

CHEK1在胃癌进展中的作用及机制研究

付彦堪^{1,2}, 游路宽^{1,2}, 许尹梅¹, 王菀平³, 任一帆^{1,4}, 怀思远^{1,2}, 李建雄¹

¹解放军总医院第五医学中心放射治疗科, 北京 100071; ²解放军医学院, 北京 100853; ³北京中医药大学东直门医院, 北京 100701; ⁴南开大学医学院, 天津 300371

摘要: **背景** 胃癌是全球高发且预后不良的恶性肿瘤, 亟需研究新型分子标志物和治疗靶点。CHEK1作为细胞周期调控关键基因, 其在胃癌中的作用尚未完全阐明。**目的** 系统解析CHEK1在胃癌中的表达特征、预后价值及其通过细胞周期与免疫微环境调控促进肿瘤进展的机制。**方法** 基于TCGA与GEO转录组数据开展泛癌及胃腺癌(stomach adenocarcinoma, STAD)肿瘤-正常差异表达分析; 采用Kaplan-Meier生存曲线评估CHEK1表达与生存预后的关系; 基于ssGSEA计算24类免疫细胞浸润得分分析CHEK1表达与不同类型免疫细胞浸润水平的相关性; 在TCGA-STAD队列构建CHEK1共表达网络并进行GO/KEGG功能富集分析。体外在AGS细胞中构建CHEK1敲低与过表达模型, 分别通过CCK-8检测细胞增殖活力、流式细胞术检测细胞凋亡, 并以Western blot检测凋亡相关蛋白变化, 用于功能与机制验证。**结果** CHEK1在STAD等12种肿瘤中高表达($P<0.05$), 胃癌肿瘤组织较配对癌旁组织升高, 且高表达与患者较好总生存与进展后生存相关($P<0.05$)。共表达与功能富集分析提示, CHEK1相关基因富集于细胞周期等通路, 并与多种DNA损伤修复相关基因表达呈显著相关性($P<0.05$)。免疫浸润分析表明, CHEK1高表达与Th2细胞浸润得分正相关, 与CD8⁺T细胞和树突细胞浸润得分负相关(P 均 <0.01)。体外敲低CHEK1可抑制AGS细胞增殖(降低42%, $P<0.01$), 提高凋亡率(39.28% vs 7.86%, $P<0.001$), 并上调 γ H2AX表达($P<0.05$); 而CHEK1过表达可降低cleaved PARP和caspase-3水平($P<0.001$), 抑制细胞凋亡。**结论** CHEK1在胃癌中通过“细胞周期调控-免疫微环境重塑”双重机制促进肿瘤进展, 其高表达提示预后相对较好。

关键词: 检查点激酶1(CHEK1); 胃肿瘤; 腺癌; 生物信息学; 肿瘤微环境; 细胞周期

中图分类号: R735.2

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2026)01-0019-13

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.25120301

引用本文: 付彦堪, 游路宽, 许尹梅, 等. CHEK1在胃癌进展中的作用及其机制研究: 细胞周期与免疫微环境的双重调控 [J]. 解放军医学院学报, 2026, 47 (1): 19-31.

Role and mechanisms of CHEK1 in gastric cancer progression

FU Yankan^{1,2}, YOU LUKUAN^{1,2}, XU Yinmei¹, WANG Wanping³, REN Yifan^{1,4}, HUAI Siyuan^{1,2}, LI Jianxiong¹

¹Department of Radiation Oncology, the Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100071, China; ²Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; ³Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100701, China; ⁴Nankai University, School of Medicine, Tianjin 300371, China

Corresponding author: LI Jianxiong. Email: 301301ljx@sina.com

Abstract: Background Gastric cancer is a common malignancy worldwide with poor prognosis, and there is an urgent need to find novel molecular biomarkers and therapeutic targets. Checkpoint kinase 1 (CHEK1), a key regulator of the cell cycle, has not been fully characterized in gastric cancer. **Objective** To systematically characterize the expression pattern, prognostic value, and mechanistic role of CHEK1 in gastric cancer, with a focus on cell-cycle regulation and remodeling of the tumor immune microenvironment. **Methods** Pan-cancer and paired stomach adenocarcinoma (STAD) tumor-normal analyses using TCGA and GEO datasets were performed to evaluate CHEK1 expression and its associations with overall survival and immune cell infiltration. SsGSEA was applied to calculate infiltration scores of 24 immune cell types and to analyze the correlations between CHEK1 expression and the infiltration levels of different immune cell subsets. Co-expression network construction and functional enrichment analyses were conducted to identify CHEK1-related signaling pathways. In vitro, CHEK1 knockdown and overexpression models were established in AGS cells. Cell proliferative activity was assessed by CCK-8 assay. Apoptosis was measured by flow cytometry, and apoptosis-related proteins alterations were examined by western blotting, thereby providing functional and mechanistic validation. **Results** CHEK1 was overexpressed in STAD and 11 other cancer types ($P<0.05$). In STAD, CHEK1 expression was significantly higher in tumor tissues than in paired adjacent normal tissues, and high CHEK1 expression was associated with more favorable overall survival and post-progression survival ($P<0.05$). Co-expression and

收稿日期: 2025-12-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82371515)

第一作者: 付彦堪, 在读硕士, 主治医师。Email: f18835550676@163.com

通信作者: 李建雄, 博士, 主任医师, 教授。Email: 301301ljx@sina.com

functional enrichment analyses indicated that CHEK1-associated genes were enriched in cell cycle-related pathways and were significantly correlated with multiple DNA damage repair-related genes ($P < 0.05$). Immune infiltration analysis showed that CHEK1 expression was positively correlated with the Th2 cell infiltration score and negatively correlated with the infiltration scores of CD8⁺ T cells and dendritic cells (all $P < 0.01$). In vitro, CHEK1 knockdown inhibited AGS cell proliferation (reduced by 42%, $P < 0.01$), increased apoptosis (39.28% vs 7.86%, $P < 0.001$), and upregulated γ H2AX ($P < 0.05$), whereas CHEK1 overexpression decreased cleaved PARP and caspase-3 levels ($P < 0.001$), thereby suppressing apoptosis. **Conclusion** CHEK1 promotes gastric cancer progression through a dual mechanism involving cell-cycle dysregulation and remodeling of the immunosuppressive tumor microenvironment. High CHEK1 expression predicts better prognosis and supports CHEK1 as a promising prognostic biomarker and therapeutic target, particularly in the context of combination strategies with immune checkpoint inhibitors.

Keywords: CHEK1; gastric adenocarcinoma; bioinformatics; immune microenvironment; cell cycle

Cited as: Fu YK, You LK, Xu YM, et al. Role and mechanisms of CHEK1 in gastric cancer progression: Dual regulation of the cell cycle and the immune microenvironment[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2026, 47(1): 19-31.

胃癌在全球范围内发病率和死亡率均居前列, 严重威胁患者生命健康^[1]。尽管现有手术、化疗和靶向治疗等手段能延长患者生存期, 但晚期胃癌患者的预后仍然较差, 且现有治疗方法面临耐药性、严重不良反应等挑战^[2-3], 精准治疗是重要的发展方向。HER2、VEGF等分子标志物与胃癌的发生和发展密切相关^[4-5]。然而, 由于肿瘤异质性、检测标准不统一、耐药性问题以及受益患者群体受限等因素, 这些标志物在临床应用中仍面临不同程度的局限性, 临床上迫切需要探索新的分子标志物和治疗靶点, 以改善胃癌患者的预后。

CHEK1是细胞周期调控和DNA损伤修复关键基因^[6], 在多种癌症中呈现异常表达, 并与肿瘤的发生和发展密切相关^[7]。在乳腺癌中, CHEK1的高表达通常与不良预后相关, 而在结直肠癌中则表现出相反的趋势^[8-9], 而CHEK1在胃癌中的具体作用机制及其与免疫微环境的关联尚未完全阐明。

本研究结合公共数据库分析与细胞实验, 系统评估CHEK1在胃腺癌(stomach adenocarcinoma, STAD)中的表达特征及其与患者预后、相关通路和免疫浸润的关系, 并通过体外功能实验验证CHEK1对胃癌细胞增殖、凋亡及DNA损伤反应的影响, 旨在为CHEK1作为潜在生物标志物与治疗靶点提供依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源

从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA; <https://portal.gdc.cancer.gov>)数据库下载经STAR软件比对后的33种肿瘤及配对正常组织的RNA测序数据(采用转录本每千碱基每百万比对读数格式, transcripts per million, TPM), 统一进行 $\log_2(\text{TPM}+1)$ 转换, 并单独提取胃腺癌(TCGA-STAD)队列用于后续肿瘤-癌旁比较^[10-11]。

1.2 差异表达分析

采用R包ggplot2(版本3.4.4)、stats(版本4.2.1)及car(版本3.1-0)进行。对于33种癌症中肿瘤组织与正常组织的非配对差异比较, 使用Wilcoxon秩和检验; 在TCGA-STAD队列中, 肿瘤与对应正常组织(癌旁组织)之间的配对样本差异采用配对t检验; 对总体胃腺癌与正常组织非配对比较, 使用Welch t检验。对于正常样本量过少或不满足统计前提假设的肿瘤类型, 不进行相应统计检验, 仅做描述性展示(样本量、表达范围等)。

