

## 선진 외국의 동물대체시험법 개발현황과 전망

이진구<sup>1</sup>, 이은호<sup>1</sup>, 김명주<sup>2</sup>, 김주환<sup>1</sup>, 민영실<sup>3</sup>, 김형건<sup>1</sup>, 김학림<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>단국대학교 의과대학 약리학교실, <sup>2</sup>단국대학교 의과대학 해부학교실, <sup>3</sup>중원대학교 이공대학 생약자원개발학과

### Current Status of Alternatives to Animal Experiments in Advanced Foreign Countries

Jin-Koo Lee<sup>1</sup>, Eun-Ho Lee<sup>1</sup>, Myeung-Ju Kim<sup>2</sup>, Ju-Hwan Kim<sup>1</sup>, Young-Sil Min<sup>3</sup>, Hyung-Gun Kim<sup>1</sup>, Hak Rim Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, College of Medicine Dankook University

<sup>2</sup>Department of Anatomy, College of Medicine Dankook University

<sup>3</sup>Department of Medicinal Plant Science, Jungwon University

**ABSTRACT.** The recognition of welfare for experimental animal based on 3Rs principles has been spreading throughout the developed countries and therefore, on the demand of alternatives to animal experiments have been continually increased, especially in advanced countries. Recently, EU prohibited animal uses for developing cosmetic products at any level and some other countries applied already or are trying to setting the similar level of limitation of animal uses for cosmetic industries. According to the global trends, the marketing ban for animal used cosmetics will be applied soon in Korea. In this study, we summarize the policies, regulations, research developments, and validation processes of the animal alternatives methods of foreign countries and use those as a basal information for improving the alternatives regulation and developments. This research project was mainly focused to summarize and analyze related topics including, 1) Investigation of current policies of alternatives in EU, Japan, and USA etc. 2) Investigation of current regulatory trends of alternatives in foreign countries. 3) Investigation of current research trends of alternatives in foreign countries 4) Investigation of current validation processes of alternatives in foreign countries. Investigating the latest data on the status of animal alternatives methods and based on those, someone could use our study for setting the important research theme, roadmap for long-term development strategy of animal alternatives. However, due to the dynamic update trends in the alternative methods in many countries, the newly updated documents could be released at any time.

**KEY WORDS:** Animal Experiment Alternatives, EURL-ECVAM, JaCVAM, ICCVAM

## I. 서 론

의약품이나 화장품 등의 원료 및 제품 개발에서 임상시험 이전에 안전성 및 유효성 확인을 위한 동물시험의 진행은 필요악으로 간주되어 수많은 동물시험이

시행되어 왔으며 이러한 희생을 불가피 한 것으로 인식해 왔다. 더욱이 동물시험에 대한 동물복지에 대한 초기의 관심은 동물시험을 통한 과학적 결과들의 신뢰성을 높이기 위하여 동물을 인도적으로 다루자는 아이디어에서 출발하였으며, 이러한 일련의 사고들과 행동들은 1950년대에 들어와 실험동물 수의 감소(Reduction), 동물의 고통 경감(Refinement), 실험동물 대체(Replacement)의 3Rs (Russel et al., 1959) 원칙으로 제안되었고, 유럽 및 미국을 포함한 선진국 중심으로 실험동물의 복지를 증진시키기 위한 노력으로 확장 발전되어 현재에는 실험동물을 이용한 안전성 시험의 대체 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 의약품 및 의약품 분야에서도 점차 필요성이 대두되고 있다(Bouhifd et al., 2012).

Received: 26 October 2016  
Revised: 14 November 2016  
Accepted: 14 November 2016

\* Corresponding author: Hak Rim Kim, Ph.D.  
Department of Pharmacology  
College of Medicine, Dankook University  
119 Dandaero, Cheonan  
Chungnam, 31116 ROK  
Tel: +82-41-550-3935  
Email: hrkim@dankook.ac.kr

선진국을 중심으로 실험동물 복지에 대한 인식이 계속해서 증가되고 있으며, 반려동물을 포함해서 동물에 대한 보호 의식의 향상 등의 사회적 현상을 바탕으로 하여 동물보호를 위한 사회단체들의 활동이 매우 활발하게 진행되고 있다. 동물의 복지에 대한 관심이 높아짐에 따라서 현재 23개국 이상의 국가들에서 실험동물 보호법을 제정하여 운영하고 있으며 국내에서도 1991년에 동물보호법이 제정되었으며 2007년 1월에는 동물보호법 전부를 개정하여 동물실험을 대체할 수 있는 방법의 우선적 고려를 동물실험시설 운영자의 책무로 규정하고 있다. 더욱이 2011년에는 동물보호법의 개정을 통해서 동물실험을 하려는 경우에는 이를 대체할 수 있는 방법을 우선적으로 고려하여야 한다는 동물실험의 원칙을 천명하여, 실험동물의 사용을 줄이려는 방향으로 대체시험법의 개발과 응용을 권장하고 있다. 추가적으로 2013년 10월에는 동물 복지법을 제출하여 실험동물에 대한 복지 증진에 많은 사회적인 관심과 공감대가 형성되었으며, 동물실험을 실시한 화장품 또는 동물실험을 실시한 화장품 원료를 사용하여 제조 또는 수입한 화장품의 유통과 판매를 금지하는 화장품법 개정법률안이 2015년 12월 31일에 국회 본회의를 통과하여(화장품법 제15조 2항), 동물대체시험법의 개발과 응용에 대한 산업적, 사회적 요구가 증대되었다.

세계적으로 동물시험에 3Rs 원칙(대체·감소·개선)이 반영된 대체시험법이 개발되고 있으며 기존의 시험과 동일하거나 우수하다는 증거가 있어야만 대체시험법으로 사용할 수 있는 방향으로 제도가 정비되고 있다. 즉, 장기간 소요되는 시험을 단축하거나 독성작용 이해를 높이고 시험경비를 줄일 수 있는 과학적·경제적 타당성이 입증되어야 한다. 따라서 선진 외국에서는 동물대체시험법 연구개발을 주관하고 검증하기 위하여 일찍이 동물대체 시험법 검증기관을 설립하여 운영하고 있으며 계속해서 주요 국가들에서도 관련기관의 설립이 추진되고 있다. 특히 2013년 3월부터 유럽 화장품에 대한 모든 동물실험이 금지되었고('03, 유럽 화장품법 개정), 2007년에 신화학물질관리제도(REACH)가 도입됨에 따라서 동물대체시험법의 개발 필요성이 전 세계적으로 요구되고 있다(Regulation (EC) No 1907/2006).

따라서 현재 국내·외의 동물대체시험법의 정책을 담당하고 있는 주요 국가들의 제도적 이해를 통해서 국내의 대체시험법의 활성화 등에 관한 정책적인 지원과 발전을 위해서 최근 이들과 관련된 내용들을 검토 분석하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 현재의 시점에서 선진 외국의 동물대체시험법 관련 정책 등에 대한 현황 및 문제점 파악을 통해, 동물대체시험법과 관련하

여 유럽, 미국, 일본, 중국, 및 브라질 등의 동물대체법과 관련한 제도 및 자료를 간략하게 살펴보고자 한다.

## II. 본 론

### 1. 유럽의 동물대체시험법에 대한 최신 동향

#### 1-1. 유럽의 동물복지정책

EU는 동물 복지와 대체 방법 추구에 있어 상당히 오랫동안 추진해왔으며, EU차원에서의 공동 정책 수립은 물론, 각 회원국 내에서의 실질적인 정책이행을 이끌어 내기 위한 방안으로 다양한 관련 조약들을 수립하고, 이에 근거한 동물복지정책이 시행해오고 있다. 유럽 차원에서의 동물복지 추구는 1978년 6월에 채택된 농업 목적으로 사육된 동물의 보호를 위한 유럽협정의 체결에 관한 이사회 결정(78/923/EEC)을 시초로 시작되었다. 이후 1992년에 체결된 마스트리히트 조약(Maastricht Treaty)의 부속서에 동물복지에 대한 조항이 포함됨에 따라, 입법화 차원에서의 동물복지 관련 논의가 유럽 내에서 활발히 이루어 졌다. 이 후 1997년 체결된 암스테르담 조약(Treaty of Amsterdam)의 부속서로써, 1999년 5월부터 발효된 동물보호 및 복지에 대한 의정서 (Protocol to the EC Treaty on the Protection and Welfare of Animals)에서는 EU 내에서의 동물복지관련 정책 활동에 필요한 배경 규칙이 마련되었다. 특히 2009년 발효된 리스본 조약(Lisbon treaty)들 중 유럽연합 기능에 관한 조약(TFEU, Treaty on the Functioning of the European Union)의 일반규정 제13조는 암스테르담 조약 부속서의 동물 보호 및 복지 관련 의정서의 개정판에 해당되며, 이 조항을 통해 EU는 동물을 지각이 있는 존재로 규정하고, EU 회원국들은 농업, 수산업, 수송, 유럽공동체역 내시장, 연구 및 기술 개발, 그리고 우주 정책 분야에 있어서 동물에게 필요한 복지에 충분히 관심을 기울일 것을 EU회원국들에게 요청하고 있다(Vapnek et al., 2011; Katsarova, 2013; 우, 2014). 'EU 농업, 어업, 운송, 판매, 연구, 기술개발 및 우주정책에 있어, EU 연합과 회원국은 각국의 입법 또는 행정 규정 및 종교 의식, 문화 전통과 지역 문화유산과 관련된 회원국의 관습을 존중하면서, 동물이 지각적인 존재라는 점에서, 동물복지 요구사항을 충분히 고려해야 한다.'(TFEU 제13조) (European Union, 2012).

