

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

試験番号

2 週 間 : ラット/0263 ; マウス/0264

1 3 週 間 : ラット/0275 ; マウス/0276

CAS No. 68 - 12 - 2

平成9年5月9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

試験番号

2 週 間 : ラット/0263 ; マウス/0264

13 週 間 : ラット/0275 ; マウス/0276

本 文

目 次	頁
要 旨	1
I 試 験 材 料	
I - 1 被 験 物 質 の 性 状 等	
I - 1 - 1 名 称 と 別 名	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 同 一 性・安 定 性	
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	
II - 1 投 与	
II - 1 - 1 投 与 経 路、投 与 方 法 及 び 投 与 期 間	6
II - 1 - 2 投 与 濃 度	6
II - 1 - 3 被 験 物 質 の 発 生 方 法 と 濃 度 調 整	6
II - 1 - 4 被 験 物 質 の 濃 度 測 定	7
II - 2 動 物 管 理	
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	8
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	8
II - 3 - 2	体重測定	8
II - 3 - 3	摂餌量測定	8
II - 3 - 4	血液学的検査	9
II - 3 - 5	血液生化学的検査	9
II - 3 - 6	尿検査	9
II - 3 - 7	病理学的検査	9
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	10
II - 4 - 2	母数の取り扱いと表示	11
II - 4 - 3	統計方法	11
II - 5	試資料の保管	11
III 試験成績			
III - 1 ラットを用いた2週間試験 (試験番号 : 0 2 6 3)			
III - 1 - 1	動物の状態観察	12
III - 1 - 2	血液学的検査・血液生化学的検査	13
III - 1 - 3	病理学的検査	14
III - 2 ラットを用いた13週間試験 (試験番号 : 0 2 7 5)			
III - 2 - 1	動物の状態観察	16
III - 2 - 2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	17
III - 2 - 3	病理学的検査	18
III - 3 マウスを用いた2週間試験 (試験番号 : 0 2 6 4)			
III - 3 - 1	動物の状態観察	20
III - 3 - 2	血液学的検査・血液生化学的検査	21
III - 3 - 3	病理学的検査	21

Ⅲ－４ マウスを用いた13週間試験（試験番号：0276）

Ⅲ－４－１	動物の状態観察	23
Ⅲ－４－２	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	24
Ⅲ－４－３	病理学的検査	25

Ⅳ 考察及びまとめ

Ⅳ－１	ラットの2週間試験のまとめと13週間試験の濃度設定	27
Ⅳ－２	ラットの13週週間試験のまとめとがん原性試験の濃度設定	29
Ⅳ－３	マウスの2週間試験のまとめと13週間試験の濃度設定	32
Ⅳ－４	マウスの13週週間試験のまとめとがん原性試験の濃度設定	34
Ⅴ	文献	35

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS
IN THE INHALATION STUDIES OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 6 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 7 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 8 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 9 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 16 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 17 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

F I G U R E S

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

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 7 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 9 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

A P P E N D I X E S

APPENDIX A 1-1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 1-2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 4-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 4-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 4-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 4-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX A 5-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX A 5-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 5-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 5-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX A 6-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 6-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 6-5 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 7-1 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:MALE
- APPENDIX A 7-2 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 7-3 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 7-4 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX A 8-1 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:MALE
- APPENDIX A 8-2 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:FEMALE
- APPENDIX A 8-3 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:MALE
- APPENDIX A 8-4 ORGAN WEIGHT (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX A 9-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 9-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 9-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 9-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 9-5 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 9-6 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 10-1 IDENTITY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE (TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 10-2 STABILITY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE (TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 11-1 CONCENTRATION OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE IN INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 11-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 12 METHODS FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY
(TWO-WEEK STUDIES)

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX B 1-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 1-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 1-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 1-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 2-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 2-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 2-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 2-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 3-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 3-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 3-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 3-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 4-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 4-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 4-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 4-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX B 5-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 5-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 5-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 5-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 6-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 6-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 6-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 6-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 7-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:MALE
- APPENDIX B 7-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 7-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 7-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 8-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:MALE
- APPENDIX B 8-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 8-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 8-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX B 9-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 9-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 9-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 9-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 10-1 IDENTITY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX B 10-2 STABILITY OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX B 11-1 CONCENTRATION OF *N,N*-DIMETHYLFORMAMIDE IN INHALATION CHAMBER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX B 11-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX B 12 METHODS FOR HEMATOLOGY,BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX C 1 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要旨

N,N-ジメチルホルムアミドのがん原性を検索する目的でF344/DuCrj (Fischer)ラットとCrj:BDF₁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、その投与濃度を設定するための予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。

2週間試験及び13週間試験はラット、マウスとも各群雌雄10匹で被験物質投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。

設定濃度は、2週間試験ではラット、マウスの雌雄とも100ppm、200ppm、400ppm、800ppm及び1600ppm、13週間試験ではラット、マウスの雌雄とも50ppm、100ppm、200ppm、400ppm及び800ppmとし、1日6時間、1週5日間、全身暴露した。観察項目と検査項目は、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(13週間試験)、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査とした。

ラットを用いた2週間試験の結果、1) 1600ppm群の雄の3例と雌の7例は投与期間中に死亡した。2) 800ppm以上の群で雌雄ともに摂餌量と体重の低下がみられた。また、GOT、GPT活性の上昇及び肝臓に軽度～中等度の単細胞壊死がみられた。この結果から、ラットの13週間試験の設定濃度は雌雄とも最高濃度を800ppmとし、以下、400ppm、200ppm、100ppm、及び50ppm(公比2)とした。

ラットを用いた13週間試験の結果、1) 雌雄とも投与の影響と思われる死亡はみられなかった。2) 800ppm群で雌雄ともに体重増加の抑制、肝臓重量の増加及び肝臓の単細胞壊死や小葉中心性腫脹が認められた。

以上、*N,N*-ジメチルホルムアミド暴露のラットへの影響は主に800ppm群の肝臓にみられた。しかし、肝臓は障害に対して自己再生能が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、腫瘍の発生増加がないという報告をしている。これらの事を考慮し、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。

マウスを用いた2週間試験の結果、1) 雌雄とも死亡はみられなかった。2) 1600ppm群で雌雄ともに体重増加の抑制、GOT及びGPT活性の上昇と肝臓の軽度～中等度の単細胞壊死がみられた。この結果から、マウスの13週間試験の設定濃度は雌雄とも最高濃度を800ppmとし、以下400ppm、200ppm、100ppm、50ppm(公比2)とした。

マウスを用いた13週間試験の結果、1) 雌雄とも死亡はみられなかった。

2) 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た。

以上、*N,N*-ジメチルホルムアミド暴露のマウスへの影響は主に800ppm群の肝臓にみられた。しかし、肝臓は障害に対して自己再生能が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らは400ppmの濃度で18ヶ月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、腫瘍の発生増加がないという報告をしている。これらの事を考慮し、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。

