

Diclofenac

HepaRG 細胞を 0.3、1.0、3.0 mM Diclofenac で 3、6、16、24 時間処理し、SRB 法で細胞生存性を測定した。1.0 mM 以上の Diclofenac で 16 時間以上処理すると細胞毒性が認められた。

メタボローム解析サンプル

2mM, 6 時間 (細胞生存率: 100%、GSH: 45%) 処理後の代謝物を回収した。

Diclofenac (mM)	Mean Cell Viability (% of control)			
	3hr	6hr	16hr	24hr
0.3	104	102	99	96
1.0	104	100	87	70
3.0	103	90	83	73

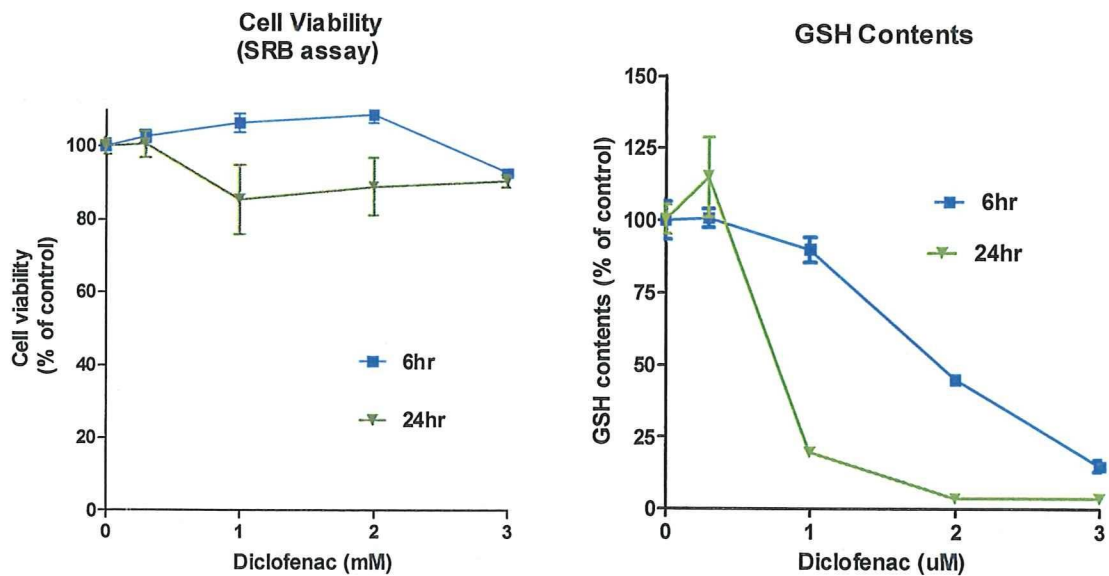


図 13. HepaRG 細胞における Diclofenac の細胞生存性への影響 (SRB アッセイ) と細胞内グルタチオン量への影響

Metformin

HepaRG 細胞を 0.1、0.3、1.0mM Metformin で6、24 時間処理し、SRB 法で細胞数を測定した。1.0mM、24 時間においても細胞死は認められなかった。

