

厚生省生活衛生局 殿

試 験 報 告 書

5-エチリデン-2-ノルボルネンのラットを用いた経口投与による
簡易生殖毒性試験

(試験番号：7L631)

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要 約	8
緒 言	9
材料および方法	10
1. 被験物質	10
2. 試験動物	10
3. 動物飼育	11
4. 投与	11
5. 群構成	12
6. 反復投与毒性に関する観察・検査項目	12
6.1 一般状態	12
6.2 体重	12
6.3 摂餌量	13
6.4 病理学検査	13
7. 生殖発生毒性に関する観察・検査項目	14
7.1 生殖機能	14
7.2 分娩および哺育状態	14
7.3 新生児の観察・検査	14
8. 統計学的解析	15
結 果	16
1. 反復投与毒性	16
1.1 一般状態	16
1.2 体 重	16
1.3 摂餌量	16
1.4 器官重量	16
1.5 剖検所見	16
1.6 病理組織所見	17
2. 生殖発生毒性	17
2.1 生殖機能	17

2.2 分娩および哺育状態	18
2.3 新生児への影響	18
考察および結論	19
参考文献	21
添付資料	22
1. 被験物質の分析	22
1.1 投与開始前	22
1.2 投与終了後	23
2. 投与液の分析	24
2.1 安定性分析	24
2.2 濃度分析	24

図および群別表

要 約

5-エチリデン-2-ノルボルネンを 4, 20 および 100 mg/kg/day の用量で SD 系ラット〔Crj:CD(SD) IGS〕の雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 45 日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、対照群には媒体（コーン油）のみを投与した。

1. 反復投与毒性

100 mg/kg 群において、雄で死亡が投与 25 および 36 日にそれぞれ 1 例認められ、雌雄とも投与開始後 7 日から剖検時まで体重増加の抑制および摂餌量の減少が認められた。また、雄では肝臓の相対重量の増加および暗褐色化がみられ、病理組織学的には小葉中心性肝細胞肥大および肝細胞の空胞化などが認められた。

2. 生殖発生毒性

親動物では、100 mg/kg 群において、交尾率、受胎率、出産率、黄体数、分娩状態および哺育行動に被験物質に起因する変化は認められなかったが、妊娠期間の延長、着床数の低値傾向、着床率および分娩率の減少が認められた。

児動物では、100 mg/kg 群において、総出産児数、出産生児数および哺育 4 日の生児数に低値が認められた。

その他、性比、出生率、新生児の 4 日生存率、剖検所見および外表に被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下における 5-エチリデン-2-ノルボルネンの反復経口投与毒性に関する無影響量は雌雄とも 20 mg/kg/day、生殖発生毒性に関する無影響量は親動物および児動物とも 20 mg/kg/day と判断される。

緒 言

5-エチリデン-2-ノルボルネンは高分子ゴム改質剤，塗料，接着剤などの製造に使用されている¹⁾。毒性に関する情報としては，ラットの経口投与による LD₅₀ 値は 2527 mg/kg²⁾で，皮膚や粘膜に刺激性を有する報告³⁾などがあるが，生殖発生毒性については知られていない。

今回，OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として，ラットを用いて簡易生殖毒性試験を実施し，反復投与による影響および生殖発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

材料および方法

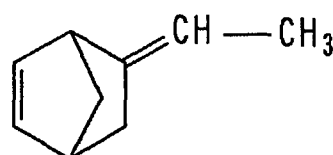
1. 被験物質

から供給された 5-エチリデン-2-ノルボルネン（略称：ENB, CAS No. 16219-75-3, ロット番号 純度 99.5 %）を窒素シール，密閉，冷蔵遮光下で保管し，使用した．被験物質は下記の化学名，構造式，分子量および不純物を有する融点 -80°C 以下，沸点 147°C ，蒸気圧 $6\text{mmHg}/25^{\circ}\text{C}$ ，水との反応性はなく， 320°C 以上で異常発熱し，光で着色，水に 0.01g 以下/ 100g (25°C) 溶解し，有機溶剤に易溶の不快臭がある無色透明な液体である．

被験物質の安定性は，被験物質供給者より安定性を保証する資料を入手し，確認した（添付資料）．

化学名： 5-Ethylidene bicyclo(2,2,1)hept-2-ene [EBH]

構造式：



示性式： C_9H_{12}

分子量：120.19

不純物：ビニルビシクロヘプテン 0.2 %

未知成分 0.3 %

2. 試験動物

動物は，日本チャールス・リバー(株)から 1998 年 3 月 4 日に SD 系ラット [Crj: CD(SD)IGS, SPF] 雌雄各 54 匹を入手した．入荷後，検疫・馴化飼育を 6 日間行い，一般状態に異常のないことを確認した後，試験に供した．投与開始前日に各群の体重がほぼ均一となるように，体重別層化無作為抽出法により，1 群あたり雌雄各 12 匹を振り分けた．投与開始時の週齢は雌雄とも 9 週齢，体重範囲は雄が $320 \sim 356\text{g}$ ，雌が $203 \sim 237\text{g}$ であった．

各動物は耳パンチ法によって個体識別を行った．各ケージには試験番号，被験物質名，動物番号，性別，用量，動物種および系統などを記載したカラーラベルを付けて識別した．

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通じて、温度 22 ± 2 °C（実測値：21.5 ～ 24.0 °C）、相対湿度 55 ± 15 %（実測値：41.5 ～ 57.0 %）、換気約 12 回／時、照明 12 時間／日（7:00-19:00）に設定された飼育室を使用した。

動物は、実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー(株)）を入れたポリカーボネート製ケージ（265W × 426D × 200H mm，トキワ科学器械(株)）に、1 ケージあたり群分け後は 1 匹，交配期間は雌雄各 1 匹，哺育期間は 1 腹ずつ収容し飼育した。なお、被験物質の不快臭が強いため、各ケージはステンレス製クリーンラック陰圧型（トキワ科学器械(株)，温度：22.3 ～ 25.3 °C，相対湿度：47 ～ 62 %）に収容した。給餌にはステンレス製固型飼料用給餌器（トキワ科学器械(株)）を、給水にはポリカーボネート製給水瓶（700 mL，トキワ科学器械(株)）を使用した。ケージ（含床敷）、給餌器および給水瓶はオートクレーブ滅菌し、週 1 回交換した。

動物には、オートクレーブ滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1，ロット番号 971112A3，オリエンタル酵母工業(株)），5 μ m のフィルター濾過後，紫外線照射した水道水を自由に摂取させた。飼料と飲用水は週 1 回交換した。

飼料はロットごとに、床敷は定期的に残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所で定めた基準に適合していることを確認した。また、飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的の実施し、分析値が基準に適合していることを確認している。

4. 投与

投与経路はガイドラインに従って、経口投与とした。投与期間は雌雄とも交配前 14 日間，交配期間および雄は剖検前日までの計 45 日間，雌は交尾後，妊娠，分娩を経て哺育 3 日までの計 40 ～ 45 日間とし，胃ゾンデを用いて 1 日 1 回，午前中に強制経口投与した。ただし，非分娩動物は交尾確認後 25 日までの計 40 日間投与した。

投与用量は予備試験の結果を参考に決定した。すなわち，被験物質を 0，30，100 および 300 mg/kg の用量で，1 群雌雄各 3 匹の SD 系ラットに 14 日間反復投与した結果，100 mg/kg 以上の群の雌雄で体重の増加抑制あるいは減少，肝臓重量の増加がみられ，さらに 300 mg/kg 群では摂餌量の減少も認められた。これらの結果および本試験の投与期間を考慮し，高用量は明らかな毒性発現が予想される 100 mg/kg

とし、以下公比 5 で 20 および 4 mg/kg の 3 用量を設定した。また、媒体（コーン油）のみを投与する対照群を設けた。投与液量は 5 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて算出した。

被験物質は各用量ごとにコーン油（純正化学(株)：ロット番号 7A2101, 7J2148）に溶解して、0.8, 4 および 20 mg/mL 投与液を調製した。投与液は 1 週間に 1 回調製し、投与に供するまで冷蔵・遮光下で保存したものを、調製後 8 日以内に使用した。投与開始前に冷蔵・遮光保存条件下での 0.8 および 20 mg/mL 投与液中の被験物質の 8 日間の安定性を確認した。また、初回調製時に各用量群の投与液を分析し、設定濃度の $\pm 10\%$ 以内であることを確認した（添付資料）。

5. 群構成

群 名	雄		雌	
	動物数	動物番号	動物数	動物番号
対 照	12	00101 ~ 00112	12	50101 ~ 50112
4 mg/kg	12	00201 ~ 00212	12	50201 ~ 50212
20 mg/kg	12	00301 ~ 00312	12	50301 ~ 50312
100 mg/kg	12	00401 ~ 00412	12	50401 ~ 50412

