

KIST 유럽연구소 이슈페이퍼

동물 실험 대체를 위한 글로벌 정책과 기술 혁신

류창선 박사 / Senior Researcher / 첨단 바이오 Cluster



changryu@kist-europe.de



[Resource @ www.unsplashs.com/mohan-khadka]

■ 들어가며

동물대체시험법 (Alternative Animal Test)이란 동물을 사용하지 않고 생체 외 (*ex vivo*), 시험관 내 (*in vitro*) 방법을 이용하여 의약품, 화장품 및 화학물질 등의 유효성 및 독성을 확인하는 시험법이다. 2025년 4월 10일, 미국 식품의약국 (Food and Drug Administration, FDA) 은 단일 클론 항체 및 기타 약물에 대한 동물 실험 의무화 폐지 계획을 발표하였다. 이어 미국 국립보건원 (National Institute of Health, NIH)에서는, 동물실험을 저감시키기 위한 새로운 연구 이니셔티브를 출범시키며, 이를 전담할 조직으로 연구혁신·검증·응용 사무소(Office of Research Innovation,

Validation & Application, ORIVA) 설립을 발표하였다. 이는 그간 유럽에 비해 소극적이던 미국이 동물대체 시험법에 대해 적극적으로 정책의 방향을 전환한 획기적인 사례로 평가받고 있다. EU가 주도하던 동물대체 시험법 개발과 표준 제정에 미국까지 합류하게 되면서 대학, 연구기관, 제약회사, 화학회사 등 더 많은 기관들이 관련 기술 개발에 참여하고, 관련 시장의 규모도 급성장할 것으로 기대되고 있다.

본 이슈페이퍼에서는 동물대체 시험법과 관련된 주요 국가 별 정책 동향과 함께 동물대체 시험법 개발 현황을 살펴보고자 한다.

동물실험의 역사와 동물대체 시험법 탄생의 배경

동물실험(Animal Testing)은 동물을 사용하여 인체 혹은 생태계의 행동 또는 시스템에 미치는 영향을 실험하는 것을 의미하며, 고대 그리스 시대부터 기록을 찾아볼 수 있다. 로마 시대에는 돼지, 원숭이, 개를 대상으로 해부 실험을 수행한 바 있으며, 12세기에는 동물 대상 수술 후 인체에 적용하는 방식을 도입한 바 있다. 이후 19세기 찰스 다윈의 '종의 기원'을 통하여 인간과 동물 간 생물학적 유사성이 제기되어, 동물실험의 과학적 근거가 되었다. 이후 알버트 슈바이처와 같은 학자들이 동물에 내재된 도덕적 가치에 이슈를 제기하면서 동물실험의 윤리적 문제가 대두되기 시작하였다.

동물실험에 대한 윤리적 문제는, 실험 과정에서 동물에 가해지는 잔혹성에 대한 우려에서 시작되어, 동물의 대체 (Replacement), 동물 실험 저감 (Reduction), 실험 방법 개선 (Refinement) 을 의미하는 3R 원칙 하에서 동물대체 시험법에 대한 논의가 활발히 진행되었다. 특히 유럽에서는 화장품 분야 동물실험 폐지가 도입되어, 2013년부터 동물 실험을 거친 화장품의 실험 및 판매가 금지되었다.

