

## Gambaran Klinik, Histopatologik, dan Molekuler Fusi Gen RET (*Rearranged During Transfection*) pada Adenokarsinoma Paru

Fanny Kamarudy Lay  
Endah Zuraidah  
Yayi Dwina Billianti

Departemen Patologi Anatomi  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Indonesia  
Jakarta

### ABSTRAK

Fusi gen RET ditemukan pada 1%-2% kasus adenokarsinoma paru dan keberadaannya bersifat *mutually exclusive* terhadap *driver mutation* lainnya yang telah diketahui selama ini. Terdapat lima buah gen (KIF5B, CCDC6, NCOA4, TRIM33, dan CUX1) yang ditemukan dapat menjadi pasangan fusi gen RET dan kemudian membentuk berbagai varian fusi. Varian fusi KIF5B-RET merupakan jenis yang paling sering ditemukan di antara semua jenis varian fusi tersebut. Penderita adenokarsinoma paru dengan jenis kelamin wanita, usia muda (<60 tahun), bukan perokok, dan memiliki gambaran histologik berupa *solid signet ring-cell* atau *mucinous cribriform* merupakan karakteristik klinikopatologik dan histologik dari adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET tersebut. Selain itu, berbagai agen inhibitor RET juga telah banyak dipelajari dan beberapa di antaranya menunjukkan respon yang menjanjikan untuk digunakan dalam terapi target pada adenokarsinoma paru di masa yang akan datang.

**Kata kunci:** adenokarsinoma paru, fusi gen RET, karakteristik klinikopatologik, *solid signet ring-cell*, *mucinous cribriform*, terapi target.

### PENDAHULUAN

Kanker paru merupakan salah satu dari lima neoplasma ganas terbanyak di berbagai negara. Data dari *Global Burden Cancer-International Agency for Research on Cancer (GLOBOCAN-IARC)* menunjukkan bahwa kanker paru masih menempati peringkat pertama di antara kanker lainnya sebagai kanker yang paling sering terjadi di seluruh dunia. Data pada tahun 2012 menunjukkan bahwa terdapat sebanyak 1,2 juta kasus kanker paru di seluruh dunia dalam jangka waktu lima tahun, dan 20 ribu kasus di antaranya terdapat di Indonesia. Kanker paru menempati peringkat pertama pada pria dan peringkat ke-5 pada wanita (setelah kanker pada payudara, serviks, kolorektal, dan ovarium) sebagai kanker yang paling sering terjadi di Indonesia. Kanker paru juga merupakan penyumbang terbesar terhadap angka kematian pada pasien kanker di seluruh dunia, termasuk di Indonesia.<sup>1</sup>

Kanker paru yang paling sering terjadi dalam dua dekade terakhir ini adalah jenis adenokarsinoma paru (38%), menggantikan posisi karsinoma sel skuamosa yang sebelumnya menempati posisi terbanyak. Hal ini terjadi karena semakin banyak orang yang kini telah menyadari perilaku hidup sehat dan menghindari kebiasaan merokok yang menjadi salah satu faktor penyebab timbulnya karsinoma sel skuamosa pada paru. Adenokarsinoma paru sebagai jenis yang terbanyak saat ini diketahui memiliki hubungan yang kuat dengan berbagai mutasi gen yang mencetuskan aktivitas onkogenik (*driver mutation*). Terdapat beberapa *driver mutation* yang telah berhasil diidentifikasi pada 50 % kasus adenokarsinoma, dan sebagian di antaranya kini telah berperan dalam terapi target.<sup>2</sup>

Mutasi pada gen EGFR (*epidermal growth factor receptor*) dan ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) merupakan contoh penemuan *driver mutation* yang menunjukkan keberhasilan perannya dalam terapi target.<sup>3</sup> Hal ini semakin mendukung penemuan-penemuan *driver mutation* lainnya guna melengkapi profil genetik adenokarsinoma paru dan memperluas pilihan terapi target. Salah satu *driver mutation* yang baru-baru ini ditemukan adalah mutasi gen RET (*rearranged during transfection*). Penemuan *driver mutation* ini pada adenokarsinoma paru pertama kali teridentifikasi pada tahun 2012, dan hingga kini ditemukan 1%-2% kasus adenokarsinoma paru memiliki fusi gen RET.<sup>4-7</sup> Persentase ini menunjukkan bahwa terdapat hingga 9.000 kasus kanker paru di seluruh dunia yang memiliki fusi gen RET. Beberapa inhibitor RET pun kini sedang diteliti efektivitasnya sebagai agen terapi target pada adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET.

Tinjauan pustaka ini dibuat untuk lebih mendalami peran fusi gen RET sebagai *driver mutation* pada adenokarsinoma paru disertai dengan karakteristik klinikohistopatologi dan juga pilihan terapi targetnya. Pengetahuan ini diharapkan dapat membantu para dokter spesialis patologi anatomik maupun klinisi dalam menemukan adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET dan membuka peluang penggunaan terapi target pada adenokarsinoma tersebut.

### Struktur dan Fungsi Gen RET

Gen RET merupakan suatu proto-onkogen yang berhasil diidentifikasi pada tahun 1985,<sup>8</sup> dan kemudian dipetakan pada kromosom 10q11.21 yang menyimpan kode untuk pembentukan reseptor tirosin kinase (Gambar 1).<sup>9,10</sup> RET secara normal diekspresikan pada sel saraf, ganglion simpatis dan parasimpatis, sel C kelenjar tiroid, medula adrenal, saluran urogenital, dan sel germinal pada testis.<sup>11</sup> Gen ini juga memiliki peran yang penting dalam proses organogenesis dan perkembangan sistem saraf pada usus.<sup>12</sup>

Gen RET yang diekspresikan akan membentuk suatu protein reseptor tirosin kinase RET yang terdiri atas 3 domain, yaitu: domain ekstraseluler, domain transmembran, dan domain intraseluler tirosin kinase.<sup>11</sup> Aktivasi RET memerlukan pembentukan suatu kompleks protein yang melibatkan GDNF (*glial cell line-derived neurotrophic factor*) dan koreseptor GFR- $\alpha$  (*GDNF family receptor  $\alpha$* ) yang terikat

pada membran sel (Gambar 2).<sup>11,13</sup> Pada saat teraktivasi, kompleks GDNF-GFR $\alpha$  akan mengikat dan membawa reseptor tirosin kinase RET ke area *lipid raft*, suatu subdomain pada membran sel yang kaya akan kolesterol tempat dimana proses sinyal RET dimulai. Reseptor tirosin kinase RET juga akan mengalami dimerisasi dan autofosforilasi yang akan mengaktifkan beberapa jalur sinyal berikutnya seperti Ras/MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), PI3K (*phosphatidylinositol 3-kinase*) /Akt, JAK (*Janus kinase*)/STAT (*signal transducer and activator of transcription*), JNK (JUN N-terminal kinase), dan PKC (*protein kinase C*). Hasil akhir dari aktivasi jalur-jalur sinyal inilah yang kemudian berperan dalam proliferasi, migrasi, diferensiasi, dan ketahanan hidup sel.<sup>14,15</sup>

