

*N,N*-ジメチルホルム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：0296

CAS No. 68-12-2

2000年12月21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

*N,N*-ジメチルホルム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：0296

本 文

## 本文目次

頁

要約 .....	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称 .....	3
I-1-2 構造式、示性式、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 .....	4
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性	
I-3-1 特性・同一性 .....	4
I-3-2 安定性 .....	4
I-4 試験動物 .....	4
II 試験方法	
II-1 投与	
II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間 .....	5
II-1-2 投与濃度及び設定理由 .....	5
II-1-3 被験物質の発生方法と濃度調整 .....	5
II-1-4 被験物質濃度の測定 .....	6
II-2 動物管理	
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 .....	6
II-2-3 飼育条件 .....	6
II-3 観察・検査項目及び方法	
II-3-1 動物の一般状態の観察 .....	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	尿検査	8
II-3-7	病理学的検査	8
II-4	数値処理と統計学的方法	
II-4-1	数値の取り扱いと表示	9
II-4-2	母数の取り扱い	9
II-4-3	統計処理	10
II-5	試資料の保管	10
III	試験成績	
III-1	生死状況	11
III-2	一般状態	11
III-3	体重	11
III-4	摂餌量	12
III-5	血液学的検査	12
III-6	血液生化学的検査	12
III-7	尿検査	13
III-8	病理学的検査	
III-8-1	剖検	13
III-8-2	臓器重量	14
III-8-3	病理組織学的検査	14
III-8-4	死因	17
IV	考察及びまとめ	
IV-1	生死状況、死因、一般状態、体重、摂餌量	18

IV-2 腫瘍性病変 .....	18
IV-3 非腫瘍性病変 .....	21
IV-4 血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査 .....	22
IV-5 他の文献との比較 .....	23
V 結論 .....	25
VI 文献 .....	26

## TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 4 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 5 INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 8 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS IN MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 9 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS IN FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

## TABLES (CONTINUED)

TABLE 10 SELECTED NON NEOPLASTIC LESIONS OF MALE RATS IN  
THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

TABLE 11 SELECTED NON NEOPLASTIC LESIONS OF FEMALE RATS IN  
THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

TABLE 12 CAUSE OF DEATH OF RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF  
*N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

## FIGURES

FIGURE 1 *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE VAPOR GENERATION SYSTEM AND INHARATION SYSTEM

FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE OF MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

FIGURE 3 SURVIVAL ANIMAL RATE OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

FIGURE 5 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

FIGURE7 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE



## PHOTOGRAPHS

- PHOTOGRAPH 1 LIVER : HEPATOCELLULAR ADENOMA  
FEMALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-2302 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 2 LIVER : HEPATOCELLULAR CARCINOMA  
FEMALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-2336 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 3 LIVER : HEPATOCELLULAR CARCINOMA  
MALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-1316 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 4 LIVER : CLEAR CELL FOCUS  
MALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-1302 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 5 LIVER : ACIDPHYLIC CELL FOCUS  
MALE, 400ppm, ANIMAL No. 0296-1232 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 6 LIVER : BASOPHYLIC CELL FOCUS  
FEMALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-2328 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 7 LIVER : MIXED CELL FOCUS  
MALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-1318 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 8 LIVER : SPONGIOSIS HEPATIS  
MALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-1303 ( H&E )
- PHOTOGRAPH 9 LIVER : NECROSIS:CENTRAL (DEAD: 7DAYS)  
MALE, 800ppm, ANIMAL No. 0296-1312 ( H&E )

## APPENDIXES

APPENDIX A 1 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : MALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX A 2 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX B 1 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX B 2 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX C 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX C 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX D 1 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : MALE ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX D 2 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : FEMALE ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX E 1 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : MALE ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX E 2 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : FEMALE ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX F 1 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : MALE ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX F 2 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : FEMALE ( 2-YEAR STUDY )

## APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX G 1 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :  
ALL ANIMALS ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX G 2 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :  
DEAD AND MORIBUND ANIMALS ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX G 3 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :  
SACRIFICED ANIMALS ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX G 4 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :  
ALL ANIMALS ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX G 5 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :  
DEAD AND MORIBUND ANIMALS ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX G 6 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :  
SACRIFICED ANIMALS ( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : MALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX I 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : MALE  
( 2-YEAR STUDY )

APPENDIX I 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : FEMALE  
( 2-YEAR STUDY )

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX J 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : MALE : ALL ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX J 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX J 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : MALE SACRIFICED ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX J 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : FEMALE : ALL ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX J 5 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY,RAT :FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX J 6 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX K 1 NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF  
TUMORS-TIME RELATED, RAT : MALE
- APPENDIX K 2 NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF  
TUMORS-TIME RELATED, RAT : FEMALE
- APPENDIX L 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : MALE ( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX L 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, RAT : FEMALE ( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX M 1 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL  
ANALYSIS, RAT : MALE ( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX M 2 NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL  
ANALYSIS, RAT : FEMALE ( 2-YEAR STUDY )

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX N 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR :  
SUMMARY, RAT : MALE : ALL ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX N 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR :  
SUMMARY, RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX N 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR :  
SUMMARY, RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX N 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR :  
SUMMARY, RAT : FEMALE : ALL ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX N 5 HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR :  
SUMMARY,RAT:FEMALE: DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX N 6 HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR :  
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS  
( 2-YEAR STUDY )
- APPENDIX O 1 IDENTITY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE IN THE 2-YEAR  
INHALATION STUDY
- APPENDIX O 2 STABILITY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE IN THE 2-YEAR  
INHALATION STUDY
- APPENDIX P 1 CONCENTRATION OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE IN THE  
INHALATION CHAMBER OF THE 2-YEAR INHALATION STUDY
- APPENDIX P 2 ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER  
IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF  
*N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX Q 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND  
URINALYSIS IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF  
*N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- APPENDIX Q 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND  
BIOCHEMISTRY IN THE 2-YEAR INHALATION STUDY OF  
*N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE

## 要約

*N,N*-ジメチルホルムアミド（以下、DMF と記載）のがん原性を検索する目的で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。

試験には F344/DuCrj(Fischer)ラットを用い、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で雌雄各群 50 匹（合計 400 匹）を使用した。投与は DMF 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に 200ppm、400ppm、800ppm とした。また、観察、検査項目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。

