

200941001A

200941001B

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

メタボローム解析およびバイオマーカーを用いた化学物質の
有害性評価手法の開発に関する研究

平成19年度～21年度 総合・総括研究報告書

研究代表者 曾我 朋義

平成22年4月

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

メタボローム解析およびバイオマーカーを用いた化学物質の
有害性評価手法の開発に関する研究

平成 19 年度～21 年度 総合研究報告書

研究代表者 曾我 朋義 (慶應義塾大学環境情報学部)

平成 22 年 4 月

目次

I.	総合研究報告書	
	メタボローム解析およびバイオマーカーを用いた化学物質の有害性 評価手法の開発に関する研究	1
II.	平成 19 年度総括研究報告書	23
III.	平成 20 年度総括研究報告書	41
IV.	平成 21 年度総括研究報告書	59
V.	研究成果の刊行に関する一覧表	91
VI.	研究成果の刊行物・別刷	97

厚生労働科学研究補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

メタボローム解析およびバイオマーカーを用いた化学物質の
有害性評価手法の開発に関する研究

研究代表者 曾我 朋義 慶應義塾大学先端生命科学研究所 教授

研究要旨

医薬品も含め体内に取り込まれた化学物質の多くは肝臓で解毒的に代謝され、易溶性の代謝物となって排泄される。しかしながら化学物質自体あるいは代謝で生じた物質が親電子物質である場合は生体に酸化活性毒性を示す。このような代謝物の毒性を確認できる評価手法は未だ確立されておらず、そのリスク評価システムの早急な構築が望まれている。本研究では、メタボローム測定法を用いた化学物質の酸化活性毒性評価のための新規バイオマーカー探索や、新たな毒性予測システムの開発・構築を行った。

A. 研究目的

化学物質は人類に多くの恩恵を提供するが、一部は生命体に予期せぬ被害をもたらす。体内に取り込まれた化学物質の多くは肝臓で解毒的に代謝され、易溶性の代謝物となって排泄される。しかし化学物質自体あるいは代謝で生じた物質が親電子性を持つ場合は生体に毒性を示すが、細胞に高濃度に存在するグルタチオンの抱合によって、おもに親電子性物質の解毒、排泄は行われる。グルタチオンが枯渇すると親電子性物質はタンパク質などの生体高分子と反応し細胞の機能を攪乱させ、様々な病態を惹起する。

現在のところ、数万種類ともいわれる化学物質およびそれらの代謝物の毒性を確認できる評価手法は未だ確立されておらず、そのリスク

評価システムの早急な構築が望まれる。主任研究者らは、世界に先駆けてキャピラリー電気泳動-質量分析計（CE-MS）によるメタボローム測定法を開発し、細胞内に存在する数百から数千種類の低分子代謝物の一斉分析に成功した。本研究では、メタボローム測定法を応用し、化学物質の中で親電子性毒性（酸化活性毒性）を持つ化合物を探索するリスク評価システムを開発する。

B. 研究方法

1. *In vivo* 親電子毒性評価システム

1) 親電子物質である Diethylmaleate(DEM)、Sulphoraphane、代謝産物が親電子物質である Acetaminophen(APAP)、Butylated hydroxyanisole、肝毒性を示すと言わ

れる Valproic acid、Diclofenac、Ethacrynic acid、Cisplatin、さらにコントロールとして Saline(生理食塩水)を準備した。

2) 各化学物質をマウスの腹腔内に注入した。

3) 化学物質を投与後 1 時間に各マウスの肝臓(約 300mg)を摘出した。

4) 肝臓から低分子代謝物質を抽出した。抽出した肝臓は瞬時に液体窒素で凍結後、直ちに内部標準物質入りのメタノール 1ml を加えホモジナイズした。この時点で酵素は失活し、代謝の亢進は止まる。タンパク質や脂質を除去するため 500 μ l の純水を加えた後、300 μ l の溶液を取り出し、200 μ l のクロロホルムを加え攪拌後、さらに 4°C で 15 分間、15000rpm で遠心した。静置後、分離した水-メタノール相 300 μ l を採取し、分画分子量 5 kDa の遠心限外ろ過フィルターを用いて除タンパクした。ろ液を凍結乾燥後、測定前に Milli-Q 水 50 μ l を加えて溶解した。

5) 抽出した肝臓の代謝物質をキャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析計 (CE-TOFMS) で網羅的に測定した。

5-1) 測定条件

①キャピラリー電気泳動 (CE) の分析条件

キャピラリーには、フューズドシリカキャピラリー (内径 50 μ m、外径 350 μ m、全長 100cm) を用いた。緩衝液には、1M ギ酸 (pH 約 1.8) を

用いた。印加電圧は、+30kV、キャピラリー温度は 20°C で測定した。試料は、加圧法を用いて 50mbar で 3 秒間注入した。

② 飛行時間型質量分析計 (TOFMS) の分析条件

正イオンモードを用い、イオン化電圧は 4kV、フラグメンター電圧は 75V、スキマー電圧は 50V、OctRFV 電圧は 125V に設定した。乾燥ガスには窒素を使用し、温度 300°C、圧力 10psig に設定した。シース液は 50%メタノール溶液を用い、質量校正用にレゼルピン (m/z 609.2807) を 0.5 μ M となるよう混入し 10 μ /min で送液した。レゼルピン (m/z 609.2807) とメタノールのアダクトイオン (m/z83.0703) の質量数を用いて得られた全てのデータを自動校正した。