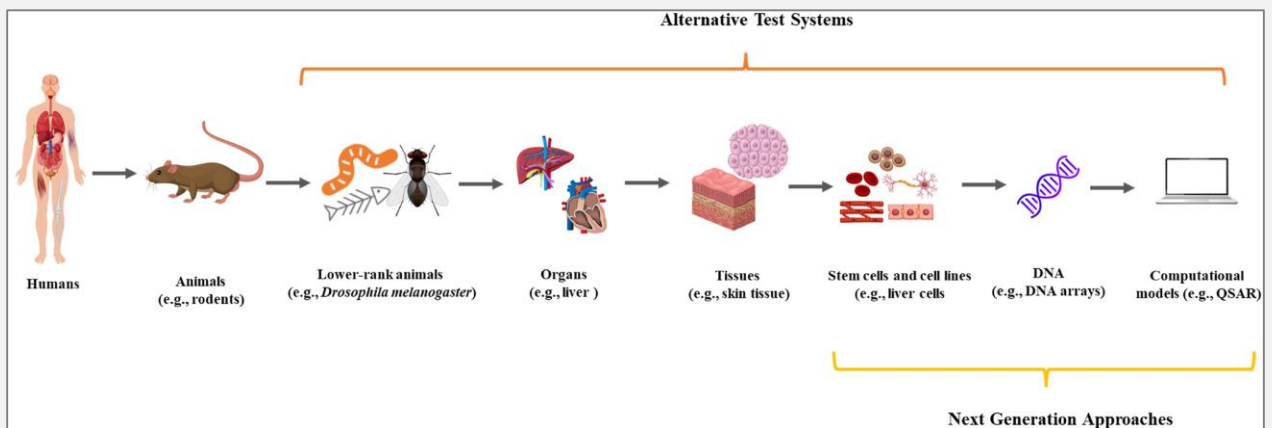
그럼에도 불구하고 현재 전세계적으로 매년 1억 마리 이상의 척추동물이 동물 실험에 사용되고 있으며, 독일 관리 당국의 2023년 통계에 따르면 독일 내 사용된 실험동물은 약 146만 마리인 것으로 집계 되었다. 같은 해 영국에서는 268만 마리, 국내에서는 458만 마리의 실험동물이 사용되었다.

동물실험에 대한 관점은, 윤리적 문제 뿐 만 아니라 실험동물과 인간의 생물학적 차이에 따라 동물실험 결과의 유효성에 대한 의문도 함께 제기 되고 있으며, 이에 따라 의약품 반응 및 독성 평가 결과의 정확도를 높여 인체 임상시험 결과와 일치율을 높일 수 있는 '인체 모사 장기 배양 기술'의 필요성이 주목받고 있다.

동물대체 시험법의 주요 개념

1. 신규 접근법(New approach methodologies, NAMs)

신규 접근법 (NAMs)은 화학물질의 위해성 평가를 위해 동물실험을 대체하거나 저감하는 새로운 방법론 전체 의미한다. NAMs 는 인체 세포, 조직, 컴퓨터 모델을 활용하여 화학 물질의 잠재적 위해성을 평가하고, 이를 통해 동물실험 의존도 최소화를 목표로 한다. 특히 위해성 평가의 혁신을 위해 NAMs는 단편적 독성 데이터 중심의 평가를 지양하고, 화학물질의 인체 내 작용 기전을 분석하여 건강에 미치는 영향을 종합적으로 평가한다. 현재 NAMs의 개발과 적용은 매우 활발해지는 추세이나, 규제를 통하여 제시하는 방법론으로서의 채택은 더딘 실정이다. NAMs 개발과 조정은 OECD, 미국 NIH 산하 대체방법 유효성 평가 부처 간 조정위원회 (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, ICCVAM), 유럽화학물질청(European Chemical Agency, ECHA), 유럽식품안전청(European Food Safety Agency, EFSA) 등에 의해 관리되고 있다.



[그림 1. NAMs의 기본 개념 [Fischer et. al., Toxicology Research, 9 (2) (2020), pp. 67-80, [10.1093/toxres/taaa011](https://doi.org/10.1093/toxres/taaa011)]

2. 독성발현경로(Adverse Outcome Pathway, AOP)

