

mikro-RNA-29

Vesikel-gebundene und frei zirkulierende miRNAs in Alterungsprozessen

VIKTORIA WAGNER, ANDREAS KELLER
UNIVERSITÄT DES SAARLANDES, SAARBRÜCKEN

Altered intercellular communication is one of the molecular hallmarks of aging. Microvesicles carrying different kinds of molecules, like proteins and RNAs are important agents of short- and long-range communication in the body. MicroRNAs (miRNAs) are especially interesting targets to study in this context, as these molecules can regulate multiple targets in the recipient cells via complementary base-pair binding and thereby regulate a complex process such as aging.

DOI: 10.1007/s12268-024-2191-0
© Die Autorinnen und Autoren 2024

■ Das Altern ist ein universeller biologischer Prozess, der alle Lebewesen betrifft und zu einer Vielzahl von physiologischen Veränderungen führt. Trotz umfangreicher Forschung bleiben viele Aspekte des Alterns auf molekularer Ebene unverstanden. In den letzten Jahren hat sich die Aufmerksamkeit

auch auf die Rolle der extrazellulären Vesikel (EVs) als wichtiger Aspekt eines der „Hallmarks“ im Alterungsprozess gerichtet [1]. EVs sind winzige Vesikel, die von Zellen freigesetzt werden und eine Vielzahl von Molekülen, einschließlich RNAs, enthalten. Durch diese Vesikel wird die Kommunikation zwi-

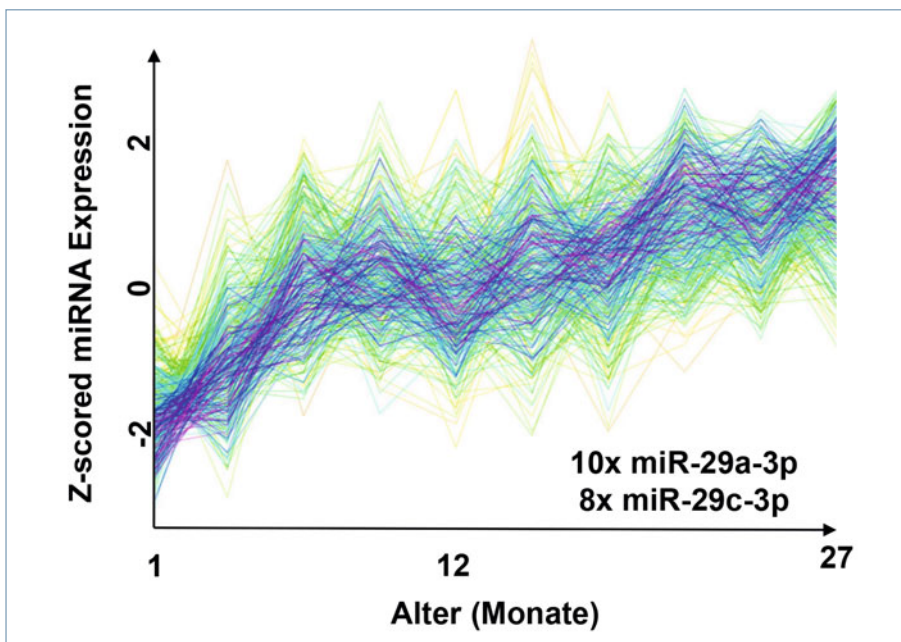
schen benachbarten Zellen vermittelt ebenso wie die zwischen verschiedenen Organen.

Wir erforschen insbesondere die Rolle kleiner nicht codierender RNAs (sncRNAs) in diesen Vesikeln. Mit Next Generation Sequencing (NGS) können verschiedene Arten von nicht codierenden RNAs gemeinsam erforscht werden, darunter mikro-RNAs (miRNAs), kleine interferierende RNAs (siRNAs), Piwi-interagierende RNAs (piRNAs), Transfer-RNAs (tRNAs), ribosomale RNAs (rRNAs) und andere [2]. Diese sncRNAs, ganz besonders miRNAs, sind bekannt dafür, wichtige regulatorische Funktionen in Zellen auszuüben. MiRNAs vermitteln posttranskriptionelle Regulation von messenger-RNAs (mRNAs) durch komplementäre Basenpaarbindung und daraus resultierende Repression der Translation.

