

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs กับการเกิดโรคมะเร็งในคนไทย

Association between SNPs and cancer in Thailand

จุฑามาศ คุณธรรม (Juthamat Kunnathum)* สุทธิ เจริญพิทักษ์ (Suthi Chareonpitak)**

กิตติพงษ์ หาญเจริญ (Kitipong Harncharoen)** จักรกฤษณ์ เอื้อสุนทรวัฒนา (Jakris EU-ahsunthornwattana)***

ณัฐินี จินาวัฒน์ (Natini Jinawath)**** ชูเกียรติ วิวัฒนวงศ์เกษม (Chukiat Viwatwongkasem)*****

ปรารถนา สัตยชัยภูมิ (Pratana Sativapawee)***** ธัญชัย สุระ (Tanyachai Sura)*****

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) หรือ สนิป กับการเกิดโรคมะเร็งในคนไทย โดยมีรูปแบบการศึกษาแบบ case control study ในพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย กลุ่มเป็นโรคที่ต้องการศึกษา (case) จำนวน 72 ราย และกลุ่มควบคุม (control) จำนวน 401 ราย ใช้ Illumina Cancer SNP Panel (Illumina Beadchips) ในการวิเคราะห์ ซึ่งบรรจุสนิปทั้งหมด 1,421 สนิป โดยใช้ generalized linear model (GLM) และควบคุมด้วย FDR-adjusted (Benjamini-Hochberg) เป็นสถิติในการวิเคราะห์ พบว่ามีสนิปที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งทั้งหมด 6 สนิป คือ rs607759, rs4648276, rs9282641, rs4986947, RERG-03 และ STK-08 โดยมีค่า odds ratio (OR) = 4.259 (FDR adjust p-value=0.030), 3.095 (FDR adjust p-value=0.044), 7.625 (FDR adjust p-value=0.044), 14.072 (FDR adjust p-value=0.044), 21.485 (FDR adjust p-value=0.044) และ 5.229 (FDR adjust p-value=0.045) ตามลำดับ

ABSTRACT

This study aimed to investigate the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in cancer SNP Panel and cancer in Thai Population. A case control study was conducted among employees of the Electricity Generating Authority of Thailand study (EGAT study), with 72 cases and 401 controls. Illumina Cancer SNP Panel (Illumina Beadchips) was used for 1,421 SNP samples, but those with the tests result for Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) less than 1×10^{-8} was excluded. The association of these SNPs and cancer were examined by generalized linear model (GLM) and FDR-adjusted (Benjamini-Hochberg) p-values of less than 0.05 were accepted as significant in this study. In the investigation, 6 candidate SNPs (rs607759, rs4648276, rs9282641, rs4986947, RERG-03 and STK-08) were significantly associated with cancer, with odds ratio (OR) of 4.259 (FDR adjust p-value=0.030), 3.095 (FDR adjust p-value=0.044), 7.625 (FDR adjust p-value=0.044), 14.072 (FDR adjust p-value=0.044), 21.485 (FDR adjust p-value=0.044) and 5.229 (FDR adjust p-value=0.045), respectively.

คำสำคัญ: สนิป มะเร็ง การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย

Key Words: Single Nucleotide Polymorphisms, Cancer, EGAT

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคติดเชื้อและวิทยาการระบาด คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

** อาจารย์ ภาควิชาระบาดวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

*** อาจารย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

**** อาจารย์ ประจำสำนักงานวิจัยวิชาการและนวัตกรรม คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

***** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีวสถิติ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

***** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นปัญหาที่สำคัญและรุนแรงมากทางการแพทย์และสาธารณสุข และเป็นสาเหตุที่สำคัญของการตายด้วยโรคไม่ติดต่อเรื้อรังของโลก จากรายงานขององค์การอนามัยโลก (WHO) พบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับสองของประชากรทั่วโลก รองจากโรคหลอดเลือดหัวใจ ในปี พ.ศ. 2551 (7.6 ล้านคน, 21% ของการตายในโรคไม่ติดต่อ) GLOBOCAN ได้ประมาณการณผู้ป่วยโรคมะเร็งรายใหม่ของโลกในปี พ.ศ. 2573 ไว้ที่ 21.4 ล้านคน และตายจากโรคมะเร็ง 13.2 ล้านคน สำหรับประเทศไทย GLOBOCAN รายงานว่าปี 2551 จะมีผู้ป่วยจำนวน 112,666 หรือ 92.6 รายต่อแสนประชากร และตายจากโรคมะเร็งจำนวน 70,334 ราย หรือ 150.5 ต่อแสนประชากร (Alwan, 2011)

สาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง แบ่งได้ 2 สาเหตุหลัก คือ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น การบริโภคอาหาร การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เป็นต้น และปัจจัยทางพันธุกรรม (Anand, 2008) จากการศึกษาเกี่ยวกับ germ-line mutation ใน DNA mismatch repair (MMR) genes ซึ่งพบว่ามีความเสี่ยงสูงที่จะทำให้เกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่โรคมะเร็งเต้านมโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก และโรคมะเร็งชนิดอื่นๆ (Whiteside, 2002; Lichtenstein, 2000) รวมถึงหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึง low-penetrance genes หรือ gene combinations ที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็ง (Peto, 2001) โดยสามารถระบุตำแหน่งของอัลลีลที่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคมะเร็งเพียง 1.3 เท่า ของอัลลีลปกติก็เพียงพอที่จะเป็นประโยชน์สำหรับการคาดการณ์การคัดกรองวินิจฉัยป้องกันและการรักษาโรคมะเร็ง (Easton, 2008)

จากการศึกษาของ HUGO Pan-Asian SNP consortium ที่ศึกษา genetic variation ของชาวเอเชียพบว่าทั่วทั้งภูมิภาคเอเชียมีความคล้ายคลึงกันเชิงพันธุกรรมค่อนข้างมาก (Abdulla, 2009)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม กับการเกิดโรคมะเร็ง จึงเป็นสิ่งสำคัญยิ่งซึ่งมีการศึกษาไม่มากนักในประเทศไทย ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงหาความสัมพันธ์ระหว่าง Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ใน Cancer SNP Panel กับการเกิดโรคมะเร็งในคนไทย

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs (ใน Cancer SNP Panel) กับโรคมะเร็งในคนไทย

วิธีการวิจัย

การศึกษานี้มีรูปแบบการศึกษาแบบ case control study ประชากรที่ศึกษาคือ พนักงานไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยที่เข้าร่วมโครงการ Electricity Generating Authority of Thailand study (EGAT study) 1 และ 2 การศึกษานี้ผ่านการพิจารณารับรองจริยธรรมในมนุษย์ ของคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี และคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกคนจะต้องลงนามในเอกสารยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรก่อนเข้าร่วมการวิจัย และยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยสมัครใจในการตอบแบบสอบถาม และเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์หา Deoxyribonucleic acid (DNA) ด้วยวิธี phenol chloroform exact และทดสอบ Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ใน Cancer SNP Panel จำนวน 1,421 SNPs ด้วยเครื่องมือ Illumina Cancer SNP Panel (Illumina Beadchips) เพื่อนำมาหาความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งในกลุ่มตัวอย่าง

เกณฑ์การคัดเข้าของกลุ่มที่เป็นโรคที่ต้องการศึกษา (case) คือต้องเป็นผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็ง (ครอบคลุมทุกชนิดของมะเร็ง) โดยตอบแบบสอบถามว่าป่วยด้วยโรคมะเร็ง หรือมีประวัติการรักษาโรคมะเร็งหรือตายจากโรคมะเร็ง ส่วนกลุ่มควบคุม (control) ต้องไม่ป่วยด้วยโรคมะเร็ง โดยตอบ