I 試験材料

I - 1 被験物質の性状等

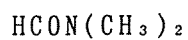
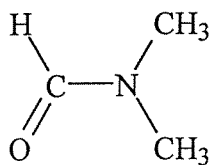
I - 1 - 1 名称と別名

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

別 名 : DMF、DMFA

CAS.No. : 68-12-2

I - 1 - 2 構造式、示性式、分子量



$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$ (分子量 : 73.09)

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な液体

沸 点 : 153°C (760torr)

融 点 : < -61°C

比 重 : 0.95(20°C)

蒸気圧 : 約 356Pa(20°C)

溶解性 : 水に溶解、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存

I - 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：2 週 間 試 験 PTE4986

1 3 週 間 試 験 CAL4288

製 造 元：和光純薬工業株式会社

純 度：99.5%以上

I - 3 被験物質の同一性・安定性

I - 3 - 1 同一性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質の同一性は、そのマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの文献値（文献 1）と比較することにより確認した。それらの結果は、2週間試験は APPENDIX A 10-1、13週間試験は APPENDIX B 10-1に示した。

I - 3 - 2 安定性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質の安定性は、投与開始前及び投与終了後に、赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラフを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。それらの結果は、2週間試験は APPENDIX A 10-2、13週間試験は APPENDIX B 10-2に示した。

I - 4 試験動物

動物は2週間試験及び13週間試験ともに日本チャールス・リバー（株）のF344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF₁マウス(SPF)の雌雄を使用した。

2週間試験では、ラット雌雄各75匹、マウス雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で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60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄：114～130g、雌：93～106g/マウス雄：20.4～24.6g、雌：15.4～19.6g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラット雌雄各75匹、マウス雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で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60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄：108～121g、雌：91～101g/マウス雄：21.0～23.9g、雌：16.2～19.0g)を選別

し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF₁マウスを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

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

2週間試験及び13週間試験とも、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 *N,N*-ジメチルホルムアミドを含む空気を送気し試験動物に全身暴露した。なお、対照群の動物は新鮮空気を吸入チャンバー内に送気した。

各試験における投与期間及び暴露回数は以下の通りである。

2週間試験・・・・・・6時間/日，5日/週，10回/2週間

13週間試験・・・・・・6時間/日，5日/週（祝祭日を除く）

ラット：60回/13週間

マウス：60回/13週間

II - 1 - 2 投与濃度

2週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高濃度を1600ppmに設定し、それ以下800ppm、400ppm、200ppm、100ppm（公比2）とした。

13週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高濃度を800ppmに設定し、それ以下400ppm、200ppm、100ppm、50ppm（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 に示す通り、2週間試験では循環式恒温槽で加熱した発生容器内で *N,N*-ジメチルホルムアミドをノズルで噴霧し蒸発させた。13週間試験では発生容器内の *N,N*-ジメチルホルムアミドを循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。

これら *N,N*-ジメチルホルムアミド蒸気を循環式恒温槽で冷却、再加熱

し、新鮮空気と混合して一定濃度に調整した後、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。次に、吸入チャンバー内の N,N -ジメチルホルムアミド濃度をガスクロマトグラフにより監視しながら、設定濃度になるように吸入チャンバーへの供給流量を調節した。

II-1-4 被験物質の濃度測定

各試験における吸入チャンバー内の N,N -ジメチルホルムアミド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、全群について暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。

2週間試験は APPENDIX A 11-1、13週間試験は APPENDIX B 11-1 に測定結果を示した。

各試験とも暴露濃度の平均値は設定濃度を満足する結果を示した。

II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数

2週間試験及び13週間試験とも暴露群5群及び対照群1群の計6群を設け、各群雌雄10匹の動物を用いた。

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 2）

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により、暴露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、他の試験との区別は、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示することにより行った。

II-2-3 飼育条件

動物は2週間試験及び13週間試験とも、検疫室で1週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び暴露期間中は吸入チャンバー内で飼育した。各試験で使用した検疫室、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 に示した。また、各試験の吸入チャンバー内環境の計測結果を2週間試験は APPENDIX A 11-2 に、13週間試験は APPENDIX B 11-2 に示した。各試験とも吸入チャンバー内環境はすべて設定条件の範囲内であった。

各試験の検疫期間中は1ケージ当り1匹の単飼(ステンレス製2連型網ケージ、ラット：170W×294D×176H mm、マウス：112W×212D×120H mm)、馴化期間中は1ケージ当り1匹の単飼(ステンレス製6連型網ケージ、ラット：125W×216D×176H mm、マウス：95W×116D×120H mm)、暴露期間中は1ケージ当り1匹の単飼(ステンレス製5連網ケージ、ラット：150W×216D×176H mm、マウス：100W×116D×120H mm)の条件下で飼育した。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)のCRF-1固型飼料(30K Gy-γ線照射滅菌飼料)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。また、飲水は飼育全期間を通して、市水(秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線滅菌し、自動給水により自由摂取させた。なお、2週間試験では *N,N*-ジメチルホルムアミド暴露中の給餌、給水はしなかった。

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

2週間試験及び13週間試験とも毎日2回、動物の一般状態の観察を行った。

II-3-2 体重測定

2週間試験では、0日目(暴露開始直前)、1日目(1週1日)、7日目(1週7日)及び14日目(2週7日)に、13週間試験では週1回、体重を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

2週間試験及び13週間試験とも週1回、摂餌量を個体別に測定した。

II-3-4 血液学的検査

2週間試験では定期解剖時まで生存した動物のうち各群雌雄5例について、13週間試験では定期解剖時まで生存した動物全例について、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、13週間試験の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 A 12, B 12 に示した。

II - 3 - 5 血液生化学的検査

2週間試験では定期解剖時まで生存した動物のうち各群雌雄5例について、13週間試験では定期解剖時まで生存した動物全例について、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、13週間試験の検査対象動物は解剖前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX A 12, B 12 に示した。

II - 3 - 6 尿検査

13週間試験の暴露最終週に新鮮尿を採取し、尿検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX B 12 に示した。

II - 3 - 7 病理学的検査

1 剖検

2週間試験及び13週間試験とも解剖時に全動物について肉眼的に観察を行った。

2 臓器重量

2週間試験では定期解剖時まで生存した動物のうち各群雌雄5例について、13週間試験では定期解剖時まで生存した動物全例について TABLE 1 に示した臓器の湿重量を測定した。また、湿重量の体重比、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

3 病理組織学的検査

2週間試験では各群雌雄の2例の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を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のみられた組織を、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(レベルⅠ)、切歯乳頭(レベルⅡ)、第一臼歯の前端(レベルⅢ)の3カ所で切り出し(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

