

1. Zusammenfassung

Die Hodenfunktion unterliegt einer vielschichtigen und komplexen Kontrolle durch endo-, auto- und parakrine Faktoren. Einer dieser Faktoren könnte VEGF (vascular endothelial growth factor) sein. Da VEGF sehr potente Eigenschaften als Stimulator der vaskulären Permeabilität im Hoden aufweist, könnte er eine Schlüsselfunktion bei der Aufrechterhaltung der Hodenfunktion innehaben.

Die geplante Forschungsarbeit hat das Ziel, VEGF und seine hormonelle Regulation im Hoden, speziell in Leydig-Zellen, zu charakterisieren. Dafür wurde als Modellsystem die Tumor-Leydig-Zelllinie MA-10 verwendet.

Im ersten Teil der Arbeit wurde mit Hilfe von RT-PCR und Northern-Hybridisierung bestimmt, welche VEGF-Isoformen in Leydig-Zellen vorkommen. Weiter wurde untersucht, durch welche Signalkaskade die Expression von VEGF in Leydig-Zellen reguliert wird. Durch Stimulation der Leydig-Zellen mit einem Gonadotropinhormon, Steroiden und Inhibitoren der Steroidbiosynthese konnte gezeigt werden, dass die Expression von VEGF durch das Gonadotropinhormon hCG über eine cAMP-abhängige Proteinkinase A-Signalkaskade und durch das Steroidhormon Progesteron reguliert wird. Ausserdem wurden vergleichende Untersuchungen über die Expression der Gene von StAR (steroidogenic acute regulatory protein) und 3 β -HSD (3 Beta-Hydroxydehydrogenase), die einer LH/hCG-vermittelten Regulation unterliegen, durchgeführt. StAR ist für den Transport des Cholesterins von der äußeren zur inneren Mitochondrienmembran (der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der Steroidbiosynthese) verantwortlich und 3 β -HSD ist ein Enzym, das an der Umwandlung von Pregnenolon in Progesteron beteiligt ist. Die Expression von StAR und 3 β -HSD wurden durch Northern-Blot-Analysen untersucht.

Band-Shift-Analysen und Transfektionsstudien zeigten, dass die Transkriptionsfaktoren Sp1 und Sp3 konstitutiv an die proximale Region des Maus-VEGF-Promotors binden und durch cAMP, nicht aber durch Progesteron, innerhalb von 6 Stunden stimuliert werden konnten. Die cytosinreiche Sequenz -723/-693 in der distalen Promotorregion, die im humanen VEGF-Promotor nicht vorhanden ist, wurde auch durch cAMP reguliert. Funktionelle Analysen zeigten eine basale Repression

der distalen Region, die durch den stimulatorischen Effekt von cAMP wieder aufgehoben wurde. An der basalen Repression könnte die cytosinreiche Sequenz -723/-693 beteiligt sein. Jedoch muss diese Annahme weiter untersucht werden.

Zusammenfassend zeigen meine Daten, dass die VEGF-Expression sowohl durch Gonadotropin als auch durch das Steroidhormon Progesteron reguliert wird. Die Gonadotropin-vermittelte VEGF-Expression wurde durch die cAMP-abhängige Proteinkinase A-Signalkaskade und zusätzlich durch Progesteron über einen unbekanntem Signalweg stimuliert. Die VEGF-Expression wurde durch cAMP induziert, indem es die Bindung der Transkriptionsfaktoren Sp1 und Sp3 an den Promotor aufregulierte. Zusätzlich konnte ein 50 kDa großes, noch nicht identifiziertes Protein an die distale cytosinreiche Sequenz binden. Auch diese konstitutive, basale Bindung konnte durch cAMP weiter stimuliert werden. Welche Rolle die cytosinreiche Sequenz sowie die Repression des distalen Promotorbereichs in der VEGF-Expression spielt, bedarf weiterer Untersuchungen.