한편 EU 내에서 사용되는 실험동물과 관련해서는 '실험 및 기타 과학적 목적으로 사용되는 척추동물 보호를 위한 유럽 협약' (European Convention for

the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, 1986, [ETS 123])과 이 규약 조건 개정 절차를 지원하는 ‘실험 및 기타 과학적 목적으로 사용되는 척추동물 보호를 위한 유럽 협약 개정 의정서’ (The Protocol amending the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes, 1998, [ETS 170])가 마련되어 실험동물의 사용승인 및 대체시험법에 의한 동물사용 축소에 대한 기본원칙과 이의 보급을 위한 기틀을 확립하였다(Council of Europe, 1986; Council of Europe, 1998). 아울러 ETS 123에 기반을 두고 EU내 불공정 경쟁, 왜곡 방지를 위한 국가규정의 조화 추진과 실험 및 기타 과학목적의 동물사용에 대한 규제시행을 위한 유럽연합지침들이 마련되었으며, 특히 유럽연합지침 86/609/EEC (EU Directive 86/609/EEC, 1986)은 동물사육과 관리, 종사자 및 시설인가관련 요구사항, 동물의 고통, 스트레스 최소화 등 실험동물사용과 관련된 방안들을 규정하고 있다(Council of European Communities, 1986). 이후 2010년에 이르러서는 86/609/EEC를 보완 및 대체하기 위한 목적으로 유럽연합지침 2010/63/EU (EU Directive 2010/63/EU)이 제정되어 현재까지 활용되고 있다. 현 지침에서는 3Rs 원칙 적용 대상을 포유동물의 태아 및 두족류는 물론 기초연구, 고등교육, 훈련용 사용 동물까지 확대하였고, 동물의 고통, 스트레스 및 위해 요인 평가를 포함하는 체계적인 연구계획 평가를 통해 동물 사용을 규제하도록 하고 있으며, 이러한 지침에 입각하여 위험성 평가 기반 심사 및 소급 평가의 도입, 비전문가용 연구계획 요약서 발간 등을 추진하면서, 지침 운영의 투명성 제고를 위한 노력을 함께 기울이고 있다(European Commission, 2010). 또한 유럽연합지침 2010/63/EU 이행효과의 평가와 적용 지속성 보장을 위한 위원회 실행결정들(Commission Implementing Decision 2012/707/EU, 2014/11/EU)이 함께 마련되어, 과학적 목적의 동물사용 정보제출에 대한 공통형식이 제공되기 시작하였다. 이 형식들은 2014년부터 연합의 통계보고용 형식으로 사용되고 있다(European Commission, 2012; European Commission, 2014).

앞서 언급된 주요한 동물복지 관련 중요 법안과 함께 활용된 EU 내 동물복지관련 법률적 근거를 살펴보면 다음과 같다. 유럽공동체(European Community)가 실험 및 기타 과학적 목적으로 사용되는 동물의 보호에 관한 유럽평의회 협약 (ETS 123)을 따르게끔 하는 이사회결정(Council Decision 1999/575/EC) 이후

어졌으며, 1999/575/EC과 연계된 이사회결정(Council Decision 2003/584/EC)을 통해, 각종 기술적인 사항이 포함된 ETS 123의 부속서 규정에 있어서 최신의 과학적, 기술적 정보가 적기에 반영될 수 있도록, 유럽공동체를 대표하여 보다 개선된 ‘개정절차(Protocol of Amendment)’를 비준하였다. 유럽평의회 협약(ETS 123)의 내용은 유럽연합지침 86/609/EEC과 실질적으로 동일하다고 할 수 있다(Council of European Union, 1999; Council of European Union, 2003; Council of Europe, 1986).

동물복지가 적용된 규제정책에는 EU 화장품 규정 (Regulation No 1223/2009; European Commission, 2009) 외에도 EU 시험법 규정(Council Regulation (EC) No 440/2008; Commission of European Communities, 2008), 화학물의 등록, 평가, 허가에 관한 EU 규정(REACH, Regulation (EC) No 1907/2006; European Commission, 2006), EU 살생물제 규정 (BPR, Regulation (EU) No 528/2012; European Commission, 2012), 화학물질, 혼합물 특성에 따른 분류, 표시 및 포장에 관한 EU 규정(CLP, Regulation (EC) No 1272/2008; European Commission, 2008), 식물보호제품 규제 (Regulation No 1107/2009; European Commission, 2009) 등이 함께 포함되어 있다.

## 1-2. EURL-ECVAM: 유럽동물대체시험검증센터

ECVAM은 유럽연합지침 86/609/EEC (Directive 86/609/EEC; 현재 유럽연합지침 2010/63/EU로 대체됨)의 이행을 목적으로, 동물대체시험법 개발, 검증은 물론 관련 국제적 업무공조 활성화를 위해 1991년 유럽위원회(European Commission, EC)의 결정에 따라 설립되었다. 설립 이후 실험동물사용의 3Rs 방법에 대한 개발(development), 검증(validation), 수용(acceptance) 요구가 계속적으로 증가됨에 따라, 2011년 공동연구센터(JRC, Joint Research Centre) 산하의 보건 및 소비자보호 연구소(IHCP, Institute for Health and Consumer Protection) 주관 연구조직인, 동물시험대체법을 위한 유럽연합 표준연구소(EURL ECVAM, European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing)으로 재편 되었다. EURL ECVAM은 현재 상업/금융적 이해관계로부터 독립된 조직으로써, 의약품, 백신, 의료기기, 화장품, 가정용품, 농산품 제조/운반/사용 산업에서의 국부 및 전신독성 분야, 발암성, 금속독성, 통합시험법 등을 포함하는 특수분야, 환경독성 분야를 중심으로 활동하고 있다. 특히 EURL ECVAM은 독성연구 동물

대체시험의 연구, 개발, 검증 업무와 같은 전문적 연구 활동을 수행하고 있으며, 이와 함께 과학적 검증수준 증진 및 대체법 규제축진을 위한 외부 자문, 협업 추진은 물론 대체법 검증의 국제협력에서도 EU를 대표하여 중요한 역할을 수행하고 있다(EURL ECVAM, 2016).

EURL ECVAM은 유럽연합지침 2010/63/EU (舊 유럽연합지침 86/609/EEC) 이행을 위해 현재 다양한 네트워크를 구성, 운영하고 있다. 구체적으로 EURL ECVAM의 동물대체시험법 관련 연구과제 수행에 있어서는 ‘대체시험 검증을 위한 유럽연합 연구소 네트워크(NETVAL; European Union Network of Laboratories for the Validation of Alternative Methods)’의 지원을 받고 있는데, 해당되는 EURL ECVAM의 연구과제들에는 과학적 목적으로 사용되는 동물대체, 감소, 순화에 영향력이 큰 시험법들을 중심으로 훈련, 검정을 수행하는 내용이 포함되어 있다. NETVAL에는 현재 9개 회원국(독일, 네델란드, 스페인, 벨기에, 체코, 핀란드, 프랑스, 이탈리아, 스웨덴), 13개 시험시설이 참여하고 있으며, 유럽위원회에서 규정한 적합성 규정에 부합되는 한 어떠한 EU 연구소도 NETVAL 참여지원이 가능하도록 되어있다. 또한 EURL ECVAM은 학계, 산업, 및 다른 기관 구성원들이 참여하는 유럽연합 동물대체시험검증기관 과학자문위원회(ESAC)를 통해 ECVAM에 의해 수행되었거나, 제출된 검증 연구에 있어서 객관적인 평가가 가능하도록 독립적인 과학적 동료심사(peer review) 체계를 운영하고 있다. 유럽연합지침 2010/63/EU 이행을 위한 대외적인 공조 업무에 있어서는 비정부 이해관계자로 구성된 유럽연합 동물대체시험검증기관 이해관계자 포럼(ESTAF, ECVAM Stakeholder Forum)과 규제관련 자문을 담당하는 규제적정성 사전평가 네트워크(PARERE Network, Preliminary Assessment of REgulatory RElevance)를 활용하고 있는데, EURL ECVAM은 현재 28개 EU 회원국의 관련 행정기관에 규제 적정성 사전평가 네트워크(PARERE)를 위한 연락소를 두고 있다(EURL ECVAM, 2016).

EURL ECVAM은 유럽위원회 내에서 기술 전문성을 기반으로 하여 일차적으로 화학제품 대상 환경총국(DG Environment) 업무 지원, 화학제품, 의약품 및 백신 대상 기업총국(DG Enterprise) 업무지원, 화장품 안전성 및 소비자안전과학위원회(SCCS, Scientific Committee on Consumer Safety)와 관련된 건강 및 소비자 보호총국(DG Health and Consumer Protection) 업무지원을 담당하고 있다. 이와 더불어 유럽화학물질청(ECHA, European Chemicals Agency), 유럽의약청 (EMA,

European Medicines Agency), 유럽식품안전청(EFSA, European Food Safety Authority)과 같은 다양한 EU기관들과 유럽동물실험대체연대(EPAA, European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing), 유럽제약산업협회(EFPIA, European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations) 같은 비정부 기구들을 대상으로 동물대체시험법 및 동물복지 관련 기술적 지원을 제공하여 동물복지차원에서 민관 협력에 있어서 다양한 기여를 하고 있다. 또한 비유럽 국제기구인 국제수역사무국(OIE) 및 경제협력개발기구(OECD)와 협력하여 동물복지 관련 국제공조에도 관여하고 있다. EURL ECVAM이 기술적 전문성을 기반으로 동물대체시험법을 포함한 동물복지관련 현안에 대해 유럽 및 비유럽권 기관들과 협력, 공조체제를 발전시켜 오며 따라, EURL ECVAM에서 제시되는 권고사항들(Recommendations)은 검증된 시험법의 국제규제 수용을 촉진시키는데 있어 중요성이 높아지고 있는 추세이다. 이 권고사항들(Recommendations)은 검증된 동물대체시험법의 사용 제한점 및 적합한 과학적 사용, 가능한 규제적용, 현존하는 과학지식 격차의 해소를 위한 후속활동 등에 관하여 EURL ECVAM의 견해를 제시하고 있으며, 이러한 권고사항들의 확립은 규제자문 네트워크인 PARERE, 이해관계자포럼인 ESTAF, 국제협력파트너인 ICATM(International Cooperation on Alternative Test Methods)과의 긴밀한 협의를 거쳐 제시되고 있다. 특히 동물대체시험법 검증 및 수용과 관련한 ICATM과의 국제협력 범위가 더욱 확장되는 추세이며, 업무프로세스의 공조, 중요 시험법에 대한 상호자문 및 합동평가, 규제수용 또는 국제적 수용 촉진을 위한 사후 검증활동에서의 공조 등이 현재 활발히 이루어지고 있다(Louhimies 2002; EURL ECVAM, 2016).

