

膀胱尿路上皮癌中 MIF 与 VEGF 的表达及其临床意义

张 珺 吴 奎 肖 峻 陈远哲 熊 宇

摘要 目的 研究巨噬细胞转移抑制因子(MIF)及血管内皮生长因子(VEGF)在膀胱尿路上皮癌(BTCC)组织中表达水平及其临床意义。方法 采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)及免疫组化法检测 MIF 及 VEGF 在 BTCC 及正常膀胱黏膜组织中的表达水平,并进一步分析 MIF 及 VEGF 与患者临床病理特征之间的关系。结果 RT-qPCR 结果显示 MIF mRNA 及 VEGF mRNA 在 BTCC 组织中的表达水平均高于正常膀胱黏膜组织($P < 0.05$);两者在浸润性膀胱癌组织中表达水平亦高于表浅性膀胱癌组织($P < 0.05$)。免疫组化结果显示膀胱癌组织中 MIF 和 VEGF 的阳性表达率分别为 70.6%(53/75)和 61.3%(46/75),均高于正常膀胱黏膜组织($P < 0.05$)。进一步的统计分析提示 MIF 和 VEGF 的表达水平同膀胱癌的淋巴结转移、初发性、病理分级及临床分期呈正相关,与患者性别、年龄、肿瘤大小及癌灶数量无明显相关性。结论 在 BTCC 组织中,MIF 与 VEGF 的过度表达对肿瘤的血管形成和发展过程起着重要作用,且 MIF 可能是促进 VEGF 表达的重要因素之一。

关键词 RT-qPCR; 巨噬细胞移动抑制因子; 膀胱尿路上皮癌; 血管内皮生长因子; 淋巴结转移; 微血管密度

中图分类号 R 737.14

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)03-0354-05

巨噬细胞移动抑制因子(microphage migration inhibitor factor, MIF)主要由活化 T 淋巴细胞分泌,早期发现与炎症反应及免疫应答有关的细胞因子。近年来研究^[1]显示,MIF 在肿瘤的发生发展过程中具有重要的作用,具体表现在促进细胞的增殖、分化、肿瘤血管的形成、肿瘤侵袭能力,甚至抑制肿瘤细胞的凋亡等。实体肿瘤血管的形成是其生长和迁徙的基础,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是新生血管形成过程中最重要的刺激因子之一,它能够通过诱导肿瘤血管的形成促进肿瘤的浸润转移。研究^[2]显示 VEGF 与膀胱移行细胞癌的侵袭能力有关,并可能作为判断预后的

指标。该研究主要探讨 MIF 与 VEGF 在膀胱尿路上皮癌(bladder transitional cell carcinoma, BTCC)组织中的表达及其临床意义,并分析二者之间可能存在的关系。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2011 年 2 月~2012 年 6 月在安徽医科大学附属省立医院泌尿外科接受手术治疗的 BTCC 患者 75 例,男 45 例,女 30 例,年龄 16~81(58.30 ± 22.61)岁。根据国际抗癌协会 2009 年第 7 版 TNM 病理临床分期和 2004 年 WHO 病理分级标准进行组织学分级和分期,其中表浅性(Ta~T₁期)50 例,浸润性(T₂~T₄期)25 例。低度恶性倾向尿路上皮乳头状瘤 28 例,低分级 BTCC 26 例,高分级 BTCC 21 例。伴有淋巴结转移患者 21 例,无淋巴结转移患者 54 例。患者均行手术治疗,其中,经尿道膀胱肿瘤电切术 47 例,膀胱部分切除术 24 例,全膀胱术 4 例。另取 12 例正常膀胱黏膜组织作为对照组。标本取材后分两部分,一部分立即放入 RNA 组织保护液中 4℃过夜,-80℃保存用于 RT-qPCR;另一部分经过 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,连续切片后用于免疫组化染色。

1.2 主要试剂 抗人 MIF 单克隆抗体购自北京博奥森生物制药公司;抗人 VEGF、CD31 单克隆抗体、S-P 试剂盒(含二抗、DAB 显色剂)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;荧光定量 PCR 检测系统购自德国 Biometra;TRIzol Reagent、RNase 抑制剂、反转录酶(含 buffer)、dNTP、SYBR Green qPCR mix 购自大连宝生物工程公司;引物由上海生工生物工程公司合成。

