

6. 詳細な状態の観察

全動物について、詳細な状態の観察を投与開始前、投与4日、8日、11日及び14日に実施した。観察は、ケージ内あるいは外(オープンフィールド)で以下の項目を対象に実施し、それらの程度をスコアリングして記録した。

詳細な状態の観察項目：体位/姿勢、呼吸状態、攣縮、振戦、痙攣、警戒性、攻撃性、眼球突出、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、粘膜、分泌物/付着物、筋緊張、取り扱いに対する反応、瞳孔径の変化、常同行動、異常行動、被毛の状態、皮膚色、探索行動、歩様異常、立ち上がり姿勢、糞の個数、糞の状態及び尿の状態

8. 体重

全動物について、投与開始時(0日)、投与1日、3日、7日、10日および14日に体重を測定した。また、全動物について殺処分前に最終体重を測定した。

8. 血液学的検査

2週間反復投与終了後の全生存動物について、血液学的検査を実施した。動物をエーテル麻酔下で開腹し、無処理の注射筒を用いて後大静脈より採血した。

血液学的検査は、EDTA処理した血液試料を用いて、以下の項目について総合血液学検査装置アドヴィア120(Bayer Corporation)で測定した。

測定項目(略号)：ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数(PLT)、網赤血球数(Retics)、白血球数(WBC)及び白血球のディファレンシャルカウント；好中球(N)、リンパ球(L)、単球(M)、好酸球(E)、好塩基球(B)、大型非染色球(LUC)

9. 血液生化学的検査

2週間反復投与終了後の全生存動物について、前項の血液学的検査で採取した血液試料をヘパリン処理した血漿を用い、以下の項目をJCA-BM1250自動分析装置にて測定した。

測定項目(略号)：アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(GGTP)、クレアチニン(Creat)、尿素窒素(BUN)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、グロブリン(Glob)、アルブミン/グロブリン比(A/G ratio)、血糖(Gluc)、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、無機リン(P)、カリウム(K)及び塩素(Cl)

10. コリンエステラーゼ(ChE)活性の測定

2週間反復投与終了後の全生存動物について、血漿、赤血球及び脳のChE活性を測定した。動物をエーテル麻酔下で開腹し、後大静脈よりヘパリン処理を施した注射筒を用いて採血した。得られた血液試料から血漿と赤血球を分離した。また、各動物から脳を摘出し、左右に切り分けた後、全脳重量及び右脳重量を測定した。ChE活性の測定はヨウ化アセチルチオコリンを基質としたDTNB法により行なった。血漿については、JCA-BM1250自動分析装置を用いてChE活性を測定した。赤血球については、20%(V/V)赤血球浮遊液を調製して、エゼリン(ChE阻害剤)添加及び非添加状況下でオートアナライザーII型(SEAL Analytical, West Sussex, U.K.)を用いてChE活性を測定し、その差(エゼリン非添加時の活性-エゼリン添加時の活性)を赤血球のChE活性とした。脳については、半脳(右)で20%(w/v)脳ホモジネートを調製し、JCA-BM1250自動分析装置を用いてChE活

