

Einfluss von Punktmutationen auf die Expression des *vascular endothelial growth factors*

Carmen Metzger und Jürgen Brieger

Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz, Labor für Molekulare Tumorbilogie

Einleitung

Der *vascular endothelial growth factor* (VEGF) beeinflusst die Prognose diverser Karzinome, weshalb der VEGF als *target* antivaskulärer Therapien dient. Der Einfluss des genetischen Hintergrundes der Patienten oder spezifischer Genvariationen (sogenannter *SNP*: *single nucleotide polymorphisms*) auf die VEGF-Expression und damit ggf. den Therapieerfolg wurde bisher aber kaum untersucht. Ziel unserer Studie war daher die Identifikation spezifischer VEGF-Genvarianten, welche eine Relevanz für die VEGF-Expression haben.

Methoden

Drei epitheliale Tumorzelllinien wurden untersucht: eine OSCC-Zelllinie sowie die Linien A549 und HeLa. Die Zelllinien wurden mit unterschiedlichen Varianten eines VEGF-Reporter-Konstrukts (Abb.1) transfiziert und die Expressionsänderung mittels GFP-abhängiger q-PCR bestimmt. Dazu wurde nach der Transfektion der Zellen die mRNA isoliert und die cDNA in die q-PCR eingesetzt.

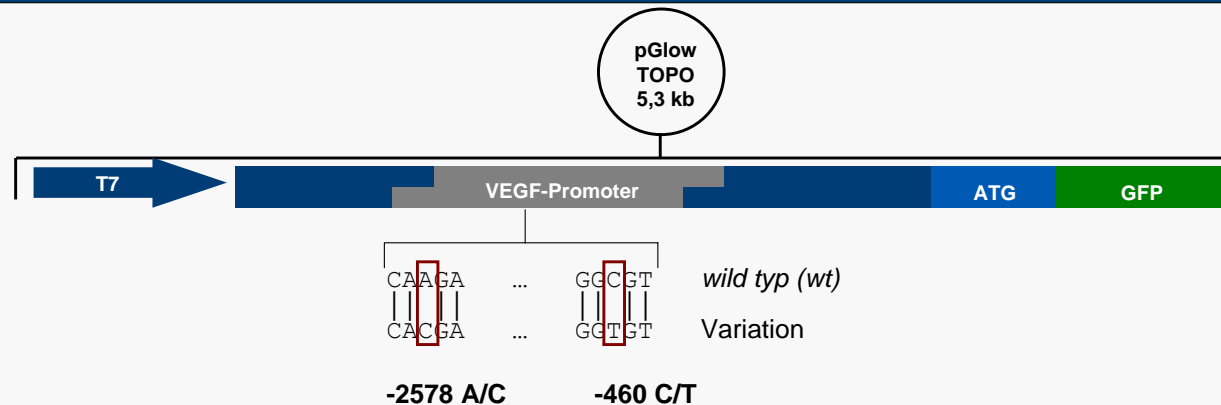


Abb. 1: VEGF-Reporter-Konstrukt. der VEGF-Promoter wurde vor die Sequenz des Reporter Proteins GFP des pGlow TOPO Plasmids einkloniert und die SNPs mutiert.

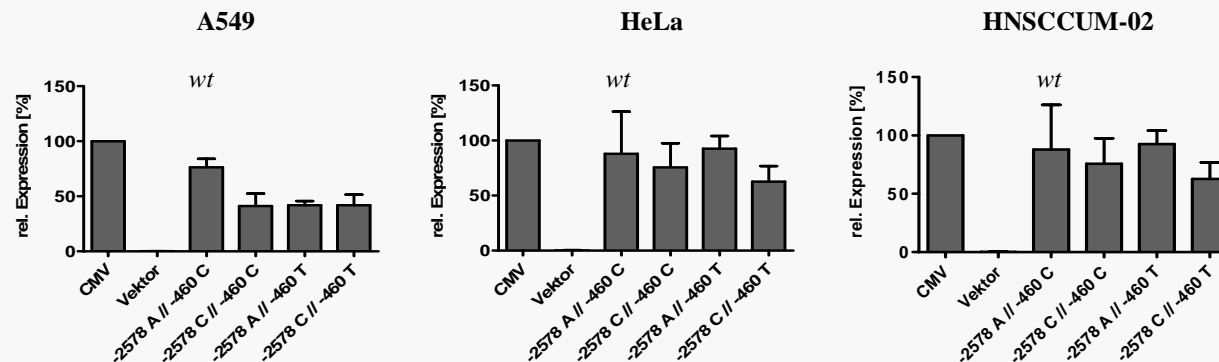


Abb. 2: SNP-abhängige GFP-Expression. Die Expression wurde nach Transfektion der Zelllinien A549, HeLa und HNSCCUM-02 mittels GFP-abhängiger q-PCR bestimmt. Die Genotypen -2578 C // -460 C und -2578 C // -460 T führen in allen 3 Linien zu reduzierter VEGF Promotoraktivität. Der dritte Genotyp (-2578 A // -460 T) hingegen nur bei der Linie A549.

Ergebnisse

Die Genotypen -2578 C // -460 C sowie -2578 C // -460 T zeigten in allen untersuchten Zelllinien eine erniedrigte Expression im Vergleich zum wild typ (-2578 A // -460 C). Der SNP-Genotyp -2578 A // -460 T hingegen zeigte ein zelllinienabhängiges Regulationsmuster. Während für diesen Genotyp in A549 eine erniedrigte Expression beobachtet werden konnte, konnten für die anderen untersuchten Zelllinien keine Veränderungen im Vergleich zum wild typ beobachtet werden, was auf einen Einfluss des genetischen Hintergrundes auf die Promotorregulation schließen lässt.

Diskussion

Nach den Ergebnissen dieser Studie kann ein SNP-abhängiger Mechanismus der VEGF Expressionsregulation vermutet werden. Weiterhin scheint der genetische Hintergrund relevant für die Expressionshöhe zu sein.

Die Relevanz für Prognosestellung muss nun weiter untersucht werden. Möglicherweise wird der Therapieerfolg durch den Genotypen des Patienten beeinflusst.