

平成 23 年度

内分泌かく乱化学物質
スクリーニング試験

1, 1, 1-Tris (4-hydroxyphenyl)-ethane の卵巣摘出マウスにおける
皮下投与子宮肥大試験

機 関 名 株式会社 化合物安全性研究所

研究責任者名
(契約者)

代表取締役社長



信 頼 性 保 証 書

表題：1, 1, 1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の卵巣摘出マウスにおける皮下投与子宮肥大試験

試験番号：SR11138

本試験は、株式会社 化合物安全性研究所 QAUによって、下記のとおり査察された。

査 察 段 階	査 察 日	試 験 責 任 者 への 報 告 日	運 営 管 理 者 への 報 告 日
試験計画書	2012 年 1 月 16 日	2012 年 1 月 16 日	2012 年 1 月 16 日
被験物質の受入・表示・保存	2012 年 1 月 16 日	2012 年 1 月 16 日	2012 年 1 月 16 日
投与液の調製	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日
動物受入・検疫・馴化	2012 年 1 月 25 日	2012 年 1 月 25 日	2012 年 1 月 25 日
群分け	2012 年 2 月 2 日	2012 年 2 月 2 日	2012 年 2 月 2 日
投与	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日
一般状態観察	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日
体重測定	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日	2012 年 2 月 3 日
剖検・器官重量測定	2012 年 2 月 10 日	2012 年 2 月 10 日	2012 年 2 月 10 日
病理組織学的検査(標本作製)	2012 年 2 月 17 日 2012 年 2 月 19 日 2012 年 2 月 21 日	2012 年 2 月 21 日	2012 年 2 月 21 日
病理組織学的検査(鏡検)	2012 年 3 月 1 日	2012 年 3 月 1 日	2012 年 3 月 1 日
生データ	2012 年 3 月 8 日	2012 年 3 月 8 日	2012 年 3 月 8 日
最終報告書(草案)：図表	2012 年 3 月 8 日	2012 年 3 月 8 日	2012 年 3 月 8 日
	2012 年 3 月 12 日	2012 年 3 月 12 日	2012 年 3 月 12 日
最終報告書(草案)：本文	2012 年 3 月 8 日	2012 年 3 月 8 日	2012 年 3 月 8 日
	2012 年 3 月 12 日	2012 年 3 月 12 日	2012 年 3 月 12 日
最終報告書	2012 年 3 月 15 日	2012 年 3 月 15 日	2012 年 3 月 15 日

1. 本試験は、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日 薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知) および経済協力開発機構の「OECD Guideline for the testing of chemicals; Uterotrophic Bioassay in Rodents: A short-term screening test for oestrogenic properties (440), Adopted 16 October 2007」に従い実施された。
2. 本試験は、試験計画書に従って実施され、また、本報告書には当該試験に使用した方法および手順が正確に記載されており、試験成績には当該試験の実施過程において得られた生データが正確に反映していることを確認した。

株式会社 化合物安全性研究所

QAU

2012 年 3 月 15 日

目 次

	頁
表題、試験番号、試験目的、試験実施基準および試験法ガイドライン、動物愛護、試験委託者	1
試験施設、試験責任者、試験従事者およびその業務分担、試験期間	2
要約	3
緒言	4
材料および方法	4
成績	12
考察	15
結論	16
参考資料	16
試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	16
資料の保存	16
試験責任者の記名なつ印	17
Figures and Tables	添付
Figure 1 Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Figure 2 Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Table 1 General appearance of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Table 2 General appearance of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Table 3 Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Table 4 Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Table 5 Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	
Table 6 Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)	

- Table 7 Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)
- Table 8 Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)
- Table 9 Histopathological findings ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Individual data ----- 添付

Symbols and process for statistical analysis in INDIVIDUAL DATA

- 1-1-1~1-2-5 General appearance
- 2-1-1~2-2-5 Body weight
- 3-1-1~3-2-5 Autopsy findings
- 4-1-1~4-2-5 Absolute and relative organ weights
- 5-1~5-6 Histopathological findings

Appendices ----- 添付

- 1 試験成績書(2011 年 09 月 21 日)
- 2 Certificate of analysis(10006486)

表題

1, 1, 1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の卵巣摘出マウスにおける皮下投与子宮肥大試験

試験番号

S R 1 1 1 3 8

試験目的

1, 1, 1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane を卵巣摘出マウスに 7 日間反復皮下投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用および抗エストロゲン作用の有無を評価した。

試験実施基準および試験法ガイドライン

試験実施基準(GLP) : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日 薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環境企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)

試験法ガイドライン : 経済協力開発機構の「OECD Guideline for the testing of chemicals; Uterotrophic Bioassay in Rodents: A short-term screening test for oestrogenic properties (440), Adopted 16 October 2007」

動物愛護

本試験は、試験施設の動物実験倫理委員会の承認を得、かつ、標準操作手順書(動物実験倫理規定)に準拠した。

法規および基準等 : 「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和 48 年 10 月 1 日 法律第 105 号、最終改正 平成 23 年 8 月 30 日 法律第 105 号)
「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 18 年 4 月 28 日 環境省告示第 88 号)
「動物実験に関する指針」(昭和 62 年 5 月 22 日承認 社団法人日本実験動物学会)

試験委託者

名称 : 国立医薬品食品衛生研究所
所在地 : 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)
担当者 : 安全性生物試験研究センター 総合評価研究室

試験施設

名称 : 株式会社 化合物安全性研究所
所在地 : 札幌市清田区真栄 363 番 24 (〒004-0839)
運営管理者 : 

試験責任者

氏名 
所属 : 株式会社 化合物安全性研究所 安全性研究部

試験従事者およびその業務分担

被験物質管理 :

動物管理 :

検疫・馴化 :

投与・観察・測定 :

病理検査 :

試験期間

試験開始日	: 2012 年 1 月 16 日
被験物質受入	: 2011 年 9 月 21 日
動物受入	: 2012 年 1 月 25 日
群分け	: 2012 年 2 月 2 日
実験開始日	: 2012 年 2 月 3 日
投与開始	: 2012 年 2 月 3 日
投与終了	: 2012 年 2 月 9 日
剖検(生存例)	: 2012 年 2 月 10 日
実験終了日	: 2012 年 3 月 1 日
試験終了日	: 2012 年 3 月 15 日

要 約

1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の 30、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巢摘出雌性マウスに 7 日間反復皮下投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討し、以下の成績を得た。

1. 一般状態では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。
2. 体重推移では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。
3. 剖検では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群ともに 300 mg/kg 以上の群で背部皮膚の肥厚、1000 mg/kg 群で脾臓の腫大が認められた。
他に、1000 mg/kg 群で投与部位である背部皮膚の皮下に被験物質の残留と考えられる白色顆粒が認められた。
4. 器官重量では、エストロゲン作用検出群の 300 および 1000 mg/kg 群の子宮の絶対および相対重量に、陽性対照群と同様に有意な高値が認められた。
一方、抗エストロゲン作用検出群では各群の子宮重量に EE 群と比較して有意な差は認められなかった。
また、エストロゲン作用検出群の 100 mg/kg 以上の群に肝臓、300 mg/kg 以上の群に腎臓、抗エストロゲン作用検出群の 1000 mg/kg 群に肝臓の、それぞれ重量増加が認められた。
5. エストロゲン作用検出群について実施した病理組織学的検査では、100 mg/kg 以上の群に、子宮角部、頸部および膣ともに陽性対照群に認められる変化と同様なエストロゲン様作用と考えられる変化(子宮内膜の増殖、内膜上皮あるいは粘膜上皮の肥大、膣の粘膜上皮の肥厚等)が認められた。

以上のことから、本試験条件下では、1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane のエストロゲン作用は陽性、抗エストロゲン作用は陰性と結論された。

緒 言

1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の 30、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巢摘出雌性マウスに 7 日間反復皮下投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討した。

材料および方法

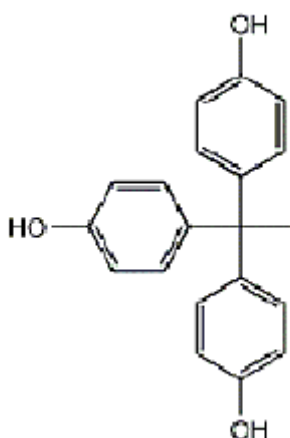
1. 被験物質

名称	: 1, 1, 1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane
別名 ^{1、2)}	: 4, 4', 4''-エチリジントリスフェノール 4, 4', 4''-(1, 1, 1-エタントリイル) トリスフェノール 4, 4', 4''-(エタン-1, 1, 1-トリイル) トリフェノール 1, 1, 1-トリス(4-ヒドロキシフェニル)エタン

CAS 番号	: 27955-94-8
官報公示整理番号	: 化審法 ; (4)-1668、安衛法 ; 7-(4)-826

分子式 : $C_{20}H_{18}O_3$ ^{1、2)}

構造式



分子量	: 306.36 ²⁾
物理化学的性質	: 外観 ; 白色～ほとんど白色の結晶～粉末の固体、無臭 ¹⁾ 融点 ; 248°C ¹⁾ 蒸気圧 ; 5×10^{-7} Pa/25°C ¹⁾

オクタノール/水分配係数；3.88

メタノール溶状；澄明 (Appendix 1)

溶解性 ; メタノールに可溶、水に不溶 (25mg//L 20°C)¹⁾

ロット番号 : XXXXXXXXXX

純度 : 99.1% (GC、Appendix 1)

製造者 : [REDACTED]

入手量 : 25 g×2 本 (関連試験と共用)

