

Vascular endothelial growth factor หรือ VEGF เป็น angiogenic factor ชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการสร้างหลอดเลือดใหม่ และการแสดงออกของ VEGF ที่เพิ่มขึ้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ของมะเร็งร้าย (tumor angiogenesis) พบว่าในมนุษย์มี VEGF ทั้งหมด 6 isoforms ที่มีขนาดแตกต่างกัน โดย VEGF121 และ VEGF165 เป็น isoform ที่สามารถหลั่งออกมาในกระแสเลือดได้ ซึ่งต่างกับ VEGF189 ที่มีขนาดใหญ่กว่ามักพบมากบนเซลล์ และพบได้น้อยมากในกระแสเลือด ถึงแม้ว่าจนถึงปัจจุบันนี้จะมีหลายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ในการตรวจวัดระดับ VEGF ในกระแสเลือดเพื่อใช้สำหรับการวินิจฉัยและการตรวจติดตามผลการรักษาโรคมะเร็ง แต่ความสัมพันธ์ระหว่างการสร้าง VEGF ในเนื้อเยื่อกับระดับของ VEGF ในกระแสเลือดนั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจกันมากนัก ดังนั้นจุดประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้จึงมีเพื่อ 1) ศึกษารูปแบบการแสดงออกของ VEGF isoforms ในระดับโปรตีนเปรียบเทียบกับระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติเพื่อดูว่า isoform ใดที่มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาของโรคมะเร็ง 2) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบการแสดงออกของ VEGF ในเนื้อเยื่อกับระดับของ VEGF ในกระแสเลือดเพื่อทดสอบว่าการตรวจวัดระดับของ VEGF ในกระแสเลือดสามารถใช้ทำนาย รูปแบบการแสดงออกของ VEGF ในเนื้อเยื่อมะเร็งได้หรือไม่ และ 3) เปรียบเทียบระดับของ VEGF ในกระแสเลือดของผู้ป่วยมะเร็งกับของคนสุขภาพดี

ได้ทำการศึกษาในเนื้อเยื่อผู้ป่วยมะเร็งจำนวน 94 ราย และซีรัมจำนวนทั้ง 56 ราย ซึ่งประกอบไปด้วยผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ และผู้ป่วยมะเร็งปอด โดยทำการศึกษารูปแบบการแสดงออกของ VEGF ในระดับโปรตีน และตรวจวัดระดับของ VEGF ทั้งในเนื้อเยื่อและกระแสเลือด โดยใช้วิธี western blot analysis และวิธี capture ELISA ตามลำดับ จากผลการทดลองพบการแสดงออกของแถบโปรตีนหลักทั้งหมด 3 แถบในเนื้อเยื่อมะเร็งซึ่งมี ขนาดมวลโมเลกุลที่แตกต่างกัน ได้แก่ 18 kDa, 23 kDa, และ 26 kDa ซึ่งเชื่อว่าเป็น VEGF121, VEGF165 และ VEGF189, ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าในเนื้อเยื่อผู้ป่วยมะเร็งลำไส้พบการแสดงออกของ VEGF121 ได้ระดับเท่ากันทั้งในเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งตรงข้ามกับการแสดงออกของ VEGF165 และ VEGF189 ที่พบว่ามีแสดงออกมากในเนื้อเยื่อมะเร็ง อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วยมะเร็งปอดพบว่าการแสดงออกของ VEGF121 มีมากในเนื้อเยื่อปกติ ตรงข้ามกับการแสดงออกของ VEGF165 และ VEGF189 ที่พบว่ามีแสดงออกมากในเนื้อเยื่อมะเร็ง การแสดงออกของ VEGF165 พบว่ามีความสัมพันธ์กับขนาดของก้อนมะเร็งที่มีขนาดเล็ก ตรงข้ามกับการแสดงออกของ VEGF189 ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของมะเร็งในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ ผลการตรวจวัดระดับของ total VEGF ในเนื้อเยื่อโดยวิธี capture ELISA พบว่าระดับของ VEGF ในเนื้อเยื่อ มะเร็งลำไส้ และมะเร็งปอด มีระดับสูงในเนื้อเยื่อมะเร็งมากกว่าในเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเนื่องจาก เซลล์มะเร็งของอวัยวะดังกล่าวสามารถเพิ่มการแสดงออกของ VEGF บาง isoform เพื่อซึ่งช่วย ในการพัฒนา การเกิดมะเร็งได้ เมื่อทำการตรวจวัดระดับของ VEGF ในซีรัมพบว่า ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ (ค่าเฉลี่ย = 1,069 pg/ml) และมะเร็งปอด (ค่าเฉลี่ย = 1,251 pg/ml) มีระดับของ VEGF ในกระแสเลือดสูงกว่ากลุ่มคนสุขภาพดี อย่างมีนัยสำคัญ (ค่าเฉลี่ย = 605 pg/ml) ( $p = 0.001$ ) อย่างไรก็ตาม พบว่าการเลือกค่า cut-off มีความยากเนื่องจากระดับของ VEGF ในซีรัมคนสุขภาพดี บางรายมีค่าค่อนข้างสูง และเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของระดับ VEGF กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก ของผู้ป่วยพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันแต่อย่างใด ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าระดับของ VEGF ในกระแสเลือดอาจสามารถใช้เป็น tumor marker ได้ แต่อย่างไรก็ตามระดับของ VEGF ที่ตรวจได้ อาจไม่บ่งถึงการเพิ่มการสร้าง VEGF ของเนื้อเยื่อมะเร็งและระยะของโรคมะเร็งที่วินิจฉัย ทั้งนี้เนื่องจาก isoform ที่พบว่ามีความสำคัญต่อการพัฒนาของมะเร็งเป็น cell-associated isoform ที่ไม่ได้ถูกหลั่งออกมาในกระแสเลือด