Kürzlich wurden auch bestimmte Sequenzmotive in miRNAs identifiziert, die nicht nur die Verpackung dieser miRNAs in Vesikel begünstigen, sondern auch die Wirkung der miRNAs in der Empfängerzelle verstärken [3]. Außerdem wurde gezeigt, dass miRNAs aus hypothalamischen Stammzellen verpackt in EVs teilweise die Alterungsgeschwindigkeit beeinflussen [4]. Unsere hier vorgestellte Forschung konzentriert sich darauf, Unterschiede der sncRNA-Zusammensetzung in EVs und frei zirkulierenden RNAs (fc-RNAs) in Mäusen zu finden. Dadurch wollen wir verstehen, wie sich diese Zusammensetzung im Laufe des Lebens der Mäuse verändert und welche sncRNAs gezielt in EVs verpackt werden.

Verteilung der relativen RNA-Menge übers Alter

Alterungsmuster innerhalb spezifischer Klassen von sncRNAs variieren, was auf komplexe regulatorische Mechanismen im Alterungsprozess hindeutet. Die unterschiedlichen Klassen von sncRNAs, wie miRNAs, siRNAs und piRNAs, zeigen altersabhängige Veränderungen in ihrer Expression. Bemerkenswert ist dabei, dass diese Veränderungen nicht uniform sind, sondern zwischen verschiedenen sncRNA-Klassen und Gewe-



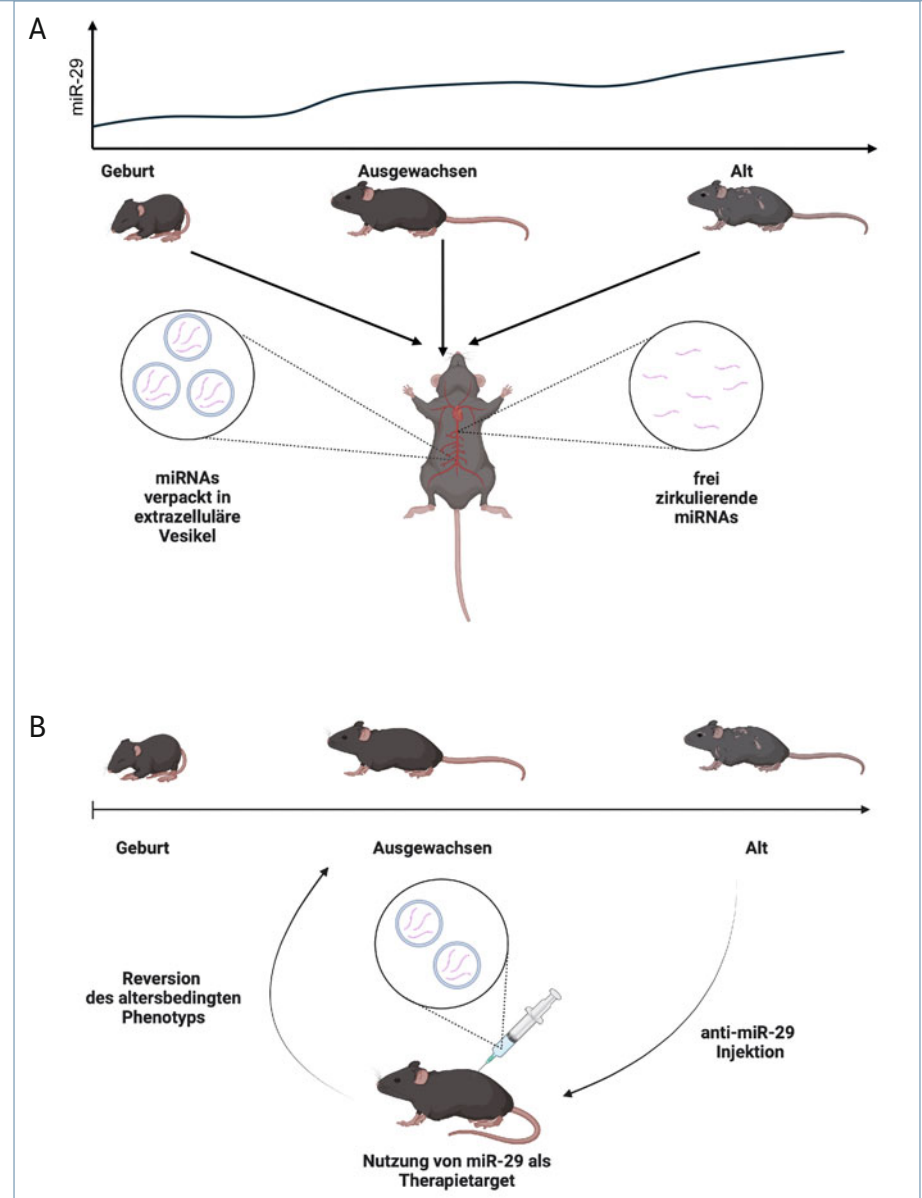
▲ **Abb. 1:** miRNA-Vektor-Clustering. Die z-scored Expression aller miRNAs in Alterungsverlauf in verschiedenen Geweben wurde als Vektor dargestellt und in 20 Cluster anhand ähnlicher Verläufe unterteilt. Hier beispielhaft ein Cluster, in dem die Alterungsvektoren von miR-29a-3p aus 10 verschiedenen Geweben und von miR-29c-3p aus acht verschiedenen Geweben vorhanden sind.

