Die immunologischen Funktionen der Müllerzelle im gesunden Auge und bei der equinen rezidivierenden Uveitis

von Amelie Beatrice Fleischer

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Die immunologischen Funktionen der Müllerzelle im gesunden Auge und bei der equinen rezidivierenden Uveitis

von Amelie Beatrice Fleischer
aus Neustadt an der Waldnaab

München 2025

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Physiologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. Cornelia A. Deeg

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Cornelia A. Deeg
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Kaspar Matiasek

Tag der Promotion:
26.07.2025

Meiner Familie, besonders meiner Oma Erika in liebevoller Erinnerung

1 EINLEITUNG ... 1
2 LITERATUR ... 3
2.1 Retinale Müller-Gliazellen ... 3
2.1.1 Bedeutung und Physiologie in der retinalen Homöostase ... 5
2.1.2 Die Müllerzelle unter pathologischen Bedingungen: reaktive Gliose. 11
2.2 Immunologie der Retina ... 14
2.2.1 Okuläres Immunprivileg ... 14
2.2.2 Retinale Zellen mit immunologischer Kapazität ... 18
2.3 Equine rezidivierende Uveitis (ERU) ... 24
2.3.1 Definition und Bedeutung ... 24
2.3.2 Ätiologie und Pathogenese ... 25
2.3.3 Klinisches Bild der ERU ... 28
2.3.4 Pathohistologisches Bild ... 30
2.3.5 Die Rolle der Müllerzelle bei der ERU ... 31
2.4 Autoimmune Uveitis des Menschen und weitere Tiermodelle ... 33
2.4.1 Bedeutung und Pathogenese ... 33
2.4.2 Induzierte experimentelle autoimmune Uveitis (EAU) ... 34
2.5 Differenzielle Proteomanalyse mit hypothesengetriebener Auswertung ... 39
3 PUBLIKATION ... 43
4 DISKUSSION ... 69
5 ZUSAMMENFASSUNG ... 95
6 SUMMARY ... 97
7 LITERATURVERZEICHNIS ... 99
DANKSAGUNG ... 137

ACAID	*engl.* Anterior Chamber-associated Immune Deviation
AIRE	Autoimmun-Regulator
APZ	Antigenpräsentierende Zellen
AQP	Aquaporin
ARG1	Arginase 1
ATP	Adenosintriphosphat
CHO	*engl*. Chinese Hamster Ovary
cRALBP	Zelluläres Retinaldehyd-bindendes Protein (*engl*. Cellular Retinaldehyde-binding Protein)
CXCL	*engl.* CXC Motif Chemokin
CXCR	*engl.* CXC Motif Chemokinrezeptor
DAMP	*engl.* Damage-associated Molecular Pattern
EAU	experimentelle autoimmune Uveitis
EIU	Endotoxin-induzierte Uveitis
engl.	Englisch
eqRMG	equine Müllerzellen
ERU	equine rezidivierende Uveitis
GABA	γ-Aminobuttersäure (*engl.* γ-Aminobutyric Acid)
GFAP	*engl.* Glial Fibrillary Acidic Protein
Kir	*engl.* Inwardly Rectifying K^+ Channel
ICOS	engl. Inducible T-cell co-Stimulator
ICOS-LG	*engl*. Inducible T-cell co-Stimulator Ligand
IFI44	*engl*. Interferon-induced Protein 44
IFI44L	*engl*. Interferon-induced Protein 44-like
IFIT1	*engl*. Interferon-induced Protein 1
IFIT4	*engl*. Interferon-induced Protein 4
IFN-γ	Interferon-γ
IL	Interleukin
ILM	Innere limitierende Membran
iNOS	Induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthetase (*engl*. Inducible Nitric Oxide Synthetase)
IRBP	Interphotorezeptor-Retinoid-bindendes Protein
ISG15	*engl*. Interferon-stimulated Gene 15

K^+	Kalium
LC	Flüssigkeitschromatographie (*engl.* liquid chromatography)
LFA-1	*engl.* Lymphocyte Function-associated Antigen-1
LPS	Lipopolysaccharid
m/z	Masse-zu-Ladungsverhältnis
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (*engl.* Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization)
MHC	*engl*. Major Histocompatibility Complex
MHCB3	MHC Klasse I, schwere Kette (Equus caballus)
MIO-M1	*engl.* Moorfields/Institute of Ophthalmology-Müller 1
MRC1	Mannose Rezeptor c-Typ 1
MRC2	Mannose Rezeptor c-Typ 1
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OLM	Äußere limitierende Membran (*engl.* Outer Limiting Membrane)
PAMP	*engl.* Pathogen-associated Molecular Pattern
PEDF	*engl.* Pigment Epithelium Derived Factor
PRR	Mustererkennungsrezeptor (*engl.* Pattern Recognition Receptor)
RNA	Ribonukleinsäure (*engl.* Ribonucleic Acid)
RPE	Retinales Pigmentepithel
ROR	Retinoid Orphan Receptor
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies (*engl*. Reactive Oxygen Species)
TGF-β	*engl.* Transforming Growth Factor β
Th-Zelle	T-Helferzelle
Tregs	Regulatorische T-Zellen
THBS1	Thrombospondin-1
UPARAP	*engl.* Urokinase Plasminogen Activator Receptor-associated Protein (= MRC2)
VEGF	Endothelwachstumsfaktor (*engl.* Vascular Endothelial Growth Factor)

Wnt	Wingless-related Integration Site

1 EINLEITUNG

Müllerzellen sind spezialisierte radiale retinale Makrogliazellen (REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Sie durchziehen die Retina in ihrer ganzen Breite und stehen in engem funktionellem Kontakt mit allen anderen retinalen Zellarten und Kompartimenten, retinalen Blutgefäßen und dem Glaskörper (WANG et al., 2022b; AYTEN et al., 2024). In der fast avaskulären Retina des Pferdes kommt ihnen als den primären Makrogliazellen der Retina eine besondere Bedeutung zu (SCHNITZER, 1988; EHRENHOFER et al., 2002; EBERHARDT et al., 2011). Sie sind maßgeblich beteiligt an der Aufrechterhaltung der retinalen Wasser-, Ionen- und pH-Homöostase und unterstützen retinale Neuronen funktionell und metabolisch (REICHENBACH und BRINGMANN, 2020; TOMITA et al., 2021; BENFEY et al., 2022; AUGUSTINE et al., 2023; BALZAMINO et al., 2024). Während einer retinalen Entzündung nehmen Säugetier-Müllerzellen einen aktivierten gliotischen Phänotyp an, der initial neuroprotektiv wirken kann, aber im weiteren Verlauf zur Zerstörung neuronalen Gewebes beiträgt (PEÑA und VAZQUEZ, 2022; NISHINO et al., 2023; BALZAMINO et al., 2024; ZHANG et al., 2025). Müllerzellen können auch immunologische Funktionen übernehmen, wie primär *in vitro* in Nagermodellen aber auch in anderen Tierarten gezeigt wurde: dies äußert sich unter anderem durch die Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine und Chemokine, der Expression von Toll-like-Rezeptoren, sowie von Ko-Stimulations- und Adhäsionsmolekülen (KUMAR und SHAMSUDDIN, 2012; NATOLI et al., 2017; SCHMALEN et al., 2021; MCCURRY et al., 2024; PADOVANI-CLAUDIO et al., 2024; RAPP et al., 2024). Durch ihre immunologische Kapazität wird ihnen eine Involvierung in der Pathogenese von fast allen relevanten Retinopathien zugesprochen (AYTEN et al., 2024; HUANG et al., 2024b; PEREIRO et al., 2024; QUINN et al., 2024; ZHANG et al., 2024c). Müllerzellen spielen auch eine signifikante Rolle in der Pathogenese der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU) (HAUCK et al., 2007; EBERHARDT et al., 2011; DEEG et al., 2016; LORENZ et al., 2021a). Die ERU ist eine bei Pferden weltweit vorkommende spontan auftretende okuläre Autoimmunerkrankung, die sich in einer wiederkehrenden intraokulären Entzündung äußert (GILGER et al., 2022; MORÉN et al., 2024). Außerdem ist die ERU das einzige spontane Tiermodell für die autoimmune Uveitis des Menschen, das die klinischen und pathophysiologi-

schen Merkmale, sowie den schubförmig-rezidivierenden Verlauf und die autoimmune Ätiologie widerspiegelt (DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2007c; DEEG et al., 2008; SÖTH et al., 2024). Autoreaktive, in der Peripherie aktivierte Cluster of Differentiation (CD)4$^+$ T-Zellen überwinden hierbei die Blut-Retina-Schranke, attackieren retinale Antigene und lösen eine destruktive retinale Entzündung aus (DEEG et al., 2001; DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2006b). Damit infiltrierende CD4$^+$ T-Zellen diese Autoantigene erkennen können, müssen die Antigene über den Major Histocompatibility Complex (MHC) Klasse II durch antigenpräsentierende Zellen (APZ) präsentiert werden (MCPHERSON et al., 2022; QUINN et al., 2024). Da das immunprivilegierte Auge nahezu frei von professionellen APZ und MHC Klasse II Expression ist (KALSOW und DWYER, 1998; ROMEIKE et al., 1998; WU et al., 2024), stellt sich die zentrale Frage, wie es dennoch zu dieser CD4$^+$ T-Zell vermittelten Entzündungsreaktion kommen kann. Zudem ist zu klären, welche Veränderungen im lokalen Milieu diese Reaktion begünstigen und welche Zellen daran beteiligt sind. Es gibt Hinweise darauf, dass equine Müller-Gliazellen (eqRMG) im Verlauf der ERU immunologische Funktionen wahrnehmen: Sie exprimieren MHC Klasse II (ROMEIKE et al., 1998) und sezernieren Interferon-γ (IFN-γ), ein typisches Zytokin professioneller APZ (HAUCK et al., 2007). Die proinflammatorische Stimulation primärer eqRMG führte außerdem zur Induktion von Proteinen, die mit der Antigenpräsentation und der T-Zell-Stimulation assoziiert sind (LORENZ et al., 2021b). Die immunologischen Funktionen von eqRMG bleiben allerdings weitgehend ungeklärt. Ziel dieser Arbeit war es daher, die immunologische Rolle der Müllerzellen sowohl in der retinalen Gesundheit als auch bei der Pathogenese der ERU näher zu charakterisieren.

2 LITERATUR

2.1 Retinale Müller-Gliazellen

„Jedenfalls steht sie mit den zunächst nach aussen [sic] liegenden Theilen [sic] in so enger Verbindung, dass nicht selten beim Zerreissen [sic] der Retina sich eine Faser vollkommen isolirt [sic], an deren äusseren [sic] Theil [sic] eine Anzahl der sogenannten Körner samt Stäbchen oder Zwillingszapfen, wie die Johannisbeeren an ihrem Stiel haften“ (MÜLLER, 1851). In diesem Wortlaut beschrieb der deutsche Anatom Heinrich Müller im Jahre 1851 zum ersten Mal die Existenz radialer Zellen in der Retina, die in engstem, gar anastomosierendem Kontakt mit anderen retinalen Zellen stehen (MÜLLER, 1851). Dieser enge Kontakt zu anderen retinalen Zellen, insbesondere Neuronen und retinalen Endothelzellen, sowie die durchgehende radiäre Struktur der Müllerzelle, die sich von der inneren limitierenden (*engl.* Inner Limiting Membrane, ILM) bis zu äußeren limitierenden Membran (*engl.* Outer Limiting Membrane, OLM) erstreckt, unterstreicht ihre essenzielle Rolle als anatomisches und funktionelles Bindeglied zwischen den retinalen Neuronen und allen übrigen retinalen Kompartimenten (BRINGMANN et al., 2006; MARTÍNEZ-GIL et al., 2022; AYTEN et al., 2024).

Der Großteil der bisher publizierten Forschung an Müllerzellen basiert auf *in vitro*-Modellen aus verschiedenen Versuchstierspezies (REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Die Grundstruktur der Retina von Wirbeltieren ist evolutionär hoch konserviert (HAHN et al., 2023). Dasselbe gilt auch für den metabolischen Phänotyp gesunder Müllerzellen (PFEIFFER et al., 2020). Allerdings gibt es dennoch einige Gattungs- und Spezies-spezifische Unterschiede im Stoffwechsel und in der Morphologie von Müllerzellen, die noch nicht vollends untersucht sind (PANNICKE et al., 2017). Die Unterschiede zwischen Säugetieren resultieren unter anderem aus den unterschiedlichen Vaskularisierungsgraden der Retina und den sich daraus ergebenden verschiedenen Versorgungsansprüchen des retinalen Gewebes an die Müllerzellen (PANNICKE et al., 2017). Die paurangiotische Retina des Pferdes ist nur in einem kleinen Bereich um den Nervus Optikus vaskularisiert (SCHNITZER, 1988; EHRENHOFER et al., 2002). Nur in diesem vaskularisierten Bereich kommen in der equinen Retina auch Astrozyten vor (SCHNITZER, 1988; EHRENHOFER et al., 2002). Neben Müllerzellen sind sie die zweite Art von Mak-

rogliazellen der Retina, die Säugetiere besitzen (MARTÍNEZ-GIL et al., 2022). Müllerzellen werden folglich als die primären Makrogliazellen von Spezies mit avaskulärer oder weitgehend avaskulärer Retina, wie der des Pferdes, angesehen (HOLLÄNDER et al., 1991; EBERHARDT et al., 2011). Interessanterweise findet sich in der equinen Retina vergleichsweise eine geringe Dichte an Müllerzellen mit durchschnittlich 5.000 Zellen/mm^2, wobei der Durchschnittswert bei Säugetieren im Bereich zwischen 8.000 und 11.000 Zellen/mm^2 liegt (CHAO et al., 1997). Morphologisch zeichnen sich Müllerzellen, die größten Zellen der equinen Retina, folgendermaßen aus: Die Zellkörper mit den zugehörigen Zellkernen der Müllerzellen liegen in der inneren Körnerschicht (EBERHARDT et al., 2012b; PANNICKE et al., 2017; REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Vom Zellkörper der eqRMG gehen zwei Stamm-Fortsätze aus, die in entgegengesetzte Richtungen verlaufen: der innere Stamm-Fortsatz zieht in Richtung der ILM und des Glaskörpers und der äußerer Stamm-Fortsatz in Richtung der OLM und des subretinalen Raumes (EBERHARDT et al., 2012a; REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Eine Besonderheit des inneren Fortsatzes stellt der verdickte trichterförmige Müllerzell-Endfuß dar, der zur Formierung der ILM beiträgt (REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Im Gegensatz zu diversen anderen Spezies besitzen eqRMG nur einen Endfuß (EBERHARDT et al., 2011; PANNICKE et al., 2017). Die Lateralfortsätze, die von den Stamm-Fortsätzen ausgehen, ziehen zu den neuronalen Synapsen und Zellkörpern der retinalen Neuronen und umgeben diese (HAMA et al., 1978; EBERHARDT et al., 2012b; REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Müllerzellen spielen auch eine entscheidende Rolle bei der Bildung der OLM, indem sie mit den Mikrovilli ihrer distalen Stamm-Fortsätze enge Verbindungen zu den Photorezeptoren und dem subretinalen Raum herstellen (RASMUSSEN, 1974; EBERHARDT et al., 2012b; BALZAMINO et al., 2024). Zusammen mit retinalen Neuronen formen Müllerzellen eine retinale Mikroeinheit (BALZAMINO et al., 2024). In der gesunden Retina übernehmen Müllerzellen zahlreiche Funktionen in der strukturellen und metabolischen Unterstützung der retinalen Neuronen, sowie im retinalen Stoffwechsel (BALZAMINO et al., 2024). Allerdings sind nicht alle ihrer Funktionen vollständig erforscht. Ihre genaue Rolle in der Netzhaut, besonders in der fast avaskulären Retina des Pferdes, ist in vielen Aspekten noch nicht abschließend untersucht.

2.1.1 Bedeutung und Physiologie in der retinalen Homöostase

2.1.1.1 Funktionen im retinalen Ionen- und Wasserhaushalt

Beim Pferd, genau wie bei anderen Spezies, spielen Müllerzellen eine essenzielle Rolle bei der Aufrechterhaltung der Ionen-Homöostase und des Wasserhaushalts der Retina (EBERHARDT et al., 2011; DEEG et al., 2016; REICHENBACH und BRINGMANN, 2020; HAN et al., 2024a). Insbesondere die Regulierung des Kalium-(K^+)-Haushalts durch eqRMG ist von großer Bedeutung (EBERHARDT et al., 2011). In der Retina von Säugetieren entstehen hohe Konzentrationen extrazellulären K^+ durch die Aktivität retinaler Neuronen (DMITRIEV et al., 2021, 2022). Die K^+-Homöostase in der equinen Retina wird durch die K^+-Kanäle (*engl.* Inwardly Rectifying K^+ Channel, Kir), Kir4.1 und Kir2.1, reguliert, die von eqRMG exprimiert werden (EBERHARDT et al., 2011). Die Expression von Kir4.1 ist gleichmäßig über die gesamte eqRMG verteilt (EBERHARDT et al., 2011). Auffällig ist jedoch, dass entlang der Endfüße der eqRMG, die an die ILM und den Glaskörper angrenzen, keine erhöhte Kir4.1-Expression vorliegt (EBERHARDT et al., 2011). Im Gegensatz dazu, ist Kir4.1 in Müllerzellen aus Mäusen und Ratten in den Endfüßen deutlich erhöht exprimiert (NAGELHUS et al., 1999; KOFUJI et al., 2002). In Amphibien nehmen Müllerzellen K^+-Ionen aus dem Extrazellularraum auf und geben sie in Bereiche mit niedrigerer K^+-Konzentration, wie den subretinalen Raum, die retinalen Blutgefäße oder den Glaskörper, ab (NEWMAN et al., 1984). So wurde der Begriff des K^+-„Siphoning“ geprägt (NEWMAN et al., 1984). Weil Kir4.1 in eqRMG, im Gegensatz zu anderen Spezies, nicht an den Endfüßen angereichert exprimiert wird und die Retina außerdem weitgehend avaskulär ist, erfolgt die retinale K^+-Abgabe über Kir4.1 höchstwahrscheinlich nicht direkt an retinale Blutgefäße oder den Glaskörper (EBERHARDT et al., 2011). Kir2.1 wiederrum ist in eqRMG deutlich stärker in den Endfüßen und in den distalen Enden der Stammfortsätze an der OLM exprimiert als Kir4.1 (EBERHARDT et al., 2011). In murinen Müllerzellen wurde eine ähnliches Expressionsmuster von Kir2.1 gezeigt (KOFUJI et al., 2002). Kir4.1 mediierte in murinen Müllerzellen, trotz seiner Fähigkeit zum bidirektionalen Transport, zum großen Teil auswärts gerichtete K^+-Ströme, während Kir2.1 durch neuronale Aktivität anfallenden K^+-Ströme in die Müllerzelle hinein vermittelte (KOFUJI et al., 2002). In eqRMG wird ein ähnlicher Mechanismus der synergistischen Zusammenarbeit von

Kir4.1 und Kir2.1 in der gesunden Retina diskutiert (EBERHARDT et al., 2011). Dies wurde aber bislang nicht bestätigt (Stand der PubMed-Recherche: Januar 2025).
Der retinale Wasserhaushalt ist bei Säugetieren osmotisch an den K^+-Haushalt gekoppelt, wobei Müllerzellen eine essenzielle Rolle spielen (REICHENBACH und BRINGMANN, 2020; OCHOA-DE LA PAZ und GULIAS-CAÑIZO, 2022; HAN et al., 2024a). Neuronale Aktivität in der Retina des Säugetieres führt zum Anfall von Wasser und zu veränderten osmotischen Gradienten in der Retina, die durch die Müllerzell-vermittelte Volumenregulation wieder ins Gleichgewicht gebracht wird (NETTI et al., 2024). Die primären Kanäle, die in eqRMG den transmembranösen Wassertransport vermitteln sind Aquaporin (AQP) 4 und AQP11 (DEEG et al., 2016). *In vitro* verhinderte die selektive Blockade von AQP4 und AQP11 in primären eqRMG die durch hypertonen osmotischen Stress ausgelöste zelluläre Schrumpfung (DEEG et al., 2016). AQP4 und AQP11 sind über die gesamte Länge der gesunden eqRMG exprimiert, genau wie AQP5 (EBERHARDT et al., 2011; DEEG et al., 2016). *In vitro* verhinderte nur die Inhibierung von AQP5 unter hypotonen Bedingungen die zelluläre Schwellung von primären eqRMG (DEEG et al., 2016). Dies weist auf eine einwärtsgerichtete Flussrichtung von Wasser durch AQP5 hin (DEEG et al., 2016).
Der am besten untersuchte Wasserkanal in Säugetiermodellen ist AQP4: in Ratten wird er zusammen mit Kir4.1 in Müllerzellen exprimiert, insbesondere in Bereichen, die an den Glaskörper und retinale Gefäße angrenzen (NAGELHUS et al., 1999). Daher wird für Ratten von einem bidirektionalen Wassertransport entlang des osmotischen Gradienten von K^+ ausgegangen (NAGELHUS et al., 1999). Die enge osmotische Kopplung von K^+- und dem Wasserhaushalt wird weiterhin dadurch bekräftigt, dass eine Blockade von Kir4.1 zur Ödematisierung von Müllerzellen in einem Rattenmodell der transienten retinalen Ischiämie führte (PANNICKE et al., 2004). In murinen Retinae war der Wasserimport durch AQP4 außerdem durch Kalzium-Ströme an den non-selektiven Kationenkanal Transient Receptor Potential Vanilloid 4 gekoppelt (JO et al., 2015). Dies verdeutlicht eine weitere Möglichkeit der Volumenregulation durch Müllerzellen, die auch in der humanen immortalisierten Müllerzelllinie Moorfields/ Institute of Ophthalmology-Müller 1 (MIO-M1) gezeigt wurde (JO et al., 2015; NETTI et al., 2024). Inwiefern diese Mechanismen auch in eqRMG bei der Volumenregulation zu Tragen kommen, ist bislang nicht geklärt (Stand der PubMed-Recherche: Januar 2025).

Ein weiterer Aspekt der Regulierung der retinalen Ionen-Homöostase ist der retinale pH-Wert, der ebenfalls substanziell von Müllerzellen beeinflusst wird (REICHENBACH und BRINGMANN, 2013; KREITZER et al., 2017; TCHERNOOKOVA et al., 2021). Gesunde eqRMG exprimieren das Enzym Carboanhydrase II (HAUCK et al., 2007). Dieses Enzym ist, wie in anderen Spezies gezeigt wurde, an der Regulierung des retinalen pH-Werts beteiligt: Durch retinale Neuronen produziertes Kohlendioxid wird in Amphibien durch Müllerzellen aufgenommen und durch Carboanhydrase II in Bicarbonat umgewandelt (OAKLEY und WEN, 1989; NEWMAN, 1994). Murine und aus Ratten stammende Müllerzellen exprimieren neben der Carboanhydrase II auch Carboanhydrase XIV (OCHRIETOR et al., 2005; DREFFS et al., 2018). Die beiden Isoformen der Carboanhydrase wurden in Ratten nach der Induktion einer systemischen metabolischen Azidose erhöht exprimiert (DREFFS et al., 2018). Begleitet wurde dies in der azidifizierten Ratten-Retina von einer Hochregulierung verschiedener Bicarbonat-Transporter wie des Anion Exchanger 3 (DREFFS et al., 2018). In Salamander-Müllerzellen glichen an Endfüßen lokalisierte Na^+-gekoppelte Bicarbonat-Transporter erniedrigte pH-Werte *in vitro* aus (KREITZER et al., 2017). Die genauen Mechanismen der pH-Wert-Regulation durch eqRMG sind bislang noch nicht bekannt (Stand der PubMed-Recherche: Januar 2025).

2.1.1.2 Müllerzellen und Neuronen in der retinalen Homöostase: Neurotransmitter-Recycling, Gliotransmitter und Neuroprotektion

Eine weitere essenzielle Funktion von Müllerzellen in der retinalen Homöostase ist ihre Rolle im Recycling von Neurotransmittern (BRINGMANN et al., 2013; BALZAMINO et al., 2024). Zum Neutransmitterstoffwechsel in eqRMG liegen bislang wenige Daten vor. Müllerzellen spielen eine entscheidende Rolle in der Regulierung der synaptischen Aktivität der inneren Retina, insbesondere durch den Transport und Austausch von Glutamat und anderen Neurotransmittern wie γ-Aminobuttersäure (GABA) (REICHENBACH und BRINGMANN, 2020; AUGUSTINE et al., 2023). Glutamat ist ein wesentlicher exzitatorischer Neurotransmitter in der Retina, der durch Müllerzellen des Säugetieres verstoffwechselt wird (BRINGMANN et al., 2013; AUGUSTINE et al., 2023). Zusätzlich zu seiner Rolle als Substrat im retinalen Zitratzyklus des Säugetiers zur Generierung von Adenosintriphosphat

(ATP), ist Glutamat auch ein essenzieller Bestandteil des Glutamat-Glutamin-Zyklus, der in zwischen Müllerzellen und Photorezeptoren abläuft (KNIGHT et al., 2023). Glutamat wird an der Synapse der Photorezeptoren freigesetzt und von Müllerzellen aufgenommen (KNIGHT et al., 2023).

Durch das Enzym Glutamin-Synthetase, das ein Standardmarker für die gesunde Müllerzelle des Wirbeltieres ist, wird Glutamat anschließend in Glutamin konvertiert (BALZAMINO et al., 2024). Auch gesunde eqRMG exprimieren die Glutamin-Synthetase (HAUCK et al., 2007; EBERHARDT et al., 2011). Durch die hohe evolutionäre Konservierung des Müllerzellmetabolismus (PFEIFFER et al., 2020), ist davon auszugehen, dass der Glutamat-Glutamin-Zyklus auch in eqRMG wie beschrieben abläuft. Glutamin wird durch Säugetier-Müllerzellen schnell wieder freigesetzt und durch Photorezeptoren wieder aufgenommen, wo es unter anderem als Vorstufe für die Resynthese von Glutamat und GABA verwendet wird (KNIGHT et al., 2023). Der essenzielle Charakter dieses Zyklus zwischen Müllerzellen und Neuronen wird außerdem dadurch bekräftigt, dass die pharmakologische Inhibierung der Glutamin-Synthetase im Kaninchenmodell zu funktioneller Blindheit führte (POW und ROBINSON, 1994).

Auf Müllerzellen mehrerer Säugetiere, darunter Ratten, Mäuse und nicht-menschliche Primaten, sind für Glutamat spezifische Transporter beschrieben, unter anderem der Glutamat-Aspartat-Transporter oder der Solute Carrier Family Member 2 (RAUEN et al., 1998; AYTEN et al., 2024; SALMAN et al., 2024). Für eqRMG ist die Expression dieser Transporter noch nicht untersucht. Die spannungsabhängigen Glutamat-Aspartat-Transporter spielen eine entscheidende Rolle für die Aufrechterhaltung der visuellen Auflösung in der Säugetierretina, indem sie durch die Aufnahme von Glutamat in Müllerzellen dafür sorgen, dass überschüssiges Glutamat nicht über die neuronalen Synapsen hinaus verbreitet wird (BRINGMANN et al., 2013; ZHOU et al., 2023). Exzessives extrazelluläres Glutamat wirkt in der Retina exzitatorisch-toxisch auf die umliegenden Neuronen und kann diese so schädigen (ZHOU et al., 2023). Funktionsfähige Glutamat-Aspartat-Transporter auf Rattenmüllerzellen konnten diese Toxizität allerdings deutlich abschwächen, was die essenzielle Rolle der Müllerzelle in der Regulierung des Glutamat-Stoffwechseln unterstreicht (IZUMI et al., 2002).

GABA, der vorherrschende inhibitorische Neurotransmitter der Säugetierretina, wird in retinalen Neuronen aus Glutamat synthetisiert (KNIGHT et al., 2023). Auch der

Stoffwechsel von GABA muss zur Verhinderung schädlicher Auswirkungen auf retinale Neuronen streng reguliert werden (BOFF et al., 2024). Zum GABA-Metabolismus in der Retina gibt es keine für eqRMG spezifischen Daten. Müllerzellen aus Meerschweinchen exprimieren die Natrium- und Chlorid-abhängigen GABA-Transporter 1 und 3 und nahmen extrazelluläres GABA *in vitro* innerhalb von 70ms in die Zelle auf (BIEDERMANN et al., 2002). Humane primäre Müllerzellen exprimieren zusätzlich zu GABA-Transportern, im Gegensatz zum Meerschweinchen, $GABA_A$-Rezeptoren (BIEDERMANN et al., 2004). Humane Müllerzellen nahmen GABA nicht nur in die Zelle auf, sondern reagierten so auch selbst auf GABA als Neurotransmitter, indem ein Rezeptorvermittelter Chlorid-Einstrom in die Müllerzelle generiert wurde (BIEDERMANN et al., 2004).

Müllerzellen übernehmen nicht nur eine Rolle im Recycling von Neurotransmittern, sondern sezernieren auch eigenständig sogenannte Gliotransmitter, die für die Neuron-Glia-Kommunikation und die Regulierung der synaptischen Übertragung essenziell sind (NEWMAN, 2015; REICHENBACH und BRINGMANN, 2016; WANG et al., 2023). Für eqRMG liegen derzeit keine Daten zur Sekretion von Gliotransmittern vor, dafür aber für andere Säugetiere. So setzen beispielsweise aus Ratten und Mäusen stammende Müllerzellen *in vitro* nach Stimulation ATP frei (NEWMAN, 2003; HU et al., 2023). Durch mechanische Stimulation freigesetztes ATP wurde durch extrazelluläre Enzyme in Adenosin konvertiert, das durch die Aktivierung von A1-Rezeptoren zur Hyperpolarisierung und damit zur Inhibierung retinaler Ganglienzellen führte (NEWMAN, 2003).

Darüber hinaus besitzen Müllerzellen neuroprotektives Potenzial, das nicht nur zur Aufrechterhaltung der retinalen Homöostase beiträgt, sondern auch bei retinalen Pathologien eine Rolle spielt (BALZAMINO et al., 2024) (siehe auch Kapitel 2.1.2). Kultivierte Müllerzellen aus verschiedenen Säugetieren und die von ihnen sezernierten neurotrophen Faktoren können die Überlebenszeit retinaler Neuronen *in vitro* verlängern (VON TOERNE et al., 2014; RUZAFA et al., 2018; PEREIRO et al., 2020; ZWANZIG et al., 2021; DONATO et al., 2023). Bislang wurden noch keine Ko-Inkubationsexperimente retinaler Neuronen mit eqRMG publiziert (Stand der PubMed-Recherche: Januar 2025). Allerdings lässt sich das Wissen über die neuroprotektiven, von Müllerzellen sezernierten Faktoren, das aus anderen Säugetierspezies gewonnen wurde, auf eqRMG übertragen, da die Expression einiger dieser Faktoren durch eqRMG bereits bekannt ist.

