

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.22.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221017.1413.003.html\(2022-10-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221017.1413.003.html(2022-10-17))

Twist1 和血管生成拟态在结直肠癌中的表达和临床意义*

潘成武¹,张新鑫¹,张晨嵩¹,李雷¹,谢波¹,李靖¹,马家驰¹,冯振中^{2△}

(蚌埠医学院第一附属医院:1.肿瘤外科;2.病理科,安徽蚌埠 233000)

[摘要] 目的 分析 Twist1 在结直肠癌(CRC)中的表达及对血管生成拟态(VM)的影响。方法 收集 124 例 CRC 病例资料,通过免疫组织化学分析 CRC 组织及正常结直肠黏膜组织中 Twist1、血管内皮细胞钙黏连蛋白(VE-cadherin)表达差异及其与预后及临床参数间的关系,对比 CRC 组织及正常结直肠黏膜组织中存在的 VM 现象。沉默 CRC 细胞株 Twist1 表达水平,通过蛋白免疫印(Western blot)迹检测 VM 法相关分子表达情况,观察 Twist1 对于结直肠癌细胞侵袭、迁移和 VM 的影响。结果 与正常结直肠黏膜组织比较,CRC 组织 Twist1、VE-cadherin 阳性率升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。Twist1、VE-cadherin 及 VM 与 CRC 的血管侵犯和淋巴结转移有关($P<0.05$);总生存率统计分析显示, Twist1 高表达 CRC 患者 5 年生存率明显低于 Twist1 低表达患者($P<0.01$)。沉默 Twist1 表达后, si-Twist1 组 CRC 细胞的侵袭、迁移能力较 si-NC 组(阴性对照)明显降低($P<0.05$),上皮间质转化(EMT)相关因子 Snail、N-cadherin 及 VM 相关蛋白 VE-cadherin 的表达水平均较 si-NC 组明显降低($P<0.05$)。结论 Twist1 在 CRC 组织中高表达并与肿瘤 VM 相关,对 CRC 细胞侵袭、迁移等恶性生物学行为具有重要影响,对评估患者预后具有一定的价值。

[关键词] Twist1;血管生成拟态;结直肠癌;侵袭;转移**[中图法分类号]** R735.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)22-3813-06

Expression and clinical significance of Twist1 and angiogenesis mimicry in colorectal cancer*

PAN Chengwu¹,ZHANG Xinxin¹,ZHANG Chensong¹,LI Lei¹,XIE Bo¹,LI Jing¹,MA Jiachi¹,FENG Zhenzhong^{2△}

(1. Department of Oncological Surgery;2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the expression of Twist1 in colorectal cancer (CRC) and its influence on vasculogenic mimicry(VM). **Methods** The data of 124 cases of CRC were collected, and the expression levels of Twist1, VE-cadherin in the CRC tissue and normal colorectal mucosal tissues were detected by using the immunohistochemistry, their influence on the prognosis and their relationship with clinical parameters were analyzed. The VM phenomenon was compared between the CRC tissue and normal colorectal mucosal tissue. The expression level of Twist1 was silenced, and the expression levels of VM-related molecules were detected by Western blot. The effect of Twist1 on the invasion, metastasis and VM of CRC was observed. **Results** Compared with normal colorectal mucosal tissues, the Twist1 and VE-cadherin expression levels in the CRC tissue were increased, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Twist1, VE-cadherin and VM were related to the vascular invasion and lymph node metastasis in colorectum ($P<0.05$). In the total survival rate statistical analysis, the higher the expression of Twist1, the poorer the prognosis of patients. After silencing the expression level of Twist1, the invasion and migration abilities of CRC cells in the si-Twist1 group were significantly decreased when compared with the si-NC group (negative group, $P<0.05$), the expression levels of epithelial-mesenchymal transition (EMT) related factors Snail, Slug and VM related protein VE-cadherin were significantly decreased when compared with the si-NC group ($P<0.05$). **Conclusion** Twist1 is highly expressed in CRC tissues and is related to tumor metastasis and VM, which has an important effect on

