

B7-H3 与肺腺癌 EGFR-TKI 靶向治疗继发性耐药的相关性研究

杨 英¹, 丁 萌², 唐 伟¹, 刘欢欢¹, 樊星语¹, 陈礼文¹

摘要 目的 探讨共信号分子 B7-H3 与肺腺癌表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)靶向治疗继发性耐药的相关性。方法 采用免疫组化方法检测 56 例肺腺癌组织 B7-H3 表达,将其分为低表达和高表达两组,比较两组患者 EGFR-TKI 靶向治疗继发性耐药发生比例和发生时间;体外诱导培养吉非替尼耐药的 EGFR 突变肺腺癌细胞株 H3255 和 HCC827,以野生型细胞株作为对照,流式细胞术分析耐药株 B7-H3 表达水平。结果 56 例肺腺癌患者中 B7-H3 低表达 31 例,高表达 25 例;截止该研究观察终止时间,B7-H3 低表达和高表达患者继发性耐药发生例数分别为 12 例(38.7%)和 14 例(56.0%)($P=0.19$, $\chi^2=1.663$),其中位耐药时间分别为 13.2 个月和 5.1 个月($P=0.004$, $t=3.193$);与野生型 H3255 和 HCC827 细胞株比较,耐药株 B7-H3 表达水平进一步增加。结论 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。

关键词 非小细胞肺癌;腺癌;EGFR-TKI;B7-H3;耐药

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)09-1490-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.09.028

肺癌是目前世界上癌症相关性死亡的主要原因之一,其发病率在男性肿瘤中位居第一,在女性肿瘤中位居第二^[1]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占有肺癌的 80%~85%,其中最常见组织学亚型为腺癌^[2]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为原癌基因 c-erbB1 的表达产物,是 NSCLC 的常见驱动因素和治疗靶点之一。对于 EGFR 突变的晚期肺癌患者,中国临床肿瘤协会(CSCO)推荐使用 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKI)作为一线治疗药物^[3]。EGFR 最常见的敏感型突变为外显子 19 位点缺失

(DEL E746-A750)和外显子 21 位点突变(L858R),分别占比所有 EGFR 突变约 50% 和 40%^[4]。与化疗等传统治疗比较,EGFR-TKI 临床获益的患者表现为无疾病进展期(progression-free survival, PFS)延长,客观反应率(objective response rate, ORR)提高,生活质量得到极大改善。但肺癌患者在接受 EGFR-TKI 靶向治疗后不可避免的产生了获得性耐药性,这给肺癌的治疗带来了另一个挑战。

B7-H3(CD276)是 B7 家族的一员,属于 B7-CD28 通路的免疫检查点分子。B7-H3 已被报道在多种恶性肿瘤中高表达,在肺腺癌中的阳性表达率约为 60%,与患者的临床预后成负相关^[5]。课题组前期研究结果显示 B7-H3 对 EGFR-TKI 靶向治疗具有调控作用,B7-H3 基因敲除 H3255 和 HCC827 细胞对吉非替尼敏感性显著增加^[6],但其对 EGFR-TKI 靶向治疗继发性耐药的作用目前尚未见报道。鉴此,该研究将围绕 B7-H3 对 EGFR-TKI 靶向治疗继发性耐药作用进行研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2016 年 9 月—2021 年 5 月在安徽医科大学第二附属医院接受外科切除或穿刺活检且有完整资料记录的肺腺癌患者。患者纳入标准:① EGFR 敏感突变并接受 EGFR-TKI 标准化治疗,直至疾病进展或出现无法忍受的不良反应;② 数据分析时,治疗时间至少为 3 个月。排除标准:① 临床资料统计不全;② 严重心肺疾病。本研究经安徽医科大学第二附属医院医学伦理委员会批准,受试者签署书面知情同意书。

1.2 实验材料 兔抗人单克隆抗体 CD276、 β -actin 购于英国 Abcam 公司;羊抗兔二抗、DAB 显色剂、柠檬酸盐修复液均购于北京中杉金桥生物技术有限公司;肺腺癌细胞系 HCC827 和 H3255 购于上海富衡细胞库;RPMI 1640 培养基购自美国 Gibco 公司;胎牛血清购于美国 Lonsera 公司;吉非替尼购自美国 MCE 公司;蛋白裂解液 RIPA 购于上海碧云天生物技术有限公司;蛋白酶抑制剂 PMSF 购于美国 Sigma 公司。

