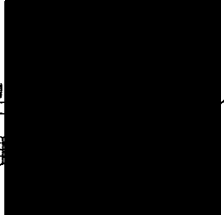




01-契-169

n-Heptyl 4-hydroxybenzoate の
卵巣摘出マウスを用いる
7日間反復経口投与子宮重量試験

厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課 委託

財団法人食品  ター
秦野



01-契-169

試験の表題： n-Heptyl 4-hydroxybenzoate の卵巣摘出マウスを用いる7日間反復経口投与子宮重量試験

試験委託者： 厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課

試験計画番号： R-01-020

試験契約書番号： 01-契-169

被験物質名： n-Heptyl 4-hydroxybenzoate

試験項目： 子宮重量試験

試験内容： 卵巣摘出マウスを用いる子宮重量試験

試験施設： 財団法人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)

運営管理者： 財団法人食品薬品安全センター秦野研究所
所長



試験の表題： n-Heptyl 4-hydroxybenzoate の卵巣摘出マウスを用いる7日間反復経口投与子宮重量試験

試験責任者： [redacted] (安全性試験室)

試験担当者 (○主担当者)：

投与・観察： ○ [redacted]

動物飼育管理： ○ [redacted]

病理学検査： ○ [redacted]

検体調製： ○ [redacted]

被験物質管理： ○ [redacted]

この報告書には、表題の試験について、試験計画書に従って確実に遂行された結果が正しく記載されております。

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

安全性試験室

[redacted]

[redacted]

【目 次】

	頁
要約	1
試験目的	2
方法	3
1. 被験物質	3
2. 陽性対照物質	3
3. 使用動物および飼育方法	3
4. 投与検体の調製	3
5. 投与量の設定および投与方法	4
6. 観察および検査	4
7. データ解析法	5
結果	6
1. 一般状態	6
2. 体重	6
3. 子宮重量	6
考察	7
文献	8
Figs. 1~2	
Tables 1~2	
Appendices 1~2	

【要 約】

卵巣摘出した C57BL/6J 系マウスに n-heptyl 4-hydroxybenzoate (以下 HHB と略記) を投与して、被験物質が生体内においてエストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用を示すか否かを検査した。エストロゲン作用を調べる目的で 0 (溶媒対照群)、30、100、300 および 1000 mg/kg/day の HHB を単独経口投与した群、陽性対照として 6 µg/kg/day のエチニルエストラジオール (以下 EE と略記) を経口投与した群、さらには抗エストロゲン作用を調べる目的で 0.6 µg/kg/day の EE を皮下投与し、同時に 0 (溶媒対照群)、30、100、300 および 1000 mg/kg/day の HHB を経口投与した群を設けた。HHB および EE の投与は、1日1回、7日間にわたり反復して行い、最終投与の約 24 時間後に屠殺して、子宮の重量を測定した。

死亡例および一般状態の異常は、いずれの投与群においても観察されなかった。体重は、1000 mg/kg の HHB 単独投与群において、溶媒対照群より有意に減少した。

HHB を単独投与した群の子宮重量、および HHB と EE を併用投与した群の子宮重量に、被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、n-heptyl 4-hydroxybenzoate は、生体内においてエストロゲン作用または抗エストロゲン作用を示さないものと判断された。

【試 験 目 的】

子宮重量試験法は、化学物質のエストロゲン作用および抗エストロゲン作用をインビボで短期に検出する方法として、内分泌かく乱化学物質のスクリーニング試験への応用が期待されている¹⁾。これまでに、合成エストロゲン剤のエチニルエストラジオールを用いて、子宮重量試験法のエストロゲン作用評価における有効性について確認し²⁾、さらに、エストロゲン受容体のアンタゴニストである ZM189,154 をエチニルエストラジオールと併用投与して子宮重量試験法の抗エストロゲン作用評価における有効性についても検討してきた²⁾。今回、卵巣摘出マウスに n-heptyl 4-hydroxybenzoate を単独投与あるいはエチニルエストラジオールとの併用投与を実施して、被験物質の生体内におけるエストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用の有無を検討した。なお、本試験は、子宮重量試験に関する OECD バリデーションワークのプロトコール C (2000 年 4 月 21 日草案) に準拠して行った。

【方 法】

1. 被験物質

試験には、n-heptyl 4-hydroxybenzoate (CAS No.: 1085-12-7、略称: HHB、純度: 98.0%以上、ロット番号: ████████ 入手先: ████████) を使用した。被験物質は、使用時まで被験物質受領保管室において室温保管した。

