

·科学论坛·

# 把毒性病理学研究提高到一个新水平

任 进

(中国科学院上海生命科学研究院药物研究所,上海 200031)

**[摘要]** 加速具有我国知识产权的新药的开发,是我国加入世界贸易组织(WTO)后的必由之路。预测上市新药对人类健康危害的可能,提供新药对人类健康可能产生影响的科学依据,是决定新药能否进入市场的关键因素之一。而其中最重要的基础工作,就是毒性病理学的检测和研究。当前,我们要在传统的毒性病理学研究的基础上务实求新,在建立系统的、规范的毒性病理学评价标准体系的同时,将眼光要放在快和新两个字上,注重免疫毒性评价的新动向,建立新的快速替代模型,引进新的现代分子生物学技术,以深入开展毒性机制的研究。我们还应该建立创新药物高通量筛选体系中的毒性评价体系,以便把药物安全性评价工作从临床前阶段提早到药物发现阶段来进行。

**[关键词]** 药物安全性评价,药物毒性病理学,短期替代模型,免疫毒性评价,药物高通量毒性筛选

## 1 毒性病理学的地位和现状

药物毒理学是观察和测定化学物质对机体引起的损害、发病机理以及对机体全身的影响而进行的试验研究。而在研究中能够提供更多重要情报的,是毒性病理学的检测和研究。在毒理学研究中大部分试验要进行动物试验,无论是急性毒性试验、长期毒性试验、致畸试验、致癌试验等病变的发现,还是部位的确定、病因的探索都离不开毒性病理学的检查和诊断。而且,试验的周期越长,毒性病理学检查的结果越重要。虽然药物安全性评价涉及到药物毒性损害的剂量、药效毒性安全比、毒性作用靶器官、毒性作用持续时间、蓄积毒性及药物结构与毒性强弱关系等多项试验内容,但最终为这些试验提供根本依据、描述这些结果的仍然都是毒性病理学试验报告。毒性病理学的检测试验能够判定药物造成病理性损伤的部位、程度、性质和预后等最基本的问题,可为药物的安全性提供重要的依据。所以,毒性病理学工作是做好整个毒理学工作的基础,它左右着整个安全性评价工作的水平。

我国在1993年颁布了《药品非临床研究质量管理规定(试行)》,又于1999年重新修改颁布了这一

套管理规范。但是,由于起步较迟,人员较少,一些专家指出,在我国的毒性病理学工作中,目前尚存在着不少问题。例如,在检测中对组织、细胞的病变程度的划分尺度和变化范围的描述,对病变性质的定性,对病理诊断术语的内涵等,缺乏共识,使用混乱。甚至,某些新药设计者虽然得到了病理报告却不能理解所描述病变的正确含意,导致“病变”判定错误。又例如,有的毒性病理学从业人员对实验设计不严密,诊断结果不能结合实验特点,几个层次检查结果相互不联系,最后无法得到确切的病理学诊断结论。这反映了我国尚缺乏严格、致密的整套毒性病理学的评价规范。

无疑,这些不足可以依靠规范毒性病理学试验的标准,严格执行实验规程,提高专业技术人员的技术水平来纠正。而提高整个毒性病理学研究工作的水平,更要着眼于求新,尽快与世界接轨。

## 2 要重视免疫毒性评价的新动向

毒性病理学研究虽然被认为是一个传统经典的研究工作,但是,由于科学技术发展日新月异,毒性病理学也必须在新潮流中寻求自身的发展。目前,可以结合生化学、免疫学、分子细胞学、毒理基因组

本文于2002年10月23日收到。

学等相关学科领域,积极引进新技术、新方法,以进一步对靶器官、靶组织进行深入分析,弄清毒性机制,力求得到更为全面、可靠的安全性情报,以提高药物毒性评价工作的水平。

最近,国际上有一个新的动向,就是在药物安全性评价和毒性病理研究中强调免疫毒性的检测和评价,尤其是在进行长期反复毒性试验的过程中,注重于免疫器官和组织有无异常发生,进一步以毒性病理的检查结果为依据,判断是否需要免疫毒性的检测和评价。免疫系统在机体中承担着抗感染、抗肿瘤的重要功能。药物对免疫系统的影响主要表现在:引起免疫功能抑制或亢进,过敏反应,诱发自动免疫性疾病等。由于机体免疫功能的障碍,会导致多种严重的疾病。而免疫功能的低下,可引起多种感染和肿瘤性病变,以及 AIDS 病等,直接威胁了服药者的生命安全。

