

引文格式:罗鑫,丁运刚,叶慧菁,杜毅,杨华胜. HSP60 在人视网膜母细胞瘤中表达的研究[J]. 眼科新进展,2015,35(6):549-553. doi:10. 13389/j. cnki. rao. 2015. 0149

【应用研究】

HSP60 在人视网膜母细胞瘤中表达的研究[△]

罗鑫 丁运刚 叶慧菁 杜毅 杨华胜

作者简介:罗鑫,女,1976年8月出生,贵州省遵义人,医学博士,副主任医师。主要从事眼眶病眼肿瘤的临床及基础研究。联系电话:0852-8608115(O);E-mail: luoliu2005@163.com

About LUO Xin: Female, born in August, 1976. Doctor degree. Tel: +86-852-8608115(O); E-mail: luoliu2005@163.com

收稿日期:2014-05-17
修回日期:2014-08-04
本文编辑:付中静

△基金项目:广东省科技计划项目基金资助(编号:2008B030301069)

作者单位:510003 广东省广州市,中山大学中山眼科中心(罗鑫,丁运刚,叶慧菁,杜毅,杨华胜);563003 贵州省遵义市,遵义医学院附属医院眼科(罗鑫)

通讯作者:杨华胜, E-mail: yanghs64@126.com

Received date: May 17, 2014
Accepted date: Aug 4, 2014

Foundation item: Guangdong Province Science and Technology Project (No: 2008B030301069)

From the Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-Sen University (LUO Xin, DING Yun-Gang, YE Hui-Jing, DU Yi, YANG Hua-Sheng), Guangzhou 510003, Guangdong Province, China;

Affiliated Hospital of Zunyi Medical College (LUO Xin), Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Responsible author: Yang Hua-Sheng, E-mail: yanghs64@126.com

Expression of HSP60 in human retinoblastoma
LUO Xin, DING Yun-Gang, YE Hui-Jing, DU Yi, YANG Hua-Sheng
【Key words】 retinoblastoma; heat shock protein 60; heat shock protein 10
【Abstract】 Objective To study the expression of heat shock protein 60 (HSP60) in retina, choroid and optic nerve tumor cells of primarily enucleated eyes with retinoblastoma (Rb), and analyze preliminarily the expression characteristics of HSP60 in tumor cells of above-mentioned parts of eyes and probably relationship between HSP60 and apoptosis. Methods The paraffin sections of 22 cases (22 eyes) of Rb patients without conservative treatment before enucleation were collected. The expression of HSP60, HSP10 and Caspase 3 in retina, choroid, and optic nerve were measured by immunohistochemistry. Results The tumor cells could be seen in the postoperative pathological examination of 22 cases. The tumor cells located in the invasion area for 21 cases, in which single invading to optic nerve in 7 cases (33.3%), single invading to choroid in 5 cases (23.8%), invading to optic nerve and choroid in 9 cases (42.9%). The expression of HSP60 and HSP10 in tumor cells in choroid and optic nerve up-regulated compared with that of in retina (all $P < 0.05$), while the expression of Caspase 3 down-regulated accordingly (all $P = 0.000$). Conclusion The up-regulation of HSP60 expression and down-regulation of Caspase 3 expression in choroid and optic nerve may be contribute to the survival of tumor cells during invading outwards from retina. However, more study should be performed to make certain that the up-regulation of HSP60 in choroid and optic nerve is the cause or the result of tumor cells diffusing outwards and whether which can promote the metastasis of tumor cells or not.