2. 陽性対照物質

陽性対照物質として、合成エストロゲン剤のエチニルエストラジオール (CAS No.57-63-6、略称:EE、純度:99.0%、ロット番号: ELJ6671、入手先: 和光純薬工業(株)) を使用した。陽性対照物質は、使用時まで被験物質保管室において冷蔵、遮光条件下で保管した。

3. 使用動物および飼育方法

試験には、6週齢時に卵巣を摘出した C57BL/6J 系雌マウス (日本エスエルシー生産) を財団法人動物繁殖研究所より 6.5 週齢 (卵巣摘出後 3 日) で入手して、使用した。動物は、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて入荷後 7 日間予備飼育したのち、一般状態に異常が認められなかった動物を試験に供した。なお、検疫終了翌日から 4 日間は毎日膣スミアを採取し、性周期を観察した。検疫が終了した動物は、8 週齢時の投与開始前日に測定した体重を基に、体重別層化無作為抽出法により、群分けした。なお、性周期観察で発情が認められた動物は群分けの対象から除外した。群分けした動物には、油性フェルトペンにより尾に個体識別し、さらに耳パンチで個体識別した。また、各飼育ケージには、投与群ごとに色彩の異なる動物カードに試験計画番号および個体識別番号を記入して掛けた。

動物は、許容温度 21.0~25.0℃、許容湿度 40.0~75.0%、換気回数約 15 回/時、照明 12 時間 (7 時~19 時点灯) に制御された飼育室で、床敷としてペパークリーン (日本エスエルシー(株)) を入れた TPX 樹脂製ケージ (235w×325d×170h mm) に 6 匹ずつ収容し、固型飼料 (CE-2、日本クレア(株)) および水道水 (秦野市水道局給水) を自由に摂取させて飼育した。

4. 投与検体の調製

投与検体のうち被験物質の作製に際しては、正確に秤量した HHB を少量のエタノール (和光純薬工業(株)) に溶解後、コーン油 (ナカライテスク(株)、製造番号: V2E7069) に溶解して最高濃度の投与検体を調製し、ついで、これをコーン油で希釈して所定の濃度に調製した。EE 溶液は、秤量した EE を少量のエタノール (和光純薬工業(株)) に溶解後、コーン油 (ナカライテスク(株)、製造番号: V2E7069) に溶解して調製した。調製した投与検体は、いずれも気密、冷蔵、遮光の条件下で保管し、調製後 8 日以内に使用した。

5. 投与量の設定および投与方法

被験物質の投与量は毒性予備試験の結果から設定した。すなわち、C57BL/6J系雌マウスを用いて100、300および1000 mg/kg/dayのHHB投与群を設け、各群3匹に3日間反復経口投与した結果、いずれの投与群においても死亡例が認められなかったことから、子宮重量試験の投与量は30、100、300および1000 mg/kg/dayとした。陽性対照群には6 µg/kg/dayのEEを経口投与し、併用投与群には0.6 µg/kg/dayのEEを皮下投与した。投与は、マイクロシリンジおよびマウス用胃管を用いて、毎日、9時から12時の間に、1日1回ずつ7日間にわたり行った。溶媒対照群の動物にはHHBの溶媒であるコーン油を投与し、併用投与を実施した群は、被験物質を先に経口投与し、15分以内にEEを皮下投与した。投与液量の算出は毎日測定された体重を基に行った。

各群の投与量、投与容量および動物番号は次の通りである。

群	投与量		投与容量		動物番号	
	HHB (mg/kg)	EE (µg/kg)	HHB (mL/kg)	EE (mL/kg)		
エストロゲン作用	1 溶媒対照群	0	—	5*	—	FX01001~FX01006
	2 低用量群	30	—	5	—	FX02001~FX02006
	3 中低用量群	100	—	5	—	FX03001~FX03006
	4 中高用量群	300	—	5	—	FX04001~FX04006
	5 高用量群	1000	—	5	—	FX05001~FX05006
	6 陽性対照群	—	6	—	5	FX06001~FX06006
抗エストロゲン作用	7 溶媒対照群	0	0.6	5*	2**	FX07001~FX07006
	8 低用量群	30	0.6	5	2**	FX08001~FX08006
	9 中低用量群	100	0.6	5	2**	FX09001~FX09006
	10 中高用量群	300	0.6	5	2**	FX10001~FX10006
	11 高用量群	1000	0.6	5	2**	FX11001~FX11006