* 基金项目:安徽省自然科学基金项目(1908085MH275);蚌埠医学院自然科学基金重点项目(BYKY2019025ZD);蚌埠医学院科研创新团队项目(BYKC201907);蚌埠医学院科技发展基金重点项目(BYKY1710);蚌埠市-蚌埠医学院联合科技攻关项目(BYLK201812);蚌埠医学院科技项目(2020byzd083)。 作者简介:潘成武(1977—),副主任医师,学士,主要从事消化道肿瘤研究。 △ 通信作者, E-mail: fzzapple1976@163.com。

the invasion and metastasis malignant biological behavior and has a certain value on the prognosis evaluation.

[Key words] Twist1; angiogenesis mimicry; colorectal cancer; invasion; metastasis

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的消化道肿瘤。近年来,由于人们生活方式及饮食习惯的改变。CRC 在我国的发病率明显升高,已成为影响我国公民身体健康的重要疾病之一^[1]。Twist1 是一种在进化上高度保守的螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录因子,不仅在胚胎发育、形成过程中具有重要作用,也是诱导肿瘤细胞发生上皮间质转化(EMT)并促进侵袭转移的关键调控因子^[2]。Twist1 已被证实是一种在多种肿瘤中过表达的新型致癌基因,可赋予肿瘤细胞更多浸润性表型特性^[3]。血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)是肿瘤细胞为满足自身血供需求,通过自身形变及细胞外基质的重塑,形成类似血管样的血运通道。血管内皮细胞钙黏连蛋白(VE-cadherin)是其重要的分子。研究表明,VM 可以促进多种肿瘤的生长和转移。然而, Twist1 对 CRC VM 的影响尚不清楚。本研究通过对 CRC 患者临床数据进行统计,分析 Twist1 对 CRC 侵袭、迁移的影响,探究其对 VM 的影响。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取本院 2011 年 1 月至 2014 年 12 月经手术切除 CRC,随访资料完整并经病理医生诊断为 CRC(术前未行放、化疗)的患者 124 例,取其 CRC 组织标本,并取 30 例患者的正常结直肠黏膜标本。患者纳入标准:(1)术前经内镜活检确诊为原发性 CRC;(2)无化疗、放疗史等其他治疗方法治疗史;(3)临床资料完整。排除标准:(1)合并其他组织起源的恶性肿瘤;(2)死于除 CRC 以外的其他原因。通过电子病历系统采集患者临床资料信息。患者的临床资料包括年龄、病理分级、淋巴结转移、血管侵犯、临床分期等。随访至 2019 年 12 月或患者死亡。本研究已经通过本院伦理委员会批准并取得患者知情同意。

1.2 主要试剂与材料

HT-29、HCT116、SW480、LOVO 直肠癌细胞和 HCO 正常肠上皮细胞购自上海中科院生物化学研究所。DMEM 培养基、胰蛋白酶购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清(FBS)购自浙江天杭生物科技股份有限公司,小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)由上海吉玛公司设计合成,LipofectaminTM2000 购自美国 Thermo Scientific 公司。Transwell 小室、基质胶购自中国碧云天生物技术有限公司; Twist1、VE-cadherin、神经型钙黏连蛋白(N-cadherin)、Snail、人甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔/鼠二抗均购于英国 Abcam 公司。

1.3 免疫组织化学染色

将组织置于 4% 多聚甲醛中固定 4 h,加热溶解脱水后放入机器组织槽中,随后 3 次浸蜡。选取模具,使用机器滴蜡包埋组织。切片机调整切片厚度后均匀切片,随后将切片置于 40 °C 水槽中。切片烤干,于二甲苯溶液及梯度乙醇中脱蜡至水。免疫组织化学实验步骤参照实验说明书进行,抗体: Twist1、VE-cadherin(1 : 200)。采用已知阳性切片作对照,以 PBS 代替一抗作为空白对照。由 3 位病理学医师采用双盲法在显微镜下观察组织切片上每个小块的所有区域,判定染色强度和染色阳性率。判定标准:根据染色强度和染色范围进行判定。其中染色强度根据颜色分为无染色(0 分),淡黄色(1 分),棕黄色(2 分),深棕色(3 分);染色范围为 0 分(0~10%)、1 分(11%~25%)、2 分(26%~50%)、3 分(51%~75%)和 4 分(76%~100%)。用染色强度得分和染色范围得分的乘积判断表达结果,积分 0~<4 分为阴性,4~12 分为阳性。

