

**【目的】** 血管とリンパ管は、別々のネットワークを全身に張り巡らせ、それぞれ独立した機能を発揮する。血管の機能としては、主に肺から取り入れた酸素を、赤血球を担体として末梢組織に運搬し、毛細血管で組織に受け渡す。一方、リンパ管は毛細血管が回収しきれなかった組織液を取り込むとともに、抗原提示細胞のリンパ節への経路、つまり免疫システムの一部として働く。血管とリンパ管は、最終合流地点である頸部の静脈角（胸管と鎖骨下静脈の吻合部位）まで一切接続すること無く、各々が独立したネットワークを形成する。血管とリンパ管、特に静脈とリンパ管の構造・組織学的特徴を比べると、ほぼ見分けがつかないほど酷似しており、両者がお互いをどのように見分け、独立性を担保しているのかは古くからの疑問として残されてきた。本研究は、放っておくと（デフォルト経路として）血管とリンパ管同志は吻合してしまうため、それを防ぐための固有の分子機構が存在するという観点からのアプローチによりその実体を同定すべく進められた。

**【方法】** 多発性肺嚢胞、腎がん、線維毛包種などを典型的症状とする Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群の原因遺伝子として知られる Folliculin (Flcn) に関し、タモキシフェン誘導性血管内皮特異的 *Flcn* 欠損マウス (*Cdh5-Cre<sup>ERT2</sup>+ Flcn<sup>f/f</sup>*) を作製するとともに、リンパ管発生のマスター転写因子である Prox1 や bHLH 型転写因子 TFE3 との重複欠損マウスを作製し、その表現系を解析した。また、培養血管内皮細胞株における、ルシフェラーゼアッセイ、ChIP 法、siRNA によるノックダウン、過剰発現の系や単一細胞 RNA シークエンスなどにより、*Flcn* と Prox1 とを結びつける分子経路、*Flcn* 欠損血管内皮細胞の遺伝子発現プロファイリングを行った。

**【結果】** 出生後のタモキシフェン誘導性血管内皮特異的 *Flcn* 欠損マウスでは、静脈とリンパ管との異常吻合による静脈への血球の充満が見られた。また、*Flcn* が Prox1 の発現量を負に制御しており、血管内皮細胞においてこの制御が破綻すると、血管がリンパ管を接続すべき同志であると認識してしまうことを、*Prox1* とのダブルノックアウトにより見出した。メカニズムとしては、ChIP-seq において、*Flcn* によって核内移行が制御される TFE3 が Prox1 の E-box 配列を 2 個含む新規エンハンサー領域に結合することを見出した。また、培養血管内皮細胞株における、ルシフェラーゼアッセイ、ChIP 法、siRNA によるノックダウン、過剰発現の系により、*Flcn* と Prox1 の間を媒介するのが TFE3 であることを確認した。さらには、*TFE3* の欠損マウスの交配により、*in vivo* でもこの経路がワークしていることが示された。さらには、単一細胞 RNA シークエンスにより、*Flcn* が静脈内皮において欠損すると『リンパ管もどき静脈内皮細胞』、つまりリンパ管内皮マーカーの発現が静脈内皮細胞とリンパ管内皮細胞の中間に位置する細胞ポピュレーションが生じ、これが全身いたるところで発生することが、*Flcn* 欠損マウスにおける血管-リンパ管吻合の原因であると考えられた。

血管とリンパ管の分離が維持される仕組み

