

表 10 4 継代と比べ 16 継代の hMSC 細胞で発現が 3 倍以上低下したタンパク質

Accession	Peptides	Score	Anova (p)*	Fold	Description	Average Normalised	
						C4	C16
DUT_HUMAN	1	70.9	5.36E-04	11.22	Deoxyuridine 5'-triphosphate	8.98E+04	8002.85
SPSY_HUMAN	1	78.97	0.23	8.69	Spermine synthase OS=Homo sapiens	1.34E+05	1.55E+04
GRHPR_HUMAN	2	45.4	9.79E-04	6.76	Glyoxylate reductase/hydroxypyruvate	7.08E+06	1.05E+06
PSME3_HUMAN	1	70.23	0.01	6.11	Proteasome activator complex subunit 3	4.72E+05	7.73E+04
HNRPF_HUMAN	3	159.44	5.78E-03	4.37	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein	6.97E+05	1.60E+05
EIF3E_HUMAN	2	92.55	8.56E-05	4.07	Eukaryotic translation initiation factor 3	1.21E+05	2.97E+04
TBB2A_HUMAN	16	989.63	1.38E-03	3.78	Tubulin beta-2A chain OS=Homo sapiens	4.03E+07	1.07E+07
HSP74_HUMAN	4	223.15	1.76E-03	3.75	Heat shock 70 kDa protein 4 OS=Homo	8.65E+05	2.31E+05
RP1BL_HUMAN	1	91.77	7.73E-03	3.67	Ras-related protein Rap-1b-like protein	8.07E+05	2.20E+05
ACSL3_HUMAN	1	27.88	2.23E-03	3.65	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 3	2.42E+05	6.63E+04
ZN225_HUMAN	1	33.74	3.65E-04	3.42	Zinc finger protein 225 OS=Homo sapiens	2.72E+05	7.95E+04
TBB3_HUMAN	18	908.79	2.38E-03	3.38	Tubulin beta-3 chain OS=Homo sapiens	4.05E+07	1.20E+07
HMGL1_HUMAN	2	97.14	7.17E-06	3.35	Putative high mobility group protein 1-	1.38E+06	4.12E+05
TBB2C_HUMAN	18	1137.69	1.43E-03	3.34	Tubulin beta-2C chain OS=Homo sapiens	4.70E+07	1.41E+07
YI016_HUMAN	5	305.49	1.15E-05	3.13	Putative tubulin beta chain-like protein	6.93E+06	2.22E+06
1B53_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, B-	5.37E+05	1.75E+05
1B59_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, B-	5.37E+05	1.75E+05
1A03_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, A-	5.37E+05	1.75E+05
1B57_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, B-	5.37E+05	1.75E+05
1B52_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, B-	5.37E+05	1.75E+05
1B15_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, B-	5.37E+05	1.75E+05
1A30_HUMAN	1	26.96	1.36E-04	3.07	HLA class I histocompatibility antigen, A-	5.37E+05	1.75E+05
PCNA_HUMAN	2	130.08	3.98E-03	3.05	Proliferating cell nuclear antigen	2.32E+05	7.61E+04

表 19 糖鎖と PHN の組み合わせ

MSC	<sup>12</sup> C-PHN 標識糖鎖 1	<sup>12</sup> C-PHN 標識糖鎖 2	<sup>12</sup> C-PHN 標識糖鎖 3
神経様分化細胞	<sup>13</sup> C-PHN 標識糖鎖 1	<sup>13</sup> C-PHN 標識糖鎖 2	<sup>13</sup> C-PHN 標識糖鎖 3
混合	↓	↓	↓
分析試料溶液	試料 1	試料 2	試料 3

表 20 糖鎖プロファイルの要約

価数	検出された m/z 値		糖組成 <sup>a)</sup>	推定糖鎖構造	MSC		N2d		平均存在比率 t-検定	N2dのMSC に対する 平均増減 割合 <sup>b)</sup>	RSD (%)
	MSC ( <sup>12</sup> C)	N2d ( <sup>13</sup> C)			平均存在 比率 (%) <sup>b)</sup>	RSD (%)	平均存在 比率 (%) <sup>b)</sup>	RSD (%)			
[M+H] <sup>+</sup>	999.36	1002.37	Hex9HexNAc2(M9)		1.7	89	0.9	92	0.50	+0.15	261
[M+H] <sup>+</sup>	1813.69	1819.69	Hex8HexNAc2(M8)		0.3	52	0.2	78	0.41	+0.17	263
[M+H] <sup>+</sup>	1651.68	1657.70	Hex7HexNAc2(M7)		0.2	63	0.2	63	0.98	+1.44	127
[M+H] <sup>+</sup>	1489.61	1495.63	Hex6HexNAc2(M6)		1.2	68	1.0	53	0.70	+1.08	120
[M+H] <sup>+</sup>	1327.54	1333.56	Hex5HexNAc2(M5)		0.8	24	0.9	6	0.78	+1.22	87
[M+H] <sup>+</sup>	987.41	993.43	dHex1Hex2HexNAc2		2.0	28	1.6	25	0.48	+0.69	63
[M+H] <sup>+</sup>	1149.49	1155.51	dHex1Hex3HexNAc2		24.0	36	26.8	34	0.72	+1.23	38
[M+2H] <sup>2+</sup>	838.83	841.84	dHex1Hex5HexNAc3		0.7	27	0.5	32	0.19	+0.38	124
[M+H] <sup>+</sup>	1514.66	1520.67	dHex1Hex4HexNAc3		2.7	53	1.4	8	0.19	+0.12	480
[M+2H] <sup>2+</sup>	867.34	870.35	Hex5HexNAc4		0.4	71	0.2	80	0.41	+0.07	697
[M+2H] <sup>2+</sup>	940.38	943.39	dHex1Hex5HexNAc4		4.0	51	3.7	27	0.84	+0.99	41
[M+2H] <sup>2+</sup>	1012.87	1015.88	Hex5HexNAx4 NeuNAc1		0.7	39	0.7	32	0.90	+0.94	53
[M+2H] <sup>2+</sup>	1158.42	1161.43	Hex5HexNAx4 NeuNAc2		5.3	45	4.4	50	0.65	+0.62	70
[M+2H] <sup>2+</sup>	1085.94	1088.94	dHex1Hex5HexNAc4 NeuNAc1		7.1	58	8.3	61	0.76	+1.28	37
[M+2H] <sup>2+</sup>	1231.49	1234.5	dHex1Hex5HexNAc4 NeuNAc2		14.2	11	15.7	16	0.44	+1.21	50

表 20 つづき(1)

[M+2H] <sup>2+</sup>	1158.95	1161.96	dHex2Hex5HexNAc4 NeuNAc1		0.1	48	0.2	45	0.64	+1.40	28
----------------------	---------	---------	-----------------------------	--	-----	----	-----	----	------	-------	----

[M+2H] <sup>2+</sup>	1304.53	1307.55	dHex2Hex5HexNAc4 NeuNAc2		1.1	16	1.2	10	0.62	+1.09	17
[M+2H] <sup>2+</sup>	1049.91	1052.92	Hex6HexNAc5		0.2	77	0.2	78	0.79	+0.66	49
[M+2H] <sup>2+</sup>	1195.49	1198.5	Hex6HexNAc5 NeuNAc1		0.4	22	0.2	33	0.13	+0.32	176
[M+2H] <sup>2+</sup>	1341.04	1344.1	Hex6HexNAc5 NeuNAc2		1.2 <sub>d)</sub>	—	0.6	—	—	+0.02	—
[M+2H] <sup>2+</sup>	1486.6	1489.6	Hex6HexNAc5 NeuNAc3		8.1	40	2.3	46	0.04	-0.81	9
[M+2H] <sup>2+</sup>	1632.17	1635.2	Hex6HexNAc5 NeuNAc4		1.7	24	0.6	59	0.03	-0.55	60
[M+2H] <sup>2+</sup>	1122.96	1126.0	dHex1Hex6HexNAc5 (Lac1)		12.1	6	12.5	10	0.68	+1.06	52
[M+2H] <sup>2+</sup>	1268.52	1271.5	dHex1Hex6HexNAc5 NeuNAc1(Lac1)		3.8	79	5.8	87	0.59	+1.72	31
[M+2H] <sup>2+</sup>	1414.08	1417.1	dHex1Hex6HexNAc5 NeuNAc2		1.8	59	2.2	52	0.67	+1.57	64
[M+2H] <sup>2+</sup>	1559.63	1562.7	dHex1Hex6HexNAc5 NeuNAc3		0.5	41	0.6	49	0.41	+1.85	71
[M+2H] <sup>2+</sup>	1305.55	1308.6	dHex1Hex7HexNAc6 (Lac)		2.5	28	5.2	36	0.09	+3.10	52
[M+2H] <sup>2+</sup>	1451.11	1454.1	dHex1Hex7HexNAc6 NeuNAc1(Lac)		0.7	19	0.9	30	0.26	+1.72	68
[M+2H] <sup>2+</sup>	1596.67	1599.7	dHex1Hex7HexNAc6 NeuNAc2(Lac)		0.5	49	1.0	42	0.17	+2.94	49
[M+3H] <sup>3+</sup>	1161.79	1163.8	dHex1Hex7HexNAc6 NeuNAc3		0.9	21	2.0	50	0.14	+3.31	65
[M+3H] <sup>3+</sup>	1258.83	1260.8	dHex1Hex7HexNAc6 NeuNAc4		0.9	38	1.9	64	0.25	+2.85	62

