

Fusi Gen *Neurotrophic Tyrosine Kinase* (NTRK) pada Melanoma

Maria Angela Putri Maharani¹
Shabrina Kiasati¹
Riesye Arisanty¹

¹Departemen Patologi Anatomi,
Fakultas Kedokteran Universitas
Indonesia

Penulis korespondensi:
dr. Maria Angela Putri Maharani, Sp.PA(K)
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran,
Universitas Indonesia
Jl. Salemba Raya No. 6,
Jakarta 10430, Indonesia.

ABSTRAK

Melanoma merupakan tumor ganas yang berasal dari sel melanosit. World Health Organization (WHO) mengklasifikasikan melanoma menjadi sembilan konsep *pathway* berdasarkan beberapa faktor, salah satunya adalah proses disregulasi genetik spesifik pada tumor. Disregulasi genetik yang kini telah diketahui adalah fusi gen *neurotrophic tyrosine kinase* (NTRK) pada *Spitz melanoma* dan *acral melanoma*. NTRK merupakan gen yang meregulasi protein *tropomyosin receptor kinase* (Trk) A, B dan C yang berfungsi dalam aktivasi berbagai kaskade sinyal melalui jalur MAPK, PLC- γ dan PI3K. Aktivasi jalur-jalur tersebut berperan dalam tumorigenesis pada melanoma. Inhibitor tirosin kinase kini digunakan untuk pengobatan kanker, sehingga pemahaman mengenai fusi NTRK pada melanoma menjadi penting.

Kata kunci: melanoma, fusi gen, *neurotrophic tyrosine kinase*, NTRK.

PENDAHULUAN

Melanosit merupakan sel penghasil melanin yang terletak pada epidermis kulit. Melanosit juga dapat ditemukan di folikel rambut, uvea, epitel mukosa dan meninges.¹ Tumor yang berasal dari melanosit disebut sebagai tumor melanositik. Tumor melanositik dapat bersifat ganas atau jinak. Tumor melanositik ganas disebut melanoma, sementara tumor melanositik jinak disebut nevus melanositik.²

Melanoma pada mulanya diklasifikasikan berdasarkan fitur klinis dan histologis menjadi 3 sub tipe: *nodular melanoma*, *superficial spreading melanoma*, dan *lentigo maligna melanoma*.³ Seiring perkembangan penelitian, kini melanoma diklasifikasikan berdasarkan data epidemiologis, klinis, patologis dan genomik menjadi sembilan konsep *pathway*. Terdapat tiga *pathway* melanoma yang berhubungan dengan paparan sinar ultraviolet (UV) dan lima *pathway* yang tidak berhubungan dengan paparan sinar UV (Tabel 1). Klasifikasi *pathway* melanoma juga mempertimbangkan disregulasi genetik spesifik yang berkorelasi dengan perubahan molekuler tumor.⁴

Melanoma muncul melalui akumulasi proses disregulasi sel yang menyebabkan aktivasi jalur pemicu pertumbuhan sel (*growth-promoting pathways*) dan hilangnya mekanisme supresi tumor (*tumour-suppressive mechanism*). Mekanisme disregulasi dalam menyebabkan alterasi genetik bervariasi dan bergantung pada tipe melanoma. Salah satu disregulasi genetik yang kini telah diketahui adalah adanya fusi gen *neurotrophic tyrosine kinase* (NTRK) pada *pathway* IV dan V yaitu pada *Spitz melanoma* dan *acral melanoma*.⁴

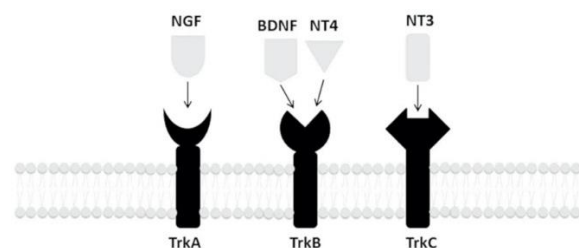
Tabel 1. Klasifikasi Melanoma Berdasarkan WHO.

