

Kolorektal Kanserinin SULT1A1 (Sülfotransferaz) R213H Polimorfizmi ve Sigara Kullanımı ile Risk Değişiminin Araştırılması

Investigating Colorectal Cancer SULT1A1 (Sulfotransferases) R213H Polymorphism and Its Rate Through Smoking

ÖZGE ÖZER¹, NURCAN ARAS¹, SEVİM KARAKAŞ ÇELİK², EBRU DERİCİ EKER³, MEHMET ÖZGÜR TÜRKMEÑOĞLU⁴

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı, Mersin - Türkiye ²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak - Türkiye ³Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Mersin - Türkiye ⁴Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Mersin - Türkiye

ÖZET

Amaç: Kolorektal kanser gelişiminde sigaranın da içinde bulunduğu pek çok çevresel ve genetik faktör rol oynamaktadır. Sülfotransferaz (SULT) 1A1 geni ksenobiyotik bileşiklerin faz II metabolizmasında rol oynayan bir enzim olup sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve arilaminler gibi bazı kanserojen maddelerin sülfasyon reaksiyonlarını katalizler. Bu çalışmada SULT1A1 R213H polimorfizminin kolorektal kanser gelişiminde risk faktörü olup olmadığı ve sigara ile olan ilişkisi araştırılmıştır.

Yöntemler: DNA, çalışma popülasyonunu oluşturan (99 hasta ve 106 kontrol) bireylerden alınan kanlardan kit

ABSTRACT

Objective: In the development of colorectal cancer, various environmental and genetic factors including smoking have a leading role. Sulfotransferases (SULT) 1A1 gene is an enzyme which has a role in the phase II metabolism of xenobiotic compounds and catalyses the sulfation reactions of some carcinogenetic substances such as polycyclic aromatic hydrocarbons and arylamines existing in tobacco smoke. This study focused on the question whether SULT1A1 R213H polymorphism is a risk factor in the development of colorectal cancer and on its association with the cigarette.

Methods: From the blood taken from individuals (99 patients and 106 control) comprising the study population,

Başvuru Tarihi: 25.03.2014, Kabul Tarihi: 29.03.2014

✉ Dr. Nurcan Aras

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı, Çiftlikköy Kampüsü Mersin - Türkiye
Tel: 054.18451964 - 0324.3610001
e-mail: nurcanarasates@gmail.com

Kolon Rektum Hast Derg 2014;24:35-40

yöntemiyle izole edilmiştir. PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak da SULT1A1 genotipler belirlenmiştir.

Bulgular: SULT1A1 R213H polimorfizmi için GG, AG ve AA genotiplerinin sıklıkları kontrol grubunda sırasıyla; %56.5, %37.4 ve %6.1 iken hasta grubunda ise %58.5, %31.1 ve %10.4 olarak saptanmıştır.

Sonuç: Kontrol grubu ile hasta grubunu oluşturan kolorektal kanserli bireyler karşılaştırıldığında, genotip açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0.413$). Sigara kullanma ile genotipler arasında hastalık riski bakımından bir ilişki bulunmamıştır ($p=0.078$). Ayrıca sigara içmenin genotiplerden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini 2.63 kat artırdığı belirlenmiştir ($p=0.03$).

Anahtar Kelimeler: Sülfotransferaz (SULT1A1) geni, Kolorektal kanser, Genetik polimorfizm.

DNA was isolated through kit method. Genotypes were determined using PCR and RFLP methods.

Results: For SULT1A1 R213H polymorphism the frequencies of GG, AG and AA genotypes were %56.5, %37.4 and %6.1 in control group, while in patients %58.5, %31.1 and %10.4, respectively.

Conclusion: When the control group and the individuals with colorectal cancer consisting of the patients are compared, no statistically significant relation was found in terms of genotype ($p=0.413$). No interrelationship between smoking and the genotypes was determined in terms of the disease risk ($p=0.078$). Apart from these, it was also determined that smoking increases the risk of colorectal cancer 2.63 fold independently of the genotypes ($p=0.03$).