メタボローム解析サンプル

1mM、6 時間（細胞生存率: 100%、GSH: 99%）処理後の代謝物を回収した。

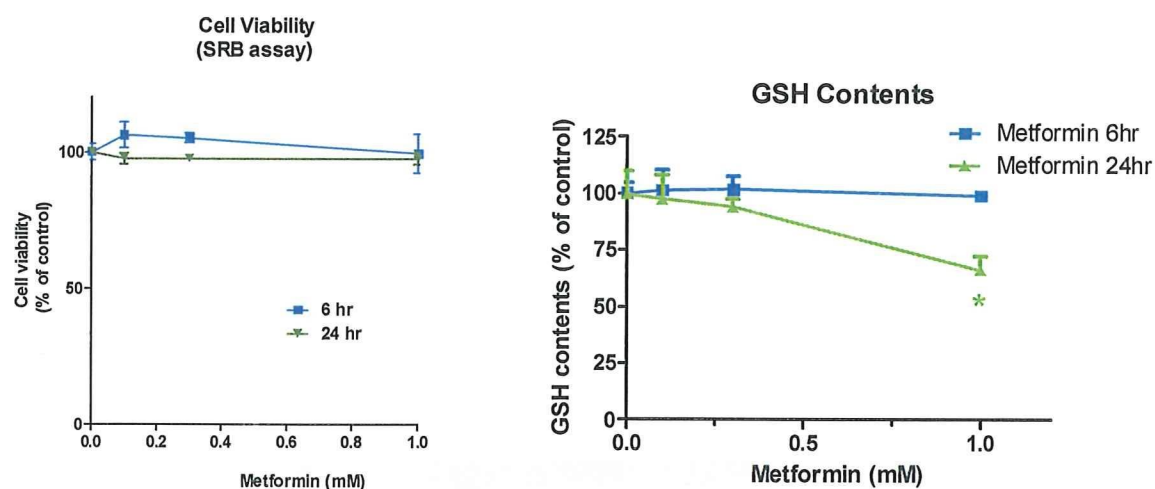


図 14. HepaRG 細胞における Metformin の細胞生存性への影響（SRB アッセイ）と細胞内グルタチオン量への影響

2-2)メタボローム解析による毒性評価
 マーカー探索 (HuH-7, HepaRG)

上記の条件にて GSH を含む 548 化合物標準品を用いた CE-TOFMS 解析を行った。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

グルタチオンは CE-TOFMS 解析においても、すべての薬剤で低下していることが確認された。

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 15)。

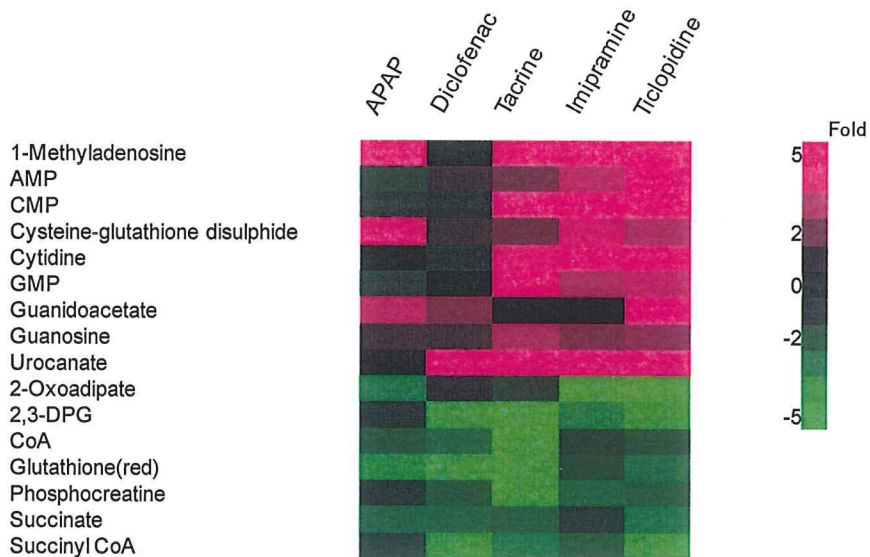


図 15. ヒートマップ解析 (HuH-7)

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

HepaRG 細胞

APAP 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 16)。

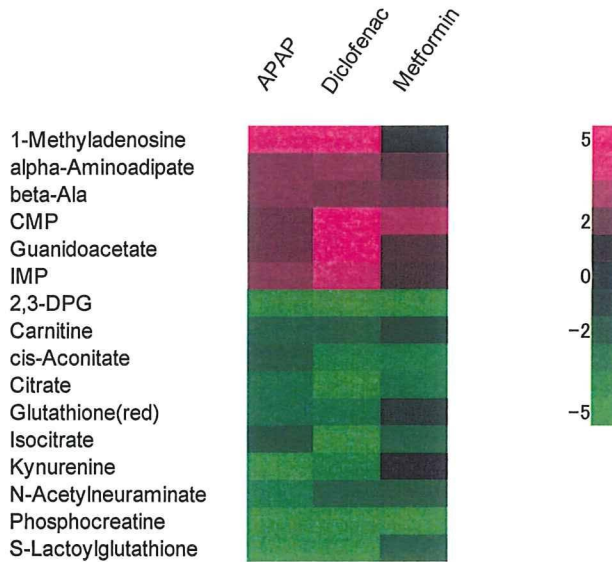


図 16. ヒートマップ解析 (HepaRG)

