

【专论】

临床前药物安全性评价中关于脏器质量的探讨

张 頔[#], 姜 华[#], 杨艳伟, 霍桂桃, 屈 哲, 吕建军, 林 志^{*}

中国食品药品检定研究院 国家药物安全评价监测中心, 北京 100176

摘要: 毒性研究中脏器质量的评价是药物、化合物以及医疗器械评估的重要组成部分。美国毒理病理学会(STP)对一般毒性研究的脏器称量作了相应的指导推荐,并针对特殊系统如内分泌系统、免疫系统、生殖系统等的主要脏器称量数据的价值进行了详细解释。根据供试品的不同采用恰当的解剖实验方案,对脏器质量的称量有选择地增加或删除非常重要。无论哪种类型的研究或哪种脏器进行评价,病理学家进行脏器质量的评价时最好综合考虑该研究的化合物的类别、作用机制以及整体数据设置等内容。从脏器质量采集规范性、不同系统中需收集的脏器质量以及脏器质量数据解释等方面进行阐述,这将为我国药物非临床安全性研究中脏器质量数据的科学性评估提供支持和帮助。

关键词: 脏器称量; 安全性评价; 内分泌系统; 生殖系统; 免疫系统

中图分类号: R951

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)05-0797-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.05.001

Discussion on organ weights in preclinical drug safety evaluation

ZHANG Di, JIANG Hua, YANG Yanwei, HUO Guitao, QU Zhe, LÜ Jianjun, LIN Zhi

National Center for Safety Evaluation of drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

Abstract: The evaluation of organ weights in toxicology studies is an integral component in the assessment of pharmaceuticals, chemicals, and medical devices. The Society of Toxicologic Pathology (STP) has created recommendations for weighing organs in GLP general toxicology studies, and has explained in detail the main organ weighing data of special systems such as endocrine system, immunes system and reproductive system. It is important to note that organs weighed should be added or removed from the necropsy protocol as appropriate for the test article. Regardless of the study type or organ evaluated, organ weight changes must be evaluated by the pathologist within the context of the compound class, mechanism of action, and the entire data set for that study. This paper elaborates on the standardization of organ weight collection, organ weight to be collected in different systems and the interpretation of organ weight data, which will provide support and help for the scientific evaluation of organ weight data in non-clinical drug safety studies in China.

Key words: organ weight; safety evaluation; endocrine system; immunes system; reproductive system

脏器质量的变化是外源性化合物或生物制剂致组织器官改变的一个敏感指标,因此脏器质量的评估是药物、化合物、生物制品、食品添加剂和医药器械毒理学评估的重要组成部分。目前,脏器质量的评估已广泛应用于临床前药物安全性评价研究中^[1]。2007年美国毒性病理学会(STP)对多个跨国制药公司、动物健康研究机构以及化合物、食品或

营养保健产品生产公司的毒性研究中脏器质量称量的情况开展了调查研究,其结果表明不同公司或机构的脏器称量操作中存在明显的差异^[2]。同年,美国STP对7天至1年的药物非临床研究质量管理规范(good laboratory practice, GLP)中一般毒性研究的脏器称量作了相应的指导推荐^[3]。该指导原则对脏器质量采集、一般毒性研究需要考虑收集的脏

收稿日期: 2019-02-10

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX09201017-001)

[#]共同第一作者: 张 頔,女,学士,主管技师,研究方向为毒性病理学技术。Tel: (010)67872233 E-mail: skystar.night@163.com