1.4 双重染色法

CD34 免疫组织化学染色,然后将切片置于 0.5% 高碘酸溶液中氧化 5~8 min。流水冲洗 2 min,再用蒸馏水洗 1 次,于暗处置于 Schiff 液中染色 10~20 min,然后用 0.5% 偏重亚硫酸钠液滴洗 2 次,每次 1 min,依次苏木素染色细胞核、盐酸乙醇分化、返蓝、脱水透明及中性树胶封片。通过 CD34 与高碘酸-希夫(PAS)双重染色,在 CRC 组织切片中观察到由肿瘤细胞排列形成的管腔样结构,CD34 阳性证实其为 VM。

1.5 细胞培养

正常人肠上皮细胞 HCO 培养于含 10% FBS、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素的 RPMI-1640 培养基, CRC 细胞株 HT-29、HCT116、SW480、LOVO 分别培养于含有 10% FBS、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基,5% CO₂、37 °C 条件培养箱中传代培养。

1.6 细胞转染

按照脂质体 LipofectamineTM 2000 转染试剂说明书,将 si-NC (si-NC 组,阴性对照)、si-Twist1 (si-Twist1 组)转染于 HCT116 细胞。取对数生长期细胞,于转染前 24 h 将细胞以 3×10⁵/孔接种于 6 孔板;转染时加入相应试剂并混合均匀,将细胞培养基换为无血清培养基,5% CO₂、37 °C 条件培养箱培养 6 h 后更换新鲜培养基,然后进行后续实验。si-Twist1 正向:5'-CUG CAG ACG CAG CGG GUC A-3';反向:

5'-UGA CCC GCU GCG UCU GCA G-3'。si-NC 正向: 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG U-3'。反向: 5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA A-3'。

1.7 Western blot

收集细胞,加入裂解液完全裂解细胞,12 000×g 离心 10 min,收集上清液,即为总蛋白溶液。BCA 法检测蛋白浓度,并定量。蛋白上样,10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,分离后的蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,孵育一抗后,置于冰箱中 4℃过夜,加入用封闭液稀释的二抗,室温孵育 60 min。通过凝胶成像系统检测并计算 Twist1、VE-cadherin、EMT 和 VE 相关蛋白表达水平,以 GAPDH 为内参。

1.8 体外迁移、侵袭实验

在 Transwell 下室中加入趋化因子表皮生长因子(EGF,10 ng/mL) 600 微升/孔,细胞用无血清培养基制成单细胞悬液,每种细胞做 3 个复孔,在上室孔中加入 200 μL 1×10⁵/L 细胞悬液,培养 24 h,弃去上室液体,用湿棉签擦去膜上未穿膜的细胞,苏木素染色,倒置显微镜下观察穿膜细胞(200×),每张膜中央部分和周围部分各取 3 个视野,计数每个视野内穿孔的细胞数。侵袭实验需要加 Matrigel 凝胶铺于 Transwell 上室。

1.9 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验;

计数资料以例数或百分比(%)表示,比较采用 χ^2 检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法及 Cox 模型,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