6) 肝臓のグルタチオンおよびオフトアルミン酸等のグルタチオン枯渇を示すバイオマーカーの濃度を定量し、コントロールの結果と比較する。グルタチオン濃度が極端に減少し、かつグルタチオンの枯渇を示すバイオマーカーの濃度が有意に増加した化学物質は、それ自身かあるいはその代謝物質が酸化活性毒性の高い親電子物質であることが推測される。

7) 化学物質あるいはその代謝物の既知の親電子物質の有無と本研究で得られた結果を比較し、良好な相関関係が得られれば、グルタチオンの枯渇を示すバイオマーカーの変

動を測定する本法は、簡便に化学物質およびその代謝物の酸化活性毒性を測定できる評価システムとなる。

(倫理面への配慮)

慶應義塾大学医学部動物実験委員会で定めた実験動物の愛護管理・実験プロトコールに関する指針

に従い、実験マウスへの倫理的配慮は十分行う。水はいつでも飲めるようにする。マウスに苦痛を与えないように、化学物質の腹腔内注射や肝臓の摘出は麻酔後に行う。また、実験担当者へ化学物質が飛散、付着する危険を最小限に抑えるため、化学物質の使用量および実験回数は必要最小限に抑える。

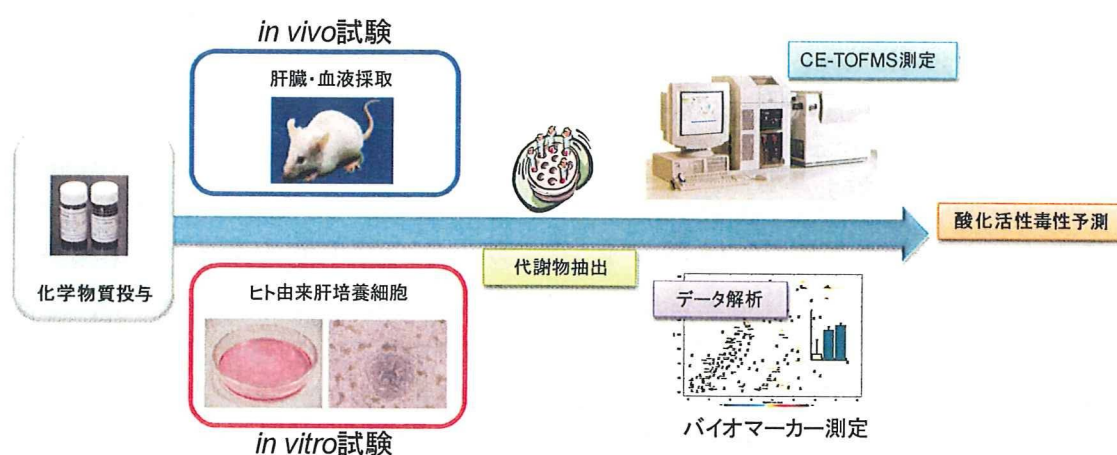


図1. 開発したメタボローム解析による化学物質の有害性評価方法

2. 培養細胞を用いた化学物質の *in vitro* 親電子毒性評価法の開発

動物を用いた毒性試験の代替法として培養細胞(HuH-7, HepaRG)を用いたバイオマーカーの開発に取り組んだ。反応性代謝物による肝毒性が知られる化合物(APAP、Diclofenac、Tacrine、Imipramine、Ticlopidine)を曝露し、細胞毒性評価

試験を行った。続いて CE-TOFMS によるメタボローム解析を行った。細胞内代謝物は 5×10^6 - 1×10^6 個の細胞から抽出した。サンプリングは、細胞毒性評価試験より GSH の低下がみられ(おおよそ 50-60%)、且つ細胞生存率の低下が極力抑えられている薬剤濃度・曝露時間を設定し、代謝物回収を行った。

C. 研究結果

1. *In vivo* 親電子毒性評価システム

図2に示したように、親電子物質であるDEM、Sulphorapaneおよび代謝産物が親電子物質であるAPAP投与により、肝臓内のグルタチオン濃度が10分の1以下に減少し、 γ -Glu-Xジペプチド類(γ -Glu-Gly、 γ -Glu-Ala、 γ -Glu-2AB、 γ -Glu-Ser、 γ -Glu-Thr、 γ -Glu-Taurine、 γ -Glu-Val、 γ -Glu-Leu、 γ -Glu-Ile、 γ -Glu-Phe、 γ -Glu-Homocysteine)と γ -Glu-X-Glyトリペプチド類(γ -Glu-Gly-Gly、 γ -Glu-Ala-Gly、 γ -Glu-Homocysteine-Gly)の14個の γ -Gluペプチドが肝臓内で生合成されることがわかった。特に γ -Glu-Taurine、 γ -Glu-Ser、 γ -Glu-Thr、 γ -Glu-Ala等のペプチド類は投与していないマウスに比べて10倍以上

濃度が増加した。

これに対して、Valproic acidや生理食塩水(Saline)では、何も投与していないマウスと比較して、グルタチオンの減少や γ -Glu-Xペプチド類の増加がほとんど見られなかった。

