

Rola mutacji w genie filagryny w etiopatogenezie atopowego zapalenia skóry. Przegląd piśmiennictwa

The role of filaggrin gene mutations in pathogenesis of atopic dermatitis. Literature review

Tomasz Hawro, Anna Sysa-Jędrzejowska, Joanna Narbutt

Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,
kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

Post Dermatol Alergol 2008; XXV, 1: 12–15

Streszczenie

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą i nawrotową chorobą o złożonej etiologii. W rozwoju jej fenotypu biorą udział interakcje między czynnikami genetycznymi a środowiskowymi. Uszkodzenie bariery naskórkowej skutkujące wzmogoną utratą wody i zmniejszonym nawilżeniem skóry jest istotną cechą obrazu klinicznego tej choroby. Mimo że rozważano rolę pierwotnego defektu w budowie bariery naskórkowej w patogenezie AZS, to jednak większość badań genetycznych w ostatnich dziesięcioleciach koncentrowała się na defektach immunologicznych. Filagryna – główny składnik ziarnistości keratohialinowych warstwy rogowej – jest białkiem spajającym włókna keratynowe z wytworzeniem koperty rogowej korneocytu. Koperta rogowa komórki zapobiega nie tylko utracie wody, ale również wnikaniu alergenów, rozwojowi uczulenia i atopii. W ostatnich badaniach wykazano, że mutacje w genie filagryny, prowadzące do całkowitego braku funkcjonalnego produktu, które powodują powstanie rybiej łuski zwyczajnej, są jednocześnie silnym czynnikiem predysponującym do rozwoju AZS i astmy. Najnowsze badania dla kolejnych populacji potwierdzają początkowo uzyskane wyniki.

Słowa kluczowe: filagryna, atopowe zapalenie skóry, rybia łuska zwyczajna.

Abstract

Atopic dermatitis (AD) is a common, chronic and relapsing skin disease of complex aetiology, with interactions between susceptibility genes and environmental factors. An impaired epidermal barrier resulting in increased water loss and reduced hydration of the skin is a prominent part of the AD clinical picture. Though primary epidermal barrier defect was taken into account as a possible causative factor for AD, in the last decades most genetic studies on pathogenesis of atopic diseases have focused on immunological mechanisms. Filaggrin, a major component of keratohyalin granules in the granular layer, is a protein which function is to aggregate filaments of keratin, resulting in formation of the corneocyte's cornified envelope. The cornified cell envelope prevents not only water loss but also entry of allergens and subsequent allergic sensitization, which may result in atopy development. Recent studies revealed that null mutations in filaggrin genes that cause ichthyosis vulgaris are strong predisposing factors for atopic dermatitis and asthma. The first study on the role of filaggrin mutations in AD was successfully replicated in the other populations.

Key words: filaggrin, atopic dermatitis, ichthyosis vulgaris.

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą, nawrotową chorobą o rozpowszechnieniu 10–20% populacji w zależności od regionu świata [1]. W rozwoju fenotypu tej choroby biorą udział złożone interakcje między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi. Znaczącą rolę czynnika genetycznego potwierdza rodzinne występowanie AZS, szczególnie u bliźniąt monozygotycznych

(80%) oraz dwuzygotycznych (20%) [2–4]. Badania analizy sprzężeń wykazały kilka *loci* powiązanych z występowaniem AZS, zlokalizowanych na chromosomach 1q21, 17q25 [5], 3q21 [6] i 3p24-22 [7]. Do niedawna poszukując podłoża genetycznego AZS, brano jedynie pod uwagę geny, których ekspresja w sposób bezpośredni wiązała się z układem immunologicznym [8].

Adres do korespondencji: lek. med. Tomasz Hawro, Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, tel./faks +48 42 686 79 81, +48 42 688 45 65, e-mail: t.hawro@yahoo.pl

Ostatnio badacze na całym świecie zwrócili uwagę na białko – filagrynę, i mutację kodującego je genu prowadzącą do nieprawidłowej budowy bariery naskórkowej oraz zaburzenia jej funkcji.

