수행하고 있다.

2) 약리연구

(1) 의약품의 효능별 안전성·유효성 평가 지원에 관한 조사연구

① 안전성 약리시험 (safety pharmacology study)에 대한 연구

우수한 의약품의 국제적인 연구개발을 촉진하고 환자에게 신속하게 제공하기 위해 각국의 의약품 승인 심사 자료를 국제적으로 통일할 필요성이 ICH에서 제기되었으며, 그 일환으로 의약품 승인을 위해 필요한 다양한 가이드라인이 제정되고 각국에 공표되었다. 임상시험 중 불필요한 중복 시험을 피하고 또한 민족 간의 차이를 최소화하고자 하는 bridging study에 대한 가이드라인이 제정되었을 뿐만 아니라 최근에는 safety pharmacology 가이드라인이 제정되었다.

ICH 가이드라인과 일본의 안전성 약리시험 지침 제정 경위 및 GLP 적용성 조사 과정 등을 살펴보고 우리나라에서 현재 운영중인 일반약리시험기준과 비교하여 국내에 적합한 안전성시험 가이드라인을 제시하였다.

(2) 약물의 안전성 약리시험(safety pharmacology study)과 QT interval prolongation 기술 연구(I)

ICH 가이드라인에 따른 안전성약리시험에서는 생명에 필수적인 주요기관인 심혈관계, 호흡기계 및 중추신경계에 대한 영향 평가가 필수적이다. 최근에는 임상시험 참가자 및 시판 제품의 사용 환자들을 약물에 의한 재분극화 지연 관련 심실 빈맥, torsade de pointes 및 치명적인 부정맥 등으로부터 보호하고, 이와 관련된 잠재적 위험성 평가를 위한 시험 연구에 대한 관심이 증대되고 있다. 이에 약물의 QT interval prolongation을 측정할 수 있는 *in vitro* 및 *in vivo* model 확

립 및 약물 계열별로 QT interval prolongation에 미치는 영향을 측정하고자 한다. 이를 통하여 안전성 약리시험 가이드라인 작성을 위한 표준시험법 및 약물의 위험성 평가를 위한 새로운 검색법을 제시하고 검증 기술을 확보하고자 한다.

3) 오·남용 약물 관리 사업

(1) 마약류 등의 내성 발현 억제에 관한 연구

모르핀은 만성 통증환자의 통증완화에 효과적이나 반복 사용에 의한 내성으로 임상적 제한이 따르며, 환각, 망상 등의 부작용 및 의존성 형성에 의한 금단증상을 일으킨다. 따라서 모르핀의 부작용이 감약된 진통제 개발을 위한 연구로서 날부핀과 모르핀의 병용 투여에 의한 모르핀의 내성 형성 억제 정도를 측정하였다. 모르핀과 날부핀을 4일간 투여하여 내성 형성을 유도하고, 내성 형성 정도를 tail-flick법 및 초산 writhing법에 의한 진통 효과로 비교 측정하였다. Tail-flick법은 μ -수용체에 의해 조절되는 열자극에 의한 진통력 측정법이며, 초산 writhing법은 μ - 및 κ -수용체에 의해 조절되는 화학적 자극에 의한 진통력 측정법을 이용한 것이다. 그 결과 tail-flick법에서는 모르핀과 날부핀 병용 투여군이 모르핀 단독 투여군보다 내성 형성 속도가 느리게 형성되었고, writhing법에서는 내성 형성 속도가 비슷하게 형성됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 μ -효능약인 모르핀의 임상적 통증을 관리하고 부작용을 줄이는 데, κ -효능약의 적절한 병용 투여가 임상적으로 유용할 수 있음을 시사한다.

(2) 항생제의 오남용 실태에 관한 연구

국내 항생제 내성을 및 내성 실태에 대한 자료로 병·의원을 포함한 비대학병원급의 1·2차 병원을 대상으로 하는 연구는 거의 없는 실정이다. 특히 1·2차 병원을 이용하는 환자는 일부 병원에 입원하여 원

내 획득 감염균을 보균하고 있을 수 있지만 외래환자는 주로 지역사회 내에서 생활하면서 항생제를 사용하는 것으로 이들의 항생제 내성증가는 지역 내 건강인에게도 내성을 전파할 수 있다는 점에서 매우 중요하다. 따라서 1·2차 의료기관(외래환자 포함)의 임상 검체에서 분리되는 황색포도상구균의 메티실린 내성 및 주요 항생제의 내성 양상을 파악하고 분자역학적 분석을 통한 유행균주 파악과 특성을 조사하였다. 국내 임상검사센터를 통하여 1·2차 의료기관에서 분리된 황색포도상구균 875주 및 기본 정보를 수집하고 이들 정보와 연관하여 내성을 조사와 *mecA* 유전자 검출과 독소유전자 검출 및 PFGE에 의한 분자역학적 특성으로 조사하였다. 수집한 875주 중 황색포도상구균으로 동정된 490주에 대한 항생제 감수성시험 결과 oxacillin 및 gentamicin, erythromycin, ofloxacin, cefazolin 내성은 40.8~50.2%였고 vancomycin 내성균주는 검출되지 않았다. MRSA는 7가지에 항생제에 73.3~100.0%의 내성을 나타내었고, MSSA는 penicillin과 ampicillin에 89.0%를 제외하고는 대부분이 감수성으로 나타났다. SCCmec 형별 분석과 독소유전자 형 분석에서는 MRSA 210주를 대상으로 하였을 때, typeII가 132주(II; 84주, IIa; 34주, IIb; 14주), typeIII가 59주(III; 38주, IIIa; 17주, IIIb; 4주), typeIV가 19주(IV; 12주, IVa; 7주)로 나타났다. 또한 이들 SCCmec type과 PFGF 분석에서도 연관성이 매우 높은 것으로 나타났다.

(3) 남용 약물 실태 조사

최근의 마약류 확산 추세와 더불어 전국적인 남용 약물 사용 실태 파악의 필요성이 대두되고 있다. 2002년에 개발된 PDA용 설문지를 가지고 남용 약물에 대한 체계적인 실태 조사를 지속적으로 수행하기 위해 설문조사 대상 및 지역을 확대하여 설문조사를 시행했다. 일반인 2184명을 대상으로 설문조사를 실시한 결과, 살 빼는 약 192명(8.8%), 발기부전치료제 39명(1.8%), 진해거담제 70명(3.2%), 근육이완제 47명(2.2%), 대마초 58명(2.7%), 헤로인 6명(0.3%), 흥분제 7명(0.3%), 흡입

물질 59명(2.7%), 수면제 54명(2.5%) 등을 사용해 본 경험이 있는 것으로 조사되었다. 약물을 사용한 경험이 있는 사람들은 약물을 한 번도 사용하지 않은 사람들에 비해 약물 남용의 신체적 정신적 문제에 대해 심각하게 생각하지 않는 것으로 분석되었다. 약물 남용에 대한 교육을 받은 경험에 의해 약물의 사용 실태가 달라지지 않은 것으로 보아 좀 더 강도 높은 예방 교육이 필요하다고 사료된다. 또한 주변인의 약물 사용 빈도는 또래 집단이 높은 것으로 조사되었다.

(4) 남용 약물의 내성 및 의존성 형성 기전연구

① 만성덱스트로메솔판 투여로 유도되는 행동 및 세포면역 반응

본 연구는 향정신성 효과로 인해 남용되고 있는 진해제인 덱스트로메솔판(DM) 만성 투여 후의 행동약리적 특성을 규명하고, 동시에 세포면역성의 특성을 규명하여 DM의 의존성 기전을 규명하고자 하였다. DM은 phencyclidine(PCP), 코카인이나 메스암페타민 등의 남용 약물과 같이 자발적인 운동량의 증가 및 특이적 행동양식을 보였으며, CPP test에서는 심리적 의존성이 관찰되었다. 또한 nucleus accumbens와 striatal complex에서의 fos-related antigen 면역 활성 증가 및 lymphocyte proliferation과 NK cell의 cytotoxicity의 감소가 관찰되었다. 그러나 TNF- α 유전자 결핍 생쥐에서는 만성 DM 혹은 PCP에 의한 행동약리적 변화가 관찰되지 않았으며, 세포면역성의 변화가 반전되는 경향을 보였다. 결과적으로, DM에 의한 의존성 생성에 세포면역성의 억제가 중요하며, TNF- α 는 만성 DM에 의한 작용에 이중적인 역할을 수행함을 규명하였다.

② 마약성 진통제의 내성 및 의존성 형성시 수용체 및 세포신호 전달계 변화 규명

실험동물에 마약성 진통제 butorphanol을 osmotic minipump를 이용

하여 뇌실로 만성 처치하여 내성 및 의존성을 유도한 후 뇌중 G protein subunit mRNA의 변화를 측정한 결과 α -subunit의 mRNA는 cortex, septum, thalamus, brain stem, cerebellum 등에서 약물 금단시 유의적인 감소를 보였고 $\beta\gamma$ -subunit의 mRNA는 내성 형성시 cortex에서 유의적인 감소를 보였으나 금단시는 변화가 없었다. Adenylyl cyclase의 활성변화를 측정한 결과 butorphanol의 내성 및 의존성 형성시 큰 변화가 없었다. CREB 및 이의 활성형인 pCREB의 변화를 측정한 결과 CREB은 뇌 부위별로 차이가 없었으나 pCREB은 금단시 hippocampus에서 유의적인 증가를 보였다. 모르핀과 염산날부핀을 혼합하여 만성처치한 후 행동약리학적으로 분석한 결과 병용투여시 금단 현상이 현저하게 감소하였다. 모르핀 및 염산날부핀 병용투여시 뇌에서 NMDA 수용체 변화를 분석한 결과 cortex와 hippocampus에서 모르핀이나 날부핀 단독투여보다 유의적인 감소를 보였다.

(5) 행동약리를 이용한 약물중독 치료제 개발 연구

모르핀 등 마약성 진통제는 진통효과는 뛰어나나 내성 및 의존성 등으로 인해 임상적 사용이 제한되어 중독성이 약한 대체약물 및 대체요법 개발이 요구된다. 따라서 모르핀의 진통효과에 대한 내성 및 의존성 형성 억제물질 개발 및 억제물질의 모르핀 내성 및 의존성 형성 억제 기전 연구를 통하여 마약 중독 예방 및 치료제 개발을 위한 기초자료로 활용하고, 내성 및 의존성 형성 억제 약물의 약효 검색법을 제시하고자 한다.

(6) 약물 중독 억제제 검색 및 개발 연구

오남용 약물 문제에 대처하기 위하여 오남용 약물의 중독기전을 연구하고, 남용 약물의 중독 증상을 완화시키는 요법 및 중독 완화제를 개발하고자 한다. 이를 위하여 남용 약물 관련 유전체 발굴, 세포신호전달계 조절제어를 통하여 의존성 형성과 독성을 억제할 수 있는 천연물 및 합성물

발굴, 의존성 형성 및 독성 억제 요법 개발에 대한 연구를 수행하여 약물 중독 억제/치료제 개발을 위한 기초 지식 기반을 구축하고자 한다.

4) 내분비계장애물질 평가 사업

(1) 도파민 신경계에서 내분비계장애물질 PCBs¹¹³⁾의 독성 기전 및 Vitamin E의 보호 효과 확립

내분비계장애물질 중에서 PCBs는 생체 내에서 갑상선과 같은 내분비계는 물론, 면역계, 신경계 등에 복합적인 기전으로 독성을 미친다. 따라서 환경이나 식품 중에 함유되어 인체에 영향을 미칠 가능성이 있는 PCBs의 자세한 신경세포괴사 기전에 대한 충분한 평가가 이루어져 있지 않다. 그러므로 PCBs에 의한 도파민의 생산, 유리의 변화에 의해 야기되는 중추신경계 손상에 대한 보호 물질의 기전을 연구함으로써, PCBs에 의한 도파민 신경독성 유발 억제 또는 예방 효과가 있는 물질 개발에 활용될 수 있을 것으로 사료된다. PCBs 혼합체인 Aroclor 1254는 IP₃ 유리, ryanodine receptor 활성화 및 Ca-ATPase의 억제 등을 통해 세포내 칼슘항상성을 파괴한다고 알려져 있다. 지난 연구 결과에서 vitamin E(α -tocopherol)는 Aroclor 1254에 의한 도파민 신경독성을 억제할 수 있는 유력한 후보 물질로 여겨졌다. Vitamin E의 신경독성 보호 기전을 알아보기 위해서 마우스의 중추신경에서 유래한 도파민성 세포주인 CATH.a cells를 사용하여 세포 도파민 함량 및 세포 생존률 감소를 관찰한 결과, α -tocopherol 처리 시에는 Aroclor 단독 처리군과 비교하여 유의성 있게 세포내 도파민 농도 및 세포 생존율 감소, 도파민 합성 효소인 tyrosine hydroxylase의 발현 감소 및 nNOS 인산화 유도를 억제함을 관찰하였다. 이러한 결과로 Aroclor 1254는 tyrosine hydroxylase 발현 억제와 nNOS의 인산

113) Polychlorinated Biphenyls

화의 기전을 통해 세포 내 도파민 고갈을 야기하며 α -tocopherol은 이러한 작용을 저해시킴으로써 부분적으로 신경세포를 보호하는 것을 알 수 있었다.

(2) 내분비계장애물질, PCBs 유발 도파민계 신경독성에 관한 보호 작용 연구

신경세포에 대한 직접, 간접적 독성 유발에 따른 자폐증, 지적 능력의 저하와 같은 신경기능의 손상, 우울증, 불안감과 같은 정신질환의 증가 등은 매우 중요하고 심각한 문제가 될 수 있으므로, 내분비계장애물질이 신경계에 일으킬 수 있는 독성기전 규명 및 이를 기반으로 한 보호 물질 개발을 위한 기초적 연구가 필요하다. 이전의 연구를 통하여 PCBs가 도파민계 신경세포에 독성을 야기하며, vitamin E가 이러한 독성을 억제할 수 있음을 확인하였다. 이러한 기전을 일련의 neuroendocrine axis에 미치는 영향과 함께 *in vivo*에서 확인하고, 항산화제 및 nitric oxide 관련 물질들의 신경세포 보호 효과를 검색하고자 한다.

5) 독성물질 국가관리 체계 구축

(1) 안전성 약리시험 (safety pharmacology study)의 GLP 평가 기술 연구

안전성 약리시험이란 생체의 생리기능에 대해 바람직하지 않은 약리학적 효과를 탐색하기 위한 비임상시험으로, ICH에서는 안전성 약리시험 가이드라인을 제정하여 비임상시험 관리 기준(GLP)에 따른 실시를 권고하고 있는 실정이다. 이에 안전성 약리시험 관련 가이드라인 및 국내외 비임상시험 관리 기준에 대한 자료를 수집·분석하여 국내에서 실시·운영 중인 일반약리시험기준의 개정을 통하여 국제적 조화를 이룬 안전성 약리시험의 KGLP 운영에 필요한 기준 및 평가법을 확립하고자 한다.

2. 약효약리¹¹⁴⁾

1) 개요

약효약리과는 의약품 등의 안전성·유효성 심사와 관련하여 호흡기 관용약, 순환계용약, 소화기관용약, 항생물질제제, 화학요법제 및 외피 용약 등에 대한 유효성 및 임상시험 관련 평가 업무와 약물의 약동학적 특성인 흡수·분포·대사·배설에 관한 평가 및 안정성시험에 관한 평가 업무를 담당하고 있다. 또한, 연구사업으로 약리 연구사업, 보건의료 기술 연구개발 사업 및 주요 사업인 의약품 동등성 관리 사업을 수행하고 있다.

