



2021년 연구보고서

반복투여독성시험 대체시험법 적합성 연구

OSHRI

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



연구보고서

반복투여독성시험 대체시험법 적합성 연구

서동석·조지민

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



요약문

- 연구기간 2021년 01월 ~ 2021년 11월
- 핵심단어 Organ - On - A - Chip, Microfluidic, 미세유체, 반복독성
- 연구과제명 반복투여독성시험 대체시험법 적합성 연구

1. 연구배경

전통적으로 독성시험은 주로 실험동물을 사용하는 것을 기반으로 하고 있다. 그러나 이러한 접근방법은 처리량이 낮고, 비경제적이며, 종간 차이로 인한 해석에 많은 어려움이 있다. 따라서 부적절한 독성시험은 많은 화학물질을 평가하는 데 제한적으로 사용되고 있다. 현재는 분자 생물학 및 컴퓨터 과학의 기술 발전으로 in vitro 생화학 및 세포 기반 분석과 비설치류 동물 모델을 독성시험에 사용할 수 있다고 판단하고 있다. 이러한 분석방법들은 적은 비용으로 많은 양을 처리할 수 있도록 한다. 일부 분석 방법들은 수천 개의 화학물질을 몇 일내에 동시에 시험할 수 있다. 현재는 질병 특이적이고, 메커니즘 기반이고, 생물학적 관찰을 광범위하게 포함하여 예측독성의 분야로 상당한 진전을 이루고 있으나 상대적으로 반복투여독성 평가에 대해서는 덜 발전하였다.

최근에는 미세 유체를 정밀하게 조작하고 처리하는 과학적 기술인 Microfluidics가 전 세계적으로 활발히 연구되고 있고, 상당한 발전을 이루었으며 상업화되어 있다. 일반적으로 수십에서 수백 마이크론 크기의 채널을 사용하여 미세유체를 정밀하게 제어하는 데 사용되며 “Lab - On - A - Chip”이라고도 한다.^{1,2,3,4)} Microfluidics는 샘플 준비, 반응, 분리, 검출 및 세포 배양, 분류 및 세포 용해와 같은 작동 단위를 통합하고 있다.⁵⁾ 이러한 이유로

인하여 Organ - On - A - Chips(OOAC)에 대한 관심이 증가되었다.⁶⁾ OOAC는 다양한 화학, 생물학 및 재료 과학 분야를 결합하고 있어⁷⁾ 세계 경제 포럼에서 "10대 신흥기술"중 하나로 선정되어 있으며,⁸⁾ OOAC는 실험동물 모델의 미래 대체 기술로 제안되었다.⁹⁾

따라서, 본 연구는 반복투여독성시험을 대체하기 위하여 OOAC 기술의 최근 발전상황을 조사하여 세포 생물학적 평가에 대한 미래 관점을 논의함으로 산업독성 연구에 적용 가능성을 평가하여 반복투여독성시험 대체시험법에 대한 적합성을 검토하였다.

2. 주요 연구내용

○ 관련규정

- 산업안전보건법
- 화학물질 분류 및 표지에 관한 세계조화시스템(GHS)
- 유럽 신화학물질관리 제도(REACH)
- CLP(Classification, Labelling, Packaging) 규정

○ 반복투여독성 정의

반복투여독성연구의 목표는 시험 중에 일정 기간 물질을 반복적으로 노출할 때 발생하는 독성의 영향을 특성화하는 것으로 독성의 일반적인 특성, 특정 표적 장기에 대한 독성, 용량 - 반응 관계, 유기체에서 생성된 독성 대사산물에 대한 반응, 지연 반응, 누적된 영향 및 그 영향의 가역성/비가역성에 대한 정보를 생산한다. 반복투여독성 연구로부터는 NOAEL 또는 LOAEL을 산출할 수 있다.

○ 화학물질 노출 시 독성영향

- 화학물질 노출 후 나타나는 독성영향의 형태
- 독성 발현에 영향을 주는 인자

○ 화학물질 노출 후 각 장기에서 나타나는 독성의 형태

- 혈액 및 심혈관/심장 독성
- 진피(dermal) 독성
- 후성유전학적 변형(Epigenetic Alterations)
- 눈 독성
- 간 독성
- 면역 독성
- 신장 독성
- 신경 독성
- 생식 독성
- 흡입 독성

○ 전신에 나타나는 독성 영향

- 전신독성 영향 형태
- 급성 독성
- 아만성 독성
- 만성 독성
- 발암성

- 발달 독성
- 유전 독성

○ 위해성 평가(Risk Assessment)

- 유해성 확인(Hazard Identification)
- 용량 - 반응 평가(Dose - Response Assessment)
- 노출평가(Exposure Assessment)
- 위해성 특성화(Risk Characterization)

○ In vitro 반복투여전신독성시험의 최신 상황

EPAA(European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing)는 2019년 Blue Sky 워크숍에서 반복투여독성시험을 평가하기 위한 동물을 사용하지 않는 새로운 접근 방식은 우리가 올바른 길로 가고 있음을 인정했다. 이전의 EPAA 워크숍과 기타 이니셔티브(예: SEURAT - 1, LRSS, EU - ToxRisk)는 차세대 안전성 평가를 개발하기 위해 분자 및 컴퓨터 방법으로 과거 독성시험 자료를 기반으로 Read - Across를 포함하여 독성에 대한 기존의 지식을 인정하고 활용했다. 현재 많은 연구자들은 모든 새로운 접근 방법들을 사용함으로써 독성 및 위해성 평가의 문제를 해결할 수 있다고 한다. 그러나 새로운 접근 방식을 사용하려면 기술 및 자료 분석의 문제를 체계적으로 이해하고 해결해야 한다. 표적 검사에서부터 비표적 종합 검사에 이르기까지 가능한 모든 독성학적 작용 유형에서 실현하기 위한 광범위한 도구와 수단이 필요하다. 현재 그룹화 및 Read - Across는 많은 맥락에서 의존적으로 생물학적(기능적) 및 노출 정보를 포함하도록 추가적으로 개발될 수 있다. 초기에 접근방법인 Read - Across 및 in silico가 충분하지 않을 때

적용될 수 있지만 훨씬 더 많은 작업이 필요하다. 이는 궁극적으로 통합 시스템의 모델링과 주로 in vivo 자료에 기반 한 결정에서 인간의 지식 기반 결정으로의 전환으로 이어질 것이다. 지식과 도구의 진화뿐 아니라 적용, 이해 및 보급의 혁신을 통해 개선이 이루어질 것이다. 이에 대한 핵심은 새로운 접근 방식이 투명하고(기전 기반), 재현 가능하고, 접근 가능하고(데이터 공유의 모든 측면을 권장) 원하는 보호 목표에 부합하도록 하는 것이다. 또한, 규제 기관과 협력하여 적절한 문제를 제시하고, 현재 규정의 변환 및 계층적 전략의 대안을 실현하기 위하여 추가적인 자료 및 정보를 포함하여 신뢰를 구축하는 것이 중요할 것으로 판단한다. 이는 사례 연구의 사용을 통해 가능해질 수 있고 자신감을 높이고 화학물질의 위해성 평가에 대한 적용을 가속화할 것으로 기대하고 있다.

○ 미세 유체 시스템을 기반의 Organ - On - A - Chips

Microfluidic chip은 Organ - On - A - Chip(OOAC) 개발에 중요한 지원을 제공한다. 이것의 개발은 전 세계적으로 관심을 끌고 있으며 큰 과학적 진보가 이루어졌다. 현재 많은 OOAC가 설계되고 제조되어 있으며, 인체를 모방하기 위하여 각 장기의 배열이 연구되고 있다. OOAC의 최종 목표는 수많은 기관을 단일 칩에 통합하고 더 복잡한 다중 기관 칩 모델을 구축하여 "Human - On - A - Chip"을 만드는 것이다.

OOAC 기술은 빠르게 발전하고 있으며 많은 발전을 이루었지만 Human - On - A - Chip 이론을 달성하기에는 아직 더 많은 발전이 요구되고 있다. Polydimethylsiloxane(PDMS)는 가장 널리 사용되는 재료이지만 결과적으로 필름이 생체내 형태보다 두껍기 때문에 단점이 존재한다. 소수성의 작은 분자의 흡광도가 감소하면 용매의 영향과 독성에 영향을 준다. 따라서 적절한 대체 재료를 찾는 것이 필요하다. 현재는 제조 및 실험수행 비용이 상대적으로 비싸서 OOAC의 광범위한 사용에 도움이 되지 않으므로 구성 요소는

경제적이고 폐기가 쉬워야한다. 그리고 비싼 부품은 재사용이 가능해야 한다. 통합 시스템 구성 요소의 경우 일반적인 사용을 위해 배지의 량과 커넥터 크기를 줄여야한다. 칩으로부터 샘플을 수집하면 작동을 방해하여 다양한 대사 산물의 농도가 변경 될 수 있어서 더 적합한 센서가 필요하다. 모든 장기에 적합한 범용 세포 배양 배지도 요구된다. 가장 중요한 것은 장기 칩 수가 증가할 수록 기능이 더욱 복잡해지고 생성된 자료는 인공적이며 해석의 어려움이 따른다. 이러한 것은 현재는 해결할 수 없으며, 장기간의 반복 투여 또는 온 칩 연구의 경우, *in vitro*에서 확인된 바이오 마커가 생체내 동등성을 완전히 반영하지 못할 수 있으나 OOAC가 발전하는 상황을 보면 이러한 문제들은 빠른 시일 내에 해결되어 사람의 인체를 거의 유사하게 모방할 수 있을 것으로 생각한다.

3. 결론

본 연구는 현재의 과학기술의 발전으로 반복투여독성시험을 대체할 할 수 있는 가장 가능성 있는 기술로 Organ - On - A - Chips 기술에 대해 조사한 연구이다. 새로운 기술인 Organ - On - A - Chips은 사람의 조직, 장기 및 생체 내의 역동적인 생물학적인 특성을 모방하는 미세공학적 사람 세포 기반 시스템이다. 현재 Organ - On - A - Chips은 다양한 사람의 장기 구조와 기능을 모델이 설계되어 최대 12개 장기를 서로 연결할 수 있다. 서로 연결된 모델을 이용하여 신약, 백신, 화학물질 등에 대한 효능 및 안전성에 대해 평가하고 있다.

현재 사용되고 있는 2차원 단층세포는 생체조직의 구조, 기능, 기계적 특성을 정확히 반영하지 못하고 있으며, 체내의 고도로 복잡하고 역동적인 3차원 환경을 재현하지 못한다. 그러나, 미세유체 기술 기반의 Organ - On - A - Chip은 인간 장기의 복잡한 구조, 미세 환경 및 생리적 기능을 모방할 수 있으므로 신약 스크리닝 및 독성 평가에 이상적인 도구가 될 수 있다고 생각한다.

Organ - On - A - Chip은 미세 유체 기술의 소형화, 통합 및 경제적인 특성을 가질 뿐만 아니라 화학적 농도 구배 및 유체 전단력과 같은 여러 시스템 매개변수를 정확하게 제어할 수 있으며 세포 그래픽 배양을 구축하고 실현할 수 있다. 조직과 조직 및 기관과 기관 간의 상호 작용을 통해 인간 기관의 복잡한 구조, 미세 환경 및 생리 기능을 진정으로 모방한다. 아직까지는 사용이 글로벌 제약회사 위주로 제한적이나 간 칩, 폐 칩, 장 칩, 혈관 칩, 심장 칩 및 다기관 칩을 포함하여 미세 유체 칩에서 다양한 인간 장기를 모사하여 상업화되어 있으며 관련 연구 또한 증가하고 있다.

Organ - On - A - Chip 기술의 진정한 장점은 여러 칩을 서로 연결한 Body - On - A - Chip에 있다. 이것은 과학발전에 있어 혁명과도 같으며 제약산업, 화장품, 화학물질의 안정성 평가, 생화학 테러, 방사선 노출에 따른 영향을 조사하기 위해 사용 할 수 있으며, 코로나 바이러스와 같은 위험한 질병 연구에 도움을 줄 수 있다. 또한 이러한 Body - On - A - Chip은 반복투여 독성시험 목표와 같은 특정 장기에 나타는 영향 평가에 예측력을 높일 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 용량 반응 평가에는 아직 부족할 것으로 판단되어 Body - On - A - Chip으로 부터의 자료 결과로만으로는 일대일로 반복투여독성시험을 대체하기에는 어려움 있을 것으로 판단된다.

현재는 Body - On - A - Chip의 연구는 칩속에 줄기세포를 이용한 3차원 조직을 구성하기 위하여 활발히 연구가 진행되고 있다. 이는 미래에는 개인 맞춤형 칩으로 연결되며 각 개인에 예상치 못한 반응 예측에 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

4. 연구 활용방안

현재 산업화학연구실에서는 산업 화학물질의 유해성을 확인하기 위해 많은 동물을 사용하는 시험을 수행하고 있다. 이러한 동물을 이용한 연구는 비경제

적이며 동물을 다루는 연구자들에게도 많은 스트레스를 가중시키고 있으며, 종간 차이로 인하여 사람과의 관련성에 대해 많은 의문이 제기되고 있으며, 그 해석에 많은 어려움이 있다. 현재 세계적으로 동물을 이용하지 않는 분위기이며, 점차 동물 사용을 줄이고 독성 기전적 연구 방향으로 변화하고 있는 추세이다.

산업독성 연구에서 독성을 확인하고 그 독성을 특성화하기는 상당히 어려운 도전과제이다. 더욱이 미래에는 우리가 직면한 새로운 위험의 영향에 대해서는 산업안전보건의 큰 도전이다. 더욱이 코로나 시대에 많은 노동환경 변화로 인한 산업재해와 원인을 규명하기에는 더욱 어려워 질것으로 판단된다. 그러므로 특히 산업독성연구에 이러한 미세유체 시스템 기반의 Organ - On - A - Chip의 활용은 산업화학 물질의 유해성을 확인하는 데 있어 예측력을 높이는데 도움이 될 수 있다. 또한 이러한 유해성 확인을 고처리량으로 처리 할 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 이러한 Organ - On - A - Chip에 대한 활용을 위해서는 먼저 연구자들이 적극적인 관심과 많은 이해가 요구된다.

5. 연락처

- 연구책임자 : 산업안전보건연구원 산업화학연구실 연구위원 서동석
 - ☎ 042) 869. 8514
 - E - mail seods@kosha.or.kr

목 차

I. 서론	1
1. 배경	3
2. In vitro 반복투여독성시험 구현을 위한 문제점	5
3. 미세유체 시스템	5
II. 연구내용	9
1. 관련법규	11
2. 반복투여독성의 정의	23
3. 독성영향	25
4. 장기별 독성 영향	32
5. 전신 독성 영향	36
6. 위해성 평가(Risk Assessment)	40

목 차

7. In vitro 반복투여전신독성시험의 최신 상황	57
8. 미세 유체 시스템	58

III. Organ - On - A - Chips 59

1. Organ - On - A - Chip 설계 개념 및 주요 구성요소	61
2. Organ - On - A - Chip 기술	64
3. Organ - On - A - Chip 유형	77
1) Creative Biolabs	77
2) Emulate	83
3) ELVEFLOW	91
4) MINETAS	98
5) uFluidix	102
6) Tissue Dynamics	106

7) Altis Biosystems	107
8) Bi/ond.	112
9) Netri	115
10) Hesperos	120
IV. 결론	125
참고문헌	131
Abstract	153

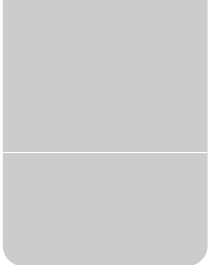


표 목차

〈표 II - 1〉 특정표적장기독성 - 1회 노출 기준값 범위	15
〈표 II - 2〉 특정표적장기독성 - 반복 노출 기준값 범위	18
〈표 II - 3〉 흡인독성의 유해성 구분	19
〈표 II - 4〉 반복투여독성시험 지침	25
〈표 II - 5〉 독성기전과 표적기관에 따른 급성 및 만성 독성의 례	28
〈표 II - 6〉 발암성 물질의 분류	45
〈표 II - 7〉 다양한 암평가 모델에 의한 식수내 chlordane 농도의 추정	47
〈표 II - 8〉 ADI 또는 RfD 유도를 위해 사용된 불확실성/안전 인자	49

그림목차

[그림 II - 1] 산업독성의 유해성 평가	40
[그림 II - 2] Linearized Multistage Model	46
[그림 II - 3] 비발암성 영향에 대한 용량 - 반응 그래프	49
[그림 II - 4] 벤치마크 용량	51
[그림 II - 5] 노출평가 과정	54
[그림 III - 1] DLM 기반 간 종양 칩 개략도	65
[그림 III - 2] 폐 칩 개략도	66
[그림 III - 3] 신장 여과를 모방한 다층 미세유체 시스템	68
[그림 III - 4] 심장 기관 플랫폼	70
[그림 III - 5] 장 칩	71
[그림 III - 6] 다중 장기 칩 시스템	73
[그림 III - 7] 장기 칩 장치의 조직 소스	75
[그림 III - 8] 줄기세포 연구의 미래 동향	76
[그림 III - 9] Microengineered organs - on - chips	79
[그림 III - 10] Improving microfluidics - based immunoassay by employing advanced materials and techniques	81
[그림 III - 11] inCHIPit™ 사진	113
[그림 III - 12] comPLATE™ 사진	114

I. 서론

.....

I. 서론

1. 배경

척추동물을 사용하고 있다. 모든 산업과 이해 관계자들은 독성 결과를 결정하기 위하여 보다 강력하고 사람과 관련된 방법으로 변화되길 기대하고 있다. 비록 이러한 목표를 달성하려면 여러 가지 중요한 문제를 극복해야하지만, 최근 몇 년에는 상당한 진전이 있었고 현재 이용하고 있는 생체 내 동물시험을 일대일로 대체하는 것은 불가능하거나 절대적으로 바람직한 방법이라고 생각하지 않는다. 새로운 기술과 접근 방식으로 통합적 방법이 성공할 가능성이 매우 높다고 얘기하고 있다.^{10,11)} 화학물질의 안전성 평가에서 몇 가지 문제와 상대적으로 느린 변화를 이해하려면 여러 요소를 고려해야만 한다. 화학물질을 규제하는 법의 일반적인 목표는 인간의 건강과 환경을 보호하고 효율적이고 효과적으로 무역적 기능을 허용하는 것이다. 법률은 혁신, 경쟁력 및 지속가능성의 필요성을 인식하기 위한 것이지만, 새로운 접근 방법을 실행하는 것과 같이 안전평가 방법의 변경은 어렵게 작성되는 경우가 많다. 유럽연합 내 모든 산업분야에서는 40개 이상의 화학 법규가 있다.¹⁰⁾ 2019년 동물시험 대체 접근법을 위한 유럽 파트너십(EPAA)이 개최한 워크숍은 새로운 접근 방법의 개발 및/또는 평가되고 있지만 반복투여독성시험에 대해 검증되고 표준화된 대체 방법이 없다는 것을 알고 있다.

또한 반복투여독성시험의 업데이트, 새로운 기술 및 혁신을 실행하기 위한 규제 수용이 상대적으로 느린 것은 여러 요인이 있다. 많은 분야에서 반복투여독성시험에 대한 검증된 방법이 없다는 것은 전통적인 시험 패러다임에 의존한다는 것을 의미한다. 이는 부분적으로 새로운 접근방법의 검증 및 수용 속도가 느리기 때문이다. 경제협력개발기구(OECD)에 의해 완전히 검증 및 승인되지 않은 *in silico* 또는 *in vitro* 기술 검토에서 모든 것이 합의가 이루

어지지 않았다. 또한 많은 "전통적인" 독성학 연구자들 중에는 오픈스 기술의 새로운 데이터 세트를 처리하고 해석하는 지식이 부족하다고 한다. 새로운 기술로 부터 자료를 사용하는 것은 새로운 정보를 사용하기 위한 일괄적이고 이동 가능한 자료의 부족으로 인해 악화된다. 새로운 접근 방법의 검증 문제 외에도 부문 간 및 지역 간 규정에서 자료 요구 사항의 조화와 일관성이 부족하다. 이러한 모든 요인과 기타 요인으로 인해 규제 독성학에서 새로운 반복투여독성시험 방법이 다양하고 제한적으로 구현되었다.

독성학적으로 의심되는 임계값 (TTC)과 Read - Across 접근 방식은 잘 확립되어 있다. 다양한 이니셔티브는 적용 가능성과 새로운 접근 방법을 사용하여 Read - Across의 기능을 강화하는 방법을 입증했다. 특히 화장품 관련하여 주목할 만한 것은 TTC¹²⁾ 뿐만 아니라 처음부터 다음세대의 위해성 평가 (NGRA)를 위한 토대를 마련했다.¹³⁾ 이로 인해 ICCR (International Cooperation on Cosmetics Regulation)의 워킹 그룹¹⁴⁾에 의해 화장품에 대한 NGRA의 원칙이 개념화되었다. 작업 흐름과 원칙은 모두 Cosmetics Europe LRSS¹⁵⁾에서 채택되었으며 EU - ToxRisk 프로젝트와 협력하여 Read - Across를 통해 처음 계획부터 의사 결정을 내리는 기능을 지원하는 데 사용된다. 현재 후자는 노출 예측과 비교하기 위한 대리 출발점(POD)으로 높은 처리량 및 많은 자료 흐름의 in vitro 생물 활성을 사용하여 탐색하고 있다.^{16,17)} 이것은 생물학적 활성과 노출이 겹치는 물질의 우선순위를 정하는 데 유용한 도구임이 입증되었다. 그러나 현재 in vitro POD는 분자 표적의 업스트림의 특성, 단기간 및 ToxCast와 같은 in vitro 플랫폼의 제한된 생물학적 공간으로 인해 부작용과 동일하지 않다. 현재 많은 독성학 관련자들은 과학 및 기술의 발전과 작업 흐름도 및 규칙의 개발, 이전의 방법과 진행 중인 방법에서 성공적인 사례 연구를 통해 새로운 접근 방법의 가치를 설명하는 것이 중요하다고 생각하고 있다. 이와 관련하여 '왜, 무엇을, 어떻게, 누가'에 대한 조건과 제한을 두기 때문에 새로운 패러다임의 의사 결정은 필수적이다. 예를 들면 비상 대응 상황에서의 작업, 사람에서 통제된 노출 또는 성분 관리, 새로운 물질이나 약

물 등록. 또한 우리의 지식에는 차이가 있으며 동물실험의 궁극적인 대체는 충분한 범위의 독성작용 모드, 독성동태, 대사, 시간적 측면, 인구 변동성을 포함하는 열성적 측면에 대한 적절한 고려를 보장해야 한다.

2. In vitro 반복투여독성시험 구현을 위한 문제점

화학물질의 안전성 평가에서 전신독성을 결정하기 위한 새로운 시험방법의 적용 가능성, 구현, 숙달 및 수용을 개선하고 증가시키기 위한 과제는 다음과 같다.

- 1) “현대의 안전성 평가 도구 상자”를 화학물질 안전성 평가에 더 잘 활용할 수 있는 방법이 있는가?
- 2) 화학물질의 안전성 평가가 동물 자료에 보다 적게 의존하고 사람과 더 관련이 있도록 하기 위한 것은 무엇인가?
- 3) 새로운 시험방법을 구현하고 모든 이해 관계자가 수용 할 수 있도록 필요한 다양한 사고방식은 무엇인가?

3. 미세유체 시스템

미세유체공학 (Microfluidics)은 미세유체를 정밀하게 조작하고 처리하는 과학 및 기술이다. 일반적으로 수십~수백 마이크로 크기의 채널을 사용하여 미세유체 (9~18 L)를 정밀하게 제어하는 데 사용되며 “Lab - On - A - Chip”이라고 한다.^{1,2,3,4)} 마이크로 채널은 작지만 표면적이 크고 질량 전달이 커서 적은 시약 사용량, 제어 가능한 량, 빠른 혼합 속도, 빠른 반응, 물리적 및 화학적 특성의 정밀 제어를 포함한 미세유체 기술 응용 분야에 사용하는 데 유리하다.^{1,18,19)} 미세유체공학은 샘플 준비, 반응, 분리, 검출 및 세포 배양, 분류 및 세포 용해와 같은 기본적인 작동 단위들을 통합한다.⁵⁾ 이러한 이유로 Organ - On - A - Chips(OOAC)에 대한 관심이 증가되었다.⁶⁾ OOAC는 다양한 화학, 생물학 및 재료 과학 분야를 통합하여⁷⁾ 세계 경제 포럼에서 "10대

신흥기술"중 하나로 선정되었다.⁸⁾

OOAC는 농도 구배²⁰⁾, 전단력²¹⁾, 세포 유형²²⁾, 조직의 경계²³⁾ 및 조직-장기 상호 작용²⁴⁾을 포함한 주요 매개 변수를 조절하는 능력을 가진 생리학적인 환경을 모방 할 수 있는 생체 모방 시스템이다. OOAC의 주요 목표는 인간 장기의 생리학적인 환경을 모방하는 것이다.²⁵⁾ 인간 생리학은 인체와 기관 시스템의 기능을 연구하는 과학이다. 이것은 신체의 기능 장애와 병인에 대한 우리의 이해에 큰 의미가 있으며 따라서 의학, 약물 개발 및 독성학 분야와 밀접하게 연관되어 있다.²⁶⁾ 인간 생리학을 연구하는 가장 적절하고 직접적인 방법은 인간 또는 모델 유기체를 연구하는 *in vivo* 실험이다. 신체의 기능은 조직, 세포, 단백질 및 유전자와 같은 수 많은 하위 수준의 구성 요소와 상호 작용 및 적응에 의존한다. 따라서 단순히 *in vivo* 연구를 통해 생리학적인 현상의 기본적인 기전을 밝히는 것은 어렵다.²⁷⁾ 또한 약물 개발과 독성학은 수천 가지 화합물의 생리적 효과를 평가해야 한다.²⁸⁾ 낮은 처리량의 *in vivo* 시험의 한계로 생물학자들은 *in vitro* 세포 배양을 사용한다. 세포 배양은 통제된 환경에서 세포를 성장 및 유지시킨다.²⁹⁾ 수십 년 동안 전통적인 2차원 (2D) 세포 배양 시스템은 생명 과학 연구를 위한 중요한 플랫폼을 형성했다. 2D 시스템을 사용하여 세포 또는 세포 제품을 배양하여 다양한 세포의 기능을 연구하고 있다. 그러나 2D 시스템은 살아있는 조직/장기, 기관내 상호 작용 및 미세 환경 요인^{30,31)}의 생리학적인 증상을 정확하게 모방하지 못하고 종종 *in vivo* 동물 모델에서 검증이 필요하다. 동물실험은 종의 차이로 인해 종종 인간을 정확하게 묘사하지 못하고³²⁾, 높은 비용과 윤리적 문제로 인해 약물 시험을 위한 모델로 동물을 사용하는 것을 조사를 받고 있다.³³⁾ 전임상 시험에서 인간 조직 환경에 대한 부적절한 설명은 전체 조직 기능의 융합된 영향에 대한 부정확한 예측으로 이어질 수 있다.³⁴⁾ OOAC는 더 많은 생리학적인 모델 시스템을 제공하여 이러한 단점을 극복하도록 설계되었다.³⁵⁾ OOAC는 실험 동물 모델의 미래 대체 기술로 제안되었다.³⁶⁾

이 본 연구는 현재 반복투여독성시험을 대체하기 위해 가장 가능성있는 기술인 미세유체 기술을 이용한 OOAC의 최근 발전을 소개하고 동물을 이용한 반복투여독성시험의 대체가능성에 대해 검토하고자 하였다.

II. 연구내용

.....

II. 연구내용

1. 관련규정

1) 산업안전보건법

- 산업안전보건법 제104조(유해인자의 분류) 고용노동부장관은 고용노동부령으로 정하는 바에 따라 근로자에게 건강장해를 일으키는 화학물질 및 물리적 인자 등(이하 “유해인자”라 한다)의 유해성·위험성 분류기준을 마련하여야 한다.
- 산업안전보건법 시행규칙 제141조(유해인자의 분류기준) 법 제104조에 따른 근로자에게 건강장해를 일으키는 화학물질 및 물질적 인자 등(이하 “유해인자”라 한다)의 유해성·위험성 분류기준은 별표 18과 같다.
- [별표 18] 유해인자의 유해성·위험성 분류기준
 - 9) 특정 표적장기 독성 물질(1회 노출): 1회 노출로 특정 표적장기 또는 전신에 독성을 일으킬 수 있는 물질
 - 10) 특정 표적장기 독성 물질(반복 노출): 반복적인 노출로 특정 표적장기 또는 전신에 독성을 일으키는 물질
 - 11) 흡인 유해성 물질: 액체 또는 고체 화학물질 입이나 코를 통하여 직접적으로 또는 구토로 인하여 간접적으로, 기관 및 더 깊은 호흡기관으로 유입되어 화학적 폐렴, 다양한 폐 손상이나 사망과 같은 심각한 급성영향을 일으키는 물질
- 산업안전보건법 제105조(유해인자의 유해성·위험성 평가 및 관리)
 - ① 고용노동부장관은 유해인자가 근로자의 건강에 미치는 유해성·위험성을 평가하고 그 결과를 관보 등에 공포할 수 있다.
 - ② 고용노동부장관은 제1항에 따른 평가 결과 등을 고려하여 고용노동부령으로 정하는 바에 따라 유해성·위험성 수준별로 유해인자를 구분하여

관리하여야 한다.

③ 제항에 따른 유해성·위험성 평가의 방법, 그 밖에 필요한 사항은 고용노동부령으로 정한다.

- 산업안전보건법 시행규칙 제142조(유해성·위험성 평가대상 선정기준 및 평가방법)

② 고용노동부장관은 제1항에 따라 선정된 유해성·위험성 평가를 실시할 때에는 다음 각 호의 사항을 고려해야 한다. 1. 독성시험자료 등을 통한 유해성·위험성 확인 2. 화학물질의 노출이 인체에 미치는 영향 3. 화학물질의 노출수준

③ 제2항에 따른 유해성·위험성 평가의 세부 방법 및 절차, 그 밖에 필요한 사항은 고용노동부장관이 정한다.

- 고용노동부예규 제166호 화학물질의 유해성·위험성 평가에 관한 규정 제4장 유해성·위험성 평가

제12조(평가 내용 및 절차) ② 유해성·위험성 평가는 다음 각 호의 순서에 따라 실시한다.

1. 유해성 확인
2. 용량 - 반응 평가
3. 노출 평가
4. 위험성 결정

- 산업안전보건법 시행규칙 제143조(유해인자 관리 등)

① 고용노동부장관은 법 제105조제1항(고용노동부장관은 유해인자 근로자의 건강에 미치는 유해성·위험성을 평가하고 그 결과를 관보 등에 공표할 수 있다.

1. 법 제106조(유해인자의 노출기준 설정)에 따른 노출 기준 설정 대상 유해인자
2. 법 제107조(유해인자 허용기준의 준수)제1항에 따른 허용기준 설정 대상 유해인자

3. 법 제117조(유해·위험물질의 제조 등 금지)에 따른 제조 등 금지물질
4. 법 제118조(유해·위험물질의 제조 등 허가)에 따른 제조 등 허가물질
5. 산업안전보건법 시행규칙 제186조(작업환경측정 대상 작업장 등)제1항에 따른 작업환경측정 대상 유해인자

2) 화학물질 분류 및 표지에 관한 세계조화시스템(GHS)

▪ 특정표적장기독성 - 1회 노출

1. 목적

1회 노출에 의해 일어나는 특이적인 비치사적 특정표적장기독성을 일으키는 물질의 분류방법을 규정하는 것이다. 가역적/비가역적 반응 또는 급성 반응 그리고/또는 지연성 반응과 급성독성, 피부 부식성/자극성, 심한 눈 손상/자극성, 호흡기 또는 피부 과민성, 생식세포 변이원성, 발암성, 생식독성, 흡인유해성에 기술되지 않은 모든 기능 손상을 일으킬 수 있는 모든 중대한 건강상의 영향을 포함한다.

2. 분류

물질에 노출된 사람의 건강에 중대한 영향을 일으킬 가능성이 있는지와 같이, 물질이 특정표적장기독성 물질에 해당되는지 확인하는 것이다. 어떤 물질에 1회 노출로 사람의 특정 장기에 지속적인 악영향을 일으키거나, 실험동물의 장기 및 조직의 기능 또는 형태에 영향을 주는 독성학적으로 유의한 변화가 일어나거나, 혈액 및 혈액생화학적 항목에 중대한 영향을 나타내어, 이러한 변화가 사람의 건강 상태와 관련성이 있다는 신뢰성 있는 증거에 의해 결정된다. 이러한 유해성 구분에서는, 사람에서의 자료를 우선적 증거로 취급하는 것이 인정되고 있다.

3. 평가

단일 장기 또는 생체의 중요한 변화뿐만 아니라, 여러 장기에 걸친 보다 완전한 일반적인 변화도 고려되어 실시되어야 한다. 경구, 경피, 흡입 등 사람에서 노출 가능한 어떤 경로로 물질이 노출되어도 표적장기독성은 일어난다.

4. 분류기준: 구분 1과 2

4.1. 구분 1: 사람에 중대한 독성을 일으키는 물질 또는 실험동물을 이용한 시험의 증거에 기초하여, 1회 노출에 의해 사람에게 중대한 독성을 일으킬 가능성이 있다고 판단되는 물질

다음에 기초하여 구분 1로 물질을 분류한다.

- 사람에서의 증상, 또는 역학조사연구로부터 신뢰성 있으며, 질적으로 우수한 증거, 또는;
- 일반적으로 실험동물을 이용한 적절한 시험결과, 저농도 노출에 의해 사람의 건강에 유의하거나 강한 독성을 일으키는 소견. 증거의 가중 평가의 일환으로 사용되는 용량/농도 기준 값 참조

4.2. 구분 2: 실험동물을 이용한 시험의 증거에 기초하여, 1회 노출에 의해 사람의 건강에 유해를 일으킬 가능성이 있다고 판단되는 물질. 물질을 구분 2로 분류하는 것은 실험동물을 이용한 적절한 시험결과, 일반적으로 중증도의 노출농도에서 사람의 건강에 중대한 독성 영향을 일으킨다는 소견에 기초하여 분류한다. 예외적으로 사람에서의 증거도 물질을 구분 2로 분류하기 위한 증거로 사용될 수 있다.

4.3. 구분 3: 일시적 표적 장기 영향

어떤 물질/혼합물은 구분 1 또는 2에서 구분되는 기준을 충족할 수도 없는 표적장기 영향이 있다. 노출 후에 짧은 기간 동안 인체의 기능을 유해하게 변화시키고 어떤 타당한 기간에 회복될 수도 있는 영향이 있다. 이 구분은 마취 효과, 호흡기계 기도 자극만 포함한다.

5. 사람 또는 실험동물에서 관련성 있는 독성영향에 대한 예

임상관찰, 거시적 및 미세 조직학적 검사에서 시험동물의 적절한 연구로부터의 증거는 더 많은 자세한 것을 제공하며, 이것은 자주 생명을 위협하지 않을 수 있으나 기능적 손상을 보일 수 있는 유해성을 보일 수 있다. 결과적으로 분류 과정에서 모든 이용 가능한 증거 및 인체 건강에 대한 연관성이 고려되어야 한다.

- 사망
- 중추신경계 억제 및 징후 및 특수 감각기(시각, 청각, 후각)에 미치는 영향을 포함한 중추 및 말초신경계 또는 기타 장기 시스템의 중대한 변화
- 혈액 및 혈액생화학 검사, 뇨 검사에서 일관되며 중대한 악영향
- 부검 및 조직병리학적 검사에서 확인된 중대한 장기손상
- 재생 능력이 있는 생체 장기에 나타나는 다발성 또는 비만성괴사, 섬유종 또는 육아종 생성
- 잠재적 가역성은 있으나, 장기의 뚜렷한 기능 손상의 명확한 증거를 제공하는 형태학적 변화
- 재생할 수 없는 생체 장기에서 나타나는 세포괴사(세포퇴행 및 세포수 감소 포함)의 증거

6. 1회 노출에 의해 나타나는 중대한 비치사적인 독성 영향을 나타내는 용량에 대한 제안되는 기준값의 범위

〈표 II - 1〉 특정표적장기독성 - 1회 노출 기준값 범위

노출경로	단위	기준값의 범위*		
		구분 1	구분 2	구분 3
경구 (랫드)	mg/kg bw	농도≤300	2000≥농도>300	기준값이 적용되지 않음#
경피 (흰쥐/토끼)	mg/kg bw	농도≤1000	2000≥농도>1000	
가스 흡입 (랫드)	ppmV/4h	농도≤2500	5000≥농도>2500	
증기 흡입 (랫드)	mg/L/4h	농도≤10	20≥농도>10	
분지/미스트/흙 흡입 (랫드)	mlg/L/4h	농도≤1.0	5.0≥농도>1.0	

* 기준값은 참고 목적만을 위한 것이며, 증거의 가중의 일부로서 분류의 결정을 도와주는 것으로, 엄격한 한계값으로 사용될 목적을 가진 것은 아니다.

이 분류는 기본적으로 인체 데이터에 근거하고 있기 때문에 기준 값을 제공되지 않았다. 동물 데이터는 증거의 가중에 포함될 수도 있다.

■ 특정표적장기독성 - 반복 노출

1. 목적

반복 노출로 인한 특정표적장기독성을 유발하는 물질 및 혼합물을 분류하기 위한 분류 기준을 설정했다. 기능적인 손상을 유발하는 모든 중대한 건강 영향, 가역적 또는 비가역적 반응, 즉각 및 지연 반응 모두 포함된다.

2. 분류

물질 또는 혼합물에 노출된 사람의 건강에 중대한 영향을 일으킬 가능성이 있는지와 같이, 물질이 특정표적장기독성 물질에 해당되는지 확인하는 것이다. 어떤 물질 또는 혼합물에 대한 반복 노출이 사람의 특정 장기에 지속적인 악영향을 일으키거나, 실험동물의 장기 및 조직의 기능 또는 형태에 영향을 주는 독성학적으로 유의한 변화가 일어나거나, 혈액 및 혈액생화학적 항목에 중대한 영향을 나타내어, 이러한 변화가 사람의 건강 상태와 관련성이 있다는 신뢰성 있는 증거에 의해 결정된다. 이러한 유해성 구분에서는 사람에서의 자료를 우선적 증거로 취급하는 것이 인정되고 있다.

3. 평가

단일 장기 또는 생체의 중요한 변화뿐만 아니라, 여러 장기에 걸친 보다 완전한 일반적인 변화도 고려되어 실시되어야 한다. 경구, 경피, 흡입 등 사람에서 노출 가능한 어떤 경로로 물질이 노출되어도 표적장기독성은 일어난다.

4. 분류기준: 구분 1과 2

특정 기관/시스템의 부작용 또는 사람 또는 동물에서의 시스템 독성 물질 또는 혼합물(브리징 포함)에 대한 신뢰할 수 있는 증거. 특정 장기/시스템에 대해 명명될 수 있다.

4.1. 구분 1: 사람에 중대한 독성을 일으키는 물질 또는 실험동물을 이용한 시험의 증거에 기초하여, 1회 노출에 의해 사람에게 중대한 독성을 일으킬 가능성이 있다고 판단되는 물질

다음에 기초하여 구분 1로 물질을 분류한다.

- 사람에서의 증상, 또는 역학조사연구로부터 신뢰성 있으며, 질적으로 우

수한 증거, 또는;

- 일반적으로 실험동물을 이용한 적절한 시험결과, 저농도 노출에 의해 사람의 건강에 유의하거나 강한 독성을 일으키는 소견. 증거의 가중 평가의 일환으로 사용되는 용량/농도 기준값 참조

4.2. 구분 2: 실험동물을 이용한 시험의 증거에 기초하여, 반복 노출에 의해 사람의 건강에 유해를 일으킬 가능성이 있다고 판단되는 물질. 물질을 구분 2로 분류하는 것은 실험동물을 이용한 적절한 시험결과, 일반적으로 중증도의 노출농도에서 사람의 건강에 중대한 독성 영향을 일으킨다는 소견에 기초하여 분류한다. 예외적으로 사람에서의 증거도 구분 2로 분류하기 위한 증거로 사용될 수 있다.

