

4. 陸上脊椎動物の皮膚の適応進化と内在性レトロウイルス

松井 毅

国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター
皮膚恒常性研究チーム

陸上脊椎動物は、約3億6千万年前に両生類が気相環境に適応できるようになり陸上に進出したと考えられている。その際に、体表面においては、増殖細胞が散在する多層化した上皮構造から、増殖層が最下層にあり最上層で剥離していく重層扁平上皮構造を獲得した。その中で、最も体表面に存在し、気相環境に対するバリアを担っている層が、死細胞からなる角質層である。地球上に現存する両生類・爬虫類・鳥類・哺乳類を含むすべての陸上脊椎動物が、この角質層バリアを持っている。

哺乳類は、約2億2千万年前に出現したが、その際に、皮膚特異的遺伝子群がゲノム上に獲得され、柔らかく保湿された角質層が形成されたと考えられる。さらに、多数の内在性レトロウイルスも、哺乳類の発生時に、ゲノム上に多く取り込まれたと考えられる。中でも、Skin ASpartic Protease (SASPase)/ASPRV1は哺乳類特異的に獲得されたレトロウイルス型プロテアーゼであり、アトピー性皮膚炎の疾患素因として知られる哺乳類皮膚特異的蛋白質プロフィラグリンを分解する。欠損マウスの解析から、SASPaseは哺乳類の角質層の特徴である「保湿」に関わることが明らかになっている。すなわち、哺乳類出現時に、レトロウイルス様配列のDomesticationによる外適応(Exaptation: イグザプテーション)が皮膚の適応進化の際に起きた例と考えられる。ゲノム中に多数存在している内在性レトロウイルスの中には、皮膚表皮の多彩な機能獲得に関わってきた可能性がある。

陸上脊椎動物の出現と皮膚の進化

陸上脊椎動物は、約3億6千万年前(デボン紀後期)に、イクチオステガなどの両生類が気相環境に適応できるようになり陸上に進出したと考えられている。(図1A) 現存する両生類は、例えばオタマジャクシからカエルへと変態するように、幼生では水中で生活しているが、変態のステージにおいて、様々な体内変化が起こり、成体では気相環境

に適応できるように変化する。例えば、空気中から酸素を取り込むために、肺呼吸が可能になる。また、尾を細胞死により急速に消失させつつ、陸上を自由に活動するために四肢を形成し、重力に耐えられる骨格、筋肉を形成していく。体表面においては、魚類型の特徴である増殖細胞が散在する多層上皮構造から、角化重層扁平上皮構造へと変化していく¹⁻³⁾。その際に、最も外側で形成され、気相環境への最前線に位置する層が、死んだ細胞層の角質層である。現存する両生類においても、未熟な角質層がわずかながらも形成されている¹⁾。このような変態による多彩な変化を、デボン紀後期に出現した両生類が獲得したことで、私達の祖先は初めて陸上に進出できたと考えられる。その後、3.1-3.2億年前に、両生類は爬虫類へと進化したと考えられる⁴⁾。水場に近い位置で生活していた両生類の一部が、より乾燥状態でも生存できるよう、個体の体表面上を、堅く層の多い強固な角質層に変化させたと考えられる。爬虫類においては、角質層は死細胞で構成されるにも関わらず、一様ではなく、柔軟性のある α レイヤー、強固な β レイヤーのように異なる層が存在するが、これは角質層内部の