安定性 : 適切な条件下においては安定¹⁾。特別な反応性は報告されていない¹⁾。

保存条件 : 容器を密栓して冷暗所に保管した¹⁾。酸化剤などの混触危険物
質から離して保管した¹⁾。

保存場所 : 被験物質保存室の冷蔵庫
(実測範囲 2～10℃、受入から 2011 年 12 月 7 日まで
6.5～7.6℃、2011 年 12 月 8 日から投与終了日まで)

取り扱い上の注意¹⁾ : 取扱いは換気のよい場所で行った。適切な保護具を着用した。
粉塵が飛散しないように注意した。取扱い後は手や顔などをよく洗った。

毒性情報 : 眼に対する重篤な損傷/刺激性; eye-rbt 90 mg MLD¹⁾

サンプリング : 適用しなかった。

残余被験物質：関連試験の投与操作終了後、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

2. 比較對照物質

名称 : Ethynyl Estradiol (以下、EE)

CAS 番号 : 57-63-6

分子量 : 296.40

製造業者 : Cayman Chemical Company

販売業者：和光純薬工業株式会社

Batch number : 0422603

純度 : 99.5% (HPLC) (Appendix 2)

保存条件：冷凍

保存場所 : 被験物質保存室の冷凍庫

[実測範囲-28~-24℃、2011 年 9 月 29 日(受入)から投与終了日まで]

使用期限 : 2012 年 8 月 17 日

3. 対照物質

名称 : 日本薬局方オリブ油
製造業者 : ヤクハン製薬株式会社
ロット番号 : 109043
保存条件 : 室温
使用期限 : 2014 年 9 月

4. 投与液の調製

(1) 被験物質

調製方法 : 被験物質を精秤し、日本薬局方オリブ油に所定の濃度になるように溶解または懸濁させた。
調製頻度 : 用時調製
調製上の注意 : クリーンベンチを使用し、マスク、保護手袋および保護眼鏡等を着用した。
残余投与液の処置 : 焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

(2) 比較対照物質

調製方法 : 比較対照物質を精秤し、無水エタノールに溶解後、日本薬局方オリブ油を加えてメスアップした。エタノールの量は全調製量の 5%以内とした。
調製頻度 : 投与開始日までに 1 回調製した。
投与液の保存条件 : 遮光気密容器に入れ、室温保存した。
投与液の保存場所 : 試験施設の被験物質保存室
[実測範囲 21.3~24.3℃、2012 年 1 月 31 日(調製日)から投与終了日まで]
投与液の使用期限 : 2 週間
調製上の注意 : クリーンベンチを使用し、マスク、保護手袋および保護眼鏡を着用した。
残余投与液の処置 : 焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

5. 試験方法

(1) 試験系

種・系統 : マウス、C57BL/6JJmsSlc
 微生物統御 : SPF
 生産業者 : 日本エスエルシー株式会社
 微生物モニタリング : 動物生産業者よりデータを入手した。
 動物選択理由 : マウスは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、すでに実施された試験において使用されていることからこの系統を選定した。

発注動物数 : 卵巣摘出雌 72 匹

卵巣摘出時週齢 : 6 週齢

受入時週齢 : 7 週齢

出荷時体重基準 : 15～20 g

受入時体重範囲 : 15.0～17.7 g

投与開始時週齢 : 8 週齢

群数 : 11 群

各群動物数 : 6 匹

(2) 検疫および馴化

検疫方法 : 一般状態観察を 1 日 1 回観察し、体重を受入時および群分け時（投与開始前日）に測定した。

期間 : 馴化 9 日までの 8 日間

検疫および馴化期間中を通して異常は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間中に実施した一般状態観察および体重測定の結果を参考にし、動物の使用の適否を決定した。すなわち、全 72 匹を対象として、検疫および馴化期間終了日の体重に基づき、投与開始前日に層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行い 66 匹を選抜した。これらの動物の体重範囲は、17.4～20.5 g であり、平均体重 (19.39 g) の±20%以内であることを確認した。選抜から外れた動物 6 匹は投与開始日に試験から除外し、標準操作手順書に従って安楽死させた。

(4) 動物およびケージの識別

動物 : 群分け前は生産業者の動物番号を、群分け後は新たな動物番号を油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行った。

飼育ケージ : 群分け前はラベルに試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

群分け後はラベルに試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

飼育室番号 : 301 号室

温度・湿度 : $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (実測範囲 $20 \sim 23^{\circ}\text{C}$), $50 \pm 20\%$ (実測範囲 $45 \sim 53\%$)

換気回数 : 10～15 回／時間

照明時間 : 人工照明 12 時間 (8:00～20:00)

動物飼育室の温度および湿度を毎日監視し、異常が認められないことを確認した。

2) 飼育器材および飼育方法

ケージの種類 : ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm)

1 ケージあたりの収容動物数

: 検疫および馴化期間中は 2 または 5 匹、群分け後は 3 匹とした。

ケージ交換 : 群分け時に 1 回実施した。

受皿交換 : 週 2 回実施した。

給餌器交換 : 群分け時に 1 回実施した。

自動給水装置の水抜き

: 週 1 回実施した。

室内の清掃 : 1 日 1 回実施した。

室内の消毒 : 塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用する清拭消毒を 1 日 1 回実施した。

3) 飼料

種類・名称 : 固型飼料、CRF-1

ロット番号 : 111011

製造業者 : オリエンタル酵母工業株式会社

給餌方法 : 金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

汚染物質および微生物検査

: 試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロットの飼料について分析した。汚染物質の分析は Eurofins Analytics 社 (分析報告書: AR-11-JP-002889-01) が、微生物検査は飼料製造業者 (分析試験報告書: No.

11G03-148)がそれぞれ行った。分析データを飼料製造業者から入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

4) 飲料水

種類 : 札幌市水道水
 給水方法 : 自動給水装置を用いて自由に摂取させた。
 汚染物質検査 : 試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2012 年 1 月 5 日に当該飼育室の配管の最末端から試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社(水質検査結果表 : No. A234348)が行い、分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

(6) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

投与量 : 0 (対照群)、30、100、300 および 1000 mg/kg とした。
 設定理由 : 1, 1, 1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の 40、200 および 1000 mg/kg を雌性マウスに 7 日間反復皮下投与した予備試験(試験番号 : SR11138P)では、一般状態で 200 および 1000 mg/kg 群で投与部位に発赤が認められ、剖検では 200 および 1000 mg/kg 群で投与部位の背部皮膚の肥厚ならびに皮下の暗赤色斑あるいは白色顆粒が認められた。また、1000 mg/kg 群で脾臓の腫大が認められた。このことから、卵巣摘出マウスにおける皮下投与子宮肥大試験のエストロゲン作用検出群としては、予備試験と同様に高用量を 1000 mg/kg とし、以下公比約 3 で除した 300、100 および 30 mg/kg をそれぞれ中高用量群、中低用量群および低用量群として設定し、対照物質のみを皮下投与する陰性対照群および EE 0.2 µg/kg を皮下投与する陽性対照群を加えた計 6 群を設けた。
 抗エストロゲン作用検出群としては、上記と同様に 1000、300、100 および 30 mg/kg の被験物質(皮下投与)に加えて EE 0.6 µg/kg(皮下投与)を同時に投与する 4 群を設定し、対照物質(皮下投与)に加えて EE 0.6 µg/kg(皮下投与)を同時に投与する陰性対照群(EE 群)を加えた計 5 群を設けた。

試験群の構成

試験群	EE		被験物質		動物数(動物番号) 雌
	投与量 (μg/kg)	濃度 (μg/mL)	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	
＜エストロゲン作用検出群＞					
陰性対照群*1	－	－	0	0	6 (151～156)
低用量群	－	－	30	6	6 (251～256)
中低用量群	－	－	100	20	6 (351～356)
中高用量群	－	－	300	60	6 (451～456)
高用量群	－	－	1000	200	6 (551～556)
陽性対照群*2	0.2	0.4	－	－	6 (651～656)
＜抗エストロゲン作用検出群＞					
EE 群 *3	0.6	1.2	0	0	6 (161～166)
低用量+EE 群*4	0.6	1.2	30	6	6 (261～266)
中低用量+EE 群*4	0.6	1.2	100	20	6 (361～366)
中高用量+EE 群*4	0.6	1.2	300	60	6 (461～466)
高用量+EE 群*4	0.6	1.2	1000	200	6 (561～566)

*1：対照物質(日本薬局方オリブ油)を皮下投与した。

*2：EE を皮下投与した。

*3：対照物質(日本薬局方オリブ油)を皮下投与後、EE を皮下投与した。

*4：被験物質投与液を皮下投与後、EE を皮下投与した。

2) 投与

① 被験物質および対照物質

投与方法および投与経路

：背部肩甲骨の間を 70%エタノールで消毒後、ディスポーザブル注射針およびディスポーザブルシリンジを用いて背部に皮下投与した。

投与回数：1 日 1 回、7 日間連続投与した。

投与方法、投与経路および投与回数の選定理由

：「試験法ガイドライン」を参考とした。

投与時刻：13：13～15：28

投与容量：5 mL/kg とした。各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

② 比較対照物質

投与方法および投与経路

エストロゲン作用検出群

：背部肩甲骨の間を 70%エタノールで消毒後、ディスポーザブル注射針およびマイクロシリンジを用いて皮下投与した。

抗エストロゲン作用検出群

；対照物質(日本薬局方オリブ油)あるいは被験物質を皮下投与した後に、背部肩甲骨の間を 70%エタノールで消毒し、ディス

ポーザブル注射針およびマイクロシリンジを用いて皮下投与した。

投与回数 : 1日1回、7日間連続投与した。

投与方法、投与経路および投与回数の選定理由

: 「試験法ガイドライン」を参考とした。

投与時刻 : 13:44～15:52

投与容量 : 0.5 mL/kg とした。各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

(7) 観察、測定および検査項目

以下の項目について実施した。投与日数は投与開始日を投与1日として起算した。

1) 一般状態観察

例数 : 全例

期間 : 投与1日から投与7日の翌日の剖検日まで。

頻度 : 毎日の投与前(午前)、投与後(夕刻)の計2回。ただし、剖検日は午前中に1回。

観察方法 : 個々の動物の生死、外観、行動等について観察した。

2) 体重測定

例数 : 全例

測定日 : 投与1日から投与7日までの毎日の投与前ならびに剖検日の午前中に測定した。

測定方法 : 電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて測定し、0.1 g 単位で記録した。

3) 剖検

例数 : 全例

検査時期 : 最終投与の23～25時間後に実施した。

検査方法 : 体外表を観察し、エーテル麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。子宮については実体顕微鏡下で余分な脂肪を除去した。子宮および臍を10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。

