

nectin gene expression during the in vitro mineralization of the human osteoblastic cell line SV-HFO. FEBS Lett., 373:1-4 (1995).

- 6) Clemmensen I, Petersen LC, Kluft C. Purification and characterization of a novel oligomeric, plasminogen kringle 4 binding protein from human plasma: tetranectin. Eur. J. Biochem., 156:327-333 (1986).
- 7) Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. J. Cell Sci., 121: 255-264 (2008).
- 8) Takada T, Katagiri T, Ifuku M, Morimura N, Kobayashi M, Hasegawa K, et al. Sulfated polysaccharides enhance the biological activities of bone morphogenetic proteins. J Biol Chem, 278:43229- 43235 (2003).
- 9) Barrowcliffe TW, Johnson EA, Thomas D. Antithrombin III and heparin. Br Med Bull, 34 (2) :143-150 (1978).
- 10) Yayon A, Klagsbrun M, Esko JD, Leder P, Ornitz DM. Cell surface, heparin-like molecules are required for binding of basic fibroblast growth factor to its high affinity receptor. Cell, 64 (4) :841-848 (1991).
- 11) Rappaport AC, Krufka A, Olwin BB. Requirement of heparan sulfate for bFGF-mediated fibroblast growth and myoblast differentiation. Science, 252 (5013) :1705-1708 (1991).
- 12) Yang R, Yan Z, Chen F, Hansson GK, Kiessling R. Hyaluronic acid and chondroitin sulphate rapidly promote differentiation of immature DC with upregulation of costimulatory and antigenpresenting molecules, and enhancement of NF- $\kappa$ B and protein kinase activity. Scand J Immunol, 55:2- 13 (2002).

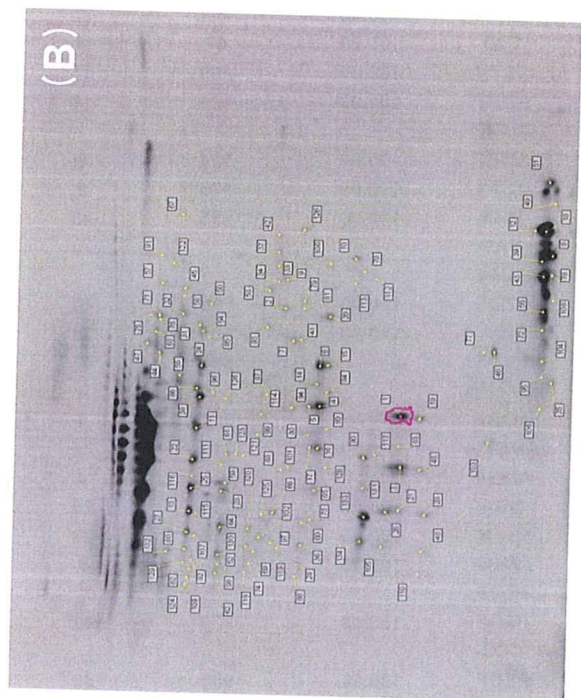
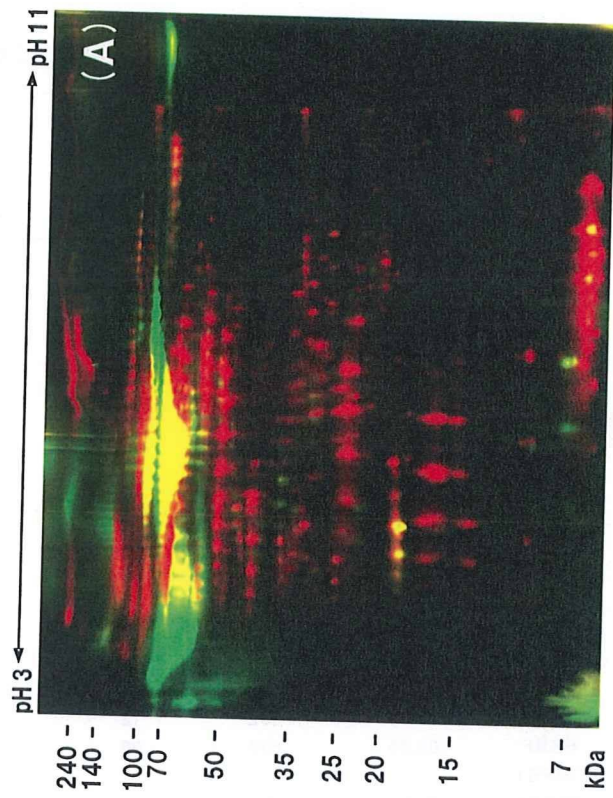


Fig.1 スルホン化プレート吸着蛋白質の二次元電気泳動解析結果. (A) DeCyder 解析結果. (B) ピッキングゲル

Table 1 二次元電気泳動により検出された候補蛋白質の同定結果 (1)

Decyder Master No	Protein ID	Av. Ratio	Well No	Protein Code	MALDI-MS/MS			LC-MS/MS		
					GPS		Mascot		Mascot	
					Total Ion Score	C.I. %	Score	Sequence Coverage %	Score	Sequence Coverage %
1923	1	52.0	G14	TETN	100.00	241	34			
1623	2	41.4	F9	FA9	100.00	67	4			
1927	3	31.8	H14	TETN	100.00	209	16			
1746	4	29.9	C12	AMBP	100.00	131	14			
1704	5	29.0	C11	AMBP				118	13	
1738	6	28.5	B12	AMBP	100.00	124	8			
1655	7	28.4	B10	TSP1	100.00	135	2			
2263	8	24.5	C17	HBA	100.00	225	43			
1630	9	22.0	G9	FA9				64	8	
1831	10	21.8	B13	HBA				92	21	
1219	11	21.2	D4	PEDF	100.00	899	40			
2170	12	21.1	A16	HBA	100.00	164	28			
1190	13	20.5	D3	PEDF		994	43			
1724	14	20.3	G11	AMBP				146	14	
1768	15	20.1	G12	AMBP	98.74	48	4			
1735	16	20.0	A12	AMBP	100.00	109	21			
1706	17	19.7	E11	AMBP	99.61	52	4			
2222	18	19.3	G16	HBA	100.00	210	28			
1958	19	18.9	A15	TETN	100.00	216	23			
1765	20	18.0	E12	AMBP	100.00	94	8			
1919	21	18.0	E14	PEDF				90	7	
1201	22	17.6	H3	PEDF	100.00	820	41			
1353	23	17.6	D6	CO3				82	4	
1236	24	17.5	A5	PEDF	100.00	908	43			
1196	25	17.3	F3	PEDF	100.00	909	41			

Table 1 二次元電気泳動により検出された候補蛋白質の同定結果 (2)

