

Het bestuderen van gen-omgevingsinteracties met behulp van patiënt-controlevergelijkingen

E.Kellen, M.P.Zeegers, J.P.Vandenbroucke en F.Buntinx

- Veel chronische ziekten worden veroorzaakt door een complex samenspel van genetische factoren en omgevingsfactoren.
- Genetisch-epidemiologisch onderzoek tracht een verklaring te zoeken voor de rol van genetische factoren en hun interactie met omgevingsfactoren in het ontstaan van ziekten.
- Gen-omgevingsinteracties zijn te onderzoeken aan de hand van verschillende patiënt-controlevergelijkingen.
- Het klassieke patiënt-controleonderzoek is een geschikt onderzoek om de samenhang tussen verschillende genen en omgevingsfactoren te bestuderen. De resultaten kunnen eenvoudig in een 2-bij-4-tabel gepresenteerd worden.
- In een ‘case-parents’-onderzoek vergelijkt men het genotype van de persoon die de aandoening heeft met het genotype van een niet-bestaande controle, gevormd door de niet doorgegeven allelen van de ouders.
- In het ‘case-only’-onderzoek wordt de samenhang tussen een genotype en een omgevingsfactor enkel bij personen met de te onderzoeken aandoening bestudeerd.
- De laatste 2 typen onderzoek veronderstellen onafhankelijkheid tussen genotype en omgevingsfactor in de controlegroep.

Ned Tijdschr Geneesk 2005;149:977-82

Ziekten kunnen het gevolg zijn van de genetische aanleg van een persoon, van omgevingsfactoren zoals voeding of rookgedrag, of van beide. Voor het overgrote deel van de aandoeningen geldt het laatste.¹

Hoewel de kennis over het effect van individuele genetische kenmerken toeneemt, is over de interactie tussen genen onderling en tussen genen en omgevingsfactoren verhoudingsgewijs weinig bekend. Nochtans spelen deze interacties een belangrijke rol bij vaak voorkomende ziekten zoals kanker, hart- en vaatziekten en diabetes mellitus.

In dit artikel bespreken we het begrip gen-omgevingsinteractie, de invloed van deze interactie op de volksgezondheid, populatiestratificatie, en 3 methoden om gen-omgevingsinteracties te onderzoeken, die zijn gebaseerd op patiënt-controlevergelijking.

HET BEGRIIP GEN-OMGEVINGSINTERACTIE EN DE INVLOED OP DE VOLKSGEZONDHEID

Wanneer we de interactie tussen verschillende risicofactoren bepalen, trachten we te achterhalen hoe deze verschillende risicofactoren samenwerken of elkaar tegenwerken bij het ontstaan van de aandoening. Wanneer het effect van de ene risicofactor toegevoegd wordt aan het effect van de andere factor, spreken we van additieve interactie. Wanneer echter het gecombineerde effect gelijk is aan het product van beide effecten, dan spreken we van multiplicatieve interactie.²

Genetisch-epidemiologisch onderzoek tracht een verklaring te zoeken voor de rol van genetische factoren en hun interactie met omgevingsfactoren in het ontstaan van ziekten.³ In de samenstelling van het DNA van de menselijke soort treden voortdurend veranderingen op. Een variant van een gen wordt een polymorfisme genoemd wanneer de frequentie in de populatie boven 1% ligt.⁴ Genetische polymorfismen kunnen directe of indirecte samenhang vertonen met een ziekte. Genetische variabiliteit wordt beschouwd als een belangrijke oorzaak voor de interindividuele variatie in de gevoeligheid voor omgevingsfactoren. Zo worden onder meer potentiële carcinogenen via bepaalde genetisch gecodeerde enzymen geactiveerd tot tumorinitiatie, of via andere enzymen gedetoxificeerd.

N-acetyltransferase 2 (NAT2) is een van de enzymen die

Katholieke Universiteit, Academisch Centrum voor Huisartsgeneeskunde, Kapucijnenvoer 33, Blok J, B-3000 Leuven, België.