姜 华,女,学士,研究方向为毒理学。Tel: (010)67872233 E-mail: jianghua@nifdc.org.cn

^{*}通信作者: 林 志,博士,研究方向为药物临床前安全性评价。Tel: (010)67872233 E-mail: linzhi@nifdc.org.cn

器质量、脏器质量数据的分析,以及脏器质量数据的解释等进行了详细的讨论。

近年来,针对不同系统如生殖系统和免疫系统等的脏器质量称量的要求和数据的解释再次引起病理学家的广泛讨论^[4-5]。尽管毒理学家和病理学家们一致认为脏器质量的称量是确定处理因素相关改变的重要手段,但是对于哪种脏器质量更有价值,则有不同的观点。毒性研究中肝脏、肾脏和睾丸是常规进行称量,并且大多数学者也认可这些脏器质量具有非常重要的价值。其他常规称量的脏器则包括脑、肾上腺、卵巢、甲状腺、子宫、心脏和脾脏。但是,在常规的毒性研究中肺脏、淋巴结和其他生殖器官并不经常进行称量,仅在一些特殊研究中进行称量,比如呼吸性研究、免疫毒性研究以及生殖研究中才分别进行相应脏器的称量。此外,脏器体质量比常规进行计算,因为该值在体质量变化的情况下更有意义。然而,脏器与脑的比值在大多数北美公司进行计算,但是兽医产品或欧洲的公司却很少进行计算。总之,不同个体的脏器质量评估的价值、脏器质量数据的描述方式以及统计学分析价值是毒理学家和病理学家们关注的重点。本文将从脏器质量的规范性采集、一般毒性研究中的脏器质量、不同脏器质量评估的价值、脏器质量数据解释的关注点等方面逐一进行讨论,以期为我国药物临床前安全性评价研究中采用规范性的脏器质量称量、科学严谨地解释脏器质量数据提供支持,为我国人民用药安全提供保障。

1 脏器质量数据的采集

实验动物解剖的顺序对于获取有意义的脏器质量是重要^[3]。解剖时应避免某一个解剖技术人员解剖的动物都来至同一个剂量组,因为不同解剖人员的摘取和修剪组织器官存在差异,会影响试验结果。因此,解剖的顺序应该随机的或合适地进行循环,以减少试验误差。脏器必须轻柔地进行分离,剔除周围无关的组织。如果器官不需要进行称量,则应该在离体后立刻放入固定液中。如果分离的器官需要称量则应该保持湿润,可适时喷洒生理盐水,称量完后立即将它们放入固定液中,因为有些小器官可能很快就脱水,从而影响脏器质量。成对脏器通常是一块称量。灌注固定的脏器的质量由于固定液或其他液体的灌注而发生改变,因此灌注脏器的质量不能与新鲜脏器和浸泡固定的脏器质量进行比较^[6]。内容物体积的差异会影响脏器质量,因此需要去除内容物,比如胆囊应该切开后

称量肝脏。

同一毒性研究中所有动物的最终体质量的称量方法应该一致。理论上最终体质量是计算脏器质量比值的重要因素,应该在解剖时进行称量而不是在解剖当天的早上进行称量,这样可以减少应激以及昼夜波动的差异导致的动物体质量的偏差。如果啮齿类动物在计划剖检前喂食,或者该研究的解剖会延续一日或多日,那么采用上述终末体质量称量的方法就非常重要了。

死亡动物通常认为不需要进行脏器称量。因为此时动物的营养状态、放血、组织充血和水肿差异较大,并且缺乏同期对照组动物的数据,这使得死亡动物所采集的脏器质量的解释复杂化,不能够直接反映处理因素造成的影响^[7]。

