· 转化医学与临床药学 ·

ELOVL1 通过脂代谢重编程调控卵巢癌顺铂敏感性及耐药逆转的机制研究

李文，刘海凤*，刘金华，黄彬彬，王鹏

（成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院妇产科，四川 成都 610000）

[摘要] 目的 探讨脂肪酸延长酶 1（elongation of very long-chain fatty acids protein 1，*ELOVL1*）基因通过表观遗传调控介导卵巢癌顺铂敏感性的作用，为逆转卵巢癌顺铂耐药提供潜在靶点与理论依据。**方法** 检测 11 种人卵巢癌细胞系对顺铂的敏感性，计算半数抑制浓度（half-maximal inhibitory concentration，IC_{50}），并根据 IC_{50} 将细胞分为敏感组、中间组和耐药组。提取 8 种细胞系总 RNA，采用 mRNA 微阵列芯片筛选差异表达基因，逆转录定量聚合酶链反应（reverse transcription quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）验证 *ELOVL1* 表达。利用 Infinium® HumanMethylation450 BeadChip 芯片检测 *ELOVL1* 启动子区 CpG 位点甲基化水平。采用 5-氮杂-2′-脱氧胞苷（5-aza-2′-deoxycytidine，5-aza-dC）处理细胞，检测 *ELOVL1* 表达变化。通过 *ELOVL1* 过表达及小干扰 RNA（small interfering RNA，siRNA）敲降实验，结合四甲基偶氮唑盐比色法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay，MTT 法]和半胱天冬酶-3（cysteinyl aspartate-specific proteinase 3，Caspase-3）裂解检测，评价 *ELOVL1* 对顺铂敏感性的影响。**结果** 顺铂对 11 种卵巢癌细胞系 IC_{50} 由低到高依次为 PA-1、TOV-21G、TOV-112D、Caov-3、A2780、MDAH-2774、A2780cis、ES-2、OVCAR-3、OV-90 和 SK-OV-3。耐药细胞系中 *ELOVL1* mRNA 表达显著低于敏感细胞系（$P < 0.05$）。甲基化芯片分析显示，耐药细胞系中 *ELOVL1* 启动子区+251 位 CpG 位点甲基化水平显著高于敏感细胞系（$P < 0.05$）。5-aza-dC 处理可恢复耐药细胞系中 *ELOVL1* 表达（$P < 0.05$）。在 SK-OV-3 细胞中过表达 *ELOVL1* 使顺铂 IC_{50} 降低 13%，在 TOV-112D 细胞中降低 49%（均 $P < 0.05$）；敲降 *ELOVL1* 使顺铂对 SK-OV-3 和 TOV-112D 细胞的 IC_{50} 分别升高 22% 和 66%（均 $P < 0.05$）。*ELOVL1* 过表达增强顺铂诱导的 Caspase-3 裂解，而敲降 *ELOVL1* 则减弱该效应（均 $P < 0.05$）。**结论** *ELOVL1* 可能通过启动子区高甲基化介导的表观遗传沉默调控卵巢癌顺铂敏感性，其分子机制可能与脂代谢重编程对 Caspase-3 依赖性凋亡通路的调控有关。*ELOVL1* 有望成为逆转顺铂耐药的潜在表观遗传治疗靶点。

[关键词] 卵巢癌；顺铂敏感性；脂肪酸延长酶 1；表观遗传调控；脂代谢重编程；细胞凋亡

[中图分类号] R73-3；R737.31 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094（2026）03-0281-08

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.202504170232

Mechanistic Study of *ELOVL1*-Mediated Regulation of Cisplatin Sensitivity and Reversal of Drug Resistance in Ovarian Cancer via Lipid Metabolism Reprogramming

LI Wen, LIU Haifeng, LIU Jinhua, HUANG Binbin, WANG Peng

(Department of Obstetrics and Gynecology, The 2nd Affiliated Hospital of Chengdu Medical College Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu 610000, China)

[Abstract] Objective To investigate the role of elongation of very long-chain fatty acids protein 1 (*ELOVL1*) gene in mediating cisplatin sensitivity in ovarian cancer via epigenetic regulation, and to provide potential targets and theoretical basis for reversing cisplatin resistance. **Methods** Cisplatin sensitivity was evaluated in 11 human ovarian cancer cell lines by determining the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}). Based on IC_{50} values, the cell lines were classified into sensitive, intermediate, and resistant groups. Total RNA was extracted from eight cell lines, and differentially expressed genes were screened using an mRNA microarray. *ELOVL1* expression was validated by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). Methylation levels of CpG sites within the *ELOVL1* promoter region were assessed using the Infinium® HumanMethylation450 BeadChip array. Cells were treated with 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-dC), and changes in *ELOVL1* expression were measured. The effect of *ELOVL1* on cisplatin sensitivity was examined via *ELOVL1* overexpression and small interfering RNA (siRNA) knockdown experiments, in combination with a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and detection of cysteinyl aspartate-specific proteinase 3 (Caspase-3) cleavage. **Results** The IC_{50} values of cisplatin across the 11 ovarian cancer cell lines in ascending order were PA-1, TOV-21G, TOV-112D, Caov-3, A2780, MDAH-2774, A2780cis, ES-2, OVCAR-3, OV-90, and SK-OV-3. *ELOVL1* mRNA expression was significantly lower in resistant cell lines than in sensitive cell lines ($P < 0.05$). Methylation array analysis showed that the methylation at the +251 CpG site in the *ELOVL1* promoter in resistant cell lines was significantly higher than that in sensitive cell lines ($P < 0.05$). Treatment with 5-aza-dC restored *ELOVL1* expression in resistant cell lines ($P < 0.05$). *ELOVL1* overexpression reduced the cisplatin IC_{50} by 13% in SK-OV-3 cells and by 49% in TOV-112D cells (both $P < 0.05$); whereas *ELOVL1* knockdown increased the cisplatin IC_{50} by 22% and 66%, respectively (both $P < 0.05$). Moreover, *ELOVL1* overexpression enhanced cisplatin-induced Caspase-3 cleavage, while

