

啮齿类动物致癌性试验统计学方法的使用现状

杨兆红^{1,2}, 叶润泽^{1,2}, 霍桂桃¹, 王三龙^{1*}

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. 中国药科大学 基础医学与临床药学院, 江苏 南京 211198

摘要: 啮齿类动物致癌性试验是新药研发中非临床安全性评价的重要组成部分。致癌性试验周期较长、数据量大, 其统计学方法选用的合理性、科学性将可能影响试验结果的结论。首先介绍了目前致癌性试验常用的生存分析和肿瘤发生率统计方法; 其次, 汇总了生存分析和肿瘤发生率统计方法的选用情况; 最后, 通过比较申报方、美国食品药品监督管理局审评方和美国国家毒理学项目中心在统计学方法选用的差异, 分析和讨论了这些差异的来源和影响, 并总结了致癌性试验统计分析设计思路。希望通过对以上内容的汇总和分析, 能够为新药非临床致癌性试验提供参考。

关键词: 药物非临床安全性评价; 致癌性试验; 美国食品药品监督管理局; 国家毒理学计划中心; 生存分析; 肿瘤发生率
中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 02-0444-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.02.027

Current status of application of statistical methods for rodent carcinogenicity studies

YANG Zhaohong^{1,2}, YE Runze^{1,2}, HUO Guitao¹, WANG Sanlong¹

1. Beijing Key Laboratory of Non-Clinical Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

2. School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Carcinogenicity studies in rodents are important in nonclinical safety evaluation of new drugs. Carcinogenicity studies have long durations and large amounts of data, the appropriateness and selection scientificity of statistical methods are also likely to affect their study results and conclusions. This review firstly introduces statistical methods of survival analysis and tumor incidence currently used in carcinogenicity studies. Secondly, the selection of statistical methods for survival analysis and tumor incidence is summarized. Finally, by comparing the differences between statistical selecting methods chosen by sponsors, the reviewers of the U. S. Food and Drug Administration (FDA) and the National Toxicology Program (NTP), the sources and implication of these differences are analyzed and discussed. Furthermore, the review summarizes the ideas for designing statistical analysis in carcinogenicity studies. We hope that all the summary and analysis above can provide a reference for designing non-clinical carcinogenicity studies.

Key words: nonclinical safety evaluation of drugs; carcinogenicity study; Food and Drug Administration (FDA); National Toxicology Program (NTP); survival analysis; tumor incidence

致癌性试验的目的是在动物体内中识别某种物质的潜在致癌作用, 从而评价人体中的相关风险, 药物致癌性试验也是药物非临床安全性评价的重要组成部分^[1]。相较于一般毒性试验而言, 致癌性试验周期较长, 试验内容多, 数据量大, 而对试验数据统计分析方法的选择将直接影响试验结果的

结论。在1项致癌性试验中, 会记录体质量变化、摄食量变化、临床症状、生存状况、大体解剖观察结果、镜下肿瘤或非肿瘤病变等, 而对以上诸多内容的总结与统计中, 生存分析和肿瘤发生率分析是试验数据结果的核心部分。美国食品药品监督管理局(FDA)的药品评价与研究(CDER)还会对申

收稿日期: 2023-10-08

第一作者: 杨兆红, 男, 硕士研究生, 研究方向为药物安全性评价。E-mail: yangzhaohong_su@163.com

*通信作者: 王三龙, 男, 主任药师, 研究方向为药物安全性评价。E-mail: wangsanlong@nifdc.org.cn

报上来的致癌性试验生存分析和肿瘤发生率分析部分进行单独的统计学审评,可见合理使用统计分析方法是致癌性试验结果结论科学性的关键保证。基于此,本文将从致癌性试验各类统计学方法的概念出发,并通过具有代表性的FDA统计学审评报告和美国国家毒理学项目中心(NTP)的致癌性试验统计学方法,剖析啮齿类动物致癌性试验统计学方法的使用现状。

