

# Clinical and molecular genetic studies in hereditary cutaneous leiomyomatosis

## Citation for published version (APA):

Badeloe, S. (2011). *Clinical and molecular genetic studies in hereditary cutaneous leiomyomatosis*. Datawise / Universitaire Pers Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/2011

## 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

Hereditary cutaneous leiomyomatosis is a rare autosomal dominantly inherited disease characterized by cutaneous leiomyomas, uterine leiomyomas and an increased risk for the development of renal cancer. This syndrome is nowadays referred to as multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis syndrome (MCUL; OMIM 150800) or hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer (HLRCC; OMIM 605839). The disease is caused by heterozygous germline mutations in the *fumarate hydratase (FH)* gene. This gene encodes for the enzyme fumarate hydratase (FH) that plays an important role in the Krebs cycle.

In **chapter 1** we provide a general introduction on hereditary cutaneous leiomyomatosis and review the current state of knowledge. We give an overview of clinical and genetic features of the disorder and discuss management and current therapeutic strategies.

**Chapter 2** is subdivided in three sections and reflects the genetic heterogeneity encountered in hereditary cutaneous leiomyomatosis.

In **2.1** we describe six unrelated Dutch and Spanish patients/families with the clinical characteristics of hereditary cutaneous leiomyomatosis. We identified six distinct novel pathogenic *FH* mutations, including one missense and one nonsense mutation, two deletions and two splice-site mutations, designated p.Q142K, p.E404X, c.233delA, c.1238delA, c.378+1delG and c.555+1G>A. Of interest, a diffuse as well as a segmental phenotype could be observed. Our study indicates that the segmental phenotype is rather frequent in cutaneous leiomyomatosis and we identified at least one individual with a pronounced segmental phenotype in each family. In accordance with previous reports from other groups we suggest that the accentuated segmental phenotype superimposed on the ordinary diffuse trait resembles the type 2 segmental manifestation of hereditary cutaneous leiomyomatosis as previously proposed by Happle. This phenotype could be explained by a cutaneous mosaicism due to postzygotic loss of heterozygosity (LOH) that occurred at an early stage in embryogenesis in an individual heterozygous for an *FH* germline mutation.

In **2.2** we report on two newly ascertained unrelated Dutch and British patients with cutaneous leiomyomatosis. Mutation analysis revealed two previously unreported *FH* missense mutations, designated p.S334R and p.M368T. We provide distinct lines of evidence to support that these missense mutations are pathogenic. Furthermore, we show by computational analysis that both mutations involve functionally important regions of the encoded FH protein.

In **2.3** we present a patient with a histologically confirmed cutaneous leiomyosarcoma whose brother died of metastatic renal cancer at young age. The familial occurrence of cutaneous leiomyosarcoma and renal cancer was suggestive of HLRCC. Mutation analysis did not reveal a mutation in the *FH* gene, making HLRCC highly improbable. However, we cannot rule out that another yet unrecognized gene could give rise to both leiomyosarcoma and kidney cancer.

In **chapter 3** we studied two patients with the clinical characteristics of a type 2 segmental manifestation of hereditary cutaneous leiomyomatosis. As said before, for this phenotype the theoretic molecular model proposed by Happle involves a heterozygous germline mutation in combination with postzygotic LOH. This theory, however, had not yet been investigated in hereditary cutaneous leiomyomatosis. By direct DNA sequencing and subsequent microsatellite analysis we detected two distinct heterozygous *FH* germline mutations and LOH in all segmentally arranged leiomyomas from both patients, which is in perfect concordance with Happle's theory. In one of the patients, we had the chance to study two segmentally arranged leiomyomas and found an identical region of LOH in both tumors. These findings for the first time provide molecular genetic support for the type 2 segmental manifestation in hereditary cutaneous leiomyomatosis.

In **chapter 4** we present the first nationwide study on hereditary cutaneous leiomyomatosis in the Netherlands. We evaluated clinical and genetic data from all Dutch families suspected of HLRCC. We performed *FH* sequence analysis and multiplex ligation-dependent probe amplification. Families with similar *FH* mutations were examined for haplotype sharing. In 14 out of 33 families we identified 11 different pathogenic *FH* germline mutations, including 4 novel mutations and 1 whole-gene deletion. Clinical data from 35 mutation carriers revealed that cutaneous leiomyomas were present in all carriers older than 40 years. 11 out of 21 female mutation carriers underwent surgical treatment for symptomatic uterine leiomyomas at an average age of 35 years. Two *FH* mutation carriers had a medical history of renal cancer. Based on these findings we propose clinical diagnostic criteria, define the indications for *FH* mutation analysis and provide recommendations for patient management.