連絡先

〒230-0045

神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-7-22

国立研究開発法人理化学研究所

統合生命医科学研究センター

皮膚恒常性研究チーム

TEL: 045-503-7014

FAX: 045-503-7014

E-mail: takeshi.matsui@riken.jp

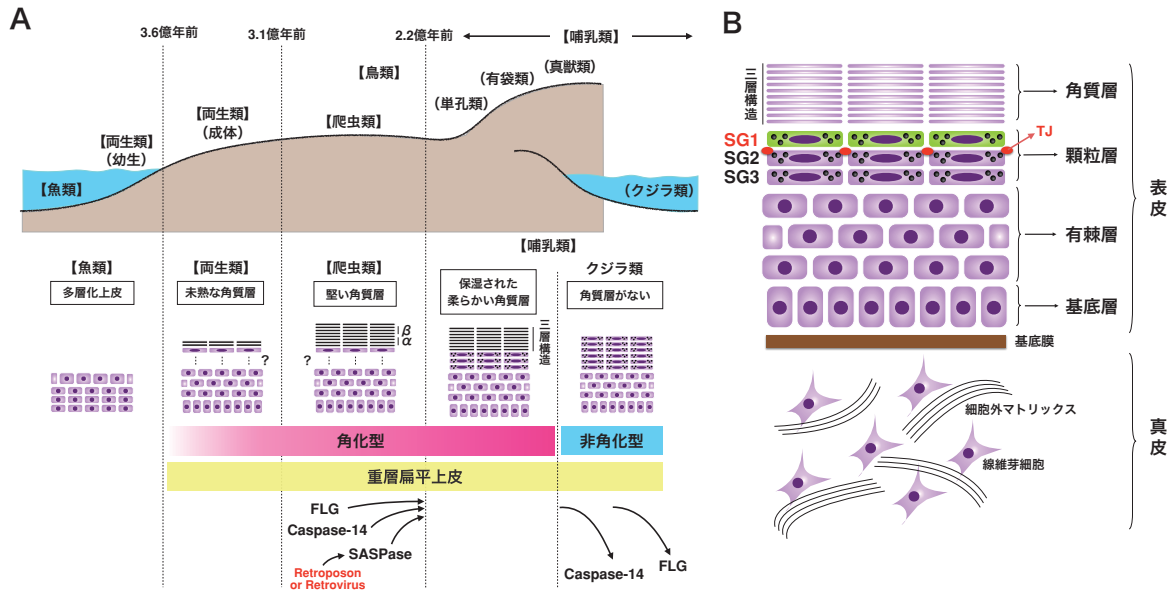


図 1 (A) 皮膚の適応進化模式図

3.6 億年前より両生類が出現し、角化型重層扁平上皮組織が形成された。その際に気相環境との境界は死細胞層の角質層の獲得により区画化が成された。角質層は両生類では未熟であったが、爬虫類では強固になり、 α 層のような特殊な角質層が形成された。そして 2.2 億年前に出現した哺乳類では柔らかく保湿され、三層の機能構造を持つ。Epidermal differentiation complex (EDC) は、おそらく爬虫類で形成され、独自の遺伝子もその中に獲得されていった。フィラグリンは、哺乳類特異的に EDC に獲得された。Caspase-14 やレトロポゾンもしくはレトロウイルスに由来し哺乳類特異的に Domestication された SASPase は、フィラグリンを分解し、哺乳類角質層の保湿に関わるようになった。しかし、フィラグリンやもう一つのフィラグリン分解酵素の Caspase-14 は、陸棲から水棲に戻ったクジラ類の一部では、欠損している。このことは、皮膚の気相環境への適応が、ゲノムの変革で成されてきたことを示唆している。

(B) 哺乳類皮膚表皮の構造

哺乳類皮膚表皮は、角化型重層扁平上皮組織であり、線維芽細胞を含む細胞外マトリックスからなる真皮の上に存在する。表皮は基底層、有棘層、顆粒層、角質層から主になり、基底層のみが増殖ゾーンである。顆粒層の三層 SG3/SG2/SG1 のうち SG2 には Tight junction (TJ) が存在する。SG1 において細胞死を起し、機能的な死細胞層である角質層を形成する。角質層は三層構造をとり、上層はスポンジ機能、中層や下層はバリア機能を担う。

ケラチン繊維などの蛋白質の構造変換によると考えられる¹⁾。2 億 2 千万年前に、私達の祖先である哺乳類が出現したと考えられる^{5,6)}。哺乳類は、他の陸上脊椎動物とは異なり、乳房、二次口蓋などの様々な特異的な特徴を獲得し^{5,6)}、皮膚においても毛の獲得と共に、柔軟性のある保湿された角質層を獲得したと考えられる。この柔らかい角質層により、おそらく哺乳類は外界の情報をより敏感に収集できるようになったと予想される。

哺乳類皮膚表皮の構造

哺乳類皮膚は、表皮、真皮、皮下組織からなるが、表皮は、角化型重層扁平上皮組織であり、最も外側に存在し、個体と外界(気相環境)との間に、バリアを形成している(図 1B)。表皮は、基底層(Stratum basale)、有棘層(Stratum spinosum)、顆粒層(Stratum granulosum)、角質層(Stratum

corneum) の主に 4 種類の細胞層からなる⁷⁾。一層の基底層において、表皮細胞(ケラチノサイト)は増殖し、上層に移動したのち、有棘層を数層形成する。有棘層は、顆粒を多数含む多角形の細胞で構成される顆粒層へと更に分化する。この顆粒層は三層存在し、下から SG3, SG2, SG1 細胞層と呼ばれている。液相-液相境界バリアを担っている Tight junction (TJ) は SG2 細胞層に形成されている^{8,9)}。その更に上層に SG1 細胞層が存在しその一部が細胞死を起し続けていくことで、機能的な気相-液相境界バリアである角質層を形成している^{10,11)}。この TJ を境に、角質層内の pH は弱酸性を示し、様々な酵素機能の活性化や抗菌作用が起こる環境を作り出していると考えられる¹²⁾。この角質層は、2 μ m ほどの非常に薄い死細胞が 10-20 層ほど重なっており、生細胞では必須の機能を果たしている様々なオルガネラ(核・ミトコンドリア・ゴルジ体・小胞体、リ

