

# B7-H3分子通过SIRT1/p53信号途径抑制非小细胞肺癌细胞凋亡

郑霖<sup>1</sup>,钟剑鑫<sup>2</sup>,牛可<sup>1</sup>,徐晴<sup>1</sup>,凌惠娟<sup>1</sup>,朱亚玉<sup>1</sup>,陈兵<sup>1,3</sup>,陈礼文<sup>1,4</sup>

(安徽医科大学第二附属医院<sup>1</sup>临床检验诊断学教研室、<sup>3</sup>检验科、<sup>4</sup>输血科,合肥 230601;

<sup>2</sup>安徽医科大学第二临床医学院,合肥 230032)

**摘要** 目的 探究组蛋白脱乙酰酶 Sirtuin-1(SIRT1)/p53 信号途径在协同信号分子 B7 同源药物(B7-H3)抑制非小细胞肺癌(NSCLC)细胞凋亡中的作用。方法 GEPPIA 2 平台进行基于 B7-H3 基因表达水平的 NSCLC 患者的生存分析;基因集富集分析(GSEA)用于分析细胞凋亡基因集合中 B7-H3 分子的富集特征;在 NSCLC 的 A549 细胞系中敲减 B7-H3,通过 Western blot 检测 SIRT1 和 p53 的蛋白表达水平;在 A549 细胞中过表达 B7-H3,通过 Annexin V/PI 双染后流式细胞术分析细胞凋亡率;A549 细胞过表达 B7-H3 并敲减 SIRT1,通过 Western blot 分别检测 p53 及凋亡相关蛋白 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)和 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的表达水平,Annexin V/PI 双染后流式细胞术分析细胞凋亡率。结果 B7-H3 高表达组的总体生存期低于低表达组( $P<0.01$ );B7-H3 显著富集在细胞凋亡信号通路及 p53 信号通路( $P<0.05$ );与对照组相比,B7-H3 敲减组的 SIRT1 蛋白表达下调,p53 上调(均  $P<0.001$ );而过表达 B7-H3 上调 SIRT1 蛋白表达( $P<0.05$ ),下调 p53 表达( $P<0.01$ ),凋亡通路相关蛋白 Bcl-2 与 Bax 的比值升高( $P<0.001$ );Annexin V/PI 双染法结果显示过表达 B7-H3( $13.87\% \pm 0.82\%$ )的 A549 细胞凋亡率较对照组( $26.72\% \pm 4.13\%$ )下降( $P<0.01$ );在过表达 B7-H3 细胞系中,敲减 SIRT1 逆转细胞凋亡( $P<0.05$ ),p53 蛋白表达上调( $P<0.001$ ),Bcl-2/Bax 的比值降低( $P<0.001$ )。结论 B7-H3 分子通过 SIRT1/p53 信号途径抑制 NSCLC 细胞凋亡。

**关键词** 非小细胞肺癌;细胞凋亡;协同信号分子;B7-H3;SIRT1;p53

**中图分类号** R 734

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2026)02-0232-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.02.007

2025-12-09 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82404970);安徽省高校自然科学研究重点项目(编号:2023AH053170);安徽省临床医学研究转化项目(编号:202304295107020019)

作者简介:郑霖,女,硕士研究生;  
陈礼文,男,教授,主任技师,博士生导师,通信作者,E-mail:chenliwen@ahmu.edu.cn

在全球范围内,肺癌是最常见的癌症之一,也是癌症相关死亡的主要原因。2022年,全球新增肺癌病例接近 250 万,占所有癌症新发病例的 12.4%;肺癌死亡病例约有 180 万人,占所有癌症死亡病例的 18.7%<sup>[1]</sup>。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)为肺癌中最主要的类型,约占肺癌的 85%<sup>[2]</sup>。B7 同源物 3(B7 homolog 3, B7-H3)是协同

decreased ( $P_{TuKey}<0.05$ )。Compared with the arsenic group, the body weight and crown-rump length of fetus increased in the arsenic+ $\alpha$ -KG group ( $P_{TuKey}<0.05$ ); the level of hepatic TGs decreased in the arsenic+ $\alpha$ -KG group ( $P_{TuKey}<0.05$ ); oil red O staining showed lipid droplets significantly decreased ( $P_{TuKey}<0.01$ ); the expression of lipid synthesis-related genes were downregulated ( $P_{TuKey}<0.05$ ), the expression of  $\beta$ -oxidation-related genes and lipid degradation-related genes were upregulated ( $P_{TuKey}<0.05$ ); the expression levels of PI3K and AKT increased ( $P_{TuKey}<0.05$ ). **Conclusion**  $\alpha$ -KG alleviated hepatic lipid deposition in offspring exposed to arsenic during pregnancy through activating PI3K/AKT signaling pathway.