以上の結果より、今回発見した γ -Glu-X、 γ -Glu-X-Glyペプチド類は、生体内で生じた親電子物質によってグルタチオンが枯渇する際に増加するバイオマーカーであることが示された。したがって、各種の化学物質を実験動物やヒト培養細胞等に投与して、これらのバイオマーカーの増減を測定することにより、投与した化学物質のみならず、生体内の代謝で生じる代謝物質が親電子物質であるか一度に予想することが可能である。

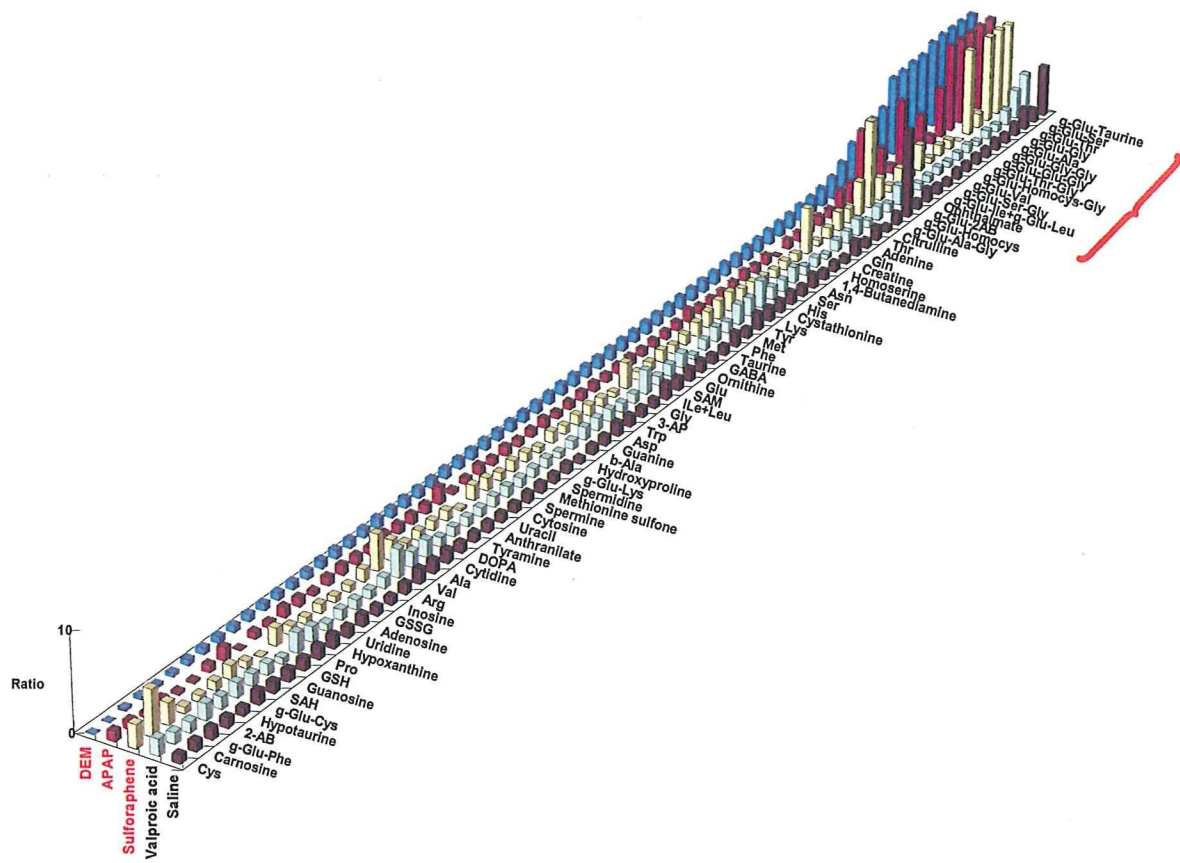


図2. 各化学物質をマウスに投与したときの各代謝物質の濃度の変化量

2. 培養細胞を用いた化学物質の *in vitro* 親電子毒性評価法の開発

HuH-7、HepaRG 細胞ともに約 160 の細胞内代謝物が同定され、次いで薬剤間のディファレンシャル解析を行った。HuH-7 細胞を用いた試験の結果、4 薬剤に共通して顕著に増加する代謝物として

1-Methyladenosine と Urocanate が見いだされた。また 4 薬剤において顕著に減少する代謝物として、グルタ

チオンの他

2,3-DPG(2,3-diphosphoglycerate)と CoA, Phosphocreatine, Succinate, Succinyl CoA が見いだされた (図 3-a)。

HepaRG 細胞を用いた試験の結果、4APAP と Diclofenac に共通して有意に 2 倍以上の増加を認めた代謝物は 6 物質、また -2 倍以上の減少を認めた物質はグルタチオンを含め 10 物質であった (図 3-b)。

