

各測定時点の結果を以下に示す。

[PND13]

警戒性低下：溶媒対照群 ♂(2 例) ♀(3 例)

低用量群 ♂(5 例) ♀(1 例)

高用量群 ♂♀(1 例)

探索行動亢進：溶媒対照群 ♂(5 例) ♀(2 例)

低用量群 ♂(2 例) ♀(4 例)

運動協調性軽度失調：

高用量群 ♂♀(1 例)

[PND25]

探索行動亢進：溶媒対照群 ♂(8 例) ♀(6 例)

低用量群 ♂(7 例) ♀(6 例)

高用量群 ♂♀(3 例)

瞳孔径低下：溶媒対照群 ♀(1 例)

低用量群 ♀(1 例)

瞳孔機能低下：低用量群 ♀(1 例)

[PND40]

探索行動亢進：溶媒対照群 ♂♀(7 例)

低用量群 ♂♀(5 例)

高用量群 ♂(1 例) ♀(2 例)

筋緊張亢進：溶媒対照群 ♀(3 例)

[PND63]

探索行動亢進：溶媒対照群 ♂(7 例) ♀(8 例)

低用量群 ♂♀(7 例)

高用量群 ♂(2 例) ♀(3 例)

筋緊張亢進：溶媒対照群 ♀(3 例)

取扱に対する反応軽度亢進：

溶媒対照群 ♀(1 例)

瞳孔機能低下：溶媒対照群 ♂♀(1 例)、

低用量群 ♀(2 例)

高用量群 ♂(1 例)

3.3. 身体発育

身体発育の指標として、体重およびそれぞれの発育指標を各検査日に観察した。結果をその時点における発生率で評価した。

なお、体重測定の結果を表 9~11 に示す。

耳介展開

耳介展開は PND3 に検査した。溶媒対照群では雌雄共に 100%であるのに対し、低用量群では雄 100%、雌 98%、高用量群は雌雄共に 67%であった。

切歯萌出

切歯萌出は PND11 に検査した。溶媒対照群では雄 88%、雌 78%であった。低用量群は雄 78%、雌 84%であった。高用量群では雄 62%、雌 92%であった。

眼瞼開裂

眼瞼開裂は PND14 に検査した。溶媒対照群では雄 90%、雌 97%、低用量群では雄 75%、雌 75%、高用量群は雄 14%、雌 33%であった。

体重 (表 9, 10, 11)

溶媒対照群および低用量群の雌雄では観察期間中、体重は順調に増加した。高用量群の雄では観察期間中、有意な体重抑制を示し、雌では PND4、7、14、21、28 および 35 で有意な体重抑制が認められた。

3.4. 性成熟

性成熟を雄では包皮分離、雌では膣開口で評価した。

包皮分離

溶媒対照群では PND43±3、低用量群では PND44±2、高用量群では PND44±1 に包皮分離が確認された。

膣開口

溶媒対照群では PND32±2、低用量群では PND34±3、高用量群では PND33±4 に膣開口が認められた。

3.5. 初期行動発達

初期行動発達の結果を本文表 2 に示す。

正向反射

PND7 に実施した正向反射では、溶媒対照群と比較して有意差は認められなかった。

本文表 2-1 正向反射

	(sec)	
	Male	Female
V.C.	2.4±1.1	3.0±3.9
P0.3+M0.4	1.5±0.6	4.4±4.4
P0.6+M0.8	2.5±1.8	2.7±1.8

V.C.; Vehicle Control

(平均値±標準偏差)

背地走性

PND11 に実施した背地走性では、溶媒対照群と比較して有意差は認められなかった。

本文表 2-2 背地走性

	(sec)	
	Male	Female
V.C.	18.5±7.5	22.2±7.5
P0.3+M0.4	12.9±5.6	13.6±8.7
P0.6+M0.8	12.8±7.5	18.7±7.9

V.C.; Vehicle Control

(平均値±標準偏差)

3.6. 学習と記憶 (表 12, 13, 14, 15)

学習および記憶に関する検査結果を表 12~15 に示す。

E 型水迷路 (表 12 および 13)

