



## 동물실험윤리위원회의 구성과 역할

김 종 성

# 목 차



- 동물실험윤리위원회 (IACUC)의 구성과 역할
- 중점심의기준 및 심의사례
- 승인된 동물실험계획의 점검(PAM)

# 동물실험윤리위원회 (IACUC)의 구성과 역할

Institutional Animal Care and Use Committee

시험과 연구, 교육의 목적으로 사용하는 동물을 인도적, 과학적으로  
사용하고 관리하는지 심의하는 기구

과학자  
(과학적 관점 대변)

윤리학자, 성직자 등의 비과학자  
(윤리적 관점 대변)

수의사  
(수의학적 관점 대변)

민간단체 추천인  
(일반공동체의 상식적 관점 대변)

동물실험계획서 심의 & 승인된 동물실험  
계획서의 점검(PAM)

실험동물관리 프로그램, 시설의  
감독 · 평가

유해물질의 안전관리, 작업자의 건강  
관리, 적절한 교육 등을 감독 · 평가

연구자의 요구를 과학적, 전문적으로  
판단 (최신 정보 제공)

근거  
법령

동물보호법 제3장 제25조 [시행 2015.1.20.] [법률 제13023호, 2015.1.20., 일부개정]

실험동물에 관한 법률 제2장 제7조 [시행 2013.7.30.] [법률 제11987호, 2013.7.30., 일부개정]

# IACUC 구성



구분	위원회 구성	관련 법령	
		동물보호법 (제27조)	실험동물에 관한 법률 (제7조)
인원	4~15명	3~15명	4~15명
필수 구성 위원	● 의사	1명 이상	1명 이상
	● (동물보호)민간단체 추천자	1명 이상	1명 이상
	● 동물실험 분야의 박사학위 취득자		1명 이상
선택 구성 위원	● 동물실험 분야의 박사학위 취득자	○	
	● 대학 또는 전문대학에서 철학·법학 담당 교수	○	
	● 대학 또는 전문대학에서 동물보호·복지 담당 교수	○	
	● 그밖에 동물실험에 관한 학식과 경험이 풍부한 사람		○
	● 그밖에 실험동물의 윤리적 취급과 과학적 이용을 위하여 필요한 사람	○	
특수 구성 요건	● 해당 기관(동물실험시설)과 이해관계가 없는 사람	● 총 위원수의 1/3 이상	● 의사 및 동물실험 분야 박사학위 취득자 중 1명 이상 ● 민간단체 추천자

# IACUC 운영

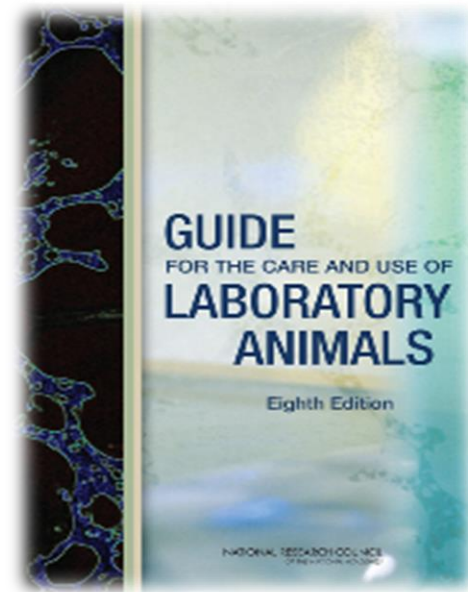


구분	위원회 구성	관련 법령
운영	1. 위원장은 다음 각 호의 어느 하나에 해당하면 위원회의 회의를 소집하고 그 의장이 된다. 1) 기관장 또는 동물실험시설의 운영자의 소집 요구가 있는 경우 2) 재적위원 3분의 1 이상의 소집 요구가 있는 경우 3) 그 밖에 위원장이 필요하다고 인정하는 경우	동물보호법 & 실험동물에 관한 법률
	2. 위원회의 회의 1) 재적위원 과반수의 출석으로 개의하고 출석위원 과반수의 찬성으로 의결한다. 2) 동물실험계획을 심의·평가하는 회의에는 수의사인 위원과 이해관계가 없는 위원이 각각 1명씩 참여하여야 한다.	동물보호법
	3) 재적위원 과반수의 찬성으로 의결한다.	실험동물에 관한 법률
	3. 위원회는 심의사항과 관련하여 필요하다고 인정할 때에는 관계인을 출석시켜 의견을 청취 할 수 있다.	동물보호법
	4. 위원장은 위원회의 회의를 매년 2회 이상 소집하여야 하고, 그 회의록을 작성하여 3년 이상 보존하여야 한다.	실험동물에 관한 법률
	5. 회의록 등 윤리위원회의 구성·운영 등과 관련된 기록 및 문서는 3년 이상 보존하여야 한다.	동물보호법
	6. 이외 필요한 사항은 위원회의 의결을 거쳐 위원장이 정한다.	동물보호법 & 실험동물에 관한 법률

# 중점 심의 기준



- 동물실험의 필요성
- 동물실험의 대체방법(Alternatives) 검색 및 적용 여부
- 동물실험 및 실험동물 관리 등과 관련하여 동물복지와 윤리적 취급의 적정성 여부
- 실험동물의 종류 선택과 그 수의 적정성 여부
- 실험동물이 받는 통증과 고통의 정도
- 동물실험 중에 실험동물의 고통이 수반되는 경우 고통 감소 방안 및 적정성 여부
- 안락사 방법의 적정성과 인도적 종료시점의 합리성 여부
- 실험동물의 윤리적 취급과 실험에 관련된 지식 및 훈련이수 정도
- 기타 위원회가 실험동물의 보호와 윤리적인 취급을 위하여 필요하다고 인정하는 사항 등



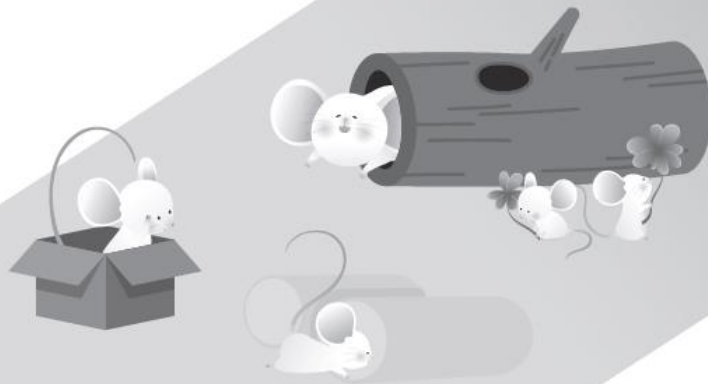
# 심의 가이드라인



농림축산검역본부 · 식품의약품안전처 공동  
동물실험 및/또는 실험동물 관련

## 위원회(IACUC) 표준운영 가이드라인

2020. 12.



농림축산검역본부



식품의약품안전처

*The*

# IACUC

## HANDBOOK

Third Edition

*Edited by*

**Jerald Silverman  
Mark A. Suckow  
Sreekant Murthy**



CRC Press  
Taylor & Francis Group

# 동물실험 윤리원칙(5R)

## *The Principles of Humane Experimental Technique*

**Replacement alternatives** (대체) : 동물실험을 수행하지 않고 원하는 목적을 달성하는 방법을 모색 (하등동물, 배양세포, simulation 등)

**Reduction alternatives** (감소) : 보다 적은 수의 동물을 사용하여 필적할 만한 정보를 얻거나, 동일한 동물수로부터 더 많은 정보를 얻기 위한 방법을 모색

**Refinement alternatives** (개선) : 동물에게 가해지는 비인도적 처치(inhumane procedures)의 발생을 감소시켜 주는 것. 즉, 통증과 스트레스를 경감시키고 동물의 행복을 향상시켜 주는 것

by Russell & Burch(1959)

**Relevance** (타당성) : 동물을 사용하는 연구계획은 중요한 과학적, 의학적 또는 사회적 의미를 지니는 **문제**에 대한 **해결책**을 제시해 줄 수 있어야 하며, 동물실험을 통해서 인간과 동물에게 주어지는 **이익**이 동물에게 가해지는 모든 위험과 피해보다 **커야 함**

**Redundancy avoidance** (중복실험방지) : 동물실험에서 **중복실험을 피하고 문헌 조사를 철저히** 하여 유사한 실험이 수행되었는지의 여부를 확인 (유사한 실험이 수행되었더라도 다른 실험을 또 해야 하는 경우라면 그 일을 해야 하는 타당성을 제시)

by Shamoo & Resnik(2003)



# 동물실험계획서 작성시 고려사항



연구자가 5Rs 윤리원칙에 입각하여 동물실험계획을 수립할 수 있도록 IACUC는 상세한 작성가이드를 수록한 계획서 양식을 제공하는 것이 보다 중요함

- ❖ 비전문가 IACUC위원을 위해 평이하게 작성
  - ✓ 영어 단어, 약어의 사용 자제(고등학생이 이해할 수 있는 수준의 용어 사용)
  - ✓ 이해가 쉬운 단어를 사용하고 부득이하게 전문용어를 사용할 시에는 부연설명 첨부
- ❖ 동물실험계획 과정에서부터 동물실험 전문가의 의견을 구하며, 동물실험계획서를 작성할 때 일반적인 사항을 고려하지만, 세부적으로는 해당 시설의 운영방침과 작성가이드에 따라서 실험계획을 수립
- ❖ 동물의 구입(입수)과정부터 종료(폐기)과정까지의 모든 과정이 기술
- ❖ 실험별 처치 시기와 총 유지기간 확인이 가능하도록 실험방법을 기술
- ❖ 인도적 종료시점의 명확한 기준 명시(점수표) : 동물관찰 주기 및 관찰자 포함
- ❖ 실험동물의 선정 사유 및 사용 마리수의 산출 근거 포함(필요시 관련 참고문헌 첨부)
- ❖ 대체실험 가능성 여부 조사결과 포함

# 연구의 타당성 (Harm & Benefit Analysis)

Relevance



## ● 연구의 배경 및 목적을 기술 (비전문가도 이해할 수 있도록 평이하게 상술)

- 선행기술 유무 및 개발 수준, 새롭게 연구하고자 하는 내용 및 기대 성과(이익)를 기술
- 사람, 동물 또는 과학적 지식의 진보의 측면에서 본 연구의 이점

Scientific merit, Sound research design,  
Relevance, Scientifically valuable research

- ❖ 연구목적이 여러 개일 경우, 1차 목적, 2차 목적 등으로 나누어 기술
  - ❖ 연구목적은 실험의 타당성을 확인하는 중요한 항목
  - ❖ 동물에게 끼치는 손해(희생)보다 해당 실험을 통해 동물이나 사람에게 얻을 수 있는 이익이 클 경우에 타당성 있다고 판단하고 IACUC에서 실험을 승인합니다. 해당 연구주제의 현재 개발수준이나 선행기술 정도, 선행기술 대비 연구(탐구)하고자 하는 내용과 그 기대 성과 등의 연구배경과 목적을 비전문가도 이해할 수 있도록 보다 구체적이고 평이하게 기술
- ☞ 논문의 서론과 유사

## BRIEF COMMUNICATION ABSTRACT

*Nature Methods* 7, 447 - 449 (2010)