【关键词】 视网膜母细胞瘤; 热休克蛋白 60; 热休克蛋白 10

【摘要】 目的 研究热休克蛋白 60(heat shock protein 60, HSP60)在未接受治疗的视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)患者的视网膜内原发肿瘤细胞和脉络膜、视神经等侵袭部位的肿瘤细胞中的表达,初步分析 HSP60 在眼球不同部位 Rb 细胞的表达特点及其可能与 Rb 细胞凋亡的关系。方法 收集 22 例(22 眼)未接受治疗的 Rb 患者所摘除眼球的石蜡切片。用免疫组织化学方法测定 HSP60、HSP10 和 Caspase 3 在视网膜内和脉络膜、视神经等侵袭部位的表达。结果 22 例患者手术后病理检查眼内均见肿瘤细胞。侵袭部位见肿瘤细胞的患者 21 例,其中肿瘤单独侵犯视神经 7 例(33.3%),肿瘤单独侵犯脉络膜 5 例(23.8%),肿瘤同时侵犯视神经和脉络膜 9 例(42.9%)。脉络膜与视神经部位肿瘤细胞 HSP60、HSP10 的表达均比眼内肿瘤细胞高,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。脉络膜与视神经部位肿瘤细胞 Caspase 3 的表达比眼内肿瘤细胞低,差异均有统计学意义(均为 $P = 0.000$)。结论 Rb 肿瘤细胞在从视网膜内向外侵袭的过程中,可能通过升高 HSP60、降低 Caspase 3 来促进侵袭部位肿瘤细胞的存活。但是 HSP60 在侵袭部位的升高是肿瘤细胞向外侵袭的原因还是结果,以及是否会进一步增强肿瘤细胞向远处转移等还需进一步研究。

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)治疗在过去几十年里取得了令人瞩目的成绩,眼内期患者的生存率显著提高^[1-2]。但是当 Rb 侵袭到眼外后,即使应用各种治疗方法生存率也不理想^[3]。因此研究和分析 Rb 在视神经、脉络膜等侵袭部位与视网膜内原发肿瘤的分子表达特点,有可能为揭示 Rb 侵袭转移的分子病理机制提供线索。HSP60 主要定位于细胞线粒体内,生理状态下,协助细胞多肽或蛋白质正确转运、折叠和装配。近年发现 HSP60 与癌症形成有关,可促进肿瘤生存和增生^[4];其表达与肿瘤的恶性程度和复发性淋巴结转移瘤的形成有关^[5];具有肿瘤诊断和推断预后等作用^[6-8]。然而,关于 HSP60 在 Rb 中的表达特点及功能的研究鲜见报道。本研究利用人 Rb 石蜡切片研究 HSP60 在未接受治疗的 Rb 患者视网膜内原发 Rb 细胞和脉络膜、视神经等侵袭部位的 Rb 细胞的表达差异,初步分析 HSP60 在 Rb 细胞的定位特点及其与 Rb 细胞凋亡的关系和可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 病例收集 回顾性研究 2008 年 1 月 1 日至 2011 年 12 月 31 日在中山大学中山眼科中心诊断为 Rb 并行手术摘除眼球病例 22 例 22 眼。男 12 例 (54.5%), 女 10 例 (45.5%), 手术时年龄 (26 ± 15) 个月。其中双眼 Rb 患者 4 例 (18.2%), 行单眼眼球摘除术。符合以下条件者入选本研究: (1) 标本保存齐全, 有完整的临床资料; (2) 经患者家属知情同意; (3) 患者眼球摘除前未进行保守治疗。

表 1 免疫组织化学所用第一抗体

Table 1 First antibody for immunohistochemistry

Antibody	Species	Dilution rate	Antigen retrieval solution	Company	Country
HSP60	Monoclonal mouse anti	1 : 70	CB	Novus	America
HSP10	Polyclonal rabbit anti	1 : 100	CB	Novus	America
Caspase 3	Polyclonal rabbit anti	1 : 200	EDTA	Abcam	Britain

1.3 石蜡切片 HE 染色 将烤好的组织切片置于新鲜二甲苯中脱蜡 10 min × 3 次; 依次放入体积分数 100%、95%、85%、70% 乙醇中各 3 ~ 5 min 后蒸馏水冲洗; Harry 苏木素染液染色 8 min, 蒸馏水冲洗; 体积分数 1% 盐酸酒精分化, 蒸馏水冲洗, 自来水冲洗 20 min 返蓝; 伊红染液染色 1 min, 蒸馏水冲洗; 依次经体积分数 95%、100% 酒精浸泡脱水各 2 次, 每次 20 s, 干燥后依次置于酒精二甲苯溶液、两缸二甲苯中各 5 min; 迅速滴加适量中性树胶 (切勿使切片干涸), 盖玻片封固; 显微镜下观察、照相。

1.4 组织学分析 对 HE 染色进行阅片, 确定肿瘤侵犯部位。所有诊断均请 2 名病理医师确定。按 Khelifaoui 等^[9]和 Filho 等^[10]对 Rb 肿瘤侵犯部位的描述, 将其分为眼内肿瘤、脉络膜肿瘤和视神经肿瘤, 本研究将后两者合称为侵袭部位肿瘤。脉络膜肿瘤侵犯分 5 级: I 级: 无脉络膜侵犯; II 级: 少量脉络膜侵犯 (肿瘤侵犯 Bruch 膜, 但没有侵犯深层脉络膜); III 级: 大量脉络膜侵犯 (超过少量脉络膜侵犯的所有脉络膜侵犯); IV 级: 巩膜内侵犯; V 级: 巩膜全层侵犯。视神经肿瘤侵犯分 4 级: I 级: 视神经未受侵犯; II 级: 筛板前侵犯; III 级: 筛板后侵犯; IV 级: 视神经断端和 (或) 脉络膜下腔侵犯。肿瘤仅存在于视网膜内, 眼球其他地方未见肿瘤者为眼内肿瘤。

1.5 免疫组织化学染色 取 3 μm 厚的切片, 贴于硅化防脱玻片上, 64 °C 烤片过夜后置于新鲜二甲苯中脱蜡 10 min × 3 次; 依次放入体积分数 100%、95%、80% 及 70% 乙醇中, 时间分别为 5 min、5 min、3 min、3 min, 蒸馏水冲洗两次; 将切片置于体积分数 3% 双氧水中, 室温放置 20 min, 恒温水浴热修复, 根据一抗要求选择不同修复液 (表 1); 每例标本滴加 200 μL 特异性一抗 (稀释比例见表 1), 4 °C 孵育 16 h, 用 PBS 缓冲液冲洗 3 次; 每张切片滴加 200 μL HRP 二抗, 37 °C 湿盒孵育 30 min, PBS 缓冲液冲洗 3

1.2 主要仪器与试剂 切片机、正置显微镜 (Leica, 德国), 微量加样器 (上海博光生物科技有限公司), 漩涡振荡器 (南京东迈科技仪器有限公司), 电热恒温水浴箱 (杭州艾普仪器设备有限公司)。免疫组织化学所用一抗 (表 1)、Dako Envision 系统兔/鼠单标即用型辣根过氧化物酶标记的免疫组织化学二抗、DAB 显色剂 (基因科技, 上海有限公司), Tris/EDTA 原液 (北京中杉公司), 过氧化物酶阻断剂 (广州市新成精细化工有限公司)。

次; 加 DAB 显色液显色 5 min, 自来水冲洗; 苏木素复染 40 s, 自来水蓝化 5 min; 切片在梯度乙醇中分别浸泡 1 min, 干燥后切片置于二甲苯溶液中浸泡 5 min 取出, 中性树胶封片, 加上盖玻片, 室温下晾干并贴上标签, 显微镜下观察、照相。

1.6 免疫组织化学结果半定量分析标准 免疫组织化学结果判读采用人工半定量计分法: 所有分析均由两名博士研究生独立进行。阳性细胞百分比计分按视野内阳性细胞占总细胞数的比例计分, ≤ 5%、> 5% ~ 25%、> 25% ~ 50%、> 50% ~ 75% 和 > 75% 分别为 0 分、1 分、2 分、3 分和 4 分。着色强度计分: 按阳性细胞棕黄色的强度判定, 分为无着色、淡黄色、棕黄色、黄褐色, 分别为 0 分、1 分、2 分和 3 分。结果判定: 含有肿瘤的部位 (包括视网膜、脉络膜和视神经) 分别取 5 个 400 倍视野, 每个视野均进行阳性细胞百分比计分与着色强度计分。上述两种计分结果相乘: 0 分为阴性 (-); 1 ~ 4 分为弱阳性 (+); 5 ~ 8 分为中等阳性 (++) ; 9 ~ 12 分为强阳性 (+++)。

1.7 统计学分析 免疫组织化学评分的阴性 (-)、弱阳性 (+)、中等阳性 (++) 和强阳性 (+++) 分别转化为统计学的值 0 分、1 分、2 分和 3 分进行统计。采用秩和检验比较 Rb 患者眼内肿瘤、脉络膜肿瘤和视神经肿瘤中 HSP60、HSP10 和 Caspase 3 的免疫表达。所有分析均用双侧检验。比较 HSP60、HSP10 和 Caspase 3 的免疫表达在每个部位有无总体差异时, 检验水准为 0.05。当不同部位 HSP60、HSP10 和 Caspase 3 的免疫表达两两比较时, 检验水准调整为 0.017。以上统计分析均用 SPSS 17.0 软件进行。