5. 사람 또는 실험동물에서 관련성 있는 독성영향에 대한 예

- 사망
- 중추신경계 억제의 징후 및 특수 감각기(시각, 청각, 후각)에 미치는 영향을 포함한 중추 및 말초신경계 또는 기타 장기 시스템의 중대한 변화
- 혈액 및 혈액생화학 검사, 뇨 검사에서 일관되며 중대한 악영향
- 부검 및 조직병리학적 검사에서 확인된 중대한 장기손상
- 재생 능력이 있는 생체 장기에 나타나는 다발성 또는 비만성괴사, 섬유종 또는 육아종 생성
- 잠재적 가역성은 있으나, 장기의 뚜렷한 기능 손상의 명확한 증거를 제공하는 형태학적 변화
- 재생할 수 없는 생체 장기에서 나타나는 세포괴사(세포퇴행 및 세포수 감소 포함)의 증거

6. 분류를 지지하지 않을 것으로 평가되는 영향

- 독성학적인 중요성을 가질 수 있을지 모르나 그 자체로는 “중대한” 독성을 의미하지 않는 임상소견 또는 체중 증가량, 사료 또는 물 섭취의 미약한 변화
- 임상생화학 검사, 혈액학적 검사 또는 뇨 지표에서의 미미한 변화 또는

이러한 변화 또는 영향이 일시적인 변화로 의심되는 경우, 또는 독성학적으로 의미가 거의 없는 경우

- 기능 이상의 증거가 없는 장기 중량의 변화
- 독성학적으로 중요하다고 인정되지 않는 적응 반응
- 물질의 독성기전 연구에 의해 종차가 나타난다는 확실한 근거(즉, 사람에서는 적용될 것 같지 않음)가 있으며, 분류에 적용해서는 안 됨

7. 실험동물을 이용하여 실시한 시험에서 얻어진 결과에 기초하여 분류를 도와주는 기준값

〈표 II - 2〉 특정표적장기독성 - 반복 노출 기준값 범위

노출경로	단위	기준값의 범위	
		구분 1	구분 2
경구 (랫드)	mg/kg bw/d	≤ 10	$10 < \text{농도} \leq 100$
경피 (흰쥐/토끼)	mg/kg bw/d	≤ 20	$20 < \text{농도} \leq 200$
가스 흡입 (랫드)	ppmV/6h/d	≤ 50	$50 < \text{농도} \leq 250$
증기 흡입 (랫드)	mg/L/6h/d	≤ 0.2	$0.2 < \text{농도} \leq 1.0$
분지/미스트/흙 흡입 (랫드)	mlg/L/6h/d	≤ 0.02	$0.02 < \text{농도} \leq 0.2$

충분한 데이터가 부족한 혼합물인 경우 구분 1 성분: $1.0 \leq \text{농도} \leq 10\%$, 구분 2 성분: $1.0 \leq \text{농도} \leq 10\%$

■ 흡인 유해성

1. 목적

사람에게 흡인 독성을 일으킬 수 있는 물질 및 혼합물질을 분류하는 수단을 제공하는데 있다. 흡인이란 직접적으로 구강이나 비강을 통하거나 간접적으로 구토로 인해 액체나 고체 물질이 기관 및 더 깊은 호흡기관으로의 유입을 의미한다. 흡인 독성은 화학폐렴, 다양한 폐 손상 또는 흡인에 의한 사망과 같은 심각한 급성 영향을 포함.

2. 고려사항

물질 흡인에 관한 의학문헌 검토 결과 일부 탄화수소류(석유 정제류)와 염화 탄화수소류는 인간에게 흡인유해성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 1차 알코올류와 케톤류는 동물연구에서만 흡인유해성을 나타내는 것으로 드러났다. 동물에서 흡인유해성의 결정 방법이 이용되어 왔지만 표준화되지 않았다. 동물에서의 양성은 단지 사람에서 흡인독성 가능성에 대한 지침으로서의 역할을 할 수 있을 뿐이다. 흡인 유해성에 대한 동물 자료를 평가할 때 특별한 주의가 요구된다.

3. 분류기준 : 동적점도(Kinematic viscosity)를 나타낸다.

$$\text{역학점도(mPa}\cdot\text{s)/밀도(g/cm}^3\text{)} = \text{동적점도(mm}^2\text{/s)}$$

3. 흡인독성에 대한 유해성 구분

〈표 II - 3〉 흡인독성의 유해성 구분

구분	기준
구분 1: 사람에 흡인 독성을 일으키는 것으로 알려지거나 흡인 독성을 일으킬 것으로 간주되는 물질	1. 신뢰성있고 질적으로 우수한 사람에 대한 증거(주1) 2. 만일 물질이 탄화수소류이고 40℃에서 20.5 mm ² /s 이하인 동적점도를 갖는 물질
구분 2: 사람에 흡인 독성을 일으킬 가능성으로 인해 우려를 주는 물질	구분 1로 분류된 물질 외에 표면장력, 수용해도, 끓는점과 휘발성을 고려한 기존의 동물연구와 전문적 판단을 근거로 40℃에서 14 mm ² /s 이하인 동적점도를 갖는 물질(주2)

주1: 구분1 예, 탄화수소류, 테레핀과 송유

주2: 탄소원자가 3 - 13개인 n - 알코올, 이소부틸알코올과 탄소원자가 13개 미만인 케톤류

3) 유럽 신화학물질관리 제도(REACH)

1. 2021년 2월 24일, ECHA는 2020년도 등록서류평가(Dossier evaluation) 및 물질평가(Substance evaluation) 진행상황을 발표하였다. (REACH 제54 조는 매년 2월 28일까지 등록서류 및 물질평가 진행상황을 보고하도록 함)

2. 2020년 ECHA는 총 1900개의 화학물질의 평가 필요성을 검토하였으며, 이 중 258개의 등록물질에 대하여 REACH 요구사항 준수를 확인하는 적합성 평가(compliance check)를 완료하였다. ECHA는 매년 제출된 등록서류의 20% 이상에 대한 평가 진행을 목표로 하고 있으며, 유사한 화학물질들을 그룹으로 평가함으로써 평가속도를 높이고 있다.

3. ECHA에 의하면 화학물질의 만성독성 확인을 위해 기업에게 더 많은 데이터가 요청될 예정이며, 작년 한 해 동안 1,365건의 추가 정보가 요청되었다. 기업에게 요청되는 정보는 생식·유전 독성 정보 및 환경 잔류성, 생물축적성 등의 시험자료가 포함된다.

4. Bjorn Hansen, ECHA 전무이사는 “ECHA는 제출된 정보가 정확하고 최신 자료인지 확인할 것이며, 물질을 그룹별로 평가함으로써 평가 속도를 높일 것이다. 기업에게는 자발적인 등록서류 검토 및 업데이트가 요청된다.” 고 언급했다.

5. 물질 평가(Substance evaluation)는 물질의 위해성을 평가하는 것이며, ECHA는 2020년도에 18개의 평가 결정(evaluation decisions)을 통해 위해성 평가를 위한 추가 정보를 요청하였다. 평가당국인 EU 회원국은 13개의 물질에 대해 위해 관리 조치를 결정했다.

6. REACH에서의 물질 평가(evaluation)는 등록서류 평가와 물질 평가(CoRAP 평가) 두 가지로 나뉘어진다.

6.1. 등록서류 평가(Dossier evaluation)의 평가 주체는 ECHA이며, REACH 법령에 명시된 독성항목에 대해 적합성 평가(compliance check)를

실시하여 자료가 불충분한 경우 보완 결정을 내린다.

6.2. 물질 평가(Substance evaluation)의 평가 주체는 EU 회원국이며, 위해 우려가 있는 물질을 선정 및 평가하여, REACH 법령에 명시되어 있지 않은 독성 항목에 대해서도 추가 자료를 요청할 수 있다. 평가 결과 허가·제한 등 위해 관리 조치(risk management)가 적용될 수 있다.

7. ECHA는 기업들의 자발적인 시험 전략을 지원하고 있으며, 이를 통해 개별적인 물질에 대한 불필요한 동물시험 및 비용지출을 피할 수 있도록 하고 있다.

4) CLP(classification, labelling and packaging of substances and mixtures)

1. 모든 물질과 혼합물은 분류되어야 하며, 모든 유해물질은 시장에 배치되기 전에 물질 및 혼합물(CLP 규정)의 분류, 라벨링 및 포장에 관한 규정에 따라 라벨을 붙이고 포장해야 한다. 이는 매일 제품이나 페인트와 같은 혼합물을 사용하는 근로자와 소비자에게 중요하다. 이들 중 일부는 주의처리하고 어린이로부터 멀리 보관해야 하는 유해물질을 함유하고 있다.

2. CLP 규정은 2009년 1월 20일에 발효되었다. EU 법안을 유엔의 세계적인 조화 제도(GHS)와 일치한다. 이 규정은 이전의 두 가지 법안, 위험물 지침(Dangerous Substances Directive) 및 위험 준비 지침(Dangerous Preparations Directive)을 대체했다. 국제적으로 합의된 분류 기준과 라벨링은 인간의 건강과 환경을 보호하는 데 도움이 된다. 예를 들어, 화학물질의 위험이 이를 사용하는 근로자와 소비자에게 전달되는 경우, 표준화된 진술과 픽토그램(pictograms)은 유용하다.

3. 시장으로 화학물질이 나오기 전에 산업계는 인간의 건강과 그러한 물질 및 환경에 미치는 혼합물의 잠재적인 유해성을 확립하여 확인된 유해성에 따라 분류해야 한다. 유해 화학물질은 또한 표준화된 시스템에 따라 라벨을 부착하여 근로자와 소비자가 이를 다루기 전에 관련된 영향을 알아야 한다. 이런

과정으로 인하여 화학물질의 유해성은 라벨 및 안전 데이터 시트에 대한 표준 진술 및 픽토그램을 통해 전달된다. 예를 들어, 공급업체가 물질을 "급성 독성 구분 1(경구)"로 확인하면 라벨에는 "삼키면 치명적"이라는 위험 문구, "위험"이라는 단어와 두개골과 십자가가 있는 그림이 포함된다.

3. 가장 유해한 물질, 특히 호흡기 감작, 암, 돌연변이 또는 생식독성을 유발하는 물질은 조화된 분류를 가지고 있다. 이것은 EU 수준에서 합의되며 해당 물질의 모든 공급 업체에 법적 구속력이 있다. EU 회원국, 제조업체, 수입업체 및 사용자는 물질이 위험하다고 판단되는 경우 조화된 분류를 가지고 있다고 제안할 수 있다. EU 회원국은 기존 분류를 개정할 것을 제안할 수도 있다.

4. 물질분류를 조화시키기 위한 제안이 있을 때는 공개 협의가 진행된다. 협의는 45일 동안 지속되며 EU 또는 세계의 다른 지역에서 누구든지 논평할 수 있다. 의견은 EU 회원국, 개별 전문가, 기업 및 산업 또는 시민 사회를 대표하는 조직으로부터 받는다. 협의 기간 이후에 ECHA의 유해성 평가 위원회(RAC)는 받은 의견을 고려하여 제안에 대한 과학적 의견을 준비를 한다. 제안서를 받은 후 18개월 이내에 의견을 채택해야 한다. RAC는 제안된 모든 유해성 클래스와 공개 협의 중에 의견을 제시할 수 있는 증거를 조사한다. 그들은 또한 증거를 검토 한 후 물질의 분류에 더 적합한 다른 카테고리를 고려할 수 있다.

5. ECHA는 RAC의 의견과 공개 협의 중에 받은 의견을 유럽 위원회에 보내어 Annex VI (Harmonised classification and labelling for certain hazardous substances)의 조화된 분류 목록을 CLP 규정에 제출한다. 대부분의 물질에 대한 분류는 조화 되지 않는다. 물질이 조화된 분류를 가지고 있더라도 모든 유해성 클래스가 아닐 수도 있다. 이러한 경우 기업은 물질과 혼합물을 자체 분류해야 한다. 자체 분류에 대한 결론을 내리기 전에 사용 가능한 모든 정보를 수집하고, 신뢰성을 평가하고 분류 기준에 대해 검토하는 것이 중요하다. 정보의 중요한 소스는 산업 협회와 C&L 인벤토리의 기존 분류이다.

6. CLP는 EU의 산업, 전문 및 소비자 시장의 대부분의 화학물질을 다룬다. 20개 이상의 EU 법률은 물질을 분류하고 라벨링하는 것을 의미하며, 이는 물질이 분류되면 다른 법적 요구 사항이 사용을 통제하기 위해 작동된다는 것을 의미한다. 이는 고용주에 대한 요구 사항에서부터 직업 환경 위해성 평가서부터 제품에 대한 에코 라벨을 얻을 수 있는 가능성에 이르기까지 다양하다.

7. 물질의 분류 때문에 특정 용도의 시장에 나올 수 없는 경우, 기업은 더 안전한 대안을 찾아야 한다. 예를 들어, 발암성, 돌연변이 또는 생식독성으로 분류되는 물질은 특정 농도 수준 이상의 소비자에게 공급되는 혼합물에서 사용될 수 없다. 또 다른 예는 이런 분류를 가진 화학물질이 매우 높은 관심사의 물질 목록으로 추가될 수 있다는 것이다, 이러한 물질을 미래에도 계속해서 사용하기 위해서는 승인이 필요할 수 있다. 최근의 예로는 2016년 7월 생식독성 카테고리 1B로 분류되었으나 현재 후보 목록으로 제안된 비스페놀 A이다.

2. 반복투여독성

1) 정의

독성은 물질이 생체, 조직 또는 세포에 미치는 영향으로 측정될 수 있다. 우리는 개인의 성별, 나이, 체중 등과 같은 많은 요인에 따라 동일한 용량을 투여하여도 다르게 반응한다는 것을 알고 있다. 그래서 독성은 집단수준에서 종종 측정된다.

반복투여독성연구의 주요 목표는 시험 종의 예상 수명까지 지정된 기간 동안 물질을 반복 투여할 때 발생하는 독성 영향을 특성화하는 것이다. 영향에는 형태, 생리학, 성장 또는 수명, 생화학 및 행동의 변화가 포함된다. 반복투여 독성 연구는 화학물질의 정량적인 위해성 평가에 필수적이다. 이 연구는 독성의 일반적인 특성, 특정 표적 장기에 대한 독성, 용량 - 반응 관계, 유기체에서 생성된 독성 대사산물에 대한 반응, 지연 반응, 누적된 영향 및 영향의 가역성/비가역성에 대한 정보를 생산한다.

2) 반복투여독성의 용량 설명자

전형적으로 반복투여독성 연구로부터는 NOAEL 또는 LOAEL 값을 평가할 수 있다.

- No Observed Adverse Effect Level (NOAEL): 노출된 집단과 대조군 사이의 부작용 빈도 또는 정도에 생물학적으로 유의한 증가가 없는 가장 높은 노출 수준; 일부 영향이 이 수준에서 생길 수 있으나 독성 영향으로 간주 되지 않는다.
- Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL): 노출된 집단과 대조군 사이의 부작용 빈도 또는 정도에 생물학적으로 유의한 증가가 있는 가장 낮은 노출 수준이다.
- NOAEL 또는 LOAEL의 단위: mg/kg/bw/day 또는 ppm 흡입인 경우 mg/L/6h/day의 단위일 수 있다.
- NOAEL은 화학물질의 특정 표적 기관의 유해성 분류를 결정하는 데 사용될 뿐만 아니라 DNEL, OEL 및 ADI와 같은 사람에서 임계 값 안전 노출 용량을 도출하는 데에도 사용된다.

3) 독성시험 가이드라인

반복투여독성연구에서는 일반적으로 3개 투여용량 수준이 주어진다. 3개의 투여량 수준에서 가장 높은 용량은 독성 유도를 목적으로 선택해야하고 사망 동물은 발생하지 않아야 한다. 투여량 수준의 내림차순은 가장 낮은 용량 수준에서 용량관련 반응과 NOAEL을 설명하기 위해 선택되어야 한다. 아급성, 아만성 및 만성 반복투여독성 연구에 대한 지침은 다음과 같다.

〈표 II - 4〉 반복투여독성시험 지침

Type	Guidelines	Endpoints
Sub - acute	• 28 - day Oral Toxicity Study in Rodents (OECD TG 407) • Dermal Toxicity: 21/28 - day Study (rat, rabbit or guinea pig) (OECD TG 410) • Inhalation Toxicity: 28 - Day Study in Rodents (OECD TG 412) • Often used as dose - range finding study for subchronic studies.	NOAEL or LOAEL
Subchronic	• 90 - Day Oral Toxicity Study in Rodents (OECD TG 408) • 90 - Day Oral Toxicity Study in Non - Rodents (OECD TG 409) * • Dermal Toxicity: 90 - day Study (rat, rabbit or guinea pig) (OECD TG 411) • Inhalation Toxicity: 90 - day Study in Rodents (OECD TG 413) • Usually two species are used in 90d study. • Critical for GHS classification and chemical risk assessment.	NOAEL or LOAEL
Chronic	• Chronic Toxicity Studies in Rodents (OECD TG 452) • Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies (OECD TG 453)	NOAEL or LOAEL

3. 독성영향

1) 독성영향의 형태

많은 인자들이 독성에서 잠재적인 역할을 한다. 투여량 (또는 노출량)이 가장 중요한 인자이다. 잘 알려진 말로 "용량이 독을 만든다"는 원리이다. 파라셀수스(Paracelsus)는 "모든 것이 독이고 독이 없는 것은 없다; 오직 용량만이 독이 아닌 물질을 만든다."라고 하였다.

독성은 불리한(adverse) 세포, 생화학, 또는 거시분자 변화에서 유래할 수 있다. 다음과 같이 많은 화학물질이 우리의 생체에 분포하고 종종 특정 표적 장기에만 영향을 미친다. 그러나 다른 화학물질은 그들이 접촉하는 세포나 조직에 손상을 줄 수 있다. 영향을 받은 표적 장기는 투여량과 노출경로에 매우 의존적일 수 있다. 예로 충추 신경계는 급성노출 후 화학물질의 표적장기일 수 있으나 간은 만성 노출 후 영향을 받을 수 있다.

화학물질들은 다양한 기전에 의해 다양한 형태의 독성을 유발할 수 있다. 일부는 직접 노출되는 피부나 눈 자극 같은 국소에 작용하는 반면 다른 화학물질들은 급성 노출된 부위로부터 떨어진 부위에 전신(systemic) 영향을 준다. 독성은 세포 수용체와 같은 세포 구성 요소에 직접 영향을 미치거나 자극성 또는 부식성 물질에 노출되는 것과 같은 세포 수준에서 문제를 일으킬 수 있다. 화학물질은 다음과 같은 예를 유발 할 수 있다:

- 독성이 있거나 독성을 유발하기 전에 대사 (체내에서의 화학적 변화)가 필요하다.
- 몸이 독성으로 부터 회복하려고 섬유증으로 이어지는 손상을 입힌다.
- 효소 시스템이나 단백질 합성을 손상 하거나 방해한다.
- 세포에서 반응성 화학물질을 생산한다.
- 호르몬 신호 또는 다른 영향의 변화에 원인이 된다.
- DNA 손상 또는 후성 유전학적 변화를 유발한다.

일부 화학물질은 또한 다음과 같이 간접적인 작용도 할 수 있다:

- 필수적인 생화학적 기능을 변형시킨다.
- 영양을 방해한다.
- 생리적 메커니즘을 변형시킨다.

2) 독성에 영향을 주는 인자

어떤 경우에는 약물이나 다른 물질에 개체가 예측할 수 없는 반응 또는 특이한 반응을 가질 수 있다. 특이한 반응은 드물며, 유전적 소인의 결과인지 아니면 면역 체계의 상태와 같은 다른 원인이 있는지 이해하는 것은 때로는 불가능하다. 반응이 비정상적으로 작거나 짧고, 약물이나 다른 물질에 비정상적으로 크거나 긴 반응을 초래 할 수 있다. 또는, 반응은 대부분 다른 개체에서 관찰된 것과 질적으로 다를 수 있다.

물질의 독성은 일반적으로 다음과 같은 인자에 따라 다르다:

▪ 화학물질의 형태 및 활동

물질의 형태는 금속 원소 특히 중금속은 독성에 지대한 영향을 미칠 수 있다. 예로 수은 증기의 독성은 메틸수은과 크게 다르다. 또 다른 예는 크롬이다 Cr^{3+} 는 상대적으로 무독성인 반면 Cr^{6+} 는 피부 또는 비강 부식 및 폐암을 유발한다. 물질은 화학적인 활동 특성이 많이 다르다. 일부는 세포를 즉시 죽을 수 있도록 세포를 빨리 손상시킬 수 있다. 다른 물질은 천천히 세포의 기능을 방해한다. 예를 들어:

- 시안화 수소는 세포 저산소증과 빠른 사망을 초래하는 사이토크롬 산화 효소에 결합한다.
- 니코틴은 신경 전도를 바꾸거나 마비를 점진적으로 유도하는 중추 신경계(CNS)에 있는 콜린성 수용체와 결합한다.

▪ 용량

용량은 물질이 급성 또는 만성독성 물질인지 결정하는 데 가장 중요하고 중요한 요소이다. 충분히 많은 양을 투여하면 사실상 모든 화학물질이 급성독성 물질이 될 수 있다. 종종 독성 기전과 표적 기관은 다음의 레에서와 같이 급성 및 만성 독성에 따라 다르다.

〈표 II - 5〉 독성기전과 표적기관에 따른 급성 및 만성 독성의 예

Toxicant	Acute Toxicity	Chronic Toxic Effects
Ethanol	CNS depression	Liver cirrhosis
Arsenic	Gastrointestinal damage	Skin/liver cancer

▪ 노출 경로

개인의 독성물질과 접촉하는 방식 또는 노출 경로는 독성을 결정하는 데 중요하다. 일부 화학물질은 한 경로에서는 매우 독성이 강하지만 다른 경로에서는 독성이 없을 수 있다. 두 가지 중요한 이유는 신체 내에서의 흡수와 분포의 차이이다.

- 섭취한 화학물질이 장에서 흡수되면 먼저 간에 분포되고 즉시 해독 될 수 있다.
- 흡입된 독성물질은 즉시 혈액 순환으로 들어가 간에서 해독되기 전에 몸 전체에 퍼질 수 있다.

다른 표적 기관은 종종 다른 노출 경로의 영향을 받는다.

▪ 흡수

흡수는 전신 독성에 필수적이다. 일부 화학물질은 쉽게 흡수되지만 흡수가 잘되지 않는 화학물질도 있다. 예로 거의 모든 알코올은 섭취 시 쉽게 흡수되는 반면 대부분의 폴리머는 거의 흡수되지 않는다. 흡수의 비율 그리고 범위는 화학물질의 형태와 노출 경로에 따라 크게 다를 수 있다.

- 에탄올은 위장관에서 쉽게 흡수되지만 피부를 통해서는 약간 흡수된다.
- 유기 수은은 위장관으로 부터 쉽게 흡수되나 무기 납, 황산염은 아니다.

▪ 종

독성 반응은 종에 따라 크게 달라질 수 있다. 종간의 대부분의 차이는 신진대사에 기인한다. 그 외는 해부학적 또는 생리학적 차이 때문일 수 있다. 예를 들어, 랫드는 흡수되거나 심한 자극을 유발하기 전에 독성물질을 구토하여

배출할 수 없는 반면, 인간과 개는 구토를 할 수 있다. 선택적 독성은 동시에 노출된 독성물질에 대한 두 종간의 차이를 말한다. 이것은 살충제와 약물의 효과에 대한 기초이다.

- 살충제는 곤충에 치명적이지만 동물에는 상대적으로 독성이 없다.
- 항생제는 인간에게 사실상 독성이 없는 동안 미생물에 선택적으로 독성이 있다.

■ 유아, 청년 또는 노인과 같은 생명 단계

개인의 나이 또는 생명 단계는 독성물질에 대한 자신의 반응을 결정하는데 중요할 수 있다. 일부 화학물질은 젊은 성인보다는 유아 또는 노인에 독성이 더 있다.

- 파라티온(parathion)은 어린동물에 독성이 더 강하다.
- 니트로사민(nitrosamine)은 신생아 또는 어린동물에 더 발암성이다.

■ 성별

성(sex)은 독성 영향에 큰 역할을 할 수 있다. 약동학(PK) 및 약력학(PD)의 차이를 포함하여 남성과 여성 간의 생리적인 차이는 약물의 활동에 영향을 미칠 수 있다. 남성에 비하여 여성의 PK는 일반적으로 적은 체중, 느린 위장관 운동, 감소된 장 효소 활동, 느린 신장 기능(사구체 여과 속도)에 의해 영향을 받을 수 있다. 여성이 위를 비우는데 시간이 더 걸리므로 빈위에서 흡수를 필요로 하는 약물은 식후 약을 섭취하는 시간을 더 길게 하는 것을 초래할 수 있다. 남성과 여성 사이에 생리적인 차이도 존재한다. 여성의 느린 신장 제거, 예를 들어, 신장을 통해 배설되는 디곡신(digoxin)과 같은 약물은 투여의 조정이 필요할 수 있다. 일반적으로 여성과 남성 간의 독력학(TD)의 차이는 베타 차단제, 오피오이드 및 일부 항정신병 약물과 같은 일부 약에서는 여성에서 더 큰 민감도와 향상된 영향이 있다. 동물연구에서 또한 성관련 차이가 확인됐다.

- 수컷 랫드는 DDT에 의한 간 손상이 암컷 보다는 10배 더 민감하다.
- 암컷 랫드는 수컷 보다 파라티온에 대해 2배 더 민감하다.

■ 신진대사

생물 변환으로 알려진 신진대사는 생물학적 유기체에 의해 한 형태에서 다른 형태로의 화학물질의 변환이다. 신진대사는 독성을 결정하는 주요 요인이다. 신진대사의 생성물은 대사산물로 알려져 있다. 신진대사는 2가지 유형이 있다.

- 해독(Detoxification)
- 생체활성화(Bioactivation)

해독에서 제노바이오틱(xenobiotic)은 독성이 약한 형태로 변환된다. 이것이 유기체의 자연 방어 메커니즘이다. 일반적으로 해독은 지질 수용성 화합물을 극성 화합물로 변환한다. 생체 활성화는 xenobiotic는 더 큰 반응성이거나 독성 형태로 변환될 수 있다. 사이토크롬 P - 450(CYP450)은 약물을 대사하는 데 사용되는 효소 경로의 예이다. 노인에서는 페니토인(phenytoin)과 카르바마제핀(carbamazepine)과 같은 약물에 CYP450 대사가 감소될 수 있다. 따라서 이러한 약물의 영향이 덜 발현 될 수 있다. CYP450 신진대사 또한 많은 약물에 의해 억제 될 수 있다. CYP450 효소 - 억제 약물이 신진대사 경로 의존성과 함께 주어지면 독성의 위험은 증가할 수 있다. 장내 미생물이 약물 및 화학물질의 독성에 영향을 미칠 수 있다고 인식하고 있다. 예를 들어, 장내 미생물 환경 화학물질 및 화학물질의 박테리아 의존 대사산물의 독성을 조절할 수 있다. 또한, 환경 화학물질은 위장 박테리아의 조성 및/또는 대사 활성을 변경할 수 있다, 그래서 개인의 미생물군 유전체를 형성하는 의미 있는 방법에 기여한다. 이러한 변화에 대한 연구는 새로운 독성학의 영역이다.

■ 체내 분포

체내 독성물질과 독성 대사산물의 분포는 궁극적으로 독성이 발생하는 위치를 결정한다. 독성물질이 세포를 손상시킬지의 여부는 지질 용해도이다. 독성이 지질 수용성인 경우 세포막에 쉽게 침투한다. 많은 독성물질이 몸에 저장된다. 지방조직, 간, 신장 및 뼈는 가장 일반적인 저장 장소이다. 혈액은 분포를 위한 주요 도로 역할을 한다. 림프는 또한 일부 물질을 배포한다.

■ 배설

배설 부위 및 비율은 xenobiotic의 독성에 영향을 미치는 또 다른 주요 요인이다. 신장은 1차적인 배설 기관이고, 위장관, 폐(가스용)가 그 뒤를 따른다. 제노바이오틱은 땀, 눈물, 우유로 배설될 수도 있다. 많은 양의 혈액 혈청이 신장을 통해 여과된다. 지질 수용성 독성물질은 신장 세포에 재흡수 되고 농축된다. 손상된 신장 기능은 독성물질의 느린 제거의 원인이 되고 그들의 독성 잠재력을 증가시킨다.

- 개인의 건강, 장기 기능 및 임신을 포함하여, 독성에 영향을 미칠 수 있는 생리적 변화

개체 또는 유기체의 건강은 잠재적인 독성의 수준 그리고 형태를 결정하는 중요한 역할을 할 수 있다. 예를 들면, 개체는 기존의 신장 또는 간 질병이 있을 수 있다. 임신과 같은 특별한 조건은 독성에 영향을 미칠 수 있는 신장 기능의 생리적 변화와 관련이 있다.

■ 영양 상태

영양 상태는 독성이 발달하거나 발달하지 않는 사람을 결정하는 중요한 요인이 될 수 있다.

- 오염된 물에서 수은을 흡수한 물고기를 섭취하면 수은 독성이 발생할 수 있다. 수은 독성에 대한 길항제는 셀레늄이다.
- 일부 야채는 오염된 토양에서 카드뮴을 축적 할 수 있다; 카드뮴 독성에 대한 길항제는 아연이다.
- 자몽에는 P450 약물 해독 경로를 억제하는 물질이 포함되어 있어 일부 약물에 독성이 더 있다.

■ 다른 화학물질의 존재

다른 화학물질이 동시에, 이전에, 후에 존재할 수 있다.

- 독성 감소(antagonism)
- 독성 추가(additivity)
- 독성 증가(synergism or potentiation)

다음과 같은 예가 있다.

- 길항작용 (아트로핀은 유기 인산염 살충제에 의한 중독을 막음)을 통해 독극물의 영향을 막는 데 사용되는 해독제.
- 알코올은 많은 항히스타민제와 진정제의 영향을 향상시킬 수 있다.
- 항산화 부틸화 하이드록시톨루엔(BHT)과 특정 농도의 산소사이의 상승 작용은 간질성 폐 섬유증의 형태로 폐 손상을 초래한다.
- 생체 리듬(하루 중 약물 또는 물질이 투여되는 시간)

생체 리듬은 독성에 역할을 미칠 수 있다. 면역 억제 약물을 투여한 랫드는 하루 중 다른 시간에 비해 빛이 약한 발병 7시간 후 장에서 심각한 독성을 나타냈다. 랫드는 이 투여 시간에 소화 효소 활성 및 기타 생리학적인 지표에 변화가 있었다.

4. 장기별 독성 영향

1) 혈액 및 심혈관/심장 독성

혈액 및 심혈관/심장 독성은 혈액 순환, 골수 및 심장에서 세포에 직접 작용하는 xenobiotic의 결과이다. 혈액 및 심혈관/심장 독성의 예는 다음과 같다.

- 산소의 수송을 방해하는 헤모글로빈의 일산화탄소 결합으로 인한 저산소증.
- 골수 세포에 클로람페니콜 손상으로 인해 순환 백혈구의 감소.
- 골수 세포의 벤젠 손상으로 인한 백혈병.
- 동맥과 정맥의 콜레스테롤 축적으로 인한 동맥 경화증.

2) 진피(dermal) 독성

진피독성은 독성물질이 피부에 직접 접촉하거나 진피 내부에 분포할 때 발생할 수 있다. 영향은 가벼운 자극에서 비가역적 손상, 과민성 및 피부암과

같은 심한 변화에 이르기까지 다양하다. 진피 독성의 예는 다음과 같다.

- 가솔린의 피부 노출로 인한 진피 자극.
- 수산화나트륨의 피부 노출로 인한 진피 부식.
- 진피 가려움증, 자극, 때로는 urushiol이 원인이 되는 덩굴췌나무에 의한 고통스러운 발진.
- 비소 섭취 또는 자외선의 피부 노출로 인한 피부암.

3) 후성유전학적 변형(Epigenetic Alterations)

후성 유전학은 새로운 독성학 분야이다. 유전학의 분야에서 후성유전학은 외부 또는 환경 요인에 의한 유전자 개시(on)와 종료(off), 세포의 프로그래밍을 바꿀 수 있는 방법을 연구하는 것이 포함된다. 후생유전학적 변형은 DNA 메틸화, 히스톤 변형, 비암호화 RNA에 의한 조절 등이 포함된다. 과거 독성학 연구는 유전자가 발현되는 수준에서 영향을 측정하지 않고 독성을 평가했다. 외인성 제제는 초기 노출이 사라진 후에도 계속되는 장기 독성을 유발할 수 있으며, 이러한 독성은 현재의 스크리닝 방법으로는 확인 할 수가 없다. 따라서 현재 독성학의 도전은 독성물질에 의한 후성 유전학 변형을 검사하는 방법을 개발하는 것이다.

4) 눈 독성

눈 독성은 눈과 직접 접촉하거나 내부 분포에 의해 발생한다. 각막과 결막은 독성물질에 직접 노출되기 때문에, 결막염 및 각막 부식은 화학물질에 직업적으로 노출된 후 관찰 될 수 있다. 많은 가정용품은 결막염을 유발할 수 있다. 순환기계에는 화학물질은 눈에 분포하고 각막 혼탁, 백내장, 망막 및 시신경 손상을 일으킬 수 있다.

- 산과 강한 알칼리 물질은 심한 각막 부식을 일으킬 수 있다.
- 코르티코스테로이드는 백내장을 일으킬 수 있다.
- 메탄올(목재 알코올)은 시신경을 손상시킬 수 있다.

5) 간 독성

간 독성은 간, 담관 및 담낭에 독성이 있다. 간은 많은 혈액 공급과 신진 대사에 중요한 역할하기 때문에 xenobiotic에 특히 취약해서 고용량의 독성 또는 독성 대사산물에 노출된다. 간 독성의 주요 형태는 다음과 같다.

- 화학 간염; 간의 염증.
- 간 괴사; 간세포의 죽음.
- 간내 담즙염; 간 세포로 담즙염의 백업.
- 간암
- 간경변; 만성 섬유증, 종종 알코올로 인한.
- 과민성; 간 괴사의 결과로 인한 면역 반응.

6) 면역 독성

면역독성은 면역계에 나타나는 독성이다. 다음과 같이 여러 형태일수 있다.

- 과민반응(알러지 및 자가면역)
- 면역결핍
- 통제되지 않는 증식(백혈병과 림프종)

면역계의 일반적인 기능은 외부 침입자를 인식하여 방어하는 것이다. 이러한 방어는 침입자를 삼키고 파괴하는 세포를 생산하거나 이물질을 비활성화하는 항체를 통해 달성한다.

- 덩굴 옷나무 노출로 인한 접촉 피부염
- Hydrazine에 노출된 작업자의 전신 루푸스 홍반성(루푸스).
- 코카인에 의한 면역 억제
- 벤젠에 의한 백혈병

7) 신 독성

신장에는 많은 량의 혈액이 흐르고 신장의 관에 농축될 수 있는 많은 량의 독소를 필터하기 때문에 독성물질에 매우 민감할 수 있다. 신독성은 신장에 대한 독성이다. 다음은 전신 독성의 원인이 될 수 있다.

- 체내 배설 능력의 감소
- 체액과 전해질 균형을 유지할 수 없다.
- 필수 호르몬의 합성 감소(예, 적혈구 생산 비율을 증가시키는 에리트로 포이에틴).

8) 신경 독성

신경독성은 중추 신경계(뇌와 척수)와 말초 신경계(CNS 외부의 신경)의 세포에 독성 손상을 나타낸다. 신경독성의 주요 유형은 다음과 같다.

- 신경병증(뉴런 손상)
- 액손병증(액손 손상)
- 탈수초(액손 절연 손실)
- 신경전달의 간섭

9) 생식 독성

생식독성은 남성 또는 여성 생식계의 독성 손상이다. 독성 영향은 다음이 원인일 수 있다.

- 리비도 감소 및 발기 부전.
- 불임
- 임신 중절(낙태, 태아 사망 또는 조기 출산).
- 유아 사망 또는 유년기 이환율.
- 변경형 성 비율과 다산.

- 염색체 이상 및 선천성 결손증
- 유년기 암.

10) 흡입 독성

흡입독성은 상부 호흡기계(코, 인두, 후두 및 기관)와 하부 호흡기계(기관지, 기관지 및 폐포)에 미치는 영향에 관한 것이다. 흡입독성의 주요 형태는 다음과 같다.

- 폐 자극
- 천식/기관지염
- 반응성 기도 질환
- 폐기종
- 알러지성 폐포염
- 섬유성 폐 질환
- 진폐증
- 폐암

5. 전신 독성 영향

1) 전신독성 영향 형태

독성의 영향은 일반적으로 독성 부위에 따라 분류된다. 경우에 따라 한 부분에서만 영향이 발생할 수 있다. 이 부위를 특정 표적 기관이라고 한다. 독성이 여러 부위에서 발생하는 경우도 있다. 이것은 전신 독성으로 알려져 있고 전신 독성의 종류는 다음을 포함 한다.

- 급성독성
- 아만성독성
- 만성독성

- 발암성
- 발생독성
- 유전독성(체세포)

2) 급성 독성

급성독성은 거의 노출 후(초/분/시간/일)즉시 발생한다. 급성노출은 일반적으로 단회 투여 또는 24시간 내에 투여되는 량이다. 사망은 급성 노출의 경우에 중요한 관심사일 수 있다. 예:

- 1989년 인도의 산업재해로 메틸이소시아네이트에 노출되어 5,000명이 사망하였고, 30,000명이 영구적인 불구가 되었다.
- 많은 사람들이 결함이 있는 히터로부터 일산화탄소를 흡입하여 매년 사망한다.

3) 아만성 독성

아만성독성은 몇 주 또는 몇 달 동안 반복적인 노출의 결과이다. 이것은 일반적으로 사람에서 몇몇 약제 및 환경 물질의 노출 형태이다. 예:

- 정맥 혈전증 치료제인 와파린(coumadin®)(혈액 희석제)을 몇 주간 섭취시 내부 출혈을 일으킬 수 있다.
- 직업 환경에서 몇 주 동안 납에 노출되면 빈혈이 발생할 수 있다.

4) 만성 독성

만성독성은 특정 장기 시스템에 누적된 손상을 나타내고 인식 할 수 있는 임상 질환이 되기까지는 몇 달 또는 몇 년이 걸린다. 무증상적인 개별 노출로 인한 손상은 눈에 띄지 않을 수 있다. 반복노출 또는 장기간 지속되는 유형의 노출로 인한 손상은 만성 독성의 임계값을 초과할 때까지 서서히 증가(누적

손상)하며 발생한다. 궁극적으로, 손상은 장기가 더 이상 정상적으로 기능할 수 없을 정도로 가혹해지는 다양한 만성 독성 영향이 발생할 수 있다.

- 몇 년 동안 에탄올을 섭취한 알코올 중독자의 간 경변.
- 몇 년간 납에 노출된 노동자의 만성 신장병.
- 장기간 담배 흡연자의 만성 기관지염.
- 석탄 광부(검은 폐 질환)에서 폐 섬유증.

5) 발암성

발암성은 암을 유도할 수 있는 정상 세포의 성장과 분화의 복잡한 다단계 과정이다. 발암성의 2단계는 다음과 같다.

1. 개시(initiation); 정상세포는 비가역적인 변화를 겪는다.
2. 촉진(promotion); 개시된 세포는 암으로 진행되도록 자극된다.

화학물질은 개시 또는 촉진과 같은 작용을 할 수 있다. 정상 세포가 돌이킬 수 없는 변화의 원인이 되는 초기 변화는 정상 세포 기능을 제어하는 세포 유전자의 돌연변이에서 발생한다. 돌연변이는 비정상세포의 성장을 이끌 수 있다. 이것은 일반적으로 비정상세포 성장을 제한하는 억제유전자의 손실과 관련될 수 있다. 성장 인자, 면역 억제 및 호르몬과 같은 다른 많은 요인이 관련되어 있다. 종양(신생물)은 단순히 조절되지 않는 세포 성장이다.

- 양성종양은 발생한 부위에서 성장; 인접한 조직을 침범하거나 전이되지 않는다. 일반적으로 치료할 수 있다.
- 악성종양(암)은 인접한 조직을 침입하거나 먼 부위(전이)로 이동한다. 그(것)들은 치료가 어렵고 종종 사망의 원인이 된다.

6) 발달 독성

발달독성은 발생중인 배아 또는 태아에 작용하는 독성과 관련 있다. 이것은 임신 전 어머니나 아버지 또는 어머니와 발생 중인 배아 또는 태아에 독성물질이 노

출되어 발생할 수 있다. 발달독성의 3가지 기본 유형은 다음과 같다.

- 배아 치사성; 임신실패, 자발적 낙태 또는 사산
- 배아 독성; 성장 지체 또는 특정 장기 시스템의 지연된 성장.
- 최기형성; 갈라진 팔레트나 누락된 사지와 같은 살아있는 자손에 영구적인 출생 결함을 남기는 돌이킬 수없는 조건.

화학물질은 2가지 방법으로 발달독성을 유발한다.

- 비정상적인 기관 발달을 유도하는 세포 죽음 또는 세포 손상의 원인이 되는 배아세포에 직접 작용.
- 수정된 난자로 전이되는 부모의 생식 세포에 돌연변이를 유도한다. 일부 돌연변이 된 수정난는 비정상적인 배아로 발달한다.

7) 유전 독성

유전독성은 DNA 손상과 변형된 유전적 발현으로 발생한다. 이런 과정이 돌연변이 발생으로 알려져 있다. 유전적인 변화는 돌연변이라고 하며 변화를 일으키는 제제는 돌연변이원이라고 한다. 유전적 변화에는 3가지 유형이 있다.

- 유전자 돌연변이; 유전자내의 DNA 서열의 변화.
- 염색체 이상; 염색체 구조의 변화.
- 이수배수체(Aneuploidy) 또는 다배수체(polyploidy); 염색체 수의 증가 또는 감소.

생식세포에 돌연변이가 발생하면 그 영향은 유전성이 있다. 이것은 노출된 사람에게 아무런 영향이 없다는 것을 의미한다. 오히려 그 영향은 다음 세대에게 전달된다. 체세포에 돌연변이가 발생하는 경우는 노출된 사람에서 변형된 세포성장(예, 암) 또는 세포 사멸(예, 기형발생)을 일으키는 원인이 될 수 있다.

6. 위해성 평가(Risk Assessment)

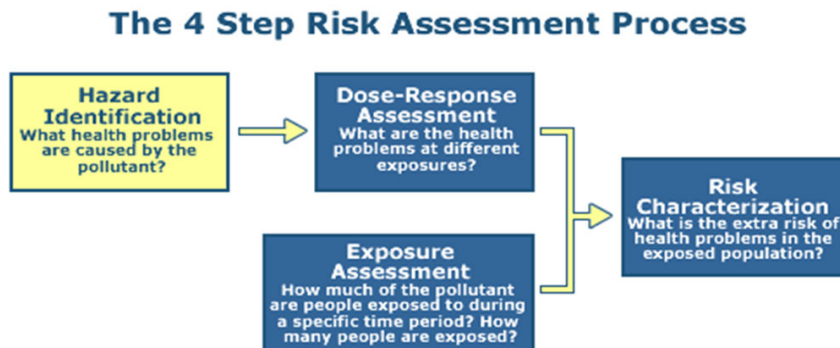
1) 용어

- 유해성(Hazard); 악영향을 미치는 물질의 능력.
- 위해성(Risk); 특정 노출 조건에서 유해성이 발생할 확률.
- 위해성 평가(Risk assessment); 유해성, 노출 및 위해성을 결정하는 과정.
- 위해성 관리(Risk management); 위해성 평가 및 사회, 경제 및 정치적인 고려를 근거로하여 정책 대안을 계량화하고 가장 적절한 규제 조치를 선택하는 과정.