Melanoma yang berhubungan dengan paparan sinar UV	Pathway I Pathway II Pathway III Pathway IV	CSD derajat rendah/ <i>superficial spreading melanoma</i> CSD derajat tinggi/ <i>lentigo maligna melanoma</i> <i>Desmoplastic melanoma</i> <i>Spitz melanoma</i>
Melanoma yang tidak berhubungan dengan paparan sinar UV	Pathway V Pathway VI Pathway VII Pathway VIII Pathway IX	<i>Acral melanoma</i> <i>Mucosal melanoma</i> Melanoma yang timbul pada nevus kongenital Melanoma yang timbul pada <i>blue nevus</i> <i>Uveal melanoma</i>

CSD: *cumulative sun damage*

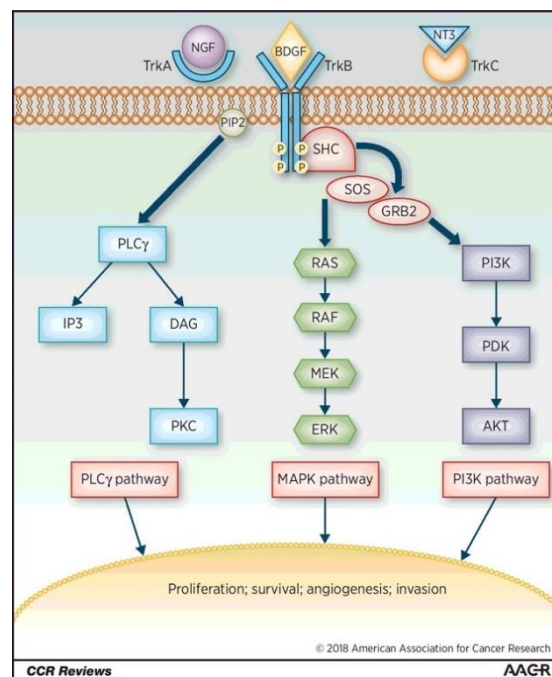
Gen *neurotrophic tyrosine kinase* (NTRK) dan protein *tropomyosin receptor kinase* (Trk)

Gen NTRK terdiri atas tiga jenis gen, yaitu NTRK1, NTRK2 dan NTRK3 yang terdapat pada kromosom 1q23.1, 9q21.33, dan 15q25.3. Gen tersebut meregulasi tiga jenis protein, yaitu *tropomyosin receptor kinase* A, B, dan C (TrkA, TrkB, dan TrkC).⁵ Trk merupakan protein trans-membran yang berfungsi sebagai reseptor tirosin kinase dan umumnya terdapat di jaringan neuron. Protein Trk memiliki peran penting dalam perkembangan dan fungsi sistem saraf.⁶ Protein ini teraktivasi jika berikatan dengan ligan neurotrophin spesifik: TrkA berikatan spesifik dengan neurotrophin *nerve growth factor* (NGF); TrkB berikatan spesifik dengan neurotrophin *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) dan *neurotrophin 4* (NT-4); dan TrkC berikatan dengan *neurotrophin 3* (NT-3).⁷ Setiap protein Trk memiliki tiga bagian, yaitu domain untuk berikatan dengan neurotrophin, regio trans-membran, serta bagian intraseluler dengan domain kinase (Gambar 1).⁶

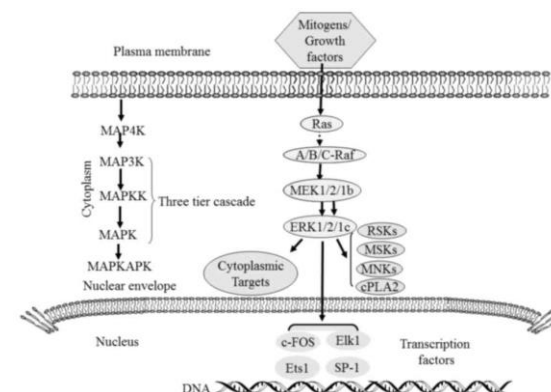
Gambar 1. Protein TrkA, TrkB, dan TrkC dengan ligan spesifik.⁸

Ikatan dari ligan neurotrophin spesifik pada protein Trk memicu oligomerisasi reseptor serta fosforilasi tirosin yang menyebabkan aktivasi dari berbagai jalur transduksi sinyal. TrkA yang berikatan dengan NGF akan mengaktivasi jalur *Mitogen activated protein kinase* (MAPK); TrkB yang berikatan dengan BDNF/NT-4 akan mengaktivasi jalur MAPK, *phospholipase C-γ* (PLC-γ) dan *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K);

dan TrkC yang berikatan dengan NT-3 akan mengaktivasi jalur PI3K (Gambar 2-4).^{5,6}

Gambar 2. Tiga jalur *downstream* dari aktivasi protein Trk: jalur MAPK, jalur PLC-γ, dan jalur PI3K.⁹