Proses autofosforilasi pada reseptor tirosin kinase RET terjadi pada residu tirosin yang berada di domain intraseluler. Residu-residu tirosin yang sudah terfosforilasi akan menjadi *docking sites* untuk berbagai protein sinyal berikutnya dimana *docking site* yang berbeda dapat mencetuskan jalur sinyal yang berbeda dengan yang lainnya. Ada cukup banyak *docking sites* yang telah berhasil diidentifikasi namun yang utama adalah *docking site* pada *phosphotyrosine* 1062 (pY1062) dan *phosphotyrosine* 1096 (pY1096). Kedua *docking sites* ini akan berikatan dengan beberapa protein sinyal yang mengarah pada jalur Ras/MAPK dan PI3K/Akt (Gambar 3). Melalui jalur ini RET berperan dalam perkembangan ginjal dan sistem saraf pada manusia. Beberapa jalur lain juga tidak kalah pentingnya; seperti peran jalur PLC $\gamma$  (*phospholipase C $\gamma$* ) dan PKC dalam morfogenesis ginjal dan migrasi sel saraf saat perkembangan otak, jalur SRC dalam mitogenesis dan ketahanan hidup sel saraf, serta jalur STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) dalam proliferasi dan transformasi sel.<sup>15</sup>

Perubahan struktur pada RET dapat menyebabkan peningkatan ataupun hilangnya fungsi-fungsi yang telah dijelaskan di atas. Peningkatan fungsi RET dihubungkan dengan terjadinya suatu keganasan.<sup>13</sup> Sebaliknya, hilangnya fungsi RET dapat berdampak pada tidak terbentuknya ganglion pada usus yang menyebabkan penyakit Hirschsprung.<sup>16</sup>

### Peran Gen RET dalam Keganasan pada Manusia

Peran RET dalam menimbulkan suatu keganas-

an telah banyak disebutkan dalam berbagai studi tentang kanker tiroid, terutama pada jenis karsinoma papiler dan karsinoma meduler, serta pada sindrom MEN-2 (*multiple endocrine neoplasia type 2*).<sup>17</sup> Sebanyak 20%-40% karsinoma papiler tiroid disebabkan karena adanya fusi gen RET/PTC (*RET/papillary thyroid carcinoma*). Mutasi RET juga ditemukan pada hampir seluruh kasus karsinoma meduler tiroid tipe familial, dan sekitar 50% pada tipe sporadik. Berbeda dengan karsinoma papiler tiroid, kelainan gen RET pada karsinoma meduler tiroid bukan berupa fusi gen melainkan mutasi titik.<sup>17</sup>

Selain pada kanker tiroid, peran RET pada kanker paru juga sudah mulai teridentifikasi sejak tahun 2012 sebagai salah satu jenis mutasi pemicu adenokarsinoma paru. Seperti pada karsinoma papiler tiroid, kelainan gen RET yang ditemukan pada adenokarsinoma paru merupakan fusi gen RET dengan gen lainnya.<sup>4-7,11,18-23</sup>

### Peran Gen RET pada Kanker Paru

Seperti yang telah diketahui, kanker paru secara umum tergolong dalam dua kelompok besar, yaitu karsinoma paru jenis sel kecil dan karsinoma paru bukan sel kecil. Termasuk di dalam karsinoma paru bukan sel kecil adalah karsinoma sel skuamosa, karsinoma sel besar, dan adenokarsinoma paru. Terdapat juga tipe lainnya seperti karsinoma adenoskuamosa, karsinoma dengan elemen sarkomatoid, dan lain-lain dengan proporsi yang jauh lebih sedikit dibandingkan dengan dua kelompok besar yang telah disebutkan. Kebiasaan merokok telah lama diketahui sebagai faktor risiko penyebab timbulnya kanker paru, terutama pada tipe karsinoma sel kecil dan karsinoma sel skuamosa. Sementara itu, adenokarsinoma paru justru tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan riwayat merokok tetapi dengan faktor genetik. Gen yang berperan dalam timbulnya adenokarsinoma paru telah banyak dipelajari dalam berbagai studi, dan hingga saat ini telah ada banyak gen yang diidentifikasi sebagai *driver mutation*. Gen-gen tersebut meliputi EGFR, HER2, KRAS, BRAF, ALK, PIK3CA, AKT1, ROS1, NRAS, MAP2K1, MET, dan RET.<sup>2,24</sup> Beberapa dari gen tersebut kini telah dijadikan sebagai target terapi.

Kejadian fusi gen RET umumnya kurang dari 2% dari keseluruhan kasus kanker paru. Sebuah meta-analisis yang dilakukan oleh Lin dkk.<sup>25</sup> pada tahun 2015 menyebutkan frekuensi

kejadian fusi gen RET pada kanker paru adalah sebanyak 84 (1,2%) dari total 6.899 pasien karsinoma paru bukan sel kecil. Angka ini tidak berbeda jauh dengan yang ditemukan oleh Wang dkk.<sup>6</sup> pada tahun 2012. Dalam penelitiannya didapatkan sebanyak 13 (1,4%) dari total 936 pasien karsinoma paru bukan sel kecil, dan 11 (1,7%) dari 633 pasien adenokarsinoma paru memiliki fusi gen RET. Frekuensi yang lebih tinggi ditemukan oleh Lee dkk.<sup>20</sup> yaitu sebanyak 15 (16%) dari 94 pasien adenokarsinoma paru dengan profil *triple negative* memiliki fusi gen RET. *Triple negative* yang dimaksud merujuk pada profil EGFR, KRAS, dan ALK. Dalam banyak studi juga diungkapkan bahwa keberadaan fusi gen RET ini bersifat *mutually exclusive* terhadap EGFR, KRAS, ALK, ROS1 (*ROS proto-oncogene 1*) ataupun perubahan onkogenik lainnya sehingga semakin menegaskan peran RET sebagai *driver mutation* pada adenokarsinoma paru.<sup>4-7,11,18-20,22-27</sup>

Terdapat lima buah gen hingga saat ini yang ditemukan berfusi dengan gen RET pada adenokarsinoma paru, yaitu: KIF5B (*kinesin family member 5B*), CCDC6 (*coiled-coil domain containing 6*), NCOA4 (*nuclear receptor coactivator 4*), TRIM33 (*tripartite motif-containing 33*), dan CUX1 (*Cut Like Homeobox 1*).<sup>4,6,7,18-20,22</sup> Jenis fusi gen RET yang paling sering ditemukan pada adenokarsinoma paru adalah fusi KIF5B-RET (85,6%), CCDC6-RET (13,0%), dan NCOA4-RET (1,4%).<sup>25</sup> Fusi KIF5B-RET sebagai varian yang terbanyak memiliki tujuh subvarian berdasarkan titik lokasi fusi (Gambar 4).<sup>11</sup> Fusi CUX1-RET merupakan varian terbaru dan tampaknya masih jarang ditemukan.<sup>20</sup> Sementara pasangan gen fusi yang lain (CCDC6, NCOA4, dan TRIM33) merupakan pasangan gen yang sama seperti yang ditemukan pada karsinoma papiler tiroid.<sup>11</sup> Semua pasangan gen yang telah ditemukan ini berada pada kromosom yang sama dengan gen RET, kecuali TRIM33 dan CUX1. Hal ini menunjukkan bahwa translokasi yang terjadi pada fusi gen RET dapat berlangsung secara intrakromosom ataupun interkromosom.<sup>20</sup>

