

## Effect of FcγRIIa and FcγRIIIa Gene Polymorphism on Treatment Response and Overall Survival in Diffuse Large B Cell Lymphoma

### Diffüz Büyük Hücreli Lenfomada FcγRIIa ile FcγRIIIa Gen Polimorfizminin Tedaviye Cevabı ve Toplam Ömür Süresi Üzerine Etkisi

Oktay Bilgir<sup>1</sup>, Sabri Batun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bozyaka Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniği Bozyaka/izmir

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Diyarbakır

Dergiye Ulaşma Tarihi:12.10.2017 Dergiye Kabul Tarihi:30.11.2017 Doi: 10.5505/aot.2018.65882

#### ÖZET

**Amaç:** FcγRIIa ile FcγRIIIa gen polimorfizmi bulunan diffüz büyük B hücreli lenfomalı olguların R-CHOP tedavisine yanıtını araştırmak amacıyla çalışma planlandı.

**Yöntem ve Gereçler:** CD20+ diffüz büyük B hücreli lenfoma tanılı 90 hastanın (47 Kadın,43 Erkek) FcγRIIa ve FcγRIIIa gen polimorfizmi qPCR ile bakıldı. Hastalara 6 kez R-CHOP tedavisi verildikten sonra tedaviye yanıt ve toplam ömür süreleri değerlendirildi.

**Bulgular:** FcγRIIa ile FcγRIIIa gen polimorfizmi bulunan olgularda tedaviye yanıt ve toplam ömür süresinin diğerlerinden istatistiksel olarak farklı olmadığı saptandı.

**Tartışma ve Sonuç:** Diffüz büyük B hücreli lenfomalı hastalarımızda FcγRIIa ile FcγRIIIa gen polimorfizminin tedaviye yanıt ve toplam ömür süreleri üzerine etkisi olmadığı görülmüştür. Malign filloid tümörler veya epitelyal tümör içeren filloid tümörler, onkoplastik cerrahi teknikleri ile negatif cerrahi sınırla rezeke edilebilir. Böylece, filloid tümörlerde onkolojik ve kozmetik olarak başarılı sonuçlar elde etmek mümkündür.

**Anahtar Kelimeler:** Diffüz büyük B hücreli lenfoma, tedaviye yanıt, Fcγ, RIIa, FcγRIIIa, gen polimorfizm

#### ABSTRACT

**Introduction:** A study was planned to investigate the response of diffuse large B-cell lymphomas with FcγRIIa and FcγRIIIa, gene polymorphism to R-CHOP therapy.

**Methods:** Total 90 patients (47 female and 43 male) with CD20 + diffuse large B-cell lymphoma diagnosed with FcγRIIa and FcγRIIIa gene polymorphism by qPCR technique. The response was assessed by treatment with six cycles of R-CHOP treatment and the overall survival of cases diagnosed with polymorphism was calculated.

**Results:** There was no statistically significant difference in response to treatment between FcγRIIa and FcγRIIIa gene polymorphism and other cases.

**Discussion and Conclusion:** Diffuse large B-cell lymphoma with FcγRIIa and FcγRIIIa gene polymorphism has no effect on to overall survival as a result of treatment response.

**Keywords:** diffuse large B cell lymphoma, response to treatment, Fcγ, RIIa, FcγRIIIa, gene polymorphism

#### GİRİŞ

Diffüz büyük B hücreli lenfoma non-Hodgkin Lenfomalarının en sık rastlanan alt grubudur. Bu hastalara önceden sadece kemoterapi verilirken CD20+ olgularda tedaviye Rituximab eklenmesiyle ciddi anlamda tedaviye yanıt ve toplam ömür süresi açısından önemli iyileşmeler elde edilmiştir (1,2).

Rituximab bu etkisini B lenfositlerinde apoptozise, komplemana bağımlı sitotoksiteye

ve Fcγ Reseptörünü kullanarak antikor bağımlı sitotoksiteye yol açarak göstermektedir (3,4). Yine bu monoklonal antikor, CD20+ hücrelerin yüzeyinde Fcγ Reseptörünü bulduran makrofaj ve natural killer hücreleri ile malign B lenfositleri arasında köprü görevi yaparak etkisini göstermektedir (5). FcγRIIIa reseptörü daha çok natürel killer hücreleri üzerinde ekspresse olurken FcγRIIa reseptörü nötrofil ve makrofajlar üzerinde bulunurlar.

