

トピックス

若齢の細胞外小胞は老化を制御する

Young extracellular vesicles play a role in the regulation of aging.

加齢は、生物にとって避けられないプロセスである。生体では、加齢により細胞増殖を停止する細胞老化が引き起こされ、その結果、老化細胞が出現する¹⁾。老化細胞からは、炎症性サイトカインなどのSASP (senescence-associated secretory phenotype) 因子が放出され、周囲の細胞や組織に様々な影響を及ぼす。そのため、加齢により老化細胞が蓄積すると組織や臓器の老化が加速され、個体レベルでの老化が進行する。同時に、心血管疾患や糖尿病などの慢性疾患も加齢により増加する。これを避けるためにも老化を遅らせ、組織や臓器の機能を維持、回復させることが重要となる。

老化抑制、または組織や臓器の機能回復を目指し、若齢マウスと高齢マウスの血管を結合し、血液を介して循環系を共有するパラビオーシスにより、高齢マウスの臓器や組織を若返らせることができるとの報告がある²⁾。しかし、その効果をもたらす若齢マウスの血液に含まれる成分は、明らかではなかった。

血液成分には、血球以外にホルモンや細胞外小胞(EVs, extracellular vesicles)など多くの因子が含まれる。その中でもEVsは、細胞間コミュニケーションを担い、組織の恒常性や再生に関与することが報告されている³⁾。特に、200 nm以下の小型EVs(sEVs, small extracellular vesicles)は、タンパク質やRNAなどを輸送し、標的となる遺伝子発現に関与することが近年の研究より明らかとなってきた⁴⁾。本稿では、sEVsに含まれるマイクロRNA(miRNA)の種類や量が若齢と高齢で異なること、そしてsEVs投与により若返り効果を期待できることなどを報告したChenらの研究論文⁵⁾について概説する。

sEVsは高齢マウスの寿命を延長

Chenら⁵⁾は、2月齢の若齢マウスから血液を採取し、血漿よりsEVsを分離した。そして、sEVsの粒子サイズや濃度、不純物の有無を確認した。はじめに、若齢マウスのsEVs、または等量のリン酸緩衝液(PBS, phosphate buffered saline)を週に1回、20月齢の高齢マウスに死亡するまで静脈内投与し、生存率を調べた。

するとsEVs投与により高齢マウスの平均寿命は、PBS投与に比べて12.42%(sEVs投与マウスでは34.4月、PBS投与マウスでは30.6月)も延長した。また、sEVs投与により灰色の体毛や脱毛の斑点があった高齢マウスが若齢マウスのように黒くて光沢のある体毛に変化した。そして、虚弱状態を定量化する非侵襲的な虚弱性指数を用い、高齢マウスと若齢マウスを比較した。その結果、高齢マウスは、若齢マウスに比べ、虚弱性指数が顕著に高値を示した。しかし、sEVs投与によりその指数は、高齢マウスで著しく改善した。sEVs投与により、全ての加齢による臨床的な不調が高齢マウスで緩和された。特に、高齢マウスの骨量、骨梁数、骨梁厚、骨梁間隔が若齢マウスに近い水準まで大幅に改善された。

sEVsはミトコンドリア機能を改善

sEVs投与が加齢に伴う虚弱を改善し、総合的に若返り効果をもたらす可能性が示唆された。続いて、加齢により代謝異常や細胞機能低下をもたらすミトコンドリアに注目した。すなわち、脳の海馬と筋肉でのATP合成率、ミトコンドリア複合体Vの活性、そしてミトコンドリアDNAの数について評価した。その結果、高齢マウスでは、若齢マウスに比べて海馬と筋肉の両方において、ATP合成率と複合体Vの活性が有意に低下していた。しかし、高齢マウスへの若齢マウスのsEVs投与により、ATP合成率は、海馬と筋肉ともに約2倍増加した。また、ミトコンドリア複合体Vの活性は、海馬では高齢マウスで約50 nmol/min/gであった数値がsEVs投与後には約130 nmol/min/gに変化し、筋肉では高齢マウスで約200 nmol/min/gであった数値がsEVs投与後には約400 nmol/min/gに増加した。さらに、ミトコンドリアDNAの数を計測するため測定したmtDNAコピー数でも、若齢マウスのsEVsを投与した高齢マウスでは、低下したmtDNAコピー数が増加し、大幅に改善した。また、高齢マウスに高齢マウスのsEVsを投与しても変化は認められず、若齢マウ