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) 経口投与方法および γ -Gluペプチドバイオマーカーによる脂溶性化学物質の親電子毒性評価システムの確立

脂溶性化学物質を経口投与するための分散剤としては、0.5% MC400 水溶液が適していること、また化学物質の投与量は、マウスの経口の半数致死量であるLD₅₀値が多くの物質で最適であることが判明した。しかし、化学物質によって、親電子物質検出マーカーである γ -Gluペプチド類の増加する時間と種類が異なることが観察された。この詳細な理由は不明であるが、各化学物質の代謝される経路や時間が異なっている可能性が示唆された。

2) 培養細胞を用いた化学物質のin vitro毒性評価法の確立とメタボローム解析による毒性評価マーカー探索

肝スライス培養法およびラット肝初代培養法

平成20年度に行ったHepG2細胞を用いた試験では、高濃度のAPAPを培地に投与しても、生細胞数や毒性の指標であるグルタチオン、オフタルミン酸などの代謝物の有意な変化は観察されなかった。使用した培養細胞は薬剤排泄能力が高いなど、代謝酵素やトランスポーターの働きが正常細胞とは異なっていることが知られており、グルタチオンの変化など細胞障害が観察できなかったと考えられた。平成21年度は新たにハムスター肝スライス培養法とラット肝初代浮遊培養法を試みた。生体から単離し即

座に培養することで高い代謝活性が維持されていることが知られている。反面、生存期間が短く、また肝細胞の機能性維持の時間も限られているという問題点がある。スライス培養法では毒性評価の結果として、APAP曝露による細胞障害を培地中のLDHにて評価したが、コントロールよりも逆にAPAP曝露のLDH放出量が減少するなど、毒性評価法として安定した試験結果に至らなかった。時間経過による肝細胞機能の低下やスライスする部位、肝葉によってバラツキが生じることが原因と考えられる。またラット肝初代培養の結果、APAP、Diclofenacの毒性評価を行ったところWST-8、GSH試験ともに濃度依存的な毒性が確認された。しかしながらCE-TOFMSを用いた代謝物解析においては、細胞内グルタチオンが検出限界以下になるなど全体的な代謝物量の低下が見られ、メタボローム解析には適さないと判断した。

ヒト肝培養細胞(HuH-7, HepaRG)

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、薬剤曝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 (図 1-a) 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暴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)で暴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

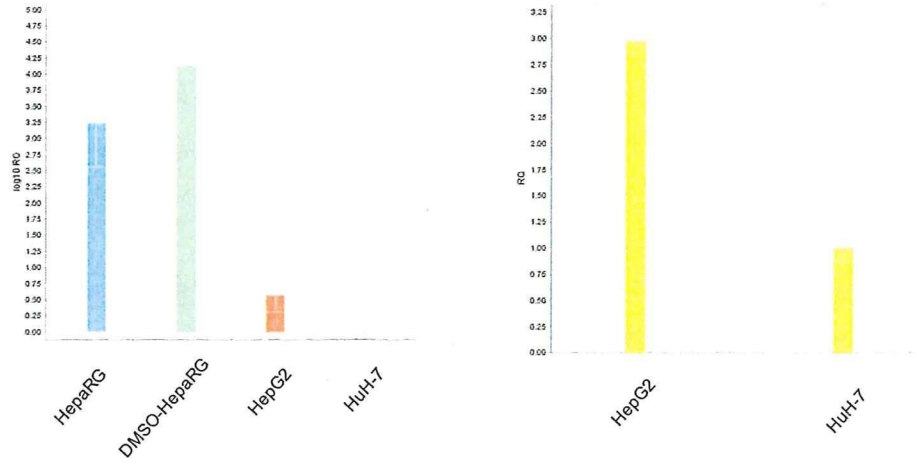
低下がみられるが、細胞死への影響はないことを確認した。他の薬剤との比較を行ったところ、2,3-DPG や Phosphocreatine の変動は Metformin 曝露においても同様に変動することがわかり、細胞毒性に無関係に変動する物質であることが示唆された。HuH-7 と共通して変動する物質は 6 物質存在するが、この 2 物質を除くと GSH、1-Methyladenosine、Cytidine monophosphate(CMP)、Guanidoacetate であった。HuH-7 細胞において、これらの物質は化合物の細胞障害を反映している可能性が高い。