### 1-3. 유럽 동물대체시험법 주요 연구프로젝트

유럽지역에서의 동물대체시험법 연구흐름에는 산업계, 학계, 정부가 서로 공조하여 연구 전략 및 계획 수립, 진행, 후원이 이루어지는 경향이 강하며, 특히 EU의 대형 연구프로젝트인 Framework Programme 을 통한 동물대체시험법 연구진행 등 비 유럽권에 비해 대규모의 선도적 연구지원이 이루어지고 있어, 향후 관련된 규정 제정 및 국제적 조화에 있어서도 이러한 유럽중심의 연구흐름이 많은 영향을 끼칠 것으로 예상된다. 기 시행된 대형 연구프로젝트의 대표적인 사례에는 SEURAT-1, Euroecotox, AXLR 등이 있다.

**1) SEURAT-1**

SEURAT은 2008년 EPAA연례회의에서 유럽연합의 FP7 (7th Framework Programme for Research Technological Development, 제 7차 연구개발 기본 계획)내 건강연구(Health theme)의 전략으로 소개되었다. SEURAT의 장기 전략목표는 ‘궁극적으로 동물 시험을 대체하는 안전성 평가’라고 정의되어 있다.

SEURAT-1은 유럽위원회의 ‘FP7-HEALTH-2010-Alternative-Testing-Strategies’에 기반하여 유럽화장품협회(Colipa, The European Cosmetic and Perfumery Association)의 후원으로 2011년~2015년간 €50million가 투자되는 연구계획으로써, 임상 안전성 평가와 관련해서 혁신적인 반복투여 전신독성 개발에 필요한 연구전략 및 기본구성요소 확보를 목표로 총 여섯 개의 연구프로젝트와 프로젝트 간 공조, 외부 국제연구기관과의 협력, 연구우선순위 최적화 등 연구 지원 담당프로젝트(COACH, Coordination of projects on new approaches to replace current repeated dose systemic toxicity testing of cosmetics and chemicals)로 시작하였다. 각 연구프로젝트를 살펴보면 세포기능의 비표지 측정을 위한 독성시험용 생체전기측정 시스템 개발과제(Scr&Tox, Stem cells for relevant efficient extended and normalized toxicology), 독성시험용 분자센서를 갖춘 세포(생체반응기)의 개발과제(HeMiBio, Hepatic microfluidic bioreactor), 간독성 평가용 피부유래 전구세포 개발과제(DETECTIVE, Detection of endpoints and biomarkers of repeated dose toxicity using in vitro systems), 화학물 독성 및 유해영향경로(독성발현경로; Adverse Outcome Pathway, AOP) 정보 데이터베이스 개발과제(COSMOS, Integrated in silico models for the prediction of human repeated dose toxicity of cosmetics to optimise safety), 만성 및 반복독성평가용 동물대체시험법 기초연구과제(NOTOX, Predicting long-term toxic effects using computer models based on systems characterization of organotypic cultures), 표준화학물 중심의 통합된 Omics기술을 이용한 독성정보 구축 과제(ToxBank, Supporting integrated data analysis and servicing of alternative testing methods in toxicology)로 구성되어 있다. SEURAT-1이 진행됨에 따라 독성평가를 위한 세포기반 in vitro 모델, 고속대용량 omics 시스템, 복합 생물반응기(Bioreactor)분야, 데이터베이스 구축 및 정보수집 및 활용 분야에서 많은 연구진척이 이루어졌으며, 동물시험 대체를 위한 시험법 개발

지식기반 확보 및 그 가능성 입증에 있어서도 많은 성과를 내었다. 또한 SEURAT-1을 진행하면서 일부 프로젝트는 미국의 Tox21 연구 프로그램과의 협력을 진행함으로써, 상호보완적 연구 추구하는 국제협력의 사례를 남기기도 하였다(COACH, 2014).

**2) Euroecotox**

Euroecotox는 어류, 양서류, 조류 등 비포유류 동물이 사용되는 환경독성 분야의 대체시험전략을 위한 네트워크 연구과제로써, FP7에 따른 유럽위원회 환경 프로그램의 지원을 통해 시작되었다. 주요 연구목표는 새로운 환경독성 대체시험법 개발과 연구네트워크의 구축 및 대체시험법의 규제화 논의를 위한 환경마련이었으며, 비록 과제에 대한 FP7 예산지원이 2012년 종료되었지만, 과제의 실현가능성과 전략적 중요성을 고려하여 Euroecotox 네트워크의 지속, 관리가 이루어지고 있다(EUROECOTOX, 2014).

**3) AXLR8**

AXLR8은 FP7에 맞추어 EU 집행위원회 연구혁신총국(European Commission Directorate General for Research and Innovation)의 자금지원으로 진행되고 있는 연구공조 활동이다. AXLR8은 유럽위원회가 지원하는, 3R원칙 기반의 시험법 및 시험전략 개발 국제컨소시엄들을 모니터링하고, 관련 의사소통과 협동작업의 효율성을 제고하여 빠른 성과확보를 이루도록 지원하는 것을 목표로 진행되어 국제공조에 있어 많은 성과를 만들어 내었다(AXLR8 Consortium, 2013).

**1-4. 유럽의 동물대체시험법 현황**

EU가 동물복지와 관련하여 중요시하는 것은 윤리적인 측면은 물론 동물사용 및 보호분야의 경제적 중요성이 크기 때문이다. 2007년 실시된 조사결과(Eurostat, 2007)에 의하면 EU내 1,330기관이 실험에 동물을 사용하였고, 실험동물 생산 및 공급처도 수십 곳에 이르며, 지난 3년 동안 동물시험이 포함된 새로운 연구과제가 매년 9,300개씩 시작되었다. EU내 동물사용 연구과제의 경제적 규모는 연간지출액 기준 약 €2.8 billion으로 추정되며, 관련 연구과제 종사자 수도 28,000명으로 추산되었다. 또한 실험동물 이용 산업분야의 경우 의약, 화학, 살충제/농약, 식품, 사료생산 분야가 포함되는데, 모든 해당분야를 망라하여 EU 내에는 343,000개의 회사가 관련되어 있고, 총 매출 규모는 €1,680 billion, 고용인 규모는 €6.5 million에 이른다. 따라서 동물복지관련 입법과 정책 추진은

회원국 및 연합 전체에 미치는 다양한 경제적 영향이 함께 고려되어왔으며, 이를 위한 국제협력에 많은 노력이 기울여지게 되었다. 그 예로써, 동물대체시험법 관련 EU 생산품의 국제교역을 위한 교역대상국과의 규제정책 조화를 위해 EU는 다양한 국제적 교류를 유지하고 있다. 즉, EU의 REACH규정 하의 화학물 경우는 OECD를 통해, EU의 화장품 규정의 국제공조에 있어서는 ICCR을 통해, 그리고 동물대체시험법의 국제공조를 위한 프레임워크(ICATM)를 통해 많은 정책적 현안을 해결해오고 있다(FPEC, 2010). 특히 화장품 분야에서의 EU 정책변화가 가장 두드러지고 있는데, 완성된 화장품 및 그 성분의 동물실험 금지(testing ban), 동물실험이 적용된 화장품 및 그 성분 포함 제품의 EU내 판매금지(marketing ban)가 수립, 시행되고 있다. 완성품 실험금지는 2004년에, 일부 품목을 제외한 판매금지는 2009년 시행되었으며, EU 내 관련 산업계 내에서는 이러한 정책으로, 향상된 사업적 평판을 얻게 될 것이라 기대하는 시각이 있지만 더불어, 감당해야 할 일부 경제적 부담에 대한 우려도 공존하고 있는 상황이다(FPEC, 2010).

EU 내에서 상기와 같은 법률적, 정책적 논의와 실행이 끊임없이 거듭된 결과, 다양한 산업 분야에 걸쳐 동물복지정책과 활동을 국제적으로 선도적인 위치에 오르게 되었다. 또한 EU차원은 물론, 각 EU 회원국 내 관련 법안 및 정책의 수준에 있어서도 비교적 균등한 발전이 이루어짐에 따라, 축산업, 식품, 화장품, 의약품 등 동물복지관련 주요사안이 걸려있는 경제 분야에 있어서 상대적으로 높은 국제 경쟁력을 보유하게 되었으며, 동물복지에 관한 EU 내 사회적 인식수준에 있어서도 다른 지역보다 높은 수준을 가지게 되었다. 하지만, EU 내에서는 산업종사자를 포함한 관련 일부 이해당사자 측면에서는 동물대체시험법과 같은 동물복지관련 규제의 발전을 경제적 부담으로 보는 시각이 또한 존재하고 있다. 때문에 이러한 이해당사자들 간의 이견을 조정하고, 정책 추진력을 유지하기 위한 EU 차원의 다양한 소통 시스템 구축 및 운영 노력이 현재도 계속되고 있는 상황이다. 이러한 EU 차원의 노력의 대표사례로써, 유럽연합은 동물대체시험법의 개발검증연구, 규제적용 및 운영측면에서 EURL ECVAM 설치 및 운영, 다양한 대형 연구프로젝트 운영 등을 적극적으로 추진하고 있다. EU 내 이러한 활동들은 동물복지 및 동물대체시험분야에 있어 관련 산업의 발전, 규제도입, 국제조화 측면에 있어 영향력 있는 결과물을 산출할 것으로 예상된다(FPEC, 2010).

이와 같은 EU의 동물복지 관련 성과와 노력은 전

세계적인 동물복지활동의 공조에 있어서 EU의 영향력을 확대시키는 결과를 낳았고, 향후에도 이러한 높은 동물복지관련 정책적, 경제적 영향력은 계속 유지될 가능성이 높다고 볼 수 있다. 따라서 동물복지 및 대체시험법 규제에 대비한 국내 관련정책 수립, 운영을 위해 유럽의 동물복지정책 및 규제의 흐름을 유의할 필요가 있다(FPEC, 2010).