Gesunde eqRMG exprimieren beispielsweise Osteopontin, ein integrales Protein der extrazellulären Matrix, sowohl *in vitro* als auch *in vivo* (DEEG et al., 2011). Der neuroprotektive Effekt von durch Müllerzellen *in vitro* sezerniertem Osteopontin auf ko-inkubierte retinale Ganglienzellen und Photorezeptoren wurde unter anderem in murinen, sowie in porcinen Modellen gezeigt (DEL RÍO et al., 2011; RUZAFA et al., 2018). Der Pigment Epithelium Derived Factor (PEDF) ist ein weiterer neuroprotektiver Faktor, der von gesunden eqRMG exprimiert wird (HAUCK et al., 2007). Der positive Effekt von durch Müllerzellen sezerniertem PEDF auf das Überleben retinaler Neuronen wurde bereits in vielen Säugetiermodellen gezeigt (UNTERLAUFT et al., 2014; MENG et al., 2024). PEDF wirkt außerdem antiangiogenetisch und steht dabei im Gegensatz zum Vascular Endothelial Growth (VEGF), der angiogenetisch wirkt (MENG et al., 2024). Die erhöhte Expression des VEGF in der equinen Retina, gemeinsam mit der verminderten Expression des PEDF in Müllerzellen, ist für eqRMG im Kontext der ERU beschrieben, was das Gegenspiel dieser Proteine auch in der equinen Retina nahelegt (DEEG et al., 2007a; HAUCK et al., 2007).

Zur Sekretion neurotropher Faktoren gibt es für eqRMG bislang keine Daten. Zu den durch porcine Müllerzellen sezernierten Faktoren, die sich *in vitro* positiv auf das Überleben retinaler Neuronen auswirkten, zählen unter anderem noch Clusterin und Basigin (RUZAFA et al., 2018), sowie Transferrin, der Leukämie Inhibierungsfaktor und das C-X-C-Motif-Chemokin-10 (CXCL10) (VON TOERNE et al., 2014). Kultivierte Rattenmüllerzellen sezernierten neurotrophe Faktoren *in vitro,* wie den Brain Derived Neurotrophic Factor, den Nerve Growth Factor, Neurotrophin-3, Neurotrophin-4 sowie den Glial Cell Derived Nerve Growth Factor (TAYLOR et al., 2003). Die Sekretion dieser Faktoren wurde durch die Stimulation mit exogenem Glutamat verstärkt, was auf einen von Müllerzellen vermittelten protektiven Mechanismus gegen exogene Glutamat-Toxizität hinweist (TAYLOR et al., 2003). Die Entkopplung der mitochondrialen Atmungskette in murinen Müllerzellen durch Rotenon führte ebenfalls zu einer vermehrten Sekretion neurotropher Faktoren wie dem Brain Derived Neurotrophic Factor und dem Basic Fibroblast Growth Factor (INOUE-YANAGIMACHI et al., 2023). Müllerzellen verschiedener Säugetierspezies können unter unterschiedlichen Bedingungen eine neuroprotektive Wirkung auf umliegende Neuronen entfalten. Ihre Reaktionen im Kontext pathologischer Prozesse

sind jedoch ambivalent und können sowohl schützende als auch schädigende Effekte auf die neuronale Umgebung haben (BRINGMANN et al., 2009b; BALZAMINO et al., 2024).

2.1.2 Die Müllerzelle unter pathologischen Bedingungen: reaktive Gliose

Unter pathologischen Bedingungen zeigen Müllerzellen tiefgreifende metabolische und funktionelle Veränderungen, die unter dem Begriff der reaktiven Gliose zusammengefasst werden (BALZAMINO et al., 2024; ZHANG et al., 2025). Diese Reaktion, die auf pathogene Insulte wie Entzündungen oder Verletzungen der Netzhaut erfolgt, ist durch eine komplexe Abfolge morphologischer, biochemischer und physiologischer Anpassungen gekennzeichnet (BRINGMANN et al., 2009b; SKELTON et al., 2023; BALZAMINO et al., 2024). Initial dient die Gliose als Schutzmechanismus, um die Schädigung von neuronalem Gewebe zu minimieren (AMLEROVA et al., 2024; BALZAMINO et al., 2024). Wie *in vitro* gezeigt, können neurotrophe und neuroprotektive Faktoren, die von Müllerzellen sezerniert werden, das Überleben retinaler Neuronen nach einem Insult verlängern (DEL RÍO et al., 2011; VON TOERNE et al., 2014; VECINO et al., 2016; RUZAFA et al., 2018; DONATO et al., 2023; BALZAMINO et al., 2024) (siehe Kapitel 2.1.1.2). Wenn pathologische Reize jedoch persistieren, kann die Gliose zu einer Dysfunktion der Müllerzellen, zur Formierung von Glianarben und dadurch zu irreversiblen neuronalen Schäden führen (WANG et al., 2011; ZHANG et al., 2025). Aufgrund der ambivalenten Wirkungen der Gliose, die zunächst neuroprotektiv wirkt, aber später destruktive Prozesse einleiten kann, hat sich die Metapher des "Janusgesichts" dafür etabliert. (BRINGMANN et al., 2009b; BALZAMINO et al., 2024).

Die Prozesse der Gliose und der Aktivierung sind für eqRMG im Rahmen der ERU, sowie nach proinflammatorischer Stimulation mit LPS näher charakterisiert worden (HAUCK et al., 2007; DEEG et al., 2011; EBERHARDT et al., 2011; DEEG et al., 2016; LORENZ et al., 2021a; LORENZ et al., 2021b). Dabei ist hervorzuheben, dass die Gliose sowohl spezifische Veränderungen, die auf bestimmte Pathogene oder Stressoren zurückzuführen sind, als auch unspezifische, generalisierte Veränderungen umfasst, die unabhängig von der zugrunde liegenden Pathologie auftreten können (BRINGMANN et al., 2009b; GRACA et al., 2018). Der aktivierte Phänotyp von

Müllerzellen zeigt eine hohe Variabilität und ist stark von der zugrundeliegenden Pathologie oder Stimulation abhängig (HIPPERT et al., 2015; GRACA et al., 2018). Es gibt allerdings konservierte und generell in Säugetieren ablaufende unspezifische Reaktionen in Müllerzellen im Rahmen der reaktiven Gliose, wie die zelluläre Hypertrophie und Proliferation (DYER und CEPKO, 2000; BALZAMINO et al., 2024; NOMURA-KOMOIKE et al., 2024). Dies geht einher mit der Hochregulierung von Intermediärfilamenten, wie des Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) (EASTLAKE et al., 2018; SKELTON et al., 2023). Auch gliotische eqRMG zeigen im Rahmen der ERU eine Erhöhung von GFAP, sowie einen hypertrophen Phänotyp (HAUCK et al., 2007). Generell, so auch im Rahmen der ERU, wird GFAP als sehr sensitiver unspezifischer und klassischer Marker für die Aktivierung von Müllerzellen und retinalen Stress gesehen (LEWIS und FISHER, 2003; HAUCK et al., 2007; JAHNKE et al., 2023; NISHINO et al., 2023). Ein weiterer unspezifischer Marker für eine Müllerzellgliose ist das Intermediärfilament Vimentin, das auch in gliotischen eqRMG im Verlauf der ERU erhöht exprimiert wird (HAUCK et al., 2007; SKELTON et al., 2023). Auch das Intermediärfilament Nestin ist in gliotischen Müllerzellen beschrieben, allerdings nicht in eqRMG (XUE et al., 2010; SKELTON et al., 2023). Die Hochregulierung von Intermediärfilamenten wird als der erste Schritt zur Formierung von Glianarben gesehen, die die retinale Regeneration weiter beeinträchtigen (LEWIS und FISHER, 2003; LU et al., 2011; EASTLAKE et al., 2018; SKELTON et al., 2023). Glianarben sind das Resultat vermehrter Proliferation von Müllerzellen im Rahmen einer fortschreitenden Gliose, um räumliche Lücken, die durch neuronale Degeneration entstanden sind wieder aufzufüllen (JAHNKE et al., 2023). Auch im Rahmen der ERU treten Glianarben in der Retina auf, die auf die gliotische Proliferation von eqRMG zurückzuführen sind (ROMEIKE et al., 1998; DEEG et al., 2007b).

Im Verlauf der Gliose unterliegen Müllerzellen tiefgreifenden metabolischen Veränderungen (BALZAMINO et al., 2024). Dadurch verlieren sie zunehmend ihre charakteristischen Funktionen, was die homöostatische Balance der Retina stört und die neuronale Unterstützung schwächt (BALZAMINO et al., 2024). Eine zentrale Veränderung ist die Herunterregulation der Glutamin-Synthetase, eines essenziellen Enzyms im Glutamat-Glutamin-Zyklus (EASTLAKE et al., 2018; REYNISSON et al., 2023). Auch in gliotischen eqRMG im Kontext der ERU wurde eine verminderte Expression dieses Enzyms nachgewiesen (HAUCK et al., 2007), was auf eine Be-

einträchtigung des Neurotransmitterrecyclings hindeutet (DEEG et al., 2007b). Besonders in Glaukom-Modellen bei Nagetieren wurde gezeigt, dass ein erhöhter extrazellulärer Glutamatspiegel exzitotoxische Effekte auf umliegende Neuronen ausüben kann (BRINGMANN et al., 2013; LIU et al., 2022a; ZHOU et al., 2023).

Auch der K^+-Haushalt der Müllerzellen verändert sich unter gliotischen Bedingungen signifikant im Verlauf vieler retinaler Pathologien (BRINGMANN et al., 2006; GAO et al., 2018). In gliotischen eqRMG im Rahmen der ERU ist Kir4.1 signifikant herunterreguliert, während Kir2.1 vermehrt exprimiert wird (EBERHARDT et al., 2011). Die Ursache dieser Erhöhung ist unklar, jedoch könnte sie einen kompensatorischen Mechanismus zur Aufrechterhaltung der K^+-Homöostase darstellen (EBERHARDT et al., 2011). Ein negatives Membranpotenzial ist essenziell für die physiologischen Funktionen von Müllerzellen, wie bereits in isolierten gesunden eqRMG gezeigt wurde (CHAO et al., 1997; REICHENBACH und BRINGMANN, 2020). Dieses Potenzial wird unter anderem durch Kir4.1-vermittelte K^+-Ströme generiert, wie Untersuchungen an Mäusen mit Kir4.1-Knockout (KO) zeigten (KOFUJI et al., 2000). Aufgrund der osmotischen Kopplung von Aquaporinen an K^+-Kanäle ist der durch Müllerzellen regulierte retinale Flüssigkeitshaushalt ebenfalls betroffen (BALZAMINO et al., 2024). In gliotischen eqRMG der ERU ist AQP4, der wichtigste Wasserkanal von Müllerzellen, hochreguliert, während AQP5 vermindert exprimiert wird (EBERHARDT et al., 2011). Eine reduzierte Kir4.1-Expression in Müllerzellen kann den osmotischen Gradient zwischen Zellinnerem und Extrazellularraum destabilisieren: Dadurch strömt Wasser über AQP4 in die Zellen ein, was zur Bildung eines Müllerzell-vermittelten retinalen Ödems führt (HAN et al., 2024a). Die Entstehung eines solchen retinalen Ödems könnte auch eine Rolle bei der Pathogenese der ERU spielen (DEEG et al., 2002b; DEEG et al., 2016). Darüber hinaus exprimieren gliotische eqRMG im Verlauf der ERU weniger Osteopontin (DEEG et al., 2011) und PEDF (HAUCK et al., 2007), was auf den Verlust neuroprotektiver Funktionen in der fortschreitenden Gliose hinweist.

Gliotische Müllerzellen können aktiv zur Krankheitsprogression beitragen, indem sie proinflammatorische Zytokine und Chemokine exprimieren und sezernieren, was insbesondere in *in vitro*-Modellen verschiedener Säugetierspezies nachgewiesen wurde (SCHMALEN et al., 2021; BALZAMINO et al., 2024; MCCURRY et al., 2024; PADOVANI-CLAUDIO et al., 2024; RAPP et al., 2024). Die Reaktionsmuster zeigen

allerdings je nach verwendetem Stimulans und Modell erhebliche Unterschiede. Gliotische uveitische eqRMG sezernierten das proinflammatorische Zytokin IFN-γ (HAUCK et al., 2007) und exprimierten MHC Klasse II (ROMEIKE et al., 1998). Mit LPS stimulierte primäre eqRMG zeigten eine Induktion verschiedener zytokinassoziierter Signalwege (LORENZ et al., 2021b). Zudem wurden Proteine verstärkt exprimiert, die mit der Antigenpräsentation und Zelladhäsion in Verbindung stehen (LORENZ et al., 2021b). In murinen autoantigeninduzierten Modellen für die autoimmune Uveitis (experimentelle autoimmune Uveitis, EAU) wurden ebenfalls verschiedene zytokinassoziierte sowie Leukozytenadhäsions- und Antigenpräsentations-Signalwege in Müllerzellen hochreguliert (QUINN et al., 2024; YUAN et al., 2024). Die reaktive Gliose von Müllerzellen ist somit keine uniforme Reaktion, sondern zeigt je nach Pathologie erhebliche Variabilität. Während viele Mechanismen in anderen Spezies bereits charakterisiert sind, gibt es weiterhin große Wissenslücken bezüglich der spezifischen Reaktivität equiner Müllerzellen, der funktionellen Konsequenzen ihrer Aktivierung, sowie ihrer Rolle bei der Pathogenese der ERU (siehe auch Kapitel 2.2.2.).

2.2 Immunologie der Retina

2.2.1 Okuläres Immunprivileg

Die Retina ist als zentraler Bestandteil des primären Sinnesorgans Auge unverzichtbar für die visuelle Wahrnehmung. Da die Retina des Säugetiers als Teil des zentralen Nervensystems wenig bis keine Kapazität zur Regeneration hat und die neuronale Funktion nach Schädigung nicht wieder hergestellt werden kann (KIM et al., 2025; TAYLOR et al., 2025), ist die Bewahrung der retinalen Integrität und Gesundheit von elementarer Bedeutung für den Erhalt der Sehfähigkeit. Als okuläres Immunprivileg werden daher evolutionäre multifaktorielle immunregulatorische Mechanismen zusammengefasst, um die visuelle Achse zu erhalten und Entzündungsreaktionen im Auge zu verhindern (FORRESTER und MCMENAMIN, 2024; WU et al., 2024).

Im frühen 20. Jahrhundert wurde die erste erfolgreiche Hornhauttransplantation beim Menschen durchgeführt, wobei das korneale Allograft bemerkenswert gut toleriert wurde (ZIRM, 1906). In der Folge prägten Studien an Kaninchen, bei denen kutane Allotransplantate in die vordere Augenkammer verpflanzt wurden, gegen

Mitte des 20. Jahrhunderts den Begriff des okulären Immunprivilegs (MEDAWAR, 1948, 1961). Da die kutanen Allotransplantate in der vorderen Augenkammer des Kaninchens, im Gegensatz zur Transplantation in die Haut der Empfängertiere, außerordentlich gut toleriert wurden, wurde daraus geschlossen, dass die vordere Augenkammer vor der systemischen Immunantwort und einer Entzündungsreaktion geschützt sein muss (BILLINGHAM und BOSWELL, 1953).

Der erste relevante Aspekt des okulären Immunprivilegs ist die streng regulierte Permeabilität der Blut-Retina-Schranke für Zellen oder Substanzen aus der Peripherie, durch die die die Retina und das gesamte Auge von der systemischen Zirkulation getrennt sind (O'LEARY und CAMPBELL, 2023). Die Blut-Retina-Schranke besteht in der vaskularisierten Retina aus einem inneren und äußeren Anteil. Die äußere Blut-Retina-Schranke setzt sich aus der Choroidea, der Bruch'schen Membran und dem retinalen Pigmentepithel (RPE) zusammen (O'LEARY und CAMPBELL, 2023). Die innere Blut-Retina-Schranke besteht aus den Endothelzellen der retinalen Gefäße in einer neurovaskulären Einheit mit Gliazellen, darunter Astrozyten, Müllerzellen und Mikroglia (BORA et al., 2023; GRIMES et al., 2025). Nachdem die Retina des Pferdes weitgehend avaskulär ist (SCHNITZER, 1988; EHRENHOFER et al., 2002), spielt die äußere Blut-Retina-Schranke im Pferd eine funktionell größere Rolle (SZOBER et al., 2012; UHL et al., 2015). Im vaskularisierten Anteil der equinen Retina sind allerdings auch eqRMG an der inneren Blut-Retina-Schranke beteiligt, da die Fortsätze der eqRMG die retinalen Blutgefäße berühren (SCHNITZER, 1988). Die beteiligten Zellen der Blut-Retina Schranke des Säugetiers sind über Tight Junctions miteinander verbunden, die eine strikte physikalische Barriere zwischen der Retina und dem angrenzenden Blutstrom darstellen und die Migration von peripheren Zellen ins Auge verhindern (TAYLOR und NG, 2018; NAYLOR et al., 2020; XU et al., 2025).

Neben der physikalischen Barriere der Blut-Retina-Schranke ist die Aufrechterhaltung einer immunsuppressiven Mikroumgebung ein weiterer zentraler Mechanismus des okulären Immunprivilegs (DU und YAN, 2023; TEABAGY et al., 2023). Diese immunsuppressive Umgebung wird durch eine Vielzahl löslicher Faktoren reguliert, darunter Wachstumsfaktoren, Zytokine, Neuropeptide und Komplementinhibitoren (SUGITA et al., 2013; TAYLOR und NG, 2018; NG und TAYLOR, 2023). Im Kammerwasser verschiedener Säugetiere, Menschen eingeschlossen, konnten bereits diverse immunsuppressive Mediatoren identifiziert werden: Dazu zählen unter

anderem der Transforming Growth Factor β (TGF-β) (STREILEIN und COUSINS, 1990; COUSINS et al., 1991) sowie das Neuropeptid α-Melanozyten-stimulierendes Hormon (TAYLOR et al., 1992). Ob diese Faktoren auch im Kammerwasser des Pferdes vorkommen, ist bislang nicht explizit untersucht worden. Allerdings wurden im equinen Glaskörper verschiedene Faktoren mit immunregulatorischen Funktionen nachgewiesen: Dazu gehört beispielsweise der antiinflammatorische PEDF in der Glaskörperflüssigkeit gesunder Pferde (DEEG et al., 2007a). Ein weiterer relevanter Faktor ist die im equinen Glaskörper detektierte Prostaglandin-H2 D-Isomerase, die mit der Integrität der Blut-Retina-Schranke in Verbindung gebracht wird (DEEG et al., 2007a). Der in gesunden equinen Glaskörpern und Retinae exprimierte Tissue Inhibitor of Metalloproteinases 2 und die Matrix Metalloproteinase 2 werden im Pferdeauge ebenfalls mit einer immunsuppressiven Wirkung assoziiert (HOFMAIER et al., 2011).

Das Immunprivileg des Auges wurde lange Zeit primär auf zwei Faktoren zurückgeführt: die dichte Blut-Retina-Schranke und das Fehlen eines direkten intraokulären lymphatischen Systems (BILLINGHAM und BOSWELL, 1953; FORRESTER und MCMENAMIN, 2024). Diese Barrieren verhindern den direkten Kontakt intraokulärer Antigene mit dem peripheren Immunsystem, wodurch eine immunologische Erkennung als „fremd“ theoretisch unterbunden wird (GERY und CASPI, 2018; TAYLOR und NG, 2018; FORRESTER und MCMENAMIN, 2024). Die systemische Toleranz von peripheren Antigenen im Auge ist allerdings mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht nur auf physikalische und molekulare Barrieren zurückzuführen (GERY und CASPI, 2018). Ein vor allem in murinen Modellen untersuchtes Phänomen, das die besonderen immunologischen Gegebenheiten im Auge verdeutlicht, ist die Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (ACAID) (YANG et al., 2024). Antigene, die experimentell und in Abwesenheit von immunsystemaktivierenden Gefahrensignalen wie Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs) und Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMPs) in die vordere Augenkammer eingebracht werden, rufen eine systemische Immuntoleranz gegen dieses Antigen hervor (FORRESTER und MCMENAMIN, 2024; YANG et al., 2024). In BALB/c Mäusen, die mit Mastzelltumorzellen gleichzeitig subkutan und intraokulär inokuliert wurden, wuchsen die Tumorzellen nicht nur im Auge unkontrolliert, sondern proliferierten auch subkutan (STREILEIN und NIEDERKORN, 1981). Mäuse, die ausschließlich subkutan mit den Tumorzellen injiziert worden waren, stießen diese hingegen ab

(STREILEIN und NIEDERKORN, 1981). Der im Rahmen der ACAID ablaufende immunologische Mechanismus verhindert eine Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ, indem in der murinen Milz toleranzinduzierende T-Zellen gegen die in die vordere Augenkammer eingebrachten Antigene generiert werden (NIEDERKORN und STREILEIN, 1983; SKELSEY et al., 2003; JIANG et al., 2009; YANG et al., 2024). In Mäusen wird die ACAID durch F4/80^{+} Makrophagen vermittelt, die nach Antigeninjektion in die vordere Augenkammer in die periphere Blutbahn gelangen und zur Milz migrieren (WILBANKS und STREILEIN, 1991, 1992; WANG et al., 2001; LIN et al., 2005). Die genaue Herkunft dieser Makrophagen ist noch nicht geklärt – sie könnten entweder aus den kleinen Populationen residenter Makrophagen in Iris und Ziliarkörper stammen oder von peripheren Monozyten abgeleitet sein, die durch die Antigeninjektion ins Auge gelangt sind (WILBANKS et al., 1992; PAIS et al., 2012; VENDOMÈLE et al., 2017; YANG et al., 2024). Dendritische Zellen in Ziliarkörper und Iris könnten hierbei eine ergänzende Rolle spielen, in dem sie Antigene potenziell aufnehmen und zur Milz migrieren (MCMENAMIN et al., 1992). Die immunsuppressive okuläre Mikroumgebung, insbesondere der hohe TGF-β-Spiegel, prägt die toleranzinduzierenden Eigenschaften der okulären Makrophagen (WILBANKS et al., 1992; TAKEUCHI et al., 1998; YANG et al., 2024). In der Milz angelangt, rekrutieren diese Makrophagen natürliche Killer-T-Zellen und interagieren mit CD1D^{+} B-Zellen sowie den rekrutierten natürlichen Killer-T-Zellen, was zur Bildung antigenspezifischer CD8^{+} T-Zellen mir regulatorischer Funktion führt (WILBANKS und STREILEIN, 1990; D'ORAZIO und NIEDERKORN, 1998; FAUNCE et al., 2001; NAKAMURA et al., 2003; SKELSEY et al., 2003; NIEDERKORN, 2006). Diese antigenspezifischen CD8^{+} T-Zellen wirken immunsupprimierend und verhinderten in Mäusen unter anderem durch die Sekretion von TGF-β1 die Entstehung einer Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ gegen die in die vordere Augenkammer eingebrachten Antigene (JIANG et al., 2009). Das Auge nimmt eine immunologische Sonderstellung ein, die durch eine physikalische Barriere, ein lokales immunsuppressives Milieu und eine gezielte Immunregulation geprägt ist (FORRESTER und MCMENAMIN, 2024; WU et al., 2024). Das Modell der ACAID in Mäusen wird nach wie vor vielfach genutzt, um das okuläre Immunprivileg näher zu untersuchen (VENDOMÈLE et al., 2017; YANG et al., 2024). Allerdings handelt es sich bei der ACAID um einen hauptsächlich im murinen Modell experimentell induzierten Zustand und es ist nicht geklärt, ob vergleichbare

Mechanismen auch im gesunden Organismus zur Aufrechterhaltung der immunologischen Toleranz gegenüber okulären Antigenen beitragen (FORRESTER und MCMENAMIN, 2024; KAMMRATH BETANCOR et al., 2024). Grundsätzlich zeigt dieses Modell, dass eine immunologische Achse zwischen Auge und Milz existiert, über die okuläre Antigene systemisch verarbeitet werden können (YANG et al., 2024).

2.2.2 Retinale Zellen mit immunologischer Kapazität

2.2.2.1 Retinale Mikroglia

Das okuläre Immunprivileg, insbesondere die Blut-Retina-Schranke macht die Retina für Immunzellen aus der Peripherie weitgehend unzugänglich (O'LEARY und CAMPBELL, 2023). Daher ist die gesunde Retina des Säugetieres zum größten Teil frei von professionellen APZ, zu denen Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Zellen zählen (FORRESTER und MCMENAMIN, 2024). Zur Aufrechterhaltung der retinalen Homöostase und zur Immunüberwachung verfügt die Retina jedoch, wie das gesamte zentrale Nervensystem des Säugetieres, über residente myeloide Immunzellen: retinale Mikroglia (LEWIS et al., 2005; GEIRSDOTTIR et al., 2019; WOLF et al., 2022; WU et al., 2024). Mikroglia haben einen embryogenetisch anderen Ursprung als Makrogliazellen, der zwischen Säugetieren hoch konserviert ist: Sie entstammen primitiven myeloiden Vorläuferzellen aus dem Dottersack (GINHOUX et al., 2010; GEIRSDOTTIR et al., 2019; XIAO et al., 2024). Retinale Mikroglia sind in der gesunden equinen Retina in der Nervenfaserschicht lokalisiert (SCHNITZER, 1988). Ihre funktionellen Eigenschaften sind beim Pferd bislang jedoch noch nicht untersucht, sodass zur Einordnung auf Erkenntnisse aus Nagetieren zurückgegriffen wird. Die Zellkörper muriner Mikroglia besitzen mehrere feine, dynamisch bewegliche Fortsätze, die in der retinalen Homöostase den umgebenden extrazellulären Raum abtasten und dabei die Umgebung scannen (LEE et al., 2008; XIAO et al., 2024). Mikroglia sind außerdem essenziell für die Instandhaltung neuronaler Synapsen in der Retina, wie in einem murinen Modell nach Depletion retinaler Mikroglia gezeigt wurde (WANG et al., 2016). Außerdem sind sie zur Phagozytose von abgestorbenen retinalen Neuronen fähig, wie unter anderem in der sich entwickelnden murinen Retina (HUME et al., 1983) und in Ratten nach Durchtrennung des Sehnervs gezeigt wurde (YUAN et al., 2015).

Mikroglia sind in der Retina des gesunden Säugetieres auf Immunüberwachung und Immunsuppression spezialisiert (FORRESTER und MCMENAMIN, 2024; XIAO et al., 2024). Werden Mikroglia durch pathogene Stimuli in einen aktivierten Zustand versetzt, übernehmen sie als primäre Immunzellen der Retina eine zentrale Rolle in der retinalen Immunantwort (XIAO et al., 2024). Insbesondere bei der Pathogenese autoimmuner und entzündlicher Augenerkrankungen wie der diabetischer Retinopathie (WANG et al., 2024b), der altersbedingten Makula-Degeneration (LEI et al., 2024) oder auch der EAU (HUANG et al., 2024a) spielen Mikroglia eine Rolle. In der murinen EAU nehmen Mikroglia einen aktivierten Phänotyp an und sezernieren pro-inflammatorische Zytokine wie Interleukin (IL)-6, den Tumor-Nekrose-Faktor α und IL-1β (LIU et al., 2022b; HUANG et al., 2024a). Weil Mikroglia in der EAU MHC Klasse II exprimieren können, wird eine Beteiligung an der retinalen Antigenpräsentation durch diese Zellen bei der EAU diskutiert (LIPSKI et al., 2017; OKUNUKI et al., 2019). Bei der murinen EAU, die durch die periphere Immunisierung mit dem Interphotorezeptor-Retinoid-bindendem Protein (IRBP) induziert wurde, wurde durch Mikroglia-Depletion gezeigt, dass diese eine entscheidende Rolle bei der Infiltration von Entzündungszellen während der initialen Phase der EAU spielten (OKUNUKI et al., 2019). In der frühen Phase der Entzündung waren murine Mikroglia MHC-Klasse-II-negativ, was darauf hinweist, dass sie zwar an der Leukozyten-Infiltration in die Retina, aber nicht an der initialen Antigenpräsentation an autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen beteiligt sein könnten (OKUNUKI et al., 2019). Die Depletion retinaler Mikroglia nach der Induktion der EAU, als die Entzündungsreaktion schon im Gange war, hatte keinen Effekt auf die Dauer und den Schweregrad der EAU (OKUNUKI et al., 2019). Dies legt nahe, dass Mikroglia für die Aufrechterhaltung der uveitischen Entzündung nicht zwingend erforderlich sind (OKUNUKI et al., 2019). In transgenen R161H-Mäusen, die durch die Expression eines IRBP-spezifischen T-Zell-Rezeptors spontan eine EAU entwickeln, wurden bereits vor histologischem oder klinischem Nachweis der EAU $CD11c^+$ APZ in der Retina nachgewiesen (MCPHERSON et al., 2022). Die Verbindung der Blutkreisläufe (Parabiose) von R161H-Mäusen und Mäusen, die fluoreszenzmarkiertes CD11c exprimierten, zeigten, dass diese $CD11c^+$ APZ aus dem Blut in die Retina einwanderten, noch bevor eine sichtbare Pathologie vorlag (MCPHERSON et al., 2022). Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die $CD11c^+$ APZ, die vor Beginn der retinalen Pathologie in der Retina waren, aus dem Blut rekrutiert wurden (MCPHERSON et al., 2022).

Bei dieser Form der EAU spielten infiltrierende myeloide APZ eine größere Rolle in der Initiierung der retinalen Entzündung als residente Mikroglia (MCPHERSON et al., 2022). Mikroglia sind also möglicherweise in die retinalen Antigenpräsentation involviert; dies könnte jedoch nicht ausreichen, um das retinale Entzündungsgeschehen aufrechtzuerhalten. Sowohl bei der EAU, als auch bei der ERU bleibt demnach unklar, welche retinalen Zellen in welchem Ausmaß eine antigenpräsentierende Funktion übernehmen. Um den Beitrag retinaler Zellen zur Pathogenese dieser Erkrankungen besser zu verstehen, ist es daher essenziell, weitere residente Zellen mit Immunfunktion zu untersuchen, die an der Initiierung und Aufrechterhaltung der Entzündung beteiligt sein könnten. In diesem Zusammenhang rücken Müllerzellen als retinale Zellen mit immunologischer Kapazität in den Fokus weiterer Untersuchungen zum Beitrag des Zielorgans zur Pathogenese sowohl der ERU als auch der EAU (HAUCK et al., 2007; HAUCK et al., 2010; DEEG et al., 2016; LORENZ et al., 2021a; LORENZ et al., 2021b; QUINN et al., 2024; YUAN et al., 2024).

2.2.2.2 Immunologische Kapazität von Müllerzellen

In den letzten Jahren rückte zunehmen in den Fokus, dass Müllerzellen neben ihren essenziellen Funktionen als Makrogliazellen der Retina auch immunologische Funktionen übernehmen können (HU et al., 2021; SCHMALEN et al., 2021; BALZAMINO et al., 2024; QUINN et al., 2024; YUAN et al., 2024). Ihre Rolle in der Immunantwort der Retina ist jedoch noch wenig verstanden. Müllerzellen verschiedener Wirbeltiere haben die Kapazität auf entzündliche Reize differenziell zu reagieren und je nach Stimulation einen facettenreichen pro-inflammatorischen Phänotyp anzunehmen, was vor allem in *in vitro* Studien gezeigt wurde (ROBERGE et al., 1988; DRESCHER und WHITTUM-HUDSON, 1996; KUMAR und SHAMSUDDIN, 2012; SINGH et al., 2014; SCHMALEN et al., 2021; LORENZ et al., 2021b). Auch bei der ERU zeigen Müllerzellen Hinweise auf eine immunologische Aktivierung, erkennbar an der Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen und der Sekretion von IFN-γ (ROMEIKE et al., 1998; HAUCK et al., 2007). Da beide Merkmale charakteristisch für Zellen mit antigenpräsentierender Funktion sind (KIRITSY et al., 2021; BECKERS et al., 2024; GÜNTHER et al., 2025), spricht vieles dafür, dass eqRMG aktiv in die Immunpathogenese der ERU eingebunden sind.