2022-02-18 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1808085MH229);安徽省科技厅重点研发项目(编号:202004j07020027)

作者单位:¹ 安徽医科大学第二附属医院检验科,合肥 230601

² 南京中医药大学附属南京医院检验科,南京 210023

作者简介:杨 英,女,硕士研究生;

陈礼文,男,副教授,主任技师,硕士生导师,责任作者, E-mail: chenliwen@ahmu.edu.cn

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学法检测 B7-H3 的表达 收集肺腺癌患者的石蜡切片,脱水、脱蜡后将柠檬酸修复液倒入高压锅进行加热修复抗原,3% 过氧化氢阻断 10 min, PBS 冲洗后加入适当稀释(1:100)的一抗(50 μ l), 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min; 滴加已标记的酶标抗鼠/兔聚合物, 室温孵育 15 min 左右后 PBS 冲洗。新鲜配置酶底物显色液 DAB, 显微镜下控制显色, 室温下染色 3~5 min。脱水、透明、封片、显微镜观察拍照。癌细胞 B7-H3 表达强度定义为 0(无)、1(弱)、2(中)、3(强)。本实验评估了 B7-H3 在肿瘤细胞膜和胞浆中的表达, 对每一种 B7-H3 强度下的肿瘤细胞百分比进行评分。根据染色强度和阳性细胞百分比将标本分为低 B7-H3 表达组(1 和 2 均 < 50% 且 3 < 25%) 和高 B7-H3 表达组(1 或 2 $\geq$ 50% 或 3 $\geq$ 25%) 进行统计分析。

1.3.2 人 EGFR 敏感型突变肺腺癌细胞 HCC827 和 H3255 的培养及构建吉非替尼耐药细胞株 HCC827/GR 和 H3255/GR 人肺腺癌细胞 HCC827 和 HCC827/GR、H3255、H3255/GR 放入含胎牛血清(10%)、青霉素(100 KU/L)及链霉素(100 mg/ml)的 RPMI 1640 培养基, 在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 培养箱(HF90/HF240, Heal Force)中常规培养传代。在人肺腺癌吉非替尼敏感细胞株 HCC827 的培养基中, 按 0.001、0.002、0.005、0.01、0.012 5、0.015、0.017 5、0.02 μ mol/L 浓度梯度逐步增加吉非替尼浓度, 用浓度为 0.02 μ mol/L 的吉非替尼维持细胞耐药性, 以构建吉非替尼耐药株 HCC827/GR; 在人肺腺癌吉非替尼敏感细胞株 H3255 的培养基中, 按 0.001、0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.075、0.1 μ mol/L 浓度梯度逐步增加吉非替尼浓度, 用浓度为 0.1 μ mol/L 的吉非替尼维持细胞耐药性, 以构建吉非替尼耐药株 H3255/GR。

1.3.3 流式细胞术分析 将生长状态良好的 H3255、H3255/GR、HCC827、HCC827/GR 细胞用胰蛋白酶消化; 收集 1×10^6 个细胞, PBS 清洗 2 次, 最后用 100 μ l 重悬; 取 5 μ l Anti-B7-H3-PE 单克隆抗体处理细胞, 在 4 $^{\circ}$ C 冰箱里孵育 30 min 进行染色, 避光; PBS 清洗 2 次后上机, 采用 XL-MCL 流式细胞术分析计数 1×10^4 个细胞, 用 FLOWJO 软件进行数据分析和图形输出。

1.3.4 Western blot 实验 用 PBS 冲洗后各孔加含 1% PMSF 和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 冰上摇晃裂解 30 min 后刮取细胞至 EP 管, 离心(14 000

r/min, 30 min, 4 $^{\circ}$ C)后收集上清液并使用 BCA 法进行蛋白定量, 加入 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min 后冰上冷却。使用 SDS-PAGE(10% 分离胶 + 5% 浓缩胶)电泳分离蛋白质, 然后用电转膜仪转膜至 PVDF 膜, 放入 TBST 洗去膜上的转膜液后, 封闭 2 h。TBST 洗膜 3 次后加入一抗(抗 CD276, 1:100)中 4 $^{\circ}$ C 震荡孵育过夜。室温孵育二抗 1~2 h, ECL 两种试剂 1:1 混匀后均匀滴加在膜上, 使用 ECL 仪曝光显色, 以 β -actin 作为内参。

