

2025 年 8 月 22 日

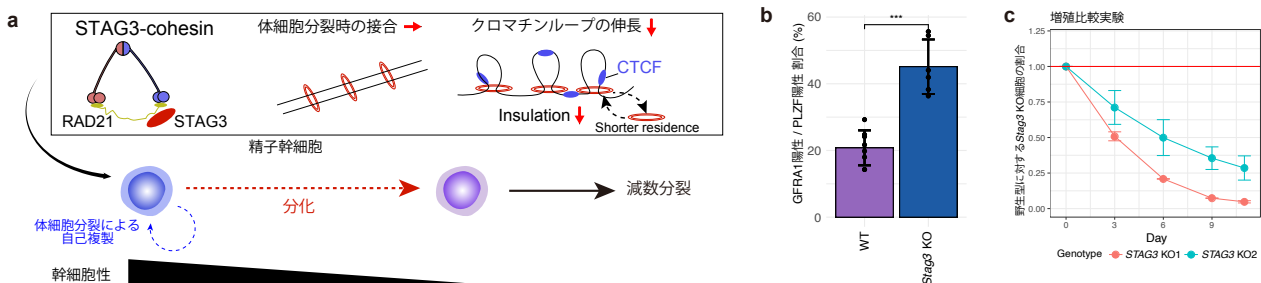
三次元クロマチン構造に基づく精子幹細胞分化制御機構の解明 — 新たなコヒーシン複合体 STAG3-cohesin の発見 —

概要

京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点 (WPI-ASHBi) 斎藤通紀 拠点長/主任研究者 (兼: 同大学院医学研究科教授)、同大学院医学研究科 長野真大 助教 (研究当時、現: ASHBi 連携研究員/マサチューセッツ工科大学博士研究員)、同大学院医学研究科 Bo Hu 博士課程学生 (研究当時、現: ASHBi 連携研究員) らの研究グループは、マウスを用いた実験で、精子幹細胞^{注1}の機能に重要な、特殊な三次元クロマチン構造^{注2}の形成機序とその幹細胞分化過程への影響を解明しました。

生殖細胞は遺伝情報を次世代に伝える唯一の細胞種で、それを可能とする三次元クロマチン構造をその発程過程で動的に形成します。三次元クロマチン構造は遺伝子の発現制御等に重要で、細胞種毎に異なります。これまで同研究グループは、三次元クロマチン構造の‘区切り’であるインシュレーション^{注3}が、精子幹細胞において極端に弱いという現象を見出してきましたが、その形成機序や生物学的意義は不明でした。インシュレーションは体細胞分裂^{注1}型コヒーシン複合体^{注4}により形成されます。本研究では、クロマチン免疫沈降シーケンス法 (ChIP-seq)^{注5}、免疫沈降質量分析解析^{注6}などを組み合わせることで、精子幹細胞では、新たな体細胞分裂型コヒーシン複合体 STAG3-cohesin が機能することを発見し、STAG3-cohesin がインシュレーションを減弱し、精子幹細胞に特殊な三次元クロマチン構造を形成するメカニズムを解明しました。また、STAG3 欠損マウスでは、精子幹細胞から精原細胞 (精子形成のための減数分裂^{注1}に入る細胞) への分化効率が低下していました。ヒトにおいては、STAG3 は免疫細胞である B 細胞^{注7}と癌種である B 細胞性リンパ腫でも高発現すること、STAG3 を抑制した B 細胞性リンパ腫では増殖速度が低下することも明らかにしました。本研究成果は、精子幹細胞の三次元クロマチン構造形成機序を解明し、それに基づく幹細胞機能制御の視点を提供するだけでなく、ヒト疾患における STAG3 の新たな役割を示唆する成果です。

本成果は、2025 年 8 月 25 日午前 10 時 (グリニッジ標準時、日本時間同日午後 6 時) に国際学術誌「*Nature Structural & Molecular Biology*」にオンライン掲載されました。



a (上部) STAG3-cohesinの機能。本研究においてSTAG3とRAD21を含む新たな体細胞型コヒーシン複合体を同定した。他の体細胞型コヒーシン複合体同様に体細胞分裂時の接合(cohesion)を行う一方で、クロマチンへの結合時間が短く、クロマチンループの伸長が弱いため、CTCFとcohesinによるinsulationを形成するのループが形成されにくい。(下部) STAG3-cohesinが存在することにより、精子幹細胞から精原細胞への分化が誘導されることの模式図。

b 野生型 (WT) と *Stag3* 欠損 (*Stag3* KO) マウスにおける、PLZF陽性かつGFRA1陽性の精子幹細胞集団の割合は *Stag3* 欠損マウスにおいて上昇する。

c STAG3の発現が高いB細胞性リンパ腫細胞株であるOCL-Ly7において野生型 (WT) と *Stag3* 欠損型 (*Stag3* KO1または*Stag3* KO2) における増殖速度の比較図。日数(day)が経つにつれ、WTに対して、*Stag3* 欠損細胞が減少していることが分かる。

