



# 흡입독성시험 결과 활용도 제고를 위한 Benchmark dose 도입 연구

OSHRI

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원





# 흡입독성시험 결과 활용도 제고를 위한 Benchmark dose 도입 연구

이 미 주



# 요약문

- 연구기간 2022년 1월 ~ 2022년 11월
- 핵심단어 흡입독성시험, 유해성평가, BMD, NOAEL/LOAEL
- 연구과제명 흡입독성시험 결과 활용도 제고를 위한 Benchmark dose 도입 연구

## 1. 연구배경

동물의 독성시험결과는 사람에게 대한 유해성평가 시에 노출량-반응 평가의 근거로 활용하는 자료이다. 독성시험의 결과는 보통 NOAEL, LOAEL, 또는 BMD의 형태로 표현되며, 현재 흡입독성연구센터에서는 NOAEL/LOAEL의 형태로 결과값을 제공하고 있다. 그런데 최근 EU의 EFSA(European Food Safety Authority, 유럽식품안전청), 미국 EPA(Environmental Protection Agency, 미국 환경보호국) 등에서는 유해성평가 시에 NOAEL/LOAEL 보다 는 benchmark dose(BMD)가 더 적절하다는 입장을 “Benchmark Dose Technical Guidance(EPA, 2012)”, “Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment(EFSA, 2016)” 등을 통해 발표하였다. 이에 사람에게의 유해성 규명을 목적으로 하는 흡입독성시험의 결과를 표현하는 방법으로 BMD를 적용할 필요성이 대두되었다. 그러나 국내외 독성시험기관에서는 여전히 NOAEL/LOAEL 기반의 독성평가가 우세하다. 따라서 **본 연구에서는** NOAEL/LOAEL과 BMD의 장단점을 비교분석하고, 흡입독성데이터를 활용한 BMD의 분석 가능성을 평가하며, 분석과정 및 결과의 GLP 적용 가능성 및 BMD 도입 방법 등을 확인하여 **타 독성시험기관에서** BMD를 바로 적용하지 않는 이유를 확인함과 동시에 BMD의 분석가능여부와 예상되는 문제점 등을 검토함으로써 흡입독성시험결과에 대한 BMD 도입가능성을 평가하고자 하였다.

## 2. 주요 연구내용

### 1) BMD와 NOAEL의 비교분석

BMD와 NOAEL의 가장 큰 특징은 BMD는 용량-반응 곡선을 이용하며, NOAEL은 시험에 사용한 용량을 그대로 이용한다는 점이다. 이러한 특징에 기반하여 BMD는 시험 간 비교가 가능하고 연속적인 용량-반응 정보를 확인할 수 있기 때문에 실험용량에 제한을 덜 받는다는 등의 장점과 용량-반응 곡선을 만들 수 없는 상황 즉, 용량군이 너무 적거나 용량의존적인 변화가 없는 경우 등에서는 분석이 가능하지 않다는 단점이 있음을 확인할 수 있었다. NOAEL은 용량의존성과 관계없이 도출이 가능하며 축적된 데이터나 평가 기준 등이 정립되어 있다는 장점이 있는 반면 실험 용량에 크게 영향을 받으며 데이터의 품질에 대한 평가 없이 단 하나의 숫자로 결과가 표현된다는 등의 단점이 있다.

### 2) BMD 분석 수행가능성 평가

흡입독성시험결과의 BMD 분석 수행가능성을 확인하기 위하여 적절한 BMD 모델링 도구와 데이터를 선택하였다. BMD 모델링 도구는 분석가능한 데이터의 종류, 결과의 신뢰성 및 사용자 편의성 등을 고려하여 미국 EPA(Environmental Protection Agency)의 BMD5를 선택하였다. BMD 분석이 가능한 데이터는 용량군과 실험데이터가 충분하고 의미가 있는 반응이 있어야 하며, 그 반응은 용량-반응 관계가 있어야 한다. 2016~2021년까지 수행했던 흡입독성시험결과 중에서 이 조건에 부합하는 연속형 및 이분형 흡입독성데이터를 선택하여 BMD 분석을 실시하였다. 그 결과 용량-반응 관계가 있는 변화는 연속형 데이터나 이분형 데이터 모두 적절한 model fit을 도출가능하며 BMD 분석이 가능함을 확인하였다.

### 3) BMD 평가절차 및 준비사항

BMD 분석 수행가능성 평가 결과를 근거로 BMD평가 절차를 제시하였다. BMD 평가 절차는 크게 데이터의 선택, BMD 분석 조건 설정, BMD 분석 결과 검토의 절차로 구분할 수 있다. NOAEL과 비교하면 평가과정, 소요시간, 분석 가능한 데이터의 범위 등에서 차이가 있어 BMD 분석 절차에의 GLP 적용을 위해서는 절차 및 방법의 표준화, 전문 인력 및 수행 시간 확보, 수행시점 및 보고서의 형태 결정 등이 필요함을 알 수 있었다. 또한 반면에 유연한 분석과 신속한 적용을 위해서는 GLP의 적용이 적절하지 않으며 모든 분석조건과 분석 결과를 보고서에 명시한다면 GLP를 적용하지 않더라도 신뢰성있는 결과를 생산할 수 있을 것으로 평가되었다.

### 4) 흡입독성시험결과를 활용한 BMD 모델링

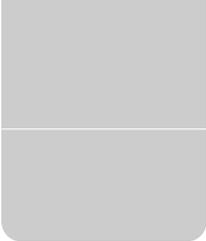
본 연구의 결과를 종합해볼 때 흡입독성시험 결과를 이용한 BMD 분석은 가능하며 그 활용성과 의미를 고려할 때 도입할 필요성도 있다. 다만, 본 연구 결과를 토대로 분석하자면 BMD 분석은 적용 가능한 데이터의 제한성 문제, 즉, 용량의존성이 있는 데이터만 분석이 가능하다는 어려움이 있음을 확인할 수 있었다. 이를 해결하기 위해서는 지속적인 연구와 보완이 필요하겠으나, 현 시점에서는 NOAEL/LOAEL과 BMD의 통합적 적용, 즉 기본적으로는 NOAEL/LOAEL을 제시하되 데이터의 특징에 따라 BMD를 추가 분석하여 그 과정과 결과를 별도 보고서로 제시하는 방식 등으로 해결할 수 있을 것이라 사료된다.

## 3. 연구 활용방안

흡입독성연구사업에 적용하고 논문게재 및 학술대회 발표, 기술지침·매뉴얼 개발 등에 활용한다.

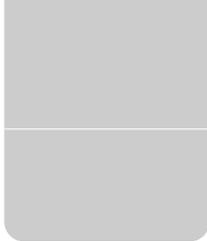
## 4. 연락처

- 연구책임자 : 산업안전보건연구원 흡입독성시험1부 연구위원 이미주
  - ☎ 042) 869. 8533
  - E-mail milee@kosha.or.kr



# 목 차

<b>I. 서 론</b> .....	<b>1</b>
<b>II. 연구 방법</b> .....	<b>9</b>
1. 자료조사 및 분석 .....	11
2. 검증데이터의 생산,분석 .....	11
3. BMD 평가 절차 및 방법 제안 .....	12
4. 흡입독성시험 결과의 BMD 분석 방법 제안 .....	12
<b>III. 연구 결과</b> .....	<b>13</b>
1. BMD와 NOAEL의 비교분석 .....	15
2. BMD 분석 수행가능성 평가 .....	20
3. BMD 평가 절차 .....	68
4. 흡입독성시험결과의 BMD 도입 방법 제안 .....	73



# 목 차

IV. 고찰 ..... 75

참고문헌 ..... 81

# 표 목차

〈표 III-1〉 BMDS vs PROAST .....	21
〈표 III-2〉 흡입독성시험 수행 목록 .....	25
〈표 III-3〉 흡입 노출물질 용량별 변화여부 .....	29
〈표 III-4〉 연속형 데이터의 군구성 .....	36
〈표 III-5〉 연속형 데이터의 흡입독성 시험 결과 .....	37
〈표 III-6〉 BMDS 3.2에서 제시한 항목별 가장 적합한 모델 .....	40
〈표 III-7〉 수컷 AST의 BMD 분석 결과 .....	41
〈표 III-8〉 수컷 BUN의 BMD 분석 결과 .....	43
〈표 III-9〉 수컷 TCHO의 BMD 분석 결과 .....	45
〈표 III-10〉 암컷 ALP의 BMD 분석 결과 .....	47
〈표 III-11〉 암컷 BUN의 BMD 분석 결과 .....	49
〈표 III-12〉 암컷 TCHO의 BMD 분석 결과 .....	51
〈표 III-13〉 암컷 ALB의 BMD 분석 결과 .....	53
〈표 III-14〉 이분형 데이터의 군구성 .....	54
〈표 III-15〉 이분형 데이터의 흡입독성 시험 결과 .....	55
〈표 III-16〉 BMDS 3.2에서 제시한 항목별 가장 적합한 모델 .....	58
〈표 III-17〉 수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과 .....	60
〈표 III-18〉 수컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과 .....	61
〈표 III-19〉 암컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과 .....	63
〈표 III-20〉 암컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과 .....	65
〈표 III-21〉 암컷 Inflammatory cell infiltration의 BMD 분석 결과 .....	67

# 그림목차

[그림 Ⅲ-1] BMD모델링 데이터 평가단계 .....	34
[그림 Ⅲ-2] 연속형 데이터입력 .....	38
[그림 Ⅲ-3] 연속형 데이터의 분석조건 설정 .....	38
[그림 Ⅲ-4] 모델에서 추천하는 Decision Logic .....	39
[그림 Ⅲ-5] 출력 옵션의 선택 .....	39
[그림 Ⅲ-6] 수컷 AST의 BMD 분석 모델 정보 .....	41
[그림 Ⅲ-7] 수컷 AST의 BMD 분석 결과 .....	42
[그림 Ⅲ-8] 수컷 BUN의 BMD 분석 모델 정보 .....	43
[그림 Ⅲ-9] 수컷 BUN의 BMD 분석 결과 .....	44
[그림 Ⅲ-10] 수컷 TCHO의 BMD 분석 모델 정보 .....	45
[그림 Ⅲ-11] 수컷 TCHO의 BMD 분석 결과 .....	46
[그림 Ⅲ-12] 암컷 ALP의 BMD 분석 모델 정보 .....	47
[그림 Ⅲ-13] 암컷 ALP의 BMD 분석 결과 .....	48
[그림 Ⅲ-14] 암컷 BUN의 BMD 분석 모델 정보 .....	49
[그림 Ⅲ-15] 암컷 BUN의 BMD 분석 결과 .....	50
[그림 Ⅲ-16] 암컷 TCHO의 BMD 분석 모델 정보 .....	51
[그림 Ⅲ-17] 암컷 TCHO의 BMD 분석 결과 .....	52
[그림 Ⅲ-18] 암컷 ALB의 BMD 분석 모델 정보 .....	53
[그림 Ⅲ-19] 암컷 ALB의 BMD 분석 결과 .....	54
[그림 Ⅲ-20] 양분형 데이터입력 .....	56
[그림 Ⅲ-21] 양분형 데이터의 분석조건 설정 .....	57

[그림 Ⅲ-22] 모델에서 추천하는 Decision Logic .....	57
[그림 Ⅲ-23] 출력 옵션의 선택 .....	58
[그림 Ⅲ-24] 수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 모델 정보 ...	59
[그림 Ⅲ-25] 수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과 .....	60
[그림 Ⅲ-26] 수컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 모델 정보 ...	61
[그림 Ⅲ-27] 수컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과 .....	62
[그림 Ⅲ-28] 암컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 모델 정보 ...	63
[그림 Ⅲ-29] 암컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과 .....	64
[그림 Ⅲ-30] 암컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 모델 정보 ...	65
[그림 Ⅲ-31] 암컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과 .....	66
[그림 Ⅲ-32] 암컷 Inflammatory cell infiltration의 BMD 분석 모델 정보 ...	67
[그림 Ⅲ-33] 암컷 Inflammatory cell infiltration의 BMD 분석 결과 .....	68



# I. 서론





# I. 서론

유해성평가(risk assessment)는 크게 유해성 확인(hazard identification), 노출량-반응 평가(dose-response assessment), 노출평가(exposure analysis), 위험성 결정(characterization of risk)의 4단계로 이루어진다.

이중 노출량-반응 평가 단계에서 NOAEL(No observed adverse effect level, 무독성량), LOAEL(Lowest-observed-adverse-effect level, 최저독성량), BMD(benchmark dose, 기준용량) 등을 활용하는 역치적 접근법, 항암제나 발암성 물질등을 평가하는 비역치적 접근법, 메커니즘 분석 모델링 등의 방법이 있다. NOAEL, BMD 등을 활용한 노출량-반응 평가 결과는 일일섭취허용량(acceptable daily intake, ADI), 무영향수준(Derived No-effect levels, DNEL), 독성참고치(Reference dose, reference concentration, RfD, RfC)등으로 표현된다. 그 상관관계는 보통 아래와 같은 식으로 표현된다.

$$\text{RfD or DNEL or ADI} = \text{POD(NOAEL or BMDL)} / \text{UF} \times \text{MF}$$

POD(point of departure) 즉, 시작값은 실험적 또는 관찰 데이터로 도출한 독성학적 용량-반응 곡선에서의 한 지점을 의미한다. UF(uncertainty factor, 불확실성 계수)는 동물실험결과를 사람에게 적용하고자 할 때 감수성의 불확실성을 보정하기 위하여 적용하는 계수로 안전역(margin-of-safety)라고도 하며 1~10의 값을 적용한다. MF(modifying factors, 보정계수)는 평가자가 평가 자료의 신뢰도와 질에 근거하여 불확실성을 증가 혹은 감소시키고자 할 때 사용하며, 0.1~10의 값을 적용한다. POD로 사용되는 NOAEL은 통계적, 생물학적으로 독성이 관찰되지 않는 용량 또는 농도를 의미하며, BMDL(benchmark dose lower bound, 기준용량 하한값)은 노출-반응 모형에서 추정된 기준용량의 신뢰구간의 하한값을 의미한다.

유해성 평가의 노출량-반응 평가에서 동물시험을 수행했던 농도만 유해성평가에 활용가능하며, 용량-반응 곡선의 형태로 결과가 표현되지 않고, 실험동물의 수와

물질 용량에 영향을 많이 받는 등의 NOAEL의 단점이 대두되기 시작하였다. 이에 Crump(Crump, 1984)는 BMD의 개념의 도입을 처음으로 제안하였다. 당시에는 비연속형 데이터에 적용하려 했던 개념이었으나 여러 수정과 확장을 거쳐 현재에 이르게 되었다. 2005년에는 EFSA(European Food Safety Authority, 유럽식품안전청)와 JECFA(The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 국제식량농업기구/세계보건기구 합동 식품첨가물 전문가 위원회)에서 유전독성 발암물질의 MOE(Margin of Exposure) 계산 시 BMD를 사용할 것을 제안하였고 2009년에는 EFSA에서 risk assessment시 BMD 적용에 관한 guidance를 발표하였으며, 2012년에는 EPA(Environmental Protection Agency, 미국 환경보호국)에서 BMD 분석방법에 대한 guidance인 Benchmark Dose Technical Guidance를 발표하였다. 또한 EU에서는 2010년 REACH(Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of CHemicals)의 technical guidance를 통해 DNEL의 계산시 LOAEL보다는 BMD를 적용하는 것이 더 적절하다고 발표하였다. 네덜란드 RIVM(National Institute for Public Health and the Environment)에서는 2012년 BMD 모델링 도구인 PROAST를 개발하여 홈페이지를 통해 무료배포중이다. 미국 EPA에서도 2000년에 최초 버전(BMDS 1.2)의 모델링 도구를 배포하기 시작하여 현재 3번의 대대적인 리뉴얼을 거쳐 현재 BMDS(Benchmark Dose Software) 3 버전을 2018년부터 무료 배포하고 있으며 현재는 올해 3월 한번 더 업데이트를 거쳐 3.2.0.1버전을 제공하고 있다. 또한 2018년 개정된 28일 및 90일 반복 흡입독성시험에 대한 OECD TG에서는 독성시험결과 표현값으로 NOAEC, LOAEC 뿐 아니라 BMC로도 제시가능함을 명시하고 있다. 이 뿐 아니라 최근에도 유해성평가를 위한 독성평가값으로 NOAEL 보다 BMD가 더 적합하다는 기초에 기반한 연구 결과가 지속적으로 발표되고 있으나(Zarn et al, 2020; Baralic et al, 2020; Yoshii et al, 2020), 실제로 대부분의 독성 시험결과 발표 논문(Won et al, 2021; Yang et al, 2019; Choi et al, 2018; Schwotzer et al, 2017)은 NOAEL로 독성값을 표현하고 있으며, 우리

센터를 포함한 국내 독성시험기관에서는 여전히 NOAEL을 적용하고 있다.