接受日期： 2025-12-19

基金项目： 成都医学院2021年度校基金计划（No.CYZYB21-01）

***通信作者：** 刘海凤，副主任医师 **研究方向：** 妇科肿瘤 **E-mail：** yigerend2009@126.com

ELOVL1 knockdown attenuated this effect (both $P < 0.05$). **Conclusion** *ELOVL1* may regulate cisplatin sensitivity in ovarian cancer through epigenetic silencing mediated by promoter hypermethylation, and its molecular mechanism may involve the regulation of the Caspase-3-dependent apoptotic pathway by lipid metabolism reprogramming. *ELOVL1* is expected to serve as a potential epigenetic therapeutic target for reversing cisplatin resistance.

[Key words] ovarian cancer; cisplatin sensitivity; elongation of very long-chain fatty acids protein 1; epigenetic regulation; lipid metabolism reprogramming; apoptosis

卵巢癌的治疗瓶颈主要源于顺铂耐药[1]。近年研究[2−3]发现，脂代谢重编程可通过改变膜脂组成、调控氧化应激和能量代谢参与耐药形成，但关键调控节点及表观遗传机制尚未明确。脂肪酸延长酶 1（elongation of very long-chain fatty acids protein 1，*ELOVL1*）作为超长链脂肪酸延伸酶，催化 C_{18} 至 C_{26} 脂肪酸合成，其异常表达与神经退行性疾病相关，而在肿瘤中作用知之甚少[4]。生物信息学研究显示，卵巢癌中 *ELOVL1* 表达显著下调且启动子区高甲基化，提示表观遗传沉默可能驱动其功能缺失[5]。然而，*ELOVL1* 甲基化是否直接调控顺铂敏感性以及其介导的脂代谢变化如何影响凋亡信号等问题亟待解答。本研究整合 11 种卵巢癌细胞系的顺铂响应谱、全基因组甲基化芯片及转录组数据，揭示了 *ELOVL1* 启动子甲基化通过抑制表达而促进顺铂耐药，并利用基因干预模型证明其通过调节脂代谢产物（如神经酰胺）激活半胱天冬酶-3（cysteinyl aspartate-specific proteinase 3，Caspase-3）依赖性凋亡通路。

1 方法

1.1 细胞培养

纳入 11 种人卵巢癌细胞系：SK-OV-3、ES-2、PA-1、Caov-3、TOV-21G、TOV-112D、OV-90、OVCAR-3 购自美国典型培养物保藏中心（美国弗吉尼亚州马纳萨斯）；MDAH-2774 购自德国微生物与细胞培养物保藏中心（德国布伦瑞克）；A2780、A2780cis 购自欧洲细胞培养物保藏中心（英国伦敦）。所有细胞系均按照供应商推荐的培养基和补充剂进行培养。细胞以单层贴壁方式生长，传代时用胰蛋白酶消化，使细胞完全分散。培养条件为 37 ℃，5% CO_2，相对湿度 95%。

1.2 顺铂细胞毒性试验

细胞增殖活性采用四甲基偶氮唑盐比色法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay，MTT 法]检测。将细胞以每孔 2×10^4 个的密度接种于 96 孔板中，37 ℃培养过夜。次日加入不同浓度（0 ~ 100 μmol·L^{-1}）的顺铂（齐鲁制药有限公司，国药准字 H37021357，规格为 20 mg/瓶）处理 48 h，随后每孔加入 20 μL 的 2.5 g·L^{-1} MTT 溶液（上海碧云天生物技术有限公司，规格为 1 g/瓶），37 ℃孵育 2 h 后，弃去上清，每孔加入 100 μL 二甲基亚砜（上海阿拉丁生化科技股份有限公司，规格为 100 mL/瓶），37 ℃振荡 10 min 溶解甲臜结晶。使用酶标仪（美国 BioTek 公司，型号为 Synergy™ H1）在 540 nm 波长处测定吸光度。以未加药组为对照，计算各组细胞的存活率。应用 GraphPad Prism 5 软件进行非线性回归分析，计算半数抑制浓度（half-maximal inhibitory concentration，IC_{50}）。根据 IC_{50} 将 11 种人卵巢癌细胞系分为顺铂敏感组、中间组和耐药组。

使用 RNeasy 迷你 RNA 提取试剂盒[QIAGEN N.V.（德国希尔登）]从 8 种人卵巢癌细胞系（SK-OV-3、ES-2、PA-1、Caov-3、TOV-21G、TOV-112D、OV-90 和 OVCAR-3）中提取总核糖核酸（total ribonucleic acid，total RNA）。按照 Affymetrix GeneChip 全转录组正义靶标标记方案[Thermo Fisher Scientific Inc.（美国马萨诸塞州沃尔瑟姆）]进行 RNA 扩增和标记，将标记的互补脱氧核糖核酸（complementary deoxyribonucleic acid，cDNA）与 Affymetrix 人类基因 1.0 ST 芯片[Thermo Fisher Scientific Inc.（美国马萨诸塞州沃尔瑟姆）]进行杂交。利用 Bioconductor 软件包中的 affy 程序，采用稳健多芯片平均法对扫描获得的原始表达值进行背景校正、归一化和数据汇总。将处理后的数据进行 $\log_2$ 转换用于后续分析。差异表达基因的筛选采用基于经验贝叶斯方法的调节 *t* 检验。将顺铂耐药组与敏感组之间表达水平差异≥1.5 倍，且经本杰明尼-霍赫贝格方法校正后假发现率 $P < 0.01$ 的基因定义为显著差异表达基因。

