N,N-ジメチルアセトアミドのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0753

CAS No. 127-19-5

2013 年 3 月 28 日

中 央 労 働 災 害 防 止 協 会
日本バイオアッセイ研究センター

目次

標題 …… i

試験目的 …… i

試験法 …… i

GLP 対応 …… i

動物福祉 …… i

試験委託者 …… i

試験施設及び運営管理者 …… ii

試験日程 …… ii

試験関係者一覧 …… ii

試資料の保管 …… iii

試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付 …… iii

陳述書 …… iv

信頼性保証証明書 …… v

本文 …… vi

TABLES A～R2

FIGURES 1-1～7

PHOTOGRAPHS 1～6

APPENDICES 1-1～3

標題

N,N-ジメチルアセトアミドのラットを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

N,N-ジメチルアセトアミドをラットに 104 週間全身暴露し、がん原性を検索した。

試験法

本試験は、平成 9 年 3 月 11 日付け、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準」に準拠し、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験　2009 年 9 月 7 日採択）を参考にして実施した。

GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「試験施設等が具備すべき基準(安衛法 GLP)」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

動物福祉

本試験は、平成 18 年 4 月 28 日付け、環境省告示第 88 号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成 18 年 6 月 1 日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本方針」及び平成 18 年 11 月 27 日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守した。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞が関 1-2-2

N,N-ジメチルアセトアミドのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0753

本文

本文目次

頁

要約 …… 1

Ⅰ　試験材料 …… 3

Ⅰ－1　被験物質の性状等 …… 3
　Ⅰ－1－1　名称等 …… 3
　Ⅰ－1－2　構造式及び分子量 …… 3
　Ⅰ－1－3　物理化学的性状等 …… 3
Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等 …… 3
Ⅰ－3　被験物質の特性 …… 4
　Ⅰ－3－1　同一性 …… 4
　Ⅰ－3－2　安定性 …… 4
Ⅰ－4　試験動物 …… 4

Ⅱ　試験方法 …… 5

Ⅱ－1　投与 …… 5
　Ⅱ－1－1　投与経路 …… 5
　Ⅱ－1－2　被験物質の投与方法 …… 5
　Ⅱ－1－3　投与期間 …… 5
　Ⅱ－1－4　投与濃度 …… 5
　Ⅱ－1－5　投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由 …… 5
　Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整 …… 6
　Ⅱ－1－7　被験物質濃度の測定 …… 6
Ⅱ－2　動物管理 …… 6
　Ⅱ－2－1　各群の使用動物数 …… 6
　Ⅱ－2－2　群分け及び個体識別方法 …… 7
　Ⅱ－2－3　飼育条件 …… 7
　（1）飼育環境 …… 7
　（2）飼料 …… 8
　（3）飲水 …… 8

Ⅱ－3　観察・検査項目及び方法 …… 8
Ⅱ－3－1　動物の生死及び一般状態の観察 …… 8
Ⅱ－3－2　体重測定 …… 8
Ⅱ－3－3　摂餌量測定 …… 9
Ⅱ－3－4　血液学的検査 …… 9
Ⅱ－3－5　血液生化学的検査 …… 9
Ⅱ－3－6　尿検査 …… 9
Ⅱ－3－7　病理学的検査 …… 9
（1）剖検 …… 9
（2）臓器重量 …… 10
（3）病理組織学的検査 …… 10
Ⅱ－4　数値処理と統計方法 …… 10
Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示 …… 10
Ⅱ－4－2　統計処理 …… 11

Ⅲ　試験成績 …… 12

Ⅲ－1　生死状況 …… 12
Ⅲ－2　一般状態 …… 12
Ⅲ－3　体重 …… 12
Ⅲ－4　摂餌量 …… 13
Ⅲ－5　血液学的検査 …… 13
Ⅲ－6　血液生化学的検査 …… 13
Ⅲ－7　尿検査 …… 14
Ⅲ－8　病理学的検査 …… 14
Ⅲ－8－1　剖検 …… 14
Ⅲ－8－2　臓器重量 …… 14
Ⅲ－8－3　病理組織学的検査 …… 15
Ⅲ－8－4　死因 …… 17

Ⅳ　考察及びまとめ …… 18

Ⅳ－1　生存率、一般状態、体重、摂餌量 …… 18
Ⅳ－2　腫瘍性病変及び腫瘍関連病変 …… 18
Ⅳ－3　その他の影響 …… 19
Ⅳ－4　他文献との比較等 …… 20

Ⅴ　結論 …… 22

Ⅵ　文献 …… 23

Ⅶ　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態
及び試験計画書に従わなかったこと …… 25

要約

N,N-ジメチルアセトアミドのがん原性を検索する目的で F344/DuCrlCrlj ラットを用いた吸入による 2 年間（104 週間）の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群雌雄とも 50 匹とし、合計 400 匹を用いた。被験物質の投与は、*N,N*-ジメチルアセトアミドを 1 日 6 時間、1 週 5 日間、104 週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0（対照群）、18、90 及び 450 ppm とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