1.3 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 mRNA 表达 按照 TRIzol 说明书对所取组织进行 RNA 提取,并经紫外分光光度计测定 A_{260}/A_{280} 比值定量在 1.8~2.0 之间,以其为模板逆转录合成 cDNA; MIF 正向引物:5'-CCATGCCTATGTTTCATCGTG-3',反向引物为 5'-GAACAGCGGTGCAGGTAAGTG-3'; VEGF 正向引物为:5'-ACGTCTGCGGATCTTGGACA-3',反向引物为:5'-GGGCTGCTGCAATGATGAAG-3';所选内参为 β -actin,正向引物为:5'-CCAAGGCCAAC-

2013-11-07 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1208085MH139)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院泌尿外科,合肥 230001

作者简介:张 珺,男,硕士研究生;

吴 奎,男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: wukuimnw@sohu.com

CGCGAGAAGATGAC-3', 反向引物为: 5'-AGGGTA-CATGGTGGTGGCGCCAGAC-3'; RT-qPCR 总反应体系为 25 μ l SYBR Green mix 12.5 μ l, 正反向引物各 1 μ l, ddH₂O 8 μ l, cDNA 2.5 μ l, 进行扩增并采用 $2^{-\Delta CT}$ 计算 mRNA 相对表达量。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 3 min, 1 个循环; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 40 个循环。

1.4 免疫组化染色 石蜡包埋组织 4 μ m 连续切片, 常规 37 $^{\circ}$ C 烘烤 30 min, 后二甲苯、乙醇脱蜡、水化, 3% 过氧化氢溶液浸泡 10 min, 阻断内源性过氧化物酶活性。VEGF 采用高温抗原修复 20 min, MIF、CD31 采用微波枸橼酸盐抗原修复, 缓慢复温至室温水洗后 PBS 清洗 3 次, 每次 3 min, 正常血清封闭 15 min 后加一抗(VEGF 浓度为 1:400; MIF 浓度为 1:400; CD31 浓度为 1:500) 4 $^{\circ}$ C 过夜, PBS 清洗 3 次, 每次 3 min。加生物素标记二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 3 min; 加 DAB 显色剂, 苏木精复染, 乙醇脱水, 封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照组。

1.5 结果判定 RT-qPCR 完成后采用 $2^{-\Delta CT}$ 计算 mRNA 相对表达量, 并计算平均表达量。MIF 和 VEGF 阳性型均位于胞质内, 细胞质、部分细胞膜、细胞核呈棕黄色为阳性细胞, 每张切片在 $\times 400$ 高倍视野下随机选择 4 个视野, 计数阳性细胞数。“-”为不表达或者 <30% 细胞表达, “+”阳性细胞数为 30%~50%, “++”阳性细胞数为 50%~70%, “+++”阳性细胞数为 >70%。微血管密度(microvascular density, MVD) 计数: 先在低倍镜($\times 100$)下选择出微血管最密集的区域, 然后于高倍镜($\times 400$)下计数 5 个视野的微血管数目, 取平均值作为该病例的 MVD 值。所有切片均经 3 位病理医师在不清楚患者任何临床资料的情况下独立完成。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各指标与患者临床病理资料的关系采用独立样本 t 检验和 χ^2 检验进行比较分析, 各指标间的关系采用 Spearman 相关分析进行检测。

2 结果

2.1 MIF、VEGF mRNA 的表达差异 实验结果显示 MIF 的 PCR 产物长度为 368 bp, VEGF 的 PCR 产物长度为 380 bp, 溶解温度较均一, 峰形也较锐利。分析 mRNA 表达情况, 其中膀胱癌组织中 MIF、VEGF mRNA 的平均相对表达量与正常黏膜组织比较差异均有统计学意义($P=0.002$, $P=0.008$); 浸

润性癌组织中 mRNA 的表达量与表浅性癌组织比较差异有统计学意义($P=0.045$, $P=0.018$), 见表 1。

表 1 MIF、VEGF mRNA 的表达($\bar{x} \pm s$)

项目	n	MIF mRNA	P 值	VEGF mRNA	P 值
BTCC 组织	75	2.98 $\pm$ 1.45	0.002	7.07 $\pm$ 3.55	0.008
正常组织	12	1.69 $\pm$ 0.79		3.83 $\pm$ 0.98	
浸润性癌组织	50	2.34 $\pm$ 0.76	0.045	3.33 $\pm$ 1.02	0.018
表浅性癌组织	25	3.25 $\pm$ 1.67		8.10 $\pm$ 4.01	

