

Regulatory assessments

Recommendations, Regulations and Guidelines applicable to Molybdenum

Agency	Description	Information	Reference
USP	Oral permitted daily exposure (PDE)	Oral; 250 ug/day Parenteral; 25 ug/day	USP 2009
EMA	PDE	Oral; 250 ug/day Parenteral; 25 ug/day	EMA 2000
MHLW	tolerable upper intake level	Oral; 450 ug/day	MHLW 2010
U.S. EPA	Reference dose for chronic oral exposure (RfD)	Oral; 5 ug/kg/day	US EPA 1993
RIVM	Tolerable daily intake (TDI)	Oral; 10 ug/kg/day	RIVM 2001
WHO	Drinking quality guideline	70 ug/L	WHO 2003

Conclusion

Based on the experience of public regulations and the dietary exposure in humans, oral PDE is set at 300 ug/day.

References

Abumrad NN et al (1981) Amino acid intolerance during prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy, *Am J Clin Nut*, 34:2551-2559.

EMA (2000) Guideline on the specification limits for residues of metal, EMEA/CHMP/SWP/4446/2000.

ESADDI (1989) Recommended Dietary Allowances: 10th Edition, Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs, Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences, National Research Council, NATIONAL ACADEMY PRESS, Washington, D.C.

Fungwe TV et al (1990) The role of dietary molybdenum on estrous activity, fertility, reproduction and molybdenum and copper enzyme activities of female rats, *Nutr Res*, 1990, 10, 515-524.

Hattori H et al (2004) Determination of molybdenum in foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese population, *J Nutr Sci Vitaminol*, 50:404-409.

MHLW (2010) Dietary reference intakes for Japanese.

MHLW (2010) Dietary reference intakes for Japanese.

NTP (1982) Study No: 729319 and 364562.

NTP (1997) Study No: C61369C.

Novotny JA and Turnlund JR, 2007, Molybdenum intake influences molybdenum kinetics in men, J

平成 23 年度 研究分担報告書 添付資料 (MHLW/JPMA 担当物質評価文書案 (long version)
(Do not quote. These documents were draft proposals for the EWG meeting)

Nutr, 137:37-42.

RIVM (2001) report 711701025.

Rajagopalan KV (1988) Molybdenum: an essential trace element in human nutrition, *Ann Rev Nut*,
8:401-427.

Recommended intake UK (Department of Health, 1991

Titenko-Holland N et al (1998) Studies on the genotoxicity of molybdenum salts in human cells in
vitro and in mice in vivo, *Environ Mol Mutagenesis*, 32:251-259.

Turnlund JR et al (1995) Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable
isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum, *Am J Clin Nutr*, 62:790-796.

US EPA (1993) Oral RfD assessment 0425.

USP (2009) Pharmacopeial Forum, 36, Jan.-Feb.

Vyskocil A and Viau C (1999) Assessment of molybdenum toxicity in humans, *J Appl Toxicol*,
19:185-192.

WHO (1996) the daily requirement

WHO (2003) Guidelines for drinking-water quality, 3rd ed., World Health Organization, Geneva.

Yoshida M et al (2006) Serum molybdenum concentration in healthy Japanese adults determined by
inductively coupled plasma-mass spectrometry, *J Trace Elem Med Biol*, 20:19-23.

Ysart G et al (1999) Dietary exposure estimates of 30 elements from the UK Total Diet Study, *Food
additives and contaminants*, 16:391-403.

RHODIUM (Rh)

Introduction

Rh is a platinum group VIII element of the second transition series. Its principal oxidation states are I,II and III, though Rh III is the most common state, especially in terms of aqua ion formation. It is rarely contained in the earth crust at an average of 0.0002 ppm. However, Rh is recently emerging in ambient air from 0.4 to 3.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ in the form of particulate matter at various places in Europe, north, middle and south America because of increasing usage of platinum group elements for automobile exhaust catalysts (Wiseman and Zereini, 2009).

Dietary intake

Mean UK intake: 0.2 $\mu\text{g}/\text{day}$; 97.5 percentile intake 0.4 $\mu\text{g}/\text{day}$ (Ysart *et al*, 1999). Upper-bound of daily intake in UK was reported 0.3 $\mu\text{g}/\text{day}$ in 1994 and 2.3 $\mu\text{g}/\text{day}$ in 2006 (Rose *et al*, 2010).

Toxicological data

Oral uptake is reported to be very low. Single-dose rat toxicity data on RhCl₃ indicate that the *iv/oral* LD₅₀ values are *ca* 200 and > 500 mg/kg, respectively. Simple Rh compounds such as RhCl₃ have been reported as genotoxic, e.g. in *Salmonella typhimurium* TA98, and others as cytotoxic. No repeated-dose toxicity data were located. Cytotoxicity of Rh to human bronchial epithelial cells was lower than Pt (Schmid *et al*, 2007).

Conclusion

Insufficient animal/human toxicity data are available for risk evaluation purposes. Rh compounds appear to be less toxic than their Pt counterparts.

References

Guideline on the specification limits for residues of metal, EMEA/CHMP/SWP/4446/2000.

Rose M *et al*, (2010) Dietary exposure to metals and other elements in the 2006 UK Total Diet Study and some trends over the last 30 years, Food additives and Contaminants, 27, 1380-1404.

Schmid M *et al* (2007) Influence of platinum, palladium and rhodium as compared with cadmium, nickel and chromium on cell viability and oxidative stress in human bronchial epithelial cells, Environ Int, 33:385-390.