性を測定した。

11. 免疫学的検査

2週間反復投与終了後に、全生存動物の胸腺及び脾臓について、フローサイトメトリー解析（リンパ球サブセット解析）を実施した。

胸腺及び脾臓の半量を5%FCS（牛胎児血清）添加のPBS（Phosphate Buffered Saline）に氷冷下で浸し、時計皿上でステンレス鋼製のメッシュを用いて細胞懸濁液を調製した。脾臓細胞については、0.85%塩化アンモニウム水溶液に懸濁し、室温で10分間静置し、赤血球を溶解させた。総合血液学検査装置アドヴィア 120（Bayer Corporation）を用いて胸腺および脾臓細胞数を計測した。次に、反応抗体との非特異的結合を防ぐため、約 1×10^7 の胸腺ないし脾臓細胞を20%山羊血清添加PBSにて4℃で10分間培養した。 1×10^6 の胸腺ないし脾臓細胞について以下の蛍光標識抗ラット細胞膜表面抗原の抗体（BD PharMingen）を用いて4℃で30分間培養・染色した。T細胞のリンパ球サブセットの解析では、FITC標識抗ラットCD3抗体、PE標識抗ラットCD8抗体及びCy-Chrome標識抗ラットCD4抗体を使用した。B細胞の解析ではCy-Chrome標識抗ラットCD45RA抗体を、NK細胞の解析ではPE標識抗ラットNKR P1A抗体を使用した。染色後、PBSで洗浄した後、FACS Calibur（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）を用いてリンパ球サブセットを解析した。胸腺リンパ球サブセット解析においては、未成熟胸腺細胞のダブルネガティブ細胞（CD4-CD8-）及びダブルポジティブ細胞（CD4+CD8+）について、また成熟胸腺細胞のヘルパーT細胞（CD4+CD8-）及び細胞傷害性T細胞（CD4-CD8+）について解析した。脾臓リンパ球サブセット解析においては、汎T細胞（CD3+）、汎B細胞（CD45RA+）、ヘルパーT細胞（CD4+CD8-）、細胞傷害性T

細胞（CD4-CD8+）及びNatural killer細胞（NK細胞；NKR P1A+）について解析した。各リンパ球サブセットの対象細胞集団は、フローサイトメーターの解析で得られた各細胞集団の統計値（%）に細胞数を乗じて、対象細胞集団の細胞数として表した。

12. 臓器重量

2週間反復投与終了後の全生存動物について剖検し、以下の臓器の固定前の重量（絶対重量）を測定して最終体重から比体重値（相対重量）を算出した。

測定項目：脳、下垂体、胸腺、肝臓、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）

13. 剖検及び組織採取

2週間反復投与終了後の全生存動物について、エーテルの深麻酔下で腹大動脈・後大静脈を切断して放血により安楽死させた後に剖検した。さらに病理学的精査が必要となる可能性を考慮して、剖検時に全動物から以下の臓器及び組織を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

採取した臓器：脳、下垂体、胸腺、肝臓、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）

14. 有意差検定

各検査項目について、対照群と各被験物質投与群間の統計学的有意差の有無を危険率5及び1%レベルで解析した。

体重、血液学的検査項目、血液生化学的検査項目、胸腺及び脾臓の細胞数、フローサイトメトリーによるリンパ球、臓器重量のデータについて、Studentのt検定を実施して対照群と各投与群間における有意差の有無を判定した。詳細な状態の観察所見のスコアについては、ノンパラメトリック手法を用いたDunnnett型の多重比較法を用いて対照群と各投与群間における平均順位の有無の有意差の有無を判定した。

C. 研究結果

1. 一般状態 (表1)

MPMC 単独投与群において、攣縮、振戦、縮瞳及び流涙が10例中全例に、被毛の汚れが7例に観察され、いずれも対照群と比べ統計学的有意差が認められた。また、パラチオンとMPMCの複合投与群では、縮瞳が10例中全例に、攣縮が4例に認められ、いずれも統計学的有意差を示した。パラチオン単独投与群では一般状態に異常は認められなかった。

2. 詳細な状態の観察 (表2)

詳細な状態の観察の結果、スコアの変動が認められた項目を表2に示す。表にない項目は全ての動物でスコア0あるいはN(観察不能)であった。

MPMC 単独投与群において、投与4日に筋緊張低下を示す動物の発生頻度が有意に増加した。その他の投与群では、観察項目に異常所見は認められなかった。

3. 体重変化 (表3)

MPMC 単独投与群において、統計学的に有意な体重減少が投与7日に認められた。その他の投与群では、有意な体重変化はみられなかった。

4. 血液学的検査成績 (表4)

MPMC 単独投与群において、血小板値の有意な増加が認められた。その他の投与群では、被験物質投与に関連付けられる有意な変化はみられなかった。

5. 血液生化学的検査成績 (表5)

