

Riarrangiamenti di RET nelle neoplasie polmonari: quando è bene insistere nella ricerca di oncodriver

ANNAMARIA CATINO¹, PIA PERROTTI¹, SANDRO CASSIANO¹, MICHELE MONTRONE¹, VITO LONGO¹, DOMENICO GALETTA¹

¹SSD Oncologia Medica per la Patologia Toracica, IRCCS Istituto Tumori "Giovanni Paolo II", Bari.

Pervenuto l'8 febbraio 2021. Accettato il 10 febbraio 2021.

Riassunto. Introduzione. I riarrangiamenti del gene RET hanno destato un crescente interesse negli ultimi anni, data la disponibilità di terapie target sempre più efficaci e meglio tollerate. La ricerca di tali alterazioni geniche nei pazienti affetti da adenocarcinoma polmonare in stadio avanzato è diventata parte integrante dell'inquadramento biomolecolare della neoplasia, al fine di offrire un'opzione terapeutica selettiva anche in forme rare, ma insorgenti nell'ambito di neoplasie considerate "big killer" come le neoplasie polmonari che rappresentano la più frequente causa di morte cancro-correlata nel mondo. Grazie all'introduzione di tecniche moderne di biologia molecolare come la comprehensive genome profiling (CGP), che si è aggiunta alla immunocistochemica (IHC) e all'ibridazione *in situ* con fluorescenza (FISH), mediante l'impiego di tecniche di sequenziamento genico come la next generation sequencing (NGS) sia su tessuto che su plasma, è possibile individuare più agevolmente alterazioni rare ma potenzialmente trattabili con farmaci a bersaglio biomolecolare. Tale profilazione biomolecolare completa va effettuata preferibilmente alla diagnosi, al fine di non trascurare la possibilità di un trattamento target se indicato, ma nel corso della malattia è possibile e auspicabile completare o rivalutare l'assetto biomolecolare, che può cambiare anche per l'insorgenza di meccanismi di resistenza ai farmaci, mediante re-biopsia tissutale o mediante test su plasma, cioè la cosiddetta "biopsia liquida". **Caso clinico.** Il caso qui presentato riguarda un paziente affetto da adenocarcinoma polmonare in stadio avanzato e pretrattato con multiple linee di chemio e immunoterapia; all'ulteriore progressione di malattia, non essendo stato possibile ottenere il pannello biomolecolare completo alla diagnosi e con le biopsie tissutali ripetute durante il decorso della malattia, il paziente è stato sottoposto a test NGS su biopsia liquida che ha evidenziato la fusione del gene RET. **Conclusioni.** Il caso descritto sottolinea l'importanza della determinazione biomolecolare completa in quanto offre la possibilità di individuare target correlati a importanti e innovative opzioni terapeutiche; inoltre viene posta ulteriormente in evidenza l'utilità delle tecniche di CGP applicabili sia a materiale tissutale che su plasma.

Parole chiave. Adenocarcinoma polmonare, biopsia liquida, comprehensive genome profiling, oncogenic drivers, riarrangiamenti gene RET, selpercatinib.

RET rearrangements in advanced lung cancer: a target to always look for.

Summary. Introduction. RET rearrangements have been recently aroused growing interest, due to the availability of target therapies increasingly active and safe. The search for these oncogenic alterations in patients with advanced lung adenocarcinoma has become an integral part of the biomolecular tumoral assessment, in order to possibly provide a selective therapeutical option also for rare subgroups of patients, but belonging to lung cancer that is considered a "big killer", representing the most frequent cause of cancer-related death worldwide. Following to the introduction of modern biomolecular techniques, such as the comprehensive genome profiling (CGP), that has been added to the immunohistochemistry (IHC) and the "in situ fluorescent ibridation" (FISH), the availability of techniques based on genomic sequencing such as the next generation sequencing (NGS), achievable either on tumoral tissue or on plasma, has made it easier to identify oncogenic alterations that, although rare, are potentially treatable with molecularly targeted drugs. A complete molecular assessment should preferable be obtained at the first diagnosis, in order not to neglect the possibility of using target drugs if indicated, but it is possible and desirable to complete or to re-determine the biomolecular profile also during the clinical course, due to the possibility of spontaneous or drug-induced resistance mechanisms that can modify the biomolecular tumoral characteristics; this reassessment is achievable both through tissutal rebiopsy and by plasma test, the so-called "liquid biopsy". **Clinical case.** In this report, we describe the case of a patient with advanced lung adenocarcinoma, pretreated with multiple chemo- and immuno-therapeutic lines of treatment; at baseline, the biomolecular profile was not complete, as well as during the clinical course through repeated re-biopsies. **Conclusions.** At the time of further disease progression, a liquid biopsy with NGS revealed the presence of a RET rearrangement. This clinical case underscores the importance of a complete biomolecular assessment in order to identify target linked to effective and innovative treatment options; it is also highlighted the usefulness of the modern CGP techniques, applicable to tumoral tissue and plasma.