Decyder Master No	Protein ID	Av. Ratio	Well No	Protein Code	MALDI-MS/MS			LC-MS/MS		
					GPS		Mascot		Mascot	
					Total Ion Score	C.I. %	Score	Sequence Coverage %	Score	Sequence Coverage %
1902	26	15.5	D14	TETN	100.00	193	23			
1180	27	15.3	B3	PEDF	100.00	764	34			
1973	28	15.0	E15	TETN	100.00	106	10			
1680	29	14.5	E10	FA5	100.00	144	2			
1705	30	14.5	D11	AMBP				74	13	
1225	31	14.2	F4	APOH				113	8	
1147	32	14.2	E2	Not Assigned						
1584	33	14.0	A9	IBP2	100.00	167	12			
1597	34	13.9	C9	IBP2	100.00	135	21			
2279	35	13.7	D17	HBBF	100.00	407	61			
1689	36	13.6	A11	FA5	100.00	217	3			
1580	37	13.6	H8	IBP2	100.00	216	30			
1235	38	13.2	H4	PEDF	100.00	889	41			
2203	39	13.0	B16	HBBF	100.00	56	28			
1966	40	12.8	D15	TETN	100.00	110	10			
1678	41	12.8	D10	TSP1				190	7	
1577	42	12.5	F8	IBP2	100.00	102	12			
2214	43	12.1	D16	HBBF	100.00	619	69			
984	44	12.0	E1	CBPB1				62	4	
1149	45	11.3	G2	CBPB1	99.78	54	2			
2087	46	11.2	H15	G3P				154	14	
902	47	11.1	A1	ALBU	97.86	34	4			
1960	48	10.1	B15	TETN	100.00	128	10			
2289	49	9.8	F17	HBA	100.00	105	10			
1289	50	9.7	D5	FA5				149	4	

Table 1 二次元電気泳動により検出された候補蛋白質の同定結果 (3)

Decyder Master No	Protein ID	Av. Ratio	Well No	Protein Code	MALDI-MS/MS			LC-MS/MS		
					GPS		Mascot		Mascot	
					Total Ion Score	C.I. %	Score	Sequence Coverage %	Score	Sequence Coverage %
2251	51	9.7	B17	FABPL				146	45	
1336	52	9.6	H5	A1AT				103	17	
1555	53	9.4	E8	CO3	100.00	180	4			
1242	54	9.2	B5	PEDF	100.00	539	36			
1129	55	8.8	D2	ALBU	100.00	98	10			
2227	56	8.7	A17	HBBF	100.00	580	69			
985	57	8.5	F1	IPSP	100.00	53	20			
1148	58	8.5	F2	HBBF						
1367	59	8.2	F6	CO3	100.00	80	1	104	18	
1692	60	8.2	B11	APOE				149	22	
1377	61	7.9	G6	CO3				174	7	
1329	62	7.9	F5	ANT3				66	7	
963	63	7.4	C1	Not Assigned						
1345	64	7.3	B6	CO3				58	3	
1726	65	7.1	H11	AMBP	99.78	39	4			
1593	66	7.1	B9	CO1A1	100.00	155	5			
1122	67	6.9	C2	Not Assigned		0	7			
1616	68	6.8	E9	TSP1	100.00	133	3			
1514	69	6.4	F7	APOE	100.00	75	10			
1844	70	6.4	D13	BLVRB	100.00	87	20			
965	71	6.3	D1	CBPB1				54	4	
2218	72	6.0	F16	HBBF				252	48	
1713	73	5.9	F11	AMBP				103	13	
1482	74	5.9	D7	APOE	100.00	50	8			
923	75	5.9	B1	ALBU				423	44	

Table 1 二次元電気泳動により検出された候補蛋白質の同定結果 (4)

Decyder Master No	Protein ID	Av. Ratio	Well No	Protein Code	MALDI-MS/MS			LC-MS/MS		
					GPS		Mascot		Mascot	
					Total Ion Score	C.I. %	Score	Sequence Coverage %	Score	Sequence Coverage %
991	76	5.8	H1	IPSP	100.00	301	33			
2043	77	5.7	F15	TETN				58	12	
2286	78	5.7	E17	HBA	100.00	247	43			
1688	79	5.6	H10	CO1A2	100.00	225	4			
1176	80	5.6	A3	PEDF	100.00	571	37			
1683	81	5.6	F10	Not Assigned						
1204	82	5.5	A4	FA10						
1920	83	5.5	F14	TETN				119	15	
1776	84	5.4	A13	CO3	100.00	176	3	125	26	
1288	85	5.3	C5	PEDF						
1215	86	5.3	C4	APOH	100.00	89	24	1193	45	
1550	87	5.2	C8	FIBA				109	12	
1675	88	5.2	C10	FA5	96.53	44	1			
1767	89	5.1	F12	CO3				203	6	
1853	90	4.9	F13	APOA1	100.00	90	10			
986	91	4.8	G1	APOH				78	8	
1209	92	4.7	B4	FA10	99.72	48	4			
1552	93	4.6	D8	CO3	100.00	162	2			
1654	94	4.6	A10	TSP1	100.00	174	3			
2213	95	4.6	C16	HBBF	100.00	132	39			
1308	96	4.5	E5	PEDF	100.00	145	13			
1578	97	4.5	G8	CO1A1						
1334	98	4.4	G5	A1AT				141	3	
1515	99	4.3	G7	FIBA				118	14	
1772	100	4.3	H12	HBBF				154	13	
								155	40	

Table 1 二次元電気泳動により検出された候補蛋白質の同定結果 (5)

Decyder Master No	Protein ID	Av. Ratio	Well No	Protein Code	MALDI-MS/MS			LC-MS/MS	
					GPS	Mascot		Mascot	
					Total Ion Score C.I. %	Score	Sequence Coverage %	Score	Sequence Coverage %
1646	101	4.2	H9	TSP1	100.00	100	2		
1521	102	4.2	A8	APOE	100.00	153	17		
2069	103	4.2	G15	CASA1				48	5
2226	104	4.1	H16	HBBF	100.00	323	61		
1897	105	4.1	C14	TETN	100.00	145	20		
2217	106	4.1	E16	HBBF				262	62
1220	107	4.0	E4	PEDF	100.00	47	10		
1349	108	4.0	C6	PEDFN				323	28
2296	108	4.0	G17	HBA	100.00	117	21		
1193	109	4.0	E3	ANT3				258	36
1961	110	3.9	C15	TETN	99.89	54	10		
1338	111	3.9	A6	CO3	100.00	83	1		
1870	112	3.8	A14	FA10				47	2
1832	113	3.8	C13	HBBF				231	53
1518	114	3.7	H7	FIBAN				156	12
1229	115	3.7	G4	PEDF	99.98	106	20		
1197	116	3.6	G3	PEDF	100.00	102	10		
1883	117	3.6	B14	GPX3				159	27
1474	118	3.4	B7	APOE	100.00	88	21		
1605	119	3.2	D9	APOE				116	22
1483	120	3.0	E7	CO3	99.82	36	2		
1450	121	2.9	A7	ALBU				118	20
1071	122	2.9	B2	CAP1				141	18
1423	123	2.8	H6	Not Assigned					
1181	124	2.8	C3	PEDF				1243	45

Table 1 二次元電気泳動により検出された候補蛋白質の同定結果 (6)

Decyder Master No	Protein ID	Av. Ratio	Well No	Protein Code	MALDI-MS/MS			LC-MS/MS	
					GPS	Mascot		Mascot	
					Total Ion Score C.I. %	Score	Sequence Coverage %	Score	Sequence Coverage %
1528	125	2.7	B8	APOE	100.00	63	17		
1364	126	2.7	E6	ANT3				129	11
1684	126	2.5	G10	CO4	100.00	116	4		
1764	128	2.5	D12	CO3				66	3
1164	129	2.4	H2	PEDF	100.00	81	13		
1475	130	2.3	C7	CO3	100.00	59	2		
1857	131	2.1	G13	APOA1				445	58
1062	132	2.1	A2	IPSP	100.00	298	17		
1863	133	2.0	H13	APOA1	100.00	109	15		
1850	134	2.0	E13	APOA1	100.00	181	24		

Table 2 スルホン化プレート吸着蛋白質のショットガン定性解析結果 (1)