N,N-ジメチルアセトアミドの暴露の結果、生存率、一般状態に被験物質の暴露による影響はみられなかった。体重は、雌雄とも 450 ppm 群で投与期間を通じて増加抑制がみられた。雄の投与群の最終体重は、対照群に対して 18 ppm 群：100%、90 ppm 群：98%、450 ppm 群：84%であった。雌の投与群の最終体重は、対照群に対して 18 ppm 群：106%、90 ppm 群：105%、450 ppm 群：91%であった。摂餌量は、雄では投与期間を通じて 450 ppm 群で減少傾向がみられ、雌では投与開始直後から 7 週まで 450 ppm 群で減少傾向がみられたが、それ以降は徐々に回復した。剖検では、雄の 450 ppm 群で肝臓の結節が多くみられた。臓器重量では、雌雄とも 90 ppm 以上の群で肝臓の実重量と体重比の高値がみられた。

腫瘍性病変として、雄に肝細胞腺腫、さらに肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝腫瘍の発生増加が認められた。雄に肝腫瘍の発生増加が認められた濃度は 450 ppm 群のみであった。また、肝腫瘍の前腫瘍性病変と考えられる好酸性小増殖巣の発生増加も雄の 450 ppm 群で認められた。雌では、肝腫瘍の前腫瘍性病変と考えられる明細胞性小増殖巣の発生増加が 450 ppm 群で認められたが、被験物質の暴露に関連した腫瘍性病変の発生増加は認められなかった。

以上のように、F344/DuCrlCrlj ラットを用いて、*N,N*-ジメチルアセトアミドの 2 年間（104 週間）にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、肝細胞腺腫、さらに肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝腫瘍の発生増加が認められ、雄ラットに対するがん原性を示す証拠であると考えられた。

雌では、腫瘍の発生増加は認められなかった。

N,N-ジメチルアセトアミドのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット　雄）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	18	90	450	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	皮膚	毛嚢上皮腫	1	1	3	0		
	皮下組織	線維腫	8	4	2 *	6		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	1	6	3	1		
	肝臓	肝細胞腺腫	1	1	1	9 **	↑↑	↑↑
	膵臓	島細胞腺腫	4	3	4	2		
	下垂体	腺腫	6	10	11	7		
	甲状腺	C-細胞腺腫	9	9	9	3		↓
	副腎	褐色細胞腫	2	1	1	5	↑	↑
	精巣	間細胞腫	39	45	41	40		
	包皮腺	腺腫	3	1	1	2		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	7	5	6	2		
	肝臓	肝細胞癌	0	0	0	4	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫 ／ 肝細胞癌	1	1	1	12 **	↑↑	↑↑

N,N-ジメチルアセトアミドのがん原性試験における主な腫瘍発生（ラット　雌）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	18	90	450	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	2	0	3	1		
	肝臓	肝細胞腺腫	2	0	2	0		
	下垂体	腺腫	14	8	15	17		
	甲状腺	C-細胞腺腫	8	7	5	5		
	副腎	皮質腺腫	3	0	0	0		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	7	9	4	5		
	乳腺	線維腺腫	3	9	3	6		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	4	8	8	2		
	肝臓	肝細胞癌	0	0	0	1		

*：p≦0.05 で有意　　**：p≦0.01 で有意　　(Fisher 検定)
↑：p≦0.05 で有意増加　　↑↑：p≦0.01 で有意増加　　(Peto, Cochran-Armitage 検定)
↓：p≦0.05 で有意減少　　↓↓：p≦0.01 で有意減少　　(Cochran-Armitage 検定)

Ⅰ　試験材料

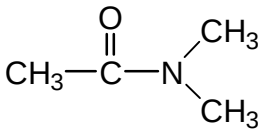
Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称：　*N,N*-ジメチルアセトアミド（*N,N*-Dimethylacetamide）
CAS No.：　127-19-5

Ⅰ－1－2　構造式及び分子量（文献 1）

構 造 式：



分 子 量：　87.12

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1）

性　　状：　無色の液体
比　　重：　0.94 (20℃)
融　　点：　-20℃
沸　　点：　166℃(760mmHg)
蒸 気 圧：　1.5 mmHg（20℃）
溶 解 性：　水に溶解
保 管 条 件：　室温で暗所に保管

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

ロット番号：　PEJ4938　（2010.01.28～2010.06.04）
　　CDE2493　（2010.06.07～2011.03.28）
　　STF2171　（2011.03.29～2011.12.26）
　　STF3169　（2011.12.27～2012.01.25）
製 造 元：　和光純薬工業(株)
規　　格：　和光特級
純　　度：　PEJ4938　100.0%　（和光純薬工業(株)検査成績データ）

CDE2493　99.9%　（和光純薬工業(株)検査成績データ）
STF2171　100.0%　（和光純薬工業(株)検査成績データ）
STF3169　99.9%　（和光純薬工業(株)検査成績データ）

Ⅰ－3　被験物質の特性

Ⅰ－3－1　同一性

被験物質の同一性は、ロットごとにマススペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）にて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（(株)島津製作所 FTIR-8200PC）にて測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 3）と同じ波数にピークが認められ、被験物質は *N,N*-ジメチルアセトアミドであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1- 1 に示した。