betypen differieren [5]. Zur Beurteilung ihrer Beziehung zum Alter verwenden wir sowohl lineare Pearson-Korrelationen als auch nicht lineare Distanzkorrelationen für jede RNA. Dadurch können wir für jede RNA aus jeder der RNA-Klassen sowohl in der fc- (frei zirkulierenden) als auch EV-Fraktion Alterungseffekte finden. Interessanterweise zeigen sich für spezifische RNAs auch Muster einer negativen Korrelation in EVs im Vergleich zu einer positiven Korrelation in der fc-Fraktion [6].

Die spezielle Rolle der miR-29-Familie

Um die Wirkung von miRNAs besser zu untersuchen, ist ein Ansatz das gleichzeitige Untersuchen von miRNA und mRNA-Expression in einem Gewebe. Dies haben wir für einen Teil der Tabula-Muris-Senis(TMS)-Kohorte [7] durchgeführt, um die Rolle von miRNAs im Fettgewebe zu erforschen. In unserem Ansatz haben wir die Expression von miRNAs und mRNAs in denselben Fettgewebeproben analysiert, um ein detailliertes Verständnis ihrer Wechselwirkungen zu gewinnen. Durch die parallele Analyse konnten wir zeigen, dass miRNAs, insbesondere die mir-29-Familie, eine entscheidende Rolle in der Regulation des Fettgewebes spielen. Unsere Untersuchungen ergaben, dass miR-29 in Fettgeweben älterer Individuen in erhöhten Mengen vorkommt und wichtige Stoffwechselwege beeinflusst. Die Ergebnisse zeigten, dass miR-29 die Expression von Genen reguliert, die für die Aufrechterhaltung der Struktur und Funktion des Fettgewebes entscheidend sind. Die Erkenntnisse aus der TMS-Studie bestätigen, dass miR-29 in der Alterung des Fettgewebes eine Schlüsselrolle spielt [6].

Zusätzlich haben wir die miRNA-Expression aller Gewebe aus der TMS-Studie durch Sequenzierungen bestimmt. Die Ergebnisse bestätigen die wichtige Rolle der mir-29-Familie, da diese im Alter nicht nur im Fettgewebe dereguliert ist, sondern in allen untersuchten Geweben erhöht exprimiert ist. MiR-



▲ **Abb. 2:** Rolle der miR-29 im Alterungsprozess. **A**, ansteigende Expression der miR-29 während des Alterungsprozesses in der frei zirkulierenden Fraktion sowie verpackt in extrazellulären Vesikeln. **B**, miR-29 ist ein potenzielles Therapietarget, um den Alterungsphänotyp umzukehren durch die Injektion von anti-miR-29, welches die Repression der Targets inhibieren könnte. Created with Biorender.

29a-3p und miR-29c-3p sind in einem gewebeübergreifenden Clustering der miRNA-Alterungsexpressionsvektoren aus bis zu 10 verschiedenen Geweben zu finden (**Abb. 1**). Neben anderen globalen Alterungs-miRNAs reguliert miR-29 verschiedene Signalwege,

die eine wichtige Rolle im Alterungsprozess spielen, z. B. die Organisation der extrazellulären Matrix und Proteinaufnahme und -abbau. Außerdem konnten wir durch einen Vergleich beider Studien zeigen, dass gewebespezifisch exprimierte Alterungs-miRNAs

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer

in geringeren Mengen in der EV- und fc-Fraktion vorkommen verglichen mit den globalen Alterungs-miRNAs, z. B. der miR-29 (**Abb. 2A**). Diese Erkenntnisse tragen dazu bei, das Potenzial der miR-29-Familie als therapeutisches Ziel zur Beeinflussung altersbedingter Krankheiten und Veränderungen zu erkennen.