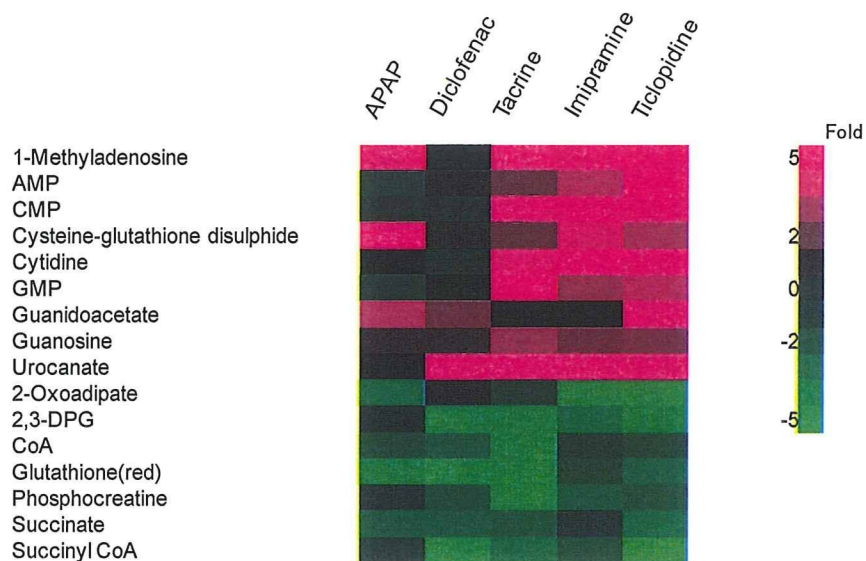


図 3-a. ヒートマップ解析 (HuH-7 細胞)

2 倍以上の変動を認め、且つ 3 薬剤に共通した変動があった細胞内代謝物

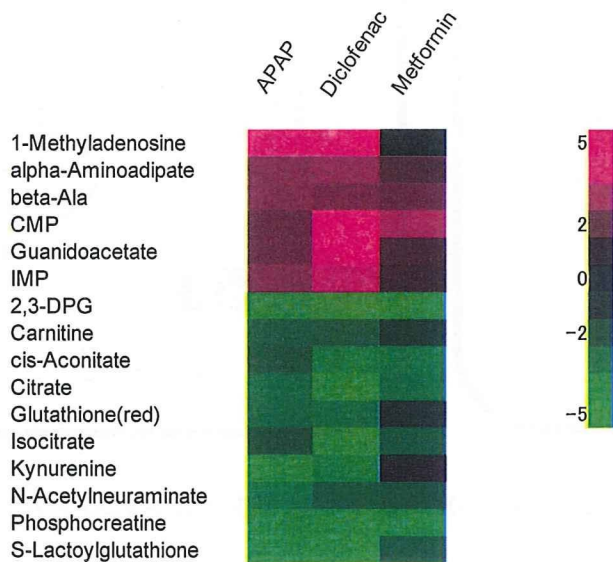


図 3-b. ヒートマップ解析 (HepaRG 細胞)

2 倍以上の変動を認め、且つ APAP と Diclofenac に共通した変動があった細胞内代謝物

D. 考察

1. *In vivo* 親電子毒性評価システム

本研究課題によって、親電子物質の解毒ためにグルタチオンが消費される際に、オフタルミン酸 (γ -Glu-2-Aminobutyl-Gly) のみならず、多くのアミノ酸 (X) から、グルタチオンを生合成する酵素 γ -グルタミルシステイン合成酵素とグルタチオン合成酵素によって γ -Glu-X、 γ -Glu-X-Gly (X:アミノ酸) 等ペプ

チド類が肝臓内で生合成されること、また生成された γ -Glu-X、 γ -Glu-X-Gly (X:アミノ酸) 等ペプチド類は MRP2、MRP3、MRP4 などの ABC トランスポーターによって血中に排出されることを発見した(図4)。以上の結果からオフタルミン酸 (γ -Glu-2-Aminobutyl-Gly) を含めた γ -Glu ペプチド類は、投与物質あるいはその代謝物が親電子毒性を持つことを示すバイオマーカーになることを見出した。