2) 약리연구

(1) 의약품의 안전성·유효성 평가 지원에 관한 연구 : 약물 대사 및 손상 간에서 유전자 발현에 관한 연구

체내에 흡수된 약물은 대부분 간에서 활성 또는 비활성 물질로 대사되어 체외로 배설되므로 약물 대사는 약물의 안전성·유효성 확보와 밀접한 관계가 있다고 할 수 있다. 이미 미국 등에서는 *in vitro/in vivo* 약물 대사 및 약물 대사에 의한 상호작용 연구에 대한 가이드라인을 제정하여 신약 개발 시 안전성·유효성을 평가하는 데 중요한 지표로 활용하고 있으나 우리나라에서는 아직 약물 대사 및 상호작용 연구에 대한 세부 지침이 마련되어 있지 않다. 따라서 본 과제에서는 FDA, EMEA, NIHS 등의 약물 상호작용 관련 지침을 수집하고, 수집된 자료를 검토하여 지침 작성을 위한 자료를 분석하였다. 또한 인체의 주요 약물 대사 장기인 간의 손상 진단 및 의약품 등이 간에 미치는 영향 평가를 위하여, 간섬유화의 중요 지표 역할을 한다고 알려져 있는 간 성상세포와 사염화탄소로 유도한 간섬유화 동물 모델에서 유전자 발현

114) 응용약리과 연구관 정면우

에 관한 연구를 진행하였다. 본 연구에서는 간성상세포의 활성화가 진행됨에 따라 변화하는 유전자에 관심을 갖고 cDNA microarray를 통해 정상 상태보다 활성화된 상태에서 10배 이상 발현이 증가하는 유전자를 확보하였다. 이 중 사염화탄소 간경화 동물 모델에서도 발현이 증가하고, 또한 분비되는 단백질로 알려진 osteopontin (OPN)을 가지고 연구를 진행한 결과 간성상세포가 활성화됨에 따라 OPN의 발현이 점차로 증가함을 mRNA 수준에서 확인하였으며, OPN이 간성상세포의 proliferation 및 migration을 증가시키는 것으로 나타났다. 본 연구에서 얻어진 결과는 의약품 등이 간에 미치는 영향을 평가하는 데 참고 자료로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

3) 보건의료 기술연구개발 사업

(1) 약물유전정보연구회

한국인의 약물 유전 정보 지식을 확보하고 연구자 간 network를 구성하여 정보를 공유함으로써 한국인 약물 유전체에 근거한 의약품 평가 정책에 필요한 과학적 자료를 제공할 목적으로 산·학·연 총 30명으로 구성된 약물유전정보연구모임을 만들어 6차례의 집담회를 통해 한국인에게서 알려진 약물 대사 효소인 *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2A6*, *CYP2E1*, *FMO3*, *COMT*, *NAT2* 등의 genetic polymorphism에 관한 문헌 및 최근 연구 자료를 수집·분석하였으며, 1차례의 공개 세미나를 개최하여 한국인의 약물 유전 정보 특성 등에 관한 효율적 연구 방안 및 의약품 허가 정책에 반영하기 위한 방법 등에 관한 연구발표회를 열었다.

4) 의약품 동등성 관리 사업 : 약물 상호작용에 관한 시험 연구

(1) 한국인의 *CYP2D6* 유전형에 따른 약물 대사 특성 연구

CYP2C19 및 *CYP2D6*에 대한 한국인의 유전적 특성과 약물 대사와의 상관성에 관한 연구가 몇몇 연구자들에 의해서 수행된 바 있으나, *CYP2D6*의 유전형과 약물 대사 특성을 대사 동태 전체적인 측면에서 연구한 결과는 없었다. 따라서 리스페리돈을 모델 약물로 하여 한국인의 *CYP2D6* 유전 다양성에 따른 약물 대사 특성, 약물 동태의 변화 양상과 약동학적 특성 파악을 통하여 한국인에게서 보이는 대사 효소의 유전형과 표현형 간의 기초적인 상관성 자료를 구축하고 기초방법론을 개발하고자 하였다. 본 연구에서는 먼저 *CYP2D6* 유전형을 검색하여 건강한 한국인 성인 남성 498명을 *CYP2D6*1/*1* 과 **1/*10* 및 **10/*10* 군으로 구분한 데이터를 바탕으로 각 군에서 지원자를 선별하여 리스페리돈의 9-히드록시리스페리돈으로의 대사 동태를 실험함으로써 *CYP2D6*의 유전형과 표현형과의 상관성을 밝히고자 하였다. 이러한 *CYP2D6* 표현형 데이터를 얻기 위해 혈청 중 리스페리돈과 9-히드록시리스페리돈의 HPLC-UV 검출기를 이용한 동시 정량법을 확립하였고 그 분석법을 검증하였다. 또한 건강한 한국인 성인 남성을 대상으로 리스페달 정 2 mg 단회 경구 투여한 후 혈청 중 리스페리돈과 9-히드록시리스페리돈의 농도를 분석하였으며 이를 WinNonlin 프로그램을 이용하여 약물속도론적 파라미터를 분석하였다. 실험 결과 *CYP2D6*1/*1* 과 **1/*10* 및 **10/*10* 군으로 구분된 유전형에 따라 리스페리돈의 9-히드록시리스페리돈으로의 대사 동태는 통계적으로 유의한 차이가 있음을 알 수 있었다.

(2) 약물 대사 효소의 유전자 발현 조절에 관한 연구

전체 약물 대사효소의 약 30%를 차지하는 *CYP3A4*는 시판 의약품의 60% 이상의 대사에 관여할 뿐 아니라, 내인성 스테로이드 호르몬의

대사에도 관여하므로 약물 대사 과정에서 중요한 역할을 차지하고 있다. 또한 CYP3A4는 구조적으로 다양한 약물들에 의하여 유전자 발현이 조절되고, 동시에 여러 약물들의 대사에도 관여하고 있으므로 이 효소에 의한 약물 상호작용이 빈번히 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서는 CYP3A4의 유전자 발현 조절 검색법을 *in vitro*에서 확립하고, 외인성 및 내인성 물질에 의한 유전자 발현 조절 여부를 확인하고자 하였다. *CYP3A4*의 proximal promoter region (-863 → + 64bp)을 β -galactosidase reporter gene에 조합한 *pmCYP3A4-gal* 플라스미드를 HepG2 세포에 주입하고 약물 처리 후 발현되는 β -galactosidase 활성을 측정함으로써, *CYP3A4*의 유전자 발현 조절 검색법을 마련하였다. 검색법을 이용하여 CYP3A4의 유도제인 rifampicin을 1~10 μ M의 농도로 120시간까지 처리하고, 농도별·시간별 유전자 발현 유도 작용을 확인하였다. 또한 pregnenolone-16 α -carbonitrile (PCN), lovastatin, estradiol, ketoconazole을 처리한 결과, *CYP3A4* 유전자 발현이 농도 의존적으로 유의성 있게 증가됨을 관찰하였다. 이상의 연구를 통하여 *CYP3A4* 유전자 발현 조절 검색법을 확립하였으며, 향후 약물 대사 효소에 의하여 야기될 수 있는 약물 상호작용 연구에 이를 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

3. 생화학약리¹¹⁵⁾

1) 개요

의약품 등의 안전성·유효성 심사와 관련하여 생물학적제제, 유전자 재조합의약품, 세포배양의약품, 세포치료제, 유전자치료제, 호르몬제 등의 유효성 및 임상 평가 업무를 수행하였다. 과학 기술 발전에 따라 생명공학 의약 산업은 비약적인 성장을 거듭하고 있으며, 제품의 첨단화에 부합하는 과학적이고 합리적인 심사를 통해 의약품 등의 안전성

115) 생화학약리과 연구관 박윤주

및 유효성을 확보하려는 노력을 기울이고 있다. 이와 관련하여 심사 기준의 마련을 위해 외국 규정의 조사·비교·분석 연구를 지속적으로 수행하는 한편, 첨단의 유효성 평가 기술 확보를 위한 각종 약리 시험 연구를 수행하고 있다.

2) 바이오 제품의 독성·약리·임상 평가 기술 개발 사업

바이오 제품은 생명공학 기술에 의해 살아 있는 세포로부터 제조되어 기존의 화학합성품과는 생산과정 및 인체 적용 방법에서 큰 차이가 있으므로 독성·약리·임상 평가법이 새로이 마련되어야 한다. 바이오 제품에 대한 새로운 지침이 신속히 제정되지 못할 경우 개발 과정에서 많은 시간적, 인적, 물적 자원의 손실이 초래되며 안전성과 유효성이 검증되지 않은 바이오 제품의 공급으로 인한 문제가 야기될 수 있다. 이에 미국과 유럽 등의 선진국에서는 정부 주도적인 평가법 개발 연구가 수행되고 있으며, 그 결과 확립된 평가법을 세부 평가 지침으로 제시하고, 민간에 기술 이전함으로써 바이오 제품의 평가 기술 개발과 관련하여 많은 노력을 기울이고 있다. 따라서 바이오 제품의 독성·약리·임상 평가 기술 개발 사업을 통해 국제적 수준의 첨단 바이오 제품의 안전성·유효성 평가에 기여하고자 한다.

본 사업은 2003년부터 2011년까지 총 9개년에 걸쳐 첨단 바이오제품의 평가 기술 개발을 위한 연구기반 구축, 첨단 바이오제품의 평가 기술 구축, 첨단 바이오제품의 평가 기술의 선진화의 3단계로 나누어 추진하고자 한다. 【표2-2-6】 2003년도에는, 기반 연구로서 품목별 특성이 반영된 평가 기술 개발을 위하여 내·외부 총 17과제를 수행하고 연구 결과를 학술 발표하고 안전관리 정책 수립 및 제도 정비의 기초 자료로 활용하였다 【표2-2-7, 8】. 합리적 평가 기준 도출을 위한 국·내외적 연구 동향을 파악하기 위하여 2003년 6월에 줄기세포 치료제 관련 전문가 연구회를 구성하여 총 5회에 걸쳐 운영하였으며, 2003년 9월 세포치료제의 최신 동향에 관한 국제 심포지엄을 개최하였다.

연구회 운영의 결과물로서 세포치료제의 안전성·유효성 평가 시 고려 사항을 책자로 발간하였으며, 자체 연구사업을 통하여 체외 진단용 의약품의 평가 지침 외 4건의 가이드라인(안)을 발간하였다.

【표2-2-6】 연도별 연구개발 목표 및 내용

구 분	연구개발 목표 및 내용	소요예산 (백만 원)
2003년도	<첨단 바이오제품 평가 기술 개발을 위한 기반 연구> ○줄기세포치료제, DNA 백신 등 평가 기반 기술 연구 ○DNA 백신 등의 평가 지침 마련 ○줄기세포치료제 분야별 전문가협의체 구성 및 운영	1,000
2004년 계획	<첨단 바이오제품 평가 기술 개발을 위한 연구기반 구축> ○줄기세포치료제, DNA 백신 등 평가 기술 연구·검증 ○단클론항체 평가 지침 마련 ○줄기세포 치료제 분야별 전문가협의체 활성화	1,000
2005년 계획	<첨단 바이오제품 평가 기술 개발을 위한 연구기반 구축> ○줄기세포치료제, DNA 백신 등 평가 기술 연구·검증 ○면역세포치료제, 제대혈을 이용한 세포치료제 등의 평가 기술 개발을 위한 기반연구 ○필요성 및 시급성에 따라 순차적으로 바이오제품 평가 지침 마련 ○바이오제품 분야별 전문가협의체 구성 및 운영	2,000
2006~2008 년	<첨단 바이오제품 평가 기술 확립> ○첨단 바이오제품들의 평가 기술 개발 및 확립 ○면역세포치료제, 제대혈을 이용한 세포치료제 등의 평가 기술 연구 검증 ○필요성 및 시급성에 따라 순차적으로 바이오제품 평가 지침 마련 ○바이오제품 분야별 전문가협의체 활성화	5,000/년
2009~2011 년	<첨단 바이오제품 평가 기술의 선진화> ○첨단 바이오제품들의 평가 기술을 국제적 수준으로 선진화 ○확립된 평가 기술의 민간 이전 체계 구축 및 확립	5,000/년

【표2-2-7】 2003년도 바이오제품의 독성·약리·임상 평가 기술 개발 사업 추진 과제

구 분	과 제 명	소속
계	17과제	
자체	바이오제품의 약리·임상 평가에 관한 연구(I)	생화학약리과
	바이오제품의 안전성 평가에 관한 연구(I)	안전성 평가과
	DNA 백신의 유효성 평가를 위한 연구(I)	생화학약리과
	세포치료제의 유효성 평가 모델 연구(I)	생화학약리과
	바이오제품의 면역독성 평가 연구(I)	면역독성과
	바이오제품의 신경독성 평가 연구(I)	신경독성과
용역	세포치료제의 약리 평가 기술 개발	아주대학교 이영돈
	조혈줄기세포를 이용한 세포치료제의 약리 평가 연구	가톨릭대학교 오일환
	줄기세포를 이용한 세포치료제의 약리 평가 연구	포천중문의과대학교 송지환
	줄기세포를 이용한 세포치료제의 약리 평가 연구	경희대학교 김윤희
	줄기세포를 이용한 세포치료제의 약리 평가 연구	성균관대학교 궁미경
	DNA백신의 약리 평가 연구	동덕여자대학교 한용문
	DNA백신의 약리 평가 연구	성균관대학교 양주성
	DNA백신의 약리 평가 기술 개발	건양대학교 이회영
	바이오제품의 임상 평가 기술 개발	부산대학교 이복률
	바이오제품의 독성 평가 기술 개발	조선대학교 정혜광
	국내 임상시험 인프라 구축 방안	경희대학교 강현숙

【표2-2-8】 03년도 바이오제품의 독성·약리·임상 평가 기술 개발 사업 추진 과제

분 야	자체수행과제	용역과제
기준·규격 개선에 반영	-	-
안전관리 정책 수립 및 제도 정비의 기초 자료 활용	9건	-
학술지 게재	국내	-
	국외	-
학회 발표	국내	2건
	국외	1건
		11건
		5건

(1) 바이오제품의 약리·임상 평가에 관한 연구 (I)

현재 미국, 유럽연합, 일본 등의 경우 ICH(International Conference of Harmonization) 공동회의를 통해 학문 발달에 따른 평가 지침이 제·개정되고 있으며, 빠르게 첨단화되고 있는 바이오제품의 개발을 돋고 국민에게 안전한 의약품을 공급하기 위해서는 외국의 지침을 수집, 비교·검토하여 국내 실정에 맞는 평가 지침 마련이 시급히 요구되고 있다. 이에 바이오 의약품의 개발을 유도하고 궁극적으로 안전성 및 유효성이 확보된 의약품을 공급하기 위해 선진국의 허가제도와 평가 지침을 비교·분석하여 국내 실정에 맞는 안전성·유효성 평가 지침을 제시하고자 한다. 2003년도 연구에서는 선진국의 지침을 비교·분석함으로써 아래와 같이 국제 수준에 적합한 평가 지침(안)을 작성하였다.