表 20 つづき(2)

[M+3H] <sup>3+</sup>	1186.45	1188.5	dHex1Hex8HexNAc7 NeuNAc2(Lac)		0.4	34	0.7	14	0.02	+3.29	65
----------------------	---------	--------	----------------------------------	--	-----	----	-----	----	------	-------	----

[M+3H] <sup>3+</sup>	1283.5	1285.5	dHex1Hex8HexNAc7 NeuNAc3(Lac)		0.3	34	0.6	60	0.35	+2.16	70
[M+3H] <sup>3+</sup>	1380.56	1382.6	dHex1Hex8HexNAc7 NeuNAc4(Lac)		0.2	67	0.9	66	0.15	5.92	21

a) Hex, ヘキソース; HexNAc, *N*-アセチルヘキソサミン; dHex, デオキシヘキソース; NeuNAc, *N*-アセチルノイラミン酸; Lac, *N*-アセチルラクトサミン構造を有する糖鎖. b) 検出された全糖鎖のイオン強度の合計に対する各糖鎖のイオン強度の割合(%). c) 数値が+1.0 のとき, N2d 由来糖鎖の量は MSC 由来糖鎖量の 2.0 倍に増加していることを示す. d) 糖鎖試料 1 からのみ検出された糖鎖のため, 統計処理は行わず.

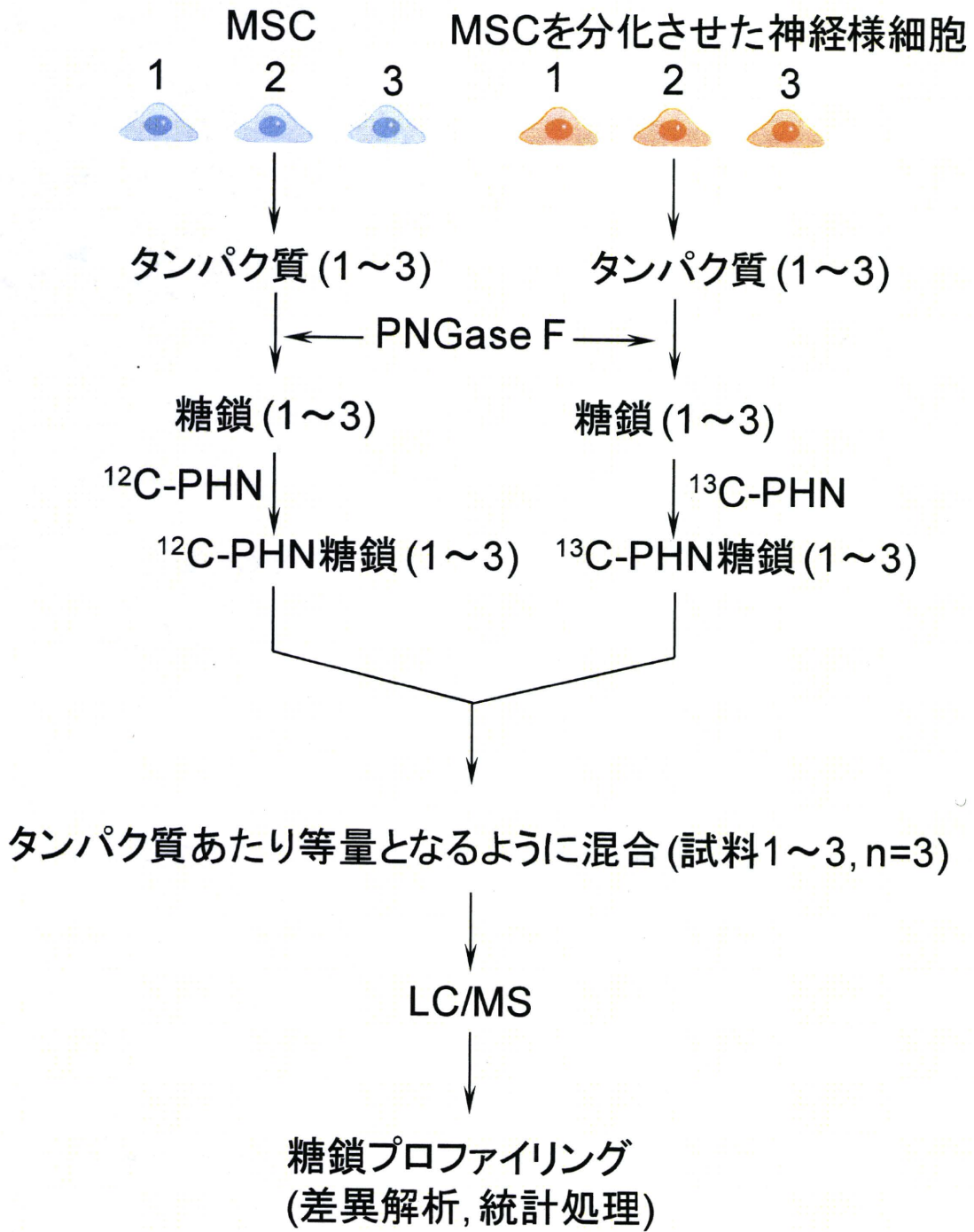


図 29 MSC 及び MSC 由来神経様細胞の比較定量解析

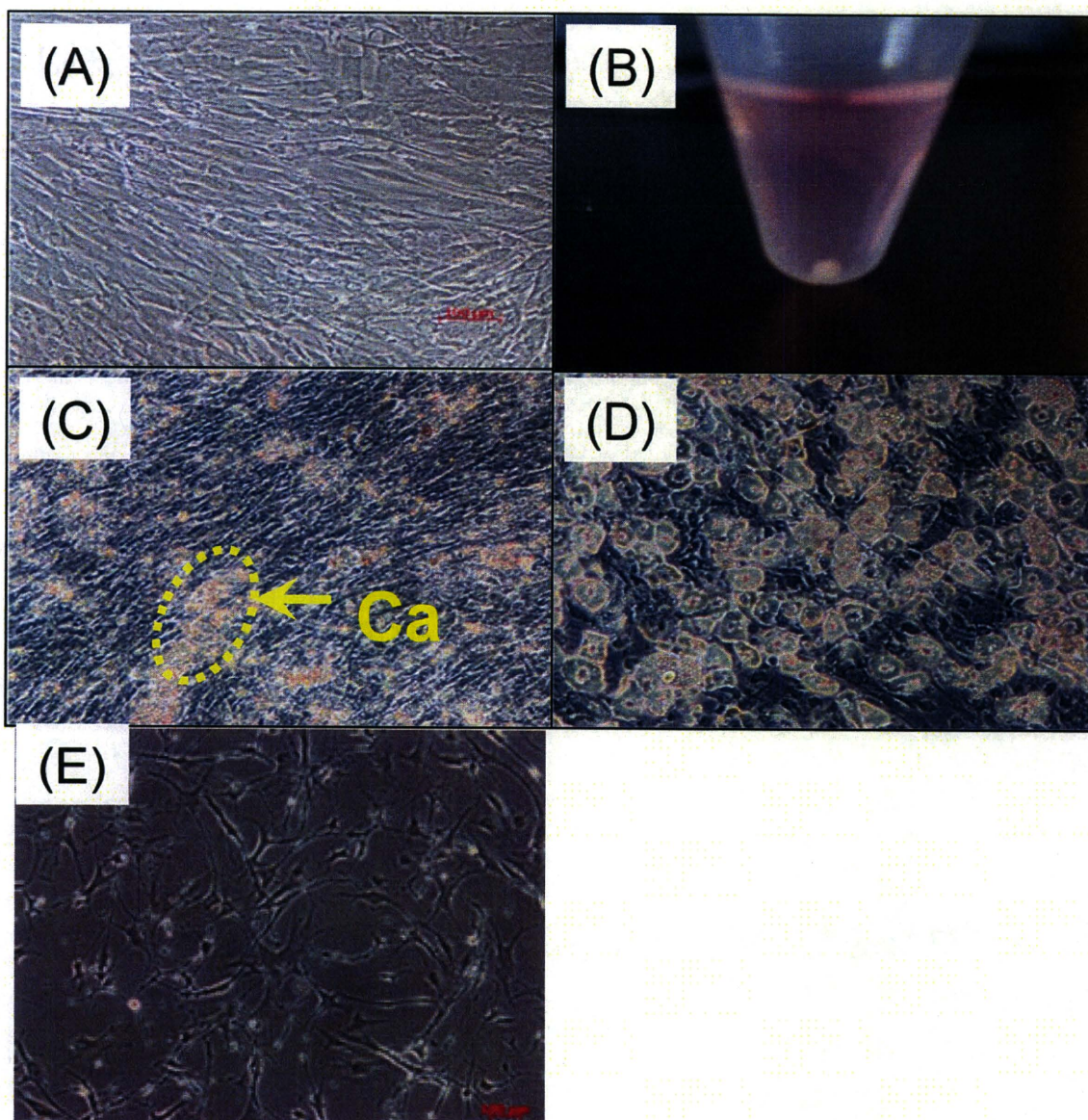


図 30 MSC の骨，軟骨，脂肪及び神経様細胞への分化誘導. (A) 分化誘導前，(B)軟骨細胞への分化誘導により生じた球状細胞塊とグリコサミノグリカンの確認，(C) 骨細胞への分化誘導後のカルシウム蓄積の確認，(D) 脂肪細胞への分化誘導後の脂肪滴の確認，(E) 神経様分化細胞への分化誘導.