6. 反復投与毒性に関する観察・検査項目

次の項目を検査した。なお、雌雄とも交配前期間は投与開始日を 0 日、また、雌の交尾成立日を妊娠 0 日、分娩完了日を哺育 0 日とした。

6.1 一般状態

1 日 2 回（投与前、後）観察した。

6.2 体重

雌雄とも投与開始日、投与開始後 3, 7, 14 日およびその後は週 1 回、交尾が成立した雌は妊娠 0, 7, 14, 20 日および哺育 0, 4 日に電子上皿天秤（EB-5000, EB-3200S：(株)島津製作所）を用いて測定した。また、体重増加量は雄では投与開始日の体重を基準に、雌では交配前期間、妊娠期間および哺育期間のそれぞれ投与開始日、妊娠 0 日および哺育 0 日の体重を基準に算出した。

6.3 摂餌量

雌雄とも投与開始日，投与開始後 3，7，14 日およびその後雄は交配期間中を除き週 1 回，交尾した雌は妊娠 0，7，14，20 日および哺育 0，4 日に上記天秤を用いて風袋込み重量を測定し，1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

6.4 病理学検査

1) 病理解剖検査

雌雄とも最終投与日の翌日（雄；投与開始後 45 日，雌；投与開始後 40 ～ 45 日）に，全生存動物をペントバルビタールナトリウム（ネンブタール：ダイナボット(株)）の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し，安楽死させた後，剖検した。非分娩動物は交尾確認後 26 日に，全新生児が死亡した動物および死亡動物は速やかに剖検した。なお，20 mg/kg 群の雌 1 例（50310）は，未交尾動物として取り扱っていたが，分娩したため速やかに剖検し，交尾以降の成績は評価の対象から除外した。

2) 器官重量測定

全生存動物について，肝臓，精巣および精巣上体の器官重量を電子上皿天秤（AEG-120，(株)島津製作所）を用いて測定した。また，解剖日の体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

3) 病理組織学検査

全例について，肝臓，精巣，精巣上体，精のう，前立腺腹葉，卵巢，子宮，膣，全新生児が死亡した母動物の乳腺および肉眼的異常部位の器官・組織を採取し，10 % 中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し，保存した。ただし，死亡動物以外の精巣および精巣上体はブアン液で固定した。

病理組織学検査は，対照群と 100 mg/kg 群の雌雄全例の肝臓，精巣，精巣上体，非妊娠雌の卵巢および全試験動物の肉眼的異常部位を常法に従って，ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し，鏡検した。なお，雄の肝臓で被験物質に起因する変化が認められたため，4 および 20 mg/kg 群の雄の肝臓についても検査した。また，100 mg/kg 群の代表例の肝臓は脂肪（オイルレッド O）染色標本を作製し，鏡検した。

7. 生殖発生毒性に関する観察・検査項目

7.1 生殖機能

各群内で雄 1 雌 1 の交配対を設け、投与開始後 14 日の夕方から 14 日間を限度に昼夜同居させ、雌の膣垢を毎日午前中に採取し、ギムザ染色して鏡検した。膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。

これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 交尾所要日数：交配開始後、交尾成立までに要した日数
- (2) 交尾成立までに逸した発情期の回数
- (3) 交尾率（％）： $(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数}) \times 100$
- (4) 受胎率（％）： $(\text{受胎動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$

7.2 分娩および哺育状態

交尾した雌は全例を自然分娩させた。午前 9 時の時点で分娩が完了している動物を当該日分娩とし、その日を哺育 0 日とした。分娩状態を観察した後、新生児を生後 4 日（哺育 4 日）まで哺育させ、授乳、営巣、食殺の有無等の哺育状態を毎日観察した。

母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。なお、分娩しなかった動物は交尾確認後 26 日の剖検時に子宮を 10 % 硫化アンモニウム水溶液に浸漬して着床痕を染色し、着床の有無を確認した。

これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 妊娠期間：妊娠 0 日から出産が確認された日までの日数
- (2) 出産率（％）： $(\text{生児出産雌数} / \text{受胎雌数}) \times 100$
- (3) 着床率（％）： $(\text{着床率} / \text{黄体数}) \times 100$
- (4) 分娩率（％）： $(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100$

7.3 新生児の観察・検査

1) 新生児の観察

哺育 0 日に出産児数（出產生児数、死亡児数）、性別および外表異常の有無を検査した。その後は、一般状態、死亡の有無等を哺育 4 日まで毎日観察した。

哺育 0 および 4 日の生存児数から、次の項目を算出した。

- (1) 出生率（％）： $(\text{出產生児数} / \text{総出産児数}) \times 100$

(2) 新生児の4日生存率(%) : (哺育4日生存児数 / 出産児数) × 100

2) 体重測定

哺育0および4日に全生存児を個体ごとに測定した。また、体重増加量は哺育0日の体重を基準に算出した。

3) 剖 検

哺育4日に全生存児の口腔を含む外表を検査した後、親動物と同様にして安楽死させ、剖検した。死亡動物は10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬、固定した後、実体顕微鏡下で剖検した。

8. 統計学的解析

新生児に関するデータは、各母動物ごとに算出した数値を標本単位とした。なお、非妊娠動物の交尾確認後のデータ、未交尾動物の雌および全新生児が死亡した動物の器官重量は評価の対象から除外した。

計量データは、Bartlett法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析、分散が等しくない場合はKruskal-Wallisの検定を行った。群間に有意差が認められた場合はDunnett法またはDunnett型の多重比較を行った。一部の項目はKruskal-Wallisの検定から行い、群間に有意差が認められた場合はDunnett型の多重比較を行った。病理組織学検査で得られた計数データは $a \times b$ の χ^2 検定を行い、有意差が認められた場合はArmitageの χ^2 検定により対照群と各被験物質投与群間の比較を行った。その他の計数データはFisherの直接確率法により検定した。有意水準は5%以下とした。統計学的解析の対象項目は下記のとおりである。

多重比較検定： 体重，体重増加量，摂餌量，器官重量，黄体数，着床数，出産
児数

Kruskal-Wallis と： 交尾所要日数，交尾成立までに逸した発情期の回数，
Dunnett 型の多重比較 妊娠期間，着床率，分娩率，出生率，新生児の4日生
存率

χ^2 検 定 お よ び： 病理組織学検査
Armitage χ^2 検定

Fisher の直接確率法： 交尾率，受胎率，出産率，性比（雄／雌）

結 果

1. 反復投与毒性

1.1 一般状態 (Table 1-4, Appendix 1-4)

死亡例は、100 mg/kg 群の雄で投与投与開始後 25 および 36 日にそれぞれ 1 例認められた。一般状態においては、100 mg/kg 群の雄で投与開始後 20 日から、雌で妊娠 1 日（投与開始後 16 日）から投与終了時まで、それぞれ 1 ～ 4 例の投与直後に流産が認められたが、いずれも投与後約 30 分には回復した。

その他の変化として、前肢の脱毛が対照群、4 および 20 mg/kg 群で散見されたが、100 mg/kg 群で認められなかったことから、被験物質の関連はないと判断した。

1.2 体 重 (Fig. 1, 2, Table 5-12, Appendix 5-12)

100 mg/kg 群の雌雄で投与開始後 7 日から剖検時まで体重増加の抑制がみられ、体重および体重増加量に対照群と比較して有意な差が散見された。

その他、4 mg/kg 群の雄で投与開始後 7 日の体重増加量が対照群と比較して有意な高値を示したが、以後は有意な変化は認められなかった。

1.3 摂餌量 (Fig. 3, 4, Table 13-16, Appendix 13-16)

100 mg/kg 群の雌雄で投与開始後 7 日から剖検時まで摂餌量の減少がみられ、対照群と比較して有意な差が散見された。

4 および 20 mg/kg 群の雌雄では対照群との間に有意な差は認められなかった。

1.4 器官重量 (Table 17-20, Appendix 17-20)

100 mg/kg 群の雄で肝臓の相対重量の高値、精巣および精巣上体の絶対重量の低値がみられ、それぞれ対照群と比較して有意な差を示した。雌の肝臓では、対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

4 および 20 mg/kg 群の雌雄ではいずれの器官においても対照群との間に有意な差は認められなかった。

1.5 剖検所見 (Table 21, Appendix 21)

投与期間終了時の動物では、100 mg/kg 群の雄 9 例に肝臓の暗褐色化がみられ、このうち 2 例で肝臓表面の顆粒状化およびフィブリンの析出が認められ、さらに、1 例では葉間の癒着を伴っていた。また、100 mg/kg 群の雌雄各 1 例に心室の拡張、

胸腺および肺の水腫，雄 1 例に胸腺の出血点および肺の褪色化が認められた。

その他，対照群，4 および 20 mg/kg 群で肝横隔膜面結節，片側精巣表面の出血点，前肢皮膚の脱毛および頭蓋骨の肥厚などが散発的に認められたが，100 mg/kg 群で認められなかったことから，被験物質との関連はないと判断した。

