N,N-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0754

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	1～4
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がん原性試験

試験目的

N,N-ジメチルアセトアミドをマウスに 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マウスを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0754

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 …… 7
　Ⅱ－2－1　各群の使用動物数 …… 7
　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 …… 10
（1）剖検 …… 10
（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 …… 21

Ⅵ　文献 …… 22

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 …… 24

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）、12、60及び300 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、雄の300 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12 ppm群：97%、60 ppm群：98%、300 ppm群：91%であった。一方、雌では投与群と対照群は、ほぼ同様の体重推移を示した。雌の投与群の最終体重は、対照群に対して12 ppm群：96%、60 ppm群：99%、300 ppm群：98%であった。摂餌量は、雌雄とも60 ppmと300 ppm群で投与期間の初期に増加傾向を示し、雌では投与期間の後期にも再び増加傾向を示した。剖検では、雌雄とも300 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300 ppm群で肝臓の実重量と体重比の高値が認められた。

腫瘍性病変として、雄に肝細胞腺腫の発生増加が認められた。雄に肝細胞腺腫の発生増加が認められたのは300 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300 ppm群で認められた。雌では肝細胞癌と肝細胞腺腫、それぞれの発生増加が認められた。雌に肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められたのはそれぞれ300 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雌の300 ppm群で認められた。

以上のように、B6D2F1/Crljマウスを用いて、*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、肝細胞腺腫の発生増加が認められ、雄マウス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、肝細胞癌と肝細胞腺腫、それぞれの発生増加が認められ、雌マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えられた。

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（マウス　雄）

	投与濃度 (ppm)		0	12	60	300	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性腫瘍	肝臓	肝細胞腺腫	10	8	7	28 **	↑↑	↑↑
悪性腫瘍	皮下	組織球性肉腫	3	1	0	0		
	肺	細気管支-肺胞上皮癌	5	3	6	7		
	リンパ節	悪性リンパ腫	7	8	8	12	↑	
	肝臓	肝細胞癌	7	4	2	3		
		組織球性肉腫	1	4	4	3		
		血管肉腫	0	3	2	0		
	肝臓	肝細胞腺腫／肝細胞癌	16	12	9	29 **	↑↑	↑↑

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（マウス　雌）

	投与濃度 (ppm)		0	12	60	300	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50 ※	50	50	50		
良性腫瘍	肝臓	肝細胞腺腫	2	2	4	35 **	↑↑	↑↑
	下垂体	腺腫	8	6	11	8	↑↑	
	卵巣	嚢胞腺腫	1	3	3	4		
		血管腫	0	3	0	2		
悪性腫瘍	リンパ節	悪性リンパ腫	23	17	12 *	16		
	肝臓	肝細胞癌	0	1	0	8 **	↑↑	↑↑
		血管肉腫	2	1	3	0		
	子宮	組織球性肉腫	10	15	11	8		
	乳腺	腺癌	2	4	3	1		
	下垂体	腺癌	0	0	1	1		
	肝臓	肝細胞腺腫／肝細胞癌	2	3	4	37 **	↑↑	↑↑
	下垂体	腺腫／腺癌	8	6	12	9	↑↑	

*：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)
※：雌の下垂体の検査動物数のみ 48

Ⅰ　試験材料

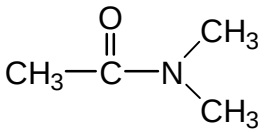
Ⅰ－1　被験物質の性状等

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　（2010.02.20～2010.06.04）
　　CDE2493　（2010.06.07～2011.03.28）
　　STF2171　（2011.03.29～2011.12.26）
　　STF3169　（2011.12.27～2012.02.17）
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 B6D2F1/Crlj マウス（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：22.0～25.1g、雌：18.1～21.2g）を選別し、試験に用いた。