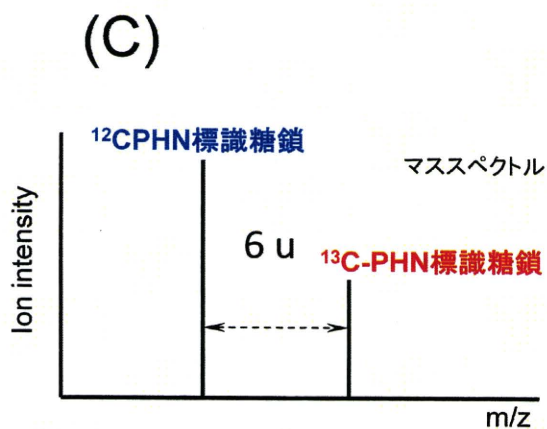
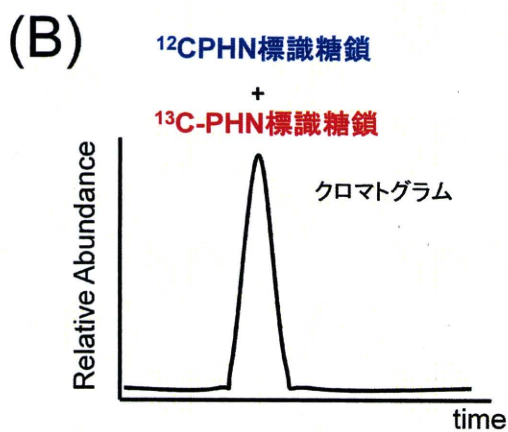
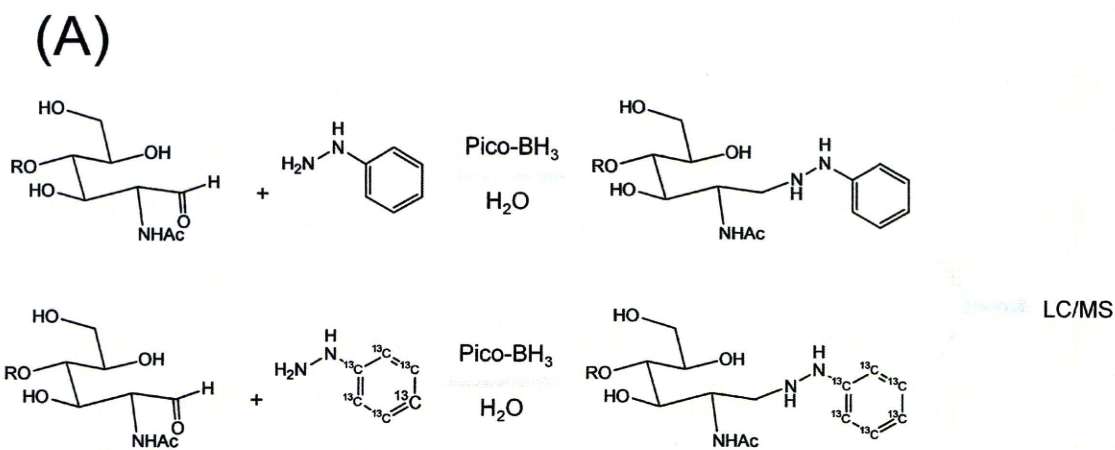


図 31 <sup>13</sup>C 標識フェニルヒドラジン(PHN) を用いた定量的糖鎖プロファイリング法.  
(A), <sup>12</sup>C-及び <sup>13</sup>C-PHN による糖鎖標識; (B), <sup>12</sup>C-及び <sup>13</sup>C-PHN 標識糖鎖混合物の LC/MS を  
行ったときのクロマトグラム; (C), <sup>12</sup>C-及び <sup>13</sup>C-PHN 標識糖鎖混合物のマススペクトル.



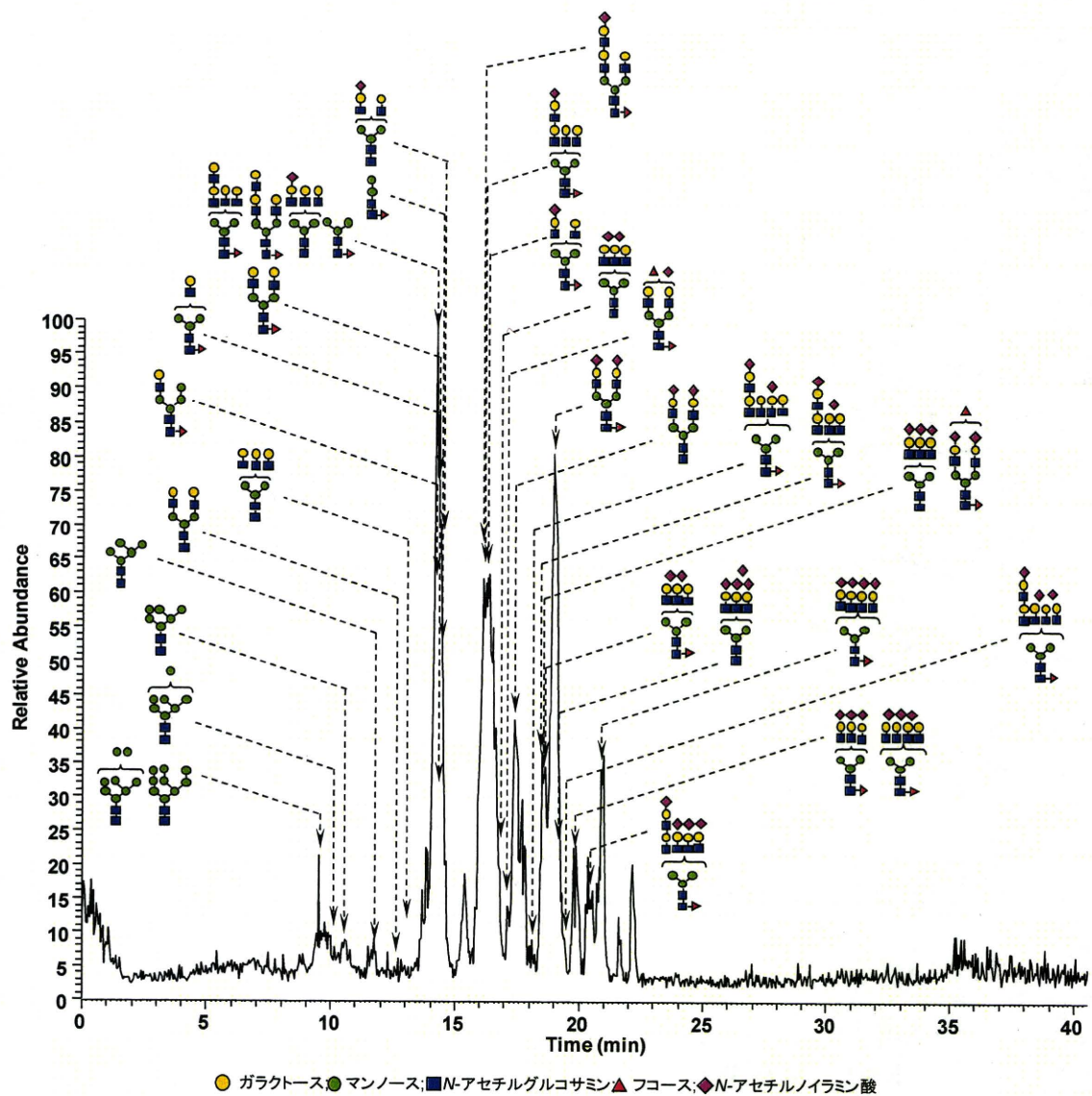


図 32 MSC 及び神経様分化細胞由来 *N*-結合型糖鎖の LC/MS により得られた糖鎖プロファイル。図はベースピーククロマトグラム、帰属された糖鎖の溶出位置を矢印で示した。