*: コーン油

** : 皮下投与

6. 観察および検査

1) 一般状態

全例について、飼育期間中、毎日1回以上（投与期間中は投与前および投与後）観察した。

2) 体重測定

全例について投与開始日、投与期間中毎日および解剖日に測定した。

3) 子宮重量測定

全例について、最終投与の約 24 時間後に、頸椎脱臼法により放血、致死させ、卵巣が残存していないか確認しながら、子宮および膣を一括して摘出した。摘出後は、すみやかに氷冷し、実体顕微鏡下で、脂肪を除去した後、膣を子宮頸の外子宮口側で子宮から切り離した。子宮重量は、子宮内液を含んだ状態でまず測定し (wet weight)、次に子宮壁の一部を切開し、子宮内液をガーゼで吸い取った後、再度、重量を測定した (blotted weight)。

7. データ解析法

体重および子宮重量は、群ごとの平均値±標準偏差で表した。得られたデータは一元配置型の分散分析法を用いて解析し、有意性が認められた場合には、溶媒対照群を基準群として、Dunnett の多重比較検定を行った。ただし、陽性対照群と溶媒対照群の比較については、Student の *t* 検定を用いた。有意水準は 5 および 1 % とした。

【結 果】

1. 一般状態

いずれの投与群においても、死亡動物は認められず、一般状態にも異常は観察されなかった。

2. 体重 (Table 1、Appendix 1)

エストロゲン作用を調べる目的で被験物質を単独投与した群では、1000 mg/kgのHHB投与群において、投与4および6日の体重が溶媒対照群より有意に減少した。

HHBとEEの併用投与群および陽性対照群においては、溶媒対照群の間に有意差は認められなかった。

3. 子宮重量 (Table 2、Appendix 2)

エストロゲン作用を調べる目的の被験物質単独投与群 (Fig. 1) では、HHB各投与群と溶媒対照群の子宮重量に有意差は認められなかった。なお、陽性対照群においては、子宮の重量および相対重量が溶媒対照群より有意に増加した。

抗エストロゲン作用を調べる目的のEE併用投与群 (Fig. 2) においても、HHB各投与群と溶媒対照群の子宮重量に有意差は認められなかった。

【考 察】

卵巣摘出した C57BL/6J 系マウスに HHB を経口投与して、生体内におけるエストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用の有無を検討した。

体重は、1000 mg/kg の被験物質投与群において溶媒対照群よりやや低値に推移したが、この変化は HHB を皮下投与した子宮重量試験³⁾においても認められていることから、被験物質の毒性学的影響を反映したものと推察される。

HHB 単独投与群および EE 併用投与のいずれにおいても子宮重量に被験物質投与の影響を示唆する変化はみられなかった。したがって本試験条件下では生体内におけるエストロゲン作用および抗エストロゲン作用はないものと考えられた。

以上の結果から、HHB は経口投与により、生体内で抗エストロゲン作用または抗エストロゲン作用を示さないものと判断された。

【文 献】

- 1) 菅野純, 松島裕子, 永井賢司, 金子豊蔵 : 子宮肥大試験およびハーシューバーガー試験, 井上達監修「内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法」, シュプリンガー・フェアラー
ク東京, 東京 (2000) pp. 49-75
- 2) Kanno, J., Onyon, L., Haseman, J., Fenner-Crisp, P., Ashby, J, Owens, W. : The
OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay to screen compounds for
in vivo estrogenic responses: Phase 1. Environ. Health Perspect. 109 : 785-794
(2001)
- 3) 太田亮 : n-Heptyl 4-hydroxybenzoateの卵巣摘出マウスを用いる7日間反復皮下投与
子宮重量試験 (試験計画番号 : R-01-021), 秦野研究所報告書

