

# 药物非临床安全性评价机构毒理学试验解剖病理学质量控制要点

霍桂桃<sup>#</sup>, 杨艳伟<sup>#</sup>, 屈哲, 林志, 张頔, 吕建军\* (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** 目的: 阐述药物非临床安全性评价机构毒理学试验中解剖病理学质量控制的重要性及要点, 为提高我国非临床安全性评价机构解剖病理学质量控制提供参考。方法: 对药物非临床安全性评价机构病理部门的组织和管理、标准操作规程、解剖病理学检查、病理学报告书写、组织病理学检查的质量控制要点及注意事项进行逐条梳理。结果: 解剖病理学质量控制可确保病理学数据真实、准确、完整和可靠, 还可为确定受试物的靶器官、有害作用以及作用机制提供可靠的病理学数据支持。结论: 毒性病理学是药物非临床安全性评价机构毒理学试验的重要组成部分, 毒理学试验解剖病理学的质量控制非常重要, 应该给予高度重视。

**关键词:** 非临床安全性评价; 毒理学; 解剖病理学; 质量控制; 有害作用

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2020)07-0790-09

doi:10.16153/j.1002-7777.2020.07.010

## Key Points of Quality Control for Anatomical Pathology of Toxicological Studies in Facilities for Nonclinical Safety Evaluation of Drugs

Huo Guitao<sup>#</sup>, Yang Yanwei<sup>#</sup>, Qu Zhe, Lin Zhi, Zhang Di, Lü Jianjun\* (National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing Key Laboratory for Safety Evaluation of Drugs, Beijing 100176, China)

**Abstract Objective:** To elaborate the importance and key points of quality control for anatomical pathology of toxicological studies, so as to provide references for improving the quality control for anatomical pathology in facilities for nonclinical safety evaluation of drugs in China. **Methods:** The organization and management, Standard Operating Procedures (SOPs), anatomical pathology examination, pathology report preparation, and the key points of quality control in histopathology examination of the pathology division in facilities for nonclinical safety evaluation of drugs are reviewed one by one. **Results:** Quality control for anatomical pathology of toxicological studies could ensure the authenticity, accuracy, completeness and reliability of pathological data, and provide reliable data support for determining the target organs, adverse effects and mechanism of action of the test articles. **Conclusion:** Toxicological pathology is an important part of the toxicological studies in facilities

基金项目: 十三五重大新药创制专项课题“创新药物非临床安全性评价研究关键技术(编号 2018ZX09201017)

作者简介: 霍桂桃, 博士研究生, 副主任药师; 研究方向: 临床前药物安全性评价研究; Tel: (010) 67872233-8210; E-mail: huoguitao@nifdc.org.cn

共同第一作者: 杨艳伟, 硕士研究生, 主管技师; 研究方向: 临床前药物安全性评价研究; Tel (010) 67872233-8208; E-mail: yangyanwei@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研究工作; Tel (010) 67872233-8005; E-mail: lujianjun@nifdc.org.cn

for nonclinical safety evaluation of drugs. The quality control for anatomical pathology in toxicological studies is very important and should be given high priority.

**Keywords:** nonclinical safety evaluation; toxicology; anatomical pathology; quality control; adverse effect

药物非临床安全性评价机构毒理学试验的结果对判断受试物的靶器官、毒副作用及未观察到有害作用剂量（No Observed Adverse Effect Level, NOAEL）非常重要，直接影响药物的临床试验、上市及公众的用药安全。近年来，各种各样创新药物或新型作用模式药物的不断开发为非临床药物安全性评价带来了前所未有的巨大挑战，但无论药物的品种或作用模式如何新颖及复杂，其有害作用和安全指数是进入临床试验和上市的重要指标。在判定受试物的毒性靶器官及不良反应中，超过75%的毒理学试验数据是病理学数据<sup>[1-2]</sup>，因此，药物非临床安全性评价机构毒理学试验解剖病理学的质量控制非常重要。解剖病理学的质量控制不仅在遵守国内外法规和相关指导原则的前提下可确保病理学数据的真实、准确、完整和可靠，还可为确定受试物的靶器官、有害作用以及作用机制研究提供可靠的病理学数据支持。本文根据我国非临床安全性评价机构的发展现状、国内外监管机构法规要求、相关指导原则的规定以及各安评机构内部的病理学质量管理情况，对药物非临床安全性评价机构毒理学试验中解剖病理学质量控制的关键要点进行介绍，希望能够为我国非临床安全性评价机构毒理学试验病理学质量控制提供参考。