FcγRIIIa genomik polimorfizminin 158. pozisyonunda valin (V) veya fenilalanin (F) oluşuna göre 3 alleli bulunmaktadır (6). FcγRIIIa reseptörünün 131.pozisyonunda histidin(H) veya Arginin (R) oluşuna göre de 3 allel oluşturmaktadır (9).Foliküler lenfoma olgularında, FcγRIIIa reseptörünün valin homozigos olgularında (V/V), fenilalanin homozigos olgularına göre (F/F) Rituksimab tedavisine yanıtının daha iyi olduğu iddia edilmiştir. Tedaviye cevabın iyi olmasının nedeninin FcγRIIIa reseptörüne natürel killer hücrelerinin daha yüksek afinitesi olduğu gösterilmiştir (7). Yine FcγRIIIa V/V allelinin Waldenström Makroglobulinemisinde Rituksimab tedavisine yanıtı iyileştirirken KLL’de (kr. lenfositler lösemi) tedaviye cevabı kötüleştirir (12). Bir araştırmada da FcγRIIIa V/V fenotipinin Rituksimab kombinasyonlu tedavilere yanıtı daha iyi olduğunu, ancak bu durumun toplam yaşama yansımadağını bildirmişlerdir (14). Bir başka çalışmada da folliküler lenfomalı FcγRIIIa H/H homozigos fenotipi olan olgularda H/R veya R/R fenotiplerine göre rituksimab monoterapisine daha iyi tedavi yanıtı olduğunu bildirmişlerdir (9).

Bu fenotiplerin herbirinin in vitro olarak IgG molekülüne afiniteleri farklı olduğundan bu allel değişikliğinin tedaviye yanıtı belirleyip belirlemediğini hastalarımızda çalışmayı planladık.

## MATERYAL VE METOT

Diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı alan 90 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların rutin hemogram ve biyokimya tetkikleri yapıldıktan sonra Ann-Arbor’a göre evreleme yapıldı ve IPI (uluslararası prognostik indeks) skoru hesaplandı. Olgulara ortalama 6 kez 3 haftalık aralıklarla R-CHOP tedavisi uygulandı. Rituksimabilk gün 375mg/m<sup>2</sup> 4-6 saatlik infüzyonla verildikten sonra 2.gün siklofosamid 750 mg/m<sup>2</sup>, doksorubisin 50 mg/m<sup>2</sup>, vinkristin 1,4 mg/m<sup>2</sup> İV verildi.5 gün süreyle prednizon 100 mg/m<sup>2</sup> oral verildi. 6 kezbu tedavi verildikten sonra 3 ay aralıklarla kontrole çağrıldı.

FcγRIIIa ve FcγRIIIa polimorfizmi için 4 cc EDTA’lı kandan DNA ekstrakte edildikten sonra -80°C’ye kondu. FcγRIIIa ve FcγRIIIa polimorfizmi için Light Cycler üzerinde RT-PCR (Roche Diagnostic, Basel, Switzerland)

reaksiyonu sonrasında analiz yapıldı. RT-PCR, FcγRIIIa H131R ve FcγRIIIa V158F toolset (specific primers and fluorescen to lignonucleotide probes) ve Fast Start DNA Master Hybridization Probe Kit (Genes-4U, Neftenbach, Switzerland) kullanıldı. RT-PCR protokolü başlangıç denaturasyonu sırasıyla, 2 dk.95°C sonra 40 siklus 95°Cde 10 saniye, 56°C’de 10 saniye, 72°C’de 1 dakika olarak yapıldı. Eritme protokolü 95°C 30 saniyede, 70°C’de 1 dakika bekleme süresiydi. Devamlı floresan okuması 70-99°C aralığında ve saniye başına 0.1°C ısı yükseltilmesi uygulandı.

