

**Microsatellite DNA testing for sibling determination in northern Thai population****การตรวจดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เพื่อพิสูจน์ความเป็นพี่น้องในคนไทยภาคเหนือ**

ธานินทร์ ภูพัฒน์ พ.บ.\*, เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์ พ.บ.†, สุทัศน์ ศรีดวงแก้ว วท.บ.\*

\* ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

† ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**Abstract**

In this study we analyzed and compared microsatellite DNA profiles of D3S1358, D5S818, D8S1179, D10S2325, D13S317, D16S539, D19S253, TH01, TPOX and vWA from 100 sibling sample pairs and other 100 unrelated sample pairs randomly selected from the general population in the northern part of Thailand. DNA typing of each sample can be determined by method using polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis. To identify the difference of DNA profiles between sibling pair from unrelated pair, we proposed 5 indices as predictors as follows:

- 1) Number of exclusion locus
- 2) Allele sharing score
- 3) Number of shared allele
- 4) Likelihood ratio
- 5) Relative index

We found that all 5 indices were useful in differentiating sibling pair from unrelated pair. However, the difference in efficiency of each index was also observed. When compared the efficacy of these indices, we found that likelihood ratio was as effective a predictor as relative index but better than number of exclusion locus. The number of exclusion locus was better than number of shared allele and the allele sharing score was the least effective index.

## บทคัดย่อ

ได้ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์จากคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้อง จำนวน 100 คู่และกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางเครือญาติจำนวนอีก 100 คู่ ของประชากรคนไทยในภาคเหนือ ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง คือ D3S1358, D5S818, D8S1179, D10S2325, D13S317, D16S539, D19S253, TH01, TPOX และ vWA ลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 10 ตำแหน่ง ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction และแยกแยะลักษณะของดีเอ็นเอเหล่านั้นด้วย polyacrylamide electrophoresis ทำให้ทราบลักษณะรูปแบบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งดังกล่าวในคู่ตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดีเอ็นเอทั้ง 10 ตำแหน่ง ของคู่ตัวอย่าง โดยใช้ดัชนีเพื่อทำนายการเป็นพี่น้อง 5 แบบ ได้แก่

- 1) จำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (exclusion locus)
- 2) คะแนนของอัลลีลร่วม (allele sharing score)
- 3) จำนวนอัลลีลร่วม (number of shared allele)
- 4) ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (likelihood ratio)
- 5) ค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ (relative index)

พบว่าดัชนีทั้ง 5 แบบ สามารถแยกแยะคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้อง ออกจากคู่ตัวอย่างที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดได้ โดยมีข้อดีข้อเสียต่างๆ กัน อย่างไรก็ตามหากจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพของดัชนีทั้ง 5 แล้วพบว่า ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (likelihood ratio) และค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ (relative index) มีประสิทธิภาพดีที่สุดพอๆ กัน ตามด้วยจำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์และจำนวนอัลลีลร่วมตามลำดับ ส่วนค่าคะแนนของอัลลีลร่วม เป็นดัชนีที่มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด

---

## บทนำ

การตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในทางนิติวิทยาศาสตร์ ทั้งเพื่อพิสูจน์บุคคลหรือพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด เป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าการตรวจพิสูจน์พ่อ-แม่-ลูก นั้น ตำแหน่งดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์มีความเหมาะสมมาก เนื่องจาก ลักษณะของดีเอ็นเอตำแหน่งเหล่านี้มีความหลากหลายทำให้แยกแยะบุคคลต่างๆ ออกจากกันได้มาก นอกจากนั้นขนาดของช่วงดีเอ็นเอดังกล่าว ไม่ใหญ่มาก ทำให้การตรวจด้วยเทคนิค polymerase chain reaction สามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า ดีเอ็นเอของลูกย่อมได้รับการถ่ายทอดมาจากพ่อและแม่ ดังนั้นลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ของลูกก็จะเข้าได้กับของพ่อและแม่ ในทุกๆ ตำแหน่ง ซึ่งลักษณะที่เรียกว่าเข้ากันได้หมายความว่ามีความถึงความถึงการที่ลูกมีลักษณะแถบดีเอ็นเอร่วมกับพ่อและแม่ หากคิดเชิงตรรกวิทยา อาจจะสามารถบอกได้ว่า ลักษณะการมีแถบดีเอ็นเอ