① 체외진단용 의약품의 안전성·유효성 평가 지침

(행정간행물 등록번호 11-1470129-000084-14)

② 혼합백신의 안전성·유효성 심사 시 고려 사항

(행정간행물 등록번호 11-1470129-000086-14)

③ 생명공학의약품의 동질성(comparability)에 대한 가이드라인

(행정간행물 등록번호 11-1470129-000085-14)

④ DNA백신의 비임상 독성 평가 시 고려 사항 (원보 수재)

⑤ 체세포치료제의 IND 제출 시 CMC에 대한 고려 사항

(행정간행물 등록번호 11-1470129-000087-14)

⑥ 혈액응고인자의 임상시험 시 고려 사항

또한, 줄기세포를 이용한 새로운 치료의 유용성과 가능성, 연구방법 등에 대한 이해를 돋고 대국민 홍보를 위해 미국 국립보건원에서 발간한 Stem Cell Basics를 아래와 같이 번역·발간하였다.

① 줄기세포 연구 현황 및 미래 전망

(행정간행물 등록번호 11-1470129-000083-10)

② 줄기세포의 이해

(행정간행물 등록번호 11-1470129-000088-14)

(2) DNA백신의 유효성 평가를 위한 연구

플라스미드 DNA백신은 항원유전자와 숙주시스템에서의 발현을 도와주는 유전자들을 함유한 정제된 플라스미드 DNA제제로서 세포 내에서 항원을 native antigen과 흡사한 형태로 발현하여 실제 바이러스에서 나타나는 면역 반응과 유사한 세포성 면역 반응과 체액성 면역 반응을 일으킬 수 있고, 감염성 및 병원성이 없어 안전하며, 설계의 용통성, 제조 용이성 및 제조 후 안정성 등의 장점을 지니고 있다.

우리나라에서도 대학교 및 연구소를 중심으로 DNA백신에 대한 연구가 이루어지고 있고 임상시험을 수행하고자하는 요구가 증가하고 있다. 이에 따라 DNA백신에 대한 이해 및 과학적 전문 지식에 근거하여 DNA백신을 평가하기 위해서는 기반 기술 확립을 위한 연구수행 및 이를 평가할 수 있는 평가법 개발이 시급히 요구되며 DNA백신의 평가 기술 개발을 위한 연구를 통해 DNA백신의 유효성 평가 인자를 개발하고자 한다.

2003년도 연구에서는 Hepatitis C virus 백신 개발에 따른 유효성 평가 인자를 개발하기 위하여, Hepatitis C virus 백신 개발의 타깃으로 주목 받고 있는 외막 단백질 E2를 사용하였다. 본 연구에서는 E2의 N-terminal을 hexahistidine으로 tagging하여 이를 encode 하는 DNA plasmid vaccine를 제작하였고 E.coli에서의 발현을 확인하였다. 상기 DNA vaccine으로 mouse에 면역 반응을 유도한 후 혈청을 분리하여 western blot을 이용하여 체액성 면역 반응을 확인하였고, spleen cell 을 분리하여 Th1 type cytokine (IL-2) 이 증가하였음 확인하였다. 이

러한 결과는 DNA 백신의 유효성 평가 인자 개발의 기초 자료로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

(3) 세포치료제의 유효성 평가 모델 연구

세포치료제와 같은 첨단 의약품에 대한 연구·개발이 가속화됨에 따라, 이미 임상시험 중에 있거나 실용화 단계에 접어든 제품도 존재한다. 자가 유래 연골세포치료제의 경우 이미 국내외적으로 허가를 받아 임상적으로 사용되고 있는 실정이다. 또한, 복지 수준 향상으로 인한 수명 연장으로 사회가 점차 노령화되면서 뇌졸중, 파킨슨병, 알츠하이머 등의 각종 퇴행성 뇌질환이 사회적 문제로 대두되고 있다. 이러한 시대적 요구에 따라 퇴행성 뇌질환 등에 세포치료제를 응용하려는 시도가 많이 이루어지고 있으며 이와 같은 새로운 시도는 줄기세포와 관련된 연구 성과에 힘입어 급속히 진전되고 있다.

이에 본 연구에서는 퇴행성 뇌질환에 치료제로 응용하기 위해 개발이 시도되고 있는 신경줄기세포(neural stem cell)의 특성을 규명하고, 약리 평가를 위한 유효성 평가 인자를 발굴하기 위하여 정상 마우스 및 형질전환 마우스의 신경줄기세포를 이용하여 유효성 평가 기술을 개발하고자 한다.

2003년도에는, 신경줄기세포의 미분화지표로 가장 많이 이용되고 있는 nestin이 형광단백질(eGFP)과 함께 발현되도록 하여, 신경줄기세포로서 nestin 양성 세포의 동정을 용이하게 할 수 있도록 형질전환된 마우스(nestin:eGFP)에서 유래된 신경줄기세포의 줄기세포성을 형질전환되지 않은 마우스(Balb/c)의 신경줄기 세포와 비교하여 형질전환이 줄기세포성에 미치는 영향을 평가하였다. *in vitro*에서 신경구 형성능 및 자연적 분화유도에 따른 신경세포 비율, 신경구 중의 nestin 발현 세포 비율 등을 비교한 결과 nestin-GFP 형질전환 마우스와 정상 마우스 사이에 유의한 차이가 없음을 확인하였다.

2차년도에는 뇌신경 줄기세포의 분화능 조절 인자를 탐색하여 형질 전환 마우스와 정상마우스 뇌신경줄기세포의 외부인자에 의한 분화능 조절 양상을 비교 평가하고, 분화능 조절 인자의 작용기전을 연구하고, 이어 3차년도에는 형질전환 마우스의 뇌신경줄기세포와 정상 마우스의 뇌신경줄기세포를 Parkinson's disease model 마우스에 이식한 후 행동학적, 조직학적 평가를 수행하고자 한다.

4. 안전성 평가과¹¹⁶⁾

1) 개요

안전성 평가과에서는 과학적 · 전문적 지식을 바탕으로 의약품, 의약외품, 화장품, 식품 · 식품 첨가물에 대한 단회 투여 독성시험, 반복 투여 독성시험, 생식 · 발생독성시험, 유전독성시험, 면역독성시험, 발암성 시험, 국소독성시험 등을 평가하고 있으며, 이를 통하여 이들 제품에 대한 안전성을 확보하고자 노력하고 있다. 또한 안전성 평가과에서는 비임상시험 관리 기준(Good Laboratory Practice : GLP, 우수 실험실 운영 기준)을 운영하는 데 필요한 기술적 사항을 지원하고 있다. 즉, 국내 독성시험기관이 GLP에 따른 시험을 실시하고 시험 보고서가 국제적으로 인정받을 수 있도록 국내 GLP 제도의 개선과 국내 GLP 기관의 육성을 지원하고 있다.

최근에는 생명공학이 급속히 발달됨에 따라 세포치료제 등 새로운 개념의 의약품 및 생명공학기법을 이용한 생물학적 제제, 새로운 식품 소재인 유전자재조합식품 · 식품첨가물 등이 개발, 도입되고 있는 추세 이므로, 이들에 대한 미국, 유럽, 일본 등의 관련 제도와 평가 지침을 분석하여 우리나라 실정에 적합한 안전성 평가 지침을 마련하기 위한 연구도 진행하고 있다.

116) 기관제용의약품과 연구관 박창원

아울러 안전성 평가과에서는 최신 안전성 정보를 민원인에게 제공할 뿐만 아니라 안전성 평가 관련 상담 등을 통해 민원인들의 이해를 돋고 있으며, 과학적이고 합리적인 심사가 이루어지도록 최선의 노력을 다하고 있다.

2) OECD 수준의 GLP 관리 사업

(1) 국제 수준의 GLP 평가 기술 연구

우리나라가 OECD에 가입함에 따라 국내에서 생산되는 안전성시험 결과가 국제적으로 인정받을 수 있도록 OECD 등 선진국 수준의 GLP 관리 체계를 구축하고 국내 GLP 기관 및 식약청, 환경부, 농림부의 GLP 규제 당국의 GLP 관리 기준이 국제적 수준에 이를 수 있도록 하기 위하여 1999년부터 주요 사업으로 계속 진행하여 오고 있다.

2003년도 연구사업 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 미국, 일본 등과의 독성시험 자료 상호 인정을 위한 세부적인 협력 방안 모색
 - 일본 후생노동성, 의약품기구 및 미국 FDA의 GLP 담당자 1,2차 방문 협의, GLP 국제심포지엄의 초청 · 발표,
 - 미국 FDA GLP 담당 과장 및 부차관보와의 MOU의 진행 노력
- GLP 국제심포지엄 개최 (10.9~10) : 산 · 학 · 연 관계자 250여 명 참석
 - 선진 외국의 GLP 관리 현황 및 국내 GLP 발전 방안
- OECD GLP 관련 회의 참석을 통한 국내외 GLP 정보 교류
 - OECD GLP 작업반 회의 참석
(9.9~9.15, 그리스)
- 관련 책자 발간
 - GLP에 대하여 알아봅시다 - 2003년 개정

- GLP에 대하여 알아봅시다 2003 (영문판)
 - 일본 GLP 가이드북 2003 (번역 자료집)
 - 일본 GLP 가이드북 2002 (번역 자료집)
- GLP 관련 자료집 발간 및 식약청 홈페이지에 GLP 운영 관련 정보 운영 등을 통하여 산·학·연 관계자들에게 정보를 제공함으로써 선진국 수준의 GLP 보급에 기여함
- GLP 사업 운영의 발전 방안 연구(용역 연구)
- 국제적 수준의 GLP 체계를 유지·관리하기 위한 사업 운영 전반의 발전 방안 모색
- 독성시험 자료의 국제 상호 인정을 위한 기반 구축 사업(용역 연구)
- 독성시험 자료 상호 인정을 위한 양해각서(MOU) 체결 시 기본 자료로 활용

3) 약리연구

의약품 등의 안전성·유효성 평가 지원에 관한 연구 : 마약류의 안전성 평가에 관한 연구

마약류의 세포 사멸 기전을 연구하기 위하여, 신경독성이 있는 3,4-methylenedioxymethamphetamine(MDMA, 엑스터시)를 선택하였다. MDMA는 각성 효과가 있는 물질로 여러 나라에서 많이 사용되는 약물이다. MDMA에 의해 유발되는 신경독성이 뇌에서 도파민성 및 세로토닌성 신경계의 변성으로 특징되지만, 분자세포학적인 명확한 독성 기전은 아직 밝혀져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 실험동물을 이용하여 MDMA에 의한 신경세포 사멸 양상 및 과정에 대한 연구를 수행하였다. 면역조직염색 결과, MDMA 처리군의 dorsal raphe nucleus(DRN)에서의 tryptophan hydroxylase와 5-HT(세로토닌)의 발현이 대조군에 비교하여 감소하였다. TUNEL 실험 결과, DRN뿐만 아니라 substantia nigra에서도 단절된 DNA를 확인할 수 있었다. 또한,

DNA fragmentation이 나타나, MDMA에 의해 유발된 apoptosis는 세로토닌성 신경계뿐만 아니라 도파민성 신경계에서도 일어난다는 것을 확인할 수 있었다. Western blotting 결과, MDMA에 의한 apoptosis에 bcl-2, bax, cytochrome c, caspase-9, caspase-3와 poly ADP-ribose polymerase가 관여함이 관찰되어, MDMA에 의한 apoptosis가 미토콘드리아를 경유하는 caspases의 활성과 관계가 있음을 *in vivo*에서 확인하였다.

4) 바이오 제품의 독성 · 약리 · 임상 평가 기술 개발 사업

바이오제품의 특성에 따른 독성 평가 지침에 관한 연구 (I)

: DNA백신의 비임상 독성 평가 시 고려 사항

생물공학 기술의 발달은 의약품의 개발에 새로운 변화를 가져왔다. 기존의 신약으로 대변되는 '새로운 화학물질'이 아닌, 유전자재조합의 약품, 세포치료제, 유전자치료제, DNA백신 등 생물공학 기술을 이용한 제품(이하, 생물의약품)들이 개발되고 있다. 국내에서도 분자 · 세포생물학의 발달로 세포치료제, DNA백신 등 생물의약품의 개발이 활발하다. 그러나 이러한 생물의약품에 대한 안전성을 확보하기 위한 비임상 독성시험 평가 기술은 초보단계이다. 본 연구는, 생물의약품 중 DNA백신에 대한 미국, 유럽 및 세계보건기구(WHO)의 관련 규정에 대하여 분석하였으며, DNA백신의 독성 평가 시 고려할 사항들을 연구하였다. 본 연구의 결과, DNA백신의 개발은 임상시험을 실시하기 전에 비임상 독성시험을 실시함으로써 DNA백신과 관련된 안전성 문제를 충분히 규명하여야 한다. DNA백신과 관련된 안전성 문제는 자가 면역, 면역 독성, 내성 발현, 플라스미드 DNA의 삽입 등이 있다. 이 연구 결과들은 DNA백신의 개발 시 독성 평가 지침으로 유용하게 활용될 것으로 사료된다. DNA백신 관련 독성 평가 지침은 개발자에 의한 독성시험 수행 경험의 축적 및 허가 기관의 검토 경험의 축적에 따라 재검토되

어 구체화되고, 필요한 독성시험 내용의 변경이 있어야 할 것으로 사료된다.

5) 독성물질 국가관리 체계 구축

MCPD의 신장 독성 유발 기전에 대한 연구 (II)

3-Monochloro-1,2-propanediol(3-MCPD)는 식물성 단백질의 산 분해 생성물로 산 분해 양조간장, 빵, 수돗물 등에서 검출되는 식품 오염 물질로 알려져 있다. 국내에서도 3-MCPD의 안전성에 문제가 제기되고 있다. 3-MCPD로부터 활성 대사체 생성에 관여하는 산화효소로는 alcohol dehydrogenase가 관여할 것이라는 보고가 있는 실정이나, 이에 대한 독성 기전이 명확히 밝혀지지 않은 실정이다. 본 연구에서는 proximal tubular cell line인 LLC-PK1세포를 이용하여 3-MCPD 단독 투여 및 3-MCPD와 cytochrome P450활성에 따른 독성의 변화 및 N-acetylcysteine(NAC) 처치에 의한 GSH의 함량 변화에 따른 독성의 변화를 *in vitro*에서 관찰하고자 하였다. 본 실험에서의 독성 지표로는 세포의 생존율(MTT assay) 및 lactate dehydrogenase(LDH)를 측정하였으며, 지질과산화에 미치는 영향을 관찰하고자 malondialdehyde(MDA) 및 apoptosis 관련성을 관찰하기 위하여 DNA fragmentation 정도를 관찰함으로써 3-MCPD 대사에 관여하는 신장 독성 유발 기전 및 독성경감 기전을 규명하고자 한다. 실험결과, NAC 투여(4 mM)에 의해 GSH 함량이 증가하였으며, GSH의 함량 증가에 따라 3-MCPD의 독성이 경감됨을 관찰하였다. 또한 cytochrome P450의 함량을 증가시키기 위한 phenobarbital 처치에 의해 독성은 증가 경향이 있음을 관찰할 수 있었다. 또한 3-MCPD의 독성은 DNA fragmentation assay를 통하여 처치 후 18시간 이후에 apoptosis를 유발하는 것으로 관찰되었다. 이상의 결과로 3-MCPD의 독성은 cytochrome P450에 의해 독성 대사 물질로 변화할 것이라 사료되며, 이러한 독성 대사 물질은 GSH에 의해 독성이 경감될 수 있음을 확인할 수 있었고 아울러, 3-MCPD

는 신장 세포주를 이용한 실험에서 apoptosis를 유발함을 관찰할 수 있었다.