体重については g を単位とし、ラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

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 C 1 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 母数の取り扱いと表示

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から除いた。

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から除いた。

尿検査は、暴露最終週に行い、検査数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査は、各群の有効動物数(供試動物数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。

II - 4 - 3 統計方法

本試験で得られた病理組織学的検査及び尿検査以外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。なお、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。

病理組織学的検査のうち13週間試験は所見のみられなかった動物をグレード0として χ^2 検定を行った。また、尿検査についても χ^2 検定を行った。なお χ^2 検定は対照群と各暴露群間との検定であり、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。また、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。

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、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書に従って、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。また、被験物質の保存について、2週間試験に使用したものは保存し13週間試験に使用したものは保存しない。

III 試験成績

III-1 ラットを用いた2週間試験 (試験番号:0263)

III-1-1 動物の状態観察

1 生死状況

雄は1600ppm群の3例(投与開始後4日目:2例,5日目:1例)が死亡した。

雌は1600ppm群の7例(投与開始後3日目:3例,4日目:3例,10日目:1例)が死亡した。

2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-1, A 1-2 に示した。

雄では、1600ppm群の死亡例の全例で自発運動量の減少が投与開始後3日目にみられた。また、1600ppm群の生存例で投与開始後12日目と13日目に自発運動量の減少と円背位及び立毛を示した例が1例、立毛のみを示した例が1例みられた。

雌では、1600ppm群の死亡例のうち3例で自発運動量の減少が投与開始後3日目にみられ、これらは4日目に死亡した。

3 体重

体重の推移を TABLE 2, 3 及び APPENDIX A 2-1, A 2-2 に示した。

雄では、800ppm以上の群で体重増加の抑制が認められ、いずれの群も投与開始後7日目と14日目(投与期間最終日)で有意な低値を示した。さらに、1600ppm群は7日目で投与開始前より減少し、14日目でも増加がみられなかった。なお、14日目の体重は対照群に対し100ppm群が104%、200ppm群が105%、400ppm群が98%、800ppm群が88%、1600ppm群が65%であった。

雌では、400ppm以上の群で体重増加の抑制が認められた。400ppm群と800ppm群は7日目と14日目で有意な低値を示し、1600ppm群は投与開始後の全期間で有意な低値を示した。1600ppm群は1日目で増加がみられず、7日目でさらに減少した。また、14日目では7日目に比較して増加したが投与開始前より低値であった。なお14日目の体重は対照群に対し100ppm群が102%、200ppm群が98%、400ppm群が93%、800ppm群が88%、1600ppm群が75%であった。

4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当たり)を TABLE 4,5 及び APPENDIX A 3-1,A 3-2 に示した。

雌雄ともに400ppm以上の群で摂餌量の低下が認められた。

雄では、400ppm以上の群が1週目で有意な低値を示し、800ppm群と1600ppm群は、2週目でも有意な低値を示した。なお、2週目の摂餌量は対照群に対し100ppm群と200ppm群が109%、400ppm群が96%、800ppm群が84%、1600ppm群が49%であった。

雌では、400ppm以上の群が1週目と2週目で有意な低値を示し、2週目の摂餌量は対照群に対し100ppm群が102%、200ppm群が103%、400ppm群が85%、800ppm群が80%、1600ppm群が65%であった。

III - 1 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査

1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-1,A 4-2 に示した。

雄では、1600ppm群で網赤血球比の有意な増加がみられた。その他、800ppm群でMCVに有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、1600ppm群で網赤血球比の有意な増加とリンパ球比の有意な減少がみられた。その他、400ppm群と800ppm群にAPTTの有意な延長とMCVの有意な減少がみられ、800ppm群にプロトロンビン時間の有意な延長がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-1,A 5-2 に示した。

雄では、400ppm群で総コレステロール及びリン脂質の有意な増加とグルコースの有意な減少、800ppm群で総コレステロール及びカリウムの有意な増加とGOT及びGPT活性の有意な上昇、グルコースの有意な減少、1600ppm群で総コレステロール、リン脂質、総ビリルビン、ナトリウム及びカリウムの有意な増加、GOT、GPT及びγ-GTP活性の有意な上昇、グルコースの有意な減少がみられた。

雌では、全投与群でリン脂質の有意な増加、400ppm以上の群でグルコースの有意な減少、800ppm以上の群で総コレステロールの有意な増加と

G O T 及び G P T 活性の有意な上昇、これに加えて1600ppm群で γ -G T P 活性の有意な上昇とカルシウムの有意な増加がみられた。

III - 1 - 3 病理学的検査

1 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX A 6-1～A 6-4 に示した。

<死亡例>

雄では、肝臓の赤色斑と肝小葉像の明瞭化が3/3例、精巣の赤色化が2/3例にみられた。

雌では、肝臓の赤色斑が6/7例、肝小葉像の明瞭化が5/7例、肺の赤色斑が3/7例、腹腔の出血が2/7例にみられ、胸水の貯留（赤色：1/7例、透明：2/7例）及び腹水の貯留（赤色：1/7例、透明：1/7例）もみられた。

<生存例>

雌雄とも変化は1600ppm群にみられ、胸腺の萎縮が雄の6/7例と雌の3/3例、肝臓の赤色斑が雄の3/7例と雌の2/3例、肝臓の肝小葉像の明瞭化が雄の6/7例と雌の3/3例にみられた。

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 A 7-1, A 7-2 (実重量)、APPENDIX A 8-1, A 8-2 (体重比)に示した。

雄では、200ppm群に肝臓の体重比の有意な高値、800ppm群に腎臓の体重比の有意な高値と胸腺及び心臓の実重量の有意な低値、1600ppm群に肺、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値、胸腺、精巣、心臓、肺及び脾臓の実重量の有意な低値、胸腺の体重比の有意な低値がみられた。

これら雄の臓器重量の変化の中で、肝臓と腎臓の高値は被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、胸腺の低値は体重増加の抑制に加えてストレスがあったことによる変化と考えた。なお、肺、心臓、脾臓、精巣及び脳の重量変化は体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えた。

雌では、100ppm群に腎臓の実重量の有意な高値、400ppm群に腎臓の体重比の有意な高値、800ppm群に腎臓及び脳の体重比の有意な高値と胸腺の実重量の有意な低値、1600ppm群に肺、腎臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値、胸腺、心臓及び脾臓の実重量の有意な低値、胸腺の体重比の有意な低値がみられた。

これら雌の臓器重量の変化の中で、肝臓、腎臓及び肺の高値は被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、胸腺の低値は、体重増加の抑制に加えてストレスがあったことによる変化と考えた。なお、心臓と脳の重量変化は体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えた。

3 病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹の病理組織学的所見をAPPENDIX A 9-1～A 9-4 に示した。