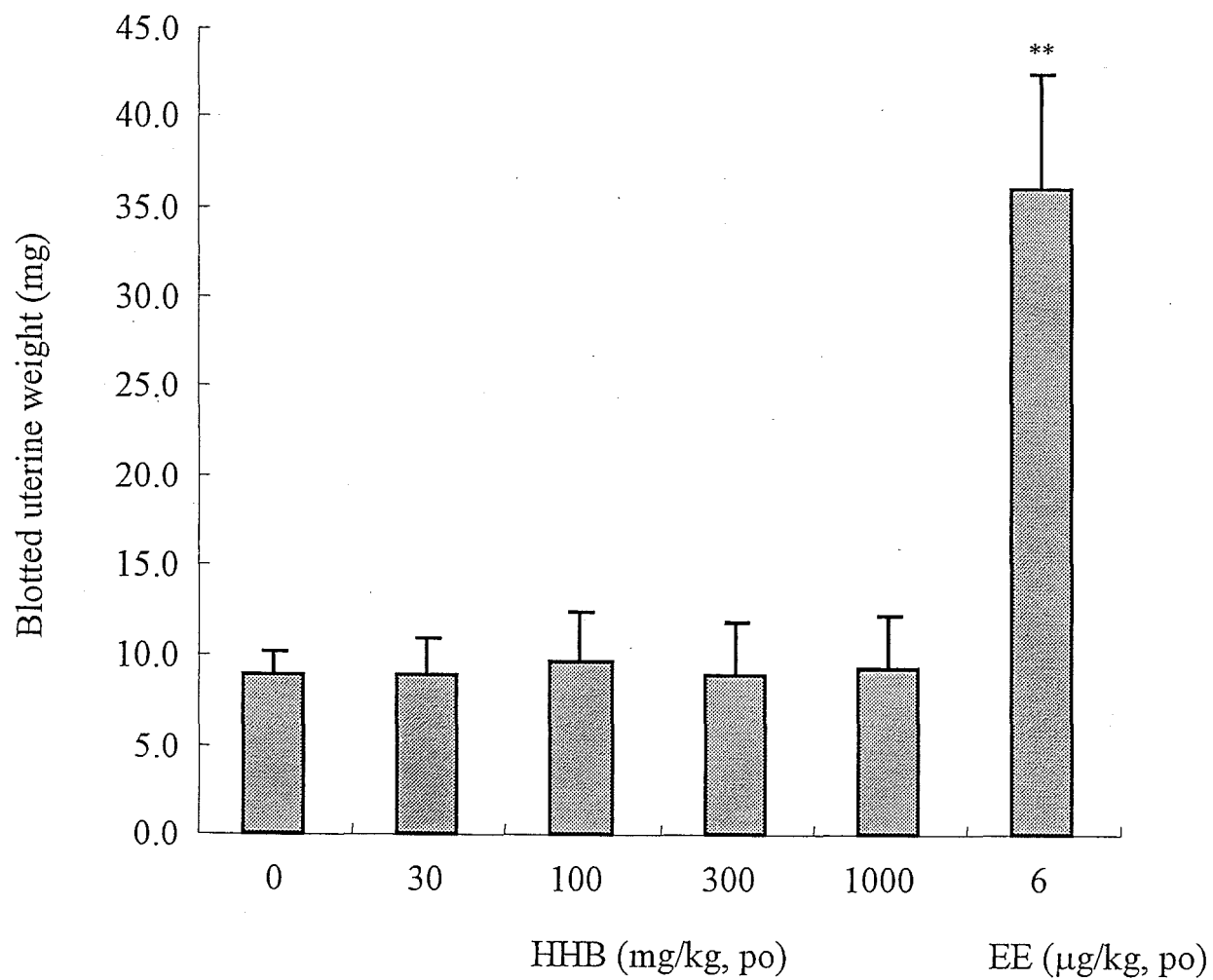


Fig. 1 Uterotrophic assay of HHB for estrogenic activity detection in ovariectomized C57BL/6J mice

HHB, N-heptyl 4-hydroxybenzoate

EE, ethinyl estradiol

** , significant difference from 0 mg/kg group ($p < 0.01$)

Bar, S.D.