6) 기능성 화장품 안전성 관리 사업

기능성 화장품의 안전성 평가에 관한 연구 (III)

- 자외선 차단제의 SPF 지수와 안전성과의 상관성 연구(III) -

최근에는 자외선 차단제로 인한 부작용 사례들(피부염, 알레르기 접촉성 피부염, 광알레르기 접촉 피부염 등)이 보고되고 있으며, SPF 지수에 대한 잘못된 인식으로 인하여 SPF 지수가 높은 제품이 남용될 가능성이 있어 독성학적 측면에서 자외선 차단제의 안전성에 대한 심도 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다. SPF 지수와 안전성과의 상관성을 밝히기 위하여, 2년에 걸쳐 유기 및 무기 자외선 차단 성분에 대한 독성시험 및 SPF 지수를 측정한 결과, 유기 차단제 성분에서 SPF 지수와 피부 자극 지수와의 상관성이 있음을 확인할 수 있었다. 그러므로 동 연구에서는 인체에서의 상관성 규명을 위하여 (광)피부 자극, (광)피부 감작성을 지표로 하는 인체(광)접포시험을 수행하였다. 자외선 차단제 성분 중에서 UVB 차단제로서 octyl methoxy cinnamate (OMC), homosalate (HS), octyl salicylate(OS), octocrylene (OC)와 UVA 차단제로서 benzophenone-3(BP3), butyl methoxy dibenzoin methane(BMDM), 그리고 무기 차단제로서 titanium dioxide (TD), zinc oxide(ZO)를 선정하였다. 실험 결과 OMC, HS, OS, OC, BP3, BMDM, ZO, TD는 함량이 증가됨에 따라 모두 SPF가 증가하였으며, 서로 독립적인 실험실에서 유사한 결과를 나타내었다. 또한 배합한도의 2배 이상을 포함한 시험물질에 대한 인체 누적접포시험 결과, OMC, HS, OS, OC, BP3, BMDM, ZO, TD는 피부 자극 및 피부 감작을 유발하지 않았으며, 광접포시험의 권장용량의 4배까지 시험 결과에서도 광자극 및 광감작을 유발하지 않았다. 한편, 전신노출이 되지 않고 피부 국소 노출시 피부발암 가능성을 예측하기 위한 지표로 토끼를

이용한 피부소핵시험을 확립하였으며, OMC, HS, BP3, BMDM, ZO, TD는 피부소핵 형성능을 증가시키지 않았다.

7) 안전성 정보 제공 및 안전성 평가 관련 상담

안전성 평가과에서는 최신 안전성 정보를 민원인에게 제공할 뿐만 아니라 안전성 평가 관련 상담 등을 통해 민원인들의 이해를 돋고 있으며, 과학적이고 합리적인 심사가 이루어지도록 최선의 노력을 다하고 있다. 다음과 같은 안전성 평가 관련 자료집을 작성하여 홈페이지를 통하여 관련 민원인에게 최신 정보를 제공하였다.

- ① 의약품의 안전성 평가 자료집 - 소아용 의약품
- ② 의약품의 안전성 평가 자료집 - 광독성 관련
- ③ 의약품의 안전성 평가 자료집 - 발암성시험 관련
- ④ 의약품의 안전성 평가 자료집 - 유연물질 관련
- ⑤ 의약품비 임상시험 가이드라인 해설(2002년판) 번역 자료집
- ⑥ 화장품의 안전성 평가 지침 번역 자료집
- ⑦ 화장품 관련 OECD 독성시험 가이드라인 번역 자료집

5. 의약품동등성 평가과¹¹⁷⁾

1) 개요

의약품동등성 평가과는 의약품의 허가 시 제출되는 후발의약품 등의 생물학적 동등성과 시험관 내 동등성에 대한 서류 평가 업무를 수행하고 있으며, 필요한 경우 실태 조사를 실시하여 평가한 결과의 신뢰성을 확보하고 있다. 또한, 의약품 동등성 입증을 위하여 필요한 관련 규정에 대한 기술적 지원 업무를 수행하고 있다. 연구사업으로 성분별 생물학적 동등성시험 표준지침 작성을 위한 「의약품동등성관리사업」을 2002년에 이어 수행하고 있다.

¹¹⁷⁾ 생물측정과 연구관 최선옥

2) 의약품 동등성 관리 사업

(1) 성분별 생물학적 동등성시험 표준지침 작성 사업

2002년 의약품 동등성 관리 사업 수행 결과로 52개 성분에 대하여 성분별 생물학적 동등성시험 표준지침이 작성되었으며, 2003년에 44개 성분에 대한 표준지침을 추가하여 총 96개 성분에 대한 성분별 생동성 시험 표준지침이 예규화되었다. 이 중 34개 성분은 생체 이용률시험 용역연구를 통하여, 10개 성분은 기 제출된 생동성시험 보고서를 통하여 작성되었다. 2003년 사업 대상성 분은 다빈도 의약품 등 총 34 성분이며, 주요 연구 내용 및 수행 방법은 별도의 세 시험기관이 생체이용률시험에 참여하여, 세 시험기관에서 분석법 validation을 통하여 분석 조건을 확립하고, 생체이용률시험 결과를 토대로 「성분별 생동성 시험 표준지침」을 작성하는 것이다. 표준지침에는 약물동태학적 파라메타, 채혈시점, 분석법 등 많은 정보가 수재되어 있어 생동성시험 기간 단축 및 비용 절감을 유도하고, 원활한 생동성 인정품목의 확대를 유도하여, 대체 조제 활성화 및 의약 분업의 조기 정착에 기여할 것으로 기대한다.

(2) 의약품의 생물약제학적 특성 분류 및 평가

의약품 동등성을 입증하기 위해서는 동일 제형 · 동일 성분 · 동일 함량 제제들의 생체 이용률을 비교하는 생동성시험이 필수적이나, 생동성시험은 인체를 대상으로 하는 임상시험으로서 시간적, 경제적인 부담뿐 아니라 윤리적인 문제까지 포함하고 있어 세계 각국에서도 생동성시험을 대체할 수 있는 과학적 근거를 제시할 경우, 이 시험을 면제할 수 있도록 규정하고 있다. 따라서 본 과에서는 2002, 2003년도 연구사업을 수행하여 생물약제학적 분류 체계에 따른 의약품의 생체시험 면제 규정을 「생물학적동등성시험기준」에 반영하였으며, 의약품 대상 성분의 용해도시험과 Caco-2 세포를 이용한 장관막

투과도시험을 통한 검색시험법을 확립하였고, 아세트아미노펜 등 7가지 대상 약물에 대하여 용해도와 투과도 분류를 수행하여 의약품의 계열을 분류하였다.

(3) 생동성시험 수행 실태 분석과 생동성 인정 품목 확대 방안

후발의약품의 품질을 향상시키고 사용을 촉진하기 위하여 생동성 인정 품목의 공급 및 사용과 관련되어 있는 소비자·의사·약사, 제약기업, 시험 실시 기관 등에 대하여, 생동성 인정 품목에 대한 인식도와 관련된 여러 문제점을 파악함으로써 후발 의약품의 품질에 대한 불신을 해소하고 생동성 인정 품목 수를 증대시키기 위한 정책 대안을 마련하고자 하였다. 생동성 인정에 관한 국내외 제도를 분석·고찰하였으며, 우리나라 생동성 관련 제도를 고찰하며, 생동성 인정 품목 실태를 분석하였다. 소비자, 의사, 약사를 대상으로 생동성시험에 대한 인식도를 조사하여, 생동성시험 인정 제품과 오리지날 제품의 품질에 대한 인식도를 분석하였고, 생동성시험 의뢰 및 실시 현황을 파악하고 확대 지연 요인을 분석하였다. 또한, 생동성시험 인정 품목을 확대하고 활용을 촉진하기 위하여 정책 방향을 제시하였다.

(4) SAS를 이용한 생동성시험 결과 통계 분석

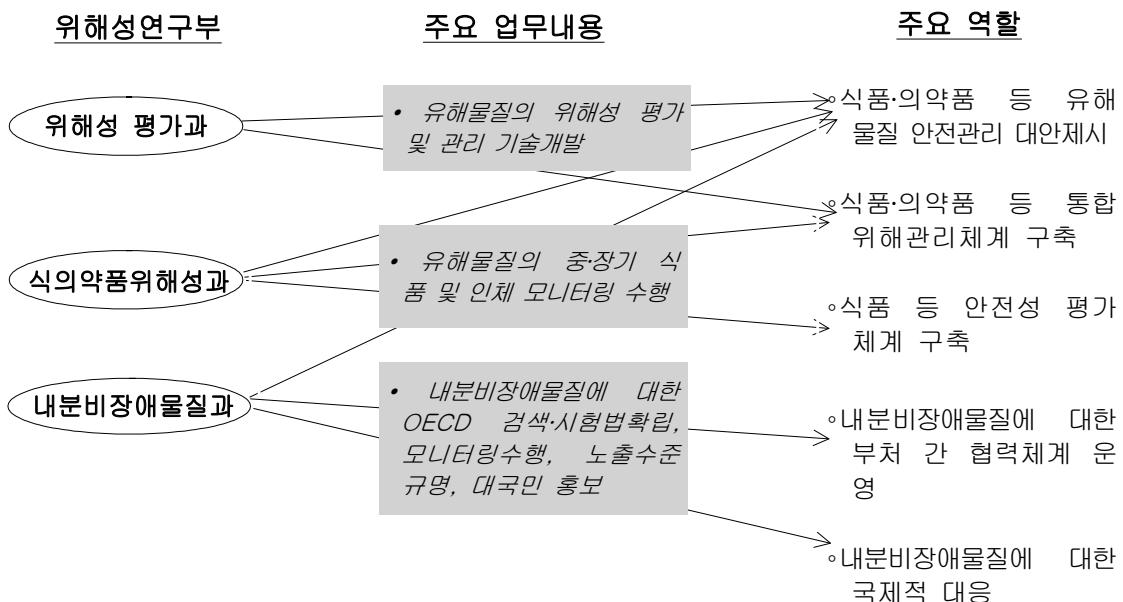
생동성시험 결과의 신뢰성을 확보하기 위해서는 시험 결과의 통계처리 프로그램의 올바른 이용이 필수적이다. 본 연구에서는 생동성시험 시 일반적인 디자인인 2×2 교차 시험뿐 아니라, 복잡한 시험을 디자인으로 시험할 경우 얻어지는 자료에 대한 생동성평가 통계분석을 위한 SAS 프로그램을 이용하였다. 프로그램에는 정규성을 가정하는 모수적 방법뿐만이 아니라, 정규성 가정이 없을 때 사용할 수 있는 비모수적 방법도 포함시켰고, 정규성 가정을 체크할 수 있는 분석 방법도 포함시켰다. 또한, 2×3 교차시험과 2×4 교차시험 자료 분석을 위

한 SAS 프로그램을 개발하였다. 개발된 SAS 프로그램을 통계 비전문가도 사용할 수 있도록 사용 방법을 설명한 매뉴얼을 만들었다. SAS 프로그램을 개발한 후 기존의 생동성시험검정 프로그램인 K-BE test와 상호 비교하였고, 같은 결과를 얻을 수 있음을 확인하였다.

제3절 위험성 분야

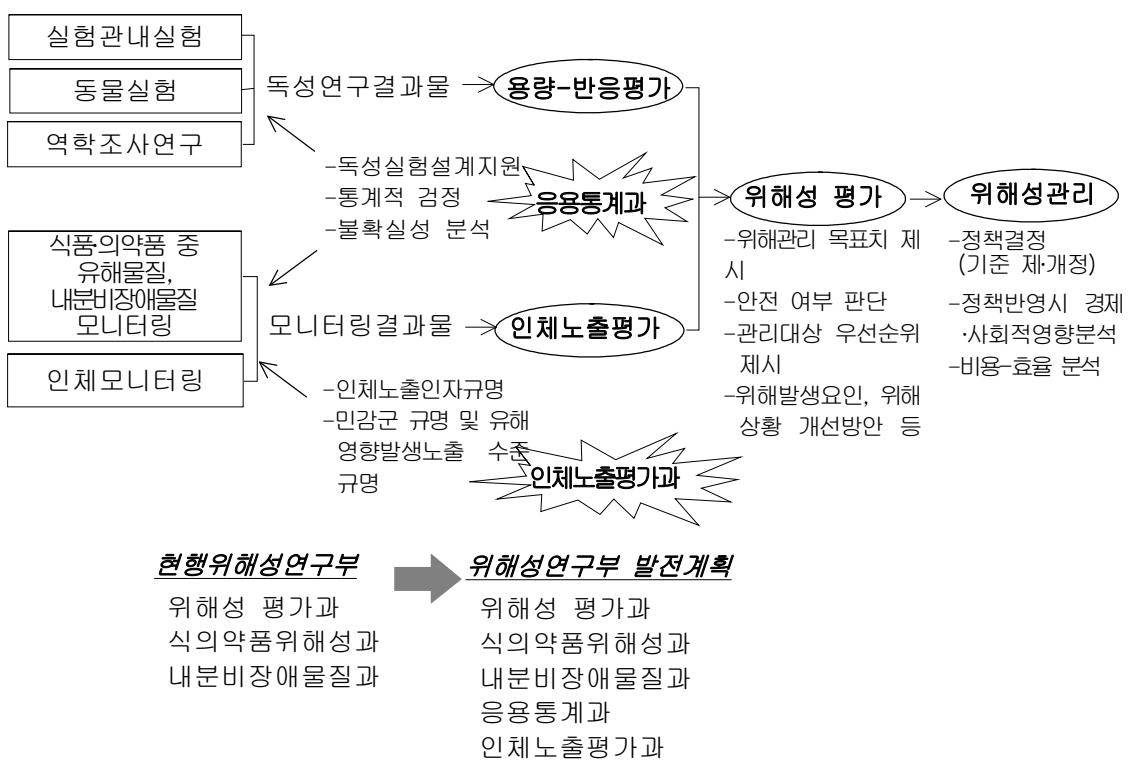
제1항 발전 및 정책방향¹¹⁸⁾

위험성연구부는 2004년 2월 직제개정으로 식품·의약품 등의 위험 관리 기능강화, 본청과 독성연구원 간의 유기적 매트릭스 형성을 목적으로 발족되었다. 위험성 평가(Risk Assessment)는 독성연구 결과물과 모니터링연구 결과물을 취합하여 현 인체노출상황의 안전 여부를 판단하고, 안전관리목표치, 위험상황개선, 위험요인제거, 위험조절방안과 같은 구체적 관리대안을 안전국, 평가부 등의 관리영역에 제시하는 작업으로 기초 자료 생산 분야(연구부서)와 정보활용 분야(관리부서)를 연계하는 역할과 자료로부터 정보를 도출하는 작업이라고 할 수 있으며, 위험성관리 영역에서 필요로 하는 구체적 정보를 제시하여 주고, 관리정보 도출에 필요한 연구내용을 해당부서에 전달하는 역할을 할 수 있다.



【그림 2-2-2】 위험성연구부의 주요 업무내용 및 역할

118) 위험성 평가과 연구관 이효민



【그림 2-2-3】 위해성 평가 · 관리 · 기초연구와의 관계 및
업무전문화를 위한 위해성연구부 발전 방향

현재 위해성 평가과, 식의약품위해성과, 내분비장애물질과로 구성된 위해성연구부의 주요기능은 식품 · 의약품 등의 위해성 평가 및 위해관리 기술 개발, 중장기 모니터링 및 안전성 평가, 내분비계장애물질에 관한 연구로 대별할 수 있다.

위해성 평가 결과의 실효성은 모니터링 결과물의 대표성에 의해 좌우되고 잘 계획된 독성실험 결과에 의존하게 된다. 모니터링이란 시료 채취 · 수집 · 수송 · 보관 · 기기분석 · 정량 · 통계평가 등을 포함하는, 자료가 생산되는 전반적인 과정을 의미하는 용어로서 모니터링 결과물의 대표성은 위해성 평가 목적에 부합되도록 준비된 모니터링 계획과 타당한 방법론, 충실히 수행된 결과물, 산출된 자료의 성격과 자료 활용 목적에 방향성을 둔 통계적 평가방법에 의해 좌우된다.

또한, 독성실험의 경우도 실험목적에 부합된 동물실험설계와 결과의 통계적 평가를 통해 critical endpoint, NOAEL(No Observed Adverse

Effect Level), BMD(Benchmark dose)와 같은 effect dose 등이 산출되는데, 이때 독성실험 결과의 effect dose는 적용하는 통계적 평가방법에 따라 달라질 수 있다. 이처럼 통계적 평가 응용은 위해성 평가에서 반드시 필요한 기법이며, 연구결과물이 위해성 관리 영역에서 잘 적용될 수 있도록 정보를 도출하는 역할을 한다.

현재 미 FDA의 경우도 CFSAN(Center for Food Safety and Applied Nutrition), CDER(Center for Drug Evaluation and Research) 등 각 부서 내에 Division of Mathematics, Office of Biostatistics 등 통계 전담부서를 두고 있어 향후 위해성연구부 내에 응용통계과의 신설은 위해성 평가 업무의 전문화를 위하여 반드시 필요하다고 할 수 있다.

최근의 위해성 평가 기술은 과거의 고용량으로 실현된 독성실험 결과에 의존하기보다는 현실적인 생활환경에서의 인체노출 수준을 반영 할 수 있는 저용량 노출 영향 규명에 초점을 두고, 저용량 노출에서의 유해 영향이 나타나지 않는 수준을 고려하여 관리기준을 설정하는 방법으로 발전하고 있다. 과거의 관리기준 설정에 고려된 인구집단은 건강한 성인그룹에 치우쳐 있었으나 최근에는 어린이, 노약자, 임산부, 기초질환자 등 민감군에서 관찰되는 유해 영향과 그 영향 노출 수준도 파악하여 민감군까지도 안전할 수 있는 관리기준을 확보하는 방향으로 위해성 평가 기술을 발전시켜 나가고 있다.

이와 같은 위해성 평가 전략의 발전은 과거에 비해 눈에 띄게 발전한 독성연구 기술에 근거한 것이라고 할 수 있으며, 동물실험 결과에 기초한 기준들이 최근 역학연구 결과들을 기초로 하여 개정되고 있는 추세에 있다.

또한, 위해성 평가는 오염이 발생한 환경에서 생활하는 인구집단의 노출인자를 반영하여 안전 여부를 판단하는 것이 원칙이나, 현재 위해성 평가에 적용될 국내 한국인의 노출인자 연구 분야는 매우 열악한 상황이어서 한국인을 대상으로 한 위해성 평가 연구에서 미국 EPA 혹은 WHO에서 제안하는 노출인자 값을 그대로 적용하는 사례도 발생하

고 있다. 노출인자는 위해성 평가 대상 인구집단의 체중, 식품소비량, 기대수명, 음용수 섭취율, 호흡률, 피부체표면적, 토양섭취량, 다양한 life activity에 따른 노출 관련 계수 등을 의미하는데 인체노출평가에 쓰이는 필수적인 값이다.

앞에서 제시한 연구내용들은 현재 위해성연구부 내에서 수행되고 있지 못하거나 혹은 미미한 수준으로 수행되고 있는 일들이다. 따라서 향후 위해성연구부의 기능전문화를 위하여 한국인의 노출인자와 유해물질별 민감군 규명 연구, 유해영향발생 노출수준 규명 연구 그리고 미국의 NHEXAS(National Human Exposure Assessment Survey) 프로그램과 같은 전 국민을 대상으로 하는 식품·의약품 등과 관련된 유해물질의 장기적 인체모니터링 연구 등을 수행할 전담과 신설이 필요하다.

식품 중 유해물질에 대한 모니터링 및 위해성 평가는 오늘날 급속한 산업화로 식품 중 유해물질의 유입이 급증하고 있어 점점 중요성이 높아가고 있다. 미국 등 선진 외국에서는 중금속, 다이옥신, 곰팡이독소 등 유해물질에 대해 지속적으로 식품 및 인체모니터링 등을 통해 위해 평가를 수행하고 있으나 우리나라는 이들 물질에 대한 인체 노출수준 파악 및 위해평가 등이 미흡한 실정이다.

또한 현재 식품 중 신종유해물질 및 기타화학물질의 관리를 여러 부처에서 관리하고 있어 총체적인 관리가 미흡하므로 종합적이고 체계적인 위해관리대책을 수립하기 위하여 식의약품위해성과에서는 국내외 관련 정보 수집 및 분석, 식품 중 유해물질의 모니터링, 인체모니터링 및 위해성 평가 등을 수행하여 식품 중 유해물질에 대한 규제 및 체계적인 안전관리 대책 수립의 근거자료를 제공하고자 한다.

또한 급속한 식품산업발달로 다양한 건강기능식품이 개발되고 소비도 급증하고 있으므로 국민건강을 위협할 수 있는 부작용 및 독성 등에 대한 안전관리방안 구축을 위하여 건강기능식품의 안전성 평가 기술연구, 부작용모니터링 구축, 제품 및 원료성분에 대한 안전성연구 등을 통해 건강기능식품의 안전성관리방안의 기초 자료를 제공하여 국민

건강 증진에 기여하고자 한다.

내분비계장애물질에 대한 위해 영향은 생태계 파괴, 지구환경오염과 더불어 인류의 생존과 직결되는 문제로 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 그 관심도가 급속히 증가하여 전 세계가 공동으로 연구하여 정보를 교환하고 있고, 동 물질에 대한 연구는 동일 물질에 대한 시험·연구결과가 동일한 시험계에서도 정반대로 나오는 등 논란이 되고 있어 국제적으로 표준화된 검색법 확립과 충분한 시험수행 및 자료검토가 요구되는 분야이다. 따라서 내분비장애물질과에서는 내분비계장애물질에 대한 검색시험법을 확립하고, 독성유발 및 억제작용 기전에 관한 시험·연구를 수행하는 한편 국내외 정보를 수집·분석하여 내분비계장애물질에 대한 규제 및 안전관리 대책 근거자료를 제공하는데 그 목표를 두고 있다. 현재 주요사업으로는 내분비계장애물질 평가사업을 추진 중에 있으며, 내분비계장애물질시험법 가이드라인화에 대비하여 OECD 국제협력연구에도 참여하고 있다. 우리 청은 1999년에 OECD 검색시험법 확립을 위한 참여연구기관으로 확정되어 현재까지 지속적으로 OECD 9개국 20여 개 기관과 공동으로 내분비계장애물질 검색시험법 확립을 위한 국제협력연구에 참여하고 있고, 관련 OECD회의에 참석하여 우리 청의 시험 결과를 발표하는 등 국가 위상을 높이는 데 기여하고 있다. 이외 내분비계장애물질 관련 식품의약품안전청 홈페이지(<http://www.kfda.go.kr>) 운영, 국제심포지엄 개최 및 자료집을 발간하는 등 정보전달 및 통보업무도 수행하고 있다.

위해성 평가는 식품, 의약품, 한약재, 의료기기, 화장품 등 다양하게 응용될 수 있으나, 현행 위해성 평가 업무는 식품분야에 편중되어 있다고 할 수 있다. 향후 한약재, 화장품, 의약품, 의료기기의 안전관리와 연관된 위해성 평가 방법의 적용을 위하여 유해물질모니터링 연구, 노출인자(소비량 등)규명 연구, 역학적 인체영향 연구 등이 위해성 평가 및 관리 기술개발 연구와 병행돼야 할 것이다.

제2항 세부 연구 방향

1. 위해성 평가과 수행 주요 사업¹¹⁹⁾

1) 사업 개요

식품·의약품 등의 안전관리 정책은 유해물질의 위해성 평가 결과에 근간을 두고 있다. 국내에 위해성 평가 기술이 도입된 것은 1980년대 말로서 정부 주도하의 대규모 연구사업이 개설되면서 발전하게 되었다.

미국 EPA가 독성연구결과에 기초한 구체적인 위해성 평가 기술 및 전략 개발을 주도하였고, 현재는 FDA, USDA에서 식품 유해물질에 대한 위해성 평가 전략과 미생물 위해성 평가 전략을 전파하여 주로 선진국 등에서 자국의 상황에 부합하도록 기술을 적용하고 있다.

FAO/WHO에서도 전 세계 인구집단을 대표하는 노출인자 값을 활용하는 등 미 EPA와 다소 차이는 있지만 원칙적으로 유사한 방법론을 설정하여 잔류농약 등의 유해물질 위해성 평가 지침을 제시하고 있다.

국내 식품·의약품 등 위해성 평가 분야의 발전을 위하여 선행되어야 할 일은 국제적 기술동향을 신속히 파악하고, 한국적 요인 등을 반영할 수 있는 노출인자 등 필요요소 등을 규명하므로 위해성 평가 방법 및 자료의 적용 등 세부지침을 제시해 주는 위해성 평가 방법의 표준화 작업이라고 할 수 있다. 위해성 평가과에서는 식품·의약품 등의 위해성 평가 표준화작업을 수행하기 위한 장기적 계획을 세우고 있으며, 그 일환으로 식품·의약품 등의 위해성 평가 정보화사업과 한국인의 노출인자규명 연구를 수행하고 있다.

2) 식품·의약품 등의 위해성 평가 정보화 사업

위해성 평가는 유해물질의 안전관리기준 설정 등에 적용되기도 하지만 납꽃게 사건 등과 같이 긴급한 사고 등이 발생할 때 짧은 시간

119) 위해성 평가과 연구관 이효민

내에 신속히 안전 여부를 판단할 때도 활용된다. 이러한 상황이 발생되면 가장 먼저 필요한 것은 현재의 오염도를 대표할 수 있는 모니터링 결과물과 과거의 오염패턴을 파악할 수 있는 자료들이다. 기존의 모니터링 자료들은 사건해결식, 단발식으로 쓰이고 폐기되는 사례들이 많았으나, 최근에는 동일목적을 두고 수행된 모니터링 결과물들이 모여져 장기적으로 활용되고 있다. 위해성 평가를 목적으로 수집된 모니터링 자료들은 통계적 평가에 의해 유해물질의 오염경향 분석, 원산지별·시료채취장소별·모니터링방법별 분석결과 차이 등 다양한 정보 등을 제공해 준다. 이러한 모니터링자료의 수집 작업은 DB화에 의해 수행되는데 위해성 평가과에서는 2002년도부터 위해성 평가에 필요한 DB와 프로그램 등을 구축, 개발하는 ‘식품·의약품 등의 위해성 평가 정보화사업’을 시작하여 연차별로 진행하므로 최종적으로는 위해성 평가의 4단계 과정인 위험성확인, 인체노출평가, 용량-반응평가, 위해도 결정 등이 시스템 안에 신속히 수행될 수 있도록 통합위해관리 시스템을 구축 중에 있다.

정보화사업에서 수행되는 DB구축사업들은 DB를 구축, 검색시스템 기능보강, 수요정보 도출을 위한 기능추가 등을 주요 내용으로 하고 있고 최신자료의 입력을 위하여 대부분 R&D사업과 연계되어 있으며, 특히, 식품모니터링자료 DB는 식의약품위해성과 협력하여 최신자료를 반영하고 있다.

2003년도에는 인체모니터링 자료 DB를 신규로 구축하고, 2002년도에 구축된 식품모니터링 자료 DB와 통계프로그램을 연계하였다. 현재 식품모니터링 DB에는 39만 건의 자료가 운영되고 있고, 독성정보 DB에는 100여 종의 물질정보가 운영되고 있다.

**【표2-2-9】 통합위해관리시스템 구축에 필요한 DB와 프로그램의 연차별
구축·개발 계획**

년도	업무내용
2002	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 식품모니터링자료 DB 구축 ◦ 독성정보 DB 구축 ◦ KNTP 홈페이지 구축
2003	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 인체모니터링자료 DB 구축 ◦ 식품모니터링자료 DB와 통계프로그램 연계 ◦ 식품모니터링자료 DB 기능보강 ◦ 독성정보 DB 보강 ◦ KNTP 홈페이지 보강 ◦ 시스템장비도입 및 유지·보수
2004	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 식품소비량자료 DB 구축 ◦ 인체노출평가 프로그램 개발 ◦ 한약재모니터링자료 DB 구축 ◦ 위해정보 홈페이지 구축 ◦ 독성정보 DB 보강 ◦ 인체모니터링자료 DB 기능보강 ◦ 식품모니터링/통계 DB 기능보강 ◦ KNTP 홈페이지 보강 ◦ 정보관리시스템 유지·보수
2005	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 화장품모니터링자료 DB 구축 ◦ 용량-반응평가 프로그램 개발 I(용량스케일링) ◦ 동물독성자료 DB 구축 ◦ 한약재 모니터링자료 DB의 노출평가프로그램 연계 ◦ DB와 통계프로그램 연계 ◦ 식품소비량자료 DB 기능보강 ◦ 인체모니터링자료 DB 기능보강 ◦ 독성정보 DB 보강 ◦ 식품모니터링/통계 DB 기능보강 ◦ 정보관리시스템 유지보수
2006	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 용량-반응평가 프로그램 개발 II(저용량외삽프로그램) ◦ 한약재섭취실태 자료 DB 구축 ◦ 화장품모니터링자료 DB 기능보강 ◦ 동물독성자료 DB 기능보강 ◦ 식품소비량자료 DB 기능보강 ◦ 인체모니터링자료 DB 기능보강 ◦ 독성정보 DB 보강 ◦ 식품모니터링자료 DB 기능보강 ◦ 독성정보 포털 서비스 개발 ◦ DB와 통계프로그램 연계 및 보강 ◦ 정보관리시스템 유지보수

3) 위해성 평가를 위한 한국인의 노출인자 연구 - 체중조사를 중심으로 -

위해성 평가 대상 인구집단의 노출인자는 노출평가를 위해 기본이 되는 자료이나 우리나라의 경우 위해성 평가에 쓰일 노출인자를 확보하기 위한 체계적인 연구가 전무한 실정이다. 국내에서는 현재 노출평가 수행 시 미국 EPA나 WHO 혹은 일본의 수치를 활용하거나, 각계 분야에서 상이한 기초 자료로부터 인체노출인자 값을 설정하여 쓰고 있다.

본 연구는 노출인자 중 한국인의 계절별, 생활패턴별, 성별, 연령별, 대표 체중을 구하고자 성비, 연령비, 노동 강도를 고려한 모집단을 선별하여 설문조사와 장기간의 체중조사를 실시하였다. 조사대상자는 5개 지역(서울, 경기, 경상도, 전라도, 충청도)의 3~85세의 일반인(남자 413명, 여자 449명)과 서울지역 20세 이상의 고노동자(남자 142명, 여자 95명)로 하였으며, 체중 측정은 매달 15일 간격으로 2회, 오전과 오후에 체중을 측정하는 자기기입방식으로 하였다. 2002년 3월부터 2003년 10월까지의 체중 자료를 분석하여 성별·연령별 평균 및 백분위수를 산출하였고, 체중과 생활 패턴 및 life style(흡연, 운동, 기타 등등)과의 상관성도 조사하였다. 한국인의 성별·연령별 체중 조사는 2004년 상반기까지 수행하여 보다 더 구체적인 결과물을 제시할 계획이다.