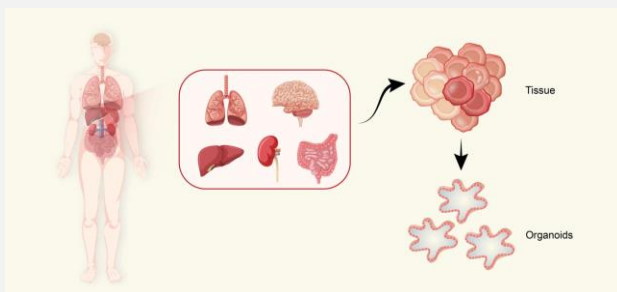
AOP는 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection Agency, EPA)의 Gerald Ankley가 제시한 개념이다. AOP는 화학물질이 인체 내 표적 세포(혹은 분자)와 작용해 독성을 발현시키는 일련의 사건들을 하나의 경로로 설명한다. AOP 개발 프레임워크의 운영과 관리는 2012년부터 OECD에서 담당하고 있다. AOP는 분자 수준에서 최초로 독성이 발현되는 현상(Molecular Initiating Event, MIE), 다음 단계로의 독성 발현이 이전되는 핵심 사건(Key Event, KE), 핵심 사건들 간의 관계(Key Event Relationship, KER), 최종 독성의 발현(Adverse Outcome, AO)까지의 전체 단계를 묘사하며, NAMs 개발 및 규제 독성평가의 과학적 근거 프레임워크로 활용되고 있다.



[그림 2. AOP의 정의 모식도 [KIST 유럽연구소 기관소개 자료]

3. 오가노이드(Organoid)

오가노이드는 실험실에서 줄기세포를 3차원으로 배양시켜 만든 구조체로, 실제 장기와 비슷한 구조와 기능을 가진다. 2차원 배양은 평면적으로 세포를 배양하여 인체 내 복잡한 세포 간 상호작용이나 미세구조의 재현이 어렵지만, 3차원 배양된 세포인 오가노이드를 통해서서는 복잡한 미세환경을 더욱 정밀하게 모사할 수 있다. 이러한 장점으로 인하여 신약 개발, 질병 연구, 개인맞춤의학, 재생 의학 등 다양한 분야에서 사용되고 있다.



[그림 2. 오가노이드 기본 개념 [Tanget.al, *Sig Transduct Target Ther* 7, 168(2022).<https://doi.org/10.1038/s41392-022-01024-9>]

4. 장기 칩(Organ-on-a-chip)

장기 칩은 마이크로공학 기반 생체모방 시스템으로, 미세유체 채널, 인간세포(줄기세포, 일차배양세포, 오가노이드), 생체재료 등을 결합해 장기의 기능 단위를 칩(Chip) 위에 재현한다. 오가노이드의 생리학적 모사에 더해, 바이오센서를 통한 실시간 모니터링과 기계적 특성 재현을 가능케 한다.

OECD 화학물질 시험 가이드라인 (Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD TG)

OECD TG는 OECD가 국제적으로 인정한 화학물질 시험법이며, 개발 관련 지침은 1981년 발표되었다. OECD TG에서는 동물 실험이 제한적으로 허용되어 동물 복지 문제가 보장되며, OECD는 국가 규제 기관이 기 수행된 TG 연구를 사용하도록 의무화하고 있다. 또한, 비-OECD 국가들이 TG를 사용하도록 권장하고 있다. OECD TG에는 비동물실험의 기본 원칙이 3R 원칙이 반영된 실험법들이 인체 독성 평가 방법론으로 등록되어 활용되고 있다(표 1).

동물대체시험법 규제 및 정책 동향

1. 유럽연합

유럽에서는 2010년 11월, 유럽연합 내에서 동물실험의 윤리적이고 과학적 관리를 규제하는 '과학적 목적을 위한 동물 보호 및 사용에 관한 지침(Directive, 2010/63/EU11)'이 발효되었으며, 발효된 지침에 따라 회원국들은 자국 내 법령에 관련 내용을 반영하였다. 독일에서는 지침의 내용이 동물 보호법 내 반영되어 2013년 7월 발효되었다.