PND25±2 および PND60~70 に実施した E 型水迷路検査では、各被験物質投与群において有意差は認められなかった。

受動回避 (表 14 および 15)

PND25±2 および PND60~70 に受動回避試験を実施した。PND25±2 における試験では、低用量群の雌 1 例、高用量群の雄 1 例で試行 4 回目での学習成立が認められた。尚、各被験物質投与群において有意差は認められなかった。

3.7. 感覚機能 (表 16, 17, 18, 19)

聴覚驚愕反応

聴覚驚愕反応検査の結果を表 16 および 17 に示す。

PND25±2 および PND60~70 で聴覚驚愕反応検査を実施した。検査は強い音刺激 (100db) を与える前に、微弱な音刺激 (低: 75db; 中: 77db; 高: 79db) を与えることで驚愕反応の抑制(プレパルス抑制)を評価した。溶媒対照群を含む全ての試験群においてプレパルス抑制が認められた。但し、雄では PND25±2 の被験物質投与群において、僅かな驚愕反応抑制の低下を示し、さらに PND60~70 では高用量群において低音量の刺激音に対し強い反応を示した。

伸筋スラスト

伸筋スラスト反応の結果を表 18 および 19 に示す。

PND25±2 および PND60~70 で実施した伸筋スラスト反応において、雌雄とも溶媒対照群を含む全ての動物に異常は認められなかった。

3.8. 自発運動量 (表 20, 21)

自発運動量測定の結果を表 20 および 21 に示す。

PND13, 17, 21 および 60 に自発運動量を測定した。雄では高用量群における PND17 の測定で、測定開始後 20~30 分に有意差が認められた。雌においては、全ての観察時点で対照群と比較して、有意差は認められなかった。

3.9. 剖検

児動物の剖検において、各試験群で肉眼的異常は認められなかった。

3.10. 脳重量

PND4、22 および 60~70 における脳重量を測定した結果、高用量群の雄において PND22 の脳重量に有意差を認めた。尚、PND4 および 22 における雌の高用量群の試料数が少なかったため、統計学的検査を実施できなかった。これらを除く全ての群では、有意差は認められなかった。

脳重量の結果を本文表 3 に示す。

本文表 3 脳重量

Male (mg)			
	PND4	PND22	PND60-70
V.C.	464±40	1495±61	1855±54
P0.3+M0.4	455±30	1477±71	1877±68
P0.6+M0.8	383±70	1380±66 **	1757±105

Female (mg)			
	PND4	PND22	PND60-70
V.C.	452±82	1423±74	1725±57
P0.3+M0.4	433±24	1421±78	1692±54
P0.6+M0.8	-	1330±68	1623±41

V.C.; Vehicle Control

(平均値±標準偏差)

3.11. ChE 活性 (表 22A, 22B, 22C, 23A, 23B, 23C)

ChE 活性の測定結果を表 22A~23C に示す。

PND4 における血清 ChE 活性が雄の高用量群で有意な低下を示した (溶媒対照群の 80%以下)。その他の群ならびに脳 ChE 活性では有意差は認められなかった。また、PND22 における血清および脳 ChE 活性に統計学的有意差は認められなかった。PND60~70 では、各被験物質投与群の雄における脳 ChE 活性に毒性学的意義を持たない有意な増加が認められたが、その他の群ならびに血清 ChE 活性において有意差は認められなかった。

3.12. 乳汁中のパラチオン、メタミドホスおよびパラオクソンの化学分析

PND4 の児動物の胃内より採取した乳汁からパラチオンおよびメタミドホスの化学分析を実施した。低用量および高用量群の全ての試料も検出限界の 0.02 ppm 未満であり、さらに 0.01 ppm と 0.02 ppm の間におけるピークは検出されなかった。また、パラチオンの代謝物であるパラオクソンも検出されなかった。