2 结果

2.1 病理形态特征 22 例患者手术后病理检查眼内均见肿瘤细胞。侵袭部位见肿瘤细胞的患者 21

例,其中肿瘤单独侵犯视神经7例(33.3%),肿瘤单独侵犯脉络膜5例(23.8%),肿瘤同时侵犯视神经和脉络膜9例(42.9%)。

2.2 HSP60 在 Rb 中的表达 HSP60 染色呈棕黄色粗颗粒状。22 例患者眼内肿瘤细胞中,HSP60 表达阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性者分别为 9 例(40.9%)、11 例(50.0%)、2 例(9.1%)、0 例(0.0%)。14 例脉络膜见肿瘤的患者中,脉络膜肿瘤细胞 HSP60 表达阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性者分别为 0 例(0.0%)、7 例(50.0%)、5 例(35.7%)、2 例(14.3%)。16 例视神经见肿瘤的患者中,视神经肿瘤细胞 HSP60 表达阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性者分别为 0 例(0.0%)、2 例(12.5%)、6 例(37.5%)、8 例(50.0%)。经统计学分析:HSP60 在眼内肿瘤细胞、脉络膜肿瘤细胞和视神经肿瘤细胞中表达总体比较有显著差异($P=0.000$,图1)。三者两两比较时,脉络膜与视神经部位肿瘤细胞 HSP60 的表达比眼内肿瘤细胞高,差异均有显著统计学意义(均为 $P=0.000$)。脉络膜肿瘤细胞与视神经肿瘤细胞 HSP60 的表达之间差异无统计学意义($P=0.031$,见图1A、1D、1G、1L)。

2.3 HSP10 在 Rb 中的表达 HSP10 染色呈棕黄色细颗粒状。22 例患者视网膜内肿瘤细胞中,HSP10 表达阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性者分别为 2 例(9.1%)、17 例(77.3%)、3 例(13.6%)、0 例(0.0%)。14 例脉络膜见肿瘤的患者中,脉络膜肿瘤细胞 HSP10 表达阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性者分别为 0 例(0.0%)、2 例(14.3%)、9 例(64.3%)、3 例(21.4%)。16 例视神经见肿瘤的患者中,视神经肿瘤细胞 HSP10 表达阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性者分别为 0 例(0.0%)、0 例(0.0%)、9 例(56.3%)、7 例(43.8%)。经统计学分析:HSP10 在眼内肿瘤细胞、脉络膜肿瘤细胞和视神经肿瘤细胞中表达总体比较有显著差异($P=0.000$)。三者两两比较时,脉络膜与视神经部位肿瘤细胞比眼内肿瘤细胞的 HSP10 的表达高,差异均有显著统计学意义($P=0.001$ 、 $P=0.000$)。脉络膜肿瘤细胞与视神经肿瘤细胞 HSP10 的表达之间差异无统计学意义($P=0.250$,见图1B、E、H、M)。

2.4 Caspase 3 在 Rb 中的表达 Caspase 3 染色位于胞浆,呈棕黄色微细颗粒状。22 例患者视网膜内见肿瘤的患者中,视网膜内肿瘤细胞 Caspase 3 表达阴性者、弱阳性者、中度阳性者、强阳性者分别为 0 例(0.0%)、12 例(54.5%)、9 例(40.9%)、1 例(4.5%)。14 例脉络膜见肿瘤的患者中,脉络膜肿瘤细胞 Caspase 3 表达阴性者、弱阳性者、中度阳性者、强阳性者分别为 11 例(78.6%)、3 例(21.4%)、0 例(0.0%)、0 例(0.0%)。16 例视神经见肿瘤的患者中,视神经肿瘤细胞 Caspase 3 表达阴性者、弱阳性者、中度阳性者、强阳性者分别为 13 例

(81.3%)、3 例(18.8%)、0 例(0.0%)、0 例(0.0%)。经统计学分析:Caspase 3 在眼内肿瘤细胞、脉络膜肿瘤细胞和视神经肿瘤细胞中表达总体比较有显著差异($P=0.000$)。三者两两比较时,脉络膜与视神经部位肿瘤细胞 Caspase 3 的表达比眼内肿瘤细胞低,差异均有显著统计学意义(均为 $P=0.000$)。脉络膜肿瘤细胞与视神经肿瘤细胞 Caspase 3 的表达差异无统计学意义($P=1.000$,见图1C、1F、1I、1N)。

