食餌タンパク質の種類がクロルベンゼンの 代謝と毒性に及ぼす影響

Effect of Dietary Protein Quality on Chlorobenzene Metabolism and Its Toxicity in Rats

関西医科大学公衆衛生学教室

吉田 宗弘・原 一郎

Munehiro Yoshida and Ichiro Hara

Department of Public Health, Kansai Medical University, Moriguchi, Osaka

The effect of dietary protein quality on chlorobenzene metabolism and its toxicity was studied. Male weanling Wistar rats were fed diets composed of purified whole egg protein (PEP), wheat gluten, or soybean protein isolate (SPI) at an 18% protein level. After being fed for 3 weeks, the rats were injected with chlorobenzene (1.0 mmol/kg body weight) intraperitoneally. In the rats fed the SPI diet, chlorobenzene administration caused hepatic microscopic changes and the elevation of serum GOT and GPT activities. On the other hand, the rats fed the PEP or the gluten diet did not show these toxic symptoms. The hepatic glutathione levels and urinary 4-chlorophenylmercapturic acid excretion of the rats fed SPI diet were markedly lower than those of the other rats. It is considered that the hepatic glutathione level was not sufficient for the conversion of chlorobenzene administered to the mercapturic acid in the rats fed the SPI diet. These results indicate that chlorobenzene metabolism and its toxicity are modified by dietary protein quality, especially the level of dietary sulfur-containing amino acids.

Key words: Chlorobenzene, Dietary protein, Glutathione, Mercapturic acid, Soybean protein, Nutritional condition and drug metabolism

クロルベンゼン, 食餌タンパク質, グルタチオン, メルカプツール酸, 大豆タンパク質, 栄養条件と薬物代謝

緒 言

有機溶剤, 合成原料として用いられるクロルベンゼンは, 肝毒性を示すことで知られている¹⁾。動物体内に侵入したクロルベンゼンは, 主として肝で代謝を受け, 尿中へはメルカプツール酸, または, クロルフェノール, クロルカテコールの硫酸, グルクロン酸抱合体として排泄される²⁻⁴⁾。Gillette らは, プロムベンゼンを用いた研究から, 芳香族モノハロゲン化合物の代謝中間体であるエポキシド化合物が肝毒性を示すこと, およびその処理には肝グルタチオンが不可欠であることを明らかにしている^{5,6)}。われわれも, クロルベンゼンを投与したラットでは, メルカプツール酸生成による肝グルタチオンの消費

の結果, 肝グルタチオン合成系の亢進とタウリン生成の低下の生じることを示してきた^{7,8)}。ところで, 肝グルタチオン量は食餌条件, とくに, 含硫アミノ酸の摂取量によって大きく変動することが知られている^{9,10)}。このことは食餌条件がクロルベンゼンの代謝と毒性を修飾する可能性のあることを意味している。われわれは, さきに, ラットを10%カゼイン食で飼育した場合, クロルベンゼン毒性に対する susceptibility が増大すること, および, 0.3%メチオニンの補足がこの毒性増大を抑えることを示した¹¹⁾。しかし, この実験では, メチオニンの補足効果が, 肝グルタチオン濃度の上昇によるのか, それとも, カゼインの第一制限アミノ酸を添加したことによるタンパク質栄養価の改善によるのか, は定かではなかった。

本報告は、この点を明らかにするため、離乳直後のラットを含硫アミノ酸含量の異なる3種類のタンパク質で飼育し、クロルベンゼンを投与した際の毒性発現の程度を比較したものである。

実験方法

4週齢のWistar系雄ラットを12匹ずつ3群に分け、精製全卵タンパク質(PEP)、小麦グルテン、または、大豆分離タンパク質(SPI)を18%タンパク質レベルで用いた飼料を与え、自由摂取法にて飼育した。なお、飼料の組成をTable 1に示した。飼育期間中、飲料水としては水道水を与え、飼育室は恒温(22~24°C)、恒湿(60%)に保ち、12時間ごとの明暗周期(8~20時点灯)とした。飼育開始3週間後に各群ラットをさらに2群に分け、1群には、1.0 mmol/kg body weightのクロルベンゼンを含むオリーブ油を、もう1群にはオリーブ油のみを、それぞれ0.5 ml/腹腔内投与した。投与48時間後にすべてのラットを屠殺し、血液および肝臓を採取した、また、尿中代謝物を測定するために投与後24時間の尿を採集した。

Table 1 Composition of experimental diets (%).

