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 2 週 間 毒 性 試 験 報 告 書

試験番号：0706

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ラット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ラットに 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ラットを用いた
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0706

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 ･･ 9
（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 ･･ 13
Ⅲ－7－1　剖検 ･･･ 13
Ⅲ－7－2　臓器重量 ･･･ 13
Ⅲ－7－3　病理組織学的検査 ･･･ 14

Ⅳ　考察及びまとめ ･･･ 15

Ⅳ－1　用量－反応関係 ･･ 15
Ⅳ－2　無毒性量（NOAEL）/最小毒性量(LOAEL) ･･････････････････････ 16
Ⅳ－3　他の文献との比較 ･･ 17
Ⅳ－4　13 週間試験の濃度決定 ･･ 18

Ⅴ　文献 ･･ 19

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 F344/DuCrlCrlj ラット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、雌雄ともに動物の死亡、一般状態の変化はみられなかった。体重は雌雄ともに最高濃度 600 ppm 群で軽度の増加抑制がみられ、600 ppm 群の最終体重は対照群に対し、雄 92%、雌 96%であった。摂餌量の低値が、雄の 600 ppm 群で暴露 1～2 週目、雌の 300 ppm 以上の群で暴露 1 週目にみられた。

血液学的検査では、血小板数の高値が雄の 300 ppm 群と 450 ppm 群、雌の 30 ppm 群から 450 ppm 群でみられた。また、網赤血球比の高値が雌の 30 ppm 群から 450 ppm 群、ヘマトクリット値の高値と白血球数の低値が雄の 600 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とリン脂質の高値が雄の全投与群と雌の 100 ppm 以上の群、トリグリセライドの高値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。また、ALT の高値が雄の 300 ppm 群と 600 ppm 群、AST の高値が雄の 600 ppm 群でみられた。その他、総蛋白の高値が雄の 300 ppm 以上の群、アルブミンの高値が雌の 600 ppm 群、総ビリルビンの高値が雄の 600 ppm 群と雌の 450 ppm 以上の群、カルシウムの高値が雌雄とも 300 ppm 以上の群でみられた。

剖検では、雌雄とも暴露の影響と考えられる所見はみられなかった。臓器重量の測定では肝臓の実重量の高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の全投与群､体重比の高値が雌雄とも全投与群、腎臓の実重量の高値が雄の 450 ppm 群と雌の 100 ppm 以上の群、体重比の高値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。その他、胸腺の実重量と体重比の低値が雄の 600 ppm 群と雌の 450 ppm 以上の群、脾臓の実重量の低値が雌雄とも 600 ppm 群、体重比の低値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 600 ppm 群でみられた。また、600 ppm 群において、雄では精巣の実重量の低値、雌では肺の体重比の高値がみられた。

病理組織学的検査では、雌雄とも小葉中心性の肝細胞肥大が 300 ppm 以上の群でみられ、さらに、雌にのみ肝細胞の単細胞壊死が 600 ppm 群にみられた。また、雄の 300 ppm 群と 450 ppm 群には腎臓の近位尿細管に好酸体の発生匹数の増加がみられた。

以上の結果より、*N,N*-ジメチルアセトアミドのラットに対する最小毒性量（LOAEL）は、肝臓重量（体重比）をエンドポイントとして 30 ppm であると判断した。また、BMDL 10 は、雄では 31.9 ppm、雌では 26.8 ppm となった。

13週間試験の投与濃度は､雌雄とも450 ppm を最高濃度とし､以下300､100､30及び10 ppm（v/v）と決定した。

Ⅰ　試験材料

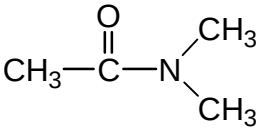
Ⅰ－1　被験物質の性状等

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 F344/DuCrlCrlj ラット（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：113～126g、雌：92～102g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に 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、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（FIGURE 1）。