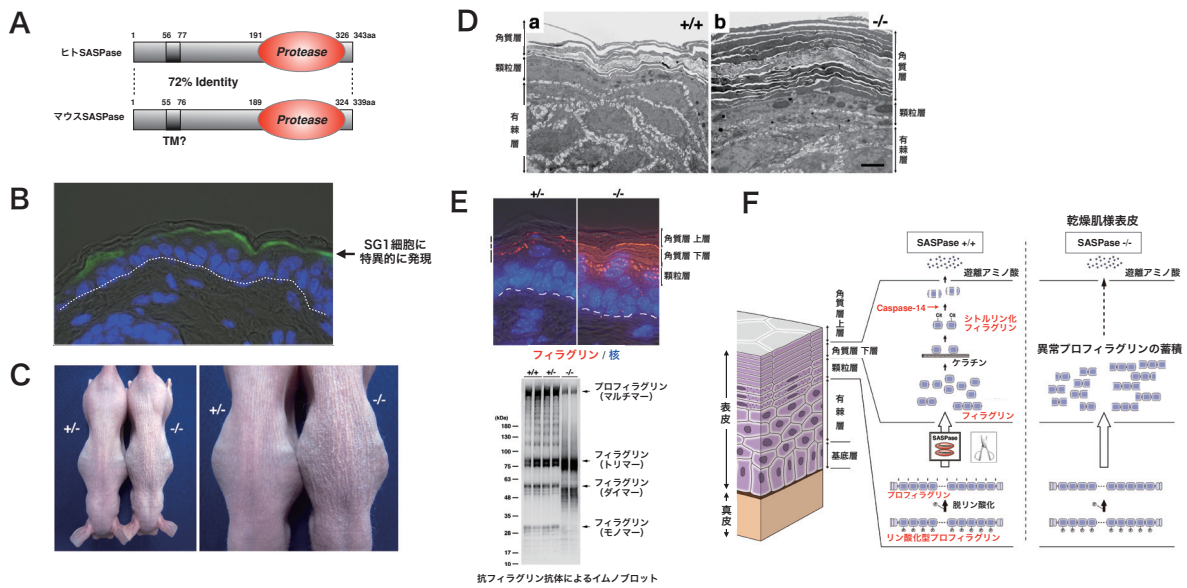


図 2 (A) SASPase の蛋白質構造膜貫通ドメイン (TM) が想定されているが、大部分はプロテアーゼドメインの N 末端側が切断され、細胞質に存在する。(B) マウス背皮膚凍結切片に対する抗 SASPase 抗体による免疫染色 緑：SASPase, 青：核, 点線は表皮と真皮の境界面 (C) 乾燥肌様表皮を示す SASPase 欠損ヘアレスマウスの表現型 (D) SASPase 欠損ヘアレスマウスにおけるフィラグリンの蓄積 (左：マウス皮膚表皮切片に対する免疫染色, 右：皮膚表皮表層抽出液に対するイムノブロット) (E) SASPase 欠損時における皮膚表皮角質層内に起こるフィラグリ分解様式図. SASPase 欠損によりモノマーフィラグリが形成不全になり、異常なプロフィラグリが角質層下層に蓄積する。この異常角質層下層形成が、乾燥肌様表皮の原因の可能性はある。

(Copyright 2011 Wiley. Used with permission from Matsui *et al.*, SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. *EMBO Mol. Med.* 3:320-333, 2011)³¹⁾

ソソーム等) はすべて消失している。その代わりに、その内部は高密度の蛋白質 (ケラチン構造や架橋された蛋白質群) や、天然保湿因子と呼ばれる保湿成分 (アミノ酸、乳酸塩、尿素、糖など) が水分子と共存し、自由水と結合水を含む形で存在している¹³⁾。また角層層外は、細胞間脂質と呼ばれるセラミド・脂肪酸・コレステロールからなる規則正しい層構造を形成することで埋め尽くされ、バリア機能に重要な役割を果たしている¹⁴⁾。マウスやヒトにおいて角質層は、主に三層のゾーンからなることが、クライオ SEM (Scanning electron microscopy) 電子顕微鏡観察や TOF-SIMS (Time-of-flight secondary ion mass spectrometry) 解析から明らかになりつつある¹⁵⁻¹⁷⁾。特に TOF-SIMS 解析により、角質層上層は様々な物質が自由に入り可能なスポンジ様の性質を持ち、角質層中層は、アルギニンを多く含む遊離アミノ酸が主成分である天然保湿因子が産生されつつもバリア機能を担っている層であることが示唆された¹⁷⁾。このようなヒトやマウスにおける角質層内の特殊な性質は、哺乳類全体における特徴とも考えられ、同じく段階的な層構造を獲得していた爬虫類の表皮角質層が、爬虫類型哺乳類の出現と共に起きたゲノムの構造変化により進化して形成されたと考えられる。次の章ではそのようなゲノム変化に伴う角質層機能の進化の一例を示す。

SG1 特異的レトロウイルス型プロテアーゼ、 Skin Aspartic Protease (SASPase)

私達は、以前マウス表皮特異的に発現している遺伝子を高速 *in situ* hybridization 法により探索していた¹⁸⁾。様々な遺伝子が同定されていたが、その中でも、顆粒層 SG1 細胞に特異的に発現しているレトロウイルス様の遺伝子が同定された (図 2A, B)。その遺伝子は、ヒト皮膚より同定されていた Skin Aspartic Protease (SASPase/ASPRV1) のマウスホモログであった^{19,20)}。このプロテアーゼは、レトロウイルス型のアスパラギン酸プロテアーゼドメインを持つものであり Equine anemia virus (EIAV) が持つプロテアーゼ配列に類似している¹⁹⁾。マウス皮膚表皮における 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 誘導遺伝子、「TPA-inducible aspartic proteinase-like gene (Taps)」としても報告された²¹⁾。SASPase は爬虫類 (Green anole lizard) や鳥類 (Chicken) のゲノムには存在していない²²⁾ ことから、哺乳類特異的に、レトロウイルス感染もしくは内在性レトロウイルスが転移し、挿入されて獲得されたと考えられる^{23,24)}。

