

# マウス肢芽のプログラム細胞死における遺伝子発現の解析

石川 博康

胎生期の肢芽形成時におけるプログラム細胞死の分子機構について、ゲノム解析が進んでいるマウスの胎子を用いて研究を行った。まずマウス肢芽指間の細胞死の時期を Nile blue 染色, HE 染色, TUNEL 法を用いて検討した。指間の細胞死は妊娠11.5日目から始まり, 13.5日目にそのピークがみられた。次に11.5日目および13.5日目に後肢の指間組織をメスで切り出し RNA を抽出した後, DNA Expression Arrays を用いて1176種類の既知遺伝子の発現パターンを解析した。その結果13.5日目に5種類の遺伝子発現の上昇を認めた。また, これらのうちホメオボックス遺伝子である *Msx2* や *insulin-like growth factor binding protein 2 (IGFBP2)* 及び *apolipoprotein E (apoE)* が13.5日目に上昇していることを RT-PCR 法で確認した。さらにこれらの遺伝子の空間的な発現パターンを解析するために, *whole mount in situ hybridization* を行ったところ, *Msx2* と *IGFBP2* は既報通り指間部位に一樣にその発現を認めたが, *apoE* の発現パターンはそれらとは異なり, Nile blue 染色と極めて似た顆粒状の染色パターンを示した。このことは, *apoE* が Nile blue 陽性の死細胞中に発現しているか, あるいは死細胞を貪食したマクロファージ系細胞に発現しているかを示唆している。そこで TUNEL 法で調べたところ, その発現は死細胞ではなくマクロファージ様細胞に認められた。また5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 処理で細胞死を抑制したマウスの肢芽では Nile Blue 陽性細胞が減少するとともに *apoE* の発現も減少した。この結果から *apoE* がマクロファージ様細胞に発現され, それが死細胞の増加によって誘導されることが示唆される。すなわち *apoE* の貪食過程への関与が考えられた。

(平成13年12月25日受理)

## Analysis of Gene Expression in the Programmed Cell Death of Mouse Limb Buds

Hiroyasu ISHIKAWA

Programmed cell death (PCD) is an important process for eliminating unnecessary tissues during embryonic development for proper morphogenesis at genetically determined stages. In this study, we analyzed transcriptional changes of 1176 genes in mouse limb programmed cell death (PCD) using DNA microarray technique. Many genes were up- or down-regulated during PCD. Homeobox genes *Msx2*, insulin-like growth factor binding protein 2 (*IGFBP2*) or apolipoprotein E (*apoE*) genes were up-regulated in interdigital PCD, revealed by DNA Expression Array using total RNA extracted from day 11.5 or 13.5 limb buds. Topological transcriptional patterns of selected genes were examined by *in situ* hybridization. PCD was revealed by Nile blue, HE staining



















