

*Filaggrin*基因及聚角蛋白微丝蛋白的研究现状

刘晓峰 吴岩*

(内蒙古医科大学基础医学院组织胚胎学教研室, 呼和浩特 010110)

摘要 *Filaggrin*基因(*FLG*基因), 位于人类染色体1q21.3, 是一种与细胞分化密切相关的基因。*Filaggrin*基因翻译表达为聚角蛋白微丝蛋白前体(Profilaggrin), 后者通过Kallikrein5(KLK5)的作用, 生成聚角蛋白微丝蛋白(Filaggrin), 维持表皮屏障的完整性。而Filaggrin被Caspase-14分解成小分子物质, 继续发挥着保水、防紫外线的作用。*FLG*基因是易于突变的基因, 其突变或者缺失致使Filaggrin生成减少, 这正是一些疾病发生的根本原因。该文就*FLG*基因的调控及Filaggrin与相关疾病的发生发展的关系作一综述。

关键词 *Filaggrin*基因; 基因突变; 聚角蛋白微丝蛋白; 异位性湿疹; 寻常型鱼鳞病

The Actuality of *Filaggrin* Gene and Filaggrin

Liu Xiaofeng, Wu Yan*

(Department of Histology and Embryology, School of Basic Medicine Science, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

Abstract *Filaggrin* gene (*FLG*), located at human chromosome 1q21.3, is closely related to cell differentiation. *FLG* can translate to Profilaggrin. Profilaggrin is degraded by Kallikrein5 (KLK5) to Filaggrin, which is correlated with the integrity of epidermal barrier. Filaggrin is broken down by Caspase-14 into small molecular substances, which can play the role of waterproof and ultraviolet rays (UV) protection. Mutation or deficiency of *FLG* results in decreasing production of Filaggrin, which is the basic causes of some diseases. This article focuses on reviewing the regulation of *FLG* and the relationship between Filaggrin and related diseases.

Keywords *Filaggrin* gene; gene mutation; Filaggrin; atopic dermatitis; ichthyosis vulgaris

前言

*Filaggrin*基因, 简称*FLG*基因, 主要表达于皮肤颗粒层, 其翻译表达的聚角蛋白微丝蛋白前体(Profilaggrin)经降解为聚角蛋白微丝蛋白(Filaggrin), 后者位于皮肤角质层, 构成皮肤的保护屏障, 发挥防御

功能。若*FLG*基因突变缺失则会使皮肤防御功能下降, 引起皮肤炎症, 引发皮肤疾病。近年来, 随着对*FLG*基因越来越深入地了解, 研究人员发现, *FLG*基因极易突变, 与很多疾病的发生发展密切相关, 在基因水平具有重要的研究意义。

收稿日期: 2014-05-25 接受日期: 2014-08-26

干细胞专项基金(批准号: 内蒙古财政厅[2005]1162)和内蒙古自治区科技厅干细胞应用技术创新团队基金(批准号: kjt09)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0471-6653218, E-mail: yanw007@sina.com

Received: May 25, 2014 Accepted: August 26, 2014

This work was supported by the Stem Cells Foundation of Inner Mongolia (Grant No.[2005]1162) and the Foundation of Innovation Teams of Stem Cell Applied Technology of Science and Technology Agency of Inner Mongolia (Grant No.kjt09)

*Corresponding author. Tel: +86-471-6653218, E-mail: yanw007@sina.com

网络出版时间: 2014-12-25 10:06 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20141225.1006.004.html>

1 *FLG*基因以及Filaggrin的简介

1.1 *FLG*基因和Filaggrin

*FLG*基因位于1q21.3, 有三个外显子、两个内含子, 外显子编号为一号、二号和三号。其中一号外显子(15 bp)不具有翻译功能; *FLG*基因的翻译起始位点位于二号外显子(159 bp)中; 三号外显子(12.7~14.7 Kb)是能够翻译为蛋白的DNA片段。*FLG*基因翻译表达为Profilaggrin, Profilaggrin是具有高度磷酸化且不溶于水的前体蛋白, 在表皮颗粒层细胞内合成后参与形成透明角质颗粒。表皮终末分化后期时, Profilaggrin迅速去磷酸化并被丝氨酸蛋白酶水解为可溶性的Filaggrin^[1-2], Filaggrin是存在于人表皮角质形成细胞(keratinocyte, KC)内的一种酸性或中性蛋白, 等电点介于5.18~7.14之间, 由324个氨基酸构成, 分子量大小约为38 kDa。Filaggrin是构成真核细胞骨架的基质蛋白, 参与KC终末分化时细胞间交叉联结膜的形成^[3]。