Ⅰ－3－2　安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（アジレントテクノロジーズ 5890A）を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、各ロットとも使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であったことを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1- 2 に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 220 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹（群構成時体重範囲、雄：115～135g、雌：92～106g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

Ⅱ　試験方法

Ⅱ－1　投与

Ⅱ－1－1　投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

Ⅱ－1－2　被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

Ⅱ－1－3　投与期間

投与期間は、1 日 6 時間、原則として 1 週 5 日の暴露で 104 週間とし、計 486 回の暴露を行った。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、18、90 及び 450 ppm（体積比 v/v）の 3 段階（公比 5）に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

Ⅱ－1－5　投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は、被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、がん原性試験による調査の基準（安衛法）（文献 4）及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 5）に従い、2 年間（104 週間）とした。

投与濃度は 13 週間試験（試験番号 0717）の結果（文献 6）をもとに決定した。13 週間試験は 0（対照群）、10、30、100、300、450 ppm（v/v）の濃度で行った。その結果、動物の死亡はみられなかったが、450 ppm 群で雌に体重増加の抑制（最終体重、対照群の 93%）がみられた。血液生化学的検査では総コレステロールとリン脂質の高値が雄の 10 ppm 以上の群と雌の 30 ppm 以上の群でみられ、また、肝臓の実重量と体重比の高値が雄の 30 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群でみられた。しかし、病理組織学的検査では、いずれの臓器にも被験物質の暴露の影響と考えられる変化は認められなかった。

本試験に使用する吸入試験システムで動物の飼育環境条件を満たしながら、*N,N*-ジメチルアセトアミドの濃度制御が可能な上限は 450 ppm である。450 ppm では、13 週間試験で雌雄とも肝臓重量の増加や雌の体重増加の抑制がみられたが、病理組織学的検査では変化が認められず、2 年間の投与でも動物の生存に影響を及ぼさない濃度と考えられた。従って、がん原性試験の最高濃度を 450 ppm とした。また、13 週間試験では、肝臓の実重量の高値が 30 ppm 群（雄）まで、総コレステロールとリン脂質の高値が 10 ppm 群（雄）までみられたが、これらの影響の中で肝臓の実重量の高値を明らかな毒性影響と考え、がん原性試験の最低濃度は 30 ppm 未満の濃度が望ましいと考えた。

以上のことから、がん原性試験の最高濃度は雌雄とも 450 ppm とし、以下、90 ppm、18 ppm（公比 5）と決定した。

Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）の発生容器内の *N,N*-ジメチルアセトアミドを循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。この被験物質の蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合しながら、循環式恒温槽で一定温度に冷却、再加温し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を各吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度はガスクロマトグラフで監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

Ⅱ－1－7　被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（(株)島津製作所 GC-14B）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分ごとに測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（（平均値－設定濃度）／設定濃度×100）が 0.2%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 3.0%以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

Ⅱ－2　動物管理

Ⅱ－2－1　各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対　照　群	50 匹（1001～1050）	50 匹（2001～2050）
18 ppm 群	50 匹（1101～1150）	50 匹（2101～2150）
90 ppm 群	50 匹（1201～1250）	50 匹（2201～2250）
450 ppm 群	50 匹（1301～1350）	50 匹（2301～2350）

Ⅱ－2－2　群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 7）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（501 室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

Ⅱ－2－3　飼育条件

（1）飼育環境

検疫期間中は検疫室（517・518 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（501 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を＜　＞内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温　　度　：　検疫室；23±2℃　＜517 室；22.7±0.0℃、518 室；22.7±0.1℃＞
　　吸入試験室；22±2℃　＜501 室；21.9±0.5℃＞
　　吸入チャンバー内；23±2℃

湿　　度　：　検疫室；55±15%　＜517 室；56±1%、518 室；52±0%＞
　　吸入チャンバー内；50±20%

明暗サイクル：　12 時間点灯(8:00～20:00)／12 時間消灯(20:00～8:00)

換気回数　：　検疫室；15～17 回／時
　　吸入試験室；7～9 回／時
　　吸入チャンバー内　；飼育中 12±1 回／時、暴露中 6±0.5 回／時

圧　　力　：　吸入チャンバー内　；0～－15×10Pa

ケージへの動物の収容方法　　：　検疫期間；群飼（5 匹）、馴化・投与期間；単飼
ケージの材質・形状・寸法等　：
検疫期間；ステンレス製群飼網ケージ（340(W)×294(D)×176(H) mm/5 匹）
馴化期間；ステンレス製 6 連網ケージ（125(W)×216(D)×176(H) mm/匹）
投与期間；ステンレス製 5 連網ケージ（150(W)×216(D)×176(H) mm/匹）

（2）飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株)（千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 固型飼料（30kGy-γ線照射滅菌飼料）を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

なお、試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物についてはオリエンタル酵母工業(株)から分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。また、飼料中の夾雑物は試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

（3）飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水（神奈川県秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

Ⅱ－3　観察・検査項目及び方法

Ⅱ－3－1　動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

Ⅱ－3－2　体重測定

体重測定は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

Ⅱ－3－3　摂餌量測定

摂餌量は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

Ⅱ－3－4　血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、白血球数、白血球分類

Ⅱ－3－5　血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示した。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、γ-GTP、CK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