Wiseman CL and Zereini F (2009) Airborne particulate matter, platinum group elements and human health: a review of recent evidence., Sci Total Environ, 407:2493-2500

Ysart G *et al* (1999) Dietary exposure estimates of 30 elements from the UK Total Diet Study, Food additives and contaminants, 16:391-403.

RUTHENIUM (Ru)

Introduction

Ru is a platinum group metal of the second transition series. It exhibits a wide range of oxidation states, the most common being II, III and IV. Ruthenium tetraoxide, RuO₄, is a more volatile and vigorous oxidant than OsO₄. Ru(OH)₂, RuCl₄ and RuO₂ are stable and water soluble; generally Ru III salts are insoluble in water. Ru is employed as a hardener in Pt/Ru alloys which are used in electrical contacts.

Dietary Intake

Mean UK intake: 4 µg/day; 97.5 percentile intake, 6 µg/day (Ysart *et al*, 1999). Daily intake had decreased to 0.03-0.81µg/day in 2006 (Rose *et al*, 2010).

Toxicological Data

Oral absorption of Ru is low (up to 3.5% in rodents). Oral and intraperitoneal (ip) LD₅₀ values have been determined in rodent species for several Ru compounds:

Species	Oral LD ₅₀	ip LD ₅₀	Species
Ru chloride hydroxide (Ru(OH)Cl ₃)	463	225	Mouse
Ru oxide (RuO ₂)	5570	3050	Mouse
Ru oxide (RuO ₂)	4580	-	Rat

Several Ru complexes with potential medical application have been reported to cause genotoxic responses *in vitro* (e.g. in *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100), although the magnitude of the effects was much less than in the case of *cis*-platin. No data from repeated-dose toxicity studies could be located.

Conclusion

Based on data from acute toxicity studies on simple Ru compounds, and on the genetic toxicity of some complexes containing nitrogenous ligands, Ru compounds/complexes appear likely to be less toxic than their Pt counterparts. However, insufficient data are available on which to base a reliable assessment.

References

Guideline on the specification limits for residues of metal, EMEA/CHMP/SWP/4446/2000.

Ysart G *et al* (1999) Dietary exposure estimates of 30 elements from the UK Total Diet Study, Food

平成 23 年度 研究分担報告書 添付資料 (MHLW/JPMA 担当物質評価文書案 (long version)
(Do not quote. These documents were draft proposals for the EWG meeting)

additives and contaminants, 16:391-403.

Rose M et al, (2010) Dietary exposure to metals and other elements in the 2006 UK Total Diet Study and some trends over the last 30 years, Food additives and Contaminants, 27, 1380-1404.

SELENIUM (Se)

Introduction

Selenium is present in the earth's crust, often in association with sulfur-containing minerals. It can assume four oxidation states (-2, 0, +4, +6) and occurs in many forms, including elemental selenium, selenites and selenates. Many selenium compounds are odoriferous, some having an odour of garlic (WHO, 1987).

Acid and reducing conditions reduce inorganic selenites to elemental selenium, whereas alkaline and oxidizing conditions favour the formation of selenates. Selenites and selenates are usually soluble in water. Elemental selenium is insoluble in water and not rapidly reduced or oxidized in nature. In alkaline soils, selenium is present as water-soluble selenate and is available to plants; in acid soils, it is usually found as selenite bound to iron and aluminium oxides in compounds of very low solubility (NRC, 1983).

The level of selenium (mostly bound to particles) in most urban air ranges from 0.1 to 10 ng/m³, but higher levels may be found in certain areas, e.g. in the vicinity of copper smelters. The levels of selenium in groundwater and surface water range from 0.06 to about 400 µg Se/litre (WHO, 2003).

Selenium is an essential trace element for many species, including humans (NRC, 1983, 1989). Selenium is incorporated into proteins via a specific selenocysteine tRNA. Selenium is found as selenocysteine in glutathione peroxidase and is incorporated into other proteins (Böck A et al., 1991).

Dietary intake

Foodstuffs constitute the main source of selenium for the general population. Daily dietary intake varies considerably according to geographical area, food supply, and dietary habits. Recommended daily intakes by NRC have been set at 1.7 µg/kg of body weight in infants and 0.9 µg/kg of body weight in adults (NRC, 1989). In Japan, the average daily intake was estimated at about 100 µg/day (Yoshida 1992), and the reference recommended daily intake of 24.2 µg/day for adults has been calculated from a Yang's report (1988) by using an average body weight of 60 kg (WHO 1996, MHLW 2009).

Vegetables and fruits are mostly low in selenium content (<0.01 mg/kg). Levels of selenium in meat and seafood are about 0.3–0.5 mg/kg. Grain and cereal products usually contain <0.01–0.67 mg/kg. Great variations of corn, rice, and soya beans in high- and low-selenium areas in China have been reported (between 4–12 and 0.005–0.01 mg/kg). Most drinking-water contains much less than 10 µg/litre, and the relative contribution of selenium from drinking-water may be small in comparison with that from locally produced food (WHO, 2003).

Kinetics

Most water-soluble selenium compounds and selenium from food are effectively absorbed in the gastrointestinal tract, however, elemental selenium and selenium sulfide are poorly absorbed (ATSDR 2003, Thomson and Stewart 1973 and 1974, Griffiths et al. 1976). After absorption, water-soluble selenium compounds appear to be rapidly distributed to most organs, the highest concentrations being in the kidney, liver, spleen, and testes (ATSDR 2003, Thomson and Stewart 1973 and 1974).

Selenium compounds are biotransformed into excretable metabolites, including unknowns as well as methylated selenides and trimethylselenonium ion at higher doses (WHO 1987, Högberg et al. 1986).