为增强结果的稳健性, 进一步使用TNMplot在线平台(<https://tnmplot.com/analysis>), 基于基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)获取独立胃癌数据集^[12], 对CHEK1在肿瘤与正常组织中的表达差异进行了外部验证。验证流程与TCGA数据分析一致, 结果用于支持TCGA来源的差异表达结论。所有统计检验均为双侧检验, 显著性水平设定为 P 值 < 0.05 。

1.3 总生存期预后分析

基于TCGA-STAD中的RNAseq数据TPM格式表达数据及其配套临床信息开展总生存期(overall survival, OS)分析。预后相关数据来源于Liu等^[13]的研究。本次分析纳入标准包括: (1)具有完备的RNA测序TPM表达数据; (2)具有明确的随访时间及生存结局信息。排除标准包括: 样本重复、关键临床资料(年龄、性别、肿瘤分期)缺失, 以及随访时间为0的样本。

使用R软件中的survival包进行比例风险假设检验及生存回归模型拟合; 利用survminer包中surv_cutpoint函数确定最佳表达分组截断值, 将患者分为CHEK1高/低表达组。采用Kaplan-Meier方法绘制生存曲线, 并通过Cox回归比较两组OS差异; 相关结果进一步使用survminer包和ggplot2包进行可视化展示。

借助在线生存数据分析工具 Kaplan-Meier Plotter(<https://kmpplot.com/analysis/index.php?p=home>)对 CHEK1 表达水平与 STAD 患者 OS 的关系进行外部验证^[14], 并进一步评估其与疾病首次进展生存期(first progression, FP)及进展后生存期(post-progression survival, PPS)之间的关联。

1.4 共表达及功能富集分析

基于 TCGA-STAD 项目的 TPM 格式表达数据及其对应的临床信息开展 CHEK1 相关基因的共表达分析。筛选具有完整临床随访信息的肿瘤样本, 剔除正常组织、缺失关键临床资料的样本及重复样本。以 CHEK1 表达水平作为特征变量, 与全基因组表达谱进行 Spearman 秩相关分析, 计算相关系数(r)及 P 值。根据 $|r|$ 排序, 筛选共表达最显著的前 20 个基因, 并使用 R 包 ggplot2 包(版本 3.4.4)绘制共表达热图, 展示其共表达趋势及相关强度。进一步采用“基因本体(gene ontology, GO)”和“京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)”进行功能富集分析, 以探究共表达基因的潜在生物学功能和涉及信号通路^[15-16]。基于 clusterProfiler 等 R 包^[17], 分别对与 CHEK1 表达相关性具有统计学差异的基因开展 GO 与 KEGG 通路富集分析。富集结果的 P 值采用 Benjamini-Hochberg 方法进行多重校正, 并使用 ggplot2 包对最终分析结果进行可视化。

1.5 免疫微环境相关分析

基于 TCGA-STAD 转录组数据计算各免疫细胞亚群的浸润得分, 以评估 CHEK1 表达与肿瘤免疫微环境的关系。利用基因集变异分析(gene set variation analysis, GSVA)R 包(1.46.0 版)中的单样本基因集富集分析(single-sample gene set enrichment analysis, ssGSEA)算法^[18]。采用 *Immunity* 杂志中 Bindea 等发表的 24 种免疫细胞标志基因集^[19], 包括树突状细胞(dendritic cell, DC)、浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid DC, pDC)、CD8⁺ T 细胞、辅助性 T 细胞(Th1、Th2、Th17)、调节性 T 细胞(Treg)、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK 细胞)、B 细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞等, 计算每个样本中对应免疫细胞亚群的浸润得分。

对 CHEK1 表达与免疫细胞浸润得分矩阵进行相关性分析, 并使用 ggplot2 包绘制棒棒糖图(lollipop plot)进行可视化。根据 CHEK1 表达量的中位数, 将 STAD 患者分为高/低表达组, 采用

stats 包和 car 包对两组免疫细胞浸润得分差异进行比较。对于近似正态分布且方差齐性的变量, 采用 Welch t 检验; 对分布偏态或方差不齐的变量, 采用 Wilcoxon 秩和检验; 同时采用 Spearman 秩相关分析, 计算 CHEK1 与各免疫细胞浸润得分之间的相关系数及其 P 值。通过 ggplot2 包绘制箱线图, 展示多种免疫细胞浸润得分与 CHEK1 表达的相关性。

1.6 细胞系、质粒构建、主要试剂及仪器(下文可以根据这个小标题的顺序进行罗列)

细胞系培养条件: 人胃癌细胞系 AGS 购自普诺赛(武汉)公司。细胞在含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素混合液的 RPMI-1640 培养基中培养, 并置于 37°C、5% CO₂ 的恒温培养箱(Jiemei Electronics, CI191C)中维持生长。每 2 天更换培养基。当细胞生长至对数生长期且融合度约达 80% 时, 使用 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 溶液进行消化并按常规进行传代。传代后的细胞用于后续转染、药物处理及功能实验。

质粒构建: CHEK1 过表达质粒 pcDNA3.1(+) 与阴性对照质粒 pLKO.1-scramble shRNA 均由 Thermo Fisher Scientific 构建; 用于 CHEK1 敲低的小干扰 RNA(siRNA)及短发夹 RNA(shRNA)由商业公司合成。细胞转染使用阳离子脂质体试剂(Lipofectamine™ 3000)。

主要试剂: RPMI-1640 培养基(SH30027.01, HyClone); 胎牛血清(FBS, SH30396.02, HyClone); 青霉素-链霉素混合液(SV30010, HyClone); TRIzol 总 RNA 提取试剂(Invitrogen); 反转录试剂盒(Promega); SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems); CCK-8 细胞计数试剂盒(Dojindo); CHEK1 靶向 shRNA 慢病毒载体 pLKO.1-TRC-puro-CHEK1 及其阴性对照(scramble)载体(载体骨架及靶序列见构建方案); pcDNA3.1(+)过表达载体及 pcDNA3.1(+)-CHEK1 重组质粒(由含有 CHEK1 全长编码序列的 Insert 片段无缝克隆至 pcDNA3.1(+)载体); Lipofectamine™ 3000 转染试剂(Invitrogen); 嘌呤霉素(Puromycin)选择用抗生素(Sigma); 无菌 PBS 缓冲液等。

(1)实验所使用的主要抗体: CHEK1、磷酸化 H2AX(γ H2AX)、裂解 PARP(cleaved PARP)、裂解型 caspase-3(cleaved caspase-3)以及内参 GAPDH 的单克隆抗体。均购自国际主流抗体供应商。实时荧光定量 PCR 试剂盒、反转录试剂及 BCA 蛋白定

量试剂盒均按厂家说明书使用。

(2)实验仪器: II级生物安全柜、CO₂培养箱(Jiemei Electronics, CI191C)、倒置显微镜(OLYMPUS)、酶标仪(Bio-Rad, 用于检测450 nm波长处OD值)、细胞凋亡检测试剂盒(赛默飞)、实时荧光定量PCR仪(Genesy 96T, 西安天隆)、流式细胞仪(BD FACSCanto II)、电泳仪(Bio-Rad PowerPac Basic)、稳压DNA电泳仪(EPS300, 天能)、凝胶成像系统(JS-780D, 培清科技)。

1.7 CHEK1过表达与敲低模型构建

将处于对数生长期的AGS细胞接种至培养皿中,待细胞融合度达到50%~70%后,采用感染复数(multiplicity of infection, MOI)为20的慢病毒载体进行转导。病毒载体分别携带CHEK1靶向shRNA或阴性对照shRNA。感染24 h后,换用新鲜培养基,并加入嘌呤霉素进行筛选,获得CHEK1稳定敲低细胞株(shCHEK1)及相应的阴性对照组(shNC)。

为了构建CHEK1过表达模型,使用pcDNA3.1(+)-CHEK1质粒进行转染。将对数生长期的AGS细胞接种于6孔板中,待细胞融合度约60%时,使用Lipofectamine™ 3000转染试剂转染pcDNA3.1(+)-CHEK1质粒或空载体对照质粒,构建CHEK1过表达组(OE-CHEK1)和转染对照组(pcDNA3.1-NC)。

过表达体系在转染后48~72 h收集细胞;敲低体系在嘌呤霉素筛选获得稳定株后收集细胞,用于后续RT-PCR、Western blot和凋亡检测。每组实验均设3个重复孔,并独立行3次实验。后续实验除序列筛选实验外,各功能实验分组保持一致:敲低体系为“空白对照组+shNC组+shCHEK1组”;过表达体系为“空白对照组+pcDNA3.1-NC组+OE-CHEK1组”。

1.8 RT-PCR检测CHEK1 mRNA表达量

从各组AGS细胞中使用Invitrogen公司的TRIzol试剂提取总RNA,并以随机六聚体引物和逆转录酶II型(Promega)合成cDNA。采用SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)以及特异性引物针对CHEK1和GAPDH进行扩增反应。在ABI PRISM 7300 RT-PCR平台上进行RT-PCR扩增。GAPDH mRNA作为内参,用于数据归一化。

分别设置空白组、转染对照组(pcDNA3.1-NC)、敲低对照组(shNC)、CHEK1敲低组(shCHEK1)和CHEK1过表达组(OE-CHEK1)。通过

比较敲低体系和过表达体系的Ct值,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算CHEK1相对表达量,以评估敲低转导和过表达转染的效率。

