

## 老化と MicroRNA

東 純哉 家串 和真 岩林 正明 谷山 義明 森下 竜一

**要約** MicroRNAs(miRNAs)は、ゲノム上にコードされた短鎖のノンコーディング RNA で、標的 mRNA に対する結合部位の配列と必ずしも完全に一致しなくても mRNA の翻訳を転写後レベルで抑制する。まず線虫において miRNA がインスリン/インスリン様成長因子 I (IGF-I), DNA 修復因子を介して老化・寿命を制御していることが明らかになった。さらに最近になって、若年マウスと高齢マウスの組織特異的な miRNA の発現を比較することで、哺乳類の老化の過程に関連する miRNA も同定されつつある。ヒトの細胞株においても多くの miRNA が細胞老化に強くかかわっていることが示され、今後は細胞老化の制御機構を組織、臓器、個体の老化機序に統合する研究が進んでいくと予想される。本稿では老化における miRNA の役割を解説する。

**Key words** : 老化, 細胞老化, マイクロ RNA

(日老医誌 2013; 50: 9-15)

### 序 文

老化は外界からの多くのストレス因子によって誘導される。しかし、25年にわたる老化研究から本質的に遺伝的要因も重要であることが知られるようになった。遺伝的要因が寿命に影響を与えることはまずは線虫で発見されたが、その機序は線虫ばかりでなく、酵母やショウジョウバエ、マウスやヒトでも存在することが後に確認された。最初に確認されたのはインスリン/IGF-Iを介する機序である<sup>1)2)</sup>。この発見により、哺乳類を含む多くの動物で観察されるカロリー制限による寿命の延長が、インスリン/IGF-Iシグナルによって制御されていることが明らかになった。

近年、MicroRNAs (miRNAs) は細胞老化や個体老化の重要な制御因子として研究されるようになった。miRNAs は短鎖のノンコーディング RNA で配列特異的に mRNA の転写抑制もしくは分解を行うことで標的 mRNA の発現を制御する<sup>3)</sup>(図1)。最初の miRNA の報告は線虫における lin4 である<sup>4)</sup>。その後、2012年8月までに2万種類を超える miRNA があらゆる動植物種で同定されている (<http://www.mirbase.org/>)<sup>5)</sup>。制御性低分子として miRNA は幹細胞の自己再生能、細胞増殖、

アポトーシス、代謝などにも影響を与える広範な生物学的機能を有している<sup>3)</sup>。老化制御における miRNA の役割は最近確立されたものであるが、その初めての報告もまた lin4 であった。以降、多くの miRNA が老化に深くかかわることが報告されるようになった。本稿では線虫や哺乳類において寿命を制御していると考えられる miRNA について概説する。

### 老化に関連するシグナル

老化は分子レベルもしくは細胞レベルの障害の蓄積によってもたらされる多因子に関連する状態である。その結果、全身の健康状態は損なわれ、死亡率や突然死の増加につながる。多くの偶発的または確率的要素が個体の老化過程に寄与しているが、老化自体が本質的に強い遺伝的素因を孕んでいる<sup>2)</sup>。細胞老化と個体の老化を調整している遺伝子発現パターンは、実は細胞増殖や臓器発達を調整する重要な機構の副産物であるのかもしれない<sup>6)</sup>。老化に関連してもっとも多く研究されているのが、インスリン/IGF-Iシグナルであり、最初に線虫の寿命を延ばす因子としてこのシグナルが報告された<sup>1)2)</sup>(図2)。線虫は悪条件下では口の閉じた幼虫形態である耐性幼虫となり静止休眠状態に入る。DAF-2 (ヒトのインスリン様因子) 受容体は神経細胞で発現し、この神経細胞を介して体の周りの栄養環境を感知し、栄養状態に応じて耐性幼虫化するかを決定し、寿命にも影響を与えている<sup>7)</sup>。細胞レベルでは DAF-2 受容体はインスリン様のタ

The role of miRNA in aging

Junya Azuma, Kazuma Iekushi, Masaaki Iwabayashi, Yoshiaki Taniyama, Ryuichi Morishita : 大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学講座

