

## 尿液NGAL作为药物诱导急性肾毒性生物标志物的研究进展

王超<sup>1</sup>, 白玉杰<sup>1,2</sup>, 周晓冰<sup>1\*</sup>, 李波<sup>1</sup>

1. 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

2. 潍坊峡山荆卫生物科技有限公司, 山东 潍坊 262600

**摘要:** 寻找能早期、灵敏、特异地诊断肾毒性的新型生物标志物已成为目前药物临床前研究的热点。大量研究发现尿液中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)对肾损伤的诊断效能优于传统生物标志物血清肌酐和尿素氮。2018年尿液NGAL获得了美国食品药品监督管理局的批准,可用于I期临床试验中药物对肾小管损伤作用的监测,但其在临床前试验中的应用和推广仍有待进一步研究。就NGAL特性、作为药物诱导急性肾损伤生物标志物研究进展及其应用面临的挑战进行综述,以期为NGAL在我国新药研发中对急性肾毒性评价的应用奠定基础。

**关键词:** 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 急性肾损伤; 生物标志物; 临床前研究

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)08-1806-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.08.036

## Research progress on urinary NGAL as biomarker of drug-induced acute nephrotoxicity

WANG Chao<sup>1</sup>, BAI Yujie<sup>1,2</sup>, ZHOU Xiaobing<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>

1. National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

2. Weifang Xiashan Jingwei Biotechnology Co. Ltd., Weifang 262600, China

**Abstract:** Finding new biomarkers that can diagnose nephrotoxicity early, sensitively and specifically has become a hot spot in drug preclinical research. A large number of studies demonstrated that urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is better than the traditional biomarkers BUN and CRE in the diagnosis of renal injury. In 2018, urinary NGAL approved by FDA, can be used for monitoring renal tubular damage in I clinical trials of drugs. However, further study should be performed for the application and promotion of NGAL in preclinical trials. This article reviews the characteristics of NGAL, its research progress as a biomarker of drug-induced acute kidney injury and the challenge of NGAL application, which will offer the foundation of the NGAL application for acute renal toxicity assessment in new drug preclinical research in China.

**Key words:** neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL); acute kidney injury; biomarker; preclinical study

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是指肾功能在短时间(几小时至几天)内突然下降而出现的临床综合症。研究发现,基础肾脏疾病、心源性休克、大手术后、药物等因素均可能造成AKI,尤其是药物性肾损伤不仅在临床发生率较高,也是新药开发过程中的常见问题,同时也是导致药物撤市的重要原因之一<sup>[1]</sup>。目前用于临床AKI的诊断指标血清肌酐(creatinine, Cr)和尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)是反映肾脏功能的指标,而不能直接

反映出肾脏组织结构的损伤。由于肾脏具有强大的代偿能力,只有在发生严重肾损伤时,BUN和Cr才会出现明显异常,其灵敏度不高、特异性不强、具有一定滞后性,不能及早检测肾损伤,从而延误最佳治疗时间<sup>[2-3]</sup>。因此,寻找能早期灵敏特异地诊断肾毒性的生物标志物已经成为目前药物临床前研究的热点。

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin,

收稿日期: 2021-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(81603210); 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09201017-001)

第一作者: 王超,男,技师,研究方向为药物临床前安全性评价。E-mail: tannisi@126.com

\*通信作者: 周晓冰,女,研究员,研究方向为药物临床前安全性评价。E-mail: zhxb@nifdc.org.cn

NGAL)为Kjeldsen等<sup>[5]</sup>在1993年发现的lipocalin家族中一种相对分子质量为 $2.5 \times 10^4$ 新蛋白成员,在机体多种细胞内广泛分布,可自身聚合或与其他蛋白分子形成同源或异源二聚体<sup>[5-6]</sup>。在NGAL基因的5'端调控区发现转录因子和核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)等结合位点,推测与其生物学功能有关<sup>[5,7]</sup>。目前大量研究证实,在肾脏损伤时NGAL表达显著升高,并发现其尿液NGAL作为肾损伤生物标志物的诊断效能优于传统标志物BUN和Cr<sup>[3-4]</sup>。为了更加全面了解NGAL,本文就NGAL的特性、作为药物诱导AKI生物标志物的研究进展及其临床以及临床前应用面临的一些问题和挑战作一综述,以期NGAL在我国新药研发中对急性肾毒性评价的应用奠定基础。