死亡した動物では，2 例に肺および肝臓のうっ血がみられ，1 例に胸腺の白濁および出血点が認められた。なお，20 mg/kg 群で全新生児が死亡した母動物に異常は認められなかった。

1.6 病理組織所見 (Table 22, Appendix 21)

被験物質に起因する変化が 100 mg/kg 群の雄の肝臓で認められた。投与期間終了時の動物では，雄の 100 mg/kg 群の 8 例に小葉中心性肝細胞肥大，4 例に小葉中心部から中間帯の肝細胞の空胞化，2 例に線維索性肝皮膜炎，1 例 (00411) に小葉中心性肝細胞壊死が認められ，肥大肝細胞はくもり硝子様を呈していた。また，代表例の肝臓に対する脂肪染色標本で上述の空胞の大部分は白く抜けてみえたが，一部に陽性の微小滴状物を含む空胞も認められた。

剖検時に心臓，胸腺および肺に肉眼的変化の認められた 100 mg/kg 群の雌雄各 1 例 (50403, 00411) では，心筋線維のび慢性変性，胸腺間質の水腫，肺胞内マクロファージの集積が共通してみられ，さらに，雄 1 例に胸腺のび慢性出血，雌 1 例に肺の巣状壊死と血栓が認められた。

100 mg/kg 群の死亡例では，1 例に肝臓の小葉中間帯肝細胞の空胞化，2 例に肺のうっ血と水腫，1 例に胸腺のび慢性出血が認められた。

その他，対照群を含む各群で肝臓における肝細胞の脂肪化，炎症性細胞浸潤，小肉芽腫および巣状壊死，精巣の精細管萎縮および巣状出血，精巣上体管内の変性精細胞および炎症性細胞浸潤，皮膚における毛包の減少および炎症性細胞浸潤，頭蓋骨の増生が散発的に認められたが，100 mg/kg 群で多発する傾向は認められなかったことから，被験物質との関連はないと判断した。なお，非妊娠雌の卵巢には異常は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

2.1 生殖機能 (Table 23, Appendix 22)

交尾は各群の全例で成立し，交尾率，交尾所要日数，交尾までに逸した発情期の

回数および受胎率とも対照群との間に有意な差は認められなかった。

2.2 分娩および哺育状態 (Table 24, Appendix 23)

100 mg/kg 群の妊娠期間が対照群と比較して有意な延長を示したが、分娩状態に異常は認められなかった。また、100 mg/kg 群の黄体数に変化はみられなかったが、着床率、総出産児数および分娩率に対照群と比較して有意な低値が認められた。100 mg/kg 群の着床数 (11.4) には有意な差はみられなかったが、対照群 (15.3) ならびに当研究所の背景データ (平均 16.0, 最小-最大 15.0-17.8, 1991-1996 年) と比較して低値の傾向であった。

哺育状態では、20 mg/kg 群の 1 例で哺育 2 日に全新生児の死亡がみられたが、他の被験物質投与群で全新生児の死亡が多発する傾向はみられなかったことから、被験物質との関連はないと判断した。その他、対照群を含む各群いずれの母動物にも哺育行動に異常は認められなかった。

2.3 新生児への影響

1) 新生児の観察 (Table 25, Appendix 24)

100 mg/kg 群の総出産児数、出產生児数および哺育 4 日の生児数に対照群と比較して有意な低値が認められた。その他、性比、出生率および新生児の 4 日生存率に被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。また、対照群を含む各群の新生児に外表異常および一般状態に異常は認められなかった。

2) 体重 (Table 26-27, Appendix 25-26)

雄では、100 mg/kg 群で哺育 0 日の体重に有意な差はみられないが高値の傾向がみられ、哺育 4 日の体重および体重増加量に対照群と比較して有意な高値が認められた。雌では、対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3) 剖検

哺育 4 日の生存児では、20 mg/kg 群の 1 腹の 3 例に膀胱結石がみられたが、被験物質投与群に多発する傾向はみられなかったことから、被験物質との関連はない変化と判断した。その他、対照群を含む各群の死亡児に異常は認められなかった。

考 察 お よ び 結 論

5-エチリデン-2-ノルボルネンの 4, 20 および 100 mg/kg の用量を SD 系ラットの雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 45 日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した。

1. 反復投与毒性

被験物質の反復投与による一般毒性学的影響としては、雌雄とも 100 mg/kg 群で投与開始後 7 日から剖検時まで体重増加の抑制および摂餌量の減少が認められた。また、100 mg/kg 群の雄では肝臓の相対重量の増加および暗褐色化などがみられ、病理組織検査では小葉中心性肝細胞肥大が主要な変化として認められ、肥大肝細胞はくもり硝子様変化を示した。このような組織像は一般に種々の化学物質の投与によって薬物代謝酵素が誘導された場合に発現する生体の適応反応と考えられており^{4,5)}、また、同様の変化が同被験物質のラットを用いた吸入暴露試験⁶⁾においても認められていることから、被験物質による同質の変化と思われる。これに対し肝細胞の空胞化は適応の範囲を越えた細胞障害性の変化であり、被験物質の影響がより強く現れた結果と推察される。なお、100 mg/kg 群の生存例の雌雄各 1 例にみられた心筋線維の変性を伴った心室の拡張、胸腺間質の水腫、肺胞内マクロファージの集積および雄 2 例の死亡例にみられた肺のうっ血と水腫などから被験物質の全身循環への影響も考えられるが、一部の例のみに限られており、その詳細は不明であった。また、投与直後の流涎が 100 mg/kg 群の雌雄で投与開始後 16 日以降から投与終了時まで数例に散見されたが、いずれも投与後約 30 分には回復したことや被験物質が皮膚や粘膜に対し刺激性を有することが知られている⁷⁾ ことなどから、被験物質の物理化学的な刺激作用によって生じたものと思われ、反復投与による毒性を示唆する変化ではないと考えられる。

2. 生殖発生毒性

親動物の生殖機能としては、100 mg/kg 群で黄体数に変化は認められなかったが、着床数の低値傾向、着床率および総出産児数の減少がみられ、着床数に対する総出産児数の割合である分娩率が 53.11 % と減少した。総出産児数の減少は着床前および着床後の死亡胚の増加が原因と考えられ、被験物質による胚・胎児への影響が推察される。

100 mg/kg 群で妊娠期間が 23.1 日と有意な延長を示したが、当研究所の背景データ（平均 22.4 日，最小-最大 21-23 日，1991-1996 年）と比較して正常範囲内のわずかな変動で，分娩状態に異常は認められなかった．産児数の少ないものは分娩が遅れるという傾向は従来から知られている⁷⁾ことから，100 mg/kg 群の妊娠期間のわずかな延長は，出産児数が対照群の約半数の 6.5 と減少したことも一因と考えられる．さらに，新生児の観察で出産児数と哺育 4 日の生児数の減少，哺育 0 および 4 日の出生児の体重の高値がみられたが，出産児数と児体重とは逆相関関係がある⁷⁾ことから，出産児の体重の高値は出産児数の減少が原因と考えられる．なお，死産児数や出生率，新生児の 4 日生存率，剖検所見および外表に異常は認められなかったことから，被験物質による出生後の新生児の成長には影響はないものと考えられる。

以上の結果から，5-エチリデン-2-ノルボルネンの反復経口投与による一般毒性学的影響として，100 mg/kg 群で雄 2 例が死亡し，雌雄で体重増加の抑制および摂餌量の減少，雄で肝臓の重量の増加ならびに肝細胞の肥大および空胞化などが認められたことから，本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雌雄とも 20 mg/kg/day と判断される．また，生殖に及ぼす影響として，100 mg/kg 群で妊娠期間の延長，総出産児数，分娩率および着床率の低下などが認められたことから，親動物および児動物の無影響量は 20 mg/kg/day と判断される。

参 考 文 献

- 1) 第1部 化学名インデックス, エチリデンノルボーン. "新化学インデックス 1994", 東京, 化学工業日報社, 1993, pp.91.
- 2) Registry of Toxic Effects of Chemical Substances 1985-86 Edition Vol.1.
- 3) Bryan Ballantyne, et al. ; Union Carbide Corporation, U.S.A(1997) : Comparative Acute Toxicity and Primary Irritancy of the Ethylidene and Vinyl Isomers of Norbornene, J.Appl.Toxicol, 17(4), pp.211-221.
- 4) Gopinath, C., Prentice, D.E. and Lewis, D.J.(1987) : The Liver, "Atlas of Experimental Toxicological Pathology" edited by Gopinath, C., Prentice, D.E. and Lewis, D.J., pp.43-60, MTP Press, Lancaster.
- 5) Popp, J.A. and Cattley, R.C.(1991) : Hepatobiliary System, "Handbook of Toxicologic Pathology" edited by Haschek, W.M. and Rousseaux, C.G., pp.279-314, Academic Press, San Diego.
- 6) Bryan Ballantyne, et al. ; Union Carbide Corporation, U.S.A(1997) : Short-term and Subchronic Repeated Exposure Studies with 5-ethylidene-2-norbornene Vapor in the Rat, J.Appl.Toxicol, 17(4), pp.197-210.
- 7) 泉水直人, 梅村建夫, 水野秀夫(1975) : 実験的に胎児数を調整されたラットの産子数と妊娠期間および分娩時刻について, 家畜繁殖誌, 20(4), pp.125-131.