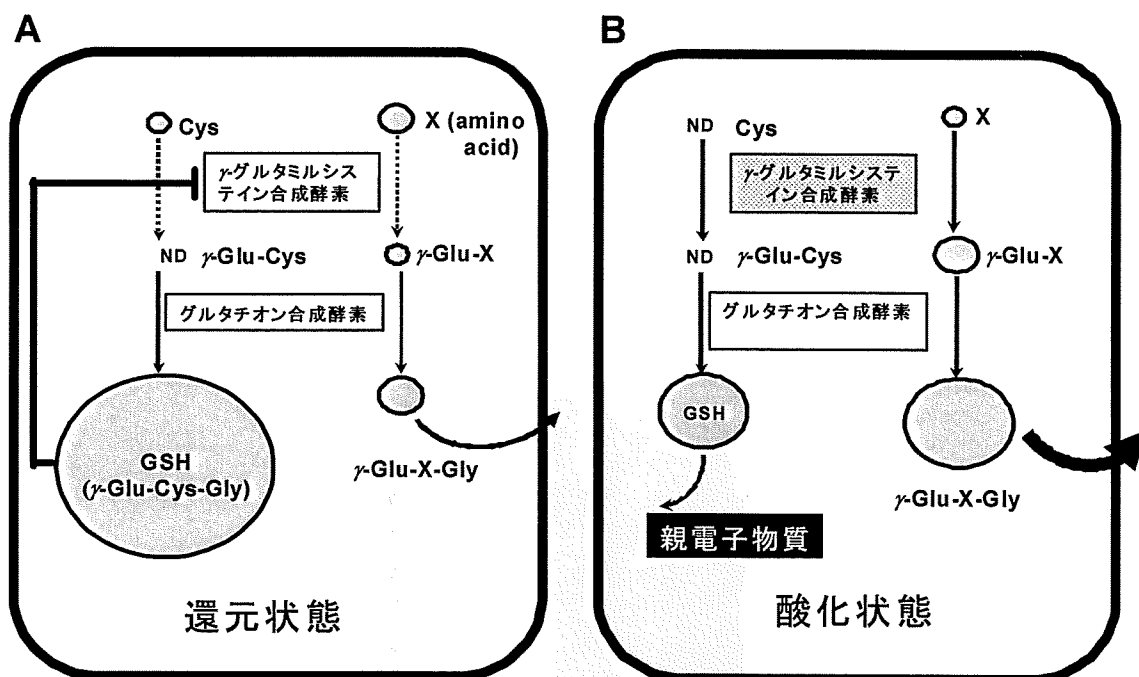


図4. 親電子性の物質によって γ -Glu-X ペプチド類が生合成されるメカニズム

2. 培養細胞を用いた化学物質の *in vitro* 親電子毒性評価法の開発

HuH-7を用いた細胞毒性試験では、何れの薬剤においても、時間依存性や濃度依存性が確認でき良好な結果が得られた。いずれの薬剤においても細胞生存性の低下を認める前に、細胞内 GSH の低下がみられたが、Ticlopidine は GSH の低下が他の薬剤より弱く、細胞死のメカニズムに違いがあることが推定される。

メタボローム解析は、薬剤暴露による経時的な細胞死が通常の評価法により検出されるより、早いタイムポイントで代謝物の変化を観察することで、細胞毒性を予測的に検出できる代謝物を特定することを目的として探索を行った。細胞内 GSH の低下は、細胞死が起こる前に検出できたことから、メタボローム解析においてはこの物質を指標に代謝物サンプリング、解析を行った。

肝毒性の知られる 5 化合物をそれぞれ暴露した時の網羅的代謝物解析でも GSH の低下が再確認できたことから、代謝物の回収を含めたメタボローム解析の実験系は良好であることが確認された。ディファレンシャル解析の結果、Diclofenac を除くすべての薬剤で 1-Methyladenosine の大幅な上昇が認められた。また APAP を除く全ての薬剤で Urocanate の上昇が認められた。減少を認める物質としては CoA が共通して変化していた。Succinyl CoA、Succinate の減少も認められ

TCA 回路と電子伝達系の障害が起こり、ATP 産生の減少の予兆となっていることが示唆される。

HepaRG においても APAP と Diclofenac を用いて同様に細胞毒性試験を行い、結果から得られた薬剤曝露条件によりメタボローム解析を行った結果、16 代謝物が 2 化合物に共通し 2 倍以上の変動を認めた。Carnitine の減少が脂肪酸の β 酸化低下を示唆し、加えて Citrate、Isocitrate の減少から HuH-7 と代謝物は異なるものの TCA 回路への影響を反映している現象が見てとれた。肝毒性を呈さない安全性の高い薬剤である Metformin を高濃度(1mM)で曝露した時の代謝物を定量し、毒性を示す化合物との比較を行った。図 14 に示すように HepaRG への Metformin の高濃度曝露試験において 24 時間ではわずかに GSH の低下がみられるが、細胞死への影響はないことを確認した。他の薬剤との比較を行ったところ、2,3-DPG や Phosphocreatine の変動は Metformin 曝露においても同様に変動することがわかり、細胞毒性に無関係に変動する物質であることが示唆された。HuH-7 と共通して変動する物質は 6 物質存在するが、この 2 物質を除くと GSH、1-Methyladenosine、Cytidine monophosphate(CMP)、Guanidoacetate であった。HuH-7 細胞において、これらの物質は化合物の細胞障害を反映している可能性が高い。

HepaRG 細胞においては、Metformin 曝露時と異なる変動をきたす代謝物は、この 4 物質のほかに IMP(Inosinic acid)と Kynurenine が存在し、これらも毒性特異的に変動する可能性が高い。HepaRG 細胞は培地中の dimethyl sulfoxide(DMSO)を高濃度にすることで肝細胞様に分化することが知られ、薬物代謝酵素やトランスポーターの発現が高く、より機能や特徴が肝プライマリーカルチャーに近いとされている。チトクロム P450(CYP)は薬物の代謝に関与する代表的な酵素であり、CYP3A4 は分子種の中でも医薬品の 50%以上の代謝に関与していることが知られ最も重要な薬物代謝酵

素である。HepG2 細胞、HuH-7 細胞と DMSO 処理 HepaRG 細胞間の CYP 代謝酵素の発現・代謝活性の測定を行ったところ、CYP3A4 の発現量は HepaRG が最も高く、また HepG2 の方が Huh-7 よりも CYP3A4 の発現量はわずかに高かった。また P450 活性は HepaRG が最も高く、次いで HuH-7、HepG2 という結果になった。以上の結果から、HepaRG を用いた薬剤試験からは薬物代謝酵素を介した代謝が期待でき、今回同定された IMP や Kynurenine といった代謝物を測定することで化合物の反応性代謝物の生成による細胞障害が検出できる可能性が高い。

