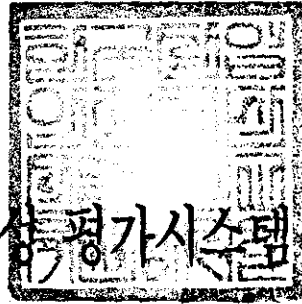


연구지료
독성 92-1-1



화학물질의 유해성 평가시스템 개발에 관한 연구

—변이원성 평가를 중심으로—



한국산업안전공단
산업보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 보고서를 “화학물질의 유해성 평가시스템 개발에 관한 연구
-변이원성 평가를 중심으로-”의 연구보고서로 제출합니다.

1992. 4.

원	장 : 정	규	철
연구책임자 :	오	세	민
연구 자 :	맹	승	희

여 백

목 차

제 1 장	머 리 말	7
제 2 장	유해성 평가의 개념 및 기본원칙	9
제 1 절	유해성 평가(Risk assesment)의 정의	10
제 2 절	유해성 관리(Risk management)의 의미	10
제 3 절	유해성 평가의 과정	11
1.	유해성 동정(Hazard identification)	11
2.	양반응의 평가(Dose-response assessment)	18
3.	폭로 평가(Exposure assesment)	29
4.	유해성의 판정(Risk characterization)	32
제 3 장	산업안전보건법에서의 화학물질 유해성 조사 및 심사제도의 개요	33
제 1 절	산업안전보건법상의 화학물질 유해성 조사의 개요	33
제 2 절	화학물질의 유해성 조사 및 심사과정	37
1.	산업안전보건법상의 화학물질의 범위	37
2.	신규화학물질의 유해성조사 및 결과보고서 제출	39
3.	유해성 심사 및 신규화학물질의 공표	41
제 4 장	화학물질의 변이원성 평가	46
제 1 절	변이원성 시험의 목적 및 배경	46
제 2 절	변이원성 평가의 접근 방법	52
1.	작업장에서의 돌연변이원의 중요성	52
2.	돌연변이의 기본 분류	55

3. 변이원성 시험법의 종류 및 그 활용성	56
4. 돌연변이 평가의 다각적인 접근법	61
5. 화학물질의 변이원성 평가의 기준	84
제 3 절 변이원성 시험결과를 해석할 때의 고려사항	97
제 4 절 신규화학물질의 변이원성시험(유해성 조사)제도에 대한 고안	101
 제 5 장 맺 음 말	111
—총합적인 유해성평가 시스템에 관한 고찰—	
 참고문헌	115

표 목 차

<표 1> 화학물질의 유해성 동정시 조사할 물질의 특성	14
<표 2> 인체의 국소부위별 체표면적 산출의 일반적인 예	31
<표 3> 동물에 대한 발암성을 평가하기 위한 체계(안)	48
<표 4> 요인점수 총계에 의한 발암물질의 등급	49
<표 5> 선별검사에서의 정확도 검증	50
<표 6> 몇몇 화학물질의 변이원성 시험결과의 비교	62
<표 7> 각종 연구문헌에 나타난 Ames test의 민감도 비교	66
<표 8> 문헌에 나타난 발암성과 변이원성의 강도의 비교	67
<표 9> 살모넬라를 이용한 변이원성 시험에서의 시험규모의 비교	71
<표10> 시험관내의 세포유전 시험에서의 시험규모의 비교	71
<표11> 미국의 농약에 대한 돌연변이 검사규정	73
<표12> 미국의 의약품에 대한 돌연변이 검사규정	74
<표13> Chromium ⁺³ 에 대한 “Genetic activity profile listing”의 예	78
<표14> 화학물질 변이원성 평가의 일반적인 기준	84
<표15> 변이원성 시험에 사용된 통계처리방법의 예	96
<표16> 생물통계분석을 위한 변수	100
<표17> 변이원성을 검사하는 단기적인 시험법의 예	104
<표18> 총합적인 유해성 평가시스템에 관한 고찰	113

그 립 목 차

<그림 1> 유해성 평가의 과정	12
<그림 2> 누적 양-반응 곡선	19
<그림 3> 유해물질에 따른 LD의 비교	20
<그림 4> 안전계수산출을 위한 ED곡선과 TD곡선	20
<그림 5> 경사도에 따른 양-반응 곡선의 모양	22
<그림 6> 유해성 평가시 도입되는 자료들	22
<그림 7> 저용량 외삽모델의 예	24
<그림 8> 신규화학물질의 유해성 조사 및 심사 흐름도	25
<그림 9> 유해물질에 폭로되어 질병이 발생하는 과정에서 적용되는 변이원성지표들	51
<그림10> 변이원성과 발암성과의 관계	54
<그림11> 돌연변이의 분류	55
<그림12> 통계기법에 의한 변이원성 시험과 발암성 시험의 상관성에 대한 McCann들(1988)의 분석절차	64
<그림13> 발암강도와 변이원성 강도의 상관성 비교	66
<그림14> 합리적인 변이원성시험의 단계의 예	69
<그림15> 미국 환경보호청(EPA)의 돌연변이 및 발암물질 검사방법	75
<그림16> 유럽경제공동기구(EEC)의 돌연변이 및 발암물질 검사방법	76
<그림17> Chromium ⁺³ 에 대한 Genetic activity profile의 예	79
<그림18> “Activity profiles”의 그래프의 종축에 사용되는 log 용량단위의 범위.....	80
<그림19> 주어진 화학물질에 대한 단기 변이원성 시험방법 선택과정	83
<그림20> 변이원성 시험기관의 기준	102

제 1 장 머 릿 말

산업의 발달과 기술의 고도화에 따라 현대는 화학물질의 시대라 해도 과언이 아니다. 현대사회에서 화학물질은 의약, 농약, 비료, 일반 소비재에서 식품첨가물에 이르기까지 광범위한 영역의 산업체에서 사용되고 있고, 그 양이 점차 증가되어 전세계의 화학물질을 수록하고 있는 Chemical Abstract Service(CAS)에 등록되어 있는 화학물질은 약 5백만에서 천만종에 이르고, 해마다 약 10만종의 새로운 화학물질이 합성될 것으로 예상되고 있으며, 현재 유통중인 화학물질의 종류는 미국이 6만 5천종, 일본에서 만 5천종, 서독에서 4만종, 한국에서 2만종 정도이다(박 판제, 1987). 이와같이 화학물질의 사용증가에 비례하여 근로자의 건강을 위협하는 화학물질과 작업환경의 오염원인으로 작용하는 화학물질의 수도 증가하게 되었다.

선진 공업국가에서는 국가적인 차원에서 화학물질의 유해성을 규제하고 있다. 미국의 경우 'Toxic Substances Control Act(1976)', 일본의 경우 '화학물질의 심사 및 제도 등의 규제에 관한 법률(1973)'등을 시행하고 있으나 급속도로 생산되는 화학물질에 의한 피해는 줄지 않고 있다. 더불어 선진국가들은 화학물질의 사용으로 인한 인간 혹은 환경에의 위험성을 방지하기 위해 기존 혹은 신규화학물질의 안전관리에 대한 대책을 제도적으로 마련하여 화학물질의 안전성 및 유해성의 정보수집과 잠재위험성의 예측 및 경보체계를 구축해 오고 있으나, 작업장 근로자들을 보호하기 위한 허용농도 설정에 있어서 ACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hygienists)에 의해 약 800여종의 화학물질에 대한 서한도(Threshold Limit Values : TLV) 및 생물학적 폭로기준(BEI : Biological Exposure Index)이 제시되어 있고, OSHA(Occupational Safety and Health Administration)에서도 600여종에 대한 폭로허용기준(Permissible Exposure Level : PEL)을 제시하고 있을 뿐이다.

우리나라의 경우 유해화학물질관리법(환경처), 농약관리법(농수산부), 및 식품위생법(보건사회부) 등의 관리제도가 있으며, 1990년 산업안전보건법(노동부)이 새로이 개정

됨에 따라 화학물질의 유해성 조사 및 심사제도가 마련되어 유해물질로서 뿐 아니라 작업환경 오염원으로서의 측면에서 효율적인 관리를 실시하려 노력하고 있다. 특히 개정된 산업안전보건법에 따르면 근로자의 건강장해 예방을 위하여 사업주는 제조 또는 수입되는 신규화학물질의 유해성을 조사하여 결과를 노동부에 제출하게 되어 있고, 기존화학물질을 사용할 때에는 사업시행시 미리 유해성을 조사하여 근로자의 건강장해를 방지하는 조치를 강구하도록 되어 있으며(산업안전보건법 제40조, 제41조), 기타 관리법에서는 화학물질의 유해성이 자연환경을 오염시킬 우려가 있는지, 공중보건상의 위해 우려가 있는지에 초점을 두고 있는 반면, 산업안전보건법에서는 공업용 원료 및 부원료로서, 생산공정 중의 중간생성물로서, 사업체 내부에서 생산, 이용되는 원료로서 생산근로자에게 건강위해가 있는지의 여부에도 중점을 두고 있다.

효율적인 화학물질의 유해성 평가의 체계를 마련하기 위해서는, 첫째로 현재 사용되고 있는 기존 화학물질과 새로 수입되는 신규화학물질의 등록제도 수립에 의한 종류 및 수량 파악, 둘째로 화학물질의 안전성 및 유해성 자료의 자료은행의 마련, 셋째로 유해성 조기탐지 및 생물안전성 분석방법의 개발, 네째로 인체 및 환경부작용의 예보 및 보고제도의 수립이 이루어져야 한다.

우리나라의 경우, 그 중 일부분이 이루어져 가고 있으나 아직은 대부분 미비한 상태이다. 그럼에도 불구하고 현 산업안전보건법의 시행에 발맞추어 화학물질의 유해성 평가의 체계를 갖추어야 하는 것은 현실상 다급한 형편이다.

그러므로 본 연구에서는 기존 및 신규화학물질의 유해성을 평가하는데 있어서 유해성 평가의 개념 및 기본원칙을 고찰하고, 우리나라의 산업안전 보건법상 제시된 화학물질의 유해성 조사 및 심사제도를 비교해 보며, 특히 유해성 조사시 사업주가 앞서 행해야 하는 변이원성 평가에 대한 접근법, 시험방법의 활용 및 평가기준에 대해 고찰해 봄으로써 작업환경 오염원이 될 수 있는 화학물질의 합리적인 유해성 조사의 체계를 마련하는데 기초정보를 제공하고자 한다.

제 2 장 유해성 평가의 개념 및 기본원칙

최근 과학과 산업이 급속도로 발전함에 따라 유해물질들의 사용이 급증하여 이들 물질이 인간과 환경에게 어떠한 영향을 주고, 그 정도가 얼마이며, 결과적으로 발생할 수 있는 인간의 질병, 사망 등 건강장해를 어떻게 평가하고, 예방할 수 있을 것인가 하는 문제가 전세계적으로 주요 관심사로 되어 가고 있다. 최근들어 유해 화학물질 등의 유해성 평가에 대한 일반적인 접근방법을 서술하는 핸드북이나 안내서 등이 다수 출판되고 있는 것은 이러한 추세에 부응하는 것이다. 이들 문헌들과 1983년 NAS(National Academy of Science)의 위원회의 의견 등에 의하면 유해물질에 대한 유해성 평가는 유해성을 동정(Identification)하고, 화학물질의 양과 유해성 반응에 대한 평가(Dose-response assessment), 폭로평가(Exposure Assessment)를 통하여 유해성을 판정(Characterization)하는 총괄적인 과정이라고 하였다. 본 연구에서도 유해성 평가를 위의 네부분으로 나누어 그 개념을 파악하고 화학물질의 유해성을 효과적으로 평가할 수 있는 기본원칙을 마련하고자 한다.

건강에 대한 유해성을 설명하는데 있어서 일반적인 독성(Toxicity), 유해성(Hazard), 위험성 혹은 위해성(Risk) 등 여러가지 용어를 혼용하고 있다. 먼저 이들 용어를 명확하게 구분하여 보면 다음과 같다.

독성(Toxicity)이라 함은 모든 물질이 갖는 건강상의 영향(Adverse Health Effect)를 나타낼 수 있는 성질로 모든 물리적, 화학적 요소들은 어떤 용량 혹은 특정한 폭로조건하에서 독성을 나타낼 수 있다. 이때 작업환경 내에서 작업자에게 미치는 독성을 특히 산업독성이라 한다.

유해성(Hazard)이라 함은 어떤 물질에 의한 특정한 형태의 건강상의 영향을 뜻하는 것으로, 예로서 벤젠에 폭로될 때 백혈병이 발생한 경우 백혈병이 벤젠이라는 물질의 유해성이라 할 수 있다.

위험성 또는 위해성(Risk)이라 함은 특정한 농도 혹은 용량의 유해물질에 폭로된 개인 혹은 집단에서 건강상의 영향이 생길 수 있는 확률 혹은 가능성을 의미한다. 어떠한 용어이든 인간의 건강장해라는 개념이 포함되어 있으며, 본 연구에서는 화학물질이 작업환경에서 인간에게 미칠 수 있는 유해성에 관심을 둔 것으로 유해성의 개념은 일반적인 것으로서 포괄적으로 보는 것이 좋겠다.

제 1 절 유해성 평가(Risk assessment)의 정의

건강에 대한 유해성 평가(Health Risk Assessment)라는 의미는 특정한 일련의 조건 하에서 인간 혹은 생태계가 화학적, 물리적 유해물질에 의해 영향을 받을 가능성을 추정해 내는 과정이다. 1980년 NAS에서 언급했던 ‘유해성 평가’란 인간이 환경적 유해 요소에 폭로됐을 경우 건강에 미치는 잠재적인 영향을 특징지우는 것을 의미하며, 그것을 구체화하면 다음과 같다.

1. 역학적, 임상적, 독성학적, 그 외에 환경학적 연구결과를 평가하여 건강에 미치는 잠재적인 영향(potential adverse health effect)를 기술하는 것.
2. 주어진 폭로조건하에서의 연구결과자료들을 인간에 대하여 추정하기 위해 외삽(extrapolation) 시키는 것.
3. 다양한 강도와 기간에 노출된 사람의 수 및 사람의 특성에 대해 판정하는 것, 즉 얼마나 많은 사람이, 어느 정도의 감수성을 갖고 있는 사람들이, 얼마의 기간동안, 어느 정도의 강도로 유해물질에 폭로되었는가를 판정하는 것.
4. 더 나아가 공중보건문제의 범위를 판정하는 것.
5. 유해성을 추정해 가는 과정에서 내재할 수 있는 불확실성을 알아내는 것.

제 2 절 유해성 관리(Risk management)의 의미

넓은 의미에서 유해성 평가란 그 목적에 유해성을 통제, 관리하는 의미가 있으므로 유해성 관리(Hazard management)를 포함하여야 하는데, 유해성 관리란 유해성을 추정된 결과로써 유해성에 대한 규제조치, 즉 정책결정자들이 규제방안을 개발, 분석 비교하고, 잠재적이고 만성적인 건강장해에 대한 적절한 규제조치를 결정하기 위해 필요한 유해성 관련 정보와 정치적, 사회적, 경제적, 공학적인 정보를 고찰해 나가는 정책 결정과정이라 할 수 있다. Starr(1985)에 의하면 여론이 유해성을 유해성으로 받아 들이느냐 안하느냐는 유해성의 크기나 가능성, 그 결과에 대한 양적 평가 보다는 그 유해성을 어떻게 정책적으로 관리하느냐 하는 것에 달려 있다고 하였다. Munro와 Krewski(1981)의 보고에 의하면 정책결정에 있어 알려진 유해성에 대비하여 고려되어야 하는 요인은 주어진 물질로 생산되는 제품에 대한 소비자들의 기대정도, 제품의 가격, 물질에 대한 폭로를 조절할 수 있는 능력, 상업적 중요성, 대체물질들의 이용성, 법적 강권력 및 미래의 규제정책에 미칠 영향력 등이라 하였다. 이러한 요인들을 고려하여 정책가들은 유해성 관리 부분은 유해성 평가 시스템에서 가장 핵심이 되어야 하고 앞으로 강조되어야 할 것으로 사료된다.

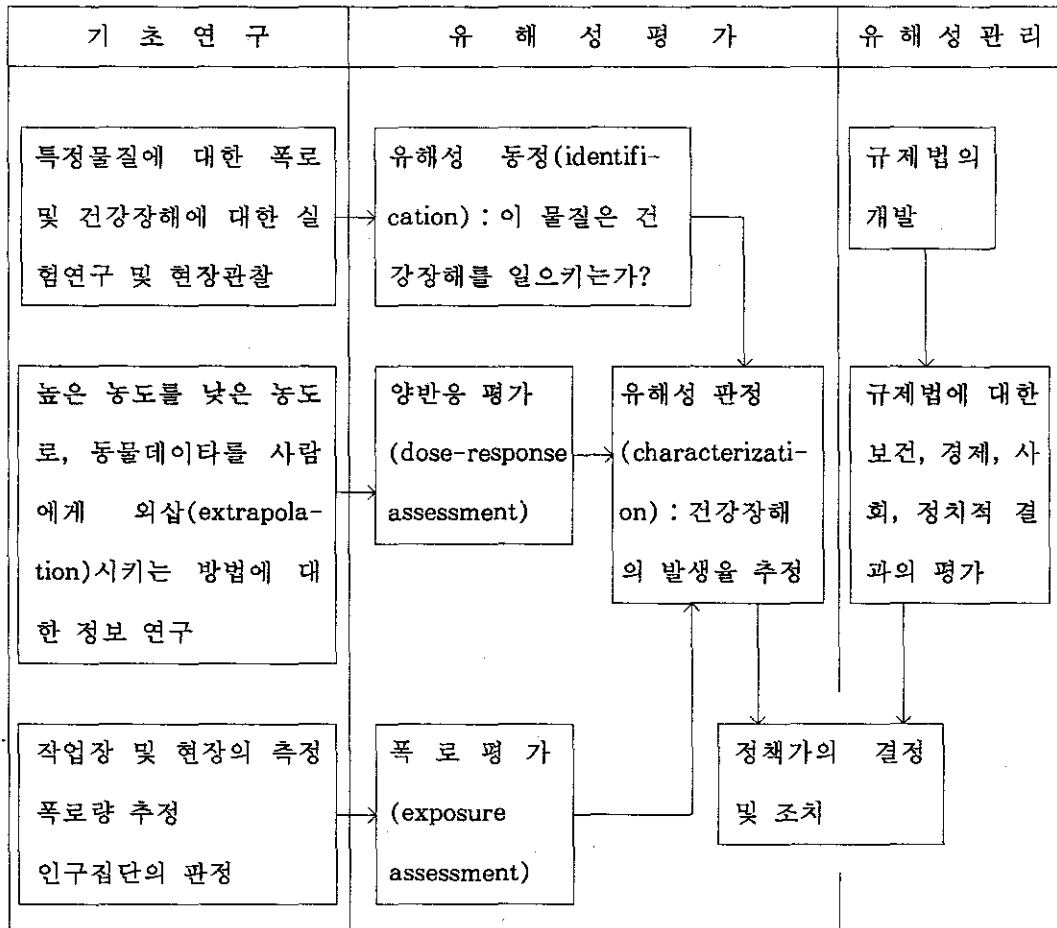
제 3 절 유해성 평가의 과정

일반적으로 유해성 평가를 실시하는 과정은 유해성 동정(Identification), 양-반응 평가(Dose-response assessment), 폭로평가(Exposure assessement)를 통한 유해성 평가 단계, 유해성 판정(Charaterization) 및 유해성 관리(Management)단계로 나누어 볼 수 있는데, 그 과정을 요약하면 <그림 1>과 같다.

1. 유해성의 동정(Hazard Identification)

좁은 의미로의 유해성 평가라면 이 부분, 즉 유해성을 동정하는 것만을 의미한다. 그

그러나 좀 더 넓은 의미의 유해성 평가과정에서 이 부분은 시작에 불과하다.



<그림 1> 유해성 평가의 과정(NAS, 1983)

유해성 동정이란 NAS(1983)의 정의에 따르면 사람이 어떤 물질에 폭로 되는 것이 어떤 건강의 장해(암, 기형아 출산 등)의 발생을 증가시키는 원인이 되는지의 여부를 판정하고, 혹은 물고기, 새, 기타 야생동물과 같은 수용체(receptor)가 폭로되었을 때 영향을 입을 것인가를 결정하는 과정이라 할 수 있다. 이 단계는 어떤 용량에서 물리, 화학적 요소가 인간 혹은 기타 야생동물의 건강에 영향을 주는 능력을 결정해 내

는 단계로 그 원인의 특성이나 강도를 특징짓는 것을 포함한다.

어떤 물질이 인간에게 건강장해를 일으키는 지의 여부는 이론적으로 ‘예’, ‘아니오’ 식의 문제로 제기되고 있으나, 실제 인간을 대상으로 한 자료는 매우 드문 편이고, 주로 실험동물을 대상으로 한 자료들을 다루게 되므로 그 해답은 꽤 어렵다. 유해성 동정시 고려되어야 할 점은 대상물질의 화학, 물리적 특성, 독성학적 특성 및 환경학적 특성이다. 물질의 이러한 특성을 정확히 이해하는 것은 유해의 정도를 알려고 할 때 매우 유용하다. 예를 들면, 중금속, PCB, DDT 등과 같은 물질은 열을 가하지 않았을 때는 휘발성이 적기 때문에 흡입독성이 적으나, 이 물질들은 반감기가 길어서 생태계의 먹이사슬에 들어가 물고기나 우유, 육류에 축적되었을 때 유해성을 지닐 수 있다는 특성을 가지게 된다. 이와같은 화학적, 물리적 및 독성학적 특성은 환경내에서 대상물질의 운명을 예측할 수 있게 한다. 이러한 성질을 알기 위하여 새로운 화학물질 혹은 생산품을 제조할 때 그에 대한 기초자료가 큰 역할을 한다. 새로이 제조, 생산해야 할 화학물질의 유해성을 알기 위해 조사해야 할 물질의 특성은 <표 1>과 같다.

새로이 제조, 생산해야 할 물질의 유해성을 동정할 때 가장 인간에게 직접적으로 영향을 주는데 대하여 조사해야 할 항목중 중요시 해야하는 분야는 시험등을 이용한 독성 시험(toxicity testing)이다.

독성시험의 목적은 시험동물을 이용한 생체내(in vivo) 혹은 시험관내(in vitro)의 실험을 통하여 어떤 화학물질이 인간에게 영향을 줄 수 있는 잠재성을 알아내어, 그러한 물질에 노출될 수 있는 사람들을 질병 혹은 건강장해로부터 보호하는데 있다.

독성의 가장 근본적인 개념은 물질의 용량(dose)과 포유류에서 그 물질로 인해 생길 수 있는 반응(response)과 상관성이 있다는 점(dose-response relationship)이다. 이것은 다음의 이론에 기본원칙을 둔다.

I. 물리, 화학적 특성

A. 이동능력(transport)

1. 흡착력(adsorption isotherm)
2. 분배계수(partition coefficient)
3. 수용성(water solubility)
4. 증기압(vapor pressure)

B. 기타특성

1. 비점/융점(boiling/melting point)
2. 밀도(density)
3. 해리상수(dissociation constant)
4. 점화성/폭발성(flammability/explosability)
5. 입자크기(particle size)
6. 산도(pH)
7. 화학적 상반성(chemical incompatibility)
8. Vapor-phase UV spectrum

C. 분해성

1. 생분해성
2. 화학적 분해성
3. 광화학적 변형성

II. 환경영향특성

A. 미생물계 영향

1. 섬유질 분해성
2. 요소의 암모니아화
3. 황화물 환원성

B. 식물계 영향

1. 조류 생장억제성
2. 발아 및 육성에의 영향

C. 동물계 영향

1. 물벼룩 급성독성시험
2. 어류급성독성시험
3. 포유류 독성시험

<표 1> 화학물질의 유해성 동정시 조사할 물질의 특성(Paustenbach, 1989)

- ① 생물학적 반응의 크기는 물질의 농도와 작용하는 부위에 따라 다르다.
- ② 동일한 부위에 작용하는 물질의 농도는 투여농도에 따라 어느 정도 예측할 수 있다.
- ③ 용량과 반응은 원인 결과적으로 연관되어 있다.

본 연구에서는 독성시험방법에 대한 구체적인 내용 및 절차에 대한 것은 제외하고, 물질투여 및 시험의 기간별로 분류된 각 독성시험에 대해 이용목적에 중심으로 그 활용성을 기술하고자 한다. 일반적으로 독성시험은 시험기간에 따라 급성 독성시험, 아급성 독성시험 및 만성 독성시험으로 구별한다.

I. 급성독성시험(acute toxicity testing)

급성독성이란 대상물질을 실험동물에 1회 또는 24시간 이내에 수회 투여하였을 때 나타나는 독성증상을 뜻하며, 통상적으로 검체 투여후 14일 동안을 관찰기간으로 한다. 일반적으로 독성의 정도는 LD₅₀(50% lethal dose)으로 표현하며, 이는 대상물질을 실험동물에 투여하였을 때 실험동물의 절반이 죽는 투여량 또는 투여농도를 통계적 방법으로 계산한 것을 말한다.

급성독성시험의 목적은 첫째, 화학물질의 내재적인 독성을 정의하고, 둘째, 대상물질에 감수성이 있는 종(species) 혹은 집단을 평가하며, 셋째, 독성을 나타내는 부위(target organ)를 알아내며, 넷째, 대상화학물질에 급작히 폭로되었을 때 유해성 평가에 대한 정보를 제공하는데 있다. 다섯째, 아급성 혹은 만성시험에 대한 용량수준(dose level)을 선택하고 실험설계하는데 정보를 제공한다. 일반적으로 사람이 정기적으로 혹은 드물게라도 접할 수 있는 거의 모든 화학물질에 있어서는 기본적으로 급성 독성시험이 꼭 이루어져야 한다. 대량으로 생산되어야 한다든지 어쩔 수 없이 인간에서 폭로될 수 밖에 없는 화학물질에 대하여는 여러가지로 실험조건과 폭로조건을 달리한 제반의 시험방법이 모두 적용되어야 한다.

급성독성시험은 투여경로에 따라 경구독성, 피부독성, 흡입독성, 눈 및 점막자극독성

시험등이 있고, 발생시기에 따른 태아폭로, 신생아기폭로에 따른 독성시험이 있는데, 모든 방법은 인간에게 폭로될 수 있는 가능성을 모델로 정해진다.

유해성을 평가하는데 이용할 수 있는 기존의 문헌등을 통해서 보면 급성독성 시험에서 상식적으로 기준시되고 있는 시험방법의 조건을 보면, 첫째, 경구투여시 LD₅₀을 요하는 시험에서는 실험동물 수를 50마리 이상으로 한다. 둘째, 통상적으로 농도는 3단계 이상의 용량으로 정하며 암·수 동물은 각각 5마리 이상씩으로 한다. 피부 및 눈 자극 시험에서 보다 흡입독성시험시 동물숫자는 더 많아야 한다.

작업환경 내에서의 화학물질 등의 유해성을 평가하는데 있어 흔히 쓰이는 것은 모든 종류의 독성시험결과를 필요로 하지만, 특히 짧은 시간내에 다량 폭로되는 경우를 고려하면 흡입에 의한 독성평가인 것으로 사료되므로 앞으로 폭로경로에 따른 독성은 흡입에 의한 각 기관계별의 독성시험이 중요시 되어야 한다.

II. 아급성 독성시험(subacute toxicity testing)

아급성독성시험이란 실험동물의 평균수명의 일부 기간에 걸쳐 대상물질을 실험동물에 단기간 동안 반복 투여했을 때 나타나는 독성을 시험하는 것으로 경제협력개발기구(OECD)의 규정에 의하면 그 기간을 실험동물의 평균수명의 10%에 해당하는 기간(약 3개월)까지로 정하고 있다. 일반적으로 14일, 28일 또는 90일 동안의 시험기간을 채택하고 있다. 아급성독성시험은 급성독성시험의 결과를 토대로 하여 소량의 검체를 실험동물에 일정기간 동안 매일 투여함으로써 검체가 체내에 축적되어 일으키는 독성 및 투여시작에서 부터 독성증세가 외형적으로 나타날 때 까지의 잠복기간, 독성을 받는 체내기관 및 조직, 회복상태 등에 대한 정보를 얻고자 하며, 더불어 최대무작용량(no observed effect level : 대상물질을 실험동물에 일정기간 동안 반복투여했을 때 아무런 독성증세를 나타내지 않는 최대용량)을 결정하는데 목적이 있다. 따라서 아급성독성시험에서는 치사율 보다는 체중의 변화나 사료섭취량, 그리고 혈구학적, 혈액 생화학적, 임상병리학적 검사가 중요하다.

Ⅲ. 만성독성시험(chronic toxicity testing)

만성독성이란 대물질을 실험동물에 거의 일생동안에 걸쳐 반복투여하여 나타나는 독성증상을 말하며, 대물질의 안정성에 대한 최종평가 및 폭로의 안전수준 (safe level)을 결정하는 것을 목적으로 하고 있다. 일반적으로 만성독성시험은 대물질을 최소한 1년 이상의 기간동안 매일 투여하면서 시험한다.

이로써 대물질의 구조적 및 기능적 특성에 영향을 준 잠재적인 독성효과를 동정하기 위한 것이다. 종양유발을 측정하기 위해 고안된 발암성시험(carcinogenicity test)과는 대조적으로 만성독성시험은 대물질에 대한 폭로수준과 독성을 나타낼 수 있는 수준간의 적절한 안전한계를 알아내기 위하여, 또 구조적, 기능적으로 미치는 영향의 병인을 정의하기 위하여 치사율, 체중변화, 혈액검사 및 임상적 변화를 보아야 한다.

Ⅳ. 유해성 평가시 일반독성시험단계 요약

화학물질에 대한 유해성 평가에서 필요로 하는 독성시험의 단계를 요약하면 다음과 같다.