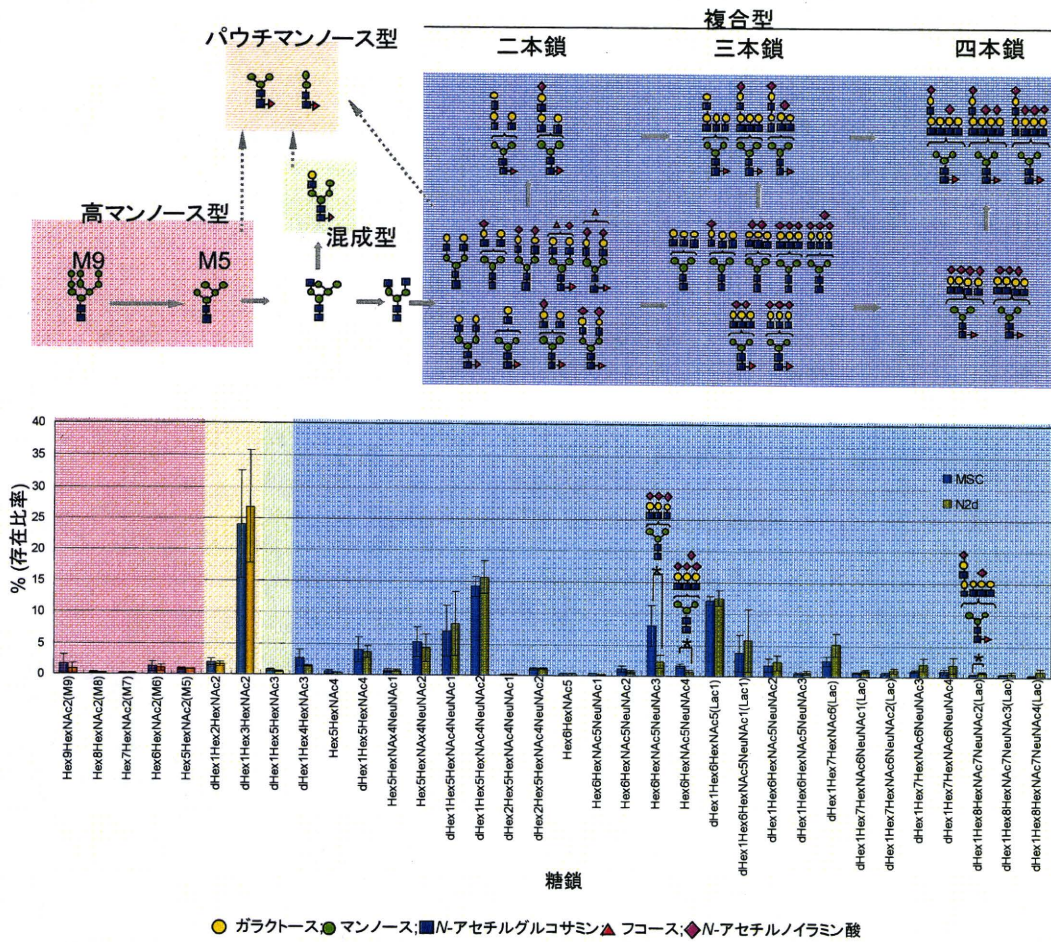


図 33 MSC 及び神経様分化細胞由来 N 結合型糖鎖の分布. 数値は検出された全糖鎖のイオン強度の合計に対する各糖鎖のイオン強度の割合(%)として算出した. \*  $p < 0.05$

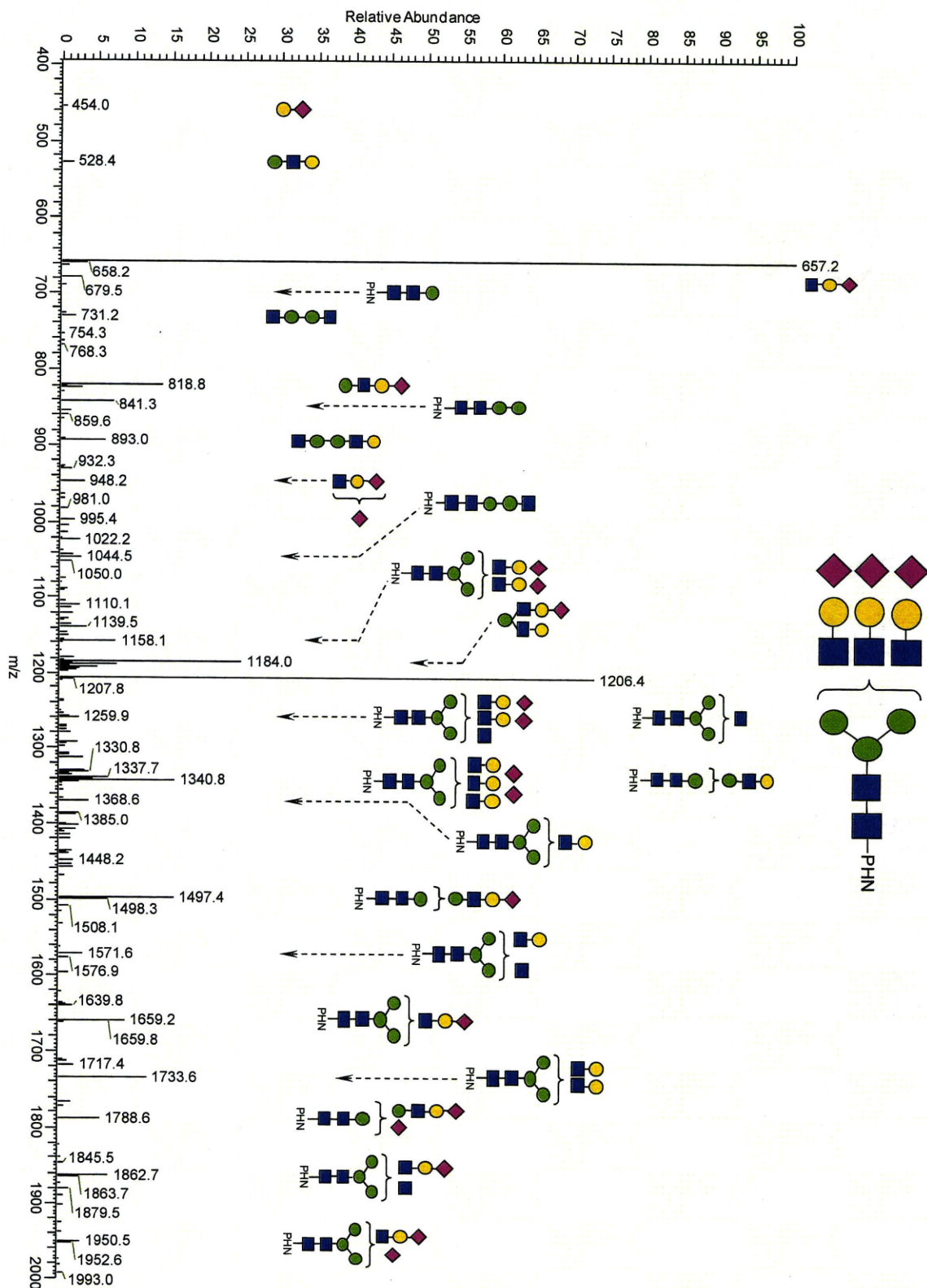


図34 MSCを神経様細胞に分化すると減少することが明らかとなった糖鎖のLC/MS/MS. 側鎖はNアセチラクトサミンの繰り返し構造ではないことが推定された。

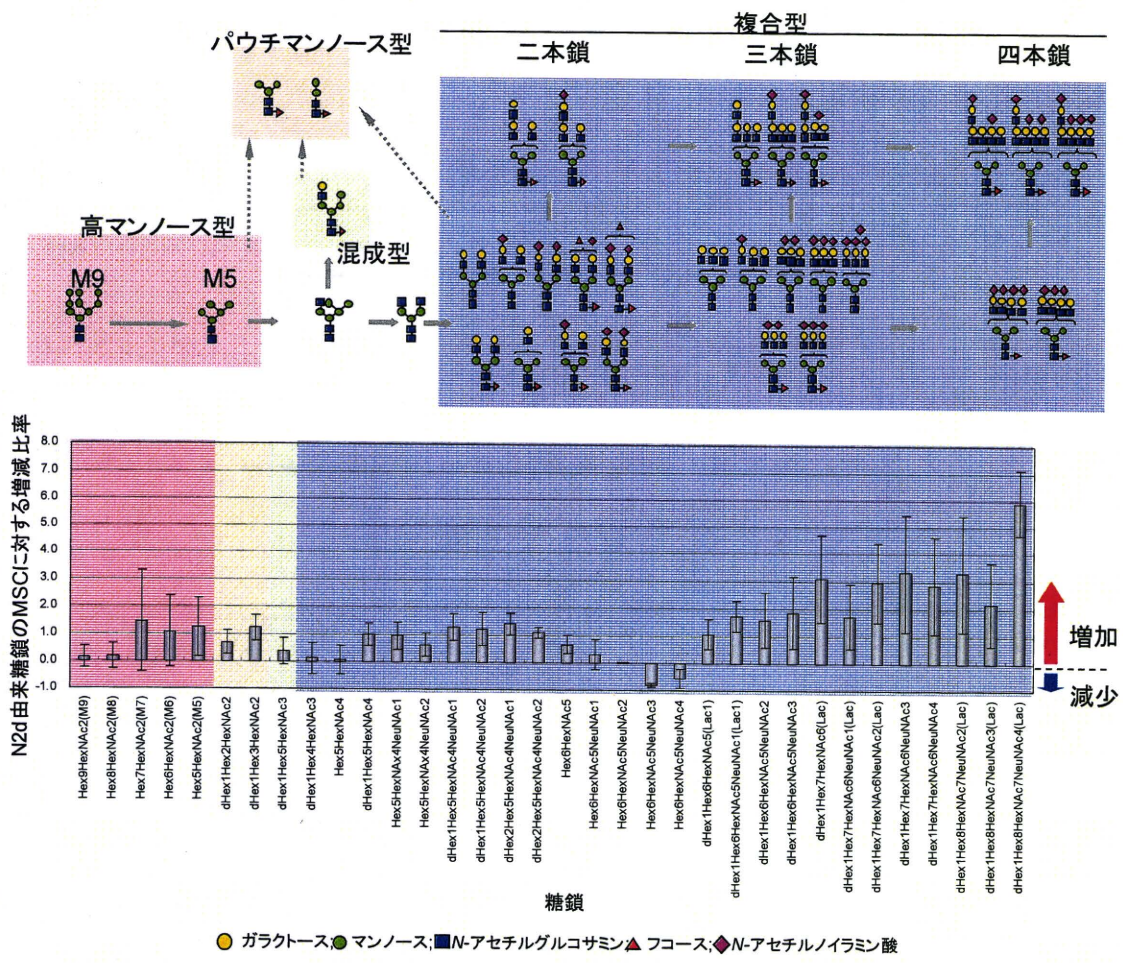


図 35 神経様分化細胞 (N2d) 由来 *N*結合型糖鎖の MSC に対する増減比率。増減比率 +1.0 は、N2d は MSC の 2 倍に増加していることを示す。