แบบสอบถามว่า ไม่เคยป่วยด้วยโรคมะเร็ง หรือไม่มีประวัติการรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งทั้งกลุ่มตัวอย่างและกลุ่มควบคุมต้องมีตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหา DNA, SNPs และ Illumina Beadchips ต้องสามารถอ่านผลจากได้มากกว่า 95% ส่วนเกณฑ์การคัดออกของ case และ control คือ Illumina Beadchips อ่านผลได้น้อยกว่า 95%

การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง ใช้วิธีการคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่มีรูปแบบการศึกษาแบบ case control study ของ Schlesselman (Schlesselman, 1982) กำหนดระดับความเชื่อมั่น 95% มีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$n = \frac{[z_{\alpha} \sqrt{(1+1/c) \bar{p}' \bar{q}'} + z_{\beta} \sqrt{p_1 q_1 + p_0 q_0 / c}]^2}{(p_1 - p_0)^2}$$

เมื่อ

$$p_1 = p_0 R / [1 + p_0(R - 1)]$$

$$q_1 = 1 - p_1$$

$$p' = (p_1 + c p_0) / (1 + c)$$

$$\bar{q}' = 1 - \bar{p}'$$

สัดส่วนของประชากรที่มี mutation ของ BRCA1 ในประชากรทั่วไปคือ 0.003 (Berliner, 2007) และค่า relative risk ของ germline mutations ใน BRCA1 กับการเกิดโรคมะเร็งเต้านม คือ 8.6 (95% CI 4.1-18) (Risch, 2001) ผลการคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง case: control (1: 4) จะได้จำนวน case 120 คน และ control 480 คน

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ Illumina Cancer SNP Panel (Illumina Beadchips) และแบบสอบถามโครงการ EGAT study ซึ่งประกอบด้วย ข้อมูลทั่วไป เช่น อายุ เพศ เชื้อชาติ สถานภาพการสมรส การศึกษา อาชีพ รายได้ ประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว น้ำหนัก ส่วนสูง การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการออกกำลังกาย

สถิติการที่ใช้ทดสอบ คือ chi-square test หรือ t-test หรือ fisher exact test และ generalized linear model (GLM) แบบ univariate ควบคุมด้วย FDR-adjusted (Benjamini-Hochberg) โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} < 0.05$ และใช้โปรแกรม R เวอร์ชัน 2.15.0 ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิจัย

จากเกณฑ์การคัดเข้า และคัดออกของกลุ่มตัวอย่าง พบว่ามี case จำนวน 72 คน เป็นเพศชาย 43 คน (59.7%) และเพศหญิง 29 คน (40.3%) และ control จำนวน 410 คน เป็นเพศชาย 282 คน (70.3%) และเพศหญิง 119 คน (29.7%) โดยศึกษาลักษณะของอายุ เพศ เชื้อชาติ สถานภาพการสมรส การศึกษา อาชีพ รายได้ ประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว น้ำหนัก ส่วนสูง การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการออกกำลังกาย ของทั้ง 2 กลุ่ม

จากการทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าอายุของ case และ control มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\text{-value} < 0.001$) ส่วนลักษณะของเพศ สถานภาพการสมรส การศึกษา รายได้ ประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคมะเร็งในครอบครัว ดัชนีมวลกาย การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการออกกำลังกาย ไม่มีความแตกต่างกัน ดังตารางที่ 1

ลักษณะ snip ทั้ง 6 snip (rs607759 rs4648276 rs9282641 rs4986947 RERG-03 และ STK-08) แสดงจำนวนและร้อยละ จำแนกตามของกลุ่ม case และ control ดังตารางที่ 2 เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ใน Cancer SNP Panel กับการเกิดโรคมะเร็งใน case และ control พบว่าจาก SNP จำนวน 1421 SNPs มี 6 SNPs ที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ rs607759 rs4648276 rs9282641 rs4986947 RERG-03 และ STK-08 (FDR-adjust P-value < 0.05) ดังตารางที่ 3