パラチオン単独投与群では、尿素窒素値の有意な減少と総ビリルビン値の有意な増加が観察された。MPMC 単独投与群では、総蛋白、アルブミン、カルシウム値の有意な減少及び総ビリルビンとリン値の有意な増加が観察された。パラチオンとMPMCの複合投与群では、血漿グロブリンと総コレステロール値の有意

な増加及びA/G比の有意な減少が観察された。

6. コリンエステラーゼ(ChE)活性成績 (表6)

パラチオン単独投与群では、血漿のChE活性、赤血球中ChE活性及び脳ChE活性に統計学的に有意な低下がみられ、対照群の値と比べそれぞれ58%、26%及び86%の低下であった。MPMC 単独投与群では、血漿のChE活性に有意な低下がみられ、対照群と比べ72%の低下であった。パラチオンとMPMCの複合投与群では、赤血球中ChE活性に有意な低下がみられ、対照群と比べ63%の低下であったが、血漿及び脳ChE活性については有意な低化は認められなかった。

7. 免疫学的検査成績 (表7)

パラチオン単独投与群では、脾臓細胞数に有意な増加及び胸腺細胞数に増加傾向が観察され、MPMC 単独投与群では胸腺細胞数に減少傾向が観察された。

胸腺のリンパ球サブセット解析において、MPMC 単独投与群では成熟胸腺細胞のヘルパーT細胞の有意な減少及び未成熟胸腺細胞のダブルポジティブ細胞(CD4+CD8+)の減少傾向が観察された。脾臓のリンパ球サブセット解析において、パラチオン単独投与群では、汎B細胞の有意な増加が観察された。

パラチオンとMPMCの複合投与群では、いずれの検査項目においても有意な変化は認められなかった。

8. 臓器重量 (表8)

MPMC 単独投与群では、脾臓の絶対重量及び相対重量の有意な減少が、そして副腎の絶対重量及び相対重量の有意な増加が認められた。

その他の投与群では、複合投与群を含め特に異常は認められなかった。

9. 剖検所見

いずれの投与群にも被験物質投与に関連付

けられる有意な肉眼的異常は観察されなかった。

D. 考察

農薬の複合毒性については、社会的関心は高いものの、実験上及び評価上の困難性などにより未解決な問題点が多い。有機リン剤の複合投与影響について記載されている文献を挙げてみると、MPP (Fenthion) と DDVP (Dichlorvos) の混合投与により相加毒性作用が認められたとの報告¹⁾がある。パラチオン (Parathion) では、クロルピリフォス (Chlorpyrifos) の先行投与および同時投与により神経毒性作用が強まることが報告されている²⁾。さらに、フェニトロチオン (Fenitrothion) とカーバメート剤の BPMC を混合投与すると予想致死量の2倍の毒性を示すことが報告されている³⁾。このように、有機リン剤の複合毒性は、それらの暴露状況により相加的あるいは相乗的に多様に作用する可能性が示唆されている。また、近年食品中の残留農薬の成長期の子供への累積暴露影響が懸念され、農薬の反復複合暴露影響調査の重要性が注目されている。そこで本研究では、有機リン剤のパラチオン及びカーバメート剤 MPMC を対象にラットを用いて複合的に2週間反復経口投与し、一般毒性、神経毒性及び免疫毒性関連項目を指標に複合暴露影響を評価した。

一般毒性：血液学的検査では、MPMC 単独投与群において血小板の増加がみられたものの、パラチオンと MPMC の複合投与群では有意な変化は認められなかった。血液生化学的検査では、パラチオンと MPMC の複合投与群において血漿グロブリンと総コレステロール値の有意な増加が観察された。これらの変化は、それぞれの単剤投与群ではみられない変化であったことから、複合投与により惹起された変化であると考えられた。臓器重量検査では、MPMC 単独投与群に脾臓重量の減少と副腎重量の増加がみられたものの、パラチオンと