1.3 基因组 DNA 提取及全基因组甲基化芯片检测

按照说明书，采用 QIAamp DNA Mini Kit 从 8 种人卵巢癌细胞系中提取基因组 DNA。利用 Infinium® HumanMethylation450 BeadChip 芯片检测全基因组 DNA 甲基化水平，该芯片可覆盖约 485 000 个 CpG 位点。DNA 甲基化水平以 β 值表示，即甲基化信号强度占甲基化与非甲基化信号总和的比例（经背景校正后计算），其取值范围为 0 ~ 1，分别代表完全未甲基化和完全甲基化状态。通过比较顺铂耐药组与敏感组的平均 β 值差异（$\Delta\beta$）筛选差异甲

基化位点，当$|\Delta\beta| > 0.3$时定义为具有生物学意义的差异甲基化CpG位点。

1.4 逆转录定量聚合酶链反应

根据说明书使用SuperScript™ II Reverse Transcriptase [Thermo Fisher Scientific Inc.（美国马萨诸塞州沃尔瑟姆）]和oligo(dT)12-18 Primer [Thermo Fisher Scientific Inc.（美国马萨诸塞州沃尔瑟姆）]进行反转录。

实时荧光定量PCR反应体系包含：1 μL cDNA模板、10 μL TB Green® Premix Ex Taq™[宝日医生物技术（北京）有限公司]、0.4 μL 50×ROX Reference Dye II [（宝日医生物技术（北京）有限公司]和200 nmol·L^{-1}正反向引物。引物序列如下：①*ELOVL1*正向为5′-CCCAAGGGTGAACTACAGTCT-3′，*ELOVL1*反向为5′-GCTCCACGAACCAATTCAGGAT-3′；②甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，*GAPDH*）正向为5′-AATCCCATCACCATCTTCCA-3′，*GAPDH*反向为5′-TGGACTCCACGACGTACTCA-3′。

PCR反应在QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System [384孔板模块，Thermo Fisher Scientific Inc.（美国马萨诸塞州沃尔瑟姆）]上进行。反应程序为：95 ℃预变性30 s，随后进行40个循环的扩增（95 ℃变性3 s和60 ℃退火/延伸30 s），最后进行熔解曲线分析（95 ℃ 15 s→60 ℃ 60 s→95 ℃ 15 s）。每个样本设置3个技术重复，通过熔解曲线分析确认扩增产物的特异性。以*GAPDH*作为内参基因，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。

1.5 5-氮杂-2′-脱氧胞苷处理

为抑制DNA甲基转移酶活性并诱导CpG位点去甲基化，使用10 μmol·L^{-1} 5-氮杂-2′-脱氧胞苷（5-aza-2′-deoxycytidine，5-aza-dC）（Sigma-Aldrich，规格为5 mg/瓶）处理细胞，37 ℃培养3 d。每隔24 h更换1次含相同浓度5-aza-dC的新鲜培养基。

1.6 瞬时转染

使用Lipofectamine 2000（Thermo Fisher Scientific）进行细胞转染。具体步骤如下：将细胞以每孔6×10^5个的密度接种于6孔板中，使用不含抗生素的完全培养基培养过夜。分别将2 μg质粒DNA和5 μL Lipofectamine 2000用Opti-MEM培养基[Thermo Fisher Scientific Inc.（美国马萨诸塞州沃尔瑟姆）]稀释至250 μL。将稀释后的质粒DNA和Lipofectamine 2000混合，室温孵育20 min形成转染复合物。将转染复合物加入培养孔中，37 ℃、5% CO_2条件下培养24 h。

使用DharmaFECT™ 1转染试剂[Horizon Discovery Ltd.（英国剑桥）]将100 nmol·L^{-1}靶向*ELOVL1*基因的小干扰RNA（small interfering RNA targeting the *ELOVL1* gene，si*ELOVL1*）[Horizon Discovery Ltd.（英国剑桥）]或阴性对照小干扰RNA（negative control small interfering RNA，siNC）[Horizon Discovery Ltd.（英国剑桥）]转染至TOV-112D和SK-OV-3细胞。转染24 h后通过RT-qPCR验证*ELOVL1*的敲降效果。

1.7 蛋白质印迹分析

取30 μg蛋白样品进行12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，随后转移至聚偏氟乙烯膜[Merck Millipore（美国马萨诸塞州伯灵顿）]上。将聚偏氟乙烯膜放入含0.1%吐温-20的Tris缓冲盐溶液（含5%脱脂奶粉）中室温封闭1 h，然后与下列一抗4 ℃孵育过夜：兔源抗-Caspase-3抗体[Cell Signaling Technology（美国马萨诸塞州丹佛斯），稀释比例为1∶1 000）和小鼠源抗α-微管蛋白（α-tubulin）抗体[Sigma-Aldrich（美国圣路易斯）]，稀释比例为1∶10 000]。按照说明书使用Westar化学发光检测试剂[Sigma-Aldrich（美国圣路易斯）]进行检测。使用ChemiDoc™ MP成像系统（Bio-Rad Laboratories，Inc.）采集图像，并利用Image J软件进行灰度值分析。

1.8 观察指标

1.8.1 细胞毒性差异　通过MTT法检测11种卵巢癌细胞系在顺铂处理48 h后的存活率及IC_{50}。根据IC_{50}将细胞分为3组：敏感组（$IC_{50}<2$ μmol·L^{-1}）、中间组（2 μmol·L$^{-1}\leqslant IC_{50}\leqslant10$ μmol·L^{-1}）、耐药组（$IC_{50}>10$ μmol·L^{-1}）。