4) 器官重量測定

例数 : 全例

検査時期 : 剖検時

測定方法 : 電子式上皿天秤(ER-180A、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて子宮重量を0.1 mg 単位で測定した。

子宮重量は子宮内液を含んだ重量(wet weight)および子宮壁の一部を切開して子宮内液を除いた重量(blotted weight)について測定した。

あわせて、肝臓、腎臓、副腎重量を測定した。

相対重量の算出 : 以下の式から相対重量を算出した。

$$\text{相対重量 (10}^{-3}\%) = \frac{\text{絶対重量 (mg)}}{\text{剖検日体重 (g)}} \times 100$$

5) 病理組織学的検査

例数 : 器官重量測定の結果、エストロゲン作用検出群で子宮重量に被験物質投与に関連した重量増加が認められたため、エストロゲン作用検出群の全例について実施した。

抗エストロゲン作用検出群については、被験物質投与の影響が認められなかったため実施しなかった。

検査方法 : パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。

器官・組織名 : 子宮および膈

6. 統計学的方法

体重および器官重量の成績について平均値および標準偏差を算出し、Bartlett の検定法を行い、等分散性を解析した。等分散 ($p > 0.05$) の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散 ($p \leq 0.05$) の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Dunnett の検定法を用いて陰性対照群あるいは EE 群との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Steel の検定法を用いて陰性対照群あるいは EE 群との比較を行った。

陰性対照群あるいは EE 群との比較検定については、有意水準を 5% とした。

成 績

1. 一般状態

一般状態の成績を Table 1 および 2、INDIVIDUAL DATA 1-1-1~1-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも異常は認められなかった。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも異常は認められなかった。

2. 体重

体重の成績を Figure 1 および 2、Table 3 および 4、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも陰性対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも EE 群と比較して有意な差は認められなかった。

3. 剖検

剖検所見を Table 5 および 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

陰性対照群、30 および 100 mg/kg 群では、異常所見は認められなかった。

300 mg/kg 群では、全例で投与部位である背部皮膚の肥厚が認められた。

1000 mg/kg 群では、全例で脾臓の腫大ならびに背部皮膚に肥厚および皮下の白色顆粒が認められた。

陽性対照群では、異常所見は認められなかった。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

EE 群では、異常所見は認められなかった。

30 および 100 mg/kg 群では、異常所見は認められなかった。

300 mg/kg 群では、全例で投与部位である背部皮膚の肥厚が認められた。

1000 mg/kg 群では、全例で脾臓の腫大ならびに背部皮膚に肥厚および皮下の白色顆粒が認められた。

4. 器官重量

器官の絶対および相対重量の成績を Table 7 および 8、INDIVIDUAL DATA 4-1-1～4-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

30 mg/kg 群では、陰性対照群と比較して有意な差は認められなかった。

100 mg/kg 群では、肝臓の相対重量に統計学的に有意な高値が認められた。

300 mg/kg 群では、子宮の wet weight および blotted weight の絶対および相対重量ならびに肝臓および腎臓の相対重量に統計学的に有意な高値が認められた。

1000 mg/kg 群では、子宮の wet weight および blotted weight ならびに肝臓および腎臓の絶対および相対重量に統計学的に有意な高値が認められた。

陽性対照群では、子宮の wet weight および blotted weight の絶対および相対重量ならびに腎臓の相対重量に有意な高値が認められた。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

30、100 および 300 mg/kg 群では、EE 群と比較して有意な差は認められなかった。

1000 mg/kg 群では、肝臓の絶対および相対重量に統計学的に有意な高値が認められた。

5. 病理組織学的検査

エストロゲン作用検出群の病理組織学的所見を Table 9、INDIVIDUAL DATA 5-1～5-6 に示す。

陰性対照群および 30 mg/kg 群では、異常所見は認められなかった。

100 mg/kg 群では、子宮角部に内膜上皮の肥大(軽度 3 例)および核分裂(軽度 1 例)、子宮頸部に粘膜上皮の肥大(軽度 1 例)、膣に粘膜上皮の肥厚(軽度 4 例)および角化(軽度 1 例)ならびに円柱上皮細胞の粘液分泌(軽度 5 例)が認められた。

300 mg/kg 群では、子宮角部に内膜上皮の肥大(軽度 5 例、中等度 1 例)、核分裂(軽度 1 例)および内膜の増殖(軽度 3 例)、子宮頸部に粘膜上皮の肥大(中等度 6 例：全例)、膣に粘膜上皮の肥厚(中等度 2 例、重度 4 例)、角化(軽度 2 例、中等度 2 例)および好中球浸潤(軽度 1 例、中等度 1 例)ならびに円柱上皮細胞の粘液分泌(軽度 3 例、中等度 2 例)が認められた。

1000 mg/kg 群では、子宮角部に内膜上皮の肥大(軽度 6 例)、内膜の増殖(軽度 3 例)ならびに筋層の肥大(軽度 1 例)、子宮頸部に粘膜上皮の肥大(軽度 1 例、中等度 4 例、重度 1 例)、膣に粘膜上皮の肥厚(中等度 4 例、重度 2 例)、角化(軽度 2 例、中等度 1 例)および好中球浸潤(中等度 4 例)ならびに円柱上皮細胞の粘液分泌(中等度 2 例)が認められた。

陽性対照群では、子宮角部に内膜上皮の肥大(軽度 4 例、中等度 2 例)および核分裂(軽度 3 例)、内膜の増殖(軽度 6 例)ならびに筋層の肥大(軽度 3 例)、子宮頸部に粘膜上皮の肥大(軽度 4 例、中等度 2 例)、膣に粘膜上皮の肥厚(中等度 4 例、重度 2 例)、角化(軽度 1 例、中等度 1 例)および好中球浸潤(軽度 1 例)ならびに円柱上皮細胞の粘液分泌(中等度 6 例)が認められた。

考 察

1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の 30、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巢摘出雌性マウスに 7 日間反復皮下投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討した。

その結果、被験物質投与各群の一般状態および体重では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群ともに 300 mg/kg 以上の群で背部皮膚の肥厚、1000 mg/kg 群で脾臓の腫大および皮下の白色顆粒が認められた。脾臓の腫大については、その発現機序については明らかでないが、被験物質投与による毒性発現と考えられた。また、背部皮膚の肥厚については、当該部位が投与部位であること、本被験物質に眼刺激性が報告されている¹⁾ことから、被験物質の物理的刺激が反復投与により肥厚を惹起したものと推察された。一方、皮下の白色顆粒については、被験物質が媒体中で溶解していないことから、投与部位に残留したものと考えられた。

器官重量では、エストロゲン作用検出群の 300 および 1000 mg/kg 群の子宮の絶対および相対重量に、陽性対照群と同様に有意な高値が認められ、本被験物質のエストロゲン作用が示唆された。

この変化からは、本被験物質のエストロゲン作用が示唆されるため、エストロゲン作用検出群について病理組織学的検査を実施した結果、100 mg/kg 以上の群に、子宮角部、頸部および膺ともに陽性対照群に認められる変化と同様なエストロゲン様作用と考えられる変化(子宮内膜の増殖、内膜上皮あるいは粘膜上皮の肥大、膺の粘膜上皮の肥厚等)が認められ、本被験物質はエストロゲン作用陽性と判断した。

一方、抗エストロゲン作用検出群では各群の子宮重量に EE 群と比較して有意な差はなく、本被験物質に抗エストロゲン作用は無いと判断した。

他に、エストロゲン作用検出群で、肝臓重量は 100 および 300 mg/kg 群で相対重量、1000 mg/kg 群で絶対および相対重量、また、腎臓重量は 300 mg/kg 群で相対重量、1000 mg/kg で絶対および相対重量に有意な高値が認められた。同様に、抗エストロゲン作用検出群では 1000 mg/kg 群で肝臓重量の統計学的に有意な高値が認められた。これらの肝臓あるいは腎臓の重量増加には用量依存的な様相がみられ、被験物質投与による毒性変化と考えられた。

結 論

1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane の 30、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巢摘出雌性マウスに 7 日間反復皮下投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討した。

その結果、エストロゲン作用検出群の子宮重量で 300 mg/kg 以上、病理組織学的検査で 100 mg/kg 以上の群で、エストロゲン作用の陽性反応が認められた。

一方、抗エストロゲン作用検出群には被験物質投与に関連した子宮重量の変化は認められず、本被験物質の抗エストロゲン作用は陰性と結論された。

他に、エストロゲン作用検出群の 100 mg/kg 以上の群に肝臓、300 mg/kg 以上の群に腎臓、抗エストロゲン作用検出群の 1000 mg/kg 群に肝臓の、それぞれ重量増加が認められ、被験物質投与による毒性変化と判断した。

参考資料

- 1) [REDACTED] 製品安全データシート.
- 2) 日化辞 Web : JST の有機化合物辞書 DB「日本化学物質辞書」検索サービス.

