

بررسی بیان ژن *CYP1A1* در بیماران مبتلا به سرطان مری با استفاده از روش Real-time PCR

مینا حجازی زاده^۱، غلامرضا مطلب^{۲*}، احمد یگانه مقدم^۳، رضوان طلایی^{۴*}

^۱گروه ژنتیک مولکولی، پردیس خودگردان، دانشگاه زابل، زابل، ایران؛ ^۲گروه زیست شناسی، دانشگاه زابل، زابل، ایران؛ ^۳گروه گروم پوس، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران؛ ^۴گروه گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران؛ ^۵گروه پوس، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۱۰

چکیده:

زمینه و هدف: سرطان مری توزیع و شیوع جغرافیایی بسیار متغیری نسبت به سایر انواع سرطان های شایع دارد. شیوع سرطان مری در ایران بسیار بالا می باشد. عوامل ژنتیکی مخصوصاً آنکوژن ها از جمله عواملی است که در ایجاد و پیشرفت سرطان در بافت ها موثر هستند. در این میان ژن *CYP1A1* (سیتوکروم P450، خانواده ۱، زیر خانواده A، پلی پپتید ۱) یکی از زیر خانواده های سیتوکروم P450 است که در سرطان مری نقش دارد، لذا هدف این تحقیق ارزیابی بیان ژن *CYP1A1* در بیماران مبتلا به سرطان مری می باشد.

روش بررسی: در این پروژه ۳۰ نمونه پارافینه (شامل ۱۵ نمونه مربوط به بیماران مبتلا به سرطان مری و ۱۵ نمونه کنترل از افراد سالم) مربوط به سال های ۱۳۸۴-۱۳۹۱ جمع آوری گردید و با استفاده از تکنیک Real-time PCR بیان ژن *CYP1A1* مورد بررسی قرار گرفت. همه ی آنالیزها توسط نرم افزار (Spss, Inc., Chicago, IL) انجام شد. این تحقیق به روش Historical cohort study انجام گرفت.

یافته ها: نتایج نشان دهنده ی کاهش بیان ژن *CYP1A1* در گروه بیمار می باشد که این کاهش بیان در مقایسه با گروه سالم معنی دار بود ($P < 0/05$) و اختلاف معنی داری بین بیان ژن در دو جنس زن و مرد مشاهده نگردید. نتیجه گیری: نتایج نشان دهنده ی کاهش بیان ژن *CYP1A1* در گروه بیمار می باشد.

واژه های کلیدی: سرطان مری، ژن *CYP1A1*، Real-time PCR.

مقدمه:

تغییرات ژنتیکی در ژن های مرتبط با سرطان است که بر اثر مواد سرطان زا در محیط زیست ایجاد می شوند. مواد سرطان زا به خودی خود سرطان زا نیستند، اما نیاز به فعال سازی متابولیکی برای سرطان زایی دارند، به عنوان مثال سوخت و ساز دارویی آنزیم ها مانند سیتوکروم های (*CYPs*) را می توان نام برد که به تازگی، بسیاری از محققان ارتباط بین پلی مورفیسم *CYPs* و استعداد ابتلا به سرطان را گزارش کرده اند. *CYP1A1* (سیتوکروم P450، خانواده ۱، زیر خانواده A، پلی پپتید ۱) یکی از زیر خانواده های سیتوکروم P450 است که در سرطان مری نقش دارد. ژن *CYP1A1*

سرطان مری (Cancer the esophagus) با حدود ۳۸۶۰۰۰ مرگ و میر در سال، هشتمین عامل مرگ ناشی از سرطان در جهان است. سالانه حدود ۱۶۵۰۰ مورد سرطان مری در ایالات متحده تشخیص داده می شود که نتیجه آن ۱۴۵۰۰ مرگ و میر می باشد. سرطان مری در مردان حدود ۳ تا ۴ برابر شایع تر است (۱). در سال ۳۰۰۰۰ ایرانی به علت سرطان جان خود را از دست می دهند (۲). پیشرفت های اخیر در زیست شناسی مولکولی نشان داده است که چندین جهش و یا حذف ژنتیکی در ژن مرتبط با سرطان، باعث سرطان می شود. این نشان می دهد که علل اصلی سرطان های انسانی

*نویسندگان مسئول: زابل- دانشگاه زابل- گروه زیست شناسی- تلفن: ۰۹۲۸۶۹۰۲۲۰۱، E-mail: rezamotalleb@gmail.com، کاشان-

دانشگاه علوم پزشکی کاشان- گروه پوس- تلفن: ۰۹۱۳۳۶۱۳۷۶۷، E-mail: r_talae2007@yahoo.com