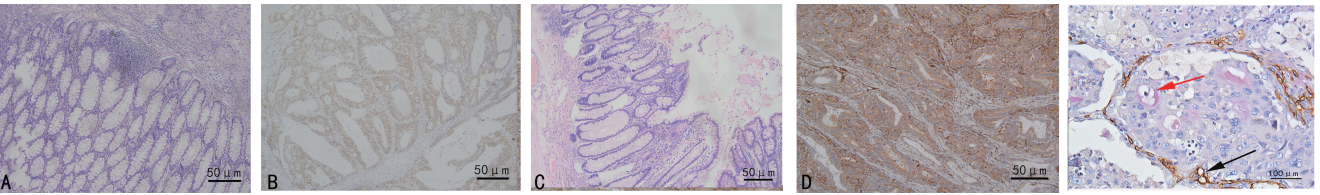
2 结 果

2.1 Twist1、VE-cadherin 在 CRC 中的表达及 CRC 组织中 VM 形成情况

Twist1 在 CRC 组织中阳性 70 例,阴性 54 例,阳性率 56.5%;Twist1 在正常结直肠黏膜组织中阳性 2 例,阴性 28 例,阳性率 6.7%。VE-cadherin 在 CRC 组织中阳性 60 例,阴性 64 例,阳性率 48.4%;VE-cadherin 在正常结直肠黏膜组织中阳性 1 例,阴性 29 例,阳性率 3.3%。Twist1、VE-cadherin 在 CRC 组织中的阳性率较正常结直肠黏膜高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。VM 在 CRC 组织中阳性 21 例,阴性 103 例,阳性率 16.9%。见图 1。

2.2 CRC 中 Twist1、VE-cadherin 的表达和 VM 与临床病理学的关系

为了研究 Twist1 和 VE-cadherin 对 CRC 预后的判断作用,分析了免疫组织化学结果与患者临床病例资料的关系,结果表明, Twist1 表达与病理分级($P = 0.03$)、血管侵犯($P = 0.04$)和淋巴结转移($P = 0.01$)有关。VE-cadherin 表达与血管侵犯($P < 0.01$)和淋巴结转移($P < 0.01$)有关。VM 与病理分级($P < 0.01$)、TNM 分期($P = 0.03$)、血管侵犯($P < 0.01$)和淋巴结转移($P < 0.01$)有关。见表 1。



A: Twist1 在正常黏膜组织中阴性表达;B: Twist1 在 CRC 组织中阳性表达;C: VE-cadherin 在正常黏膜组织中阴性表达;D: VE-cadherin 在 CRC 组织中阳性表达;E: CD34 和 PAS 双染,红色箭头指示 VM 结构,黑色箭头指示血管结构。

图 1 twist1、VE-cadherin 在 CRC 中的表达及 CRC 组织中 VM 形成情况

表 1 Twist1、VE-cadherin 表达和 VM 与 CRC 临床病理因素的关系[n(%)]

项目	n	Twist1			VE-cadherin			VM		
		阴性	阳性	P	阴性	阳性	P	阴性	阳性	P
年龄				0.56			0.66			0.43
<50 岁	29	14(48.3)	15(51.7)		16(55.2)	13(44.8)		26(89.7)	3(10.3)	
≥50 岁	95	40(42.1)	55(57.9)		48(50.5)	47(49.5)		77(81.1)	18(18.9)	
病理分级				0.03			0.69			<0.01
G ₁	57	32(56.1)	25(43.9)		30(52.6)	27(47.4)		56(98.2)	1(1.8)	
G ₂	41	15(36.6)	26(63.4)		19(46.3)	22(53.7)		36(87.8)	5(12.2)	
G ₃	26	7(7.7)	19(73.1)		15(57.7)	11(42.3)		11(42.3)	15(57.7)	
TNM 分期				0.16			0.39			0.03

续表 1 Twist1、VE-cadherin 表达和 VM 与 CRC 临床病理因素的关系[n(%)]

项目	n	Twist1			VE-cadherin			VM		
		阴性	阳性	P	阴性	阳性	P	阴性	阳性	P
I + II	101	47(46.5)	54(53.5)		54(53.5)	47(46.5)		88(87.1)	13(12.9)	
III + IV	23	7(30.4)	16(69.6)		10(43.5)	13(56.5)		15(65.2)	8(34.8)	
血管侵犯				0.04			<0.01			<0.01
无	84	42(50.0)	42(50.0)		51(60.7)	33(39.3)		77(91.7)	7(8.3)	
有	40	12(30.0)	28(70.0)		13(32.5)	27(67.5)		26(65.0)	14(35.0)	
淋巴结转移				0.01			<0.01			<0.01
无	93	47(50.5)	46(49.5)		55(59.1)	38(40.9)		90(96.8)	3(3.2)	
有	31	7(22.6)	24(77.4)		9(29.0)	22(71.0)		13(41.9)	18(58.1)	