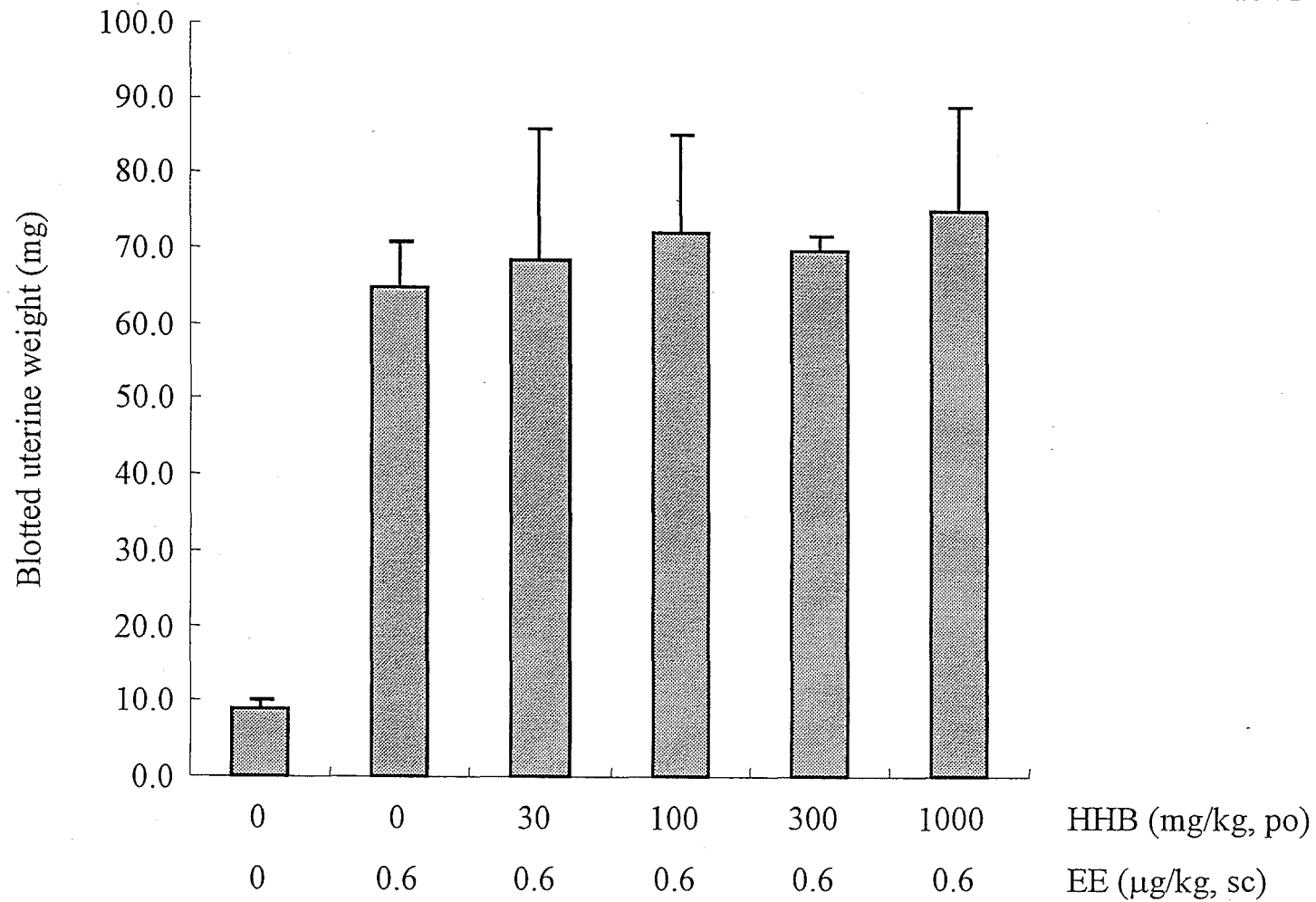


Fig. 2 Uterotrophic assay of HHB for antiestrogenic activity detection in ovariectomized C57BL/6J mice

HHB, N-heptyl 4-hydroxybenzoate
EE, ethinyl estradiol
Bar, S.D.

Table 1

R-01-020

Uterotrophic assay of n-heptyl 4-hydroxybenzoate in ovariectomized C57BL/6J mice

Administration route: oral

Body weight (g); mean \pm S.D. (N)

