

· 研究进展 ·

非临床药物安全性评价中毒性病理学评价基本要素

屈哲, 吕建军*, 林志, 霍桂桃, 杨艳伟, 张颀, 张硕, 霍艳, 王雪, 李波(中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心、药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176)

摘要: 毒性病理学是结合病理学和毒理学原理的科学, 关注化合物潜在的毒性作用。毒理学研究中的组织病理学评价经毒性病理学家的长期实践已形成标准技术规程, 在药物风险评估过程中起重要作用。本文针对非临床药物安全性评价中毒性病理学评价中病理学家的资质和职责、镜检前病理学家应获取的资料和信息、毒性病理学评价的一般流程、影响毒性病理学评价准确性和一致性因素等国际公认的基本要素进行了简要的阐述, 同时说明按照标准技术规程进行非临床药物毒理学试验组织病理学评价可以减少诊断偏差, 获得高质量的病理学报告, 为病理学家、毒理学家以及监管机构的审查人员提供重要的数据和信息。

关键词: 毒性病理学评价; 资质和职责; 一般流程; 基本要素

中图分类号: R99; R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)05-0472-07

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.05.003

A Brief Introduction of Fundamental Elements of the Toxicologic Pathology Evaluation in the Nonclinical Safety Evaluation of Drugs

Qu Zhe, Lv Jianjun*, Lin Zhi, Huo Guitao, Yang Yanwei, Zhang Di, Zhang Shuo, Huo Yan, Wang Xue, Li Bo (Beijing Key Laboratory for Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China)

Abstract: Toxicologic pathology is the science that integrates the disciplines of pathology and toxicology and is concerned about the effects of potentially noxious substances. The histopathology evaluation in the toxicology study has developed a standard technical procedure through long-term practice of toxicologic pathologists, which plays an important role in the identification of drug risk. This paper briefly introduced the internationally recognized fundamental elements in the nonclinical safety evaluation of drugs, such as the pathologist's qualification and responsibilities, the data and information obtained by the pathologist before microscopic examination, the general procedure of toxicologic pathology evaluation, several factors affecting accuracy and consistency of toxicologic pathology evaluation, etc. At the same time, to complete toxicologic histopathology evaluation in nonclinical toxicology studies in accordance with standard technical procedures could reduce the

基金项目: 十二五国家科技重大专项课题“符合中药特点的有毒中药安评关键技术”(编号 2015ZX09501004-002); 十二五国家科技重大专项课题“生物大分子药物特殊评价关键技术研究”(编号 2015ZX09501007-004)

作者简介: 屈哲, 助理研究员, 从事临床前药物安全性评价毒性病理学诊断工作; Tel: (010) 67872233-8210; E-mail: quzhe@nifdc.org.cn

通信作者: 吕建军, 主任药师, 从事临床前药物安全性评价毒性病理学诊断工作; Tel: (010) 67872233-8005; E-mail: lujianjun@nifdc.org.cn

pathology diagnostic bias, and ultimately get high-quality pathology report and provide high-value data and information for pathologists, toxicologists and reviewers in regulators.

Keywords: toxicologic pathology evaluation; qualification and responsibilities; general procedure; fundamental elements

毒性病理学是在光学显微镜下对疾病引起组织结构改变进行研究的学科^[1], 显微镜检查可对组织标本的二维图像或三维生物结构进行评价。因此, 毒性病理学是一门描述性和解释性的学科, 经验丰富的毒性病理学家能够将供试品相关的组织病理学改变与正常生理变异以及动物自发性疾病相区分^[2]。因为毒性病理学是评价食品、药品、化妆品、保健品以及医疗器械潜在毒性及安全性的重要手段, 所以毒性病理学在风险评估过程中起重要作用。