Mw.E.Kellen, huisarts-onderzoeker; hr.dr.M.P.Zeegers, genetisch epidemioloog (tevens: University of Birmingham, Department of Public Health and Epidemiology, Birmingham, Verenigd Koninkrijk); hr.prof.dr.F.Buntinx, huisarts en epidemioloog (tevens: Universiteit Maastricht, capaciteitsgroep Huisartsgeneeskunde, Maastricht).

Universiteit Leiden, capaciteitsgroep Epidemiologie, Leiden.

Hr.prof.dr.J.P.Vandenbroucke, epidemioloog.

Correspondentieadres: mw.E.Kellen (eliane.kellen@med.kuleuven.ac.be).

betrokken zijn bij de detoxificatie van arylaminen, een groep vroeger veelgebruikte industriële kleurstoffen. Het NAT2-genotype hangt samen met blaaskanker door interactie met roken of met beroepsblootstelling aan arylaminen ten gevolge van een trage acetylaseactiviteit.⁵

Dit voorbeeld laat zien dat men met behulp van het bepalen van genetische polymorfismen personen kan identificeren die extra gevoelig zijn voor blootstelling aan specifieke potentieel gevaarlijke omgevingsfactoren. Men kan deze hoogrisicopersonen aanraden hun blootstelling aan omgevingsfactoren te mijden, zoals door te stoppen met roken of bepaalde beroepsblootstellingen te vermijden,⁶ terwijl dit voor anderen, die geen drager zijn van een bepaald genetisch polymorfisme, mogelijk van minder belang is.

Screening voor fenylketonurie (PKU) en het zo nodig voorschrijven van een aangepast dieet is een ander voorbeeld in de volksgezondheid waarbij het gaat om gen-omgevingsinteractie. De aandoening leidt bij de betreffende personen, indien onbehandeld, tot mentale retardatie. Hoewel PKU in wezen een genetische aandoening is, treedt mentale retardatie enkel op als gevolg van de interactie tussen het gen en de omgeving (een dieet dat fenylalanine bevat).² Echter, wanneer de diagnose gesteld wordt bij de geboorte en het kind behandeld wordt met een fenylalaninevrij dieet, treedt geen mentale retardatie op.

POPULATIESTRATIFICATIE

In de genetische epidemiologie is tijdens de voorbije jaren veel aandacht uitgegaan naar de mogelijkheid van vertekening van de resultaten door populatiestratificatie. Dit effect

ontstaat wanneer 2 groepen die met elkaar vergeleken worden een verschillende frequentie hebben van een bepaald genotype dat geassocieerd is met de onderzochte ziekte en dit het gevolg is van diversiteit in de bevolking en niet van de onderzochte ziekte. Als patiënten en controlepersonen zo veel mogelijk worden geselecteerd uit één etnische groep, zoals de algemene Nederlandse populatie, zijn de verschillen in de genotypefrequentie te klein om een belangrijke mate van vertekening te veroorzaken.⁷ Naar verwachting is populatiestratificatie in Nederland van weinig betekenis. Een andere methode om populatiestratificatie te voorkomen is te werken met familieleden als controlepersonen, zoals bij het 'case-parents'-onderzoek (zie verderop).

HET KLASSIEKE PATIËNT-CONTROLEONDERZOEK

Voorbeeld A. In een Nederlandse patiënt-controlestudie is onderzocht of de relatie tussen het optreden van veneuze trombose bij jonge vrouwen en het nemen van orale contraceptiva beïnvloed kan worden door een mutatie in het *factor V Leiden*-gen.⁸ Van de 155 geïncludeerde vrouwen met een veneuze trombose hadden er 109 (70%) orale contraceptiva genomen in de maand vóór het ontstaan van de trombose. Van de 169 controlepersonen gold dit voor 65 vrouwen (38%). Bij 35 van de 155 vrouwen (23%) met een trombose werd een *factor V Leiden*-mutatie vastgesteld, en bij 6 van de 169 (4%) controlepersonen (tabel 1). Door gebruik te maken van de 2-bij-4-tabel worden de oddsratio's met hun 95%-betrouwbaarheidsintervallen weergegeven voor de aanwezigheid van enkel *factor V Leiden*, voor de aanwezigheid van enkel orale contraceptiva, en voor hun combinatie, in verge-