Ingredients	PEP	Gluten	SPI
Purified whole egg protein ¹	20.3	—	—
Wheat gluten ²	—	21.8	—
Soybean protein isolate ³	—	—	22.4
Sucrose	15.0	15.0	15.0
Potato starch	48.7	47.2	46.6
Soybean oil	8.0	8.0	8.0
Salt mixture ⁴	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture ⁵	1.0	1.0	1.0
Cellulose powder	2.0	2.0	2.0

¹: Obtained from Oriental Yeast Co. (Tokyo). Protein: 88.7%. ²: Obtained from Wako Pure Chemicals (Osaka). Protein: 82.7%. ³: Obtained from Fuji Oil Co. (Osaka). Protein: 80.4%. ⁴: Obtained from Oriental Yeast Co. (Tokyo) and supplemented with Na₂SeO₃ (0.1 µg Se/g diet). Composition was described previously (11). ⁵: Obtained from Oriental Yeast Co. (Tokyo). Composition was described previously (11).

摘出した肝臓は秤量の後、約1gを切り取り4倍量の10%トリクロル酢酸とともにホモジナイズし、その可溶性画分中のグルタチオン¹²⁾、システイン¹³⁾を定量した。これとは別に肝臓約1gを切り取り、9倍量の0.25 M シュクロースを含む1mM、pH7.4のトリス-塩酸緩衝液

とともにホモジナイズし、得られた10%ホモジネート中のグルタチオンレダクターゼ¹⁴⁾、および、γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ活性¹⁵⁾を測定した。さらに、このホモジネートのミクロソーム画分中のアニリン水酸化活性とアミノピリン-N-デメチラーゼ活性¹⁶⁾、および、可溶性画分中のグルタチオン合成活性⁷⁾を測定した。また、肝臓の一部を切り取り、常法どおりホルマリン固定、パラフィン包埋、ヘマトキシリン-エオジン染色の後、光学顕微鏡観察を行った。

採取した血液より血清を分離し、GOT、および、GPTの活性をトランスアミナーゼ測定用キット(Transaminase C-Test, 和光純薬, 大阪)を用いて測定した。また、尿中代謝物を、高速液体クロマトグラフィーにより定量した⁴⁾。

得られた測定値の統計処理は二元配置の分散分析を用いて実施し、有意性($p < 0.05$)の認められた場合のみ、さらにLSD値を計算して、各実験群ごとの平均値の差を検定した¹⁷⁾。

結果および考察

実験飼料で3週間飼育した各群ラットの体重増加量は、PEP群が 87 ± 4 g、グルテン群が 35 ± 3 g、SPI群が 69 ± 2 g (平均値±標準誤差, $n=12$)であった。

PEP、グルテン、および、SPIのアミノ酸組成についてはすでによく知られている。PEPが、生物価が100に近く、制限アミノ酸を持たないreference proteinとして栄養試験において広く用いられているのに対し、グルテンおよびSPIは、それぞれリジン、メチオニンを第一制限アミノ酸とするタンパク質である¹⁸⁾。とくにグルテンは、生物価が58ときわめて低く、タンパク質源として単独に用いた場合に実験動物の成長が著しく劣ることが知られている¹⁹⁾。本実験においては各群間で飼料摂取量に大きな差のなかったことから、体重増加量の差は投与した飼料タンパク質の栄養価の差に起因したものと推察される。

クロルベンゼン投与48時間後に各ラットを処理して肝臓を観察したところ、SPI群のうちクロルベンゼンを投与した6匹中2匹に、色調の変化(オレンジ色に近くなる)、うっ血、などの肉眼的にも明らかな異常が認められた。さらに、残りの4匹についても肝臓の顕微鏡観察を実施したところ、中心静脈周囲の細胞の好エオジン化、細胞内微細空胞の出現、萎縮した核を持つ細胞の散在、が認められた。一方、PEP群およびグルテン群のラットの肝臓は、肉眼的にも顕微鏡観察からもクロルベンゼンを投与しなかったラットと比べて変化はなく異常は認め

られなかった。

Table 2に肝障害の指標となる血清GOTおよびGPT活性の測定結果を示した。クロルベンゼン投与による血清酵素活性の上昇はSPI群においてのみ有意かつ顕著であった。これらの結果は、SPI群においてクロルベンゼン肝毒性に対する susceptibility が増大していたことを示している。

Table 2 Effect of chlorobenzene-injection on serum GOT and GPT activities.