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)を高濃度にする事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トの発現が高く、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。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 (図 17)。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。リアルタイム PCR を用いた mRNA 発現の定量の結果、HepaRG が最も高かった。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 活性を P450-GLO アッセイ (Promega)により測定したところ

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。

CYP3A4 mRNA Expression



P450活性(CYP3A4)

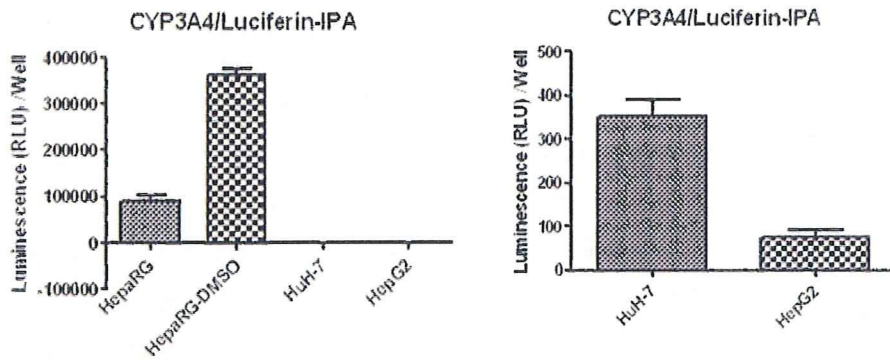


図 17. 各培養細胞の CYP3A4 mRNA の発現と活性の比較

E. 結論

平成 21 年度は、親水性のみならず脂溶性化学物質が、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んだ。親水性および脂溶性化学物質を 0.5% MC400 水溶液に分散させ、それをマウスに経口投与し、2-4 時間後に肝臓中の 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は、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、安心で安全な医療の実現に貢献すると思われる。