E. 結論

本研究課題により、化学物質およびその生体内の代謝物が親電子物質であることを示す γ -Glu ペプチドバイオマーカーを発見した。これまでに発見したオフタルミン酸と同じく、各アミノ酸がグルタチオンや γ -グルタミルシステインシンテターゼ (GCS) によって N 末端に Glu が結合し、続いて γ -グルタチオンシンテターゼ (GS) によって C 末端に Gly が結合して生合成されることも実験で証明した。したがって、化学物質をマウスに投与し、 γ -Glu-X ジペプチド類バイオマーカーの変動をキャピラリー電気泳動-質量分析計で測定する本手法は、化学物質のみならず生体内で生じた代謝物が親電子物質であることを探索する有望な方法論である。

さらに親水性のみならず脂溶性化学物質、あるいはこれらの物質からの代謝物が親電子性毒性を示すことを迅速に探索する評価システムの開発に取り組み、肝臓中の γ -Glu ペプチド類が有意に増加すれば、投与した化学物質が親電子性毒性であることを示すシステムの基盤技術も、確立することができた。また副次的な成果として、本研究で発見された親電子物質検出 (グルタチオン枯渇) マーカーである γ -Glu ペプチド類が、薬剤性肝炎を発症したヒトの血液中で有意に増加することが臨床検体で判明した (特許出

願中)。

また、動物試験に替わる *in vitro* 試験系として、ヒト肝培養細胞を用いた薬剤の評価系を構築し、メタボローム解析を適用した新たな薬剤毒性評価バイオマーカー探索を行った。結果として、既存の毒性マーカーであるグルタチオンも含め、これまでに報告の無い新規の毒性評価マーカーになりうる代謝物の同定に成功した。薬物代謝酵素により触媒され生成した化学的に活性の高い代謝物は ROS 発生の引き金になり酸化ストレスを生じ細胞死に至る現象を従来の肝培養細胞では極端に低い代謝酵素活性の問題などにより実験的に再現することが難易であった。高い CYP 活性を有する HepaRG 細胞を用い、同定された毒性評価マーカーを利用することで、潜在的に毒性を有する化合物による酸化ストレスを予測することができると考えられる。今後は同定されたマーカー代謝物の妥当性評価やより多くの化合物でのバリデーションの後、毒性を早期に予測するバイオマーカーとして製薬会社などの企業において導入と実用化が期待される。

薬剤肝障害は、臨床上の大きな問題の一つであるにもかかわらず、迅速な診断法が未だ確立されていない。薬剤肝障害は、重篤可し、死に至ることもあるため、早期に発見し、症状を的確に把握する診断法が望まれている。本研究で構築されたヒ

ト培養細胞を用いた試験系の実用化により、創薬開発初期における毒性の評価が可能になることが期待され、現在の試験系では種差による肝障害の予測検出が困難であるが、高い代謝活性を有するヒト肝培養細胞を用いることで、げっ歯類などの動物試験は見落とされていた潜在的な化合物の毒性の検出に寄与することが期待される。また本研究により発見された γ -Gluペプチド

類は、薬剤肝障害の診断に有用であるばかりでなく、創薬開発過程の動物を用いた安全性評価試験においても肝障害を誘発しうる薬剤を早期に発見し、治験の失敗を低減できる。また臨床においても、薬剤治療のリスクが把握でき、投与量や薬剤の変更など治療上取れるオプションを広げることが可能になり、安心して安全な医療の実現に貢献すると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

1. *Sugimoto, M., Hirayama, A., Ihiskawa, T., Baran, R., Robert, M., Uehara, K., **Soga, T.**, Tomita, M., "Differential Metabolomics Software for Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry Data Analysis" *Metabolomics* 6, 27-41, 2010.
2. *Sugimoto, M., Wong, D., Hirayama, A., **Soga, T.**, Tomita, M., "Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry-based Saliva Metabolomics Identifies Oral Breast and Pancreatic Cancer-Specific Profiles" *Metabolomics* 6, 78-95, 2010.
3. Minami, Y., Kasukawa, T., Kakazu, Y., Iigo, M., Sugimoto, M., Ikeda, S., Yasui, A., van der Horst, G., **Soga, T.**,* Ueda, H.,*"Measurement of Internal Body Time by Blood Metabolomics" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 9890-9895, 2009.
4. Hirayama, A., Kami, K., Sugimoto, M., Sugawara, M., Toki, N., Onozuka, H., Kinoshita, T., Saito, N., Ochiai, A., Tomita, M., Esumi, H., **Soga, T.**,*"Quantitative Metabolome Profiling of Colon and Stomach Cancer Microenvironment by Capillary Electrophoresis Time-of-flight Mass Spectrometry" *Cancer Res.* 69, 4918-4925, 2009.
5. **Soga, T.**,* Igarashi, K., Itoh, C., Mizobuchi, K., Zimmermann, H., Tomita, M.,"Metabolomic Profiling of Anionic Metabolites by Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry" *Anal. Chem.* 81, 6165-6174, 2009.
6. Nakahigashi, K., Toya, Y., Ishii, N., **Soga, T.**, Hasegawa, M., Watanabe, H., Takai, Y., Honma, M., Mori, H., Tomita, M., "Systematic phenome analysis of E. coli multiple knockout mutants reveals hidden reactions in central carbon metabolism" *Mol. Syst. Biol.* 5, 306, doi:10.1038/msb.2009.65
7. Saito, N., Robert, M., Kochi, H., Matsuo, G., Kakazu, Y., **Soga, T.**, Tomita, M., "Metabolite profiling reveals YihU as a novel hydroxybutyrate dehydrogenase for alternative succinic semialdehyde metabolism in Escherichia coli" *J. Biol. Chem.* 109, 16442-16451, 2009.
8. Toyohara, T., Suzuki, T., Morimoto, R., Akiyama, Y., Souma, T.,

