助成番号　210588

５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	肝再生モデルマウスを用いた核酸高次構造の機能解明		
研究テーマ（英文）	The functional analysis of a higher order nucleic acid structure in liver regeneration mouse model		
研究期間	2021年 ～ 2024年	研究機関名　宮崎大学	
研究代表者	氏名（漢字）	石塚 匠	
	氏名（カタカナ）	イシヅカ タクミ	
	氏名（英文）	Takumi Ishizuka	
	所属機関・職名	宮崎大学 医学部解剖学講座組織細胞化学分野	
共同研究者（計＿＿＿名）＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。	氏名（漢字）		
	氏名（カタカナ）		
	氏名（英文）		
	所属機関・職名		
	氏名（漢字）		
	氏名（カタカナ）		
	氏名（英文）		
	所属機関・職名		

概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。

DNA は右巻き二重らせん構造に加え、ヘアピン構造や左巻き二重らせん構造(Z-DNA)、三重鎖、四重鎖(グアニン四重鎖:G4)など様々な核酸の高次構造を形成する。その中でも G4 構造は転写、複製、ゲノム安定性、エピジェネティック制御などの重要なゲノム機能への関与や腫瘍生物学との関連が明らかとなってきているが、組織内での G4 ダイナミクスを直接観察することは依然として困難である。

本研究では、肝再生過程の G4 構造の形成動態について、G4 構造特異的抗体を用い免疫組織化学により解析した。具体的には、マウスに 70%肝切除を行い、24、36、48、72、120、168 時間後の肝臓を採取し、パラフィン包埋組織切片とした。細胞増殖の指標として、Cyclin D1、EdU、Cyclin A2、リン酸化 H3S10 により G4 構造の形成との共局在を検討した。肝再生過程における G4 構造の形成の経時的変化を検討したところ、切除後 36 時間でピークとなり、DNA 合成期(S 期)に細胞への取り込まれた EdU と共発現を認めた。検出された G4 シグナルは主に肝小葉の中間域(ゾーン 2)の肝細胞に局在していることも明らかとなった。こうして、肝再生過程における G4 構造の *in vivo* 動態を明らかにした。また、G4 構造が細胞増殖制御に重要な役割を果たすことが示唆された。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）

雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

DNA forms various higher-order nucleic acid structures in addition to the right-handed helix, including hairpin structures, left-handed helix (Z-DNA), triplexes, and G-quadruplexes (G4). Among these structures, G4 has been implicated in crucial genomic functions, including transcription, replication, genome stability, and epigenetic regulation. However, direct observation of G4 dynamics within tissues remains a challenge.

In this study, we analyzed the spatiotemporal dynamics of G4 formation during liver regeneration using immunohistochemistry with a G4-specific antibody. Specifically, 70% partial hepatectomy (PHx) was performed on mice, and liver tissues were collected at 24, 36, 48, 72, 120, and 168 hours after PHx, followed by paraffin embedding and sectioning. Co-localization of G4 formation with markers of cell proliferation, including Cyclin D1, EdU, Cyclin A2, and phospho-histone H3S10, was examined. Analysis of the G4 formation during liver regeneration revealed that G4 signals peaked at 36 hours after PHx and co-localized with EdU, which is incorporated into cells during the DNA synthesis (S) phase. Furthermore, the detected G4 signals were predominantly localized in hepatocytes within the midlobular zone (zone 2). These findings elucidate the *in vivo* dynamics of G4 formation during liver regeneration and suggest that G4 structures play a crucial role in the regulation of cell proliferation.