投与の結果、最終計測週（104 週）における生存率は、雄では投与群と対照群の間に差はなかったが、雌では 800ppm 群の 10 例が 21 週までに死亡したため、生存率は対照群に比べ低下した。体重増加の抑制は雌雄とも全投与群でみられ、摂餌量の低値が雄の 800ppm 群と雌の全投与群でみられた。病理組織学的検査では、肝臓の肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が雌雄ともに認められた。下垂体の腺腫の発生減少が雌雄に、甲状腺の C-細胞腺腫及び乳腺の線維腺腫の発生減少が雌に認められた。非腫瘍性病変は、肝臓腫瘍の前腫瘍性変化と考えられる肝臓の小増殖巣（明細胞性、好酸性及び好塩基性）の増加が雌雄に、混合性小増殖巣の増加が雄にみられた。また、肝海綿状変性が雄にみられた。さらに、肝小葉中心性の壊死が雌雄にみられ、特に重度のものは早期に死亡した例にみられた。その他の臓器では、胸腺、脾臓、骨髄、腎臓及び骨に変化がみられた。

以上のように、DMF の投与により、雌雄ともに肝臓の肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められ、この結果は DMF の F344/DuCrj(Fischer)ラットの雌雄に対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

*N,N*-ジメチルホルム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	200	400	800	ベト一定 検 定	コクラン アミテー ジ検定
	検 査 動 物 数		50	50	50	50		
良性腫瘍	皮下組織	線維腫	4	7	1	2	↑ ↑	↑ ↑ ↓ ↓
	肺	気管支 - 肺胞上皮腫	3	2	1	1		
	肝臓	肝細胞腺腫	1	3	13**	20**		
	下垂体	腺腫	9	17	4	3		
	甲状腺	C-細胞腺腫	10	8	9	5		
	副腎	褐色細胞腫	1	5	4	1		
	精巣	間細胞腫	44	43	46	42		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	3	2	3	4	↑ ↑	↑ ↑
	肝臓	肝細胞癌	0	1	0	24*		
	肝臓	肝細胞腺腫／肝細胞癌	1	4	13**	33**	↑ ↑	↑ ↑

*N,N*-ジメチルホルム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	200	400	800	ベト一定 検 定	コクラン アミテー ジ検定
	検 査 動 物 数		49	50	50	50		
良性腫瘍	肝臓	肝細胞腺腫	1	1	5	16**	↑ ↑	↑ ↑ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓
	下垂体	腺腫	23	20	13*	4**		
	甲状腺	C-細胞腺腫	7	4	2	0**		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	3	7	11	1		
	乳腺	線維腺腫	7	5	0**	0**		
	卵巣	顆粒膜-莢膜細胞腫	3	0	0	0		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	4	5	9	4	↑ ↑	↑ ↑
	肝臓	肝細胞癌	0	0	0	5*		
	肝臓	肝細胞腺腫／肝細胞癌	1	1	5	19**	↑ ↑	↑ ↑ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓
	甲状腺	C-細胞腺腫／C-細胞癌	8	4	2*	1*		
	甲状腺	濾胞状腺腫／濾胞状癌	3	1	0	0		
	乳腺	腺腫／線維腺腫	7	7	0**	0**		

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

- \* : 有意水準5%以下で有意      \*\* : 有意水準1%以下で有意 (フィッシャー検定)  
 ↑ : 有意水準5%以下で有意増加    ↑↑ : 有意水準1%以下で有意増加 (ベト、コクランアミテージ検定)  
 ↓ : 有意水準5%以下で有意減少    ↓↓ : 有意水準1%以下で有意減少 (コクランアミテージ検定)



I 試験材料

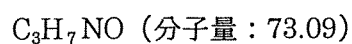
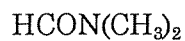
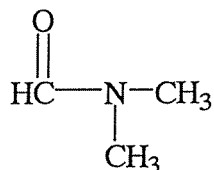
I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称

名 称 : *N,N*-ジメチルホルムアミド(*N,N*-Dimethylformamide)

CAS No. : 68-12-2

I-1-2 構造式、示性式、分子量



I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 微アミン臭をもつ揮発性の無色透明の液体

沸 点 : 153°C(760Torr)

融 点 : < -61°C

比 重 : 0.95(20°C)

蒸 気 圧 : 356Pa(20°C)

溶 解 性 : 水には溶解、各種有機溶剤に可溶

保存条件 : 室温、遮光条件下で気密容器に保管

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：CAL4288（1995年10月23日～1995年11月13日）

SKH4945（1995年11月14日～1996年10月30日）

LEK4984（1996年10月31日～1997年10月17日）

製造元：和光純薬工業株式会社

グレード：和光特級

純度：99.8%以上

## 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、ロットごとにマススペクトル、赤外吸収スペクトルの測定を実施した。測定した被験物質のマススペクトル及び赤外吸収スペクトルはそれぞれの文献値（文献1, 2）と比較し、被験物質の特性・同一性を確認した。なお、それらの結果について、APPENDIX O 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フ分析を実施し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果については、APPENDIX O 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)（神奈川県厚木市下古沢 795 番地）のF344/DuCrj(Fischer)ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 248 匹を生後 4 週齢で導入し（導入時体重範囲、雄:54～67g、雌:52～63g）、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見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:119～137g、雌:94 ～105g）を選別し、試験に供した。

## II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。すなわち吸入チャンバー内に設定濃度に調整した DMF を含む新鮮空気を送り込み、試験動物に全身暴露した。投与期間は 104 週間とし、1 日 6 時間、1 週 5 日間（祝祭日を除く）、暴露を行った。なお、対照群の動物には新鮮空気のみを暴露した。

投与期間中の総暴露回数は 104 週間で 488 回であった。

#### II-1-2 投与濃度及び設定理由

13 週間試験（試験番号：0275）の結果（文献 3）、雌雄とも死亡はみられず、800ppm 群で雌雄ともに体重増加の抑制、肝臓の重量増加及び肝臓の単細胞壊死や中心性腫脹などが認められ、投与の影響はおもに 800ppm の肝臓にみられた。しかし、肝臓は障害に対して自己再生能の高い臓器であることから、800ppm の濃度でも 2 年間の投与に耐える可能性が高いと考えられた。また、Malley ら（文献 4）は 400ppm の濃度で 2 年間の実験を行っており、生存数や一般症状に対する影響がなく、腫瘍の発生がないという報告をしている。これらのことを考慮し、がん原性試験の設定濃度は、雌雄とも最高濃度を 800ppm とし、以下 400ppm、200ppm（公比 2）とした。

#### II-1-3 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。各設定濃度のうち 200ppm を発生する際は、発生容器内の DMF を循環式恒温槽で加熱（50℃）しながら、加熱（40℃）した清浄空気のパブリングにより蒸発させた。400ppm と 800ppm を発生する際は、発生容器内の DMF を循環式恒温槽で加熱（50℃）しながら、加熱（40℃）した清浄空気により噴霧ノズルで発生容器内に噴霧し、蒸発させた。蒸発した DMF は流量計を用いて一定量を吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。吸入チャンバー内の DMF の濃度はガスクロマトグラフにより監視しながら、吸入チャンバーへの供給流量を調節することにより、チャンバー内濃度を設定濃度に調整した。

