

dr n. med. Katarzyna Wertheim-Tysarowska¹,
dr n. med. Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska²
dr n. med. Kamila Czerska²

¹ Zakład Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie
Kierownik Zakładu: prof. zw. dr hab. n. med. Jerzy Bal

² Centrum Medyczne MedGen w Warszawie

Genetyczne podłoże atopowego zapalenia skóry

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest najczęstszą przewlekłą chorobą zapalną skóry, występującą nawet u 25% dzieci populacji światowej^[1]. W ciągu ostatnich dziesięcioleci zanotowano 2-, a nawet 3-krotny wzrost liczby chorych w krajach wysoko uprzemysłowionych^[2]. AZS charakteryzuje się występowaniem stanu zapalnego naskórka i skóry właściwej z towarzyszącymi rumieniami, obrzękami, suchością skóry, nadżerkami i zliszajowaczeniami^[3].

Pierwsze objawy choroby występują we wczesnym dzieciństwie, u ponad połowy chorych przed upływem 1. r.ż. Choroba ma charakter przewlekły i nawrotowy, a także charakteryzuje się zróżnicowanym przebiegiem klinicznym. U około 50% chorych dochodzi do rozwoju dychawicy oskrzelowej i kataru siennego (tzw. marsz atopowy). U niektórych obserwuje się podatność na zakażenia bakteryjne (np. *Staphylococcus aureus*), a u części chorych stwierdza się występowanie podwyższonego poziomu przeciwciał IgE^[4]. W większości przypadków AZS wygasa samoistnie, aczkolwiek u niektórych osób łagodniejsze objawy mogą utrzymywać się również w wieku dorosłym^[5,6].

Słowo „atopia” nie odnosi się wyłącznie do skóry, ale także do błon śluzowych nosa, spojówek i oskrzeli^[3]. Zgodnie z aktualną definicją WAO/EAACI (World Allergy Organization/ European Academy of Allergology and Clinical Immunology) pojęcie „atopia” oznacza indywidualną i/lub rodzinną tendencję do rozwoju, zwykle w dzieciństwie lub

w okresie dojrzewania, uczulenia i produkcji przeciwciał klasy IgE w odpowiedzi na zwykłą ekspozycję na alergeny, głównie białko - we. Określenie atopia, zgodnie z powyższą definicją, powinno być zarezerwowane dla genetycznej predyspozycji do uczulenia na alergeny powszechnie występujące w środowisku, na które, pomimo narażenia, większość ludzi nie produkuje przedłużonej odpowiedzi immunologicznej związanej z przeciwciałami klasy IgE^[7]. Na rolę czynnika genetycznego w etiologii atopii zwracano uwagę już znacznie wcześniej – w 1958 r., kilka lat przed odkryciem przeciwciał klasy IgE, Sherman podkreślał w definicji atopii występowanie rodzinnej skłonności do rozwoju reakcji alergicznych typu natychmiastowego w odniesieniu do alergenów środowiskowych^[8].