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因はなかった。

資料の保存

下記の資料を試験終了後 10 年間、株式会社 化合物安全性研究所 資料保存室に保存する。
その後の保存については試験委託者との協議により決定する。

1. 試験計画書
2. 生データその他の記録文書
3. 最終報告書
4. 標本 : 1) 固定器官・組織
 2) 光顕標本(パラフィン包埋標本および薄切標本)

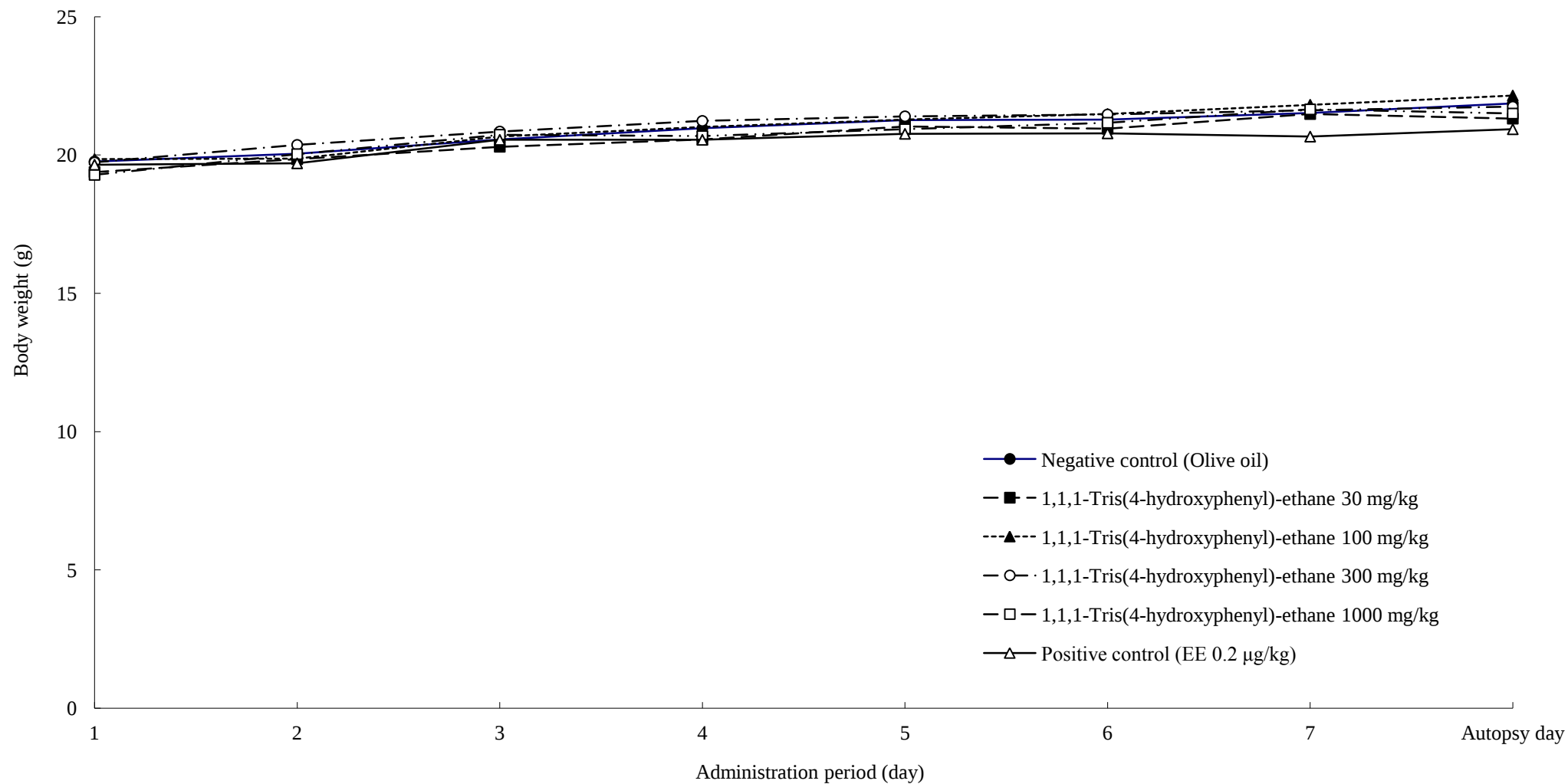
試験責任者の記名なつ印

試験施設：株式会社 化合物安全性研究所

試験責任者



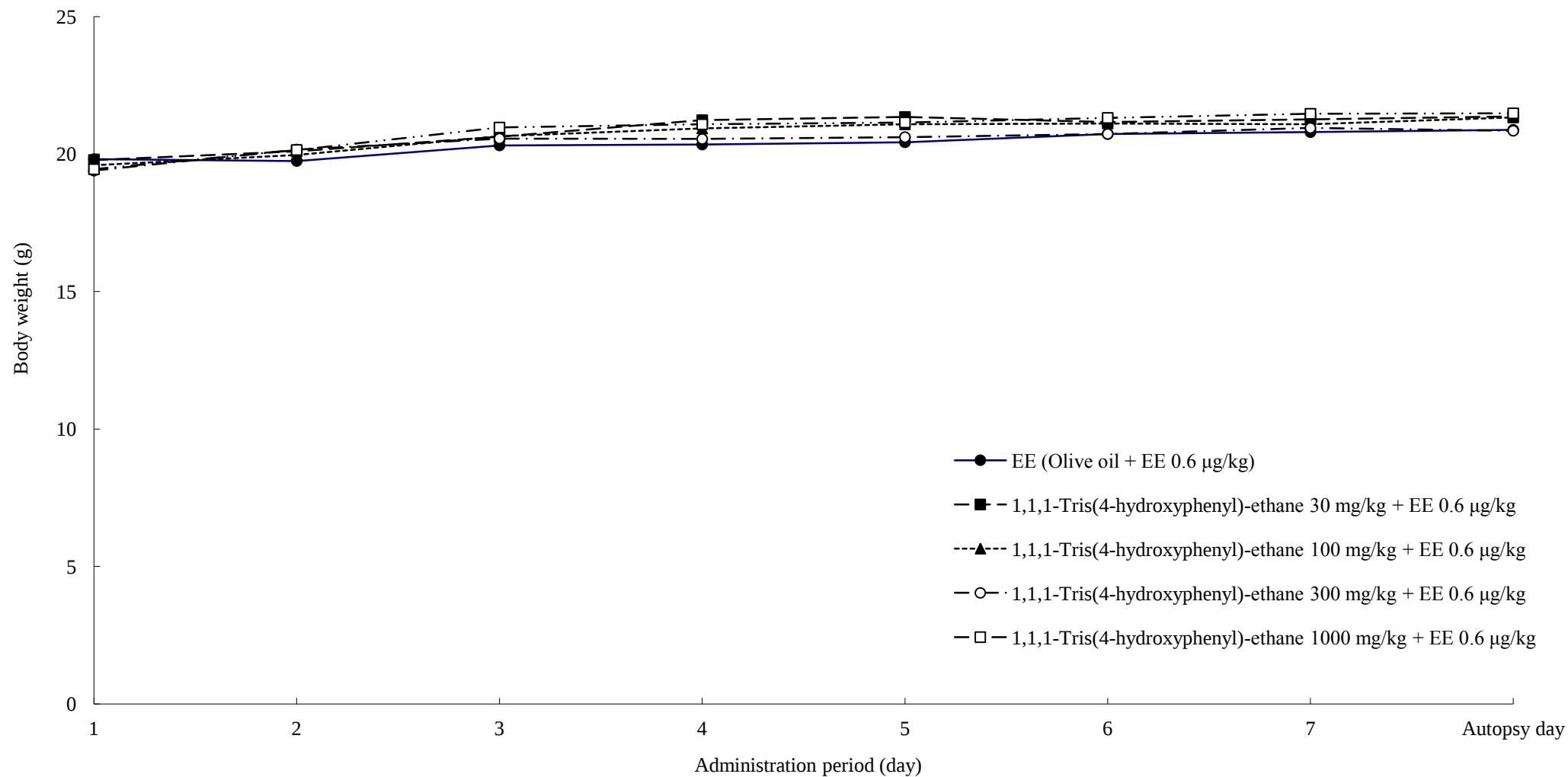
2012 年 3 月 15 日



EE: Ethynyl Estradiol.

Figure 1

Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)



EE: Ethynyl Estradiol.