<研究の背景>

我々の体には様々な種類の細胞が存在しますが、それらを構成する遺伝情報（DNA 配列）は同一です。一方で、それら細胞は異なるエピゲノム情報^{注2}を有し、その制御により同じ遺伝情報から多様な遺伝子発現が可能になります。2 m ほどの DNA 配列は複雑に折りたたまれて 10 μm ほどの核に収納されますが、その折り畳みはランダムではなく、クロマチン^{注2}上に三次元構造的な区切り（インシュレーション）を形成し、エピゲノム情報により規定される遺伝子発現制御の多くはその区切りの中で行われます。

生殖細胞は遺伝情報を次世代に伝える唯一の細胞種です。この能力の基盤として、生殖細胞は、その発生過程でエピゲノム情報及び三次元クロマチン構造を動的に、また大規模に変化させることが知られており、研究グループは、雄性生殖細胞分化過程で、インシュレーションが非常に弱くなるということを見出してきました（*EMBO J.*, 2022）。

近年、コヒーシン複合体がインシュレーションを形成するための重要なタンパク質複合体であることが明らかにされました。これまで、コヒーシン複合体には STAG1/STAG2 と RAD21 を含む体細胞分裂型のコヒーシンと STAG3 と REC8/RAD21L を含む減数分裂型のコヒーシンが存在すると考えられてきました。

<研究手法・成果>

本研究では、体細胞分裂期の細胞である精子幹細胞（試験管内で増殖させた精子幹細胞: *Biology of Reproduction*, 2003）におけるコヒーシン複合体の局在を解析するため、STAG1/STAG2/RAD21（体細胞型コヒーシン複合体）の ChIP-seq を行いました。その結果、これまでの報告に反し RAD21 が局在するが、STAG1/2 共に局在しない部位が多く同定されました。そこで、これまで減数分裂でのみ発現すると考えられていた STAG3 の ChIP-seq を行い、上述の部位（RAD21 が局在するが、STAG1/2 共に局在しない部位）に局在すること、さらに RAD21 の免疫沈降質量分析解析で RAD21 と STAG3 が複合体を形成していることを確認し、新たな体細胞分裂型のコヒーシン複合体 STAG3-cohesin の同定に成功しました。さらに、STAG3-cohesin の生理機能を調べるため、STAG3 ノックアウト精子幹細胞や STAG3 のみを発現する精子幹細胞を樹立し、インシュレーションの減弱が STAG3-cohesin の機能によることを明らかにしました。また、STAG3 ノックアウトマウスにおいて、精子幹細胞から精原細胞（精子形成のための減数分裂に入る細胞）への分化が抑制されていることも見出しました。以上の結果から、STAG3-cohesin は三次元クロマチン構造を変化させ、精子幹細胞の分化に影響を与えることが明らかとなりました。

さらに、生殖細胞にとどまらず、ヒト体細胞においても STAG3 が機能する細胞があるかもしれないという仮説を立て、ヒトのすべての細胞種の公共データを再解析し、B 細胞とその癌種である B 細胞性リンパ腫に STAG3 の発現が高いことを見出しました。STAG3 の発現が高い B 細胞性リンパ腫においては、STAG3 をノックアウトすると増殖速度が低下することを見出しました。

<展望>

本研究により、三次元クロマチン構造を制御する新たなコヒーシン複合体 STAG3-cohesin を同定することに成功しました。他の体細胞分裂型コヒーシン複合体（STAG1-cohesin もしくは STAG2-cohesin）と異なる挙動を示すことから、STAG3-cohesin のさらなる研究により、三次元クロマチン構造に基づく遺伝子発現制御機構の解明が一層進むと考えられます。さらに、STAG3 を欠損させることで、精巣内における精子幹細胞の割合が変化するという知見は、新たな幹細胞性制御機構の存在を示唆します。今後、精子幹細胞においてインシュレーションが極端に弱いことの生物学的意義の解明が期待されます。また、B 細胞性リンパ腫における

STAG3 の抑制による増殖速度の低下という知見も、今後、正確なメカニズム解明の研究とともに、疾患特異的な治療法の開発につながる可能性が期待されます。

<研究プロジェクトについて>

本研究は、以下の支援を受けて実施されました。

日本学術振興会 科学研究費助成事業・特別推進研究 (22H04920)

日本学術振興会 科学研究費助成事業 (JP 21K20635)

Human Frontier Science Program (RGP0057/2018)

Open Philanthropy プロジェクト (2018-193685, GV673604305)