## 1 病理部门的组织和管理

### 1.1 病理部门的组成

病理部门通常由独立的一个或多个功能实验室组成，主要完成临床化学及血液学检验、大体剖检、组织制片、组织显微镜检查以及其他特殊技术（如免疫组织化学、原位杂交）检查。目前，我国药物非临床安全性评价机构病理部门的组成不尽相同，但一般由2到3个功能实验室组成，即病理制片室、病理阅片室、临床检验室（如果有）。无论如何组织管理，所有试验数据都必须始终在合格人员的控制之下生成<sup>[3]</sup>。

### 1.2 仪器设备及试剂

毒理学试验中的解剖病理学检查需要根据试验方案或方案变更对所有组别的全部或部分动物进行大体病理学和组织病理学检查，因而要求制备高

质量、一致性的组织切片用于镜检。同时，要求用于组织处理和数据生成的任何试验必须使用适合其用途的仪器设备进行，要定期维护并保持良好的工作状态。在组织处理和病理制片过程中会用到多种有害化学试剂，如易制毒试剂（染料苏木素含氧化汞、二甲苯、甲醛等）、易制爆试剂（硝酸、双氧水等）和易燃试剂（如乙醇）<sup>[4]</sup>，因此，试剂必须购自有资质的供应商，并有专人管理，取用及时登记。病理制片室和病理阅片室要有高效率的通风设备，封片机和染色机放到通风橱内或通风良好的实验室内。另外，病理制片过程中还会产生有害废液，因此，必须加强废液管理，如氧化剂和还原剂要分开储存，并且委托有资质的公司对废液进行无害化处理。药物非临床安全性评价机构在完成委托方的委托项目后，会对项目的病理标本进行保存。如果保存期限已满，机构会依照本单位的规定对病理相关标本进行废弃，废弃的湿标本和蜡块要进行无害化处理，废弃的切片装入利器盒进行统一处理。

### 1.3 人员

毒理学试验的最终结果取决于执行或监督各项试验任务的人员素质，病理部门所有工作人员必须能够胜任所参与试验任务的要求并熟悉相关标准操作规程（Standard Operation Procedures, SOPs）。

#### 1.3.1 人员工作要求

毒理学试验的解剖病理学数据在很大程度上会受到试验人员解剖操作、组织处理和制片过程的影响，因此，病理部门的解剖人员应熟知动物解剖的要求和操作过程，解剖时应避免一个技术员解剖的动物均来自同一个剂量组，以降低因技术员摘取和修剪组织器官时造成的脏器重量和组织形态学差异。解剖过程中尽量避免解剖器械对组织器官造成损伤从而造成人工假象。制片人员在组织制片过程中应严格遵循相关组织固定、修块、包埋、切片及染色等过程的SOPs，避免因上述过程操作不当造成制片质量不佳或人工假象。专题病理学家应对所负责试验使用的受试物及对照品、试验动物的特点进行全面了解，全面协调并解决动物解剖及组织制

片过程中遇到的问题,做好大体和组织病理学检查记录,客观评价受试物预期的毒性靶器官及可能的毒性作用。

### 1.3.2 人员健康防护

病理室使用的化学试剂对人类生理系统具有选择性的特殊伤害,如二甲苯具有神经毒性;苯可以影响血液系统;甲醇、二甲苯等可危害生殖系统等<sup>[5]</sup>。由于病理室人员工作的特殊性并且容易接触到多种有害试剂,因此,要求工作人员要有风险意识、风险识别和防范管理能力。首先,了解相关试剂的危害,贴好相应标签并有专人进行管理;其次,建立应对试剂危害和风险防范SOP;最后,做好人员的个人防护和定期培训,考核合格后才能从事相关工作。

### 1.3.3 人员资质和培训

机构为每个岗位制定的任职标准和培训计划需要在监管机构和相关专业组织的指导下进行评价和定期审查。动物试验相关的工作人员需持有试验动物从业人员上岗证,病理学家要有机构认可的相应教育背景和资质。

机构必须考虑到工作岗位和需求的变化。许多岗位需要进行“终身”学习,如病理学家需要不断地接受专业培训并提高诊断水平以胜任不同新品种药物的安全性评价需求。机构负责人应提供足够的资源,以确保工作人员掌握最新的知识和技能。目前我国各GLP机构和药物安全评价机构的病理学从业人员可以通过每两年一届的中美毒性病理研讨会(由国家药物安全评价监测中心和美国毒性病理学会共同举办)、北方及南方片区读片会、各药物安全评价研究机构举办的毒性病理专题培训班、中国药学会毒性病理专业委员会学术研讨会、中国毒理学会毒性病理专业委员会学术研讨会、中国畜牧兽医学病理学分会学术研讨会以及机构内部病理学相关培训进行学习以提高专业水平<sup>[6]</sup>。