Figure 2

Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Table 1

General appearance of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Findings	Administration period (day)	Autopsy day
		1-7	
Negative control (Olive oil)	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Positive control (EE 0.2 µg/kg)	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 2

General appearance of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Findings	Administration period (day)	Autopsy day
		1-7	
EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 3

Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
			1	2	3	4	5	6	7	
Negative control (Olive oil)	6	MEAN	19.77	20.05	20.57	20.97	21.27	21.28	21.52	21.87
		S.D.	0.96	0.80	0.84	1.09	0.92	0.56	1.01	0.91
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg	6	MEAN	19.38	19.85	20.30	20.57	21.03	20.95	21.48	21.32
		S.D.	0.42	0.89	0.66	0.45	0.78	0.67	0.83	0.73
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg	6	MEAN	19.85	19.87	20.67	21.02	21.28	21.48	21.82	22.15
		S.D.	0.48	0.58	0.48	0.63	0.77	0.73	0.74	0.98
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg	6	MEAN	19.73	20.37	20.85	21.23	21.40	21.47	21.62	21.75
		S.D.	0.41	0.59	0.21	0.76	0.76	0.86	0.75	0.71
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg	6	MEAN	19.28	20.03	20.73	20.68	20.93	21.17	21.65	21.50
		S.D.	1.19	1.16	1.24	1.28	1.34	1.43	1.54	1.45
Positive control (EE 0.2 µg/kg)	6	MEAN	19.65	19.70	20.55	20.55	20.77	20.78	20.67	20.93
		S.D.	0.75	0.84	0.79	1.19	1.17	1.38	1.57	1.51

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 4

Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
			1	2	3	4	5	6	7	
EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	6	MEAN	19.82	19.75	20.32	20.35	20.43	20.73	20.80	20.88
		S.D.	0.51	0.83	0.84	1.02	0.91	0.89	0.86	1.08
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	19.78	20.10	20.63	21.23	21.35	21.17	21.27	21.37
		S.D.	0.55	0.72	0.75	0.79	0.84	0.79	1.09	0.83
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	19.60	19.97	20.65	20.93	21.08	21.12	21.08	21.33
		S.D.	0.89	0.70	0.73	0.75	0.53	0.89	0.87	0.94
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	19.40	20.17	20.57	20.55	20.62	20.73	20.95	20.85
		S.D.	0.57	0.89	1.03	1.09	1.23	0.99	1.16	1.26
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	19.45	20.15	20.97	21.08	21.15	21.32	21.47	21.48
		S.D.	0.34	0.82	0.61	0.56	0.47	0.53	0.61	0.64

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 5

Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Negative control (Olive oil)	1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane				Positive control (EE 0.2 µg/kg)
		30 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	6	6	0	0	6
Organ : Findings						
Spleen : Swelling	0	0	0	0	6	0
Skin of dorsal region : Thickening	0	0	0	6	6	0
White granule, subcutis	0	0	0	0	6	0

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 6

Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane			
		30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg
Number of animals examined	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	6	6	0	0
Organ : Findings					
Spleen : Swelling	0	0	0	0	6
Skin of dorsal region : Thickening	0	0	0	6	6
White granule, subcutis	0	0	0	0	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 7

Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Number of animals		Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
				mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
Negative control (Olive oil)	6	MEAN	21.87	14.50	66.403	12.83	58.707	1.027	4.692	234.0	1068.333	6.63	30.362
		S.D.	0.91	2.37	11.122	1.70	7.574	0.073	0.211	21.8	60.106	0.85	3.932
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg	6	MEAN	21.32	13.82	64.917	12.47	58.593	1.042	4.885	231.3	1085.517	6.90	32.348
		S.D.	0.73	1.87	9.411	1.68	8.630	0.069	0.269	6.2	16.088	0.59	2.207
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg	6	MEAN	22.15	15.35	69.088	13.63	61.362	1.137	5.130 **	244.3	1103.098	6.02	27.215
		S.D.	0.98	1.99	6.424	1.89	6.385	0.072	0.200	13.9	41.853	0.95	4.454
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg	6	MEAN	21.75	24.23 +	111.662 +	22.32 +	102.815 +	1.145	5.267 **	256.5	1179.047 **	6.87	31.618
		S.D.	0.71	5.45	26.195	5.15	24.620	0.044	0.085	12.1	29.498	1.59	7.398
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg	6	MEAN	21.50	21.72 +	101.253 +	20.02 +	93.125 +	1.172 *	5.442 **	259.2 *	1205.932 **	6.62	30.845
		S.D.	1.45	5.83	26.981	6.01	27.165	0.120	0.245	16.3	22.875	1.01	4.843
Positive control (EE 0.2 µg/kg)	6	MEAN	20.93	28.65 +	137.723 +	26.33 +	126.625 +	0.990	4.728	241.7	1154.913 **	6.63	31.747
		S.D.	1.51	6.40	34.330	6.24	33.437	0.091	0.228	18.8	46.418	0.83	3.929

EE: Ethynyl Estradiol.

*: Significantly different from the negative control (Olive oil) group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's test).**: Significantly different from the negative control (Olive oil) group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).+: Significantly different from the negative control (Olive oil) group at $p \leq 0.05$ (Steel's test).

Table 8

Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Group	Number of animals		Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
				mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	6	MEAN	20.88	76.45	363.930	69.33	329.988	0.967	4.628	240.0	1149.295	7.22	34.500
		S.D.	1.08	23.15	100.195	20.37	87.672	0.119	0.501	15.8	45.870	1.21	5.013
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	21.37	66.83	311.987	61.50	287.075	1.023	4.790	232.5	1087.037	7.60	35.662
		S.D.	0.83	23.18	107.788	19.92	92.066	0.046	0.126	20.9	69.944	1.35	6.684
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	21.33	59.33	277.632	54.38	254.528	1.005	4.710	233.8	1094.635	6.78	31.783
		S.D.	0.94	14.00	62.101	12.59	56.059	0.071	0.222	22.8	70.482	0.73	3.123
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	20.85	53.55	257.727	47.38	228.365	1.040	4.988	251.0	1206.093	7.82	37.668
		S.D.	1.26	11.44	58.380	9.46	51.037	0.091	0.303	17.5	93.532	1.70	8.851
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	21.48	78.33	364.685	71.20	331.732	1.133 **	5.275 +	255.7	1190.462	6.25	29.075
		S.D.	0.64	15.27	70.721	11.82	56.874	0.058	0.180	12.7	57.670	1.13	5.086

EE: Ethynyl Estradiol.

** : Significantly different from the EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg) group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

+ : Significantly different from the EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg) group at $p \leq 0.05$ (Steel's test).

Table 9 Histopathological findings ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in subcutaneous uterotrophic bioassay of 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane (SR11138)

Item	Group	Negative control (olive oil)	1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethene				Positive control (EE 0.2 µg/kg)
			30 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6
Organ: Findings	Grade						
Uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium	+	0	0	3	5	6	4
	++	0	0	0	1	0	2
Mitosis, endometrial epithelium	+	0	0	1	1	0	3
Proliferation, endometrium	+	0	0	0	3	3	6
Hypertrophy, myometrium	+	0	0	0	0	1	3
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium	+	0	0	1	0	1	4
	++	0	0	0	6	4	2
	+++	0	0	0	0	1	0
Vagina: Thickening, mucosal epithelium	+	0	0	4	0	0	0
	++	0	0	0	2	4	4
	+++	0	0	0	4	2	2
Mucus secretion, columnar surface cell	+	0	0	5	3	0	0
	++	0	0	0	2	2	6
Keratinization, mucosal epithelium	+	0	0	1	2	2	1
	++	0	0	0	2	1	1
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium	+	0	0	0	1	0	1
	++	0	0	0	1	4	0

Values are number of animals with findings.

Grade; +: slight change, ++: moderate change, +++: severe change.

EE: Ethynyl Estradiol

Symbols and process for statistical analysis in INDIVIDUAL DATA

M/C: Values for Bartlett's test for homogeneity of variance,

$p \leq 0.05$ ----- > Kruskal-Wallis test

$p > 0.05$ ----- > One way analysis of variance

F : Values for one way analysis of variance,

$p \leq 0.10$ ----- > Dunnett's test

H : Values for Kruskal-Wallis test,

$p \leq 0.10$ ----- > Steel's test

† : Significant difference, $p \leq 0.10$

* : Significant difference, $p \leq 0.05$

** : Significant difference, $p \leq 0.01$

Dunnett's t : Values for Dunnett's test

Steel's t : Values for Steel's test

* : Significant difference, $p \leq 0.05$

** : Significant difference, $p \leq 0.01$

INDIVIDUAL DATA 1-1-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
151	N	N
152	N	N
153	N	N
154	N	N
155	N	N
156	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
251	N	N
252	N	N
253	N	N
254	N	N
255	N	N
256	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
351	N	N
352	N	N
353	N	N
354	N	N
355	N	N
356	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
451	N	N
452	N	N
453	N	N
454	N	N
455	N	N
456	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
551	N	N
552	N	N
553	N	N
554	N	N
555	N	N
556	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-6

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 0.2 µg/kg)

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
651	N	N
652	N	N
653	N	N
654	N	N
655	N	N
656	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
161	N	N
162	N	N
163	N	N
164	N	N
165	N	N
166	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
261	N	N
262	N	N
263	N	N
264	N	N
265	N	N
266	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
361	N	N
362	N	N
363	N	N
364	N	N
365	N	N
366	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
461	N	N
462	N	N
463	N	N
464	N	N
465	N	N
466	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Administration period (day)	Autopsy day
	1-7	
561	N	N
562	N	N
563	N	N
564	N	N
565	N	N
566	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 2-1-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
151	18.5	19.0	19.3	19.3	19.8	20.5	19.9	20.5
152	19.1	19.5	19.9	20.2	20.6	20.9	20.8	21.1
153	19.2	19.6	20.4	20.8	21.5	21.7	22.0	22.2
154	20.3	20.4	21.3	21.6	21.4	21.0	21.5	21.9
155	20.8	20.9	21.2	22.3	22.2	21.9	22.6	22.9
156	20.7	20.9	21.3	21.6	22.1	21.7	22.3	22.6
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.77	20.05	20.57	20.97	21.27	21.28	21.52	21.87
S.D.	0.96	0.80	0.84	1.09	0.92	0.56	1.01	0.91
S.E.	0.39	0.33	0.34	0.45	0.38	0.23	0.41	0.37
M/C	9.2158	3.2365	12.6563 *	6.5968	2.8384	7.0974	5.6568	4.9925
F	0.5320	0.4604		0.5115	0.3642	0.4749	0.7712	0.9239
H			2.2208					