Key words. Comprehensive genome profiling, liquid biopsy, lung adenocarcinoma, oncogenic drivers, RET rearrangements, selpercatinib.

Introduzione

Tra le alterazioni genomiche poco comuni e suscettibili di trattamento target, i riarrangiamenti di RET hanno recentemente destato crescente interesse soprattutto nell'ambito della cura delle neoplasie polmonari non a piccole cellule (non-small cell lung cancer - NSCLC).

RET è un recettore di tipo tirosin-chinasi coinvolto nell'equilibrio di tessuti normali in fase adulta tra cui il sistema ematopoietico e neuroendocrino¹. Alterazioni del gene RET intervengono nella patogenesi di diverse forme tumorali dell'uomo, sia attraverso riarrangiamenti cromosomici con fusione del dominio con una proteina (per es., CCDC6/PTC1, KIF5B, NCOA4/PTC3), sia attraverso mutazioni puntiformi attivanti la chinasi. Riarrangiamenti di RET sono rilevabili in circa il 2% delle neoplasie polmonari (NSCLC); il più comune partner di fusione è rappresentato dal gene KIF5B²⁻⁴. Negli ultimi anni, grazie alla maggiore diffusione delle tecniche di next generation sequencing (NGS), la rilevazione dei riarrangiamenti di RET è diventata più agevole, non solo nelle forme di adenocarcinoma polmonare ma anche, seppur in una quota minore, in pazienti affetti da neoplasie del colon, della mammella ed ematologiche⁵⁻¹¹.

Inoltre, nelle forme di carcinoma midollare della tiroide si rilevano con elevata frequenza mutazioni attivanti di RET¹². La scoperta e lo sviluppo di farmaci target anche nei confronti di questo *oncogenic driver* ha dato un importante impulso alla ricerca di tale alterazione genetica, presente in bassa percentuale nei pazienti con tumore polmonare, ma che tuttavia rappresenta la neoplasia maligna più diffusa al mondo. La possibilità di offrire una chance terapeutica a pazienti affetti da tumore polmonare RET-positivi diventa pertanto oggi un obiettivo da perseguire con tenacia. Grazie all'introduzione di tecniche moderne di biologia molecolare come la comprehensive genome profiling (CGP), che si è aggiunta alla immunohistochimica (IHC) e all'ibridazione *in situ* con fluorescenza (FISH), mediante l'impiego di tecniche di sequenziamento genico come la NGS sia su tessuto che su plasma, è possibile individuare più agevolmente alterazioni rare ma potenzialmente trattabili con farmaci a bersaglio biomolecolare¹³.

Tale profilazione biomolecolare completa va effettuata preferibilmente alla diagnosi, al fine di non trascurare la possibilità di un trattamento target se indicato, ma nel corso della malattia è possibile e auspicabile completare o rivalutare l'assetto biomolecolare, che può cambiare anche per l'insorgenza di meccanismi di resistenza ai farmaci, mediante re-biopsia tissutale o mediante test su plasma, cioè la cosiddetta biopsia liquida. Negli ultimi anni, farmaci multichinasi-inibitori (per es., cabozantinib, sorafenib, vandetanib) sono entrati in studio per questi pazienti, presentando alcune importanti caratteristiche che ne hanno finora limitato l'uso clinico, tra cui la tossicità "off-target", dovuta all'inibizione di altri target come

EGFR e VEGFR2, oppure un profilo farmacocinetico non favorevole con conseguente accumulo di farmaco e prolungata emivita che ne aumentano la tossicità senza potenziarne l'efficacia. Il recente avvento di farmaci tirosin-chinasi inibitori di RET altamente selettivi ha consentito di ottenere un'attività potente nei confronti di queste neoplasie, con una importante riduzione della tossicità legata agli effetti off target (chinasi- e non chinasi-dipendenti). Del tutto recentemente, due farmaci di ultima generazione con attività altamente selettiva nei confronti dei riarrangiamenti di RET hanno ottenuto importanti risultati nel trattamento di pazienti con adenocarcinoma polmonare portatori di tale *oncogenic driver*.

