

# Clinical and molecular genetic studies in hereditary syndromes featuring skin appendage tumors

Citation for published version (APA):

Parren, L. J. M. T. (2018). *Clinical and molecular genetic studies in hereditary syndromes featuring skin appendage tumors*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20181204lp>

## Document status and date:

Published: 01/01/2018

## DOI:

[10.26481/dis.20181204lp](https://doi.org/10.26481/dis.20181204lp)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary

---

In this thesis, two rare genetic disorders are discussed, both of which are characterized by the development of skin adnexal tumors.

In the first part, we shed light on Brooke-Spiegler syndrome, an autosomal dominant genodermatosis. Patients with Brooke-Spiegler syndrome develop cylindromas, trichoepitheliomas, and/or spiradenomas. The diseases familial cylindromatosis and multiple familial trichoepitheliomas show a huge degree of clinical overlap. Both Brooke-Spiegler syndrome, familial cylindromatosis and multiple familial trichoepitheliomas are caused by mutations in the *CYLD* gene, thereby representing different ends of genetically allelic diseases.

In the second part of this thesis, we illustrate Bazex-Dupré-Christol syndrome. This very rare X-linked disorder is characterized by congenital hypotrichosis, follicular atrophoderma and the occurrence of basal cell carcinomas at young age. In some patients and families previously reported, mutations in the *ACTRT1* gene have been reported. However, to date, the genetic alterations underlying the disease in several more affected families have not yet been unraveled.

In **chapter 1**, we provide a general introduction on Brooke-Spiegler syndrome and Bazex-Dupré-Christol syndrome. We describe the different tumors that can arise in these disorders and review the current knowledge regarding the molecular background and therapeutic options.

In **chapter 2**, we describe a 37-year-old patient with a turban tumor. He developed progressive hearing loss over approximately four years and presented with pain in the right external acoustic meatus since four weeks. Physical examination showed a cylindroma with a diameter of one centimeter in the right meatus externus that caused an obstruction. After radical excision of the tumor the hearing defect resolved completely.

**Chapter 3** is subdivided in three sections, in which we present the results of mutation analysis in the *CYLD* gene in patients with a tentative diagnosis of Brooke-Spiegler syndrome.

In **3.1** we studied three unrelated Caucasian patients with Brooke-Spiegler syndrome. The diagnosis was based on the characteristic clinical manifestations and histopathological examination. We performed mutation analysis in the *CYLD* gene, which showed two novel pathogenic splice site mutations, designated c.2108+1G>A and c.2242-2A>G and a recurrent pathogenic mutation, designated c.2109-2A>C. Of note, the mutation identified in the first patient, c.2108+1G>A, was not detectable in either parent. This is the first *de novo* mutation reported in Brooke-Spiegler syndrome. The consequences of splice site mutations in the *CYLD* gene had not yet been studied before. To select the appropriate tissue for RNA studies, we showed that *CYLD* is almost equally expressed in normal human keratinocytes, leukocytes and peripheral blood mononuclear cells. Mutations c.2108+1G>A and c.2242A>G resulted in exon skipping of exon 15 and 17, respectively, while we did not find an aberrant splicing pattern for

c.2109-2A>C. By qRT-PCR, we showed that mutations c.2108+1G>A and c.2242-2A>C did not result in a significant decrease of mRNA levels whereas mutation c.2109-2A>C is associated with approximately 60% mRNA decay when compared to a control. However, no genotype-phenotype correlations could be deduced from these results.

In **3.2**, we sought to elucidate the molecular genetic basis in 7 German and 1 Turkish patients with multiple cylindromas, trichoepitheliomas and/or spiradenomas. Mutation analysis showed two missense, two nonsense, two deletion, and two duplication mutations in the *CYLD* gene, respectively c.2261T>G, c.2581T>G, c.2409C>A, c.2540G>A, c.2081del, c.822del, c.2649dup and c.588\_591dup. Seven of these mutations had not been reported previously. We give an overview on all mutations in the *CYLD* gene described earlier.