2.2 MIF 在 BTCC 组织中的表达 MIF 阳性信号主要位于癌细胞胞质内(图 1), 75 例 BTCC 组织中, 53 例呈阳性, MIF 阳性率为 70.6%。12 例正常膀胱组织中 MIF 阳性 1 例, 阳性率为 8.3%, 差异有统计学意义($P=0.000$)。伴有淋巴结转移的癌组织中 MIF 表达水平(20/21, 95.5%)与无淋巴结转移的癌组织(33/54, 61.6%)比较, 差异有统计学意义($P=0.004$)。随着 BTCC 临床分期的增高, MIF 阳性率呈上升趋势, 在浅表性和浸润性癌组织中阳性率分别为 66%、80%, 差异有统计学意义($P=0.209$)。随着病理分级的增加, MIF 阳性率分别为 G1(53.6%)、G2(73.0%)、G3(90.4%), 且差异有统计学意义($P=0.018$)。复发性癌组织中 MIF 阳性率高于初发性, 差异有统计学意义($P=0.019$)。

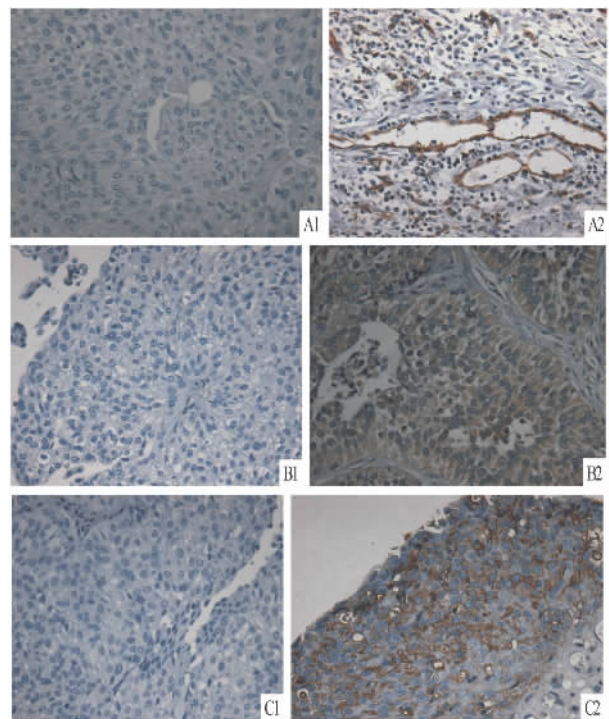


图 1 BTCC 及正常膀胱黏膜组织中

CD31、MIF 和 VEGF 的表达 SP $\times 400$

A: CD31; B: MIF; C: VEGF; 1: BTCC 组织; 2: 正常膀胱黏膜组织

表2 MIF、VEGF 表达与膀胱癌临床病理特征的关系

项目	n	MIF 表达(n)		χ^2 值	P 值	VEGF 表达(n)		χ^2 值	P 值	MVD($\bar{x} \pm s$)	t 值	P 值
		阳性	阴性			阳性	阴性					
分级												
G1	28	15	13			12	16			25.71 $\pm$ 14.19	-2.487	0.015
G2	26	19	7	7.996	0.018	17	9	7.619	0.022	33.91 $\pm$ 9.35	-2.588	0.013
G3	21	19	2			17	4			41.52 $\pm$ 10.80	-4.260	0.000
分期												
Ta ~ T ₁	50	33	17	1.576	0.209	25	25	4.646	0.031	24.49 $\pm$ 7.85	-5.784	0.000
T ₂ ~ T ₄	25	20	5			19	6			37.68 $\pm$ 11.74		
淋巴转移												
有	21	20	1	8.495	0.004	12	9	0.216	0.642	39.88 $\pm$ 17.35	3.620	0.001
无	54	33	21			34	20			26.54 $\pm$ 13.01		
肿瘤大小(cm)												
>3	43	32	11	0.684	0.408	28	15	0.608	0.435	29.11 $\pm$ 10.39	0.758	0.621
≤ 3	32	21	11			18	14			26.76 $\pm$ 16.39		
肿瘤数量												
单发	28	17	11	2.135	0.144	14	14	2.420	0.120	30.30 $\pm$ 9.81	-1.484	0.136
多发	47	36	11			32	15			33.94 $\pm$ 10.54		
性别												
男	51	34	17	1.230	0.267	35	16	3.579	0.059	32.30 $\pm$ 13.79	0.388	0.751
女	24	19	5			11	13			31.00 $\pm$ 12.98		
原复发癌												
原发	46	28	18	5.509	0.019	22	24	9.152	0.002	26.73 $\pm$ 17.40	-3.943	0.000
复发	29	25	4			24	5			41.51 $\pm$ 12.85		