Nächste Schritte: gezielte Modulierung

Dieses therapeutische Potenzial gilt es nun zu erforschen. In einem kürzlich veröffentlichten Preprint wurden funktionelle Ergebnisse bezüglich der Rolle der miRNA präsentiert. Es wurde bestätigt, dass miR-29 sowohl während des normalen als auch des vorzeitigen Alterns hochreguliert wird, was in Studien von Maus- und Affenmodellen beobachtet wurde. Eine weiterführende Analyse der transkriptionellen Veränderungen während des normalen Alterns zeigte, dass miR-29 zu den Top-miRNAs gehört, die die altersbedingten Genexpressionsänderungen antreiben. Es wurde außerdem gezeigt, dass ein partieller Verlust von miR-29 die Lebensdauer von Mäusen verlängert, was auf die funktionelle Bedeutung von miR-29 in diesem beschleunigten Alterungsmodell hindeutet. Es wurde festgestellt, dass die Überexpression von miR-29 bei Mäusen ausreicht, um altersbedingte Phänotypen wie Haarausfall, Kyphose, Osteoporose und Seneszenz zu fördern und zu einer frühen Letalität führt [8].

Diese Ergebnisse unterstreichen die funktionelle Bedeutung von miR-29 in der Steuerung eines Genexpressionsprogramms, das altersbedingte Phänotypen antreibt. Ein nächster Schritt in unserer Forschung ist es daher, die Level der miR-29 gezielt in Mausmodellen zu verändern (**Abb. 2B**). Ähnlich zu unserem ursprünglichen Konzept, in dem wir die frei zirkulierende mit der Vesikelgebundenen Fraktion verglichen haben,

kommen sowohl die Gabe von synthetischen miRNAs als auch miRNAs, die an Nanopartikel gekoppelt sind zum Einsatz. Außerdem wollen wir die Zellpopulationen identifizieren, die miR-29 und andere Alterungsmarker exprimieren und anschließend in Vesikel verpacken. Hierzu verwenden wir *in vitro*-Experimente mit Zelllinien, um sicher gehen zu können, dass die analysierten Vesikel nur von einem spezifischen Zelltyp produziert werden. Weiterhin nutzen wir die Induktion von Seneszenz, spezifisch dem *senescence associated secretory phenotype* (SASP), um gealterte Zellen zu simulieren. So können wir Veränderungen im miRNA-Cargo zwischen jungen und gealterten Zellen untersuchen. Mit unserer Forschung hoffen wir Hinweise auf neue therapeutische Ansätze für altersbedingte Krankheiten zu finden. ■

Literatur

- [1] Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L et al. (2023) Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186: 243–278
- [2] Fehlmann T, Kern F, Laham O et al. (2021) miRMaster 2.0: multi-species non-coding RNA sequencing analyses at scale. *Nucleic Acids Res* 49: W397–W408
- [3] Garcia-Martin R, Wang G, Brandao BB et al. (2022) MicroRNA sequence codes for small extracellular vesicle release and cellular retention. *Nature* 601: 446–451

- [4] Zhang Y, Kim MS, Jia B et al. (2017) Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs. *Nature* 548: 52–57
- [5] Wagner V, Kern F, Hahn O et al. (2024) Characterizing expression changes in noncoding RNAs during aging and heterochronic parabiosis across mouse tissues. *Nat Biotechnol* 42: 109–118
- [6] Kern F, Kuhn T, Ludwig N et al. (2023) Ageing-associated small RNA cargo of extracellular vesicles. *RNA Biol* 20: 482–494
- [7] Schaum N, Lehallier B, Hahn O et al. (2020) Ageing hallmarks exhibit organ-specific temporal signatures. *Nature* 583: 596–602
- [8] Swahari V, Nakamura A, Hollville E et al. (2022) miR-29 is an important driver of aging-related phenotypes. *bioRxiv*, DOI: <https://doi.org/10.1101/2022.11.29.518429>

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Andreas Keller
 Chair for Clinical Bioinformatics
 Universität des Saarlandes
 Gebäude E2.1
 D-66123 Saarbrücken
www.ccb.uni-saarland.de
andreas.keller@ccb.uni-saarland.de

AUTORINNEN UND AUTOREN



Viktoria Wagner

Jahrgang 1995. 2017 Bachelor Human- und Molekularbiologie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken. 2020 Master Biotechnologie. 2020–2024 Promotion in der Klinischen Bioinformatik.



Andreas Keller

2005 Bachelor und Master in Bioinformatik. 2009 Promotion. 2008 Vice President bei Biomarker Discovery Center, Heidelberg. 2011 Director Diagnostic Innovation, Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen. 2013 Professor für Klinische Bioinformatik an der Universität des Saarlandes. Seit 2022 Leiter der Abteilung Klinische Bioinformatik, HIPS - Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland, Saarbrücken.