## 2. 미국의 동물대체시험법에 대한 최신 동향

### 2-1. 미국의 동물복지정책

실험실에서 사용되는 동물들을 보호하는 실험동물복지법(the Laboratory Animal Welfare Act)이 미국에서 1966년에 연방법으로 제정되어, 동물유통업자나 실험실 관계자들에게 법적으로 요구되기 시작했다(National Research Council, 2007). 그 후, 미국 식품의약품청(FDA), 미국 환경보호국(EPA)등의 기구들이 1981년에 세계 독성시험기준에 맞춰 독성시험법에 관한 기준을 발표하면서 동물대체시험법에 관한 법적 장치가 만들어지기 시작하였다. 미국국립연구위원회(NRC, National Research Council)는 2007년에 "21C 독성시험: 비전과 전략"이라는 제목의 보고서를 발표하였는데, 이를 통해 독성연구의 큰 변화가 시작되었다(National Research Council, 2007). 독성 시험방법의 종합적 검토를 실시할 것을 요구하는 미국 환경보호국(EPA)의 요청에 대한 응답으로 National Research Council이 발행한 이 보고서는 동물기반 독성시험의 한계를 해결하고 동물이 아닌 인간 기반의 시험방법으로 생물공학과 컴퓨터 공학을 이용한 혁명적 과학으로 변화할 것을 요구하였다. National Research Council의 보고서를 요약하면, toxicogenomics, 생물정보학, 시스템 생물학, 후성유전학 및 컴퓨터 독성학의 발달을 통해 동물시험에 의존한 범주에서 벗어나 인간 유래 세포, 세포 주 또는 세포 성분을 주로 사용해 인간의 질병 경로를 연구하기 위한 생물학적 과정 변화를 평가하는 *in vitro* 방법으로 전환하는 것이 바람직하다는 것으로 요약된다(National Research Council, 2007).

### 2-2. ICCVAM: 미국동물대체시험법검증센터

미국의 국립환경보건연구원(NIEHS: National Institute of Environmental Health Science)은 1993년의 국립보건원(NIH, National Institute of Health) 활성화 법안에 따라 대체독성시험법의 허용 및 기준을 위한 기준 설립 및 과학적 근거를 갖는 대체시험법의 법적 허용을 위한 과정을 권고하기 위하여 1994년에 미국

국립환경보건과학연구소(NIEHS)를 설립하였다. 1997년 특별위원회에서 ‘독성시험법 평가 및 허가에 대한 보고서’를 작성하였고 이에 근거해 1997년에 15개의 미정부기관이 참여하는 ICCVAM (The Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods)이 설립된다. 2000년 12월에 미국 대통령령에 따라 ICCVAM 설치령이 제정되었고 ICCVAM은 독성화시험법 평가를 위한 부국간센터(National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods, NICEATM) 산하로 NIEHS의 기관으로 설립되었으며, 현재 NIEHS내에 위치해 있다. NICEATM은 ICCVAM 및 과학자문위원회의 행정업무를 위하여 1998년에 설치되었으며 ICCVAM과 실행그룹, 동료간패널, 전문가 패널, 워크샵, 평가 업무 및 과학자문위원회 업무를 기술적으로 지원 및 조정하고 있다. 2008년에는, EPA와 NIH의 국립 독성프로그램(NTP, National Toxicology Program)과 화학 유전체학센터(NCGC, NCATS Chemical Genomics Center)는 National Research Council 보고서의 비전을 따라 동물대신 실험실에서 배양한 인간 세포를 사용하는 것을 포함해 새로운 독성시험 방법을 개발하기 위한 양해각서를 체결하였다. EPA가 새로운 방법을 이용해 300가지 화학물의 평가를 시작한 것을 필두로, 이 방법은 수천 개 화학물질을 한 번에 검사 하는 것도 가능함을 보여 훨씬 더 빠르고 저렴하며, 인간의 건강을 지키는데 보다 나은 일을 할 것이라는 기대를 심었다(Andersen et al., 2010). 따라서 ICCVAM의 임무는 새로 개정된 대체법의 규제안전성 시험 방법의 개발, 검증을 촉진하고, 과학적 품질 및 인체, 동물건강 및 환경보호를 유지하고 촉진하면서, 동물사용 실험 3R 원칙에 따른 대체시험법 개발과 적용을 강조한다. 자원과 전문가들의 활용, 효율적 검증 연구, 정보 교환을 위하여 관계기관들과 SACATM (Scientific Advisory Committee on Alternative Toxicological Methods)과의 파트너십을 확립한다. SACATM은 2000년 발효된 ICCVAM 설치령에 따라 2002년 1월 9일 연방정부 승인 하에 자문위원회로 설립되었다. ICCVAM과 NICEATM에 대해 자문을 하며, ICCVAM의 법적위임의무와 NIEHS의 활동에 관한 사항에 관하여 NIEHS의 연구원장에 자문을 하고 있다. SACATM은 새로운 대체시험법이나 개선되는 대체시험법의 개발, 비준, 과학적 검토, 인증, 국내기관간의 조화 및 국제간의 조화와 관련하여 활동한다. NIEHS 원장이 SACATM의 위원들을 ICCVAM 설치령에 준하여 임명하고, 보통 1년에

한 번 회의를 개최하고 있다.

### 2-3. 미국 동물대체시험법 주요 연구프로젝트

#### 1) Toxcast

미국 동물대체시험법 주요 연구프로젝트에는 독스캐스트 (Toxcast)가 있으며, 독스캐스트 1단계에서 300개 이상의 화학물질에 대한 정보가 수집되었고, 컴퓨터와 *in vitro* 선별검사를 통해 약 500개의 생물학적 매개변수(biological parameters)를 포함한 각 화학물질에 대한 활동 정보가 모아졌다. 2010년에 시작된 독스캐스트 제 2단계에서는 산업, 소비품, 음식첨가물 및 약물에 쓰이는 화학물질 700가지를 추가로 선별 검사하는 작업이 이어졌다. 이 프로젝트는 독성과 연관된 대상 또는 경로를 식별하고자 하였는데, 독성과 연관된 대상들이나 경로에 대한 분석법 개발을 위해 우선 순위를 매겨 가능한 넓은 범위의 *in vitro* high-throughput screening (HTS) and high-content screening (HCS) 분석을 시행하였다(Dix et al., 2007). 이런 대상이나 경로를 방해하는 화학물질은 유해한 효과를 초래할 수 있다 (Judson et al., 2010). 또한 독스캐스트는 화학 독성데이터를 분석·통합하여 수치로 등급을 매기는 통계 및 컴퓨터 모델을 개발하고 있다. 간발암성(Shah et al., 2011), 쥐생식(Martin et al., 2011), 내분비교란(Reif et al., 2010), HTP 위험평가(Judson et al., 2011) 등의 종말점과 경로를 이용한 몇 가지 예측모델들이 이미 개발되어 발표되었는데 데이터가 풍부한 농약활성 물질들인 독스캐스트 300 화학물질들에 주로 집중되어 있다(Kavlock et al., 2012). 2014년까지 독스캐스트 프로젝트를 통해 700여 개 분석에서 1800 이상의 화학물질들의 선별검사를 실시하였다(Judson et al., 2014). 독스캐스트의 실용성은 실제 멕시코 만의 기름유출 사고 시에 증명되었는데, 유출된 기름막을 분산시키고자 화학 분산제 수백만 리터 이상이 뿌려졌고, 계면활성제와 용제로 이뤄진 이 분산제에 대한 어떤 안전성 정보도 자세히 알려진 것이 없었다. 하지만, 독스캐스트의 *in vitro* high-throughput 방법으로 복잡한 화학 혼합물들의 세포독성 작용에 따른 시험 등을 한 달에 마칠 수 있었다(Judson et al., 2010).

#### 2) Tox21 project

2007년에는 미국 National Research Council 보고서의 실제적 실행을 목적으로 하는 Tox21 프로젝트가 공동으로 시작되었다. 2005년부터 독스캐스트 프로그

램을 수행하던 EPA와, NIH의 National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS) 산하의 National Chemical Genomics Center (NCGC), NIEHS의 NTP 프로그램이 함께 협력 체계를 구축하면서 2008년부터 본격적으로 진행되었다. Tox21의 핵심 목표는 심도 깊은 독성 평가를 위해 우선순위의 독성물질을 정할 때 사용 가능한 새로운 시험 기법을 연구하고, 독성물질의 작용 기전을 연구하여 생체 내에서의 반응을 예측할 수 있는 *in vitro* 방법을 개발하는 것이다(Attene-Ramos et al., 2013). 이를 위하여 다양한 화학물질들에 대한 독성 종말점들을 평가하고, 시험에 사용하는 실험동물의 수는 최소화하며 고통을 줄이며, 인체 위해성 평가에 대한 자세한 기전 및 용량 정보를 제공하는 것이다. 2010년에는 FDA NLM이 참여하면서 정보의 저장 및 가공 작업이 수행되었고 1000개 이상의 화학물질을 대상으로 500개 이상의 시험법을 확립하고자 수행하였으며 2012년부터는 관련 기업들도 참여할 것으로 보이는데, 10000개 이상 화학물질을 대상으로 1000개 이상의 시험법을 구축하는 것을 목표로 하고 있다(Attene-Ramos et al., 2013). Tox21을 통해 새로이 개발되는 *in vitro* 시험법들은 인체노출 모델 개발과 인체에 대한 위해성 평가에 활용하기 위해 Risk 21 프로젝트도 International Life Sciences Institute Health and Environmental Sciences Institute (ILSI HESI)의 주도로 2010년부터 수행되고 있다.

### 3) CAAT (Center for Alternatives to Animal Testing)

Johns Hopkins 대학의 보건대학원에 설치되어 있는 비영리 센터로 1981년에 설립되어, 동물 대체시험법 개발, 검증, 활용을 지원하여 인체와 실험동물의 건강을 증진하는 것을 목적으로 한다. *In vitro* 대체시험법의 개발을 위한 연구 지원, 대체시험법 확립을 위한 토론의 장 마련, 대체시험법에 대한 정보 제공, 대체시험법 교육 훈련, 대체시험법 연구 개발을 위한 미국 내 연구비 지원 등의 업무를 수행하고 있다. 또한 대체시험법에 대한 최대 웹사이트인 Altweb (the Alternative to Animal Testing Website; altweb.jhsph.edu) 운영하고 있으며 대략 매달 약 4만명 방문하여 대체법에 대한 많은 정보를 공유하고 있다. 대체시험법 연구와 관련된 Journal인 ALTEX를 출간하고 있으며 대체시험법과 관련된 미국 정부 기관의 활동에 참여하고 아울러 대체시험법과 관련하여 Charles River Laboratories' Excellence in Refinement

Award, CAAT recognition Award, Henry Spira Award를 대체시험법 관련 연구 우수 연구자에게 수여하고 있다.