1.3.5 评价肺癌对 EGFR-TKIs 获得性耐药标准 患者接受单药 EGFR-TKI 治疗(吉非替尼或埃克替尼); 同时具有以下情况则视为获得性耐药: EGFR-TKI 治疗后评估到的客观临床获益; 在过去 30 d 内持续接受吉非替尼或埃克替尼治疗后出现全身疾病进展[实体肿瘤反应评价标准(RECIST)或 WHO 定义的疾病进展]; 停止吉非替尼或埃克替尼与开始新疗法之间没有介入全身治疗^[7]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 版软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 两样本均数比较采用独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

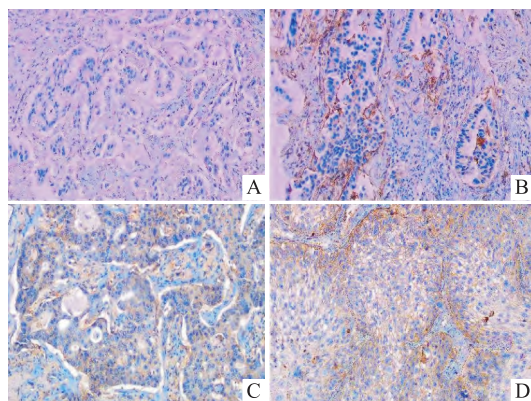
2.1 人口特征基线分析 本研究共纳入 56 例肺腺癌患者, 年龄 32~82(62.32 $\pm$ 11.53)岁。除 2 例曾经吸烟者外, 其余患者($n=54$)均无吸烟史(戒烟时间超过 1 年)。患者 B7-H3 表达与年龄(<65 岁 *vs* $\geq$ 65 岁)、性别、肿瘤大小($\leq$ 25 mm *vs* > 25 mm)、肿瘤分期(III *vs* IV)、EGFR 突变模式(19 Del *vs* 21 L858R)以及 EGFR-TKI 靶向药物选择(吉非替尼 *vs* 埃克替尼)之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。具体见表 1。

2.2 肺腺癌患者 B7-H3 表达分析 癌组织细胞膜和细胞浆 B7-H3 表达强度定义为 0(无)、1(弱)、2(中)和 3(强)(图 1 A~D)。根据染色强度和阳性细胞百分比将标本分为低 B7-H3 表达组和高 B7-H3 表达组, 结果显示高表达患者 25 例(44.6%), 低表达患者 31 例(55.4%)。

2.3 肿瘤 B7-H3 表达水平与 EGFR-TKI 靶向治疗耐药分析 截止本研究观察终止时间, B7-H3 低表达和高表达患者继发性耐药分别为 12 例(38.7%)和 14 例(56.0%), 其中位耐药时间分别为 13.2 个月和 5.1 个月, 差异有统计学意义($t = 3.193, P = 0.004$), 表明高 B7-H3 组患者继发性耐

表1 肿瘤 B7-H3 与肺腺癌患者的人口学和病理学特征的相关性[$n(\%)$]

项目	$n(\%)$	B7-H3 表达		χ^2 值	P 值
		低	高		
年龄(岁)				0.321	0.571
<65	29 (51.8)	15 (48.4)	14 (56.0)		
≥ 65	27 (48.2)	16 (51.6)	11 (44.0)		
性别				0.989	0.320
男	31 (55.4)	19 (61.3)	12 (48.0)		
女	25 (44.6)	12 (38.7)	13 (52.0)		
肿块大小(mm)				0.488	0.485
≤ 25	24 (42.9)	12 (38.7)	12 (48.0)		
> 25	32 (57.1)	19 (61.3)	13 (52.0)		
临床分期				2.890	0.089
III	16 (28.6)	6 (19.4)	10 (40.0)		
IV	40 (71.4)	25 (80.6)	15 (60.0)		
EGFR 突变				0.008	0.931
19 Del	31 (55.4)	17 (54.8)	14 (56.0)		
21 L858R	25 (44.6)	14 (45.2)	11 (44.0)		
EGFR-TKIs				0.021	0.884
吉非替尼	33 (58.9)	18 (58.1)	15 (60.0)		
埃克替尼	23 (41.1)	13 (41.9)	10 (40.0)		