Key words: Sulfotransferases (SULT1A1) gene, Colorectal cancer, Genetic polymorphism.

Giriş

Dünyada görülme sıklığı giderek artan kolorektal kanser, özellikle gelişmiş toplumlarda en sık görülen ikinci kanser türü olup, kansere bağlı ölüm sıralamasında erkeklerde akciğer ve prostat kanserinden, kadınlarda ise akciğer ve meme kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır.^{1,2} Kolon kanserinde daha etkili koruma yöntemlerinin geliştirilmesi, erken tespit edilmesi ve tedavisi için, çevresel ve endojen faktörlerin daha iyi anlaşılması gerekmektedir.¹

Sigara dumanının sitokrom P450, N-Asetiltransferaz, myeloperoksidaz ve sülfotransferaz gibi bazı metabolik enzimler tarafından aktive edilen çeşitli prokarsinojenler içerdiği bilinmektedir. Bu metabolik enzimlerdeki polimorfizmler ve mutasyonlar yine bu enzimler tarafından gerçekleştirilen prokarsinojenlerin aktivasyon veya detoksifikasyon oranlarında çeşitliliğe neden olarak enzim fonksiyonunu etkilemektedir.³

İnsanda sülfotransferazlar (SULT)'lar, akciğer, karaciğer, beyin, trombositler, kolon, adrenal bezler ve burun epitelyumu gibi değişik dokularda ekspresyon edilirler.³⁻⁷ Sülfotransferaz enzimleri, ksenobiyotik metabolizmasında görev alan enzim grubunda olup, endojen ve eksojen kimyasalların detoksifikasyonu ve biyoaktivasyonunda rol oynamaktadırlar.⁴

SULT1A1 geni polimorfik bir gen olup 638. nükleotiddeki guaninin adenine (G-A) transisyonu Arg²¹³→His

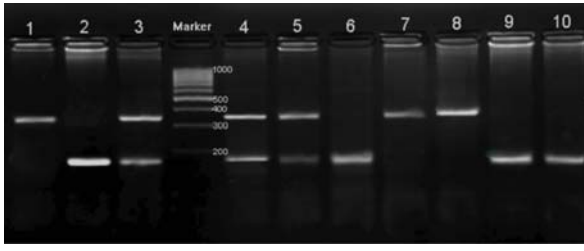
değişimine neden olmaktadır. SULT1A1 geninde meydana gelen Arg²¹³→His²¹³ aminoasit değişimi sonucunda protein aktivitesi ve ekspresyonu etkilenmekte ve protein stabilitesi azalmaktadır.^{3,4}

SULT1A1 geninde meydana gelen mutasyon, bireyin endojen sülfat bileşikleri, ilaçlar ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyon kapasitesini etkileyerek kişinin kansere duyarlılığını artırmaktadır.³ Sigara içiminden kaynaklanan prokarsinojenlerin aktivasyonundaki SULT1A1'in rolü göz önünde bulundurulursa SULT1A1 polimorfizmi, kolorektal kanser ile sigara içimi arasındaki ilişkide de belirleyici olabilir.

Bu çalışmanın amacı, SULT1A1 gen polimorfizmi ile kolorektal kanser gelişiminin sigaraya maruz kalma ile ilişkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Sülfotransferaz SULT1A1 R213H polimorfizmi için genotiplendirme yapılırken 99 kontrol ve 106 kolorektal kanserli olmak üzere toplam 205 kişiden oluşan araştırma popülasyonundaki her birey için, bilgilendirilmiş onam alınıp, kit yöntemi ile DNA izolasyonu yapıp SULT1A1 gen bölgesi de PCR ile amplifiye edildikten sonra HaeII restriksiyon enzimi kullanılarak RFLP yapıldı. SULT1A1 gen amplifikasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction)



Şekil 1. SULT1A1 geni PCR ürününün, HaeII restriksiyon enzimi ile kesiminden elde edilen sonuçlar (%2.5' luk agaroz jel elektroforezi). 100 bp Marker (M) ve bireyler de 1' den 10'a kadar numaralarla gösterilmiştir.