Most (49–70%) selenium is excreted in urine (19). In humans, selenite is eliminated in three phases, with half-lives of 1, 8–20, and 100 days, respectively (Griffiths et al. 1976).

Toxicological data

Acute toxicity: Selenite, selenate, selenocysteine, and selenomethionine are highly toxic and the oral LD₅₀ of sodium selenite in rats is 4.8–7 mg Se/kg of body weight (WHO 1987, ATSDR 2003).

Repeated dose toxicity: In up to thirteen-weeks studies of rats or mice, administration of selenite or selenate at more than c.a.0.4 mg Se/kg bw/ day via drinking water or diet caused a dose related decrease in body weight gain (Halverson et al. 1966; NTP 1994; Tsunoda et al. 2000). Reduced secretion of growth hormone from the anterior pituitary gland, hepatic pathological changes, anaemia, pancreatic enlargement were observed at a dose range of 0.6 – 0.8 mg Se/kg bw/ day of selenite in the (3-8 weeks) rat diet studies (Thorlacius-Ussing 1990; Halverson et al. 1966; Chen et al. 1993). Based on these studies results, the NOAEL of repeated dose toxicity was considered to be 0.2 mg Se/kg bw/day. However, small sporadic infiltrations of mononuclear cells in portal canals and weak activation of Kupffer cells were observed at dose of 4 µg Se/kg bw/day of selenite for 3 months in rats (Kolodziejczyk et al. 2000).

Reproductive and development toxicity: Reproductive toxicities (increased number of stillborn, decreased body weight and survival rate in pups etc.) of selenate (3 mg/litre in drinking-water: 0.39 mg Se/kg bw/day) in mice and (15 mg/litre in drinking-water: 1.5 mg Se/kg bw/day) in rats have been reported (Schroeder and Michener 1971, NTP 1996). No embryotoxic and teratogenic effects except only retarded fetal growth in mice were observed at the concentration of up to 22.8nm/ml (1.8 mg/litre) of selenite in drinking water (Nobunaga et al. 1979). The evidence of selenomethionine-induced embryonic or fetal toxicity observed in rabbits and hamsters was observed at only doses associated with overt maternal poisoning and nutritional deprivation (Berschneider et al. 1977, Ferm VH et al. 1990).

In a study on monkeys (*Macaca fascicularis*) fed selenomethionine (25, 150 or 300 µg Se/kg of body weight per day) during organogenesis, no signs of teratogenicity were observed (Tarantal et al. 1991).

Genotoxicity: A weak mutagenic activity has been demonstrated for both selenite and selenate in *Salmonella typhimurium* strain TA100 (Löfroth et al. 1978, Noda et al. 1979). Selenite, selenate, and selenide induced unscheduled DNA synthesis, sister chromatid exchange, and chromosomal aberrations in cell cultures *in vitro*, often in the presence of glutathione (Khalil et al. 1989, Ray et al. 1978, Whiting et al. 1980). In one *in vivo* study, chromosomal aberrations and increased sister chromatid exchange were seen in hamster bone marrow cells after selenite treatment, but only at toxic doses (Norppa et al. 1980).

Carcinogenicity: Early studies in which tumours were seen in test animals (Inne et al. 1969, Harr et al. 1967) have been seriously questioned because of study limitations (IARC 1975), and several evaluators have found the data to be inconclusive. In two studies on mice, there was either no increase or decrease in the incidence of tumours after administration of selenite or selenate (3 mg of selenium per litre of drinking-water: c.a.0.3 mg Se/kg bw/day) (Schroeder and Mitchener 1972) or selenium oxide (2 mg of selenium per litre of drinking-water) (Schrauzer et al. 1974).

Effects on Human: A few reports of clinical signs of selenium deficiency are available. It has been suggested that it may be a factor in endemic cardiomyopathia (Keshan disease) and possibly also in the joint and muscle disease (Kaschin-Beck disease) in the Keshan region of China (WHO 1987, Högberg et al. 1986).

Acute oral doses of selenite and other selenium compounds cause symptoms such as nausea, diarrhoea, abdominal pain, chills, tremor, numbness in limbs, irregular menstrual bleeding, and marked hair loss (Högberg et al. 1986, Sioris et al. 1980).

Children living in a seleniferous area in Venezuela exhibited more pathological nail changes, loss of hair, and dermatitis than those living in Caracas (Jaffe 1972). Based on Chinese data on blood level-intake relationships (Yang et al 1989a), their estimated daily intake was about 0.66 mg of selenium. However, the groups concerned differed nutritionally in several ways. In a follow-up study, Yang et al. studied a population of about 400 individuals with average daily intakes ranging from 62 to 1438 µg of selenium (Yang et al 1989a, 1989b). Clinical signs of selenosis (hair or nail loss, nail abnormalities, mottled teeth, skin lesions, and changes in peripheral nerves) were observed in 5 of 439 adults having a mean blood selenium of 1346 µg/litre, corresponding to a daily intake of 1260 µg of selenium. Decreases in prothrombin time and in the concentration of glutathione in blood were seen at dietary intakes exceeding 750–850 µg of selenium. The authors suggested that the daily intake of 0.015 mg Se/kg bw/day (c.a. 800µg Se/day) would be NOAEL.

In a recent study, 142 subjects from geographical areas in U.S. where the average selenium intake was 239 µg/day (68–724 µg/day) were examined over 2 years (Longnecker et al. 1991). An association between selenium intake and alanine aminotransferase (ALAT) levels in serum was observed but considered to be clinically insignificant. None of the effects, including nail abnormalities, were related to selenium intake.