Die immunologische Kapazität von eqRMG wurde *in vitro* bereits näher charakterisiert: Nach Stimulation mit LPS induzierten sie die Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen sowie verschiedener ko-stimulatorischer Moleküle und Adhäsionsfaktoren (LORENZ et al., 2021b). Zu diesen zählten unter anderem für periphere professionelle APZ kanonische ko-stimulatorische Moleküle wie CD82, CD80, CD40, CD86 und der Inducible co-Stimulator T Cell Ligand (ICOS-LG), sowie Adhäsionsfaktoren, darunter das Junctional Adhesion Molecule 2, das Intracellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) und das Vascular Adhesion Molecule 1 (LORENZ et al., 2021b). Netzwerkanalysen der stimulierten eqRMG zeigten zudem die Überrepräsentation von Stoffwechselwegen, die mit der Antigenpräsentation und der Zelladhäsion und -migration assoziiert sind (LORENZ et al., 2021b).
Während die immunologische Kapazität von eqRMG im Kontext der ERU noch nicht detailliert untersucht wurde, ist die Rolle von murinen Müllerzellen bei der EAU bereits besser charakterisiert: Ihnen wird eine Funktion bei der retinalen Antigenpräsentation sowie bei der Aktivierung infiltrierender $CD4^+$ T-Zellen zugeschrieben (HENG et al., 2019; QUINN et al., 2024; YUAN et al., 2024). In der murinen IBRP-induzierten EAU exprimierten verschiedene Zellen in Cluster-basierten Einzelzell RNA-Sequenzierungsanalysen MHC Klasse II, darunter infiltrierende Makrophagen, Mikroglia, und Müllerzellen, aber auch Astrozyten, RPE-Zellen und vaskuläre Endothelzellen (QUINN et al., 2024; YUAN et al., 2024). Die hohe Expression von MHC Klasse II auf aktivierten murinen Müllerzellen in der EAU legt eine antigenpräsentierende Funktion nahe (YUAN et al., 2024). Neben MHC Klasse II exprimierten murine uveitische Müllerzellen diverse Chemokine, Leukozytenadhäsionsmoleküle, sowie Komplementfaktoren (QUINN et al., 2024). Dies deutet darauf hin, dass sie nicht nur an der Antigenpräsentation beteiligt sein könnten, sondern auch zur Leukozytenrekrutierung, Zelladhäsion und Verstärkung der Entzündungsreaktion in der Retina beitragen (QUINN et al., 2024). Eine datenbankgestützte Rezeptor-Liganden-Interaktionsanalyse zwischen den Transkriptomen retinaler Zellen und infiltrierender Leukozyten identifizierte Müllerzellen hierbei mitunter als die primären residenten mit infiltrierenden Leukozyten interagierenden Zellen in der murinen uveitischen Retina (QUINN et al., 2024). Die Analyse ergab, dass durch Lymphozyten sezerniertes IFN-γ, Lymphotoxin-α, Lymphotoxin-β und Tumor-Nekrose-Faktor α mit ihren jeweiligen Rezeptoren auf Müllerzellen interagieren und so zu deren proinflammatorischer Aktivierung beitragen könnten (QUINN et al., 2024). Durch die

Expression der Chemokine CXCL10, CXCL12 und CXCL16 könnten sie gezielt T-Helfer (Th)1- und Th17-Zellen, Neutrophile und Monozyten in die Retina rekrutieren, indem diese Chemokine mit den entsprechenden Rezeptoren CXC-Motiv-Chemokinrezeptor (CXCR) 3, CXCR4 und CXCR6 auf den Immunzellen interagieren (QUINN et al., 2024). Murine Müllerzellen vermittelten in der uveitischen Retina durch verschiedene Immun-Checkpoint-Interaktionen sowohl ko-stimulatorische, als auch ko-inhibitorische Signale an infiltrierende T- und Natürliche Killer-Zellen (QUINN et al., 2024). In der uveitischen murinen Retina ko-lokalisierten Müllerzellen neben infiltrierenden professionellen APZ außerdem mit $CD4^+CD45^+$ T-Zellen, was weiter auf eine antigenpräsentierende Funktion dieser residenten retinalen Zellen hinweist (QUINN et al., 2024). Eine ähnliche Beobachtung wurde in einen spontan entstehenden Modell der murinen EAU gemacht, wo MHC-Klasse-II-positive Müllerzell-Endfüße in direktem Kontakt mit infiltrierenden $CD4^+$ T-Zellen standen (HENG et al., 2019). Zusammenfassend legen diese Erkenntnisse eine immunologische Aktivierung und eine potenziell antigenpräsentierende Funktion der Müllerzelle bei der EAU nahe. Für eqRMG bei der ERU gibt es zwar erste Hinweise auf diese Funktionen (ROMEIKE et al., 1998; HAUCK et al., 2007), allerdings müssen diese weiter untersucht werden, um ihre genaue Rolle im Krankheitsgeschehen der ERU zu verstehen.

Ein funktioneller Mechanismus, über den professionelle, periphere APZ definiert werden können und den auch Müllerzellen ausüben, ist die Internalisierung von Peptiden oder Proteinen, sowie von apoptotischen Zellen oder Pathogenen durch Endozytose oder Phagozytose (BURGDORF und KURTS, 2008; BEJARANO-ESCOBAR et al., 2017; PISHESHA et al., 2022). In professionellen peripheren APZ kommt es nach intrazellulärer Prozessierung im Anschluss zur Präsentation des jeweiligen antigenen Peptids auf der Zelloberfläche der APZ über MHC-Moleküle (PISHESHA et al., 2022; ISHINA et al., 2023). Während eine phagozytotische Aktivität bereits in Müllerzellen anderer Spezies gezeigt wurde, meist im Kontext der Photorezeptor-Degeneration oder bakteriellen Ko-Inkubation (SINGH et al., 2014; BEJARANO-ESCOBAR et al., 2017; SAKAMI et al., 2019), gibt es keine Studien zur phago- oder endozytotischen Aktivität von eqRMG (Stand der PubMed-Recherche: Februar 2025). Während auch in der murinen EAU diese Funktion von Müllerzellen noch nicht untersucht wurde, phagozytierten murine Müllerzellen sowohl in der gesunden Retina als auch in einem Modell für Retinitis Pigmentosa apoptotische

Photorezeptoren *in vivo* (SAKAMI et al., 2019). Auch *in vitro* phagozytieren murine Müllerzellen Fragmente abgestorbener Photorezeptoren und nutzen dafür den phagozytotischen Rezeptor Tyrosin-Protein Kinase Mer (LEW et al., 2022). Humane Müllerzellen der Zelllinie MIO-M1 phagozytierten Kollagen Typ II *in vitro* (PONSIOEN et al., 2007). Außerdem zeigten MIO-M1-Zellen nach Ko-Inkubation mit Bakterien der Gattung *Staphylococcus aureus spp.* phagozytotische und bakterizide Eigenschaften (SINGH et al., 2014). In einem Kaninchen-Modell für experimentelle Retinaablösung phagozytierten Müllerzellen Melaningranula *in vivo* (FRANCKE et al., 2001).

Diese Befunde verdeutlichen das immunologische Potenzial von Müllerzellen, das über ihre klassischen Funktionen hinausgeht und ihre mögliche Rolle in der Aufrechterhaltung der retinalen Integrität sowie der lokalen Immunabwehr unterstreicht. Darüber hinaus exprimieren Müllerzellen einiger Spezies wie professionelle periphere APZ sogenannte Mustererkennungsrezeptoren (*engl*. Pattern Recognition Receptor, PRRs) (SHAMSUDDIN und KUMAR, 2011; KUMAR und SHAMSUDDIN, 2012; LIU und STEINLE, 2017; DUAN et al., 2022). PRRs erkennen spezifisch molekulare Muster, die von beschädigten Zellen (DAMPs) oder von Pathogenen (PAMPs) stammen und spielen eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung der angeborenen Immunantwort (DUAN et al., 2022; GERBER-TICHET et al., 2025). Zu diesen PRRs gehören im Säugetier unter anderem Toll-Like-Rezeptoren und c-Typ-Lektin-Rezeptoren (REIS et al., 2024; VON HOFSTEN et al., 2024). Das Vorkommen von PRRs wurde in eqRMG und auch im Rahmen der ERU bisher nicht beschrieben. Allerdings wurde die Expression von Toll-like-Rezeptoren schon auf Müllerzellen einiger anderer Spezies gezeigt: Auf MIO-M1-Zellen, die *in vitro* mit *Staphylococcus Aureus spp.* ko-inkubiert wurden, könnte neben einer erhöhten Genexpression von Zytokinen, Chemokinen und der Produktion von reaktiven Sauerstoff- (*engl.* Reactive Oxygen Species, ROS) und Stickstoffspezies auch eine Expression von Toll-like-Rezeptoren als Antwort auf die bakterielle Ko-Inkubation detektiert werden (SHAMSUDDIN und KUMAR, 2011; SINGH et al., 2014). Toll-like-Rezeptor-Signalwege und die Expression verschiedener Toll-like-Rezeptoren wurden außerdem nach Stimulation mit Toll-like-Rezeptor-Agonisten und mehreren Bakterienspezies in Modellen von bakterieller Endophthalmitis auf MIO-M1 und primären murinen Müllerzellen nachgewiesen (KUMAR und SHAMSUDDIN, 2012).

Da die immunologische Kapazität von Müllerzellen in verschiedenen Spezies bereits in zahlreichen Modellen untersucht wurde und Hinweise auf ihre Aktivierung im Rahmen der ERU vorliegen (ROMEIKE et al., 1998; HAUCK et al., 2007), ist es naheliegend eqRMG auf ihre immunologische und potenziell antigenpräsentierende Funktion hin zu charakterisieren.

2.3 Equine rezidivierende Uveitis (ERU)

2.3.1 Definition und Bedeutung

Die ERU ist eine bei Pferden weltweit vorkommende spontan auftretende chronisch-rezidivierende okuläre Autoimmunerkrankung (DEGROOTE und DEEG, 2021; CASSANO et al., 2023). Die relativ hohe Prävalenz in der Pferdepopulation beläuft sich auf 8 bis 10% in Europa und 2 bis 25% in den Vereinigten Staaten (GILGER, 2010; SPIESS, 2010; CASSANO et al., 2023). Wiederkehrende intraokuläre Entzündungsschube mit folgenden symptomfreien Phasen, die Wochen bis Monate dauern können, prägen das klinische Bild der ERU (GILGER und MICHAU, 2004; MCMULLEN und FISCHER, 2017). Die rezidivierenden Entzündungsschübe verlaufen progressiv und gehen mit fortlaufender Zerstörung retinaler Strukturen und okulären Sekundärerkrankungen wie Glaukomen und Katarakten einher (GERDING und GILGER, 2016; MALALANA, 2020; KINGSLEY et al., 2022b; KALINOVSKIY et al., 2024). Da es für die ERU bisher keine kausative Behandlungsmöglichkeit gibt und viele Aspekte der Pathophysiologie bisher ungeklärt sind, erfolgt die Therapie initial antiphlogistisch und immunsuppressiv (SALDINGER et al., 2020; MORÉN et al., 2024). Trotz therapeutischer Maßnahmen ist das Risiko einer Erblindung im Verlauf der Erkrankung nicht unerheblich (KALINOVSKIY et al., 2024; MORÉN et al., 2024). Die ERU betrifft außerdem oftmals beide Augen (GERDING und GILGER, 2016; SANDMEYER et al., 2017; MALALANA et al., 2020). Bilateral erblindete Pferde stellen ein hohes Risiko für sich selbst und ihre Umwelt dar, weswegen die betroffenen Tiere euthanasiert werden (SALDINGER et al., 2020; DEGROOTE und DEEG, 2021). Die hohe Prävalenz, sowie das Risiko einer Erblindung machen die ERU zu einer der bedeutsamsten Erkrankungen in der veterinärmedizinischen Ophthalmologie (DEGROOTE und DEEG, 2021). Außerdem ist die ERU als translational wertvolles spontanes Tiermodell für die autoimmune Uveitis des Menschen

etabliert (DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2007c; DEEG et al., 2008; BARFUSSER et al., 2021; SÖTH et al., 2024).

2.3.2 Ätiologie und Pathogenese

Die komplexe und multifaktorielle Ätiologie und Pathogenese der ERU sind bisher trotz signifikanter wissenschaftlicher Fortschritte noch nicht vollständig verstanden (MORÉN et al., 2024). Die ERU ist eine Organ-spezifische $CD4^+$ T-Zell-getriebene Autoimmunerkrankung (ROMEIKE et al., 1998; GILGER et al., 1999; DEEG et al., 2001; SÖTH et al., 2024). Diese $CD4^+$ T-Zellen werden in der Peripherie aktiviert, überqueren die Blut-Retina-Schranke und lösen eine verheerende intraokuläre Entzündung aus (DEEG et al., 2002a; DEGROOTE et al., 2017; WIEDEMANN et al., 2020). Autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen attackieren im Verlauf einer dysregulierten Immunantwort spezifisch retinale Autoantigene, wie das retinale S-Antigen, das IRBP oder das zelluläre Retinaldehyd-bindende Protein (cRALBP) (DEEG et al., 2001; DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2004; DEEG et al., 2006b). Damit uveitogene, autoreaktive aktivierte $CD4^+$ T-Zellen diese okulären Autoantigene erkennen und durch die Blut-Retina-Schranke ins Auge migrieren können, müssen sie zuvor in der Peripherie gegen diese Antigene aktiviert werden (DEEG et al., 2001; GERY und CASPI, 2018). Dies wurde in der EAU in Nagetieren gezeigt: Der adoptive Transfer aktivierter gegen retinale Autoantigene gerichteter $CD4^+$ T-Zellen aus peripher immunisierten Lewis-Ratten löste in naiven Ratten eine Uveitis aus (CASPI et al., 1986). Wie diese autoreaktiven $CD4^+$ T-Zellen allerdings *in vivo* in der Peripherie im Pferd aktiviert werden ist bislang nicht geklärt (DEGROOTE et al., 2017; WIEDEMANN et al., 2020). Dies trifft auch auf die autoimmune Uveitis des Menschen zu (Stand der PubMed-Recherche: Februar 2025).

Die periphere Immunisierung gesunder Pferde mit retinalen Autoantigenen führte zur Generierung aktivierter $CD4^+$ T-Zellen gegen diese Antigene und dadurch zur Induktion einer experimentellen ERU (DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2004; DEEG et al., 2006b). Das wichtigste identifizierte Autoantigen für die ERU ist IRBP (DEEG et al., 2001; DEEG et al., 2002a). Die Induktion der experimentellen ERU durch periphere Immunisierung mit IRBP löste in allen experimentell verwendeten Pferden eine Uveitis aus, die der spontanen ERU symptomatisch und pathohistologisch glich (DEEG et al., 2002a). Die erneute Immunisierung mit IRBP nach initialem

Abklingen der Symptome konnte zudem in allen immunisierten Pferden innerhalb von sechs bis sieben Tagen ein Rezidiv auslösen (DEEG et al., 2002a). Während die periphere Immunisierung mit dem retinalen S-Antigen zwar in allen experimentell verwendeten Pferden zu spezifischen B- und T-Zell-Antworten führte, entwickelte nur eines von fünf S-Antigen-immunisierten Pferden eine experimentelle ERU (DEEG et al., 2004). Auch die periphere Immunisierung des Autoantigens cRALBP löste in allen für den Versuch verwendeten Pferden eine experimentelle ERU aus (DEEG et al., 2006b). Die cRALBP-induzierte ERU unterschied sich allerdings von der mit IRBP und S-Antigen-induzierten ERU durch eine geringere Schmerzhaftigkeit und durch eine Beschränkung der Entzündung auf das hintere Augensegment (DEEG et al., 2006b).

Obwohl am intraokulären Entzündungsgeschehen auch weitere periphere Entzündungszellen beteiligt sind, sind $CD4^+$ T-Zellen die einzige Zellart mit einem aktivierten autoreaktiven Phänotyp und damit die treibende Kraft bei der Pathogenese der ERU (GILGER et al., 1999; DEEG et al., 2001; SALDINGER et al., 2020). Die aktivierten $CD4^+$ T-Zellen produzieren hohe Mengen an IFN-γ, was auf eine Th1-vermittelte Immunantwort hinweist – einen Effektor-Zell-Subtyp der $CD4^+$ T-Zellen, der maßgeblich an der Pathogenese der ERU beteiligt ist (SALDINGER et al., 2020). Hinweise auf eine Beteiligung von Th17-Zellen, einem weiteren T-Effektor-Zell-Subtyp, ergeben sich aus dem immunhistochemischen Nachweis Th17-assoziierter Zytokine im Ziliarkörper und der Iris von ERU-erkrankten Pferden (REGAN et al., 2012).

Die Eigenschaften uveitogener T-Zellen wurden bereits intensiver untersucht. Das Proteom peripherer T-Zellen aus Pferden mit ERU war im Vergleich zu dem gesunder Zellen signifikant verändert: $CD4^+$ T-Zellen aus Pferden mit ERU wiesen insbesondere Veränderungen bei Proteinen auf, die eine Schlüsselrolle bei der Zelladhäsion, Zellmigration und Regulation der Zellmorphologie spielen (DEGROOTE et al., 2014; DEGROOTE et al., 2017; SCHAUER et al., 2018). $CD4^+$ T-Zellen aus ERU-Pferden zeigten eine erhöhte Migrationsrate, die auf die gesteigerte Expression des Formin-like Protein 1 zurückgeführt wurde (DEGROOTE et al., 2017). Außerdem wiesen periphere Blut-Lymphozyten aus ERU-Pferden eine erhöhte Zellmotilität und Geschwindigkeit in Migrationsversuchen entlang bestimmter Chemokingradienten auf (WIEDEMANN et al., 2020). Periphere Blutlymphozyten aus ERU-Pferden zeigten zudem einen veränderten metabolischen Phänotyp (BARFÜßER et al., 2021;

SÖTH et al., 2024). Sie wiesen eine erhöhte oxidative Phosphorylierung und eine erhöhte Glykolyse, sowie eine erhöhte kompensatorische Glykolyse unter mitochondrialen Stressbedingungen auf (BARFÜßER et al., 2021). Darüber hinaus produzierten periphere $CD4^+$ T-Zellen aus ERU-Pferden vermehrt ROS nach Stimulation *in vitro*, und zeigten eine geringere Abhängigkeit von der mitochondrialen Glukoseoxidation (SÖTH et al., 2024). Gleichzeitig wiesen sie eine höhere metabolische Flexibilität in der mitochondrialen Oxidation von langkettigen Fettsäuren und Glukose auf (SÖTH et al., 2024).

Neben den inflammationstreibenden $CD4^+$ T-Zellen sind auch Zellen des angeborenen Immunsystems an der Pathogenese der ERU beteiligt (DEGROOTE und DEEG, 2021; DEGROOTE et al., 2023). Neutrophile Granulozyten aus ERU-Pferden zeigten beispielweise ebenfalls eine veränderte Proteinexpression im Vergleich zu gesunden Zellen und reagierten differenziell auf Immunstimulation (WEIGAND et al., 2021; DEGROOTE et al., 2023). Außerdem wurden im Serum und auf inflammatorischen Zellen in Augen von an ERU erkrankten Pferden verschiedenen Bestandteile des Komplementsystems nachgewiesen (ZIPPLIES et al., 2010b; ZIPPLIES et al., 2010a). Des Weiteren tragen auch intraokuläre Zellen und Strukturen zur Pathogenese der ERU bei (DEEG et al., 2002b; EBERHARDT et al., 2011; KLEINWORT et al., 2016; LORENZ et al., 2021a; GILGER et al., 2022). Dies wird in den Kapiteln 2.3.4. und 2.3.5. genauer beschrieben.

Damit $CD4^+$ T-Zellen, die das Auge infiltrieren, Autoantigene erkennen und eine Immunantwort auslösen können, müssen die uveitogenen Antigene über MHC-Klasse-II-Moleküle von APZ präsentiert werden (MCPHERSON et al., 2022). Die retinalen Autoantigene bleiben im gesamten Verlauf der Erkrankung konstant in der Retina exprimiert, auch wenn die retinale Integrität in fortgeschrittenen Stadien schon zerstört ist (DEEG et al., 2007b). Zudem spielt das inter- und intramolekulare Epitop-Spreading uveitogener Antigene eine zentrale Rolle bei der Pathogenese der ERU (DEEG et al., 2006a). Autoreaktive T-Zellen reagieren hierbei zunächst gegen das ursprüngliche Epitop eines Autoantigens, erweitern ihre Zielstruktur jedoch im Verlauf der Erkrankung auf weitere, strukturell verwandte Epitope entweder aus demselben Autoantigen (intramolekular) oder aus einem anderen Autoantigen (intermolekular), was nach Abklingen der initialen Entzündung eine erneute Immunreaktion auslösen könnte (VANDERLUGT und MILLER, 1996; DEEG et al., 2006a). Sobald die Blut-Retina-Schranke durchbrochen ist, kommen autoreaktive $CD4^+$ T-

Zellen mit weiteren retinalen Antigenen und strukturell ähnlichen Epitopen in Kontakt und können sich in der Retina gegen diese richten. Dass sowohl inter- als auch intramolekulares Epitop-Spreading gegen die Autoantigene IRBP und S-Antigen in ERU-Pferden nachgewiesen wurde, bestätigt die zentrale Bedeutung dieses Mechanismus (DEEG et al., 2006a). Besonders auffällig war hierbei, dass bei fünf von sieben Pferden das Auftreten von Krankheitsschüben mit einer Neoreaktivität peripherer T-Zellen gegenüber neuen Epitopen einherging, die vor dem Schub nicht nachweisbar war (DEEG et al., 2006a). Epitop-Spreading konnte außerdem im Großteil der untersuchten Pferden auch in den klinischen Ruhephasen zwischen den Erkrankungsschüben beobachtet werden (DEEG et al., 2006a). Sowohl die konstante Expression retinaler Autoantigene im Verlauf der ERU als auch das Epitop-Spreading könnten außerdem Gründe für die wiederkehrenden Entzündungsschübe der ERU sein (DEEG et al., 2006a; DEEG et al., 2007b).
Das Auftreten des Epitop-Spreadings in klinischen Ruhephasen und die Reaktivität gegen neue Epitope nach Krankheitsschüben legt nahe, dass eine lokale APZ in der Retina existiert, die retinalen Autoantigene sowie daraus abgeleitete Epitope über MHC Klasse II an $CD4^+$ T-Zellen präsentieren kann. Diese Funktion könnten in der ERU eventuell Müllerzellen übernehmen, da eqRMG im Verlauf der ERU MHC Klasse II exprimieren (ROMEIKE et al., 1998). Deshalb ist es zum weiteren Verständnis der Pathogenese der ERU unerlässlich, Müllerzellen auf ihre immunologischen und potenziell antigenpräsentierenden Funktionen hin zu untersuchen.

2.3.3 Klinisches Bild der ERU

Die ERU wird anhand ihrer okulären Lokalisation und der Dauer der Entzündung in drei Manifestations-Subtypen eingeteilt: die klassische, die posteriore und die schleichende Form (MALALANA, 2020; SALDINGER et al., 2020; KINGSLEY et al., 2022b). Bei der klassischen Form der ERU ist klinisch primär die Uvea, die sich aus Iris, Ziliarkörper und Choroidea zusammensetzt, betroffen (MCMULLEN und FISCHER, 2017). Die Entzündung weitet sich oftmals auf die Kornea, die vordere Augenkammer, die Linse, den Glaskörper und die Retina aus und resultiert in einer klinischen Panuveitis (GILGER, 2010; MCMULLEN und FISCHER, 2017). Sekundär entstehen durch die wiederholten Entzündungsschübe Katarakte, intraokuläre Verwachsungen und Retinaablösungen mit Verlust der Sehfähigkeit (GILGER et al.,

2022). Diese Form der Uveitis betrifft meist Isländer und Warmblutpferde (MCMULLEN und FISCHER, 2017). Die posteriore Form der ERU erstreckt sich vor allem über das hintere Augensegment, insbesondere die Retina, den Glaskörper und die Choroidea, während das vordere Augensegment in frühen Stadien relativ unverändert bleibt (GILGER, 2010; MCMULLEN und FISCHER, 2017). Mit fortschreitendem Verlauf entstehen allerdings ebenfalls sekundär Katarakte, Synechien und vitreale Trübungen (GILGER et al., 2022). Diese Form der ERU betrifft vornehmend Kaltblüter und Warmblüter (GILGER et al., 2022). Die schleichende (*engl.* insidious) Form der ERU ist eine Sonderform, an der oftmals Appaloosa-Pferde und Kaltblüter erkranken (SANDMEYER et al., 2020). Die schleichende Form zeichnet sich durch eine persistierende geringgradige Entzündung aus, die kumulativ zur Zerstörung retinaler Strukturen führt (GILGER, 2010; SANDMEYER et al., 2017; SANDMEYER et al., 2020; KINGSLEY et al., 2022a). Die klassische und die posteriore Form der ERU gehen typischerweise mit intermittierenden Phasen der Quieszenz und wiederkehrenden extrem schmerzhaften Entzündungsschüben einher, während die schleichende Form oftmals weniger schmerzhaft, chronisch-progressiv und mit initial deutlich subtilerer klinischer Symptomatik verläuft (SANDMEYER et al., 2020; KINGSLEY et al., 2022b). Im Rahmen dieser Arbeit wurden nur Proben von Pferden mit der klassischen und der posterioren ERU untersucht und die schleichende ERU als Sonderform ausgeschlossen.

Die meisten Pferde haben den ersten inflammatorischen Schub im Alter von vier bis sechs Jahren (GILGER und MICHAU, 2004; SANDMEYER et al., 2017). Die Diagnose einer ERU wird erst nach mindestens zwei rezidivierenden Entzündungsepisoden in Verbindung mit dem klinischen Befund gestellt (GILGER und MICHAU, 2004), da im Pferd auch primäre Uveitiden mit unterschiedlicher, einschließlich infektiöser und traumatischer, Ätiologie vorkommen können (GILGER, 2010).

Pferde mit einem akuten Uveitisschub zeigen je nach betroffenem Augensegment und ERU-Form klinische Symptome wie Blepharospamus, Augenausfluss, Enophthalmus, Photophobie, kornealen Ödemen, Kammerwasser-Flare, Hypopyon, sowie möglicherweise einer Netzhautablösung (GILGER et al., 2022; KINGSLEY et al., 2022b). Ein aktuer Uveitisschub ist extrem schmerzhaft (KINGSLEY et al., 2022b). In Ruhephasen der Erkrankung, wenn die akute Entzündung abgeklungen ist, zeigen sich je nach Ausmaß der Schädigung des betroffenen Auges unter anderem Katarakte, Atrophie der Corpora Nigra und Synechien (GILGER et al., 2022). Eine

weitere Komplikation stellt das Sekundärglaukom dar, das die Prognose für den Erhalt der Sehfähigkeit nochmals verschlechtert (GERDING und GILGER, 2016). Im Endstadium der Erkrankung finden sich oft komplett erblindete Augen, die unter anderem eine Phthisis bulbi, dichte Katarakte, Linsenluxationen und Retinaablösung zeigen (GILGER et al., 2022). Eine Enukleation wird durchgeführt, wenn die verfügbaren therapeutischen Optionen die Entzündung nicht zum Abklingen bringen und so nicht den gewünschten reizfreien Zustand herbeiführen. Die Enukleation kann als therapeutische Ultima Ratio erforderlich sein, um die mit der ERU verbundenen Schmerzen zu lindern, das Fortschreiten von Sekundärerkrankungen zu verhindern und wenn die Prognose für Schmerzfreiheit und Sehfähigkeit des betroffenen Auges ungünstig ist (HUPPES et al., 2017). Die ERU ist der häufigste nicht mit einem Trauma zusammenhängende Grund für eine beim Pferd durchgeführte Enukleation (GOULD et al., 2024).

2.3.4 Pathohistologisches Bild

Während der ersten inflammatorischen Schübe der ERU zeigt sich pathohistologisch eine Gefäßstauung der Gefäße der Uvea, begleitet von einer entzündlichen Zellinfiltration (GILGER et al., 2022). Zelluläre Infiltrate von Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten finden sich unter anderem in der Iris, dem Ziliarkörper, der Choroidea, dem Glaskörper und der Retina (COOLEY et al., 1990; ROMEIKE et al., 1998; GILGER et al., 1999; DEEG et al., 2001; DEEG et al., 2002b; GILGER et al., 2022). Bei den infiltrierenden Lymphozyten handelt es sich hauptsächlich um $CD4^+$ T-Zellen, wobei hier Th1 Zellen dominieren (GILGER et al., 1999). Es gibt ebenfalls Hinweise auf eine Beteiligung von Th17 Zellen, durch den immunhistochemischen Nachweis von Th17-assoziierten Zytokinen im Ziliarkörper und der Iris von an ERU erkrankten Pferden (REGAN et al., 2012). Außerdem wurden bei Pferden mit ERU tertiäre Lymphfollikel in der Iris, am Ziliarkörper und vereinzelt an der Ora Serrata der Retina nachgewiesen (DEEG et al., 2002b; KLEINWORT et al., 2016). Diese bestanden überwiegend aus $CD3^+$ T-Zellen, wobei $CD4^+$ T-Zellen den Hauptanteil ausmachten (KLEINWORT et al., 2016). In diesen ektopischen Lymphfollikeln fanden sich außerdem $CD4^+CD45RO^+$ T-Gedächtniszellen (KLEINWORT et al., 2016). Die Retina des Pferdes bleibt während der ersten inflammatorischen Attacken weitgehend unzerstört (DEEG et al., 2002b; GILGER

et al., 2022). In frühen Stadien der Erkrankung ist die Infiltration mit T-Zellen auf den kleinen vaskularisierten Bereich nahe des N. Optikus und einzelne verstreute Infiltrate begrenzt (DEEG et al., 2002b). Im Verlauf weiterer uveitischer Schübe schreitet die Infiltration von Entzündungszellen fort, begleitet von einer Degeneration der retinalen Neuronen, die von den Außensegmenten der Photorezeptoren bis zu den Zellen der Ganglienzellschicht und inneren Körnerschicht reicht (DEEG et al., 2002b). Im Endstadium der Erkrankung ist die retinale Architektur weitgehend zerstört (DEEG et al., 2002b).

