网络出版时间:2022-7-28 12:25 网络出版地址:https://kns. cnki. net/kcms/detail/34. 1065. R. 20220727. 1757. 018. html

# ADH1B 基因甲基化对卵巢癌细胞增殖及凋亡的影响

季维雪<sup>1,2</sup>,孙 磊<sup>2</sup>,江 玉<sup>2</sup>,陈 颍<sup>2</sup>,李泽莲<sup>2</sup>,李 敏<sup>2</sup>,肖 兰<sup>1,2</sup>

摘要 目的 探讨乙醇脱氢酶 1B (ADH1B) 基因甲基化对 卵巢癌(OC)细胞增殖及凋亡的影响。方法 生物信息学方 法比较 ADH1B 在卵巢癌与正常卵巢上皮组织中表达情况, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测卵巢癌与正常卵巢组织 中 ADH1B 相对表达量,对比两种研究结果的一致性。两株 卵巢癌细胞 OV2008 及 C13K 经不同浓度甲基化抑制剂 5-氮 杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-dc)干预 48 h, CCK-8 法检测 5-Aza-dc 对两株细胞增殖的影响; Hoechst 33258 染色检测细胞凋亡 形态学改变;甲基化特异性 PCR (MSP)、qRT-PCR 及 Western blot 法分别检测药物作用前后两株细胞株中 ADH1B 甲 基化状态、ADH1B 在 mRNA 及蛋白水平表达。结果 生物 信息学分析及 qRT-PCR 结果均显示卵巢癌中 ADH1B 表达 量明显均低于正常卵巢组织;中、高浓度 5-Aza-dc 作用 48 h 后,两株细胞增殖受到抑制(P<0.01);高浓度 5-Aza-dc 作 用后,两株细胞均出现典型细胞凋亡形态学改变;ADH1B在 两株细胞中均呈完全甲基化,高浓度 5-Aza-dc 处理后, ADH1B 甲基化被部分逆转,两株细胞 ADH1B mRNA 和蛋白 表达均增加(P < 0.01)。结论 5-Aza-dc 可下调卵巢癌细 胞中 ADH1B 启动子区甲基化水平,使 ADH1B 基因重新表 达,从而抑制卵巢癌细胞增殖与促进细胞凋亡。

关键词 乙醇脱氢酶 1B;甲基化;5-氮杂-2'-脱氧胞苷;卵巢 癌

2022 - 04 - 08 接收
基金项目:国家自然科学青年基金(编号:81603138);安徽省高校优
秀拔尖人才培育项目(编号:gxgwfx2019006);安徽高校自
然科学基金重大项目(编号:KJ2019ZD25)
作者单位: 「安徽医科大学附属阜阳医院妇产科,阜阳 236112
2 安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230022
作者简介:季维雪,女,硕士研究生;
肖 兰,女,博士,研究员,副教授,硕士生导师,责任作者,
xiaolan@ ahmu. edu. cn

中图分类号 R 737.31

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2022)08 - 1274 - 05 doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2022.08.018

卵巢癌是女性生殖系统常见三大恶性肿瘤之 一,病死率居首位,化疗耐药是导致卵巢癌疗效不佳 的重要因素之一[1]。越来越多研究[2]显示卵巢癌 发生、发展及耐药与表观遗传学改变密切相关。表 观遗传修饰包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰等,其中 DNA 甲基化异常在卵巢癌耐药形成中起着重要作 用。文献<sup>[3]</sup>报道,通过 DNA 甲基化抑制剂逆转 DNA 甲基化状态,为靶向治疗卵巢癌提供了一个新 的靶点。酒精脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH) 是一种多态性酶,乙醇脱氢酶 1B (alcohol dehydrogenase 1B, ADH1B)也称为 ADH2,目前 ADH1B 与 癌症的联系主要集中在酒精代谢和饮酒行为等方 面<sup>[4]</sup>。新近研究<sup>[5]</sup>表明甲基化下调的 ADH2 与乳 腺癌不良预后相关,人肿瘤细胞中 ADH2 基因亦受 表观遗传机制调控,提示 ADH2 基因有望成为潜在 肿瘤个体化治疗靶点。该研究拟体外观察 5-Aza-dc 对卵巢癌细胞增殖和凋亡的影响,旨在探讨 ADH1B 基因甲基化与卵巢癌发生发展的关系。

#### 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** 细胞株:卵巢癌细胞 C13K 及 OV2008 为本室保存;组织样本选取 2019 年 1 月— 2021 年 5 月就诊于医院妇产科且均经病理学诊断 卵巢癌患者 55 例,FIGO 分期: I ~ Ⅱ期 18 例,Ⅲ~ Ⅳ期 37 例。同期因子宫肌瘤需手术患者 21 例(留

such as SIAH, PSMA, and  $\beta$ -catenin in cancer cells Hela and Hela/KO p62. **Results** The inhibitory rate of the combination of LfcinB 4-9 and DDP on cervical cancer cells was significantly higher than that of DDP alone or LfcinB 4-9 alone (P < 0.05 or P < 0.01). Compared with DDP group, the cloning ability of human ovarian cancer cells was significantly reduced, and apoptosis increased in combined treatment(P < 0.05 or P < 0.01). The qRT-PCR and Western blot assay showed that when DDP combined with LfcinB 4-9, the expression of SIAH and PSMA1 increased, while the expression of  $\beta$ -catenin decreased. **Conclusion** The combined effect of LfcinB4-9 and DDP significantly enhances the sensitivity of cervical cancer cells to DDP, which is achieved *via* the proteasome pathway.

Key words cervical cancer cells; milk-derived hexapeptide; cisplatin; drug resistance; gene expression

取正常卵巢上皮)。卵巢癌组患者的平均年龄 (50.4±9.6)岁,对照组平均年龄(44.6±7.3)岁。 排除自身免疫病及其他系统肿瘤,术前均未接受新 辅助化疗、免疫及靶向治疗,经手术切除的新鲜组织 标本均在30min内。研究对象均签署知情同意书, 并通过医院伦理委员会审查。DNA纯化试剂盒购 自德国 Qiagen 公司;去甲基化制剂 5-Aza-dc购自美 国 Sigma 公司;PRMI Medium 1640培养基、小牛血 清均购自美国 Gibco 公司;ADH1B 兔多克隆抗体购 自英国 Abcam 公司;Hoechst 33258染色液购自上海 碧云天公司;Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;逆 转录试剂盒及 SYBR Green Master Mix 购自日本 TaKaRa 公司;CCK-8 检测试剂盒购自上海碧云天公 司。

### 1.2 方法

**1.2.1** 生物信息学分析 生物信息学分析网站 GEPIA(http://gepia.cancer-pku.cn/)分析 ADH1B 在卵巢癌的表达,数据来源于癌症和肿瘤基因图谱 (cancer genome atlas,TCGA)。

1.2.2 细胞培养及干预分组 C13K 和 OV2008 细胞于含 15% 小牛血清 1640 培养液,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。当细胞融合度达(70~80)%时, 0.25%胰蛋白酶消化传代,取对数生长期细胞进行 实验。5-Aza-dc 设低、中及高 3 个浓度组,分别为 0.5、2.5 及 10 μmol/L,分别干预 48 h。

**1.2.3** 去甲基化药物对卵巢癌细胞毒性作用 各 组细胞按1×10<sup>4</sup> 细胞/孔浓度种至96 孔板,继续培 养 24 h。细胞增殖: 5-Aza-dc (0.5、2.5 及 10 μmol/L)干预48 h,加 10 μl CCK-8 溶液,继续培养 4 h,450 nm 波长处各孔吸光度值。实验均重复 3 次,取平均值。

1.2.4 Hoechst33258 染色法观察细胞形态变化 两株细胞以 2 × 10<sup>5</sup> 细胞/孔浓度接种于 6 孔培养 板,细胞贴壁后加高浓度 5-Aza-dc(10 μmol/L)继续 培养 48 h, PBS 洗涤细胞 2 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗涤细胞 2 次, Hoechst 33258(5 mg/L)在 室温下染色 10 min 后弃去染色液, PBS 洗 2 遍, 荧 光显微镜下观察, 拍照。正常细胞核 Hoechst 着色 形态呈圆形, 淡蓝色; 凋亡细胞核浓集固缩而呈亮蓝 色。

1.2.5 甲基化特异性 PCR (methylation specific PCR, MSP) 采用 DNA 甲基化修饰试剂盒对基因 组 DNA 进行甲基化修饰,具体操作按试剂盒说明书 进行。PCR 反应条件:95 ℃预变性 12 min;94 ℃变

性 30 s,退火温度 58 ℃,72 ℃延伸 45 s,45 个循环; 72 ℃延伸 10 min。扩增后产物用 2% 琼脂糖凝胶电 泳,凝胶成像系统观察分析。ADH1B MSP 甲基化引 物序列 F:5'-CCAGGGATTAGGAGTGGACC-3', R: 5'-GGAGGGGAAGAGCAGTTGTC-3'; 未甲基化引物 序列,UF:5'-CAGTGTGGAAAATGCAGAG-3';UR: 5'-GTGACCTTGGCAACGTTA-3'。MSP 结果判定:仅 扩增出甲基化条带者为完全甲基化;同时出现甲基 化条带和非甲基化条带者为部分甲基化;仅出现非 甲基化条带者为未甲基化。

**1.2.6** qRT-PCR 检测 ADH1BmRNA 水平 收集组 织标本及 5-Aza-dc(0.5、10  $\mu$ mol/L)作用两组细胞, 将组织样本置液氮中研磨成匀浆, TRIzol 法提取组 织和细胞 RNA,反转录合成 cDNA。PCR 引物序列, ADH1B, F: 5'-GTGGCACAAGCGTCATCGTAGG-3', R: 5'-TTCCAGGTGCGTCCAGTCAGTAG-3'; β-actin, F: 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3', R: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算 各 组细胞中 ADH1B 基因 mRNA 相对表达量,实验重 复 3 次。

**1.2.7** 免疫印迹检测 ADH1B 蛋白水乎 30 μg 蛋 白质样品行 SDS-PAGE 电泳,湿转至硝酸纤维膜上; 5% BSA 室温封闭 2 h,0.05% Tween20 的 TBS 缓冲液(TBST)漂洗,10 min × 3 次;加入 ADH1B(1:1 000)一抗,b-actin —抗(1:5 000),4 ℃过夜,1× TBST 漂洗 3 遍,对应辣根过氧化物酶标记二抗(1:5 000),37 ℃摇床温育 2 h,ECL 显色曝光,采 集照片。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 统计软件,实验 结果数据均采用 x ± s 表示,组间比较采用配对资料 t 检验和单因素方差分析。以 P < 0.05 为差异有统 计学意义。

# 2 结果

2.1 ADH1B 在卵巢癌中表达被抑制 为明确 ADH1B 在 OC 中表达情况,根据 TCGA 数据中 ADH1B 在 426 例 OC 患者样本和 88 例正常样本表 达的差异结果显示,ADH1B 在肿瘤样本中比正常样 本低,差异有统计学意义(P<0.05),见图 1。

**2.2 组织及两株细胞中 ADH1B 基因表达** qRT-PCR 证实,正常卵巢上皮组织中 ADH1B 表达水平 为(6.72±1.41),高于卵巢癌组织(1.15±0.67), 差异有统计学意义(*t* = -5.742,*P* < 0.01);OV2008 细胞 ADH1B 基因表达为 C13K 细胞 5.82 倍,差异 有统计学意义(t = -7.313, P < 0.01)。



图 1 ADH1B 在卵巢癌及正常卵巢上皮组织中相对表达量 与正常卵巢上皮组织比较:\*P<0.05

**2.3 5-Aza-dc 对细胞存活率比较** 低浓度 5-Aza-dc(0.5 μmol/L)对两株卵巢癌细胞生长无明显抑制作用(*P*>0.05);中浓度 5-Aza-dc(2.5 μmol/L) 对两株卵巢癌细胞生长有一定抑制作用(*t*=9.234, *P*<0.01;*t*=15.416,*P*<0.01),当 5-Aza-dc 增至高浓 度 10μmol/L 时,两株细胞生长抑制差异显著(*F*= 40.082,*P*<0.001;*F*=80.384,*P*<0.001)(表1)。

表1 各组细胞存活率比较 $(n=3, x \pm s, \%)$ 

分组	细胞存活率
OV2008 对照	97.12 ± 1.22
$\mathrm{OV2008} + 5 \text{-} \mathrm{Aza}\text{-} \mathrm{dc}(0.5 \ \mu \mathrm{mol/L})$	$96.24 \pm 0.98$
$OV2008 + 5\text{-Aza-dc}(2.5 \ \mu\text{mol/L})$	79.06 ± 1.84 *
$OV2008 + 5$ -Aza-dc $(10 \mu mol/L)$	60.85 ±1.79 *
C13K 对照	$98.40 \pm 0.87$
$C13K + 5$ -Aza-dc $(0.5 \mu mol/L)$	$95.50 \pm 2.16$
$C13K + 5$ -Aza-dc(2.5 $\mu$ mol/L)	$72.52 \pm 1.61^{\#}$
$C13K + 5$ -Aza-dc(10 $\mu$ mol/L)	$50.39 \pm 2.35^{\#}$

与 OV2008 对照组比较: \* *P* < 0.05, \* \* *P* < 0.01; 与 C13K 对照 组比较: \**P* < 0.05, # *P* < 0.01

2.4 细胞凋亡形态学的变化 荧光显微镜下,经高 浓度 5-Aza-dc(10 μmol/L)作用 48 h 后,OV2008 及 C13K 细胞均出现典型细胞凋亡形态学改变,表现 为核染色质浓缩、碎裂,而未加药两株对照细胞核均 呈均匀蓝色荧光,见图 2。



A:OV2008;B:OV2008+5-Aza-dc(10 μmol/L);C:C13K;D: C13K+5-Aza-dc(10 μmol/L);白色箭头指示典型细胞凋亡的细胞核 浓集固缩,核呈亮蓝色

2.5 5-Aza-dC 对 ADH1B 启动子甲基化影响 结 果显示: ADH1B 基因启动子区在 OV2008 及 SKOV3 细胞株中呈完全甲基化; 高浓度 5-Aza-dC (10 μmol/L)处理 48 h 后, 可见 ADH1B 基因启动子区 出现 U 带, M 带未完全消失, 提示 ADH1B 启动子区 甲基化被部分逆转, 见图 3。



图 3 5-Aza-dC 处理前后两株细胞 ADH1B 基因启动子甲基化

1:OV2008 对照组;2:5-Aza-dC 作用 OV2008 (48 h);3:C13K 对 照组;4:5-Aza-dC 作用 C13K (48 h);U:非甲基化;M:甲基化

## 2.6 5-Aza-dC 对 ADH1B mRNA 表达影响

OV2008 细胞中 ADH1B mRNA 表达高于 C13K 细胞;5-Aza-dC(0.5、10 μmol/L)作用 48 h 后,OV2008 及 C13K 细胞 ADH1B mRNA 均有所升高,尤以高浓度 5-Aza-dC(10 μmol/L)处理后 OV2008 及 C13K 细胞 ADH1B mRNA 升高差异显著(F=8.093, P < 0.01; F=21.928, P < 0.01),图4。





2.7 免疫印迹检测 ADH1B 蛋白水平 结果显示, 无 5-Aza-dC 作用,OV2008 及 C13K 细胞中 ADH1B 蛋白呈较低表达状态,且 C13K 中表达较之 OV2008 更低;低浓度 5-Aza-dC (0.5 μmol/L)未引起 OV2008 及 C13K 细胞中 ADH1B 蛋白改变,而高浓 度 5-Aza-dC (10 μmol/L)使 OV2008 及 C13K 细胞 中 ADH1B 蛋白均表达增加,见图 5A。ADH1B/bactin 对蛋白图像扫描半定量统计结果表明,低浓度 5-Aza-dC (0.5 μmol/L)处理后,两株细胞 ADH1B 蛋 白表达无明显改变 (*P* > 0.05);高浓度 5-Aza-dC (10 μmol/L)处理使 ADH1B 蛋白表达较两株对照 组及低浓度组升高,差异有显著性(*F* = 12.059,*P* < 0.01;*F* = 30.384,*P* < 0.01),见图 5B。



图 5 各组细胞 ADH1B 蛋白表达

A:OV2008 细胞在不同分组中 ADH1B 蛋白表达;B:C13K 细胞 在不同分组中 ADH1B 蛋白表达;C:各组细胞 ADH1B 蛋白相对表达 比较;1:对照组;2:5-Aza-dc(0.5 μmol/L)组;3:5-Aza-dc(10 μmol/L)组;与 OV2008 对照组比较:\*\*P<0.01;与 C13K 对照组比 较:<sup>#</sup>P<0.01

#### 3 讨论

ADH1B 基因编码 I 类 ADH 的 β 亚基,定位于 染色体 4q23。Gharpure et al<sup>[6]</sup>发现 ADH1B 异常表 达使卵巢癌细胞分泌金属基质蛋白酶 7、白细胞分 化抗原 26 和组织蛋白酶从而促进肿瘤进展。 ADH1B 在鼻咽癌细胞中表达下调,鼻咽癌细胞过表 达 ADH1B 后可抑制鼻咽癌细胞的增殖和迁移能 力,逆转细胞的恶性程度<sup>[7]</sup>。另有研究<sup>[8]</sup>指出 ADH1B 可能为卵巢癌细胞化疗耐药的候选基因之 一。本研究 qRT-PCR 结果及卵巢癌 TCGA 数据分 析均提示 ADH1B 在 OC 患者样本中低表达,据此课 题组推测 ADH1B 基因可能作为抑癌基因参与了卵 巢癌的发生发展,但其具体调控机制目前尚未明确, 有必要进行深入探讨。

肿瘤细胞 DNA 异常甲基化是一种常见表观遗 传学改变,这种异常修饰可抑制基因转录,使抑癌基 因丧失功能<sup>[9-10]</sup>。基因启动子区 DNA 甲基化是导 致基因失活的重要原因之一,而基因启动子甲基化 的潜在可逆性为新型抗癌药物的开发提供了机会, 这些药物可重新激活沉默的肿瘤抑制基因[11]。以 5-Aza-dc为代表的类核苷甲基转移酶抑制剂,通过 与 DNA 甲基转移酶共价结合抑制其活性,降低基因 甲基化水平,已广泛应用于逆转肿瘤细胞的异常甲 基化,诱导因甲基化而沉默的抑癌基因重新表达,抑 制肿瘤细胞生长,从而达到杀伤肿瘤细胞的效 应<sup>[12-13]</sup>。为探讨 ADH1B 基因甲基化与卵巢癌发 生发展的关系,本研究将 5-Aza-dC 作用于两株卵巢 癌细胞株,通过 CCK-8 法检测 5-Aza-dc 对人卵巢癌 细胞生长的影响,结果表明,5-Aza-dc对两株卵巢癌 细胞增殖均有抑制作用,且该作用与 5-Aza-dc 浓度 呈正相关;同时,Hoechst 33258 荧光染色结果显示, 高浓度 5-Aza-dc 处理后, 细胞核染色质浓缩或碎 裂,出现典型细胞凋亡形态,表明 5-Aza-dc 诱导卵 巢癌细胞发生凋亡;RT-PCR 结果显示,ADH1B mR-NA 表达与启动子区甲基化程度密切相关,在完全 甲基化两株卵巢癌细胞中, ADH1B mRNA 表达较 低,而 5-Aza-dC 作用 48 h 后,两株细胞 ADH1B 甲 基化均被部分逆转, ADH1B 在 mRNA 和蛋白水平 表达均显著提高,该结果提示 5-Aza-dC 可能通过沉 默 DNA 甲基转移酶而降低抑癌基因 ADH1B 启动 子区域的甲基化水平诱导其重新表达。

综上所述, ADH1B 基因甲基化在 OC 发生发展 中发挥重要作用, 5-Aza-dc 可部分逆转卵巢癌细胞 启动子区 ADH1B 甲基化, 诱导 ADH1B 基因重新表 达, 抑制肿瘤生长, 促进细胞凋亡, 从而发挥抗肿瘤 效应。本研究也为将 5-Aza-dc 应用于卵巢癌临床 治疗提供一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] Fang F, Cardenas H, Huang H, et al. Genomic and epigenomic signatures in ovarian cancer associated with resensitization to platinum drugs[J]. Cancer Res, 2018,78(3):631-44.
- [2] Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression; how the genome integrates intrinsic and environmental signals[J]. Nat Genet, 2003,33 Suppl;245 – 54.
- [3] Gong G, Lin T, Yuan Y. Integrated analysis of gene expression

and DNA methylation profiles in ovarian cancer [J]. J Ovarian Res, 2020,13(1):30.

- Polimanti R, Gelernter J. ADH1B : From alcoholism, natural selection, and cancer to the human phenome[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2018,177(2):113 - 25.
- [5] Wu J, Chen J, Zhang Y, et al. ADH2 is downregulated by methylation and acts as a novel biomarker for breast carcinoma prognosis
   [J]. Ann Clin Lab Sci, 2021,51(1):12-21.
- [6] Gharpure K M, Lara O D, Wen Y, et al. ADH1B promotes mesothelial clearance and ovarian cancer infiltration [J]. Oncotarget, 2018,9(38):25115-26.
- [7] 吴梦鸽,张 睿,刘芮吟,等. ADH1B 对鼻咽癌细胞的增殖
  及迁移能力的影响[J]. 肿瘤预防与治疗,2019,32(6):480-5.
- [8] Liu X, Gao Y, Zhao B, et al. Discovery of microarray-identified genes associated with ovarian cancer progression [J]. Int J Oncol,

2015,46(6):2467-78.

- [9] Ebrahimi V, Soleimanian A, Ebrahimi T, et al. Epigenetic modifications in gastric cancer: Focus on DNA methylation[J]. Gene, 2020,742:144577.
- [10] Kelly A D, Issa J J, Kelly A D, et al. The promise of epigenetic therapy: reprogramming the cancer epigenome andrew d kelly and jean-pierre j issa[J]. Curr Opin Genet Dev, 2017,42: 68 – 77.
- [11] Zhou Z, Li H Q, Liu F. DNA methyltransferase inhibitors and their therapeutic potential [J]. Curr Top Med Chem, 2018, 18 (28): 2448-57.
- [12] Moro H, Hattori N, Nakamura Y, et al. Epigenetic priming sensitizes gastric cancer cells to irinotecan and cisplatin by restoring multiple pathways[J]. Gastric Cancer, 2020,23(1):105-15.
- [13] Zhang S, Wei L, Zhang A, et al. RUNX3 gene methylation in epithelial ovarian cancer tissues and ovarian cancer cell lines [J]. OMICS, 2009,13(4):307-11.

# Methylationof alcohol dehydrogenase 1B gene and its effects on cell proliferation and cell apoptosis of ovarian carcinoma cells

Ji Weixue<sup>1,2</sup>, Sun Lei<sup>2</sup>, Jiang Yu<sup>2</sup>, Chen Ying<sup>2</sup>, Li Zelian<sup>2</sup>, Li Min<sup>2</sup>, Xiao Lan<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Obstetrics and Gynecology, Fuyang Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236112;

<sup>2</sup>Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract** *Objective* To investigate the effects of methylation expression of ADH1B gene on cell proliferation and cell apoptosis in ovarian cancer (OC) cells. *Methods* Bioinformatics analysis was performed to compare the relative expression of ADH1B in OC and normal tissue. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the ADH1B mRNA expression in the OC tissues or cells, ovary normal epithelium tissues or cells. Treated with different concentrations of 5-Aza-dc for 48h, cell viability was determined by CCK-8 method. Cell apoptosis morphology was detected by Hoechst 33258 staining. The changes of promoter methylation of ADH1B, the level of ADH1B in the mRNA and protein expressions were measured by using methylation specific PCR (MSP), qRT-PCR and Western blot, respectively. *Results* Bioinformatics analysis and qRT-PCR showed that ADH1B expression in OC was lower than that in normal tissue. After treatment with medium and high concentration of 5-Aza-dc, the cell proliferation was inhibited in two cells (P < 0.01). After treatment with high concentration of 5-Aza-dc, marked morphological changes of apoptosis was observed in two cells. ADH1B was completely methylated in two cells. ADH1B was partially reversed by high concentration of 5-Aza-dC, and ADH1B mRNA and protein expression both increased by 5-Aza-dC in two cells (P < 0.01). *Conclusion* 5-Aza-dC can down-regulate the methylation level of tumor suppressor gene ADH1B promoter region and make it re-express in ovarian cancer cells, thus exert its function of enhancing the inhibitory effect and apoptosis of ovarian cancer cells.

Key words alcohol dehydrogenase 1B; methylation; 5-aza2'-deoxycytidine; ovarian cancer