yöntemiyle F=5'-GTT GGC TCT GCA GGG TTT CTA GGA-3' ve R=5'CCC AAA CCC CCT GCT GGC CAG CAC CC-3' primerleri kullanılarak yapıldı. PCR ortamı her bir örnek için; 20-100 ng genomik DNA, 100 µm dNTP mix, 20 pmol primerlerin her birinden, 1 mM MgCl₂, 1 mM 10 x PCR buffer (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) ve 1U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) olacak şekilde 25 µl'lik reaksiyon hacminde hazırlandı. Amplifikasyon, otomatik bir thermal cyler (Techne Flexigene, Cambridge, UK) kullanılarak gerçekleştirildi. PCR koşulları; 1 döngü 95 °C 3 dak., 35 döngü 94 °C 30 saniye , 59 °C 45 sn., 72 °C 30 sn ve 1 döngü 72 °C 7 dak. olacak şekilde gerçekleştirildi.

SULT1A1 geninin R213H polimorfizmi, HaeII restriksiyon enzimleri kullanılarak belirlenmiştir. PCR ürünleri (15µl) 2 saat 37 °C'de 5 ünite Bsp 143II (MBI Fermentas) ile inkübasyona bırakıldı. Kesim sonucu elde edilen 168 bp ve 165 bp'lik bantlar GG, 333 bp, 168 bp ve 165 bp'lik bantlar AG, 333 bp'lik tek bant ise AA genotipi olarak değerlendirilmiştir (Şekil 1). SULT1A1 R213H polimorfizmi ile kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi inceleyen analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) paket programda yapılmıştır.

Bulgular

Kolorektal kanserinin sülfotransferaz SULT1A1 R213H polimorfizmi ve sigara ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada hasta ve kontrol grubunun özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir,

Tablo 1'de görüldüğü gibi kolorektal kanserlilerin % 43.4'ü sigara kullanırken, %56.6'sı ise sigara kullanmayan bireylerden oluşmaktadır. Kontrol grubunun ise %23.2'si sigara kullanırken, %76.8'i ise sigara kullanmayan bireylerden oluşmaktadır. Sigara içen

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması, cinsiyet, sigara kullanımı ve tümör tipi açısından dağılımı.

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	p değeri	OR \pm 95% CI
Toplam	99 (100)	106 (100)		
Yaş Ortalaması \pm SD	49.54 \pm 13.9	59.27 \pm 14.1	0.000	1.05 (1.03-1.07)
Cinsiyet				
Erkek	51 (51.5)	52 (49.1)		referans
Kadın	48 (48.5)	54 (50.9)	0.87	0.95 (0.52-1.75)
Sigara Kullanma				
İçmiyor	76 (76.8)	60 (56.6)		referans
İçiyor	23 (23.2)	46 (43.4)	0.03	2.63 (1.38-5.01)
Tümör Tipi				
Sağ Kolon		19 (17.9)		
Sol Kolon		22 (20.8)		
Rektum		65 (61.3)		

bireyler, sigara içmeyen bireylere göre 2.63 kat hastalık riski taşımaktadır ve bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur.

SULT1A1 R213H polimorfizmi genotiplerine ait bulgular incelendiğinde; 99 bireyden oluşan kontrol grubunda 6 birey AA, 37 birey AG, 56 birey GG genotipine sahipken kolorektal kanseri 106 hastadan oluşan grupta ise 11 bireyin AA, 33 bireyin AG ve 62 bireyin de GG genotipine sahip olduğu belirlendi (Tablo 2).

