

应用全切片图像进行毒性病理学同行评议的研究进展

周 围¹, 邱 爽², 陈 珂², 岑小波², 胡春燕^{2*}

1. 国家药品监督管理局 药品审评中心, 北京 100022

2. 成都华西海圻医药科技有限公司 (国家成都新药安全性评价中心), 四川 成都 610000

摘要: 全切片图像是通过数字切片扫描仪将整个组织切片扫描生成的二维图像, 近年来已广泛应用于病理学教学、组织切片讨论、科研等领域。参照美国毒性病理学会 (STP) 对全切片图像在诊断中的应用建议、经济合作与发展组织 (OECD) 和美国食品药品监督管理局 (FDA) 关于使用全切片图像进行病理学同行评议的指导原则, 对药物非临床研究质量管理规范 (GLP) 条件下应用全切片图像进行毒性病理学同行评议的工作流程、内容和要求进行相关总结。同时结合中国合同研究组织 (CRO) 采用全切片图像开展毒性病理学评价进行概述, 以期提升我国毒性病理学评价和病理学同行评议工作的规范性与专业水平。

关键词: 毒性病理学评价; 全切片图像; 同行评议; 病理学; 药物非临床研究

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 10-2284-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.10.028

Research progress in using whole slide images for peer review of toxicologic pathology

ZHOU Wei¹, QIU Shuang², CHEN Ke², CEN Xiaobo², HU Chunyan²

1. Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China

2. West China-Frontier Pharma Tech Co., Ltd. (National Chengdu Center for Safety Evaluation of Drugs), Chengdu 610000, China

Abstract: Whole slide images (WSI) are a type of two-dimensional image generated by scanning the entire tissue slides with a digital scanner, which have been widely used in various fields in pathology, including teaching, tissue slide discussion and scientific research in recent years. According to the recommendation of the Society of Toxicologic Pathology (STP) on the application of WSI in diagnosis and the guidance of Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) and US Food and Drug Administration (FDA) on WSI use for peer review of toxicologic pathology, this article summarized the procedures, contents, and requirements of WSI peer review under Good Laboratory Practice (GLP) conditions. In addition, it provided an overview of toxicologic pathology evaluation using WSI carried out by contract research organizations (CROs) in China, as an attempt to advance the standardization and professionalism of toxicologic pathology evaluation and pathology peer review in China.

Key words: toxicologic pathology evaluation; whole slide image; peer review; pathology; nonclinical safety evaluation of drugs

毒性病理学是药物非临床安全性评价毒理学研究的重要组成部分, 是确定和解释毒理学研究结果的重要依据。毒性病理学评价通过描述与受试物相关的形态学改变特征, 分析给药相关病变的可能作用机制, 进而判断其与人体的相关性。由于学科的特殊性, 导致毒性病理学评价主观性较强, 为了确保毒性病理学诊断结果的准确性和科学性, 业内

通常采用同行评议。病理学同行评议是由一位病理学家(同行评议病理学家, 简称PRP)或病理学工作组(WPG)通过对组织切片或全切片图像(WSI)进行复核, 对专题病理学家(SP)的诊断结果和解释进行评审的过程。病理学同行评议可在研究机构内或机构外开展, 通过现场阅片或切片寄送外部阅片的方式进行。

收稿日期: 2023-08-03

第一作者: 周 围, 女, 助理研究员, 主要从事药理毒理专业审评。E-mail: zhouw@cde.org.cn

*通信作者: 胡春燕, 女, 研究方向为毒性病理学。E-mail: chunyanhu@glpcd.com

机构内同行评议通常选择对组织玻片进行现场阅片,优点是SP和PRP可当面交流,快速解决分歧并达成一致。2020年由于新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情的影响,全球旅行受限、物流及供应链中断等情况,开展机构内同行评议面临巨大的挑战。使用WSI则可在全球范围内远程开展毒性病理学同行评议,不仅节省PRP出行的时间和费用,也能避免组织玻片在运输过程中破损和遗失的风险。同时,由于政策限制,非人灵长类动物组织玻片出境难度较大,相关同行评议工作难以进行,而使用WSI进行同行评议则不受动物种属的限制。