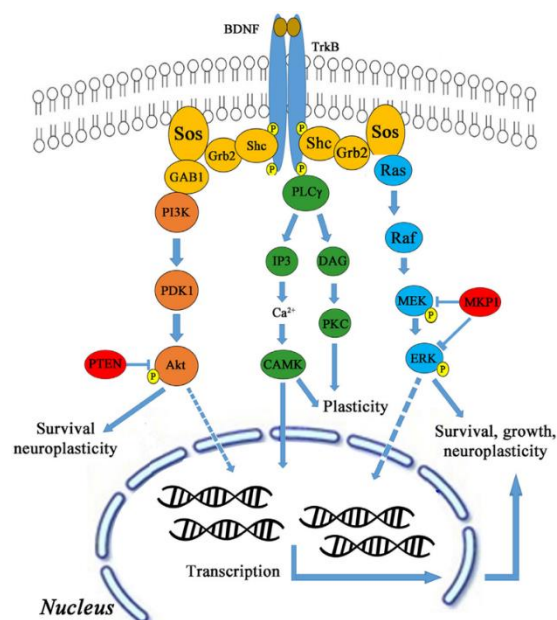
Aktivasi jalur MAPK melalui protein TrkA dan TrkB



Gambar 3. Jalur MAPK melalui protein TrkA dan TrkB.

Jalur MAPK terdiri atas kaskade sinyal Ras-Raf-MEK-ERK (Gambar 3).¹¹ Aktivasi jalur MAPK diawali dengan adanya ikatan antara neurotropin NGF dengan protein TrkA atau ikatan BDNF dengan protein TrkB.¹⁰ Proses selanjutnya, terjadi aktivasi dari protein-protein penghubung, yaitu *Src homology/collagen* (ShC), *growth factor receptor bound protein 2* (Grb2), dan *son of sevenless* (SOS). Protein-protein tersebut membentuk kompleks ShC-Grb2-SOS yang kemudian berikatan dan mengaktifasi protein Ras.¹² Protein Ras yang telah teraktivasi akan berikatan dengan Raf yang terdiri atas tiga isoform yaitu A-Raf, B-Raf, dan C-Raf. Raf yang aktif (terutama B-Raf) selanjutnya akan merekrut *Mitogen activated protein kinase/ERK kinase* (MEK1) yang kemudian akan menginduksi aktivasi dari *extracellular signal-regulated kinase* (ERK).¹¹ Aktivasi tersebut menyebabkan translokasi ERK dari sitoplasma ke nukleus. ERK di dalam nukleus akan memfosforilasi faktor transkripsi yang mengatur proliferasi, diferensiasi, apoptosis dan transkripsi sel.^{10,12} Aktivasi jalur MAPK pada akhirnya akan menyebabkan peningkatan aktivitas pertumbuhan dan proliferasi sel yang berkaitan erat dengan tumorigenesis.¹⁰

Aktivasi jalur PLC- γ melalui protein TrkB



Gambar 4. Ikatan BDNF dengan TrkB memicu aktivasi jalur PI3K (jingga), jalur PLC- γ (hijau), dan jalur MAPK (biru).¹³

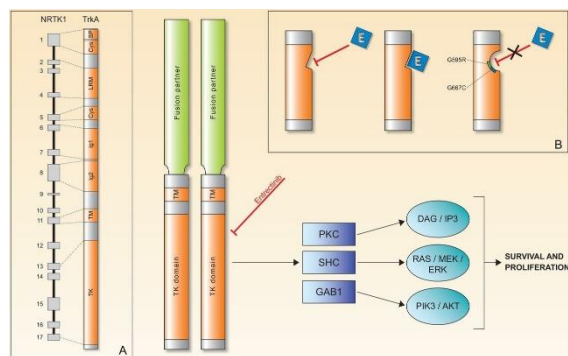
Aktivasi jalur PLC- γ diawali dengan adanya ikatan antara neurotropin BDNF atau NT-4 dengan protein TrkB (Gambar 4). Ikatan tersebut memicu kaskade PLC- γ yang diawali dengan hidrolisis membran *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate* (PIP₂) yang menghasilkan *diacylglycerol* (DAG) dan *inositol 1,4,5-triphosphate* (IP₃). DAG akan menyebabkan aktivasi protein kinase C (PKC), dan di waktu yang bersamaan IP₃ akan berinteraksi dengan membran sel dan meningkatkan pelepasan ion kalsium intraseluler. Keadaan kalsium intraseluler yang tinggi mengakibatkan PKC akan teraktivasi secara maksimal.¹⁴ Aktivasi dari PKC memiliki peran penting dalam tumorigenesis, hal ini karena sifatnya yang dapat mengatur ekspresi gen pada fungsi proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis sel.¹⁵