Ⅱ－3－6　尿検査

投与 104 週の検査時まで生存した動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、シーメンスヘルスケア･ダイアグノスティクス社）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

Ⅱ－3－7　病理学的検査

（1）剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

（2）臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

（3）病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

なお、鼻腔については切歯の後端（レベル 1）、切歯乳頭（レベル 2）、第一臼歯の前端（レベル 3）の 3 ヶ所（文献 8）で切り出し（横断）、検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄（大腿骨）、リンパ節（腋窩、鼠径等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腟、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

Ⅱ－4　数値処理と統計方法

Ⅱ－4－1　数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第 3 位まで測定し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査は APPENDIX 3 に示した単位と桁数により表示した。

なお､各数値データの平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

Ⅱ－4－2　統計処理

各群の有効動物数は、供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数とした。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett 型の多重比較を行った。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1～4 に分け、χ^2 検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との χ^2 検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの総担腫瘍臓器数について、Peto 検定（文献 9）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また、Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法（コンテックス 3，4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0，1，2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法＋有病率法（コンテックス 0～4 の総計で検定）を行った。

各検定は 5%の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5%及び 1%の有意水準の表示を行った。

注：　Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖動物にみつかった腫瘍

1：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思うが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思うが、確かでない腫瘍

4：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－1　生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 及び FIGURE 2, 3 に示した。

－雄－

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：38 匹（76%）、18 ppm 群：41 匹（82%）、90 ppm 群：39 匹（78%）、450 ppm 群：40 匹（80%）であった。

－雌－

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：41 匹（82%）、18 ppm 群：39 匹（78%）、90 ppm 群：36 匹（72%）、450 ppm 群：45 匹（90%）であった。

Ⅲ－2　一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

－雄－

被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

－雌－

外部腫瘤の発生は、対照群の 2 匹に対し、投与群でやや多かった（18 ppm 群：8 匹、90 ppm 群：6 匹、450 ppm 群：8 匹）。

Ⅲ－3　体重

体重の推移を TABLE D 1～4 及び FIGURE 4, 5 に示した。

－雄－

投与期間を通じて 450 ppm 群で体重増加の抑制がみられた。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 18 ppm 群：100%、90 ppm 群：98%、450 ppm 群：84%であった。

－雌－

投与期間を通じて 450 ppm 群で体重増加の抑制がみられた。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 18 ppm 群：106%、90 ppm 群：105%、450 ppm 群：91%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 6, 7 に示した。

－雄－

450 ppm 群で投与期間を通じて摂餌量の減少傾向がみられた。

－雌－

450 ppm 群で投与開始直後から 7 週まで摂餌量の減少傾向がみられたが、それ以降は徐々に回復した。

Ⅲ－5　血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

－雄－

MCV と MCH の低値が 450 ppm 群でみられた。

なお、450 ppm 群でみられた MCV と MCH の低値は、450 ppm 群でみられた赤血球数の増加傾向（統計学的に有意ではなかった）によるものと考えられた。

－雌－

血小板数、網赤血球比と白血球数の高値が 450 ppm 群でみられた。また、MCH の低値が 90 ppm 以上の群でみられ、MCV、MCHC と白血球百分率で好酸球比の低値が 450 ppm 群でみられた。

なお、450 ppm 群でみられた MCV、MCH と MCHC の低値は、450 ppm 群でみられたヘモグロビン濃度の減少傾向（統計学的に有意ではなかった）と 90 ppm 以上の群でみられた赤血球数の増加傾向（統計学的に有意ではなかった）によるものと考えられた。また、450 ppm 群の網赤血球比と白血球数は統計学的に有意な高値を示したにもかかわらず、その値はそれぞれの対照群より低い値であった、この原因は対照群に著しく高い値を示した動物が存在したためであり、これらを除いた対照群の値と比較すると 450 ppm 群の網赤血球比と白血球数は高い値であった。

Ⅲ－6　血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

－雄－

総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、γ-GTP、尿素窒素、クレアチニンとカルシウムの高値が 90 ppm 以上の群、無機リンの高値が 450 ppm 群でみられた。また、総蛋白、アルブミン、A/G 比、ナトリウムとクロールの低値が 450 ppm 群でみられた。

なお、総ビリルビンの高値が 90 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではな

かった。
－雌－
トリグリセライドの高値が全投与群、総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質とγ-GTP の高値が 90 ppm 以上の群、カルシウムと無機リンの高値が 450 ppm 群でみられた。また、アルブミンと A/G 比の低値が 90 ppm 以上の群でみられた。

Ⅲ－7　尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。
－雄－
ケトン体陽性度の減少が 450 ppm 群でみられた。
－雌－
蛋白陽性度の増加が 450 ppm 群でみられた。

Ⅲ－8　病理学的検査

Ⅲ－8－1　剖検

剖検所見を TABLE I 1～6 に示した。
－雄－
肝臓の結節が 450 ppm 群の 8 匹に認められ、他の群（対照群 1 匹、18 ppm 群 0 匹、90 ppm 群 1 匹）に比較して多かった。また、腎臓の顆粒状変化が 90 ppm 群の 13 匹と 450 ppm 群の 22 匹に認められ、他の群（対照群 3 匹、18 ppm 群 0 匹）に比較して多かった。
－雌－
被験物質の影響と思われる所見の増加は認められなかった。