افزایش ابتلا به سرطان مری را زمانی که همکاری ژنوتیپ های حساس *CYP1A1* و *GSTM1* وجود داشته باشد، نشان داده اند مری شبیه به ریه تا آن جا است که هر دو غالباً در معرض مواد خارجی (Xenobiotics) از جمله دود دخانیات هستند که یک عامل خطر عمده برای توسعه سرطان در هر دو اندام می باشد. از آن جایی که سابقه تحقیق و پژوهشی در مورد ژن *CYP1A1* در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک qPCR در ایران وجود ندارد، لذا این تحقیق با روش ذکر شده انجام پذیرفت. سوالی که در این پژوهش پاسخ خواهیم داد این است که آیا ژن *CYP1A1* در بیماران مبتلا به سرطان مری افزایش بیان نشان می دهد؟

روش بررسی:

نمونه های (بلوک ها) پارافینه به تعداد ۱۵ نمونه سرطانی و ۱۵ نمونه کنترل مربوط به سال های ۱۳۹۱-۱۳۸۴ از آرشیو بخش پاتولوژیست بیمارستان های کاشان (Stage IV) تهیه گردید. مقطع گیری از نمونه ها جهت استخراج اسیدهای نوکلئیک و پارافین زدایی بافت های پارافینه مقطع گیری از بلوک پارافینه اصلی انجام گرفت. ابتدا قبل از مقطع گیری به مدت ۲۴ ساعت بلوک ها در دمای ۲۰- درجه قرار داده شد تا برش ها به خوبی انجام گیرد و سپس از هر بلوک مقاطع ۵ و ۱۰ میکرومتر با توجه به میزان بافت موجود در بلوک توسط دستگاه میکروتوم مقطع گیری شد. استخراج RNA از بافت پارافین توسط کیت RNeasy® FFPE صورت گرفت. پس از پارافین زدایی مراحل استخراج RNA به این صورت بود که ابتدا ۲۴۰ میکرولیتر بافر RKD اضافه کرده و توسط ورتکس مخلوط گردید. جهت اطمینان از کیفیت و کمیت RNA استخراج غلظت و OD توسط طیف سنجی نوری اندازه گیری شد. تعیین غلظت RNA به وسیله طیف سنجی نوری با جذب نور ماوراء بنفش صورت گرفت. جهت بررسی کمیت RNA جذب نمونه در ۲۶۰ نانومتر تعیین و توسط فرمول زیر غلظت RNA تعیین گردید (۱۰).

برروی کروموزوم q24-q22 ۱۵ قرار دارد و ۵۹۸۷ جفت باز طول دارد و آنزیم پروتئینی با ۵۱۲ اسید آمینه را کد می کند (۳). هیدروکربن های پلی آروماتیک و دیگر مواد شیمیایی سوبسترای این آنزیم هستند و بنابراین بیان این ژن را القا می کنند (۴). *CYP1A1* (سیتوکروم P450، خانواده ۱، زیر خانواده A، پلی پپتید ۱) یکی از زیر خانواده های سیتوکروم P450 است که در سرطان مری نقش دارد. ژن *CYP1A1* برروی کروموزوم q24-q22 ۱۵ قرار دارد و ۵۹۸۷ جفت باز طول دارد و آنزیم پروتئینی با ۵۱۲ اسید آمینه را کد می کند (۵). هیدروکربن های پلی آروماتیک و دیگر مواد شیمیایی سوبسترای این آنزیم هستند و بنابراین بیان این ژن را القا می کنند (۴). پلی مورفیسم در ژن *CYP1A1* ممکن است فعالیت این آنزیم را تغییر داده و در شکل گیری سرطان مری نقش موثری داشته باشد. سرطان ریه یکی از گسترده ترین سرطان های تحت بررسی است که با پلی مورفیسم *CYP1A1* گزارش شده است (۶). ژن *CYP1A1* آنزیم کلیدی واکنش های فاز I به شمار می رود و واکنش های مهمی را در مرحله اول متابولیسم کار سینوزن ها و فعال سازی متابولیکی هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک را کاتالیز می کند و در نهایت آن ها را به فرم های متصل به DNA تبدیل می کند. پلی مورفیسم های متعددی در ژن *CYP1A1* شناسایی شده اند که با تأثیر بر روی فعالیت آنزیم نقش مهمی در متابولیسم کار سینوزن های محیطی و در نتیجه بر روی خطر ابتلا به سرطان ریه دارند (۷، ۸). *CYP1A1* به طور اساسی یک آنزیم خارج کبدی است و به میزان خیلی کم در کبد انسان بیان می شود. علاوه بر این بلافاصله بعد از قرار گرفتن در معرض محرک به عنوان مثال دود سیگار، بیان این آنزیم در ریه، کلیه، پوست، جفت و لنفوسیت القاء می گردد. میزان بیان *CYP1A1* در تشخیص احتمال ابتلای فرد به سرطان ریه یک معیار مهم به حساب می آید (۳). مطالعات گویای وجود پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C/T در ناحیه ۳ غیر کد کننده (۶۲۲۵) این ژن می باشد (۹). گزارش های متعدد