Filagryna jest bogatym w histydynę, zasadowym białkiem o masie cząsteczkowej ok. 37 kD występującym w komórkach warstwy rogowej. Jej funkcją jest spajanie włókien keratynowych i tej unikatowej zdolności zawdzięcza swą nazwę – *filament aggregation protein* (filaggrin). Filagryna, podobnie jak inne składniki niezbędne w procesie terminalnego różnicowania keratynocytów, syntetyzowana jest już w obrębie warstwy ziarnistej. Jej prekursorem jest profilagryna będąca głównym składnikiem ziarnistości keratohialinowych warstwy ziarnistej. Jest to białko o masie cząsteczkowej powyżej 400 kD, zbudowane z 10–12 powtórzeń monomerów filagryny [9]. W życiu płodowym jest ona obecna już w 15. tyg., a do 21. tyg. pojawiają się ziarnistości keratohialinowe. Wraz z przechodzeniem komórek do warstwy rogowej, profilagryna ulega strawieniu, początkowo do oligomerów, a w końcowym etapie monomerów filagryny. Uwolnione jej cząsteczki, łącząc włókna keratynowe, prowadzą do szybkiego zapadania się komórki, jej spłaszczenia i utworzenia bezjądrowej łuski korneocytu. Skondensowany cytoszkielet jest związany krzyżowo przez transglutaminazy z uformowaniem komórkowej koperty rogowej (ang. *cornified cell envelope*) [10]. Przekształcenie profilagryny do filagryny jest procesem złożonym podlegającym regulacji na wielu poziomach, a jego nieprawidłowy przebieg może odpowiadać za zaburzenia terminalnego różnicowania keratynocytów i prowadzić do upośledzenia barierowych funkcji naskórka. Istotne znaczenie w zachowaniu funkcji barierowych mają również produkty dalszej proteolizy filagryny, które wchodzi w skład naturalnego czynnika nawilżającego (ang. *natural moisturizing factor* – NMF) [11]. W chorobach skóry przebiegających z nieprawidłowym terminalnym różnicowaniem keratynocytów naskórka, do których należą rybia łuska, AZS, łuszczycza, obserwuje się istotnie obniżoną liczbę naturalnego czynnika nawilżającego lub jego całkowity brak [12, 13]. Prawidłowo zbudowana warstwa rogowa odpowiada za ochronę skóry przed utratą wilgoci oraz stanowi barierę dla alergenów, toksyn i mikroorganizmów. Ostatnio zwrócono uwagę na udział defektu bariery naskórkowej w rozwoju atopii, w tym zarówno AZS, jak i astmy oskrzelowej [14]. Spostrzeżenia te były zgodne z wcześniejszymi obserwacjami klinicznymi i eksperymentalnymi, z których wynikało, że nieprawidłowa bariera naskórkowa może predysponować do rozwoju AZS. Związek taki zauważono również w przypadku zespołu Nethertona, gdzie jedną z cech klinicznych jest współistnienie AZS, a w którym dochodzi do uszkodzenia bariery naskórkowej w wyniku mutacji w genie *SPINK5*, kodującym inhibitor proteazy serynowej LEKTI [15–18]. Zaobserwowano także, że u osób chorujących na rybią łuskę zwyczajną często występuje AZS, a z kolei nawet do 8% pacjentów z AZS wykazuje kliniczne cechy

rybiej łuski zwyczajnej [19]. Badania analizy sprzężeń wykazały związek AZS z występowaniem mutacji w obrębie grupy genów zwanej *Epidermal Differentiation Complex* (EDC), gdzie kodowane są białka odpowiedzialne za terminalne różnicowanie keratynocytów [5, 20]. Geny EDC znajdują się na krótkim ramieniu chromosomu 1, w prążku 21, a w ich skład wchodzi kompleks genów kodujących 7 białek *Fused S100 Family*, z których jednym jest filagryna. Mimo prac wskazujących na obniżoną ekspresję filagryny w skórze u osób chorujących na rybią łuskę i AZS, dopiero po kilku latach określono mutację odpowiedzialną za to zjawisko. Początkowo techniką immunoblotu wykazano obniżoną ilość tego białka lub też jego całkowity brak w skórze u pacjentów z rybią łuską zwyczajną [21, 22], a następnie za pomocą technik immunohistochemicznych, ELISA [23] oraz badania mikromacierzy mRNA stwierdzono analogiczne zjawiska u pacjentów z AZS [24]. Unikalna struktura genu kodującego filagrynę wpłynęła na późne zidentyfikowanie dotychczas poznanych mutacji. Produkt białkowy jest kodowany przez 3 eksony, jednak większość informacji jest zapisana w ostatnim z nich. Trzeci ekson jest więc duży, ma wielkość ok. 12 tys. par zasad. Jego struktura jest wysoce powtarzalna, co wynika z budowy profilagryny, składającej się z 10–12 monomerów filagryny. Poszczególne powtórzenia charakteryzują się znacznym podobieństwem, a ich liczba może być u badanych osób różna [25]. Wysoka homologia między powtórzeniami sprawia trudności w przeprowadzeniu konwencjonalnego sekwencjonowania w oparciu o technikę PCR. Ponadto dodatkowe powtórzenia filagryny wymagają osobnego zsekwencjonowania.