**Key words**  $\alpha$ -ketoglutarate; arsenic; lipid metabolism; PI3K/AKT; liver lipid deposition; gestational exposure; offspring

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82173565), Project for Cultivation of Young and Middle-aged Teachers in Universities of Anhui Province (No. DTR2023012), Open Project (for Undergraduates) of Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle (AHMU), MOE (No. JKBK20249).

**Corresponding author** Zhang Cheng, Email: zhangchengdev@126.com

信号分子B7蛋白家族的一员,在多种类型的癌症中均高表达,且与不良的临床预后相关。沉默信息调节因子1(sirtuin-1,SIRT1)是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide,NAD<sup>+</sup>)依赖的Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶,它在多种细胞功能中发挥重要作用,参与细胞周期、DNA损伤反应、代谢、凋亡和自噬等过程<sup>[3]</sup>。已有研究<sup>[4]</sup>表明SIRT1通过去乙酰化负向调控肿瘤抑制因子p53,p53与细胞凋亡的多个途径密切相关,可使促凋亡蛋白Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein,Bax)、p53上调的凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis,PUMA)、Bcl-2拮抗/杀伤蛋白(Bcl-2 antagonist/killer,Bak)等高表达,抗凋亡蛋白B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2,Bcl-2)、B细胞淋巴瘤—超大(B-cell lymphoma-extra large,Bcl-xL)低表达<sup>[5-6]</sup>,从而促进肿瘤的发生发展。本课题组前期研究<sup>[7-8]</sup>表明,B7-H3可通过磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(Phosphatidylinositol 3 - Kinase/Protein Kinase B signaling pathway,PI3K/AKT)信号通路调SIRT1。然而,B7-H3是否通过SIRT1/p53信号通路抑制NSCLC细胞凋亡目前尚未阐明。本研究拟通过探讨SIRT1/p53信号通路在B7-H3分子抑制NSCLC细胞凋亡中的作用,为NSCLC的治疗提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

NSCLC细胞株A549细胞(上海富恒生物技术有限公司);RPMI1640培养基(上海源培生物科技股份有限公司,货号:L210KJ)、胎牛血清(美国Gibco公司,货号:16140089);0.25%胰酶消化液、RIPA裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C0201、P0013B、P0012);细胞凋亡试剂盒(上海贝博生物有限公司,货号:BB-4101);B7-H3抗体、p53抗体(英国Abcam公司,货号:ab227670、ab75754);SIRT1抗体、Bcl-2抗体(美国Cell Signaling Technology公司,货号:9475T、3498S);Bax抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:60267-1-Ig);β-actin抗体、山羊抗兔(H+L)HRP、山羊抗小鼠(H+L)HRP(美国Affinity公司,货号:BF0198、S0001、GAMHRP-015);Jet Prime转染试剂(美国Thermo Fisher公司,货号:101000046);过表达B7-H3质粒(上海吉玛制药技术有限公司;CCDS 32288.1,1 605 bp)、敲减SIRT1质粒(上海吉玛制药技术有限公司;siSIRT1:正义链5'-

-GCCGGAAUCCAAAGGAUATT-3',反义链5'-UUAUCCUUUGGAUCCCCGCTT-3');敲减B7-H3质粒(上海生工生物工程技术服务有限公司;siB7-H3:正义链5'-CUGAAACACUCUGACAGCAGCAAAU-3',反义链5'-UUUGCUGUCAGAGUGUUUCAGTT-3')。

### 1.2 实验仪器

细胞培养箱(上海力康生物医疗科技有限公司,型号:HF90/HF240);Western blot显影仪(上海天能科技有限公司,型号:JS-1070P EV);流式细胞仪(美国贝克曼库尔特有限公司,型号:C07821);

## 1.3 方法

### 1.3.1 生物信息学分析

GEPIA 2平台是一个基于网络的交互式分析工具,提供了基于TCGA和GTEx数据库中肿瘤和正常样本的基因表达分析。本研究通过GEPIA 2平台,对NSCLC患者进行了基于B7-H3基因表达水平的生存分析。基因集富集分析(gene set enrichment analysis,GSEA)分析是一种基因集富集分析算法,用于评估一组预先定义的基因在按表型排序的基因列表中的分布情况,以判断这些基因对表型的影响程度。本研究通过GSEA分析,分析出与B7-H3相关的信号通路的基因合集,从而确定与其相关的信号通路。

### 1.3.2 细胞培养

将NSCLC细胞株A549细胞传代至第3代,培养于10%的胎牛血清、1%青-链霉素的RPMI1640培养基中,置于5%CO<sub>2</sub>、37℃、100%饱和湿度的培养箱中进行培养,观察细胞形态、培养基颜色及细胞融合度,适时进行换液及传代。