非临床药物毒理学研究中的病理学评价金标准是检查石蜡包埋、HE染色的组织切片并出具准确的诊断和解剖病理学报告。此外, 毒性病理学评价必须整合其它的实验数据, 如动物的临床表现、体重改变、临床病理学发现以及代谢和药代动力学数据。还可应用多种新技术如计算机技术、分子生物学技术, 包括: 各种组学技术(基因组学、蛋白质组学、代谢组学)、遗传修饰动物模型、分子学实验和特殊的显微镜检查(数码、激光捕获、共聚焦)。这些技术在药物发现和开发以及外源物质的风险性鉴别和评价中起重要作用。然而, 采用标准的病理学方法进行准确的形态学诊断仍然是指导这些新技术实际应用的重要指标^[3]。

本文简要阐述了国际公认的毒性病理学评价标准技术规程中的基本要素, 例如, 毒性病理学家应具备的资质和其在药物安全性评价中的职责, 病理学家在镜检前应获取的资料和信息, 毒性病理学评价的一般流程, 其中包括: 组织病理学样本制备、病理制片质量检查、组织病理学阅片和记录、病理复核及同行评议、解剖病理学报告的生成, 影响毒性病理学评价准确性和一致性的因素包括标准化的诊断术语、病变程度分级、诊断漂移和盲检。用良好的毒性病理学标准技术规程进行非临床药物毒理学试验组织病理学评价, 可为病理学家、毒理学家及监管机构的审查人员提供具有很高价值的数据和信息。

1 病理学家的资质和职责

目前, 全球毒性病理学家认证尚未形成统一的标准, 多个国家和地区建立了毒性病理学家或兽医病理学家认证程序^[4]。病理学家具有的诊断能力和资质是确保高质量组织病理学检查的重要因素, 毒性病理学家获取资质的基本要求: 首先要接受毒性病理学相关知识的教育, 其次应具有毒性病理学工作经验。具体流程是完成毒性病理学认证委员会考试或评审, 以及通过毒性病理学家组成的主管资格审查委员会的批准。并由毒性病理学家聘用、管理机构公布已通过认证的毒性病理学家名单。

组织病理学是一门描述和解释性学科, 具有一定的主观性^[5]。病理学家对切片的组织病理学评价负责, 包括对组织异常改变的鉴定及解释。没有任何两位病理学家在独立评价同一研究时, 对每一组织、器官或动物的病变做出完全一致的描述。然而, 病理学家在评价组织时, 尽可能地应用其所受的培训和经验, 在生理变异范围内保持一致性诊断, 避免人为因素造成观察的差异。如果某一项研究中所有组织都由一位病理学家进行评估检查, 则对病变的发现、命名、病变程度的把握具有较好的一致性。在一项研究中, 由一个病理学家进行一致性的观察和描述病变, 可以充分显示出因处理因素导致的组织的细微改变。任何一位资质优秀的病理学家对同一项研究的组织病理学检查评价, 都应该发现由相同处理因素导致的病理改变。不同病理学家对同一病变的诊断术语应该相似, 但可以不完全一样。

因此, 为了获得最好的结果, 一项研究的所有组织最好由一位病理学家完成组织病理学检查^[6]。然而, 有时因为实验数据量过大或时间紧迫, 可能存在由一位以上或多位病理学家同时参与一个实验研究。如果多位病理学家参与同一个实验的组织病理学检查, 那么就更要仔细, 以确保他们观察到的病变较一致。在工作时尽可能多交流, 因为不同的病理学家使用的诊断术语或病变程度分级等存在一

定的差异,而这些差异可能妨碍或使得复核以及对数据的解释复杂化。病理学家在自发性病变或处理因素导致的病变诊断及程度分级系统中应使用标准化的诊断以及统一的术语。在组织病理学检查完成后,应该有一个讨论,以完善实验结果并对实验数据的解释达成一致意见。采用共享的计算机系统有利于整个工作的完成。由多位病理学家完成的实验中,要由另外一位病理学家对该实验进行同行评议,他能最终确保组织病理学检查的一致性。