MIF 阳性表达率在性别、年龄、肿瘤大小及肿瘤数量的患者之间,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表2。

2.3 VEGF 在 BTCC 组织中的表达 VEGF 阳性信号主要位于癌细胞胞质中(图1),75 例 BTCC 组织中,46 例癌细胞呈阳性,MIF 阳性率为 61.3%。12 例正常膀胱组织中均无表达,差异有统计学意义($P = 0.000$)。伴有淋巴结转移的癌组织中 VEGF 表达水平(12/21,57.1%)与无淋巴结转移的癌组织(34/54,63.0%)比较,差异无统计学意义($P = 0.642$)。随着 BTCC 临床分期的增高,VEGF 阳性率呈上升趋势,在浅表性和浸润性癌组织中阳性率分别为 50%、76%,差异有统计学意义($P = 0.031$)。随着病理分级的增加,MIF 阳性率分别为 G1(42.9%)、G2(65.4%)、G3(80.9%),差异有统计学意义($P = 0.022$)。复发性癌组织中 MIF 阳性率明显高于初发性,差异有统计学意义($P = 0.002$)。VEGF 阳性表达率在性别、年龄、肿瘤大小及数量的患者之间,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表2。

2.4 MIF 与 VEGF 的相关性 75 例 BTCC 组织中,两者均表达阳性的有 38 例,均无表达的有 14 例。采用 Spearman 秩相关分析后,两者在 BTCC 组织中表达呈正相关($r_s = 0.330$, $P = 0.004$),见表3。

2.5 MIF、VEGF 与 MVD 的关系 实验结果显示 MIF、VEGF 阳性例数 MVD 值高于阴性例数,差异有

统计学意义($P = 0.000$, $P = 0.001$),见表4。

表3 MIF 与 VEGF 在 BTCC 中的表达(n)

MIF	VEGF		合计	χ^2 值	r 值	P 值
	阳性	阴性				
阳性	38	15	53			
阴性	8	14	22	8.185	0.330	0.004
合计	46	29	75			

表4 MIF、VEGF 与 MVD 的关系($\bar{x} \pm s$)

项目	n	MVD	t 值	P 值
MIF				
阳性	53	33.18 $\pm$ 12.88		
阴性	22	22.73 $\pm$ 8.94	3.468	0.000
VEGF				
阳性	46	34.46 $\pm$ 13.42		
阴性	29	24.81 $\pm$ 10.12	3.320	0.001

3 讨论

近年来,研究^[1]表明 MIF 在肿瘤演变过程中发挥着重要作用,无论在肿瘤细胞增殖、分化、迁移还是肿瘤血管形成过程中都扮演着重要角色。Meyer-Siegler et al^[3]发现膀胱癌细胞株 HT-1376 中存在 MIF 高表达现象;而通过对细胞加以外源性的 MIF 抗体或抑制剂后,其分泌受到抑制,同时该肿瘤细胞增殖明显减弱,这表明 MIF 可能在促进 BTCC 癌细

胞的增殖过程中起重要作用。Liu et al^[4] 研究亦发现, MIF 高表达与肿瘤的远处转移有关。经 MIF 抑制剂处理后肿瘤细胞的转移和侵袭能力明显降低。此外, 相关研究^[5-6] 显示多种肿瘤中 MIF 的表达水平同 P53 蛋白、VEGF 蛋白等的表达呈正相关, 而这些蛋白均被认为在肿瘤的增殖、分化及血管形成等过程中扮演着重要角色。

本研究采用 RT-qPCR、免疫组化方法分别检测 MIF 在 BTCC 中的表达情况, 结果显示 MIF 在膀胱癌组织中的表达水平明显高于正常黏膜组织。通过对免疫组化染色结果进一步分析显示, MIF 的表达水平在有淋巴结转移癌组织中明显高于无淋巴结转移组织, 高级别明显高于低级别。这间接提示 MIF 蛋白在 BTCC 组织的生长、分化以及转移等生物学行为过程可能发挥着重要作用, 高浓度的 MIF 有可能促进上述一系列过程的发生。目前, RT-qPCR 结果显示 MIF mRNA 表达量在进展期癌组织中明显高于早期癌组织, 而免疫组化则显示 MIF 蛋白表达水平与临床分期无关。因此, 在 BTCC 组织中 MIF mRNA 的表达与 MIF 蛋白的表达并非完全一致, 这一现象在许多基因中普遍存在^[7]。