【補足資料】

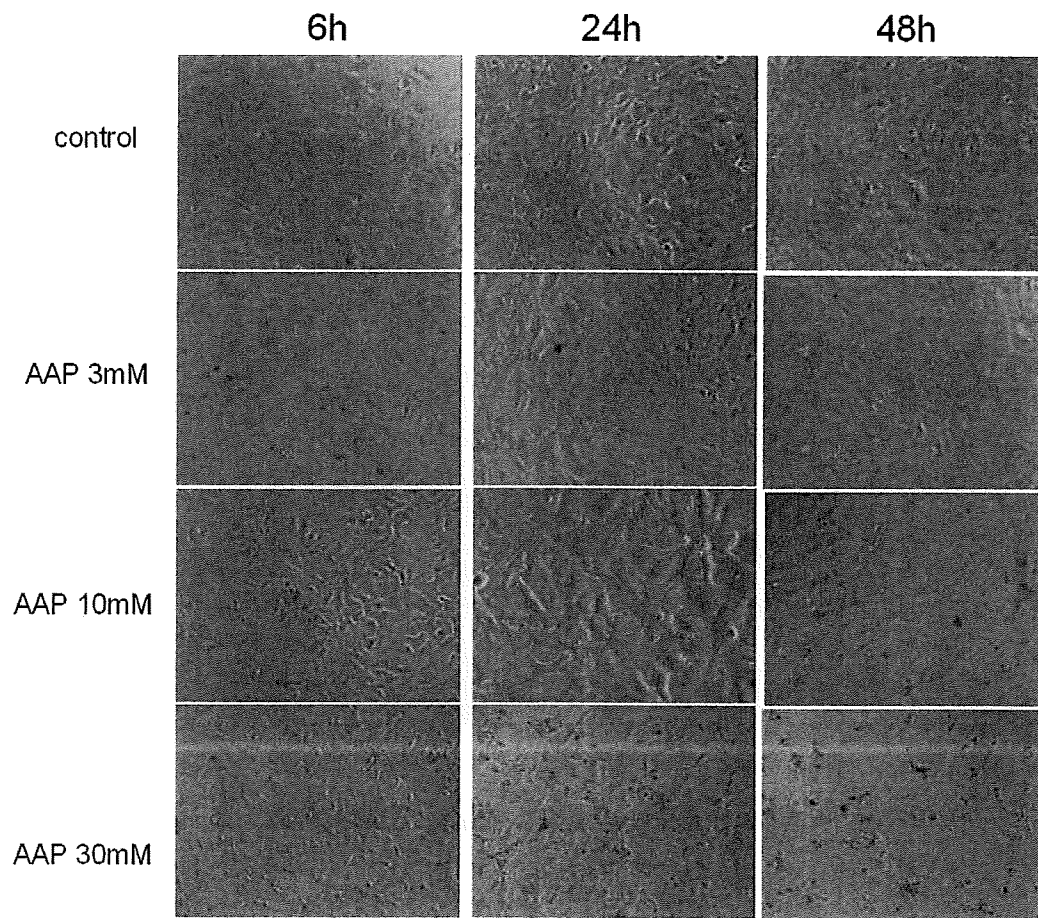
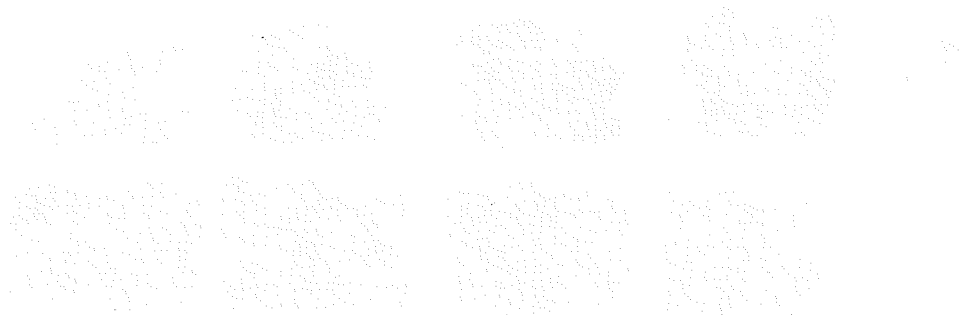


