

Molecular assessment of the cellular origin of Merkel cell carcinoma

Citation for published version (APA):

Chteinberg, E. (2020). *Molecular assessment of the cellular origin of Merkel cell carcinoma*. [Doctoral Thesis, Maastricht University, RWTH Aachen University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20201120ec>

Document status and date:

Published: 01/01/2020

DOI:

[10.26481/dis.20201120ec](https://doi.org/10.26481/dis.20201120ec)

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

Take down policy

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

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY

Merkel cell carcinoma (MCC) is a rare but highly malignant non-melanoma skin cancer which mainly affects elderly and immunosuppressed people. Despite its rareness the incidence of MCC has tripled during the last decade in the Western countries. Merkel cell polyomavirus (MCPyV) – initially detected in 2008 and shown to be clonally integrated into the MCC genome - is a novel human tumour virus causing approx. 80% of MCC. The etiopathogenesis of the remaining MCCs is linked to UV-damage. Based on the detection in the early 1980ies that MCC share some features with Merkel cells, e.g. the expression of neuroendocrine genes and cytokeratins, the term Merkel cell carcinoma was introduced. Since Merkel cells (MCs) which are located at the epidermal/dermal junction, are terminally differentiated, post-mitotic, and non-proliferative cells it is nowadays generally accepted that MCs are not the cellular origin of MCC.

MCC is characterized by a typical trilinear expression pattern of epithelial (cytokeratins), neuroendocrine (chromogranin A and synaptophysin) and early B-cell (Paired box 5 (PAX5) and terminal desoxynucleotidyl transferase (TdT)) genes. A trilinear expression pattern is possibly suggestive for a certain degree of stemness or possibly indicating pluripotency of MCC cells. Thus, we investigated in **Chapter 2** the DNA methylation Age (DNAmAge) of 13 MCCs using the Horvath's clock and the pluripotency of MCCs. The MCC DNAmAge was significantly lower compared to the chronological age, which was irrespective of the presence of MCPyV or the UV-associated mutational burden. Although, we found that MCCs are not pluripotent, the finding of a significantly decreased DNAmAge strongly indicates an existing or gained stemness activity of MCC cells. Based on this, the cell of origin of MCC might be closer to a stem cell and thus possibly explaining the trilinear expression pattern of MCC.

In **Chapter 3** we aimed to understand the regulation of the neuroendocrine gene expression in MCC. The expression of chromogranin A and synaptophysin in non-neuronal cells is negatively regulated by the RE1 silencing transcription factor (REST). The expression of the neuroendocrine key regulators REST, neurogenic differentiation 1 (NeuroD1) and the Achaete-scute homolog 1 (ASCL1) were tested in MCC and MCC cell lines. Of interest, all MCCs were devoid of REST expression. All MCCs expressed NeuroD1, and all MCCs - except one – did not

express ASCL1. This was confirmed in MCPyV-positive MCC cell lines. The introduction of REST expression in REST-negative, MCPyV-positive MCC cells downregulated the neuroendocrine gene expression. The absence of ASCL1 expression in almost all tested MCCs indirectly emphasizes an important role for REST for the neuroendocrine gene expression in MCC. This is underlined by the expression of the REST-regulated microRNAs miR-9/9* in REST-negative MCC cell lines.

In **Chapter 4** we addressed the early B cell gene expression in MCC by comprehensively reviewing the current evidence supporting early B-cells as the possible cellular origin of MCC. The consistent and concomitant expression of the early B-cell lineage markers PAX5 and TdT and the finding of clonal immunoglobulin chain rearrangement in some MCCs triggered this hypothesis.

PAX5 is a pivotal regulator of B-cell commitment in early B-cells (pre-pro-/pro-/pre-B-cells). In **Chapter 5** we were interested to compare the PAX5 expression pattern and the methylation of CpG loci located in PAX5 binding sites in MCC cells with benign B-cells. Therefore, we identified diverse PAX5 isoforms expressed in MCC using RNA next generation sequencing of which the canonical as known as the B-cell specific activation protein PAX5 isoform could be verified to be expressed in MCC. In addition, out of 63844 PAX5 binding sites, 771 were excessively hypermethylated in MCC as analysed by 850K methylation array. These binding sites are recognized by other pivotal B-cell lineage transcription factors. Moreover, the PAX5-binding sites corresponding to T-cell lineage genes - not expressed in MCC - are not differentially methylated. Although, a part of the B-cell receptor signalling pathway regulated by PAX5 was identified in MCC, PAX5 fails to launch the commitment to a complete B-lineage-specific gene expression program in MCC cells.