Protein code	pI	Serum		SO3H		Protein code	pI	Serum		SO3H	
		Score	Sequence coverage	Score	Sequence coverage			Score	Sequence coverage	Score	Sequence coverage
ALBU	5.82	9679	70	6952	63	SPP24	8.30			166	28
HBBF	6.51	570	64	2690	82	FA9	5.47			161	18
HBB	7.01			1867	45	TPIS	6.45			160	38
TETN	5.47	96	19	1085	50	IGF2	9.11			157	24
CO3	6.41	490	20	1059	41	FA5	5.53			146	4
A1AT	6.05	2093	43	1041	41	PPIA	8.34			142	50
TSP1	4.74	73	5	1037	28	ENOB	7.60			136	11
APOA1	5.71	486	62	720	71	KNG1	6.14	122	14	134	21
FETA	5.92	676	32	691	40	FETUA	5.26	1576	44	133	18
HBA	8.07	86	63	647	59	KNG2	6.09	118	13	122	18
CFAH	6.43			576	28	FABPL	7.77			109	44
APOH	8.53	69	6	553	24	G3P	8.50			107	11
IPSP	9.40	116	15	487	40	VTDB	5.36	244	14	106	7
PEDF	6.57	134	15	461	39	CO1A2	9.23			106	7
FIBA	6.73			378	26	BPT2	9.00	45	13	97	19
THRB	5.97	67	16	349	30	TIMP1	8.47			95	7
PLMN	7.68	55	9	319	33	TRFE	6.75	1472	52	94	16
IBP2	7.13			299	47	CYTC	9.24			94	22
FINC	5.59	46	4	274	10	PEBP1	6.96			88	25
AMBP	7.81	133	16	251	29	THBG	5.49	160	14	85	5
CO4	6.15	42	7	249	19	TAGL2	8.39			83	36
APOE	5.55	92	13	247	30	IBP4	7.10			81	34
ANT3	7.01	171	35	195	40	HRG	7.06			81	6
CO9	5.66			190	20	ACTB	5.29			80	31
CO7	6.90			174	16	CO1A1	5.60			79	3
ENOA	6.37			168	26	MGP	9.27			79	12

Table 2 スルホン化プレート吸着蛋白質のショットガン定性解析結果 (2)

Protein code	pI	Serum		SO3H		Protein code	pI	Serum		SO3H	
		Score	Sequence coverage	Score	Sequence coverage			Score	Sequence coverage	Score	Sequence coverage
COMP	4.21			79	20	MIA	7.66			46	7
C4BP	5.99			79	5	PROF1	8.46			46	11
PROS	5.29			77	11	CBPB1	6.38			44	6
ACTC	5.23			76	18	CBPA1	5.33			44	3
ACTS	5.23			76	18	FA12	7.66			44	7
INDC	6.29			75	22	VASP	8.78			43	9
B2MG	7.79			72	18	TSP2	4.64			43	2
F12AI	6.19	221	9	72	9	IBP1	6.33			43	20
LDHB	6.02			72	14	A1AG	5.62	254	43	42	19
GPX3	6.84			71	17	FABPE	7.57			42	10
GNPTG	6.08			69	4	CADH5	5.30			42	5
KCRM	6.63			61	12	IBP3	9.03			42	18
H2B1N	10.31			59	25	H4	11.36			42	14
A2AP	5.45	151	8	57	10	CX7A2	9.99			41	6
COF1	8.16			55	37	TGBR3	5.45			40	4
FETUB	5.59	271	21	54	15	PFD1	6.32			40	24
HABP2	6.32			53	13	HA10	5.35			40	7
CD14	5.37			53	9	HBE4	6.70			39	24
PRDX6	6.00			52	24	ENDP1	5.57	274	21		
ACTG	5.31			50	36	TRFL	8.69	265	10		
CLUS	5.73	120	11	49	6	TTHY	5.91	88	32		
LDH6B	8.91			48	13	ADIPO	5.46	82	15		
LDHA	8.12			48	12	MYG	6.90	64	23		
CETR	9.21			47	3	FMOD	5.57	51	7		
LYOX	8.49			47	5	CSH1	6.75	45	12		
PARK7	6.84			46	14						

Table 3 Progenesis LC-MS ソフトウェアを利用したスルホン化プレート  
吸着蛋白質の定量解析結果

Protein Code	Peptide Count	Confidence Score	Av. Ratio	Anova (p)	Protein Code	Peptide Count	Confidence Score	Av. Ratio	Anova (p)
VASP	2	58	451	3.87E-03	CO4	10	634	0.527	3.65E-02
FABPL	1	74	315	3.76E-02	ANT3	10	620	0.500	4.31E-03
IGF2	2	110	207	4.26E-04	FIBA	13	474	0.471	4.74E-03
TPIS	1	60	152	3.79E-03	TAGL2	4	188	0.456	2.71E-02
HBE4	3	104	51.7	3.32E-03	CO7	13	282	0.451	1.14E-02
HABP2	7	210	42.3	2.15E-02	FETA	24	1053	0.318	4.38E-02
TETN	12	1086	32.3	4.39E-06	F12AI	3	216	0.267	1.54E-03
HBA	13	909	22.1	4.50E-04	FA5	9	155	0.259	3.47E-02
FA9	5	261	21.1	7.23E-06	BPT2	2	77	0.247	3.29E-01
PEBP1	2	83	20.6	5.00E-02	VNN1	4	93	0.211	2.54E-03
PLMN	12	439	18.8	2.24E-03	ACTC	2	50	0.187	6.18E-01
APOH	14	1021	18.3	2.01E-04	APOE	7	180	0.156	2.38E-01
CO9	6	234	14.6	3.73E-04	THBG	6	319	0.153	1.39E-03
HBBF	18	1589	12.2	8.88E-05	ALBU	53	3857	0.141	7.32E-05
CO1A2	7	142	11.2	1.11E-04	IBP4	4	91	0.139	3.23E-04
PEDF	7	611	9.38	1.90E-04	A2MG	3	125	0.137	6.09E-03
LBP	3	118	8.85	6.64E-05	APOA1	13	561	0.130	4.36E-03
COMP	5	203	7.72	1.75E-04	COF1	4	98	0.124	6.78E-03
IPSP	10	595	5.77	1.74E-04	CLUS	4	103	0.113	6.14E-03
H2B1N	1	59	4.78	2.50E-02	A1AT	20	1727	0.111	1.28E-03
CO3	49	1685	4.58	1.86E-03	FETUA	14	1528	0.110	9.56E-03
B2MG	2	155	4.49	2.44E-04	TTHY	4	165	0.106	6.27E-04
ADIPO	2	104	3.16	5.51E-01	LUM	2	123	0.096	1.11E-02
KNG1	7	249	2.43	2.12E-01	FETUB	6	366	0.086	2.98E-05
IBP2	12	430	1.53	1.91E-01	VTDB	11	861	0.082	8.35E-04
TSP1	29	1454	1.27	3.53E-01	TGBR3	3	74	0.073	1.75E-03
TRFL	8	164	1.19	4.94E-01	TRFE	31	1918	0.068	1.66E-04
THRB	12	509	1.16	1.44E-01	ENDP1	16	914	0.056	4.58E-05
FINC	11	301	1.02	7.60E-01	A1AG	11	620	0.020	2.58E-04
CFAH	37	1494	1.00	3.94E-01	PROS	8	229	0.016	1.22E-03
FA10	4	95	0.963	7.05E-01	TSP2	3	72	0.015	3.50E-05
AMBP	10	354	0.802	1.51E-01	A2AP	4	146	0.007	1.87E-02

Table 4 スルホン化プレート上で培養したNHOst細胞内蛋白質の同定結果 (1)