2) 위해성평가 단계

- 유해성 확인; 물질의 타고난 독성 효양의 특성화.
- 용량 - 반응 평가; 노출된 집단에서 악영향을 유발하는 용량과 사례 간의 관계의 특성화.
- 노출 평가; 물질에 대한 인간 노출의 강도, 빈도 및 기간의 측정 또는 추정.
- 위해성 특성화 - 인간의 노출의 다양한 조건하에서 건강에 대한 영향 발생률 추정.

산업독성의 위해성평가의 절차는 다음과 같다.



[그림 II - 1] 산업독성의 유해성 평가

3) 유해성 확인(Hazard Identification)

독성학에서 유해성 확인의 목적은 화학물질이 인간에게 잠재적인 유해성을 초래하지 않거나 발생하지 않는다는 것을 식별하거나 개발하는 것이 아니다. 초창기 독성학에서는 주로 사람의 역학자료와 다양한 동물시험 자료에 의존했으나, 최근 몇 년 동안에는 돌연변이 및 DNA 손상의 가능성을 평가하는데 초점을 맞춘 것과 같은 in vitro 방법의 개발이 보충되었다. 유해성 확인의 미래는 유망하며 독성학자는 현재 "칩"을 이용한 방법과 다양한 in vitro 방법을 이용하고 있다.

이러한 새로운 방법은 부분적으로(정량적) 구조 활동 또는 (Q)SAR 방법을 기반으로 한다. 컴퓨터 모델과 같은 Q(SAR) 방법은 독성학자에 기타 화학물질을 개별 화학물질 보다는 그룹 또는 화학물질 범주로 고려하는 데 도움이 된다. 모든 화학물질을 모든 독성 엔드포인트에 대해 시험할 필요는 없으며, 시험된 화학물질 및 엔드포인트에 대한 자료는 다른 화학물질 및 관심 있는 엔드포인트에 대한 특성을 추정하는 데 사용된다. 화학물질 범주의 자료는 적어도 "스크리닝 수준"의 유해성 식별을 지원하기에 적합하다고 판단해야 한다. 한 가지 접근법은 한 화학물질에 대한 엔드포인트 정보를 사용하여 어떤 식으로든 "유사"하다고 간주되는 다른 화학물질 (구조적 유사성 및 유사한 특성 및/또는 활성)에 대해 동일한 엔드포인트를 예측하는 것이다.

▪ Read - Across

약 2000년부터 사용하고 있는 유해성 식별의 또 다른 접근 방식은 Read - Across이다. Read - Across는 질적 또는 양적 일 수 있다.

- 질적 Read - Across는 관심있는 화학물질에 대한 독성 영향의 특정 유형과 같은 속성/활동의 존재(또는 부재)는 하나 이상의 다른 화학물질에 대한 동일한 속성/활동의 존재(또는 부재)에서 유추된다. 이러한 질적 접근 방식은 "예/아니오" 답변을 제공한다.
- 양적 Read - Across는 하나 이상의 화학물질에 대한 정보를 사용하여 관심있는 화학물질이 어떤 것인지를 추정한다. 따라서 정량적 Read -

Across는 용량 - 반응 관계와 같은 엔드포인트에 대한 정량적 값을 얻기 위해 사용될 수 있다.

▪ AOPs

유해성 확인에 대한 새로운 접근 방식은 AOP(Adverse Outcome Pathways)를 사용하는 것이다. AOP는 실험동물을 대상으로 한 고용량 연구에서 사람 관련 세포 또는 조직을 사용하여 정상적인 세포 신호 전달 경로의 변화를 평가하는 *in vitro* 방법으로 독성시험의 이동을 반영한다. AOP 개념은 고처리량 독성 테스트(HTT 또는 고처리량 독성 스크리닝, HTS) 및 기타 결과를 연결하기 위한 프레임 워크로 등장했다.

▪ 컴퓨터 모델

또 다른 새로운 용어는 *in vitro*에서 *in vivo*로 외삽 또는 (Q)IVIVE로, IATA(Integrated Testing Strategies and Integrated Approaches to Testing and Assessment)와 함께 사용된다.

▪ 새로운 전략

HTS(High Throughput Screening) 이니셔티브는 2004년 NTP (National Toxicology Program) 비전 및 21 세기 로드맵에서 개발된 새로운 독성시험 전략의 일부이다. 전통적인 독성시험 주로 실험동물의 사용을 기반으로 한다. 그러나 이 접근법은 낮은 처리량, 높은 비용 및 종 간 외삽에 내재된 어려움이 있다. 따라서 부적절한 독성자료로 매우 많은 수의 화학물질을 평가하는데 제한적으로 사용된다. NTP는 분자 생물학 및 컴퓨터 과학의 기술 발전이 *in vitro* 생화학 및 세포 기반 분석과 비설치류 동물 모델을 독성시험에 사용할 수 있는 기회를 제공한다는 것을 인식했다. 이러한 분석은 훨씬 더 적은 비용으로 훨씬 더 높은 처리량을 허용한다. 일부 분석에서는 수천 개의 화학물질을 몇 일 내에 동시에 시험 할 수 있다. 목표는 질병 - 특이적 모델 수준의 관찰과학에서 표적 - 특이적이고, 기전 기반이고, 생물학적 관찰을 광범위하게 포함하는 것에 초점을 맞춘 예측 과학으로 독성학을 이동하는 것이다. High Throughput Screening 프로그램은 독성시험의 새로운 패러다임을

나타낸다. 인체 발암성, 생식 및 발달 독성, 유전독성, 신경독성 및 면역독성과 같은 건강에 해로운 영향에 중요한 것으로 간주되는 세포 경로 내에서 활성적이고 기전적인 표적에 대한 독성학적 테스트 스크린에 대한 HTS 프로그램 접근 방식이다.

▪ HTS 목표

- 더 심층적인 독성 평가를 위해 물질의 우선순위를 정한다.
- 추가 조사를 위한 작용기전을 식별한다(예: 질병관련 경로).
- in vivo 생물학적 반응에 대한 예측 모델 개발(예측 독성학).

EPA는 Virtual Embryo(v - Embryo™)와 같은 "가상 조직 모델"을 개발하고 있다. 이러한 유형의 고급 컴퓨터 모델은 화학물질이 인간 발달에 미치는 영향을 시뮬레이션하고 동물연구 자료의 의존도를 줄이는 데 도움이 되도록 설계되었다. 또한 화학물질의 위해성 평가를 개발하는데 더 빠른 방법을 제공 할 것이다. 마지막으로 독성학자의 새로운 도구로 "칩"모델이 있다(예: 장기 칩). 한 가지 예는 "인간의 폐의 복잡한 기계적 및 생화학적 작용을 모방하여 약물 스크리닝에 대한 새로운 in vitro 접근 방식을 제공"하는 "Lung - On - A - Chip"이다.

4) 용량 - 반응 평가(Dose - Response Assessment)

위해성 평가 과정에서 용량 - 반응 평가 단계는 이전 단계에서 확인된 유해성을 정량화한다. 그것은 사람에서의 용량과 영향 발생 사이의 관계를 결정한다. 일반적으로 다음의 2가지 주요 외삽이 필요하다.

- 높은 실험 용량에서 낮은 환경 용량까지.
- 동물 용량에서 인간 용량까지.

고용량에서 저용량으로 외삽하는 데 사용되는 절차는 발암성 영향과 비발암성 영향을 평가하는 게 다르다.

- 발암성에 대한 임계 값이 없는 경우 위해성 추정치를 제공하기 위해 고용량에서 저용량으로 외삽하는 데 수학적 모델이 사용된다. 그러나 일부

발암성 영향(예: 비유전독성 화합물의 경우)은 임계 값을 갖는 것으로 알려져 있으며 이러한 유형의 외삽은 적절하지 않다.

- 비발암성 영향(예: 신경 독성)은 영향이 발생하지 않는 용량 임계 값 미만으로 고려된다. 동물 또는 인간 연구에 영향을 미치는 최저 용량은 안전 한계를 제공하기 위해 안전 계수로 나눈다.

■ 발암물질의 위해성 평가

암 위해성 평가는 2단계를 포함 한다.

- 모든 역학연구, 동물분석 자료 및 생물학적 활동(예: 변이원성)에 대한 정성적 평가를 수행한다. 물질은 증거의 무게에 따라 인체 발암 위해성으로 분류된다. 증거가 충분하면 물질은 확정적(definite)이거나 아마 발암성(probable)이 있거나 발암 가능한(possible) 인체 발암 물질로 분류 될 수 있다.
- 사람에게 발암물질로 분류된 물질의 위해성을 정량화한다. 높은 실험 용량에서 더 낮은 환경 용량으로 외삽하기 위해 수학적 모델이 사용된다.

2가지 주요 암 분류 체계는 EPA(Environmental Protection Agency)와 IARC(International Agency for Research on Cancer)가 있다. EPA와 IARC 분류 시스템은 매우 유사하다.

- 암 위해성의 질적 평가

EPA의 암 평가 절차는 여러 연방 및 주 기관에서 사용되었다. 독성물질 및 질병 등록 기관(ATSDR)은 EPA의 발암물질 평가에 의존한다. 물질은 다음과 같이 5개 중의 하나에 해당된다.

〈표 II - 6〉 발암성 물질의 분류

분류	정의
사람에게 발암성	사람에서의 발암성이라는 강력한 증거
사람에게 발암성일 것 같다	사람에서 발암성을 설명하기에 증거가 불충분하지만 “사람에서 발암성”이라는 설명에 대한 증거의 무게에 도달하지는 않았다.
발암 잠재성의 암시적 증거	증거의 무게는 발암성을 암시한다; 사람에서 잠재적인 발암성 영향에 대한 관심이 증가하였으나, 그 데이터는 강한 결론을 내리기에는 불충분하다고 판단된다.
발암 잠재성을 평가하기 위한 불충분한 정보	이용할 수 있는 데이터들이 다른 분류들 중에 하나를 설명하기에 불충분하다고 판단된다. 추가적인 연구가 일반적으로 추가 통찰력 제공을 위해 예상된다.
사람에게 발암성일 것 같지 않다	사용 가능한 데이터는 물질이 인체 발암 물질로 간주 될 근거가 없음을 결정하는 데 있어 강력한 것으로 간주 됩니다.

- 사람에 대한 발암 자료

사람에서의 충분한 증거는 명확히 사람에서 암과 물질사이에 인과 관계를 보여주는 역학연구 결과이다. 자료는 관찰된 영향에 대한 대체 설명이 있는 경우 사람에서의 제한적 증거로 정의된다. 만족스러운 역학연구 결과가 존재하지 않는 경우 자료는 사람에 부적당한 증거로 여겨질 것이다.

- 동물에 대한 발암 자료

실험동물의 하나 이상의 종 또는 계통에서 암 발생의 충분한 증거로 간주된다. 유도된 종양의 높은 발생률 또는 특이한 형태인 경우 단일 실험에서 얻은 데이터는 또한 충분한 동물 증거로 간주될 수 있다. 그러나 일반적으로, 단 하나의 종, 계통, 또는 연구에서 발암 반응은 동물에 있는 단지 제한된 증거로 간주된다.

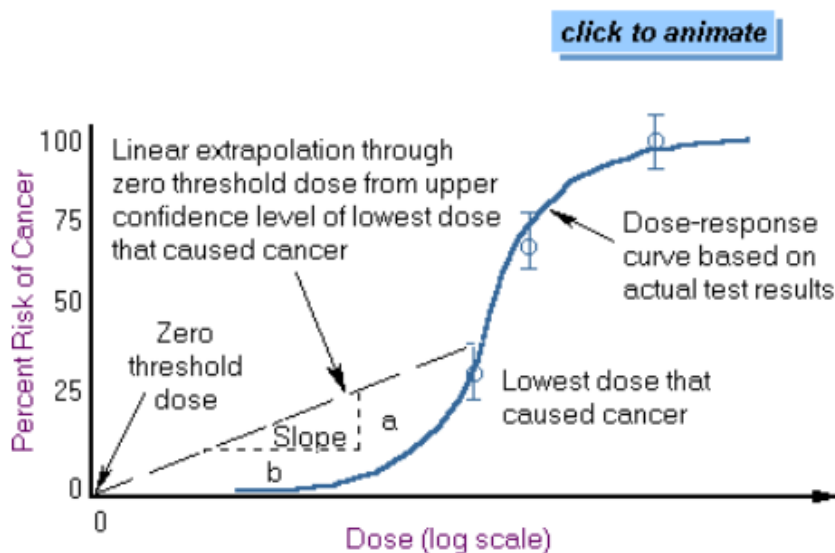
- 암 위해성의 양적 평가

물질이 사람에서 발암물질 또는 사람에서 발암 가능한 물질로 분류될 때,

정량적 위해성 평가를 받게 된다. 사람에서 발암 가능한 물질로 지정된 경우, 위해성 평가자는 정량적 위해성 평가가 보증되는지 여부를 사례별로 결정할 수 있다. EPA 발암물질 위해성 평가에서 파생된 주요 위해성 평가 파라미터는 cancer slope factor이다. 이것은 투여량과 반응 사이의 관계를 정량적으로 정의한 독성 값이다. cancer slope factor는 개인이 70년 동안 화학물질에 노출되면 암이 발생할 가능성의 상한 추정치이다. cancer slope factor는 mg/kg/day로 표현된다.

- 선형화된 다단계 모델(LMS)

수학모델은 동물시험 또는 역학 자료에서 추정하여 저용량 위해성을 예측하는 데 사용된다. 대부분은 임계 값 0 투여량으로 선형성을 가정한다.



[그림 II - 2] Linearized Multistage Model

암 평가를 위해 사용되는 다른 모델들은 다음과 같다.

- One-hit model은 암에는 단 하나 단계가 있고 1개의 분자 사건이 세포 변환을 유도한다는 것을 가정하는 모델이다. 이것은 매우 보수적인 모델이다.

- Multi - hit model은 세포가 변환되기 전에 여러 상호 작용이 필요하다고 가정하는 모델이다. 이것은 가장 적은 보수적인 모델 중 하나이다.
- Probit model은 노출된 모집단의 허용 오차에 대해 일반 분포(Probit)를 기록한다고 가정하는 모델이다. 이 모델은 가끔 이용하지만 일반적으로 암 리스크를 평가하기 위해 부적당한 것으로 여겨질 수 있다.
- Physiologically Based Pharmacokinetic(PBPK) Models은 약동학 및 기전적인 자료를 외삽하는 과정에 통합한다. 이 모델은 광범위한 데이터를 필요로 하며 일반적으로 사용되고 있다.
- 식수내 화학물질 농도 추정을 위한 모델 적용

chlordan은 일생 동안 백만명당 1명의 암 사망 위험을 초래하는 것으로 밝혀졌다. 다른 암 위해성 평가 모델은 다음의 표에서 설명된 바와 같이 chlordan 농도 추정치가 다르다.

〈표 II - 7〉 다양한 암평가 모델에 의한 식수내 chlordan 농도의 추정

모델	농도($\mu\text{g/L}$)
Probit	50
Multi - hit	2
Linearized multistage	0.07
One - hit	0.03

PBPK 모델은 비교적 새롭고 생물학적 데이터를 사용할 수 있을 때 사용되고 있다. 이것은 물질의 흡수, 분포, 대사, 조직 구획 및 제거를 정량화한다. 일부 구획은 화학물질(예: 뼈 및 지방 조직)을 저장하는 반면 다른 구획은 생체 변형을 하거나 제거한다(예: 간 또는 신장). 이러한 모든 생물학적 매개 변수는 목표 용량과 유사한 사람 용량을 도출하는 데 사용된다.

■ 비발암성 위해성 평가

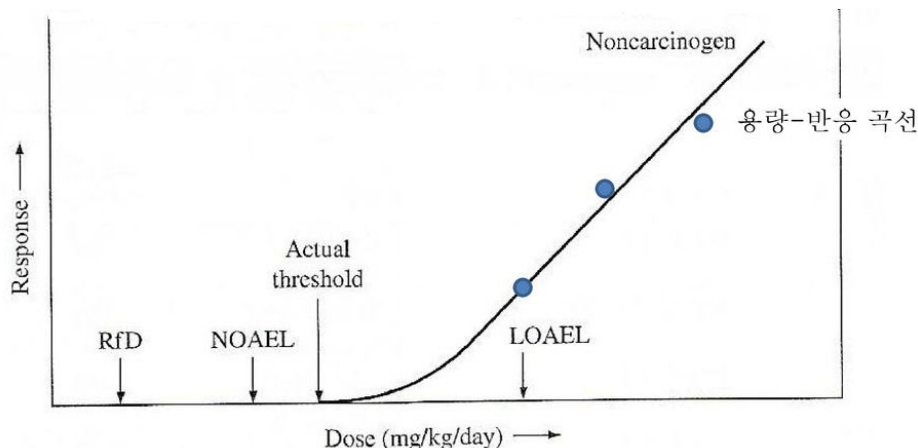
역사적으로 ADI(Acceptable Daily Intake) 절차는 비발암성 영향을 기반으로 인간에게 허용되는 만성 노출 수준을 계산하는 데 사용되었다. ADI는 인체가 유해한 영향을 받지 않고 장기간(일반적으로 평생) 노출 될 수 있는 화학물질의 양이다. 독성(NOEL)을 유발하지 않을 것으로 입증된 사람 또는 동물 연구에서 최고용량에 안전계수(자료의 불확실성을 설명하기 위해)를 적용하여 결정된다. EPA는 ADI 접근법을 약간 수정했으며 만성 비발암성 및 발달 영향에 대한 허용 가능한 안전 수준으로 참조 선량(RfD)을 계산했다. 마찬가지로 ATSDR은 비발암 엔드포인트로 MRL(최소 위험 수준)을 계산한다. ADI, RfD 또는 MRL 계산에 사용되는 치명적인 독성 영향은 가장 낮은 노출 수준에서 발생하는 심각한 부작용이다. 치사성에서 사소한 독성 효과에 이르기까지 다양하다. 다른 증거가 없는 한 사람은 동물 종만큼 민감하다고 가정한다.

■ 만성노출 평가

ADI, RfD 또는 MRL을 결정할 때 NOEL은 허용 가능한 인체 노출에 대한 안전 한계를 제공하기 위해 안전 계수(불확실성 계수)로 나눈다.

$$ADI(human\ dose) = \frac{NOEL(experimental\ dose)}{Safety\ Factor(s)}$$

NOEL을 이용할 수 없을 때는 LOEL을 RfD 계산을 위하여 이용할 수 있다. LOEL이 사용되는 경우 추가 안전 계수가 포함된다. 0.1~10의 수정한 계수를 사용하면 위해성 평가자가 데이터의 신뢰성과 품질을 기반으로 총 불확실성 계수를 업그레이드하거나 하향 조정할 때 과학적 판단을 사용할 수 있다. 예를 들어, 특히 좋은 연구가 위해성 평가의 기초 인 경우 <1의 수정 계수를 사용할 수 있으나, 불량한 연구를 사용하는 경우, 연구의 품질과 관련된 불확실성을 보상하기 위해 1보다 큰 계수를 통합 할 수 있다.



[그림 II - 3] 비발암성 영향에 대한 용량 - 반응 그래프

위의 그림은 NOAEL 및 LOAEL을 식별하는 비발암성 용량에 대한 용량 - 반응 곡선을 보여주고 있다. NOAEL/LOAEL에 가장 민감한 독성 영향이고 사람에게 발생 가능성이 있는 것으로 간주되는 한 모든 독성 용량을 사용할 수 있다. ADI 또는 RfD를 유도하는 데 사용되는 불확실성 요인 또는 안전 요소는 다음과 같다.

〈표 II - 표 8〉 ADI 또는 RfD 유도를 위해 사용된 불확실성/안전 인자

상황	불확실성/안전 인자
인간 다양성	10×
동물에서 사람으로 외삽	10×
만성 이하의 데이터 사용	10×
NOAEL대신 LOAEL 사용	10×
인자 수정	0.1 - 10×

수정 인자는 EPA 참조 용량을 유도하는 데만 사용된다. ADI 또는 RfD 계산에 포함되는 요소의 수는 적절한 NOAEL 또는 LOAEL을 제공하는 데 사용된 연구에 따라 다르다. RfD를 유도하기 위한 일반적인 공식은 다음과 같다.

$$\text{RfD} = \frac{\text{NOAEL or LOAEL}}{\text{UF1} \times \text{UF2} \times \dots}$$

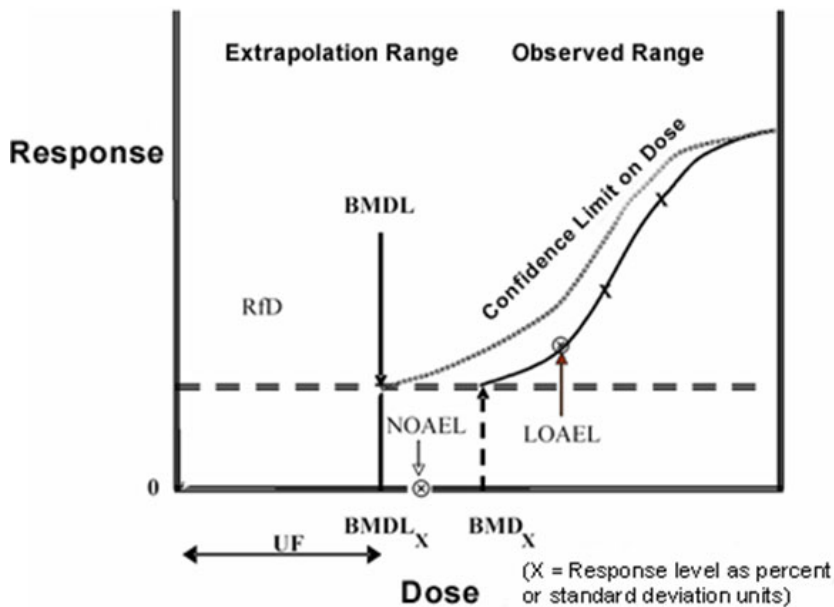
자료가 불확실하거나 신뢰할 수 없을수록 적용되는 총 불확실성 계수가 높아진다. RfD 계산의 예는 아래와 같다. LOAEL이 50 mg/kg/day인 아만성 동물 연구가 분자에 사용되었다. 분모에 사용된 불확실성 요인은 인간 변동성에 대해 10, 동물 연구에 대해 10, 만성 노출 미만에 대해 10, NOAEL 대신 LOAEL 사용에 대해 10이다.

$$\text{RfD} = \frac{50 \text{ mg/kg/day}}{10 \times 10 \times 10 \times 10} = 0.005 \text{ mg/kg/day}$$

만성적인 영향 외에도 RfD는 발달 독성을 포함한 다른 장기×독성 영향을 유도할 수 있다. 전통적으로 NOAEL 방법은 위해성 평가에 사용하기 위해 동물 독성학 데이터로부터 출발점(POD - 특정 평가 변수에 대한 추가 위해성과 관련된 관찰된 데이터로부터 파생된 선량을 나타냄)을 결정하는 데 사용되었다. 그러나 이러한 접근법에는 임계 영향이 확인된 연구의 용량 선택, 용량 간격 및 표본 크기에 대한 엄격한 의존성과 같은 한계가 있다. 또한 NOAEL을 사용하는 것은 용량 - 반응 곡선의 모양 및 기타 관련 정보를 고려하지 않는다.

- 벤치 마크 용량 방법

1980년대에 대안으로 처음 제안된 벤치마크용량(BMD) 방법은 NOAEL 방법의 많은 한계를 해결한다. 용량 선택 및 간격에 덜 의존하며 용량 - 반응 곡선의 모양을 고려한다. 또한 BMD 95% 하한신뢰한계(BMDL)의 추정치는 연구의 품질(즉, 샘플 크기)을 적절하게 설명하는 POD를 생성한다. EPA의 BMDS(Benchmark Dose Software)를 포함한 사용자 친화적인 BMD 소프트웨어 프로그램을 사용할 수 있게 됨에 따라 BMD는 전 세계 많은 의료 기관에서 선택하는 방법이 되었다



[그림 II - 4] 벤치마크 용량

■ 비발암 독성 영향의 평가

독성물질 및 질병등록기관(ATSDR)은 암 위해성 평가를 수행하지 않지만 비발암 독성영향(예: 선천적 결함 또는 간 손상)에 대한 최소 위험 수준(MRL)을 도출한다. MRL은 특정 노출 기간 동안 눈에 띄는 부작용 위험이 없을 가능성이 높은 물질에 대한 인간의 일일 노출 추정치로 정의된다. 흡입 또는 경구 경로의 경우 MRL은 급성(14일 이하), 중간(15~364일) 및 만성(365일 이상) 노출 기간이 도출된다. MRL을 도출하는 데 사용되는 방법은 EPA의 RfD 방법론을 수정한 것이다. 1차 수정은 10의 불확실성 계수가 과학적 판단에 따라 1 또는 3으로 낮을 수 있다는 것이다. 이러한 불확실성 요인은 사람의 가변성, 종간 가변성(동물에서 인간으로의 외삽) 및 NOAEL 대신 LOAEL 사용에 적용된다. RfD의 경우와 마찬가지로, 함께 곱해진 불확실성 요인의 곱은 NOAEL 또는 LOAEL로 나누어 MRL을 도출한다.

▪ 급성 또는 단기간 노출의 평가

화학물질에 대한 급성 또는 단기 노출에 대한 허용 노출 수준을 도출하기 위해 위해성 평가도 수행된다. 건강에 대한 권고(HA)는 식수에 포함된 화학물질에 의해 결정된다. HA는 1일, 10일, 장기 및 평생 동안 허용되는 인체 노출이다. HA를 계산하는 데 사용되는 방법은 불확실성 요인을 사용하는 RfD의 방법과 유사하다. HA에 적절한 길이의 독성 연구자료가 개발되고 있다.

▪ 직업노출 평가

직업적 노출의 경우 허용노출수준(PELs), 임계값 제한값(TLVs) 및 국립산업안전 및 건강연구소(NIOSH) 권장노출수준(RELs)이 개발되었다. 작업장에서 매일 반복되는 노출로 인해 건강에 해로운 영향을 미치지 않는 용량 수준을 나타낸다. 유도하기 위해 사용되는 방법은 개념적으로 동일하다. 안전 계수는 PELs, TLVs 및 RELs을 유도하는 데 사용된다.

▪ 동물 용량을 사람 용량 등가물로 변환

동물 용량은 사람 용량 등가물로 변환되어야 한다. 사람 용량 등가는 다른 종이 체중 단위 또는 체표 면적당 물질의 영향에 똑같이 민감하다는 가정을 기반으로 한다. 역사적으로 FDA는 사람과 동물의 체중 비율을 사용하여 사람 용량 등가를 계산했다. EPA는 사람과 동물의 표면적 비율을 사용하여 사람 용량 등가를 계산했다. 현재의 일부 접근법에는 동물 용량에 사람 대 동물 체중의 비율을 2/3 또는 3/4 제곱으로 곱하는 것이 포함된다(체중에서 표면적으로 변환). 독성학자와 위해성 평가자는 그들이 사용하는 접근 방식이 규제 기관에서 그들의 노력과 가장 관련성이 높은 것으로 요구하거나 권장하는 접근 방식인지 확인해야 한다.

▪ 오염원에 대한 허용 노출

위해성 평가의 마지막 단계는 오염원에 대한 허용 노출 측면에서 위해성을 표현하는 것이다. 위해성은 사람과 접촉하는 환경에서 물질의 농도로 표현된다. 예를 들어, 공기 중 위해성 평가 단위는 mg/m^3 당 위해성이고 음용수 위험 평가 단위는 mg/L 당 위해성이다. 발암물질의 경우 매체 위해성 추정치

는 cancer slope factor를 70 kg(남성의 평균 체중)으로 나누고 20 m³/일(성인의 평균 흡입률) 또는 2 리터/일(성인의 평균 물 소비율)을 곱하여 계산한다.

5) 노출평가(Exposure Assessment)

독성학에서 사용되는 표현은 "노출이 없으면 위해성도 없다"이다. 노출이 없으면 가장 독성이 강한 화학물질 조차도 위협을 나타내지 않기 때문에 노출 평가는 위해성 평가 과정의 중요한 단계이다. 화학물질에 대한 잠재적인 노출에 대한 우리의 이해는 약 1980년 이후 크게 증가했다. 예를 들어, 연구에 따르면 소비자 제품 또는 가정용 먼지로 끝나는 다른 곳의 화학물질과 같은 잠재적인 실내 공기 노출의 "누락된" 출처와 경로가 확인되었다. 환경 오염물질은 방출, 환경에서의 이동 및 운명, 노출된 개체군에 따라 분석된다. 소비자 제품과 의약품은 합리적으로 예측 가능한 잠재적 노출 측면에서 분석된다.

■ 노출원

일상 생활에는 수백 가지 화학물질의 혼합물에 노출되는 사람이 포함될 수 있다. 문서화된 비직업적 출처의 예는 소비자 제품(하루에 20 개 이상), 의류, 주거 및 기타 물, 실내 및 실외 공기, 식품 및 식품 포장, 음료수, 장난감, 가구, 카페 텀, 페인트 및 기타 건축 자재, 담배 연기, 소비자 제품의 화학물질이 포함된 가정용 먼지, 실내에서 추적되는 실외 토양 및 토양이 있다. 다른 주거용 화학물질은 가정용 공기와 물에서 나올 수 있다. 예를 들어, 공기 중의 화학물질은 가정용 재료(예: 카펫 및 식품 포장)에 침전, 흡수 또는 흡착(기체, 액체 또는 용해 된 고체 분자가 표면에 부착되어 그 주위에 얇은 막이 형성될 때 발생)할 수 있다. 이는 피부 및 구강 노출로 이어질 수 있다. 화학물질이 실내 공간에 한정되어 있고 실외 공기에 희석되지 않는 경우 화학물질의 실내와 실외 수준에 큰 차이가 있을 수 있다.

■ 노출경로

물질이 노출원(시작 지점)에서 최종 끝(끝점)까지 이동하는 경로와 사람들이 물질과 접촉(또는 노출) 될 수 있는 방법을 노출 경로로 정의한다. 노출 경

로는 5부분으로 구성된다.

- 가정에서 소비자 제품을 사용하거나 트럭이 고속도로에 흘린 화학물질과 같은 노출원
 - 실내 또는 실외 공기 또는 지하수를 통한 이동과 같은 환경 매체 및 운송 메커니즘
 - 개인의 집이나 개인 우물과 같은 노출원
 - 노출 경로; 식사, 음주, 호흡 또는 접촉
 - 수용체 집단; 잠재적 또는 실제로 노출된 사람 또는 집단
- 노출평가 과정



[그림 II - 5] 노출평가 과정

노출평가의 주요 변수는 노출된 집단, 물질의 형태, 단일 또는 복합 물질, 노출 빈도와 기간, 노출 경로와 형태이다. 합리적으로 예측 가능한 노출의 모든 가능한 유형은 발생할 수 있는 독성과 위해성을 평가하기 위해 고려해야 한다.

■ 노출 고려사항

환경노출의 경우 위해성 평가자는 물리적 환경과 잠재적으로 노출된 인구를 조사한다. 물리적 환경에는 기후, 초목, 토양 유형, 지하수 및 지표수가 고려 사항으로 포함될 수 있다. 오염원으로부터 이동된 화학물질에 노출 될 수 있는 인구도 고려해야 한다. 노출 수준이 높거나 민감도가 높기 때문에 하위

집단이 더 큰 위험에 처할 수 있다. 예를 들면 영유아, 노인, 임산부, 만성 질환자 등이 있다. 오염 물질은 발생원으로부터 멀리 이동 될 수 있으며 물리적, 화학적 또는 생물학적으로 변형 될 수 있다. 그들은 또한 다양한 물질에 축적 될 수 있다. 화학적 운명을 평가하려면 다음과 같은 여러 요인에 대한 지식이 필요하다.

- 평형 상태에서 유기 탄소 및 물 분배(K_{oc})
- 토양과 물 사이의 화학적 분배(K_d)
- 공기와 물의 분할(헨리의 법칙 상수)
- 용해도 상수
- 증기압
- 물과 옥탄올(K_{ow}) 분배
- 생물농도 인자들

이러한 인자들은 오염 물질의 출처, 방출 및 경로에 대한 데이터와 통합되어 지하수, 지표수, 공기, 토양, 음식 및/또는 모유와 같은 중요한 노출 경로를 결정한다.

■ 노출모델

실제로 노출을 측정할 수 없는 경우가 많기 때문에 노출 모델을 사용할 수 있다. 예를 들면 대기질 연구에서 화학물질 배출 및 공기 분산 모델을 사용하여 바람이 불어오는 주민들의 공기 농도를 예측한다. 오염원으로 부터 하류의 우물은 현재 오염 징후를 보이지 않을 수 있다. 지표수의 화학물질이 우물로 이동하여 향후 오염 될 수 있다. 이러한 상황에서 지하수 운송 모델을 사용하여 잠재적인 우려가 있는 화학물질이 우물에 도달하는 시기를 추정 할 수 있다.

6) 위해성 특성화(Risk Characterization)

위해성 특성화를 위한 접근 방식은 계속 진화하고 있다. 위해성 평가 과정의 마지막 단계는 노출된 집단에서 영향의 빈도와 심각도를 예측하는 것이다. 유해성 식별 및 노출 평가 단계에서 도달한 결론은 유사한 조건에서 노출된 인간

에게 발생할 가능성이 있는 영향의 확률을 결정하기 위해 통합된다. 대부분의 위해성 평가에는 주요 불확실성이 포함되어 있기 때문에 위해성의 특성화에서 생물학적 및 통계적 불확실성을 설명하는 것이 중요하다. 평가는 위해성 평가 과정의 어떤 구성 요소가 가장 큰 불확실성을 포함하는지 식별해야 한다.

▪ 발암성 위해성

화학물질 노출과 관련된 사람에서의 잠재적인 발암 위해성은 평생 동안 증가된 암 발생의 확률로 표현된다. 예로 암 위해성이 10~6 증가하면 암 발병 위험이 1,000,000명 중 1명으로 증가한다. 발암성의 경우 개인이 평생 동안 암에 걸릴 확률은 물질의 cancer slope factor(mg/kg/일)에 만성(70년 평균) 일일 섭취량(mg/kg/일)을 곱하여 역사적으로 추정되었다.

▪ 비발암성 영향

비발암성 영향의 경우 노출 수준은 역사적으로 유사한 노출 기간에 대해 도출된 ADI, RfD 또는 MRL과 비교되었다. 3가지 노출 기간이 고려된다: 급성, 중간 또는 만성. 사람의 경우 급성(며칠에서 몇 주 내에 발생), 중간(몇 주에서 1년 내 분명하다), 만성(1년 이상 후에 나타난다)으로 영향을 받을 수 있다.

▪ 다중 노출의 경우

유해한 폐기물 장소와 같은 일부 복잡한 위해성 평가에서는 위해성 특성화는 다중 화학물질 노출 및 다중 노출 경로를 고려해야 한다. 여러 화학물질에 동시 노출(각각 임계치 이하 수준)은 종종 다중 노출과 함께 "더해져"서 부작용을 유발할 수 있다. 물질이 동일한 기전으로 동일한 독성을 유발할 때 용량 가산성 가정이 가장 적합하다. 가능한 경우 작용기전 및 화학적 상호작용에 대한 정보가 고려되며 보다 과학적인 위해성 평가를 도출하는 데 유용하다. 개인은 종종 하나 이상의 노출 경로를 통해 물질에 노출된다(예로 오염된 물을 마시고 오염된 먼지를 흡입).

7. In vitro 반복투여전신독성시험의 최신 상황

EPAA(European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing)는 2019년 Blue Sky 워크숍에서 반복투여독성시험을 평가하기 위해 동물을 사용하지 않는 새로운 접근 방식은 우리가 올바른 길로 가고 있음을 인정했다. 이전의 EPAA 워크숍과 기타 이니셔티브(예: SEURAT - 1, LRSS, EU - ToxRisk)는 차세대 안전성 평가를 개발하기 위해 분자 및 컴퓨터 방법으로 과거 독성시험 자료를 기반으로 Read - Across를 포함하여 독성학에 대한 기존 지식을 인정하고 활용했다. 현재 많은 연구자들은 모든 새로운 접근 방법들을 사용함으로써 독성 및 위해성 평가의 문제를 해결할 수 있는 가능성이 있다고 한다. 그러나 새로운 접근 방식을 사용하려면 기술 및 자료 분석의 문제를 체계적으로 이해하고 해결해야 한다. 표적 검사에서 비표적 종합 검사에 이르기까지 가능한 모든 독성학적 작용 유형에 걸쳐 이를 실현하기 위한 광범위한 도구와 수단이 필요하다. 현재 그룹화 및 Read - Across는 많은 맥락에서 의존적으로 생물학적(기능적) 및 노출 정보를 포함하도록 추가로 개발될 수 있다. 초기에 접근방법은 Read - Across 및 in silico 도구가 충분하지 않을 때 적용될 수 있지만 훨씬 더 많은 작업이 필요하다. 이는 궁극적으로 통합 시스템의 모델링과 주로 in vivo 자료에 기반한 결정에서 인간의 지식 기반 결정으로의 전환으로 이어질 것이다. 지식과 도구의 진화뿐 아니라 적용, 이해 및 보급의 혁신을 통해 개선이 이루어질 것이다. 이에 대한 핵심은 새로운 접근 방식이 투명하고(기전 기반), 재현 가능하고, 접근 가능하고(데이터 공유의 모든 측면을 권장) 원하는 보호 목표에 부합하도록 하는 것이다. 또한, 규제 기관과 협력하여 적절한 문제를 공식화하고, 현재 규정의 변환 및 계층적 전략의 대안을 실현하기 위하여 추가적인 자료 및 정보를 포함하여 신뢰를 구축하는 것이 중요할 것으로 판단한다. 이는 사례 연구의 사용을 통해 가능해질 수 있고 자신감을 높이고 화학물질 위해성 평가에 대한 적용을 가속화할 것으로 기대하고 있다.

8. 미세 유체 시스템

Microfluidic 칩은 Organ - On - A - Chip(OOAC) 개발에 중요한 지원을 제공한다. 이것의 개발은 전 세계적으로 많은 관심을 끌고 있으며 큰 과학적 진보가 이루어졌다. 현재 많은 OOAC가 설계되고 제조되어 있으며, 인체를 모방하기 위하여 각 장기의 배열이 연구되었다. OOAC의 최종 목표는 수많은 기관을 단일 칩에 통합하고 더 복잡한 다중 기관 칩 모델을 구축하여 "Human - On - A - Chip"을 달성하는 것이다.

OOAC 기술은 빠르게 발전하고 많은 발전을 이루었지만 Human - On - A - Chip 이론을 달성하기에는 아직 더 많은 발전이 요구되고 있다. Polydimethylsiloxane(PDMS)는 가장 널리 사용되는 재료이지만 결과적으로 필름이 생체내 형태보다 두껍기 때문에 단점이 존재한다. 소수성의 작은 분자의 흡광도가 감소하면 용매의 영향과 독성에 영향을 준다. 따라서 적절한 대체 재료를 찾는 것이 요구된다. 현재는 제조 및 실험수행 비용이 상대적으로 비싸서 OOAC의 광범위한 사용에 도움이 되지 않으므로 구성 요소는 경제적이고 폐기가 쉬워야한다. 그리고 비싼 부품은 재사용이 가능해야한다. 통합 시스템 구성 요소의 경우 일반적인 사용을 위해 배지량과 커넥터 크기를 줄여야한다. 칩으로부터 샘플을 수집하면 작동을 방해하여 다양한 대사산물의 농도가 변경될 수 있다. 따라서 더 적합한 센서가 필요하다. 모든 장기에 적합한 배양 세포 배양 배지도 요구된다. 가장 중요한 것은 장기(organ) 칩 수가 증가함에 따라 기능이 더욱 복잡해지고 생성된 자료는 인공적이며 해석할 수 없는 위험이 수반된다. 이러한 것은 현재 해결할 수 없으며, 장기간의 반복 투여 또는 온 칩 연구의 경우, *in vitro*에서 확인된 바이오 마커가 생체내 동등성을 완전히 반영하지 못할 수 있다. 그러나 OOAC가 발전하는 상황을 고려하면 이러한 문제들이 빠른 시일 내에 해결하여, 사람의 인체를 거의 유사하게 모방할 수 있을 것으로 생각한다.

III. Organ – On – A – Chips

.....
.....
.....

III. Organ - On - A - Chips

1. Organ - On - A - Chip 설계 개념 및 주요 구성 요소

1) 디자인 컨셉

배양 시스템은 외부 및 내부 세포 환경의 제어를 필요로 한다.³⁷⁾ 미세 가공 및 세포 생물학과 결합된 OOAC는 외부 매개 변수를 제어하고 생리학적 환경을 정확하게 시뮬레이션 할 수 있다.³⁸⁾ 동적 기계적 압박(dynamic mechanical stress), 유체 전단(fluid shear) 및 농도 구배(concentration gradients)가 칩에 필요하다. 생리적 과정을 완전하게 반영하기 위해 세포 패턴화도 실현되어야 한다.