如何在药物非临床研究质量管理规范(GLP)条件下开展应用WSI进行毒性病理学同行评议以适应法规的要求等问题,成为当前毒性病理学界和非临床安全性评价行业面临的焦点问题之一。早期的数字病理学主要应用于科研和远程切片会诊。2007年美国毒性病理学会(STP)就应用WSI进行诊断提出了建议。2017年美国食品药品监督管理局(FDA)基于1项评估了约2000例病例的大规模多中心研究的结果批准了首个可用于病理临床诊断的数字病理系统,该研究证明某些数字病理系统生成的全切片图像质量与传统显微镜观测一致,可用于临床诊断。2019年,数字化扫描系统被FDA批准用于美国的初级临床诊断。随着数字化扫描系统的发展,医院病理科临床诊断的全面数字化逐渐走入现实,病理临床诊断的数字化时代已经开启^[1-4]。2020年、2022年及2023年,经济合作与发展组织(OECD)和美国FDA相继发布关于WSI用于毒性病理学同行评议的指导原则草案和指导原则,进一步明确了WSI在毒性病理学的应用范围。本文简单介绍STP对全切片图像在诊断中的应用建议,以及OECD和美国FDA关于使用WSI进行病理学同行评议的指导原则,对GLP条件下应用WSI进行病理学同行评议的工作流程、内容和要求进行相关总结,同时对我国合同研究组织(CRO)应用全切片图像进行毒性病理学评价进行概述,以期为我国在GLP条件下应用WSI进行毒性病理学评价和病理学同行评议提供参考。

1 病理学同行评议的相关法规要求

1.1 中国药品监管机构对毒性病理学同行评议的基本要求

2012年OECD颁布了长期毒性试验和致癌试验的设计和实施方案第116号文件^[5],2014年OECD颁布了良好实验室规范和符合性监督原则系列的第

16号文件《组织病理学同行评议GLP要求指导原则》^[6],2017年9月1日国家药品监督管理局(NMPA)根据上述文件关于组织病理学同行评议相关要求发布了总局令第34号《药物非临床研究质量管理规范》^[7],对病理学同行评议的计划、管理、记录和报告等提出以下要求:(1)病理学同行评议工作应当在试验方案或者试验方案变更中详细描述;(2)病理学同行评议的过程以及复核的切片和文件应当详细记录并可追溯;(3)制定同行评议病理学家和专题病理学家意见分歧时的处理程序;(4)同行评议后的结果与专题病理学家的诊断结果有重要变化时,应当在总结报告中论述说明;(5)同行评议完成后由同行评议病理学家出具同行评议声明并签字注明日期;(6)总结报告中应当注明同行评议病理学家的姓名、资质和单位。

1.2 国际药品监管或学术机构对毒性病理学同行评议的要求

对于应用WSI进行毒性病理学同行评议,STP、OECD和美国FDA相继发布了相关建议和指南,用于指导GLP条件下数字化同行评议工作。2007年,STP针对GLP条件下的病理学图像数据提出以下建议,旨在确保使用WSI符合美国联邦法规第21章第11部分(21 CFR Part 11)《电子记录或签名》的要求^[8]:(1)病理学图像(打印版、电子版或数字版)用于数据生成(即基于图片进行诊断或形态测量分析)为原始数据,必须经过标注且归档;(2)用于原始数据的图像,应确保数据的完整性,包括制定相应的标准操作规程(SOP)、设备测试/验证和人员培训等;(3)成像系统的验证和(或)性能确认的方案和流程必须记录在案,全面验证/确认中出现的任何例外情况都必须在GLP声明中描述;(4)不用于数据生成的图像是说明性图像,不是原始数据,一般无需归档;(5)说明性图像不可用于再次评价或取代病理学家的诊断。

2020年OECD在《OECD GLP规范:常问问题》中回答了关于数字组织病理学的相关问题^[9],阐述了OECD的GLP规范不反对在GLP试验中使用WSI对组织样本进行组织病理学评估,包括SP对组织玻片的阅片,以及同期和回顾性组织病理学同行评议,但应考虑以下9点:(1)应确保WSI是原始组织玻片的忠实副本,以期WSI阅片与显微镜下观察组织玻片的结果一致;(2)应确保从组织样本到WSI的可追溯性;(3)全切片扫描的每个步骤都应保证WSI的完整性;(4)用于生成和查看WSI的设

备,应适合目的并妥善维护;(5)用于管理、储存、传输或迁移 WSI 的计算机化系统应进行验证;(6)当 WSI 由产生地点远程传输时(如供外部病理学家评议),应对传输系统进行验证,包括发送方和接收方;(7)对参与验证过程的研究人员、病理学家和 QA 人员应进行相关的培训;(8)应制定 SOP 对整个过程进行描述,包括相关的质量控制步骤;(9)应在试验方案及最终报告中详细说明应用 WSI 进行阅片和所涉及的计算机化系统。

