

CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白在食管胃结合部腺癌患者中差异表达及其机制探讨

王自涛*, 王瑞波, 孙江华

邯郸市第一医院 普外科, 河北 邯郸 056000

【摘要】 目的 探讨人类表皮生长因子受体 2 (CerbB-2)、细胞周期检验点激酶 1 (CHK1) 及 RAD51 蛋白在食管胃结合部腺癌(AEG)患者中的表达意义。方法 回顾性分析 2020 年 1 月至 2022 年 1 月在邯郸市第一医院确诊为 AEG 的 180 例患者资料, 取癌变部位组织标本 180 份作为癌变组, 取其远端正常胃黏膜组织 180 份作为对照组, 选取同时期胃黏膜上皮内瘤变组织 152 份, 并按照瘤变程度分为中低级别上皮内瘤变组($n=69$)及高级别上皮内瘤变组($n=83$)。采用蛋白质印迹法检测 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白在各组中的表达; 受试者操作特征曲线(ROC 曲线)分析 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白联合检测对 AEG 的诊断价值; 分析各蛋白与 AEG 患者临床病理特征的关系并探讨其相关机制。结果 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白在各组别之间的表达水平差异有统计学意义, 且均为对照组<中低级别上皮内瘤变组<高级别上皮内瘤变组<癌变组(均 $P<0.05$); ROC 曲线显示 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白联合检测的曲线下面积高于单一检测, 敏感度为 90.30%, 特异度为 85.60%; CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白阳性表达均与分化程度、Lauren 分型相关, 但 RAD51 蛋白阳性表达还与淋巴结转移相关(均 $P<0.05$); CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白阳性表达率均与分化程度、Lauren 分型呈负相关, 其中 RAD51 与淋巴结转移呈正相关(均 $P<0.05$)。结论 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白均在 AEG 患者中呈现高表达, 且与疾病进程及病理特征相关, 可通过检测其表达水平或阳性率诊断疾病发生及进展情况。

【关键词】 人类表皮生长因子受体 2; 细胞周期检验点激酶 1; RAD51 蛋白; 食管胃结合部癌

Differential expression and mechanism of CerbB-2, CHK1 and RAD51 in AEG patients

Wang Zitao*, Wang Ruibo, Sun Jianghua

Department of General Surgery, the First Hospital of Handan, Handan 056000, Hebei, China

*Corresponding author: Wang Zitao, E-mail: Wangzitao710@aliyun.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression of human epidermal growth factor receptor 2 (CerbB-2), cell cycle test point kinase 1 (CHK1) and RAD51 proteins in patients with esophagogastric junction adenocarcinoma (AEG). **Method** Retrospective analysis was performed on the data of 180 patients diagnosed with AEG in The First Hospital of Handan from January 2020 to January 2022. 180 tissue samples of cancerous sites were extracted as the cancer group, and 180 tissues of distal normal gastric mucosa were extracted as the control group. 152 intraepithelial neoplasia tissues of gastric mucosa in the same period were selected and divided into medium and low grade intraepithelial neoplasia group ($n=69$) and high grade intraepithelial neoplasia group ($n=83$). Western blotting was used to detect the expression of CerbB-2, CHK1 and RAD51 proteins in each group. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of the diagnostic value of combined detection of CerbB-2, CHK1 and RAD51 proteins for AEG. The relationship between each protein and the clinicopathological characteristics of AEG patients was analyzed and the related mechanism was further discussed. **Result** There were significant differences in CerbB-2, CHK1 and RAD51 proteins in all groups: control group<medium and low grade intraepithelial neoplasia group<high grade intraepithelial neoplasia group<cancer group (all $P<0.05$); ROC curve showed that the area under the curve of the combined detection of CerbB-2, CHK1 and RAD51 proteins was significantly higher than that of the single detection,

基金项目: 邯郸市科技计划项目(19422083010-23)

*通信作者: 王自涛, E-mail: Wangzitao710@aliyun.com

with a sensitivity of 90.30% and specificity of 85.60%. The positive expression of CerbB-2,CHK1 and RAD51 proteins were closely correlated with the degree of differentiation and Lauren typing, but the positive expression of RAD51 protein was also closely correlated with lymph node metastasis (all $P < 0.05$). The positive expression rates of CerbB-2,CHK1 and RAD51 proteins were negatively correlated with the degree of differentiation and Lauren typing, and RAD51 was positively correlated with lymph node metastasis (all $P < 0.05$). **Conclusion** CerbB-2,CHK1 and RAD51 proteins are highly expressed in Patients with AEG, and are closely related to disease progression and pathological features. The occurrence and progression of AEG can be diagnosed by detecting their expression level or positive rate.