2 一般毒性研究中的脏器质量

2.1 一般毒性研究中脏器称量的指导原则要求

不同国家的管理规范指导原则中关于脏器质量推荐操作存在一些差异,缺乏统一的标准。美国食品药品监督管理局(FDA)的食品安全及应用营养中心(CFSAN)红皮书^[8]、美国STP推荐的脏器质量意见书^[3]、国际经济合作与发展组织(OECD)指导原则^[9]、日本厚生劳动省(MHLW)指南^[2]中关于不同的啮齿类和非啮齿类毒性研究需要特定称量的脏器在表1中列出。CFSAN红皮书提出的脏器质量包括12种脏器,即脑、心脏、肝脏、脾脏、肾脏、肾上腺、胸腺、甲状腺、睾丸、附睾、卵巢、子宫。MHLW指南中关于脏器质量的要求与CFSAN类似,不同的是要求必须称量的有前列腺,而子宫、胸腺、甲状腺不是必须称质量。此外,MHLW指南建议肺脏、唾液腺、胸腺、甲状腺、子宫、精囊也是常规的称量脏器。美国STP推荐的常规称量脏器包括肝脏、心脏、肾脏、脑、睾丸(最好的是性成熟动物)以及肾上腺。除小鼠外的其他种属都需要称量甲状腺和垂体。啮齿类动物还需要称量脾脏和胸腺^[3]。中国国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)在药物重复给药毒性试验技术指导原则^[10]中关于脏器质量的要求与美国CFSAN、欧洲OECD的指导原则基本保持一致。尽管各国关于生殖器官(如附睾、精囊腺、前列腺等)、内分泌器官(垂体、甲状腺)脏器称量的要求仍存在细微差别,但重要脏器都是需要称量。因此根据化合物的不同,并结合相应的指导原则,选择合适的脏器进行称量对于科学准确地评估药物毒性作用至关重要。

各国关于脏器质量称量的指南和要求见表1,

需要说明的是: X代表需称量, Xrm在STP推荐意见书中表示仅大鼠和小鼠需要称量, Xrp在STP推荐意见书中表示仅大鼠和非人灵长类动物需要称量, Xr在STP推荐意见书中表示仅大鼠需要称量, Xnr在OECD指导原则中表示“甲状腺含甲状旁腺一起称量”, Xa在MHLW指导原则中表示“总是需要称量”, Xo在MHLW指导原则中表示“常常需要称量”, Xto在MHLW指导原则中表示“常常仅称量甲状腺, 不含甲状旁腺”, Xso在MHLW指导原则中表示“常常仅称量精囊腺”, X*在CDE指导原则中表示仅啮齿类动物需要称量; CFSAN在该处选择的需称量脏器来自其红皮书的亚慢性、致癌性以及1年毒性研究的指导原则, STP在该处选择的需称量脏器来自一般重复给药毒性研究(时长7 d至1年)的推荐, OECD在该处选择的需称量脏器来自其90 d经口重复给药啮齿类动物毒性研究的指导原则, MHLW在该处选择的需称量脏器来自其绝对和相对体质量脏器质量的指导原则, CDE在该处选择的需称量脏器来自其药物重复给药毒性试验技术指导原则。

2.2 一般毒性研究中常规脏器称量的关注点

脏器质量的变化通常都与处理因素相关。毒

性研究中选择合适的脏器称量需要深入地了解受试物的作用机制、相关的药代及毒代数据、实验动物的生理状态、前期相同或相似化合物研究的背景数据。STP认为在重复给药的一般毒性研究中应该常规地进行脏器称量。质量数值应该使用公制单位称量记录^[11]。

不同脏器质量的改变可能提示与处理因素相关的某些毒性反应。肝脏质量的改变可能与肝细胞肥大相关, 如酶诱导作用或过氧化物酶体的增生^[12]。对于有效的肝酶诱导物的短于7 d的研究, 肝脏质量的称量也可以进行评估。心脏质量的增加可能是心肌肥大仅有的证据, 因为这种改变大体及组织病理学检查很难发现^[13]。肾脏的变化则可能反映了肾脏毒性, 如肾小管的肥大、增生或慢性肾症^[10]。肾上腺质量的变化可能显示了与应激、内分泌或受试物作用有关的肥大、增生或萎缩^[13-14]。

脑质量的变化很少与神经毒性相关联。脑质量主要用于计算脏器与脑的比值。部分专家认为试验终末期动物体质量变化过大时, 脏器脑比值就非常有意义。或者, 当个体动物的差异太大时, 通过计算脏器与脑比值可用以标准化脏器质量。因此, STP推荐称量脑的质量, 以便必要时计算脏器和脑的质量比值^[15-17]。