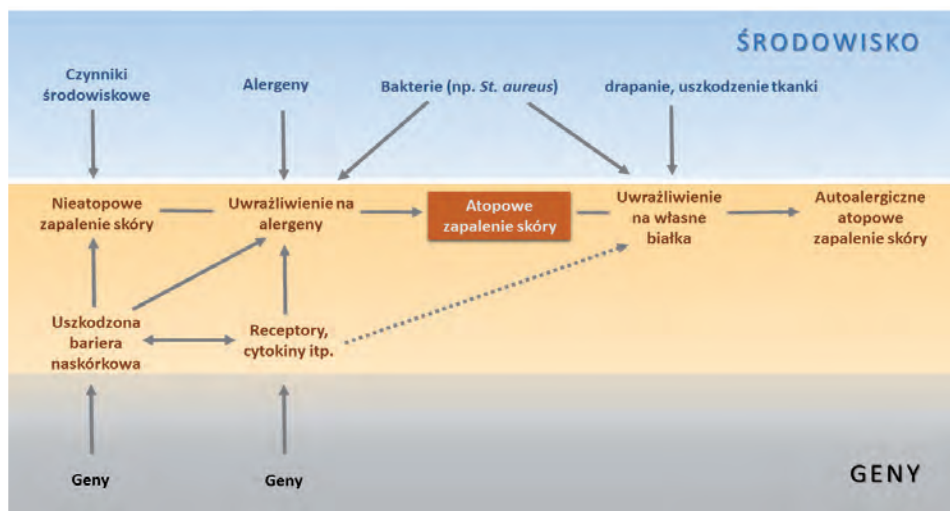
AZS rozwija się jako wynik interakcji następujących czynników: nadmiernej aktywacji systemu immunologicznego, dysfunkcji bariery naskórkowej oraz działania czynników środowiskowych^[9]. Podstawową rolę w rozwoju wczesnej fazy AZS odgrywają komórki

Langerhansa, limfocyty Th2 i immunoglobulina E. Przeciwciała IgE po związaniu alergenów przyłączają się do komórek Langerhansa, które następnie prezentują antygeny limfocytom T, prowadząc do ich proliferacji. U osób z AZS dochodzi na tym etapie choroby do zaburzenia równowagi pomiędzy odpowiedzią immunologiczną zależną od limfocytów Th2 i Th1, czego efektem jest znaczna przewaga limfocytów Th2 i rozwój zależnej od nich odpowiedzi immunologicznej. Natomiast w późniejszym okresie choroby, w przewlekłych zmianach skórnych obserwuje się sytuację odwrotną – w przebiegu występują limfocyty Th1^[5]. Patofizjologia AZS nie jest jednak w pełni poznana. Obecnie, za sprawą rozwoju biologii molekularnej coraz bardziej podkreśla się rolę genów, które mogą być odpowiedzialne za strukturalne zaburzenia bariery naskórkowej i deregulację procesów immunologicznych. W niniejszym artykule przedstawiony zostanie aktualny stan wiedzy dotyczący roli podłoża genetycznego w etiologii AZS. Już na początku lat 90. Küster i wsp. wykazali na podstawie badań przeprowadzonych na grupie 188 chorych na AZS i ich 2151 krewnych, że ryzyko wystąpienia atopii i AZS

wzrasta względem populacyjnego z każdym chorym krewnym pierwszego stopnia^[10]. Podobne obserwacje mieli Diepgen i Fartasch, którzy przebadali 428 chorych na AZS^[11]. O ważnej roli podłoża genetycznego w rozwoju AZS bezspornie świadczą także wyniki badań bliźniąt – zgodność występowania AZS u bliźniąt jednojajowych wynosi 70-86%, a w przypadku bliźniąt dwujajowych znacznie mniej, tj. 21-23%^[12].

Ludzki genom składa się z 3 miliardów par zasad, zawiera około 30 tysięcy genów i liczne regiony regulatorowe, np. kontrolujące ekspresję genów bądź kodujące regulatorowe cząsteczki RNA. Aktualnie znanych jest około 100 mln mutacji i polimorfizmów występujących ze zróżnicowaną częstością w zależności od populacji^[13]. Część z tych zmian ma charakter patogenny, inne z kolei mogą warunkować cechy korzystne (np. niewrażliwość na zakażenie pewnymi patogenami^[14]), są też takie, które według aktualnej wiedzy nie mają żadnych skutków fenotypowych. Rola większości z nich pozostaje jednak wciąż nieodkryta, pomimo że w ostatnich latach dokonał się znaczny postęp w poznawaniu genomu ludzkiego.