2. 미국

NIH, EPA, FDA가 규제 이행 당국이자 조정기관이며, NIH와 EPA는 동물실험 제한을 위해 1999년부터 동물대체 시험법에 대한 연구자금을 지원하였다. 또한 2000년 동물대체 시험법 검증에 관한 조정 위원회가 통과되었으며, 21세기 화학 안전법(Frank R. Lautenberg Chemical Safety for the 21st Century Act)에서 동물실험 종식 규제가 본격화 되었으며, 2025년 FDA의 동물실험 의무화 폐지가 발표되기에 이르렀다.

[표 1. 3R 원칙이 반영된 OECD TG 목록 (동물대체 시험법 포함) / 출처:OECD]

분야	가이드라인 번호	가이드라인 명칭	시험법 및 동물대체 시험 내용
피부 감작성 (Skin sensitisation)	OECD TG 442C	직접 펩타이드 반응성 검사 (Direct Peptide Reactivity Assay, DPRA)	단백질 반응성 평가로, 피부 감작성 AOP의 초기 단계인 haptentation을 다룬
	OECD TG 442D	ARE-Nrf2 루시페라제 케라티노센스 검사 (ARE-Nrf2 Luciferase KeratinoSens™ assay)	케라티노사이트 활성화 평가로, ARE-Nrf2 경로 기반 루시페라제 리포터 시스템 사용
	OECD TG 442E	피부 감작성 in vitro 시험법 (<i>In vitro</i> Skin Sensitisation assays addressing the Key Event on activation of dendritic cells on the AOP for Skin Sensitisation)	수지상 세포 활성화 평가로, 피부 감작성 AOP의 세 번째 단계에 해당
	OECD TG 442B	국소 림프절 분석법 (Local Lymph Node Assay: BrdU-ELISA or -FCM)	동물 사용이 포함되지만 기존 LLNA의 대체법으로 일부 인정됨
피부 자극 및 부식 (Skin irritation / corrosion)	OECD TG 431	시험관 내 피부 부식성 검사 (<i>In vitro</i> Skin Corrosion: Human Skin Model Test)	재구성 인간 피부 모델을 이용한 부식성 평가
	OECD TG 439	재구성된 인간 표피(RHE)를 이용한 체외 피부 자극 시험법 (<i>In vitro</i> Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method)	피부 자극성 평가를 위한 재구성 인간 표피 모델 사용
안독성 (Eye irritation / corrosion)	OECD TG 492	재구성된 인간 각막 유사 상피(RhCE) 시험 (Reconstructed human Cornea-like Epithelium [RhCE] test method)	눈 자극성 평가에 사용되며, UN GHS 분류에서 비자극성 물질 식별에 적합
	OECD TG 491	단시간 노출 시험법 (Short Time Exposure [STE] test method)	SIRC 세포 기반 단시간 노출 시험으로, 눈 손상 여부를 평가
	OECD TG 437	소 각막 혼탁 및 투과도 검사법 (Bovine Corneal Opacity and Permeability test method, BCOP)	소 각막을 이용한 불투명도 및 투과성 평가
	OECD TG 438	닭 안구 시험법 (Isolated Chicken Eye [ICE] test method)	닭의 안구를 이용한 시험으로, Category 1 또는 No Category 식별 가능
	OECD TG 494	화학물질 안자극 식별 위한 비트로겔 시험법 (HET-CAM)	RhCE 기반 시험은 눈 자극성 평가에만 사용 가능
광독성 (Phototoxicity)	OECD TG 498	재조합 표피(RHE)를 사용하여 광독성 평가 시험법 (<i>In vitro</i> Phototoxicity)	특정 물질이 자외선이나 가시광선에 노출되었을 때 피부 세포에 독성 유발 여부를 평가
	OECD TG 432	3T3 중성 적색 염료 흡수 광독성 시험 (3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test)	TG 432- Balb/c 3T3 세포에서의 Neutral Red 흡수량을 통해 리소좀 손상을 평가
유전독성 (Genotoxicity)	OECD TG 471	세균 역돌연변이 시험 (Bacterial Reverse Mutation Test, Ames test)	세균을 이용하여 화학물질의 돌연변이 유발 가능성을 평가
	OECD TG 473	시험관 포유류 염색체 이상 시험 (<i>In vitro</i> Mammalian Chromosome Aberration Test)	배양된 포유류 체세포에서 염색체 또는 염색분체 수준의 구조적 염색체 이상을 유발하는 물질을 확인
	OECD TG 487	시험관 포유류 세포 미세핵 시험 (<i>In vitro</i> Mammalian Cell Micronucleus Test)	미세핵 유도 시험으로, clastogen 및 aneugen 평가 가능
	OECD TG 476	시험관 포유류 세포 유전자 변이 시험 (<i>In vitro</i> Mammalian Cell Gene Mutation Test)	HPRT 또는 XPRT 유전자 돌연변이 평가. 단, <i>in vivo</i> 시험 대체는 제한적이므로 partial replacement임
피부 흡수 (Skin absorption)	OECD TG 428	체외 피부 흡수 (<i>In vitro</i> Skin Absorption: Reconstructed Human Epidermis or excised skin model)	재구성 인간 표피 또는 절제된 피부 모델을 이용한 흡수 평가
발암성, 생식독성, 반복독성	OECD TG 236	어류(제브라피쉬) 배아 급성 독성 시험 (Fish Embryo Acute Toxicity)	
	OECD TG 249	어류 세포주 급성 독성 시험법 (Fish Cell Line Acute Toxicity: The RTGill-W1 cell line assay)	
흡입독성 (Inhalation toxicity)	OECD TG 403	급성 흡입 독성 시험법 (Acute Inhalation Toxicity)	치명적이지 않은 결과에서 치명적 결과에 이르는 관계를 제공하여 사망에 이르지 않는 역치농도 노출
	OECD TG 436	독성 등급법 기반의 급성 흡입 독성 시험법 (Acute Toxic Class Method)	기존의 반수치사량(LD50) 측정법과 달리, 동물 수를 줄이고자 고안된 방법
	OECD TG 433	고정 농도 절차를 이용한 급성 흡입 독성 시험법 (Acute Inhalation Toxicity: Fixed Concentration Procedure)	연속된 고정용량 중 명백한 독성징후 통합하여 의도된 엔드포인트로 동물의 사망 및 빈사를 이용하지 않음