Ⅲ－8－2　臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を TABLE J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示した。
－雄－
肝臓の実重量と体重比の高値が 90 ppm 以上の群、腎臓、脾臓、脳の体重比の高値が 90 ppm 以上の群、心臓と肺の体重比の高値が 450 ppm 群にみられた。また、副腎と心臓の実重量の低値が 450 ppm 群にみられた。
－雌－
肝臓の実重量と体重比の高値が 90 ppm 以上の群、肺、腎臓、脾臓、脳の体重比の高値が 450 ppm 群にみられた。また、副腎の実重量と体重比の低値、心臓の実重量の低値が 450

ppm 群に認められた。

なお、副腎の体重比の低値が 18 ppm 群にみられたが、この変化は 18 ppm 群の搬出時体重の高値によるものと考えた。また、450 ppm 群の副腎の実重量と体重比、18 ppm の体重比の値は統計学的に有意な低値を示したにもかかわらず、その値はそれぞれの対照群より高い値であった。この原因は 18 ppm 群と 450 ppm 群に著しく高い値を示した動物が存在したためであり、これらを除いた 450 ppm 群の副腎の実重量と体重比、18 ppm の体重比の値は、対照群の値と比較して低い値であった。

Ⅲ－8－3　病理組織学的検査

検査結果のうち非腫瘍性病変を TABLE L 1～6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数を TABLE M 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を TABLE N 1, 2 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を TABLE O 1, 2 に、転移性病変を TABLE P 1, 2 に示した。また、腫瘍のうち統計学的に有意差が認められた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ（検査総匹数と腫瘍発生匹数、試験ごとの平均発生率(%)と発生率（最小%～最大%））を TABLE Q に示し、病理組織所見の代表例を写真 1～6 に示した。

－雄－

1） 腫瘍性病変

＜肝臓＞

肝細胞腺腫の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 450 ppm 群に増加が認められた。450 ppm 群における肝細胞腺腫の発生は 9 匹（18%）であり、この群の発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 12%、平均発生率 2.1%）を超えた。また、肝細胞癌の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。450 ppm 群における肝細胞癌の発生は 4 匹（8%）であり、この群の発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 4%、平均発生率 0.5%）を超えた。従って、450 ppm 群における肝細胞腺腫と肝細胞癌のそれぞれの発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。さらに、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝腫瘍の発生も Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。450 ppm 群における肝腫瘍の発生は 12 匹（16%）であり、この群の発生率は Fisher 検定で増加を示し、かつヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 12%、平均発生率 2.1%）を超えた。

肝細胞腺腫と肝細胞癌の診断は Pathology of the Fischer Rat（文献 10）及び Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Hepatobiliary System（文献 11）を参考にした。肝細胞癌と肝細胞腺腫との鑑別では、構造異型が明瞭なものを肝細胞癌と診断した。また、投与群で発生した肝細胞腺腫と肝細胞癌の腫瘍細胞には非腫瘍性病変に認めら

れた巣状脂肪変性と同様の小型の脂肪滴がしばしば認められた。

＜副腎＞

褐色細胞腫の発生が対照群の 2 匹、18 ppm 群と 90 ppm 群の各 1 匹、450 ppm 群の 5 匹にみられ、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。しかしながら、450 ppm 群における褐色細胞腫の発生率 10%は、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 40%、平均発生率 11.5%）内であった。従って、副腎の褐色細胞腫の発生の増加は、被験物質の投与による影響ではないと判断した。

甲状腺の C－細胞腺腫の発生は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。また、皮下組織の線維腫の発生は、90 ppm 群で統計学的に有意な減少を示した。その他の臓器では投与群と対照群の間に腫瘍発生の差はみられなかった。

2）非腫瘍性病変

＜肝臓＞

好酸性小増殖巣の発生匹数の増加が 450 ppm 群で認められ、この病変の程度は中等度から軽度であった。好酸性小増殖巣は Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Hepatobiliary System（文献 11）を参考に診断した。特に、投与群でみられた好酸性小増殖巣は周囲の正常な肝細胞よりやや大型の細胞からなる増殖巣であり、一部に小型の脂肪滴を持つ細胞がしばしば認められた。巣状脂肪変性の発生匹数の増加が 90 ppm 以上の群で認められたが、この病変の程度はいずれの動物も軽度であった。巣状脂肪変性は脂肪化の目立つ肝細胞が巣状に出現する変化で、病巣内の肝細胞は細胞質内に比較的小型の脂肪滴を多数含み、脂肪滴による核の偏在は認められなかった。褐色色素沈着の発生増加が 450 ppm 群で認められたが、この病変の程度はいずれの動物も軽度であった。褐色色素沈着は肝臓のクッパー細胞内に認められた。