### 1.3.4 培训记录

培训记录应包含所学技能的详细说明以及所获能力的评估结果。非临床安全性评价机构有义务对工作人员进行定期培训,以便工作人员及时了解当前法规的要求,提高员工的工作能力,不断学习新技术和新方法。

### 1.3.5 监督

在非临床毒理学试验中,检查和确认关键过程对试验数据的完整性至关重要。必须对试验的每一过程进行监督,以确保在试验过程中将错误降至最低。由于组织病理学检查结果的主观性较强,因此,要对可能影响病理学检查结果的每个环节进行监督。首先,应做好毒理学试验的在体试验过程的监督工作,比如在经口灌胃给药时要固定好动物,避免因操作失误造成受试物被误灌入肺脏而造成动物死亡。其次,应做好动物解剖时的麻醉、脏器摘取、大体病变确认、脏器称重及组织固定的监督;再次,做好组织制片的监督工作,避免因组织修块、包埋、切片、染色不当造成组织不全或人工假象。专题病理学家应全面负责监督涉及解剖病理学的相关人员的操作和记录,以确保组织病理学检查结果的真实性。

## 2 标准操作规程

在毒理学试验的病理学阶段所使用的SOPs应以简明、易懂的文字描述,并且易于查阅。SOPs要定期更新,当前使用的SOPs必须为最新版本<sup>[7]</sup>,以准确反映实际操作需要。SOPs修订也必须由适当的人员定期(至少每两年)进行审查,如果使用SOPs的人员认为该SOPs不适用,则要说明情况并立即进行修订。与所有必要的手册和指南一样,相关的SOPs应在工作场所易于获取。相关人员应及时阅读新版本的SOPs并接受培训,同时要做好培训记录。

## 3 解剖病理学检查

解剖病理学检查包括剖检、脏器称重、切片制备、组织病理学检查等过程,每一过程又包括许多步骤,现将每一过程的质量控制具体要求进行简要描述。

### 3.1 剖检

剖检是毒理学试验的关键阶段,会产生大量的数据和样本,如果出现错误则无法重建。安全有效地进行剖检有赖于整个团队的共同努力。专题病理学家应与技术人员密切合作以确保剖检顺利、有序地进行。剖检时要注意<sup>[7-8]</sup>:1)动物剖检必须由经过适当培训且合格的技术人员在专题病理学家的监督下进行。2)解剖小组成员须明确各自的任務,熟悉试验方案、剖检相关SOPs。3)准备剖检前所需物品、固定液、器械。4)针对不同的种

属选择合适的安乐死方法,以尽量减少对各项病理学参数的影响。5)剖检时要控制安乐死和解剖之间的时间间隔,以免造成脏器自溶。6)确保试验方案中列出的组织器官按照SOPs或试验方案中的要求进行摘取,并确认均已取到。7)剖检人员应根据标准的描述性术语对大体病变进行记录,并由专题病理学家确认。8)剖检时由经过培训的技术人员进行组织样本收集和确认,脏器称重后再次确认所收集组织器官的数量,然后进行及时、恰当固定。9)剖检结束后,解剖人员应在剖检单上签字(使用计算机程序时要进行电子签名)。10)对试验方案中规定的其他样本(例如冷冻样本、电镜样本、胆汁样本等)进行适当处理。11)确保脏器称重的一致性和准确性。

剖检是动物试验期间的数据和组织病理学检查结果之间的联系,所有程序必须以一致的方式进行,并且符合本机构的SOPs,以尽可能减少人工假象和重要数据丢失,避免影响后期的组织处理和组织病理学检查。除了上述剖检注意事项的内容,还应注意如下事项<sup>[7-11]</sup>:1)专题病理学家要对所有大体病变进行及时确认,以确保不同解剖技术人员之间的大体病变描述不会存在太多差异。2)剖检时要保证大体病变观察和记录的完整性。3)临床症状的记录或总结须在剖检时提供给解剖人员或专题病理学家。4)试验期间动物可能在非正常工作时段发生意外死亡和濒死,必须制定一份值班名单,安排训练有素的工作人员进行此类解剖。5)在致癌试验中,必须考虑试验期间记录的可触及肿块,而且在整个试验过程中肿块的识别和标记必须保持一致。6)绘制数据变化图表或拍摄大体病变照片时必须按照本机构的SOPs以标准化的方式进行和存储,而且以上材料必须便于专题病理学家及技术人员使用。

必须严格遵守工作人员和动物的健康和安全原则,体现在解剖时穿着防护服、正确使用固定剂和麻醉剂、安全处理动物、尖锐器械的使用,以及处理生物和有害物质等方面。如果发生意外立即根据既定程序处理并报告机构负责人。所有试验人员须了解人畜共患病防控知识,并防止发生潜在的严重感染。