Fusi gen yang terbentuk dari hasil translokasi gen RET dengan gen lainnya jika diekspresikan akan menimbulkan suatu protein *chimeric* berupa reseptor tirosin kinase RET yang telah berubah konformasinya. Protein ini akan berada di sitosol dan selalu memiliki domain tirosin kinase yang berasal dari gen RET, serta domain *coiled-coil* yang berasal dari

pasangan gennya. Domain *coiled-coil* ini dapat menimbulkan dimerisasi protein RET *chimeric* secara spontan, selanjutnya terjadi autofosforilasi pada domain tirosin kinase, dan aktivasi jalur-jalur sinyal di bawahnya (Ras/MAPK, PI3K/Akt, JAK/STAT, JNK, PKC) secara independen tanpa perlu adanya kompleks GDNF-GFR $\alpha$  yang terikat pada reseptor tirosin kinase RET terlebih dahulu (Gambar 5). Mekanisme inilah yang menjadi dasar proses onkogenesis pada fusi gen RET, serupa dengan yang terjadi pada fusi gen ALK dalam menimbulkan adenokarsinoma paru.<sup>11</sup>

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa aktivasi RET dapat menimbulkan beberapa jalur sinyal yang berbeda tergantung pada *docking site* dan protein sinyal yang terlibat di dalamnya. Namun, hingga saat ini belum ada banyak riset yang dapat memastikan jalur sinyal mana yang paling dominan dalam onkogenesis adenokarsinoma paru. Salah satu jalur yang diduga memiliki peran kuat dalam hal ini adalah jalur RET-STAT3 dengan target Siklin D1 yang dapat menginduksi siklus sel. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Qian dkk.<sup>28</sup> dalam penelitiannya yang menemukan bahwa fusi KIF5B-RET dapat menimbulkan pertumbuhan sel melalui aktivasi STAT3 pada adenokarsinoma paru.

Faktor apa yang menyebabkan gen RET berfusi dengan gen lainnya hingga kini belum dapat diketahui dengan pasti. Namun, riwayat paparan radiasi sebagai salah satu faktor penyebab pernah diungkapkan dalam suatu penelitian baru-baru ini. Penelitian yang dilakukan oleh Dacic dkk.<sup>29</sup> mengemukakan bahwa adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET cenderung terjadi pada pasien-pasien yang memiliki riwayat paparan radiasi sebelumnya. Dalam penelitian yang dilakukannya, riwayat radiasi yang ditemukan berupa terapi radiasi yang dijalani oleh pasien dengan dosis awal 45-50 Gy dan dosis ulangan 10-14 Gy selama lima hingga tujuh tahun sebelum timbulnya tumor primer pada paru. Selain itu, ia juga melakukan penelitian secara *in vitro* yang berhasil menginduksi fusi gen RET pada sel paru manusia dengan memaparkannya pada radiasi  $\gamma$ .

### Deteksi Fusi Gen RET

Ada beberapa teknik pemeriksaan yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi fusi gen RET tetapi hingga saat ini belum ada kesepakatan tentang teknik mana yang terbaik sebagai baku

emas pemeriksaan. Tiga jenis pemeriksaan yang sering dilakukan adalah FISH (*fluorescence in situ hybridization*), RT-PCR (*reverse transcription-polymerase chain reaction*), dan teknik imunohistokimia. Dalam banyak studi tentang RET, teknik FISH seringkali digunakan sebagai baku emas dan menjadi konfirmasi akhir dari berbagai hasil pemeriksaan dengan teknik lainnya.<sup>11,19,20</sup> Sementara RT-PCR tampaknya lebih sering digunakan untuk pemeriksaan awal atau uji tapis. Namun, karena keterbatasan RT-PCR dalam mendeteksi varian baru fusi gen RET maka penggunaannya seringkali dikombinasikan dengan FISH.<sup>11</sup> Teknik imunohistokimia juga tampak digunakan dalam beberapa studi untuk mendeteksi fusi gen RET walaupun keakuratan hasilnya tidak sebaik FISH dan RT-PCR.<sup>6,20</sup>

Pada pemeriksaan dengan teknik FISH biasanya digunakan RET *Dual Colour Break Apart Probes*, yang berupa dua buah *probe* dengan warna fluorokrom yang berbeda. Warna fluorokrom yang biasanya digunakan adalah hijau dan jingga. *Probe* hijau akan menempel pada sisi distal dari gen RET, sedangkan *probe* jingga akan menempel pada sisi proksimal dari gen RET. Tampilan fusi gen RET yang paling sering muncul pada pemeriksaan FISH adalah 1F1G1O, berupa satu sinyal fusi (warna hijau dan jingga tampak berdampingan dalam satu titik) yang disertai dengan satu sinyal hijau dan satu sinyal jingga dalam posisi terpisah. Selain itu, terdapat pola lain juga seperti 1F1G (satu sinyal fusi yang hanya disertai satu sinyal hijau), dan 1F2G1O (satu sinyal fusi disertai dua sinyal hijau dan satu sinyal jingga). Suatu kasus dapat disebut memiliki hasil yang positif jika lebih dari atau sama dengan 15% sel memiliki salah satu pola tersebut (Gambar 6). Pemeriksaan ini mampu mendeteksi berbagai varian fusi gen RET, termasuk juga jika terdapat varian-varian baru dalam fusi gen RET tersebut. Walaupun teknik FISH tampak sebagai metode yang paling efektif hingga kini dalam mendeteksi fusi gen RET, teknik ini memerlukan banyak sumber daya sehingga FISH tampak sulit dijadikan sebagai suatu pemeriksaan yang rutin dilakukan.<sup>20</sup>

Banyak studi kini mulai mempelajari teknik imunohistokimia sebagai alternatif dalam mendeteksi fusi gen RET pada adenokarsinoma paru.<sup>11</sup> Studi yang dilakukan oleh Wang dkk.<sup>6</sup> tidak menemukan perbedaan hasil imunohistokimia yang bermakna antara sampel yang

memiliki dan tidak memiliki fusi gen RET. Studi lainnya juga pernah mengemukakan bahwa teknik imunohistokimia hanya memiliki sensitivitas 66,7% dan spesivitas 86,1% dalam mendeteksi fusi gen RET.<sup>23</sup> Namun, suatu studi baru-baru ini menyebutkan bahwa teknik imunohistokimia pada jaringan FFPE (*formalin-fixed paraffin-embedded*) dengan menggunakan antibodi RET (pengenceran 1:200) dan pewarnaan dengan sistem kromogen DAB (*diaminobenzidine tetrahydrochloride*) memiliki sensitivitas 100% dan spesifitas 87,3% dalam mendeteksi fusi gen RET.<sup>20</sup> Adanya fusi gen RET akan memberikan reaksi yang positif pada sitoplasma sel adenokarsinoma paru yang mengekspresikan fusi gen tersebut (Gambar 7).<sup>6</sup>

### Klasifikasi dan Gambaran Umum Adenokarsinoma Paru

Adenokarsinoma paru pada umumnya memiliki gambaran makroskopis berupa nodul pada bagian perifer paru, berwarna putih keabuan dengan area fibrosis pada bagian tengah, dan dapat disertai dengan pleura yang mengerut di sekitarnya. Batas tumor akan tampak tidak tegas jika terdapat komponen lepidik pada bagian perifer tumor tersebut.

