N,N-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた
吸 入 に よ る 2 週 間 毒 性 試 験 報 告 書

試験番号：0707

CAS No. 127-19-5

2008年12月26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

試験委託者 ･････････････････ i

試験施設及び運営管理者 ･････････････････ i

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

本文 ･････････････････ v

TABLES A～K2

FIGURES 1～3

APPENDICES 1-1～3

標題

N,N-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた吸入による 2 週間毒性試験

試験目的

N,N-ジメチルアセトアミドの吸入によるがん原性試験の投与濃度を決定する 13 週間試験の予備試験として、*N,N*-ジメチルアセトアミドをマウスに 2 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

試験法

本試験は OECD 化学品テストガイドライン 412（反復投与吸入毒性 : 28 日又は 14 日試験 1981 年 5 月 12 日採択）を参考にして実施した。

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
東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

試験施設及び運営管理者

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
副所長　長野　嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

N,N-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた
吸 入 に よ る 2 週 間 毒 性 試 験 報 告 書

試験番号：0707

本文

本文目次

頁

要約 ・・・

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

Ⅲ　試験成績 ･･ 11

Ⅲ－1　生死状況 ･･ 11
Ⅲ－2　一般状態 ･･ 11
Ⅲ－3　体重 ･･ 11
Ⅲ－4　摂餌量 ･･ 11
Ⅲ－5　血液学的検査 ･･ 12
Ⅲ－6　血液生化学的検査 ･･ 12
Ⅲ－7　病理学的検査 ･･ 12
Ⅲ－7－1　剖検 ･･･ 12
Ⅲ－7－2　臓器重量 ･･･ 13
Ⅲ－7－3　病理組織学的検査 ･･･ 13

Ⅳ　考察及びまとめ ･･･ 14

Ⅳ－1　用量－反応関係 ･･ 14
Ⅳ－2　無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL） ･･････････････････････ 15
Ⅳ－3　他の文献との比較 ･･ 15
Ⅳ－4　13 週間試験の濃度決定 ･･･････････････････････････････････････ 16

Ⅴ　文献 ･･ 18

Ⅵ　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・・・

要約

N,N-ジメチルアセトアミドのがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）の予備試験として、その生体影響を検索する目的で B6D2F1/Crlj マウスを用いた吸入による 2 週間の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、各群雌雄とも 5 匹とし、合計 60 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、2 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）、30、100、300、450 及び 600 ppm（体積比 v/v）とした。観察、検査として、生死確認、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、剖検観察、臓器重量の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、雌雄とも動物の死亡はなく、一般状態、体重及び摂餌量に、暴露による影響を認めなかった。

血液学的検査では、血小板数の高値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群、ヘモグロビン濃度の低値と MCV の高値が雄の 600 ppm 群でみられた。その他、網赤血球比の高値が雌の 300 ppm 群と 450 ppm 群でみられた。

血液生化学的検査では、総コレステロールの高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群で、ALT の高値が雄の 600 ppm 群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。その他、リン脂質の高値が雄の 300 ppm 群と雌の 100 ppm 以上の群でみられた。

臓器重量では肝臓に変化が示され、実重量の高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群、体重比の高値が雌雄とも 100 ppm 以上の群でみられた。その他、600 ppm 群で、雄は精巣に体重比の低値、雌は腎臓に体重比の高値、胸腺に実重量と体重比の低値がみられた。

病理組織学的検査では雌雄とも肝臓に変化がみられた。小葉中心性の肝細胞肥大が雌雄とも 100 ppm 以上の群でみられ、さらに、雌では肝細胞の巣状壊死も 100 ppm 以上の群でみられた。

以上の結果より、*N,N*-ジメチルアセトアミドのマウスに対する無毒性量（NOAEL）は肝臓への影響を指標として 30 ppm と判断した。また、BMDL 10 は、雄では 10.9 ppm、雌では 19.9 ppm となった。

13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 600 ppm を最高濃度とし、以下 450、300、100 及び 30 ppm（v/v）と決定した。