#### II-1-4 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の DMF の濃度は自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフを用い、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。測定結果を APPENDIX P 1 に示した。

各投与群における被験物質濃度の測定結果（平均値±標準偏差）は、200ppm 群：200.8±4.9ppm、400ppm 群：399.9±12.5ppm、800ppm 群：800.3±26.1ppm であり、各投与群ともに設定濃度に近似した値であった。

#### 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 50 匹の動物を用いた。

群番号	群名称	雄使用動物数（動物番号）	雌使用動物数（動物番号）
0	対照群	50 匹（1001-1050）	50 匹（2001-2050）
1	200ppm 群	50 匹（1101-1150）	50 匹（2101-2150）
2	400ppm 群	50 匹（1201-1250）	50 匹（2201-2250）
3	800ppm 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、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 5）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布を行い、またケージにも個体識別番号を付けた。投与期間においては耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室に収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

##### II-2-3 飼育条件

動物は検疫室で 1 週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び投与期間中は、動物を吸入

チャンバー内で飼育した。吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に、その計測結果を APPENDIX P 2 にそれぞれ示した。吸入チャンバー室の環境条件は、温度  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、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 15~17 回/時、吸入チャンバー内の環境条件は、温度  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 15\%$ 、飼育中換気回数  $12 \pm 1$  回/時、暴露中換気回数  $6 \pm 0.5$  回/時に設定した。その結果、吸入チャンバーの環境はすべて設定条件の範囲内であった。

また、検疫期間中は 1 ケージ当たり 5 匹の群飼（ステンレス製網ケージ、 $340\text{W} \times 294\text{D} \times 176\text{H mm}$ ）、馴化期間中（ステンレス製六連ケージ、 $125\text{W} \times 216\text{D} \times 176\text{H mm}$ ）、投与期間中（ステンレス製五連ケージ、 $150\text{W} \times 216\text{D} \times 176\text{H mm}$ ）、ともに単飼とした。なお、ケージは 2 週間毎に交換した。

飼料は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（ $3\text{Mrad}=30\text{KGy}$ - $\gamma$  線照射滅菌飼料）を全飼育期間を通して、固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は全飼育期間を通して市水（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、飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)の自社分析データを、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 番 1 号）の分析データを使用ロットごとに入手し、また飲料水については(財)食品薬品安全センター（神奈川県秦野市落合 729-5）に 3 ヶ月毎に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と比較して異常のないことを確認した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

### II-3-1 動物の一般状態の観察

投与期間中は毎日 1 回、動物の生死及び瀕死動物を確認した。さらに、一般状態の観察を全動物について週 1 回行った。

### II-3-2 体重測定

投与開始 1 週目は 2 回、その後 14 週間までは週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）、体重を測定した。なお、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖の搬出時にも体重を測定した。

### II-3-3 摂餌量測定

投与開始後 14 週間は週に 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）給餌量と残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

### II-3-4 血液学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2K 入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18 時間以上）させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX Q 1 に示した。

### II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、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血液生化学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18 時間以上）させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX Q 1 に示した。

### II-3-6 尿検査

投与期間後期まで生存した動物について、新鮮尿を採取し尿検査を行った。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX Q 1 に示した。

### II-3-7 病理学的検査

#### (1) 剖検

全動物について肉眼観察により剖検した。

#### (2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について TABLE 1 に示した臓器の実重量を測定した。また、定期解剖時の体重に対する百分率（体重比）を算出した。

### (3) 病理組織学的検査

全動物の臓器を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE 1 に示した臓器及び肉眼的に変化がみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて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（第 1 レベル）、切歯乳頭（第 2 レベル）、第一臼歯の前端（第 3 レベル）の 3 ヶ所で切り出し（横断）、検査した。

## II-4 数値処理と統計学的方法

### II-4-1 数値の取り扱いと表示

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位とし、小数点以下 4 位までを測定し、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。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 位まで計測し、小数点以下第 1 位を四捨五入して整数値で表示した。

摂餌量については g を単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第 1 位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、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。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、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、血液生化学的検査については APPENDIX Q 2 に示した精度により表示した。A/G 比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、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。

なお、各数値データにおいて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 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数より除いた。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とした。剖検と病理組織学的検査データは、各群の有効動物数（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)を母数とした。ただし、腫瘍性病変については臓器別に、検査不能臓器をもつ動物数を除いたものを母数とした。

#### II-4-3 統計処理

本試験で得られた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。

予備検定については 5% の有意水準で両側検定を行い、最終検定では 5% 及び 1% で両側検定を行った。

なお、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 として  $\chi^2$  検定を行った。また、尿検査についても  $\chi^2$  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、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto 検定 (文献 6)、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。

$\chi^2$  検定と Fisher 検定は対照群と各投与群間の検定である。

各群雌雄毎に検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

注： Peto 検定に用いるコンテックス

- 0：定期解剖例にみつかった腫瘍
- 1：死亡/瀕死例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/瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

#### II-5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質その他本試験に係る資料は試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後 10 年間とする。



### III 試験成績

#### III-1 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 2, 3 及び FIGURE 2, 3 に示した。

雄では、800ppm 群で 13 週までに 3 例（1、8 及び 13 週に各 1 例）が死亡した。しかし、最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、対照群：42/50 例(84.0%)、200ppm 群：38/50 例(76.0%)、400ppm 群：40/50 例(80.0%)、800ppm 群：37/50 例(74.0%)であり、投与群と対照群との間に顕著な差はみられなかった。

雌では、800ppm 群で 21 週までに 10 例（1 週に 1 例、2 週に 3 例、9、12、16、19、20 及び 21 週に各 1 例）が死亡した。最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、対照群：42/49 例(85.8%)、200ppm 群：38/50 例(76.0%)、400ppm 群：38/50 例(76.0%)、800ppm 群：30/50 例(60.0%)であり、800ppm 群の生存率は対照群に比べて低かった。

なお、雌の対照群の 1 例（動物番号 0296-2048）は事故死亡のため、有効動物数から除いた。

#### III-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、外部腫瘍と内部腫瘍の発生動物数を TABLE 4, 5 に示した。

投与期間を通しての外部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：10/50 例、200ppm 群：16/50 例、400ppm 群：9/50 例、800ppm 群：4/50 例、雌では対照群：11/49 例、200ppm 群：9/50 例、400ppm 群：3/50 例、800ppm 群：4/50 例であり、雄の 800ppm 群と雌の 400ppm 以上の群で減少していた。

投与期間を通しての内部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：1/50 例、200ppm 群：1/50 例、400ppm 群：3/50 例、800ppm 群：2/50 例、雌では対照群：3/49 例、200ppm 群：4/50 例、400ppm 群：8/50 例、800ppm 群：6/50 例であり、雌雄とも投与群と対照群の間に顕著な差がみられなかった。