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。

投与濃度は当センターで生殖発生毒性試験の予備実験として実施した 2 週間毒性試験（文献 4）を参考に決定した。2 週間毒性試験においては、8 週齢の Crl:CD(SD)IGS ラットに 0、30、100、300、450 及び 600 ppm（v/v）の *N,N*-ジメチルアセトアミドを 1 日 6 時間、14 日間連続で、吸入により全身暴露した。その結果、雌雄とも死亡動物はなく、体重推移についての著しい影響及び一般状態への影響はみられなかった。しかし、雌雄とも 300 ppm 以上の群で肝臓重量（体重比）の増加及び肝小葉中心領域の肝細胞の腫脹が認められ、雄の 450 ppm 以上の群には肝細胞の単細胞壊死も観察された。

これらの結果を参考に、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。それ以下の濃度は上記の 2 週間毒性試験との比較検討をも含め、雌雄とも 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 2.0 %以内、変動係数（標準偏差／平均値×100)が 2.3 %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（606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℃　＜606室；23.3±0.1℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜601室；20.7±0.4℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃

湿　　度　：　検疫室；55±15%　＜606室；53±1%＞
　　吸入試験室；55±15%　＜601室；59±1%＞
　　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（170(W)×294(D)×176(H) mm/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、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に毎日 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、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　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、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、膣、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、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－

600 ppm 群で体重の増加抑制がみられ、最終体重は有意な低値を示した。

投与群の最終体重は対照群に対し、30 ppm 群：102%、100 ppm 群：98%、300 ppm 群：104%、450 ppm 群：101%、600 ppm 群：92%であった。

－雌－

統計学的な有意差は示されなかったが、600 ppm 群で体重の増加抑制がみられた。

投与群の最終体重は対照群に対し、30 ppm 群：106%、100 ppm 群：104%、300 ppm 群：103%、450 ppm 群：104%、600 ppm 群：96%であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E1～E4 に示した。

－雄－

統計学的な有意差は示されなかったが、600 ppm 群に摂餌量の低値（1 週目 95%、2 週目 91%）がみられた。

－雌－

統計学的な有意差は示されなかったが、300 ppm 以上の投与群には 1 週目の摂餌量の低値（対照群に対し、300 ppm 群：93%、450 ppm 群：93%、600 ppm 群：92%）がみられ

た。2 週目の摂餌量には対照群との差がみられなかった。

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。

－雄－

ヘマトクリット値の高値と白血球数の低値が 600 ppm 群でみられた。また、血小板数の高値が 300 ppm 群と 450 ppm 群でみられた。

－雌－

血小板数と網赤血球比の高値が 30 ppm 群、100 ppm 群、300 ppm 群及び 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－

総コレステロールとリン脂質の高値が全投与群、トリグリセライドの高値が 450 ppm 以上の群でみられた。また、総蛋白とカルシウムの高値が 300 ppm 以上の群、ALT の高値が 300 ppm 群と 600 ppm 群､総ビリルビンと AST の高値が 600 ppm 群でみられた｡さらに、ALP の低値が 100 ppm 以上の群でみられた。

なお、尿素窒素の低値が 300 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。また、A/G 比の低値が 100 ppm 群、300 ppm 群及び 450 ppm 群でみられたが、対照群とほとんど差のない値で有意差を示した。

－雌－

総コレステロールとリン脂質の高値が 100 ppm 以上の群、トリグリセライドの高値が 300 ppm 以上の群でみられた。また、カルシウムの高値が 300 ppm 以上の群、総ビリルビンの高値が 450 ppm 以上の群、アルブミンの高値が 600 ppm 群でみられた。さらに、ALP の低値が 300 ppm 以上の群でみられた。

なお、AST の低値は 30 ppm 群、300 ppm 群及び 450 ppm 群、ALT の低値は 300 ppm 群と 450 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。

Ⅲ－7　病理学的検査

Ⅲ－7－1　剖検

剖検所見を TABLE H に示した。

－雌雄－

被験物質の影響と考えられる所見はみられなかった。

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 以上の群、体重比の高値が全投与群でみられた。また、腎臓の実重量の高値が 450 ppm 群、体重比の高値が 450 ppm 以上の群でみられた。胸腺の実重量と体重比の低値が 600 ppm 群、脾臓の実重量の低値が 600 ppm 群、体重比の低値が 450 ppm 以上の群でみられた。また、精巣の実重量の低値が 600 ppm 群でみられた。