FDA 于 2022 年 4 月发布《非临床毒理学研究中应用全切片成像问答》行业指南草案,并 2023 年 5 月正式发布定稿指南^[10]。全切片成像包括扫描用于常规评价生成病理学报告的组织玻片形成二维数字图像的软件和硬件,包括图像获取(扫描)、图像处理、图像文件存储和图像显示 4 个连续的过程。该指南明确了美国 FDA 对于遵循 GLP 法规的非临床毒理学研究组织病理学评价和(或)病理学同行评议中管理、记录和使用全切片成像的建议。明确指出本指南不涵盖病理学家之间使用 WSI 进行的非正式咨询、意见交流和(或)指导培训。SP 应在签字版病理学报告中说明组织病理学评价使用了组织玻片或 WSI。病理学同行评议声明也应指出评议了组织玻片或 WSI。

2 GLP 条件下应用 WSI 进行病理学同行评议的流程

毒性病理学同行评议的流程包括计划、实施、讨论和出具同行评议声明。同行评议的开展时间可在 SP 的病理学报告定稿之前或之后进行。PRP 开始工作前,SP 需提交相关的试验数据供 PRP 参考。试验数据包括但不限于临床病理学检查结果、脏器重量、大体解剖观察结果和显微镜观察结果以及病理学报告初稿。

应用 WSI 进行病理学同行评议除了遵循应用组织切片进行病理学同行评议相关指导原则或法规要求外,还有一些特定注意事项。笔者结合美国 FDA、OECD 及我国 NMPA 的相关法规要求,以及调研国内相关 CRO 机构的实践经验,对应用 WSI 进行病理学同行评议的实施流程和步骤进行概述,供业内参考。

2.1 扫描系统的验证

为了确保扫描系统符合预期的使用目的,用于 GLP 试验毒性病理学同行评议的扫描仪需经过验证。验证内容应尽可能地全面并符合相关指导原则或法规要求。整个验证过程应贯穿 WSI 的生成、

加密、存储和传输。值得注意的是,对于使用云平台开展应用 WSI 进行病理学同行评议,上传软件、浏览器和元数据等都应一并进行相应的验证^[11-12]。此外,若同行评议人员来自不同的机构,也需分别验证传输系统和接收系统。验证和测试过程均需详细记录存档。

2.2 应用 WSI 进行病理学同行评议的流程

病理学同行评议开展前,应建立 WSI 相关的 SOP,对扫描的过程、数据的管理等做详细阐述。同行评议的人员、形式和内容应在试验方案和报告中描述说明。应用 WSI 进行病理学同行评议的流程包括图像获取(扫描)、图像管理、图像的传输和读取及同行评议的开展。各流程的注意事项包括以下 4 点:

2.2.1 图像获取(扫描) WSI 需包括组织玻片标签标识以及盖玻片下的全部组织,扫描的图像应完整且清晰。对于扫描后的图像,技术性图像处理不能模糊组织玻片所获得的信息^[10]。

2.2.2 图像管理 如 WSI 用于产生原始数据,应遵循 21 CFR-Part 11 电子记录要求的书面规程和流程,保护文件无丢失或改变,具有保管链、访问控制,确保数据系统和数据传输安全以确保 WSI 文件的完整性^[10]。

2.2.3 图像的传输和显示 可使用经验证的云平台来传输和读取数据,也可使用数据载体进行存储和读取。

2.2.4 同行评议的开展 PRP 应按照试验方案或病理学同行评议 SOP 的要求,进行同期或回顾性病理学同行评议。

2.3 基于试验类型的病理学同行评议的数量要求

不同种属动物的毒理学试验、2 年致癌试验和转基因小鼠致癌试验同行评议的数量和比例均有所不同。通常,给药期结束,病理学同行评议至少需包含对照组和高剂量组受累性别动物的所有潜在靶器官和增生性病变及高剂量组一定比例雌雄动物方案要求的所有组织或器官的切片,而对照组动物阅片的数量和比例,PRP 可根据情况自行决定。恢复期结束,病理学同行评议至少需包含所有对照组动物的靶器官,以及给药期结束所有受累组别和性别动物的靶器官^[13]。

2.4 归档和存储

如果 WSI 代替组织玻片进行评估并产生病理学原始数据,WSI 文件应归档保存。原始 WSI 文件(包括扫描仪获取的所有图像数据和记录任何技

术性图像处理修改的文件)如用于产生原始数据应归档保存^[10]。归档时需确保其完整性,保证在需要时能够随时进行审阅。组织切片也需一并归档留存。另外,当图像读取软件版本更新时,升级前的版本也应归档留存,避免软件升级后无法读取往年的数据。