① 제 1 단계 : 급성독성시험

- a. 치명율 및 기관장애에 대한 양반응곡선 산출
- b. 눈자극 및 경피자극시험
- c. 돌연변이 시험에 대한 선별검사(시험관내 실험)

② 제 2 단계 : 아급성 독성시험

- a. 실험동물 2종류에서 사람에게 가능한 폭로경로로 해서 시험을 실시하여 양-반응 곡선 산출.
- b. 장기독성시험(Organ toxicity testing)
사망율, 체중변화, 혈액검사, 임상화학적 변화, 조직병리 등
- c. 변이원성 시험

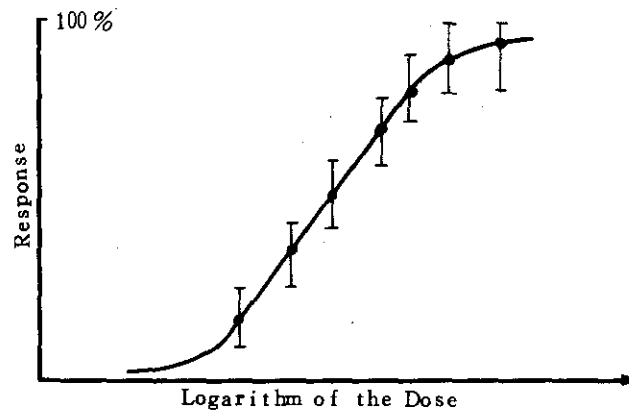
- d. 생식계 및 기형성 시험
- e. 실험동물에서의 약물역동학(pharmacokinetics)
- f. 임상실험(clinical trial)
- g. 급성, 만성폭로에 대한 역학자료 편집.

2. 양-반응의 평가(Dose-Response Assessment)

I. 양반응 관계의 개념

유해성 시험등의 실험적 평가에서 대상개체가 주어진 폭로기간에 폭로물질의 용량의 증감에 따라 보고자 하는 생리적인 기능이상(adverse effect)등의 반응의 정도가 일정하게 변해갈 때 양반응 관계가 있다고 한다. 이때 시험대상 개체는 세포내 물질 혹은 특정 세균에서 부터 고등 동식물, 인간에 이르기까지 다양하며, 반응 혹은 생물학적 관찰부위는 개체 생리의 작은 변화에서 개체의 죽음에 이르기까지, 또한 폭로기간도 수 시간에서 수년이 될 수도 있다. 이때의 반응은 개체의 종(種)간에도 차이가 있으나 같은 종내에서도 변이가 있다. 그러나 이러한 같은 종내의 변이는 반복된 경험에 의하면 주어진 용량에 대한 반응의 정도와 반응하는 개체의 빈도간의 관계는 정규분포(normal distribution)하는 것으로 본다.

주로 유해성 평가시에 이용되는 양반응곡선은 다수의 빈도-반응곡선의 누적된 형태의 누적 양-반응곡선(cummulative dose-response curve)을 사용하는데, 그 곡선의 주어진 범위에서는 거의 직선상(linearity)을 띤다(그림 2).



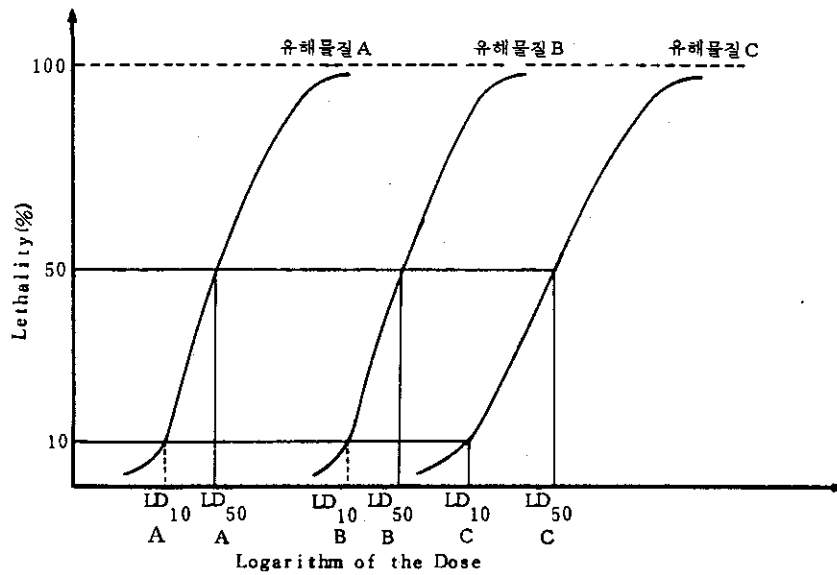
<그림 2> 누적 양-반응곡선(William & Burson, 1985)

II. 양-반응 곡선의 활용

용량(dose)의 개념으로 흔히 사용하는 것은 치사량(lethal dose : LD), 효과용량(effective dose : ED), 독극량(toxic dose : TD)을 쓰는데, 양반응 자료를 이용하여 주어진 용량에 대한 반응의 정도를 추정해 갈 수 있고, 원하는 독성(반응)에 대한 화학물질의 양을 알아낼 수 있는 그 활용방법을 보면 다음과 같다.

1. 화학물질에 따른 유해성 비교

유해물질 A, B, C에 대한 LD_{50} 을 비교함으로써 특히 이미 잘 알려진 화학물질에 대한 각 물질의 강도(potency)를 알 수 있다(그림 3). 이로써 이미 알려진 화학물질에 대한 유해성이나 안전성을 폭로수준에 따라 예측하고, 더 나아가 새로운 화학물질의 안전한 폭로수준을 예측할 수 있다.

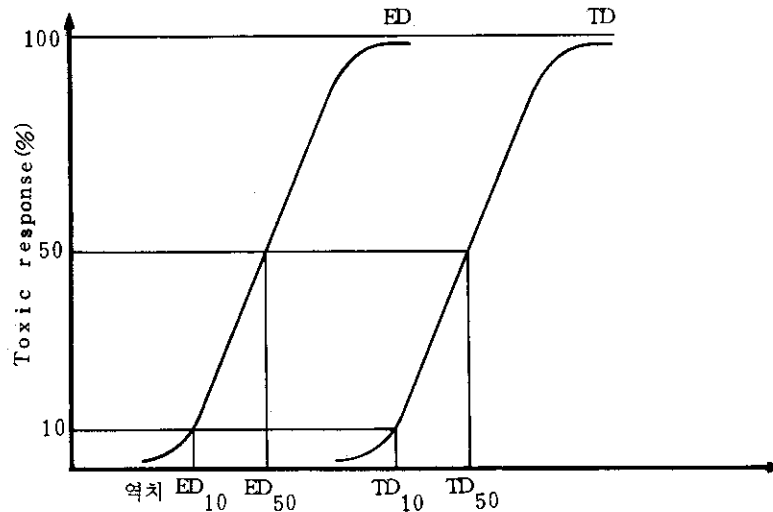


<그림 3> 유해 물질에 따른 LD의 비교 (William & Burson, 1985)

2. 안전영역(margin of safety) 산출

반응의 심각성에 따른 용량을 추정함으로써 기대되는 반응을 예방할 수 있다. <그림 4>의 양반응 곡선에서 ED (effective dose) 곡선은 물질에의 과폭로를, 더 나아가 좀 더 중증의 독성발현을 방지하는 용량의 범위, 즉 안전영역을 정할 수 있다.

$$\text{안전영역 (margin of safety)} = \frac{TD_{50}}{ED_{50}} \quad \text{혹은} \quad \frac{TD_{10}}{ED_{50}} \quad \text{혹은} \quad \frac{TD_{01}}{ED_{10}}$$



ED : safe reversible response curve

TD : undesirable response curve

<그림 4> 안전영역 산출을 위한 ED곡선과 TD곡선 (William & Burson, 1985)

3. 역치(threshold)의 산출

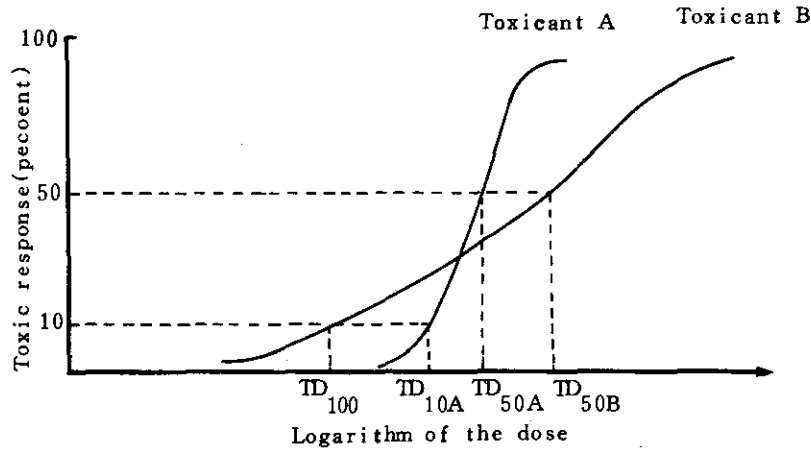
양반응곡선을 이용함으로써 주어진 물질에 대한 생물학적 반응을 나타내지 않는 가장 높은 용량점인 역치(threshold)를 계산할 수 있다.

4. 양-반응 곡선활용의 제한점

양반응곡선을 활용하는데 있어서의 제한점은 첫째, 양-반응곡선 상의 한점을 적용하는데는 곡선의 기울기가 고려될 수 없는데 <그림 5>에서와 같이 높은 용량에서는 독성물질 A가 더 독성이 강한 것 처럼 보이나 낮은 용량에서는 B물질이 더 낮은 역치를 갖는다. 그러므로 실제로 있어서는 양-반응의 간격(즉 곡선의 기울기)과 역치의 위치가 중요하다.

둘째, 급성독성시험에서의 양-반응관계로 만성적인 독성을 설명할 수 없는 점이다. 예를 들어 톨루엔이나 벤젠은 모두 중추신경계에 장해를 일으키는데, 급성으로는 톨루엔이 훨씬 강력한 독성을 나타내지만 만성적인 장기폭로시에는 벤젠이 발암성을 갖는 것으로 보건학상 더 중요시 되고 있다.

셋째, 동물 종간의 생리학적 차이가 다양하므로 실험데이터를 인간에게 적용하는 경우 어떤 동물데이터를 사용해야 하는가를 선택하는데 어려움이 있다. 이때 문제되는 화학물질의 상호작용에 관련하여 가장 인간과 밀접한 동물의 선택이 중요하다.



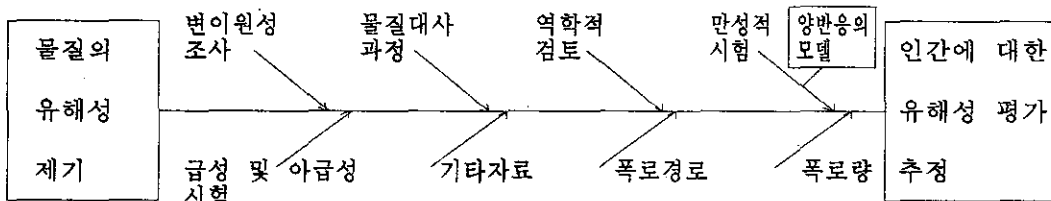
<그림 5> 경사도에 따른 양반응곡선의 모양

(William & Burson, 1985)

III. 양반응관계의 평가(Dose-Response Assessment)

- 동물실험데이터를 인체폭로에 외삽(Extrapolation of animal data to human exposure) -

유해성 평가과정에 있어서 저용량 외삽모델의 결과는 사실상 양반응 평가의 일부분에 불과하다<그림 6>. 그러나 실험동물에 높은 농도의 대상물질을 투여하여 양반응 관계를 측정한 결과를 환경에서 인간이 접할 수 있는 폭로수준에 외삽시켜 평가하는 궁극적인 목적은 인간에게 건강상 유해를 주지 않을 유해물질의 용량(dose), 즉 폭로수준을 알아내는데 있다.



<그림 6> 유해성 평가시에 도입되는 자료들

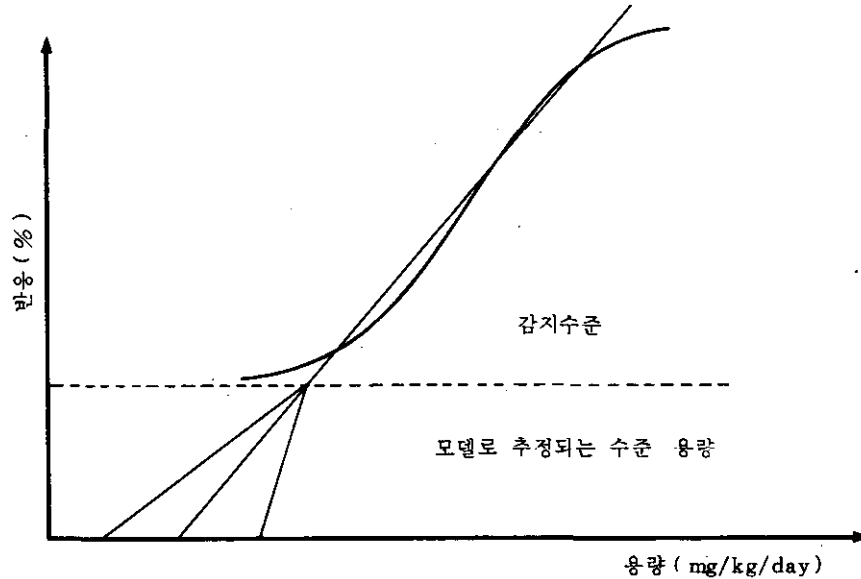
(Park & Snee, 1983)

동물실험에서 얻은 양반응곡선으로부터 물질의 인간에 대한 유해성을 평가할 때 고려되어야 할 사항은 폭로경로(route of exposure), 성(sex), 연령(age), 물질의 화학적 상호작용, 생활양상(life style)등의 보완 요소이다. 또한 실험동물에게 높은 농도를 폭로하여 시험하여 얻은 결과를 환경내에서 실제로 인간에게 폭로되는 낮은 농도에 적용시키는 방법을 선택하는 것이 중요하며, 그 방법선택의 정당성을 자세히 기술하여야 한다. 일반적으로 동물실험자료의 외삽법에 의한 접근법은 건강에 대한 유해성(health hazard) 혹은 장해부위(health endpoint)에 따라 크게 2가지로 나눌 수 있는데, 첫째는 독성을 나타내지 않는 용량이 명확할 때 유해성을 추정하는 것으로 동물에서 얻는 실험자료를 외삽시키는 방법에 따라 다소의 차이가 있다. 둘째는 평가하고자 하는 화학물질에 의한 간장독성, 신장독성, 신경독성, 호흡계독성, 면역계독성 등 표적기관(target organ)에 대한 독성의 자료에는 독성을 나타내지 않는 역치(threshold)가 있기 때문에 인간에 대한 안전한 폭로수준(safe level of exposure)을 안전계수(safety factor) 혹은 불확정요인(uncertainty factor)의 개념을 도입시킴으로써 추정할 수 있다. 그러나 발암성이나 변이원성에 대한 발생학적 독성은 감마선 이외 기타 발암성 화학물질의 경우 역치(threshold)를 갖지 않으므로 저농도에 대한 용량반응을 추정할 때는 앞에서와 같은 모델을 적용하는 것이 의문시 되고 있어 다른 유형의 수학적 모델을 이용하고 있다.

Anderson(1988)에 의하면 발암물질을 크게 세 종류를 구분하는데 ① 세포독(cytotoxicant) ② 유발제(initiator) ③ 촉진제(promoter)이다. 이들 각 범주에 속하는 물질의 저농도에 대한 용량반응을 평가하는때는 각기 다른 접근법이 이용되어야 한다고 하였다.

방사선은 발암과정에서 유발제(initiator)로서 작용하며 역치를 갖고 있지 않으나 폭로된 용량과 표적기관(target organ)에서 받아들이는 용량과는 비례 관계가 있기 때문에 저용량에서의 직선성(low-dose linearity)에 따른 통계적 접근법이 적절하겠지만(그

림 7), 발암성 화학물질의 경우에는 역치를 정할 수 있는 것도 아니고 폭로용량이 0에 이를때 비로소 암발생이 생기지 않기 때문에 통계적 접근방법이 매우 복잡하다.



<그림 7> 저용량 외삽모델의 예

(Paustenbach, 1989 ; William & Burson, 1985)

이상 언급한 접근방법의 개념을 기술하면 다음과 같다.

1. 안전계수 접근법(safety factor approach)

인간이 안전하게 폭로될 수 있는 수준을 산출하기 위해 안전계수를 이용한다는 것은 아무런 반응도 일어날 수 없는 역치량(threshold dose)이 존재한다는 가정하에서 이루어지는데, 이 방법은 주로 모든 전신중독성 물질(systemic toxicant)에 적용한다. 이것은 수학적 모델보다 덜 복잡하며 일반적으로 안전계수에 기준한 제한수준을 둠으로써 폭로된 사람에 있어서의 질병발생을 예방하는데 효과적이다. NAS(National Academy of Science), FDA(Food and Drug Administration) 혹은 EPA(Environmental Protection Agency)에서 사용하는 것은 각각 SNARL(Suggested No Adverse Response

Level), LOEL(Lowest Observable Effect Limit) 및 NOEL(No Observable Effect Limit) 등이다.

안전계수 접근방법의 제한점은 첫째, 표본수의 크기에 따라 독성학적, 통계적 유의성이 다르다는 점이다. 실제로 큰 집단에서 영향을 주는 물질의 용량수준에 대해서 실험에서는 반응이 나타나지 않을 수 있다. 즉 집단위험도(population risk)가 1%인 물질의 용량에 대해서 실험동물 수를 50마리로 하면 아무런 반응도 나타나지 않을 수가 있다. 둘째 앞에서도 언급했듯이 용량-반응곡선의 기울기를 설명할 수 없는 점이다.

안전계수이란 외삽에 이용하는 실험자료의 신뢰성(reliability)을 반영하는 것으로 유해물질에 대한 사람과 실험동물의 감수성의 차이와 사람집단에서의 감수성의 변이를 고려하여 추정된 숫자이다.

안전계수접근법의 결과는 먼저 사람에게 대한 안전량 SHD(a safe human dose)를 산출해야 하는데, SHD의 산출은 실험동물과 사람과의 크기의 차이를 기초로하여 외삽시키는 것으로 보통 체중이나 체표면적을 이용하며, 그 계산식은 다음과 같다.

$$\text{SHD(safe human dose)} = \frac{\text{ThD}_{0.0}(\text{mg/kg/day}) \times 70\text{kg}}{\text{SF}} = (\# \text{mg/day})$$

ThD_{0.0} : 역치(threshold)
SF : 안전계수(safety factor) : 보통 10~1,000

일단 SHD가 추정되면 그것은 물질의 폭로경로에 따라 안전한 폭로수준의 양으로 바꾸어야 한다. 첫째 흡입폭로의 경우 안전한 공기중 농도로 바꾸어 산출되어야 하는데 그 공식은 다음과 같다.

$$\text{Dosage} = \frac{(\alpha)(\text{BR})(c)(t)}{\text{BW}} = (\# \text{mg/kg})$$

α : 화학물질이 폐에서 흡수되는 비율(%), 알려져 있지 않을 경우에는 100%로 한다.
BR : 호흡율(정상적인 작업자의 경우 2시간 심호흡 1.47m³/hr, 6시간 중등도 호흡 0.98m³/hr로 한다).

c : 화학물질의 공기중 농도(mg/m³)

t : 폭로시간(보통 8시간)

B.W. : 작업자의 체중(kg) : 보통남자 70kg, 여자 60kg으로 산출

$$\text{이 때 } c = \frac{\text{SHD}}{(\alpha) (\text{BR}) (t)}$$

2. 수학적 모델(mathematical model)

많은 연구결과를 미루어 볼 때, 변이원성 및 발암성 화학물질 등은 용량반응관계에서 역치가 없으며, 암발생율은 폭로량이 전혀 없을 때까지 계속 0을 향해 떨어지는 양상을 보인다.

이것은 아무리 미량에 폭로되더라도 발암성이 있다는 것을 뜻한다. 이러한 경우 농도에서의 실험자료만을 가지고 낮은 농도실험에 외삽시켜 결과를 추정하는 방법은 적합하지 않다.

각 수학적 모델의 통계학적 접근방법은 매우 복잡하므로 여기서는 통계적인 방법에 관한 상세한 설명은 생략하고 그 개념만을 언급하기로 한다.

a. 실질적인 안전량(VSD : Virtually Safe Dose)

통상적으로 실질적인 안전량(VSD : virtually safe dose : a risk specific dose)을 먼저 추정해 내야 한다. 이 VSD란 동물 실험에서 사용한 용량범위를 벗어난 농도에서의 특이반응을 추정해 낸것으로 NOEL(No Observed Effective Level)보다 3~4단계 아래까지로 한다. 이것은 매우 낮은 농도에서 특이한 반응을 나타내는 확률에 관련한 수학적 모델을 사용하기 위해 통계처리 과정에서 필요로 하는 요소이다.

b. 약물역동학(Pharmacokinetics)의 개념과 유해성 평가

돌연변이원, 발암원과 같이 용량반응관계에 있어서 역치가 없다는 것은 일정한 상태에서 실험접근방법을 시도할 때 투여된 화학물질의 농도는 아주 낮더라도

도 작용과정상에서 반응물질들이 생산되어 어느 정도의 유해성이 나타난다. 즉 생리적, 생화학적 반응이 나타날 가능성이 있다. 예를 들어 방사선은 발암유발 물질(initiator)로 알려져 있는데, 이 경우 폭로된 용량과 표적기관(target organ)에서 받아들이는 용량은 저농도에서 비례관계가 있다(low-dose linearity). 그러나 대다수의 발암성 화학물질의 경우는 폭로량과 표적기관에서의 수용량 사이에는 비례성이 없기 때문에 도입된 이론이 바로 약물역동학(pharmacokinetics)이다. 약물역동학이란 화학물질이 생체내에서 흡수되는 분포되는 물질대사와 배설의 과정에 대한 역동학이다. 이에 대한 연구정보는 투여된 화학물질의 용량이 체내의 다른 화학물질과 반응하여 화학물질 자체가 어떻게 변화하는가를 알려준다. 또한 화학물질에 폭로됨으로써 생기는 독성반응은 표적기관(target organ)에 미치는 양 뿐아니라 그 물질에 민감한 부위에 얼마동안이나 작용하는가 하는 것도 중요하므로 실험동물의 종간의 민감성에 대한 연구보고들은 독성자료를 외삽시키는데 도움이 된다.

대부분의 수학적 모델은 보통 비교적 높은 농도에 폭로된 실험동물에서 관찰한 발암성 반응의 결과를 외삽시키는데, 폭로량을 줄여감에 따른 발암율의 감소에는 각 모델간에 차이가 있으나(rapidity : zero response-zero dose level로의 경사차), 전혀 폭로되지 않을 경우(zero dose level)에만 발암작용이 나타나지 않는다(zero response)는 공통된 가정을 갖는다. 또한 이들 모델의 공통점은 발암성을 지닌 물질의 농도와 투여되는 화학물질의 용량 수준과는 비례성의 있다는 가정하에 이루어진다.

c. 추계(stochastic)효과와 비추계(non-stochastic)효과

화학물질이나 방사선과 같은 유해물질에 의한 건강유해성을 평가할 때는 통상 다음과 같은 의문이 제기된다.

첫째, 나타난 유해작용은 가역적인가 비가역적인가
둘째, 그 반응은 정제적인가 계속 진행되는가.

셋째, 발생빈도 및 유해성의 정도는 물질의 양과는 어떤 관계가 있는가 또 역치가 있는가

넷째, 발생빈도와 유해성 정도는 시간적 및 공간적으로 유해물질의 용량분포에 의해 영향을 받는가

다섯째, 유해성에 대한 감수성(susceptability)은 물질에 폭로될 당시의 연령, 성, 유전적 소인 기타 생리적 요소와 관계가 있는가

여섯째, 유해성의 발생빈도 혹은 정도는 다른 환경적 요인등에 의해서 상승작용(synergistic interaction)이 있는가

이들 의문점에 대하여는 현상태의 지식수준으로 충분히 해명하기는 어렵지만 학자들은 어떤 물질에 대한 현상을 크게 추계(stochastic) 효과와 비추계(non-stochastic) 효과의 두가지 형태로 표현하고 있다. 추계(stochastic)효과란 역치(threshold)가 없고 용량(dose)의 기능으로서 유해성의 정도는 고려치 않고 유해성의 발생빈도 만을 고려한 것이며, 비추계(non-stochastic) 효과란 유해성의 발생빈도 뿐 아니라 정도에 걸친 모든 현상을 고려한다는 점이다. 추계(stochastic)효과는 개개세포에 대한 치명적인 손상이 아닌 유전적, 발암적 효과를 뜻하며 비추계(non-stochastic)효과는 기관(organ)에 영향을 주는 많은 세포의 손상 및 사멸 등 총합적인 조직 손상을 포함한다.

Munro와 Krewski(1981)에 의하면, 유해성 평가를 위한 수학적 모델들은 대부분 추계모델들인데 이것은 하나 혹은 그 이상의 생물학적 현상등이 통계학상 임의적으로 양성반응을 나타낸다는 것을 전제로 하여 만들어진 것이다.

d. One-Hit Model(Paustenbach D. J., 1989)

이 모델의 경우 표적부위(target site)에서 일어나는 오직 하나의 생물학적 요인을 고려하여 각 용량단위에 의해 유해성이 발생하면 양성반응이 나타난다는 개념이다.

이 방법에서는 낮은 용량에서 직선성(linearity)를 나타내므로 일반적으로 낮

은 수준의 용량에서 비교적 높은 위험도를 추정할 수 있다.

e. Multi-Hit Model(Rai & Van Ryzin, 1981)

유해성이 하나이상의 생물학적 작용에 의해 발생한다는 이론으로, 통계학적인 모수 β , m , k 가 같을 때만 낮은 농도에서 직선성(linearity)을 나타낸다는 특징이 있다.

f. Multi-Stage Model(Crump, 1979)

이 모델은 발암성과 같이 비가역적이고 자기복제적인 독성효과의 유도 등에 대한 것이다. 몇몇 과정의 서로 다른 임의의 생물학적 사건들에 의하여 또 각 반응에 작용하는 양(dose rate)과 작용시간(time rate)의 요소를 고려하는 개념을 도입시킨 것이다. 직선회귀계수(linear coefficient) β_1 이 +일 때만 낮은 농도에서 직선 관계가 있고 그 외에는 sublinear하다는 특징을 갖는다.

g. 수학적모델의 제한점

수학적 모델들은 실험상의 높은 농도에서 얻은 결과를 토대로 저용량에서의 결과를 추정하는데 큰 기여를 하는 것은 사실이나, 실제 인간이 환경에서 낮은 농도의 화학물질에 폭로되는 경우에는 생체내에서 일어나는 번역작용의 역할, DNA손상의 회복, 기타 효소의 항진, 억제작용 등에 의해 그 반응에 대한 변수가 많기 때문에 수학적 모델로는 이러한 것을 설명할 수 없다. 또한 각 모델은 이론적으로는 비교적 합리적이거나 동일한 관심분야에서도 각 모델에 따라 그 결과가 매우 상이한 경우가 많으므로 수학적 모델로써 완전한 설명을 하기에는 제한점이 있다.

3. 폭로평가(Exposure Assessment)

폭로평가는 작업장 혹은 환경내에 기존하거나 또는 새로이 제조할 어떤 물질에 인간 혹은 동물이 폭로될 때 폭로집단의 크기, 폭로경로, 빈도, 강도, 기간 등을 추정해가

는 과정을 말한다.

폭로 평가의 목적은 폭로되어도 중을 안전한 폭로수준을 정하는데 필요한 정보를 제공하는 것이다. 화학물질에 대한 1차적인 폭로경로는 먼지나 증기 등의 흡입, 오염된 흙, 먼지 등의 접촉 그리고 오염된 음식, 물, 토양, 먼지 등을 먹는 경우이다. 각 폭로 경로에 대한 필요한 정보는 다음과 같다.

I. 흡입폭로에 대한 parameter

- 공기중 화학물질의 농도 : 가스, 증기 또는 입자.
- 입자크기의 분포 혹은 입자에 흡수되어 있는 화학물질의 분포
- 먼지 속의 오염물질의 농도 : 입자의 크기에 따라 다양할 수 있다.
- 호흡율(respiration rate)
- 폐흡수도(degree of pulmonary absorption)
- 폭로기간

흔히 입자의 크기가 작은 것이 큰 것 보다 독성물질의 농도가 높다. 이러한 점도 폭로수준을 계산할 때 반드시 고려되어야 한다.

II. 접촉폭로에 대한 parameter

- 토양 또는 먼지 내의 오염농도
- 공기 또는 토양으로부터 토양/먼지의 침착율(deposition rate)
- 노출된 피부면적
- 경피흡수계수(dermal absorption coefficient)
- 폭로기간

통상적으로 사용되고 있는 국소부위별 체표면적비율은 <표 2>와 같다. 토양이나 먼지 등에 흡착된 화학물질이 흡수되는데 가장 중요한 영향을 미치는 요인은 생체내 이용율(bioavailability)인데, 이는 화학물질의 물리 화학적 성상, 폭로시간, 그리고 토

양, 먼지 등에 화학물질이 존재했던 시간 등이다.

두경부	9%
상지(각 9%)	18%
하지(각 18%)	36%
몸체의 전면	18%
몸체의 배면	18%
회음부	1%
손·발 바닥 및 손·발가락	1%

<표 2> 인체의 국소부위별 체표면적 산출의 일반적 예(Paustenbach, 1989)

Ⅲ. 경구폭로에 대한 Parameter

- 화학물질 매개물의 일일 섭취량(토양, 음식, 음료 등)
- 각 매개물에서의 화학물질의 농도
- 위장관 흡수계수(gastrointestinal absorption coefficient)

각 매개물에서의 화학물질의 양, 흡수량 등은 통계적으로 타당한 임의적인 표본조사 계획에 의해 접근되어야 한다.