Protein name	Protein code	1D-1 Score	1D-1 Coverage	1D-2 Score	1D-2 Coverage	2D 20nmM Score	2D 20nmM Coverage	2D 50nmM Score	2D 50nmM Coverage	2D 80nmM Score	2D 80nmM Coverage	2D 120nmM Score	2D 120nmM Coverage	2D 200nmM Score	2D 200nmM Coverage	2D 500nmM-1 Score	2D 500nmM-1 Coverage	2D 500nmM-2 Score	2D 500nmM-2 Coverage	2D 500nmM-3 Score	2D 500nmM-3 Coverage		
10 kDa heat shock protein	CH10	33.24	43.14	43.07	37.25	54.79	29.41					0.00	7.84										
3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Delta 5-4-isomerase type 1	3BHS1					23.47	1.88																
60 kDa heat shock protein	CH60	9.39	9.25	129.25	10.85	58.40	7.33	53.51	5.06														
Alkaline phosphatase	PPBT					28.03	2.10																
Anamorsin	CPIN1																						
Annexin A1	ANXA1	114.78	28.90	131.79	21.39	70.92	21.68	21.93	6.36	29.40	5.78									0.00	3.53		
Annexin A2	ANXA2	372.97	48.38	344.64	50.15	501.08	49.56	206.20	38.05	112.06	18.58												
Annexin A5	ANXA5	118.53	24.69	160.20	31.87	223.68	27.19	76.65	23.75	22.28	23.44	21.51	12.98			49.87	3.54						
Annexin A6	ANXA6	159.89	20.51	157.80	13.82	162.95	25.48	129.87	15.45	42.03	13.82	30.08	14.37			0.00	4.69	0.00	10.63				
Apoptosis-inducing factor 1	AIFM1	0.00	0.98											32.46	2.53								
Apoptosis-inducing factor 2	AIFM2																						
Apoptotic protease-activating factor 1	APAF	0.00	0.64		9.88			0.00	0.80														
AT-rich interactive domain-containing protein 1A	ARI1A																						
AT-rich interactive domain-containing protein 2	ARID2	0.00	1.25							0.00	0.79					0.00	0.53						
Autophagy-related protein 2 homolog A	ATG2A																						
Autophagy-related protein 3	ATG3A	23.26	8.28	38.67	8.28																		
Bile acid receptor	NRH4																						
Bone morphogenetic protein 1	BMP1	0.00	1.52		2.26																	0.00	1.03
Bone morphogenetic protein receptor type-1A	BMPRIA																						
Cadherin-11	CAD11							0.00	3.76														
Cadherin-17	CAD17					0.00	2.76			0.00	1.26												
Cadherin-8	CADH8									0.00	1.25												
Cadherin-like protein 28	CDH28	28.88	1.36	28.09	1.36	0.00	1.92																
Caldesmon	CALD1	26.93	4.79	0.00	2.52	0.00	2.14																
Calmodulin	CALM					30.73	11.41	39.99	2.27														
Cartilage-associated protein	CRTPAP	37.05	5.74	36.48	2.00	34.24	3.99	28.98	1.75														
Caspase-8	CASP8					0.00	2.51																
Catenin beta-1	CTNB1	34.79	1.02	36.27	1.02	33.36	2.30	28.64	1.02	50.73	1.02												
Catenin delta-1	CTND1			35.26	1.55	44.38	1.55	24.56	1.34														
CCAAT/enhancer-binding protein zeta	CEBPZ							0.00	1.90														
CD44 antigen	CD44	48.74	5.39			32.73	1.62																
CDK5 regulatory subunit-associated protein 2	CKSP2									0.00	0.32												
Cell division cycle 2-like protein kinase 5	CD2L5																						
Contactin-associated protein-like 2	CNTF2	0.00	0.90			0.00	0.90																
Contactin-associated protein-like 4	CNTF4	32.87	0.54			33.76	0.54	31.69	1.07														
Contactin-associated protein-like 5	CNTF5	22.68	1.15	0.00	1.76	0.00	0.38	28.17	1.30														
Dentin matrix protein 4	DMP4					0.00	1.05																
Discoidin domain-containing receptor 2	DDR2							0.00	1.05														
Drebrin	DREB1			31.88	1.39	35.93	1.85																
EH domain-containing protein 1	EHD1	0.00	1.69	29.44	3.37	43.54	3.75																
EH domain-containing protein 2	EHD2	48.37	7.55	48.46	8.66	35.71	4.24																
EH domain-containing protein 4	EHD4	0.00	3.51	28.59	3.51	43.54	1.66																
Endoglin	EGLN																						
Endoplasmic	ENPL	151.42	17.68	162.35	14.69	251.47	22.04	118.21	14.20	44.56	6.46	0.00	2.24									28.32	1.98











Table 5 スルホン化プレート上で培養したNH0st細胞内蛋白質の定量解析結果 (1)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
●			1.100	10 kDa heat shock protein	CH10	HSPE1	Heat shock protein
●			1.045	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/ Delta 5→4-isomerase type 1	3BHS1	HSD3B1	プロゲステロン産生に関与
●			1.445	60 kDa heat shock protein	CH60	HSPD1	Heat shock protein
		●	nd	Alkaline phosphatase	PPBT	ALPL	アルカリ性ホスファターゼ
		●	nd	Anamorsin	CPIN1	CIAPIN1	アポトーシス抑制(発現:成長ホルモン依存)
●			1.072	Annexin A1	ANXA1	ANXA1	ハイドロキシアパタイト形成時、bone matrix vesicle への Ca <sup>2+</sup> 取り込みと同 vesicle の endocytosis に関与
●			1.485	Annexin A2	ANXA2	ANXA2	
●			1.092	Annexin A5	ANXA5	ANXA5	
●			1.114	Annexin A6	ANXA6	ANXA6	
		●	nd	Apoptosis-inducing factor 1	AIFM1	AIFM1	アポトーシス誘導
		●	nd	Apoptosis-inducing factor 2	AIFM2	AIFM2	アポトーシス誘導(発現:p53 依存)
		●	nd	Apoptotic protease-activating factor 1	APAF	APAF1	アポトーシス誘導
		●	nd	AT-rich interactive domain-containing protein 1A	ARI1A	ARID1A	Glucocorticoid receptor-dependent transcriptional activation を刺激
		●	nd	AT-rich interactive domain-containing protein 2	ARID2	ARID2	核レセプターによる ligand-dependent transcriptional activation に関与
		●	nd	Autophagy-related protein 2 homolog A	ATG2A	ATG2A	Cell growth, development, homeostasis, programmed cell death, 感染予防に関与
	●		nd	Autophagy-related protein 3	ATG3	ATG3	
		●	nd	Bile acid receptor	NR1H4	NR1H4	ステロイドレセプター(エストロゲン、プロゲステロン)と類似機能を持つホルモンレセプター
		●	nd	Bone morphogenetic protein 1	BMP1	BMP1	BMP
		●	nd	Bone morphogenetic protein receptor type-1A	BMP1A	BMP1A	BMP レセプター
		●	0.821	Cadherin-11	CAD11	CDH11	Calcium-dependent cell-cell adhesion、骨形成、骨メンテナンスに関与(分化過程において発現増強)
		●	0.854	Cadherin-17	CAD17	CDH17	
		●	nd	Cadherin-8	CADH8	CDH8	
	●		1.130	Cadherin-like protein 28	CDH28	CDH28	