1.8.2 *ELOVL1* mRNA表达变化　对5种敏感细胞系与3种耐药细胞系进行mRNA表达微阵列分析，采用经验贝叶斯调节*t*检验识别差异表达基因。

1.8.3 *ELOVL1*启动子区域内的CpG位点在顺铂耐药细胞系中甲基化情况　使用Infinium® HumanMethylation450 BeadChip芯片分析8种细胞系的DNA甲基化情况。差异甲基化标准：CpG位点*t*检验$P<0.01$，且启动子区$|\Delta\beta| > 0.3$。

1.8.4 DNA甲基化对*ELOVL1*基因表达的调控作用验证　以DNA甲基转移酶抑制剂5-aza-dC处理8种敏感/耐药细胞系，RT-qPCR检测*ELOVL1* mRNA表达变化。

1.8.5 *ELOVL1*表达的调节对人卵巢癌细胞顺铂敏感性的影响　在SK-OV-3（耐药）和TOV-112D（敏感）细胞中瞬时转染*ELOVL1*或增强型绿色荧光蛋白（green fluorescent protein，EGFP）质粒，

RT-qPCR 验证表达，MTT 法评估顺铂毒性。另通过 siRNA 敲低 *ELOVL1*，MTT 法检测顺铂耐药性。在 *ELOVL1* 过表达的 SK-OV-3 细胞中，检测顺铂（30 μmol·L^{-1}）处理 10 h 后 Caspase-3 切割情况及线粒体膜电位变化，以评估 *ELOVL1* 是否通过线粒体凋亡途径影响细胞对顺铂的敏感性。

1.9 统计学方法

统计分析使用 GraphPad Prism 5 软件进行。数据表示为≥3 个独立重复实验的均数±标准差（$\bar{x} \pm s$），两组之间的比较采用独立样本 t 检验，多组之间比较采用单因素方差分析以评估总体差异是否具有统计学意义。在总体差异显著的前提下，进一步采用 LSD-t 检验进行两两组间比较。所有检验均为双侧检验，$P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞毒性差异

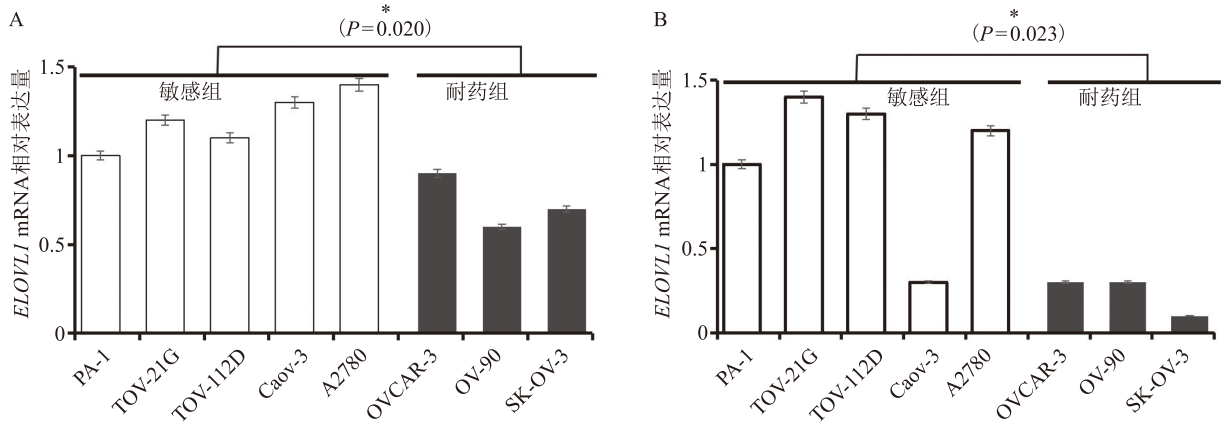
11 种人卵巢癌细胞系对顺铂的敏感性存在差异，按 IC_{50} 由低到高的顺序为：PA-1、TOV-21G、TOV-112D、Caov-3、A2780、MDAH-2774、A2780cis、ES-2、OVCAR-3、OV-90 和 SK-OV-3。根据顺铂的 IC_{50} 将细胞分为敏感组（PA-1、TOV-21G、TOV-112D、Caov-3 和 A2780）、中间组（MDAH-2774、A2780cis 和 ES-2）及耐药组（OVCAR-3、OV-90 和 SK-OV-3），见表 1。

表 1 顺铂对 11 种卵巢癌细胞系的细胞毒性（$\bar{x} \pm s$）

细胞系	IC_{50}/μmol·L^{-1}
PA-1	1.01±0.82
TOV-21G	1.12±0.52
TOV-112D	1.14±0.23
Caov-3	1.34±0.33
A2780	1.36±0.03
MDAH-2774	6.60±3.09
A2780cis	6.98±2.33
ES-2	7.81±1.36
OVCAR-3	22.25±4.23
OV-90	24.23±5.66
SK-OV-3	29.87±2.34

2.2 *ELOVL1* mRNA 表达的变化

与顺铂敏感细胞系相比，顺铂耐药细胞系中的 *ELOVL1* mRNA 表达较低（$P < 0.05$，见图 1A）。RT-qPCR 也证实了耐药组 *ELOVL1* mRNA 表达的下调（$P < 0.05$，见图 1B）。