一般的にプロテアーゼには、その活性中心に存在するア

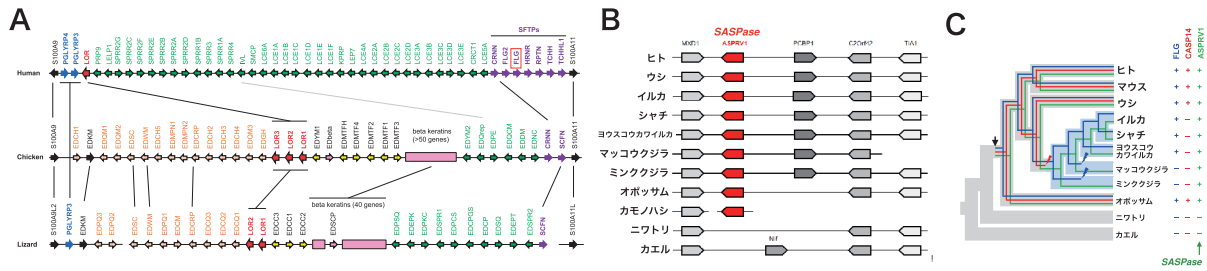


図3 (A) ヒト・ニワトリ・トカゲにおける EDC 領域の構造

ヒト (1q21), ニワトリ (25 番染色体), トカゲにおける EDC の構造. EDC 領域における遺伝子配置. 矢印は遺伝子の向きを示す. ニワトリ, トカゲ共に独自に獲得した beta keratin family を保持している. FLG/FLG2 を含む領域は, 哺乳類特異的に獲得されたことがわかる. (紫: S100-fused type proteins (SFTPs))

(Strasser et al., Evolutionary Origin and Diversification of Epidermal Barrier Proteins in Amniotes. *Mol Biol Evol* 31:3194-3205, 2014 からの引用と改変)⁴⁰⁾

(B) 哺乳類特異的に獲得された SASPase/ASPRV1 遺伝子

両生類ゲノム上に存在していた MXD1 と C2Orf42 遺伝子の間に, SASPase/ASPRV1 が哺乳類出現時にレトロウイルス様配列から挿入されたと考えられる.

(Strasser et al., Comparative genomics reveals conservation of filaggrin and loss of caspase-14 in dolphins. *Exp Dermatol* 24:365-369, 2015 からの引用と改変)²²⁾

(B) 哺乳類におけるフィラグリン, Caspase-14, SASPase の関係

フィラグリン (FLG) は, マッコウクジラやミンククジラには, 存在しないが, Caspase-14 はクジラ類全体で, 欠失している. 一方で SASPase/ASPRV1 は, ほほすべての哺乳類で保存されている.

(Strasser et al., Comparative genomics reveals conservation of filaggrin and loss of caspase-14 in dolphins. *Exp Dermatol* 24:365-369, 2015 からの引用と改変)²²⁾

ミノ酸残基から, セリンプロテアーゼ, システインプロテアーゼ, スレオニンプロテアーゼ, メタロプロテアーゼ, アスパラギン酸プロテアーゼに分類される²⁵⁾. アスパラギン酸プロテアーゼは, 別名酸性プロテアーゼとも呼ばれ, 酸性に酵素活性の至適 pH を持つことが特徴である. アスパラギン酸プロテアーゼには, 胃に発現するペプシンや, 様々な細胞のリソソームに局在するカテプシン D などの真核生物型と HIV などのレトロウイルスが持つレトロウイルス型が知られている²⁶⁾. 真核生物型アスパラギン酸プロテアーゼは, 二つのプロテアーゼドメインが繋がって一つの蛋白質分子となりプロテアーゼ活性を示す一方で, レトロウイルス型は, プロテアーゼドメインがダイマーを形成することで活性を示す. このような構造的な違いからか, 真核生物型は強酸性に至適 pH を持つのに対して, レトロウイルス型は, 弱酸性に至適 pH を持つ傾向がある.

このレトロウイルス型プロテアーゼは, 通常は, レトロウイルス RNA にコードされているポリプロテインの中央部に, コードされている. 一般的にレトロウイルスは, 宿主細胞に感染後, 逆転写された後にそのウイルスゲノムを宿主ゲノムに組み込む. 一定期間の潜伏期間を経た後, ウイルスゲノムから転写され, 翻訳されたポリプロテインが, Env 蛋白質と宿主の細胞膜に包まれ, 宿主細胞膜の表面か

ら, Budding する. その後, ウイルス粒子中で, ポリプロテインに存在するレトロウイルス型プロテアーゼが, それ自身の両側を自己分解により切断しつつ, ポリプロテイン中の各蛋白質の両側を切断し, 各ウイルス蛋白質 (逆転写酵素や capsid 蛋白質など) を切り出す. その結果, ウイルス粒子内の蛋白質の構造変化を起こし, ウイルス粒子は初めて感染性の成熟型となることが知られている^{27,28)}.