Regulatory assessments

Recommendations, Regulations and Guidelines applicable to Selenium

Agency	Description	Information	Reference
NRC	Recommended daily intake	Infants: 1.7 µg Se/kg bw/day Adults: 0.9 µg Se/kg bw/day	NRC 1989
MHLW	Reference recommended daily intake	24.2 µg Se/day (at 60 kg bw)	MHLW 2009
USP	Oral permitted daily exposure (PDE)		
EMA	PDE		
MHLW	Drinking water guideline Tolerable daily intake (TDI)	0.01 mg Se/L 0.004 mg Se/kg bw,	MHLW 2003
U.S. EPA	Reference dose for chronic oral exposure (RfD)	Oral; 0.005 mg Se/kg bw	US EPA 1991
ATSDR	MINIMAL RISK LEVEL (MRL)	Oral, chronic 0.005 mg Se/kg bw	ATSDR 2003
WHO	Drinking quality guideline Tolerable daily intake (TDI)	0.01 mg Se/L 0.004 mg Se/kg bw,	WHO 2008

Conclusion

Selenium does not appear to be carcinogenic. IARC has placed selenium and selenium compounds in Group 3 (IARC 1987). Selenium compounds have been shown to be genotoxic in *in vitro* systems with metabolic activation. There was no evidence of teratogenic effects in experimental animals. Long-term exposure in rats may result in growth retardation and liver pathology. In humans, the toxic effects of long-term selenium exposure are manifested in nails, hair, and liver. Data from Chinese indicate that clinical and biochemical (decreased liver prothrombin synthesis) signs occur at a daily intake above 0.8 mg. Daily intakes by Venezuelan children with clinical signs were estimated at about 0.66 mg on the basis of their blood levels and the Chinese data (Yang et al) on the relationships between blood levels and intakes. Based on the NOAEL of 0.015 mg Se/kg bw/day at the Yang et al.'s reports, U.S.EPA estimated the reference dose as 0.005 mg Se/kg bw/day by using an uncertainty factor (UF) of 3. The NOAEL based on the clinical or biochemical signs of selenium toxicity were also derived from the Longnecker's data (a group of 142 persons) with a mean daily intake of 0.24 mg (maximum 0.72 mg) from food. WHO concluded that the 0.004 mg Se/kg bw/day corresponding the average intake is a tolerable daily intake. The

approach seems to be different from EPA assessment, but the average value is one third (corresponding to UF:3) of the highest dose of 720 mg, which could be assessed as a NOAEL of Longnecker's data.

On the basis of these data, the NOAEL of 4 μg Se/kg bw/day in humans was considered to be appropriate from a standpoint of conservative assessment.

References

- ATSDR Toxicological Profile for selenium. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.,2003
- Berschneider F et al. Fetal and maternal damage to rabbits following application of sodium selenite, injectable Ursoselevit, and Ursoselevit premix. Monatshefte für Veterinärmedizin, 1977, 8:299-304 (in German).
- Böck A et al. Selenoprotein synthesis: an expansion of the genetic code. Trends in biochemical science, 1991,16:463-467.
- Chen, C., Hedstrom, O. and Whanger, P.D. Effect of vitamin B12 on performance and tissue selenium content in rats fed sub-toxic levels of selenite. Toxicology. 1993, 85, 101-115.
- Ferm VH et al. Embryotoxicity and dose-response relationships of selenium in hamsters. Reproductive toxicology, 1990, 4:183-190.
- Griffiths NM, Stewart RDH, Robinson MF. The metabolism of [75Se]selenomethionine in four women. Br J Nutr 1976, 35:373-382
- Halverson, A.W., Palmer, I.S. and Guss, P.L. Toxicity of selenium to post-weanling rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1966; 9, 477-484.
- Harr JR, Bone JF, Tinsley IJ, Weswig PH, Yamamoto RS. Selenium toxicity in rats. II. Histopathology. In: Muth OH, Oldfield JE, Weswig PH, eds. Selenium Biomed Proc 1st Int Symp, Oregon State Univ, 1966. Westport, CT: AVI Publishing Co. 1967; 153-178.
- Högberg J, Alexander J. Selenium. In: Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB, eds. Handbook on the toxicology of metals, Vol. 2, 2nd ed. Amsterdam, Elsevier, 1986,482-520.
- Inne JR et al. Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: a preliminary note. Journal of the National Cancer Institute, 1969, 42:1101-1114.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1-42. Lyon, 1987,71 (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Suppl. 7).
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Some aziridines, N-, S- and O-mustards and selenium. Lyon, 1975,245-259 (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, Volume 9).
- Jaffe WG. Effect of selenium intake in humans and in rats. In: Proceedings of the Symposium on Selenium and Tellurium in the Environment. Pittsburgh, PA, Industrial Health Foundation, 1976,188-193.

平成 23 年度 研究分担報告書 添付資料 (MHLW/JPMA 担当物質評価文書案 (long version)
(Do not quote. These documents were draft proposals for the EWG meeting)