Pierwsza praca jednoznacznie wskazująca na mutacje w genie filagryny jako przyczynę atopii jest autorstwa Palmera i wsp. i ukazała się w 2006 r. w czasopiśmie *Nature* [26]. Ten sam zespół badaczy opisał wcześniej obie mutacje – R510X i 2282del4 – wykazując, że są one odpowiedzialne za większość przypadków rozwoju rybiej łuski zwyczajnej w Europie [27]. Mutacje te prowadzą do całkowitej utraty funkcjonalnego produktu. Uwagę badaczy z Dundee zwrócił fakt, że w badanych przez nich rodzinach, w których występowała rybia łuska zwyczajna, szczególnie często współistniało AZS. U osób homozygotycznych pod względem badanych mutacji bądź złożonych heterozygot z obecnością obu zmutowanych alleli, cierpiących na ciężką postać rybiej łuski, AZS stwierdzono w 76% przypadków. U heterozygot pod względem omawianych mutacji, mających łagodną postać rybiej łuski, AZS obserwowano u 44%, podczas gdy nie odnotowano tej choroby u żadnego z członków rodziny, u którego nie występowały mutacje w genie filagryny. Obserwacje te skłoniły badaczy do dalszych poszukiwań. Przebadano duże próbki populacji dzieci szkockich, irlandzkich i duńskich zarówno z rozpoznaniem AZS i astmy, jak i populację ogólną. Wówczas stwierdzono silny związek między występowaniem AZS i astmy a obecnością badanych mutacji i oszacowano rozpowszechnienie obu mutacji na 5,8% no-

sicieli wariantu R501X i 3,8% wariantu 2282del4 w populacji ogólnej. W przypadku astmy związek z mutacjami filagryny obserwowano jedynie dla postaci współistniejących z AZS, nie wykazano natomiast związku z izolowaną postacią astmy. Na podstawie tych obserwacji wysunięto hipotezę, że astma u pacjentów z AZS jest wtórna do uczulenia na alergeny, które przedostają się do skóry po uprzednim uszkodzeniu bariery naskórkowej. Nieprawidłowości w obrębie koperty rogowej utatwiają kontakt alergenów z komórkami prezentującymi antygen i są przynajmniej w części odpowiedzialne za zjawiska immunologiczne zachodzące w przebiegu AZS i astmy oskrzelowej. Podobne rozpowszechnienie obu mutacji i ich związek z AZS i astmą zostały niedawno potwierdzone w pracach przeprowadzonych w innych populacjach europejskich – irlandzkiej [28], angielskiej [29], niemieckiej [30–33]. Analizując uzyskane wyniki, wykazano, że wśród osób, u których występują te mutacje, częściej stwierdza się postać zewnątrzpochodną AZS [31, 33, 34] charakteryzującą się podwyższonym poziomem całkowitego IgE w surowicy, cytokin Th2-zależnych, a także uczuleniem na alergeny powietrzno-pochodne bądź pokarmowe [35–37]. Potwierdza to tezę o kluczowej roli mutacji filagryny i uszkodzenia bariery naskórkowej w wyzwoleniu kaskady reakcji prowadzących do rozwinięcia pełnego obrazu choroby po kontakcie z alergenami zewnątrzpochodnymi. W 2 kolejnych pracach zaobserwowano ponadto, że omawiane mutacje kojarzą się częściej z postacią AZS o wczesnym początku (poniżej 2. roku życia) i bardziej przewlekłym przebiegu [32, 34], co jednak pozostaje w sprzeczności z innymi wynikami, gdzie nie zauważono związku z wiekiem pojawienia się choroby [31]. Chorzy na AZS, u których występują mutacje w genie filagryny, wykazują znacząco częściej objaw nadmiernego pobruzdowania dłoni, co jest też cechą rybiej łuski zwyczajnej [31]. Nadmierne pobruzdowanie dłoni jest tą częścią atopowego profilu konstytucyjnego, obok suchości skóry i rogowacenia mieszkowego, która łączy je z rybią łuską i sugeruje przez sam obraz kliniczny ich wzajemny związek.