MPMC の複合投与群では有意な変化はいずれの臓器重量においても認められなかった。

神経毒性：一般状態の観察およびスコアリングによる詳細な状態の観察の結果、パラチオンと MPMC の複合投与群では、縮瞳および攣縮が認められた。しかし、これらの変化は、MPMC 単独投与群で高頻度に認められていることから、複合投与による相加・相乗的な神経毒性とは考えられなかった。コリンエステラーゼ (ChE) 活性において、パラチオン投与群で血漿 ChE、赤血球中 ChE 及び脳 ChE 活性に低下がみられ、パラチオンと MPMC の複合投与群では赤血球中 ChE 活性に低下がみられた。複合投与群の赤血球中 ChE 活性の低下は、パラチオン投与群の半分程度の低下であり、複合投与による ChE 活性への影響 (増強効果) は認められなかった。

免疫毒性：胸腺および脾臓のリンパ球サブセット解析において、MPMC 単独投与群ではヘルパーT細胞の減少及び未成熟胸腺細胞のダブルポジティブ細胞 (CD4+CD8+) の減少傾向が観察され、パラチオン単独投与群では汎B細胞の増加が観察された。一方、パラチオンと MPMC の複合投与群では、T細胞やB細胞集団に変化は認められず、むしろ単剤投与群に比べ免疫細胞の変化が軽減される傾向にあり、複合投与による免疫毒性の増強効果はみられなかった。

E. 結論

殺虫剤の有機リン剤 (パラチオン) とカーバメート剤 (MPMC) の複合暴露影響を明らかにするため、雌性ラットを用い両剤を2週間にわたり同時に反復経口投与し、一般毒性、神経毒性及び免疫毒性関連項目を指標にその複合暴露影響を調査した。その結果、パラチオンと MPMC の反復複合投与により血漿中のグロブリン及び総コレステロールが上昇することが示唆された。

F. 引用文献

- 1) WHO (1972). Pesticide Residue Series, No.1, Fenthion, Geneva.
- 2) Keranth, S., Olivier, K. Jr., Liu, J., and Pope, C. (2001). In vivo interaction between chlorpyrifos and parathion in adult rats; sequence of administration can markedly influence toxic outcome. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 177, 247-255.
- 3) Miyaoka, T., Tsuda, S., and Shirasu, Y. (1980). Evaluation of interactions among pesticides. *Folia Pharmacol. Japon.* 76, 148P.

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・取得状況

なし

Table 1 General clinical observation - Incidence of signs in female rats

Clinical signs	Dose (mg/kg/day)	0	Parathion 0.25 + MPMC 30	Parathion 0.5	MPMC 60
	No. of animals examined	10	10	10	10
No abnormalities detected		10	0	10	0
Consciousness/Nervous system:					
Twitch		0	4 *	0	10 **
Tremor		0	0	0	10 **
Body temperature:					
Hypothermy		0	0	0	3
Fur (perioral region):					
Soiled fur		0	1	0	7 **
Eye/Eyelid (eye):					
Miosis		0	10 **	0	10 **
Lacrimation		0	0	0	10 **

Significantly different from control: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

Key to Table 2 - Detailed clinical observations, scoring criteria

Observation scoring criteria

Observation parameters and scoring criteria in the detailed clinical observations are described as follows:

In principle, the normal condition is defined as score 0.

Open field

Parameters	Scoring criteria	Parameters	Scoring criteria
Exploration	-2: No exploration -1: Decrease 0: Intermittent 1: Frequent 2: Continuous	Abnormal gait	0: No abnormalities 1: Slight 2: Marked 3: Paralysis NA: No assessment possible

Handling

Parameters	Scoring criteria	Parameters	Scoring criteria
Muscle tone	-2: Marked decrease -1: Slight decrease 0: Normal tone 1: Slight increase 2: Marked increase	Pupil size	-2: Marked decrease -1: Slight decrease 0: Normal size 1: Slight increase 2: Marked increase NA: No assessment possible