### 2-4. 미국의 동물대체시험법 현황

미국에서는 중요한 의미를 지니는 동물실험 금지 법안이 2014년에 발의되었다. Jim Moran 하원의원과 50여명의 의원들이 공동발의로 화장품의 생산·제조 시 동물을 사용하지 않도록 하는 인도적 화장품법안(H.R. 4148-Humane Cosmetics Act)이 하원에서 발의되었으며, 이와 관련하여 화장품법 개정 법안이 2014년 3월 5일 상원에 상정되었다. 이 법안의 내용을 요약하면 미국 화장품 산업에서 동물실험을 금지하고 전체 미연방에 대하여 동물실험을 사용하여 개발 제조된 화장품 완제품 또는 원료에 대한 판매 또는 운송을 금지하도록 하는 내용이 포함 되어 있어 동물 실험을 사용한 화장품과 화장품 원료, 첨가물들에 대하여 미국시장에서의 점진적인 배제를 목표로 한다(H.R.4148-Humane Cosmetics Act).

동물대체시험법으로 백신의 효능 및 안전성 테스트를 위한 비임상시험은 백신 후보 제품을 실험실에서 임상으로 옮겨가는데 있어 필수 전제조건이며, 제품의 임상평가를 실시하기 전에 수행하는 동물 대상 안전성 시험, 면역원성 시험/개념 증명(proof of concept), 제품 특성 분석 등 시험과 관련된 것을 모두 포함한다. 2010년 9월 14-16일에 개최된 NICEATM-ICCVAM (<http://iccvam.niehs.nih.gov/meetings/BiologicsWksp-2010/BiologicsWksp.htm>) 워크샵에서 백신 역가를 측정하기 위한 동물시험을 대체하도록 노력할 수 있는 백신들로 광견병 백신(Rabies vaccine), 렙토스피라 백신 (*Leptospira* vaccine), 백일해 백신의 3가지를 최우선순위로 선정하였다.

사람 및 동물 광견병 백신의 역가시험은 대부분 "NIH 시험"이라는 라이브 광견병 바이러스를 생쥐의 뇌내에 주사하는 유발검사로 시험하고 있다(Seligmann, 1973). 광견병백신에 대한 생쥐 유발검사에 대한 대체하도록 틀을 제공한 대체시험법인 혈청중화검사(serum neutralization test, SNT)는 충분히 표준화된 것으로 간주하고 있다(Stokes et al., 2012).

렙토스피라 백신은 역가시험을 위해 기존에는 한 개의 혈청군에 대해 40 마리 햄스터를 사용하는 유발검사 시험만을 일반적으로 사용하여 왔지만, 렙토스피라 혈청군 4개(*Leptospira interrogans serogroups pomona, canicola, icterohaemorrhagiae, and Leptospira kirschneri serogroup grippotyphosa*)에



대한 백신의 역가 결정을 위한 *in vitro* 효소면역분석법(ELISA) 항원정량법이 미국농무부(USDA)에 의해 검증되어 백신업체들도 이를 사용하여 적절한 검증을 하도록 적극적으로 장려하고 있다(Stokes et al., 2013).

백일해 백신의 역가시험을 위한 시험법으로는 일반적으로 쥐의 히스타민민감성시험(HIST)을 들 수 있는데, HIST는 다른 동물에는 치명적이지 않은 히스타민 용량으로 쥐를 감각시키는 PTx의 능력을 기반으로 하며, PTx 흡착 백신샘플(BSP114)을 사용해 HIST 대체 시험법을 평가하였다(Bergman et al., 1977). 이 방법은 효과적으로 무세포성 백일해 백신에 잔류하거나 PTx에서 얻어진 복귀를 선별검사 하는데 활용할 수 있는 유일한 방법이다. 이 쥐의 HIST에 대한 *in vitro* 대체시험법으로 HIST보다 정량적이며, 강력하고 빠르고, 자동화 되고 덜 가변적인 E-HPLC 분석법, CHO 세포 분석, 유전자 분석법(genetic assays) 등이 고려되고 있다(Isbrucker et al., 2014).

### 3. 일본의 동물대체시험법에 대한 최신 동향

#### 3-1. 일본의 동물복지 정책

일본은 실험동물 보호 및 관리목적, 실험실 내 동물 사용의 자체적인 규제시스템 지향하고 있으며, ‘동물 복지 및 관리에 관한 법률’을 통해 규제관리를 시행하고 있다. 법정감사 및 기관동물관리사용위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)를 통해 동물실험 및 관련시설의 관리가 이루어지고 있다. 2011년부터 의약품 제조판매 승인 신청 및 화장품 기준 제정 요청 시 국제적으로 인정된 동물대체시험법에 따른 자료 제출을 허용하고 있다. 대체시험법 검증 및 규제적용을 위해, 국립의약품식품위생연구소 조직관계 법령집 제 51 조 6항 ‘일본동물실험대체법검증센터’ 설치 규칙에 의거하여, 2005년부터 JaCVAM(Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)이 운영되고 있다(Ohno, 2005).

#### 3-2. JaCVAM: 일본동물대체시험법검증센터

일본의 동물대체시험법 연구·개발·검증을 수행하기 위하여 2005년 국립위생과학연구소(National Institute of Health Science, NIHS) 산하에 JaCVAM이 설치되었다(Kojima, 2007, 2013). JaCVAM은 *in vitro* 독성시험법 연구, 신규 독성시험법 평가, 시험법 평가 위원회 운영, 신규 대체독성시험법 관련 국내외 교류 및 협력증진의 업무를 분장한다. 신규·개선 시

험법의 평가와 시험 지침 수립은 대체법 공개채용, 원서접수, 평가선정, 감독위원회(oversight committee)의 배경검토문서(Background Review Document, BRD) 준비, 동료평가(peer review), 규제수용위원회 평가 및 규제당국에 제안의 절차에 따라 수행된다. 대체시험법 검증 작업이 불충분한 경우에는 관련 학회(일본 동물실험대체법 학회, JSAAE, Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments)에 의뢰하여 추가 검증을 수행하게 된다. 3Rs 정책 홍보 목적의 학회, 웹사이트, 출판물, 심포지움 개최를 이용하여 신규, 개선시험법 평가, 검증을 포함한 연구 및 관련활동에서의 국제공조 활동을 진행한다(Kojima, 2007, 2013).

JaCVAM은 운영위원회(Steering committee)와 자문위원회에 의해 전체적으로 동물대체시험법 관련 업무를 수행한다. 운영위원회는 신규 및 개선 시험법의 평가와 시험지침 수립 기능을 담당한다. 세포분자독성학, 병리학, 약리학, 유전학, 위험성평가, 및 실험동물 관리 담당부서 대표자로 구성되며, 각 부서 간의 원활한 공조체계를 확립하기 위하여 생체안전성 연구센터(NBSRS, National Biological Safety Research Center)를 설립하여 각 부서 간에 원활한 소통을 유지한다. JaCVAM의 자문위원회는 NIHS 소속이 아닌 독성학자, 동물시험 전문가, 대체시험법 전문가, 산업계 대표자, 의사, 시민대표, 규제공무원으로 구성된다. 시험법 평가를 위해 여러 위원회가 참여한다(Ohno, 2005; Kojima, 2007, 2013).

JaCVAM의 감독위원회(Oversight committee)는 시험법 지원자와 검증관리팀 추천 전문가로 구성된다. 감독위원회는 검증관리팀에서 준비한 신규 및 개선 시험법에 대한 배경검토문서(BRD, Background Review Document) 준비하여 동료평가위원회(Peer review panel)에 제출한다. 또한, 검증연구 실행을 지원하는 연구자문 역할을 한다. JaCVAM 책임자가 선출한 전문가 집단에 의해 시험법의 평가 및 검증을 위한 동료평가위원회(Peer review panel)가 구성된다. 동료평가위원회는 감독위원회의 BRD를 검토하고 평가한 후에 규제수용위원회(Regulatory acceptance board)에 결과를 제출한다. 규제수용위원회는 NIHS 대표자, 대체시험법 전문가, 독성학자, 산업계 대표자, 생물통계학자, 규제공무원으로 구성된다. 감독위원회와 동료평가위원회의 검토를 거친 시험법 자료를 행정 적용 및 사회적 확산 관점에서 평가한다(Ohno, 2005; Kojima, 2007, 2013).

## 4. 중국의 동물대체시험법에 대한 최신 동향

### 4-1. 중국의 동물복지정책

중국에서 동물대체법의 필요성에 대한 인식은 1990년대에 시작되었다. 실험동물 허가에 관한 규제(Regulation for Administration of Laboratory Animals, 1988)가 실험동물에 관한 첫 규제이다. 이것은 실험동물 복지법의 한 장으로 개정되어졌다. 1995-2000년 실험동물 개발에 관한 가이드라인(The Guidance on the Development of Laboratory Animal Science during 1995-2000 in China, 1997)이 중국의 실험동물에 대한 3Rs 원칙이 제시된 첫 공식문서이다. 중국 정부는 실험동물 복지와 in vitro 시험방법 개발에 관심을 가졌고 혁신적인 동물대체시험법에 관한 연구는 정부와 국가 과학 프로젝트에 의해 지원되고 있다. 2006년에 중국 과학기술부는 실험동물에 관한 인도적 처치 지침(Guide for the Humane Care and Use of Laboratory Animals, 2006)을 발행하였다. 실험동물 복지, 윤리 및 동물실험에 대한 검토의 첫 공식문서이고 과학 연구 활동의 개선과 실험동물의 적절한 사용에 유용할 뿐만 아니라, 중국에서 동물 연구에서 3Rs 원칙을 적극 장려하는 규정이다. Humane endpoint는 불필요한 통증과 고통을 감소시키거나 제거하는데 사용되고 실험과정과 기술은 과학적 원리에 기초하여 세심하게 정제되어야 한다고 기술되어있다. 2007년 베이징에서 Welfare and Alternatives in Animal Experiment 학회가 개최되었다. 2010년에 Chinese pharmacopoeia (Part 3: 2010 edition)에는 ‘실험에 사용된 동물의 수를 감소시키도록 생물학적 제품에 대한 동물시험법 대신 정확한 화학적 및 물리적 방법 또는 세포학적 방법 사용을 장려한다.’ 라고 기술되어 있다(Zhengming, 2008, 2014).

Humane Society International(HSI)에 의하면 중국에서 매년 화장품 시험에 사용되는 토끼, 기니아피크, 마우스, 및 다른 동물들은 약 30만 마리 정도가 사용되는 것으로 알려져 있다. 중국정부는 1990년에 화장품에 대한 안전성 감독을 시작했으며 모든 종류의 제품들은 시장에 나오기 전에 동물을 이용한 피부 및 안 자극시험을 하도록 요구하고 있다(Eskes and Whelan, 2016).