- Khalil AM. The induction of chromosome aberrations in human purified peripheral blood lymphocytes following in vitro exposure to selenium. *Mutation research*, 1989, 224:503-506.
- Longnecker MP et al. Selenium in diet, blood and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *American journal of clinical nutrition*, 1991, 53:1288-1294.
- Löfroth G, Ames BN. Mutagenicity of inorganic compounds in *Salmonella typhimurium*: arsenic, chromium, and selenium. *Mutation research*, 1978, 53:65-66.
- MHLW. Dietary reference intakes for Japanese 2010 (The report from the scientific committee of “dietary reference intakes for Japanese”) Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan 2009
- MHLW. Revision of Drinking Water Quality Standards in Japan 2003. Water Supply Division, Health Service Bureau, Ministry of Health Labour and Welfare, Japan.
- NRC (National Research Council) . Selenium in nutrition. Washington, DC, National Academy Press., 1983
- NRC (National Research Council). Recommended dietary allowances, 10th ed. Washington, DC, National Academy Press., 1989
- NTP. NTP technical report on toxicity studies of sodium selenate and sodium selenite administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. MD: National Toxicology Program, Toxicity Report Series Number 38. NIH Publication, Bethesda, 1994, 94-3387.
- NTP. Sodium selenate: Short term reproductive and developmental toxicity study when administered to Sprague-Dawley rats in the drinking water. Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program, Department of Health and Human Services. NTIS PB 1996; 96 190 616
- Nobunaga T, Satoh H, Suzuki T. Effects of sodium selenite on methyl mercury embryotoxicity and teratogenicity in mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 1979, 47:79-88.
- Noda M, Takano T, Sakurai H. Mutagenic activity of selenium compounds. *Mutation research*, 1979, 66:175-179.
- Norppa H, Westermarck T, Knuutila S. Chromosomal effects of sodium selenite in vivo. *Hereditas*, 1980, 93:101-105.
- Ray JH, Altenburg LC. Sister-chromatid exchange induction by sodium selenite: dependence on the presence of red blood cells or red blood cell lysate. *Mutation research*, 1978, 54:343-354.
- Schrauzer GN, Ishmael D. Effects of selenium and of arsenic on the genesis of spontaneous mammary tumors in inbred C3H mice. *Annals of clinical laboratory science*, 1974, 4:441-447.
- Schroeder HA, Mitchener M. Selenium and tellurium in mice. Effects on growth, survival, and tumours. *Archives of environmental health*, 1972, 24:66-71.
- Schroeder HA, Mitchener M. Selenium and tellurium in rats: effect on growth, survival and tumors. *Journal of nutrition*, 1971, 101:1531-1540.
- Sioris LJ, Cuthrie K, Pentel PR. Acute selenium poisoning. *Veterinary and human toxicology*, 1980, 22:364
- Tarantal AF et al. Developmental toxicity of L-selenomethionine in *Macaca fascicularis*.

平成 23 年度 研究分担報告書 添付資料 (MHLW/JPMA 担当物質評価文書案 (long version)
(Do not quote. These documents were draft proposals for the EWG meeting)

- Fundamental and applied toxicology, 1991, 16:147-160.
- Thomson CD, Stewart RDH. Metabolic studies of [75Se]selenomethionine and [75Se]selenite in the rat. Br J Nutr 1973, 30:139-147.
- Thomson CD, Stewart RDH. The metabolism of [75Se]selenite in young women. Br J Nutr 1974, 32:47-57.
- Thorlacius-Ussing O. Selenium-induced growth retardation. Danish medical bulletin, 1990, 37:347-358.
- Tsunoda M, Johnson VJ, Sharma RP. Increase in dopamine metabolites in murine striatum after oral exposure to inorganic but not organic form of selenium. Arch Environ Contam Toxicol ,2000,39:32-37.
- WHO. Guidelines for drinking-water quality, 3rd ed., World Health Organization, Geneva.,2003
- WHO. Selenium., Environmental Health Criteria, No.58. , World Health Organization. ,Geneva,1987
- WHO/FAO/IAEA. Selenium. In: Trace elements in human nutrition and health. WHO, Geneva, 1996, 105-122.
- Whiting R, Wei L, Stich HF. Unscheduled DNA synthesis and chromosome aberrations induced by inorganic and organic selenium compounds in the presence of glutathione. Mutation research, 1980, 78:159-169.
- Yang G et al. Studies of safe maximal daily selenium intake in a seleniferous area in China. Part I. Journal of trace elements and electrolytes in health and disease, 1989, 3:77-87.
- Yang G et al. Studies of safe maximal daily selenium intake in a seleniferous area in China. Part II. Journal of trace elements and electrolytes in health and disease, 1989, 3:123-130.
- Yang G-Q, Ge K, Chen J, et al. Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. World Rev Nutr Diet ,1988,55: 98-152.
- Yoshida M. Selenium intake and bloodselenium level in Japanese. Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science ,1992,45: 485-494.

II. 分担研究報告

2. 医薬品の有効性・安全性に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
平成23年度分担研究報告書

－小児治験ガイドラインについての研究－

研究分担者：中村 秀文（国立成育医療研究センター）

研究協力者：宮前由里恵、荻島美奈子（国立成育医療研究センター）

山崎美智子、宮部 祐子（大阪府立母子保健総合医療センター）

三浦恵美子、井阪久美子（神奈川県立こども医療センター）

吉田 陽子、友常 雅子（東京都立小児総合医療センター）

研究要旨

小児治験のアセント文書の4施設統一文書について平成22年度に実施した専門職21名のアンケート結果の内容を吟味し、その検討結果を踏まえて、プラセボや説明デザインの説明の修正、文書の構成の再検討、漢字・用語の使用方法やルビの振り方などについての見直し等を行った。その結果を踏まえたひな形を、各施設のウェブサイトで公開することとし、またアセント文書の作成の意図が理解できるような基本的考え方について解説した「アセント文書の作成にあたって」も併せて公開することとした。

EMAの「小児集団における医薬品開発での薬物動態の役割に関するガイドライン」及びEUのガイドライン「小児集団を対象に実施される医薬品の臨床試験における倫理的配慮について」の内容について調査・検討を行った。これまでのガイドラインと比べてより踏み込んだ内容が盛り込まれているが、さらに経験を踏まえて修正されるであろう内容の記載もある。将来的に、ICH E-11ガイドラインの改訂がおこなわれる場合には、これらガイドラインの内容等も踏まえた検討を進めることになると考えられた。