عکس ضریب رقت $\times 40 \times$ جذب در ۲۶۰ نانومتر = غلظت RNA در محلول بر حسب میکروگرم در میلی لیتر

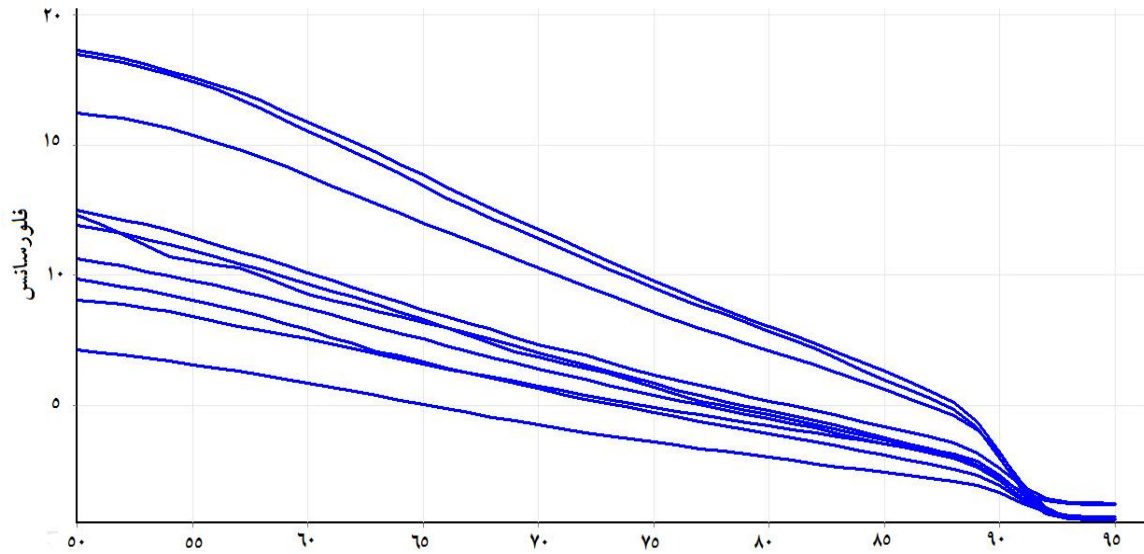
هر دو آغازگر ژن *CYP11A1* و بتاکتین انجام پذیرفت. در هر مورد وجود باند اختصاصی با اندازه مورد نظر و فاقد باندهای اضافی تأیید کننده موفقیت آمیز بودن سنتز cDNA بود. پس از تهیه یک سری رقت (Serial dilution) و انجام واکنش برای تمامی رقت ها با استفاده از آغازگر بتاکتین از روی نمودارهای تکثیر CT نمونه ها مشخص شد و سپس منحنی استاندارد آن ها بر اساس CT در محور Y ها و log تعداد کپی در محور X ها رسم شد. این منحنی خطی است با شیب منفی که دارای یک معادله است. پس از رسم منحنی استاندارد بازده واکنش برای ژن بتاکتین محاسبه گردید. بازده واکنش برابر با ۱/۰۹ و میزان R^2 برابر ۰/۹۹ به دست آمد. برای ژن *CYP11A1* بازده واکنش برابر با ۰/۹۶ و میزان R^2 برای برابر با ۰/۹۹ به دست آمد.

برای ژن بتاکتین کاهش ناگهانی شدت نور فلورسانس در دمایی حدود ۸۶/۵ درجه دیده شد. این مسئله بیانگر این است که T_m محصول ژن بتاکتین حدود ۸۶/۵ درجه سلسیوس می باشد. هر peak نمایانگر یک محصول است که وجود یک پیک مشترک برای تمامی محصولات نشان دهنده اختصاصی بودن محصول واکنش Real-Time PCR می باشد. با افزایش دما توسط دستگاه به تدریج DNA دو رشته ای که در واقع محصول واکنش PCR ژن *CYP11A1* است تک رشته ای می شود و میزان سایبرگرین متصل شده حداقل است، در نتیجه میزان فلورسانس ساطع شده کم می باشد. این امر باعث می شود که با افزایش دما، شدت نور فلورسانس با شیب ثابتی کاهش پیدا کند تا زمانی که دما به حدود ۹۴ درجه که T_m محصول واکنش PCR است، می رسد (نمودار شماره ۱ و ۲). در این دما به صورت ناگهانی شدت نور فلورسانس کاهش پیدا کرده و شکستی در منحنی ذوب و یک پیک اختصاصی رسم می شود (۱۱).