2012년 2월에 CFDA는 일상적인 제품에 대한 동물 실험을 강제하는 조치를 취해서 다국적 제조사들의 중국시장에 대한 접근을 효과적으로 차단하여왔다. 중국은 매우 빠르게 성장하는 화장품 시장을 가지고 있으며 2013년에는 17억 달러에 이르는 화장품을 수입했

으며 이는 2012년도 보다 10.7%가 증가한 수치이다. 2012년에는 Avon과 Estee Lauder와 같은 화장품 회사들은 중국시장에서 계속적으로 판매하기 위해서 비 동물시험정책 (no-animal testing policy)를 탄력적으로 적용하기도 하였다(Eskes and Whelan, 2016). 살아있는 동물보다는 조직을 사용하는 처치 등의 대체 시험법(in vitro)에 대한 적절한 know-how 및 적절한 도구의 부족으로 인해서 일부 제조업체들은 동물시험으로 돌아갈 것으로 예상된다.

### 4-2. ChCVAM: 중국동물대체시험법검증센터

2012년 6월에 개최된 화장품 독성 동물대체시험법 연구와 검증 시스템 구축을 위한 중국 전문가 회의에서 중국 동물대체시험법 검증센터(ChCVAM)의 구축을 촉진하여 화장품 독성과 관련하여 동물대체시험법 개발에 관한 계획을 수립하고 중국내에서 동물 대체시험법의 검증 활동을 관리 조정하는 국제 활동에 참여하는 것을 골자로 하여 중국정부에 검증된 동물대체시험법의 규제 수용을 촉진하였다. 이와 관련하여 in vitro 3T3 NRU 광독성 시험법과 같은 동물대체시험에 관한 일부 국가 및 산업 기술 표준이 확립되었지만 이러한 표준은 완전히 OECD 가이드라인에 따른다. 현재 중국에서 안전성 평가의 시스템은 비교적 복잡하며, 20개 이상의 GLP 연구소들은 의약품 독성 시험법을 개발했다. 중국 질병관리 연구소들은 중국 내수 시장을 위한 기능성 식품 및 화장품에 대한 독성시험 항목을 만들었고, 관련 부처로 부터 권한을 얻은 다른 기관은 화학 물질, 농약, 환경 샘플에 대한 안전성 시험을 규정 할 수 있다. 거의 모든 실험실은 여전히 독성 시험을 평가하기 위해 기존의 동물 시험을 사용한다. 중국은 현재 기술적인 준비를 만들기 위해 최선을 다하고 있다. ECVAM에 의해 검증된 여러 대체법은 검증 중에 있고 몇 가지 새로운 방법이 이미 개발되었거나 개발 중에 있다. 현재 중국에서 동물대체시험법의 현재 상태는 아직까지 시작 단계이고 관심이 적고 관련 조직은 갖추어지지 않은 실정이다. 하지만, 중국은 국제적으로 협력하기 위해 브라질과 더불어 2013년부터 적극적으로 ICATM 가입을 추진 중에 있다(Zhengming, 2008, 2014; Eskes and Whelan, 2016).

### 4-3. 중국 동물대체시험법 주요 연구프로젝트

CFDA는 2014년 6월부터 법적으로 필수사항이었던 중국내에서 생산되는 화장품 동물실험 강제조항을 폐지하였다. 이에 따라 중국에서 화장품을 생산하는 기

업들은 자율적으로 안전원료 자료를 이용하거나 EU에 의해 안정성이 입증된 동물대체시험만으로 제품 출시가 가능하게 되었다. 앞서 HSI는 중국 정부관계자와 과학자에게 비동물실험 개발 장려를 위해 Institute for In Vitro Sciences (IIVS)측에 80만 불의 연구비용을 지원한 바 있다. 화장품 관리에 관한 규제 권한을 가진 SFDA는 동물대체시험법에 더 많은 관심을 갖기 시작하여 동물대체시험법의 개발과 적용을 진행하기 위한 몇 가지 작업을 시작했다. 2011년 8월에 SFDA의 건강식품 및 화장품 감독 부문은 ‘화장품 독성에서 동물대체시험법에 대한 시스템 구축’ 프로젝트를 시작했다. 2011년 12월에 3T3 Neutral Red Uptake 광독성 시험법이 식의약품 시험 연구소(NIFDC, BIDC, SZFDC, GDFDC)에서 평가되었다. 이것의 목적은 중국내 다른 연구소에서 시험의 재현성과 적용의 용이성을 검증하기 위해서이다(Zhengming, 2008, 2014; Eskes and Whelan, 2016).

#### 4-4. 중국의 동물대체시험법 현황

중국 정부는 화장품 분야에 동물대체시험법 개발과 적용을 위한 여러 가지 제안을 2010년부터 제시하고 있다. 화장품 표준 시스템 구축을 위한 5년 계획(안)과 화장품 독성 동물대체시험법 연구와 검증 시스템 구축(안)이 있다. ‘화장품 독성 동물대체시험법 연구와 검증 시스템 구축’ 가속화에 관한 가이드라인의 주요 골자는 중국 동물대체시험법 검증센터 구축 촉진(China center for validation of alternative methods; ChCVAM), 동물대체시험법 검증을 위한 기술 시스템 구축 진행, 정보와 데이터 공유 플랫폼 구축, 기술 교육 및 학술 교류 플랫폼 구축, 및 동물대체법 검증을 위한 가이드라인 구축에 있어 기술적 절차와 표준을 작성하는 것이다. 2010년부터 화장품 규제 기관인 CFDA는 화장품 시험을 위해 동물대체시험법의 개발과 적용을 시작했다(Zhengming, 2008, 2014; Eskes and Whelan, 2016). 2020년 말까지 화장품 시험 분야에서 주요 연구실 구축을 목표로 하고 있으며 금지 및 제한 물질, 화장품 완제품과 원자재의 안전 위험 물질 및 포장재의 독성물질을 시험하기 위한 in vitro 시험법과 신속한 검출 기술의 개발에 집중할 것이다. 화장품 안전 보증을 위한 국가 기관으로, SFDA의 자세는 화장품에 규제 시험에서 동물대체시험법의 연구, 검증, 수용과 응용을 증진시키는데 긍정적이다. EPAA 및 다른 국제기관과의 긴밀한 협력 강화를 하고 있으며 국제적 과학 연구 그룹과의 제휴를 통해 동물대체시험법 교육 과정을 관리해오고 있

다. 동물대체시험법의 과학적 연구 프로그램과 국제 검증 활동에 참여하기 시작했고 중국에서 화장품 안전성 평가에 대한 동물대체시험의 개발, 검증, 규제 수용 및 적용을 활성화시키는데 긍정적으로 접근하고 있다. 2013년 국제 조화에 기인하여 2014년 5월 28일에 중국 식품의약품규제연구소(NIFDC)와 인비트로 과학연구소(IIVS)는 MOU를 체결하였고 2014년 10월 베이징에서 화장품 in vitro 시험에 대한 교육을 실시하였다. 이것의 목적은 중국내 식품과 의약품에 관련된 연구소에서 3Rs 적용을 장려하는데 있다. 기술교육의 주요내용은 skin irritation test (TecSkin model test)와 eye irritation test (BCOP, CAMVA)에 관한 교육이다(Zhengming, 2008, 2014; Eskes and Whelan, 2016).

### 5. 브라질의 동물대체시험법에 대한 최신 동향

#### 5-1. 브라질의 동물복지정책

1934년 7월에 ‘동물 학대 방지에 관한 브라질 연방 법령 24,645’가 제정되어 학대와 질병 처치에 대한 동물 보호 조치를 설립했다. 이 연방 법령은 여전히 ‘동물에 대한 폭행이나 학대 행위’를 정의하고 적용되고 있다. 모든 동물은 국가의 보호 아래 있으며 동물의 관심은 검찰 및 민간 동물 보호 단체의 구성원에 의해 보호되며, 공공 소송을 동물을 대신하여 제기 할 수 있는 법령 24.645/34도 설립되었다. 2008년에는 연구와 교육에 있어 동물사용을 규제하는 법률(Law 11,794)이 제정되어 동물실험 규제 국가 위원회(CONCEA, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal)가 설립되었다. CONCEA는 브라질에서 동물대체시험법의 도입을 평가하고 규제한다(Eskes et al., 2009; Filipecki et al., 2011).

#### 5-2. BraCVAM: 브라질동물대체시험법검증센터

동물대체시험법 검증을 위한 브라질 센터(Brazilian Center for the Validation of Alternatives Methods; BraCVAM)는 2011년 9월 11일에 설립되었다. BraCVAM이 창설되자마자 브라질 교육과학혁신부는 BraCVAM과 INMETRO (National Institute of Metrology, Normalization and Industrial Quality; 계측, 정규화 및 산업품질관리소)에 의해 공조되는 동물대체시험법 국립 네트워크 (RENAMA, Rede Nacional de Métodos Alternativos)를 설립하였다. 2013년부터 브라질은 실험과 교육에 대한 동물대체시험법 작업을 위해 ICATM에 가입하는 것을 적극 추진

중에 있다(Araújo et al., 2014; Laquieze et al., 2015).

BraCVAM은 동물대체시험법 개발 및 검증을 주요 업무로 한다. 새로운 동물대체시험법 개발뿐만 아니라 국제 검증 조화, 시험과정의 제안과 평가, 연구로 얻은 결과의 분석과 평가를 담당한다. 새로운 동물시험 대체법 개발과 개발된 방법의 검증 연구 참여를 위해 다른 3Rs 센터와 상호 교류한다. 또한, 검증 작업을 위해 브라질 내 동물시험대체법 전문 연구실과 교류하고 대외적으로 다른 나라와 상호 교류한다. 동물대체 시험법에 관련된 기술과정, 물질, 천연재료, 완제품 및 다른 요소의 데이터베이스를 구축하고, 연구 진행에 관한 리포트 출판하는 등 관련 규제 기관, 산업계, 학계 및 다른 기관에서 회의, 학술 대회, 워크숍 혹은 과학적 정보 배포를 장려한다(Araújo et al., 2014; Laquieze et al., 2015).