### 1.3.3 细胞分组和转染

将A549细胞以1×10<sup>6</sup>个/孔的密度均匀接种至6孔板中,待细胞融合度至70%~80%时,使用Jet Prime转染试剂,按照其说明书进行转染。阴性对照(negative control,NC)组(加入空载质粒2.5 μg/孔)、敲减B7-H3组(si-B7-H3组,加入敲减B7-H3的si RNA 2.5 μg/孔)。阴性对照(negative control,NC)组(加入空载质粒2.5 μg/孔)、过表达B7-H3(OE-B7-H3组,加入过表达B7-H3质粒2.5 μg/孔)、过表达B7-H3+敲减SIRT1(OE-B7-H3+si-SIRT1组,加入过表达B7-H3质粒2.5 μg/孔,敲减SIRT1的siRNA 2.5 μg/孔),每组按照说明书各再加入4 μL Jet Prime脂质体转染试剂和200 μL Jet Prime转染缓冲液,混合后静置10 min后加入相应处理孔中。

### 1.3.4 流式细胞术检测细胞凋亡

将6孔板内细

胞上清液收集到5 mL EP管中,6孔板每孔加入500  $\mu\text{L}$  胰酶,放入37 °C培养箱消化1~2 min,加入1 mL细胞培养基终止消化,轻轻吹打至细胞完全脱落,将细胞悬液加入5 mL EP管中,放置离心机以1 000 r/min离心5 min,再用预冷PBS洗涤2次,并将细胞转至流式管中,每管约 $1\times10^6$ 个细胞。随后用400  $\mu\text{L}$  Annexin V结合液重悬细胞,每管加入5  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC染液轻轻混匀后放置4 °C冰箱避光孵育15 min,再加入5  $\mu\text{L}$  PI染液轻轻混匀,放至4 °C冰箱内避光孵育5 min。最后上机检测。

**1.3.5 Western blot实验** 将各组细胞以 $1\times10^6$ 个/孔的密度均匀接种至6孔板中,待融合度达90%时,收集上清细胞,并用细胞刮刀收集贴壁细胞,用PBS洗涤3次后转移至1.5 mL EP管中,分别加入含有RIPA强裂解液和PMSF的混合液(RIPA:PMSF=100:1)将细胞重悬,放至4 °C冰箱充分裂解细胞30 min左右,直至无明显细胞沉淀。然后4 °C、14 000 r/min离心30 min。吸取上清液,用BCA试剂盒测定蛋白浓度。根据BCA结果加入相应的体积的5×蛋白上样缓冲液(蛋白上清液:5×蛋白上样缓冲液=4:1),振荡混匀后在100 °C的水浴锅中煮沸10 min,使蛋白完全变性。将煮过的蛋白放置在冰盒中快速冷却,并放置在-80 °C冰箱中保存。进行SDS-PAGE凝胶电泳,每孔上样5  $\mu\text{L}$ 蛋白样品,电泳结束后将蛋白转移至PVDF膜,将条带放入快速封闭液,室温封闭30 min,TBST清洗条带3次,每次10 min。一抗按照其说明书进行稀释(B7-H3抗体1:500,p53抗体1:1 000,SIRT1抗体1:1 000,Bcl-2抗体1:1 000,Bax抗体1:1 000, $\beta$ -actin抗体1:5 000)。一抗孵育

条带置于4 °C冰箱过夜。用TBS清洗条带3次,每次10 min,室温孵育二抗[山羊抗兔(H+L)HRP 1:3 000,山羊抗小鼠(H+L)HRP(1:3 000)]1.5 h,再次用TBS清洗条带3次,每次10 min,最后滴加显影液进行条带曝光。

**1.4 统计学处理** 使用Flowjo 10.8对流式结果进行分析及制图;ImageJ软件对Western blot实验结果进行量化分析;使用GraphPad Prism 9软件进行数据分析及制图,各组实验重复3次,数据用( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组间比较采用t检验,三组比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 B7-H3与细胞凋亡通路相关性分析** 利用GEPIA 2平台分析B7-H3 mRNA表达水平与NSCLC患者生存预后的关系。共有962例参与分析,以表达水平高于中位数的为高表达组,低于中位数的为低表达组。结果显示B7-H3高表达组的总体生存期(overall survival, OS)低于低表达组( $P<0.01$ ,图1A)。GSEA分析显示,B7-H3表达显著富集在细胞凋亡信号通路上[标准化富集分数(normalized enrichment score, NES)=2.33,  $P<0.05$ ,图1B]及p53相关的信号通路上(NES=2.26,  $P<0.05$ ,图1C)。以上结果表明,B7-H3高表达与NSCLC患者不良预后有关,并且B7-H3与凋亡相关通路和p53信号通路显著相关。