- Shiwaku, H.O., Takeuchi, Y., Mishima, E., Abe, M., Tanemoto, M., Masuda, S., Kawano, H., Maemura, K., Nakayama, M., Sato, H., Mikkaichi, T., Yamaguchi, H., Fukui, S., Fukumoto, Y., Shimokawa, H., Inui, K., Tetasaki, T., Goto, J., Ito, S., Hishinuma, T., Rubera, I., Tauc, M., Fujii-Kuriyama, Y., Yabuuchi, H., Moriyama, Y., Soga, T., Abe, T., “SLCO4C1 Transporter Eliminates Uremic Toxins and Attenuates Hypertension and Renal Inflammation” *J. Am. Soc. Nephrol.* online doi: 10.1681/ASN.2009070696
9. Iuchi, Y., Okada, F., Takamiya, R., Kibe, N., Tsunoda, S., Nakajima, O., Toyoda, K., Nagae, R., Suematsu, M., Soga, T., Uchida, K., Fujii, J. “Rescue of anemia and autoimmune responses in SOD1-deficient mice by transgenic expression of human SOD1 in erythrocytes” *Biochem. J.* **422**, 313-320, 2009.
10. Shintani, T., Iwabuchi, T., **Soga, T.**, Kato, Y., Yamamoto, T., Takano, N., Hishiki, T., Ueno, Y., Ikeda, S., Sakurakawa, T., Ishikawa, K., Goda, N., Yitagawa, Y., Kajiyama, M., Matsumoto, K., Suematsu, M., “Cystathionine β -synthase as a Carbon Monoxide-sensitive Regulator of Bile Excretion” *Hepatology* **49**, 141-150, 2009.
11. Yoshida, S., Imoto, J., Minato, T., Oouchi, R., Sugihara, M., Imai, T., Ishiguro, T., Mizutani, S., Tomita, M., **Soga, T.**, Yoshimoto, H., “Developing Bottom-fermenting Yeast Strains That Produce High SO₂ Levels by Integrated Metabolome and Transcriptome Analysis”, *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 2787-2796, 2008.
12. Sato, S., Arita, M., **Soga, T.**, Nishioka, T., Tomita, M., “Time-resolved Metabolomics Reveals Metabolic Modulation in Rice Foliage”, *BMC Systems Biology* doi:10.1186/1752-0509-2-51, **2**, 51, 2008.
13. Ohashi, Y., Hirayama, A., Ishikawa, T., Nakamura, S., Shimizu, K., Ueno, Y., Tomita, M., **Soga, T.**, “Depiction of Metabolome Changes in Histidine-starved *Escherichia coli* by CE-TOFMS”, *Mol. BioSyst.* **4**, 135-147, 2008.
14. ***Soga, T.**, Ishikawa, T., Igarashi, S., Sugawara, K., Kakazu Y., Tomita, M., “Analysis of Nucleotides by

Pressure-Assisted Capillary
Electrophoresis Mass
Spectrometry Using Silanol Mask
Technique”, *J. Chromatogr. A*
1159, 125-133, 2007.

15. Monton, R. M. N., Tomita, M.,
*Soga, T., *Ishihama, Y.,
“Polymer Entrapment in
Polymerized Silicate for Preparing
Highly Stable Capillary Coatings
in CE and CE-MS”, *Anal. Chem.*
79, 7838-7844, 2007.
16. Monton, M. R. N., *Soga, T.,
“Metabolome Analysis by
Capillary Electrophoresis – Mass
Spectrometry” *J. Chromatogr. A*
1168, 237-246, 2007.
17. Toya, Y., Ishii, N., Hirasawa, T.,
Naba, M., Hirai, K., Sugawara, K.,
Igarashi, S., Shimizu, K., Tomita,
M., *Soga, T., “Direct
Measurement of The Isotope
Distribution of Intracellular
Metabolites Using CE-TOFMS for
Efficient Metabolic Flux Analysis”,
J. Chromatogr. A 1159, 134-141,
2007.

総説

1. 曾我朋義：メタボロミクスー網羅
的代謝物質解析の医学・医療へ
のあらたな応用「医学のあゆみ」
Vol231, Nos.12,13, pp1143, 医

歯薬出版株式会社, 2009.