Published online: 9 May 2010 | doi:10.1038/nmeth.1455

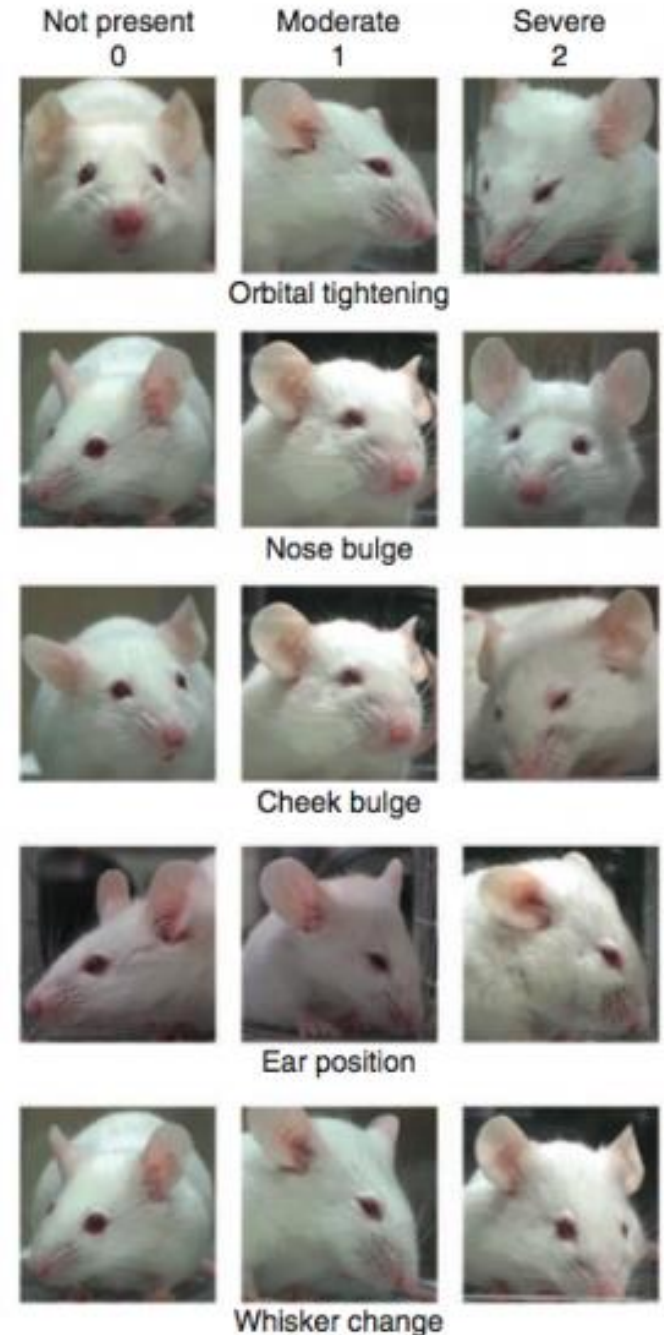
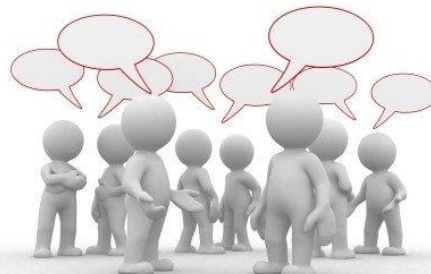
## Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse

- **un anesthetized mice** included
- **14 commonly used preclinical pain assays**: tails (hot-water immersion, radiant heat, application of a binder clip exerting 700 g of force), injections of irritants into the feet (mustard oil, formalin, zymosan), induction of bladder inflammation intraperitoneal injection of acetic acid, **Facial grimaces caused by post-surgical pain**
- **no postoperative analgesics.**
- assessment of facial grimaces



### Lab Animal e-Alert

The weekly update for all researchers concerned with laboratory animals



# 사 례

(제목 : Streptozotocin으로 유도된 당뇨  
마우스에서 L-carnosine의 혈당강하 효과)



- ❖ **당뇨**는 일종의 내분비계 질환으로서 인슐린의 비정상적 작용으로 인하여 혈중 **glucose** 농도가 높아져 뇨로 당을 배출하는 질병이며, 심혈관계 질환, 신장질환, 말초부위 괴사, 백내장, 망막증 등 다양한 합병증과 연관된다. 최근 우리나라의 경우 식생활 등의 변화에의해, 당뇨병 환자가 증가 하는 추세로서, **2000년** 이후에는 당뇨병환자가 **151만** 명을 넘어섰고, **2025년에는 300만** 명을 넘을 것 이라고 예측한다. 따라서 당뇨병의 예방은 주요 관심사가 되었으며, 당뇨의 예방 및 치료를 위한 건강기능식품을 찾는 많은 연구가 진행되고 있다.
- ❖ **당뇨병**은 크게 **1형**(인슐린 의존성 당뇨병) 및 **2형**(비 인슐린 의존성 당뇨병)으로 분류하고 있으며, 그 중 **2형** 당뇨병이 전체 당뇨병 환자의 약 **95% 이상**을 차지하고 있다. 당뇨병의 완치는 어렵지만, 혈당의 적절한 조절은 가능하다. 따라서 당뇨병의 치료는 주로 혈당을 조절하여 당뇨병성 합병증의 발생이나 진전을 억제하는데 목표가 있다. 특히 **2형** 당뇨병의 치료는 먼저 식이요법이나 운동요법으로 관리를 하고, 효과가 없으면 경구혈당 강하제를 사용하고 있다. 경구혈당 강하제로서 설폰요소제와 바이구아나이드 등의 화합물이 주로 이용되지만 체중증가, 식욕감퇴, 피부발진, 오심, 구토, 설사 등의 부작용을 유발하므로 장기 투여시 문제가 발생할 수 있다. 따라서 일반적인 식생활을 하면서 당뇨병 예방 및 개선에 효과가 있는 기능성 식품이 주목 받고 있다. 현재 시장에는 혈당조절과 관련하여 많은 신제품들이 속속 선보이고 있으나 특정 몇몇 성분에 편중되는 경향을 보이고 있다. 그에 따라 동일한 성분의 유사제품끼리 경쟁이 치열해 지면서 시장이 혼탁해 지는 부작용도 나타나고 있다. 이런 관점에서 인체내에서 합성이 가능하며, 또는 의약품 혹은 식이적으로 섭취가 가능한 생리적 작용물질로서 **carnosine**의 역할이 매우 중요하다.
- ❖ **Carnosine**은 **L-histidine**을 포함하는 **dipeptide**로서 척추동물의 근육, 눈, 뇌 등에 다량으로 존재하며, 특히 사람 에서는 골격근과 신경조직에 약 **20 mM**의 높은 농도로서 존재한다. **Carnosine**의 생리학적 기능에 대해서는 현재 많은 연구가 진행되고 있는데, 주요 기능은 항산화 및 항노화 작용이다.

(계속)

# 사례

(제목 : Streptozotocin으로 유도된 당뇨  
마우스에서 L-carnosine의 혈당강하 효과)



- ❖ Carnosine은 근육내에 비산소적 해당작용시 발생하는 젖산을 중화시켜 근육의 피로를 덜어주며, **olfactory bulb**에서는 신경전달물질 혹은 근육에서 효소 **regulator**로서도 작용한다고 보고되고 있다. 생리적 농도에서 **carnosine**은 다양한 모델 **system**에서 **free radicals** 소거 등의 항산화 효과를 보인다. 식품에서도 항산화 효과를 통해 저장기간 연장 및 부패를 방지하고, 생물학적 모델 **system**에서 철분과 결합을 통해 지방과산화를 방지할 수 있다. 또한 **carnosine**은 **glucose oxidation**을 억제시키고 단백질에 대해 **glycation**을 억제시키는 효과가 있다고 보고되었다. **Carnosine**의 이러한 효과들은 생체내 **biomolecule**들을 보호하고, 특히 당뇨병에서 합병증을 억제시킬 수 있을 것이다.
- ❖ 최근 **carnosine**은 자율신경을 조절하여 혈중 **glucose** 농도 를 낮출 수 있으며, **glucose**의 대사에도 관여 한다고 보고되었다. 그러나 이러한 **carnosine**의 혈당강하 기능에 대해 연구는 아직 미미하며, **아직 streptozotocin 유도 당뇨 마우스모델에서 carnosine의 효과에 대한 연구는 보고되지 않았다.**
- ❖ **Streptozotocin**은 **1-methyl-1-nitrosourea**의 **2-deoxy-Dglucose** 유도체로서 광범위 항균제이며 제1형 당뇨를 유발할 수 있다. **Streptozotocin**은 췌장의  $\beta$ -세포에 대한 특이적인 독성 때문에, **islet cell tumors, pancreatic ductal adenocarcinoma** 등에 대한 항암제로 사용되고 있으며, 1963년 랫드나 개에서 당뇨를 유발한다고 보고된 이래, 실험동물에서 당뇨병을 유도하기위한 약물로 널리 쓰여 지고 있는 물질이다.
- ❖ 본 연구에서는 **streptozotocin**으로 유도된 당뇨 동물 모델을 이용하여 **carnosine**의 혈당조절정도를 마우스의 정맥혈에서 혈당측정기를 이용하여 주1회 측정하고, 포도당 내성 검사를 통해 시험물질의 포도당 의존성을 보며, 인슐린 감수성 검사, 혈청내의 생화학적수치와 지질학적수치 등을 측정하고자 한다.

# 사례

- ❖ 최근 전립선암 치료 약제 개발이 활발히 이루어지면서 전립선암 세포의 성장에 핵심적인 역할을 하는 남성호르몬 (테스토스테론) 차단 약제 개발이 각광받음.
- ❖ 2007년 전이성 전립선암에서 차세대 남성호르몬 차단약제인 Enzalutamide가 처음 보고된 이후, 다양한 환자군에서 임상적 효능이 검증됨.
- ❖ 그러나, 약 30% 이상의 전이성 전립선암 환자에서 Enzalutamide에 대해 1차 약제 내성을 보이며, 대부분의 환자들이 결국 Enzalutamide에 대한 내성을 보이며, 치료 저항 상태가 됨.
- ❖ Enzalutamide 내성을 일으키는 후성 유전학적 변화 및 이를 타겟으로 하는 치료기술에 대한 연구가 매우 부족함.
- ❖ 암의 발생 및 진행, 전이 과정에서 나타나는 후성유전체의 변화 및 관련 분자 기전에 대한 연구는 새로운 표적 치료 약제 및 치료 기술 개발로 이어질 수 있다는 점에서 임상적으로 매우 중요하며, 히스톤 메틸화 변형이 암 발생 및 억제에 중요한 유전자 발현의 후성 유전적 조절 기전 중의 하나로 매우 중요한 역할을 담당할 것으로 예상됨.
- ❖ 전이성 전립선암의 최신 치료약제인 차세대 남성호르몬 차단제에 대한 약제 저항성 극복을 위한 새로운 치료표적으로 기존의 남성호르몬을 직접적인 유전자 발현 조절 방법이 아닌, 남성호르몬의 후성유전적 조절을 통한 표적 치료제 개발이 본 연구의 최종목표임.

(계속)

# 사 례

❖ 이를 달성하기 위한 세부 목표는 다음과 같음.

- 1) 차세대 남성호르몬 차단 약제 (Enzalutamide) 저항성을 보이는 전립선암 세포주에서 스크리닝을 통해 특징적 발현변화를 보이는 히스톤 변형 효소 (histone-modifying enzyme; HME)를 선별하고, 남성호르몬 수용체 (androgen receptor; AR)에 선택적으로 작용하는 핵심 HME를 발굴
- 2) Enzalutamide 저항성 전립선암 환자 조직에서 핵심 HME 유전자/단백질 발현 특성 분석 및 임상 데이터와의 연계분석을 통한 핵심 HME의 예후적 가치 규명
- 3) Enzalutamide 저항성 전립선암 세포주에서 핵심 HME 유전자 발현 조절에 따른 약제 내성 극복 효과 및 관련 분자 기전 규명
- 4) Enzalutamide 저항성 전립선암 마우스 모델에서 핵심 HME를 타겟으로 한 치료의 약제 내성 극복 (암증식 및 진행 억제) 효과 규명

❖ 예비실험으로 전립선암 세포주 (22Rv1-luc)를 2가지 투여방법(심장 좌심실, 꼬리 정맥)에 따라 3마리씩, 3번 예비 실험 (충분한 연습으로 전립선암세포 주입 정확도를 높임)을 진행하여 18마리를 사용하고, 82마리를 본실험에 사용할 예정이며, 자료 분석 및 통계적 방법은 예비실험 결과를 근거로 하여 변경 계획을 재수립 할 예정임.