[Key words] Human epidermal growth factor receptor 2; Cell cycle test point kinase 1; RAD51 protein; Esophagogastric junction carcinoma

食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)作为发生于胃食管交界处的一类腺癌,在我国发病率具有显著的地域性差异,且呈逐年上升趋势^[1]。目前AEG临床症状通常为消化不良、饱胀感增强等非特异性表现,因此大多数患者在确诊时已处于疾病中晚期,通过寻找生物学标志物对早期诊断与改善AEG患者预后具有重要作用^[2-3]。人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, CerbB-2)作为表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)成员之一,有研究指出其在多种恶性肿瘤中均具有特异性表达,能够通过介导RTK-Ras-MAPK等信号通路参与肿瘤细胞转移、侵袭过程^[4];细胞周期检验点激酶1(cell cycle test point kinase 1, CHK1)同样作为在多肿瘤疾病中表达上调的一类蛋白,还与肿瘤耐药性相关^[5];RAD51蛋白作为能够修复DNA双链断裂的一类蛋白分子,其不同的表达水平会使机体产生不同的生物学行为^[6]。虽众多文献研究指出CerbB-2、CHK1及RAD51参与不同恶性肿瘤的发展过程,但其在AEG中的表达及影响机制暂未阐明,因此本研究通过检测180例AEG患者癌组织中的CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白表达差异,并分析其与临床病理特征的关系及可能作用机制,为提供早期诊断AEG的工具及新的治疗方式奠定理论基础。

1 一般资料及方法

1.1 一般资料 回顾性分析2020年1月至2022年1月在邯郸市第一医院确诊为AEG的180例患者资料,取癌变部位组织标本180份作为癌变组,取其远端正常胃黏膜组织180份作为对照组,另选取同时期胃黏膜上皮内瘤变组织152份,并按照瘤变程度分为中低级别上皮内瘤变组($n=69$)

及高级别上皮内瘤变组($n=83$)。其中AEG患者包括男性96例,女性84例,年龄为43~71岁,平均(58.32 ± 8.21)岁;选取的胃黏膜上皮内瘤变患者包括男性82例,女性70例,年龄为40~72岁,平均(57.31 ± 9.10)岁,所有患者一般资料均具有可比性($P > 0.05$)。

纳入标准:符合美国癌症综合网(National comprehensive Cancer Network)肿瘤临床实践指南中关于食管胃结合部肿瘤的诊断标准^[7];临床资料及一般信息完整;知情并同意本研究使用其临床资料。排除标准:接受过任何抗肿瘤相关治疗;合并其他恶性肿瘤者;合并精神系统疾病者;研究期间未经同意私自服用抗肿瘤药物者;合并先天性免疫功能障碍者。

1.2 方法

1.2.1 蛋白质印迹法检测CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白表达水平 首先取适量的RIPA裂解液,将其缓慢地加入各组样本中,提取样本的总蛋白,并采用二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)测定法对各样本中总蛋白浓度进行测量及计算。随后通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白质并转印至聚偏二氟乙烯(polyacrylamide gel electrophoresis, PVDF)膜,5%的脱脂牛奶进行封闭;于4℃冰箱中分别用稀释后的CyclinD1(1:1000)、 γ -H2AX(1:500)、 β -actin(1:1000)一抗孵育过夜,洗膜后,再于室温下用稀释的山羊抗兔二抗(1:2000)孵育1h。加显影液,避光显影,曝光拍照,ImageJ软件分析CerbB-2、CHK1、RAD51的蛋白表达量。

1.2.2 免疫组织化学法检测CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白阳性率 收集标本并采用10%甲醛溶液固定;石蜡包埋在切片机上切呈厚度4 μ m左右