In **chapter 5** we describe a 31-year-old female with progressive cutaneous and uterine leiomyomas since the age of 25 years. Her family history revealed both cutaneous and uterine leiomyomas. Interestingly, she had been diagnosed with a metastatic Wilms tumor (WT) at the age of two years. Mutation analysis in the *FH* gene showed a heterozygous mutation, designated p.G397R, thereby confirming the diagnosis of hereditary cutaneous leiomyomatosis. At present, it is well known that patients with hereditary cutaneous leiomyomatosis have an increased risk of devel-

oping renal cancer, most likely the papillary type 2 renal cell cancer. A WT, however, had not yet been reported in association with HLRCC. We hypothesize that in this patient the development of WT is closely related to FH dysfunction. Further, we propose that WT constitutes a hitherto unrecognized type of kidney malignancy in HLRCC and provide a hypothetic model that links *FH* mutations with the development of this renal tumor.



# Samenvatting

Erfelijke leiomyomatosis is een zeldzame autosomaal dominant overervende genodermatose, die wordt gekenmerkt door cutane leiomyomen, uterusleiomyomen en een verhoogde kans op het ontwikkelen van nierkanker. Dit tumorsyndroom staat in de literatuur bekend als 'multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis syndrome' (MCUL; OMIM 150800) en 'hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer' (HLR-CC; OMIM 605839). Erfelijke leiomyomatosis wordt veroorzaakt door heterozygote mutaties in het *fumaraat hydratase (FH)* gen. Dit gen codeert voor het gelijknamige enzym fumaraat hydratase (FH), dat een belangrijke rol speelt in de citroenzuurcyclus.

In **hoofdstuk 1** wordt een algemene introductie over erfelijke leiomyomatosis gegeven met een uiteenzetting van de beschikbare literatuur. Dit hoofdstuk geeft een overzicht van de klinische en genetische aspecten van dit tumorsyndroom met een bespreking van de therapeutische opties en adviezen ten aanzien van nacontrole en screenend onderzoek.

In **hoofdstuk 2** worden de resultaten weergegeven van mutatieanalyse van het *FH* gen bij patiënten en families met een klinische verdenking op erfelijke leiomyomatosis.

In **2.1** worden zes onverwante Nederlandse en Spaanse patiënten en hun families met klinische kenmerken van erfelijke leiomyomatosis beschreven. Mutatie-analyse toonde een zestal verschillende, nooit eerder gepubliceerde, pathogene mutaties in het *FH* gen in deze families. Deze mutaties bestonden uit een missense en een nonsense mutatie, twee deleties en twee splice-site mutaties, respectievelijk p.Q142K, p.E404X, c.233delA, c.1238delA, c.378+1delG and c.555+1G>A. Opvallend was dat er zowel diffuse als segmentale fenotypes werden gezien bij deze patiënten en families. Deze studie toonde dat het segmentale fenotype opvallend vaak wordt gezien in erfelijke leiomyomatosis. In elke familie was minimaal 1 individu aanwezig met een segmentaal fenotype. Zoals ook beschreven door andere groepen, doet dit segmentale fenotype in deze autosomaal dominant overervende genodermatose denken aan de theorie van de type 2 segmentale manifestatie volgens Happle. Dit fenotype kan verklaard worden door een cutaan mozaïek dat ontstaat door een heterozygote kiembaan mutatie in combinatie met een postzygotisch verlies van heterozygotie (LOH) in een vroege embryonale fase.

In **2.2** worden twee onverwante Nederlandse en Britse patiënten met erfelijke leiomyomatosis beschreven. Mutatie-analyse toonde een tweetal nieuwe missense mutaties in het *FH* gen, te weten p.S334R en p.M368T. Er wordt op verschillende

manieren bewijs gegeven dat deze mutaties pathogeen zijn. Daarnaast wordt middels een computergestuurde analyse van het FH homologiemodel aangetoond dat beide mutaties betrekking hebben op belangrijke functionele gebieden van het enzym FH.