1.9 CCK-8检测细胞活力变化

采用CCK-8法检测不同处理组AGS细胞的增殖活力变化。将对数生长期的AGS细胞按 5×10^3 /孔的密度接种于96孔板中,分为CHEK1过表达组(OE-CHEK1)、过表达对照组(pcDNA3.1-NC)、CHEK1敲低组(shCHEK1)及敲低对照组(shNC),每组设5个复孔。细胞在37°C、5% CO₂的培养箱中孵育24 h,使其充分贴壁。

在0、24、48、72 h和96 h时间点,每孔加入10 μ L CCK-8试剂,轻轻振荡混匀后,继续在37°C、5% CO₂培养箱中孵育2 h。孵育结束后,使用酶标仪在450 nm波长处测量各孔的吸光度(OD)值,并扣除无细胞空白孔OD值进行背景校正。以各时间点校正后的OD值反映细胞活力,绘制各组细胞增殖曲线,并比较不同处理组之间细胞增殖能力的差异。所有实验独立重复3次。以保证结果的可靠性和重复性。

1.10 Western blot检测CHEK1及相关蛋白表达水平

转染48~72 h后收集各组细胞,使用含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液进行细胞裂解,并在冰上孵育30 min。随后,离心收集上清液。采用BCA法测定蛋白浓度,取等量蛋白进行10%~12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。电泳结束后,将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜。

转膜后,使用5%脱脂奶粉封闭膜1 h后,然后将膜在4°C孵育一抗抗体过夜(CHEK1、 γ H2AX、cleaved PARP、cleaved caspase-3及GAPDH)。第二天,用TBST洗涤膜后,加入稀释后的二抗(稀释比例为1:5 000),在室温下孵育1 h。再次洗涤膜后,使用TBST缓冲液清洗膜10 min,重复3次,显色后于成像系统上获取条带图像。

利用图像分析软件,计算目的条带与GAPDH条带的相对灰度值,从而评估蛋白的相对表达水平。

1.11 流式细胞术检测细胞凋亡情况

采用Annexin V-FITC/碘化丙啶(propidium iodide, PI)双染试剂盒检测细胞凋亡。转染48 h后,收集细胞并用PBS清洗。随后使用不含EDTA的胰蛋白酶轻柔消化细胞,离心收集后并重悬于结合缓冲液中。按照试剂盒说明书,依次加入

Annexin V-FITC 和 PI, 避光孵育 10 ~ 15 min 后立即上机检测。

利用流式细胞仪采集至少 1×10^4 个细胞事件, 并使用 FlowJo 等软件进行分析。根据荧光信号区分早期凋亡细胞(Annexin V⁺/PI⁻)和晚期凋亡细胞(Annexin V⁺/PI⁺), 并计算总凋亡率(早期凋亡率与晚期凋亡率之和)。

1.12 统计学处理

所有统计分析均使用 R(4.2.1 版)或 GraphPad Prism 等统计软件中进行。体外实验所得的计量资料以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较选择使用独立样本 *t* 检验。多组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 Tukey 检验。相关分析采用 Spearman 秩相关, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有细胞学实验均至少独立重复 3 次, 以保证实验结果的可靠性和可重复性。

2 结果

2.1 CHEK1 在肿瘤中的潜在作用

本研究通过引用人类 CHEK1 的 mRNA(NM_001114121.2)和蛋白质(XP_011540862.1)序列, 分析了 CHEK1 在肿瘤发生和进展中的潜在作用。通过分析 TCGA 中的数据, 评估 CHEK1 在多种癌症类型的表达谱。结果表明, CHEK1 在多个癌症类型中的表达均高于正常组织, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 特别是在膀胱尿道上皮癌、乳腺浸润性癌、胆管癌、结肠腺癌、食管癌、头颈鳞癌、肝细胞癌、肺腺癌、直肠腺癌、肺鳞癌、胃腺癌和子宫内膜癌中表达水平较高。见图 1A。

CHEK1 的 mRNA 表达水平在胃癌组织中高于正常胃黏膜组织(图 1B、图 1C), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。同样, 利用 GEO 数据库进行的差异表达分析验证了这一结果, 进一步表明胃癌组织中 CHEK1 mRNA 表达水平较正常胃黏膜组织升高, 且差异有统计学意义($P < 0.001$)(图 1D)。

2.2 CHEK1 与生存期的关系

在胃癌患者中, CHEK1 高表达组的 OS 和 PPS 均明显长于低表达患者($P < 0.05$), 而对于复发前生存期, CHEK1 的高表达与低表达组之间并未观察到统计学差异($P > 0.05$)。TCGA-STAD 队列中, 观察到 CHEK1 高表达组($n=243$)的 OS 长于低表达组($n=127$)($HR=0.69$, 95% CI : 0.49 ~ 0.96, 图 2A)。在 Kaplan-Meier Plotter 数据库中, 根据 CHEK1 的表达水平($cut\ value=203$)将患者分为高表

达组和低表达组。结果显示高表达组($n=375$)的 OS 长于低表达组($n=499$)($HR=0.74$, 95% CI : 0.62 ~ 0.88); 高表达组($n=263$)的 PPS 亦长于低表达组($n=235$)($HR=0.64$, 95% CI : 0.51 ~ 0.80), 差异均具有统计学意义(图 2B、图 2D)。而对于 FP, 高表达组($n=319$)与低表达组($n=321$)之间并未观察到统计学差异($HR=0.86$, 95% CI : 0.70 ~ 1.05, 图 2C)。

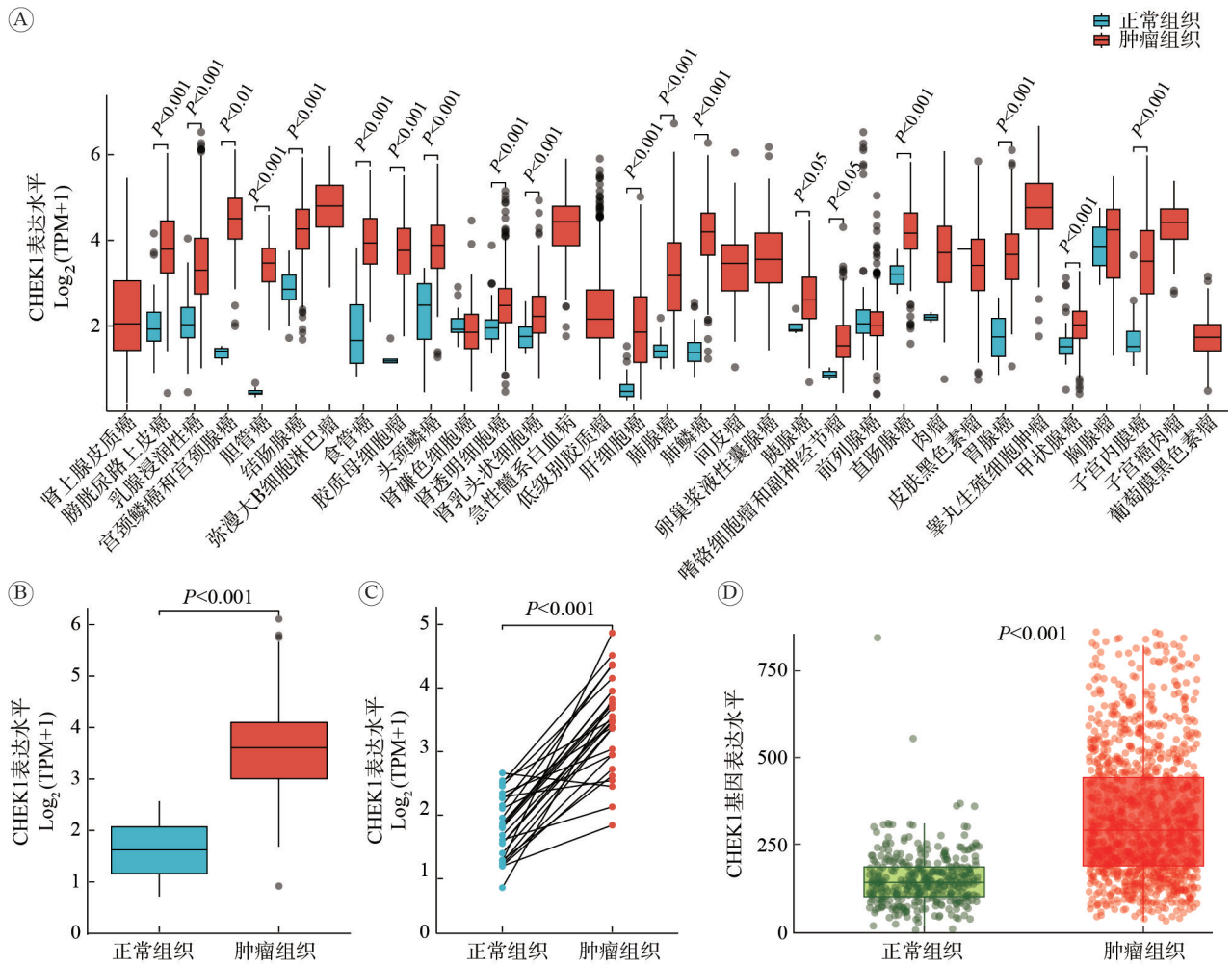
上述结果表明, CHEK1 的表达水平可能作为胃癌患者预后风险的潜在预测指标。具体而言, 高表达的 CHEK1 可能预示着胃癌患者具有较好的预后, 尤其是在疾病进展后的生存期。