<死亡例>

雄では、肝臓に重度な小葉中心性壊死がみられ、骨髄の鬱血及び出血、胸腺の出血及び核崩壊、脾臓の核崩壊、心臓の出血、精巣の出血及び精原細胞壊死、精巣上体の精上皮系細胞の残屑も認められた。

雌では、肝臓に重度な小葉中心性壊死がみられ、骨髄の鬱血及び出血、胸腺の出血及び核崩壊、脾臓の核崩壊、心臓の出血、肺の鬱血、脳の出血も認められた。

<生存例>

雄では、800ppm群に肝臓の単細胞壊死がみられ、1600ppm群に肝臓の巣状壊死及び線維化、胸腺の萎縮、精巣の精原細胞壊死、精巣上体の精子減少及び精上皮系細胞の残屑が認められた。

雌では、800ppm群に肝臓の単細胞壊死がみられ、1600ppm群に肝臓の巣状壊死、線維化及び細胞分裂像増加、胸腺の萎縮、心臓の巣状壊死及び肉芽形成が認められた。

Ⅲ－２ ラットを用いた13週間試験 (試験番号:0275)

Ⅲ－２－１ 動物の状態観察

１ 生死状況

雌雄とも死亡はみられなかった。

２ 一般状態

雌雄とも特記すべき所見はみられなかった。

３ 体重

体重の推移を TABLE 6, 7、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX B 1-1, B 1-2 に示した。

雌雄ともに400ppm以上の群で体重増加の抑制がみられた。

雄では、400ppm群は4週目と6週目以降、800ppm群は投与期間を通して有意な低値を示し、最終体重は対照群に対し50ppm群が100%、100ppm群が99%、200ppm群が98%、400ppm群が88%、800ppm群が80%であった。

雌では、400ppm群は3週目以降、800ppm群は投与期間を通して有意な低値を示し、最終体重は対照群に対し50ppm群が105%、100ppm群が101%、200ppm群が95%、400ppm群が87%、800ppm群が77%であった。

４ 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 8, 9、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 2-1, B 2-2 に示した。

雌雄ともに400ppm以上の群で摂餌量の低下がみられた。

雄では、400ppm群は1週目と5週目で有意な低値を示し、他の週でも有意差はみられなかったものの低値を示した。また、800ppm群は7週目と8週目を除き有意な低値を示した。なお、最終週の摂餌量は対照群に対し50ppm群が99%、100ppm群が97%、200ppm群が96%、400ppm群が95%、800ppm群が87%であった。

雌では、400ppm群は1,2,3,9,10及び12週目で有意な低値を示し、他の週でも有意差はみられなかったものの低値を示した。また、800ppm群は投与期間を通して有意な低値を示した。なお、最終週の摂餌量は対照群に対し50ppm群が104%、100ppm群が101%、200ppm群が91%、400ppm群が87%、800

ppm群が77%であった。

III - 2 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 3-1, B 3-2 に示した。

雄では、全投与群で血小板数の有意な増加とM C Vの有意な減少、100 ppm以上の群で赤血球数の有意な増加、200 ppm以上の群でM C Hの有意な減少、400 ppm以上の群でM C H Cの有意な減少とプロトロンビン時間及びA P T Tの有意な短縮、これに加えて800 ppm群で単球比の有意な増加がみられた。その他、200 ppm群と400 ppm群にヘモグロビン濃度の有意な減少がみられたが投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、100 ppm、200 ppm及び800 ppm群で血小板数の有意な増加、200 ppm以上の群で赤血球数の有意な増加とM C V及びM C Hの有意な減少、これに加えて800 ppm群でプロトロンビン時間の有意な延長がみられた。

2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 4-1, B 4-2 に示した。

雄では、全投与群で総コレステロールとリン脂質の有意な増加、400 ppm群を除く全投与群で総蛋白とアルブミンの有意な増加、400 ppm以上の群でグルコースの有意な減少、これに加えて800 ppm群では総ビリルビンの有意な増加、G O T及びG P T活性の有意な上昇とL D H活性の上昇傾向、トリグリセライドの有意な減少がみられた。その他、200 ppm群にA L P活性の有意な低下、400 ppm群にC P K活性の有意な低下とナトリウムの有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、全投与群で総コレステロールとリン脂質の有意な増加ないし増加傾向がみられ、200 ppm以上の群でトリグリセライドの有意な増加、400 ppm以上の群で総ビリルビンの有意な増加とG P T、A L P及びγ - G T P活性の有意な上昇、これに加えて800 ppm群でL D H活性の有意な上昇とG O T活性の上昇傾向がみられた。

3 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 5-1, B 5-2 に示した。

雄の800 ppm群で尿p H値の有意な低下がみられた。その他、雄の400 ppm

群で尿蛋白に有意な増加がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

III - 2 - 3 病理学的検査

1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 6-1, B 6-2 に示した。

雄では、800ppm群に肝臓の白色斑と赤色斑が各1例にみられ、雌では、800ppm群の4例に肝臓の白色斑がみられた。

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 B 7-1, B 7-2 (実重量)、APPENDIX B 8-1, B 8-2 (体重比) に示した。

雄では、50ppm群に肝臓の実重量の有意な高値、100ppm群と200ppm群に肝臓の実重量と体重比の有意な高値、400ppm群に精巣、腎臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値と胸腺、心臓、肺、脾臓及び脳の実重量の有意な低値、800ppm群に精巣、肺、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値と胸腺、心臓、肺、腎臓、脾臓及び脳の実重量の有意な低値がみられた。

これら雄の臓器重量の変化の中で、肝臓と精巣の高値は、被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、胸腺の実重量の低値は、全身状態の不良に伴う変化と考えた。なお、400ppm以上の群にみられた腎臓、脾臓、心臓、肺及び脳の重量変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えた。

雌では、50ppm群に腎臓、肝臓及び脳の実重量の有意な高値、100ppm群に肝臓の実重量の有意な高値と脾臓の体重比の有意な高値、200ppm群に肝臓及び腎臓の体重比の有意な高値と胸腺及び副腎の実重量の有意な低値、400ppm群に腎臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値、胸腺、副腎、卵巣及び肺の実重量の有意な低値と胸腺の体重比の有意な低値、800ppm群に肝臓の実重量の有意な高値と心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値、胸腺、副腎、卵巣、心臓、肺、脾臓及び脳の実重量の有意な低値と胸腺の体重比の有意な低値がみられた。

これら雌の臓器重量の変化の中で、肝臓と腎臓の高値は、被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、胸腺の重量の低値は全身状態の不良に伴う変化と考えた。なお、400ppm群と800ppm群を中心にみられた副腎、卵巣、心臓、肺、脾臓及び脳の重量変化は、体重増加の抑制に伴っ