산업안전보건연구원 흡입독성연구센터에서 수행하는 흡입독성시험은 유해한 산업화학물질이 사람에게 노출되는 것을 최소화하기 위한 근거자료를 생산하기 위해 수행되어진다. 흡입독성시험은 실험동물 즉, 생명을 이용하고, 일반독성 시험에 비해 비용이 비싸고, 숙련된 인력도 많이 필요한 독성연구방법이다. 그렇기 때문에 수행한 흡입독성시험 결과를 최대한 잘 활용할 필요가 있다. 이에 본 연구에서는 유해성평가지 NOAEL보다 더 유용한 독성표현값으로 평가받고 있는 BMD를 흡입독성연구센터의 독성연구사업에서 도입가능성을 확인하고 도입방법을 모색하고자 하였다.

## 용어

- BMD: Benchmark Dose, 기준용량  
독성영향이 대조집단에 비해 일정 비율이상 증가했을 때 이에 해당되는 노출량을 추정한 값. 주로 5%와 10%를 평가
- BMDL: Benchmark Dose Lower Bound, 기준용량 하한값  
노출-반응 모형에서 추정된 기준용량의 신뢰구간의 하한값
- NOAEL, NOAEC: No observed adverse effect level, concentration  
무독성량, 무독성농도  
통계적, 생물학적으로 독성이 관찰되지 않는 용량 또는 농도
- LOAEL: Lowest-observed-adverse-effect level 최저독성량  
독성이 관찰된 가장 낮은 용량
- MoE, MOE: Margin of Exposure, 노출한계  
무독성량, 무독성농도, 또는 기준용량 하한값을 노출수준으로 나눈 비율(값)
- Endpoint, 독성종말점  
화학물질 위해성과 관련된 특정한 독성(변화,반응)을 정성 및 정량적으로 표현한 것
- POD: Point of Departure,  
실험적 또는 관찰 데이터로 도출한 독성학적인 용량-반응 곡선에서의 한 지점
- RfD, RfC: Reference Dose, Reference Concentration, 독성참고  
경구, 경피, 흡입 등의 노출 경로를 통하여 화학물질 이 인체에 유입되었을 경우 유해한 영향이 나타나지 않을 것으로 추정되는 노출량(노출농도)
- DNEL: Derived No-effect levels, 무영향수준  
화학물질이 인체에 일정기준 이상 노출되어서는 안되는 수준
- ADI: Acceptable Daily Intake, 일일섭취허용량  
일생 동안 매일 노출되어도 부작용이 없는 양

## 용어

UF: Uncertainty factors, 불확실(성)계수

동물실험결과를 사람에게 적용하고자 할 때 감수성의 불확실성을 보정하기 위해 적용하는 계수. Margin-of-safety라고도 함. 1~10을 적용

MF: Modifying factors, 보정계수

평가자가 평가자료의 신뢰도와 질에 근거하여 불확실성을 증가 혹은 감소시키고자 할 때 적용. 0.1~10을 적용.

$$\text{RfD or DNEL or ADI} = \text{POD(NOAEI or BMDL)} / \text{UF} \times \text{MF}$$



## II. 연구 방법





## II. 연구 방법

### 1. 자료조사 및 분석

BMD와 NOAEL의 개념, 특징 및 장단점, 독성평가기준, BMD모델링방법, 모델링도구, 분석시 필요한 데이터의 종류, BMD 모델링 도구 사용법 등에 대하여 조사하였다. 문헌은 논문, 도서, 가이드라인, 가이드언스를 비롯하여 학술대회 발표자료, 교육자료, 우리 센터의 내부 표준작업지침서 등을 참고로 하였다.

### 2. 검증데이터의 생산, 분석

#### 1) BMD 모델링 도구 선택

모델링 도구의 비교분석을 통해 가장 적절한 도구를 선택하였다.

#### 2) 수행 독성시험 및 관찰된 변화 조사

2006년~2021년까지 본 센터에서 수행했던 아급성, 아만성 및 발암성 흡입 독성시험의 목록을 작성하고 병리보고서 및 최종보고서를 분석하여 시험물질 영향의 여부를 확인하였다. 시험물질의 영향이 관찰된 시험은 용량별로 변화가 관찰된 항목을 정리하였다.

#### 3) 분석 시험의 선택

BMD분석에 가장 적합한 데이터의 요건을 정리하고 이에 맞추어 모델링을 하기에 가장 적합한 연속형 및 이분형 데이터를 선택하였다.

#### 4) 모델링 도구를 이용한 BMD의 분석

BMD 분석 도구로써 미국 EPA의 BMDS와 네덜란드 RIVM의 PROAST를 비교하여 적절한 도구를 선택하였다. 선택한 모델링 도구에 선택한 시험의 데이터를 적용하여 BMD를 도출하였다.

### 3. BMD 평가 절차 및 GLP 적용 준비사항

모델링 도구를 이용한 BMD 분석결과를 근거로 BMD 평가절차를 제시하고, NOAEL 결정 과정과의 비교를 통해 절차상 보완점을 제시하였다. 또한 산업 안전보건연구원의 흡입독성연구센터 내부 표준작업지침서 등을 근거로 BMD 평가 절차 및 결과의 GLP 적용을 위해 필요한 준비사항을 제시하였다.

### 4. 흡입독성시험 결과의 BMD 분석 방법 제안

흡입독성시험결과의 BMD 분석 방법을 GLP로 수행하여 최종보고서에 삽입, non-GLP로 수행하여 최종보고서에 삽입, GLP로 수행하여 별도의 분석보고서로 발행, non-GLP로 수행하여 별도의 분석보고서로 발행하는 방법 등을 제안하였다.

### Ⅲ. 연구 결과





### Ⅲ. 연구 결과

#### 1. BMD와 NOAEL의 비교분석

1) 시험물질의 영향 평가 기준(Karbe *et al*, 2001; Kobayashi *et al*, 2010; Lewis *et al*, 2002; Palazzi *et al*, 2016; Pandiri *et al*, 2017)

(1) 시험물질의 영향이 아니라고 생각되는 경우

가) 명확한 용량의존성이 없다

나) Outlier로 생각되는 한 마리 이상의 동물에서 관찰된 변화이다.

다) 관찰된 변화가 선천적 특성이 있어 판단이 애매하다.

라) 정상적인 생물학적 변동범위(historical data 또는 다른 reference values)내에 있다.

마) 생물학적 타당성이 부족하다. 즉, 관찰된 변화가 class effect, 작용 기전, 알려져 있거나 예상되는 변화에 부합하지 않는다.

(2) 독성이 아니라고 생각되는 경우

가) 시험물질에 의한 영향이 있는 장기/조직에서 일반적인 기능의 변화가 없다.

나) 적응성 변화이다.

다) 일시적인 변화이다.

라) 정도(severity)가 역치아래로 생각될 정도로 제한적이다.

마) 단독의 변화이거나 독립적인 변화이다. 관련된 다른 검사항목의 변화가 동반되지 않는다.

- 바) 전구변화가 아니며 시간의 경과에 따라 진행되는 연속변화의 일부분이 아니다.
- 사) 다른 부작용의 이차적인 변화이다.
- 아) 실험모델의 결과이다.

## 2) NOAEL

### (1) 평가방법

NOAEL, LOAEL의 정의와 통상적인 평가방법에 근거하여 아래와 같이 정리하였다.

- 가) 시험물질의 영향 및 독성을 평가한다.
- 나) 독성이 관찰되지 않은 가장 높은 용량이 NOAEL이 된다.
- 다) 독성이 관찰된 가장 낮은 용량이 LOAEL이 된다.
- 라) 암수의 결과가 다를 경우 암수의 NOAEL을 따로 산정하기도 한다.
- 마) 국소자극성이 있는 물질의 경우에는 전신영향과 분리하여 따라 내성 용량을 기술하는 경우도 있다.

### (2) 특징

- 가) 1개 시험에 대해 1개의 값을 가진다.
- 나) 독성 및 영향평가를 위한 사전 지식과 경험이 필요하다.

### (3) 장점

평가방법, 결과의 특징 등을 토대로 다음과 같이 장점을 정리하였다.

- 가) 결과가 직관적이다.
- 나) 동물 수나 데이터의 양이 부족해도 결과를 도출할 수 있다.

다) 축적된 데이터나 평가 노하우가 많다.

#### (4) 단점

BMD 도입을 주장하는 여러 문헌(Harber *et al*, 2018; EPA, 2012)에서는 NOAEL의 단점에 대해 다음과 같이 설명하고 있다.

가) NOAEL은 평가자의 관점에 지배를 받는다.

나) NOAEL은 실험용량에 지배를 받는다.

다) NOAEL에서 관찰되는 변화는 시험마다 다양하여 시험간의 비교가 어렵다.

라) 데이터가 많은 시험과 부족한 시험 모두 데이터 품질에 대한 평가 없이 하나의 숫자로 결과가 표현된다.

마) 진짜 독성이 없는 용량은 알 수 없다.

바) NOAEL은 single effect의 single data point에 기반하며 따라서 이 single effect의 용량-반응 정보는 인정되지 않는다.

사) 군당 동물수가 적을 경우 통계적 감수성이 감소하여 NOAEL이 더 높아지는 경향이 있다. 이는 더 나은 디자인 더 큰 규모의 시험을 수행하고자 하는 의욕을 저하시키기 때문에 규제기관에서 바라는 것과 반대이다.

### 3) BMD

#### (1) 정의

Haber 등(2018)이 발표한 내용에 근거하여 서론에서 정의되지 않았거나 보충 설명이 필요한 용어에 대하여 추가 기술하였다. BMD는 미리 정의된 변화에 대응하는 노출수준/용량을 결정하는 것을 목표로 한다(Edler, 2014). EFSA에 따르면(Hardy *et al*, 2017) 투여용량과 관찰된 반응에 기반하여 실험데이터에 적절한 수학적 모델을 적용하여 용량-반응 곡선을 유도한다. 연속적인 반응 데이터일때는, 용량이 0일 때의 모델반응에 따라 사전에 정의된 반응이

critical benchmark response(BMR)이고 보통 5%에서 결정한다. 비연속적인 데이터에 대해서는, BMR은 보통 10%로 설정하고 extra risk로 정의한다. 이는 10% 증가는 용량이 0일 때 모델링한 비반응 비율에 따라 배경 발생빈도를 위해 보정되었다는 의미이다. 중요한 것은 용량이 0일때의 배경반응은 연속데이터와 비연속데이터 모두 관찰된 반응이 아닌 모델에 의해 정의된다는 점이다. BMR 값은 일반적으로 비연속데이터는 5%, 연속데이터는 10%를 설정하는데 이는 반응크기는 보통 실험용량범위 이내의 용량에 의해 촉발되기 때문이다. 두 종류의 데이터 모두를 위해 95% 신뢰 interval의 모델 lower bound (benchmark dose lower confidence bound, BMDL)은 사전에 정의된 BMR을 제공하고, 이는 HBGV를 유도하는 reference point(RP)로 사용된다.

- 가) BMR: BMD 모델링은 가변적인 수학적 모델이 실험데이터와 맞도록 하는 것이고 정의된 반응 수준에 대응하는 용량이 정해진다. 그 정의된 반응수준을 BMR이라고한다.
- 나) BMDL: 대부분의 위험성평가(risk assessment)는 BMD에서 하위(lower) 95% confidence limit(신뢰한계)를 적용한다. 이를 BMDL이라고 한다.
- 다) BMDU: 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA)는 전체 신뢰구간(confidence interval)을 적용하는 것을 권장한다. 전체 신뢰구간은 BMD의 상계(upper bound)를 포함한다. BMD의 상계(upper bound)를 BMDU라고 한다.

## (2) 평가방법

- 가) 시험물질의 영향 및 독성을 평가한다.
- 나) 항목별로 용량-반응 모델링을 한다.
- 다) 적절한 BMDL값(주로 BMDL<sub>1</sub>, BMDL<sub>5</sub>, BMDL<sub>10</sub>)을 확인한다.

### (3) 특징

BMD 개념 및 분석사례를 검토하여 다음과 같은 특징이 있음을 확인하였다.

- 가) 1개 항목에 대해 1개의 값을 가진다. 즉, 1개의 시험에서 변화가 관찰된 항목의 수만큼 BMD가 도출된다.
- 나) 독성학적 지식과 BMD 모델링에 대한 통계학적 지식이 요구된다.
- 다) BMD는 규모가 크거나 더 나은 시험모델일 때 더 좋은 결과를 도출한다.

### (4) 장점

Haber 등(Haber et al, 2018)의 보고에 따라 다음과 같이 장점을 정리하였다.

- 가) 용량-반응 곡선을 적용하여 어떤 용량수준이든 도출이 가능하고,
- 나) 전체 용량-반응 곡선을 고려하고, 시험유형에 관계없이 일관된 반응 수준에 근거한다.
- 다) NOAEL보다 BMD는 동물을 좀더 효율적으로 사용할 수 있게 하고 실험에 사용되는 동물에서 더 나은 정보와 평가를 할 수 있도록 한다.
- 라) NOAEL에 비해 BMD는 시험규모를 설명하는데 더 적절하다.
- 마) 동일한 benchmark response를 사용하여 시험간의 비교가 가능하다. 예를 들어 NOAEL을 사용하면 군간 반응에 실제적인 차이가 있어도 통계적인 유의성이 없어 NOAEL이 실제보다 더 높게 설정될 수도 있다.

### (5) 단점

Slob 등(Slob et al, 2005)에 따르면 다음과 같이 단점을 정리할 수 있다.

- 가) OECD TG에 기반한 시험디자인은 용량군의 수가 제한적이므로 BMD를 평가하기에 최적화되지 않았다.
- 나) 벤치마크용량은 완전한 용량-반응 곡선에서 얻어지므로, 용량군의 수와 군당 동물 개체 수에 영향을 받는다.

#### 4) NOAEL과 BMD의 공통 특징

- (1) 항목별 및 성별로 독성 및 영향 평가를 먼저 실시해야 한다.
- (2) 사전 지식과 훈련이 필요하다.

## 2. BMD 분석 수행가능성 평가

### 1) BMD 모델링 도구의 종류 및 선택

네덜란드 RIVM에서 개발하여 배포중인 PROAST와 미국 EPA에서 개발한 BMDS를 비교하였다(Davis et al)[표Ⅲ-1]. PROAST와 BMDS는 RIVM과 EPA 홈페이지에서 각각 무료로 배포되고 있으며, 분석결과에서도 큰 차이는 없는 것으로 알려져 있다. 다만 사용자 환경 측면에서 차이점이 있는데 BMDS는 운영체제로 윈도우를 사용하는 반면 PROAST는 리눅스와 Mac OS X를 사용하며, BMDS는 엑셀을 기반으로 하나 PROAST는 R을 기반으로 한다. 둘다 흡입독성시험에서 발생하는 데이터의 형태인 연속형과 비연속형 데이터의 분석이 가능하다. 따라서 본 연구에서는 운영체제나 기반프로그램등의 사용자 편의성, 결과의 신뢰성, 분석가능한 데이터의 유형 등을 고려하여, 별도의 프로그램 설치나 추가 학습 요구성이 낮고 모델링 결과에 신뢰성이 있으며 연속형 및 비연속형 데이터의 분석이 모두 가능하다는 점에서 BMDS를 이용하기로 하였다.

〈표 III-1〉 BMDS vs PROAST

특징	BMDS	PROAST
개발사	미국 EPA	네덜란드 RIVM
운영체제	Windows	Linux, MacOS X
기반프로그램	엑셀	R
사용자 인터페이스	GUI(graphical user interface)	메뉴 및 GUI
연속형 데이터	가능	가능
비연속형 데이터	가능	가능 (메뉴 버전에서)
무리(nest) 연속형 데이터	불가능	가능
무리(nest) 비연속형 데이터	가능	가능
순서형 데이터	범주형 회귀 프로그램이 구현됨	가능
BMDU 계산	불가능. 단계형암 모델만 가능	가능
분포 연속데이터의 기본값 추정	normal	Log-normal

## 2) BMDS (Gift J et al, 2020)

### (1) BMDS는 무엇인가

BMDS는 용량-반응 모델링을 용이하게 하는 응용프로그램으로 excel 기반의 사용자 인터페이스를 사용한다.

#### 가) 용량-반응 모델링

용량-반응 모델링은 노출(용량)과 생물학적 결과를 양적으로 연관시키기 위해 독성학 및 유해성평가(risk assessment)에서 자주 사용하는 기술이다. 두 개

이상의 변수간의 관계를 탐색하거나 나타내는 데 사용되는 통계적 기법인 정교한 회귀 형식으로 생각할 수 있다. 용량-반응 맥락에서 용량 용어(예: 하루 체중 kg당 화학물질 mg)는 종종 반응의 "원인"으로 간주된다(예: 종양의 존재 또는 질병의 다른 징후 또는 측정 노출의 독성 영향에 취약할 수 있는 일부 장기의 무게). BMDs는 사용자가 선택 또는 비교할 수 있는 수많은 용량-반응 모델을 함께 수집하고 쉽게 액세스하여 용량과 반응 간의 정량적 관계에 대한 예측을 할 수 있도록 한다. 이 소프트웨어의 한 가지 특정 초점은 이러한 추정치에 대한 경계(예: 95% 신뢰 구간)를 포함한 벤치마크 선량(BMD) 추정이다. BMD는 정의된 크기의 반응 수준을 유발하는 것으로 추정되는 용량이다. 온라인 BMDs 용어집은 BMD를 다음과 같이 정의한다.