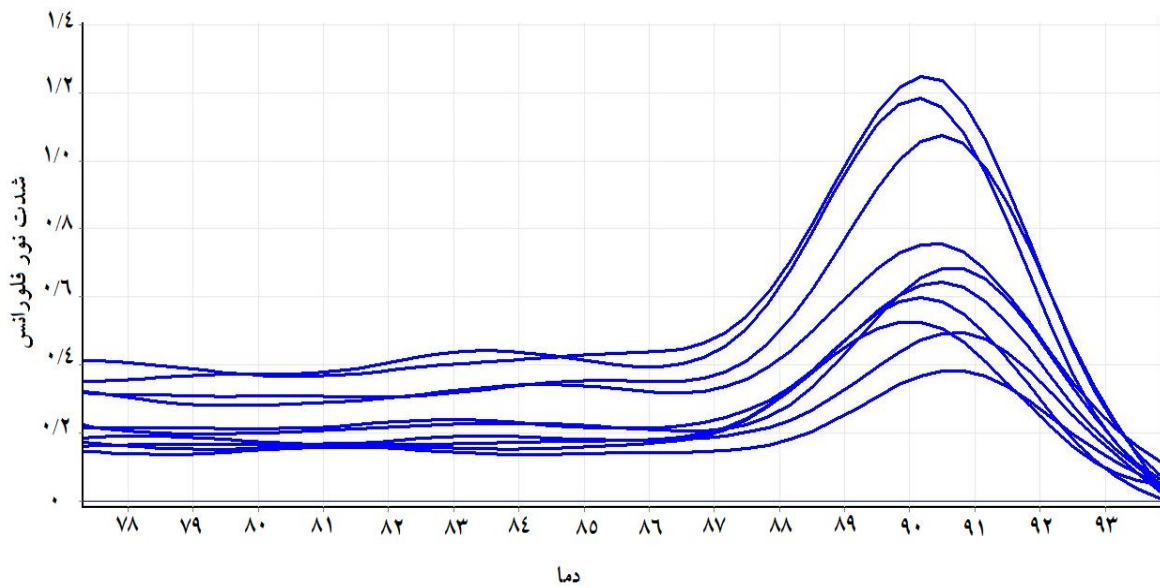
برای انجام RT-PCR ابتدا توالی mRNA ژن *CYP11A1* را از سایت NCBI (National Center for Biotechnology Information) گرفته و سپس با توجه به آن توالی پرایمرهای مورد نظر طراحی گردید. جهت طراحی آغازگرها از نرم افزارهای Iddna oligo analyzer، CLC Main Workbench 5 و 3 primer استفاده گردید. توسط NCBI BLAST از یکتا بودن محل جفت شدن آغازگرها اطمینان حاصل شد. جهت بررسی میزان بیان ژن *CYP11A1* واکنش Real-time PCR با استفاده از Research RG 3000 Corbett انجام شد. تمامی واکنش های PCR با سه تکرار برای ژن *CYP11A1* و کنترل داخلی (β -actin) توسط متد $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livac) انجام شد. بیان *CYP11A1* در دو گروه بیمار و سالم با آزمون t-test مورد قضاوت قرار گرفت.

یافته ها:

در این پروش ۱۵ نمونه پارافینه مربوط به بیماران مبتلا به سرطان مری و ۱۵ نمونه کنترل پارافینه از افراد سالم مربوط به سال های ۱۳۹۱-۱۳۸۴ جمع آوری گردید و با مطالعه پرونده های مربوط به بخش پاتولوژی بیمارستان های کاشان جنسیت افراد سرطانی و سالم با تأیید پاتولوژیست از نظر مرحله سرطان (Stage IV) انجام گردید. گروه بیمار ۱۵ نفر بودند که تعداد ۸ نفر آن ها زن (۵۳/۳٪) و ۷ نفر مرد (۴۶/۶٪) بودند. گروه کنترل نیز ۱۵ نفر بودند که تعداد ۱۰ نفر آن ها زن (۶۶/۶٪) و ۵ نفر مرد (۳۳/۳٪) بودند. جهت تعیین بهینه برای اتصال *CYP11A1* و ژن مرجع بتاکتین توسط آغازگرهای خود تکثیر یافته و سپس روی ژل آگارز ۱٪ مشاهده شدند. دمای بهینه برای هر دو ژن دمای ۶۲ درجه سانتی گراد به دست آمد. جهت اطمینان از سنتز صحیح cDNA برای تمامی نمونه ها PCR توسط