キーワード：小児、ICH E-11、アセント、治験

A. 研究目的

ICH E-11 は「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンス」（医薬審第1334号）として平成12年12月15日に発出され、平成13年4月1日以後に開始される治験に対して適用されている、本研究ではこのガイダンスに関連し、小児治験に関連したガイドライン、インフォームドアセント、その他小児医薬品開発推進のスキーム等について、将来的な本邦におけるガイドライン等の策定も念頭においた検討を行う。

B. 研究方法

インフォームドアセント文書の検討については、4小児医療施設の研究協力者と連携し、内容の検討を進めた。今年度は、昨年度に実施した各施設の小児に関わる専門職に対するアンケート調査の結果を踏まえた内容の検討に基づき、内容の修正を行い、公開用資料を確定した。

他施設の小児治験関係CRCとは引き続き「小児CRCの会」を開催し、意見・情報交換を行った。また我が国での治験の参考とするため、別研究により和訳を終了しているEMAの「小児集団における医薬品開発での薬物動態の役割に関するガイドライン」

及びEUのガイドライン「小児集団を対象に実施される医薬品の臨床試験における倫理的配慮について」の内容について調査・検討を行った。

(倫理面への配慮)

直接、患者情報の収集を行うことはなく、その点では倫理的配慮は必要ない。ただし、小児という脆弱な患者グループに対する医薬品の適正使用に向けての取り組みであることから、医薬品の用量、有効性、安全性に関する小児の特殊性に対してはICH E-11等も参考に、十分に配慮した。

C. 研究結果

小児治験におけるアセント文書の内容についての検討

平成18年には、治験の中核病院である国立成育医療センターと3拠点医療機関でアセント文書の統一文書を作成した。この内容についてアンケート調査を実施し、小児医療関係の専門職21名からの回答に基づいて、アセント文書の内容を平成22年度から再検討(表1)した。今年度は、この検討結果を踏まえて、プラセボや説明デザインの説明の修正(表2)、文書の構成の再検討(表3)、漢字・用語の使用方法やルビの振り方などについての見直し(表4)を終了した。その結果(資料1)を各施設のウェブサイトで公開することとし、またアセント文書の作成の意図が理解できるような基本的考え方について解説した「アセント文書の作成にあたって」(資料2)も併せて作成した。

表1：平成22年度からのアセント文書の再検討内容の例

説明内容	<ul style="list-style-type: none"> ・プラセボなど試験デザインの記載について ・年齢別で伝えるべき治験内容の再確認 ・試験デザインの例では、イラストや図でイメージできるような工夫
文書の構成	<ul style="list-style-type: none"> ・文章の量,記載順序 ・使用する言葉について (アセント文書AとBに、分かりづらい言葉が多い)
その他	<ul style="list-style-type: none"> ・署名の必要性について ・アセント文書の使用方法や考え方,ICH(E11)の取り決め等を理解してもらえるような対応 ・各アセント文書に、何をどこまで記載し、どのように伝えるか ・各年齢層及び発達年齢に応じた、より理解しやすい文章構成や記載量などについて

表2：プラセボや説明デザインの修正方針

	プラセボ・試験デザインの説明について
アセント文書A	アンケートの結果でも「プラセボについての理解は難しい」との意見があり、プラセボ等、試験デザインについては説明を行わないこととした。
アセント文書B,C	プラセボ対照二重盲検比較試験,並行群間比較試験,無作為割り付けについて記載例を作成した。

表3：文書の構成の再検討内容

アセント文書A	アセント文書B	アセント文書C
1. はじめに 2. どんなことを するの？ *病院で行うことと家で行うことを分けて記載する(Bも同様) 3. こんなことが あるかもしれません *主に副作用について説明する 4. しばいなことは きいてください	1. はじめに 2. 「新しい薬」がみんなに使えるようになるには？ *治験について簡単に説明する *治験・治験薬という言葉を使用する 3. どんなことをするの？ 4. こんなことがあるかもしれません *効果と副作用について説明する 5. 心配なことは聞いてください	1. はじめに 2. 「治験」とは？ 3. 「治験」の内容 *参加人数,参加スケジュール,治験薬の服薬方法,試験デザインについても説明 4. 「〇〇〇」の効果と副作用 5. 守ってほしいこと 6. 個人情報の保護について 7. 治験への参加について 8. 「治験」の相談窓口

表4：漢字・用語の使用方法やルビの振り方などについての見直し内容

	使用する漢字の基準とルビの有無	アルファベット
アセント文書A	小学校1年生で習う漢字は使用し,全てにルビを振る.	カタカナでルビを振り使用
アセント文書B	小学校3年生までに習う漢字については,ルビなしで使用する. 小学校4年生で習う漢字は,ページの始めに出てきたもののみルビを振り使用する. 治験・検査などの一部の医療用語についてはルビ付きで漢字を使用する.	
アセント文書C	小学校6年生までに習う漢字については,ルビなしで使用する. 中学校1年生で習う漢字や医療用語などは,ページの始めに出てきたもののみルビを振る. ※基本的に漢字を使用する. 漢字で記載して意味が分からないと思われる言葉については,別の表現を考える.	ルビなしで使用

小児医療施設CRCとの意見・情報交換

12医療施設CRCと小児治験についての意見・情報交換会である「小児CRCの会」を2011年9月24日に実施し、以下についての情報共有・意見交換を行った。

- ・ 治験の中核病院・拠点医療機関4施設の取り組み紹介
- ・ その他の医療施設における取り組み（治験受託内容、啓発活動の紹介など）
- ・ アセント文書統一フォームの紹介