2.3.5 Die Rolle der Müllerzelle bei der ERU

Während die retinale Architektur im Krankheitsverlauf zunehmend zerstört wird und die retinalen Neuronen fortschreitend degenerieren, bleiben eqRMG als einzige Zellart über einen längeren Zeitraum im Verlauf der Erkrankung erhalten (DEEG et al., 2002b). Proteomische Analysen von retinalen Membranproteinen aus Kontrolltieren und an ERU erkrankten Pferden zeigten eine differenzielle Expression von eqRMG-assoziierten Proteinen, was eine bedeutende Rolle dieser Zellen im Krankheitsgeschehen zeigte (HAUCK et al., 2010). Reaktive eqRMG zeigen auch im Verlauf der ERU einen fortschreitend gliotischen Phänotyp, der mit einer Veränderung ihrer zellulären Funktionen einhergeht (HAUCK et al., 2007; HAUCK et al., 2010; EBERHARDT et al., 2011). Im Verlauf der ERU weisen eqRMG eine reduzierte Expression ihres charakteristischen Enzyms Glutamin-Synthetase auf, begleitet von einer erhöhten Expression der Intermediärfilamente Vimentin und GFAP (HAUCK et al., 2007). Auch der retinale K^+ und Wasser-Haushalt, der in der gesunden equinen Retina wesentlich von eqRMG reguliert wird, zeigt im Verlauf der ERU signifikante Veränderungen (HAUCK et al., 2010; EBERHARDT et al., 2011; DEEG et al., 2016). Dazu zählen sowohl eine veränderte Expression der K^+-Kanäle Kir4.1 und Kir2.1 als auch der Wasserkanäle AQP4, AQP5 und AQP11 (siehe auch Kapitel 2.1.2) (HAUCK et al., 2010; EBERHARDT et al., 2011; DEEG et al., 2016). Diese Veränderungen könnten entscheidend zur Entstehung retinaler Ödeme beitragen, die das pathohistologische Bild in einigen Fällen prägen (DEEG et al., 2002b).
Die verminderte Expression der Wingless-related Integration Site (Wnt)-Signalweg-Inhibitoren Dickkopf-Protein 3 und PEDF in uveitischen eqRMG spricht für eine mögliche Aktivierung des kanonischen Wnt-Signalwegs in der ERU (HAUCK et al.,

2012). Die genaue funktionelle Konsequenz einer Aktivierung des Wnt-Signalwegs in uveitischen eqRMG ist allerdings bislang noch unklar (HAUCK et al., 2012). Die verminderte Expression des darüber hinaus antiangiogenetischen und neurotroph wirkenden PEDF weist auf den Verlust dieser Eigenschaften im Verlauf der ERU hin (HAUCK et al., 2007).

EqRMG leisten außerdem einen Beitrag zur signifikanten Veränderung der retinalen extrazellulären Matrix im Rahmen der ERU: während gesunde eqRMG das Protein der extrazellulären Matrix, Fibronektin, hauptsächlich an ihren Endfüßen, die in Kontakt zur ILM und zur vitreoretinalen Oberfläche stehen, exprimierten war die gleichmäßige Expression von Fibronektin in uveitischen eqRMG nicht mehr existent (DEEG et al., 2011). Fibronektin war in der uveitischen Retina in einem ungleichmäßigen Muster entlang der desintegrierten ILM exprimiert (DEEG et al., 2011). Die veränderte Expression von Fibronektin in uveitischen eqRMG könnte ein Faktor in der reduzierten Adhäsion der Müllerzellen an die vitreoretinale Oberfläche bei der ERU sein (DEEG et al., 2011). Uveitische eqRMG exprimierten darüber hinaus geringere Mengen an Osteopontin im Vergleich zu gesunden Zellen, einem Protein der extrazellulären Matrix mit neuroprotektiven Eigenschaften (DEEG et al., 2011). Dies gibt weitere Hinweise auf den Verlust neuroprotektiver Funktionen des aktivierten uveitischen Müllerzell-Phänotyps (DEEG et al., 2011). Uveitische eqRMG wiesen außerdem eine erhöhte Abundanz des Enzyms Neuraminidase 1 auf (LORENZ et al., 2021a). Die Neuraminidase 1 in uveitischen eqRMG korrelierte mit dem Verlust terminaler Sialinsäuren auf retinalen Zellen, was auf eine Desialylierung durch die Neuraminidase 1 hinweist (LORENZ et al., 2021a). Darüber hinaus gibt es Hinweise auf eine immunologische Aktivierung von eqRMG bei der ERU durch ihre Expression von MHC Klasse II und ihre Sekretion von IFN-γ (ROMEIKE et al., 1998; HAUCK et al., 2007) (siehe Kapitel 2.2.2.2).

Zusammenfassend zeigen diese Anpassungen, dass sich eqRMG im Verlauf der ERU massiv verändern. Allerdings bleiben sowohl die zugrundeliegenden Ursachen als auch die funktionellen Auswirkungen dieser Veränderungen weiterhin weitgehend unklar. Daher ist eine weiterführende Untersuchung dieser Zellen dringend erforderlich, um ihre genaue Rolle im Krankheitsprozess zu verstehen.

2.4 Autoimmune Uveitis des Menschen und weitere Tiermodelle

2.4.1 Bedeutung und Pathogenese

Die autoimmune Uveitis ist eine weltweit bedeutende Ursache für Sehbehinderungen und Erblindung beim Menschen (TSIROUKI et al., 2018; HUANG et al., 2023; WU et al., 2025). Die Pathogenese der autoimmunen Uveitis wird ebenso wie die der ERU von autoreaktiven $CD4^+$ T-Zellen vermittelt (NUSSENBLATT et al., 1980; ZHANG und ZHANG, 2023; ZHANG et al., 2024a). Zum Begriff der autoimmunen beziehungsweise nicht infektiösen Uveitis zählen auch Uveitiden, die im Verlauf von systemischen Erkrankungen mit autoimmuner Komponente wie der systemischen Sarkoidose (NIEDERER et al., 2023) oder Morbus Behçet (GUAN et al., 2024) und Autoimmunerkrankungen wie Morbus Vogt-Koyanagi-Harada (TAYAL et al., 2024) oder der juvenilen idiopathischen Arthritis (OLIVEIRA PINHEIRO et al., 2023) auftreten (CASPI, 2010).

Generell beschreibt die Uveitis im humanen Patienten eine Entzündung der Uvea, mitsamt Iris, Ziliarkörper und Choroidea, wobei aber auch die Retina, die Sklera und weitere okuläre Strukturen betroffen sein können (FORRESTER et al., 2013). Die autoimmune Uveitis wird im Zusammenhang mit ihrer anatomischen in ein anteriore (Iridozyklitis), intermediäre (Vitritis, Pars Planitis des Ziliarkörpers) und posteriore Uveitis (Chorioretinitis), so wie eine Panuveits, wenn sowohl die hinteren als auch die vorderen Augenanteile betroffen sind, eingeteilt (FORRESTER, 1991; CASPI, 2010; WU et al., 2023). Im Verlauf der Pathogenese überqueren autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen auch im Menschen die Blut-Retina-Schranke und attackieren retinale Autoantigene (ZHANG und ZHANG, 2023). Zu den wichtigsten retinalen Autoantigenen im Menschen zählen ebenso wie im Pferd IRBP und das retinale S-Antigen (DOEKES et al., 1987; DE SMET et al., 1990). Zudem spielt cRALBP, das zuerst in der ERU charakterisiert wurde, auch bei der autoimmunen Uveitis des Menschen eine Rolle (DEEG et al., 2006b; DEEG et al., 2007c).

In der Pathogenese der autoimmunen Uveitis des Menschen spielen sowohl die T-Effektorzelltypen Th1 als auch Th17 Zellen tragende Rollen (AMADI-OBI et al., 2007; GILBERT et al., 2018; ZHANG und ZHANG, 2023). Gleichzeitig ist bei Patienten mit aktiven Uveitisschüben die Anzahl der anti-inflammatorischen regulatorischen T-Zellen (Tregs) im peripheren Blut reduziert, verglichen mit Patienten in der Remission oder gesunden Individuen (NANKE et al., 2008; YEH et al., 2009;

GILBERT et al., 2018; LI et al., 2024). Eine Fehlregulation pathogener Th1 und Th17-Populationen, sowie das Ungleichgewicht zwischen diesen Effektorzellen und Tregs gelten als zentrale Faktoren in der Pathogenese der autoimmunen Uveitis des Menschen (ZHONG et al., 2021; VAN DER HOUWEN et al., 2022; ZHANG und ZHANG, 2023; ZHANG et al., 2024a). Im Gegensatz dazu geht man bei der ERU von einer dominierenden Th1-Antwort aus, während Hinweise auf eine Beteiligung von Th17-Zellen bislang begrenzt sind (REGAN et al., 2012; SALDINGER et al., 2020). Die Rolle von Tregs in der ERU ist ebenfalls unklar, da bislang keine spezifischen Marker für diese Zellpopulation für Pferde existieren und ihre Beteiligung deshalb noch nicht untersucht werden konnte (SALDINGER et al., 2020).

2.4.2 Induzierte experimentelle autoimmune Uveitis (EAU)

Da die Pathogenese der autoimmunen Uveitis bisher noch nicht vollständig verstanden und die Menge des für wissenschaftliche Studien zur Verfügung stehenden humanen Probenmaterials begrenzt ist, werden verschiedene Tiermodelle zur Erforschung der autoimmunen Uveitis herangezogen (BANSAL et al., 2015; WU et al., 2023). Während die ERU als natürlich vorkommendes spontanes Tiermodell für die autoimmune Uveitis des Menschen sowie in ihrer induzierbaren Form, der experimentellen ERU, untersucht wird (DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2004; DEEG et al., 2006b; DEEG et al., 2007c; DEEG et al., 2008), sind induzierte Nagermodelle die am weitesten verbreiteten Modelle zur Erforschung der autoimmunen Uveitis des Menschen (SHOME et al., 2023; WU et al., 2023). Bei der klassischen EAU werden empfängliche Tiere mit uveitogenen retinalen Autoantigenen oder mit deren Peptiden immunisiert, was eine intraokuläre, T-Zell-vermittelte Entzündung auslöst (BANSAL et al., 2015; DUAN et al., 2024). Um diese Immunreaktion in der jeweiligen Spezies hervorzurufen, wird das retinale Antigen in Freunds komplettem Adjuvans gelöst, das attenuierte Stämme von *Mycobacterium tuberculosis* enthält und im Rahmen einer aktiven Immunisierung peripher in das Versuchstier inokuliert wird (CASPI, 2003; BANSAL et al., 2015; BOWERS et al., 2022). Die periphere Applikation von Freunds komplettem Adjuvans induziert eine spezifische, T-Zell-vermittelte Immunantwort gegen das gemeinsam mit dem Adjuvans injizierte retinale Autoantigen (BANSAL et al., 2015). Die mykobakteriellen Bestandteile des Adjuvans fördern

dabei die Differenzierung der T-Zellen in Richtung einer Th-Zell-getriebenen Immunantwort (LAZAREVIĆ et al., 2024). In den meisten untersuchten Spezies entwickelt sich innerhalb von ein bis zwei Wochen nach der Immunisierung eine EAU mit Panuveitis (BANSAL et al., 2015; SHOME et al., 2023). Wie die durch die Immunisierung aktivierten $CD4^+$ T-Zellen die Blut-Retina-Schranke überwinden ist auch für die EAU noch nicht geklärt (Stand der PubMed-Recherche: Februar 2025).

Eine Sonderform der induzierten Uveitis ist die Endotoxin-induzierte Uveitis (EIU). Versuchstiere werden mit dem bakteriellen Endotoxin LPS peripher inokuliert, um nach circa 24 Stunden nach Injektion eine kurz andauernde anteriore Uveitis zu entwickeln, die sich auch auf das posteriore Augensegment auswirkt (YADAV und RAMANA, 2019; CUARTERO-MARTÍNEZ et al., 2024). Dieses Modell dient der Erforschung von akut einsetzenden Uveitiden und deren Therapie, ist aber nicht geeignet, um autoimmune Prozesse näher zu verstehen (BANSAL et al., 2015; YADAV und RAMANA, 2019). Der Grund dafür liegt darin, dass die inflammatorische Reaktion direkt durch LPS getriggert wird und nicht durch aktivierte T-Zellen, die gegen retinale Autoantigene gerichtet sind (YADAV und RAMANA, 2019; CUARTERO-MARTÍNEZ et al., 2024).

Bereits 1949 zeigten Experimente an Meerschweinchen, die peripher mit uvealem Gewebe immunisiert worden waren, dass diese Behandlung eine okuläre Entzündung mit begleitender Leukozyteninfiltration induzieren konnte (COLLINS, 1949). Dass eine Uveitis durch die periphere Immunisierung mit intraokulären Antigenen hervorgerufen werden kann, wurde in weiteren Studien an Meerschweinchen, die mit pigmentiertem uvealen Antigen peripher immunisiert worden waren, bestätigt (ARONSON et al., 1963). Weitere EAU Modelle wurden später in Lewis-Ratten (WACKER und KALSOW, 1973; KOZAK et al., 1981) und Mäusen etabliert (CASPI et al., 1988). Die Empfänglichkeit für eine Induktion der EAU in den verschiedenen Versuchstierspezies birgt speziesspezifische Unterschiede: so kann in Meerschweinchen die EAU nur durch S-Antigen, nicht aber durch IRBP ausgelöst werden, während Mäuse nur auf IRBP mit einer EAU reagieren (AGARWAL et al., 2012; WU et al., 2023). In Ratten hingegen kann eine EAU sowohl mit S-Antigen als auch mit IRBP ausgelöst werden (AGARWAL et al., 2012; WU et al., 2023). In Pferden kann eine experimentelle ERU durch IRBP und cRALBP, so wie teilweise durch das retinale S-Antigen ausgelöst werden (DEEG et al., 2002a; DEEG et al., 2004; DEEG et al., 2006b).

Eine weitere Möglichkeit, um eine EAU in Mäusen und Ratten auszulösen ist der adoptive Transfer von reaktiven Lymphozyten von gegen ein retinales Autoantigen immunisierten Tieren in empfängliche gesunde Tiere (MOCHIZUKI et al., 1985; CASPI et al., 1986; CASPI, 2003). Hier werden Spendertiere mit dem retinalen Autoantigen peripher immunisiert und deren Lymphozyten aus den Lymphknoten und der Milz isoliert (CASPI, 2003; DERLUYN et al., 2024). Die aktivierten Lymphozyten werden anschließend mit dem verwendeten Autoantigen *in vitro* erneut stimuliert und peripher in naive Empfängertiere injiziert, wo sie zu einer EAU führen (DERLUYN et al., 2024). Hierbei muss hervorgehoben werden, dass die für den adoptiven Transfer verwendeten T-Zellen nicht nur spezifisch gegen das retinale Autoantigen gerichtet, sondern auch aktiviert sein müssen, um effizient eine EAU auszulösen (CASPI et al., 1986; GERY und CASPI, 2018).

Zudem kann eine EAU in Mäusen auch durch die Injektion reifer IRBP-beladener dendritischer Zellen in Empfängertiere induziert werden (TANG et al., 2007). Diese Form der EAU unterscheidet sich jedoch in klinischer und pathogenetischer Hinsicht von der klassischen EAU (TANG et al., 2007). Die durch dendritische Zellen induzierte, selbstlimitierende EAU zeigte eine mildere Pathologie, wobei die retinalen Zellinfiltrate überwiegend aus Granulozyten bestanden. (TANG et al., 2007). Diese Form der EAU unterscheidet sich daher auch signifikant von der T-Zell-mediierten ERU (siehe Kapitel 2.3.2).

Die Pathogenese der EAU wird durch die Aktivität der zwei Effektor-T-Zell-Subtypen, Th1 und Th17, vermittelt (ZHANG und ZHANG, 2023; DERLUYN et al., 2024; PENG et al., 2024). Lange Zeit wurde die IL-12-abhängige Th1-Zell-vermittelte Immunantwort unter Produktion von IFN-γ als wichtigster Treiber der Pathogenese der EAU angesehen (CASPI et al., 1996; XU et al., 1997; LUGER et al., 2008; ZHONG et al., 2021). Jedoch wurde in murinen Modellen gezeigt, dass auch Th17-Zellen uveitogenes Potenzial haben (AMADI-OBI et al., 2007; LUGER et al., 2008; GU et al., 2024; ZHANG et al., 2024a). Naive Mäuse entwickelten sowohl durch den adoptiven Transfer von aktivierten Th1- als auch von Th17-Zellen eine EAU (LUGER et al., 2008). Interessanterweise traten in der IRBP-induzierten EAU Th17-Zellen vermehrt zu Beginn der Erkrankung auf, während Th1-Zellen in späteren Stadien dominierten (AMADI-OBI et al., 2007). Th1-Zellen sezernierten IFN-γ und IL-2, während Th17-Zellen vor allem IL-17 produzierten (ZHONG et al., 2021). Ein IFN-γ-KO in Mäusen verhinderte die EAU-Entwicklung nicht, da der adoptive Transfer von

Th17-Zellen dennoch eine Erkrankung induzierte (LUGER et al., 2008). Dies deutet darauf hin, dass IL-17 in der Pathogenese der murinen EAU eine zentrale Rolle spielt (LUGER et al., 2008; BANSAL et al., 2015; ZHANG et al., 2024a). In der durch die Injektion antigenbeladener dendritischer Zellen induzierten EAU hingegen dominierte eine Th1-Immunantwort (TANG et al., 2007). Für die ERU wird bisher von einer primär Th1-vermittelten Immunantwort ausgegangen, während die Rolle von Th17-Zellen noch nicht geklärt ist (REGAN et al., 2012; SALDINGER et al., 2020). Dies liegt wahrscheinlich an unterschiedlichen pathogenetischen Mechanismen, sowie einer anderen Art der T-Zell-Aktivierung zwischen spontaner und induzierter Uveitis: bei der klassischen EAU wird das Autoantigen von durch das Adjuvans stimulierten APZ in den drainierenden Lymphknoten der Einstichstelle naiven T-Zellen präsentiert. (BANSAL et al., 2015). In der durch antigenbeladene dendritische Zellen induzierte EAU werden periphere T-Zellen durch den direkten Kontakt mit diesen gegen retinale Antigene aktiviert (TANG et al., 2007). Beide Mechanismen spielen in den natürlich vorkommenden Uveitis-Formen bei Pferden und Menschen keine Rolle. Welche APZ und welche Mechanismen die Aktivierung der autoraktiven $CD4^+$ T-Zellen bei der ERU sowie bei der autoimmunen Uveitis des Menschen *in vivo* auslösen, ist bis heute nicht bekannt (Stand der PubMed-Recherche: Februar 2025).

Während im Pferd und im Menschen verschiedene Autoantigene und Epitope an der Pathogenese der autoimmunen Uveitis beteiligt sind (siehe Kapitel 2.3 und 2.4.1), sind die aktivierten T-Zellen in der EAU lediglich gegen das eine retinale Autoantigen gerichtet, mit dem das Versuchstier immunisiert wurde (WU et al., 2023). Außerdem existieren signifikante Unterschiede zwischen dem Immunsystem von Menschen, Mäusen und Pferden (MESTAS und HUGHES, 2004; KARAGIANNI et al., 2021), was Ergebnisse aus der induzierten EAU nur beschränkt translational relevant macht. Die meisten EAU-Modelle sind zudem monophasisch, nicht spontan und erfordern zusätzlich eine Stimulation der adaptiven Immunantwort im Gegensatz zur natürlich vorkommenden rezidivierenden Form des Pferdes und des Menschen (AGARWAL et al., 2012; GILGER, 2018).

Um dem spontanen Charakter der autoimmunen Uveitis des Menschen näher zu kommen, wurden murine Modelle etabliert, die spontan eine EAU entwickeln (CHEN et al., 2013). R161H transgene Mäuse exprimieren einen T-Zell-Rezeptor, der spezifisch für eine Aminosäuresequenz von IRBP ist und entwickeln im Alter von fünf

bis sechs Wochen spontan eine intraokuläre Entzündung (CHEN et al., 2013; HORAI et al., 2013). Interessanterweise zeigen R161H-Mäuse im Verlauf der EAU die Bildung ektopischer tertiärer Lymphfollikel in der Retina, ein pathologisches Merkmal, das auch in der ERU des Pferdes beobachtet wurde (KIELCZEWSKI et al., 2016; KLEINWORT et al., 2016). Außerdem entsteht eine spontane Uveitis bei AutoImmun-Regulator-(AIRE) Knockout Mäusen (CHEN et al., 2013). AIRE spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung der zentralen Toleranz des Immunsystems, indem es die Expression retinaler Autoantigene wie IRBP und S-Antigen im Thymus reguliert (ANDERSON et al., 2002; DEVOSS et al., 2006; GERY und CASPI, 2018; MILLER et al., 2024). Durch die Präsentation dieser Antigene im Thymus werden autoreaktive T-Zellen, die auf körpereigene Strukturen reagieren, eliminiert, bevor sie in die Peripherie gelangen können (MICHELSON et al., 2022; KLEIN und PETROZZIELLO, 2025). In AIRE-Knockout Mäusen fehlt diese zentrale Toleranz, da IRBP und S-Antigen im Thymus nicht adäquat exprimiert werden, wodurch gegen Autoantigene gerichtete T-Zellen nicht negativ selektiert werden und somit im peripheren Immunsystem persistieren (DEVOSS et al., 2006; CHEN et al., 2013). Daher entwickeln die AIRE-Knockout Mäuse eine Multiorgankrankheit mit Uveoretinitis (CHEN et al., 2015). Die spontanen EAU-Modelle verlaufen chronisch progressiv mit einer länger andauernden Phase retinaler Entzündung nach dem initialen Peak, weisen aber genau wie die klassische EAU im Gegensatz zur natürlich vorkommenden Uveitis im Pferd und im Menschen keinen rezidivierenden Charakter auf (CHEN et al., 2015). Die klassische EAU zeigt eine schnell einsetzende, hochgradige Entzündung, die allerdings innerhalb von vier bis fünf Wochen final abklingt (CHEN et al., 2015).

Die Bedeutung der Expression retinaler Antigene im Thymus wurde bereits früh anhand experimenteller Modelle belegt: In EAU-empfänglichen Mauslinien konnte keine IRBP-Expression im Thymus nachgewiesen werden, ebenso wenig in den Thymi der für EAU empfänglichen Lewis-Ratten, in denen weder IRBP noch S-Antigen detektiert wurde (EGWUAGU et al., 1997). Die im Thymus aufgebaute zentrale Toleranz gegen Autoantigene allein ist jedoch nicht ausreichend, um das Vorkommen autoreaktiver T-Zellen in der Peripherie zu verhindern, weshalb der Mechanismus der peripheren Toleranz zu tragen kommt (BROWN und RUDENSKY, 2023). Diese autoreaktiven T-Zellen kommen, wie in murinen Modellen gezeigt wurde, in

der Peripherie durch toleranzgenerierenden APZ, darunter zählen spezielle dendritische Zellen oder Familie der Retinoic Acid Receptor-related Orphan Receptor γt (RORγt)$^+$ APZ, mit den Autoantigenen in Kontakt (AKAGBOSU et al., 2022; BROWN und RUDENSKY, 2023; ABRAMSON et al., 2024). Ohne pro-inflammatorische Trigger, wird durch diese APZ eine T-Zell-Toleranz eingeleitet (LIU et al., 2002; ABRAMSON et al., 2024). Diese Toleranz entsteht in Mäusen unter anderem dadurch, dass die T-Zelle ihr spezifisches Antigen über den T-Zell-Rezeptor erkennt, jedoch aufgrund fehlender ko-stimulatorischer Signale durch die periphere professionelle APZ in einen Zustand der Anergie versetzt wird (ELTANBOULY und NOELLE, 2021; BECKERS et al., 2024). Nachdem die retinalen Antigene in der Peripherie nicht für naive autoreaktive T-Zellen erreichbar exprimiert werden, kommt der Mechanismus der peripheren Toleranz für okuläre Antigene nicht zu tragen (GERY und CASPI, 2018). Inwieweit diese toleranzgenerierenden Mechanismen auch auf Pferde zutreffen und wie die autoimmune Aktivierung der CD4$^+$ T-Zellen gegen retinale Autoantigene bei der Pathogenese der ERU abläuft, müssen zukünftige Studien klären.

2.5 Differenzielle Proteomanalyse mit hypothesengetriebener Auswertung

Der Begriff „Proteom“ umfasst die Gesamtheit aller Proteine, die zu einem bestimmten Zeitpunkt in einer Zelle, einem Gewebe, einem Organ oder einem Organismus exprimiert werden. Es reflektiert die Expression des Genoms, ist jedoch hochdynamisch und passt sich internen sowie externen Einflüssen an (HUTTLIN et al., 2021; ZHAO et al., 2023). Damit definiert das Proteom den funktionellen Zustand und Phänotyp der Zelle (AEBERSOLD und MANN, 2016; BRUNNER et al., 2022). Ein Gen kann mehrere Proteinformen hervorbringen, was die funktionelle Vielfalt einer Zelle erheblich erweitert (BLUDAU und AEBERSOLD, 2020). Diese Diversität entsteht unter anderem durch alternatives Spleißen auf RNA-Ebene und durch post- und ko-translationale Proteinmodifikationen (HARPER und BENNETT, 2016; WANG et al., 2022a; LU et al., 2024). Zudem beeinflussen variabel zusammengesetzte Proteinkomplexe und die subzelluläre Lokalisation die Funktion von Proteinen, da diese je nach ihrer Position unterschiedliche Aufgaben erfüllen können (HARPER und

BENNETT, 2016; GILLANI und POLLASTRI, 2024). Zur Untersuchung des Proteoms werden häufig massenspektrometrische Methoden eingesetzt (FEDOROV et al., 2024). Dadurch können selbst komplexe Proteingemische zuverlässig identifiziert und quantifiziert werden (FEDOROV et al., 2024). Um Unterschiede zwischen zwei oder mehreren Zuständen zu untersuchen, bespielweise zwischen gesunden und pathologisch veränderten Zellen, eignen sich besonders quantitative differenzielle Proteom-Analysen (SCHMALEN et al., 2021; DEGROOTE et al., 2023; ZHOU et al., 2024). Darüber hinaus können mittels quantitativer proteomischer Verfahren neue Krankheitsassoziierter Biomarker identifiziert werden (LORENZ et al., 2021a; DEGROOTE et al., 2023; DUDA et al., 2024; HU et al., 2024; ZHANG et al., 2024b). Die Proteom-Analyse mittels Massenspektrometrie basiert auf der Messung des Masse-zu-Ladungsverhältnisses (m/z) ionisierter Moleküle (SHUKEN, 2023). In der „Bottom-Up“-Proteomik wird die Probe vor der Analyse durch das Massenspektrometer durch enzymatischen Verdau in kleine Peptide gespalten (SHAO und LAM, 2017). Für diesen enzymatischen Verdau wird häufig Trypsin eingesetzt, das Peptidbindungen nach Lysin und Arginin schneidet (SHUKEN, 2023). Diese spezifischen enzymatischen Trennmuster erleichtern die spätere Identifizierung der Peptide (SHUKEN, 2023). Ein Massenspektrometer besteht aus einer Ionenquelle, einem Massenseparator zur Bestimmung des m/z der Ionen und einem Detektor, der die Anzahl der Ionen pro m/z erfasst (GARG und ZUBAIR, 2025). Um eine Probe zu ionisieren, werden häufig die Elektrospray-Ionisierung (FENN et al., 1989) oder die Matrix-assistierte Laser-Desorption/Ionisierung (MALDI) (KARAS et al., 1985) eingesetzt (ROZANOVA et al., 2021). Dabei hängt die Sensitivität des Massenspektrometers von der Fähigkeit des Massenseparators ab, die Ionen effektiv aufzutrennen (ROZANOVA et al., 2021). Gängige Separatoren sind Ionenfallen, Time-of-Flight-Separatoren, Quadrupole oder die Fourier-Transform-Ion-Cyclotron-Resonanz (ROZANOVA et al., 2021; SHUKEN, 2023).

Zur detaillierteren Analyse komplexer Proteingemische wird häufig die Flüssigkeitschromatographische Tandem-Massenspektrometrie (*engl.* Liquid Chromatrography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry, LC-MS/MS) eingesetzt (AEBERSOLD und MANN, 2003). Dabei wird die Probe zunächst durch die Flüssigkeitschromatrographie gemäß ihrer Hydrophobizität aufgetrennt und anschließend durch zwei hintereinander geschaltete Massenseparatoren analysiert (ROZANOVA et al., 2021; SHUKEN, 2023). In der ersten Messung werden Massen intakter Peptide bestimmt

(SHUKEN, 2023). In der zweiten Messung werden spezifische Ionen ausgewählt (sogenannte Vorläuferionen), durch Kollision mit Gas fragmentiert Kollisions-induzierte Dissoziation und die Masse der Fragmente bestimmt (SHUKEN, 2023). Bei der Kollisions-induzierten Dissoziation entstehen durch die Spaltung der Peptidbindungen geladene Fragmentionen, deren Masse und Ladung Rückschlüsse auf die Peptidsequenz ermöglichen (ZHANG et al., 2010; STECKEL et al., 2023). Die durch den Detektor aufgezeichneten Massenspektren zeigen Peaks, die Rückschlüsse auf das m/z und Intensität der Peptidfragmente zulassen (ZHANG et al., 2010; SHUKEN, 2023). Diese Peaks werden bioinformatisch mit theoretischen Spektren aus Proteinsequenz-Datenbanken abgeglichen, um die Peptidsequenzen zu identifizieren und den jeweiligen Proteinen zuzuordnen (SHAO und LAM, 2017; WALMSLEY et al., 2024). Die Quantifizierung der Peptide kann entweder Label-frei oder Label-basiert erfolgen (YIN und ZHU, 2023; GUZMAN et al., 2024; VIRÁG et al., 2024). Im Label-freien Ansatz wird die Proteinmenge anhand der Anzahl der Spektren oder der Intensität der Peaks bestimmt (ROZANOVA et al., 2021; GUZMAN et al., 2024). Die Gesamtproteinmenge unterschiedlicher Proben muss dabei normalisiert werden, um Vergleiche zwischen den Proben zu ermöglichen (HAUCK et al., 2010; ROZANOVA et al., 2021). Bei der Label-basierten Methodik kommen isotopische Markierungsreagenzien zum Einsatz, die die gleichzeitige Quantifizierung mehrerer biologischer Proben im selben Massenspektrum ermöglichen (SHUKEN, 2023). Peptide werden für die Quantifizierung isotopisch markiert, ohne dass ihre chemischen Eigenschaften verändert werden (ROZANOVA et al., 2021; VIRÁG et al., 2024). Label-basierte Quantifizierungsverfahren zeichnen sich durch eine hohe Präzision aus, sind jedoch aufgrund der hohen Kosten und des technischen Aufwands in der Anzahl der analysierbaren Proben limitiert (ROZANOVA et al., 2021; VIRÁG et al., 2024). Label-freie Methoden eignen sich für größere Probenmengen und ermöglichen die Identifikation und Analyse der Proteine in ihrem unveränderten Zustand (ROZANOVA et al., 2021).