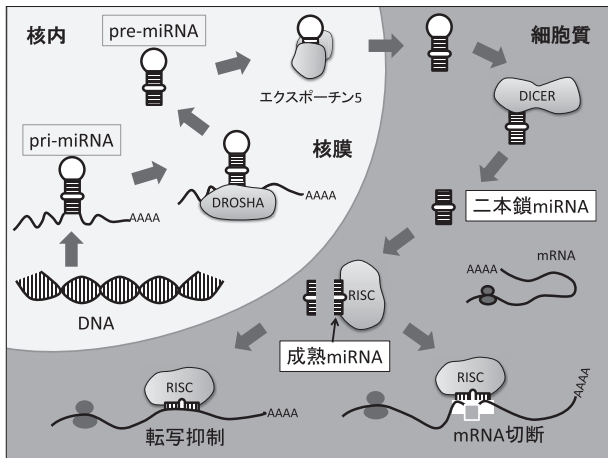


図1 マイクロRNAの発現経路

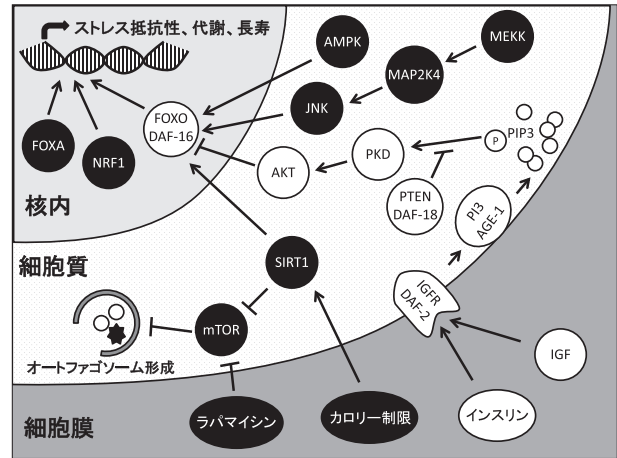


図2 老化にかかわる細胞内シグナル

ンパクに応答し、AGE-1 (ヒトの PI3K), DAF-18 (ヒトの PTEN) を介して DAF-16 (ヒトの FOXO 転写因子) の活性化を抑制する。DAF-16 は細胞ストレス応答に関連する因子を制御し、病原体耐性、代謝と深くかかわることから、DAF-16 を介した複合的な効果が寿命延長にかかわっていると考えられる<sup>8)9)</sup>。DAF-16 は、線虫では主に腸で作用するが、神経にも存在し、全動物種を通じてみると神経を介して老化を制御している<sup>10)</sup>。ショウジョウバエの FOXO は腹部や脳辺縁の脂肪体でインスリン/IGF-I シグナルを非自律的に作動させて老化を制御している<sup>11)</sup>。後にマウスにおいても脂肪組織と脳の IGF-I 受容体が寿命の制御に関連していることが示された<sup>12)</sup>。また多くのヒトでのコホート研究で IGF-I や FOXO3 などのインスリン/IGF-I シグナルに関連する因子の遺伝子多型が長寿と関連することも報告されている<sup>13)14)</sup>。このように老化制御におけるインスリン/IGF-I シグナルが種を超えて厳重に保存されていることからその重要性を推し量ることができる。

インスリン/IGF-I シグナルは転写因子である FOXO の核内移行を阻止する。逆にこのシグナルが遮断されると FOXO が活性化され、長寿に関連する遺伝子群が働きだす (図2)。線虫における間欠的な摂食では DAF-16 が寿命延長に貢献しているが、その一方で多くの他の食事制限モデルは DAF-16 に依存しない<sup>15)</sup>。FOXO は AMP キナーゼ (AMPK) や Jun-N 末端キナーゼ (JNK) のリン酸化、サーチュイン1 (SIRT1) の脱アセチル化でも活性化される。慢性的な食事制限で SIRT1 が活性化され、オートファジーが増加するが、この現象はラパマイシンの内服による TOR シグナル抑制でも再現される。転写因子である FOXA や核呼吸因子 (NFR) も食

事制限による寿命延長効果に必須である<sup>16)</sup>。さらにミトコンドリア呼吸鎖の電子伝達体であるユビキノン (コエンザイム Q/CoQ) は最大の活性酸素種 (ROS) の供給源となるが、CoQ の合成酵素の一つである COQ7 なども老化を制御する因子となりえる<sup>17)</sup>。以前からテロメアを維持することが本来の寿命を全うするのに必要なことは知られているが、テロメアに関連したシグナルを活性化することで寿命を延長できるのかは疑問の余地がある<sup>18)</sup>。

## MicroRNA とは

miRNA はノンコーディング領域に分類される短鎖の RNA である (図1)。哺乳動物の miRNA の多くは核内で転写され、まずキャップ構造やポリ A テールをもつ長鎖の初期 miRNA 前駆体 (Pri-miRNA) として発現する<sup>19)20)</sup>。Pri-miRNA は不完全塩基対をもつ複数のステムループ構造をもち、これが Drosha により切断され、miRNA 前駆体 (pre-miRNA) が生成される。Pre-miRNA は Exportin-5 により核外へ輸送され、細胞質で Dicer によってループ部分が切断される<sup>21)22)</sup>。この二本鎖 miRNA の鎖長は約 22 塩基程度で RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) と呼ばれる複合体に取り込まれ<sup>22)</sup>、二本鎖のうち片方は除去される。もう一方の鎖は成熟 miRNA として RISC 内で保持される。RISC は成熟 miRNA をテンプレートとして主に標的 mRNA の 3 末端側を配列特異的に認識し<sup>23)</sup>、切断または翻訳抑制を行う<sup>24)</sup>。miRNA の多くは種間で高度に保存されており、個々の miRNA は数百の遺伝子を直接的に抑制することで細胞機能を精密にチューニングしていると考えられている。