图1 肺腺癌细胞 B7-H3 表达的免疫组化分析 HE $\times 200$

A: 无表达; B: 弱表达(胞浆染色); C: 中度表达(胞膜和胞浆染色); D: 强表达(胞膜染色)

药发生比例有所增加且耐药发生时间显著缩短(图2)。

2.4 吉非替尼耐药细胞 B7-H3 表达分析 流式细胞术和 Western blot 分析结果显示, EGFR 突变细胞株 H3255 和 HCC827 本身 B7-H3 表达水平较高, 但诱导建立的吉非替尼耐药株 H3255/GR 和 HCC827/GR, 与非耐药株比较, 其 B7-H3 表达水平进一步上调($P > 0.05$, 因为 B7-H3 在肺癌耐药与非耐药细胞株本身表达都很高, 导致统计分析显示差异无统计学意义, 但与非耐药株比较, 其 B7-H3 表达水平仍然进一步上调, 图 3A、B), 进一步提示了 B7-H3 与 EGFR-TKI 获得性耐药的相关性。根据蛋

白条带做灰度值分析结果显示两种耐药株 B7-H3 的表达较非耐药株均上调, 但灰度值之间差异无统计学意义 ($F = 0.505$ 、 0.426 , $P = 0.517$ 、 0.550 , 图 3C)。

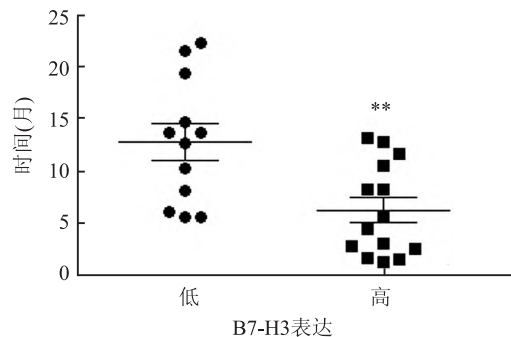


图2 不同 B7-H3 表达水平肺腺癌患者 EGFR-TKI 耐药比例和耐药时间与低表达组比较: ** $P < 0.01$

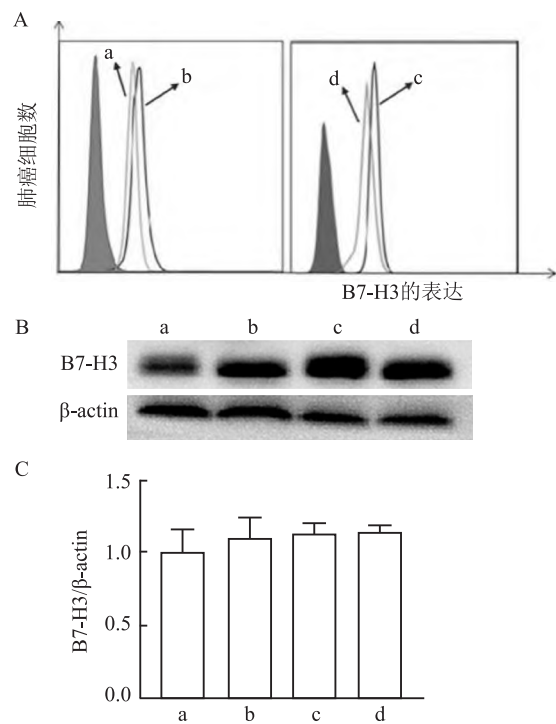


图3 流式细胞术和 Western blot 及蛋白条带灰度值分析吉非替尼耐药 H3255 和 HCC827 细胞株 B7-H3 表达

A、B、C: 流式细胞术、Western blot 和蛋白条带灰度值分析 B7-H3 的表达; a: H3255; b: H3255/GR; c: HCC827/GR; d: HCC827

3 讨论

在 56 例病例中研究了具有 EGFR 敏感型突变且接受 EGFR-TKI 靶向治疗的肺腺癌患者 B7-H3 的表达和人口学特征对其表达的影响。免疫组化结果

显示 B7-H3 表达水平在肺腺癌患者中存在明显差异,结果与 Inamura et al^[8] 基本一致,Inamura et al 研究表明 EGFR 野生型患者 B7-H3 表达水平高于 EGFR 突变型,并且吸烟患者高于不吸烟患者。此外本研究还发现 B7-H3 表达水平与患者年龄、性别、肿瘤大小与分期、EGFR 突变亚型等差异均无统计学意义,结果与 Sun et al^[9] 研究结果一致。