# 사용 동물수의 적정성

Reduction

사용 동물수에  
대한  
합리적인 근거

- 대조군을 포함하여 실험군에 설명
- 자료 분석 내용 및 통계분석 방법 기술

- ❖ Pilot study 수행 여부를 설명
- ❖ Pilot study인 경우 마리수 산출에 대한 통계적 근거는 기술하지 않아도 무방
- ❖ Pilot study는 연구의 feasibility를 파악하고, full study를 위한 효과 크기(effect size) 등에 대한 사전정보(예, 평균과 표준편차 비)를 포함하여 향후 연구 수행에 필요한 정보 습득이 목적
- ❖ Pilot study 결과를 바탕으로 가설을 검정하고 통계학적 결론을 내리는 것은 부적절
- ❖ Pilot study를 통해 full study에 필요한 동물 마리수, 동물의 고통분류 등급, (마취)약제의 용량, 인도적 실험종료 기준을 보다 명확히 확인
- ❖ 그룹별로 필요한 마리수와 폐사율 또는 중도 탈락하는 마리수를 포함하여 총마리수와 일치
- ❖ Full study가 포함된 경우 통계적 검정 방법 기재
- ❖ 마리수 산출과 관련하여 참고 문헌이 있는 경우 기재
- ❖ 조직학적 병변 관찰, 외과 수술의 성공, 단백질 분석 등의 사유로 통계학적 자료분석을 수행하지 않는 실험의 경우 경우(예시, 총 필요한 샘플량 기재, 한 개체에서 획득 가능한 샘플량 X 전체 사용개체수 = 총 사용 개체수)





※ 실제 분석할 항목을 모두 기술

※ 기술 통계와 가설 검정(가설이 있는 경우) 방법으로 분리하여 기술

### ❖ 통계분석 방법

예시) 귀무가설인 "0000 0000 0000"를 검정하기 위해 사용할 통계방법인 0000(T-test 등)에서 유의수준 5%이하에서 80%이상의 검정력을 갖기 위해 00마리의 실험동물이 필요한 것으로 계산되었다. **pilot study** 또는 **참고문헌**에 근거하여 00 모델에서 폐사율이 20% 관찰되어 각 그룹별 0마리, 총 00 마리의 마우스가 필요할 것으로 추정)

### ❖ Sample size

샘플수 ↑: 동물의 희생 증가, 자원(시간과 돈)의 소실

샘플수 ↓: 통계적 유의성 확보 실패, 군간 실재하는 차이를 입증하는데 실패

# Reduction of animal use: experimental design and quality of experiments

**Michael F. W. Festing**

MRC Toxicology Unit, Hodgkin Building, University of Leicester, Leicester LE1 9HN, UK

**Keywords** Experimental design; statistics; laboratory animals; mice; dogs; reduction in animal use

## 독성학 저널에 게재된 3편의 논문의 실험 디자인과 통계분석 고찰

주제	사용수	논문의 문제점	설계 제안
the effects of ethanol & 3 anaesthetics on blood	46 dogs	1. Highly heterogeneous experimental Units 2. Choice of treatments 3. Incorrect statistical analysis 4. Poor presentation of the results	<b>24 dogs</b>
toxic agent causing bladder injury	180 mice	1. Experiments inadequately described 2. unequal subclass numbers. 3. Inadequate statistical methods	<b>80 mice</b>
efficacy of compound	80 mice	1. misleading: no dose effect 2. Inadequate statistical methods	<b>highly significant</b>

# 사 례



초기 실험으로서 **pilot study**로 진행하여 effect size와 그룹당 정확한 마리수를 결정할 예정임

귀무 가설인 “제2형 \*\*\* 모델 주에서 \*\* 섭취가 \*\*\* 예방 효과를 가진다”의 검정을 위해 사용할 **Student's t-test**와 **one-way ANOVA**에서 유의수준 5% 이하에서 80% 이상의 검정력을 가지기 위해 각 군당 최소 8 마리의 실험쥐가 필요한 것으로 계산된다. 약제 투여 기간 동안 발생할 수 있는 급격한 체중 감소 및 사망 등에 의한 탈락의 가능성을 고려하여 각 군당 2마리를 추가로 실험군에 포함시키고자 한다.

귀무가설은 실험군과 대조군의 치료 후 종양 부피는 차이가 없다고 가정한다.  $\alpha$ 오류 0.05,  $\beta$ 오류 0.2, 두 군간 예상 종양 부피 차이 1.72mg, 평균 편차 1로서,  $N = \frac{16}{0.05^2 \times 0.8} = 400$ 로써 유의수준 5%, 검정력 80%에서 가설입증을 위해 군 당 6두, 총 12두가 타당하며, 폐사율을 20%로 추정하여 총 15두가 필요하다. (참고논문: Nakamori M, Fu X, Pettaway CA, Zhang X, Potent antitumor activity after systemic delivery of a doubly fusogenic oncolytic herpes simplex virus against metastatic prostate cancer, Prostate 2004;60:53-60.)

Stenosis(%) 측정값의 표준편차를 5로 가정하고, Coated group과 control group간 stenosis(%)의 차이가 최소한 20 이상을 기대할 때, 비모수적 방법으로 검정 시 유의수준 5%, 검정력 80%하에서 각 군당 6마리가 필요하다.  
수술에 의해 혈관을 문합하는 돼지실험의 특성상 탈락율을 20%라고 가정하면 각 군당 8마리, 총 16마리가 필요하다.

# 사 례



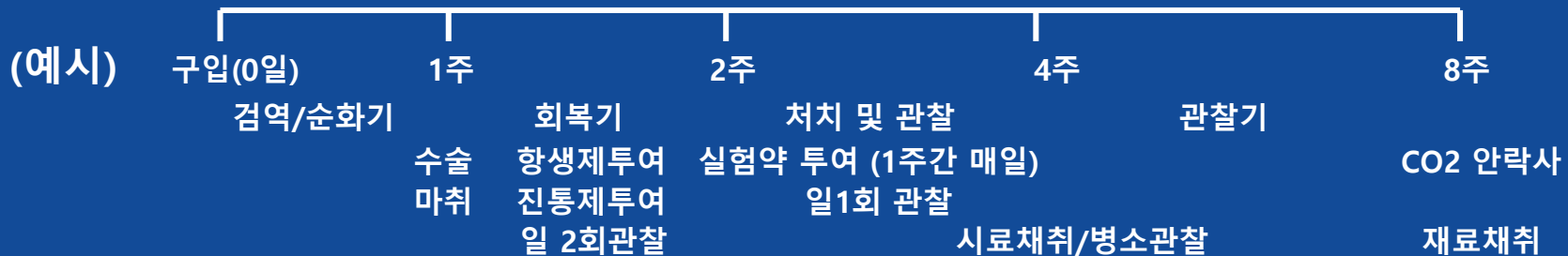
- ❖ 고지방식(약제로 변경)에 의해 유발된 비만 랫드와 당뇨 랫드에서 \*\*\*투여군과 대조군의 비교 검증을 위해 사용할 Student's t-test와 one-way ANOVA에서 유의수준 5% 이하에서 95% 이상의 검정력을 가지기 위해 **각 군당 최소 7마리와 10마리의 실험쥐**가 필요한 것으로 계산된다. 이전에 수행된 선행 연구에서 주요 결과 중의 하나인 혈당 수치가 낮아 저혈당 쇼크(shock)에 의해 사망하는 case가 발생하여 유의성을 검증하기 어려웠으며, 약제가 혼합된 식이 섭취기간 동안 발생할 수 있는 **급격한 체중 감소 및 사망 등에 의한 탈락의 가능성을 고려하여 각 군당 3마리와 5마리를 추가로 실험군에 포함시키고자 한다.**

# 실험 방법

- 실험방법 (프로토콜) 개요 (필요시 별지를 사용하여 구체적으로 기술하여 첨부 할 것)
  - 동물실험에 관한 내용 (시험물질, 대조물질, 투여경로, 투여량, 투여횟수, 투여기간 등)
  - 샘플 채취에 관한 내용 (혈액, 뇨, 조직 등)

※ 복수의 대규모 수술·실험을 시행하는 경우, 그 필요 사유 (단 원칙적으로 불허함)

- ❖ 동물의 구입(입수)과정부터 안락사까지의 모든 과정이 기술
- ❖ 실험별 처치 시기와 총 유지(생존)기간 확인이 가능하도록 실험방법을 기술
- ❖ 동물실험에서 실제 측정하는 변수들을 측정 시점과 함께 모두 기술



- ❖ 예상할 수 있는 모든 사항(그룹에 관한 설명, 관찰 항목 및 생존기간 등)에 대하여 상세히 기술
- ❖ 필요시, 실험 방법에 대해 기술된 문서 첨부(논문 첨부시 계획서에 해당 방법을 기술해야 함)

# 사 례

## 1. 식이 및 약물 투여

① 수컷 **ob/ob (C57BL/6J)(OLETF rat로 변경)** 쥐를 대상으로 1주간 검역 후 표준 식이를 1주간 공급한다. 무작위로 4군으로 나누어 해당 식이를 17(21일간으로 변경)일간 동일하게 공급한다. 총 4군은 다음과 같다: 1) 표준 식이 투여군 ( $n = 10$ ), 2) \*\*약제 (10 mg/kg/day) 함유 표준 식이 투여군 ( $n = 10$ ), 3) \*\*\*약제 함유 표준 식이 투여군 (10 mg/kg/day) 함유 표준 식이 투여군 ( $n = 10$ ), 4) 고지방식 식이(60% wt/wt fat) 투여군 ( $n = 10$ )으로 나눈다. 실험 기간 동안 매 2일 1회 체중, 식이 섭취량을 기록하며, 활동 양상 및 건강 상태 등 특이 사항을 모니터링하고 한다.

## 2. 경구 당부하 검사 (Oral glucose tolerance test; OGTT)

① 수컷 **OLETF rat**를 대상으로 OGTT는 해당 항생제가 포함된 식이를 공급한지 17일째에 실시한다. 12시간 동안 금식시킨 후 경구로 2g/kg의 포도당을 투여하고, 꼬리 미정맥혈에서 0, 15, 30, 60, 90, 120분에 휴대용 혈당 측정기(Glucocard X-Meter; Arkray, Kyoto, Japan)로 검사에 필요한 최소량의 혈액(1~2방울)을 이용하여 혈당을 측정하여, 각 시간별 혈당 값으로 area under the curve (AUC)를 구하여 비교한다. 필요시 nose cone으로 단시간 흡입마취를 실시한 후 채혈한다.

## 3. 혈액 및 조직 채취

혈액 및 조직 채취는 경구 당부하 검사가 끝난 후 1일간 안정화시켜서 수컷 **ob/ob (C57BL/6J)** 쥐는 20일째, 수컷 **C57BL/6J** 쥐는 21일째에 실시한다. 밤사이 금식시킨

(계속)

# 사 례



상태에서 **Nose cone**을 사용하여 흡입마취제(**isoflurane**)로 심마취하고, 마취 후 흉곽 절개하여 복부 대동맥에서 혈액을 모두 채취하여 안락사 한다. 채취한 혈액을 2시간 후 **2,000 ×g**에서 30분간 원심 분리 후 혈청을 **-80°C**에 보관한다. 안락사 한 쥐에서 간, 췌장 조직 등을 분리하여 정량 후 질소 용액으로 급속 냉동시켜 **-80°C**에 보관한다. 조직의 일부는 **10% formalin** 용액에 48 시간 이상 고정시킨 후 **histological analysis**에 사용한다.

## 4. Metabolic parameters 측정

혈청 글루코스 농도는 **glucose oxidase method**를 이용한 **kit (Sigma, St Louis, MO, USA)**을 이용하여 측정한다. 혈청 **adiponectin**과 **insulin**은 각각 **B-Bridge International (Mountain View, CA, USA)**과 **Crystal Chem (Downers Grove, IL, USA)**의 **enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit**을 사용하여 측정한다. 혈청 및 조직 내 중성지방과 콜레스테롤, **glycogen** 농도는 **Roche (Basel, Switzerland)**의 분석 **kit**으로 정량한다. 혈청 및 조직 내 **free fatty acids**는 역시 효소법을 이용한 **Wako Pure Chemical Industries (Osaka, Japan)**의 분석 **kit**을 사용하여 정량한다. 혈청 내의 내독소 농도는 **Limulus amoebocyte extract (LAL kit, Charles river, Wilmington, USA)**의 **kit**을 이용하여 측정한다.

## 5. Hematoxylin & eosin (H&E) 염색

채취한 조직의 일부를 조직학적 구조를 관찰하기 위해서 조직병리학적 검사방법인 **H&E** 염색을 한다. 병리용 현미경으로 관찰하고 부착된 디지털 카메라로 이미지를 획득한다.