实体肿瘤的生长有赖于肿瘤新生血管的形成, 并且肿瘤新生血管的形成也是其转移的病理生理基础。血管形成是一个非常复杂的过程, 在此过程中需要诸多因素的参与, 如 VEGF、血管生成素、碱性成纤维生长因子 (bFGF) 及环氧合酶-2 等, 其中 VEGF 所扮演的角色最为重要, 它能够与血管内皮特异性相结合, 促进血管内皮细胞分裂增生、增强血管通透性, 是作用最强的血管生成因子之一^[8]。因此, 其在肿瘤的生长、浸润及转移中起着重要作用。本研究 RT-qPCR 结果显示, 癌组织中 VEGF mRNA 的平均表达量高于正常组织, 且浸润性癌组织中 mRNA 平均表达量高于表浅性。免疫组化法结果显示在不同分期、分级的肿瘤组织中, VEGF 的表达水平存在差异, 即分化越低、分期越晚的肿瘤组织中其含量越高。且对于复发性癌组织, VEGF 表达明显高于初发性, 提示 VEGF 在 BTCC 复发时血管的形成和肿瘤发展同样具有重要作用; 但 VEGF 表达水平与有无淋巴结转移无明显相关性。笔者推测, 这与肿瘤细胞淋巴结转移机制相对复杂有关, 单一因素并不能反映出其主要生物学特性。此外, 本研究样本量相对较少也可能是影响因素之一。

在 MIF 表达阳性组织中, VEGF 和 MVD 表达均明显增高, Spearman 相关分析显示 MIF 与二者呈正

相关关系。提示 MIF 可能促进 BTCC 组织中 VEGF 的表达, 从而达到间接促进肿瘤组织微血管形成的作用。Cheng et al^[6] 在宫颈癌的研究中发现, MIF 与其受体 CD74 的高表达能够增加 VEGF 的表达, 并指出 MIF 在宫颈癌的肿瘤血管形成中扮演着重要的角色。Rubio et al^[9] 研究指出, 肿瘤组织中 MVD 可能成为淋巴结转移以及患者预后的一个新的指标。本研究显示 MVD 与淋巴结转移相关, 而另一方面, MIF 与淋巴结转移和微血管形成均成明显的正相关性。因此, MVD 是否能够直接促进淋巴结转移尚不明确, 可能为一个伴随关系, 两者之间相互作用关系仍需进一步研究。

综上所述, MIF 与 VEGF 的高表达且协同作用可能在 BTCC 的发生发展、浸润转移及复发方面具有重要作用, 且 MIF 可能是影响 BTCC 肿瘤组织淋巴转移、微血管形成和 VEGF 表达的重要因素, 进一步研究其作用机制可能成为 BTCC 分子靶向治疗中新的切入点。

参考文献

- [1] Babu S N, Chetal G, Kumar S. Macrophage migration inhibitory factor: a potential marker for cancer diagnosis and therapy [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(5): 1737-44.
- [2] Sato K, Sasaki R, Ogura Y, et al. Expression of vascular endothelial growth factor gene and its receptor (flt-1) gene in urinary bladder cancer [J]. *Tohoku J Exp Med*, 1998, 185(3): 173-84.
- [3] Meyer-Siegler K L, Leifheit E C, Vera P L. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor decreases proliferation and cytokine expression in bladder cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2004, 4: 34.
- [4] Liu H, Chen G, Zhang W, et al. Overexpression of macrophage migration inhibitory factor in adenoid cystic carcinoma: correlation with enhanced metastatic potential [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(2): 287-95.
- [5] 庞国福, 李解方, 丁平, 等. P53 和 MIF 在前列腺癌组织中的表达及临床意义 [J]. *南华大学学报*, 2008, 36(4): 452-4.
- [6] Cheng R J, Deng W G, Niu C B, et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor and CD74 in cervical squamous cell carcinoma [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, 21(6): 1004-12.
- [7] Ostlund G, Sonnhhammer E L. Quality criteria for finding genes with high mRNA-protein expression correlation and coexpression correlation [J]. *Gene*, 2012, 497(2): 228-36.
- [8] Kraizer Y, Mawasi N, Seagal J, et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin in liver regeneration [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 287(2): 209-15.
- [9] Rubio L, Burgo J S, Morera C, et al. Morphometric study of tumor angiogenesis as a new prognostic factor in nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Pathol Oncol Res*, 2000, 6(3): 210-6.