図 18. APAP 曝露時の HuH-7 の細胞形態



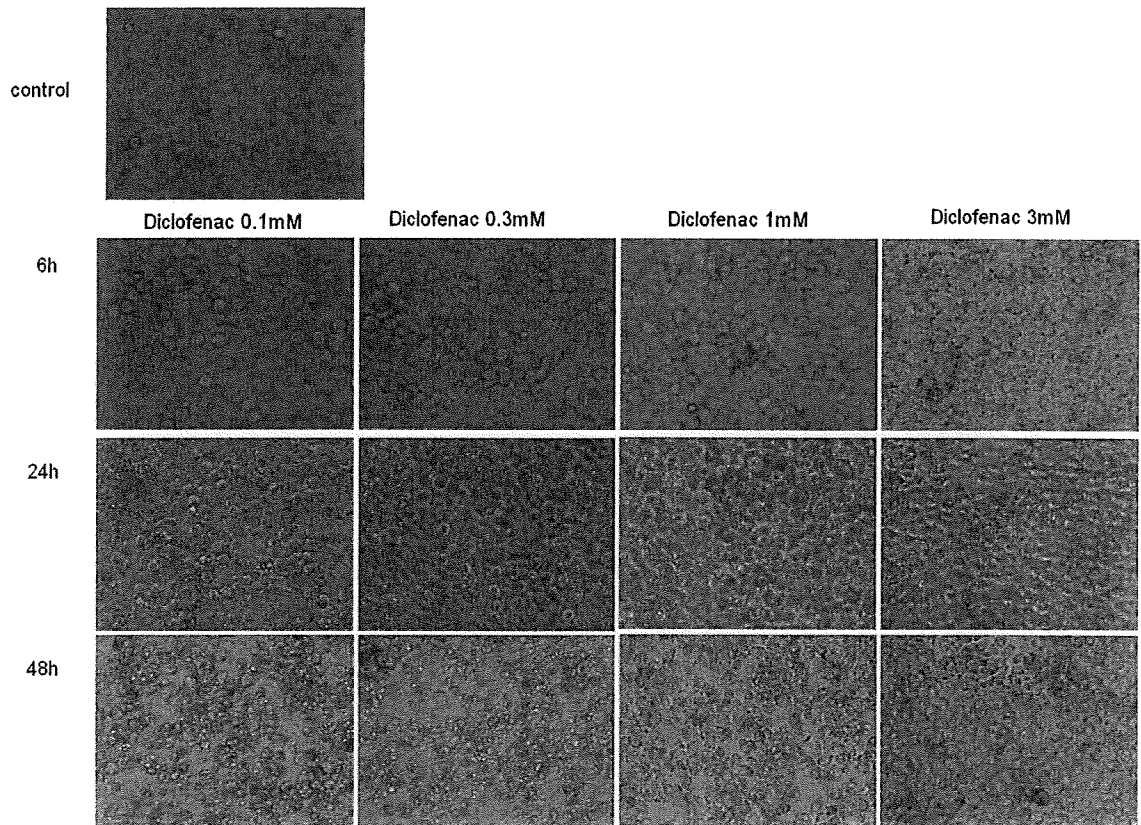


図 19. Diclofenac 曝露時の HuH-7 の細胞形態

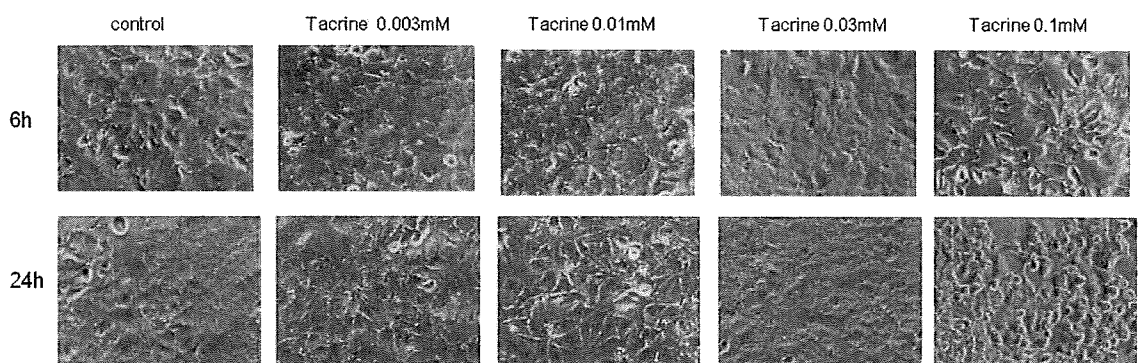


図 20. Tacrine 曝露時の HuH-7 の細胞形態

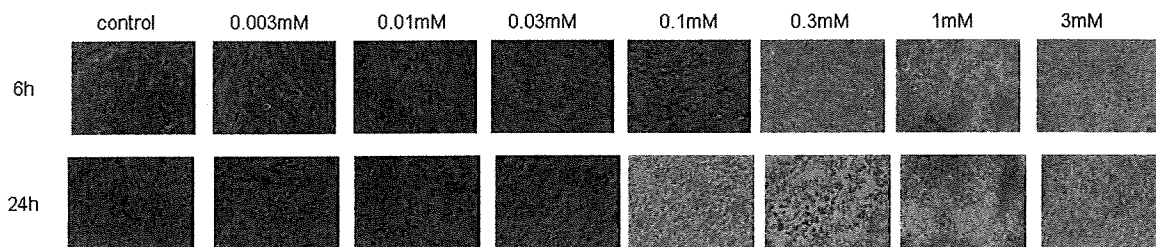


図 21. Imipramine 曝露時の HuH-7 の細胞形態

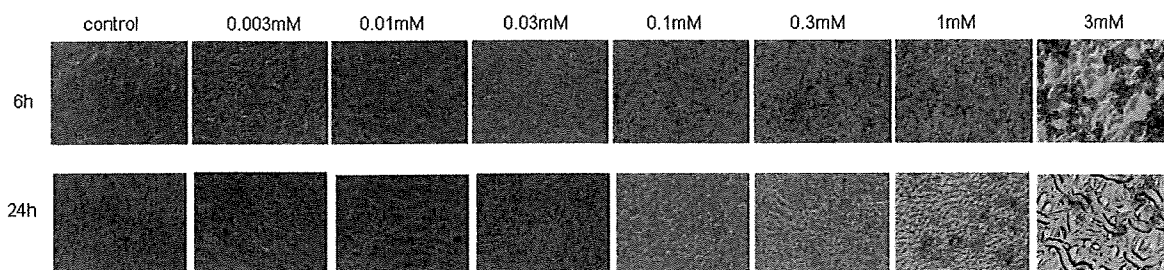


図 22. Ticlopidine 曝露時の HuH-7 の細胞形態

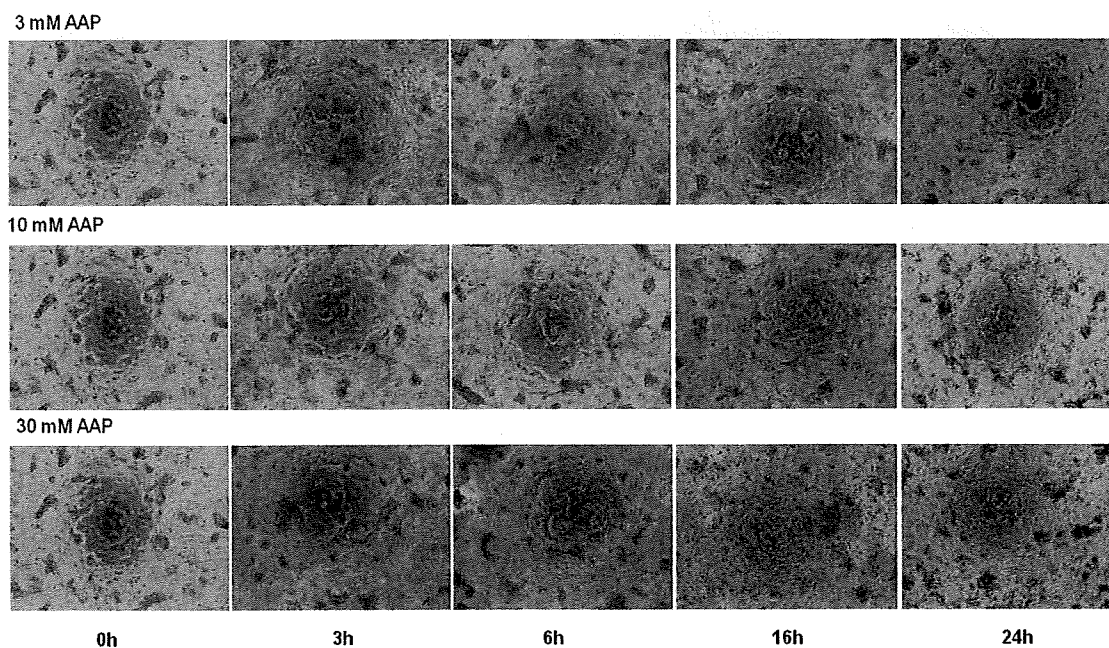


図 23. APAP 曝露時の HepaRG の細胞形態

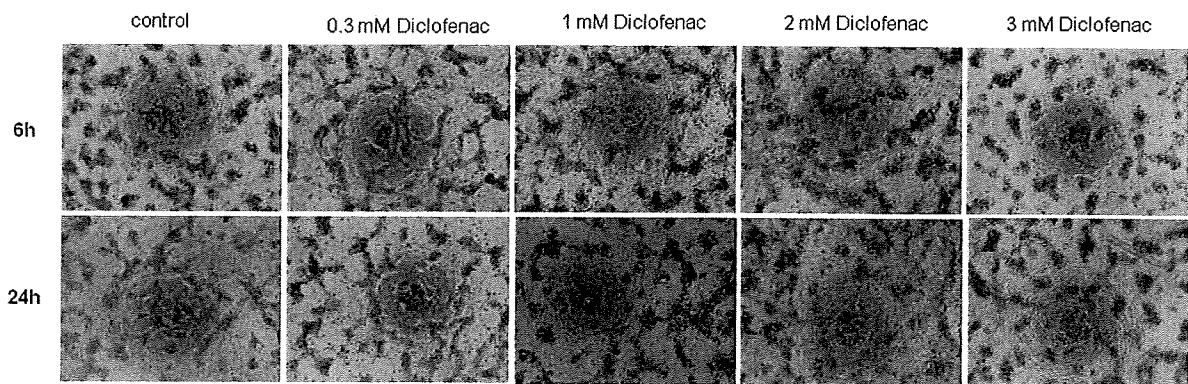


図 24. Diclofenac 曝露時の HepaRG の細胞形態

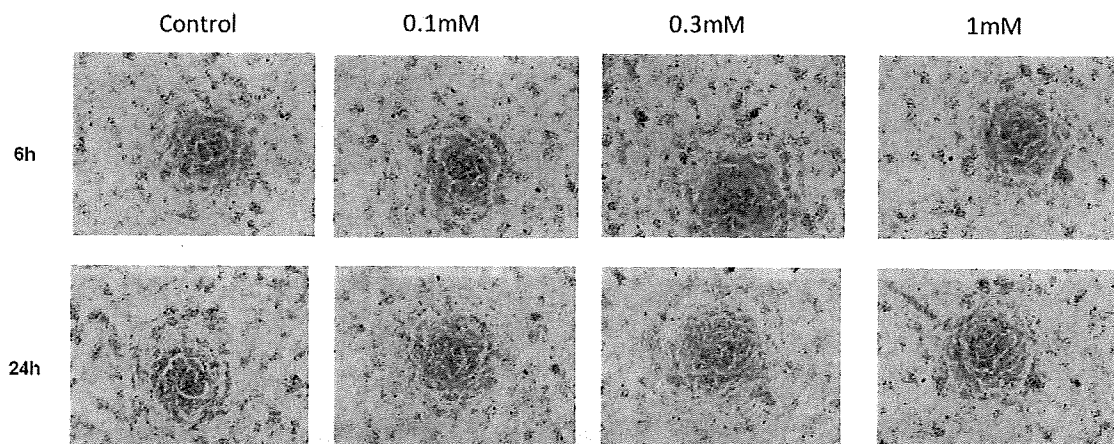


図 25. Metformin 曝露時の HepaRG の細胞形態

F. 研究発表

4918-4925, 2009.

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.

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.

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

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

登録

1. 曾我朋義, 「シースフロー方式のキャピラリー電気泳動一質量分析計法による陰イオン性化合物の測定装置」特許第4385171号、2009.

出願中

1. 曾我朋義, 杉本昌弘、末松誠、本間雅、山本武人、鈴木洋史「肝臓疾患マーカー、その測定方法、装置及び医薬品の検定方法」出願番号PCT/JP2009/069950.
2. 阿部高明、曾我朋義 「ヒトにおける新たな腎疾患マーカー物質」特願2009-205033.

3. 曾我朋義 「哺乳類の体内時刻の新
規なインジケーター、及びその利用」
特願2009-111602、2009.

2. 実用新案登録

ナシ

3. その他

ナシ

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

2009年度

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sugimoto, M., Hirayama, A., Ihiskawa, T., Baran, R., Robert, M., Uehara, K., Soga, T.	Differential Metabolomics Software for Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry Data Analysis	Metabolomics	6	27-41	2010
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
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
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
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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	2009
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
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.	20	2546-2555	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
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	1143,	2009
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,	1145-1149,	2009
曾我朋義	メタボローム測定装置の発明	発明 The Invention	Vol106 (11)	29-31	2009