D. 考察

環境中の農薬を含む様々な化学物質は単剤で存在せず、複合的に存在する。これまで我々は農薬の複合暴露が神経系に与える影響として、異なる 2 種類の有機リン系農薬のパラチオンおよびメタミドホスを単剤および複合させて、幼若期および成熟期のラットに反復投与する試験を実施した²⁾。パラチオン 0.3 mg/kg/day とメタミドホス 0.4 mg/kg/day、パラチオン 0.6 mg/kg/day とメタミドホス 0.8 mg/kg/day 用量で単剤あるいは複合させて反復経口投与しても、幼若期および成熟期ラットで死亡あるいは瀕死状態は認められず、パラチオン 0.3 mg/kg/day とメタミドホス 0.4 mg/kg/day の組み合わせでは神経症状は認められず、また ChE 活性測定においても異常は認められなかった。一方、パラチオン 0.6+メタミドホス 0.8 mg/kg/day の組み合わせでは、幼若および成熟ラットとも振戦、縮瞳など典型的な症状に加え、ChE 活性値の有意な低下が認められた。高用量の組み合わせでは、中枢 ChE 活性阻害を認めるが、その毒性は相加的であり、また幼若ラットは成熟ラットよりも毒性は弱い傾向にあった。

近年、農薬の妊娠期における暴露が母動物、胎児および出生児に、また出生児への直接暴露が神経系に及ぼす影響について検討されている。当該試験は妊娠期におけるパラチオンおよびメタミドホスの複合反復暴露が母動物および出生児の神経系に及ぼす影響について検討した。尚、当該試験に先立ち実施したパラチオンおよびメタミドホス単剤反復経口投与発達神経毒性用量設定試験³⁾と幼若ラットまたは成熟ラットにおける有機リン系農薬の複合暴露影響試験²⁾の結果から、母動物に死亡あるいは神経症状を含む一般状態の異常が認められない複合用量としてパラチオン 0.3 + メタミドホス 0.4 mg/kg/day、死亡あるいは哺育に支障をきたさないが神経症状を含む一般状態の異常が認められる可能性のある複合用量として、パラチオン 0.6 + メタミドホス 0.8 mg/kg/day の組み合わせを試験投与群とした。

母動物に対する暴露影響

GD6 から PND21 まで雌ラットに反復強制経口投与した。パラチオン 0.6+メタミドホス 0.8 mg/kg/day (高用量) では妊娠期間中に7例、哺育期間中に1例の死亡が認められた。また、一般状態の観察では妊娠期間中に攣縮、筋緊張低下が認められた。パラチオン 0.3+メタミドホス 0.4 mg/kg/day (低用量) および溶媒対照群では死亡および一般状態の観察で異常は認められなかった。

母動物の詳細な症状観察を GD6、GD19、PND6 および PND19 に実施した。GD6、GD19 では被験物質投与に起因する変化として、低用量群および高用量群に瞳孔径の低下が認められ、さらに高用量群では探索行動の低下、筋緊張低下および取扱い反応の低下も認められた。

PND6、PND19 では低用量群と高用量群に筋緊張低下および瞳孔径の低下、さらに低用量群では探索行動の低下が認められた。

試験期間中の体重は高用量群において、GD16、19、20 および PND4 で有意な増加抑制が認められたが、Litter 調整後、体重は回復し順調に増加した。溶媒対照群および低用量群における体重は試験期間中、順調に増加した。

剖検時、死亡した動物では、流涎による口周囲部被毛の汚れ、胸腺萎縮、肺の赤色化、副腎腫大、胃内液状内容物貯留、また脳の軽度腫大も認められた。これらの肉眼所見は被験物質投与に関連したものと判断した。一方、各試験群における全ての生存動物では、肉眼的異常は認められなかった。

ChE 活性測定において、血清 ChE 活性は低用量群および高用量群で溶媒対照群と比較して 36%、58%の有意な低下を示した。脳 ChE 活性は、低用量群および高用量群に有意な低下は認められなかったが、溶媒対照群と比較して 23%、46%低下した。ChE 活性は 20%以上低下した場合、毒性作用とみなすことが出来るため、血清および脳 ChE 活性の低下は被験物質投与が直接作用した結果であると判断した。