的薄片;采用常规脱蜡至水操作处理标本后再经120 s 高压抗原修复,用以阻断内源性过氧化物酶活性;按照1:200比例稀释后在4℃的条件下孵育过夜,取出后先在室温条件下静置30 min,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤后加入二抗并继续在37℃条件下静置30 min;再次经过PBS洗涤、DAB试剂显色、苏木精二次复染后封片;采用已知的CerbB-2、CHK1、RAD51阳性组织切片作为阳性对照, PBS代替一抗作为阴性对照,由经验丰富的病理科医生进行阅片。根据着色情况进行赋值,无着色=0分、淡黄色=1分、棕黄色=2分、棕褐色=3分。根据阳性细胞占总细胞的比例进行赋值, <10%=0分、10%~24%=1分、25%~49%=2分、50%~74%=3分、≥75%=4分,将两项分数相乘,以结果为≥2判读为阳性^[8]。

1.3 观察指标 ①对比不同组织中CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白的表达;②ROC曲线分析CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白联合检测对AEG的诊断价值;③分析CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白与AEG患者临床病理特征的关系及相关系数。

1.4 统计学处理 使用SPSS 25.0统计软件进行数据分析。计量资料行正态性检验后若服从正态分布和方差齐性,用(均数±标准差)表示,组间采用独立样本 t 检验或配对 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验。受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白联合检测对AEG的诊断价值。Spearman分析CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白与AEG临床病理特征的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对比CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白在腺癌组织、正常组织及上皮内瘤变组织中的表达差异CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白在各组别之间的差异有统计学意义,且均为对照组<中低级别上皮内瘤变组<高级别上皮内瘤变组<癌变组(均 $P<0.05$),见表1、图1。

2.2 ROC曲线分析CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白联合检测对AEG的诊断价值 各指标诊断效能见表2,ROC曲线显示CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白联合检测的曲线下面积高于单一检测,具有较高的敏感性与特异性($P<0.05$),见图2。

表1 各组CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白表达差异($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CerbB-2	CHK1	RAD51
对照组	180	0.76±0.09	0.87±0.08	0.91±0.10
中低级别上皮内瘤变组	69	0.81±0.12	2.38±0.12*	2.15±0.13*
高级别上皮内瘤变组	83	1.18±0.21	5.27±0.34**	4.78±0.21**
癌变组	180	1.49±0.28	9.11±1.22***	7.89±0.84***
F值		7.532	21.245	18.421
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注: *与对照组相比 $P<0.05$; **与中低级别上皮内瘤变相比 $P<0.05$; ***与高级别上皮内瘤变相比 $P<0.05$ 。CerbB-2, 人类表皮生长因子受体2; CHK1, 细胞周期检验点激酶1。

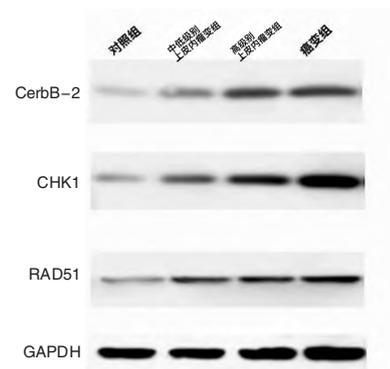


图1 蛋白质印迹法检测各组CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白表达水平

注: CerbB-2, 人类表皮生长因子受体2; CHK1, 细胞周期检验点激酶1; GAPDH, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

表2 CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白联合检测及单一检测的曲线下面积和诊断效能

指标	95%CI	P值	敏感度(%)	特异度(%)	曲线下面积	截断值
联合检测	0.751~0.879	<0.001	90.30	85.60	0.815	--
CerbB-2	0.505~0.666	0.035	82.20	74.60	0.586	1.23
CHK1	0.674~0.815	<0.001	71.20	65.60	0.745	7.32
RAD51	0.570~0.723	<0.001	70.20	61.30	0.646	6.64

注: CerbB-2, 人类表皮生长因子受体2; CHK1, 细胞周期检验点激酶1。

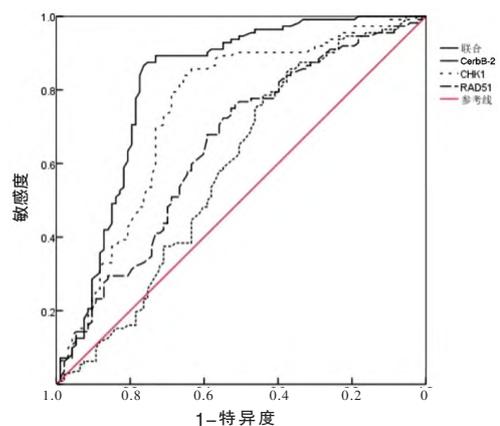


图2 CerbB-2、CHK1、RAD51蛋白联合检测及单独检测对AEG的诊断价值

2.3 分析 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白与 AEG 患者临床病理参数之间的关系 患者不同分化程度、Lauren 分型之间的 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白阳性率差异均有统计学意义($P<0.05$);淋巴结