図 お よ び 群 別 表

目 次

Fig. 1	体重 (雄)	-----	1
Fig. 2	体重 (雌)	-----	2
Fig. 3	摂餌量 (雄)	-----	3
Fig. 4	摂餌量 (雌)	-----	4
Table 1	一般状態 (交配前期間)	-----	5
Table 2	一般状態 (交配期間)	-----	7
Table 3	一般状態 (妊娠期間)	-----	10
Table 4	一般状態 (哺育期間)	-----	12
Table 5	体重 (交配前期間)	-----	13
Table 6	体重 (交配期間)	-----	15
Table 7	体重 (妊娠期間)	-----	16
Table 8	体重 (哺育期間)	-----	17
Table 9	体重増加量 (交配前期間)	-----	18
Table 10	体重増加量 (交配期間)	-----	20
Table 11	体重増加量 (妊娠期間)	-----	21
Table 12	体重増加量 (哺育期間)	-----	22
Table 13	摂餌量 (交配前期間)	-----	23
Table 14	摂餌量 (交配期間)	-----	25
Table 15	摂餌量 (妊娠期間)	-----	26
Table 16	摂餌量 (哺育期間)	-----	27
Table 17	器官重量 (雄 絶対重量)	-----	28
Table 18	器官重量 (雌 絶対重量)	-----	29
Table 19	器官重量 (雄 相対重量)	-----	30
Table 20	器官重量 (雌 相対重量)	-----	31

Table 21	剖検所見	32
Table 22	病理組織所見	33
Table 23	生殖機能検査	37
Table 24	分娩成績	38
Table 25	生存率 (F ₁ 動物)	39
Table 26	体重 (F ₁ 動物)	40
Table 27	体重増加量 (F ₁ 動物)	42