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การกลายพันธุ์ของยีนที่ส่งผลให้เกิดโรคมะเร็งนั้นต้องมีการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่องตั้งแต่สองครั้งขึ้นไป ซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 แบบ คือ แบบแรก ที่เรียกว่า “germ line mutation” โดยที่การกลายพันธุ์ครั้งแรกเกิดที่ germinal (hereditary cases) or somatic (nonhereditary cases) และการกลายพันธุ์ครั้งที่ 2 เกิดขึ้นที่ somatic แบบที่สองเรียกว่า “somatic mutation” โดยที่การกลายพันธุ์ทั้งสองครั้งเกิดที่ somatic (Futreal, 2004; Knudson, 1975) การกลายพันธุ์แบบ germ line mutation จะพบได้น้อยแต่มีความรุนแรงสูง ซึ่งพบว่ามีความเสี่ยงสูงมากที่จะทำให้เกิด malignancy ส่วน somatic mutation พบได้ในคนปกติ และมีความเสี่ยงต่ำที่จะทำให้เกิด malignancy (Hethcote, 1978; Knudson, 1971; Knudson, 1975) จากการศึกษพบว่า rs607759, rs4648276, rs9282641, rs4986947, RERG-03 และ STK-08 มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคมะเร็ง โดย SNP เหล่านี้ติดตัวมนุษย์มาตั้งแต่กำเนิด

การศึกษานี้มีข้อจำกัด คือการเปลี่ยนแปลงของ genotype อาจไม่มีการแสดงออกของโรคมะเร็งในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา และข้อมูลในแบบสอบถามผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นมะเร็งที่อวัยวะส่วนไหน

เกณฑ์การคัดเลือก case และ control คัดเลือกจากการแบบสอบถามเกี่ยวกับประวัติการเป็นโรคมะเร็ง และยืนยันด้วยประวัติการรักษาโรคมะเร็งหรือตายจากโรคมะเร็ง ทั้งกลุ่ม case และ control อาจมีความคลาดเคลื่อนจากการวินิจฉัยโรคผิดพลาด ซึ่งอาจทำให้เกิด misclassification bias และเกิดขึ้นพอๆ กันในกลุ่ม case และ control จะไม่ส่งผลต่อความตรงภายใน (internal validity) ในการศึกษา แก่นขนาดความสัมพันธ์ที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง

จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่เพียงพอต่อขนาดตัวอย่างที่คำนวณได้ เพราะมีข้อจำกัด

ของข้อมูล แต่ได้เพิ่มสัดส่วนของ control เพื่อเพิ่ม power ภายใต้ข้อจำกัดของจำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดที่สามารถทำ genotyping ได้

การนำผลการศึกษาไปใช้ generalizability ประชากรไทยควรระมัดระวังในการใช้อ้างอิง เพราะโรคมะเร็งเป็น complex disease นอกจากจะมีปัจจัยทางพันธุกรรมที่ส่งผลต่อการเกิดโรคแล้ว ยังมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งอีกด้วย

สามารถนำการศึกษา SNP มาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาแนวโน้มการเกิดโรค ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรค และในอนาคตเพื่อค้นคว้ายาที่นำมาใช้รักษาและป้องกันโรคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสมาคมศิษย์เก่าบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