ร่วมของบุคคลสองคน ย่อมแสดงถึงความใกล้ชิดทางสายเลือดโดยเฉพาะอย่างยิ่ง หากลักษณะแถบดีเอ็นเอที่แสดงร่วมกันนั้น เป็นลักษณะที่พบได้น้อยในกลุ่มประชากร บนโลกแห่งความวุ่นวาย การตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดนอกจากเป็นการพิสูจน์หา พ่อ, แม่ หรือ ลูกแล้ว บางครั้งจะพบว่า การตรวจพิสูจน์ความเป็นญาติพี่น้องก็เป็นที่ต้องการเช่นเดียวกัน จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ ในการนำดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เข้ามาช่วยในการพิสูจน์ความใกล้ชิดของสายเลือดแบบพี่น้อง ซึ่งในต่างประเทศก็มีความพยายามที่จะใช้การตรวจดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ประเมินความสัมพันธ์แบบพี่น้องเช่นกัน<sup>(1)</sup> เพื่อเป็นแนวทางในการให้ความเห็นเกี่ยวกับการเป็นพี่น้องของบุคคลที่มารับการตรวจดังกล่าว คณะผู้วิจัย จึงสนใจที่จะนำกรณีการพิสูจน์พี่น้อง เข้ามาศึกษาอย่างเป็นระบบ โดยหวังผลที่จะได้แนวทางการแปลผลการตรวจที่เป็นวิทยาศาสตร์มากขึ้น และเหมาะสมกับสภาพความจำเป็นของประเทศ

## วัตถุประสงค์และวิธีการ

ตัวอย่าง DNA ที่สกัดจากเลือดโดยวิธี Chelex<sup>(2)</sup> ของผู้มาขอรับการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด ในภาควิชานิติเวชศาสตร์ จากกลุ่มที่พิสูจน์แล้วว่าเป็นพี่น้องกัน พ่อ-แม่เดียวกัน จำนวน 100 คู่ และอีกกลุ่มที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดอีก 100 คู่ ถูกนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมของ microsatellite DNA ที่ตำแหน่ง D3S1358, D5S818, D8S1179, D10S2325, D13S317, D16S539, D19S253, TH01, TPOX และ vWA ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3, 5, 8, 10, 13, 16, 19, 11, 2 และ 12 ตามลำดับรวมทั้งสิ้น 10 ตำแหน่ง สำหรับลักษณะของไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 10 ตำแหน่งดังกล่าว ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแล้วแยกชนิดของดีเอ็นเอด้วย polyacrylamide gel electrophoresis<sup>(3)</sup>

การวิเคราะห์เปรียบเทียบของคู่ตัวอย่าง ทำตามแนวทางของดัชนีต่างๆ ดังนี้

- 1) จำนวนตำแหน่งที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (number of exclusion locus)
- 2) นับคะแนนของอัลลีลร่วม (allele sharing score)
- 3) นับจำนวนอัลลีลร่วม<sup>(4)</sup> (number of shared allele)
- 4) ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น<sup>(5)</sup> (likelihood ratio)
- 5) ค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ<sup>(5)</sup> (relative index) จากดีเอ็นเอตำแหน่งที่แสดงความสัมพันธ์กัน

**การนับคะแนนของอัลลีลร่วม (Allele sharing score)** กำหนดให้มีค่า 1, 2 และ 4 ดังนี้

1 ถ้ารูปแบบดีเอ็นเอของทั้งคู่แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอตำแหน่งนั้นเป็นพันธุกรรม (heterozygous) แต่แถบดีเอ็นเอเพียงหนึ่งแถบของคนทั้งคู่ตรงกัน จะนับคะแนนเท่ากับ 1

2 ถ้ามีเพียงคนเดียวแสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งนั้นๆ เป็นพันธุกรรมแท้ (homozygous) และแถบดีเอ็นเอที่เป็นพันธุกรรมแท้ไปตรง (match) กับแถบดีเอ็นเอหนึ่งใดของอีกคนหนึ่ง จะนับคะแนนเท่ากับ 2

3 ถ้าทั้งคู่แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอตำแหน่งนั้นเป็นพันธุ์ทาง และแถบดีเอ็นเอทั้งสองของคนทั้งคู่ตรงกัน จะนับคะแนนเท่ากับ 2

4 ถ้าทั้งคู่แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอตำแหน่งนั้นเป็นพันธุ์แท้ จะนับคะแนนเท่ากับ 4

**การนับจำนวนอัลลีลร่วม** (number of shared allele) กำหนดให้มีค่า 1 และ 2 ตามจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ตรงกันโดยไม่คำนึงถึงภาวะพันธุ์แท้หรือพันธุ์ทาง

**ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น** (likelihood ratio) คำนวณได้ดังนี้

บุคคลที่ 1	บุคคลที่ 2	Likelihood ratio
AA	AA	$1 + \frac{1 + 2\theta}{2[3\theta + (1-\theta)P_a]} + \frac{(1+\theta)(1+2\theta)}{4[2\theta + (1-\theta)P_a][3\theta + (1-\theta)P_a]}$
AA	AB	$1 + \frac{1 + 2\theta}{4[2\theta + (1-\theta)P_a]}$
หรือ	AB	4
AA	BC	1
หรือ	AA	4
AB	AB	$1 + \frac{1 + 2\theta}{4[8[\theta + (1-\theta)P_a] + 8[\theta + (1-\theta)P_b] + 8[\theta + (1-\theta)P_a][\theta + (1-\theta)P_b]]}$
AB	AC	$1 + \frac{1 + 2\theta}{4[8[\theta + (1-\theta)P_a]]}$
AB	CD	1
		4

**ค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ** (relative index) จะใช้สูตรจากการคำนวณค่าดัชนีการเป็นบุพการี (paternity index) ดังตัวอย่างต่อไปนี้

บุคคลที่ 1	บุคคลที่ 2	Relative index
AA	AA	$\frac{1 + 2\theta}{3\theta + (1-\theta)P_a}$

	บุคคลที่ 1	บุคคลที่ 2	Relative index
	AA	AB	$\frac{1 + 2\theta}{4[\theta + (1-\theta)Pa]}$
หรือ	AB	AA	$\frac{1 + 2\theta}{4[\theta + (1-\theta)Pb]}$
	AB	AB	$\frac{1 + 2\theta}{4[\theta + (1-\theta)Pa]} + \frac{1 + 2\theta}{4[\theta + (1-\theta)Pb]}$
	AB	AC	$\frac{1 + 2\theta}{4[\theta + (1-\theta)Pa]}$

ถ้าลักษณะของอัลลีลไม่แสดงความสัมพันธ์กัน จะกำหนดค่าความสัมพันธ์ = 1/4

Pa, Pb = ค่าความถี่ของอัลลีล a และ b ในตำแหน่งดีเอ็นเอที่เปรียบเทียบ<sup>(6-8)</sup>

และกำหนดให้ค่าสัมประสิทธิ์การมีบรรพบุรุษร่วม (coancestry coefficient,  $F_{st}$  หรือ  $\theta$ ) เท่ากับ 0 และ 2% (ที่ใช้ 2% เนื่องจากกลุ่มประชากรที่ศึกษามีทั้งที่อยู่ในเมืองและชนบทปนกัน)

จากนั้นเปรียบเทียบตัวชี้วัดทั้ง 5 ตัว ในกลุ่มคู่พี่น้องกับกลุ่มคู่คนทั่วไป พิจารณาเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะพี่น้องจากตัวชี้วัดทั้งห้า

### ผลการค้นคว้าวิจัย

เมื่อนับจำนวน exclusion locus ของคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด พบดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 - แสดงจำนวนคู่ ที่มี exclusion locus ต่างๆ กัน ในกลุ่มที่เป็นพี่น้องและกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด

No. of exclusion locus	Sibling	Non-relative
	No. of sample pair	No. of sample pair
0	36	0
1	35	2
2	23	17
3	4	25
4	2	18
5	0	20
6	0	14
7	0	4
Total	100	100

เมื่อวิเคราะห์คะแนนของอัลลีลร่วมของคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด  
พบดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 - แสดงจำนวนคู่ ที่มี allele sharing score ต่างๆ กัน ในกลุ่มที่เป็นพี่น้องและกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด

Allele sharing score	Sibling	Non-relative
	No. of sample pair	No. of sample pair
4	0	4
5	0	2
6	0	13
7	0	10
8	2	9
9	5	11
10	12	13
11	18	20
12	22	13
13	16	2
14	12	2
15	4	1
16	4	0
17	2	0
18	1	0
19	1	0
20	1	0
21	1	0
<b>Total</b>	100	100

เมื่อวิเคราะห์จำนวนอัลลีลร่วมของคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด พบ  
 ดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** - แสดงจำนวนคู่ ที่มีจำนวนอัลลีลร่วมต่างๆ กัน ในกลุ่มที่เป็นพี่น้องและกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด

No. of shared allele	Sibling	Non-relative
	No. of sample pair	No. of sample pair
3	0	3
4	0	9
5	0	16
6	0	11
7	1	24
8	2	20
9	5	12
10	15	2
11	18	1
12	21	2
13	21	0
14	11	0
15	3	0
16	3	0
<b>Total</b>	100	100

เมื่อวิเคราะห์ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น ในรูปแบบของ log scale ของคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องเทียบกับกลุ่ม  
 ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด โดยกำหนดค่า  $\theta = 0$  และ  $0.02$  พบดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 - แสดงจำนวนคู่ ที่มีค่า log ของอัตราส่วนความน่าจะเป็น ต่างๆ กัน ในกลุ่มที่เป็นพี่น้องและกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด

Likelihood ratio (log scale)	Sibling		Non-relative	
	No. of sample pair		No. of sample pair	
	$\theta = 0$	$\theta = 0.02$	$\theta = 0$	$\theta = 0.02$
-4.99 - -4.00	0	0	5	4
-3.99 - -3.00	0	0	18	20
-2.99 - -2.00	0	0	22	22
-1.99 - -1.00	1	2	38	41
-0.99 - 0.00	3	4	14	10
0.01 - 1.00	11	15	3	2
1.01 - 2.00	21	27	0	1
2.01 - 3.00	23	19	0	0
3.01 - 4.00	17	15	0	0
4.01 - 5.00	12	10	0	0
5.01 - 6.00	5	6	0	0
6.00 - 7.00	6	2	0	0
7.00 - 8.00	1	0	0	0
<b>Total</b>	100	100	100	100

เมื่อวิเคราะห์ค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ในรูปแบบของ log scale ของคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด โดยกำหนดค่า  $\theta = 0$  และ 0.02 พบดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 - แสดงจำนวนคู่ ที่มีค่า log ของดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ต่างๆ กัน ในกลุ่มที่เป็นพี่น้องและกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด

Relative index (log scale)	Sibling		Non-relative	
	No. of sample pair		No. of sample pair	
	$\theta = 0$	$\theta = 0.02$	$\theta = 0$	$\theta = 0.02$
-3.99--3.00	0	0	13	13
-2.99--2.00	0	0	18	20
-1.99--1.00	0	1	28	28
-0.99--0.00	3	4	27	31
0.01--1.00	8	12	11	7
1.01--2.00	24	28	3	1
2.01--3.00	29	31	0	0
3.01--4.00	18	17	0	0
4.01--5.00	12	7	0	0
5.01--6.00	6	0	0	0
<b>Total</b>	100	100	100	100