Ⅰ　試験材料

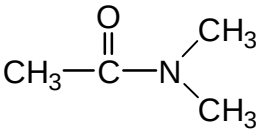
Ⅰ－1　被験物質の性状等

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℃）
沸　　点：　－20℃
融　　点：　166℃（760mmHg）
蒸 気 圧：　1.5mmHg（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

製　造　元：　和光純薬工業(株)
規　　格：　和光特級
純　　度：　100.0%(和光純薬工業(株)検査成績データ)
使用ロット番号：　WKE2611

Ⅰ－3　被験物質の特性・同一性、安定性

Ⅰ－3－1　特性・同一性

被験物質の同一性は、そのマススペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）を用いて測定し、さらに被験物質の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）にて測定した。これらの数値を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、被験物質の赤外吸収スペクトルは文献値（文献 3）と同じスペクトルを示し、被験物質が *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、投与開始前及び投与終了後にその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、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ることを確認した。

それらの結果は、APPENDIX 1-2 に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、*N,N*-ジメチルアセトアミドのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、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 B6D2F1/Crlj マウス（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 37 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 30 匹（群構成時体重範囲、雄：22.3～24.9g、雌：19.3～21.4g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に B6D2F1/Crlj マウス（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、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、1 週 5 日の暴露で 2 週間とした。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、30、100、300、450 及び 600 ppm（体積比 v/v）の 5 段階に設定した。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、がん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）に使用する投与濃度を決定するため 2 週間とした。

投与濃度は以下のように決定した。Valentine ら（文献 4）は、35 日齢の雄の Crl:CD-1 マウスに *N,N*-ジメチルアセトアミドを 0、30、100、310、490 及び 700 ppm の濃度で 1 日 6 時間、週 5 日間で 2 週間（投与期間 10 日間）、吸入暴露を実施した。その結果、490 ppm 群では 10 匹中 2 匹が暴露開始から 6 日以内に瀕死状態になり、700 ppm 群では暴露終了時までに 10 匹中 8 匹が瀕死状態になるか、死亡したと報告している。

この結果を参考に、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である 600 ppm が、最高濃度として適切であると判断した。また、それ以下の濃度は、450、300、100 及び 30 ppm（v/v）と決定した。

Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法は FIGURE 1 に示した。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。なお、最高暴露濃度の 600 ppm を確保するために暴露中の換気回数をガイドラインでの推奨換気回数（1 時間 12 回以上）より減らすこととした。その際、吸入チャンバー中のアンモニア及び CO_2 濃度を考慮した上で（文献 5)、1 時間 6 回の換気回数に設定した。

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 3.3 %以内、変動係数（標準偏差／平均値×100)が 1.6 %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 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 5 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対　照　群	5 匹　(1001～1005)	5 匹　(2001～2005)
30 ppm 群	5 匹　(1101～1105)	5 匹　(2101～2105)
100 ppm 群	5 匹　(1201～1205)	5 匹　(2201～2205)
300 ppm 群	5 匹　(1301～1305)	5 匹　(2301～2305)
450 ppm 群	5 匹　(1401～1405)	5 匹　(2401～2405)
600 ppm 群	5 匹　(1501～1505)	5 匹　(2501～2505)

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 6)。

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（601 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（605 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（601 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℃　＜605 室；23.2±0.1℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜601 室；20.8±0.6℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃

湿　　度　　：　検疫室；55±15%　＜605 室；51±1%＞
　　吸入試験室；55±15%　＜601 室；57±3%＞
　　吸入チャンバー内；30～70%

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･吸入試験室；15～17 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　　：　単飼

ケージの材質・形状・寸法等　：

検疫期間；ステンレス製2連網ケージ（112(W)×212(D)×120(H) mm/匹）

馴化期間；ステンレス製6連網ケージ（95(W)×116(D)×120(H) mm/匹）

投与期間；ステンレス製5連網ケージ（100(W)×116(D)×120(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、被験物質暴露中及び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の栄養成分については、オリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター（東京都渋谷区元代々木町 52-1）の分析データを使用ロットごとに入手し、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。ただし、被験物質暴露中は給水しなかった。

