



Ludwig Center for Cancer
Research of the University
of Lausanne

Mémoire de Maîtrise en médecine No 857

Le mélanome et les polymorphismes associés au dysfonctionnement du système immunitaire

Etudiant

Sacha Naso

Tuteur

Prof. Pedro Romero
Ludwig Center for Cancer Research
of the University of Lausanne

Co-tuteur

Donata Rimoldi, researcher at LICR

Experts

Christian Iseli and Brian J Stevenson, Swiss Institute of
Bioinformatics, Lausanne

Lausanne, le 15 avril 2013

Abstract

La recherche biomédicale profite de plus en plus au développement des techniques de séquençage et d'analyse de l'ADN. Les coûts du séquençage ont drastiquement baissés au cours de ces dernières années et les genomes-wides associations studies (GWAS) ont révolutionné l'approche de la recherche génétique en mettant en évidence associations et single-nucleotide-polymorphisms (SNPs) qui pourraient être importantes pour la susceptibilité à développer des maladies dites communes.

La majorité des cancers appartiennent à cette définition de maladie commune, ils sont généralement causés par une accumulation de lésions/mutations de l'ADN aboutissant à une perte de contrôle de la prolifération et du cycle cellulaire. Ces mutations peuvent être héréditaires, acquises ou une combinaison des deux. Dans la plupart des cancers communs (cancers qui n'ont pas une hérédité familiale importante) les mutations de l'ADN sont souvent amenées par des facteurs tels que inflammation chronique, tabac, virus, exposition aux radiations, aux agents chimiques. Ceci est le cas pour le mélanome également, un cancer de la peau qui est corrélé à l'exposition des rayons UV solaires ou artificiels.

Une hypothèse largement acceptée aujourd'hui est que les tumeurs, à travers leur accumulation progressive de mutations somatiques et d'anomalies chromosomiques, finissent par échapper au contrôle exercé par le système immunitaire. Il est par conséquent imaginable que des polymorphismes naturels puissent renforcer ou affaiblir la capacité du système immunitaire à freiner voir arrêter la progression tumorale.

Mots clés: mélanome, GWAS, SNP, système immunitaire

But du travail

L'objectif de mon travail de Maitrise était celui de lister un nombre indéfini des SNPs caractérisant le système immunitaire et de les chercher dans les génomes séquencés des 6 lignées cellulaires lymphocytaires appartenant à 6 patients atteints de mélanome métastatique.

Le but de cette liste est celui d'apporter des arguments qui pourraient être utiles à la conception d'une éventuelle future recherche dans le domaine des interactions entre système immunitaire et cancer. A noter que l'objectif primaire était surtout la compilation de la liste des SNPs et non la confrontation de celle-ci avec les 6 patients. La confrontation avec les 6 patients a été faite juste à titre d'essai et ne fait pas l'objet d'une recherche statistique. En effet, afin de pouvoir évaluer des associations, il aurait fallu un plus grand nombre de patients, idéalement regroupés entre ceux ayant eu une bonne et ceux ayant eu une mauvaise évolution clinique.

Qu'est-ce qu'un SNP et qu'est-ce qu'une GWAS?

Un SNP est la variation d'une seule paire de bases du génome, entre individus d'une même espèce. Ces variations sont très fréquentes, quasi toujours bi-alléliques dans un chromosome et représentent environ 90% de l'ensemble des variations génétiques humaines [1]. Pour chaque SNP on peut déterminer le "minor allele frequency" (MAF), c'est-à-dire la fréquence de la variante allélique qui se présente le moins souvent dans une population (mais en tout cas jamais <1% selon la définition de polymorphisme). Il y a des variations de cette fréquence parmi différentes populations humaines, un allèle SNP qui est commun dans une population pourrait donc être rare dans une autre.

Une GWAS est une étude des variations du génome entier dont le but est généralement celui d'identifier les SNPs qui pourraient représenter des marqueurs de susceptibilité d'une maladie en établissant une association entre fréquences génotypiques de ces SNPs et la maladie ou le trait phénotypique d'intérêt. Cet approche agnostique permet l'investigation du génome humain entier parmi plusieurs individus entre eux non apparentés sans avoir besoin à priori d'hypothèses concernant une association génétique avec une maladie [2]. Ainsi, de façon plus ou moins

inattendue, de nombreux nouveaux loci et voies et gènes ont été impliqués dans nombreuses maladies communes. Une approche différente est utilisée dans les études qui investiguent des gènes candidats.

Ces études utilisent des technologies de séquençage automatisée à haut débit (high-throughput technology) afin d'analyser l'ADN collecté depuis le groupe "cas" et le groupe "contrôles" pour scanner jusqu'à 1 million de SNPs, et cela pour un coût relativement bas [I,II]. Le nombre de SNPs identifiés dans le génome humain est significativement supérieur à 1 million (10 millions comptabilisés par HapMap et plus récemment 38 millions par le 1000 Genome Project). Comment pourraient alors être les GWAS représentatives de presque tout le génome? L'astuce est fournie par des catalogues des patterns des variations du génome humain désignés pour guider les études d'association génétique (HapMap <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>, 1000 Genomes Project <http://www.1000genomes.org>) [5]. En effet, par manque de recombinaison, SNPs voisins tendent à être hérités ensemble et ceci se mesure par leur linkage disequilibrium (LD). Deux SNPs parfaitement corrélés ont un LD $r^2 = 1$. Grâce à une forte association entre SNPs dans une région chromosomique, seulement peu de SNPs doivent être typés (tagSNP) pour prédire les autres formes de SNPs dans cette région, formant ainsi ce qu'on appelle un haplotype block [6]. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de typer tous les 10 ou 38 millions de SNPs communs dans les individus avec et sans maladie pour l'identification des loci qui diffèrent en fréquence entre les groupes. Des études impliquant le typage de quelques centaines de milliers jusqu'à 1 million de ces SNPs suffit pour tester l'hypothèse selon laquelle une ou plusieurs variantes communes expliquent une partie du risque génétique de développer la maladie. Si un SNP est sensé augmenter le risque d'une maladie, il y aura alors une association statistique entre maladie et ce SNP dans la population étudiée, et aussi avec des SNPs voisins en raison du LD.

Le mélanome

Le mélanome est une forme de tumeur agressive et métastatique résistante à la chimiothérapie conventionnelle et responsable de 3/4 des décès liés aux tumeurs de la peau [7].

Depuis les années 50s il y a eu une augmentation constante de son incidence dans les régions de l'Amérique du Nord, Europe, Australie et Nouvelle Zélande. Ces deux dernières enregistrant l'incidence la plus élevée. Dans d'autres régions du monde l'incidence serait stable et globalement la mortalité aussi [8,9].

Le mélanome survient plus fréquemment chez les personnes avec la peau blanche. Les rayons UV jouent un rôle important pour le développement de la tumeur, mais il y a clairement aussi une prédisposition génétique (comme en est la réponse cutanée aux rayons solaires ou la capacité de réparer les endommagements de l'ADN). Les facteurs étiologiques sont donc à la fois environnementaux et génétiques.

L'hypothèse plus courante est que le risque de survenue du mélanome est d'avantage lié à une exposition intermittente au soleil plutôt que chronique [10]. Néanmoins, il a été suggéré qu'il pourrait y avoir deux principaux chemins conduisant au mélanome: un associé aux brûlures suite à des courtes expositions aiguës et un autre associé à une exposition chronique [11,12].

Le nombre de grains de beauté a été confirmé par plusieurs études comme indicateur du risque de mélanome. Dans une méta-analyse de 46 études, les populations ayant 101-120 naevi avaient un risque significativement plus élevé comparé aux populations en ayant moins que 15 (RR=6.36; 95% CI 3.80-10.33) [13]. Par la suite, des études sur les jumeaux ont fourni des fortes évidences que le nombre de grains de beauté est plutôt déterminé génétiquement que par des conditions environnementales, faisant penser que les gènes qui déterminent le nombre de naevi seraient associés aussi au mélanome [14,15]. La première étude qui a démontré une héréditabilité de ces gènes a été publiée en 2009 [16].

Qu'est-ce qu'on peut dire à propos de son héréditabilité?

Tout cas confondus, une étude du Swedish Cancer Registry estimait que le taux d'incidence

standardisée d'apparition chez un descendant est d'environ 2.40 (95% CI 2.10-2.72) si un des parents est atteint, 2.98 (95% CI 2.54-3.47) si un frère est atteint, et 8.92 (95% CI 4.25-15.31) s'il y a un parent et un frère atteint. Le taux le plus élevé était retrouvé quand le parent avait plusieurs mélanomes [17]. Des algorithmes ayant pour but d'évaluer ce risque ont été proposés [18]. Au cours des dernières années des progrès importants ont été réalisés dans la compréhension de la susceptibilité au mélanome [19-21]. CDKN2A (qui code pour p16/INK4a et p14/ARF) et CDK4 (cyclin dépendant kinase 4 qui code pour le site de liaison de p16) sont deux gènes sur lesquels on retrouve des mutations qui sont transmises de manière autosomale dominante mais dont la pénétrance est incomplète. CDKN2A et CDK4 sont, à l'heure actuelle, les deux gènes retrouvés dans les cas majeurs d'hérédité familiale [22]. Néanmoins ces gènes n'expliquent qu'une partie de la susceptibilité au mélanome, suggérant que d'autres facteurs génétiques sont impliqués. Des variations plus ou moins communes dans des gènes à bas risque d'augmenter la susceptibilité au mélanome sont suspectes d'expliquer un plus grand pourcentage des mélanomes sporadiques dans la population générale. Parmi ces gènes conférant une susceptibilité à bas risque, le plus commun est le gène qui code pour le récepteur Melanocortin-1 (MC1R), dont les variantes sont associées à des caractères phénotypiques tels que couleur des cheveux, taches de rousseur et susceptibilité au coup de soleil. Des variations dans les gènes MTAP, ASIP et TYR ont récemment aussi été significativement associées avec le risque du mélanome par des études GWAS [23,24].

Les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN

Le facteur de risque environnemental principal du mélanome est l'exposition aux rayons UV qui causent différents endommagements à l'ADN. Ces lésions peuvent amener à des mutations permanentes si elles ne sont pas correctement réparées. En conséquence, comme la réparation de l'ADN est fondamentale pour maintenir l'intégrité génétique des cellules de la peau, il est raisonnable de penser que des polymorphismes dans les gènes responsables de cette réparation pourraient contribuer à une diminution de la capacité de réparation de l'ADN et influencer ainsi la susceptibilité génétique au mélanome [25-27].

Les mécanismes de "suppression intrinsèque" prévenant l'oncogenèse se composent de multiples, interconnectés, souvent redondants checkpoints et voies de réparation qui assurent l'intégrité génétique en réponse aux endommagements endogènes (oxydes provenant du métabolisme, erreurs de réplication) et exogènes (UV, radiations, carcinogènes chimiques). Si la réparation n'a pas lieu, l'endommagement de l'ADN est normalement perçu par ces mêmes checkpoints et une voie menant à l'apoptose ou à la sénescence est engendrée. Si par contre les endommagements de l'ADN "échappent" aux contrôles intrinsèques, les défauts d'ADN sont accumulés et propagés aux cellules filles. L'oncogenèse survient typiquement dans ces conditions, surtout à travers l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs [28].

Des variations dans les gènes de réparation tels que ERCC1, XPD/ERCC2, XPF/ERCC4, XPG/ERCC5, XRCC1 et XRCC3 ont été associées au risque de mélanome dans des études précédentes et collectées dans une méta-analyse publiée en 2009 [29]. Parmi tous ces gènes, le SNP qui a montré l'association la plus forte (p-value combiné) est rs13181 dans le gène XPD/ERCC2. Ce polymorphisme aboutit à la production d'une protéine XPD 751Gln qui se lie moins bien à l'hélicase p44, provoquant un travail sous-optimal de celle-ci [30-32]. Les patients ayant un déficit complet de XPD/ERCC2 souffrent d'une maladie à transmission autosomale récessive appelée Xeroderma Pigmentosum complementation group D, caractérisée par une hypersensibilité aux UV [33]. La protéine codée par ce gène, en ouvrant l'ADN autour des lésions et dans la transcription de l'ARN polymérase II, participe en effet dans la voie NER (nucléotide excision repair) qui s'est avérée être une de plus spécifiques aux lésions de l'ADN induites par les UV [34-36]. Cette méta-analyse prenait en considération que les 6 gènes qui avaient été associés au risque de mélanome dans au moins deux études. Il s'agit donc que d'une petite exploration de l'appareil de réparation de l'ADN, surtout si on pense que le réseau des protéines impliquées dans le maintien de l'intégrité de l'ADN

compte sur plus de 150 gènes [26].

Dans une autre étude, 2964 SNPs en 131 gènes réparateurs de l'ADN ont été examinés dans 586 individus caucasiens de 53 familles sujettes au mélanome (23 avec et 30 sans mutations de CDKN2A). Parmi ces 586 individus, 183 patients ayant développé un mélanome ont été sélectionnés et comparés à 379 individus contrôle. Leur résultat suggère que SNPs dans POLN ($p=0.0003$) et PRKDC ($p=0.00035$) seraient associés au risque de mélanome dans des familles avec et sans mutations de CDKN2A. Le SNP le plus relevant était rs17132382 pour POLN et rs8178158 pour PRKDC et ceci dans les familles ayant CDKN2A muté comme aussi dans les familles n'ayant pas CDKN2A muté. DCLRE1B a montré aussi une association intéressante ($p=0.0006$) avec le risque de mélanome et 36.4% des SNPs genotypés dans ce gène étaient SNP $p<0.05$. Son SNP le plus relevant ($p=0.01$) était rs12046289 (OR = 2.11, 95% CI = 1.22–3.65) et semblerait être présent davantage dans les familles CDKN2A+ [37]. POLN est un gène d'une ADN polymérase peu connue qui serait impliquée dans la réparation de l'ADN [38]. PRKDC et DCLRE1B appartiennent à la voie NHEJ (non homologous end-joining) qui règle la réparation des ruptures double brin de l'ADN (DBS double strand breaks) en particulier dans la phase G1 du cycle cellulaire [39]. Malgré la faiblesse des associations qui nécessite un renforcement par des études de répliation, cette étude basée sur des gènes candidat fournit des pistes pour l'investigation ultérieure d'un grand nombre des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN.

La voie BER (base excision repair) est responsable de la réparation des ruptures single brin d'ADN et aussi des lésions provoquées par les ROS (reactive oxygen species) qui peuvent être générées indirectement par les rayons UV et incriminés par l'inflammation en réponse aux UV. Elle s'occupe d'enlever un nucléotide qui a été méthylé, oxydé ou réduit [40]. Des polymorphismes dans les gènes de cette voie ont aussi été associés au risque de cancer [41-44].