2 镜检前病理学家应获取的资料和信息

镜检前,病理学家首先应获知供试品的特性和该类物质已知的活性,供试品前期的毒性研究结果。了解该供试品对同一动物种属或不同种属实验中的靶器官和组织病变类型,可以促进本研究的组织病理学检查,并保证诊断术语的一致性。在实验方案设计阶段,预先了解靶器官可以帮助确定在病理学检查中的组织取材、固定、加工以及切片的染色过程中是否需要作特殊处理。

专题负责人还应将实验方案提供给病理学家,以便病理学家充分地进行组织病理学评价和结果的解释。实验方案信息包括:变更和偏移、动物种属、种系、年龄、给药途径、给药剂量以及给药方式等。

实验数据应该提供给病理学家。代谢作用、药代或毒代资料对于理解和认识病变或不同物种反应的差异可能有一定的帮助。动物临床病理学数据(临床体征、体重的变化、食物消耗等)对于确定靶器官和理解认识毒性机制可能有一定的帮助。血液学、临床生物化学以及尿液分析对于确定靶器官非常重要,并且可能对于理解供试品的作用机制有一定的帮助。其他特殊的测定分析比如激素水平或酶活性等,对于形态学改变的定位以及认识这些分析结果的意义同样重要。

如果可能,上述资料都应该在读片前提供给病理学家。如果这些资料不能在最初提供给病理学家,则部分组织可能需要反复进行镜检以确保诊断和病变结果解释的准确性。

3 毒性病理学评价的一般流程

3.1 组织病理学样本制备

制备高质量的组织样本是进行组织病理学评价的前提。解剖时,必须迅速恰当地进行组织固定,固定方法通常采用中性福尔马林;而眼球、

睾丸等需要Davidson's液固定^[7]。实验方案所规定抽取的组织器官必须按标准操作方法要求进行取材,尽可能减少偏差^[8]。修取样本的大小以能够充分固定组织为标准。而任何组织部位出现的病变都应该作为附加组织样本进行保留。在组织处理中,需要充足的固定时间,依据组织大小固定时间也有所不同。必须采用标准化的组织器官修取手法。各实验组组织样本的处理必须采用同一方式,以便减少组间的差异。例如,每天制作的组织玻片应该来源于对照组和给药组,不能一天制作对照组,另一天制作给药组。当需要特殊染色时,应设定阳性对照组,以排除由技术操作原因引起的假阳性或假阴性结果^[9]。每一张玻片都应该标有实验编号、动物编号、病理编号和蜡块号。

3.2 病理制片质量检查

当病理学家获得制作好的标准化切片后,首先对其进行质量检查,对组织缺失或部分缺失(比如肾上腺的髓质、垂体的远侧部分、肠的粘膜等)妨碍了病理学家观察或评价处理因素作用时,尤其当这些缺失是判断和解释处理因素作用必要时,病理学家应该要求重新切片或取材。

3.3 毒性病理学阅片和记录

毒性病理学阅片可以根据病理学家的喜好按动物或按脏器进行镜检。按动物进行镜检可以全面地评价某一动物的健康状态。按脏器的检查可以更多地关注病变,使某一特定器官的病变程度在分级上保持一致。对于某一种属动物的自发性病变,认识实验因素是否加重病变是非常重要的。如果处理因素加重了自发病变的发生率和病变程度,病理学家应使用合适的病变程度分级系统进行描述。

毒性病理学发现的记录、保存和公布方式有直接记录于硬盘、转录于硬盘、语音识别的计算机储存系统或用于管理病理数据的计算机程序。无论何种方式记录、储存和产生个体动物报告和汇总数据,病理学家都应确保数据的完整性和准确性。如果毒性病理学发现的记录、保存和公布方式错误或不当地,可导致已完成的良好毒性病理学评价毫无价值。针对多数的病理学家采用计算机系统来处理病理数据,必须保证GLP实验的计算机病理系统的有效和正确。一旦记录组织病理学发现,并且个体动物和汇总表格数据产生,病理学家就应该在文字叙述部分即解剖病理学报告正文签字同意,以证明该