1.2 Filaggrin的功能

随着角质细胞成熟脱水, Filaggrin分解生成大量的天然保湿因子(natural moisturizing factors, MNF), 这对保持皮肤的水合作用和皮肤屏障至关重要。Filaggrin还可以启动KC的凋亡, 从而使KC从有细胞核的颗粒层细胞转变为无细胞核的角层细胞, 因此Filaggrin在表皮细胞分化中也起着重要作用, 是KC终末分化的重要标志之一。*FLG*基因的低表达可以削弱皮肤屏障功能, 导致多种皮肤病的发生^[3-4]。

此外, *FLG*基因还可能与皮肤中的Ca²⁺代谢有关。钙梯度在皮肤分化过程起着重要的作用, 如果皮肤缺失Ca²⁺, 则角质细胞仅具有增殖功能, 而不能分化。在天疱疮^[5]和牛皮癣^[16]等疾病中, 皮肤屏障受损的同时, Ca²⁺代谢也会受损。当*FLG*基因低表达时, 钙离子信号通路和ATP结合运输系统会发生改变, 说明*FLG*基因与钙离子信号通路和ATP结合运输系统密切相关^[6]。*FLG*基因在皮肤的屏障功能中发挥着重要的作用, 其缺失会导致皮肤屏障功能受损, 也会增加非黑色素皮肤癌的风险^[7]。

1.3 *FLG*基因突变

*FLG*基因易于突变, 其突变位点主要位于*FLG*基因的三号外显子。目前在亚洲和欧洲的变应性疾病中发现的*FLG*基因突变位点有40多个, 并且*FLG*基因突变属于无效突变, 在欧洲人种中, R501X

和2282del4这两个突变位点最常见^[8]。为了检测*FLG*基因的纯合突变和杂合突变在功能上是否有区别, 研究人员利用PCR技术分别分析了这两个突变位点的纯合体和杂合体。结果发现, *FLG*基因的纯合无效突变和杂合无效突变的功能相当。证明了*FLG*基因突变的纯合形式和杂和形式在功能上无差别^[9]。

体外培养的皮肤中, 研究人员利用RNAi技术使*FLG*基因低表达, 构建*FLG*基因突变缺失的模型, 检测*FLG*基因突变后对皮肤的影响。结果发现, 当*FLG*基因低表达时, 皮肤的透明角质颗粒减少, 层状小体的结构受损, 皮肤渗透性增加, 使NMF、tUCA等小分子物质的生成减少, 皮肤更易受到紫外线照射的损伤^[10]。有趣的是, 在构建重组人类皮肤模型上敲除掉*FLG*基因后, 检测该基因突变对于皮肤的影响, 发现表皮形态、皮肤角质层的脂类形成和结构, 以及角质层的渗透性均没有发生改变^[11]。研究证实, 特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)的发生不仅仅是*FLG*基因突变的结果, 其发生发展是多因素造成的。

2 Filaggrin表达的调控

2.1 KLK5水解Profilaggrin为Filaggrin

KLK5(Kallikrein5)是在人类皮肤中发现的丝氨酸蛋白酶, 与Profilaggrin共同存在于颗粒层, 由板层颗粒分泌。KLK5在Filaggrin的增生方面起着重要的作用, 利用质粒技术敲除掉KLK5基因使KLK5不表达, 可检测到皮肤内Profilaggrin水平增多, Filaggrin水平减少, 证明KLK5可水解Profilaggrin生成Filaggrin^[12]。

2.2 下调Filaggrin的因子和通路

Caspase-14是表达在皮肤表皮层的蛋白酶, 属于Caspase家族。研究发现, 缺少Caspase-14的小鼠会降低皮肤的屏障功能, 并且小鼠对紫外线的照射更加敏感, 小鼠皮肤中NMF、tUCA、PCA等小分子物质增多, 因此得出Caspase-14可降解Filaggrin为NMF、tUCA、PCA等小分子物质^[13]。这些小分子物质存在于皮肤角质层, 起着皮肤保湿^[14]和防紫外线辐射^[15]的作用, 可以保持皮肤的水合作用和皮肤完整的屏障作用。在基因水平, 研究发现牛皮癣患者表皮Filaggrin减少的同时, 还伴有体内TNF- α 蛋白的过表达, 通过对JNK通路的研究发现, TNF- α 通过