### 5-3. 브라질 동물대체시험법 주요 연구프로젝트

#### 1) RENAMA

동물대체시험법 전국 네트워크(RENAMA, Rede Nacional de Métodos Alternativos; <http://renama.org.br>)는 최근 과학기술혁신부(Ministério de ciência, Tecnologia e inovação: MCTI)에 의해 2012년 3월 7일에 공포된 법령 No. 491 따라 설립 되었다. 브라질에서 RENAMA의 설립은 동물대체시험법을 실시하고 새로운 방법을 개발·검증하기 위해 전문 연구실 인프라와 인적 자원의 구축을 허락함으로써 3Rs 원리를 장려하고 선호하는 국제 흐름에 따른다. RENAMA는 GLP의 원리가 적용된 OECD가 권장하는 방법을 실험실 네트워크를 통해 제공하여 RENAMA는 생산 부문에 제공되는 서비스의 질과 국제 경쟁력 증가를 보장하는데 기여한다.

RENAMA의 최종 목표는 필요한 방법에 있어 지원과 기술 교육을 통한 동물대체시험법의 배포 장려, 정기적으로 연구소간 비교를 통해 관련 기관의 연구 수행 모니터, 화학 및 생물학적 인증 표준을 적용할 수 있는 재료의 개발을 통해 임상 시험의 품질 향상, 고품질 연구실 시스템의 구현 및 GLP 장려 및 새로운 동물대체시험법 개발, 검증 및 인증을 장려하는 것이다. RENAMA는 중앙 연구소와 관련연구소의 두 범주로 구성되어진다. 중앙연구소는 계측 기술 및 품질 국립 연구소 (INMETRO), 보건 관리 국립 연구소 (INCQS) 및 국립 생명 과학 연구소 (LNBio)로 구성된다. LNBio는 MCTI 국립 연구소와 관리 계약에 따라 운영하는 사회 조직인 CNPEM (<http://www.cnpem>,

br) 중 하나로 운영된다. LNBio는 구조 생물학, 분자 세포 유전학, 단백질체학, 대사체학, 전사조절체학, 작동, 분자 세포 유전체학, 단백질체학, 대사체학, 전사조절체학, 유전자 결여 및 형질 전환 마우스 모델 및 생명 공학 분야에서 운영된다. 생물학적 검증 연구소 생물 정보학 연구소, 계측 변이 연구소, DNA 마이크로 어레이 연구소, 질량 분석 연구소, 핵자기 공명 연구소가 있다. 중앙연구소 외에도 동물대체시험법 적용과 개발 분야에서 잘 알려진 개인이나 공공의 RENAMA 관련 연구소는 동물대체시험법의 보급과 개발에 기여하는 일을 수행하고 동물대체시험법의 인프라를 제공한다. 동물대체시험법을 수행하거나 수행하려고 하는 RENAMA에 관심을 갖는 국가 연구소는 양식 등록절차를 통해 참여할 수 있다. 능력 시험과 연구소간 비교는 특정 시험법에 개별 연구소의 수행을 평가 혹은 연구소의 연구 진행 과정을 평가하고 감시하는 것과 같은 다양한 목적으로 사용될 수 있다. 시험법이나 측정방법의 효과검증과 비교가능성을 확립할 수 있고 연구소에서 문제점을 찾아내고 시정 조치할 수 있다. 연구소의 고객에 확고한 신뢰를 제공하고 비교시험의 결과에 기반 하여 참여 연구실의 연구원을 교육할 수 있다. 능력시험과 연구소간 비교시험 프로그램에 참여는 그들이 생산하는 데이터의 신뢰성을 평가하고 증명하는 방법을 참여자에게 제공한다. INMETRO (CGCRE)의 데이터에 따라서 GLP 인증을 받기위해 물질의 변이원성과 독성 평가에 있어 동물 사용을 하는 연구소는 크게 줄어들 것이다. 이런 시나리오에서, 연구소 능력 시험에 초점을 맞추는 RENAMA에 대한 연구실간 비교의 구조화는 (1) 국가 전체에 동물대체시험법을 보급을 평가하고 감시하기 위한 전략이고 (2) CGRE / INMETRO에 의한 GLP 인증을 장려하는 전략이다(Eskes et al., 2009; Filipecki et al., 2011; Araújo et al., 2014; Laquieze et al., 2015).

#### 5-4. 브라질 동물대체 시험법 현황

현재 브라질에서의 동물대체시험법 수용은 3단계로 이루어진다. OECD 가입국 34개국으로부터 GLP로 검증된 동물대체시험법은 BraCVAM에 의해 도입된다. 도입된 동물대체시험법은 연구소 네트워크 (RENAMA)를 통해 전국 연구소에서 검증·평가된다. 연구소간 비교평가에 의한 동물대체시험법 수행 결과는 동물시험 규제 국가 위원회 (CONCEA)의 최종 결정에 따른다(Araújo et al., 2014; Laquieze et al., 2015).

2014년 1월에 브라질 상파울루주에서 동물보호 운동가들의 시위에 영향을 받아 화장품 동물실험 금지 법

안이 통과되었다. 이 법안의 주요 골자는 화장품과 향수 개발 시 동물실험을 금지하는 내용이다. 규정을 어기고 동물실험을 한 기업이나 연구소는 43만 5천 달러의 벌금을 부과 받는다. 규정을 다시 위반할 경우에는 두 배의 벌금이 부과되고 일시적이거나 영구적으로 운영 정지 조치를 당할 수 있다. 또한, 개인 전문가들이 동물실험을 할 경우에도 벌금형에 처해진다. 브라질에서 과학 연구를 위한 동물실험은 여전히 합법적이지만 국제 기준을 준수해야 한다(Araújo et al., 2014; Laquieze et al., 2015).

2014년 8월 21에 ANVISA 위원회(DICOL)는 위생 감시에 따른 등록과 규제 제품 및 서비스 대상에 대한 청원에서 검증된 17개 동물대체시험법 수용을 결정하였다. 이와 같은 결정은 정식기구 설립을 요청하는 동물실험제어 국가위원회(CONCEA)에 의해 좌우되었다. 국제적으로 옹호하는 3Rs의 윤리원칙을 참고해서 동물 사용의 감소, 개선, 및 대체에 기여하고 있다. 몇 개월 동안 기관의 모든 영역에서 경제 협력 개발기구(OECD)에 의해 검증된 동물대체시험법을 평가하였고 ANVISA의 CONCEA에 의해 제안되었다. 이 분석의 통합안은 17개 제안된 대체법의 승인을 결정하는 DICOL에 제출 하였다. 이들 중 두가지 방법(OECD GD 129와 OECD TG 487)은 각각 건강 제품의 일반 관리(GGTPS) 및 식품의 일반 관리(GGALI)에 의해 검토 중에 있다. 이 두 관리자는 역량에 따라 서비스 및 제품에 있어 이러한 두 가지 방법의 적용 가능성과 한계를 평가하고 있다. ANVISA는 INCQS-Fiocruz와 연계되는 BraCVAM 설립과 그들의 대체법의 국가적 네트워크(RENAMA)에서 효과적인 참여에 대한 지원과 같은 대체 방법을 장려하고 개발하기 위한 기타 조치를 채택했다(Laquieze et al., 2015). 아울러 브라질 정부는 과학기술개발을 위한 국가위원회(CNPq), 과학기술혁신부(MCTI) 및 복지부 간 협력에 따라 동물대체시험법 개발을 촉진하기 위해 1,580,000 파운드의 예산을 승인했다. 브라질은 실험실에서 실험동물의 사용을 대체하거나 줄이기 위한 시도로 동물대체시험법 개발을 지원하고 있다.

### III. 결 론

생명을 위협하는 질병의 치료가 아닌 생명현상 유지에 필수적이 요소가 아닌 인간의 아름다움을 위해 다른 동물이 희생되어서는 안 된다는 공감대가 형성되었기 때문에 동물대체시험이 가장 활성화된 분야는 현재로써는 화장품 관련 산업이다. 화장품 관련 산업에 대

한 동물대체 시험법 개발과 적용을 위한 노력의 일환으로 최근에는 확립된 동물대체시험법 외에도 줄기세포 등을 중심으로 사람세포를 대체하거나 컴퓨터 시뮬레이션으로 대체하는 방법 등이 활발하게 논의되고 있다. 분자 세포생물학을 기반으로 하는 다양한 형태의 동물대체시험법의 개발이 시도되고 있으며 따라서 동물대체시험법 분야에서 국제사회에 선두그룹으로 나가기 위해서는 이런 다양한 연구 분야들에서 미래발전을 위한 적극적 투자도 동시에 뒤따라야 한다(Bouhifd et al., 2012).

우리나라에서도 세계적인 흐름에 따라 동물실험을 거쳐 제조된化妆품을 유통 판매할 수 없도록 한 화장품법 개정안이 국회에서 의결되었으며 일정기간의 유예기간을 거쳐 시행될 예정이다. 화장품 분야의 동물실험 금지는 세계적인 추세이지만, 아직까지 동물대체시험법의 의약 분야로의 확장은 가야할 길이 멀다. 이는 동물실험을 거치지 않고서는 새로운 약물의 안전성 및 유효성을 검증하기 어렵기 때문이다. 그러나 의약 분야에서도 조금씩 기술적 대안이 나오고 있는 상황이고 동물실험을 대체하기 위한 사회적 요구는 높아져갈 것을 예상된다. 따라서 동물실험을 대체하는 목적을 달성하기 위해서 많은 관심과 투자가 뒤따라야 할 것이다.