### 線虫の老化における MicroRNA の機能

miRNA が老化制御において重要な働きを示すことがまず線虫において証明された。線虫のアルゴノート遺伝子である *arg1* を成体時にノックダウンすると全般的な miRNA の機能が攪乱され、野生型に比して有意に寿命が短縮することが示された<sup>25)</sup>。

最初に発見された miRNA である *lin-4* はそのクラシカルな標的である *lin-14* とともに線虫の寿命に影響を与えている。特に *lin-4* の機能欠失型変異体または *lin-14* の機能獲得型変異体 (*lin-14* の *lin-4* 結合領域を除去したもの) では寿命が短縮した。一方で *lin-4* の過剰発現もしくは RNAi による *lin-14* のノックダウンでは寿命が延長した<sup>26)</sup>。さらに成体期における *lin-14* のノックダウンだけでも寿命を延長することが可能であった。老化における *lin4* の機能解析からその変異体では活性酸素が増加し、自発運動率の低下が認められたことから、老化の表現型を示していると考えられた<sup>27)</sup>。

*Lin4* に加え、*miR-71*, *miR-238*, *miR-239*, *miR-246* などの miRNA も寿命に関連することが報告されている<sup>28)</sup>。しかし、興味深いことにこれらの miRNA は線虫の発生過程には影響を与えない<sup>29)</sup>。*mir-71*, *mir-238*, *mir-246* の変異体は野生種より極端に短い寿命を示し、*miR-71* と *miR-246* の過剰発現で寿命が延長する。逆に *mir-239* 変異体では野生種より寿命が延びるものの、*miR-239* の過剰発現では逆になる。即ち *miR-239* は寿命を短縮させている。また *mir-71*, *mir-238*, *mir-246* の変異体では熱や酸化ストレスなどの外的ストレス感受性が高く、*mir-239* の変異体では耐性である。この現象はそれぞれの変異体の寿命から予測できることであるが、miRNA が寿命自体を制御し、単純に遺伝子病に由来しているわけではないことを示している。少なくとも *miR-71* と *miR-239* はインスリン/IGF-I シグナルと DNA 障害チェックポイントシグナルを標的にして老化を制御している<sup>28)</sup>。耐性幼虫の初期休止期に *mir-238* の発現が増加するが、興味深いことに *miR-71* は初期休止期だけでなく、耐性幼虫の回復期でも上方制御される。これは *mir71* が環境ストレスに対する細胞応答を介して寿命も制御していることを示している<sup>30)</sup>。ストレス環境下で機能する miRNA は老化に関しても重要な因子と考えることができる。

線虫のマイクロアレーや大規模シーケンスによって老化には関連のない miRNA も多く発見された<sup>25)28)31)</sup>。その結果、線虫の約 200 種類発見されている *mir* のうち、50 種類以上の *mir* が老化とは関連なく発現してい

高齢マウス(vs若年マウス)															
肝臓	<table border="0"> <tr> <td><i>miR-34a</i> ↑</td> <td rowspan="5">┌───┐</td> <td><i>MGST1</i></td> </tr> <tr> <td><i>miR-93</i> ↑</td> <td><i>UQCRC1</i></td> </tr> <tr> <td><i>miR-214</i> ↑</td> <td><i>SIRT1</i></td> </tr> <tr> <td><i>miR-669c</i> ↑</td> <td></td> </tr> <tr> <td><i>miR-709</i> ↑</td> <td></td> </tr> </table>	<i>miR-34a</i> ↑	┌───┐	<i>MGST1</i>	<i>miR-93</i> ↑	<i>UQCRC1</i>	<i>miR-214</i> ↑	<i>SIRT1</i>	<i>miR-669c</i> ↑		<i>miR-709</i> ↑				
<i>miR-34a</i> ↑	┌───┐	<i>MGST1</i>													
<i>miR-93</i> ↑		<i>UQCRC1</i>													
<i>miR-214</i> ↑		<i>SIRT1</i>													
<i>miR-669c</i> ↑															
<i>miR-709</i> ↑															
脳	<table border="0"> <tr> <td><i>miR-22</i> ↑</td> <td rowspan="4">┌───┐</td> <td>電子伝達系</td> </tr> <tr> <td><i>miR-101a</i> ↑</td> <td><math>F_1F_0</math>-ATPase</td> </tr> <tr> <td><i>miR-720</i> ↑</td> <td></td> </tr> <tr> <td><i>miR-721</i> ↑</td> <td></td> </tr> </table>	<i>miR-22</i> ↑	┌───┐	電子伝達系	<i>miR-101a</i> ↑	$F_1F_0$ -ATPase	<i>miR-720</i> ↑		<i>miR-721</i> ↑						
<i>miR-22</i> ↑	┌───┐	電子伝達系													
<i>miR-101a</i> ↑		$F_1F_0$ -ATPase													
<i>miR-720</i> ↑															
<i>miR-721</i> ↑															
骨格筋	<table border="0"> <tr> <td><i>miR-7</i> ↑</td> <td rowspan="5">┌───┐</td> <td><i>miR-124a</i> ↓</td> </tr> <tr> <td><i>miR-468</i> ↑</td> <td><i>miR-181a</i> ↓</td> </tr> <tr> <td><i>miR-542</i> ↑</td> <td><i>miR-221a</i> ↓</td> </tr> <tr> <td><i>miR-698</i> ↑</td> <td><i>miR-382</i> ↓</td> </tr> <tr> <td></td> <td><i>miR-434</i> ↓</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td><i>miR-455</i> ↓</td> </tr> </table>	<i>miR-7</i> ↑	┌───┐	<i>miR-124a</i> ↓	<i>miR-468</i> ↑	<i>miR-181a</i> ↓	<i>miR-542</i> ↑	<i>miR-221a</i> ↓	<i>miR-698</i> ↑	<i>miR-382</i> ↓		<i>miR-434</i> ↓			<i>miR-455</i> ↓
<i>miR-7</i> ↑	┌───┐	<i>miR-124a</i> ↓													
<i>miR-468</i> ↑		<i>miR-181a</i> ↓													
<i>miR-542</i> ↑		<i>miR-221a</i> ↓													
<i>miR-698</i> ↑		<i>miR-382</i> ↓													
		<i>miR-434</i> ↓													
		<i>miR-455</i> ↓													
血管	<table border="0"> <tr> <td><i>miR-29a</i> ↑</td> <td rowspan="3">┌───┐</td> <td>コラーゲン</td> </tr> <tr> <td><i>miR-29b</i> ↑</td> <td>エラスチン</td> </tr> <tr> <td><i>miR-29c</i> ↑</td> <td></td> </tr> </table>	<i>miR-29a</i> ↑	┌───┐	コラーゲン	<i>miR-29b</i> ↑	エラスチン	<i>miR-29c</i> ↑								
<i>miR-29a</i> ↑	┌───┐	コラーゲン													
<i>miR-29b</i> ↑		エラスチン													
<i>miR-29c</i> ↑															