## อภิปราย

จากการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ 10 ตำแหน่ง อาจสามารถนำมาใช้พิสูจน์ความสัมพันธ์แบบพี่น้องได้ โดยใช้ตัวชี้วัดต่างๆ กัน อย่างไรก็ตามตัวชี้วัดแต่ละตัวจะสามารถบ่งบอกความเป็นพี่น้องได้ดีไม่เท่ากัน ดังนี้

1) การนับตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (exclusion locus) เป็นวิธีที่สะดวกที่สุด พบว่าจำนวน exclusion locus ของคู่พี่น้องจะน้อยกว่าคู่ที่ไม่ใช่ญาติพี่น้องอย่างชัดเจน ในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องจะมีจำนวน exclusion locus อยู่ระหว่าง 0 - 4 ตำแหน่ง ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีจำนวน exclusion locus อยู่ระหว่าง 1 - 7 ตำแหน่ง โดยสรุปแล้วหากการตรวจเปรียบเทียบ microsatellite DNA ทั้ง 10 ตำแหน่ง แล้ว ลักษณะดีเอ็นเอของบุคคลทั้งสองไปด้วยกันได้ทั้ง 10 ตำแหน่ง คือจำนวน exclusion locus = 0 น่าเชื่อได้ว่าบุคคลทั้งสองเป็นพี่น้องกันจริง ทั้งนี้จะพบว่า ในจำนวน 100 คู่ที่ไม่ใช่ญาติพี่น้อง จะไม่มีคู่ใดเลยที่จะแสดงความสัมพันธ์ของลักษณะดีเอ็นเอแบบญาติสายตรงครบทั้ง 10 ตำแหน่ง แต่พบ 36 ใน 100 คู่ของกลุ่มคู่ตัวอย่างพี่น้องที่แสดงคุณสมบัติอันนั้น และถ้าพบว่ามีจำนวน exclusion locus มากกว่า 4 ก็อาจสรุปได้ว่าบุคคลทั้งสองไม่น่าจะเป็นพี่น้องกันจริง นอกจากนั้นพบว่า หาก

ยอมให้มีจำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (exclusion locus) ได้ ไม่เกิน 1 ตำแหน่ง จะพบ 2 ใน 100 คู่ที่ไม่ใช่ญาติพี่น้อง และ 71 ใน 100 คู่ของกลุ่มคู่ตัวอย่างพี่น้องที่แสดงคุณสมบัติอันนี้ ดูเหมือนว่า ค่า exclusion locus = 1 น่าจะเป็นเกณฑ์ตัดสินที่เหมาะสม เพราะ เมื่อใช้การทดสอบอันนี้โดยใช้เกณฑ์ดังกล่าว จะทำให้มีค่าความไว 71 %, ค่าความจำเพาะ 98 %, ค่า predictive value positive = 97.3% และค่า predictive value negative = 77.2%

2) คะแนนของอัลลีลร่วม (Allele sharing score) เป็นวิธียุ่งยากปานกลาง แต่กลับพบว่าไม่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัด แยกคู่ในกลุ่มพี่น้องและกลุ่มไม่ใช่ญาติพี่น้องได้ดีเท่าไรนัก แม้ว่ากลุ่มพี่น้องจะมีแนวโน้มของค่าคะแนนอัลลีลร่วมมากกว่ากลุ่มไม่ใช่ญาติพี่น้อง แต่จะพบว่าในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องมีคะแนนของอัลลีลร่วม ไม่ต่ำกว่า 8 คะแนน ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมีคะแนนของอัลลีลร่วม ไม่เกิน 15 คะแนน หากตั้งเกณฑ์ชี้วัดสำหรับการตรวจด้วยดัชนีอันนี้ อาจตั้งไว้ที่ค่าไม่น้อยกว่า 15 เพื่อระบุความเป็นพี่น้อง จะพบว่า การทดสอบนี้มีค่าความไว 14 %, ค่าความจำเพาะ 99 %, ค่า predictive value positive = 93.3% และค่า predictive value negative = 53.5%