实验病变的完整性且准确地进行了描述和解释。

3.4 病理复核及同行评议

研究中,病理复核及同行评议能够提高正确判断组织病理学改变的可靠性^[10]。病理复核通常由本研究机构内的另外病理学家完成,而同行评议通常邀请有资质的机构外的病理学家进行。同行评议的病理学家对确定的部分动物、组织以及研究结果解释进行复查。同行评议有一套操作流程,这套流程是最后形成最终诊断和解释过程的一部分。因此,在病理学专题负责人和同行评议的病理学家对研究报告的结果达成一致时,同行评议的病理学家所作的改动需要有一份非正式的记录文档保存。如果在实验方案中特别提到将有同行评议的专家进行复核,那么同行评议的文档记录就需要归于原始数据的一部分。回顾性的同行评议可以在研究报告发布之后进行。由回顾性同行评议专家作出的任何改动应该产生一份修订报告,并且依据GLP的要求进行归档。

正式的毒性病理学同行评议(预期的或回顾性的)的目的包括:1)确定诊断术语的准确性和一致性;例如对处理因素导致病变的不正确诊断和描述进行调查。2)确定完整性;例如对未诊断的处理因素导致的病变进行调查。3)通过复查所有靶器官和组织来确定准确的无反应剂量(no observable effect level, NOEL)或无可见不良反应剂量(no observable adverse effect level, NOAEL)。4)检查由这些数据得到的文字解释内容的正确性。同行评议的目的不是对每一个组织改变的所有细节进行确证,而是对处理因素导致的病变进行确定,以保证恰当地记录病变、诊断一致以及病变合理地解释分析。

也可成立病理工作组(pathology working group, PWG)来完成初查、复核以及对病理学数据的解释^[11]。病理工作组通常由病理专家组成,他们的报告反映了这些专家的一致性意见。病理工作组也可以解决病理学专题负责人与同行评议专家之间的差异,以确保病变的准确性,或者就管理者或其他感兴趣的组织提出的问题进行回答。如果研究数据中存在一些实质性的问题,这些问题影响处理因素导致的病变以及NOEL的判断,此时应当成立病理工作组。病理工作组具有权威性,通常被检查的问题和得出的研究结果是最终结论,要求在报告

中记录。

3.5 解剖病理学报告

一份完整的毒性病理学评价报告,不仅要包含个体动物和汇总表格数据即病理数据的罗列,还应该有一份书写的或叙述性的报告^[12]。在这个叙述讨论部分:首先要简要介绍实验的背景信息,毒性病理学检查的方法;结果部分应该包括:对脏器重量的改变、剖检、镜检的相关发现进行描述以及讨论处理因素导致的病变特点和意义,确定无反应剂量(NOEL)或无可见不良反应剂量(NOAEL)。此外,还需要对一些突发事件进行说明,比如中途死亡或非正常的早期死亡动物的死亡原因分析等。最终报告应代表病理学家经充分考虑相关组织病理学改变和实验数据解释后作出的最终和最佳评价。

4 影响毒性病理学评价准确性和一致性的因素

4.1 标准化的诊断术语

毒性病理学诊断反应了镜检的结果。镜检的目的是通过比较处理组与对照组动物来鉴别供试品相关结果。因此,镜检记录的一致性和客观性非常重要,能够保证病理学家快速制表和进行组间比较。然而会存在不同的分级标准,以及病变需要分级还是仅仅记录“存在”等,病理学家还可以使用各种修饰语和限定词进行多种描述。因此,应该形成能够明确传达组织病理学改变的标准化术语。国际上已有公认的诊断命名标准,目的是统一毒性病理学中的术语和诊断标准^[13]。包括术语和诊断标准标准化系统(standardized system of nomenclature and diagnostic criteria, SSND):毒性病理学指南^[14]以及最近出版的大小鼠病变术语和诊断标准的国际统一(international harmonization of nomenclature and diagnostic criteria for lesions in rats and mice, INHAND)^[15]。一些毒性病理学参考文献也提供了诊断指南和诊断标准^[16-17]。