2.2 内分泌系统的脏器称量

当甲状腺和垂体进行合适的称量后, 它们质量的变化可能反映了内分泌的混乱, 而这种混乱在组织病理学检查中可能不会立刻表现出来^[10]。STP推荐在除小鼠以外的其它动物的毒性研究中甲状腺和垂体质量应该常规进行检查。原则上小鼠的甲状腺和垂体的质量也有相似的价值, 但是由于摘取和称量的过程极易造成人工损伤, 这使得甲状腺和垂体镜检困难, 所以小鼠的甲状腺和垂体的称量是选择性的而不是必须的。称量前固定甲状腺和垂体则可以提供较准确的称量数据, 并且也能保持较好的形态学特征, 因此对啮齿类动物采用固定后称量的方式收集甲状腺和垂体的质量更好。大多数病理学家认为甲状腺和垂体称量是有意义的, 因为动物之间的差异较小, 并且与组织病理学改变密切相关, 是毒性预测的一个敏感指标。尤其是很多研究者认为甲状腺质量对于甲状腺素水平的减低非常敏感, 因此可以和肝脏质量以及肝脏形态学改变一起成为肝脏酶诱导作用的观测指标^[17]。

2.3 生殖器官的脏器称量

性成熟动物的睾丸质量有一定价值。睾丸质

表1 各国关于脏器质量称量的指南和要求

Table1 Guidance and requirements for organ weights in various countries

脏器	美国 CFSAN	美国 STP	欧洲 OECD	日本 MHLW	中国 CDE
脑	X	X	X	Xa	X
心脏	X	X	X	Xa	X
肝脏	X	X	X	Xa	X
肾脏	X	X	X	Xa	X
肺脏				Xo	
脾脏	X	Xrm	X	Xa	X
胸腺	X	Xrm	X	Xo	X
肾上腺	X	X	X	Xa	X
甲状腺(含甲状旁腺)	X	Xrp	Xnr	Xto	X*
垂体		Xrp		Xa	
睾丸	X	X	X	Xa	X
附睾	X	Xr	X		X
前列腺		Xr		Xa	
精囊腺				Xso	
卵巢	X		X	Xa	X
子宫	X		X	Xo	X
唾液腺				Xo	

量的变化可能反映了曲细精管或间质的水肿。附睾质量的变化可能是精子减少的比较灵敏的指示,附睾质量增加则可能反映了附睾的水肿或炎症。前列腺的质量变化可能与药物诱导的激素水平的改变相关,即药物导致了雄性激素或雌性激素信号的改变致使前列腺的质量发生了变化^[4]。对于重复给药大鼠毒性研究而言,睾丸、附睾和前列腺通常为性成熟器官,应该常规进行称量。在小鼠,睾丸也应该称量,而前列腺和附睾可以根据不同的研究要求进行称量。精囊腺的质量提供的信息与前列腺相似,因此如果已有前列腺质量的数据,则称量精囊腺对于毒性评价的意义不大。

在非啮齿类动物,睾丸是常规推荐需要称量的脏器。附睾和前列腺依据具体试验的不同可能需要称量。无论怎样,成熟雄性动物的前列腺、附睾和其他附属的性器官的称量价值要高于不成熟的雄性动物。这主要是因为青春期非啮齿类动物的生殖器官本身的生理差异就很大。此外,考虑到年龄、性成熟以及特殊的自发性疾病(比如前列腺非特异性的肥大和增生)等因素,附睾和前列腺质量个体动物之间本身差异较大,这使得脏器质量数据解释起来非常困难^[18],所以非啮齿类动物的附睾和前列腺的脏器称量是选择性的。但是,值得注意的是,毒性导致的非啮齿类动物前列腺和附睾质量的改变可能也反映在其他参数方面的变化,比如镜检组织结构的改变或睾丸质量的改变^[19-20]。总之,如果采集了这些脏器的质量,那么未成熟动物生殖器官的质量的评价就需要格外谨慎。