Table 5 スルホン化プレート上で培養したNH0st細胞内蛋白質の定量解析結果 (2)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
●			1.596	Caldesmon	CALD1	CALD1	Calmodulin- and actin-binding protein
	●		nd	Calmodulin	CALM	CALM1	Ca センサーであり、炎症、代謝、アポトーシスなどに関与
		●	1.189	Cartilage-associated protein	CRTAP	CRTAP	骨形成に関与
		●	nd	Caspase-8	CASP8	CASP8	Fas 蛋白質誘導性アポトーシスに関与
		●	nd	Catenin beta-1	CTNB1	CTNBN1	Wnt/TCF pathway における制御因子
●			1.379	Catenin delta-1	CTND1	CTNND1	Cadherin の機能と制御に関与(NF-kB transcription factor の制御因子)
		●	nd	CCAAT/enhancer-binding protein zeta	CEBPZ	CEBPZ	p53 及び p73 (DNA repair, cell cycle, apoptosis induction) に関与
●			1.054	CD44 antigen	CD44	CD44	ヒアルロン酸レセプターであり、オステオニン、コラーゲンとも相互作用する(beta-catenin/Wnt signaling pathway により活性化)
		●	nd	CDK5 regulatory subunit-associated protein 2	CK5P2	CDK5RAP2	神経分化制御
		●	nd	Cell division cycle 2-like protein kinase 5	CD2L5	CDC2L5	Cell cycle 制御スイッチ(cyclin-dependent serine/threonine protein kinase family)
		●	nd	Contactin-associated protein-like 2	CNTP2	CNTNAP2	細胞接着分子・レセプターとして神経システムで機能(EGF repeat domain を持つ)
		●	nd	Contactin-associated protein-like 4	CNTP4	CNTNAP4	
		●	nd	Contactin-associated protein-like 5	CNTP5	CNTNAP5	
		●	nd	Dentin matrix protein 4	DMP4	FAM20C	MSC から 歯髄細胞への分化に関与(dentin mineralization 制御)
		●	nd	Discoidin domain-containing receptor 2	DDR2	DDR2	増殖、分化、代謝に関与(tyrosine kinase receptor)
	●		nd	Drebrin	DREB1	DBN1	神経増殖に関与
●			nd	EH domain-containing protein 1	EHD1	EHD1	IGF1 レセプターと相関性があり、IGF1 の取り込みに関与
●			0.957	EH domain-containing protein 2	EHD2	EHD2	
		●	nd	EH domain-containing protein 4	EHD4	EHD4	
		●	nd	Endoglin	EGLN	ENG	TGF-β 1 レセプター複合体の一部を形成(TGF-β 1, TGF-β 3, activin-A, BMP-2, BMP-7 protein binding)
●			1.753	Endoplasmic	ENPL	HSP90B1	Heat shock protein
●		●	1.872	Exportin-1	XPO1	XPO1	細胞プロセス制御(MPAK, MAPKAP kinase 2 局在制御)
		●	1.574	Exportin-2	XPO2	CSE1L	
●			nd	Exportin-5	XPO5	XPO5	
		●	1.153	Exportin-7	XPO7	XPO7	IL2 発現に必要な転写因子である Interleukin enhancer-binding factor 3 (NFAT, nuclear factor of activated T-cells) に相関

Table 5 スルホン化プレート上で培養した NH0st 細胞内蛋白質の定量解析結果 (3)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
●			0.983	Far upstream element-binding protein 1	FUBP1	FUBP1	細胞プロセス(増殖、分化、転写制御、形成)に関与する MAPK14(Mitogen-activated protein kinase 14:MAP kinase であり環境ストレスや炎症性サイトカインにより活性化)と相関性
		●	nd	Far upstream element-binding protein 2	FUBP2	KHSRP	
●			1.082	Fascin	FSCN1	FSCN1	神経成長因子レセプターと相関
●			nd	Fibronectin	FN1	FN1	細胞接着、増殖、遊走、分化に関与
●			0.738	Fibronectin type III domain-containing protein 3B	FND3B	FND3B	
		●	nd	FL cytokine receptor	FLT3	FLT3	細胞の生存、増殖、分化に関与(CD135:cytokine receptor [tyrosine kinase type III receptor])
●			1.036	Follistatin-related protein 1	FSTL1	FSTL1	TGF-β superfamily(卵巣刺激ホルモン抑制蛋白質:エストロゲン誘導)である Follistatin 様蛋白質
		●	nd	Forkhead box protein I1	FOXI1	FOXI1	細胞増殖、分化、伸展に関与する転写因子
		●	nd	Forkhead box protein I2	FOXI2	FOXI2	
●			1.293	G2/mitotic-specific cyclin-B3	CCNB3	CCNB3	TGF-β 結合性を持つ、G2/M phase の Mitosis 制御因子(TGF-β 誘導性細胞サイクル制御に関与)
●			1.184	Galectin-1	LEG1	LGALS1	細胞増殖を制御する autocrine negative growth factor として作用
	●		nd	Galectin-3	LEG3	LGALS3	
		●	nd	Gamma-interferon-inducible protein Ii-16	IFI16	IFI16	p53 機能制御、Ras/Raf signaling pathway における細胞増殖を阻害
		●	1.464	Gelsolin	GELS	GSN	アポトーシス抑制
		●	nd	Glia maturation factor beta	GMFB	GMFB	神経成長因子
		●	nd	Glia-activating factor	FGF9	FGF9	FGF9
		●	nd	Group IIE secretory phospholipase A2	PA2GE	PLA2G2E	炎症反応制御因子(PLA2 は bFGF、INF-α、INF-γレセプターへのリガンド結合を介して、MAPK によってリン酸化されて活性体となる)
●			nd	Growth factor receptor-bound protein 2	GRB2	GRB2	トランスフォーメーションと増殖を抑制(EGF receptor tyrosine kinase と結合し、Ras 関連 kinase を活性化)
		●	nd	Growth hormone receptor	GHR	GHR	成長ホルモンレセプター
		●	nd	Heat shock 70 kDa protein 4	HSP74	HSPA4	Heat shock protein
		●	nd	Heat shock 70 kDa protein 4L	HS74L	HSPA4L	Heat shock protein

Table 5 スルホン化プレート上で培養した NH0st 細胞内蛋白質の定量解析結果 (4)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
●			0.925	Heat shock cognate 71 kDa protein	HSP7C	HSPA8	Heat shock protein
		●	0.946	Heat shock protein 75 kDa	TRAP1	TRAP1	Heat shock protein
●			0.857	Heat shock protein beta-1	HSPB1	HSPB1	Heat shock protein
●			0.927	Heat shock protein HSP 90-alpha	HS90A	HSP90AA1	Heat shock protein(TGF-β receptor 1 及び 2、glucocorticoid receptor、estrogen receptor alpha、p53 などと相関)
●			0.884	Heat shock protein HSP 90-beta	HS90B	HSP90AB1	Heat shock protein
		●	nd	Homeodomain-interacting protein kinase 2	HIPK2	HIPK2	Homeodomain transcription factor に関与する Serine/threonine nuclear kinase (p53 などと相関)
	●		nd	Hsp70-binding protein 1	HPBP1	HSPBP1	Heat shock protein
		●	0.748	Hsp90 co-chaperone Cdc37	CDC37	CDC37	Heat shock protein
		●	nd	Hyaluronidase-2	HYAL2	HYAL2	細胞外マトリクスであり、細胞増殖、遊走、分化に関与する hyaluronan の分解酵素
●			nd	Hypoxia up-regulated protein 1	HYOU1	HYOU1	Heat shock protein 70 family(HYOU1 発現抑制はアポトーシスを加速する)
●			nd	Inorganic pyrophosphatase	IPYR	PPA1	Pyrophosphate 分解酵素(脂質合成、トランスフォーメーションに関与)
		●	nd	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1	ITPR1	ITPR1	Ca <sup>2+</sup> チャンネル(細胞増殖やその他の細胞反応に関与する Inositol trisphosphate のレセプター)
		●	nd	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 3	ITPR3	ITPR3	
●			0.986	Integral membrane protein GPR177	GP177	GPR177	Wnt 蛋白質のレセプター
●			nd	Integrin alpha-3	ITA3	ITGA3	増殖、分裂、生存性、分化、アポトーシスの細胞内シグナル伝達に関与する細胞外マトリクス
●			1.193	Integrin alpha-5	ITA5	ITGA5	
		●	nd	Integrin alpha-D	ITAD	ITGAD	
●			1.565	Integrin beta-1	ITB1	ITGB1	
●			0.601	Integrin beta-2	ITB2	ITGB2	
●			0.799	Integrin-linked protein kinase	ILK	ILK	細胞遊走、増殖、接着、シグナル伝達に関与
		●	nd	Interferon gamma	IFNG	IFNG	INF-γ (抗腫瘍活性、マクロファージ活性化、免疫応答調節、細胞増殖抑制等)