<研究者のコメント>

近年の科学技術の発展により、これまで 20 年近く常識と考えられてきた体細胞分裂型と減数分裂型のコヒーシン複合体の明確な区分を書き換えるような複合体を発見することが出来たことを嬉しく思います。教科書は先人の研究の成果であり、現在の研究は未来の教科書を作っていく仕事であることを身近に感じる事が出来て、良い経験になりました。本研究を支えてくれた家族、共同研究者、研究室の皆様に感謝いたします。

(長野真大)

<用語解説>

1. 精子幹細胞：一生に渡り精子を産生する幹細胞で、自己複製と共に、精原細胞に分化する。精原細胞は幾度かの体細胞分裂を経て、精子形成のための減数分裂に入る。体細胞分裂では、父母に由来する 1 対の染色体 (2 倍体) をそれぞれ複製し、一度の分裂で 2 つの 2 倍体細胞が形成される。一方、減数分裂では、2 倍体がそれぞれ複製された後、その組み替えが起こり、2 度の分裂を経て、4 つの 1 倍体細胞が形成される。
2. エピゲノム情報と三次元クロマチン構造：エピゲノム情報とは、広義には DNA 配列における塩基情報以外の情報全てを指し、狭義には DNA 上の化学修飾の一種を意味することが多く、これには DNA のメチル化やヒストン残基のメチル化やアセチル化などが含まれます。このような DNA ならびにヒストンの化学修飾により遺伝子の発現が細胞種類ごとに制御されています。三次元クロマチン構造とは、クロマチン(ヒストンタンパク質に巻き付いた状態の DNA)の核内における三次元的な空間配置を示し、例えば、エンハンサーと呼ばれる遺伝子発現制御領域による遺伝子発現の活性化は、エンハンサーとプロモーターの空間的近接により制御されることが知られています。三次元クロマチン構造は広義にはエピゲノム情報に含まれます。
3. 体細胞分裂型コヒーシン複合体 (cohesin complex)：コヒーシン複合体は細胞分裂時に必須の複合体として同定されました。また、体細胞分裂と減数分裂という細胞分裂の種類により異なるコヒーシン複合体が使用されることが知られています。
4. インシュレーション(insulation)：三次元クロマチン構造における DNA 配列上の区切りのこと。例えば、この区切りを超えてエンハンサーによる遺伝子発現制御が起こることは稀であることが知られている。
5. クロマチン免疫沈降シーケンス法(ChIP-seq)：タンパク質の DNA 上の局在(結合部位)を知るために使われる手法。
6. 免疫沈降質量分析解析：タンパク質同士の相互作用を知る目的で行われる手法で、あるタンパク質を標的にして、そのタンパク質と相互作用しているタンパク質を質量分析により網羅的に同定する手法。
7. B 細胞：体内の免疫系において主に抗体産生に重要な役割を果たす免疫細胞。

< 論文書誌情報 >

Nagano, M., Hu, B., Ogata, K., Umemura, F., Ishikura, Y., Suzuki, S., Katsifis, C. C., Yoshinaga, M., Litos, G., Nagasaka, K., Tang, W., Nosaka, Y., Sasada, H., Wang, H., Kondo, D., Katou, Y., Mizuta, K., Yabuta, Y., Ohta, H., Vitorino, F. N. de L., Arima, H., Ichikawa, T., Gabriele, M., Majewski, J., Garcia, B. A., Takeuchi, O., Yoshida, S., Hansen, A. S., Peters, J.-M., Ishihama, Y., & Saitou, M. (2025). The mitotic STAG3–cohesin complex shapes male germline nucleome. *Nature Structural & Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1038/s41594-025-01647-w>

< 参考文献情報 >

Nagano, M., Hu, B., Yokobayashi, S., Yamamura, A., Umemura, F., Coradin, M., Ohta, H., Yabuta, Y., Ishikura, Y., Okamoto, I., Ikeda, H., Kawahira, N., Nosaka, Y., Shimizu, S., Kojima, Y., Mizuta, K., Kasahara, T., Imoto, Y., Meehan, K., Stocsits, R., Wutz, G., Hiraoka, Y., Murakawa, Y., Yamamoto, T., Tachibana, K., Peters, J.-M., Mirny, L. A., Garcia, B. A., Majewski, J., & Saitou, M. (2022). Nucleome programming is required for the foundation of totipotency in mammalian germline development. *The EMBO Journal*, 41(13), e110600. <https://doi.org/10.15252/emboj.2022110600>

Kanatsu-Shinohara, M., Ogonuki, N., Inoue, K., Miki, H., Ogura, A., Toyokuni, S., & Shinohara, T. (2003). Long-term proliferation in culture and germline transmission of mouse male germline stem cells. *Biology of Reproduction*, 69(2), 612–616. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.017012>