文献 18 より改変

図 3 哺乳類の老化にかかわるマイクロ RNA

ると報告されている。そのうちの半数はヒトでも保存されている配列であった<sup>5)31)</sup>。もっとも注目される miRNA の一つである *miR-34* は老化で過剰発現するが、耐性幼虫期や初期休止期でも同様に発現し<sup>25)28)31)32)</sup>、細胞老化においても重要な役割を果たしていると考えられる<sup>33)34)</sup>。

### 哺乳類における老化での MicroRNA の役割

哺乳類における老化でも miRNA が細胞もしくは組織特異的に老化を制御している。最近の研究では高齢マウスと若年マウスの miRNA の発現量を比較することで、多くの老化に関連する miRNA が同定されているが、人間および霊長類でも多様な miRNA が加齢に応じて発現することが報告されている。この老化における miRNA の発現パターンは哺乳類では臓器レベルで確認されている (図 3)。

#### 肝臓

4~10 カ月齢の若年マウスと比較して、*miR-669c* と *miR-709* の発現レベルは 18 カ月齢ぐらいの中年ネズミの肝臓で増加を認め、*miR-93* と *miR-214* は 33 カ月齢の高齢マウスで増加していた<sup>35)</sup>。さらにプロテオミク解析では *miR-93*, *miR-214*, *miR-669c* のすべてが、酸化作用を有し、肝臓の老化とともに活性の低下するグルタチオン S-転移酵素 (MGST1) を標的としていた。さらに *miR-93*, *miR-214*, *miR-709* はチトクロム C 複合体 (UQCRC1) のようなミトコンドリア機能と修復に重要な因子と標的としており、高齢マウスの肝臓でも低下していた<sup>35)</sup>。ラットでも加齢で肝臓の *miR-34a* と *miR-93* の発現が上昇することが報告されている<sup>36)</sup>。これらの

miRNA はいずれも酸化ストレスに対して重要な役割を果たすMGST1, サーチュイン (SIRT1) を老化とともに減少させていた。

#### 脳

哺乳類の脳でも肝臓の老化過程で見出されたmiRNAと似たような傾向が認められた。およそ70種類のmiRNAが中年マウスの脳で発現し始め、18カ月齢まで確認された<sup>37)</sup>。そのうちのいくつかは老化過程における肝臓でも同定されたが、一方でmiR-22, miR-101a, miR-720, miR-721は脳でのみ発現が増加していた。老化により呼吸回数が減るが、これは酸化的リン酸化において重要な役割を果たすミトコンドリアの電子伝達系とF<sub>1</sub>F<sub>0</sub>がATPase年齢とともに減少するためと考えられる。そして脳の老化の過程で同定された70種類のmiRNAのうち27種類はこのミトコンドリアの電子伝達系とF<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATPaseの構成因子を標的すると予測されている<sup>37)</sup>。