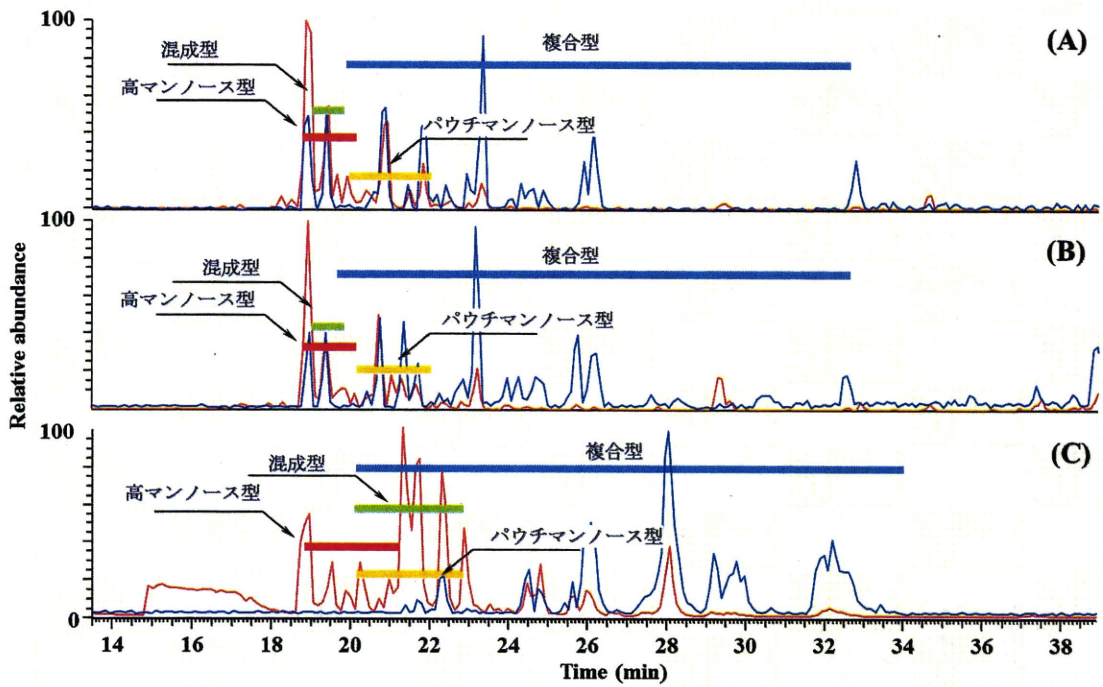


図 36 MSC (A), 神経様分化細胞 (B)及び骨分化細胞 (C) のベースピーククロマトグラム。赤線, ポジティブイオンモード; 青線, ネガティブイオンモード。

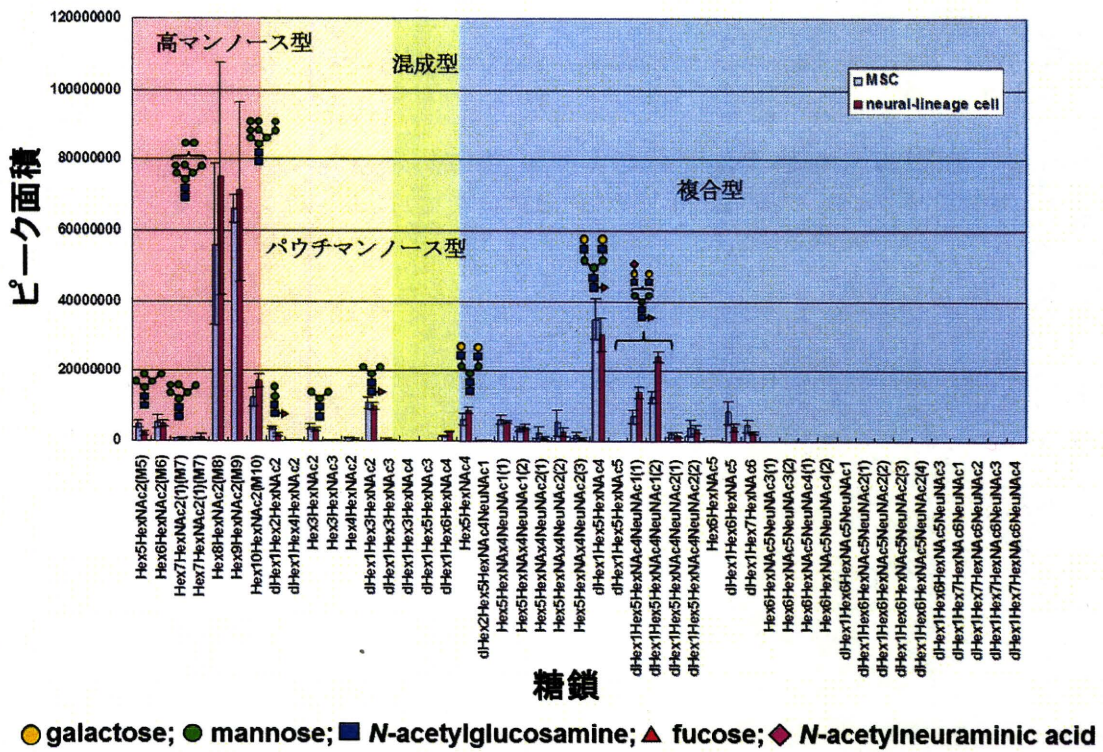


図 37 MSC 及び神経様分化細胞の糖鎖分布の比較。(ポジティブイオンモード)

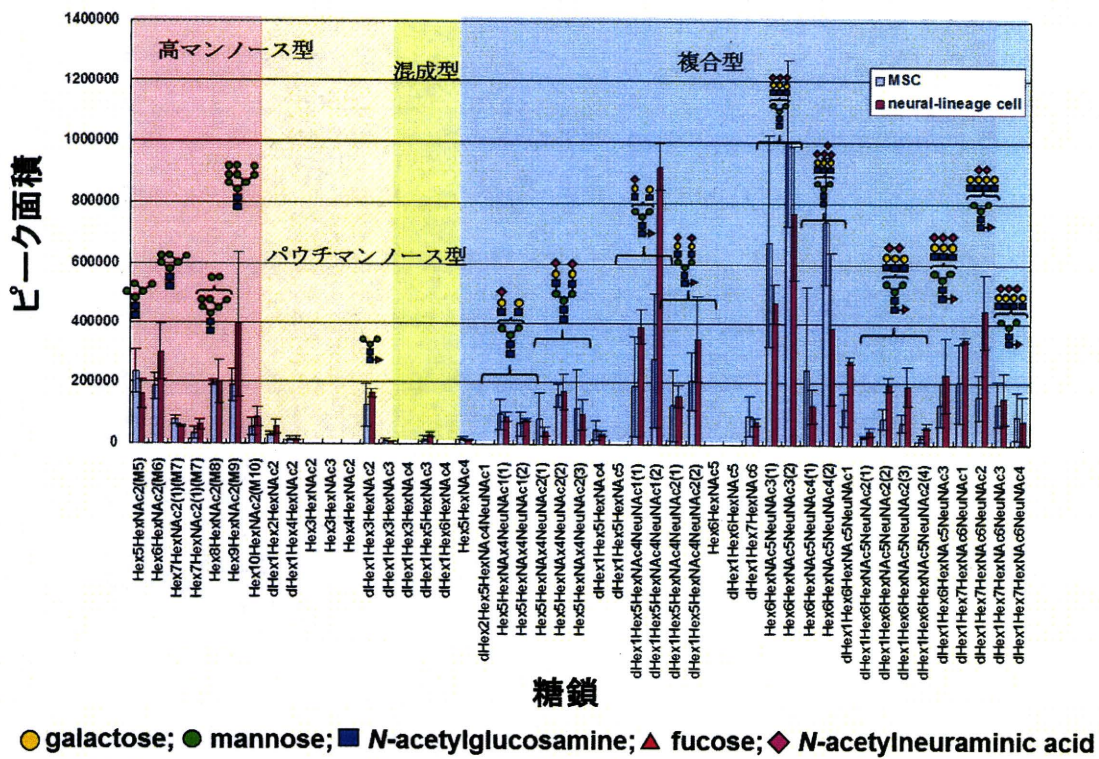


図 38 MSC 及び神経様分化細胞の糖鎖分布の比較。  
(ネガティブイオンモード)