2.3 CHEK1 共表达及功能富集分析

基于 TCGA-STAD RNA 测序数据及相应的临床数据, 本研究开展了 CHEK1 相关基因的共表达及功能富集分析。首先, 筛选具完整临床随访信息的肿瘤样本(剔除正常组织及资料缺失样本)。对基因表达值进行转换后, 以 CHEK1 为主变量, 通过 Spearman 秩相关分析全基因组表达谱进行分析。根据 *r* 值排序, 筛选出前 20 个核心共表达基因, 见图 3A。其次, 利用基因本体富集 GO 分析对这些共表达基因进行功能注释, 结果显示, 这些基因主要与细胞分裂周期中的姐妹染色单体分离过程相关。第三, KEGG 通路富集分析, 进一步揭示相关共表达基因主要集中在细胞周期相关通路, 以及细胞的成熟与分裂、衰老等生物学过程, 见图 3B、图 3C。

2.4 CHEK1 与肿瘤微环境中免疫细胞浸润的相关性

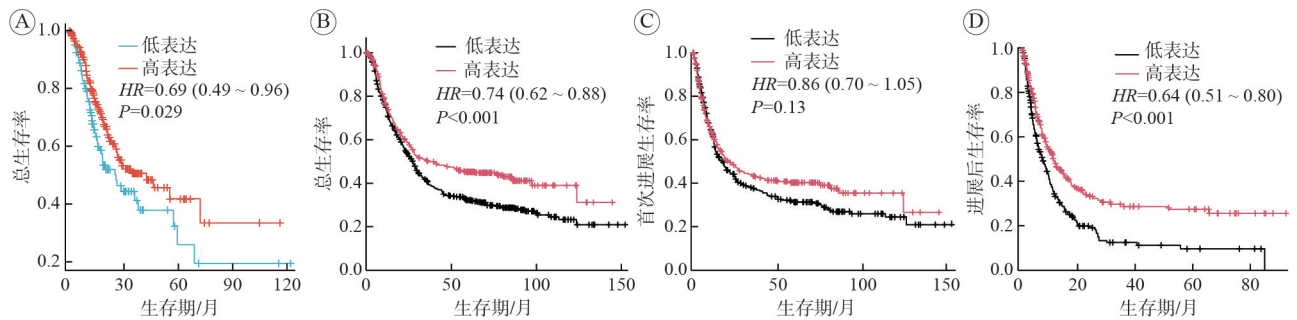
CHEK1 的高表达与免疫抑制性肿瘤微环境相关。为探讨 CHEK1 与免疫细胞浸润之间的关系, 我们采用了 ssGSEA 算法对 CHEK1 表达和免疫浸润矩阵数据进行相关性分析。在 24 种癌症中, 发现 CHEK1 的表达与免疫细胞浸润之间存在相关性, 具有统计学意义($P < 0.05$, 图 4A、图 4D)。CHEK1 表达与 Th 细胞浸润, 尤其是 Th2 细胞、激活的树突状细胞(activated dendritic cell, aDC)正相关($P < 0.05$), 而与其他类型免疫细胞[如 pDC、肥大细胞、NK 细胞、B 细胞、滤泡型 Th 细胞(follicular helper T cell, TFH)、未成熟树突状细胞(imature dendritic cell, iDC)、CD8⁺ 细胞、效应记忆 T 细胞(effector memory T cell, Tem)、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞、Th17 细胞、细胞毒细胞]浸润之间则存在负相关($P < 0.05$)。进一步聚焦于肿瘤细胞杀伤过程中的关键的免疫细胞 CD8⁺ T 细胞和



A: CHEK1 基因在泛癌中分组比较; B: CHEK1 在胃癌中非配对样本表达比较; C: 胃腺癌中肿瘤及对应的癌旁组织配对样本差异; D: GEO 数据库验证 CHEK1 在胃癌肿瘤组织和正常组织中的表达差异。

图 1 CHEK1 的差异表达分析

Fig. 1 Differential expression analysis of CHEK1



A: TCGA 数据库分析 CHEK1 表达与胃癌预后关系; B: GEO 数据库验证分析 CHEK1 基因表达与胃癌预后关系; C: CHEK1 基因表达对胃癌复发时间的影响; D: CHEK1 基因表达对胃癌患者疾病复发后生存的影响。

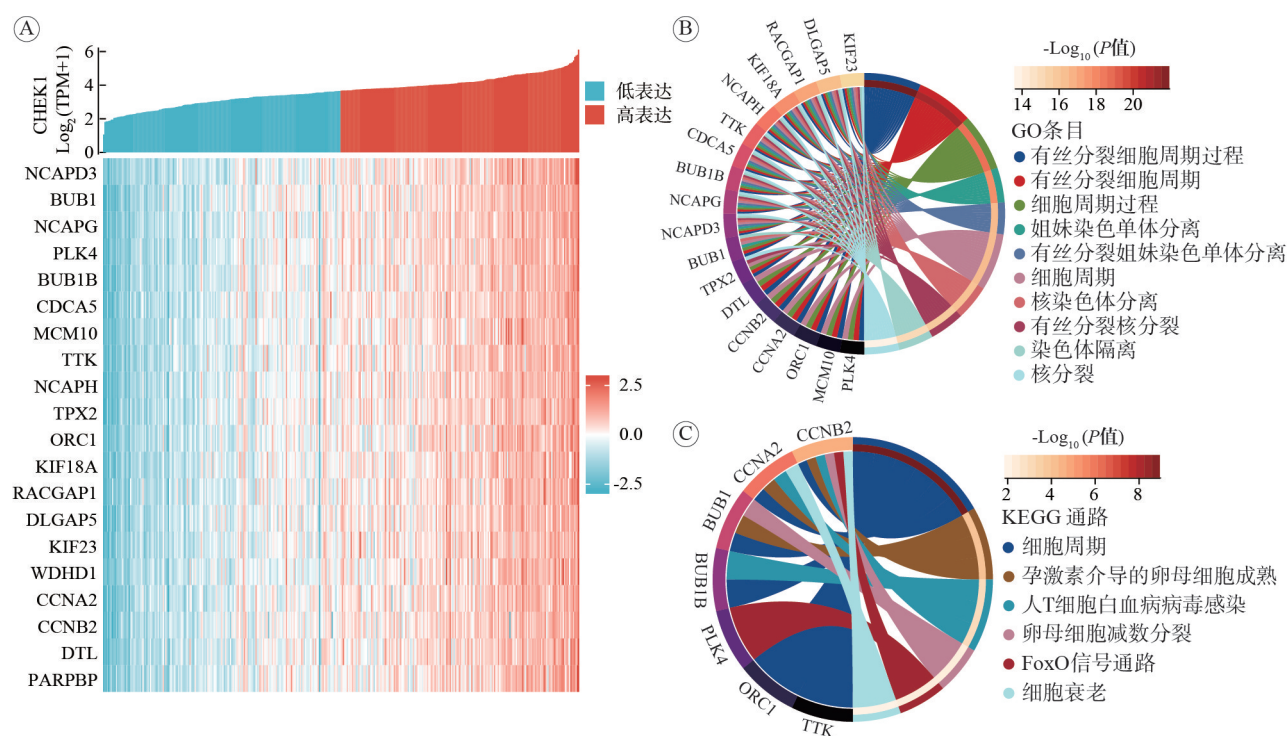
图 2 CHEK1 表达和胃癌预后相关性分析

Fig. 2 Correlation between CHEK1 expression and prognosis in gastric adenocarcinoma

DC 细胞, 分析结果显示, CHEK1 的高表达与 CD8⁺ 细胞及 DC 细胞呈明显的负相关性(图 4B、图 4C)。这一发现表明, CHEK1 的高表达可能与免疫抑制性肿瘤微环境的形成有关, 并会影响抗肿瘤免疫反应, 进而影响免疫治疗效果。

2.5 构建敲低 CHEK1 胃癌细胞系

通过 RT-PCR 和 Western blot 法检测转染敲降载体病毒及过表达质粒的胃癌细胞中 CHEK1 的表达效率。以正常培养的胃癌细胞及转染空载体病毒、空载体质粒的胃癌细胞为对照, 选择转染效率最



A: CHEK1 Top20 相关基因共表达热图; B: CHEK1 共表达基因的 GO 分析; C: CHEK1 共表达基因的 KEGG 分析。

图 3 共表达及功能富集分析

Fig. 3 Co-expression and functional enrichment analysis

高的细胞作为转染组。RT-PCR 结果显示, 转染组 CHEK1 mRNA 表达水平低于对照组, 具有统计学差异 ($P < 0.001$) (图 5A、图 5B); Western blot 结果也表明, 转染组 CHEK1 蛋白表达水平低于对照组, 差异有统计学差异 ($P < 0.001$)。这些结果表明, 已成功建立稳定敲降 CHEK1 的细胞系。