### 감사의 글

본 연구는 2014년도 식품의약품안전평가원의 연구개발비(14182대체법731)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 우병준, 한국농촌경제연구원, EU 동물복지정책 동향, 세계 농업, 제163호 PP. 47 - 62 (2014)
- Andersen ME, Al-Zoughool M, Croteau M, Westphal M, Krewski D (2010) The future of toxicity testing. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, Critical Reviews*, 13(2-4):163-196.
- Araújo GLD, Campos MAA., Valente MAS, Silva SCT, França FD, Chaves MM, Tagliati CA (2014) Alternative methods in toxicity testing: the current approach, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(1):55-62.
- Attene-Ramos MS, Miller N, Huang R, Michael S, Itkin M, Kavlock RJ, Austin CP, Shinn P, Simeonov A, Tice RR, Xia M (2013) The Tox21 robotic platform for the assessment of environmental chemicals-from vision to reality. *Drug Discov Today*, 18(15-16):716-723.
- AXLR8 (2013) The AXLR8 Project: Final Report & Recommendations. AXLR8 Consortium pp. 1-19

- Bergman RK, Milner KC, Munoz JJ (1977) New test for endotoxin potency based upon histamine sensitization in mice. *Infection Immunity*, 18(2):352-355.
- Bouhifd M, Bories G, Casado J, Coecke S, Norlén H, Parissis H, Rodrigues RM, Whelan MP (2012) Automation of an in vitro cytotoxicity assay used to estimate starting doses in acute oral systemic toxicity tests, *Food and Chemical Toxicology*, 50(6):2084-2096.
- Commission of European Communities (2008) Council Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). *Official Journal of the European Union*. L142:1-739
- Committee on Toxicity Testing and Assessment of Environmental Agents, National Research Council (2007) *Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy*. National Academy of Sciences, Washington, DC. ISBN: 978-0-309-10988-8.
- Coordination of projects on new approaches to replace current repeated dose systemic toxicity testing of cosmetics and chemicals' (COACH) (2014) SEURAT-1. Towards the Replacement of in vivo repeated Dose Systemic Toxicity Testing. Volume 4. COACH consortium PP 1-396
- Council of Europe (1986) European Treaty Series - No. 123 : European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, Strasbourg, 18.III.1986  
<https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/convention/s/rms/090000168007a67b>
- Council of Europe (1986) European Treaty Series - No. 123, European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, Strasbourg, 18.III.1986.
- Council of Europe (1998) European Treaty Series - No. 170, Protocol of amendment to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes, Strasbourg, 22.VI.1998.
- Council of European Communities (1986) COUNCIL DIRECTIVE of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes (86/609/EEC). *Official Journal of the European Union*. L358:1-28.
- Dix DJ, Houck KA, Martin MT, Richard AM, Setzer RW, Kavlock RJ (2007) The ToxCast program for prioritizing toxicity testing of environmental chemicals. *Toxicological Sciences*, 95(1):5-12.
- Eskes C, Sá-Rocha VM, Nunes J, Presgrave O, de Carvalho D, Masson P, Rivera E, Coecke S, Kreysa J, Hartung T. (2009) Proposal for a Brazilian centre on alternative test methods, *Altex*, 26(4):303-306.
- Eskes C, Whelan M (2016) Validation of Alternative Methods for Toxicity Testing, *Advances in experimental medicine and biology*, (ISSN 2214-8019, 856).
- EURL ECVAM (2016) European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/about-ecvam>)
- EUROECOTOX (2014), EUROECOTOX NEWSLETTER, No. 6. 20 Feb 2014, (<https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZXVyb2Vjb3RveC5ldXxuZXR3b3JrZXVyb2Vjb3RveHxneDoxN2M5ZGZhMDY0OWJiN2M>)
- European Commission (2009) Regulation No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. *Official Journal of the European Union*. L309:1-47.
- European Commission (2006) Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). *Official Journal of the European Communities* L396:1-849
- European Commission (2008) Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. *Official Journal of the European Union*. L353:1-1355
- European Commission (2009) Regulation No 1223/2009 of the European Parliament and the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. *Official Journal of the European Union*. L342:59-209
- European Commission (2010) Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union* L276:33-79.
- European Commission (2012) Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. *Official Journal of the European Union*. L167:1-116
- European Union (2012) CONSOLIDATED VERSION OF THE TREATY ON THE FUNCTIONING OF THE EUROPEAN UNION, *Official Journal of the European Union* 326(47):1-154
- European Union (2012) CONSOLIDATED VERSION OF THE TREATY ON THE FUNCTIONING OF THE EUROPEAN UNION (TFEU). *Official Journal of the European Communities* C326:47-390.
- Eurostat (2007) European commission Eurostat ([ec.europa.eu/eurostat](http://ec.europa.eu/eurostat))
- Filipecki ATP, Machado CJS, Valle S, de Oliveira TM (2011) The Brazilian legal framework on the scientific use of animals, *ILAR Journal*, 52(1):E8-E15.
- Food Policy Evaluation Consortium (FPEC) (2010), Final Report: Evaluation of the EU Policy on Animal Welfare and Possible Policy Options for the Future. *Food Policy Evaluation Consortium J7296*. PP 1-19 (2010)
- Isbrucker R, Arciniega J, McFarland R, Chapsal J, Xing D, Bache C, Nelson S, Costanzo A, Hoonakker M, Castiaux A, Halder M, Casey W, Johnson N, Jones B, Doelling

- V, Sprankle C, Rinckel L, Stokes W (2014) Report on the international workshop on alternatives to the murine histamine sensitization test (HIST) for acellular pertussis vaccines: state of the science and the path forward. *Biologicals*, 42(2):114-122.
- Judson RS, Houck KA, Kavlock RJ, Knudsen TB, Martin MT, Mortensen HM, Rief DM, Rotroff DM, Shah I, Richard AM, Dix DJ (2010) In vitro screening of environmental chemicals for targeted testing prioritization: the ToxCast project. *Environmental Health Perspectives*, 118(4):485-492.
- Judson RS, Kavlock RJ, Setzer RW, Hubal EAC, Martin MT, Knudsen TB, Houck KA, Thomas RS, Wetmore BA, Dix DJ (2011) Estimating toxicity-related biological pathway altering doses for high-throughput chemical risk assessment. *Chemical Research Toxicology*, 18;24(4):451-462.
- Judson R, Houck K, Martin M, Knudsen T, Thomas RS, Sipes N, Shah I, Wambaugh J, Crofton K (2014) In vitro and modelling approaches to risk assessment from the U.S. Environmental Protection Agency ToxCast programme. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 115(1):69-76.
- Katsarova I (2013) Animal welfare protection in the EU, Library Briefing, Library of the European Parliament, pp. 1-6
- Kavlock R, Chandler K, Houck K, Hunter S, Judson R, Kleinstreuer N, Knudsen T, Martin M, Padilla S, Rief D, Richard A, Rotroff D, Sipes N, Dix D (2012) Update on EPA's ToxCast program: providing high throughput decision support tools for chemical risk management. *Chemical Research Toxicology*, 16;25(7):1287-1302.
- Kojima H. (2007) JaCVAM: An organization supporting the validation and peer review of new alternatives to animal testing, *AATEX*, 14(Spec. Issue):483-485.
- Kojima H. (2013) Update from the Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM), *ATLA*, 41:435-441.
- Laquize L, Lorencini M, Granjeiro JM. (2015) Alternative Methods to Animal Testing and Cosmetic Safety: An Update on Regulations and Ethical Considerations in Brazil, *Applied In Vitro Toxicology*, 1(4):243-253.
- Louhimies S (2002) Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes, *ATLA* 30(Supp.2):217-219
- Martin MT, Knudsen TB, Rief DB, Houck KA, Judson RS, Kavlock RJ, Dix DJ (2011) Predictive model of rat reproductive toxicity from ToxCast high throughput screening. *Biology of Reproduction*, 85(2):327-339.
- Ohno Y. (2005) Significance of Japanese Center for the validation of alternative methods (JaCVAM) Establishment, *AATEX*, 11(1):1-3.
- Rief DM, Martin MT, Tan SW, Houck KA, Judson RS, Richard AM, Knudsen TB, Dix DJ, Kavlock RJ (2010) Endocrine profiling and prioritization of environmental chemicals using ToxCast data. *Environmental Health Perspectives*, 118(12):1714-1720.
- Regulation (EC) No 1907/2006., The consolidated version of the Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) incorporates all of the amendments and corrigenda to REACH until the date marked in the first page of the regulation (<https://echa.europa.eu/home>).
- Russell W and Burch R (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. London UK : Methu.
- Seligmann Jr EB (1973) Laboratory techniques in rabies: the NIH test for potency. Monograph series. World Health Organization, (23):279-286.
- Shah I, Houck K, Judson RS, Kavlock RJ, Martin MT, Rief DM, Wambaugh J, Dix DJ (2011) Using nuclear receptor activity to stratify hepatocarcinogens. *PLoS One*, 14;6(2):e14584.
- Stokes W, McFarland R, Kulpa-Eddy J, Gatewood D, Levis R, Halder M, Pulle G, Kojima H, Casey W, Gaydamaka A, Miller T, Brown K, Lewis C, Chapsal J, Bruckner L, Gairola S, Kamphuis E, Rupperecht CE, Wunderli P, McElhinney L, De Mattia F, Gamoh K, Hill R, Reed D, Doelling V, Johnson N, Allen D, Rinckel L, Jones B (2012) Report on the international workshop on alternative methods for human and veterinary rabies vaccine testing: state of the science and planning the way forward. *Biologicals*, 40(5):369-381
- Stokes W, Srinivas G, McFarland R, Kulpa-Eddy J, Casey W, Walker A, Draayer H, Sebring R, Brown K, Balks E, Stirling C, Klaasen E, Hill R, Rippe B, Ruby K, Alt D, Mukhopadhyay S, Kojima H, Johnson N, Rinckel L, Doelling V, et al. (2013) Report on the international workshop on alternative methods for *Leptospira* vaccine potency testing: state of the science and the way forward. *Biologicals*, 41(5):279-294.
- The Council of European Union (1999) 1999/575/EC: Council Decision of 23 March 1998 concerning the conclusion by the Community of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, *Official Journal of the European Union L222:29-30* (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1477461318509&uri=CELEX:31999D0575>)
- The Council of European Union (2003) 2003/584/EC: Council Decision of 22 July 2003 concerning the conclusion of the Protocol of Amendment to the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, *Official Journal of the European Union L198:10-12* (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1477461508417&uri=CELEX:32003D0584>)
- The European Commission (2012) 2012/707/EU: Commission Implementing Decision of 14 November 2012 establishing a common format for the submission of the information pursuant to Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union L320/33* (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32012D0707&qid=1423682004350>)
- The European Commission (2014) 2014/11/EU: Commission Implementing Decision of 20 December 2013 correcting

Annex II to Implementing Decision 2012/707/EU establishing a common format for the submission of the information pursuant to Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes (notified under document C(2013) 9220) Text with EEA relevance Official Journal of the European Union L10/18 (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32014D0011>)

Vapnek J and Chapman M (2011) Legislative and regulatory

options for animal welfare, FAO LEGISLATIVE STUDY 104, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO), Rome, Italy

Zhengming H (2008) Alternative methods for animal tests in the quality control of biological products in China, AATEX, 14(Spec. Issue):591-593.

Zhengming H (2014) Future Perspectives for Alternatives to Animal Testing in China. the 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences.