

· 论著 · 系统性疾病 ·

超级增强子相关基因在黑色素瘤中的功能研究*

罗水妹^{1,*} 陈兴发² 陈雅莹¹

1.福建省肿瘤医院肿瘤内科 福建医科大学临床肿瘤学院(福建 福州 350000)

2.福建省肿瘤医院放疗科 福建医科大学临床肿瘤学院(福建 福州 350000)

【摘要】目的 本研究旨在系统性地鉴定黑色素瘤特异性超级增强子(SE)，并阐明其在维持肿瘤恶性表型中的作用，为精准肿瘤治疗提供新靶点和理论框架。**方法** 本研究通过整合多组学分析与实验验证，系统阐明黑色素瘤特异性SE相关基因的生物学功能。**结果** 本研究共鉴定出1703个黑色素瘤特异性SE相关基因，在黑色素细胞分化、上皮-间质转化(EMT)、伤口愈合及PI3K-Akt信号通路等关键肿瘤相关生物学过程中显著富集($P<0.05$)。此外，研究进一步证实SE驱动谱系转录因子MITF与SOX10的表达，其表达水平可被JQ1显著抑制($P<0.05$)，且与不良临床预后正相关($P<0.05$)。RNA-seq分析表明，SE抑制可广泛干扰代谢、增殖与细胞死亡等关键通路，其中58个JQ1调控基因与患者总生存期显著相关。功能实验证实抑制SE活性可有效抑制黑色素瘤细胞增殖、克隆形成并诱导细胞凋亡。**结论** SE通过驱动黑色素瘤发生与进展中的关键基因表达，成为极具潜力的治疗靶点，为新型治疗策略的开发提供新方向。

【关键词】恶性黑色素瘤；超级增强子；细胞凋亡；细胞增殖

【中图分类号】R739.5

【文献标识码】A

【基金项目】2024年福建医科大学启航基金项目(2024QH1181)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2025.12.045

Functional Study of Super-Enhancer Associated Genes in Melanoma*

LUO Shui-mei^{1,*}, CHEN Xing-fa², CHEN Ya-ying¹.

1. Department of Medical Oncology, Clinical Oncology School of Fujian Medical University, Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350000, Fujian Province, China

2. Department of Radiology, Clinical Oncology School of Fujian Medical University, Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350000, Fujian Province, China

Abstract: Objective This study aims to systematically characterize melanoma-specific super-enhancer (SE) and elucidate their role in sustaining tumor phenotypes, providing new therapeutic targets and a framework for precision oncology. **Methods** This study delineates the function of melanoma-specific SE-associated genes through integrated multi-omics analysis and experimental validation. **Results** This study identified 1,703 melanoma-specific SE-associated genes, which were significantly enriched ($P<0.05$) in key tumor-related processes and pathways such as melanocyte differentiation, EMT, wound healing, and PI3K-Akt signaling. Based on these findings, we further demonstrated that SE activity drives the expression of lineage transcription factors MITF and SOX10, whose expression was significantly suppressed by JQ1 ($P<0.05$) and positively associated with poor clinical outcomes ($P<0.05$). RNA-seq analysis demonstrated that SE inhibition broadly disrupted critical pathways including metabolism, proliferation, and cell death. Consequently, 58 JQ1-regulated genes showed significant association with overall survival. Functionally, SE inhibition consistently suppressed proliferation, colony formation, and induced apoptosis in melanoma cells. **Conclusion** SE drive critical gene expression in melanoma progression, representing promising therapeutic targets and novel treatment avenues.

Keywords: Melanoma; Super-enhancer; Cell Apoptosis; Cell Proliferation

黑色素瘤是源自黑色素细胞的高度恶性肿瘤^[1]。尽管BRAF/MEK靶向治疗和免疫检查点抑制剂显著改善部分患者预后，但异质性、耐药性及免疫逃逸等因素仍显著限制治疗效果^[2-3]。深入阐明其分子调控机制、识别关键致癌驱动因素，对推动精准治疗策略的发展具有重要意义。

在黑色素瘤等高度异质性恶性肿瘤中，表观遗传调控是驱动肿瘤进展的关键非遗传因素^[4]。超级增强子(super-enhancer, SE)作为一类富集BRD4、MED1、p300等共激活因子的强效顺式调控元件，因其在调控肿瘤相关基因高表达中的核心作用而受到广泛关注^[5]。SE不仅参与正常发育与分化过程，也在多种肿瘤中通过激活癌基因异常表达，促进肿瘤发生与进展^[6]。

SE因其组织特异性，已成为潜力显著的新型肿瘤治疗靶点。研究表明，SE相关基因广泛参与维持恶性表型、免疫调

控及耐药过程^[7]，并在白血病^[8]、神经母细胞瘤^[9]及肺癌^[10]等肿瘤中驱动关键致癌通路。然而，SE在黑色素瘤中的全局调控网络、核心靶基因及其对肿瘤进展与预后的系统性影响，仍有待深入揭示。

此外，SE对药物干预高度敏感，为表观遗传靶向治疗提供可行策略^[11]。多种靶向SE核心组分的抑制剂(如BET抑制剂JQ1、dBET1、CDK7抑制剂THZ1)已在临床前或早期临床阶段展现出对多种肿瘤具有显著疗效^[12]。因而，系统解析黑色素瘤中SE调控网络，有望为靶向SE的个体化治疗提供理论基础与实践依据。

本研究整合多组公开H3K27ac ChIP-seq与RNA-seq数据，通过识别黑色素瘤特异性SE及其靶基因，并结合功能实验与药理干预，系统解析其在肿瘤进程与预后中的作用，旨在为黑色素瘤的预后评估与靶向治疗提供新策略。

【第一作者】罗水妹，女，医师，主要研究方向：恶性黑色素瘤。E-mail: 375194054@qq.com

【通讯作者】罗水妹

1 资料与方法

1.1 数据来源与生物信息学分析

1.1.1 数据来源 本研究从GEO获取黑色素瘤及正常黑色素细胞系的H3K27ac ChIP-seq与A375细胞系RNA-seq数据，并从TCGA与GTEx获取黑色素瘤及正常皮肤组织的RNA-seq数据。

1.1.2 SE及相关基因的鉴定 本研究从GEO数据库下载5株黑色素瘤细胞系及1株正常黑色素细胞的H3K27ac ChIP-seq FASTQ数据。SE的鉴定流程包括：使用Bowtie2将序列比对至GRCh38参考基因组，MACS2进行显著峰识别，用SE排序识别算法拼接12.5 kb内的增强子并按H3K27ac信号强度排序，以信号曲线斜率>1界定SE，最终通过ROSE2输出SE相关基因。

1.1.3 差异表达分析 RNA-seq原始基因表达计数数据经edgeR包TMM归一化后，采用R语言的limma包中voom函数进行均值-方差建模，生成适用于线性建模的表达矩阵。随后构建设计矩阵，利用lmer拟合线性模型，并经eBayes贝叶斯修正，筛选差异表达基因。

1.1.4 GO富集分析 GO富集分析采用R语言clusterProfiler包完成，设定经Benjamini-Hochberg校正后的P值<0.05为显著富集标准。

1.1.5 KEGG通路富集分析 KEGG通路富集分析使用R语言clusterProfiler包完成，以经Benjamini-Hochberg校正后的P值<0.05作为显著富集标准。

1.1.6 GSEA富集分析 使用R语言clusterProfiler包中的gseKEGG函数进行MSigDB的C2.KEGG基因集富集分析。设定置换次数为1000，并以FDR<0.25作为显著富集标准。

1.1.7 生存分析 基于TCGA黑色素瘤数据，采用单因素Cox回归分析(P<0.05)筛选预后相关基因，并通过森林图展示结果；进一步利用Kaplan-Meier法分析关键基因的生存差异，并绘制生存曲线。

1.2 实验材料及方法

1.2.1 主要试剂及耗材 A375细胞系购自普诺赛生物；细胞培养相关试剂(胎牛血清、青霉素/链霉素、胰酶、PBS)购自美仑生物；功能实验所用试剂盒(CCK-8、ROS、细胞凋亡、细胞固定与染色)分别购自碧云天生物和联科生物；SE抑制剂(JQ1, THZ1, dBET1)购自MedChemExpress；RNA提取、逆转录及qRT-PCR相关试剂盒购自诺唯赞生物。

1.2.2 细胞培养 用含10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素的DMEM培养基，于37°C、5% CO₂恒温培养A375人恶性黑色素瘤细胞系。

1.2.3 qRT-PCR 本研究采用qRT-PCR法检测JQ1干预后A375细胞中MITF与SOX10的转录水平。细胞经JQ1(2、4 μmol/L)处理24小时后，按试剂盒说明提取总RNA并逆转录为cDNA，使用以下引物进行扩增：MITF-F: 5' -CAGTCCGAATCGGGATCG-3'，MITF-R: 5' -TGCTCTT CAGCGGTTGACTTT-3'；SOX10-F: 5' -CCTCACAGATGCCCTACACC-3'，SOX10-R: 5' -CATATAGGAGAAGGCCGAGTAGA-3'。

1.2.4 半数抑制浓度(Half Maximal Inhibitory Concentration, IC₅₀)检测 将对数生长期的A375细胞按8×10³/孔接种于96孔板；贴壁后，分别给予不同浓度JQ1、THZ1、dBET1或等量DMSO处理24小时。之后，采用CCK-8法检测：每孔加入100 μL含10% CCK-8的培养基，37°C孵育2小时，于450 nm波长下测定OD值。

1.2.5 细胞增殖实验 细胞铺板同上述1.2.4，细胞完全贴壁后，分别给予SE抑制剂JQ1 2、4 μmol/L及THZ1 0.05、0.1 μmol/L进行干预。干预后24小时进行CCK8检测，方法同上1.2.4。

1.2.6 平板克隆实验 对数生长期A375细胞经胰酶消化、离心、重悬后计数，按每孔600个细胞接种于6孔板，贴壁后分别加入JQ1(2、4 μmol/L)及THZ1(0.05、0.1 μmol/L)干预，DMSO为对照。培养10~14天，克隆形成且未融合时弃去上清，PBS清洗3次，4%多聚甲醛固定20分钟，再次PBS洗涤后以结晶紫染色30分钟，清洗晾干，最终通过酶联斑点成像仪扫描并计数克隆数。

1.2.7 细胞凋亡检测 将处于对数生长期的A375细胞以3×10³/孔接种于6孔板，培养24小时后分别用指定浓度JQ1(2、4 μmol/L)或THZ1(0.05、0.1 μmol/L)处理24小时。收集细胞上清后，使用PBS洗涤，经Accutase消化并离心收集细胞。随后用预冷PBS洗涤细胞，以1× Binding Buffer重悬，加入Annexin V-FITC与PI避光孵育5分钟，最后通过流式细胞术分析细胞凋亡情况。

1.2.8 ROS检测 细胞按1.2.7方法处理24小时后，与10 μmol/L DCFH-DA于37°C共孵育30分钟。洗涤、消化并重悬后，通过流式细胞术检测ROS水平。结果以平均荧光强度表示，并计算加药组与对照组的相对比值，采用双尾t检验进行统计分析。

1.3 统计学方法 利用GraphPad Prism 8进行统计分析，各组间结果比较用t检验，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肿瘤特异性SE-genes在恶性黑色素瘤中的关键生物学功能解析 为鉴定黑色素瘤特异性SE相关基因，本研究分析GEO数据库中5株黑色素瘤细胞系与1株正常黑色素细胞的H3K27ac ChIP-seq数据(表1)。结果在黑色素瘤细胞系中鉴定出2030个SE相关基因，其中1703个为黑色素瘤特异性。GO富集分析显示其显著富集于色素细胞分化、上皮-间质转化、伤口愈合及细胞迁移等肿瘤恶性相关过程(图1A)。KEGG通路分析进一步提示其在黑色素合成、转录失调、PI3K-Akt及Wnt等关键肿瘤通路中显著富集(图1B)。本研究揭示SE在黑色素瘤发生发展中的核心作用，其靶基因具有作为新型治疗靶点的潜力。

2.2 SE在促进恶性黑色素瘤细胞谱系身份基因表达中的关键作用 本研究揭示谱系决定因子MITF与SOX10在黑色素瘤中为SE驱动型身份基因。在5株黑色素瘤细胞系中均发现其关联的超级增强子，且二者在肿瘤组织中表达显著高于正常组织(图2A)，高表达与患者不良预后密切相关(图2B)。机制上，SE抑制剂JQ1可显著降低MITF与SOX10表达(图2C)，证实其转录对SE的高度依赖性。结果表明，SE通过直接调控身份基因表达，在维持黑色素瘤细胞特征中发挥关键作用，并为靶向干预提供潜在策略。

2.3 SE相关基因表达失调在肿瘤预后中的潜在作用 本研究基于JQ1处理A375细胞的RNA-seq数据(GSE83592)，筛选出2002个差异表达基因(图3A)，揭示SE抑制对转录组的广泛影响。GO分析显示差异基因显著富集于染色质重塑、凋亡、DNA损伤应答、细胞周期等关键生物学过程；KEGG分析进一步发现其在染色质重塑、糖酵解、三羧酸循环、铁死亡及细胞周期等通路显著富集。GSEA证实JQ1显著下调细胞周期、氧

化磷酸化等促肿瘤转录程序(图3A~图3B)，系统阐明SE通过协调多通路维持黑色素瘤恶性表型的调控机制。

本研究在JQ1调控的差异基因中鉴定出175个黑色素瘤特异性SE相关基因。基于TCGA队列的单因素Cox分析进一步筛选出58个与总生存显著相关的基因($P<0.05$)。其中VDAC1、ATP6V0A4、SLC3A2等7个基因高表达与患者不良预后密切相关(图4)。这些发现系统揭示SE相关基因在黑色素瘤预后评估与靶向干预中的潜在价值。

2.4 抑制SE活性可有效阻断恶性黑色素瘤细胞的增殖能力 为验证黑色素瘤特异性SE靶基因功能，本研究采用JQ1、THZ1与dBET1干预A375细胞。CCK-8实验测得三者24小时IC50分别为 $17.57\mu\text{mol/L}$ 、 $0.042\mu\text{mol/L}$ 与 $7.65\mu\text{mol/L}$ 。进一

步增殖实验显示，JQ1与dBET1呈剂量依赖性抑制细胞增殖(图5A)，THZ1在 $0.05\sim0.1\mu\text{mol/L}$ 浓度下亦显著抑制生长(图5A)。平板克隆实验进一步证实，JQ1与THZ1可显著削弱细胞克隆形成能力(图5B)。结果表明，SE活性对维持黑色素瘤细胞存活与增殖具有关键作用。

2.5 抑制SE活性可促进恶性黑色素瘤细胞凋亡 为探讨SE抑制剂在诱导恶性黑色素瘤细胞程序性死亡中的作用。本研究评估SE抑制剂对A375细胞凋亡及ROS水平的影响。流式检测显示，JQ1($2\sim4\mu\text{mol/L}$)与THZ1($0.05\sim0.1\mu\text{mol/L}$)处理24小时均显著诱导细胞凋亡(图6A)。此外，两药处理可明显提升细胞内ROS水平(图6B)。结果表明，抑制SE活性可通过促进氧化应激与细胞凋亡发挥抗黑色素瘤作用，支持其作为治疗靶点的潜力。

表1 H3K27ac ChIP-seq数据的样本信息

细胞名称	样本类型	样本编号	BRAF突变	NRAS突变
CJM	黑色素瘤	GSM1953837	无	无
A375	黑色素瘤	GSM2190579	BRAF V600E	无
UACC257	黑色素瘤	GSM1953842	BRAF V600E	无
SK-MEL-30	黑色素瘤	GSM1953841	无	NRAS Q61K
SK-MEL-2	黑色素瘤	GSM1953840	无	NRAS Q61R
NHM	正常黑色素细胞	GSM2476348	无	无

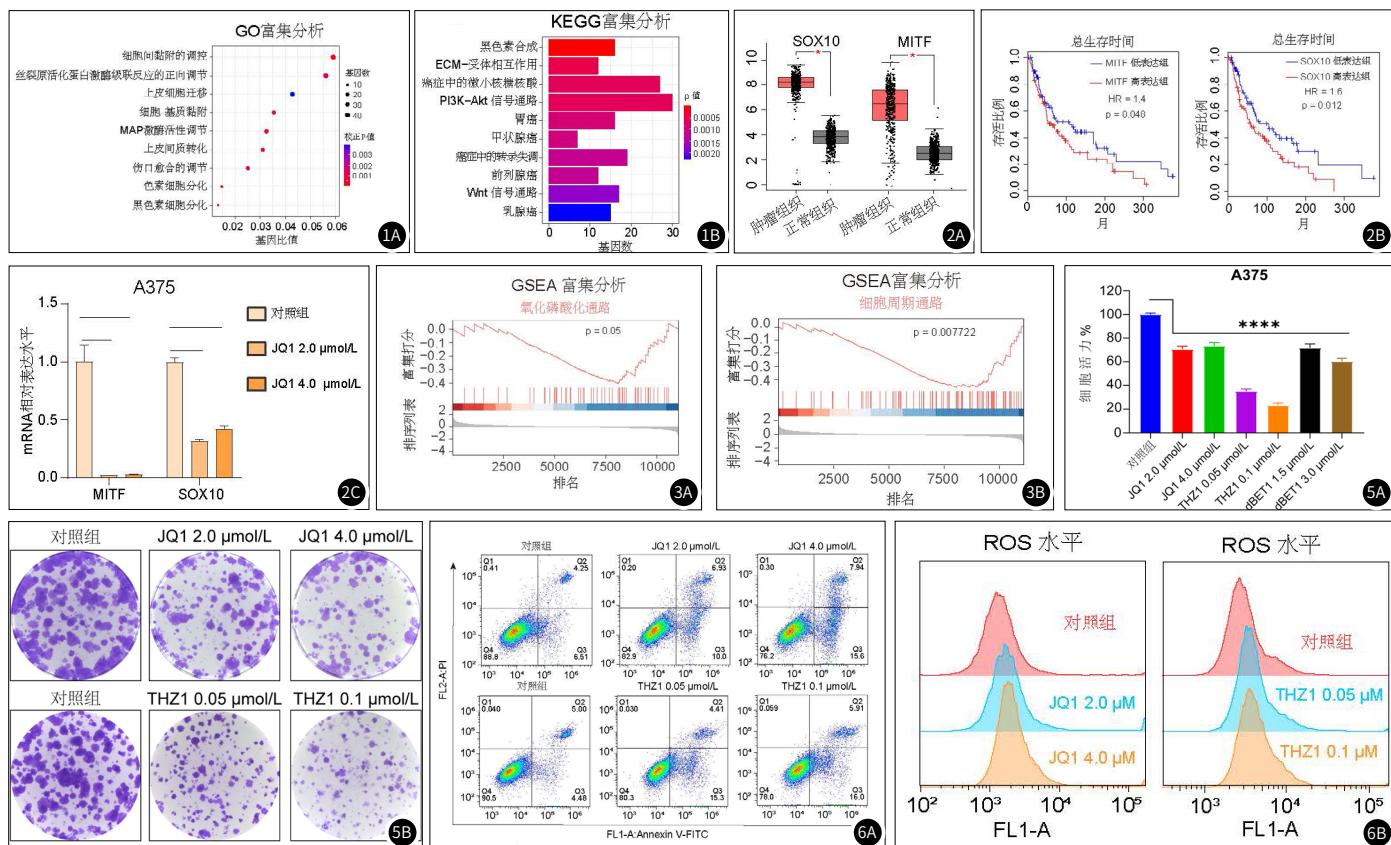
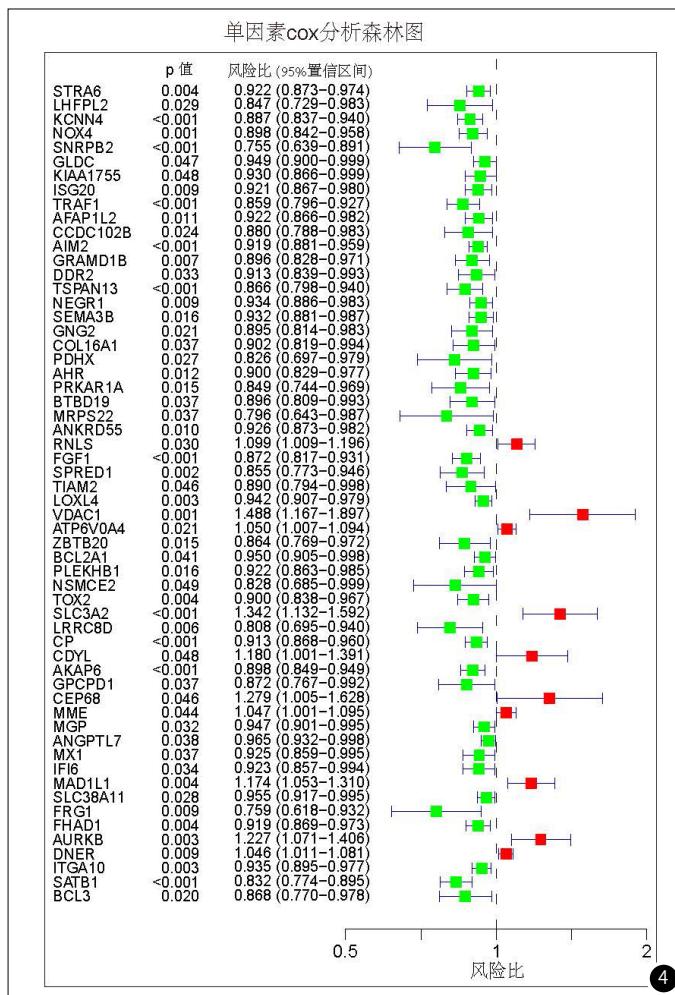


图1 黑色素瘤特异性SE相关基因的功能分析。图1A~图1B: 黑色素瘤特异性SE相关基因的GO(A)及KEGG通路富集分析(B)。图2A~图2B: SOX10和MITF在黑色素瘤与正常组织中表达水平的箱线图(A)及表达水平与患者总生存期的Kaplan-Meier曲线(B); 图2C: JQ1处理对MITF和SOX10表达调控柱状图。图3A~图3B: JQ1处理A375细胞后差异表达基因在氧化磷酸化通路(A)及细胞周期通路(B)的GSEA分析曲线图。图4(见下页) 恶性黑色素瘤特异性SE相关基因对生存预后的影响。图5A: JQ1、THZ1与dBET1对A375细胞增殖的抑制作用; 图5B: JQ1与THZ1对A375细胞克隆形成的影响。图6 SE抑制剂对恶性黑色素瘤细胞凋亡的影响。图6A~图6B: 流式细胞术检测SE抑制剂JQ1、THZ1干预24小时对A375细胞凋亡(A)及细胞内ROS水平(B)的影响。



3 讨 论

近年来, SE作为驱动肿瘤表型的关键表观遗传元件备受关注^[13]。SE通过富集转录复合物促进身份基因高表达, 从而维持细胞命运^[6]。本研究系统解析SE在黑色素瘤中的作用, 鉴定出1703个黑色素瘤特异性SE相关基因, 并通过药物干预证实其在黑色素瘤发生发展中的关键调控功能。

SE依赖性转录是肿瘤发生的重要机制, 如白血病中的MYC和乳腺癌中的FOXA1等^[14]。类似地, 本研究发现MITF和SOX10在黑色素瘤中亦受SE调控。MITF作为黑色素细胞的主控转录因子, 是典型的谱系依赖基因, 其活性依赖于BRD4介导的SE维持, 与既往研究一致^[15]。SOX10则协同MITF参与细胞身份维持、黑色素合成及抗凋亡过程^[16]。我们进一步发现VDAC1、SLC3A2等多个SE相关基因与不良预后相关。VDAC1定位于线粒体膜, 参与氧化磷酸化和ROS生成, 是调控肿瘤代谢重编程的关键分子^[17]; SLC3A2则介导氨基酸转运, 激活mTOR通路并促进免疫逃逸, 已在多种肿瘤中被证实为不良预后因子^[18]。SE对上述代谢与信号节点基因的调控, 强调其在维持黑色素瘤异常代谢稳态中的重要作用。

本研究重点探讨SE活性抑制对细胞命运的影响。JQ1与THZ1处理均显著抑制A375细胞增殖和克隆形成, 其中THZ1通过抑制CDK7活性选择性干扰SE介导的转录^[19], JQ1则通过阻断BRD4发挥特异性毒性^[20]。值得注意的是, SE抑制剂可诱导ROS水平升高并促进凋亡, 这一发现与近年来关于SE调控氧化还原代谢的研究结果高度一致^[21]。SE调控的代谢基因可维持线粒体

活性与氧化磷酸化过程, 一旦SE结构被破坏, 细胞将面临线粒体功能障碍、ATP供能不足及ROS积累^[22]。在本研究中JQ1与THZ1均可诱导ROS水平快速升高, 暗示SE通过调控线粒体稳态在细胞生存中发挥核心作用。除促进促进凋亡外, ROS的过度积累亦可能诱导铁死亡或细胞焦亡等其它程序性死亡形式^[23], 这提示SE抑制剂不仅通过经典凋亡途径, 也可通过调节细胞应激通路诱发多形式死亡反应, 值得后续深入探索。

本研究系统阐明SE通过驱动谱系因子及代谢信号通路促进黑色素瘤进展。药理学抑制SE可诱导细胞凋亡, 展现治疗潜力。未来研究SE与免疫、代谢疗法的协同作用, 将为黑色素瘤精准治疗提供新方向。

参考文献

- [1]江黎, 张黎, 杨磊. 成人葡萄膜黑色素瘤患者MRI征象特点及鉴别[J]. 中国CT和MRI杂志, 2025, 23(11): 31-34.
- [2]沈晶, 李智勇, 伍建林. 中鼻道恶性黑色素瘤1例报告[J]. 中国CT和MRI杂志, 2010(6): 1.
- [3]Garbe C, Amaral T, Peris K, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 2: Treatment-Update 2024 [J]. Eur J Cancer, 2025; 215: 115153.
- [4]Fang J, Singh S, Wells B, et al. The context-dependent epigenetic and organogenesis programs determine 3D vs. 2D cellular fitness of MYC-driven murine liver cancer cells [J]. Elife, 2025, 14.
- [5]Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, et al. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes [J]. Cell, 2013, 153(2): 307-319.
- [6]Thandapani P. Super-enhancers in cancer [J]. Pharmacol Ther, 2019, 199: 129-138.
- [7]Hnisz D, Abraham BJ, Lee TI, et al. Super-enhancers in the control of cell identity and disease [J]. Cell, 2013, 155(4): 934-947.
- [8]Shi J, Whyte WA, Zepeda-Mendoza CJ, et al. Role of SWI/SNF in acute leukemia maintenance and enhancer-mediated Myc regulation [J]. Genes Dev, 2013, 27(24): 2648-2662.
- [9]Chen Y, Zhuo R, Sun L, et al. Super-enhancer-driven IRF2BP2 enhances ALK activity and promotes neuroblastoma cell proliferation [J]. Neuro Oncol, 2024, 26(10): 1878-1894.
- [10]Jiang M, Zhang K, Wei G, et al. HDAC4 super-enhancer drives CEBPB-mediated TWIST2 transcription to promote chemoresistance in LUAD [J]. Cancer Lett, 2025, 623: 217716.
- [11]Loven J, Hoke HA, Lin CY, et al. Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers [J]. Cell, 2013, 153(2): 320-334.
- [12]Li Z, Duan J, Liu Z, et al. A triple-mode strategy on JQ1-loaded nanoparticle for superior antitumor therapy in pancreatic cancer [J]. Mater Today Bio, 2025, 32: 101696.
- [13]Li F, Wang S, Chen L, et al. Systemic genome-epigenome analysis captures a lineage-specific super-enhancer for MYB in gastrointestinal adenocarcinoma [J]. Mol Syst Biol, 2025.
- [14]Yashar WM, Curtiss BM, Coleman DJ, et al. Disruption of the MYC superenhancer complex by dual targeting of FLT3 and LSD1 in acute myeloid leukemia [J]. Mol Cancer Res, 2023, 21(7): 631-647.
- [15]Eliaades P, Abraham BJ, Ji Z, et al. High MITF expression is associated with super-enhancers and suppressed by CDK7 inhibition in melanoma [J]. J Invest Dermatol, 2018, 138(7): 1582-1590.
- [16]Tudrej KB, Czepielewska E, Kozowska-Wojciechowska M. SOX10-MITF pathway activity in melanoma cells [J]. Arch Med Sci, 2017, 13(6): 1493-1503.
- [17]Xie Y, Liu X, Xie D, et al. Voltage-dependent anion channel 1 mediates mitochondrial fission and glucose metabolic reprogramming in response to ionizing radiation [J]. Sci Total Environ, 2024, 946: 174246.
- [18]Chang Y, Wang N, Li S, et al. SLC3A2-mediated lysine uptake by cancer cells restricts T cell activity in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2025.
- [19]Yao Y, Ng JF, Park WD, et al. CDK7 controls E2F- and MYC-driven proliferative and metabolic vulnerabilities in multiple myeloma [J]. Blood, 2023, 141(23): 2841-2852.
- [20]Bauer K, Hauswirth A, Gleixner KV, et al. BRD4 degraders may effectively counteract therapeutic resistance of leukemic stem cells in AML and ALL [J]. Am J Hematol, 2024, 99(9): 1721-1731.
- [21]Guo W, Wang X, Lu B, et al. Super-enhancer-driven MLX mediates redox balance maintenance via SLC7A11 in osteosarcoma [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(7): 439.
- [22]Nguyen TTT, Zhang Y, Shang E, et al. HDAC inhibitors elicit metabolic reprogramming by targeting super-enhancers in glioblastoma models [J]. J Clin Invest, 2020, 130(7): 3699-3716.
- [23]Wang X, Liu Z, Lin C. Metal ions-induced programmed cell death: how does oxidative stress regulate cell death? [J]. Life Sci, 2025: 123688.

(收稿日期: 2025-05-11)

(校对编辑: 赵望淇)