BMD(Benchmark dose, 기준용량)  
 일반적으로 1%에서 10% 범위의 건강 영향에 대해 지정된 낮은 위험 발생률과 관련된 물질의 복용으로 인한 노출 또는 생물학적 영향의 특정 변화와 관련된 용량.

#### 나) 모델링된 반응의 유형

용량 반응 모델링의 또 다른 주요 측면은 모델, 통계적 가정 및 사용하는 기술이 고려 중인 반응 유형에 따라 달라진다는 것이다. BMDs의 경우 별도의 고유한 모델링 접근 방식이 적용되는 세 가지 유형의 반응으로 분류할 수 있다.

- 연속형 종말점(continuous endpoint): 반응이 연속 척도로 측정되므로 유효한 값은 실수이다(종종 양수 값으로 제한되지만 항상 그런 것은 아님). 장기 무게, 체중, 생물학적 지표의 농도 수준 등이 이에 속한다.
- 이분형 종말점(dichotomous endpoint): 여기에서 반응은 질병 상태의 존재 또는 부재 또는 시스템 오작동의 기타 "카운터"이다. 이 경우 각 실험 단위는 변화가 있다/없다로 구분된다. 이분법 용량-반응 모델은 반응이 있는 단위의 비율을 예측한다. 종양 반응은 BMDs 다종양 모델에서 자동화

되는 암 특이적 모델 선택 고려 사항이 있는 이분법적 종말점의 하위 범주에 속한다.

- 동지 이분형 종말점(nested dichotomous endpoint): 이분법적 종점의 경우 질병 상태 또는 카운터의 유무가 반응이 된다. 그러나 이 경우 각 실험 단위에는 개수가 두 개 이상 있을 수 있다. 즉, 카운트는 실험 단위 내에 중첩된다. 이러한 종말점의 가장 일반적인 예는 실험 단위가 임신한 어미이고 각 어미의 한배새끼의 태아 또는 자손에 영향(예: 기형)의 유무를 조사하는 발달 독성 시험이다.

종합적으로, 데이터에 수학적 모델을 맞추는 방법의 적용을 BMD 모델링 또는 BMD 접근이라고 한다. BMD는 하나 이상의 용량 반응 데이터 세트에서 여러 모델을 실행하여 BMD 모델링을 용이하게 하는 도구이다.

#### 다) 모델링 결과의 표현

모델링 결과는 인쇄, 저장이 가능하고 다른 문서에 통합할 수 있는 텍스트 및 그래픽 형태로 출력된다. 모든 모델링의 결과는 다음의 정보가 포함된다.

- 사용자가 선택한 모델링 실행 옵션
- Goodness-of-fit 정보
- BMD
- BMD에 대한 bound(예: 신뢰 한계)의 추정값(각각 하한 및 상한에 대해 BMDL 및 BMDU로 표기됨).

#### (2) EPA는 BMD를 어떻게 사용하는가

EPA는 BMD 방법을 사용하여 인체 건강 영향에 대한 표준을 설정하기 위해 다른 과학적 정보와 함께 사용되는 RfD, RfC 및 기율기 계수와 같은 위험 추정치를 도출한다. BMD와 같은 도구를 사용하기 전에는 NOAEL을 활용하였다.

### (3) BMDS 개발 이력

BMDS 개발은 1995년에 시작되었으며 첫 번째 BMDS 프로토타입은 1997년에 EPA에서 내부적으로 검토되었다. 1998~1999년에 외부 및 공개 검토와 1999~2000년에 광범위한 품질 보증 테스트를 거쳐 BMDS의 첫 번째 공개 버전인 BMDS 1.2는 2000년 4월에 공개되었다.

## 3) BMD 분석 시험의 선택

### (1) 기 수행시험 결과의 분석

흡입독성시험센터 설립 후 본격적으로 흡입독성시험을 시작한 2016년부터 최근 2021년까지의 6년간 수행한 흡입반복독성시험을 조사하여 [표 III-2]에 나타내었다. 이들 시험 중에서 독성평가가 완료되고 화학물질에 의한 변화가 관찰된 시험을 재분류하여 그 변화가 관찰된 항목 및 농도를 [표 III-3]에 나타내었다.

〈표 III-2〉 흡입독성시험 수행 목록

물질명	CAS No.	동물종	노출 기간	물질영향 여부
Ethyl formate	109-94-4	랫드	13주	유
Cyclohexanone	108-94-1	랫드	4주	무
Cyclohexanone	108-94-1	마우스	4주	무
Tetrachloroethylene	127-18-4	랫드	13주	무
Tetrachloroethylene	127-18-4	랫드	1년	유
Tetrachloroethylene	127-18-4	마우스	13주	유
Tetrachloroethylene	127-18-4	마우스	1년	유
PHMG·HCl	57028-96-3	랫드	13주	유
Cyclohexanone	108-94-1	랫드	13주	유
Cyclohexanone	108-94-1	마우스	13주	무
Cyclohexanone	108-94-1	랫드	2년	무
Cyclohexanone	108-94-1	마우스	1.6년	무
1-Methylnaphthalene	90-12-0	랫드	13주	유
1-Propanol	71-23-8	랫드	4주	무

〈표 Ⅲ-2〉 흡입독성시험 수행 목록(계속)

물질명	CAS No.	동물종	노출 기간	물질영향 여부
1-Propanol	71-23-8	마우스	4주	무
1-Propanol	71-23-8	랫드	13주	무
1-Propanol	71-23-8	마우스	13주	무
PHMG·HCl	57028-96-3	랫드	2주	유
Tetrachloroethylene	127-18-4	랫드	2년	유
Tetrachloroethylene	127-18-4	마우스	1.5년	유
Benzalkonium chloride	63449-41-2	랫드	2주	유
Benzalkonium chloride	63449-41-2	랫드	13주	유
1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	랫드	4주	유
1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	마우스	4주	유
1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	랫드	13주	무
1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	마우스	13주	유
Barium nitrate	10022-31-8	랫드	4주	유
Mono methyl formamide	123-39-7	랫드	13주	유

〈표 III-2〉 흡입독성시험 수행 목록(계속)

물질명	CAS No.	동물종	노출 기간	물질영향 여부
1-Propanol	71-23-8	랫드	2년	진행중
1-Propanol	71-23-8	마우스	1.5년	무
Mono methyl formamide	123-39-7	랫드	2주	유
2-Methoxy-1-propanol	1589-47-5	랫드	4주	무
2-Methoxy-1-propanol	1589-47-5	마우스	4주	무
2-Methoxy-1-propanol	1589-47-5	랫드	13주	무
2-Methoxy-1-propanol	1589-47-5	마우스	13주	무
Dimethyl carbonate	616-38-6	랫드	4주	유
Dimethyl carbonate	616-38-6	랫드	13주	무
Acetyl acetone	75-83-2	랫드	4주	유
Acetyl acetone	75-83-2	랫드	13주	유
1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	랫드	2년	진행중
1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	마우스	1.5년	진행중
2-Methoxyethanol	109-86-4	랫드	4주	유

〈표 Ⅲ-2〉 흡입독성시험 수행 목록(계속)

물질명	CAS No.	동물종	노출 기간	물질영향 여부
2-Methoxyethanol	109-86-4	마우스	4주	유
Anisole	100-66-3	랫드	4주	유
Anisole	100-66-3	랫드	13주	유
2-Methoxyethanol	109-86-4	랫드	13주	무
2-Methoxyethanol	109-86-4	마우스	13주	유
1-Ethoxy-2-propanol	1569-02-4	랫드	4주	무
1-Ethoxy-2-propanol	1569-02-4	랫드	13주	유
Anisole	100-66-3	랫드	2년	진행중
Decane	124-18-5	랫드	4주	유
Decane	124-18-5	랫드	13주	진행중
2-Chlorotoluene	95-49-8	랫드	4주	유
2-Chlorotoluene	95-49-8	랫드	13주	진행중
Heptan-1-ol	111-70-6	랫드	4주	무
1-Chlorobutane	109-69-3	랫드	4주	유
Diethyl benzene	25340-17-4	랫드	4주	무

〈표 III-3〉 흡입 노출물질 용량별 변화여부

물질명	동물종	노출 기간	용량군별 시험물질의 영향이 관찰된 항목
Ethyl formate	랫드	13주	고농도: 체중, 장기중량, 조직병리
			중농도: 조직병리
			저농도: 변화없음
Tetrachloroethylene	랫드	1년	단일농도군: 생화학, 장기중량, 조직병리
Tetrachloroethylene	마우스	13주	단일농도군: 생화학, 장기중량, 조직병리
Tetrachloroethylene	마우스	1년	단일농도군: 혈액, 생화학, 장기중량, 부검, 조직병리
PHMG·HCl	랫드	13주	고농도: 사망율, 조직병리
			중농도: 장기중량, 부검, 조직병리
			저농도: 장기중량
Cyclohexanone	랫드	13주	고농도: 혈액생화학, 조직병리
			중농도: 혈액생화학
			저농도: 변화없음
1-Methylnaphthalene	랫드	13주	고농도: 혈액응고능, 조직병리
			중농도: 조직병리
			저농도: 조직병리
Tetrachloroethylene	랫드	2년	단일농도군: 혈액, 생화학, 장기중량, 부검, 조직병리
Tetrachloroethylene	마우스	1.5년	단일농도군: 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
Benzalkonium chloride	랫드	2주	고농도: 일반증상, 혈액, 생화학, 장기중량, 부검, 조직병리
			중농도: 일반증상, 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
			저농도: 일반증상, 조직병리
Benzalkonium chloride	랫드	13주	고농도: 체중, 일반증상, 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
			중농도: 조직병리
			저농도: 변화 없음

〈표 III-3〉 흡입 노출물질 용량별 변화(계속)

물질명	동물종	노출 기간	용량별 관찰된 변화
1,2-Dichlorobenzene	랫드	4주	고농도: 혈액응고능, 혈액생화학, 장기중량, 조직병리
			중농도: 생화학, 장기중량
			저농도: 장기중량
1,2-Dichlorobenzene	마우스	4주	고농도: 사망율
			중농도: 사망율, 생화학, 조직병리
			저농도: 조직병리
1,2-Dichlorobenzene	마우스	13주	고농도: 체중, 조직병리
			중농도: 체중, 조직병리
			저농도: 조직병리
Barium nitrate	랫드	4주	고농도: 사망율, 체중, 일반증상, 혈액, 생화학, 조직병리
			중농도: 일반증상, 조직병리
			저농도: 조직병리
Mono methyl formamide	랫드	13주	고농도: 일반증상, 체중, 사료섭취량, 혈액, 생화학, 조직병리
			중농도: 생화학
			저농도: 생화학
Mono methyl formamide	랫드	2주	고농도: 사망률, 체중, 사료섭취량, 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
			중농도: 조직병리
			저농도: 변화없음
Dimethyl carbonate	랫드	4주	고농도: 영향없음
			중농도: 영향없음
			저농도: 영향없음
Acetyl acetone	랫드	4주	고농도: 사망률, 체중, 사료섭취량,
			중농도: 체중, 사료섭취량, 조직병리
			저농도: 변화없음
Acetyl acetone	랫드	13주	고농도: 체중, 사료섭취량, 혈액, 조직병리
			중농도: 체중, 혈액
			저농도: 변화없음

〈표 III-3〉 흡입 노출물질 용량별 변화(계속)

물질명	동물종	노출 기간	용량별 관찰된 변화
2-Methoxyethanol	랫드	4주	고농도: 체중, 사료섭취량, 혈액, 생화학, 장기중량, 부검, 병리조직
			중농도: 사료섭취량, 혈액, 생화학, 장기중량, 부검, 조직병리
			저농도: 사료섭취량, 혈액, 장기중량, 조직병리
2-Methoxyethanol	마우스	4주	고농도: 혈액, 장기중량, 부검, 조직병리
			중농도: 장기중량, 조직병리
			저농도: 변화없음
Anisole	랫드	4주	고농도: 체중, 사료섭취량, 장기중량, 조직병리
			중농도: 장기중량, 조직병리
			저농도: 변화없음
Anisole	랫드	13주	고농도: 체중, 일반증상, 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
			중농도: 일반증상, 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
			저농도: 혈액, 장기중량, 조직병리
2-Methoxyethanol	마우스	13주	고농도: 혈액, 생화학, 장기중량, 조직병리
			중농도: 생화학, 장기중량
			저농도: 변화없음
1-Ethoxy-2-propanol	랫드	13주	고농도: 장기중량, 조직병리
			중농도: 장기중량, 조직병리
			저농도: 조직병리
Decane	랫드	4주	진행중
2-Chlorotoluene	랫드	4주	진행중
1-Chlorobutane	랫드	4주	진행중

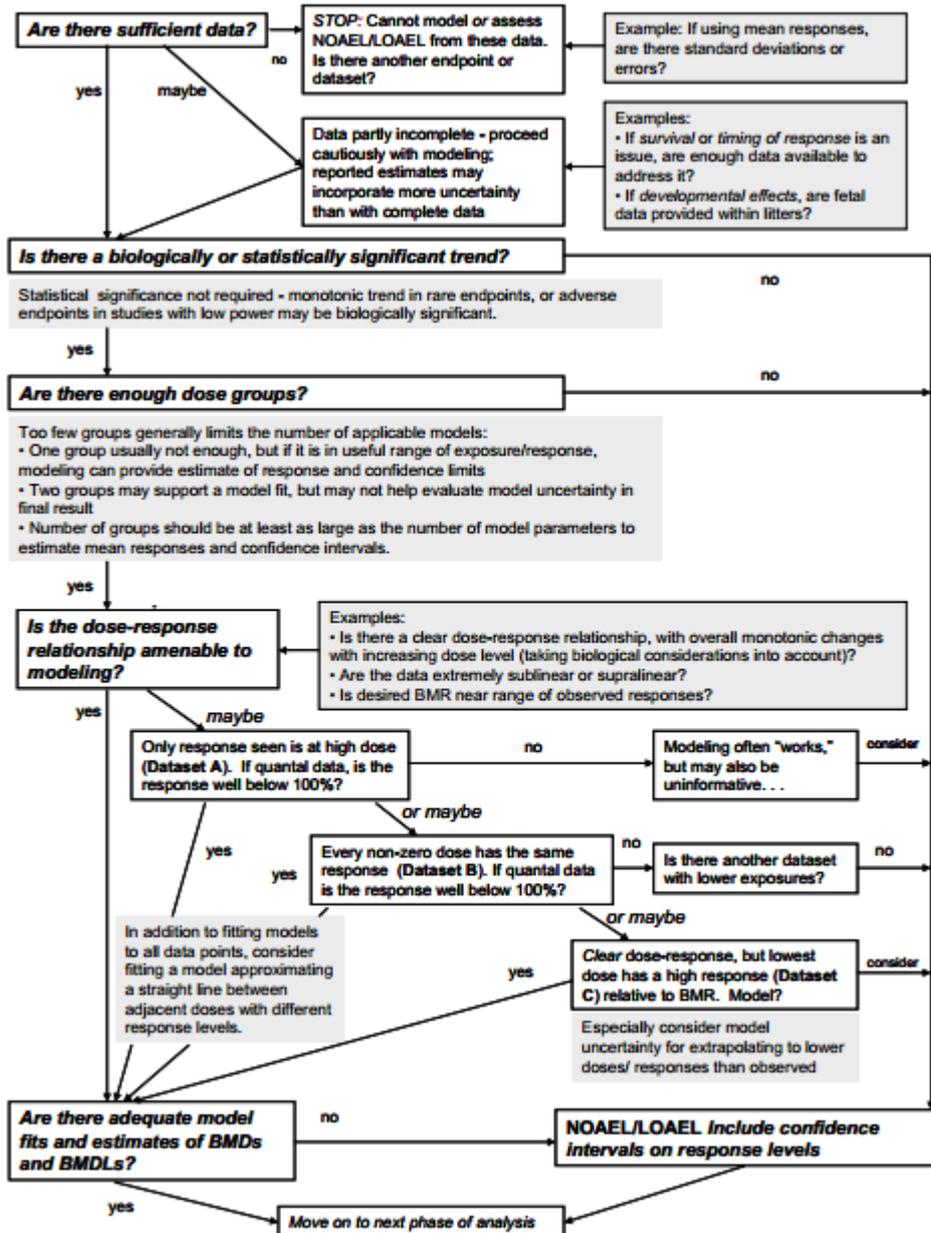
## (2) BMD 분석이 가능한 시험의 조건

EPA에서는 2012년(EPA, 2012) benchmark dose technical guidance를 발표하였고, 그 중에는 BMD 모델링이 가능한지 사전에 데이터를 평가할 수 있는 절차가 제시되어 있다[그림Ⅲ-1]. 이를 통해 분석 가능한 시험(데이터)의 조건을 개략적으로 확인할 수 있으며 다음과 같이 간략히 정리할 수 있다.