转移与未转移患者间的 RAD51 蛋白阳性率差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

2.4 Spearman 秩相关检验分析 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白与 AEG 临床病理特征的相关性 CerbB-

表 3 分析 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白与 AEG 患者临床病理参数之间的关系

病理参数	例数	CerbB-2 阳性率(%)	χ^2 值	P 值	CHK1 阳性率(%)	χ^2 值	P 值	RAD51 阳性率(%)	χ^2 值	P 值
年龄			0.706	0.401		1.159	0.282		0.162	0.687
≤55 岁	97	54(55.67)			58(59.79)			52(53.61)		
>55 岁	83	41(49.40)			43(51.81)			42(50.60)		
性别			1.682	0.195		2.388	0.122		0.067	0.795
男	96	55(57.29)			59(61.46)			51(53.13)		
女	84	40(47.62)			42(50.00)			43(51.19)		
肿瘤直径			0.184	0.668		0.882	0.348		0.054	0.816
≥4 cm	105	54(51.43)			62(59.05)			54(51.43)		
<4 cm	75	41(54.67)			39(52.00)			40(53.33)		
分化程度			4.662	0.031		5.542	0.019		6.279	0.012
高	78	34(43.59)			36(46.15)			32(41.03)		
中低	102	61(59.80)			65(63.73)			62(60.78)		
Lauren 分型			6.366	0.012		11.962	0.001		19.039	<0.001
肠型	103	46(44.66)			48(46.60)			39(37.86)		
弥漫型	77	49(63.64)			53(68.83)			55(71.43)		
侵犯深度			1.026	0.311		0.528	0.467		0.632	0.427
T ₁ ~T ₂ 期	86	42(48.84)			44(51.16)			49(56.98)		
T ₃ ~T ₄ 期	94	53(56.38)			57(60.64)			45(47.87)		
淋巴结转移			2.876	0.090		1.637	0.201		8.709	0.003
有	96	45(46.88)			52(54.17)			60(62.50)		
无	84	50(59.52)			49(58.33)			34(40.48)		

注: CerbB-2, 人类表皮生长因子受体 2; CHK1, 细胞周期检验点激酶 1; AEG, 食管胃结合部腺癌。

2、CHK1、RAD51 蛋白阳性表达率均与分化程度、Lauren 分型呈负相关, 其中 RAD51 与淋巴结转移呈正相关(均 $P<0.05$), 见表 4。

表 4 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白与 AEG 患者临床病理特征的相关性

临床特征	分化程度		分化程度		分化程度	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
CerbB-2	-0.719	<0.001	-0.639	<0.001	-	-
CHK1	-0.694	<0.001	-0.673	<0.001	-	-
RAD51	-0.703	<0.001	-0.723	<0.001	0.686	<0.001

注: CerbB-2, 人类表皮生长因子受体 2; CHK1, 细胞周期检验点激酶 1; AEG, 食管胃结合部腺癌。

3 讨论

胃癌作为我国常见的一项恶性消化道肿瘤, 随着医学技术的不断发展及抗肿瘤药物的应用, 其死亡率及发病率在一定程度上受到控制, 但

AEG 的发病率仍呈逐年上升趋势^[9]。由于 AEG 具有非特异性的临床表现, 难以在早期发现, 且临床诊断方式多采用胃镜取材等侵入性操作, 对患者的生理心理均造成不同程度的损害, 因此通过寻找对 AEG 具有较高敏感度与特异度的生物学指标不仅对早期诊断具有重要意义, 还能为寻找相关治疗靶点提供依据^[10-11]。研究发现 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白在不同的消化道疾病中均有特异性表现, 但其在 AEG 中的相关表达及机制报道不多^[12]。