Dopo i dati preliminari riportati in studi di fase I-II, selpercatinib e pralsetinib hanno recentemente confermato di ottenere una ragguardevole efficacia clinica unita a una eccellente tollerabilità¹⁴⁻¹⁹, inserendosi pertanto nell'armamentario terapeutico di queste forme di neoplasia. In questo articolo riportiamo la storia clinica di un paziente affetto da adenocarcinoma polmonare in stadio avanzato e pluritratato nel quale la riprofilazione molecolare mediante biopsia liquida e tecnica di NGS (Foundation One Medicine) ha evidenziato il riarrangiamento di RET consentendo l'avvio del trattamento con selpercatinib con ottimi risultati.

Caso clinico

Nel settembre 2015 giungeva alla nostra attenzione un paziente di genere maschile di 67 anni, non fumatore, con diagnosi di adenocarcinoma polmonare del lobo superiore sinistro in stadio IV per interessamento pleurico, linfonodale e osseo. Il paziente presentava una fibrillazione atriale cronica e ipertensione arteriosa in terapia medica. Il profilo biomolecolare disponibile alla diagnosi su microbiopsia bronchiale effettuata in corso di broncoscopia risultava negativo per EGFR, ALK, ROS1, PDL-1, pertanto il paziente veniva avviato a chemioterapia sistemica con cisplatino-pemetrexed. La prima linea di trattamento otteneva una remissione parziale e la terapia di mantenimento con pemetrexed è stata proseguita fino a novembre 2017 per 20 cicli complessivi; a partire da gennaio 2018 il paziente iniziava la seconda linea di terapia con nivolumab ottenendo una buona risposta della durata di 20 mesi, nel corso della quale veniva sottoposto a radioterapia encefalica stereotassica su 3 lesioni cerebrali. In ottobre 2019, a seguito di progressione polmonare di malattia, veniva effettuato prelievo per biopsia liquida con tecnica NGS su plasma utilizzando FoundationOne Liquid di Foundation Medicine. L'esame evidenziava la fusione di RET, pertanto veniva proposto trattamento con selpercatinib mediante programma di accesso allargato, che il paziente iniziava in gennaio 2020 dopo essere stato sottoposto a intervento di finestra pleuropericardica per l'insorgenza di versamento neoplastico pleuropericardico.

Il trattamento con selpercatinib alla dose standard di 160 mg due volte al giorno ha consentito una risposta parziale secondo criteri RECIST 1.1 dopo 3 mesi di terapia insieme con un rapido miglioramento clinico che ha portato a un recupero del Performance Status ECOG da 2 gradualmente fino all'attuale ECOG 0; nella figura 1 è possibile notare il quadro TAC basale e il miglioramento già dopo 3 mesi di trattamento (figura 1, A-D). Non sono state osservate tossicità di rilievo e il paziente a oggi assume regolarmente il farmaco con persistenza della risposta clinica e radiologica dopo 12 mesi di trattamento.

Discussione

Il caso clinico qui descritto presenta alcune interessanti peculiarità. Innanzitutto, la condizione di non fumatore e la incompleta profilazione molecolare alla diagnosi hanno portato a non interrompere la ricerca di un possibile driver molecolare nel corso della storia clinica. Frequentemente nei pazienti con malattia in stadio avanzato la diagnosi iniziale viene effettuata su piccole biopsie tissutali, pertanto è importante tornare a valutare e completare l'assetto biomolecolare in quanto negli ultimi anni sono entrati in uso clinico farmaci target innovativi; inoltre, la condizione di non fumatore lasciava supporre la presenza di una alterazione molecolare, cui si associava la prolungata risposta al trattamento con pemetrexed, peraltro descritta frequentemente anche nelle forme con riarrangiamento di RET^{20,21}. Un altro dato clinico interessante era la presenza di metastasi cerebrali spesso associate alle forme di adenocarcinoma con *oncogenic drivers* e in particolare descritte nel 25% dei casi di pazienti con riarrangiamenti di RET²².

Oggi, e il caso riportato lo dimostra, la difficoltà di ottenere materiale tissutale al fine di ottenere una *reassessment* biomolecolare può essere spesso superata mediante l'uso della biopsia liquida^{13,23}; infatti, nel caso clinico qui descritto il materiale tissutale ottenuto durante il decorso della malattia mediante microbiopsie in diverse sedi di metastasi non era mai stato adeguato a rilevare correttamente l'assetto biomolecolare. Mediante biopsia liquida con tecnica NGS su plasma (Foundation One) si è potuta rilevare, dopo 4 anni di storia clinica, l'alterazione di RET, che ha consentito di offrire una nuova importante opzione terapeutica al paziente.