ตารางที่ 1 ลักษณะของ case และ control

Characteristic	Case (n=72)		Control (n=401)		p-value
	number	percent	number	percent	
Age					
Mean (SD)	54.15 (7.4)		56.38 (4.7)		<0.001*
Gender					
Male	43	59.7	282	70.3	0.099
Female	29	40.3	119	29.7	
Race					
Thai	15	93.8	163	92.1	0.993
Chinese	1	6.2	14	7.9	
Marital status					
Single	5	8.3	30	7.7	0.987
Married	50	83.3	321	82.7	
Widowed	2	3.3	18	4.6	
Divorced	3	5.0	19	4.9	
Education					
Less than or equal to high School	17	28.3	105	27.1	0.728
Vocational	19	31.7	111	28.7	
Bachelor	19	31.7	147	38.0	
Master	5	8.3	24	6.2	
Income					
<10,000	2	3.6	17	4.5	0.720
10,000-19,999	7	12.5	28	7.5	
20,000-49,999	20	35.7	138	36.8	
50,000-99,999	22	39.3	151	40.3	
>100,000	5	8.9	41	10.9	
Family history of cancer					
No	32	58.2	234	64.6	0.605
Yes	23	41.8	128	35.4	
BMI (kg/m ²)					
<18.5	0	0	10	2.6	0.132
18.5-22.9	25	41.7	104	26.8	
≥23	35	58.3	274	70.6	

*ทดสอบด้วยสถิติ t-test

ตารางที่ 1 ลักษณะของ case และ control (ต่อ)

Characteristic	Case (n=72)		Control (n=401)		p-value
	number	percent	number	percent	
Tobacco use					
No	30	50	194	50.3	0.919
Yes	30	50	192	49.7	
Alcohol consumption					
No	28	47.5	115	29.6	0.009
Yes	31	52.5	274	70.4	
Physical inactivity					
No	13	21.7	81	21.0	0.936
Yes	47	78.3	305	79.0	

ตารางที่ 2 ลักษณะ SNPs ของ case และ control

SNPs	Case (n=72)		Control (n=401)	
	number	percent	number	percent
rs607759				
AA	55	76.4	372	93.2
AG	17	23.6	27	6.8
GG	0	0.0	0	0.0
rs4648276				
CC	52	72.2	355	88.8
CT	19	26.4	45	11.2
TT	1	1.4	0	0.0
rs9282641				
TT	63	87.5	393	98.5
TC	6	8.3	6	1.5
CC	3	4.2	0	0.0
rs4986947				
AA	65	90.3	392	99.2
AG	7	9.7	3	0.8
GG	0	0.0	0	0.0

ตารางที่ 2 ลักษณะ SNPs ของ case และ control (ต่อ)

SNPs	Case (n=72)		Control (n=401)	
	number	percent	number	percent
RERG-03				
CC	65	90.3	399	99.5
CT	7	9.7	2	0.5
TT	0	0.0	0	0.0
STK-08				
CC	62	86.1	392	97.8
CT	9	12.5	8	2.0
TT	1	1.4	1	0.2

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs กับการเกิดโรคมะเร็งของกลุ่มตัวอย่าง

SNPs	najor allele	minor allele	OR per minor allele	95% CI	P	FDR- adjust P
rs607759	A	G	4.259	2.2-8.3	0.0000223	0.030
rs4648276	C	G	3.095	1.7-5.6	0.0001505	0.044
rs9282641	T	C	7.625	2.8-20.8	0.0000729	0.044
rs4986947	A	G	14.072	3.5-55.8	0.0001688	0.044
RERG-03	C	T	21.485	4.4-105.7	0.0001610	0.044
STK-08	C	G	5.229	2.1-12.5	0.0002072	0.045

เอกสารอ้างอิง

Abdulla, M. A., I. Ahmed, A. Assawamakin, J. Bhak, S. K. Brahmachari, G. C. Calacal, A. Chaurasia, C. H. Chen, J. Chen, Y. T. Chen, J. Chu, E. M. Cutionco-de la Paz, M. C. De Ungria, F. C. Delfin, J. Edo, S. Fuchareon, H. Ghang, T. Gojobori, J. Han, S. F. Ho, B. P. Hoh, W. Huang, H. Inoko, P. Jha, T. A. Jinam, L. Jin, J. Jung, D. Kangwanpong, J. Kampuansai, G. C. Kennedy, P. Khurana, H. L. Kim, K. Kim, S. Kim, W. Y. Kim, K. Kimm, R. Kimura, T. Koike, S. Kulawonganunchai, V. Kumar, P. S. Lai, J. Y. Lee, S. Lee, E. T. Liu, P. P. Majumder, K. K.