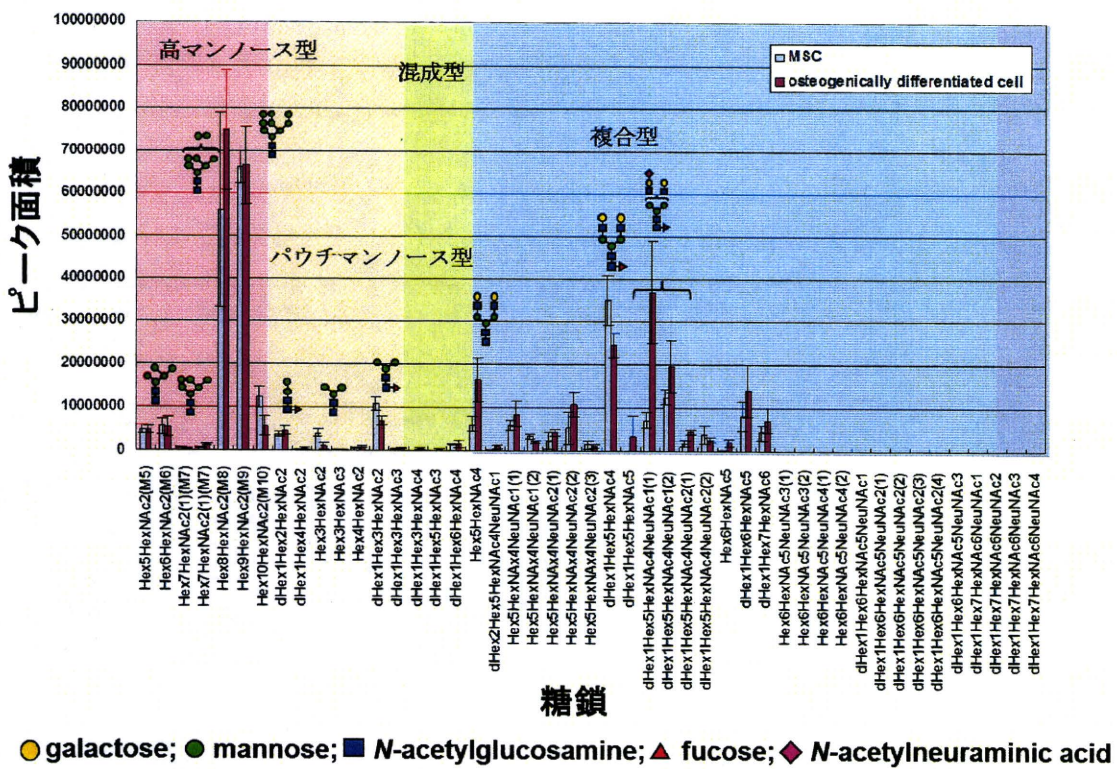
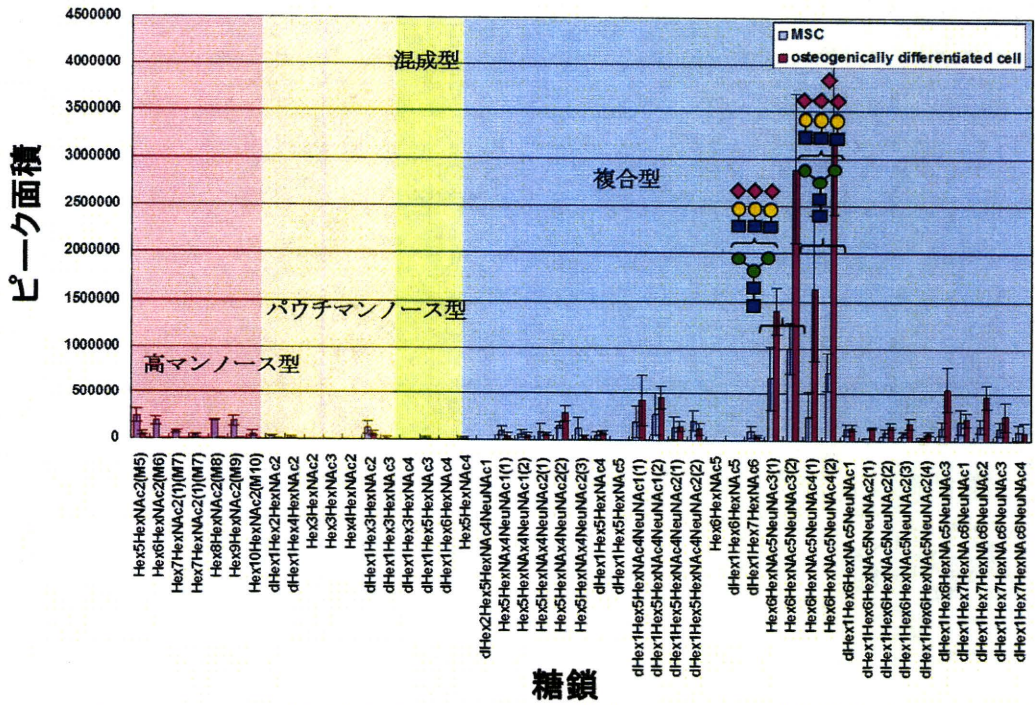


図 39 MSC 及び骨分化細胞の糖鎖分布の比較。  
(ポジティブイオンモード)



● galactose; ● mannose; ■ N-acetylglucosamine; ▲ fucose; ◆ N-acetylneuraminic acid

図 40 MSC 及び骨分化細胞の糖鎖分布の比較.  
(ネガティブイオンモード)