1 致癌性试验常用统计学方法

如前文所述,生存分析和肿瘤发生率分析是致癌性试验数据结果的核心部分。因此,致癌性试验常用统计学方法包括生存分析和肿瘤数据统计学分析方法。生存分析模型有Kaplan-Meier乘积极限估计、寿命表和Cox比例风险模型。Kaplan-Meier乘积极限估计(又称PL估计)是致癌性试验中广泛使用的生存分析方法,其依据每个时间点的每个个体确切的生存状态来评估各时间点的生存率,根据该方法绘制的K-M曲线图也常被用来直观地比较组间生存情况差异^[2-3],其常用的数据检验方法有Log rank检验、Wilcoxon检验、Tarone检验和Peto检验^[3]。寿命表方法是历史悠久的生存分析方法,其采用分时间段的方式分析生存变化情况^[2],也可以用来绘制生存率曲线图,但在动物试验这类可以全程充分跟踪生存状态的试验中使用率较低,该模型常用检验方法为Gehan-Breslow检验。Cox比例风险模型(又称Cox回归)是一种半参数模型,能够兼容任何生分布的特点使其被广泛使用,该模型常用检验方法是似然比检验^[4]。

在肿瘤数据统计上,由于肿瘤的发生需要物质暴露时间的积累,生存时间更久的试验动物比较早死亡的动物更易罹患肿瘤,所以药物致癌性试验肿瘤发生率数据的分析必须考虑各组动物的生存情况,并进行适当调整^[5]。现行的药物致癌性试验肿瘤发生率统计学的指导原则仍是FDA-CDER于2001年发布的行业指南草案《长期啮齿类动物药物致癌性试验统计学方面的设计、分析和解释》,该指南认为采用Peto分时检验或Poly-k检验可以较为准确地分析肿瘤发生率^[5-6]。Peto分时检验需要病理学家对肿瘤是否会导致动物死亡进行分析分类,可将肿瘤分为偶发性、致死性和不致死(可观察到),然后对以上3类肿瘤分别采用患病率法、死亡率法和发生率法进行肿瘤数据分析^[5-8]。Peto分时检验理论上能够很好的调整生存时间对肿瘤发生的影响,但实践过程中很受病理专家在病理诊断上主观

性的影响,这也导致该方法引起了广泛争议,美国毒性病理学会(STP)也曾发文呼吁探索不需要考虑肿瘤是否致死的替代方法^[8,4]。Poly-k检验是不需要考虑肿瘤是否致死性肿瘤发生率分析方法,其调整生存对肿瘤发生影响的原理是对未发生肿瘤却提前死亡的动物个体进行一定的参数加权,以得出1个该动物若能够生存到试验终点所能罹患肿瘤的期望值,这个期望值与k值呈负相关,目前普遍认为k=3是最适合用于啮齿类动物致癌性试验的^[5,9-11]。FDA-CDER发布的指南中介绍了Bailer-Portier poly-3检验和Bieler-Williams poly-3检验,并认为后者能够更准确地分析肿瘤发生率结果,Bieler-Williams poly-3检验也是目前选用Poly-k方法的普遍选择^[5,11]。

上述提到的Peto分时检验和Poly-k检验方法都是近似检验方法,在各给药组的肿瘤发生总数较少时,往往需要使用精确排列法进行检验^[5]。选用Peto分时检验的数据仍然可以根据肿瘤与动物死亡的相关性来选择相应的精确排列检验,而选用Poly-k检验的数据则只能将发生总数较少的肿瘤全部视为偶发性肿瘤再进行精确排列法进行检验^[5]。

值得注意的是,来自FDA的Lin和Rahman已经于2018年更新了P值阈值,FDA-CDER审评方已经不再使用2001年指南中的阈值。更新的P值阈值主要在于短期致癌性试验的调整上,短期致癌性试验肿瘤发生率分析显著性水平从原来的常见肿瘤0.01和罕见肿瘤0.05调整为常见肿瘤和罕见肿瘤均为0.05,趋势检验和配对检验均为此标准。另外,长期致癌性试验肿瘤发生率分析显著性水平仍是在趋势检验下常见肿瘤0.005和罕见肿瘤0.025,配对检验下常见肿瘤0.01和罕见肿瘤0.05^[5,12]。