INDIVIDUAL DATA 2-1-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
251	18.9	18.8	20.0	20.3	20.4	20.6	20.6	20.6
252	19.2	20.0	20.1	20.7	20.9	20.9	21.5	21.1
253	19.1	18.9	19.8	20.2	20.4	20.4	21.2	20.9
254	19.9	20.2	20.3	20.8	21.2	21.1	21.6	21.3
255	19.3	20.0	20.0	20.1	20.8	20.5	21.0	21.3
256	19.9	21.2	21.6	21.3	22.5	22.2	23.0	22.7
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.38	19.85	20.30	20.57	21.03	20.95	21.48	21.32
S.D.	0.42	0.89	0.66	0.45	0.78	0.67	0.83	0.73
S.E.	0.17	0.36	0.27	0.19	0.32	0.27	0.34	0.30

INDIVIDUAL DATA 2-1-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
351	19.3	18.9	19.8	20.0	20.0	20.5	20.6	20.4
352	19.4	20.0	20.5	21.1	21.4	21.8	22.1	22.6
353	20.5	19.5	21.1	21.4	21.5	22.0	22.3	22.8
354	19.6	20.1	20.8	21.2	22.1	21.9	22.3	22.5
355	20.1	20.2	21.1	21.8	21.9	22.1	22.4	23.0
356	20.2	20.5	20.7	20.6	20.8	20.6	21.2	21.6
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.85	19.87	20.67	21.02	21.28	21.48	21.82	22.15
S.D.	0.48	0.58	0.48	0.63	0.77	0.73	0.74	0.98
S.E.	0.20	0.23	0.20	0.26	0.32	0.30	0.30	0.40

INDIVIDUAL DATA 2-1-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
451	19.4	19.7	20.7	20.4	20.8	21.1	21.3	21.2
452	19.5	20.5	21.0	22.1	21.7	22.0	22.1	22.2
453	19.5	20.1	20.5	21.1	21.3	21.3	21.3	21.6
454	19.9	20.7	20.9	21.8	21.9	22.2	22.3	22.2
455	19.6	19.9	21.0	20.3	20.3	20.0	20.4	20.7
456	20.5	21.3	21.0	21.7	22.4	22.2	22.3	22.6
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.73	20.37	20.85	21.23	21.40	21.47	21.62	21.75
S.D.	0.41	0.59	0.21	0.76	0.76	0.86	0.75	0.71
S.E.	0.17	0.24	0.08	0.31	0.31	0.35	0.31	0.29

INDIVIDUAL DATA 2-1-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
551	17.4	18.1	18.6	18.7	18.7	18.7	18.9	18.9
552	19.7	20.6	21.1	21.5	21.9	22.2	23.0	23.0
553	19.8	20.3	21.2	21.2	21.8	21.6	22.1	22.3
554	19.3	19.8	20.2	19.7	20.0	20.8	21.0	20.9
555	18.6	19.8	21.0	20.8	21.1	20.9	21.9	21.7
556	20.9	21.6	22.3	22.2	22.1	22.8	23.0	22.2
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.28	20.03	20.73	20.68	20.93	21.17	21.65	21.50
S.D.	1.19	1.16	1.24	1.28	1.34	1.43	1.54	1.45
S.E.	0.49	0.47	0.51	0.52	0.55	0.58	0.63	0.59

INDIVIDUAL DATA 2-1-6

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 0.2 µg/kg)

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
651	18.8	18.4	19.5	19.1	19.3	19.0	18.7	18.8
652	18.9	19.3	20.1	20.1	20.6	20.5	20.3	21.1
653	19.3	19.3	20.0	19.4	19.6	19.6	19.2	19.6
654	20.2	20.4	21.0	21.1	21.0	20.9	21.0	21.1
655	20.1	20.3	21.4	21.9	22.1	22.3	22.4	22.2
656	20.6	20.5	21.3	21.7	22.0	22.4	22.4	22.8
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.65	19.70	20.55	20.55	20.77	20.78	20.67	20.93
S.D.	0.75	0.84	0.79	1.19	1.17	1.38	1.57	1.51
S.E.	0.31	0.34	0.32	0.49	0.48	0.57	0.64	0.62

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
161	19.1	18.2	18.7	18.6	18.7	19.1	19.2	18.8
162	20.0	19.9	20.6	20.4	20.8	21.0	21.1	21.4
163	19.6	19.8	20.5	20.8	20.6	21.0	20.9	21.5
164	20.0	19.8	20.4	20.1	20.4	20.7	20.8	21.0
165	19.6	20.1	20.5	20.5	20.7	20.8	21.0	20.8
166	20.6	20.7	21.2	21.7	21.4	21.8	21.8	21.8
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.82	19.75	20.32	20.35	20.43	20.73	20.80	20.88
S.D.	0.51	0.83	0.84	1.02	0.91	0.89	0.86	1.08
S.E.	0.21	0.34	0.34	0.42	0.37	0.36	0.35	0.44
M/C	4.4245	0.3789	1.4270	2.4113	5.5309	1.8040	2.1521	2.3201
F	0.5945	0.2860	0.5003	1.0965	1.2523	0.6128	0.4687	0.5499

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
261	19.3	19.4	20.0	20.3	20.3	20.2	19.6	20.0
262	19.1	19.1	19.7	20.3	20.6	20.2	20.3	20.8
263	19.7	20.0	20.4	21.2	21.4	21.5	21.6	22.0
264	19.8	20.6	21.2	21.8	22.4	21.8	22.1	21.9
265	20.5	20.8	21.7	22.2	22.2	22.0	22.4	22.1
266	20.3	20.7	20.8	21.6	21.2	21.3	21.6	21.4
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.78	20.10	20.63	21.23	21.35	21.17	21.27	21.37
S.D.	0.55	0.72	0.75	0.79	0.84	0.79	1.09	0.83
S.E.	0.22	0.29	0.31	0.32	0.34	0.32	0.44	0.34

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
361	18.4	19.1	19.9	20.5	20.5	20.1	20.1	20.3
362	19.1	19.7	20.2	20.3	20.9	20.6	20.5	20.8
363	20.7	20.8	21.5	21.5	21.7	22.1	21.7	22.1
364	19.0	19.3	19.9	20.1	20.5	20.3	20.3	20.4
365	20.1	20.4	21.2	22.0	21.6	22.0	22.0	22.4
366	20.3	20.5	21.2	21.2	21.3	21.6	21.9	22.0
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.60	19.97	20.65	20.93	21.08	21.12	21.08	21.33
S.D.	0.89	0.70	0.73	0.75	0.53	0.89	0.87	0.94
S.E.	0.37	0.28	0.30	0.31	0.22	0.36	0.36	0.38

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
461	18.5	19.6	20.1	19.9	20.1	20.1	20.4	20.2
462	19.1	19.1	19.2	19.1	18.9	19.4	19.4	19.3
463	19.2	19.6	19.7	19.8	19.7	20.2	20.1	19.8
464	19.7	20.3	21.3	21.2	21.3	21.1	21.6	21.4
465	19.9	21.3	21.6	21.5	21.9	21.9	22.4	22.4
466	20.0	21.1	21.5	21.8	21.8	21.7	21.8	22.0
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.40	20.17	20.57	20.55	20.62	20.73	20.95	20.85
S.D.	0.57	0.89	1.03	1.09	1.23	0.99	1.16	1.26
S.E.	0.23	0.36	0.42	0.45	0.50	0.40	0.47	0.51

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
561	18.9	19.3	20.2	20.4	20.6	20.8	20.8	21.1
562	19.2	19.0	20.5	20.6	20.7	20.9	20.7	20.5
563	19.5	20.8	21.7	21.9	21.8	22.2	22.1	22.4
564	19.8	20.7	21.4	21.2	21.0	21.1	22.0	21.6
565	19.7	20.9	21.4	21.5	21.5	21.7	21.8	21.8
566	19.6	20.2	20.6	20.9	21.3	21.2	21.4	21.5
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.45	20.15	20.97	21.08	21.15	21.32	21.47	21.48
S.D.	0.34	0.82	0.61	0.56	0.47	0.53	0.61	0.64
S.E.	0.14	0.33	0.25	0.23	0.19	0.22	0.25	0.26

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-1-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JMsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Findings
151	No abnormal findings
152	No abnormal findings
153	No abnormal findings
154	No abnormal findings
155	No abnormal findings
156	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg

Animal No.	Findings
251	No abnormal findings
252	No abnormal findings
253	No abnormal findings
254	No abnormal findings
255	No abnormal findings
256	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg

Animal No.	Findings
351	No abnormal findings
352	No abnormal findings
353	No abnormal findings
354	No abnormal findings
355	No abnormal findings
356	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg

Animal No.	Organ : Findings
451	Skin of dorsal region : Thickening
452	Skin of dorsal region : Thickening
453	Skin of dorsal region : Thickening
454	Skin of dorsal region : Thickening
455	Skin of dorsal region : Thickening
456	Skin of dorsal region : Thickening

INDIVIDUAL DATA 3-1-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg

Animal No.	Organ: Findings
551	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
552	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
553	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
554	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
555	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
556	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis

INDIVIDUAL DATA 3-1-6

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 0.2 µg/kg)

Animal No.	Findings
651	No abnormal findings
652	No abnormal findings
653	No abnormal findings
654	No abnormal findings
655	No abnormal findings
656	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Findings
161	No abnormal findings
162	No abnormal findings
163	No abnormal findings
164	No abnormal findings
165	No abnormal findings
166	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Findings
261	No abnormal findings
262	No abnormal findings
263	No abnormal findings
264	No abnormal findings
265	No abnormal findings
266	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Findings
361	No abnormal findings
362	No abnormal findings
363	No abnormal findings
364	No abnormal findings
365	No abnormal findings
366	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Organ : Findings
461	Skin of dorsal region : Thickening
462	Skin of dorsal region : Thickening
463	Skin of dorsal region : Thickening
464	Skin of dorsal region : Thickening
465	Skin of dorsal region : Thickening
466	Skin of dorsal region : Thickening

