

Zentrale Rolle von Interferon-gamma bei herpetischer Keratitis

Wasmuth S^{1,2}, Bauer D¹, Steuhl KP², Heiligenhaus A¹.

¹Augenabteilung am St. Franziskus Hospital, Ophtha-Lab, Münster

²Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Essen, Essen

Hintergrund: Eine Infektion der Hornhaut mit dem Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1) kann eine immunpathologische Erkrankung induzieren, die als herpetische stromale Keratitis (HSK) bezeichnet wird. Bei der Entwicklung dieser Erkrankung sind proinflammatorische Zytokine wie Interferon-gamma (IFN-g) beteiligt. In dieser Studie wurden Antisense-Oligonukleotide (ASON), welche komplementär zu IFN-g mRNA waren, auf ihre Wirksamkeit im Mausmodell der HSK überprüft.

Methode: An Milzzellen von infizierten Tieren wurde die Wirksamkeit der ASON in vitro durch die Bestimmung des IFN-g-Gehalts in den Kulturüberständen per ELISA überprüft. Am Tag 0 wurden Mäuse korneal mit 10⁵ PFU HSV-1 infiziert. Die ASON wurden subepithelial an den Tagen -1, 1 und 4 appliziert. Die Tiere wurden täglich klinisch untersucht. Am Tag 14 und 28 wurden sie getötet und die Augen wurden histologisch analysiert. Als Infektions-, Substanz- und Behandlungskontrolle wurden weitere Gruppen von Tieren nur infiziert oder zusätzlich mit unspezifischen Kontroll-Oligonukleotiden (KON) bzw. Puffer behandelt.

Ergebnisse: In der Zellkultur reduzierten die ASON konzentrationsabhängig die Produktion von IFN-g, während KON den IFN-g-Gehalt kaum beeinflussten. Schwerste Keratiden, die mit Ulkusbildung und Hornhautperforation einhergingen, traten nach ASON-Behandlung nicht mehr auf, machten bei den anderen Gruppen aber rund ein Drittel der Fälle aus. Die Inzidenz der HSK sank durch die ASON-Gabe ebenfalls deutlich. Zwei Wochen nach der Infektion war die Anzahl der inflammatorischen Zellen nach ASON-Behandlung in der zentralen Hornhaut und in der Peripherie gegenüber den Kontrollgruppen stark vermindert. Vier Wochen nach der Infektion waren die Unterschiede trotz gesunkener Gesamtzellzahl noch immer klar erkennbar. Dagegen beeinflusste die Gabe von KON oder Puffer die klinischen und histologischen Parameter nicht signifikant.

Schlussfolgerungen: Die ASON gegen IFN-g besserten den Verlauf und die Inzidenz der HSK im murinen Modell. Gleichzeitig wurde die Anzahl schwerer Keratiden verhindert. IFN-g scheint an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt zu sein.

Gefördert von der DFG He1877/12-2 und der Ernst und Berta Grimmke Stiftung.

Central role of interferon-gamma in herpetic keratitis

Wasmuth S^{1,2}, Bauer D¹, Steuhl KP², Heiligenhaus A¹.

¹Department of Ophthalmology at St. Franziskus Hospital, Ophtha-Lab, Muenster

²Department of Ophthalmology, Universitaetsklinikum Essen, Essen

Purpose: The infection of the cornea with herpes simplex virus-1 (HSV-1) can induce an immunopathological disease termed herpetic stromal keratitis (HSK). Proinflammatory cytokines like interferon-gamma (IFN-g) are known to be involved in the development of this disease. In this study antisense oligonucleotides (ASON), that were complementary to IFN-g mRNA, were proven for their activity in a murine model of HSK.

Methods: Splenic cells of infected mice were used to scrutinize the efficacy of ASON in vitro by measurement of the IFN-g content in cell culture supernatants by ELISA. At day 0 mice were corneally infected with 10⁵ PFU HSV-1. ASON were given subepithelially at days -1, 1 and 4. The animals were followed up daily for the development of HSK. The mice were sacrificed on day 14 and 28 and the eyes were histologically examined. In order to examine infection as well as substance- and treatmentspecific bystander-effects control groups of mice were only infected or treated with unrelated control oligonucleotides (CON) or buffer respectively.

Results: In vitro ASON reduced the content of IFN-g in dependence of the concentration while CON showed only slight effects. In vivo, cases of severe keratitis including ulceration and corneal perforation were prevented by treatment with ASON. In contrast, approximately one third of the mice in control groups showed that strong degree of HSK. The incidence of the disease was also clearly diminished after application of ASON. Two weeks post infection the number of inflammatory cells in both the central and the peripheral cornea were strongly reduced after ASON treatment when compared with the controls. These differences were clearly visible as late as four weeks after infection when the cell counts as a whole were lowered. After injection of CON or buffer the clinical and histological parameters were not found to be significantly altered.

Conclusions: Specific ASON targeting IFN-g ameliorated the course and incidence of HSK in the murine model. Simultaneously the development of severe cases was prevented. IFN-g seems to be involved in the development of HSK.

Supported by DFG He1877/12-2 and the Ernst und Berta Grimmke Stiftung.