通过与癌旁正常组织及不同瘤变程度的胃黏膜上皮对比显示, AEG 腺癌组织的 CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白表达水平均升高 ($P<0.05$), 与其在大多数恶性肿瘤中的表达趋势基本一致^[13]。此外 ROC 曲线分析显示, CerbB-2、CHK1、RAD51 联合检测能够在早期有效诊断 AEG, 而单独指标检测的敏感度及特异度较低, 可能由于在不同的恶性肿瘤中, 各指标均具有特异性表现, 因此单一

检测不具有特异性,因此诊出率较低^[14]。

鉴于 CerbB-2、CHK1、RAD51 在 AEG 患者中均具有特异性表现,因此本研究进一步分析各蛋白表达阳性率与临床病例特征之间的关系,结果显示 CerbB-2 蛋白阳性表达与分化程度、Lauren 分型相关。由于 CerbB-2 作为 EGFR 家族的一员,毗邻拓扑异构酶基因,从而介导多种细胞增殖、分化过程,促使恶性肿瘤细胞恶性程度升高,Janjigian 等^[15]通过 CerbB-2 与胃癌之间的关系研究指出 CerbB-2 可通过 RTK-Ras-MAPK 信号通路等途径促使细胞进行有丝分裂,进一步增加肿瘤细胞增殖、分化的能力。而在本研究中同样显示 CerbB-2 与 AEG 分化程度之间呈负相关,因此笔者猜测 CerbB-2 或许在 AEG 患者体内可同样通过 RTK-Ras-MAPK 信号通路促进 AGE 恶性肿瘤发生转移、侵袭。此外,由于 CerbB-2 表达过高会产生异源二聚化,从而阻断信号通路进行信号传导,为肿瘤恶性程度升高提供物质基础^[16]。

另外,本研究还指出 CHK1 蛋白阳性表达与分化程度、Lauren 分型相关,提示 CHK1 作为细胞周期调控相关机制的一类蛋白分子,若相关蛋白质发生缺失则会导致基因组失调,从而影响恶性肿瘤疾病进程,而 CHK1 高表达会造成细胞周期监测点对 DNA 损伤的修复作用下降,从而加重疾病恶性程度。胃癌治疗的相关基础研究发现,CHK1 作为监视 DNA 损害反应与维持基因组稳定性的关键中心,若降低 CHK1 活性则可阻滞及诱导细胞发生凋亡,因此从侧面提示当患者 CHK1 阳性表达率升高时,说明 CHK1 活性增高并增强 DADS 阻滞 G₂/M 期作用,促进肿瘤恶性程度升高,与本研究结论具有一致性,即 CHK1 表达越高,AEG 分化程度越低,提示肿瘤恶性程度越高^[17]。分析其可能通过磷酸化被激活,进一步诱导 LDM 降低 DNA 自我修复能力,因此在恶性肿瘤不断转移、浸润的过程中无法有效阻止 CHK1 高表达,从而促进疾病恶性程度升高。此外,其在弥漫型中的阳性表达率也高于肠型,说明 CHK1 高表达患者的肿瘤恶性程度更高,也能够进一步印证以上说法^[18]。

此外 RAD51 蛋白阳性表达不仅与分化程度、Lauren 分型相关,还与淋巴结转移之间联系较为密切,分析由于 RAD51 作为对断裂的 DNA 双链具有修复作用的一项蛋白,虽其能通过复杂的信号通路感应 DNA 损伤情况,并通过同源重组修复受

损 DNA,但其过表达会引起基因产生不稳定性,造成肿瘤细胞过度增殖的同时阻止其成熟分化,因此进一步加剧肿瘤恶性程度并促进肿瘤侵袭、转移。因此,在本研究中表现为 RAD51 阳性表达患者的肿瘤恶性程度越高,且更易发生淋巴结转移,均与 RAD51 过表达会引发基因不稳定相关。且 RAD51 与 CHK1 均可将细胞生长周期阻滞于 G₂/M 期,因此进一步抑制了细胞自身的修复能力,导致自身正常细胞在受损之后无法进行有效的自我修复,从而使恶性肿瘤细胞更易侵袭,造成弥漫型侵犯^[19]。