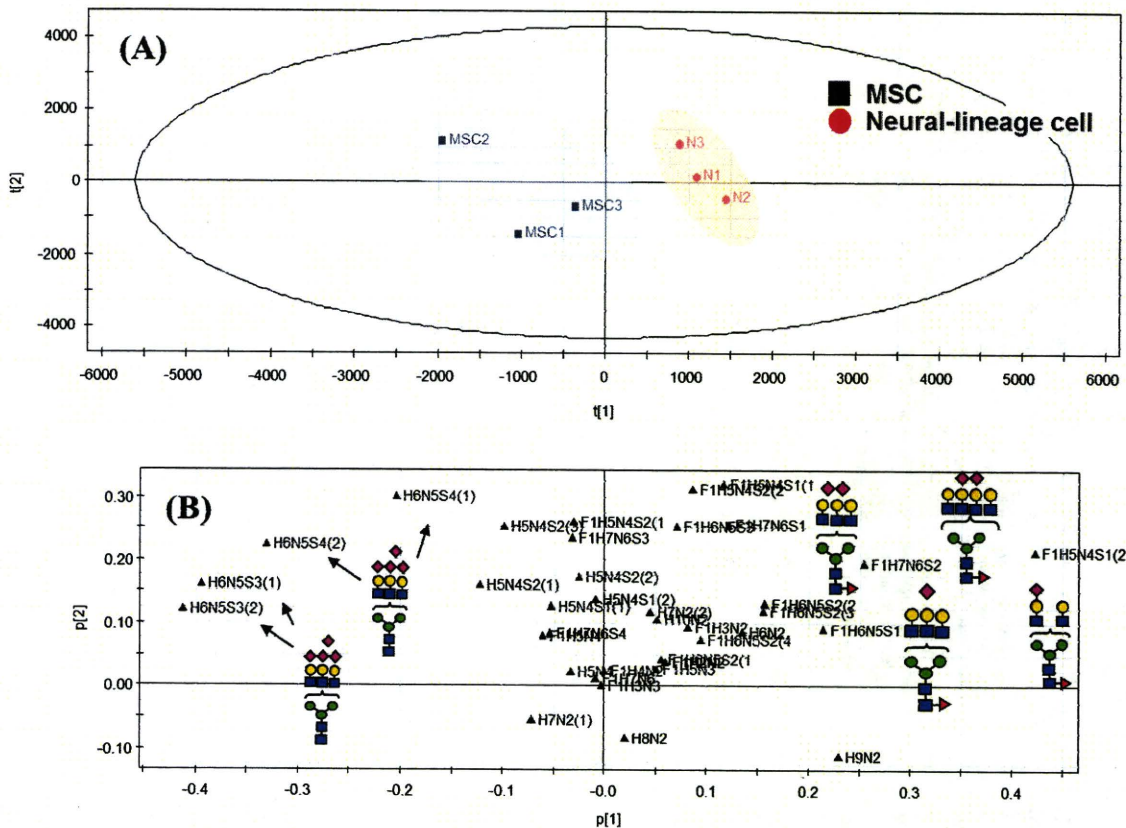


図 41 PCA による MSC 及び神経様分化細胞の区別.  
(A), スコアプロット; (B), ローディングプロット

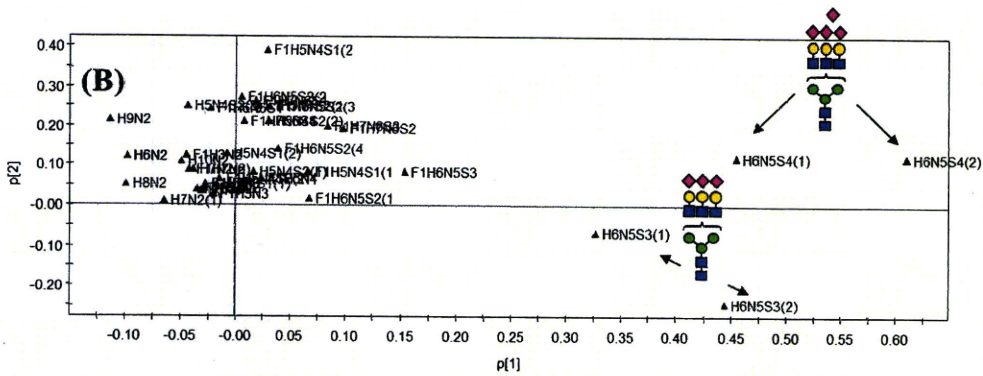
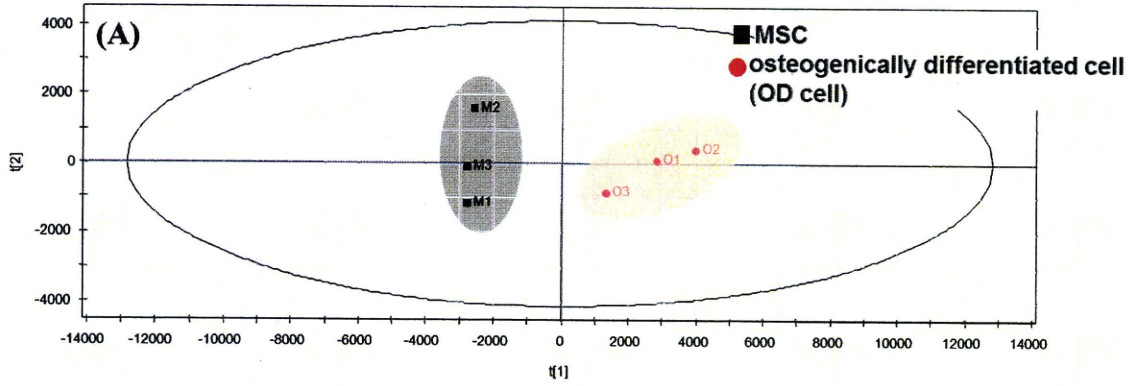


図 42 PCA による MSC 及び骨分化細胞の区別。  
(A), スコアプロット; (B), ローディングプロット

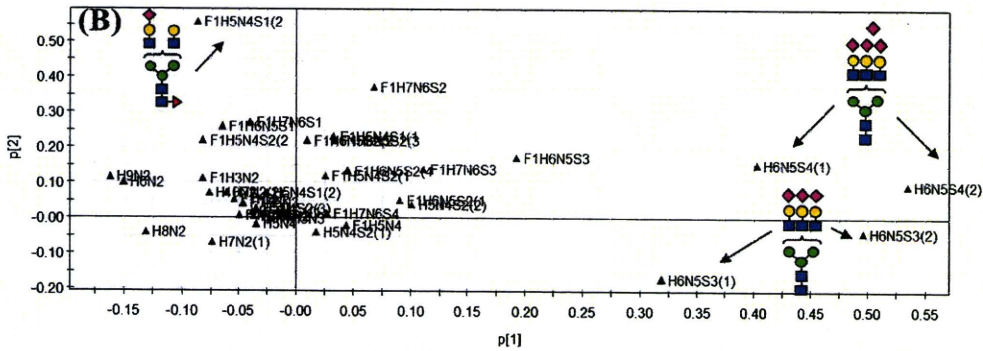
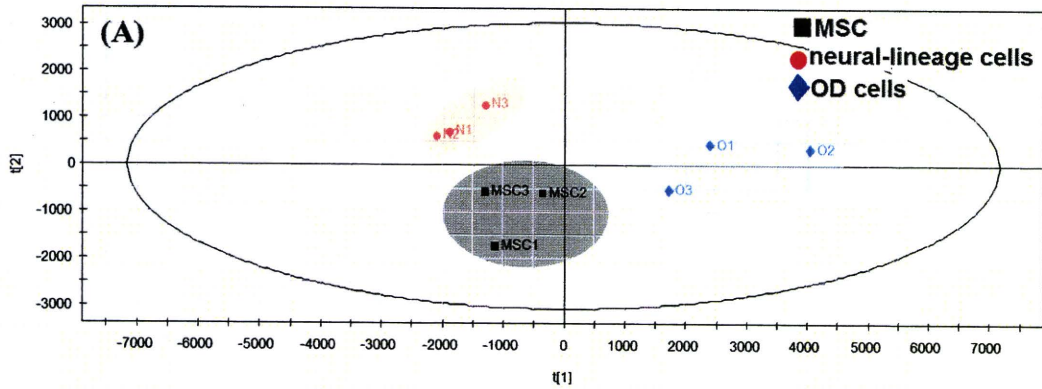
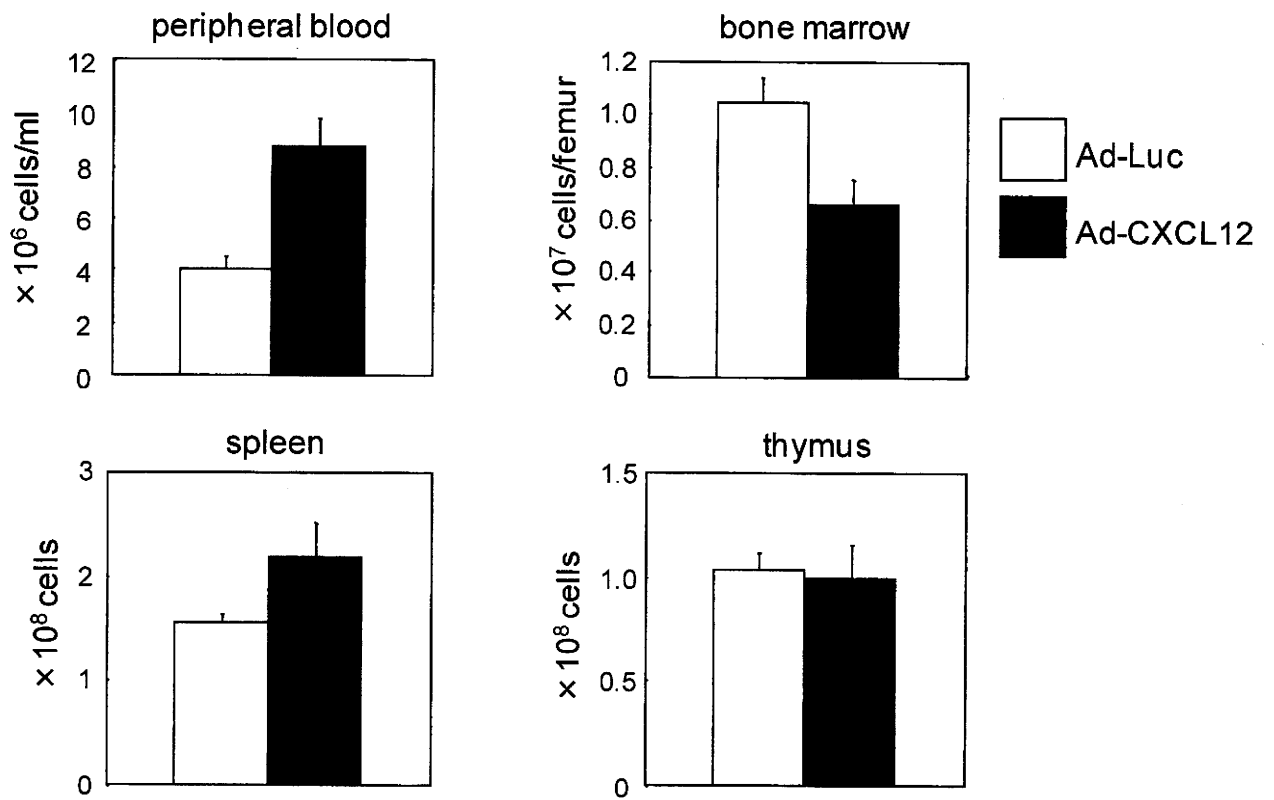
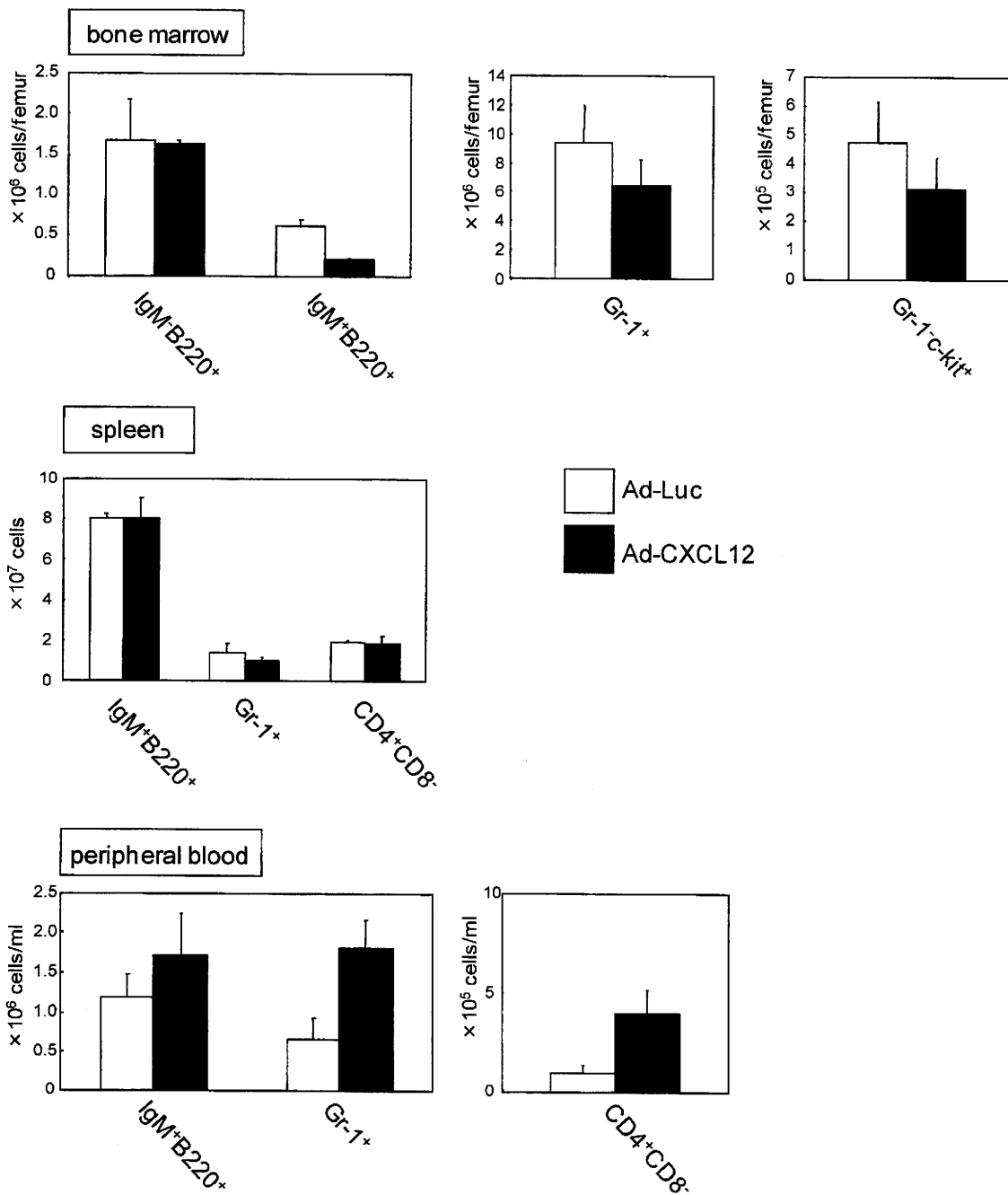