Diets	GOT		GPT	
	Control	Chlorobenzene	Control	Chlorobenzene
PEP	48±4 ^a	42±2 ^a	25±1 ^a	23±1 ^a
Gluten	42±1 ^a	49±4 ^a	21±1 ^a	22±1 ^a
SPI	48±2 ^a	305±98 ^{b*}	24±1 ^a	191±71 ^{b*}
<i>F value</i>				
Diet	7.12 ($p<0.01$)		5.63 ($p<0.01$)	
Injection	6.90 ($p<0.05$)		5.37 ($p<0.05$)	
Diet × Injection	6.88 ($p<0.01$)		5.55 ($p<0.01$)	

After being fed experimental diets for 3 weeks, rats were injected with chlorobenzene (1.0 mmol/kg body weight). Blood samples were collected 48 h after the injection. GOT and GPT activities are expressed as karmen unit per ml serum. Values (means ± SE for 6 rats) in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p<0.05$). *: Significant difference between "control" and "chlorobenzene" at $p<0.05$.

ところで多くの研究より、食餌中のタンパク質の種類によって肝の薬物代謝酵素活性が変化することが知られている^{20,21)}。Table 3は、各群ラットの肝薬物代謝活性をアニリン水酸化活性、および、アミノピリン-*N*-デメチラーゼ活性として測定した結果をまとめたものである。一般に肝の薬物代謝活性は、食餌中のタンパク質の栄養価を反映するといわれている²²⁾。本実験においては、アミノピリン-*N*-デメチラーゼ活性がグルテン群で明らかに低下していたが、アニリン水酸化活性には各飼料群間で有意差を認めなかった。

Smithらは、¹⁴C-クロルベンゼンを用いた研究で、体内に侵入したクロルベンゼンの中で肝で代謝を受けて尿中へ排泄されるのは全体の30%程度に過ぎず、残りは呼吸として肺から放出されると述べている³⁾。肝毒性を示すのが代謝中間体であるクロルベンゼンエポキシドである^{5,6)}ことを考えると、栄養価が劣るグルテンで飼育した

Table 3 Effect of chlorobenzene-injection on aniline hydroxylase and aminopyrine-*N*-demethylase activities in liver of rats fed experimental diets.

Diets	Aniline hydroxylase		Aminopyrine- <i>N</i> -demethylase	
	Control	Chlorobenzene	Control	Chlorobenzene
PEP	23.5±4.9 ^a	11.1±1.2 ^{a*}	184±17 ^c	113±9 ^{b*}
Gluten	28.5±2.2 ^a	20.6±3.9 ^a	95±9 ^a	81±5 ^a
SPI	21.0±2.2 ^a	12.9±4.3 ^a	123±8 ^b	116±7 ^b
<i>F value</i>				
Diet	3.17 (not significant)		19.12 ($p<0.01$)	
Injection	11.53 ($p<0.01$)		14.75 ($p<0.01$)	
Diet × Injection	0.28 (not significant)		6.44 ($p<0.01$)	

Enzyme activities are expressed as nmol of *p*-aminophenol or formaldehyde formed per min per 100 g body weight. Values (means ± SE for 6 rats) in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p<0.05$). *: Significant difference between "control" and "chlorobenzene" at $p<0.05$.

ラットでは、肝の薬物代謝活性が低下し、クロルベンゼンの肝での代謝の割合が減少したため、クロルベンゼン肝毒性が発現しなかったのかもしれない。しかし、アミノピリン-*N*-デメチラーゼ活性がクロルベンゼンの代謝活性をどの程度反映しているのかは定かでなく、クロルベンゼン自身を基質にした反応系による検討が望まれる。

ところでPEP群においてはクロルベンゼン投与によって薬物代謝活性が有意に低下していることが認められた。クロルベンゼン投与によって肝薬物代謝酵素活性が低下する現象はいくつか報告されており^{23,24)}、連続投与などの場合を含めて詳細に検討する必要がある。