Table 5 スルホン化プレート上で培養した NHOst 細胞内蛋白質の定量解析結果 (5)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
		●	nd	Interferon regulatory factor 4	IRF4	IRF4	STAT6(転写活性因子・IL-4の抗アポトーシス機能を司るBCL2L1/BCL-X(L)発現を誘導するなど、IL4生体反応に関与)などと相関
		●	nd	Interferon regulatory factor 6	IRF6	IRF6	
		●	nd	Interferon- $\alpha$ /beta receptor beta chain	INAR2	IFNAR2	
	●		nd	Interferon-induced guanylate-binding protein 2	GBP2	GBP2	
	●		nd	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3	IFIT3	IFIT3	
		●	nd	Interleukin-6 receptor subunit beta	IL6RB	IL6ST	IL-6レセプター
		●	nd	Interleukin-7	IL7	IL7	IL-7(hematopoietic growth factor)
		●	nd	LAG1 longevity assurance homolog 1	LASS1	LASS1	BMP and TGF- $\beta$ family(細胞増殖・分化を制御)
		●	nd	Low-density lipoprotein receptor-related protein 5	LRP5	LRP5	Axin-1(beta-cateninと相互作用するWnt signaling pathway 抑制因子)と相関
●			1.352	Macrophage migration inhibitory factor	MIF	MIF	Glucocorticoidの抗炎症作用を抑制
		●	1.050	MAP kinase-activated protein kinase 5	MAPK5	MAPKAPK5	Serine/threonine kinase family(細胞ストレス、炎症性サイトカインに反応)
		●	nd	Mdm2-binding protein	MTBP	MTBP	p53 抑制因子
	●		nd	Membrane-associated progesterone receptor component 1	PGRC1	PGRMC1	プロゲステロンレセプター(アポトーシスに関与)
		●	1.027	Misshapen-like kinase 1	MINK1	MINK1	Serine/threonine kinase family(JNK & p38 pathwayを活性化)(p38: mitogen-activated protein kinase)
		●	nd	Mitogen-activated protein kinase 10	MK10	MAPK10	MAP kinase family(細胞増殖、分化、転写調節などに関与)
		●	nd	Mitogen-activated protein kinase 13	MK13	MAPK13	
		●	nd	Mitogen-activated protein kinase 8	MK08	MAPK8	
		●	nd	Mitogen-activated protein kinase 15	M3K15	MAP3K15	
		●	nd	Mitogen-activated protein kinase 4	M4K4	MAP4K4	
		●	nd	Mitogen-activated protein kinase-binding protein 1	MABP1	MAPKBP1	
		●	nd	Modulator of apoptosis 1	MOAP1	MOAP1	カスパーゼ依存的アポトーシス誘導(Bcl-2 homology 3 (BH3)-like motifを持つBAX 関連蛋白質)
		●	nd	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3	NALP3	NLRP3	Apoptosis-associated speck-like protein (CARD)と相関(NF- $\kappa$ B signaling pathwayを活性化し、炎症反応とアポトーシスに関与)
	●		nd	Nardilysin	NRDC	NRD1	EGF-like growth factorと相関

Table 5 スルホン化プレート上で培養した NHOst 細胞内蛋白質の定量解析結果 (6)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
		●	nd	Neogenin	NEO1	NEO1	PTK2 protein tyrosine kinase 2と相関(細胞接着に関連)
●			0.952	Neuroblast differentiation-associated protein AHNK	AHNK	AHNK	p53と相関性を持つS100 calcium binding protein Bと関連(細胞サイクル進行、分化などに関与)
		●	nd	NF- $\kappa$ B-activating protein	NKAP	NKAP	NF- $\kappa$ B signaling pathway 活性因子(炎症反応、アポトーシスなどに関与)
		●	nd	Optineurin	OPTN	OPTN	TNF- $\alpha$ , Fas ligand pathwayと関連(炎症反応、アポトーシスなどに関与)
		●	nd	Pericentrin	PCNT	PCNT	細胞サイクル進行などに関与
●			nd	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	PEBP1	PEBP1	MAP kinase (MAP2K1, MAPK1)と相関
		●	nd	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 2	AT2B2	ATP2B2	細胞内Ca <sup>2+</sup> homeostasisを制御
		●	1.318	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	AT2B4	ATP2B4	
		●	nd	Polycystin-2	PKD2	PKD2	Cell-cell/matrix interactionに関与(細胞内Ca <sup>2+</sup> homeostasisを制御)
●			0.961	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2	PLOD2	PLOD2	コラーゲン形成とその安定化に必須
		●	nd	Programmed cell death 6-interacting protein	PDC6I	PDC6IP	T cell receptor-, Fas-, and glucocorticoid-induced programmed cell deathに関与
●			nd	Programmed cell death protein 6	PDCD6	PDCD6	
●			nd	Prohibitin	PHB	PHB	細胞増殖に関与(p53, Annexin 2と相関)
●			0.983	Prohibitin-2	PHB2	PHB2	
		●	nd	Prolactin receptor	PRLR	PRLR	サイトカインレセプターであり、JAK-STAT signaling pathwayを活性化
		●	0.565	Proliferation-associated protein 2G4	PA2G4	PA2G4	細胞増殖抑制、分化誘導
●			1.023	Prolyl 3-hydroxylase 1	P3H1	LEPRE1	Leprecan(osteogenesis imperfecta type VIIIに関与)
●			1.040	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-2	P4HA2	P4HA2	コラーゲン合成の必須酵素
		●	nd	Protein GIP2A	GIP2A	KIAA1524	細胞増殖抑制(Cellular tumor suppressor)
		●	nd	Protein kinase C epsilon type	KPCE	PRKCE	Protein kinase(apoptosis, cardioprotection, heat shock response, insulin exocytosisに関与)
●			0.671	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2	TGM2	TGM2	アポトーシス、細胞分化、マトリクス安定化に関与
	●		nd	Proteoglycan 4	PRG4	PRG4	軟骨細胞が産生する細胞外マトリクス
		●	nd	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase ROS	ROS	ROS1	Tyrosine kinase insulin receptor subfamilyであり、細胞増殖、分化因子レセプターとして機能
		●	nd	Putative Ras-related protein Rab-12	RAB12	RAB12	Ras = cellular signal transductionに関与するsmall GTPasesであり、細胞増殖、分化、生存に関与
		●	nd	Putative Ras-related protein Rab-1C	RAB1C	RAB1C	