JNK通路下调*FLG*基因的表达,从而使得Filaggrin减少^[16]。

3 *FLG*基因与疾病的关系

3.1 *FLG*基因与特应性皮炎

特应性皮炎(AD)又称异位性湿疹或遗传过敏性皮炎,是目前报道最多的与*FLG*基因突变相关的疾病,其突变位点较多,根据种族的不同而不同,最常见的突变位点是R501X和2282del4。大多数遗传性或过敏性疾病与AD的发病率有一定的关系,因此通过对AD与相关疾病的关系的探索,能使我们更加深入地了解*FLG*基因的功能。

AD临床症状主要为皮疹、湿疹、皮肤干燥等,且该疾病涉及免疫反应,因此免疫因子在AD中起重要的作用。通过分析患者*FLG*基因的突变频率,发现*FLG*基因突变可以增加AD的患病率^[17]。*IL-10*和*IL-13*基因多态性相互作用对AD的进展起着重大作用,*FLG*基因突变患者容易罹患AD,若*IL-10*和*IL-13*基因多态性相互作用,则增大患AD的风险^[18]。*FLG*基因突变后,皮肤屏障受损,使外来抗原渗入上皮,激活Th2细胞免疫,发生特应性免疫应答反应,导致AD的发生^[19]。

针对AD发病机制的研究发现,苯甲酰胺盐酸盐(JTC801, ORL1受体拮抗剂)可促进*FLG*基因mRNA和相应蛋白的表达,且其特异性很高,在皮肤质素的构成蛋白中仅针对Filaggrin有效。JTC801的作用位点位于*FLG*基因的AP-1结合区,因此通过JTC801的作用促进*FLG*基因的转录,使得AD小鼠体内Filaggrin表达上调。因此,对于AD的基因水平治疗,JTC801可成为较理想的药物^[20]。

3.2 *FLG*基因与遗传性疾病

寻常型鱼鳞病(ichthyosis vulgaris, IV),其*FLG*基因的突变位点有R501X和2282del4^[21]以及3321delA和S2554X^[22]。IV的主要临床表现为皮肤损伤、皮肤干燥和异常角质化等。研究人员在临床上取15例IV患者进行研究,其中10例为*FLG*基因突变纯合体,5例为突变杂合体。分为正常对照组、突变杂合体基因组、突变纯合体基因组、不并发AD的IV组和并发AD的IV组,分别检测经皮水分丢失、皮肤含水量和皮肤表面pH值,发现*FLG*基因突变缺失是IV的主要病因,且主要是*FLG*基因纯合基因致病,IV导致皮肤屏障受损易发AD^[23-24]。

交界型大疱性表皮松解症(junctional epidermolysis bullosa, JEB)是常染色体隐性遗传病,临床症状是皮肤轻微外伤和破裂后起水泡。JEB主要与胶原蛋白XVII的表达减少有关,涉及到的*FLG*基因突变位点有R501X、2282del4、R2447X和S3247X,研究人员分别从正常对照组和JEB患者的皮肤取标本做免疫组化实验,以检测Filaggrin的表达情况。实验结果表明,JEB患者皮肤中Filaggrin的表达明显低于正常对照组^[25]。然而,这个结果也可能是因为其他基因发生改变而影响了Filaggrin的表达所致,与*FLG*基因无直接关系,因此,JEB与*FLG*基因缺失的关系还需进一步论证。

斑秃(alopecia areata, AA)是一种器官特异性T细胞介导的自身免疫疾病,虽是一个散在发布的疾病,但是却有遗传倾向。因*FLG*基因与AD有密切的关系,因此人们假设,*FLG*基因也与AA有密切的关系。通过对*FLG*基因的两个位点R501X和2282del4进行分析,发现若*FLG*基因突变,则哮喘、AD和IV等疾病会伴随有AA,然而若患者不存在*FLG*基因突变,则不伴有AA^[26]。这一结果也说明*FLG*基因突变与AA的发生相关。

3.3 *FLG*基因与过敏性疾病

*FLG*基因突变与食物过敏有关,过敏人群几乎均存在*FLG*基因突变,突变位点主要有R501X和2282del4^[27]。通过对纯母乳喂养的婴儿研究发现^[28],*FLG*基因突变与婴儿食物过敏之间有密切关系,而纯母乳喂养的婴儿摄入食物中的蛋白质偏少,因此与*FLG*基因突变相关的食物过敏可能是通过血液中免疫细胞介导发生,而非消化道。