－雌－

肝臓の実重量と体重比の高値が全投与群でみられた。また、腎臓の実重量の高値が 100 ppm 以上の群、体重比の高値が 300 ppm 以上の群でみられた。さらに、肺の体重比の高値が 600 ppm 群でみられた。胸腺の実重量と体重比の低値が 450 ppm 以上の群、脾臓の実重量と体重比の低値が 600 ppm 群でみられた。

なお、心臓の実重量の高値が 30 ppm 群と 100 ppm 群、脳の実重量の高値が 100 ppm 群、脾臓の実重量と体重比の高値が 30 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。

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 300 ppm 以上の群でみられた。その発生匹数は 300 ppm 群で 1 匹、450 ppm 群で 4 匹、600 ppm 群で全動物であったが、その程度はいずれも軽度であった。また、腎臓の近位尿細管に好酸体の発生匹数の増加が 300 ppm 群と 450 ppm 群にみられた。

－雌－

肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が 300 ppm 以上の群でみられた。その発生匹数は 300 ppm で 2 匹、450 ppm 群と 600 ppm 群で全動物であったが、その程度はいずれも軽度であった。また、軽度の単細胞壊死が 600 ppm 群の 4 匹にみられた。

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、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、雌雄ともに動物の死亡、一般状態の変化はみられなかった。投与群の体重は雌雄ともに最高濃度 600 ppm 群で軽度の増加抑制がみられた。600 ppm 群の最終体重は対照群に対して雄 92%、雌 96%であり、雄の 600 ppm 群の最終体重は対照群に対して統計学的に有意な低値であった。摂餌量の低値が、雄の 600 ppm 群で暴露 1～2 週目、雌の 300 ppm 以上の群で暴露 1 週目にみられた。

血液学的検査では、血小板数の高値が雄の 300 ppm 群と 450 ppm 群、雌の 30 ppm 群から 450 ppm 群でみられた。また、網赤血球比の高値が雌の 30 ppm 群から 450 ppm 群、ヘマトクリット値の高値と白血球数の低値が雄の 600 ppm 群でみられた。当センターで本試験と同時に実施した *N,N*-ジメチルアセトアミドのマウスを用いた 2 週間試験（文献 7）でも、血小板数の高値が雄の 450 ppm 以上の群、雌の 300 ppm 以上の群でみられており、血小板数の変化は *N,N*-ジメチルアセトアミドの暴露による影響である可能性が高いが、その作用機序や意義は不明であり、用量－反応関係も明確でなかった。また、雌の網赤血球比の変化も用量－反応関係が明確にみられず、雄のヘマトクリット値と白血球数の変化とともにそれらの意義は不明であった。

血液生化学的検査では、総コレステロールの高値とリン脂質の高値が雄の全投与群と雌の 100 ppm 以上の群、トリグリセライドの高値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。また、ALT の高値が雄の 300 ppm 群と 600 ppm 群、AST の高値が雄の 600 ppm 群でみられた。その他、総蛋白の高値が雄の 300 ppm 以上の群、アルブミンの高値が雌の 600 ppm 群、総ビリルビンの高値が雄の 600 ppm 群と雌の 450 ppm 以上の群、カルシウムの高値が雌雄とも 300 ppm 以上の群でみられた。総コレステロール、リン脂質、トリグリセライド、ALT 及び AST 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するものと思われる。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 8)、カルシウムの高値は雄では総蛋白の高値に、雌ではアルブミンの高値に関連した変化と考えられる。