2. 平山明由、曾我朋義：ヒト癌組織
のメタボローム解析 「医学のあ
ゆみ」 Vol231, Nos.12,13,
pp1145-1149, 医歯薬出版株式会
社, 2009.
3. 曾我朋義：メタボローム測定装置
の発明, 「発明 The Invention」
Vol106(11) pp.29-31, 発明協会,
2009.
4. 紙健次郎、富塚江利子、富田勝、
北潔、江角浩安、曾我朋義：メ
タボローム解析による癌微小環
境のエネルギー代謝の解明, 「癌
と微小環境」 *実験医学増刊*
Vol27(2) pp.215-221, 羊土社,
2009.
5. 曾我朋義：最新のメタボローム測
定法の開発と生命科学への応用,
「新しい地平をひらく分析手法
の最前線」 pp.21-29, 化学フロ
ンティア化学同人, 2009.
6. 曾我朋義、「CE-MSによるメタボ
ローム解析」*生物物理化学誌*, 52,
91-94, 2008.
7. 曾我朋義：CE-MSによるメタボ
ローム測定法と生命科学への応
用, 「メタボローム特集」 *臨床化
学* Vol37(4) pp.341-346, 日本
臨床化学会, 2008.

8. 紙健次郎、富塚江利子、北潔、富田勝、曾我朋義、江角浩安：がんメタボロームによるエネルギー代謝の解析とがんの微小環境を標的とした治療薬の開発に向けて、「メタボローム特集」*臨床化学* Vol37(4) pp.361-367, 日本臨床化学会, 2008.
9. 石井伸佳、曾我朋義、富田勝：細菌のマルチオミクス（各種網羅的測定データ）解析の最先端、*化学と生物*, Vol46(4) pp.228-229, 学会出版センター, 2008.
10. 曾我朋義：概論-「メタボロームが解き明かす生命のシステム」, *実験医学* Vol. 26(1) pp. 1-6, 用土社, 2008.
11. 曾我朋義、大橋由明、富田勝：メタボロミクスの医学への応用, 「*臨床遺伝学 '07*」*最新医学2007 9月増刊号* pp. 56-63 (2040-2047), 最新医学社, 2007.
12. 曾我朋義：CE-MSによるメタボローム解析とバイオマーカーの探索, 「最新プロテオミクス・メタボロミクス」*細胞工学別冊* pp. 137-145, 秀潤社, 2007.
2. 学会発表
1. **Soga, T.**, “Biomarker Discovery by CE-MS Metabolomics” Mass Spec Europe, The Palau Congress De Catalunya, Barcelona, Spain, Nov 5, 2009
2. 曾我朋義「最新のメタボローム測定技術と診断応用」日本薬学会第130年会、健康、安全、安心のための分析化学、岡山大学津島キャンパス、2010年3月29日
3. 曾我朋義「CE-MSメタボローム測定法の開発と生命科学への応用」分離機能とセンシング機能の化学セミナー2010、日本分析化学東北支部、東北大学片平キャンパス金属材料研究所2号館1階講堂、2010年3月6日
4. 曾我朋義「最新のメタボローム測定法と生命科学への応用」日本学術会議シンポジウム、メタボロミクス研究の最前線とメタボライトデータベースの役割、日本学術会議講堂、2010年1月15日
5. 曾我朋義「メタボロミクスが解き明かす生命のシステム」第32回日本分子生物学会年会、メタボロミクスが解き明かす代謝生物学、パシフィコ横浜、2009年12月9日

6. 曾我朋義「最先端のメタボローム解析について」慶應義塾生命科学シンポジウム、食と医科学、そして健康長寿、慶應義塾大学三田キャンパス北館ホール、2009年12月8日
7. 曾我朋義「CE-TOFMSによる陰イオン性メタボロームの最新測定法」第4回メタボロームシンポジウム、横浜サイエンスフロンティア高校、2009年11月18日
8. 曾我朋義「メタボロミクスが解き明かす生命のシステム」第82回日本生化学会大会、神戸ポートピアホール、2009年10月23日
9. 曾我朋義「CE-TOFMSによる陰イオン性メタボロームの最新測定法」第1回慶應先端生命研CE-MSメタボロミクス研究会、東北公益文化大ホール、2009年10月16日
10. 曾我朋義「Metabolomics in Cancer Research」第68回日本癌学会学術総会、モーニングレクチャー、パシフィコ横浜、2009年10月3日
11. 曾我朋義「メタボロミクスが解き明かす生命のシステム」第61回日本生物工学会大会、名古屋大学東山キャンパス、2009年9月25日
12. 曾我朋義「メタボロミクスが解き明かすがんのエネルギー代謝」第34回日本医用マススペクトル学会、近畿大学EキャンパスB館101講義室、2009年9月11日
13. 曾我朋義「CE-MSメタボロミクスが解き明かす生命のシステム」平成21年度安定同位体利用技術研究会、東京大学農学部2号館化学第3講義室、2009年9月10日
14. 曾我朋義「メタボロミクスが解き明かす生命のシステム」第296回CBI学会研究講演会、慶應義塾大学薬学部芝共立キャンパス、2009年5月13日
15. 曾我朋義「メタボロミクスが解き明かす生命のシステム」ゲノムテクノロジー第164委員会第30回研究会、慶應義塾大学先端生命科学研究所、2009年4月25日
16. Soga, T., “Biomarker Discovery by CE-MS Metabolomics” CE in the Biotechnology & Pharmaceutical Industries 10th Symposium (CE Pharm 2008), The Hotel Nikko, San Francisco,