Table 2 - 1 Detailed clinical observation - Summary data in female rats

Open field: Exploration

Dose (mg/kg/day)	Score	Day				
		-1	4	8	11	14
0	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	1	2	2	2
	0	6	6	5	5	6
	1	4	3	3	3	2
	2	0	0	0	0	0
Parathion 0.25 + MPMC 30	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	1	2	0	2
	0	7	7	5	6	5
	1	3	2	3	4	3
	2	0	0	0	0	0
Parathion 0.5	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	3	2	4
	0	8	10	7	7	4
	1	2	0	0	1	2
	2	0	0	0	0	0
MPMC 60	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	3	4	2	1
	0	8	7	6	8	9
	1	1	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0

Table 2 - 2

Detailed clinical observation - Summary data in female rats

Open field: Abnormal gait

Dose (mg/kg/day)	Score	Day				
		-1	4	8	11	14
0	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	NA	0	0	0	0	0
Parathion 0.25 + MPMC 30	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	NA	0	0	0	0	0
Parathion 0.5	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	NA	0	0	0	0	0
MPMC 60	0	10	9	10	10	10
	1	0	1	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	NA	0	0	0	0	0

Table 2 - 3

Detailed clinical observation - Summary data in female rats

Open field: Rearing

Dose (mg/kg/day)	Score	Day				
		-1	4	8	11	14
0	0	0	1	1	2	2
	1	0	2	1	1	0
	2	1	2	1	2	0
	3	0	2	2	0	0
	4	1	2	2	2	3
	5	2	1	1	1	3
	6	4	0	1	1	2
	7	1	0	1	0	0
	8	0	0	0	1	0
	9	0	0	0	0	0
10	1	0	0	0	0	
Parathion 0.25 + MPMC 30	0	0	2	3	0	2
	1	0	0	3	1	0
	2	2	1	0	3	0
	3	2	6	0	1	4
	4	0	0	1	1	0
	5	1	0	1	1	3
	6	2	0	1	2	1
	7	1	1	0	1	0
	8	1	0	1	0	0
	9	0	0	0	0	0
10	1	0	0	0	0	
Parathion 0.5	0	0	0	3	4	5
	1	0	3	3	1	1
	2	0	3	1	1	0
	3	0	1	1	0	0
	4	4	1	2	2	0
	5	2	0	0	1	1
	6	1	0	0	0	1
	7	3	1	0	0	1
	8	0	0	0	0	0
	9	0	1	0	0	0
10	0	0	0	1	1	
MPMC 60	0	0	2	4	3	2
	1	1	4	4	1	2
	2	1	2	0	2	4
	3	2	1	2	1	0
	4	1	1	0	3	0
	5	0	0	0	0	0
	6	2	0	0	0	2
	7	2	0	0	0	0
	8	1	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	

Table 2 - 4 Detailed clinical observation - Summary data in female rats

Handling: Muscle tone

Dose (mg/kg/day)	Score	Day				
		-1	4	8	11	14
0	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0
	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
Parathion 0.25 + MPMC 30	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	1	0	0
	0	10	10	9	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
Paration 0.5	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0
	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
MPMC 60	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	3	0	0	1
	0	10	7	10	10	9
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0

*

Significantly different from control: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

Table 2 - 5 Detailed clinical observation - Summary data in female rats

Handling: Pupil size

Dose (mg/kg/day)	Score	Day				
		-1	4	8	11	14
0	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0
	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
Parathion 0.25 + MPMC 30	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	2	1	2
	0	10	10	8	9	8
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
Parathion 0.5	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0
	0	10	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
MPMC 60	-2	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	1	3
	0	10	10	10	9	7
	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0

Table 3 Body weight - Group mean values in female rats

Dose (mg/kg/day)		Day						(g)
		0 ^a	1	3	7	10	14	
0	Mean	178	180	187	192	196	202	
	S.D.	6	6	7	7	8	9	
	N	10	10	10	10	10	10	
Parathion 0.25 + MPMC 30	Mean	176	179	185	191	194	198	
	S.D.	6	5	5	6	7	9	
	N	10	10	10	10	10	10	
Parathion 0.5	Mean	178	181	184	191	197	204	
	S.D.	7	7	6	6	7	7	
	N	10	10	10	10	10	10	
MPMC 60	Mean	179	180	181	185 *	190	196	
	S.D.	5	6	8	8	9	10	
	N	10	10	10	10	10	10	

^a: Day before initiation of treatment.