## İstatistik

Veriler SPSS 15’e göre analiz edildi. Olgular Mann-Whitney U testi ile gen allel grupları karşılaştırıldı. Ömür süreleri Kaplan-Meier tekniği ile hesaplandı. Bütün analiz sonuçları yorumlandı ve p değerinin 0.05’den daha küçük olması anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya toplam 90 hasta alındı. Hastaların klinik özellikleri tablo 1’de gösterildi. Hastaların çoğu 50 yaşının üstündeydi (%80). Erkek/Kadın oranı birbirine yakındı (%48-%52). Ann-Arbor Evrelemesine göre Evre 3-4 vakaların %79’unu oluşturmaktaydı. IPI (uluslararası prognostik indeks) göre 0-2, %53 iken 3-5 %37 civarında bulundu.

**Tablo 1:** Hastaların Klinik Özellikleri

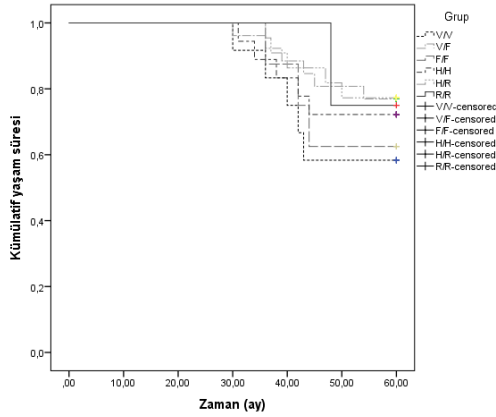
Özellik	Sayı (n:90)	Yüzde
Yaş		
<50	18	20
≥50	72	80
Cins		
Erkek	43	48
Kadın	47	52
Evre		
1-2	19	21
3-4	71	79
IPI		
0-2	48	53
3-5	42	37

Hastaların fenotiplerine bakıldığında FcγRIIIa reseptörünün V/V alleli 12, V/F 26 ve F/F de 8 hastada saptandı. Her 3 allelde de tedaviye yanıt açısından farklılık izlenmedi.

Aynı şekilde FcγRIIa reseptörünün fenotipleri H/H 18 hastada, H/R alleli 24 olguda ve R/R’da 4 vakada saptandı. Tedaviye yanıt açısından her 3 allelde de fark izlenmedi (Tablo 2). Şekil 1’de Kaplan Meier tekniği ile olguların toplam ömür sürelerinin bakıldığında benzer eğriler görülmektedir.

**Tablo 2:** Hastaların FcγRIIIa ve FcγRIIa fenotipleri ve tedaviye yanıtları

FcγRIIIa	V/V(n:12)	V/F(n:26)	F/F(n:8)	p
CR	7(%58)	20(%73)	5(%63)	0.77
PR	2(%17)	3(%15)	1(%12)	
SD	2(%17)	1(%5)	1(%12)	
PD	1(%8)	2(%7)	1(%12)	
FcγRIIa	H/H(n:18)	H/R(n:22)	R/R(n:4)	p
CR	13(%71)	17(%77)	3(%75)	0.65
PR	1(%5)	2(%9)	1(%25)	
SD	2(%12)	1(%5)	0	
PD	2(%12)	2(%11)	0	



**Figür 1:** FcγRIIa ile FcγRIIIa gen polimorfizmlerinin kümülatif ömür süreleri üzerine etkisi.

## TARTIŞMA

Monoklonal antikor tedavisinin lenfomada kullanılmasıyla birlikte farklı lenfoma türlerinde tedavi yanıtının farklı olduğu gözlenmiş ve hastaların tedavi öncesi durumlarının yanıtı etkileyebileceği düşünülmüştür (9). Özellikle rituksimabın tedaviye girmesiyle antikora bağımlı hücrel sitotoksitenin (ADCC) aktivitesini FcγR yoluyla yaptığı düşünülmektedir. FcγRIIa ile FcγRIIIa genlerinde görülebilecek olan polimorfizmlerin diffüz büyük B hücreli lenfomalı olgularda rituksimabın etkisi