妊娠中の生理学的変化が母体に様々な影響を及ぼすことが報告されており、当該試験で認められた妊娠動物および非妊娠動物における被験物質影響の違いを考察する。

・妊娠動物の循環器系に対する影響

妊娠期間中、母動物の循環器系は変化する。循環血液量は妊娠初期から後期まで増加する。これは、妊娠を維持させるために卵巣から多く分泌されるエストロゲンとプロゲステロンが、レニン・アンギオテンシン系を活性化させるためと考えられている⁴⁾。循環血液量が増加ある

いは心拍出量が増大する一方で、血圧特に拡張期血圧が低下する。これは、胎盤形成期から分娩期まで子宮胎盤血管抵抗の減少に起因⁵⁾すると考えられ、さらに子宮動脈に発現する血管平滑筋収縮作用などを有し昇圧作用に関連するアンギオテンシンⅡ型受容体に対し、血管内皮細胞で産生されたプロスタサイクリン(PGI₂)によって昇圧作用を抑制される⁶⁾ことなどによって認められると示唆されている。また近年、ヒト褐色細胞腫より発見された血管拡張性降圧作用を示すアデレノメデュリン(AM)は、広く生体内の血管内皮細胞、平滑筋細胞に存在するだけではなく、妊娠期間中、血液中で最も高い値を示しことから、妊娠末期の降圧作用に大きな役割を果たすと報告されている⁷⁾。さらに妊娠初期から後期にかけて臍静脈または羊水において高濃度を示したことから、妊娠の維持にも重要な役割を果たすと考えられている⁸⁾。このように、妊娠期間中のAMは母動物と胎児の循環動態の変化、受精および出産までの維持に大きな役割を果たしていると考えられる。

有機リン系農薬はその種類や結合する受容体によって、作用は異なる。有機リン系農薬の循環器系に対する作用として、ムスカリン作用では末梢血管拡張や血圧低下、ニコチン作用では頻脈、血圧上昇がある。成熟ラットが慢性的に有機リン系農薬による暴露を受けた場合、大動脈の弾性線維、コラーゲンの張力が低下することが報告され、またこの反応が血圧上昇と関連するのではないかと示唆されている。そしてこの上昇は血中の有機リン系農薬、アドレナリンおよびアセチルコリンエステラーゼ(AChE)の量に関連し、脳幹のコリン作動性経路に作用した末梢抵抗性増加による高血圧と考えられる⁹⁾。有機リン系農薬投与による循環器系に対する影響は、結合する受容体、交感神

経または副交感神経のいずれかに対して有意に働くかによって反応は異なる。

当該試験では、高用量群および低用量群で産児数または死亡した動物の子宮内における胎児数に、溶媒対照群との明らかな違いが認められなかったことから、有機リン系農薬は受胎率に対し影響を及ぼさないと考えた。一方、妊娠末期における母動物の死亡は、生理的な血圧の変化と有機リン系農薬の血圧に対する作用が相加的に働き、母動物の状態悪化を招いたことによる可能性が考えられた。しかしながら、有機リン系農薬の妊娠期間中に認められる循環器系の変化に対する影響については、結合する受容体、交感神経または副交感神経のいずれかに対して有意に働くかによって反応は異なるため、明らかにすることは出来なかった。

・有機リン系農薬と性ホルモン

妊娠動物と幼若および成熟ラットにおける反応性の違いとして、性ホルモンの分泌との関連性を考察した。有機リン系農薬の解毒あるいはアテローム硬化症予防に重要な役割を示す高密度リポタンパク質である paraoxonase1 (PON1) は estradiol (E2) によって調整されていることが報告されている¹⁰⁾。これは細胞表面のPON1の活性化や安定性をE2が特異的に調整するためであると示唆されている。また妊娠期における有機リン系農薬である malathion と estradiol-17-β と progesterone の暴露によるAChE活性におよぼす影響として、有機リン系農薬によるAChEの抑制が estradiol-17-β によってさらに増強され、一方、progesterone はAChE活性抑制を抑制することが確認された¹¹⁾。

妊娠期間中、雌動物では妊娠を成立・維持させるため、妊娠初期から後期にかけてエストロ

ゲンやプロゲステロンが多く分泌され、未妊娠と妊娠期それらの分泌量は異なり、E2 と PON1 の関係もまた異なる可能性が考えられる。よって、妊娠中の性ホルモン量と PON1、さらに ChE 活性との関連性を検索する必要があると判断した。