### ● 인도적 종료시점 (해당 없음 □)

실험과정에 수반되는 동물에서 예상되는 잠재적인 불편, 동통, 통증 및 손상을 포함한 어떠한 임상 증상 또는 병변(예: 식욕부진, 파행, 무기력, 창상, 약물독성, 종양, 정상 호흡의 변화, 체중 변화 등)에 대하여 설명 또는 평가할 수 있는 항목(예: 체중/운동성 감소, 몸다듬기 불이행, 비정상적 자세, 핏거나 물어뜯음으로 인한 상처 등)을 제시하고 하고 관리 방안 및 언제 실험을 중단 하거나 동물을 안락사 할 것인지 기술

- ❖ 실험동물에게 극도의 통증 또는 스트레스를 가하는 결과가 예상되는 경우 동물실험의 윤리성과 동물실험결과의 신뢰성을 제고하기 위하여 치료 또는 허용 가능한 안락사를 통해 통증 유발 실험(시험)을 **조기에 종료할 수 있는 예측 가능한 비가역적 기준을 설정하는 것으로**, 연구목적에 영향을 주지 않으며, 통증과 고통이 시작되기 전에 종료하는 것이 가장 이상적
- ❖ 잘 알려져 있지 않은 병의 진행, 실험의 효과, 고통 유발의 경우 **pilot study**를 통하여 인도적인 실험 종료 기준을 정해야 함.
- ❖ '임상증상이나 행동 관찰'을 통하여 동물의 고통을 수치화하여 평가하는 방법 (**scoring system**)을 마련



내 용		점수	일자	일자
<b>체중 변화(사료와 음수 섭취 변화 포함)</b>				
0	정상			
1	10% 체중 감소			
2	10~15% 체중 감소			
3	20% 이상 체중 감소			
<b>Body Condition Score</b>				
0	BCS 3 이상			
1	BCS 2 ~ 3			
2	BSC 1 ~ 2			
3	BSC 1 미만			
<b>신체적 외관</b>				
0	정상			
1	털손질 감소			
2	거친 털, 눈/코 분비물			
3	매우 거친 털, 비정상적인 자세, 동공 커짐			
<b>측정 가능한 임상 증상</b>				
0	정상			
1	미미한 변화			
2	체온 1~2도 변화, 심박동과 호흡수가 30%까지 증가함			
3	체온 2도 이상 변화, 심박동과 호흡수가 50%까지 증가 또는 현저히 감소			

내 용				
<b>행 동</b>				
0	정상			
1	미미한 변화			
2	비정상, 감소된 움직임, 민첩함 감소, 활동 없음			
3	자가 상해, 쉬지 않고 움직이거나 움직임 전혀 없음			
<b>외부 자극에 대한 반응</b>				
0	정상			
1	약간 침울 또는 과장된 반응			
2	중등도의 이상 반응			
3	난폭한 반응 또는 혼수 상태			
<b>기타(연구자가 실험별 특이적으로 정한 기준)</b>				
0	정상			
1	종양크기 마우스 5mm, 랫드 10mm 초과			
2	종양크기 마우스 10mm, 랫드 20mm 초과			
3	종양크기 마우스 20mm, 랫드 40mm 초과 또는 종양의 궤양/괴사			
총 점수				

**예) 총 5점 이상 또는 한 가지 항목에서 3점인 경우, 안락사 실시**

# 기타 (연구자가 실험별 특성에 따라 정한 기준)

종양 실험		점수
0	정상	
1	종양크기 마우스 5mm, 랫드 10mm 초과	
2	종양크기 마우스 10mm, 랫드 20mm 초과	
3	종양크기 마우스 20mm, 랫드 40mm 초과 또는 종양의 궤양/괴사	

관절 실험		점수
0	정상	
1	부종	
2	심한 부종 및 움직임이 불편함	
3	관절 부위 변형 및 걷지 못함	

당뇨 실험		점수
0	정상	
1	혈당 200mg/dl 이상 300mg/dl 미만	
2	혈당 300mg/dl 이상 500mg/dl 미만	
3	혈당 500mg/dl 초과	

독성 실험		점수
0	정상	
1	혈청 내 간 효소 수치 25% 증가	
2	혈청 내 간 효소 수치 50% 증가	
3	혈청 내 간 효소 수치 2배 증가	

※ 죽음(death)을 독성실험을 위한 endpoint로 정하지 않아야 함

# 인도적 실험종료기준의 예 : 종양, 당뇨실험



1. Tumor size : 직경 1 cm(mice), 3cm(rat) 이상
2. **Weight loss / cachexia** : 성숙의 경우 15%이상의 체중 소실
3. Interference with a vital physiological function. : respiration, mastication, swallowing, urination, defecation or locomotion sufficient to obtain food and water when supplied on the cage floor.
4. Ulceration, necrosis or infection of tumors

## Streptozotocin-induced diabetes mellitus

- hyperglycemic with associated polyuria and polydipsia
- severe weight loss
- "pot-belly", muscular weakness, dehydration
- 일주일에 한번은 반드시 체중 감시
- **acceptable blood glucose (BG) 농도 기록 : 범위 밖의 경우 대책 계획서 기술**



# Qualitative Score Sheet System (Morton 2000)

- Injection of Wistar Rats with Experimental Drug X -

Rat #: 555

Date: 1/1/10

present (+), absent (-) or unsure (+/-)

Date	1/1/10	1/2/10	1/3/10	1/4/10	1/5/10	1/5/10
Day	0	1	2	3	4	4
Time	8:00 AM	8:15 AM	7:50 AM	8:10 AM	8:05 AM	11:15 AM
Body Weight & % Change	204g (0%)	209g (+2%)	203g (0%)	192g (-6%)	170g (-17%)	168g (-18%)
Body Temp	37.4 C	37.5 C	37.4 C	37.6 C	35.4 C	34.2 C
Hunched Posture		-	+/-	+	+	+
Isolation		-	-	-	+	+
Not alert/inquisitive		-	-	-	+	+
Porphyrin Staining		-	-	-	-	+
Ruffled Coat		-	-	+/-	+	+
Distended Abdomen		-	-	-	-	-

- Rat# 555의 신체상태 점점 악화되어 모니터링 빈도수 증가 → 인도적인 실험종료
- 종료기준 : 체중 20%이상 감소 or 3°C 이상의 체온 변화 or 5개의 plus(+) signs
- 동물의 복지를 위해 실험동물은 적어도 매일 1회 이상 관찰할 것은 권고 (NRC, 2010)



# 사 례



## 내용

### 체중 변화(사료와 음수 섭취 변화 포함)

- 0 정상
- 1 10% 체중 감소
- 2 10~16% 체중 감소
- 3 20% 이상 체중 감소

### Body Condition Score

- 0 BCS 3 이상
- 1 BCS 2 ~ 3
- 2 BSC 1 ~ 2
- 3 BSC 1 미만

### 신체적 외관

- 0 정상
- 1 털손질 감소
- 2 거친 털, 눈/코 분비물
- 3 매우 거친 털, 비정상적인 자세, 동공 커짐

## 점수

### 측정 가능한 임상 증상

- 0 정상
- 1 미미한 변화
- 2 체온 1~2도 변화, 심박동과 호흡수가 30%까지 증가함
- 3 체온 2도 이상 변화, 심박동과 호흡수가 60%까지 증가 또는 현저히 감소

### 행 동

- 0 정상
- 1 미미한 변화
- 2 비정상, 감소된 움직임, 민첩함 감소, 활동 없음
- 3 자가 살해, 쉬지 않고 움직이거나 움직임 전혀 없음

### 외부 자극에 대한 반응

- 0 정상
- 1 약간 침울 또는 파장된 반응
- 2 중증도의 이상 반응
- 3 난폭한 반응 또는 혼수 상태

### 기타(연구자가 실험별 특이적으로 정한 기준)

- 0
- 1
- 2
- 3

### 총 점수

6

인도적 실험종료  
또는 안락사 기준

1)

작성Guide

\* 총 6이상 또는 한 가지 항목에서 3점인 경우, 안락사 실시  
\* 관찰자 : C  
\* 관찰횟수 : 1회/일

## [인도적 실험종료시점 판정을 위한 평가표]


이화 IACUC에서는 동물실험 중 관찰되는 동물의 임상증상에 대하여 아래 평가 항목별 점수 합계가 6점 이상 또는 한 가지 항목에서 3점에 해당될 경우 시설 전임수의사에게 동물의 건강상태를 확인한 후 인도적인 관점에서 신속히 안락사를 시행할 것을 권장하고 있습니다.

평가 항목		점수
체중 변화		
0	정상	
1	10% 체중 감소	
2	10~15% 체중 감소	
3	20% 이상 체중 감소	
Body Condition Score (1~5)		
0	BCS 3 이상	
1	BCS 2 ~ 3	
2	BSC 1 ~ 2	
3	BSC 1 미만	
신체적 외관		
0	정상	
1	털 손실 감소	
2	거친 털, 눈/코 분비물, 체온 1~2℃ 변화	
3	매우 거친 털, 비정상적인 자세, 동공 커짐, 체온 2℃ 이상 변화	
외부 자극에 대한 반응		
0	정상	
1	약간 침울 또는 과장된 반응	
2	중등도의 이상 반응	
3	난폭한 반응 또는 혼수상태	
행 동		
0	정상	
1	미미한 변화	
2	비정상, 감소된 움직임, 민첩함 감소, 활동 없음	
3	자가 상해, 쉬지 않고 움직이거나 움직임 전혀 없음	
합 계		


상기 평가표 외 실험 중 동물이 빈사상태 (Moribund Condition: 동물이 죽어가는 상태)에 도달했음에도 불구하고 실험을 종료하지 못할 경우 반드시 시설 전임수의사와 소속 IACUC로부터 실험수행의 불가피성에 대하여 사전 승인을 받아야만 합니다.

### [빈사상태의 동물에서 관찰되는 설치류 임상증상]


- 외부자극에 반응이 없으며 움직임 없음. 사료/음수에 접근 X
- 뒷발로 기립 불가능
- 8시간 이상 웅크린 자세
- 힘든 호흡과 청색증 (피부와 점막이 파란색)
- 탈수증상을 보이거나 48시간 이상 섭식 감소
- 근위축 및 활동이 없음. 기면상태 지속
- 급격한 체중 감소 (일주일 내 체중의 20% 이상 감소, BCS 1이하)
- 48시간 이상 설사 또는 변비
- 체공 (비공, 귀, 항문, 생식기 등)을 통한 지속적인 출혈 발생
- 자해 (신체 절단 등)




**BC 1**  
Mouse is emaciated.  
• Skeletal structure extremely prominent; little or no flesh cover.  
• Vertebrae distinctly segmented.  
척추와 골반 구조가 현저하게 드러나며, 근육/지방이 거의 없음




**BC 4**  
Mouse is overconditioned.  
• Spine is a continuous column.  
• Vertebrae palpable only with firm pressure.  
척추와 골반이 드러나지 않으며, 강한 압력으로만 만져짐



**BC 2**  
Mouse is underconditioned.  
• Segmentation of vertebral column evident.  
• Dorsal pelvic bones are readily palpable.  
척추의 골반이 뚜렷하며, 높은 골반뼈가 쉽게 만져짐



**BC 5**  
Mouse is obese.  
• Mouse is smooth and humpy.  
• Bone structure disappears under flesh and subcutaneous fat.  
비만상태로서 척추뼈를 만져볼 수 없음



**BC 3**  
Mouse is well-conditioned.  
• Vertebrae and dorsal pelvis not prominent; palpable with slight pressure.  
척추와 골반이 드러나지 않으며, 가벼운 압력으로 만져짐

A "+" or a "-" can be added to the body condition score if additional increments are necessary (i.e. ...2+, 2-, 3+...)

# 사 례

## 8. 인도적 종료시점 (해당 없음 □)

실험과정에 수반되는 동물에서 예상되는 잠재적인 불편, 통증, 흥분 및 손상을 포함한 어떠한 임상 증상 또는 병변(예: 식욕부진, 파행, 무기력, 창상, 악물특성, 종양, 정상 호흡의 변화, 체중변화 등)에 대하여 설명 또는 평가할 수 있는 항목(예: 체중/운동성 감소, 몸다듬기 불이행, 비정상적 자세, 핏거나 물어뜯음으로 인한 상처 등)을 제시하고 하고 관리 방안 및 언제 실험을 중단하거나 동물을 안락사 할 것인지 기술

- 약물 투여 부위의 염증 및 염증성 삼출물 관찰 경우
  - 동물이 웅크리고 있거나 움직이지 못해진 모습이 1일 이상 관찰될 경우
- 이러한 경우 toe pinch에 반사 실조 경우 즉시 동물을 안락사 예정

동물의 임상 증상이나 행동을 정기적으로 관찰하여, 고통을 수치화 하여 아래와 같이 인도적인 종료 기준을 정함.