In einer Spezies wie dem Pferd, für die nur wenige spezies-spezifische Antikörper verfügbar sind, bietet die differenzielle Proteomanalyse mittels Massenspektrometrie eine vielversprechende Methode zur umfassenden Untersuchung pathophysiologischer Mechanismen (TESENA et al., 2021; LORENZ et al., 2021b; DEGROOTE et al., 2023; CLARKE et al., 2024). Differenzielle Proteomanalysen haben bereits

einen signifikanten Beitrag zur Aufklärung pathophysiologischer Prozesse in der Pathogenese der ERU geleistet (DEGROOTE et al., 2014; DEGROOTE et al., 2017; SCHAUER et al., 2018). Auch wenn Label-freie proteomische Untersuchungen erste Hinweise auf die immunologische Kapazität von eqRMG und ihre Beteiligung an der Pathogenese der ERU geliefert haben (HAUCK et al., 2007; HAUCK et al., 2010; HAUCK et al., 2012; LORENZ et al., 2021a; LORENZ et al., 2021b), ist ihre immunologische Rolle bislang weitgehend unklar. Eine detaillierte Charakterisierung dieser Zellen ist daher essenziell, um die Immunpathogenese der ERU, sowie die Rolle des Zielorgans Retina zu verstehen. Um zu analysieren, wie sich die gesunde Müllerzelle im Verlauf der ERU verändert, wurde im Rahmen dieser Arbeit ein hochauflösender, quantitativer, Label-freier differenzieller Proteomik-Ansatz gewählt. Dieser Ansatz ermöglicht eine umfassende Analyse der Proteinexpression im gesunden sowie im uveitischen Zustand und liefert detaillierte Einblicke in die spezifischen Veränderungen, die mit der Aktivierung und Funktion der Müllerzellen im Krankheitsverlauf einhergehen.

3 PUBLIKATION

Titel

Differential Expression of ARG1 and MRC2 in Retinal Müller Glial Cells during Autoimmune Uveitis

Autoren

Amelie B. Fleischer, Barbara Amann, Christine von Toerne, Roxane L. Degroote, Adrian Schmalen, Tanja Weißer, Stefanie M. Hauck und Cornelia A. Deeg

Journal

Biomolecules

Status

Published
Biomolecules. 2025; 15(2), 288.
doi: 10.3390/biom15020288
https://doi.org/10.3390/biom15020288

biomolecules

MDPI

Article

Differential Expression of ARG1 and MRC2 in Retinal Müller Glial Cells During Autoimmune Uveitis

Amelie B. Fleischer [1], Barbara Amann [1], Christine von Toerne [2], Roxane L. Degroote [1], Adrian Schmalen [1], Tanja Weißer [1], Stefanie M. Hauck [2] and Cornelia A. Deeg [1,*]

[1] Chair of Physiology, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, D-82152 Martinsried, Germany; tanja.weisser@tiph.vetmed.uni-muenchen.de (T.W.)
[2] Metabolomics and Proteomics Core, Helmholtz Center Munich, German Research Center for Environmental Health, D-80939 Munich, Germany
* Correspondence: cornelia.deeg@lmu.de

Abstract: Retinal Müller glial cells (RMG) play a crucial role in retinal neuroinflammation, including autoimmune uveitis. Increasing evidence supports their function as active modulators of immune responses and potential atypical antigen-presenting cells (APCs). To further investigate this hypothesis, we conducted a differential proteome analysis of primary equine RMG from healthy controls and horses with equine recurrent uveitis (ERU), a spontaneous model of autoimmune uveitis. This analysis identified 310 proteins with differential abundance. Among these, the Major Histocompatibility Complex (MHC) class II and the enzyme Arginase 1 (ARG1) were significantly enriched in RMG from uveitis-affected horses, whereas Mannose Receptor C-type 2 (MRC2) and its interactor Thrombospondin 1 (THBS1) were more abundant in healthy RMG. The detection of MHC class II in equine RMG, consistent with previous studies, validates the robustness of our approach. Furthermore, the identification of ARG1 and MRC2, together with THBS1, provides new insights into the immunomodulatory and antigen-presenting properties of RMG. Immunohistochemical analyses confirmed the proteomic findings and revealed the spatial distribution of ARG1 and MRC2. ARG1 and MRC2 are thus markers for RMG in the neuroinflammatory or physiological milieu and highlight potential differences in the immune function of RMG, particularly in antigen presentation.

Keywords: Retinal Müller glial cells (RMG); retinal neuroinflammation; equine recurrent uveitis (ERU); autoimmune uveitis; major histocompatibility complex class II (MHC class II); Arginase 1 (ARG1); mannose receptor C-type 2 (MRC2); Thrombospondin 1 (THBS1); atypical antigen presenting cell (APC); ocular immune privilege

check for updates

Academic Editor: Zhongjie Fu

Received: 16 December 2024
Revised: 11 February 2025
Accepted: 13 February 2025
Published: 14 February 2025

Citation: Fleischer, A.B.; Amann, B.; von Toerne, C.; Degroote, R.L.; Schmalen, A.; Weißer, T.; Hauck, S.M.; Deeg, C.A. Differential Expression of ARG1 and MRC2 in Retinal Müller Glial Cells During Autoimmune Uveitis. *Biomolecules* **2025**, *15*, 288. https://doi.org/10.3390/biom15020288

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Retinal Müller glial cells (RMGs), the resident macroglial cells of the retina, have gained increasing attention in ophthalmic research due to their involvement in a wide range of retinal diseases [1–5]. RMGs span the entire thickness of the retina, from the outer limiting membrane (OLM) to the inner limiting membrane (ILM), contributing to the blood–retinal barrier (BRB) [6], regulating retinal water, pH, and ion homeostasis [7–9], and participating in neurotransmitter recycling in the healthy retina [10,11]. During retinal inflammation, RMG transition to a gliotic state with dual characteristics: initially ensuring neuroprotection but later contributing to neural damage [12–14]. Given their unique structure, extending across the entire retina, RMGs serve as central mediators of communication, interacting with neighboring retinal cells and infiltrating immune cells during retinal homeostasis and inflammation [15].

Under inflammatory conditions, as demonstrated primarily in rodent in vitro-models and other species, RMGs adopt a multifaceted inflammatory phenotype. This phenotype is characterized by the secretion of pro-inflammatory cytokines [16–18], the generation of reactive oxygen species (ROSs) [19], the expression of toll- like receptors [20,21], the secretion of chemokines [22,23], and the active participation in the phagocytosis of dying retinal cells [24,25]. However, many aspects of the exact role of RMG in retinal inflammation remain to be elucidated.

Autoimmune uveitis is a sight-threatening autoimmune disease and a significant cause of visual impairment in humans [26,27]. The pathogenesis of autoimmune uveitis is driven by autoreactive $CD4^+$ T cells from the periphery, which cross an impaired BRB, infiltrate the immune-privileged inner eye, and target retinal autoantigens, causing detrimental inflammation and destruction [28]. Equine recurrent uveitis (ERU), a condition affecting horses worldwide [29–31], represents the only spontaneous animal model that collectively displays the clinical and pathophysiological hallmarks of autoimmune uveitis in humans, such as its relapsing-remitting character and $CD4^+$ T cell-driven autoimmune etiology [32–34]. Furthermore, the immune systems of horses and humans are relatively similar [35,36]. By contrast, murine models of autoimmune uveitis are mostly non-recurrent [37], making them unsuitable for examining the relapsing nature of autoimmune uveitis observed in humans. Patients with autoimmune uveitis remain at risk of vision loss due to the lack of targeted therapeutic interventions, as uveitis pathogenesis is multifactorial and not fully understood [27]. Consequently, new insights into ERU pathogenesis, particularly the identification of novel markers for retinal inflammation, are of high translational relevance.

While it is known that $CD4^+$ T cells drive disease pathogenesis in humans [38], mice [39], rats [40], and horses [41–43], it remains unclear how these T cells are activated—not only in the periphery but also within the eye itself. In uveitis, $CD4^+$ T cells specifically target retinal autoantigens [43,44], which remain stably expressed, even as retinal integrity is destroyed in advanced stages of the disease [45]. This stability might contribute to the progressive and relapsing nature of ERU [45]. The exact triggers for these recurrent inflammatory episodes remain unknown to date. Antigen presentation by antigen-presenting cells (APCs) within the eye, via Major Histocompatibility Complex (MHC) class II, is critical for initiating immune responses by infiltrating $CD4^+$ T cells [46]. However, the APC responsible for initiating and sustaining the $CD4^+$ T cell response and retinal immunity in autoimmune retinal inflammation has not yet been precisely defined [46]. Notably, microglia, the retina's resident immune cells, can express MHC class II in inflammatory settings, including autoantigen-induced experimental autoimmune uveitis (EAU) in mice [47,48]. While microglia have been proposed to play a part in initiating the immune response in EAU, their presence is not essential to sustain and prolong retinal inflammation and the $CD4^+$ T cell response [49]. Moreover, it remains uncertain whether resident retinal microglia are capable of antigen presentation during autoimmune uveitis [46,50]. This uncertainty has sparked growing interest in other retinal cells that may contribute to and sustain the inflammatory process, with RMGs emerging as potential atypical APCs.

Given the unique position of RMGs in the retina and their integration into the BRB, infiltrating immune cells are likely to come in contact with activated RMG [51]. Our research has shown that RMGs actively secrete Interferon γ (IFN-γ) in the course of ERU, a hallmark T helper (Th) 1 cell cytokine, thereby triggering retinal inflammation and influencing the retinal immune environment [16]. Interestingly, MHC class II expression during ERU was shown in RMG [41] and in human patients with subretinal fibrosis and uveitis syndrome [52]. More recent studies have demonstrated that primary stimulated RMGs can express hallmark proteins of antigen presentation and T cell co-stimulation in vitro [17,53]. In murine models of EAU, increased MHC class II abundance in RMGs

supports the hypothesis that these cells may not only present antigens but also recruit leukocytes during retinal inflammation [50,51]. While these findings highlight the versatile functions of RMG under pro-inflammatory conditions and in murine models, their precise role in autoimmune uveitis remains poorly understood. To address this gap, the primary objective of this study was to investigate the protein expression profile of RMG in both healthy and diseased states and to define markers to distinguish between these two phenotypes. By distinguishing activated uveitic RMG from their healthy counterparts, we aimed to uncover the molecular mechanisms driving the breakdown of ocular immune privilege during the progression of autoimmune uveitis. Through differential proteome analysis, we provide new insights into the role of RMG in retinal neuroinflammation and disease pathogenesis.

2. Material and Methods

2.1. Retinal Specimen

For this study, we used a total of ten control and eleven ERU-diseased eyes. In particular, three healthy and three uveitic eyes were used for the preparation of primary RMG and differential proteome analysis (n = 3 biological replicates per group, with n = 1 technical replicate per sample). For immunohistochemical analysis, we used seven healthy control eyes and eight uveitic eyes obtained from our tissue biobank [7]. The immunohistochemical analysis was conducted with one technical replicate per sample. For the immunohistochemical analysis of Arginase 1 (ARG1) staining, we used six healthy and six diseased eyes (n = 6 biological replicates per group). For the immunohistochemical analysis of Mannose Receptor C-type 2 (MRC2) staining, we used five healthy and five diseased eyes (n = 5 biological replicates per group). Some of the samples were used for both immunohistochemical experiments, but not all. Healthy control eyes were collected from a local abattoir. The collection and use of equine eyes from the abattoir and cooperating equine clinics for the purpose of scientific research was approved by the corresponding board of the veterinary inspection office, Munich, Germany (permit number: DE-09-184-0063-21). Uveitic eyes were obtained from horses undergoing enucleation for therapeutic purposes in collaboration with local veterinary clinics. Clinical diagnoses of uveitis were made by experienced veterinary ophthalmologists based on a documented history of at least three relapsing-remitting inflammatory episodes and clinical symptoms consistent with uveitis [54]. All procedures adhered to ethical principles and guidelines for scientific experiments on animals, following the ARVO Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research. Importantly, no experimental animals were used in this study.

2.2. Differential Proteome Analysis

To prepare primary RMGs, eyes were processed immediately after enucleation. Residual tissue was removed, and the eyecups were disinfected with 80% ethanol. Under sterile conditions, eyeballs were opened circumferentially to expose the posterior chamber. Retinas were carefully separated from the vitreous and retinal pigment epithelium, mechanically disintegrated with micro scissors, and enzymatically digested with papain (Carl Roth, Karlsruhe, Germany) for 30 min at 37 °C. Papain was activated by incubation with 1.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 0.067 mM mercaptoethanol, and 5.5 mM cysteine HCl (all reagents: Merck, Darmstadt, Germany) for 40 min at 37 °C. The enzymatic reaction was stopped by adding Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Pan Biotech, Aidenbach, Germany), supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS, Merck, Darmstadt, Germany). The cells were triturated after adding deoxyribonuclease I (Merck, Darmstadt, Germany) and then collected by centrifugation. After collection, the cells were resuspended in DMEM supplemented with 10% FBS and 1% penicillin-streptomycin (P/S, Pan Biotech, Aidenbach, Germany) and

seeded into six-well plates (Sarstedt, Nümbrecht, Germany). Non-adherent cells were removed after 24 h, and the medium was replaced repeatedly to obtain pure RMG cultures, as previously described [55]. Once 80–100% confluency was reached, cells were split into 75 cm^2 flasks using 1 mM trypsin EDTA (Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Germany) and cultured at 5% CO_2 and 37 °C. The second passage of each cultured flasks was used, and cells were cultured for two weeks. Supernatants were routinely tested for contamination with *Mycoplasma* spp. via PCR (Bio-Techne, Wiesbaden, Germany), yielding negative results. To remove residual FBS, cells were washed twice with serum-free DMEM containing 1% P/S, followed by a one-hour incubation in the same medium. Cells were then incubated overnight (~16 h) in serum-free DMEM with 1% P/S to prevent interference from FBS-derived cytokines in cell–cell communication. Following incubation, cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS), lysed in PBS containing 1% Nonidet P40 (Roche, Grenzach-Wyhlen, Germany), and detached using a cell scraper. Lysates were transferred to low-binding tubes (Sarstedt, Nümbrecht, Germany), vortexed repeatedly, and intermittently incubated on ice.

2.3. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS/MS) and Quantitative Analysis

Protein concentration was determined using Pierce BCA protein assay (Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Germany). A total of 10 µg of each sample were digested with Lys-C and trypsin using a modified filter-aided sample preparation (FASP) procedure, as previously described [56,57]. Equal peptide amounts per sample were measured on a Q-Exactive HF-X mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) coupled online to an Ultimate 3000 nano-RSLC (Thermo Fisher Scientific, Dionex, Waltham, MA, USA). Tryptic peptides were automatically loaded on a C18 trap column (300 µm inner diameter × 5 mm, Acclaim PepMap100 C18, 5 µm, 100 Å, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) prior to C18 reversed-phase chromatography on the analytical column (nanoEase MZ HSS T3 Column, 100 Å, 1.8 µm, 75 µm × 250 mm, Waters, Rydalmere, NSW, Australia) at 250 nL/min flow rate in a 95 min non-linear acetonitrile gradient from 3 to 40% in 0.1% formic acid. Profile precursor spectra from 300 to 1500 m/z were recorded at 60,000 resolution with an automatic gain control target of 3×10^6 and a maximum injection time of 30 ms. Subsequently, TOP15 fragment spectra of charges 2 to 7 were recorded at 15,000 resolution with an AGC target of 1×10^5, a maximum injection time of 50 ms, an isolation window of 1.6 m/z, normalized collision energy of 28, and a dynamic exclusion of 30 s.

2.4. Protein Identification, MS Label-Free Quantification

Peptide and protein identification were carried out using Proteome Discoverer 2.5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) via a Sequest HT database search against the Ensembl horse database (Release 75: 22491 sequences in Proteome Discoverer), including human gene name orthologues for equine genes as defined by the HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC). Full tryptic specificity was applied, allowing one missed cleavage. The precursor mass tolerance was set to 10 ppm, and the fragment mass tolerance was set to 0.02 Da. Carbamidomethylation of cysteine was defined as a static modification, while deamidation of asparagine and glutamine, methionine oxidation, and methionine loss with N-terminal acetylation were set as dynamic modifications.

Percolator validated peptide spectrum matches (PSMs) and peptides, accepting only the top-scoring hit for each spectrum with false discovery rates (FDR) < 1% and posterior error probability < 0.05. A Sequest HT Xcorr filter threshold of 1.6 was applied, restricting further analysis to high-confidence matches only. The final protein list adhered to the strict parsimony principle.

Quantification was based on the abundance values of the top three unique peptides, normalized against total abundance to account for sample loading errors. Ratios between

experimental groups were calculated as medians of all sample and peptide comparisons. Statistical significance was determined using background-based *t*-tests as described [58], based on the presumption that expression changes are being examined for a limited number of proteins compared to the total number of proteins quantified. The quantification variability of the non-changing "background" proteins can be used to infer which proteins change their expression in a statistically significant manner. The calculated *p*-values were adjusted for multiple testing using the Benjamini–Hochberg correction [59], resulting in adjusted *p*-values (adj. *p*). Protein identifications supported by fewer than two unique peptides were excluded from the analysis.

2.5. Data Processing, Visualization, and Analysis

Where no human gene orthologue was deposited in the database, equine Accession IDs were used. Statistically significant proteins with an adj. p of $\leq$0.05 were considered differentially abundant with a two-fold abundance change (ERU/healthy ratio more abundant proteins of 2 or higher; ERU/healthy ratio less abundant proteins 0.5 or lower). Abundance ratios were capped at 100 or 0.01. Proteins exclusively quantified in one of the two groups received the maximal or minimal abundance ratio, depending on whether they were exclusively quantified in healthy controls or ERU samples, respectively. To simplify data presentation, reciprocal ratio values were used for proteins more abundant in the healthy state, resulting in abundance ratios of 2 or higher for Healthy/ERU comparisons. To visualize the proteomic data, a Volcano Plot was generated in R (version 4.3.1, R Core Team (2024); Vienna, Austria, https://www.R-project.org, accessed on 3 September 2024) with the ggplot2 package (version 3.5.1).

Pathway enrichment analysis of the differentially abundant proteins (adj. p of $\leq$0.05; ratio ERU/healthy or healthy ERU $\geq$ 2) was conducted with open-source software Reactome (v91, https://reactome.org/, accessed on 24 January 2025). Over-representation of pathways was determined with hypergeometric distribution corrected for false discovery rate (FDR)/adj. *p*-value using the Benjamini–Hochberg correction.

The proteins selected for further analysis were chosen based on their strong association with key biological processes relevant to this study. This includes roles in antigen presentation, immune modulation, and inflammatory pathways. Additionally, proteins with potential immunosuppressive functions and in tissue homeostasis were prioritized to represent the characteristics of healthy cellular states. Potential interactors of the selected proteins were also taken into consideration for better insights into the functional dynamics underlying ERU pathogenesis.

2.6. Verification of Protein Candidates ARG1 and MRC2 from Differential Proteome Analysis via Immunohistochemical Staining

Immunohistochemical staining was performed on paraffin-embedded posterior ocular segments. Eyecups were processed for immunohistochemistry as previously described [60]. Retinal tissue samples were sectioned into 8 µm slices and mounted on coated slides (Superfrost Plus, R. Langenbrinck, Emmendingen, Germany). Heat antigen retrieval was conducted at 99 °C with 0.1 M EDTA-NaOH buffer (pH 8.0) for 15 min, followed by citrate-buffer (pH 6.6) (Merck, Darmstadt, Germany) for an additional 15 min. To minimize non-specific antibody binding, retinal sections were blocked with Tris-buffered saline containing Tween 20 (TBS-T; Tween 20, Merck, Darmstadt, Germany) supplemented with 1% bovine serum albumin (BSA, Serva, Heidelberg, Germany) and 5% goat serum, matching the host species of the secondary antibody. Specific protein detection was performed using specific primary antibodies, as follows. To visualize RMG morphology, monoclonal mouse anti horse-Vimentin (dilution 1:400, Merck, Darmstadt, Germany) was used, followed by staining with a goat anti mouse IgG H+L conjugated to Alexa Fluor 488 (dilution 1:500, In-

Biomolecules **2025**, *15*, 288

vitrogen, Dreieich, Germany). To detect Arginase 1 (ARG1) expression, we used polyclonal rabbit anti-human ARG1 (dilution 1:200, with the antibody targeting an epitope that is 100% homologous to the equine epitope, as stated by the manufacturer, Lifespan Biosciences, Eching, Germany). To assess MRC2 expression, polyclonal rabbit anti-human Mannose Receptor C-type 2 (MRC2) (dilution 1:50, Novus Biologicals, Wiesbaden, Germany) was applied. Sequence homology of the antibody binding site (stated by the manufacturer) to equine MRC2 was confirmed using NCBI's Basic Local Assignment Search Tool (BLAST, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi, accessed on 21 May 2024). To visualize ARG1 and MRC2 staining, a goat anti-rabbit IgG H + L coupled to Alexa Fluor 568 (dilution 1:500, Invitrogen, Dreieich, Germany) was used. Cell nuclei were counterstained with 4′,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, dilution 1:1000 Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Germany). Fluorescent mounting medium (Serva, Heidelberg, Germany) was used to mount the retinal sections with glass coverslips.

2.7. Quantification Protein Candidate Expression in Equine RMG

Fluorescent images were acquired with the Leica DMi8 microscope (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) and quantified with Leica Application Suite X software, version 3.7.4.34563 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Protein expression of ARG1 and MRC2 was quantified as mean fluorescence intensity (MFI) in RMG of healthy controls and ERU-cases. To ensure accurate quantification of spatial expression in RMGs, regions of interest (ROIs) were manually selected to encompass entire RMGs. The localization of RMGs was determined by combining differential interference contrast (DIC) imaging with Vimentin staining.

The factor of MFI values was used to statistically analyze the differences in fluorescence intensity between healthy controls and ERU cases. Gaussian distribution was determined with the Kolmogorov–Smirnov test. As the data were normally distributed, Student's *t* test was employed for statistical analysis. In case of significantly differing variances, the Welch correction was applied to account for these differences accurately. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$, with an asterisk indicating the level of significance ($0.01 < * \, p \leq 0.05$). Data processing, analysis, and visualization were performed using GraphPad Prism version 5.04. Data are presented as mean +/− standard deviation (SD).

3. Results

3.1. Proteomes of RMG Differed Significantly in Healthy and Uveitic State

Differential proteome analysis of primary RMG from healthy and diseased horses revealed a total of 4198 identified and quantified proteins (Figure 1). Among these, 310 proteins exhibited differential abundance between healthy controls and ERU cases (Figure 1; Table S1). Specifically, 211 proteins were significantly more abundant (≥2.0-fold; adj. $p \leq 0.05$) in the uveitic state, while 99 proteins were significantly more abundant (≥2.0-fold; adj. $p \leq 0.05$) in the healthy state (Figure 1; Table S1). Since we were interested in finding novel markers for uveitic and healthy RMG and to further validate our hypothesis of RMG as atypical APC, we selected proteins with associations to processes in antigen presentation, inflammation, and immunomodulation for further analysis (Figure 1).

Among the proteins identified exclusively in RMG from ERU horses were two members of the MHC class II complex family: the MHC class II DR alpha chain (MHC II DRA) and beta chain (MHC II DRB) (Figure 1). These hallmark proteins of APCs were significantly more abundant in the proteome of uveitic RMG (adj. $p \leq 0.0001$) (Figure 1) and were exclusively quantified in diseased RMG (Table 1). Interestingly, ARG1 was also significantly more abundant in the proteome of uveitic RMG compared to healthy controls (adj. $p = 0.0001$) in the proteome of diseased RMG compared to healthy controls (Figure 1), with a 4.9-fold increase in abundance (Table 1). ARG1 is a cytosolic enzyme commonly

Biomolecules **2025**, *15*, 288

recognized as a classical polarization marker for human and murine macrophages in vitro, which are professional APCs [61,62]. To date, its role in ERU has not yet been explored.

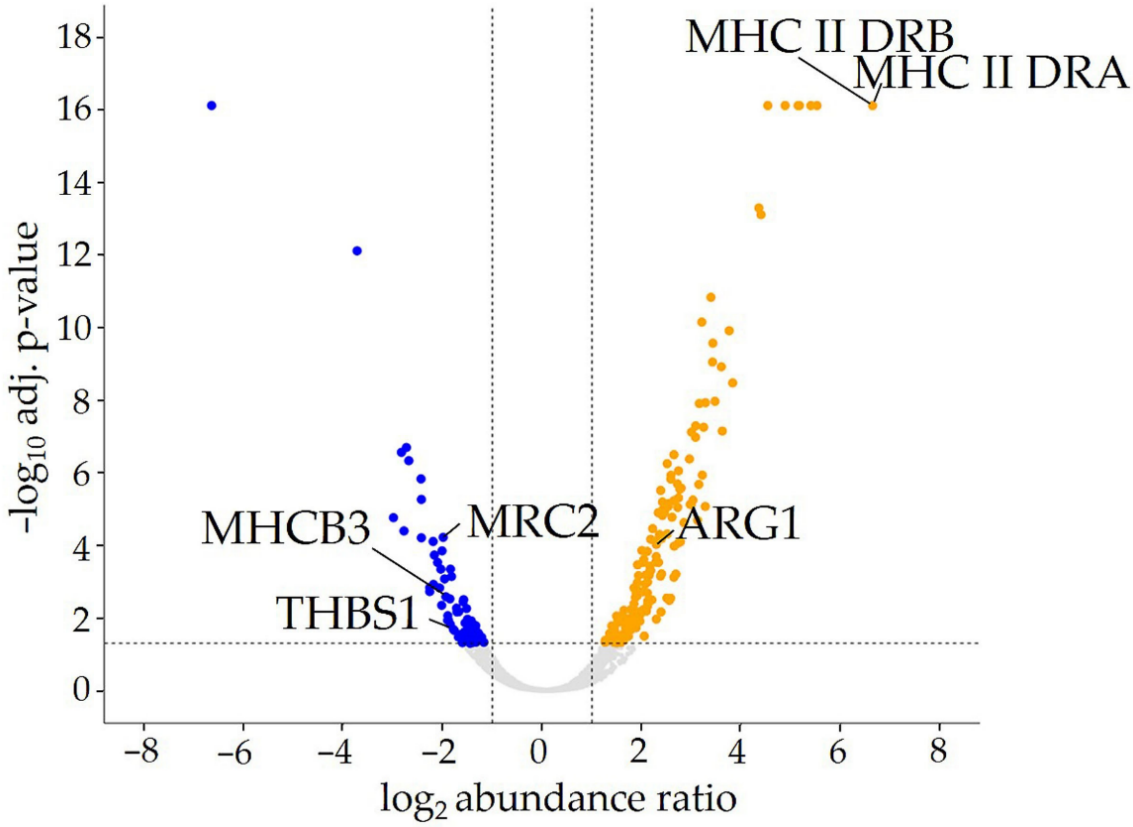

Figure 1. Volcano plot illustrating the differential abundance of proteins between control retinal Müller glial cells (RMG) and RMG from equine recurrent uveitis (ERU) cases. Among the identified proteins, 99 that are significantly more abundant in healthy RMG are marked in blue, while 211 that are more abundant in uveitic RMG are marked in orange. The dotted gray lines indicate thresholds for statistical significance (adj. $p \leq 0.05$) and abundance ratio changes (ERU/healthy ≥ 2 or ERU/healthy ≤ 0.5). Proteins of particular interest are labeled with their corresponding HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) gene symbols.

To investigate how RMG function changes during the progression of ERU and the role of RMG in maintaining the immune privilege of the inner eye, we also examined proteins that were more abundant in healthy RMG and correspondingly lower in uveitic RMG (Table 2). Among these, MHC class I heavy chain (MHCB3) was significantly more abundant in the proteome of healthy RMG (adj. $p = 0.0026$) (Figure 1). MHCB3 abundance is 3.8-fold higher in healthy RMG compared to uveitic RMG (Table 1). MHC class I is expressed by all nucleated cells and is essential in presenting endogenous antigenic peptides on the cell surface [63]. Additionally, it is involved in the cross-presentation of exogenous peptides [63]. Moreover, we found the matricellular protein Thrombospondin 1 (THBS1) to be significantly more abundant in healthy RMG (adj. $p = 0.0148$) in the proteome of healthy RMG compared to uveitic RMG (Figure 1). The abundance of THBS1 was 3.6-fold higher in healthy RMG compared to RMG from uveitis cases (Table 2). Additionally, the transmembrane c-type-lectin- and collagen-receptor MRC2 was significantly more abundant in healthy RMG (adj. $p = 0.0001$; Figure 1), with a 4-fold higher abundance in healthy RMG compared to uveitic RMG (Table 2). Notably, MRC2 has not yet been described in the retina, in RMG or in the context of uveitis. Interestingly, THBS1 has been described as an interactor of MRC2, suggesting a potential functional link between these proteins [64].

Biomolecules **2025**, *15*, 288

Table 1. Proteins of interest with association to the immune system that showed a higher abundance (≥2) in uveitic RMG compared to healthy controls. Proteins that were selected for further analysis are highlighted in bold letters. *p*-values were adjusted with the Benjamini–Hochberg correction to account for multiple comparisons (adj. *p*). Column 1 lists the protein name, while column 2 provides the corresponding gene names, Column 3 (Accession Number) shows the protein accession numbers from the Ensembl horse database (Version 75), Column 4 (Adj. *p*-value) displays the *p*-values adjusted for multiple testing. Column 5 (Ratio ERU/healthy) shows the ratio of protein abundance in ERU RMG compared to healthy control cells.

Protein	Gene Name	Accession Number	Adj. *p*-Value	Ratio ERU/Healthy
Regulatory Factor X5	RFX5	ENSECAP00000022315	7.4294×10^{-17}	100
Serum Amyloid A1	SAA	ENSECAP00000009324	7.4294×10^{-17}	100
Small Ubiquitin-like Modifier 1	SUMO1	ENSECAP00000022200	7.4294×10^{-17}	100
Major Histocompatibilty complex class II antigen DR beta chain	MHC II DRB	ENSECAP00000019909	7.4294×10^{-17}	100
Major Histocompatibilty complex class II antigen DR alpha chain	MHC II DRA	ENSECAP00000010541	7.4294×10^{-17}	100
Toll-like Receptor 3	TLR3	ENSECAP00000000146	7.4294×10^{-17}	100
Recoverin	RCVRN	ENSECAP00000016469	7.4294×10^{-17}	100
S-antigen	SAG	ENSECAP00000012776	7.4294×10^{-17}	100
Interferon Induced Protein 1	IFIT1	ENSECAP00000003048	7.4294×10^{-17}	46
Ly1 Antibody Reactive	LYAR	ENSECAP00000010643	7.4294×10^{-17}	29.6
Interferon-induced Protein 44-like	IFI44L	ENSECAP00000007567	1.1967×10^{-10}	13.6
Interferon-induced protein 44	IFI44	ENSECAP00000006938	1.1796×10^{-9}	12.2
S100 calcium binding protein A7	S100A7	ENSECAP00000006669	2.023×10^{-5}	8.7
Lamin A/C	LMNA	ENSECAP00000009322	5.607×10^{-6}	8.2
Interferon induced with Helicase C Domain 1	IFIH1	ENSECAP00000006405	5.5493×10^{-7}	5.7
ISG15 Ubiquitin-like Modifier	ISG15	ENSECAP00000000924	1.2196×10^{-6}	5.5
Arginase 1	ARG1	ENSECAP00000021081	0.0001	4.9
Neutrophil Cytosolic Factor 1	NCF1	ENSECAP00000012958	0.0201	3.2
Interferon-induced protein 4	IFIT4	ENSECAP00000008012	0.0129	3.2
Proteasome Subunit, Beta Type, 10	PSMB10	ENSECAP00000010204	0.0081	3
CXC Chemokine Motif Ligand 11	CXCL11	ENSECAP00000010001	0.0293	3
Interleukin Enhancer Binding Factor 2	ILF2	ENSECAP00000006934	0.0356	2.5

Biomolecules **2025**, *15*, 288

Table 2. Proteins of interest with an association to the immune system that showed a higher abundance (≥2) in control RMG compared to uveitic RMG. Proteins that were selected for further analysis are highlighted in bold letters. *p*-values were adjusted with the Benjamini–Hochberg correction to account for multiple comparisons (adj. *p*). Column 1 lists the protein name, while column 2 provides the corresponding gene names. Column 3 (Accession number) includes the accession numbers of the identified proteins from the Ensembl horse database (Version 75). Column 4 (Adj. *p*-value) displays the *p*-values, adjusted for multiple testing. Column 5 (Ratio healthy/ERU) shows the ratio of the protein abundance of control cells compared to ERU RMG.