### 1 NGAL在机体组织中的分布与生物学功能

在正常机体内中性粒细胞、单核或巨噬细胞、脂肪细胞中均含有丰富的NGAL分子,此外,研究还证实在不成熟中性粒细胞中NGAL mRNA表达水平要高于成熟中性粒细胞中水平,但在成熟中性粒细胞中却含有大量NGAL蛋白分子,这些特性与基质金属蛋白酶9(MMP-9)联合发挥生物学功能有关<sup>[8-10]</sup>。在正常生理状况下,NGAL的表达很低;但是当机体一些器官组织发生损伤时,NGAL会在短时间内在受损部位大量表达,例如在受损的肾小管上皮细胞、细菌感染部位、肿瘤组织中<sup>[11-12]</sup>。

近期研究发现NGAL可能参与多种生化过程,NGAL具有类似于转铁蛋白的铁转运功能,一方面可以作为铁离子的供体,被早期的原始肾上皮细胞摄取,促进原始肾上皮细胞的成熟,在肾元的形成、肾脏的保护、肿瘤细胞的浸润转移过程中发挥生理功能;另一方面还可以作为铁离子螯合剂,参与B细胞凋亡、细菌引起的炎症免疫应答、抑制红细胞生成等生理过程<sup>[3,13]</sup>。由此可见,NGAL与肾脏的结构功能具有密不可分的关系。

### 2 NGAL与药物诱导的肾小管损伤

大量研究证明,受损的肾小管上皮细胞可以分泌NGAL。Mori等<sup>[14]</sup>在临床病例研究中发现,无论是肾缺血与肾移植排斥反应患者,还是药物性肾损伤的病人,其尿液中含有大量的NGAL;在一些顺铂化疗后处于很轻微的“亚临床”型肾损伤的患者尿液中,NGAL升高要明显早于血清肌酐和 $\beta$ 2-微球蛋白( $\beta$ 2-microglobulin,  $\beta$ 2-MG)<sup>[15]</sup>。但Tonomura等<sup>[16]</sup>发现在顺铂诱导的大鼠肾损伤生物标志物模型中,NGAL却没有表现出较高的灵敏性。研究人员通过

大鼠单次iv 4 mg/kg顺铂,给药第3天肾脏出现轻度到中度的肾小管上皮细胞坏死和间质炎性细胞浸润,但是尿液NGAL的水平却未见明显升高。Kuwata等<sup>[17]</sup>分别利用240 mg/kg庆大霉素和5 mg/kg顺铂建立大鼠肾损伤模型,研究中都出现了肾小管轻度至中度坏死、再生,但是庆大霉素组动物尿液NGAL出现显著升高,顺铂组动物尿液NGAL却未见明显变化。而在另外一些文献中采用高剂量顺铂或者年龄较大的大鼠,尿液中的NGAL会出现升高<sup>[18-19]</sup>,这可能与顺铂的损伤机制、给药剂量、肾损伤程度以及动物的年龄有关。

而笔者实验室研究结果也表明在庆大霉素诱导的犬<sup>[20-21]</sup>和大鼠<sup>[22]</sup>AKI模型中,证实低、高剂量组动物给药后,尿液中NGAL升高幅度远高于传统的BUN和Cr数据,个体分析也表明NGAL的增高与病理损伤具有较好的对应关系。同时,受试者操作特性曲线(ROC)结果证实NGAL曲线下面积(AUC)均明显高于BUN、Cr,具有更高的肾损伤诊断灵敏度和特异性<sup>[21-22]</sup>,在药物的临床前安全性研究中具有良好的应用前景。

### 3 NGAL与药物诱导的肾小球损伤

通常认为尿液NGAL的升高反映了肾小管的损伤,但研究人员在嘌呤霉素诱导大鼠肾小球损伤模型中,肾小球上皮细胞出现了轻微的空泡变性,但尿液NGAL也发生了明显升高<sup>[11]</sup>,提示尿液NGAL不仅可以反映肾小管的损伤,还可能与肾小球损伤有关。

DesRochers等<sup>[23]</sup>使用永生化的肾皮质上皮细胞成功构建3D肾组织模型平台,并应用传统的乳酸脱氢酶(LDH)和临床前生物标记物NGAL对顺铂、庆大霉素和阿霉素诱导急性(3 d)和慢性(2周)不同类型(肾小管和肾小球损伤)肾毒性进行比较研究,证实NGAL在药物诱导肾小管和肾小球损伤的模型中均出现明显升高,表明其诊断效果优于LDH。

### 4 NGAL与肾小管再生

Viau等<sup>[24]</sup>开展的研究显示NGAL具有类似于转铁蛋白的铁转运功能,在肾小管恢复再生过程中,肾小管上皮细胞分泌的NGAL,不仅可诱导肾间充质细胞向肾小管上皮细胞转化,使肾小管上皮细胞再生,还可诱导肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡来保护肾组织免受炎症细胞的侵害。研究人员利用免疫组织化学法和相对定量PCR法,分别在组织细胞水平和基因表达水平分析大鼠肾脏

