



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functional analysis of miR-199a-3p in tumor endothelial cells
Author(s)	洪, 諭瑩
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16940号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16940
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99785
Type	doctoral thesis
File Information	Yuying_Hong_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 洪諭瑩（Hong Yuying）

主査 教授 樋田 京子
審査担当者 副査 教授 宮本 郁也
副査 教授 大廣 洋一

学 位 論 文 題 名

Functional analysis of miR-199a-3p in tumor endothelial cells
(腫瘍内皮細胞における miR-199a-3p の機能解析)

審査は審査担当者全員出席の下、対面形式の公聴会として行われた。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた。その内容を以下に示す。

腫瘍血管新生、すなわち腫瘍内における新たな血管の形成は、腫瘍の増殖と転移に不可欠である。腫瘍血管は、生理学的・形態学的に正常血管とは異なり、周皮細胞被覆の減少や血管透過性の増加といった構造異常を示す。これらの異常は、がん進展を促進する腫瘍微小環境の形成に寄与する。腫瘍血管内皮細胞（TECs）は、染色体異常や抗がん剤耐性など、正常血管内皮細胞（NECs）とは異なる表現型および機能的特徴を示すことが我々のをはじめ複数の研究グループにより報告されている。マイクロ RNA（miRNA）は、標的 mRNA に結合して mRNA 分解や翻訳抑制を引き起こす、約 20 塩基長の小さな非コード RNA であり、転写後段階で遺伝子発現を調節する。miRNA は腫瘍進展において重要な役割を果たすが、TEC におけるその具体的な機能は未だ完全には解明されていない。

本研究では、ヒト腎癌組織の腫瘍領域と非腫瘍領域から分離した TEC と NEC を用いて miRNA アレイ解析により miRNA 発現プロファイルを比較した。miR-199a-3p が NEC に比べ TEC において最も発現上昇している miRNA であった。そこで miR-199a-3p の血管内皮細胞における機能を調べることにした。NEC に miR-199a-3p を過剰発現させると細胞増殖、遊走能、浸潤能を著しく促進する一方、anti-miR-199a-3p を TEC に遺伝子導入するとこれらの細胞機能が抑制されることが示された。これらの知見は、miR-199a-3p が TEC の血管新生能に寄与することを示唆した。次に 4 つの独立したデータベースを用いて miR-199a-3p の標的遺伝子の同定を試みた。CD151 が miR-199a-3p の潜在的な標的遺伝子として同定され、その後の実験で miR-199a-3p が CD151 の発現を抑制することが確認された。実際に miR-199a-3p 高発現 TEC では NEC に比べ CD151 発現量は低下していた。NEC における siRNA を用いた CD151 遺伝子ノックダウンが血管内皮細胞の増殖・移動・浸潤を促進し、miR-199a-3p 過剰発現と同様の効果をもたらすことも示された。さらに、miR-199a-3p 過剰発現と CD151 ノックダウンはいずれも、細胞外マトリックス成分コラーゲン IV への接着性を低下させ、血管内皮細胞の浸潤能を促進した。CD151 の発現低下は TEC における ERK シグナル伝達活性化、内皮細胞の増殖、移動、浸潤といった血管新生における重要な機能の促進に関与することが示された。さらに、miR-199a-3p の過剰発現と CD151 のノックダウン両方が TEC における MMP2 発現を顕著に上昇させ、細胞外マトリックス分解の促進による高い血管新生能につながることも示された。

本研究は、miR-199a-3p による CD151 発現抑制が TEC における ERK 活性化を引き起こすことを実証し、腫瘍血管新生における細胞外マトリックスと TEC の相互作用における新たな分子機序を明らか

にした。これらの知見は、miR-199a-3p-CD151-ERK シグナル経路が腫瘍血管新生阻害の新たな標的としての可能性を示唆している。

審査は提出論文の内容及び関連した学問分野について、口頭により試問する形式で行われた。以下にその項目を示す。

- (1) 異なる腫瘍タイプにおける miR-199a-3p と血管新生への効果について
- (2) miR-199a-3p が TEC 遊走を促進しつつ TEC-マトリックス接着を減少させるメカニズム
- (3) TEC における miR-199a-3p 発現亢進のメカニズム
- (4) anti-miR-199a-3p と anti-VEGF 薬剤の血管新生阻害効果の違いについて
- (5) 既存の血管新生阻害剤と比べた anti-miR-199a-3p の治療戦略としての優位性について
- (6) 長期培養条件下における TEC 表現型の変化について
- (7) miR-199a-3p mimic が NEC に及ぼす作用の特異性と潜在的なオフターゲット効果
- (8) 抗 miR-199a-3p の臨床応用に向けた薬剤開発の戦略について
- (9) TEC からの miR-199a-3p の細胞外小胞を介した分泌と腫瘍微小環境の他の細胞成分への影響

本研究は、miR-199a-3p による CD151 の抑制が引き起こす腫瘍内皮細胞の表現型変化が、腫瘍血管新生と癌転移を促進する新規メカニズムとなり得ることを示した。miR-199a-3p-CD151-ERK シグナル伝達経路が治療標的としての可能性を示したものとして評価された。また、上記の質疑応答から、申請者は本研究内容を中心とする専門分野はもとより、関連分野においても十分な理解と知識を有していることが確認された。

以上のことから、審査担当者全員は学位申請者が博士 (歯学) の学位を授与されるに値するものと認めた。