Mutacje filagryny wykazują niepełną penetrację w stosunku do AZS modyfikowaną zarówno przez czynniki środowiskowe, jak i inne geny. Rozważa się oddziaływanie genów kodujących białka, biorące udział w obróbce profilagryny [38]. Z drugiej strony, opisane dotychczas w Europie 2 częste mutacje w genie filagryny występują u nie więcej niż połowy badanych pacjentów z AZS. Przynajmniej część pozostałych przypadków można wiązać z występowaniem innych, rzadszych mutacji. Na podstawie tego założenia Sandilands i wsp. rozpoczęli kolejne badania genetyczne. Analizie poddano osoby z ciężkimi postaciami rybiej łuski zwyczajnej, heterozygotycznymi pod względem genów R501X lub 2282del4, u których można było ze względu na stan kliniczny podejrzewać brak funkcjonalnego produktu filagryny, a tym samym stan złożonej heterozygotyczności z obecnością 2 zmutowanych alleli. Właśnie u tych chorych zidentyfikowano na drugim z chro-

mosomów 7 innych, rzadkich mutacji [39], których obecność również powoduje brak funkcjonalnego białka. Obecność niektórych z nich została potwierdzona w badaniu dotyczącym grupy irlandzkich pacjentów z AZS, gdzie dodatkowo, sekwencjonując gen filagryny u osób z ciężką postacią choroby, zidentyfikowano 3 dalsze mutacje. Zauważono, że obie mutacje, częste wśród Europejczyków i osób o europejskim rodowodzie, są rzadkie bądź nieobecne w innych populacjach. Należy oczekiwać, że dla innych grup etnicznych wkrótce zostaną określone mutacje w genie filagryny odpowiedzialne za AZS i rybią łuskę zwyczajną. Pierwszą populacją pozaeuropejską, dla której opisano analogiczne mutacje (3321delA, S2554X), byli japońscy pacjenci z rybią łuską zwyczajną i AZS [40]. Wykazano także, że jedna z nich (mutacja 3321delA) występuje w populacji chińskiej z częstością ok. 3,6% [39]. Na podstawie dotychczas prezentowanych wyników należy się spodziewać, że w przyszłości określone zostaną inne częste mutacje występujące w dużych grupach etnicznych, o wspólnym rodowodzie, a także rzadsze, obecne w mniejszych spokrewnionych grupach lub nawet poszczególnych rodzinach [41]. Po przeprowadzeniu takich badań zapewne będzie można wyodrębnić osoby z AZS, u których nie występuje mutacja w genie filagryny. Grupa ta prawdopodobnie posłuży do poszukiwania innych genów odpowiadających za podatność na rozwój AZS. Analiza dostępnego piśmiennictwa pozwala stwierdzić, że eksperymenty te w najbliższej przyszłości wyznaczą będą kierunek dalszych badań w tej dziedzinie.

Praca finansowana z funduszy pracy statutowej (503-1019-1) Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Piśmiennictwo

1. Leung DY, Nicklas RA, Li JT, et al. Disease management of atopic dermatitis: an updated practice parameter. Joint Task Force on Practice Parameters. *Ann Allergy Astma Immunol* 2004; 93 (3 Suppl 2): S1-21.
2. Larsen FS, Holm NV, Henningsen K. Atopic dermatitis. A genetic epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 487-94.
3. Larsen FS. Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 719-23.
4. Cookson WO, Moffatt MF. The genetics of atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2: 383-7.
5. Cookson W, Ubhi B, Lawrence R, et al. Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet* 2001; 27: 372-3.
6. Lee YA, Wahn U, Kehrt R, et al. A major susceptibility locus for atopic dermatitis maps to chromosome 3q21. *Nat Genet* 2000; 26: 470-3.
7. Bradley M, Soderhall C, Luthman H, et al. Susceptibility loci for atopic dermatitis on chromosomes 3, 13, 15, 17 and 18 in a Swedish population. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 1539-48.
8. Novak N, Bieber T, Leung DY. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112 (6 Suppl): S128-39.