中NGAL的变化情况,发现在肾小管损伤恢复阶段,NGAL主要分布在修复再生的肾小管上皮细胞上,而且NGAL在肾脏中的基因表达水平也保持在较高的水平<sup>[25]</sup>,表明NGAL在肾小管上皮细胞的再生过程中起重要的作用。在临床实践中,研究人员通过分析240名不同慢性肾病分级患者体内的NGAL水平,发现这些患者NGAL的浓度随着其慢性肾病分级分期的增高而上升,肾小球滤过率与NGAL具有良好的相关性,表明NGAL水平可以用于预测肾损伤的程度<sup>[26]</sup>。

## 5 NGAL在药物临床前应用中面临的问题和挑战

NGAL作为一种AKI的新型生物标志物,经大量研究证实其在药物诱导的AKI早期诊断方面要优于传统标志物BUN和Cr。在药物研发过程中,还可以通过检查NGAL水平来筛选候选药物预防、改善或者逆转肾损伤的能力,达到候选药物活性快速筛选的目的。2018年8月,尿液NGAL和肾损伤因子1(KIM-1)等6个新的肾毒性标志物获得了美国食品药品监督管理局(FDA)的批准,可用于I期临床试验中药物对肾小管损伤作用的监测<sup>[27]</sup>,但FDA建议将其与传统的肾损伤标志物BUN、Cr等同时使用,并认为这些新的标志物在临床前试验中的应用和推广仍有待进一步研究。未来临床以及临床前NGAL在药物肾脏毒性评价的广泛应用仍面临一些问题和挑战。

### 5.1 NGAL作用及分子机制的深入研究

当前研究成果表明NGAL不仅在涉及肾小管和肾小球等AKI时发生改变,而且在一些慢性肾损伤中也发挥重要的生物学作用,但由于慢性肾损伤可能具有不同的病理改变,对体内NGAL表达的影响也不尽相同<sup>[24,26]</sup>。因此,不能期望NGAL可用于无差异急性和慢性肾损伤的诊断及其预后评估。此外,NGAL可在各种人体组织和器官中稳定表达,并且也与感染和癌症密切相关。尽管许多研究已经报道了在AKI的早期阶段NGAL的急剧增加,但是需要仔细评估NGAL在诊断AKI方面的特异性<sup>[28]</sup>。

除了AKI以外,在其他情况下血液和尿液NGAL的水平也会发生变化,例如,细菌感染期间血浆NGAL的水平升高,在病毒感染患者中血浆NGAL的水平也达到(47.81±18.18)mg/L。此外,NGAL在各种肿瘤中的表达也显著增加,恶性肿瘤在结肠上皮中的NGAL表达高于正常结肠上皮中的NGAL表达,在培养的乳腺癌细胞中NGAL的表

达也较高<sup>[29]</sup>。AKI是多种疾病的并发症,当NGAL水平升高时,有必要区分AKI和原发疾病(如严重感染和癌症)的影响。这可能会限制NGAL作为AKI诊断标记物的应用。

目前已确定NGAL至少以3种不同的分子形式存在:单体、同源二聚体和异源二聚体。Paragas等<sup>[30]</sup>证实尿液中的NGAL水平主要来自于AKI期间受损的肾上皮细胞,但尿中NGAL的形式尚不清楚。同时,对患有不同疾病(肾脏损伤、炎症等)的患者进行非还原性聚丙烯酰胺凝胶电泳和蛋白质印迹分析,发现在AKI患者的尿液中可检测到更高含量的NGAL单体,而尿路感染患者中检测到更高水平的同源二聚体;这表明NGAL主要从肾小管上皮细胞以单体形式分泌,而同源二聚体主要存在于白细胞中<sup>[31]</sup>。这些研究成果表明,不同分子形式的NGAL具有不同的组织起源,其各自水平的变化可能具有不同的适应症。

因此,在未来的研究中,还需要加强NGAL在AKI分型、病因学、药物疗效结果预测等方面进行大规模的关联研究,以期NGAL作为早期诊断生物标志物的应用提供更加坚实的理论基础。