2) 유체 전단력

Microfluidics는 마이크로 펌프 관류를 통해 세포의 동적 배양을 가능하게 하여 영양분의 투여와 적시에 폐기물 배출을 촉진한다. 세포가 위치한 동적 환경은 정적 배양보다 생체 내 조건과 더 비슷하다. 또한 유체 전단력은 장기(organ)의 극성을 유도한다.³⁹⁾ 중요한 것은 OOAC는 세포 표면 분자와 관련된 신호 전달 단계를 활성화하여 내피 세포의 정상적인 생물학적 기능에 필요한 물리적 압력을 가한다.⁴⁰⁾

3) 농도 구배

미시적 수준에서 유체는 주로 층류로 작용하여 생화학 분자의 안정된 구배를 생성하며 공간과 시간이 제어된다. 농도 구배에 의해 유도되는 다양한 생화학적 신호는 혈관 신생, 침입 및 이동을 포함한 생물학적 현상에 존재한다.

다.^{41,42,43)} Microfluidics는 안정된 3차원(3D) 생화학적 농도 구배를 달성하기 위해 마이크로 밸브와 마이크로 펌프를 사용하여 유속과 채널 형상을 변경함으로써 인체의 복잡한 생리 과정을 시뮬레이션 한다.

4) 동적 기계적 압력

정상적인 일상 기관 압력에는 혈압, 폐압 및 골압이 포함된다. 이러한 압력은 골격근, 뼈, 연골 및 혈관과 같이 기계적으로 스트레스를 받는 조직을 유지하는 데 중요한 역할을 한다.^{44,45,46)} Microfluidics는 탄성 다공성 막을 사용하여 주기적으로 기계적 압력을 생성 할 수 있다. 이 기계적 자극은 생리학적 과정 동안 분화의 주요 결정 요인으로 간주된다.^{47,48)}

5) 세포 정형화

인체의 조직은 기능적으로 전신 상호 작용을 형성하기 위해서 여러 세포의 복잡하고 질서있는 배열이 필요하다. 미세유체는 복잡한 기하학을 가진 체외 생리학적 모델의 구성을 위한 세포 정형화를 조절한다. 표면 수정,⁴⁹⁾ 템플릿,⁵⁰⁾ 3D 프린팅⁵¹⁾은 칩의 세포 정형화에 기여한다. 3D 프린팅 방법은 복잡한 채널이 있는 하이드로겔 스캐폴드의 형성을 허용하여 다중 스케일 세포 정형화를 가능케 한다. 3D 프린팅의 장점은 사용자 정의 디지털 마스크가 세포 패턴의 다양성을 제공 할 수 있도록 하여 세포 미세 환경의 체외 재구성에 중요한 역할을 한다는 것이다. Li 등⁵²⁾은 제어된 위상적 조작을 이용하여 유리 칩에서 빠른 이형 세포 정형화를 달성하는 방법을 개발했다. 이 방법은 폴리비닐 아세테이트 코팅, 이산화탄소 레이저 제거 및 유리 칩에 연속 세포 시딩 기술을 결합한다. 이 방법은 제어된 상피 - 간엽 상호 작용을 가능케 한다. 또한 유사한 특성을 가진 중간 엽 세포를 유리 칩에 정형화할 수도 있다. 이 방법은 피부 상피 - 간엽 상호 작용의 대규모 조사 및 제약 테스트에 유용 할 수 있으며 다른 세포의 정형화에도 적용 할 수 있다.

6) 주요 구성 요소

OOAC에는 네 가지 주요 구성 요소로 (1)미세유체; (2)살아있는 세포 조직; (3)자극 또는 약물 전달; 및 (4)감지⁵³⁾을 포함한다. 미세유체 구성 요소는 표적 세포를 미리 지정된 위치에 전달하기 위해 미세 유체를 사용하는 것을 말하며 배양 과정 중 배양액 투입 및 폐액 배출 시스템을 포함한다. 일반적으로 이 구성 요소는 소형화, 통합 및 자동화가 특징이다.⁵⁾ 살아있는 세포 조직 구성 요소는 2D 또는 3D 시스템의 경우 특정 세포 유형을 공간적으로 정렬하는 구성 요소를 말한다. 3D 배열은 일반적으로 하이드로 겔과 같은 생체 적합성 재료를 추가하여 생성된다. 이러한 재료는 기계적 손상을 방지하고 3차원 배열을 형성 할 수 있다.⁵⁰⁾ 3D 조직 구조는 2D 모델에 비해 생체 내 상황을 보다 정확하게 시뮬레이션하지 만 기술 및 비용의 한계, 세포 외 기질의 조립 및 혈관 구조의 사전 설정 및 형성으로 인해 장기 조직의 살아있는 세포는 여전히 대부분 2D로 배양된다. 특정 조직의 경우, 미세 조직 성숙 및 기능을 촉진하는 생리적 미세 환경을 시뮬레이션하기 위해 물리적 또는 화학적 신호가 필요하다. 예를 들어, 전기 자극은 심근 조직의 성숙을 도울 수 있다.⁵⁴⁾ 약물 스크리닝 접근법에서 다른 신호 자극이 유도 될 수 있다.⁵⁵⁾ 데이터를 감지하고 작성하기 위한 감지 구성 요소는 내장된 감지 출력 구성 요소 또는 투명 칩 기반 시각 기능 평가 시스템 일 수 있다. Peel 등⁵⁶⁾은 자동화 시스템을 사용하여 다세포 OOAC를 이미지화하여 상세한 세포 표현형과 측정을 위한 통계 모델을 생성했다. Kane 등⁵⁷⁾은 3D 미세 유체 환경에서 세포를 모니터링 하는 세포 시스템을 개발했다. 이러한 분석은 품질 관리를 통해 세포의 전기적 활동을 평가하기 위한 시간경과에 따른 영상 현미경을 특징으로 한다. 의미 있는 인간 칩 세포 모델은 시스템의 특징적인 지점에서 마이크로 센서가 매개하는 대사 상태 판독 없이는 설명하고 액세스 할 수 없다.

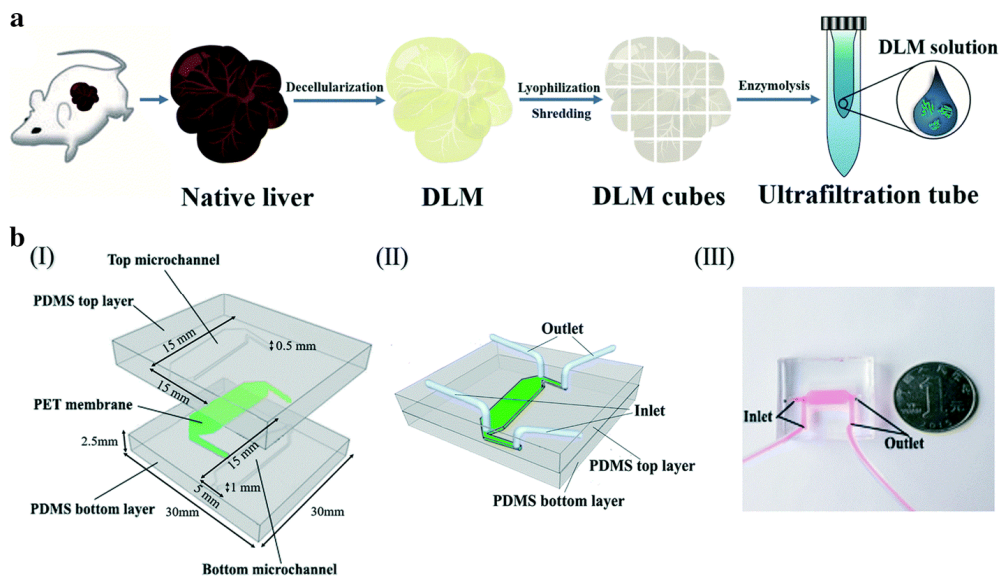
2. 새로운 Organ - On - A - Chip 기술

1) 간 칩

간은 약물/독소 대사의 주요 부위이다. 간은 다세포 기능적 수단을 부여하는 일련의 복잡한 간 소엽을 구성한다.⁵⁸⁾ 오랜 기간 간세포의 생리를 유지하는 것은 어려운 일이다.⁵⁹⁾ Kane 등은 3T3-J2 섬유 아세포와 쥐의 간 세포가기도 인터페이스를 모방하기 위해 공동 배양된 미세유체 기공으로 구성된 최초의 간 기반 시스템을 설계했다.⁶⁰⁾ 칩에 배양된 랫드의 간세포는 지속적이고 안정적으로 알부민을 합성하고 대사를 할 수 있다. Lee 등⁶¹⁾은 내피 세포와 배양된 1차 간세포의 간질 구조를 반영한 칩을 설계했으며, 그 틈새에 배양 배지를 주입했다. 이 투과성 내피 캡은 외부 시노소이드(sinusoid) 지역과의 분리를 허용하는 코드 기반 구조에서 간세포를 분리하여 동시에 효율적인 물질 교환을 유지한다. Ho 등²²⁾은 원형 폴리디메틸실록산(PDMS) 칩에 세포를 형성하기 위해 전기영동을 사용하여 생성된 방사형 전기장 구배를 사용했다. 이 새로운 기술은 간 소엽 구조를 시뮬레이션했다. Hegde 등⁶²⁾은 다공성 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET) 막을 사용하여 채널을 분리하고 상부 챔버를 통해 하부 채널로 콜라겐과 피브로넥틴이 퇴적된 랫드 1차 간세포를 연속적으로 관류하는 2층 칩을 제작했다.

생리학적 모델을 개선하기 위해 미세유체 칩에서 3D 간세포 배양 기술이 사용되었다.⁶³⁾ Ma 등⁶⁴⁾은 현장에서 간 스페로이드의 관류를 위한 생체 모방 플랫폼을 생산했다. Yum 등⁶⁵⁾은 간세포가 다른 세포 유형에 미치는 영향을 연구하기 위한 시스템을 생산했다. 간세포 약물 독성을 평가하기 위해 고처리량 분석이 개발되었다. Riahi 등⁶⁶⁾은 간독성 동안 생성된 바이오 마커를 검출하기 위해 미세유체 전기 화학 칩 면역 센서를 생산했다. Chong 등⁶⁷⁾은 대사 산물 생성과 항원 제시 세포(APC)의 활성화를 평가하여 약물 피부 감작을 모니터링하는 분석을 제작했다. 이 시스템은 전신 피부 반응을 일으키는 화합물을 식별하는 약물 스크리닝 플랫폼으로서의 가치가 있다. Lu 등⁶⁸⁾은 탈세포

화된 간 매트릭스(DLM)와 젤라틴 메타크릴로일(GelMA)을 통합하여 3D 종양 미세 환경(TME)을 반영하여 생체 모방 간 종양을 개발했다. 이 시스템은 향후 다양한 항암 약리학 연구를 위한 개선된 질병 모델을 제공한다. 또한 여러 질병 또는 부상 상태를 시험했다. Kang 등⁶⁹⁾은 그들의 시스템을 사용하여 B형 간염 바이러스 복제를 분석했다. Zhou 등⁷⁰⁾은 알코올 손상을 모델링하기 위한 시스템을 개발했다. 대사체학, 단백질체학, 게놈학 및 후생 유전체학 분석에서 배양된 세포질의 추가 특성화는 이러한 연구의 기능적 결과를 개선하는 데 도움이 될 것이다.

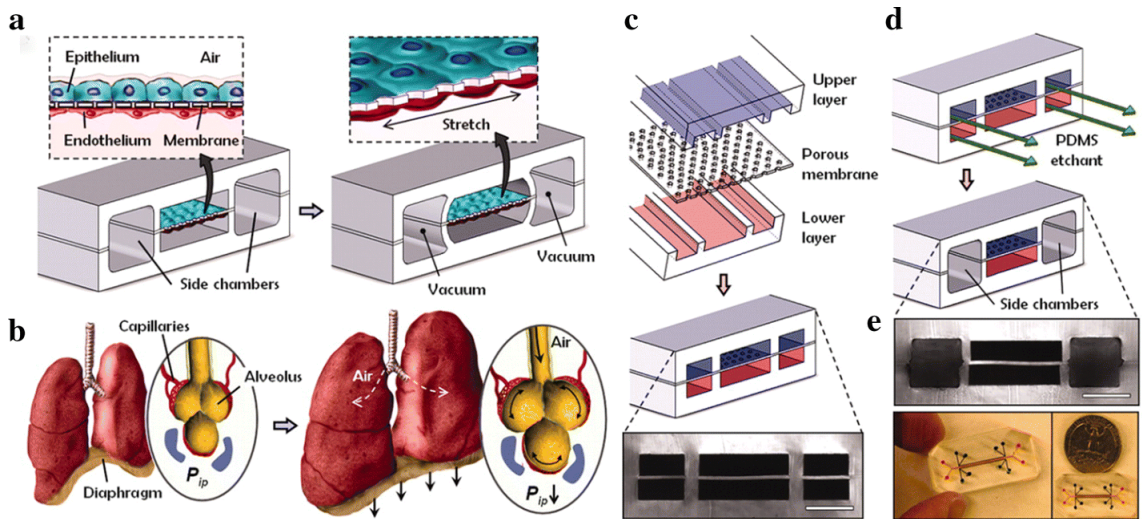


[그림 III - 1] DLM 기반 간 종양 칩 개략도⁷¹⁾

2) 폐 칩

폐의 가스 교환은 폐포에 의해 조절되며 체외에서 만들기 어려울 수 있다. 미세유체역학은 정확한 유체 흐름과 지속적인 가스 교환을 통해 체외 폐 모델 및 폐 병리를 설정할 수 있다. 현재 연구는 기도의 기계적 압력 조절, 혈액 - 혈액 장벽(BBB)⁷²⁾ 및 병태생리학적 과정에 대한 전단력의 영향에 초점을

맞추고 있다. Huh 등은 소프트 리소그래피를 사용하여 칩을 세포외 기질(ECM)을 사용하여 $10\ \mu\text{m}$ PDMS 막으로 분리된 영역으로 나누는 폐 칩 모델⁷³⁾을 만들었다. 상부 PDMS 영역에는 폐포 상피 세포가 있는 반면, 하부 영역에는 인간 폐 미세 혈관 내피 세포가 포함되어있어 폐포 - 모세관 장벽을 모방했다. 막의 구조는 호흡 중 폐포의 팽창/수축을 시뮬레이션하기 위해 진공 상태로 변경되었다. 염증성 자극은 유체 채널로 전달된 호중구를 통해 시스템에 도입되었다. 이것은 인터루킨 - 2(IL - 2)의 도입을 통해 폐부종의 병리학적 모델을 만들었다.⁷⁴⁾ 이것은 현재 생체내 분석을 개선하기 위한 OOAC 모델의 유용성을 강조한다.



[그림 III - 2] 폐 칩 개략도⁷¹⁾

a 폐포 - 모세관 장벽은 이격된 PDMS 마이크로 채널을 사용하여 ECM으로 코팅된 다공성의 유연한 PDMS 막에 만들었다. 이 장치는 진공을 통해 호흡 운동을 재현하여 기계적 스트레칭과 폐포 모세 혈관 장벽을 형성했다. b 흡입 후 다이어프램이 수축하여 흉막 압력이 감소한다. 폐포 - 모세관 경계면은 폐포 장력으로 인해 늘어났다. c 장치 개발 : 플라즈마 노출 후 비가역적으로 결합 된 상부 및 하부 채널 사이의 다공성 막; d PDMS는 채널의 측면을 통해 이동 한 다음 진공 압력에 따라 제거되었다. e 장치의 실제 이미지

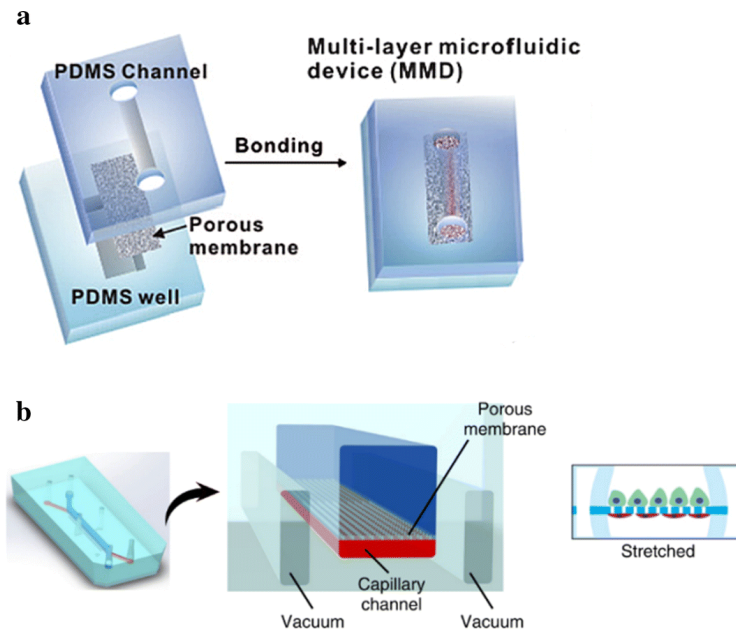
2015년에 Stucki 등⁷⁵⁾은 폐 실질을 모방 한 폐 칩을 보고했다. 이 시스템에는 호흡을 시뮬레이션하기 위해 첫 번째 탄성 막 확장 모델을 나타내는 호흡을 모방한 폐포 장벽과 3D 순환 변형이 포함되었다. Blume 등⁷⁶⁾은 유체와 매체의 교환을 통해 폐 간질 흐름을 모방한 3D 기도 배양 모델을 생성했다.

이것은 상피 장벽에 보다 심층적인 생리학적 연구를 가능하게 했다. 이 모델은 투과성 필터가 있는 스텐트를 단일 조직 배양 챔버로 사용하고 향상된 통합을 위해 여러 챔버를 결합한다. Lung - On - A - Chip에서는 미세유체 시스템을 통해 폐 기체 - 액체 인터페이스 및 호흡 확장을 모방하는 동안 폐포 및 부착된 모세관에 압력을 가하여 전단 흐름 프로파일을 제공 할 수 있다. 이것은 폐 환경을 현실적으로 모방한다. Humayun 등⁷⁷⁾은 생리학적 모델로서의 적합성을 평가하기 위해 하이드로 겔 막의 다른 면에서 기도 상피 세포와 평활근 세포를 배양했다. 이 시스템은 만성 폐 질환의 생리학적 모델로서 미세 환경 단서 및 독소 노출과 결합되었다. Yang 등⁷⁸⁾은 세포 스캐폴드용 칩 매트릭스로 poly(lactic - co - glycolic acid)(PLGA) 전기 방사 나노 섬유막을 생산했다. 시스템의 용이성을 감안할 때 폐 종양 정밀 처리에 적용 할 수 있으며 조직 공학 접근 방식이 강조되었다.

3) 신장 칩

신장은 삼투압 약물 배설을 유지시킨다. 신장 독성은 약물 스크리닝 시스템의 필요성을 강조하는 신장 여과의 비가역적 손실을 초래한다. 여과 및 재흡수는 사구체, 신장 캡슐 및 신장 세뇨관으로 구성된 네프론에서 발생한다. 미세유체 역학은 관형 세포 성장을 지원하는 유체 환경을 모방 할 수 있으며 세포 극성 유지를 위한 다공성 막 지원을 제공 한다.²⁵⁾

Jang 등⁷⁹⁾은 마우스 신장 수질 수집관 세포를 사용하여 신장 여과를 모방한 다층 미세 유체 시스템을 최초로 생산했다. 이 장치는 호르몬 자극에 반응하여 세포 골격 재구성 및 분자 수송을 촉진하여 내부 수질 수집관의 극성을 강화하는 생체 모방 환경을 제공했다. 2013년에 동일한 미세유체 장치가 인간의 일차 신장 상피 세포를 배양하는 데 사용 되었다.⁸⁰⁾ 이것은 일차 신장 세포에 대한 최초의 독성 연구였다. 이 장치는 전통적인 세포 배양이나 동물 모델에서는 불가능했던 손상되지 않은 신장 세뇨관의 다양한 생물학적 과정을 직접 시각화하고 정량 분석 할 수 있으며, 신장 기능과 질병의 기본 분자 메커니즘을 연구하는데도 도움이 될 수 있다.



[그림 III - 3] 신장 여과를 모방한 다층 미세유체 시스템⁷¹⁾

a Kidney tubular chip. PDMS 채널, 다공성 막 및 PDMS 저장소의 샌드위치 어셈블리; b 채널은 사구체의 요강과 모세관 내강을 복제 할 수 있다. 다공성의 유연한 PDMS 막은 사구체 기저막을 모방하기 위해 단백질 라미난을 기능화하는 데 사용할 수 있다. 유연한 PDMS 필름의 진공 스트레칭을 통해 세포층에 대한 주기적 기계적 압력을 생성 할 수 있다.

기존 세포 배양 시스템의 단점은 세포를 기능성 세포로 분화하려면 배양 시간이 길어지고 외부 신호 감지 시스템이 필요하다는 것이다. Musah 등⁸¹⁾은 다능성 줄기세포로부터 세포를 유도하여 장기 배양 장치에서 인간 사구체 칩을 형성하는 방법을 설명했다. 이들은 이전에 사용된 방법으로는 불가능했던 사구체 모세관 벽의 구조와 기능을 모방했다. 이 칩은 신 독성 평가, 치료 개발, 재생 의학, 신장 발달 및 질병에 적용되었다. Sakolish 등⁸²⁾은 인간 근위 세뇨관과 사구체에서 재사용 가능한 미세유체 칩을 생산하여 다양한 조건에서 신장 상피 세포가 성장할 수 있도록 했다. 전단력은 신 독성을 유발한다. Schutgens 등⁸³⁾은 확장된 인간 신장 조직 분석을 허용하는 안정적인 세뇨관 배양 시스템을 설계했다. 이 시스템을 기반으로 다목적 1차 신장 상피 세포 배양 모델이 개발되어 신속하고 개별화된 분자 및 세포 분석, 질병 모델링 및

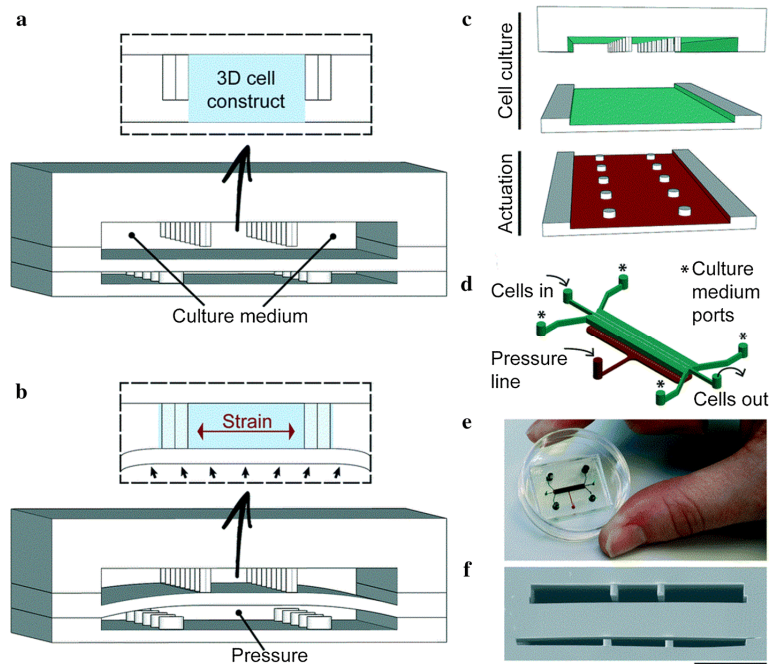
약물 스크리닝이 가능하다. Tao 등⁸⁴⁾은 인간 유도 만능 줄기 세포로부터 인간 islet 오가노이드를 생성하는 강력한 전략을 제시했다. 이 전략은 줄기 세포 기반의 유기 공학 및 재생 의학의 다양한 응용 분야에 적용 할 수 있었다.

4) 심장 칩

심혈관 사망은 인간 사망의 주요 원인이다. 미세 유체학의 출현은 심장 조직의 생체 외 생체 공학 연구를 가능하게 했다. 심근은 심장의 주요 구성 요소이다. 심근 세포(CM)의 박동은 약물 효과를 직접 평가하는 데 사용할 수 있으며 심장 박동과 직접 관련이 있다.⁸⁵⁾ 2012년에 Grosberg 등⁸⁶⁾은 PDMS를 사용하여 표면 질감이 있는 탄성 필름을 생성하고 막에 신생아 랫드 CM을 이식하여 근육 막을 형성했다. CM이 수축함에 따라 근육 막이 한쪽으로 휘어졌다. 이 휨세의 정도를 측정함으로써 PDMS 필름에서 세포 수축 용량의 크기 차이를 분석 할 수 있었다. 실험 시스템은 단일 근육 막 측정 및 고처리량 자동 다중 플레이트 분석 모두에 적합했다. 그 후 2013년에 Zhang 등⁸⁷⁾은 하이드로 겔을 사용하여 PDMS 모델에서 자체적으로 조립된 심근 시트를 생산했다. CM은 분화된 심근에서 파생되었다. 미세기관 조직 칩은 심근 및 혈관 시스템의 통합을 허용하는 3D 프린팅 기술로 생산되었다.⁸⁸⁾ 이 모델은 혈관 내피 세포를 이용하여 혈관 네트워크를 형성하고 CM이 혈관 네트워크 겹에 추가되었다. 장기 칩은 CV관련 약물에 대한 스크리닝 플랫폼을 생성했다.

Zhang 등⁸⁹⁾은 심장 약물 효능을 평가하기 위해 고속 임피던스 감지를 사용하는 심장 칩 장치를 소개했다. 이 장치는 CM의 수축을 기록하여 약물 효과를 나타낸다. 이 칩은 약물 심장 효능의 전임상 평가를 나타낸다. Marsano 등⁹⁰⁾은 CM의 생리적, 기계적 환경을 모방한 심장 기관 플랫폼을 구축했다. 전통적인 세포 배양이나 동물 모델에서는 허용되지 않는 직접적인 시각화와 정량 분석이 수행되었다. 이 플랫폼은 이 분야의 발전을 나타내며 표준 기능 3D 심장 모델을 제공한다. 이 장치는 시험관 내 모델의 예측력을 향상시키는 혁신적이고 저렴한 스크리닝 플랫폼이다. Schneider⁹¹⁾는 인간 유도 만능 줄

기 세포를 기반으로 통제된 환경에서 심장 조직을 생성하기 위해 편리하고 효율적인 칩을 설계했다. 심근 조직의 생존력과 기능은 오랜 기간 동안 유지되었고 상세한 시공간 맥동 역학이 광학적으로 감지되었다. 이 플랫폼은 다양한 생의학 적용에 사용할 수 있다. 또한 Tzatzalos 등⁹²⁾은 hiPSC - CM이 확장된 심근 병증에 대한 약물의 효능을 평가하기 위해 건강하고 질병에 특화된 CM에 대한 무한한 잠재력을 나타낼 수 있다고 보고 했다. 약물 개발의 이러한 발전은 심혈관 조직에 중요한 영향을 미친다. 심장 독성은 약물 시험에서 종종 볼 수 있고 임상 시험이 중단되거나 약물이 시장에서 철회되는 주요 이유 중 하나이기 때문이다.

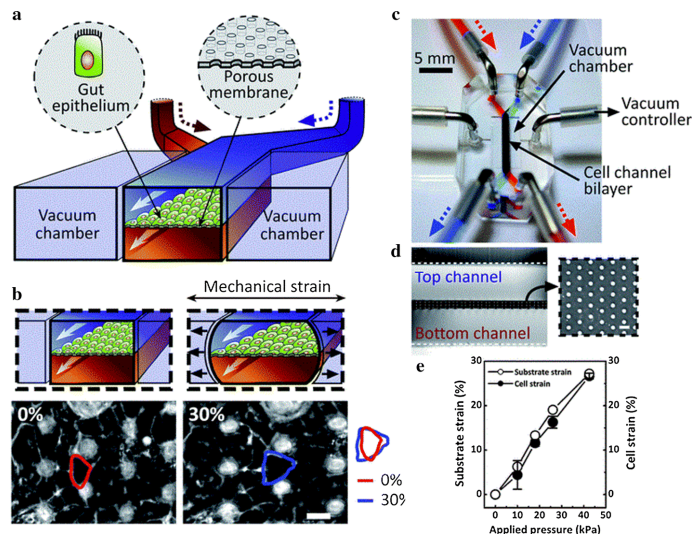


[그림 Ⅲ - 4] 심장 기관 플랫폼⁷¹⁾

3D heart-on-a-chip. a 두 개의 개별 PDMS 마이크로 챔버가 사용되었다. CM은 중앙 채널에 위치하여 3D 구조를 생성하고 매체는 트로프 측면 채널로 대체된다. b 구획의 하단을 가압하여 PDMS 막을 변형시키고 3D 구조를 압축한다. 압축은 3D 세포 구조에 적용된 단축 변형으로 변환된다. c PDMS 레이어가 정렬되고 비가역적으로 결합된다. 상부층은 배양 챔버에 존재하고 구동 챔버는 하부층을 나타낸다. d 3D 그림; e 실제 칩; f 칩 단면의 SEM

5) 장 칩

경구 약물은 혈류로 들어가기 위해 소장을 가로 질러야한다. 용모는 흡수의 핵심이며 그 형태는 칩에서 유지되어야한다.⁹³⁾ Imura 등⁹⁴⁾은 유리 슬라이드 투과 막과 채널을 포함하는 PDMS 시트로 구성된 장 시스템을 모방하기 위해 칩을 개발했다. Caco - 2 세포는 칩에서 배양되었다. Sung 등은 인간의 장 용모를 모방하기 위해 최초의 3D 하이드로 겔 구조를 제작했다.⁹⁵⁾ Kim 등은 생체 공학 장치를 생산했다.⁹⁶⁾ 장의 미세 환경은 전단력과 순환하는 균주들을 통해 재구성되었다. Caco - 2 세포는 장기적인 성장을 보여주고 인간의 장에서 미생물 식물상을 유지한다. 장의 복잡한 구조와 생리학은 약물 스크리닝을 위한 플랫폼을 제공하고 장 질환 동안 장내 미생물, 염증 세포 및 연동 관련 기계적 변형의 역할을 제공했다.⁹⁷⁾ 이 장치는 장 질환의 원인을 탐색하고 치료 표적과 약물을 확인했다. 이 연구는 장 세포에 대한 개인화된 의학 연구를 위한 장 칩의 잠재력을 보여주고 있다.



[그림 III - 5] 장 칩⁷¹⁾

a 장 칩 장치의 예시; b 투명한 PDMS 엘라스토머로 구성된 장치의 이미지; c 다공성 필름의 평면도를 보여주는 채널 및 정사각형 그림의 횡단면도; d 칩 (상단) 및 위상차 이미지 (하단)에서 더하기 (왼쪽) 또는 빼기 (오른쪽) 기계적 변형 (30 %)에서 배양 된 장 단층의 개략도; 화살표는 방향을 나타낸다). e 압력 정량

장 세포는 단독으로 또는 HUVEC를 포함한 내피 세포와 함께 배양되었다.⁹⁶⁾ 계층 충실도가 낮았기 때문에 칩은 장 기능을 모방했다. Kasendra 등⁹⁸⁾은 장 조직 공학⁹⁹⁾과 OOAC 기술을 결합하여 인간 십이지장의 체외 생물학적 모델을 확립했다. 칩에서 배양된 장 상피 세포는 내시경 생검 또는 장기 절제를 통해 얻었다. 이 칩은 살아있는 십이지장에 가장 가까운 모델을 나타내며 소장의 주요 특징을 재현했다. 최근의 발견은 장내 미생물군 유전체¹⁰⁰⁾와 장 형태¹⁰¹⁰⁾에 대한 우리의 지식을 향상 시켰다.

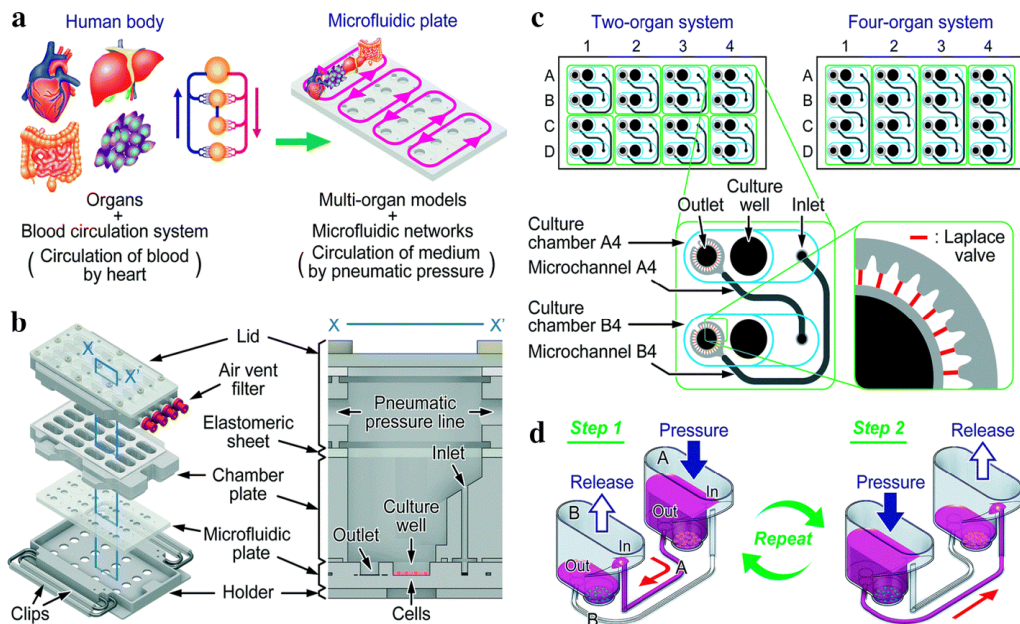
6) 다중 장기 칩

일련의 생리적 경로에는 지속적인 매체 순환과 조직간 상호작용이 필요하다. 단일 장기 칩은 장기 기능의 복잡성, 기능적 변화 및 완전성을 완전히 반영하지 못한다.¹⁰²⁾ "다중 장기 칩"과 달리 "인간 칩"¹⁰³⁾은 명백히 연구 관심을 끄는 여러 장기를 동시에 구성한다. 채널(바이오닉 혈관¹⁰⁴⁾)에 의해 동시에 연결된 여러 장기 및 조직의 다중 장기 칩 배양 세포는 다중 장기 통합을 달성하고 상호 작용을 검사하여 시스템을 구축 할 수 있다.^{105,106)} 이들은 정적, 반정적 및 유연한 접근 방식으로 분리 될 수 있다.¹⁰⁷⁾ 정적 다중 기관은 단일 연결된 장치에 통합된다. 반정적 시스템에서 장기는 Transwell® 기반¹⁰⁸⁾ 조직 삽입물과 함께 유체 네트워크를 통해 연결된다. 유연한 시스템에서 개별 장기별 플랫폼은 유연한 마이크로 채널을 사용하여 상호 연결된다. 이러한 시스템에서는 유연한 특성이 유리하고 여러 장기를 재현한다.¹⁰⁷⁾ 다중 장기 칩 개념은 아직 초기 단계이지만, 2개 장기,^{109,110)} 3개 장기,^{111,112)} 4개 장기^{113,114)} 및 10개 장기 칩¹¹⁵⁾의 설계를 포함하여 주요 혁신이 이루어졌다.

2010년 Van 등¹⁰⁹⁾은 미세유체 장치에서 간과 장을 결합한 최초의 기형이다. 장과 간 조직은 칩에서 기능하며 담즙산 합성 조절을 포함한 장기 상호 작용에 작용 할 수 있음을 보여주었다. 이 시스템은 체외 연구를 가능케 하고 기관 - 장기 상호 작용에 대한 통찰력을 제공했다. 이후 더 많은 장기가 개별 칩에 집중되었다. 장기 칩은 안정적인 유체 연결을 유지하고 세균 오염을 방지

하며 배양 과정 전반에 걸쳐 세포 생존력을 모니터링하는 데 필요하다. 칩의 장기 수가 증가함에 따라 시스템이 복잡해 저서 필연적으로 예측할 수 없는 결과가 발생한다. 기존 시스템을 단순화하는 것은 더 넓은 범위에 적용하는데 중요하다.

Lee 등¹¹⁶⁾은 쉽게 조립하고 조작 할 수 있는 펌프가 없고, 사용자 친화적인 다중 장기 칩을 제작했다. Satoh 등은 마이크로 플레이트 크기의 공압 구동 매체 순환 플랫폼에 형성된 다중 처리량 다중 장기 칩 시스템을 보고했다.¹¹⁷⁾ 이 시스템은 약물 개발에 적용하기 위한 다음과 같은 장점을 가지고 있다: 여러 다중 기관 배양 장치의 동시 작동, 미세유체 네트워크의 설계 유연성, 피펫 친화적인 액체 취급 인터페이스, 마이크로 플레이트에서 널리 사용되는 실험계획 및 분석 방법에 대한 적용 가능성. 이 다기관 배양 플랫폼은 신약 발견을 위한 유리한 연구 도구가 될 것이다.



[그림 III - 6] 다중 장기 칩 시스템⁷¹⁾

a다중 처리량 다중 장기 플레이트 시스템; b X-X '단면의 배양 챔버를 통해 예시 된 4×4 배양 챔버를 포함하는

배양 장치의 투영; c 8 - 처리량 2-organ 시스템 및 4-throughput 4-organ 시스템에 대한 미세 유체 플레이트의 미세 유체 네트워크 설계. 8 채널 이중 기관 시스템 및 4-플렉스 4-기관 시스템을 위한 미세 유체 플레이트의 미세 유체 네트워크 설계. 닫힌 원은 미세 유체 플레이트의 상단 표면으로 이어지는 구멍의 위치를 나타낸다. 어두운 영역과 밝은 음영 영역은 각각 깊고 얇은 미세 유체 채널이다. 녹색선으로 둘러싸인 영역은 순환 배양 단위를 나타낸다. 파란색 선은 배양실의 벽을 나타낸다. 출구를 둘러싼 얇은 빨간색선은 Laplace 밸브를 나타낸다. d 두 기관 시스템에서 공기압을 사용하여 매체 순환을 수행했다. 빨간색 화살표는 미디어 흐름의 방향을 나타낸다.

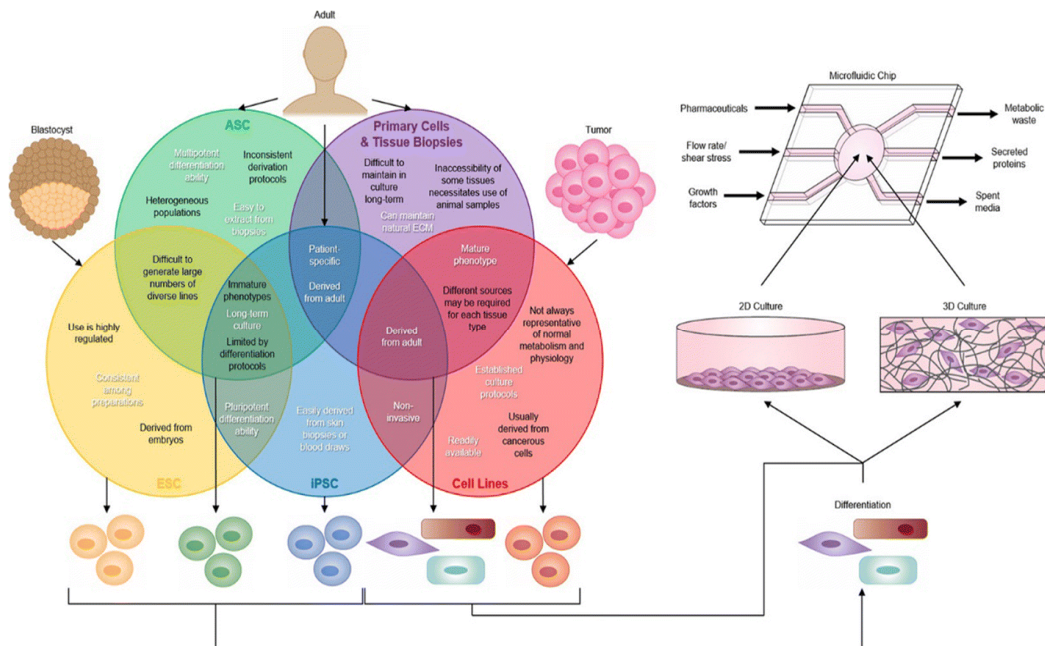
장기 칩의 지속적인 개발은 디자인, 모델링, 제조 가능성 및 유용성의 발전에 달려있었다. Lantada 등¹¹⁸⁾은 혁신적인 레이저 기술 조합을 만들어 냈다. 사람 간엽 줄기 세포의 평가는 기술의 효과를 확인했으며 그 결과로 칩은 투명하여 이미징 절차를 용이하게 했다. 이러한 기술은 대량 생산된 칩에 실현 가능하며 에너지, 운송 및 항공 우주 산업에 유용하다. 장기 칩 기술은 최근 몇 년 동안 빠르게 발전하여 모든 주요 기관에 대한 지식을 향상 시켰다. 이 검토에서 논의되지 않은 것은 혈관,^{104,119,120)} 피부,^{121,122)} BBB,^{123,124)} 골격근,^{125,126)} CNS^{127,128)}가 있다.