剖検では､雌雄ともに *N,N*-ジメチルアセトアミドの暴露の影響と考えられる所見はみられなかった。臓器重量の測定では、肝臓の実重量の高値が雄の 300 ppm 以上の群と雌の全投与群､体重比の高値が雌雄とも全投与群でみられた。また､腎臓の実重量の高値が雄の 450 ppm 群と雌の 100 ppm 以上の群､体重比の高値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 300 ppm 以上の群でみられた。その他、胸腺の実重量と体重比の低値が雄の 600 ppm 群と雌の 450 ppm 以上の群、脾臓の実重量の低値が雌雄とも 600 ppm 群、体重比の低値が雄の 450 ppm 以上の群と雌の 600 ppm 群でみられた。また、600 ppm 群において、雄では精巣の実重量の低値、雌では肺の体重比の高値がみられた。

病理組織学的検査では、肝臓の変化が雌雄に、腎臓の変化が雄にみられた。肝臓では、小葉中心性の肝細胞肥大が雌雄とも 300 ppm 以上の群、さらに、雌では肝細胞の単細胞壊死が 600 ppm 群にみられた。腎臓では近位尿細管に好酸体の発生匹数の増加が雄の 300 ppm 群と 450 ppm 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 9)。さらに、肝臓に対する傷害性の影響として、肝細胞の単細胞壊死が雌のみであるが 600 ppm 群でみられた。また、雄の 600 ppm 群では ALT と AST の高値がともにみられており、雄の 600 ppm 群においても肝細胞が傷害を受けていると考えられた。

雄の腎臓の好酸体の増加、雌雄の腎臓重量の増加は *N,N*-ジメチルアセトアミドの影響による変化と考えられた。なお、雄の好酸体の発生匹数の増加はラットの雄に特有の α_{2u}-グロブリンの沈着の増加による変化と考えられる（文献 10)。一方、雌にも腎臓重量の増加が認められたが、これに相応する病理組織学的な変化は認められなかった。また、高濃度投与群では雌雄とも胸腺と脾臓の重量低下がみられた。化学物質の暴露によるストレスによって、胸腺と脾臓の重量低下が起きることが知られており（文献 11、12)、本試験でみられた胸腺と脾臓の重量低下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。

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ラットへの 2 週間吸入暴露により、最低濃度 30 ppm を含む雌雄全投与群で肝臓重量（体重比）が暴露濃度に依存して増加した。従って、*N,N*-ジメチルアセトアミドのラットに対する最小毒性量（LOAEL）は、WHO の LOAEL の定義に従って（文献 13)、肝臓重量（体重比）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 14）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 31.9 ppm（Polinomial model）、雌では 26.8 ppm（Hill model）となった。

IV－3　他の文献との比較

当センターで実施した *N,N*-ジメチルアセトアミドの Crj:CD(SD)IGS ラットを用いた吸入による 2 週間試験（生殖発生毒性試験の予備試験として実施）においては、*N,N*-ジメチルアセトアミドを 0、30、100、300、450 及び 600 ppm（v/v）の濃度で SD ラットに 2 週間吸入暴露（1 日 6 時間、14 日間連続）した結果、雌雄とも 300 ppm 以上の群で肝臓重量（体重比）の増加、総コレステロール、リン脂質の高値がみられた。また、小葉中心性の肝細胞の腫脹が雌雄とも 300 ppm 以上の群でみられ、雄の 450 ppm 以上の群で単細胞壊死がみられた（文献 4）。肝臓重量の増加、総コレステロールとリン脂質の増加、肝細胞の腫脹（本試験では肝細胞の肥大）は本試験結果と共通してみられた。一方、肝細胞の壊死は SD ラットの試験では雄に、本試験では雌にのみみられ、*N,N*-ジメチルアセトアミドに対する感受性にラットの系統間で差がある可能性が示された。

Valentine ら（文献 15）は、*N,N*-ジメチルアセトアミドを 0、52、150、300 及び 480 ppm の濃度で雄 Crl:CD-BR ラットに 2 週間吸入暴露（1 日 6 時間、1 週 5 日間）した。その結果、480 ppm 暴露でも体重、臨床症状、精巣の重量、精子数及び病理組織学的所見に投与による毒性影響等が認められなかったと報告している。