EMAの「小児集団における医薬品開発での薬物動態の役割に関するガイドライン」

2007年1月1日に実効となったこのGuideline on the role of pharmacokinetics in the development of medicinal products in the paediatric populationは、あくまでアドバイスの位置づけと明記されている。例えば、同程度の暴露量で、同程度の有効性を得ることが可能であると考えられる場合、薬物動態情報を用いた成人から小児への、もしくは年齢の異なる小児間での臨床的有効性の外挿が可能とされている。また、濃度と臨床的有効性との関係が小児・成人間で同様と考えられない場合は、PK/PD（バイオマーカー）データを用いて有効性を外挿することが可能と

されている。ただしバイオマーカーの妥当性の十分な検討が必要であり、成人のみで証明されている場合は、小児での妥当性の十分な検討が必要である。

また例えば腎濾過のみにより排泄される薬などでは、他の薬剤の薬物動態情報に（部分的もしくは完全に）依存することが出来るとされている。生物学同等性試験はなるべく成人で実施することとされているが、試験結果が小児集団に外挿可能なことの根拠を示さねばならないとの記載があり、特定年齢層の小児での製剤の吸収が有意に異なると考えられる理由がある場合、当該小児での裏付けが必要となる可能性もある。そのデザインは、器官の成熟度や類似する薬の動態などを参考に決定することとされている。

サンプリングについては、特に重要性の高い年齢の小児患者の組み入れに集中する方法や、標的年齢全体にわたる薬物動態データを均一な分布で得る方法などが考えられる。青少年では、限られた検証的PKデータがあれば通常は十分であることは、我々の常識の通りの記載である。代謝されず、主に腎排泄の場合、あるいは薬剤の一部が用量線形性に腎排泄で除去される場合は、尿中排泄のデータで除去能を記述してよいとの記載がある。

早産児、正期産新生児、乳幼児については、在胎期間、生後年齢、出世児および現在の体重、腎機能、血清アルブミン値、併用薬、他の疾患という因子を考慮せねばならない。対照群の薬剤暴露量は、有効性及び安全性が示されている集団の暴露量を反映しなければならないが、特異的な因子がなければ、ヒストリカル対照群を用いてもよいとされている。

本ガイドラインでは、母集団薬物動態法について比較的詳しい記載がある。スパースサンプリングの使用が可能となるとしており、従来デザインの薬物動態試験に取って代わる可能性があることまで記載している。

事前情報にもとづくシミュレーションまたは理論的最適デザインアプローチを、採血時間及び被験者数設定のツールと考えるべきであるし、小児での十分な予測が可能である限り、成人データを事前情報として用いた解析を考慮してもよいとしている。

相互作用については、成人から小児への相互作用データの外挿が適切であるかの考察が必要であるとされている。代謝・排泄やタンパク結合率などの差の影響を考慮する必要がある、予想外の相互作用が認められた場合、補助的な試験の実施が必要となるかもしれない可能性を指摘している。

推奨投与量の開発に関しては、定常状態血中濃度が測定されていない場合、予測暴露量のシミュレーションを行うことを勧めている。シミュレーションでは、経時的な濃度推移および集団のばらつきを考慮せねばならず、また定常状態暴露パラメータの実測値または予測値と、年齢、体重、または他の適した共変量とを比較したグラフも提示することを求めている。半減期の長い新生児では負荷投与も考慮せねばならないし、肥満児における過剰暴露のリスクや患者集団における肥満児の頻度も考慮せねばならないとしている。

EUのガイドライン「小児集団を対象に実施される医薬品の臨床試験における倫理的配慮について」

本ガイドラインは、EUのGCP履行に関するDirective 2001/20/ECの実施のためのガイドライン作成を目的としたアドホックグループにより作成されたものである。

例えば、インフォームドコンセント・アセントについても説明がなされている。また、IRBには小児専門家（アドホックでも可）が必須としており、小児専門家の例として、小児科医、小児専門の倫理学者・薬理学者、小児専門の看護師や心理学者が挙げられている。デザインについては、対照群（プラセボを含む）についても記載されており、プラセボは科学的理由により必要とされることが多いとしている一方、成人での使用よりも制限されるとされている。特に重篤な、生命を脅かす病態に対してはプラセボの使用により有効な治療が控えられる場合、プラセボを使用しないこと、と明記されている。エビデンスに裏付けられた標準治療であれば、「販売承認を受けていない医薬品」も、対照薬として適切であるとみなされる、と明記されている点も特徴的である。

疼痛・苦痛・恐怖の最小化など、特に小児において留意が必要な点についても記載があり、またリスク・ベネフィットの評価とそのバランスについて、また直接的ベネフィットがない場合についての言及も、米国のガイダンス同様に記載されている。試料採取・解析・採血量 についての記載もあり、採血量については、エビデンスに基づいていないとしながら、1回当たり全血液量の1%（複数の試験に参加の場合3%）を超えない、また4週間で全血液量の3%を超えないとしている。1%は体重当たりで換算すると0.8ml/kgとなる。

同じく小児での配慮が必要な、適切な小児用製剤の選択の必要性についても言及しており、年齢に適した製剤があればそれを使用すべきであること、また即時調整剤を用いる場合、その調整する条件および用量を示すことも明記している。

末尾には、各国の規制の違いについての一覧表があり、例えば、青少年が単独で同意できると定めた法律があるのは、デンマーク、フィンランド、ドイツなどで、フランスやチェコにはない等、興味深い差異について明らかとされている。