7) 줄기세포 공학

생물학적 조직의 출처는 장기 칩 설계에서 가장 중요한 매개 변수 중 하나이다. 줄기 세포는 조직의 생검 없이 사람으로부터 추출 할 수 있다.¹²⁹⁾ 줄기 세포의 정의는 자가 재생성이고 하나 이상의 특수 세포 유형으로 분화 할 수 있는 잠재력을 가진 모든 세포이다. 가장 일반적인 유형은 배아줄기세포(ESC), 유도만능줄기세포(iPSC) 및 성체줄기세포 (ASC)이다. 이 세포들은 장기 칩의 생물학적 조직 공급원으로 사용될 수 있다.¹³⁰⁾ 가장 흔한 인간 ASC는 성인 조직에서 추출한 다능성 줄기 세포인 중간엽 줄기 세포(MSC)이다.¹³¹⁾ 골수 중간엽 줄기 (bMSCs) 세포는 일반적으로 골수 또는 지방 조직에서 파생되므로 조직 생검에서 쉽게 추출 할 수 있기 때문에 매력적인 옵션이 된다.¹³²⁾ 분화 능력이 제한적이고 일관된 유도 시험계획서가 부족하며 생물학적 반응이 명확하기 때문에 MSC는 다능성 모델보다 장기 칩 모델에서 덜 유용하다. 인간 ESC는 배반포 또는 배아의 내부 세포에서 유래된다. 공급원에 따라 다

능성을 가질 수 있으며 3가지 생식층 중 하나에서 모든 유형의 성체 세포로 분화 할 수 있다.¹³³⁾ 그러나 인간 ESC는 윤리적으로 논쟁의 여지가 있는 인간 배아에서 파생되어야 하며 이에 따라 규제와 제한이 발생한다. ESC를 둘러싼 윤리적 논쟁과 많은 수의 유전적으로 다양한 세포주를 생산하는 기술적 어려움으로 인해, 인간 ESC를 치료 약물 평가를 위한 질병 모델에서 정밀 약물 대체물로 사용하는 것보다 임상 시험에 적용하는 것이 더 어렵다.¹³⁴⁾ ESC와 마찬가지로 MSC는 만능이며 세가지 생식층 모두와 구별 할 수 있다.¹³⁵⁾ iPSC는 배아 조직이 아닌 성체 조직에서 유도되므로 ESC와 관련된 윤리적 문제를 피한다. 유전자 발현 수준, 표면 마커 발현, ESC와 iPSC 사이의 형태적인 유의한 차이는 동일한 유전

적 배경을 가진 세포에서 관찰되지 않는다.^{136,137)} 윤리적 논쟁을 피하는 것 외에도 ESC에 비해 iPSC의 또 다른 장점은 환자별 질병 모델 및 약물 스크리닝에 사용할 수 있는 알려진 질병 표현형의 공여자로부터 얻을 수 있다는 것이다.

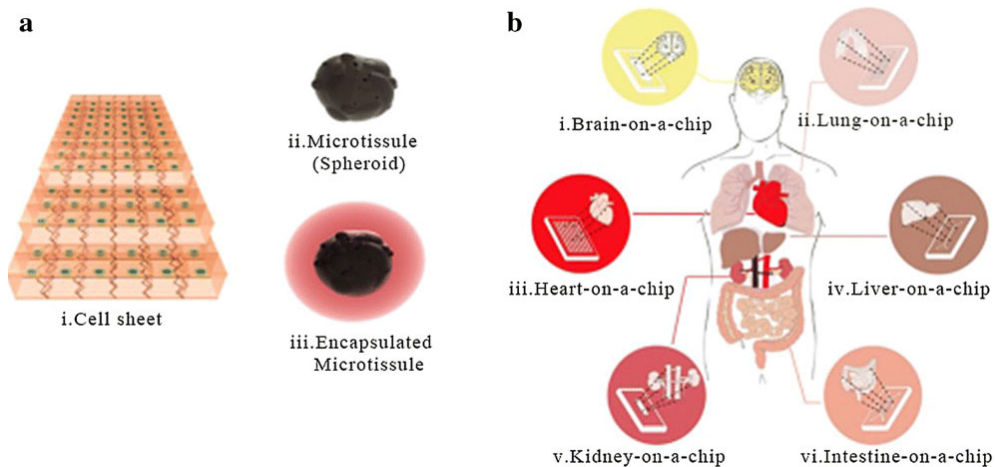


[그림 III - 7] 장기 칩 장치의 조직 소스⁷¹⁾

배아 줄기 세포(ESC), 유도 만능 줄기 세포(iPSC) 및 성체 줄기 세포(ASC)는 세포주 및 1차 세포와 마찬가지로 분화되고 미세 유체 칩에 통합 될 수 있다. 그림은 장기 칩 장치에서 ESC, ASC, iPSC, 원시 및 조직 생검,

세포주의 장점(흰색)과 한계(검정색)를 보여주고 있다. 세포주와 일차 세포는 일반적으로 우수한 생물학적 반응 특성을 나타내기 때문에 난모세포에서 더 흔하다. 그러나 세포주는 정상적인 생리적 조건을 나타내지 않으며 1차 세포 배양 시간이 제한되어 품질이 불안정하다. 대조적으로 줄기 세포는 쉽게 구할 수 있으며 무한한 세포 공급원이다. 분화 및 성숙 계획에 대한 현재의 제한에도 불구하고 줄기 세포는 장기 칩 장치에 통합 될 수 있는 유망한 기술을 나타낸다.

줄기 세포는 많은 원시 세포 유형 및 조직 생검 보다 쉽게 이용 가능하고 다른 세포주보다 생리학적으로 더 대표적이며 향후 장기 칩의 주요 조직 공급원이 될 가능성이 높기 때문이다.¹³⁸⁾ 줄기 세포가 칩에서 기능적 장기 모델로 분화하는 방법에 대한 지속적인 연구는 줄기 세포 방법의 개선과 장기 칩 기술의 발전에 기여할 것이다.^{130,139)}



[그림 Ⅲ - 8] 줄기세포 연구의 미래 동향⁷¹⁾

a 빌딩 블록. b 장기 칩 기술은 생체 내 실제 상태를 모방할 수 있다.

3. Organ - On - A - Chip 유형

1) Creative Biolabs

질병에 대한 약물의 영향과 약물이 인간에게 미칠 수 있는 다양한 부작용을 진정으로 반영하기 위한 시험관내 모델의 사용은 안전하고 효과적인 약물 개발의 중요한 부분이다. Organ - On - A - Chip은 인체 장기의 생리적 상태를 모방할 뿐만 아니라 수술 과정을 크게 단순화하고 비용을 절감하며 시간을 절약하는 모델이다. Creative Biolabs은 다양한 Organ - On - A - Chip 모델을 개발했으며 포괄적인 약물 평가 서비스를 제공하고 있다.

▪ 개발배경

안전하고 효과적인 신약을 성공적으로 개발하는 데 드는 시간과 자본 비용은 엄청나다. 지난 기간의 초기 노력이 헛되지 않도록 R&D 성공률 증가는 주요 제약 회사의 시급한 요구 사항이 되었다. 핵심적인 방법은 약물이 임상 시험에 들어가기 전에 약물에 대한 인체 반응의 예측 정확도를 높여 실패할 위험이 높은 프로젝트를 가능한 한 빨리 선별하는 것이다. 이런 목표를 달성하기 위해서는 신뢰할 수 있는 전임상 시험 모델을 선택해야 한다. 선택한 모델과 인체의 유사도는 연구결과의 정확도에 직접적인 영향을 미친다. 따라서 인체에서와 유사한 반응을 생성할 수 있는 자료를 얻기 위해 적합한 모델을 선택하는 것은 약물 개발의 핵심 단계이다. 동물 모델은 전통적인 실험에 자주 사용되며, 동물 모델은 시간과 노동 집약적일 뿐만 아니라 복잡한 윤리적 문제를 가지고 있다. 가장 큰 단점은 인간 시스템을 정확하게 묘사할 수 없다는 것이다. 따라서 동물 모델이 아닌 인간 세포를 이용해 모델을 구축해 모델의 신뢰도와 신약 개발 성공률을 높이는 것이 연구자들이 노력하고 있다.

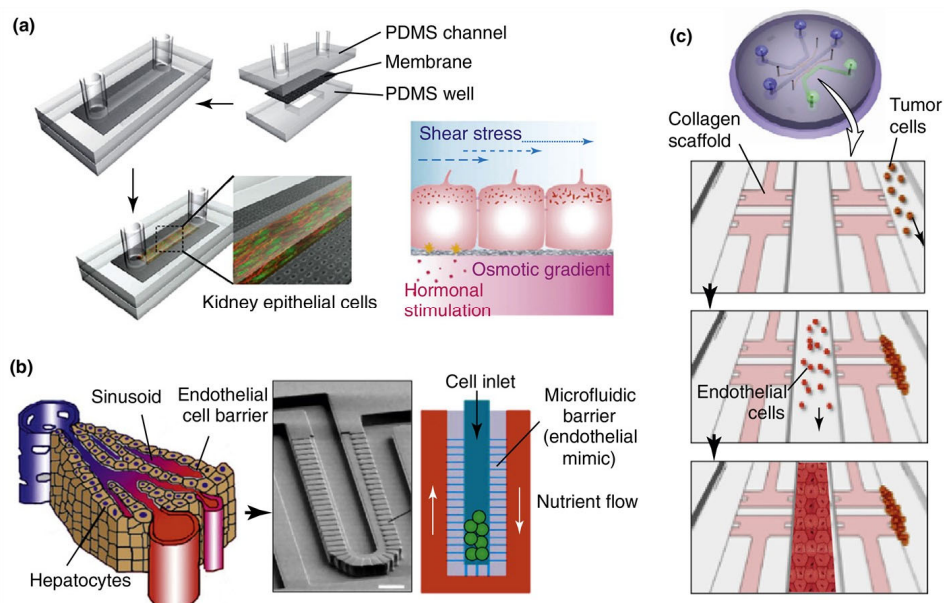
▪ Organ - On - A - Chip

인간 세포의 체외 배양 기술은 동물 모델보다 인체를 어느 정도 사실적으로 묘사할 수 있지만, 체외에서 인체에 유사한 환경을 구축하는 방법은 어려운 문제이다. 현재 기존의 기술을 통해 100% 유사한 인체 모델을 구축하는 것은

여전히 불가능하지만 리버스 엔지니어링으로 개발된 Organ - On - A - Chip은 비교적 새롭고 신뢰할 수 있는 약물 스크리닝 테스트 플랫폼이다. Organ - On - A - Chip은 Microfluidics에 표적 조직 또는 장기의 3차원 모델을 구축하고, 모델에는 인간 세포를 배양한 다양한 인체 칩이 있다. 현재 발표된 장기 칩 모델에는 폐 칩, 혈관 칩, 장 칩, 심장 칩, 태반 칩, 눈 칩 및 종양 칩이 있다. 이러한 Organ - On - A - Chip 모델은 저비용, 고효율 및 제어 가능성의 이점과 인체의 미시적 또는 더 작은 3차원 환경을 모방할 수 있어 약물 스크리닝 및 평가의 정확도와 신뢰성을 크게 향상시킬 수 있다.

Organ - On - A - Chip은 샘플의 크기가 작고, 높은 정확도, 다재 다능성 및 자동화 기능을 가지고 있다. 이러한 Organ - On - A - Chip을 모델로 사용하여 인간 세포, 조직 또는 장기의 실제 생리학적 상태를 모방하는 것은 상대적으로 신뢰성이 높고, 저렴하며, 작동이 쉬운 윤리적인 모델이다. Creative Biolabs은 다양한 유형의 약물을 선별하고 평가하는 데 필요한 모델에 대해 풍부한 Organ - On - A - Chip 모델 라이브러리를 개발했다. 신뢰할 수 있는 고급 Organ - On - A - Chip 모델을 기반으로 약리학, 약동학, 독성학, 안전성 약리학 등을 포함한 포괄적으로 약물 스크리닝 및 평가 서비스를 제공할 수 있다. 사람에게 안전하고 효과적인 약물을 성공적으로 개발하기 위해서는 약물이 인체에 미치는 영향과 인체가 약물에 반응할 수 있는 다양한 반응을 모사하는 올바른 모델을 선택하는 것이 약물 개발의 일반적인 과정이므로 적절한 모델은 약물 개발의 성공 또는 실패와 관련이 높다. Creative Biolabs은 모델 구축 및 약물 평가에 대한 다양한 경험을 가지고 있으며 전 세계의 약물 연구자들이 연구 프로세스를 발전시키고 비용과 시간을 절약할 수 있도록 도움을 주어왔다.

Organ - On - A - Chip은 Microfluidic 칩에서 장기의 활동, 기계적 특성 및 생리적 반응을 모방하는 다채널 3D Microfluidic 세포 배양 칩이다. 마이크로 머시닝 기술과 생물학을 결합하여 재구성된 인체 장기의 생리적, 기계적 기능은 유체의 움직임과 조직과 조직의 동적 경계면에 의해 정밀하게 제어될 수 있다.



[그림 III - 9] Microengineered organs - on - chips¹⁴⁰⁾

이러한 모델은 기존의 정적 세포 배양보다 인체의 상태와 더 가깝다. 칩에 있는 이러한 기관의 생리학적 마이크로 시스템은 생체 외에서 다양한 조직의 주요 구조 기능과 인체의 복잡한 기관 간의 관계를 모방하여 다양한 약물이나 외부 자극에 대한 인체의 반응을 정확하게 예측할 수 있으며, 생명과학 및 의학연구, 신약개발, 개인화 의학, 독성예측 및 생물학적 방어 분야에서 광범위한 응용 가능성을 가지고 있다.

약물 개발은 전문적인 배경과 장기간의 전임상 및 임상 평가를 필요로 하는 오랜 시간과 힘들고 비용이 많이 드는 과정이다. 후보 화합물의 고처리량 스크리닝과 약력학 및 약동학 평가를 위한 고급 시험관 내 모델의 사용은 오늘날 약물 개발의 지름길이 되었다. 10년 이상의 약물 개발 경험을 바탕으로 Creative Biolabs는 체외 모델의 대규모 라이브러리를 구축하였고 포괄적이고 고급 약물 평가 서비스를 개발했다.

Creative Biolabs는 3차원 세포 배양 플랫폼을 기반으로 모든 범위의 제품과 서비스를 제공하고 있다. 잘 정립된 정적 및 유체 3D 세포 배양 시스템

을 통해 실험 프로토콜의 설정 및 최적화, 일련의 시험관 내 분석 및 스크리닝(예: 침투성 분석, 독성 분석 및 표적화 분석)이 포함되지만 이에 국한되어 있지 않으며, 맞춤형 시험관 내 3D 모델(예: 특정 종양 조직, 시험관 내 오가노이드 및 조직/기관 칩)을 설계한다.

▪ One - Stop Microfluidic Solutions

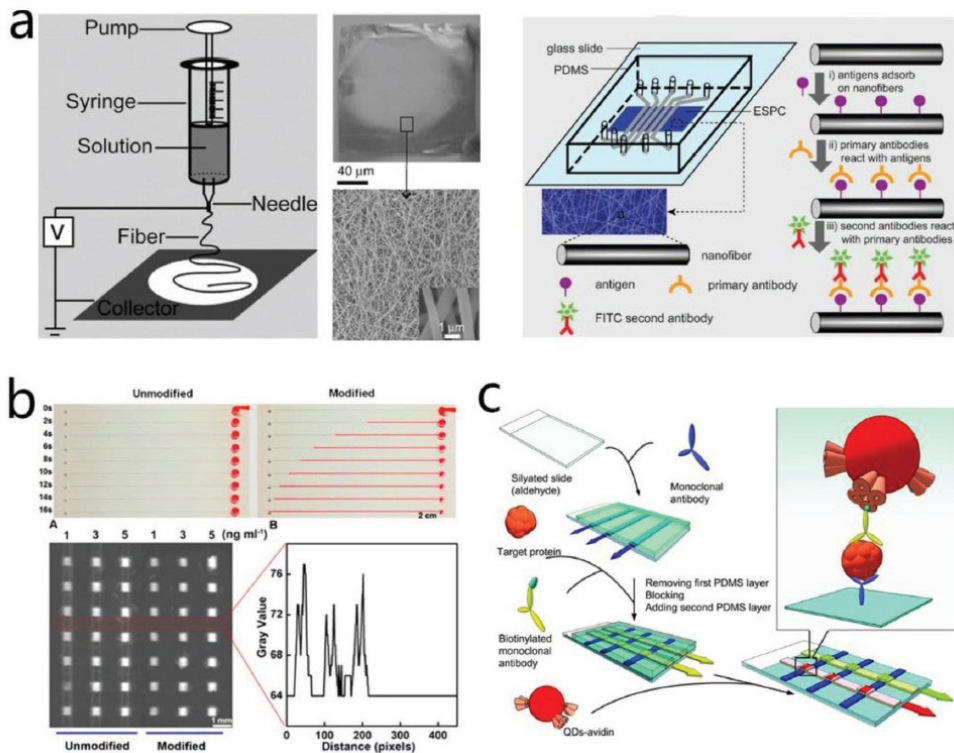
Microfluidics 시스템은 일반적으로 수십에서 수백 마이크로미터에 이르는 마이크로 규모의 작은 채널을 사용하여 소량의 유체를 처리할 수 있다. 지난 10년 동안 많은 새로운 기술과 재료가 미세 유체 시스템에 적용되었다. 한편, 통합 미세유체 칩은 고감도, 고처리량 및 저비용 분석을 위한 강력한 플랫폼이 되었다. 수년간의 경험과 고급 미세유체 플랫폼을 통해 Creative Biolabs는 원스톱 미세유체 솔루션을 제공하고 있다.

▪ 미세유체기술 소개

생물 분석은 생물 의학 분석의 중요한 부분으로 주로 생물 시스템 분석과 생체 분자 검출의 두 부분으로 구성된다. 최근 몇 년 동안 과학자들은 세 가지 영역에 중점을 두고 있다: 1) POC(point - of - care) 테스트를 위한 분석 장치의 통합 및 소형화, 2) 특정 인구의 이질성에 대한 중요한 정보를 얻기 위해 단일 세포 또는 단일 분자 수준에서 분석, 뿐만 아니라 3) 대규모 분석을 위한 고처리량 스크리닝. 이러한 문제를 해결하기 위해 샘플링, 샘플 분리, 혼합, 화학 반응 및 검출 방식을 혁신하는 미세 유체 기술이 급속하게 발전하고 있다.

▪ 미세유체 칩의 준비

일반적으로 미세유체 칩은 입구, 채널 믹서 및 신호 검출기로 구분되는 구획으로 구성된다. 오늘날, 미세/나노 가공 기술의 개발은 개별 미세 유체 구성 요소의 제조를 용이하게 하고, 이를 조립하여 기능적 칩을 만듭니다. 현재까지 유기재료(예: 폴리디메틸실록산 또는 PDMS, 폴리스티렌 또는 PS, 폴리메틸 메타크릴레이트 또는 PMMA 및 종이), 무기 재료(예: 실리카 및 유리) 및 복합 재료를 비롯한 여러 재료가 미세 유체 칩에 사용될 수 있다.



[그림 III - 10] Improving microfluidics - based immunoassay by employing advanced materials and techniques¹⁴¹⁾

■ 미세유체 시스템의 장점

미세유체 시스템은 1)매우 적은 양의 샘플 및 시약이 소모 되며, 1)비용 효율적이며 가격에 경쟁력 있으며, 3)고처리량 분석으로 여러 반응을 동시에 실행할 수 있으며, 4)분석 시간이 짧아 빠른 결과를 도출 할 수 있으며, 5)검출 및 분리에서 높은 분해능 및 감도의 장점을 가지고 있다.

■ Organ - On - A - Chip을 위한 Microfluidic Chip 개발

현재 사용되는 2차원 단층세포는 생체조직의 구조, 기능, 기계적 특성을 정확히 반영하지 못하며, 체내에서 고도로 복잡하고 역동적인 3차원 환경을 재현하지 못한다. 미세유체 기술을 기반으로 한 오가노이드 칩은 인간 장기의 복잡한 구조, 미세 환경 및 생리적 기능을 모방할 수 있어 점차 신약 스크리

닝 및 독성 평가에 이상적인 도구가 되었다. Creative Biolabs는 심오한 기술적 침전물에 의존하는 고품질의 Organ - On - A - Chip 설계하여 맞춤형 서비스를 제공할 수 있다.

▪ Organ - On - A - Chip 장점

Organ - On - A - Chip을 위한 Microfluidic Chip 개발 약물의 효능을 시험하기 위한 현재의 세포나 동물 모델은 약물에 대한 인간 장기의 반응을 잘 예측할 수 없기 때문에 일부 국가 또는 지역에서는 동물 실험을 금지하고, 비용 문제 등으로 약효 예측 및 평가 도구의 해결이 시급한 과제가 되었다. Organ - On - A - Chip은 미세유체 기술을 기반으로 하는 응용 프로그램이다. 미세 가공 기술을 사용하여 과학자들은 인간 장기의 주요 기능을 모방할 수 있는 미세 유체 칩에 생체 공학 시스템을 만들 수 있다. Organ - On - A - Chip은 미세유체 기술의 소형화, 통합 및 낮은 소비의 특성을 가질 뿐만 아니라 화학적 농도 구배 및 유체 전단력과 같은 여러 시스템 매개변수를 정확하게 제어할 수 있으며 세포 그래픽 배양을 구축하고 실현할 수 있다. 조직과 조직 및 기관과 기관 간의 인터페이스 상호 작용을 통해 인간 기관의 복잡한 구조, 미세 환경 및 생리 기능을 진정으로 모방 할 수 있다. 현재 연구자들은 간 칩, 폐 칩, 장 칩, 혈관 칩, 심장 칩 및 다기관 칩을 포함하여 미세유체 칩에서 많은 인간 장기의 구성을 실현했다. 예를 들어 신장 칩은 약물 스크리닝에 사용되었으며 간 칩은 약물의 간 독성을 시험하는 데 사용되었다.

▪ Creative Biolabs의 솔루션

Creative Biolabs는 여러 장기 칩을 성공적으로 설계하고 구축할 수 있도록 지원하는 전문 미세유체 기술이 있다. 미세 유체 칩에 인공 폐를 구성하는 예를 들어, Lung - On - A - Chip에서 폐를 모방하는 미세 공간은 양쪽에 2개의 평행한 미세 채널과 2개의 중공 측면 공동으로 구성된다. 중앙 마이크로채널은 다공성 및 유연한 세포외 기질(ECM) 수정된 PDMS 막에 의해 분리된다. PDMS 막은 상부에서 배양된 인간 폐포 상피 세포와 하부에서 배양된 폐 미세혈관 내피 세포와 함께 스캐폴드 역할을 한다. 이 디자인은 공기가 상

부 상피 챔버에 들어간 후 공기와 액체 인터페이스를 형성할 수 있도록 한다. 유연한 막의 양쪽에 있는 중공 마이크로 채널은 압력에 의해 구동되는 PDMS 막의 기계적 스트레칭을 통해 생리적 호흡 운동을 모방할 수 있는 진공 챔버이다. 분리된 채널 구조를 통해 액체의 흐름을 정밀하게 제어하고 면역 세포와 영양소를 상피 세포와 내피 세포에 각각 전달할 수 있다. 이런 폐 칩 시스템은 기관 수준에서 폐 염증/감염 반응을 연구하고 폐 나노독성을 탐색하는 데 사용할 수 있다.

2) Emulate

Emulate 사는 Wyss의 Organs - On - Chip 기술을 활용하여 시험관 내에서 인간의 장기를 모방함으로써 더 빠르고, 더 우수하며, 더 저렴하게 약물 개발과 인간 건강에 대한 통찰이 가능하게 하고 있다.

▪ 개발배경

약물 개발은 느리고 비용이 많이 드는 것으로 잘 알려져 있다. 실험실 벤치에서 새로운 화합물을 시장에 출시하는 데 최대 10년이 걸리고 30억 달러 이상이 소요될 수 있다. 이러한 비효율성의 주요 원인은 사람에게 시험하기 전 전통적으로 동물을 대상으로 시험을 수행한다. 동물 모델은 종종 인간의 생리를 정확하게 반영하지 못한다. 즉, 동물에서 안전하고 효과적인 것으로 보이는 약물이 인간에게 해롭거나 효과가 없는 것으로 종종 판명된다. 이러한 생물학적인 불일치는 쓸모없거나 독성이 있는 약물을 많은 비용을 들여 임상 시험을 통해 개발되는 반면 잠재적으로 효과적인 화합물은 시장에 출시되지 않는다. 인간 생물학 및 시험관 내 질병을 모델링하는 더 나은 방법은 신약 및 개인 맞춤 의학의 개발을 가속화하기 위해 필요하다.

▪ 해결방안

Wyss는 컴퓨터 마이크로칩 제조 방법을 채택하여 살아있는 인간 장기의 복잡한 구조와 기능을 요약하는 미세 유체 배양 장치인 "Organs - On - Chips"(Organ Chips)를 만들었다. 이 마이크로 장비는 살아있는 인간 장기

세포와 인간 혈관 세포가 배열되어 있는 속이 빈 미세 유체 채널을 포함하는 USB 메모리 스틱 크기의 투명하고 유연한 폴리머로 구성되어 있다. 인간 장기의 3차원 단면은 사람이나 동물의 개입 없이 내부 작용과 약물이 장기에 미치는 창을 제공한다. Wyss는 "학술 연구실에서 이루어진 마이크로 엔지니어링의 판도를 바꾸는 발전을 가져왔고 불과 몇 년 만에 사회에 큰 영향을 미칠 기술이 되었다."라고 한다.

▪ 제품개발

Wyss의 창립 이사인 Donald Ingber, M.D., Ph.D.는 "Lung - On - A - Chip"의 시연을 보고 2007년 인간의 폐 기도 크기의 채널을 포함하지만 살아있는 세포가 없는 장기 칩을 만들려는 영감을 받았다. 이 연구는 한 학생인 Dan Huh가 Ingber의 연구실에 박사 후 연구원으로 합류했을 때 Ingber는 아이디어를 실현하기 위해 함께 도전하였다. 그들은 폐포에서의 인터페이스를 재현하기 위해 여러 살아있는 세포 유형을 지원할 수 있는 미세 유체 채널 내부에 분자 스캐폴드를 만드는 방법을 알아내기 시작했다. 많은 시행착오 끝에 그들은 성공적으로 살아있는 사람의 폐칩을 만들어 2010년 사이언스에 논문을 발표했다.

DARPA(Defense Advanced Research Projects Agency), FDA(Food and Drug Administration) 및 NIH(National Institutes of Health)로부터 추가적인 지원을 받아 Wyss의 Ingber와 그의 팀은 칩을 포함한 15개 이상의 장기 칩 모델을 개발했다. 폐, 장, 신장 및 골수를 모방했다. 그들은 또한 장기 칩이 기존 약물의 영향을 복제하고 인간 질병에 대한 신약 개발에 사용될 수 있음을 보여줌으로써 장기 칩의 영향 가능성을 개선하고 검증했다. 또한 DARPA의 노력은 칩 작동을 자동화하고 여러 장기 칩을 유체적으로 연결하여 약물이 여러 장기 시스템에 어떻게 영향을 미치는지 밝히고 인간 환자의 혈액에서 발생하는 약물 수준의 동적 변화를 예측할 수 있는 "Body - On - A - Chip"을 만드는 것을 지원했다.

■ 영향

살아있는 장기 칩을 설명하는 첫 번째 논문이 발표된 지 불과 4년 후에 Wyss 연구원 그룹은 2014년에 Emulate 사를 설립하여 장기 칩 기술을 더욱 개발하고 상용화하여 이러한 중요한 연구 도구를 시장에 출시했다. Emulate의 장기 칩은 상위 25개 글로벌 바이오 제약 회사 중 17개 회사를 포함하여 150개 이상의 실험실에 설치되었으며 FDA에서 COVID - 19 치료제 및 백신 안전성 연구에 사용하고 우주 실험에도 사용되었다. AstraZeneca 및 Johnson & Johnson과 같은 회사와의 협력을 통해 장기 칩은 독성을 확인하는 데 사용되어 약물이 인간에 미치는 영향을 보다 정확하게 예측할 수 있다. Emulate는 출시 이후 1억 4,200만 달러 이상의 자금을 모금했다.

Wyss는 현재 Emulate의 장기 칩을 사용하여 COVID - 19, 인플루엔자, 영양실조, 방사선 노출, 낭포성 섬유증을 비롯한 광범위한 인간 질병 및 치료법에 대한 중요한 연구를 수행하고 있다. 또한 장기 칩은 영구 소장품으로 뉴욕 현대미술관(MoMA)이 인수한 2015년 올해의 디자인상, 세계 경제 포럼(World Economic Forum)에서 2016년 10대 기술로 선정되었고, Barbican Centre, Cooper Hewitt Smithsonian Design Museum 및 Martin - Gropius - Bau 디자인 박물관을 비롯한 전 세계 박물관에 전시되었다.

■ Emulate 칩의 특징

Emulate 사는 인간 세포 기원, 장기 특정 미세 환경 및 조직 관련 기계적인 힘과 결합하여 인간 생물학을 보다 밀접하게 모방할 수 있도록 다양한 검증된 장기 칩 모델을 개발했다.

- 뇌 칩

신경 혈관 단위의 포괄적인 모델에서 신경 염증의 메커니즘을 연구하고 치료 효과를 평가한다. 뇌 생리학은 매우 복잡하고 종에 따라 다르다. 기존의 세포 모델은 세포의 복잡성을 재현하지 못하고 동물 모델은 종종 종의 차이로 인해 사람에서의 반응으로 변환하지 못한다. Emulate 뇌 칩은 전임상 연구를 위한 인간 신경혈관 장치의 가장 포괄적인 시험관 내 모델로, 동적이고 조정 가

능한 미세 환경에서 5가지 세포 유형이 있다.

뇌 칩은 신경염증의 메커니즘을 조사하고 약물 후보의 효능 및 BBB(혈액뇌 장벽) 침투를 평가하는 데 적용될 수 있다. 가장 포괄적인 인간 뇌 및 BBB 모델인 뇌 칩은 뇌를 연구하는 다른 방법의 한계를 극복하여 훨씬 더 생리학적으로 유사한 모델을 제공한다.

오가노이드 및 기존 세포 배양과 같은 다른 시험관 내 모델과 달리 이 뇌 칩 모델은 단일 모델에 신경 세포와 혈액 - 뇌 장벽을 모두 통합하여 뇌 조직의 형태 및 기능적인 특성을 보여준다. 뇌 칩은 제한된 세포 유형을 가진 기존의 세포 배양과 달리 5가지 인간 iPSC 유래 및 1차 세포 유형(뉴런, 성상 세포, 혈관주위세포, 미세아교세포 및 뇌 미세혈관 내피 세포)을 포함하여 다 세포 복잡성으로 인해 개선된 뉴런 기능을 가지고 있다.

뇌칩은 배지 흐름과 미세아교세포 및 성상교세포를 포함한 지지 세포의 통합으로 인해 생체 내 값에 따라 안정적이고, 장기적이며, 낮은 장벽 투과성을 보여주는 동급 최고의 혈액 - 뇌장벽 모델링이다.

뇌 칩 전사체 프로파일링은 시험관 내 뇌 배양 모델에서 가장 일반적으로 사용되는 Transwell 뇌 모델과 비교하여 핵심적인 신경생물학적 경로가 풍부하고 생체 내 성인 피질과 더 밀접하게 관련이 있다.

관련 미세혈관 내피가 있는 동적 미세환경 흐름은 세포의 기능을 향상시켜 생체 내와 같은 행동을 나타낸다. 정적 세포 배양 및 오가노이드는 전단력이 부족하여 세포 분화 및 장기 배양 능력에 영향을 미친다.

특징적인 형태, 유전자 발현 및 기능은 이 기간 동안 점차적으로 기능을 잃는 Transwell 모델과 달리 최대 7일의 배양 기간 동안 유지되어 안정적인 기능을 나타낸다.

인간 기반 모델인 뇌 칩은 연구자가 동물 모델에서 흔히 볼 수 있는 전임상 - 임상 해석 문제를 해결에 도움이 될 수 있다.

- 폐 칩

폐 생리학, 질병 및 약물 후보의 영향 연구에 사용 된다. 폐 관련 미세 환

경에서 1차 인간 세포를 사용하여 폐 생리학을 연구하기 위한 보다 인간과 관련된 모델이다. 현재 서로 다른 폐 조직의 특정 조직 구조와 기능을 위한 인간 폐의 두 가지 모델인 폐포 - 폐 칩과 기도 - 폐 칩을 개발되어 있다. 두 모델 모두 연구원이 전임상 연구 및 병태생리학적 연구 및 약물의 효과를 평가할 수 있게 한다.

일반적으로 사용되는 세포주 모델과 달리 폐 칩은 동적 미세 환경에서 1차 사람 폐 상피 세포와 내피 세포를 공동 배양하고 통합하여 기능적으로 개선하여 세포간 상호작용, 흐름 및 스트레칭은 생체 내 세포 분화, 섬모 행동, 점액 섬모 제거율 및 견고한 상피 장벽을 만든다.

두 모델 모두 다공성 ECM 코팅 막의 양쪽에 상피 및 폐 내피 세포를 포함한다. 연구자들은 생체 내에서 세포 기능 및 분화에 중요한 기계적 신호 및 용해성 요인을 통합할 수 있다. 이러한 1차 사람 세포 모델은 상피 및 폐 내피세포의 공동 배양은 세포간 상호작용을 허용하고 동물 모델의 중간 차이로 인한 해석의 문제를 줄일 수 있다. 동적 미세 환경은(연동 운동을 모방하기 위한 배지 흐름 및 스트레치 포함) 기능과 형태를 개선하고 섬모와 상피 및 내피 층의 형성을 촉진하기 위해 칩 위에 모델되어 있다. 폐 칩은 상피 세포 분화를 촉진하여 생체 내에서 볼 수 있는 것과 같이 상피의 ALI 노출을 지원한다. Human Emulation System은 유연한 개방형 형식의 기기, 소모품 및 소프트웨어로 구성되어 있다. 사용자 친화적인 플랫폼으로 연구자에게 사람 생물학의 내부 작동에 대한 창을 제공한다.

- 간 칩

임상시험에서 안전성 실패를 줄이는 데 도움이 되는 전임상 후보 약물의 독성 메커니즘을 용구하는 데 사용할 수 있다. 약물 유발 간 손상은 간 독성의 종 차이와 기존 시험관 내 모델의 제한된 예측성으로 인해 제대로 이해되지 않은 약물 개발 중의 주요 관심사이다. 4중 배양 Emulate 간 칩은 동적 미세 환경에서 4가지 인간 세포 유형을 결합하여 유전자 발현, 기능 및 생리와 같은 생체 내를 지원한다. 응용 분야에는 일반 및 기계적 독성 평가, 바이오마

커 식별 및 작용 메커니즘을 포함하고 있다.

사람 간 칩은 3D 다세포 구조, 흐름과 같은 물리적 힘, 간 특이적인 생리 기능을 통해 간 미세 환경을 지원하는 검증된 포괄적인 전임상 사람 간 모델이다. 기존의 샌드위치 배지에는 내피 및 기계적 힘이 부족한 반면 오가노이드에는 신뢰할 수 있는 생체 내 - 시험관 상관관계에 중요한 조직간 인터페이스 및 세포 구조가 부족하다.

한 연구에 따르면 쥐와 개 모델은 사람에 대한 약물 독성의 71%만 예측한다. 간 칩은 사람을 기반으로 하여 연구자들이 종 차이로 인한 임상 해석 문제를 줄이는 데 도움이 되어 임상 해석상의 문제를 감소시킨다.

간 조직의 복잡성은 간 표현형에 중요하며 기존의 세포 배양에서는 일반적이지 않다. 간 칩은 복잡한 세포간 상호작용을 위해 1차 간세포, 성상 세포, 쿠퍼 세포 및 간 사이노소이드 내피 세포를 포함하고 있다.

간 칩의 간세포는 기능적 MRP2 유출 수송체에 의해 늘어선 분지된 담즙관 네트워크를 형성하여 생리학적으로 사람과 관련된 형태를 가지고 있는 반면, 기존의 간세포 샌드위치 배양은 특징적인 간 형태를 형성하고 유지하지 못한다.

정적인 간세포 샌드위치 단일 배양과 달리 알부민 및 요소 분비는 생체 내 범위와 비슷하며 시간이 지남에 따라 유지되고 향상된 기능을 나타내고 있다.

- 신장 칩

공동 배양된 사람 신장 모델에서 임상적으로 관련된 농도에서 약물 후보 물질의 독성 평가에 이용 할 수 있다. 약물 유발 신장 독성 및 약물간 상호작용을 예측하는 것은 사람에서의 반응으로 해석되지 않는 불멸화 세포주 배양 또는 동물 모델에 의존하고 있어 지속적인 도전 과제이다. 공동 배양 신장 칩은 근위 세뇨관 - 세뇨관 주위 모세관 인터페이스의 개선된 모델을 위해 동적 미세 환경에서 1차 사람 세포를 결합하였다. 약물 후보물질의 전임상 독성시험 평가에 사용될 수 있다.

신장 칩 내부에서 높은 세포 분화, 정상적인 상피 세포 극성 및 형태를 갖

는 생체 내 유사 표현형을 보이며 기능적으로 수송체 활성을 나타내고 있다. 이것은 건강한 신장 기능과 후보 약물의 신독성에 대한 보다 생리학적 분석을 가능케 한다. 오랜 기간 배양을 통해 사용자는 역학 연구, 바이오마커 발견 및 영양소 대사에 대한 여러 측정을 수행할 수 있다.

신장 칩은 1차 사람 근위 세뇨관 상피 세포와 신장 미세혈관 내피 세포를 포함하여 단일 배양 세포 모델과는 다르게 세포간 상호 작용을 가능하게 하고 있다. 신장 칩은 시간이 지남에 따라 분화를 잃는 기존 세포주와 다르게 배양 시 최대 14일 동안 알부민 재흡수 및 특징적인 세포 형태를 포함한 기능을 유지할 수 있다. 배지 흐름의 전단력은 정적 배양에서 신장 상피 세포보다 더 큰 분극, 세포 높이 및 섬모 형성으로 상피 세포 구조를 상당히 개선하고 있다. 나트륨/인산염(Na/Pi) 공동 수송체 발현은 신장 특이적 내피 세포가 있는 경우 신장 칩에서 증가한다. 단일 배양 모델 또는 비 신장 특이적 내피 세포와의 공동 배양에서는 볼 수 없는 효과이다.

- 십이지장 칩

사람 소장의 1차 오가노이드 기반 모델에서 약물 흡수 및 약물간 상호작용 연구에 적용할 수 있다. 현재 전임상 모델은 불멸화 세포주에 의존하여 경구 투여된 약물의 장 흡수 및 안전성 평가를 할 때 제한된 예측성을 제공할 수 다. 십이지장 칩은 생체 내 생리학을 모방하기 위해 기계적 힘을 가진 미리 검증된 생검 유래 1차 오가노이드 및 십이지장 내피 세포를 통합하는 사람 소장으로 유일하게 상용화되고 있는 모델이다. 이 모델은 임상적인 해석을 개선하기 위해 십이지장 생리학, 약물 흡수 및 약물간 상호작용을 연구하는 데 적용될 수 있다.

사람 십이지장의 개선된 모델은 1차 인간 십이지장 오가노이드와 소장 미세혈관 내피 세포를 장 연동 운동을 재현하는 기계적 힘과 결합되었다. 이 동적 미세 환경에서 세포는 잘 분극되고 생체 내와 유사한 형태, 기능 및 유전자 발현을 나타내면서 표면의 접근을 허용하고 있다.

사람기반의 세포 모델인 십이지장 칩은 1차 사람 세포를 사용하여 사람

간의 특성을 보다 밀접하게 모델링하여 종간 차이 및 유전자 발현의 차이로 인한 동물 모델의 해석 문제를 극복할 수 있다. 십이지장 칩의 유전자 발현은 대사, 소화, 영양소 수송 및 해독과 관련된 상당히 풍부한 경로를 가진 오가노이드 단독보다 생체 내 조직과 더 유사하다. 주요 장 상피 세포 유형이 - 흡수성 장세포, 장내분비 세포, 잔 세포 및 파네스 세포 - 존재하고 생리학적으로 적절한 비율로 기능을 하며, 오가노이드 단독에 비해 분화가 개선되어 있다. 십이지장 칩은 표준 세포 배양에서 볼 수 있는 잘 정의되지 않은 단단한 접합부와 대조적으로 잘 정의된 상피 밀착 접합 및 생체 내 투과성을 갖는 기능적 장 장벽을 형성하고 있다. Caco-2 모델과 달리 십이지장 칩은 잘 분극되었고 조약돌 같은 형태, 용모 같은 구조, 조밀하게 채워진 미세 용모가 있는 잘 발달된 연속 브러시 경계를 포함하여 생체 내 십이지장 상피 세포 구조와 매우 유사하다.

- 결장 칩

결장 염증 및 장벽 파괴의 메커니즘을 연구하고 오가노이드 유래 모델에서 항염증 약물 후보의 효능을 평가한다. 생리 및 염증 과정의 확립된 전 임상 장 모델은 사람에서의 반응을 해석하는데 필요한 특정 기능이 부족하다. 결장 칩은 생체 내 생리학을 모방하기 위해 기계적 힘을 가진 사전 검증된 생검 유래 1차 오가노이드 및 결장 내피 세포를 통합하는 유일한 모델이다. 실험 매개변수의 제어와 다중 측정이 용이하여 약물의 안전성 평가, 생리학 및 기능 연구, 질병 모델링에서 생화학적, 유전적 및 세포 반응을 평가하는 데 사용할 수 있다.

결장 칩의 기계적 힘은 보다 생체 내 관련 환경을 제공하고 있다. 동적 조건에서 세포는 특징적인 개체군과 구조로 분화하여 장 장벽을 만들고 미세 용모를 형성한다. 이것은 제한적이고 대체로 미분화된 세포 집단과 물리적 자극이 부족한 기존의 세포 배양과 대조적이다. 사람기반 발전된 세포 모델로써 생검 유래 콜로노이드와 결장내피세포의 조합을 통해 결장 칩은 사람에서의 해석을 방해하는 동물 모델의 종간 차이를 극복하고 사람과 유사한 반응을 지

원하고 있다.