2 FDA-CDER审评报告中统计学方法

从2015年开始,FDA-CDER将每年获批的新药汇总整理出1篇年鉴,并在其官网上将这1年获批的新药信息一一罗列出来。从2015年到2022年,共有360种新药被FDA-CDER审批通过,通过对这些获批的新药进行筛选,发现有68款新药在公示的审评文件中均附有致癌性试验的统计学审评报告。在这68篇统计学审计报告中,共涉及121项致癌性试验,以下内容即是根据这121项致癌性试验统计学审评报告的统计汇总^[13-20]。

2.1 申报方生存分析方法

所有的121项试验都使用了Kaplan-Meier乘积极限估计,并出示了K-M生存曲线图^[13-20]。有23项

试验在方法描述中提到其使用了寿命表(life table),有14项试验在方法描述中提到其使用了Cox比例风险模型^[13-20]。

在生存数据检验方法的选择上,有100项试验选择了根据Kaplan-Meier乘积极限估计数据的检验方法,并有96项试验选择了完全根据Kaplan-Meier乘积极限估计数据的检验方法。其中,有94项试验提到了其使用了Log rank检验,并有46项试验只使用了Log rank检验这1种试验方法;有41项试验提到了其使用了Wilcoxon检验,并有6项试验只使用了Wilcoxon检验这种试验方法;有8项试验提到了其使用了Peto检验;有8项试验提到了其使用了Tarone检验^[13-20]。有12项试验选择了根据寿命表数据的检验方法,其中有10项试验提到了其使用了Gehan-Breslow检验,有2项试验未注明使用了何种检验方法。有14项试验提到其使用了Cox比例风险模型或Cox回归分析,但均未注明使用了何种检验方法。有6项试验提到其使用了非生存分析类检验方法,包括Fisher精确检验和Kruskal-Wallis非参数检验(基于生存天数或周数),并有4项试验仅使用了非生存分析类检验方法进行试验。另外,有5项试验未注明使用了何种检验方法。

在生存分析检验方式和方法的选择上,有119项试验使用了配对检验,其中有54项仅使用Log rank检验方法、有14项仅使用Wilcoxon检验方法、有10项仅使用寿命表分析中Gehan-Breslow检验方法、有6项仅使用Peto检验方法、有22项同时使用Log rank检验和Wilcoxon检验、有1项同时使用Peto检验、Log rank检验和Wilcoxon检验、有1项同时使用Peto检验和Log rank检验、有4项使用非生存分析类检验方法、有7项未注明使用的检验方法;有79项试验使用了趋势检验,其中有27项仅使用Log rank检验方法、有10项使用寿命表分析中Gehan-Breslow检验方法、有9项仅使用Tarone检验方法、有1项仅使用Peto检验方法、有24项同时使用Log rank检验和Wilcoxon检验、有1项同时使用Tarone检验、Log rank检验和Wilcoxon检验、有7项未注明使用的检验方法;有59项试验使用了总体检验,其中有34项仅使用Log rank检验方法、有16项仅使用Wilcoxon检验方法、有6项同时使用Log rank检验和Wilcoxon检验、有3项未注明使用的检验方法^[13-20]。

在不考虑最优先进行的双对照组检验的情况下,有55项试验在描述中提到了其生存分析部分采

用了一定次序的分析程序,其中有45项先开始总体检验,确定总体检验存在显著性差异后再进行后续的趋势或配对检验;有10项先开始趋势检验,确定存在显著性差异后,再从高剂量组到低剂量组逐个与阴性对照组比较^[13-20]。

2.2 申报方肿瘤数据统计学方法

在指导原则推荐的Peto分时检验模型和Poly-3检验方法的选择使用上,有108项试验使用了Peto分时检验模型;有7项试验使用了Poly-3检验方法;有2项试验同时使用了Peto分时检验模型和Poly-3检验方法;仅有4项试验既未使用Peto分时检验,又未使用Poly-3检验方法,且这4项试验全部是6个月转基因小鼠致癌性试验^[13-20]。

共有23项试验使用了除Peto分时检验和Poly-3检验之外的检验方法,包括Cochran-Amitage趋势检验、Fisher精确配对检验方法和生存分析方法。其中的19项试验是将这类检验方法作为Peto分时检验的补充,如利用Fisher精确配对检验进行阳性对照组和阴性对照组的比较、使用生存分析方法对可触及且实时追踪的肿瘤进行更精确的分析检验等。