In **2.3** wordt een patiënt gepresenteerd met een cutaan leiomyosarcoom in de voorgeschiedenis, wiens broer overleden is aan een gemetastaseerd niercarcinoom op vroege leeftijd. De co-existentie van een cutaan leiomyosarcoom en nierkanker in één familie deed de diagnose HLRCC vermoeden. Mutatieanalyse toonde echter geen mutatie in het *FH* gen, hetgeen de diagnose HLRCC in deze familie minder waarschijnlijk maakt. De resultaten van dit onderzoek suggereren dat het familiair voorkomen van deze twee zeldzame tumoren op jonge leeftijd toeval zou kunnen zijn. Daarnaast zou het mogelijk kunnen zijn dat een ander nog onbekend gen een belangrijke rol speelt bij de ontwikkeling van het cutane leiomyosarcoom en nierkanker.

In **hoofdstuk 3** wordt een studie gepresenteerd van twee patiënten met de klinische kenmerken van een type 2 segmentale manifestatie van erfelijke leiomyomatosis. Zoals eerder besproken zou de type 2 segmentale manifestatie, volgens de theorie van Happle, een combinatie van een heterozygote kiembaan mutatie met een postzygotische LOH zijn. Deze theorie is tot op heden bewezen voor een andere autosomaal dominante genodermatose; de ziekte van Hailey-Hailey. Echter bij erfelijke leiomyomatosis is deze theorie nooit eerder moleculair genetisch onderzocht. Middels mutatieanalyse detecteerden wij twee verschillende pathogene heterozygote kiembaan mutaties in het *FH* gen. Aanvullende microsattelietanalyse toonde LOH in alle segmentale leiomyomen van beide patiënten, hetgeen perfect aansluit bij de theorie van Happle. Daarnaast bestond bij één van beide patiënten de mogelijkheid om een tweetal segmentale leiomyomen te onderzoeken en in deze leiomyomen werd het identieke gebied van LOH gevonden. Deze bevindingen tezamen leveren het eerste bewijs voor de type 2 segmentale manifestatie volgens Happle in erfelijke leiomyomatosis.

In **hoofdstuk 4** wordt de eerste nationale studie naar erfelijke leiomyomatosis in Nederland gepresenteerd. In deze studie werden de klinische en genetische data van alle Nederlandse patiënten met de klinische verdenking op erfelijke leiomyomatosis geëvalueerd. *FH* mutatie-analyse werd verricht middels sequentie-analyse en multiplex ligatie-afhankelijke probe amplificatie (MLPA). Families met dezelfde *FH* mutatie werden onderzocht op verwantschap middels haplotype-analyse. In 14 van de 33 families werden 11 verschillende mutaties in *FH* gevonden, waaronder 4 nieuwe mutaties en één deletie van het gehele gen. Klinische data van 35 *FH* mutatiedragers toonde dat cutane leiomyomen aanwezig waren in alle *FH* mutatiedragers boven de leeftijd van 40 jaar. Elf van de 21 vrouwen hadden een chirurgische

interventie ondergaan voor symptomatische uterusleiomyomen op een gemiddelde leeftijd van 35 jaar. Twee *FH* mutatiedragers hadden nierkanker in hun voorgeschiedenis. Op basis van deze klinische en genetische data werden klinisch diagnostische criteria opgesteld, indicaties voor het verrichten van *FH* mutatie-analyse en aanbevelingen voor screening en nacontrole.

In **hoofdstuk 5** wordt een 31-jarige vrouw beschreven met progressieve cutane en uterusleiomyomen vanaf de leeftijd van 25 jaar. Haar familieanamnese was positief voor cutane en uterusleiomyomen. Opmerkelijk was dat zij op 2-jarige leeftijd was behandeld aan een gemetastaseerde Wilms tumor (WT) van de nier. Mutatie-analyse van het *FH* gen toonde een heterozygote missense mutatie G397R, waardoor de diagnose erfelijke leiomyomatosis bevestigd kon worden. Het is bekend dat erfelijke leiomyomatosis een verhoogde kans geeft op het ontwikkelen van nierkanker, in het bijzonder het papillaire type 2 niercelcarcinoom. Echter een WT was nooit eerder beschreven in het kader van erfelijke leiomyomatosis. In dit hoofdstuk wordt gehypothetiseerd dat bij deze patiënt de ontwikkeling van de WT zeer nauw gerelateerd is aan de disfunctie van FH. Daarnaast wordt gepostuleerd dat de WT een nog onbekende vorm van nierkanker betreft in het klinische spectrum van erfelijke leiomyomatosis en dat *FH* mutaties ook geassocieerd kunnen zijn bij de ontwikkeling van (sporadische) Wilms tumoren. Dit laatste wordt weergegeven in een theoretisch model.