نمودار شماره ۱: تغییرات فلورسانس بر حسب دما برای ژن *CYP11A1*



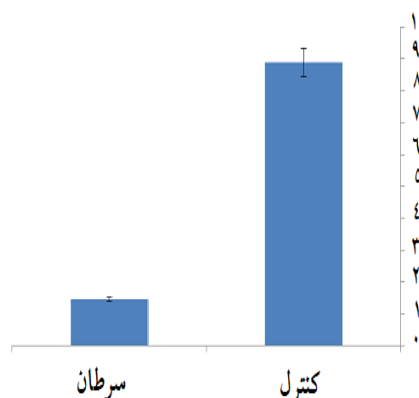
نمودار شماره ۲: منحنی ذوب ژن *CYP11A1*

هر *peack* نمایانگر یک محصول *PCR* است که اختصاصی بودن محصول را نشان می دهد. *peack* هایی که در دمای پایین تر هستند، نشان دهنده قطعات کوچک تر هستند. بنابراین با آنالیز منحنی ذوب می توان وجود باندهای غیر اختصاصی و پرایمر دایمر را تشخیص داد.

گرفت. کاهش بیان ژن *CYP11A1* در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم معنی دار بود ($P < 0.05$) و اختلاف معنی داری بین بیان ژن در دو جنس زن و مرد مشاهده نگردید.

پس از به دست آوردن *Ct* هر دو ژن بتا اکتین و *CYP11A1* برای تمامی نمونه ها و محاسبه ΔCt برای هر یک از آن ها، با استفاده از نرم افزار *SPSS* و به کار بردن آزمون *t-test* داده ها مورد آنالیز قرار

با استفاده از قانون $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان کاهش بیان ژن محاسبه گردید و نتایج نشان داد که کاهش بیان ژن در افراد بیمار ۷/۴۱۷ برابر نسبت به افراد سالم بیشتر است (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: مقایسه بیان ژن *CYP1A1* در دو جمعیت بیمار و سالم

بحث:

در این مطالعه بیان ژن *CYP1A1* در سطح mRNA با استفاده از روش RTqPCR به روی ۱۵ نمونه بیمار و ۱۵ نمونه کنترل بررسی شد. تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن در افراد بیمار بیش از ۷ برابر افراد سالم کاهش یافت ($P < 0/05$). یکی از اهداف عمده ی تحقیقات زیست شناسی مولکولی شناسایی نشانگرهای مولکولی است که توانایی پیشگویی رفتارهای زیستی تومورهای فردی را دارا بوده و راهنمای استراتژی های درمانی باشند (۱۲). در سال های اخیر، علاقه به درک رابطه بین ویژگی های بیولوژیکی سرطان و ارتباط این ویژگی ها با نتایج بالینی این بیماری افزایش یافته است (۱۳). پیشرفت های اخیر در زیست شناسی مولکولی نشان داده است که احتمالاً چندین جهش و یا حذف ژنتیکی زمینه ساز بروز سرطان می باشد. در واقع علل اصلی سرطان های انسانی تغییرات ژنتیکی در ژن های مرتبط با سرطان است که بر اثر مواد سرطان زا در محیط زیست ایجاد می شوند. مواد سرطان زا

به خودی خود سرطان زا نیستند، اما نیاز به فعال سازی متابولیکی برای سرطان زایی دارند، به عنوان مثال سوخت و ساز دارویی آنزیم ها مانند سیتوکروم ها (*CYPs*) را می توان نام برد که به تازگی، بسیاری از محققان ارتباط بین پلی مورفیسم *CYPs* و استعداد ابتلا به سرطان را گزارش کرده اند. کمیت و کیفیت بیان ژن *CYP1A1* ممکن است در شکل گیری سرطان مری نقش موثری داشته باشد. به منظور شناسایی بیماران محتاج و قابل درمان با داروهای ضد *CYP1A1* باید وضعیت این ژن در هر نمونه توموری مورد بررسی قرار گیرد. لذا استفاده از روشی دقیق و تکرار پذیر برای تعیین افزایش بیان ژن *CYP1A1* لازم و ضروری است. Rozati و همکاران گزارش کردند که بین بیان *CYP1A1* و اندومتزیوز در زنان هندی ارتباطی وجود ندارد (۱۴). در بررسی ارتباط بیان ژن سیتوکروم P-۴۵۰ کلاس 1A1 (*CYP1A1*) با لیومیوم رحمی، نتایج نشان داد که ارتباط معنی داری بین بیان ژن *CYP1A1* و افزایش خطر لیومیوم رحمی در زنان مورد مطالعه وجود ندارد (۱۵).