た相対的な変化と考えた。

3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 9-1, B 9-2 に示した。

雄では、投与群の肝臓に単細胞壊死、小葉中心性の腫脹、ヘモジデリン沈着及び細胞分裂像の増加がみられた。単細胞壊死と小葉中心性の腫脹は200ppm以上の群、ヘモジデリン沈着と細胞分裂像の増加は400ppm以上の群に認められ、その発生数や程度は投与濃度に対応していた。

雌でも投与群の肝臓に雄と同様な変化がみられた。すなわち、単細胞壊死とヘモジデリン沈着が200ppm以上の群にみられ、小葉中心性の腫脹が400ppm以上の群、細胞分裂像の増加が200ppm群と400ppm群に認められた。さらに、雌の800ppm群の1例に巣状壊死がみられ、200ppm群と800ppm群の少数例に肉芽形成がみられた。その他の臓器については、雌で腎臓の乳頭の鉍質沈着が200ppm群と800ppm群の少数例にみられ、胸腺の萎縮が800ppm群の1例にみられた。

これら肝臓に対する影響の中で、単細胞壊死、巣状壊死及び小葉中心性の腫脹は被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、ヘモジデリン沈着、細胞分裂像の増加及び肉芽形成は肝細胞の単細胞壊死に付随した病変あるいは修復像と考えた。

腎臓の乳頭の鉍質沈着と被験物質との関係は明らかでなかった。

Ⅲ - 3 マウスを用いた2週間試験 (試験番号:0 2 6 4)

Ⅲ - 3 - 1 動物の状態観察

1 生死状況

雌雄とも死亡はみられなかった。

2 一般状態

雌雄とも一般状態の変化はみられなかった。

3 体重

体重の推移を TABLE 10, 11 及び APPENDIX A 2-3, A 2-4 に示した。

雄では、800ppm群は投与開始後1日目で有意な低値を示したが、その後回復した。1600ppm群は投与開始後の全期間で体重増加の抑制が認められた。1600ppm群は投与開始後1日目で投与前より体重が減少し、7日目と14日目で体重増加がみられたが、いずれの時期も対照群に対して有意な低値であった。なお、14日目の体重は対照群に対し100ppm群と200ppm群が98%、400ppm群が100%、800ppm群が96%、1600ppm群が93%であった。

雌では、1600ppm群は投与開始後の全期間で体重増加の抑制が認められた。1600ppm群は投与開始後1日目で投与前より体重が減少し、また、7日目では有意差を示さないものの低値を示し、14日目では有意な低値を示した。なお、14日目の体重は対照群に対し100ppm群が98%、200ppm群が99%、400ppm群が101%、800ppm群が95%、1600ppm群が92%であった。

4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当たり)を TABLE 12, 13 及び APPENDIX A 3-3, A 3-4 に示した。

雌雄とも800ppm以上の群で摂餌量の低下がみられた。雌雄とも、1週目で800ppm群と1600ppm群が有意な低値を示し、800ppm群は2週目でも有意な低値を示した。なお、2週目の摂餌量は対照群に対し雄は100ppm群と200ppm群が105%、400ppm群が102%、800ppm群が86%、1600ppm群が95%であり、雌では100ppm群が97%、200ppm群が100%、400ppm群が95%、800ppm群が89%、1600ppm群が95%であった。

Ⅲ - 3 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査

1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-3, A 4-4 に示した。

雄では、一部の群に血小板数とリンパ球比に有意な変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、全投与群で血小板数の有意な増加がみられ、1600ppm群では赤血球数、ヘモグロビン濃度及び分葉核好中球比の有意な増加とリンパ球比の有意な減少がみられた。

2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-3, A 5-4 に示した。

雄では、200ppm群でA/G比の有意な増加、1600ppm群でA/G比、アルブミン及び総コレステロールの有意な増加とGOT及びGPT活性の有意な上昇がみられた。その他、400ppm群にカルシウムの有意な増加がみられたが投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、800ppm群を除く全投与群で総コレステロールの有意な増加、800ppm群でGPT活性の有意な上昇、これに加えて1600ppm群ではアルブミンの有意な増加とグルコースの有意な減少がみられた。さらに、1600ppm群ではGOT、GPT及びLDH活性の著明な上昇がみられたが、これらは値のはばらつきが大きいために検定では有意差は示さなかった。

Ⅲ - 3 - 3 病理学的検査

1 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX A 6-5, A 6-6 に示した。

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見はみられなかった。

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 A 7-3, A 7-4 (実重量)、APPENDIX A 8-3, A 8-4 (体重比)に示した。

雄では、400ppm群に肝臓の実重量と体重比の有意な高値、1600ppm群に肝臓及び肺の体重比の有意な高値と胸腺の実重量及び体重比の有意な低値が

みられた。

これら雄の臓器重量の変化の中で、肝臓と肺の高値は被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、胸腺の低値は体重増加の抑制に加えてストレスがあったことによる変化と考えた。

雌では、200ppm群に肝臓の体重比の有意な高値、400ppm群に肝臓の実重量と体重比の有意な高値、800ppm群に肝臓の体重比の有意な高値、1600ppm群に肝臓の実重量の有意な高値と肺、肝臓及び腎臓の体重比の有意な高値、胸腺の実重量と体重比の有意な低値がみられた。

これら雌の臓器重量の変化の中で、肝臓、腎臓及び肺の高値は、被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。また、胸腺の低値は体重増加の抑制に加えてストレスがあったことによる変化と考えた。

3 病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹の病理組織学的所見をAPPENDIX A 9-5, A 9-6 に示した。

雄では、肝臓の小葉中心性の変性が200ppm以上の群でみられ、これに加えて単細胞壊死が1600ppm群、巣状壊死が200ppm群にみられた。さらに、胸腺の萎縮が1600ppm群にみられた。

雌では、肝臓の小葉中心性の変性が200ppm以上の群にみられ、これに加えて単細胞壊死が1600ppm群にみられた。また、肺の胸膜炎と胸腺の萎縮が1600ppm群に、心臓の炎症が800ppm群にみられた。

Ⅲ - 4 マウスを用いた13週間試験 (試験番号:0 2 7 6)

Ⅲ - 4 - 1 動物の状態観察

1 生死状況

雌雄とも死亡はみられなかった。

2 一般状態

雌雄とも特記すべき所見はみられなかった。

3 体重

体重の推移を TABLE 14, 15 、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX B 1-3, B 1-4 に示した。

雄では、全投与群で体重増加の抑制がみられた。800ppm群は2週目以降で有意な低値を示し、50ppm群は5週目以降、100ppm群は5,6週目及び8週目以降、200ppm群は5週目以降、400ppm群は7週目以降にそれぞれ有意な低値を示した。なお、最終体重は対照群に対し50ppm群が91%、100ppm群が93%、200ppm群及び400ppm群が91%、800ppm群が81%であった。