2.6 CHEK1 促进胃癌细胞系增殖并抑制凋亡

为进一步探讨 CHEK1 在胃癌细胞凋亡中的作用, 我们利用流式细胞仪检测细胞凋亡。将处于对数生长期的 AGS 细胞分为 CHEK1 敲低组、CHEK1 敲低对照组、CHEK1 过表达组、CHEK1 过表达对照组。采用 Annexin V-FITC/PI 双染法, 通过流式细胞仪检测 CHEK1 对胃癌细胞凋亡的影响。实验结果显示, CHEK1 敲低组的凋亡率为 $(39.28 \pm 3.40)\%$, CHEK1 敲低对照组为 $(7.86 \pm 1.36)\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); CHEK1 过表达组的凋亡率为 $(3.89 \pm 0.34)\%$, CHEK1 过表达对照组为 $(9.09 \pm 0.82)\%$, 差异也有统计学意义 ($P < 0.001$)。上述结果提示, CHEK1 的高表达可能通过调节细胞有丝分裂进程抑制胃癌细胞的凋亡 (图 6)。

2.7 CCK-8 检测细胞活性

采用 CCK-8 实验检测 CHEK1 对胃癌细胞增殖的影响。结果表明, 培养 24 h 后, 各组间增殖能力

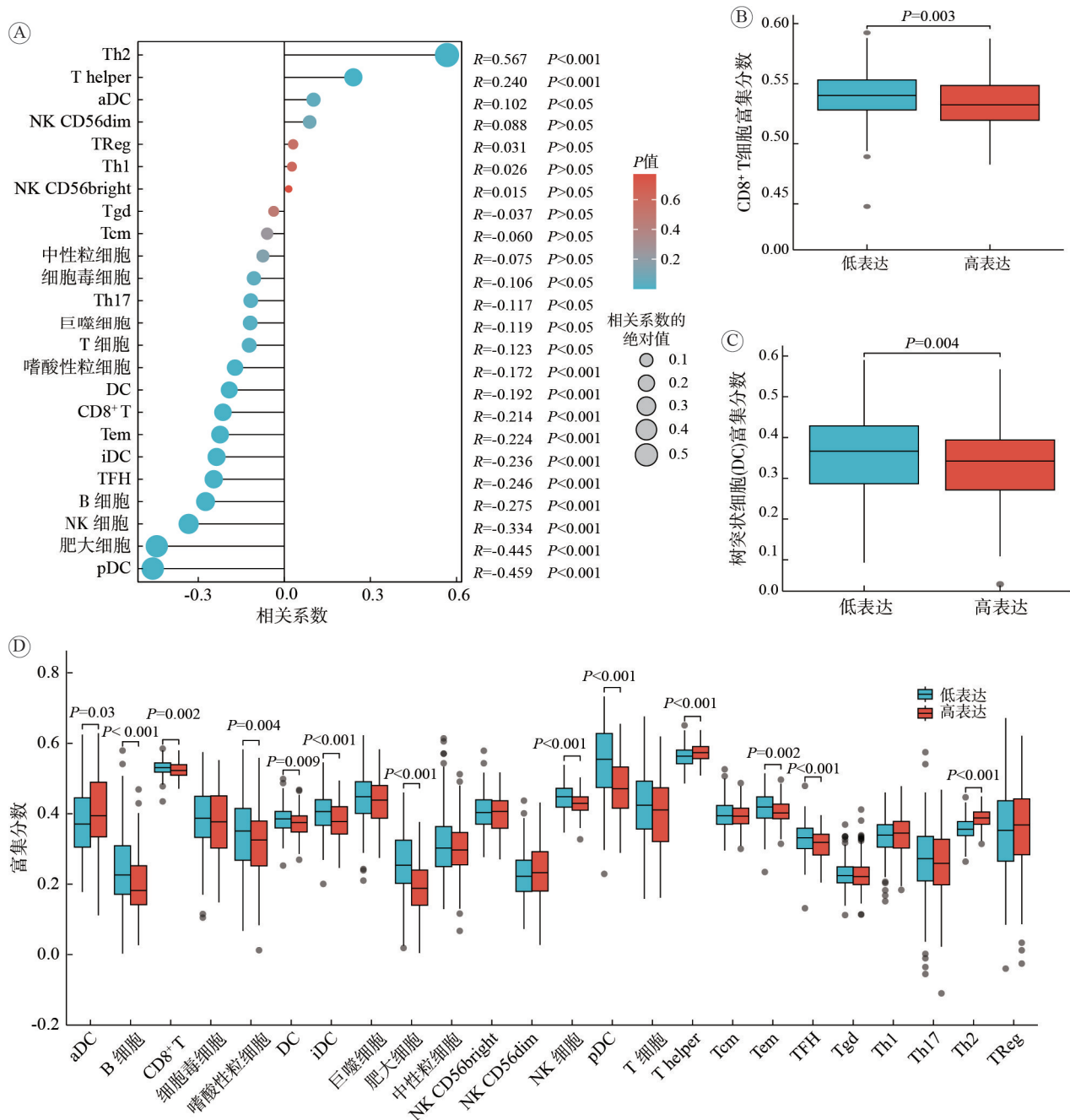
差异无统计学意义 ($P > 0.90$); 在 48、72、96 h 时, CHEK1 敲低组的增殖能力低于对照组, CHEK1 过表达组的增殖能力高于对照组, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.001$) (图 5C、图 5D)。结果提示, CHEK1 的表达水平与胃癌细胞的增殖能力呈正相关。

2.8 CHEK1 参与细胞的 DNA 损伤修复通路

Western blot 分析 (图 7) 揭示了 CHEK1 的表达水平与相关蛋白的表达情况。在 CHEK1 过表达组中, γ H2AX、cleaved-PARP 和 cleaved-caspase-3 条带在对照组中更为明显, 量化分析结果差异有统计学意义, 表明 CHEK1 过表达促进了 DNA 损伤修复并抑制了细胞凋亡。在 CHEK1 敲低组中, γ H2AX、cleaved-PARP 和 cleaved-caspase-3 的表达水平较敲低对照组升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$), 表明 CHEK1 敲低导致 DNA 损伤修复受阻并且促进了细胞凋亡。这进一步表明, CHEK1 可能通过调控细胞的 DNA 损伤修复机制来维持细胞的生存, 并且可能在肿瘤细胞的耐药性和细胞存活中发挥重要作用。

3 讨论

CHEK1 是细胞周期检查点及 DNA 损伤修复通路中的关键调控因子, 其异常表达与多种肿瘤的



A: CHEK1 基因高低表达与免疫细胞浸润相关性; B: CHEK1 基因高低表达与 CD8⁺ 细胞浸润相关性; C: CHEK1 基因高低表达与 DC 细胞浸润相关性; D: CHEK1 高低表达分组各免疫细胞浸润差异比较。

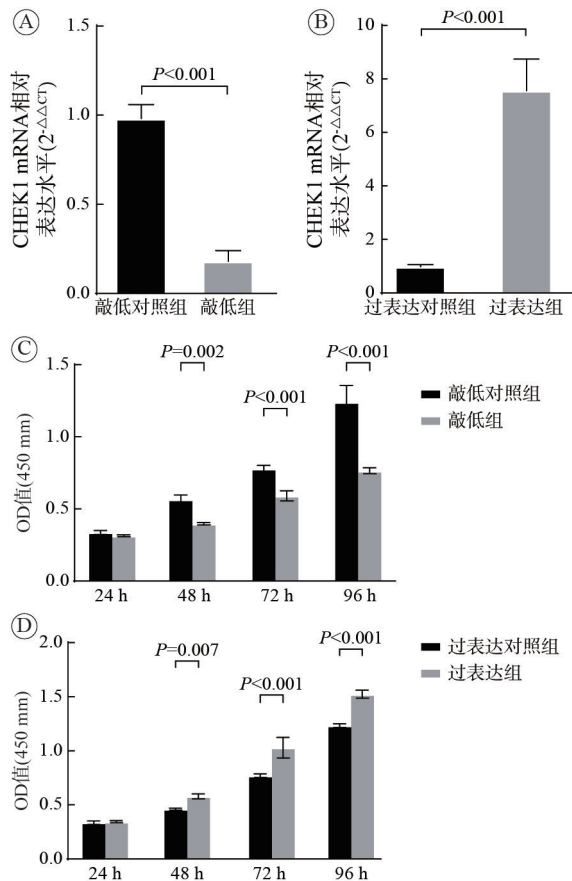
Th2: 辅助性 T 细胞 2; T helper: 辅助性 T 细胞; aDC: 激活的树突状细胞; NK CD56dim: 自然杀伤细胞低表达 CD56 亚群; TReg: 调节性 T 细胞; Th1: 辅助性 T 细胞 1; NK CD56bright: 自然杀伤细胞高表达 CD56 亚群; Tgd: $\gamma\delta$ T 细胞; Tcm: 中央记忆性 T 细胞; Th17: 辅助性 T 细胞 17; DC: 树突状细胞; Tem: 效应记忆 T 细胞; iDC: 未成熟树突状细胞; TFH: 滤泡型 Th 细胞; pDC: 浆细胞样树突状细胞。

图 4 胃腺癌中 CHEK1 基因与肿瘤免疫微环境相关分析

Fig. 4 Relationship between CHEK1 gene and the tumor immune microenvironment in gastric adenocarcinoma