胃癌组织中跨膜丝氨酸蛋白酶 4 的表达 及其与上皮间质转化的关系

孙思柏¹ 吴继锋^{1,2}

摘要 目的 探讨跨膜丝氨酸蛋白酶 4(TMPRSS4) 在人胃癌组织中的表达与临床病理特征之间的关系及对判断患者预后的意义, 进一步研究其与上皮间质转化(EMT) 的关系。方法 采用免疫组织化学方法(SABC 法) 同时检测 100 例胃腺癌标本及其癌旁组织中 TMPRSS4、波形蛋白(Vimentin)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin) 的表达。结果 在胃癌组织中 TMPRSS4、E-cadherin、Vimentin 的阳性率分别为 47%、45%、37%, 其癌旁组织阳性率分别为 9%、30%、4%。

2013-12-19 接收

基金项目: 安徽省高校省级自然科学研究重点项目(编号: KJ2012A159); 国家临床重点专科建设项目经费资助

作者单位: ¹安徽医科大学基础医学院病理学教研室, 合肥 230032

²安徽医科大学第一附属医院病理科, 合肥 230022

作者简介: 孙思柏, 男, 硕士研究生;

吴继锋, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: aydwj@163.com

3 种蛋白在肿瘤组织和对应癌旁组织中的表达率之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。TMPRSS4 蛋白的表达与胃癌患者淋巴结转移、TNM 分期有关($P < 0.05$), 而与患者的性别、年龄、肿瘤组织大小、分化程度、浸润深度无显著相关性($P > 0.05$)。TMPRSS4 蛋白表达阳性患者的 5 年生存率显著低于其阴性表达的患者。TMPRSS4 与 E-cadherin 蛋白表达呈负相关($r_s = -0.207, P = 0.038$), 与 Vimentin 蛋白表达呈正相关($r_s = 0.233, P = 0.020$)。结论 TMPRSS4 蛋白在人胃癌组织中的表达与肿瘤的生物学特性密切相关, 并对预测肿瘤的侵袭转移有一定的参考价值。TMPRSS4 可能通过降低 E-cadherin 的表达诱导 EMT 的发生来促进胃癌细胞的侵袭和转移。

关键词 胃肿瘤; 丝氨酸蛋白酶 4; 上皮间质转化; 免疫组织化学

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)03-0358-05

Expression and clinical significance of MIF and VEGF in bladder urothelial carcinoma

Zhang Jun, Wu Kui, Xiao Jun et al

(Dept of Urology, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

Abstract Objective To investigate the expression and clinical significance of macrophage migration inhibitor factor (MIF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in bladder transitional cell carcinoma (BTCC) . **Methods** RT-qPCR and immunohistochemical method were employed to detect the expression of MIF and VEGF in BTCC and normal bladder tissues. Then, we analyzed the relationship between the MIF and VEGF expression and various clinicopathologic parameters according to the immunohistochemical results. **Results** The results of RT-qPCR revealed that both MIF mRNA and VEGF mRNA were higher in BTCC tissues than those in normal bladder tissues ($P < 0.05$), and higher in invasive BTCC than those in non-invasive BTCC tissues ($P < 0.05$). The immunohistochemical results indicated that the MIF and VEGF expressions were increased in BTCC tissues; 53/75 (70.6%) and 46/75 (61.3%) cancer tissues showed MIF and VEGF positive, obviously higher than those in normal bladder tissues ($P < 0.05$). Besides, we also found that the high level of MIF and VEGF were positively correlated with lymph node metastasis, recurrent, pathological grade and clinical stage. However, there were no significant correlations between their expression and other clinicopathologic parameters, such as gender, age, tumor size and multiple tumorigenesis in BTCC patients. **Conclusion** MIF and VEGF overexpressions may play an important role in the occurrence and progression of BTCC. MIF may also have an effect on the VEGF expression.

Key words RT-qPCR; macrophage migration inhibitory factor; bladder urothelial carcinoma; vascular endothelial growth factor; lymph node metastasis; microvascular density