雌では、各投与群とも体重増加の抑制はみられず、最終体重は対照群に対し50ppm群が103%、100ppm群が100%、200ppm群及び400ppm群が103%、800ppm群が97%であった。

4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 16, 17 、FIGURE 8, 9 及び APPENDIX B 2-3, B 2-4 に示した。

雄では、800ppm群で2週目を除いた各週で有意な低値を示し、摂餌量の抑制がみられた。また、200ppm群は5週目と8週目に、400ppm群は1週目と12週目に有意な低値を示したが、継続的なものではなかった。なお、最終週の摂餌量は対照群に対し50ppm群が98%、100ppm群が100%、200ppm群と400ppm群が98%、800ppm群が84%であった。

雌では、800ppm群が投与期間の1週目と5~11週目に有意な低値を示し、摂餌量の抑制がみられた。なお、最終週の摂餌量は対照群に対し50ppm群が100%、100ppm群と200ppm群が98%、400ppm群が102%、800ppm群が93%であった。

Ⅲ - 4 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 3-3, B 3-4 に示した。

雄では、全投与群で血小板数の有意な増加、800ppm群で白血球数の有意な減少がみられた。その他、50ppm群でM C Vの有意な減少、100ppm群でヘマトクリット値とM C Vの有意な減少、200ppm群と400ppm群でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、M C V及びM C Hの有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、100ppm以上の群で血小板数の有意な増加、200ppm以上の群でリンパ球比の有意な増加と分葉核好中球比の有意な減少がみられた。その他、100ppm群でM C Vの有意な減少、200ppm群と400ppm群でM C VとM C Hに有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 4-3, B 4-4 に示した。

雄では、100ppm群と400ppm群で総コレステロールの有意な増加、200ppm群と800ppm群で増加傾向がみられた。800ppm群でA / G比の有意な増加とG P T活性の有意な上昇、G O T及びL D H活性の上昇傾向がみられた。その他、100ppm群にA L P活性の有意な低下、800ppm群にA L P活性の有意な上昇、400ppm群に総ビリルビンの有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、全投与群で総コレステロールの有意な増加、200ppm以上の群でG P T活性の有意な上昇、これに加えて800ppm群でA / G比及び尿素窒素の有意な増加とL D H活性の有意な上昇がみられた。その他、100ppm、200ppm及び400ppm群でA L P活性の有意な低下、100ppm群でカリウムの有意な減少がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

3 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 5-3, B 5-4 に示した。

雄の200ppm群と800ppm群で尿p H値の有意な低下がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

III - 4 - 3 病理学的検査

1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 6-3, B 6-4 に示した。

雄では、800ppm群に肝臓の白色斑が3例、赤色斑と褐色斑が各1例にみられた。

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 B 7-3, B 7-4 (実重量)、APPENDIX B 8-3, B 8-4 (体重比) に示した。

雄では、50ppm群に腎臓、肝臓及び脳の体重比の高値、100ppm群に肝臓の実重量の有意な高値と肝臓及び心臓の体重比の有意な高値、200ppm群に肝臓の実重量の有意な高値と心臓、腎臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値、400ppm群に肝臓の実重量の有意な高値と脾臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値、800ppm群に肺、腎臓、肝臓及び脳の体重比の有意な高値と心臓、腎臓及び脳の実重量の有意な低値がみられた。

これら雄の臓器重量の変化の中で、肝臓の高値は被験物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。なお、投与群にみられた腎臓、脾臓、心臓、肺及び脳の重量変化は体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えた。

雌では、800ppm群に肺の体重比の有意な高値がみられたが、被験物質との関係は明らかでなかった。

3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 9-3, B 9-4 に示した。

雄では、800ppm群の肝臓に単細胞壊死と小葉中心性の腫脹が全例にみられ、対照群と比較して有意な発生増加を示しており、小葉中心性壊死や巣状壊死がみられた例もあった。肝臓の単細胞壊死は他の投与群でも対照群と比較してやや高い発生を示したが、投与濃度に対応した変化ではなく統計的にも対照群との間に有意差を認めなかった。また、腎臓の近位尿細管の空胞化は対照群では全例にみられたのに対して、400ppm群で減少し、800ppm群で全例消失した。

雌では肝臓の単細胞壊死が全ての投与群で有意に増加し、800ppm群では中心性腫脹が認められた。

これら肝臓の単細胞壊死、中心性壊死、巣状壊死及び中心性腫脹は被験

物質の直接的な影響を示唆するものと考えた。

IV 考察及びまとめ

IV - 1 ラットの2週間試験のまとめと13週間試験の濃度設定

<2週間試験>

1) 雄

200ppm以下の群では被験物質の暴露による変化はみられなかった。

400ppm群は、血液生化学的検査で総コレステロール及びリン脂質の増加とグルコースの減少がみられた。

800ppm群では、体重増加の抑制と摂餌量の抑制がみられた。臓器重量で腎臓の高値と胸腺の低値、病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死、血液生化学的検査で総コレステロール及びカリウムの増加、GOT及びGPT活性の上昇、グルコースの減少がみられた。

1600ppm群では、自発運動の減少とともに3例の死亡がみられ、死亡例は、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性壊死、精巣の出血及び精原細胞の壊死、胸腺の出血及び核崩壊、脾臓の核崩壊、骨髄の鬱血及び出血、心臓の出血があり、死因は肝臓の壊死と考えた。また、生存例でも自発運動の減少、円背位及び立毛を認める例があり、体重の減少と摂餌量の抑制がみられた。臓器重量では肝臓及び腎臓の高値と胸腺の低値がみられた。病理組織学的検査では肝臓に単細胞壊死及び巣状壊死とこれに伴う線維化がみられた。さらに、精巣の出血及び精原細胞の壊死、胸腺の萎縮も認められた。血液学的検査では網赤血球比の増加がみられ、血液生化学的検査で総コレステロール、リン脂質、総ビリルビン、ナトリウム及びカリウムの増加、GOT、GPT及びγ-GTP活性の上昇、グルコースの減少がみられた。

2) 雌

100ppm群と200ppm群では血液生化学的検査でリン脂質の増加がみられた。

400ppm群では体重増加の抑制と摂餌量の抑制、腎臓重量の高値、血液生化学的検査でリン脂質の増加とグルコースの減少がみられた。

800ppm群では、体重増加の抑制、臓器重量で腎臓の高値と胸腺の低値がみられた。病理組織学的検査では肝臓の単細胞壊死がみられ、血液生化学的検査では総コレステロール及びリン脂質の増加、GOT及びGPT活性の上昇がみられた。

1600ppm群では、自発運動の減少とともに7例の死亡がみられ、死亡例では病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性壊死、肺の鬱血、胸腺の出血及び