결장 칩의 전사체 프로파일은 상피 세포 분화, 대사 및 이온 수송을 위한 유전자 경로가 상당히 풍부하여 오가노이드에 비해 인간 결장 조직과 더 유사하다. 결장 칩의 기계적 힘은 성숙한 표현형의 주요 특징이 결여된 오가노이드와는 다른 사람 결장 조직과 유사한 증가된 상피 분극 및 분화를 생성한다. 생체 내 생리학을 대표하는 세포의 이질성은 오가노이드 세포 기원 결장 칩은 현탁액의 오가노이드와 비교하여 분화 및 성숙이 향상되었다. 결장 칩은 단단한 접합부와 낮은 투과성을 가진 기능적으로 향상된 장벽을 가지고 있다. 전통적인 체외 모델은 일반적인 약물 흡수 이상의 연구에 필요한 관련 장벽 기능이 부족하다.

3) ELVEFLOW

■ 배경

오늘날 제약 회사는 임상 시험에 점점 더 많은 비용을 지출하고 있으며 시장에 출시되는 새로운 치료법은 점점 줄어들고 있다. 이제는 연구를 가속화할 해결 방안을 찾아야 할 때이다. 페트리 접시의 세포 배양의 시험은 새로운 치료법의 효율성을 입증하기에 충분하지 않다. 세포는 자연 환경 외부에서 인체에서와 같은 반응을 하지 않는다. 게다가 동물실험은 일반적으로 기간이 오래 걸리고, 비경제적이며, 사람에게 대한 치료의 효율성을 입증하기에 충분하지 않다. 많은 약물이 동물실험 이후 인간에게 해롭거나 독성이 있는 것으로 판명되었다. 이러한 이유로 인하여 칩 형태의 장기가 최초로 등장했다. 조직이나 장기의 일부 작동을 재현하기 위해 미세유체를 사용하는 세포 배양(종종 3D로 제공됨)이다. 장기 칩 연구를 통해 간, 폐, 내장 등 장기 기능과 심지어 칩 상의 종양까지 부분적으로 모방할 수 있는 많은 미세유체 칩을 만들 수 있다. 후자는 특히 다른 장기에 연결될 때 새로운 암 치료법을 연구할 때 매우 유용할 수 있다. 칩에 다중 장기를 사용하면 치료 대상에 국한되지 않고 다른 장기에 대한 특정 약물의 부작용을 검사 할 수 있다. 목표는 칩에 인간을 재현하기 위해

최대한의 장기를 연결할 수 있도록 하는 것이다. 장기적으로 전임상 시험을 넘어 장기 칩은 모든 사람이 자신의 세포를 사용하여 시험함으로써 개인화된 치료법에 접근할 수 있게 해줄 것이다. 이를 개인화 의학이라고 한다.

▪ Organs - On - A - Chip의 장점

- 연구 속도의 향상

첫째, 장기 칩의 장점은 매우 저렴한 비용으로 만들 수 있고 이를 통해 광범위한 약물 농도가 약물의 효율성에 미치는 영향을 시험할 수 있다는 것이다. 이를 통해 장기 칩 기술은 과학적 연구를 상당히 가속화할 수 있다. 신약 개발 중 재정적 어려움 없이 1차 시험을 여러 번 수행할 수 있다. 또한 오늘날 사회에서 점점 더 우려되고 있는 동물실험이 직면한 윤리적 문제가 없을 것이다.¹⁴²⁾ 연구를 위한 실험동물의 사용에 대해서는 점점 더 많은 논쟁이 일어나고 있으며 장기 칩은 이러한 논쟁을 종식시킬 것이다.

- 잘 모방된 미세 환경

인간 세포의 미세 환경(산소 수준, 온도, pH...)은 종종 시험의 신뢰성에 가장 중요한 3차원 측면으로 인해 페트리 접시보다 칩 내부에서 더 잘 재현된다.^{142,143)} 그러나 칩 위의 장기는 일반 3D 세포 배양보다 더 흥미롭다. 왜냐하면 3D 세포 배양은 세포를 화학물질을 시간에 따른 구배로 노출 할 수가 없기 때문이다.¹⁴⁴⁾ 또한 예를 들어 호흡 작용을 모방한 기전적으로 세포를 배치하는 것도 불가능하다. 그러나 장기 칩으로 가능하다는 것을 알게 될 것이다. 3차원 장기를 포함한 칩 연구의 혁신적인 솔루션은 미세 유체 공학의 사용이다.

- 기술적 이점

칩에 있는 장기 또 다른 장점은 기술이다. 미세유체 칩은 사용하기 쉽고 휴대가 간편하며 1유로 동전 크기이며 대량 생산이 가능하다. 작은 크기로 인해 많은 미세유체 시스템이 단일 칩에 통합되어 공간, 구성 요소 및 결과적으로 비용을 절약할 수 있다.¹⁴⁶⁾ 미세 유체 칩은 다른 사용 가능한 기술에 비해 몇 가지 큰 장점이 있으나 몇 가지 단점도 남아 있다.

■ Organs - On - A - Chip의 단점

- 표면 효과

미세유체의 크기(약 100분의 $1\mu\text{m}$)로 인해 표면 효과가 부피 효과를 지배한다. 몇 가지 장점(예: 관심있는 분자를 트래핑)에도 불구하고 이런 현상은 몇 가지 단점과도 관련이 있다: 분석의 품질은 제품이 내부 라이닝에 흡착되어 영향을 받을 수 있다.^{145,147)}

- Laminar 흐름 중 혼합이 매우 적음

또한 미세 유체 차원의 관련 유체에 대해 레이놀즈 수는 항상 1 미만으로 매우 작게 유지된다. 결과적으로 칩으로의 흐름은 층류로 유지된다. 이것은 실험 조건의 정밀한 제어를 허용하지만 주요 문제를 내포한다: 이러한 흐름은 혼합을 선호하지 않는다.¹⁴⁷⁾

- 휴대가 불가능

마지막으로 휴대용 미세유체에 대한 관심은 절제해야 한다. 신뢰할 수 있는 분석을 위해서는 때로 만능 유도 줄기세포 처리를 위해 부피가 큰 도구를 사용해야 하는 경우가 있는데, 그러나 마지막에는 측정 시스템을 칩에 직접 통합하여 처리할 수 있다. 사실 Wiskwo 등¹⁴⁸⁾이 만든 I - Wire heart - on - chip은 왜곡 및 전위 측정 시스템을 통합하고 있다. 단점은 칩의 모든 장기가 장치의 특성에 따라 연결되어 있기 때문에 공통적이다. 그들 각각에는 사소한 단점도 있다. 그러나 그들은 특히 기존 대안과 비교하여 이 기술의 장점을 크게 보상한다.

■ 장기 칩의 유형

- 폐 칩

최근에는 폐 질환을 치료하기 위한 새로운 솔루션의 개발이 건강을 위한 우선 순위가 되었다. 폐질환은 전 세계적으로 5번째 사망 원인이며 2020년에는 3번째로 증가할 것으로 예측되었다.^{149,150)} 이런 맥락에서 새로운 치료법의 개발을 촉진하기 위해 폐 칩을 사용하는 것을 고려할 수 있다. 오늘날 우리는 여전히 미세 유체 칩에서 전체 폐를 모방할 수 없다. 그러나 Huh 등¹⁵¹⁾은 폐에서

가장 작은 기능 단위인 폐포 - 모세혈관 막의 기능을 재현하는 데 성공했다. 이 기관은 신체와 외부 세계 사이의 물리적 장벽을 구성하기 때문에 신약을 시험하는 데 필수적이다. 이 막을 재현하기 위해 PDMS (Polydiméthyl- siloxane)을 사용하여 콜라겐을 코팅하여 세포 접착력을 높였고, 공기와 접촉하는 상피 세포를 한쪽으로 하여 혈액 대신 영양소로 이루어진 액체와 접촉하는 내피 세포가 분리되어 있다. Jain 등¹⁵²⁾은 사람의 폐와 최대한 유사하게하기 위하여 영양액 대신 혈액을 사용하여 실험도 수행했다. 이 미세유체 채널을 따라 2개의 비어있는 미세 채널을 실행하여 폐포 - 모세관 막이 호흡하는 동안 압축 주기를 재현하기 위해 기존 세포 배양에 비해 폐 칩의 주요 장점이다.

Ingber 등은 오염 물질이 폐 세포에 미치는 영향을 관찰하기를 원했다. 그들은 상피 세포의 표면에 독성 나노 입자를 배치했다. 그러나 인공적인 호흡이 활성화되면 훨씬 더 많은 독성 입자가 공기로부터 혈액으로 들어가는 것을 관찰했다. 이것은 전통적인 세포 배양에 의한 시험은 오염에 의한 독성을 과소평가 했음을 보여주고 있는 것이다.¹⁵³⁾

칩이 얼마나 잘 기능하는지 시험하기 위해 Huh 등¹⁵¹⁾은 공기 흐름에는 박테리아를 도입하고 혈류에는 백혈구를 도입했다. 그들은 백혈구가 박테리아와 싸우기 위해 어떻게 상피 세포로 이동했는지 관찰할 수 있었다. 그런 다음 이 칩을 사용하여 폐 부종을 유발하기 전에 투여할 인터루킨-2(IL-2)의 최대 용량을 측정했다.¹⁵⁴⁾ IL-2는 신장 암을 치료하는 데 사용할 수 있지만 폐포에 체액이 축적되는 등 위험한 부작용이 있을 수 있다. 그런 다음 얼마나 많은 IL-2가 이런 부작용을 유발했는지 측정하는 것이 중요했다. 폐 칩은 또한 IL-2 억제제로서의 혈관단백질-1의 효율성을 입증하는 데 도움이 되었다. 이미 그 가치가 입증되었음에도 불구하고 폐에 대한 치료의 효과를 시험하기 위하여 근육 세포를 추가한 폐 칩을 추가로 설계되어 있다. 이것은 또한 기관지 경련의 원인을 알아낼 수 있게 해주고 있다.

- 간 칩

간 칩 개발은 신약 연구에 필수적이다. 간 독성은 잠재적인 치료가 동물 실험 단계를 통과하지 못한 주된 이유이다.^{155,156)} 간 칩을 사용하면 상당한

비용을 절약할 수 있다. 그러나 간 세포는 페트리 접시에서 생존하기 가장 어려운 세포 중에 하나이다.¹⁵⁷⁾ 수명을 연장하기 위해 환경을 모방하는 방법을 찾아내는 것이 중요했다. Yang 등¹⁵⁸⁾은 인간 태반의 중간엽 세포를 간 세포와 합치면 간 세포가 증식하고 대사 활동이 급증한다는 것을 증명했다. 프로세스를 최적화하려면 2가지 유형의 세포 간의 비율이 가장 중요하다.

Chen - Ta 등¹⁵⁵⁾은 유전영동(dielectrophoresis)을 통해 간의 기능적 단위인 간소엽을 미세유체 칩에 재구축하였다. 이 소엽은 간 세포와 내피 세포로 구성되었다. 간 칩의 주요 장점은 보다 신뢰할 수 있는 검사를 위해 미세한 세부 사항을 복제할 수 있다는 것이다.¹⁵⁶⁾

간 칩은 다중 장기 칩에서 매우 중요하다. 그러나 이것들은 아직 완전하지 않다: Chen - Ta 등이 사용한 PDMS는 현재 일부 면밀히 조사되고 있다. 때로는 작은 소수성 화합물과 일부 약을 흡수하여 시험 결과를 왜곡할 수 있다. 그럼에도 불구하고 새로 발견된 폴리우레탄 기반 폴리머는 이러한 결함을 나타내지 않는다. PDMS(투명성, 생체 적합성, 용이성...)와 동일한 특성을 나타내며 곧 재료를 대체할 수 있다.¹⁵⁷⁾ 그러나 이러한 간 칩의 수명은 일반 세포 배양보다 우수함에도 불구하고 2주를 초과하는 경우가 거의 없다.¹⁵⁶⁾ 이것은 장기간에 걸쳐 간의 반응을 연구해야 하는 경우 문제가 될 수 있다. 이 후 간 칩 배양에서 간 세포의 수명을 증가시키려는 시도가 필요하다. 마지막으로 인간 세포의 가용성이 문제가 될 수 있다. 사람 간의 반응을 정확하게 연구하기 위해서는 인간의 간세포를 이용하는 것이 좋지만 현재로서는 공급보다 수요가 높다.¹⁵⁶⁾ 간세포를 줄기세포로 대체하는 것이 고려되고 있다. "스캐폴드"의 사용과 관련하여 다른 문제가 발생하고 Weng YS 등¹⁵⁹⁾에 의해 새로운 버전의 간 칩이 개발되어 구조물을 사용하지 않고 간의 구조를 재구성하였다. 칩에서 간을 계속 연구하려면 이러한 문제를 해결해야 한다.

- 심장 칩

특히 동물과 인간의 심장 세포 간에 상당한 차이 때문에 심장 칩도 개발되었다. 이것은 화학 요법의 심장 질환과 심장 독성을 연구하는 것을 목표로

하고 있다. 일반 세포배양과 비교하여 미세유체 칩을 사용하면 보다 적절한 형태 측정 및 전기 생리학적 데이터를 수집할 수 있다.^{160,161)} 칩은 심장병에 대한 새로운 치료법을 연구하는 최고의 도구가 될 수 있다. 오늘날 여러 응용 프로그램에 대해 서로 다른 연구팀에 의해 많은 심장 칩이 개발되었다.¹⁴⁶⁾ 우리는 심장 세포가 칼슘 이온을 관리하는 역할을 한다는 것을 알고 있다. 따라서 이러한 이온 농도 수준의 변화는 종종 부정맥이나 심부전과 관련이 있다.^{162,163)} Martewicz 등¹⁶⁴⁾은 공초점 현미경과 심장 칩의 도움으로 Fluo4에 실린 심장 세포가 저산소 상태에 도달할 때 칼슘 이온 농도의 차이가 관찰될 수 있음을 입증했다. Agarwal 등¹⁶⁵⁾은 1 nM에서 0.1 mM 사이의 용량으로 랫드 세포 기반의 칩에 심부전 또는 서맥에 사용되는 약물인 이소프로테롤을 시험했다. 실험은 인간이 아닌 세포에서 수행되었지만 광범위한 약물 농도를 시험할 수 있는 심장 칩의 잠재력을 보여주고 있다. 최종 결과는 이전에 실제 살아있는 랫드에서 발견된 결과와 유사했다. 이러한 예는 미세유체 칩이 다른 장점 외에도 얼마나 신뢰할 수 있는지 보여주고 있다. 심장 칩을 계속해서 개발하려면 허혈이 있는 심장과 같은 새로운 질병의 칩을 개발해야 한다. 더욱이 PDMS는 세포 고정이 최적이지 아니라는 결함이 있다.¹⁶⁶⁾ Annabi 등이 이전에 PDMS를 덮는 겔 층을 개발하여 세포의 고정을 용이하게 함으로써 문제를 해결했음에도 불구하고¹⁴⁶⁾ 이것은 칩에 대한 개선을 요구하는 하나의 주요 단점으로 남아 있다.

- 뇌 칩

칩에서 뇌의 작은 부분인 혈액 - 뇌장벽을 재생산하는 데 성공했다. 이 장벽은 필수적인 기능을 가지고 있다. 혈류의 모든 병원체로부터 뇌를 보호하고 뇌가 필요로 하는 영양소만 통과시킨다. 그러나 이 장벽은 활성 화합물이 뇌에 접근하는 것을 차단할 수 있기 때문에 일부 약물 치료에서 문제가 될 수 있다(예: 파킨슨병 치료제).¹⁶⁷⁾ 심장과 마찬가지로 인간과 동물의 혈액 뇌 장벽은 매우 다를 수 있으므로 인간 세포로 작업하는 것이 중요하다. 다른 생체 내 및 시험관 내 모델에 비해 뇌 칩의 장점은 보다 현실적인 크기와 기하학에

서 비롯된다. 이러한 미세 유체 칩은 혈류를 모방하고 뇌 세포가 적절한 분화 및 성숙을 나타내도록 하는 상피의 생리학적 유체의 흐름을 시험할 수 있게 한다. 칩 위의 뇌는 혈액 - 뇌 장벽의 투과성을 예측하기 위해 정적 배양보다 더 정확하다는 것이 입증되었다.^{168,169)} Dauth 등¹⁷⁰⁾은 또한 생체 내 모델과 매우 유사한 조건의 신경퇴행성 질환을 모델링하는 데 도움이 될 수 있는 칩에 다중 영역 뇌를 구축하는 데 성공했다. 오늘날 혈액 - 뇌장벽 미세유체 칩에 대한 연구는 이제 막 시작되었으며 여러 모델이 존재한다.^{168,169)} 예를 들어, 한 연구 그룹이 환자의 세포로 칩을 개발하여 외측 근위축성 경화증을 연구했다. 이를 통해 그들은 질병을 더 잘 이해할 수 있었고 나중에 새로운 치료법을 시험하는 데 사용할 수 있었다. 그들은 또한 칩의 뉴런이 기능적임을 보여주었으며, 이 미세유체 칩이 질병을 연구하는 적절한 방법임을 증명했다.¹⁶⁵⁾ 그러나 뇌 칩은 연구팀마다 매우 다를 수 있다.¹⁶⁵⁾ 이렇게 장기 칩이 다양한 용도로 사용될 수 있다는 것은 다른 팀의 결과와 비교를 못해 연구 속도를 늦출 수 있다. 미래에는 혈액 - 뇌 장벽에 대한 보편적인 모델을 찾고 뇌의 다른 하위 기관을 모델링하는 것이 흥미로울 수 있다.

- 장 칩

마지막 기관은 장 칩이다. 특히 하나의 특정 응용 프로그램이다. Kim 등¹⁷¹⁾은 우리가 이전에 논의한 폐 칩과 달리 2층 장 칩 시스템을 개발했다. 폐 칩과 유사하게 이 적용에 미세 유체 칩을 사용하는 것은 연동 운동을 모방하는 기계적 장력을 재현할 수 있기 때문에 매우 중요한 것으로 판명되었다. Geraldine Hamilton은 2016년 5월 Wired Health 컨퍼런스에서 이 장 칩에 대한 적용에 대해 발표했다.¹⁶⁵⁾ 그녀는 소화 문제가 있는 환자에게서 줄기 세포를 수집하여 특정 유형의 음식과 새로운 치료법에 대한 반응을 연구하기 위해 장 칩을 개발했다. 이 예는 칩 위에 장기가 있는 개인 맞춤형 의약품이 어떤 모습일 수 있는지 보여주었다. 장은 약의 흡수를 위한 핵심 기관이며, 이러한 돌파구는 우리가 이러한 문제를 더 잘 이해하고 연구를 빠르게 진행하는 데 도움이 될 것이다.

- 종양 칩

장기 칩에 대한 성공이 증가함에 따라 연구자들은 칩에 종양을 개발하기 시작했다. 목표는 암세포가 물리적, 화학적으로 상호작용하는 미세 환경을 모방하는 것이다. 그러면 악성 세포의 생존과 증식을 연구하는 것이 가능할 것이다. 종양 환경을 재현하기 위한 연구 진행은 다른 칩보다 훨씬 빠릅니다. 많은 논문에서 이미 이 주제를 다루고 있다.^{171~173)} 다양한 용량의 새로운 치료법을 시험하기 위해 많은 종양 칩이 개발되었다.¹⁴⁶⁾ Kim 등¹⁷⁴⁾은 최적의 농도를 결정하기 위해 프로그래밍 가능한 자동 시스템을 개발했다. 그들 시스템의 효율성은 doxorubicine과 mitoxantrone의 조합을 사용하여 PC3 세포(전립선암 세포)에서 입증되었다. 종양 칩은 다른 장기와 연결될 때 특히 흥미롭다.

- 다중 장기 칩

장기 칩을 개발하고 종양 칩을 개발되어 이미 특정 치료법을 시험하는 데 유용한 것으로 판명되어 동물실험을 확실히 대체하거나 개인 맞춤형 의학을 일반화하기 위해서는 다중 장기 칩 시스템에서 장기를 함께 연결할 필요가 있다. 새로운 치료법을 개발할 때 신체의 나머지 부분에 악영향을 미치지 않는지 확인해야 한다. 예를 들어, 약물을 검사하기 위해서는 주로 간 칩으로 연결하여 약물의 간독성을 평가할 수 있다.¹⁴⁶⁾ 이것은 Midwood 등¹⁷⁵⁾의 연구인 경우다. 이러한 다기관 시스템은 암에 대한 4가지 치료법의 효율성 외에도 흡수 및 신진대사를 연구할 수 있게 해주었다.¹⁷⁶⁾ Imura 등은 시험한 샘플의 경로를 연구하기 위해 유방암 세포와 장 및 간 세포를 연결하였다. 2년 후 그들은 위산을 추가하여 경구로 복용한 치료의 위 소화를 모방하였다.¹⁷⁷⁾

4) MINETAS

독성시험의 예측 가치를 높이려면 처리량이 많고 생리학적으로 관련된 시험관 내 모델이 필요하다. 현재 독성학 모델의 단점을 해결할 수 있는 플랫폼 중 하나는 높은 처리량, 관류 기반 미세 유체 세포 배양 도구인 OrganoPlate®이다. MIMETAS는 신장, 간 및 장 칩 모델 시스템이 개발되어 있다.

Kristin Bircsak 박사는 메릴랜드주 게이더스버그에 있는 MIMETAS의 수석 과학자이다. 그녀는 훈련에서 Kristin은 다양한 모델 시스템을 활용하여 약물과 환경 화학물질이 생식과 발달에 미치는 부정적인 영향을 특성화했다. MIMETAS에서 Kristin은 혁신적인 3D 시험관 내 기관형 모델 및 분석의 개발을 주도하고 있다. 그녀의 연구는 안전하고 효과적인 후보 화합물의 정확한 예측을 돕기 위해 간 및 전립선 종양 미세 환경을 요약하는 데 중점을 두고 있다.

MIMETAS는 장기 칩 질병 모델 및 기술 분야의 글로벌 리더 중에 하나이다. OrganoPlate® 플랫폼은 투과성, 이동 및 파생물 연구를 위한 관류 3D 조직 모델링과 복잡한 세포간 상호작용 연구를 지원한다. 이 회사는 OrganoPlate® 제품, 사전 설계된 화합물 프로파일링 및 스크리닝 서비스 (OrganoServices TM), 새로운 화합물의 공동 개발과 같은 기술을 제공하고 있다. 이 회사는 새로운 치료법 개발에 전념하고 있으며 이를 실현하기 위해 전 세계 제약 및 생명공학 산업의 대다수와 협력하고 있다. MIMETAS는 2014년 네덜란드 라이덴에서 설립되었으며 아시아, 유럽 및 미국에서 사업을 운영하는 다국적 기업으로 성장했다.

▪ MIMETAS 기술

OrganoPlate®는 단일 플레이트에서 최대 96개의 조직 모델을 지원하는 미세 유체 3D 조직 배양 플레이트이다. 이 독특한 PhaseGuide™ 기술을 통해 세포가 채널 간에 자유롭게 상호 작용하고 이동할 수 있다. 인공 막의 간섭 없이 ECM, 최적화된 미세 환경 및 관류된 관 조직 내 또는 이에 대한 공동 배양물을 사용하고 있다.

▪ PhaseGuide™ 기술

OrganoPlate®는 Phaseguides™라고 하는 특별한 특허 액체 처리 기술을 사용하고 있다. Phaseguides™는 세심하게 설계된 메니스커스 고정 장벽이다. 이를 통해 배양 매트릭스 및 세포를 장벽 없이 3D로 정밀하게 정의할 수 있어 세포 간 상호 작용과 전례 없는 이미징 및 정량화를 지원한다. OrganoPlate

는 화학 화합물과 단백질의 화학적 구배 및 공동 배양 조건을 지원하는 다목적이다.

- 펌프와 튜브가 없는 관류

OrganoPlate의 미세 유체 네트워크를 통한 지속적인 매체 관류는 혈류를 모방하고 영양소, 산소 및 대사 물의 교환을 가능하게 한다. 고유한 중력 구동 레벨링 기술은 펌프와 튜브 없이 흐름을 유지하여 OrganoPlate를 모든 처리량에 적합하게 만든다. OrganoFlow®는 필요한 최소한의 설정으로 OrganoPlate에서 연속적으로 매체의 흐름을 제공한다.

- 호환 및 자동화 가능

자동 이미징 및 로봇 액체 처리 장비와 호환되는 SBS 표준 384웰 OrganoPlate® 형식이다.

- 중간 관류, 펌프가 필요 없음

대사 항상성, 화합물 전달 및 샘플링, 간질 흐름 및 전단 응력에 대한 노출을 위한 손쉬운 연속 매체 흐름을 보인다.

- 공동 배양 및 막이 없음

장벽 없는 세포 상호작용, 이동, 침입, 수송 및 혈관신생을 연구하기 위한 완벽한 이미징이 있는 인공막이 없는 계층화된 조직이다.

- 우수한 3D 이미징

자동화된 형광, 공초점 및 표준 광학 현미경을 위한 단일 수평 평면에서 조직 넓이가 고정된 고품질 광학 재료이다.

- 경제적이고 포괄적인 생태계를 포함하고 있다.

목적에 맞는 다양한 다목적 미세 유체의 설계가 가능하고, 전용 장비에 대한 최소 투자가 필요하고, 일부 인간 조직을 완전한 표현형 스크린으로 개발하는 데 적합하고, 광범위한 분석 호환성을 가지고 있다. 면역염색, 장벽 무결성, TEER, 수송, 생존 가능성, LC - MS, qPCR, 시퀀싱 등의 오프 플레이트 분석, (공초점) 현미경, 고함량 판독기 및 기타 표준 장비의 기존 프로토콜에 대한 최소한의 조정만이 필요하다.

- 낮은 화합물 흡수

OrganoPlate®에는 저흡수성 물질만 사용되며 PDMS는 사용하지 않습니다. 이를 통해 분석에서 화합물 농도를 완전히 제어할 수 있다.

- 적용

관련된 체외 미세 환경에서 복잡한 조직으로써 가장 다양하고 사용자 친화적인 3D 조직 배양 플랫폼에서 놀라운 생물학을 포착할 수 있다. OrganoPlate®를 사용하면 관류 세뇨관, 공동 배양 및 조직 미세 환경에 대한 완전한 제어를 통합하여 관련 3D 조직 생물학을 연구할 수 있다.

- 특징

- 관류 세관(Perfused tubules)
- 세포외기질(ECM)에 대한 극성화된 관형 조직
- 쉬운 정단부(apical) 및 기저측부(basolateral) 접근
- 전단 응력을 모방한 세관의 관류
- 인공막 없음

- 분석

- 형광 장벽 무결성 분석
- TEER (OrganoTEER®)
- 접합 마커의 발현(면역염색)
- 트랜스포터의 발현(RNA 분리 및 PCR, 또는 면역염색)
- 수송체 분석, 이미징 또는 샘플링 기반

인공 막이 없는 관류 세뇨관이 있는 계층화된 조직은 투과성 및 수송 과학의 핵심을 이루고 있다. 물리적 장벽 없이 세포 상호작용, 투과성, 흡수, 수송 및 트랜스 사이토시스를 연구할 수 있다.

- 왜 관류 세뇨관인가?

투과성은 약물 연구 및 개발에서 중추적인 역할을 한다. 이는 약물 및 대사 산물의 흡수, 분포, 대사 및 배설(ADME) 특성에 중요한 요소 중 하나이다. ADME/PK 및 새로운 화합물의 독성을 적절하게 예측하려면 인간 조직에서의 투과성을 더 잘 이해하는 것이 중요하다. 관류 세뇨관을 성장시키고 장벽 기능

을 평가하기 위해 OrganoPlate® 플랫폼을 최적화되어 있다. OrganoPlate®에서는 상피 단일 배양에서 면역 세포, 혈관 및 기질 조직을 포함한 정교한 공동 배양에 이르기까지 거의 모든 복잡성에서 세관을 성장시킬 수 있다. 이를 통해 약물 흡착, 약물 유발 독성으로 인한 장벽 기능 상실, 장, 신장, 망막, 폐, 피부, 혈뇌 장벽 및 혈관에서 화합물의 투과성을 연구할 수 있다.

5) uFluidix

uFluidix는 맞춤형 미세유체 장치를 제작하는 업체이다. 미세유체 장치 PDMS 및 열가소성 수지로 만들어졌다. uFluidix는 미세유체학 최첨단 맞춤형 설비와 첨단 제조 설비가 잘 갖춰져 있다. uFluidix는 저렴하고 충실도 높은 생산을 위해 독점 프로세스를 사용하고 있다. 미세 유체 칩 PDMS 및 기타 재료로 만들어 졌으며, Microfluidics 제작 서비스를 제공하고 있다.

▪ 제조용 미세유체 채널의 설계

미세유체 장치의 제조 가능성은 새로운 미세유체 제품의 성공 여부에 따라 성패가 좌우된다. uFluidix는 제조를 위한 수천 개의 프로젝트를 도왔고, 그 중 상당수에서 제조 문제가 발생했고 해결했다. 미세유체를 제조할 준비가 되었는지, 변경이 필요하거나 제조 제한으로 인해 폐기해야 하는지 처음부터 알려 줄 수 있다. 여기에서 우리는 미세 유체 채널에 대한 제조 가능성을 알려 준다.

미세 유체 채널은 광범위한 응용 분야에 사용된다. 연속 미세유체에서 미세 채널의 주요 기능은 액체를 미세유체 장치로 가져오는 것이다. 액체는 PBS, 물 또는 오일과 같은 매체일 수 있다. 또는 혈액, 땀, 타액, 소변, 정액 또는 하수와 같은 액체 표본이 될 수 있다. 액체에는 세포, 오가노이드, 하이드로겔 비드 또는 자기 비드와 같은 미세 입자가 포함될 수 있다. 액체에는 약물, 염료, 효소 또는 영양과 같은 화학 물질 또는 시약이 포함될 수 있다. 유사하게, 액체는 단량체와 같은 화학적 합성 또는 유기 용매와 같은 추출을 위한 시약일 수 있다. 대부분의 경우 미세유체 채널은 미세유체 칩의 폐기물이나 제품도 함

게 꺼낸다. 예를 들어 장기 칩 미세유체학에서 세포는 미세유체 칩 내부에서 배양된다. 음식과 약물이 그들에게 공급된 후 세포의 폐기물과 사용된 배지가 펌핑된다. 또는 때때로 미세유체 장치에서 제품을 수집해야 한다. 예를 들어 액적 미세유체학에서 마이크로채널은 더 많은 처리를 위해 미세유체 칩 외부로 액적과 캡슐화를 전달한다. 또 다른 예는 마이크로 혼합 장치에서 생성된 혼합물입니다. 유체 전달 외에도 미세유체 채널 자체가 기능할 수 있다. 예를 들어, 반응 챔버, 분리 채널, 이미징 챔버 및 미세유체 공학에서 더 많은 기능을 할 수 있다. 마이크로 채널은 더 많은 처리를 위해 미세유체 칩에서 액적과 캡슐화를 전달한다. 또 다른 예는 마이크로 혼합 장치에서 생성된 혼합물이다. 유체 전달 외에도 미세유체 채널 자체가 기능할 수 있다. 예를 들어, 반응 챔버, 분리 채널, 이미징 챔버 및 미세 유체 공학에서 더 많은 기능을 할 수 있다. 마이크로 채널은 더 많은 처리를 위해 미세 유체 칩에서 액적과 캡슐화를 전달한다. 또 다른 예는 마이크로 혼합 장치에서 생성된 혼합물이다. 유체 전달 외에도 미세유체 채널 자체가 기능할 수 있다. 예를 들어, 반응 챔버, 분리 채널, 이미징 챔버 및 미세 유체 공학에서 더 많은 기능을 할 수 있다.

▪ 미세 유체 공학의 프로토타입 제작

다양한 회사에서 uFluidix의 신뢰할 수 있는 제조 서비스를 사용하여 제품의 미세유체 구성 요소를 생산하고 있다. uFluidix는 고객 제품의 성공을 위해 엄격한 품질 관리 프로토콜과 최고 수준의 정밀 제조를 사용하고 있다. 미세유체의 대량 생산을 위해 소량 또는 프로토타입 단계를 거친다. 이러한 맞춤형 제작 프로젝트는 제품 개발 주기의 일부로 새로운 미세유체 개념을 시도하는 것부터 학술 연구에 이르기까지 다양하다. 미세 유체 공학 프로토타이핑 서비스의 특성은 모든 제조 프로젝트와 매우 다르다. 일반적으로 며칠 내에 신속하게 미세 유체 프로토타입을 필요하다. 프로토타이핑을 위한 수량은 5~1000개의 미세유체 칩이 필요하다. 설계는 종종 제조된 미세유체 기반 제품보다 더 복잡하며, 개념을 실현하기 위해서는 깊은 미세 가공 지식과 세공 기술이 필요하다. 장비는 이러한 맞춤형 제작 프로젝트를 위한 도구 및 금형은

완전히 다르다. 또한 이러한 미세유체 프로토타입의 품질 검사는 기계가 아닌 사람이 수행한다.

▪ 미세유체 재료

PDMS라고도 불리는 폴리디메틸실록산은 대부분의 미세 유체 공학 프로젝트를 시작하기 위해 선택한 재료이다. 이는 많은 응용 분야에 가장 적합한 재료이다. 대부분의 미세 유체 프로젝트는 주로 빠른 프로토타이핑 처리로 인해 PDMS에서 먼저 테스트된다. 모든 장비와 기술이 미세유체 연구 그룹에 있었다면 새로운 미세유체 프로토타입을 며칠 안에, 언젠가는 단 하루 만에 제작할 수 있다.

PDMS가 일부 응용 분야에서 선택되는 재료가 될 수 있는 이유는 첫 번째는 PDMS 미세유체 기능의 매우 미세한 분해능이다. 미세한 PDMS는 저점도의 프리폴리머로 나노 수준의 몰드 특성을 갖기에 적합하다. 이는 마이크론 이하의 미세유체 기능도 제작할 수 있음을 의미한다. 미세유체 응용 프로그램을 수행하기 위해 10 μm 보다 작은 기능을 사용해야 하는 경우 PDMS 미세유체가 답이다. 이러한 크기는 다른 재료를 사용하여 달성하기가 매우 어렵다. 이러한 PDMS 미세유체 부품에는 고충실도라고 하는 또 다른 흥미로운 기하학적 특성이 있다. 예를 들어 부품에 접합부에서 매우 날카로워야 하는 10 μm 기능이 있는 경우 PDMS 미세 유체 부품이 선명도를 제공할 수 있다. 20 $\mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ 정사각형은 PDMS에서 케이싱 후 정사각형처럼 보일 것이다.

또한, PDMS Microfluidics에는 다른 재료와 비교할 수 없는 몇 가지 다른 장점이 있다. 이는 역학이 조직과 유사하다는 것을 의미하는 엘라스토머로 PDMS를 조직 칩, 장기 칩, 인간 칩, 오가노이드 제조, 미세 환경 제어 세포 배양 등에 매우 매력적으로 만든다. 자가형광 의미는 0에 가깝다. 세포 분류 또는 염색과 같은 형광 이미징이 필요한 미세유체 응용 분야는 매우 적합하다. 그리고 마지막으로 PDMS Microfluidics 부품은 접착제나 열 없이도 다른 PDMS 부품이나 몇 가지 다른 재료에 밀봉될 수 있다. 열 또는 레이저 분당은 열가소성 미세유체 부품을 패키징하기 위해 선택하는 방법이지만 이 방법

은 채널 형상을 왜곡할 수 있으며 합리적인 절충을 달성하기 위해 정밀한 공정 최적화가 필요하다.

미세유체가 설계의 요구 사항인 해상도, 충실도 및 높은 종횡비를 특징으로 하는 경우 PDMS의 대안으로 고려할 수 있는 유일한 재료는 실리콘이다. 실리콘 웨이퍼(태양 전지판에 사용되는 유사한 재료)는 DRIE(심층 반응성 이온 에칭)라는 천재적인 프로세스를 사용하여 매우 미세한 기능과 높은 종횡비 채널로 성형될 수 있다. DRIE에서 만든 미세유체 칩은 다이싱, 드릴링 및 밀봉 레이어에 결합된다. 실리콘 칩을 접합하는 것은 어렵고 실리콘 재료는 불투명하다. 그러나 실리콘 칩은 전기 또는 열 전도성이 필요한 우수한 플랫폼을 제공한다.

유리 미세유체 칩도 흥미롭다. 유리 부품은 종종 습식 에칭이라는 공정으로 만들어진다. 이 프로세스는 더 큰 크기의 채널에 적합하다. 액세스 포트를 만들려면 유리를 대량 생산에 부적합하게 만드는 드릴링이 필요하다. 또한 유리 미세 유체 부품은 밀봉을 위해 높은 압력과 온도가 필요하다. 미세 유체 제조를 위한 다른 모든 재료에 비해 유리의 주요 이점은 화학적 호환성이다. PDMS 또는 열가소성 수지와 같은 재료는 대부분의 농축 유기 용매 또는 산/염기 액체와 호환되지 않는다. 또한 유리 칩은 200°C 이상의 온도를 견딜 수 있다. 대부분의 열가소성 플라스틱은 120°C에서 멈추고 PDMS Microfluidics 칩은 200°C 이하에서 좋다.

폴리(메틸메타크릴레이트)(PMMA), 폴리카보네이트, 폴리스티렌 또는 고리형 올레핀과 같은 열가소성 수지코폴리머(COC) 또는 폴리머(COP)는 사출 성형을 사용한 대량 생산에 탁월한 후보이다. PMMA의 상업적 이름은 아크릴 유리 또는 플렉시 유리이다. 폴리카보네이트는 Lexan 또는 Markrolon이라고 한다. 그리고 폴리스티렌은 대부분의 페트리 접시의 재료이다. 열가소성 미세유체의 주요 단점은 형상 크기와 충실도이다. 높은 종횡비 또는 마이크론 크기의 피처를 생성할 수 있는 사출 성형 또는 미세 사출 성형에 대한 보고가 있지만 미세 유체 설계자는 이러한 성과가 미세유체 칩의 대량 생산에 적용

할 수 없는 특정 상황에서 얻어진다는 점을 인식해야 한다. 열가소성 수지에서 적절한 형상 크기를 달성하기 위한 대안 프로세스는 핫 엠보싱이다. 이 방법은 미세한 기능을 생성하지만, 그러나 미세한 기능 크기나 높은 기능 충실도에는 시간이 소요된다는 점을 고려해야 한다. 10 μm 피처 레벨에서 95% 충실도에 도달하는 제조 공정은 하나의 몰드를 엠보싱하는 데 3시간이 걸릴 수 있다. 금형은 또한 다른 제조 공정보다 비용이 많이 든다.

6) Tissue Dynamics

Tissue Dynamics 사는 제약 및 화장품 산업을 위한 약물 독성 및 효능 스크리닝 도구를 개발하는 획기적인 생명공학 회사이다. Tissue Dynamics의 고처리량 스크리닝 플랫폼은 센서를 통합한 장기 칩 기술을 활용하여 실시간으로 대사 기능의 변화를 모니터링할 수 있다. 본사의 미세 생리학적 플랫폼은 실시간 데이터 수집을 활용하여 위양성 및 위음성 유형 오류를 최소화하고 있다. Tissue Dynamics의 기술은 세포 손상 임계값보다 훨씬 낮은 농도에서 스트레스를 감지하여 선험적 정보 없이 작용 메커니즘을 설명하고 특이한 독성 위험을 강조한다.

- 장기 칩 기술
 - 세포 라이브러리

Tissue Dynamics는 최소한의 실험적 변동성을 보여주는 증식하는 인간 간세포주의 인종적으로 다양한(유럽, 히스패닉, 아시아) 라이브러리를 활용한다. 신진대사의 활성과 독성 프로필이 광범위하게 검증되었다.

- 3D 생리학적 장기

장기 칩 디자인을 통해 28일 이상 3D 간 조직을 형성하고 유지할 수 있다. 미세 조직은 생리적 구조를 획득하고 복잡한 대사 구역화를 나타낸다.

- Embedded sensors feel cell stress

Tissue Dynamics의 특허 보호 기술을 통해 대사 기능을 실시간으로 평가할 수 있다. 신진대사 기능의 변화는 감지 가능한 손상의 징후에 앞서 세포 스

트레스의 첫 번째 징후이다. 대사 스트레스의 부족은 임상 안전성의 훌륭한 지표이다. 대사 변화의 속도와 방향은 독성에 대한 기전적 통찰력을 제공한다.

▪ Tissue Dynamics의 서비스

- 증식하는 간세포의 높은 콘텐츠 스크리닝 서비스

유럽, 히스패닉 또는 아시아 유전 배경의 E6/E7^{LOW} 간세포의 2D 배양에서 화합물 독성의 용량 의존적 평가. 초기 스크린은 화합물의 TC₅₀ 값과 전체적인 형태를 결정한다. 후속 분석은 유도된 부작용 경로(AOP)를 결정하는 지방 증, 인지질증, 담즙정체, 세포자멸사 및 괴사의 정량적 통계적 평가를 제공한다. 마지막으로 3개의 독립적인 라인을 사용하여 72시간 노출 후 CYP3A4, 1A2 및 2B6 유도의 qRT-PCR 분석을 제공할 수 있다.