发生发展密切相关^[20-21]。本研究通过泛癌分析及多数据库验证发现, CHEK1 在包括胃癌在内的多种肿瘤中表达上调, 并在胃腺癌组织中较正常组织显著升高^[22]; 生存分析结果进一步显示, CHEK1 高表达与胃癌患者更长的 OS 和 PPS 相关, 而对 FP 的影响未见显著差异; 结合功能富集及免疫相关

分析结果, 提示 CHEK1 可能通过参与细胞周期调控并影响免疫微环境, 在胃癌发生与进展过程中发挥作用。进一步的体外功能实验结果显示, 干预 CHEK1 表达可显著影响胃癌细胞的增殖活性和凋亡水平, CCK-8、凋亡分析及 Western blot 结果相互印证, 从细胞学层面对上述生物信息学推断



A: RT-qPCR 验证敲低组的构建; B: RT-qPCR 验证过表达组的构建; C: CCK-8 结果分析敲低组胃癌细胞系定量增殖; D: CCK-8 结果显示过表达组定量增殖活力差异。

图5 模型构建验证与CHEK1促进胃癌细胞系增殖

Fig. 5 Model construction validation and CHEK1 promotion of gastric cancer cell proliferation

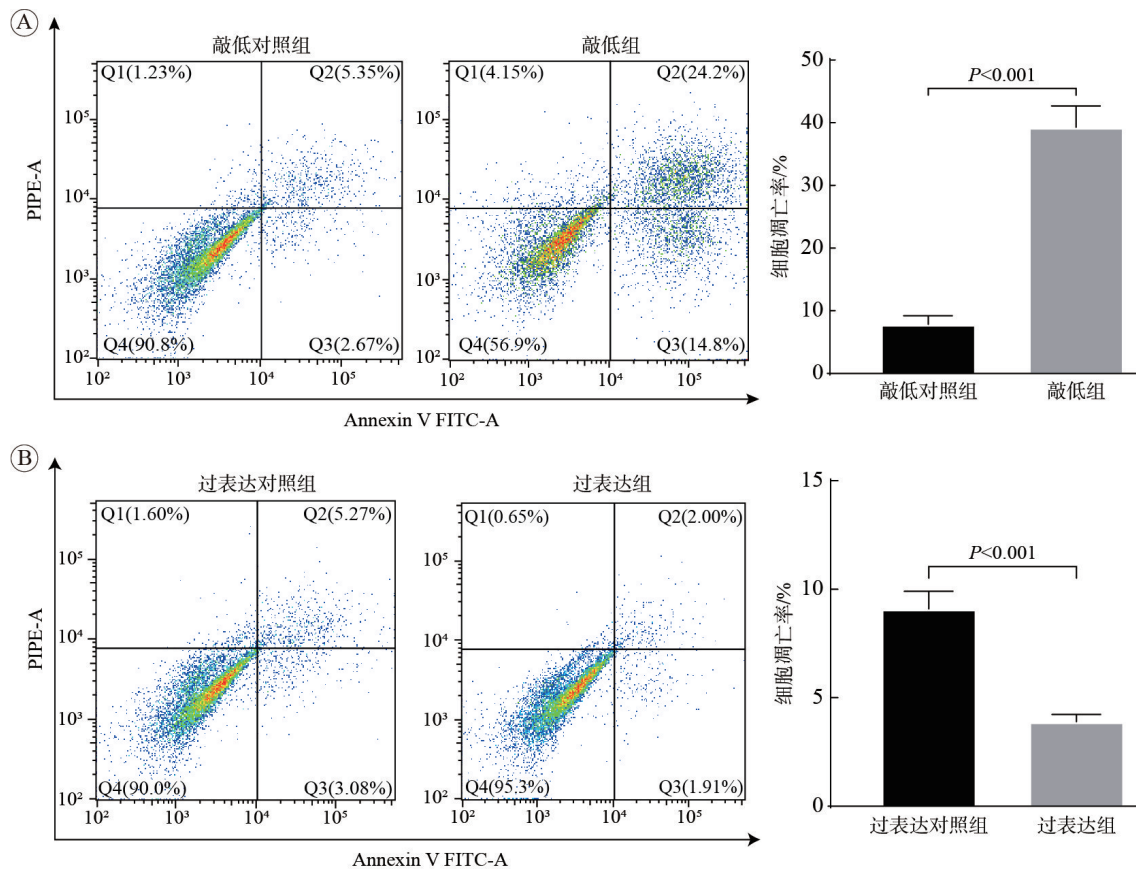
提供了支持^[23]。

在CHEK1与胃腺癌的预后相关分析中，CHEK1的高表达与胃癌患者较长的OS及PPS相关联，这一现象不同于乳腺癌等其他癌种^[7,24-25]。同时，也有相关研究通过多数据库系统分析CHEK1在多种实体瘤中的表达，得出类似的结论：在胃癌（以及结直肠癌）中，降低的CHEK1 mRNA表达是一个不良预后因素，即CHEK1表达低的患者生存更差^[9]。对此现象的解释，通过参考Mateusz K的研究结果，我们认为胃癌细胞对ATR-CHEK1通路表现出一种称为“分子脆弱性(molecular vulnerability)”的高度依赖，但其具体机制及其与肿瘤异质性、免疫状态之间的关系，尚未完全阐明^[23]。为明确CHEK1与胃癌预后之间的特殊关系，将分别从肿瘤细胞内在细胞周期/DDR机制和免疫微环境两方面展开，探讨其与预后表型不一致的可能原因。

通路分析中，CHEK1相关共表达基因的GO和KEGG富集分析显示，CHEK1共表达基因主要集中于细胞周期和有丝分裂的调控。同时，有研究表明，CHEK1相关基因及其共表达基因网络参与细胞周期检查点(S期、G2/M期)的调控与有丝分裂过程，是维持DNA完整性和基因组稳定性的关键因子。复制应激水平高、基因组不稳定性强的肿瘤高度依赖该通路^[26-27]。基于上述结论，我们提出假设：CHEK1的高表达可以通过强化肿瘤细胞的周期调控以及DNA的复制和修复过程，使其获得更快的增殖速度与耐受DNA损伤的优势，从而促进肿瘤进展。同时，这也为基于CHEK1抑制与DNA损伤的联合治疗策略提供了机制基础。此外，研究表明，CHEK1不仅在单一路径中发挥作用，还可能与其他关键通路(包括p53介导通路)存在复杂交互^[26]。因此，CHEK1与其他癌症信号通路的交互作用也值得进一步研究，以理解其多功能性。对于CHEK1高表达与胃癌患者较长OS和PPS相关的现象，上述单纯的细胞调控和DNA修复机制显然不能解释，我们推测这可能与胃癌肿瘤细胞的特定生物学行为及肿瘤微环境相关。

免疫浸润相关分析发现，CHEK1的高表达与多种效应性免疫细胞的浸润呈负相关，这可能与肿瘤的免疫逃逸相关^[28]。结果显示，CHEK1高表达组的CD8⁺T细胞和树突状细胞的富集分数低于低表达组，组间差异具有统计学意义，而Th2细胞富集分数高于低表达组，组间差异亦具有统计学意义，这与肿瘤微环境的免疫抑制特征相符^[7]。这一结果表明，CHEK1可能作为一个潜在的免疫逃逸促进因子，通过抑制有效免疫细胞，协助肿瘤逃避免疫监视，从而为肿瘤细胞的生长和进展提供有利条件。同时，这也为肿瘤免疫治疗提供了潜在的靶点。Huang等^[29]进行的一项研究正是通过机制、动物模型、免疫激活、治疗增效多方面印证，证明了CHEK1抑制与免疫检查点抑制剂联合治疗可一定程度上增强肿瘤抑制效果。遗憾的是，由于胃癌肿瘤微环境的复杂性与异质性很高，目前对胃癌免疫微环境与肿瘤分子特征(如基因表达、DNA修复基因等)之间关联的研究仍十分有限^[30]。因此，进一步解析CHEK1高表达与免疫逃逸及患者预后之间的关系，以及在不同胃癌亚型中的具体作用，仍是未来研究的重要方向。

矛盾的是，这一发现与我们基于公共数据库得出的“CHEK1高表达与胃癌患者较长OS和PPS



A: 流式细胞术敲低组及敲低对照组凋亡检测; B: 过表达组和过表达对照组凋亡检测。

图6 CHEK1促进胃癌细胞系抑制凋亡

Fig. 6 CHEK1 promotes suppression of apoptosis in gastric cancer cell lines

相关”的结果并不完全一致，提示CHEK1在胃癌中可能具有更为复杂且情境依赖的生物学作用。为对生物信息学预测进行初步实验验证，并进一步探索CHEK1在胃癌中的功能，我们开展了细胞学实验。需要指出的是，本研究体外实验主要用于验证CHEK1表达水平对细胞周期、增殖/凋亡的影响，而预后差异可能更多受到队列异质性与治疗情境调制。在CHEK1基因敲低的胃癌细胞中，细胞增殖能力显著下降，凋亡率显著升高，同时DNA损伤标志物 γ H2AX水平升高，提示CHEK1参与调控DNA损伤应答与细胞凋亡过程，这与免疫浸润分析的推测及既往相关研究结果基本一致^[26,31]。既往研究表明，CHEK1是ATM/ATR下游的重要效应分子，与ATM/ATR共同构成DNA损伤反应(DNA damage response, DDR)的核心轴，在DNA修复及细胞命运(存活与凋亡)的决策中具有关键作用，并在放疗增敏和降低化疗耐药性方面具有潜在意义^[32-34]。本研究的结果在现有文献基础上提示：CHEK1可能参与上述DDR/ATM-ATR-CHEK1轴的调控过程，有待在后续研究中通过检