- 데이터가 충분해야 한다.
- 의미가 있는(생물학적 또는 통계학적으로) 데이터이어야 한다. 이 때 통계학적 의미는 단순한 통계적 유의성을 의미하지 않는다.
- 용량군이 충분해야 한다.
- 용량-반응 관계 모델링이 가능해야 한다.

구체적으로 BMD 모델링 가능여부의 절차[그림Ⅲ-1]를 살펴보면 먼저 1) 데이터가 충분한지 확인한다. 충분하다면 2) 생물학적 또는 통계적으로 유의한 경향이 있는지 확인한다. 단순한 통계적 유의성은 필요하지 않으며, 종말점에서 한 방향의 변화 경향 또는 검정력이 낮은 시험에서 부작용이 있는 종말점은 생물학적으로 의미가 있다. 그렇다고 한다면 3) 용량군이 충분한지 확인한다. 용량군 수가 너무 적으면 일반적으로 적용 가능한 모델 수가 제한된다. 일반적으로 한 개의 용량군은 충분하지 않지만 노출/반응이 유용한 범위에 있으면 모델링을 통해 반응 및 신뢰 한계의 추정치를 제공할 수 있다. 두개의 용량군은 모델 적합성을 지지할 수 있지만 모델 불확실성을 평가하는데는 도움이 되지 않을 수 있다. 용량군의 수는 평균반응과 신뢰 구간(confidence interval)을 추정하기 위하여 모델 parameter의 수만큼 커야 한다. 용량군이 충분하다면 4) 용량-반응 관계 모델링이 가능한지를 확인한다. 예를 들어 전반적인 용량증가에 따른 명확한 용량의존적인 변화가 있는지, 데이터가 극도의 준선형(sublinear) 또는 초선형(supralinear)인지, 기대했던 BMR이 관찰된 반응의 범위와 가까운가 등이다. 그렇다고 한다면 5) BMDs와 BMDLs에 대한 적절한 model fit과 추정이 있는가를 확인한다. 그렇다고 한다면 모델링을 수행한다. 만약 답변이 NOAEL/LOAEL 이 반응 수준에서 신뢰구간내에 있는지를 확인하여 분석을 진행한다. 처음으로

돌아가서 만약 1)에 대한 답변이 “아니오”라면 모델링은 불가능하며 이 “아니오”라면 데이터에 대해서는 NOAEL/LOAEL을 평가해야 한다. 1)의 확인시에 “아마도”라고 판단한다면 데이터가 부분적으로 불충분한 것이며 조심스럽게 모델링을 진행해볼 수 있다. 추정을 할 때는 완전한 데이터보다는 더 불확실성을 추가해야 할 것이다. 2),3)에서 “아니오”로 판단되면 NOAEL/LOAEL이 반응수준에서 신뢰구간내에 포함되는지를 확인하고 모델링을 진행한다. 4)에서 “아마도”라고 답변하는 경우는 좀더 복잡하다. 이 때는 6) 반응이 고농도에서만 관찰되는지, 비연속형 데이터라면 반응이 100%보다 낮은지를 확인한다. 답변이 “네”라면 5) BMDs와 BMDLs에 대한 적절한 model fit과 추정이 있는지를 확인하고 이후 절차는 동일하게 진행한다. 만약 6)에서도 “아마도”라고 답변한다면 7) 모든 non-zero dose가 같은 반응을 보이는지, 비연속형 데이터라면 반응이 100%보다 낮은지를 확인한다. 만약 7)에서도 “아마도”라고 답변한다면 8) 명확한 용량의존성이 있지만 가장 낮은 용량의 반응이 BMR보다 상대적으로 높은지를 확인한다. 만약 그렇다면 5)의 절차를 검토한다. 6),8)의 단계에서 답변이 “아니오”라면 modeling의 결과에 대해 신뢰성이 낮으므로 modeling을 재검토해보는 것이 좋다. 7)에서 “아니오”로 답변하는 경우에는 NOAEL/LOAEL이 용량반응의 신뢰수준안에 있는지를 확인하고 모델링을 진행한다.



[그림 III-1] BMD모델링 데이터 평가단계  
(출처: Benchmark dose technical guidance(EPA, 2012))

### 3) BMR의 선택

유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA)과 미국 환경보호국(Environmental Protection Agency, EPA)은 이분자료(dichotomous data)에 대한 BMD 결정시 10% 반응 범위(response range)에 초점을 맞추었다. EFSA는 2017년 NOAEL에서의 extra risk의 상한 중앙값(median)은 10%에 가까웠으며 이는 BMDL10이 적절한 기본값이 될 수 있음을 의미한다고 발표했다. 이 범위의 BMRs은 실험데이터의 범위안에 있는 경향이 있으며 따라서 모델의존도를 최소화한다. US EPA는 BMR의 기본값 제공을 피하지만 다음 가이드는 이분형 종말점을 위한 BMR의 선택을 다루고 있다.

- 화학물질 또는 종말점 간의 비교를 위한 비연속데이터(quantal data, 가부 데이터, 계수데이터)에 대해서는 10%의 extra risk가 표준 보고 수준으로 권장된다. 10% 반응 수준은 일반적으로 비교에 사용되었다. 왜냐하면 이는 비교할 수 있는 크기의 대부분의 종양 및 비종양 bioassay에서 감수성의 한계이거나 한계에 가깝기 때문이다. 이 수준은 PODs를 개발하거나 다른 목적을 위한 BMR의 기본값은 아님은 주의해야 한다.
- 생물학적 고려를 통해 몇몇 유형의 효과에 대해서는 5% BMR 혹은 그 보다 낮은 BMR을 사용하거나 참조값에 대한 POD의 기초로써 초기 전구 효과를 위해 10%보다 더 큰 BMR을 사용할 수도 있다.
- 때때로 10%보다 낮은 BMR은 관찰할 수 있는 범위내에 있다. 통계적인 standpoint로부터 대부분의 생식 및 발달시험 디자인은 보통 5% BMR을 선택한다. 1%의 BMR은 전형적으로 epidemiology 시험에서 quantal human data에 사용된다. 만약 한 모델이 관찰할 수 있는 범위내에 있다면, 평가시 불확실성의 정도가 증가한다는 것을 염두에 둘 필요가 있다. 그런 경우에는 BMD와 BMDL은 과도한 일탈로 비교될 수 있다.

#### 4) BMD 분석

BMD 분석이 가능한 시험의 조건을 고려하여 기 수행시험 결과를 분석한 결과를 토대로 BMD 분석 가능여부 및 절차 등을 실제로 확인하기 위하여 실제 BMD 분석을 실시하였다. BMD 분석이 가능한 시험의 조건에 따라 군당 개체수가 10마리로 시험물질에 의한 변화가 있으며 용량군이 3개이고 용량의존적인 변화가 관찰된 시험결과를 선택하였다. 연속형 및 이분형 데이터의 이상적인 분석이 가능하다고 생각되는 2개의 시험을 선택하여 데이터 유형별로 따로 분석하였다.

##### (1) 연속형 데이터의 BMD 분석을 위한 기본 정보

###### 가) 군 당 노출 농도 및 군 당 개체 수

연속형 데이터를 분석하기 위한 시험의 군 당 노출 농도 및 개체 수를 <표 III-4>에 나타내었다.

**<표 III-4> 연속형 데이터의 군구성**

Group	Dose (ppm)	No. of animals	
		Male	Female
Control	0	10	10
T1	10	10	10
T2	30	10	10
T3	90	10	10

나) 노출기간: 13주(90일), 6시간/1일, 5일/1주, 13주

###### 다) 흡입독성 시험 결과

BMD 분석을 위한 흡입독성시험결과 데이터를 아래 <표 III-5>에 나타내었다.

〈표 III-5〉 연속형 데이터의 흡입독성 시험 결과

	Control	T1	T2	T3
Male				
AST	96.56±11.766	96.36±10.649	137.57±14.664	121.96±20.945
ALT	48.95±4.240	49.12±6.115	75.50±14.770	67.49±16.369
BUN	16.84±1.590	16.97±2.318	19.40±2.235	20.16±2.732
TCHO	81.05±7.387	103.29±10.716	132.19±12.186	170.04±12.730
Female				
ALP	263.33±30.379	289.73±22.726	306.20±30.757	344.37±39.556
BUN	18.44±1.676	18.57±2.033	18.76±1.837	22.53±4.923
TCHO	97.52±7.633	111.24±7.140	131.36±8.811	198.64±27.085
ALB	4.36±0.097	4.21±0.173	4.06±0.126	3.90±0.115

AST: Aspartate Aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase,  
ALP: Alkaline phosphatase, BUN: Blood urea nitrogen, TCHO: Total cholesterol

## (2) 연속형 데이터의 BMD 분석 결과

노출한 화학물질에 의한 변화가 관찰되었고 용량의존성이 있다고 판단되는 수컷 AST, ALT, BUN, TCHO, 암컷 BUN, TCHO, ALB에 대해 BMD 분석을 실시하였다.

### 가) 데이터 입력 및 분석조건 설정

BMD를 분석할 데이터세트를 만들고 (그림 III-2) 기본 분석조건을 설정하였다 (그림 III-3). 이에 따라 [그림 III-4]와 같이 decision logic이 결정되고 출력 옵션을 선택하였다([그림 III-5]).

흡입독성시험 결과 활용도 제고를 위한 Benchmark dose 도입 연구

**Left Screenshot (Male Data):**

ALT_M				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean IU/L	Std. Dev. IU/L	
0	10	48.95	4.24	
10	10	49.12	6.115	
30	10	75.5	14.77	
90	10	67.49	16.369	

AST_M				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean IU/L	Std. Dev. IU/L	
0	10	96.56	11.766	
10	10	96.36	10.649	
30	10	137.57	14.664	
90	10	121.96	20.945	

BUN_M				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean mg/dL	Std. Dev. mg/dL	
0	10	16.84	1.59	
10	10	16.97	2.318	
30	10	19.4	2.235	
90	10	20.16	2.732	

TCHO_M				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean mg/dL	Std. Dev. mg/dL	
0	10	81.05	7.387	
10	10	103.29	10.716	
30	10	132.19	12.186	
90	10	170.04	12.73	

**Right Screenshot (Female Data):**

ALP_F				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean IU/L	Std. Dev. IU/L	
0	10	263.33	30.379	
10	10	289.73	22.726	
30	10	306.2	30.757	
90	10	344.37	39.556	

ALB_F				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean g/dL	Std. Dev. g/dL	
0	10	4.36	0.097	
10	10	4.21	0.173	
30	10	4.06	0.126	
90	10	3.9	0.115	

BUN_F				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean mg/dl	Std. Dev. mg/dl	
0	10	18.44	1.676	
10	10	18.57	2.033	
30	10	18.76	1.837	
90	10	22.53	4.923	

TCHO_F				
[Add user notes here]				
Dose ppm	N No. of animals	Mean mg/dl	Std. Dev. mg/dl	
0	10	97.52	7.633	
10	10	111.24	7.14	
30	10	131.36	8.811	
90	10	198.64	27.085	

[그림 III-2] 연속형 데이터입력

**Define Analysis Window:**

Analysis Name: Continuous male

Select Output Directory: D:\유업무과원생연구과제\2022\data\BMDS 분석결과 및 분석데이터\연속형

Analysis Description: Std.Dev/Normal/Non-constant

Select Model Type: Continuous

Buttons: Load Analysis, Save Analysis, Run Analysis

Model Name	MLE		Alternatives		Model Averaging Variance Models		
	Frequentist Restricted	Frequentist Unrestricted	Bayesian (previous)	Bayesian Model Average (previous)	Normal Constant Variance	Nonconstant Variance	Lognormal Constant Variance
Exponential	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%	0.0000%	0.0000%
Hill	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%	0.0000%	0.0000%
Linear	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%	0.0000%	0.0000%
Polynomial	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%	0.0000%	0.0000%
Power	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%	0.0000%	0.0000%
			Total Weight	0.0000%	0.0000%	0.0000%	0.0000%

Option Set #	BMR Type	BMRF	Tail Probability	Confidence Level	Polynomial Restriction	Estimation Distribution	Applies Only to Individual Model Variance
1	Std. Dev.	1	0.11	0.95	[Use dataset adverse direction]	Normal	Non-Constant

[그림 III-3] 연속형 데이터의 분석조건 설정

**BMDs 3.2**  
Model Recommendation Decision Logic

Decision-Logic  
 Recommend model in Viable Bin? TRUE  
 Recommend model in Questionable Bin? FALSE  
 BMDL range deemed "sufficiently close" to use lowest AIC instead of lowest BMDL in viable models: 3  
 Reset To Default Logic

Test Description	Test On/Off			Test Threshold (where appropriate)	Bin Placement if Test is Failed	Notes to Show
	Continuous	Dichotomous	Nested			
BMD calculated	On	On	On	0.05	Unusable Bin	BMD not estimated
BMDL calculated	On	On	On	0.05	Unusable Bin	BMDL not estimated
BMDU calculated	Off	Off	Off	0.05	No Bin Change (Warning)	BMDU not estimated
AIC calculated	On	On	On	0.05	Unusable Bin	AIC not estimated
Constant Variance	On	Off	Off	0.05	Questionable Bin	Constant variance test failed (Test 2 p-value < 0.05)
Non-Constant Variance	On	Off	Off	0.05	Questionable Bin	Non-constant variance test failed (Test 3 p-value < 0.05)
Goodness of fit p-test	On	On	On	0.1	Questionable Bin	Goodness of fit p-value < 0.1
Goodness of fit p-test (cancer)	On	On	On	0.05	Questionable Bin	Goodness of fit p-value < 0.05
Ratio of BMD/BMDL (serious)	On	On	On	20	Questionable Bin	BMD/BMDL ratio > 20
Ratio of BMD/BMDL (caution)	On	On	On	3	No Bin Change (Warning)	BMD/BMDL ratio > 3
Abs(Residual of interest) too large	On	On	On	2	Questionable Bin	Residual for Dose Group Near BMDI  > 2
BMD higher than highest dose	On	On	On	1	No Bin Change (Warning)	BMD higher than maximum dose
BMDL higher than highest dose	On	On	On	1	No Bin Change (Warning)	BMDL higher than maximum dose
BMD lower than lowest dose (warning)	On	On	On	3	No Bin Change (Warning)	BMD 3x lower than lowest non-zero dose
BMDL lower than lowest dose (warning)	On	On	On	3	No Bin Change (Warning)	BMDL 3x lower than lowest non-zero dose
BMD lower than lowest dose (serious)	On	On	On	10	Questionable Bin	BMD 10x lower than lowest non-zero dose
BMDL lower than lowest dose (serious)	On	On	On	10	Questionable Bin	BMDL 10x lower than lowest non-zero dose
Abs(Residual at control) too large	On	On	On	2	No Bin Change (Warning)	Residual at control  > 2
Poor control dose std. dev.	On	Off	Off	1.5	No Bin Change (Warning)	Modeled control response std. dev. > [1.5] actual response std. dev.
D.O.F. equals 0	On	On	On	0	Questionable Bin	d.f.=0, saturated model (Goodness of fit test cannot be calculated)

[그림 III-4] 모델에서 추천하는 Decision Logic

**BMDs 3.2**  
Output Options  
Save Default Output Options

Export Options  
 Output Directory: D:\업무관련\연구과제\2022\data\BMDs 분석결과 및 분석데이터\연속형  
 Choose Model/Analysis Type: Continuous

User Input		Analysis Results	
Export to Excel	Variable	Export to Excel	Variable
<input checked="" type="checkbox"/>	Model Name	<input checked="" type="checkbox"/>	BMD, BMDL, BMDU
<input checked="" type="checkbox"/>	Data File Name	<input checked="" type="checkbox"/>	AIC
<input checked="" type="checkbox"/>	Description/Notes	<input checked="" type="checkbox"/>	Test 4 P-value
<input checked="" type="checkbox"/>	Dose Reponse	<input checked="" type="checkbox"/>	Degrees Of Freedom (D.O.F.)
<input checked="" type="checkbox"/>	Variance Model	<input checked="" type="checkbox"/>	Number of Parameters in Model
<input checked="" type="checkbox"/>	Dataset	<input checked="" type="checkbox"/>	Parameter Estimates (MLE)
<input checked="" type="checkbox"/>	BMR Type	<input type="checkbox"/>	Parameter Standard Errors
<input checked="" type="checkbox"/>	BMRF	<input checked="" type="checkbox"/>	Goodness of Fit
<input checked="" type="checkbox"/>	Tail Probability	<input checked="" type="checkbox"/>	Likelihoods of Interest
<input checked="" type="checkbox"/>	Confidence Level	<input checked="" type="checkbox"/>	Tests of Interest
<input checked="" type="checkbox"/>	Distribution Type	<input checked="" type="checkbox"/>	Cumulative Distribution Function (CDF)
<input checked="" type="checkbox"/>	Variance Type		
<input checked="" type="checkbox"/>	Total Number of Dose Groups/Observations		
<input checked="" type="checkbox"/>	Dependent Variable		
<input checked="" type="checkbox"/>	Independent Variable		
<input checked="" type="checkbox"/>	Adverse Direction		

[그림 III-5] 출력 옵션의 선택

## 나) BMD 분석 모델

수컷 AST, ALT, BUN, TCHO, 암컷 BUN, TCHO, ALB의 BMD 분석결과, 각 항목별 가장 적합한 모델은 순서대로 다음 <표 III-6>와 같았다.