결론

동물대체시험법은 3R 원칙 (Replacement, Reduction, Refinement)을 실현하는 핵심 기술로, 생명윤리, 과학적 정밀성, 산업 혁신을 동시에 충족하는 차세대 독성 평가의 필수 요소이다. 미국 FDA의 동물실험 의무 폐지를 통하여 미국 독성평가 정책이 동물대체 시험방향으로 전환되고 있으며, 글로벌 패러다임이 미국-EU 양측 체계로 확장되고 있다. 현재까지 개발된 동물대체시험법은 주로 피부 및 안구 독성 평가에 국한되어 있으며, 만성 독성과 같은 복잡한 영역에서는 아직 초기 단계에 머물러 있다. 이를 극복하기 위해 오가노이드와 같은 인체 모사 기술과 AOP 기반 분자기전 독성학 접근의 융합 연구가 필수적이다. 독일, 프랑스, 덴마크, 핀란드 등

유럽 국가들은 3R 네트워크를 중심으로 국가별 R&D를 강화하며 동물대체시험법의 발전을 주도하고 있다. 한국은 KoCVAM을 중심으로 시험법 검증과 표준화가 진행 중이며, 2025년 6월 삼성바이오로직스의 삼성 오가노이드 출시로 제도적 기반 강화와 함께 산업적 활용이 대폭 확대될 전망이다. 결론적으로, 동물대체 시험법은 생명윤리, 과학, 산업을 아우르는 다학제적 과제이다. 미국-EU 정책 전환과 NAMs, 오가노이드, 장기칩 등 첨단 기술 융합, 규제 가이드라인 정비를 통해 정확하고 윤리적인 지속 가능한 독성 평가 체계로 전환될 것이다. 