**2.2 敲减B7-H3对SIRT1/p53通路的影响** 为探究B7-H3与SIRT1/p53通路之间的调控关系,通过Western blot实验观察B7-H3敲减后SIRT1、p53的蛋

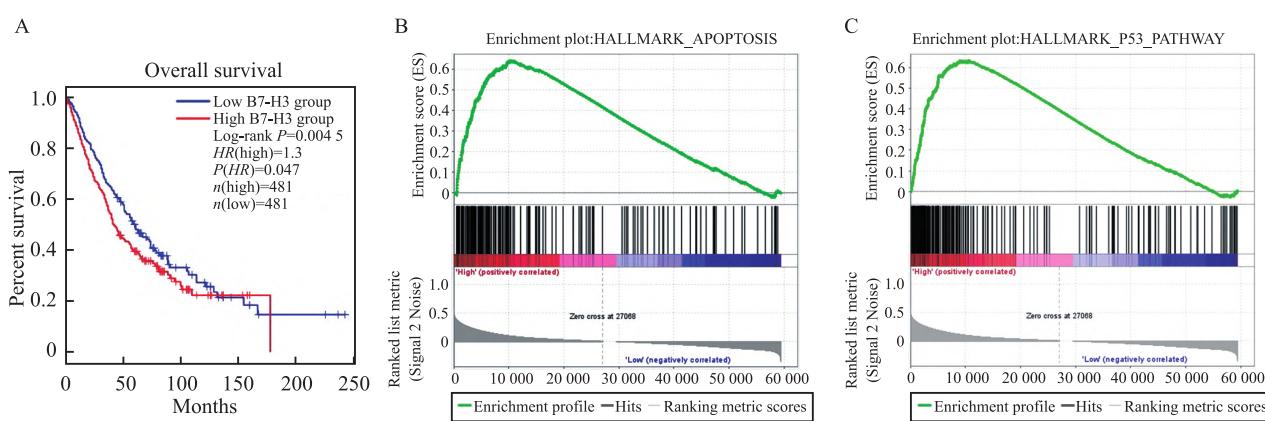


图1 B7-H3表达水平对NSCLC患者生存预后的影响及B7-H3表达相关信号通路的GSEA分析

**Fig. 1 The impact of B7-H3 expression levels on the prognosis of NSCLC patients and GSEA analysis of B7-H3-related signaling pathways**

A: Survival curves of NSCLC patients with high and low expression of B7-H3; B, C: GSEA analysis showed that the apoptosis and p53 signaling pathways were significantly associated with B7-H3.

白表达情况。结果显示,与对照组相比,si-B7-H3组的SIRT1表达显著下调( $t=7.87, P<0.001$ ),p53表达显著上调( $t=10.73, P<0.001$ )(图2),提示B7-H3分子调控NSCLC细胞SIRT1/p53通路。

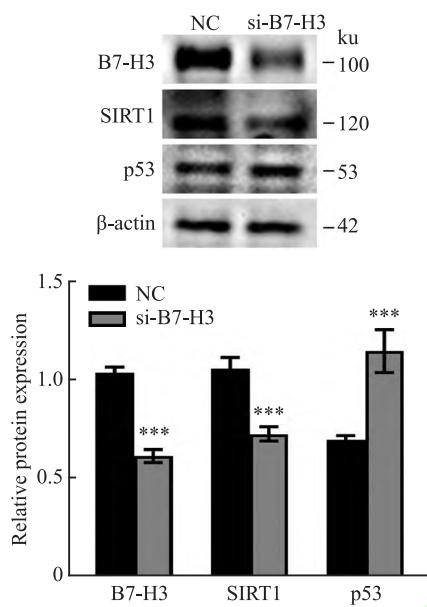


图2 Western blot检测敲减B7-H3的蛋白表达水平及其灰度值统计图

Fig. 2 Western blot detection of B7-H3 protein expression levels and grayscale value statistics after B7-H3 knockdown.

\*\*\* $P<0.001$  vs NC group.

**2.3 过表达B7-H3对NSCLC细胞凋亡的影响**  
为探究B7-H3对NSCLC细胞凋亡的影响,使用Western blot验证过表达B7-H3的效果,组中B7-H3的蛋白表达水平明显高于NC组( $t=13.31, P<0.001$ ,图3A)。使用Annexin V/PI双染法,通过流式细胞术来分析细胞的凋亡率。结果表明,与NC组( $26.72\pm4.13\%$ )相比,OE-B7-H3组( $13.87\pm0.82\%$ )细胞凋亡率下降( $t=5.29, P<0.01$ ),提示B7-

H3抑制细胞凋亡(图3B)。

**2.4 B7-H3通过SIRT1/p53信号通路调控NSCLC细胞凋亡** 通过流式细胞术来分析各组细胞的凋亡率,结果表明与NC组( $27.13\pm3.57\%$ )相比,OE-B7-H3组( $15.04\pm1.31\%$ )细胞凋亡率下降( $t=6.32, P<0.01$ ),但OE-B7-H3+si-SIRT1组( $20.81\pm1.43\%$ )对比OE-B7-H3组细胞凋亡率升高( $t=2.02, P<0.05$ ,图4A)。使用Western blot实验进一步验证(图4B),结果表明与NC组相比,OE-B7-H3组SIRT1蛋白表达上调( $t=3.03, P<0.05$ ),p53的表达下调( $t=3.84, P<0.01$ ),抗凋亡蛋白Bcl-2与促凋亡蛋白Bax比值升高( $t=4.21, P<0.001$ );在过表达B7-H3细胞系中,敲减SIRT1逆转p53表达和凋亡通路相关蛋白Bcl-2与Bax的比值( $t=4.20, 4.47, P<0.001$ )。以上结果说明B7-H3通过SIRT1调控p53表达,并通过SIRT1/p53信号通路抑制NSCLC细胞凋亡。