Aktivasi jalur PI3K melalui protein TrkB dan TrkC

Aktivasi jalur PI3K diawali dengan fosforilasi protein TrkB atau TrkC (Gambar 4). PI3K yang telah direkrut dan teraktivasi akan mengaktifasi Akt dan selanjutnya akan memfosforilasi dan menginisiasi perubahan pada berbagai faktor transkripsi yang mengatur berbagai proses fisiologis sel, terutama proliferasi, siklus dan apoptosis sel.¹⁶

Fusi gen NTRK

Fusi gen NTRK merupakan mekanisme paling umum dari aktivasi Trk onkogenik.⁷ Fusi gen dapat berupa fusi antara gen NTRK1, NTRK2 dan NTRK3 dengan gen lainnya ketika proses perbaikan DNA.⁹ Fusi gen NTRK umumnya berupa penataan ulang secara intrakromosomal atau interkromosomal sekuens 3' dari NTRK1, NTRK2 atau NTRK3 (yang mengandung domain kinase) dengan sekuens 5' gen pasangan fusi (Gambar 5).¹⁷ Produk dari fusi gen ini adalah sebuah onkoprotein kimerik (*chimeric oncoprotein*) yang dapat mengaktifasi domain kinase Trk tanpa bergantung ligan.⁷ Teraktivasinya jalur transduksi sinyal secara independen mendukung terjadinya tumorigenesis melalui proses disregulasi fisiologis sel, sesuai dengan mekanisme jalur spesifik yang telah dijelaskan sebelumnya.¹⁷

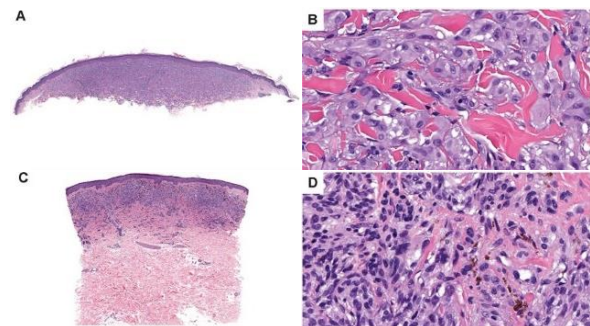


Gambar 5. Fusi gen NTRK menyebabkan aktivasi protein Trk tanpa bergantung ligan dan mendukung proses tumorigenesis.⁶

Melanoma dan fusi gen NTRK

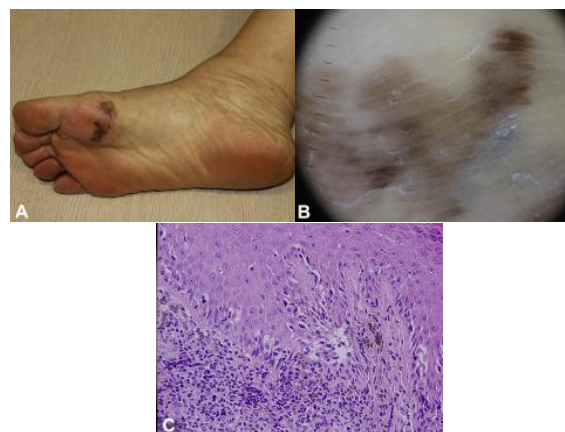
Fusi gen NTRK telah dilaporkan pada beberapa penyakit neoplasma, seperti kanker paru, kanker kolorektal, leukemia mieloid akut dan melanoma.⁵ Pada melanoma, fusi gen NTRK ditemukan pada sub tipe *Spitzoid melanoma* dan *acral melanoma*. Berdasarkan penelitian oleh Forschner dkk. (2020), fusi NTRK paling umum terjadi pada *Spitzoid melanoma* dengan prevalensi sebesar 21-29% dan *acral melanoma* dengan prevalensi sebesar 2,5%.⁹ Penelitian oleh Wiesner dkk. (2014) menemukan adanya fusi gen NTRK1 dengan gen LMNA dan TP53 pada melanoma.¹⁸ Penelitian lain menemukan fusi gen NTRK3 dengan gen MYO5A, ETV6 dan MYH9 pada kasus *Spitzoid melanoma*, serta fusi NTRK3 dengan TUBGCP3 pada *acral melanoma*.¹⁹