Protein	Gene Name	Accession Number	Adj. *p*-Value	Ratio Healthy/ERU
Matrix Metallopeptidase 19	MMP19	ENSECAP00000008915	7.4294×10^{-17}	100
Integrin, alpha 2	ITGA2	ENSECAP00000022803	1.4549×10^{-6}	5.2
Mannose Receptor C-type 2	MRC2	ENSECAP00000010799	0.0001	4
Major Histocompatibility complex class I heavy chain	MHCB3	ENSECAP00000019780	0.0026	3.8
Thrombospondin 1	THBS1	ENSECAP00000007423	0.0148	3.6
Interleukin 1 Receptor Accessory Protein	IL1RAP	ENSECAP00000004063	0.0478	3
Integrin, beta 5	ITGB5	ENSECAP00000006461	0.0113	2.8
CD63 molecule	CD63	ENSECAP00000017837	0.0119	2.7
Integrin, alpha V	ITGAV	ENSECAP00000020901	0.0201	2.5
Leukocyte Elastase Inhibitor	SERPINB1	ENSECAP00000008115	0.0161	2.5
Cathepsin F	CTSF	ENSECAP00000019741	0.0353	2.4
Catalase	CAT	ENSECAP00000017490	0.0292	2.4

Pathway enrichment analysis was performed on proteins that were differentially abundant in both the diseased and the healthy states. Overrepresented pathways in the diseased state included "Interferon signaling", "Interferon alpha/beta signaling", "Interferon gamma signaling" and "Oxidative Stress Induced Senescence". The significantly enriched pathways (adj. $p \leq 0.05$) are listed in Table S2.

Among the proteins that were not differentially abundant but were still constitutively expressed in RMG, were several costimulatory factors and adhesion molecules, including CD40, intracellular adhesion molecule 1 (ICAM1), CD81, CD9, CD48, and CD58 (Figure S1). Furthermore, lysosome-associated membrane proteins LAMP1 and LAMP2 were also constitutively expressed by RMG although not differentially abundant (Figure S1).

3.2. Spatial Distribution and Expression of ARG1 in Equine RMG with Significantly Higher Expression in Uveitic RMG

Next, we investigated the expression and precise distribution of ARG1 in healthy retinas (Figure 2A, DIC) and retinas from uveitis cases (Figure 2B, DIC). The RMG marker Vimentin was used to show RMG localization and morphology (Figure 2C,D). In this study, our goal was to investigate the early stages of retinal inflammation. In healthy retinas, RMG exhibited a characteristic columnar shape, extending from the ILM to the OLM (Figure 2C). In diseased retinas, RMG appeared more prominent, consistent with the early stages of inflammation, displaying features of a mildly gliotic phenotype (Figure 2D). RMG perikarya are located in the inner nuclear layer (INL) of the retina [9]. The inner stem process (Figure 2, marked with x) and outer stem process extend in opposite directions from the perikaryon [10]. The inner stem process terminates in a funnel-shaped endfoot

(Figure 2, marked with *) in the ganglion cell layer (GCL), adjacent to the ILM [10]. In the outer nuclear layer (ONL), the outer stem process branches into distal processes that envelop the perikarya of photoreceptors [9].

ARG1 expression was detected in both healthy (Figure 2E) and diseased retinas (Figure 2F), with prominent expression in all RMG. Other retinal layers also stained positively for ARG1. In healthy retinas, ARG1 expression outside of RMG was distributed across the distal segment, from the OLM, where it formed a distinct, thin band of expression, to the INL (Figure 2E). Notably, the ONL was markedly positive for ARG1 (Figure 2E). In contrast, uveitic retinas exhibited markedly higher ARG1 expression with a clear shift in both intensity and spatial distribution (Figure 2F). ARG1 in uveitic retinas extended beyond RMG to encompass the outer plexiform layer (OPL), the INL, and parts of the GCL. Notably, the ONL in uveitic retinas displayed a spotted and irregular ARG1 expression pattern (Figure 2F), deviating from the even distribution seen in the healthy ONL (Figure 2E). Furthermore, ARG1 expression was absent in the OLM in uveitic retinas (Figure 2F).

ARG1 was expressed in all healthy RMG, albeit with varying intensities (Figure 3E). In healthy RMG, the endfeet (Figure 2E, marked with *) exhibited moderate ARG1 expression, while expression intensity decreased in the inner stem processes (Figure 2E, marked with x). Expression levels increased again in the perikarya located in the INL and in the distal processes of RMG extending into the ONL (Figure 2E). In uveitic RMG, ARG1 expression was markedly stronger in all RMG (Figure 2F). While most uveitic RMG endfeet exhibited weak ARG1 expression (Figure 2F, marked with *), it was nearly absent in some RMG endfeet (Figure 2F). ARG1 expression increased consistently in the inner stem processes (Figure 2F, marked with x) and perikarya in the INL (Figure 2F). In the ONL, where RMG distal processes are located, ARG1 expression displayed a spotted and irregular pattern (Figure 2F). Overlay images of Vimentin and ARG1 confirmed ARG1 colocalization with RMG in both healthy (Figure 2G) and uveitic retinas (Figure 2H). The altered spatial distribution patterns and elevated expression in uveitic retinas underscore substantial changes in ARG1 expression during retinal neuroinflammation.

ARG1 expression in RMG of healthy horses and ERU cases was quantified by measuring the MFI of immunohistochemical staining. Quantification of the ARG1 expression revealed a 3.3-fold higher expression in uveitic RMG (panel c, red bar, Figure 2) compared to healthy controls (panel c, pink bar, Figure 2). This difference in expression was statistically significant (* $p = 0.0351$).

3.3. Spatial Distribution and Expression of MRC2 in Equine RMG with Significantly Higher Expression in Healthy RMG

We investigated the spatial distribution and expression of MRC2 in healthy retinas (Figure 3A, DIC) and retinas from uveitis cases (Figure 3B, DIC). To the best of our knowledge, MRC2 expression has not been previously reported in the retina of any species. The intermediate filament marker vimentin was used to visualize the localization and morphology of RMG (Figure 3C,D). This study focused on examining RMG during the early stages of inflammatory episodes.

Biomolecules **2025**, *15*, 288

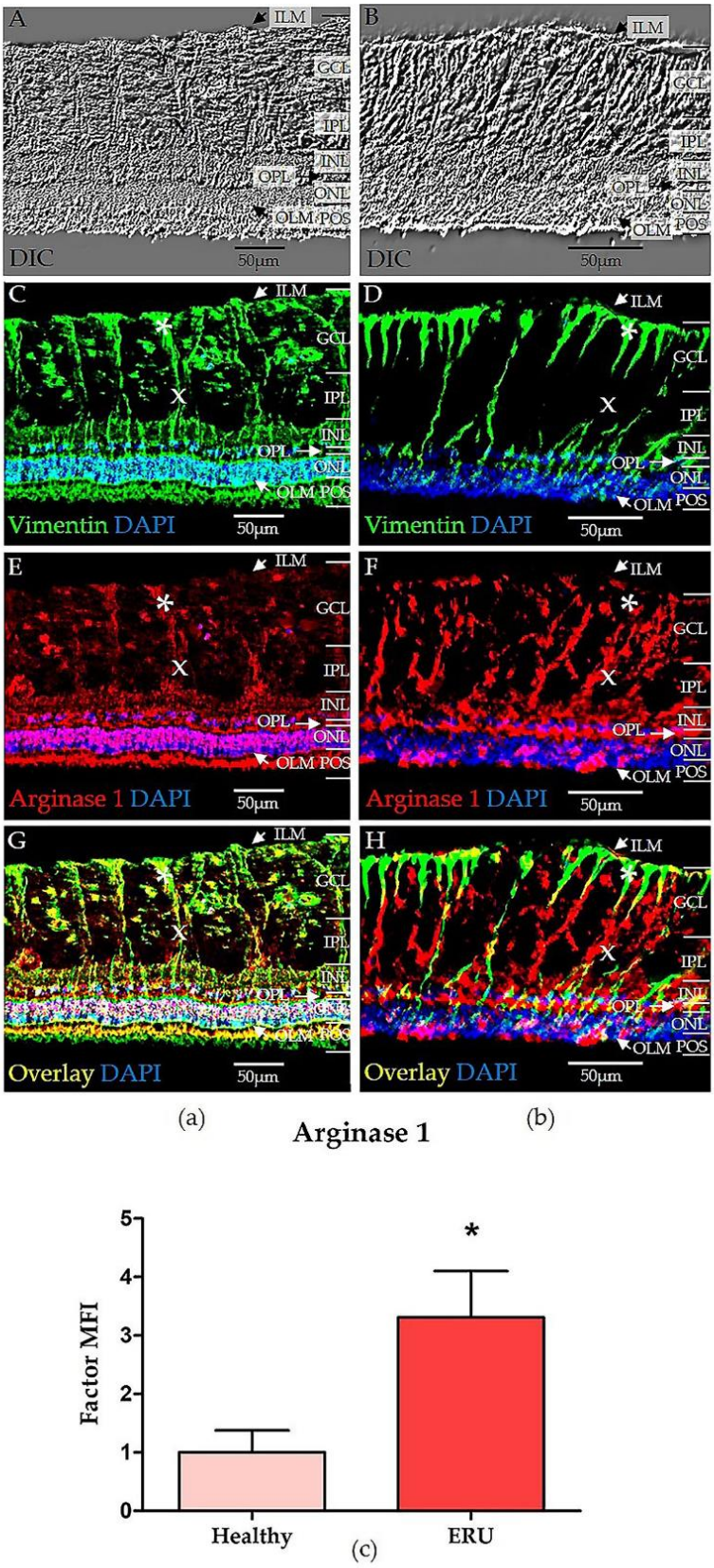

Figure 2. Equine RMG differentially express Arginase 1 (ARG1) in healthy (panel (**a**)) and uveitic states (panel (**b**)). ARG1 expression in RMG was quantified as mean fluorescence intensity of immunohistochemical staining (panel (**c**)). Retinal structure was visualized using differential interference contrast (DIC) microscopy in both healthy (**A**) and diseased (**B**) retinas. Vimentin staining (green) highlighted

Biomolecules **2025**, *15*, 288

RMG structure and morphology in the healthy (**C**) and diseased (**D**) retinas. In diseased retinas, RMG appeared more prominent, indicating the onset of inflammation and exhibiting mild gliosis (**D**). ARG1 expression (red) was observed in both healthy (**E**) and diseased (**F**) retinas, with markedly stronger expression in the diseased retina (**F**). In healthy retinas, ARG1 was evenly distributed from the inner nuclear layer (INL) to the outer limiting membrane (OLM) (**E**). In uveitic retinas, ARG1 expression extended beyond the RMG, encompassing parts of the INL, outer plexiform layer (OPL), and ganglion cell layer (GCL) (**F**). In healthy RMG, ARG1 was moderately expressed in the endfeet (marked with *), perikarya located in the INL, and distal processes in the outer nuclear layer (ONL), while expression was weaker in the inner stem processes (marked with x). In uveitic RMG, ARG1 expression was stronger in the inner stem processes (x) and perikarya in the INL, while it decreased in the endfeet (*) and distal processes in the ONL. The ONL signal in uveitic RMG displayed a spotted pattern (**F**), distinct from the even distribution seen in healthy RMG (**E**). Overlay images of Vimentin (green) and ARG1 (red) confirmed the colocalization of ARG1 with RMG in both healthy (**G**) and uveitic (**H**) retinas. Images were captured at 630× magnification, and cell nuclei were counterstained with 4′,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). Representative images were selected from biological replicates that best displayed the observed expression patterns. ARG1 expression was increased 3.3-fold in uveitic RMG (panel (**c**), red bar, right) compared to healthy controls (panel (**c**), pink bar, left). The difference in expression was statistically significant (* $p = 0.0351$), with the asterisk indicating a level of significance with $0.01 < * \, p \leq 0.05$. The bar plot shows the mean fluorescence intensity (MFI) value ± standard deviation (SD), based on quantification of MFI in RMG from both control and uveitis cases. Retinal layers are listed from the innermost to the outermost layer as follows: inner limiting membrane (ILM); ganglion cell layer (GCL); inner plexiform layer (IPL); inner nuclear layer (INL); outer plexiform layer (OPL); outer nuclear layer (ONL); outer limiting membrane (OLM); photoreceptor outer segments (POS).

In healthy retinas, RMG exhibited their characteristic columnar shape (Figure 3C). In uveitic retinas, RMG retained their columnar morphology but appeared more prominent, consistent with mild gliosis indicative of the early phase of an inflammatory response (Figure 3D). In healthy retinas, MRC2 was strongly expressed in multiple retinal layers and in RMG (Figure 3E). Distinct expression was observed along the OLM and outer plexiform layer (OPL), with even expression detected in the inner plexiform layer (IPL) and ILM (Figure 3E). MRC2 was also strongly expressed in photoreceptor outer segments (POS). In contrast, MRC2 expression was largely absent in most layers of the uveitic retina. Residual expression was confined to certain areas of the ONL and partially to RMG (Figure 3F).

MRC2 expression in healthy RMG was prominent in the endfeet (Figure 3E, marked with *), but slightly reduced in the inner stem processes (Figure 3E, marked with x), and in the cell perikarya within the INL (Figure 3E). Distal processes in healthy RMG exhibited renewed increased MRC2 expression (Figure 3E). In uveitic RMG, however, MRC2 expression showed a marked reduction and altered spatial distribution (Figure 3F). Most RMG displayed MRC2 expression limited to the inner stem processes (Figure 3F, marked with x), with some RMG showing little to no discernible expression (Figure 3F). The observed reduction and altered distribution of MRC2 in uveitic RMG highlight a significant contrast to the healthy retina, emphasizing the impact of inflammation on MRC2 expression.

To quantify the altered expression of MRC2 in equine RMG, we measured the expression of MRC2 as MFI of immunohistochemical staining in both healthy and diseased specimens. MRC2 expression was 3.7-fold higher in healthy RMG (Figure 3, panel c, pink bar) compared to uveitic RMG (Figure 3, panel c, red bar). The difference in expression was statistically significant (* $p = 0.0169$).

Biomolecules **2025**, *15*, 288

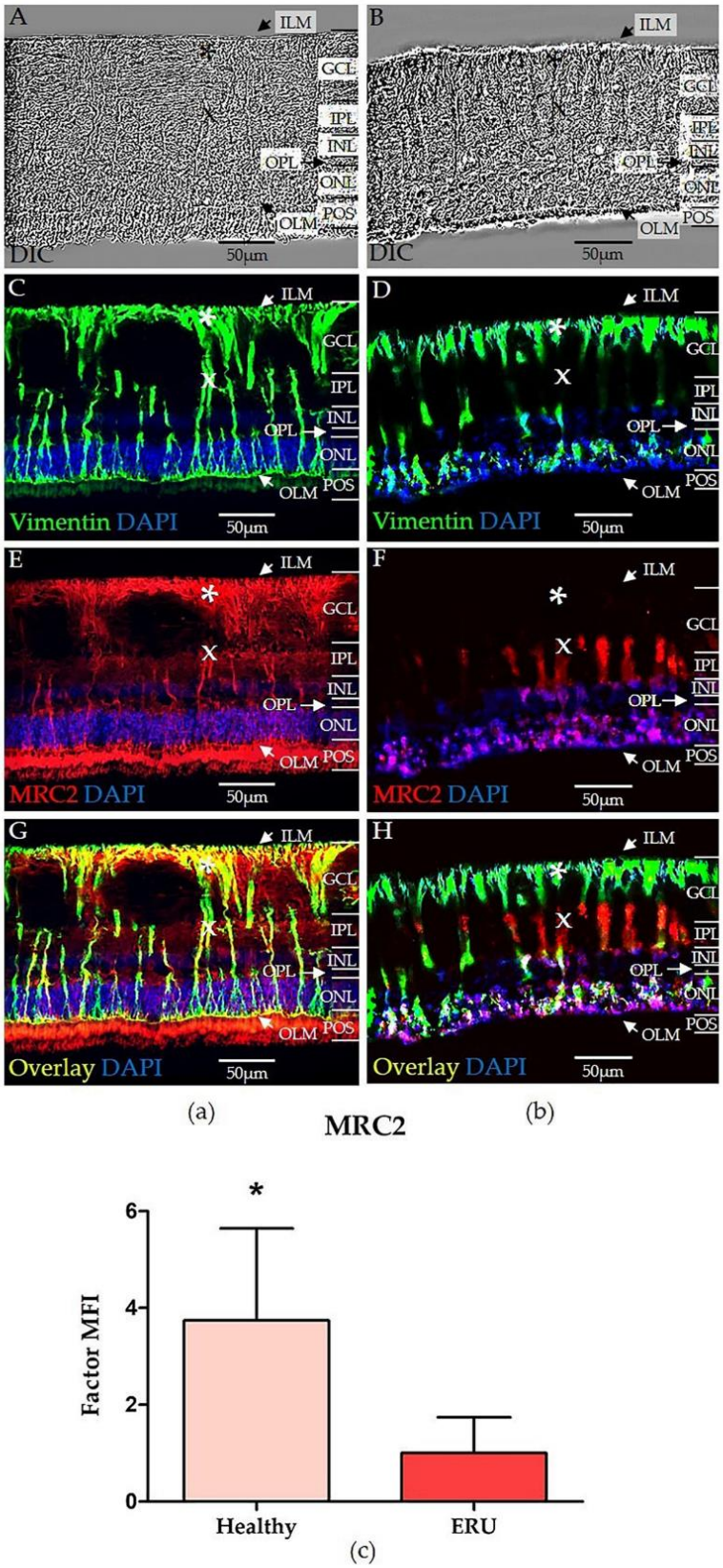

Figure 3. Equine RMG differentially express Mannose Receptor C-type 2 (MRC2) in both healthy (panel (**a**)) and uveitic (panel (**b**)) retinas. MRC2 expression in RMG was quantified as MFI of immunohistochemical staining (panel (**c**)). Retinal structure was visualized using DIC microscopy in both healthy (**A**) and diseased (**B**) retinas. Vimentin (green) labeled the structure and morphology of

RMG in healthy (**C**) and diseased (**D**) retinas. In diseased retinas, RMG exhibited a more prominent gliotic phenotype, indicative of the early stage of an inflammatory episode (**D**). MRC2 (red) showed stronger expression in healthy retinas, particularly in RMG, but also along the OLM, OPL, IPL, and ILM (**E**). In contrast, MRC2 expression was almost absent in uveitic retinas (**F**). In healthy RMG, MRC2 expression was markedly stronger in the endfeet (marked with *), compared to the inner stem processes (marked with x). In uveitic RMG, MRC2 expression was restricted to the inner stem processes (x) and distal processes in the ONL. Overlay images (**G**,**H**) of Vimentin (green) and MRC2 (red) confirmed colocalization in RMG. Images were acquired at 630× magnification, and cell nuclei were counterstained with DAPI. Representative images were selected from biological replicates that best displayed the observed expression patterns. MRC2 expression was 3.7-fold higher in healthy RMG (panel (**c**), pink bar, left), compared to uveitic RMG (panel (**c**), red bar, right). The quantified difference in expression was statistically significant (* $p = 0.0169$). The asterisk indicates the level of statistical significance with $0.01 < * \, p \leq 0.05$. The bar plot displays the factor MFI value ± SD based on quantification of MFI in RMG from both controls and uveitis cases. Retinal layers are listed from innermost to outermost as follows: inner limiting membrane (ILM), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL), outer limiting membrane (OLM), and photoreceptor outer segments (POS).

4. Discussion

This study sheds new light on the immune functions of RMG and their role in the pathogenesis of autoimmune uveitis. Using a spontaneous equine model of recurrent autoimmune uveitis, our discovery proteomics approach revealed distinct expression profiles between healthy and uveitic RMG, enabling a distinction between non-activated and activated states that have an inflammatory phenotype. Moreover, we identified several immune-related proteins in RMG. Alongside proteins with known associations to antigen presentation like MHC class II, we discovered previously unreported proteins with potential roles in retinal immunity and antigen presentation, such as MRC2. These findings highlight the complex and potentially immunomodulating role of RMG in the ocular immune response, expanding our understanding of the molecular mechanisms driving inflammation and the breakdown of ocular immune privilege in autoimmune uveitis. Our study focused on the expression of ARG1 and MRC2 in the initial stage of disease, characterized by only mild gliotic changes. Further functional investigations are needed to elucidate their role in ERU pathogenesis and to determine whether the expression levels of these markers correlate with disease progression and severity in later stages. The increased abundance of MHC class II in RMG from uveitis cases is a key indicator of RMG activation in autoimmune uveitis, highlighting the robustness of our approach (Table 1, Figure 1). Moreover, it strongly supports the hypothesis that these cells may act as atypical APCs in the retina. MHC class II is typically expressed on professional APCs such as macrophages, dendritic cells, and B cells, with its primary function being the presentation of antigens to $CD4^+$ T cells [65,66]. $CD4^+$ T cells are central players in the pathogenesis of autoimmune diseases [67]. In the context of autoimmune uveitis, the nature of the APC responsible for initiating and sustaining the $CD4^+$ T cell response is still a subject of debate [46]. Although an eye–spleen axis has been discussed, suggesting the migration of eye-derived APCs to the spleen, thereby contributing to the activation of T cells against intraocular antigens in the periphery [68–70], the exact mechanisms behind this process remain unclear. Our findings corroborate earlier studies in horses with ERU, where MHC class II was localized to glial scars in the uveitic retina [41], which also aligns with similar results observed in subretinal fibrosis and uveitis syndrome in humans [52]. The hypothesis of RMG contributing to retinal inflammation via antigen presentation is further supported by recent findings of upregulated MHC class II in RMG in murine models of EAU, following immunization with the retinal autoantigen interphotoreceptor retinoid-binding protein [50,51]. Apart

from MHC class II, uveitic RMG exhibited upregulation of various chemokines and leukocyte adhesion molecules, suggesting RMG to be the primary interactors with infiltrating leukocytes in the uveitic retina [50].

To fully activate $CD4^+$ T cells, professional APCs express a variety of co-stimulatory and adhesion molecules alongside MHC class II [65]. In this study, we detected that equine RMG also constitutively expressed several costimulatory and adhesion molecules essential for the activation and adhesion of $CD4^+$ T cells, such as CD40, ICAM1, CD81, CD9, CD48, and CD58 [65,71–74] (Figure S1). Since autoreactive uveitic $CD4^+$ T cells are known to be activated in the periphery [34], these already activated cells may rely less on co-stimulation for reactivation, as observed in other autoimmune diseases such as multiple sclerosis and primary biliary cirrhosis [75–79]. Moreover, atypical APCs may employ different mechanisms for co-stimulation altogether: For instance, neutrophilic granulocytes, which can also act as atypical APCs under specific circumstances [80], have been shown to facilitate T cell co-stimulation via the CD58–C2-axis as an alternative to the classical co-stimulatory B7.1/B7.2-CD28 pathway observed in professional APCs [81]. Notably, RMGs also constitutively express CD58 (Figure S1), suggesting that a similar alternative co-stimulatory mechanism may operate in the retina [81]. Furthermore, the constitutive expression of lysosomal molecules LAMP1 and LAMP2 in equine RMG shows a potential for antigen processing by RMG (Figure S1) [82,83]. Moreover, the expression of pro-inflammatory cytokines is a critical step in $CD4^+$ T cell activation [84]. Uveitic RMG express various interferon-induced and -related proteins (Table 1), as well as IFN-γ [16]. However, proof of functional antigen presentation by RMG in vivo is difficult to obtain [50]. An important question for future studies is to investigate how RMGs present antigens via the described receptors and whether classical or atypical co-stimulatory mechanisms are involved in the reactivation of autoreactive CD4+ T cells in the retina. These observations underscore the potential role of RMG in initiating and sustaining retinal inflammation through antigen presentation as well as the importance of the specific autoantigens involved in this process. Given that RMGs are strategically positioned to interact with infiltrating immune cells during retinal inflammation, further studies should explore the precise mechanisms by which MHC class II expression is upregulated in these cells during uveitis. This could provide valuable insights into the inflammatory processes that lead to the breakdown of immune privilege in the inner eye.

Furthermore, ARG1 emerges as another protein linked to activated RMG, with its higher expression in RMG from ERU cases (Figures 1 and 2, Table 1). This is a novel discovery in an autoimmune uveitis model with spontaneous onset. ARG1 is an enzyme of the hepatic urea cycle, which plays a pivotal role in regulating inflammation by modulating nitric oxide (NO) production [85]. Furthermore, ARG1 is a key polarization marker for anti-inflammatory M2 macrophages in mice [61,86]. The specific function of ARG1, however, depends strongly on cell type, tissue and species [85]. In the context of autoimmune uveitis, a higher abundance of ARG1 has been associated with infiltrating myeloid cells, especially macrophages, in the uveitic retina of rodents with EAU [87,88]. An increased expression of ARG1 in RMG similar to our findings in ERU was not detected in these EAU models [87,88]. In other uveitis models, however, increased levels of ARG1 in RMG was evident [89]. Notably, in mouse models of endotoxin induced uveitis and diabetic retinopathy, an elevated expression of ARG1 in RMG has been associated with immune regulated pro-inflammatory responses such as the uncoupling of enzymes of the nitric oxide synthase (NOS)-family [89,90]. This uncoupling was proposed to arise from substrate competition between isoforms of NOS (inducible and endothelial) and ARG1 for their shared substrate L-arginine, leading to an increased production of ROS and reactive nitrogen species, potentially exacerbating retinal pathology [89,90]. Such

imbalances between ARG1 and NOS are context- and tissue-dependent but often result in tissue damage [91]. Notably, no isoforms of the NOS family were detected in the equine RMG proteome, indicating that enzymatic activity in uveitic RMG may shift to ARG1 in this context. This shift likely reflects a metabolic and immunologic adaptation where ARG1 takes on a central role in modulating inflammation and oxidative stress. Without NOS activity, L-arginine metabolism dominated by ARG1 could lead to ROS production through the oxidation of ARG1′s downstream metabolites, like polyamines [92,93]. Moreover, these polyamines, which are produced downstream of L-ornithine metabolism [85], may further influence the inflammatory processes in the uveitic retina, as they have been implicated in neural excitotoxicity and immune cell function, particularly in T cells [94–96]. Given the neural excitotoxicity of polyamines downstream of ARG1 in specific contexts, such as in the rodent retina following intraocular injection of *N*-methyl-D-aspartate or during retinal ganglion cell exposure to polyamine degradation products [96–98], the question has to be raised if polyamines potentially also affect retinal neurons through mechanisms like excitotoxicity in the course of uveitis pathogenesis. Furthermore, polyamines could play a role in modulating the proliferation and differentiation of $CD4^+$ T cells, especially the Th17 subset, which has been linked to autoimmune diseases and their respective rodent models, including autoimmune uveitis in humans and EAU in mice [99,100], and has also been discussed to contribute to ERU pathogenesis [101]. The high abundance of ARG1 in RMG may therefore play a crucial role in shaping the inflammatory response in ERU. Its immunomodulatory effects, particularly on $CD4^+$ T cell biology and RMG–neuron interaction, should be investigated in more detail in future studies.

Since ARG1 is expressed by professional APCs, with a regulatory role in immune response and inflammation [85], this protein may similarly play a key role in regulating immune responses in the retina, especially under inflammatory conditions. Measuring levels of NO and ROS—downstream metabolites of ARG1 and NOS—in vitreal samples could provide valuable insights into inflammatory processes mediated by ARG1 activity. Together with MHC class II, ARG1 is a marker for RMG activation and the inflammatory and potentially antigen-presenting phenotype. Moreover, it could be a promising target for modulating retinal inflammation in autoimmune uveitis.

RMGs play a dual role as pivotal drivers of inflammation and vital regulators of structural integrity and immune balance in the retina. Identifying distinct markers that differentiate activated RMG from their healthy counterparts is essential for accurately distinguishing retinal health from disease. Our identification of matricellular receptor MRC2 (also known as uPARAP/Endo180/CD280) (Figures 1 and 3, Table 2 is an entirely novel finding in RMG, since, to the best of our knowledge, MRC2 has not been previously identified in RMG of any species. Consequently, its role in retinal health and pathologies remains unexplored to date. MRC2 has been described as a regulator of vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor functionality in a murine model of pathological lymphangiogenesis by restricting VEGF receptor heterodimerization, a process essential for both lymphatic and vascular endothelial growth [102,103]. Decreased abundance of MRC2 in ERU and re-distribution away from the RMG endfeet (Figure 3) may therefore impact retinal vascular remodeling and contribute to the breakdown of retinal immune privilege during retinal neuroinflammation, potentially facilitating disease progression. Moreover, the robust and high expression of MRC2 in RMG from healthy retinas shows the potential of this protein as a prospective biomarker for RMG health.

Along with MRC2, we identified THBS1 as a protein significantly more abundant in healthy RMG (Figure 1, Table 2). THBS1, an anti-angiogenic factor, is known to regulate extracellular matrix (ECM) homeostasis [104] and suppresses retinal neovascularization in models of diabetic retinopathy [105–108]. Its significantly lower abundance in uveitic RMG

supports the idea that ECM regulation is disrupted in ERU [109]. Given its anti-angiogenic properties, the downregulation of THBS1 in ERU may exacerbate retinal vascular leakage and neovascularization, which are hallmarks of ERU pathogenesis [110,111], thereby contributing to the breakdown of the ocular immune privilege. Among its pleiotropic properties, THBS1 also exerts immunosuppressive functions under certain conditions. In murine EAU, topically applied THBS1-derived peptide significantly reduced uveitis pathology and retinal leukocyte adhesion [112]. THBS1 is also a potent activator of Transforming Growth Factor β (TGFβ). In a murine EAU model, THBS1-mediated activation of TGFβ contributed to the amelioration of retinal inflammation [113]. Additionally, the knockout of THBS1 in a murine model of dry eye disease (Sjögren's syndrome) led to elevated levels of Th17 cells in the lacrimal gland, exacerbating inflammation [114]. THBS1 in RMG may thus act as a key mediator of immunosuppression in the retina during ERU. By regulating T cell infiltration and promoting an immunosuppressive environment, THBS1 likely plays a critical role in modulating the retinal immune response. Interestingly, MRC2 has been shown to facilitate the endocytosis of THBS1 in murine fibroblasts [64], suggesting a potential interplay between MRC2 and THBS1 that may be crucial for ECM regulation, the preservation of the ocular immune privilege, and an immunosuppressive environment.