محققین بیان ژنتیکی *CYP1A1*، *CYP2E1* و *GSTM1* در بیماران ژاپنی مبتلا به سرطان مری با تشخیص هیستولوژیک کارسینوم سلول سنگفرشی، برای تعیین این که آیا استعداد ابتلا به سرطان مری با این ژن ها در ارتباط است را بررسی نمودند. نتایج آن ها نشان داد که تفاوت معنی داری در توزیع فراوانی این ژن ها بین بیماران مبتلا به سرطان مری و ۱۳۲ فرد سالم ژاپنی وجود دارد. توزیع ژنوتیپ در افراد سیگاری و یا مصرف کنندگان الکل نیز برای بیماران و شاهد کاملاً مشابه بودند. سن شروع سرطان مری نیز برای بیماران با هر سه ژنوتیپ مشابه بود. آن ها نتیجه گیری کردند که سه ژن نامبرده بعید است که با استعداد ابتلا به سرطان مری مرتبط باشند. از آن جایی که مطالعات اندکی بیان mRNA ژن *CYP1A1* را نشان داده اند هنوز هیچ اتفاق نظری بر اهمیت اندازه گیری mRNA به عنوان یک نشانگر وجود ندارد (۱۶).

چند سهم *CYP1A1* در پیشرفت یا پیشگیری سرطان ممکن است به تعادل و بالانس بین پروکارسینوژن فعال و سم زدایی و نیز محصول طبیعی متابولیسم خارج کبدی رژیم غذایی بستگی داشته باشد (۲۳). از سوی دیگر موش های تراریخته (C57BL/6J) فاقد ژن *CYP1A1* در اثر مصرف خوراکی ۱۲۵ میلی گرم/کیلوگرم/روزانه B[a]P در طی ۳۰ روز از بین رفتند که تأییدی بر نقش این ژن می باشد (۲۴). در نهایت در سرطان مری بیان فنوتیپی ژن آنزیم های زنبیوتیک متابولیسمی مختلف پیچیده بوده و ارزیابی بیان ژن این آنزیم ها ممکن است به درمان و پیشگیری سرطان مری کمک نماید.

نتیجه گیری:

در این مطالعه بیان ژن *CYP1A1* در بیماران مبتلا به سرطان مری بررسی گردید. نتایج نشان دهنده کاهش بیان ژن *CYP1A1* در گروه بیمار می باشد ولی اختلاف معنی داری بین دو جنس زن و مرد مشاهده نگردید. کاهش بیان ژن در افراد بیمار ۷/۴۱۷ برابر نسبت به افراد سالم بیشتر بود. از آن جایی که تاکنون هیچ تحقیق و پژوهشی در مورد ژن *CYP1A1* در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک qPCR در ایران انجام نگرفته و این اولین گزارش می باشد و با توجه به تعداد محدود نمونه ها پیشنهاد می گردد بر روی تعداد بیشتری از بیماران پژوهش صورت گیرد.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق در تاریخ ۱۳۹۲/۲/۴ (۱۱۰۱۱۵۴) در مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران به ثبت رسیده و در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل انجام گردید. بدینوسیله از آقای دکتر سید کاظم صباغ و سرکار خانم دکتر طاهره خامه چیان تشکر و قدردانی می گردد.