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

動物の生死の確認は、検疫、馴化期間中及び投与期間中は毎日 1 回行った。

一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。

Ⅱ－3－2　体重測定

体重測定は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。また、動物の死亡発見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、週１回、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

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、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　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：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

（3）臓器の採取保存

全動物について、下記の器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

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、腹壁等）、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、胆嚢、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

（4）病理標本の作製及び病理組織学的検査

全動物について、肝臓と腎臓をパラフィン包埋し、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。

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、小数点以下第 1 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。

血液学的検査及び血液生化学的検査は APPENDIX 3 に示した単位と精度により表示した。

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。

各検定は 5%の有意水準で両側検定を行い、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。

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－1　生死状況

生死状況を TABLE B1, B2 に示した。

－雌雄－

動物の死亡はみられなかった。

Ⅲ－2　一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C1, C2 に示した。

－雌雄－

一般状態の変化はみられなかった。

Ⅲ－3　体重

体重の推移を TABLE D1～D4 及び FIGURE 2, 3 に示した。

－雄－

投与濃度に対応した体重の減少または増加抑制はみられなかった。逆に、投与群の最終体重は対照群を上回っていた。

投与群の最終体重は対照群に対し、30 ppm 群：102%、100 ppm 群：101%、300 ppm 群：107%、450 ppm 群：104%、600 ppm 群：104%であった。

－雌－

投与濃度に対応した体重の減少または増加抑制はみられなかった。なお、450 ppm 群の最終体重は対照群に対して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。

投与群の最終体重は対照群に対し、30 ppm 群：100%、100 ppm 群：104%、300 ppm 群：104%、450 ppm 群：108%、600 ppm 群：98%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E1～E4 に示した。

－雌雄－

投与濃度に対応した摂餌量の変化はみられなかった。

Ⅲ－5　血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F1, F2 に示した。雌の 600 ppm 群で 5 匹中 1 匹の血液が凝固したことにより、検査できなかった。そのため、雌の 600 ppm 群のみ検査動物数は 4 匹となった。

－雄－

血小板数の高値が 450 ppm 以上の群、ヘモグロビン濃度の低値と MCV の高値が 600 ppm 群でみられた。

－雌－

血小板数の高値が 300 ppm 以上の群でみられた。また、網赤血球比の高値が 300 ppm 群と 450 ppm 群でみられた。

Ⅲ－6　血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G1, G2 に示した

－雄－

総コレステロールの高値が 300 ppm 以上の群、総蛋白の低値、カルシウムの低値及び ALT の高値が 600 ppm 群でみられた。また、トリグリセライドとリン脂質の高値が 300 ppm 群でみられ、統計学的には有意でなかったが、450 ppm 群と 600 ppm 群の値も対照群より高かった。

－雌－

総コレステロールとリン脂質の高値が 100 ppm 以上の群、ALT の高値が 300 ppm 以上の群でみられた。また、トリグリセライドの高値と ALP の低値が 300 ppm 群と 450 ppm 群でみられた。

Ⅲ－7　病理学的検査

Ⅲ－7－1　剖検

剖検所見を TABLE H1, H2 に示した。

－雄－

被験物質の影響と考えられる所見はみられなかった。

－雌－

胸腺と脾臓の萎縮が 600 ppm 群の 2 匹にみられた。

Ⅲ－7－2　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 I1, I2 と J1, J2 に示した。

－雄－

肝臓の実重量の高値が 300 ppm 以上、体重比の高値が 100 ppm 以上の群でみられた。また、精巣の体重比の低値が 600 ppm 群でみられた。

－雌－

肝臓の実重量と体重比の高値が 100 ppm 以上の群、胸腺の実重量と体重比の低値が 600 ppm 群、腎臓の体重比の高値が 600 ppm 群でみられた。

その他、脾臓の実重量の高値が 100 ppm 群、300 ppm 群及び 450 ppm 群、体重比の高値が 100 ppm 群と 300 ppm 群、腎臓の実重量の高値が 300 ppm 群と 450 ppm 群、心臓の実重量の高値が 100 ppm 群と 450 ppm 群でみられが、これらは投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ－7－3　病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE K1, K2 に示した。