测ATM/ATR及CHEK1磷酸化状态、通路抑制剂干预等实验进一步加以验证。

综上所述，CHEK1在生物学层面总体表现为促癌因子：其高表达与细胞周期加速、DNA损伤耐受增强以及免疫抑制性肿瘤微环境密切相关。然而，在预后分析中，我们却观察到CHEK1高表达与胃癌患者较长OS和PPS相关，而FP无统计学差异，这一“促癌表型”与“更长生存”的矛盾现象，提示CHEK1在胃癌中可能具有高度情境依赖的双重作用机制。我们认为，至少存在以下几种并行且可能相互交织的解释：(1)“分子脆弱性”假说认为，胃癌细胞在高复制应激和显著基因组不稳定背景下，对ATR-CHEK1轴形成高度依赖，高CHEK1表达一方面支持肿瘤细胞存活，另一方面也使其对DDR/CHK1抑制策略更为敏感，从而在接受系统治疗的患者中转化为更可控的疾病过程和更长的随访生存^[26,33,35]。(2)“基因组稳定性/稳态”假说认为，在高度异质的胃癌中，部分亚型在高CHEK1表达背景下通过维持相对可控的DNA修复和细胞周期检查点，避免了灾难性基因

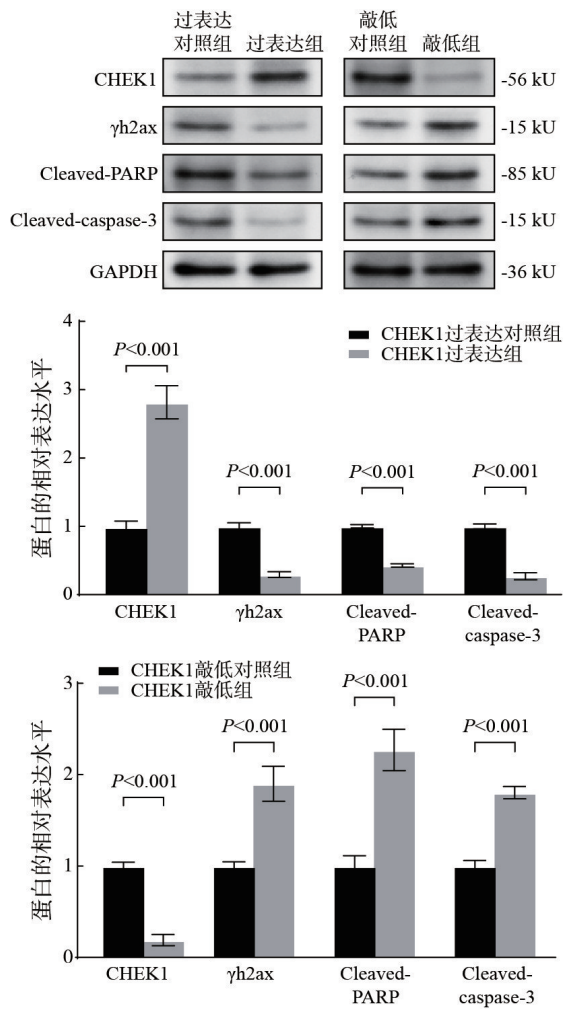


图7 Western blot分析AGS胃癌细胞系中CHEK1与凋亡及细胞周期相关蛋白的表达相互关系

Fig. 7 Western blot analysis of the relationship between CHEK1 expression and apoptosis/cell cycle-related proteins in AGS gastric cancer cell line

组崩溃和极端恶性克隆的快速扩张，使肿瘤进展节律相对“平缓”，从而并不显著缩短FP，却在长期随访中体现在OS和PPS的获益^[36-38]。(3)从肿瘤微环境视角看，CHEK1高表达虽然与CD8⁺T细胞和树突状细胞浸润减少、Th2细胞上升等免疫抑制特征相关，但DDR/CHK1轴同时参与调控肿瘤干性、免疫检查点表达及对免疫治疗的敏感性^[39-40]，在某些治疗情境下，高CHEK1表达人群可能更有机会从DNA损伤增强剂与免疫检查点抑制剂的联合治疗中获益^[41]。(4)胃癌本身显著的分子和临床异质性，以及不同队列间在分期构成、治疗方案、随访时间及统计cut-off设定上的差异，也可能放大或掩盖CHEK1与结局之间的真实关联，造成“生物学促癌而统计上OS/PPS较好、FP无差异”的表面矛盾。需要强调的是，上述解释目前仍属

于基于本研究结果与既往文献的综合推断，尚缺乏直接的机制证据支持，未来有必要结合多中心临床队列、分型分层分析以及功能与免疫学实验进一步加以验证。

尽管本研究取得了一定成果，但仍存在局限性。由于CHEK1在胃癌中的表达及免疫微环境极为复杂，其免疫浸润情况、细胞组成、空间结构、分子间相互作用网络等均呈现出高度异质性，有待进一步完善肿瘤细胞—免疫细胞共培养、关键免疫相关通路/因子检测等层面的直接证据来支撑CHEK1影响免疫微环境的具体机制^[42]，CHEK1表达与免疫微环境的关联尚未得到充分验证，缺乏直接的实验数据支持。后续可借助共培养体系、动物模型及多组学联合分析技术，全面探讨CHEK1在胃癌复杂生态系统中的作用网络。这为基于CHEK1靶点的创新治疗策略的开发奠定了更为坚实的理论基础和实践指导。期待能够推动胃癌精准医疗的发展进程，从而改善患者的预后及生存质量。细胞实验方面，本研究仅选用了单一的代表性胃癌细胞系AGS，不同胃癌细胞亚型在基因表达和生物学行为上存在异质性，未来需拓展至更多细胞系及原代细胞培养模型，验证结果的一致性和普遍性。此外，本研究进行的生物信息学分析依赖于公共数据库，可能存在潜在混杂因素影响结果的普适性，且本研究缺乏来自临床样本的实证验证，如组织芯片或患者随访数据，限制了结果证据的完整性。后续研究应整合多中心及多队列的临床数据，纳入更为全面的患者临床特征和治疗信息，以深入探讨CHEK1与胃癌预后及治疗反应之间的关系。

总之，本研究采用生物信息学分析与细胞实验相结合的方法，对CHEK1在胃癌中的表达模式及其潜在机制进行了系统评估，发现其上调与肿瘤增殖、凋亡抑制及免疫抑制微环境密切相关，阐明了CHEK1在胃癌中通过“细胞周期调控与免疫微环境重塑”双重机制促进肿瘤进展的作用。这些发现为CHEK1作为诊断、治疗和预后生物标志物的潜力提供了重要的理论依据，并为未来靶向治疗的开发和个体化免疫治疗的优化奠定了基础。需要强调的是，本研究观察到的“促癌相关生物学表型”与“统计学上更长OS/PPS”之间存在表面矛盾，提示CHEK1在胃癌中的预后意义可能具有治疗情境与队列异质性依赖，仍需进一步分层与机制研究验证。后续研究应专注于临床样

本的验证, 以及对CHEK1与免疫微环境之间相互作用的深入探讨。

作者贡献 付彦堪: 论文撰写; 李建雄: 审读和修订, 监督指导; 游路宽、许尹梅、王菀平、怀思远: 修订。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突。

数据共享声明 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取, Email:fl18835550676@163.com。