なお、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、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 487 回の暴露を行った。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、12、60 及び 300ppm（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 0718）の結果（文献 6）をもとに決定した。13 週間試験は 0（対照群）、30、100、300、450、600 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、雄では 450 ppm 以上の群で体重増加の抑制がみられ、最終体重は対照群に対し、600 ppm 群で 94%、450 ppm 群で 93%であった。血液の検査では血小板数、総コレステロール、ALT の高値が雌雄とも 100 ppm 以上の群、リン脂質の高値が雄の 300 ppm 以上の群、雌の 100 ppm 以上の群でみられ、また、肝臓の実重量の高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 600 ppm 群、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。病理組織学的検査では、肝細胞の肥大が雄の 100 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群、肝細胞の壊死が雄の 300 ppm 以上の群と雌の 30 ppm 以上の群でみられた。

以上のように 13 週間試験では、450 ppm 以上の群で雄に体重増加の抑制、雌雄に肝臓重量の増加、血液生化学的検査と病理組織学的検査での変化がみられた。300 ppm 群では肝臓重量の増加、血液生化学的検査と病理組織学的検査での変化が 450 ppm 群と同様にみられたが、雌雄とも体重には投与による変化はみられず、300 ppm は 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としては 300 ppm が適切と判断した。また、13 週間試験の最低濃度である 30 ppm でも雄の肝臓重量の体重比の高値、雌の 1 匹に肝細胞壊死がみられたことから、がん原性試験の最低濃度は 30 ppm 未満の濃度が適切と考えた。

以上のことから、がん原性試験の最高濃度は雌雄とも 300 ppm とし、以下、60 ppm、12 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 0.6%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）
12 ppm 群	50 匹（1101～1150）	50 匹（2101～2150）
60 ppm 群	50 匹（1201～1250）	50 匹（2201～2250）
300 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（502 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（502 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±0.1℃、518 室；22.9±0.1℃＞
吸入試験室；22±2℃　＜502 室；21.7±0.3℃＞
吸入チャンバー内；23±2℃

湿　　度　：　検疫室；55±15%　＜517 室；55±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　　：　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、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、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（ウロラブスティックス、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、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、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

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、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：35 匹（70%）、12 ppm 群：40 匹（80%）、60 ppm 群：33 匹（66%）、300 ppm 群：32 匹（64%）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：21 匹（42%）、12 ppm 群：25 匹（50%）、60 ppm 群：21 匹（42%）、300 ppm 群：22 匹（44%）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－

内部腫瘤の発生は、対照群の 1 匹に対し、投与群でやや多かった（12 ppm 群：4 匹、60 ppm 群：6 匹、300 ppm 群：8 匹）。

－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－3　体重

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

－雄－

300 ppm 群では投与期間を通じて体重増加の抑制がみられた。12 ppm 群では投与期間の初期に体重増加の抑制傾向がみられ、その後は対照群より低い体重値で推移した。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 12 ppm 群：97 %、60 ppm 群：98%、300 ppm 群：91%であった。

－雌－

投与群と対照群は、ほぼ同様の体重推移を示した。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 12 ppm 群：96%、60 ppm 群：99%、300 ppm 群：98%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－

60 ppm と 300 ppm 群の両群で投与期間の初期に摂餌量が増加傾向を示した。

－雌－

60 ppm と 300 ppm 群の両群で投与期間の初期と後期に摂餌量が増加傾向を示した。

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－

白血球百分率で好中球比の高値が 60 ppm 以上の群、血小板数と網赤血球比の高値が 300 ppm 群でみられた。また、ヘモグロビン濃度の低値が全投与群、赤血球数、ヘマトクリット値、リンパ球比と好酸球比の低値が 60 ppm 以上の群、MCHC の低値が 300 ppm 群でみられた。

－雌－

血小板数の高値が 300 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 G 1, 2 に示した。

－雄－

尿素窒素、ナトリウムの高値が 60 ppm 以上の群、AST、ALT、LDH、ALP、クロール、CK の高値が 300 ppm 群でみられた。また、アルブミンの低値が全投与群、総蛋白、A/G 比、総ビリルビンの低値が 300 ppm 群でみられた。

なお、グルコースの低値が 12 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－

総コレステロール、リン脂質、AST、ALT、ALP、γ-GTP の高値が 300 ppm 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－