人間の脳におけるmiRNAと老化との関係はいまだ未知であるが、ヒト、チンパンジー、マカクの皮質と小脳では老化に応じて発現量が増加したmiRNAが同定された。その中でも脊髄小脳変性症1型の原因遺伝子であるアタキシン-1を標的とするmiR-144がこれらの霊長類のすべてで同定されたことは興味深い<sup>38)</sup>。miR-144は老化で脳内に増加してくるアタキシン-1を抑制するために発現するのかもしれない。また脊髄小脳変性症1型やその他のポリグルタミン病の発症にかかわっている可能性もある<sup>38)</sup>。

#### 骨格筋

骨格筋においても老化でmiRNAの発現に変化がみられる。筋前駆細胞の分化にかかわるmiR-221を含め、老化したマウスの骨格筋から57種類のmiRNAが同定された<sup>39)</sup>。miR-7, miR-468, miR-542, miR-698が実質的に最も多く発現しており、miR-124a, miR-181a, miR-221, miR-382, miR-434 and miR-455は低下していた<sup>39)</sup>。若年者の骨格筋を高齢者のものと比較すると、LET-7B, LET-7Eなどを含めて18種類のmiRNAが異なった発現を示した<sup>40)</sup>。このlet7ファミリーは細胞周期の調整因子であるサイクリン依存性キナーゼ6 (CDK6), CDC25A, CDC34や衛星細胞の代謝回転に重要なPAX7を抑制する。このように骨格筋の老化においてもmiRNAは筋細胞の増殖を制御しうる<sup>40)</sup>。

#### 大動脈

「ヒトは血管とともに老いる」というウィリアム・オスラー博士の有名な言葉がある<sup>41)</sup>。実際に6週齢の若年ネズミと18カ月齢の高齢マウスの大動脈を比較すると

miR29 (miR29a, 29b, 29c) を含む18種類のmiRNAで発現の変化が認められた<sup>42)</sup>。miR29は細胞外マトリックス関連因子を標的とすることで知られているが、老化マウスの大血管ではコラーゲン1A1, コラーゲン3A1, エラスチンのmRNAの減少が認められ、miR29の発現も亢進していた。また大動脈瘤は老化関連疾患であるが、Fbn1変異を持つマルファン症候群モデルマウスおよびアンジオテンシンII誘発大動脈瘤モデルでもmiR29bが共通して過剰発現しており、ヒトの胸部動脈瘤サンプルでも同様にmiR29の発現が亢進していた<sup>42)</sup>。一方でエラストラーゼ誘発動脈瘤モデルと前述のアンジオテンシンII誘発大動脈瘤モデルを用いた検討ではむしろmiR29bの発現はコントロール群に比して低下していると報告され、ヒトの腹部動脈瘤サンプルでもmiR29bの発現は低下していた<sup>43)</sup>。そもそも形質転換増殖因子β (TGFβ) に対する胸部と腹部の血管反応に差があることが報告されており<sup>44)</sup>、このような矛盾を引き起こしたのかもしれないが、組織解析法の違いでもこのように相反した結果が引き出される可能性があることに留意しなければならない<sup>45)</sup>。いずれの報告においてもmiR29bに拮抗作用のあるアンチセンスを投与することで瘤の拡張を抑制できたという点に関しては一致した見解を得ているが、血管老化におけるmiRNAの意義についてはさらなる検討が必要である<sup>42)43)</sup>。

### MicroRNAを介した細胞老化の制御

組織の老化で発現するmiRNAの機能を解析することで、これらのmiRNAが細胞老化においても重要な因子を標的することがわかってきた。老化細胞における進行性の障害の蓄積は組織特異的な老化や生物の寿命に大きな関わりを持っている。また、プログラムされた増殖停止状態という意味での細胞老化は癌に対する予防機序として進化したものとも考えられる<sup>6)</sup>。miRNAは、細胞レベルでもインスリン/IGF-Iシグナルとその関連する因子を介して老化を制御しているが、それ以外にも細胞ストレスに対する応答や癌を制御している因子を標的とすることで細胞を動的な増殖モードから静的な老化モードへとスイッチングする役割を担っている。

miR-106a-363クラスターやmiR-106b-25クラスターともにパラロガスな関係にあるmiR-17-92クラスターは細胞老化を制御し、いくつかの老化モデルではすべて一律に発現が低下している。その一方で癌組織ではすべての発現が亢進している場合がある<sup>46)47)</sup>。これらのmiRNAはPTENを標的としており、その発現が低下することでPTENの発現が増加し、その結果インスリン/IGF-I