3 讨论

近些年的报道发现 HSP60 在不同肿瘤的表达不同,可以上调^[5,7],也可以下调^[11-12],并与部分肿瘤的预后和远处转移^[5,8]相关。HSP60 在 Rb 的表达特点及作用尚未见报道。本研究通过石蜡切片免疫组织化学的方法分析了 HSP60 在 Rb 眼内肿瘤和侵袭部位肿瘤的表达特点。结果表明:眼内肿瘤细胞 HSP60 不表达或弱表达,而侵袭部位的肿瘤细胞 HSP60 表达明显升高,这表明 HSP60 可能与 Rb 的侵袭相关。同时,HSP60 的共同分子伴侣 HSP10 表达特点与其表达相似,进一步验证了 HSP60 在 Rb 中的作用。凋亡密切相关蛋白 Caspase 3 在不同部位的表达与 HSP60 相反,这表明 HSP60 在 Rb 侵袭部位的升高与抑制肿瘤细胞凋亡有关。

HSP60 是 HSPD1 基因的产物,较早的研究认为 HSP60 是线粒体内分子伴侣(也被称为 Cpn60)。在生理条件下 HSP60 有辅助新生非折叠或错误折叠的多肽达到一种天然构象的重要作用,并且与线粒体 HSP10 协同作用(HSP10 也位于线粒体内并被称为 Cpn10)^[13]。本研究中,我们也发现在 Rb 中 HSP60 与 HSP10 在不同部位的表达特点相似,均表现为侵袭视神经和脉络膜等部位的肿瘤较眼内肿瘤表达增强。近年,HSP60 的新功能逐渐被发现,在癌症中的作用受到重视^[6]。研究发现 HSP60 在不同的恶性肿瘤中有不同的表达特点:在霍奇金淋巴瘤^[14]、前列腺癌^[15]、子宫颈癌^[16]高表达;在支气管癌^[12,17]和恶性胶质瘤^[18]低表达。本研究发现 HSP60 在眼内的 Rb 原发灶中低表达,但侵袭部位的肿瘤细胞表达水平升高。该现象与 Cappello 等^[5]发现癌症转移灶 HSP60 和 HSP10 较原发性肿瘤高表达相似。提示 HSP60 的表达上调与 Rb 细胞的侵袭转移有关。

文献报道体外细胞实验 HSP60 通过激活细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和抑制 Caspase 3 发挥保护细胞免于应激诱导的死亡作用^[18]。这与我们的研究结果相符,我们的研究发现在侵袭部位的 Rb 细胞中 HSP60 表达的上调伴随凋亡蛋白 Caspase 3 的表达减少。表明侵袭部位 HSP60 的表达上调与抑制肿瘤细胞的死亡有关。

本研究中我们没有通过体外实验研究 HSP60 的升高是如何抑制 Rb 中 Caspase 3 的表达。以往的文

Figure 1 Expression of HSP60, HSP10 and Caspase 3 in retina, choroid and optic nerve in tumor cells of Rb patients. A: The expression of HSP60 in retina was weakly positive (× 400); B: The expression of HSP10 in choroid was weakly positive (× 400); C: The expression of Caspase 3 in optic nerve was strong positive (× 400); D, G: The expression of HSP60 in choroid and optic nerve were strong positive; E, H: The expression of HSP10 in choroid and optic nerve were strong positive; F, I: The expression of Caspase 3 in choroid and optic nerve were negative (× 400); L: The expression of HSP60 in retina was lower than that in choroid and optic nerve; M: The expression of HSP10 in retina was lower than that in choroid and optic nerve; N: The expression of Caspase 3 in retina was higher than that in choroid and optic nerve. Rb 患者眼内和侵袭部位 Rb 细胞的 HSP60、HSP10 和 Caspase 3 表达。A: 眼内肿瘤细胞 HSP60 呈弱阳性 (× 400); B: 眼内肿瘤细胞 HSP10 呈弱阳性 (× 400); C: 眼内肿瘤细胞 Caspase 3 呈强阳性 (× 400); D, G: 分别为侵犯脉络膜和视神经的肿瘤细胞 HSP60 呈强阳性 (× 400); E, H: 分别为侵犯脉络膜和视神经的肿瘤细胞 HSP10 呈强阳性 (× 400); F, I: 分别为侵犯脉络膜和视神经的肿瘤细胞 Caspase 3 呈阴性 (× 400); L: HSP60 在不同部位表达总体有差异, 眼内肿瘤细胞表达 HSP60 较侵袭部位 (Choroid, ON) 低; M: HSP10 在不同部位表达总体有差异, 眼内肿瘤细胞表达 HSP10 较侵袭部位低; N: Caspase 3 在不同部位表达总体有差异, 眼内肿瘤细胞表达 Caspase 3 较侵袭部位高