Ⅳ. 일일폭로량의 추정치

- MDD : maximum daily dose
- LADD : lifetime average daily dose
- Margin of Safety : 동물 혹은 사람을 대상으로 한 실험연구에서 NOEL과 폭로 농도와의 비
- ADD : average daily dose

4. 유해성의 판정(Risk characterization)

유해성의 판정이란 앞서의 폭로평가에서 기술한 다양한 폭로조건하에서 발생하는 건강장해(health effect)의 발생율을 고려하여 유해성을 판정해 가는 과정을 말한다. 이때 고려되어야 할 점은 어떤 물질의 유해성의 정도와 사용에 따른 경제적 측면, 사회적 측면 및 유해성으로 판정시의 이익성의 여부 등이다. 화학물질을 사용에 따른 사회적 압력, 기술상의 정보결핍, 잠재유해성의 정도등에 관한 요소가 정책결정가들에게 중요한 정보가 된다.

유해성을 판정하는 과정에서는 지금까지 연구되고 제시된 모든 정보를 이용할 수 있고 이해할 수 있어야 한다. 그러기 위해서는 주어진 폭로시나리오에 대한 유해성 추정 뿐 아니라 그에 상응하는 생물학적 정보, 그에 대한 제한점 등을 양적, 질적으로 평가한 내용이 포함되어야 한다.

제 3 장 산업안전보건법에서의 화학물질 유해성조사 및 심사 제도의 개요

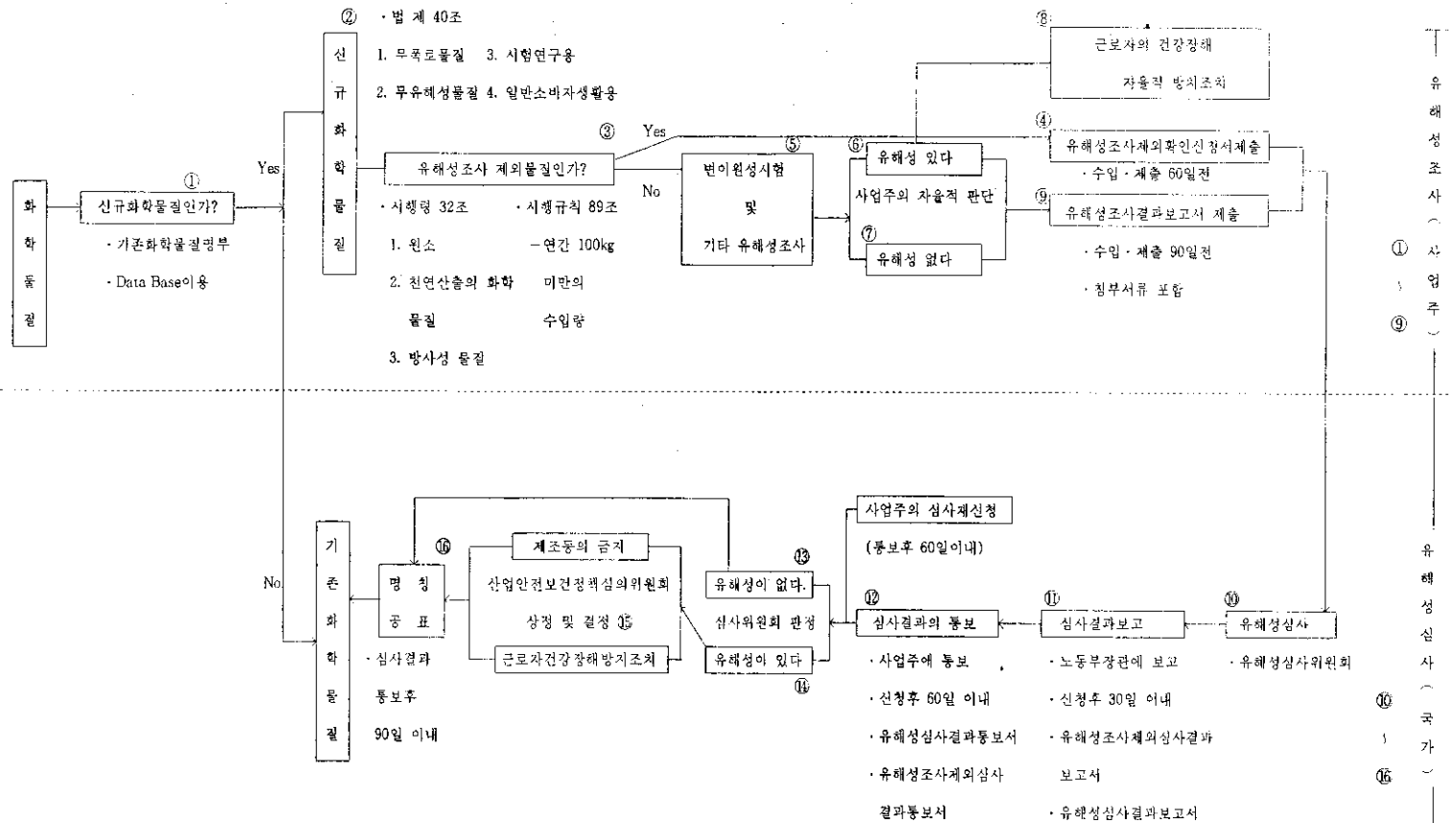
제 1 절 산업안전보건법상의 화학물질 유해성조사의 개요

산업안전보건법에 규정된 신규화학물질의 유해성조사는 새로이 제조하거나 또는 수입할 화학물질에 대한 유해성 여부를 판단하는데 그 목적을 두고 있으며, 발암성이 있는 화학물질을 선별하는데 주된 취지가 있으며, 그 주된 내용은 다음과 같다.

1. 신규화학물질을 제조 또는 수입하고자 하는 사업주는 근로자의 건강장해를 예방하기 위하여 노동부령이 정하는 바에 따라 미리 유해성조사를 실시하여 해당되는 신규화학물질의 명칭과 유해성조사 결과보고서를 노동부장관에게 제출하여야 한다.
2. 유해성조사를 실시한 사업주는 그 결과에 따라 당해 신규화학물질에 의한 근로자의 건강장해를 방지하기 위하여 즉시 필요한 조치를 취하여야 한다.
3. 노동부장관은 화학물질의 유해성조사결과보고서가 제출된 때에는 보건에 관한 학식과 경험이 풍부한 자의 의견을 듣고, 근로자의 건강장해를 방지하기 위하여 필요하다고 인정할 때에는 당해 사업주에 대하여 시설, 설비의 설치 또는 정비, 보호구의 배치 등의 조치를 명할 수 있다.

현재 우리나라에서 시행하고 있는 화학물질에 대한 관리규제법령은 그 화학물질의 이용목적에 따라 따라 제정되어 있는바, 그 대표적인 것이 약사법(보건사회부), 식품위생법(보건사회부), 농약관리법(농수산부), 환경보전법(환경청), 산업안전보건법(노동부), 소방법, 고압가스 안전관리법 등이다. 화학물질이 여러가지 용도로 사용되어 인체에 위해를 일으키며 건강장해를 예방해야 하는 보건위생측면과 환경오염이라는 환경영향측면에서의 화학물질관리체제를 포괄적으로 포함하는 독립된 관계법령은 뚜렷이 없고, 단지 1987년부터 시행되는 환경보전법과 1990년 개정된 산업안전보건법이 있을 뿐이다. 환경보전법(제 2 조, 제15조), 동법의 합성화학물질관리법(제42조)상의 화학물질

여 백



<그림 8> 신규화학물질의 유해성 조사 및 심사 흐름도

은 합성화학물질을 뜻하며, 이것은 원소 또는 화학물의 화학반응에 의하여 생성되는 화학물을 말한다.

이를 바탕으로 하여 유해물질 관리법은 주로 난분해성의 성상을 가지며, 인체건강에 영향을 주거나 환경오염의 원인이 되는 화학물질을 대상으로 하고 사업장 사이를 유통하는 공업용 원료 및 부원료를 포함하고 있으나, 동일 사업장내에서 있을 수 있는 생산공정에서 생산되는 중간생성물로서의 화학물질은 대상에서 제외되고 있다.

한편 산업안전보건법은 직장에서 일하는 근로자가 유해화학 물질에 노출되어 발생할 수 있는 직업성 질병의 발생 및 근로자의 건강장해를 방지한다는 목적 아래 제정되었으므로 화학물질의 원소, 천연으로 산출된 화학물질, 방사성 물질 및 원료, 중간제조산물, 분해생성물, 최종산물 및 제품에 이르기까지 근로자가 작업장에서 접할 수 있는 모든 물질을 포함한다.

이와같이 산업안전보건법상의 화학물질의 범위는 포괄적이며, 유해성 조사의 목적은 근로자들을 작업장이라는 환경에서 노출될 수 있는 모든 종류의 화학물질로 인해서 발생할 수 있는 직업성질병, 건강장해로부터 보호하는데 있고, 더우기 신규화학물질에 대한 유해성조사는 우리나라의 사업장이 선진국이 개발한 신종화학물질의 실험장이되는 현상을 방지하는데 있다.

제 2 절 화학물질의 유해성 조사 및 심사과정

신규화학물질의 유해성조사 및 심사에 대한 흐름도는 <그림 8>과 같으며, 흐름도에 맞추어 설명하면 다음과 같다.

1. 산업안전보건법상의 화학물질의 범위

여기에서 화학물질이라 함은 근로자가 작업장에서 폭로될 수 있는 모든 종류의 화학

물질을 뜻하며, 명칭이 공표된 화학물질이나 새로이 제조, 수입하려는 모든 화학물질을 뜻한다. 기존화학물질이란 법 제40조 제 3 항의 규정에 의하여 노동부장관이 명칭을 공표하고 기존 화학물질 명부에 수록되어 있는 화학물질과 기타 1991년 6월 30일 현재 다른 법령에 의해 행정기관에서 유해성을 공표한 화학물질을 총칭한다.

현재 사업주는 자체 사업장에서 화학물질을 제조하거나 수입하려고 할 때 당해 화학물질이 기존화학물질에 해당하는가의 가부를 조사한다. 이때는 기존화학물질명부(1991, 노동부) 및 기존의 문헌자료등을 참조한다.

기존화학물질인 경우 사업주는 산업안전보건법 제41조에 따라 근로자의 보건상 해로운 물질을 제조, 사용, 저장, 운반 또는 양도의 행위를 할 때 미리 유해성을 조사하고 노동부장관이 정하는 바에 의해 사용의 중지, 시설, 설비의 설치 또는 정비, 보호구의 비치 등 적절한 조치를 하여야 한다. 기존 화학물질 이외에 새로이 제조 혹은 수입하는 물질은 신규화학물질이라고 하며, 사업주는 이러한 신규화학물질에 대해 유해성을 조사할 의무를 가지는데, 이 때 산업안전보건법 제40조, 동법시행령 제32조 및 '92년 개정된 시행규칙 87조, 89조에 해당하는 유해성조사제의 물질인가를 확인한다. 유해성조사 제외물질인 경우, 유해성조사제의 확인신청서를 노동부장관에게 제출하며, 해당법규는 다음과 같다.

I. 산업안전보건법 제40조

- ① 당해 신규화학물질이 노동부령이 정한 제조 또는 취급방법상 근로자가 이에 폭로될 우려가 없거나 유해성이 없다고 노동부장관이 확인한 경우
- ② 시험, 연구를 위하여 당해 신규화학물질을 제조 또는 수입하는 경우
- ③ 당해 신규화학물질(신규화학물질을 함유한 제품을 포함한다)이 일반소비자의 생활용으로 제공되기 위하여 수입된 것으로서 노동부령이 정하는 경우
- ④ 기타 수입한 신규화학물질로서 노동부령이 정하는 경우

Ⅱ. 산업안전보건법 시행령 제32조

법 제40조 제 1 항에서 “대통령이 정하는 화학물질”로서

- ① 원소
- ② 천연으로 산출된 화학물질
- ③ 방사성물질
- ④ 법 제40조 제 3 항의 규정에 의하여 노동부 장관이 명칭을 공표한 물질

Ⅲ. 시행규칙 제89조

수입하고자 하는 신규화학물질의 1년간 수입량이 100kg 미만인 경우로서 노동부 장관의 확인을 받은 경우

2. 신규화학물질의 유해성 조사 및 결과보고서 제출(사업주의 의무)

I. 유해성조사

새로이 제조하거나 혹은 수입하고자 하는 화학물질 중 상기한 유해성조사 제외 물질 이외의 유해성조사 대상물질에 관하여 사업주는 노동부령이 정하는 바에 따라 유해성 조사를 실시한다. '92년 개정된 시행규칙 제83조 규정에 의한 신규화학물질의 유해성 조사는 미생물을 이용한 복귀돌연변이시험과 포유류 배양세포를 이용한 염색체 이상시험 또는 이와 동등 이상의 결과를 얻을 수 있는 시험이나 발암성시험이다.

이러한 조사방법은 발암성의 소지가 있는 화학물질을 선별한다는 취지가 있다. 즉 화학물질의 발암성을 선별하는데 관련하여 현재까지의 지견으로는 화학물질의 변이원성을 조사하는 것이 당해 화학물질의 암원성을 예측하는데 유효하다고 여겨지고 있다.

선별방법으로 적당하려면 신속, 간편하고 정확해야 하는데 현재까지의 기법으로는 미생물을 이용한 방법이 비교적 용이하고, 일반적으로 행하는 방법이며 정밀도가 높다고 인정되고 있다. 이러한 시험을 적정하게 행하는데 필요한 시험방법, 시험업무에 중

사하는 자, 시험을 행하는데 필요한 시설, 설비 및 기구에 대한 “변이원성시험기준”을 정해야 하며, 사업주가 신규화학물질의 유해성을 조사할 때 원칙적으로 그 기준을 따르게 해야한다. 현재 우리나라에서는 조사기관을 노동부장관이 인정하는 전문조사기관을 정하여 그 기준을 맞추고 있다.

Ⅱ. 유해성 조사기관 및 조사시기

시행규칙 제84조 규정에 의하면 사업주는 조사를 자체적으로 실시하기 곤란한 경우에는 노동부장관이 인정하는 전문조사기관에 화학물질 유해성 조사를 의뢰할 수 있다. 노동부가 정한 유해성시험기관은 다음과 같다.

- ① 국립보건안전연구원
- ② 국립환경연구원
- ③ 농약연구소
- ④ 한국과학기술원
- ⑤ 한국화학연구소 안정성 센터
- ⑥ 한국산업안전공단 산업보건연구원
- ⑦ 경제협력개발기구(OECD) 및 당해국가의 우량시험기준(GLP)를 인정받은 외국의 연구기관 및 시험기관으로서 노동부장관이 인정하는 기관

Ⅲ. 유해성조사 결과보고서 제출

법 제40조 제1항의 규정에 의해 신규화학물질을 제조 또는 수입하고자 하는 자는 제조 또는 수입하고자 하는 날 90일전까지 유해성조사결과보고서에 시험의 방법 및 그 결과와 당해 신규화학물질의 제조, 사용, 취급방법 등을 기록한 서류를 첨부하여 노동부장관에게 제출해야 한다. 노동부장관이 인정하는 외국의 연구기관 등에서 당해 신규화학물질에 대해 시험을 이미 실시한 경우에는 그 연구기관의 명칭 및 시험방법, 시험결과와 당해 신규화학물질의 제조, 사용, 취급방법 등을 기록한 서류를 첨부하여 노

동부장관에게 제출하여야 한다.

IV. 화학물질의 유해성에 관한 자료

사업주는 유해성조사 결과보고서 제출시 법 제40조 제 2 항의 규정에 의한 근로자의 건강장해 방지조치를 위한 판단근거로서 다음의 자료를 제출할 수 있다.

- ① 노동부장관이 인정하는 유해성시험기관에서 발급 및 제시하는 유해성조사자료
- ② 관련 전문학회지에 게재되었거나 학회에 발표된 유해성조사자료
- ③ 국내외에서 발간되는 저작권법상의 문헌에 등재되어 있는 유해성조사자료
- ④ 경제협력개발기구 회원국의 정부기관 및 국제연합기구에서 인정하는 유해성조사자료
- ⑤ 기타 위원회가 인정하는 유해성조사자료

위의 자료는 출처의 확인이 가능하도록 하여야 하며, 외국자료인 경우에는 제출자료의 인용부분에 별도의 표지를 하고 요약 번역문을 당해자료의 앞에 첨부한다.

V. 유해성조사제외 확인신청서 제출

법 제40조 제 1 항의 제 1 호의 규정에 의하여 근로자가 당해 신규화학물질에 폭로될 우려가 없거나 유해성이 없다는 노동부장관의 확인을 받고자 하는 자는 최초로 당해 신규화학물질을 제조 또는 수입하고자 하는 날 60일전까지 유해성조사제외확인신청서에 당해 신규화학물질에 대한 제조, 취급시설 및 방법에 관한 서류 또는 당해신규화학물질이 유해성이 없다는 사실을 증명하는 서류를 첨부하여 노동부장관에게 제출하여야 한다.

3. 유해성 심사 및 신규화학물질의 공표(국가의 의무)

노동부장관은 화학물질의 유해성조사결과보고서가 제출된 때에는 지체없이 심사한 후 당해 신규화학물질의 명칭 및 유해성 등을 관보 또는 일간신문 등에 공표하고 관계 부처에 통보해야 한다. 또한 노동부령이 정하는 바에 의하여 보건에 관한 학식과 경험 이 풍부한 자의 의견을 듣고 근로자의 건강장해 방지를 위하여 필요하다고 인정할 때에는 당해 사업주에 대해 시설, 설비의 설치 또는 정비, 보호구의 비치 등의 조치를 하도록 명할 수 있다.

I. 유해성 심사위원회

시행규칙 제92조의 규정에 의하면 노동부장관은 법 제40조, 제 4 항의 규정에 의하여 화학물질의 유해성조사결과보고서에 대한 관계전문가의 의견을 듣고 자문을 얻기 위하여 화학물질 유해성 심사위원회를 구성, 운영하여야 한다. 심사위원회는 위원장 1인을 포함한 20인 이하의 위원으로 구성한다.

II. 위원회의 업무(규칙 제 2 조, 제 2 항)

- ① 신규화학물질 유해성조사 결과보고서의 심사.
- ② 시험, 연구용으로 제조 또는 수입하는 신규화학물질에 대한 유해성조사제외 확인신청서의 심사
- ③ 폭로우려 및 유해성이 없는 신규화학물질에 대한 유해성조사제외 확인신청서의 심사.
- ④ 일반소비자용 신규화학물질에 대한 유해성조사제외 확인신청서의 심사.
- ⑤ 규정에 의한 각 보고서 및 신청서에 첨부된 첨부서류의 심사.
- ⑥ 근로자의 건강장해방지를 위하여 사업주로 하여금 조치하도록 하여야 할 사항의 심사.
- ⑦ 기타 위원장이 부의하는 사항.

심사위원회는 심사업무를 실시함에 있어 당해 화학물질의 제조 등의 금지, 허가대상

여부 사업주의 조치사항 및 유해성조사제외 확인서의 타당성을 심사하여야 한다.

Ⅲ. 유해성 심사의 내용

1. 작업환경적 유해성 평가

- a. 작업환경내의 유해성 : 당해 화학물질이 작업환경에서 사용되는 경우 근로자의 건강에 유해위험을 미칠 수 있는지의 여부
- b. 생체내 축적성 : 당해 화학물질이 난분해성 물질로서 미량이라도 근로자가 장기간 폭로되면 체내에 축적되어 건강장해를 유발할 수 있는지의 여부
- c. 분해생성물의 유해성 : 당해 화학물질이 작업환경내에서 분해되어 발생하는 분해생성물이 근로자의 건강 및 작업환경에 위해를 미칠 수 있는지의 여부.
- d. 분해과정의 유해성 여부 : 당해 화학물질이 작업환경내에서 분해되는 과정에 있어서 근로자의 건강 및 작업환경에 위해를 미칠 수 있는지의 여부
- e. 작업환경내로 누설될 때 유해위험성 : 당해 화학물질이 작업환경내로 누설되는 과정에 있어서 작업환경내의 여타물질과 결합하여 근로자의 건강 및 작업환경에 유해위험을 미칠 수 있는지의 여부.

2. 산업독성학적 평가

- a. 피부 및 안과독성
- b. 혈액독성
- c. 신장독성
- d. 간장독성
- e. 신경독성
- f. 폐독성
- g. 변이원성
- h. 발암성

i. 기형발생성 및 생식독성

IV. 유해성 심사결과의 보고

1. 유해성심사서 : 심사위원이 기록, 서명 날인하여 심사위원장에게 제출하여야 한다.
2. 신규화학물질 유해성심사결과보고서 및 신규화학물질 유해성조사제외심사결과보고서를 작성하여 노동부장관에게 제출한다.

V. 심사결과의 통보

1. 신규화학물질 유해성조사제외 심사결과 통보서 : 노동부장관은 시행규칙 제90조의 규정에 의해 사업주에게 통보한다. 단, 위원회의 의결로써 1회에 한하여 심사결과 통보를 연기할 수 있다.
2. 신규화학물질 유해성 심사결과 통보서 : 노동부장관은 시행규칙 제86조의 규정에 의한 보고서가 제출된 때에는 접수된 날로부터 60일 이내에 사업주에게 통지한다.
3. 사업주는 유해성 심사결과에 이의가 있는 경우에는 심사결과 통보일로부터 60일 이내에 증빙서류를 보완, 첨부하여 1회에 한하여 재신청할 수 있다. 다만 ILO, OECD등의 국제기관에서 당해화학물질에 대한 유해성 변경이 있을 경우에는 재신청의 제한을 받지 아니 한다.

VI. 산업안전보건 정책심의위원회의 심의

노동부장관은 위원회가 당해 신규화학물질을 제조 등의 금지 및 허가물질로 심사결한 경우에는 산업안전보건 정책심의위원회의 심의에 회부하여 제조금지 및 허가사항을 확정한다.

Ⅶ. 명칭공표

유해성 심사 결과통보 후 90일 이내에 관보 또는 일간신문 등에 공표하고 관계부처에 통보하여야 한다.

제 4 장 화학물질의 변이원성 평가

우리나라 산업안전보건법에 의하면 사업주가 화학물질을 새로이 제조 혹은 수입하고 자하는 경우, 자체적으로 혹은 노동부가 지정하는 전문조사기관에 의뢰하여 실시토록 하는 신규화학물질에 대한 유해성시험의 방법으로 변이원성 시험을 채택하고 있다. 본 연구에서는 화학물질의 유해성 평가시 필수적으로 고려되는 변이원성 평가의 목적 및 그 방법을 고찰하고 신규화학물질의 변이원성 시험의 결과에 대한 심사를 할때 평가에 도움이 될 수 있는 안을 제시해보고자 한다.

제 1 절 변이원성 시험의 목적 및 배경

화학물질을 취급하는 작업환경 중에서 유해화학물질에 대한 근로자의 건강장해 문제는 산업보건학 분야에서 해결되어야 할 가장 큰 문제이다. 더불어 이와 같은 물질에 대한 검색과 관리가 절실히 요망된다. 유해화학물질의 인체에 미치는 독성은 앞서서도 언급했듯이 급성 및 만성독성, 생식독성, 발암성, 돌연변이원성 등으로 구분되는데, 최근들어 과거 LD₅₀을 중심으로 한 급성독성의 측면에서 보다 발암성과 변이원성에 관한 관심이 더욱 높아지고 있다. 우리나라의 경우 산업안전보건법상 화학물질에 대한 유해성조사 시험방법으로 변이원성 시험법을 채택한 것도 이와 같은 경향에 부응한 것으로 이러한 변이원성시험의 목적과 배경을 살펴보면 다음과 같다.

첫째, 화학물질등의 유해물질에 의해서 사람의 유전적 물질이 변화한다는 의미의 유전독성은 작업환경에 있는 독성물질에 폭로되는데 대한 가장 심각한 잠재적 영향을 대 표할 수 있다(representativeness).

즉 유전독성에 의한 건강장해의 최종결과는 암발생인데 앞서서도 언급했듯이 암을 일으킬 수 있는 화학물질에서의 양-반응관계에 있어서는 역치의 개념이 없고, 제로

수준의 폭로에서 만이 제로의 반응을 나타내므로 극소량의, 단한번의 폭로로서도 암발생을 일으킬 수 있는 가능성을 갖게 된다. 그러므로 유해화학물질에 대한 인체의 독성은 확실한 안전폭로수준을 알 수 있는 급성독성 측면보다 유해성의 여부를 조사하는데 변이원성이나 발암성 측면에서의 접근이 보다 안전한 유해물질 방지책을 마련할 수 있게 한다.

둘째, 학문적으로 암을 일으킬 수 있는 발암물질을 확정할 때 통상적으로 필요로 하는 정보(proposed system)에 유전독성학적 접근법이 제시되고 있다. 예를들어 동물데 이타들로 부터 발암 유해성을 질적으로 측정(qualitative measurement)하는데 있어, R. Squire (1981)는 동물실험에서의 발암시험 결과로 부터 정확하게 발암유해성을 해석하기 위해서 등급을 나누는 방식을 제시하는 항목에 적절한 시험방법에 의한 유전독성의 연구결과의 내용이 포함되어 있다. 그 내용은 <표3>, <표4>와 같다.

요	인	점	수
A. 영향 받은 동물종(Species)의 수		15	
2종 이상		5	
1종			
B. 1~2동물종에서의 종양형태의 종류		15	
2~3		10	
2		5	
1			
C. 대조군에서의 자연발생율		15	
1%이하		10	
1~10%		5	
10~20%		1	
20%			
D. 용량-반응관계 : 2년간의 일일 단위 체중당			
경구투여 누적용량			
1 μ g 이하		15	
1 μ g ~ 1mg		10	
1mg ~ 1 g		5	
1 g 이상		1	
E. 유발된 종양의 악성			
50% 이상		15	
25~50%		10	
25% 이하		5	
없음		1	
F. 적절한 시험방법에 의한 유전독성			
양 성		25	
불완전 양성		10	
음 성		0	

<표 3> 동물에 대한 발암성은 평가하기 위한 체계(안)

(R. Squire; 1981 Science, 214)

요인점수총계	발암물질의 등급	제도적 규제사항
86~100	I	제조 및 사용금지
71~85	II	↑ 규제강화 ↓
56~70	III	
41~55	IV	
41이하		제조 및 사용허가 발암성표시 등

<표 4> 요인점수총계에 의한 발암물질의 등급(R. Squire, 1981)

세제, 실험실 내에서 단기간에 실시할 수 있는 변이원성시험은 최종 건강장해의 질병지표인 암발생의 선별방법으로서 적당하다는 것이다. 즉 인간의 경우 내적 폭로의 생물학적 지표로서 변이원성이 꽤 적절히 인정되고 있는 분야의 하나이다. 어떤 질병에 대한 선별검사로서의 구비조건은 ①간편성 ②저렴한 비용 ③용이성 ④효율성 ⑤정확성 등이다.

유해물질에 대한 발암성 시험법은 학문적으로는 주로 만성 시험이며, 설치류를 이용하여 장기(organ)에서 암을 유발시키는 접근법을 많이 사용한다. 인간에 대한 유해물질의 발암성 여부를 확인하기 위해 설치류로 실험적 연구를 하는데는 최소한 3년 이상의 노력과 상당히 비싼 비용이 소요된다. 또한 사람을 대상으로 발암물질을 동정해 내는 데는 역학적 접근법도 필요하나 이것 또한 장기간의 연구를 요하게 된다. 그러나 짧은 기간내에 간단히 수행할 수 있는 변이원성 시험법은 간편함과 용이함, 비용의 저렴성등으로 적합한 선별검사방법이 될 수 있다. 더불어 중요한 것은 이러한 변이원성 시험이 얼마나 정확하게 발암성을 구별해 낼수 있는가 하는 정확성이다. 정확성이라 함은 방법의 민감도, 특이도 및 예측도를 모두 포함하는 것으로써 이것은 또한 반복해서 시험했을 때 같은 결과를 내는 반복성 즉 신뢰성이 있어야 한다.

정확성을 검증하기 위한 4절(2×2)표의 예는 <표 5>와 같다.

변이원성 \ 발암성	있음	없음	합 계
양성	가	나	가+나
음성	다	라	다+라
계	가+다	나+라	가+나+다+라

$$\text{민감도(sensitivity)} = \frac{\text{변이원성 시험의 결과가 양성반응인 물질의 수}}{\text{발암성이 있는 물질의 수}} = \frac{\text{가}}{\text{가+다}}$$

$$\text{특이도(specificity)} = \frac{\text{변이원성 시험의 결과가 음성반응인 물질의 수}}{\text{발암성이 없는 물질의 수}} = \frac{\text{가}}{\text{다+라}}$$

$$\text{양성예측도(positive predictivity)} = \frac{\text{발암성의 물질중 변이원성검사가 양성인물질의 수}}{\text{변이원성 검사결과 양성반응인 물질의 수}} = \frac{\text{가}}{\text{가+다}}$$

$$\text{음성예측도(negative predictivity)} = \frac{\text{비발암성의 물질중 변이원성검사가 양성인물질의 수}}{\text{변이원성 검사결과 음성반응인 물질의 수}} = \frac{\text{가}}{\text{다+라}}$$

<표 5> 선별검사에서의 정확도 검증

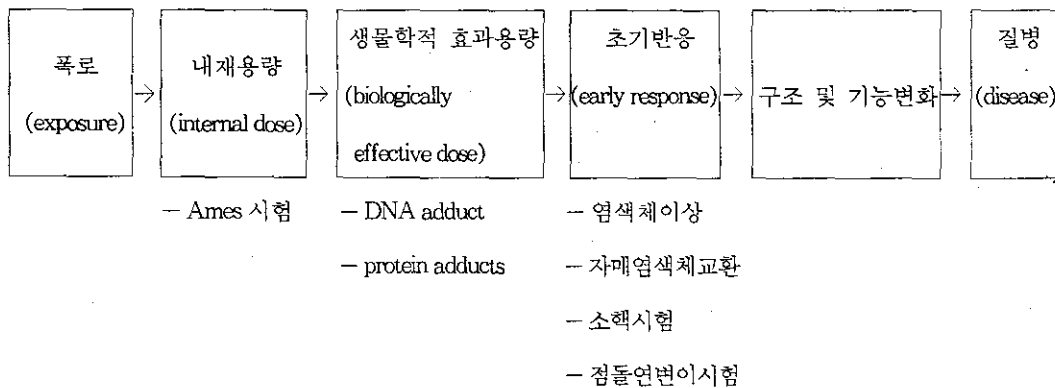
화학물질에 대한 돌연변이를 시험하는 방법으로 주로 많이 쓰이는 살모넬라균을 이용하는 Ames test는 사람에 대한 잠재적인 발암성을 지닌 물질을 찾아내는데 오랫동안 사용되어 왔는데, 동물 실험 결과 약 300가지의 발암성과 비발암성물질에 시험한 결과 이 방법으로 발암물질을 찾아낼 수 있는 민감도는 약 90%라고 알려져 있다. Environmental Mutagen Information Center Index에 게재된 화학물질 중 5,000종 이상에 대해 이 Ames test 검사결과를 기록되어 있다. 이 방법은 단일 화학물질 뿐 아니라 환경 또는 생체내 혼합된 상태로 있는 물질의 변이원성도 확정할 수 있는 것으로 알려져

있다.