### 5.2 NGAL的检测方法标准化

目前NGAL检测方法主要包括酶联免疫吸附测定<sup>[19]</sup>、免疫印迹方法<sup>[20]</sup>和液相芯片(Luminex)技术检测方法<sup>[23]</sup>等。检测样本中多采用血清或尿液,尤其尿液样品对采集与保存条件要求高,检测结果容易受多种因素影响。但几乎所有检测方法都涉及需要NGAL特异性抗体,NGAL单体形式和异源二聚体形式是肾小管上皮细胞产生的主要形式,而二聚体形式为嗜中性粒细胞所独有的<sup>[30]</sup>。血液和尿液中可能存在多种分子形式的NGAL,不同形式NGAL的表位暴露存在差异,导致NGAL抗体对不同形式NGAL的识别能力不尽相同,直接影响检测结果。

此外,在药物临床前安全性评价过程中,涉及多种不同动物种类,检测NGAL时也必然要求来自这些不同动物种系的抗NGAL抗体特异性。抗体也要求建立不同种系中NGAL的检测方法。这些因素对NGAL的检测方法标准化也提出更大挑战。

### 5.3 生物标志物验证与认证

当前NGAL生物标志物的研究绝大多数局限于单个或几个实验室,在不同动物种类、肾毒性阳性药物、给药剂量和给药途径等研究设计也各不相同,大样本横向比较研究较少。当前研究成果还有

待于多中心、大规模的前瞻性研究来进一步验证。基于前期已公布的新型生物标志物的特性与探索经验, FDA近2年发表一系列生物标志物的验证与认证文件, 包括《生物标志物证据框架指南》<sup>[32]</sup>、《生物分析方法验证指南》<sup>[33]</sup>和《药物研发工具的通用流程指南》<sup>[34]</sup>, 法规指南的建立和完善, 标志着生物标志物验证与认证踏上了新台阶。但对于具体新型生物标志物NGAL, 还要根据目前的研究成果, 制定其不同类别、方法的验证与认证。

## 6 结语

尽管美国FDA批准尿液NGAL等6个新的标志物可用于监测I期临床试验中药物对肾小管的损伤, 但仍建议将其与传统的肾损伤标志物BUN、Cr等同时使用, 新的生物标志物如何逐步替代临床终点等传统判断方法, 成为新药研发、审评、审批的新指标仍需要做大量工作。一方面, NGAL在机体一些正常细胞表达分布, 通过标准化检测方法动态分析NGAL变化就显得尤为重要。另一方面, 研究发现NGAL在肾小球和肾小管损伤时均发生改变, 提示其新的标志物的诊断效能可能因药物的毒性机制、损伤部位和程度的不同而不同, 建议扩大标志物的分析验证范围, 进一步积累新标志物的临床前及临床检测数据。

在国内, 仅有少数实验室开展了NGAL生物标志物的验证研究, 尚无相应的生物标志物的验证认证指南, 随着加入人用药品技术要求国际协调理事会(ICH)以及在国内提倡新药原始创新的大背景下, 生物标志物的应用将越来越广泛, 因此建立属于我国的生物标志物验证认证标准体系尤为迫切。在生物标志物的验证和认证过程中, 通过科研单位与监管部门、药物生产厂家等参与者的沟通协作, 应对大量新的生物标志物的提出和应用带来的种种挑战和问题。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Gallagher K M, O'Neill S, Harrison E M, et al. Recent early clinical drug development for acute kidney injury [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2017, 26(2): 141-154.
- [2] Schrezenmeier E V, Barasch J, Budde K, et al. Biomarkers in acute kidney injury — pathophysiological basis and clinical performance [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2017, 219(3): 554-572.
- [3] Shang W, Wang Z. The update of NGAL in acute kidney injury [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2017, 18(12): 1211-1217.
- [4] Wu H, Huang J. Drug-induced nephrotoxicity: pathogenic mechanisms, biomarkers and prevention strategies [J]. *Curr Drug Metab*, 2018, 19(7): 559-567.
- [5] Kjeldsen L, Johnsen A H, Sengeløv H, et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase [J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 10425-10432.
- [6] Ragolia L, Palaia T, Hall C E, et al. Accelerated glucose intolerance, nephropathy, and atherosclerosis in prostaglandin D2 synthase knock-out mice [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(33): 29946-29955.
- [7] Smertka M, Chudek J. Using NGAL as an early diagnostic test of acute kidney injury [J]. *Ren Fail*, 2012, 34(1): 130-133.
- [8] Cowland J B, Borregaard N. Cowland J, et al. The individual regulation of granule protein mRNA levels during neutrophil maturation explains the heterogeneity of neutrophil granules [J]. *J Leuk Biol*, 1999, 66(6): 989-995.
- [9] Meheus L A, Franssen L M, Raymackers J G, et al. Identification by microsequencing of lipopolysaccharide-induced proteins secreted by mouse macrophage [J]. *J Immunol*, 1993, 151(3): 1535-1547.
- [10] Wang Y, Lam K S, Kraegen E W, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans [J]. *Clin Chem*, 2007, 53(1): 34-41.
- [11] Playford R J, Belo A, Poulosom R, et al. Effects of mouse and human lipocalin homologues 24p3/lcn2 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin on gastrointestinal mucosal integrity and repair [J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(3): 809-817.
- [12] Hanai J, Mammoto T, Seth P, et al. Lipocalin 2 diminishes invasiveness and metastasis of Ras-transformed cells [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(14): 13641-13647.
- [13] Mori K, Nakao K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage [J]. *Kidney Int*, 2007, 71(10): 967-970.
- [14] Mori K, Lee H T, Rapoport D, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury [J]. *J Clin Investig*, 2005, 115(3): 610-621.
- [15] Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, et al. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion [J]. *Kidney Int*, 2003, 63(5): 1714-1724.
- [16] Tonomura Y, Tsuchiya N, Torii M, et al. Evaluation of the usefulness of urinary biomarkers for nephrotoxicity in rats [J]. *Toxicology*, 2010, 273(1/3): 53-59.