シグナルを抑制することになる(図2). BCL2, インターフェロン制御因子 (IRF), JNK2, TGF $\beta$ , 低酸素誘導因子1(HIF1 $\alpha$ ), p53, p27といった細胞周期やアポトーシスを制御する因子が miR-17-92 クラスタやその他のパラログクラスタの標的として約30種が同定されている<sup>47</sup>. さらに miR-17-92 クラスタから生じる miR-18a, miR-19a, miR-19b は細胞外マトリックスタンパクである結合組織増殖因子 (CTGF) やトロンボスポンジン1(TSP1)を標的しており<sup>48</sup>, 老化により心不全に至った症例から採取された心筋では CTGF や TSP1 の発現増加はこれらの miR の発現低下と関連があった<sup>48</sup>. miR-216a と miR-217 も PTEN を標的とするが, これらの miRNA は TGF $\beta$  と AKT のフィードバックループを通じて AKT の活性化を高め, 細胞の生存性を高める. AKT を活性化させるために, TGF $\beta$  は miR-192 とともに PTEN を標的とする miR-216a と miR-217 の発現を誘発する<sup>49</sup>. このようにして PTEN による AKT の非活性化を抑制する. 面白いことに PTEN を標的とする miR-21 も AKT の活性化によって上方制御される. 一方で, 細胞老化の誘発に影響を与える虚血のプレコンディショニング状態下では, AKT は miR-199a-5p を下方制御することで, その標的である HIF1 $\alpha$  や SIRT1 の発現を増強する<sup>50</sup>.

腫瘍抑制遺伝子である p53 や網膜芽細胞腫関連タンパクである RB1 によっても細胞老化は制御されうる<sup>6</sup>. 多くの miRNA が p53 の発現をその標的である p21 や Rb シグナルを介して転写後に制御する. p53 シグナルに関しては miR-34a, SIRT1, p53 の間にポジティブフィードバック機構が存在している<sup>33</sup>. miR-34a は SIRT1 の抑制により FOXO1 の脱アセチル化を増加させ, 内皮前駆細胞の老化を誘発する<sup>34</sup>. miR-217 は早発性の内皮細胞の老化を SIRT1 とそれに続く FOXO1 の脱アセチル化の両方の抑制によって誘発する<sup>51</sup>. マウスの Hutchinson-Gilford 早老症モデルでは野生種と比較して mir29b が p53 や DNA 障害に依存性に発現が増加し, 正常老化でも同様の現象が認められることがわかった<sup>52</sup>. miR-29 は p53 の脱リン酸化酵素 PPM1D を抑制し, 結果として p53 を安定化させる<sup>52</sup>. 細胞増殖や生体の老化においてサイクリン依存性キナーゼ阻害因子である p21 は, miR-17-92 クラスタの構成因子である miR-15, 17, 19b, 20a, 106a, 106b の発現低下と相関がある<sup>36,53</sup>. miR-22 は老化したヒトの線維芽細胞と上皮細胞で上方制御され, CDK6 を標的としている<sup>54</sup>. miR-29 と miR-30 に関連した miRNA は細胞老化において上方制御されているが, Rb シグナルに依存している. 一方で miR-29

と miR-30 の発現を抑制すると Rb に依存した老化も抑制される<sup>55</sup>.

## 展望と総括

比較的新しい領域にもかかわらず, 老化における miRNA の役割は細胞, 臓器, 個体レベルでかなり多くのことがわかってきている. 無脊椎動物の個体レベルの老化を制御する miRNA は数多く同定され, 哺乳類でも組織特異的な老化に関連する多くの miRNA が判明している. しかしその詳細を照らし合わせると必ずしもすべてが合理的に説明されるわけではない. miR-34 や miR-71 などの key となるいくつかの miRNA は老化で発現が亢進するが, 線虫の大半の miRNA は老化においては発現が低下する. それとは対照的に哺乳類の組織特異的な老化では一般的に miRNA の発現が増加する<sup>28,56</sup>. この矛盾は「個体と組織レベルにおける miRNA の発現の差なのか, それとも種間の差なのか?」という重要な問題を提起している. 細胞老化における miRNA の役割に関しても情報量は爆発的に増えつつあるが, いまだその知識は混沌としており, 組織老化, 個体老化とともにどのように体系化されるのか非常に興味深い. miRNA は老化現象を説明するための重要な Key となる可能性を秘めており, その機能をより深く知ることで, 純粋な老化や老化関連疾患に対する診断, 治療薬としての道が開かれるのかもしれない.

## 文 献

- 1) Friedman DB, Johnson TE: A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics* 1988; 118 (1): 75-86.
- 2) Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R: A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 1993; 366 (6454): 461-464.
- 3) Bartel DP: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116 (2): 281-297.
- 4) Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V: The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75 (5): 843-854.
- 5) Kozomara A, Griffiths-Jones S: miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic acids research* 2011; 39 (Database issue): D152-157.
- 6) Campisi J: Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. *Cell* 2005; 120 (4): 513-522.
- 7) Dillin A, Crawford DK, Kenyon C: Timing requirements for insulin/IGF-1 signaling in *C. elegans*. *Science* (New York, N Y) 2002; 298 (5594): 830-834.
- 8) Murphy CT, McCarroll SA, Bargmann CI, Fraser A, Kamath RS, Ahringer J, et al.: Genes that act down-