SASPase もレトロウイルスプロテアーゼと同様の生化学的性質を持っており, 弱酸性に至適 pH を示しホモダイマーで活性を示す^{19,20)}. 興味深いことに, SASPase が発現する SG1 細胞の上層の角質層領域は, おそらく TJ を境に弱酸性の pH を示すと考えられている²⁹⁾. この TJ による生細胞層との隔離・区画化は角質層バリアの機能に重要である. 実際に TJ が破綻している Claudin-1 KO マウスでは, 角質層バリアも破綻している³⁰⁾. SASPase 蛋白質は, SG1 細胞で発現した後, そのような TJ により, 生細胞ゾーンと区画化された閉鎖空間である角質層内に濃縮され, 弱酸性条件下で自己分解を起こし活性化して, 何らかの生理機能を果たしている可能性が考えられた.

そこで, 皮膚における SASPase の生理機能を明らかにするために, SASPase 欠損マウスを作製した²⁰⁾. SASPase

欠損マウスは、約4～5週齢から、体側面の毛並みが細かい皺状の形状をとることが確認された。体毛を除去すると、小皺が体表面上に存在することが明らかとなった²⁰⁾。しかし、体毛のある状態では、SG1から角質層にかけてどのような異常が起きているのかは、解析することが困難であった。そこで、更に体表面を生理学的・生化学的・形態学的に解析するために、無毛マウス(Hos:HR-1)系統と戻し交配を行った。SASPase欠損「無毛」マウスは、同様に4週齢ぐらいから顕著に体表面の皮膚に小皺が形成され、詳細に観察すると、鱗片が多く認められることから異常な角質層となっていることが明らかとなった(図2C)³¹⁾。透過電子顕微鏡による表皮切片の解析により、SASPase欠損マウスの角質層は、電子密度の高い異常な角質層が形成され蓄積していることが明らかとなった(図2D)。皮膚表皮のバリア機能は、皮膚表皮体表面からの水分蒸散量(Transepidermal water loss (TEWL))を計測することで解析できる。TEWLを野生型と欠損マウス間で、比較した所、有意な差は認められなかったことから、バリア機能は正常であると考えられた。ところが、角質層水分量計測を行うと、有意にその水分量が減少していることが明らかとなった³¹⁾。

皮膚表皮細胞は、前述のように、基底層から角質層まで秩序だった分化段階を示し、発現するマーカー遺伝子もそれに従い、明確な転写様式を示す。例えば、ケラチンは、ケラチン-5/-14が基底層から発現し、ケラチン-1/-10が有棘層より発現する。さらに表皮分化に際して強く発現誘導される遺伝子群が、ヒトでは1q21に、マウスでは3qに約1.6Mbにわたり存在しており、Epidermal Differentiation Complex (EDC)と呼ばれている^{32,33)}。EDCは、様々な生物のゲノム解析により、爬虫類では既に形成されており、哺乳類において大きく発達し、しかも哺乳類間では高い保存性を示す³⁴⁾。SASPase欠損マウスにおいて、ケラチン蛋白質群や、EDCに存在するインボルクリン・ロリクリン蛋白質は、発現量・局在ともに野生型と比較して差異は認められなかった。しかし、EDCに存在し、顆粒層SG3から発現するフィラグリン蛋白質は、免疫蛍光染色を行うとSASPase欠損マウスでは、角質層下層に野生型に比べて強いシグナルが認められた(図2E)。このことは、角質層の下層部分にフィラグリン蛋白質が異常に蓄積していることを示していた。このフィラグリンは、顆粒層SG3から、例えばヒトでは、リンカー配列によりフィラグリン単位が10～12個連なった形(プロフィラグリン)で発現する(図2F)。顆粒層で発現したプロフィラグリンは、高度にリン酸化されており、顆粒状の凝集を作ると考えられている。そして、SG1細胞が、細胞死を起こし、角質層細胞へと変化する際に、プロフィラグリンは、脱リン酸化され、そのリンカー配列が切断されモノマーフィラグリンを産生する。このモノマーフィラグリンは強いケラチン結合活性を

持っていることから、角質層の下層部分において、ケラチン繊維(主にケラチン-1/-10)と強固に結合し東化すると考えられている。その後、このケラチン結合フィラグリンは、シトルリン酸化されることにより、ケラチン繊維から遊離し、Caspase-14などの様々なプロテアーゼにより切断され、アミノ酸にまで分解される。この遊離アミノ酸は、「天然保湿因子(Natural moisturizing factor)」の大部分を構成する。つまり、フィラグリン抗体を用いて、角質層抽出液に対してイムノプロットを行うと、プロフィラグリン、段階的に切断されているプロフィラグリン、モノマーフィラグリンといったプロフィラグリン分解に応じた多様なバンドパターンが検出される。ところが、SASPase欠損マウスでは、プロフィラグリン、段階的に分解されたプロフィラグリンは、認められるものの、ダイマー・トリマーに強いシグナルを示し、モノマーフィラグリンは殆ど検出されなかった(図2E)。このことは、SASPase欠損によりリンカー配列切断不全が起り、異常プロフィラグリンが蓄積した結果と考えられる(図2F)。実際、*in vitro*でもヒトSASPaseは、ヒトプロフィラグリンリンカー配列を切断する。(マウスではフィラグリン蛋白質がうまく合成できないため未確認である)。一方で、角質層上層における遊離アミノ酸の量・組成共に有意な差は野生型と欠損マウスの間ではなく、異常は角質層の下層部分にあるのではないかと考えられた。