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals examined.

Significantly different from control: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

Table 4 - 1 Hematology - Group mean values in female rats (IET 07-0104)
After 2 weeks of treatment

Dose (mg/kg/day)	No. of animals examined	Ht (%)	Hb (g/dL)	RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	HDW (g/dL)	PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	Retics ($10^9/\text{L}$)
0	10	Mean 41.3 S.D. 1.7	13.7 0.5	7.22 0.28	57.2 1.4	19.0 0.7	33.3 0.8	11.3 1.1	2.35 0.19	1034 167	165.7 41.1
Parathion 0.25 + MPMC 30	10	Mean 41.2 S.D. 2.4	13.8 0.7	7.13 0.45	57.9 1.3	19.3 0.6	33.4 0.6	12.0 2.6	2.33 0.23	1055 146	166.5 30.2
Parathion 0.5	10	Mean 41.0 S.D. 1.1	13.4 0.4	7.11 0.22	57.6 1.0	18.9 0.3	32.8 0.5	11.0 0.5	2.28 0.12	1135 170	196.9 33.3
MPMC 60	10	Mean 41.2 S.D. 1.2	13.7 0.3	7.24 0.34	56.9 2.1	19.0 0.7	33.4 0.8	11.3 1.2	2.43 0.19	1167 * 101	161.1 52.3

S.D. : Standard deviation.

Significantly different from control : *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

Table 4 - 2 Hematology - Group mean values in female rats
After 2 weeks of treatment (IET 07-0104)

Dose (mg/kg/day)	No. of animals examined	WBC (10 ³ /μL)	Differential leukocyte count (10 ³ /μL)						
			L	N	M	E	B	LUC	
0	10	Mean	4.90	0.75	0.10	0.06	0.02	0.06	
		S.D.	0.89	0.19	0.04	0.02	0.01	0.02	
Parathion 0.25 + MPMC 30	10	Mean	5.73	0.88	0.11	0.07	0.02	0.07	
		S.D.	1.74	0.42	0.05	0.03	0.01	0.04	
Parathion 0.5	10	Mean	4.95	0.79	0.10	0.05	0.02	0.06	
		S.D.	1.54	0.29	0.04	0.02	0.01	0.03	
MPMC 60	10	Mean	5.67	0.82	0.08	0.05	0.01	0.06	
		S.D.	1.01	0.23	0.03	0.02	0.01	0.03	

S.D. : Standard deviation.

Table 5 - 1 Blood biochemistry - Group mean values in female rats (IET 07-0104)
After 2 weeks of treatment

Dose (mg/kg/day)	No. of animals examined	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGTP (U/L)	Creat (mg/dL)	BUN (mg/dL)	TP (g/dL)	Alb (g/dL)	Glob (g/dL)	A/G ratio	Gluc (mg/dL)
0	10	Mean 383	52	24	0	0.29	20.9	6.08	4.50	1.58	2.86	163
		S.D. 98	7	3	0	0.04	2.7	0.24	0.18	0.12	0.22	16
Parathion 0.25	10	Mean 444	49	25	0	0.30	19.9	6.16	4.43	1.74 *	2.56 **	167
+ MPMC 30		S.D. 167	6	4	0	0.03	2.8	0.28	0.23	0.15	0.23	15
Parathion 0.5	10	Mean 426	53	25	0	0.31	18.4 *	5.99	4.49	1.50	3.04	166
		S.D. 105	6	5	0	0.03	1.8	0.20	0.25	0.18	0.52	9
MPMC 60	10	Mean 349	50	22	0	0.29	18.8	5.75 **	4.17 **	1.58	2.67	155
		S.D. 94	4	3	0	0.02	2.7	0.10	0.17	0.14	0.33	7

S.D. : Standard deviation.
Significantly different from control : * , p <= 0.05; ** , p <= 0.01.