9. Gan SQ, McBride OW, Idler WW, et al. Organization, structure, and polymorphisms of the human profilaggrin gene. *Biochemistry* 1990; 29: 9432-40.
10. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6: 328-40.
11. Scott IR, Harding CR, Barrett JG. Histidine-rich proteins of the keratohyalin granules. Source of the free amino acids, urocanic acid and pyrrolidone carboxylic acid in the stratum corneum. *Biochim Biophys Acta* 1982; 719: 110-7.
12. Rawlings AV, Scott IR, Harding CR, Bowser PA. Stratum corneum moisturization at the molecular level. *J Invest Dermatol* 1994; 103: 731-41.
13. Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 2004; 17 (Suppl 1): 43-8.
14. Cookson W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 978-88.
15. Walley AJ, Chavanas S, Moffatt MF, et al. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. *Nat Genet* 2001; 29: 175-8.
16. Kato A, Fukai K, Oiso N, et al. Association of SPINK5 gene polymorphism with atopic dermatitis in the Japanese population. *Br J Dermatol* 2003; 148: 665-9.
17. Nishio Y, Noguchi E, Shibasaki M, et al. Association between polymorphism in the SPINK5 gene and atopic dermatitis in the Japanese. *Genes Immun* 2003; 4: 515-7.
18. Kusunoki T, Okafuji I, Yoshioka T, et al. SPINK5 polymorphism is associated with disease severity and food allergy in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 636-8.
19. Tay YK, Khoo BP, Goh CL. The epidemiology of atopic dermatitis at a tertiary referral skin center in Singapore. *Asian Pac J Allergy Immunol* 1999; 17: 137-41.
20. Compton JG, DiGiovanna JJ, Johnston KA, et al. Mapping of the associated phenotype of an absent granular layer in ichthyosis vulgaris to the epidermal differentiation complex on chromosome 1. *Exp Dermatol* 2002; 11: 518-26.
21. Sybert VP, Dale BA, Holbrook KA. Ichthyosis vulgaris: identification of a defect in synthesis of filaggrin correlated with an absence of keratohyaline granules. *J Invest Dermatol* 1985; 84: 191-4.
22. Fleckman P, Holbrook KA, Dale BA, Sybert VP. Keratinocytes cultured from subjects with ichthyosis vulgaris are phenotypically abnormal. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 640-5.
23. Seguchi T, Cui CY, Kusuda S, et al. Decreased expression of filaggrin in atopic skin. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 442-6.
24. Sugiura H, Ebise H, Tazawa T, et al. Large scale DNA microarray analysis of atopic skin lesions show overexpression of an epidermal differentiation gene cluster in the alternative pathway and lack of protective gene expression in the cornified envelope. *Br J Dermatol* 2005; 152: 146-9.
25. Presland RB, Haydock PV, Fleckman P, et al. Characterization of the human epidermal profilaggrin gene. Genomic organization and identification of an S-100-like calcium binding domain at the amino terminus. *J Biol Chem* 1992; 267: 23772-81.
26. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38: 441-6.
27. Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Loss-of-function mutations in gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Genet* 2006; 38: 337-42.
28. Sandilands A, O'Regan GM, Liao H, et al. Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris and predispose individuals to atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1770-5.
29. Barker JN, Palmer CN, Zhao Y, et al. Null mutations in the filaggrin gene (FLG) determine major susceptibility to early-onset atopic dermatitis that persists into adulthood. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 564-7.
30. Ruether A, Stoll M, Schwartz T, et al. Filaggrin loss-of-function variant contributes to atopic dermatitis risk in the population of Northern Germany. *Br J Dermatol* 2006; 155: 1093-4.
31. Weidinger S, Illig T, Baurecht H, et al. Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 214-9.
32. Stemmler S, Parwez Q, Petrasch-Parwez E, et al. Two common loss-of-function mutations within the filaggrin gene predispose for early onset of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 722-4.
33. Marenholz I, Nickel R, Rüschenhoff F, et al. Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 866-71.
34. Weidinger S, Rodriguez E, Stahl C, et al. Filaggrin mutations strongly predispose to early-onset and extrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 724-6.
35. Novak N, Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 252-62.
36. Opiel T, Schuller E, Günther S, et al. Phenotyping of epidermal dendritic cells allows the differentiation between extrinsic and intrinsic forms of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2000; 143: 1193-8.
37. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 832-6.
38. Irvine AD. Fleshing out filaggrin phenotypes. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 504-7.
39. Sandilands A, Terron-Kwiatkowski A, Hull PR, et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema. *Nat Genet* 2007; 39: 650-4.
40. Nomura T, Sandilands A, Akiyama M, et al. Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 434-40.
41. Sandilands A, Smith FJ, Irvine AD, McLean WH. Filaggrin's fuller figure: a glimpse into the genetic architecture of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 1282-4.