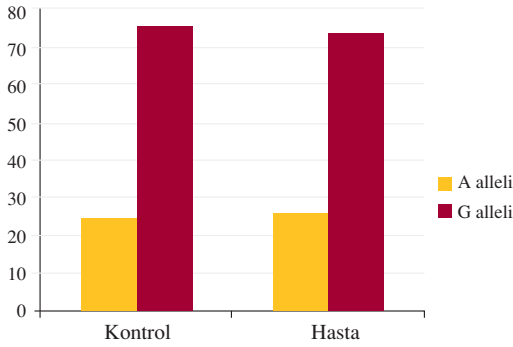
SULT1A1 R213H genotiplerinin hastalıkla ilişkisi "çoklu lojistik regresyon analizi" ile incelendiğinde; kontrol ve hasta grubundaki AA, AG ve GG genotipine sahip bireyler birbirleriyle kıyaslandığında kolorektal kanser riski açısından istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (p=0.413).

SULT1A1 R213H allellerine ait bulgular incelendiğinde; kontrol grubunda 49 tane A alleli (%24.7) ve 149 tane de G alleli (%75.3) kolorektal kanserlilerden oluşan hasta grubunda ise 55 tane A alleli (%25.9) ve 157 tane de G alleli (%74.1) olduğu belirlendi (Şekil 2).

Tablo 2. SULT1A1 R213H polimorfizminin genotip dağılımları ve odds oranları.

SULT1A1 R213H Polimorfizmi	Kontrol (N=99) n (%)	Kolorektal Kanseri (N=106) n (%)	Odds Oranları (95% Güven aralığı)
GG	56 (%56.5)	62 (%58.5)	1 (referans)
AA	6 (%6.1)	11 (%10.4)	1.1 (0.34-0.51)
AG	37 (%37.4)	33 (%31.1)	0.73 (0.38-1.39)

N: Birey Sayısı



Şekil 1. SULT1A1 R213H polimorfizminin allel frekansları.

Bu polimorfizme ait allel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarıyla olan ilişkisi istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p=0.781$).

SULT1A1 R213H polimorfizminin kontrol grubu ve kolorektal kanserli bireylere ait allel sıklıklarının sigara kullanım durumuna göre dağılımı Tablo 3'te verilmiştir. Sigara kullanımı ile SULT1A1 R213H polimorfizminin allel ve genotip oranları ve kolorektal kanser arasındaki ilişki incelendiğinde; sigara kullanma ile genotipler arasında hastalık riski bakımından bir ilişki bulunmamıştır ($p=0.078$). Ancak genotipten bağımsız olarak sigara kullanmanın hastalık riskini istatistiksel olarak 2.63 kat artırdığı bulunmuştur ($p=0.03$).

SULT1A1 R213H polimorfizmi; her üç tümör tipi ve cinsiyet açısından değerlendirildiğinde de istatistiksel olarak tümör tipi ve cinsiyet ile SULT1A1 R213H polimorfizmi allel ve genotip oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0.828$, Tablo 4).

Tartışma

Kolorektal kanserinin sülfotransferaz SULT1A1 R213H polimorfizmi ve sigara ile ilişkisinin araştırıldığı bu

Tablo 3. Kontrol ve hasta gruplarındaki bireylerin sigara durumuna göre SULT1A1 R213H polimorfizminin allel ve genotip dağılımları.

			Kontrol Grubu		Hasta Grubu	
			Sigara İçmeyen	Sigara İçen	Sigara İçmeyen	Sigara İçen
Allel Sıklığı	A	n (%)	40 (81.6)	9 (18.4)	32 (58.2)	23 (41.8)
	G	n (%)	112 (75.2)	37 (24.8)	88 (56.1)	69 (43.9)
Genotip Sıklığı	AA	n (%)	4 (5.3)	2 (8.7)	8 (13.3)	3 (6.5)
	AG	n (%)	32 (42.1)	5 (21.7)	16 (26.7)	17 (37)
	GG	n (%)	40 (52.6)	16 (69.6)	36 (60)	26 (56.5)
N			76	23	60	46