MRC2 has also been identified as a marker for M2 macrophages and plays a role in the uptake and clearance of ECM components like collagens [115–117]. Additionally, it is also involved in the clearance of collectins (C-type lectins), like Mannose Binding Lectin (MBL) and Collectin 11 in murine fibroblasts, implicating MRC2 as an immunoregulatory protein in these cells [118,119]. Collectins are soluble pattern recognition molecules in the innate immune system [120–122]. MBL, for instance, can function directly as an opsonin by binding to pathogens independently of complement activation, thus enabling opsonophagocytosis by human macrophages [123,124]. This could aid in processing antigens for presentation to the adaptive immune system in APCs. Moreover, circulating MBL has been described to be essential for antigen presentation by human dendritic cells, as shown in patients with MBL deficiency, where dendritic cells exhibited a diminished capacity to induce T cell responses [125]. Besides this, collectins are also potent activators of the complement system [122]. Interestingly, complement system activation has been described to play a key role in autoimmune uveitis in humans [126] and is also discussed to contribute to the pathogenesis of ERU [111,127]. Assuming a similar role of MRC2 in RMG as described in murine fibroblasts [119], a reduced abundance of MRC2 in ERU may impair the clearance of collectins as pattern recognition molecules, potentially exacerbating retinal inflammation, whereas high expression of MRC2 in healthy RMG may suppress complement system activation, thus protecting and sustaining retinal health.

Additionally, the high MRC2 levels in healthy RMG might contribute to maintaining an immunosuppressive retinal environment, as previously shown in murine cancer-associated fibroblasts expressing high amounts of MRC2 [128]. These fibroblasts were attributed with immunosuppressive properties by preventing $CD8^+$ T cell infiltration, thereby rendering tumors immunologically "cold" [128]. Correspondingly, lower MRC2 expression in ERU could disrupt this immunosuppressive function, promoting T cell infiltration. In a murine model of endometriosis, the high abundance of MRC2 in endometrial stromal cells was found to be essential for the differentiation of regulatory T cells (Tregs) in co-incubation experiments [129]. Tregs, a specialized subset of $CD4^+$ T cells, play a crucial role in maintaining immune homeostasis and have been shown to ameliorate EAU in mice [130]. Their involvement in autoimmune uveitis in humans has also been reported, with patients exhibiting decreased levels of peripheral Tregs during acute inflammation, compared to phases of quiescence [131,132]. Since a similar role of Tregs has been discussed in the pathogenesis of ERU [34], the involvement of MRC2 in Treg differentiation and,

consequently, the preservation of an immunosuppressive environment in the healthy retina warrants further investigation.

Regarding their function in other cells and tissues, the identification of MRC2 and its interactor THBS1, both with high expression in healthy RMG, suggests these proteins as promising novel candidate markers for immune balance and functional integrity in the retina. Specifically, the novel identification of a higher abundance of MRC2 in RMG could imply a potential contribution to ocular immune privilege by regulating vascular and collectin homeostasis. The reduced abundance of MRC2 in uveitic RMG reflects a shift in their immunological and functional profile during autoimmune uveitis.

C-type lectin scavenger receptors are involved in antigen capture and the endocytosis of glycoproteins, which can subsequently be processed and cross-presented via MHC class I [133,134]. Although MRC2, a member of the C-type lectin receptor family, has not yet been specifically investigated for its role in this process, it could potentially contribute to antigen cross-presentation via MHC class I in healthy RMG. Notably, MHCB3, an MHC class I heavy chain, is differentially expressed in healthy RMG. Previous bioinformatic analyses of cancer-associated fibroblasts have highlighted MRC2 as a potential biomarker for fibroblasts with antigen-presenting capabilities [135]. Although the involvement of MRC2 in antigen presentation processes remains context-dependent, its association with this function underscores the need for further research into its role in immune-related processes such as antigen cross-presentation, particularly in potential atypical APCs like RMG Recent research on murine macrophages has demonstrated that rather than conforming to strict polarization subtypes, macrophage activation occurs within a certain spectrum, comprising characteristics of both M1 and M2 phenotypes in varying nuances [62,136]. This underscores the plasticity of APCs. A similar principle may apply to RMG, which, as shown in our study, express markers commonly associated with professional APCs such as MHC class II and ARG1. These molecules significantly decrease in RMG from healthy retinas, while MRC2 is highly abundant in healthy RMG and decreases in uveitis. These findings indicate that APC characteristics may be governed by different molecules depending on RMG phenotype and surroundings. This potential dichotomy in RMG suggests that in a healthy state, RMG may predominantly present antigen via MHC class I potentially aided by the endocytic receptor MRC2. In contrast, RMGs from uveitic retina shift antigen presentation towards MHCII and ARG1. However, further research is necessary to fully characterize the functional implications of this potential plasticity in RMG and their role in retinal autoimmune responses.

To fully assess the role of ARG1 and MRC2 for disease pathogenesis, future studies are needed involving in vivo knockdown or overexpression approaches, which are technically feasible in rodent models. Despite translational limitations of rodent models [37,137], such experiments would greatly enhance our understanding of the molecular mechanisms involving RMG in autoimmune uveitis. This study provides the foundational work for further functional investigations on the role of these proteins in RMG in autoimmune uveitis.

Despite the comprehensive analysis provided by differential proteomics and immunohistochemistry, each method has certain limitations. Label-free quantitative proteomic methods, despite recent technical advances, still face challenges in achieving accurate and high-quality quantification, especially compared to label-based approaches [138,139]. This is primarily due to the asymmetrical distribution of protein abundances, where high-abundance proteins dominate the analysis, and the presence of missing values, which arise from biological, technical, or analytical factors [139,140]. Moreover, low-abundance proteins that fall below the detection and quantification limits are often excluded from the analysis [141,142]. Immunohistochemistry, while effective for localizing proteins, is limited by issues related to antibody specificity, potential artifacts, and its semi-quantitative

nature. To overcome these challenges, it is essential to combine multiple methods, refine analytical techniques, and apply robust data integration strategies to obtain more accurate and comprehensive insights into protein dynamics. Therefore, a combination of label-free differential proteomics and immunohistochemistry, as applied in this study, provides complementary insights by leveraging the strengths of both techniques for enhanced target protein analysis.

5. Conclusions

In conclusion, this study highlights the crucial role of RMG in autoimmune uveitis, particularly in ERU. Our findings demonstrate that activated RMG express key immune-related proteins, such as MHC class II and ARG1, suggesting their involvement in antigen presentation and inflammation modulation. The identification of MRC2, a receptor implicated in both immune regulation and potentially antigen presentation, introduces a novel aspect of the immunological functions of RMG. MRC2's role in modulating the immune response, coupled with its reduced expression in uveitic RMG, points to immune dysregulation in the retina. Additionally, THBS1, known for its immunosuppressive properties, is significantly reduced in ERU, further emphasizing the breakdown of immune regulation in retinal inflammation. These proteins, especially MRC2 and THBS1, emerge as potential markers for assessing RMG activation, retinal immune balance, and the maintenance of ocular immune privilege in autoimmune uveitis. Overall, these findings provide deeper insights into the molecular mechanisms of retinal inflammation and suggest potential therapeutic strategies aimed at modulating RMG function to restore immune homeostasis and ocular health in autoimmune uveitis.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/biom15020288/s1; Table S1: Quantified protein identifications from the equine RMG proteome by differential proteome analysis ERU vs. healthy controls; Table S2: Pathway analysis of differentially expressed proteins; Figure S1: MA-plot of non-differentially expressed proteins related to co-stimulation and antigen processing.

Author Contributions: Conceptualization, C.A.D.; methodology, A.B.F., B.A., T.W., S.M.H. and C.A.D.; formal analysis, C.v.T., A.B.F., R.L.D., A.S. and C.A.D.; investigation, A.B.F., R.L.D., A.S., T.W. and C.A.D.; resources, S.M.H. and C.A.D.; data curation, A.B.F., B.A., C.v.T., A.S., S.M.H. and C.A.D.; writing—original draft preparation, A.B.F. and C.v.T.; writing—review and editing, R.L.D., A.S. and C.A.D.; visualization, A.B.F., B.A. and A.S.; supervision, C.A.D.; project administration, C.A.D., funding acquisition: C.A.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was funded by a grant from the Deutsche Forschungsgemeinschaft, DFG DE 719/7-1 in SPP 2127 (to C.A.D).

Institutional Review Board Statement: No experimental animals were used in this study. Horses were treated according to the ethical principles and guidelines in the ARVO statement of the use of animals in ophthalmic and vision research. Collection of eyes from local abattoirs and cooperating equine clinics was permitted by the local veterinary inspection office, Munich, Germany (permit number: DE 09 184 0063 21).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The proteomic data are deposited in the PRIDE repository with the dataset identifier PXD058170. Reviewers can access the dataset at https://www.ebi.ac.uk/pride/ (accessed on 22 November 2024) using the following account details: Username: reviewer_pxd058170@ebi.ac.uk. Password: ifmpX647rjiv.

Acknowledgments: The authors would like to thank Nicole and Heinrich Veit for providing eye samples, as well as Giulia Di Garbo and Kristin Brandt for the provision of ERU eyes. The authors would also like to thank Stefanie Püls, Mirjam Telorac and Ursula Cramer for excellent technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Li, Y.; Zhu, L.; Cai, M.X.; Wang, Z.L.; Zhuang, M.; Tan, C.Y.; Xie, T.H.; Yao, Y.; Wei, T.T. TGR5 supresses cGAS/STING pathway by inhibiting GRP75-mediated endoplasmic reticulum-mitochondrial coupling in diabetic retinopathy. *Cell Death Dis.* **2023**, *14*, 583. [CrossRef] [PubMed]
2. Lai, D.; Wu, Y.; Shao, C.; Qiu, Q. The Role of Müller Cells in Diabetic Macular Edema. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2023**, *64*, 8. [CrossRef]
3. Hu, X.; Zhao, G.L.; Xu, M.X.; Zhou, H.; Li, F.; Miao, Y.; Lei, B.; Yang, X.L.; Wang, Z. Interplay between Müller cells and microglia aggravates retinal inflammatory response in experimental glaucoma. *J. Neuroinflamm.* **2021**, *18*, 303. [CrossRef]
4. Tabor, S.J.; Yuda, K.; Deck, J.; Gnanaguru, G.; Connor, K.M. Retinal Injury Activates Complement Expression in Müller Cells Leading to Neuroinflammation and Photoreceptor Cell Death. *Cells* **2023**, *12*, 1754. [CrossRef]
5. Pereiro, X.; Ruzafa, N.; Azkargorta, M.; Elortza, F.; Acera, A.; Ambrósio, A.F.; Santiago, A.R.; Vecino, E. Müller glial cells located in the peripheral retina are more susceptible to high pressure: Implications for glaucoma. *Cell Biosci.* **2024**, *14*, 5. [CrossRef] [PubMed]
6. Wang, Y.; Yang, X.; Li, Q.; Zhang, Y.; Chen, L.; Hong, L.; Xie, Z.; Yang, S.; Deng, X.; Cao, M.; et al. Single-cell RNA sequencing reveals the Müller subtypes and inner blood-retinal barrier regulatory network in early diabetic retinopathy. *Front. Mol. Neurosci.* **2022**, *15*, 1048634. [CrossRef]
7. Eberhardt, C.; Amann, B.; Feuchtinger, A.; Hauck, S.M.; Deeg, C.A. Differential expression of inwardly rectifying K+ channels and aquaporins 4 and 5 in autoimmune uveitis indicates misbalance in Muller glial cell-dependent ion and water homeostasis. *Glia* **2011**, *59*, 697–707. [CrossRef]
8. Reichenbach, A.; Bringmann, A. New functions of Müller cells. *Glia* **2013**, *61*, 651–678. [CrossRef]
9. Reichenbach, A.; Bringmann, A. Glia of the human retina. *Glia* **2020**, *68*, 768–796. [CrossRef]
10. Bringmann, A.; Pannicke, T.; Biedermann, B.; Francke, M.; Iandiev, I.; Grosche, J.; Wiedemann, P.; Albrecht, J.; Reichenbach, A. Role of retinal glial cells in neurotransmitter uptake and metabolism. *Neurochem. Int.* **2009**, *54*, 143–160. [CrossRef]
11. Augustine, J.; Pavlou, S.; Harkin, K.; Stitt, A.W.; Xu, H.; Chen, M. IL-33 regulates Müller cell-mediated retinal inflammation and neurodegeneration in diabetic retinopathy. *Dis. Model. Mech.* **2023**, *16*, dmm050174. [CrossRef]
12. Bringmann, A.; Iandiev, I.; Pannicke, T.; Wurm, A.; Hollborn, M.; Wiedemann, P.; Osborne, N.N.; Reichenbach, A. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: Neuroprotective and detrimental effects. *Prog. Retin. Eye Res.* **2009**, *28*, 423–451. [CrossRef] [PubMed]
13. Peña, J.S.; Vazquez, M. Harnessing the Neuroprotective Behaviors of Müller Glia for Retinal Repair. *Front. Biosci.* **2022**, *27*, 169. [CrossRef]
14. Mahaling, B.; Sinha, N.R.; Sokupa, S.; Addi, U.R.; Mohan, R.R.; Chaurasia, S.S. Mustard gas exposure instigates retinal Müller cell gliosis. *Exp. Eye Res.* **2023**, *230*, 109461. [CrossRef]
15. Vecino, E.; Rodriguez, F.D.; Ruzafa, N.; Pereiro, X.; Sharma, S.C. Glia–neuron interactions in the mammalian retina. *Prog. Retin. Eye Res.* **2016**, *51*, 1–40. [CrossRef] [PubMed]
16. Hauck, S.M.; Schoeffmann, S.; Amann, B.; Stangassinger, M.; Gerhards, H.; Ueffing, M.; Deeg, C.A. Retinal Mueller glial cells trigger the hallmark inflammatory process in autoimmune uveitis. *J. Proteome Res.* **2007**, *6*, 2121–2131. [CrossRef]
17. Schmalen, A.; Lorenz, L.; Grosche, A.; Pauly, D.; Deeg, C.A.; Hauck, S.M. Proteomic Phenotyping of Stimulated Muller Cells Uncovers Profound Pro-Inflammatory Signaling and Antigen-Presenting Capacity. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 771571. [CrossRef]
18. Drescher, K.M.; Whittum-Hudson, J.A. Modulation of immune-associated surface markers and cytokine production by murine retinal glial cells. *J. Neuroimmunol.* **1996**, *64*, 71–81. [CrossRef] [PubMed]
19. Singh, P.K.; Shiha, M.J.; Kumar, A. Antibacterial responses of retinal Müller glia: Production of antimicrobial peptides, oxidative burst and phagocytosis. *J. Neuroinflamm.* **2014**, *11*, 33. [CrossRef]
20. Kumar, A.; Shamsuddin, N. Retinal Muller glia initiate innate response to infectious stimuli via toll-like receptor signaling. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e29830. [CrossRef]
21. Shamsuddin, N.; Kumar, A. TLR2 mediates the innate response of retinal Muller glia to Staphylococcus aureus. *J. Immunol.* **2011**, *186*, 7089–7097. [CrossRef] [PubMed]
22. Natoli, R.; Fernando, N.; Madigan, M.; Chu-Tan, J.A.; Valter, K.; Provis, J.; Rutar, M. Microglia-derived IL-1β promotes chemokine expression by Müller cells and RPE in focal retinal degeneration. *Mol. Neurodegener.* **2017**, *12*, 31. [CrossRef] [PubMed]

23. Rutar, M.; Natoli, R.; Chia, R.X.; Valter, K.; Provis, J.M. Chemokine-mediated inflammation in the degenerating retina is coordinated by Müller cells, activated microglia, and retinal pigment epithelium. *J. Neuroinflamm.* **2015**, *12*, 8. [CrossRef]
24. Bejarano-Escobar, R.; Sánchez-Calderón, H.; Otero-Arenas, J.; Martín-Partido, G.; Francisco-Morcillo, J. Müller glia and phagocytosis of cell debris in retinal tissue. *J. Anat.* **2017**, *231*, 471–483. [CrossRef]
25. Morales, M.; Findley, A.P.; Mitchell, D.M. Intercellular contact and cargo transfer between Müller glia and to microglia precede apoptotic cell clearance in the developing retina. *Development* **2024**, *151*, dev202407. [CrossRef]
26. Tsirouki, T.; Dastiridou, A.; Symeonidis, C.; Tounakaki, O.; Brazitikou, I.; Kalogeropoulos, C.; Androudi, S. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **2018**, *26*, 2–16. [CrossRef]
27. Huang, C.; Zhang, Z.; Gu, J.; Li, D.; Gao, S.; Zhang, R.; Shi, R.; Sun, J. Combined Therapy of Experimental Autoimmune Uveitis by a Dual-Drug Nanocomposite Formulation with Berberine and Dexamethasone. *Int. J. Nanomed.* **2023**, *18*, 4347–4363. [CrossRef] [PubMed]
28. Zhang, M.; Zhang, X. T cells in ocular autoimmune uveitis: Pathways and therapeutic approaches. *Int. Immunopharmacol.* **2023**, *114*, 109565. [CrossRef]
29. Gerding, J.C.; Gilger, B.C. Prognosis and impact of equine recurrent uveitis. *Equine Vet. J.* **2016**, *48*, 290–298. [CrossRef] [PubMed]
30. Spiess, B.M. Equine recurrent uveitis: The European viewpoint. *Equine Vet. J.* **2010**, *42*, 50–56. [CrossRef] [PubMed]
31. Cassano, J.M.; Leonard, B.C.; Martins, B.C.; Vapniarsky, N.; Morgan, J.T.; Dow, S.W.; Wotman, K.L.; Pezzanite, L.M. Preliminary evaluation of safety and migration of immune activated mesenchymal stromal cells administered by subconjunctival injection for equine recurrent uveitis. *Front. Vet. Sci.* **2023**, *10*, 1293199. [CrossRef] [PubMed]
32. Deeg, C.A.; Hauck, S.M.; Amann, B.; Pompetzki, D.; Altmann, F.; Raith, A.; Schmalzl, T.; Stangassinger, M.; Ueffing, M. Equine recurrent uveitis--a spontaneous horse model of uveitis. *Ophthalmic Res.* **2008**, *40*, 151–153. [CrossRef] [PubMed]
33. Deeg, C.A.; Raith, A.J.; Amann, B.; Crabb, J.W.; Thurau, S.R.; Hauck, S.M.; Ueffing, M.; Wildner, G.; Stangassinger, M. CRALBP is a highly prevalent autoantigen for human autoimmune uveitis. *Clin. Dev. Immunol.* **2007**, *2007*, 39245. [CrossRef]
34. Söth, R.; Hoffmann, A.L.C.; Deeg, C.A. Enhanced ROS Production and Mitochondrial Metabolic Shifts in CD4+ T Cells of an Autoimmune Uveitis Model. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 11513. [CrossRef] [PubMed]
35. Karagianni, A.E.; Lisowski, Z.M.; Hume, D.A.; Scott Pirie, R. The equine mononuclear phagocyte system: The relevance of the horse as a model for understanding human innate immunity. *Equine Vet. J.* **2021**, *53*, 231–249. [CrossRef]
36. Horohov, D.W. The equine immune responses to infectious and allergic disease: A model for humans? *Mol. Immunol.* **2015**, *66*, 89–96. [CrossRef]
37. Gilger, B.C. Immune Relevant Models for Ocular Inflammatory Diseases. *ILAR J.* **2018**, *59*, 352–362. [CrossRef]
38. Nussenblatt, R.B.; Gery, I.; Ballintine, E.J.; Wacker, W.B. Cellular Immune Responsiveness of Uveitis Patients to Retinal S-Antigen. *Am. J. Ophthalmol.* **1980**, *89*, 173–179. [CrossRef]
39. Caspi, R.R.; Roberge, F.G.; Chan, C.C.; Wiggert, B.; Chader, G.J.; Rozenszajn, L.A.; Lando, Z.; Nussenblatt, R.B. A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J. Immunol.* **1988**, *140*, 1490–1495. [CrossRef] [PubMed]
40. Kozak, Y.d.; Sakai, J.; Thillaye, B.; Faure, J.P. S antigen-induced experimental autoimmune uveo-retinitis in rats. *Curr. Eye Res.* **1981**, *1*, 327–337. [CrossRef]
41. Romeike, A.; Brügmann, M.; Drommer, W. Immunohistochemical studies in equine recurrent uveitis (ERU). *Vet. Pathol.* **1998**, *35*, 515–526. [CrossRef] [PubMed]
42. Gilger, B.C.; Malok, E.; Cutter, K.V.; Stewart, T.; Horohov, D.W.; Allen, J.B. Characterization of T-lymphocytes in the anterior uvea of eyes with chronic equine recurrent uveitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **1999**, *71*, 17–28. [CrossRef]
43. Deeg, C.A.; Kaspers, B.; Gerhards, H.; Thurau, S.R.; Wollanke, B.; Wildner, G. Immune responses to retinal autoantigens and peptides in equine recurrent uveitis. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2001**, *42*, 393–398.
44. Deeg, C.A.; Pompetzki, D.; Raith, A.J.; Hauck, S.M.; Amann, B.; Suppmann, S.; Goebel, T.W.F.; Olazabal, U.; Gerhards, H.; Reese, S.; et al. Identification and Functional Validation of Novel Autoantigens in Equine Uveitis. *Mol. Cell. Proteom.* **2006**, *5*, 1462–1470. [CrossRef]
45. Deeg, C.A.; Hauck, S.M.; Amann, B.; Kremmer, E.; Stangassinger, M.; Ueffing, M. Major retinal autoantigens remain stably expressed during all stages of spontaneous uveitis. *Mol. Immunol.* **2007**, *44*, 3291–3296. [CrossRef]
46. McPherson, S.W.; Heuss, N.D.; Abedin, M.; Roehrich, H.; Pierson, M.J.; Gregerson, D.S. Parabiosis reveals the correlation between the recruitment of circulating antigen presenting cells to the retina and the induction of spontaneous autoimmune uveoretinitis. *J. Neuroinflamm.* **2022**, *19*, 295. [CrossRef]
47. Xiao, R.; Huang, X.; Gao, S.; Duan, J.; Zhang, Y.; Zhang, M. Microglia in retinal diseases: From pathogenesis towards therapeutic strategies. *Biochem. Pharmacol.* **2024**, *230*, 116550. [CrossRef]
48. Lipski, D.A.; Dewispelaere, R.; Foucart, V.; Caspers, L.E.; Defrance, M.; Bruyns, C.; Willermain, F. MHC class II expression and potential antigen-presenting cells in the retina during experimental autoimmune uveitis. *J. Neuroinflamm.* **2017**, *14*, 136. [CrossRef] [PubMed]

49. Okunuki, Y.; Mukai, R.; Nakao, T.; Tabor, S.J.; Butovsky, O.; Dana, R.; Ksander, B.R.; Connor, K.M. Retinal microglia initiate neuroinflammation in ocular autoimmunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2019**, *116*, 9989–9998. [CrossRef]
50. Quinn, J.; Salman, A.; Paluch, C.; Jackson-Wood, M.; McClements, M.E.; Luo, J.; Davis, S.J.; Cornall, R.J.; MacLaren, R.E.; Dendrou, C.A.; et al. Single-cell transcriptomic analysis of retinal immune regulation and blood-retinal barrier function during experimental autoimmune uveitis. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 20033. [CrossRef]
51. Yuan, F.; Zhang, R.; Li, J.; Lei, Q.; Wang, S.; Jiang, F.; Guo, Y.; Xiang, M. CCR5-overexpressing mesenchymal stem cells protect against experimental autoimmune uveitis: Insights from single-cell transcriptome analysis. *J. Neuroinflamm.* **2024**, *21*, 136. [CrossRef] [PubMed]
52. Kim, M.K.; Chan, C.C.; Belfort, R., Jr.; Farah, M.; Burnier, M.P.; Nussenblatt, R.B.; Kuwabara, T.; Palestine, A.G. Histopathologic and immunohistopathologic features of subretinal fibrosis and uveitis syndrome. *Am. J. Ophthalmol.* **1987**, *104*, 15–23. [CrossRef]
53. Lorenz, L.; Hirmer, S.; Schmalen, A.; Hauck, S.M.; Deeg, C.A. Cell Surface Profiling of Retinal Muller Glial Cells Reveals Association to Immune Pathways after LPS Stimulation. *Cells* **2021**, *10*, 711. [CrossRef]
54. Morén, S.; Kallberg, M.; Strom, L. Equine uveitis: Outcome and adverse effects after one or two intravitreal low-dose gentamicin injections. *Equine Vet. J.* **2024**, *57*, 160–168. [CrossRef]
55. Eberhardt, C.; Amann, B.; Stangassinger, M.; Hauck, S.M.; Deeg, C.A. Isolation, characterization and establishment of an equine retinal glial cell line: A prerequisite to investigate the physiological function of Muller cells in the retina. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2012**, *96*, 260–269. [CrossRef]
56. Grosche, A.; Hauser, A.; Lepper, M.F.; Mayo, R.; von Toerne, C.; Merl-Pham, J.; Hauck, S.M. The Proteome of Native Adult Müller Glial Cells From Murine Retina. *Mol. Cell Proteom.* **2016**, *15*, 462–480. [CrossRef] [PubMed]
57. Wiśniewski, J.R.; Zougman, A.; Nagaraj, N.; Mann, M. Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nat. Methods* **2009**, *6*, 359–362. [CrossRef]
58. Navarro, P.; Trevisan-Herraz, M.; Bonzon-Kulichenko, E.; Núñez, E.; Martínez-Acedo, P.; Pérez-Hernández, D.; Jorge, I.; Mesa, R.; Calvo, E.; Carrascal, M.; et al. General Statistical Framework for Quantitative Proteomics by Stable Isotope Labeling. *J. Proteome Res.* **2014**, *13*, 1234–1247. [CrossRef] [PubMed]
59. Benjamini, Y.; Hochberg, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B (Methodol.)* **1995**, *57*, 289–300. [CrossRef]
60. Ehrenhofer, M.C.; Deeg, C.A.; Reese, S.; Liebich, H.G.; Stangassinger, M.; Kaspers, B. Normal structure and age-related changes of the equine retina. *Vet. Ophthalmol.* **2002**, *5*, 39–47. [CrossRef]
61. Woo, S.J.; Kim, Y.; Kang, H.J.; Jung, H.; Youn, D.H.; Hong, Y.; Lee, J.J.; Hong, J.Y. Tuberculous pleural effusion-induced Arg-1(+) macrophage polarization contributes to lung cancer progression via autophagy signaling. *Respir. Res.* **2024**, *25*, 198. [CrossRef] [PubMed]
62. Zhu, L.W.; Li, Z.; Dong, X.; Wu, H.; Cheng, Y.; Xia, S.; Bao, X.; Xu, Y.; Cao, R. Ficolin-A induces macrophage polarization to a novel pro-inflammatory phenotype distinct from classical M1. *Cell Commun. Signal* **2024**, *22*, 271. [CrossRef]
63. Gestal-Mato, U.; Herhaus, L. Autophagy-dependent regulation of MHC-I molecule presentation. *J. Cell Biochem.* **2024**, *125*, e30416. [CrossRef]
64. Nørregaard, K.S.; Jürgensen, H.J.; Ingvarsen, S.Z.; Heltberg, S.S.; Hagensen, C.E.; Gårdsvoll, H.; Madsen, D.H.; Jensen, O.N.; Engelholm, L.H.; Behrendt, N. The endocytic receptor uPARAP is a regulator of extracellular thrombospondin-1. *Matrix Biol.* **2022**, *111*, 307–328. [CrossRef] [PubMed]
65. Guerder, S.; Flavell, R.A. T-cell activation. Two for T. *Curr. Biol.* **1995**, *5*, 866–868. [CrossRef]
66. Ishina, I.A.; Zakharova, M.Y.; Kurbatskaia, I.N.; Mamedov, A.E.; Belogurov, A.A., Jr.; Gabibov, A.G. MHC Class II Presentation in Autoimmunity. *Cells* **2023**, *12*, 314. [CrossRef]
67. Sun, L.; Su, Y.; Jiao, A.; Wang, X.; Zhang, B. T cells in health and disease. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8*, 235. [CrossRef] [PubMed]
68. Wilbanks, G.A.; Streilein, J.W. Characterization of suppressor cells in anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) induced by soluble antigen. Evidence of two functionally and phenotypically distinct T-suppressor cell populations. *Immunology* **1990**, *71*, 383–389.
69. Niederkorn, J.Y.; Streilein, J.W. Alloantigens placed into the anterior chamber of the eye induce specific suppression of delayed-type hypersensitivity but normal cytotoxic T lymphocyte and helper T lymphocyte responses. *J. Immunol.* **1983**, *131*, 2670–2674. [CrossRef] [PubMed]
70. Mochizuki, M.; Sugita, S.; Kamoi, K. Immunological homeostasis of the eye. *Prog. Retin. Eye Res.* **2013**, *33*, 10–27. [CrossRef] [PubMed]
71. Schultz, L.M.; Czerwinski, D.K.; Levy, R.; Levy, S. CD81 costimulation skews CAR transduction toward naive T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2022**, *119*, e1910844119. [CrossRef]
72. Roets, M.; Sturgess, D.; Tran, T.; Obeysekera, M.; Perros, A.; Tung, J.P.; Flower, R.; van Zundert, A.; Dean, M. Intraoperative cell salvage: The impact on immune cell numbers. *PLoS ONE* **2023**, *18*, e0289177. [CrossRef] [PubMed]