3.4 *FLG*基因与慢性病

有研究证明,Filaggrin的缺少与2型糖尿病和心脑血管系统疾病有关^[29],究其原因有两种假说,一种假说认为由于*FLG*基因突变使得皮肤屏障受损,引起皮肤炎症,而这会增加患2型糖尿病和心脑血管系统疾病的风险;另一种则认为,由于*FLG*基因突变而使Filaggrin功能丧失,使血液中的维生素D的浓度升高,这可能会破坏皮肤的屏障功能,降低皮肤针对于紫外线照射的保护作用。并且,血清中25-OH-维生素D可增加患2型糖尿病和心脑血管系统疾病的风险^[30-32]。但是,通过一项对年龄在15岁到77岁之间的13 373位成年患者的实验调查分析发现,患者存在*FLG*基因的两个突变位点: R501X和2282del4,研

究结果显示, *FLG*基因突变与2型糖尿病、心血管疾病以及全死因死亡率无关^[33]。

4 小结与展望

目前, 关于*FLG*基因的研究大多是针对*FLG*基因与皮肤病之间关系的研究, 通过对这些疾病发生发展的研究, 使我们对*FLG*基因的功能有了更加深刻的了解。这些研究不仅有助于疾病的确诊, 还可以从基因水平通过改变*FLG*基因的表达来改善皮肤的屏障功能。*FLG*基因是一个炎性相关基因, *FLG*基因突变缺失可导致皮肤炎症, 那么*FLG*基因是否与其他炎症相关疾病有关, 还有待我们深入探索。

参考文献 (References)

- Osawa R, Akiyama M, Shimizu H. Filaggrin gene defects and the risk of developing allergic disorders. *Allergol Int* 2011; 60(1): 1-9.
- Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH. Filaggrin in the frontline: Role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 2009; 122(9): 1285-94.
- Ginger RS, Blachford S, Rowland J, Rowson M, Harding CR. Filaggrin repeat number polymorphism is associated with a dry skin phenotype. *Arch Dermatol Res* 2005; 297(6): 235-41.
- Alibardi L, Tschachler E, Eckhart L. Distribution of caspase-14 in epidermis and hair follicles is evolutionarily conserved among mammals. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2005; 286(2): 962-73.
- Lowe S. Pemphigus vulgaris. *BMJ* 2007; 335(7630): 1152-4.
- Winge MC, Hoppe T, Berne B, Vahlquist A, Nordenskjold M, Bradley M, et al. Filaggrin genotype determines functional and molecular alterations in skin of patients with atopic dermatitis and ichthyosis vulgaris. *PLoS One* 2011; 6(12): 1-8.
- Hajdarbegovic H, Verkouteren J, Balak D. Non-melanoma skin cancer: the hygiene hypothesis. *Med Hypotheses* 2012; 79(6): 872-4.
- Chen H, Common JE, Haines RL, Balakrishnan A, Brown SJ, Goh CS, et al. Wide spectrum of filaggrin-null mutations in atopic dermatitis highlights differences between Singaporean Chinese and European populations. *Br J Dermatol* 2011; 165(1): 106-14.
- Carlsen BC, Meldgaard M, Johansen JD, Thyssen JP, Menné T, Szeeci PB, et al. Filaggrin compound heterozygous patients carry mutations in trans position. *Clin Exp Dermatol* 2013; 22(9): 572-5.
- Mildner M, Jin J, Eckhart L, Kezic S, Gruber F, Barresi C, et al. Knockdown of filaggrin impairs diffusion barrier function and increases UV sensitivity in a human skin model. *J Invest Dermatol* 2010; 130(9): 2286-94.
- Drongelen V, Ramdhani MA, Danso MO, Mieremet A, Mulder A, Smeden J, et al. Knockdown of filaggrin does not affect lipid organization and composition in stratum corneum of reconstructed human skin equivalents. *Clin Exp Dermatol* 2013; 22(12): 807-12.
- Sakabe J, Yamamoto M, Hirakawa S, Motoyama A, Ohta I, Tatsuno K, et al. Kallikrein-related peptidase 5 functions in proteolytic processing of profilaggrin in cultured human keratinocytes. *J Biol Chem* 2013; 288(24): 17179-89.
- Eckhart L, Tschachler E. Cuts by Caspase-14 control the proteolysis of filaggrin. *J Invest Dermatol* 2011; 131(11): 2173-5.
- Hoste E, Kemperman P, Devos M, Denecker G, Kezic S, Yau N, et al. Caspase-14 is required for filaggrin degradation to natural moisturizing factors in the skin. *J Invest Dermatol* 2011; 131(11): 2233-41.
- Thyssen JP, Thuesen B, Huth C, Standl M, Carson CG, Heinrich J, et al. Skin barrier abnormality caused by filaggrin (FLG) mutations is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130(5): 1204-7.
- Kim BE, Howell MD, Guttman E, Gilleaudeau PM, Cardinale IR, Boguniewicz M, et al. TNF- α downregulates filaggrin and loricrin through c-Jun N-terminal kinase: Role for TNF- α Antagonists to improve skin barrier. *J Invest Dermatol* 2011; 131(6): 1272-9.
- Visser MJ, Verberk MM, Campbell LE, Mclean WH, Calkoen F, Bakker JG, et al. Filaggrin loss-of-function mutations and atopic dermatitis as risk factors for hand eczema in apprentice nurses: Part II of a prospective cohort study. *Contact Dermatitis* 2014; 70(3): 139-50.
- Lesiak A, Kuna P, Zakrzewski M, Geel M, Bladergroen RS, Przybylowska K, et al. Combined occurrence of filaggrin mutations and IL-10 or IL-13 polymorphisms predisposes to atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 2011; 20(6): 491-5.
- Sabine Leisten, Michiko K. Oyoshi, Claire Galand, Galand C, Hornick JL, Gurish MF, et al. Development of skin lesions in filaggrin-deficient mice is dependent on adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131(4): 1247-50.
- Otsuka A, Doi H, Egawa G, Maekawa A, Fujita T, Nakamizo S, et al. Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133(1): 139-46.
- Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Rev Genet* 2006; 38(3): 337-42.
- Nomura T, Sandilands A, Akiyama M, Liao H, Evans AT, Sakai K, Ota M, et al. Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(2): 434-40.
- Perusquía-Ortiz AM, Oji V, Sauerland MC, Tarinski T, Zaraeva I, Seller N, et al. Complete filaggrin deficiency in ichthyosis vulgaris is associated with only moderate changes in epidermal permeability barrier function profile. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013; 27(12): 1552-8.
- Li M, Cheng R, Shi M, Liu J, Zhang G, Liu Q, et al. Analyses of FLG mutation frequency and filaggrin expression in isolated ichthyosis vulgaris (IV) and atopic dermatitis-associated IV. *Br J Dermatol* 2013; 168(6): 1335-8.
- Cifuentes L, Kiritsi D, Chen W, Pennino J, Ring J, Weidinger S, et al. A case of junctional epidermolysis bullosa with prurigo-like lesions and reduction of collagen XVII and filaggrin. *Br J Dermatol* 2013; 169(1): 195-8.