综上所述,CerbB-2、CHK1、RAD51 蛋白在 AEG 患者中均呈现高表达,且与临床病理参数相关,可以将以上指标联合检测用于 AEG 诊断及评估病情进展,本研究未进行相关基础研究,可进行相关的基础研究探讨 CerbB-2、CHK1、RAD51 是通过介导哪些通路及因子从而发挥促肿瘤细胞生长的作用,为明确 AEG 发病的相关机制及提供新治疗靶点奠定基础。

参考文献

- [1] KUMAMOTO T, KURAHASHI Y, NIWA H, et al. True esophagogastric junction adenocarcinoma: background of its definition and current surgical trends [J]. Surg Today, 2020, 50(8): 809-814.
- [2] 王伟. 胸腔单孔辅助腹腔镜 Siewert II 型进展期食管胃结合部腺癌根治术 [J/CD]. 消化肿瘤杂志(电子版), 2019, 11(4): 386-388.
- [3] KUROKAWA Y, TAKEUCHI H, DOKI Y, et al. Mapping of Lymph Node Metastasis From Esophagogastric Junction Tumors: A Prospective Nationwide Multicenter Study [J]. Ann Surg, 2021, 274(1): 120-127.
- [4] JANGJIAN YY, KAWAZOE A, YAÑEZ P, et al. The KEYNOTE-811 trial of dual PD-1 and HER2 blockade in HER2-positive gastric cancer [J]. Nature, 2021, 600(7890): 727-730.
- [5] LI F, KOZONO D, DERASKA P, BRANIGAN T, et al. CHK1 Inhibitor Blocks Phosphorylation of FAM122A and Promotes Replication Stress [J]. Mol Cell, 2020, 80(3): 410-422.
- [6] BONILLA B, HENGEL SR, GRUNDY MK, et al. RAD51 Gene Family Structure and Function [J]. Annu Rev Genet, 2020, 23(54): 25-46.
- [7] AJANI JA, D'AMICO TA, BENTREM DJ, et al. Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers, Version 2.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [J]. Natl Compr Canc Netw, 2019, 17(7): 855-883.
- [8] 姜洋, 金晓明, 屠康. 平均阳性染色面积百分比法分析免疫

- 组化结果初探[J]. 生物医学工程学杂志, 2007, 24(3): 650-653.
- [9] 曹晖, 赵恩昊. 从“单打独斗”到“合作共赢”: 论多学科团队在食管胃结合部腺癌诊治中的现状和展望[J]. 中华消化外科杂志, 2021, 20(6): 617-624.
- [10] JUNG MK, SCHMIDT T, CHON SH, et al. Current surgical treatment standards for esophageal and esophagogastric junction cancer[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2020, 1482(1): 77-84.
- [11] WANG ZY, XIAO W, JIANG YZ, et al. HN1L promotes invasion and metastasis of the esophagogastric junction adenocarcinoma[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(5): 650-658.
- [12] FERETZAKI M, PPSISILOVA M, VALADOR Fernandes R, et al. RAD51-dependent recruitment of TERRA lncRNA to telomeres through R-loops[J]. *Nature*, 2020, 587(7833): 303-308.
- [13] 闫静波, 卫茹. 食管胃结合部腺癌中 CHK1 蛋白的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(8): 907-910.
- [14] CHEN H, HE C, WANG C, et al. RAD51 supports DMC1 by inhibiting the SMC5/6 complex during meiosis[J]. *Plant Cell*, 2021, 33(8): 2869-2882.
- [15] JANJIGIAN YY, MARON SB, CHATILA WK, et al. First-line pembrolizumab and trastuzumab in HER2-positive oesophageal, gastric, or gastro-oesophageal junction cancer: an open-label, single-arm, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(6): 821-831.
- [16] 王铮, 苏丹柯, 赖少侣, 等. 胃癌 MRI 非形态学表征与 Her-2 表达水平的相关性分析[J]. 临床放射学杂志, 2019, 38(2): 281-285.
- [17] WEN Y, HOU Y, YI X, 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.
- [18] KLOMP JE, LEE YS, GOODWIN CM, et al. CHK1 protects oncogenic KRAS-expressing cells from DNA damage and is a target for pancreatic cancer treatment[J]. *Cell Rep*, 2021, 37(9): 110060.
- [19] WILDE JJ, AIDA T, DEL RPSARIO RCH, et al. Efficient embryonic homozygous gene conversion via RAD51-enhanced interhomolog repair[J]. *Cell*, 2021, 184(12): 3267-3280.