(관찰주기: 매일(이상 감지 시 2회), 담당자: 김○○○)

Scoring system (※ total score 6 이상 또는 한 가지 항목에서 3인 경우, 안락사 실시)

내용	Score					
	월	일	월	일	월	일
체중 변화						
0 정상						

1	10% 체중 감소					
2	10~15% 체중 감소					
3	20% 이상 체중 감소					

### 신체적 외관

0	정상					
1	털 손질 감소					
2	거친 털, 눈/코 분비물					
3	매우 거친 털, 비정상적인 자세, 동공 커짐					

### 행 동

0	정상					
1	미미한 변화					
2	비정상, 감소된 움직임, 민첩함 감소, 활동 없음					
3	자가 상해, 쉬지 않고 움직이거나 움직임 전혀 없음					

### 외부 자극에 대한 반응

0	정상					
1	약간 침을 또는 과장된 반응					
2	중등도의 이상 반응					
3	난폭한 반응 또는 혼수 상태					
합 계						

# 사 례



## ▶ 실험 종료 방법 및 실험동물의 인도적 처리기준

일주일 2회씩 정기적으로 6가지 항목 (첨부자료: 인도적 실험종료 또는 안락사 기준 scoring table)에 대한 score를 매긴다. 한 항목 이상에서 3점이 나오거나, 6가지 항목의 점수를 합산하였을 때 5점 이상이 나올 경우 인도적 차원에서 인도적 차원에서 해당 동물을 N센터 설치류 사육실에 설치가 되어있는 설치류 전용 이산화 탄소 가스 চে임버에서 sacrifice 시킨다. 이산화 탄소를 낮은 농도로 분사 시킨 후 점차 농도를 올리는 방법으로 동물이 최대한 고통을 받지 않도록 안락사를 시킨다. 이후 흉곽의 움직임이 없는것을 확인 한 후 1분정도 더 이산화 탄소를 노출 시켜준 후 동물의 심 정지를 확인한다. 사체는 영하 20도의 냉동고에 보관하고 정해진 시일에 소각을 진행하여 사체를 처리한다.

실험의 인도적 종료시점(Humane endpoint)이 실험적 처치에 의한 실험동물의 죽음으로 설정되어 있는지에 대하여 설명 또는 평가할 수 있는

① 항목을 제시하고 관리 방안 및 언제 실험을 중단하거나 안락사할 것인지에 대해 기술하시오.

- [Scoring Sheet \(예시\)보기](#)

## 인도적인 실험 종료의 기준 (\*만약 인도적인 안락사 기준이 필요 없을 시라도 그 사유에 대하여 기술해 주십시오.)

1. 종양이 일정크기 (10mm)이상 자란 경우
2. 정상 신체 기능 방해 및 통증의 유발
3. 정상 동물 체중 대비 20%감소시
4. 종양부위 궤양 및 감염



# 폐사가 종료기준에 포함된 과제의 경우 고려사항



1. 대체할 수 있는 종료기준이 무엇인가? 왜 폐사를 종료기준으로 설정하였는가?
2. 폐사를 대체할 수 있는 종료기준에 대하여 수의사(AV)의 자문을 구하였는가?
3. 이환율(morbidity)을 종료기준으로 사용하지 않는 이유는?
4. 빈사와 폐사 기간 사이에 확보할 수 있는 과학적, 추가적 정보는 무엇이며 폐사전 빈사상태에서 안락사를 실시할 때 목적인 연구결과에 어떤 장애를 초래하는가?
5. 통증경감방법을 사용하지 않는 이유는?
6. 사용되는 동물수가 최소한으로 필요한 마리수임을 설명
  - ❖ 대체시험법 관련자료 (OECD가이드라인, 국내 식약처규정)



## - 인도적인 실험종료 기준 설정을 위한 국제적 원칙 -

- 폐사와 심한 통증 및 고통을 종료기준으로 사용하지 않음
- 과학적 목적에 부합하는 가장 조기에 적용할 수 있는 종료기준 사용
- 실험동물이 경험하는 통증과 고통은 최소화하고 연구목적에는 부합하도록 실험을 설계
- 통증과 고통을 야기하는 연구의 실험기간은 최소화
- 예비실험을 실시하여 earlier endpoint 기준 설정 : morbidity, time course of events, frequency of observations 확인 (biomarker)
- 종료기준을 관찰하고 적용해야 한다고 판단할 수 있는 담당자 지정

# 동물실험 대체 고려 (불필요한 중복실험에 관한 고려)

Replacement

Redundancy  
avoidance

동물실험을 대체할 수 있는 방법의 유무

- 검토하였으나, 동물실험을 대체할 수 있는 방법이 없었다.
- 검토하였으나, 대체수단으로는 연구목적에 충분히 달성하기가 어려웠다.

검색사이트 □ PubMed □ AWIC □ 한국학술정보 □ 기타 (    )

키워드 (적어도 3개 이상 기입함)

❖ 검색기간 : 3~6개월(최신 검색 정보 제공 의무)

❖ 키워드

Alternative : "simulation", "model", "in vitro"

Refinements or humane endpoints : "severity", "assessment", "refine", "refinement",  
"analgesia", "pain", "distress", "humane endpoints"

❖ DB-ALM, AnimALT-ZEBET, MEDLINE(PubMed), EMBASE

❖ Animal Welfare Information Center(AWIC): <http://www.nal.usda.gov/awic/>

❖ PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>

❖ Altweb: <http://altweb.jhsph.edu/>

❖ American Association for Laboratory Animal Science's Commed list-serve and archives: <http://www.aalas.org/>

# 동물실험 대체 고려 (불필요한 중복실험에 관한 고려)

Replacement

Redundancy  
avoidance



- 완전한 대체방안 (**Absolute replacement**)
  - ✓ 무생물 시스템 : 기계모델, 화학 기술 이용
  - ✓ 컴퓨터 시뮬레이션 : 안전성 평가 또는 교육에서는 활용도가 높으나, 연구 분야에는 사용에 제약 존재
- 상대적 대체방안 (**Relative replacement**)
  - ✓ 생물 시스템 : 미생물, 식물을 이용, 또는 계통 발생학적으로 낮은 등급의 종(곤충 등 무척추 동물)을 사용하거나, 세포배양이나 조직배양 등의 **in vitro** 기술을 이용

# 동물실험 대체 고려 (불필요한 중복실험에 관한 고려)



Topics

Publications

Collections

Data

Services

About

Animal Welfare Information Center

Search AWIC



[Home](#) » [Information Centers](#) » [Animal Welfare Information Center](#) » [3Rs Alternatives: Technologies, and Approaches](#) » [Non-Animal Methods](#)

## Non-Animal Methods

[Waiving In Vivo Studies in the Development of Monoclonal Antibody Biosimilar Products](#)

*National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research.*

This provides a discussion on the approach for toxicological assessment of monoclonal antibody biosimilars.

[Safety and Efficacy of Drug Therapy in Human Heart](#)

*University of Oxford, Computational Cardiovascular Science.*

A Systems Medicine approach to the investigation of drug-induced effects on the human heart using computational modelling and simulation combined with experimental and clinical investigation.

[Data-driven Modelling and Simulation in Cardiovascular Research](#)

*University of Oxford, Computational Cardiovascular Science.*

Computational modelling tools that fully analyze experimental and clinical findings that enables the investigation of cellular processes and cardiac arrhythmias.

[Development and Use Of In Vitro Alternatives to Animal Testing by the Pharmaceutical Industry 1980-2013](#) ( PDF | 3513 )

*Royal Society of Chemistry.*

A summary of trends in development and adoption of in vitro alternatives to animal testing in pharmaceutical drug development.

[Hepatic Microfluidic Bioreactor](#)

*European Commission and European Cosmetics Association*

A collaborative project that aims to develop a 2D-bioreactor and a 3D liver-simulating device that mimics the human liver that can provide clinically relevant information on drug and chemical clearance

About AWIC



Laws and Guidelines



Training



Alternatives Literature Searching



3Rs Alternatives: Technologies, and Approaches



Alternatives in Education: Veterinary Medicine

Experimental Design

Funding Opportunities

Mandatory and Regulatory Testing



Non-Animal Methods



Research

Teaching



Toxicology

Reducing Pain and Distress



Selected Refined Procedures





## Terminology for Refinement and Reduction Alternatives

- analgesic or analgesia or pain reduction
- anesthetic or anasthetic or anaesthetic
- animal welfare or well-being
- **animal model**
- assay or technique or method or procedure
- biomarker or biological marker
- **environmental enrichment**
- euthanasia
- experimental or statistical design (pilot study, variation, sample size, etc.)
- **humane endpoint**
- humane handling or humane restraint or humane treatment
- husbandry, or housing, or handling or caging
- Imaging, monitoring device or telemetry device
- non-invasive
- **pain or stress or distress**
- positive reinforcement or animal training
- reduce or reduction or refinement



## Terminology for Replacement Alternatives

- ❖ **Animal testing alternative** or animal use alternative or alternative (useful primarily in toxicology and education)
- ❖ Cadaver or carcass, Cell culture, cell line
- ❖ Computer aided instruction, computer assisted instruction
- ❖ Computer (simulation or application)
- ❖ Digital imaging, In silico, Interactive
- ❖ Isolated (cell, tissue, organ)
- ❖ Mannequin, manikin or model (non-animal)
- ❖ Mathematical (biology or model or simulation)
- ❖ **Model (animal, cadaveric, interactive, mathematical, statistical, theoretical), modeling (US spelling or modelling (UK spelling)**
- ❖ Non-animal model, **Organ-on-a-Chip**
- ❖ Plastinate or plastination, Replacement alternatives
- ❖ Simulation or simulator or trainer
- ❖ Software, Structure evaluated system, Tissue culture or organ culture
- ❖ Tissue engineering, Video (disc, display), Virtual (reality), Vitro



# Worksheet: Alternatives Literature Searching

USDA, ARS, NAL,  
Animal Welfare Information Center (AWIC)  
Updated May 2015

This worksheet is designed to assist researchers, information specialists, and IACUC members, when conducting literature searches to determine if **alternatives exist and to determine whether the protocol unnecessarily duplicates previous research**. When searching for alternatives, the Animal Welfare Information Center (AWIC) refers to the 3Rs of W.M.S. Russell and R.L. Burch (1959) in their book *The Principles of Humane Experimental Technique*. The 3Rs are **reduction** in the number of animals used, **refinement** of techniques and procedures that reduce pain or distress, and **replacement** of animals with non-animal techniques.

AWIC takes a two phase approach to searching, which addresses both unnecessary duplication and alternatives (see *worksheet instructions for more details*). The worksheet addresses concepts and terminology that an information provider or researcher would need in order to retrieve keywords and research methods and procedures from the protocol, develop a search strategy and run a multi-database literature search for alternatives.

1. **Principal Investigator:** \_\_\_\_\_  
**Phone number:** \_\_\_\_\_  
**Email address:** \_\_\_\_\_
2. **Title of Animal Study Protocol:** \_\_\_\_\_
3. **General area of study:** (e.g., drug testing, cardiology, toxicology, fetal alcohol syndrome, lipid metabolism, etc.) \_\_\_\_\_
4. **Type of protocol:** Is the proposed study a research, teaching, or testing protocol? \_\_\_\_\_
5. **Proposed animal species:** (e.g., swine, rats, dogs, primates, etc.) \_\_\_\_\_
6. **Describe your experimental protocol including objectives and endpoints:** \_\_\_\_\_
7. **Identify the systems or anatomy involved in the study** (e.g., lung, central nervous system, kidney, etc.) \_\_\_\_\_
8. **List any drugs or compounds used in procedures.** (e.g., anesthetics, analgesics, test compounds, etc.) \_\_\_\_\_
9. **Describe the methods and procedures using animals and the relevance to the study, paying particular attention to those procedures that may cause pain or distress to the animal.** \_\_\_\_\_

10. **List any potential alternatives (3Rs of Reduction, Refinement and Replacement).** (e.g., alternate models, modified techniques, housing modifications, modified restraint, in vitro methods, computer simulations, etc.) \_\_\_\_\_
11. **List key keywords/concepts using terminology from your responses to questions above. Keeping your concepts separately will assist you in creating a good search strategy:**  
e.g. Keywords of concept 1 - *heart or cardiac or cardiovascular disease*  
(include synonymous terms)  
  
Keywords of concept 2 - *atherosclerosis or arterial plaques*  
(include synonymous terms)

12. **Database selection:** (Choose those that are appropriate for the area of study):

<input type="checkbox"/>	Medline	<input type="checkbox"/>	Embase	<input type="checkbox"/>	Biosis
<input type="checkbox"/>	Agricola	<input type="checkbox"/>	CAB	<input type="checkbox"/>	NTIS
<input type="checkbox"/>	TOXNET	<input type="checkbox"/>	FEDRIP	<input type="checkbox"/>	Other (write below)

---

---

13. **Database year(s) of coverage:** \_\_\_\_\_ to \_\_\_\_\_
14. **List any other methods used to determine that alternatives are/are not available:** This should be secondary to the literature search, and it may be useful to support or rebuke potential alternatives found in the search. Examples of other sources are: conference attendance, committee membership, professional expertise, training, etc.