对于免疫毒性的评价,在 20 世纪 70 年代初已开始引起世界上的重视。当时,由于构成免疫系统的组织细胞种类相互作用的复杂性,由于评价免疫毒性的试验项目的多样性,以及免疫毒性试验方法及结果不能最后确定,从而阻碍了免疫毒性评价体系的早日制定。最近 10 多年来,因为科学技术的进步,国际上各组织机构的共同研究,免疫毒性评价体系的制定已逐步有了进展。欧洲和美国都已经提出了免疫毒性评价的指导方针,日本也已制定了相应的试行方案<sup>[1]</sup>。新药安全性评价工作和毒性病理学研究中,重视和建立免疫毒性的检测指标和技术平台,已成为当前最受重视的课题之一。所以,我国亦应迎头赶上,争取早日制定自己的免疫毒性评价指导方针。

### 3 建立快速替代动物模型

在新药开发的早期,检测各类药物是否具有潜在的致癌作用,是安全性评价、毒性病理学研究中极为重要的问题。1997 年在 ICH 致癌安全性专家会议上提出,由于用小鼠进行长期致癌试验,检测非基因损伤性致癌物时会出现假阳性或假阴性结果,所以可用另一种啮齿类动物即大鼠进行长期致癌试验,加上啮齿类动物的一种短期致癌的替代试验的结果来评价医药品的致癌性。我们可以探讨建立标准的中期大鼠肝癌模型(啮齿类动物的引发/促进模型),与大鼠长期致癌性试验相结合,建立我国的新药致癌性检测体系。众所周知,大多数自然或合成的化合物,尤其是非基因毒性化合物是通过肝脏进

行代谢的,肝脏是重要的靶器官,所以建立这一致肝癌模型系统对于快速检测药物及各类物质的致癌性,以确定是基因毒性或者非基因毒性的致癌物,无疑是极为重要的。国外在这方面的的工作也有所开展。据资料介绍,此模型已评价了 291 种化学物质,致肝癌剂阳性率达 90%(57/63),其中基因毒性致肝癌剂阳性率达 97%,非基因毒性致肝癌剂阳性率达 84%。同时利用此模型不但可检测出致癌剂,还可检测出促癌剂或抑癌剂;不但可检测化学物质,还可检测其他物质,如天然产物、食品添加剂、环境有害物<sup>[2]</sup>等。中期肝癌模型检测系统的建立,除了与其他检测系统相比具有快速、确实的利点外,还在于能够利用先进的研究技术和方法,同时在细胞、分子水平上研究药物及化合物的致癌机制,对可疑的、潜在的致癌物质进行系统的致癌机制的研究,例如生长因子与癌变的关系<sup>[3]</sup>、P450 同工酶与癌变的关系<sup>[4]</sup>及蛋白质、基因的改变<sup>[5]</sup>等。因此这一肝癌模型检测体系的建立,既能提供一个应用广泛的技术平台,又可提供一个深入系统研究致癌机制的技术平台。

### 4 引进新技术深入进行毒性机制研究

激光扫描共聚焦显微镜技术(CLSM),激光捕获显微切割技术(LCMD),以及流式细胞技术(FC)是近年在生物技术中利用最有成效的先进技术之一。特别是结合免疫荧光标记的激光扫描共聚焦显微镜技术,能够比较准确地找到病变部位,把病变部位从组织水平精确定位于靶细胞、甚至靶分子的水平上,为我们更好地了解毒性反应的变化过程及发展提供了可靠的根据。而激光捕获显微切割技术,是形态学和分子生物学相结合的高新技术,利用它将可疑的单个细胞切割下来,直接进行 DNA、RNA 和蛋白质的分析,以提高毒性评价的准确性和研究水平,可为毒性病理学的研究提供更为特异、敏感、可靠、快速的定量分析情报<sup>[6]</sup>。以上技术的重要性也被很多我国专家认可,但是,应用于安全评价工作和毒性病理学研究的还比较少。我们可以利用这些新设备和装置,在细胞、分子水平上研究药物及化合物的毒性机制,研究蛋白质、基因的改变,同时,争取使过去大部只能进行定性分析的毒性病理学研究进入到定量分析的新阶段。