その他の一般状態には、雌雄とも投与群と対照群との間に特記すべき差を認めなかった。

#### III-3 体重

投与期間中における群別の体重推移を TABLE 2, 3、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

雄では全投与群で投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。200ppm 群は 1 週目で体重増加の抑制がみられ、一時回復したものの対照群より低い値で推移し、58 週以降の

多くの週で対照群と比較して有意な低値を示した。また、400ppm 群と 800ppm 群では全期間を通して有意な低値を示した。

雌でも全投与群で投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。200ppm 群は 1 週目で体重増加の抑制がみられ、その後対照群よりやや低い値で推移し、6 週以降 103 週までのほとんどの週で有意な低値を示した。また、400ppm 群と 800ppm 群では全期間を通して有意な低値を示した。

なお、最終計測時の体重は、対照群に対して雄は 200ppm 群：93%、400ppm 群：87%、800ppm 群：76%、雌は 200ppm 群：92%、400ppm 群：77%、800ppm 群：71%であった。

### III-4 摂餌量

投与期間中における群別の摂餌量（1 日 1 匹当たりの摂餌量）を TABLE 6, 7、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雄では投与開始から 1 週目に全投与群で摂餌量の有意な低値がみられた。その後、200ppm 群と 400ppm 群は散発的に有意な低値がみられた週もあったが、対照群に近い値で推移し、800ppm 群はほとんどの週で有意な低値であった。

雌でも投与開始から 1 週目に全投与群で摂餌量の有意な低値がみられた。その後、200ppm 群は対照群より低い値で推移し、13～78 週の多くの週で有意な低値がみられた。また、400ppm 群はほとんどの週で有意な低値、800ppm 群ではすべての週で有意な低値であった。

### III-5 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果を APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、MCV の減少が 400ppm 以上の群に、血小板数の増加が 800ppm 群に認められた。なお、赤血球数、リンパ球比、MCH 及び分葉核好中球比にも統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、MCV と MCH の減少が全投与群に、赤血球数の増加とヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の減少が 400ppm 以上の群、血小板数の増加が 800ppm 群に認められた。なお、杆状核好中球比とリンパ球比にも統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

### III-6 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果を APPENDIX E 1, 2 に示した。

雄では、総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの増加、GPT 活

性、 $\gamma$ -GTP活性及びGOT活性の上昇ならびにナトリウムの減少が全投与群に認められた（ただし、GOT活性は200ppm群で上昇しているが統計的な有意差は示していない）。さらに、ALP活性の上昇が400ppm以上の群に、グルコースの減少とLDH活性の上昇が800ppm群に認められた。また、尿素窒素と無機リンの増加が200ppm群と800ppm群に認められた。なお、総蛋白、アルブミン、A/G比、トリグリセライド及びCPK活性にも統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。なお、ナトリウムの減少は全投与群で認められたが対照群とほとんど変わらない値であった。

雌では、総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質及び尿素窒素の増加、GPT活性、 $\gamma$ -GTP活性及びGOT活性の上昇が全投与群に認められ（ただし、GOT活性は800ppm群で上昇しているが統計的な有意差は示していない）、ALP活性の上昇が400ppm以上の群に、CPK活性の上昇及びカリウムと無機リンの増加が800ppm群に認められた。

### III-7 尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果をAPPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、ケトン体の陽性例の増加が400ppm群に認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、pHの低下、蛋白の陽性度の上昇及びケトン体の陽性例の増加が800ppm群に認められた。

### III-8 病理学的検査

#### III-8-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX G 1~6 に示した。

雌雄とも肝臓の結節と白色斑が投与群に多くみられた。

雄では肝臓の結節（対照群：2/50例、200ppm群：3/50例、400ppm群：17/50例、800ppm群：41/50例）、と白色斑（対照群：0/50例、200ppm群：5/50例、400ppm群：8/50例、800ppm群：23/50例）が投与群に多く認められた。また、投与開始から8週以内に死亡した800ppm群の2例に、肝臓の肝小葉像明瞭化や赤色斑がみられた。その他、下垂体の腫大や精巣の結節がみられる例が投与群で減少していた。

雌でも肝臓の結節（対照群：3/49例、200ppm群：6/50例、400ppm群：14/50例、800ppm群：31/50例）、と白色斑（対照群：1/49例、200ppm群：6/50例、400ppm群：15/50例、800ppm群：10/50例）が投与群に多く認められた。また、投与開始から21週以内に死亡した800ppm群の10例に、胸水や腹水、胸腺の赤色斑、赤色化及び萎縮、肝臓の肝小葉像明瞭化、赤色

斑及び白色斑、脾臓の黒色斑あるいは胃の漿膜面の赤色斑がみられた。その他、下垂体の腫大や皮下の腫瘤がみられる例が投与群で減少していた。

### 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 APPENDIX H 1, 2, I 1, 2 に示した。

雄では肝臓と脾臓に実重量の高値が 200ppm 群と 800ppm 群、体重比の高値が全投与群で認められた。

雌では肝臓に実重量の高値が 200ppm 群と 800ppm 群、体重比の高値が全投与群、脾臓に実重量の高値が 200ppm 群、体重比の高値が全投与群で認められた。

その他、雌雄ともに心臓、肺、腎臓、副腎及び脳に実重量の低値や体重比の高値、また、雄の精巣と雌の卵巣に実重量の低値がみられた。なお、解剖時体重は雌雄ともに全投与群で有意な低値を示した。

### III-8-3 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX J 1~6 に示した。腫瘍性病変の結果は APPENDIX K 1, 2 に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX L 1, 2 に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX M 1, 2 に統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)、APPENDIX N 1~6 に転移性病変について示した。

#### —主な腫瘍性病変—

主な腫瘍の結果を TABLE 8, 9 に示した。

#### <肝臓>

雄の肝細胞腺腫の発生 (対照群: 1/50 例、200ppm 群: 3/50 例、400ppm 群: 13/50 例、800ppm 群: 20/50 例) は Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400ppm 群と 800ppm 群に有意な増加が認められた。また、肝細胞癌の発生 (対照群: 0/50 例、200ppm 群: 1/50 例、400ppm 群: 0/50 例、800ppm 群: 24/50 例) は Peto 検定 (有病率法、死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群に有意な増加が認められた。なお、これら肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生 (対照群: 1/50 例、200ppm 群: 4/50 例、400ppm 群: 13/50 例、800ppm 群: 33/50 例) も Peto 検定 (有病率法、死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400ppm 群と 800ppm 群は有意な増加を示した。

雌の肝細胞腺腫の発生 (対照群: 1/49 例、200ppm 群: 1/50 例、400ppm 群: 5/50 例、

800ppm 群：16/50 例）と肝細胞癌の発生（対照群：0/49 例、200ppm 群：0/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：5/50 例）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 800ppm 群に有意な増加が認められた。なお、これら肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：1/49 例、200ppm 群：1/50 例、400ppm 群：5/50 例、800ppm 群：19/50 例）も Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群は有意な増加を示した。