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Organ: Findings
561	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
562	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
563	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
564	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
565	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis
566	Spleen : Swelling Skin of dorsal region : Thickening White granule, subcutis

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-1-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
151	20.5	13.2	64.39	11.2	54.63	0.92	4.49	202	985.37	5.8	28.29
152	21.1	16.2	76.78	14.1	66.82	1.00	4.74	212	1004.74	7.6	36.02
153	22.2	10.6	47.75	10.4	46.85	1.12	5.05	244	1099.10	6.3	28.38
154	21.9	17.2	78.54	14.3	65.30	0.98	4.47	242	1105.02	6.3	28.77
155	22.9	15.5	67.69	14.3	62.45	1.07	4.67	247	1078.60	6.0	26.20
156	22.6	14.3	63.27	12.7	56.19	1.07	4.73	257	1137.17	7.8	34.51
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.87	14.50	66.403	12.83	58.707	1.027	4.692	234.0	1068.333	6.63	30.362
S.D.	0.91	2.37	11.122	1.70	7.574	0.073	0.211	21.8	60.106	0.85	3.932
S.E.	0.37	0.97	4.540	0.70	3.092	0.030	0.086	8.9	24.538	0.35	1.605
M/C	4.9925	13.3449 *	17.4290 **	16.7134 **	20.4605 **	4.8516	5.4479	7.0197	9.6106	5.1263	6.6036
F	0.9239					5.0407 **	12.0586 **	3.1908 *	11.9722 **	0.5829	0.9114
H		27.8126 **	27.3393 **	28.0912 **	27.6336 **						

INDIVIDUAL DATA 4-1-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
251	20.6	12.5	60.68	11.8	57.28	1.03	5.00	223	1082.52	6.4	31.07
252	21.1	13.5	63.98	12.1	57.35	0.95	4.50	229	1085.31	7.3	34.60
253	20.9	16.6	79.43	15.4	73.68	1.06	5.07	227	1086.12	6.4	30.62
254	21.3	11.7	54.93	10.5	49.30	1.10	5.16	234	1098.59	6.3	29.58
255	21.3	15.5	72.77	13.2	61.97	0.98	4.60	235	1103.29	7.4	34.74
256	22.7	13.1	57.71	11.8	51.98	1.13	4.98	240	1057.27	7.6	33.48
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.32	13.82	64.917	12.47	58.593	1.042	4.885	231.3	1085.517	6.90	32.348
S.D.	0.73	1.87	9.411	1.68	8.630	0.069	0.269	6.2	16.088	0.59	2.207
S.E.	0.30	0.76	3.842	0.68	3.523	0.028	0.110	2.5	6.568	0.24	0.901
Dunnett's t						0.3177	1.5621	0.2952	0.7613		
Steel's t		0.7218	0.4804	0.3214	0.1601						

INDIVIDUAL DATA 4-1-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
351	20.4	12.0	58.82	10.6	51.96	1.03	5.05	217	1063.73	5.5	26.96
352	22.6	16.2	71.68	14.1	62.39	1.13	5.00	247	1092.92	5.4	23.89
353	22.8	16.2	71.05	13.4	58.77	1.25	5.48	251	1100.88	7.1	31.14
354	22.5	17.3	76.89	15.5	68.89	1.17	5.20	254	1128.89	6.0	26.67
355	23.0	16.5	71.74	15.6	67.83	1.13	4.91	244	1060.87	4.9	21.30
356	21.6	13.9	64.35	12.6	58.33	1.11	5.14	253	1171.30	7.2	33.33
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	22.15	15.35	69.088	13.63	61.362	1.137	5.130	244.3	1103.098	6.02	27.215
S.D.	0.98	1.99	6.424	1.89	6.385	0.072	0.200	13.9	41.853	0.95	4.454
S.E.	0.40	0.81	2.623	0.77	2.607	0.030	0.081	5.7	17.086	0.39	1.818
Dunnett's t						2.3301	3.5417 **	1.1440	1.5402		
Steel's t		0.8063	0.3203	0.5624	0.6405						

INDIVIDUAL DATA 4-1-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
451	21.2	28.4	133.96	25.6	120.75	1.13	5.33	258	1216.98	5.6	26.42
452	22.2	19.5	87.84	17.6	79.28	1.16	5.23	265	1193.69	9.0	40.54
453	21.6	33.1	153.24	31.0	143.52	1.12	5.19	248	1148.15	8.5	39.35
454	22.2	23.6	106.31	21.9	98.65	1.15	5.18	258	1162.16	5.4	24.32
455	20.7	19.9	96.14	18.3	88.41	1.09	5.27	238	1149.76	7.1	34.30
456	22.6	20.9	92.48	19.5	86.28	1.22	5.40	272	1203.54	5.6	24.78
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.75	24.23	111.662	22.32	102.815	1.145	5.267	256.5	1179.047	6.87	31.618
S.D.	0.71	5.45	26.195	5.15	24.620	0.044	0.085	12.1	29.498	1.59	7.398
S.E.	0.29	2.23	10.694	2.10	10.051	0.018	0.035	4.9	12.043	0.65	3.020
Dunnett's t						2.5066	4.6460 **	2.4911	4.9048 **		
Steel's t		2.8823 *	2.8823 *	2.8874 *	2.8823 *						

INDIVIDUAL DATA 4-1-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
551	18.9	18.7	98.94	15.8	83.60	0.98	5.19	229	1211.64	6.8	35.98
552	23.0	20.1	87.39	19.2	83.48	1.29	5.61	271	1178.26	6.6	28.70
553	22.3	17.2	77.13	15.9	71.30	1.24	5.56	275	1233.18	7.9	35.43
554	20.9	21.1	100.96	19.1	91.39	1.12	5.36	257	1229.67	4.8	22.97
555	21.7	33.3	153.46	31.9	147.00	1.12	5.16	260	1198.16	7.0	32.26
556	22.2	19.9	89.64	18.2	81.98	1.28	5.77	263	1184.68	6.6	29.73
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.50	21.72	101.253	20.02	93.125	1.172	5.442	259.2	1205.932	6.62	30.845
S.D.	1.45	5.83	26.981	6.01	27.165	0.120	0.245	16.3	22.875	1.01	4.843
S.E.	0.59	2.38	11.015	2.45	11.090	0.049	0.100	6.6	9.339	0.41	1.977
Dunnett's t						3.0714 *	6.0600 **	2.7863 *	6.0959 **		
Steel's t		2.8072 *	2.7222 *	2.8874 *	2.8823 *						

INDIVIDUAL DATA 4-1-6

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 0.2 µg/kg)

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
651	18.8	22.9	121.81	20.8	110.64	0.90	4.79	218	1159.57	5.4	28.72
652	21.1	24.4	115.64	22.1	104.74	1.08	5.12	235	1113.74	7.4	35.07
653	19.6	37.8	192.86	35.6	181.63	0.87	4.44	239	1219.39	6.8	34.69
654	21.1	35.4	167.77	32.5	154.03	0.97	4.60	230	1090.05	7.6	36.02
655	22.2	23.8	107.21	21.7	97.75	1.04	4.68	261	1175.68	6.0	27.03
656	22.8	27.6	121.05	25.3	110.96	1.08	4.74	267	1171.05	6.6	28.95
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	20.93	28.65	137.723	26.33	126.625	0.990	4.728	241.7	1154.913	6.63	31.747
S.D.	1.51	6.40	34.330	6.24	33.437	0.091	0.228	18.8	46.418	0.83	3.929
S.E.	0.62	2.61	14.015	2.55	13.651	0.037	0.093	7.7	18.950	0.34	1.604
Dunnett's t						0.7767	0.2963	0.8488	3.8357	**	
Steel's t		2.8823 *	2.8823 *	2.8874 *	2.8823 *						