3) จำนวนอัลลีลร่วม (number of shared allele) เป็นวิธีที่ง่ายรองลงมาจากวิธีที่ 1 (exclusion locus) แต่กลับพบว่าดัชนีตัวนี้ดีกว่าดัชนีตัวที่ 2 (คะแนนของอัลลีลร่วม) ชัดเจน ในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องจะมีจำนวนอัลลีลร่วม ไม่ต่ำกว่า 7 อัลลีล ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีจำนวนอัลลีลร่วม ไม่เกิน 12 อัลลีล หากกำหนดเกณฑ์การตัดสินไว้ที่ค่าไม่น้อยกว่า 12 จะทำให้มีค่าความไว 59 %, ค่าความจำเพาะ 98 %, ค่า predictive value positive = 96.7% และค่า predictive value negative = 70.5%

4) ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (likelihood ratio) เป็นวิธีค่อนข้างยุ่งยาก แต่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัด แยกคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องและกลุ่มไม่ใช่ญาติพี่น้องได้ดีมาก ในกลุ่มพี่น้องมีแนวโน้มที่จะมีค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นสูงกว่ากลุ่มไม่ใช่ญาติพี่น้องอย่างชัดเจน

ในกรณีที่กำหนดค่า  $\theta = 0.02$  จะพบว่าในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องมีค่า log ของค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นไม่ต่ำกว่า -2 ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีค่า log ของค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นไม่เกิน 2 และหากกำหนดเกณฑ์การตัดสินไว้ที่ค่า log ของอัตราส่วนความน่าจะเป็นไม่น้อยกว่า 1 จะพบว่า การทดสอบนี้มีค่าความไว 79 %, ค่าความจำเพาะ 99 %, ค่า predictive value positive = 98.8% และค่า predictive value negative = 82.5%

กรณีที่กำหนดค่า  $\theta = 0$  จะพบว่าในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องมีค่า log ของค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นไม่ต่ำกว่า -2 ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีค่า log ของค่าอัตราส่วน

ความน่าจะเป็นไม่เกิน 1 และหากกำหนดเกณฑ์การตัดสินใจที่ค่า log ของอัตราส่วนความน่าจะเป็น ไม่น้อยกว่า 1 จะพบว่าการทดสอบนี้มีค่าความไว 85 % , ค่าความจำเพาะ 100 % , ค่า predictive value positive = 100% และค่า predictive value negative = 86.95% แต่หากลดเกณฑ์การตัดสินใจโดยเอาค่า log ที่ไม่น้อยกว่า 0 จะพบว่าการทดสอบนี้มีค่าความไว 96 % , ค่าความจำเพาะ 97 % , ค่า predictive value positive = 97% และค่า predictive value negative = 96% ถือว่าเป็นเกณฑ์ที่น่าสนใจ

5) ค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ (Relative index) เป็นวิธีค่อนข้างยุ่งยากเช่นกัน แต่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัด แยกคู่ในกลุ่มพี่น้องและกลุ่มไม่ใช่ญาติพี่น้องได้ดีมากเช่นกัน ในกลุ่มพี่น้องมีแนวโน้มที่จะมีค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติสูงกว่ากลุ่มไม่ใช่ญาติพี่น้องอย่างชัดเจน ในกรณีที่กำหนดค่า  $\theta = 0.02$  จะพบว่าในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องมีค่า log ของค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ไม่ต่ำกว่า -2 ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีค่า log ของค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ไม่เกิน 2 และหากกำหนดเกณฑ์การตัดสินใจที่ค่า log ของค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ไม่น้อยกว่า 1 จะพบว่าการทดสอบนี้มีค่าความไว 83 % , ค่าความจำเพาะ 99 % , ค่า predictive value positive = 98.8% และค่า predictive value negative = 85.3%

ในกรณีที่กำหนดค่า  $\theta = 0$  จะพบว่าในกลุ่มคู่ตัวอย่างที่เป็นพี่น้องมีค่า log ของค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ไม่ต่ำกว่า -1 ในขณะที่คู่ตัวอย่างในกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีค่า log ของค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ไม่เกิน 2 และหากกำหนดเกณฑ์การตัดสินใจที่ค่า log ของค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ ไม่น้อยกว่า 1 จะพบว่าการทดสอบนี้มีค่าความไว 89 % , ค่าความจำเพาะ 97 % , ค่า predictive value positive = 96.7% และค่า predictive value negative = 89.8%