### 3 讨论

本研究首先利用GEPIA 2平台进行基于B7-H3表达的NSCLC患者生存率的分析,结果显示B7-H3高表达的NSCLC患者生存率显著低于低表达患者,表明B7-H3是NSCLC患者预后不良因素。本课题组前期研究结果<sup>[7-8]</sup>也显示,NSCLC细胞表面B7-H3分子激活胞内PI3K/AKT、JAK2/STAT3和Raf/MEK/ERK1/2等多种信号通路,促进NSCLC细胞的增殖、迁移及抑制凋亡等过程。且B7-H3表达水平与肺腺癌EGFR-TKI靶向治疗继发性耐药存在相关性<sup>[9]</sup>,这些研究结果都提示了B7-H3分子对NSCLC的促癌作用。本研究对细胞信号通路进行GSEA分析发现,B7-H3显著富集在细胞凋亡相关信号通路及p53信号通路上,进一步提示了B7-H3可能通过

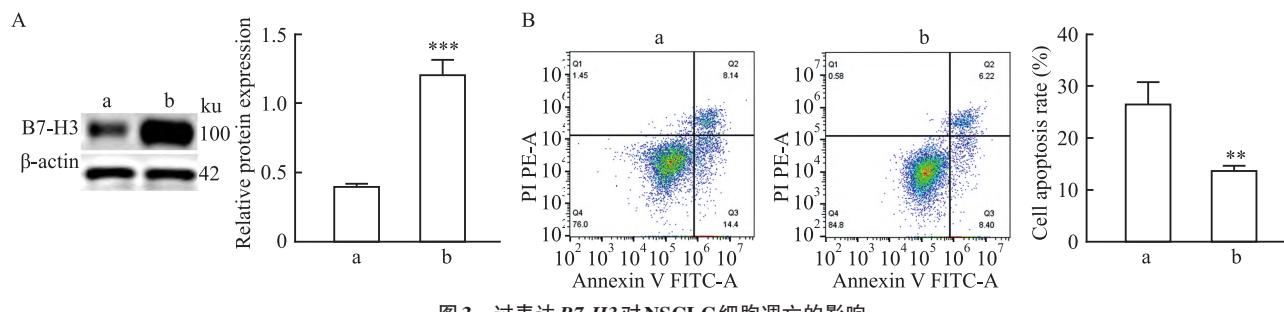


图3 过表达B7-H3对NSCLC细胞凋亡的影响

Fig. 3 The effects of B7-H3 overexpression on the apoptosis of NSCLC cells

A: Western blot detection of protein expression levels and grayscale value statistical analysis of B7-H3 overexpression; B: Flow cytometry detection of cell apoptosis; a: NC group; b: OE-B7-H3 group; \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  vs NC group.