### 5 建立创新药物高通量筛选体系中的毒性评价体系(HTP-Tox: High Throughput Toxicology)<sup>[7]</sup>

目前,国际上对于建立一些快速、灵敏的早期安

全性评价和检测方法非常重视。而在近二、三年中,不少研究人员将以前在药物开发阶段的临床前研究时才进行的化合物安全性评价研究工作,提前到药物发现阶段来进行。也就是在创新药物的早期,即先导化合物(Lead)的筛选及适用临床候补化合物(Candidate)的发现和选择阶段,就开始同时进行安全性评价。HTP-Tox的目的是为了提高药物发现阶段的成功率,降低药物开发阶段的风险和成本,促进整个创新药物研制尽早走向成功,是当前国际上倍受重视的也是急需解决的重要研究课题。当然,这也是我国毒性病理学研究以及整个安全评价工作的努力目标。

## 6 推动毒性病理学研究 and 世界接轨

毒性病理学试验涉及到药物作用于动物体后的临床表现、生化反应、功能、代谢和形态学观察等,是一个综合性的结果。这个结果的准确可靠,是建立在各种评价、检测过程的正确性,以及每个层次的各个分析结果的可靠性的基础之上,是由整个毒性病理学试验的技术平台的完善和相互结合来保证的。俗话说,千里之行始于足下,在面向世界的同时,我们还必须在建立科学的、严格的、系统的和较完整的一整套毒性病理学检查标准和规程上下功夫。从最基本的工作做起,规范各个试验的操作,制定常用动物和重要脏器及疾病的诊断标准,归纳和积累一定数量的各种动物及病变的背景资料,使我国的毒性病理学检查工作有规则可依、有案例可查,提高准确性和可靠性。在此基础上,动员分散于药学、医学、动物、食品学等方面的毒性病理学专家,建设一个既符合我国实际情况又与国际接轨的毒性病理学技术平台。

毒性病理学研究的起步,是从20世纪60年代开始的,当时化学工业飞跃兴起,不少新的化学物质进入社会环境生活,带来了前所未有的种种有害影响。人们开始注意到这些毒性物质,也开始施行毒性试验必须做病理检查的规定。进入20世纪70年代,美国FDA颁布了《GLP规范(草案)》,各国纷纷以美国的药审中安全性评价的资料为基准,制定出相应的标准操作规程,对于毒性病理学的检查也开始趋于严格和细致<sup>[8]</sup>。有的国家则制定了一般的毒性病理诊断标准和动物常见的自然发生疾病的种类<sup>[9]</sup>。这样逐渐规范了毒性病理学的评价规程、方法。进入20世纪90年代中期,“国际毒性病理学学者联合(IFSTP)”成立,至今已召开过5次总会,活跃

了全球性毒性病理学研究的学术探讨和技术交流,并通过多方协调,制定出一系列相应的检查规范和标准。在日本,除了举行年会,发行学会期刊之外,还建立了“实验病理组织技术研究会”,专门进行诸如标本制作、切片染色、镜检方法等具体技术问题的探讨和交流,以提高毒性病理学人员的技术水平<sup>[10]</sup>。

近年来,毒性病理学倍受重视,被认为无论在传统和常规的毒性评价中,还是在现代的应用高新技术的毒性机制研究中都起着举足轻重的作用<sup>[11,12]</sup>。为了使我国的毒性病理学工作提高到一个新的水平,在短期内和世界接轨,我们毒性病理学工作者要切实明确肩上的重大责任,既要目光远大,又要踏踏实实,务实求新,同心合力把我国的安全评价工作提高到一个新阶段、新水平。