L'immunosurveillance

Une variété de mécanismes suppresseurs des tumeurs intrinsèques et extrinsèques empêchent le développement d'une tumeur. Les mécanismes suppresseurs de tumeurs intrinsèques pourvoient à la réparation des lésions de l'ADN et au déclenchement d'une sénescence ou de l'apoptose en cas d'endommagement de l'intégrité cellulaire. En réponse à un stress cellulaire ou à un manque des signaux de survie, des altérations dans l'intégrité des mitochondries résultent en la libération de molécules pro-apoptotiques qui déclenchent la mort cellulaire en activant la voie des caspases [45]. Une autre voie de mort cellulaire qui aboutit aussi à l'activation des caspases dépend de la liaison des récepteurs de surface tumor necrosis factor receptor (TNFR), TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor 2 (TRAIL-R2, DR5), and Fas/CD95 avec leur ligand correspondant [46]. La sénescence cellulaire, état d'arrêt du cycle cellulaire permanent (ce qui la différencie de la quiescence cellulaire où l'arrêt est réversible) est induite par certaines protéines qui "ressentent l'instabilité génétique" tel que p53 [47]. On sait aujourd'hui qu'un des prérequis nécessaire à la transformation d'une cellule en cellule cancéreuse est l'acquisition de la capacité de sortir de cet état de sénescence avec des mutations qui détournent le contrôle mitogénique de Ras [48].

Le contrôle extrinsèque est relayé au système immunitaire qui a trois rôles distincts dans la prévention du cancer. Premièrement, il protège l'hôte contre les infections virales carcinogènes. Secondairement, lors d'une infection, il pour rôle d'éliminer rapidement le pathogène et d'éviter l'installation d'un état inflammatoire chronique qui favoriserait le développement d'une tumeur. Troisièmement, dans certains tissus, il peut spécifiquement identifier et éliminer des cellules tumorales qui expriment à leur surface des antigènes spécifiques à la tumeur (TSA pour tumor-specific antigen ou TAA pour tumor associated antigen). Il s'agit de l'immunosurveillance proprement dite. Elle survient quand une cellule du système immunitaire reconnaît et élimine des cellules transformées qui ont échappé aux mécanismes de défenses intrinsèques avant qu'elles puissent former une tumeur maligne.

La théorie selon laquelle le système immunitaire a un rôle dans la répression des cellules tumorales (le concept "d'immunosurveillance") a été formulée pour la première fois en 1957 par Burnet et

Thomas [49-51]. Néanmoins, c'est seulement à partir de la moitié des années 90, conséquemment aux constatations que certaines tumeurs provoquées se développaient de façon plus importante chez des souris immunodéficientes, que le sujet est revenu d'intérêt aux immunologues et cancérologues [52,53]. Pourtant, comprendre comment le système immunitaire affecte le développement et la progression des tumeurs a été un sujet controversé pendant ces dernières 15 années car des expériences ultérieures ont successivement mis en évidence la dualité de son rôle face aux cancers: protecteur mais aussi sculpteur et ainsi potentiellement promoteur [54,55]. A partir de ces constatations le concept d'immunosurveillance a été rediscuté et on parle actuellement plutôt de "cancer immunoediting" [56-59]. L'immunoediting peut être vu comme un processus dynamique composé de trois phases: a) l'élimination, qui regroupe les mécanismes et les coopérations à travers lesquels les différentes cellules du système immunitaire reconnaissent et détruisent les cellules tumorales (ce qui correspond en gros à une version moderne de l'immunosurveillance), b) la phase d'équilibre, qui représente la situation balancée dans laquelle l'élimination n'est pas complète et la croissance tumorale est maintenue sous contrôle par le système immunitaire, c) la phase d'évasion, lorsqu'un événement tel que la sélection tumorale ou un état de diminution des compétences du système immunitaire (comme une immunosuppression ou le vieillissement) amène à une croissance non contrôlée jusqu'à la manifestation de la maladie clinique. La sélection tumorale dans la phase d'équilibre est la conséquence d'une pression immunogénique exercée par le système immunitaire. Au cours du temps, la probabilité qu'une cellule tumorale génétiquement instable ait une mutation lui permettant d'échapper aux mécanismes de la phase d'élimination ou de bénéficier de ceux de la tolérance périphérique augmente. Les acteurs principaux du maintien de la tolérance périphérique sont les cellules T régulatrices (Tregs) [60]. Elles peuvent être définies comme une population de cellules T qui supprime la réponse immune en influençant d'autres types de cellules.

Mécanismes d'échappement

La cellule tumorale échappe à l'immunosurveillance en dérégulant la présentation d'antigène (MHC), en dérégulant les inhibiteurs de l'apoptose (Bcl-XL, FLIP) ou en présentant à la surface membranaire des molécules qui tuent les cellules T cytotoxiques (PD-L1, FasL).

En particulier, la perte de transcription, par mutation ou silencing épigénétique, de TAP1, des molécules $\beta 2m$, LMP2, et LMP7 du MHC classe 1, l'insensibilité aux ligands IFN- γ ou IFN- α/β et la perte d'autres gènes impliqués dans la voie de signalisation du récepteur IFN- γ (IFNGR1, IFNGR2, JAK1, JAK2, et STAT1) permettent l'invisibilité de la cellule tumorale en regard de l'immunosurveillance. D'autres mécanismes qui favorisent la progression tumorale sont la sécrétion par la cellule tumorale des facteurs inhibant les récepteurs lymphocytaires (TGF- β , IL-10, VEGF, LXR-L, IDO, gangliosides, ou MICA solubles) ou des facteurs recrutant des cellules régulatrices qui génèrent un micro-environnement immunosuppresseur par l'expression des différentes cytokines (IL-4, IL-13, GM-CSF, IL- β , VEGF, or PGE2). IL-4 et IL-13 en particulier, amènent au recrutement et à la polarisation des macrophages M2 (M2M Φ) qui expriment TGF- β , IL-10 et PDGF inhibant les cellules T. En outre, la libération des CSF (colony-stimulating factor) tels que IL-1 β , VEGF, ou PGE2 aboutie à l'accumulation des MDSCs qui bloquent la fonction des CTLs (cytotoxic T lymphocytes) en exprimant TGF- β , ARG1 et iNOS [61-65].

Les cellules T régulatrices (Tregs) peuvent inhiber l'immunité contre les TAAs à travers plusieurs mécanismes dont l'expression de CTLA-4 et PD-L1, la production de IL-10 et de TGF- β et la consommation de IL-2 [66,67]. Elles peuvent aussi avoir un double rôle face au cancer, par exemple, dans le sarcome induit par carcinogènes, elles réduisent clairement l'immunosurveillance [68] alors que dans un modèle d'inflammation chronique du colon, elles s'occupent d'atténuer l'inflammation [69]. Leur rôle de médiateurs est complexe et dépend d'influences multifactorielles (cytokines, présentation d'antigènes...) qui en dictent le degré de différenciation, d'où l'importance de connaître les différents sub-groupes. D'ailleurs, un des problèmes liés à l'étude des nouvelles cibles thérapeutiques les inhibant, est celui d'identifier de façon claire, idéalement in vivo, leurs différentes sub-populations [70]. Dans ce travail, le terme "cellule Treg" fait référence aux cellules T CD4+CD25+ (high).

(Abréviations: ARG1, arginase 1; Bcl-XL, B cell lymphoma extra long; CTLA-4, cytotoxic T lymphocyte associated protein-4; DC, dendritic cell; FasL, Fas ligand; FLIP, apoptosis-stimulating fragment-associated protein with death domain-like interleukin-1 converting enzyme-like inhibitory protein; GM-CSF, granulocyte macrophage colony-stimulating factor; IDO, indoleamine 2,3-deoxygenase; IL, interleukin; iNOS, inducible nitric oxide synthase; LXR- L, liver X receptor ligand; MDSC, myeloid-derived suppressor cells; MHC, major histocompatibility complex; MICA, MHC class I polypeptide-related sequence A; PDGF, platelet-derived growth factor; PD-L1, programmed cell death 1 ligand 1; PGE2, prostaglandin-E2; TGF- β , transforming growth factor- β ; Treg, regulatory T cell; VEGF, vascular endothelial growth factor).

Immunothérapies

La plupart des patients qui se présentent avec un mélanome en stade précoce sont généralement pris en charge chirurgicalement avec un très bon pronostic. Par contre, le pronostic des patients en stade avancé avec des métastases à distance est nettement mauvais: 5-10% de taux de survie à 5 ans et 6-10 mois de survie moyenne [71]. Pour ces cas, chaque patient bénéficiant d'une analyse génétique de c-kit, N-Ras et B-RAF devrait pouvoir rentrer dans un essai clinique. Pour le traitement du mélanome en stade avancé en Suisse, la Dacarbazine (DTIC) est une des substances les plus utilisées. L'utilisation de IL-2 ou IFN- α a été approuvée depuis déjà plusieurs années, mais leur efficacité en mono thérapie est modeste [72]. L'utilisation de l'anticorps monoclonal CTLA-4 (Ipilimumab) a montré pour la première fois parmi les immunothérapies, une réelle augmentation de la survie et une bonne tolérance en dehors de quelques effets indésirables tels que la diarrhée, colites, démangeaisons, dermatite et fatigue [73-75]. Au delà de ces traitements conventionnels, l'amélioration des connaissances au sujet des antigènes et des épitopes associés au mélanome, des méthodes d'immunisation et des technologies permettant la manipulation des cellules T, naturelles ou génétiquement modifiées, ont amenés à des stratégies de "vaccination" et aux immunothérapies par transfert des cellules T.

Antigènes et vaccins

Des mutations dans les proto-oncogènes ou dans les gènes suppresseurs des tumeurs peuvent conduire à une production anormale des protéines aboutissant à la formation de la tumeur. Ces protéines altérées, comme le produit de Ras ou p53, font partie des antigènes spécifiques de la tumeur. Au contraire, les protéines anormalement produites issues des mutations des gènes qui ne sont pas responsables de la naissance de la tumeur font partie, en langage technique, des antigènes associés à la tumeur (TAAs). Sont comprises les protéines dont le taux de production augmente drastiquement en cas de tumeur qui peuvent aussi être des cibles déclenchant une réponse immunitaire. Les antigènes onco-foetaux sont aussi une importante classe d'antigènes tumoraux parce que ces protéines sont généralement produites que dans des stades primaires lors du développement embryonnaire et disparaissent quand le système immunitaire devient mature. Ainsi, la tolérance ne se développe pas contre ces antigènes. MAGE-1, MAGE-3, NY-ESO-1, codés par le chromosome X et faisant partie des antigènes exprimés par des cellules testiculaires et par certains cancers ("cancer-testis antigens") en sont un exemple. Une production des protéines altérées se trouve aussi dans les cellules infectées avec des onco-virus.

Le mélanome constitue une tumeur pour laquelle un grand nombre d'immunothérapies ont été étudiées, ceci est du en partie au fait que cette tumeur génère naturellement des réponses immunitaires, et ceci concerne autant le système immunitaire inné que celui adaptatif. Il est clair à l'heure actuelle que la cellule tumorale mélanocytaire présente différents antigènes et épitopes reconnus par le système immunitaire et que les patients avec un mélanome sont capables de répondre à ces antigènes du point de vu humorale [76, 77] et cellulaire [78]. Il s'agit d'ailleurs d'une tumeur qui est particulièrement sensible aux interventions stimulantes le système immunitaire, même lors d'une intervention non spécifique tel que l'injection d'IL-2 à hautes doses [79]. En parallèle à l'identification des plusieurs antigènes du mélanome et de leur épitope en utilisant des

techniques de clonage, un grand effort a été réservé au développement des vaccins anti-cancéreux [80]. Comparé aux vaccins prophylactiques protégeant des infections, il y a au moins trois obstacles qui compliquent la mise au point de ces vaccins. Le premier est lié aux propriétés antigéniques de la cellule tumorale. En effet, malgré l'existence d'un nombre relevant des TAAs, seulement peu d'entre eux permettent de solliciter une réponse immunitaire performante aboutissant à une éradication complète (antigènes appelés TRAs pour tumor rejection antigens) [81]. D'ailleurs, par rapport à un pathogène extrinsèque, la cellule tumorale est par principe moins immunogène. Le deuxième est le fait que ces vaccins anti-cancéreux doivent fonctionner comme intervention thérapeutique et non prophylactique. L'éradication d'une tumeur installée nécessite l'activation d'une robuste réponse immunitaire cellulaire. En particulier les TRAs doivent pouvoir être élaborés par les APCs (typiquement par des DCs), présentés aux cellules T et ceci doit se faire dans un contexte de co-stimulation appropriée [82]. En l'absence des signaux de co-stimulation, des DCs immatures présentent les TRAs aux cellules T dans un milieu inhibiteur, promouvant ainsi la tolérance périphérique [83,84]. Le troisième est représenté par l'existence des voies et mécanismes immunosuppresseur promus par la tumeur précédemment discutés.

Plusieurs stratégies de vaccination ont été étudiées, parmi celles-ci les principales sont: la recombinaison ponctuelle des TAAs (epitopes synthétiques supposés se lier directement aux MHC des cellules présentatrices d'antigènes), la recombinaison de la protéine-antigène entière dont la présentation nécessite l'absorption et l'élaboration par les APCs et la préparation des cellules cancéreuses lysées et purifiées contenant les TAAs. Ces stratégies de vaccination ont été testées depuis la fin des années '90 dans plusieurs essais cliniques souvent couplés à d'autres immunothérapies moins spécifiques. Ces études concernent surtout les peptides gp100 (Type I transmembrane glycoprotein) [85,86], MART-1(melanoma antigen recognized by Tcells1) [87,88], différents membres de la famille MAGE-A (MAGE-A1, MAGE-A3 et MAGE-A10) [89,90], l'enzyme tyrosinase [88,91] et NY-ESO-1 [92,93]. A noter que la liste de ces antigènes tumoraux mélanocytaires est bien plus longue que celle reportée ci-dessus.

Malgré ces tests ayant démontré une bonne sécurité de la vaccination, le potentiel thérapeutique n'est pas complètement compris. Seulement peu d'études reportent objectivement une efficacité clinique à long terme [86] et, si on considère tous les types de cancer, seulement un vaccin à but thérapeutique est commercialisé aujourd'hui. Celui-ci, connu sous le nom Provenge®, est une préparation cellulaire pour le traitement du cancer de la prostate métastatique asymptomatique réfractaire à la thérapie hormonale. La vaccination comprend des cycles d'injections des APCs autologues exposées à un antigène exprimé par 95% des cancers prostatiques appelé PAP et à des facteurs de croissance des APCs [94]. Une stratégie en deux étapes encore plus complexe mais montrant des résultats remarquables a été testée récemment pour le traitement du cancer ovarien. La première étape comprend l'administration d'un vaccin à base des cellules dendritiques autologues exposées à l'ensemble des antigènes tumoraux lysés (whole tumor vaccin) ex vivo couplé à une thérapie anti-VEGF (vascular endothelial growth factor). La deuxième étape consiste en une thérapie par transfert cellulaire (ACT pour adoptive cell therapy), c'est-à-dire le prélèvement, la stimulation, la réexposition des cellules lymphocytaires aux antigènes tumoraux ex vivo et la réinjection de celles-ci au patient avec une autre dose de vaccin après une lymphopénie induite par chimiothérapie [95].

Ces expériences témoignent de la difficulté d'obtenir des résultats cliniques à long terme pour les cancers métastatiques, résultats qui sont néanmoins atteints avec des approches combinant plusieurs éléments tels que la vaccination, transferts cellulaires avec manipulations ex vivo, chimiothérapies, stimulation et prévention de l'inhibition des lymphocytes T in vivo.