クロルベンゼン投与によって肝グルタチオン代謝系が変動することはすでに報告してきた^{7,8)}。Table 4は、投与48時間後の各群ラットの肝グルタチオン、システイン濃度、および、グルタチオン代謝関連酵素活性をまとめたものである。含硫アミノ酸含量の少ないSPIを与えた群の肝グルタチオンおよびシステイン濃度は、他の2群に比べて明らかに低かった。システイン含量の高いグルテンを投与したラットでは、成長は著しく劣ったが肝グルタチオン濃度はもっとも高かった。クロルベンゼンを投与した場合に生じる肝グルタチオンとシステイン濃度の上昇は3群ともに生じていたが、グルタチオン合成活性はPEP群においてのみ明らかに上昇していた。このこ

Table 4 Effect of chlorobenzene-injection on glutathione and cysteine levels and related enzyme activities in liver of rats fed experimental diets.

Control		Chlorobenzene	<i>F</i> value	
Glutathione ($\mu\text{mol/g}$ liver)				
PEP	6.99 $\pm$ 0.21 ^b	8.77 $\pm$ 0.54 ^{b*}	Diet	79.35 ($p < 0.01$)
Gluten	8.01 $\pm$ 0.22 ^b	9.52 $\pm$ 0.56 ^{b*}	Injection	27.06 ($p < 0.01$)
SPI	3.02 $\pm$ 0.25 ^a	4.91 $\pm$ 0.47 ^{a*}	Diet $\times$ Injection	0.11 (NS ¹)
Cysteine ($\mu\text{mol/g}$ liver)				
PEP	0.17 $\pm$ 0.01 ^b	0.22 $\pm$ 0.01 ^{a*}	Diet	7.86 ($p < 0.01$)
Gluten	0.21 $\pm$ 0.01 ^b	0.28 $\pm$ 0.02 ^{b*}	Injection	32.72 ($p < 0.01$)
SPI	0.11 $\pm$ 0.01 ^a	0.24 $\pm$ 0.03 ^{ab*}	Diet $\times$ Injection	2.64 (NS)
Glutathione synthesis (nmol glutathione/min/mg soluble protein)				
PEP	0.66 $\pm$ 0.08 ^a	1.15 $\pm$ 0.11 ^{b*}	Diet	10.21 ($p < 0.01$)
Gluten	0.71 $\pm$ 0.07 ^a	0.82 $\pm$ 0.12 ^a	Injection	6.70 ($p < 0.05$)
SPI	1.20 $\pm$ 0.09 ^b	1.28 $\pm$ 0.16 ^b	Diet $\times$ Injection	2.30 (NS)
Glutathione reductase (nmol NADPH/min/mg protein)				
PEP	48 $\pm$ 1 ^a	66 $\pm$ 3 ^{ab*}	Diet	11.03 ($p < 0.01$)
Gluten	40 $\pm$ 1 ^a	57 $\pm$ 3 ^{a*}	Injection	26.62 ($p < 0.01$)
SPI	60 $\pm$ 2 ^b	69 $\pm$ 7 ^b	Diet $\times$ Injection	1.04 (NS)
γ -Glutamyltranspeptidase (nmol <i>p</i> -nitroaniline/min/mg protein)				
PEP	0.57 $\pm$ 0.04 ^a	0.78 $\pm$ 0.05 ^a	Diet	19.00 ($p < 0.01$)
Gluten	1.12 $\pm$ 0.11 ^a	1.28 $\pm$ 0.29 ^{ab}	Injection	0.03 (NS)
SPI	2.09 $\pm$ 0.26 ^b	1.81 $\pm$ 0.30 ^b	Diet $\times$ Injection	0.85 (NS)

Values (means $\pm$ SE for 6 rats) in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$). *: Significant difference between "control" and "chlorobenzene" at $p < 0.05$. ¹NS: not significant.