일반적으로 단시간내에 수행하는 변이원성 시험들은 발암성 여부를 정확하게 예측한다고 인정되고 있는데, 특히 시험범위의 민감도가 특이도 보다 높은 경향을 나타낸다고 하여 비발암성을 확실히 알 수 있는 변이원성시험의 중요성에 대해서는 현재 많은 연구가 진행되고 있다.

네째, 변이원성 시험은 유해물질에 의한 질병발생양상을 연구함에 있어서 특정물질 특히 변이원성 물질에 대한 폭로기간, 폭로양에 대한 정보를 얻을 수 있을 뿐 아니라 작업장의 환경측정 자료와 더불어 작업자 개개인의 폭로량을 추정할 수 있는 생물학적 지표(biological monitoring method)로써 활용될 수도 있다.

일반적으로 직업병의 병인 연구 등에서 생물학적 지표를 사용하는 방법으로 연구의 타당성을 높이고 오차를 줄이는데 큰 역할을 한다고 알려져 있다. 변이원성과 같은 생물학적 지표를 활용하면 작업자들의 질병, 특히 암의 조기발견에 도움을 주고 질병의 원인을 찾아내는데 큰 기여를 한다(그림 9)



<그림 9> 유해물질에 폭로되어 질병이 발생하는 과정에서 모니터링 방법으로 적용되는 변이원성 지표들 (Hulka et al. 1990)

제 2 절 변이원성 평가의 접근방법

돌연변이란 화학적 혹은 물리적 요인에 의해 생물개체의 유전물질에 변화가 생기는 것을 말한다. 개체의 유전적 구조의 변화는 특히 유전형 변화(genotype change)로 나타날 수 있다. 이러한 기능적 변화는 급속한 세포분열 및 미분화된 형태의 세포복귀(dedifferentiation)에 따라 암과 같은 질병의 상태로 이어지게 된다. 방사선과 같은 물리적 돌연변이원이 가장 잘 알려진 예인데, 그 특징은 화학물질에 의해 유도된 돌연변이와 공통된 점이 많다. 그 한 예로 방사선이나 화학물질에 형성되는 원소기(radicals)는 짝지어지지 않은 전자를 갖고 있어 강한 친전자성을 가지게 되는데, 이러한 특성이 유전독성 진행에 있어 핵산배열의 변화에 큰 역할을 한다.

또한 체세포에서의 돌연변이는 암발생면에서 중요하지만 그 개체에만 해당이 된다. 그러나, 생식세포에서의 돌연변이는 그 잠재성이 다음 세대에도 영향을 주기 때문에 좀더 심각한 결과를 나타낸다.

본 연구에서는 이러한 돌연변이라는 유전적 변화 발생의 기본적인 형태를 분류해 보고, 돌연변이를 유발할 수 있는 화학물질 등의 잠재성을 알아낼 수 있는 시험법을 검토하여 작업환경 오염 물질에 대해 그 활용성을 검토해 보고자 한다.

1. 작업장에서의 돌연변이원의 중요성

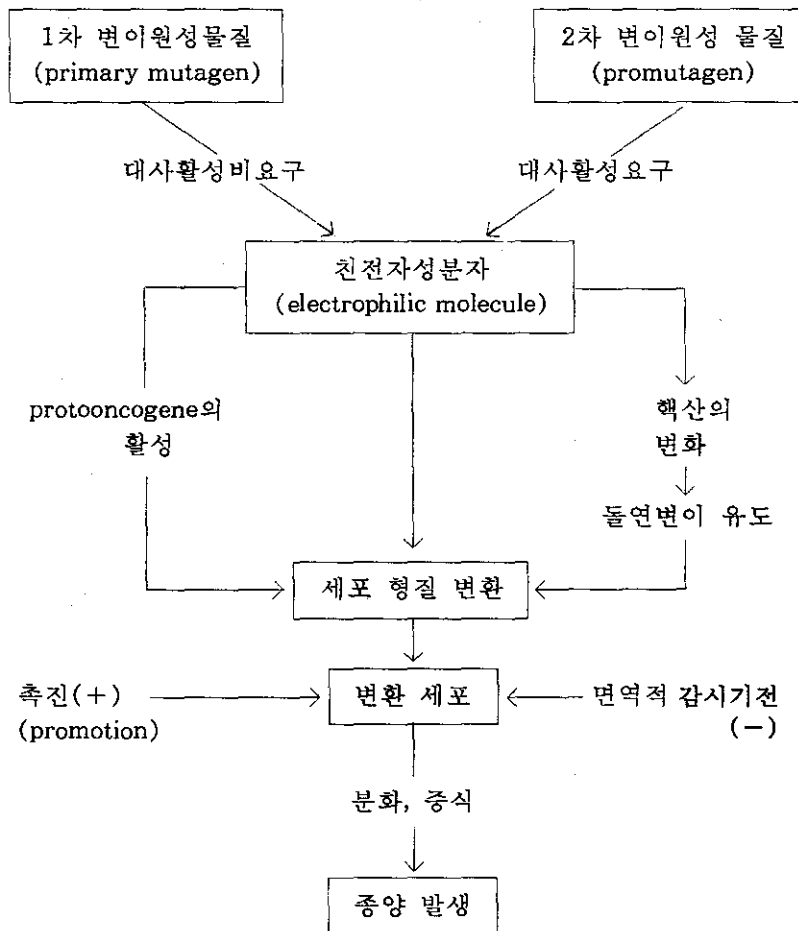
작업장내에서 화학적, 물리적 돌연변이원에 의해 일어날 수 있는 돌연변이라는 현상이 왜 중요한가 하는 것은 크게 2가지로 나누어 생각할 수 있다.

첫째, 장기적인 면에서 고려할 때, 인간집단전체의 유전형태(gene pool) 변화시킬 수 있다는 점으로, 이것은 생태학적으로 매우 중요하다. 사람에게서 당장 증명되는 것이 아니므로 물질에 대한 유해성을 평가할 때 중요시 되지 않고 있다.

둘째는, 변이원성은 발암과정의 일부로서 반드시 포함된다는 점으로, 화학물질의 유

전적 독성과 발암성간에는 밀접한 관계가 있기 때문에 <그림 10> 변이원성시험이 암을 일으킬 수 있는 화학물질에 대한 발암성은 선별한다는 점에서 중요시된다. 1990년 경제기획원 통계연보에 따르면 우리나라 사망원인에서 악성신생물, 즉 암에 의한 사망이 2위를 차지하며 또 그 원인의 70~90%가 환경중의 화학물질에 노출하는데 기인한다고 하였다. 그러므로 작업근로자의 건강보호측면에서 볼때, 작업장내의 오염된 각종 발암물질과 변이원성물질에 어느정도 노출되고 있는가 하는 유해성 조사는 매우 중요한 의미를 갖는다.

그러나, 발암성에 관한 연구는 대부분 동물실험에서 증명된 것이고 사람에 대한 발암성의 연구결과는 매우 적기 때문에 동물실험결과를 그대로 작업장에서 일하는 사람에게 적용하기 어려운 제한점이 있기는 하나, 변이원성 평가의 의미는 작업환경내에서 이들 실험적인 돌연변이원은 사람에게서는 염색체분절, 이수체형성, 유전자 점돌연변이 등 기타 유전적 손상을 초래할 것이며, 이러한 현상은 각종 암으로 진행(promotion)될 것이라는 전제하에 그 중요성을 갖게 된다.

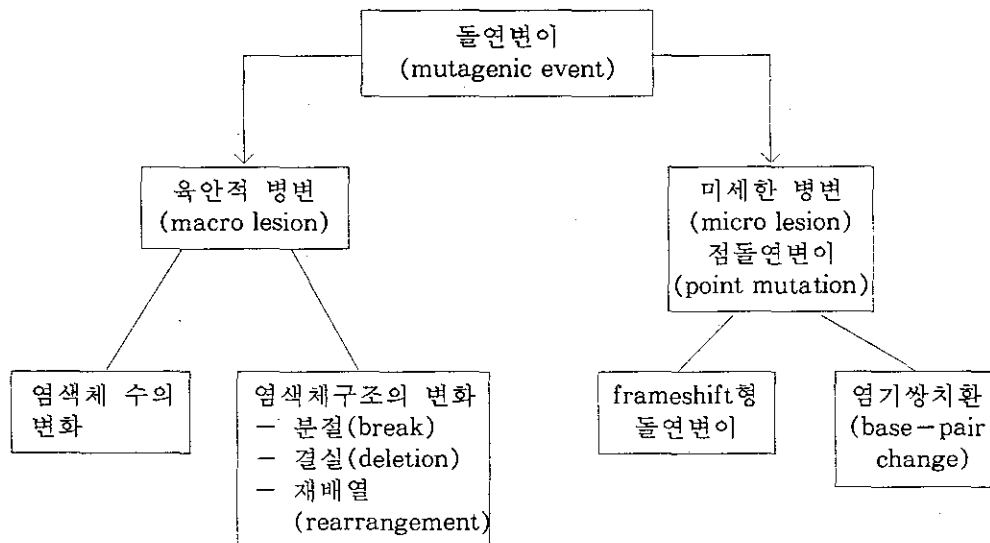


<그림 10> 변이원성과 발암성과의 관계(William & Burson, 1985)

이러한 전제는 인간집단에서의 암발생율과 작업환경에서 특정물질에 노출되는 것과 강한 상관성이 있다라는 설로 더욱 중요시 된다. 예를들면 플라스틱 공장에서의 염화비닐의 폭로와 간의 혈관육종(angiosarcoma)와 혹은 비스클로로메틸 에테르의 폭로와 호흡기의 암발생율과는 높은 상관관계가 있음이 밝혀진 바 있다(Weisburger & William, 1980).

2. 돌연변이의 기본분류

유전물질의 DNA의 선상배열에 변화가 생김으로 해서 초래되는 돌연변이는 크게 세 가지로 구분되는데 <그림 11>, 첫째, 정상적인 세포분열 동안 DNA복제시 복제의 부정확한 시작(initiation), 전사효소의 착오, 혹은 DNA분자내 및 DNA와 효소간의 어떤 물질이 방해가 되어 전사의 착오등 DNA가닥이 정확하게 복사되지 않는 경우이다. 둘째는 점돌연변이(point mutation)로서 염기쌍치환(base-pair change)와 frameshift형 돌연변이로 나뉘어진다. 전자는 DNA의 염기쌍의 전위되거나 역위되어 발생하며 frameshift는 DNA염기배열에 하나 혹은 그 이상의 염기가 결실되거나 삽입되어 발생한다. 세째의 분류는 염색체이상으로 염색분체파열(chromatid break), gap, 교환(symmetrical exchange/asymmetrical interchange)등으로 발생하는 구조적 변화와 염색체수에 이상이 생기는 수적인 염색체 변화가 있다. 실제 포유류에서 일어나는 이러한 돌연변이에서 하나 혹은 몇몇 염기의 삽입이나 결실(缺失)에 의한 DNA의 변화를 찾아내기란 매우 힘들고, 잠재적인 돌연변이원을 선별하는 것은 세균 등의 미생물 혹은 세포 수준에서 비교적 용이하므로 이들 대상들을 사용하고 있다.



<그림 11> 돌연변이의 분류(William & Burson, 1985)

3. 돌연변이 시험법의 종류 및 그 활용성.

돌연변이를 검사하는 방법으로는 유전인자의 돌연변이 염색체의 이상 그리고 DNA의 손상을 검사하는 것으로 구분된다.

첫째, 유전인자의 돌연변이를 검사하는 방법으로는 살모넬라균주를 이용한 Ames test, *E. coli* WP₂와 WP₂ uvrA등의 복귀돌연변이시험, *Aspergillus*의 유전자 돌연변이시험, *Neurospora crassa*의 유전자돌연변이시험, 초파리(*Drosophilla melanogaster*)를 이용한 열성치사시험, 배양한 체세포에서의 유전자 돌연변이시험, 생쥐의 특위부위시험등이 있다.

둘째는 염색체이상을 검사하는 시험관내(in vitro) 방법으로 포유류의 세포에 대한 유전적 검사인 염색체 이상분석법, 포유류 골수세포 분석인 소핵시험, 초파리에서의 유전물질의 변형시험, 설치류에서의 우성치사시험 그리고 생체내(in vivo)실험으로 포유류의 염색체이상시험등이 있다.

셋째, DNA의 손상을 검사하는 방법으로는 세균에서의 DNA손상 또는 복귀검사, 배양한 포유류세포를 이용한 비주기적 DNA합성, *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 유사분열 유전자변화, in vitro 혹은 in vivo의 자매염색체교환 (sister chromatid exchange) 등이 있다. 본 보고서에는 발암물질 선별에 가장 흔히 사용되는 몇몇의 변이원성 시험법을 중심으로 자세한 시험의 기술적 절차는 제외하고, 시험법의 원리, 제한점 및 활용성을 설명하고자 한다.

I. Ames test

Dr. Bruce Ames등에 의해 처음 시도된 것으로 유전자의 돌연변이를 조사하는 시험방법 중 가장 널리 사용되는 세균 검사법 (bacterial test system)이다.

Ames박사가 제공하는 살모넬라균주에서 유전자의 돌연변이를 탐색하는데 이용되는 표현형 표지는 박테리아 분열에 필수아미노산으로 작용하는 histidine 합성능력이다.

즉, *Salmonella typhimurium*의 his^- mutants가 화학적, 물리적 요인에 의해 염기쌍 변환이나 frameshift형 돌연변이로 his^+ revertant로 되는 것을 측정하기 위한 방법이다. 변이원성 검사용으로 흔히 사용하는 Ames박사의 시험균주에는 5가지가 있는데, 이중 TA1535시험균주는 염기쌍 결실로 인한 염기쌍 치환형을, TA1537시험균주는 염기쌍 삽입에 의한 frameshift를 일으키는 돌연변이 물질을 찾아내는데 쓰이며, TA 100과 DNA 수복 효소가 있는 frameshift형 TA 98시험균주는 다른 세균주가 찾아낼 수 없는 nitrofurane과 같은 특정복합물의 변이원성을 민감하게 측정할 수 있는 특징이 있다. 이 방법은 화학물질의 돌연변이 유발여부를 측정하는데 널리 사용되고 있으며, 흰쥐나 사람의 간 균질액을 가함으로써 포유동물의 체내대사 상태에 밀접하게 연결시켜 더욱더 많은 발암물질과 돌연변이 유발물질을 측정하도록 변형되었다. 현재까지 세계각국에서 시험한 바에 따르면 시험한 발암물질의 약 85~90%가 돌연변이를 일으키는 것으로 나타났다.

이 방법의 장점은 복잡한 혼합물의 돌연변이 및 발암성에 대한 신속한 정보를 제공해 준다는 것과 정량적인 정보를 제공해 주므로 돌연변이 유발물질의 확인, 분리를 용이하게 해준다는 것을 들 수 있으며, 이 방법에서 양성반응을 나타내는 것을 오랜 기간 동안 인간에 폭로할 경우 위험을 초래할 가능성이 상당히 높다는 사실이 강조되어야 할 것이다.

II. 염색체이상 시험법

염색체이상 시험은 일반적으로 변이원성시험 안내서에 화학물질 유해성검사시 미생물을 이용한 변이원성 시험법(Ames test)과 병행하여 실시하도록 추천되고 있는 시험법이다. 시험관내(in vitro)방법으로서는 세포 유전학적 연구를 위해 배양하여 사용 가능한 세포종류(cell line)를 선택해서 사용한다. 흔히 2종류가 사용되는데 첫째는 섬유모세포(fibroblast cell line)류 즉 CHO (Chinese hamster ovary cell), CHL(Chinese hamster lung cell), CHI-L(Chinese hamster liver fibroblasts)이며, 둘째는 사람의 말초혈액

임파구(human peripheral lymphocytes)등이 사용되고 있다. 이 방법은 화학물질 등의 변이원성 물질에 의해 세포가 영향을 입어 광학현미경하에서 세포주기중 중기(meta-phase stage)에 있는 염색체의 이상(damage: aberration)을 관찰하는 것으로 화학물질의 영향은 받지 않은 대조군의 표본에서의 염색체분절 등의 염색체이상의 숫자가 유하게 많은 경우를 지적하는 방법이다. 이러한 세포 유전학적 시험법은 최소한 한개의 이중나선의 분절(break)를 나타내는 DNA의 육안적 손상을 평가하는 것으로 많은 변이원성물질 등에 의해 영향받은 배양세포는 DNA복제가 1회 끝난후 상당한 염색체이상을 일으키게 된다. 그러나 물질의 영향을 받은 세포는 염색체이상이 유도된 후 한두 세포주기 이상 생존할 수 없으므로 물질 처리후 첫번째 세포주기중 중기의 것을 관찰한다. 염색체이상의 유도는 주로 염색체구조에 영향을 주어 DNA에 변화를 일으키는 현상인데 이러한 염색체 이상 유발 물질에 의해 잠재적인 유해성을 보이는 것은 틀림 없지만, 사람에게 있어서 염색체 이상이 비교적 높은 경우에는 사람집단의 전체적 염색체의 변화에 또한 그 중요성이 있다.

특정화학물질에 의한 염색체이상 시험법은 기술적으로 간단하여 단기시험법으로 널리 이용되는 것은 사실이나 염색체이상을 관찰, 정확하고 신뢰성 있게 빈도를 산출하는 것은 고도의 전문성을 요한다. 염색체이상을 정확하게 구별하고 숫자는 세는 것은 적절한 훈련과 경험이 쌓여야 가능하고 더불어 실험자료 및 기자개의 질적 수준이 높아야 정확한 데이터를 낼수 있다.

염색체이상시험의 또하나의 장점은 사람의 말초혈액을 이용할 수 있으므로 화학물질의 유해성을 사람을 대상으로 어느정도 평가할 수 있다는 점과 작업장에서의 유해성을 조사할 때 역학적 접근방법을 이용한다거나 근로자들에게의 폭로정도를 측정할 수 있는 생물학적 지표(biological monitoring marker)로서 이 방법을 사용할 수 있다는 점이다.

Ⅲ. 자매염색체 교환법(Sister Chromatid Exchange:SCE)

염색체이상과 함께 흔히 사용하는 유전학적 접근법이며, 그 이름이 의미하듯이 어떤 화학물질 등에 의한 돌연변이로 인해 염색체내의 염색분체, 즉 DNA의 동일한 배열간에 대칭적인 교환이 일어난 것을 현미경상에서 찾아내는 방법으로, 물리적 또는 화학적 돌연변이원 및 발암원이 작용하여 복제하고 있는 염색체의 두 염색분체 사이에서 생기는 DNA의 교환을 증가시키는 능력을 검사하는 방법이다. 이는 상동부위(homologous loci)에서 DNA복제물간의 교환을 나타내는 것으로 세포주기중 중기의 염색체에서 확인된다. 이 방법은 염색체 이상에 사용된 실험절차와 약간 다른 방법을 따르는데 일반적으로 SCE방법 단독으로 화학물질의 변이원성을 판정하는데 충분한 증거를 제공하는 것으로 인정되고 있다.

SCE의 기전에 대해서는 많은 연구가 있었으나 SCE가 어떻게 유도되는가의 기전에 대해서는 충분히 밝혀지지 않고 DNA의 절단 및 재결합에 의한 것으로만 알려져 있다. 또 소수의 이미 알려진 clastogen의 예에서는 SCE의 결과가 X-선의 결과 만큼 의미를 주지 못하는 경우가 있다. 그리고 SCE에서는 염색체 이상에 비해서 기본적인 빈도(background level)가 높으므로 대조군의 표본에서도 많은 수의 SCE를 관찰할 수 있다. 여기에 대해서는 SCE를 현미경적으로 구별하기 위해 배양액에 첨가하는 Brdu(5-bromodeoxyuridine) 자체가 SCE를 유발할 수 있을 지도 모른다는 연구보고가 있다. 그럼에도 불구하고, SCE방법에 의한 변이원성검사는 학계에서는 염색체이상시험법 보다 더 민감한 지표로 인정되고 있어 변이원성을 선별하는데 널리 사용되고 있다.

IV. 소핵시험(micronucleus assay)

소핵이라함은 세포주기의 어느 시기에서 화학물질 등의 염색체이상 유발물질에 의해 염색체가 분절(breakage)되었거나 방추체(spindle apparatus)가 손상되어 유사분열시 딸세포핵에 부착되지 못한 염색체의 일부(fragment) 혹은 전부가 세포질내에서 DNA 덩어리로 남게된 것을 의미하며, 특정 조직의 세포내의 소핵빈도를 현미경으로 관찰함으로써 변이원성을 알아내는 방법이다. 이 소핵시험법 또한 헤아리기(scoring)가 쉽고

빠르기 때문에 염색체이상 방법 보다 더 민감한 지표로 인정되고 있다.(Heddle, 1973; Högstedt et al., 1981). 또한 소핵의 빈도증가와 염색체이상 빈도의 증가는 서로 관련성이 있음이 연구된 바도 있다(Jenssen, 1980).

소핵시험은 생쥐의 polychromatic erythrocytes(PCE)를 이용하거나 골수세포 및 포유류의 생식세포에 적용시키는 등 연구목적에 따라 시험의 대상을 다양하게 선택할 수 있다. 사람을 대상으로 적용할 수 있는 것은 주로 말초혈액의 적혈구 PBE(peripheral blood erythrocytes), 말초혈액의 임파구 PBL(peripheral blood lymphocytes), 혀부점막(buccal mucosa) 혹은 요도의 박피세포(exfoliated cell) 및 배세포(germ cell)등이다.

혈액으로 실험할 경우는 폭로조건이 연속적이지 못하면 시험물질에 노출되지 않은 적혈구의 모세포에서 분열된 적혈구가 많아지므로 실제보다 과소평가되기도 하여 방법의 민감도를 높이기 위하여 적혈구 뿐 아니라 세망세포(reticulocyte)에서의 소핵을 관찰하기도 한다. 이 시험방법은 시험물질에 노출된 사람이나 동물에서 채취한 시료를 슬라이드유리에 도말, 염색하여 형광현미경으로 해당세포내의 소핵을 관찰하는 간편한 방법이지만 생체내 방법이므로 생체내의 생리생화학적인 상호작용에 의한 장애가 있을 수 있다. 또한 비만세포(mast cell)에 의한 오류(artifact)의 해석에 따라 오차가 생길 수도 있으므로 관찰자의 전문성을 요한다. 소핵실험은 기본적으로 염색체의 무동심원 분절부위(acentric fragment)의 파악이므로 in vivo방법의 염색체이상분석 보다 시간상 짧게 걸리고 간편하지만 정확도가 떨어진다고 알려져 있다.

V. 우성치사시험(dominant lethal assay)

우성치사(domiant lethal)의 의미는 어떤 화학적, 물리적 돌연변이원에 의해 발생초기의 태아가 죽게되는 배우자(gamete)의 유전적 현상이다. 이 시험방법은 주로 포유동물(mouse 혹은 rat)을 사용하여 시험물질을 숫컷에 처리하는 경우와 암컷에 처리하는 경우가 있는데 전자의 방법이 흔히 사용되고 있다. 교미 전에 돌연변이원으로 추정되는 물질로 처리한 후 6~10주동안 매주 새로운 그룹의 암컷과 교미시킨 후 출산전

의 초기 태아사망수를 세는 방법이다. 이 방법은 1953년 방사선을 대상으로 시도된 이래 계속 표준화되어 생쥐를 이용하여 여러가지 화학적 화합물이 이 방법으로 선별되어 있다.

대부분의 *in vivo* 실험방법의 경우와 같이 비용과 시간이 많이 드는 단점이 있으나 결과자료의 적용성은 매우 훌륭한 것으로 인정받고 있다. 특히 설치류에서의 우성치사 시험결과는 포유류에서의 유전적 손상의 표시로서 사람에게 적용할 때 매우 중요하게 여겨지고 있다.

4. 돌연변이 평가의 다각적인 접근법.

돌연변이 시험방법은 앞에서 열거한 방법 이외에도 여러가지 있으며 방법상의 발전으로 앞으로도 계속 더 많아질 것으로 사료되나, 각 방법은 나름대로의 장점과 단점을 가지고 있다. 그러므로 화학물질에 대한 변이원성을 정확하고 효과적으로 검사하여 작업장내의 잠재적인 돌연변이원을 찾아내는 일은 임상화학, 미생물학, 병리학 및 산업의학 등 분야에서 종합적으로 이루어져야 한다. 산업보건 측면에서 화학물질의 유해성을 평가하려면 사람과 유사한 특성을 나타내는 근접한 동물을 실험대상으로 하여야 실험결과 신뢰성을 높일 수 있으나 포유동물의 *in vivo*의 실험에 있어서는 비용 및 시간상의 문제등이 있기 때문에 물질에 대한 효과적이고 정확한 돌연변이 평가를 하기 위해서는 *in vitro* 및 *in vivo* 실험등 다각적인 접근방법이 필요하다. 동물실험에서 얻은 특정 물질에 대한 변이원성 시험결과를 인간에게 적용시킬 수 있는 평가방법의 기본원칙은 첫째로 시험결과를 외삽시켜 사람에게 대한 유해성을 정량적으로 평가할 수 있어야 하며, 둘째로 예상되는 사람에게 대한 유해성 정도에 따라 시험법을 정해야 한다는 것, 즉 확실한 발암원으로 의심되는 경우에는 될 수록 많은 시험법을 사용하고 시간과 비용도 많이 투자해야 한다는 것이다. 세째는 이러한 시험결과들은 사람에게 대한 유해성을 최소화시키기 위해 예방절차수립의 참고 및 기본자료로 활용할 수 있어야 한다는

점이다. 이러한 원칙에 맞추어 돌연변이 평가를 다각적으로 접근하는데 큰 난점이 되는 것은 한 물질에 대한 대상시험의 결과가 시험방법에 따라 모두 다른 수 있으므로 (예 : 표 6) 돌연변이 시험결과와 발암성의 상관성(carrelation between mutagenicity & carcinogenicity)을 검토하고 또한 연구자는 여러가지 시험방법을 어떻게 선택하고, 조합하여 그 결과를 이용할 것인가 하는 문제(test battery selection)을 고려하여야 한다.