In **Chapter 6** we investigated the expression and the functionality of the BCR signalling member phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) p110 δ in MCC by immunofluorescence microscopy and inhibition with the PI3K p110 δ specific inhibitor idelalisib. The majority, i.e. 71.4% of the tested MCCs and in all tested MCC cell lines were positive for PI3K p110 δ expression. Despite its expression in the MCC cell lines the inhibition of the p110 δ subunit did not result in a significant inhibition of the cell viability and revealed only in one cell line a slight decrease of

the phosphorylation of the protein kinase B (AKT). According to these results, PI3K p110 δ is expressed in MCC, but most likely not functional in MCC. In **Chapter 6** we also illustrated that the inhibition of the PI3K p110 α subunit resulted in a remarkably higher decrease of MCC cell line cell viability. Based on our hypothesis on the cellular origin of MCC we aimed to assess in **Chapter 7** the efficacy of the combined inhibition of the B-cell lymphoma 2 (BCL-2) family and the inhibition of the PI3K p110 α subunit, which is successfully used for diverse haematological diseases. First, the immunohistochemistry analysis confirmed that MCCs do express BCL-2 to a high extent. The combination of the BCL-2 family member inhibitor Navitoclax (ABT-263) and the PI3K p110 α inhibitor Alpelisib (Byl-719) resulted in significant improved sensitivity on the decrease of cell viability. This could be explained by the prolonged synergistic apoptotic effect on the MCPyV-positive MCC cell lines.

In **Chapter 8** the experimental findings of **Chapter 2** to **Chapter 7** regarding the MCC cellular origin and the possible molecular treatment applications were discussed. MCC stemness and the early B-cell circuit gene expression support that MCCs are originating from early B-cells. Considering the absence of the BCR and the associated membranous proteins like CD79a and CD79b MCC is comparable with the classical Hodgkin Lymphoma. Further, we could illustrate that the gain in knowledge about MCC tumorigenesis will possibly enable novel promising treatment options as e.g. the effective combined inhibition of PI3K p110 α and BCL-2.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Merkelzellkarzinom (MKZ) ist ein hoch maligner Hautkrebs, der hauptsächlich bei älteren und immunsupprimierten Menschen diagnostiziert wird. Obwohl das MKZ selten ist, hat sich die Inzidenz vom MKZ in den westlichen Ländern in den letzten Jahrzehnten verdreifacht. 2008 wurde das Merkelzell Polyomavirus (MCPyV) erstmals klonal integriert in etwa 80% der MKZ-Gewebe nachgewiesen. In den darauffolgenden Jahren wurde die Karzinogenese dieser Virus-positiven MKZs mit den kleinen und großen MCPyV Tumor Antigen in Verbindung gebracht. Im Gegensatz dazu sind die Virus-negativen MKZs durch UV-induzierte Mutationen charakterisiert. Trotz dieser neuen Erkenntnisse ist der zelluläre Ursprung umstritten. Dieser wurde auf der Grundlage der Detektion von der Expression von neuroendokrinen Genen und Zytokeratinen in den 1980ern Jahren den Merkel Zellen zugeschrieben. Allerdings sind Merkel Zellen ausdifferenzierte, post-mitotische, und nicht teilungsaktive Zellen, die im Gegensatz zum MKZ im Übergang von der Dermis zur Epidermis lokalisiert sind. Aus diesem Grund ist es weitgehend akzeptiert, dass die Merkel Zellen nicht mehr als zellulären Ursprung vom MKZ in Betracht kommen.