献报道,在肿瘤中,HSP60 通过形成复合物的形式稳定线粒体存活素 (Survivin) 蛋白和抑制野生型 p53 蛋白 (WTP53) 的功能,从而发挥抗凋亡作用^[4]。Survivin 表达水平的上调和 WTP53 表达水平的下调

具有下调 Caspase 3 相关的肿瘤细胞凋亡的作用。HSP60 能与 p53 形成复合物 (HSP60-WTP53 复合物),该复合物的形成抑制了 WTP53 的功能,从而阻止肿瘤细胞的凋亡^[4]。在很多肿瘤中,由于 p53

基因的突变或该通路中其他基因的改变导致 p53 的活性被阻断,细胞免于死亡,细胞分裂不受控制。而在人 Rb 中,Rb 中除 Rb1 基因外,其他基因组是稳定的^[19],WTP53 信号通路是完整的。理论上,人视网膜中 Rb 基因突变和丢失可通过 P14ARF 启动 p53 基因的表达促进凋亡。而事实是在 Rb 中 p53 蛋白信号途径是灭活的^[20]。Rb 细胞如何破坏 p53 信号途径并防止被杀死? Laurie 等^[20]证明 Rb 细胞中的 p53 信号途径被阻断是通过增加 MDMX 或 MDM2 的表达实现的。但是以往的石蜡标本免疫组织化学也发现眼内肿瘤有 p53 表达^[19],对侵袭部位 p53 的表达未见报道。通过本研究,我们推测 Rb 侵袭时,不仅通过 MDMX/MDM2 抑制 P53,还通过 HSP60 的表达上调进一步抑制 p53 的表达,从而抑制 p53 下游的蛋白 Bax、Cyt-C、Caspase 9 等^[4],最终抑制 Caspase 3 相关凋亡,当然这需要进一步的研究探讨。

此外,在肿瘤中,HSP60 上调可提高线粒体 Survivin 的稳定性^[4,21]。Survivin 是一个凋亡基因家族的抑制因子,在线粒体中,Survivin 需要和 HSP60 形成复合体来修复转位并穿过线粒体膜后的多肽蛋白的最佳重新折叠^[22]。Survivin 调节细胞周期的 G2/M 期,这与有丝分裂纺锤体微管蛋白相关,可以直接抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 的活性^[23]。通过以上分析,我们认为在侵袭部位 HSP60 的升高抑制 Caspase 3 相关的凋亡包括直接和间接作用,这需要进行进一步的实验证实。

综上所述,我们推测 Rb 肿瘤细胞在从视网膜内向外侵袭的过程中,通过升高 HSP60、减少凋亡来促进侵袭部位肿瘤细胞的存活。但是 HSP60 在侵袭部位的升高是肿瘤细胞向外侵袭的原因还是结果,以及是否会进一步增强肿瘤细胞向远处转移等还需进一步研究。