在啮齿类和非啮齿类动物中,正常的生殖周期和不同的年龄使得子宫和卵巢质量的个体之间差异很大^[21]。雌性生殖系统的毒性作用是能够通过镜检发现形态学的改变。此外,生殖系统脏器质量的解释需要考虑应激状态,以及显著的体质量的下降等因素,因为生殖器官质量的变化可能是处理因素导致的继发性改变而不是供试品直接的毒性作用^[14]。如果啮齿类动物的卵巢需要称量,STP推荐小于6个月的啮齿类重复毒性研究卵巢可以进行称量。雌性啮齿类动物的生殖器官的质量在短期毒性研究中(小于6个月)是比较有意义的,因为成熟大鼠生殖系统的衰老从6个月月龄的大鼠开始。

2.4 免疫器官的脏器称量

STP推荐在所有超过7天的GLP啮齿类毒性研究中(除致癌性研究)胸腺和脾脏的质量都应该进行评价的。胸腺和脾脏质量的变化是免疫毒性(免

疫刺激或抑制、应激和生理性波动的敏感指标。此外,脾脏和胸腺组织病理性改变与脏器质量的变化密切相关。但是,在非啮齿类动物的毒性研究中,尤其是3个月以上的研究,胸腺的质量需要考虑自发性的胸腺退化,这会使得胸腺质量的解释复杂化。在非啮齿类动物中,脾脏质量则可能受到麻醉方式和放血处死的程度的影响^[22]。非啮齿类动物的胸腺和脾脏质量的检查和分析应该遵循个案分析的原则(case-by-case)。如果供试品可能存在免疫毒性,比如单克隆抗体或生物制剂,则脾脏和胸腺就应该进行脏器质量评价。如果不能确定非啮齿类动物的脾脏或胸腺质量改变与处理因素是否相关,那么这些质量的变化可能需要忽略,因为这些数据的解释受到年龄的干扰。胸腺和脾脏质量的变化需要紧密联系组织病理学的改变进行分析和解释,因为淋巴器官质量自身生理变异范围很大。研究表明食蟹猴脾脏绝对质量变异范围非常大,甚至最大值与最小值之间差异达到10.7倍,并且与动物成熟度无相关性,因此非人灵长类动物脾脏质量的评价需要考虑动物的生理性变异^[23]。总之,如果淋巴器官质量的改变缺乏相应的组织病理学的改变,那么对于质量变化的解释就要谨慎。淋巴结并不推荐称量,尤其是肠系膜淋巴结,因为其质量在动物之间变异程度很大,并且这些组织很难与周围组织分离。

3 急性毒性研究以及致癌性研究中的脏器称量

STP认为7天以上的毒性研究中动物系统地暴露于化合物、医疗器械装置或特殊处理条件下,脏器的称量具有一定的评估价值。然而,在单次给药的急性毒性研究或者剂量递增研究中,脏器称量的意义不大,因而不推荐进行脏器称量的检查^[3]。

STP认为致癌性研究也不适合进行脏器称量,这包括使用转基因动物模型的致癌性研究^[3]。在这些长期研究中,正常年龄生理差异以及自发性疾病使得动物间的差异较大,因而干扰了脏器质量称量结果的解释。比如自发性肿瘤、毒性作用或肿瘤导致的恶病质、不健康的肥胖、慢性肾症、心肌病、内分泌失调和淀粉样变性病(小鼠)等,这些自发性疾病都可能干扰脏器质量的称量结果,影响最终数据的解释和分析。

4 脏器质量数据解释的关注点

通常处理组的脏器质量能够与同时称量的对照组的脏器质量数据进行比较。但是,如果对照组的脏器质量异常高或低,或者该组动物之间的差异

较大时,将处理组脏器质量与背景对照组脏器质量数据进行比较可能更有意义。但是需要注意考虑背景对照组动物的年龄、性别、体质量、喂养状态以及使用的溶媒等条件与处理组尽量一致^[24]。在非啮齿类动物的研究中,由于每组动物数目较少,因而与背景对照组脏器质量数据的比较同样很有意义。背景对照组脏器质量数据应该及时定期更新,以减少由于某一时间段收集的脏器质量的不同造成的偏差。通常认为在最近一段时期(少于5年)的数据比老数据更合适^[3]。