- stream of DAF-16 to influence the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2003; 424 (6946): 277–283.
- 9) Ogg S, Paradis S, Gottlieb S, Patterson GI, Lee L, Tissenbaum HA, et al.: The Fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-like metabolic and longevity signals in *C. elegans*. *Nature* 1997; 389 (6654): 994–999.
  - 10) Libina N, Berman JR, Kenyon C: Tissue-specific activities of *C. elegans* DAF-16 in the regulation of lifespan. *Cell* 2003; 115 (4): 489–502.
  - 11) Hwangbo DS, Gershman B, Gershman B, Tu M-P, Palmer M, Tatar M: *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body. *Nature* 2004; 429 (6991): 562–566.
  - 12) Holzenberger M, Dupont J, Ducos B, Leneuve P, Gélouën A, Even PC, et al.: IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 2003; 421 (6919): 182–187.
  - 13) Willcox BJ, Donlon TA, He Q, Chen R, Grove JS, Yano K, et al.: FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008; 105 (37): 13987–13992.
  - 14) Suh Y, Atzmon G, Cho M-O, Hwang D, Liu B, Leahy DJ, et al.: Functionally significant insulin-like growth factor I receptor mutations in centenarians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008; 105 (9): 3438–3442.
  - 15) Kenyon CJ: The genetics of ageing. *Nature* 2010; 464 (7288): 504–512.
  - 16) Bishop NA, Guarente L: Two neurons mediate diet-restriction-induced longevity in *C. elegans*. *Nature* 2007; 447 (7144): 545–549.
  - 17) Olsen A, Vantipalli MC, Lithgow GJ: Checkpoint proteins control survival of the postmitotic cells in *Caenorhabditis elegans*. *Science (New York, N Y)* 2006; 312 (5778): 1381–1385.
  - 18) Smith-Vikos T, Slack FJ: MicroRNAs and their roles in aging. *Journal of cell science* 2012; 125 (Pt 1): 7–17.
  - 19) Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR: Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA (New York, N Y)* 2004; 10 (12): 1957–1966.
  - 20) Lee Y, Kim M, Han J, Yeom K-H, Lee S, Baek SH, et al.: MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO journal* 2004; 23 (20): 4051–4060.
  - 21) Ketting RF, Fischer SE, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ, Plasterk RH: Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes & development* 2001; 15 (20): 2654–2659.
  - 22) Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR: Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes & development* 2003; 17 (24): 3011–3016.
  - 23) Saxena S, Jónsson ZO, Dutta A: Small RNAs with imperfect match to endogenous mRNA repress translation. Implications for off-target activity of small inhibitory RNA in mammalian cells. *The Journal of biological chemistry* 2003; 278 (45): 44312–44319.
  - 24) Pillai RS, Bhattacharyya SN, Filipowicz W: Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? *Trends in cell biology* 2007; 17 (3): 118–126.
  - 25) Kato M, Chen X, Inukai S, Zhao H, Slack FJ: Age-associated changes in expression of small, noncoding RNAs, including microRNAs, in *C. elegans*. *RNA (New York, N Y)* 2011; 17 (10): 1804–1820.
  - 26) Boehm M, Slack F: A developmental timing microRNA and its target regulate life span in *C. elegans*. *Science (New York, N Y)* 2005; 310 (5756): 1954–1957.
  - 27) Zhu C, Ji C-B, Zhang C-M, Gao C-L, Zhu J-G, Qin D-N, et al.: The *lin-4* Gene Controls Fat Accumulation and Longevity in *Caenorhabditis elegans*. *International journal of molecular sciences* 2010; 11 (12): 4814–4825.
  - 28) de Lencastre A, Pincus Z, Zhou K, Kato M, Lee SS, Slack FJ: MicroRNAs both promote and antagonize longevity in *C. elegans*. *Current biology: CB* 2010; 20 (24): 2159–2168.
  - 29) Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Abbott AL, Lau NC, Hellman AB, McGonagle SM, et al.: Most *Caenorhabditis elegans* microRNAs are individually not essential for development or viability. *PLoS genetics* 2007; 3 (12): e215.
  - 30) Zhang X, Zabinsky R, Teng Y, Cui M, Han M: microRNAs play critical roles in the survival and recovery of *Caenorhabditis elegans* from starvation-induced L1 diapause. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011; 108 (44): 17997–18002.
  - 31) Ibáñez-Ventoso C, Yang M, Guo S, Robins H, Padgett RW, Driscoll M: Modulated microRNA expression during adult lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Aging cell* 2006; 5 (3): 235–246.
  - 32) Karp X, Hammell M, Ow MC, Ambros V: Effect of life history on microRNA expression during *C. elegans* development. *RNA (New York, N Y)* 2011; 17 (4): 639–651.
  - 33) Yamakuchi M, Lowenstein CJ: MiR-34, SIRT1 and p53: the feedback loop. *Cell cycle (Georgetown, Tex)* 2009; 8 (5): 712–715.
  - 34) Zhao T, Li J, Chen AF: MicroRNA-34a induces endothelial progenitor cell senescence and impedes its angiogenesis via suppressing silent information regulator 1. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism* 2010; 299 (1): E110–116.
  - 35) Maes OC, An J, Sarojini H, Wang E: Murine microRNAs implicated in liver functions and aging process. *Mechanisms of ageing and development* 2008; 129 (9): 534–541.
  - 36) Li N, Muthusamy S, Liang R, Sarojini H, Wang E: Increased expression of miR-34a and miR-93 in rat liver during aging, and their impact on the expression of *Mgst1* and *Sirt1*. *Mechanisms of ageing and development* 2011; 132 (3): 75–85.
  - 37) Li N, Bates DJ, An J, Terry DA, Wang E: Up-regulation of key microRNAs, and inverse down-regulation of their predicted oxidative phosphorylation target genes, during aging in mouse brain. *Neurobiology of aging* 2011; 32 (5): 944–955.
  - 38) Persengiev S, Kondova I, Otting N, Koeppen AH, Bontrop RE: Genome-wide analysis of miRNA expres-