## 参 考 文 献

- [1] 中村和市. ICH 关于免疫毒性试验专题化的新动向. 第29次日本毒理学会学术年会杂志. 2002, 177.
- [2] Ito N, Imaida K, Asamoto M et al. Early detection of carcinogenic substances and modifiers in rats. *Mutation Res.*, 2000, 462: 209-217.
- [3] Steinmetz K L, Klaunig J E. Transforming growth factor- $\alpha$ in carcinogen-induced F344 rat hepatic foci. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.*, 1996, 140: 131-145.
- [4] Shoda T, Misumori K, Onedera H et al. Liver tumor-promoting effect of  $\beta$ -naphthoflavone, a strong CYP 1A1/2 inducer, and the relationship between CYP 1A1/2 induction and Cx32 decrease in its hepatocarcinogenesis in the rat. *Toxicol. Pathol.*, 2000, 28: 540-547.
- [5] Pitot H C, Dragan Y P. Chemical carcinogenesis. In Casarett and Doull's *Toxicology The basic science of poisons* 6th ed. (C. D. Klaassen Ed.). USA McGraw-Hill companies, Inc., 2001, 241-320.
- [6] Roman D, Greiner B, Ibrahim M et al. Laser technologies in toxicopathology. *Toxic. Pathol.*, 2002, 30: 11-14.
- [7] Drews J. Drug discovery today-tomorrow. *Drug Discovery Today*, 2000, 2-4.
- [8] Paget G E, Thomson R. Standard operation procedure in pathology. Inveresk Research International Ltd., 1979, 1-7.
- [9] Creavers P. Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation, Elsevier Science Publishers B. V., The Netherlands, 1990, 7-11.
- [10] Boorman G A, Aderson S P, Casey W M et al. Toxicogenomics, drug discovery, and the pathologist. *Toxicol. Pathol.*, 2002, 30: 15-27.
- [11] Pilling A M. The role of the toxicologic pathologist in the pre-clinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. *Toxicol. Pathol.*, 1999, 27: 678-688.
- [12] 伊东信行. 最新毒性病理学. 日本中山书店出版社, 2002, 175-180.

## A DISCUSSION ON IMPROVEMENT OF TOXICOLOGICAL PATHOLOGY STUDY

Ren Jin

(Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, CAS, Shanghai 200031)

**Abstract** Toxicological pathology plays a key role in drug safety assessment. To enhance the research level of toxicological pathology, the following studies should be carried out urgently: setting up a standard operation procedure (SOP) for toxicological pathology assessment; emphasizing on immunotoxicology evaluation; adopting a new experiment model for replacement, featuring high speed and reliability; introducing new techniques and new methods in toxicological mechanism research; and establishing a new appraisal system to screen innovative drugs and rapid and high precision methods for early security assessment, detection and measurement.

**Key words** Drug safety assessment, Toxicological pathology, Immunotoxicology evaluation, Short-term replacement model, Highthroughput toxicology

·资料·信息·

### 国家自然科学基金委员会、中国科学院 举行共同主办自然科学期刊“协议书”签字仪式

国家自然科学基金委员会、中国科学院共同主办《中国科学》、《科学通报》、《自然科学进展》期刊的“协议书”签字仪式 2002 年 12 月 5 日上午在中国科学院机关大楼举行。国家自然科学基金委员会陈佳洱主任、朱作言副主任;中国科学院院长路甬祥、党组副书记郭传杰等和两个单位的有关负责同志出席了签字仪式。国家自然科学基金委员会科学基金杂志部的全体同志、中国科学院中国科学杂志社的全体同志也参加了签字仪式。

在签字仪式上,路甬祥院长、陈佳洱主任、朱作言副主任和郭传杰副书记等都发表了重要讲话。领导们指出:国家自然科学基金委员会和中国科学院共同主办期刊是我国科技期刊界的一个重大改革,也正是两个单位党组转变观念、认真实践“三个代表”重要思想的具体体现,她将对我国科技期刊界的深化改革做出表率。我们应从国家的利益出发,发挥双方各自的优势,共同把三个自然科学期刊办成

国内最好的期刊,逐步建立和扩大其国际影响,缩小与国外知名科技期刊的差距,为科学工作者提供高水平的展示舞台,这是国家科技事业发展的需要,是国内广大科研人员多年的愿望,也是“入世”后科技期刊的发展与国际接轨的需要。

两个单位的领导都表示将全力支持和加强合作,认真履行“协议书”中所明确的各项承诺,保证合作的顺利进行,同时将积极提倡和促进获得国家自然科学基金资助的各类项目的科学家和两个单位联系的大批海外青年科学家为上述三刊投稿,支持扩大发行等,以实际行动支持我们自己期刊的快速发展。

陈佳洱主任和路甬祥院长在签字仪式上分别代表我委和中国科学院在共同主办《中国科学》、《科学通报》、《自然科学进展》期刊的“协议书”上签字。

(科学基金杂志部 供稿)