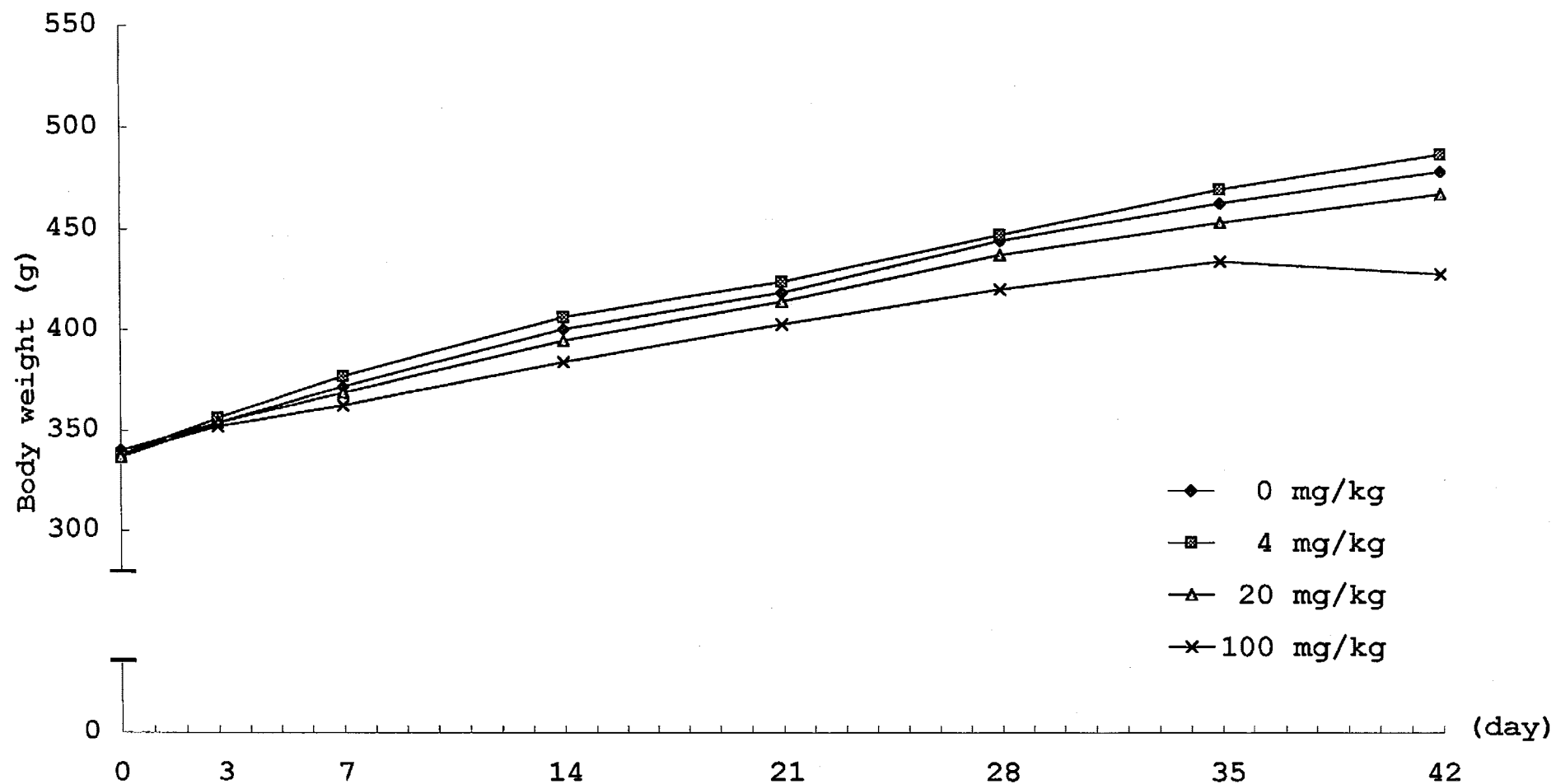


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with EBH

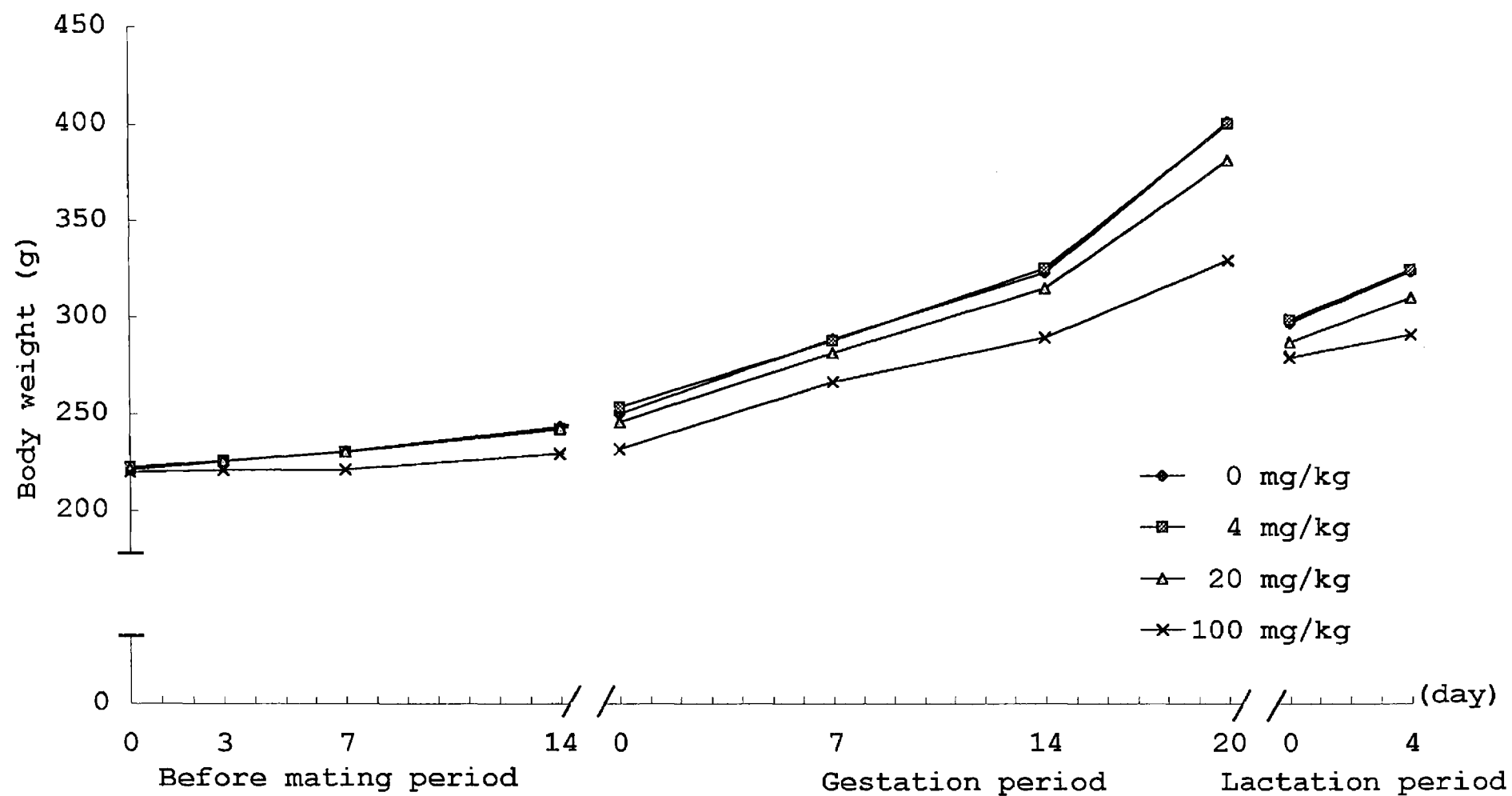


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with EBH

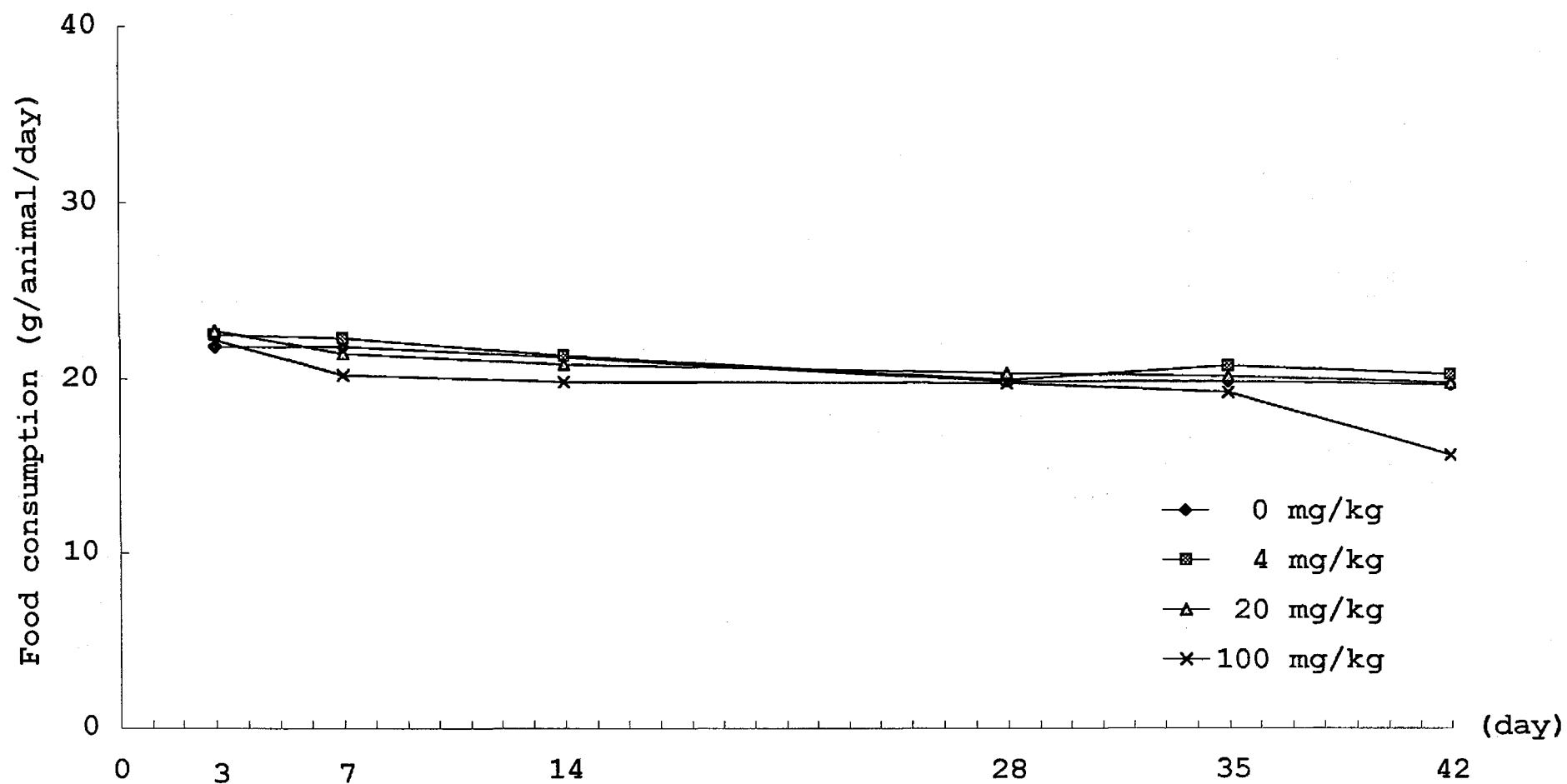


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with EBH

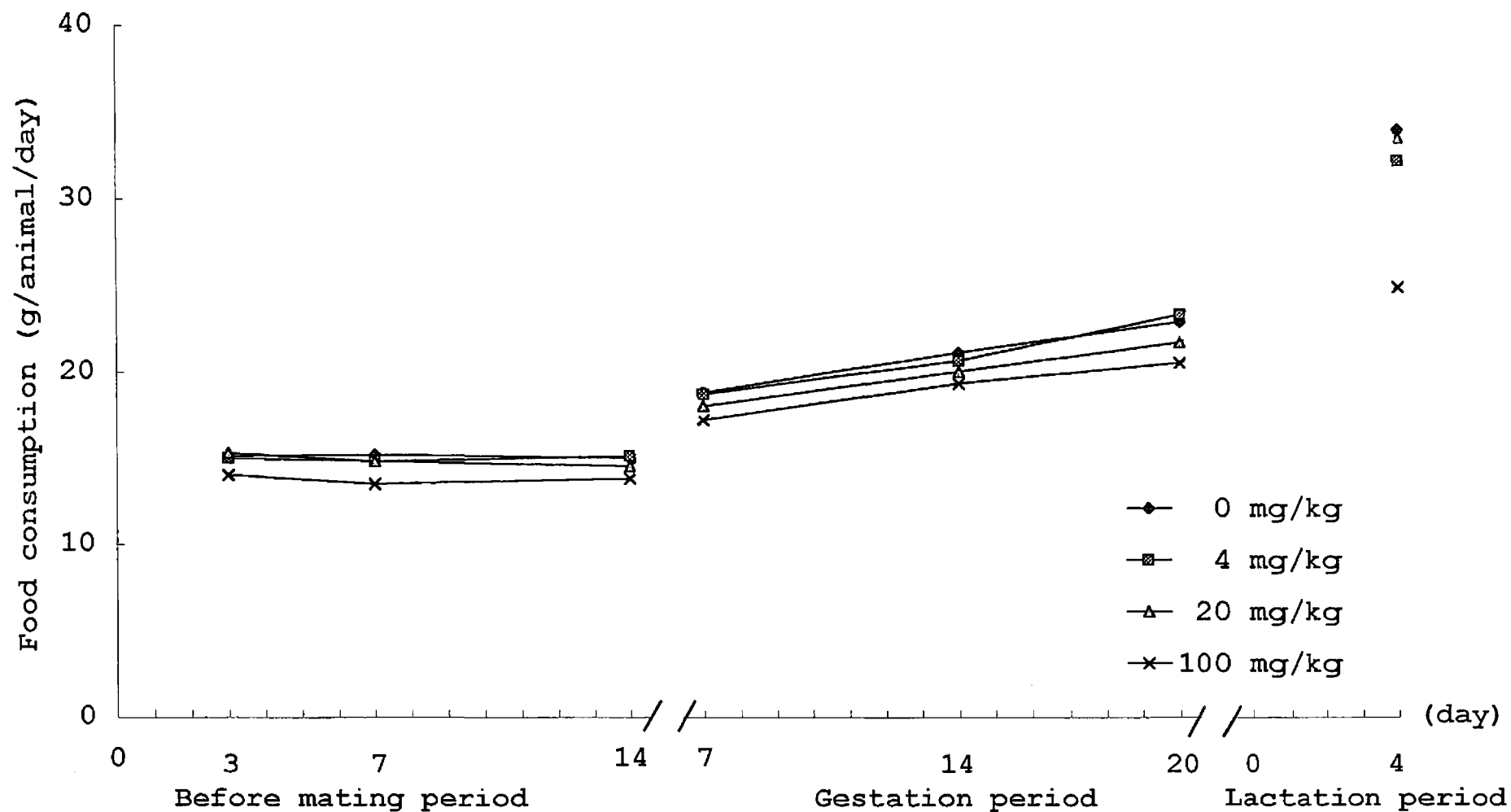


Fig. 4 Food consumption of female rats treated orally with EBH

Table 1

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Male Time 10 :