Un ulteriore motivo di riflessione su questo caso clinico ce lo fornisce la buona e prolungata risposta terapeutica ottenuta con il trattamento immunoterapico; la responsività delle forme di adenocarcinoma polmonare con alterazioni oncogeniche al trattamento con *immune checkpoint inhibitors* è dibattuta, ma generalmente i pazienti con mutazioni si ritengono non sensibili^{18,20,24,25}.

Un dato certamente importante e che conferma la letteratura in merito²⁴ è il beneficio sull'outcome e la sopravvivenza dei pazienti con *oncogenic drivers* che riescano ad accedere alla terapia target specifica nel corso della storia clinica. Il caso qui riportato evidenzia pertanto l'utilità di ricercare e offrire una chance terapeutica anche a un paziente pluritratato; inoltre, è degno di rilievo il beneficio clinico della terapia target che è stato immediato e persistente nonostante i multipli trattamenti pregressi e l'importante progressione di malattia che aveva reso necessario l'intervento di finestra pleuropericardica. A distanza di 12 mesi dall'inizio della terapia con selpercatinib, il paziente riporta un netto miglioramento della sua qualità di vita (Performance Status ECOG modificato da 2 a 0), derivante dalla buona

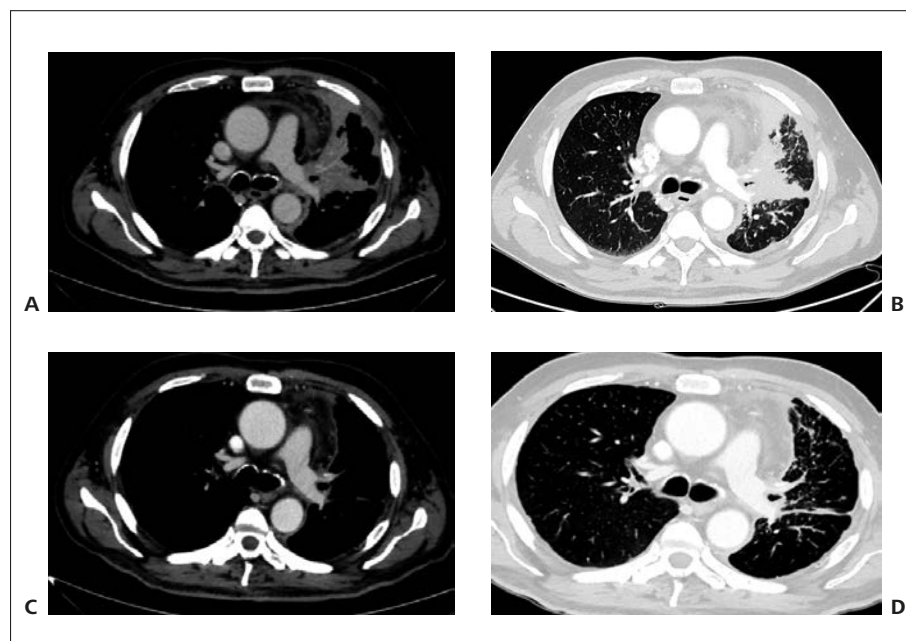


Figura 1. A-B. TAC basale. La lesione principale in sede ilare sinistra ingloba il bronco tributario per il lobo superiore; ipoespansione dei segmenti polmonari anteriori con diffuso impegno interstiziale omolaterale e minuti noduli contestuali. C-D. TAC di rivalutazione dopo tre mesi di terapia. Riduzione dimensionale della colata di tessuto eteroplasico con epicentro all'ilo sinistro, disposta lungo il profilo mediastinico medio e inferiore.

tollerabilità del farmaco e dalla risposta terapeutica ottenuta. Infine, in questa storia clinica a nostro parere si conferma l'utilità della biopsia liquida, per la sua affidabilità, la ripetibilità e la non invasività, elemento quest'ultimo fondamentale quando si considerano pazienti con neoplasie polmonari in stadio avanzato, specialmente se sottoposti a multiple linee terapeutiche.

Conclusioni

Nel caso qui descritto si sottolinea l'importanza della determinazione biomolecolare completa nei pazienti affetti da NSCLC; a tal fine un enorme contributo deriva dalle moderne tecniche di CGP applicabili sia a materiale tissutale che su plasma, che consentono lo screening di pannelli genici estremamente ampi.

La possibilità di individuare *oncogenic drivers* anche rari ma correlati a terapie più efficaci e ben tollerate e dunque una medicina sempre più personalizzata rappresenta un obiettivo fondamentale da perseguire in oncologia toracica, anche in considerazione del miglioramento della qualità di vita di questi pazienti.