Berdasarkan klasifikasi WHO 2015 untuk tumor paru, secara mikroskopis adenokarsinoma paru dapat dibedakan menjadi lesi pre-invasif (hiperplasia adenomatosa atipikal dan adenokarsinoma *in situ*), adenokarsinoma dengan invasi minimal, adenokarsinoma invasif (non-musinososa), dan beberapa varian adenokarsinoma lainnya (adenokarsinoma invasif musinososa, adenokarsinoma koloid, adenokarsinoma fetal, dan adenokarsinoma enterik).

Lesi pada hiperplasia adenomatosa atipikal terdiri dari proliferasi sel Clara dan atau pneumosit tipe 2 yang melapisi dinding-dinding alveoli (pola pertumbuhan lepidik). Secara makroskopis lesi ini umumnya berupa nodul kecil berwarna kekuningan, batas tidak tegas, dengan ukuran kurang dari atau sama dengan lima milimeter. Pada adenokarsinoma *in situ*, lesi berukuran lebih besar dari hiperplasia adenomatosa atipikal, namun biasanya tidak lebih dari tiga sentimeter, dan secara mikroskopik seluruhnya terdiri dari komponen lepidik tanpa adanya komponen invasif. Komponen invasif yang dimaksud dapat berupa pertumbuhan tumor secara papiler, mikropapiler, solid, dan asiner; invasi sel tumor pada stroma miofibroblastik; invasi pada pleura atau pembuluh darah;

dan penyebaran sel tumor melalui rongga udara. Suatu adenokarsinoma paru yang memiliki komponen invasif kurang dari atau sama dengan lima milimeter digolongkan sebagai adenokarsinoma dengan invasi minimal. Ketiga jenis lesi awal adenokarsinoma paru ini umumnya ditemukan secara insidental dan reseksi tumor memberikan prognosis yang baik.

Tipe adenokarsinoma paru yang lebih sering ditemukan dalam praktik kedokteran dan memiliki prognosis yang lebih buruk adalah adenokarsinoma invasif. Berdasarkan histologinya, adenokarsinoma invasif diklasifikasikan ke dalam lima subtipe sesuai dengan pola pertumbuhan yang dominan pada tumor tersebut. Kelima subtipe tersebut terdiri dari *lepidic predominant adenocarcinoma*, *acinar predominant adenocarcinoma*, *papillary predominant adenocarcinoma*, *micropapillary predominant adenocarcinoma*, dan *solid predominant adenocarcinoma* (Gambar 8). *Lepidic predominant adenocarcinoma* merupakan istilah yang khusus diberikan untuk adenokarsinoma paru invasif non-musinososa yang memiliki komponen pertumbuhan lepidik sebagai komponen dominan dan disertai komponen invasif dengan dimensi terbesar lebih dari lima milimeter. Sementara itu, *acinar predominant adenocarcinoma* merupakan adenokarsinoma dengan pola pertumbuhan menyerupai kelenjar sebagai tampilan terbanyaknya. Salah satu jenis variasi dari pola ini adalah pola kribiformis. Pola pertumbuhan lain yang juga dapat ditemukan pada adenokarsinoma invasif adalah pertumbuhan papiler dengan inti fibrovaskular pada subtipe *papillary predominant adenocarcinoma*, dan pertumbuhan papiler yang membentuk floret tanpa inti fibrovaskular pada subtipe *micropapillary predominant adenocarcinoma*. Jika suatu adenokarsinoma invasif memiliki pertumbuhan dominan yang tidak membentuk pola-pola pertumbuhan seperti yang sudah disebutkan sebelumnya, maka adenokarsinoma ini dikelompokkan ke dalam subtipe *solid predominant adenocarcinoma*.<sup>30</sup>

### Karakteristik Klinikopatologik dan Histopatologik Adenokarsinoma Paru dengan Fusi Gen RET

Berdasarkan meta-analisis yang dilakukan oleh Lin dkk.<sup>25</sup> didapatkan bahwa fusi gen RET ditemukan dominan pada pasien kanker paru dengan jenis kelamin wanita, usia muda (<60 tahun), tidak merokok, dan dengan gambaran

histologi berupa adenokarsinoma. Selain itu, ada kecenderungan bahwa fusi gen RET pada kanker paru terjadi lebih banyak di negara-negara Asia dibandingkan dengan negara-negara lain. Karakteristik seperti ini juga ditemukan pada hampir semua studi lainnya yang mempelajari karakteristik adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET. Namun, hasil yang sedikit berbeda pernah dikemukakan oleh Michels dkk.<sup>31</sup> dalam studi deskriptif yang dilakukannya terhadap 22 pasien adenokarsinoma paru terkait fusi gen RET yang berasal dari beberapa negara Eropa. Pada studi ini fusi gen RET justru ditemukan sedikit lebih banyak pada pasien laki-laki daripada wanita.

Dilihat dari hasil pencitraan radiologi, adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET tidak banyak berbeda dengan adenokarsinoma paru terkait *driver mutation* lainnya. Suatu studi yang membandingkan hasil pencitraan dari *computed tomography* berbagai adenokarsinoma dengan *driver mutation* berupa fusi gen RET, ROS1 dan EGFR menunjukkan bahwa ketiga jenis adenokarsinoma ini memiliki tampilan yang tidak jauh berbeda, yaitu berupa massa yang berlokasi di perifer dengan konsistensi padat dan kontur *spiculated*. Pada adenokarsinoma ini juga hampir tidak pernah ditemukan gambaran kavitas, kalsifikasi, dan efusi.<sup>32</sup> Adenokarsinoma dengan fusi gen RET juga hampir selalu ditemukan dalam ukuran kecil ( $\leq 3$  cm).<sup>6,11,20,26</sup>

Secara mikroskopis, tampilan yang sering ditemukan pada adenokarsinoma dengan fusi gen RET adalah *solid signet ring-cell* dan *mucinous cribriform*, dengan diferensiasi sedang hingga buruk (Gambar 9).<sup>6,20,26</sup> Tampilan histologi ini mirip seperti yang didapatkan pada adenokarsinoma dengan fusi gen ALK dan juga ROS1 sehingga tidak jarang pola ini disebut sebagai *fusion-pattern*.<sup>20,26</sup> Selain itu, pola pertumbuhan papiler dan lepidik juga pernah ditemukan pada beberapa studi tentang adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET.<sup>23,27</sup> Pola gambaran sitologi yang hepatoid juga pernah dikemukakan dalam suatu studi terhadap kasus-kasus adenokarsinoma paru jenis ini.<sup>26</sup>

### Terapi Target dengan Inhibitor RET

Ada beberapa agen terapi yang telah dikembangkan sebagai inhibitor multikinase dengan aktivitas anti-RET. Vandetanib dan cabozantinib adalah contoh inhibitor RET yang kini telah mendapat persetujuan untuk digunakan dalam terapi karsinoma tiroid karena keberhasilannya

dalam memperpanjang *progression free survival* (PFS) pada pasien-pasien karsinoma tiroid terkait mutasi gen RET.<sup>33,34</sup> Mengingat bahwa kelainan fungsi gen RET yang terjadi pada adenokarsinoma paru memiliki kemiripan dengan yang terjadi pada karsinoma tiroid, obat-obat tersebut (dan beberapa obat lain yang sejenis) juga kini telah mulai banyak diteliti efektivitasnya pada pasien-pasien adenokarsinoma paru yang memiliki fusi gen RET.<sup>11</sup>