A：mRNA 微阵列芯片检测 *ELOVL1* mRNA 表达差异；B：RT-qPCR 验证 *ELOVL1* mRNA 表达差异

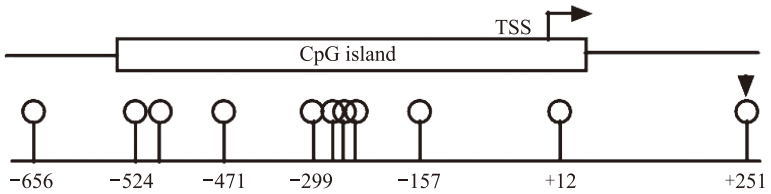
图 1 *ELOVL1* mRNA 在顺铂敏感/耐药卵巢癌细胞系中的表达差异

2.3 *ELOVL1* 启动子区域内的 CpG 位点在顺铂耐药细胞系中的甲基化水平

Infinium® HumanMethylation450 BeadChip 芯片 *ELOVL1* 基因的启动子区域内包含 11 个 CpG 位点，位于 22 号染色体（人 GRCh38/hg38）的 42 071 248 和 42 070 341 位点之间。11 个 CpG 位点相对于转录起始位点（transcription start site，TSS）位于 −656、−524、−498、−471、−299、−271、−260、−255、−157、+12 和+251 位点，如图 2 所示。在 11 个启动子 CpG 中，与顺铂敏感细胞系相比，位于顺铂耐药细胞系+251 处的 CpG 位点在顺铂耐药细胞系中显著高甲基化（$P < 0.05$，见图 3）。

2.4 DNA 甲基化对 *ELOVL1* 基因表达的影响

用 5-aza-dC 处理后，在顺铂耐药细胞系和敏感细胞系中检测到 *ELOVL1* 表达水平显著升高（$P < 0.05$），见图 4A。在 3 种顺铂耐药细胞系中，5-aza-dC 处理后 *ELOVL1* 表达水平均明显上调，而未处理细胞中 *ELOVL1* 表达水平相对较低（$P < 0.05$），见图 4B。提示 *ELOVL1* 在顺铂耐药细胞中可能受到 DNA 甲基化的负向调控。



TSS：转录起始位点；CpG island：胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤岛

图2 *ELOVL1*基因启动子区CpG位点示意图

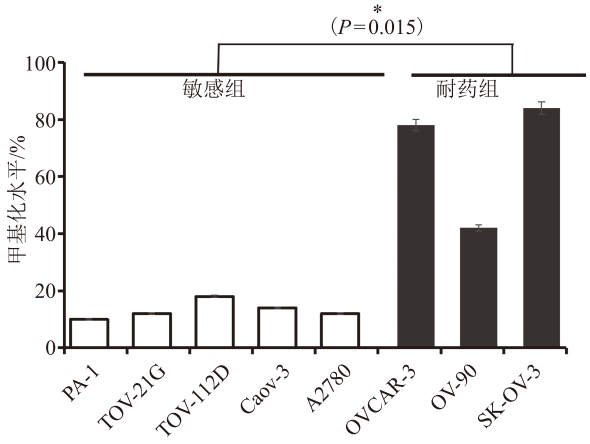
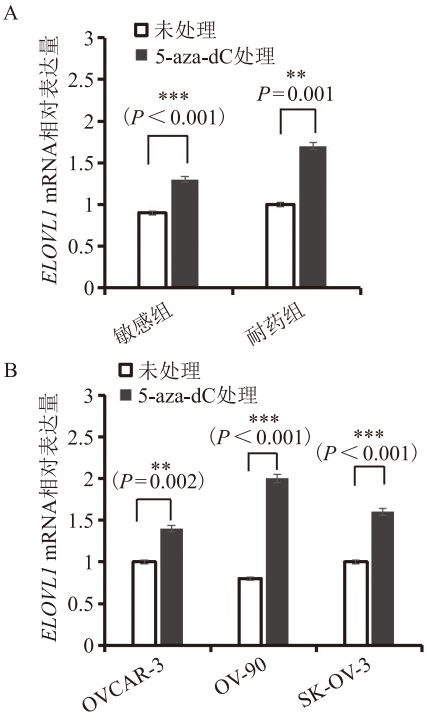