Conflitto di interessi: gli autori dichiarano l'assenza di conflitto di interessi.

Bibliografia

- Mulligan LM. RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nat Rev Cancer* 2014; 14: 173-86.
- Ferrara R, Auger N, Auclin E, et al. Clinical and translational implications of RET rearrangements in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2017; 13: 27-45.
- Bronte G, Ulivi, Verlicchi A, et al. Targeting RET-rearranged non-small-cell lung cancer: future prospects: future prospects. *Lung Cancer (Auckl)* 2019; 10: 27-36.
- Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 4352-9.
- Ju YS, Lee WC, Shin JY, 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.
- Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med* 2012; 18: 375-7.
- Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med* 2012; 18: 382-4.
- Stransky N, Cerami E, Schalm S, et al. The landscape of kinase fusions in cancer. *Nat Commun* 2014; 5: 4846.
- Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med* 2012; 18: 378-81.
- Bossi D, Carlomagno F, Pallavicini I, et al. Functional characterization of a novel FGFR1OP-RET rearrangement in hematopoietic malignancies. *Mol Oncol* 2014; 8: 221-31.
- Boulay A, Breuleux M, Stephan C, et al. The Ret receptor tyrosine kinase pathway functionally interacts with the ERalpha pathway in breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 3743-51.
- Agrawal N, Jiao Y, Sausen M, et al. Exomic sequencing of medullary thyroid cancer reveals dominant and mutually exclusive oncogenic mutations in RET and RAS. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E364-9.
- Esagian SM, Grigoriadou GI, Nikas IP, et al. Comparison of liquid-based to tissue-based biopsy analysis by targeted next generation sequencing in advanced non-small cell lung cancer: a comprehensive systematic review. *J Cancer Res Clin Oncol* 2020; 146: 2051-66.
- Drilon A, Hu ZI, Lai GGY, et al. Targeting RTE-driven cancers: lessons from evolving preclinical and clinical landscapes. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15: 157-67.
- Drilon A, Oxnard G, Wirth L, et al. Registrational results of LIBRETTO-001: a phase 1/2 trial of LOXO-292 in patients with RET fusion-positive lung cancers. *J Thorac Oncol* 2019; 14: S6-7.
- Gainor JF, Lee DH, Curigliano G, et al. Clinical activity and tolerability of BLU-667, a highly potent and selective RET inhibitor, in patients (pts) with advanced RET-fusion+ non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2019; 37: 9008.
- Subbiah V, Yang D, Velcheti V, et al. State-of-the-art strategies for targeting RET-dependent cancers. *J Clin Oncol* 2020; 38: 1209-21.
- Tan AC, Seet AOL, Lai GGY, et al. Molecular characterization and clinical outcomes in RET-rearranged NSCLC. *J Thorac Oncol* 2020; 15: 1928-34.
- Drilon A, Oxnard GR, Tan DSW, et al. Efficacy of selpercatinib in RET fusion-positive non-small cell lung cancer. *N Engl J Med* 2020; 383: 813-24.
- Drilon A, Bergagnini I, Delasos L, et al. Clinical outcomes with pemetrexed-based systemic therapies in RET-rearranged lung cancers. *Ann Oncol* 2016; 27: 1286-91.
- Takeda M, Sakai K, Nishio K, et al. Successful long-term treatment of non-small cell lung cancer positive for RET rearrangement with pemetrexed. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 5355-8.
- Remon J, Facchinetti F, Besse B, et al. Cystic brain metastases and RET fusion in lung cancer. *Transl Lung Cancer Res* 2020; 9: 424-5.
- Rolfo C, Mack PC, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): a statement paper from the IASLC. *J Thorac Oncol* 2018; 13: 1248-68.
- Offin M, Guo R, Wu SL, et al. Immunophenotype and response to immunotherapy of RET-rRearranged lung cancers. *JCO Precis Oncol* 2019; 3: PO.18.00386.
- Eguren-Santamaria I, Sanmamed MF, Gil-Bazo I. Are immune checkpoint inhibitors effective against uncommon oncogene-driven nsclc subtypes? *J Thorac Oncol* 2020; 15: 489-92.

Indirizzo per la corrispondenza:
Dott.ssa Annamaria Catino
SSD Oncologia Medica per la Patologia Toracica
IRCCS Istituto Tumori "Giovanni Paolo II"
Viale Orazio Flacco 65
70126 Bari
E-mail: a.catino@oncologico.bari.it