＜腎臓＞

近位尿細管の褐色色素沈着、嚢胞、腎盂の尿路上皮過形成が 450 ppm 群で増加した。また、慢性腎症が 90 ppm 以上の群で程度の増強を示した。

その他、鼻腔では嗅上皮のエオジン好性変化の発生が 450 ppm 群で減少、肝臓では胆管過形成の発生が 450 ppm 群で程度の減弱を示した。

－雌－

1）腫瘍性病変

被験物質の暴露による腫瘍の発生増加はみられなかった。

なお、乳腺では線維腺腫と腺癌を合わせた発生、及び線維腺腫、腺癌と腺扁平上皮癌を合わせた発生の増加は、18 ppm 群で統計学的に有意な増加を示したが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

2）非腫瘍性病変

＜肝臓＞

明細胞性小増殖巣の発生匹数の増加が 450 ppm 群で認められ、この病変の程度はいずれの動物も軽度であった。明細胞性小増殖巣は Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Hepatobiliary System（文献 11）を参考に診断した。褐色色素沈着の発生増加が 90 ppm 以上の群、程度の増強が 450 ppm 群で認められ、この病変は雄と同様にクッパー細胞内に褐色色素が認められたもので、病変の程度は中等度から軽度であった。また、肉芽形成の発生増加と程度の増強が 450 ppm 群で認められた。すなわち、中等度から重度の肉芽形成を示した動物の発生数が対照群の 4 匹に対し、450 ppm 群は 16 匹に増加した。なお、投与群の肉芽組織内には褐色色素が顕著に認められた。さらに、統計学的には有意差を示さなかったが、巣状脂肪変性の発生は 450 ppm 群でやや多くみられた。

＜腎臓＞

近位尿細管の褐色色素沈着が 90 ppm 以上の群で増加した。

その他、鼻腔では呼吸上皮のエオジン好性変化の発生が 90 ppm 以上の群で減少、嗅上皮のエオジン好性変化の発生が 450 ppm 群で程度の減弱、肝臓では好塩基性小増殖巣の発生が 90 ppm 以上の群で減少を示した。

Ⅲ－8－4　死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE R 1, 2 に示した。

－雄－

慢性腎症による死亡は、対照群の 1 匹に対し、450 ppm 群では 4 匹であった。その他、投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

－雌－

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

Ⅳ　考察及びまとめ

N,N-ジメチルアセトアミドのラットを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：0（対照群）、18、90 及び 450 ppm）によって、腫瘍性病変、腫瘍関連病変と非腫瘍性病変及びこれらの病変を反映する諸々の指標の変化が認められた。

Ⅳ－1　生存率、一般状態、体重、摂餌量

生存率に被験物質の暴露による影響はみられなかった。一般状態は、雌の投与群で外部腫瘤の発生が対照群の 2 匹に対し、投与群でやや多かった（18 ppm 群：8 匹、90 ppm 群：6 匹、450 ppm 群：8 匹）。これらは乳腺、陰核腺、皮膚、皮下組織の腫瘍の発生に対応したものであったが、投与群に各腫瘍の発生増加は認められなかった。体重は、雌雄とも 450 ppm 群で投与期間を通じて増加抑制がみられた。雄の投与群の最終体重は、対照群に対して 18 ppm 群：100%、90 ppm 群：98%、450 ppm 群：84%であった。雌の投与群の最終体重は、対照群に対して 18 ppm 群：106%、90 ppm 群：105%、450 ppm 群：91%であった。摂餌量は、雄の 450 ppm 群で投与期間を通じて減少傾向がみられ、雌の 450 ppm 群で投与開始直後から 7 週まで減少傾向がみられたが、それ以降は徐々に回復した。

Ⅳ－2　腫瘍性病変及び腫瘍関連病変

雄の肝臓に肝細胞腺腫と肝細胞癌のそれぞれの発生増加が認められた。

肝細胞腺腫は肝細胞由来の良性腫瘍であり、その発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向、Fisher 検定で 450 ppm 群に増加を示し、その発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。また、肝細胞癌の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、450 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。加えて、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝腫瘍の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向、Fisher 検定で 450 ppm 群に増加を示し、その発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。さらに、肝腫瘍の前腫瘍性病変と考えられる好酸性小増殖巣（文献 10）の発生増加も 450 ppm 群で認められた。従って、肝細胞腺腫、さらに肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝腫瘍の発生増加は雄のラットに対するがん原性を示す証拠と考えた。

雌では肝腫瘍の前腫瘍性病変と考えられる明細胞性小増殖巣（文献 10）の発生増加が 450 ppm 群で認められたが、腫瘍性病変の発生増加は認められなかった。

Ⅳ－3　その他の影響

血液学的検査では、雌雄で MCV と MCH の低値、雌のみで血小板数、網赤血球比と白血球数の高値、MCHC と白血球百分率で好酸球比の低値がみられた。血液生化学的検査では、雌雄で総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、γ-GTP、カルシウムと無機リンの高値、アルブミンと A/G 比の低値、雄のみで尿素窒素とクレアチニンの高値、総蛋白、ナトリウムとクロールの低値、雌のみで総ビリルビンの高値がみられた。尿検査では、雄でケトン体陽性度の減少、雌で蛋白陽性度の増加がみられた。これら血液と尿の検査の中で、総コレステロール、トリグリセライドとリン脂質の増加については、肝臓の巣状脂肪変性との関連性を後述した。また、総ビリルビンとγ-GTP の高値、総蛋白、アルブミンと A/G 比の低値は後述した肝臓病変に関連する肝機能の低下、尿素窒素、クレアチニンと無機リンの高値、ナトリウムとクロールの低値と蛋白陽性度の増加は後述した腎臓病変に関連する腎機能の低下が影響したと考えられた。しかし、その他の血液や尿の変化では、関連する病理組織学的変化が認められなかった。