Test Substance		Findings	/Day														
Dose(mg/kg)			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
EBH	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
EBH	4	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
EBH	20	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
EBH	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1
Table Continued

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female Time 10 :

Test Substance		Findings	/Day														
Dose(mg/kg)			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
EBH	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
EBH	4	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
EBH	20	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
EBH	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 2

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Test Substance		Findings	/Day																												
Dose(mg/kg)				15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39			
EBH	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
EBH	4	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
EBH	20	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
EBH	100	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10			
		No abnormality	12	12	12	12	12	11	11	11	10	10	9	9	9	9	7	7	7	7	8	7	8	7	7	7	7				
		Found dead											1											1							
		Salivation						1	1	1	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3				

Table 2
Table Continued

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Test Substance Dose(mg/kg)		Findings	/Day 40	41	42	43	44	45
EBH	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12
EBH	4	Number of animals	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	11	11	11	11	11	11
		Loss of fur forelimb	1	1	1	1	1	1
EBH	20	Number of animals	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12
EBH	100	Number of animals	10	10	10	10	10	10
		No abnormality	7	7	7	7	7	10
		Salivation	3	3	3	3	3	

Table 2
Table Continued

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Female

Test Substance		Findings	/Day		
Dose(mg/kg)			15	16	17
EBH	0	Number of animals	10	7	2
		No abnormality	10	7	2
EBH	4	Number of animals	9	8	4
		No abnormality	9	8	4
EBH	20	Number of animals	6	2	1
		No abnormality	6	2	1
EBH	100	Number of animals	8	5	3
		No abnormality	8	5	3

Table 3

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)		Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
EBH	0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4		
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	4		
		Loss of fur forelimb																	1	1	1	1	1	1			
EBH	4	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6		
		No abnormality	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10	10	10	10	10	5		
		Loss of fur forelimb					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1		
EBH	20	Number of animals	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	5	1		
		No abnormality	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	8	8	8	8	8	4	1		
		Loss of fur forelimb																	1	1	1	1	1	1			
EBH	100	Number of animals	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	1	
		No abnormality	11	10	11	11	10	10	10	10	10	10	11	9	10	9	10	10	10	8	10	10	10	10	2	1	
		Salivation		1			1	1	1	1	1	1		2	1	2	1	1	3	1	1	1	1	1			

Table 3
Table Continued

Study No. 7L631

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)		Findings	/Day	
			25	26
EBH	100	Number of animals	1	1
		No abnormality	1	1

Table 4

Study No. 7L631

Clinical Sign (P0 Lactation) - Summary
Sex : Female

Test Substance		Findings	/Day				
Dose(mg/kg)			0	1	2	3	4
EBH	0	Number of animals	12	12	12	12	12
		No abnormality	11	11	11	11	11
		Loss of fur	1	1	1	1	1
EBH	4	Number of animals	12	12	12	12	12
		No abnormality	10	10	10	10	10
		Loss of fur	2	2	2	2	2
EBH	20	Number of animals	9	9	9	8	8
		No abnormality	8	8	7	7	7
		DS			1		
		Loss of fur	1	1	1	1	1
EBH	100	Number of animals	10	10	10	10	10
		No abnormality	10	10	10	9	10
		Salivation				1	

DS: Dam was sacrificed because all litter died

Table 5

Study No. 7L631

Body Weight (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	0	3	7	14
EBH	0	Mean	339.8	353.8	371.7	400.3
		S. D.	8.7	9.4	12.0	13.5
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	337.9	356.0	376.9	406.2
		S. D.	10.4	11.7	14.4	18.8
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	336.4	353.7	368.6	394.6
		S. D.	9.2	10.4	12.9	14.7
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	338.3	351.8	362.3	383.8*
		S. D.	9.3	12.2	13.1	15.7
		n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 5

Study No. 7L631

Body Weight (F0 before Mating) - Summary						Unit : g
Sex : Female						
Test Substance	Dose(mg/kg)	/Day	0	3	7	14
EBH	0	Mean	221.3	225.8	230.7	243.0
		S. D.	9.3	13.8	15.0	17.1
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	222.8	226.0	230.4	241.7
		S. D.	11.4	12.1	15.1	18.3
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	222.1	226.0	230.7	242.3
		S. D.	10.1	11.8	11.4	11.3
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	220.2	221.3	221.5	229.5
		S. D.	9.7	11.9	12.5	9.5
		n	12	12	12	12
Significantly different from control						: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 6

Study No. 7L631

Body Weight (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	21	28	35	42
EBH	0	Mean	418.2	443.8	462.3	477.9
		S.D.	15.6	19.5	24.9	30.2
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	423.7	446.8	469.1	486.5
		S.D.	21.9	25.4	30.5	30.7
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	413.8	436.8	452.7	466.8
		S.D.	15.2	17.9	20.6	23.3
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	402.5	419.7*	433.4*	426.9**
		S.D.	19.5	23.3	25.6	17.6
		n	12	11	11	10

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 7

Study No. 7L631

Body Weight (F0 Gestation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	0	7	14	20
EBH	0	Mean	249.8	288.2	322.8	400.8
		S.D.	13.2	18.2	21.9	25.8
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	253.1	287.4	324.7	399.9
		S.D.	17.8	17.6	18.8	28.5
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	245.6	281.1	314.6	380.9
		S.D.	10.5	13.9	18.4	30.2
		n	9	9	9	9
EBH	100	Mean	231.8**	266.0**	289.1**	329.1**
		S.D.	11.3	11.8	13.8	29.6
		n	11	11	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 8

Study No. 7L631

Body Weight (F0 Lactation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	0	4
EBH	0	Mean	296.3	323.2
		S. D.	19.8	23.8
		n	12	12
EBH	4	Mean	298.0	323.9
		S. D.	18.2	22.4
		n	12	12
EBH	20	Mean	286.4	309.5
		S. D.	27.7	18.8
		n	9	8
EBH	100	Mean	278.5	290.2**
		S. D.	15.6	19.3
		n	10	10

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 9

Study No. 7L631

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary						Unit : g
Sex : Male Base : Day 0 of Treatment						
Test Substance		/Day	0	3	7	14
Dose(mg/kg)						
EBH	0	Mean	0.0	14.1	31.9	60.6
		S.D.	0.0	5.6	8.9	9.5
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	0.0	18.1	39.0*	68.3
		S.D.	0.0	4.4	6.2	10.8
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	0.0	17.3	32.2	58.2
		S.D.	0.0	3.2	6.0	9.2
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	0.0	13.5	24.1*	45.6**
		S.D.	0.0	4.4	6.3	9.0
		n	12	12	12	12
Significantly different from control						: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 9

Study No. 7L631

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Female Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	0	3	7	14
EBH	0	Mean	0.0	4.4	9.3	21.7
		S.D.	0.0	6.4	8.4	9.9
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	0.0	3.2	7.6	18.8
		S.D.	0.0	4.2	7.8	11.4
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	0.0	3.9	8.6	20.3
		S.D.	0.0	5.7	6.3	8.1
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	0.0	1.2	1.3*	9.3**
		S.D.	0.0	4.1	5.7	6.3
		n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 10

Study No. 7L631

Body Weight Gain (F0 Mating) - Summary
 Sex : Male Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	21	28	35	42
EBH	0	Mean	78.4	104.1	122.6	138.2
		S.D.	12.9	16.6	23.2	29.5
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	85.8	108.8	131.2	148.6
		S.D.	13.4	16.5	22.1	22.1
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	77.3	100.3	116.3	130.4
		S.D.	10.1	13.2	16.0	18.5
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	64.3*	82.5**	96.1*	90.4**
		S.D.	13.9	18.5	21.7	16.7
		n	12	11	11	10

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 11

Study No. 7L631

Body Weight Gain (F0 Gestation) - Summary
 Base : Day 0 of Gestation

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	0	7	14	20
EBH	0	Mean	0.0	38.4	73.0	151.0
		S.D.	0.0	10.5	15.4	18.9
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	0.0	34.3	71.6	146.8
		S.D.	0.0	6.7	7.6	16.4
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	0.0	35.6	69.0	135.3
		S.D.	0.0	4.8	8.6	22.3
		n	9	9	9	9
EBH	100	Mean	0.0	34.2	57.3**	97.3**
		S.D.	0.0	7.5	11.5	28.5
		n	11	11	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 12