### 3.2 脏器称重

一般毒性试验中脏器称重可参照国家药品监

督管理局药品审评中心在《药物重复给药毒性试验技术指导原则》中关于脏器质量的要求进行。在单次给药的急性毒性试验中不推荐进行脏器称重。另外,致癌试验(包括基因修饰动物模型的致癌试验)不适合进行脏器称重,因为该类试验的周期长,动物的正常生理差异较大且存在自发性疾病(如自发性肿瘤、肿瘤导致的恶病质、慢性肾症、心肌病等),对脏器质量称重结果影响较大,并且干扰对脏器质量称重结果的解释<sup>[12-13]</sup>。

大多数动物需要称重的组织器官在剖检时按照试验方案要求进行称重。在致癌性试验中,脏器重量一般不作为肿块大小变化程度的常规评估指标。脏器重量也可以在组织器官固定后进行称重,但要比剖检时组织器官的鲜重高出约7%~30%<sup>[14-15]</sup>,相关试验人员要熟知这一点。

脏器称重时要注意<sup>[7-8,16]</sup>:1)应将脏器收集和称重方法标准化,确保一致性并避免人为因素导致脏器重量改变。2)以随机或适当的轮转顺序进行动物解剖,避免偏倚发生。3)彻底放血并确保以一致的手法摘取脏器和剔除脏器周围的脂肪组织。4)在组织脏器称重前进行天平校准(要有适当的记录),准确地收集脏器重量数据。5)剖检前要进行动物终末体重测定,用于计算脏器/体重比以控制由昼夜波动或禁食造成的潜在变化。

### 3.3 切片制备

以一致性制片方法制备的高质量组织切片是进行组织病理学评估的前提,因此,非临床安全性评价机构的组织切片制备必须根据SOPs要求进行组织固定、修块、包埋、切片、染色等处理,确保各组试验动物的组织样本处理采用同一方式,以减少组间差异。在切片制备的过程中要特别注意以下方面<sup>[7,17-18]</sup>:1)选择合适的固定剂:对于大多数常规试验和大多数组织,通常选择10%中性缓冲福尔马林溶液作为固定剂。眼球、睾丸及附睾常用改良的Davidson's固定剂固定,而用作超微结构研究的组织通常采用戊二醛固定。2)固定方法:大多数组织脏器可直接放置于10~20倍体积的固定剂中进行浸泡固定,但肺脏应首选充盈固定,再将其放入固定剂中进行浸泡固定。3)合适的固定时间:组织固定一般需要48~72小时。组织固定不充分会导致组织在制片中出现严重的人工假象(如蜡块中组织塌陷、切片中的组织丢失),固定时间过长会引

起着色能力下降及色素沉着等人工假象。4) 脱水及透明: 脱水透明时间不够或者时间过长可导致组织出现严重的人工假象, 因此, 需要为仪器制定适当溶剂循环和替换操作程序。5) 质量检查: 染色结束后, 试验人员要对切片进行显微质量检查, 并将不合格的切片送去重新切片或重新取材并做好记录。6) 组织切片要有制片记录、再制片记录、移交记录和存档记录。

### 3.4 组织病理学检查

毒理学试验中组织病理学数据生成及解剖病理学结果报告的关键人物是病理学家, 并且毒理学试验的结果很大程度上依赖于专题病理学家对受试物引起试验动物组织、器官形态学改变的检查结果和解释, 因而病理学家的资质及能力对毒理学试验的结论至关重要。

毒理学试验中的组织病理切片必须由经过适当培训的专题病理学家进行检查。目前, 国际上缺乏用于评估毒理病理学家所承担职责并反映其业务水平的全球统一标准。我国从事非临床药物安全性评价的毒理病理学家以兽医病理学家、医学病理学家为主, 还有医学生物学家和其他专业人员<sup>[6]</sup>。我国毒理病理学家的在职培训、认证程序和继续教育相关规定在各安评机构、CRO公司及药物研发企业之间也尚未统一。法规对进行此类检查的病理学家所需的资格和经验的要求也比较模糊, 但机构管理部门任命病理学家时默认病理学家有能力胜任此项任务。在评估毒理病理学家的能力时, 经验和工作能力是重要的考虑因素, 而不是仅仅依靠所取得的资格证书。将学术背景、相关的认证资格和适当的经验结合起来才能成为一名合格的毒理病理学家。仅凭病理学家参加的培训及其经验的书面证据很难作为病理学评估的合理保证, 而合理确定解剖病理学报告的准确性和真实性的唯一方法是进行组织病理学同行评议。