蛋白の陽性度の減少が 60 ppm 以上の群、ケトン体の陽性度の減少が 300 ppm 群でみられた。

－雌－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

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 300 ppm 群の 25 匹に認められ、他の群（対照群 17 匹、12 ppm 群 11 匹、60 ppm 群 8 匹）に比較して多かった。腎臓の変形が 300 ppm 群の 10 匹に認められ、他の群（対照群と 12 ppm 群各 1 匹、60 ppm 群 5 匹）に比較して多かった。リンパ節の腫大（対照群 5 匹、12 ppm 群 7 匹、60 ppm 群 11 匹、300 ppm 群 13 匹）を呈する動物が投与濃度に対応して増加した。

－雌－

肝臓の結節が 300 ppm 群の 34 匹に認められ、他の群（対照群 5 匹、12 ppm 群 6 匹、60 ppm 群 9 匹）に比較して多かった。

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－

肺、脾臓、肝臓の実重量と体重比の高値、心臓と脳の体重比の高値が 300 ppm 群でみられた。

－雌－

肝臓の実重量と体重比の高値が 300 ppm 群でみられた。

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 1, 2 に示し、病理組織所見の代表例を写真 1～4 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、死亡率＋有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 300 ppm 群に増加がみられた。300 ppm 群における肝細胞腺腫の発生は 28 匹（56%）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 4%～最大 38%、平均発生率 20.8%）を超えた。また、300 ppm 群で認められた肝細胞腺腫は多発する傾向があった。従って、300 ppm 群における肝細胞腺腫の発生増加は暴露によるものと考えられた。なお、肝細胞癌の発生増加は認められなかったが、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、死亡率＋有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 300 ppm 群に増加がみられた。

肝細胞腺腫と肝細胞癌の診断は Pathology of the Mice（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。特に、肝細胞癌と肝細胞腺腫との鑑別については、腫瘍細胞に構造異型がみられるもの、及び他臓器転移を示すものを肝細胞癌と診断した。

＜リンパ節＞

悪性リンパ腫の発生が対照群の 7 匹、12 ppm 群と 60 ppm 群の各 8 匹、300 ppm 群の 12 匹にみられ、Peto 検定（死亡率＋有病率法）で増加傾向を示した。しかしながら、300 ppm 群における悪性リンパ腫の発生率 24%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 2%～最大 28%、平均発生率 12.5%）内であった。従って、リンパ節の悪性リンパ腫の発生の増加は、被験物質の投与による影響ではないと判断した。

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 300 ppm 群で認められ、この病変の程度は重度から

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った。

＜腎臓＞

乳頭壊死が 60 ppm 以上の群で認められ、その発生数は 300 ppm 群で増加した。300 ppm 群では、両側性にみられる重度な例も認められた。また、瘢痕が 300 ppm 群で増加した。乳頭壊死は腎乳頭部の先端部に壊死、脱落、潰瘍形成を示す所見であり、瘢痕は梗塞により壊死した組織欠損が肉芽組織や膠原線維等の結合組織に置き換えられた変化であった。

その他、鼻腔では嗅上皮のエオジン好性変化の発生が 300 ppm 群で減少し、肝臓では炎症性細胞集簇巣の発生が 300 ppm 群で減少した。

－雌－

1）腫瘍性病変

＜肝臓＞

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、Fisher 検定で 300 ppm 群に増加がみられた。300 ppm 群における肝細胞癌の発生は 8 匹（16%）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 8%、平均発生率 2.1%）を超えた。また、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 300 ppm 群に増加がみられた。300 ppm 群における肝細胞腺腫の発生は 35 匹（70%）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 20%、平均発生率 7.2%）を超えた。従って、300 ppm 群における肝細胞癌と肝細胞腺腫のそれぞれの発生増加は暴露によるものと考えられた。さらに、肝細胞癌と肝細胞腺腫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。300 ppm 群における肝腫瘍の発生は 37 匹（74%）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 2%～最大 20%、平均発生率 9.0%）を超えた。また、300 ppm 群で認められた肝細胞癌と肝細胞腺腫は多発する傾向があった。