**<표 III-6> BMDS 3.2에서 제시한 항목별 가장 적합한 모델**

항목	BMDS 모델
수컷 AST	frequentist Hill v1.1
수컷 ALT	적합모델 없음. BMD 분석 불가.
수컷 BUN	frequentist Exponential degree 4 v1.1
수컷 TCHO	frequentist Exponential degree 5 v1.1
암컷 ALP	frequentist Hill v1.1
암컷 BUN	frequentist Polynomial degree 2 v1.1
암컷 TCHO	frequentist Polynomial degree 2 v1.1
암컷 ALB	frequentist Hill v1.1

## 다) 수컷 AST

수컷 AST의 BMD 분석 결과는 [그림 III-6, III-7] 및 <표 III-7>에 간략히 나타내었다.

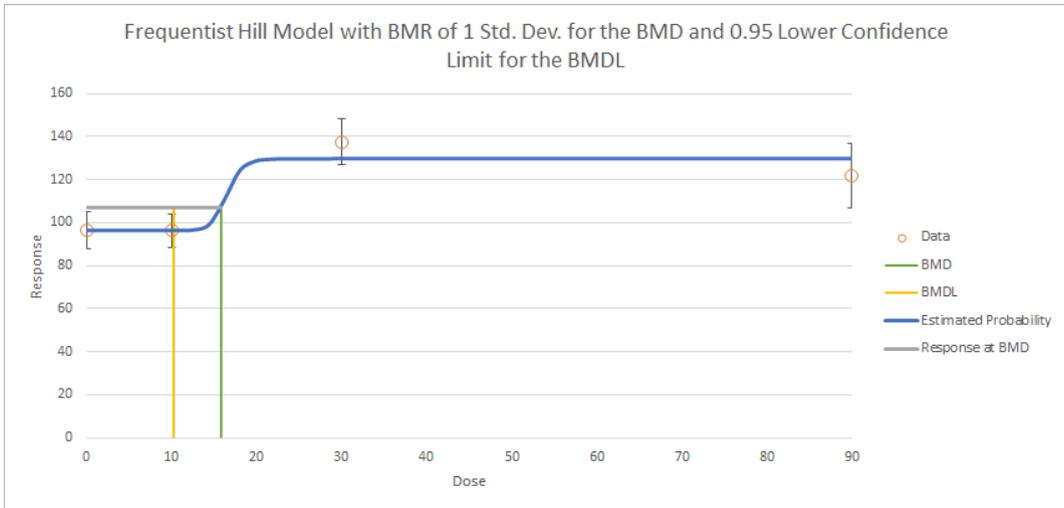
<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Hill v1.1
Dataset Name	AST_M
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = g + v \cdot \text{dose}^n / (k^n + \text{dose}^n)$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \alpha \cdot \text{mean}[i]^\rho$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	IU/L
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-6] 수컷 AST의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-7> 수컷 AST의 BMD 분석 결과

<b>Benchmark Dose</b>	
BMD	15.78252559
BMDL	10.26573992
BMDU	26.29458284
AIC	335.570752
Test 4 P-value	0.123588227
D.O.F.	1

[그림 III-7] 수컷 AST의 BMD 분석 결과



라) 수컷 BUN

수컷 BUN의 BMD 분석 결과는 [그림 III-8, III-9] 및 <표 III-8>에 간략히 나타내었다.

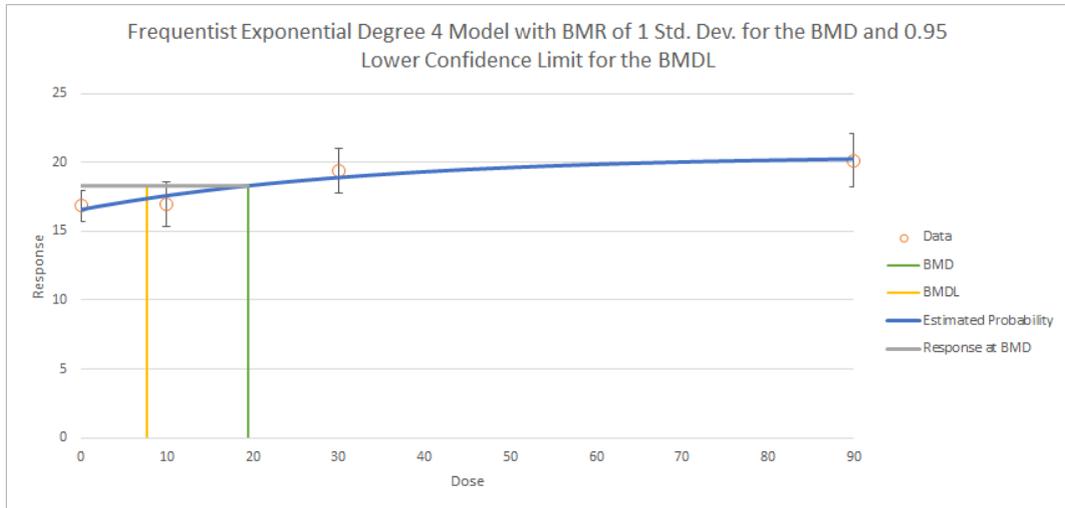
<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Exponential degree 4 v1.1
Dataset Name	BUN_M
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = a * [c - (c-1) * \exp(-b * \text{dose})]$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \exp(\log\text{-alpha} + \log(\text{mean}[i]) * \rho)$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	mg/dL
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-8] 수컷 BUN의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-8> 수컷 BUN의 BMD 분석 결과

<b>Benchmark Dose</b>	
BMD	19.42434311
BMDL	7.734424239
BMDU	62.41164966
AIC	184.0290223
Test 4 P-value	0.307767998
D.O.F.	1

[그림 III-9] 수컷 BUN의 BMD 분석 결과



마) 수컷 TCHO

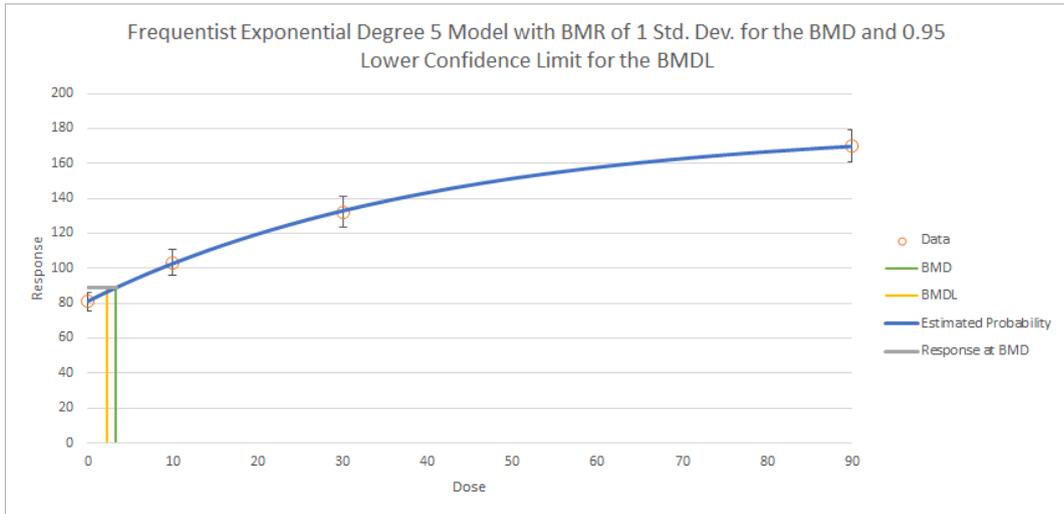
수컷 TCHO의 BMD 분석 결과는 [그림 III-10, III-11] 및 <표 III-9>에 간략히 나타내었다.

User Input	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Exponential degree 5 v1.1
Dataset Name	TCHO_M
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = a * [c - (c - 1) * \exp(-b * \text{dose})^d]$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \exp(\log\text{-alpha} + \log(\text{mean}[i]) * \rho)$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	mg/dL
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-10] 수컷 TCHO의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-9> 수컷 TCHO의 BMD 분석 결과

Benchmark Dose	
BMD	3.342354298
BMDL	2.26916667
BMDU	6.262028267
AIC	308.293328
Test 4 P-value	0.755728583
D.O.F.	1



[그림 III-11] 수컷 TCHO의 BMD 분석 결과

바) 암컷 ALP

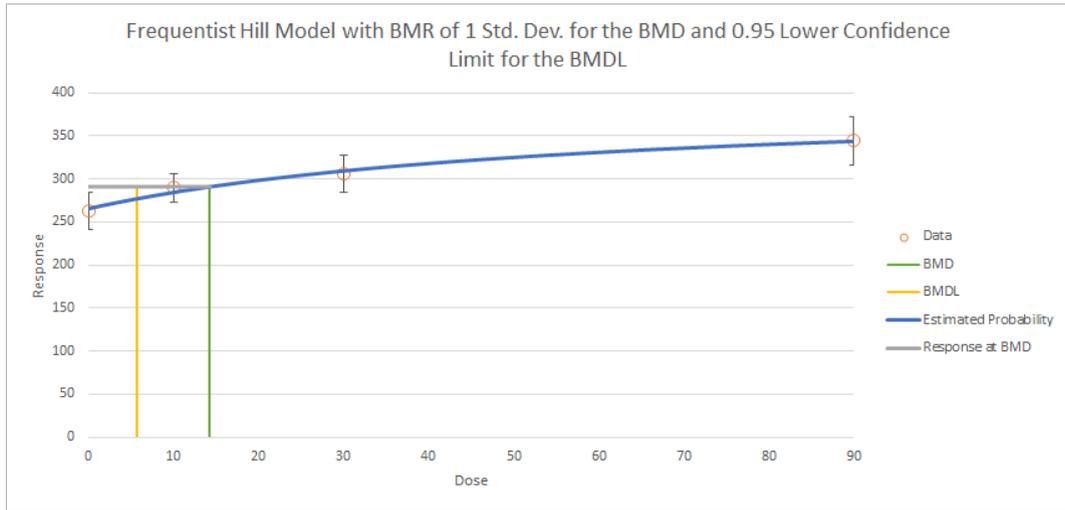
암컷 ALP의 BMD 분석 결과는 [그림 III-12, III-13] 및 <표 III-10>에 간략히 나타내었다.

<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Hill v1.1
Dataset Name	ALP_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = g + v \cdot \text{dose}^n / (k^n + \text{dose}^n)$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \alpha \cdot \text{mean}[i]^\rho$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	IU/L
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-12] 암컷 ALP의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-10> 암컷 ALP의 BMD 분석 결과

<b>Benchmark Dose</b>	
BMD	14.25444578
BMDL	5.744790846
BMDU	38.61554567
AIC	394.2325795
Test 4 P-value	0.539200402
D.O.F.	1



[그림 III-13] 암컷 ALP의 BMD 분석 결과

사) 암컷 BUN

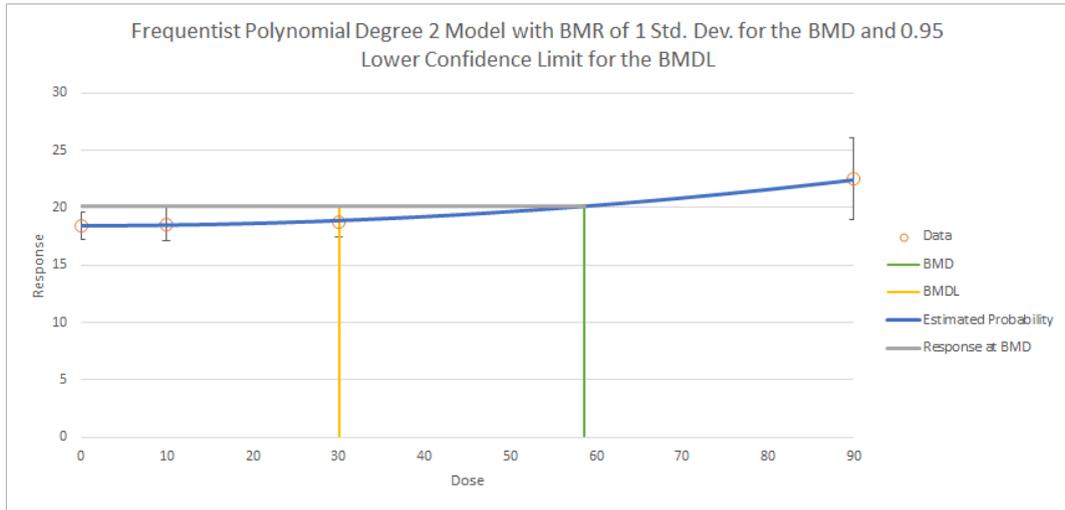
암컷 BUN의 BMD 분석 결과는 [그림 III-14, III-15] 및 <표 III-11>에 간략히 나타내었다.

<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Polynomial degree 2 v1.1
Dataset Name	BUN_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = g + b1*\text{dose} + b2*\text{dose}^2 + \dots$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \alpha * \text{mean}[i]^\rho$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	mg/dl
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-14] 암컷 BUN의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-11> 암컷 BUN의 BMD 분석 결과

<b>Benchmark Dose</b>	
BMD	58.58665466
BMDL	30.11982185
BMDU	101.1405082
AIC	186.4631338
Test 4 P-value	0.825932143
D.O.F.	2



[그림 III-15] 암컷 BUN의 BMD 분석 결과

아) 암컷 TCHO

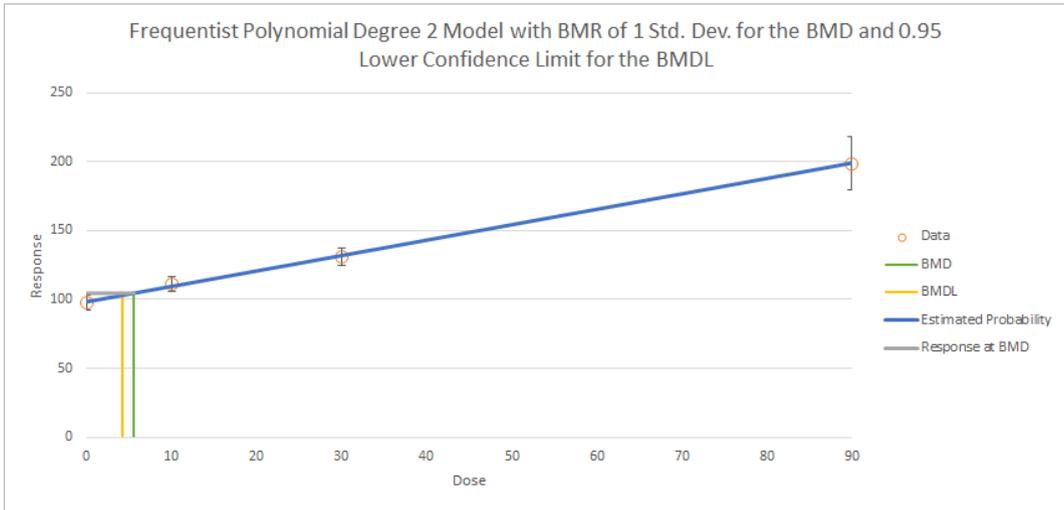
암컷 TCHO의 BMD 분석 결과는 [그림 III-16, III-17] 및 <그림 III-12>에 간략히 나타내었다.