TABEL 1. Gegevens uit een patiënt-controleonderzoek naar de mogelijke invloed van een mutatie in het *factor V Leiden*-gen op de relatie tussen het optreden van veneuze trombose bij jonge vrouwen en het nemen van orale contraceptiva^{8,9}

risicofactoren		aantallen bij wie risicofactoren vóórkomen		OR (95%-BI) voor het krijgen van veneuze trombose	fractie van aantal patiënten met veneuze trombose dat is toe te schrijven aan pilgebruik (in %)	
<i>factor V Leiden</i> -gen	gebruik van orale contraceptiva	patiënten (met trombose)	controlepersonen (zonder trombose)		bij de patiënten met <i>factor V Leiden</i> -gen*	in de bevolking†
ja*	ja	25	2	34,7 (7,83-310)‡	97,1	15,7
ja*	nee	10	4	6,9 (1,83-31,8)	85,6	5,5
nee	ja	84	63	3,7 (1,28-6,32)	73,0	39,6
nee	nee	36	100	1,0§		
totaal		155	169			

OR = oddsratio.

*Aanwezigheid van het gen op 1 allel of 2 allelen.

†Deze fracties zijn de proportie van te vermijden ziekten wanneer één of beide risicofactoren vermeden zouden worden.

‡De effecten van *factor V Leiden*-gen en pilgebruik op het krijgen van veneuze trombose versterken elkaar, want de OR bij aanwezigheid van beide is groter dan het product van de OR's van de afzonderlijke factoren.

§Referentiewaarde.

TABEL 2. Interactie tussen enerzijds genotype van kinderen met een gespleten lip of gehemelte en anderzijds roken van hun moeder tijdens de eerste 3 maanden van de zwangerschap¹²

roken van de moeder	genotype van de kinderen*	oddsratio (95%-BI)
nee	homozygoot: 44	1,48 (0,68-3,23)
nee	heterozygoot: 4-	1,25 (0,62-2,50)
ja	homozygoot: 44	4,14 (0,69-24,35)
ja	heterozygoot: 4-	0,87 (0,20-3,80)

*Wat betreft aanwezigheid van het MSX1-gen op allel 4. Kinderen met homozygotie van het gen hadden een 4-voudig verhoogd risico op een gespleten lip of gehemelte indien de moeder rookte tijdens de zwangerschap. Het 95%-betrouwbaarheidsinterval is echter zeer groot.

lijking met de afwezigheid van beide risicofactoren. Bovendien kunnen uit de tabel de relatieve frequenties van de verschillende blootstellingen en hun toe te schrijven fracties bepaald worden.⁹ Het gebruik van orale contraceptiva blijkt het risico op een trombose ongeveer 4 maal te verhogen, terwijl aanwezigheid van de mutatie het risico ongeveer 7 maal verhoogt. Wanneer beide factoren aanwezig zijn, is het risico meer dan 30 maal verhoogd (zie tabel 1).⁸

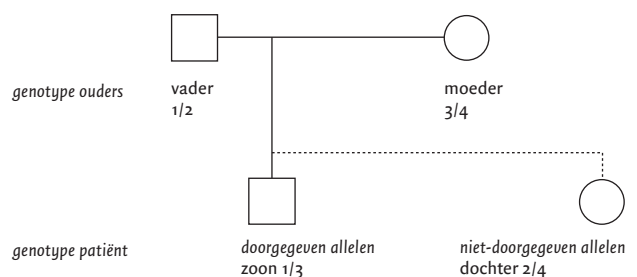
Bespreking. In een patiënt-controleonderzoek wordt zowel bij patiënten als bij controlepersonen de blootstellingsstatus aan een bepaalde risicofactor bepaald, maar is er steeds een risico op het fout registeren van de omgevingsfactor ('recall bias'). Voor genetische kenmerken geldt dit niet. Deze zijn immers stabiel in de tijd en kunnen ook bepaald worden na het ontstaan van een ziekte. Omdat de oddsratio's van de meeste genetische polymorfismen klein zijn, is het van belang om door preselectie voldoende aantallen patiënten en controlepersonen te waarborgen, om resultaten met voldoende statistisch onderscheidingsvermogen te bekomen.