STP推荐常规采用脏器与体质量比值进行计算和评价。脏器与体质量的比值对于澄清处理因素导致的脏器质量变化非常有用,尤其是非啮齿类动物脏器质量和体质量的个体值变异很大。脏器质量与体质量的比值可以减少由于体质量差异导致的脏器质量的改变。此时,脏器质量与脑质量的比值就非常有意义,因为供试品可能影响体质量但通常对脑质量不会有明显影响。脏器与脑质量的比值对于减少动物之间的差异有帮助,尤其是非啮齿类动物的研究^[15]。研究表明在卵巢和肾上腺的脏器毒性评价中脏器与脑的比值更合适,而肝和甲状腺的评价中脏器与体质量的比值更合适^[15]。

如果脏器质量的改变与处理因素相关,那么脏器质量数据的解释就应结合大体病理学、临床病理学以及组织病理学数据进行整体的阐述分析。缺乏大体病理学改变或者组织病理学改变时,脏器质量变化的解释需要非常谨慎。总之,在处理组发现的脏器质量的改变可能不一定与处理因素相关,可能只是处理因素导致的继发作用。

STP认为病理学专题负责人应负责对脏器质量数据进行评价,因为通常脏器质量与大体病理学以及组织病理学的改变密切相关,这样有利于毒性病理学家联系所有数据进行整体分析^[3]。因此,在进行组织病理学评价前,病理学专题负责人最好提前检查所有的脏器质量以及大体病理学数据,这样可以更好地确定和描述任何处理因素所导致的组织病理学变化。

5 结语

脏器质量的变化是化合物诱导组织器官改变的一个敏感指标。在毒理学试验中,常规进行处理组与对照组之间脏器质量的比较,可以发现供试品所致的毒性作用。然而,脏器质量评估的价值、脏器质量数据的描述方式以及统计学分析等是毒性病理学加和毒理学家关注的要点。是我国药品审

评中心颁布的重复给药毒性试验技术指导原则中规定的称量脏器与美国、欧洲主要的相关指导原则要求基本一致。但是,与日本相比较,对肺脏、垂体、附睾、前列腺、精囊腺、唾液腺等要求存在一些差异。最根本的原则应该是遵循具体试验具体分析的原则^[3]。比如,在呼吸性研究中肺脏的脏器称量应该是有价值的检测指标。但是,如果不是通过吸入给药的毒性研究,则认为肺脏质量的评价对于镜检缺乏意义,肺脏的称量可以是选择性的^[25]。再比如,盲肠质量在抗生素和营养学研究中可能具有一定的价值,但是这些改变是适应性的变化,而不像大体及镜检的改变那样是毒性反应的直接证据,因此可以选择性进行检查。总之,不管是哪种研究或哪种脏器的评估,脏器质量的变化应该根据供试品类型的背景、作用机制以及试验其他全部数据来进行综合评价分析。

参考文献

- [1] Haschek W M, Rousseaux C G, Wallig M A, et al. *Handbook of toxicologic pathology* [M]. San Diego, CA: Academic Press. 2002.
- [2] 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 a survey of current practices [J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35 (5): 742-750.
- [3] Sellers R S, Morton D, Michael B, et al. Society of Toxicologic pathology position paper: organ weight recommendations for toxicology studies [J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(5): 751-755.
- [4] Halpern W G, Ameri M, Bowman C J, et al. Scientific and regulatory policy committee points to consider review: inclusion of reproductive and pathology end points for assessment of reproductive and developmental toxicity in pharmaceutical drug development [J]. *Toxicol Pathol*, 2016, 44(6): 789-809.
- [5] Sellers R S, Nelson K, Bennet B, et al. Scientific and regulatory policy committee points to consider: approaches to the conduct and interpretation of vaccine safety studies for clinical and anatomic pathologists [J]. *Toxicol Pathol*, 2020, 48(2): 257-276.
- [6] DeMartelly V, Hurley P, Lawrence M, et al. Comparison of fresh to fixed weights of the vervet monkey (*Chlorocebus sabaeus*) placenta and its relation to gestational age [J]. *J Med Primatol*, 2012, 41(3): 158-162.
- [7] Elizabeth M. *Pathology for Toxicologists: Principles and Practices of Laboratory Animal Pathology for Study Personnel* [M]. United Kingdom: John Wiley & Sons