D. 考 察

小児治験におけるアセント文書の内容についての検討

アセント文書統一フォームについては、それをもとにすでに各施設で各治験に応じたアセント文書作成が行われている。それらについての各施設のIRBからの指摘や、専門家の意見も踏まえて、ようやく公開可能なフォームにたどり着いた感がある。4施設共同で作成・改訂作業を行ったことにより、単施設の見解に偏ったものではなく、広く認識してもらえる統一フォームの検討が行えたと考えている。さらに、利用者からのフィードバックを受けて、記載整備や付随資料の検討を進めていきたい。

小児医療施設CRCとの意見・情報交換

「小児CRCの会」の参加者の施設数は年々増加しており、小児治験ネットワーク等の活動によりCRCの間での小児治験に対する認知度が高まっているこ

とがうかがわれる。今後も継続的に実施し、現場での問題点や取り組みなどを、ガイドライン検討に反映させていきたい。

EMAの「小児集団における医薬品開発での薬物動態の役割に関するガイドライン」

このガイドラインは、あくまでアドバイス（推奨）の扱いとされている。しかしこれまでに作られた、例えば、米国の小児PKドラフトガイダンスGeneral considerations for pediatric pharmacokinetic studies for drugs and biological products. Draft Guidance November 1998等と比べてもpopulationPKやPK/PD simulationについて、より踏み込んだ記載がみられた。シミュレーションまたは理論的最適デザインアプローチ等を、EMAが積極的に取り入れていることがうかがわれる。さらに今後の動向を注視したい。

EUのガイドライン「小児集団を対象に実施される医薬品の臨床試験における倫理的配慮について」

本ガイドラインは、EUのGCP履行に関するDirective 2001/20/ECの実施のためのガイドライン作成を目的としたアドホックグループにより作成されており、規制当局としてどのような取扱いをしているのかが気になるところである。内容的には、FDAの規制内容と類似している点も多い。採血量等については「エビデンスがない」ことを付記して記載されており、今後さらに見直しが必要であることがうかがわれる。一般論的な記載が多く、今後EMAの小児委員会（Paediatric Committee）等による、具体的な臨床試験デザインの検討を踏まえて、実際の配慮点などが明らかになるであろうと推測された。

FDAのスピルバーグ副長官は、場合によってはICH E-11の改訂も考えるべきであろうとの考えをお持ちであり、もし実際に改訂作業が行われる場合は、これらガイドラインの内容等も踏まえた検討を進めたいと考えている。

E. 結 論

小児治験におけるアセント文書の内容について再検討し、プラセボや説明デザインの説明の修正、文

書の構成の再検討、漢字・用語の使用方法やルビの振り方などについての見直し等を行い各施設のウェブサイトで公開することとした。EMAの「小児集団における医薬品開発での薬物動態の役割に関するガイドライン」及びEUのガイドライン「小児集団を対象に実施される医薬品の臨床試験における倫理的配慮について」の内容について調査・検討を行った。

F. 研究危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表等

- M Mori, H Kawashima, H Nakamura, M Nakagawa, S Kusuda, T Saji, H Tsutsumi, S Yokota, S Itoh. Nationwide survey of severe respiratory syncytial virus infection in children who do not meet indications for palivizumab in Japan. *J Infect Chemother.*, 2011, Apr; 17(2): Page 254-63.
 - K Hoppu, G Anabwani, F Garcia-Bournissen, M Gazarian, GL Kearns, H Nakamura, RG Peterson, S Sri Ranganathan, SN de Wildt. The status of paediatric medicines initiatives around the world-what has happened and what has not?. *Eur J Clin Pharmacol*, 2012, 68: 1 -10
 - 中村秀文 : 薬物投与の基本的考え方. 小児科学改訂第10版 編集 五十嵐 隆, 2011, Page1067-1080, 文光堂, 東京
 - 飯島一誠, 佐古まゆみ, 木村利美, 服部元史, 亀井宏一, 野津寛大, 宍戸清一郎, 相川厚, 森田研, 後藤芳充, 和田尚弘, 大塚泰史, 長田道夫, 齊藤真梨, 本田雅敬, 土田尚, 中村秀文, :小児腎移植におけるミコフェノール酸モフェチルの多施設共同オープンラベル臨床試験ー有効性・安全性, 薬物動態の評価ー. 日本小児腎臓病学会雑誌. 第24巻第1号, 2011年4月, Page36-46
 - 中村秀文 : 小児薬物療法治療薬におけるアンメット・メディカル・ニーズ. 医薬ジャーナル2011年8月号, Page63-66, 医薬ジャーナル社, 東京
- ### 2. 学会発表等
- H. Nakamura : Participation in Asia in Global Pediatric Programs, Including Cultural Barriers to Conduct Pediatric Clinical Trials. Asia Regulatory Conference : Asia's Role in Global Drug Development. April27 . 2011 . Seoul
 - 中村秀文 : 小児を用いた研究における倫理的問題 : 実践の立場から. 第10回医学研究のための倫理に関する国際研修コース. 2011年7月8日. 長崎
 - 中村秀文 : ユーザビリティと創薬 . 日本薬剤学会第36回製剤セミナー . 2011年7月20日 . 静岡
 - 中村秀文 : 小児用薬の臨床試験とその問題点～感染症治療薬を中心に～ . 第4回抗感染症薬開発フォーラム . 2011年10月22日. 東京

このアセント文書は、飲み薬の治験を想定して作成しています。

検査項目や治験薬の使用方法是、治験ごとに適宜変更して使用してください

「あたらしい くすり」

(〇〇〇)

の はなし



表紙と確認書のページ数の振り方は、各施設の規程によって変更してください