Het eenvoudigste geval van een gen-omgevingsinteractie in een patiënt-controleonderzoek is dat van 2 dichotome factoren (aan- en afwezigheid van het genotype, en aan- en afwezigheid van de omgevingsfactor). De resultaten hiervan kunnen gepresenteerd worden in een 2-bij-4-tabel (zie tabel 1).⁹ Interactie kan op zowel multiplicatieve als additieve schaal beoordeeld worden. Bij een gestratificeerde patiënt-controleanalyse hoeft er geen rekening te worden gehouden met de voorwaarde dat het gen en de omgevingsfactor onafhankelijk van elkaar zijn in de controlegroep, zoals bij de typen onderzoek die verderop besproken worden. Soms kunnen complexe aandoeningen echter het gevolg zijn van meerdere genetische en omgevingsfactoren tegelijkertijd, zodat het niet meer mogelijk is de resultaten voor iedere combinatie te presenteren in een eenvoudige tabel. Bovendien kan niet iedere risicofactor gedichotomiseerd worden tot aan- of afwezigheid.

Gebruik van prospectief onderzoek in de genetische epidemiologie. Een cohortonderzoek houdt in dat personen vanaf een bepaald ogenblik worden gevolgd op het ontstaan van ziekte. Een cohortonderzoek vereist een grote groep personen en een lange follow-up tijd voor het bestuderen van een zeldzame, complexe ziekte met een lange inductieperiode.¹⁰ Zoals in het voorgaande reeds is opgemerkt, zijn de oddsratio's geassocieerd met de meeste genetische polymorfismen klein, wat de noodzakelijke grootte van de steekproef om resultaten met voldoende statistische kracht te verkrijgen nogmaals verhoogt. Uiteindelijk is een zeer grote, praktisch onhaalbare cohortstudie vereist voor het bestuderen van gen-omgevingsinteracties.¹¹ Cohortstudies zijn dus in de genetische epidemiologie ongebruikelijk.

HET 'CASE-PARENTS'-DESIGN

Voorbeeld B. In een multicentrische studie werden kinderen geïncludeerd bij wie een niet-syndromische gespleten lip of gehemelte was gediagnosticeerd. De jonge patiëntjes en beide ouders werd gevraagd een bloed- of wangslimstaaltje voor DNA-analyse af te staan. Bovendien werd het rookgedrag van de moeders tijdens de zwangerschap nagevraagd. Na DNA-analyse werden markers van 5 kandidaatgenen onderzocht.¹² Vervolgens werden de trio's, elk bestaande uit patiëntje en beide ouders, gestratificeerd in 2 groepen: met rokende en met niet-rokende moeders. Van de moeders had 23% gerookt tijdens de eerste 3 maanden van de zwangerschap. Van de 5 onderzochte kandidaat-markers suggereerde enkel het MSX1-gen op allel 4 een gen-omgevingsinteractie (tabel 2). Uit logistische regressieanalyse bleek dat homozygote kinderen een 4-voudig risico hadden op het ontwikkelen van een gespleten lip of gehemelte indien de moeder rookte tijdens de zwangerschap, en een



Constructie van het 'case-parents'-design bij onderzoeken naar de interactie tussen gen en omgeving als risicofactor voor het krijgen van een ziekte.⁷ Deze figuur toont aan hoe de niet-bestaande controlepersoon gevormd wordt: van het genotype van de patiënt (1/3) en de ouders (1/2 en 3/4) kan men afleiden welke allelen werden doorgegeven (1 en 3) en welke niet (2 en 4); deze laatste vormen het controlegetype waarbij de ziekte niet voorkomt.