图3 CpG位点在不同卵巢癌细胞系*ELOVL1*基因启动子内的甲基化情况



A：5-aza-dC处理后敏感/耐药细胞系*ELOVL1* mRNA整体表达变化；B：5-aza-dC处理对3种耐药细胞系*ELOVL1* mRNA表达的影响

图4 去甲基化处理对卵巢癌细胞系*ELOVL1* mRNA表达的影响

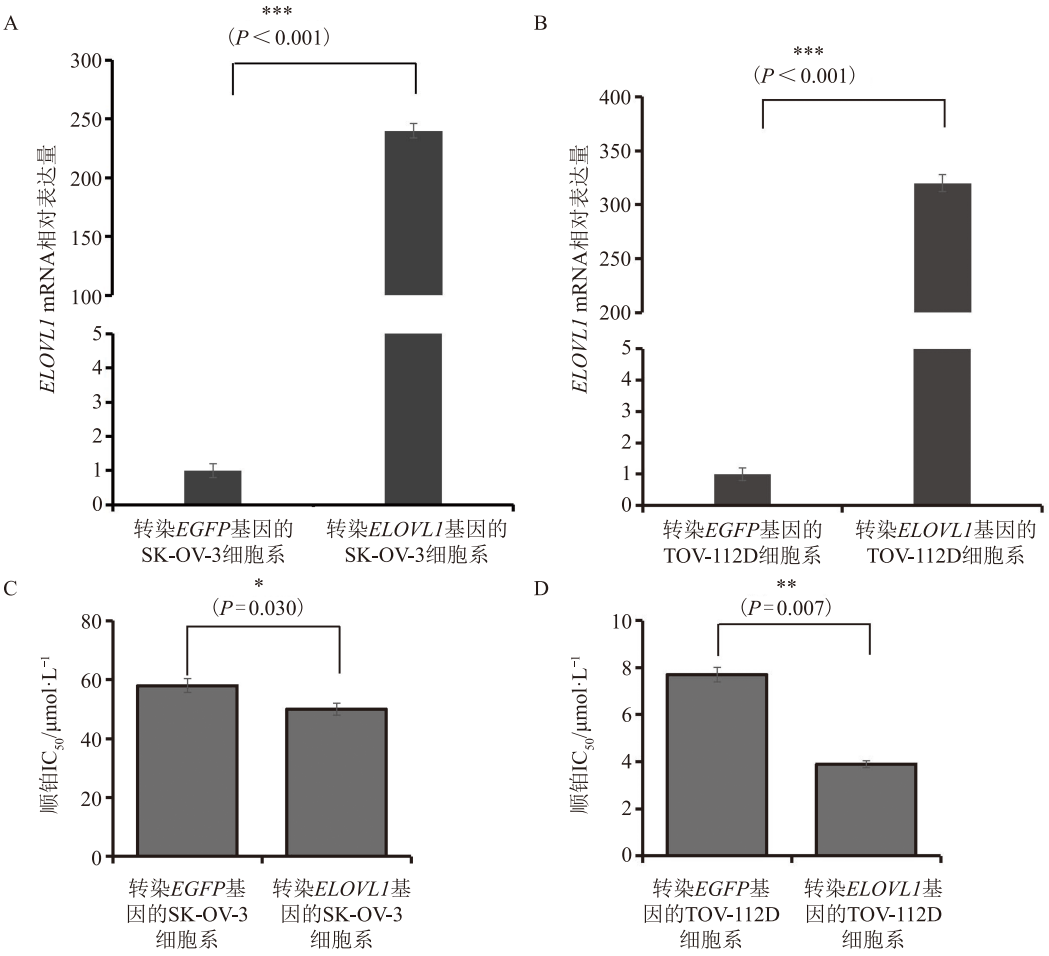
2.5 *ELOVL1*表达水平对卵巢癌细胞顺铂敏感性的影响

为验证*ELOVL1*表达水平是否直接影响卵巢癌细胞对顺铂的敏感性，分别在耐药细胞SK-OV-3和敏感细胞TOV-112D中进行*ELOVL1*过表达和敲降实验。过表达实验中，与转染了*EGFP*基因的细胞（阴性对照）相比，转染了*ELOVL1*的SK-OV-3细胞中*ELOVL1* mRNA水平增加了240倍，转染*ELOVL1*的TOV-112D细胞中增加了320倍（均$P<0.05$），见图5A和5B。与转染了*EGFP*基因的细胞相比，顺铂对*ELOVL1*过表达SK-OV-3细胞的IC_{50}降低13%，对*ELOVL1*过表达TOV-112D细胞的IC_{50}下降了49%（均$P<0.05$），表明*ELOVL1*过表达可增强两种细胞系对顺铂的敏感性，见图5C和图5D。

采用si*ELOVL1*敲降内源性*ELOVL1*表达。与转染siNC的细胞（阴性对照）相比，si*ELOVL1*转染的SK-OV-3细胞中*ELOVL1* mRNA表达降低了89%，si*ELOVL1*转染的TOV-112D细胞中降低了67%（均$P<0.05$），见图6A和6B。顺铂敏感性检测显示，在SK-OV-3和TOV-112D细胞中敲降*ELOVL1*，使顺铂的IC_{50}分别升高22%和66%（均$P<0.05$），见图6C和6D。以上结果表明，*ELOVL1*表达下调可诱导卵巢癌细胞对顺铂产生耐药。

为进一步明确*ELOVL1*对顺铂诱导凋亡的影响，采用蛋白质印迹法（Western blot）检测Caspase-3的裂解活化情况。在SK-OV-3细胞中分别转染载有*ELOVL1*基因的质粒或*EGFP*基因（阴性对照），经顺铂（30 μmol·L^{-1}）处理10 h后，收集细胞裂解物，使用抗Caspase-3抗体检测全长Caspase-3及其裂解活化片段（裂解型Caspase-3）。结果显示，在转染*EGFP*的SK-OV-3细胞中，顺铂处理可诱导少量裂解型Caspase-3产生；而在转染*ELOVL1*的SK-OV-3细胞中，顺铂诱导的裂解型Caspase-3条带显著增强，提示*ELOVL1*过表达促进了Caspase-3的活化。为评估*ELOVL1*敲降对凋亡的影响，在SK-OV-3细胞中转染si*ELOVL1*或siNC（阴性对照），同样经顺铂处理后检测Caspase-3裂解。结果显示，与转染siNC的SK-OV-3细胞相比，转染si*ELOVL1*的SK-OV-3细胞中裂解型Caspase-3

条带明显减弱，表明 *ELOVL1* 敲降抑制了顺铂诱导的 Caspase-3 活化（见图 7）。上述各组条带的定量分析结果（见图 8）进一步验证了 *ELOVL1* 表达水平对顺铂诱导凋亡的正向调控作用。



A：过表达 *ELOVL1* 的 SK-OV-3 细胞中 *ELOVL1* mRNA 表达水平；B：过表达 *ELOVL1* 的 TOV-112D 细胞中 *ELOVL1* mRNA 表达水平；C：在 SK-OV-3 细胞中过表达 *ELOVL1* 对顺铂 IC_{50} 的影响；D：在 TOV-112D 细胞中过表达 *ELOVL1* 对顺铂 IC_{50} 的影响；EGFP：增强型绿色荧光蛋白