本研究发现高 B7-H3 表达与患者更易出现耐药性成正相关,尽管接受 EGFR-TKI 靶向治疗的肺腺癌患者大部分最终都会不可避免的发展为获得性耐药,50%~60% 都与 T790M 管家基因出现突变有关,T790M 突变使 EGFR 对 ATP 的亲和力增加,从而导致与 ATP 竞争的 TKIs 的置换^[10]。本研究中 B7-H3 高表达组与低表达组存在明显差异,高表达组患者更易出现临床耐药性,发展为耐药的时间较低表达组明显缩短,提示 B7-H3 可能为 EGFR-TKI 耐药的另一机制。B7-H3 诱导的信号转导可促进 EGFR 突变的肺腺癌细胞的存活,并降低其对吉非替尼的敏感性,并且有研究表明肺腺癌患者在接受 EGFR-TKI 靶向治疗前后其肿瘤微环境发生了改变^[11]。本研究推测抑制 B7-H3 可能对肺癌肿瘤微环境也会产生有利影响,促进肺癌患者对靶向药物的敏感性,从而降低患者临床耐药率。

本研究成功诱导培养吉非替尼耐药的 EGFR 突变肺腺癌细胞株 H3255 和 HCC827,并进行 Western blot 分析,EGFR 突变细胞株 H3255 和 HCC827 本身 B7-H3 表达水平较高,与野生型细胞株比较,耐药株 B7-H3 表达水平进一步增加。B7-H3 在肺腺癌等多种恶性肿瘤中与肿瘤转移复发和临床预后不良密切相关,B7-H3 除了在免疫调节方面可以抑制肿瘤微环境中抗原特异性 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞活性而促进肿瘤免疫逃逸,本身又可通过非免疫性机制促进肿瘤细胞的增殖、侵袭及转移^[12]。另外,B7-H3 诱导的信号通路包括 3 个级联通路:PI3K/AKT、JAK2/STAT3 和 Raf/MEK/ERK1/2,其促进肿瘤侵袭、迁移、血管生成和降低对药物的敏感性^[13],它们也参与肺腺癌细胞 EGFR 触发的信号通路,表明 B7-H3 诱导的信号通路与 EGFR 信号通路部分具有共同的下游信号级联,这促使本研究推测 B7-H3 是否能成为 EGFR-TKI 耐药潜在的治疗靶点。并且课题组前期研究证明了 B7-H3 基因敲除 H3255 和 HCC827 细胞对吉非替尼敏感性显著增加^[6],这进一步证实了 B7-H3 抑制可能是治疗 EGFR-TKI 耐药的一个有前途的选择。

综上所述,本研究证明共信号分子 B7-H3 在肺腺癌的表达水平存在明显差异,并且 B7-H3 高表达与肺腺癌患者 EGFR-TKI 靶向治疗的获得性耐药存在相关性,提示抗 B7-H3 治疗可能是预防 EGFR-TKI 耐药一个有前途的治疗策略,但关于 B7-H3 是如何影响耐药性及其相关作用机制有待后续实验进一步研究证明。

参考文献

- [1] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志,2019,41(1):19-28.
- [2] 李 镭,刘 丹,张 立,等. 6458 例肺癌患者临床特征及诊疗现状分析[J]. 四川大学学报(医学版),2017,48(3):352-8.
- [3] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):E359-86.
- [4] Yonesaka K, Haratani K, Takamura S, et al. B7-H3 negatively modulates CTL-Mediated cancer immunity[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(11):2653-64.
- [5] Kontos F, Michelakos T, Kurokawa T, et al. B7-H3: an attractive target for antibody-based immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(5):1227-35.
- [6] 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.
- [7] Jackman D, Pao W, Riely G J, et al. Clinical definition of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(2):357-60.
- [8] Inamura K, Yokouchi Y, Kobayashi M, et al. Tumor B7-H3 (CD276) expression and smoking history in relation to lung adenocarcinoma prognosis[J]. *Lung Cancer*, 2017, 103:44-51.
- [9] Sun Y, Wang Y, Zhao J, et al. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2006, 53(2):143-51.
- [10] Yun C H, Mengwasser K E, Toms A V, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(6):2070-5.
- [11] Isomoto K, Haratani K, Hayashi H, et al. Impact of EGFR-TKI treatment on the tumor immune microenvironment in EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(8):2037-46.
- [12] Flem-Karlsen K, Fodstad Ø, Tan M, et al. B7-H3 in cancer - beyond immune regulation[J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(6):401-4.
- [13] Yu T T, Zhang T, Lu X, et al. B7-H3 promotes metastasis, proliferation, and epithelial-mesenchymal transition in lung adenocarcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:4693-700.