TABEL 3. Presentatie van aantallen patiënten in een onderzoek naar gen-omgevingsinteracties met een 'case-only'-design^{15*}

omgevingsfactor	genotype	
	afwezig	aanwezig
afwezig	a	b
aanwezig	c	d

*In een onderzoek met het case-only-design wordt de samenhang tussen een omgevingsfactor en een genotype enkel bij personen met de te onderzoeken aandoening bestudeerd. De oddsratio wordt berekend als $(a \times d)/(b \times c)$; een waarde > 1 betekent dat de combinatie van omgevingsfactor en genotype bij de zieken statistisch significant vaker voorkomt dan hetzelfde genotype zonder de omgevingsfactor en dan dezelfde omgevingsfactor zonder het genotype. Dit design is alleen mogelijk als de omgevingsfactor en het genotype bij niet-zieken onafhankelijk van elkaar zijn.

ongeveer 1,5 maal verhoogd risico indien de moeder niet rookte (zie tabel 2).¹²

Bespreking. Voor het case-parents-design, ook de 'transmission disequilibrium test' genoemd, heeft men het genotype nodig van de patiënten en van beide ouders van de patiënten (trio's). Er zijn dus geen klassieke controlepersonen nodig. Het genotype van iedere patiënt wordt vergeleken met het genotype van een niet-bestaande controlepersoon die gevormd wordt door de niet doorgegeven allelen van elk van de ouders.³ De niet-bestaande controlepersoon is een perfecte genetische 'match' voor de patiënt (alleen verschillend voor de te onderzoeken genetische marker), zoals wordt weergegeven in de figuur. Dit verklaart ook dat het onderzoek met patiënt en ouders enkel informatief is wanneer beide ouders heterozygoot zijn en geen allelen delen.¹³

Ouders van patiënten zijn meer geneigd om deel te nemen aan een onderzoek dan een willekeurig gekozen controlepersoon uit de bevolking.³ Maar, vermits genetische informatie gewenst is van beide ouders, is dit design minder geschikt voor aandoeningen die op latere leeftijd ontstaan, omdat dan één of beide ouders reeds overleden kan zijn. Bovendien is de statistische kracht van dit design vergeleken met het klassieke patiënt-controleonderzoek en bij eenzelfde totaal aan subjecten slechts tweederde, aangezien genotypering noodzakelijk is voor 3 personen per geïncludeerde persoon (de patiënt en beide ouders) in plaats van 2 personen (patiënt en controle).¹³ Indien het echter een zeldzaam genotype betreft en de omgevingsfactor een grote invloed heeft, kan het case-parents-design meer kracht hebben om gen-omgevingsinteracties vast te stellen dan het klassieke patiënt-controleonderzoek.¹⁴

Net zoals bij het 'case-only'-design (zie verder) wordt gesteund op de veronderstelling dat het gen en de omgevingsfactor onafhankelijk van elkaar zijn.³ Dit kan vaak echter enkel beoordeeld worden op basis van empirische data.

Wanneer een persoon een vertraagd alcoholmetabolisme heeft en daardoor meer 'flushing' symptomen vertoont na alcoholconsumptie, zal hij of zij mogelijk daardoor minder alcohol drinken. Dit heeft tot gevolg dat er een negatieve relatie kan worden vastgesteld tussen het gebruik van alcohol en het genotype.³ In dit voorbeeld zijn gen en omgevingsfactor dus niet onafhankelijk van elkaar. Een onderzoek naar de invloed van het gen en alcoholgebruik op het ontstaan van een bepaalde ziekte kan daardoor vertekend worden.

Anders dan bij het klassieke patiënt-controleonderzoek kan hier interactie enkel op multiplicatieve schaal onderzocht worden en niet op additieve schaal.³ Voor het opstellen van maatregelen op het gebied van de volksgezond-

