

平山 真弓 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

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)

N⁶-メチルアデノシン (以下 m⁶A) 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 m⁶A 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ではない。本研究では、m⁶A 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 m⁶A 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明らかにすることを目的とした。

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 m⁶A 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 m⁶A 修飾レベルを定量的に検討した。

FTO は細胞周期調節に関わるサイクリン D1 mRNA の m⁶A 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 m⁶A 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 m⁶A 修飾レベルが細胞周期によって変化した。さらに、FTO は CK2 酵素によるリン酸化で細胞核と細胞質を移行するという局在の制御を受けていた。細胞周期におけるサイクリン D1 の発現はユビキチン・プロテアソームによってタンパク質レベルで制御されることは報告されているが、本研究で、FTO によって mRNA レベルでも制御されていることが分かり、精密な細胞周期の進行調節が行われる可能性が示唆された。

審査において、(1) FTO の発現制御・分子機能・種保存性；(2) FTO の標的 RNA とその m⁶A 修飾の特異性；(3) 用いた癌細胞株の分子生物学的な背景 (G1/S チェックポイントの有無)；(4) FTO 阻害下の間葉型の変化に関する考察；(5) FTO 欠損マウスの表現型の考察；(6) FTO のノックダウンとノックアウトの細胞表現型の比較；(7) 細胞周期における RNA レベルとタンパク質レベルの調節の重要性；(8) 癌細胞における FTO 関連経路の変異の有無；(9) FTO の標的 RNA の 5'UTR と 3'UTR における m⁶A 修飾の意義；(10) FTO 阻害剤に関する情報；(11) RNA シークエンスのデータ解析方法；(12) 癌組織における FTO とサイクリン D1 の発現状況；(13) 本研究に基づく治療・制御法の可能性、などについて活発な質疑が行われ、申請者から適切な回答が得られた。

本研究は、FTO によるサイクリン D1 の m⁶A 修飾レベルの制御が細胞周期の進行を調節するという、m⁶A の新たな生理的意義を明らかにし、標的 RNA の RNA メチル化修飾と分子動態、細胞制御における役割を解明したことから、学位論文に相応しいと評価された。