形态学诊断术语描述包括发生的组织器官部位、主要的病理改变和限定词。限定词可以说明病变发生的亚部位、分布、持续性、特征和程度^[18-19]。根据需要使用限定词进行毒理学相关的划分。除病变程度分级外,限定部位、病变特征等各种术语可独立用于定义不同的诊断,那么形态学诊断术语可以高度灵活,可无限组合。然而,如果术语使用过度灵活,用不同的术语组合来描述相似的

病变可能会掩盖与处理因素有关的结果或产生新的病变。有时病理学家对描述相同病理过程的病变应该单独诊断,要分别对这些病变进行制表和总结。有时也要适当地对每个形态、部位和发病机理类似的病变诊断进行分组,以便有效的诊断与处理因素相关的改变。

肿瘤形成定义为异常生长的组织块,与正常组织生长不协调,当停止肿瘤刺激因素后仍持续过度的生长方式^[18]。对于肿瘤性病变,诊断应该指出肿瘤的良性或恶性,是否为检查组织的原发性或转移性肿瘤。也要说明肿瘤的多样性及其是单侧性还是双侧性。通常不记录肿瘤的继发性病变,如坏死和炎症,这些次要变化对评价无意义。多数肿瘤是根据其预测的生物学行为和细胞起源分类。后缀-肿瘤通常表示病变是良性,癌和肉瘤分别表示上皮或间质起源的恶性肿瘤。前缀如腺-(腺组织)和纤维-(纤维或结缔组织)用于说明细胞或组织来源。例如,乳腺腺癌是指腺组织,特别是乳腺的恶性肿瘤。

基于预测的生物学行为,增殖性病变分类为增生、良性肿瘤或恶性肿瘤。这个预测是基于某些临床行为的微观特征的组织相关性。例如,如果证明存在浸润或转移,或肿瘤的组织学特征已经显示与浸润或转移相关,则肿瘤可诊断为恶性。但要注意这是在这个时间点的评价术语,除非已经发生转移否则不能确定和预测病变的未来发展。此外,增生和肿瘤形成、良性和恶性肿瘤之间的形态学区别不一定很明确。因此,诊断增生、良性或恶性肿瘤形成具有实用性,但这些仅是一个复杂过程的简化^[20]。有些增殖性的病变形态是连续的,很难区分增生和腺瘤,有时可以根据病变的大小来划分增生和肿瘤。虽然大小不是唯一的诊断标准,但采用大小作为界定病变特征增加了诊断术语的一致性,有助于比较研究历史发病率数据以及统一实验室之间的诊断。

4.2 病变程度分级

病变程度分级是对特定病变严重性评分的半定量划分^[18, 21]。通过适当的定义和统一病变程度分级,这种半定量评定系统完全能够得出与处理因素相关的变化。在确定与处理因素相关的效应或确定该效应的NOEL时,比较定量和半定量方法得出的结果没有显著差异。因此,常规的毒性病理学评

价通常使用半定量方法^[21-22]。

病变程度分级用作诊断的限定词,主要用于非肿瘤性病变,特别适用于不明显基于发病率的与处理因素相关的效应。如,与处理因素相关的效应仅表现为常见自发性损伤(如慢性肾病)严重程度的增加。病变程度分级是主观的,分级系统因病理学家而异,因此要明确定义分级方案以确保结果的可重复性。病变程度分级系统不仅为镜检人员提供清晰的病变变化情况,还有助于同行评议病理学家评分的一致性。鉴于病变程度分级的半定量性质,对于病变程度诊断的细小差异是可以接受的^[13]。有些病变可以不进行严重程度分级,只需记录为“存在”,包括:肿瘤、囊肿、自溶和先天性异常。没有关于病变程度分级的标准化指南,通常使用4个或5个严重程度等级,由描述性术语或数字等级指定,包括极轻度、轻度、中度、中度严重、重度,以表示组织受累的程度和/或组织损伤的程度。