Das MKZ hat ein typisches trilineares Expressionsmuster von epithelialen (Zytokeratine), neuroendokrinen (Chromogranin A und Synaphophysin) und frühen B-Zell Genen (paired box 5 (PAX5) und terminale Desoxynukleotidyltransferase (TdT)). Dieses trilineare Expressionsmuster könnte auf Stammzeleigenschaften und Pluripotenz der möglichen MKZ Ursprungszellen hinweisen. Aus diesem Grund wurde in **Kapitel 2** das DNA-Methylierungsalter (DNAmAge) von 13 MKZs unter Verwendung der „Horvath-Clock“ und die Pluripotenz von den MKZs anhand von RNA Sequenzierungsdaten der MKZs untersucht. Das MKZ-DNAmAge war im Vergleich zum chronologischen Alter der Patienten, unabhängig vom MCPyV oder der UV-assoziierten Mutationen, signifikant niedriger. Obwohl die MKZs sich als nicht pluripotent herausstellten, weist das signifikant verringerte DNAmAge auf eine vorhandene oder gewonnene Stammzellaktivität der MKZ-Zellen hin. Daraus lässt sich Schlussfolgern, dass die Ursprungszellen eine gewisse Nähe zu Stammzellen aufweisen müssen, die das trilineare Expressionsmuster vom MKZ erklären könnten.

In **Kapitel 3** stand die Regulation der neuroendokrinen Genexpression als Teil des trilinearen Expressionsmusters im MKZ im Fokus. Die neuroendokrine Genexpression in MKZ ist unter anderem charakterisiert durch die Expression von Chromogranin A und Synaptophysin, die in nicht-neuronalen Zellen durch den RE-1-silencing-Transkriptionsfaktor (REST) reprimiert wird. Somit wurden in diesem Kapitel die Expression der wichtigen neuroendokrinen Regulatoren wie REST, das neurogenen Differenzierung 1 (NeuroD1) und das Achaete-Scute-Homologen 1 (ASCL1) im MKZ untersucht. Alle MKZ Gewebe waren negativ für REST und bis auf einen MKZ auch negativ für ASCL-1. Dem entgegengesetzt waren alle MKZs positiv für NeuroD1. Die MCPyV-positiven MKZ Zelllinien waren alle ASCL1 und REST negativ und positiv für NeuroD1. Nach der Induktion von REST in einer dieser Zelllinien, konnte beobachtet werden, dass sich die Expression von Chromogranin A und Synaptophysin reduziert hatte. Diese Reduktion und das Fehlen des neuroendokrin-positiven Regulators ASCL1 in fast allen getesteten MKZs impliziert, dass die Abwesenheit von REST für die neuroendokrine Genexpression in MKZ wichtig ist. Darüber hinaus wird diese Rolle noch durch die Expression der REST-regulierten microRNA mir-9/9* in REST-negativen MKZ-Zelllinien hervorgehoben.

In **Kapitel 4** wurden anhand einer Literaturstudie die frühe B-Zell Genexpression, welches zum trilinearen Expressionsmuster des MKZs zugehörig ist, zusammengetragen. Dabei wurden die aktuellen Beweise für die B-Zell-Genexpression und die daraus folgende Theorie, dass frühe B-Zellen den zellulären Ursprung des MKZs darstellen, zusammengetragen und abgewogen. Durch die konsistente und gleichzeitige Expression der frühen B-Zell Gene PAX5 und TdT, der Feststellung der Umlagerung der Immunoglobulin Gensegmente in einigen MKZs bestärken diese Hypothese.

PAX5 ist ein wichtiger Regulator der B-Zell Entwicklung von prä-pro / pro / prä-B-Zellen. In **Kapitel 5** wurde das Expressionsmuster von PAX5 und die Methylierung der CpGs, die in PAX5 Bindungsstellen lokalisiert sind, in MKZ Zellen mit benignen B-Zellen verglichen. Dabei wurden verschiedene PAX5 Isoformen in MKZ mittels RNA Next Generation Sequenzierung identifiziert, von denen die primäre kanonische PAX5 Isoform, besser bekannt als spezifischer B-Zell Aktivierungsprotein, in den MKZs bestätigt werden konnte. Zusätzlich wurden