- [17] Kuwata K, Nakamura I, Ide M, et al. Comparison of changes in urinary and blood levels of biomarkers associated with proximal tubular injury in rat models [J]. *J Toxicol Pathol*, 2015, 28(3): 151-164.
- [18] Yu J S, Kim T H, Won A J, et al. Age-related differences in kidney injury biomarkers induced by cisplatin [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37(3): 1028-1039.
- [19] Pavkovic M, Riefke B, Gutberlet K, et al. Comparison of the mesoscale discovery and luminex multiplex platforms for measurement of urinary biomarkers in a cisplatin rat kidney injury model [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2014, 69(2): 196-204.
- [20] Sun B, Zhou X B, Qu Z, et al. Urinary biomarker evaluation for early detection of gentamycin-induced acute kidney injury [J]. *Toxicol Lett*, 2019, 300: 73-80.
- [21] Zhou X B, Ma B, Lin Z, et al. Evaluation of the usefulness of novel biomarkers for drug-induced acute kidney injury in Beagle dogs [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 280(1): 30-35.
- [22] 周晓冰, 朱 聪, 屈 哲, 等. 庆大霉素诱导的大鼠急性肾损伤模型中尿液生物标志物NGAL的研究 [J]. *药物分析杂志*, 2016, 36(4): 639-644.
- Zhou X B, Zhu C, Qu Z, et al. Urinary biomarker NGAL in gentamicin-induced rat acute kidney injury model [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36(4): 639-644.
- [23] DesRochers T M, Suter L, Roth A, et al. Bioengineered 3D human kidney tissue, a platform for the determination of nephrotoxicity [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59219.
- [24] Viau A, Karoui K E, Laouari D, et al. Lipocalin 2 is essential for chronic kidney disease progression in mice and humans [J]. *J Clin Investig*, 2010, 120(11): 4065-4076.
- [25] Kashiwagi E, Tonomura Y, Kondo C, et al. Involvement of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and osteopontin in renal tubular regeneration and interstitial fibrosis after cisplatin-induced renal failure [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2014, 66(7): 301-311.
- [26] Xiang D, Zhang H, Bai J, et al. Clinical application of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the revised chronic kidney disease classification [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(10): 7172-7181.
- [27] FDA. List of Qualified Biomarkers [EB/OL]. (2018-08-15) [2020-07-24]. <https://www.fda.gov/drugs/biomarker-qualification-program/list-qualified-biomarkers>.
- [28] Shang W, Wang Z. The update of NGAL in acute kidney injury [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2017, 18(12): 1211-1217.
- [29] Leng X, Ding T, Lin, H, et al. Inhibition of lipocalin 2 impairs breast tumorigenesis and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(22): 8579-8584.
- [30] Paragas N, Qiu A, Zhang Q, et al. The Ngal reporter mouse detects the response of the kidney to injury in real time [J]. *Nat Med*, 2011, 17(2): 216-222.
- [31] Cai L, Rubin J, Han W, et al. The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(12): 2229-2235.
- [32] FDA. Biomarker Qualification: Evidentiary Framework [EB/OL]. (2018-11) [2020-07-24]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/biomarker-qualification-evidentiary-framework>.
- [33] FDA. Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry [EB/OL]. (2018-05) [2020-07-24]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry>.
- [34] FDA. Qualification Process for Drug Development Tools Guidance for Industry and FDA Staff [EB/OL]. (2019-11) [2020-08-24]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/qualification-process-drug-development-tools-guidance-industry-and-fda-staff>.

[责任编辑 李红珠]