#### <下垂体>

雄の腺腫（対照群：9/50 例、200ppm 群：17/50 例、400ppm 群：4/50 例、800ppm 群：3/50 例）及び腺腫と腺癌を合わせた発生（対照群：9/50 例、200ppm 群：17/50 例、400ppm 群：5/50 例、800ppm 群：3/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

雌の腺腫（対照群：23/49 例、200ppm 群：20/50 例、400ppm 群：13/50 例、800ppm 群：4/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群に有意な減少が認められた。

#### <甲状腺>

雌の C-細胞腺腫（対照群：7/49 例、200ppm 群：4/50 例、400ppm 群：2/50 例、800ppm 群：0/50 例）及び C-細胞腺腫と C-細胞癌を合わせた発生（対照群：8/49 例、200ppm 群：4/50 例、400ppm 群：2/50 例、800ppm 群：1/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群に有意な減少が認められた。さらに、雌の濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生（対照群：3/49 例、200ppm 群：1/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：0/50 例）も Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

#### <乳腺>

雌の線維腺腫（対照群：7/49 例、200ppm 群：5/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：0/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 400ppm 群と 800ppm 群に有意な減少が認められた。なお、線維腺腫以外の乳腺腫瘍については、200ppm 群に腺腫 2 例と腺癌 2 例が発生しており、線維腺腫にこれらの腫瘍を加えた統計検定の結果も線維腺腫のみの結果と同様であった。

#### <卵巣>

雌の顆粒膜-莢膜細胞腫（対照群：3/49 例、200ppm 群：0/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：0/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

その他、雌の一部の群で子宮内膜間質性ポリープの発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

### －非腫瘍性病変－

主な非腫瘍性病変の結果を TABLE 10, 11 に示した。

#### <肝臓>

雄では、明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の群、好塩基性小増殖巣と混合性小増殖巣が 800ppm 群で増加した。また、肝海綿状変性が全投与群で増加を示した。さらに、統計学的な有意差は示されなかったが、小葉中心性の壊死が 800ppm 群の 5 例（重度 3 例、中等度 2 例）にみられた。このうち小葉中心性の壊死で重度の 3 例はいずれも投与開始から 13 週以内の死亡動物であり、小葉中心性の壊死が死因となっており、中等度 2 例のうち 1 例は死亡動物、1 例は定期解剖時まで生存した動物であった。小葉中心性の壊死は 200ppm 群でも 5 例（全例とも中等度）にみられ、対照群（重度 1 例）との間に統計学的な有意差が示されたが、400ppm 群には発生がみられなかった。

雌では、明細胞性小増殖巣が全投与群、好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の群、好塩基性小増殖巣が 200ppm 群と 800ppm 群で増加を示した。小葉中心性の壊死は 800ppm 群の 13 例（全例とも重度）にみられ、いずれも小葉中心性の壊死による死亡/瀕死例であり、このうち 10 例は投与開始から 21 週以内の死亡動物であった。

#### <胸腺>

出血が雌の 800ppm 群で増加したが、これらはいずれも死亡例のみにみられ、特に投与開始から 21 週以内に死亡した 10 例では 8 例にみられた。

#### <骨髓>

鬱血が雌の 800ppm 群で、肉芽が雌の 400ppm 以上の群で増加した。この中で鬱血は雌の 800ppm 群の死亡例だけにみられ、特に投与開始から 21 週以内に死亡した 10 例では全例にみられた。

#### <鼻腔>

鉍質沈着が雄の全投与群で程度の増強を示し、異物性鼻炎が雄の 800ppm 群で減少、嗅上皮のエオジン好性変化が雄の 800ppm 群で程度の増強、雌の全投与群で程度の減弱を示した。

#### <脾臓>

ヘモジデリンの沈着と髄外造血が雌の 800ppm 群で減少した。

#### <腎臓>

好酸体の出現が雄の 400ppm 以上の群で増加、慢性腎症が雄の 800ppm 群で程度の増強を示した。なお、雌の慢性腎症が 200ppm 群と 400ppm 群で程度の減弱を示した。

## &lt;骨&gt;

骨硬化症が雌の 800ppm 群で減少した。

## &lt;下垂体&gt;

嚢胞が雄の 800ppm 群で減少した。

その他、雌雄の一部の群で肝臓の空胞性小増殖巣、胆管線維症及びリンパ球浸潤、鼻腔の硬質沈着、喉頭の炎症、心臓の心筋線維症、腎臓の硝子滴の出現、甲状腺の C-細胞過形成、副腎の髓質の過形成、皮質の巣状脂肪変性、前立腺の過形成ならびに眼の網膜萎縮の発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

## III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 12 に示した。

雄の 800ppm 群では投与開始から 13 週以内に 3 例の死亡動物がみられ、これらの死因は肝臓病変であった。また、肝臓腫瘍を死因とした例が 400ppm 群に 2 例と 800ppm 群に 3 例みられた。

雌の 800ppm 群では投与開始から 21 週以内に 10 例の死亡動物がみられ、これらを含む 13 例の死因は肝臓病変であった。また、肝臓腫瘍を死因とした例が 400ppm 群に 1 例みられた。

#### IV 考察及びまとめ

##### IV-1 生死状況、死因、一般状態、体重、摂餌量

雄の生存率には投与群と対照群の間に差はみられず、雌は 800ppm 群で生存率が低下した。

雄では、800ppm 群は投与開始から 13 週以内に 3 例が死亡し（1、8 及び 13 週に各 1 例）、死因はすべて肝臓病変（重度の肝小葉中心壊死）であった。なお、肝臓腫瘍を死因とする例が 400ppm 群に 2 例、800ppm 群に 3 例みられたが、最終計測週（104 週）の生存率は投与群と対照群の間に顕著な差を認めなかった。

雌では、800ppm 群は投与開始から 21 週以内に 10 例が死亡し（1 週に 1 例、2 週に 3 例、9、12、16、19、20 及び 21 週に各 1 例）、死因はすべて肝臓病変（重度の肝小葉中心壊死）であった。肝臓病変を死因とする例はこれ以降にも 3 例みられ、この肝臓病変による死亡の増加で最終計測週（104 週）の 800ppm 群の生存率は低下したと考えた。なお、肝臓腫瘍を死因とする例は 400ppm 群に 1 例みられた。

体重は、雌雄とも全投与群で投与濃度に対応した増加抑制を示した。雌雄とも投与開始 1 週目では全投与群で体重増加の抑制がみられ、その後雌雄とも 200ppm 群は一時回復するが、雄では 58 週以降、雌では 6 週以降で体重増加の抑制が認められた。雌雄の 400ppm 以上の群では、投与期間を通して投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられた。