anhand von 850K-Methylierungsarray bestimmten Analysen, von insgesamt 63844 PAX5-Bindungsstellen in MKZ, 771 als übermäßig hypermethyliert identifiziert. Diese Bindungsstellen werden von anderen Transkriptionsfaktoren, die neben PAX5 für die B-Zell Entwicklung wichtig sind, erkannt. Darüber hinaus sind die PAX5-Bindungsstellen, die den Genen der T-Zell Differenzierung entsprechen, nicht differentiell methyliert und werden nicht exprimiert. Obwohl ein Teil des durch PAX5 regulierten B-Zell-Rezeptor (BZR) Signalwegs in MCC identifiziert wurde, kann PAX5 ein vollständige B-Zell-spezifisches Genexpressionsprogramm in MCC-Zellen nicht induzieren.

In **Kapitel 6** wurde die Expression und Funktionalität des BZR Signalwegmitglieds Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) p110 δ in MKZ durch Immunfluoreszenzmikroskopie und Inhibition der Funktion mit dem PI3K p110 δ -spezifischen Inhibitor Idelalisib untersucht. Die Mehrheit, nämlich 71,4% der getesteten MKZs und alle getesteten MKZ-Zelllinien, waren positiv für die PI3K p110 δ . Trotz seiner Expression in den MKZ-Zelllinien führte die Inhibition der p110 δ -Untereinheit nicht zu einer signifikanten Beeinträchtigung der MKZ Zellvitalität und zeigte nur in einer Zelllinie eine leichte Abnahme der Phosphorylierung der Proteinkinase B (AKT). Demnach wird PI3K p110 δ in MCC exprimiert, ist jedoch höchstwahrscheinlich in MKZ nicht funktionsfähig.

In **Kapitel 6** haben wir auch gezeigt, dass die Hemmung der PI3K p110 α -Untereinheit zu einer bemerkenswerten hohen Abnahme der Vitalität der MKZ-Zelllinienzellen führte. Basierend auf unserer Hypothese zum zellulären Ursprung von MKZ, wurde in **Kapitel 7** die Wirksamkeit der kombinierten Inhibition des B-Zell-Lymphom-2 (BCL-2) und die Hemmung der PI3K-p110 α -Untereinheit untersucht, die erfolgreich bei der Behandlung verschiedene hämatologische Erkrankungen in klinischen Studien eingesetzt wurde. Zuerst wurde mittels immunhistochemischer Analyse die Expression von BCL-2 bestätigt. Darauf wurden, die Zellen mit der Kombination des BCL-2-Familienmitglied-Inhibitors Navitoclax und des PI3K p110 α -Inhibitors Alpelisib behandelt. Dies führte aufgrund des synergistischen apoptotischen Effekte auf die MCPyV-positiven MKZ-Zelllinien zu einer signifikant verbesserten Empfindlichkeit. Darüber hinaus wurde das Zellwachstum nach einer initialen Behandlung für vier Tage anhaltend inhibiert.

In **Kapitel 8** wurden die experimentellen Ergebnisse von **Kapitel 2** bis **Kapitel 7** bezüglich des zellulären Ursprungs von MKZ und der möglichen molekularen Behandlungsanwendungen diskutiert. Die MKZ Stammzellähnlichkeit und die frühe B-Zell Genexpression unterstützen die Hypothese, dass das MKZs aus frühen B-Zellen abstammen könnte. In Anbetracht des Fehlens des BZR und der damit verbundenen Membranproteine wie CD79a und CD79b ist das MKZ mit dem klassischen Hodgkin-Lymphom vergleichbar. Ferner konnten wir veranschaulichen, dass der Zugewinn an Wissen über die MKZ-Karzinogenese neue vielversprechende Behandlungsoptionen, wie z. B. die wirksame kombinierte Inhibition von PI3K p110 α und BCL-2, ermöglichen könnten.