当該試験では、有機リン系農薬投与による受胎率への影響は認められなかった。しかし、正常な妊娠期間中に認められる様々な生理学的変化に対する影響が生体内恒常性維持のバランスを乱し、幼若および成熟ラットでは認められない用量での死亡あるいは重篤な神経症状を誘発させたのではないかと考えた。

児動物における暴露影響

離乳までの間で低用量群および高用量群の児動物において、体温低下および発育不良が認められた。離乳後、さらに低用量群の雌 1 例において消瘦、鎮静、体温低下、鼻周囲部被毛の汚れが認められ、その後死亡した。離乳前の死亡動物数は低用量群で雄 8 例、雌 9 例、高用量群では雄 9 例、雌 6 例の死亡が認められた。

詳細な観察を PND13、25、40 および 63 で実施したところ、溶媒対照群を含む全ての用量群で活発な探索行動が認められた。PND13 で認められた高用量群における運動協調性の軽度失調は身体発育の遅れに関連したものと判断した。尚、瞳孔径および瞳孔機能の低下は溶媒対照群でも認められ、また用量相関性が認められないことから偶発的な変化であると判断した。

体重測定を含む身体発育において、体重値は高用量群の雄では観察期間中、雌では PND4、7、14、21、28 および 35 で有意な体重抑制が認められた。溶媒対照群および低用量群では雌雄とも順調に体重は増加した。身体発育の指標

である耳介展開および眼瞼開裂において、高用量群の雌雄では明らかな遅延が認められた。さらに雄では切歯萌出にも遅れが認められた。溶媒対照群および低用量群では概ね順調な身体発育を示した。正向反射および背地走性試験による初期行動発達、また性成熟については溶媒対照群を含む全ての動物で順調な発達が示された。

学習および記憶への影響を PND25±2、PND60~70 に E 型水迷路、受動回避試験から評価した。その結果、各観察時点におけるいずれの試験でも、溶媒対照群との間に有意差は認められなかった。但し、PND25±2 における受動回避試験では低用量群の雌 1 例、高用量群の雄 1 例が試行回数 4 回目で学習が成立したが、偶発的な変化と判断した。

メタミドホスを妊娠 6~15 日の間母親に反復経口投与をしても、母動物の体重および受胎率、児動物の体重を含む身体発達および学習機能に、対照群との明確な違いは認められないことが報告されている¹²⁾。

感覚機能への影響について、PND25±2 および PND60~70 に聴覚驚愕反応および伸筋スラスト反応から評価した。伸筋スラスト反応については、各検査時点で異常は認められなかった。聴覚驚愕反応試験では、溶媒対照群を含む全ての群でプレパルス抑制が確認されたことから聴覚機能あるいは環境に対する注意力は正常であると判断した。但し、雄の被験物質投与群では僅かにプレパルス抑制の低下が認められた。尚、PND25±2 の雌の高用量群で認められた統計学的有意差は体重差による偶発的なものであり、聴覚機能によるものではない。

自発運動量の測定では、PND17 における高用量群の雄で、測定開始 20~30 分に有意な増加が認められた。また各測定時点および 60 分

間総運動量は増加した。

児動物の脳重量は各測定時点で、有意差は認められなかった。

ChE 活性を PND4、PND22 および PND60~70 に測定した。PND4 における血清 ChE 活性は雄の高用量群で有意な低下を示した。一方、PND60~70 における脳 ChE 活性は高用量群の雄で有意な増加を示し、また雌でも増加を示した。この増加は有機リン系農薬の作用とは異なる偶発的な変化であると判断した。

高用量群の雄では PND4 に有意な ChE 活性低下が認められ、有機リン系農薬の経胎盤・経乳汁の移行が示唆されたため、乳汁中のパラチオンおよびパラチオン代謝物であるパラオクソン、メタミドホスの化学分析を行った。いずれも検出限界以下であったことから、母動物から児動物への乳汁移行は成立していないと判断した。しかし、胎盤移行の有無については不明であり、詳細な検討が必要である。