Mandapati, S. Marzuki, W. Mitchell, M. Mukerji, K. Naritomi, C. Ngamphiw, N. Niikawa, N. Nishida, B. Oh, S. Oh, J. Ohashi, A. Oka, R. Ong, C. D. Padilla, P. Palittapongpim, H. B. Perdigon, M. E. Phipps, E. Png, Y. Sakaki, J. M. Salvador, Y. Sandraling, V. Scaria, M. Seielstad, M. R. Sidek, A. Sinha, M. Srikummool, H. Sudoyo, S. Sugano, H. Suryadi, Y. Suzuki, K. A. Tabbada, A. Tan, K. Tokunaga, S. Tongsimma, L. P. Villamor, E. Wang, Y. Wang, H. Wang, J. Y. Wu, H. Xiao, S. Xu, J. O. Yang, Y. Y. Shugart, H. S. Yoo, W. Yuan, G. Zhao,

- and B. A. Zilfalil. 2009. Mapping human genetic diversity in Asia. *Science* no. 326 (5959):1541-5.
- Alwan, Ala. 2011. Global status report on noncommunicable diseases 2010: World Health Organization.
- Anand, P., A. B. Kunnumakkara, C. Sundaram, K. B. Harikumar, S. T. Tharakan, O. S. Lai, B. Sung, and B. B. Aggarwal. 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res.* 25 (9):2097-116.
- Berliner, J. L., and A. M. Fay. 2007. Risk assessment and genetic counseling for hereditary breast and ovarian cancer: recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns* no. 16 (3):241-60.
- Easton, D. F., and R. A. Eeles. 2008. Genome-wide association studies in cancer. *Hum Mol Genet.* 17 (R2):R109-15.
- Futreal, P. A., L. Coin, M. Marshall, T. Down, T. Hubbard, R. Wooster, N. Rahman, and M. R. Stratton. 2004. A census of human cancer genes. *Nat Rev Cancer.* 4 (3):177-83.
- Goldgar, D. E., D. F. Easton, L. A. Cannon-Albright, and M. H. Skolnick. 1994. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst.* 86 (21):1600-8.
- Hethcote, H. W., and A. G. Knudson, Jr. 1978. Model for the incidence of embryonal cancers: application to retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 75 (5):2453-7.
- Knudson, A. G., Jr. 1971. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 68 (4):820-3.
- Knudson, A. G., Jr., H. W. Hethcote, and B. W. Brown. 1975. Mutation and childhood cancer: a probabilistic model for the incidence of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 72 (12):5116-20.
- Lichtenstein, P., N. V. Holm, P. K. Verkasalo, A. Iliadou, J. Kaprio, M. Koskenvuo, E. Pukkala, A. Skytthe, and K. Hemminki. 2000. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med.* 343 (2):78-85.
- Peto, J., and R. S. Houlston. 2001. Genetics and the common cancers. *Eur J Cancer.* 37 Suppl 8:S88-96.
- Risch, H. A., J. R. McLaughlin, D. E. Cole, B. Rosen, L. Bradley, E. Kwan, E. Jack, D. J. Vesprini, G. Kuperstein, J. L. Abrahamson, I. Fan, B. Wong, and S. A. Narod. 2001. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* no. 68 (3):700-10.
- Schlesselman, James J. 1982. Case-Control Studies : Design, Conduct, Analysis: Design, Conduct, Analysis. Vol. 2. New York,USA: Oxford University Press.
- Whiteside, D., R. McLeod, G. Graham, J. L. Steckley, K. Booth, M. J. Somerville, and S. E. Andrew. 2002. A homozygous germ-line mutation in the human MSH2 gene predisposes to hematological malignancy and multiple cafe-au-lait spots. *Cancer Res.* 62 (2):359-62.