SAMENVATTING

Het Merkelcelcarcinoom (MCC) is een zeer kwaadaardige vorm van huidkanker die voornamelijk voorkomt bij ouderen en mensen met een verzwakt immuunsysteem. Hoewel dit een zeer zeldzame vorm van huidkanker is, is de incidentie van het MCC in westerse landen het afgelopen decennium verdrievoudigd. Ongeveer 80% van de MCC gevallen wordt veroorzaakt door het Merkelcelpolyomavirus (MCPyV). De overige MCC's worden gekenmerkt door mutaties veroorzaakt door langdurige blootstelling aan UV-straling. In 1980 werd beschreven dat MCC-cellen gelijkenis vertoonden met Merkelcellen (MC's) – namelijk de expressie van neuro-endocriene genen en cytokeratine – en werd de term “Merkelcelcarcinoom” geïntroduceerd. Aangezien MC's terminaal gedifferentieerde, post-mitotische en niet-delende cellen zijn die zich bevinden in de dermo-epidermale junctie, worden MC's niet langer beschouwd als de cellulaire oorsprong van het MCC.

Het MCC wordt gekenmerkt door een trilineair expressiepatroon van epitheliale (cytokeratine), neuro-endocriene (chromogranine A en synapthophysin) en vroege B-cel (paired box 5 (PAX5) en terminale deoxynucleotide transferase (TdT)) genen. Dit trilineaire expressiepatroon kan wijzen op stamceleigenschappen en pluripotentie van de mogelijke MCC-oorsprongscellen. Om deze reden werd in **Hoofdstuk 2** de DNA-methylatie leeftijd (DNAmAge) van 13 MCC's onderzocht met behulp van de "Horvath-klok" en werd de pluripotentie van de MCC's geanalyseerd. De MCC-DNAmAge bleek significant lager in vergelijking met de chronologische leeftijd van de patiënten, ongeacht de aanwezigheid van het MCPyV of de met UV-geassocieerde mutaties. Hoewel onze resultaten erop wijzen dat MCC's niet-pluripotent zijn, duidt deze significant verminderde DNAmAge op een bestaande of behaalde stamcelactiviteit van de MCC-cellen. Hieruit kunnen we concluderen dat de MCC-oorsprongscellen sterke overeenkomsten hebben met stamcellen, wat het trilineaire expressiepatroon van het MCC zou kunnen verklaren.

In **Hoofdstuk 3** wordt dieper ingegaan op de regulatie van de neuro-endocriene genexpressie als onderdeel van het trilineaire expressiepatroon in MCC. De neuro-endocriene genexpressie in MCC wordt gekenmerkt door de expressie van chromogranin A en synapthophysin. De expressie van deze genen wordt in niet-

neuronale cellen onderdrukt door RE-1 silencing transcriptiefactor (REST). In dit hoofdstuk wordt de expressie van belangrijke neuro-endocriene regulatoren zoals REST, neurogene differentiatie 1 (NeuroD1) en Achaete-Scute homoloog 1 (ASCL1) in MCC en MCC-cellijnen onderzocht. Hier laten we zien dat alle MCC's negatief waren voor REST expressie en – met uitzondering van één enkele MCC – ook negatief waren voor ASCL1 expressie. Daarentegen waren alle MCC's positief voor NeuroD1 expressie. Deze bevindingen werden verder bevestigd in MCPyV-positieve MCC-cellijnen. De introductie van REST expressie in REST-negatieve, MCPyV-positieve MCC-cellijnen resulteerde in een afgenomen endocriene genexpressie. De afwezigheid van de neuro-endocriene regulator ASCL1 in bijna alle geteste MCC's impliceert dat REST een belangrijke rol speelt in de regulatie van de neuro-endocriene genexpressie in MCC. Deze rol wordt verder bevestigd door de expressie van de REST-gereguleerde microRNA mir-9/9* in REST-negatieve MCC-cellijnen.

Hoofdstuk 4 is een literatuurstudie naar de vroege B-cel genexpressie in MCC, waarin we al het huidige wetenschappelijke bewijs over vroege B-cellen hun mogelijke rol als MCC-oorsprongscellen bespreken. Bovenstaande hypothese werd getriggerd door de consistente en gelijktijdige expressie van de vroege B-cel markers PAX5 en TdT en de herschikking van de immunoglobulinen-segmenten in sommige MCC's. PAX5 is een cruciale regulator in de ontwikkeling van vroege B-cellen (pre-pro-/pro-/pre-B-cellen).