とは、クロルベンゼン投与後の肝グルタチオン濃度の上昇が、単にグルタチオン合成系の亢進のみでは説明しきれないことを示している。SPI群では、クロルベンゼンを投与しない状態で、グルタチオン代謝関連酵素活性がいずれも他に比して高いが、含硫アミノ酸供給量の減少に対応して、グルタチオン代謝系全体が亢進していたのかもしれない。いずれにしても、クロルベンゼン投与後の肝グルタチオン濃度の変化は、代謝関連酵素系の他にシステインの肝細胞へのとりこみと肝タンパク質の合成・分解、を含めて検討していかねばならない問題であろう。

SPI群においては肝グルタチオンが低レベルであるため、クロルベンゼンを投与した際に、代謝中間体がメルカプツール酸へ円滑に変換しないと考えられる。Table 5は、クロルベンゼン投与後24時間以内に尿中へ排泄された代謝物をまとめたものである。PEP群での尿中代謝物の総排泄量は、投与量の約30%であり、Smithらの数字³⁾とよく一致していた。ラットにおける主代謝物であるメルカプツール酸の排泄量は、SPI群で顕著に低く、上述の仮定を支持する結果が得られた。従って、

Table 5 Post-injection urinary excretions of chlorobenzene metabolites within 24 hours.

Diets	4-Chlorophenyl- mercapturic acid	Chlorophenols	4-Chlorocatechol
	(μmol/24 h/kg body weight)		
PEP	168.8 ± 4.2 ^c	125.3 ± 6.2 ^b	14.3 ± 1.7 ^a
Gluten	129.4 ± 8.1 ^b	94.9 ± 7.6 ^a	10.7 ± 1.8 ^a
SPI	88.6 ± 17.0 ^a	134.2 ± 3.8 ^b	27.9 ± 0.7 ^b
<i>F</i> value	12.95 (<i>p</i> < 0.01)	11.60 (<i>p</i> < 0.01)	38.38 (<i>p</i> < 0.01)

Urine samples were collected for 24 h after the injection. Values (means $\pm$ SE for 6 rats) in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$). Values for chlorophenols represent total excretion of 2-, 3-, and 4-chlorophenol.

SPI群におけるクロルベンゼン肝毒性の発現は、代謝中間体であり肝毒性を示すクロルベンゼンエポキシドを処理するだけの肝グルタチオンが存在しなかったためであると考えられる。クロルカテコールの排泄が、SPI群で上昇しているが、これはメルカプツール酸生成の減少に対

応して代謝中間体の一部がカテコール生成系に流れたとすれば理解できる。一方、グルテン群では、メルカプツール酸ばかりでなく、クロルフェノール類もやや減少しており、尿中代謝物全体が減少していた。グルテン群では、肝のクロルベンゼン代謝活性が低く、共通の代謝中間体であるエポキシドそのものの生成が少なかったのかもしれない。アミノピリン-*N*-デメチラーゼ活性がグルテン群で低かったことと関連づけることも可能かもしれない。

われわれは、別の実験（未発表）において、肝グルタチオン濃度の低い状態であってもクロルベンゼンの投与量が少ない（0.2～0.5 mmol/kg body weight）と、Table 5に示したような顕著な尿中代謝物組成の変化が生じないことを認めている。尿中代謝物の組成変化という現象は、毒性発現の表れのひとつとみなすことができるかもしれない。SPI群ラットにおけるクロルベンゼン肝毒性に対する susceptibility の増大は、肝グルタチオン濃度の低下に起因するものと思われ、クロルベンゼンの代謝と毒性にとって含硫アミノ酸の摂取量が重要な修飾因子であることを示している。グルテン群ラットにおいてクロルベンゼン肝毒性が発現しなかったのは、肝のクロルベンゼン代謝活性の低下していたこともあるが、肝グルタチオンが十分にあったことが大きな理由と考えられる。以上のことから、さきの報告¹¹⁾で示したメチオニンの補足効果は、タンパク質栄養価の改善というよりも肝グルタチオン濃度の上昇によるものと結論することができるであろう。