n: Allel ve Genotip Sayısı-N: Birey Sayısı

çalışmada, kontrol grubu ve kolorektal kanserlilerden oluşan hasta gruplarına ait bireylerden izole edilen DNA örnekleri PCR-RFLP yöntemleri ile analiz edilerek genotiplendirme yapılmıştır. Deneyler sonucunda elde edilen bulgular bireylerin yaş, cinsiyet, sigara kullanıp kullanmama durumları ve kolorektal kanser tipleri göz önünde tutularak değerlendirilmiş, ancak sigara dışındaki faktörlerin kolorektal kanser gelişimi üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Kolorektal kanser insidansının yaş ile artış göstermesi nedeniyle kontrol grubu oluşturulurken bireylerin özellikle 40 yaş üzerinde olmasına dikkat edilmiştir. Hastalığın görülme riski yaşa bağlı olarak değerlendirildiğinde, yaş 1 yıl arttıkça hastalık riskinin de 1.05 kat arttığı belirlenmiştir ($p=0.000$). Gruplar cinsiyet açısından incelendiğinde ise hastalığın görülme riski kadınlarda erkeklere oranla 0.95 kat daha fazladır ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.87$).

Tablo 4. Kolorektal kanserli bireylerin tümör tiplerine göre SULT1A1 R213H polimorfizminin allel ve genotip dağılımları.

			SAĞ KOLON			SOL KOLON			REKTUM		
			Bayan	Erkek	Toplam	Bayan	Erkek	Toplam	Bayan	Erkek	Toplam
Allel Sıklığı	A	n (%)	2 (25)	6 (75)	8	4 (30.8)	9 (69.2)	13	19 (55.9)	15 (44.1)	34
	G	n (%)	12 (40)	18 (60)	30	12 (38.7)	19 (61.3)	31	59 (61.5)	37 (38.5)	96
Genotip Sıklığı	AA	n (%)	1 (14.3)	1 (8.4)	2	-	3 (21.4)	3	3 (7.7)	3 (11.5)	6
	AG	n (%)	-	4 (33.3)	4	4 (50)	3 (21.4)	7	13 (33.3)	9 (34.6)	22
	GG	n (%)	6 (85.7)	7 (58.3)	13	4 (50)	8 (57.2)	12	23 (59)	14 (53.9)	37
N (%)			7 (63.2)	12 (36.8)	19	8 (36.4)	14 (63.6)	22	39 (60)	26 (40)	65

n: Allel ve Genotip Sayısı-N: Birey Sayısı

Sigara dumanı, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve arilaminler gibi potansiyel karsinojenler içerir. Bu maddelerin metabolizması oldukça kompleks olup aktivasyon ve detoksifikasyon basamaklarından oluşur ve termostabil fenol sulforansferaz gibi bir çok polimorfik enzim tarafından katalizlenir.⁸ Bu karsinojenlerin kolorektal epitel hücrelerinde geri dönüşümsüz genetik hasara yol açarak kolorektal kanserin gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir.⁹ Ancak kolorektal kansere sigaranın etkisi ile ilgili çalışmalarda sonuçlar çelişkilidir. Kolorektal kanser ile sigara arasındaki ilişkiyi araştıran 15 çalışmadan 12 tanesinde bizim çalışmamızla benzer şekilde sigara içmenin kolorektal kanseri riskini yükselttiği buna karşın 3 çalışmada ise kolorektal kanser ile sigara arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir.⁸⁻²³

Kolorektal kanser ile SULT1A1 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlarda oldukça çelişkilidir. Birçok çalışmada bizim çalışmamızda olduğu gibi kolorektal kanser ile SULT1A1 gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilirken^{4,24-27} Bamber *ve ark.* SULT1A1 G alleli için homozigot bireylerde kolorektal kanser riskinin azaldığını göstermişlerdir.²⁸ Benzer şekilde Nowell *ve ark.* da yaptıkları çalışmada SULT1A1 G allelini taşımanın kolorektal kanser açısından koruyucu etkisi olduğunu tespit etmiştir.²⁹