화학물질 (compound)	사람에대한 발암 성이 확정된 것 (established human carcino- gen)	세균 (Bacteria)	효모 (Yeast)	초파리 (Drosophila)	포유동물세포 (Mammalian cells)	사람세포 (Human cell)
에피클로로히드린 (Epichlorohydrin)	-	-	N	+	+	+
에틸레이민 (Ethyleneimine)	-	N	+	+	+	+
인산 삼메틸 (Trimethyl phosphate)	N	+	N	+	+	+
트리스 (Tris)	-	+	N	+	+	-
이취화 에틸렌 (Ethylene dibromide)	-	+	+	+	+	-
염화비닐 (Vinyl Chloride)	+	+	+	+	+	+
클로로푸렌 (Chloroprene)	+	+	N	N	N	+
우레탄 (Urethane)	-	+	+	+	+	N

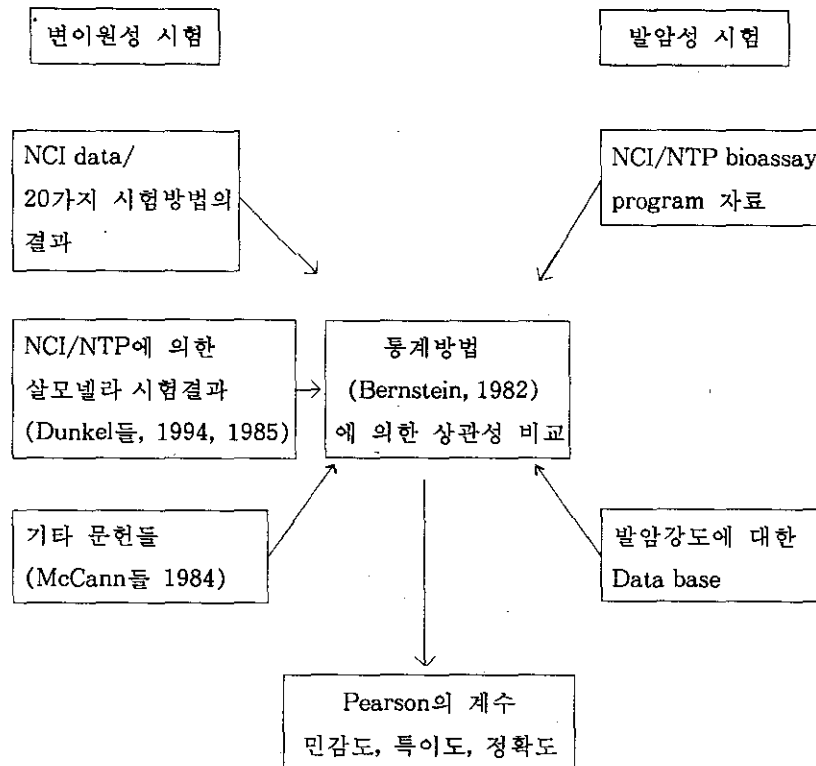
<표 6> 몇몇 화학물질의 변이원성시험 결과의 비교(Williams & Burson; 1985)
(+ ; 양성, - ; 음성, N; Not tested)

1. 변이원성과 발암성 간의 상관성(correlation)

변이원성과 발암성 간의 상관성에 관한 연구는 그 동안 주로 살모넬라를 이용한 변이원성 시험(Ames test)을 대상으로 NCI(National Cancer Institute) 및 NTP(National Toxicology Program) 혹은 일부 실험실에서 실시한 발암성 생체시험 결과와 정성적 정량적으로 비교분석되어 왔고, 그밖에는 세포유전학적 변이원성시험법에 대한 것이 소수 있을 뿐이다. 이러한 연구들은 거의 사람을 실험대상으로한 연구가 아니므로 실험동물에 대한 발암물질을 사람에서의 발암물질로 보는 것, 한가지 종에서의 발암물질을 다른 종에 대한 발암물질로 간주하는 것으로 동물데이터를 바로 사람에게 적용하는 부적합성과 화학물질의 투여방법 및 동물종 간의 발암유발성의 차이를 무시한 점 등의 제한성이 있다. 그러나, 변이원성 시험법과 발암성 시험법 간의 일치성을 고려할 때 매우 중요한 연구들이다. 동물에서 얻은 결과를 사람에게 적용시키기 위해서는 여러가지 유전독성시험 등을 충분히 활용하는 것이 좋고, 그러한 연구결과들은 계속 증가하고 있지만 특정물질의 잠재적 발암성을 확실하게 예측하는 데는 논란이 많다. 1977년 Meselson과 Russell(1977)이 설치류에 대한 발암실험에서 발암 강도(carcinogenic potency)와 살모넬라 시험법에서의 변이원성 강도(mutagenic potency)사이에 높은 상관성이 있음을 보여준 바 있으나 발암기전이 완전히 밝혀지지 않은 현단계에서는 통계적인 방법을 이용하여 각 강도를 추정하고 양성반응성(민감도, 특이도 등)을 예측하는 수 밖에 없다.

1988년 McCann들에 의한 통계분석연구를 고찰해 보면(그림 12)변이원성시험의 자료는 기존 자료인 NCI(National Cancer Institute)에서 실시한 데이터, NCI/NTP가 지원하여 Dunkel들(1984, 1985)이 실시한 살모넬라 시험의 데이터 및 출판된 문헌상의 결과들이었으며 발암시험 자료는 NCI/NTP bioassay program의 자료 및 Gold등(1984)이 CPDB(Carcinogenic Potency Data Base)에 기록한 자료들이었다. 이들 자료에서 산출한 5종의 시험균주를 이용한 살모넬라 시험방법의 민감도는 91%, 특이도는 36%였으며, rat의 S_{9mix} 를 첨가한 경우는 민감도가 87%, 특이도가 64%였다. 그리고 80

가지 화학물질에 대한 변이원성 강도와 발암성 강도와의 상관성은 $0.41(P < 0.001)$ 로 비교적 낮았으며 3개의 극단치를 제외했을 때는 $0.24(p=0.04)$ 였다. 비교적 낮은 변이원성과 발암성의 상관성을 추정하는 과정에서 필요한 도구는 발암성 및 변이원성의 양성도(positivity)와 각 반응에 대한 강도의 추정(potency estimation)이다.



<그림 12> 통계기법에 의한 변이원성 시험과 발암성 시험의 상관성에 대한
McCann들(1988)의 분석절차

McCann들에 의하면 이들 발암시험 자료들로 부터 특정 화학물질의 발암성여부(positivity)를 결정할 경우, NCI/NTP bioassay에서는 대상은 달리한 4가지 실험군(male rat, female rat, male mouse 및 female mouse)에 대한 실험결과를 이용하였는데,

어느 한 동물종에서 양성일 때는 발암양성으로 하였으며, 또 하나하나의 실험결과는 NCI/NTP의 Technical Report에 의해 제의된 대로 통계적 유의성을 고려하여 positive, negative 그리고 suggestive (or equivocal)로 나누어 양성도를 결정하였다.

화학물질에 대한 변이원성의 여부(positivity)는 McCann들(1988)은 P값(summary P value)을 이용하여 실험의 반복성을 고려하였는데 NCI/NTP 데이터에 대해 summary P value가 0.05이하이고 최소한 2가지 실험에서 양성이면 ($P < 0.05$) 일련의 반복된 실험으로 변이원성이 있다고 판정한다. 또한 Dunkel등(1985)은 살모넬라 시험에서의 양성판정은 2단계의 수준에서 기본적 수준(background level)보다 2배이상 빈도증가를 나타내는 용량이상으로 양반응증가(dose-related increase)를 보이는 경우로 하였다.

변이원성 및 발암성의 강도는 그 결과가 확실하게 양성인 화학물질에 대한 Index TD_{50} 을 계산하여 발암강도를 표시한다(Sawer et al., 1984; Peto et al., 1984; Gold et al., 1984).

Index TD_{50} 이란 물질을 전혀 투여하지 않았을 때(Zero dose) 종양이 없는 상태의 시험동물들에서 절반의 수가 종양을 일으킬 하루의 단위무게당 투여율(daily dose rate in mg/kg body wt/day)이다. 이 계산은 자발적인 종양발생을 등을 고려하여 표준화한 것이어야 하며, 변이원성의 강도와 상관성을 고려할 때는 TD_{50} 의 역수를 사용하여 통계처리한다.

변이원성의 강도(mutagenic potency)를 측정할 때는 Salmonella 시험에서 양반응 곡선의 초기경사도(initial slope)를 사용한다(Bernstein et. al, 1982). 하나의 화학물질에 대해서 반복검사한 데이터세트에서는 양성이었던 실험치들의 중앙값의 경사도로 결정된다.

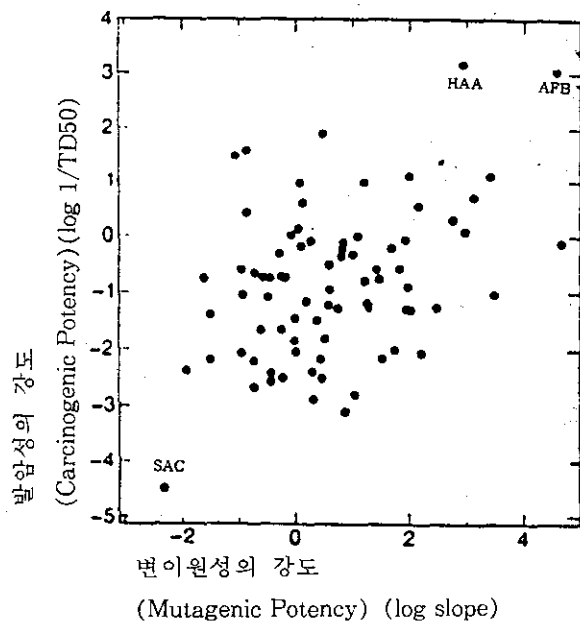
변이원성 시험과 발암성 시험의 양성도를 비교할 때는 "Suggestive"로 판정된 물질을 양성(positive)에 포함시키거나 또는 음성(negative)에 포함시킴으로써 민감도, 특이도 및 정확도가 달라질 수 있다. 여러가지 발암물질을 대상으로 하여 연구한 기존문헌에서 살모넬라시험에 대한 민감도를 통계적으로 분석한 결과가 서로 다른 것은 이러한

요인때문일 것이다(표 7)

참고문헌	Ames 시험의 민감도	년도
Rinkus 와 Legator	83%	1979
Ames 와 McCann	83%	1981
McCann 들	90%	1984 ^A
Dunkel 들	76%	1985
McCann 들	87%	1988

<표 7> 각종 연구문헌에 나타난 Ames 시험의 민감도 비교.

발암성과 변이원성의 강도(potency)를 비교할때는 통상적으로 Pearson의 상관계수(Pearsons correlaton coefficient), 혹은 Spearman의 등급 상관계수(Spearman's rank correlation coefficient)로 표시하는데, 그 예로 McCann들의 보고를 살펴보면<그림 13>, 발암강도(carcinogenic potency : $1/TD_{50}$)을 세로축에, 변이원성강도(estimated initial slope of the mutagenic dose response)를 횡축에 표시하였다.



<그림 13> 발암강도와 변이원성 강도의 상관성 비교 (McCann 들, 1988)
HAA : N-hydroxy-2-acetylaminofluorene;
AFB : aflatoxin B1; SAC : Saccharin

살모넬라 시험법 이외의 변이원성 시험법에서는 양성도를 예측할 만큼 많은 숫자의 화학물질을 다루지 못한 형편이나 Gene-Tox program 등에서 기타 변이원성 시험법에 의한 결과들을 수집하는 단계이므로 각 시험법간의 민감도, 특이도 및 정확성을 비교하는 데는 더 많은 시간을 요하게 된다.

발암성 및 변이원성의 강도를 비교하는 연구는 살모넬라 시험법 이외에도 DNA에 손상을 일으키는 시험법과 발암시험 결과에서 소수 이루어져 있으나 살모넬라 시험법의 경우 그 결과가 서로 상이하여 <표 8> 어떤 의미를 부여하기는 어렵다.

상관계수(r)	화학물질수	참고문헌	년도
0.34	59	Parodi 들	1983
0.92	29	Meselson 과 Russel	1977
0.70	9	McCann 들	1977
0.41	80	McCann 들	1988

<표 8> 문헌에 나타난 발암성과 변이원성의 강도의 일치도 비교.

현실적으로 아직까지 변이원성시험의 성과를 통계적으로 비교할 만큼 자료가 충분치 못한 형편이며, 현재까지의 보고에 따르면 살모넬라균을 이용한 시험법 이외의 변이원성 시험법에 대한 상관분석에서는 아주 낮은 일치도를 보였을 뿐이다(SCE, Micronucleus assay, sperm abnormality assay 등)

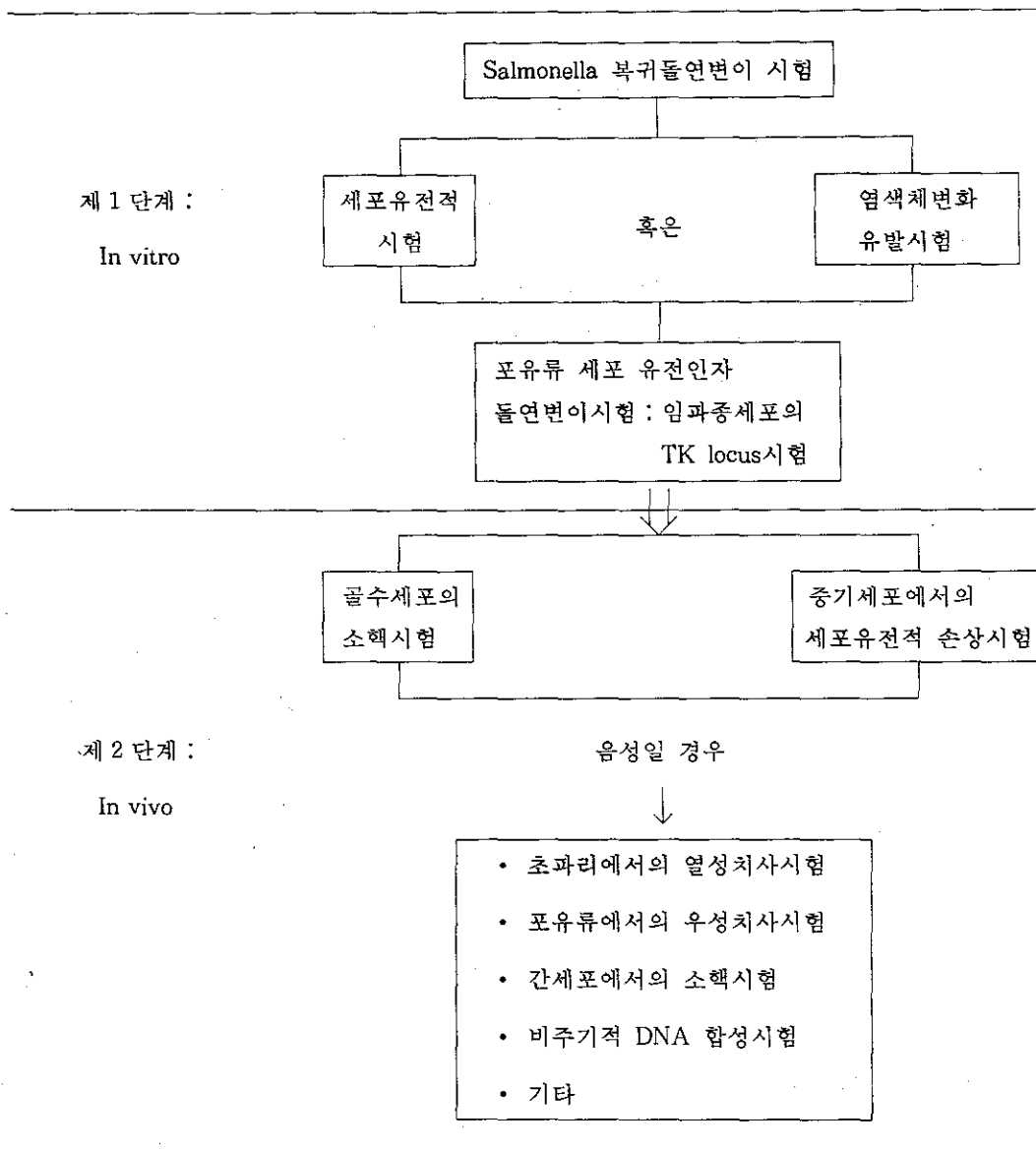
II. 합리적인 변이원성 시험방법 선택(test-battery selection)의 중요성.

화학물질에 대한 잠재적인 발암성을 학문적으로 보다 신뢰성있게 지시할 수 있는 시험방법을 고안하기 위한 많은 연구가 계속되고 있고, 각 시험법에 대한 타당성을 결정하는 민감도와 특이도를 고려하여 각 시험법 자체를 평가하는 연구도 많이 이루어지고

있다(Chankong들, 1985;Benigni 와 Giuliani, 1985;Ennever 들, 1987) 그러나 각각의 연구를 일반화하는데는 아직 문제점이 많고, 여러가지 시험방법이 개발되면 될수록 시험방법의 선택문제로 더욱더 복잡해 진다. 그러므로 다른 화학물질류에 대해서는 적용할 수 없으나 특정한 종류의 화학물질에 대해서 높은 수준의 정확성을 갖고 발암성을 예측할 수 있는 일련의 시험방법 선택요령을 고안해내는 것은 필요하리라 사료된다. 한가지 시험방법이 똑같은 정도의 발암성을 가진 두 물질 중 하나만을 지적해 낼 수 밖에 없는지, 즉 거짓양성(false positive) 및 거짓음성 (false negative)에 대한 지식을 늘리고, 이를 기초로한 보상시험의 선택 (choosing complementary test)등의 방책이 모색되어야 한다.

1981년 영국의 보건사회부(Dept. of Health & Social Security)에서 화학물질에 대한 변이원성의 시험방법 안내서를 발간할 때, in vitro 시험과 in vivo 시험을 포함하는 4가지 시험법을 사용할 것을 설명하면서 최소한 한가지는 in vivo 시험이길 바랬다.

또한 1989년 개칭된 보건부(Dept.of Health)에서는 새로운 안내서를 내면서 in vitro 시험의 경우, 목적하는 DNA와 반응할 화학물질의 대사활성을 위해 외부에서 물질대사활성제를 투여하여 시험방법자체의 효율을 높이도록 했으며, 모든 시험의 결과는 다른 독립적인 시험에서 반복 확인되어야 한다(repeatability)고 제시하였다. 여기서 제시된 단계별 변이원성 시험방법은 <그림 14>와 같다.



<그림 14> 합리적인 변이원성시험의 단계의 예

<그림 14>에 의하면 제 1 단계로는 시험관내(in vivo)시험법을 사용하되 오랫동안 가장 많이 쓰여진 살모넬라균을 이용한 시험법을 사용하고, 둘째 방법으로 포유동물

세포를 이용한 다른 생물학적 종말점(endpoint)을 나타내는 시험법, 즉 세포유전학적 시험법 혹은 타당성이 있다고 인정되는 방법으로 염색체에 손상을 주는 것을 종말점으로 하는 방법을 선택하여 실시한다. 이러한 두가지의 시험관내 (in vitro) 방법을 포함하여 시험을 실시하면 시험관내(in vitro)에서의 잠재적인 변이원성을 갖는 물질들을 다수 찾아낼 수 있으나 전부를 찾아낼 수는 없다. 그러므로 해당 화학물질이 널리 보급되고 인간에게 폭로되는 일이 많을 것으로 기대되는 물질에 대해서는 더 나아가 심도있는 방법인 포유류 세포를 이용한 유전자돌연변이 실험을 실시하는 것이 바람직하다. 가장 선호되는 것은 생쥐의 임파종세포의 TK locus에서 유전자돌연변이를 일으키는 방법이다.

제 II 단계로 실험동물을 이용한 생체내(in vivo) 시험방법으로 해당물질이 사람에게 높은 농도로 노출되거나 폭로기간이 길어질 것으로 기대되는 경우, 변이원성의 여부를 확실히 하기 위해 실시하는 것이 그 목적이다. 이때 중요시되는 것은 폭로 경로이며, 생체 실험(in vivo)연구에서 흔히 쓰이 것은 골수세포에서의 소핵실험과 증기세포에서의 세포유전학적 손상이다. 이때 시험관내 (in vitro)실험에서 확실하게 양성되었던 것이 반응결과 음성이면 세포를 달리한 다른 실험을 실시한다.

참고적으로 살모넬라균을 이용한 시험법의 실험조건들을 OECD 방법과 영국의 Unilever연구소 실험실의 방법을 비교해 보면 <표 9>와 같다. <표 10>은 시험관내 (in vitro)의 방법인 염색체이상시험 조건을 비교한 것이다.

시험방법	시험조건	관찰수
OECD 방법	① 4가지 균주 $\pm S_9$ (10%) ② 4단계 농도설정; 3중시험(triplicate) ③ 반복시험 할 것	200 plates
Unilever 연구소의 보완된 시험방법	① 4가지 균주 ② 5단계 농도 설정; 3중시험(triplicate) ③ S_9 의 농도에 따라 2시험 : S_9 비첨가 2 " : 10% S_9 1 " : 3% S_9 1 " : 30% S_9	400 plates

<표 9> 살모넬라를 이용한 변이원성 시험에서의 시험규모의 비교 (Richold, 1990).

시험방법	시험조건	관찰수
OECD방법	① 3가지 용량단계의 반복배양시험 ② 1배양시험당 100개의 중기세포관찰($\pm S_9$)	2000 중기세포
UKEMS 방법	① 3가지 용량단계의 반복배양 시험 ② 1배양시험당 100개의 중기세포관찰($\pm S_9$) ③ 시험의 반복성 확인	6400 중기세포

<표 10> 시험관내의 세포유전시험에서의 시험규모의 비교 (Richold, 1990)

<표 11>는 미국의 농약에 대한 돌연변이 검사규정이며, <표 12>는 미국의 의약품에 대한 검사규정이다. <그림 15>과 <그림 16>은 미국 환경보호청(EPA) 및 유럽경제공동기구(EEC)의 돌연변이 및 발암물질 검사방법을 나타낸 것이다.

이와 같이 각각의 법적규정에서 실시토록 하는 화학물질에 대한 변이원성시험방법의 종류 및 시험방법자체내 절차도 사용목적에 따라 다양하지만 전체적인 형태는 서로 비슷하여 주로 살모넬라균을 이용한 시험법과 염색체이상분석법이 많이 사용되고 있다.

우리나라 노동부에서 고시한 변이원성 시험방법에도 2가지를 모두 제시하고 있어 상보적으로 이용할 수도 있도록 허용하고 있다.

최근에 특정한 화학물질류에 가장 적합한 시험방법절차들을 마련하는 시험방법선정(test-battery selection)에 관한 연구가 기존의 변이원성 및 발암성 연구결과와 자료, 그리고 같은 구조적 분류에 속하는 서로 다른 화학물질에 적용 했던 연구방법들을 토대로 컴퓨터를 이용하여 활발하게 이루어져 가고 있다. 이러한 시험법선정에 대한 연구는 단기적 시험법에서 얻어지는 유전독성반응과 화학물질의 특성간의 상관관계를 침도있게 이해하는데 도움을 주기도 한다.

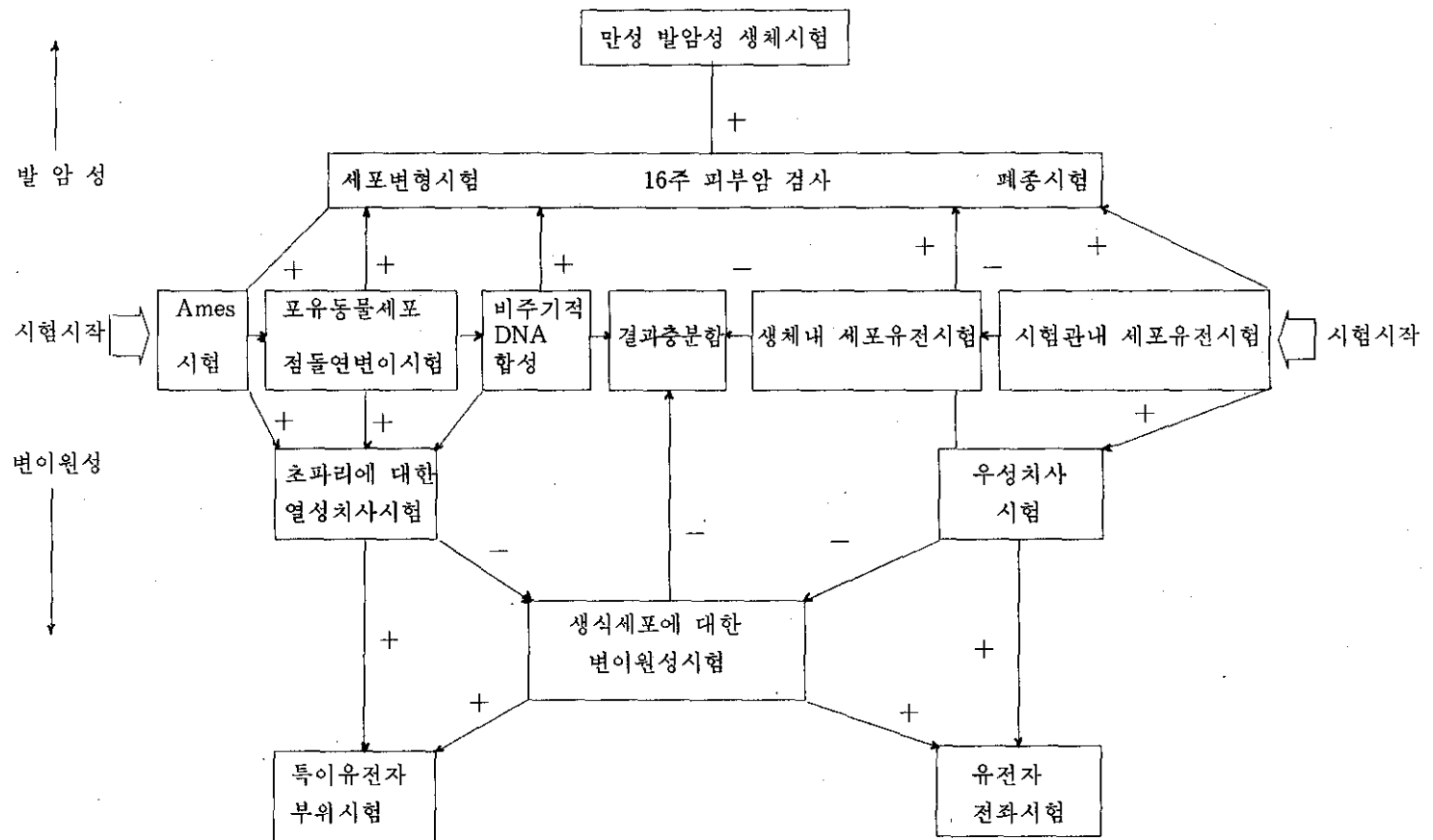
미국 환경보호청(EPA)산하 유전독성연구팀인 Waters들의 연구방법을 예를들면 다음과 같다.

-
1. 유전자돌연변이 시험(선택 1방법)
 - A. 박테리아를 이용한 복귀 돌연변이 시험
 - B. 진핵미생물을 이용한 돌연변이 시험
 - C. 곤충류에서의 열성치사 시험
 - D. 포유류 체세포를 이용한 시험
 - E. 생쥐의 특이유전부위시험(mouse specific locus test)
 2. 염색체 이상에 대한 시험(선택 1방법)
 - A. in vivo의 포유류 세포유전학적 시험
 - B. 곤충류에서의 염색체이상 시험
 - C. 설치류에서의 우성치사 시험
 - D. 설치류에서의 유전자 전좌시험
 3. DNA에의 영향시험(선택 1방법)
 - A. 박테리아에서의 DNA회복시험
 - B. 포유류체세포에서의 비주기적 DNA합성시험
 - C. 효모를 이용한 유전자 재조합 (recombination) 및 전환(conversion) 시험
 - D. 포유동물 세포에서의 자매염색체교환
-

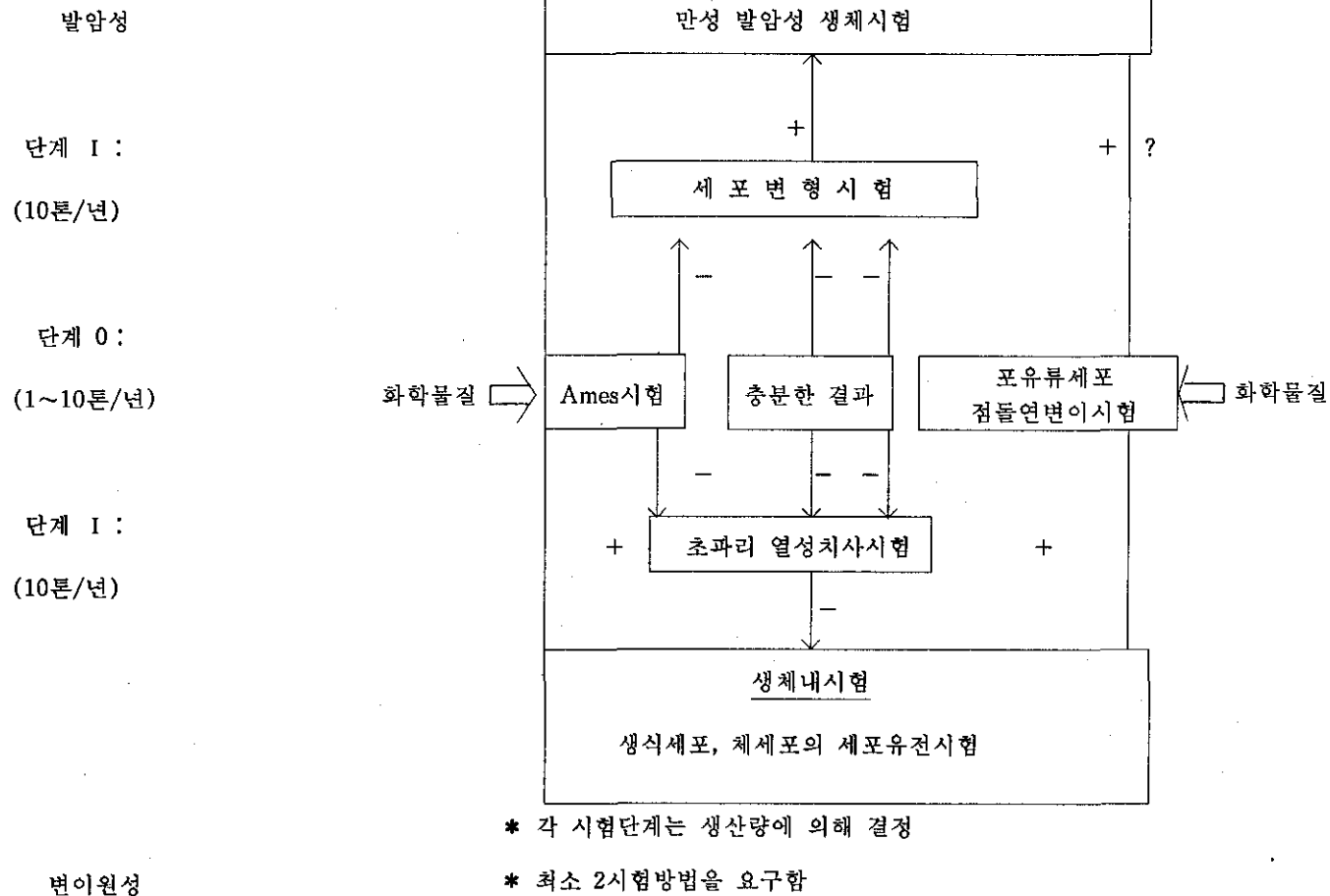
<표 11> 미국의 농약에 대한 돌연변이 검사규정 (Fed. Reg. 43 : 37335-37403, 1980)

폭 로 형 태	변이원성 시험법
외부적 폭로 (피부, 점막)	제 I 단계 1. 미생물에서의 유전자 돌연변이시험 2. 시험관내(in vitro)시험방법으로 SCE혹은 UDS 3. 세포전환(transformation)시험
내부적 폭로 1. 단기폭로	제 II 단계 1. 제 I 단계 시험 2. 생쥐에서의 우성치사시험 혹은 초파리에서의 열성치사시험 3. 흰쥐 골수세포 혹은 사람 임파구에서의 염색체 이상 시험
2. 장기폭로	제 III 단계 1. 제 II 단계 시험 2. 생쥐의 유전자 전좌시험 혹은 특이 유전자부위 시험 3. 2세대간의 생식시험.