本研究の費用の一部は、文部省科学研究費（No. 61770403）によった。

文 献

- 1) Deichman, W.B.: In "Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd revised ed. Vol 2B" (Editor: G.D. Clayton and F.F. Clayton), p. 3604, Wiley-Interscience Publication, New York (1981).
- 2) Smith, J.R.L., Shaw, A.J. and Foulkes, D.M.: Mechanism of mammalian hydroxylation: Some novel metabolism of chlorobenzene, *Xenobiotica*, **2**, 215-226 (1972).
- 3) Ogata, M. and Shimada, Y.: Difference in urinary monochlorobenzene metabolism between rats and humans, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **53**, 51-57 (1983).
- 4) Yoshida, M. and Hara, I.: Composition of urinary metabolites and variation of urinary taurine levels in rats injected with chlorobenzene, *Ind. Health*, **23**, 239-243 (1985).
- 5) Brodie, B.B., Reid, W.D., Cho, A.K., Sipes, G., Krishna, G. and Gillette, J.R.: Possible mechanism of liver necrosis caused by aromatic organic compound, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 160-164 (1971).
- 6) Jollow, D.J., Mitchell, J.R., Zampaglion, N. and Gillette, J.R.: Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite, *Pharmacology*, **11**, 151-169 (1974).
- 7) Yoshida, M. and Hara, I.: Effect of intraperitoneal injection with chlorobenzene on glutathione metabolism in rat liver, *Ind. Health*, **22**, 11-21 (1984).
- 8) Yoshida, M. and Hara, I.: Variation of cysteine level by chlorobenzene-induced perturbation of glutathione metabolism in rat liver, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, 69-76 (1985).
- 9) Tateishi, N., Higashi, T., Shinya, S., Naruse, A. and Sakamoto, Y.: Studies on the regulation of glutathione level in rat liver, *J. Biochem.*, **75**, 93-103 (1974).
- 10) Tateishi, N., Higashi, T., Naruse, A., Nakashima, K., Shiozaki, H. and Sakamoto, Y.: Rat liver glutathione: Possible role as a reservoir of cysteine, *J. Nutr.*, **107**, 51-60 (1977).
- 11) 吉田宗弘, 原 一郎: 食餌中のメチオニンがクロルベンゼン投与によって生じたラット肝グルタチオンおよび過酸化脂質レベルの変化に与える影響, *栄養誌*, **38**, 279-283 (1985).
- 12) Tietze, F.: Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Application to mammalian blood and other tissues, *Anal. Biochem.*, **27**, 502-522 (1969).
- 13) Gaitonde, M.K.: A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids, *Biochem. J.*, **104**, 627-633 (1967).

- 14) Massay, V. and Williams, C.H.: On the reaction mechanism of yeast glutathione reductase, *J. Biol. Chem.*, **240**, 4470-4480 (1965).
- 15) Orlo'wski, M. and Meister, A.: γ -Glutamyltranspeptidase: A new convenient substrate for determination and study of L- and D- γ -glutamyltrans-peptidase activities, *Biochim. Biophys. Acta*, **73**, 629-681 (1963).
- 16) Mazel, P.: In "Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition" (Editor: B.N. La-Du, H.G. Mandel and E.L. Way) The Williams & Wilkins Company, Baltimore (1971): 麻生芳郎, 大森義仁監訳: 新しい薬物代謝学—生体内運命と実験法のすべて, p. 514, 廣川書店, 東京 (1974).
- 17) Snedecor, C.W. and Cochran, W.G.: In "Statistical Methods, 6th ed." Chapter 12, Iowa State University Press, Ames (1967).
- 18) 山口迪夫: 小動物を用いる栄養実験 (細谷憲政, 印南 敏, 五島孜郎編), p. 127, 第一出版, 東京 (1980).
- 19) FAO: Amino-acid content of foods and biological data on proteins, FAO Nutr. Studies, No. 24, Rome (1970).
- 20) Fielding, A.M. and Hughes, R.E.: Changes in liver microsomal cytochrome P-450 induced by dietary proteins and lipid material, *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 1916-1917 (1976).
- 21) Miranda, C.L. and Webb, R.E.: Effects of dietary protein quality on drug metabolism in the rat, *J. Nutr.*, **103**, 1425-1430 (1973).
- 22) Kato, N., Tani, T. and Yoshida, A.: Effect of dietary quality of protein on liver microsomal mixed function oxygenase system, plasma cholesterol and urinary ascorbic acid in rats fed PCB, *J. Nutr.*, **111**, 123-133 (1981).
- 23) Ariyoshi, T., Ideguchi, K., Ishizuka, Y., Iwasaki, K. and Arakaki, M.: Relationship between chemical structure and activity. I. Effects of the number of chlorine atoms in chlorinated benzenes on the components of drug-metabolizing system and the hepatic constituents, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 817-823 (1975).
- 24) Dalich, G.M. and Larson, R.E.: Temporal and dose-response features of monochlorobenzene hepatotoxicity in rats, *Fund. Appl. Toxicol.*, **5**, 105-116 (1985).

(受付 1986年5月17日 受理 1986年7月18日)