Thérapies pour le mélanome par transfert des cellules T

Parmi les thérapies de transfert cellulaire (ACT pour Adoptive cell therapy), le transfert des lymphocytes autologues infiltrés au site tumoral (TIL pour autologous tumor infiltrating lymphocytes) couplé à l'administration des hautes doses de IL-2 est actuellement la technique avec la plus longue expérimentation clinique dans plusieurs centres de recherche. L'avantage de cette

technique est la reconnaissance par les cellules T des plusieurs antigènes tumoraux à la fois définis et non définis sur tous les possibles MHC. L'efficacité du traitement par TIL est en effet basée sur la nature polyclonale des cellules T infiltrées au site tumoral et sur la reconnaissance de plusieurs TAAs (pour le mélanome: gp100, MART-1, TRP-2, tyrosinase, NY-ESO-1... et beaucoup d'autres inconnus). Il s'agit de la caractéristique principale la distinguant des autres ACT tels que celles basées sur les technologies de transduction des cellules T avec des TCRs a haute affinité ou avec des récepteurs antigéniques chimériques (CAR pour chimeric antigen receptors) ciblant spécifiquement un seul type de MHC et un nombre défini d'antigènes tumoraux.

Le transfert des TIL pour le traitement du mélanome métastatique fut décrit déjà en 1988 [96]. A présent cette technique atteint des taux de réponse de 50%, dont plusieurs durant des années selon les résultats des derniers essais cliniques [97-100].

En pratique, la tumeur de stade IIIc-IV est excisée, coupée en fragments et mise en culture avec IL-2 à hautes doses. Les TIL sont initialement augmentés de façon lente pendant 3-5 semaines, puis de façon rapide (REP pour rapid expansion protocol) pendant 2 semaines à l'aide des molécules anti-CD3 en présence des cellules PBMC (peripheral blood mononuclear cells) et IL-2. Les cellules TIL (maintenant milliards) sont lavées et injectées au patient en concomitance avec un ou deux cycle de thérapie IL-2 à hautes doses. Avant l'injection, le patient est préalablement traité avec Cyclophosphamide et Fludaridibine qui provoquent une lymphopénie transitoire pour "faire place" au TIL et éliminer possibles cytokines inhibitrices et cellules Tregs [101].

Les désavantages de cette technique sont la longue durée d'application, le fait que certaines TIL n'augmentent pas assez en nombre pendant la phase d'expansion et le besoin de la chimiothérapie pour installer transitoirement une lymphopénie. Elle est autrement bien tolérée et fait actuellement partie des stratégies immunitaires les plus prometteuses.

D'autres thérapies de transfert des cellules T utilisent la transduction des cellules T avec des TCR a haute affinité contre des antigènes majeurs exprimés par le mélanome et la transduction des cellules T avec des récepteurs antigéniques chimériques (CAR pour chimeric antigen receptors) composés de chaînes légères d'immunoglobulines hybrides avec des endo-domaines des molécules de signalisation propres aux cellules T. Elles ont montré des résultats globalement inférieurs au transfert des TIL.

Quelles sont les cellules responsables de la régression tumorale?

La réponse à cette question passe à travers l'identification phénotypique des TIL. On sait que les cellules T CD8+ se sont révélées être de loin les cellules les plus importantes à ce sujet. Toutefois, l'identification des sous-groupes de cellules T CD8+ en termes des marqueurs de mémoire et d'activité cytolytique n'est pas encore claire [102,103]. Les cellules CD8+ peuvent avoir un grand pouvoir cytolytique grâce à l'action des perforines et des granzymes [104]. Le granzyme B, par exemple, est une sérine-protéase qui coupe les substrats au niveau des résidus d'aspartate. Les perforines forment des trous membranaires des cellules cibles, ce qui permet l'entrée des granzymes qui activent les caspases intracellulaires, aboutissant à l'apoptose de la cellule cible.

L'intérêt principal pour la réponse immunitaire cellulaire contre le mélanome a été justement donné aux cellules T CD8+, mais d'autres cellules tel que les cellules NK et les cellules T CD4+ ont montrés un rôle actif dans l'immunosurveillance.

Les cellules NK, qui font partie du système immunitaire inné, ne possèdent pas de récepteurs d'activation comme les TLR des cellules T reconnaissant les antigènes présentés par les différentes classes de MHC. Les cellules NK ont un rôle important dans l'immunosurveillance puisqu'elles reconnaissent en quelque sorte l'absence de l'expression des protéines MHC de la cellule tumorale, ce qui déclenche leur activation résultant en la lyse de la cellule tumorale cible [105,106]. Quoique le mécanisme d'activation des cellules NK soit obscur, il semblerait que celles-ci reconnaissent entre autre des cellules "stressées" telles que les cellules tumorales ou infectées par un virus. Une investigation ultérieure de ces cellules est souhaitée. Il serait intéressant de pouvoir évaluer la thérapie de transfert avec les cellules NK et voire si celle-ci permet d'avoir des résultats comparables à ceux obtenus avec les cellules T.

L'idée selon laquelle des réponses immunitaires contre le mélanome puissent être dirigées aussi par les cellules T CD4+ repose sur des preuves plus solides depuis que la technologie de clonage des cellules T a permis le développement de lignées cellulaires CD4+ reconnaissant des cellules tumorales mélanocytaires à travers le MHC de classe II [107]. D'ailleurs, si une réponse humorale est développée par les patients ayant un mélanome, la génération de celle-ci implique indirectement la complicité des cellules T CD4+ helper. Les cellules T CD4+ suscitent peu d'intérêt face au mélanome puisqu'il s'agit d'une tumeur exprimant principalement MHC de classe I. Toutefois le rôle multifonctionnel (potentiellement cytolytique aussi) de ces cellules devient intéressant dans le contexte des possibilités offertes par les nouvelles technologies de manipulation génétique.

Immuno-modulateurs

Grâce à l'identification des différents mécanismes de régulation et de dérégulation des cellules T au site tumoral plusieurs cibles thérapeutiques sont actuellement connues. Il existe essentiellement deux types d'immuno-modulateurs: ceux qui co-stimulent la maturation et l'activation des cellules T (IL-2, IFN- α) et ceux qui bloquent l'inhibition de celles-ci (anticorps anti CTLA-4). D'autres thérapies à base d'anticorps monoclonaux bloquant des signaux inhibiteurs tels que PD-1 ou activant les récepteurs de co-stimulation tels que CD137/4-1BB sont actuellement testées en clinique avec quelques succès [108,109]. Dans le cas du mélanome, un ligand de PD-1, B7-H1 est souvent exprimé par la cellule maligne, résultant en une immunosuppression locale qui a été corrélée avec une mauvaise clinique [110-112]. D'autres immunothérapies encore ciblant cytokines telles que TGF- β [113], cellules inhibitrices telles que les Treg [70], enzymes telles queIDO et molécules antiapoptotiques telles que Bcl-2 sont aussi en cours d'expérimentation [114,115]. Enfin, la combinaison opportune de ces immunothérapies avec certaines chimiothérapies [116] ou avec des thérapies ciblant la voie MAPK (Mitogen-activated protein kinase) [117,118] ont vu aussi récemment leur entrée en clinique. Parmi ces dernières, la mono thérapie par Vemurafenib (V600E mutated BRAF inhibition) est approuvée par la commission Européenne pour le traitement du mélanome en stade avancé depuis février 2012. Les désavantages du Vemurafenib sont les effets secondaires, le fait qu'il agisse seulement sur environ 60% des mélanomes ayant la mutation de l'acide aminé en position 600 de la protéine B-Raf et la possible installation d'une résistance tumorale. Une autre voie de signalisation qui avait suscité de l'intérêt est celle des récepteurs TLRs (Toll-like receptors). Les TLRs sont une famille de 10 récepteurs reconnaissant des patterns moléculaires typiques de certains pathogènes. Ils se retrouvent sur plusieurs cellules animales et stimulent en général la réponse immunitaire de l'hôte. TLR9 est un récepteur intracellulaire qui reconnaît les dinucléotides cytosine-guanine non méthylés (CpG) de l'ADN bactérien et viral. Le traitement des mélanomes avec des analogues synthétiques CpG in vivo résulte en une mineure prolifération des Tregs et en une maturation des cellules dendritiques, aboutissant à une sécrétion accrue des cytokines (notamment IL-2), chémokines et stimulant la présentation d'antigène [119,120]. En accord avec d'autres travaux à ce sujet [121-123], il est conséquent d'espérer que les TLRs seront un appui important pour l'efficacité des futures immunothérapies.

La sélection des patients

Les immunothérapies peuvent avoir un impact important sur le bénéfice clinique, mais se révèlent souvent efficaces seulement pour un sous-groupe des patients ayant un mélanome en stade avancé. Les différences entre patients pourraient s'expliquer par des mutations somatiques de la tumeur ou, alternativement, par des polymorphismes germinales dans des gènes immunorégulateurs de l'hôte. L'analyse de ces deux possibilités a été prise en charge avec l'investigation du profil d'expression génique du micro environnement tumoral dans le contexte d'essais cliniques des vaccins anti-tumoraux. Des profils d'expression géniques distincts ont été identifiés sur des biopsies tumorales (prélevées avant le traitement vaccinal) et associés avec une longue versus courte survie [124]. Il est raisonnable de penser que ces profils pourraient être des marqueurs prédictifs pour la sélection des patients lors des traitements par vaccins ou d'autres immunothérapies.

Au vu de l'importance accrue du système immunitaire dans le contrôle et dans l'efficacité des immunothérapies, certains auteurs ébauchent même l'idée d'appliquer un véritable "immune score" dans la classification tumorale [125].

Méthodes

La recherche littéraire des SNPs a été réalisée sur plusieurs data-bases online, mais principalement sur le catalogue du National Human Genome Research Institute (NHGRI), GWAS Central, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), SNPedia, HuGE Navigator, et sur nombreuses publications PubMed.

Au vue de l'ampleur du nombre de SNPs identifiés par les GWAS comme possibles responsables de l'altération de la fonction du système immunitaire, j'ai reparti le travail en deux blocs de recherche: le premier prenant en compte les SNPs associés aux maladies auto-immunes, le deuxième prenant en compte les immunodéficiences, des gènes impliqués dans l'immunosurveillance et dans la réparation de l'ADN.

Les SNPs du premier bloc

Les SNPs du premier bloc ont été récoltés par une recherche des maladies auto-immunes sélectionnées depuis l'ICD-10 (Classification of Diseases and Related Health Problems-10th Revision). A noter qu'il ne s'agit pas d'une liste exhaustive car plusieurs maladies ou syndromes pourraient avoir une composante auto-immune non encore décelée.

Pour ces maladies auto-immunes, la liste la plus complète et systématique des SNPs (cf. matériel supplémentaire "liste1erBloc.xls") a été adaptée à partir du catalogue des études GWAS du NHGRI. Elle compte 1078 SNPs environ recueillis jusqu'à juillet 2012.

Le catalogue du NHGI ne prend en considération que les GWAS comprenant au moins 100'000 SNPs dans la phase initiale (avant d'appliquer des filtres de contrôle qualité). Les études publiées dans une langue autre que l'anglais, celles qui ont pour but de mesurer des variations somatiques, celles dont les SNPs trouvés sont focalisés dans des gènes candidats et celles qui n'apportent pas d'autres données GWAS sont exclues du catalogue (catalogue complet et méthodologie disponibles sur <http://www.genome.gov/gwastudies/>) [126]. Le seuil cumulé de p-value $<1.0 \times 10^{-5}$ entre SNP et trait est retenu (étude initiale plus éventuelles répliques). A noter qu'il s'agit d'un seuil arbitraire, d'autres chercheurs jugent nécessaire un seuil à 5×10^{-8} [127].

La confrontation de cette liste avec les génomes séquencés des 6 patients (LAU108_PBL, LAU149_EBV, LAU165_EBV, LAU50_PBL, LAU618_EBV, LAU63_EBV) figure sur la table n°1. Au total, après avoir éliminé les doubles, 80 SNPs du premier bloc ont été retrouvés.

Les SNPs du deuxième bloc

Les critères de recherche utilisés pour le deuxième bloc n'ont pas été les mêmes que ceux utilisés pour le premier. En effet, à l'heure actuelle, seulement un nombre limité d'études GWAS ont été amenés au sujet des immunodéficiences primaires (PI). Un intérêt modeste a été en revanche donné aux immunodéficiences acquises (patients HIV), à la susceptibilité aux infections (surtout pathogènes intracellulaires) et à des associations de type quantitatives (compte des IgA, IgE, des lymphocytes, taux CD4:CD8). Ceci n'est pas surprenant car la plupart des PIs sont rares ou difficilement diagnostiquées et le nombre de cas est ainsi souvent insuffisant pour établir des associations statistiquement valables avec les GWAS. Pour ces raisons, un grand nombre des SNPs documentés dans ce bloc dérivent de l'investigation d'un gène et de sa voie de signalisation plutôt que d'une maladie.

En pratique, j'ai cherché des publications dans PubMed couplant le nom d'un gène impliqué dans une voie propre à une fonction immunitaire (comme transporter associated with antigen processing TAP, CTLA4, cytokines, Toll Like Receptors...) plus le terme de recherche "SNP" ou insérant le nom du gène dans les data-bases de OMIM, dbSNP database, SNPedia, HuGE Navigator. Ceci pour obtenir du deuxième bloc une collection de 1003 SNPs environ, dont 122 présents dans

les génomes des 6 patients et listées dans la table n°2 (pour la liste entière du deuxième bloc, voir "liste2emeBloc.xls" dans le matériel supplémentaire). Dans cette table une confrontation plus approfondie a été conduite, en précisant génotypiquement aussi l'éventuel caractère homozygote de la variante à risque. En effet, les OR sont supposés n'être pas les mêmes dans le cas d'une variante homozygote plutôt que hétérozygote.

Base de données, séquençage et confrontation

Les génomes des 6 lignées cellulaires lymphocytaires appartenant à 6 patients atteints de mélanome métastatique ont été séquencés par l'Institut Ludwig pour la Recherche sur le Cancer (LICR) et la base de données a pu être consultée à l'Institut Suisse de Bio-informatique de Lausanne.

Les cellules séquencées des 6 patients provenaient d'une lignée cellulaire lymphocytaire (PBL pour peripheral blood lymphocytes) ou d'une lignée cellulaire lymphoblastoïde transformée par Epstein-Barr virus (EBV). Les cellules EBV ont été cariotypées pour en vérifier la stabilité génomique et la diploïdie. La permission d'utiliser ces lignées cellulaires a été donnée par le comité éthique de recherche du CHUV (Centre Hospitalier Universitaire Vaudois) [128].

SeqCap EZ Human Exome Library SR (version 1.2) a été utilisée pour la sélection de l'exome en respectant le protocole du fabricant. Le séquençage a été accompli avec Illumina (pour une description plus détaillée voir "Materials and Methods" de la référence 128).