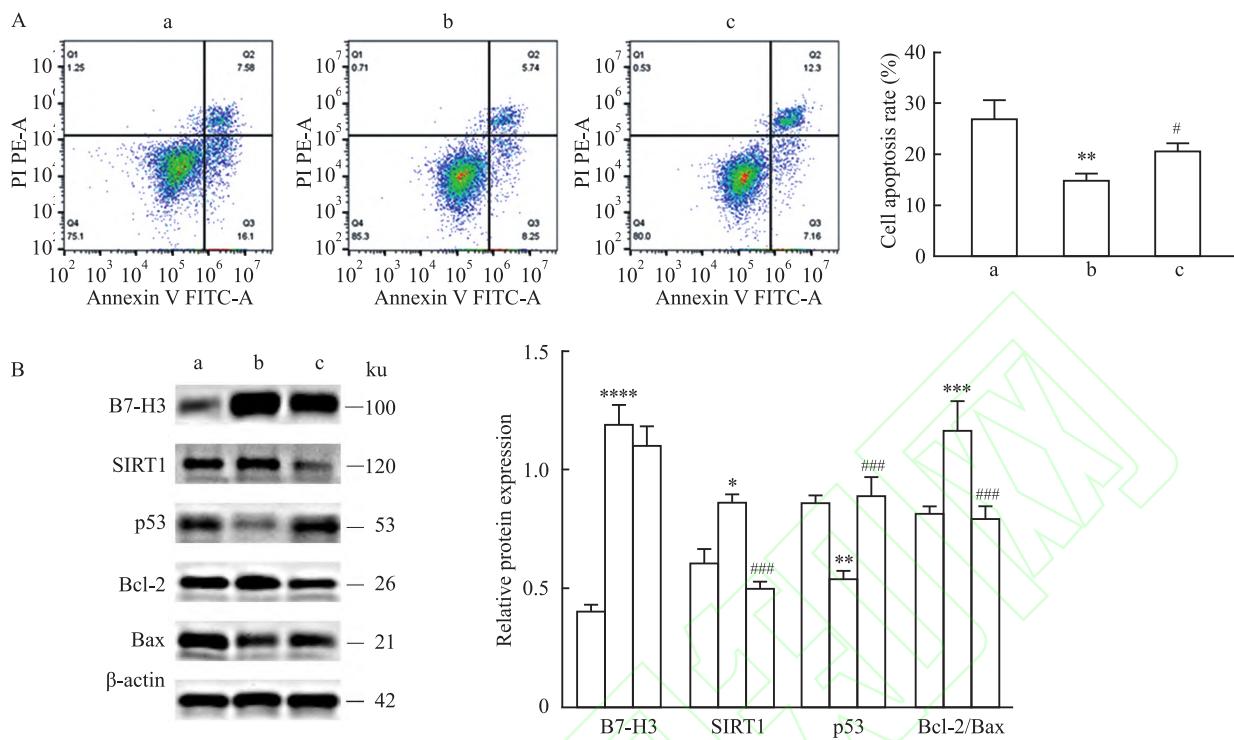


图4 B7-H3通过SIRT1/p53信号通路调控NSCLC细胞凋亡

Fig. 4 B7-H3 regulated the apoptosis of NSCLC cells through the SIRT1/p53 signaling pathway

A: Flow cytometry detection of cell apoptosis; B: Western blot detection of B7-H3, SIRT1, p53, Bcl-2, and Bax expression levels and grayscale value statistical analysis of A549 cells; a: NC group; b: OE-B7-H3 group; c: OE-B7-H3+si-SIRT1 group; \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 1 vs NC group; #P<0.05, ##P<0.001 vs OE-B7-H3 group.

抑制细胞凋亡的途径促进肿瘤存活。Li et al<sup>[10]</sup>发现在胰腺癌细胞上调表达B7-H3分子后表皮生长因子受体(EGFR)和ERK1/2磷酸化水平(p-ERK1/2)进一步增加,Sun et al<sup>[11]</sup>的研究显示B7-H3可以通过与纤连蛋白相互作用抑制胃癌细胞的凋亡,这些机制是否在NSCLC细胞中发挥作用有待进一步探究。

既往研究<sup>[12]</sup>表明,Bcl-2通过阻止促凋亡因子从线粒体释放至细胞质中而抑制凋亡。相反,Bax通过增加线粒体外膜的通透性促进细胞凋亡,Bcl-2与Bax的比值决定了细胞对凋亡信号的敏感度。在本研究中,过表达B7-H3上调Bcl-2并下调Bax水平,导致Bcl-2与Bax的比值升高,最终抑制NSCLC细胞凋亡。有研究<sup>[13-14]</sup>报道在结直肠癌(colorectal cancer,CRC)细胞中,B7-H3的高表达与抗凋亡蛋白Bcl-2、Bcl-xL表达呈正相关,与促凋亡蛋白Bax表达呈负相关,该结果与本研究基本一致。研究已证实过表达B7-H3通过激活JAK2-STAT3信号增强CRC细胞的抗凋亡作用<sup>[14]</sup>,但该机制是否在NSCLC发挥作用有待进一步探究。

本课题组前期研究<sup>[7]</sup>表明,NSCLC细胞中B7-H3可以通过PI3K/AKT通路调控SIRT1。在本研究

中,进一步发现B7-H3调控SIRT1可抑制NSCLC细胞凋亡。SIRT1在多种细胞事件中发挥关键作用,特别是在衰老、癌症和细胞重编程等领域<sup>[15]</sup>。SIRT1还可以激活多种信号通路促进癌症的发生发展,Yamakuchi et al<sup>[16]</sup>发现抑制SIRT1促进结肠癌细胞凋亡的发生。Zhang et al<sup>[17]</sup>发现SIRT1通过STAT3/MMP-13信号通路抑制胃癌的增殖和转移。Wang et al<sup>[18]</sup>的研究中证实SIRT1通过p53/miR-101/KPNA3轴促进结直肠癌的发生发展,SIRT1是否通过此类机制在NSCLC发挥作用有待进一步研究。

在本研究中,在过表达B7-H3的基础上敲减SIRT1后,NSCLC细胞p53蛋白表达增加,细胞凋亡增加,证明了B7-H3可以通过调控SIRT1/p53途径来抑制细胞凋亡。p53是公认的抑癌基因,参与细胞周期阻滞、凋亡和DNA修复等过程<sup>[19]</sup>。在细胞应激和炎症反应中,核内p53蛋白发生乙酰化,可使促凋亡级联反应中基因转录增加<sup>[20]</sup>。SIRT1通过以NAD<sup>+</sup>依赖的方式在C端赖氨酸-382残基上使p53去乙酰化<sup>[4]</sup>,降低p53的转录活性,同时也降低其下游蛋白如p21(细胞周期抑制剂)和p53调节的PUMA(凋亡调节剂)的表达。因此,SIRT1可以抑制p53依