一方、奥田ら（文献 16）は、*N,N*-ジメチルアセトアミドを 0、100、300、450 及び 600 ppm（v/v）の濃度で Crj:CD(SD)IGS 妊娠ラットへ妊娠 6 日目から 19 日目に 2 週間吸入暴露（1 日 6 時間、14 日間連続）した。その結果、母動物には肝臓重量（体重比）の増加と小葉中心性の肝細胞の腫脹が 300 ppm 以上の群でみられた。また、胎児には体重低下が 300 ppm 以上の群、内臓奇形（心室中隔欠損と動脈幹遺残）と骨奇形（癒合）が 300 ppm 以上の群で認められた。これらの結果から、無毒性量（NOAEL）は胎児と妊娠雌に対する毒性をエンドポイントとして 100 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ラットに対する最小毒性量（LOAEL）は肝臓重量（体重比）の増加をエンドポイントとして 30 ppm であり、生殖発生毒性試験の予備試験（文献 4）、Valentine ら（文献 15）及び奥田ら（文献 16）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しても 2 週間吸入試験で肝臓への影響が報告されている（文献 17）。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 F344/DuCrlCrlj ラ

ットに 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）が雌雄とも 1600 ppm 以上の群で増加し、肝細胞の単細胞壊死が雌雄とも 800 ppm 群、広汎性壊死が雌雄とも 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雌雄とも肝臓重量（体重比）の増加が 30 ppm 以上の群、また、雌では単細胞壊死が 600 ppm 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。

本試験では、雌雄ともにいずれの投与群においても動物の死亡はみられず、一般状態の変化も認められなかった。体重増加の抑制は雌雄ともに 600 ppm 群でみられた（最終体重、雄：対照群の 92%、雌：同 96%）。また、肝臓の実重量が雄の 300 ppm 以上の群と雌の全投与群で増加し、その体重比は雌雄ともに全投与群で増加した。病理組織学的検査では、肝臓において小葉中心性の肝細胞肥大が雌雄ともに 300 ppm 以上の群で、単細胞壊死が雌の 600 ppm 群で観察された。血液生化学的検査では、総コレステロール、リン脂質が雄の全投与群と雌の 300 ppm 以上の群で増加した。2 週間試験の 600 ppm 群で雌雄ともに観察された体重増加の抑制は、13 週間試験ではさらに増強される可能性が高いと推測されるため、600 ppm よりも低い 450 ppm が 13 週間試験の最高投与濃度として適切であると判断した。また、2 週間試験の最低濃度である 30 ppm 群では、肝臓重量（体重比）の増加が雌雄ともに観察され、血液生化学的検査で総コレステロールとリン脂質の増加が雄で観察されたことから、30 ppm より低い濃度を実施することが適切であると考え、*N,N*-ジメチルアセトアミドの TLV-TWA が 10 ppm（文献 1）であることを考慮して、最低投与濃度群として 10 ppm 群を追加した。

以上のことから、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも 450 ppm を最高濃度とし、以下 300、100、30 及び 10 ppm（v/v）と決定した。

V　文献

1. ACGIH. 2001. N,N-Dimethyl acetamide. Documentation of the Threshold Limit V alues and Biological Exposure Indices. Cincinnati: American Conference of Gover nmental 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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2004. *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 2 週間毒性試験（生殖発生毒性予備試験）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.

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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2008. *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. 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.

8. 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.

9. 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.

10. 渡辺満利，西川秋佳．2000．各論 8 章，腎臓．毒性病理組織学（日本毒性病理学会編）．名古屋：日本毒性病理学会，　247-266.

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

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

13. Environmental Health Criteria 170. 1994. Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values for Health-based Exposure Limits. World Health Organization. Geneva.

14. 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.

15. 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.

16. Okuda H, Takeuchi T, Senoh H, Arito H, Nagano K, Yamamoto S, et al. 2006. Developmental toxicity induced by inhalation exposure of pregnant rats to *N,N*-dimethylacetamide. J Occp Health, 48: 154-160.

17. 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。