<표 12> 미국의 의약품에 대한 돌연변이 검사규정 (Guidelines for Toxicity for Carcinogenesis Testing of Implant, 1980)



<그림 15> 미국 환경보호청(EPA)의 돌연변이 및 발암물질 검사방법



<그림 16> 유럽경제 공동기구(EEC)의 돌연변이 및 발암물질 검사방법

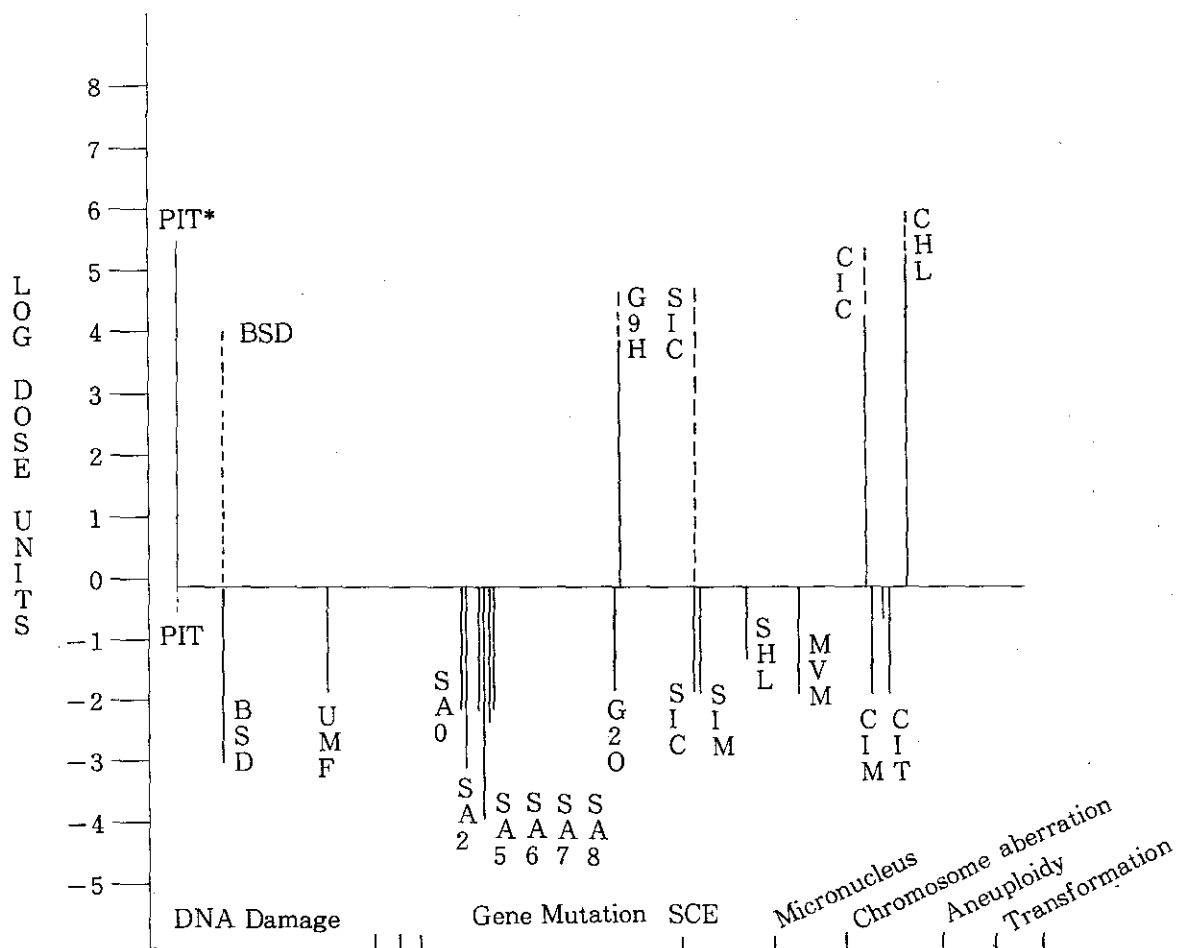
1983년 이들은 정성적, 정량적으로 유전독성 실험데이터를 막대그래프에 표시하는 방법을 고안했는데, 소위 “genetic activity profile”이라 하였다. 시험결과들은 LED(lowest effective dose)와 HID(highest ineffective dose)의 기능으로써 표시하는 것으로 test system, 정성적인 결과평가(양성 혹은 음성), 투여량(dose) 및 짧은 설명이 담긴 자료를 컴퓨터화한 것이다. 이 그래프의 목적은 광범위한 test system으로부터 나온 유전독성을 시각적으로 이해하기 쉽게 하고 같은 시험법을 사용한 화학물질에 대한 결과들을 정성, 정량적으로 비교할 수 있도록 하는데 있다. 이러한 file들은 다시 같거나 구조적으로 비슷한 화학물질류끼리 묶어 평가하는 소위 “pairwise matching”법에 활용하는데 쓰인다.

1984년, 1986년 Garrett들은 사람에 대한 발암성이 이미 알려져 있거나 추정되는 발암물질과 살충제에 대해 genetic activity profile을 적용한 결과, 구조적으로 비슷한 화합물들은 종종 정성적, 정량적으로 비슷한 유전활성양식을 나타냄을 시사한 바 있다.

1988년 waters들은 이 “pairwise matching”법을 고안하게 되는데, 이것은 주어진 화합물 혹은 특정화합물류의 변이원성을 평가하기 위한 가장 적절한 시험방법을 선택하는데 도움이 되도록 활용하려고 시도되었다. 이들은 EPA/IARC의 database를 이용하여 204가지 물질에 관련된 유전적 영향을 시험하는 방법에 대한 결과들을 요약하였다. 이 결과표는 “activity profile listing”이라 하는데 시험방법에 대하여는 세글자의 코드로 표시하고, 시험결과는 +, -로 표시하되 물질대사 활성제 투여여부도 표시하였다. 용량은 LED 혹은 HID로 표시하고 짧은 설명도 첨가하였다(예:표 13). <표 13>을 막대그래프화한 “genetic activity profile”이 <그림 17>이다. 이 file의 X축에는 주어진 화학물질을 평가하는데 사용된 시험법을 나타내고, 그때 대상이 포유류인 경우는 시험개체의 라틴명, 유전적 손상의 명칭 그리고 시험법의 통상적인 명칭을 나타내었다. 종축에는 주어진 시험법에서의 용량기능을 나타내는데 수평의 기준선(base line)을 중심으로 위쪽은 양성을 표시하되 최저용량(LED : the lowest effective dose), 아래쪽은 음성의 결과를 표시하되 최고의 용량(HID : the highest ineffective dose)을 나타낸다.

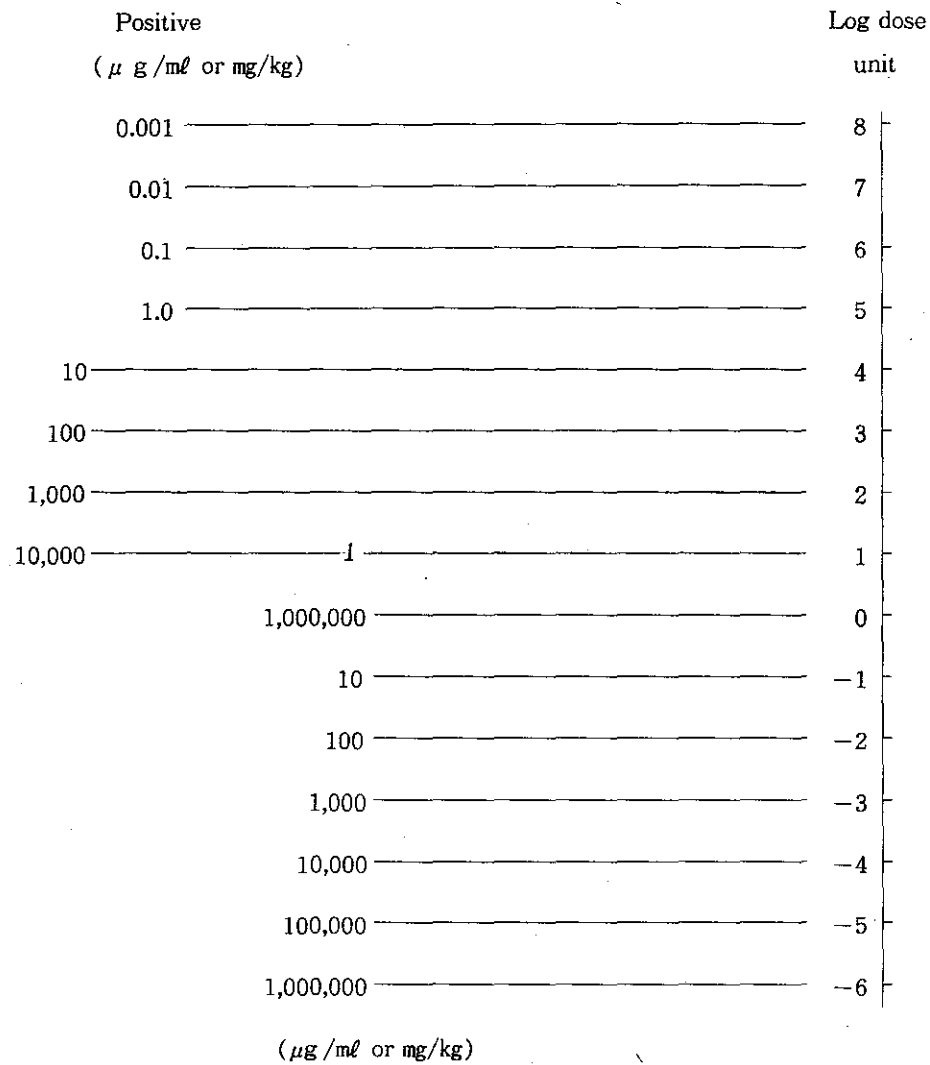
TEST CODE	RESULT NO	RESULT ACT	DOSE (IHD/LED)	REF. NUMBER	SHORT CITATION
PIT	+	0	26.0000	1766	ROSSMAN, MOLINA & MEYER 59, 1984
PIT	-	0	87.0000	3733	LLAGOSTERA, GARRIDO, GUERRERO 571, 1986
BSD	-	0	130.0000	73	NISHIOKA 185, 1975
BSD	+	0	166.0000	584	NAKAMURO, YOSHIKAWA, SAYATO 175, 1978
BSD	-	0	5200.0000	815	GENTILE, HYDE & SCHUBERT 439, 1981
UMF	-	0	52.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
SA0	-	-	42.0000	42	PETRILLI & DE FLORA 805, 1977
SA0	-	-	117.0000	53	PETRILLI & DE FLORA 167, 1978
SA0	-	-	4000.0000	704	DE FLORA 283, 1981
SA0	-	0	520.0000	812	TSO & FUNG 195, 1981
SA0	-	-	48.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
SA0	-	0	24.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
SA2	-	-	515.0000	495	BENNICELLI, CAMOIRANO, PETRUZZELLI 1, 1983
SA5	-	-	42.0000	42	PETRILLI & DE FLORA 805, 1977
SA5	-	-	4000.0000	704	DE FLORA 283, 1981
SA5	-	-	48.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
SA5	-	0	24.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
SA7	-	-	3280.0000	42	PETRILLI & DE FLORA 805, 1977
SA7	-	-	4000.0000	704	DE FLORA 283, 1981
SA8	-	-	4000.0000	704	DE FLORA 283, 1981
SA8	-	-	48.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
SA8	-	0	24.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
SA9	-	-	42.0000	42	PETRILLI & DE FLORA 805, 1977
SA9	-	-	4000.0000	704	DE FLOR 283, 1981
SA9	-	-	48.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
SA9	-	0	24.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
GCO	-	0	42.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
G9M	+	0	50.0000	3730	ELIAS, POIROT, SCHNEIDER 159, 1986
SIC	-	0	0.4000	250	MACRAE, WHITING & STICH 281, 1979
SIC	-	0	150.0000	258	LEVIS & MAJONE 523, 1979
SIC	-	0	50.0000	323	MAJONE & RENSI 379, 1979
SIC	-	0	1.0000	813	KOSHI 39, 1979
SIC	+	0	32.0000	939	OHNO, HANAOKA, YAMADA 141, 1982
SIC	-	0	50.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
SIC	-	0	52.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
SIC	-	0	0.5200	1435	UYEKI & NISHIO 227, 1983
SIC	+	0	9.8000	1494	ELIAS, SCHNEIDER, AUBRY 605, 1983
SIC	-	0	9.8000	1495	LEVIS & MAJONE 219, 1981
SIM	-	0	52.0000	1241	MAJONE, MONTALDI, RONCHESE 33, 1983
SIM	-	0	52.0000	1404	BIANCHI, CELOTTI, LANFRANCHI 279, 1983
SHL	-	0	52.0000	1005	STELLA, MONTALDI, ROSSI 151, 1982
SHL	-	0	5.2000	1572	OGAWA, MISAWA, MORITA 584, 1978
MVM	-	0	49.0000	324	FADBY 889, 1980
CIC	+	0	5.0000	258	LEVIS & MAJONE 523, 1979
CIC	+	0	50.0000	323	MAJONE, RENSI 379, 1979
CIC	(+)	0	50.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
CIC	(+)	0	9.8000	1495	LEVIS & MAJONE 219, 1981
CIM	-	0	50.0000	1185	VENIER, MONTALDI, MAJONE 1331, 1982
CIS	-	0	3.5000	479	TSUDA & KATO 87, 1977
CIT	-	0	52.0000	175	UMEDA & NISHIMURA 221, 1979
CHL	-	0	130.0000	814	SARTO, LEVIS, PAULON 239, 1980
CHL	+	0	2.6000	1005	STELLA, MONTALDI, ROSSI 151, 1982

<표 13> Chromium+³에 대한 "Genetic activity profile listing"의 예
(Water, 들, 1988)



* PT, BSD, UMF.....CHL등은 시험방법에 대한 CODE 표시임

<그림 17> Chromium⁺³에 대한 Genetic activity profile의 예 (Waters, et al. 1988)



<그림 18> “activity profiles” 그래프의 종축에 사용되는 log 용량단위의 범위
(Waters et al., 1988)

<그림 18>은 이 종축에 표시하는 용량범위를 log dose unit(LDU)로 표시한 예이다.

'Pairwise matching'을 위해 사용되는 통계적 기능(function)은 P값과 DRF(dose-related function)값으로, P값은 각각의 연구결과중 적용했던 시험법이 동일한 경우 같은 결과를 나타낸 확률이며, DRF값은 "genetic activity profile"의 공통적인 막대의 크기에 대한 상대적 일치도를 나타내는 값으로 다음과 같이 계산함으로 결정된다.

$$DRF = 1/n \sum_i C - |LDU_{ija} - LDU_{ijb}| \text{ 이다.}$$

$$\left(\begin{array}{l} n : \text{공통적인 시험법의 수} \\ c : \text{상수로 3.0} \\ LDU_{ij} : \text{logarithmic dose unit} \end{array} \right.$$

이 DRF는 공통적인 시험법간의 일치도를 측정하는데 정량적인 기능을 한다. 위의 P값과 DRF값은 미리 주어지는 유의수준과 정량적 일치도에서 계산해 봄으로써 어떤 화학물질들은 서로 매치시킬 수 있는가를 미리 조사해 볼 수 있다. 통상적으로 유의한 수준으로 잘 매치되었다 할 때의 P값은 0.05~0.01, 이때 미리 DRF값은 최소수준을 0.5~2.0으로 둔다. 이 확률(P)는 다음 관계식에 의해 산출된다.

$$P = \sum_i^n \binom{n}{i} (0.5)^n$$

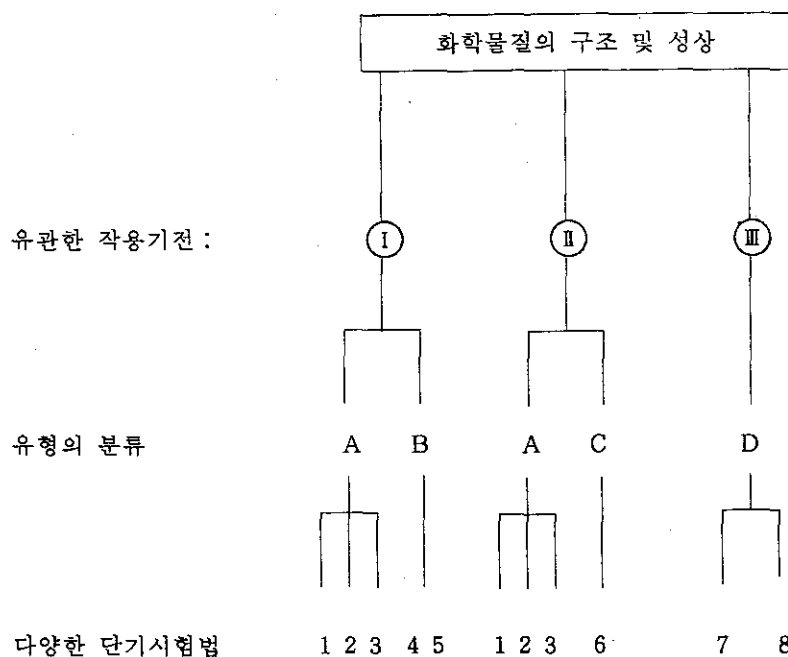
$$\left\{ \begin{array}{l} 0.5 : \text{주어진 공통 시험법에 대해 결과를 매치시킬 확률} \\ n : \text{공통적인 시험법의 수} \\ i : \text{일치하는 결과를 나타내는 시험수} \\ \binom{n}{i} : \text{binomial coefficient} = n! / [(n-1)!i!], \\ n \geq i \geq 0 \\ P : \text{Pairing에 포함될 수 있는 각 시험법의 유의수준} \end{array} \right.$$

Water들(1988)은 이러한 화학물질의 'pairwise matching'방법을 이용해 본 결과, 제한성은 있으나 이 방법으로 비슷한 유전스펙트럼과 유전적 영향을 나타내는 화학물질

들을 구별할 수 있다고 함으로써 구조적으로 비슷한 화학물질들은 비슷한 양상의 유전 활성을 나타낼 가능성이 높다고 한 Garrett들(1984, 1986)의 보고를 더욱 확고하게 해 주고 있다. 이 결과를 역으로 고찰해 보면 특정한 화학물질류의 'genetic activity profile'의 양상과 'pairwise matching'법을 통하여 구조적으로 비슷한 새로운 물질에 적용할 수 있는 시험법을 선택할 수 있음을 시사하고 있다.

어떤 화학물질에 대한 이와같은 정보는 이들 시험결과로 얻은 유전독성학적 반응과 구조적으로 관련있는 화학물질의 분자적 특성간의 상호관계를 이해하는데 더욱 도움이 되며, 복잡한 발암기전을 밝혀가는데 도움을 줄 것이다.

기존의 문헌에 의하면 발암과정은 여러 단계를 거쳐야 하는데 적절하고 단기적인 변이원성 시험법을 선택하는 경우에는 그 시험법이 이러한 발암기전에 관여하는 어떤 단계를 설명할 수 있는 것이어야 한다. 이상적으로는 화학물질의 물리화학적 및 구조적 정보와 함께 이러한 'genetic activity profile'이 유전적 기전에 관련하여 화학물질을 분류하는데 이용되는 최적의 시험법을 선택하는데 도움이 된다고 사료되나, 사실상 어느 시험법도 발암성을 예측하는 완전한 수단이 될수 없다. 이것은 시험법자체의 제한성뿐 아니라 시험수행상의 오류까지도 포함된다. 그러므로 이러한 제한성을 보충하기 위해서는 시험법이 제한성을 가질때 같은 발암기전을 알수 있는 다른 시험방법을 보완적으로 이용하고 실험과정상의 오류는 반복실험을 통해 줄이도록 한다. 이러한 이론을 토대로 이상적인 단기시험방법을 선택하는 예를 도시하면 <그림 19>와 같다.



<그림 19> 주어진 화학물질에 대한 단기변이원성시험방법 선택과정
(Waters 들, 1988)

즉, 어떤 화학물질에 대한 시험법(①~⑧)을 선정하는 경우, 불완전한 유형분류 및 실험상의 오류와 관련하여 생기는 부정확성을 고려하여 하나의 독립적인 시험법 이외에 필요에 따라 보완적 시험법도 포함시켜야 한다. 이때 특정한 생물학적 과정(A-D)을 유형분류하기 위한 시험방법을 선택함에 있어서는 비슷한 화학물질에 대해서 이용하고 있는 것을 택한다. 생물학적 과정내에서 동정할 수 있는 유전활동기전은 각각 독립적으로 고려되어야 한다. 아직은 대부분의 화학물질류의 경우 이용할만한 기초시험체계를 선택할 수 없지만 변이원성 시험방법으로 유전독성학적 기전의 부분부분을 설명할 수 있으므로 유전독성물질을 선별해 낼 수 있는 일련의 시험방법으로 이용되고 있다. 각 시험방법에 대해서는 오랫동안 꾸준히 연구되어 왔으며, 각각의 시험법이 인지하는 발암과정상의 단계는 각기 다르므로 신규화학물질의 유해성을 효율적으로 조사하는데

는 한계가 있다. 따라서 최소한 물질에 따른 시험방법의 선택 및 적용의 문제는 다시 고려되어야 할 것으로 사료된다.

5. 화학물질의 변이원성 평가의 기준

이미 실험적인 변이원성 평가방법이 다수 제기되어 왔고, 각 방법에는 측정할 수 있는 생화학적 혹은 그외의 가시적인 종말점(endpoint)이 있다. 산업보건정책당국에서는 직업병예방측면에서 그리고 작업장내에서 존재하는 발암성 화학물질을 분류하기 위해 이러한 시험방법들을 보건계획에 포함시켜 화학물질에 대한 변이원성을 평가하여야 한다. 이때 새로이 제조하거나 수입할 화학물질 및 기존화학물질의 변이원성을 평가하는데 일반적인 기준, 즉 평가조건을 설정하는 일반적 기준은 다음 <표 14> 과 같다.

-
- 당해물질 및 구조적 유사물질에 대한 기존문헌 고찰
 - 예상되는 공정상의 부산물 및 중간생성물 포함
 - 적절한 변이원성 시험법의 선택여부
 - 시험기관의 시설기준
 - 인력의 전문성 포함.
 - 결과에 대한 타당성 여부
 - 통계적 검증의 필요성
-

<표 14> 화학물질 변이원성 평가의 일반적 기준

1. 기존문헌고찰

1. 고찰대상 화학물질의 선정

당해 화학물질은 물론이며, 이 물질이 새로이 제조되는 물질일 경우에는 참고할 문헌이 없을 수 있으므로 화학구조상 유사한 물질 및 사용상 비슷한 용도로 쓰이는 물질을 포함하여 작업환경에서 폭로될 위험이 있는 해당물질을 사용하는 공정에서 생길수 있는 부산물 및 중간생성물에 대한 변이원성 및 발암성을 중심으로한 자료를 고찰한다. 화학구조상 유사한 물질을 포함시키는 것은 Garrett들(1984, 1986) 및 Waters들(1988)이 말한 바와 같이 구조적으로 비슷한 화합물들의 유전적 활성을 정성적, 정량적으로 평가할때 비슷한 양상을 보이고, 최근 들면서 화학물질의 유전독성을 연구하기 위한 시험법을 선정할때 이러한 점을 중요시하는 경향이 있기 때문이다.

2. 고찰한 내용

기존문헌을 통하여 해당되는 화학물질의 변이원성, 발암성을 고찰할 때에 산업보건 측면에서 특히 중요시해야 할 것은 작업장내에서 저농도의 화학물질에 만성적으로 폭로됨으로써 초래되는 직업성 암발생을 예방하는 점도 포함하므로 첫째, 유전독성시험방법의 종말점(endpoint)이 유전물질(DNA)의 미세한 생화학적, 분자구조적 변이에서부터 체세포의 유전물질의 변이 및 암이라는 질병에 이르기까지의 건강상 종말점(health endpoint)까지 여러단계에 관한 모든 문헌이 고찰되어야 한다. 따라서 작업장을 대상으로 한 사례연구, 환자대조군(case-control)연구와 Cohort연구 등의 역학조사연구결과 및 임상적 연구결과 등이 충분히 다루어져야 한다. 둘째, 단기적 변이원성 시험법에 대한 결과들을 고찰할 때에는 미생물, 세포분자수준에서의 데이터를 인간에 대한 저농도 장기폭로의 경우에 적용시킨 외삽에 대한 문헌까지도 고찰한다. 세째, 미생물, 세포 등을 대상으로 시험관내(in vitro)에서 실시한 변이원성 시험법은 생체내(in vivo)의 방

법으로 실험동물에 적용한 문헌, 더 나아가 같은 유전적 종말점(endpoint)를 측정하는 시험방법을 인간집단, 특히 작업장내에서 어떤 화학물질에 폭로되는 생물학적 지표의 사람에게 적용되는(biological monitoring method)에 관한 문헌 등을 연계지어 조사하고 고찰한다. 네째, 포유동물세포를 이용한 시험법에서 대상세포를 주로 체세포를 이용한 것이 많으나, 반드시 생식세포(germinal cell)에 대한 영향에 관한 연구보고를 고찰할 필요가 있다. 이것으로 인간집단이라는 gene pool에서 세대를 이어 영향을 미치게 되는 것을 이해할 수 있기 때문이다.

3. 적절한 변이원성 시험법의 선택여부

기존하는 문헌이나 자료에서 신규 혹은 기존화학물질의 변이원성이 밝혀지지 않았거나 논란의 여지가 많은 화학물질인 경우에는 작업장에서 사용할 것인지 등을 결정하는 기본자료를 얻기 위하여 앞에서도 언급했듯이 국내외적으로 여러 법규상 변이원성 시험을 실시하게 되어 있다. 이때 각 전문시험기관에서 실시한 시험방법이 올바르게 적용됐는가 하는 문제는 변이원성을 바르게 평가하는데 중요한 기준이 된다. 적절한 시험법을 선정하는 방법의 예는 앞에서 서술했으나 주요한 요점은 기존문헌을 통해 해당물질 및 구조적 유사물질들에 대해서 실시했던 많은 시험법들 중에서 해당물질의 유해성을 선별하는데 있어서 가장 민감하게 측정해 낼 수 있는 방법을 찾아 적용시키고, 이미 채택된 방법의 제한점을 보충할 수 있는 기타의 방법등을 활용하는 것이다. 이때 해당화학물질의 예상되는 사용량 및 사용기간 등을 고려하여 적용시킬 시험법의 수를 조절하는 것이 옳다고 사료된다.

Ⅲ. 변이원성 시험기관의 기준

변이원성 시험기관이라 함은 모든 변이원성시험 혹은 일부의 시험을 실시할 수 있는 시설을 갖추고, 그 안에서 일할 수 있는 인원들로 구성되어 있는 실재물을 의미하며, 한 사람의 관리자에 의해 통제되는 활용조직의 단위이다. 변이원성 시험결과의 신뢰도

를 확고히 하고 화학물질의 유해성을 연구하는데 도움을 주기 위해서는 이러한 변이원성 시험기관은 기본적으로 기준을 갖추어야 한다.

본 보고서에서는 일본의 노동성 화학물질 조사과에서 제시한 기준과 OECD가 제시한 GLP(Good Laboratory Practice)의 기준을 토대로 하여 변이원성 시험기관의 기준을 마련해 보고자 한다.

1. 시험기관의 기준설정의 목적

시험결과와 신뢰성을 높이고 자료의 질을 향상시킴으로써 여러 실험실 간의 실험자료들을 서로 수용할 수 있는 기반을 만들어주며, 같은 시험의 중복을 피할 수 있게 하여 비용과 시간을 절약하게 해준다. 더 나아가 시험물질들의 유통시 발생하는 기술적 장애를 줄여주며 인간의 건강과 환경보호를 보다 효율적으로 수행할 수 있게 한다.

2. 범 위

첫째, 시험기관의 기준은 자타가 인정하여 생산되어 나온 실험자료들을 신뢰성이 있는 것으로 보증받음으로써 정책자들이 정책결정시 이러한 자료들이 반영될 수 있어야 한다.

둘째, 해당시험기관의 시험기준은 실험실 자체의 연구 뿐 아니라 현장연구(field study)도 가능할 수 있는 범위이어야 한다.

3. 용어의 정의

- a. “시험기관”이라 함은 시험의 전부 혹은 일부를 실시할 수 있는 시설을 갖추고 그 안에서 일할 수 있는 임원들로 구성되어 있는 실재물을 의미하며 한사람의 관리자에 의해 통제되는 가동구조이다.
- b. “시험시설”이라 함은 시험물질에 관련한 시험 혹은 연구를 수행하는데 필요한 인원 및 시험방법을 운영하는 시설을 의미한다.