Hingga saat ini telah ada lima uji klinis fase II yang sedang berlangsung, yaitu uji klinis terhadap ponatinib (*Clinical Trials.gov identifier* NCT01813734), cabozantinib (*Clinical Trials.gov identifier* NCT01639508), levantinib (*Clinical Trials.gov identifier* NCT01877083), dan vandetanib (*Clinical Trials.gov identifier* NCT01823068 dan UMIN000010095) pada pasien adenokarsinoma paru yang memiliki fusi gen RET.<sup>35</sup> Laporan awal uji klinis penggunaan cabozantinib pada tiga pasien adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET menunjukkan respon yang menjanjikan.<sup>36</sup> Demikian juga dengan beberapa laporan kasus tentang penggunaan inhibitor RET (sunitinib, cabozantinib), seluruhnya menunjukkan respon yang baik dan cepat pada pasien-pasien adenokarsinoma paru terkait fusi gen RET.<sup>37,38</sup>

Beberapa inhibitor multikinase lainnya yang juga diketahui memiliki aktivitas anti-RET yaitu sunitinib, sorafenib, motesanib, dan apatinib.<sup>19,39</sup> Mekanisme kerja dari obat-obat tersebut secara umum adalah dengan menghambat beberapa jalur kinase (inhibitor multikinase), termasuk yang dimediasi oleh gen RET, sehingga pertumbuhan sel dapat ditekan.<sup>40,41</sup> Di samping itu, sebuah studi *in vitro* dan *in vivo* yang dilakukan baru-baru ini mengemukakan bahwa fusi gen KIF5B-RET memicu invasi dan migrasi sel yang kemungkinan besar dimediasi oleh jalur sinyal Src. Apatinib sebagai salah satu inhibitor multikinase dengan aktivitas anti RET tidak hanya dapat melawan sel tumor dengan aktivitas sitotoksik tetapi juga dapat menghambat migrasi dan invasi dengan cara menekan jalur sinyal RET/Src tersebut.<sup>39</sup>

### RINGKASAN

Adenokarsinoma paru sebagai jenis kanker paru yang paling sering ditemukan saat ini diketahui memiliki hubungan yang kuat dengan beberapa *driver mutation*. Salah satu penemuan terbaru dalam hal ini adalah adanya fusi gen RET pada adenokarsinoma paru. Keberadaan fusi gen

RET ini ditemukan pada 1%-2% kasus adenokarsinoma paru, dan bersifat *mutually exclusive* terhadap mutasi gen lainnya seperti EGFR, KRAS, dan ALK yang sudah sangat dikenal pada jenis kanker paru tersebut.

Terdapat lima buah gen hingga saat ini yang ditemukan berfusi dengan gen RET pada adenokarsinoma paru, yaitu: KIF5B, CCDC6, NCOA4, TRIM33, dan CUX1. Jenis fusi gen RET yang paling sering ditemukan adalah fusi KIF5B-RET. Hasil ekspresi fusi gen RET dengan salah satu pasangan gen tersebut dapat menimbulkan perubahan struktur dan fungsi pada reseptor tirosin kinase RET yang kemudian menjadi dasar proses onkogenesisnya.

Adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET umumnya ditemukan pada pasien dengan jenis kelamin wanita, usia muda, dan tidak merokok. Riwayat paparan radiasi diduga sebagai salah satu faktor risiko timbulnya fusi gen ini. Secara mikroskopis, tampilan yang sering ditemukan pada adenokarsinoma dengan fusi gen RET adalah *solid signet ring-cell* dan *mucinous cribiform*. Untuk memastikan keberadaan fusi gen ini dapat dilakukan pemeriksaan dengan teknik FISH atau PCR, namun tidak menutup kemungkinan kelak dapat dilakukan dengan teknik yang lebih sederhana seperti teknik imunohistokimia.

Agen terapi dengan aktivitas anti-RET (vandetanib, cabozantinib, ponatinib, levantinib, sorafenib, motesanib, apatinib dan sunitinib) kini banyak yang telah memasuki uji klinis fase II dan masih berlangsung hingga kini. Beberapa jenis studi lainnya terhadap inhibitor RET juga menunjukkan kemampuan agen-agen inhibitor RET tersebut dalam melawan sel tumor sehingga semakin mendukung penggunaannya dalam terapi target pada adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tinjauan pustaka ini. Selain itu, ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada Ibu Endah Zuraidah, SSi. MEpid dan dr. Yayi Dwina B, MBiomed, Sp.PA yang telah meluangkan waktu di sela-sela kesibukan beliau untuk membantu dan membimbing saya dalam membuat tinjauan pustaka ini. Terima kasih pula kepada teman-teman Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi yang telah ikut memberikan masukan, dukung-

an, dan semangat selama proses pembuatan tinjauan pustaka ini. Semoga tinjauan pustaka ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

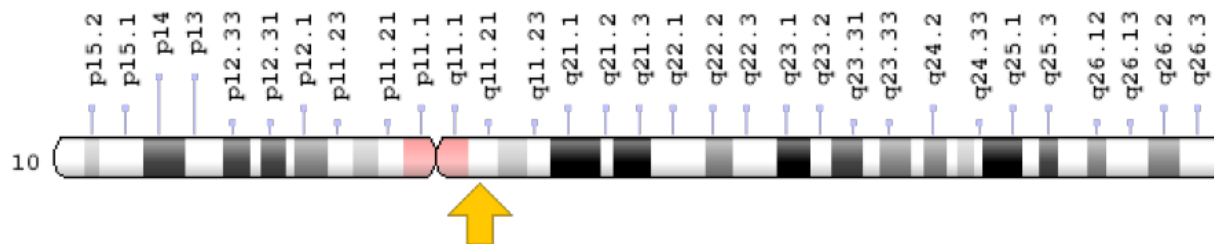
#### DAFTAR PUSTAKA

1. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 France: World Health Organization; 2017 [cited 2017 21 March]. Available from: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx)
2. Husain AN. Lung. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 9<sup>th</sup> ed. Canada: Elsevier Saunders; 2015. p. 712-21.
3. Sholl LM. Biomarkers in lung adenocarcinoma: a decade of progress. Arch Pathol Lab Med. 2015;139:469-80
4. Ju YS, Lee WC, Shin JY, Lee S, Bleazard T, Won JK, *et al*. A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing. Genome Res. 2012;22:436-45.
5. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, Otto G, Parker A, Jarosz M, *et al*. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. Nat Med. 2012;18:382-4.
6. Wang R, Hu H, Pan Y, Li Y, Ye T, Li C, *et al*. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2012;30:4352-9.
7. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, *et al*. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. Nat Med. 2012;18:378-81.
8. Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. Cell. 1985;42:581-8.
9. Ishizaka Y, Itoh F, Tahira T, Ikeda I, Sugimura T, Tucker J, *et al*. Human ret proto-oncogene mapped to chromosome 10q11.2. Oncogene. 1989;4:1519-21.
10. US National Library of Medicine. RET gene Bethesda: National Institute of Health; 2017 [cited 2017 30 May ]. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/RET#location>.
11. Gainor JF, Shaw AT. Novel targets in non-small cell lung cancer: ROS1 and RET fusions. Oncologist. 2013;18:865-75.