＜下垂体＞

腺腫の発生が対照群の 8 匹、12 ppm 群の 6 匹、60 ppm 群の 11 匹、300 ppm 群の 8 匹にみられ、Peto 検定（死亡率）で増加傾向を示した。しかしながら、各群の発生数に大きな差がなく、いずれの群の発生率も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 2%～最大 34%、平均発生率 14.4%）内であった。従って、下垂体の腺腫の発生の増加は、被験物質の投与による影響ではないと判断した。

なお、リンパ節で悪性リンパ腫の発生の増加が、60 ppm 群で統計的に有意な減少を示したが、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＞

好酸性小増殖巣の発生匹数の増加が 300 ppm 群で認められ、この病変の程度は軽度から重度であった。

＜腎臓＞

乳頭壊死が 60 ppm 以上の群で認められ、その発生数は 300 ppm 群で増加した。300 ppm 群では、両側性にみられる重度な例も認められた。また、瘢痕が 300 ppm 群で増加した。

その他、鼻腔では嗅上皮のエオジン好性変化と腺の呼吸上皮化生の発生が 300 ppm 群で減少し、呼吸上皮のエオジン好性変化の発生が 300 ppm 群で減少、60 ppm 群で増加し、嗅上皮の呼吸上皮化生が 60 ppm 群で減少した。肝臓では炎症性細胞集簇巣の発生が 300 ppm 群で減少した。腎臓では水腎症が 60 ppm 群で増加し、硝子滴が減少した。子宮では嚢胞状内膜過形成が 12 ppm 群で減少した。

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－

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－

下垂体腫瘍による死亡は、対照群ではみられなかったが、300 ppm 群は 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。

Ⅳ　考察及びまとめ

N,N-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：0（対照群）、12、60 及び 300 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、雄で内部腫瘤の発生が対照群の 1 匹に対し、投与群でやや多かった（12 ppm 群：4 匹、60 ppm 群：6 匹、300 ppm 群：8 匹）が、この内部腫瘤の増加は雄でみられた悪性リンパ腫に対応したものであった。体重は、雄の 300 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 12 ppm 群：97%、60 ppm 群：98%、300 ppm 群：91%であった。一方、雌では投与群と対照群の体重はほぼ同様の体重推移を示した。雌の投与群の最終体重は、対照群に対して 12 ppm 群：96%、60 ppm 群：99%、300 ppm 群：98%であった。摂餌量は、雌雄とも 60 ppm と 300 ppm 群で投与期間の初期に増加傾向を示し、雌では投与期間の後期にも再び増加傾向を示した。

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、死亡率＋有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向、Fisher 検定で 300 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、肝腫瘍の前腫瘍性病変と考えられる好酸性小増殖巣（文献 11）の発生増加も 300 ppm 群で認められた。従って、肝細胞腺腫の発生増加は雄のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えた。なお、肝細胞癌の発生増加は認められなかったが、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、死亡率＋有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向、Fisher 検定で 300 ppm 群に増加を示した。

雌の肝臓に肝細胞癌と肝細胞腺腫のそれぞれの発生増加が認められた。

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、Fisher 検定で 300 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、肝細胞腺腫の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向、Fisher 検定で 300 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、肝細胞癌と肝細胞腺腫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、Fisher 検定で 300 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。加えて､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 300 ppm 群で認められた。従って、肝細胞癌と肝細胞腺腫のそれぞれの発生増加は雌のマウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えた。

Ⅳ－3　その他の影響

血液学的検査では、雌雄で血小板数の高値、雄のみで網赤血球比と白血球百分率の好中球比の高値、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC、白血球百分率のリンパ球比と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 AST、ALT と ALP の高値、雄のみで LDH、CK、尿素窒素、ナトリウムとクロールの高値、総蛋白、アルブミン、A/G 比と総ビリルビンの低値、雌のみで総コレステロール、リン脂質とγ-GTP の高値がみられた。尿検査では、雄のみで蛋白陽性度とケトン体の陽性度の減少がみられた。これら血液の検査の中で、総コレステロール、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、γ-GTP と CK の高値、総蛋白、アルブミン、A/G 比と総ビリルビンの低値については、後述した肝腫瘍と前腫瘍性病変に関連した肝障害が影響したと考えられた。また、尿素窒素、電解質（ナトリウムとクロール）の増加については、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。尿検査でみられた蛋白陽性度の減少は、血漿中にみられた総蛋白とアルブミンの減少に対応した変化と考えられた。なお、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、300 ppm 群で雌雄に肝臓の結節、雄に腎臓の変形が多くみられた。肝臓の結節は雌雄の 300 ppm 群でみられた肝腫瘍の発生増加、腎臓の変形は雄の 300 ppm 群でみられた腎臓の乳頭壊死と瘢痕の発生増加に対応した変化と考えられた。