Odkrycie genetycznego podłoża AZS



Ryc. 1. Zestawienie czynników wpływających na rozwój atopowego zapalenia skóry^[na podstawie 4].

jest szczególnie trudnym wyzwaniem, ponieważ należy ono do chorób o podłożu wieloczynnikowym. Oznacza to, że AZS jest uwarunkowane zarówno istnieniem predyspozycji genetycznych, jak też czynnikami środowiskowymi (ryc. 1), a predyspozycje genetyczne w tym przypadku są ponadto wynikiem zmian w wielu genach^[15], która może dodatkowo określać zróżnicowanie międzypopulacyjne. Na podstawie przeprowadzonych dotąd badań szacuje się, że na skłonność do rozwoju atopii w ok. 82% wpływają czynniki genetyczne, a w 18% czynniki środowiskowe^[12].

Poszukiwanie wariantów genów związanych z etiologią AZS skupia się przede wszystkim na analizach porównawczych DNA osób chorych i zdrowych, co ma na celu identyfikację zmian genetycznych występujących częściej u osób chorych niż w populacji zdrowej.

Strategia ta umożliwiła identyfikację szeregu genów kandydujących, których zmiany mogą być odpowiedzialne za predyspozycje do AZS. Należą do nich m.in. geny odpowiedzialne za funkcje bariery naskórkowej, odporność wrodzoną i nabytą, sygnalizację związaną z interleukinami, rozwój odpowiedzi prozapalnej i funkcje limfocytów T regulacyjnych^[16] (tab. 1).

Głównym i najlepiej poznanym genem, którego mutacje predysponują do rozwoju AZS, jest *FLG* kodujący filagrynę. Filagryna (*filament aggregation protein*) jest odpowiedzialna za proces spajania keratynowych włókien pośrednich podczas etapu różnicowania się keratynocytów i tworzenia się bariery naskórkowej, a jej pochodne wchodzi w skład naturalnego czynnika nawilżającego (NMF), który warunkuje zachowanie właściwego stopnia nawodnienia skóry, homeostazę bariery naskórkowej, złuszczenie i plastyczność naskórka^[17]. Mutacje w genie kodującym filagrynę są przyczyną rybiej łuski

prostej (*ichthyosis vulgaris*, IV, OMIM* #146700). U chorych na IV obserwuje się ortohiperkeratozę, ze zmniejszoną lub nieobecną warstwą ziarnistą naskórka, klinicznie IV przejawia się występowaniem cienkich, zwykle jasnoszarych łusek rozwijających się w wieku 2-6 miesięcy. U ok. 50% pacjentów z IV rozwija się AZS, a u kolejnych 20% – inne choroby atopowe, np. alergiczny nieżyt nosa i astma oskrzelowa. Zaobserwowano także, że ok. 8% chorych na AZS wykazuje objawy IV^[18]. U blisko 2/3 pacjentów chorych na IV identyfikuje się mutacje w obu allelach genu *FLG*, co wiąże się z cięższym klinicznie przebiegiem choroby. U pozostałych przebieg choroby jest łagodniejszy, a mutacje obserwuje się w jednym allelu tego genu^[19].

U osób pochodzenia europejskiego najczęściej identyfikuje się mutacje: p.Arg501Ter (inaczej R501X) oraz c.2282del4, których skutkiem jest przedwczesne zakończenie procesu translacji i powstanie niekompletnego białka. Mutacje te występują w jednym lub w obu allelach genu *FLG* u 8,8% osób z populacji ogólnej, a ich częstość w populacji wynosi około 4,5%^[20]. W 2006 r. Palmer i wsp. po raz pierwszy wykazali związek pomiędzy występowaniem tych mutacji a AZS, co następnie potwierdzono w ponad 30 innych niezależnych badaniach^[9,21]. Częstość występowania mutacji u chorych na AZS jest około 6-krotnie wyższa niż w populacji ogólnej i wynosi 25-33%^[20].