در بررسی ارتباط بیان *CYP1A1* با لیومیوم رحمی در زنان استان چهارمحال و بختیاری نتایج نشان داد که ارتباط معنی داری بین بیان *CYP1A1* و افزایش خطر لیومیوم رحمی در زنان مورد مطالعه وجود ندارد (۱۵). در مطالعه ای که بر روی زنان برزیلی توسط Rosa و همکاران انجام شده است، ارتباطی بین بیان ژن های *CYP17A1* و *CYP19* و لیومیوم رحمی مشاهده نشد (۱۷). همچنین Aesun و همکاران ارتباطی بین بیان ژن *CYP1A1* و خطر سرطان سینه در زنان کره نیافتند (۱۸). ولی Ye و همکاران گزارش نمودند که بین بیان *CYP1A1* و لیومیوم رحمی در زنان چینی ارتباط وجود دارد (۱۹). در مطالعه دیگری نشان داده شد که *CYP1A1* با سرطان پستان در ارتباط است (۲۰). تقی زاده مرتضایی و همکاران به بررسی ارتباط پلی مورفیسم (*Ile462Val*) در ژن سیتوکروم P-۴۵۰ کلاس 1A1 (*CYP1A1*) با لیومیوم رحمی در زنان استان چهارمحال و بختیاری پرداختند (۱۵). نتایج نشان داد که ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم *CYP1A1* و افزایش خطر لیومیوم رحمی در زنان مورد مطالعه وجود ندارد ($P > 0.05$). در تحقیق Ye و همکاران گزارش شده است که بین پلی مورفیسم *CYP1A1* و لیومیوم رحمی در زنان چینی ارتباط وجود دارد (۱۹). Herr و همکاران گزارش کردند که الل C در *CYP1A1* (Thr461Asn) با عود لیومیوم در زنان آلمانی ارتباط دارد (۲۱). Esinler و همکاران گزارش کردند میزان *CYP1A1* در بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری بالا بوده است (۲۲). در مطالعه ای که بر روی زنان برزیلی توسط Rosa و همکاران انجام شده است، ارتباطی بین پلی مورفیسم ژن های *CYP17A1* و *CYP19* و لیومیوم رحمی مشاهده نشد (۱۷). در مطالعه ای Androutsopoulos و همکاران بیان بیش از حد *CYP1A1* در بافت های غیر سرطانی را گزارش نموده اند که با نتایج ما مشابه می باشد (۲۳). هر

منابع:

1. Rangel L. Cancer treatment- conventional and innovative approaches. New York: Intech Pub; 2013.
2. Motalleb G, Gholipour N, Samaei NM. Association of the human astrocyte elevated gene-1 promoter variants with susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Med Oncol*. 2014; 31(4): 1-8.
3. Thum T, Erpenbeck VJ, Moeller J, Hohlfeld JM, Krug N, Borlak J. Expression of xenobiotic metabolizing enzymes in different lung compartments of smokers and nonsmokers. *Environ Health Perspect*. 2006; 114(11): 1655-61.
4. Corchero J, Pimprale S, Kimura S, Gonzalez FJ. Organization of the CYP1A cluster on human chromosome 15: implications for gene regulation. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(1): 1-6.
5. Sowers MR, Wilson AL, Kardia SR, Chu J, McConnell DS. *CYP1A1* and *CYP1B1* polymorphisms and their association with estradiol and estrogen metabolites in women who are premenopausal and perimenopausal. *Am J Med* 2006; 119(9): S44-51.
6. Raunio H, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Hietanen E, Hirvonen A, Pelkonen O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility: A review. *Gene*. 1995; 159(1): 113-21.
7. Xu XC. Risk factors and gene expression in esophageal cancer. *Methods Mol Biol*. 2009; 471: 335-60.
8. Smith GB, Harper PA, Wong JM, Lam MS, Reid KR, Petsikas D, et al. Human lung microsomal cytochrome *P4501A1* (*CYP1A1*) activities: impact of smoking status and *CYP1A1*, aryl hydrocarbon receptor, and glutathione S-transferase M1 genetic polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10(8): 839-53.
9. Schwartz AG, Prysak GM, Bock CH, Cote ML. The molecular epidemiology of lung cancer. *Carcinogenesis*. 2007; 28(3): 507-18.
10. Abbasi AR, Rastegar-Jazi F, Yazdi-Samadi B, Soghansang A. Production of CDNA from mrna of p5cs coding gene in arabidopsis thaliana. *Iran J Agric Sci*. 2003; 34(3): 607-15.
11. Vandesomepele J, De Paepe A, Speleman F. Elimination of primer-dimer artifacts and genomic coamplification using a two-step SYBR green I real-time RT-PCR. *Anal Biochem*. 2002; 303(1): 95-8.
12. Cheung YL, Kerr AC, McFadyen MC, Melvin WT, Murray GI. Differential expression of *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* in human kidney tumours. *Cancer Lett*. 1999; 139(2): 199-205.
13. Wang Y, Yang H, Li L, Wang H, Zhang C, Yin G, et al. Association between *CYP2E1* genetic polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2010; 46(4): 758-64.
14. Rozati R, Giragalla SB, Bakshi H, Doddmaneni S, Khaja N, Sharma RS. The *CYP1A1* and *GSTM1* Genetic polymorphisms and susceptibility to Endometriosis in women from South India. *Cell j (Yakhteh)*. 2008; 2(3): 68-71.
15. Taghizade-Mortezae F, Farrokhi E, Shahinfard N, Ashoori S, Gatreh-Samani K, Hashemzadeh-Chaleshtori M, et al. Association of (*Ile462Val* in genetic polymorphisms *CYP1A1*) and uterine leiomyoma risk in women in Charmahal va Bakhtiari, IR Iran. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2012; 14(2): 74-81.
16. Komi-Kuramochi A, Kawano M, Oda Y, Asada M, Suzuki M, Oki J, et al. Expression of fibroblast growth factors and their receptors during full-thickness skin wound healing in young and aged mice. *J Endocrinol*. 2005; 186(2): 273-89.
17. Rosa FE, Canevari Rde A, Ambrosio EP, Ramos Cirilo PD, Pontes A, Rainho CA, et al. Polymorphisms of *CYP17A1*, *CYP19*, and androgen in Brazilian women with uterine leiomyomas. *Clin Chem Lab Med*. 2008; 46(6): 814-23.