For additional information on completing this form contact your information specialist, librarian, veterinarian, or the AWIC web site at <http://awic.nal.usda.gov/alternatives> where you can find sample searches, methods and guidelines, training and education, databases, organizations, and other resources that can assist in understanding alternatives, finding alternatives and completing the alternatives search.

Other resources:

**AC Policy 12: Consideration of Alternatives to Painful/Distressful Procedures –**  
<http://awic.nal.usda.gov/usda-animal-care-policy-12>

**AWIC Tips for Searching for Alternatives to Animal Research and Testing**  
<http://awic.nal.usda.gov/awic-tips-searching-alternatives-animal-research-and-testing-0>

**The Principles of Humane Experimental Technique**  
[http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane\\_exp/het-toc](http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc)



United States Department of Agriculture



United States Department of Agriculture

# 작성 사례



## Keywords

ImmunoPET Zr-89 ATP synthase Angiogenesis Biodistribution \* 적어도 5개 이상 기입

## 동물실험 대체법과 불필요한 동물실험의 금지

정보 확인처 또는  
데이터 베이스

(1) Nuclear Medicine and Biology. 2011 Jul;38 (5):675-81.  
(2) Journal of Nuclear Medicine. 1997 Jan;38 (1):112-8.

사유

본 연구는 새로 개발한 방사성의약품의 체내 분포를 평가하는 전임상 실험으로서, 소동물을 이용한 약제의 장기 분포와 영상 촬영이 표준 연구법으로 받아들여지고 있으며, 대체할 만한 실험법이 없습니다.

Referance 명

(1) In vivo biodistribution and accumulation of  $^{89}\text{Zr}$  in mice / (2) Zirconium-labeled monoclonal antibodies and their dis

URL

(1) [http://www.nucmedbio.com/article/S0969-8051\(10\)00521-4/fulltext/](http://www.nucmedbio.com/article/S0969-8051(10)00521-4/fulltext/) (2)



# 사 례

## Keywords

cisplatin gentamicin noise cochlear hearing loss • 적어도 5개 이상 기입

## 동물실험 대체법과 불필요한 동물실험의 금지

정보 확인처 또는

1. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691513005243> /  
Red ginseng protects against gentamicin-induced balance dysfunction and hearing loss in rats through antiapoptotic functions of ginsenoside Rb1 /

Gentamicin에 의한 hair cell damage와 cell loss가 일어날 때의 세포 사멸 기전을 관찰하려 함.

2. <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jst/17/4/1741> /  
Cisplatin Ototoxicity and Protection by Red Ginseng /  
Cisplatin에 의한 hair cell damage와 cell loss가 일어날 때의 세포 사멸 기전을 관찰하려 함.

3. <http://www.noiseandhealth.com/article/view/1741>;year=2012;volume=14;issue=4 /

### 데이터 베이스

Noise-induced hearing loss /  
Noise에 의한 hair cell damage와 cell loss가 일어날 수 있음을 확인 할 수 있는 사실을 기반으로 하여 cell loss가 일어날 때의 세포 사멸 기전을 관찰하려 함.

4. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0136051> /  
NaHS Protects Cochlear Hair Cells from Gentamicin-Induced Ototoxicity by Inhibiting the Mitochondrial Apoptosis Pathway /  
달팽이관을 이용한 Ex vivo 실험으로 cochlear Explant Culture 실험에서 Gentamicin에 의한 hair cell damage와 cell loss가 일어날 수 있음을 확인 할 수 있는 사실을 기반으로 하여 cell loss를 관찰하려 함.

5. <http://www.jbc.org/content/287/22/18674.full> /  
Cisplatin-induced Ototoxicity Is Mediated by Nitroxidative Modification of Cochlear Proteins Characterized by Nitration of Lmo4 /  
달팽이관을 이용한 Ex vivo 실험으로 cochlear Explant Culture 실험에서 Cisplatin에 의한 hair cell damage와 cell loss가 일어날 수 있음을 확인 할 수 있는 사실을 기반으로 하여 cell loss를 관찰하려 함.

사유

Reference 명

Red ginseng protects against gentamicin-induced balance dysfunction and hearing loss in rats through antiapoptotic functions

URL

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691513005243>

# 해당 동물종·품종의 선택 사유

Reduction  
Refinement



## ● 동물 사용에 관한 정당성 및 동물 수에 대한 타당성

- 이 연구 프로젝트에서 살아있는 척추동물을 사용하는 이론적 근거 기술
- 각각의 동물종을 선택한 이유를 기술 (구입비용 단독으로는 선정이유가 될 수 없음)

- ❖ 해당 동물종(**species**)과 품종(**strain**)을 선택한 합리적 이유(연구의 생물학적 연관성을 참고문헌이나 예비실험을 통해 제시)
- ❖ FDA 골다공증치료제 임상시험 평가지침 : 동물의 종들이 사람의 골다공증의 특성을 모두 가지고 있는 것은 아니기 때문에, 이러한 적응증을 위한 의약품의 효능 및 안전성을 적절히 심사하기 위해서는 두 가지 종(specie)에서 골밀도를 실험하는 것이 필요
  1. 난소를 적출한 랫드
  2. 비설치류
- ❖ AAMI(Association for the Advancement of Medical Instrumentation) 피부 자극성 표준 시험 : 초기 실험을 위해 3마리의 건강한 알비노 토끼를 사용
- ❖ 특정 유형의 제품이나 기기에 요구되는 실험데이터에 아직 익숙하지 않은 개인은 동물 연구를 시작하기 전에 관련 규제기관에 문의

# 사 례



## 동물 종 선택의 적절성

Mouse(C57BL/6)

## 사유

참고논문에서 수면무호흡(코골이)을 연구하기 위해 적용되었던 동물 종으로, 실험 목적에 도달하기 위해 조 작이 비교적 간단하고 기전을 밝히기 용이한 Mouse(C57BL/6)를 대상으로 실험 진행함.

## Referance 명

Intermittent hypoxia- induced changes in tumor-associated macrophages and tumor maligna ncy in a mouse model of sleep apn

## URL

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=PMC3977714>

## 동물 종 선택의 적절성

사람의 갱년기를 대변할 수 있는 가장 작은 포유 동물인 마우스를 선택함. (Ovariectomized rats as a mod el of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. Arthritis Res Ther. 2004; 6(2): R169 - R180. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC400436/>)

## 사유

사람의 갱년기를 대변할 수 있는 가장 작은 포유 동물인 마우스를 선택함

## Referance 명

Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. Arthritis Res Ther. 2004; 6

## URL

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC400436/>

# 사 례

국문 : SD Rat 동물모델에서 Gentamicin 근육 주사, Cisplatin 복강 주사, 소음 노출을 통한 와우 내 청각유모세포의 사멸기전에 관한 연구

1. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/07420528.2015.1082483/>  
Gentamicin-induced ototoxicity and nephrotoxicity vary with circadian time of treatment and entail separate mechanisms /  
Gentamicin induced ototoxicity가 Sprague-Dawley rats에서 발생한다는 것을 확인 할 수 있으며, 실험 계획 중 달팽이관을 H&E staining을 하여 관찰 해야 하므로 mouse보다 Rat이 적합한 것으로 판단하여 Sprague-Dawley rats으로 선정하였음.
2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2639998/> / 2006 Aug; 26 (4): 198 - 207.  
Protection against cisplatin ototoxicity in a Sprague-Dawley rat animal model /  
Cisplatin induced ototoxicity가 Sprague-Dawley rats에서 발생한다는 것을 확인 할 수 있음.
3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2639963/> / 2006 Jun; 26 (3): 133 - 139. /  
Noise-induced hearing loss: a study on the pharmacological protection in the Sprague Dawley rat with N-acetyl-cysteine /  
Noise에 의해 유발된 소음성 난청이 Sprague-Dawley rats에서 발생한다는 것을 확인 할 수 있음.
4. <https://www.nature.com/articles/srep08181#methods/>  
Adjudin protects rodent cochlear hair cells against gentamicin ototoxicity via the SIRT3-ROS pathway /  
Sprague-Dawley rats의 달팽이관을 추출하여 배양함으로써 Gentamicin induced ototoxicity가 발생한다는 것을 확인 할 수 있으며, Mouse 의 달팽이관의 경우 크기가 작아 배양하는 데 어려움이 있어 Rat으로 선정하였음.
5. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595511002012?via%3Dihub/>  
Cisplatin ototoxicity in rat cochlear organotypic cultures /  
Sprague-Dawley rats의 달팽이관을 추출하여 배양함으로써 Cisplatin induced ototoxicity가 발생한다는 것을 확인 할 수 있으며, Mouse 의 달팽이관의 경우 크기가 작아 배양하는 데 어려움이 있어 Rat으로 선정하였음.

# 사 례



- ❖ **monoclonal antibody protocol**(<http://www.cshlpress.com/pdf/sample/2013/Antibodies2/AB2Intro7Part1.pdf>, Generating Monoclonal Antibodies; 단일항체 제조법) 본문에 있듯 myeloma cell의 source가 balb/c이므로 balb/c strain을 사용하여 실험을 진행해야 하며, ascite 제작시에는 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142735.im0206s40/pdf>에 따라 **balb/c nude mouse**를 사용한다.
- ❖ <http://www.nature.com/gene/journal/v7/n2/full/6364286a.html/Reference> 명: Genomic view of systemic autoimmunity in MRLlpr mice/ 사유: 본 논문의 abstract에 잘 설명되어 있음. **MRL/lpr** 마우스는 인간의 루푸스 질환과 매우 흡사한 특징을 나타내는 자연발생모델로 가장 대표적으로 사용되는 동물 모델임.
- ❖ 참고문헌 : Identification of a Human SCARB2 Region That Is Important for Enterovirus 71 Binding and Infection(<http://jvi.asm.org/content/85/10/4937.long>), C57BL/6J mice에는 (수족구)infection이 되지 않는데 hSCARB2-Tg mice에서는 virus infection이 일어남.

# 동물의 사양과 품질

Reduction  
Refinement

## ● 실험동물의 미생물학적 품질 기준

실험 동물	동물종류	<input type="checkbox"/> 마우스 <input type="checkbox"/> 랫드 <input type="checkbox"/> 토끼 <input type="checkbox"/> 기니피그 기타 ( )	미생물학적 등급	<input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> 준SPF(Clean) <input type="checkbox"/> 일반(Conv.) <input type="checkbox"/> 기타( )
	사육 희망 장소			<input type="checkbox"/> barrier구역 <input type="checkbox"/> Semi-barrier구역 <input type="checkbox"/> 일반구역
	계 동		반입 예정일	년 월 일
	성별/수량	♂:      ♀:	동물 구입처	※식품의약품안전처에 등록된 실험동물공급업체이어야 합니다.
	체중/주령	gram/      주령		

분 류	정 의 (미생물 상태)	유 지
무균동물 (Germ free)	검출할 수 있는 모든 미생물·기생충이 없는 동물 (검출 가능한 미생물 부재)	아이솔레이터 Isolator
노토바이오프 (Gnotobiotics)	보유하고 있는 미생물 총이 알려져 있는 동물 (보유 미생물 명확)	아이솔레이터 Isolator
SPF 동물 (Specific pathogen free)	특별히 지정된 미생물·기생충이 없는 동물 (부재 미생물 명확)	배리어 시스템 Barrier system
일반동물 (Conventional)	미생물컨트롤이 전혀 되지 않은 동물 (미생물 상태 불명)	Conventional room



C	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ 척추동물을 대상으로 단시간의 경미한 통증 또는 스트레스가 가해지는 실험</li> <li>• 단시간의 행동시험(미로찾기), 방사선 촬영, 혈압측정, 일회성의 투여 및 채혈</li> <li>• 감염실험 후 임상증상 발현 전 안락사, 심마취 상태에서 실시하는 비생존 실험</li> </ul>
D	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ 척추동물을 대상으로 중등도 이상의 고통이나 억압을 동반하는 실험으로 이 분류에 해당되는 실험에서는 고통을 줄여주는 약물(진정, 진통, 마취)을 처치</li> <li>• 전신마취 후 실시되는 실험동물의 외과적 처치, 등도의 운동부하, 반복 정맥채혈</li> <li>• 양성종양 또는 전이단계 전에 종료되는 악성종양의 유발(종양의 부피가 1cm<sup>3</sup> 이하)</li> </ul>
E	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ 척추동물을 대상으로 극심한 고통이나 억압 또는 회피할 수 없는 스트레스를 동반하는 실험(연구목적상 진통제를 사용하지 않는 타당한 과학적 사유를 IACUC에 소명)</li> <li>❖ 인도적 실험종료 기준의 설정이 특히 중요</li> <li>• 마취가 적용된 외과적 처치라도 수술 후 지속적인 통증 유발 또는 기능 장애 초래</li> <li>• 골수기능을 완전 상실시킨 방사선 조사, 전이성 악성종양(종양부피 1cm<sup>3</sup> 초과)</li> <li>• 중등도 이상의 공포감, 스트레스를 줄 수 있는 행동검사(장시간 수영, water maze)</li> </ul>



# 통증관리의 중요성

Refinement

진통제가 실험에  
미치는 영향

>?  
<?