Ancak Tiemersma *ve ark.* tüm bu çalışmalardan farklı olarak SULT1A1 genetik polimorfizmi ile sigara içimi ve kanserin öncül lezyonu olan kolorektal adenomların ilişkisini inceledikleri çalışmalarında; en az 25 yıl sigara içen AA, AG, GG genotipine sahip olan bireylerin hiç içmeyenlere oranla sırasıyla; 1.51, 3.07, 3.94 kat daha fazla risk taşıdığını, 25 yıldan daha fazla süre sigara içenlerde ise bu oranı sırasıyla 3.47, 3.94, 4.32 kat daha

riskli olduğunu bulmuşlardır. Çalışmaları sonucunda sigara içiminin sürekliliği ve SULT1A1 G alleli taşıyıcılığının birlikte kolorektal adenomların oluşumu için çok güçlü bir risk faktörü oluşturduğunu göstermişlerdir.⁸

Sülfonasyon çok çeşitli ksenobiyotikler ve endojen komponentler için oneli bir detoksifikasyon mekanizmasıdır. Ancak bunun yanı sıra diyetle alınan veya çevresel mutajenlerin biyoaktivasyonundan da sorumludur.^{30,31} Bu nedenle His mutasyonunu taşımak sülfonasyonun yaygın olduğu dokularda kanserleşme açısından koruyucu bir etki yapabileceği gibi bu mutasyonu taşıyanlarda kanser riskinin artmasına da yol açabilecektir. Ayrıca toplumlar arasında beslenme şekillerindeki ve yaşam tarzlarındaki farklılıklar nedeni ile maruz kalınan çevresel kontaminantlar da farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle de yapılan çalışmalarda elde edilen veriler farklılık göstermektedir.

Sonuç olarak; bu çalışmada, sülfotransferaz SULT1A1 R213H polimorfizmi ile kolorektal kanser oluşum riski arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir. Sigara kullanma ile genotipler arasında hastalık riski bakımından bir ilişki bulunmamıştır ve sigara içmenin genotiplerden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini 2.63 kat arttırdığı saptanmıştır. SULT1A1 genindeki bu polimorfizmin etnik farklılıklar göstermesinden dolayı bu çalışmanın farklı popülasyonlarda tekrarlanması daha anlamlı olacaktır. Kolorektal kanserin ortaya çıkmasından pek çok genetik değişim sorumludur. Bu değişikliklerden sorumlu genlerle ve risk faktörleri ile çalışılması daha anlamlı sonuçlar verebilir. Ayrıca ksenobiyotik metabolizmasında görevli farklı genlerdeki polimorfizmlerle yapılacak olan kombine bir çalışma, daha anlamlı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

Kaynaklar

1. Boardman L, Karnes WE. Surgery of the Colon and Rectum. 1st Ed., New York: Churchill Livingstone, 1997;335-363.
2. Gill S, Thomas RR, Goldberg RM. Review article: colorectal cancer chemotherapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:683-692.
3. Wang Y, Spitz MR, Tsou AMH, *et al.* Sulfotransferase (SULT) 1A1 polymorphism as a predisposition factor for lung cancer: a case control analysis. *Lung Cancer*, 2002;35:137-142.
4. Wong CF, Liyou N, Leggett B, *et al.* Association of the SULT1A1 R213H polymorphism with colon cancer. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2002;29:754-758.
5. Dooley TP. Molecular Biology Of The Human Phenol Sulfotransferase Gene Family. *The Journal Of Experimental Zoology*, 1998;230:223-282.
6. Visser TJ. Role of sulfate in thyroid hormone sulfation. *Eur J Endocrinol*, 1996;134:12-14.