L'ADN des exomes des cellules lymphocytaires des 6 patients a été confronté au niveau des SNPs avec la version hg18 (NCBI 36.2) de la séquence de référence fournie par le UCSC (University of California, Santa Cruz) sur le site <http://genome.ucsc.edu>. A noter que la version hg18 du génome humain est remplacée progressivement par la hg19 (GRCh37), par conséquent, certains SNPs que j'ai collectionnés n'avaient pas de positionnement dans l'ancienne hg18, puisqu'ils ont été identifiés sur la plus récente version hg19. Pour cette raison, une colonne indique avec le chiffre "1" leur présence et avec le chiffre "0" leur absence dans la version hg18. Les SNPs du premiers blocs étaient quasi tous présents dans l'ancienne version alors qu'une répartition plus sporadique se rencontre dans la liste du deuxième bloc. Un autre aspect important concernant la confrontation des SNPs, qui relativise davantage la solidarité de celle-ci, est le fait que ne possédant que la partie exonique des cellules séquencées, les SNPs dans la partie intronique n'ont pas pu être confrontés. On peut s'imaginer alors que le nombre d'associations trouvées soit sous-estimé.

Deux exemples parmi les SNPs confrontés

ERAP1

La plupart des maladies auto-immunes sont supposées se développer, du moins en partie, à partir d'un défaut des protéines tournant autour de la fonction et de la structure du HLA type I et II ou d'une condition épigénétique comme, par exemple, la mimique moléculaire bactérienne ou un environnement "permissif" diminuant la tolérance périphérique [129].

Le degré de variabilité dans le MHC a rendu très difficile la cartographie des SNPs dans cette région. Au contraire, l'approche génomique s'est avérée être pratique pour le génotypage des SNPs afin de déterminer le type d'HLA [130,131]. Ceci a permis de mettre en évidence certaines nouvelles interactions entre HLA et d'autres gènes. Notamment l'association entre HLA-B27 (chromosome 6) et des variantes dans ERAP1 (chromosome 5) [132], un gène codant pour une aminopeptidase du réticulum endoplasmique impliquée dans le traitement des peptides avant de leur présentation à l'HLA de classe I. Plusieurs SNPs dans ERAP1 ont été associés à la spondylarthrite ankylosante et au Psoriasis [133,134], dont certains rencontrés dans les génomes des 6 patients de l'Institut Ludwig. Curieusement, on retrouve dans le génome de LAU108 non seulement des SNPs de ERAP1 qui augmentent la susceptibilité à la spondylarthrite alkylosante (rs30187, rs27434, rs27044) mais, contrairement à d'autres patients, on y retrouve aussi des SNPs avec une MAF plus rare (rs17482078, rs10050860, rs2287987) qui ont été associés à une diminution du risque de développer la maladie.

CCL2

Au cours des dernières expériences, il est devenu clair que la présence des cellules T actives infiltrées au site tumoral était un facteur de bon pronostic [135,136]. A ce propos, une question reste ouverte: comment font-elles pour s'infiltrer localement et pourquoi cela ne se vérifie pas dans tous les mélanomes? Parmi les responsables, il a été suggéré que le manque de chémokines spécifiques dans le micro-environnement des métastases tumorales pourrait limiter la migration des cellules T activées, en diminuant l'efficacité de l'immunité anti tumorale. Les chémokines impliquées seraient: CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10 [137] et CCL18, CCL19, CCL21, CCL8, CXCL11, CXCL13 [138]. Sur le plan thérapeutique, cela révèle une grande importance car les patients ayant un infiltrat inflammatoire au site tumoral ont une plus grande probabilité de bénéficier d'une thérapie vaccinale [139,140].

Le gradient de concentration de CCL2 (ou MCP1 pour Monocyte chemoattractant protein-1) est responsable de l'appel des cellules mononucléaires, typiquement monocytes et macrophages, au site inflammatoire [141]. De nombreuses cellules sont capables de produire et libérer cette chémokine en réponse à différents stimuli (cytokines, facteurs de croissance, lipopolysaccharides) [142-145]. Une revue des polymorphismes de CCL2 datant 2006 mettait en évidence plusieurs associations de ces polymorphismes avec nombreuses maladies auto immunes [146].

Dans le deuxième bloc, rs2857657 est présent de façon homozygote chez tous les patients sauf chez LAU165, où il est hétérozygote. Au vu d'une fréquence allélique de C qui s'élève à 80% dans une population européenne [Réf.: 1000Genomes Project], ceci n'est pas forcément étonnant d'un point de vue statistique. Rs4586 est rencontré chez LAU149 et LAU63, une thiamine remplace une cytosine avec une MAF de T = 0.46 toutes populations confondues [Réf.: 1000Genomes Project]. Ce polymorphisme a été associé, entre autre, à la réactivation du HCMV (Human Cytomegalovirus) après transplantation de cellules souches autologues [147].

Genome-wide associations studies: discussion

Un exemple de réussite des GWAS parmi les maladies auto immunes: la maladie de Chron

Les dernières années ont vu une explosion des GWAS avec pour but d'identifier des loci associés à des traits polygéniques complexes et des maladies, y comprises de nombreuses maladies auto immunes [148]. Le succès des études d'association génomique pour clarifier la biologie des maladies peut être illustré en prenant l'exemple de la maladie de Chron. Il y a 10 ans les connaissances sur le mécanisme à la base de cette pathologie gastro-intestinale étaient floues. Depuis, plusieurs GWAS ont identifié de nombreuses régions chromosomiques contenant des variantes génétiques conférant un risque de développer la maladie (dont certains présents dans la table n1) [149]. Des analyses des gènes dans ces régions ont révélés plusieurs processus physiologiques ayant un rôle méconnu jusqu'à maintenant, incluant l'immunité inné, l'autophagie et l'interleukine IL-23R [150,151]. Des modèles cellulaires ont été développés et utilisés pour documenter la pathogénicité des mutations et pour élargir les connaissances sur les voies biologiques. Des modèles ont été conçus pour identifier des nouvelles cibles thérapeutiques [149, 152]. En résumé, une approche GWAS identifiant des associations a catalysé des modèles moléculaires, cellulaires et animaux emmenant à une meilleure compréhension de la maladie de Chron et au développement de nouvelles possibilités thérapeutiques.

Le revers de la médaille: difficulté d'interprétation

On a vu comme les GWAS ont pu associer nombreux loci et SNPs à différentes maladies. Cependant, définir les conséquences fonctionnelles de ces SNPs a été extrêmement difficile pour plusieurs raisons. En premier lieu car la majorité des SNPs associés sont supposés conférer individuellement un risque relatif modeste, (odds ratios généralement inférieurs à 1.5) suggérant qu'un réseau génique complexe est nécessaire pour développer la maladie. En deuxième lieu, car c'est probable que certains SNPs ne sont pas causales eux mêmes mais

marqueraient par linkage disequilibrium d'autres SNPs causales rares voisins non génotypes par les catalogues de référence. En dernier, le fait que nombreux SNPs se trouvent dans la partie non codante de l'ADN (Hindorff et al. ont montré qu'environ 45% des SNPs associés à une maladie ou trait reportés dans un échantillon d'études GWAS étaient introniques et 43% intergéniques [153]). Ceux-ci - davantage que les SNPs codants non-synonymes, c'est-à-dire codant pour un AA différent dans la protéine résultante - pourraient être causals dans plusieurs situations. Ce qu'on considérait jusqu'à maintenant "junk DNA" semble d'ailleurs avoir un rôle actif dans des régulations géniques spécifiques aux différents tissus, et c'est cette régulation, plutôt que les différences structurales moindres d'une protéine, qui est suspectée être contributive dans nombreux cas de prédisposition à une maladie. Je fais référence en particulier au projet ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) qui a abouti récemment à ses premiers résultats [154]. Pour l'interprétation des variantes dans la partie non codante de l'ADN, un approche différent est fourni par les études des eQTLs (expression quantitative trait loci) qui informent sur la quantité de transcription produite, souvent tissu-dépendante [155].

Concernant le signification d'un SNP dans la partie codante de l'ADN, en raison du fait que le code génétique est dégénérée, on parlera de mutation synonyme si la séquence des acides aminés codée reste inchangée et non-synonyme si celle-ci diffère (missense en anglais). Pour estimer l'impact sur la protéine, un score entre 0 et 1 est attribué parfois par un programme appelé PolyPhen qui prédit l'effet de la variation sur la fonction de la protéine en se basant sur des considérations physico-comparatives. Plus le chiffre se rapproche de 1, plus la mutation est dangereuse [156]. Le site du 1000Genomes Project applique encore une classification selon la signification clinique qui peut être inconnue, non testés, non pathogénique, plus ou moins pathogénique ou pathogénique.

Limitations

Les études GWAS présentent certaines limitations: elles ne sont pas optimales pour associer des maladies avec des variantes rares, elles prennent en considération que les SNPs et ne sont donc pas optimales pour les variations structurelles telles que les délétions, insertions, inversions et CNP (copy number polymorphism) [6]. Elles sont en outre vulnérables aux biais de ségrégation, de sélection, de classification des groupes cas et contrôle et elles requièrent généralement un grand nombre d'individus à tester [157]. D'ailleurs, des études de réplication comprenant l'utilisation d'autres plate-formes de typage sont indispensables pour évaluer la véridicité des associations, l'intention étant celle de déterminer quels SNPs sortant du premier GWAS respectent une association reproductible et statistiquement évaluable [158,159]. La réplication des études permet à la fois de tester la véridicité des résultats et de minimiser le risque de considérer erronément "non significatives" des associations seulement à cause de la taille réduite du collectif de l'étude initiale. Enfin, pendant que le nombre des études GWAS s'accroît dans la littérature, on s'aperçoit qu'une grande fraction de l'héréditabilité des maladies communes ne peut pas s'expliquer par les polymorphismes génétiques communes [158]. Une étude récente estime qu'environ <20% de l'effet génétique total pourrait être dû aux allèles communes [160]. Sur le plan génétique, cela démontre l'importance d'investiguer aussi d'autres types de mutations et de cibler idéalement des variantes moins communes avec des fréquences alléliques plus basses.

Vers une recherche de plus en plus réseau-dépendante

Un phénotype est le résultat d'un réseau complexe comprenant multiples interactions entre gènes, cellules, tissus, organes et environnement. Spécialement dans les maladies communes, d'origine multifactorielle et polygénique, l'identification des réseaux - plutôt que des gènes uniques - contribue à la compréhension de la maladie. Les bio-informaticiens sont à la recherche d'algorithmes et d'outils d'analyse pour incorporer des data-bases publiques des connaissances biologiques à utiliser en combinaison aux études GWAS. Cette recherche d'algorithmes se fait de plus en plus avec une prospective multidimensionnelle, en essayant de prendre en considération plusieurs variables biologiques y comprises celles non linéaires des interactions gène-environnement [161-164]. L'avantage de l'utilisation des data-bases des voies déjà connues en

alliage aux études GWAS a été démontré pour des maladies telles que la dégénérescence maculaire liée à l'âge, l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Chron [165,166].

A ce sujet, on pourrait citer l'expérience de Baranzini et al. [167] qui a démontré l'utilité des analyses basées sur les réseaux (protéine-protéine dans ce cas) dans le contexte de deux études GWAS sur la sclérose multiple. Plus récemment, d'autres méthodes analytiques d'analyse des réseaux, comme le WGCNA (Weighted Gene Co-expression Network Analysis) utilisant des microarrays de co-expression des gènes, ont aussi été utilisées en complément aux études GWAS [168,169].

Malgré le fait que le succès initial des GWAS ait concentré ses résultats sur le génome, d'autres informations concernant le protéome et le transcriptome sont importantes. Les données d'expression génique dans différents tissus humains sont aussi capitales pour la compréhension des voies régulatrices physiologiques [170,171]. Là aussi, dans le but d'identifier ces différences d'expression géniques, des algorithmes informatisés et des méthodes de calcul ont été proposés [172,173]. Finalement, l'habileté de co-analyser des variations génétiques et des données phénotypiques sera de plus en plus déterminante pour générer des inférences fiables entre loci responsables d'une maladie, corrélations génotype-phénotype et interactions gène-gène et gène-environnement. L'avenue des GWAS a bouleversé l'approche traditionnelle des études observationnelles d'inférence des loci, mais l'enthousiasme motivé par les progrès des nouvelles technologies a peut-être donné l'illusion à quelqu'un qu'on aurait eu des associations causales utilisables cliniquement sans même devoir aller chercher des confirmations sur le plan biologique. D'où l'importance de rappeler que la consistance des résultats (possibilité de répliquer des SNPs dans des études indépendantes), et la plausibilité/cohérence biologique globale sont des critères de causalité toujours actuels.

Conclusion

L'identification - et surtout la compréhension - des mutations plus ou moins communes dans les voies de signalisation du système immunitaire et dans les cellules tumorales favorisant - ou défavorisant - le développement et la progression des tumeurs sont encore loin d'être complétées, mais elles nous permettent déjà à présent d'élargir nos connaissances sur les mécanismes qui permettent cette progression.

Dans mon étude, en raison de la taille réduite du collectif et du caractère commun des variantes, l'extrapolation d'associations à partir des tables n_1 et n_2 n'est pas pertinente. Par contre, en séquençant les génomes des cellules germinales d'un nombre statistiquement suffisant de patients avec un mélanome, la confrontation de ceux-ci avec une liste des polymorphismes telle que la mienne permettrait de tester plusieurs hypothèses: 1) certains polymorphismes (voir même "un profil") pourraient être associés à une meilleure évolution clinique avec et sans l'utilisation d'immunothérapies spécifiques, 2) un plus grand nombre de ces SNPs conférant une meilleure clinique se retrouveraient parmi ceux des maladies auto-immunes, 3) avec la confrontation d'un groupe contrôle sain, certains SNPs pourraient être associés à une susceptibilité accrue à développer le mélanome. La première hypothèse nécessiterait d'une étude prenant en compte, par exemple, la durée de survie des patients groupés sous le même stade tumoral. En présence d'un profil favorable, celui-ci devrait en principe se ressembler dans les deux versions de l'étude, (avec ou sans immunothérapie spécifique associée) mais des surprises ne sont pas exclues. La deuxième hypothèse, qui assume qu'un système immunitaire "hyperfonctionnel" (et donc sujets aux maladies auto-immunes) protégerait l'hôte du mélanome, pourrait être testée en même temps que la première ou la troisième, en regardant tout simplement si une majorité des SNPs proviennent du premier bloc. Concernant la troisième hypothèse, elle pourrait être testée avec une étude GWAS ciblée. A noter que de nos jours, afin d'augmenter le collectif, on pourrait faire appel et demander l'accès aux données collectionnées par d'autres centres de recherche, ceci en s'assurant d'obtenir en parallèle le plus grand nombre d'informations cliniques possibles.