통증에 의한  
동물의 생리적,  
심리적 변화

통증에 의한 동물의 신체변화로 실험에 미치는 영향이 더욱 크다면  
진통제 사용을 적극 고려(필요 시 선제적으로 사용)

- IACUC는 모든 실험계획서 대해 통증을 최소화하거나 방지하도록 실험을 디자인(Humane endpoint 설정 포함)했는지 그리고 적절한 대체 방법을 고려했는지 연구자에게 확인
- IACUC는 동물 종에 맞게 정기적으로 적절하게 통증유무를 관찰하고 있는지 확인

통증을 유발하는 실험에서  
진통제를 사용하지 않을 경우는?

- 연구자는 진통제를 사용하지 않는 이유를 실험 데이터 또는 참고 자료 등에 근거하여 명확하게 제시하여 정당성 확보
- “진통제가 유용한 데이터를 수집하는데 방해가 될 것이다.”라는 말은 맞을 수 있지만, IACUC는 이러한 진술을 심사숙고

실험중 완화되지 않은 통증은?

- 연구 결과가 동물의 통증보다 더 중요한지 고려
- 진통, 진정제나 마취제를 사용하더라도 과학적인 목적을 달성할 수 있는지 검토
  - 조기에 적용할 수 있는 보다 많은 인도적인 종료기준을 확보하는 것이 중요



# IACUC 심의 사례(USA)

❖ 개를 마취시키고 수술 준비를 끝냈다. 다음에 PI가 안전하다고 판단했던 투여량이 실제로 문제를 유발할 가능성이 있음을 파악했다. 투여량을 줄이면 이 문제를 쉽게 해결할 수 있다. 이런 경우에 PI가 조치를 취하고 IACUC에 통보해야 하는가, 아니면 연구를 중단하고 IACUC의 승인부터 받아야 하는가?

기준: AWAR(§2.31,c,7)과 PHS 정책(IV,B,7)은 동물 실험 계획서의 중대한 변경을 IACUC가 심의하고 승인한 다음에 변경 절차에 따라 진행하도록 요구한다. APHIS/AC 가이드 문서에는 계획서 심의와 동일한 절차에 의거하여(즉, 전체 위원회 심의 또는 지정 위원 심의) 계획서의 중대한 변경을 승인하도록 할 책임이 VMO(Veterinary Medical Officer)에게 있다고 규정한다.

의견: 중대한 변경에 대한 현재의 동물 사용 규정과 가이드라인은 고통이나 통증이 더 심한 절차에 대한 IACUC의 심의를 강조하는 방향이다. IACUC는 의약품 투여량 변경이 일반 변경인지 중대 변경인지 분류하는 방법에 대해 자체적으로 가이드라인을 설정할 수 있다. 마취제나 진통제 변경은 중대 변경으로 간주된다. 일상적인 약물 투여량의 중대하지 않은 변경은 지정 심의위원인 IACUC 수의사에게 보고할 수 있다. 이 경우에 실험약이 마취제인지, 아니면 다른 목적으로 투여하는 것인지 확실하지 않다. 실험약인 경우에 용량 변경은 중대한 변경으로 볼 수 있으며, 그러므로 변경에 앞서 IACUC가 심의하고 승인해야 한다.



- 실험의 종료 또는 안락사에서의 동물의 처리

- CO2 가스 (IACUC 권장)

- 화학적 방법 (약제명: , 용량: , 투여경로: )

- 물리적 방법

(마취제가 없어서 경추탈골 또는 단두를 실시하는 것은 허용되지 않음. 그럼에도 불구하고 실험의 과학적 목적에 따라 필요한 경우 그 사유를 명백하게 제시)

※ 실험이 종료되거나 매일 동물 관찰한 후 인도적 실험종료 기준에 해당되는 개체는 안락사 실시

※ 사용되는 약물명, 투여경로, 용량 및 사용 기구 등 안락사 방법에 대해 상세 기술

※ 해당사항 없음에 표시한 경우, 구체적인 안락사 방법을 기술하고 권장 방법을 사용할 수 없는 실험 목적상의 타당한 사유 제시

- 안락사 방법 선택시 고려 기준

1. Regulatory : 관련된 규제 및 가이드라인 준수(**AVMA Guidelines on Euthanasia, 2020**)

2. Human : 안락사를 수행하는 사람의 훈련과 자격 등을 고려

3. Scientific : 연구와 사후 평가의 과학적인 목적에 대한 잠재적 효과를 고려

- 동물의 복지 향상을 위하여 동물 종 특유의 행동과 활동 성향을 반영하는 구조적 또는 사회적 환경을 제공

( ) 일괄적으로 제공하는 방법

※ 마우스 또는 랫드 : house 또는 igloo, PVC tube, nestlets, 멸균 paper tissue, 기타

※ 토끼 : toy, cardboard box, 멸균한 건초, 기타

※ 개 : toy, 그룹 사육, 운동 , 기타

※ 돼지 : toy, 기타

( ) 연구자가 개별적으로 준비하는 방법

※ 방법, 횟수, 물품 준비, 담당자 등에 대해 상세 설명

( ) Enrichment 공급하지 않음

※ Enrichment를 공급하지 않는 실험 목적상의 타당한 사유 제시



- 실험군과 대조군 동일하게 적용
- 연구 목적과의 부합성 중요



# 심의 결과

## 승인

계획서가 윤리적/과학적으로 타당(동물실험을 통해 얻는 과학적/사회적 이로우미 동물에게 주는 고통과 피해보다 큼)하고 대안방법에 대한 검색결과 보다 감응력이 낮은 동물의 사용이 부재하고, 사용 동물종 및 마라수의 산정근거가 합리적이며, 고통 및 통증의 평가와 관리가 타당하고, 인도적 실험종료기준과 안락사 방법이 적절하고, IACUC에서의 추가적인 Conditions이 없는 경우, '원안 승인'

## 수정

계획서의 윤리적/과학적 타당성에는 문제가 없지만, 경미한 내용의 수정이 필요한 경우(A를 B로 단순 수정 요청) 또는 추가적인 서류가 요청되는 경우, '수정 후 승인' (신속심사로 심사가능) : 연구자는 수정 요구사항의 이행사실을 반드시 증명

- ▷ A를 B로 수정하여 주시기 바랍니다.
- ▷ A/B를 삭제/추가하여 주시기 바랍니다.
- ▷ A서류를 본 위원회로 제출하여 주시기 바랍니다.

## 보완

계획서가 불명확하게 기술되어 있어 해당 연구의 타당성, 중복실험 여부, 3R 대체법의 적용이 불충분한 경우, '수정 후 재심의 또는 보완

- ▷ A의 사용 목적을 설명해 주시기 바랍니다.
- ▷ A그룹과 B그룹 실험군 마리수의 차이를 설명해 주시기 바랍니다.
- ▷ 진통약물을 사용하지 않는 이유와 종료기준에서 종양의 크기를 포함하지 않은 이유를 소명해 주시기 바랍니다.

## 반려

실험방법이 비인도적이고 동물의 고통을 묵인할 수 없을 경우, 연구수행의 가치가 '모호'하거나, 해당 연구의 수행의 타당성을 입증할 자료가 불충분한 경우, 연구수행의 가치가 인정되나 연구수행 시 발생하는 윤리적 또는 과학적 타당성에 문제가 있고 계획서의 수정이 용이치 않은 경우, '승인 거부 또는 반려' (반려된 과제는 전면수정 후 신규과제로 다시 제출 가능)

수정후 승인

# 신규 동물실험 계획서 소수 심의의견에 관한 소명서

## (염증이 노화 마우스의 brain-muscle-gut axis에 미치는 영향)



| 구 분       | 내 용   |
|-----------|---|
| 평가의<br>견1 | 연구 목적면에서 노인에서 낮은 농도로 염증인자가 증가되어 있는 상태인 inflamm-aging과 LPS를 투여하여 염증을 유발하는 이유와의 연관성이 잘 이해되지 않습니다.<br>연구목적에 이 부분에 대한 상세한 설명을 부탁 드립니다.  |
| 소명        | 모든 노인에서 염증인자가 증가되어 있는 것은 아니고, 젊은 층에 비해 통계적으로 유의하게 ESR, CRP가 증가되어 있는 상태를 Inflammaging이라고 명명합니다. 즉, 노인 중에서 정상인 분들도 계시지요. Aging state에서 inflammation이 발생했을 때 young 개체와 비교하여 brain, muscle, gut에서 차이가 나타나는 양상을 비교하고자 하는 실험입니다.                    |
| 평가의<br>견2 | 일반 건강한 젊은 mouse에서 1mg/kg은 sublethal dose이므로 다음날 실험종료 시까지<br>폐사율은 낮을 것으로 판단되므로, 동물수의 수정이 필요합니다.<br>LPS 용량을 1mg/kg으로 사용하는 이유를 설명바랍니다.<br>노령마우스의 LD50가 1.6mg/kg(Infect Immun. 1996 Mar; 64(3): 769-774)의 보고가 있으므로 용량을 낮추면 노령실험동물의 폐사율을 낮출수 있습니다. |
| 소명        | 바쁘신 중에 중요한 부분을 지적해 주셔서 감사합니다. LPS는 0.25mg/kg의 용량으로 변경하겠습니다 (Behav Brain Res, 2016 Apr 1;302:279-90). 또한, chronic inflammation을 유도하기 위해 2회/주 횟수로 6주간 주입토록 하겠습니다. 하지만, 폐사율에 대해서는 old mice에서 진행된 mortality에 대한 보고가 없어 현재 폐사율은 정음하겠습니다.           |

|           |   |
|-----------|---|
| 평가의<br>견3 | 실험종료 기준에서 동물을 주기적으로 관찰할 때, 심박수 및 체온을 측정할 방법을 기입바랍니다. 실제로 측정하기 어렵다면 관찰항목에서 제외하여 주십시오.  |
| 평가의<br>견3 | 실험종료 기준에서 동물을 주기적으로 관찰할 때, 심박수 및 체온을 측정할 방법을 기입바랍니다. 실제로 측정하기 어렵다면 관찰항목에서 제외하여 주십시오.  |
| 소명        | 심박수 및 체온 측정 방법을 삭제하겠습니다.  |
| 평가의<br>견4 | Grip strength, Y maze의 빈도와 측정 시간 등 행동분석 방법을 보다 구체적으로 기술바랍니다.  |
| 소명        | LPS 주입하기 전 1주일 동안 오전 9시부터 12시 사이에 Grip strength와 y maze를 1회 시행한다. LPS 주입 6주 후 오전 9시부터 12시 사이에 grip strength와 y maze를 각각 시행한다. |
|           |   |

수정후 승인

# 동물실험 계획서 소수 심의의견에 관한 소명서

## (염증이 노화 마우스의 brain-muscle-gut axis에 미치는 영향)



| 구 분       | 내 용  |
|-----------|--|
| 평가의<br>견1 | 연구 목적면에서 노인에서 낮은 농도로 염증인자가 증가되어 있는 상태인 inflamm-aging과 LPS를 투여하여 염증을 유발하는 이유와의 연관성이 잘 이해되지 않습니다.<br>연구목적에 이 부분에 대한 상세한 설명을 부탁 드립니다.   |
| 소명        | 모든 노인에서 염증인자가 증가되어 있는 것은 아니고, 젊은 층에 비해 통계적으로 유의하게 ESR, CRP가 증가되어 있는 상태를 Inflammaging이라고 명명합니다. 즉, 노인 중에서 정상인 분들도 계시지요. Aging state에서 inflammation이 발생했을 때 young 개체와 비교하여 brain, muscle, gut에서 차이가 나타나는 양상을 비교하고자 하는 실험입니다. |
| 평가의<br>견4 | Grip strength, Y maze의 빈도와 측정 시간 등 행동분석 방법을 보다 구체적으로 기술바랍니다.   |
| 소명        | LPS 주입하기 전 1주일 동안 오전 9시부터 12시 사이에 Grip strength와 y maze를 1회 시행한다. LPS 주입 6주 후 오전 9시부터 12시 사이에 grip strength와 y maze를 각각 시행한다.  |