- Ltd. 2007.
- [8] United States Food and Drug Administration (USFDA) Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) Office. Food Additive Safety Redbook Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients [EB/OL]. (2017-10-26) [2019-11-01]. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm078315.htm>.
- [9] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Environment Directorate. Guideline for the Testing of Chemicals [EB/OL]. (2018-06-25) [2019-11-01]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070707-en.pdf?expires=1580446991&id=id&accname=guest&checksum=38AE0E8747B2360CE8215CC076CE2F12>.
- [10] 国家药品监督管理局药品审评中心. 药物重复给药毒性研究技术指导原则 [EB/OL]. (2014-05-13)[2019-11-01]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=192>.
- [11] Long G G, Symanowski J T, Roback K. Precision in data acquisition and reporting of organ weights in rats and mice [J]. Toxicol Pathol, 1998, 26(3): 316-318.
- [12] Hall A P, Elcombe C R, Foster J R, et al. Liver hypertrophy: A review of adaptive (adverse and non-adverse) changes-conclusions from the 3rd international ESTP expert workshop [J]. Toxicol Pathol, 2012, 22: 1-24.
- [13] Peter Greaves. 王和枚, 吕建军, 乔俊文, 等主译. 临床前毒性试验的组织病理学: 药物安全性评价中的解释与相关性 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2018.
- [14] Everds N E, Snyder P W, Bailey K L, et al. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment [J]. Toxicol Pathol, 2013, 41(4): 560-614.
- [15] Bailey S A, Zidell R H, Perry R W. Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint? [J]. Toxicol Pathol, 2004, 32(4): 448-466.
- [16] Weichenthal S, Hancock S, Raffaele K. Statistical power in the analyses of brain weight measures in pesticide neurotoxicity testing and the relationship between brain and body weight [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2010, 57 (2/3): 235-240.
- [17] Mullur R, Liu Y Y, Brent G A. Thyroid hormone regulation of metabolism [J]. Physiol Rev, 2014, 94(2): 355-382.
- [18] Keane K A, Parker G A, Regan K S, et al. Scientific and regulatory policy committee (SRPC) points to consider: histopathology evaluation of the pubertal development and thyroid function assay (OPPTS 890.1450, OPPTS 890.1500) in rats to screen for endocrine disruptors [J]. Toxicol Pathol, 2015, 43(8): 1047-1063.
- [19] Lanning L L, Creasy D M, Chapin R E, et al. Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity [J]. Toxicol Pathol, 2002, 30(4): 507-520.
- [20] Vidal J D, Whitney K M. Morphologic manifestations of testicular and epididymal toxicity [J]. Spermatogenesis, 2014, 4(2): e979099.
- [21] Bumbuliene Z, Klimasenko J, Sragyte D, et al. Uterine size and ovarian size in adolescents with functional hypothalamic amenorrhoea [J]. Arch Dis Child, 2015, 100 (10): 948-951.
- [22] O'Malley D P, Louissaint A Jr, Vasef M A, et al. Recommendations for gross examination and sampling of surgical specimens of the spleen [J]. Ann Diagn Pathol, 2015, 19(5): 288-295.
- [23] Everds N E, Reindel J, Werner J, et al. Variability of spleen and mesenteric lymph node in control cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) from nonclinical safety studies: a retrospective assessment [J]. Toxicol Pathol, 2019, 47(1): 53-72.
- [24] Piao Y, Liu Y, Xie X. Change trends of organ weight background data in sprague dawley rats at different ages [J]. J Toxicol Pathol, 2013, 26(1): 29-34.
- [25] Rajendran N, Hu S C, Sullivan D, et al. Toxicologic evaluation of tungsten: 28-day inhalation study of tungsten blue oxide in rats [J]. Inhal Toxicol, 2012, 24 (14): 985-994.