4) PAHs 화합물의 생체지표를 활용한 내적용량 산출과 위해성 평가

본 연구는 식품의 조리과정 중 주로 발생하는 PAHs(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) 화합물의 분석연구를 통해 PAHs 화합물의 1일 식이노출량을 산출하고, 보다 정확한 위해성 평가 수행을 위하여 PAHs 화합물의 biomarker를 활용한 내적용량과 외적용량 간의 상관관계를 규명하고자 하였다. 식품섭취를 통한 PAHs 화합물의 인체노출량과 요(尿) 중 1-hydroxypyrene 생성 간의 용량-반응 상관관계와 식품 중 14종 PAHs congener 분석을 통한 pyrene과 총 PAHs 및

benzo(a)pyrene과의 발생농도 상관성 규명을 목적으로 실험을 실시하였다. HPLC/FL을 이용하여 PAHs 주요 노출기여식품 및 다소비식품 중의 PAHs를 분석한 결과 분석된 11종의 식품 중 congener 오염도를 모두 합산한 총 PAHs의 농도는 13.69ppb~62.86ppb의 범위로 검출되었으며 숯불구이돼지고기가 가장 높은 오염도를 나타내었다. 식품에서 검출된 PAHs의 14개 congener 간 농도상관성을 구한 결과 pyrene과 benzo(a)pyrene이 높은 농도상관성을 나타내었다(상관계수=0.63). 식품을 통한 PAHs의 인체노출평가를 위해 Nisbet과 Lagoy(1992)의 발암독성 등 가치를 적용하여 benzo(a)pyrene에 상응하는 독성등가량(TEQBaP)과 60kg 성인의 식품섭취량을 고려한 인체노출량은 8.77×10^{-4} ug/kg/day이었다. 인체모니터링 대상자 25명을 대상으로 기지농도의 햄버거, 숯불구이돼지고기, 바비큐 닭고기를 용량별로 섭취시키고 8시간 경과 후 첫 요(尿) 중의 1-hydroxypyrene을 HPLC/FL로 분석하여 pyrene 노출량과 요(尿) 중 1-hydroxypyrene 사이의 용량-반응 상관성을 확인하였다. Pyrene을 0.0004~0.0156ug/kg/day 범위로 인체노출 시켰을 때 pyrene의 노출량 증가에 따라 $y=5.14x + 0.07$ ($p\text{-value}=0.0002$)의 상관관계를 가지고 요(尿) 중 1-hydroxypyrene 농도가 증가하는 것을 확인하였다. 본 연구를 통해 얻어진 pyrene과 1-hydroxypyrene의 용량-반응 상관성은 외적용량과 내적용량 상관성을 규명하는 유용한 자료로 활용이 가능하며, 향후 biomarker를 활용한 인체모니터링을 실시하므로 보다 더 정확한 PAHs 인체노출량을 측정할 수 있다.

5) 기타

위해성 관리 기술개발 연구 분야로서 ‘한약재 중 잔류이산화황의 위해성 관리 연구’, ‘생약의 저장조건에 따른 충해 및 미생물오염 조사’, ‘생약의 멸균법 비교 연구’ 등의 용역과제를 관리하고 있다. 이 사업들

은 한약재에서 검출되는 잔류이산화황의 위해관리를 목적으로 수행되는 것으로 위해상황 개선, 위해요인 제거, 위해도 조절방안을 도출하므로 실제 안전국 및 평가부에서 필요로 하는 결과물들을 제공하게 될 것이다. 즉, 안전관리목표치를 두고 단계적으로 수행해 나갈 수 있는 현실적 관리대안, 새로운 기준 적용 시 국내 유통업체 및 국내로 한약재를 수출하는 제 외국 및 WTO에 미치는 영향분석, 위해상황을 개선할 수 있는 구체화된 기술적 관리방안, 관리방안별 비용-효율분석 결과, 새로운 기준 적용 시 유통업체, 정부, 소비자가 부담해야 할 비용 산출, 그리고 유통업체를 교육, 홍보, 계도할 수 있는 전략 등이 제시될 수 있다.

2. 식의약품 위해성과 수행 주요사업¹²⁰⁾

1) 개요

환경오염의 증가 및 산업발달로 신종유해물질(오염물질 및 잔류물질)이 사회적인 문제가 될 수 있음에도 불구하고 일부 물질에 대한 모니터링만 수행되고 인체모니터링 및 위해성 평가는 미흡한 실정이다. 특히, 인체모니터링 자료 결과의 비교분석 등 체계적인 위해성 연구 및 관리가 시급한 실정이므로 유해물질에 대한 모니터링 및 위해성 평가를 체계적으로 수행하여 식품의 안전성을 확보하고자 한다. 또한 국민소득이 증가되고 생활수준이 높아짐에 따라 건강기능식품 등에 대한 소비가 급증하면서 안전성이 검증된 제품의 효율적 관리체계 구축이 필요함에 따라 부작용 모니터링 시스템을 구축하고 식품원료 등에 대한 안전성 평가를 수행하여 과학적 근거자료를 마련함으로써 국민건강 증진에 기여하고자 한다.

120) 식의약품위해성과 연구관 김미혜

2) 식품 유해물질 중장기 모니터링 및 위해성 평가

식품안전과 관련된 유해물질 및 오염물질들로부터 국민의 건강을 보호하기 위하여 이들 물질에 대한 식품 및 인체 모니터링을 수행하고 있으며, 국내 모니터링 자료의 DB화 작업을 수행하고 있다.

첫째, 식품 중 유해물질 모니터링 사업의 일환으로 식품을 통한 PAHs의 노출량 및 안전성 평가에 관한 연구를 수행하고 있다. 내분비 계장애물질로 알려진 PAHs는 불완전연소 혹은 유기물의 열분해로 인해 발생되어 환경 및 인체에 대한 중요한 오염원이 되고 있으며, 잠재적인 발암성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 이 중 벤조피렌은 대표적인 PAHs 화합물로 국제암연구소에서 Group 2A의 발암가능물질로 분류하고 있으며 EU 등 몇몇 국가에서는 훈연식품에 대해 벤조피렌 기준을 설정하여 관리하고 있다. 현재 Codex 등 국제기구에서도 이들의 독성, 모니터링 자료를 토대로 위해성 평가를 하고 있으며, 우리나라에서는 식품 중 벤조피렌 등 PAHs 함량에 대한 분석법 및 모니터링 자료가 거의 없는 실정에서 2001년도부터 육류, 유지류, 곡류 등에 대하여 실태조사가 된 바 있다. 2004년도에는 우리나라에서 유통되고 있는 어패류 및 가공품 중의 PAHs 분석방법 확립 및 모니터링을 수행하여 식품에 대한 PAHs 모니터링 데이터 축적 및 오염도를 파악함으로써 향후 안전성 평가 및 기준 규격 설정의 필요성 검토 시 식품의 안전관리를 위한 정책의 기초 자료로 활용하고자 한다.

둘째, 식품 중 유해물질에 대한 인체모니터링 사업으로 중금속의 인체모니터링을 수행하고 있다. 급격한 산업활동의 증대로 인해 오염된 환경에 사람이 장기간 노출되면, 오염물질이 인체의 중요한 장기 등에 축적될 수 있으며, 인체에 장애를 초래할 수 있다. 인체 내 미량의 금속들 중 독성이 강한 카드뮴, 납, 비소, 수은 등과 같은 중금속들은 생물체에 유해할 뿐만 아니라 체내에서 대사되지 않고 축적되므로 주의를 기울여야 한다. 유해중금속이 체내에 축적되면 호르몬 대사 등에

영향을 주어 고혈압, 동맥경화증, 류머티즘의 원인이 될 뿐만 아니라, 암을 유발시키고, 태아숙성에 크게 영향을 미치며 기형의 원인이 되며, 철분 등의 흡수도 저해하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 2004년도에는 인체의 혈액 등에 대한 납 등 중금속 함량을 측정하여, 거주지역 등 그룹 간에 차이가 있는지를 조사하고, 철분 등 영양 상태와 어떤 연관을 가지는지 원인 및 위해성에 대하여 총체적으로 평가하고자 하며, 중금속의 노출량 평가 및 철결핍성 빈혈간의 관련성 규명 및 예방 대책을 강구하고자 한다.

마지막으로 정보체계구축과 관련하여 식품 중 유해물질의 국내 정보를 수집·정리·DB화하고 관련 정부기관, 학계, 연구계, 산업계 등에서 신속·정확하게 연구결과물을 활용함으로써 식품안전 관련 사고 발생 시 축적된 자료를 바탕으로 과학적인 대응 방안을 제시하기 위하여 2004년도에는 식품의약품안전청에서 수행했던 모니터링사업의 결과를 체계적으로 정리·입력하고 서울청, 부산청, 경인청 등에서 수행하는 DB구축사업을 관리하고자 한다.

이 외에도 용역사업으로 ethyl carbamate, 아플라톡신, 패류독, 중금속 등에 대해 식품 및 인체 모니터링 사업을 수행하고 있으며 포장재 중 잔류용매 모니터링, 포장재 중 접착제 유해성연구, 생약 중 포장규격 표준화 등에 대한 연구 등을 통해 유해물질 안전관리의 기초 자료를 확보하고자 한다.

3) 식품의 안전성 확보

최근 국민들의 건강에 관한 관심이 높아지면서 건강 지향적 식품의 수요가 급증함에 따라 일부제품의 경우 국민건강을 위협하고 있어 건강기능식품의 원료나 성분 및 식품의 원료로 사용가능한 물질들에 대한 안전성 확보를 위한 연구사업을 수행하고 있다.

첫째, 국내외 건강기능식품과 의약품에 중복 사용되는 원료의 관리

방안에 관한 연구를 수행하고 있다. 건강기능식품은 의약품이 아님에도 불구하고 특정성분의 함량이 강화되어 기능성을 가지고 있어 장기 섭취에 부작용이 있을 수 있고 소비계층이 다양하여 위해 발생 시 의약품보다 광범위한 피해가 발생할 수 있으므로 이들 제품에 대한 과학적 검증 및 안전섭취량 등 의약품과 차별화 될 수 있는 합리적인 관리 방안이 필요하다. 이에 국내외 건강기능식품과 의약품에 중복 사용되는 원료의 관리방안 연구를 통해 의약품 원료와 중복되어 사용되는 건강기능식품의 원료를 조사하여 이에 대한 독성 및 안전성을 검토하여 위해성을 평가하고자 한다. 이를 위해 기능성 원료로 사용 가능성이 있는 국내외 유통 의약품 원료의 현황 조사, 일본 및 중국 등 기능성 식품에 대한 각국의 관리 현황, 의약품대비 건강기능성식품의 안전성 등 자료를 검토하고, 국내외 건강기능식품과 의약품 원료에 대한 관리 방안 연구결과와 현재 건강기능성식품에 대한 국가관리체계를 비교 검토하여 국내 실정에 맞는 관리방안을 제시함으로써 건강기능성식품에 대한 합리적이고 보편·타당한 기준·규격 개정 시 기초 자료로 활용하고 합리적이고 체계적인 기능성식품 원료기준을 제시하여 국민건강 증진 및 삶의 질적 향상에 기여하고자 한다.

또한 용역사업으로 건강 관련 식품 부작용 모니터링 시스템 구축사업을 수행함으로써 효율적인 부작용 보고체계 및 DB 구축을 통해 안전관리 정보를 도출하고자 한다.

둘째, 식품의 원료로 사용 가능한 한약재의 안전성에 관한 연구를 수행하고 있다. 한약재는 전통의약의 치료수단인 동시에 우리나라의 대표적인 신토불이 농산물이라 할 수 있으며, 실제로 의약품 또는 그 원료로 이용되어 온 많은 한약재들은 그 자체가 식품재료로 활용되고 있거나 그럴 가능성이 높은 것들도 많다. 또한 국민소득의 향상과 건강에 대한 관심의 고조로 한약재를 응용한 식품에 대한 관심이 증가하고 있는 추세이다. 한약재로 알려진 현삼(*Scrophularia buergeriana*

Miquel)은 현삼과에 속하는 다년생 초본식물이며 소염, 인후염, 비염, 혈압강하, 강심작용 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 최근 현삼을 식품의 원료로 이용하고자 하는 움직임이 있음에도 불구하고, 현재 까지 식품으로서의 식용근거 및 안전성이 입증되지 않은 상태라는 이유로 식품의 원료로 사용하지 못하고 있는 실정이다. 따라서 2004년도에는 현삼에 대한 자료의 수집, 검토 및 독성시험을 실시하여 현삼의 안전성을 평가하기 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

3. 내분비장애물질과 수행 주요 사업¹²¹⁾

1) 개요

소각로의 다이옥신, 공업용 세제의 분해물, 농약, 플라스틱 제품의 가소제 등은 환경 중에서 소량이라도 구조적으로 매우 안정한 지용성 물질로서 환경 매체 간 이동 및 먹이사슬을 통한 생체농축으로 복잡한 문제를 야기할 수 있다. 이를 물질은 현재 내분비계 장애를 일으킬 수 있는 소위 ‘내분비계장애물질’로서 의심되고 있어 이를 물질에 의한 오염 현황과 생태계 및 인체 건강에 미치는 영향에 대해서 세계 각국이 막대한 예산과 연구 인력을 투입하여 규제근거를 마련하고 있다.

정부에서도 전 세계적으로 논란이 되고 있는 내분비계장애물질로부터 국민의 건강을 보호하기 위하여 식약청에서는 내분비계장애물질에 대한 정부 부처별 대응에 따라 식품, 의약품, 용기포장, 화장품 등의 시험·연구 및 인체영향 연구를 업무 분담하여 내분비장애물질과에서 내분비계장애물질 평가사업을 수행하고 있다. 내분비계장애물질 평가사업은 국민의 실생활과 밀접한 물질부터 우선적으로 식품·의약품, 의료용구, 화장품 및 용기포장 등에서의 내분비계 장애추정물질에 대한 모니터링, 인체영향 연구, 독성시험 검색법 및 기전연구, OECD 국제협력

121) 내분비장애물질과 연구관 강태석

연구 등을 실시하여 연구기반을 구축하는 한편, 동 물질에 대한 위해성이 인정될 경우 규제처 설정 등 안전대책 마련 시 과학적 근거자료 제공을 사업목표로 하고 있다.

현재 내분비계장애물질은 그 인체 위해성에 관한 국민적 관심 및 불안감이 존재하고 있으나 내분비계 장애작용이 아직 규명되지 않거나 관련 질환에 대한 연구가 미흡한 실정이며, 미국, 일본, OECD 등에서도 내분비계장애물질의 검색시험법이 완전히 확립되어 있지 않아 동일 물질에 대한 시험·연구 결과가 동일 시험계에서도 정반대로 나오는 등 논란 중에 있으므로 국제적으로 표준화된 검색법 확립과 충분한 시험 수행 및 자료 검토가 요구되고 있다.

내분비계장애물질은 노출된 개체뿐만 아니라 후세대에 더 심각한 영향을 미치므로 선진 각국 정부 및 기업 등은 독자적으로 혹은 정부간 상호 공조체제를 유지하면서 많은 예산과 인력을 투입하여 내분비계장애물질에 대한 검색·시험법 확립 및 연구 중에 있으며, 우리 청에서도 1999년부터 식품, 의약품, 용기포장, 화장품 등을 통한 인체 유입되는 다이옥신, PCB, 프탈레이트류 등 내분비계장애물질의 모니터링을 지속적으로 실시하여 오염실태를 파악하고 위해성 평가를 실시하여 현재 논란 중인 내분비계장애물질에 대한 규제 근거 및 안전성 확보를 위한 과학적 근거를 마련 중에 있다.