－雄－

肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が 100 ppm 以上の群にみられた。その発生匹数と程度は、100 ppm 群で 3 匹（軽度）、300 ppm 群で全動物（軽度：1 匹、中等度：4 匹）、450 ppm 群で全動物（軽度：2 匹、中等度：3 匹）、600 ppm 群で全動物（軽度：1 匹、中等度：4 匹）であった。

－雌－

肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大と肝細胞の巣状壊死が 100 ppm 以上の群にみられた。小葉中心性の肝細胞肥大の発生匹数と程度は、100 ppm 群で 2 匹（軽度）、300 ppm 群で全動物（軽度）、450 ppm 群で全動物（軽度：2 匹、中等度：3 匹）、600 ppm 群で全動物（軽度：3 匹、中等度：2 匹）であった。肝細胞の巣状壊死の発生匹数と程度は、100 ppm 群で 4 匹（軽度：4 匹）、300 ppm 群で全動物（軽度：2 匹、中等度：3 匹）、450 ppm 群で全動物（軽度：3 匹、中等度：2 匹）、600 ppm 群で 3 匹（軽度：2 匹、中等度：1 匹）であった。

Ⅳ　考察及びまとめ

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、B6D2F1/Crlj マウスを用いた吸入による 2 年間（104 週間）の試験を実施するに当たり、その予備試験である 13 週間試験の投与濃度を決定するための予備試験として本試験（2 週間試験）を実施した。

本試験では、投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群（各群雌雄各 5 匹）を設け、*N,N*-ジメチルアセトアミドの投与濃度は、0（対照群）、30、100、300、450 及び 600 ppm（v/v）とした。投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の投与（全身暴露による経気道投与）で 2 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

Ⅳ－1　用量－反応関係

N,N-ジメチルアセトアミドの暴露の結果、雌雄とも動物の死亡はなく、一般状態、体重及び摂餌量には、暴露の影響は認められなかった。

血液学的検査では、血小板数の高値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群、ヘモグロビン濃度の低値と MCV の高値が雄の 600 ppm 群でみられた。その他、網赤血球比の高値が雌の 300 ppm 群と 450 ppm 群でみられた。赤血球数、ヘマトクリット値には変化がみられなかった。血小板数の高値は雌雄の暴露群に共通してみられた変化であり、暴露による影響である可能性があるが、ヘモグロビン濃度と MCV 及び網赤血球比の変化とともに、それらの意義は本試験結果からは不明であった。

血液生化学的検査で、総コレステロールの高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群、リン脂質の高値が雄の 300 ppm 群と雌の 100 ppm 以上の群、ALT の高値が雄の 600 ppm 群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。また、蛋白質とカルシウムの低値が雄の 600 ppm 群でみられた。総コレステロール、リン脂質及び ALT の変化は、後述するように *N,N*-ジメチルアセトアミドの肝臓への影響を反映したものと思われる。また、血漿中のカルシウム量はカルシウムイオンと蛋白質に結合したカルシウムの総量として測定されることから（文献 7）、カルシウムの低値は総蛋白の低値に関連した変化と考えられた。

剖検では胸腺と脾臓の萎縮が雌の 600 ppm 群で 2 匹にみられた。

臓器重量では、肝臓の実重量の高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群、体重比の高値が雌雄とも 100 ppm 以上の群でみられた。その他、600 ppm 群で、雄は精巣に体重比の低値、雌は腎臓に体重比の高値、胸腺に実重量と体重比の低値がみられた。

病理組織学的検査では雌雄とも肝臓の変化、すなわち、小葉中心性の肝細胞肥大が雌雄とも 100 ppm 以上の群、さらに、雌では肝細胞の巣状壊死が 100 ppm 以上の群でみられた。