スの sEVs 投与でのみミトコンドリアの機能改善がもたらされた。

一方、高齢マウスの sEVs を若齢マウスに投与すると ATP 合成率、複合体 V の活性、mtDNA コピー数など全ての項目において、数値の低下が確認された。高齢マウスの sEVs は、体内でミトコンドリアの機能障害とそれに伴うエネルギー産生の低下をもたらす可能性がある。また、ミトコンドリアの形態を透過電子顕微鏡で観察したところ、高齢マウスのミトコンドリアでは、肥大や破損などの異常が認められた。しかし、若齢マウスの sEVs を投与すると正常なミトコンドリアの形態になった。これらの結果から、若齢マウスの sEVs は、低下したミトコンドリアの機能修復とそれに伴うエネルギー産生の改善を期待できる。

sEVs は認知機能と持久力を改善

加齢による老化の進行が認知機能障害にも繋がることから、若齢マウスの sEVs による認知機能の改善効果を評価した。認知機能の評価には、モリス水迷路試験、文脈恐怖付け試験を用いた。モリス水迷路試験では、プラットホームまでの到着時間が若齢マウスの sEVs を高齢マウスに投与することにより短くなり、若齢マウスに近づいた。さらに、ターゲット象限での滞在時間やプラットホームの横断回数など、記憶の精度も sEVs 投与により改善された。また、音と電気によるフットショックを用いた文脈恐怖付け試験では、加齢により低下していた音によるマウスの凍結率(恐怖でうずくまる行動)が sEVs 投与により高齢マウスで改善した。これらの結果より、sEVs が情動的な記憶、空

間的な記憶の両方において認知機能を改善することが分かった。また、老化の進行により衰えた持久力を sEVs が改善するのかも検討した。すなわち、トレッドミル走行テストを用い、疲労困憊までマウスを走らせた。高齢マウスに若齢マウスの sEVs を投与すると、投与しなかった場合に比べて走行時間が 47.6% も增加了。このように、sEVs 投与が持久力も改善することが分かった。

sEVs の作用メカニズム

これまでの実験により、高齢マウスへの sEVs 投与が様々な面から老化により衰退した機能を改善することが分かった。そこで sEVs に含まれる幾つかの miRNA が若返り因子になっているという仮説を立てた。そして、高齢マウスと若齢マウスの血漿 miRNA のシーケンスプロファイルを解析した。その結果、以前より報告されていた加齢と関連する miRNA が 15 種あった。これらの 15 種をさらに解析し、高齢マウスで高発現している miRNA と若齢マウスで高発現している miRNA に分け、それぞれ高齢マーカー、若齢マーカーとして位置づけた。

次に、若齢および高齢マウスの血漿 sEVs に含まれる miRNA により制御される可能性のある標的遺伝子を予測した。注目したのは、ミトコンドリアの生合成や機能の主要制御因子であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR, peroxisome proliferator-activated receptor) およびその転写共役因子である PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) である。PGC-1 α は、PPAR を介してミトコンドリア生合成