In **3.3**, we present a 24-year-old patient with a segmental manifestation of trichoepitheliomas on her right shoulder, following the lines of Blaschko. The clinical presentation was suggestive of a segmental type 1 somatic mosaicism, according to Happle. Segmental manifestations of Brooke-Spiegler syndrome are rare and had not been analyzed on the molecular genetic level previously. We performed mutation analysis in the *CYLD* gene on peripheral blood mononuclear cells and tumor tissue but could not detect any pathogenic mutations.

In **chapter 4**, we describe a novel therapeutic regimen for turban tumor. A 47-year-old woman with a turban tumor suffered from depression and felt secluded from social life due to her appearance. The purpose of treatment was creating a robust skin to enable her wearing a wig. We performed a total scalp excision down to the periosteum, followed by coverage of the periosteum with an artificial dermis. Three weeks thereafter, we successfully covered the artificial dermis with split skin grafts. Four months after the surgery, she was able to wear a wig, which resulted in an increased self-esteem.

In **chapter 5**, we provide an overview on hereditary diseases featuring basal cell carcinomas. We discuss basal cell nevus syndrome, Bazex-Dupré-Christol syndrome, Rombo syndrome, Oley syndrome and Xeroderma pigmentosum.

**Chapter 6** delineates the difficulties in differentiating between trichoepitheliomas and basal cell carcinomas, both clinically and histopathologically. Immunohistochemical examination can provide additional information, and we show that immunostaining with androgen receptor and TGF- $\beta$  can be helpful to differentiate these two tumors.

In **chapter 7**, we present a German family with Bazex-Dupré-Christol syndrome. The index patient and her mother developed a basal cell carcinoma at the age of three and five years, respectively. They also manifested hypotrichosis, milia in the face and on the ears and follicular atrophoderma. Both her grandfather and grand-grandmother had a medical history of similar clinical symptoms. Since the basal cell carcinomas occurred in early childhood, we advise that screening for basal cell carcinomas should already be initiated from the first decade of life onwards by an experienced dermatologist when

the tentative diagnosis of Bazex-Dupré-Christol syndrome is made because the tumor manifestation might be subtle at onset. We also revised all cases of Bazex-Dupré-Christol syndrome and showed that 80% of the patients develop milia. We therefore suggest that milia should be added as an additional cutaneous symptom to the primordially clinical triad of hypotrichosis, follicular atrophoderma and basal cell carcinomas.

In **chapter 8**, we describe a six-generation pedigree of German origin with Bazex-Dupré-Christol syndrome. Up to that point, the disorder was linked to a 23.3 Mb interval on the long arm of chromosome X (Xq24-27.1) but the underlying genetic defect was unknown. By performing haplotype analysis, we were able to refine the candidate region to an 11.4 Mb interval (Xq25-27.1). Subsequently, we screened 12 candidate genes for mutations, namely *ACTRT1*, *AIFM1*, *RAB33A*, *SUHW3/ANF280C*, *ENOX2*, *MST4*, *RAP2C/TFPD3*, *HS6ST2*, *ZNF449*, *ZNF75D*, *GPR112*, and *ARHGEF6*. However, we did not find a pathogenic mutation although mutations in the *ACTRT1* gene were recently described in a subset of patients with Bazex-Dupré-Christol syndrome.

## Samenvatting

---

Dit proefschrift richt zich op twee zeldzame genetische aandoeningen die gekenmerkt worden door het ontstaan van huidadnextumoren.

In het eerste deel wordt gekeken naar het Brooke-Spiegler syndroom, een autosomaal dominante genodermatose. Patiënten met Brooke-Spiegler syndroom ontwikkelen cilindromen, trichoepitheliomen en/of spiradenomen. De ziektes familiale cilindromatose en multipele familiale trichoepitheliomen tonen grote klinische overlap. Zowel Brooke-Spiegler syndroom als familiale cilindromatose en multipele familiale trichoepitheliomen worden veroorzaakt door mutaties in het *CYLD* gen en representeren verschillende eendes van genetisch allelische aandoeningen.