- c. “운영관리자”라 함은 시험기관의 전반적인 가동에 책임을 지는 사람이다.
- d. “시험책임자”라 함은 해당시험의 전반적 수행에 책임이 있는 자로서 시험을 관찰하고 수행하며 기술적으로 지도하고 시험결과를 분석하고 기록하는 모든 과정에 책임을 지는 자이다.
- e. “시험의뢰자”라 함은 시험기관에 시험을 위탁한 사람 혹은 단체를 뜻한다.
- f. “시험체계(test system)”라 함은 물리화학적 및 기타 자료를 측정하는 도구로 시험에 사용하는 미생물, 세포구조, 동물 및 이들의 복합체제를 뜻한다.
- g. “시험물질”이란 변이원성을 조사하기 위해 시험에 제공되는 화학물질이나 혹은 혼합물질을 뜻한다.
- h. “대조물질”이란 시험물질을 시험할 때 시험제의 표준조건을 조사하기 위하여 혹은 시험물질과 비교하기 위하여 대조적을 사용하는 화학물질
- i. “시험검체(specimen)”이란 조사하고 분석하고자 하는 시험제로부터 추출된 어떤 물질을 뜻한다.
- j. “원자료(raw data)”란 실험노트, 메모, 기록부(차트), 테이프, 워크시트 등과 같은 시험에 대한 최초의 관찰결과로서 시험기록을 평가하거나 복사할 때 필요한 항목이다.
- k. “신뢰성 보증 의무(Quality Assurance Duty)”이란 시험자료의 신뢰성을 보증하기 위하여 운영관리자가 임명하는 특정인에 의해 수행되는 시험시설의 검열 및 감사와 같은 임무를 뜻한다.

l. 조직구성

시험기관의 조직은 운영관리자, 시험책임자, 시험담당자, 결과보증인 및 기록보관자등으로 구성된다.

ㄱ. 운영관리자

운영관리자는 시험기관의 관리에 대한 전반적인 책임과 권리를 가지며, 변이원성시험에 관한 적절한 지식을 갖고 있어야 한다. 운영관리자의 임무는 다음과 같다.

- 시험책임자, 시험결과 보증인 및 기록보관자를 임명한다.
- 시험 결과 보증에 관한 과정(Quality Assurance program)을 준비한다.
- 시험계획을 수립한다.
- 시험방법의 내용을 인준한다.
- 시험연구에 관계하는 자의 안전과 건강을 위해 예방책을 마련한다.
- 시험연구에 관계하는 자의 경력기록을 준비한다.
- 신뢰 보증 책임자에 의해 지적된 문제점과 그 문제점들과 관련하여 시험책임자가 취하는 보정행위등을 확인한다.
- 시험을 보다 적절하고 원활하게 행하기 위해 필요한 다른 전반적 관리통제를 가할 수 있다.

ㄴ. 시험책임자

시험책임자는 4년제 대학에서 자연과학계열의 과정을 마친후 1년이상 변이원성 시험업무경력을 가진자 혹은 동등 이상의 자격을 가진 자로 한다. 시험책임자의 임무는 다음과 같다.

- 시험 시작전에 수행할 시험방법의 준비
- 시험방법에 따른 시험수행
- 시험과정에서 얻어지는 자료기록
- 최종보고서 작성
- 시험담당자의 지도, 지시 및 통제
- 시험담당자에게 건강과 안전에 대해 지도하고, 신체상의 건강상태를 파악
- 기록보관 장소로 기록과 표본을 전달
- 신뢰보증책임자에 의해 지적되는 문제를 해결할 보정행위를 취하고 결과를 기록

ㄷ. 신뢰보증(Quality Assurance)책임자

신뢰 보증 책임자는 변이원성 시험에 대한 충분한 지식을 갖고 있어야 하며, 운영관리자가 임명한다. 결과 보증 책임자의 임무는 다음과 같다.

- 시험계획, 시험방법 및 기준적용절차 등 인쇄물의 보관
- 각 시험에 대한 신뢰보증사업(Quality Assurance Program)에 관한 주기적 감사 및 점검 실시
- 운영관리자 및 시험책임자에게 결과통보 및 기록보관
- 시험방법이 정확히 기록되어 있는지, 최종보고서의 내용이 주어진 양식과 기준에 준하는지, 원관찰자료가 정확하게 반영됐는 지를 확인하고 감사한다.
- 신뢰보증서 준비

ㄹ. 시험담당자

시험담당자는 시험수행에 필요한 교육이나 훈련 받은자 혹은 해당분야에 경력이 있는자로 한다. 시험담당자가 준수하고 수행해야 할 사항은 다음과 같다.

- 시험물질, 대조물질, 혹은 시험제를 오염시키지 않도록 임무수행시 적당한 의복을 착용하는등 필요한 조치를 취한다.
- 사고 혹은 질병예방에 필요한 안전 및 보건예방조치를 취한다.
- 시험수행에 악영향을 줄수 있는 건강상의 문제가 있는 사람은 운영관리자에게 보고하여 그의 명령에 따른다.

4. 신뢰보증(Quality Assurance)

시험기관은 규정된 기준에 따라 시험을 시행토록 하기 위하여 신뢰보증계획(quality assurance program)을 마련하여야 한다. 또한 결과보증은 신뢰보증 계획(quality assurance program)에 따라 보증책임자에 의해 효력을 발휘한다.

- ㄱ. 시험의 감사 혹은 검열에 관한 문제
- ㄴ. 시험장소의 검열에 관한 문제
- ㄷ. 최종보고서의 감사에 관한 문제
- ㄹ. 신뢰보증서(quality assurance certificate)준비에 관한 문제
- ㅁ. 보증에 관련한 기타사항.

5. 시험시설

ㄱ. 시험시설로서 다음의 장소를 갖추어야 한다.

- 본 실험실
- 관리 조정실
- 기록 보관실
- 폐기물 처리실

ㄴ. 본 실험은 필요한 크기, 구조를 갖추고 시험을 수행하기 적당한 위치에 있어야 하며, 기타 장소와 격리되어 있어야 한다.

ㄷ. 미생물은 사용하는 시험장소, 배양세포를 사용하는 시험장소 혹은 동물을 사용하는 시험장소는 원칙적으로 서로 독립된 곳에 있어야 한다.

6. 장비 및 기구

ㄱ. 시험시설은 시험을 적절히 수행하는데 필요한 장비와 기구를 갖추어야 한다.

ㄴ. 장비와 기구는 충분한 용량을 가져야 하며, 항상 유지관리 되어야 하고, 적당한 위치에 놓여 있어야 한다.

ㄷ. 장비와 기구는 청결하게 유지되고 주기적으로 점검하며 그에 대한 기록이 보유 되어야 한다.

• 7. 표준실험절차(Standard Operating Procedures)

각각의 시험법이 수행될 때 제공해야 할 실험절차에는 다음 사항이 규정되어야 한다.

- ㄱ. 시험물질 및 대조물질의 제조, 저장 및 사용에 관한 문제
- ㄴ. 장비 및 기구의 작동, 검사 및 유지에 관한 문제
- ㄷ. 시험체계(Test system)의 사용에 관한 문제
- ㄹ. 시약의 준비, 저장 및 분류에 관한 문제
- ㅁ. 관찰, 측정, 검사 및 분석에 관한 문제

- h. 데이터의 관리, 저장 및 수정에 관한 문제
- ㅅ. 안전과 보건에 관한 문제
- ㅇ. 폐기물 처리에 관한 문제
- ㅈ. 기타 필요한 사항

8. 실험기본계획(Master plan)

실험기본계획에는 시험체계, 시험형태, 시험책임자의 이름 및 그 해에 시험기관에서 시행할 모든 시험에 있어서의 각 시험물질에 대한 검사일 등이 기록되어야 한다. 또한 시험을 시작한 후의 시험과정의 상태, 최종보고서의 준비상태 등도 기록되어야 한다.

9. 시험절차(Protocol)

상세한 시험절차는 시험을 시작하기 전에 준비하여야 하며, 다음 사항이 기록되어야 한다.

- 시험의 제목 및 목적
- 시험기관의 명칭 주소
- 시험의뢰자의 이름과 주소
- 시험책임자의 직위와 이름
- 신뢰보증인의 직위와 이름
- 시험책임자의 시험법 인가 및 서명날인-시험법을 변경할 때도 시험책임자의 승인
인이 필요
- 계획된 시험의 시작날짜와 기간
- 시험물질의 명칭, 특성 및 취급방법
- 사용될 대조물질의 명칭
- 시험체계의 조건
- 관찰, 측정, 검사 및 분석방법

- 용매 및 배지
- 자료분석을 위한 통계처리방법
- 시험물질 혹은 기록의 보유방법
- 기타 사항

10. 시험수행

- ㉠. 시험은 시험책임자의 지도와 감독하에 정해진 시험법과 시험절차에 따라 수행되어야 한다.
- ㉡. 데이터는 지워지지 않는 도구로 정확하게 기록되어야 한다. 데이터를 기록하는 사람은 기입란에 날짜를 기록하고 서명날인한다.
- ㉢. 데이터를 수정할때 수정이유를 기록하고 수정자가 서명 날인한다.
- ㉣. 시험기관은 시험물가검물(specimen)를 표시할 때 시험형태, 시험제제 분류번호 및 시험물 시험날짜 등을 첨부하여 기록한다.
- ㉤. 오용을 방지하기 위해 시험담당자는 시약 혹은 용액병에 명칭, 필요하다면 농도, 저장조건 및 유효기간 등을 표시한다.
- ㉥. 시험담당자는 유효기간이 지난 시약이나 용액을 사용해서는 안된다.
- ㉦. 시험담당자는 시험도중 발생하는 사고 혹은 예상 밖의 현상을 즉각 보고하고 또한 기록한다.

11. 최종보고서

최종보고서는 각 시험마다 준비되어야 하며, 시험책임자의 서명날인이 있어야 하며, 신뢰보증(Quality Assurance)책임자의 감사가 수행되어 신뢰보증서가 부착되어야 한다.

최종보고서에 기술될 사항은 다음과 같다.

- 시험의 제목과 목적
- 시험기관의 명칭 및 주소

- 시험시작 날짜 및 종료날짜
- 시험물질 혹은 대조물질의 명칭, 순도, 성분등과 같은 특성을 기록한 목록
- 투여시 시험물질 혹은 대조물질의 안정성
- 사용한 시험방법
- 관찰, 측정, 검사 및 분석의 종류, 빈도, 방법등
- 데이터를 분석할때 사용한 통계처리 방법
- 시험결과, 결과의 판정, 토의 및 기타사항
- 시험결과의 신뢰성에 영향을 줄수 있는 환경적 요소
- 기록과 표본의 보관에 관한 정보
- 최종보고서 작성일
- 기타사항

12. 기록과 표본의 보관

시험기관은 기록과 표본을 특정한 보관장소에 보관하여야 한다. 보관책임자 혹은 그가 인정하는자 이외의 사람은 보관장소에 출입할 수 없으며, 시험기관은 이들 기록과 표본이 손상되지 않도록 해야 한다. 다음의 기록과 표본들은 10년간 보관되어야 하나 10년 동안 유지될 수 없는 시험물이나 시험물질인 경우에는 안전한 상태로 있을 기간 내까지 보관되어야 한다.

- 시험계획
- 시험방법
- 원자료(raw data)
- 결과보증서등
- 시험절차의 기준
- 각 실험자들의 교육, 훈련, 경력에 대한 기록
- 장비 및 기구에 대한 기록

— 시험물질 및 대조물질의 표본

— 시험물

IV. 시험결과와 통계처리 및 검증의 필요성

변이원성연구에서 각 시험법을 이용하여 얻은 결과를 활용할 수 있으려면 연구결과
의 신뢰도를 높이는 방법을 최대한으로 강구되어야 한다. 이를 위해서는 상술했던 시
험시설기준에 따른 적합한 시험선택, 실험자의 전문성, 잘 계획된 실험계획, 수행 및
결과해석등이 고려되어야 한다. 이때 각 연구보고의 결과를 올바르게 해석하는데 대한
객관적인 평가기준이 되는 것은 자료의 통계처리방법이다. 오늘날 정보화시대가 되고
컴퓨터 활용이 용이하게 됨에 따라 경제, 교육, 농업 및 생물과학과 의학계에서도 통계
적 수단이 요구되고 있는 형편이다. 따라서 화학물질에 대한 변이원성을 비롯한 모든
독성분야의 연구에 있어서 거의 모든 자료에 대해 통계적 검증이 이루어지고 있다. <
표 18>는 최근의 몇몇 변이원성 시험법을 이용한 변이원성에 대한 연구보고에서 사
용된 통계처리방법들이다. 변이원성시험에서 그 결과가 대조군과 비교하여 의심할 여
지없이 명확하게 차이를 보인다면 통계적 검증의 필요성이 없으나 산업보건측면에서
작업환경오염물질에 대해서 실시하는 모든 산업독성연구에서는 결과에 대한 통계적 개
념은 필히 고려되어야 할 것으로 사료된다.

문헌의 내용	이용된 통계법	저 자	년도
Evaluation of genotoxicity of clofazimine, an antileprosy drug in mice in vivo II. Micronucleus Test in Bone Marrow and Hepatocytes	- t-test - r-test	Roy & Das	1990
Mouse bone marrow cytogenetic damage produced by residues of tequilina: SCE, chromosome aberration	- Student t-test - Chi-square test - Regression line calculated by least-square method	Madrigal-Bujaidar et al.	1990
Lack of correlation between the capability of inducing sister-chromatid exchange in vivo and carcinogenic potency.	Non-Parametric Mann-Whitney test (Siegel, 1956)	Parodis et al.	1983
Urinary mutagen in municipal refuse in cinerator workers and water treatment workers	Chi-Square test (Mantel & Haenzel, 1959)	Scalet J.M.	1990
Sister-chromatid exchange frequencies induced in vivo and in vitro by the residues of Brandy	- Regression line by least-square method - Student t-test - Chi-square test	E.Madrigal-Bujaidar	1991
Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm	- Multivariate analysis - Spearman rank correlation coefficient	B.Hogstedt et al.	1984
Use of rat primary lung cells for studying genotoxicity with the sister-chromatid exchange and micronucleus assays	- Analysis of variance - t-test	W.-Z.Whong Norman et al.	1990
Screening human populations for chromosome aberration	- t-test - Logistic regression analysis - Correlation coefficient	F.Salmanca et.al.	1985
Chromosome abnormalities and Sister chromatid exchanges in Children with acute intoxication due to Inhalation of volatile Substances	Mann-Whitney test		1989

< 표 15 > 변이원성 시험법에 사용된 통계처리방법의 예

제 3 절 변이원성 시험결과를 해석할 때의 고려사항

1. 미생물을 이용한 변이원성 시험(Ames test)

자료의 결과판정을 할때 첫째, 양성판정의 경우, plate-corporation으로 해당물질에 대해 양성으로 판정하려면 대조물질에 비해 통계적으로 유의하게 돌연변이의 증가를 보이고, 양-반응관계를 나타내야만 하는데, 이때 최소한 2번의 반복시험, S_9 mix를 첨가 또는 첨가하지 않았을 때 1종류 이상의 균주에서 이같은 결과를 나타내야 한다. 또한 여러 연구보고에 의하면 통상적으로 화학물질 처리군에서의 변이원성이 그 배경치의 2배 이상이고, 양반응관계가 있다면 양성으로 판정한다.

둘째, 음성의 판정의 경우, 최소한 2번의 시험에서 어느 용량단계에서든지 증가양성을 보이지 않을때는 음성으로 판정한다. 이때 결과보고서에 제출되는 기본적인 실험방법에는 다음의 내용이 기록되어야 한다. ① 사용균주 ② 4단계이상의 투여용량(이때 설정되는 용량은 화학물질의 독성 및 용해성을 고려하는데 용해성이 매우 높은 경우는 밀리그램(mg) 단위까지도 가능하다) ③ 적절한 음성대조물질과 양성대조물질(이때 양성대조물질은 S_9 mix의 효과를 검사하기 위해 사용한다) ④ 각 실험에 사용한 균주의 동정근거 등이다.

하나 혹은 그이상의 용량단계에서 복귀돌연변이의 수적 증가는 있으나 명확한 양-반응관계가 보이지 않고, 이러한 증가양상이 두번이상의 실험에서 일정하게 나타나고, 특정수준의 S_9 mix를 첨가한 특정의 균주에서만 이러한 양상이 나타날때는 결과의 판정이 애매모호하다. 이러한 애매모호한 결과는 시험물질내에 있는 영양소 혹은 시험물질과 미생물과의 상호작용등과 같은 기술적인 문제 때문에 생길 수 있으며, 실험과정의 변화가 요구되는 수도 있다. 다른 예로써 수회에 걸친 반복된 실험에서 한두차례의 실험에서는 양성이고 어떤 경우는 음성일 경우가 있는데, 이러한 때는 반복성이 없는 것(irreproducible)으로 분류할 수 있다.

이러한 결과의 애매모호성에 대한 결과는 보고서에 상세한 내용을 기록하여 시험책임자 및 신뢰보증책임자등 관련 심사위원들의 의견을 모아 시험방법을 변경하여 실시하던지 기록자체로 변이원성의 유무를 판정하여야 한다.

미생물을 이용한 변이원성 시험은 실험과정상의 단계마다 주의를 기울여야 하며, 이 시험방법을 정규적인 선별시험(screening program)의 모형에 이용할 경우는 실험할 때마다 일정한 실험방법을 정립시켜 수행함이 중요하다.

이 시험법만으로는 단순히 해당물질이 포유동물에서 추출한 대사활성효소(S₉)를 첨가 또는 첨가하지 않을때 미생물 돌연변이균이 되는지의 여부를 판을 결정할 뿐 다른종(species)에 대한 변이원성 및 발암성을 확실히 결정할 수는 없음을 고려해야 한다.

2. 염색체 이상 시험법 및 자매 염색체 교환

염색체이상 및 자매 염색체 교환의 빈도증가가 양·반응 관계와 함께 대조군에 비해 그 차이가 명확할 때, 혹은 명확하게 증가양상은 보이지 않을 때는 통계적 분석을 하지 않고도 결과를 명확히 해석할 수 있다. 그러나 통상적으로는 결과에 대한 통계적 분석을 실시하는 것이 바람직하다. 염색체 이상 분석에 있어 특히 “gap”을 제외시킬 때는 Chi-square test 혹은 Fisher's exact test와 같은 통계방법을 이용하는 것이 용이하다.

음성대조군을 포함한 3~4단계의 용량단계에서 양-반응관계를 보여주고, 음성대조군에 비하여 염색체 이상 및 자매 염색체 교환의 빈도가 통계적으로 유의하게 증가하였을 때는 양성(+)의 결과로 판정한다. 또한 양·반응 관계성이 없고 어느 용량단계에서도 대조군에 비하여 유의한 빈도증가가 없을 경우에는 음성의 결과로 판정한다. 유의성이 낮게 나타난 경우에는 부가적인 자료를 입수하거나 혹은 시험을 다시 수행할 필요가 있으나, 대조군의 수준 바로 위를 상회하면서 양반응성을 나타내고 통계적인 유의성이 있다면 약한 양성(weakly positive result)로 간주함이 바람직하다.

시험화학물질의 농도는 통상적으로 세포특성을 가져오거나 혹은 유사분열지수(mi-

totic index)의 감소를 초래할 정도의 농도까지로 정하는 것이 타당하나, 그것이 불가능할 때는 용매에 용해될 수 있는 최대용량까지를 한계로 잡을 수 있다. 그러나 독성이 약한 물질이라서 너무 높은 농도를 설정할 때 배양조건에 영향을 줄 수 있으므로 최대용량수준은 경우에 따라 달리 결정한다.

때때로 한 용량단계 혹은 반복실험 중에 한 실험에서만 높은 통계치를 나타낼 경우가 있는데, 이 때에는 양성으로 산출된 용량의 위아래 수준의 좁은 범위로 다시 용량단계를 나누어 실험을 반복해 보고 반복성이 없으면 결과치에서 제외시킨다.

결과를 해석할때 어려운 것 중의 하나가 “gap”의 유의성인데, 다른 형태의 염색체이상 없이 “gap”에서만 유의한 증가가 있다면 대부분 시험물질에 대한 세포독성과 관련된 것으로 유전 독성학적 의미는 없는 것으로 해석 함이 바람직하다.

3. 소핵시험

원관찰자료는 소핵시험에 대한 결과서를 동물단위로 정리할 수 있는데(individual animal sheet) 내용에는 총 PCE(polychromatic erythrocytes)의 수, PCE과 NCE(non-chromatic erythrocytes)의 비율, 소핵을 가진 PCE의 수 등을 기록한다. 이 데이터로부터 각 실험군에 따라 소핵을 가진 PCE의 평균빈도, PCE/NCE의 평균비율 및 소핵을 가진 NCE의 평균 등을 정리한 표를 작성한다. 소핵시험에서는 동물의 수가 중요한데, 가장 바람직한 것을 실험군과 대조군의 수를 거의 같게 해주며, 실험에 사용되는 동물의 수는 요구하는 실험의 민감도가 자연적 발생율(spontaneous incidence)에 따라 달라질 수 있다. 동물당 관찰하는 PCE의 수는 500 혹은 1000으로 한다.

일반적으로 결과판정의 한계는 소핵의 자연적 발생율이 2/1,000일때 양성으로 판정하기 위해서는 대조군에 비해 3배의 증가율을 나타내야 하며, 양측 점정으로 0.01의 유의수준을 준다. 입을 세포수 또한 동물의 수만큼 중요한 것인데 이것 또한 자연적 발생율과 요구하는 통계적 유의수준에 따라 정해진다. Grafe와 Vollman(1977)은 소핵

시험에서 요구되는 최소의 세포수와 앞서의 두요인과 관련하여 유의수준을 0.05를 두었을 때 binomial distribution에 의한 표를 작성한 바 있는데 이 표에 의하면 자연발생율이 2/1,000인 경우 최소 15,700개의 세포를 관찰해야 한다.

결과에 대한 통계처리방법은 주로 non-parametric statistics, Mann-Whitney의 rank test, Wilcoxon test 등이 사용된다.

4. 우성치사시험

우성치사시험에 대한 결과를 해석할 때의 통계적 평가는 시험방법에서 사용하는 생물학적 모델에 따라 적절한 통계방법을 선택하여야 한다. 생물통계분석을 위해 5가지 변수가 3단계 수준에서 이용되는데 <표 16> 이들변수는 정수로 표시된다. 암컷이 표본단위로 채택되는데 돌연변이 효과에 대한 실제분석이외에 숫컷의 사망율과 암컷의 수정율(fertilization rate)이 확인되어야 한다.

단 계	변 수
I	황체(corpus lutea)의 수/마리
II	착상된 수(implantation)/마리 착상전 손실수(preimplantion loss)/마리
III	착상후 생존수/마리 착상후 사망수/마리

<표 16> 생물통계분석을 위한 변수

우성치사시험에 대한 통계분석으로 Vollman(1977)이 추천한 것은 Wilcoxon test이며, 수정율에 대해서는 Fisher-Yate test이다. Haseman과 Soares(1976)은 적용된 여러 통계기법을 비교한 결과 우성치사시험을 분석할때 흔히 사용하는 χ^2 -test는 유의성을 과장되게 하는 경향이 있으므로 사용하지 않는 것이 바람직하다고 하였다.

제 4 절 신규화학물질의 변이원성시험(유해성조사) 제도에 대한 고안

1. 유해성 시험기관 선정에 관한 제안

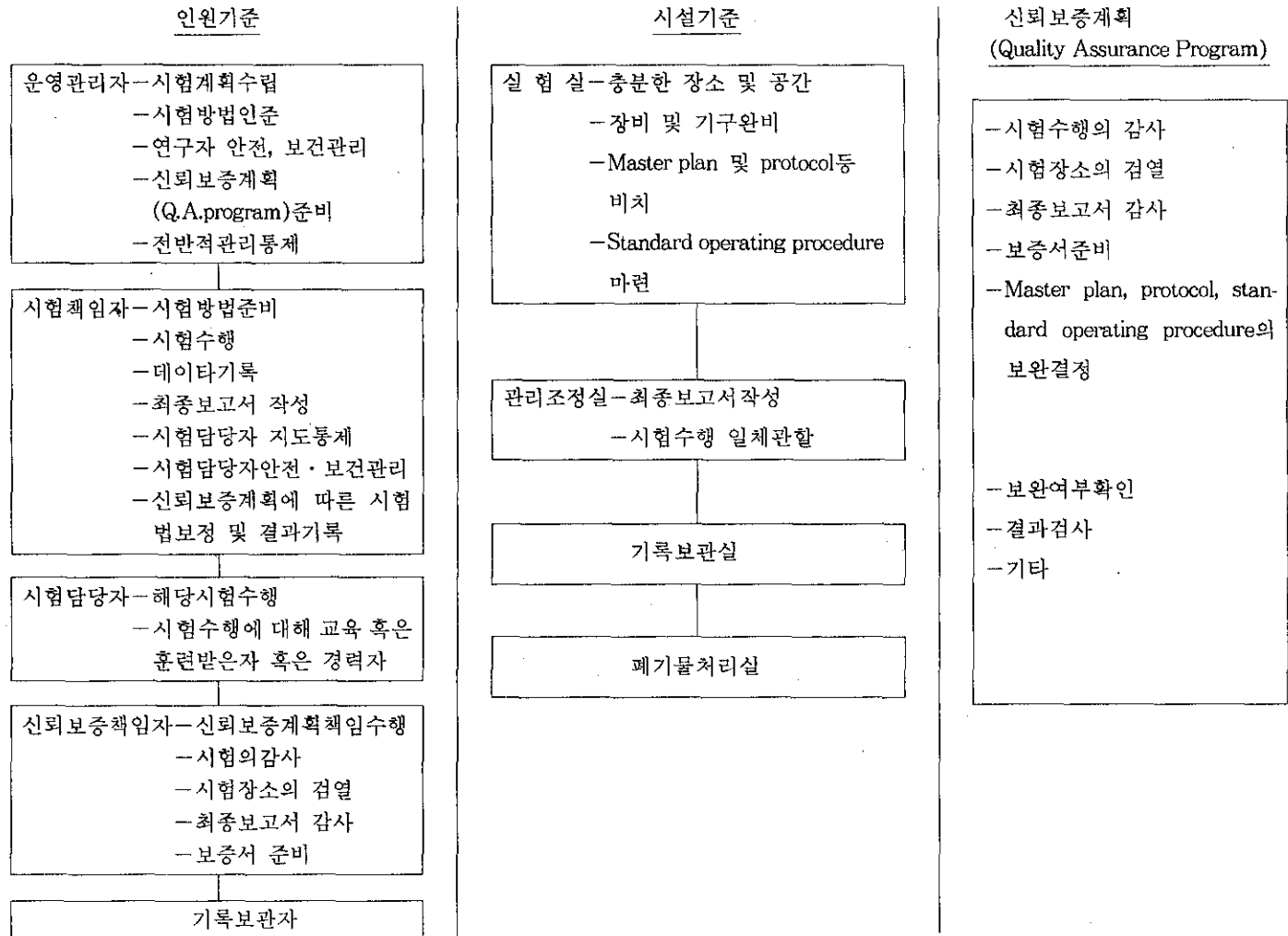
우리나라의 경우 유해성조사제도에 의하면 노동부장관이 인정하는 전문조사기관을 유해성 시험기관으로 선정하게 되어있다. 그러나 유해성조사결과에의 객관적 신뢰성을 높이기 위해서는 우리나라 나름의 시험시설기준을 마련하여 기준에 합당한 시설을 갖춘 시험기관이 자진 신청하여 국가가 기준에 따라 검토하여 지정하는 방법과 국가가 먼저 기준에 적절하다고 인정하는 시험기관을 지정해 주는 방법을 제시한다. 변이원성 시험기관의 기준을 요약하여 제시하면 <그림 20>과 같다. 상세한 항목은 상술한 바와 같고 시험책임자, 시험담당자 및 신뢰보증책임자의 수는 시험기관에서 실시할 시험법의 수, 종류에 따라 조정하며, 각 시험법은 별도의 실험실에서 각 시험법에 맞게 설치한 장비와 기구를 가지고 각각 실시될 수 있도록 하는 것을 원칙으로 한다.

2. 유해성 조사방법에 대한 고찰

산업안전보건법 시행규칙 제 83 조에 의하면 “신규화학물질 유해성조사는 미생물을 이용한 복귀돌연변이시험과 포유류 배양세포를 이용한 염색체 이상시험 또는 이와 동등이상의 결과를 얻을 수 있는 시험 또는 발암성 시험으로 하여야 한다”고 하였다.

화학물질의 변이원성을 조사하는 방법중, 미생물을 이용하는 Ames test가 일반적으로 널리 수행되고 있으며 발암성 물질을 선별(Screening)하는 민감도도 높은 것으로 알려져 있어 일본 노동성을 비롯한 미국의 EPA(환경청), EEC (유럽경제공동기구)등에서는 원칙적으로 변이원성시험에 미생물을 이용한 시험법을 포함시키고 있다.

일본의 경우, 신규화학물질의 유해성조사는 노동안전위생 법규 제 34 조에 의하여 「변이원성시험, 화학물질의 발암성에 관한 변이원성시험과 동등이상의 결과를 얻을 수



<그림 20> 변이원성 시험기관의 기준

있는 시험 혹은 발암성시험」으로 규정하고 있는데 여기서 변이원성시험은 미생물을 이용한 변이원성시험을 원칙으로 하고, 발암성에 관한 대표적인 단기조사방법으로 소개하고 있는 것은 회복시험(repair test; rec-assay, pol-assay), 초파리와 누에 등을 이용한 열성치사시험(recessive lethal assay), 우성치사시험(dominant lethal assay)등, 체세포 변이원성시험(in vitro somatic cell mutation test), in vitro 염색체시험(in vivo cytogenetics), in vivo 염색체시험(in vivo cytogenetics), 및 숙주매개시험 등으로 이중에서 선택하여 미생물을 이용한 변이원성시험과 함께 부가적으로 실시하도록 되어있다.

또한 미국 EPA(환경보호청)의 돌연변이 및 발암물질의 검사를 실시할때 <그림 15>, 시험의 첫단계에 미생물을 이용한 Ames test와 in vitro의 염색체 이상시험을 병행하여 실시한 다음, UDS(unscheduled DNA synthesis)와 in vivo의 염색체이상 시험을 실시하여 충분한 변이원성 정보를 획득하도록 하였다.

유럽경제공동기구(EEC)의 돌연변이 및 발암물질검사<그림 16>에 따르면 시험의 첫단계(level 0)에 미생물을 이용한 Ames test와 체세포변이원성시험을 병행 실시한 후, in vivo의 체세포 및 생식세포를 이용한 방법을 실시토록 되어 있다.