部分试验的统计学描述中,提到了使用精确版本Peto检验或Poly-3检验的条件。在这些试验中,大部分将肿瘤发生个数少于等于10个作为使用精确版本Peto检验的条件。

2.3 审评方统计学方法

2015—2022年这8年来,FDA-CDER的审评方在致癌性试验统计学审评报告中使用的统计学方法基本不变,以下是审评方使用的生存分析方法和肿瘤分析方法的总结。

在生存分析方法上,审评方使用Kaplan-Meier乘积极限法分析生存数据,并绘制Kaplan-Meier生存曲线图。在生存分布的总体检验上,使用Log-Rank检验;在剂量反应关系,即趋势检验上,使用Cox比例风险模型中的似然比检验;在给药组与阴性对照组的配对检验上,则使用似然比检验和Log-Rank检验2种方式。以上生存分析数据和图表均会被出示在审评报告中^[13-20]。

在肿瘤数据分析方法上,审评方使用Poly-3方法进行肿瘤数据分析^[13-20]。当某一肿瘤类型的带瘤动物少于10只,则采用精确检验方法,否则采用渐近检验方法^[13-20]。

在统计学意义判定上,审评方根据FDA在2001年发布的指南^[5]和Lin等^[12]的补充规则对2年期致

癌性试验和6月期转基因小鼠致癌性试验采用了不同的统计学意义水平。对于2年期大小鼠致癌性试验,审评员在趋势检验中对常见肿瘤和罕见肿瘤分别采用0.005和0.025的显著性水平;在配对比较中对常见肿瘤和罕见肿瘤分别采用0.01和0.05的显著性水平。对于6个月转基因小鼠致癌性试验,审评员在趋势检验和配对比较上对常见肿瘤和罕见肿瘤均采用0.05的显著性水平。罕见肿瘤的判定标准是肿瘤自发率低于1%的肿瘤,反之为常见肿瘤。

3 NTP致癌性试验报告中的统计学方法

美国国家毒理学项目中心(NTP)是美国卫生与公众服务部下的一个跨机构项目,旨在提供环境中潜在有害物质的毒理学信息^[21]。NTP自1978年成立以来,已经评估了2 800余种环境物质对人类健康的潜在影响^[21],其致癌性评价项目也为美国卫生与公众服务部发布致癌物报告提供了研究支撑^[22]。NTP的毒性和致癌性研究有一套较为固定的统计分析程序,本部分的统计学方法是根据NTP公示的统计分析程序和2018—2021年较有代表性的4篇致癌性研究报告(TR-601、TR-600、TR-599、TR-594)进行的总结。

在生存分析方法上,NTP使用Kaplan-Meier乘积极限法分析生存数据,并绘制Kaplan-Meier生存曲线图。对于无妊娠的大、小鼠试验,使用Tarone寿命表检验做生存检验趋势分析,使用Cox比例风险模型用于暴露组与对照组的成对比较^[11,23-26]。对于从围产期开始的大鼠2年期试验,对断奶后的F1代大鼠使用Cox比例风险模型分别进行生存检验趋势分析和暴露组与对照组的成对比较^[11,23-25]。

在肿瘤与非肿瘤病变发生率分析上,对于常规2年大、小鼠试验,NTP使用Poly-3检验进行肿瘤与非肿瘤病变发生率分析^[11,23-26]。对于从围产期开始的大鼠2年致癌性试验,对F1代大鼠使用经过Rao-Scott调整的Poly-3检验进行分析,其考虑了同窝相关性^[11,23-25]。

在连续变量分析上,NTP首先用Jonckheere检验验证变量与暴露量是否有趋势相关性,若有趋势相关性则采用趋势检验,若没有趋势相关性则采用成对比较^[11,23-25]。对于器官质量、体质量等具有近似正态分布的数据,采用参数检验方法,包括Dunnnett成对比较或Williams趋势检验;对于血液学、尿液分析等具有偏态分布的数据,采用非参数检验方法,包括Dunn成对比较或Shirley趋势检验。