以上のように、*N,N*-ジメチルアセトアミドの暴露は、小葉中心性の肝細胞肥大と肝臓重量

の増加を引き起こし、肝臓への影響に伴って血中の総コレステロール、リン脂質が増加したと推測された（文献 8）。さらに、肝臓に対する傷害性の影響として、肝細胞の巣状壊死が雌のみであるが 100 ppm 以上の群でみられた。また、肝細胞の傷害時に肝臓から血漿中に逸脱する ALT の高値が雌の 300 ppm 以上の群と雄の 600 ppm 群でみられ、雄の 600 ppm 群の動物も肝細胞に傷害を受けていると考えられた。このように *N,N*-ジメチルアセトアミドの暴露による肝臓への傷害性の影響は雄よりも雌に強く現れ、肝臓の実重量の変化と総コレステロール、リン脂質の増加についても雌に低濃度から影響が現れた。

また、雌の 600 ppm 群では胸腺の重量低下、胸腺と脾臓の萎縮がみられた。化学物質の暴露によるストレスによって、胸腺と脾臓の萎縮や重量低下が起きることが知られており（文献 9、10）、本試験でみられた胸腺の重量低下、胸腺と脾臓の萎縮は動物がストレス状態にあったことを示唆していると考えられる。

なお、雄の 600 ppm 群では精巣の体重比、雌の 600 ppm 群では腎臓の体重比に変化がみられたが、病理組織学的検査では腎臓に変化は認められなかった。

Ⅳ－2　無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL）

以上のように、*N,N*-ジメチルアセトアミドのマウスへの 2 週間吸入暴露により、動物の死亡はみられなかったが、100 ppm 群では、病理組織学的検査で小葉中心性の肝細胞肥大（雌雄）、肝細胞の巣状壊死（雌）、肝臓重量（体重比）の増加（雌雄）及び血液生化学的検査で総コレステロールとリン脂質の高値（雌）がみられた。30 ppm 群には暴露の影響がみられなかったことから、*N,N*-ジメチルアセトアミドのマウスに対する無毒性量（NOAEL）は、肝臓への影響をエンドポイントとして 30 ppm であると判断した。

さらに、肝臓重量（体重比）が暴露濃度に対して明らかな用量―反応関係を示すことから、同エンドポイントに対する Confidence limit of Benchmark dose yielding the response with 10% extrarisk (BMDL 10)を Linear model、Polinomial model 及び Hill model（文献 11）を用いて計算し、近似性の良いものを選択した結果、肝臓重量を指標とする BMDL 10 は、雄では 10.9 ppm（Hill model）、雌では 19.9 ppm（Hill model）となった。

Ⅳ－3　他の文献との比較

Valentine ら（文献 4）は、*N,N*-ジメチルアセトアミドを 0、30、100、310、490 及び 700 ppm の濃度で雄 Crl:CD-1(CR)BR マウスに 2 週間吸入暴露（1 日 6 時間、1 週 5 日間）した。その結果、490 ppm 群で 10 匹中 2 匹、700 ppm 群で 10 匹中 8 匹が暴露期間中に瀕死解剖されるか、死亡した。血液学的検査では、490 ppm 以上の群で血小板数とヘマトクリット値が減少し、700 ppm 群で赤血球数とヘモグロビン濃度が減少した。臓器重量では、490 ppm 以上の群で精巣重量が減少し、肝臓重量が増加した。精細管の変性や精子数減少などの精巣の障害が 310 ppm 以上の群で濃度依存的に増加した。Valentine らは *N,N*-ジメチルアセト

アミドのマウスに対する無毒性量（NOAEL）は、精巣の影響をエンドポイントとして成熟期（思春期）マウスでは 100 ppm、成熟マウスでは 300 ppm としている。

本試験の結果では、*N,N*-ジメチルアセトアミドの吸入暴露によるマウスに対する無毒性量（NOAEL）は肝臓への影響をエンドポイントとして 30 ppm であり、Valentine ら（文献 4）の報告と比べ、より低濃度から毒性影響が認められた。