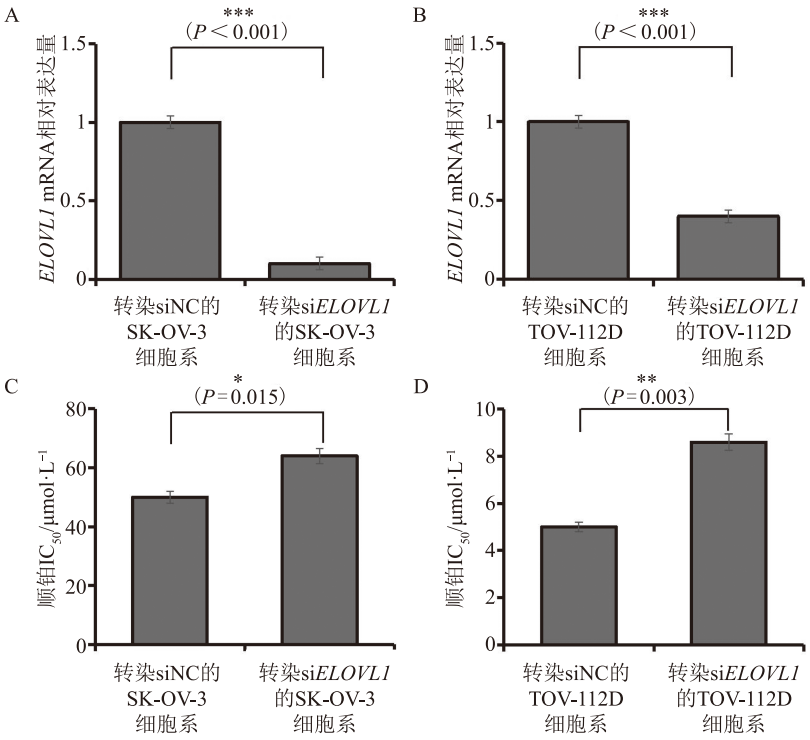
图 5 过表达 *ELOVL1* 对卵巢癌细胞顺铂敏感性的影响

3 讨论

卵巢癌是女性生殖系统最具侵袭性的恶性肿瘤之一，标准治疗为肿瘤细胞减灭术联合铂类药物化疗。虽然多数患者初期治疗有效，但常因产生顺铂耐药而复发。顺铂耐药机制复杂，涉及 DNA 修复增强、药物外排增加、凋亡逃逸和代谢重编程等多个过程[6-7]。因此，阐明其耐药机制并探寻新靶点，对改善卵巢癌治疗效果具有重要意义。

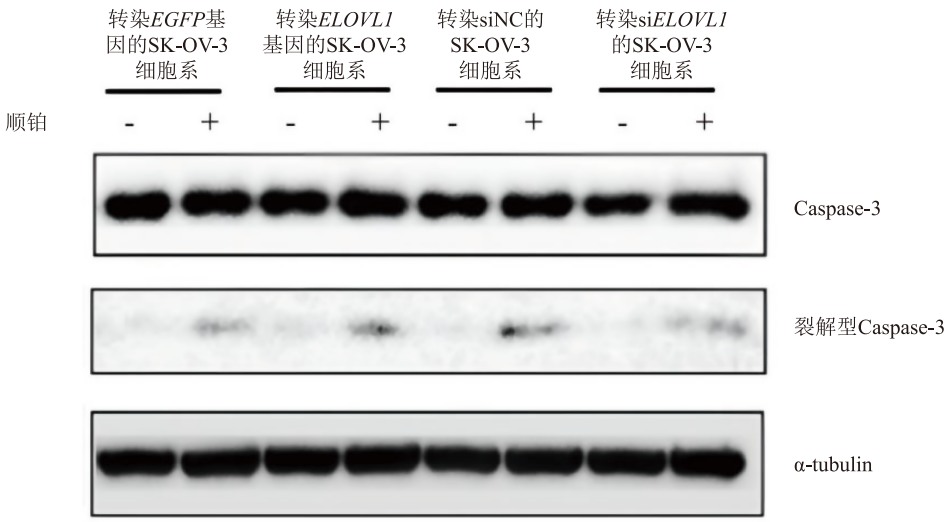
本研究通过整合转录组、甲基化组与功能实验，发现脂代谢关键酶 ELOVL1 在卵巢癌顺铂耐药中起核心作用。*ELOVL1* 编码长链脂肪酸延伸酶，主要催化 C_{18} 至 C_{26} 脂肪酸合成，对维持细胞膜结构与功能至关重要[8]。结果显示，顺铂耐药细胞中 *ELOVL1* 表达下调，且其启动子区 CpG 位点（特别是+251 位点）呈现高甲基化（$P < 0.05$）。经 5-aza-dC 处理后，耐药细胞中 *ELOVL1* 表达恢复，顺铂敏感性随之增强，表明 DNA 甲基化通过调控 *ELOVL1* 表达介导卵巢癌顺铂敏感性，该机制与已报道文献中乳腺癌易感基因 1 等 DNA 修复相关基因的表观遗传调控机制类似[9]。此外，鉴于基因表达调控的复杂性，除 DNA 甲基化外，可能还存在其他表观遗传调控机制，如组蛋白修饰等，或由 miRNA 等非编码 RNA 介导的转录后调控机制[10]，这也为后续深入研究提供了方向。在功能层面，*ELOVL1* 表达水平可显著影响卵巢癌细胞对顺铂的应答及敏感性。过表达 *ELOVL1* 可降低顺铂 IC_{50}，增强 Caspase-3 裂解，提示其通过促进凋亡增强顺铂敏感性。膜电位分析结果显示，该凋亡过程不依赖线粒体通路，提示 *ELOVL1* 可能通过调控死亡受体通路或内质网应激途径介导细胞死亡[10]。脂筏结构与 Fas/TRAIL 等受体

聚集密切相关，*ELOVL1* 催化的脂类变化可能通过影响脂筏稳定性调控凋亡信号[11]。此外，*ELOVL1* 还可能通过调控脂滴代谢及脂类信号分子（如神经酰胺）参与细胞对顺铂的应答，脂滴中富含的抗氧化因子亦可能赋予细胞对顺铂诱导氧化应激的抵抗能力[12]。



A：转染 si*ELOVL1* 的 SK-OV-3 细胞中 *ELOVL1* mRNA 表达水平；B：转染 si*ELOVL1* 的 TOV-112D 细胞中 *ELOVL1* mRNA 表达水平；C：在 SK-OV-3 细胞中敲降 *ELOVL1* 对顺铂 IC_{50} 的影响；D：在 TOV-112D 细胞中敲降 *ELOVL1* 对顺铂 IC_{50} 的影响