- 차세대 장기 칩을 이용한 다이나믹한 기능 분석

대사 구역을 나타내는 3D 혈관 간 조직에서 대사 기능의 실시간 평가. Tissue Dynamics 스크린은 24시간 동안 화합물의 EC₅₀ 값을 결정하여 기전적 정보를 제공하는 TTO(Time to Onset)를 결정한다. 이 후, 조직을 1~28일 동안 화합물에 노출시켜 NOEL(No Observed Effect Level)을 결정한다. 마지막으로, 특이적 손상에 대한 위해성을 평가하기 위하여 대사경로, ATP 생산 및 탄소 활용을 도표화한 위해성 분석을 제공한다.

7) Altis Biosystems

Altis Biosystems는 보다 안전하고 효과적으로 약물 개발에 소요되는 시간과 비용을 줄이는 차세대 체외 플랫폼을 개발했다. 인간 고유의 생물학적인 특성을 복제하여 보다 나은 임상 시험 성능을 위해 더 정확하고 재현 가능한 데이터를 생성하고 동물 실험의 필요성을 줄였다. 생체내 생물 특성을 반영한 소장 및 대장 조직 모델은 독성, 대사, 약물 흡수 및 효능을 포함한 약물 처리의 여러 측면을 연구하는 데 적합하다.

▪ RepliGut[®] 플랫폼

RepliGut[®]은 줄기세포와 분화된 세포의 연속 층에서 장 상피를 재생성하

는 독특한 인간 줄기 세포 유래 플랫폼이다. 장 질환 치료를 위한 치료법의 개발에 사용되는 현재의 시험관 내 및 생체 내 모델 모두 심각한 한계가 있다. 시험관 내 인간 장 상피 줄기세포 모델인 RepliGut®은 이러한 많은 문제를 해결하며 약물 개발 시간과 비용을 줄일 수 있는 상당한 잠재력을 가지고 있다. 이 모델은 개별 환자에 대한 최적의 치료방법을 식별하는 데 도움이 될 수도 있다.

▪ 동물 모델의 한계

설치류는 일반적으로 인간 장 시스템의 생체 내 동물 모델로 사용되지만 이러한 모델은 구조적 해부학을 요약하지 못하고 인간에서 발견되는 일부 수용체 및 세포 유형이 부족하기 때문에 인간 장을 완전히 모방하지 못한다. 물론 인간은 쥐와 생활 방식이 많이 다르지만, 다양한 식단과 훨씬 더 긴 수명으로 인해 설치류 모델을 사용하여 생성된 자료를 인간에게 해석하는 것은 매우 어렵다. 개, 돼지 및 인간이 아닌 영장류 모델도 개발되어 인간 반응에 대한 최고의 해석 가능성을 제공한다. 그러나 이러한 대규모 동물 연구의 비용과 윤리적 결과는 종종 소수의 동물로 제한되어 잠재적으로 다양한 인간의 인구 반응을 정확하게 요약하지 못하는 경우가 많다. 현재의 생체 내 동물 모델을 사용하면 결정적인 결론을 도출하는 연구자의 능력을 혼란스럽게 할 수 있는 변수가 너무 많기 때문에 생리학적 반응의 작용 메커니즘을 결정하기가 어렵다.

▪ 불멸화 세포주의 생리학적 관련성

생체 내 동물 모델에 대한 한 가지 대안은 불멸화 세포주를 기반으로 하는 시험관 내 모델을 사용하는 것이다. 쥐의 장 상피 세포(IEC - 6 세포)와 개의 신장 세포(MDCK 세포)를 포함한 동물 모델의 불멸화 세포주는 시험관 내 장 모델을 개발하는 데 사용되었지만 생체 내 모델과 유사한 이유로 상당한 제한이 있다.

Caco - 2 세포는 시험관 내 장 모델에서 가장 일반적으로 사용되며 업계 표준이 되었다. 이 세포는 사람 기원이지만 원래 대장암 종양에서 유도되어 변형되어 건강한 장 세포와 동일한 생리적 반응을 나타내지 않을 수 있다.

Caco - 2 세포는 또한 흡수 세포 유형과 매우 유사하다. 흡수 세포가 장 기능에 중요하지만, 잔(goblet) 세포와 장내분비(enteroendocrine) 세포를 포함한 다른 세포 유형은 항상성 장 기능과 질병 발병 모두에서 중요한 역할을 하는 것으로 입증되었다.

▪ 제어된 시험관 모델의 장점

1차 인간 장 상피 세포를 사용하여 시험관 내 모델을 생성하는 것은 생체 내에서 발견되는 것을 가장 정확하게 재현한다. 세포를 정상 상태(변환되지 않음)로 유지하고 낮은 통과 횟수로 유지하는 것은 이러한 세포가 생체 내에서 하는 것처럼 행동할 수 있는 최상의 기회를 제공한다. 이러한 장 상피 세포의 바이오뱅크가 개발되면 연구자들은 장의 다른 영역과 인구 통계학적 배경이 다른 여러 기증자의 세포 반응을 쉽게 조사할 수 있어 보다 강력한 판독 결과를 얻을 수 있다.

단일 세포 유형 시험관 내 모델의 사용은 단일 세포 유형에 대해 특정 영향을 시험할 수 있기 때문에 똑같이 중요하다. 특히 병인이 아직 잘 이해되지 않은 질병에 대해 병든 조직을 기반으로 한 복잡한 모델을 사용하는 것보다 단계적 접근을 취하고 한 번에 하나의 변수를 평가하는 것이 좋다. 장 상피는 섭취된 독소와 박테리아로부터 몸을 보호하고 관강 내용물을 흡수하는 가장 통합된 세포 유형임을 고려할 때 외인성 복합 영향을 살펴보기 시작하기에 좋은 곳이다. 장 상피에 미치는 영향을 먼저 이해한 후 다른 세포 유형, 사이토카인 및 아키텍처를 추가하여 모델을 더 복잡하게 만들 수 있다.

▪ RepliGut® 모델로 할 수 있는 연구

Altis Biosystems는 인간의 장 상피를 조사하기 위해 RepliGut® Planar라고 하는 시험관 내 모델 시스템을 개발했다. RepliGut® 제품에는 Transwell 삽입물에 기능적이고 불투과성인 장벽을 생성하는 상피 세포 단층이 있다. 이 단일 세포 유형 모델을 사용하면 장 상피 세포의 생리학을 증식 줄기 또는 분화된 세포 유형으로 조사할 수 있다. 물론 면역 세포, 섬유아세포 및 박테리아를 포함한 다른 세포 유형을 추가하여 더 복잡한 모델을 구축할 수도 있다.

상피반응을 조사하기 위하여 세포 배양 상층액을 샘플링할 수 있다. Transwell 시스템은 다른 요인을 추가 할수 있다. 예를 들어, 면역 세포는 단층으로 삽입될 수 있는 표면이나 사이토카인 분비가 수용체와 상호 작용할 수 있는 기저로 추가될 수 있다. 우리는 또한 상피 반응을 조사하기 위해 세포 배양 상층액을 샘플링할 수 있다. 예를 들어 Transwell의 정점 측에 박테리아를 추가하고 단층에서 기저 사이토카인 분비를 측정한다.

RepliGut[®] 플랫폼은 또한 인간이 아닌 세포와 관련성이 높은 시험관 내 모델을 제공할 수 있는 독특한 기회를 제공한다. 시험관 내 동물 모델은 인간 약물 개발을 위한 생체 내 동물 연구의 필요성을 크게 줄이고 농업 및 수의학 의약품 개발에 있어 귀중한 도구를 제공할 것이다. 시험관 내 동물 연구는 기존의 생체 내 접근 방식 보다 적은 비용으로 더 빠르게 완료할 수 있다. RepliGut[®] 기술은 처음에 마우스 세포로 개발되었으며 다른 동물에도 적용될 수 있다.

Altis가 가진 독특한 장점 중 하나는 장기 기증자로부터 얻은 세포의 바이오뱅크이다. 전체 장의 6개 영역(십이지장, 공장, 회장, 상행 결장, 횡행 결장 및 하행 결장)에서 개별적으로 분리된 각 기증자의 세포를 사용하여 여러 기증자로부터 장 상피 줄기 세포의 바이오뱅크를 생성했다. 이 바이오뱅크는 인구에 대한 보다 강력한 모델링을 위해 다양한 성별, 연령 및 배경의 기증자를 포함하도록 지속적으로 확장되고 있다. 전체 장기를 확보하기 때문에 단일 기증자로부터 기증자 일치 면역 세포, 내피 세포, 상피 세포, 섬유아세포 및 분변 미생물군을 분리하여 포괄적인 모델을 구축하는 것도 가능하다.

바이오뱅크의 주요 특징은 적은 계대 수에서 다량의 장 상피 줄기 세포를 분리하고 생성하는 Altis Biosystems의 독점적인 방법이다. 이를 통해 연구자는 동일한 기증자 및 장의 영역에서 분리된 세포를 긴 연구 일정에 따라 시험할 수 있다. 가장 흥미로운 것은 RepliGut[®] 기술이 다양한 약물에 대한 환자별 반응의 높은 처리량 스크리닝을 위해 병든 조직의 환자 유래 생검 샘플을 사용하여 구성된 고급 체외 모델을 개발하는 데에도 활용될 수 있다는 것이

다. 이 접근 방식을 사용하면 광범위한 라운드의 실패한 치료를 받지 않고도 각 환자에게 가장 적합한 치료법을 식별할 수 있다.

▪ 새로운 플랫폼 설계

그 동안 Altis는 평면 단층 및 건축학적으로 진보된 모델 모두에서 특정 세포 유형/계통을 조사하기 위한 다양한 생물학적 및 엔지니어링 플랫폼을 계속 개발하고 있다. 개발 중인 생물학적 모델에는 이러한 분화된 세포의 하위 집단에 대한 조사를 용이하게 하기 위해 점액 분비 잔 세포 또는 호르몬 분비 장내분비 세포에 대해 강화된 단층이 있다. 또한 섬유아세포, 면역 세포 및 박테리아를 포함한 통합 세포 유형과 공동 배양도 개발하고 있다. 개발 중인 엔지니어링 모델에는 창자 움이 있는 인간 장 점막의 지형적 복잡성을 재현하는 3차원 스캐폴드가 있다. 이러한 마이크로몰딩된 장 움의 상피는 생성된 구배의 영향을 따라 증식 및 분화된 세포 영역을 형성하여 두 세포 유형을 동시에 조사할 수 있다.

현재 RepliGut[®] 모델을 사용하더라도 간단하고 복잡한 과학적 질문에 답할 수 있는 기능을 갖춘 단순한 단일층으로 시작한다. Altis Biosystems는 통제된 방식으로 복잡성을 증가시키는 독특한 능력을 가지고 있으며, 이것은 연구자가 보다 정확한 약물 발견을 위한 작용 기전을 탐색하는 데 도움이 될 것이다. 이러한 경험을 바탕으로 기존의 생체 내 및 시험관 내 모델을 사용하여 해결할 수 없는 장 상피를 둘러싼 몇 가지 어려운 질문에 답하기 시작했다.

▪ GI 독성 평가를 위한 모델로서의 RepliGut[®]

Altis Biosystems의 RepliGut[®] 모델은 약물 후보가 설사를 유발할 가능성을 평가하기 위한 효과적인 시험관 내 모델이다. 정점 및 기저막 도메인을 갖는 극성화된 세포를 사용하여 방향성 흐름의 영향에 대한 정보를 제공할 수 있다. RepliGut[®]은 또한 기본적으로 장의 장벽 파괴로 인해 발생하는 설사와 관련된 메커니즘을 기반으로 한 판독 값으로 개발되었다. 두 가지 예에는 상피 전기 저항(TEER) 값 및 투과성(형광 표지 분자 사용) 측정이 포함된다. 다른 GI 문제의 경우 RepliGut[®]의 판독 값이 궁극적으로 얼마나 미묘해

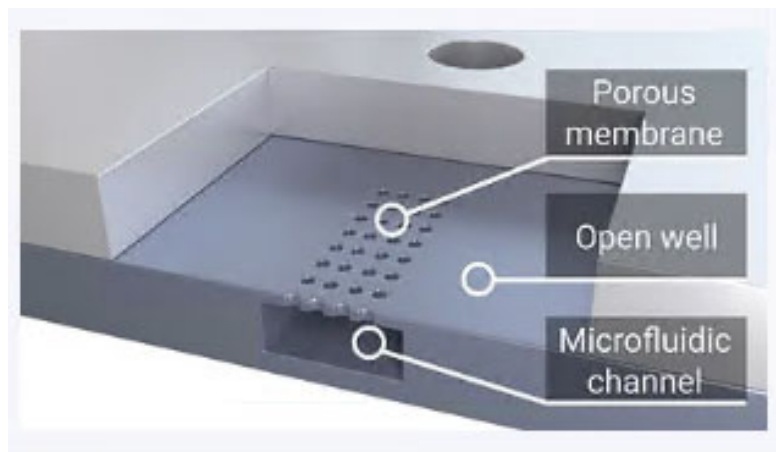
질지 아직 모른다. 메스꺼움과 같은 부작용의 메커니즘은 훨씬 더 복잡하다. RepliGut[®]에는 여러 유형의 세포가 있지만 장 상피 세포 유형일 뿐이다. 우리는 아직 GI 독성과 관련된 신호 전달 및 기타 중요한 기능에 관여하는 면역 조절, 신경 및 기타 세포를 포함하는 상용 시스템을 가지고 있지 않다. 그러나 RepliGut[®]의 잠재력은 매우 유망하며 Altis는 생체 내 장에 존재하는 다양한 3차원 구조와 다양한 세포 유형을 포함하는 모델을 개발하기 위해 노력하고 있다. 궁극적으로 목표는 서로 다른 GI 문제 각각에 대해 서로 다른 모델을 사용하여 약물 개발자가 후보물질이 임상에서 잠재적으로 문제를 가질 수 있는지 여부를 결정할 수 있도록 하는 것이다.

8) Bi/OND.

BI/OND.는 마이크로일렉트로닉스에 대한 광범위한 전문 지식을 갖춘 혁신적인 네덜란드 생명공학 신생 기업이다. 델프트에 기반을 두고 있는 이 회사는 2D 및 3D 조직 모델을 위한 다목적 동적 하드웨어를 제공하여 건강에 대한 기초 연구를 수행할 수 있도록 계약연구기관(CRO)과 생명공학 및 제약 회사를 지원한다. BI/OND.의 기술을 통해 생물학자들은 보다 사실적인 모델링을 달성할 수 있다. 이 회사는 동물 실험에 대한 체외 대안을 제공한다. 장기 칩 장치는 약물 개발 방식을 혁신할 수 있는 기술 중 하나이다. 질병 모델에 대한 정확한 인간 대표 시스템을 개발하거나 연구를 위해 동물 모델의 대안을 찾고 있거나 개인 맞춤형 치료를 위해 줄기 세포를 기반으로 한 시험관 모델이 필요한 경우 활용될 수 있다.

▪ inCHIPit™

inCHIPit™은 다공성막을 통해 미세유체 채널과 연결된 개방형 웰로 구성되어 있다. 개방형 웰은 다양한 조직 샘플 유형(미세조직, 오가노이드, 환자 유래 샘플, 세포 단층)을 수용하여 생물학자들이 세포배양에 직접 접근할 수 있도록 한다. 하단 구획에는 조직에서 산소와 영양분을 제공하기 위해 단일 또는 다중 미세 채널이 있다. 장기난 조직에 따라 2가지 종류의 칩을 선택할 수 있다. 칩은 생체 내 유사성으로 조직을 변형시킬 수 있으며 이미징을 위해 광학적으로 투명하다.



[그림 III - 11] inCHIPit™ 사진

▪ comPLATE™

comPLATE™은 작고 재사용이 가능하며 최소한의 교육이 필요하며 모든 관류 시스템과 완벽하게 호환된다. 플러그 앤 플레이 모듈 덕분에 하나의 플레이트에 세포 및 3D 조직배양, 단일 또는 이중관류, 기계적 자극 및 이미징 지원과 같은 다양한 기능이 있다. 경험과 요구 사항에 따라 점차적으로 기능을 추가할 수 있다. comPLATE™를 사용하면 원치 않는 기포 형성없이 표준 피펫팅을 통해 inCHIPit™의 미세유체 채널과 개방형 웰에 세포를 쉽게 주입할 수 있다. 플레이트를 사용하여 공정 분석(세포형태, 생존력, 배지 분석) 및 최종 분석(조직학, qPCR, 단백질 분석, 고정세포, 염색)을 수행할 수 있다.



[그림 III - 12] comPLATE™ 사진

▪ 체외 연구를 위한 미세 유체 칩

BI/OND의 미세유체 칩은 다공성 막을 통해 연결된 열린 우물 아래에 위치한 미세 채널로 구성되었다. 이 구조는 조직 조직 인터페이스를 복제하는 공동 배양 지원을 제공한다. 개방형 우물은 다양한 샘플을 수용할 수 있어 생물학자들이 세포 배양에 직접 접근할 수 있다. 미세유체 기술은 관류 채널을 통해 조직 주변의 배지를 재생하고 영양분을 제공한다. 칩은 유연하고 이미징을 위해 광학적으로 투명하다.

▪ 임상 시험에서 3D 세포 배양을 위한 웰 플레이트

BI/OND의 플레이트형 홀더는 유체 흐름, 기계적 자극 및 이미징을 허용하여 세포 및 3D 조직 배양을 지원한다. 컴팩트하고 재사용이 가능하며 관류 시스템과 호환된다. 홀더는 다른 유속으로 구획을 관류하는 옵션과 함께 최대 6개의 배양물을 병렬로 지원한다. 일회용 칩은 세포 수집과 공초점 및 단거리 현미경 검사를 위해 홀더에서 제거할 수 있다.

▪ 임상 연구를 위한 3D 조직 칩 적용

BI/OND의 미세유체 플랫폼은 파킨슨병 및 유방암 연구와 같은 질병에 사용할 수 있는 복잡한 3D 조직 칩 적용에 적합하다. 복잡한 3D 조직 모델의 경

우 사용 가능한 옵션은 다음과 같다.

- 3개의 미세유체 채널이 있는 일회용 칩

단일 또는 이중 흐름(조직의 상단 및 하단)이 있는 재사용 가능한 6웰 플레이트 홀더가 있다.

- 개인 맞춤형 의료를 위한 장기 칩 적용

BI/OND의 미세유체 장치는 심혈관 기능 및 질병 연구를 위한 심장 모델 개발과 같은 장기 칩 적용에 사용된다. 사용 가능한 장기 칩 옵션은 다음과 같다.

- 흐름 조건의 더 나은 제어를 위한 단일 채널이 있는 일회용 칩이다.
- 마이크로채널 구획을 통한 단일 흐름으로 재사용 가능한 6웰 플레이트 홀더가 있다.
- 최적의 조직 - 조직 인터페이스를 위한 맞춤형 막 두께 및 다공성이다.

- 연구 개발을 위한 맞춤형 하드웨어 솔루션

BI/OND의 칩은 다음과 같은 옵션을 포함하여 고객의 요구 사항을 충족하도록 사용자 지정할 수 있다.

- 미세 유체 채널은 높이가 40 μm 에서 120 μm 까지 다양하며 여러 채널을 포함할 수 있다.
- 표준 정사각형 모양의 개방형 우물은 직사각형 또는 원형으로 변경할 수 있다.
- 막 다공성은 기공 크기(3 μm ~20 μm)와 밀도(2% ~ 65% 다공성) 모두에서 조정할 수 있다.

9) Netri

10년 동안 과학적 연구를 기반으로 Netri는 동시에 제약 산업 장비와 호환되는 산업 생산 표준을 유지하면서 분류된 생명구성 요소를 동일한 미세유체 장치에 통합하여 칩에 여러 장기/오가노이드를 설계하는 고유한 노하우를 개발했다. 이러한 특허 기술로 인하여 설치류 또는 인간 세포를 사용하여 프로토타입을 제조하고 생물학적 기능을 검증할 수 있다. Netri는 고유한 인프라

를 통해 대량 생산을 위한 칩 생산으로 확장할 수도 있다. Netri 장치는 다음을 통해 새로운 치료법의 개발 시간을 단축하도록 설계되었다:

- 인간 생리학을 높은 처리 산업량을 갖춘 장기 칩으로 변환
- 축삭 수송, 성장, 재생 및 축삭 절제술, 시냅스 독성, 바이러스 및 단백질 전파, 오가노이드 및 전기생리학적 기록을 포함한 활동 탐색 모드에 대한 재현 가능한 판독 보장
- 검증되고 표준화된 도구와 방법을 사용하여 중간~높은 처리량, 신뢰성 및 반복성을 갖춘 산업에 적용할 수 있는 강력하고 자동화되고 병렬화된 장기 칩 기술을 개발

■ 핵심기술

뇌는 특별하지만 복잡한 회로에서 상호작용하고 함께 연결된 여러 유형의 세포로 구성되었다. 뇌 칩 기술의 이러한 복잡성은 특정 아키텍처에서 신경 및 비신경 세포 유형 모두로 구성되고, 분자, 세포 및 네트워크 수준에서 세포들이 연결되어야 하며, 전체 네트워크의 기능적 활성을 기록할 수 있어야 한다. Netri는 산업표준 hiPSC 유래 세포로 각 생물학적 기능이 검증된 동일한 칩 내에 여러 장기/오가노이드를 통합하는 기술을 개발되어 있다.

- 미세 유체 공학 신경 아키텍처 엔지니어링

Netri의 뇌 칩 장치는 서로 다른 기술을 동일한 칩에 통합하고 있다. 3D 증착 챔버는 밀도와 균질성이 재현 가능한 방식으로 제어되는 크기의 챔버에 세포를 파종하고 배양한다. 증착 챔버는 1000~100만 개의 분리된 세포, 이식편 또는 오가노이드를 수용할 수 있다.

마이크로 채널의 챔버는 신경돌기만 단방향 또는 양방향으로 성장할 수 있는 마이크로미터 채널로 연결된다. 챔버는 축삭 수송을 유지하면서 유동적으로 격리된다.

막 기술은 폴리카보네이트 다공성 막을 증착 챔버에 통합하여 구획화되고 연결된 장벽을 생성할 수 있다.

장비는 폴리디메틸실록산(PDMS) 및 폴리카보네이트(PC)로 구성된 재료

선택 덕분에 장기간 공동 배양(최대 3개월)을 위해 설계되었다. Netri의 칩은 모든 장기의 생리적 활동을 재현한다. 장 - 뇌 축과 같은 다기관 상호작용은 우리의 모든 기술을 하나의 칩에 통합할 때 모방할 수도 있다.

- 기능적 활동 기록

MEA(Micro Electrode Arrays)는 전기 생리학적 신호를 감지하는 데 사용되는 표준 기술이다. 연속 기록은 기능 활동 및 네트워크 역학에 대한 화합물의 영향을 조사하기 위한 데이터를 제공한다. 모든 칩은 주요 공급업체의 MEA/HDMEA 장치와 호환 가능하다. 전체 네트워크 기능 활동을 기록하면서 하나 또는 이상의 노드에 화합물을 적용할 수 있다. 신경 회로의 생체 내 거동을 기반으로 대부분의 기능적 네트워크 마커(챔버 간 연결 맵, 연결 가중치, 네트워크의 작은 세계)를 추출하는 알고리즘을 개발했다. 이러한 마커는 손상된 회로의 회복 상태를 특성화할 수 있다.

- 고처리량 분석을 위한 NeuroBento™

Netri의 모든 표준 및 맞춤형 칩은 입구 및 출구 저장소가 96웰 마이크로 플레이트 형식과 정렬되도록 NeuroBento™ 마이크로플레이트 형식으로 설정되어 있다. NeuroBento™ 장치를 사용하면 다음 프로세스를 자동화할 수 있다: 액체 처리 로봇의 유무에 관계없이 세포 배양, 현미경 및 HTS 플레이트 판독기의 이미징(예: Perkin Elmer operetta), 주요 MEA/HD MEA 레코더(예: ePhys Multi Channel System, Axion)의 전기생리학 기록. NeuroBento™ 마이크로플레이트는 쌓을 수 있으며 외부 장비를 사용하지 않고 인큐베이터에 직접 배치할 수 있다. 펌프나 기계적 교반기가 필요하지 않다.

▪ 제품

- 축삭 수송

신경 유체 장치는 고해상도 축삭 수송 연구에 적합하다. 마이크로 채널 기술은 구획 사이의 유체 격리를 가능하게 한다. 역행 수송 동역학의 측정은 많은 수의 축삭에서 동시에 수행된다. Asymetric Tri - Compartment 장치는 고해상도 소포 수송 연구를 수행하는 데 적합하다. 다른 뉴런 유형의 공동 배양

은 생리적 조건을 재현하기 위한 시냅스 구획의 생성을 허용한다. 적용 분야로는 신경 - 근육 접합 장애(ALS), 헌팅턴 무도병, 신경 문제와 관련된 분자 메커니즘, 프리온 유사 질병에 이용 가능하다. 판독은 세포 생존율, 분자 전파, 칼슘 이미징, 전기 생리학 등의 분석을 통해 판독한다.

- 성장 역학(Growth kinetics)

성장 역학은 미세 유체 칩의 삼각형 디자인으로 평가할 수 있다. 이 특정 아키텍처는 다양한 길이의 마이크로채널 덕분에 신경 세포 배양에서 신경돌기 성장 역학을 정확하게 모니터링할 수 있습니다. 이 장치는 시간이 지남에 따라 마이크로채널 전체에 걸쳐 돌출된 신경돌기의 도달 가능한 최대 길이를 측정하고 여러 조건에서 신경돌기 길이의 변화를 보고할 수 있다. 당사의 분석 소프트웨어와 결합된 이 칩은 신경돌기 길이 역학의 정확한 특성화를 허용한다. 적용분야로는 신경발달장애, 배아발생 연구에 이용 가능하며, Axonal 재생, Axotomy, IF, 신경 생존력, 신경 성장을 분석하여 판독한다.

- 네트워크 활동

Neurofluidics™ 접근 방식을 사용하면 신경 기능 활동을 평가하기 위한 데이터를 제공하는 지속적인 전기 생리학적 기록이 가능하다. 기능적 활동 및 회복, 시냅스 형성 또는 네트워크 역학에 대한 화합물의 영향을 조사할 수 있다. 구획화된 장치를 포함하여 모든 유형의 미세유체 아키텍처 내에서 네트워크를 모니터링할 수 있다. 이러한 접근 방식을 사용하면 한 구획에만 세포 또는 화합물을 적용하면서 전체 네트워크를 지속적으로 모니터링할 수 있다. 전기생리학적 데이터는 MEA(Multi Electrodes Arrays)를 사용하여 기록되고 다양한 조건에서 네트워크 매개변수 추출을 위해 내부적으로 개발된 소프트웨어로 분석된다.

- 오가노이드

칩에서 오가노이드를 배양하려면 일정한 관류 하에 성장을 추구하기 위해 구획화되는 동안 상당한 양의 공간이 필요하다. 독특한 증착 챔버는 파종 전에 최대 500 μm 의 오가노이드를 수용하고 직경 4 mm까지 성장할 수 있다

록 성장 배지를 관류하도록 특별히 설계되었다. 3D 내장된 입구 및 출구 채널과 파종된 관류 제어를 사용하여 오가노이드를 MEA/ HDMEA에 직접 배치할 수 있다. Neurobento™은 몇 개월 동안 동시에 최대 48개의 오가노이드를 수용하고 다중 실험을 수행할 수 있다.

- 시냅스 독성

비대칭 3구획 장치를 사용하면 유체적으로 격리된 시냅스 챔버를 통해 연결된 두 개의 신경 집단 사이의 신경망을 재구성할 수 있다. 연결 마이크로채널의 비대칭성 덕분에 한 집단의 축삭은 중간 구획에서만 높은 확률로 다른 집단의 수상돌기에 연결된다. 다중화된 마이크로채널의 사용은 또한 시냅스를 변경하면서 세포내 이동을 연구할 수 있다. MEA와 결합된 이 장치는 시냅스 챔버에만 적용될 때 화합물의 전기 생리학적 영향을 모니터링하는 데 사용할 수 있다. 또는 신경망이 성숙할 때 중간 구획에 세포를 파종하여 여러 유형의 세포와 시냅스 간의 상호 작용을 모니터링할 수 있다. 알츠하이머, 파킨슨병 연구에 적용할 수 있으며 시냅스 전 역학, 시냅스 구조 및 전송, 시냅스 후 트래픽 및 신호의 분석을 통해 판독할 수 있다.

- 바이러스 및 단백질 증식

구획화된 장치를 사용하면 마이크로 채널로 연결된 경우에도 둘 이상의 세포 집단을 유체적으로 분리할 수 있다. 뉴런을 사용할 때 마이크로채널로 인한 기하학적 제약으로 인해 신경돌기가 단방향 또는 양방향으로 말단 뉴런과 함께 성장하고 기능적 시냅스를 생성할 수 있다. 구획 사이의 유체 분리 덕분에 바이러스 또는 단백질은 급성 또는 만성 관류에서 하나의 세포 집단에만 적용될 수 있다. 내재화된 분자는 원격 구획 또는 축삭 자체 내에서 존재를 모니터링 함으로써 역행 또는 전향 수송에 대해 모니터링할 수 있다. 마이크로채널 형상은 분비된 분자의 기울기를 생성하거나 이동하는 세포가 한 구획에서 다른 구획으로 이동할 수 있도록 조정될 수도 있다.

10) Hesperos

Hesperos는 장기 칩을 생산하기 위하여 생물학자, 계면화학자 및 엔지니어가 한데 모였다. 유전자 발현에서 전기 생리학에 이르기 까지 생물학자들은 다양한 기관의 핵심 구성요소를 재현한다. 화학적으로 패턴화된 마이크로칩은 장기 활동을 실시간으로 모니터링 할 수 있도록 설계되었다. 또한, 엔지니어들은 미세한 변화를 감지하고 정량화하기 위하여 정교한 측정 기술을 활용한다. 이러한 협력은 임상 시험에서만 가능했던 방식으로 치료제를 연구할 수 있다.

▪ Human - On - A - Chip의 기술

Hesperos는 고객의 특정 요구에 맞게 개발된 최첨단 시스템에 접근할 수 있게 한다. 심장, 간, 폐, 뇌, 피부, 근육, GI관, 신장, 췌장, 내분비선, 골수 및 신경근 접합부를 포함하여 서로 연결된 여러 기관이 있는 전신 독성학 모델을 생성할 수 있다. 각 모델은 무혈청 세포배지와 신중하게 설계된 중력 흐름 시스템을 사용하여 펌프가 필요하지 않다. Human - On - A - Chip 시스템에서 거의 모든 세포 유형으로 플랫폼을 맞춤 설계할 수 있다.

- 심장 - 간 2장기 모델

2 장기 심장 - 간 모델은 새로운 화학물질 및 생물학적 제제와 그 대사 산물의 효능과 안전성 연구에 매우 적합하다. 이 시스템은 심근세포 합포체 수축력 생성, 박동 빈도 및 장 전위 지속 시간(QT 간격 대리)에 대한 정교하고 비침습적인 기능 판독 값을 결합한다.¹⁷⁸⁾ 현재 구성에서 이 모델은 약물 발견 및 개발에서 FDA - ICH 승인 전심관류 동물 모델을 대체하기 위해 노력하고 있다. 또한 심근세포 모델은 Torsadogenic potential(TdP) 위험에 관한 포괄적인 시험관내 Proarrhythmia Assay(CiPA) 이니셔티브 지침을 준수한다. 이 2개 기관 모델은 비침습적 종말점 기능 및 바이오마커 판독 값을 사용하여 급성 심장독성 및 간독성을 특징으로 합한다.¹⁷⁹⁾ 이 모델은 28일 동안 일상적으로 운영되어 왔으며, 따라서 약물 효능 및 안전성에 대한 급성 및 만성 투여 연구에 매우 적합하다.¹⁸⁰⁾

- 신경근 접합부(NMJ) 2개 기관 모델

Human - On - A - Chip, 2기관 NMJ 모델은 NMJ 형성의 생리학, 안정성 및 운동뉴런(MN) 신경전달물질 방출과 골격근(근관) 수축 사이의 동기 활성화에 대한 조사에 적합하다. 미세 터널 장벽 시스템(MBS)은 축삭 성장과 신경 분포를 촉진하면서 MN과 근관의 중간 구획을 분리한다. 이 독특한 디자인을 통해 약물이 작용 부위를 결정하기 위해 한쪽 또는 양쪽에서 테스트할 수 있다. tubocurarine 독소의 2상 용량 - 반응을 재현하는 일반적인 NMJ 방해 독소에 대한 이 모델의 반응을 광범위하게 특성화 했다.¹⁸¹⁾ 또한, 건강한 환자 iPSC 유래 MN은 근위축성 축삭 경화증(ALS)과 같은 일반적인 NMJ 질병에 대한 유전적 돌연변이를 지닌 질병 환자 iPSC를 쉽게 대체할 수 있다.

- 심장 - 간 - 격근 - 뉴런 4개 기관 모델

4개 기관 모델은 측면 표준 바이오마커 판독 값을 따라 MEA 및 캔틸레버 기반 기능 판독 값을 사용하여 기준 생리학에 대해 광범위하게 특성화되었다. 이 모델에서는 심근세포 합포체 수축력 생성, 박동 빈도 및 필드 전위 기간(QT 간격 대리)을 비침습적으로 모니터링 된다. 또한 비침습적으로 골격근의 힘 생성과 뉴런의 자발적 활동 전위 생성을 모니터링 한다. 간 생리학에 대한 종말점 분석에는 알부민과 요소 생산이 포함된다. 또한 고객의 실험 설계를 기반으로 세포 생존율 및 다양한 바이오마커 판독 값을 포함한 산업 표준 메트릭을 모니터링 한다. 이 모델은 28일 동안 일상적으로 운영되어 왔으며, 따라서 약물 효능 및 안전성에 대한 급성 및 만성 투여 연구에 매우 적합하다.^{180,182)}

- 심장 - 간 - 암 3개 기관 모델

인간 암 세포 모듈은 새로운 화학요법 효능 및 다기관 시스템과 통합될 때 치료 지수 결정을 위해 안전성 연구에 매우 적합하다. 우리는 심장 - 간 - 암 3기관 HoaC 모델을 특성화하고 다중 약물 내성(MDR) 및 비 MDRA 암 세포를 사용하는 단일 요법 및 조합 요법 접근법에 대한 약물 효능, 안전성 및 대사 산물 형성을 보여준다.

- 장벽 조직 모듈

Hesperos는 표준 하우징 설계와 쉽게 통합할 수 있는 장벽 조직 모듈을 제공한다. 이러한 모듈을 HoaC 시스템에 추가하면 새로운 화합물의 수송 특성과 독성 표적으로서의 반응을 결정할 수 있다. 장벽 조직의 약물 안전성 및 GI 관의 1차 통과 대사에 관한 추가 정보도 확인할 수 있다. 질병 모델의 맥락에서 돌연변이 iPSC 유래 세포로 구성된 장벽 조직은 제어된 인간 기반 모델에서 질병 병리학 및 병인학에서 이러한 질병 조직이 수행하는 역할을 조사하기 위해 통합될 수 있다.

- 혈액뇌장벽(BBB 모델)

iPSC 유래 세포로 구성된 BBB 모델은 긴밀한 접합 매개 장벽 형성과 세포 주변(수동) 및 세포간(능동) 수송 메커니즘에 대해 광범위하게 특성화되었다.¹⁸³⁾ 이 모듈은 운송 속도, 운송 메커니즘 및 새로운 화학물질 및 생물학적 제제의 차단 효과를 조사하는 데 적합하다.

- 위장관(GI 관 모델)

iPSC 유래 장세포 또는 불멸화 환자 생검 장 상피 세포(hiEC)를 사용하여 신규 화합물의 흡수 및 1차 통과 대사 특성을 결정할 수 있다. hiEC 모델은 CYP 활성 및 장벽 형성에 대해 특성화되었다.¹⁸⁴⁾

- 신장 근위 세뇨관(RPT 모델)

1차 신장 근위 세뇨관 세포를 사용하여 새로운 화합물의 세뇨관 재흡수 또는 분비 프로파일을 배설 목적으로 결정할 수 있다. 약물의 신장 안전성 프로파일에 관한 추가 데이터는 장벽 완전성 변화(비침습적 TEER 측정) 및 바이오마커 신장 손상 마커 - 1(KIM - 1)의 방출 형태로 수집될 수 있다.

- 피부

다기관 시스템에 통합된 합성 인간 피부 모듈인 Strat - M[®] 막을 사용하여 국소적으로 적용된 새로운 화합물의 경피 확산을 측정하고 흡수된 약물이 시스템의 기관 생리학에 미치는 영향을 모니터링할 수 있다. 하이드로코르티손, 케토코나졸 및 디클로페낙을 포함한 국소 적용 약물의 효과에 대한 심장 - 간 - 피부 HoaC 모델을 특성화했다.

- 단핵구/대식세포

단핵구는 다기관 시스템의 순환 배지에 추가할 수 있다. 이들 세포는 질다당류(LPS) 및 인터페론 - 감마(IFN - γ)에 노출된 후 CD11b, CD69 및 CD86을 포함한 활성 마커 및 계보마커 CCR5, CD14 및 CD16의 발현을 위한 시스템에서 특성화되었다. 또한, LPS 및 IFN - γ 에 대한 노출 후 단핵구는 대식세포로 분화하고 손상된 조직 모듈에 부착하는 것으로 나타났다. 분화 사이토카인 방출 프로파일은 또한 비활성화, 조직손상 활성화 및 사이토카인 폭풍 활성화 조건과 관련하여 특성화되었다.

- 약동학/약력학 모델링(CFD 모델링)

순환하는 매체는 통합된 기관 시스템에 따라 흡수, 분포, 대사 및 배출(ADME)를 통해 화합물 및 대사산물의 복잡한 약동학 프로파일을 허용한다. 전산 유체 역학(CFD) 및 기타 수치 방법을 통해 이러한 시스템의 모델링과 HPLC - MS 데이터를 결합하여 서로 다른 배지 구획 및 세포에 축적된 약동학적 프로파일을 생성하는 광범위한 경험이 있다. 기능적 측정과 함께 약동학 - 약력학(PK - PD) 관계를 생성할 수 있는 능력이 있다.¹⁷⁹⁾

- 고성능 액체 크로마토그래피 - 질량 분광법(HPLC - MS)

Agilent Technologies HPLC - MS를 사용하여 실험 중 언제든지 시스템의 약물 농도를 정량화할 수 있다. 또한 간을 포함하는 모든 HoaC 시스템에서 모 화합물과 대사산물의 생성과 함께 감소를 결정할 수 있다.

■ 장점

Hesperos는 질병 모델링 및 약물 테스트를 위한 4가지 Human - On - A - Chip 시스템을 제공하고 있다. 이러한 벤치마크, 다기관, 인간 기반 스크리닝 플랫폼은 불완전하게 이해되고 복잡한 질병에 대한 혁신 의약품을 식별하고 새로운 의약품을 개발하는 데 이상적이다. 또한 사용자가 모델에 사용할 장기를 선택하거나 특정 환자의 장기 조직에서 모델을 구축할 수 있도록 하여 시스템을 사용자가 원하는 대로 만들 수 있다. 이러한 주문 제작은 시스템을 희귀 질환 효능 모델에 특히 적합하게 만들 수 다.

- 비용 효율적

약물을 시장에 출시하는 데는 10년 이상의 연구와 26억 달러의 비용이 소요될 것으로 추산되고 있다. 대부분의 시간과 돈은 궁극적으로 실패될 약물에서 낭비된다. Hesperos는 소중한 시간과 자원을 투자하기 전에 어떤 화합물이 효과가 있을지 정확하게 예측하는 생리학적 기반 약동학 모델을 만든다.

- 동물실험 제거

윤리적인 문제를 제외하고, 동물실험은 비참할 정도로 부정확하다. 동물에게 안전한 것으로 확인된 약 50개 약물 중 사람에게 안전한 것으로 판명된 약은 1개뿐입니다. 그 결과 동물 실험을 기반으로 한 의약품에 대한 FDA 승인 절차가 길다. 인간 대사의 맥락에서 테스트를 위한 플랫폼을 제공함으로써 Hesperos 시스템은 전임상 시험에서 동물의 사용을 제거할 가능성이 있다.

- 자료 기반 의사 결정

연구자들이 보다 복잡한 질병을 해결하는 것을 목표로 함에 따라 고품질 데이터에 대한 요구가 증가하고 있다. Hesperos 시스템은 건강 및 질병 상태 모델 모두에서 새로운 화합물을 시험한다. 이는 연구 경향을 확인할 수 있는 대규모 데이터 세트를 생성한다. 이러한 경향을 분석하면 연구원들이 각 화합물에 대해 더 나은 결정을 내리는 데 도움이 되는 새로운 통찰력을 얻을 수 있다.

IV. 결론

.....

IV. 결론

본 연구는 반복투여독성시험을 대체를 위해 현재의 과학기술의 발전으로 그 가능성이 가장 높은 Organ - On - A - Chips이라는 최신 기술에 대해 조사하였다. Organ - On - A - Chips과 같은 새로운 기술은 사람의 조직, 장기 및 생체 내의 역동적인 생물학적인 특성을 모방하는 미세공학적 사람 세포 기반 시스템으로 규제 과학의 글로벌 패러다임의 큰 전환을 가져오고 있는 혁명과는 같은 기술이다.