また、*N,N*-ジメチルアセトアミドと類似した化合物である *N,N*-ジメチルホルムアミドに関する 2 週間吸入試験の報告でも肝臓への影響が報告されている（文献 12）。すなわち、*N,N*-ジメチルホルムアミドを 0、100、200、400、800 及び 1600 ppm（v/v）の濃度で雌雄の B6D2F1/Crlj マウスに 2 週間吸入暴露（1 日 6 時間、週 5 日間）した結果、肝臓重量（体重比）が雄の 400 ppm 以上の群、雌の 200 ppm 以上の群で増加し、肝細胞の単細胞壊死と巣状壊死が雌雄とも 1600 ppm 群でみられたことが報告されている。本試験の結果では *N,N*-ジメチルアセトアミドの 2 週間吸入暴露により、肝臓重量（体重比）の増加が雌雄とも 100 ppm 以上の群、雌では巣状壊死が 100 ppm 以上の群でみられており、*N,N*-ジメチルアセトアミドの肝臓への影響は *N,N*-ジメチルホルムアミドに比較してより低濃度でも起こることが示された。

Ⅳ－4　13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下のように決定した。

本試験の結果、雌雄とも動物の死亡はなく、一般状態、体重及び摂餌量に暴露による影響を認めなかった。血液学的検査では、血小板数の高値が雄の 450 ppm 以上の群、雌の 300 ppm 以上の群でみられた。血液生化学的検査では総コレステロールの高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群、ALT の高値が雄の 600 ppm 群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。その他、リン脂質の高値が雌の 100 ppm 以上の群でみられた。臓器重量では肝臓の実重量の高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 以上の群、体重比の高値が雌雄とも 100 ppm 以上の群でみられた。その他、600 ppm 群で、雄は精巣に体重比の低値、雌は腎臓に体重比の高値、胸腺に実重量と体重比の低値がみられた。病理組織学的検査では雌雄とも肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が 100 ppm 以上の群でみられ、さらに、雌では肝細胞の巣状壊死が 100 ppm 以上の群でみられた。

13 週間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 600 ppm である。本試験の結果、600 ppm の濃度の暴露では血液学的検査（血小板数の増加等）と血液生化学的検査（総コレステロールと ALT の高値等）での変化が認められ、肝臓には重量の増加、小葉中心性の肝細胞肥大、肝細胞の巣状壊死がみられた。しかし、雌雄とも動物の死亡はなく、一般状態、体重及び摂餌量に暴露による影響はなかった。従って、13 週間試験の最高濃度は 600 ppm が適切であ

ると判断した。また、30 ppm では暴露の影響と思われる変化がいずれの検査項目においても認められなかったことから、最低濃度は 30 ppm が適切と判断した。

以上のことから、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも 600 ppm を最高濃度とし、以下 450、300、100 及び 30 ppm（v/v）と決定した。

V　文献

1. ACGIH. 2001. NN-Dimethyl acetamide. Documentation of the Threshold Limit Values 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. Valentine R, Hurtt ME, Frame SR, Kennedy GL Jr. 1997. Inhalation toxicology of dimethylacetamide (DMAC) in mice and rats: age-related effects on lethality and testicular injury. Inhalation Toxicol 9: 141-156.

5. 河合清之，野崎恒右．1975．吸入実験法，新しい毒性試験と安全性の評価（白須泰彦，松岡理編）．東京：ソフトサイエンス社, 395-432.

6. 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.

7. 谷本義文．1988．実験動物の血液・尿生化学．東京：ソフトサイエンス社, 110-111.

8. Meeks RG, Harrison SD, Bull RJ. 1991. Endoplasmic reticulum. In: Hepatotoxicology (Robert GM, Steadman DH, Richard JB, eds). Boca Raton, FL: CRC Press, 23-73.

9. Boyd EM. 1972. Multiposal toxicity syndromes. In: Predictive Toxicometrics. Bristol: Scientechnica LTD, 367-378.

10. Boyd EM. 1972. Uniposal toxicity syndromes. In: Predictive Toxicometrics. Bristol: Scientechnica LTD, 271-296.

11. US. Environmental Protection Agency (US.EPA) (2001): Help Manual for Benchmark Dose Software Version 1.3 (EPA 600/R-00/4F). US.EPA., Washington DC.

12. Senoh H, Katagiri T, Arito H, Nishizawa T, Nagano K, Yamamoto S, et al. 2003. Toxicity due to 2- and 13-wk inhalation exposures of rats and mice to *N,N*-dimethylformamide. J Occp Health, 45: 365-375.

Ⅵ　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。