In **Hoofdstuk 5** vergelijken we het PAX5-expressiepatroon en de CpG-methylering op PAX5-bindingsplaatsen tussen MCC-cellen en benigne B-cellen. Daartoe hebben we verschillende PAX5-isovormen die tot expressie komen in MCC geïdentificeerd met behulp van RNA Next Generation Sequencing, en hebben we de aanwezigheid van de PAX5-isovorm, beter bekend als het specifieke B-celactivatie-eiwit, kunnen bevestigen in MCC. Daarnaast werden 771 van de 63,844 PAX5-bindingsplaatsen in MCC geïdentificeerd als overmatig gehypermethyleerd op basis van de resultaten van de 850K-methyleringsassay. Deze bindingsplaatsen worden herkend door andere belangrijke transcriptiefactoren die, naast PAX5, cruciaal zijn voor de ontwikkeling van B-cellen. Bovendien waren de PAX5-bindingsplaatsen die overeenkomen met de genen voor T-celdifferentiatie niet differentieel gemethyleerd en werden ze niet tot

expressie gebracht. Hoewel een deel van de PAX5-gereguleerde B-celreceptor (BCR) -signaleringsroute werd geïdentificeerd in MCC, is PAX5 niet in staat om een volledig B-cel specifiek genexpressieprogramma te induceren in MCC-cellen. In **Hoofdstuk 6** werd de expressie en functionaliteit van het BCR-signalerings-eiwit phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) p110 δ in MCC onderzocht met behulp van immunofluorescentiemicroscopie en de PI3K p110 δ -specifieke remmer Idelalisib. De meerderheid, namelijk 71,4% van de MCC's en alle geteste MCC-cellijnen, testten positief voor PI3K p110 δ . Echter leidde inhibitie van de p110 δ -subunit niet tot een significante verslechtering van de cel vitaliteit en werd maar in één enkele cellijn een lichte afname van de fosforylering van proteïne kinase B (AKT) gevonden. Hieruit kunnen we concluderen dat PI3K p110 δ aanwezig is, maar hoogstwaarschijnlijk niet functioneel is in MCC. Echter hebben we in er ook aangetoond dat inhibitie van de PI3K p110 α -subunit resulteerde in een opmerkelijk hogere afname van de cel vitaliteit van de MCC-cellijnen.

Gebaseerd op onze hypothese over de cellulaire oorsprong van MCC, laat **Hoofdstuk 7** de werkzaamheid van een gecombineerde inhibitie van de B-cellymfoom-2 (BCL-2) familie en de PI3K-p110 α -subunit zien. De gecombineerde inhibitie van deze eiwitten is succesvol bevonden in verschillende klinische onderzoeken naar hematologische ziekten. De expressie van BCL-2 door MCC's werd eerst bevestigd met behulp van een immunohistochemische analyse. Vervolgens werden de MCC-cellen behandeld met een combinatie van de BCL-2 remmer Navitoclax (ABT-263) en de PI3K p110 α -remmer Alpelisib (Byl-719). Vanwege hun synergetische apoptotisch effecten op de MCPyV-positieve MCC-cellijnen resulteerde dit in een significant verbeterde gevoeligheid voor Alpelisib. Bovendien werd de celgroei gedurende vier dagen na de initiële behandeling geremd.

In **Hoofdstuk 8** worden de experimentele resultaten van **Hoofdstuk 2** tot en met **Hoofdstuk 7** over de cellulaire oorsprong van MCC en de mogelijke toepassingen voor moleculaire behandeling besproken. De overeenkomsten tussen MCC's en stamcellen, in combinatie met de vroege B-cel genexpressie, ondersteunen de hypothese dat de MCC's afkomstig kunnen zijn van vroege B-cellen. Gezien het ontbreken van de BCR en de bijbehorende membraaneiwitten zoals CD79a en CD79b, is het MCC vergelijkbaar met het klassieke Hodgkin-lymfoom. Bovendien hebben we kunnen aantonen dat de toename aan kennis over MCC-carinogenese nieuwe en veelbelovende behandelingsopties biedt, zoals de effectieve gecombineerde inhibitie van PI3K p110 α en BCL-2.