2) 내분비계장애물질 평가사업

2003년도에 내분비계장애물질 평가사업예산을 20억원 확보하여 내·외부 총 32개 연구 과제를 전문분야별로 수행하였다. 내분비계장애물질에 대한 모니터링 분야는 ‘식품 중 dioxins 모니터링’, ‘식품, 기구 및 용기포장 중 벤조페논류의 모니터링’ 등 5과제를, 인체모니터링 및 관련 기초연구 분야는 ‘한국인 인체시료에서의 다이옥신 등에 대한 모니터링’, ‘한국 남성정자수와 비뇨기계 질환 관련 연구’ 등 7과제를,

OECD 내분비계장애물질 검색시험법 확립을 위한 국제협력연구는 1과제를, 내분비계장애물질 검색시험법 확립, 독성영향 연구 및 안전관리 사업으로 ‘내분비계장애추정물질이 스테로이드 합성에 미치는 영향에 관한 연구’, ‘Nonylphenol이 간암발생에 미치는 영향에 관한 연구’ 등 17과제를, 내분비계장애물질 국내외 최신정보 수집 등 사업관리 1과제를 수행하여, 그 연구결과를 OECD 및 국내외 학회·학술지에 발표하였다.

우리과에서는 금년도에 내분비계장애물질 평가사업 과제로 ‘내분비계 장애추정물질이 차산자의 유선 및 수컷 생식기 발달에 미치는 영향에 관한 연구(II)’, ‘내분비계 장애추정물질이 스테로이드 합성에 미치는 영향에 관한 연구(II)’ 및 ‘OECD 내분비계장애물질 검색시험법 확립에 관한 국제협력연구’를 수행하였고, 기본연구사업으로 ‘호르몬 수용체 함유세포를 이용한 중금속의 독성 및 식품 함유성분에 의한 독성경감에 관한 연구’를 수행하였다. ‘내분비계 장애추정물질이 차산자의 유선 및 수컷 생식기 발달에 미치는 영향에 관한 연구(II)’에서는 살충제인 benomyl을 임신 중 노출시킬 경우 암컷 차산자의 유선조직 내 β -casein 유전자의 발현을 증가시키고, DES는 IGF(insulin like growth factor) 및 IGFBP(insulin like growth factor binding protein) 유전자의 발현을 감소시키며, 플라스틱 가소제인 DBP(di-butyl phthalate)는 수컷 차산자의 잠복고환 및 요도하열 발생률 증가의 결과를, 그리고 ‘내분비계 장애추정물질이 스테로이드 합성에 미치는 영향에 관한 연구(II)’에서는 유기주석화합물인 TBTCl가 수컷 흰쥐의 생식 관련 장기 무게 및 스테로이드 호르몬 농도를 변화시킨다는 사실을 확인하였다. ‘호르몬 수용체 함유세포를 이용한 중금속의 독성 및 식품 함유성분에 의한 독성경감에 관한 연구’에서는 에스트로겐 수용체 포함 세포주(MCF-7 세포)와 에스트로겐 수용체를 포함하지 않는 세포주(MDA-MB-231)에서 카드뮴에 의한 세포주기 변화 및 세포독성을 확인하였으며, 항산화제인 아연에 의한 세

포주기 회복 및 독성경감을 확인하였다.

3) OECD 검색시험법 확립을 위한 국제협력연구

OECD에서는 1998년부터 내분비계장애물질에 대한 검색시험법의 표준화 작업을 위해 연구조정협의회 및 task force팀을 구성하여 포유동물을 이용한 내분비계장애물질 검색시험법 확립 및 각국의 참여 연구기관 선정, 동 시험법에 대한 pre-validation 또는 validation시험 연구를 계획하였다. OECD에서는 1999년 각국의 전문 연구기관들을 선정하여 1차로 설치류 암컷의 자궁비대반응시험(Uterotrophic assay)에 대한 pre-validation study를 실시하였으며, 식품의약품안전청 국립독성연구원도 본 국제협력연구에 대한 참여연구기관으로 선정되어 미국, 일본 및 유럽의 우수한 연구소와 대등하게 OECD 국제협력연구에 참여한바 있다. 지금까지의 연구결과, Uterotrophic assay는 2개의 시험계(미성숙 동물 및 자궁절제동물)를 이용하여 양성대조물질인 에스트로겐 agonist (Ethinyl estradiol) 및 antagonist (ZM 189,154)에 대한 용량-반응성을 시험하였으며, 2차년도 validation시험에서는 7종류의 미지의 시험물질과 2종류의 weak estrogenic substances (bisphenol-A 및 nonylphenol)에 대한 validation시험을 실시하였다. 본 연구 결과 다른 기관에서 수행한 시험 결과와 일치하는 결과를 보였으며 자궁비대반응 시험이 에스트로겐성 및 항에스트로겐성 물질 검색에 신뢰성과 재현성 있는 시험법임을 검증하였다.

2003년도에는 OECD에서 제공하는 화학물질 methyltestosterone, procymidone, p,p'-DDE을 가지고 수컷성선비대 반응시험 phase 2를 수행하여 methyl testosterone의 안드로겐성과 procymidone 및 p,p'-DDE의 항안드로겐성을 각각 확인하여 수컷성선비대반응시험 phase 2의 신뢰성과 유용성을 확인하였다.

OECD 국제협력연구는 우리나라가 시험법 확립단계부터 선진국과

동등하게 참여하여 국가위상을 고양시키고 내분비계장애물질 연구동향에 대한 최근의 정보를 공유할 수 있는 기회를 제공하는 과제로 사료된다.

4) 대국민 홍보 등 내분비계장애물질 평가사업 관리

내분비계장애물질 평가사업의 객관적·합리적 운영을 위하여 모니터링, 인체영향 연구, OECD 국제협력연구, 시험법 확립 및 독성기전 연구 등의 사업계획단계에서부터 최종평가까지 NGO, 관련 부처 전문가(환경부 등), 학계 등 전문가로 구성된 연구협의회를 운영하여 위원들의 의견을 적극적으로 반영하여 사업을 수행하였고, 환경부 등 관련 부처와의 협의를 통하여 종합적인 내분비계장애물질 대책 마련에 적극적으로 참여하였다.

내분비계장애물질에 대한 막연한 국민적 불안·불신감을 타파하고 행정기관의 신뢰성을 확보하기 노력의 일환으로 식약청 홈페이지 (<http://kfda.go.kr>) ‘내분비계장애물질’ 배너를 운영하여 국내외 관련 정보 및 최신 뉴스를 지속적으로 등재(40건)하는 한편, 언론보도 대응 및 국제심포지엄 개최를 통하여 내분비계장애물질에 대한 올바른 정보 및 최신 연구동향을 관련 연구 전문가 및 소비자단체를 포함한 일반 국민에게 홍보하였다.

내분비계장애물질연구 국제심포지엄은 매년 개최하는 연례행사이며, 2003년도에는 미국(EPA), 일본(CERI), 독일(CEFIC) 등 내분비계장애물질 연구 분야의 국내외 전문가를 초청하여 ‘환경성 안드로겐과 항안드로겐의 세포 분자학적 작용’, ‘프탈레이트가 라이디히 세포의 스테로이드 형성에 미치는 영향’, ‘내분비독성 평가를 위한 인간 CYPs 형질 전환 마우스의 이용’, ‘수컷성선비대반응시험 및 Enhanced TG 407시험에 대한 일본의 현황’, ‘다국적 기업에서의 내분비계장애물질 대처방안’, ‘유럽에서의 내분비계장애물질 관리 현황’ 및 ‘우리나라의 내분비계장애물질 관리 현

황 어류에서의 '실험'이라는 주제를 발표하였다. 내분비계장애물질 국제 심포지엄은 내분비계장애물질에 대한 최근의 세계적 규제 동향 및 관리 현황, 연구 기술 등에 대한 정보를 국내 산·학·연·관의 전문가와 일반국민들에게 소개하여 내분비계장애물질로부터 국민건강보호를 위하여 내분비계장애물질 평가사업을 지속적으로 추진하고 있다.

제4절 실험동물자원 관리 및 연구 분야¹²²⁾

제1항 발전 및 정책 방향

21세기 BT산업은 인간유전체 기능연구, 난치병 등의 치료를 위한 신약 및 이종장기개발과 동·식물 및 미생물을 이용한 생명공학제품 개발이 주류를 이루고 있다. 따라서 세계 각국은 저마다 BT산업의 국제적 시장주도권을 선점하기 위한 생명공학분야의 기술력을 높이려는 노력을 배가하고 있다. 이들은 랫이나 마우스 등 다양한 실험동물을 이러한 BT 및 생명과학산업의 연구개발에 필수적인 도구로서 사용하고 있다. 생명과학은 사람의 생명현상 연구를 통한 질병치료 및 수명 연장 등 인간생활의 질적인 풍요를 목적으로 하고 있으므로 신약개발 등에 있어서 동물실험을 이용한 안전성 확보가 필수적인 요건이 된다. 최근 실험동물을 이용한 실험결과의 적용에 있어서 종에 대한 한계성을 극복할 수 있는 인간화모델동물의 개발이 BT산업 분야에 있어서 새로운 화두로 각광 받고 있으며, 사람을 대체할 수 있는 인체질환모델동물이나 복제동물에 대한 특허가 인정되면서 특허동물의 생산 및 사용이 급증하고 있는 추세에 있다. 따라서 앞으로 BT, 생명공학 및 보건의료산업에 있어서 실험동물의 중요성이 더욱 더 크게 부각될 전망이며, 이와 더불어 실험동물의 품질향상 및 과학적인 관리에 대한 필요성도 더 절실히 요구되고 있는 실정이다.

이러한 국제적인 현황 및 추세에 발맞추어 국립독성연구원 실험동물자원실은 실험동물의 보급, 유지 관리를 위한 국제적인 실험동물사육 및 관리기준에 적합한 실험동물 관련 시설을 확보함으로써 미국을

122) 실험동물자원실장 조정식

제외한 외국 정부기관으로서는 처음으로 2001년 2월에 국제실험동물 인증협의회(AAALAC International ; Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, International)의 인증을 획득하였다. 이러한 시설을 통하여 현재 식품의약품안전청, 국립독성연구원, 국립보건연구원에서 실시되는 안전성·유효성 평가 및 생명과학분야 연구에 사용되는 양질의 우수한 동물을 생산·공급하고 있으며, 정확한 동물실험결과를 얻을 수 있도록 과학적으로 관리·지원하고 있다. 또한, 유해물질과 관련된 동물실험을 수행할 수 있는 유해물질실험사를 확보함으로써 보다 안전하게 동물실험을 수행할 수 있도록 관리하고 있으며, 중대동물실험사의 경우 국제규격의 실험동물시설장비를 도입함으로써 동물사육 및 동물실험결과에 대한 정확성과 신뢰성을 확보하고 있다.

향후 국내 BT 및 보건의료 산업의 성장과 밀접한 동물실험분야의 발전을 도모하기 위해서는 국가차원의 지속적인 실험동물관리제도, 기술지원 및 전문인력 등 실험동물관리와 관련한 전반적인 지원이 요구되고 있다. 그리고 인체질병연구에 필수적인 영장류를 비롯한 중대동물의 실험을 지원할 수 있는 사육시설 및 기술, 실험 기술지원, 품질관리 등 국가실험동물 관리체계의 구축이 필요하다. 특히, 세포치료제와 같은 새로운 개념의 신약개발과 이들에 대한 독성연구에 있어서 필수적인 영장류실험과 관련하여 우리나라의 경우 다른 선진국에 비해 국립기관으로서 관련 시설을 전혀 확보하지 못하고 있으므로 영장류센터 건립이 시급히 요구된다. 이러한 모든 현황에 대비하고자 실험동물자원실에서는 국가차원의 실험동물 및 동물실험 통합·관리 부서로 확대·개편을 통하여 향후 차세대 성장동력 바이오신약/장기산업 등 국책사업의 지원 등 실험동물 관련 기반구축을 위한 토대를 마련코자 한다.

제2항 국제 수준의 실험동물관리

1. AAALAC 인증 관리

현재 전 세계적으로 실험동물 관련 연구 및 종사자들은 실험동물뿐만 아니라 동물실험과정에 대한 표준화작업을 추진하고 있으며, 이들 관리프로그램에 대하여 국제단체의 인증을 받도록 노력하고 있다. 이러한 추세에 대응하고자 실험동물자원실은 2001년 2월 국제실험동물인증협회인증(AAALAC)을 획득하였으며, 지속적으로 선진화된 자체 운영프로그램을 운영·개선하고 있다. 특히 실험동물운영위원회를 설치하여 연간 이용되는 실험동물에 대한 계획서를 검토·승인하는 과정을 도입함으로써 동물실험의 무분별한 사용을 억제함과 동시에 과학적인 동물실험결과를 도출하도록 유도하고 있다. 국제실험동물인증협회는 인증기관에 대하여 3년마다 재실사를 통하여 AAALAC 인증 지속 여부를 판단하도록 규정하고 있다. 이에 따라 본실은 2003년 11월 국제실험동물인증협회 2명의 실사단(Thomas M. Butler, Robert J. Beatie)으로부터 전체 실험동물 관리프로그램에 대하여 실사를 받았다. 그 결과 일부 지적사항에도 불구하고, KFDA는 전체적으로 우수한 실험동물관리프로그램을 유지하고 있다는 평가를 받아 2004년 3월에 인증기간 연장을 승인받았다.

2. 사육시설 현황

실험동물 사육시설은 청정시설(BS, Barrier system)과 일반시설(CS, Conventional system)로 크게 나누어진다. 청정시설은 외부 미생물 오염방지를 위해 HEPA filter를 통해 공기를 공급받고, 또한 외부 공기 유입을 막기 위하여 시설내부가 외부에 비하여 항상 압력이 높게 유지되는 양압시스템으로 설계되어 있다. 청정동물사(BS1)는 특정병원체부

재동물(SPF) 폐쇄군 마우스 및 랫을 생산·사육하며, 청정사육사(BS2)는 SPF 근교계 마우스, 랫, 형질전환동물이 사육되고, 청정실험사(BS3)는 식품의약품안전청, 국립독성연구원 및 국립보건연구원에서 수행하는 다양한 독성실험에 사용되는 마우스와 랫이 사육된다.

일반시설은 외부공기의 유입을 차단하는 시스템이 없는 시설로서 상대적으로 미생물학적 관리가 덜 이루어지는 상태로 유지된다. 일반실험사(CS1)는 국가검정시험에 사용되는 마우스, 랫, 토끼, 기니피그 등이 사육되어 실험에 사용되고 있으며, 유해물질실험사(CS2)는 감염실험 등을 위한 시설로 병원성미생물 및 유해물질이 외부로 노출되지 않도록 음압으로 설계되어 있다. 대동물사(CS3)는 개, 면양, 닭, 거위 등을 이용한 실험과 사육을 위한 시설이며, 기니피그사육사(CS4)는 각종 검증시험·연구 등에 소요되는 기니피그 생산을 위한 시설이다.

3. 실험동물 생산·공급 실적

2003년도 실험동물공급실적은 식품의약품안전청, 국립독성연구원, 국립보건연구원 등 내부공급이 45,869마리, 대학 등 외부기관 분양이 65마리로 총 45,869마리가 공급되었다. 이중 마우스 27,496마리(59.9%), 랫 11,796마리(25.8%), 기니피그 3,902마리(8.5%), 토끼 2,610마리(5.7%), 기타 개, 저빌, 닭, 고양이 등 65마리(0.1%)가 사용되었다.