Treatment group	Days of treatment			
	1	2	3	4
HHB 0 (corn oil)	19.7 \pm 0.5 (6)	19.9 \pm 0.6 (6)	20.0 \pm 0.5 (6)	20.2 \pm 0.5 (6)
HHB 30	20.1 \pm 0.5 (6)	19.8 \pm 0.7 (6)	20.1 \pm 0.6 (6)	20.1 \pm 0.5 (6)
HHB 100	19.6 \pm 0.7 (6)	19.6 \pm 0.7 (6)	19.6 \pm 0.6 (6)	20.1 \pm 0.8 (6)
HHB 300	19.9 \pm 0.4 (6)	20.0 \pm 0.3 (6)	20.2 \pm 0.5 (6)	20.3 \pm 0.5 (6)
HHB 1000	19.8 \pm 0.4 (6)	19.4 \pm 0.5 (6)	18.9 \pm 1.2 (6)	18.8 \pm 1.0 ** (6)
EE 6	19.7 \pm 0.4 (6)	20.0 \pm 0.6 (6)	20.1 \pm 0.3 (6)	20.0 \pm 0.4 (6)
<hr/>				
HHB 0 & EE 0.6 (sc)	19.7 \pm 0.5 (6)	20.1 \pm 0.6 (6)	20.3 \pm 0.3 (6)	20.5 \pm 0.4 (6)
HHB 30 & EE 0.6 (sc)	19.6 \pm 0.3 (6)	20.2 \pm 0.3 (6)	20.4 \pm 0.3 (6)	20.5 \pm 0.5 (6)
HHB 100 & EE 0.6 (sc)	19.6 \pm 0.6 (6)	20.0 \pm 0.5 (6)	20.0 \pm 0.6 (6)	20.1 \pm 0.7 (6)
HHB 300 & EE 0.6 (sc)	19.6 \pm 0.5 (6)	20.2 \pm 0.6 (6)	20.4 \pm 0.5 (6)	20.6 \pm 0.7 (6)
HHB 1000 & EE 0.6 (sc)	19.6 \pm 0.4 (6)	20.0 \pm 0.4 (6)	20.2 \pm 0.4 (6)	20.5 \pm 0.4 (6)
<hr/>				
Treatment group	Days of treatment			
	5	6	7	8
HHB 0 (corn oil)	20.2 \pm 0.7 (6)	20.1 \pm 0.6 (6)	19.6 \pm 0.8 (6)	19.7 \pm 0.9 (6)
HHB 30	19.7 \pm 0.6 (6)	20.0 \pm 0.6 (6)	19.7 \pm 0.6 (6)	19.8 \pm 0.6 (6)
HHB 100	20.0 \pm 0.7 (6)	19.9 \pm 0.7 (6)	19.7 \pm 0.7 (6)	19.7 \pm 0.8 (6)
HHB 300	20.1 \pm 0.5 (6)	20.2 \pm 0.5 (6)	19.9 \pm 0.4 (6)	19.9 \pm 0.5 (6)
HHB 1000	19.2 \pm 1.0 (6)	19.1 \pm 0.6 * (6)	19.4 \pm 0.5 (6)	19.4 \pm 0.9 (6)
EE 6	19.9 \pm 0.4 (6)	20.3 \pm 0.5 (6)	19.8 \pm 0.4 (6)	19.8 \pm 0.4 (6)
<hr/>				
HHB 0 & EE 0.6 (sc)	20.5 \pm 0.4 (6)	20.5 \pm 0.4 (6)	20.0 \pm 0.5 (6)	20.1 \pm 0.4 (6)
HHB 30 & EE 0.6 (sc)	21.0 \pm 0.6 (6)	20.5 \pm 0.6 (6)	20.4 \pm 0.5 (6)	20.4 \pm 0.5 (6)
HHB 100 & EE 0.6 (sc)	20.3 \pm 0.8 (6)	20.3 \pm 0.9 (6)	20.1 \pm 0.7 (6)	19.8 \pm 0.7 (6)
HHB 300 & EE 0.6 (sc)	20.7 \pm 0.6 (6)	20.6 \pm 0.7 (6)	20.3 \pm 0.8 (6)	20.3 \pm 0.7 (6)
HHB 1000 & EE 0.6 (sc)	20.5 \pm 0.4 (6)	20.3 \pm 0.9 (6)	19.7 \pm 1.0 (6)	19.6 \pm 0.9 (6)

HHB, n-heptyl 4-hydroxybenzoate (mg/kg)

EE, ethinylestradiol (μ g/kg)*, **, Significant difference from 0mg/kg group ($p < 0.05, p < 0.01$)

Table 2

R-01-020

Uterotrophic assay of n-heptyl 4-hydroxybenzoate in ovariectomized C57BL/6J mice

Administration route: oral

Uterine weight, mean \pm S.D. (N)

Treatment group	Final body weight			Wet uterine weight						Blotted uterine weight						
	(g)		(N)	Absolute (mg)		(N)	Relative (a)		(N)	Absolute (mg)		(N)	Relative (a)		(N)	
HHB 0 (corn oil)	19.7	\pm 0.9	(6)	9.4	\pm 1.6	(6)	47.6	\pm 7.6	(6)	8.9	\pm 1.4	(6)	45.0	\pm 6.7	(6)	
HHB 30	19.8	\pm 0.6	(6)	9.6	\pm 2.4	(6)	48.5	\pm 12.0	(6)	9.0	\pm 2.0	(6)	45.4	\pm 10.1	(6)	
HHB 100	19.7	\pm 0.8	(6)	10.3	\pm 2.8	(6)	51.8	\pm 12.9	(6)	9.8	\pm 2.7	(6)	49.3	\pm 12.6	(6)	
HHB 300	19.9	\pm 0.5	(6)	9.4	\pm 2.8	(6)	47.2	\pm 14.3	(6)	9.0	\pm 2.9	(6)	45.2	\pm 14.6	(6)	
HHB 1000	19.4	\pm 0.9	(6)	9.8	\pm 2.9	(6)	50.7	\pm 15.5	(6)	9.4	\pm 2.8	(6)	48.6	\pm 14.9	(6)	
EE 6	19.8	\pm 0.4	(6)	37.5	\pm 6.8 **	(6)	190.3	\pm 36.9 **	(6)	36.1	\pm 6.3 **	(6)	182.9	\pm 34.3 **	(6)	