In het tweede deel van dit proefschrift wordt het Bazex-Dupré-Christol syndroom belicht. Dit is een zeer zeldzame X-gebonden ziekte, gekenmerkt door congenitale hypotrichose, folliculaire atrophoderma en het ontstaan van basaalcelcarcinomen op jonge leeftijd. In enkele eerder beschreven patienten en families zijn mutaties in het *ACTRT1* gen gerapporteerd. Echter, tot op heden zijn in verschillende andere families de genetische veranderingen die ten grondslag liggen aan de ziekte nog niet opgehelderd.

In **hoofdstuk 1** wordt een algemene introductie gegeven over het Brooke-Spiegler en Bazex-Dupré-Christol syndroom. Hierin wordt aandacht gegeven aan de verschillende tumoren die kunnen ontstaan in deze ziekten, en er wordt een overzicht gegeven over de huidige kennis van de moleculaire achtergrond en de therapeutische opties.

In **hoofdstuk 2** beschrijven we een 37-jarige patiënt met een turban tumor. Hij had sinds 4 jaar progressieve gehoorverlies aan het rechter oor en sinds 4 weken pijn in de rechter gehoorgang. Lichamelijk onderzoek toonde een 1 centimeter groot cilindroom in de rechter gehoorgang waardoor er een obstructie van de gehoorgang was ontstaan. Het cilindroom werd verwijderd waarna de gehoorsproblemen verdwenen. Nadien werd hij behandeld met topicaal 20% salicylzuur in elastic collodion basis, echter zonder effect.

**Hoofdstuk 3** is onderverdeeld in drie delen. Hierin worden de resultaten weergegeven van de mutatieanalyse van het *CYLD* gen bij patiënten met een klinische verdenking op Brooke-Spiegler syndroom.

In **3.1** beschrijven we 3 niet-gerelateerde Caucasische patiënten met Brooke-Spiegler syndroom. De diagnose was gesteld op basis van het klinisch beeld en histopathologie. We hebben mutatie-analyse van het *CYLD* gen uitgevoerd en dit toonde twee niet-eerder beschreven pathogene splice site mutaties, te weten c.2108+1G>A en c.2242-2A>G, en een reeds bekende pathogene splice site mutatie c.2109-2A>C. Opvallend was dat de ouders van de eerste patiënte met mutatie c.2108+1G>A geen drager waren van deze mutatie. Dit is de eerste gerapporteerde *de novo* mutatie in Brooke-Spiegler syndroom. De consequenties van splice site mutaties in het *CYLD* gen waren nooit eerder beschreven. Om het goede weefsel te selecteren voor RNA studies, toonden we aan dat de expressie van *CYLD* in humane epidermale keratinocyten, leukocyten en perifere bloed mononucleaire cellen nagenoeg gelijk is. Mutaties c.2108+1G>A en

c.2242-2A>G resulteerden in exon skipping van respectievelijk exon 15 en 17, terwijl er geen splicing patroon werd gevonden voor c.2109-2A>C. qRT-PCR toonde overeenkomstig deze resultaten dat mutaties c.2108+1G>A en c.2242-2A>G geen significante verlaging lieten zien van mRNA levels, terwijl mutatie c.2109-2A>C is geassocieerd met ongeveer 60% mRNA decay vergeleken met een controle. Deze uitkomsten leidden echter niet tot een genotype-phenotype correlatie.

In **3.2** hebben we 7 Duitse patiënten en 1 Turkse patiënte onderzocht met multipole cylindromen, trichoepitheliomen en/of spiradenomen. Mutatie-analyse toonde twee missense, twee nonsense, twee deletie en twee duplicatie mutaties in het *CYLD* gen, te weten c.2261T>G, c.2581T>G, c.2409C>A, c.2540G>A, c.2081del, c.822del, c.2649dup en c.588\_591dup, waarvan er zeven niet eerder gerapporteerd waren. We geven een overzicht van de eerder beschreven *CYLD* mutaties.