현재 Organ - On - A - Chips은 폐, 간, 장과 같은 사람의 장기 구조와 기능을 모사한 모델이다. 연구자들과 규제 기관은 이러한 모델을 서로 연결함으로써 후보 신약, 백신, 생물학적 제제가 사람에게 안전한지 또는 독성이 있는지 예측하고, 현재 동물을 이용하는 방법보다 더 빠르고 더 높은 신뢰성있는 예측으로 효능을 평가하고 있다. Organ - On - A - Chips은 신약개발 연구 외에도 암 치료관련 연구와 같은 비약물 치료법의 개발, 새로운 화장품 또는 식품 효능 및 안전성 평가를 위한 시험 시스템에도 활용 될 수 있다. 또한, 첨가제 및 환경오염 물질의 독성학적 분석에도 이용 가능하다. 이와 같이 Organ - On - A - Chips을 체계적으로 잘 활용하면 제약산업 뿐만 아니라 산업독성 연구에서도 시간과 비용 절약에 많은 도움이 될 수 있으며, 산업화학 물질의 독성연구에 있어 연구 초기 과정인 유해성 확인에 있어 훨씬 더 빠르고 많은 연구를 수행할 수 있도록 도움이 될 수 있다. Organ - On - A - Chips 기술은 현재 계속해서 그 활용성이 입증에 증가되고 있으며 특히 코로나 백신연구에 활용되어 백신 개발의 기간 단축에 상당히 기여한 것으로 생각된다. 그러나 아직까지는 그 사용이 제한적으로 활용되고 있으며, 적절한 Body - On - A - Chips을 만들기에는 아직 해결해야 할 문제도 남아 있는 것으로 생각한다. 아직까지 여러 장기 조직을 서로 연결하여 미세하게 조절하는 것은 어려우며 생물학 연구의 획기적인 발전 없이는 이 분야의 연

구를 계속될 수 없을 것으로 생각된다.

반복투여독성시험의 주요 목적은 실험동물에 일정 기간 동안 반복 노출 후 나타나는 전신의 영향을 특성화하여 특정 표적기관을 정의하고 관찰된 용량 반응에 따른 NOAEL 또는 LOAEL을 평가한다. 그러나 Body - On - A - Chips 은 특정 표적장기에서 나타나는 영향을 더 정확하게 관찰 수 있어 사람에서의 예측력을 높일 수 있을 것으로 판단되나 아직까지는 Body - On - A - Chips 으로 부터 생산된 자료로부터 일대일로 반복투여독성시험을 대체하기에는 어려움 있을 것으로 판단된다. 현재는 Body - On - A - Chip의 연구는 칩속에 줄기세포를 이용한 3차원 조직을 구성하기 위하여 활발히 연구가 진행되고 있다. 이는 미래에는 개인 맞춤형 칩으로 귀결되며 각 개인에 예상치 못한 반응 예측까지 도움이 될 수 있을 것으로 생각되나 아직까지 확정할 수는 없으나 시간이 필요할 것으로 판단된다.

현재 산업화학연구실에서는 산업 화학물질의 유해성을 확인하기 위해 많은 동물을 사용하는 시험을 수행하고 있다. 이러한 동물을 이용한 연구는 비경제적이며 동물을 다루는 연구자들에게도 많은 스트레스를 가중시키고 있으며, 종간 차이로 인하여 사람과의 관련성에 대해 많은 의문이 제기되고 있으며, 그 해석에 많은 어려움이 있다. 현재 세계적으로 동물을 이용하지 않는 분위기이며, 점차 동물 사용을 줄이고 독성 기전적 연구 방향으로 변화하고 있는 추세이다. 우리는 화학물질 연구를 위한 우선순위 선정에 활용할 함으로써 독성 예측 가능성을 높임으로서 산업화학물질의 유해성 규명에 가치를 높을 수 있을 것으로 판단된다. 추가로 이 기술을 사용하여 산업화학물질의 유해성을 평가하기 위한 메카니즘적 접근 방법에 활용이 가능할 것으로 생각한다.

산업독성 연구에서 독성을 확인하고 그 독성을 특성화하기는 상당히 어려운 도전과제이다. 더욱이 미래에는 우리가 직면한 새로운 위험의 영향에 대해서는 산업안전보건 분야의 큰 도전과제이다. 더욱이 코로나 팬데믹 시대에 많은 노동환경 변화로 인한 산업재해와 원인을 규명하기에는 더욱 어려워 질 것으로 판단된다. 그러나 산업독성연구에 이러한 미세유체 시스템 기반의

Organ - On - A - Chip을 활용함으로써 산업화학 물질의 유해성을 확인하는데 있어 예측력을 높이는데 도움이 될 수 있을 것으로 생각한다. 또한 이러한 유해성 확인을 위한 초기 연구에 많은 량을 처리 할 수 있는 기술인 것으로 생각된다.

Organ - On - A - Chip은 전반적으로 시장에 출시되는 신약당 평균 예산에서 10~26%의 비용 절감 효과가 있으며, 이는 1억 6,900만 달러¹⁸⁵⁾ 및 7억 600만 달러의¹⁸⁶⁾ 비용절감 효과가 있다는 보고가 있으나 실질적인 영향의 규모는 추정치이다. 많은 전문가들은 이미 Organ - On - A - Chip을 사용하고 있거나 관심이 많이 있기 때문에 Organ - On - A - Chip에 대한 견해의 분석은 긍정적일 수 있다. 그러나 현재 새로운 기술을 활용하는 전문가들은 혁신의 확산에서 흔히 볼 수 있는 것처럼 보다 비판적일 수 있다. 예로 기술이 실제로 연구 개발 비용을 줄일 수 있다는 생각에 일반적인 회의론이 있다. Eroom의 법칙에 의하면 연구 개발의 비용은 기술 발전과 무관하게 시간과 비용이 많이 든다.¹⁸⁶⁾ 혁신이나 먼저 이용한 경험이 있는 연구자가 예상한 대로 후에 다수 및 뒤쳐진 사람들을 만족시킬 때 실현되는데 더 오랜 시간이 걸리는 경우가 많다. Organ - On - A - Chip이 연구 개발의 효율성을 높이고, 약물을 개선하거나 동물의 사용을 줄인다면 이 기술은 분명히 사회적 이익을 창출함으로써 써 활용이 증가될 것으로 예상된다.

지금까지 Organ - On - A - Chip에 대해 다양한 분야의 관점으로 검토한 결과 산업독성연구를 위하여 초기 유해성 확인에 하는데 이용될 수 있으나 이를 실제적으로 수용하여 도입하기 위해서는 규제 문제와 비용적인 영향에 대해서는 통찰력있는 연구가 추가로 요구될 것으로 판단된다.

참고문헌

- 1) Whitesides GM. The origins and the future of microfluidics. Nature. 2006;442:368-73.
- 2) Squires TM, Quake SR. Microfluidics: fluid physics at the nanoliter scale. Rev Mod Phys. 2005;77:977-1026.
- 3) Daw R, Finkelstein J. Lab on a chip. Nature. 2006;442:367.
- 4) Mitchell P. Microfluidics-downsizing large - scale biology. Nat Biotechnol. 2001;19:717-21.
- 5) Kwon JS, Oh J. Microfluidic technology for cell manipulation. Appl Sci. 2018;8:992.
- 6) Sosa - Hernandez JE, Villalba - Rodriguez AM, Romero - Castillo KD et al. Organs - on - a - chip module: a review from the development and applications perspective. Micromachines (Basel). 2018.
- 7) Ahmed I, Akram Z, Bule M et al. Advancements and potential applications of microfluidic approaches a review. Chemosensors. 2018;6:46.
- 8) Top Ten Emerging Technologies. 2016. <https://www.weforum.org/agenda/2016/06/top-10-emerging-technologies-2016/>.
- 9) Reardon S. 'Organs - on - chips' go mainstream. Nature. 2015;523:266.
- 10) Laroche C, Annys E, Bender H et al. Finding synergies for the 3Rs-repeated dose toxicity testing: report from an EPAA Partners Forum. Regul Toxicol Pharmacol. 2019;108:104470.

- 11) Thomas RS, Bahadori T, Buckley TJ et al. The next generation blueprint of computational toxicology at the U.S. Environmental Protection Agency. *Toxicol Sci.* 2016;169: 317 - 332.
- 12) Yang C, Barlow SM, Muldoon Jacobs KL et al. Thresholds of Toxicological Concern for cosmetics - related substances: new database, thresholds, and enrichment of chemical space. *Fd Chem Toxicol.* 2017;109:170 - 193.
- 13) Berggren E, Amcoff P, Benigni R et al. Chemical safety assessment using read - across: how can novel testing methods strengthen evidence base for decision making? *Environ Health Perspect.* 2015;123:1232 - 1240.
- 14) Dent M, Teixeira Amaral R, Amores Da Silva P et al. Principles underpinning the use of new methodologies in the risk assessment of cosmetic ingredients. *Comput Toxicol.* 2018;7:20 - 26.
- 15) Desprez B, Birk B, Blaauboer B et al. A mode - of - action ontology model for safety evaluation of chemicals: outcome of a series of workshops on repeated dose toxicity. *Toxicol Vitro.* 2019;59:44 - 50.
- 16) Paul Friedman K, Gagne M, Loo LH et al. Utility of in vitro bioactivity as a lower bound estimate of in vivo adverse effect levels and in risk - based prioritization. *Toxicol Sci.* 2020;173:202 - 225.
- 17) Pham LL, Truong L, Ouedraogo G et al. Profiling 58 compounds including cosmetic - relevant chemicals using ToxRefDB and ToxCast. *Fd Chem Toxicol.* 2019;132:110718.
- 18) Figeys D, Pinto D. Lab - on - a - chip: a revolution in biological and medical sciences. *Anal Chem.* 2000;72:330A.
- 19) Haeberle S, Zengerle R. Microfluidic platforms for lab - on - a - chip applications. *Lab Chip.* 2007;7:1094-110.

- 20) Wang L, Liu W, Wang Y et al. Construction of oxygen and chemical concentration gradients in a single microfluidic device for studying tumor cell - drug interactions in a dynamic hypoxia microenvironment. *Lab Chip*. 2013;13:695-705.
- 21) Galie PA, Nguyen DHT, Choi CK et al. Fluid shear stress threshold regulates angiogenic sprouting. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:7968-73.
- 22) Ho CT, Lin RZ, Chen RJ et al. Liver - cell patterning lab chip: mimicking the morphology of liver lobule tissue. *Lab Chip*. 2013;13:3578-87.
- 23) Booth R, Kim H. Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood - brain barrier (μ BBB). *Lab Chip*. 2012;12:1784-92.
- 24) Sung JH, Shuler ML. A micro cell culture analog (microCCA) with 3 - D hydrogel culture of multiple cell lines to assess metabolism - dependent cytotoxicity of anti - cancer drugs. *Lab Chip*. 2009;9:1385-94.
- 25) Bhatia SN, Ingber DE. Microfluidic organs - on - chips. *Nat Biotechnol*. 2014;32:760-72.
- 26) Heylman C, Sobrino A, Shirure VS et al. A strategy for integrating essential three - dimensional microphysiological systems of human organs for realistic anticancer drug screening. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2014;239:1240-54.
- 27) Kieninger J, Weltin A, Flamm H et al. Microsensor systems for cell metabolism—from 2D culture to organon - chip. *Lab Chip*. 2018;18:1274-91.

- 28) Halldorsson S, Lucumi E, Gomez - Sjoberg R et al. Advantages and challenges of microfluidic cell culture in polydimethylsiloxane devices. *Biosens Bioelectron.* 2015;63: 218-31.
- 29) Paguirigan AL, Beebe DJ. Microfluidics meet cell biology: bridging the gap by validation and application of microscale techniques for cell biological assays. *BioEssays.* 2008;30:811-21.
- 30) Sung JH, Esch MB, Prot JM et al. Microfabricated mammalian organ systems and their integration into models of whole animals and humans. *Lab Chip.* 2013;13:1201-12.
- 31) Jiang K, Dong C, Xu Y et al. Microfluidic - based biomimetic models for life science research. *RSC Adv.* 2016;6:26863-73.
- 32) van der Meer AD, van den Berg A. Organs - on - chips: breaking the in vitro impasse. *Integr Biol (Camb).* 2012;4:461-470.
- 33) Al - Lamki RS, Bradley JR, Pober JS. Human organ culture: updating the approach to bridge the gap from in vitro to in vivo in inflammation, cancer, and stem cell biology. *Front Med (Lausanne).* 2017;4:148.
- 34) Alepee N. State - of - the - art of 3D cultures (organs - on - a - chip) in safety testing and pathophysiology. *Altex.* 2014. <https://doi.org/10.14573/altex.1406111>.
- 35) Lee SH, Jun BH. Advances in dynamic microphysiological organ - on - a - chip: design principle and its biomedical application. *J Ind Eng Chem.* 2019;71:65-77.
- 36) Reardon S. 'Organs - on - chips' go mainstream. *Nature.* 2015; 523:266.
- 37) Young EWK, Beebe DJ. Fundamentals of microfluidic cell culture in controlled microenvironments. *Chem Soc Rev.* 2010;39: 1036-48.

- 38) Bhatia SN, Ingber DE. Microfluidic organs - on - chips. *Nat Biotechnol.* 2014;32:760-72.
- 39) Theobald J, Ghanem A, Wallisch P et al. Liver - kidney - on - chip to study toxicity of drug metabolites. *ACS Biomater Sci Eng.* 2018;4(1):78-89.
- 40) Davies PF. Flow - mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev.* 1995;75:519-60.
- 41) Yang KS, Cheng YC, Jeng MS et al. An experimental investigation of micro pulsating heat pipes. *Micromachines (Basel).* 2014;5:869-72.
- 42) Nguyen DHT, Stapleton SC, Yang MT et al. Biomimetic model to reconstitute angiogenic sprouting morphogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110:6712-7.
- 43) Song JW, Daubriac J, Tse JM et al. RhoA mediates flow - induced endothelial sprouting in a 3 - D tissue analogue of angiogenesis. *Lab Chip.* 2012;12:5000-6.
- 44) Sato T, Clevers H. Growing self - organizing mini - guts from a single intestinal stem cell: mechanism and applications. *Science.* 2013;340:1190-4.
- 45) Sellgren KL, Hawkins BT, Grego S. An optically transparent membrane supports shear stress studies in a three-dimensional microfluidic neurovascular unit model. *Biomicrofluidics.* 2015;9:687.
- 46) Yang SH, Jin WC, Huh D et al. Roles of fluid shear stress and retinoic acid in the differentiation of primary cultured human podocytes. *Exp Cell Res.* 2017;354:48-56.

- 47) Kshitiz, Park J, Kim P et al. Control of stem cell fate and function by engineering physical microenvironments. *Integr Biol.* 2012;4:1008.
- 48) Jang KJ, Cho HS, Kang DH et al. Fluid - shear - stress - induced translocation of aquaporin - 2 and reorganization of actin cytoskeleton in renal tubular epithelial cells. *Integr Biol.* 2010;3:134-41.
- 49) Zhou J, Khodakov DA, Ellis AV et al. Surface modification for PDMS - based microfluidic devices. *Electrophoresis.* 2012;33:89-104.
- 50) Tibbe MP, Leferink AM, van den Berg A et al. Microfluidic gel patterning method by use of a temporary membrane for organ - on - chip applications. *Adv Mater Technol.* 2018;3: 1700200.
- 51) Xue D, Wang Y, Zhang J et al. Projection - based 3D printing of cell patterning Scaffolds with multiscale channels. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018;10:19428-35.
- 52) Li YC, Lin MW, Yen MH et al. Programmable laser - assisted surface microfabrication on a poly(vinyl alcohol) - coated glass chip with self - changing cell adhesivity for heterotypic cell patterning. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2015;7:22322-32.
- 53) Mandenius CF. Conceptual design of micro - bioreactors and organ - on - chips for studies of cell cultures. *Bioengineering (Basel).* 2018. <https://doi.org/10.3390/bioengineering5030056>.
- 54) Sun X, Nunes SS. Maturation of human stem cell - derived cardiomyocytes in biowires using electrical stimulation. *J Vis Exp Jove.* 2017;2017(123).

- 55) Yang PC, Qi Y, Zhang DH. Studies, bottlenecks and challenges of microarray of micro organs. *Chin J Tissue Eng Res.* 2018;22: 5234-40.
- 56) Peel S, Corrigan AM, Ehrhardt B et al. Introducing an automated high content confocal imaging approach for organs - on - chips. *Lab Chip.* 2019;19:410-21.
- 57) Kane KIW, Moreno EL, Hachi S et al. Automated microfluidic cell culture of stem cell derived dopaminergic neurons. *Sci Rep.* 2019;9:1796.
- 58) Mccuskey RS. The hepatic microvascular system in health and its response to toxicants. *Anat Rec.* 2010;291:661-71.
- 59) Cho CH, Park J, Tilles AW et al. Layered patterning of hepatocytes in co - culture systems using microfabricated stencils. *Biotechniques.* 2018;48:47-52.
- 60) Kane BJ, Zinner MJ, Yarmush ML et al. Liver - specific functional studies in a microfluidic array of primary mammalian hepatocytes. *Anal Chem.* 2006;78:4291-8.
- 61) Lee PJ, Hung PJ, Lee LP. An artificial liver sinusoid with a microfluidic endothelial - like barrier for primary hepatocyte culture. *Biotechnol Bioeng.* 2007;97:1340-6.
- 62) Hegde M, Jindal R, Bhushan A et al. Dynamic interplay of flow and collagen stabilizes primary hepatocytes culture in a microfluidic platform. *Lab Chip.* 2014;14:2033-9.
- 63) Fan A, Qu Y, Liu X et al. Organ - on - a - chip: new platform for biological analysis. *Anal Chem Insights.* 2015;10:39-45.
- 64) Ma LD, Wang YT, Wang JR et al. Design and fabrication of a liveron - a - chip platform for convenient, highly efficient,

- and safe in situ perfusion culture of 3D hepatic spheroids. *Lab Chip*. 2018;18:2547-62.
- 65) Yum K, Hong SG, Healy KE et al. Physiologically relevant organs on chips (pages 16-27). *Biotechnol J*. 2014;9:16-27.
 - 66) Riahi R, Shaegh SAM, Ghaderi M et al. Automated microfluidic platform of bead - based electrochemical immunosensor integrated with bioreactor for continual monitoring of cell secreted biomarkers. *Sci Rep*. 2016;6:24598.
 - 67) Chong LH, Li H, Wetzel I et al. A liver - immune coculture array for predicting systemic drug - induced skin sensitization. *Lab Chip*. 2018;18:3239-50.
 - 68) Lu S, Cuzzucoli F, Jiang J et al. Development of a biomimetic liver tumor - on - a - chip model based on decellularized liver matrix for toxicity testing. *Lab Chip*. 2018;18:3379-92.
 - 69) Kang YBA, Sodunke TR, Lamontagne J et al. Liver sinusoid on a chip: longterm layered co - culture of primary rat hepatocytes and endothelial cells in microfluidic platforms. *Biotechnol Bioeng*. 2015;112:2571-82.
 - 70) Zhou Q, Patel D, Kwa T et al. Liver injury - on - a - chip: microfluidic co - cultures with integrated biosensors for monitoring liver cell signaling during injury. *Lab Chip*. 2015;15:4467-78.
 - 71) Qirui Wu, Jinfeng Liu, Xiaohong Wang et al. Organ - on - a - chip: recent breakthroughs and future prospects. Wu et al. *BioMed Eng OnLine*. 2020;19:9.
 - 72) Guenat OT, Berthiaume F. Incorporating mechanical strain in organs - on - a - chip: lung and skin. *Biomicrofluidics*. 2018;12:42207.

- 73) Huh D, Matthews BD, Mammoto A et al. Reconstituting organ - level lung functions on a chip. *Science*. 2010;328:1662-8.
- 74) Dongeun H, Leslie DC, Matthews BD et al. A human disease model of drug toxicity - induced pulmonary edema in a lung - on - a - chip microdevice. *Sci Transl Med*. 2012;4: 159ra147.
- 75) Stucki AO, Stucki JD, Hall SRR et al. A lung - on - a - chip array with an integrated bio - inspired respiration mechanism. *Lab Chip*. 2015;15:1302-10.
- 76) Blume C, Reale R, Held M et al. Temporal monitoring of differentiated human airway epithelial cells using microfluidics. *PLoS ONE*. 2015;10:e0139872.
- 77) Humayun M, Chow C - W, Young EWK. Microfluidic lung airway - on - a - chip with arrayable suspended gels for studying epithelial and smooth muscle cell interactions. *Lab Chip*. 2018;18:1298-309.
- 78) Yang X, Li K, Zhang X et al. Nanofiber membrane supported lung - on - a - chip microdevice for anti - cancer drug testing. *Lab Chip*. 2018;18:486-95.
- 79) Jang KJ, Suh KY. A multi - layer microfluidic device for efficient culture and analysis of renal tubular cells. *Lab Chip*. 2010;10:36-42.
- 80) Jang KJ, Mehr AP, Hamilton GA et al. Human kidney proximal tubule on - a - chip for drug transport and nephrotoxicity assessment. *Integr Biol (Camb)*. 2013;5:1119-29.
- 81) Musah S, Dimitrakakis N, Camacho DM et al. Directed differentiation of human induced pluripotent stem cells into

- mature kidney podocytes and establishment of a glomerulus chip. *Nat Protoc.* 2018;13:1662-85.
- 82) Sakolish CM, Philip B, Mahler GJ. A human proximal tubule - on - a - chip to study renal disease and toxicity. *Biomicrofluidics.* 2019;13:14107.
- 83) Schutgens F, Rookmaaker MB, Margaritis T et al. Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling. *Nat Biotechnol.* 2019;37:303-13.
- 84) Nieskens TTG, Sjogren AK. Emerging in vitro systems to screen and predict drug - induced kidney toxicity. *Semin Nephrol.* 2019;39:215-26.
- 85) Visone R, Gilardi M, Marsano A et al. Cardiac meets skeletal: what's new in microfluidic models for muscle tissue engineering. *Molecules.* 2016.
- 86) Grosberg A, Nesmith AP, Goss JA et al. Muscle on a chip: in vitro contractility assays for smooth and striated muscle. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2012;65:126-35.
- 87) Zhang D, Shadrin I, Lam J et al. Tissue - engineered cardiac patch for advanced functional maturation of human ESC - derived cardiomyocytes. *Biomaterials.* 2013;34:5813-20.
- 88) Zhang YS, Arneri A, Bersini S et al. Bioprinting 3D microfibrous scaffolds for engineering endothelialized myocardium and heart - on - a - chip. *Biomaterials.* 2016;110:45-59.
- 89) Zhang X, Wang T, Wang P et al. High - throughput assessment of drug cardiac safety using a high - speed impedance detection technology - based heart - on - a - chip. *Micromachines (Basel).* 2016.

- 90) Marsano A, Conficconi C, Lemme M et al. Beating heart on a chip: a novel microfluidic platform to generate functional 3D cardiac microtissues. *Lab Chip*. 2016;16:599-610.
- 91) Schneider O, Zeifang L, Fuchs S et al. User - friendly and parallelized generation of human induced pluripotent stem cell - derived microtissues in a centrifugal heart - on - a - chip. *Tissue Eng Part A*. 2019;25:786-98.
- 92) Tzatzalos E, Abilez OJ, Shukla P et al. Engineered heart tissues and induced pluripotent stem cells: macroand microstructures for disease modeling, drug screening, and translational studies. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;96:234-44.
- 93) Kang TH, Kim HJ. Farewell to animal testing: innovations on human intestinal microphysiological systems. *Micromachines (Basel)*. 2016.
- 94) Imura Y, Asano Y, Sato K et al. A microfluidic system to evaluate intestinal absorption. *Anal Sci*. 2009;2009(25):1403-7.
- 95) Sung JH, Yu J, Luo D et al. Microscale 3 - D hydrogel scaffold for biomimetic gastrointestinal (GI) tract model. *Lab Chip*. 2011;11:389-92.
- 96) Kim HJ, Huh D, Hamilton G et al. Human gut - on - a - chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis - like motions and flow. *Lab Chip*. 2012;12:2165-74.
- 97) Kim HJ, Li H, Collins JJ et al. Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut - on - a - chip. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113:E7-15.

- 98) Kasendra M, Tovaglieri A, Sontheimer - Phelps A et al. Development of a primary human small intestine - on - a - chip using biopsy - derived organoids. *Sci Rep.* 2018;8:2871.
- 99) Vandussen KL, Marinshaw JM, Nurmohammad S et al. Development of an enhanced human gastrointestinal epithelial culture system to facilitate patient - based assays. *Gut.* 2014;64:911.
- 100) Jalili - Firoozinezhad S, Gazzaniga FS, Calamari EL et al. A complex human gut microbiome cultured in an anaerobic intestine - on - a - chip. *Nat Biomed Eng.* 2019.
- 101) Shin W, Hinojosa CD, Ingber DE et al. Human intestinal morphogenesis controlled by transepithelial morphogen gradient and flow - dependent physical cues in a microengineered gut - on - a - chip. *iScience.* 2019;15:391-406.
- 102) Lee SH, Sung JH. Microtechnology - based multi - organ models. *Bioengineering (Basel).*
- 103) Marx U, Walles H, Hoffmann S et al. 'Human - on - a - chip' developments: a translational cutting - edge alternative to systemic safety assessment and efficiency evaluation of substances in laboratory animals and man? *Altern Lab Anim.* 2012;40:235-57.
- 104) Zhang B, Montgomery M, Chamberlain MD et al. Biodegradable scaffold with built - in vasculature for organ - on - a - chip engineering and direct surgical anastomosis. *Nat Mater.* 2016;15:669-78.
- 105) Palaninathan V, Kumar V, Maekawa T et al. Multi - organ on a chip for personalized precision medicine. *MRC.* 2018;8:652-67.

- 106) Zhao Y, Kankala RK, Wang SB et al. Multi - organs - on - chips: towards long - term biomedical investigations. *Molecules*. 2019.
- 107) Rogal J, Probst C, Loskill P. Integration concepts for multi - organ chips: how to maintain flexibility?! *Future Sci OA*. 2017;3:FSO180.
- 108) Wagner I, Materne EM, Brincker S et al. A dynamic multi - organ - chip for long - term cultivation and substance testing proven by 3D human liver and skin tissue co - culture. *Lab Chip*. 2013;13:3538-47.
- 109) van Midwoud PM, Merema MT, Verpoorte E et al. A microfluidic approach for in vitro assessment of interorgan interactions in drug metabolism using intestinal and liver slices. *Lab Chip*. 2010;10:2778-86.
- 110) Tsamandouras N, Wen LKC, Edington CD et al. Integrated gut and liver microphysiological systems for quantitative in vitro pharmacokinetic studies. *Aaps J*. 2017;19:1-14.
- 111) Skardal A, Murphy SV, Devarasetty M et al. Multi - tissue interactions in an integrated three - tissue organ - on - a - chip platform. *Sci Rep*. 2017;7:8837.
- 112) Maschmeyer I, Hasenberg T, Jaenicke A et al. Chip - based human liver - intestine and liver - skin co - cultures-A first step toward systemic repeated dose substance testing in vitro. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;95:77-87.
- 113) Maschmeyer I, Lorenz AK, Schimek K et al. A four - organ - chip for interconnected long - term co - culture of human intestine, liver, skin and kidney equivalents. *Lab Chip*. 2015;15:2688-99.

- 114) Oleaga C, Bernabini C, Smith AST et al. Multi - Organ toxicity demonstration in a functional human in vitro system composed of four organs. *Sci Rep.* 2016;6:20030.
- 115) Edington CD, Chen WLK, Geishecker E et al. Interconnected microphysiological systems for quantitative biology and pharmacology studies. *Sci Rep.* 2018;8:4530.
- 116) Lee H, Kim DS, Ha SK et al. A pumpless multi - organ - on - a - chip (MOC) combined with a pharmacokinetic pharmacodynamic(PK - PD) model. *Biotechnol Bioeng.* 2017;114:432-43.
- 117) Satoh T, Sugiura S, Shin K et al. A multi - throughput multiorgan - on - a - chip system on a plate formatted pneumatic pressure - driven medium circulation platform. *Lab Chip.* 2017;18:115-25.
- 118) Diaz Lantada A, Pfleging W, Besser H et al. Research on the methods for the mass production of multi - scale organs - on - chips. *Polymers (Basel).* 2018.
- 119) Wang Y, Huang X, Shen Y et al. Direct writing alginate bioink inside pre - polymers of hydrogels to create patterned vascular networks. *J Mater Sci.* 2019;54:7883-92.
- 120) Hong S, Kang EY, Byeon J et al. Embossed membranes with vascular patterns guide vascularization in a 3D tissue model. *Polymers (Basel).* 2019.
- 121) Torras N, Garcia - Diaz M, Fernandez - Majada V et al. Mimicking epithelial tissues in three - dimensional cell culture models. *Front Bioeng Biotechnol.* 2018;6:197.

- 122) Alexander FA, Eggert S, Wiest J. Skin - on - a - chip: transepithelial electrical resistance and extracellular acidification measurements through an automated air - liquid interface. *Genes (Basel)*. 2018.
- 123) Wang YI, Abaci HE, Shuler ML. Microfluidic blood - brain barrier model provides in vivo - like barrier properties for drug permeability screening. *Biotechnol Bioeng*. 2017;114:184-94.
- 124) Wevers NR, Kasi DG, Gray T et al. A perfused human blood - brain barrier on - a - chip for high - throughput assessment of barrier function and antibody transport. *Fluids Barriers CNS*. 2018;15:23.
- 125) Khodabukus A, Madden L, Prabhu NK et al. Electrical stimulation increases hypertrophy and metabolic flux in tissue - engineered human skeletal muscle. *Biomaterials*. 2019;198:259-69.
- 126) Kim W, Kim J, Park HS et al. Development of microfluidic stretch system for studying recovery of damaged skeletal muscle cells. *Micromachines (Basel)*. 2018.
- 127) Yildirim L, Zhang Q, Kuang S et al. Engineering three - dimensional microenvironments towards in vitro disease models of the central nervous system. *Biofabrication*. 2019.
- 128) Choi JH, Cho HY, Choi JW. Microdevice platform for in vitro nervous system and its disease model. *Bioengineering (Basel)*. 2017.
- 129) Zhang J, Wei X, Zeng R et al. Stem cell culture and differentiation in microfluidic devices toward organ - on - achip. *Future Sci OA*. 2017;3:FSO187.

- 130) Wnorowski A, Yang H, Wu JC. Progress, obstacles, and limitations in the use of stem cells in organ-on-a-chip models. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;140:3-11.
- 131) Pittenger MF. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999;284:143-7.
- 132) Wagner W, Ho AD. Mesenchymal stem cell preparations—comparing apples and oranges. *Stem Cell Reviews.* 2007;3:239-48.
- 133) Thomson JA, Itskovitzeldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;282:1145.
- 134) Becker H, Hansen-Hagge T, Kurtz A et al. Microfluidic devices for stem-cell cultivation, differentiation and toxicity testing. In: Gray BL, Becker H, editors. *Microfluidics, BioMEMS, and medical microsystems XV.* San Francisco: SPIE BiOS; 2017. p. 1006116.
- 135) Scott CW, Peters MF, Dragan YP. Human induced pluripotent stem cells and their use in drug discovery for toxicity testing. *Toxicol Lett.* 2013;219:49-58.
- 136) Narsinh KH, Jordan P, Wu JC. Comparison of human induced pluripotent and embryonic stem cells: fraternal or identical twins? *Mol Ther.* 2011;19:635.
- 127) Zhao MT, Chen H, Liu Q et al. Molecular and functional resemblance of differentiated cells derived from isogenic human iPSCs and SCNT-derived ESCs. *Proc Natl Acad Sci.* 2017;114:E11111-20.
- 128) Park D, Lim J, Park JY et al. Concise review: stem cell microenvironment on a chip: current technologies for tissue

- engineering and stem cell biology. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4:1352-68.
- 139) Qian T, Shusta EV, Palecek SP. Advances in microfluidic platforms for analyzing and regulating human pluripotent stem cells. *Curr Opin Genet Dev.* 2015;34:54-60.
- 140) Dongeun Huh, Geraldine A Hamilton, Donald E Ingber. From 3D cell culture to organs - on - chips. *Trends in Cell Biology.* 2011;21:12.
- 141) Yang Y, Yong C, Hao T et al. Microfluidics for Biomedical Analysis. *Small Methods.* 2019;1900451.
- 142) Moraes C, Mehta G, Leshner - Perez, SC et al. Organs - on - a - chip: a focus on compartmentalized microdevices. *Annals of biomedical engineering.* 2012;40:1211 - 1227.
- 143) Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs - on - chips. *Trends in cell biology.* 2011;21:745 - 754.
- 144) Polini A, Prodanov L, Bhise NS et al. Organs - on - a - chip: a new tool for drug discovery. *Expert opinion on drug discovery.* 2014; 9:335 - 352.
- 145) Chabert M. Microfluidique de gouttes pour les analyses biologiques. *Biophysique [physics.bio - ph]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.* 2007
- 146) Lipsi R, Rogliani P, Calzetta Let al. The clinical use of regenerative therapy in COPD. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease.* 2014;9:1389.
- 147) Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJet al. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance—United States. *Respiratory care.* 2002;76:1971-2000.

- 148) Huh D, Matthews BD, Mammoto A et al. Reconstituting organ - level lung functions on a chip. *Science*. 2010;328:1662 - 1668.
- 149) Baker M. Tissue models: a living system on a chip. *Nature*. 2011;471:661 - 665.
- 150) Huh D, Leslie DC, Matthews BD et al. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung - on - a - chip microdevice. *Science translational medicine*. 2012;4.
- 151) Khetani SR, Bhatia SN. Microscale culture of human liver cells for drug development. *Nature biotechnology*. 2008;26:120 - 126.
- 152) Yip D, Cho CH. A multicellular 3D heterospheroid model of liver tumor and stromal cells in collagen gel for anti - cancer drug testing. *Biochemical and biophysical research communications*. 2013; 433:327 - 332.
- 153) Prot JM, Bunescu A, Elena - Herrmann B et al. Predictive toxicology using systemic biology and liver microfluidic “on chip” approaches: application to acetaminophen injury. *Toxicology and applied pharmacology*. 2012;259:270 - 280.
- 154) Yang Y, Li J, Pan X et al. Co - culture with mesenchymal stem cells enhances metabolic functions of liver cells in bioartificial liver system. *Biotechnology and bioengineering*. 2013;110:958 - 968.
- 155) Ho CT, Lin RZ, Chang WY et al. Rapid heterogeneous liver - cell on - chip patterning via the enhanced field - induced dielectrophoresis trap. *Lab on a Chip*. 2006;6:724 - 734.
- 156) Lee KH, Lee J, Lee SH. 3D liver models on a microplatform: well - defined culture, engineering of liver tissue and liver - on - a - chip. *Lab on a Chip*. 2015;15:3822 - 3837.

- 157) Domansky K, Leslie DC, McKinney J et al. Clear castable polyurethane elastomer for fabrication of microfluidic devices. *Lab on a Chip*. 2013;13:3956 - 3964.
- 158) Parker KK, Tan J, Chen CS et al. Myofibrillar architecture in engineered cardiac myocytes. *Circulation research*. 2008;103: 340 - 342.
- 159) Grosberg A, Kuo PL, Guo CL et al. Self - organization of muscle cell structure and function. *PLoS Comput Biol*. 2011;7(2).
- 160) Klauke N, Smith G, Cooper JM. Microfluidic systems to examine intercellular coupling of pairs of cardiac myocytes. *Lab on a Chip*. 2007;7:731 - 739.
- 161) Depre C, Vatner SF. Cardioprotection in stunned and hibernating myocardium. *Heart failure reviews*. 2007;12: 307 - 317.
- 162) Martewicz S, Michielin F, Serena E et al. Reversible alteration of calcium dynamics in cardiomyocytes during acute hypoxia transient in a microfluidic platform. *Integrative Biology*. 2012;4:153 - 164.
- 163) Agarwal A, Goss JA, Cho A et al. Microfluidic heart on a chip for higher throughput pharmacological studies. *Lab on a Chip*. 2013;13:3599 - 3608.
- 164) Palchesko RN, Zhang L, Sun Y et al. Development of polydimethylsiloxane substrates with tunable elastic modulus to study cell mechanobiology in muscle and nerve. *PloS one*. 2012;7.

- 165) Vidéo de Hamilton G. Want to test new drugs? Put a fake lung on a chip. 2016.
- 166) Abbott NJ, Dolman DE, Yusof SR et al. In vitro models of CNS barriers. In Drug Delivery to the brain. Springer New York. 2014;163 - 197.
- 167) Booth R, Kim H. Permeability analysis of neuroactive drugs through a dynamic microfluidic in vitro blood-brain barrier model. Annals of biomedical engineering. 2014;42:2379 - 2391.
- 168) Booth R, Kim H. Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood - brain barrier (BBB). Lab on a chip. 2012;12: 1784 - 1792.
- 169) Prabhakar Pandian B, Shen MC, Nichols JB et al. SyM - BBB: a microfluidic blood brain barrier model. Lab on a chip. 2013;13: 1093 - 1101.
- 170) van der Helm MW, van der Meer AD, Eijkel JC et al. Microfluidic organ - on - chip technology for blood - brain barrier research. Tissue barriers. 2016;4.
- 171) Kim HJ, Huh D, Hamilton G et al. Human gut - on - a - chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis - like motions and flow. Lab on a chip. 2012;12: 2165 - 2174.
- 172) Kirby BJ, Jodari M, Loftus MS et al. Functional characterization of circulating tumor cells with a prostate - cancer - specific microfluidic device. PloS one. 2012;7.
- 173) Wlodkowic D, Cooper JM. Tumors on chips: oncology meets microfluidics. Current opinion in chemical biology. 2010;14:556 - 567.

- 174) Mauk MG, Ziober BL, Chen Z et al. Lab - on - a - Chip Technologies for Oral - Based Cancer Screening and Diagnostics. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1098:467 - 475.
- 175) Kim C, Bang JH, Kim YE et al. On - chip anticancer drug test of regular tumor spheroids formed in microwells by a distributive microchannel network. *Lab on a chip*. 2012;12: 4135 - 4142.
- 176) van Midwoud PM, Merema MT, Verpoorte E et al. A microfluidic approach for in vitro assessment of interorgan interactions in drug metabolism using intestinal and liver slices. *Lab on a Chip*. 2010;10:2778 - 2786.
- 177) Imura Y, Sato K, Yoshimura E. Micro total bioassay system for ingested substances: assessment of intestinal absorption, hepatic metabolism, and bioactivity. *Analytical chemistry*. 2010;82: 9983 - 9988.
- 178) Stancescu M et al. A phenotypic in vitro model for the main determinants of human whole heart function. *Biomaterials*. 2015; 60:20 - 30.
- 179) Oleaga C et al. Investigation of the effect of hepatic metabolism on off - target cardiotoxicity in a multi - organ human - on - a - chip system. *Biomaterials*. 2018;182:176 - 190.
- 180) Oleaga C et al. Human - on - a - Chip Systems: Long - Term Electrical and Mechanical Function Monitoring of a Human - on - a - Chip System (*Adv. Funct. Mater.* 8/2019). *Advanced Functional Materials*. 2019;29:1970049.

- 181) Santhanam N et al. Stem cell derived phenotypic human neuromuscular junction model for dose response evaluation of therapeutics. *Biomaterials*. 2018;166:64 - 78.
- 182) Oleaga C et al. Multi - Organ toxicity demonstration in a functional human in vitro system composed of four organs. *Scientific Reports*. 2016;6:20030.
- 183) Wang YI, Abaci HE, Shuler ML. Microfluidic blood-brain barrier model provides in vivo - like barrier properties for drug permeability screening. *Biotechnology and Bioengineering*. 2017; 114: 184 - 194.
- 184) Chen HJ, Miller P, Shuler ML. A pumpless body - on - a - chip model using a primary culture of human intestinal cells and a 3D culture of liver cells. *Lab on a Chip*. 2018;18:2036 - 2046.
- 185) Prasad V, Mailankody S. Research and development spending to bring a single cancer drug to market and revenues after approval *JAMA Int. Med*. 2017;177:1569-1575.
- 186) DiMasi A et al. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs. *J Health Econ*. 2016;47:20-33.
- 187) DiMasi A et al. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs. *J Health Econ*. 2016;47:20-33.

Abstract

Vertebrates have traditionally been used to evaluate the systemic effects of repeated exposure. However, the industry currently wants more robust and human-relevant methods that do not use animals for toxicity assessment. However, the industry currently wants more robust and human-relevant methods that do not use animals for toxicity assessment. Especially interest are the models developed using Organ-on-a-chip technology. These Organ-on-a-chip models are systems that mimic the in vivo microenvironment by combining engineering and biology. In addition, since Organ-on-a-chip is a system that reproduces internal conditions from the outside of the body, data generated through Organ-on-a-chip are economical in terms of time and cost because reliability is improved and can be processed at high throughput, And since Organ-on-a-chip does not use laboratory animals, it has the advantage of being free from ethical issues. Such Organ-on-a-chip is thought to be able to increase the predictive power in the evaluation of effects on specific organs, such as the goal of repeated-dose toxicity studies. However, it is thought that the dose-response evaluation is still insufficient, so it is not possible to replace the one-to-one repeated-dose toxicity test with the data generated from Organ-on-a-chip alone. Therefore, as a result of reviewing Organ-on-a-chip from the viewpoints of various fields, it is thought to be an effective tool for initial hazard identification for industrial toxicity research, in order to accept and utilize this in practice, I think that additional insightful research on regulatory issues and cost implications is required.

연구진

연구기관 : 산업안전보건연구원

연구책임자 : 서동석 (연구위원, 산업화학연구실)

연구원 : 조지민 (과장, 산업화학연구실)

연구기간

2021. 01. 02. ~ 2021. 11. 30.

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

산업안전보건연구원장

반복투여독성시험 대체시험법 적합성 연구
(2021-산업안전보건연구원-798)

발 행 일 : 2021년 11월 30일

발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 김은아

연구책임자 : 산업화학연구실 연구위원 서동석

발 행 처 : 안전보건공단 산업안전보건연구원

주 소 : (44429) 울산광역시 중구 종가로 400

전 화 : 042-869-8514

팩 스 : 042-869-8693

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

I S B N : 979-11-92138-33-6