7. Coughtrie MWH. Sulphation catalysed by the human cytosolic sulphotransferases: chemical defence or molecular terrorism? *Hum Exp Toxicol*, 1996;15:547-555.
8. Tiemersma E.W, Bunschoten A, Kok FJ, *et al.* Effect of SULT1A1 cigarette smoking colorectal adenomas. *Int J Cancer*, 2003;108:97-103.
9. Giovannucci E. Should smokers be considered a high-risk group for colorectal cancer. *Digestive and Liver Disease*, 2004;36:643-645.
10. Terry PD, Miller AB, Rohan TE. Prospective cohort study of cigarette smoking and colorectal cancer risk in women. *Int J Cancer*, 2002;99:480-483.
11. Terry P, Ekblom A, Lichtenstein P, *et al.* Long-term tobacco smoking and colorectal cancer in a prospective cohort study. *Int J Cancer*, 2001;91:585-587.
12. Le Marchand L, Wilkens LR, Kolonel LN, *et al.* Associations of sedentary lifestyle, obesity, smoking, alcohol, use and diabetes with the risk of colorectal cancer. *Cancer Res*, 1997;57:4787-4794.
13. Hsing AW, McLaughlin JK, Chow WH, *et al.* Risk factors for colorectal cancer in a prospective study among U.S. white men. *Int J Cancer*, 1998;77:549-553.
14. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, *et al.* A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. men. *J Natl Cancer Inst*, 1994;86:183-191.
15. Knekt P, Hakama M, Jarvinen R, *et al.* Smoking and risk of colorectal cancer. *Br J Cancer*, 1998;78:136-139.
16. Giovannucci E, Colditz GA, *et al.* A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. women. *J Natl Cancer Inst*, 1994;86:192-199.
17. Giovannucci E, Martinez ME. Tobacco, colorectal cancer, and adenomas: a review of the evidence. *J Natl Cancer Inst*, 1996;88:1717-1730.
18. Slattery ML, Potter JD, Friedman GD, *et al.* Tobacco use and colon cancer. *Int J Cancer*, 1997;70:259-264.
19. Kuper H, Boffetta P, Adami HO. Tobacco use and cancer causation: association by tumor type. *J Internal Med*, 2002;252:206-224.
20. Colangelo LA, Gapstur SM, Gann PH, *et al.* Cigarette smoking and colorectal carcinoma mortality in a cohort with long-term follow-up. *Cancer*, 2004;100:288-293.
21. Rohan TE, Jain M, Rehm JT, *et al.* Cigarette smoking and risk of death from colorectal cancer in women. *Colorectal Disease*, 2000;2:298-303.
22. Tavani A, Gallus S, Negri E, *et al.* Cigarette smoking and risk of cancers of the colon and rectum: a case-control study from Italy. *Eur J Epidemiol*, 1998;14:675-681.
23. Nyren O, Bergstrom R, Nystrom L, *et al.* Smoking and colorectal cancer: a 20-year follow-up study of Swedish construction workers. *J Natl Cancer Inst*, 1996;88:1302-1307.
24. Landi S, Gemignani F, Moreno V, *et al.* A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:535-46.
25. Moreno V, Glatt H, Guino E, *et al.* Polymorphisms in sulfotransferases SULT1A1 and SULT1A2 are not related to colorectal cancer. *Int. J. Cancer*, 2005;113:683-686.
26. Sachse C, Smith G, Wilkie MJ, *et al.* A pharmacogenetic study to investigate the role of dietary carcinogens in the etiology of colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2002;23:1839-49.
27. Peng CT, Chen JC, Yeh KT, *et al.* The relationship among the polymorphisms of SULT1A1, 1A2 and different types of cancers in Taiwanese. *Int J Mol Med* 2003;11:85-9.
28. Bamber DE, Fryer AA, Strange RC, *et al.* Phenol sulphotransferase SULT1A1*1 genotype is associated with reduced risk of colorectal cancer. *Pharmacogenetics*, 2001;11:679-685.
29. Nowell S, Coles B, Sinha R, *et al.* Analysis of total meat intake and exposure to individual heterocyclic amines in a case-control study of colorectal cancer: contribution of metabolic variation to risk. *Mutat Res*, 2002;506-507:175-185.
30. Negishi M, Pedersen LG, Petrotchenko E, *et al.* Structure and function of sulfotransferases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2001;390:149-157.
31. Raftogianis RB, Wood TC, Weinshilboum RM. Human phenol sulfotransferases SULT1A2 and SULT1A1. *Biochem Pharmacol*, 1999;58:605-616.