Table 5 スルホン化プレート上で培養した NH0st 細胞内蛋白質の定量解析結果 (7)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
●		●	nd	Ras and Rab interactor 1	RIN1	RIN1	Growth factor 応答性を持つ HRAS と相関
			0.677	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1	IQGA1	IQGAP1	Calmodulin 1, S100B と相関
	●		nd	Ras suppressor protein 1	RSU1	RSU1	Ras signal transduction pathway、増殖抑制、神経増殖因子依存性分化過程に関与
●		●	nd	Ras-like protein family member 10A	RSLAA	RASL10A	
●			1.074	Ras-related protein Rab-10	RAB10	RAB10	
			nd	Ras-related protein Rab-11B	RB11B	RAB11B	
		●	nd	Ras-related protein Rab-15	RAB15	RAB15	
		●	0.999	Ras-related protein Rab-2A	RAB2A	RAB2A	
		●	nd	Ras-related protein Rab-3A	RAB3A	RAB3A	
		●	nd	Ras-related protein Rab-4A	RAB4A	RAB4A	
●			0.660	Ras-related protein Rab-5A	RAB5A	RAB5A	
●			nd	Ras-related protein Rab-7a	RAB7A	RAB7A	
	●		1.013	Ras-related protein Ral-A	RALA	RALA	
●			1.135	Ras-related protein Rap-1A	RAP1A	RAP1A	
		●	nd	Ras-specific guanine nucleotide-releasing factor 1	RGRF1	RASGRF1	IGF-1 signaling に影響される Ras 活性を増加
		●	nd	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta	PTPRD	PTPRD	細胞増殖、分化、分裂サイクルなどに関与
		●	nd	RUN and FYVE domain-containing protein 1	RUFY1	RUFY1	BMX (tyrosine kinase) と相関
●			nd	Septin-11	SEP11	SEPT11	Septin = 細胞分裂、細胞サイクルに関与
●			1.174	Septin-2	SEPT2	SEPT2	
		●	nd	Septin-7	SEPT7	SEPT7	
●			1.415	Septin-9	SEPT9	SEPT9	
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase ATR	ATR	ATR	
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase haspin	HASP	GSG2	
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase MARK1	MARK1	MARK1	
●			2.024	Serine/threonine-protein kinase Nek10	NEK10	NEK10	
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase Nek11	NEK11	NEK11	
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase PAK 1	PAK1	PAK1	
●			1.045	Serine/threonine-protein kinase SMG1	SMG1	SMG1	
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase tousled-like 1	TLK1	TLK1	

Table 5 スルホン化プレート上で培養した NH0st 細胞内蛋白質の定量解析結果 (8)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function	
<1%	1-5%	>5%						
		●	nd	Serine/threonine-protein kinase WNK3	WNK3	WNK3	細胞増殖・分裂抑制	
		●	0.827	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 56 kDa regulatory subunit delta isoform	2A5D	PPP2R5D		
	●		nd	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 56 kDa regulatory subunit gamma isoform	2A5G	PPP2R5C		
●			1.010	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	2AAA	PPP2R1A		
		●	nd	Serine/threonine-protein phosphatase 2A regulatory subunit B' subunit alpha	P2R3A	PPP2R3A		
		●	nd	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	PP2BA	PPP3CA		T cell activator (IL-2 産生誘導)
	●		2.011	Serine/threonine-protein phosphatase 6 regulatory subunit 3	SAPS3	SAPS3		
	●		0.888	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit	PP1G	PPP1CC		
●		●	nd	Serine-protein kinase ATM	ATM	ATM		
		●	nd	Serine-threonine kinase receptor-associated protein	STRAP	STRAP		TGF-β レセプター 1,2 と相関
		●	nd	Signal recognition particle 14 kDa protein	SRP14	SRP14	SRP = Ribosome-mRNA-polypeptide complex 関連蛋白質 (SRP レセプター = Ras 関連蛋白質)	
●		●	nd	Signal recognition particle 68 kDa protein	SRP68	SRP68		
		●	nd	Signal recognition particle 9 kDa protein	SRP09	SRP9		
		●	nd	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	STAT1	STAT1	STAT family 転写因子 (Signal Transducers & Activators: Type I, II IFN により活性化)	
		●	nd	Signal transducer and activator of transcription 5B	STA5B	STAT5B	STAT family 転写因子 (IL-1, IL-4, CSF1, 成長ホルモンの signal transduction を仲介)	
		●	nd	Son of sevenless homolog 2	SOS2	SOS2	Ras-GTPase	
	●		nd	Sorting nexin-1	SNX1	SNX1	EGFレセプターの発現調整	
		●	nd	Sorting nexin-9	SNX9	SNX9	活性型 Cdc42-associated kinase-2 と相互作用して、EGFレセプターを分解	
		●	nd	Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase	CP17A	CYP17A1	プロゲステロン、プレグネノロンに基づいて作用する P450 酵素	
●			1.504	Stress-70 protein	GRP75	HSPA9	Heat shock protein(p53, FGF1 と相互作用し、細胞増殖を制御)	



Table 5 スルホン化プレート上で培養したNH0st細胞内蛋白質の定量解析結果 (9)

Peptide confidence			TMT 127/126 ratio	Protein name	Protein code	Gene symbol	Protein function
<1%	1-5%	>5%					
●			0.817	Stress-induced-phosphoprotein 1	STIP1	STIP1	Heat shock protein (Hsp70/Hsp90 結合蛋白質)
●			1.458	Talin-1	TLN1	TLN1	細胞外マトリクスと親和性を持つ(インテグリンと相関し、細胞接着、cell-cell contact に関与)
		●	nd	Talin-2	TLN2	TLN2	
	●		nd	Tenascin-N	TENN	TNN	骨及び関節形成に関与する細胞外マトリクス(EGF-like repeat と Fibronectin-III ドメインを持つ)
		●	nd	TNF receptor-associated factor 4	TRAF4	TRAF4	Neurotrophin receptor (NTR) - induced cell death、NF- $\kappa$ B 活性化を抑制 (MAPK8/JNK 酸化的活性化)
●			nd	Transforming growth factor beta-1-induced transcript 1 protein	TGFI1	TGFB11	細胞プロセスに関与する tyrosine kinase (PTPN1、PTK2) と相関
●			nd	Transforming protein RhoA	RHOA	RHOA	細胞分裂制御 (Ras family small GTPase protein)
●			1.452	Transgelin	TAGL	TAGLN	トランスフォーメーションマーカーの 1 種
●			1.564	Transgelin-2	TAGL2	TAGLN2	
	●		nd	Treacle protein	TCOF	TCOF1	骨形成の初期段階に関与
●			1.121	Triosephosphate isomerase	TPIS	TPI1	Toriose-phosphate と親和性(リン酸源の確保に関与する可能性)
		●	nd	Tumor necrosis factor ligand superfamily member 6	TNFL6	FASLG	TNF family の Fas リガンド(アポトーシス誘導)
		●	nd	Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 8-like protein 3	TP8L3	TNFAIP8L3	
		●	nd	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 13	PTN13	PTPN13	細胞サイクルに関与 (Protein tyrosine phosphatase family)
●	●		1.236	Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	VDAC1	VDAC1	アポトーシスに関与 (BCL2-like 1、Gelsolin と相関)
			1.374	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	VDAC2	VDAC2	
		●	nd	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	VDAC3	VDAC3	
		●	nd	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1D	CAC1D	CACNA1D	骨芽細胞、骨細胞などに存在する Ca <sup>2+</sup> チャンネル
		●	nd	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha-1I	CAC1I	CACNA1I	
		●	nd	X-linked interleukin-1 receptor accessory protein-like 1	IRPL1	IL1RAPL1	IL-1 receptor family

nd, These proteins were not detected in the combined CID and HCD MS/MS analysis.