<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Polynomial degree 2 v1.1
Dataset Name	TCHO_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = g + b1*\text{dose} + b2*\text{dose}^2 + \dots$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \alpha * \text{mean}[i]^\rho$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	mg/dl
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-16] 암컷 TCHO의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-12> 암컷 TCHO의 BMD 분석 결과

<b>Benchmark Dose</b>	
BMD	5.557676554
BMDL	4.262689221
BMDU	8.646545039
AIC	309.537499
Test 4 P-value	0.745354519
D.O.F.	2



[그림 III-17] 암컷 TCHO의 BMD 분석 결과

자) 암컷 ALB

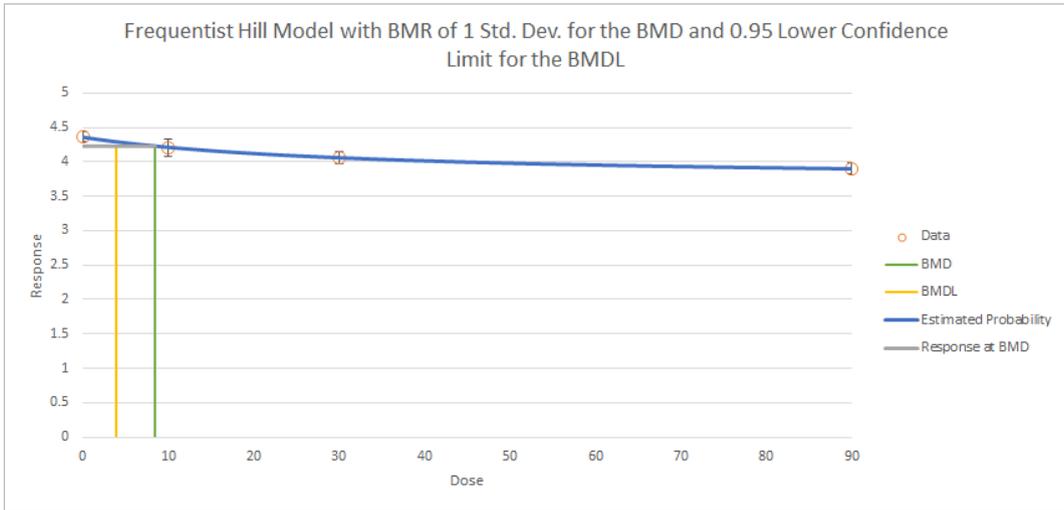
암컷 ALB의 BMD 분석 결과는 [그림 III-18, III-19] 및 <표 III-13>에 간략히 나타내었다.

<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Hill v1.1
Dataset Name	ALB_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$M[\text{dose}] = g + v \cdot \text{dose}^n / (k^n + \text{dose}^n)$
Variance Model	$\text{Var}[i] = \alpha \cdot \text{mean}[i]^\rho$
<b>Model Options</b>	
BMR Type	Std. Dev.
BMRF	1
Tail Probability	-
Confidence Level	0.95
Distribution Type	Normal
Variance Type	Non-Constant
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	g/dL
Total # of Observations	4
Adverse Direction	Automatic

[그림 III-18] 암컷 ALB의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-13> 암컷 ALB의 BMD 분석 결과

<b>Benchmark Dose</b>	
BMD	8.469000538
BMDL	3.928251384
BMDU	20.57938024
AIC	-43.43782912
Test 4 P-value	0.945863385
D.O.F.	1



[그림 III-19] 암컷 ALB의 BMD 분석 결과

(2) 이분형 데이터의 BMD 분석을 위한 기본 정보

가) 군 당 노출 농도 및 군 당 개체 수

<표 III-14> 이분형 데이터의 군구성

Group	Dose (ppm)	No. of animals	
		Male	Female
Control	0	10	10
T1	400	10	10
T2	800	10	10
T3	1200	10	10

나) 노출기간: 13주(90일), 6시간/1일, 5일/1주, 13주

다) 흡입독성 시험 결과

BMD 분석을 위한 흡입독성시험결과 데이터를 아래 <표 III-15>에 나타내었다.

〈표 III-15〉 이분형 데이터의 흡입독성 시험 결과

Harderian gland	Control	T1	T2	T3
Male				
Degeneration/regeneration	0	0	8	10
Increased single cell necrosis, acinar cell	0	1	5	5
Female				
Degeneration/regeneration	0	5	10	10
Increased single cell necrosis, acinar cell	0	5	9	10
Inflammatory cell infiltration, interstitial	0	1	5	9

### (3) 이분형 데이터의 BMD 분석 결과

노출한 화학물질에 의한 변화가 관찰된 암수 하더선의 병변에 대하여 BMD 분석을 실시하였다.

#### 가) 데이터 입력 및 분석조건 설정

연속형 데이터와 마찬가지로 BMD를 분석할 데이터세트를 만들고 ([그림 III-20]) 기본 분석조건을 설정하였다([그림 III-21]). 이에 따라 [그림 III-22]와 같이 decision logic이 결정되고 출력옵션을 선택하였다([그림 III-23])

The screenshot shows a web interface with the following components:

- Logos:** EPA (United States Environmental Protection Agency), CDC (Centers for Disease Control and Prevention), and NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health).
- Buttons:**
  - Insert New Dataset** <-- Click here to insert a new dataset
  - Import Dataset** <-- Click here to import a dataset
- Data Tables:**
  - Harder\_Degeneration\_M:**

Harder_Degeneration_M		
[Add user notes here]		
Dose	N	Incidence
ppm	No. of animals	No. of animals
0	10	0
400	10	0
800	10	8
1200	10	10
  - Harder\_Degeneration\_F:**

Harder_Degeneration_F		
[Add user notes here]		
Dose	N	Incidence
ppm	No. of animals	No. of animals
0	10	0
400	10	5
800	10	10
1200	10	10
  - Harder\_Inflammatory\_F:**

Harder_Inflammatory_F		
[Add user notes here]		
Dose	N	Incidence
ppm	No. of animals	No. of animals
0	10	0
400	10	1
800	10	5
1200	10	9
  - Harder\_sngle cell\_M:**

Harder_sngle cell_M		
[Add user notes here]		
Dose	N	Incidence
ppm	No. of animals	No. of animals
0	10	0
400	10	1
800	10	5
1200	10	5
  - Harder\_sngle cell\_F:**

Harder_sngle cell_F		
[Add user notes here]		
Dose	N	Incidence
ppm	No. of animals	No. of animals
0	10	0
400	10	5
800	10	9
1200	10	10

[그림 III-20] 양분형 데이터입력

**Define Analysis**

Analysis Name:

Select Output Directory: D:\업무관련부연구과제\2022\data\BMDs 분석결과 및 분석데이터\부이분형

Analysis Description: Extra

Select Model Type: Dichotomous

Buttons: Load Analysis, Save Analysis, Run Analysis

Model Name	MLE		Alternatives		Prior Weights
	Frequentist Restricted	Frequentist Unrestricted	Bayesian	Bayesian Model Average	
Dichotomous Hill	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Gamma	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Logistic	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Log-Logistic	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Log-Probit	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Multistage	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Probit	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Quantal Linear	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Weibull	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.0000%
Total Weight					0.000%

Option Set #	Risk Type	BMR	Confidence Level	Background
1	Extra Risk	0.1	0.95	Estimated

Add Option Set

Enable	DataSets
<input checked="" type="checkbox"/>	Harder_Degeneration_M
<input checked="" type="checkbox"/>	Harder_single_cell_M
<input checked="" type="checkbox"/>	Harder_Degeneration_F
<input checked="" type="checkbox"/>	Harder_Inflammatory_F
<input checked="" type="checkbox"/>	Harder_single_cell_F

[그림 III-21] 양분형 데이터의 분석조건 설정

**Model Recommendation Decision Logic**

Decision-Logic

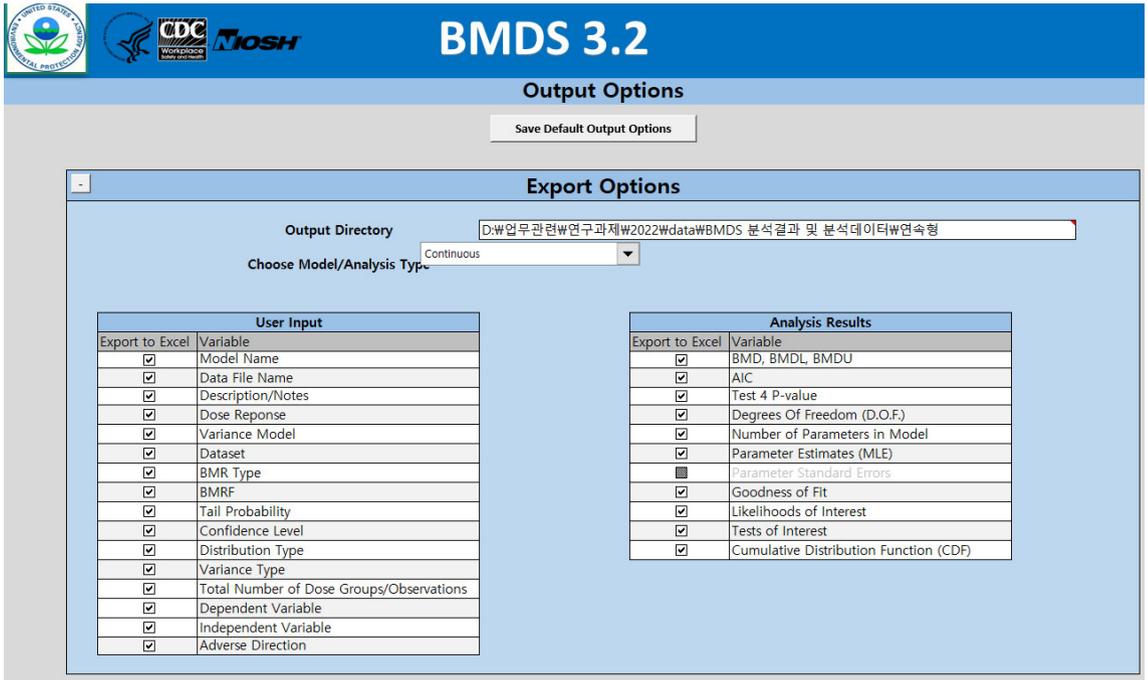
Recommend model in Viable Bin?	TRUE
Recommend model in Questionable Bin?	FALSE
BMDL range deemed "sufficiently close" to use lowest AIC instead of lowest BMDL in viable models:	3

Reset To Default Logic

Model Recommendation/Bin Placement Logic

Test Description	Test On/Off			Test Threshold (where appropriate)	Bin Placement if Test is Failed	Notes to Show
	Continuous	Dichotomous	Nested			
BMD calculated	On	On	On	N/A	Unusable Bin	BMD not estimated
BMDL calculated	On	On	On	N/A	Unusable Bin	BMDL not estimated
BMDU calculated	Off	Off	Off	N/A	No Bin Change (Warning)	BMDU not estimated
AIC calculated	On	On	On	N/A	Unusable Bin	AIC not estimated
Constant Variance	On	Off	Off	0.05	Questionable Bin	Constant variance test failed (Test 2 p-value < 0.05)
Non-Constant Variance	On	Off	Off	0.05	Questionable Bin	Non-constant variance test failed (Test 3 p-value < 0.05)
Goodness of fit p-test	On	On	On	0.1	Questionable Bin	Goodness of fit p-value < 0.1
Goodness of fit p-test (cancer)	On	On	On	0.05	Questionable Bin	Goodness of fit p-value < 0.05
Ratio of BMD/BMDL (serious)	On	On	On	20	Questionable Bin	BMD/BMDL ratio > 20
Ratio of BMD/BMDL (caution)	On	On	On	3	No Bin Change (Warning)	BMD/BMDL ratio > 3
Abs(Residual of interest) too large	On	On	On	2	Questionable Bin	Residual for Dose Group Near BMD  > 2
BMD higher than highest dose	On	On	On	1	No Bin Change (Warning)	BMD higher than maximum dose
BMDL higher than highest dose	On	On	On	1	No Bin Change (Warning)	BMDL higher than maximum dose
BMD lower than lowest dose (warning)	On	On	On	3	No Bin Change (Warning)	BMD 3x lower than lowest non-zero dose
BMDL lower than lowest dose (warning)	On	On	On	3	No Bin Change (Warning)	BMDL 3x lower than lowest non-zero dose
BMD lower than lowest dose (serious)	On	On	On	10	Questionable Bin	BMD 10x lower than lowest non-zero dose
BMDL lower than lowest dose (serious)	On	On	On	10	Questionable Bin	BMDL 10x lower than lowest non-zero dose
Abs(Residual at control) too large	On	On	On	2	No Bin Change (Warning)	Residual at control  > 2
Poor control dose std. dev.	On	Off	Off	1.5	No Bin Change (Warning)	Modeled control response std. dev. > 1.5 actual response std. dev.
D.O.F. equals 0	On	On	On	N/A	Questionable Bin	d.f.=0, saturated model (Goodness of fit test cannot be calculated)

[그림 III-22] 모델에서 추천하는 Decision Logic



[그림 III-23] 출력 옵션의 선택

나) BMD 분석 모델

암수 하더선의 각 병변에 대한 BMD 분석결과, 각 항목별 가장 적합한 모델은 순서대로 다음 <표 III-16>과 같았다.

<표 III-16> BMDS 3.2에서 제시한 항목별 가장 적합한 모델

항목	BMDS · 모델
수컷 Degeneration/regeneration	frequentist Probit v1.1
수컷 Increased single cell necrosis	frequentist Log-Logistic v1.1
암컷 Degeneration/regeneration	frequentist Logistic v1.1
암컷 Increased single cell necrosis	frequentist Probit v1.1
암컷 Inflammatory cell infiltration	frequentist Multistage degree 1 v1.1

다) 수컷 Degeneration/Regeneration

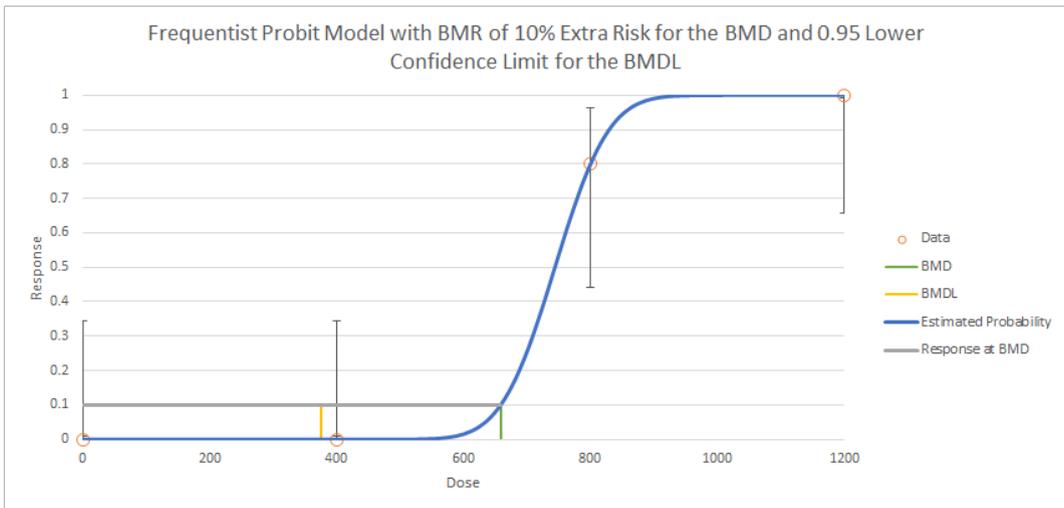
수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과는 [그림 III-24, III-25] 및 <표 III-17>에 간략히 나타내었다.

<b>User Input</b>	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Probit v1.1
Dataset Name	Harder_Degeneration_M
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$P[\text{dose}] = \text{CumNorm}(a + b \cdot \text{Dose})$
<b>Model Options</b>	
Risk Type	Extra Risk
BMR	0.1
Confidence Level	0.95
Background	Estimated
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	No_of_animals
Total # of Observations	4

[그림 III-24] 수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 모델 정보

〈표 III-17〉 수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과

Benchmark Dose	
BMD	658.4552285
BMDL	375.6653796
BMDU	705.7662709
AIC	12.00805096
P-value	1
D.O.F.	3
Chi <sup>2</sup>	1.24553E-06



[그림 III-25] 수컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과

라) 수컷 Increased single cell necrosis

수컷 Increased single cell necrosis에 대한 BMD 분석 결과는 [그림 III-26, III-27] 및 〈표 III-18〉에 간략히 나타내었다.

User Input	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Log-Logistic v1.1
Dataset Name	Harder_sngle cell_M
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$P[\text{dose}] = g + (1-g) / [1 + \exp(-a-b \cdot \text{Log}(\text{dose}))]$
<b>Model Options</b>	
Risk Type	Extra Risk
BMR	0.1
Confidence Level	0.95
Background	Estimated
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	No._of_animals
Total # of Observations	4

[그림 III-26] 수컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-18> 수컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과

Benchmark Dose	
BMD	322.9602036
BMDL	85.8067501
BMDU	562.51104
AIC	41.16840691
P-value	0.33122476
D.O.F.	1
Chi <sup>2</sup>	0.944103485



[그림 III-27] 수컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과

마) 암컷 Degeneration/Regeneration

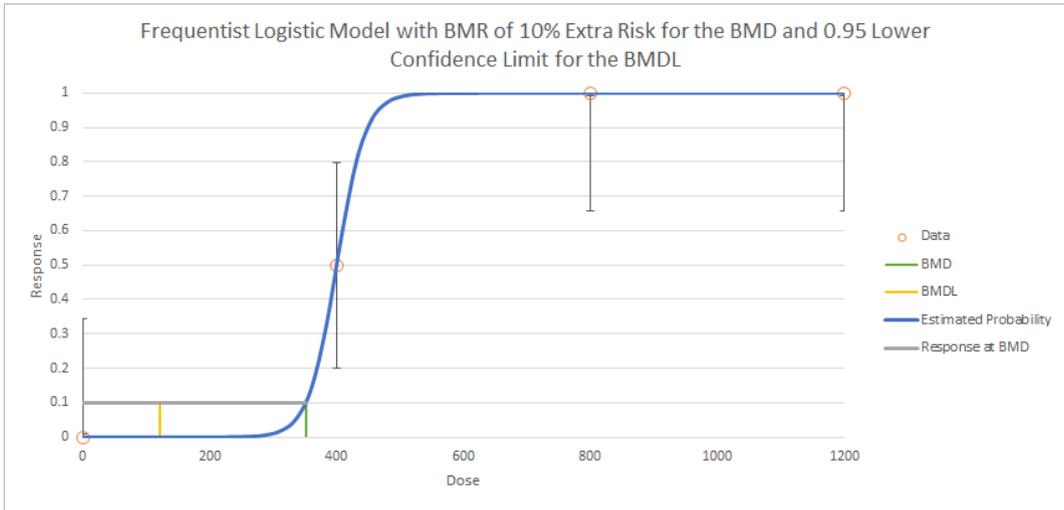
암컷 Degeneration/Regeneration에 대한 BMD 분석 결과는 [그림 III-28, III-29] 및 <표 III-18>에 간략히 나타내었다.