児動物で認められた ChE 活性低下を除く、身体発育の遅延及び、僅かな多動性や衝動性については母動物の妊娠期およびその期間における有機リン系農薬の投与による著しい生理学的変化、あるいは行動学的変化が影響しているのではないかと考えた。

E. 結論

OECD 発達神経毒性ガイドライン (TG426) に準拠して、パラチオンおよびメタミドホスの複合反復経口投与が母動物および児動物に対しどのような影響を及ぼすか検討した。

妊娠動物における高用量群 (パラチオン 0.6+メタミドホス 0.8 mg/kg/day) で認められた死亡あるいは重篤な神経症状の発現は、妊娠期における様々な生理学的変化による作用と有機リン系農薬投与による作用とが相加的に作用する

ことによって生じた生体内恒常性維持の失調が原因ではないかと考えた。

児動物では、PND4 の高用量群における雄で ChE 活性の有意な低下が認められた。乳汁中のパラチオンおよびメタミドホス、パラチオン代謝物のパラオキソンが検出限界以下であったことから、パラチオンおよびメタミドホスの経乳汁移行は成立していないと判断した。また、有機リン系農薬を投与された母動物から生まれた児動物では、体重増加抑制や発育遅延、幼若期 (PND17, 25±2) における自発運動量の増加、ブレパルス反応抑制の低下を示した。児動物に対する影響は、有機リン系農薬の直接的作用ではなく、母動物の妊娠期における有機リン系農薬投与による著しい生理学的変化あるいは行動学的変化に起因すると判断した。

F. 参考文献

- 1) OECD (2007). OECD guideline for the testing of chemicals 426 Developmental neurotoxicity study.
- 2) 財団法人残留農薬研究所 (2010): 厚生労働科学研究費補助金 (食品の安全性高度化推進研究事業) 食品の複数の化学物質による神経・免疫毒性に関する研究 平成 21 年度分担研究報告書『若齢ラットにおける有機リン系農薬パラチオン及びメタミドホスの複合暴露影響』
- 3) 財団法人残留農薬研究所 (2011): 厚生労働科学研究費補助金 (食品の安全性高度化推進研究事業) 食品の複数の化学物質による健康影響に関する調査研究 平成 22 年度分担研究報告書『パラチオン・メタミドホス: ラットにおける単剤経口投与発達神経毒性試験』
- 4) 塚原 優己 (2011). 14. 正常妊娠の管理 日

- 産婦誌 63 巻 10 号: N-89-N-92.
- 5) 長岡 理明、三宅 良明、山本 樹生、佐藤 和雄 (2000). ラット妊娠時循環動態に及ぼす自律神経機能と胎盤形成のえいきょうについて: Wistar ラットと Spontaneously hypertensive rat との比較: 日産婦誌 52 巻 6 号: 811-820.
 - 6) 藤原 浩 (2000). [胎盤機能シリーズ] 胎盤における血管作動物質の意義: 日産婦誌 52 巻 3 号: N-38-N-41.
 - 7) Makino I., Shibata K., Makino Y., Kangawa K. and Kawarabayashi T. (1999). Potentiation of the hypotensive effect of adrenomedullin in pregnant rats.: Eur. J. Pharmacol. 385(2-3), 129-136.
 - 8) Di Iori R., Marinoni E., Letizia C., Villaccio B., Alberini A. and Cosmi EV. (1999). Adrenomedullin production is increased in normal human pregnancy.: Eur. J. Endocrinol. 140 (3), 201-206.
 - 9) Guvenc Tuna B., Ozturk N., Comelekoglu U. and Yilmaz BC. (2011). Effects of organophosphate insecticides on mechanical properties of rat aorta.: Physiol. Res. 60(1), 39-46.
 - 10) Ahmad A. and Scott JE. (2010). Estradiol enhances cell-associated paraoxonase 1 (PON1) activity in vitro without altering PON1 expression.: Biochem Biophys Res Commun., 397(3), 441-446.
 - 11) Mathews MS. And Devi KS. (1993). Effect of malathion, estradiol-17-beta and progesterone on ascorbic acid metabolism in prenatal rats and their pups.: Vet. Hum. Toxicol., 35(1), 6-10.
 - 12) de Castro V., Chiorato SH. And Pinto NF. (2000). Relevance of developmental testing of exposure to methamidophos during gestation to its toxicology evaluation.: Toxicol. Lett. 118 (1-2), 93-102.
- G. 研究発表
1. 論文発表
なし
 2. 学会発表
1) パラチオンおよびメタミドホスの単剤投与による発達神経毒性: 薮島 淳子、首藤 康文、小松 豊、藤江 秀彰、富田 真理子、小嶋 五百合、青山 博昭、原田 孝則 第 152 回 日本獣医学会学術集会 (大阪、2011)
- H. 知的財産権の出願・取得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