参考文献

- 1 Lin P, O'Brien JM. Frontiers in the management of retinoblastoma[J]. *Am J Ophthalmol*, 2009, 148(2): 192-198.
- 2 Shields CL, Shields JA. Basic understanding of current classification and management of retinoblastoma[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2006, 17(3): 228-234.
- 3 Dunkel LJ, Aledo A, Kernan NA, Kushner B, Bayer L, Gollamudi SV, et al. Successful treatment of metastatic retinoblastoma[J]. *Cancer*, 2000, 89(10): 2117-2121.
- 4 Ghosh JC, Dohi T, Kang BH, Altieri DC. HSP60 regulation of tumor cell apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(8): 5188-5194.
- 5 Cappello F, David S, Rappa F, Bucchieri F, Marasà L, Bartolotta TE, et al. The expression of HSP60 and HSP10 in large bowel carcinomas with lymph node metastase[J]. *Bmc Cancer*, 2005, 5(28): 139.
- 6 Cappello F, Conway de Macario E, Marasà L, Zummo G, Macario AJ. Hsp60 expression, new locations, functions and perspectives for cancer diagnosis and therapy[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(6): 801-809.
- 7 Thomas X, Campos L, Mounier C, Cornillon J, Flandrin P, Le QH, et al. Expression of heat-shock proteins is associated with major adverse prognostic factors in acute myeloid leukemia[J]. *Leuk Res*, 2005, 29(9): 1049-1058.
- 8 Castilla C, Congregado B, Conde JM, Medina R, Torrubia FJ, Japón MA, et al. Immunohistochemical expression of Hsp60 correlates with tumor progression and hormone resistance in prostate cancer[J]. *Urology*, 2010, 76(4): 1017-1019.
- 9 Khelifaoui F, Validire P, Auperin A, Quintana E, Michon J, Pacquement H, et al. Histopathologic risk factors in retinoblastoma: a retrospective study of 172 patients treated in a single institution[J]. *Cancer*, 1996, 77(6): 1206-1213.
- 10 Filho SJP, Martins MC, Correa ZS, Odashiro AN, Anteck A, Coutinho AB, et al. The expression of cyclooxygenase 2 in retinoblastoma: primary enucleated eyes and enucleation after conservative treatment[J]. *Am J Ophthalmol*, 2006, 142(4): 625-631.
- 11 Tang D, Khaleque MA, Jones EL, Theriault JR, Li C, Wong WH, et al. Expression of heat shock proteins and heat shock protein messenger ribonucleic acid in human prostate carcinoma in vitro and in tumors in vivo[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2005, 10(1): 46-58.
- 12 Cappello F, Di Stefano A, David S, Rappa F, Anzalone R, La Rocca G, et al. HSP60 and HSP10 down-regulation predicts bronchial epithelial carcinogenesis in smokers with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Cancer*, 2006, 107(10): 2417-2424.
- 13 Cappello F, Czarnecka AM, La Rocca G, Di Stefano A, Zummo G, Macario AJ. Hsp60 and Hsp10 as antitumor molecular agents[J]. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6(4): 487-489.
- 14 Hsu PL, Hsu SM. Abundance of heat shock proteins (hsp89, hsp60, and hsp27) in malignant cells of Hodgkin's disease[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(23): 5507-5513.
- 15 Zhang L, Pelech S, Uitto VJ. Bacterial GroEL-like heat shock protein 60 protects epithelial cells from stress-induced death through activation of ERK and inhibition of caspase 3[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 292(1): 231-240.
- 16 Castle PE, Ashfaq R, Ansari F, Muller CY. Immunohistochemical evaluation of heat shock proteins in normal and preinvasive lesions of the cervix[J]. *Cancer Lett*, 2005, 229(2): 245-252.
- 17 Cappello F, Di Stefano A, D'Anna SE, Donner CF, Zummo G. Immunopositivity of heat shock protein 60 as a biomarker of bronchial carcinogenesis[J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(10): 816-816.
- 18 Khalil AA. Biomarker discovery: A proteomic approach for brain cancer profiling[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(2): 201-213.
- 19 Zhang J, Benavente CA, McEvoy J, Flores-Otero J, Ding L, Chen X, et al. A novel retinoblastoma therapy from genomic and epigenetic analyses[J]. *Nature*, 2012, 481(7381): 329-334.
- 20 Laurie NA, Donovan SL, Shih CS, Zhang J, Mills N, Fuller C, et al. Inactivation of the p53 pathway in retinoblastoma[J]. *Nature*, 2006, 444(7115): 61-66.
- 21 Dohi T, Beltrami E, Wall NR, Plescia J, Altieri DC. Mitochondrial survivin inhibits apoptosis and promotes tumorigenesis[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(8): 1117-1127.
- 22 Deocaris CC, Kaul SC, Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2006, 11(2): 116-128.
- 23 Yamamoto T, Tanigawa N. The role of survivin as a new target of diagnosis and treatment in human cancer[J]. *Med Electron Microsc*, 2001, 34(4): 207-212.