

## Abstract

Since the discovery that SNPs in the first intron of the RNA demethylase FTO are robustly and repeatedly associated with obesity, efforts have been made to understand the physiological role of FTO in energy metabolism. Although FTO is highly expressed in the brain, its ubiquitous expression in mice and humans suggested that peripheral tissue-specific functions of FTO might contribute to the association with obesity. Our study for the first time analysed the role of FTO in peripheral tissues important in systemic energy metabolism. Tissue-specific FTO-deletion revealed no major role for muscle and liver FTO in systemic energy homeostasis under basal conditions. However, FTO-deficiency in the liver exerted a sex-dimorphic upregulation of energy expenditure, thereby partially protecting female mice from diet-induced obesity. Interestingly, microarray analysis revealed that this effect was not due to alterations in gene expression levels of metabolic pathways in FTO-deficient liver.

FTO has been also associated with cancer, therefore we analysed for the first time the role of FTO in carcinogenesis and employed the model of DEN-induced and inflammation-dependent liver cancer. Surprisingly, we identified a protective role for FTO as FTO-deficiency promoted tumourigenesis by upregulation of hepatocyte proliferation without changes in hepatocyte death and overt liver inflammation. This pointed towards a cell-intrinsic effect of FTO, rendering hepatocytes more susceptible to inflammation-dependent compensatory proliferation potentially via regulation of RNA methylation levels. Indeed, by isolating primary hepatocytes we demonstrated that FTO targets m6A-RNA molecules and requires RNA-binding for nuclear localization in hepatocytes. Moreover, analysis of the ribosomal marker RPS6 and the nucleolar marker RSL1D1 suggested that FTO-deficiency does not affect ribogenesis but rather localization of nucleolar proteins like RSL1D1, potentially regulating non-ribosomal functions of the nucleolus.

Taken together, our study demonstrates that FTO in muscle and liver does not play a major role for systemic energy homeostasis. However, we identified a novel role for FTO beyond the regulation of metabolism in DEN-induced hepatocarcinogenesis. We hypothesize that on a molecular level FTO via its effect on RNA methylation levels and the nucleolus, might affect the susceptibility to liver cancer of patients with chronic liver inflammation as observed under conditions of alcohol abuse, viral infections and obesity.

## Zusammenfassung

Seit der Entdeckung, dass SNPs im ersten Intron der RNA Demethylase FTO robust und wiederholend mit Fettleibigkeit assoziieren, wurden Anstrengungen unternommen die physiologische Rolle von FTO im Energiemetabolismus zu verstehen. Obwohl FTO die höchste Expression in Gehirn hat, suggeriert seine ubiquitäre Expression in Mäusen und Menschen, dass Funktionen von FTO spezifisch in peripheren Geweben zu der Assoziation mit Fettleibigkeit beisteuern. Zum ersten Mal hat unsere Studie die Rolle von FTO in peripheren Geweben, die für den systemischen Energiemetabolismus wichtig sind, untersucht. Gewebe-spezifische Ablation von FTO enthüllte keine hauptsächliche Rolle von FTO in Muskel und Leber für die systemische Energiehomeostase unter basalen Konditionen. Allerdings führte Leber-spezifische Ablation von FTO zu einer sex-dimorphischen Erhöhung des Energieumsatzes, die weibliche Mäuse partiell vor Diät-induzierter Fettleibigkeit geschützt hat. Interessanterweise zeigte die Microarray Analyse, dass dieser Effekt nicht auf Änderungen in Genexpressionen von metabolischen Stoffwechselwegen beruhte.

FTO wurde auch mit Krebs assoziiert; daher haben wir zum ersten Mal die Rolle von FTO in der Karzinogenese analysiert und das Model von DEN-induzierten und Entzündungs-abhängigen Lebertumoren benutzt. Überraschenderweise haben wir eine protektive Rolle für FTO identifiziert, weil Ablation von FTO die Tumorgenese durch Erhöhung der Hepatozytenproliferation begünstigte ohne Änderung in Hepatozytentod und Entzündung der Leber. Dieses Ergebnis deutete auf einen zell-intrinsischen Effekt of FTO, der Hepatozyten so veränderte, dass sie empfänglicher für Entzündungs-abhängige kompensatorische Proliferation wurden, möglicherweise über die Regulation von RNA Methylierungsleveln. In der Tat, konnten wir in isolierten primären Hepatozyten demonstrieren, dass FTO m6A-RNA Moleküle bindet und dass die RNA-Bindung für die nukleäre Lokalisation von FTO essentiell ist. Weiterhin konnte die Analyse von ribosomalen Marker RPS6 und nucleolären Marker RSL1D1 suggerieren, dass die Ablation von FTO nicht die Ribogenese, aber die Localization von nucleolären Proteinen wie RSL1D1 beeinflusst und damit potenziell nicht-ribosomale Funktionen des Nucleolus.

Zusammengefasst konnte unsere Studie demonstrieren, dass FTO in Muskel und Leber keine hauptsächliche Rolle für die systemische Energiehomeostase spielt. Jedoch konnten wir eine neue Rolle für FTO jenseits der Regulierung des Metabolismus in DEN-induzierter Hepatokarzinogenese identifizieren. Wir vermuten, dass FTO auf

molekularer Ebene über seinen Einfluss auf RNA Methylierungslevel und den Nucleolus die Empfänglichkeit für Lebertumore verändern kann in Patienten mit chronischer Leberentzündung wie sie unter Alkoholmissbrauch, viralen Infektionen und Fettleibigkeit vorkommt.