Study No. 7L631

Body Weight Gain (F0 Lactation) - Summary
 Base : Day 0 of Lactation

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	0	4
EBH	0	Mean	0.0	26.8
		S. D.	0.0	8.7
		n	12	12
EBH	4	Mean	0.0	25.9
		S. D.	0.0	12.3
		n	12	12
EBH	20	Mean	0.0	26.6
		S. D.	0.0	18.6
		n	9	8
EBH	100	Mean	0.0	11.7**
		S. D.	0.0	7.7
		n	10	10

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 13

Study No. 7L631

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	3	7	14
EBH	0	Mean	21.8	21.8	21.2
		S.D.	1.2	1.3	1.5
		n	12	12	12
EBH	4	Mean	22.5	22.3	21.3
		S.D.	1.5	1.7	1.4
		n	12	12	12
EBH	20	Mean	22.7	21.4	20.8
		S.D.	1.6	1.8	1.4
		n	12	12	12
EBH	100	Mean	22.2	20.2*	19.8
		S.D.	1.7	1.4	1.3
		n	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 13

Study No. 7L631

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	3	7	14
EBH	0	Mean	15.1	15.2	15.0
		S. D.	1.5	1.1	0.6
		n	12	12	12
EBH	4	Mean	15.0	14.8	15.1
		S. D.	1.7	1.3	1.9
		n	12	12	12
EBH	20	Mean	15.3	14.8	14.5
		S. D.	1.5	1.2	1.0
		n	12	12	12
EBH	100	Mean	14.0	13.5**	13.8
		S. D.	1.1	1.1	1.1
		n	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 14

Study No. 7L631

Food Consumption (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	28	35	42
EBH	0	Mean	19.8	19.8	19.6
		S.D.	1.8	1.8	2.6
		n	12	12	12
EBH	4	Mean	19.9	20.7	20.2
		S.D.	1.6	1.7	1.5
		n	12	12	12
EBH	20	Mean	20.3	20.1	19.7
		S.D.	2.0	1.6	1.7
		n	12	12	12
EBH	100	Mean	19.7	19.2	15.6**
		S.D.	1.8	1.9	2.3
		n	11	11	10

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 15

Study No. 7L631

Food Consumption (F0 Gestation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	7	14	20
EBH	0	Mean	18.8	21.1	22.9
		S.D.	1.5	2.1	1.8
		n	12	12	12
EBH	4	Mean	18.7	20.6	23.3
		S.D.	1.9	1.8	2.8
		n	12	12	12
EBH	20	Mean	18.0	20.0	21.7
		S.D.	1.0	1.9	1.7
		n	9	9	9
EBH	100	Mean	17.2	19.3	20.5*
		S.D.	1.5	1.8	2.4
		n	11	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 16

Study No. 7L631

Food Consumption (F0 Lactation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)		/Day	4
EBH	0	Mean	34.0
		S.D.	4.5
		n	12
EBH	4	Mean	32.2
		S.D.	5.4
		n	12
EBH	20	Mean	33.5
		S.D.	6.4
		n	8
EBH	100	Mean	24.9**
		S.D.	7.9
		n	10

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 17

Study No. 7L631

Organ Weight - Summary (F0)
Sex : Male

Test Substance Dose(mg/kg)			F. B. W. (g)	Liver (g)	Testes (g)	Epididy. (g)
EBH	0	Mean	488.3	15.795	3.401	1.260
		S.D.	30.4	2.200	0.202	0.058
		n	12	12	12	12
EBH	4	Mean	497.1	16.378	3.238	1.238
		S.D.	34.1	1.850	0.265	0.082
		n	12	12	12	12
EBH	20	Mean	475.4	16.213	3.277	1.220
		S.D.	26.0	1.993	0.284	0.068
		n	12	12	12	12
EBH	100	Mean	425.0**	15.487	2.918**	1.158**
		S.D.	19.7	1.583	0.331	0.054
		n	10	10	10	10

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 18

Study No. 7L631

Organ Weight - Summary (F0 Delivered-on Weaning)
Sex : Female

Test Substance			F. B. W.	Liver
Dose(mg/kg)			(g)	(g)
EBH	0	Mean	323.2	14.437
		S. D.	23.8	1.342
		n	12	12
EBH	4	Mean	323.9	14.214
		S. D.	22.4	1.382
		n	12	12
EBH	20	Mean	309.5	14.648
		S. D.	18.8	1.838
		n	8	8
EBH	100	Mean	290.2**	13.427
		S. D.	19.3	1.603
		n	10	10

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 19

Study No. 7L631

Relative Organ Weight - Summary (F0)
Sex : Male

Unit : g/100gBW

Test Substance Dose(mg/kg)		F.B.W. (g)	Liver	Testes	Epididy.
EBH	0	Mean S.D. n	488.3 30.4 12	3.223 0.265 12	0.698 0.053 12
EBH	4	Mean S.D. n	497.1 34.1 12	3.296 0.296 12	0.655 0.074 12
EBH	20	Mean S.D. n	475.4 26.0 12	3.399 0.283 12	0.693 0.069 12
EBH	100	Mean S.D. n	425.0** 19.7 10	3.640** 0.261 10	0.685 0.066 10

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 20

Study No. 7L631

Relative Organ Weight - Summary (F0 Delivered-on Weaning)
Sex : Female

Unit : g/100gBW

Test Substance		F. B. W.		Liver
Dose(mg/kg)		(g)		
EBH	0	Mean	323.2	4.467
		S. D.	23.8	0.233
		n	12	12
EBH	4	Mean	323.9	4.386
		S. D.	22.4	0.233
		n	12	12
EBH	20	Mean	309.5	4.721
		S. D.	18.8	0.382
		n	8	8
EBH	100	Mean	290.2**	4.620
		S. D.	19.3	0.386
		n	10	10

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 21- 1 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ	Findings	Sex	Male					Female	
		Test Substance	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH
		Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20
		Number of Animals	12	12	12	10	12	12	12
		Number of Animals Examined	<12>	<12>	<12>	<10>	<12>	<12>	<12>
Heart	Dilatation, ventricle		0	0	0	1	0	0	1
Thymus	Edema		0	0	0	1	0	0	1
	Hemorrhage		0	0	0	1	0	0	0
Lung	Discoloration		0	0	0	1	0	0	0
	Edema		0	0	0	1	0	0	1
Liver	Dark brownish		0	0	0	9	0	0	0
	Fibrin, surface		0	0	0	2	0	0	0
	Granular, surface		0	0	0	2	0	0	0
	Hepatodiaphragmatic nodule		0	1	0	0	0	0	0
	Interlobar adhesion		0	0	0	1	0	0	0
Testis	Hemorrhage		1	0	0	0	0	0	0
Skin	Loss of hair		0	1	0	0	1	2	1
Bone	Thickening of cranial bone		0	0	0	0	1	0	0

Table 21- 2 Necropsy Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice

Organ	Sex	Male					Female		
	Test Substance	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
Findings	Number of Animals	0	0	0	2	0	0	0	0
	Number of Animals Examined :	<0>	<0>	<0>	<2>	<0>	<0>	<0>	<0>
Thymus									
Hemorrhage		0	0	0	1	0	0	0	0
Opacity		0	0	0	1	0	0	0	0
Lung									
Congestion		0	0	0	2	0	0	0	0
Liver									
Congestion		0	0	0	2	0	0	0	0

Table 22- 1 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex	:	Male					Female		
	Test Substance	:	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH
	Dose (mg/kg)	:	0	4	20	100	0	4	20	100
	Number of Animals	:	12	12	12	10	12	12	12	12
Heart			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 1>
Degeneration, myocardium, diffuse			1			1				1
			2			0				0
			3			0				0
Thymus			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 1>
Edema			1			1				1
			2			0				0
			3			0				0
Hemorrhage, diffuse			1			1				0
			2			0				0
			3			0				0
Lung			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 1>
Accumulation, macrophage			1			0				0
			2			1				1
			3			0				0
Necrosis, focal			1			0				1
			2			0				0
			3			0				0
Thrombus			1			0				0
			2			0				1
			3			0				0
Liver			<12>	<12>	<12>	<10>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Capsulitis, fibrinous			1 0	0	0	2	0			0
			2 0	0	0	0	0			0
			3 0	0	0	0	0			0
Fatty change, hepatocyte, diffuse			1 0	1	0	1	0			0
			2 0	0	0	0	0			0
			3 0	0	0	0	0			0

<>, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 22- 1 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ	Sex	Male					Female		
	Test Substance	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	Number of Animals	12	12	12	10	12	12	12	12
Liver		<12>	<12>	<12>	<10>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Fatty change, hepatocyte, periportal	1	1	2	0	1	1			1
	2	1	0	0	0	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	1	0	0	0	5**	0			0
	2	0	0	0	3	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Inflammatory cell infiltration, focal	1	0	0	2	0	1			2
	2	0	0	0	0	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Microgranuloma	1	0	0	0	0	2			1
	2	0	0	0	0	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Necrosis, centrilobular	1	0	0	0	0	0			0
	2	0	0	0	1	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Necrosis, focal	1	0	0	1	0	1			0
	2	0	0	0	0	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Vacuolation, hepatocyte	1	0	0	0	2*	0			0
	2	0	0	0	2	0			0
	3	0	0	0	0	0			0
Testis		<12>	< 0>	< 0>	<10>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Atrophy, seminiferous tubule, diffuse	1	0			1				
	2	0			0				
	3	0			0				

<>, Number of animals examined

1 . Slight; 2 . Moderate; 3 . Severe

Significantly different from control

: *. P<0.05; **, P<0.01.