このSASPase欠損マウス角質層下層にて異常に蓄積しているフィラグリンは、2006年にその変異がアトピー性皮膚炎の最大の疾患素因となることが報告された遺伝子である^{35,36)}。フィラグリン欠損マウスでは、角質層のバリア機能が破綻しているが、ケラチン繊維を東化する性質を持つフィラグリンが存在しないことで、角質層内のケラチン繊維が何らかの異常な高次構造をとっていることが示唆されている³⁷⁾。SASPase欠損マウスにおいても異常フィラグリン蓄積により同様にケラチンの配向異常が起き、角質層の保湿ができなくなっている可能性が考えられる³¹⁾。SASPaseの変異そのものは、ヒトアトピー性皮膚炎や乾燥肌の状態で認められる頻度は少ないが、SASPaseの活性減少や、フィラグリン分解異常が、皮膚バリア異常を伴う疾患の指標となる可能性が考えられる^{31,38)}。

このようなプロテアーゼSASPaseと、その基質と想定されるフィラグリンのゲノム領域を様々な種で比較した結果が報告された(図3)。ニワトリ(Chicken)、トカゲ(Green anole lizard)ゲノムにおいてフィラグリンを含むEDC領域のゲノム比較解析結果が報告された(図3A, B)^{39,40)}。その結果、フィラグリンを含む領域は、ニワトリやトカゲにはなく、哺乳類皮膚特異的に、出現・獲得され、多くの哺乳類に拡散した可能性が高いと考えられた。更に、約

5300 万年前に、陸上生活から再び水中生活に戻ったと考えられるクジラ類（鯨（くじら）や海豚（いるか）など）の水棲哺乳類についても EDC 領域のゲノム解析が報告された^{22, 41)}。フィラグリン遺伝子は、鯨（マッコウクジラやミンククジラ）では欠失しているが、海豚（ヨウスコウカワイルカやシャチ）では保存されており、陸上から水中へと再び適応していく中で、クジラ類それぞれの系統によって、その皮膚機能へのフィラグリンの必要性は異なっていた可能性が考えられる。このような水棲哺乳類における、角質層形成に関わる分子の欠失は、同じくフィラグリンモノマーをさらに分解することが明らかになっている Caspase-14（**図 2F**, **図 3C**）においても認められ、Caspase-14 はクジラ類全体において欠失している可能性が示されている²²⁾。一方で、プロフィラグリンのリンカー配列を切断する SASPase は、すべての哺乳類に保存されており、フィラグリンの存在しない鯨ではフィラグリンの切断以外の機能を果たしている可能性も考えられる（**図 3B**）²²⁾。

海豚や鯨の皮膚表皮は、角質化した重層扁平上皮組織ではなく、ヒトにおける食道（角化せず、核が最終層まで残存している parakeratotic な表皮）に似た形態をとっている（**図 1A**）⁴²⁾。すなわち角質層が存在しない表皮の場合、皮膚特異的遺伝子の維持の必要がなくなることにより、新しい適応状態を作り出した可能性がある。このことはゲノムの再構成による皮膚の外界適応が、種のレベルで起きうることを示している。内在性レトロウイルスが多数挿入された際にも皮膚の外界適応性に変化が起きた可能性は高いと考えられる。このような皮膚の環境適応機構は、皮膚表皮角質層を形成する SG1 細胞の細胞生物学的性質を詳細に理解し、内在化したレトロウイルスがどのような影響を及ぼしてきたのかを解析することで、明らかになると考えられる。

謝 辞

本研究は、文部科学省科学技術振興調整費用「若手研究者の自立研究環境整備促進」事業、文部科学省科学研究費補助金・若手研究 (B) (21790267)、基盤研究 (C) (25461667)、厚生労働省科学研究費補助金「免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業」、中富健康科学振興財団、コスメトロジー研究振興財団、内藤記念科学振興財団、武田科学研究振興財団ビジョナリーリサーチ、ビジョナリーリサーチ（ホップ）の支援を受けて行われました。