ดังนั้นหากพิจารณาดัชนีแต่ละตัวแล้ว จะพบว่า ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (Likelihood ratio) และค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ (relative index) เป็นตัวบ่งชี้ที่ดีที่สุด มีความใกล้เคียงกันมาก และการกำหนดให้ค่า  $\theta = 0$  น่าจะเหมาะสมกว่า การใช้ค่า  $\theta = 0.02$  โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น ดัชนีที่ตรงลงมาได้แก่ จำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (exclusion locus) ตามด้วย จำนวนอัลลีลร่วม (number of shared allele) และคะแนนของอัลลีลร่วม (allele sharing score) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติ หากต้องคำนึงถึงความยากในการหาค่าดัชนีเหล่านั้นมาเป็นปัจจัยพิจารณา อาจใช้ จำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (exclusion locus) เป็นดัชนีสำหรับการพิจารณาที่สะดวกที่สุด

## สรุป

ได้ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์จากคู่ตัวอย่างในกลุ่มพี่น้องและกลุ่มที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางเครือญาติของประชากรคนไทยในภาคเหนือ กลุ่มละ 100 คู่ โดยวิเคราะห์ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง คือ D3S1358, D5S818, D8S1179, D10S2325, D13S317, D16S539, D19S253, TH01, TPOX และ vWA ใช้ดัชนี 5 แบบ ได้แก่

- 1) จำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ (exclusion locus)
- 2) คะแนนของอัลลีลร่วม (allele sharing score)
- 3) จำนวนอัลลีลร่วม (number of shared allele)
- 4) ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (likelihood ratio)
- 5) ค่าดัชนีความสัมพันธ์เครือญาติ (relative index)

พบว่าดัชนีทั้ง 5 ชนิด สามารถใช้แยกแยะคู่ที่เป็นพี่น้อง ออกจากคู่ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดได้ โดยมีข้อดีข้อเสียต่างๆ กัน อย่างไรก็ตามพบว่า คุณภาพของดัชนีต่างๆ เรียงไปจากมากสู่น้อยได้ดังนี้ ค่าดัชนีค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (likelihood ratio) ~ ความสัมพันธ์เครือญาติ (relative index) > จำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ > จำนวนอัลลีลร่วม > คะแนนของอัลลีลร่วม

## กิติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ช่วยสนับสนุนเงินทุนเพื่อการวิจัยและภาคิชาานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ยืมใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

1. Gaytmenn R, Hildebrand DP, Sweet D, Pretty IA. Determination of the sensitivity and specificity of sibship calculations using AmpF/STR Profiler Plus. Int J Legal Med. 2002;116:161-4.
2. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material. Bio Techniques.1991; 10: 506-13.
3. Sajantila A, Pacek P, Lukka M, et al, A microsatellite polymorphism in the von Willebrand factor gene : comparison of allele frequencies in different population samples and evaluation for forensic medicine. Forensic Sci Int. 1994; 68:91-102.
4. Farfan MJ, Prieto V, Sanz P. Allele sharing in related and unrelated individuals: implications in kinship analysis. Int Congress Series 2004; 449-51.
5. Ayres KL. Relatedness testing in subdivided populations Forens Sci Int. 2000; 114:107-15.
6. Bhoopat T, Sriduangkaew S, Steger HF. An investigation of the TH01 locus in population from northern Thailand. Int J Legal Med 1997;110:286-7.

7. Bhoopat T, Sriduangkaew S, Steger HF. STR loci D10S2325, D16S539 and D19S253: Northern Thai population data. *Legal Medicine* 2006;8:306-7.
  8. Bhoopat T, Sriduangkaew S, Bhoopat L. Allele frequencies and distribution of microsatellite DNA loci D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, TH01, vWA, TPOX and LPL in a population from northern Thailand. *J Forens Physician Ass Thailand* (In press).
-