HHB 0 & EE 0.6	(sc)	20.1	\pm 0.4	(6)	67.4	\pm 6.5	(6)	335.7	\pm 36.0	(6)	65.0	\pm 5.9	(6)	323.8	\pm 33.0	(6)
HHB 30 & EE 0.6	(sc)	20.4	\pm 0.5	(6)	71.8	\pm 18.5	(6)	350.5	\pm 82.7	(6)	68.5	\pm 17.3	(6)	334.4	\pm 77.7	(6)
HHB 100 & EE 0.6	(sc)	19.8	\pm 0.7	(6)	75.5	\pm 13.9	(6)	381.9	\pm 70.8	(6)	72.2	\pm 13.0	(6)	365.0	\pm 65.8	(6)
HHB 300 & EE 0.6	(sc)	20.3	\pm 0.7	(6)	71.9	\pm 3.5	(6)	356.1	\pm 29.6	(6)	69.5	\pm 2.2	(6)	343.8	\pm 23.1	(6)
HHB 1000 & EE 0.6	(sc)	19.6	\pm 0.9	(6)	84.2	\pm 23.2	(6)	430.6	\pm 116.3	(6)	75.0	\pm 13.7	(6)	383.8	\pm 73.2	(6)

HHB, n-heptyl 4-hydroxybenzoate (mg/kg)

EE, ethinylestradiol (μ g/kg)

a, relative weight (mg per 100 g final body weight)

**, Significant difference from 0mg/kg group ($p < 0.01$)

Uterotrophic assay of n-heptyl 4-hydroxybenzoate in ovariectomized C57BL/6J mice

Administration route: oral

Uterine weight

2-1 Vehicle control; HHB 0 mg/kg (corn oil 5 mL/kg)

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX01001	19.6	11.8	60.2	10.8	55.1
FX01002	21.1	10.2	48.3	9.9	46.9
FX01003	20.4	9.4	46.1	8.8	43.1
FX01004	18.9	7.8	41.3	7.4	39.2
FX01005	19.5	7.6	39.0	7.2	36.9
FX01006	18.9	9.6	50.8	9.2	48.7
Mean	19.7	9.4	47.6	8.9	45.0
S.D.	0.9	1.6	7.6	1.4	6.7
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-2 HHB 30 mg/kg

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX02001	20.2	14.4	71.3	12.9	63.9
FX02002	19.5	8.7	44.6	8.2	42.1
FX02003	20.7	8.2	39.6	7.7	37.2
FX02004	20.2	8.4	41.6	7.9	39.1
FX02005	19.3	8.0	41.5	7.7	39.9
FX02006	19.0	9.9	52.1	9.5	50.0
Mean	19.8	9.6	48.5	9.0	45.4
S.D.	0.6	2.4	12.0	2.0	10.1
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-3 HHB 100 mg/kg

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX03001	19.7	14.3	72.6	13.7	69.5
FX03002	20.9	12.2	58.4	11.7	56.0
FX03003	19.9	10.7	53.8	10.2	51.3
FX03004	18.6	7.2	38.7	7.0	37.6
FX03005	19.9	9.7	48.7	9.2	46.2
FX03006	19.2	7.4	38.5	6.8	35.4
Mean	19.7	10.3	51.8	9.8	49.3
S.D.	0.8	2.8	12.9	2.7	12.6
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-4 HHB 300 mg/kg

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX04001	20.6	12.2	59.2	11.9	57.8
FX04002	19.5	7.3	37.4	7.1	36.4
FX04003	19.4	13.4	69.1	13.0	67.0
FX04004	20.0	8.1	40.5	7.4	37.0
FX04005	19.6	9.0	45.9	8.7	44.4
FX04006	20.1	6.3	31.3	5.7	28.4
Mean	19.9	9.4	47.2	9.0	45.2
S.D.	0.5	2.8	14.3	2.9	14.6
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

a, relative weight (mg per 100 g final body weight)