毒理学试验中, 专题病理学家对试验动物的组织切片进行显微镜检查, 并记录其诊断结果。专题病理学家可采用按动物或按脏器进行组织切片检查, 不建议进行“盲检”。组织病理学检查的一般原则如下<sup>[7,17-20]</sup>: 1) 确定当前试验的动物组织的正常形态学表现。2) 如果出现与受试物有关的病理改变或加重自发病变的发生频度和病变程度, 病理学家应采用适合的病变程度分级系

统进行描述。3) 采用规范、统一的术语进行诊断结果描述, 可参考大鼠和小鼠病变术语和诊断标准的国际统一项目(International Harmonization of nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice, INHAND)及术语和诊断标准规范化系统(Standardized System of Nomenclature and Diagnostic Criteria, SSNDC)。4) 组织病理学检查结果的记录、保存按照本机构SOPs执行, 要确保检查结果的完整性和准确性。5) 如使用计算机系统组织病理学数据录入, 要保证计算机程序有效并能正确记录。6) 要保证试验方案所要求的所有组织的切片都已进行检查。7) 合理安排组织病理学检查时间和切片数量, 避免因疲劳和间断检查造成诊断漂移。

毒理病理学家所使用的光学显微镜需做好日常维护, 以便对组织切片进行彻底和有效的检查。组织病理学检查所需的设备和程序(通过计算机程序录入数据时)必须适合所承担的试验任务。毒理病理学家的工作环境应适合长时间的集中镜检, 要求通风良好, 光线适宜且安静。

组织病理学的原始数据通常包括专题病理学家的镜检记录和签名及注明日期的解剖病理学报告<sup>[21]</sup>。未定稿(即未签字)的书面或计算机记录被视为临时记录, 不应成为稽查轨迹的一部分。目前, 普遍认为直到解剖病理学报告(其中包括明确的组织病理学诊断结果)经专题病理学家签名并注明日期, 病理学原始数据才算建立。病理学原始数据发生改变的条件是解剖病理学报告和相关表格由专题病理学家进行更改并签字。

### 3.5 计算机化系统在解剖病理学中的应用

计算机化系统在大体及组织病理学检查及报告的生成中得到了较为广泛的应用, 但不应认为其适用于所有实验室的所有试验。所使用的任何计算机程序必须适合试验任务, 并已由供应商验证其可靠性和准确性。此外, 用户必须执行可接受性测试程序以确保系统按规定运行, 并执行所需功能的程序。所有非临床安全性评价机构都必须遵守他们提交数据的监管机构所定义的计算机化系统的监管指南。因此, 计算机化系统相关的规范或指南强调的问题必须要纳入非临床安全性评价机构计算机化系统的管理和运行中。

使用计算机化系统进行动物剖检时的大体病

变和组织病理学检查结果录入的人员应做到以下几点：1) 参加计算机化系统病理学模块操作培训并取得使用该系统的资质；2) 能够在病理学模块中熟练进行剖检时动物处死、大体和组织病理学检查结果录入操作；3) 专题病理学家应熟练掌握在病理学模块中进行大体和组织病理学术语的建立、修改、原始大体和组织病理学结果的查看及输出、大体及组织病理学结果的个体表和组间表的查看及输出；4) 专题病理学家应熟练掌握病理学模块中组织病理学同行评议功能的操作；5) 应及时对所录入的大体及组织病理学检查结果进行完整性检查。

使用计算机程序进行大体和组织病理学检查及报告还要做到以下6个方面的要求<sup>[22-23]</sup>：1) 安全性：毒理病理学家生成数据的完整性必须受到保护，以防意外或故意损坏。2) 可靠性：毒理病理学家输入的数据必须准确存储，不得丢失或损坏；输入准确的大体及组织病理学术语。大体及组织病理学检查结果录入界面必须清楚地显示动物标识，在进行逐只检查信息录入时需要数据的完整性进行检查。统计分析必须准确，使用的任何分析方法均已由供应商进行测试和验证。3) 准确性：必须测试大体及组织病理学数据的录入、删除、修改、锁定、解锁；还要测试组织病理学术语的新建与修改。病理学报告系统（如有）必须准确地反映毒理病理学家所要求的结果，不得丢失或损坏。4) 导出数据：监管机构要求将肿瘤数据作为电子文件（目前为SAS导出文件）提供，以便他们能够进行自己的统计分析。5) 备份：数据必须定期保存到存储介质中，以便信息不会因硬件损坏或电源中断而丢失。6) 验证：供应商和用户测试必须记录并妥善保存。每一个新版本的软件都应该由供应商和用户进行测试，并进行相应的记录。应为测试流程的每一部分定义测试策略。