Les limites de ma liste des SNPs orientée au dysfonctionnement du système immunitaire sont liées au fait qu'elle ne prend en considération qu'un type de mutation commune et au caractère très changeant et large du sujet. Toutefois, elle permet un accès facile aux sources, elle représente un moyen de confrontation rapide et elle donne une vue d'ensemble des travaux des recherches qui ont déjà été accomplis, ne donnant pourtant pas des renseignements qualitatifs sur chaque étude. D'ailleurs, l'explosion du nombre des études GWAS ces dernières années fait qu'une recherche approfondie des polymorphismes d'un domaine aussi vaste que le système immunitaire soit difficile à accomplir. Une telle vague de publications est prometteuse d'aider à l'identification de nombreuses nouvelles applications dans le domaine médical et probablement justifiée par le potentiel offert par les nouvelles technologies, mais risque en même temps d'amener à confusion, surtout considérant l'énorme quantité des données mises à disposition aux chercheurs. Une recherche sur PubMed des mots "single nucleotide polymorphism" AND "Crohn's disease" produit 551 résultats. Une telle quantité des publications rend le sujet des polymorphismes du système immunitaire difficilement abordable de façon exhaustive. Pour cela, les méta-analyses ont représenté personnellement un outil important me permettant d'avoir un regroupement d'études GWAS concernant une maladie. En outre, j'ai du faire face à une multitude de ressources et de catalogues, ce qui a compliqué davantage la sélection et la redondance des SNPs. Ces constatations personnelles ne font que s'ajouter à l'idée partagée par la communauté scientifique de la nécessité d'une coopération et d'un effort international afin de rassembler les résultats des publications de façon structurée et homogène.

Références

- [1] [Http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/snps.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/snps.shtml).
- [2] Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA*. 2008; 299:1335–44.
- [3] Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nature reviews. Genetics*. 2010 Jan; 11(1):31–46.
- [4] Green ED, Guyer MS. Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside. *Nature*. 2011 Feb 10; 470(7333):204–13.
- [5] An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*. 2012 Nov 1; 491(7422):56–65.
- [6] Manolio TA, Brooks LD, Collins FS. A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest*. 2008; 118:1590–605.
- [7] Miller AJ, Mihm MC. Melanoma. Review article. 2012; 51–65.
- [8] Parkin D, Whelan S, Ferlay J et al. Cancer Incidence in Five Continents. IARC Scientific Publications No 143, Lyon, International Agency for Research on Cancer II, 1997.
- [9] International Agency for Research on Cancer. *CANCERmondial*. <http://www-dep.iarc.fr/>.
- [10] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer*. 2005; 41: 45–60.
- [11] Bataille V, Sasieni P, Grulich A et al. Solar keratoses: a risk factor for melanoma but negative association with melanocytic naevi. *Int J Cancer*. 1998; 78: 8–12.
- [12] Whiteman DC, Watt P, Purdie DM et al. Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent pathways to cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst*. 2003; 95: 806–12.
- [13] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. 2005; 41: 28–44.
- [14] Easton D, Cox G, Macdonald A, Ponder B. Genetic susceptibility to naevi - a twin study. *Br J Cancer*. 1991; 64: 1164–7.
- [15] Wachsmuth RC, Turner F, Barrett JH et al. The effect of sun exposure in determining nevus density in UK adolescent twins. *J Invest Dermatol*. 2005; 124: 56–62.
- [16] Falchi M, Bataille V, Hayward NK et al. Genome-wide association study identifies variants at 9p21 and 22q13 associated with development of cutaneous nevi. *Nat Genet*. 2009 Aug; 41(8):915-9.
- [17] Hemminki K, Zhang H, Czene K. Familial and attributable risks in cutaneous melanoma: effects of proband and age. *J Invest Dermatol*. 2003; 120: 217–23.
- [18] Whiteman DC, Green AC. A risk prediction tool for melanoma? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14: 761–3.
- [19] Lin, J. et al. Genetics of melanoma predisposition. *Br. J. Dermatol*. 2008; 159, 286–291.
- [20] Newton Bishop, J.A. et al. The genetics of susceptibility to cutaneous melanoma. *Drugs Today (Barc)*. 2005; 41, 193–203.
- [21] Fargnoli, M.C. et al. High- and low-penetrance cutaneous melanoma susceptibility genes. *Expert Rev. Anticancer Ther*. 2006; 6, 657–670.
- [22] Goldstein AM. Familial melanoma, pancreatic cancer and germline CDKN2A mutations. *Hum Mutat*. 2004;

23:630–41.

- [23] Goldstein A, Landi MT, Tsang S, Fraser MC, Munroe DJ, Tucker MA. Association of MC1R variants and risk of melanoma in melanoma-prone families with CDKN2A mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14:2208–12.
- [24] Van der Velden PA, Sandkuijl LA, Bergman W, Pavel S, van ML, Frants RR, Gruis NA. Melanocortin-1 receptor variant R151C modifies melanoma risk in Dutch families with melanoma. *Am J Hum Genet.* 2001; 69:774–9.
- [25] Bishop JN, Harland M, Bishop DT. The genetics of melanoma. *Br J Hosp Med (Lond).* 2006; 67(6):299–304.
- [26] Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes. *Mutat Res.* 2005; 577(1–2):275–83.
- [27] Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature.* 2001; 411(6835):366–74.
- [28] Vogelstein, B. et al. Cancer genes and the pathways they control. *Nat. Med.* 2004; 10, 789–799.
- [29] Mocellin S, Verdi D, Nitti D. DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Carcinogenesis.* 2009 Oct; 30(10):1735–43.
- [30] Coin, F. et al. Mutations in the XPD helicase gene result in XP and TTD phenotypes, preventing interaction between XPD and the p44 subunit of TFIIH. *Nat. Genet.* 1998; 20, 184–188.
- [31] Benhamou, S. et al. ERCC2/XPD gene polymorphisms and cancer risk. *Mutagenesis.* 2002; 17, 463–469.
- [32] Hemminki, K. et al. XPD exon 10 and 23 polymorphisms and DNA repair in human skin in situ. *Carcinogenesis.* 2001; 22, 1185–1188.
- [33] Flejter, W.L. et al. Correction of xeroderma pigmentosum complementation group D mutant cell phenotypes by chromosome and gene transfer: involvement of the human ERCC2 DNA repair gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1992; 89, 261–265.
- [34] Gratchev, A. The nucleotide excision repair of DNA in human cells and its association with xeroderma pigmentosum. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2008; 637, 113–119.
- [35] Rass, K. et al. UV damage and DNA repair in malignant melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2008; 624, 162–178.
- [36] Sinha, R.P. et al. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002; 1, 225–236.
- [37] Liang XS, Pfeiffer RM, Wheeler W, Maeder D, Burdette L, Yeager M, et al. Genetic variants in DNA repair genes and the risk of cutaneous malignant melanoma in melanoma-prone families with/without CDKN2A mutations. *International journal of cancer.* 2012 May 1; 130(9):2062–6.
- [38] Moldovan GL, Madhavan MV, Mirchandani KD, McCaffrey RM, Vinciguerra P, D'Andrea AD. DNA polymerase POLN participates in cross-link repair and homologous recombination. *Mol Cell Biol.* 2010; 30:1088–96.
- [39] Nahas SA, Gatti RA. DNA double strand break repair defects, primary immunodeficiency disorders, and 'radiosensitivity'. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2009 Dec; 9(6):510–6.
- [40] Parikh SS, Mol CD, Tainer JA. Base excision repair enzyme family portrait: integrating the structure and chemistry of an entire DNA repair pathway. *Structure.* 1997; 5(12):1543–50.
- [41] Hung RJ, Hall J, Brennan P, Boffetta P. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005; 162(10):925–42.
- [42] Lockett KL, Hall MC, Xu J, et al. The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function. *Cancer Res.* 2004; 64(17):6344–8.
- [43] Wilson 3rd DM, Bohr VA. The mechanics of base excision repair, and its relationship to aging and disease. *DNA Repair (Amst).* 2007; 6(4):544–59.
- [44] Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol.* 2004; 43(5):326–35.
- [45] Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, et al. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature.* 2007; 445:656–60.
- [46] Peter ME, Krammer PH. The CD95 (APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ.* 2003; 10:26–35.
- [47] Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell.* 1997; 88:593–602.
- [48] Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell.* 2004; 116:205–19.
- [49] Burnet FM. Cancer - a biological approach. *Br. Med. J.* 1957; 1:841–47.
- [50] Thomas, L. Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States. H. S. Lawrence (ed.) Hoeber-Harper NY. 1959; pp. 529–533.
- [51] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoeediting : from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol.* 2002 Nov; 3(11):991–8.
- [52] Dighe AS, Richards E, Old LJ, Schreiber RD. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN γ receptors. *Immunity.* 1994; 1:447–56.
- [53] Kaplan DH, Shankaran V, Dighe AS, Stockert E, Aguet M, et al. Demonstration of an interferon γ -dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95:7556–61.
- [54] Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature.* 2001; 410:1107–11.
- [55] Smyth MJ, Thia KY, Street SE, Cretney E, Trapani JA, et al. Differential tumor surveillance by natural killer (NK) and NKT cells. *J. Exp. Med.* 2000; 191:661–68.
- [56] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoeediting. *Immunity.* 2004; 21:137–48.

- [57] Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6:836–48.
- [58] Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv. Immunol.* 2006; 90:1–50.
- [59] Swann JB, Smyth MJ. Immune surveillance of tumors. *J. Clin. Investig.* 2007; 117:1137–46.
- [60] Shevach, E. M. Fatal attraction: tumours beckon regulatory T cells. *Nature Med.* 2004; 10, 900–901.
- [61] Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6:836–48.
- [62] Restifo NP, Marincola FM, Kawakami Y, Taubenberger J, Yannelli JR, Rosenberg SA. Loss of functional beta 2-microglobulin in metastatic melanomas from five patients receiving immunotherapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 1996; 88:100–8.
- [63] Khong HT, Wang QJ, Rosenberg SA. Identification of multiple antigens recognized by tumor-infiltrating lymphocytes from a single patient: tumor escape by antigen loss and loss of MHC expression. *J. Immunother.* 2004; 27:184–90.
- [64] Jager E, Ringhoffer M, Karbach J, Arand M, Oesch F, Knuth A. Inverse relationship of melanocyte differentiation antigen expression in melanoma tissues and CD8+ cytotoxic-T-cell responses: evidence for immunoselection of antigen-loss variants in vivo. *Int. J. Cancer.* 1996; 66:470–76.
- [65] Dunn GP, Sheehan KC, Old LJ, Schreiber RD. IFN unresponsiveness in LNCaP cells due to the lack of JAK1 gene expression. *Cancer Res.* 2005; 65:3447–53.
- [66] Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual review of immunology.* 2011 Jan; 29:235–71.
- [67] Terabe M, Berzofsky JA. Immunoregulatory T cells in tumor immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 2004; 16:157–62.
- [68] Betts G, Twohig J, Van den Broek M, Sierro S, Godkin A, Gallimore A. The impact of regulatory T cells on carcinogen-induced sarcogenesis. *Br J Cancer.* 2007; 96:1849–1854.
- [69] Poutahidis T, Haigis KM, Rao VP, Nambiar PR, Taylor CL, Ge Z, Watanabe K, Davidson A, Horwitz BH, Fox JG, Erdman SE. Rapid reversal of interleukin-6-dependent epithelial invasion in a mouse model of microbially induced colon carcinoma. *Carcinogenesis.* 2007; 28:2614–2623.
- [70] Ménétrier-Caux C, Curiel T, Faget J, Manuel M, Caux C, Zou W. Targeting regulatory T cells. *Targeted oncology.* 2012 Mar; 7(1):15–28.
- [71] Anna M. Leung, Donald L. Surgery for Distant Melanoma Metastasis. *Cancer J.* 2012 March; 18(2): 176–184.
- [72] Dummer R, Guggenheim M, Arnold a W, Braun R, von Moos R. Updated Swiss guidelines for the treatment and follow-up of cutaneous melanoma. *Swiss medical weekly.* 2011 Jan; 141:w13320.
- [73] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363:711–23.
- [74] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O'Day S, M DJ, Garbe C, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2011; 364:2517–26.
- [75] Revicki D a, van den Eertwegh AJM, Lorigan P, Lebbe C, Linette G, Ottensmeier CH, et al. Health related quality of life outcomes for unresectable stage III or IV melanoma patients receiving ipilimumab treatment. *Health and quality of life outcomes.* 2012 Jan; 10:66.
- [76] Boni A, Cogdill AP, Dang P, Udayakumar D, Njauw CN, Sloss CM, et al. Selective BRAFV600E inhibition enhances T-cell recognition of melanoma without affecting lymphocyte function. *Cancer Res.* 2010; 70(13):5213–5219.
- [77] Maire C, Vercambre-Darras S, Devos P, D'Herbomez M, Dubucquoi S, Mortier L. Metastatic melanoma: spontaneous occurrence of auto antibodies is a good prognosis factor in a prospective cohort. *JEADV.* 2013 Jan; 27(1):92–6.
- [78] Mukherji B. Immunology of melanoma. *Clinics in Dermatology.* 2013 Mar; 31(2):156–65.
- [79] Lotze MT, Chang AE, Seipp CA, Simpson C, Vetto JT, Rosenberg SA. High-dose recombinant interleukin 2 in the treatment of patients with disseminated cancer. Responses, treatment-related morbidity, and histologic findings. *JAMA.* 1986; 256:3117- 24.
- [80] Dougan M, Dranoff G. Immune therapy for cancer. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27:83-117.
- [81] Gilboa E. The makings of a tumor rejection antigen. *Immunity.* 1999; 11:263-70.
- [82] Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer.* 2012; 12:265-77.
- [83] Probst HC, McCoy K, Okazaki T, Honjo T, van den Broek M. Resting dendritic cells induce peripheral CD8+ T cell tolerance through PD-1 and CTLA- 4. *Nat Immunol.* 2005; 6:280-6.
- [84] Zou T, Caton AJ, Koretzky GA, Kambayashi T. Dendritic cells induce regulatory T cell proliferation through antigen-dependent and -independent interactions. *J Immunol.* 2010; 185:2790-9.
- [85] Slingluff CL Jr., Yamshchikov G, Neese P, Galavotti H, Eastham S, Engelhard VH, et al. Phase I trial of a melanoma vaccine with gp100 (280-288) peptide and tetanus helper peptide in adjuvant: immunologic and clinical outcomes. *Clin Cancer Res.* 2001; 7:3012-24.
- [86] Schwartzenuber DJ, Lawson DH, Richards JM, Conry RM, Miller DM, Treisman J, et al. gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma. *N Engl J Med.* 2011; 364:2119- 27.
- [87] Lienard D, Avril MF, Le Gal FA, Baumgaertner P, Vermeulen W, Blom A, et al. Vaccination of melanoma patients with Melan-A/Mart-1 peptide and Klebsiella outer membrane protein p40 as an adjuvant. *J Immunother.* 2009; 32:875-83.