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
161	18.8	50.6	269.15	45.3	240.96	0.85	4.52	221	1175.53	6.5	34.57
162	21.4	90.0	420.56	81.5	380.84	0.99	4.63	239	1116.82	8.7	40.65
163	21.5	116.0	539.53	103.6	481.86	0.80	3.72	249	1158.14	7.8	36.28
164	21.0	68.4	325.71	61.7	293.81	1.08	5.14	229	1090.48	5.7	27.14
165	20.8	69.5	334.13	64.0	307.69	0.99	4.76	236	1134.62	6.3	30.29
166	21.8	64.2	294.50	59.9	274.77	1.09	5.00	266	1220.18	8.3	38.07
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	20.88	76.45	363.930	69.33	329.988	0.967	4.628	240.0	1149.295	7.22	34.500
S.D.	1.08	23.15	100.195	20.37	87.672	0.119	0.501	15.8	45.870	1.21	5.013
S.E.	0.44	9.45	40.904	8.32	35.792	0.048	0.204	6.5	18.726	0.50	2.046
M/C	2.3201	3.5613	2.9102	4.1188	2.8843	4.9392	10.2309 **	1.8826	2.5275	3.1241	5.1203
F	0.5499	2.1005	2.111	2.5174 †	2.4874 †	3.5075 *		1.9069	3.6544 *	1.4933	1.8485
H							13.1679 *				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
261	20.0	34.5	172.50	33.2	166.00	0.97	4.85	205	1025.00	8.3	41.50
262	20.8	95.7	460.10	84.9	408.17	0.99	4.76	220	1057.69	7.5	36.06
263	22.0	60.4	274.55	57.1	259.55	1.01	4.59	228	1036.36	5.3	24.09
264	21.9	92.2	421.00	84.3	384.93	1.08	4.93	232	1059.36	9.4	42.92
265	22.1	57.9	261.99	53.2	240.72	1.08	4.89	266	1203.62	7.8	35.29
266	21.4	60.3	281.78	56.3	263.08	1.01	4.72	244	1140.19	7.3	34.11
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.37	66.83	311.987	61.50	287.075	1.023	4.790	232.5	1087.037	7.60	35.662
S.D.	0.83	23.18	107.788	19.92	92.066	0.046	0.126	20.9	69.944	1.35	6.684
S.E.	0.34	9.46	44.004	8.13	37.586	0.019	0.051	8.5	28.555	0.55	2.729
Dunnett's t				0.8759	1.0481	1.2098			1.5552		
Steel's t							0.4010				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
361	20.3	44.6	219.70	42.7	210.34	1.01	4.98	224	1103.45	5.5	27.09
362	20.8	47.0	225.96	41.5	199.52	0.92	4.42	217	1043.27	6.4	30.77
363	22.1	50.1	226.70	46.3	209.50	1.03	4.66	250	1131.22	7.1	32.13
364	20.4	69.3	339.71	63.7	312.25	0.93	4.56	212	1039.22	7.5	36.76
365	22.4	66.2	295.54	60.3	269.20	1.11	4.96	272	1214.29	7.3	32.59
366	22.0	78.8	358.18	71.8	326.36	1.03	4.68	228	1036.36	6.9	31.36
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.33	59.33	277.632	54.38	254.528	1.005	4.710	233.8	1094.635	6.78	31.783
S.D.	0.94	14.00	62.101	12.59	56.059	0.071	0.222	22.8	70.482	0.73	3.123
S.E.	0.38	5.72	25.353	5.14	22.886	0.029	0.090	9.3	28.774	0.30	1.275
Dunnett's t				1.6717	1.8431	0.8184			1.3654		
Steel's t							0.1601				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
461	20.2	35.1	173.76	32.8	162.38	0.96	4.75	222	1099.01	6.3	31.19
462	19.3	54.6	282.90	50.1	259.59	0.91	4.72	241	1248.70	9.2	47.67
463	19.8	64.1	323.74	60.2	304.04	1.09	5.51	270	1363.64	8.9	44.95
464	21.4	65.4	305.61	45.5	212.62	1.05	4.91	259	1210.28	5.1	23.83
465	22.4	46.1	205.80	42.4	189.29	1.16	5.18	264	1178.57	8.9	39.73
466	22.0	56.0	254.55	53.3	242.27	1.07	4.86	250	1136.36	8.5	38.64
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	20.85	53.55	257.727	47.38	228.365	1.040	4.988	251.0	1206.093	7.82	37.668
S.D.	1.26	11.44	58.380	9.46	51.037	0.091	0.303	17.5	93.532	1.70	8.851
S.E.	0.51	4.67	23.834	3.86	20.836	0.037	0.124	7.2	38.184	0.69	3.613
Dunnett's t				2.4545	2.4821	1.5656			1.4188		
Steel's t							1.2810				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
561	21.1	60.5	286.73	58.3	276.30	1.05	4.98	237	1123.22	5.2	24.64
562	20.5	89.0	434.15	83.7	408.29	1.08	5.27	253	1234.15	6.4	31.22
563	22.4	93.0	415.18	81.4	363.39	1.17	5.22	253	1129.46	6.9	30.80
564	21.6	93.7	433.80	80.1	370.83	1.17	5.42	254	1175.93	7.8	36.11
565	21.8	63.6	291.74	58.9	270.18	1.20	5.50	276	1266.06	6.5	29.82
566	21.5	70.2	326.51	64.8	301.40	1.13	5.26	261	1213.95	4.7	21.86
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	21.48	78.33	364.685	71.20	331.732	1.133	5.275	255.7	1190.462	6.25	29.075
S.D.	0.64	15.27	70.721	11.82	56.874	0.058	0.180	12.7	57.670	1.13	5.086
S.E.	0.26	6.24	28.872	4.82	23.219	0.024	0.073	5.2	23.544	0.46	2.076
Dunnett's t				0.2087	0.0426	3.5582 **			1.0284		
Steel's t							2.5621 *				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 5-1

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Histopathological findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP: Group for detection of estrogenic activity; Negative control (Olive oil)

	Animal No.	151	152	153	154	155	156
Organ: Findings							
Right uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	-	-	-	-
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Left uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	-	-	-	-
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-
Vagina: Thickening, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-
Mucus secretion, columnar surface cell		-	-	-	-	-	-
Keratinization, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-

-: Normal.

INDIVIDUAL DATA 5-2

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Histopathological findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP: Group for detection of estrogenic activity; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 30 mg/kg

	Animal No.	251	252	253	254	255	256
Organ: Findings							
Right uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	-	-	-	-
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Left uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	-	-	-	-
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-
Vagina: Thickening, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-
Mucus secretion, columnar surface cell		-	-	-	-	-	-
Keratinization, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-

-: Normal.

INDIVIDUAL DATA 5-3

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Histopathological findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP: Group for detection of estrogenic activity; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 100 mg/kg

	Animal No.	351	352	353	354	355	356
Organ: Findings							
Right uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	-	+	+	-	-
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	+	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	-	-	-	-
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Left uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	-	+	+	-	-
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	-	-	-	-
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium		-	-	-	+	-	-
Vagina: Thickening, mucosal epithelium		-	+	+	+	-	+
Mucus secretion, columnar surface cell		+	+	+	+	+	-
Keratinization, mucosal epithelium		-	-	-	+	-	-
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium		-	-	-	-	-	-

-: Normal, +: slight change.

INDIVIDUAL DATA 5-4

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Histopathological findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP: Group for detection of estrogenic activity; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 300 mg/kg

	Animal No.	451	452	453	454	455	456
Organ: Findings							
Right uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	+	++	+	+	+
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	+
Proliferation, endometrium		-	-	+	-	+	+
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Left uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	+	++	+	+	+
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	-	+	-	+	+
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	-
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium		++	++	++	++	++	++
Vagina: Thickening, mucosal epithelium		+++	++	+++	++	+++	+++
Mucus secretion, columnar surface cell		+	+	+	++	++	-
Keratinization, mucosal epithelium		+	+	++	-	-	++
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium		-	++	+	-	-	-

-: Normal, +: slight change, ++: moderate change, +++: severe change.

INDIVIDUAL DATA 5-5

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Histopathological findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP: Group for detection of estrogenic activity; 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane 1000 mg/kg

	Animal No.	551	552	553	554	555	556
Organ: Findings							
Right uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	+	+	+	+	+
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	+	-	-	+	+
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	+
Left uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	+	+	+	+	+
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	-	-
Proliferation, endometrium		-	+	-	-	+	+
Hypertrophy, myometrium		-	-	-	-	-	+
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium		+	++	++	++	+++	++
Vagina: Thickening, mucosal epithelium		++	++	++	+++	+++	++
Mucus secretion, columnar surface cell		++	-	++	-	-	-
Keratinization, mucosal epithelium		-	-	-	+	++	+
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium		++	++	++	-	-	++

-: Normal, +: slight change, ++: moderate change, +++: severe change.

INDIVIDUAL DATA 5-6

STUDY NO. SR11138 TITLE : 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)-ethane Uterotrophic bioassay (s.c.)

Histopathological findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP: Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 0.2 µg/kg)

	Animal No.	651	652	653	654	655	656
Organ: Findings							
Right uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	+	+	++	+	++
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	+	-	+
Proliferation, endometrium		+	+	+	+	+	+
Hypertrophy, myometrium		-	-	+	+	-	+
Left uterine horn: Hypertrophy, endometrial epithelium		+	+	+	++	+	++
Mitosis, endometrial epithelium		-	-	-	-	+	+
Proliferation, endometrium		+	+	+	+	+	+
Hypertrophy, myometrium		-	-	+	+	-	+
Uterine cervix: Hypertrophy, mucosal epithelium		+	+	+	++	++	+
Vagina: Thickening, mucosal epithelium		++	++	+++	+++	++	++
Mucus secretion, columnar surface cell		++	++	++	++	++	++
Keratinization, mucosal epithelium		-	-	+	++	-	-
Cellular infiltration, neutrophil, mucosal epithelium		-	-	+	-	-	-

-: Normal, +: slight change, ++: moderate change, +++: severe change.

EE: Ethynyl Estradiol.

試験成績書

1/1 ページ

試験成績書

2011年09月21日

製品名: 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)ethane					
製品コード:		等級: EP	製品ロット:		判定: 合格
項目	結果		規格値		
純度(GC)	99.1 %		98.0 %以上		
メタノール溶状	澄明		わずかな微濁以内		

2011/09/21

Certificate of analysis



Ethynyl Estradiol

19-norpregna-1,3,5(10)-trien-20-yne-3,17.alpha.-diol

Item number.....

Molecular Formula: C₂₀H₂₄O₂

Formula Weight: 296.40

Batch number.....

CAS Number: 57-63-6

Expiry date: 8/17/2012

Purity Specification>98%

Tests	Specifications	Results
HPLC	Column: C18, 5µ, 4.6 X 250 mm Mob. Phase.....: Methanol:Water:Acetic acid (70:30:0.1) Flow Rate.....: 1.00 ml/min Detector UV.....: 210 nm	Retention Time Actual.: 6.50 min Purity: 98.5 %
Mass	Source Type: ESI M+H+	Expected 295.4 Actual 295.5
Melting Point	185 - 192 °C	185 - 189 °C
TLC	Mob. Phase.....: Hexane:Ethyl Acetate:Acetic Acid (70:30:1) Stationary Phase: Silica Gel Visualized With ..: Sulfuric Acid	Rf: 0.49 Purity %.....: 100.00
UV	λ max: 281 nm	λ max: 282 nm