参考文献

- 1) Alibardi L.: Adaptation to the land: The skin of reptiles in comparison to that of amphibians and endotherm amniotes. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 298:12-41, 2003.
- 2) Schempp C, Emde M, Wolffe U.: Dermatology in the Darwin anniversary. Part 1: Evolution of the integument. *J Dtsch Dermatol Ges* 7:750-757, 2009.
- 3) Yoshizato K.: Molecular mechanism and evolutionary significance of epithelial-mesenchymal interactions in the body- and tail-dependent metamorphic transformation of anuran larval skin. *Int Rev Cytol* 260:213-260, 2007.
- 4) Wang DY, Kumar S, Hedges SB.: Divergence time estimates for the early history of animal phyla and the origin of plants, animals and fungi. *Proc Biol Sci* 266: 163-171, 1999.
- 5) Kemp TS.: 2005, *The Origin and Evolution of Mammals*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- 6) Kielan-Jaworowska Z, Cifelli, R. L., Luo, Z.: 2004, *Mammals from the age of dinosaurs*. Columbia University Press, New York, USA.
- 7) Watt FM.: Terminal differentiation of epidermal keratinocytes. *Curr Opin Cell Biol* 1:1107-1115, 1989.
- 8) Furuse M, Hata M, Furuse K, Yoshida Y, Haratake A, Sugitani Y, Noda T, Kubo A, Tsukita S.: Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. *J Cell Biol* 156:1099-1111, 2002.
- 9) Hashimoto K.: Intercellular spaces of the human epidermis as demonstrated with lanthanum. *J Invest Dermatol* 57:17-31, 1971.
- 10) Candi E, Schmidt R, Melino G.: The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6:328-340, 2005.
- 11) Kubo A, Nagao K, Amagai M.: Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *J Clin Invest* 122:440-447, 2012.
- 12) Chan A, Mauro T.: Acidification in the epidermis and the role of secretory phospholipases. *Dermatoendocrinol* 3:84-90, 2011.
- 13) Rawlings AV, Matts PJ.: Stratum corneum moisturization at the molecular level: an update in relation to the dry skin cycle. *J Invest Dermatol* 124:1099-1110, 2005.
- 14) Iwai I, Han H, den Hollander L, Svensson S, Ofverstedt LG, Anwar J, Brewer J, Bloksgaard M, Laloeuf A, Nosek D, Masich S, Bagatolli LA, Skoglund U, Norlen L.: The human skin barrier is organized as stacked bilayers of fully extended ceramides with cholesterol molecules associated with the ceramide sphingoid moiety. *J Invest Dermatol* 132:2215-2225, 2012.
- 15) Bouwstra JA, de Graaff A, Gooris GS, Nijssse J, Wiechers JW, van Aelst AC.: Water distribution and related morphology in human stratum corneum at different hydration levels. *J Invest Dermatol* 120:750-758, 2003.
- 16) Richter T, Peuckert C, Sattler M, Koenig K, Riemann I, Hintze U, Wittern KP, Wiesendanger R, Wepf R.: Dead but highly dynamic--the stratum corneum is divided into three hydration zones. *Skin Pharmacol Physiol* 17:246-257, 2004.
- 17) Kubo A, Ishizaki I, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M.: The stratum corneum comprises three layers with distinct metal-ion barrier properties. *Sci Rep* 3:1731, 2013.
- 18) Matsui T, Hayashi-Kisumi F, Kinoshita Y, Katahira S, Morita K, Miyachi Y, Ono Y, Imai T, Tanigawa Y,