Postulowany mechanizm rozwoju AZS u osób z dysfunkcyjną filagryną zakłada, że nieprawidłowa budowa warstwy rogowej umożliwia zwiększone przeznaskórkowe przenikanie antygenów, alergenów i innych czynników środowiskowych, których częścią indukuje odpowiedź immunologiczną manifestującą się objawami atopii^[20]. Wyniki badań Barker i wsp. wykazują ponadto, że AZS związany z mutacjami w genie *FLG* może sprzyjać występowaniu choroby również

* OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>).

Tab. 1. Zestawienie wybranych genów zlokalizowanych w loci wiązanych z etiopatogenezą AZS^[na podstawie 12, 16, 23, 24, 25]

Loci	Geny zlokalizowane w danym loci	Nazwa produktu białkowego	Funkcja białka
1.21	FLG*	Filagryna	Tworzenie bariery naskórkowej, zachowanie właściwego stopnia nawodnienia skóry, homeostaza bariery naskórkowej, złuszczenie i plastyczność naskórka
1.21	IVL	Ivolukryna	Składnik koperty rogowej kerneocytów
1.21	LOR	Lorikryna	
5q32	SPINK5	Inhibitor proteazy Serynowej typu Kazal 5	Regulacja proteolizy podczas różnicowania keratynocytów w naskórku
4q32	TLR2	Receptor Toll-Podobny 2	Rozpoznawanie patogenów i indukcja wrodzonej odpowiedzi immunologicznej
9q33.1	TLR4	Receptor Toll-Podobny 4	
4p14	TLR6	Receptor Toll-Podobny 6	
3p21.3	TLR9	Receptor Toll-Podobny 9	
8p23.1	DEFB1	Beta 1 defensyna	Ochrona powierzchni epitelium przed kolonizacją mikroorganizmów
7p14.3	NOD1 (CARD4)	Białko zawierające oligomeryzacyjną domenę wiążącą nukleotydy 1	Zapoczątkowanie reakcji zapalnej w odpowiedzi na niektóre infekcje bakteryjne
2p22.3	NLR4 (CARD12)	Białko z rodziny NLR zawierające domenę CARD 4	Kluczowa rola we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej na zakażenia patogenami, uszkodzenie tkanki i inne stresy komórkowe
7p22	CARD11*	Białko z rodziny zawierającej domenę rekrutacji kaspaz 11	Udział w aktywacji NFκB
16q21	NOD2 (CARD15)	Białko zawierające oligomeryzacyjną domenę wiążącą nukleotydy 2	Rola w odpowiedzi immunologicznej na wewnątrzkomórkowe lipopolisacharydy bakteryjne (LPS) i aktywacji NFκB
17p13.2	NLRP1 (NALP1)	Białko z rodziny NLR zawierające domenę pyrynową 1	Mediator procesu apoptozy
19q13.42	NLRP12 (NALP12)	Białko z rodziny NLR zawierające domenę pyrynową 12	Supresja odpowiedzi zapalnej w aktywowanych monocytach
5q31	IL-4*	Interleukina 4	Cytokina limfocytów T o plejotropowym działaniu
5q31	IL-13*	Interleukina 13	
16p12.1-p11.2	IL4R (IL-4RA)	Receptor dla interleukiny 4	Funkcja receptora dla interleukin
Xq24	IL13RA1 (IL-13Ra)	Receptor alfa 1 dla interleukiny 13	
2q12	IL-18RI*; IL18RAP*	Receptor 1 dla interleukiny 18 oraz białko pomocnicze dla receptora interleukiny 18	
19p13.11, 1p31.3-p31.2	IL12RB1, IL12RB2	Podjednostki kompleksu receptorowego dla interleukiny 12	