摂餌量は、雌雄とも投与開始 1 週目は全投与群で低値がみられた。その後、雄では 400ppm 以下の群は回復し対照群とほぼ変わらない値で推移したが、800ppm 群では低値で推移し、雌では投与濃度に対応した低値で推移した。

##### IV-2 腫瘍性病変

肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加及び下垂体の腺腫の発生減少が雌雄に認められた。また、雌ではこれに加えて甲状腺に C-細胞腺腫及び濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生の減少、乳腺に線維腺腫と卵巣に顆粒膜-莢膜細胞腫の発生減少がみられた。

##### <肝臓>

雄の肝細胞腺腫の発生（対照群：1/50 例、200ppm 群：3/50 例、400ppm 群：13/50 例、800ppm 群：20/50 例）は投与濃度に対応して増加し、また、肝細胞癌の発生（対照群：0/50 例、200ppm 群：1/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：24/50 例）は 800ppm 群で顕著に増加していた。統計学的には、両腫瘍とも Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で肝細胞腺腫は 400ppm 群と 800ppm 群、肝細胞癌は 800ppm 群に有意な増加が認められた。なお、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：1/50



例、200ppm 群：4/50 例、400ppm 群：13/50 例、800ppm 群：33/50 例）も Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400ppm 群と 800ppm 群に有意な増加が認められた。当センターで行われた試験の対照群における発生（ヒストリカルコントロールデータ：文献 7）では、雄の肝細胞腺腫の各試験における発生率は 0-6%の範囲（平均 1.9%、19/999 例）、肝細胞癌の発生率は 0-2%（平均 0.3%、3/999 例）の範囲であり、肝細胞腺腫は 400ppm 群と 800ppm 群、肝細胞癌は 800ppm 群でこの上限を超えていた。これらのことから、本試験における雄の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加は被験物質の投与による影響と考えた。

雌においても、肝細胞腺腫の発生（対照群：1/49 例、200ppm 群：1/50 例、400ppm 群：5/50 例、800ppm 群：16/50 例）は投与濃度に対応して増加し、肝細胞癌の発生（対照群：0/49 例、200ppm 群：0/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：5/50 例）は 800ppm 群で顕著に増加していた。統計学的にも、雄と同様に、両腫瘍とも Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群に有意な増加が認められた。また、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生（対照群：1/49 例、200ppm 群：1/50 例、400ppm 群：5/50 例、800ppm 群：19/50 例）も Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群に有意な増加が認められた。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、雌の肝細胞腺腫の各試験における発生率は 0-6.1%（平均 1.3%、12/898 例）、肝細胞癌の発生率は 0-2%（平均 0.1%、1/898 例）の範囲であり、肝細胞腺腫は 400ppm 群と 800ppm 群、肝細胞癌は 800ppm 群でこの上限を超えていた。これらのことから、雌でみられた肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加も被験物質の投与による影響と考えた。

以上のように、*N,N*-ジメチルホルムアミド（DMF）の投与によって雌雄ともに肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生が増加した。良性腫瘍である肝細胞腺腫と悪性腫瘍である肝細胞癌の発生はいずれも投与濃度に対応して顕著な増加を示した。これらの結果は NTP のがん原性の評価基準（文献 8）におけるがん原性を示す明確な証拠（clear evidence）の条件、すなわち「悪性腫瘍の投与濃度に対応した顕著な発生増加」と「良性腫瘍と悪性腫瘍をあわせた腫瘍の投与濃度に対応した顕著な発生増加」の両方に相当している。したがって、肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加は DMF のラットの雌雄に対するがん原性を示す明らかな証拠（clear evidence）と考えた。

#### <下垂体>

雄の腺腫の発生（対照群：9/50 例、200ppm 群：17/50 例、400ppm 群：4/50 例、800ppm 群：3/50 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、雄の腺腫の各試験における発生率は 20-52%（平均 34.5%、343/995 例）の範囲であり、本試験の発生率は対照群（18%）、400ppm 群（8%）及び 800ppm 群（6%）でヒストリカルコントロールデータの範囲の下限を下まわっていた。本試験の対

照群の発生率はヒストリカルコントロールデータの最低発生率よりやや低い値であり、本試験の雄全体に腺腫の自然発生が抑制される要因があった可能性がある。しかし、400ppm 群と 800ppm 群の発生率はさらに低い値であることから、本試験における雄の下垂体腺腫の発生減少は被験物質の投与による影響と考えるのが妥当であろう。

雌の腺腫の発生（対照群：23/49 例、200ppm 群：20/50 例、400ppm 群：13/50 例、800ppm 群：4/50 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 800ppm 群に有意な減少が認められた。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、雌の腺腫の各試験における発生率は 19-71.4%（平均 41.3%、370/896 例）の範囲であり、800ppm 群でこの下限を下まわっていた。これらのことから、本試験における雌の下垂体腺腫の発生減少は、被験物質の投与による影響と考えた。

#### <乳腺>

雌の線維腺腫の発生（対照群：7/49 例、200ppm 群：5/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：0/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、Fisher 検定で 400ppm 群と 800ppm 群に有意な減少が認められた。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、雌の線維腺腫の各試験における発生率は 0-20（平均 9.4%、84/898 例）の範囲であり、過去の試験の対照群にも本試験の 400ppm 群や 800ppm 群と同様に線維腺腫の発生がなかったものがある。しかし、過去の 18 試験の対照群の中で発生がなかったのは 1 試験だけであることから、400ppm 群と 800ppm 群に発生がみられなかったことは稀な現象と考えられ、本試験における乳腺の線維腺腫の発生減少は被験物質の投与による影響を否定できないと考えた。

#### <甲状腺>

雌の C-細胞腺腫の発生（対照群：7/49 例、200ppm 群：4/50 例、400ppm 群：2/50 例、800ppm 群：1/50 例）が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示し、800ppm 群に Fisher 検定で有意な減少が認められた。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、雌の C-細胞腺腫の各試験における発生率は 0-14.1%（平均 8.9%、80/893 例）の範囲であり、過去の試験の対照群にも本試験の 800ppm 群の発生率（2%）を下回るものがある。しかし、過去の 18 試験の対照群の中で発生率が 2%以下であったのは 1 試験だけであることから、800ppm 群の発生率 2%は稀な現象と考えられ、本試験における C-細胞腺腫の発生減少は被験物質の投与による影響を否定できないと考えた。また、雌の濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生（対照群：3/49 例、200ppm 群：3/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：0/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。しかし、当センターのヒストリカルコントロールデータでは雌の濾胞状腺腫と濾胞状腺癌の発生率はそれぞれ 1.0%（9/893 例）と 0.5%（4/893 例）と低く、過去の 18 試験の対照群の中で 9 試験は両腫瘍の発生がないことから、本試験で観察された濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生の減少