Uterotrophic assay of n-heptyl 4-hydroxybenzoate in ovariectomized C57BL/6J mice

Administration route: oral

Uterine weight

2-5 HHB 1000 mg/kg

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX05001	18.9	14.6	77.2	14.0	74.1
FX05002	18.0	9.0	50.0	8.4	46.7
FX05003	19.8	10.7	54.0	10.1	51.0
FX05004	18.9	7.5	39.7	7.1	37.6
FX05005	20.2	10.5	52.0	10.4	51.5
FX05006	20.3	6.4	31.5	6.2	30.5
Mean	19.4	9.8	50.7	9.4	48.6
S.D.	0.9	2.9	15.5	2.8	14.9
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-6 Positive control; EE 6µg/kg

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX06001	20.4	33.6	164.7	32.5	159.3
FX06002	19.5	48.1	246.7	46.2	236.9
FX06003	19.4	44.1	227.3	41.8	215.5
FX06004	19.9	32.1	161.3	31.6	158.8
FX06005	19.4	33.0	170.1	32.0	164.9
FX06006	19.9	34.2	171.9	32.2	161.8
Mean	19.8	37.5	190.3	36.1	182.9
S.D.	0.4	6.8	36.9	6.3	34.3
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-7 HHB 0 mg/kg (corn oil 5 mL/kg) & EE 0.6µg/kg (sc)

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX07001	20.0	78.5	392.5	75.3	376.5
FX07002	19.5	66.5	341.0	64.6	331.3
FX07003	19.7	70.3	356.9	67.1	340.6
FX07004	20.2	64.3	318.3	62.4	308.9
FX07005	20.7	65.3	315.5	62.6	302.4
FX07006	20.4	59.2	290.2	57.8	283.3
Mean	20.1	67.4	335.7	65.0	323.8
S.D.	0.4	6.5	36.0	5.9	33.0
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-8 HHB 30 mg/kg & EE 0.6µg/kg (sc)

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX08001	21.0	90.4	430.5	87.0	414.3
FX08002	20.1	69.1	343.8	66.2	329.4
FX08003	20.5	79.1	385.9	76.0	370.7
FX08004	19.8	60.5	305.6	58.3	294.4
FX08005	19.9	42.3	212.6	40.4	203.0
FX08006	21.0	89.1	424.3	82.8	394.3
Mean	20.4	71.8	350.5	68.5	334.4
S.D.	0.5	18.5	82.7	17.3	77.7
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

a, relative weight (mg per 100 g final body weight)

Uterotrophic assay of n-heptyl 4-hydroxybenzoate in ovariectomized C57BL/6J mice

Administration route: oral

Uterine weight

2-9 HHB 100 mg/kg & EE 0.6µg/kg (sc)

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX09001	20.4	89.4	438.2	86.4	423.5
FX09002	20.0	84.4	422.0	78.9	394.5
FX09003	19.2	53.1	276.6	51.5	268.2
FX09004	19.4	78.3	403.6	75.3	388.1
FX09005	20.8	64.4	309.6	61.8	297.1
FX09006	18.9	83.4	441.3	79.1	418.5
Mean	19.8	75.5	381.9	72.2	365.0
S.D.	0.7	13.9	70.8	13.0	65.8
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-10 HHB 300 mg/kg & EE 0.6µg/kg (sc)

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX10001	20.3	70.2	345.8	68.4	336.9
FX10002	20.7	71.7	346.4	69.4	335.3
FX10003	21.1	69.8	330.8	68.3	323.7
FX10004	19.4	73.9	380.9	71.9	370.6
FX10005	19.3	77.8	403.1	72.3	374.6
FX10006	20.7	68.2	329.5	66.6	321.7
Mean	20.3	71.9	356.1	69.5	343.8
S.D.	0.7	3.5	29.6	2.2	23.1
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

2-11 HHB 1000 mg/kg & EE 0.6µg/kg (sc)

Animal no.	Final body weight (g)	Wet uterine weight		Blotted uterine weight	
		Absolute (mg)	Relative (a)	Absolute (mg)	Relative (a)
FX11001	20.0	122.3	611.5	86.7	433.5
FX11002	18.4	86.9	472.3	84.9	461.4
FX11003	20.6	88.1	427.7	80.6	391.3
FX11004	19.6	50.3	256.6	49.1	250.5
FX11005	20.1	75.9	377.6	73.8	367.2
FX11006	18.7	81.9	438.0	74.6	398.9
Mean	19.6	84.2	430.6	75.0	383.8
S.D.	0.9	23.2	116.3	13.7	73.2
(N)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

a, relative weight (mg per 100 g final body weight)