- 26 Weidinger S, Rodriguez E, Stahl C, Wagenpfeil S, Klopp N, Illig T, *et al.* Filaggrin mutations strongly predispose to early-onset and extrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007; 127(3): 724-6.
- 27 Linneberg A, Fenger RV, Husemoen LLN, Thuesen BH, Skaaby T, Quintela AG, *et al.* Association between loss-of-function mutations in the filaggrin gene and self-reported food allergy and alcohol sensitivity. *Int Arch Allergy Imm* 2013; 161(3): 234-42.
- 28 Flohr C, Perkin M, Logan K, Marrs T, Radulovic S, Campbell LE, *et al.* Atopic dermatitis and disease severity are the main risk factors for food sensitization in exclusively breastfed infants. *J Invest Dermatol* 2014; 134(2): 345-50.
- 29 Thyssen JP, Linneberg A, Carlsen BC, Johansen JD, Engkilde K, Hansen T, *et al.* A possible association between a dysfunctional skin barrier (filaggrin null-mutation status) and diabetes: A cross-sectional study. *BMJ Open* 2011; 1(1): 1-7.
- 30 Thyssen JP, Thuesen B, Huth C, Standl M, Carson CG, Heinrich J, *et al.* Skin barrier abnormality caused by filaggrin (FLG) mutations is associated with increased serum 25-hydroxy vitamin D concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130(5): 1204-7.
- 31 Mildner M, Jin J, Eckhart L, Kezic S, Gruber F, Barresi C, *et al.* Knockdown of filaggrin impairs diffusion barrier function and increases UV sensitivity in a human skin model. *J Invest Dermatol* 2010; 130(9): 2286-94.
- 32 Husemoen LL, Skaaby T, Thuesen BH, Jørgensen T, Fenger RV, Linneberg A. Serum 25(OH)D and incident type 2 diabetes: A cohort study. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66(12): 1309-14.
- 33 Husemoen LLN, Skaaby T, Jørgensen T, Thyssen JP, Meldgaard M, Szecsi PB, *et al.* No association between loss-of-function mutations in filaggrin and diabetes, cardiovascular disease, and All-Cause Mortality. *PLoS One* 2013; 8(12): 1-7.