2.3 CRC 组织 Twist1 高表达与低表达术后 5 年生存率比较

124 例 CRC 患者随访数据分析结果表明, Twist1 高表达组($n=69$)术后 5 年生存率明显低于 Twist1 低表达组($n=62$), 差异有统计学意义($P<0.01$), 见图 2。

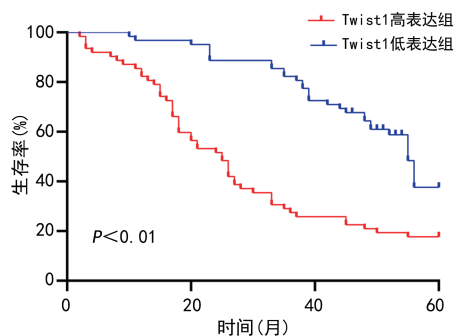


图 2 Twist1 高表达组与低表达组术后 5 年生存率比较

2.4 Twist1 在 CRC 细胞株中的表达

Western blot 检测显示, 与正常肠上皮细胞 HCO 比较, CRC 细胞株 HCT116、HT-29、SW480、LOVO 中 Twist1 的表达水平分别是其 5.1、4.3、3.4、3.9 倍。见图 3。根据细胞株表达情况, 选择表达水平最高的 HCT116 细胞进行后续实验。

2.5 siRNA 沉默 Twist1 表达后检测 CRC 细胞中 Twist1 表达水平

Western blot 检测显示, 与 si-NC 组比较, si-Twist1 组 HCT116 细胞中 Twist1 水平降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。

2.6 Twist1 对 CRC 细胞 EMT 的影响

Western blot 检测结果显示, 与 si-NC 组比较, si-Twist1 组 HCT116 细胞中 N-cadherin、Snail 的表达水平下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 5。

2.7 Twist1 对 CRC 细胞 VM 的影响

Transwell 迁移实验结果显示, si-Twist1 组 48 h HCT116 细胞迁移数少于 si-NC 组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 侵袭实验结果显示, si-Twist1 组 48 h

HCT116 细胞的侵袭细胞数少于 si-NC 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。Western blot 检测显示, 与 si-NC 组比较, si-Twist1 组中 VE-cadherin 表达水平下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 6。

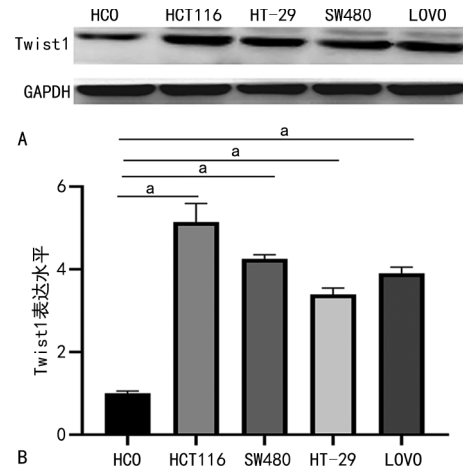
A: Western blot; B: Western blot 定量分析; ^a: $P<0.05$ 。

图 3 Twist1 在 CRC 细胞株中的表达情况

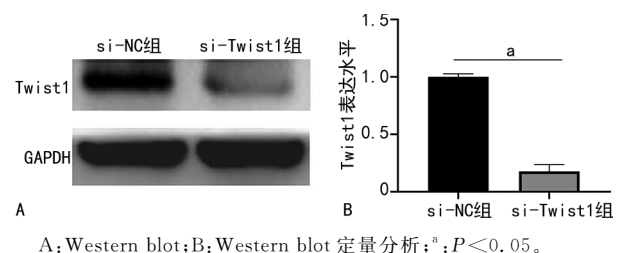
A: Western blot; B: Western blot 定量分析; ^a: $P<0.05$ 。

图 4 转染后 CRC 细胞中 Twist1 表达情况

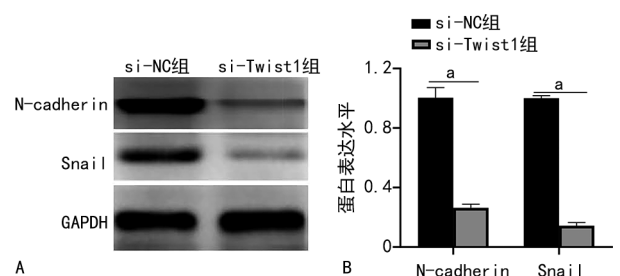
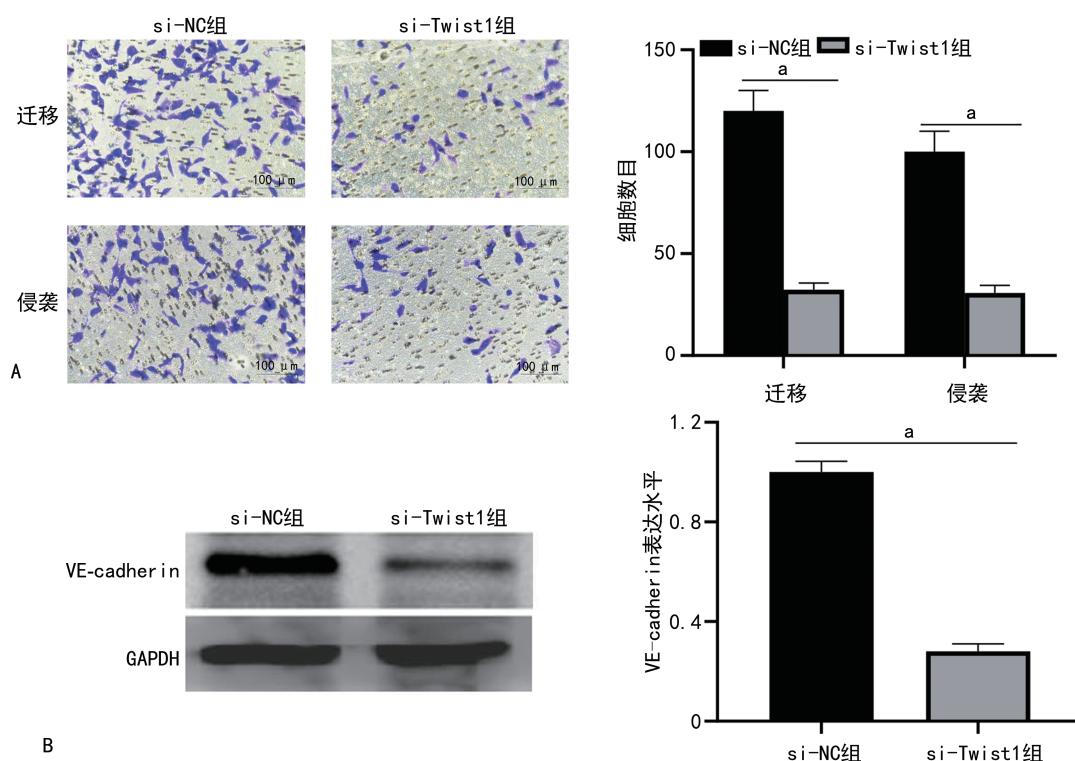
A: Western blot; B: Western blot 定量分析; ^a: $P<0.05$ 。

图 5 Twist1 对 CRC 细胞 EMT 相关蛋白的影响



A: 细胞迁移及侵袭实验及定量分析; B: VE-cadherin Western blot 检测及定量分析; ^a: $P < 0.05$ 。

图 6 Twist1 对 CRC 细胞 VM 的影响

3 讨 论

CRC 在世界范围内发病率排名第 3, 病死率排名第 4, 其中 70% 为结肠癌^[4]。尽管 CRC 的治疗有了进步, 但其病死率仍很高^[5]。因此, 需要更可靠的分子预后标志物来改善 CRC 的诊断和治疗。