对于从围产期开始的大鼠2年期致癌性试验,要根据窝组效应,对以上检验方法进行相应调整。

4 结语

申报方、FDA审评方和NTP在生存情况分析与肿瘤数据分析上的统计学方法使用上有着一定差异。在生存分析方法方面,Kaplan-Meier乘积极限估计方法是几乎所有致癌性试验生存分析都会用到的;Cox比例风险模型被FDA审评方和NTP大量使用,但申报方很少使用此方法;寿命表方法则仅被NTP大量使用以进行趋势检验分析,申报方很少使用此方法,FDA审评方不使用该方法。在数据检验方法上,申报方大多使用Log Rank检验和Wilcoxon检验,FDA审评方使用Log Rank检验和Cox比例风险模型、NTP使用Tarone寿命表检验和Cox比例风险模型。由于没有相关指导原则或相关指南的建议或推荐,申报方在生存分析方法和数据检验方法上的使用都较为繁杂,不过主流上基本都会选择绘制K-M曲线并使用Log-Rank检验进行总体、趋势和配对检验。与申报方的主流生存分析方法相比,FDA审评方还会使用Cox比例风险模型进行剂量趋势检验和各剂量组间的配对比较。

在肿瘤数据分析方法上,Peto分时检验仍是申报方最常使用的方法,而FDA审评方和NTP则使用Poly-3检验。如前面所述,使用Peto分时检验需要病理学家将肿瘤分类为致死性、偶发性和不致死(可观察到),并对这3类肿瘤分别采用患病率法、死亡率法和发生率法进行肿瘤数据分析,这是最直接地能够调整生存对肿瘤发生的影响的检验方法,而Poly-3检验只是为终末期前死亡的动物分配风险权重的一种调整生存率影响的方法。因此有学者认为,如果条件允许,则有必要采用Peto分时检验^[6,4],这可能是FDA申办方考虑更多使用Peto分时检验的原因。而FDA审评方无法就每只动物的病理切片进行病理判断,只能根据申报方提供的肿瘤发生数据使用更为标准化的Poly-3检验。NTP在统计分析程序中未解释其为何未使用Peto分时检验,但其中描述了在1988年Bailer和Portier发表的论文中,使用Poly-k方法评估了1986年Portier等人发表的NTP致癌性试验中对照组F344大鼠和B6C3F1小鼠中各种特定部位的病变^[27],并建议 $k=3$ 的值,这可能是目前NTP使用Poly-3检验进行肿瘤数据分析的开端^[11]。根据NTP发布的统计分析程序,目前NTP已经使用了1993年经过调整的Bieler-Williams Poly-3检验方法^[11]。

根据以上的汇总与讨论,推荐致癌性试验的统计分析可按照以下思路进行设计。在生存分析上,首先使用Kaplan-Meier乘积极限估计方法,并选用该模型的一种检验方法(如Log Rank检验)对生存数据依次进行总体检验、趋势检验和配对检验,并最好再使用Cox比例风险模型对生存数据进行趋势分析和成对比较。在肿瘤发生率分析上,在有足够专业的病理学家以判断肿瘤是否致死的情况下,推荐使用Peto分时检验,否则推荐使用Bieler-Williams Poly-3检验。