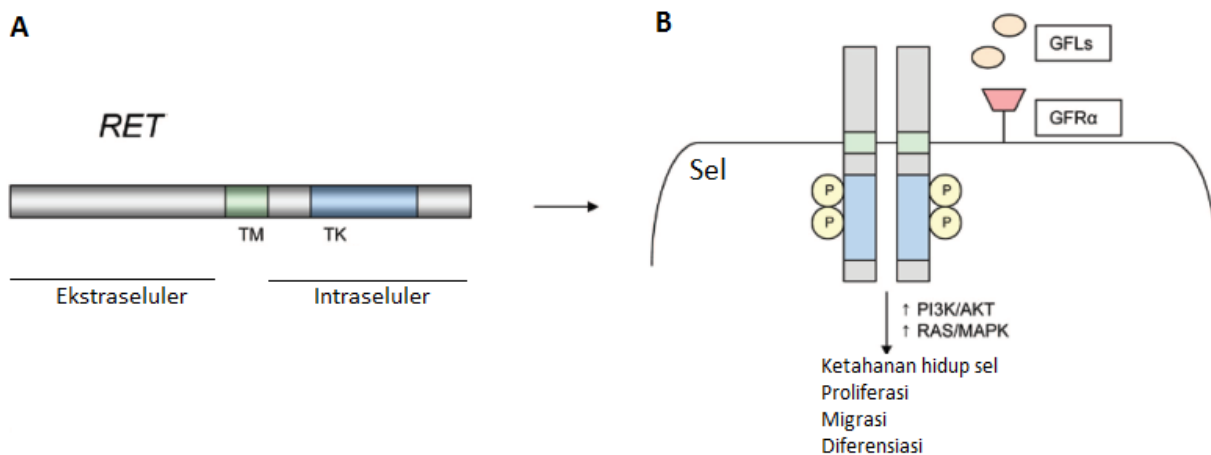
12. Schuchardt A, D'Agati V, Larsson-Blomberg L, Costantini F, Pachnis V. Defects in the kidney and enteric nervous system of mice lacking the tyrosine kinase receptor Ret. *Nature*. 1994;367:380-3.
13. Phay JE, Shah MH. Targeting RET receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16:5936-41.
14. Ibanez CF. Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5.
15. Mulligan LM. RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nat Rev Cancer*. 2014; 14: 173-86.
16. Tomuschat C, Puri P. RET gene is a major risk factor for Hirschsprung's disease: a meta-analysis. *Pediatr Surg Int*. 2015; 31: 701-10.
17. Maitra A. The endocrine system. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 9<sup>th</sup> ed. Canada: Elsevier Saunders; 2015. p.1092-100.
18. Suzuki M, Makinoshima H, Matsumoto S, Suzuki A, Mimaki S, Matsushima K, *et al*. Identification of a lung adenocarcinoma cell line with CCDC6-RET fusion gene and the effect of RET inhibitors in vitro and in vivo. *Cancer Sci*. 2013;104:896-903.
19. Bos M, Gardizi M, Schildhaus HU, Buettner R, Wolf J. Activated RET and ROS: two new driver mutations in lung adenocarcinoma. *Transl Lung Cancer Res*. 2013;2:112-21.
20. Lee SE, Lee B, Hong M, Song JY, Jung K, Lira ME, *et al*. Comprehensive analysis of RET and ROS1 rearrangement in lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2015;28:468-79.
21. Li S, Choi YL, Gong Z, Liu X, Lira M, Kan Z, *et al*. Comprehensive Characterization of Oncogenic Drivers in Asian Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2016;11:2129-40.
22. Mizukami T, Shiraishi K, Shimada Y, Ogiwara H, Tsuta K, Ichikawa H, *et al*. Molecular mechanisms underlying oncogenic RET fusion in lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2014;9:622-30.
23. Tsuta K, Kohno T, Yoshida A, Shimada Y, Asamura H, Furuta K, *et al*. RET-rearranged non-small-cell lung carcinoma: a clinicopathological and molecular analysis. *Br J Cancer*. 2014;110:1571-8.
24. Pao W, Hutchinson KE. Chipping away at the lung cancer genome. *Nat Med*. 2012; 18: 349-51.
25. Lin C, Wang S, Xie W, Chang J, Gan Y. The RET fusion gene and its correlation with demographic and clinicopathological features of non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Cancer Biol Ther*. 2015; 16: 1019-28.
26. Pan Y, Zhang Y, Li Y, Hu H, Wang L, Li H, *et al*. ALK, ROS1 and RET fusions in 1139 lung adenocarcinomas: a comprehensive study of common and fusion pattern-specific clinicopathologic, histologic and cytologic features. *Lung Cancer*. 2014;84:121-6.
27. Song Z, Yu X, Zhang Y. Clinicopathologic characteristics, genetic variability and therapeutic options of RET rearrangements patients in lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2016;101:16-21.
28. Qian Y, Chai S, Liang Z, Wang Y, Zhou Y, Xu X, *et al*. KIF5B-RET fusion kinase promotes cell growth by multilevel activation of STAT3 in lung cancer. *Mol Cancer*. 2014;13:176-85.
29. Dacic S, Luvison A, Evdokimova V, Kelly L, Siegfried JM, Villaruz LC, *et al*. RET rearrangements in lung adenocarcinoma and radiation. *J Thorac Oncol*. 2014;9:118-20.
30. Travis W, Noguchi M, Yatabe Y, Brambilla E, Nicholson A, Aisner S, *et al*. Tumours of the lung. In: Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG, editors. *WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus, and heart*. 4<sup>th</sup> ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2015. p. 9-50.
31. Michels S, Scheel AH, Scheffler M, Schultheis AM, Gautschi O, Aebbersold F, *et al*. Clinicopathological Characteristics of RET Rearranged Lung Cancer in European Patients. *J Thorac Oncol*. 2016;11:122-7.