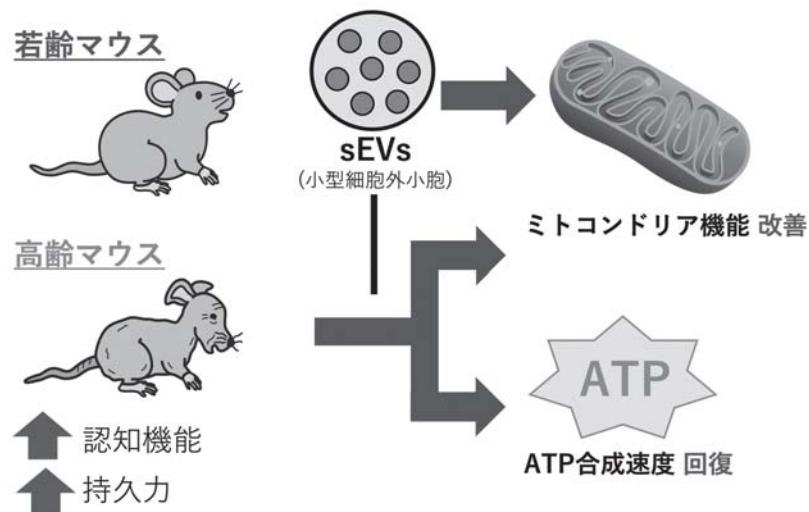


図 1 若齢マウス由来小型細胞外小胞による若返りのメカニズム

の促進や品質管理を行なう。実証するため、若齢マウス由来の sEVs を高齢マウスや培養した神経細胞、および筋芽細胞に投与した。すると PGC-1 α のタンパク質量が増加し、ATP 産生速度やミトコンドリア機能が向上した。これらの結果より、sEVs は miRNA を介して PGC-1 α を調節し、老化によるミトコンドリア機能低下の回復に寄与すると考えられる。

以上の結果より、若齢マウスの sEVs を高齢マウスに投与すると、外見や認知機能の改善が認められた。また、寿命の延長や持久力にも効果のあることが分かった(図 1)。sEVs の作用メカニズムとして、sEVs に存在する miRNA により、ミトコンドリア生合成の主要な制御因子である PGC-1 α のタンパク質量が増加し、ミトコンドリア機能が改善することが示唆された。老化による組織や臓器の代謝異常や機能低下が改善できる可能性がある。今回、sEVs に存在する miRNA のターゲットが PGC-1 α と報告されたが、他にもターゲットが存在する可能性もある。今後、sEVs に存在する miRNA の機能や制御メカニズムが詳細に解明され、新たな老化制御の方法論が確立されることを期待する。

Key words: Aging, miRNA, mitochondrial energy metabolism, PGC-1 α , small extracellular vesicles

¹Molecular Regulation of Aging, Tokyo Metropolitan Institute for Geriatrics and Gerontology,

²Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University

Hiwatashi Yui^{1,2}, Akihito Ishigami^{1,2}

¹ 東京都健康長寿医療センター研究所 分子老化制御,
² 東京都立大学 理学研究科 生命科学専攻
 樋渡 結依^{1,2}, 石神 昭人^{1,2}

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2025.7.21 受付)

文 献

- 1) Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, Campisi J, van Deursen JM (2014) Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep* **15**, 1139–1153
- 2) Conboy MJ, Conboy IM, Rando TA (2013) Heterochronic parabiosis: historical perspective and methodological considerations for studies of aging and longevity. *Aging Cell* **12**, 525–530
- 3) Tkach M, Thery C (2016) Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go. *Cell* **164**, 1226–1232
- 4) Dubey S, Chen Z, Jiang YJ, Talis A, Molotkov A, Ali A, Mintz A, Momen-Heravi F (2024) Small extracellular vesicles (sEVs)-based gene delivery platform for cell-specific CRISPR/Cas9 genome editing. *Theranostics* **14**, 2777–2793
- 5) Chen X, Luo Y, Zhu Q, Zhang J, Huang H, Kan Y, Li D, Xu M, Liu S, Li J, Pan J, Zhang L, Guo Y, Wang B, Qi G, Zhou Z, Zhang CY, Fang L, Wang Y, Chen X (2024) Small extracellular vesicles from young plasma reverse age-related functional declines by improving mitochondrial energy metabolism. *Nat Aging* **4**, 814–838