

## **Supporting information**

Identification of Altered Proteins in the Plasma of Rats with Chronic Prostatic Inflammation  
Induced by Estradiol Benzoate and Sex Hormones

Zhijun Cao, Daniel T. Sloper<sup>†</sup>, Noriko Nakamura\*

Division of Systems Biology, National Center for Toxicological Research, U.S. Food and Drug Administration, Jefferson, AR 72079, USA

<sup>†</sup> Current address: Independent researcher.

**Table S1. Top ten proteins that mostly contribute to component 1 for each time point**

| PND 90                              | PND 100   | PND 145   | PND 200  |
|-------------------------------------|---|---|--|
| Alpha-2 antiplasmin                 | AP-2 complex subunit beta                                 | Angiotensinogen   | Alpha-1-antiproteinase   |
| Apolipoprotein M                    | ATP synthase subunit alpha,<br>mitochondrial              | Calmodulin-1  | Antigen p97 (melanoma associated)<br>identified by monoclonal antibodies<br>133.2 and 96.5 (predicted) |
| Complement C5                       | Biorientation of chromosomes in cell<br>division 1-like 1 | Carboxylic ester hydrolase                                  | Apolipoprotein A-IV  |
| Complement factor D                 | Complement C3   | Carboxypeptidase Q  | Carboxypeptidase Q   |
| Fas apoptotic inhibitory molecule 3 | Complement C5   | Complement factor H-related protein                         | Hemopexin  |
| Gelsolin                            | Complement C8 alpha chain                                 | Leukemia inhibitory factor receptor                         | Ig-like domain-containing protein  |
| Globin a4                           | Histidine-rich glycoprotein                               | Major urinary protein                                       | Leukemia inhibitory factor receptor  |
| Hemoglobin subunit beta-2           | Leukemia inhibitory factor receptor                       | Maltase-glucoamylase  | LOC500183 protein  |
| Pentaxin                            | Plasma protease C1 inhibitor                              | Myosin-9  | Proline-rich 32  |
| Secreted phosphoprotein 24          | Serum paraoxonase/arylesterase 1                          | Phosphatidylinositol glycan anchor<br>biosynthesis, class A | RCG27669   |

**Table S2. Ingenuity canonical pathways in rat plasma significantly altered on PND 90, 100, 145, or 200 [-log(*p*-value)]**

| Ingenuity Canonical Pathways   | PND 90 | PND 100 |        | PND 145 |        | PND 200 |        | Identified proteins |
|--|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------------------|
|  |        | EB      | EB+T+E | EB      | EB+T+E | EB      | EB+T+E |                     |
| <b>Significantly altered pathways on PNDs 90, 100, 145, and/or 200</b> |        |         |        |         |        |         |        |                     |
| LXR/RXR activation   | 8.73   | 1.68    | 6      | 8.37    | 12.6   | n.s.    | 15.3   | SERPINF1            |
| FXR/RXR activation   | 8.62   | 1.66    | 5.93   | 10.1    | 14.2   | n.s.    | 15.1   | SERPINF1            |
| Coagulation system   | 7.39   | n.s.    | 3.62   | 3.14    | 4.6    | n.s.    | 4.84   | SERPINF1            |
| Complement system  | 7.29   | n.s.    | 3.57   | 5       | n.s.   | 1.89    | 6.74   | CFB                 |
| Acute phase response signaling   | 6.07   | n.s.    | 3.69   | 5.79    | 9.4    | n.s.    | 13.6   | CFB,<br>SERPINF1    |
| Systemic lupus erythematosus signaling                                 | 4.12   | 1.4     | 2.01   | 1.55    | n.s.   | n.s.    | 2.43   |                     |
| Atherosclerosis signaling  | 3.56   | 1.65    | 2.51   | 4.9     | 5.72   | n.s.    | 4.59   |                     |
| IL-12 signaling and production in macrophages                          | 3.51   | 1.64    | 2.48   | 4.83    | 5.64   | n.s.    | 4.52   |                     |
| Intrinsic prothrombin activation pathway                               | 3.09   | n.s.    | 1.56   | 1.33    | n.s.   | n.s.    | 2.82   |                     |
| Production of nitric oxide and reactive oxygen species in macrophages  | 3.06   | 1.49    | 2.18   | 4.23    | 4.89   | n.s.    | 3.92   |                     |
| Clathrin-mediated endocytosis signaling                                | 3.03   | 1.47    | 3.6    | 4.19    | 6.19   | n.s.    | 6.67   | AP2B1               |
| Extrinsic prothrombin activation pathway                               | 1.79   | n.s.    | 1.98   | 1.74    | n.s.   | n.s.    | 3.67   |                     |
| Actin cytoskeleton signaling   | 1.69   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | 1.31   | n.s.    | n.s.   | GSN, MYH9           |
| Iron homeostasis signaling pathway                                     | 2.08   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | 5.95   |                     |
| Docosahexaenoic Acid (DHA) signaling                                   | 1.42   | n.s.    | 1.61   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   | SERPINF1            |
| Xenobiotic metabolism AHR signaling pathway                            | n.s.   | 1.83    | n.s.   | 2.37    | n.s.   | n.s.    | n.s.   |                     |
| <b>Specifically altered pathway on PND 90</b>                          |        |         |        |         |        |         |        |                     |
| Selenocysteine Biosynthesis II (archaea and eukaryotes)                | 2.22   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   |                     |
| <b>Specifically altered pathway on PND 100</b>                         |        |         |        |         |        |         |        |                     |
| Lipid antigen presentation by CD1                                      | n.s.   | n.s.    | 1.77   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   | AP2B1               |
| PXR/RXR activation   | n.s.   | n.s.    | 1.38   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   |                     |
| Glioma invasiveness signaling  | n.s.   | n.s.    | 1.32   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   |                     |
| CNTF signaling   | n.s.   | 2       | n.s.   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   |                     |
| Mouse embryonic stem cell pluripotency                                 | n.s.   | 1.74    | n.s.   | n.s.    | n.s.   | n.s.    | n.s.   |                     |