#### 4 病理学报告书写

组织病理学检查结束后，专题病理学家需要将检查结果制成表格，以便撰写病理学报告。以长期毒性试验为例，一般所制表格包括剖检个体表、剖检汇总表、镜检个体表和镜检汇总表。制表完成后要对表格进行认真核对，所有个体表和汇总表代表病理学家对毒理学试验中出现的病变进行了完整、准确的描述。表格一般作为附件附在解剖病理学报告后面。

监管机构没有规定标准的报告方法，各实验室之间的报告格式也各不相同，一般解剖病理学报告的形式由非临床安全性评价机构的毒理病理学家们讨论确定本部门统一的报告形式。所报告的结果必须具有科学有效性，不能掩盖任何重要发现。因此，专题病理学家需根据脏器重量、临床化学及血液学检测指标、大体剖检和镜检结果，再结合受试物的性质、作用特点和潜在的毒性靶器官或不良反应进行分析，确定与受试物有关或无关的大体及组织病理学改变，并对可能的作用机制进行分析讨论。一般在报告中只说明和受试物相关的组织病理学改变或潜在的毒性靶器官的病理改变及解释。还需要对死亡动物的死亡原因进行分析<sup>[7]</sup>。在致癌试验中要对肿瘤数据进行分析，所使用的方法必须经过验证，必要时可能需要专业的统计学家参与<sup>[24-25]</sup>。另外，如实施同期同行评议，最终的组织病理学诊断是评议病理学家和专题病理学家通过沟通达成一致的诊断意见和解释。如果实施回顾性同行评议，最终组织病理学诊断结果和解释的所有变化必须在报告变更中体现并进行讨论。

#### 5 组织病理学检查的质量控制

检查由专题病理学家生成数据的完整性、准确性和病理学检查结果的解释是病理学质量控制的基本要素。病理部门内部的其他病理学家对病理诊断和报告进行复核（亦称为非正式同行评议）是病理部门的常规做法。同行评议是由本机构内部或外部的病理学家对组织病理学检查、评估和结果解释进行同期或回顾性的评议，可视之为对所采用程序和所生成科学数据的质量保证活动。

##### 5.1 个人质量控制

毒理学试验中的组织病理学诊断涉及对大量动物组织器官（有时病变轻微且诊断困难）进行诊断，大多数病理学家认为组织病理学诊断过程中的漂移几乎不可避免。在对专题病理学家的病理学评估结果进行外部审查之前，必须确保病理学诊断结果能够经得起同行评议的仔细检查，并确保病理结果解释得到该试验的其它结果的支持，以及具有科学有效性。

##### 5.2 部门质量控制

在病理部门内部，需要通过某种方法来确保病理学评估的质量和所做工作及发布报告的一致性，包括检查数据完整性（例如组织缺失、大体病

变和镜检病变的相关性、临床化学和血液学的相关性)、诊断术语和标准使用的一致性,以及结论的确认和解释。通常每位病理学家的工作由该部门的另一名病理学家进行审查,可能对某一病变或不同剂量组某一特定组织器官的病变进行重新检查,可以采用盲检的方法,结果可以不记录<sup>[21,26]</sup>。专题病理学家决定最终的诊断结果。该检查过程通常称为“非正式同行评议”或“复核”,但实际上是质量控制程序而非质量保证程序。病理部门的“非正式同行评议”或“复核”是一个非常有效的程序,可以发现病理报告中的解释错误,尽可能减少诊断漂移。

### 5.3 同行评议

组织病理学检查方面的质量保证还可由经验丰富的毒理病理学家以同行评议来进行。组织病理学的同行评议要在同行评议的相关指导原则下进行<sup>[3,27-28]</sup>。在开展组织病理学同行评议时,非临床安全评价机构内部要有组织病理学同行评议的SOPs,并在试验方案中明确说明。开展同行评议时要注意以下几点<sup>[19,27-29]</sup>: 1) 组织病理学同行评议常由一位完成培训和具备适当经验的同行评议病理学家来开展。2) 差异性报告是正式同行评议的重要内容。3) 最终的诊断应该是专题病理学家和同行评议病理学家达成共识的诊断。4) 专题病理学家对解剖病理学报告负责并签字。5) 同行评议病理学家出具一份同行评议声明。