剖検では、雄の 450 ppm 群で肝臓の結節が多くみられ、この変化は雄の 450 ppm 群でみられた肝腫瘍の発生増加による変化と考えられた。また、雄の 90 ppm 以上の群で腎臓の顆粒状変化が多くみられ、この変化は雄の 90 ppm 以上の群でみられた慢性腎症の程度の増強に起因すると考えられた。

臓器重量では、肝臓の実重量と体重比の高値が雌雄とも 90 ppm 以上の群に認められ、腎臓の体重比の高値が雄の 90 ppm 以上の群でみられた。この肝重量の増加は、雄にみられた肝腫瘍、雌雄にみられた前腫瘍性病変（明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣）やその他の非腫瘍性病変（巣状脂肪変性、褐色色素沈着、肉芽形成）によるものと考えられた。また、雄の腎臓の体重比の高値は慢性腎症の程度の増強、近位尿細管の褐色色素沈着の発生増加、雌の腎臓の体重比の高値は近位尿細管の褐色色素沈着の発生増加に起因すると考えられた。一方、雄で脾臓と脳の体重比の高値が 90 ppm 以上の群、心臓、肺の体重比の高値と副腎、心臓の体重比の低値が 450 ppm 群、雌で肺、脾臓、脳の体重比の高値、副腎の実重量と体重比の低値と心臓の実重量の低値が 450 ppm 群でみられたが、これらに関連する病理組織学的変化は認められなかった。

病理組織学的検査では雌雄の肝臓と腎臓に被験物質の暴露の影響がみられた。肝臓への影響として、雄の 90 ppm 以上の群に巣状脂肪変性の発生匹数の増加が認められ、雌でも 450 ppm 群で増加傾向が認められた。脂肪変性は肝細胞内の脂質の蓄積であり、その発生機序は脂質代謝系のアンバランスの他、膜の脂質過酸化、ATP 合成阻害、ミトコンドリアによる脂肪酸のβ酸化障害によることが知られている（文献 12）。また、血液生化学的検査でも雌雄に総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質の増加もみられた。従って、被験物質の暴露が脂質代謝系に対して影響を与えたと推察された。また、クッパー細胞内の褐色色素沈着は雄の 450 ppm 群と雌の 90 ppm 以上の群で増加し、雌の 450 ppm 群では程度の増強もみられた。なお、沈着した色素を特定するために、一部の動物の肝臓を特殊染色した結果、シュモール反応陰性、

ベルリンブルー染色で陽性であったことから、この褐色色素はヘモジデリンである可能性が強いと判断した。さらに、雌の 450 ppm では肝臓に肉芽形成の発生増加と程度の増強がみられた。肉芽を形成する細胞内にも褐色色素がみられたことから、肉芽形成の発生増加は褐色色素沈着の発生増加に関連した変化であると考えられた。

腎臓への影響として、雄では 450 ppm 群で近位尿細管の褐色色素沈着、嚢胞、腎盂の尿路上皮過形成が増加し、90 ppm 以上の群で慢性腎症の程度が増強した。雌では 90 ppm 以上の群で近位尿細管の褐色色素沈着が増加した。慢性腎症の発生は F344 ラットに通常加齢性病変として認められる変化であるため（文献 13)、雌雄の対照群にも多くみられたが、雄の 90 ppm 以上の群では慢性腎症の程度の増強がみられた。腎盂尿路上皮の過形成と嚢胞の発生増加は慢性腎症の程度の強い動物にみられる変化であり（文献 13)、雄では腎盂尿路上皮の過形成と嚢胞の発生増加も慢性腎症の程度の増強とともにみられ、さらに、雄の血液生化学的検査でも尿素窒素とクレアチニンの増加がみられた。従って、被験物質の暴露が雄の慢性腎症の程度を増強したと推察された。なお、腎臓の近位尿細管上皮にみられた褐色色素沈着は、肝臓の褐色色素沈着とは異なり、大小の球状を呈した。さらに、沈着色素を特定するために、一部の動物の腎臓を特殊染色した結果でも、シュモール反応陽性、ベルリンブルー染色で陰性、PAS 反応陽性であり、ヘモジデリンとは異なる物質であることがわかった。しかし、沈着色素を特定するには至らなかった。