【표2-2-10】 종류별 실험동물 공급실적(2003. 1. 1.~12. 31.)

(단위 : 마리, %)

동물 종	마우스	랫	기니피그	토끼	기타	총계
수 량	27,496 (59.9)	11,796 (25.8)	3,902 (8.5)	2,610 (5.7)	65 (0.1)	45,869 (100)

제3항 실험동물 품질관리

1. 미생물학적 품질관리

실험동물의 미생물학적 품질관리는 health monitoring이라고도 하며 이는 동물을 이용한 연구결과의 성공을 좌우할 정도로 중요한 역할을 담당한다. 실험에 제공되는 동물은 연구결과에 영향을 미칠 수 있는 미생물에 감염되어서는 안 되며 실험과정 중 감염이 발생하면 연구결과의 해석에 오류를 가져올 수 있다. 따라서 미생물학적 품질관리는 동물실험의 정확성과 재현성에 있어서 중요한 역할을 담당한다. 미생물학적 품질관리에는 세균학, 혈청학, 기생충학적 검사가 수행되며 근래에는 PCR(핵산증폭반응)을 이용한 미생물감염 여부 확인법이 사용되기도 한다.

실험동물자원실에서는 각종 시험·연구에 제공되는 SPF(특정병원체 부재)동물에 대한 미생물학적 품질관리를 정기적으로 실시하고 있다. 검사항목으로 첫째, 세균검사의 경우 세균배양법 및 PCR법에 의해 *Bordetell bronchiseptica* 외 6종, 둘째 혈청학적 검사는 ELISA(효소면역시험법)와 응집법을 이용한 Sendai virus(HVJ) 외 11종, 마지막으로 기생충학적 검사는 현미경 검경을 통한 *Syphacia spp.*(요충) 외 2종 등 총 22종에 대한 모니터링을 실시하고 있으며, 그 결과 2003년에도 미생물학적 오염이 발생하지 않은 것으로 나타났다.

【표2-2-11】 2003년도 동물실별 모니터링 결과

동물실	공시동물	검사시기	세균검사	바이러스검사	기생충검사
BR 1	Mouse, Rat	1분기	-	-	-
		2분기	-	-	-
		3분기	-	-	-
		4분기	-	-	-
BR 2	Mouse, Rat	1분기	-	-	-
		2분기	-	-	-
		3분기	-	-	-
		4분기	-	-	-
BR 3	Mouse, Rat	1분기	-	-	-
		2분기	-	-	-
		3분기	-	-	-
		4분기	-	-	-

2. 유전학적 품질관리

동물을 이용한 실험에 있어서 실험동물 유전학적 품질 또한 중요한 요소이다. 이용자의 경우 실험목적에 적합한 유전학적 품질을 보유한 실험동물을 사용하는 것이 원하는 연구결과를 얻는 데 있어서 가장 중요한 요소의 하나로 작용하며, 생산자의 경우 생산하고자 하는 고유한 유전학적 특성을 가진 실험동물의 특성이 변하지 않게 유지·관리하는 것이 매우 중요하다.

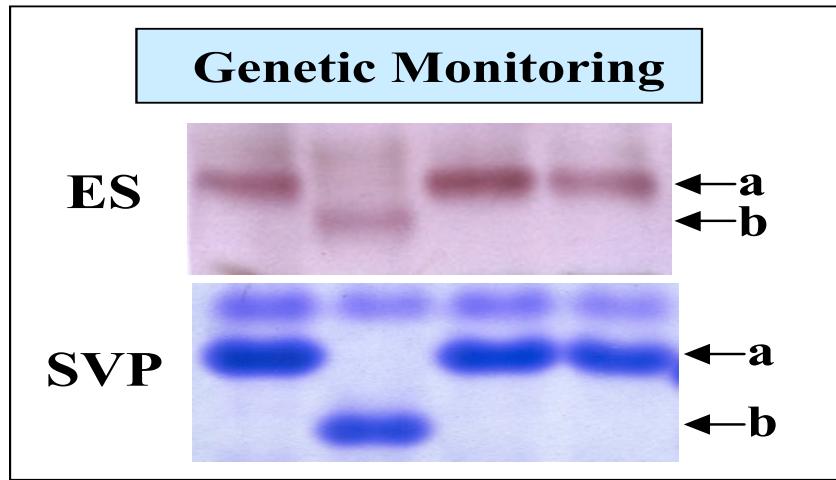
유전학적 품질관리는 유전적으로 정확한 근교계 개체를 유전학적 방법으로 조사 비교하여 유전적으로 동일 집단임을 확인하는 것이다. 대부분의 실험동물은 철저한 유전적 통제하에 사육되고 관리되지만, 만일 이들 집단에서 유전적 오염이 발생하면 유전적 균일성을 상실하게 되므로, 사용자나 생산자에게 매우 치명적인 결과를 도래한다. 따라서 유전적 품질오염을 조기에 발견하여 신속히 조치하는 것이 무엇보다도 중요하다. 이를 위해 본실에서는 현재 보유 중인 근교계 마우스와 랫의 유전자 특성을 유지하기 위하여 정기적으로 유전학적 품질검사를 실시하고 있다.

유전학적 품질검사는 육안검사, 생화학적 방법, 유전자방법을 통하여 실시한다. 육안검사는 실험동물의 모색, 체형 등 외형적인 형태에 대하여 눈으로 직접 유전적으로 동일한 집단임을 우선 확인하는 방법이다. 생화학적 방법은 근교계 마우스와 랫을 대상으로 동물의 혈액, 요, 신장 균질액 등에 포함된 Esterase 등 7종류의 표지단백질을 전기영동법으로 분리한 후 적당한 기질이나 염색시약을 처리하여 단백질을 확인하는 방법이다. 유전자방법은 DNA fingerprinting법으로 유전자상에 지문처럼 분포하는 microsatellites를 확인하기 위하여 근교계 마우스와 랫으로부터 게놈 유전자를 분리한 후, D1Mit308 등 7종류의 특이적 프라이머를 이용한 PCR방법으로 증폭시켜 유전자를 확인하는 것이다.

제4항 국가실험동물관리 체계 구축사업

1. 국가실험동물관리 체계 구축을 위한 기반 연구(용역연구)

현재 전 세계적으로 BT, NT, IT 등 과학 및 산업분야 전반에 있어서 급격한 연구 및 기술개발 투자의 증가와 함께 실험동물의 사용이 증가함에 따라 실험동물 자체에 대한 중요성이 크게 부각되고 있다. 따라서 국내외적으로 정확한 실험결과를 도출하기 위한 실험동물의 엄격한 품질관리 및 기준 설정이 절실하게 요구되고 있는 실정이다. 국내의 경우 미국 등 선진국에 비하여 실험동물과 관련한 생산 및 소비 시장이 상대적으로 적어 실험동물에 대한 전반적인 관리가 제대로 이루어지지 않고 있는 것이 사실이다. 이에 본 연구는 국내외의 비교 연구를 통하여 국내 특성에 적합한 동물실험과 실험동물의 이용에 관한 명확한 관리기준을 제시하고 나아가서 미래 지향적인 국가실험동물관리정책 수단을 제시하는 것을 목표로 하였다.



국내 실험동물 관리 및 사육시스템을 조사한 결과, 다른 나라와 마찬가지로 실험동물의 이용도가 꾸준히 증가하고 있는 추세이며, 특히 동물실험 내용 및 방법 또한 과거에 비하여 유전자 조작, 수술, 방사선 조사, 행동검사 등 복잡하고 다양하게 변하고 있다. 따라서 향후 대학 시설(의과대학 및 병원), 국가출연연구소, 국가기관 및 산업체 중심의 대형실험동물시설뿐 아니라 소규모의 실험동물시설에 대한 관리 및 지원방안이 필요할 것으로 사료된다. 또한 유전자조작 등을 통한 특정 질환모델동물의 생산과 이용이 크게 증가하고 있음으로 인하여 새로운 동물사육시설 및 유지시스템이 요구되고 있다. 동시에 이러한 특수실험동물의 표현형검사에 대한 연구기법의 활용에 대한 요구가 증가하고 있다. 따라서 정상 혹은 질환모델동물의 품질검사에 대한 적절한 기준안을 마련이 필요하다.

향후 효율적인 국가실험동물 관리체계 구축을 위하여

- ① 실험동물의 국가적 육성방안을 마련을 위한 집중육성분야 선정, 실험동물법 등 관련 법규 마련 및 세칙 정비
- ② 국내 실험동물시설의 등록 및 교육, 관리 지원체계 마련
- ③ 동물운영위원회설치 및 실험동물시설수준에 따른 연구비 지원 및 차등화방안 마련

-
- ④ 표준화된 실험동물품질 검증법 보급 및 국립 검사센터 설치
 - ⑤ 실험동물교육의 활성화 등이 필요할 것이다.

2. 유용실험동물 개발 및 유용성 연구

선진국의 경우처럼 우리나라로도 산업성장 및 수입의 증가에 따른 전반적인 삶의 질이 향상과 출산율이 저하됨에 따라 노령화 사회로 진입하게 되었고 이러한 노령인구의 급속한 증가와 더불어 치매(AD)환자의 수도 날로 증가하고 있다. 한 조사기관에서 연구한 통계자료에 따르면 1995년도 우리나라의 경우 65세 이상 등록된 치매환자 수가 241,000명으로 전체노인인구의 8.3%를 차지하였으며, 다가오는 2020년에는 AD환자가 619,000명으로 증가할 것으로 보고된 바 있다.

치매 원인은 아직까지도 정확히 규명되어 있지 않고 있으나, 현재 세계 각국에서는 치매와 관련된 중요한 단백질의 기능에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

노인성치매의 가장 일반적 원인으로 알려져 있는 알cm하이머질환(AD)은 뇌신경세포에 amyloid β -protein ($A\beta$)의 축적으로 발생된다. $A\beta$ 는 β - 및 γ -secrease에 의해 amyloid presussor protein(APP)으로부터 절단된 39~43개의 긴 peptide로 구성된 senile plaque로서 침적된다. α -secrease는 sAPP α 의 앞부분 16개 아미노산을 포함하는 ectodomain의 중간부분을 절단하고, β -secrease는 γ -secrease를 기질로 Met671과 Asp672 사이를 절단하여 membrane-bound COOH-terminal fragment (sAPP β)를 생성한다. 최종적으로 sAPP β 는 γ -secrease에 의하여 $A\beta$ 를 생성한다. 그리고 APP의 C말단(APP-C105), TAU 및 PEN-2는 AD 발병에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 알츠하이머 원인유전자를 이용한 벡터를 개발하고 모델동물을 생산하고자 하였다.

먼저 세 종류의 원인유전자 cDNA를 신경세포주로부터 분리하여

RT-PCR을 이용하여 확보하여 염기서열분석을 통하여 확인하였다. 확인된 유전자로부터 NSE 프로모터의 조절하에 각각 연결한 3가지 fusion gene을 제작하였다. 그 후 제작된 fusion gene을 신경세포주에 도입하여 다양한 단백질의 변화를 관찰함으로써 이들 유전자가 AD에 미치는 영향을 분석하였다. 향후 이들 벡터를 마우스 수정란에 주입하여 형질전환동물을 생산하여 계통을 확립하고 나아가서 다양한 유용성을 분석하고자 한다. 이렇게 개발된 형질전환마우스는 다른 실험동물보다 알츠하이머 행동적 증상뿐만 아니라 생리적 특성도 사람과 매우 유사하여 알츠하이머 발병기작 연구나 치료제 효과를 검증하는 과정에 매우 유용하게 사용될 것으로 예측된다.

제5항 실험동물 분야 기초연구

1. 실험동물의 품종에 따른 생리학적 연구

실험동물을 이용한 독성시험에서 평가지표로 이용되고 있는 혈액 및 혈청생화학적 측정치와 장기무게 및 체중 등은 의약품, 식품 및 화학물질 등의 안전성 평가에 매우 중요한 항목이다. 실험동물의 생리학적 시험 결과는 주령, 성별, 품종, 음수, 사료 등 사육환경에 영향을 받을 수 있다. 특히, 실험동물에서 주령의 차이는 시험물질의 명확한 용량의존적 반응에도 영향을 미칠 수 있다. 따라서 모든 독성시험을 실시할 때에는 반드시 모든 시험군에 암·수 모두를 사용하고 동일한 연령의 실험동물을 사용해야 한다. 독성시험에서 실험동물의 생리학적 결과의 해석은 정상 실험동물과 시험물질 처리군을 통계학적으로 비교하고 분석하여 유의성을 검정한다. 그러므로 독성시험에 재현성과 정확성이 있는 실험결과를 얻기 위해서는 정상 실험동물의 생리에 관한 기

본 자료가 충분해야 한다.

본 실험에서는 각 동물실험실에서 실험 중인 실험동물의 미생물모니터링을 통하여 건강상태와 환경을 모니터링하였고, Wistar에서 주령별 혈액 및 혈청생화학치와 체중 및 장기무게를 측정하였으며 각각의 정상범위를 구하여, 향후 Wistar Rat을 이용한 급성, 아급성, 만성독성시험 및 발암성시험을 수행하는 연구자들에게 연구결과의 해석에 있어서 유용한 기초 자료로 제시하고자 한다

2. 사람 Angiotensin-Converting Enzyme 2 유전자를 발현하는

심질환모델동물 개발을 위한 기초연구

최근 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 2020년에는 심혈관 질환이 인류의 주요한 사망원인 중의 하나가 될 것으로 예견하였다. 특히 뇌졸중, 심근경색, 울혈성 심부전 및 신장질환의 위험요소로 알려져 있는 고혈압은 Renin-Angiotensin System(RAS)이 관계되는데, Angiotensin-Converting Enzyme(ACE)에 의한 Angiotensin II (ANG II)의 증가는 이러한 혈압상승의 주요한 원인으로 알려져 있다. 따라서 최근까지 ACE의 생리적 기능을 억제하여 혈압을 조절하기 위한 수많은 연구들이 수행되었다. 최근에 ANG I에서 생리적 활성을 가지지 않는 ANG1-9을 생성하고, ACE에 의해 ANG1-7을 증가시킴에 따라 혈압을 낮추며 ACE와 유사성을 가지는 ACE-2 유전자가 보고되었다. ACE-2는 ANG I을 ANG II로 변화되는 것을 억제하여 활성을 가지지 않는 ANG1-9을 증가시켜 ACE의 생리적 기능을 억제하는 것으로 보고된 바 있다. 또한, ACE-2의 과발현은 심장의 부정맥, 심실빈맥, 심근비대 및 심정비 등의 증상을 야기하는 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 마우스의 심장에서 사람의 ACE-2 유전자가 특이적으로 발현되는 인간화된 심질환모델동물을 개발하고자 한다. 우선, 마우스 α-MHC 및 사람의 ACE-2 유전자를 이용한 마우스 심장 특이적

발현 벡터를 제작하였다. BDF1 마우스의 꼬리에서 α -MHC 유전자를 분리하여 p α -MHC-rtTA를 제조하였으며, HEK-293 세포에서 human ACE-2 유전자를 분리하여 pTRE-hACE-2를 제작하였다. 이들 각각의 재조합 유전자는 제한효소와 염기서열 분석을 통해 벡터에 삽입된 것을 확인하였다. 본 연구는 앞으로도 계속 진행되어야 하며 향후 심혈관 질환모델동물의 개발 및 발병기작에 관한 연구뿐만 아니라, 신약 모니터링에 있어 유용한 생체 재료로 그 이용가치가 높을 것으로 사료된다.