**Table 6 スルホン化プレート上で培養したNH0stの遺伝子発現と細胞内蛋白質発現の相関性**

Gene symbol	Control vs Sample (S/C ratio)				Protein name
	2 hr	4 hr	8 hr	1 day	
AIFM2		1.123	0.500	1.075	Apoptosis-inducing factor 2
ALPL	1.142	1.082	1.692	2.106	Alkaline phosphatase
ARID2	0.657	0.823	1.242	2.029	AT-rich interactive domain-containing protein 2
ATG2A	1.161	1.352	2.060	1.005	Autophagy-related protein 2 homolog A
BMP1	1.020	1.119	1.453	2.197	Bone morphogenetic protein 1
	1.100	1.134	1.683	2.202	
CALD1	3.942	1.160		0.598	Caldesmon
	1.765	0.884	2.117	1.523	
	1.572	1.673	2.253	1.990	
	1.171	1.467	2.999	2.561	
	2.771	1.368	2.713	1.300	
	1.027	1.162	2.477	2.121	
CDH11	1.114	1.252	1.444	2.592	Cadherin-11
	1.237	1.141	1.258	2.318	
	1.171	1.092	1.274	2.070	
CSE1L	0.975	1.165	1.029	0.427	Exportin-2
	1.032	1.126	1.095	0.458	
	1.000	1.082	1.048	0.357	
EHD2	1.116	1.263	1.645	2.183	EH domain-containing protein 2
FN1	1.468	1.763	2.358	0.809	Fibronectin
FNDC3B	0.674	0.956	2.213	1.551	Fibronectin type III domain-containing protein 3B
FSTL1	0.435				Follistatin-related protein 1
GBP2	1.263	0.895		4.285	Interferon-induced guanylate-binding protein 2
		1.407	3.342	6.239	
GSG2	0.935	1.461	0.845	0.299	Serine/threonine-protein kinase haspin
HSP90AA1	1.059	1.021	0.972	0.429	Heat shock protein HSP 90-alpha
HSP90B1		2.108	0.898		Heat shock protein HSP 90-beta
HSPA4L	0.864	1.300	2.283	1.458	Heat shock 70 kDa protein 4L
IRF6				3.583	Interferon regulatory factor 6
ITPR3	1.153	1.259	0.805	2.111	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 3
KIAA1524	0.961	0.767	1.327	0.420	Protein CIP2A
	1.102	1.127	1.156	0.259	
MAPK8	1.124	0.731	2.310	0.909	Mitogen-activated protein kinase 8
NEK11	0.842	1.250	3.499	1.344	Serine/threonine-protein kinase Nek11
NRD1	0.974	2.140	1.601	1.173	Nardilysin
OPTN	1.050	1.275	1.380	2.408	Optineurin
PA2G4	1.064	1.198	1.208	0.445	Proliferation-associated protein 2G4
PDCD6	0.893	1.272	1.064	0.395	Programmed cell death protein 6
	1.212	1.421	2.809		
PHB	1.028	1.056	0.873	0.496	Prohibitin
PPP2R5C			2.399	1.086	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 56 kDa regulatory subunit gamma isoform
PRG4	0.978	1.046	2.100	1.879	Proteoglycan 4
PTPRD	0.813	1.138	2.091	1.313	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta
RAB11B				2.173	Ras-related protein Rab-11B
RAB15	0.705	1.014	1.099	3.240	Ras-related protein Rab-15
RAB7A	0.845	1.090	0.417	0.702	Ras-related protein Rab-7a
SEPT2	1.369	1.512	3.062	2.112	Septin-2
'SEPT9	0.992	1.804	2.011	1.133	Septin-9
SNX1	1.005	1.346	2.205	1.546	Sorting nexin-1
STIP1	1.026	1.097	1.030	0.471	Stress-induced-phosphoprotein 1
TLK1	1.385	1.450	2.470	0.877	Serine/threonine-protein kinase tousled-like 1

## 2. ナノマテリアルの遺伝毒性のリスク アセスメント手法開発

松岡 厚子

## ナノマテリアルの遺伝毒性を指標とするリスクアセスメント手法開発

研究分担者：松岡厚子 国立医薬品食品衛生研究所療薬部部長

研究協力者：松田良枝 国立医薬品食品衛生研究所療薬部

Agneta Önfelt ストックホルム大学環境化学部准研究員

広瀬明彦 国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室室長

田中 勲 清水建設株式会社高度空間技術センター

### 研究要旨

本最終年度には、カーボン系ナノマテリアル（カーボンナノホーン及び3種のカーボンナノチューブ）を選択し、細胞毒性試験、染色体異常試験、および粒度分布測定を並行して行った。

カーボンナノホーンの分散液調製時に、疎水性の材料を円滑に培地に回収するために DMSO が有効であることを見いだした。また、昨年度のサイズ標準ポリスチレン粒子を用いた実験で、0.92-4.45  $\mu\text{m}$  の粒子が特に強い細胞毒性を示したことから、測定した粒子径分布の約 1-5  $\mu\text{m}$  までの粒子の存在比と細胞毒性の強さの関連に着目して検討した。その結果、両者に相関が認められたが、例数が少ないため今後もデータを蓄積する必要がある。ナノマテリアルの細胞内への取り込みについて、蛍光標識されていない材料の場合、共焦点顕微鏡を用いて微分干渉像と蛍光像の重ね合わせによって確認できることを、カーボンナノホーンを用いて示した。

カーボンナノチューブについて、繊維状の形態をもつものは染色体の数的異常を誘発し、特殊な処理により糸玉状に形態を変えたものは数的異常を誘発しなかった。

最後に、ナノマテリアルの *in vitro* 安全性評価試験一般についての提言をまとめた。

### A. 研究目的

技術の発展に伴い、我々の身の回りで使用されることが多くなるナノマテリアル (NM) の *in vitro* 安全性評価法の開発を目指して、平成 19 年度より本研究を開始した。関連の研究では、国内外で同様の動きがあり、現在研究分担者は International Alliance for NanoEHS Harmonization (IANH) の Round robin test に参加している。事務局取りまとめを Dr. Michael Garner (Intel Corporation) 及び Dr. Kenneth Dawson (University College Dublin) が担当している。2009 年 10 月現在で、世界各地から 16 の研究機関が参加し、内 3 機関は日本の名古屋大学、(独) 物質・材料研究機構と、当研究所である。IANH では、参加している材料の専門家が理想的なナノ分散液を調製し、生物試験を実施する参加者に供給するというシステムができています。NM

の生物学的安全性評価を実施するにあたり、材料工学の専門家の協力は必須であると痛感しており、今後も継続して IANH の活動に参加する予定である。

平成 19 年度末に「ナノチューブでがん」という新聞記事が掲載された (平成 20 年 3 月 7 日毎日新聞朝刊)。当研究所毒性部高木らの論文発表 [1] をうけてのものであった。カーボンナノチューブ (CNT) すべてに、同様の活性があるのか、活性本体は残留している金属触媒なのか、等、現在解明がすすめられている。一方、本年度の試験材料であるカーボンナノホーン [2] はコーン状の先端内に制がん剤を封入し、がん組織の新生血管の血管内皮細胞の隙間が通常の血管より大きいことを利用して、がん組織特異的に DDS としての応用が考えられている NM である。その他に、遺伝子導入ベクター、細胞培養用スキャフォールドと医療への応用が考案さ