本文汇总了申报方、FDA审评方和NTP在致癌性试验中统计学方法的使用,分析和讨论了二者在生存分析方法和肿瘤发生率分析方法的选用差异,并就此总结了致癌性试验统计分析设计思路。希望通过本文的介绍与汇总,能够为新药非临床致癌性试验研究提供一定参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] ICH. S1A Guidance: Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals [EB/OL]. (1995-11-29) [2023-06-01]. <https://database.ich.org/sites/default/files/S1A%20Guideline.pdf>.
- [2] David G K, Mitchel K. *Survival Analysis: A Self - Learning Text 2nd Ed* [M]. New York: Springer Publishers New York, Inc, 2006.
- [3] 陈家鼎. 生存分析与可靠性 [M]. 北京: 北京大学出版社, 2005.
Chen J D. *Survival Analysis and Reliability* [M]. Beijing: Peking University Press, 2005.
- [4] Statistical methods for carcinogenicity studies [J]. *Toxicol Pathol*, 2002, 30(3): 403-414.
- [5] United States Food and Drug Administration. Draft guidance for industry: Statistical aspects of the design, analysis, and interpretation of chronic rodent carcinogenicity studies of pharmaceuticals [EB/OL]. (2001-05-08) [2022-10-19]. <https://www.fda.gov/media/72296/download>.
- [6] 吕建军, 王三龙, 杨艳伟, 等. 临床前啮齿类药物致癌性实验常用统计方法简介 [J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(7): 1139-1142.
Lü J J, Wang S L, Yang Y W, et al. Brief introduction to statistical methods used in preclinical rodent carcinogenicity studies [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(7): 1139-1142.
- [7] Peto R, Pike M C, Day N E, et al. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments: 311-426 [S]. 1980.
- [8] Peto Analysis Working Group of STP. Draft recommendations on classification of rodent neoplasms for peto analysis [J]. *Toxicol Pathol*, 2001, 29(2): 265-268.
- [9] Bailer A J, Portier C J. Effects of treatment-induced mortality and tumor-induced mortality on tests for carcinogenicity in small samples [J]. *Biometrics*, 1988, 44(2): 417.
- [10] Bieler G S, Williams R L. Ratio estimates, the delta method, and quantal response tests for increased carcinogenicity [J]. *Biometrics*, 1993, 49(3): 793.
- [11] National Toxicology Program. Statistical Procedures [EB/OL]. (2023-03-07)[2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/howwework/research/stats>.
- [12] Lin K K, Rahman M A. Expanded Statistical Decision Rules for Interpretations of Results of Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals [A]//Peace K E, Chen D G, Menon S. *Biopharmaceutical Applied Statistics Symposium* [M]. Singapore: Springer Singapore, 2018: 151-183.
- [13] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2015 [EB/OL]. (2019-11-15) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2015>.
- [14] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2016 [EB/OL]. (2019-11-15) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2016>.
- [15] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2017 [EB/OL]. (2019-11-15) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2017>.
- [16] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2018 [EB/OL]. (2019-11-15) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2018>.
- [17] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2019 [EB/OL]. (2020-01-14) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2019>.
- [18] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2020 [EB/OL]. (2021-01-13) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/>

- new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2020.
- [19] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2021 [EB/OL]. (2023-05-15) [2023-06-01]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2021>.
- [20] FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Novel Drug Approvals for 2022 [EB/OL]. (2023-06-01) [2023-06-10]. <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-the-rapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2022>.
- [21] National Toxicology Program. About NTP [EB/OL]. (2023-05-25)[2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/>.
- [22] National Toxicology Program. 15th Report on Carcinogens [EB/OL]. (2023-04-14)[2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/assessments/cancer/roc>.
- [23] National Toxicology Program. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Di (2-ethylhexyl) Phthalate (CASRN 117-81-7) Administered in Feed to Sprague Dawley (Hsd: Sprague Dawley SD) Rats: TR-601 [EB/OL]. (2021-12)[2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/go/tr601abs>.
- [24] National Toxicology Program. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Di-*n*-butyl Phthalate (CASRN 84-74-2) Administered in Feed to Sprague Dawley (Hsd: Sprague Dawley SD) Rats and B6C3F1/N Mice: TR-600 [EB/OL]. (2021-11) [2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/go/tr600abs>.
- [25] National Toxicology Program. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Sodium Tungstate Dihydrate in Sprague Dawley (Hsd: Sprague Dawley SD) Rats and B6C3F1/N Mice (Drinking Water Studies): TR-599 [EB/OL]. (2021-11)[2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/go/tr599abs>.
- [26] National Toxicology Program. Toxicology and Carcinogenesis Studies of p-Chloro- α , α , α -trifluorotoluene in Sprague Dawley Rats (Hsd: Sprague Dawley SD) and B6C3F1/N Mice (Inhalation Studies): TR-594 [EB/OL]. (2018-06) [2023-06-01]. <https://ntp.niehs.nih.gov/go/tr594abs>.
- [27] Portier C J, Hedges J C, Hoel D G. Age-specific models of mortality and tumor onset for historical control animals in the National Toxicology Program's carcinogenicity experiments [J]. Cancer Res, 1986, 46(9): 4372-4378.

[责任编辑 李红珠]