- [88] Ribas A, Weber JS, Chmielowski B, Comin-Anduix B, Lu D, Douek M, et al. Intra-lymph node prime-boost vaccination against Melan A and tyrosinase for the treatment of metastatic melanoma: results of a phase 1 clinical trial. *Clin Cancer Res.* 2011; 17:2987-96.
- [89] Slingluff CL Jr., Petroni GR, Chianese-Bullock KA, Smolkin ME, Hibbitts S, Murphy C, et al. Immunologic and clinical outcomes of a randomized phase II trial of two multi-peptide vaccines for melanoma in the adjuvant setting. *Clin Cancer Res.* 2007; 13:6386-95.
- [90] Slingluff CL, Petroni GR, Smolkin ME, Chianese-Bullock KA, Smith K, Murphy C, et al. Immunogenicity for CD8+ and CD4+ T cells of 2 formulations of an incomplete Freund's adjuvant for multi-peptide melanoma vaccines. *J Immunother.* 2010; 33:630-8.
- [91] Scheibenbogen C, Schadendorf D, Bechrakis NE, Nagorsen D, Hofmann U, Servetopoulou F, et al. Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and foreign helper protein as immunologic adjuvants on the T-cell response to vaccination with tyrosinase peptides. *Int J Cancer.* 2003; 104:188-94.
- [92] Khong HT, Yang JC, Topalian SL, Sherry RM, Mavroukakis SA, White DE, et al. Immunization of HLA-A*0201 and/or HLA-DPbeta1*04 patients with metastatic melanoma using epitopes from the NY-ESO-1 antigen. *J Immunother.* 2004; 27:472-7.
- [93] Ebert LM, Liu YC, Clements CS, Robson NC, Jackson HM, Markby JL, et al. A long, naturally presented immunodominant epitope from NY-ESO-1 tumor antigen: implications for cancer vaccine design. *Cancer Res.* 2009; 69:1046-54.
- [94] Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, et al. IMPACT Study Investigators. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2010; 363:411-22.
- [95] Kandalafi LE, Powell Jr DJ, Chiang CL, Tanyi J, Kim S, Bosch M, et al. Autologous lysate-pulsed dendritic cell vaccination followed by adoptive transfer of vaccine-primed ex vivo co-stimulated T cells in recurrent ovarian cancer. *Oncoimmunology.* 2013 Jan 1; 2(1):e22664.
- [96] Yang JC, Rosenberg SA. Current approaches to the adoptive immunotherapy of cancer. *Adv Exp Med Biol.* 1988; 233:459-467.
- [97] Besser MJ, Shapira-Frommer R, Treves AJ, Zippel D, Itzhaki O, Hershkovitz L, et al. Clinical responses in a phase II study using adoptive transfer of short-term cultured tumor infiltration lymphocytes in metastatic melanoma patients. *Clin Cancer Res.* 2010; 16(9):2646-2655.
- [98] Radvanyi LG, Bernatchez C, Zhang M, Miller P, Glass M, Papadopoulos N, et al. Adoptive T-cell therapy for metastatic melanoma: The MD Anderson experience. *J Immunother.* 2010; 33(8):863.
- [99] Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, Yang JC, Hwu P, Schwartzentruber DJ, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science.* 2002; 298(5594):850-854.
- [100] Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2011; 17(13):4550-4557.
- [101] Chen JQ, Hwu P, Radvanyi L. Adoptive T-cell Therapy Using Autologous Tumor-infiltrating Lymphocytes for Metastatic Melanoma: Current Status and Future Outlook. *Cancer J.* 2012 Mar-Apr; 18(2):160-75.
- [102] Appay V, Dunbar PR, Callan M, Klenerman P, Gillespie GM, Papagno L, et al. Memory CD8+ T cells vary in differentiation phenotype in different persistent virus infections. *Nat Med.* 2002; 8(4): 379-385.
- [103] Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22:745-763.
- [104] Trapani JA. Target cell apoptosis induced by cytotoxic T cells and natural killer cells involves synergy between the pore-forming protein, perforin, and the serine protease, granzyme B. *Aust N Z J Med.* 1995; 25(6):793-799.
- [105] Karre K. Natural killer cell recognition of missing self. *Nat Immunol.* 2008; 9:477-80.
- [106] Carrega P, Pezzino G, Queirolo P. Susceptibility of human melanoma cells to autologous natural killer (NK) cell killing: HLA-related effector mechanisms and role of unlicensed NK cells. *PLoS One.* 2009; 4:e8132.
- [107] Mukherji B, Guha A, Chakraborty NG, et al. Clonal analysis of cytotoxic and regulatory T cell responses against human melanoma. *J Exp Med.* 1989; 169:1961-76.
- [108] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010; 28(19):3167-3175.
- [109] Weber J. Immune checkpoint proteins: a new therapeutic paradigm for cancer--preclinical background: CTLA-4 and PD-1 blockade. *Semin Oncol.* 2010; 37(5):430-439.
- [110] Fourcade J, Sun Z, Benalloua M, Guillaume P, Luescher IF, Sander C, et al. Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8+ T cell dysfunction in melanoma patients. *J Exp Med.* 2010; 207(10):2175-2186.
- [111] Gadiot J, Hooijkaas AI, Kaiser AD, van Tinteren H, van Boven H, Blank C. Overall survival and PD-L1 expression in metastasized malignant melanoma. *Cancer.* 2011; 117(10):2192-2201.
- [112] Wong RM, Scotland RR, Lau RL, Wang C, Korman AJ, Kast WM, et al. Programmed death-1 blockade enhances expansion and functional capacity of human melanoma antigen-specific CTLs. *Int Immunol.* 2007; 19(10):1223-1234.
- [113] Gigante M, Gesualdo L, Ranieri E. TGF-beta: a master switch in tumor immunity. *Curr Pharm Des.* 2012; 18(27):4126-34.
- [114] Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2006 Apr; 6(4):295-307.

- [115] Speiser DE, Romero P. Molecularly defined vaccines for cancer immunotherapy, and protective T cell immunity. *Seminars in immunology*. 2010 Jun; 22(3):144–54.
- [116] Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, Kroemer G. Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8(1):59–73.
- [117] Sumimoto H, Imabayashi F, Iwata T, Kawakami Y. The BRAF-MAPK signaling pathway is essential for cancer-immune evasion in human melanoma cells. *J Exp Med*. 2006; 203(7):1651–1656.
- [118] Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med*. 2011; 364(26):2507–2516.
- [119] Molenkamp BG, van Leeuwen PA, Meijer S, Sluiter BJ, Wijnands PG, Baars A, van den Eertwegh AJ, Scheper RJ, de Gruijl TD. Intradermal CpG-B activates both plasmacytoid and myeloid dendritic cells in the sentinel lymph node of melanoma patients. *Clin Cancer Res*. 2007; 13:2961–2969.
- [120] Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol*. 2004; 5:987–995.
- [121] Oberg HH, Juricke M, Kabelitz D, Wesch D. Regulation of T cell activation by TLR ligands. *Eur J Cell Biol*. 2011; 90:582–592.
- [122] Liu H, Komai-Koma M, Xu D, Liew FY. Toll-like receptor 2 signaling modulates the functions of CD4+ CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103:7048–7053.
- [123] Zhang Y, Luo F, Cai Y, Liu N, Wang L, Xu D, Chu Y. TLR1/TLR2 agonist induces tumor regression by reciprocal modulation of effector and regulatory T cells. *J Immunol*. 2011; 186:1963–1969.
- [124] Gajewski TF, Louahed J, Brichard VG. Gene signature in melanoma associated with clinical activity: a potential clue to unlock cancer immunotherapy. *Cancer J*. 2010 Jul-Aug; 16(4):399–403.
- [125] Galon J, Pagès F, Marincola FM, Thurin M, Trinchieri G, Fox BA, et al. The immune score as a new possible approach for the classification of cancer. *Journal of translational medicine*. BioMed Central Ltd; 2012 Jan; 10(1):1.
- [126] Hindorf LA, MacArthur J, Morales J, Junkins HA, Hall PN, Klemm AK, and Manolio TA. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. Available at: www.genome.gov/gwastudies.
- [127] Panagiotou O, Ioannidis JP. What should the genome-wide significance threshold be? Empirical replication of borderline genetic associations. *International journal of epidemiology*. 2012 Feb; 41(1):273–86.
- [128] Nikolaev SI, Rimoldi D, Iseli C, Valsesia A, Robyr D, Gehrig C, et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic MAP2K1 and MAP2K2 mutations in melanoma. *Nat Genet*. 2011 Dec 25; 44(2):133–9.
- [129] Kuchroo, V.K. et al. Dysregulation of immune homeostasis in autoimmune diseases. *Nat. Med*. 2012; 18, 42–47.
- [130] Leslie, S. et al. A statistical method for predicting classical HLA alleles from SNP data. *Am. J. Hum. Genet*. 2008; 82, 48–56.
- [131] Monsuur, A.J. et al. Effective detection of human leukocyte antigen risk alleles in celiac disease using tag single nucleotide polymorphisms. *PLoS ONE*. 2008; 3, e2270.
- [132] Evans, D.M. et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat. Genet*. 2011; 43, 761–767.
- [133] Evans DM, Spencer CCA, Pointon JJ, Su Z, Harvey D, Kochan G, et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet*. 2011 Aug; 43(8):761–7.
- [134] A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet*. 2010 Nov; 42(11):985–90.
- [135] Jochems, C. & Schlom, J. Tumor-infiltrating immune cells and prognosis: the potential link between conventional cancer therapy and immunity. *Exp. Biol. Med*. 2011; 236, 567–579.
- [136] Fridman, W. H. *et al.* Immune infiltration in human cancer: prognostic significance and disease control. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*. 2011; 344, 1–24.
- [137] Harlin H, Meng Y, Peterson AC, et al. Chemokine expression in melanoma metastases associated with CD8+ T-cell recruitment. *Cancer Res*. 2009; 69: 3077–3085.
- [138] Messina JL, Fenstermacher DA, Eschrich S, Qu X, Berglund AE, Lloyd MC, et al. 12-Chemokine Gene Signature Identifies Lymph Node-like Structures in Melanoma: Potential for Patient Selection for Immunotherapy? *Science*. 2012 Oct 24; 2.
- [139] Gajewski TF, Zha Y, Thurner B, et al. Association of gene expression profile in melanoma and survival to a dendritic cell-based vaccine. *J Clin Oncol*. 2009; 27(15S):9002.
- [140] Louahed J, Gruselle O, Gaulis S, et al. Expression of defined genes identified by pre-treatment tumor profiling: association with clinical responses to the GSK-MAGE-A3 immunotherapeutic in metastatic melanoma patients. *J Clin Oncol*. 2008; 26(suppl): Abstract 9045.
- [141] Yoshie O, Imai T, Nomiya H. Chemokines in immunity. *Adv Immunol*. 2001; 78:57–110.
- [142] Lee YW, Eum SY, Chen KC, Hennig B, Toborek M. Gene expression profile in interleukin-4-stimulated human vascular endothelial cells. *Mol Med*. 2004; 10:19–27.
- [143] Distler O, Pap T, Kowal-Bielecka O, Meyringer R, Guiducci S, Landthaler M et al. Overexpression of monocyte chemoattractant protein 1 in systemic sclerosis: role of platelet-derived growth factor and effects on monocyte chemotaxis and collagen synthesis. *Arthritis Rheum*. 2001; 44:2665–78.
- [144] Mestdagh M, Polette M, Buttice G, Noel A, Ueda A, Foidart JM et al. Transactivation of MCP-1/CCL2 by beta-catenin/TCF-4 in human breast cancer cells. *Int J Cancer*. 2006; 118:35–42.

- [145] Jost MM, Ninci E, Meder B, Kempf C, Van Royen N, Hua J et al. Divergent effects of GM-CSF and TGFbeta1 on bone marrow- derived macrophage arginase-1 activity, MCP-1 expression, and matrix metalloproteinase-12: a potential role during arteriogenesis. *FASEB J.* 2003; 17:2281–3.
- [146] Zdenka Navratilova. Polymorphisms in CCL2 and CCL5 chemokines / chemokines receptors genes and their association with diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006; 150(2):191–204.
- [147] Loeffler J, Steffens M, Arlt EM et al. Polymorphisms in the genes encoding chemokine receptor 5, interleukin-10, and monocyte chemoattractant protein 1 contribute to cytomegalovirus reactivation and disease after allogeneic stem cell transplantation. *J Clin Microbiol.* 2006 May; 44(5):1847-50.
- [148] Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007; 447(7145):661–678.
- [149] Rioux, J.D. et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nature Genet.* 2007; 39, 596–604.
- [150] VanLimbergen, J., Wilson, D.C. & Satsangi, J. The genetics of Crohn's disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2009; 10, 89–116.
- [151] Brest, P. et al. Autophagy and Crohn's disease: at the cross roads of infection, inflammation, immunity, and cancer. *Curr. Mol. Med.* 2010; 10, 486–502.
- [152] Cadwell, K. et al. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg1611 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature.* 2008; 456, 259–263.
- [153] Hindorff LA, Sethupathy P, Junkins HA, et al. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106:9362–7.
- [154] An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 2012 Sep 6; 489(7414):57–74.
- [155] Franke L, Jansen R. eQTL Analysis in Humans. In: DiPetrillo K, editor. *Cardiovascular Genomics SE* - 17. Humana Press. 2009; p. 311–328.
- [156] <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>
- [157] McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, Goldstein DB, Little J, Ioannidis JP a, et al. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nature reviews. Genetics.* 2008 May; 9(5):356–69.
- [158] Ziegler A, Konig IR, Thompson JR. Biostatistical aspects of genome-wide association studies. *Biomed J.* 2008; 50:8–28.
- [159] Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med.* 2002; 4:45–61.
- [160] Visscher PM, Hill WG, Wray NR. Heritability in the genomics era—concepts and misconceptions. *Nat Rev Genet.* 2008; 9:255–266.
- [161] Moore JH, Williams SM. Traversing the conceptual divide between biological and statistical epistasis: systems biology and a more modern synthesis. *Bioessays.* 2005; 27:637–46.
- [162] Sebastiani P, Timofeev N, Dworkis DA, et al. Genome-wide association studies and the genetic dissection of complex traits. *Am J Hematol.* 2009; 84:504–15.
- [163] Elbers CC, van Eijk KR, Franke L, et al. Using genome-wide pathway analysis to unravel the etiology of complex diseases. *Genet Epidemiol.* 2009; 33:419–31.
- [164] Bakir-Gungor B, Sezerman OU. A new methodology to associate SNPs with human diseases according to their pathway related context. *PLoS one.* 2011 Jan; 6(10):e26277.
- [165] Torkamani A, Topol EJ, Schork NJ. Pathway analysis of seven common diseases assessed by genome-wide association. *Genomics.* 2008; 92: 265–272.
- [166] Wang K, Li M, Bucan M. Pathway-Based Approaches for Analysis of Genome-wide Association Studies. *American journal of human genetics.* 2007; 81.
- [167] Baranzini SE, Galwey NW, Wang J, Khankhanian P, Lindberg R, et al. Pathway and network-based analysis of genome-wide association studies in multiple sclerosis. *Human Molecular Genetics.* 2009; 18: 2078–2090.
- [168] Gargalovic P. S., Imura M., Zhang B., Gharavi N. M., Clark M. J., et al. Identification of inflammatory gene modules based on variations of human endothelial cell responses to oxidized lipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103: 12741-12746.
- [169] Chen Y., Zhu J., Lum P. Y., Yang X., Pinto S., et al. Variations in DNA elucidate molecular networks that cause disease. *Nature.* 2008; 452: 429–435.
- [170] Dermitzakis ET. From gene expression to disease risk. *Nat Genet.* 2008; 40:492–3.
- [171] Nicolae DL, Gamazon E, Zhang W, et al. Trait-associated SNPs are more likely to be eQTLs: annotation to enhance discovery from GWAS. *PLoS Genet.* 2010; 6:e1000888.
- [172] Degenhardt J, Haubrock M, Donitz J, et al. DEEP—a tool for differential expression effectors prediction. *Nucleic Acids Res.* 2007; 35:W619–24.
- [173] Keller A, Backes C, Gerasch A, et al. A novel algorithm for detecting differentially regulated paths based on gene set enrichment analysis. *Bioinformatics.* 2009; 25:2787–94.