臓器重量では、肝臓の実重量と体重比の高値が雌雄とも 300 ppm 群に認められた。この肝重量の増加は雌雄にみられた肝腫瘍と肝臓の前腫瘍性病変（好酸性小増殖巣）によるものと考えられた。なお、雄の肺と脾臓の実重量と体重比の高値、心臓と脳の体重比の高値が 300 ppm 群に認められたが、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、雌雄の腎臓に被験物質の暴露の影響がみられた。腎臓への影響として、雌雄とも乳頭壊死が 60 ppm 以上の群で認められ、瘢痕が 300 ppm 群で増加した。また、血液生化学的検査でも、雄の 60 ppm 以上の群で尿素窒素とナトリウム、300 ppm 群でクロールの増加が認められ、腎臓への影響が示唆された。*N,N*-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた 13 週間吸入毒性試験（文献 6）では、血漿中の電解質濃度の変化は認められていたが、腎臓に病理組織学的な変化は認められなかった。マウスにおける病理組織学的な腎臓への影響は、被験物質の暴露期間を 104 週間としたことにより、明らかとなった変化であった。

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マウスを用いたがん原性試験は Malley ら（文献 12）によって報告されている。Malley らは、Crl:CD-1 (ICR)BR マウス（雌雄とも、各群 78 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、18 ヶ月（1 年半）の吸入暴露を行った。肝細胞の細胞増殖を暴露開始から 2 週、3 ヶ月と 12 ヶ月後に調べ、病理組織学的検査を 3、6、12、18 ヶ月後に実施した。その結果、体重については、雄の 100 ppm と 350 ppm 群に試験期間を通じて体重の増加傾向がみられ、100 ppm 群では試験期間を通じた体重増加、350 ppm 群では試験開始 10~18 ヶ月間の体重増加が統計学的に有意であった。雄の 25 ppm 群の体重増加は統計学的に有意とはならなかったが、対照群に比べて高かった。雌の 350 ppm 群では試験開始後 9 ヶ月間の体重増加は有意に高かったが、その後の期間の体重増加は対照群と同等であった。生存率については、雄の 25 ppm 群では対照群と比較してやや高く、雌の 350 ppm 群では対照群と比較して低かったが、それ以外の群では対照群と大きな差はなかった (0、25、100、350 ppm 群でそれぞれ、雄：46、60、54、41%、雌：80、77、76、60%)。雌の 350 ppm 群で肝臓と腎臓の実重量と体重比、雌の 25 ppm 群で腎臓の体重比が有意に増加した。病理組織学的検査では、雄の 100 ppm と 350 ppm 群でクッパー細胞へのリポフスチン／ヘモジデリン蓄積、雄の 350 ppm 群で肝細胞の小葉中心性肥大、雌の 350 ppm 群で単細胞壊死の有意な発生増加がみられた。肝臓以外では、雌の 350 ppm 群で両目に広範性の網膜萎縮の有意な発生増加がみられた。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、*N,N*-ジメチルアセトアミド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 ら（文献 13）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

B6D2F1/Crlj マウスを用いて、*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、肝細胞腺腫の発生増加が認められ、雄マウス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、肝細胞癌と肝細胞腺腫、それぞれの発生増加が認められ、雌マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えられた。

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マウス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. Harada T, Enomoto A, Maronpot RM, Boorman GA. 1999. 7. Liver and gallbladder. In: Pathology of the Mouse (Maronpot RM, Boorman GA, Gaul BW, eds). Vienna, IL: Cache River Press, 119-183.

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. 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.

13. 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、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。