## Abstract

**TE 162273**

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a potent mitogen for microvascular and macrovascular endothelial cells derived from arteries, veins, and lymphatics, and VEGF overexpression has been correlated with increased tumor angiogenesis. In humans, six different isoforms of VEGF have been identified. While VEGF<sub>121</sub> and VEGF<sub>165</sub> are secreted in soluble forms, the larger isoforms, VEGF<sub>189</sub> remains cell-associated. Although numerous publications dealing with the measurement of circulating VEGF for diagnostic and therapeutic monitoring have been published over the last 10 years, the relationship between the production of tissue VEGF and its concentration in blood is still insufficient. Therefore, the aims of this study were to determine: 1) The protein expression pattern of VEGF isoforms in tumor and normal tissues in order to understand whether which VEGF protein isoforms play an important role during tumorigenesis. 2) The relationship between the expression pattern of VEGF in tumor tissues and circulating level of VEGF in blood to clarify whether measuring VEGF in serum is usable as a predictor for the VEGF expression level in tumor tissues. 3) Comparing level of circulating VEGF in cancer patients and in healthy volunteers.

A total of 94 tissue samples and 76 preoperative serum samples were obtained from patients with colorectal and lung cancer. VEGF protein expression pattern and total circulating VEGF were examined using western blot and capture ELISA, respectively. Three major protein bands were predominately detected in tumor samples with an apparent molecular mass under reducing conditions of 18, 23 and 26 kDa, which are believed to represent VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub> and VEGF<sub>189</sub>, respectively. In colorectal tumors, VEGF<sub>121</sub> was found to be equally expressed in both tumor and normal tissues, whereas the VEGF<sub>165</sub> and VEGF<sub>189</sub> were only detected or detected at higher level in tumor tissues. However, in lung tumor VEGF<sub>121</sub> appeared to be predominately expressed in normal tissues, where as VEGF<sub>165</sub> and VEGF<sub>189</sub> were predominately expressed in tumors tissues. Expression of VEGF<sub>165</sub> was significantly correlated with a tumor size smaller, whereas VEGF<sub>189</sub> was significantly correlated with advanced clinical stage of the colorectal tumors. 38.3% of colorectal tumor tissues were found to overexpress COX-2, but no significant relationship between the expression of COX-2 and VEGF was observed.

Determination of the VEGF in serum revealed that circulating level of VEGF in patients with colorectal ( $1,069 \pm 649$  pg/ml) and lung cancer ( $1,251 \pm 568$  pg/ml) were significantly higher than that in healthy volunteers ( $543 \pm 344$  pg/ml) ( $p = 0.001$ ). However, it is very difficult to decide the cut-off value, as some normal volunteers possessed quite a high level of circulating VEGF and also no correlation between the circulating level of VEGF and pathological features was observed. From this investigation, it can be concluded that circulating level of VEGF may have potential to be used as a tumor marker, however, careful considerations have to be taken, as it may not entirely represent the VEGF production level in tumor tissues and tumor stage.