|   |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Role of NANOG in mammalian embryonic stem cell pluripotency   | n.s. | 1.68 | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| <b>Specifically altered pathway on PND 145</b>                |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Maturity onset diabetes of Young (MODY) signaling             | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 3.92 | n.s. | n.s. |      |
| Cellular effects of cildenafil (Viagra)                       | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 2.9  | n.s. | n.s. | MYH9 |
| Hepatic fibrosis / hepatic stellate cell activation           | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 2.47 | n.s. | n.s. | MYH9 |
| MSP-RON signaling pathway                                     | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 2.4  | n.s. | n.s. |      |
| SPINK1 pancreatic cancer pathway                              | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 2.37 | n.s. | n.s. |      |
| LPS/IL-1 mediated inhibition of RXR function                  | n.s. | n.s. | n.s. | 3.94 | 2.24 | n.s. | n.s. |      |
| Epithelial Adherens junction signaling                        | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.6  | n.s. | n.s. | MYH9 |
| Tight junction signaling                                      | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.52 | n.s. | n.s. | MYH9 |
| ILK signaling   | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.42 | n.s. | n.s. | MYH9 |
| Agranulocyte adhesion and diapedesis                          | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.41 | n.s. | n.s. | MYH9 |
| Apelin liver signaling pathway                                | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.38 | n.s. | n.s. |      |
| Calcium signaling   | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.35 | n.s. | n.s. | MYH9 |
| Arsenate Detoxification I (glutaredoxin)                      | n.s. | n.s. | n.s. | 2.34 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Ascorbate recycling (cytosolic)                               | n.s. | n.s. | n.s. | 2.34 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Glutathione-mediated detoxification                           | n.s. | n.s. | n.s. | 1.44 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| nNOS signaling in skeletal muscle cells                       | n.s. | n.s. | n.s. | 1.34 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| NRF2-mediated oxidative stress response                       | n.s. | n.s. | n.s. | 1.71 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Senescence pathway  | n.s. | n.s. | n.s. | 1.41 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Superoxide radicals degradation                               | n.s. | n.s. | n.s. | 2.04 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Synaptogenesis signaling pathway                              | n.s. | n.s. | n.s. | 1.31 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Vitamin-C transport   | n.s. | n.s. | n.s. | 1.57 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Xenobiotic metabolism CAR signaling pathway                   | n.s. | n.s. | n.s. | 1.71 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| Xenobiotic metabolism signaling                               | n.s. | n.s. | n.s. | 1.37 | n.s. | n.s. | n.s. |      |
| <b>Specifically altered pathway on PND 200</b>                |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Maturity onset diabetes of Young (MODY) signaling             | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 2.53 |      |
| Airway pathology in chronic obstructive pulmonary disease     | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.95 |      |
| Pyrimidine deoxyribonucleotides <i>de novo</i> Biosynthesis I | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.53 |      |
| Agrin interactions at neuromuscular junction                  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.57 | n.s. |      |

|   |      |      |      |      |      |      |      |  |
|---|------|------|------|------|------|------|------|--|
| Airway pathology in chronic obstructive pulmonary disease               | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.39 | n.s. |  |
| Asparagine Biosynthesis I   | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 3.45 | n.s. |  |
| Caveolar-mediated endocytosis signaling                                 | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.6  | n.s. |  |
| Cellular effects of sildenafil (Viagra)                                 | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.34 | n.s. |  |
| Crosstalk between dendritic cells and natural killer cells              | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.51 | n.s. |  |
| Death receptor signaling  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.5  | n.s. |  |
| FAK signaling   | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.48 | n.s. |  |
| Fc $\gamma$ receptor-mediated phagocytosis in macrophages and monocytes | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.49 | n.s. |  |
| IGF-1 signaling   | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.44 | n.s. |  |
| Mechanisms of viral exit from host cells                                | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.84 | n.s. |  |
| MSP-RON signaling pathway   | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.69 | n.s. |  |
| Paxillin signaling  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.43 | n.s. |  |
| Remodeling of epithelial Adherens junctions                             | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.63 | n.s. |  |
| RhoA signaling  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.37 | n.s. |  |
| SPINK1 pancreatic cancer pathway  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.68 | n.s. |  |
| VDR/RXR activation  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.57 | n.s. |  |
| VEGF signaling  | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.46 | n.s. |  |
| Virus entry via endocytic pathways                                      | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1.43 | n.s. |  |

n.s.: No significances