Ⅳ－4　他文献との比較等

① がん原性：*N,N*-ジメチルアセトアミドのラットを用いたがん原性試験は Malley ら（文献 14）によって報告されている。Malley らは、Crl:CD BR ラット（雌雄とも、各群 87 匹）に *N,N*-ジメチルアセトアミドを 0、25、100、350 ppm の濃度で 1 日 6 時間、週 5 日間、2 年間の吸入暴露を行った。肝細胞の細胞増殖を 2 週、3 ヶ月と 12 ヶ月に調べ、病理組織学的検査を 3、6、12、18 と 24 ヶ月(雌のみ最終解剖は 23.5 ヶ月)に実施し、中間での解剖を 12 ヶ月で実施した。体重と体重増加は雌雄とも 350 ppm 群で有意に低く、投与群の体重と体重増加は投与濃度に対応して低下した。生存率では、被験物質に関連した影響はなかったが、試験途中で雌の対照群の生存率が極めて低くなり、生存数が 11 匹となった時点（23.5 ヶ月）で雌のみ最終解剖を実施した。血液学的変化はなかったが、血液生化学的にはソルビトール・デヒドロゲナーゼ活性が雌雄とも 350 ppm 群で増加し、コレステロールとグルコースの濃度が雌の 100 ppm 以上の群で有意に高かった。肝臓に被験物質に関連した肉眼的な形態変化は無かった。雌雄とも 100 ppm 以上の群で肝臓の実重量と体重比の増加、顕微鏡下で肝細胞の巣状の嚢胞様変性、肝細胞の紫斑（雄のみ)、胆管の過形成(350 ppm のみ)、クッパー細胞へのリポフスチン／ヘモジデリン蓄積(雌は 350 ppm のみ）を生じた。腎臓に進行性の慢性腎症を示す肉眼的変化がみられ、雄の 350 ppm 群の腎臓の実重量と体重比が有意に高値であり、病理組織学的検査で慢性腎症の重症度が被

験物質の投与濃度に対応して増加した。いずれの投与濃度でも、肝細胞の細胞増殖、腫瘍の発生増加に被験物質の影響はみられなかった。以上、Malley らの試験条件下では、被験物質の投与による腫瘍の発生増加はなかったと報告されている。

② 変異原性：*N,N*-ジメチルアセトアミドの変異原性については、微生物変異原性試験での陰性の報告がある。Zeiger E ら(文献 15)は、*N,N*-ジメチルアセトアミド 100～10000 μg/plate の用量（溶媒：水）で、ネズミチフス菌 TA98、TA97、TA100、TA1535 を使用して、ラット及びハムスターS9 を用いた代謝活性化による場合とよらない場合の両方で微生物変異原性試験を実施したが、試験結果は、いずれの菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった。

V　結論

F344/DuCrlCrlj ラットを用いて、*N,N*-ジメチルアセトアミドの 2 年間（104 週間）にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、肝細胞腺腫、さらに肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた肝腫瘍の発生増加が認められ、雄ラットに対するがん原性を示す証拠であると考えられた。

雌では、腫瘍の発生増加は認められなかった。

Ⅵ 文献

1. ACGIH. 2001. N,N-Dimethyl Acetamide. Documentation of the Threshold LimitValues and Biological Exposure Indices. Cincinnati: American Conference of Governmental Industrial Hygienists. [CD-ROM 2007].

2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY : John Wiley and Sons.

3. 和光純薬工業(株). 2003. N,N -ジメチルアセトアミド, 赤外吸収スペクトル.

4. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発 第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日.

5. OECD. 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: ” Carcinogenicity Studies” . Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.

6. 日本バイオアッセイ研究センター. 2010. *N,N*-ジメチルアセトアミドのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書. 神奈川: 中央労働災害防止協会, 日本バイオアッセイ研究センター.

7. 阿部正信. 1986. 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.

8. Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. Exp Toxicol Pathol, 49: 97-104.

9. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Monographs Suppl 2: 311-426.

10. Eustis SL, Boorman GA, Harada T, Popp JA. 1990. 7. Liver. In: Pathology of the Fischer Rat (Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, Montgomery CA, MacKenzie WF, eds). San Diego, CA: Academic Press, 71-108.

11. Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, Nyska A, Rousseaux C, Nolte T, et al. 2010. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. Toxicol Pathol, 38: 5S–81S.

12. 原田孝則、真板敬三. 2000. 各論 5 章, 肝／胆嚢（日本毒性病理学会編）. 名古屋:日本毒性病理学会 211-213.

13. Short BG, Goldstein RS. 1992. Nonneoplastic lesions in the kidney. In: Pathology of the aging rat, Vol 1 (Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, eds). Washington, DC: ILSI press, 211-225.

14. Malley LA, Slone TW Jr, Makovec GT, Elliott GS, Kennedy GL Jr. 1995. Chronic toxicity/oncogenicity of dimethylacetamide in rats and mice following inhalation exposure. Fundam Appl Toxicol, 28: 80-93.

15. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. 1988. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. Environ Mol Mutagen, 11 Suppl 12: 1-157.

Ⅶ　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったことはなかった。

なお、試験計画書と異なった部分及び追加検討した内容については、以下に記載した。

① 病理組織学的検査の診断確定のため、一部の動物の肝臓または腎臓の病理組織標本について特殊染色（ベルリンブルー染色、シュモール染色、PAS 染色）を施し、追加検討した。

② 血液生化学的検査の AST、ALT、LDH、ALP、γ-GTP、CK については、測定単位が IU/L から U/L に変更されたため、本報告書はそれぞれ、新単位を記載した。