は被験物質の投与による影響とは言えないと考えた。

#### < 卵巣 >

雌の顆粒膜-莢膜細胞腫の発生（対照群：3/49 例、200ppm 群：0/50 例、400ppm 群：0/50 例、800ppm 群：0/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。しかし、当センターのヒストリカルコントロールデータでは顆粒膜-莢膜細胞腫の発生率は 0.4%（4/898 例）と低く、過去 18 試験の対照群の中で 14 試験にこの腫瘍の発生がみられないことから、本試験で観察された顆粒膜-莢膜細胞腫の発生減少は被験物質の投与による影響とは言えないと考えた。

以上のように、雌雄の下垂体と雌の甲状腺及び乳腺に腫瘍の発生減少がみられた。これらの腫瘍の発生減少は、雌雄の 400ppm 以上の群に摂餌量の減少に伴う体重増加抑制があり、この影響が考えられるが、投与群で肝臓腫瘍が多く発生していることから、肝臓腫瘍の発生増加による二次的な減少の可能性も考えられた。

#### IV-3 非腫瘍性病変

肝臓、腎臓、鼻腔、骨髓、胸腺、脾臓、骨及び下垂体の非腫瘍性病変に投与群と対照群の間で発生之差が認められた。

肝臓では、雄に明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣、好塩基性小増殖巣、混合性小増殖巣、肝海綿状変性及び小葉中心性の壊死、雌に明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣、好塩基性小増殖巣及び小葉中心性の壊死の増加がみられた。これらの所見のうち、各種の小増殖巣は肝臓腫瘍の前腫瘍性変化であると報告されている（文献 9）。雄では明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の群、好塩基性小増殖巣と混合性小増殖巣が 800ppm 群で増加しており、肝臓腫瘍の増加は 400ppm 以上の群でみられることから、雄では小増殖巣と肝臓腫瘍は同じ濃度群の 400ppm 以上で増加を示した。これに対し、雌では好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の群、明細胞性小増殖巣と好塩基性小増殖巣が 200ppm 以上の群で増加しており、肝臓腫瘍の増加は 400ppm 以上の群でみられることから、雌では小増殖巣は肝臓腫瘍発生より低い 200ppm の濃度群から増加を示した。また、肝海綿状変性は、肝臓腫瘍を起こす物質を投与した際、腫瘍の発生に伴って高率に発生すると報告されており（文献 9）、雄では 200ppm 群まで発生増加がみられたが、雌では認められなかった。このほか肝臓にみられた病変として小葉中心性の壊死があり、重度な例が 800ppm 群の雄 3 例と雌 13 例にみられたが、これらの動物はいずれも小葉中心性の壊死による死亡/瀕死例で、この中の雄 3 例は投与開始から 13 週以内、雌 10 例は 21 週以内の死亡動物であった。したがって、800ppm の濃度では肝細胞の壊死が起こり、一部の動物が試験期間の早期に死亡したと考えられた。この小葉中心性の壊死は、投与開始から 21 週以内に死亡した動物を除く

と、雄では 800ppm 群の生存例に 1 例みられただけであり、雌では中等度の小葉中心性の壊死が 200ppm 群の 5 例に観察されたが、400ppm 群にはみられないことから、200ppm 群にみられた小葉中心性の壊死については投与による影響とは言えなかった。以上のことから、DMF 投与による肝臓の壊死は早期に強く起こり、これが死因となるものの、長期間投与した動物には肝臓の壊死はみられなくなることが言える。また、投与濃度を設定するために行った 13 週間試験で、肝臓の単細胞壊死や肝細胞の腫脹、分裂像の増加等が観察されたが本試験では観察されなかった。

その他の臓器については、雄では鼻腔に鉍質沈着の増強が全投与群、腎臓に好酸体の出現の増加が 400ppm 以上の群で認められ、また、腎臓の慢性腎症の程度の増強、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化の増強と異物性鼻炎の減少が 800ppm 群でみられた。雌では鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の減弱が全投与群、骨髓に肉芽の増加が 400ppm 以上の群で認められ、脾臓のヘモジデリンの沈着と髄外造血及び骨の骨硬化症の減少が 800ppm 群でみられた。これらの所見はいずれも被験物質の投与による影響を否定できなかったが、毒性学的な意義については明らかでなかった。なお、胸腺の出血と骨髓の鬱血の増加が雌の 800ppm 群に認められたが、いずれの例も死亡動物にみられた所見であり、動物の死亡に伴う二次的な変化と考えられた。下垂体の嚢胞が雌の 800ppm 群で減少していたが、下垂体の嚢胞は先天性の要因により発生する所見であり（文献 10）、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。また、慢性腎症の程度の減弱が雌の 200ppm 群と 400ppm 群に認められたが、800ppm 群では対照群との間に差をみとめず、投与による影響とは言えなかった。

以上のように、非腫瘍性病変についても肝臓に顕著な影響がみられ、800ppm 群では、肝臓の小葉中心性の壊死による死亡例が、雄では投与開始から 13 週以内、雌では 21 週以内にみられたが、104 週間の投与終了時まで生存した動物では、肝臓に小葉中心性の壊死を含む壊死性変化の増加は認められなかった。また、雄では明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の群、好塩基性小増殖巣と混合性小増殖巣が 800ppm 群、雌では明細胞性小増殖巣と好塩基性小増殖巣が 200ppm 以上の群、好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の群に認められた。これらの変化は肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞癌の前腫瘍性病変とされている変化であり、雌雄とも肝細胞腫が 400ppm 群以上、肝細胞癌が 800ppm 群でみられているが、その前腫瘍性変化がみられる濃度は、雄で腫瘍発生と同じ 400ppm 以上、雌ではより低い 200ppm 以上であった。その他、肝臓では肝海綿状変性が 200ppm 以上の群がみられた。

#### IV-4 血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査

血液学的検査の結果、雌では全投与群に MCV、MCH の減少、400ppm 以上の群に赤血球数の増加、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の減少、800ppm 群に血小板数の増加が認められ、雄でも投与濃度に対応していないが MCV の減少と血小板数の増

加がみられた。これらの変化は 13 週間試験でも同様にみられていたことから、造血系に対する影響が継続して雌雄にみられたと考えたが、これらの意義については明らかではなかった。

血液生化学的検査の結果、雄では全投与群に総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの増加、GPT 活性、 $\gamma$ -GTP 活性及び GOT 活性の上昇、ならびにナトリウムの減少、さらに、400ppm 以上の群に ALP 活性の上昇、800ppm 群にはグルコースの減少と LDH 活性の上昇も認められた。雌では、全投与群に総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質及び尿素窒素の増加、GPT 活性、 $\gamma$ -GTP 活性及び GOT 活性の上昇（ただし、GOT 活性は雌の 800ppm 群で上昇しているが統計的有意差は示していない）、400ppm 以上の群に ALP 活性の上昇、800ppm 群には CPK 活性の上昇とカリウム及び無機リンの増加も認められた。特に、雌雄ともにみられた GPT 活性、 $\gamma$ -GTP 活性及び GOT 活性の上昇は被験物質投与による肝臓への影響を示すもので、肝臓の腫瘍性あるいは非腫瘍性病変の発生に対応した変化であると考えた。また、雄でみられたカルシウムの増加やナトリウムの減少、雌でみられた尿素窒素、カルシウム及び無機リンの増加は腎臓障害が考えられるが、病理組織学的検査では投与に伴う腎臓の変化は確認されなかった。