18. Aesun Sh, Daehee K, Ji-Yeob C, Kyoung-Mu L, Sue Kyung P, Dong-Young N, Sei-Hyun A and Keun-Young. YooCytochrome. P450 1A1 (*CYP1A1*) polymorphisms and breast cancer risk in Korean women. *Exp Mol Med*. 2008; 39(3): 361-6.
19. Ye Y, Cheng X, Luo HB, Liu L, Li YB, Hou YP. *CYP1A1* and *CYP1B1* genetic polymorphisms and uterine leiomyoma risk in Chinese women. *J Assist Reprod Genet*. 2008; 25(8): 389-94.
20. Ambrosone CB, Freudenheim JL, Graham S, Marshall JR, Vena JE, Brasure JR, et al. Cytochrome *P4501A1* and glutathione S-transferase (M1) genetic polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Res*. 1995; 55(16): 3483-5.
21. Herr D, Bettendorf H, Denschlag D, Keck C, Pietrowski D. Cytochrome P2A13 and P1A1 gene polymorphisms are associated with the occurrence of uterine leiomyoma. *Arch Gynecol Obstet*. 2006; 274(6): 367-71.
22. Esinler I, Aktas D, Otegen U, Alikasifoglu M, Yarali H, Tuncbilek E. *CYP1A1* gene polymorphism and polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2008; 16(3): 356-60.
23. Androutsopoulos VP, Tsatsakis AM, Spandidos DA. Cytochrome P450 *CYP1A1*: Wider roles in cancer progression and prevention. *BMC Cancer*. 2009; 9: 187.
24. Uno S, Dalton TP, Derkenne S, Curran CP, Miller ML, Shertzer HG, et al. Oral exposure to benzo[a]pyrene in the mouse: Detoxication by inducible cytochrome P450 is more important than metabolic activation. *Mol Pharmacol*. 2004; 65(5): 1225-37.

The study of *CYP1A1* gene expression in patients with esophageal cancer by real time PCR

Hejazizadeh M¹, Motalleb GR^{2*}, Yeganeh Moghadam A³, Talae R^{4*}

¹Molecular Genetics Dept., Autonomous Branch, University of Zabol, Zabol, I.R. Iran; ²Biology Dept., University of Zabol, Zabol, I.R. Iran; ³ENT Dept., Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran; ⁴Dermatology Dept., Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.

Received: 30/Jan/2016 Accepted: 30/Apr/2016

Background and aims: Esophageal cancer is highly variable distribution and geographical spread compared with another type of cancers. The incidence of esophageal cancer in Iran is very high. Genetic factors, particularly oncogenes, are the main factors that affect the cancer development and progression in tissues. *CYP1A1* (Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1) is one of the families of cytochrome P450 which is involved in esophageal cancer. The aim of this study was to assess the *CYP1A1* gene expression in patients with esophageal cancer.

Methods: At the present historical cohort study, 30 paraffin-embedded samples (15 patients with esophageal cancer and 15 healthy control subjects) were collected and investigated the *CYP1A1* gene expression by real-time PCR from 2005 to 2012. Data were analyzed by SPSS, Inc., Chicago, IL software.

Results: The results indicated a significant difference in *CYP1A1* gene expression between patients and controls ($P < 0.05$). No significant difference was observed in *CYP1A1* gene expression between males and females ($P > 0.05$).

Conclusion: The results revealed decrease in the *CYP1A1* expression level in cancer patients.

Keywords: Esophageal cancer, *CYP1A1*, Real-time PCR.

Cite this article as: Hejazizadeh M, Motalleb GR, Yeganeh Moghadam A, Talae R. The study of *CYP1A1* gene expression in patients with esophageal cancer by real time PCR. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 18(6): 35-43.

***Corresponding authors:**

Biology Dept., University of Zabol, Zabol, I.R. Iran. Tel: 00989386902201, E-mail: rezamotalleb@gmail.com; ENT Dept., Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran. Tel: 00989133613767, E-mail: r_talae2007@yahoo.com