TABEL 4. Belangrijkste voor- en nadelen van designs van patiënt-controleonderzoek voor het bestuderen van gen-omgevingsinteracties

design	voordelen	nadelen
klassiek patiënt-controleonderzoek	gemakkelijk en efficiënt presentatie van resultaten in een 2-bij-4-tabel mogelijk beoordeling op multiplicatieve en additieve schaal en tussenliggende waarden mogelijk	dichotoom voorstellen van de factoren soms niet mogelijk steekproefgrootte in de verschillende strata vaak klein, zodat de kracht daalt bij toenemend aantal controlevariabelen
'case-parents'-onderzoek	grotere geneigdheid om mee te werken bij ouders dan bij willekeurige controlepersonen	minder geschikt voor ziekten die ontstaan op latere leeftijd onafhankelijkheid tussen gen en omgevingsfactor in de controlegroep verondersteld alleen beoordeling op multiplicatieve schaal mogelijk 3 personen per geïncludeerde patiënt vereist onderzoek naar afzonderlijke effecten van gen en omgeving niet mogelijk
'case-only'-onderzoek	alleen 'cases' nodig toename van statistisch onderscheidingsvermogen in vergelijking met evenveel geïncludeerde subjecten in patiënt-controleonderzoek	onafhankelijkheid tussen gen en omgevingsfactor in controlegroep verondersteld alleen beoordeling op multiplicatieve schaal mogelijk onderzoek naar afzonderlijk effect van gen of omgeving niet mogelijk

heid is daarnaast kennis over afzonderlijke effecten belangrijk.

HET 'CASE-ONLY'-DESIGN

In het case-only-design wordt de samenhang tussen een omgevingsfactor en een genotype enkel bij personen met de te onderzoeken aandoening bestudeerd. Dit is meteen het belangrijkste voordeel van dit design, waardoor de zoektocht naar geschikte controlepersonen vermeden wordt. In dit geval vormen de zieke personen met het genotype de 'case'-groep. De zieken die het te onderzoeken genotype niet hebben vormen de controlegroep. Hierdoor kunnen de resultaten gepresenteerd worden in een 2-bij-2-tabel. De prevalenties van de omgevingsfactor (de risicofactor) in beide groepen worden vergeleken (tabel 3).¹⁵

Zoals in het voorgaande aangetoond lijken de effecten van orale contraceptiva en de factor V-variant bij benadering multiplicatief. Latere biologische studies toonden aan dat resistentie tegen geactiveerde proteïne C (APC) een exponentieel effect heeft op het tromboserisico, zowel bij aan- als bij afwezigheid van de factor V-variant, en dat het effect van orale contraceptiva additief is bij APC-resistentie.^{16 17}

Net als het case-parents-design steunt het case-only-design op de veronderstelling dat het gen en de omgevingsfactor in de controlegroep onafhankelijk van elkaar zijn. Enige afwijking hiervan kan leiden tot verstoorde resultaten.¹⁸ Indien aan de onafhankelijkheidsvoorwaarde voldaan is, kunnen analyses op basis van het case-only-design echter preciezer zijn en meer onderscheidingsvermogen hebben dan die bij het klassieke patiënt-controleonderzoek.¹⁹

Ook hier geldt dat een interactie-effect alleen op een multiplicatieve schaal kan onderzocht worden, en niet op additieve schaal.³ Het effect van de omgevingsfactor of van het genotype kan niet afzonderlijk bekeken worden, enkel hun interactie.³ Er is dus verlies aan informatie.

BESLUIT

Genetische variabiliteit wordt beschouwd als een belangrijke oorzaak voor interindividuele variatie in gevoeligheid voor omgevingsfactoren. We hebben 3 methoden besproken die gebruikt worden om gen-omgevingsinteracties te bestuderen. In tabel 4 vatten we de belangrijkste voor- en nadelen van de besproken methoden samen. De meest geschikte methode is afhankelijk van de te onderzoeken ziekte, het genotype, de omgevingsfactor en de te verwachten interactie. Wanneer gezonde personen in het kader van een studie bereid zijn om zich genetisch te laten testen, is een patiënt-controleonderzoek de beste optie. Wanneer de onderzoeker al gegevens over de personen met de te bestuderen aandoening verzameld heeft, is een case-only-design een efficiënte keuze. Indien de ouders gemotiveerd en in

staat zijn om mee te werken kan een case-parents-design doelmatig zijn.¹⁹

Prof.dr.B.Aertgeerts, huisarts, gaf commentaar op een eerdere versie van dit artikel.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 20 oktober 2004