图 6 敲降 *ELOVL1* 对卵巢癌细胞顺铂敏感性的影响



Caspase-3：半胱天冬酶-3；α-tubulin：α-微管蛋白（用作内参蛋白）；－：未经顺铂处理；+：经 30 μmol·L^{-1} 顺铂处理 10 h

图 7 过表达与敲降 *ELOVL1* 对顺铂诱导的 Caspase-3 裂解的影响

基于上述发现，本研究提出“脂代谢表观遗传调控–顺铂敏感性改变”的耐药机制模型，并在细胞水平验证了 *ELOVL1* 的调控功能。尽管其下游脂代谢产物及信号通路尚未完全阐明，但整合脂质组学与多组学数据有望完整解析该耐药代谢网络。*ELOVL1* 作为潜在治疗靶点，结合甲基化抑制剂与脂代谢干预策略，或可为顺铂耐药卵巢癌提供新的治疗方向。

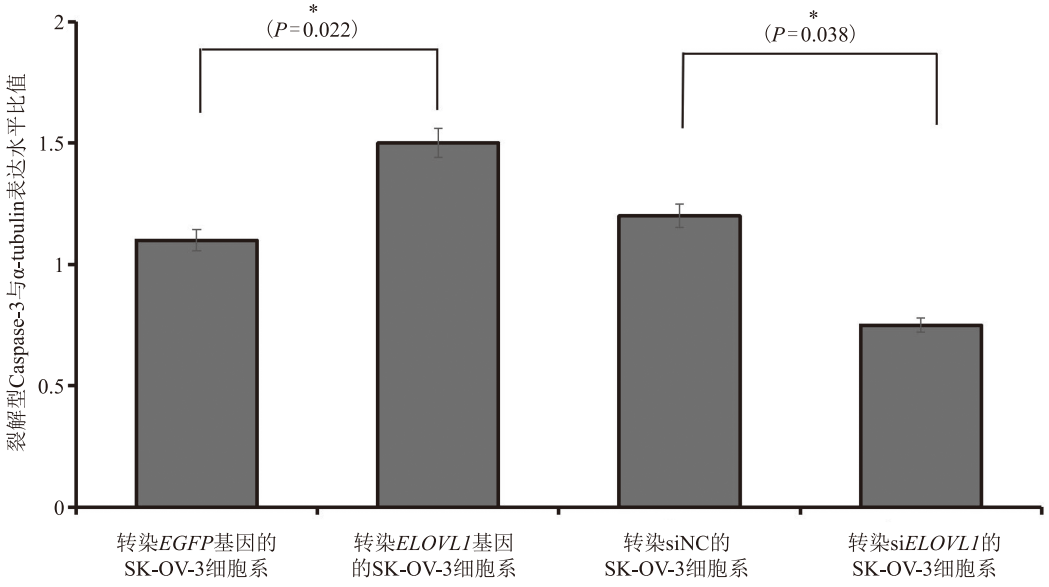


图 8 过表达与敲降 *ELOVL1* 后顺铂诱导的裂解型 Caspase-3 定量分析

综上，本研究揭示了 *ELOVL1* 调控卵巢癌顺铂敏感性及耐药逆转的机制，即其表观遗传沉默导致脂代谢重编程，进而通过非线粒体凋亡通路介导化疗抵抗。该结果为深入理解顺铂耐药机制提供了新视角，并为靶向干预策略的探索提供了理论依据。

[参考文献]

[1] Nantasupha C, Thonusin C, Charoenkwan K, *et al*. Metabolic reprogramming in epithelial ovarian cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(9): 9950-9973.

[2] Seborova K, Hlavac V, Holy P, *et al*. Complex molecular profile of DNA repair genes in epithelial ovarian carcinoma patients with different sensitivity to platinum-based therapy[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1016958.

[3] Zhang J, Ouyang F, Gao A, *et al*. ESM1 enhances fatty acid synthesis and vascular mimicry in ovarian cancer by utilizing the PKM2-dependent Warburg effect within the hypoxic tumor microenvironment[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 94.

[4] 周露, 阳志军. 糖代谢重编程在卵巢癌化疗耐药中作用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2024, 31(3): 289-295.

[5] Mombach D M, Mercuri R L V, da Fontoura Gomes T M F, *et al*. Transposable elements alter gene expression and may impact response to cisplatin therapy in ovarian cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2024, 45(9): 685-695.

[6] Tavares V, Marques I S, Melo I G, *et al*. Paradigm shift: a comprehensive review of ovarian cancer management in an era of advancements[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(3): 1845.

[7] Miglietta S, Sollazzo M, Gherardi I, *et al*. Mitochondrial chaperonin DNAJC15 promotes vulnerability to ferroptosis of chemoresistant ovarian cancer cells[J]. *Open Biol*, 2025, 15: 240151.

[8] He W, Zhu H, Zhang S, *et al*. Epigenetic editing of *BRCA1* promoter increases cisplatin and olaparib sensitivity of ovarian cancer cells[J]. *Epigenetics*, 2024, 19(1): 2357518.

[9] Wang L, Wang X, Zhu X, *et al*. Drug resistance in ovarian cancer: from mechanism to clinical trial[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 66.

[10] Yue H, Lu X. Metabolic reprogramming of the ovarian cancer microenvironment in the development of antiangiogenic resistance[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2023, 55(6): 938-947.

[11] Compton S L E, Grieco J P, Gollamudi B, *et al*. Metabolic reprogramming of ovarian cancer spheroids during adhesion [J]. *Cancers*, 2022, 14(6): 1399.

[12] 魏佳慧, 吴玉梅. 代谢重编程与卵巢癌发展及铂耐药的研究进展[J]. 实用妇产科杂志, 2025, 41(6): 475-479.

（责任编辑：杨臻峥）