User Input	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Logistic v1.1
Dataset Name	Harder_Degeneration_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$P[\text{dose}] = 1/[1 + \exp(-a-b*\text{dose})]$
<b>Model Options</b>	
Risk Type	Extra Risk
BMR	0.1
Confidence Level	0.95
Background	Estimated
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	No._of_animals
Total # of Observations	4

[그림 III-28] 암컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-19> 암컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과

Benchmark Dose	
BMD	351.1727895
BMDL	121.19046
BMDU	373.250755
AIC	15.86294422
P-value	1
D.O.F.	3
Chi <sup>2</sup>	3.046E-07



[그림 III-29] 암컷 Degeneration/Regeneration의 BMD 분석 결과

바) 암컷 Increased single cell necrosis

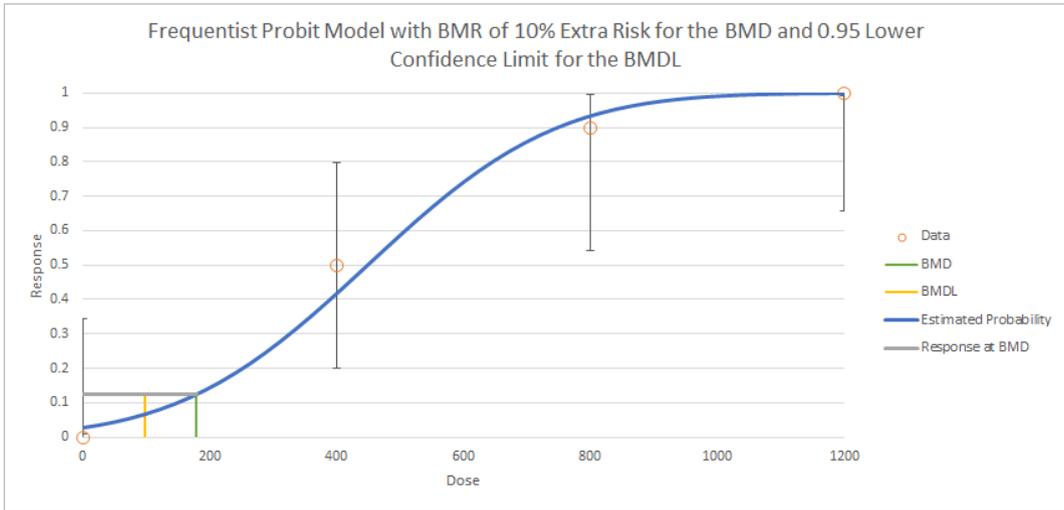
암컷 Increased single cell necrosis에 대한 BMD 분석 결과는 [그림 III-30, III-31] 및 <표 III-20>에 간략히 나타내었다.

User Input	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Probit v1.1
Dataset Name	Harder_sngle cell_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	$P[\text{dose}] = \text{CumNorm}(a + b \cdot \text{Dose})$
<b>Model Options</b>	
Risk Type	Extra Risk
BMR	0.1
Confidence Level	0.95
Background	Estimated
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	No._of_animals
Total # of Observations	4

[그림 III-30] 암컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-20> 암컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과

Benchmark Dose	
BMD	179.4324698
BMDL	98.71551909
BMDU	306.4066785
AIC	25.36946211
P-value	0.687308138
D.O.F.	2
Chi <sup>2</sup>	0.749945119



[그림 III-31] 암컷 Increased single cell necrosis의 BMD 분석 결과

다) 암컷 Inflammatory cell infiltration

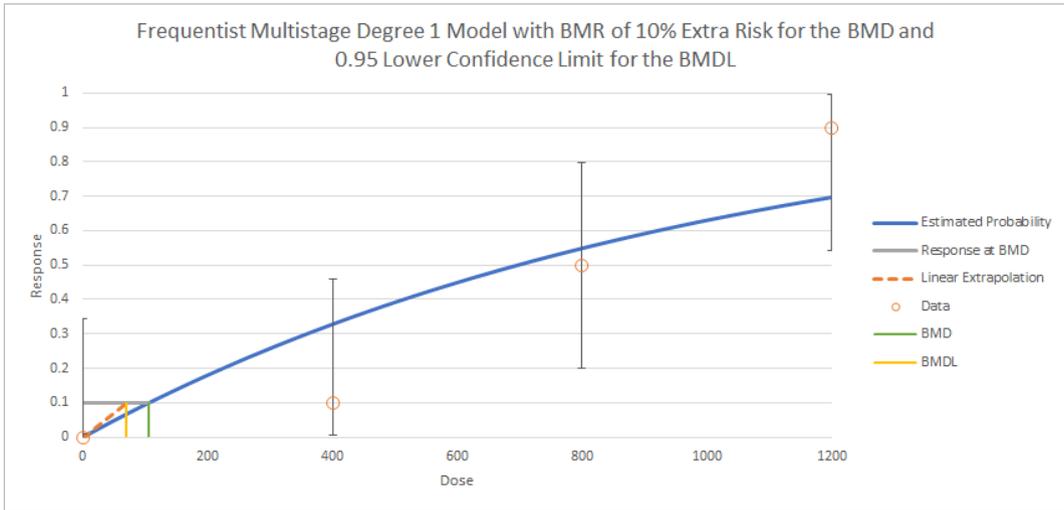
암컷 Inflammatory cell infiltration에 대한 BMD 분석 결과는 [그림 III-32, III-33] 및 <표 III-21>에 간략히 나타내었다.

User Input	
<b>Info</b>	
Model	frequentist Multistage degree 1 v1.1
Dataset Name	Harder_Inflammatory_F
User notes	[Add user notes here]
Dose-Response Model	[dose] = g + (1-g)*[1-exp(-b1*dose^1-b2*dose^2 - ...)]
<b>Model Options</b>	
Risk Type	Extra Risk
BMR	0.1
Confidence Level	0.95
Background	Estimated
<b>Model Data</b>	
Dependent Variable	ppm
Independent Variable	No._of_animals
Total # of Observations	4

[그림 III-32] 암컷 Inflammatory cell infiltration의 BMD 분석 모델 정보

<표 III-21> 암컷 Inflammatory cell infiltration의 BMD 분석 결과

Benchmark Dose	
BMD	105.8816314
BMDL	69.65453306
BMDU	169.9851988
AIC	36.23599185
P-value	0.11013734
D.O.F.	2
Chi <sup>2</sup>	4.412054287
Slope Factor	0.001435657



[그림 III-33] 암컷 Inflammatory cell infiltration의 BMD 분석 결과

### 3. BMD 평가 절차

#### 1) BMD 평가 절차

##### (1) BMD 분석에 적합한 독성시험의 선택

##### 가) 모델링에 적합한 데이터의 요건 고려

BMD 모델링전에 모델링이 가능한 데이터인지를 먼저 확인한다. 데이터 수가 충분해야하며, 시험물질에 기인한 변화가 있어야 하고, 용량군이 충분해야 하며, 용량의존성이 있어야 한다.

##### 나) BMD 분석을 위한 사전 확인

통계학적 관점에서의 데이터의 특징을 미리 파악해 두면 BMD 분석이 용이하다. 특히 연속형 데이터의 경우 정규성이나 등분산성 등을 미리 검토하는 것이 분석조건 설정시 도움이 된다. 또한 추가적으로 BMD 분석과정 및 분석 결과의 신뢰성을 확보하기 위해서는 자문위원으로 참여할 수 있는 통계전문가 인력풀을 확보할 필요가 있다.

## (2) BMD 분석 조건 설정

BMD를 분석할 데이터의 유형을 확인하고 그에 맞는 조건을 설정한다. 연속형의 경우에는 기본적으로 BMR type, Adverse direction, Polynomial restriction, Distribution, Variance등을 설정한다. 양분형의 경우에는 Risk type 및 Background 등을 설정한다.

## (3) BMD 분석 결과 검토

Summary에서 model fitting가능 여부와 model fitting이 가능한 경우 여러 분석 model fit을 제시한다. 그 중 가장 적절한 model fit을 선택하여 BMD 분석결과를 확인한다. 이런 결과 제시 방식은 연속형 및 양분형 모두 동일하다.

## 2) NOAEL 평가 절차와의 비교

### (1) 절차

#### 가) NOAEL

NOAEL을 결정하기 위해서는 우선 시험물질의 영향인 변화와 그 중 독성인 변화를 확인한다. 전체 결과를 통합하여 독성변화가 나타나지 않는 용량을 확인한다. 독성변화가 없는 용량 중 가장 높은 용량을 NOAEL로 설정한다. 이 과정에서 가장 중요한 것은 독성의 판단으로, 시험책임자와 병리책임자 등 각 부문책임자의 논의 등이 이루어진다.

#### 나) BMD

먼저 시험물질에 의한 영향 여부 또는 독성 여부를 확인하고 변화의 용량의 존성을 확인한다. 용량의존성이 있다는 판단이 들면 데이터의 정규성 및 등분산성에 대한 정보를 확인하고 BMD 분석을 실시한다. BMD 분석에서 발생하는 오류 등은 통계전문가와의 논의가 필요하다.

## (2) 소요시간

### 가) NOAEL

시험물질 영향 및 독성 평가 시 대략의 결론이 나기 때문에 시간소요가 없다.

### 나) BMD

BMD를 분석하고 데이터를 수집, 정리하는 시간이 소요된다.

## (3) 데이터

### 가) NOAEL

이상적인 NOAEL 분석을 위해서는 사망개체가 발생하지 않아야 하고, 고농도군은 심하거나 중간정도의 독성, 중농도군은 중간~약한 정도의 독성, 저농도군에서는 독성이 관찰되지 않는 데이터가 가장 이상적이다. 그러나 현실적으로는 생물학적 반응을 예측하기 어렵기 때문에 독성변화가 관찰되지 않는 용량군이 최소한 1개 이상있어야 NOAEL을 설정할 수 있다.

### 나) BMD

용량의존성이 있는 데이터이어야 하며 용량군이 많을수록 좋다. 용량군이 1~2개인 경우는 분석이 어려울 수 있으며 용량의존성이 없으면 BMD의 분석이 불가능하다. 연속형 데이터의 경우 평균값이 용량의존성이 있다고 판단되어도 표준편차등의 차이가 심한 경우 BMD 분석과정에서 용량의존성 없는 데이터로 판단되어 적절한 BMD 모델핏을 찾지 못해 BMD 분석이 불가능함으로 판단되는 경우도 있을 수 있다.

### 3) BMD 분석을 위한 보완점 분석

#### (1) 전문인력

NOAEL을 기준으로 기존 독성시험의 절차와 방법, 인력이 배치되었기 때문에 기존의 절차와 논의과정을 준수하여 수행한다. 반면, BMD의 분석조건 설정 및 절차가 적절성 여부를 확인하고 문제발생시 해결을 해줄 수 있는 통계전문가가 필요하다.

#### (2) 소요시간

BMD 분석에 소요되는 시간을 분석하여 수행 시 필요한 표준시간을 설정하여 독성시험 수행기간에 반영할 필요가 있다.

### 3) GLP적용을 위한 준비사항

여러 가지 준비사항이 있지만 GLP 적용을 위해서는 기본적으로 SOP와 프로그램 validation, 수행 인력의 확보, 또한 결과의 신뢰성 확보를 위한 여러 장치가 필요하다. 아래에 GLP 적용을 위해 기본적으로 준비 및 검토해야 할 사항을 기 수행해왔던 GLP 시험 수행과정 및 흡입독성연구센터의 SOP를 기반으로 정리하였다.

(1) SOP 제정: GLP적용을 위한 가장 기본적인 사항이다.

(2) 분석 프로그램에 대한 validation 문제 해결: 프로그램의 안정성 등을 확인해야 한다. 본 연구에서는 미국 EPA에서 개발한 BMDS 3.2를 사용하고 있으며 EPA에서는 이 프로그램에 대한 품질보증서 등을 제공하지 않는다. 공인기관에서 제공하는 프로그램이라 하더라도 GLP 적용을 위해서는 프로그램 validation자료는 필요하다.

- (3) 기초자료의 범위 및 보고서의 형태 결정: BMD 분석자료의 입력자료 및 출력자료, 결과자료 등 기초자료의 범위를 결정할 필요가 있다. 또한 병리 보고서 등과 같이 별도의 보고서의 형태로 발행하여 최종보고서에 삽입할 것인지, 최종보고서에서 직접적으로 언급할 것인지, 아예 별도의 시험으로 수행할 것인지 등도 결정해야 한다.
- (4) 규제기관과의 협의: 특히 별도의 시험으로 수행할 경우에는 향후 기관 실사 등의 과정에서 GLP 규제기관과의 협의/논의가 필요할 수도 있다.
- (5) BMD를 언제 어떻게 적용할 것인지에 대한 기준을 설정: 만약 흡입독성 시험의 최종보고서에 그 결과를 언급하고자 한다면 모든 시험대상인지, 특정 시험대상인지, 특정 데이터를 대상으로 할 것인지 등에 대한 기준이 필요하다. 그 기준과 범위를 정해서 SOP 등에 명기할 필요가 있다.
- (6) 신뢰성 보증 책임자/담당자의 업무이해도 향상을 위한 교육: 시험 전체의 신뢰성을 보증하기 위해서는 데이터에 대한 기본적인 이해가 필요하다.
- (7) 최종보고서 포맷 수정/보고서 포맷 결정: NOAEL은 별도의 분석이 필요 없었으나 BMD는 프로그램을 사용한 분석의 결과이다. BMD 분석 방법, 결과 등을 제시하는 포맷으로 표준문구를 준비할 필요가 있다.
- (8) BMD 분석을 수행할 인력 확보 및 기술인증 등: BMD 분석을 누가 수행할 것인지에 대한 협의가 필요하다. 시험책임자, 시험담당자, 각 데이터별 분석 담당자 또는 부문 책임자 등이 고려대상이 될 수 있다. BMD 분석에 대한 기술인증 필요 여부 및 보고서의 형태에 따라 수행자의 자격 명칭에 대한 검토도 필요하다.
- (9) 통계 전문가 업무배치/자문 인력풀 확보: BMD 분석 자체가 통계적 개념에 기반하며, 분석과정 및 분석조건 설정이 통계적 개념이기 때문에 분석과정의 신뢰성 확보 및 문제해결을 위한 통계전문가가 필요하다.
- (10) 분석불가능의 문제: 시험계획서에 BMD의 분석을 계획하였고 실제로 수행하였으나 분석결과가 도출되지 않는(분석이 불가능한) 경우에 어떻게 처리할 것인지를 사전에 논의 및 결정하여 계획서 등에 명기할 필요가 있다.

이 외에도 진행상 더 추가적인 준비사항이 있을 수 있겠으나 본 연구에서는 GLP 적용을 위해 실무적으로 필요한 부분만을 제시하였다.

#### 4. 흡입독성시험결과의 BMD 도입 방법 제안

자료 조사 및 분석 결과를 토대로 BMD 도입 방법을 제안하였다.

먼저, GLP시험에서 GLP로 수행하는 방법이다. 가장 이상적이고 체계적이고 신뢰성을 확보할 수 있는 방법이다. 다만, BMD의 분석을 GLP로 수행하기 위해서는 위의 GLP적용을 위한 준비사항에서 언급한 몇 가지 문제를 해결해야 한다. 쉽게 해결할 수 있는 것도 있지만 BMD 분석 프로그램에 대한 validation, 지속적으로 자문이 가능한 통계전문가의 확보, BMD를 어떤 시험에 어떻게 적용할 것인가 하는 문제 등은 추가적인 논의와 연구가 요구된다. 또한 BMD 분석결과에 따라 보고서가 불필요하게 복잡해질 수 있다.