- sion reveals a potential role for miR-144 in brain aging and spinocerebellar ataxia pathogenesis. *Neurobiology of aging* 2011; 32 (12): 2316.e17-27.
- 39) Hamrick MW, Herberg S, Arounleut P, He H-Z, Shiver A, Qi R-Q, et al.: The adipokine leptin increases skeletal muscle mass and significantly alters skeletal muscle miRNA expression profile in aged mice. *Biochemical and biophysical research communications* 2010; 400 (3): 379-383.
- 40) Drummond MJ, McCarthy JJ, Sinha M, Spratt HM, Volpi E, Esser KA, et al.: Aging and microRNA expression in human skeletal muscle: a microarray and bioinformatics analysis. *Physiological genomics* 2011; 43 (10): 595-603.
- 41) Kovacic JC, Moreno P, Hachinski V, Nabel EG, Fuster V: Cellular senescence, vascular disease, and aging: part 1 of a 2-part review. *Circulation* 2011; 123 (15): 1650-1660.
- 42) Boon RA, Seeger T, Heydt S, Fischer A, Hergenreider E, Horrevoets AJ, et al.: MicroRNA-29 in aortic dilation: implications for aneurysm formation. *Circulation research* 2011; 109 (10): 1115-1119.
- 43) Maegdefessel L, Azuma J, Toh R, Merk DR, Deng A, Chin JT, et al.: Inhibition of microRNA-29b reduces murine abdominal aortic aneurysm development. *The Journal of clinical investigation* 2012; 122 (2): 497-506.
- 44) Majesky MW, Dong XR, Hognlund VJ: Parsing aortic aneurysms: more surprises. *Circulation research* 2011; 108 (5): 528-530.
- 45) Milewicz DM: MicroRNAs, fibrotic remodeling, and aortic aneurysms. *The Journal of clinical investigation* 2012; 122 (2): 490-493.
- 46) Faraonio R, Salerno P, Passaro F, Sedia C, Iaccio A, Bellelli R, et al.: A set of miRNAs participates in the cellular senescence program in human diploid fibroblasts. *Cell death and differentiation* 2012; 19 (4): 713-721.
- 47) Grillari J, Hackl M, Grillari-Voglauer R: miR-17-92 cluster: ups and downs in cancer and aging. *Biogerontology* 2010; 11 (4): 501-506.
- 48) van Almen GC, Verhesen W, van Leeuwen RE, van de Vrie M, Eurlings C, Schellings MW, et al.: MicroRNA-18 and microRNA-19 regulate CTGF and TSP-1 expression in age-related heart failure. *Aging cell* 2011; 10 (5): 769-779.
- 49) Kato M, Putta S, Wang M, Yuan H, Lanting L, Nair I, et al.: TGF-beta activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nature cell biology* 2009; 11 (7): 881-889.
- 50) Sayed D, Abdellatif M: AKT-ing via microRNA. *Cell cycle (Georgetown, Tex)* 2010; 9 (16): 3213-3217.
- 51) Menghini R, Casagrande V, Cardellini M, Martelli E, Terrinoni A, Amati F, et al.: MicroRNA 217 modulates endothelial cell senescence via silent information regulator 1. *Circulation* 2009; 120 (15): 1524-1532.
- 52) Ugalde AP, Ramsay AJ, de la Rosa J, Varela I, Mariño G, Cadiñanos J, et al.: Aging and chronic DNA damage response activate a regulatory pathway involving miR-29 and p53. *The EMBO journal* 2011; 30 (11): 2219-2232.
- 53) Hackl M, Brunner S, Fortschegger K, Schreiner C, Micutkova L, Mück C, et al.: miR-17, miR-19b, miR-20a, and miR-106a are down-regulated in human aging. *Aging cell* 2010; 9 (2): 291-296.
- 54) Xu D, Takeshita F, Hino Y, Fukunaga S, Kudo Y, Tamaki A, et al.: miR-22 represses cancer progression by inducing cellular senescence. *The Journal of cell biology* 2011; 193 (2): 409-424.
- 55) Martinez I, Cazalla D, Almstead LL, Steitz JA, DiMaio D: miR-29 and miR-30 regulate B-Myb expression during cellular senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011; 108 (2): 522-527.
- 56) Ibáñez-Ventoso C, Driscoll M: MicroRNAs in *C. elegans* Aging: Molecular Insurance for Robustness? *Current genomics* 2009; 10 (3): 144-153.
-