In **3.3** presenteren we een 24-jarige patiënte met segmentale trichoepitheliomen volgens de lijnen van Blaschko op haar rechter schouder. Klinisch paste het beeld bij een type 1 segmentale vorm van mosaïcisme. Segmentale varianten van Brooke-Spiegler syndroom zijn zeldzaam, en waren niet eerder genetisch geanalyseerd. We hebben mutatie-analyse verricht van het *CYLD* gen in het perifere bloed en in het aangedane weefsel. Dit liet echter geen mutaties zien.

In **hoofdstuk 4** beschrijven we een nieuwe therapeutische optie voor een turban tumor. We rapporteren een 47-jarige vrouw met een turban tumor, die zich depressief en sociaal geïsoleerd voelde door haar uiterlijk. Doel van de behandeling was het creëren van een robuuste huid waardoor ze een pruik kon gaan dragen. We voerden excisie van de huid uit tot op het periost, gevolgd door het aanbrengen van een artificiële dermis. Drie weken later konden er split skin transplantaten geplaatst worden met zeer goed resultaat. Vier maanden na de ingreep kon ze een pruik dragen met een positief effect op haar zelfbeeld.

In **hoofdstuk 5** geven we een overzicht van erfelijke ziekten met basaalcelcarinomen. Hierin worden het basaalcel naevus syndroom, Bazex-Dupré-Christol syndroom, Rombo syndroom, Oley syndroom en Xeroderma pigmentosum beschreven.

**Hoofdstuk 6** laat zien dat het moeilijk kan zijn om zowel klinisch als histopathologisch onderscheid te maken tussen trichoepitheliomen en basaalcelcarinomen. Immunohistochemisch onderzoek kan hierbij helpen. In deze sectie tonen we dat de immunokleuringen met de androgene receptor en TGF- $\beta$  kunnen helpen bij het differentiëren tussen deze twee tumoren.

In **hoofdstuk 7** wordt een Duitse familie beschreven met Bazex-Dupré-Christol syndroom waarbij de index patiënte en haar moeder op respectievelijk drie- en vijfjarige leeftijd een basaalcelcarinoom ontwikkelden. Daarnaast toonden zij hypotrichose, milia in het gezicht en op de oren en folliculaire atrophoderma. Grootvader en anamnestic ook overgrootmoeder hadden vergelijkbare klinische symptomen. Gezien de



jonge leeftijd waarop de basaalcelcarcinomen zijn ontstaan adviseren we om bij patiënten bij wie klinisch gedacht wordt aan Bazex-Dupré-Christol syndroom vanaf de eerste decade van het leven al te screenen op basaalcelcarcinomen door een ervaren dermatoloog aangezien de afwijkingen subtiel kunnen zijn. Daarnaast hebben we alle beschreven patiënten van Bazex-Dupré-Christol syndroom gereviseerd en daaruit blijkt dat ruim 80% van de patiënten milia ontwikkelt. We suggereren daarom dat milia toegevoegd moeten worden aan de oorspronkelijke triade van hypotrichose, folliculaire atropho-derma en basaalcelcarcinomen.

In **hoofdstuk 8** hebben we een Duitse familie van zes generaties beschreven met Bazex-Dupré-Christol syndroom. Tot dan toe was de aandoening gelinkt aan een 23.3 Mb interval op het X-chromosoom (Xq24-27.1), maar het onderliggende genetische defect was niet bekend. We hebben door middel van haplotype analyse het interval op chromosoom X kunnen verkleinen naar een 11,4 Mb interval (Xq25-27.1). Daarnaast hebben we 12 kandidaatgenen gescreend middels mutatie-analyse, te weten *ACTRT1*, *AIFM1*, *RAB33A*, *SUHW3/ANF280C*, *ENOX2*, *MST4*, *RAP2C/TFPD3*, *HS6ST2*, *ZNF449*, *ZNF75D*, *GPR112*, en *ARHGEF6*. We konden echter geen mutatie aantonen in deze genen, hoewel recent mutaties in het *ACTRT1* gen in enkele patiënten met Bazex-Dupré-Christol syndroom zijn beschreven.