두 번째, GLP시험에서 BMD 분석 부분을 non-GLP로 수행하는 방법이다. 원칙적으로는 SOP를 비롯한 분석 기준을 만들어야 하지만 이에 대한 관리 감시 기능이 없어지기 때문에 GLP보다는 조금 더 유연한 분석이 가능하다. 다만 이런 경우 그 결과는 독성시험 전체과정조차 non-GLP에 준하는 신분으로 격하시킬 수 있고 절차 및 결과의 신뢰성을 확보할 수 없기 1개의 독성시험단위에서 공식적인 결론이 아닌 참고자료로만 활용될 것이다.

세 번째, 최종보고서에서 분리하여 GLP를 적용한 단독 보고서를 작성하는 방법이다. 이는 첫 번째와 마찬가지로 GLP적 준비가 필요하며, 향후 규제기관과의 협의/논의가 필요하게 될 수도 있다.

마지막으로, GLP시험과는 별도로 단독 보고서로 작성하는 방법도 있다. GLP를 적용할 때보다 더 유연한 데이터의 선택과 BMD의 분석이 가능할 것이다. 다만 이 경우에는 결과의 전문성 및 신뢰성 등이 연구자 개인의 노력과 역량에 영향을 받을 수 있다. 단독 보고서로 작성하기 위해서도 GLP와 마찬가지로 적용할 범위, 보고서의 형태 등을 미리 정해두어 공통규격으로 보고서를 생산하는 것이 적절하다.



## IV. 고찰





## IV. 고찰

본 연구에서는 흡입독성시험의 활용도 제고를 위한 방안으로 인체유해성 평가 시 더 적절한 독성 표현값으로 평가받는 BMD의 도입가능성을 확인하고자 하였다. 이를 위해 NOAEL과 BMD를 비교분석하고 흡입독성시험결과를 활용한 BMD 분석, BMD 분석 절차의 GLP 적용 가능성 검토 및 BMD 도입 방법 등을 제안하였다.

BMD는 EU의 ESFA, REACH, 미국 EPA등에서 NOAEL보다 유해성평가에 더 적절한 독성표현값으로 평가하고 있으며, 용량-반응 곡선을 이용하여 어떤 용량 수준이든 도출이 가능하며 시험규모를 설명하거나 시험간의 비교가 가능하다는 장점이 있다고 평가되고 있다(Haber et al, 2018). 또한 BMD의 비교 대상인 NOAEL의 단점으로 지적되는 내용 중 하나의 숫자로 독성시험의 결과가 표현된다는 점이라든지 동물수가 작을수록 NOAEL이 높아지는 경향 등은 BMD가 이런 점을 보완했다는 점에서 BMD의 장점이라고 볼 수 있다. 이외에도 본 연구를 통해 확인할 수 있었던 BMD의 장점은 시험물질 영향 평가 수준에서 각 항목별로 독립적으로 BMD의 도출이 가능하다는 점이다. 이러한 특성 때문에 평가 완료 후에 BMD 분석 항목을 추가해도 기존결과에 영향을 미치지 않고 수행이 가능하며, 사람에서 발생할 가능성이 거의 없는 독성 변화와 사람에게 발생 가능성이 높은 변화와 분리/구분하여 유해성 평가를 실시할 수 있을 것이다.

BMD의 단점으로는 용량군의 수와 군당 개체 수에 영향을 크게 받는다는 점 (Slob et al, 2005) 등이 보고되어 있다. 그리고 본 연구를 통해 추가적으로 용량의존성이 없는 데이터는 BMD의 분석이 어렵다는 점, 즉 모든 독성데이터에 대해 BMD가 가능한 것은 아니라는 점을 추가적으로 확인할 수 있었다. 이는 독성표현값으로 여전히 NOAEL/LOAEL을 더 많이 사용할 수 밖에 없는 주요한 이유가 아닌가 생각된다. 물론 이 외에도 시스템구축, 인력 확보 등 여러 가지

다른 원인이 있을 수도 있으나 대부분 필요에 따라 극복할 수 있는 문제인데 반해 분석법의 특성에 기인한 문제는 해결이 어렵기 때문이다. 본 연구에서 수행한 자료조사 결과에 따르면 BMD 분석이 가능하려면 BMD 분석이 가능한 데이터는 충분한 개체수 및 군 수가 있어야 하고 용량의존적인 변화가 관찰되어야 한다. 물론 NOAEL/LOAEL도 모든 시험결과에서 도출 가능한 것은 아니나 BMD는 NOAEL/LOAEL에 비해서도 분석 가능데이터의 범위가 좀 더 제한적이다. 이러한 분석가능 데이터 조건의 제한성 때문에 본 연구결과에서도 확인하였듯 한 시험내에서도 BMD분석이 가능한 데이터와 그렇지 않은 데이터가 생길 수도 있다.

Slob 등(Slob et al, 2005)은 OECD TG에 기반한 독성시험 디자인은 용량군의 수가 제한적이므로 BMD를 평가하기에 최적화되지 않았다고 평가하였다. 용량군이 많을수록 BMD의 분석결과가 더 정확한 것은 사실이나 동물윤리 등의 문제를 고려하자면 독성시험에서 용량군을 더 늘리는 것이 가능하지 않다는 것은 명확하다. 그렇다면 문제는 독성시험의 기본 디자인인 1개의 대조군과 3개의 용량군으로 BMD의 분석이 가능한가 하는 것이다. EPA에서 2012년 발표한 Benchmark dose technical guidance에 따르면 1개의 용량군은 충분하지 않지만 노출/반응의 유용한 범위에 있으면 모델링은 응답 및 신뢰한계의 추정치를 제공할 수 있으며, 2개의 용량군은 모델 fitting은 가능할 수 있으나 모델 불확실성 평가에는 도움이 되지 않을 수 있다고 기술하였으며 모델링 예시로 용량군 3개인 데이터를 제시하였다. 또한 본 연구에서 실시한 3개 용량군을 가진 흡입독성시험에 대한 BMD 분석 결과에서도 연속형 및 이분형 데이터 모두 BMD 모델 fitting을 비롯한 분석이 가능하였다.

BMD에 GLP를 적용하기 위해서는 본 연구에서도 언급했듯 실무적인 측면에서의 준비가 완료되어야 하며, 이에 더하여 분석 중 혹은 후에 발생할 수 있을 것으로 예상되는 문제의 해결책을 마련해야 한다. 이를 위해서는 통계전문가의 적극적인 개입이 필요하며, 오류발생 사례 및 해결방법의 축적 등 지속적인 관리 등이 필요하다. GLP를 적용하지 않고 단독 분석자료로 활용하는 경우에도

분석과정이나 결과에서 발생하는 문제의 해결책 마련은 필요하다. 개인역량에 의한 영향을 줄일 수 있도록 데이터의 특징에 따른 표준 분석 조건이나 분석 사례 등을 준비할 필요가 있다. GLP이든 아니든 BMD를 분석하는 중 가장 어려운 문제중 하나는 한 시험의 일부 데이터에서 BMD 분석이 불가능한 경우일 것이다. 이런 경우의 대처법 또한 사전에 연구 및 논의를 통해 어느 정도의 합의점을 정리해두는 것이 적절하다고 생각한다.

GLP를 적용하는 이유는 결국은 신뢰성의 확보이다. 이런 관점에서 GLP 적용 여부를 검토한다면 분석 프로그램 특성상 분석조건 등이 모두 분석 결과와 함께 제시되므로 이를 보고서에 명시한다면 GLP가 아니더라도 신뢰성있는 결과를 생산할 수 있을 것이라 사료된다.

결론적으로, 본 연구의 결과를 종합해볼 때 흡입독성시험 결과를 이용한 BMD의 분석은 가능하다고 판단된다. 또한 BMD의 활용성과 의미를 고려할 때 BMD를 도입할 필요성도 있다. BMD 분석과정의 GLP 적용을 위해서는 여러 실무 및 관리적인 준비 및 논의, 협의가 필요할 것이며, GLP를 적용하지 않더라도 분석조건 및 과정을 보고서에 명시한다면 신뢰성 확보 문제는 해결할 수 있을 것이다. 적용 가능한 데이터의 제한성 문제는 NOAEL/LOAEL과 BMD의 통합적 적용, 즉 기본적으로는 NOAEL/LOAEL을 제시하되 데이터의 특징에 따라 BMD를 추가 분석하는 방안등으로 해결할 수 있을 것이다. 따라서 흡입 독성시험 결과를 이용한 BMD의 분석은 가능하며 흡입독성시험결과를 이용한 BMD 분석은 적절한 방향이라 사료된다.



## 참고문헌

- HardyA, BenfordD, HalldorssonT et al. (2017). Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. EFSA. 15(1):e04658.
- CrumpKS. (1984). A new method for determining allowable daily intakes. Fundam Appl Toxicol. 4(5):854-871
- HaberTL, DoursonLM, AllenCB et al. (2018). Benchmark dose (BMD) modeling: current practice, issues, and challenges. Critical Reviews Toxicol. 48(5):587-415.
- BaralicK, JavoracD, AntonijevicE et al. (2020). Relevance and evaluation of the benchmark dose in toxicology. Arch Farm. 70:130-141
- EdlerL. (2014) Benchmark dose in regulatory toxicology. Regul Toxicol. 359-375
- GiftJ, DavisJA, BlessingerT et al. (2020). Benchmark dose software(BMDS): version 3.2 user guide. EPA.
- <https://www.epa.gov/bmds/bmds-user-guide-readme> [accessed Jan 14, 2022]
- EPA, (2012). Benchmark dose Technical Guidance. <https://www.epa.gov/risk/benchmark-dose-technical-guidance> [accessed Jan 14, 2022]
- DavisA, GiftJ, ZhaoJ. EPA. Benchmark Dose Modeling-Introduction. [https://clu-in.org/conf/tio/bmds/slides/BMDS\\_Introduction2.pdf](https://clu-in.org/conf/tio/bmds/slides/BMDS_Introduction2.pdf) [Accessed June 24, 2022]

- ZarnJA, ZurcherUA, GeiserHC. (2020). Toxic responses induced at high doses may affect benchmark doses. *An Int J.* 1-10.
- BaralicK, JavoracD, AntonijevicE et al. (2020). Relevance and evaluation of the benchmark dose in toxicology. *Arh Farm.* 70:130-141.
- YoshiiK, NishiuraH, InoueK et al. (2020). Simulation-based assessment of model selection criteria during the application of benchmark dose method to quantal response data. *Theoretical Biology Medical Modelling.* 17:13
- WonH, JeongDH, ShinH-S et al. (2021). Toxicological assessment of bromochlorophene: Single and repeated-dose 28-day oral toxicity, genotoxicity, and dermal application in Sprague-Dawley rats. *Front Pharmacol.* 12:690141
- YangM, LeeS, WangT et al. (2019). 26-week repeated dose oral toxicity study of KCHO-1 in Sprague-Dawley rats. *J Pharmacopuncture.* 22(3):192-199
- ChoiJ, RyuS-J, KimK-J et al. (2018). 14-day, and 13-week repeated dose toxicity studies of daily oral *Gelidium elegans* extract administration to rats. *Molecules.* 23:217
- SchwotzerD, ErnstH, SchaudienD et al. (2017). Effects from a 90-day inhalation toxicity study with cerium oxide and barium sulfate nanoparticles in rats. *Particle and Fibre Toxicology.* 14:23
- SlobW, MoerbeekM, RauniomaaE (2005). A statistical evaluation of toxicity study designs for the estimation of the benchmark dose in continuous endpoints. *Toxicol Sci.* 84:167-185.

- LewisRW, BillingtonR, DebryuneE (2002). Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies. *Toxicol Pathol.* 30(1):66-74.
- PalazziX, BurkhardtEJ, CaplainH et al. (2016). Characterizing “Adverse” of pathology findings in nonclinical toxicity studies: Results from the 4<sup>th</sup> ESTP International Expert Working Group. *Toxicol Pathol.* 44(6):810-824.
- KobayashiK, PillaiKS, MichaelM et al. (2010). Determining NOEL/NOAEL in repeated-dose toxicity studies, when the low dose group shows significant difference in quantitative data. *Lab Anim Res.* 26(2):133-137.
- PandiriRA, KerlinLR, MannCP et al. (2017). Is it adverse, nonadverse, adaptive, or artifact?. *Toxicol Pathol.* 45(1):238-247.
- KarbeE, WilliamsGM, LewisRW et al. (2001). Distinguishing between adverse and non-adverse effects. *J Toxicol Pathol.* 14:321-325



# Abstract

## A Study on the Introduction of Benchmark dose for Enhancing the Applicability of the Inhalation toxicity study

The NOAEL (No observed adverse effect level)/LOAEL (Lowest-observed-adverse-effect level) or BMD (benchmark dose) of general toxicity studies using for chemicals have been used for deriving RfD (Reference dose), DNEL (Derived No-effect levels), ADI (Acceptable daily intake) during the human risk assessment. The inhalation toxicity research center has been presenting the results of inhalation toxicity studies as NOAEL/LOAEL. EU EFSA and US EPA have described that BMD is more appropriate than NOAEL/LOAEL in human risk assessment via “Benchmark Dose Technical Guidance (Environmental Protection Agency (EPA), 2012)”, “Update: Use of the benchmark dose approach in risk assessment (European Food Safety Authority (EFSA), 2016)”. Therefore, it is necessary to consider the application of BMD to enhance the applicability of the inhalation toxicity study results in the inhalation toxicity research center, which aims to identify human risk. However, NOAEL/LOAEL-based toxicity evaluation is still dominant in toxicity study institutes. In this study, we evaluated the possibility of BMD modeling using inhalation toxicity test results. For this purpose, we identified the

reasons why BMD is not preferred by other toxicity testing institutions, evaluated the BMD modeling feasibility using inhalation toxicity data, confirmed the applicability of the modeling process and results to GLP, and reviewed the BMD introduction method and expected problems.

### 1) Comparisons between BMD and NOAEL

The major feature of BMD and NOAEL is that BMD uses a dose-response curve, and NOAEL uses the dose used in the test as it is. Based on these characteristics, The advantages of BMD are that it is less limited by the experimental dose because it allows comparison between trials and continuous dose-response information. The disadvantages of BMD are that BMD modeling is not possible when the group size is too small or there is no dose-dependent change. The advantages of NOAEL are that it can be derived regardless of dose, and that accumulated data and evaluation criteria are established. Disadvantages of NOAEL include that it is dose dependent, does not assess data quality, and results are expressed as just one number.

### 2) Evaluating BMD modeling feasibility

BMD modeling tools and data were selected to evaluate the feasibility of BMD modeling using inhalation toxicity results. For the BMD modeling tool, the US EPA's BMDS was selected considering the types of analyzable data, the reliability of the results, and user convenience. The dataset for BMD modeling has been required dose-related response, sufficient dose group, adequate model fits. We selected continuous and dichotomous dataset of inhalation toxicity study from 2016 to 2021 considering the required dataset conditions. BMD modeling was performed with BMDS program and selected dataset. As a result, it was feasible

derivation of adequate model fit and BMD modeling for both continuous and dichotomous data, if the dose–response relationship was showed.

### 3) BMD modeling procedure and preparation

Based on the results of the BMD modeling feasibility evaluation, the BMD modeling procedure was presented. The BMD evaluation process could be classified to data selection, BMD modeling option selection, and modeling result review. BMD modeling have differences in the process, time, and range of analyzable dataset compared to NOAEL. Therefore, several preliminaries including standard procedures, expert, time, report formating, and so on is required to perform BMD modeling under GLP regulation.

### 4) BMD modeling using inhalation toxicity study results

Taken together, BMD modeling using inhalation toxicity study results is possible, and there is a need to introduce BMD modeling to toxicity result analysis when considering its usefulness and meaning. In BMDS, modeling options are provided with analysis results, so if all the process for BMD modeling are described in our BMD analysis report, we could make reliable results even without applying GLP. In addition, the limitation of applicable data could be solved by integration of NOAEL/LOAEL and BMD, that is, NOAEL/LOAEL is applied to all studies, but BMD is additionally analyzed for data with dose dependency and is described in separated reports.

**Key words** : inhalation toxicity study, risk assessment, benchmark dose, NOAEL/LOAEL

### 연구진

연구기관 : 산업안전보건연구원

연구책임자 : 이미주 (연구위원, 흡입독성시험1부)

### 연구기간

2022. 01. 01. ~ 2022. 11. 30.

본 연구보고서의 내용은 연구책임자의 개인적 견해이며,  
우리 연구원의 공식견해와 다를 수도 있음을 알려드립니다.

**산업안전보건연구원장**

**흡입독성시험 결과 활용도 제고를 위한  
Benchmark dose 도입 연구  
(2022-산업안전보건연구원-858)**

**발행일** : 2022년 11월 30일

**발행인** : 산업안전보건연구원 원장 김은아

**연구책임자** : 산업안전보건연구원 연구위원 이미주

**발행처** : 안전보건공단 산업안전보건연구원

**주소** : (44429) 울산광역시 중구 종가로 400

**전화** : 042-869-8533

**팩스** : 042-869-8696

**Homepage** : <http://oshri.kosha.or.kr>

**I S B N** : 979-11-92782-59-1

**공공안심글꼴** : 무료글꼴, 한국출판인회의, Kopub바탕체/돋움체