図 43 PCA による MSC, 神経様分化細胞及び骨分化細胞の区別。  
(A), スコアプロット; (B), ローディングプロット

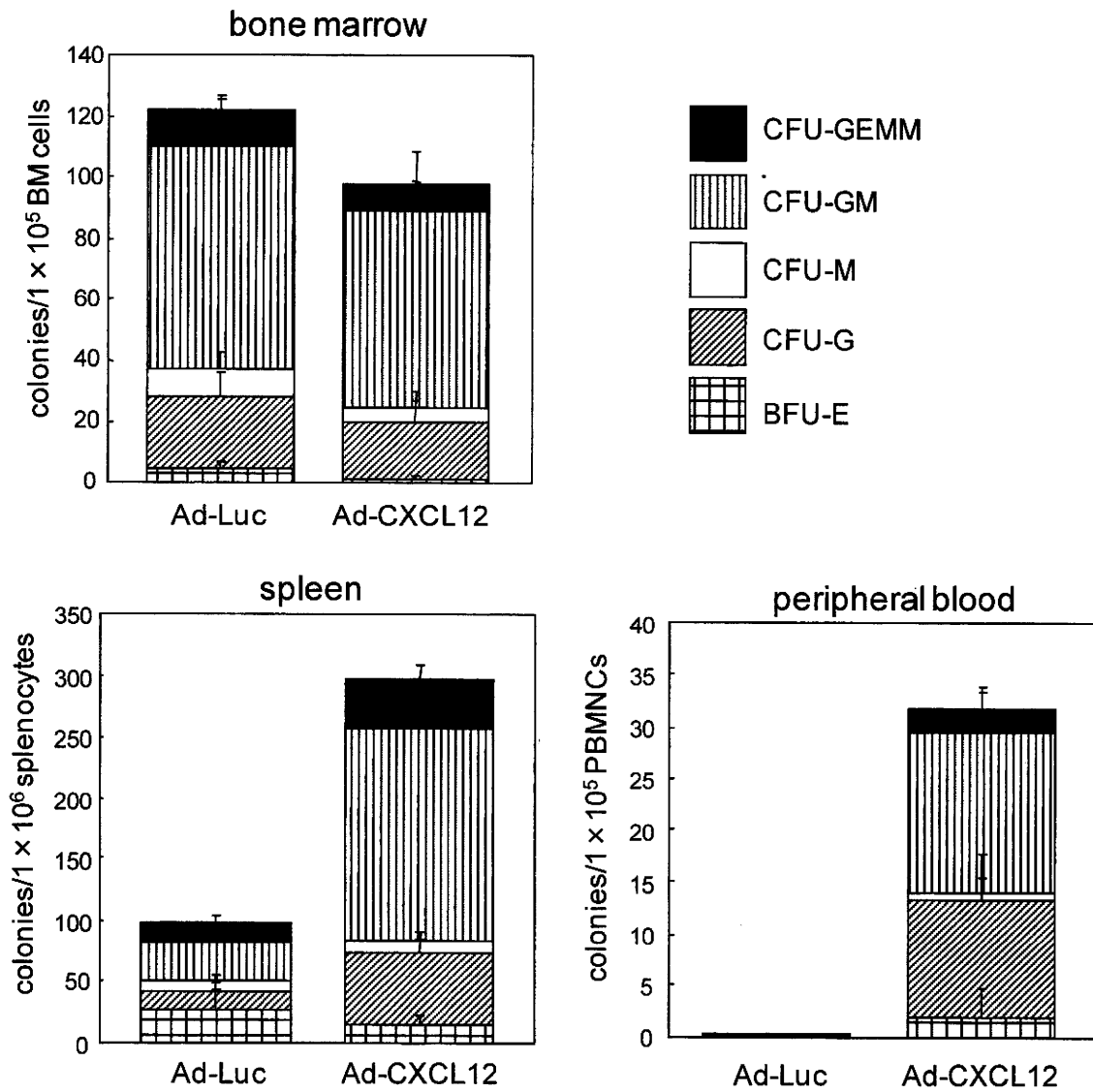




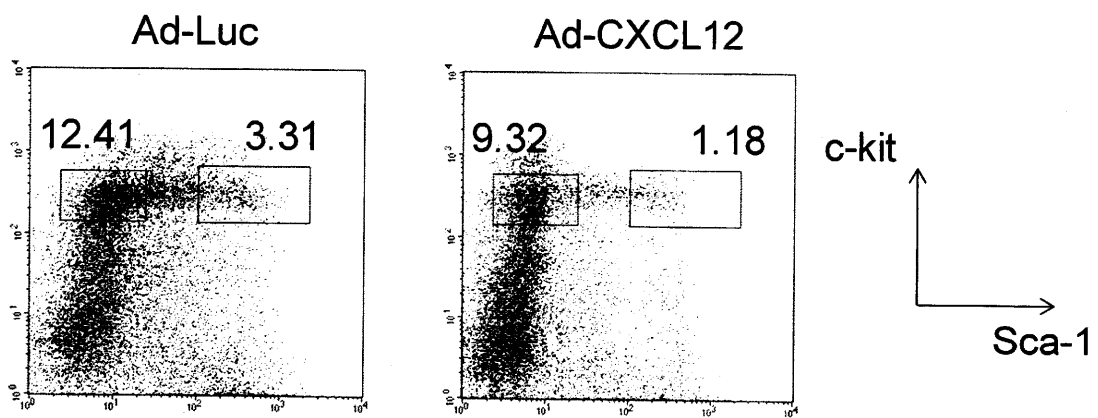
**Fig. 44** Cell number of each tissue 5 days after intravenous injection of Ad-CXCL12.



**Fig. 45** Cell number of each lineage in tissues 5 days after intravenous injection of Ad-CXCL12.



**Fig. 46 Mobilization of hematopoietic progenitor cells from the bone marrow to peripheral tissues 5 days after injection of Ad-CXCL12.**



**Fig. 47 Mobilization of hematopoietic stem cells from the bone marrow 5 days after injection of Ad-CXCL12.**