不同类型同行评议的流程和适用条件不同,根据同行评议发生的时间主要分为同期同行评议和回顾性同行评议<sup>[21]</sup>。同期同行评议要求在解剖病理学报告完成前及组织病理学诊断确定(锁定或签字)前开展,同期同行评议不产生原始数据,评议病理学家应该确认最终病理报告准确代表了专题病理学家和同行评议病理学家已达成共识的结果和解释。在病理学报告完成后,同行评议病理学家签署一份同行评议声明。回顾性同行评议是在一项试验完成后出现一些非预期的问题,需要补充工作对这些问题进行阐明时实施,一般在解剖病理学报告签字完成后开展,有可能改变组织病理学原始数据,需提供另外一份报告或报告变更,任何改变都必须记录。

### 5.4 病理工作组

在同行评议结束后,如果专题病理学家和同

行评议病理学家就诊断及结果解释的分歧以一种或多种方式讨论后仍未达成一致,可通过病理工作组(Pathology Work Group, PWG)来解决存在的分歧。

PWG的运作方式如下<sup>[19,29-30]</sup>: 1) 选择经验丰富且工作能力强的病理学家组成PWG。2) PWG小组成员组成人数为奇数。3) PWG小组成员在开始审查之前就已充分了解问题的性质。4) PWG小组成员在评估前同意使用统一的诊断标准。5) 审查的组织切片事先由主席或其他有经验的病理学家选择。6) 一般不审阅全部试验的组织切片,至少要检查专题病理学家和同行评议病理学家诊断分歧的切片、专题病理学家或同行评议病理学家诊断的所有靶器官切片,某些情况下可检查某些器官的所有切片。7) 组织切片检查以盲检的方式进行,每位病理学家将每张切片的诊断意见记录在表格中。8) PWG小组成员可以在宣布诊断结果前重新检查切片并更改诊断结果。9) 每张切片通过表决以大多数组员同意的诊断作为最终共识诊断。10) PWG主席可酌情要求小组成员重新考虑一些案例的诊断结果。11) 每天提交给PWG的病理切片数量不超过100张,以避免因疲劳造成诊断结果不一致。12) 形成PWG审阅报告。

PWG因功能不同其组成也不同:为了解决评议病理学家和专题病理学家之间的问题,PWG中应该包括1位组长,以及3~5名具有丰富经验的病理学家<sup>[30]</sup>。PWG组长负责PWG的组织工作,还需要详细地了解有关问题,审查所有相关数据和试验结果。组长一般不参与PWG的投票,但要选择和准备PWG审查内容,记录PWG达成共识的结果,并负责书写PWG报告。PWG的最终意见取决于PWG成员的能力和经历,以及分配任务的时间和检查切片的数量(和质量)。

## 6 展望

毒性病理学是药物非临床安全性评价机构毒理学试验的重要组成部分,其中解剖病理学的评估结果对药物非临床毒理学试验的结论至关重要,因此,解剖病理学相关的每一个环节的质量都要得到保障才能确保病理学检查结果的真实性和准确性。随着我国药物非临床安全性评价领域的快速发展,对解剖病理学制片和诊断人员的需求量日益增加,更要注重解剖病理学从业人员的培训,将解剖

病理学从业人员的考核及认证工作提上日程并逐渐规范化。随着国内药物研发企业的研发能力加强和该领域内国际合作越来越深入, 希望在我国尽快形成解剖病理学领域的统一认证、诊断及术语使用、同行评议的标准, 在提高解剖病理学科发展的同时, 进一步促进国际间的数据互认。

