



|                     |                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | RNA編集酵素ADAR2の発現抑制は悪性中皮腫細胞の悪性度を低下させる [論文内容及び審査の要旨]                                                                         |
| Author(s)           | 坂田, 健一郎                                                                                                                   |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                     |
| Degree Name         | 博士(歯学)                                                                                                                    |
| Dissertation Number | 甲第11728号                                                                                                                  |
| Issue Date          | 2015-03-25                                                                                                                |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/59247">https://hdl.handle.net/2115/59247</a>                                         |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                           |
| File Information    | Kenichiro_Sakata_review.pdf, 審査の要旨                                                                                        |



# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（歯学）      氏 名    坂田   健一郎

|       |    |     |    |               |
|-------|----|-----|----|---------------|
| 審査担当者 | 主査 | 教授  | 北川 | 善政            |
|       | 副査 | 教授  | 鄭  | 漢忠            |
|       | 副査 | 教授  | 進藤 | 正信            |
|       | 副査 | 准教授 | 浜田 | 淳一（遺伝子病制御研究所） |

## 学 位 論 文 題 名

RNA 編集酵素 ADAR2 の発現抑制は悪性中皮腫細胞の悪性度を低下させる

審査は、審査担当者全員出席の下、申請者の研究要旨の説明後、本研究、提出論文とそれに関連した事項について口頭試問の形式にて行った。審査論文の概要は以下の通りである。

Adenosine Deaminase, Acting on RNA (ADAR) は mRNA 前駆体の 2 本鎖領域にあるアデノシンをイノシンに置換する A-to-I RNA 編集酵素である。イノシンは高次構造形成や翻訳過程においてグアノシンと認識されることから、本来とは異なったコドンをもつタンパク質を作り出す可能性がある。ADAR は 3 種類 (ADAR1 ~ 3) が同定されており、二本鎖 RNA 結合部位と触媒部位をもつが、編集活性を有するのは ADAR1 と ADAR2 である。ADAR1 欠損マウスは胎生致死であり、また ADAR2 欠損マウスは生後 20 日以内に死亡する。このことから、いずれの酵素も生命活動に重要な役割を果たしていると考えられるが、ADAR の役割は十分には解明されていない。申請者の研究室ではこれまでにゴルジ体から小胞体へのタンパク輸送を担う、COPA 遺伝子の mRNA がヒト悪性胸膜中皮腫 (MPM) 細胞において A-to-I RNA 編集を受けることを見出している。本研究では MPM 細胞の悪性形質発現に及ぼす、COPA の RNA 編集および ADAR の役割について調べた。発現ベクターあるいは siRNA を用いて、MPM 細胞の ADAR1、ADAR2、COPA (未編集型および編集型) 遺伝子の発現を人為的に変化させ、悪性形質の変化を解析した。MPM 細胞の ADAR2 の発現を抑制した場合にのみ COPA 遺伝子の RNA 編集頻度ならびに細胞増殖・運動・浸潤能の低下がみられた。MPM 細胞に RNA 未編集型あるいは編集型 COPA を過剰発現させても増殖・運動・浸潤能の変化は認められなかつ

た。つぎに、酵素活性をもたない ADAR2 の変異タンパクあるいは 2 本鎖 RNA 結合能をもたない変異タンパクを MPM 細胞に強制発現させた。いずれの変異体を強制発現させても、COPA の RNA 編集頻度は低下した。一方、増殖・運動能・浸潤能は RNA に結合できない ADAR2 を発現させた場合でのみ低下した。MPM 細胞において ADAR2 は、酵素活性非依存的に細胞増殖、運動能および浸潤能の維持・増強に関与していると考えられた。

論文審査にあたり、学位申請者による研究要旨説明後、本研究および関連する研究について口頭試問を行った。主な質問事項は、1) 悪性中皮腫に RNA editing を認めることが最初からわかっていたのか、2) RNA editing rate の計算方法、3) ADAR1, 2, 3 はどのような違いがあるのか、knockout mouse は生存できるのか、4) miRNA の発現変化は特定のものはわかっているのか、5) そもそも A-to-I RNA editing の役割は何なのか、6) 癌化との関係はなどが質問された。これらの質問に対して申請者から適切かつ明快な回答、説明が得られた。学位論文投稿後も追加実験を行い、今後は英語論文にも投稿予定である。本研究は、悪性中皮腫における A-to-I RNA editing および責任酵素である ADAR の役割を明らかにした。今後、悪性中皮腫の病態解明、治療法の確立の一助になると期待される。また、学位申請者は研究関連分野にも幅広い知識を有し、更なる発展的研究についても積極的に取り組む姿勢が高く評価された。よって、博士(歯学)の学位に値するものとして認められた。