- Komiya T, Tsukita S.: Identification of novel keratinocyte-secreted peptides dermokine- α / - β and a new stratified epithelium-secreted protein gene complex on human chromosome 19q13.1. *Genomics* 84:384-397, 2004.
- 19) Bernard D, Mehul B, Thomas-Collignon A, Delattre C, Donovan M, Schmidt R.: Identification and characterization of a novel retroviral-like aspartic protease specifically expressed in human epidermis. *J Invest Dermatol* 125:278-287, 2005.
 - 20) Matsui T, Kinoshita-Ida Y, Hayashi-Kisumi F, Hata M, Matsubara K, Chiba M, Katahira-Tayama S, Morita K, Miyachi Y, Tsukita S.: Mouse homologue of skin-specific retroviral-like aspartic protease involved in wrinkle formation. *J Biol Chem* 281:27512-27525, 2006.
 - 21) Rhiemeier V, Breitenbach U, Richter KH, Gebhardt C, Vogt I, Hartenstein B, Furstenberger G, Mauch C, Hess J, Angel P.: A novel aspartic proteinase-like gene expressed in stratified epithelia and squamous cell carcinoma of the skin. *Am J Pathol* 168:1354-1364, 2006.
 - 22) Strasser B, Mlitz V, Fischer H, Tschachler E, Eckhart L.: Comparative genomics reveals conservation of filaggrin and loss of caspase-14 in dolphins. *Exp Dermatol* 24:365-369, 2015.
 - 23) Campillos M, Doerks T, Shah PK, Bork P.: Computational characterization of multiple Gag-like human proteins. *Trends Genet* 22:585-589, 2006.
 - 24) Kaneko-Ishino T, Ishino F.: The role of genes domesticated from LTR retrotransposons and retroviruses in mammals. *Front Microbiol* 3:262, 2012.
 - 25) Puente XS, Sanchez LM, Gutierrez-Fernandez A, Velasco G, Lopez-Otin C.: A genomic view of the complexity of mammalian proteolytic systems. *Biochem Soc Trans* 33:331-334, 2005.
 - 26) Davies DR.: The structure and function of the aspartic proteinases. *Annu Rev Biophys Chem* 19:189-215, 1990.
 - 27) Konvalinka J, Krausslich HG, Muller B.: Retroviral proteases and their roles in virion maturation. *Virology* 479-480:403-417, 2015.
 - 28) Mattei S, Schur FK, Briggs JA.: Retrovirus maturation-an extraordinary structural transformation. *Curr Opin Virol* 18:27-35, 2016.
 - 29) Behne MJ, Meyer JW, Hanson KM, Barry NP, Murata S, Crumrine D, Clegg RW, Gratton E, Holleran WM, Elias PM, Mauro TM.: NHE1 regulates the stratum corneum permeability barrier homeostasis. Microenvironment acidification assessed with fluorescence lifetime imaging. *J Biol Chem* 277:47399-47406, 2002.
 - 30) Sugawara T, Iwamoto N, Akashi M, Kojima T, Hisatsune J, Sugai M, Furuse M.: Tight junction dysfunction in the stratum granulosum leads to aberrant stratum corneum barrier function in claudin-1-deficient mice. *J Dermatol Sci* 70:12-18, 2013.
 - 31) Matsui T, Miyamoto K, Kubo A, Kawasaki H, Ebihara T, Hata K, Tanahashi S, Ichinose S, Imoto I, Inazawa J, Kudoh J, Amagai M.: SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. *EMBO Mol Med* 3:320-333, 2011.
 - 32) Mischke D, Korge BP, Marenholz I, Volz A, Ziegler A.: Genes encoding structural proteins of epidermal cornification and S100 calcium-binding proteins form a gene complex ("epidermal differentiation complex") on human chromosome 1q21. *J Invest Dermatol* 106:989-992, 1996.
 - 33) Kalinin AE, Kajava AV, Steinert PM.: Epithelial barrier function: assembly and structural features of the cornified cell envelope. *Bioessays* 24:789-800, 2002.
 - 34) de Guzman Strong C, Conlan S, Deming CB, Cheng J, Sears KE, Segre JA.: A milieu of regulatory elements in the epidermal differentiation complex syntenic block: implications for atopic dermatitis and psoriasis. *Hum Mol Genet* 19:1453-1460, 2010.
 - 35) Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant A, Munro CS, El Houate B, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S, McLean WH.: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 38:441-446, 2006.
 - 36) Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH.: Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 122:1285-1294, 2009.
 - 37) Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Shimizu A, Mizuno H, Yamada T, Amagai M.: Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. *J Allergy Clin Immunol* 129:1538-1546 e1536, 2012.
 - 38) Sandilands A, Brown SJ, Goh CS, Pohler E, Wilson NJ, Campbell LE, Miyamoto K, Kubo A, Irvine AD, Thawer-Esmail F, Munro CS, McLean WH, Kudoh J, Amagai M, Matsui T.: Mutations in the SASPase gene (ASPRV1) are not associated with atopic eczema or clinically dry skin. *J Invest Dermatol* 132:1507-1510, 2012.
 - 39) Mlitz V, Strasser B, Jaeger K, Hermann M, Ghannadan M, Buchberger M, Alibardi L, Tschachler E, Eckhart L.: Trichohyalin-like proteins have evolutionarily conserved roles in the morphogenesis of skin appendages. *J Invest Dermatol* 134:2685-2692, 2014.
 - 40) Strasser B, Mlitz V, Hermann M, Rice RH, Eigenheer RA, Alibardi L, Tschachler E, Eckhart L.: Evolutionary origin and diversification of epidermal barrier proteins in amniotes. *Mol Biol Evol* 31:3194-3205, 2014.
 - 41) Oh JW, Chung O, Cho YS, MacGregor GR, Plikus MV.: Gene loss in keratinization programs accompanies adaptation of cetacean skin to aquatic lifestyle. *Exp Dermatol* 24:572-573, 2015.
 - 42) Reeb D, Best PB, Kidson SH.: Structure of the integument of southern right whales, *Eubalaena australis*. *Anat Rec (Hoboken)* 290:596-613, 2007.

I have no potential conflicts of interest to declare

Adaptive Evolution of Skin in Terrestrial Vertebrates and Possible Involvement of Endogenous Retroviruses

Takeshi MATSUI

Laboratory for Skin Homeostasis
RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS)

The first terrestrial vertebrates emerged from water and adapted to living on land approximately 360 million years ago (late Devonian). In particular, amphibians are thought to have surface epithelia that changed from multilayered epithelia into keratinized stratified squamous epithelia by acquiring stratum corneum (SC), which is composed of several dead cell layers that serve as an air-liquid interface barrier. Then, reptiles appeared and became a major terrestrial vertebrate group approximately 340 million years ago by forming hard SC. About 220 million years ago, mammals radiated by acquiring soft and moisturized SC, and endogenous retroviruses were thought to be actively integrated into mammalian genomes. Skin ASpartic Protease (SASPase)/ASPRV1 is the mammalian-specific endogenous retroviral-derived protease. SASPase-deficient mice had dry skin and aberrant accumulation of profilaggrin, which is another mammalian-specific gene that regulates SC barrier function and is a major predisposing factor for atopic dermatitis. These findings indicate that the retroviral element SASPase was integrated into the first mammalian species and was involved in the adaptive evolution of mammals, as it facilitates moisturization of skin SC. It is possible that other uncharacterized endogenous retroviruses were also involved in epidermal barrier function.