Table 5 - 2

Blood biochemistry - Group mean values in female rats
After 2 weeks of treatment

(IET 07-0104)

Dose (mg/kg/day)	No. of animals examined	T.Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)	T.Bil (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	10	Mean	77	0.04	10.1	5.4	145.1	3.84	109.7
		S.D.	40	0.01	0.3	0.8	1.3	0.57	1.7
Parathion 0.25 + MPMC 30	10	Mean	81	0.04	10.0	5.7	144.2	3.61	109.0
		S.D.	50	0.01	0.2	1.1	2.4	0.26	2.5
Parathion 0.5	10	Mean	51	0.05 *	9.9	5.3	144.6	3.57	109.8
		S.D.	18	0.01	0.2	1.0	1.2	0.21	1.3
MPMC 60	10	Mean	52	0.05 *	9.6 **	6.3 *	144.3	3.80	109.3
		S.D.	26	0.01	0.2	0.7	1.1	0.12	1.3

S.D. : Standard deviation.

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

Table 6
Cholinesterase activity - Group mean values in female rats
After 14 days of treatment

Dose (mg/kg/day)	No. of animals examined	Plasma (U/L)	Erythrocyte (unit/mL)	Brain (U/L)
0	10	Mean 3653 S.D. 868	0.35 0.04	446 47
Parathion 0.25 + MPMC 30	10	Mean 3084 S.D. 903	0.22 ** 0.03	448 46
Parathion 0.5	10	Mean 2122 S.D. 298	0.09 ** 0.02	384 * 79
MPMC 60	10	Mean 2631 S.D. 619	0.34 0.03	442 61

S.D. : Standard deviation.
Significantly different from control: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

Table 7 - 1 Summary - Flow cytometric analysis of thymic lymphocyte in female rats

Dose (mg/kg/day)	Cellularity /rat ($\times 10^7$)	Number of thymic lymphocyte ($\times 10^7$ /rat)					
		Immature cells			Mature cells		
		Double Negative cell (CD4-8-)	Double Positive cell (CD4+8+)	Helper-Tcell (CD4+CD8+)	Cytotoxic-Tcell (CD4-CD8+)		
0	Mean	0.5	43.1	4.9	2.3		
	S.D.	0.2	14.0	1.4	1.3		
	N	10	10	10	10		
Parathion 0.25 + MPMC 30	Mean	0.6	44.8	5.6	2.5		
	S.D.	0.1	14.8	1.7	0.7		
	N	10	10	10	10		
Parathion 0.5	Mean	0.5	48.8	5.7	2.5		
	S.D.	0.2	13.7	1.8	0.7		
	N	10	10	10	10		
MPMC 60	Mean	0.4	34.9	3.7 *	1.6		
	S.D.	0.2	15.1	1.0	0.8		
	N	10	10	10	10		

S.D.: Standard deviation

N: Number of animals examined.

Significantly different from control: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.

Table 7 - 2 Summary - Flow cytometric analysis of splenic lymphocytes in female rats

Dose (mg/kg/day)	Cellularity /rat ($\times 10^7$)	Number of splenic lymphocyte($\times 10^7$ /rat)					
		Pan-Tcell (CD3+)	Pan-Bcell (CD45RA+)	Helper-Tcell (CD4+8-)	Cytotoxic-Tcell (CD4-8+)	NK cell (NKR P1A+)	
0	Mean	5.7	4.7	2.5	1.4	0.8	
	S.D.	1.2	1.3	0.6	0.4	0.2	
	N	10	10	10	10	10	
Parathion 0.25 + MPMC 30	Mean	5.9	4.6	2.7	1.1	0.7	
	S.D.	2.4	1.8	1.3	0.4	0.2	
	N	10	10	10	10	10	
Parathion 0.5	Mean	6.5	6.5 *	3.1	1.2	0.9	
	S.D.	1.4	1.8	0.8	0.3	0.3	
	N	10	10	10	10	10	
MPMC 60	Mean	5.5	5.0	2.3	1.1	0.8	
	S.D.	2.0	1.6	0.8	0.6	0.3	
	N	10	10	10	10	10	

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals examined.

Significantly different from control: *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$.