肿瘤的生长和转移需要足够的营养和氧气, “抗肿瘤血管生成的治疗”已成为近年来肿瘤研究一大热点。在恶性肿瘤研究中发现的一种 PAS 染色阳性, CD34 等内皮细胞标志物染色阳性的管网状结构被命名为 VM, 并推测其参与了肿瘤的微循环过程^[6]。VM 是指某些高侵袭性肿瘤为满足自身的血供, 肿瘤细胞在没有血管内皮细胞的参与下, 能够模拟内皮细胞并形成管样结构, 引起恶性肿瘤细胞可塑性改变、细胞外基质重塑并可以与宿主的微循环系统相通^[7]。VM 能够促进新生血管形成, 并与肿瘤侵袭、转移及患者预后密切相关, 在诸如乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、肝癌等上皮来源的肿瘤中相继证实了 VM 的存在^[8-10]。

VE-cadherin 是血管内皮细胞中表达 cadherin 超家族的成员, 是内皮细胞黏附连接的主要黏附受体。研究表明 VE-cadherin 在 VM 的形成中起着重要作用。VE-cadherin 已被报道在多种肿瘤细胞中过表达, 并参与肿瘤的新血管形成、生长和进展。已有研究表明, VE-cadherin 的异常表达促进了恶性黑色素瘤的进展和转移, 并参与了该肿瘤的 VM。TANG 等^[11]预测 HIF-1 α 可以直接或间接调控 VE-cadherin、EphA2 和 Laminin 5 γ 2 (LN5 γ 2) 基因的表达。它

还能促进 VM 的形成, 为 CRC 提供血供。但尚不清楚 CRC 中 VM 与 VE-cadherin 的相关性是否与其他因子的异常表达有关。

近年来, 多项研究表明 Twist 家族碱性 bHLH 转录因子 1 (即 Twist1) 在膀胱癌、胃癌、鼻咽癌、前列腺癌、乳腺癌和滑膜肉瘤等多种癌症中均高表达。本研究通过收集 CRC 患者数据, 同时结合免疫组织化学结果分析, 发现 Twist1、VE-cadherin 在 CRC 中高表达。在高度恶性的 CRC 中存在 VM 现象, Twist1、VE-cadherin 的过表达和 VM 与 CRC 的血管侵犯、淋巴结转移等恶性生物学明显相关。对术后患者进行随访调查发现, Twist1 高表达组术后 5 年生存率明显低于 Twist1 低表达组。本研究创新性地利用临床数据分析了 Twist1、VE-cadherin 和 VM 与 CRC 临床病理特征的相关性, 并且发现 Twist1 的表达与临床预后相关。

Twist1 在肿瘤发生发展中的作用涉及多种机制, 包括调节肿瘤细胞生长、分化、抑制凋亡、增加化疗耐药性、促进肿瘤血管生成^[12-16]。已有研究表明, Twist1 下调了肝癌细胞 E-cadherin 的表达水平, 上调了 VE-cadherin 和基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、MMP-2 的表达水平, 以促进肝癌细胞 VM 的形成^[17]。然而, 关于 Twist1 在 CRC 中 VM 形成的研究有限。为进一步验证临床结果 Twist1 对 VM 的影响。本研究沉默 CRC 细胞株 HCT116 Twist1 的表达, 发现 CRC 细胞侵袭、迁移及 EMT 受到抑制。此结果说明 Twist1 表达水平可能影响侵袭、迁移及

EMT。为了进一步研究 Twist1 与 VM 的关系,本研究通过 Western blot 检测 VM 重要分子 VE-cadherin 的表达,发现抑制 Twist1 表达水平,VE-cadherin 的表达水平也受到抑制。这些结果均表明, Twist1 的表达水平与 VM 相关分子 VE-cadherin 表达相关。然而,笔者并未深入研究 VM 形成的机制,本课题组将在后续研究中继续深入探索。