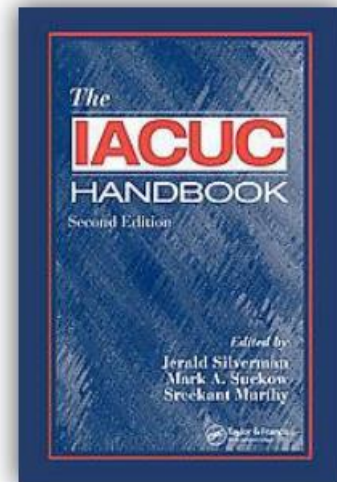
|           |  |
|-----------|--|
| 평가의<br>견3 | 실험종료 기준에서 동물을 주기적으로 관찰할 때, 심박수 및 체온을 측정할 방법을 기입바랍니다. 실제적으로 측정하기 어렵다면 관찰항목에서 제외하여 주십시오.   |
| 평가의<br>견3 | 실험종료 기준에서 동물을 주기적으로 관찰할 때, 심박수 및 체온을 측정할 방법을 기입바랍니다. 실제적으로 측정하기 어렵다면 관찰항목에서 제외하여 주십시오.   |
| 소명        | 심박수 및 체온 측정 방법을 삭제하겠습니다.   |
| 평가의<br>견2 | 일반 건강한 젊은 mouse에서 1mg/kg은 sublethal dose이므로 다음날 실험종료 시까지 폐사율은 낮을 것으로 판단되므로, 동물수의 수정이 필요합니다.<br>LPS 용량을 1mg/kg으로 사용하는 이유를 설명바랍니다.<br>노령마우스의 LD50가 1.6mg/kg(Infect Immun. 1996 Mar; 64(3): 769-774)의 보고가 있으므로 용량을 낮추면 노령실험동물의 폐사율을 낮출수 있습니다. |
| 소명        | 바쁘신 중에 중요한 부분을 지적해 주셔서 감사합니다. LPS는 0.25mg/kg의 용량으로 변경하겠습니다 (Behav Brain Res, 2016 Apr 1;302:279-90). 또한, chronic inflammation을 유도하기 위해 2회/주 횟수로 6주간 주입토록 하겠습니다. 하지만, 폐사율에 대해서는 old mice에서 진행된 mortality에 대한 보고가 없어 현재 폐사율을 적용하겠습니다.        |



# PAM (Postapproval Monitoring)

## 승인된 동물실험계획의 점검

- ❖ PAM (Postapproval Monitoring)은 동물실험윤리위원회에서 승인한 동물실험계획서에 따라 연구자가 실험을 진행하고 있는지 확인하는 활동
- ❖ AAALAC (국제실험동물관리 평가인증협회)과 국내 실험동물 관련법에서 권고하고 있는 사항
- ❖ 동물실험윤리위원 혹은 수의사를 포함한 직원 또는 전담부서에서 정기적으로 라운딩하여 관찰한 사실을 IACUC에 보고하며 시정을 요청
- ❖ PAM 활동의 의의
  - IACUC에서 세밀하게 관찰할 수 없는 사항을 포착하여 연구자가 윤리적이고 준법적인 동물실험을 수행하도록 가교 역할
  - 동물실험에 대한 부정적인 우려를 감소시키고, 우수 기관으로서의 대외적 입지를 제고



# PAM의 목적

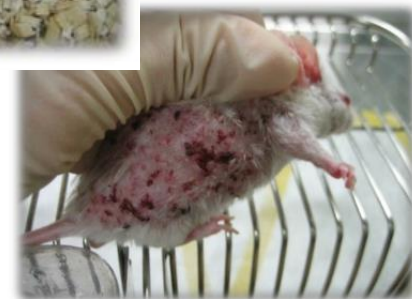


❖ IACUC 활동의 조력자로서 동물의 복지를 증진 :  
아래 사항을 정기적으로 확인하고 IACUC 보고

- ✓ 동물의 복지와 건강을 위협하는 상황
- ✓ 인도적 실험종료 시점 초과
- ✓ IACUC 미승인 동물 실험 활동
- ✓ 가이드라인 미준수 밀집 사육
- ✓ 실험 후 동물 방치
- ✓ 부적절한 실험 기록
- ✓ 수의학적 처치 권고 미이행
- ✓ 수술실과 실험실 환경, 마취 및 멸균 과정 등

❖ 관련법 준수, 기관의 명성 보호

❖ 연구협력 및 건강한 연구 환경 조성





# 사 례



## POST-APPROVAL-MONITORING (PAM) CHECKLIST

|        |  |       |  |          |  |
|--------|--|-------|--|----------|--|
| 년 월 일  |  | 연구책임자 |  | 심의(승인)번호 |  |
| 계획서 제목 |  |       |  |          |  |
| 실험기간   |  |       |  |          |  |
| 실험동물 종 |  |       |  |          |  |

### POST-APPROVAL-MONITORING (PAM) CHECKLIST

\*시행여부에 O, X로 기표해 주시고, 해당사항이 없는 경우, 'N/A'로 기재바랍니다.

| 동물실험계획서 및 연구수행자 |  | 시행여부 |
|-----------------|--|------|
| 1               | 연구책임자와 연구수행자가 해당 동물실험계획서에 기재되어 있음                                  |      |
| 2               | 동물실험계획서에 기재된 연구자 모두 동물실험 수행에 필요한 필수 교육(입문교육/ SPF교육 /동물실험윤리교육)을 이수함 |      |
| 3               | 연구책임자와 연구수행자가 최근 변경된 내용을 포함한 동물실험계획서 내용을 숙지함                       |      |
| 4               | 모든 연구수행자가 동물실험 수행에 필요한 교육 및 훈련을 받음                                 |      |
| 일반적인 실험 절차      |  |      |
| 1               | 승인번호가 케이지 라벨에 기재되어 있음  |      |
| 2               | 승인된 계획서 내용과 일치하는 실험을 수행하고 있음                                       |      |
| 3               | 승인된 계획서 내용과 일치하는 동물의 종, 품종, 주령, 수량을 사용하고 있음                        |      |
| 4               | 동물실험을 수행하는 중 정해진 보호장구 (캡,마스크,장갑 등)를 착용함                            |      |
| 마취              |  |      |
| 1               | 승인된 계획서 내용과 일치하는 방법으로 동물을 마취하고 모니터링함.                              |      |
| 2               | 승인된 계획서 내용과 일치하는 방법으로 진통제를 사용함.                                    |      |

| 외과적 처치   |  |  |
|----------|--|--|
| 1        | IACUC에서 승인된 장소, 방법으로 동물의 수술 (술부 제모, 소독)을 준비함.      |  |
| 2        | 멸균된 기구와 물품, 장치, 멸균술을 사용하여 생존 수술을 실시함               |  |
| 3        | 술자를 비롯한 수술팀은 각자 역할에 따라 마취, 수술, 술후 모니터링을 수행할 수 있음   |  |
| 4        | 수술하는 동안 동물이 체온을 유지할 수 있는 조치를 취함                    |  |
| 5        | 수술 과정을 기록하여 보관함 (아래 양식 참조)                         |  |
| 술후 관리    |  |  |
| 1        | 동물이 술후 의식이 있을 때까지 모니터링 함.                          |  |
| 2        | 승인된 계획서에 기재한 술후 모니터링 기간을 준수함.                      |  |
| 3        | 승인된 계획서에 기재한 진통제와 항생제를 사용함                         |  |
| 4        | 술후 관리 내용을 기록하여 보관함                                 |  |
| 5        | 2주 내에 봉합사 또는 스테이플을 제거함                             |  |
| 6        | 술후 동물에 이상이 발생할 경우 수의사에게 알림                         |  |
| 인도적 실험종료 |  |  |
| 1        | 승인된 계획서에 기재한 인도적 실험종료 또는 안락사 기준을 준수함 (점수표를 기록함)    |  |
| 안락사      |  |  |
| 1        | 승인된 계획서 내용과 일치하는 방법으로 안락사를 실시하며, 이를 기록함            |  |
| 2        | 안락사를 수행한 후 동물의 사망을 확인함                             |  |
| 3        | 실험동물연구센터의 정해진 규칙에 따라 사체를 처리함                       |  |
| 번식       |  |  |
| 1        | 번식이 승인된 계획서이며 실험동물연구센터의 번식 규정을 준수함                 |  |
| 2        | 산자를 이유기(생후3~4주)에 어미와 분리하며 암수 구분하여 케이지에 넣음.         |  |
| 3        | 번식, 출산, 이유 기록을 하고 케이지 라벨에 표시함                      |  |
| 4        | 번식기록지를 작성하고 보관함(총 산자수, 사용수, 사용하지 않는 동물 안락사 마리수 기재) |  |

## 사육실 및 실험실

|   |   |  |
|---|---|--|
| 1 | 정기적으로 동물을 관찰하고 이상 증상이 발생한 경우 담당 수의사에게 알림  |  |
| 2 | 마취제를 정해진 장소에 보관하고 있음 (특히 마약류의 경우 잠금장치에 보관함)   |  |
| 3 | 유효기간이 지난약품, 봉합사, 수술 물품 등을 사용하지 않으며 정해진 장소에 보관함  |  |
| 4 | 위험물질 (감염성, 방사성, 유전변형, 유해화학물질 등)을 사용하는 경우 케이지 라벨에 기재하며, 안전하게 실험하는 절차에 관하여 숙지하고 이를 준수함. |  |
| 5 | 특수 사료 및 음수를 사용하는 경우, 표기하여 적절하게 보관함.   |  |
| 6 | 실험 장소에서 음식, 음료를 섭취하지 않음.  |  |
| 7 | 실험한 장소를 깨끗하게 유지함.   |  |

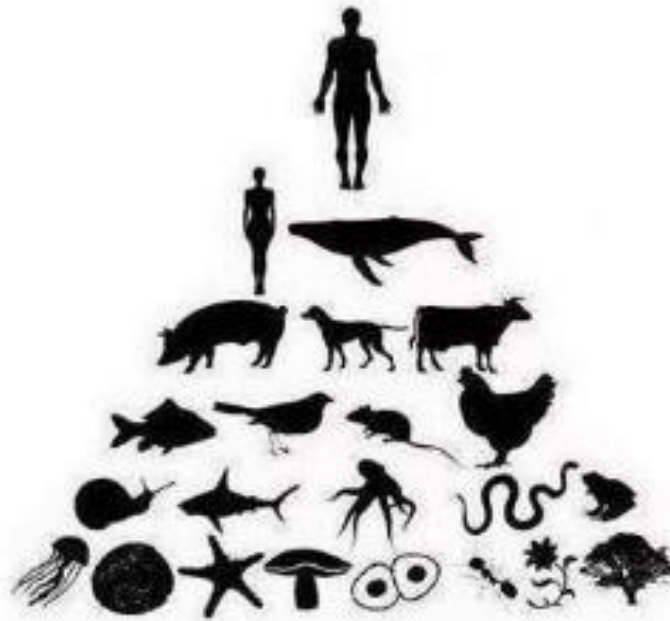
# 성공적인 PAM프로그램을 위한 제안



- ❖ 연구소와 연구자의 연구활동을 성공적으로 지원하고 조력하는 역할로써 연구자 그룹에게 자리매김하는 것이 PAM 프로그램 성공의 관건
- ❖ IACUC의 일관되고 분명한 방향성과 가이드를 제시
- ❖ PAM 프로그램에서 미비사항 지적보다는 우수사례에 대한 격려 우선
- ❖ PAM 스텝은 연구자그룹과 IACUC의 통로이자 가교 역할
- ❖ 좋은 의사소통 스킬 배양 (체계적인 문서를 통한 의사전달, 체크리스트, PAM 피드백 보고서)
- ❖ 지속적인 양질의 교육 (IACUC 위원, 시설 관리자, 연구자)
- ❖ 건강한 연구환경 조성을 위해 시설관리자/운영자/책임자는 자율적인 규정 준수 및 준법경영에 대한 의지가 필요 : 기관의 명성 보호



# EGO



# ECO



“한 국가의 위대함과 도덕적 진보는 그 나라의 동물들이 어떻게 대우받고 있는지를 보면 알 수 있다”

*by Mahatma Gandhi (1920)*

“개선방법(refinement)만으로는 결코 충분하지 않습니다. 우리는 항상 감소방법(reduction)과 대체방법(replacement)을 추구해야 합니다. 대체방법이 우리가 추구해야 할 모범답안이지만 감소방법과 개선방법을 조화롭게 사용하시기 바랍니다. 연구자는 이 3가지 원칙(3Rs)을 명심하시기 바랍니다.”

*by Russell and Burch(1959)*