

## 学位論文抄録

FTO Demethylates *Cyclin D1* mRNA and Controls Cell-Cycle Progression  
(FTO によるサイクリン D1 mRNA の N6 メチルアデノシン修飾を介した細胞周期の制御 )

平山 真弓

指導教員

中山 秀樹教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻歯科口腔外科学

富澤 一仁教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻分子生理学

## Abstract of the Thesis

**Background and Purpose:** *N*<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) modification is the most abundant modification in messenger RNA (mRNA). m<sup>6</sup>A modification regulates the stability, localization, and translational efficiency of mRNA, which contributes to a diverse physiological and pathological processes. Recently, aberrant m<sup>6</sup>A modification has been implicated in cell proliferation, but the molecular mechanism has been largely unknown. In this study, we investigated the role of m<sup>6</sup>A in cell growth.

**Methods:** Fat mass and obesity-associated gene (FTO), a m<sup>6</sup>A demethylase, was silenced by siRNA. Total RNA was subjected to RNA-seq to analyze the landscape of transcriptome. To analyze m<sup>6</sup>A sites in mRNA, mRNA was purified from total RNA, followed by m<sup>6</sup>A immunoprecipitation and RNA-seq (MeRIP-seq). In addition, m<sup>6</sup>A modification level was examined in cell cycle-dependent manner and the correlation with FTO was investigated.

**Results:** RNA-seq showed that FTO-deficiency suppressed expression of cyclin D1. MeRIP-seq showed the presence of m<sup>6</sup>A modification in cyclin D1 mRNA, and m<sup>6</sup>A induced degradation of cyclin D1 mRNA. During cell cycle progression, m<sup>6</sup>A modification level of cyclin D1 was differentially regulated by FTO, whose subcellular localization changed through cell cycle.

**Conclusions:** Our study suggests that m<sup>6</sup>A modification of cyclin D1 mRNA regulated by FTO controls the stability of cyclin D1 mRNA and regulates its expression, which contributes to the progression of cell cycle.

## 学位論文抄録

〔目的〕 N<sup>6</sup>-メチルアデノシン (以下 m<sup>6</sup>A) はメッセンジャーRNA (以下 mRNA) の転写後修飾の中で最も豊富な修飾であり、スプライシングや mRNA の安定性、タンパク質翻訳を制御することでサーカディアンリズムの調節や胚発生分化などの生理現象において重要な役割を担っている。近年、癌の細胞増殖能と m<sup>6</sup>A の関連性が報告されているが、詳細な分子メカニズムは明らかになっていない。本研究では、m<sup>6</sup>A の脱メチル化酵素の一つである fat mass and obesity-associated gene (以下 FTO) に着目し、FTO による m<sup>6</sup>A 修飾の意義ならびに細胞増殖に寄与する分子機構について検討した。

〔方法〕 口腔癌の細胞を用いて FTO のノックダウンまたはノックアウトによる細胞増殖能の測定を行った。ノックダウン細胞から RNA を抽出し、転写産物における FTO ノックダウンの影響を RNA シークエンスで確認した。また、ノックダウン細胞から mRNA を抽出し m<sup>6</sup>A 抗体を用いて免疫沈降したサンプルを RNA シークエンスで確認する MeRIP-seq を行い、増殖能に影響を与える遺伝子を同定した。さらに細胞周期における m<sup>6</sup>A 修飾レベルを定量した。

〔結果〕 FTO は細胞周期調節に関わるサイクリン D1 mRNA の m<sup>6</sup>A 修飾レベルを制御することが判明した。FTO のノックダウンによりサイクリン D1 の m<sup>6</sup>A 修飾レベルが増加し、サイクリン D1 の mRNA 分解が促進され、サイクリン D1 の発現低下ならびに細胞増殖能が低下した。また、サイクリン D1 の m<sup>6</sup>A 修飾レベルが細胞周期によって変化した。

〔考察〕 細胞周期におけるサイクリン D1 の発現はユビキチン・プロテアソーム系のタンパク質レベルで制御されることは以前から明らかになっていたが、今回の結果からさらに上位の mRNA レベルでも制御されていることが分かり、より精密な細胞周期の進行調節に関与しているのではないかと考えられる。

〔結論〕 FTO によるサイクリン D1 の m<sup>6</sup>A 修飾レベルの制御が細胞周期の進行を調節するという、m<sup>6</sup>A の新たな生理的意義を見出した。