4q26-q27, 5q31.1, 7p21, 8q12-q13, 5q31.1, 1q31-q32, 3q25.33, 5q31, 11q22.2-q22.3, 4q26-q27, 12q24.31	IL-2*, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12A, IL-13, IL-18, IL-21*, IL-31	Interleukiny 2, 5, 6, 7, 9, 10, 12A, 13, 18, 21, 31	Cytokiny limfocytów T o działaniu plejotropowym
3q13.3-q21,	CD80, CD86	Cząsteczki CD80 i CD86	Indukcja aktywacji limfocytów T
20q13.33	TNFRSF6B*	przedstawiciel 6B nadrodziny receptorów czynnika martwicy nowotworu	Regulacja aktywności limfocytów T i komórek dendrytycznych
2q12	IL-1RL1*	Receptor 1 podobny do receptora interleukiny 1	Zaangażowanie w funkcję limfocytów T pomocniczych
6p21.3	MHC*	Główny Układ Zgodności Tkankowej	Prezentacja antygenów
11q13.5-q14	C11orf30/LRRC32 (GARP)*	Otwarta ramka odczytu 30 na chr. 11 / białko zawierające powtórzenia bogate w leucynę	Funkcja nieznana
18q11.2	HRH4	Receptor histaminowy H4	Odpowiedź prozapalna i alergiczna
1q23	FCERIA	Fragment Fc receptora 1 dla IgE o wysokim powinowactwie; polipeptyd alfa	Inicjacja odpowiedzi immunologicznej
5q22.1	TMEM232*	Białko przezbłonowe 232	Funkcja nieznana
5q22.1	SLC25A46*	Rozpuszczalny transporter 46 z rodziny 25	Mitochondrialne białko transportowe
20q13.3	ZGPAT*	Palec cynkowy, typu CCCH-type z domeną G patch	Funkcja nieznana
11q13	OVOL1*	Ovo-podobny palec cynkowy 1	Prawdopodobnie czynnik transkrypcyjny, który potencjalnie może być związany z procesem tworzenia włosów i spermatogenezą
19p13.2	ACTL9*	Białko aktynowspodobne 9	Funkcja nieznana
5q31	KIF3A*	Członek rodziny kinezyn 3A	Funkcja nieznana
3p21.33	GLB1*	Beta-galaktozydaza 1	Hydrolyza gangliozydów i innych glikokoniuatów
3q13.2	CCDC80*	Białko 80 zawierające domenę coiled-coil	Funkcja nieznana
10q21.2	ZNF365*	Palec cynkowy 365	Funkcja nieznana
10q21.2	EGR2*	Wczesny gen odpowiedzi wzrostu 2	Czynnik transkrypcyjny
11p15.4	OR10A3*	Receptor węchowy – członek 3 podrodziny A rodziny 10	Interakcja z zapachowymi cząsteczkami w nosie, inicjacja odpowiedzi neuronalnej, która wywołuje percepcję zapachu
11p15.4	NLRP10*	Białko 10 zawierające domenę pyrynową z rodziny NLR	Rola regulacyjna we wrodzonym systemie immunologicznym
20q13	CYP24A1*	Polipeptyd 1 podrodziny A rodziny 24 cytochromu P450,	Udział w utrzymaniu homeostazy wapniowej i regulacji endokrynej witaminy D poprzez degradację 1,25-dihydroksywitaminy D ₃ , (aktywnej fizjologicznie formy witaminy D ₃)
20q13	PFND4*	Podjednostka 4 prefoldyny	Fragment kompleksu białek opiekuńczych, który wiąże i stabilizuje nowosyntetyzowane polipeptydy, umożliwiając ich prawidłowe fałdowanie
11p13	PRR5L*	Białko bogate w prolinę 5 - podobne	Funkcja nieznana
16p13.13	CLEC16A*	Członek A rodziny 16 domeny lektynowej typu C	Funkcja nieznana
16p13.13	DEX1*	Homolog mysiego genu Dexi	Funkcja nieznana
17q21.32	ZNF652*	Palec cynkowy 652	Funkcja nieznana

* – przykłady genów, które zostały zidentyfikowane z wykorzystaniem badań GWAS (tab. 2).