病变程度的划分是连续性的,且每个等级有一个临界值(阈值)。因此,病变的程度系统应该是:1)可解释的;2)可重复的;3)有意义的。如果靶器官病变的程度在数据解释时非常关键,那么对于不同等级分级的描述就应该在病理叙述中进行说明,这便于复核者理解不同组动物病变的差异。显微镜照相的照片,对于传送分级系统中不同程度病变有一定帮助。

4.3 诊断漂移和盲检

诊断漂移是指在一个研究中诊断术语或病变的分级存在逐渐性改变。多数实验需要一个较长的时间完成评价许多的动物和组织,漂移是一个很常见的问题。这会造成对处理因素诱导的病变观察的不一致,或影响NOEL的确定。如果病理学家意识到自己在术语的应用以及病变分级存在诊断漂移,则需要对这些组织重新进行镜检^[6]。重新镜检可采用“盲检”的方式进行。

病理学家在镜检前、镜检中和镜检后都可采用“盲检”的方式来减少组织观察的偏差。切片的“盲检”是指病理学家在事先不知道处理组、非处理组或其它对照组的情况下对组织进行镜检。但是,病理学家一致认为在初检时如果采用“盲检”可能会耗费镜检时间并且可能对获取实验信息的质量产生负面作用^[23-24]。一般认为“盲检”不易区别是处理因素导致的变化还是生理变异造成的变化。

此外,在初查时采用“盲检”还可能会忽略细微的改变。认识和了解处理组的设置,即病理学家知道哪些动物是非处理组或其它对照组,那么病理学家可能会更关注组织病理学的检查,从而能够发现处理组和非处理组动物重要的细微差别^[25]。总之,了解处理组的设置可以更好地发现所有处理因素导致的改变,并提高组织病理学检查的正确性。

因为“盲检”可能限制病理学家对于正常生理变异的认识以及实验设计的效果,所以惯例上“盲检”用于特殊组织病变的复核(即定向盲检复核)^[18]。同样,如果已知存在某一毒性综合症,即已知病变范围,那么在不了解分组情况下可能有利于评价主要的组织病理学改变。例如FDA的兽医学中心开展的特定动物的安全性研究。

因此,对新的化学特性、主要用途以及之前研究的成分在新种属动物中的应用等临床前毒性研究镜检初查中,还是推荐病理学家在组织病理学检查时先了解动物的分组情况。认识了处理因素导致的病变后,对靶器官的主要病变进行“盲检”有利于诊断术语和诊断标准的一致性,以及标准的分级评分的应用和NOEL的确定^[26]。

5 总结

本文列举了确保高质量临床前药物安全性评价中毒性病理学评价的基本要素。目的不是为了论述毒性病理学这门学科,而是通过全面阐述影响毒理学实验准确性的毒性病理学评价方法,为从事毒性病理学工作的病理学家们提出需要考虑的细节,并总结了标准的技术规程。在毒性研究领域甚至更为广泛的领域中,高质量的毒性病理学评价结果是评价药物、化合物等毒副作用的金标准,病理学数据的解释为毒理学研究的结果提供重要的形态学依据。

参考文献:

[1] Steadman. Steadman's Medical Dictionary[M]. Hagerstown, MD.: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 277-289.
[2] Wester P. International Federations of Societies of Toxicologic Pathologists, Report of the IFSTP Professional Standards Subcommittee (PSSC) [J]. Toxicol. Pathol., 2003, 31 (5): 562-565.
[3] Greaves P. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies[M]. the Netherlands: Elsevier, Amsterdam, 2012: 197-

203.