Tabellen n1.

PMID/link	Disease	Chr	Gene	SNP	LAU108	LAU149	LAU165	LAU50	LAU618	LAU63	Context	R Allele Freq	p-value	OR
21743469	Ankylosing spondylitis	5	ERAP1	rs30187	1	0	1	1	1	1	1 missense	0.33	2.00E-27	
20062062	Ankylosing spondylitis	5	ERAP1	rs27434	1	0	1	1	1	1	1 cds-synon	0.23	5.00E-12	1.19
17952073, 11	Ankylosing Spondylitis	5	ERAP1	rs27044	1	0	1	1	1	1	1	0.35 (G)	1.00E-06	1.4
17952073, 11	Ankylosing Spondylitis	5	ERAP1	rs17482078	1	0	0	0	0	0	0	0.13 (T)	1.20E-08	0.76 lower risk
17952073, 11	Ankylosing Spondylitis	5	ERAP1	rs10050860	1	0	0	0	0	0	0	0.13 (T)	7.70E-09	0.71 lower risk
17952073, 11	Ankylosing Spondylitis	5	ERAP1	rs2287987	1	0	0	0	0	0	0	0.13 (C)	1.00E-08	0.71 lower risk
19442274	Bechets Disease	9	BDAG1	rs2303138	0	1	0	0	0	1	0	0.17 (A)	NR	
21383967	Celiac disease and Rheumatoid	22	YDJC	rs2061634	1	0	1	0	0	0	0	0.25 (G)	4.20E-05	
20190752	Celiac disease	1	MMEL1	rs2298428	0	0	1	0	0	0	0 missense	NR	3.00E-10	
20190752	Celiac disease	3	MYNN	rs3748816	0	0	1	1	0	0	1 missense	0.66	3.00E-09	1.12
22412388	Crohn's disease	10	ZNF365	rs10936599	0	1	0	1	1	1	0 cds-synon	0.25	5.00E-07	1.12
22412388	Crohn's disease	2	ATG16L1	rs7076156	1	1	1	1	1	1	1 intron	0.751	7.00E-09	1.19
21102463	Crohn's disease	9	TNFSF15	rs2241880	0	1	0	1	1	1	1 missense	0.601	1.00E-12	1.32
21102463	Crohn's disease	9	CARD9	rs3810936	1	1	1	0	0	0	0 cds-synon	0.68	1.00E-15	1.21
21102463	Crohn's disease	3	MST1	rs4077515	1	1	0	1	1	1	1 missense	0.41	1.00E-36	1.18
18587394	Crohn's disease	1	PTPN22	rs3197999	1	1	0	0	0	0	0 missense	0.3	6.00E-17	1.22
17554300	Crohn's disease	3	BSN	rs2476601	1	1	1	1	1	1	1 missense	0.9	1.00E-08	1.31
17554300	Crohn's disease	16	NOD2	rs9858542	1	0	1	0	1	1	0 cds-synon	0.28	4.00E-08	1.09
http://www. Crohns Disease		3	MST1R	rs2066844	0	0	0	0	0	0	0	0.02 (T)	NR	
http://www. Crohns Disease		3	MST1R	rs2230590	1	1	1	1	1	1	1	0.42 (C)	NR	
http://www. Crohns Disease		1	SCAMP3	rs1062633	0	1	1	1	1	1	1	0.42 (C)	NR	
18073300	Graves' disease	1	IL23R	rs1142287	0	1	1	0	1	1	1	0.47 (T)	2E-13	
18578611	Graves' disease	1	RSBN1	rs7530511	1	1	1	1	1	1	1	0.13 (T)	0.02	
22493691	Hypothyroidism	22	C10QTNF6	rs3789604	0	0	0	0	0	0	0	0.16 (G)	NR	
22493691	Hypothyroidism	12	SH2B3	rs229526	0	1	1	0	0	0	0 missense	0.221	9.00E-06	1.22
21833088	Multiple sclerosis	19	DKK1	rs3184504	1	0	1	0	1	1	1 missense	0.502	3.00E-12	1.2
17660530	Multiple Sclerosis	12	LAG3	rs2303759	0	0	1	0	0	0	0 intron	NR	5.00E-09	1.11
19458352	Primary biliary cirrhosis	17	IKZF3	rs870849	1	1	1	1	1	1	1	0.34 (T)	3.00E-07	
20953189	Psoriasis	20	SPATA2	rs907092	1	0	1	1	1	0	1 cds-synon	0.45	8.00E-06	1.29
20031577	Fibrinogen	4	FGB	rs495337	1	0	1	1	0	0	1 cds-synon	0.57	2.00E-07	1.21
19169254	Psoriasis	5	IL13	rs6056	0	1	0	0	1	1	0 cds-synon	0.18	8.00E-39	12.94
21452313	Rheumatoid arthritis	1	PADI4	rs20541	1	1	1	1	1	1	1 missense	0.79	5.00E-15	1.27
19116923	Rheumatoid arthritis	6	VARS2	rs2240335	0	1	1	0	0	0	1 cds-synon	0.4	2.00E-08	1.5
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs4678	0	0	0	0	0	0	0	0.11 (A)	4.00E-06	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs2076530	1	1	1	1	1	1	1	0.38 (C)	3.2E-68	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs9268384	1	1	1	0	1	1	1	0.34 (G)	5.22E-60	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs9405090	1	1	1	0	1	1	1	0.34 (G)	1.31E-59	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs1033500	1	1	1	0	1	1	1	0.34 (A)	1.8E-59	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs9268368	1	0	0	0	0	0	0	0.34 (A)	3.26E-59	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs2070600	1	0	0	0	0	0	0	0.07 (T)	1.2E-29	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	BTNL2	rs2075800	1	0	0	0	0	0	0	0.29 (T)	1.98E-29	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	EGFL8	rs3096697	0	0	1	0	0	0	0	0.14 (A)	6.44E-23	
http://www. Rheumatoid arthritis		6	SLC44A4	rs494620	1	1	1	0	0	0	0	0.45 (A)	1.1E-22	

PMID/link	Disease/Trait	Chr	Gene	SNP	LAU108	LAU149	LAU165	LAU50	LAU618	LAU63	Context	R Allele Freq	p-value	OR	
http://www. Rheumatoid arthritis	6 EHM12			rs535586	1	1	1	0	1	1	1	0.19 (T)	8.3E-21		
http://www. Rheumatoid arthritis	6 SKIV2L			rs437179	1	1	1	0	1	1	1	0.22 (A)	6.15E-20		
http://www. Rheumatoid arthritis	6 C2			rs1042663	0	1	0	0	0	0	0	0.10 (A)	1.12E-19		
http://www. Rheumatoid arthritis	6 BTNL2			rs2076529	1	1	0	0	1	1	1	0.36 (C)	3E-08		
21408207 Systemic lupus erythematosus	11 OR4A15			rs7927370	0	0	0	1	0	0	0	0.94	7.00E-06	1.92	
18204447 Systemic lupus erythematosus	4 BANK1			rs10516487	0	0	1	1	0	0	0	missense	0.77	4.00E-10	1.38
18216865 Systemic lupus erythematosus	1 LY9			rs509749	1	1	1	1	1	1	1	0.37 (A)	NR		
http://www. Systemic lupus erythematosus	4 BANK1			rs3733197	0	0	1	1	0	0	0	0.25 (A)	4.67E-05		
http://www. Systemic lupus erythematosus	4 BANK1			rs10516486	0	0	1	1	0	0	0	0.48 (T)	0.001622		
http://www. Systemic lupus erythematosus	6 BANK1			rs7775397	0	0	0	0	0	0	1	0.03 (G)	8E-47		
http://www. Systemic lupus erythematosus	6 HLA-DRA			rs7192	1	1	1	0	1	1	1	0.37 (T)	6.2E-40		
19966805 Type 1 diabetes	19 TYK2			rs2304256	1	0	0	0	1	1	0	missense	0.71	4.00E-09	1.16
19430480 Type 1 diabetes	10 PRKCO			rs11258747	1	0	0	0	0	0	0	missense	NR	1.00E-07	
17554300 Type 1 diabetes	12 CLEC2D			rs3764021	1	1	0	1	0	0	0	0.47	5.00E-08	1.57	
17554260 Type 1 diabetes	18 CD226			rs763361	1	0	1	1	1	1	1	missense	0.47	1.00E-08	1.16
17554260 Type 1 diabetes	5 CAPSL			rs1445898	1	0	0	1	1	1	1	missense	0.55	8.00E-06	1.12
17554260 Type 1 diabetes	5 IL7R			rs6897932	1	0	0	1	1	1	1	0.71	8.00E-06	1.12	
17554260 Type 1 diabetes	2 IFIH1			rs1990760	1	1	1	1	1	1	1	missense	0.6	2.00E-11	1.18
19073967 Type 1 diabetes	4 IL-2			rs2069763	0	1	0	1	1	1	0	0.34 (A)	NR		
http://www. Type 1 diabetes	20 SRRPG			rs3746722	1	1	1	0	1	1	1	0.21 (G)	NR		
http://www. Type 1 diabetes	6 C6orf10			rs3129941	1	1	1	0	1	1	1	0.19 (A)	4.78E-28		
http://www. Type 1 diabetes	6 PRRCA			rs11229	0	0	0	0	0	0	1	0.13 (G)	3.89E-25		
http://www. Type 1 diabetes	6 GPRANK1			rs3130618	0	0	0	0	0	0	1	0.13 (A)	1.56E-24		
http://www. Type 1 diabetes	6 HSPAL1			rs2227956	1	1	1	0	1	1	1	0.12 (G)	8.19E-18		
http://www. Type 1 diabetes	6 NOTCH4			rs3134942	0	0	0	0	0	0	1	0.07 (T)	1E-16		
http://www. Type 1 diabetes	6 BAG6			rs1052486	1	1	1	0	1	1	1	0.49 (G)	1E-16		
http://www. Type 1 diabetes	6 C6orf10			rs1003878	0	0	0	0	0	0	1	0.21 (A)	1E-16		
21297633 Ulcerative colitis	22 IL17REL			rs5771069	1	0	1	0	1	1	0	missense	0.51	2.00E-07	1.11
21297633 Ulcerative colitis	9 CARD9			rs10781499	1	1	0	1	1	1	1	0.41	3.00E-19	1.12	
21297633 Ulcerative colitis	1 FCGR2A			rs1801274	1	1	1	1	1	1	1	0.51	2.00E-20	1.21	
21297633 Ulcerative colitis	5 IL7R			rs3194051	0	0	1	1	1	1	1	0.27	4.00E-08	1.07	
20228799 Ulcerative colitis	17 GSDMB			rs2305480	1	0	1	1	0	0	0	NR	3.00E-08	1.15	
19915573 Ulcerative colitis	6 BTNL2			rs9268480	1	1	0	0	1	1	1	0.91	3.00E-06	1.82	
20410501 Vitiligo	6 HCG9			rs6904029	0	0	0	1	1	1	0	missense	0.29	1.00E-21	1.49
20410501 Vitiligo	22 C10QTNF6			rs229527	0	1	0	0	0	0	0	0.419	2.00E-16	1.38	
20410501 Vitiligo	14 GZMB			rs8192917	1	1	1	1	1	1	1	missense	0.236	3.00E-08	1.28
19175525 Vitiligo	2 CTLA4			rs231775	0	0	1	1	1	1	1	0.45 (G)	NR		

Table 1.

PMID/link: Pubmed ID/link, Disease: trait studied Chr: chromosome, Gene: mapped gene, SNP, LAU(108;149;165;50;618;63): patients, Context: functional SNP class (intron, missense, cds-synon), R Allele Freq: risk allele frequency reported for the strongest SNP, p-value: p-value reported for strongest SNP risk allele, OR: reported odds ratio for strongest SNP.

Tabelle n2.