赖性的细胞周期阻滞和凋亡<sup>[20]</sup>。乙酰化的p53在细胞内累积,激活p21、PUMA和Bax等多种基因转录,进而诱导细胞周期阻滞、衰老和凋亡<sup>[21]</sup>。有研究<sup>[22]</sup>报道p53可促进胃癌AGS细胞凋亡。在本研究中B7-H3通过上调SIRT1,使p53去乙酰化失活,最终影响凋亡相关蛋白的表达,Bcl-2/Bax的比值升高,最终抑制NSCLC细胞的凋亡。

综上所述,本研究结果表明,B7-H3分子可以通过激活SIRT1/p53途径进而抑制NSCLC细胞凋亡,研究结果为B7-H3分子的促肿瘤作用机制提供了重要的理论依据,同时也为开发NSCLC靶向药物提供了潜在方向。

## 参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-63. doi: 10.3322/caac.21834.
- [2] Schabath M B, Cote M L. Cancer progress and priorities: Lung cancer[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2019, 28(10): 1563-79. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-0221.
- [3] Rahman S, Islam R. Mammalian Sirt1: insights on its biological functions[J]. Cell Commun Signal, 2011, 9: 11. doi: 10.1186/1478-811X-9-11.
- [4] Vaziri H, Dessain S K, Eaton E N, et al. hSIR2 (SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase[J]. Cell, 2001, 107(2): 149-59. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00527-x.
- [5] Nakano K, Vousden K H. PUMA a novel proapoptotic gene, is induced by p53 [J]. Mol Cell, 2001, 7 (3) : 683-94. doi: 10.1016/s1097-2765(01)00214-3.
- [6] Bouvard V, Zaitchouk T, Vacher M, et al. Tissue and cell-specific expression of the p53-target genes: Bax, fas, mdm2 and Waf1/p21, before and following ionising irradiation in mice [J]. Oncogene, 2000, 19 (5) : 649-60. doi: 10.1038/sj.onc.1203366.
- [7] Liao H, Ding M, Zhou N, et al. B7-H3 promotes the epithelial-mesenchymal transition of NSCLC by targeting SIRT1 through the PI3K/AKT pathway[J]. Mol Med Rep, 2022, 25(3): 79. doi: 10.3892/mmr.2022.12595.
- [8] Ding M, Liao H, Zhou N, et al. B7-H3-induced signaling in lung adenocarcinoma cell lines with divergent epidermal growth factor receptor mutation patterns [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 8824805. doi: 10.1155/2020/8824805.
- [9] 杨英, 丁萌, 唐伟, 等. B7-H3与肺腺癌EGFR-TKI靶向治疗继发性耐药的相关性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(9) : 1490-3, 1498. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.09.028.
- [10] Li D, Wang J, Zhou J, et al. B7-H3 combats apoptosis induced by chemotherapy by delivering signals to pancreatic cancer cells [J]. Oncotarget, 2017, 8 (43) : 74856-68. doi: 10.18632/oncotarget.20421.
- [11] Sun M, Xie J, Zhang D, et al. B7-H3 inhibits apoptosis of gastric cancer cell by interacting with Fibronectin [J]. J Cancer, 2021, 12(24): 7518-26. doi: 10.7150/jca.59263.
- [12] Zhang S, Zhou C, Zhang D, et al. The anti-apoptotic effect on cancer-associated fibroblasts of B7-H3 molecule enhancing the cell invasion and metastasis in renal cancer [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 4119-27. doi: 10.2147/OTT.S201121.
- [13] Liu H, Tekle C, Chen Y W, et al. B7-H3 silencing increases paclitaxel sensitivity by abrogating Jak2/Stat3 phosphorylation [J]. Mol Cancer Ther, 2011, 10 (6) : 960-71. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0072.
- [14] Zhang T, Jiang B, Zou S T, et al. Overexpression of B7-H3 augments anti-apoptosis of colorectal cancer cells by Jak2-STAT3 [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21 (6) : 1804-13. doi: 10.3748/wjg.v21.i6.1804.
- [15] Tanner K G, Landry J, Sternglanz R, et al. Silent information regulator 2 family of NAD-dependent histone/protein deacetylases generates a unique product, 1-O-acetyl-ADP-ribose [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(26) : 14178-82. doi: 10.1073/pnas.250422697.
- [16] Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein C J. miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(36): 13421-6. doi: 10.1073/pnas.0801613105.
- [17] Zhang S, Yang Y, Huang S, et al. SIRT1 inhibits gastric cancer proliferation and metastasis via STAT3/MMP-13 signaling [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (9) : 15395-406. doi: 10.1002/jcp.28186.
- [18] Wang X W, Jiang Y H, Ye W, et al. SIRT1 promotes the progression and chemoresistance of colorectal cancer through the p53/miR-101/KPNA3 axis[J]. Cancer Biol Ther, 2023, 24(1): 2235770. doi: 10.1080/15384047.2023.2235770.
- [19] Bian J, Dannappel M, Wan C, et al. Transcriptional regulation of Wnt/β-catenin pathway in colorectal cancer[J]. Cells, 2020, 9 (9): 2125. doi: 10.3390/cells9092125.
- [20] Ong A L C, Ramasamy T S. Role of Sirtuin1-p53 regulatory axis in aging, cancer and cellular reprogramming [J]. Ageing Res Rev, 2018, 43: 64-80. doi: 10.1016/j.arr.2018.02.004.
- [21] Yamakuchi M, Lowenstein C J. miR-34, SIRT1 and p53: the feedback loop [J]. Cell Cycle, 2009, 8 (5) : 712-5. doi: 10.4161/cc.8.5.7753.
- [22] 欧宏宇, 朱海宏, 朱文君, 等. 抗菌肽LL-37通过激活p53信号通路诱导胃癌AGS细胞凋亡[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56 (4) : 571-6. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.04.013.
- [23] Ou H Y, Zhu H H, Zhu W J, et al. Cathelicidin LL-37 induces