Table 1A General health condition - Incidence of signs in maternal rats on gestation day

Clinical signs	Dose groups (mg/kg/day)	1% Tween80 0	Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8
No abnormalities detected		14	14	8
Consciousness/Nervous system:				
Twitch		0	0	1
Flaccidity		0	0	5 *

Data were statistically analyzed by Fisher's exact probability test.

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

Table 1B General health condition - Incidence of signs in maternal rats on postnatal day

Clinical signs	Dose groups (mg/kg/day)	1% Tween80 0	Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8
No abnormalities detected		8	8	4

Data were statistically analyzed by Fisher's exact probability test.

Table 2A - 1 Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Home cage: Body position/posture

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4			
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8			

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 2 Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Home cage: Respiratory pattern

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 3 Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Home cage: Twitch

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 4 Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats geatation day

Home cage: Tremors

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 5

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Home cage: Convulsions

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 6

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Handling: Alertness

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	-2	0	0
0	-1	3	4
	0	11	10
	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.3	-2	0	0
+	-1	4	3
Methamidophos 0.4	0	10	11
	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.6	-2	0	0
+	-1	4	5
Methamidophos 0.8	0	10	7
	1	0	0
	2	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 7 Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Handling: Aggression

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 8 Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Stereotypies

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 9

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Bizarre behavior

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	0	14	12
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 10

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Unkempt fur

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	0	14	12
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 11

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Piloerection

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	0	14	12
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 12

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Skin color

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	-2	0	0
	-1	0	0
	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	-2	0	0
	-1	0	0
	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	-2	0	0
	-1	0	0
	0	14	12
	1	0	0
	2	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 13

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Exploration

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	-2	0	0
0	-1	0	0
	0	3	8
	1	7	6
	2	4	0
Parathion 0.3	-2	0	0
+	-1	0	0
Methamidophos 0.4	0	3	11
	1	10	3
	2	1	0
Parathion 0.6	-2	0	0
+	-1	0	5
Methamidophos 0.8	0	4	6
	1	7	1
	2	3	0
**			

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

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

Table 2A - 14

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Abnormal gait

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0
	NA	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 15

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Count of defecation

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	0	13	10
	1	0	1
	2	1	0
	3	0	3
	4	0	0
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	0	13	13
	1	0	1
	2	1	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	0	14	10
	1	0	0
	2	0	1
	3	0	1
	4	0	0
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 16

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Defecation

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	1	4
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	13	10
Parathion 0.3	0	1	1
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
	NA	13	13
Parathion 0.6	0	0	2
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0
	NA	14	10

Table 2A - 17

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Open field: Urination

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	7	11
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	NA	7	3
Parathion 0.3	0	8	7
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
	NA	6	7
Parathion 0.6	0	6	7
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0
	NA	8	5

Table 2A - 18

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Handling: Exophthalmos

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 19

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Handling: Palpebral closure

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80	0	14	14
0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3	0	14	14
+	1	0	0
Methamidophos 0.4	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6	0	14	12
+	1	0	0
Methamidophos 0.8	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 20

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Handling: Lacrimation

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	0	14	12
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.

Table 2A - 21

Detailed clinical observations - Summary data in maternal rats on gestation day

Handling: Salivation

Dose groups (mg/kg/day)	Score	GD	
		6	19
1% Tween80 0	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.3 + Methamidophos 0.4	0	14	14
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Parathion 0.6 + Methamidophos 0.8	0	14	12
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0

Data were statistically analyzed by Dunnett-type test following Kruskal-Wallis test.