Table 22- 1 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ	Sex	Male				Female			
	Test Substance	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	Number of Animals	12	12	12	10	12	12	12	12
Testis		<12>	< 0>	< 0>	<10>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Atrophy, seminiferous tubule, focal	1	1			0				
	2	0			0				
	3	0			0				
Hemorrhage, focal	1	1			0				
	2	0			0				
	3	0			0				
Epididymis		<12>	< 0>	< 0>	<10>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Cell debris, lumen	1	0			1				
	2	0			0				
	3	0			0				
Inflammatory cell infiltration, focal	1	1			0				
	2	0			0				
	3	0			0				
Ovary		< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 2>	< 1>
Skin		< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 1>	< 2>	< 1>	< 0>
Decrease in hair follicle	1		1			1	2	0	
	2		0			0	0	0	
	3		0			0	0	0	
Inflammatory cell infiltration, focal	1		1			0	0	0	
	2		0			0	0	0	
	3		0			0	0	0	
Bone		< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>
Hyperostosis, head	1					1			
	2					0			
	3					0			

<> . Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 22- 2 Histological Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice

Organ Findings	Sex	:	Male				Female			
	Test Substance	:	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH	EBH
	Dose (mg/kg)	:	0	4	20	100	0	4	20	100
	Number of Animals	:	0	0	0	2	0	0	0	0
Thymus			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Hemorrhage, diffuse	1					0				
	2					1				
	3					0				
Lung			< 0>	< 0>	< 0>	< 2>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Congestion	1					0				
	2					2				
	3					0				
Edema	1					1				
	2					1				
	3					0				
Liver			< 0>	< 0>	< 0>	< 2>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Fatty change, hepatocyte, periportal	1					1				
	2					0				
	3					0				
Vacuolation, hepatocyte	1					1				
	2					0				
	3					0				
Testis			< 0>	< 0>	< 0>	< 2>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Epididymis			< 0>	< 0>	< 0>	< 2>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>

<> . Number of animals examined

1 . Slight; 2 . Moderate; 3 . Severe

Significantly different from control

: *, P<0. 05; **, P<0. 01.

Table 23

Study No. 7L631

 Reproductive Performance (F0) - Summary
 Mating Stage : 1st

Test Substance Dose(mg/kg)			Number of Pairs	Mean Estrus Cycle	Incidence of Females with Irregular Estrus Cycle	Mating Period		Copulation Index (%)	Fertility Index (%)
						Number of Estrus	Day of Conceiving		
EBH	0	Mean	12			0.0	2.6	100.0	100.0
		S. D.				0.0	1.0		
		n				12	12	a) (12/12)	b) (12/12)
EBH	4	Mean	12			0.0	2.8	100.0	100.0
		S. D.				0.0	1.2		
		n				12	12	(12/12)	(12/12)
EBH	20	Mean	12			0.0	1.8	100.0	83.3
		S. D.				0.0	1.0		
		n				11	11	(12/12)	(10/12)
EBH	100	Mean	12			0.0	2.3	100.0	91.7
		S. D.				0.0	1.2		
		n				12	12	(12/12)	(11/12)

a): Number of copulated females / Number of pairs

b): Number of pregnant females / Number of copulated females

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 24

Study No. 7L631

Delivery Data (F0) - Summary

Test Substance	Dose (mg/kg)		Gestation Length (days)	Number of Corpora Lutea	Number of Implantation Sites	Total Number of Offspring	Implantation Index (%)	Delivery Index (%)	Gestation Index (%)
EBH	0	Mean	22.3	16.3	15.3	14.3	94.49	93.15	100.0
		S.D.	0.5	1.3	1.4	1.3	6.35	6.11	(12/12) ^{a)}
		n	12	12	12	12	12	12	
EBH	4	Mean	22.5	16.5	15.6	14.5	94.57	92.08	100.0
		S.D.	0.5	1.6	2.2	3.1	10.22	12.40	(12/12)
		n	12	12	12	12	12	12	
EBH	20	Mean	22.7	15.9	14.7	13.2	90.67	84.69	100.0
		S.D.	0.7	2.6	3.8	4.9	15.92	25.13	(9/9)
		n	9	9	9	9	9	9	
EBH	100	Mean	23.1**	15.2	11.4	6.5**	72.79**	53.11**	90.9
		S.D.	0.3	2.8	4.5	3.9	20.86	26.72	(10/11)
		n	10	11	11	11	11	11	

a): Number of pregnant animals delivered live offspring / number of pregnant animals
 Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 25

Study No. 7L631

Litter Size and Viability Index (F1) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)			Total Number of Offspring at Birth			Number of Live Offspring at Birth			Number of Live Offspring on Day 4						Viability Index (%)				
									before Culling			after Culling							
			M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	Day 0	Day 4
EBH	0	Mean	7.6	6.7	14.3	7.6	6.7	14.3	7.5	6.7	14.2						100.00	99.44	
		S.D.	1.3	1.7	1.3	1.3	1.7	1.3	1.4	1.7	1.3						0.00	1.93	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12						12	12	
		(M/F)	(91/80)			(91/80)			(90/80)										
EBH	4	Mean	7.0	7.5	14.5	7.0	7.5	14.5	6.8	7.5	14.3						100.00	98.98	
		S.D.	2.4	2.1	3.1	2.4	2.1	3.1	2.3	2.1	3.0						0.00	2.41	
		n	12	12	12	12	12	12	12	12	12						12	12	
		(M/F)	(84/90)			(84/90)			(82/90)										
EBH	20	Mean	6.1	7.1	13.2	6.1	7.1	13.2	5.8	7.1	12.9						100.00	87.58	
		S.D.	3.0	3.4	4.9	3.0	3.4	4.9	2.9	3.4	5.0						0.00	33.07	
		n	9	9	9	9	9	9	9	9	9						9	9	
		(M/F)	(55/64)			(55/64)			(52/64)										
EBH	100	Mean	3.3**	3.8*	7.1**	3.3**	3.8*	7.1**	3.1**	3.7*	6.8**						100.00	90.76	
		S.D.	2.4	2.7	3.5	2.4	2.7	3.5	2.6	2.8	3.7						0.00	17.76	
		n	10	10	10	10	10	10	10	10	10						10	10	
		(M/F)	(33/38)			(33/38)			(31/37)										

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 26

Study No. 7L631

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance		/Day	before Culling		/ after Culling
Dose (mg/kg)			0	4	
EBH 0		Mean	6.7	10.8	
		S.D.	0.4	0.7	
		n	12	11	
EBH 4		Mean	6.7	11.1	
		S.D.	1.1	2.4	
		n	11	12	
EBH 20		Mean	6.6	10.6	
		S.D.	0.6	1.4	
		n	9	8	
EBH 100		Mean	7.2	12.8**	
		S.D.	0.6	1.1	
		n	9	8	

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 26

Study No. 7L631

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female

Unit : g

Test Substance		before Culling		/ after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0	4	
EBH 0	Mean	6.4	10.2	
	S.D.	0.5	1.0	
	n	12	11	
EBH 4	Mean	6.4	10.6	
	S.D.	0.9	2.0	
	n	11	12	
EBH 20	Mean	6.2	10.3	
	S.D.	0.6	1.4	
	n	8	8	
EBH 100	Mean	6.9	11.7	
	S.D.	0.9	1.6	
	n	9	9	

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 27

Study No. 7L631

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Male Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance		/Day	before Culling	after Culling
Dose (mg/kg)			0 - 4	
EBH	0	Mean	4.1	
		S.D.	0.5	
		n	11	
EBH	4	Mean	4.3	
		S.D.	1.5	
		n	11	
EBH	20	Mean	4.1	
		S.D.	1.0	
		n	8	
EBH	100	Mean	5.6**	
		S.D.	0.7	
		n	8	

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 27

Study No. 7L631

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance		/Day	before Culling	after Culling
Dose (mg/kg)			0 - 4	
EBH 0	Mean		3.9	
	S. D.		0.7	
	n		11	
EBH 4	Mean		4.2	
	S. D.		1.4	
	n		11	
EBH 20	Mean		4.2	
	S. D.		0.9	
	n		8	
EBH 100	Mean		4.8	
	S. D.		1.1	
	n		9	

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.