Spitzoid melanoma memiliki fitur klinis berupa plak, papula, atau nodul yang berubah atau membesar dengan lesi umumnya berukuran >6 mm, asimetris, tidak berbatas tegas, terdapat ulkus dan berdarah.⁴ Secara histopatologis, *spitzoid melanoma* terdiri atas epiteloid dan melanosit *spindled* dengan inti vesikular besar, sitoplasma homogen, dan adanya hiperplasia epidermal serta celah antar melanosit (Gambar 6).²⁰



Gambar 6. Gambaran histopatologik *Spitzoid melanoma*.²⁰

Acral melanoma memiliki fitur klinis berupa lesi pada tangan atau kaki, terutama pada sisi volar. Ciri umum lesi *acral melanoma* adalah plak besar, asimetris, berwarna hitam, dengan bentuk ireguler, dan sering disertai ulserasi. Secara histopatologik, sub tipe tersering dari *acral melanoma* adalah *acral lentiginous melanoma* (ALM) diikuti melanoma nodular dan *superficial spreading melanoma*. ALM menunjukkan pola *radial growth pattern* (RGP) berupa sel-sel melanosit atipik yang berproliferasi dengan karakterisasi lentiginosa (Gambar 7).⁴



Gambar 7. A-B. Gambaran makroskopis. C. histopatologik *acral melanoma*.⁴

Fusi NTRK pada melanoma dapat dinilai menggunakan beberapa pemeriksaan, seperti imunohistokimia, *fluorescence in situ hybridization* (FISH), *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR), dan *next-generation sequencing* (NGS).²¹ Salah satu mekanisme pengobatan kanker terkini adalah dengan menginhibisi fusi NTRK pada tumor.²² Inhibitor NTRK generasi pertama, larotrectinib dan entrectinib, telah menunjukkan respon yang baik sebagai terapi pada tumor dengan fusi NTRK.⁷ Larotrectinib dan entrectinib juga memiliki profil keamanan yang lebih baik dibandingkan inhibitor tirosin kinase lainnya, sehingga deteksi fusi NTRK pada melanoma memiliki kepentingan untuk pemilihan terapi.^{7,22} Deteksi fusi NTRK juga dapat digunakan sebagai biomarker prognostik pada karsinoma tiroid, namun belum terdapat studi yang cukup untuk menilai prognosis pada melanoma dengan fusi NTRK.²³

KESIMPULAN

Melanoma merupakan keganasan pada tumor melanositik yang disebabkan oleh berbagai disregulasi genetik, salah satunya

adalah fusi gen NTRK yang terdapat pada *Spitz melanoma* dan *acral melanoma*. Gen NTRK berfungsi untuk meregulasi protein TrkA, TrkB, dan TrkC. Aktivasi dari protein Trk menyebabkan aktivasi jalur MAPK, PLC- γ dan PI3K yang mengatur proliferasi, diferensiasi, apoptosis dan transkripsi sel, sehingga berperan dalam tumorigenesis. Hingga kini, telah diketahui beberapa fusi gen spesifik NTRK pada melanoma, yaitu NTRK1-LMNA, NTRK3-MYO5A, NTRK3-ETV6, NTRK3-MYH9 dan NTRK3-TUBGCP3. Pemeriksaan fusi gen NTRK dapat dilakukan menggunakan imunohistokimia, FISH, RT-PCR dan NGS. Pemeriksaan perlu dilakukan untuk kepentingan pengobatan karena inhibitor NTRK generasi pertama, larotrectinib dan entrectinib, telah menunjukkan respon yang baik pada pengobatan kanker dengan fusi NTRK. Deteksi fusi NTRK juga memiliki kemungkinan sebagai biomarker prognostik pada melanoma, namun penelitian lebih lanjut masih diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ostrowski SM, Fisher DE. Biology of Melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2021 Feb;35(1):29–56. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889858820301088>
- Mooi WJ, Krausz T. Melanocytic Tumors. In: *Encyclopedia of Cancer* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 2204–5. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-16483-5_3607
- Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. *In Vivo* [Internet]. 2014;28(6):1005–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25398793>
- Elder DD, Massi D, Scolyer RA, Willmetts R. WHO Classification of Skin Tumours. 4th ed. WHO; 2018.
- Weiss LM, Funari VA. NTRK fusions and Trk proteins: what are they and how to test for them. *Hum Pathol* [Internet]. 2021 Jun;112:59–69. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0046817721000484>
- Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S. NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open* [Internet]. 2016;1(2):e000023. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2059702920325795>
- Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2018 Dec 17;15(12):731–47. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41571-018-0113-0>
- Meng L, Liu B, Ji R, Jiang X, Yan X, Xin Y. Targeting the BDNF/TrkB pathway for the treatment of tumors (Review). *Oncol Lett* [Internet]. 2018 Dec 20; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.9854>
- Forschner A, Forchhammer S, Bonzheim I. NTRK gene fusions in melanoma: detection, prevalence and potential therapeutic implications. *JDDG J der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft* [Internet]. 2020 Dec 12;18(12):1387–92. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dgd.14160>
- Guo Y, Pan W, Liu S, Shen Z, Xu Y, Hu L. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis (Review). *Exp Ther Med* [Internet]. 2020 Jan 15; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2020.8454>
- Dillon M, Lopez A, Lin E, Sales D, Perets R, Jain P. Progress on Ras/MAPK Signaling Research and Targeting in Blood and Solid Cancers. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Oct 10;13(20):5059. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/20/5059>
- Arkun Y, Yasemi M. Dynamics and control of the ERK signaling pathway: Sensitivity, bistability, and oscillations. Thattai M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2018 Apr 9;13(4):e0195513. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0195513>
- Alam MA, Subramanyam Rallabandi VP, Roy PK. Systems Biology of Immunomodulation for Post-Stroke Neuroplasticity: Multimodal Implications of Pharmacotherapy and Neurorehabilitation. *Front Neurol* [Internet]. 2016 Jun 28;7. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fneur.2016.00094/abstract>
- Ramos KS, Weber TJ. Introduction and Overview of Alterations in Cell Signaling. In:

- Comprehensive Toxicology [Internet]. Elsevier; 2010. p. 447–71. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080468846002244>
15. He S, Li Q, Huang Q, Cheng J. Targeting Protein Kinase C for Cancer Therapy. *Cancers* (Basel) [Internet]. 2022 Feb 22;14(5):1104. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/5/1104>
16. Rascio F, Spadaccino F, Rocchetti MT, Castellano G, Stallone G, Netti GS, et al. The Pathogenic Role of PI3K/AKT Pathway in Cancer Onset and Drug Resistance: An Updated Review. *Cancers* (Basel) [Internet]. 2021 Aug 5;13(16):3949. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/16/3949>
17. Kheder ES, Hong DS. Emerging Targeted Therapy for Tumors with NTRK Fusion Proteins. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2018 Dec 1;24(23):5807–14. Available from: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/24/23/5807/81150/Emerging-Targeted-Therapy-for-Tumors-with-NTRK>
18. Wiesner T, He J, Yelensky R, Esteve-Puig R, Botton T, Yeh I, et al. Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas. *Nat Commun* [Internet]. 2014 Jan 20;5(1):3116. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms4116>
19. Marchetti A, Ferro B, Pasciuto MP, Zampacorta C, Buttitta F, D'Angelo E. NTRK gene fusions in solid tumors: agnostic relevance, prevalence and diagnostic strategies. *Pathologica* [Internet]. 2022 Jun;114(3):199–216. Available from: <https://www.pathologica.it/article/view/787>
20. Raghavan SS, Peternel S, Mully TW, North JP, Pincus LB, LeBoit PE, et al. Spitz melanoma is a distinct subset of spitzoid melanoma. *Mod Pathol* [Internet]. 2020 Jun;33(6):1122–34. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0893395222008407>
21. Xu C, Si L, Wang W, Li Z, Song Z, Wang Q, et al. Expert consensus on the diagnosis and treatment of NTRK gene fusion solid tumors in China. *Thorac Cancer* [Internet]. 2022 Nov 20;13(21):3084–97. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1759-7714.14644>
22. Lezcano C, Shoushtari AN, Ariyan C, Hollmann TJ, Busam KJ. Primary and Metastatic Melanoma With NTRK Fusions. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2018 Aug;42(8):1052–8. Available from: <https://journals.lww.com/00000478-201808000-00007>
23. Manea CA, Badiu DC, Ploscaru IC, Zgura A, Bacinschi X, Smarandache CG, et al. A review of NTRK fusions in cancer. *Ann Med Surg* [Internet]. 2022 Jul;79. Available from: <https://journals.lww.com/10.1016/j.amsu.2022.103893>