değişebileceği düşünülerek yapılan bir çalışmada FcγRIIIa V/V fenotipinde R-CHOP tedavisinin daha iyi olduğu rapor edilmiştir (22,23). Ancak başka bir çalışmada bu etkinin istatistiksel anlamı olmadığını bildirilmiştir (26,28). Başka bir çalışmada da bu hastalığın tedaviye yanıtı ile FcγR allelleri arasında bir ilgi saptanmamıştır (14). Bizim hastalarımızda hem tedaviye yanıtta hem de toplam ömür süreleri üzerinde FcγR allellerinin etkisi olmadığını saptadık. Yapılan birçok çalışmada FcγRIIIa V/V polimorfizminin F/F fenotipine göre yanıtının daha iyi olduğu, yine FcγRIIa H/H fenotipinin R/R fenotipine göre yanıtlarının daha iyi olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (8,9,12). Ancak daha sonraki birçok araştırmacı, bahsedilen bu fenotiplerin hastalısız yaşam üzerine etkisi olmadığını bildirdiler (20-28). Ayrıca daha önceki çalışmalarda araştırmacılar belirtilen fenotiplerde yanıtın nasıl iyi olduğuna dair bir yorumda bulunmamışlardır.

Çalışmamızda hem tedaviye yanıt hem de toplam ömür sürelerinin değerlendirilmesi sonucu hem FcγRIIa da H/H fenotiplerinin R/R’ye veya H/R’ye hem de FcγRIIIa’nın V/V fenotipinin V/F ya da F/F allellere üstünlüğünü saptamadık. Çalışmamızda incelediğimiz tüm fenotiplerin tedaviye yanıtta ve toplam ömür süreleri üzerinde etkisi olduğunu gözlemedik.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada FcγRIIa ile FcγRIIIa gen polimorfizminin diffüz büyük B hücreli lenfomanın tedavisinde kullanılan R-CHOP tedavisine alınan yanıtta fark izlenmedi. Bu sonuç lenfomadaki malign hücrelerin ortadan kaldırılmasında rolü olan ADCC nin esas olarak FcγRIIa ile FcγRIIIa reseptörlerinin üzerinden gerçekleşmediğini düşündürmektedir.

**Financial disclosure:** We did not receive financial support for this article.

**Conflict of interest:** In the article, there is no conflict of interest in any.

## REFERANSLAR

1. Tilly H, Vitolo U, Walewski J, da Silva MG, Shpilberg O, André M, Pfreundschuh M and Dreyling M; ESMO Guidelines Working Group: Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment

- and follow up. *Ann Oncol* 23 (Suppl 7): vii78-vii82, 2012.
- Molina A: A decade of rituximab: Improving survival outcomes in non Hodgkin's lymphoma. *Annu Rev Med* 59: 237-250, 2008.
  - Plosker GL, Figgitt DP. Rituximab: a review of its use in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs* 2003; 63:803-43.
  - Jazirehi AR, Huerta-Yepez S, Cheng G, Bonavida B. Cellular and molecular signal transduction pathways modulated by rituximab (rituxan, anti-CD20 mAb) in non-Hodgkin's lymphoma: implications in chemosensitization and therapeutic intervention. *Oncogene* 2005; 24:2121-43.
  - van der Pol WL, Jansen MD, Sluiter WJ, van de Sluis B, Leppers-van de Straat FG, Kobayashi T, et al. Evidence for non-random distribution of Fcγ receptor genotype combinations. *Immunogenetics* 2003;55:240-6.
  - Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, von dem Borne AE, deHaas M, et al. FcγRIIIa 158 V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell by FcγRIIIa, independently of FcγRIIIa-48L/R/H phenotype. *Blood* 1997; 90:1109-14.
  - Dall'Ozzo S, Tartas S, Paintaud G, Cartron G, Colombat P, Bardos P, et al. Rituximab-dependent cytotoxicity by natural killer cells: influence of FCGR3A polymorphism on the concentration-effect relationship. *Cancer Res* 2004; 64:4664-9.
  - Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P, et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* 2002; 99:754-8.
  - Weng W-K, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2003; 21:3940-7.
  - Boetcher S, Pott C, Ritgen M, Hiddeman W, Unterhalt M, Kneba M. Evidence for FcγRIIIa-independent rituximab effector mechanisms in patients with follicular lymphoma treated with combined immunochemotherapy. *Blood* 2004; 104:170a[abstract].
  - Carlotti E, Palumbo GA, Oldani E, Acerboni S, Di Raimondo F, Cortelazzo S, et al. Bone marrow bcl2/IgH+ cells at diagnosis and not FcγRIIIa polymorphism predict response in follicular non-Hodgkin's lymphoma patients treated with sequential CHOP and rituximab. *Blood* 2005; 106:289a[abstract].
  - Treon SP, Hansen M, Branagan AR, Verselis S, Emmanouilides C, Kimby E, et al. Polymorphisms in FcγRIIIa (CD16) receptor expression are associated with clinical response to rituximab in Waldenstrom's macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2005; 23:474-81.
  - Farag SS, Flinn IW, Modali R, Lehman TA, Young D, Byrd JC. FcγRIIIa and FcγRIIa polymorphisms do not predict response to rituximab in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2004; 103:1472-4.
  - Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DK, Park YH, et al. FcγRIIIa gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2006; 108:2720-5.
  - Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol* 1999; 17:1244-53.
  - Zhuang Y, Xu W, Shen Y and Li J: Fcγ receptor polymorphisms and clinical efficacy of rituximab in non-Hodgkin' lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2010;10: 347-352.
  - Ravetch JV and Bolland S: IgG Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 19: 275-290, 2001.
  - Parren PW, Warmerdam PA, Boeije LC, Arts J, Westerdaal NA, Vlug A, Capel PJ, Aarden LA and van de Winkel JG: On the interaction of IgG subclasses with the low affinity Fc gamma RIIa (CD32) on human monocytes, neutrophils, and platelets. Analysis of a functional polymorphism to human IgG2. *J Clin Invest* 1992; 90: 1537-1546.
  - de Haas M, Koene HR, Kleijer M, de Vries E, Simsek S, van Tol MJ, Roos D and von dem Borne AE: A triallelic Fc gamma receptor type IIIA polymorphism influences the binding of human IgG by NK cell Fc gamma RIIa. *J Immunol* 1996;156: 2948-2955.
  - Hatjiharissi E, Hansen M, Santos DD, Xu L, Leleu X, Dimmock EW, Ho AW, Hunter ZR, Branagan AR, Patterson CJ, et al: Genetic linkage of Fc gamma RIIa and Fc gamma RIIa and implications for their use in predicting clinical responses to CD20 directed monoclonal antibody therapy. *Clin Lymphoma Myeloma* 2007; 7: 286-290.
  - Warmerdam PA, van de Winkel JG, Vlug A, Westerdaal NA and Capel PJ: A single amino acid in the second Ig like domain of the human Fc gamma receptor II is critical for human IgG2 binding. *J Immunol* 1991;147: 1338-1343.
  - Ahlgrimm M, Pfreundschuh M, Kreuz M, Regitz E, Preuss KD and Bittenbring J: The impact of Fc γ receptor polymorphisms in elderly patients with diffuse large B cell lymphoma treated with CHOP with or without rituximab. *Blood* 2001;118: 4657-4662.
  - Kim DW, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DH, Park YH, Do YR, Shin HJ, Kim MK, Hyun MS and Sohn SK: FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B cell lymphoma. *Blood* 2006;108: 2720-2725.
  - Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo López A, Hagenbeek A, et al: Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol* 1999;17: 1244.
  - Rohtagi S, Gohil S, Kuniholm MH, Schultz H, Dufaud C, Armour KL, Badri S, Mailliard RB and Pirofski LA: Fc gamma receptor 3A polymorphism and risk for HIV associated cryptosporidiosis. *M Bio* 2013;4: e00573-e00613.
  - Mitrovic Z, Aurer I, Radman I, Ajduković R, Sertić J and Labar B: FCγRIIIa and FCγRIIIa



- polymorphisms are not associated with response to rituximab and CHOP in patients with diffuse large B cell lymphoma. *Haematologica*2007;92: 998 999.
27. Fabisiewicz A, Paszkiewicz Kozik E, Osowiecki M, Walewski J and Siedlecki JA: FcγRIIA and FcγRIIIA polymorphisms do not influence survival and response to rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone immunochemo-therapy in patients with diffuse large B cell lymphoma. *LeukLymphoma*2011;52: 1604 1606.
28. Váróczy L, Zilahi E, Gyetvai A, Kajtár B, Gergely L, Sipka S and Illés A: Fc gamma receptor IIIa polymorphism and gene expression profile do not predict the prognosis in diffuse large B cell lymphoma treated with R CHOP protocol. *Pathol Oncol Res* 2012;18: 43 48.