#### 参考文献:

- [1] Kerlin R, Burkhardt B, Burkhardt J, et al. Recommended ( "Best" ) Practices for Determining, Communicating, and Using Adverse Effect Data from Nonclinical Studies [J]. Toxicol Pathol, 2016, 44 ( 2 ) : 147-162.
- [2] Ramaiah L, Tomlinson L, Tripathi NK, et al. Principles for Assessing Adversity in Toxicologic Clinical Pathology [J]. Toxicol Pathol, 2017, 45 ( 2 ) : 260-266.
- [3] 国家食品药品监督管理总局. 国家食品药品监督管理总局令第34号 药物非临床研究质量管理规范. [EB/OL]. ( 2017-07-27 ) [2019-08-02]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0053/175598.html>.
- [4] Bancroft J D, Gamble M主编. 组织学技术的理论与实践[M]. 周小鸽, 刘勇主译. 北京大学医学出版社, 2010: 9.
- [5] 王捷. 毒性病理学[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2004: 10.
- [6] 吕建军, 霍桂桃, 林志, 等. 非临床毒理学实验毒性病理学家培训现状简介[J]. 中国药事, 2016, 30 ( 10 ) : 988-996.
- [7] 屈哲, 吕建军, 林志, 等. 非临床药物安全性评价中毒性病理学评价基本要素[J]. 中国药事, 2017, 31 ( 5 ) : 472-478.
- [8] 霍桂桃, 吕建军, 屈哲, 等. 毒性病理学评价中动物剖检及大体病理学检查原则[J]. 药物评价研究, 2017, 40 ( 10 ) : 1365-1371.
- [9] 张妙红, 吕建军, 姜德建, 等主译. 毒理研究者实用病理学: 实验动物病理学原则和实践[M]. 北京科学技术出版社, 2020.
- [10] Greaves P. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation [M]. 4th ed. Amsterdam: Academic/Elsevier, 2012: 1-7.
- [11] 霍桂桃, 吕建军, 林志, 等. 非临床毒性试验和致癌性试验动物死亡原因分析方法简介[J]. 中国药事, 2018, 32 ( 3 ) : 412.
- [12] 张頔, 姜华, 杨艳伟, 等. 临床前药物安全性评价中关于脏器质量的探讨[J]. 药物评价研究, 2020, 43 ( 5 ) : 797-802.
- [13] Michael B, Yano B, Sellers RS, et al. Evaluation of Organ Weights for Rodent and Non-Rodent Toxicity Studies: A Review of Regulatory Guidelines and Survey of Current Practice[J]. Toxicol Pathol, 2007, 35: 742-750.
- [14] 张平, 樊栓良, 叶小琨, 等. 兔脏器组织固定前后重量变化及法医学意义[J]. 中国法医学杂志, 2011, 26 ( 3 ) : 403.
- [15] Reichl F X, Schwenk M. Regulatory Toxicology [M]// Kaufmann W, Jacobsen M. Examination of Organ Toxicity, Berlin Heidelberg: Springer, 2014: 89-98.
- [16] 任进. 毒性病理学基本原则和方法的探讨[J]. 毒理学杂志, 2007, 21 ( 4 ) : 280-281.
- [17] Crissman JW, Goodman DG, Hildebrandt PK, et al. Best Practices Guideline: Toxicologic Histopathology[J]. Toxicol Pathol, 2004, 32: 126-131.
- [18] 霍桂桃, 吕建军, 林志, 等. 临床前药物安全评价毒性靶器官毒性的检查及评价[J]. 药物评价研究, 2017, 40 ( 9 ) : 1235-11239.
- [19] 吕建军, 林志, 屈哲, 等. 药物临床前安全性评价毒性病理学诊断术语和诊断标准项目及数据库简介[J]. 药物分析杂志, 2013, 33 ( 9 ) : 1640-1644
- [20] 吕建军, 屈哲, 霍桂桃, 等. OECD组织病理学同行评议GLP要求指导原则解读[J]. 中国药事, 2016, 30 ( 10 ) : 968-976.
- [21] GB/T 22275.6-2008 良好实验室规范实施要求: 第6部分 良好实验室规范原则在计算机化的系统中的应用[S]. 2008.
- [22] 霍桂桃, 张曦, 吕建军, 等. 药物临床前安全评价机构计算机化系统的验证[J]. 药物评价研究, 2017, 40 ( 11 ) : 1525-1530.
- [23] 吕建军, 霍桂桃, 王三龙, 等. 统计学在临床前药物毒理学安全性评价中的应用[J]. 中国药事, 2016, 30 ( 6 ) : 27-33.
- [24] Schaarschmidt F, Sill M, Hothorn LA. Poly-k-trend Tests for Survival Adjusted Analysis of Tumor Rates Formulated as Approximate Multiple Contrast Test[J]. J Biopharm Stat, 2008, 18 ( 5 ) : 934-948.
- [25] 霍桂桃, 杨艳伟, 林志, 等. 非临床毒理学试验中组织病理学同行评议的GLP流程及关键点探讨[J]. 药物评价研究, 2019, 42 ( 1 ) : 1-9.

- [26] 中国国家认证认可监督管理委员会. RB/T193-2015 良好实验室规范在组织病理学同行评议中的应用指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 4.
- [27] Fikes JD, Patrick DJ, Francke S, et al. Scientific and Regulatory Policy Committee Review: Review of the Organization 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.
- [28] 吕建军, 霍桂桃, 林志, 等. 组织病理学同行评议病理工作组简介[J]. 中国药事, 2016, 30(10): 977-981.
- [29] Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring: No. 16, Advisory Document of the Working Group on Good Laboratory Practice Guidance on the GLP Requirements for Peer Review of Histopathology[EB/OL]. (2014-12-15) [2019-07-20]. <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264228306-en>.
- [30] 吕建军, 霍桂桃, 林志, 等. 全切片图像在组织病理学同行评议和病理工作组中的应用[J]. 中国药事, 2016, 30(10): 982-987.

(收稿日期 2019年10月16日 编辑 王雅雯)