Daftar Pustaka bersambung ke halaman 68

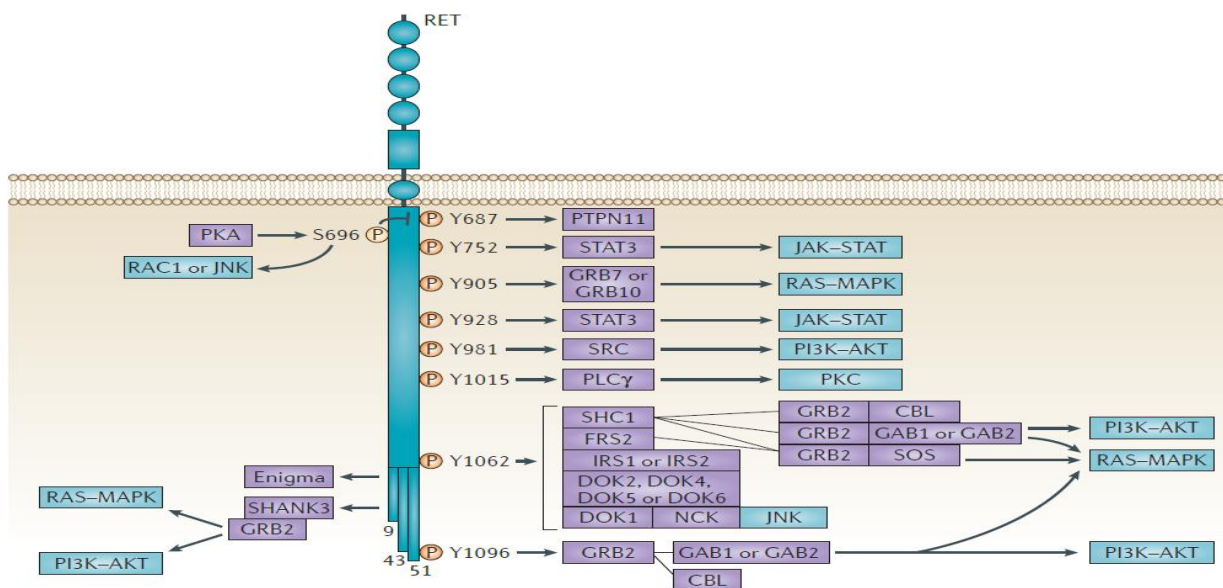




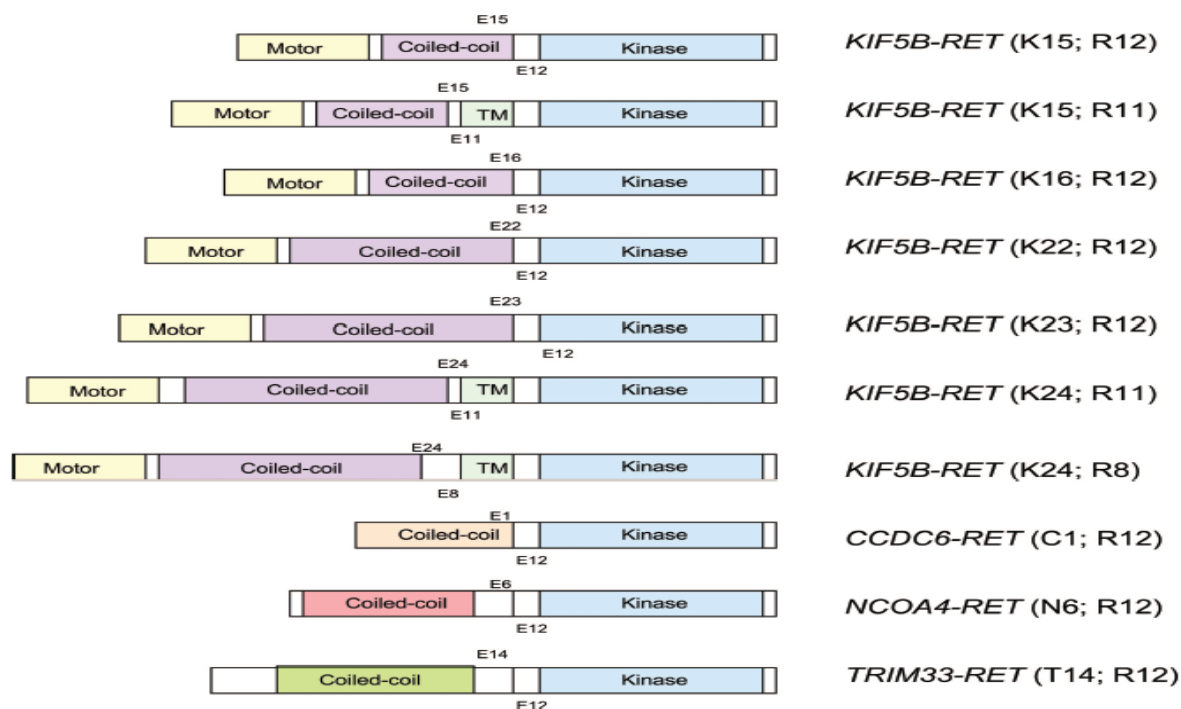
Gambar 1. Lokasi gen RET pada kromosom 10.<sup>10</sup>



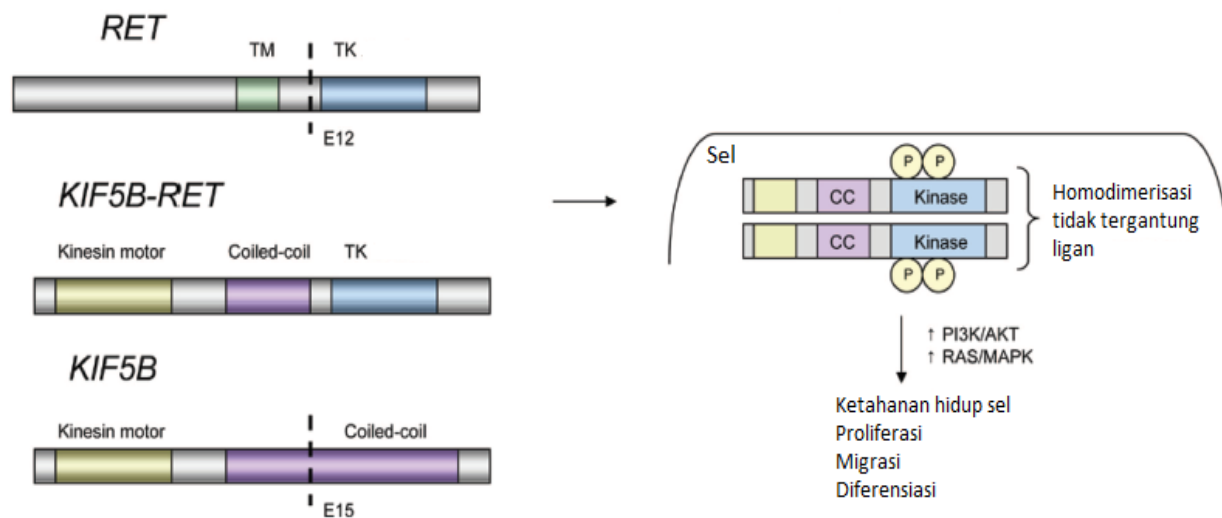
Gambar 2. Struktur dan aktivasi reseptor tirosin kinase RET dalam kondisi normal. A. Struktur reseptor tirosin kinase RET terdiri dari domain ekstraseluler, transmembran (TM), dan intraseluler tirosin kinase (TK). B. Aktivasi RET memerlukan interaksi antara *glial cell line-derived neurotrophic factor family ligand* (GFLs) dan GDNF family receptor  $\alpha$  (GFR $\alpha$ ).<sup>11</sup>



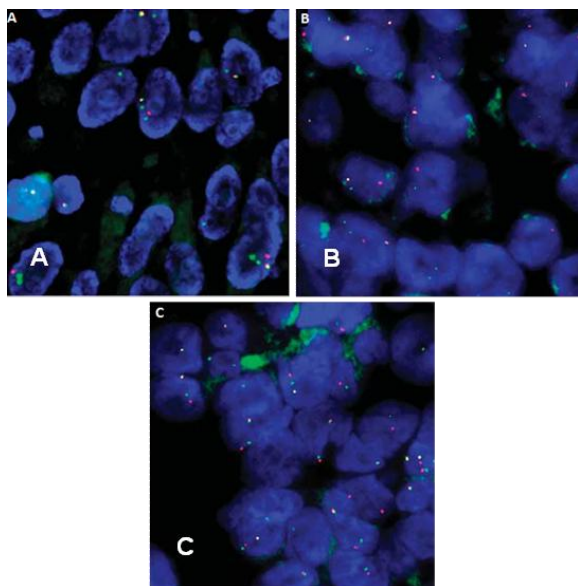
Gambar 3. Interaksi dan transduksi sinyal pada aktivasi reseptor tirosin kinase RET.<sup>15</sup>