[4] Wester P. Report of the IFSTP Professional Standards Subcommittee (PSSC) [J]. Exp & Toxicol Pathol, 2003, 55: 221-225.
[5] Morgan K T, Eustis S L. Criteria for Classification of Neoplasms for Pathologists and Statisticians, in Carcinogenicity: The Design, Analysis, and Interpretation of Long-Term Animal Studies[M]. New York: Springer-Verlag, 1988: 75-82.
[6] Crissman J W, Goodman D C, Hildebrandt P.K., et al. Best Practices Guideline: Toxicologic Histopathology[J]. Toxicol Pathol, 2004, 32 (1): 126-129.
[7] Bancroft J D, Cook H C. Manual of Histological Techniques and their Diagnostic Application[M]. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994: 333-357.
[8] Morawietz G, Ruehl-Fehlert C, Kittlelet B, et al. Revised Guides for Organ Sampling and Trimming in Rats and Mice[J]. Part 3, Exp. Toxicol. Pathol., 2004, 55 (6): 433-449.
[9] Bancroft J D, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques[M]. New York: Churchill Livingstone, 2008: 155-167.
[10] Fikes J D, Patrick D J, Francke S, et al. Scientific and Regulatory Policy Committee Review: Review of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) Guidance on the GLP Requirements for Peer Review of Histopathology [J]. Toxicol Pathol, 2015, 43 (7): 907-914.
[11] Peters T S. Pathology Peer Review - A Concept for Consideration [J]. Toxicol Pathol, 1996, 24 (5): 654-656.
[12] Morton D. Best Practices for Reporting Pathology Interpretations within GLP Toxicology Studies[J]. Toxicol. Pathol., 2006, 34 (6): 806-809.
[13] Mann P C. International Harmonization of Toxicologic Pathology Nomenclature: An Overview and Review of Basic Principles[J]. Toxicol. Pathol., 2012, 40 (4): 7S-13S.
[14] STP, ARP, AFIP. Standardized System of Nomenclature and Diagnostic Criteria (SSND) : Guides for Toxicologic Pathology [DB/OL]. [2017-03-07]. <https://www.toxpath.org/ssndc.asp>.

- [15] STP. International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice (INHAND) [DB/OL]. [2017-03-07]. <http://www.toxpath.org/inhand.asp>.
- [16] Haschek W M, Rousseaux C G, Wallig M A. Handbook of Toxicologic Pathology[M]. San Diego, CA: Academic Press, 2002: 187-362.
- [17] Mohr U. International Classification of Rodent Tumors [series]: International Agency for Research on Cancer [M]. Oxford, U.K.: Oxford University Press, 1992: 92-98.
- [18] Herbert R A. Nomenclature in Handbook of Toxicologic Pathology[M]. San Diego, CA: Academic Press, 2002: 947-950.
- [19] Glaister J R. General Pathology in Principals of Toxicologic Pathology[M]. London, U.K.: Taylor & Francis Group, 1986: 267-299.
- [20] Eustis S L. The Sequential Development of Cancer: A Morphological Perspective[J]. Toxicol. Lett., 1989, 49 (2-3): 267-268.
- [21] Shackelford C. Qualitative and Quantitative Analysis of Nonneoplastic Lesions in Toxicology Studies[J]. Toxicol. Pathol., 2002, 30 (1): 93-96.
- [22] Hardisty J F, Eustis S L. Toxicologic Pathology: A Critical Stage in Study Interpretation, in Progress in Predictive Toxicology[M]. Netherlands Clayton: Elsevier, Amsterdam, 1990: 41-55.
- [23] Goodman D G. Factors Affecting Histopathologic Interpretation of Toxicity-Carcinogenicity Studies in Carcinogenicity: The Design, Analysis, and Interpretation of Long-Term Animal Studies[M]. New York: Springer-Verlag, 1988: 109-118.
- [24] Temple R. The Case for Blind Side Reading[J]. Comm. Toxicol., 1988, 2: 99-100.
- [25] STP. Society of Toxicologic Pathologists' Position Paper on Blind Slide Reading[J]. Toxicol. Pathol., 1986, 14 (4): 493-494.
- [26] Wolf J C. Counterpoint to "Analysis of Unbiased Histopathology Data from Rodent Toxicity Studies (or, are These Groups Different Enough to Ascribe to Treatment?)" [J]. Toxicol. Pathol., 2011, 39 (6): 1017-1019.

(收稿日期 2017年3月9日 编辑 范玉明)