apoptosis of gastric cancer AGS cells by activating p53 signaling pathway [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2021, 56(4): 571-6. doi:

10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.04.013.

## B7-H3 molecule inhibits apoptosis of non-small cell lung cancer cells via the SIRT1/p53 signaling pathway

Zheng Lin<sup>1</sup>, Zhong Jianxin<sup>2</sup>, Niu Ke<sup>1</sup>, Xu Qing<sup>1</sup>, Ling Huijuan<sup>1</sup>, Zhu Yanyu<sup>1</sup>, Chen Bing<sup>1,3</sup>, Chen Liwen<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory Diagnostics, <sup>3</sup>Department of Laboratory Medicine, <sup>4</sup>Department of Blood Transfusion, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

<sup>2</sup>The Second Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To explore the role of the histone deacetylase Sirtuin-1 (SIRT1)/p53 signaling pathway in promoting apoptosis of non-small cell lung cancer cells (NSCLC) induced by the co-stimulatory molecule B7 homolog 3 (B7-H3). **Methods** The GEPIA 2 platform was used for survival analysis of NSCLC patients based on *B7-H3* gene expression levels. The Gene Enrichment Analysis (GSEA) method was used to analyze the enrichment characteristics of *B7-H3* molecules in the gene set of cell apoptosis. In the non-small cell lung cancer A549 cell line, *B7-H3* was knocked down, and the protein expression levels of *SIRT1* and p53 were detected by Western blot. *B7-H3* was overexpressed in A549 cells and the apoptosis rate was analyzed by flow cytometry after Annexin V/PI double staining. Overexpression of *B7-H3* and knockdown of *SIRT1* were performed in A549 cell line. The expression levels of p53 and apoptosis-related proteins B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax) were detected respectively by Western blot. Cell apoptosis rate was analyzed by flow cytometry after Annexin V/PI double staining. **Results** The overall survival of the *B7-H3* high-expression group was significantly lower than that of the low-expression group ( $P<0.01$ ). *B7-H3* was significantly enriched in the cell apoptosis signaling pathway and the p53 signaling pathway ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the expression of *SIRT1* was significantly downregulated, and p53 was significantly upregulated in the *B7-H3* knockdown group (both  $P<0.001$ ). Overexpression of *B7-H3* significantly up-regulated *SIRT1* protein expression ( $P<0.05$ ), down-regulated p53 expression ( $P<0.01$ ), and markedly increased the Bcl-2/Bax ratio of apoptosis-related proteins ( $P<0.001$ ). The results of Annexin V/PI double staining showed that the apoptosis rate of A549 cells with overexpressed *B7-H3* decreased (the apoptosis rate of the control group was  $26.72\% \pm 4.13\%$ , while that of the *B7-H3* overexpression group was  $13.87\% \pm 0.82\%$ ;  $P<0.01$ ). In *B7-H3*-overexpressing cell lines, *SIRT1* knockdown significantly reversed apoptosis ( $P<0.05$ ), up-regulated p53 protein expression ( $P<0.001$ ), and markedly reduced the Bcl-2/Bax ratio ( $P<0.001$ ). **Conclusion** *B7-H3* molecule inhibits the apoptosis of non-small cell lung cancer cells via the *SIRT1/p53* signaling pathway.

**Key words** non-small cell lung cancer; cell apoptosis; co-signalling molecules; B7-H3; SIRT1; p53

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82404970); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH053170); Clinical Medical Research Translational Project of Anhui Province (No. 202304295107020019).

**Corresponding author** Chen Liwen, E-mail: chenliwen@ahmu.edu.cn