Literatuur

- 1 Bhopal R. Concepts of epidemiology. Oxford: Oxford University Press; 2002.
- 2 Elston RC, Olston JM, Palmer L. Biostatistical genetics and genetic epidemiology. West Sussex: Wiley; 2002.
- 3 Khoury MJ, Flanders WD. Nontraditional epidemiologic approaches in the analysis of gene-environment interaction: case-control studies with no controls! *Am J Epidemiol* 1996;144:207-13.
- 4 Pronk JC, Leschot NJ, Bijlsma EK, Beemer FA, Geraerds JPM, Liebaers I, redacteuren. *Leerboek medische genetica*. Maarssen: Elsevier/Bunge; 1999.
- 5 Vineis P, Marinelli D, Autrup H, Brockmoller J, Cascorbi I, Daly AK, et al. Current smoking, occupation, N-acetyltransferase-2 and bladder cancer: a pooled analysis of genotype-based studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:1249-52.
- 6 Brennan P. Gene-environment interaction and aetiology of cancer: what does it mean and how can we measure it? *Carcinogenesis* 2002; 23:381-7.
- 7 Hottenga JJ, Houwing-Duistermaat JJ, Duijn CM van. Dwalingen in de methodologie. XXXVII. Onbedoelde populatieselectie in het genetisch patiënt-controleonderzoek. *Ned Tijdschr Geneesk* 2002;146: 17-22.
- 8 Vandembroucke JP, Koster T, Briët E, Reitsma PH, Bertina RM, Rosendaal FR. Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 1994;344:1453-7.
- 9 Botto LD, Khoury MI. Commentary: facing the challenge of gene-environment interaction: the two-by-four table and beyond. *Am J Epidemiol* 2001;153:1016-20.
- 10 Rothman KJ. *Epidemiology, an introduction*. Oxford: Oxford University Press; 2002.
- 11 Clayton D, McKeigue PM. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet* 2001; 358:1356-60.
- 12 Beaty TH, Hetmanski JB, Zeiger JS, Fan YT, Liang KY, VanderKolk CA, et al. Testing candidate genes for non-syndromic oral clefts using a case-parent trio design. *Genet Epidemiol* 2002;22:1-11.
- 13 Cardon LR, Palmer U. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003;361:598-604.
- 14 Schaid DJ. Case-parents design for gene-environment interaction. *Genet Epidemiol* 1999;16:261-73.
- 15 Andrieu N, Goldstein AM. Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. *Epidemiol Rev* 1998;20:137-47.
- 16 Kemmeren JM, Algra A, Meijers JCM, Tans G, Bouma BN, Curvers J, et al. Effect of second- and third-generation oral contraceptives on the protein C system in the absence or presence of the factor V Leiden mutation: a randomized trial. *Blood* 2004;103:927-33.
- 17 Visser MC de, Rosendaal FR, Bertina RM. A reduced sensitivity for activated protein C in the absence of factor V Leiden increases the risk of venous thrombosis. *Blood* 1999;93:1271-6.
- 18 Albert PS, Ratnasinghe D, Tangrea J, Wacholder S. Limitations of the case-only design for identifying gene-environment interactions. *Am J Epidemiol* 2001;154:687-93.

- 19 Weinberg CR, Umbach DM. Choosing a retrospective design to assess joint genetic and environmental contributions to risk. *Am J Epidemiol* 2000;152:197-203.

Abstract

The investigation of gene-environment interaction using case-control comparisons

- Many chronic diseases are caused by the interaction of genes and environmental factors.
- Genetic epidemiologic research seeks to elucidate the role of genetic factors and their interaction with environmental factors in the occurrence of disease.

- Gene-environment interaction can be assessed using different types of case-control comparisons.
- The classic case-control design is suitable to investigate the association between multiple genes and environmental factors. Results can be presented in a two-by-four table.
- In a case-parents design, the genotype of each case is compared with the genotype of a fictitious control formed by the non-transmitted alleles from each parent.
- In a case-only design, the relationship between a genotype and an environmental factor is examined in a population of affected cases only.
- Both the case-parents and the case-only designs assume independence between genotype and environmental factors in the control group.

Ned Tijdschr Geneesk 2005;149:977-82