이와같이 미생물을 이용한 변이원성 시험법은 상술한 바와 같이 오랫동안 연구수행되는 방법으로 민감도(약 80~90%)가 높고 발암강도와의 상관성도 비교적 높아 화학물질의 변이원성 및 발암성을 조사하는데 아주 우수한 방법으로 알려져 왔으므로 산업안전보건법상에서 채택된 것은 타당하다고 본다. 그러나, 방법의 제한점에서 지적한 바와 같이 화학물질에 따라 이 방법의 적용이 비효율적이고 때로는 불가능할 경우도 있으며, 민감도에 비하여 특이도가 비교적 낮아 모든 화학물질에 이 방법만을 적용하는 것은 착오의 위험이 있으므로 화학물질에 대해 단기적으로 실시할 수 있는 변이원성 및 발암성에 대한 시험의 범위를 넓혀 미생물을 이용하는 시험법을 실시하는 것을 원칙으로 하되 부가적으로 기타의 방법중에서 해당 화학물질에 적합한 시험법을 설정하여 한두가지를 병행하게 하는 것이 타당하다고 사료된다.

본 보고서에 제시할 수 있는 각 시험법의 종류는 <표 20>과 같다.

유전자돌연변이시험

- 살모넬라균을 이용한 복귀돌연변이시험
- 대장균을 이용한 복귀돌연변이시험
- 포유동물의 배양세포 유전자 돌연변이시험
- 초파리를 이용한 열성치사시험
- 효모를 이용한 유전자 돌연변이시험
- 마우스 특이유전자부위 시험

염색체 돌연변이시험

- 시험관내 세포유전학적 시험
- 생체내 세포유전학적 시험
- 소핵시험
- 열성치사시험
- 상호전좌시험
- 포유동물의 생식세포를 이용한 세포유전학적 시험

DNA에의 영향시험

- DNA손상과 회복에 대한 시험 : 시험관내에서이 비주기적 DNA 합성시험
- 효모에서의 체세포 재조합 및 역위시험

<표 17> 변이원성을 검사하는 단기적 시험법의 예

3. 유해성 심사기준에 대한 고찰

a. 유해성 조사 자료에 의한 기준

사업주가 노동부에 제출하는 유해성 조사 결과보고서 및 유해성조사 제외확인 신청서에 기록하게 되어 있는, 인체영향란에는 해당물질의 신경독성, 혈액독성, 간장독성, 신장독성, 피부독성, 폐독성 및 생식독성의 유무를 기재한다. 사업주는 유해성 조사결과 보고서 제출시 유해성에 대한 조사자료를 제출할 수 있는데 관련 전문학회지에 게재되었으나, 학회에 발표된 유해성조사자료 및 경제협력개발기구 회원국의 정부기관 및 국제연합기구에서 인정하는 유해성 조사자료를 제출하는데, 자료의 출처확인이 가능하도록 하며, 외국자료인 경우에는 제출자료의 인용부분에 요약번역물을 첨부한다. 이때 자료의 수집도 주로 사업주가 직접하거나 유해성시험기관에 의뢰하여 결과를 발급 및 제시받을 수 있는데, 각 시험기관은 기존화학물질 및 신규화학물질에 대한 국내외의 최신정보를 입수, 자료은행을 마련하여 의뢰되는 화학물질에 대한 유해성관계자료를 효율적으로 끌어낼 수 있는 전문성을 갖추어야 한다. 그러나 사업주는 해당화학물질을 필요로 하는 입장이므로 사업주가 제출한 보고서의 “인체영향”사항에는 비교적 유해성이 없다는 결과쪽으로 자료가 치우치는 경향이 있을 수 있다. 그러므로 심사위원회에서 인체영향에 관한 결과보고서 서류를 심사할 때는 근로자를 유해화학물질로부터 보호해야 한다는 입장이 되어 제출내용의 타당성을 엄밀히 심사해야 한다. 또한 인체영향에 대한 결과를 유·무로만 표시하는 것보다 좀더 포괄적인 표현(유, 무 및 정도표시)을 하도록 하는 것이 타당하며, 심사할때 해당화학물질의 사용량, 사용기간 등을 유해성과 비교하여 좀더 엄밀히 심사토록 하는 것이 옳다고 사료된다. 또한 사업주는 화학물질의 제조, 사용 및 취급방법 등에 관한 사항을 첨부서류에 기재하여 제출하여야 하는데 기재할 사항은 다음과 같다.

－ 제조사항 : 원료의 투입지점에서부터 최종생산물 생산까지의 작업공정의 흐름도

－ 사용 및 취급사항 : 당해 화학물질을 사용 및 취급하는 전공정의 흐름도와 공정별
작업흐름도

기재된 제조사항 및 취급사항에 대해 심사위원회에서 유해성을 심사할 때 고려해야 할 점은 공정의 흐름도에서 중간생성물 및 최종생산물에 대한 화학물질의 성분을 파악하고, 이들 물질이 작업환경의 오염원이 될수 있는지를 살펴보고, 작업자에게 폭로되는 형태, 즉 접촉 및 흡입에 의한 폭로여부를 파악한다.

유해성 조사대상 화학물질이 작업환경의 오염원이 될 수 있는 제제 또는 혼합물인 경우에는 사업주를 이들 물질의 변이원성시험 결과 및 주성분과 부성분에 대한 유해성 자료를 반드시 제출하여야 한다. 또한 산업안전보건법 제 40 조의 규정에 의한 신규화학물질의 유해성조사제외 확인신청서에는 다음의 첨부서류를 제출하여야 한다.

- － 당해 신규화학물질의 제조 또는 취급방법상 근로자가 폭로될 우려가 없는 경우에는 공정도 및 공정제어도 등의 증빙자료
- － 당해 신규화학물질의 유해성이 없는 경우에는 유해성이 없다는 증빙자료
- － 시험연구를 위하여 당해 신규화학물질을 제조 또는 수입하는 경우에는 시험연구기관의 장이 확인하는 시험연구계획서 및 제조, 수입계획 등의 증빙자료
- － 일반소비자의 생활용으로 제공하기 위하여 당해 신규화학물질을 수입하는 경우에는 제조처에서 발행하는 용도증명서, 수입신고서, 수입자 판매계획서, 공급계획서 등의 증빙자료
- － 연간 100kg미만을 수입하는 신규화학물질의 경우에는 수입계획서, 수입신고서, 사용계획서 등의 증빙자료

이와같이 사업주가 제출한 유해성 조사결과보고서, 유해성 조사제외 확인신청서 및 그에 따른 첨부서류에 대해 심사해야 할 유해성 심사의 내용은 다음과 같다.

- － 당해 화학물질이 작업환경에서 사용되는 경우 근로자의 건강에 유해위험을 미칠 수 있는지의 여부(작업환경내의 유해위험성)
- － 당해 화학물질이 난분해성 물질로서 미량이라도 근로자에게 장기간 폭로되면 체

내에 축적되어 건강장해를 유발할 수 있는지의 여부(생체내 축적성)

- 당해 화학물질이 작업환경내에서 분해되어 발생하는 분해생성물이 근로자의 건강 및 작업환경에 유해위험을 미칠 수 있는지의 여부(분해생성물의 유해 위험성)
- 당해 화학물질의 작업환경내에서 분해되는 과정에 있어서 근로자의 건강 및 작업 환경에 위해를 미칠수 있는지의 여부(분해 생성시의 유해 위험성).

b. “유해성 조사 시험결과”의 기준

유해성 시험결과의 평가에 대해서는 앞에서 상세하게 언급했으나, 필요사항을 요약 하면 첫째는 적절한 시험방법의 선택이다. 한가지 방법을 선택하는 것보다 2가지 이상 방법을 병행수행 하는것이 더 타당하다고 사료되고 선택의 타당성이 낮을때는 시험선택에 대한 참고자료의 제시는 요구하여야 한다. 둘째는 시험결과의 반복성(repeatability)이다. 대체로 잘 짜여진 protocol에 의해 숙달된 실험자가 실시한 결과라면 한번의 실시로도 정확한 시험결과를 얻을 수 있으나, 적어도 두번이상 시험하여 반복성이 있는지를 파악한다. 세째는 결과의 통계학적 검증이다. 실험군의 결과가 대조군에 비해 현격한 차이를 나타내었을 때는 통계적 검증의 필요성이 없겠으나, 그렇지 않을 경우에는 대조군과의 차이에 대한 유의성검증(예:t-test, χ^2 -test등), 혹은 양반응관계의 검증(least-square method등)을 반드시 실시하였는지를 확인한다. 네째는 적절한 용량단계의 선정문제이다. 일반적으로 미생물을 이용한 복귀돌연변이원시험법은 5단계 이상, 염색체이상시험을 3단계의 용량을 이용하게 되어있고, 최고용량을 전자의 경우 시험물질의 독성에 의한 균의 생장저해가 나타나는 경우에 생장저해가 나타나는 용량을, 후자의 경우 미리 세포증식억제시험을 실시하여 결정토록 되어있다. 결과를 심사할 때 이들 용량선정의 타당성은 시험물검체(specimen : 미생물 혹은 포유동물세포)및 시험화학물질의 독성, 용해성 등을 감안하여 적절하게 선정됐는지도 검토한다. 다섯째로 결과판정에 대한 심사이다. 현 산업안전보건법상 유해성시험의 결과보고는 대조군에 비교하여 분명하게 상승하는 용량 의존성(dose-dependence)이 있으면 양성으로 판정하는 식의 유·무의 결정으로 하게 되어있다. 그러므로 유해성시험 결과보고서를 검토한

결과판정이 애매모호할 경우 사업주측의 결정한 유·무의 판정이 어느정도 타당한지를 심사한다.

c. 제도상의 제한점 고찰

우리나라 산업안전보건법상의 신규화학물질의 유해성조사 및 심사체제를 살펴보면, 유해성조사는 사업주측의 의무로 되어 있어 사업주 측이 먼저 해당화학물질이 신규화학물질임을 확인하고 유해성조사 제외물질의 여부를 판단하여 변이원성 시험을 비롯한 유해성 조사를 하여 유해성에 대한 자율적인 판단을 하여 결과보고서 및 유해성 조사 제외 확인신청서를 제출함에 따라 국가측은 심사위원회를 두어 결과보고서로써 유해성을 심사하여 결과를 통보하고 유해성이 있을 경우, 정책심의위원회에 상정하여 제조의 금지 혹은 근로자 건강장해 방지조치를 한다음, 명칭을 공표하게 되어 있다. 이 과정에서 첫째 고려해야 할 점은 사업주가 실시하는 유해성 조사는 사업주 자신 혹은 자신의 개인 시험기관이 아니라 결국 사업주가 의뢰하는 전문시험기관에 의해 실시되며 지정된 시험기관이 유해성의 유무를 분별한다. 이러한 결과를 국가에서 구성한 심사위원회의 위원들이 결과를 심사하는데 심사위원회는 노동부고시에 의하면 노동부 및 관계부처의 4급이상 공무원, 유해성 시험기관의 전문가, 전문대학이상 학교의 부교수급 이상인 자등이 위촉되어 구성되게 되어 있으므로 결과적으로 유해성심사기관의 전문가는 중복되어 구성되게 되어 있으므로 결과적으로 유해성심사기관의 전문가는 중복되어 그 역할을 할 수도 있다. 이러한 중복성은 장단점이 있는데 의뢰된 해당화학물질에 대한 유해성 조사를 의뢰받는 시험기관의 전문가가 심사위원회에서 유해성 조사과정 등의 실질적인 정보를 줌으로써 위원회에 좀더 정확한 정보를 제공할 수도 있고 시험기관끼리의 시험기관으로서의 질적인 향상을 도모할 수 있으나 서로의 위신을 침해할 수 있는 소지가 있다.

일본의 유해성 시험기관이나 OECD등의 GLP기준에 따르면 시험관내에 신뢰성보증제도(Quality Assurance program)가 준비되어 있어 시험기관 자체내의 결과를 보증관리하게 되어 있다. 이 제도는 시험결과의 신뢰성 향상에 도움을 주고 시험기관 자체의

공신력도 증진시키며, 우리나라의 경우 유해성 심사위원회 업무수행을 원활하게 할 수도 있는 것으로 사료된다. 그러므로 사업주의 자율적 판단에 의한 유해성 판정의 과정에 전문시험기관의 신뢰보증체제를 실시하고 국가에서는 심사위원회를 두어 유해성 조사 및 심사체제를 원활하게 이끌어감이 바람직하다고 사료된다.

둘째로 국가는 유해성 심사위원회의 판정에 따라 조치를 취하는데, 유해성이 있다고 판정되는 경우 법적으로 해당화학물질에 대한 제조, 수입 및 사용의 금지 혹은 제조수입 및 사용을 허가하되 근로자 건강장해 방지조치를 취하게 된다. 이러한 업무는 더 나아가 제조, 사용허가시 작업환경내 폭로허용기준을 설정하는 것까지 계속되어야 하는데, 법적으로 심사위원회에서 해당물질이 유해성이 있다고 판정하는 경우 산업안전보건정책 심의위원회에 상정하여 제조등의 금지 및 근로자건강장해방지조치를 결정하도록 되어있다. 이때 고려되어야 할 사항은 해당화학물질의 유해성의 정도, 잠재성, 유해성의 종류와 폭로경로, 예상 폭로량, 폭로기간 및 연간 제조 혹은 수입예상량을 고려하고 근로자방지조치를 위해 드는 비용 및 노력과 생산에 따른 이익과의 관계성(cost-benefitness)을 파악하여야 하므로 이에 대한 기초자료 제공이 매우 중요하다.

이 단계는 넓은 의미의 유해성 평가에서 유해성 관리에 대한 것으로 유해성 평가의 최종단계이며, 이 심의위원들에 의해 올바른 결정이 내려지지 않는다면 지금까지의 유해성조사 및 평가가 아주 훌륭하였다 하더라도 그 의미를 상실하게 된다.

1980년대까지는 유해성 평가의 주된 내용은 유해성을 등정해 내고 더 낮은 용량으로의 외삽(low-dose extrapolation) 및 유해성 판정 등에 초점을 맞춰 왔으나, 최근에는 정책가들이 얼마나 책임감 있게 관리정책을 결정하는가에 관심이 모아지고 있다 (Abelson, 1987).

유해성 관리의 목적은 현실화될 수 있는 유해성에 대해 어느정도 조치를 취하는 것이 이익이 될 것인가를 결정을 위해 의견을 수렴하고 결정하기 위함이다. Munro와 Krewski(1981)의 보고에 의하면 알려진 유해성에 대비하여 정책적인 결정을 함에 있어 고려되어야 할 요인은 ① 주어진 화학물질로 생산되는 제품에 대한 소비자들의 기

대정도 ② 제품의 생산가 혹은 소비자 가격 ③ 해당 화학물질에 대한 폭로를 조절할 수 있는 능력 ④ 상업적 중요성 ⑤ 덜 유해한 대체물의 이용성 ⑥ 법적 강권력 ⑦ 미래의 규제정책에 대한 영향력등이다. 이들 요인에 따른 정책 심의위원들의 결정은 크게 세가지로 결론짓는데 ① 제조 및 사용금지 ② 제한적 사용허가 ③ 제한없는 제조 및 사용허가이다. 제조 및 사용이 허가될 때는 유해성에 따라 근로자 건강장해 방지조치가 필수 마련되어야 한다.

제 5 장 맺음말

— 종합적인 유해성 평가제도에 관한 고찰 <표 18> —

우리나라 산업안전보건법에 의한 화학물질의 유해성조사 및 심사제도에 따른 화학물질의 유해성 평가제도가 학문적으로 인정되고 적용되는 일반 원칙론적인 유해성 평가의 과정을 비교검토하면 <표 22>와 같다. 넓은 의미의 유해성 평가는 유해성 평가, 유해성 판정 및 유해성 관리의 과정으로 나누어진다. 법규상 우리나라 유해성 평가체계의 특징을 이에 비추어보면 제도적 중요성이 유해성 조사 측면에 치우쳐 있고 유해성 조사에 따른 유해성 관리부분의 법적 사항이 매우 미흡한 점을 들 수 있다. 또한 각 단계별로 고찰해 보면 향후 보완되어야 할 업무는 제 1 단계의 유해성 조사를 보다 정확하고 효율적으로 실시하기 위하여는 작업환경 중의 화학물질의 분류체계의 구축, 명부작성, 화학물질의 독성 평가 및 자료은행(data base)의 구축, 산업역학 및 산업의학의 연구사업의 활성화, 양반응평가를 위한 통계기법 등의 기초연구사업의 활성화, 작업환경 내의 폭로평가 및 신규화학물질의 유해성을 선별하기 위한 기법향상 등이며, 제 2 단계의 유해성을 판정할 때는 정확성을 높이기 위해서 구체적인 심사기준을 마련하고, 작업환경의 허용농도설정을 위한 기반을 조성하며, 작업병 예방차원에서 유해성 심사를 하기 위한 전문성을 높여야 한다고 사료된다. 제 3 단계에서 유해성에 따른 법적 행위를 위한 유해성 관리분야에서는 규제법 개발을 위한 연구와 법적 조치후의 결과를 평가하므로써 유해성 관리의 전문성을 향상시키고 근로자 건강장해 방지조치 및 제조 등의 금지를 법적조치를 위한 기준을 마련하는 것이 앞으로의 업무이다.

이와같이 앞으로의 유해성 평가를 좀더 확실히 하기 위하여 제도적을 보완해야 할 점은 산업독성 연구기관의 활성화 및 전문화를 강화하기 위해 각 시험기관에 대한 시설 기준을 마련하고 신뢰보증제도를 운영하며 유해성 조사에 대한 사업주의 의무를 강화하는 제도를 마련해야 한다. 또한 유해성 심사위원회와 산업 안전보건정책 심의위원회를 활성화할 수 있는 구체적인 제조적 방안을 마련해야 할 것이다.

여 백

<표 18> 종합적 유해성 평가시스템에 관한 고찰

비교 단계	유해성 평가의 일반 원칙적 과정 (Paustenbuch D.J. 1989)	현 화학물질의 유해성 조사 및 심사체계 (관련법규)	유해성평가들 위한 향후업무	제도적 보완책
제 1 단계	유해성동정- screening test (Identification) adverse health effect에 대한 실험연구 및 자료검토 양반응평가- 동물데이터 외삽 (dose-response assessment) 폭로평가- 작업장에서의 폭로조건 (exposure assessment), 폭로량, 폭로기간, 작업근로자 집단의 환경	유해성조사(변이원성시험) 결과제출 (산업법 시행규칙 제 82 조) “인체영향”에 대한 자료제출 피부 및 안과독성, 혈액독성, 신장 독성, 간장독성, 신경독성, 폐독성 변이원성, 발암성, 기형발생성 및 생식독성 작업환경적 유해성 자료제출 작업환경내 유해위험성, 생체내 축적성, 분해 생성물의 유해위험성, 분해 생성물의 유해위험성, 작업환경내 누설시의 유해위험성	작업환경 화학물질의 분류체계 구축과 명부작성 기존 및 신규화학물질의 독성평가 및 data base구축 독성연구사업의 활성화 작업환경 독성연구사업의 활성화 직업병 발생에 대한 역학 및 임상적 연구사업의 활성화 IRPIC(국제화학물질등록처)등의 가입 양반응 평가를 위한 통계기법등의 기초 연구사업의 활성화 작업환경 내의 폭로평가 신규화학물질의 유해성 선별방법등의 기법향상	산업독성연구기관의 활성화 및 전문화 시험기관의 시설기준 마련과 신뢰성보 증제도(Quality Assurance program)의 운영 유해성 조사에 대한 사업주의 의무강화
제 2 단계	건강장해의 발생을추정 유해성 평가의 종합적 고찰	유해성심사(시행규칙 제 90 조) 유해성 심사위원회 운영 (산업법 시행규칙 제 92 조) 작업장폭로시 야기되는 건강장해 혹은 직업병의 발생을 예측, 방지 하기위해 유해성 조사결과를 심사, 결과통보	유해성 판정의 정확성을 높이기 위한 기준 마련 작업환경의 허용농도 설정을 위한 기반 조성 직업병예방 차원에서의 유해성 심사를 하기위한 심사위원의 전문성 향상	유해성 심사위원회의 활성화 신뢰성보증제도(Quality Assurance program)에 따른 책임제도 마련 전문시험기관의 시설기준 마련
제 3 단계	유해성관리 규제법개발 규제법에 대한 보건, 경제, 사회, 정치 적 결과의 예측 및 평가 정책가의 결정, 조치	유해성심사의 및 조치 산업안전보건 정책심의위원회 유해성 심사결과에 따라 해당 화학물질에 대한 제조등금지, 근로자 건강장해 방지조치에 대한 심 의회 개최 및 조치	유해성 관리의 전문성 향상 규제법 개발에 관한 연구 법적 조치후의 결과평가 근로자 건강장해 방지조치 및 제조등 금지의 기준마련	산업 안전보건 정책 심의위원회의 활성화 근로자 건강장해 방지조치 및 제조등 금지의 기준마련

여 백

참 고 문 헌

1. Abelson, P.H.(1987). California's Proposition 65(editorial) Science 237, 1553.
2. Anderson, M.E.(1988). Quantitative risk assessment and industrial hygiene. Amer. Ind. Hyg. Assn. J.
3. Benigni, R. and Giuliani, A.(1985). Cluster analysis of short-term tests:A new methodological approach. Mutation Res. 147, 139-151.
4. Bernstein, L.,Kaldor, J.,McCann, J. and Pike, M.C.(1982). An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. Mutation Res. 97, 267-281.
5. Chankong, V., Haimes, Y.Y., Rosenkranz, H.S. and Pet-Edwards, J.(1985). The carcinogenicity prediction and battery selection(CPBS) method:A Bayesian approach. Mutation Res. 153, 135-166.
6. Crump, K.S.(1981). An improved procedure for low-dose carcinogenic risk assessment from animal data. J. Environ. Toxicol. 5, 338-346.
7. Dunkel, V.C., Zeiger, E., Brusick, D., McCoy, E., McGregor, D., Mortelmans, K., Rosenkranz, H.S. and Simmon, V.F(1984). Reproducibility of microbial mutagenicity assays. I. Tests with Salmonella typhimurium and Escherichia coli using a standardized protocol. Environ. Mutagen 6, Suppl. 2, 1-251.
8. Dunkel, V.C., Zeiger, E., Brusick, D., McCoy, E., McGregor, D., Mortelmans, K., Rosenkranz, H.S. and Simmon, V.F.(1985). Reproducibility of microbial mutagenicity assays, II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in Salmonella typhimurium and Escherichia coli. Environ. Mutagen 7, Suppl 5, 1-248.
9. Ennever, F.K. and Rosenkranz, H.S.(1986). Short-term test results for NTP

- noncarcinogens: An alternate, more predictive battery. *Environ. Mutagen* 8, 849–865.
10. Ennever, F.K., Noonan, T.J. and Rosenkranz, H.S.(1987). The predictivity of animal bioassays and short-term genotoxicity tests for carcinogenicity and non-carcinogenicity to humans. *Mutagenesis* 2, 73–78.
 11. Garrett, N.E., Stack, H.F., Gross, M.R. and Waters, M.D.(1984). An analysis of the spectra of genetic activity produced by known or suspected human carcinogens. *Mutation Res.* 134, 89–111.
 12. Garrett, N.E., Stack, H.K. and Waters, M.D.(1986). Evaluation of the genetic activity profiles of 65 pesticides. *Mutation Res.* 168, 301–325.
 13. Gold, L.S., Sawyer, C.B., Magaw, R., Backman, G.M., de Veciana, M. Levinson, R., Hooper, N.K., Havender, W.R., Bernstein, L., Peto, R., Pike, M.C. and Ames, B.N. (1984). A carcinogenic potency database of the standardized results of animal bioassays. *Environ. Health Perspect.* 58, 9–319.
 14. Grafe, A. and Vollmar, J.(1977). Small numbers in mutagenicity tests. *Arch. Toxicol.* 38, 27–34.
 15. Haseman, J.K. and Soares, E.R.(1976). The distribution of fetal death in control mice and its implication on statistical tests for dominant lethal effects. *Mutation Res.* 41, 277–288.
 16. Heddle, J.A.(1973). A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation Res.* 18, 187–190.
 17. Högstedt, B., Gullberg, B., Mark-Vendel, E., Mitelman F., Skerfving, S.(1981). Micronuclei and chromosome aberrations in bone marrow cells and lymphocytes of humans exposed mainly to petroleum vapors. *Hereditas* 94, 179–187.
 18. Högstedt, B.(1984). Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm, a method

- for assessment of cytogenetic damage in man. *Mutation Res.* 130, 63–72.
19. Hulka, B.S., Wilcosky, T.C. and Griffith, J.D.(1990). *Biological markers in epidemiology*. Oxford Univ. Press.
 20. Jessen, D., Ramel, C.(1980). The micronucleus test as a part of a short-term mutagenicity test program for the prediction of carcinogenicity evaluated by 143 agents tested. *Mutation Res.* 75, 191–202.
 21. Madrigal-Bujaidar, E., Rojas, A.A., Ramos, A.C., Rosas, E.P. and Diaz Barriga-Arceo, S.(1990). Mouse bone marrow cytogenetic damage produced by residues of tequila. *Mutation Res.* 241, 133–137.
 22. Madrigal-Bajaidar, E., Calderon-Vargas, R. and Barriga-Arceo, S.D.(1991). Sister chromatid exchange frequencies induced in vivo and in vitro by the residues of brandy. *J. Toxicol. Environ. Health* 32, 479–486.
 23. McCann, J., Gold, L.S. Horn, L., McGill, H.R., Graedal, T.E. and Kaldor, J.(1988). Statistical analysis of Salmonella test data and comparison to results of animal cancer tests. *Mutation Res.* 205, 183–195.
 24. Meselson, M. and Russell, K.(1977). Comparisons of carcinogenic and mutagenic potency. in: H. Hiatt, J. Watson and J. Winsten(Eds.). *Origins of Human Cancer*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp. 1473–1481.
 25. Munro, I.C. and Krewski, D.R.(1981). Risk assessment and regulatory decision-making. *Food Cosmet. Toxicol.* 19, 549–560.
 26. National Academy of Sciences(NAS)(1983). *Risk assessment in the Federal Government: Managing the Process*. National Academy Press, Washington, D.C.
 27. Norman, A., Bass, D. and Roe, D.(1985). Screening human populations for chromosome aberrations. *Mutation Res.* 143, 155–160.
 28. Park, C.N. and Shree, R.D.(1983). *Quantitative risk assessment: State of the art for*

- carcinogenesis. *Am. Stat.* 37, 427–441.
29. Parodi, S., Zunino, A., Ottaggio, L., De Ferrari, M. and Santi, L.(1983). Lack of correlation between the capability of inducing sister-chromatid exchanges in vivo and carcinogenic potency for 16 aromatic amines and azo derivatives. *Mutation Res.* 108, 225–238.
 30. Paustenbach, D.J.(1989). *The Risk Assessment of Environmental and Human Health Hazards: A Textbook of Case Studies.* John Wiley & Sons.
 31. Peto, R., Pike, M.C., Bernstein, L., Gold, L.S. and Ames, B.N.(1984). A proposed general convention for the numerical description of the carcinogenic potency of chemicals in chronic exposure animal experiments. *Environ. Health Perspect.* 58, 1–8.
 32. Rai, K. and Van Ryzin, J.(1979). Risk assessment of toxic environmental substances using a generalized multi-hit dose response model. In: N. Breslow and A. Whitmore, Eds., *Energy and Health.* SIAM Press, Philadelphia, P.A., pp. 99–117.
 33. Richold, M.(1990). Practical application of new approaches in genetic toxicology. *Toxic. in Vitro* 4, 644–645.
 34. Roy, B. and Das, R.K.(1990). Evaluation genotoxicity of clofazimine, and antileprosy drug in mice in vivo. II. Micronucleus test in bone marrow and hepatocytes. *Mutation Res.* 241, 169–173.
 35. Salamanca-Gomez, F., Palma, V., Naviarrete, C., Garcia, T. and Moresa, G.(1989). Chromosome abnormalities and sister chromatid exchanges in children with acute intoxication due to inhalation of volatile substances. *Archiv. Environ. Health* 44, 49–53.
 36. Sawyer, C., Peto, R., Bernstein, L. and Pike, M.C.(1984). Calculation of carcinogenic potency from long-term animal carcinogenesis experiments. *Biometrics* 40, 27–40.
 37. Scarlet, J.M., Babish, J.G., Blue, J.T., Voekler, S.E. and Lisk, D.(1990). Urinary

- mutagens in municipal refuse incinerator workers and water treatment workers. J. Toxicol. Environ. Health 31, 11-27.
38. Squire, R.A.(1981). Ranking animal carcinogens:A proposed regulatory approach. Science 214, 877.
39. Starr, C.(1985). Risk management, assessment, and acceptability. Risk Anal. 5, 97-102.
40. Vollmar, J.(1977). Statistical problems in mutagenicity tests. Arch. Toxicol. 38, 13-25.
41. Waters, M.D., Stack, H.F., Rabinowitz and Garret, N.E.(1988). Genetic activity profiles and pattern recognition in test battery selection. Mutation Res. 205, 119-138.
42. Weisburger, J.H. and William, G.M.(1980). "Chemical Carcinogens." In Doull, J., Klaassen, C.D. and Amdur, M.O. Casarett and Doull's Toxicology:The Basic Science of Poisons. 2nd Ed. New York:Macmillan.
43. Whong, W.-Z., Stewart, J.D. and Ong, T.(1990). Use of rat primary lung cells for studying genotoxicity with the sister-chromatid exchange and micronucleus assays. Mutation Res. 241, 7-13.
44. Williams, P.L. and Burson, J.L.(1985). Industrial Toxicology, Van Nostrand Reinhold.
45. 박판제, 유해화학물질조사집, 환경청, 서울, p.5(1987).