核崩壊、脾臓の核崩壊、骨髓の鬱血及び出血、心臓及び脳の出血があり、死因は肝臓の壊死と考えた。生存例では、体重の低下と摂餌量の抑制がみられた。臓器重量では肺及び腎臓の高値と胸腺の低値がみられた。病理組織学的検査では肝臓に巣状壊死がみられ、これに伴った線維症と細胞分裂像増加もみられた。また、胸腺の萎縮、心臓の巣状壊死及び肉芽形成も認められた。血液学的検査では網赤血球比の増加とリンパ球比の低下がみられ、血液生化学的検査では総コレステロール、リン脂質及びカルシウムの増加と γ -GTP、GOT及びGPT活性の上昇がみられた。

これらの結果から13週間試験の暴露濃度は、1) 1600ppm群は雌雄とも暴露期間中に死亡がみられたため、最高濃度は1600ppm未満に設定する、2) 800ppm群は雌雄とも体重増加の抑制と摂餌量の抑制がみられ、肝臓の壊死とこれに伴う血液生化学的検査値の異常がみられたが、重篤なものではなく、13週間暴露を行っても生存する可能性があると考えられる、3) 100ppmは血液生化学的検査で暴露による影響がみられたため、最大無作用濃度を求めるためにはより低い濃度を設定する必要がある、以上の3点を考慮して最高濃度を800ppmとし、以下、400ppm、200ppm、100ppm、50ppm(公比2)とした。

IV - 2 ラットの13週間試験のまとめとがん原性試験の濃度設定

< 13週間試験 >

1) 雄

50ppm群は、肝臓重量の高値、血液学的検査で血小板数の増加とMCVの減少、血液生化学的検査で総蛋白、総コレステロール及びリン脂質の増加がみられた。

100ppm群では、肝臓重量の高値、血液学的検査では赤血球数及び血小板数の増加とMCVの減少、血液生化学的検査ではアルブミン、総蛋白、総コレステロール及びリン脂質の増加がみられた。

200ppm群では、肝臓重量の高値、病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死と中心性腫脹がみられた。血液学的検査では赤血球数及び血小板数の増加とMCV及びMCHの減少がみられ、血液生化学的検査ではアルブミン、総蛋白がみられた。

400ppm群では体重増加の抑制がみられ、臓器重量で肝臓と精巣の高値、病理組織学的検査で肝臓に単細胞壊死と中心性腫脹がみられ、これに伴いヘモジデリン沈着と細胞分裂像増加もみられた。血液学的検査では赤血球数及び血小板数の増加とMCV、MCH及びMCHCの減少、プロトロンビン時間及びAPT Tの短縮がみられ、血液生化学的検査では総コレステロール及びリン脂質の増加とグルコースの減少がみられた。

800ppm群では、体重増加の抑制と摂餌量の抑制がみられ、臓器重量で肝臓と精巣の高値、病理組織学的検査で肝臓に単細胞壊死、中心性腫脹、ヘモジデリン沈着及び細胞分裂増加がみられた。血液学的検査では赤血球数及び血小板数の増加と単球比の増加、MCV、MCH及びMCHCの減少、プロトロンビン時間及びAPT Tの短縮がみられ、血液生化学的検査では総コレステロール、リン脂質及び総ビリルビンの増加とGOT、GPT及びLDH活性の上昇、グルコースとトリグリセライドの減少がみられた。

2) 雌

50ppm群は、肝臓重量の高値、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みられた。

100ppm群では、肝臓重量の高値、血液学的検査で血小板数の増加、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みられた。

200ppm群では、摂餌量の抑制がみられ、臓器重量で肝臓と腎臓の高値、病理組織学的検査で肝臓に単細胞壊死、ヘモジデリン沈着及び細胞分裂像

増加がみられ、血液学的検査では赤血球数及び血小板数の増加とM C V及びM C Hの減少、血液生化学的検査でトリグリセライド、総コレステロール及びリン脂質の増加がみられた。

400ppm群では、体重増加の抑制と摂餌量の抑制がみられ、臓器重量で肝臓と腎臓の高値、病理組織学的検査で肝臓に単細胞壊死、ヘモジデリン沈着、細胞分裂像増加及び中心性腫脹がみられ、血液学的検査では血小板数及び赤血球数の増加とM C V及びM C Hの減少、血液生化学的検査では総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加とG P T、A L P及び γ -G T P活性の上昇がみられた。

800ppm群では、体重増加の抑制と摂餌量の抑制がみられ、臓器重量で肝臓及び腎臓の高値と胸腺の低値、病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死、中心性腫脹及びヘモジデリン沈着が全例にみられ、肝臓の巣状壊死及び肉芽形成、胸腺の萎縮も少数例にみられた。血液学的検査では赤血球数及び血小板数の増加、M C V及びM C Hの減少とプロトロンビン時間の延長、血液生化学的検査では総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加とG P T、L D H、A L P、 γ -G T P及びG O T活性の上昇がみられた。

以上のように、N,N-ジメチルホルムアミド暴露により雌雄とも200ppm以上の群で暴露濃度に対応して肝臓に小葉中心性腫脹や単細胞壊死などの組織傷害像がみられ、これに伴い血液生化学的検査でG O T、G P T、L D H活性の上昇などの変化がみられた。また、400ppm以上の暴露群では、胸腺重量の低下、体重増加の抑制及び摂餌量の抑制がみられた。さらに、この試験の最低濃度である50ppm群でも血液生化学的検査で総コレステロールやリン脂質の増加がみられ、脂質代謝の異常が考えられた。なお、雌で腎臓の重量増加がみられたが、病理組織学的検査では変化は認められなかった。

ラットを用いた13週間吸入試験の結果、N,N-ジメチルホルムアミド暴露による障害は主に肝臓に認められ、800ppm群では肝臓組織の障害は軽度から中等度であった。また、800ppm群では体重増加の抑制があり（最終体重は雄が対照群の80%、雌は77%）、体重増加抑制の面では800ppmは高濃度と思われたが、肝臓は自己再生能の高い臓器であることから、800ppmの濃度でも2年間の暴露に耐える可能性が高いと考えられた。また、Malleyら(1994)は、N,N-ジメチルホルムアミドをCDラットに対して400ppmまでの濃度で1日6時間、週5回、24ヶ月間暴露する実験を行ったが、この実験

では生存数や一般状態に対する影響はなく、形態的に肝臓の単細胞壊死や小葉中心性腫脹といった組織障害がみられるものの腫瘍の発生増加はなかったと報告している（文献4）。以上のことを考慮して、がん原性試験の設定濃度は800ppmを最高濃度とし、以下、400ppm、200ppm（公比2）とした。