PMD / link	Research context	Gene	SNP	Hg18+	Hg18	LAU108_het	LAU149_EBV_het	LAU165_het	LAU501_het	LAU618_Ehet	LAU63_Ehet	MAF
http://omim.org/entry/307500	SEVERE COMBINED IMMUNODEFICIENCY 1, SU	IL13R1C	rs1494558	1 CC	1 CC	0	1 CT	1	0 CC	0	1 CT	0.39
http://omim.org/entry/307500	SEVERE COMBINED IMMUNODEFICIENCY 1, SU	IL13R1C	rs1494555	1 GG	1 AG	0	1 AG	1	0 CC	1	1 AG	0.33 (G)
http://omim.org/entry/307500	BREAST CANCER, SUSCEPTIBILITY TO	ATM	rs1800056	1 CC	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0.02
http://omim.org/entry/307500	BREAST CANCER, SUSCEPTIBILITY TO	ATM	rs1800057	1 CC	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0.02
http://snpedia.com/index.php/ATM	CANCER RISK	ATM	rs664143	1 AA	AG	1	0 GG	0	1 AG	0	0 GG	0.4
http://snpedia.com/index.php/ATM		ATM	rs659243	1 AA	AG	1	1 GG	0	1 AG	0	1 GG	<0.01 (A)
http://snpedia.com/index.php/ATM		ATM	rs664677	1 CC	CT	1	0	0	1 GG	0	1 TT	0.39 (C)
http://snpedia.com/index.php/ATM		ATM	rs664982	1 CC	CT	1	0	0	1 GG	0	1 TT	0.48 (C)
22017423	Array-Based Sequence Capture and Ne	IL17RD	rs6780995	1 GG	AA	1	0 AA	0	1 AA	0	0 AA	0.1
22017423	Array-Based Sequence Capture and Ne	IL1A	rs17561	1 CC	AA	0	1 CC	0	0 CC	0	0 CC	0.47
22017423	Array-Based Sequence Capture and Ne	IL134	rs8046424	1 GG	GG	0	0 CG	1	0 CG	0	1 CC	0.32
22017423	Array-Based Sequence Capture and Ne	NCF2	rs2274064	1 TT	TT	0	0 CC	1	0 TT	0	1 CT	0.56
22017423	Array-Based Sequence Capture and Ne	TLR7	rs179008	1 AA	AA	0	0 AA	0	0 TT	1	0 AA	0.61
22017423	Array-Based Sequence Capture and Ne	TMC8	rs7208422	1 AA	AT	1	0 AT	0	0 AT	1	0 TT	0.26
20694011	Association of FHH1 and other autoimm	CD28	rs2234978	1 TT	CC	0	1 CC	0	0 AT	1	0 TT	0.313
20694011	Association of FHH1 and other autoimm	KLHL24	rs2255015	1 GG	GG	0	0 AG	0	0 AA	0	1 CT	0.271
20694011	Association of FHH1 and other autoimm	FHH1	rs1990760	1 GG	TT	0	1 CT	1	0 CT	1	0 TT	0.423
20694011	Association of FHH1 and other autoimm	FHH1	rs1990760	1 CC	TT	0	1 CT	1	0 CT	1	0 TT	0.387
21641795	BER/NER pathway	ADPRT/PARP	rs1136410	1 AA	AA	0	0 GG	0	0 GG	0	0 AG	0.13
21641795	BER/NER pathway	APE1/APEX1	rs1130409	1 TT	GT	0	0 GG	1	1 TT	0	0 GT	0.45
21641795	BER/NER pathway	ERCC1	rs11615	1 AA	AA	0	0 AG	0	1 AG	0	0 AG	0.36
21641795	BER/NER pathway	ERCC6	rs4253211	1 CC	CC	0	0 CC	0	0 CC	1	0 CC	0.07
21641795	BER/NER pathway	ERCC6	rs2228526	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 TT	0	0 CC	0.22
21641795	BER/NER pathway	ERCC6	rs2228527	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 TT	0	0 CC	0.1
21641795	BER/NER pathway	EXO1	rs9350	1 CC	CT	1	0 CT	0	0 CT	0	0 CC	0.16
21641795	BER/NER pathway	EXO1	rs1776148	1 AA	AG	1	0 GG	0	1 AG	0	0 AG	0.35
21641795	BER/NER pathway	EXO1	rs1047840	1 GG	AA	0	1 GG	0	0 GG	0	0 GT	0.41
21641795	BER/NER pathway	HR23B/RAD7	rs1805329	1 CC	TT	0	1 CT	0	0 CC	0	0 GT	0.15
21641795	BER/NER pathway	UG4	rs1805386	1 AA	AA	0	0 GG	0	0 AA	0	0 AA	0.15
21641795	BER/NER pathway	UG4	rs1805388	1 GG	AG	1	0 GG	0	1 GG	0	0 GG	0.14
21641795	BER/NER pathway	TP53	rs1042522	1 GG	CC	0	1	0	0 GG	0	1 CC	0.26
21641795	BER/NER pathway	XPA	rs1800975	1 TT	TT	0	0 GT	1	0 CT	0	0 TT	0.32
21641795	BER/NER pathway	XPD/ERCC2	rs238406	1 TT	GG	0	0 GG	1	0 GT	1	0 GT	0.49
21641795	BER/NER pathway	XPD/ERCC2	rs1052555	1 GG	GG	0	0 GG	0	0 GG	1	0 GG	0.31
21641795	BER/NER pathway	XPD/ERCC2	rs13181	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 TT	1	0 TT	0.34
21641795	BER/NER pathway	XPD/ERCC4	rs1800067	1 GG	AG	1	0 GG	0	0 AG	0	0 GG	0.12
21641795	BER/NER pathway	XPD/ERCC4	rs1799797	1 TT	AT	1	0 AT	0	0 TT	0	0 TT	0.31
21641795	BER/NER pathway	XPD/ERCC4	rs1799801	1 TT	CT	1	0 CT	0	0 AT	0	0 TT	0.33
21641795	BER/NER pathway	XPG/ERCC5	rs17655	1 GG	GG	0	0 CG	0	0 CG	0	0 GG	0.25
21641795	BER/NER pathway	XPC1	rs25487	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	1	0 CT	0.4
21641795	BER/NER pathway	XPC3	rs861539	1 GG	AG	1	0 AG	0	0 GG	0	1 GG	0.4
21641795	Oxidative Stress pathway	COMT	rs4680	1 GG	AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 GG	0.47
21641795	Oxidative Stress pathway	NOS2	rs2297518	1 GG	GG	0	0 GG	0	0 AG	1	0 GG	0.2
21641795	Oxidative Stress pathway	NOS3	rs1799983	1 TT	GT	1	0 GG	0	1 GG	1	0 GT	0.38
21641795	Oxidative Stress pathway	OGG1	rs1052133	1 CC	CG	1	0 CC	1	0 CG	0	0 CC	0.21
21641795	Oxidative Stress pathway	PON1	rs662	1 TT	CT	1	0 CT	0	0 TT	0	0 CT	0.3
21641795	Oxidative Stress pathway	PON1	rs854560	1 AA	AT	1	0 TT	0	0 AT	0	0 TT	0.38
21641795	Oxidative Stress pathway	SOD2	rs4880	1 AA	AA	0	0 AA	0	0 AT	1	0 AA	0.49
21641795	Oxidative Stress pathway	SOD3	rs236512	1 GG	AA	0	0 AA	0	1	0	0	0.41
21810746	Neurapine-induced rash	CCHCR1	rs1265112	1 TT	CT	1	0 CT	1	0 TT	0	0 CT	0.24 (C)
20060832	Top 20 Hits (P-value<E-5) by Chromoso	CNTN6	rs7365098	1 CC	CT	1	0 CT	1	0 CC	0	0	0.45 (T)
20060832	Top 20 Hits (P-value<E-5) by Chromoso	CNTN6	rs7365098	1 GG	AG	1	0 AG	1	0 AG	0	0 AG	0.1
20060832	Top 20 Hits (P-value<E-5) by Chromoso	MUC4	rs7621695	1 AA	AG	1	0 AG	1	0 AG	0	0 AA	0.26 (G)
20060832	Association of SNPs in the IL28/IL29	LoiL28	rs11881222	1 AA	AA	0	0 AA	0	0 GG	1	0 AA	0.23 (G)
20060832	Association of SNPs in the IL28/IL29	LoiL29	rs30461	1 AA	AA	0	0 AA	0	0 AA	0	0 AA	0.23 (G)
http://www.hiv	Meningococcal infection	ZNRD1	rs8321	1 AA	AA	0	0 AA	0	0 AA	0	0 AA	0.03 (G)
20694013	Menigooccal infection	CFH3	rs1065489	1 GG	GG	0	0 GG	0	0 GT	1	0 GT	0.23 (T)
http://www.nlm.nih.gov/monoclinic	Nonalcoholic fatty liver disease	EFCAB4B	rs887304	1 TT	CT	1	0 CC	1	0 CC	0	1 CC	0.15 (T)
1825222	Eye color/melanoma risk	OCA2	rs1800407	1 CC	CT	0	0 CC	0	0 CC	1	0 CC	0.03 (T)
19387463	TAP1 PEPTIDE TRANSPORTER PSF1 POL TAP1	PSF1	rs1057141	1 TT	CT	0	0 CT	1	0 TT	0	0 TT	0.20 (G)
19387463	TAP1 PEPTIDE TRANSPORTER PSF1 POL TAP1	PSF1	rs1135216	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 TT	0	0 TT	0.19 (G)
19387463	TAP2 PEPTIDE TRANSPORTER PSF2 POL TAP2	PSF2	rs1800454	1 CC	CT	1	0 CC	0	0 CT	1	0 CT	0.15 (T)

http://snpedia.com/index.php/CTLA4	CTLA-4	R231775	1 AA	AA	0	0 AA	0	0 GG	0	1 AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0	0.45 (G)
http://snpedia.com/index.php/CD28	CD28	R3116496	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 TT	0	0 CC	0	1 TT	0	0 TT	0	0	0.13 (C)
http://snpedia.com/index.php/TGFB1	TGFB1	R51800472	1 GG	AG	0	1 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0	0.01 (A)
http://snpedia.com/index.php/IL10	IL-10	R15154286	1 AA	GG	0	1 GG	0	1 AA	0	0 AG	0	0 AG	1	0 AG	1	0	0.38 (A)
http://snpedia.com/index.php/IL10	IL-10	R30204492	1 TT	TT	0	1 GG	0	1 AA	0	0 AT	0	1 TT	1	0 TT	0	0	0.11 (A)
http://snpedia.com/index.php/IL10	IL-10	R30204496	1 AA	AG	1	0 GG	0	1 GG	0	1 AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0	0.31 (G)
20622878 Behcet's disease	IL-10	rs1518111	1 TT	CC	0	1 CC	0	1 TT	0	1 TT	0	0 CT	1	0 CT	1	0	0.40 (T)
http://snpedia.com/index.php/NO52	NO52	R5743507	1 CC	TT	0	1	0	1 TT	0	1	0	1	0	0 CT	1	0	0.24 (C)
http://snpedia.com/index.php/NO52	NO52	R57830	1 GG	GG	0	0 TT	0	1 GT	0	1 TT	0	1 GG	0	0 GT	0	0	0.36 (T)
http://snpedia.com/index.php/NO52	NO52	R891512	1 AA	GG	0	1 GG	0	1 GG	0	1 GG	0	1 AG	1	0 AG	1	0	0.12 (A)
http://snpedia.com/index.php/NO52	NO52	R31524107	1 CC	CT	1	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0	0.28 (T)
http://snpedia.com/index.php/IL6	IL-6	R2066932	1 GG	GT	1	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0	0.28 (T)
http://snpedia.com/index.php/IL6	IL-6	R2066932	1 AA	1 AA	1	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0	0.28 (T)
http://snpedia.com/index.php/IL6	IL-6	R2069840	1 CC	1 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	1	0 CC	0	0 CC	1	0	0.22 (G)
http://snpedia.com/index.php/VEGFA	VEGF	R32146323	1 GG	AA	0	1 AG	0	1 AA	0	1 GG	0	0 AG	0	0 AG	0	0	0.28 (A)
http://snpedia.com/index.php/VEGFA	VEGF	R30204997	1 GG	AA	0	1 AG	0	1 AA	0	1 GG	0	0 AG	0	0 AG	0	0	0.35 (A)
http://snpedia.com/index.php/VEGFA	VEGF	R30205000	1 CC	TT	0	1 CT	0	1 CT	0	1 CC	0	0 CT	1	0 CC	0	0	0.26 (T)
http://snpedia.com/index.php/VEGFA	VEGF	R30205000	1 GG	CC	0	1 CC	0	1 CG	0	1 CC	0	1 CC	0	1 CC	0	0	0.12 (G)
http://snped http://browser.1000genomes.org/Hon CCL2	Hon CCL2	R2857657	1 GG	CC	0	1 CC	0	1 CT	0	1 CT	0	0 TT	0	0 CT	1	0	0.46 (T)
http://snpedia.com/index.php/TLR1	TLR1	R4586	1 TT	TT	0	0 CT	0	1 CT	0	1 CT	0	0 TT	0	0 CT	1	0	0.47 (T)
http://snpedia.com/index.php/TLR1	TLR1	R4833095	1 TT	CT	1	0 CC	0	1 CT	0	1 CT	0	1 CT	1	0 TT	0	0	0.47 (T)
http://snpedia.com/index.php/TLR1	TLR1	R5743618	1 AA	AC	0	1 AA	0	1 AC	0	1 AC	0	1 AC	1	0 TT	0	0	NR
http://snpedia.com/index.php/TLR1	TLR1	R5743618	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 TT	0	1 AC	0	1 AC	1	0 TT	0	0	NR
http://snpedia.com/index.php/TLR2	TLR2	R3804099	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 CT	0	1 AC	0	1 AC	1	0 TT	0	0	0.43 (C)
http://snpedia.com/index.php/TLR2	TLR2	R5743708	1 GG	GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 AG	1	0 GG	0	0 GG	0	0	0.01 (A)
http://snpedia.com/index.php/TLR3	TLR3	R3775290	1 CC	CC	0	0 CT	0	0 CC	0	0 CT	0	0 TT	0	1 CT	1	0	0.28 (T)
http://snpedia.com/index.php/TLR3	TLR3	R3775291	1 CC	CC	0	0 CT	0	0 CT	1	0 CT	1	0 CT	0	0 CC	0	0	0.25 (T)
http://snpedia.com/index.php/TLR3	TLR3	R3775296	1 CC	CC	0	0 AC	0	1 CC	0	0 CC	0	0 AA	0	1 AC	1	0	0.18 (A)
http://snpedia.com/index.php/TLR3	TLR3	R5743312	1 CC	1 CC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.18 (A)
http://snpedia.com/index.php/TLR4	TLR4	R4986790	1 AA	AA	0	0 GG	0	1 AG	0	1 AA	0	0 AA	0	0 AA	0	0	0.04 (G)
http://snpedia.com/index.php/TLR4	TLR4	R4986791	1 CC	CC	0	0 TT	0	1 CT	0	1 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0	0.03 (T)
http://snpedia.com/index.php/TLR4	TLR4	R5743810	1 AA	TLR6	0	1 GG	0	1 GG	0	1 GG	0	1 AG	1	0 AG	1	0	0.19 (A)
http://snpedia.com/index.php/TLR6	TLR6	R5743810	1 AA	AG	1	0 GG	0	1 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 AG	1	0	0.10 (A)
http://snpedia.com/index.php/TNF	TNF	R31800610	1 GG	AG	1	0	0	1 GG	0	0 GG	0	0 GG	0	0 AG	1	0	0.10 (A)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF10A	TNFRSF10A	R20575	1 CC	CC	0	0 GG	0	0 GG	0	0 CC	0	0 GG	0	0 GG	0	0	0.43 (C)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF10A	TNFRSF10A	R20576	1 TT	GT	1	0 TT	0	0 GT	1	0 GT	1	0 TT	0	0 TT	0	0	0.11 (G)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF10A	TNFRSF10A	R2230229	1 CC	TT	0	1 TT	0	1 TT	0	1 TT	0	1 TT	0	1 CT	1	0	0.10 (C)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF1A	TNFRSF1A	R1800693	1 TT	CT	1	0 CC	0	1 TT	0	1 TT	0	0 CT	1	0 CT	1	0	0.32 (C)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF1A	TNFRSF1A	R757455	1 TT	TT	0	1 CC	0	1 TT	0	0 TT	0	0 CT	1	0 CT	1	0	0.33 (C)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF1A	TNFRSF1A	R3810936	1 TT	CC	0	1 CC	0	1 CC	0	1 TT	0	0 TT	0	0 TT	0	0	0.31 (T)
http://snpedia.com/index.php/TNFRSF15	TNFRSF15	R4246905	1 TT	CC	0	1	0	1 TT	0	1 TT	0	0 TT	0	0 TT	0	0	0.24 (T)
http://snpedia.com/index.php/IL1R1	IL1R1	R310204137	1 AA	AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0 AG	1	0	0.32 (G)
http://snpedia.com/index.php/IL1R1	IL1R1	R31041973	1 CC	AC	1	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 AC	1	0 CC	0	0	0.29 (A)
http://snpedia.com/index.php/IL1R1	IL1R1	R313431828	1 CC	CT	1	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0 CC	0	0	0.16 (T)
http://snpedia.com/index.php/IL1R1	IL1R1	R4988957	1 TT	CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0 TT	0	0 TT	0	0 CT	1	0	0.40 (C)
22291609 Inflammatory biomarkers	DARC	rs12075	1 GG	AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	1	1 AG	1	0 GG	0	0	0.46 (G)
22075330 IGE levels	FCER1A	rs2251746	1 TT	TT	0	0 TT	0	0 TT	0	0 CT	1	0 CT	1	0 TT	0	0	0.15 (C)
22075330 IGE levels	IL13	rs20541	1 AA	AG	1	0 GG	0	1 GG	0	1 GG	0	1 GG	0	1 GG	0	0	0.27 (A)
22075330 IGE levels	DARC	rs13962	1 GG	GG	0	0 AG	1	0 AG	1	0 GG	0	0 AG	1	0 GG	0	0	NR
22075330 IGE levels	IL4R	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT	1	0 CT	1	0	0.38 (T)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1801275	1 AA	AA	0	0 AG	1	0 AG	1	0 AG	1	0 AA	0	0 AA	0	0	0.35 (G)
21300955 C-reactive protein	GCCR	rs1260326	1 TT	TT	0	0 CT	1	0 CC	0	1 CT	1	0 CT					