综上所述, Twist1 在 CRC 组织中高表达并与肿瘤的转移和发展相关,对评估预后具有一定的价值。基础实验证实, Twist1 通过影响 VM 来影响肿瘤的转移和发展。而其具体的作用机制仍需进一步探索。

参考文献

- [1] 王爱军,王红钰,徐晋珩. 结直肠癌患者外周血与肿瘤组织中 TAZ 表达的关系及临床意义研究[J]. 重庆医学,2017,28(46):3915-3919.
- [2] JUNG S Y, YUN J, KIM S J, et al. Basic helix-loop-helix transcription factor Twist1 is a novel regulator of anterior gradient protein 2 homolog (AGR2) in breast cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun,2019,516(1):149-156.
- [3] ZHU Q Q, MA C, WANG Q, et al. The role of TWIST1 in epithelial-mesenchymal transition and cancers[J]. Tumour Biol,2016,37(1):185-197.
- [4] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
- [5] MILLER K D, SIEGEL R L, LIN C C, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(4):271-289.
- [6] CAI H, LIU W, LIU X, et al. Advances and prospects of vasculogenic mimicry in glioma: a potential new therapeutic target? [J]. Onco Targets Ther,2020,13:4473-4483.
- [7] WANG H F, WANG S S, ZHENG M, et al. Hypoxia promotes vasculogenic mimicry formation by vascular endothelial growth factor A mediating epithelial-mesenchymal transition in salivary adenoid cystic carcinoma[J]. Cell Prolif,2019,52(3):e12600.
- [8] AYALA-DOMÍNGUEZ L, OLMEDO-NIEVA L, MUÑOZ-BELLO J O, et al. Mechanisms of vasculogenic mimicry in ovarian cancer [J]. Front Oncol,2019,9:998.
- [9] ANDONEGUI-ELGUERA M A, ALFARO-MORA Y, CÁCERES-GUTIÉRREZ R, et al. An overview of vasculogenic mimicry in breast cancer [J]. Front Oncol,2020,10:220.
- [10] LIZÁRRAGA-VERDUGO E, AVENDAÑO-FÉLIX M, BERMUDEZ M, et al. Cancer stem cells and its role in angiogenesis and vasculogenic mimicry in gastrointestinal cancers[J]. Front Oncol,2020,10:413.
- [11] TANG N N, ZHU H, ZHANG H J, et al. HIF-1 α induces VE-cadherin expression and modulates vasculogenic mimicry in esophageal carcinoma cells[J]. World J Gastroenterol,2014,20(47):17894-17904.
- [12] CHANG Z, CUI J, SONG Y. Long noncoding RNA PVT1 promotes EMT via mediating microRNA-186 targeting of Twist1 in prostate cancer[J]. Gene,2018,654:36-42.
- [13] GOU W, ZHOU X, LIU Z, et al. CD74-ROS1 G2032R mutation transcriptionally up-regulates Twist1 in non-small cell lung cancer cells leading to increased migration, invasion, and resistance to crizotinib[J]. Cancer Lett,2018,422:19-28.
- [14] GRITHER W R, DIVINE L M, MELLER E H, et al. TWIST1 induces expression of discoidin domain receptor 2 to promote ovarian cancer metastasis [J]. Oncogene,2018,37(13):1714-1729.
- [15] HU J, TIAN J, ZHU S, et al. Sox5 contributes to prostate cancer metastasis and is a master regulator of TGF- β -induced epithelial mesenchymal transition through controlling Twist1 expression [J]. Br J Cancer,2018,118(1):88-97.
- [16] JIANWEI Z, QI L, QUANQUAN X, et al. TM-PRSS4 up-regulates Twist1 expression through STAT3 activation to induce prostate cancer cell migration [J]. Pathol Oncol Res,2018,24(2):251-257.
- [17] SUN J, SUN B, SUN R, et al. HMGA2 promotes vasculogenic mimicry and tumor aggressiveness by upregulating Twist1 in gastric carcinoma [J]. Sci Rep,2017,7(1):2229.