IV - 3 マウスの2週間試験のまとめと13週間試験の濃度設定

< 2週間試験 >

1) 雄

100ppm群では被験物質の暴露による変化はみられなかった。

200ppm群では、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性変性と巣状壊死がみられた。

400ppm群では、肝臓重量の高値、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性変性がみられた。

800ppm群では、摂餌量の抑制がみられ、肝臓重量の高値、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性変性がみられた。

1600ppm群では、体重増加の抑制、臓器重量で肝臓の高値と胸腺の低値がみられ、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性変性及び単細胞壊死（軽度～強度）と胸腺の萎縮がみられた。さらに、血液生化学的検査でアルブミン及び総コレステロールの増加、A/G比、GOT及びGPTの上昇がみられた。

2) 雌

100ppm群では、血液学的検査で血小板数の増加、血液生化学的検査で総コレステロールの増加がみられた。

200ppm群では、肝臓重量の高値、血液学的検査で血小板数の増加、血液生化学的検査で総コレステロールの増加がみられた。

800ppm群では、摂餌量の抑制、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性変性と心臓の炎症、血液学的検査で血小板数の増加、血液生化学的検査で総コレステロールの増加とGOT活性の上昇がみられた。

1600ppm群では、体重増加の抑制と摂餌量の抑制がみられ、臓器重量で肝臓、腎臓及び肺の高値と胸腺の低値、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性変性及び単細胞壊死（軽度～強度）、胸腺の萎縮、肺の胸膜炎がみられた。血液学的検査では赤血球数、血小板数及びヘモグロビン濃度の増加、分葉核好中球比の上昇、リンパ球比の低下、血液生化学的検査ではアルブミン及び総コレステロールの増加、GPT活性の上昇、グルコースの低下がみられた。

これらの結果から13週間試験の暴露濃度は、1) 1600ppm群は暴露期間中に死亡はみられないものの、肝臓組織の傷害が強い個体がみられたため

最高濃度は1600ppm未満に設定する。2) 800ppm群は雌雄ともに肝臓組織の傷害(軽度～中等度)があり、血液生化学的検査でも暴露による影響がみられたが、13週間暴露を行っても生存する可能性があると考えられる、3) 100ppmは血液生化学的検査で暴露による影響がみられたため、最大無作用濃度を求めるためにはより低い濃度を設定する必要がある、以上の3点を考慮して最高濃度を800ppmとして、以下400ppm、200ppm、100ppm、50ppm(公比2)とした。

IV - 4 マウスの13週間試験のまとめとがん原性試験の濃度設定

<13週間試験>

1) 雄

50ppm群では、体重増加の抑制、肝臓重量の高値、血液学的検査で血小板数の増加とM C Vの減少がみられた。

100ppm群では、体重増加の抑制、肝臓重量の高値、血液学的検査で血小板数の増加とヘマトクリット値及びM C Vの減少がみられた。血液生化学的検査では総コレステロールの増加、A L P活性の低下がみられた。

200ppm群では、体重増加の抑制、肝臓重量の高値、病理組織学的検査で腎臓の近位尿細管空胞化の減少がみられた。血液学的検査では血小板数の増加とヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、M C V及びM C Hの減少がみられた。尿検査で尿p Hの低下がみられた。

400ppm群では、体重増加の抑制、肝臓重量の高値がみられ、病理組織学的検査で腎臓の近位尿細管空胞化の減少する個体が増加した。血液学的検査では血小板数の増加とヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、M C V及びM C Hの減少がみられた。血液生化学的検査では総コレステロールの増加がみられた。

800ppm群では、体重増加の抑制と摂餌量の抑制、臓器重量で肝臓と肺の高値がみられた。病理組織学的検査では肝臓の単細胞壊死と中心性腫脹が全例にみられ、腎臓の近位尿細管空胞化の減少が全例にみられた。血液学的検査では血小板数の増加と白血球数の減少がみられ、血液生化学的検査ではA / G比の増加、G P T、A L P、G O T及びL D H活性の上昇がみられた。また尿検査で尿p Hの低下がみられた。

2) 雌

50ppm群は病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死、血液生化学的検査で総コレステロールの増加がみられた。

100ppm群では、病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死、血液学的検査で血小板数の増加とM C Vの減少がみられ、血液生化学的検査で総コレステロールの増加とA L P活性の低下がみられた。

200ppm群と400ppm群では、病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死がみられ、血液学的検査で血小板数及びリンパ球比の増加とM C V、M C H及び分葉核好中球比の減少がみられ、血液生化学的検査で総コレステロールの増加、G P T活性の上昇とA L P活性の低下がみられた。

800ppm群では、肺重量の高値がみられ、病理組織学的検査で肝臓の単細胞壊死と小葉中心性腫脹がみられた。血液学的検査では血小板数の増加及びリンパ球比の上昇と分葉核好中球比の低下がみられ、血液生化学的検査では総コレステロール及び尿素窒素の増加、A/G比の上昇、GPT及びLDH活性の上昇がみられた。

以上のように、*N,N*-ジメチルホルムアミド暴露により雌雄の800ppm群に肝臓の中心性腫脹や単細胞壊死などの肝臓を主とした組織傷害がみられ、雌では最低濃度の50ppm群まで肝臓の単細胞壊死の発生増加が認められた。これに伴って血液生化学的検査でGPTやLDHなどの活性の上昇もみられた。また、雄の800ppm群は体重と摂餌量の抑制がみられ、雄の体重増加の抑制は50ppm群でも認められた。さらに、多くの群で血中の総コレステロールの増加がみられ、脂質代謝の異常も示された。

マウスを用いた13週間吸入試験の結果、*N,N*-ジメチルホルムアミド暴露による障害は主に肝臓に認められ、800ppm群では肝臓組織の障害は軽度から重度であった。また、800ppm群では体重増加の抑制があり（最終体重は雄が対照群の81%、雌は97%）、体重増加抑制の面では800ppmは高濃度と思われた。しかし、肝臓は自己再生能の高い臓器であることから、800ppmの濃度でも2年間の暴露に耐える可能性が高いと考えられた。また、Malleyら(1994)は、*N,N*-ジメチルホルムアミドをCD-1(ICR)マウスに対して400ppmまでの濃度で1日6時間、週5回、18ヶ月間暴露する実験を行ったが、この実験では生存数や一般状態に対する影響はなく、形態的に肝臓の単細胞壊死や小葉中心性腫脹といった組織傷害がみられるものの腫瘍の発生増加はなかったと報告している（文献4）。以上のことを考慮して、がん原性試験の設定濃度は800ppmを最高濃度とし、以下、400ppm、200ppm（公比2）とした。

V 文献

1. EPA/NIH Mass Spectral Data Base (1978)
Vol.1, pp.20.
2. 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
3. 中央労働災害防止協会(1991)
化学物質の危険・有害便覧
pp.490, 中央労働災害防止協会, 東京
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 and Applied Toxicology,23,268-279