3 结语

近年来,WSI的应用已对医疗领域的病理研究产生了重大影响,在许多情况下WSI已取代传统组织玻片进行组织病理学评价。在GLP毒理学试验中,组织玻片一直被认为是最原始的媒介,将WSI用于GLP试验可能带来验证的性质和范围以及监管的挑战。一些病理学家担忧使用WSI对微小病变的评估不如组织玻片的效果好,Malarkey等^[14]于2015年对病理学同行评议和工作组使用WSI进行了概述。葛建雅等^[15]于2022年对非临床毒理学研究使用全切片图像进行组织病理学评价和同行评议的研究进展进行了概括,但是,该文章发表时美国FDA尚未正式发布《非临床毒理学研究中使用全切片成像问答》行业定稿指南,美国FDA《非临床毒理学研究中使用全切片成像问答》行业指南草案与定稿指南的内容有所不同。随着全切片扫描系统技术的发展,WSI在GLP机构中的应用越来越广泛,将逐渐成为毒性病理学同行评价中的重要一步。尤其在COVID-19大流行期间,全切片扫描同行评议的工作流程解决了旅行限制等诸多问题,病理学家可居家工作,保持病理诊断工作的连续性。未来,相信数字化病理技术将广泛应用于毒性病理学的组织病理学评价和(或)同行评议,人工智能领域的应用也势必使诊断更加精准、更高效、更便捷,将会开启数字化病理的新篇章。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Schumacher V L, Aeffner F, Thomas E B, et al. The application, challenges, and advancement toward regulatory acceptance of digital toxicologic pathology: Results of the 7th ESTP international expert workshop [J]. *Toxicol Pathol*, 2021, 49(4): 720-737.
- [2] Bradley A E, Cary M G, Isobe K, et al. Proof of concept: The use of whole-slide images (WSI) for peer review of tissues on routine regulatory toxicology studies [J]. *Toxicol Pathol*, 2021, 49(4): 750-754.
- [3] Forest T, Aeffner F, Bangari D S, et al. Scientific and regulatory policy committee brief communication: 2019 Survey on use of digital histopathology systems in nonclinical toxicology studies [J]. *Toxicol Pathol*, 2022, 50(3): 397-401.
- [4] Forest T, Aeffner F, Bangari D S, et al. Scientific and regulatory policy committee points to consider: Primary digital histopathology evaluation and peer review for good laboratory practice (GLP) nonclinical toxicology studies [J]. *Toxicol Pathol*, 2022, 50(4): 531-543.
- [5] OECD. Guidance Document 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies, Supporting test Guidelines 451, 452 and 453. Edition Second, Series on Testing and Assessment No. 116 [EB/OL]. (2012-04-13) [2023-08-03]. <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264221475-en>.
- [6] OECD. Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring Number 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) [2023-08-03]. <https://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264228306-en>.
- [7] 国家药品监督管理局. 药物非临床研究质量管理规范 [EB/OL]. (2017-07-27) [2023-08-03]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0053/175598.html>. National Medical Products Administration. Good Laboratory Practice [EB/OL]. (2017-07-27) [2023-08-03]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0053/175598.html>.
- [8] Tuomari D L, Kemp R K, Sellers R, et al. Society of toxicologic pathology position paper on pathology image data: Compliance with 21 CFR parts 58 and 11 [J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(3): 450-455, 2007
- [9] OECD. Digital histopathology. Good laboratory practice: Frequently asked questions (FAQ) [EB/OL]. (2020-06-15) [2023-08-03]. <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/glp-frequently-asked-questions.htm#Histopathology>.
- [10] FDA. Use of whole slide imaging in nonclinical toxicology studies: Questions and answers, guidance for industry [EB/OL]. (2023-05-07) [2023-08-03]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/searchfda-guidance-documents/use-whole-slide-imaging-nonclinical-toxicology-studies-questions-and-answers>.
- [11] 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, 10(30): 982-987. Lyu J J, Huo G T, Lin Z, et al. Applications of whole slide image in peer review of histopathology and pathology working group [J]. *Chin Pharm Aff*, 2016, 10

- (30): 982-987.
- [12] Jacobsen M, Lewis A, Baily J, et al. Utilizing whole slide images for the primary evaluation and peer review of a GLP-compliant rodent toxicology study [J]. *Toxicol Pathol*, 2021, 49(6): 1164-1173.
- [13] Morton D, Sellers R S, Thomas E B, et al. Recommendations for pathology peer review [J]. *Toxicol Pathol*, 2010, 38: 1118-1127.
- [14] Malarkey D E, Willson G A, Willson C J, et al. Utilizing whole slide images for pathology peer review and working groups [J]. *Toxicol Pathol*, 2015, 43(8): 1149-1157.
- [15] 葛建雅, 李慧, 闫振龙, 等. 非临床毒理学研究使用全切片图像进行组织病理学评价和同行评议的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(8): 1493 -1499.
- Ge J Y, Li H, Yan Z L, et al. Research progress in utilizing whole slide images for histopathology assessment and peer review of nonclinical toxicology studies [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(8): 1493-1499.

[责任编辑 李红珠]