尿検査では、雌の 800ppm 群に pH の低下、蛋白の陽性度とケトン体の陽性例の増加が認められ、全身状態の悪化や腎臓に対する影響が考えられた。しかし、これらの変化はいずれもわずかな変化であり、病理組織学的検査でも投与に伴う腎臓の変化はみられなかった。

#### IV-5 他の文献との比較

ラットを使用した DMF の吸入経路による長期実験は Malley ら(1994) (文献 4) によって報告されている。Malley らは Crl:CD BR ラット（雌雄、各群 87 匹）に、DMF を 0、25、100、400ppm 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。なお、雌雄各群 10 匹は 12 ヶ月目に途中解剖した。その結果、400ppm 群で体重低下がみられたが生存率に影響はなく、肝重量の増加が濃度に対応して認められ、病理組織学的検査では、肝臓に軽度から中等度の中心性肥大と中心域へのリポフスチン/ヘモジデリンの出現が雌雄の 100ppm 以上の群、単細胞壊死が雄の 400ppm 群と雌の 100ppm 以上の群、肝海綿状変性 (focal cystic change) が雄の 100ppm 以上の群でみられ、さらに、明細胞性小増殖巣が雄の 100ppm 以上と雌の 400ppm 群、好酸性小増殖巣が雌の 400ppm 群で増加していたが、DMF の投与による腫瘍の発生増加はなかったと報告している。

当センターで実施した今回のがん原性試験では、DMF の吸入によりラットの肝臓に腫瘍発生（肝細胞腺腫、肝細胞癌）がみられ、Malley らの報告とは異なる結果が得られた。両報告の実験条件を比較すると、使用したラットの系統と吸入濃度が異なっていた。ラット

の系統は Malley らが Crl:CD BR ラットであるのに対し、当センターの試験では F344/DuCrj ラットであり、吸入濃度については、Malley らが 25、100 及び 400ppm であるのに対し、当センターの試験では 200、400 及び 800ppm であった。しかし、当センターの試験では Malley らの報告の最高濃度である 400ppm の濃度でも肝細胞腺腫の増加が認められることから、吸入濃度の設定の差だけで試験の結果が異なったとは考えられなかった。肝臓に対する腫瘍以外の影響は、前腫瘍性変化の小増殖巣については、Malley らの報告では、雄に明細胞性小増殖巣が 100ppm 以上、雌に明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が 400ppm 群でみられており、前腫瘍性病変と考えられる小増殖巣が増加していた。当センターの結果では、雄に明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣が 400ppm 以上、好塩基性小増殖巣と混合性小増殖巣が 800ppm、雌に明細胞性小増殖巣と好塩基性小増殖巣が 200ppm 群まで、好酸性小増殖巣が 400ppm 以上の濃度で増加していた。両報告とも前腫瘍性病変の小増殖巣の増加が認められ、Malley らの報告では、当センターと比較して雄ではより低い濃度まで認められるが、雌では大きな差はなく、小増殖巣の種類は当センターの方が多くみられた。また、その他の変化については、肝海綿状変性は、Malley らの報告では雄にのみ 100ppm 以上、当センターの試験も雄にのみ 200ppm まで観察され、ほぼ同じ結果を示した。また、Malley らの報告では肝臓の中心性肥大、リポフスチン/ヘモジデリンの出現、単細胞壊死が記載されており、当センターの結果でも肝細胞の腫脹、ヘモジデリンの沈着及び単細胞壊死は 104 週間試験では明らかでなくなるものの、13 週間投与では観察されていた（文献 3）。また、肝臓の重量増加は Malley らの報告と当センターの結果でともに最低濃度までみられた。

## V 結論

F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いて、*N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) の 2 年間 (104 週間) にわたる吸入によるがん原性試験を行なった。

その結果、雌雄とも肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加が認められ、この結果は DMF の F344/DuCrj(Fischer)ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。また、その前腫瘍性変化と考えられる肝臓の小増殖巣 (明細胞性、好酸性及び好塩基性) の増加が雌雄に、混合性小増殖巣の増加が雄に認められた。

## VI 文献

1. Heller, S. R. and Milne, G. W. A. (1978)  
EPA/NIH Mass Spectral Data Base Vol.1, p53  
U. S. Government Printing Office, Washington.
2. 和光純薬工業からの提供資料(1987)
3. 日本バイオアッセイ研究センター (1996)  
*N,N*-ジメチルホルムアミドのラット及びマウスを用いた吸入によるがん原性予備試験  
報告書  
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川
4. Malley, L.A., Slone, T.W., Jr., Van Pelt, C., Elliott, G.S., Ross, P.E., Stadler, J.C. and  
Kennedy, G.L., Jr. (1994)  
Chronic Toxicity/Oncogenicity of Dimethylformamide in Rats and Mice Following  
Inhalation Exposure.  
Fundamental Applied Toxicology, 23, 268-279
5. 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.
6. Peto, R., Pike, M. C., Day, N. E., Gray, R. G., Lee, P. N., Parish, S., Peto, J., Richrds,  
S. and Wahrendorf, J. (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,  
IARC Monographs, Suppl.2, pp.311-426, International Agency for Research on  
Cancer, Lyon.
7. 日本バイオアッセイ研究センター内部資料 (1984-1998)



8. National Toxicology Program (1999)  
Toxicology and Carcinogenesis Studies of Ethylbenzene (CAS No.100-41-4) in F344/N Rats and B6C3F<sub>1</sub> Mice.  
National Toxicology Program Technical Report Series No.466, p10
9. Bannasch, P. and Zerban, H. (1994)  
Preneoplastic and neoplastic lesions of the rat liver.  
In: Pathology of Neoplasia and Preneoplasia in Rodents.  
(Eds: Bannasch, P. and Gössner, W.) pp.18-63. Schattauer, Stuttgart , New York
10. MacKenzie, W. F. and Boorman, G. A. (1990)  
Pituitary gland.  
In: Pathology of the Fischer Rat, Reference and Atlas.  
(Eds: Boorman, G. A., Eustis, S. L., Elwell, M. R., Montgomery, C. A. Jr. and MacKenzie, W. F.) pp.485-500, Academic Press, Inc., San Diego, New York, Boston, London, Sidney, Tokyo, Tronto