Sprostowanie: U osób pochodzenia europejskiego w genie FLG najczęściej identyfikuje się mutacje p.Arg501Ter (R501X) oraz c.2282del4 (nazwa zgodnie z sekwencją referencyjną nr NM_002016.1).

w wieku dorosłym, a także, jak sugerują inni badacze, cięższym objawom klinicznym w dzieciństwie^[20].

O ile rola genu *FLG* w rozwoju AZS została bezspornie udowodniona, to identyfikacja kolejnych genów zaangażowanych w rozwój tej choroby jest wciąż przedmiotem bardzo intensywnych badań. Od 2009 r. przeprowadzono kilka wielkoskalowych badań genowych, tzw. GWAS (*Genome Wide Association Studies*) (tab. 2). Umożliwiły one wytypowanie 19 genów/*loci* kandydujących, których ewentualna rola w patogenezie AZS wymaga jednak dalszych badań. Niewątpliwym problemem, który rzutuje na aktualny stan wiedzy dotyczącej molekularnej etiologii AZS, jest fakt wysoce heterogennego przebiegu klinicznego tej choroby. Nie można bowiem wykluczyć, że zróżnicowanie objawów klinicznych u poszczególnych pacjentów odzwierciedla wieloaspektową etiologię genetyczną, na którą nakładają się dodatkowo wspomniany wcześniej fakt odmienności międzypopulacyjnej, jak również działanie czynników środowiskowych. Problemy te

nie są wyłącznie domeną AZS, ale dotyczą także innych chorób. Stąd też do klasyfikacji niektórych jednostek chorobowych, np. astmy, wprowadzono pojęcie endotypu, definiowanego jako podtyp choroby o odrębnym mechanizmie funkcjonalnym lub patofizjologicznym. Pełen endotyp powinien zawierać informację o podłożu genetycznym, biomarkerach, patofizjologii, epidemiologii, cechach klinicznych i przewidywaną odpowiedź na leczenie^[12,22]. Aktualnie ustalenie pełnych endotypów w przypadku AZS nie jest możliwe. Być może jednak prowadzenie w przyszłości badań na grupach chorych o bardziej zbliżonym fenotypie umożliwi lepsze zrozumienie złożonej patogenezy AZS, a z pewnością czynnikiem sprzyjającym jest ciągły, ogromny rozwój technik biologii molekularnej i genetyki. Aktualnie dostępne technologie sekwencjonowania następnej generacji umożliwiają bowiem nie tylko badanie poszczególnych wariantów polimorficznych, ale dokładną analizę sekwencji nawet całych genomów.

Piśmiennictwo u autorów

Tab. 2. Zestawienie wielkości grup i liczby wariantów SNP w badaniach typu GWAS wykonanych dla AZS^(na podstawie 26).

Grupa badana	Grupa replikacyjna	Liczba badanych SNP
1563 chorych pochodzenia europejskiego, 4,054 kontroli pochodzenia europejskiego	2,286 chorych pochodzenia europejskiego, 3,160 kontroli pochodzenia europejskiego	2,406,139
1,472 chorych pochodzenia japońskiego, 7,971 kontroli pochodzenia japońskiego	1,856 chorych pochodzenia japońskiego, 7,021 kontroli pochodzenia japońskiego	606,164
5,606 chorych pochodzenia europejskiego, 20,565 kontroli pochodzenia europejskiego	5,419 chorych pochodzenia europejskiego, 19,833 kontroli pochodzenia europejskiego	2,5 miliona
1,012 chorych pochodzenia chińskiego (Han), 1,362 kontroli pochodzenia chińskiego (Han)	3,624 chorych pochodzenia chińskiego (Han), 12,197 kontroli pochodzenia chińskiego (Han), 1,806 chorych pochodzenia europejskiego, 3,256 kontroli pochodzenia europejskiego	491,905
939 chorych pochodzenia europejskiego, 975 kontroli pochodzenia europejskiego, 1,097 osób pochodzenia europejskiego z 270 rodzin	2,637 chorych pochodzenia europejskiego, 3,957 kontroli pochodzenia europejskiego	342,303