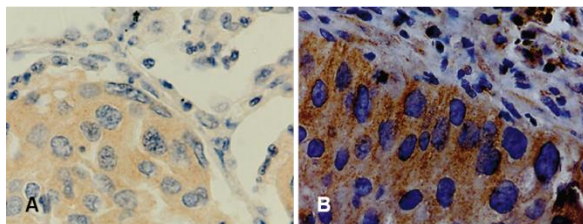
Gambar 4. Varian fusi RET, dan subvarian fusi KIF5B-RET pada adenokarsinoma paru.<sup>11</sup>



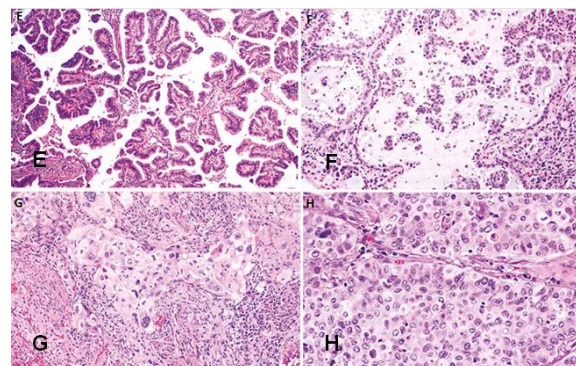
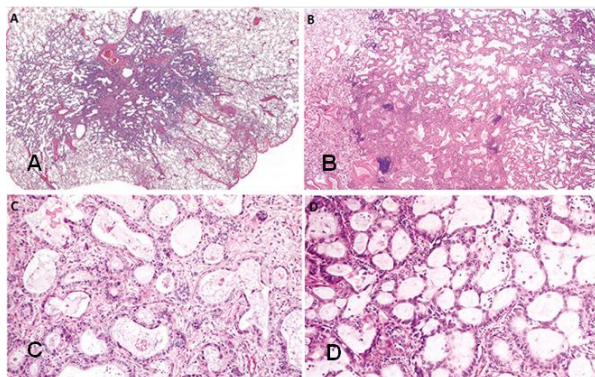
Gambar 5. Skema fusi KIF5B-RET. Domain *coiled-coil* yang berasal dari gen KIF5B dapat memicu homodimerisasi protein RET *chimeric* secara independen (tidak tergantung ligan) dan mengaktifkan sinyal pertumbuhan pada jalur di bawahnya.<sup>11</sup>



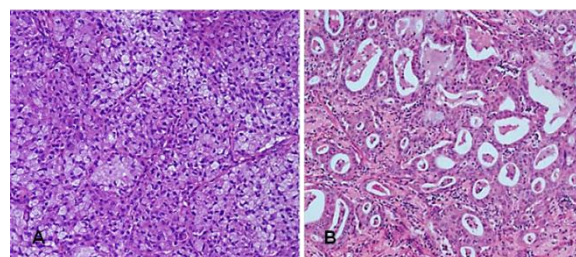
Gambar 6. Tampilan sinyal *fluorescence in situ hybridization* (FISH) pada adenokarsinoma paru dengan fusi gen RET. A.Pola 1F2G1O, fusi gen KIF5B-RET. B.Pola 1F1G1O, fusi gen CUX1-RET. C.Pola 1F1G1O, fusi gen CCDC6-RET.<sup>20</sup>



Gambar 7. A-B. Tampilan imunohistokimia pada adenokarsinoma paru dengan fusi KIF5B-RET. Sel menunjukkan reaksi yang positif (warna coklat) pada bagian sitoplasma. A. *Moderate RET staining*. B. *Strong RET staining*.<sup>6</sup>



Gambar 8. Subtipe adenokarsinoma invasif. A-B. *Lepidic predominant adenocarcinoma*. C. *Acinar predominant adenocarcinoma*. D. Pola kribriformis pada *acinar predominant adenocarcinoma*. E. *Papillary predominant adenocarcinoma*. F. *Micropapillary predominant adenocarcinoma*. G-H. *Solid predominant adenocarcinoma*.<sup>30</sup>



Gambar 9. A-B. Gambaran histologi adenokarsinoma paru dengan fusi RET. A.Tampilan *solid signet ring-cell*, fusi gen KIF5B-RET. B.Tampilan *mucinous cribriform*, fusi gen CCDC6-RET (pewarnaan hematoxilin dan eosin, pembesaran 200x).<sup>20,26</sup>

#### Lanjutan Daftar Pustaka

32. Plodkowski AJ, Drilon A, Halpenny DF, O'Driscoll D, Blair D, Litvak AM, *et al*. From genotype to phenotype: Are there imaging characteristics associated with lung adenocarcinomas harboring RET and ROS1 rearrangements? *Lung Cancer*. 2015; 90: 321-5.
33. Schoffski P, Elisei R, Müller S, Brose MS, Shah MH, Licitra LF, *et al*. An international, double-blind, randomized, placebo-controlled phase III trial (EXAM) of cabozantinib (XL184) in medullary thyroid carcinoma (MTC) patients (pts) with documented RECIST progression at baseline. *J Clin Oncol*. 2012;30:5508.
34. Wells SA, Jr., Robinson BG, Gagel RF, Dralle H, Fagin JA, Santoro M, *et al*. Vandetanib in patients with locally advanced

- or metastatic medullary thyroid cancer: a randomized, double-blind phase III trial. *J Clin Oncol.* 2012;30:134-41.
35. Kohno T, Tsuta K, Tsuchihara K, Nakaoku T, Yoh K, Goto K. RET fusion gene: translation to personalized lung cancer therapy. *Cancer Sci.* 2013;104:1396-400.
  36. Drilon A, Wang L, Hasanovic A, Suehara Y, Lipson D, Stephens P, *et al.* Response to Cabozantinib in patients with RET fusion-positive lung adenocarcinomas. *Cancer Discov.* 2013;3:630-5.
  37. Wu H, Shih JY, Yang JC. Rapid Response to Sunitinib in a Patient with Lung Adenocarcinoma Harboring KIF5B-RET Fusion Gene. *J Thorac Oncol.* 2015;10:e95-6.
  38. Mukhopadhyay S, Pennell NA, Ali SM, Ross JS, Ma PC, Velcheti V. RET-rearranged lung adenocarcinomas with lymphangitic spread, psammoma bodies, and clinical responses to cabozantinib. *J Thorac Oncol.* 2014; 9: 1714-9.
  39. Lin C, Wang S, Xie W, Zheng R, Gan Y, Chang J. Apatinib inhibits cellular invasion and migration by fusion kinase KIF5B-RET via suppressing RET/Src signaling pathway. *Oncotarget.* 2016;7:59236-44.
  40. Song M. Progress in Discovery of KIF5B-RET Kinase Inhibitors for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Med Chem.* 2015;58:3672-81.
  41. Song M, Kim SH, Yoon SK. Cabozantinib for the treatment of non-small cell lung cancer with KIF5B-RET fusion. An example of swift repositioning. *Arch Pharm Res.* 2015; 38: 2120-3.