(下转第 1498 页)

The influential factors on tumor diameters in rectal cancer analyzed with generalized additive model

Xu Long, Wang Shengyi, Zhang Zhen

(Dept of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the influential factors on tumor diameters in rectal cancer. **Methods** Cross sectional study data were collected from patients undergoing radical resection of rectal cancer. Patients were grouped by median value of tumor diameter, and the clinical pathological characteristics were compared between the two groups. The associations between tumor diameter and continuous variables were analyzed using locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) method. The associating factors of tumor diameter were further analyzed using generalized additive model (GAM). **Results** Patients with rectal cancer were divided into two groups with tumor diameter either < 4 centimeters or ≥ 4 centimeters. Proportions of T, TNM stages differed significantly between different groups. Median carcinoembryonic antigen (CEA) in ≥ 4 centimeters group were 4.90 ng/ml (inter-quartile range [IQR] 2.39, 9.53 ng/ml), much higher than that in < 4 centimeters group (2.93 ng/ml [IQR: 1.78, 4.90 ng/ml]), $P < 0.01$. LOWESS analysis showed that there were non-linear relationships between tumor diameter and the following variables: age, the distance between tumor and anal verge, CEA, neutrophils, lymphocytes, platelets, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and platelet-to-lymphocyte ratio. GAM showed that increased blood platelets ($P < 0.05$) and later T stage ($P < 0.01$) were significantly associated with increased tumor diameters, and increased CEA levels were also associated with larger tumors ($P < 0.01$), but there were saturation effects. **Conclusion** Platelets, T stage and CEA are associated with tumor diameter in rectal cancer, indicating that the above factors should be considered when studying associated factors of tumor diameter in rectal cancer.

Key words rectal neoplasms; tumor diameter; generalized additive model; locally weighted scatterplot smoothing; carcinoembryonic antigen; blood platelets; T stage

(上接第 1493 页)

Study on the correlation between B7-H3 and acquired drug resistance of EGFR-TKI targeted therapy in lung adenocarcinoma

Yang Ying¹, Ding Meng², Tang Wei¹, Liu Huanhuan¹, Fan Xingyu¹, Chen Liwen¹

(¹Dept of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

²Dept of Clinical Laboratory, Nanjing Hospital affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023)

Abstract Objective To investigate the correlation between co-signaling molecule B7-H3 and epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) target therapy in acquired drug resistance of lung adenocarcinoma. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect B7-H3 expression in 56 lung adenocarcinoma patients, and the cohort was divided into low and high B7-H3 expression groups. The proportion and occurrence time of acquired drug resistance after EGFR-TKI targeted therapy were compared between the two groups. Gefitinib-resistant EGFR mutant lung adenocarcinoma cell lines H3255 and HCC827 were induced and cultured in vitro. The wild-type cell lines were used as control, and the expression level of B7-H3 on resistant cell lines B7-H3 was analyzed by flow cytometry. **Results** In 56 lung adenocarcinoma patients, 31 cases and 25 cases had low and high B7-H3 expression, respectively. By the end of this study, the cases of acquired drug resistance in patients with low and high B7-H3 expression were 12 cases (38.7%) and 14 cases (56.0%) ($P = 0.19$, $\chi^2 = 1.663$), and the median drug resistance time was 13.2 months and 5.1 months ($P = 0.004$, $t = 3.193$), respectively. Compared with wild-type H3255 and HCC827 cell lines, the expression level of drug-resistant strain B7-H3 further increased. **Conclusion** B7-H3 expression level is correlated with acquired drug resistance of EGFR-TKI targeted therapy in lung adenocarcinoma.

Key words non-small cell lung cancer; adenocarcinoma; EGFR-TKI; B7-H3; drug resistance