参考文献

- Qin NP, Fan YY, Yang T, et al. The burden of Gastric Cancer and possible risk factors from 1990 to 2021, and projections until 2035: findings from the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. *Biomark Res*, 2025, 13 (1): 5.
- Mamun TI, Younus S, Rahman MH. Gastric cancer-Epidemiology, modifiable and non-modifiable risk factors, challenges and opportunities: An updated review [J]. *Cancer Treat Res Commun*, 2024, 41: 100845.
- 许永虎, 徐大志. 21世纪以来胃癌治疗进展及未来展望 [J]. *中国癌症杂志*, 2024, 34 (3): 239-249.
- Sun Y, Pusanathan P, Lim T, et al. Advances and challenges in gastric cancer testing: the role of biomarkers [J]. *Cancer Biol Med*, 2025, 22 (3): 212-230.
- Kanayama K, Hirokawa YS. Molecular biomarkers in gastric cancer [M] // *Biomarkers in Cancer Detection and Monitoring of Therapeutics*. Amsterdam: Elsevier, 2024: 105-119.
- Patil M, Pabla N, Dong Z. Checkpoint kinase 1 in DNA damage response and cell cycle regulation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70 (21): 4009-4021.
- Zhou J, Wu ZY, Aili D, et al. Exploration of the carcinogenetic and immune role of CHK1 in human cancer [J]. *J Cancer*, 2024, 15 (18): 5927-5941.
- Wu M, Pang JS, Sun Q, et al. The clinical significance of CHEK1 in breast cancer: a high-throughput data analysis and immunohistochemical study [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12 (1): 1-20.
- Fadaka AO, Bakare OO, Sibuyi NRS, et al. Gene expression alterations and molecular analysis of CHEK1 in solid tumors [J]. *Cancers*, 2020, 12 (3): 662.
- Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2015, 19 (1A): A68-A77.
- Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 [J]. *Genome Biol*, 2014, 15 (12): 550.
- Tang ZF, Kang BX, Li CW, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (W1): W556-W560.
- Liu JF, Lichtenberg T, Hoadley KA, et al. An integrated TCGA pan-cancer clinical data resource to drive high-quality survival outcome analytics [J]. *Cell*, 2018, 173 (2): 400-416.
- Posta M, Györfy B. Pathway-level mutational signatures predict breast cancer outcomes and reveal therapeutic targets [J]. *Br J Pharmacol*, 2025, 182 (23): 5734-5747.
- Gargano MA, Matentzoglou N, Coleman B, et al. The Human Phenotype Ontology in 2024: phenotypes around the world [J]. *Nucleic acids research*, 2024, 52 (D1): D1333-D1346.
- Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51 (D1): D587-D592.
- Yu GC, Wang LG, Han YY, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *OMICS A J Integr Biol*, 2012, 16 (5): 284-287.
- Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSEA: gene set variation analysis for microarray and RNA-Seq data [J]. *BMC Bioinform*, 2013, 14 (1): 7.
- Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer [J]. *Immunity*, 2013, 39 (4): 782-795.
- Muzny DM, Bainbridge MN, Chang K, et al. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer [J]. *Nature*, 2012, 487 (7407): 330-337.
- Ősz Á, Aszódi B, Vajda R, et al. CHEK1 expression and inhibitors in TP53 mutant cancer [J]. *Magy Onkol*, 2019, 63 (4): 345-352.
- Bargiela-Iparraguirre J, Prado-Marchal L, Fernandez-Fuente M, et al. CHK1 expression in Gastric Cancer is modulated by p53 and RB1/E2F1: implications in chemo/radiotherapy response [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21519.
- Kciuk M, Gruszka R, Aleksandrowicz M, et al. ATR-CHK1 axis inhibitors in gastric cancer treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26 (16): 7709.
- Wen YP, Hou YY, Yi XQ, et al. EZH2 activates CHK1 signaling to promote ovarian cancer chemoresistance by maintaining the properties of cancer stem cells [J]. *Theranostics*, 2021, 11 (4): 1795-1813.
- Rong C, Liu Y, Xiang F, et al. Integrative bioinformatics analysis and experimental validation identify CHEK1 as an unfavorable prognostic biomarker related to immunosuppressive phenotypes in soft tissue sarcomas [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2025, 9 (1): 268.
- Jiang KL, Deng MJ, Du WJ, et al. Functions and inhibitors of CHK1 in cancer therapy [J]. *Med Drug Discov*, 2024, 22: 100185.
- Bartek J, Lukas J. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3 (5): 421-429.
- Lamplugh Z, Fan Y. Vascular microenvironment, tumor immunity and immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 811485.
- Huang R, Wu YJ, Shen FY, et al. Manganese-coordinated nanoparticles loaded with CHK1 inhibitor dually activate cGAS-STING pathway and enhance efficacy of immune checkpoint therapy [J]. *Biomaterials*, 2025, 319: 123199.
- Ma MW, Sun J, Liu Z, et al. The immune microenvironment in gastric cancer: prognostic prediction [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 836389.
- Liu XM, Chen F, Zhang F, et al. Knockdown of Chk1 inhibits proliferation and promotes apoptosis in mouse granulosa cells and its regulation mechanism by miR-15a and miR-16 [J]. *Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2022, 58 (7): 579-586.
- Luo R, Wu JN, Chen XM, et al. ATR/Chk1 interacting lncRNA modulates DNA damage response to induce breast cancer chemoresistance [J]. *Cell Insight*, 2024, 3 (5): 100183.
- Fernandez A, Artola M, Leon S, et al. Cancer vulnerabilities through targeting the ATR/Chk1 and ATM/Chk2 axes in the context of DNA damage [J]. *Cells*, 2025, 14 (10): 748.
- Huang RX, Zhou PK. DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5 (1): 60.
- da Costa AABA, Chowdhury D, Shapiro GI, et al. Targeting replication stress in cancer therapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*,

- 2023, 22 (1): 38-58.
- 36 Glaviano A, Singh SK, Lee EHC, et al. Cell cycle dysregulation in cancer [J]. *Pharmacol Rev*, 2025, 77 (2): 100030.
- 37 Nemtsova MV, Kuznetsova EB, Bure IV. Chromosomal instability in gastric cancer: role in tumor development, progression, and therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (23): 16961.
- 38 Xiao HP, He QJ, Hu Y, et al. A novel DNA damage-related gene index for predicting prognosis in gastric cancer [J]. *3 Biotech*, 2025, 15 (1): 32.
- 39 Hsieh RC, Krishnan S, Wu RC, et al. ATR-mediated CD47 and PD-L1 up-regulation restricts radiotherapy-induced immune priming and abscopal responses in colorectal cancer [J]. *Sci Immunol*, 2022, 7 (72): eabl9330.
- 40 Chen MQ, Huang L, Zhu MN, et al. Combined CHK1 and PD-L1 blockade as a novel therapeutic strategy against stemness and immunosuppression in ovarian cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2025, 74 (12): 365.
- 41 Carlsen L, El-Deiry WS. Anti-cancer immune responses to DNA damage response inhibitors: Molecular mechanisms and progress toward clinical translation [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 998388.
- 42 Mou P, Ge QH, Sheng R, et al. Research progress on the immune microenvironment and immunotherapy in gastric cancer [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1291117.

(责任编辑: 孟晓彤)

(上接第18页)

- 16 Dziedzic A. Is periodontitis associated with age-related cognitive impairment? the systematic review, confounders assessment and meta-analysis of clinical studies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15320.
- 17 Qian XS, Lin XX, Hu WQ, et al. Intestinal homeostasis disrupted by Periodontitis exacerbates Alzheimer's Disease in APP/PS1 mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2024, 21(1): 263.
- 18 Ma XY, Kim JK, Shin YJ, et al. Alleviation of cognitive impairment-like behaviors, neuroinflammation, colitis, and gut dysbiosis in 5xFAD transgenic and aged mice by *Lactobacillus mucosae* and *Bifidobacterium longum* [J]. *Nutrients*, 2023, 15 (15): 3381.
- 19 Jia L, Jiang YY, Wu LL, et al. *Porphyromonas gingivalis* aggravates colitis via a gut microbiota-linoleic acid metabolism-Th17/Treg cell balance axis [J]. *Nat Commun*, 2024, 15: 1617.
- 20 Pontifex MG, Connell E, Le Gall G, et al. A novel Mediterranean diet-inspired supplement ameliorates cognitive, microbial, and metabolic deficits in a mouse model of low-grade inflammation [J]. *Gut Microbes*, 2024, 16: 2363011.
- 21 Tsering J, Chen QQ, Li HH, et al. Effects of the Tibetan medicine Byur dMar Nyer INga Ril Bu on Alzheimer's disease in mice models [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114724.
- 22 Bonham KS, Fahur Bottino G, McCann SH, et al. Gut-resident microorganisms and their genes are associated with cognition and neuroanatomy in children [J]. *Sci Adv*, 2023, 9 (51): eadi0497.
- 23 Liao W, Wei JN, Liu CX, et al. Magnesium-L-threonate treats Alzheimer's disease by modulating the microbiota-gut-brain axis [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19 (10): 2281-2289.
- 24 Li ZW, Zheng GD, Wang N, et al. A flower-like brain targeted selenium nanocluster lowers the chlorogenic acid dose for ameliorating cognitive impairment in APP/PS1 mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71 (6): 2883-2897.
- 25 Chi L, Cheng X, Lin LS, et al. *Porphyromonas gingivalis*-induced cognitive impairment is associated with gut dysbiosis, neuroinflammation, and lymphatic dysfunction [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 755925.
- 26 Popescu C, Munteanu C, Angheliescu A, et al. Novelty in neuroinflammation in Alzheimer's disease - focus on gut and oral microbiota involvement [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 (20): 11272.
- 27 Borody TJ, Eslick GD, Clancy RL. Fecal microbiota transplantation as a new therapy: from *Clostridioides difficile* infection to inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, and colon cancer [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2019, 49: 43-51.
- 28 Sun J, Xu JX, Ling Y, et al. Fecal microbiota transplantation alleviated Alzheimer's disease-like pathogenesis in APP/PS1 transgenic mice [J]. *Transl Psychiatry*, 2019, 9: 189.
- 29 Huang HL, Xu HM, Luo QL, et al. Fecal microbiota transplantation to treat Parkinson's disease with constipation: A case report [J]. *Medicine*, 2019, 98 (26): e16163.
- 30 Yadegar A, Bar-Yoseph H, Monaghan TM, et al. Fecal microbiota transplantation: current challenges and future landscapes [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2024, 37 (2): e00060-e00022.
- 31 Duan LR, Liang JY, Zhang W, et al. The liquid crystal monomer EtCbn induced neurotoxicity by activating the NOD-like receptor signaling pathway through the Muribaculum-epigallocatechin axis [J]. *J Hazard Mater*, 2025, 496: 139206.

(责任编辑: 孟晓彤)