73. McArdel, S.L.; Terhorst, C.; Sharpe, A.H. Roles of CD48 in regulating immunity and tolerance. *Clin. Immunol.* **2016**, *164*, 10–20. [CrossRef]
74. Hammer, Q.; Perica, K.; Mbofung, R.M.; van Ooijen, H.; Martin, K.E.; Momayyezi, P.; Varady, E.; Pan, Y.; Jelcic, M.; Groff, B.; et al. Genetic ablation of adhesion ligands mitigates rejection of allogeneic cellular immunotherapies. *Cell Stem Cell* **2024**, *31*, 1376–1386.e1378. [CrossRef]
75. Croft, M.; Bradley, L.M.; Swain, S.L. Naive versus memory CD4 T cell response to antigen. Memory cells are less dependent on accessory cell costimulation and can respond to many antigen-presenting cell types including resting B cells. *J. Immunol.* **1994**, *152*, 2675–2685. [CrossRef]
76. Kamihira, T.; Shimoda, S.; Harada, K.; Kawano, A.; Handa, M.; Baba, E.; Tsuneyama, K.; Nakamura, M.; Ishibashi, H.; Nakanuma, Y.; et al. Distinct costimulation dependent and independent autoreactive T-cell clones in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* **2003**, *125*, 1379–1387. [CrossRef]
77. Scholz, C.; Patton, K.T.; Anderson, D.E.; Freeman, G.J.; Hafler, D.A. Expansion of autoreactive T cells in multiple sclerosis is independent of exogenous B7 costimulation. *J. Immunol.* **1998**, *160*, 1532–1538. [CrossRef]
78. Markovic-Plese, S.; Cortese, I.; Wandinger, K.P.; McFarland, H.F.; Martin, R. CD4+CD28- costimulation-independent T cells in multiple sclerosis. *J. Clin. Investig.* **2001**, *108*, 1185–1194. [CrossRef]
79. Kawano, A.; Shimoda, S.; Kamihira, T.; Ishikawa, F.; Niiro, H.; Soejima, Y.; Taketomi, A.; Maehara, Y.; Nakamura, M.; Komori, A.; et al. Peripheral tolerance and the qualitative characteristics of autoreactive T cell clones in primary biliary cirrhosis. *J. Immunol.* **2007**, *179*, 3315–3324. [CrossRef] [PubMed]
80. Polak, D.; Bohle, B. Neutrophils-typical atypical antigen presenting cells? *Immunol. Lett.* **2022**, *247*, 52–58. [CrossRef]
81. Polak, D.; Samadi, N.; Vizzardelli, C.; Sánchez Acosta, G.; Rosskopf, S.; Steinberger, P.; Jahn-Schmid, B.; Bohle, B. Neutrophils promote T-cell mediated inflammation in allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2019**, *143*, 1923–1925.e1923. [CrossRef]
82. Monroy-Mérida, G.; Guzmán-Beltrán, S.; Hernández, F.; Santos-Mendoza, T.; Bobadilla, K. High Glucose Concentrations Impair the Processing and Presentation of Mycobacterium tuberculosis Antigens In Vitro. *Biomolecules* **2021**, *11*, 1763. [CrossRef]
83. Yang, X.; Wang, Z.; Xie, S.; Liang, Z.; Wei, N.; Pan, J.; Zhao, Y.; Cao, R. JEV infection leads to dysfunction of lysosome by downregulating the expression of LAMP1 and LAMP2. *Vet. Microbiol.* **2024**, *295*, 110150. [CrossRef]
84. Guerriero, J.L. Macrophages: Their Untold Story in T Cell Activation and Function. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* **2019**, *342*, 73–93. [CrossRef] [PubMed]
85. Canè, S.; Geiger, R.; Bronte, V. The roles of arginases and arginine in immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **2024**. [CrossRef]
86. Menjivar, R.E.; Nwosu, Z.C.; Du, W.; Donahue, K.L.; Hong, H.S.; Espinoza, C.; Brown, K.; Velez-Delgado, A.; Yan, W.; Lima, F.; et al. Arginase 1 is a key driver of immune suppression in pancreatic cancer. *eLife* **2023**, *12*, e80721. [CrossRef]
87. Chen, M.; Copland, D.A.; Zhao, J.; Liu, J.; Forrester, J.V.; Dick, A.D.; Xu, H. Persistent Inflammation Subverts Thrombospondin-1-Induced Regulation of Retinal Angiogenesis and Is Driven by CCR2 Ligation. *Am. J. Pathol.* **2012**, *180*, 235–245. [CrossRef]
88. Touri, K.; Belguendouz, H.; Medjeber, O.; Djeraba, Z.; Lahmar, K.; Touil-Boukoffa, C. Propolis modulates NOS2/arginase-1 pathway in tropomyosin-induced experimental autoimmune uveitis. *Inflammopharmacology* **2018**, *26*, 1293–1303. [CrossRef] [PubMed]
89. Zhang, W.; Baban, B.; Rojas, M.; Tofigh, S.; Virmani, S.K.; Patel, C.; Behzadian, M.A.; Romero, M.J.; Caldwell, R.W.; Caldwell, R.B. Arginase activity mediates retinal inflammation in endotoxin-induced uveitis. *Am. J. Pathol.* **2009**, *175*, 891–902. [CrossRef]
90. Patel, C.; Rojas, M.; Narayanan, S.P.; Zhang, W.; Xu, Z.; Lemtalsi, T.; Jittiporn, K.; Caldwell, R.W.; Caldwell, R.B. Arginase as a mediator of diabetic retinopathy. *Front. Immunol.* **2013**, *4*, 173. [CrossRef]
91. Clemente, S.G.; van Waarde, A.; Antunes, F.I.; Dömling, A.; Elsinga, H.P. Arginase as a Potential Biomarker of Disease Progression: A Molecular Imaging Perspective. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 5291. [CrossRef]
92. Han, X.; Wang, D.; Yang, L.; Wang, N.; Shen, J.; Wang, J.; Zhang, L.; Chen, L.; Gao, S.; Zong, W.X.; et al. Activation of polyamine catabolism promotes glutamine metabolism and creates a targetable vulnerability in lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2024**, *121*, e2319429121. [CrossRef] [PubMed]
93. Murray Stewart, T.; Dunston, T.T.; Woster, P.M.; Casero, R.A., Jr. Polyamine catabolism and oxidative damage. *J. Biol. Chem.* **2018**, *293*, 18736–18745. [CrossRef]
94. Wagner, A.; Wang, C.; Fessler, J.; DeTomaso, D.; Avila-Pacheco, J.; Kaminski, J.; Zaghouani, S.; Christian, E.; Thakore, P.; Schellhaass, B.; et al. Metabolic modeling of single Th17 cells reveals regulators of autoimmunity. *Cell* **2021**, *184*, 4168–4185.e4121. [CrossRef] [PubMed]
95. Wu, R.; Chen, X.; Kang, S.; Wang, T.; Gnanaprakasam, J.R.; Yao, Y.; Liu, L.; Fan, G.; Burns, M.R.; Wang, R. De novo synthesis and salvage pathway coordinately regulate polyamine homeostasis and determine T cell proliferation and function. *Sci. Adv.* **2020**, *6*, eabc4275. [CrossRef] [PubMed]
96. Pichavaram, P.; Palani, C.D.; Patel, C.; Xu, Z.; Shosha, E.; Fouda, A.Y.; Caldwell, R.B.; Narayanan, S.P. Targeting Polyamine Oxidase to Prevent Excitotoxicity-Induced Retinal Neurodegeneration. *Front. Neurosci.* **2019**, *12*, 956. [CrossRef] [PubMed]

97. Pernet, V.; Bourgeois, P.; Di Polo, A. A role for polyamines in retinal ganglion cell excitotoxic death. *J. Neurochem.* **2007**, *103*, 1481–1490. [CrossRef]
98. Wood, P.L.; Khan, M.A.; Moskal, J.R. The concept of "aldehyde load" in neurodegenerative mechanisms: Cytotoxicity of the polyamine degradation products hydrogen peroxide, acrolein, 3-aminopropanal, 3-acetamidopropanal and 4-aminobutanal in a retinal ganglion cell line. *Brain Res.* **2007**, *1145*, 150–156. [CrossRef] [PubMed]
99. Luger, D.; Silver, P.B.; Tang, J.; Cua, D.; Chen, Z.; Iwakura, Y.; Bowman, E.P.; Sgambellone, N.M.; Chan, C.-C.; Caspi, R.R. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: Conditions of disease induction affect dominant effector category. *J. Exp. Med.* **2008**, *205*, 799–810. [CrossRef]
100. Zhang, C.; Liu, X.; Gu, C.; Su, Y.; Lv, J.; Liu, Y.; Gao, Y.; Chen, H.; Xu, N.; Xiao, J.; et al. Histone deacetylases facilitate Th17-cell differentiation and pathogenicity in autoimmune uveitis via CDK6/ID2 axis. *J. Adv. Res.* 2024, *in press*. [CrossRef] [PubMed]
101. Regan, D.P.; Aarnio, M.C.; Davis, W.S.; Carmichael, K.P.; Vandenplas, M.L.; Lauderdale, J.D.; Moore, P.A. Characterization of cytokines associated with Th17 cells in the eyes of horses with recurrent uveitis. *Vet. Ophthalmol.* **2012**, *15*, 145–152. [CrossRef]
102. Nilsson, I.; Bahram, F.; Li, X.; Gualandi, L.; Koch, S.; Jarvius, M.; Söderberg, O.; Anisimov, A.; Kholová, I.; Pytowski, B.; et al. VEGF receptor 2/-3 heterodimers detected in situ by proximity ligation on angiogenic sprouts. *EMBO J.* **2010**, *29*, 1377–1388. [CrossRef] [PubMed]
103. Durré, T.; Morfoisse, F.; Erpicum, C.; Ebroin, M.; Blacher, S.; García-Caballero, M.; Deroanne, C.; Louis, T.; Balsat, C.; Van de Velde, M.; et al. uPARAP/Endo180 receptor is a gatekeeper of VEGFR-2/VEGFR-3 heterodimerisation during pathological lymphangiogenesis. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 5178. [CrossRef] [PubMed]
104. Kaur, S.; Roberts, D.D. Emerging functions of thrombospondin-1 in immunity. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2024**, *155*, 22–31. [CrossRef] [PubMed]
105. Sheibani, N.; Sorenson, C.M.; Cornelius, L.A.; Frazier, W.A. Thrombospondin-1, a Natural Inhibitor of Angiogenesis, Is Present in Vitreous and Aqueous Humor and Is Modulated by Hyperglycemia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *267*, 257–261. [CrossRef]
106. Liu, B.; Yang, H.; Song, Y.S.; Sorenson, C.M.; Sheibani, N. Thrombospondin-1 in vascular development, vascular function, and vascular disease. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2024**, *155*, 32–44. [CrossRef]
107. Wang, S.; Gottlieb, J.L.; Sorenson, C.M.; Sheibani, N. Modulation of Thrombospondin 1 and Pigment Epithelium–Derived Factor Levels in Vitreous Fluid of Patients With Diabetes. *Arch. Ophthalmol.* **2009**, *127*, 507–513. [CrossRef]
108. Sorenson, C.M.; Wang, S.; Gendron, R.; Paradis, H.; Sheibani, N. Thrombospondin-1 Deficiency Exacerbates the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *J. Diabetes Metab.* **2013**, (Suppl. S12). [CrossRef]
109. Deeg, C.A.; Eberhardt, C.; Hofmaier, F.; Amann, B.; Hauck, S.M. Osteopontin and fibronectin levels are decreased in vitreous of autoimmune uveitis and retinal expression of both proteins indicates ECM re-modeling. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e27674. [CrossRef]
110. Deeg, C.A.; Altmann, F.; Hauck, S.M.; Schoeffmann, S.; Amann, B.; Stangassinger, M.; Ueffing, M. Down-regulation of pigment epithelium-derived factor in uveitic lesion associates with focal vascular endothelial growth factor expression and breakdown of the blood-retinal barrier. *Proteomics* **2007**, *7*, 1540–1548. [CrossRef]
111. Zipplies, J.K.; Hauck, S.M.; Schoeffmann, S.; Amann, B.; van der Meijden, C.H.; Stangassinger, M.; Ueffing, M.; Deeg, C.A. Kininogen in autoimmune uveitis: Decrease in peripheral blood stream versus increase in target tissue. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2010**, *51*, 375–382. [CrossRef]
112. Soriano-Romaní, L.; Mir, F.A.; Singh, N.; Chin, I.; Hafezi-Moghadam, A.; Masli, S. CD47 Binding on Vascular Endothelial Cells Inhibits IL-17-Mediated Leukocyte Adhesion. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 5705. [CrossRef]
113. Zamiri, P.; Masli, S.; Kitaichi, N.; Taylor, A.W.; Streilein, J.W. Thrombospondin Plays a Vital Role in the Immune Privilege of the Eye. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2005**, *46*, 908–919. [CrossRef] [PubMed]
114. Turpie, B.; Yoshimura, T.; Gulati, A.; Rios, J.D.; Dartt, D.A.; Masli, S. Sjögren's syndrome-like ocular surface disease in thrombospondin-1 deficient mice. *Am. J. Pathol.* **2009**, *175*, 1136–1147. [CrossRef] [PubMed]
115. Sheikh, H.; Yarwood, H.; Ashworth, A.; Isacke, C.M. Endo180, an endocytic recycling glycoprotein related to the macrophage mannose receptor is expressed on fibroblasts, endothelial cells and macrophages and functions as a lectin receptor. *J. Cell Sci.* **2000**, *113 Pt 6*, 1021–1032. [CrossRef] [PubMed]
116. Gucciardo, F.; Pirson, S.; Baudin, L.; Lebeau, A.; Noël, A. uPARAP/Endo180: A multifaceted protein of mesenchymal cells. *Cell Mol. Life Sci.* **2022**, *79*, 255. [CrossRef]
117. López-Guisa, J.M.; Cai, X.; Collins, S.J.; Yamaguchi, I.; Okamura, D.M.; Bugge, T.H.; Isacke, C.M.; Emson, C.L.; Turner, S.M.; Shankland, S.J.; et al. Mannose Receptor 2 Attenuates Renal Fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2012**, *23*, 236–251. [CrossRef]
118. Nørregaard, K.S.; Krigslund, O.; Behrendt, N.; Engelholm, L.H.; Jürgensen, H.J. The collagen receptor uPARAP/Endo180 regulates collectins through unique structural elements in its FNII domain. *J. Biol. Chem.* **2020**, *295*, 9157–9170. [CrossRef]
119. Jürgensen, H.J.; Nørregaard, K.S.; Sibree, M.M.; Santoni-Rugiu, E.; Madsen, D.H.; Wassilew, K.; Krustrup, D.; Garred, P.; Bugge, T.H.; Engelholm, L.H.; et al. Immune regulation by fibroblasts in tissue injury depends on uPARAP-mediated uptake of collectins. *J. Cell Biol.* **2019**, *218*, 333–349. [CrossRef]

120. Nauser, C.L.; Howard, M.C.; Fanelli, G.; Farrar, C.A.; Sacks, S. Collectin-11 (CL-11) Is a Major Sentinel at Epithelial Surfaces and Key Pattern Recognition Molecule in Complement-Mediated Ischaemic Injury. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 2023. [CrossRef]
121. Asanuma, Y.; Nozawa, K.; Matsushita, M.; Kusaoi, M.; Abe, Y.; Yamaji, K.; Tamura, N. Critical role of lectin pathway mediated by MBL-associated serine proteases in complement activation for the pathogenesis in systemic lupus erythematosus. *Heliyon* **2023**, *9*, e19072. [CrossRef]
122. Dobó, J.; Kocsis, A.; Farkas, B.; Demeter, F.; Cervenak, L.; Gál, P. The Lectin Pathway of the Complement System-Activation, Regulation, Disease Connections and Interplay with Other (Proteolytic) Systems. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 1566. [CrossRef]
123. Kalia, N.; Singh, J.; Kaur, M. The ambiguous role of mannose-binding lectin (MBL) in human immunity. *Open Med.* **2021**, *16*, 299–310. [CrossRef]
124. Jack, D.L.; Read, R.C.; Tenner, A.J.; Frosch, M.; Turner, M.W.; Klein, N.J. Mannose-binding lectin regulates the inflammatory response of human professional phagocytes to Neisseria meningitidis serogroup B. *J. Infect. Dis.* **2001**, *184*, 1152–1162. [CrossRef]
125. Dean, M.M.; Flower, R.L.; Eisen, D.P.; Minchinton, R.M.; Hart, D.N.; Vuckovic, S. Mannose-binding lectin deficiency influences innate and antigen-presenting functions of blood myeloid dendritic cells. *Immunology* **2011**, *132*, 296–305. [CrossRef]
126. Kambulyan, L.; Chopikyan, A.; Iritsyan, S.; Mkhitaryan, A.; Hovakimyan, A. The Role of Complement System's C3 and C4 Fractions in the Pathogenesis of Uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **2024**, *32*, 2179–2184. [CrossRef]
127. Zipplies, J.K.; Kirschfink, M.; Amann, B.; Hauck, S.M.; Stangassinger, M.; Deeg, C.A. Complement factor B expression profile in a spontaneous uveitis model. *Immunobiology* **2010**, *215*, 949–955. [CrossRef]
128. Jenkins, L.; Jungwirth, U.; Avgustinova, A.; Iravani, M.; Mills, A.; Haider, S.; Harper, J.; Isacke, C.M. Cancer-Associated Fibroblasts Suppress CD8+ T-cell Infiltration and Confer Resistance to Immune-Checkpoint Blockade. *Cancer Res.* **2022**, *82*, 2904–2917. [CrossRef]
129. Wei, C.; Mei, J.; Tang, L.; Liu, Y.; Li, D.; Li, M.; Zhu, X. 1-Methyl-tryptophan attenuates regulatory T cells differentiation due to the inhibition of estrogen-IDO1-MRC2 axis in endometriosis. *Cell Death Dis.* **2016**, *7*, e2489. [CrossRef] [PubMed]
130. Terrada, C.l.; Fisson, S.; De Kozak, Y.; Kaddouri, M.; Lehoang, P.; Klatzmann, D.; Salomon, B.t.L.; Bodaghi, B. Regulatory T Cells Control Uveoretinitis Induced by Pathogenic Th1 Cells Reacting to a Specific Retinal Neoantigen1. *J. Immunol.* **2006**, *176*, 7171–7179. [CrossRef]
131. Ruggieri, S.; Frassanito, M.A.; Dammacco, R.; Guerriero, S. Treg Lymphocytes in Autoimmune Uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **2012**, *20*, 255–261. [CrossRef]
132. Yeh, S.; Li, Z.; Forooghian, F.; Hwang, F.S.; Cunningham, M.A.; Pantanelli, S.; Lew, J.C.; Wroblewski, K.K.; Vitale, S.; Nussenblatt, R.B. CD4+Foxp3+ T-regulatory cells in noninfectious uveitis. *Arch. Ophthalmol.* **2009**, *127*, 407–413. [CrossRef]
133. Geijtenbeek, T.B.; van Vliet, S.J.; Engering, A.; t Hart, B.A.; van Kooyk, Y. Self- and nonself-recognition by C-type lectins on dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* **2004**, *22*, 33–54. [CrossRef]
134. Reis, E.S.C.; Yamasaki, S.; Brown, G.D. Myeloid C-type lectin receptors in innate immune recognition. *Immunity* **2024**, *57*, 700–717. [CrossRef] [PubMed]
135. Wang, W.; Li, T.; Xie, Z.; Zhao, J.; Zhang, Y.; Ruan, Y.; Han, B. Integrating single-cell and bulk RNA sequencing data unveils antigen presentation and process-related CAFS and establishes a predictive signature in prostate cancer. *J. Transl. Med.* **2024**, *22*, 57. [CrossRef]
136. Ishida, K.; Nagatake, T.; Saika, A.; Kawai, S.; Node, E.; Hosomi, K.; Kunisawa, J. Induction of unique macrophage subset by simultaneous stimulation with LPS and IL-4. *Front. Immunol.* **2023**, *14*, 1111729. [CrossRef] [PubMed]
137. Bansal, S.; Barathi, V.A.; Iwata, D.; Agrawal, R. Experimental autoimmune uveitis and other animal models of uveitis: An update. *Indian. J. Ophthalmol.* **2015**, *63*, 211–218. [CrossRef] [PubMed]
138. Rozanova, S.; Barkovits, K.; Nikolov, M.; Schmidt, C.; Urlaub, H.; Marcus, K. Quantitative Mass Spectrometry-Based Proteomics: An Overview. *Methods Mol. Biol.* **2021**, *2228*, 85–116. [CrossRef]
139. Fu, J.; Yang, Q.; Luo, Y.; Zhang, S.; Tang, J.; Zhang, Y.; Zhang, H.; Xu, H.; Zhu, F. Label-free proteome quantification and evaluation. *Brief. Bioinform.* **2022**, *24*, bbac477. [CrossRef] [PubMed]
140. Kong, W.; Hui, H.W.H.; Peng, H.; Goh, W.W.B. Dealing with missing values in proteomics data. *Proteomics* **2022**, *22*, e2200092. [CrossRef]
141. Guzman, U.H.; Martinez-Val, A.; Ye, Z.; Damoc, E.; Arrey, T.N.; Pashkova, A.; Renuse, S.; Denisov, E.; Petzoldt, J.; Peterson, A.C.; et al. Ultra-fast label-free quantification and comprehensive proteome coverage with narrow-window data-independent acquisition. *Nat. Biotechnol.* **2024**, *42*, 1855–1866. [CrossRef] [PubMed]
142. Zhang, F.; Shan, S.; Fu, C.; Guo, S.; Liu, C.; Wang, S. Advanced Mass Spectrometry-Based Biomarker Identification for Metabolomics of Diabetes Mellitus and Its Complications. *Molecules* **2024**, *29*, 2530. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

4 DISKUSSION

Die ERU ist eine weltweit vorkommende, ophthalmologisch bedeutsame, organspezifische Autoimmunerkrankung des Pferdes, deren komplexe und multifaktorielle Pathogenese bis heute noch nicht vollständig verstanden ist (MORÉN et al., 2024; SÖTH et al., 2024). Müllerzellen spielen eine Rolle bei der Pathogenese der ERU und nehmen im Verlauf der Erkrankung einen veränderten Phänotyp an (HAUCK et al., 2007; HAUCK et al., 2010; EBERHARDT et al., 2011; LORENZ et al., 2021a). Zudem gibt es Hinweise darauf, dass eine immunologische Aktivierung von Müllerzellen bei Pferden mit ERU stattfindet (ROMEIKE et al., 1998; HAUCK et al., 2007). Dennoch ist bislang unklar, welche funktionellen Konsequenzen die Aktivierung der Müllerzellen im Krankheitsverlauf hat und welchen spezifischen immunologischen Beitrag sie zur Pathogenese der ERU leisten. Insbesondere fehlen bislang detaillierte Analysen zur proteomischen Zusammensetzung equiner Müllerzellen, sowohl im physiologischen Zustand als auch unter den pathologischen Bedingungen der ERU. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde erstmals ein hochauflösendes differenzielles Proteom equiner Müllerzellen generiert (abrufbar unter: https://www.ebi.ac.uk/pride/, Dataset-Identifier: PXD058170). Damit wurde nicht nur der erste proteomische Atlas dieser Zellen im Kontext der ERU erstellt, sondern zugleich die erste differenzielle Proteomanalyse von Müllerzellen in einem Modell für die autoimmune Uveitis durchgeführt (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). Diese umfassende Datengrundlage ermöglicht eine systematische Charakterisierung der molekularen Eigenschaften von eqRMG, sowohl in der retinalen Physiologie als auch bei der ERU und zeigt dabei signifikante Unterschiede zwischen dem Proteom gesunder und uveitischer Zellen. Hierbei waren 99 Proteine im gesunden Zustand und 211 Proteine im uveitischen Zustand in eqRMG signifikant differenziell abundant (Publikation, Figure 1, Table S1).

Um Unterschiede in der Proteinexpression zwischen zwei oder mehreren biologischen Zuständen funktionell einzuordnen, werden häufig Netzwerkanalysen, Pathway-Enrichment-Analysen (Anreicherungsanalysen biologischer Signalwege) oder Gene-Ontology-Analysen herangezogen (FABREGAT et al., 2018; SZKLARCZYK et al., 2021; CASTRESANA-AGUIRRE et al., 2022; ALEKSANDER et al., 2023; SPAGNOLO et al., 2025). Während klassische Anreicherungs- und

Netzwerkanalysen meist auf den signifikant differenziell abundanten Proteinen basieren, ermöglichen weitere Analyse-Softwares wie beispielsweise die Gene Set Enrichment Analysis ein Ranking der gesamten Proteine im Proteom (SUBRAMANIAN et al., 2005). Insgesamt erlauben diese Ansätze eine erste strukturierte Analyse komplexer proteomischer Daten, indem sie die identifizierten Proteine bereits bekannten biologischen Signalwegen zuordnen (CASTRESANA-AGUIRRE et al., 2022). Der Nutzen solcher klassischer Proteomanalysen muss allerdings besonders im Kontext einer okulären equinen Autoimmunerkrankung auch differenziert betrachtet werden: Sie basieren auf annotierten Gensets, die zwar Gene aus einer Vielzahl von Organismen umfassen, aber in erster Linie auf Erkenntnissen beruhen, die aus Experimenten an einer vergleichsweise kleinen Anzahl von Modellorganismen, darunter insbesondere Mäuse und Ratten, sowie aus humanen Daten, gewonnen wurden (ALEKSANDER et al., 2023). Während für viele Gewebe und Zelltypen in diesen untersuchten Spezies immunologische Signalwege bereits gut beschrieben sind, gibt es generell kaum funktionelle Studien zu Pferden, so auch nicht zu retinalen Zellen dieser Spezies. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass standardisierte Proteom-Analyse-Methoden primär etablierte Signalwege sowie bereits beschriebene Expressionsmuster identifizieren und zuordnen, wodurch vollkommen neuartige Prozesse möglicherweise unentdeckt bleiben. Gleichzeitig zeigt sich, dass in wenig erforschten Geweben und Spezies häufig keine grundlegend neuen Mechanismen identifiziert werden, die über bereits bekannte Prozesse hinausgehen. Besonders im Kontext der ERU könnten Spezies- und gewebespezifischen immunologischen Mechanismen eine zentrale Rolle spielen. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Analyse stellt somit eine Grundlage dar, um neue Erkenntnisse über die physiologischen und pathologischen Eigenschaften equiner Müllerzellen zu gewinnen.

Um einen ersten Überblick über die potenziell veränderten zellulären Prozesse zu erhalten, wurde eine Pathway-Enrichment-Analyse der differenziell abundanten Proteine durchgeführt – unter Berücksichtigung einer möglicherweise eingeschränkten funktionellen Aussagekraft (Publikation Table S2). Die Ergebnisse bieten wertvolle erste Hinweise auf grundlegende Anpassungen in eqRMG, die mit der ERU assoziiert sein könnten. Während anhand dieser Analysekriterien in gesunden eqRMG nur vier kanonische Signalwege signifikant induziert waren, belief sich die Anzahl der in uveitischen eqRMG induzierten kanonischen Signalwege auf 132. Die

in gesunden eqRMG induzierten Signalwege waren hauptsächlich mit Zelladhäsion und Matrixumgestaltung assoziiert (Publikation, Table S2, Results_Healthy_UP). Die in uveitischen Müllerzellen am stärksten induzierten Signalwege waren überwiegend mit der Regulierung transkriptioneller Prozesse, dem Zellzyklus und der Mitose verbunden (Publikation, Table S2, Results_ERU_UP). Dies deutet auf eine erhöhte Zellteilung und proliferative Aktivität uveitischer eqRMG im Vergleich zu gesunden Zellen hin. Da die Proliferation ein charakteristisches Merkmal gliotischer Müllerzellen ist (BALZAMINO et al., 2024), sind diese Ergebnisse ein Indikator für eine reaktive Aktivierung der eqRMG in der ERU. Da der Fokus dieser Arbeit auf den potenziellen immunologischen Funktionen von eqRMG lag, wurde eine gezielte Filterung der induzierten Signalwege nach immunologischen Prozessen vorgenommen. Der kanonische immunologische Signalweg, der in gesunden eqRMG induziert war, war die „Neutrophil Degranulation“. In uveitischen eqRMG zählten „Interferon-Signaling“, „Interferon alpha/beta Signaling“, „Diseases of programmed Cell Death“, „Interferon gamma Signaling“, „Oxidative Stress Induced Senescence“, „Formation of the Beta-Canetin: TCF-transactivation Complex“ und „SARS-CoV-2 modulates Host Translation Machinery“ zu den induzierten immunologischen Signalwegen. Die Pathway-Enrichment-Analyse lieferte Hinweise auf eine Interferon-vermittelte Immunantwort, oxidative Stressreaktionen, die Aktivierung einer zellulären Seneszenz sowie mögliche Veränderungen in der Zellkommunikation, die mit der Entzündung und dem Gewebeschaden in der uveitischen Retina assoziiert sein könnten.

Um eine umfassendere und unvoreingenommene Charakterisierung der immunologischen Prozesse zu ermöglichen und das Risiko zu verringern, dass bislang unbekannte Mechanismen übersehen werden, wurde in dieser Arbeit daher zusätzlich ein hypothesengetriebener manueller Auswertungsansatz gewählt. Dabei lag der Fokus auf der direkten Analyse differenziell abundanter Proteine unter Einbezug des gesamten Proteoms mit Assoziationen zu immunologischen Prozessen, ohne sich auf vorausgewählte Signalwege aus annotierten Datenbanken zu beschränken (Publikation, Table 1, Table 2). Für weiterführende Analysen wurden aus den immunologisch relevanten Proteinen Kandidaten ausgewählt, die mit der Antigenpräsentation und der Immunmodulation in Verbindung stehen könnten (Publikation, Figure 1). Dabei ist ebenfalls zu berücksichtigen, dass viele verfügbare Literaturquel-

len zu immunologischen Signalwegen, insbesondere im Auge, vorwiegend auf Untersuchungen in anderen Spezies basieren. Dies unterstreicht die Notwendigkeit Spezies-spezifischer immunologischer sowie ophthalmologischer Studien am Pferd. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte hochauflösende differenzielle Proteomanalyse stellt deshalb einen wichtigen ersten Schritt dar, um die molekularen Mechanismen von eqRMG in der physiologischen Netzhaut sowie im Verlauf der ERU systematisch zu charakterisieren und gezielt immunologische Signaturen zu identifizieren.

Eine detaillierte Charakterisierung der physiologischen Eigenschaften von eqRMG ist essenziell, um ihre potenzielle Rolle in der Immunhomöostase der Netzhaut sowie ihre funktionellen Veränderungen im Verlauf der ERU besser zu verstehen. Der Vergleich zwischen gesundem und uveitischem Zustand ermöglicht es, spezifische immunologische Modifikationen zu identifizieren und den Beitrag dieser Zellen zur Pathogenese der ERU weiter aufzuklären. Unter den im Rahmen der Analyse identifizierten immunologischen Proteinen mit differenzieller Abundanz im gesunden Zustand wurden der endozytotische Mannose-Rezeptor c-Typ 2 (MRC2), sein potenzieller Ligand Thrombospondin 1 (THBS1), sowie die schwere Kette von MHC Klasse I (MHCB3) aufgrund ihrer potenziellen Rolle in der Antigenpräsentation und Immunmodulation ausgewählt (Publikation, Figure 1, Table 2). Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf MRC2 gelegt, da er als endozytotischer Rezeptor eine zentrale Schnittstelle zwischen der retinalen Homöostase und immunologischen Prozessen wie der Internalisierung von Antigenen darstellen könnte (Publikation, Figure 1, Table 2, Figure 3).

Die Identifikation von MRC2 in eqRMG stellt einen völlig neuen Befund dar. Bislang wurde MRC2 weder in Müllerzellen noch generell in der Retina beschrieben, und auch im Kontext retinaler Autoimmunerkrankungen gab es hierzu bislang keinerlei Erkenntnisse. Die Funktion von MRC2 in der Müllerzelle in der gesunden Netzhaut ist aktuell unbekannt, ebenso wie die Konsequenzen seiner verminderten Abundanz im Verlauf der ERU (Stand der PubMed-Recherche: Februar 2025). Es gibt zudem bislang keinerlei Studien über das Vorkommen und die Funktion von MRC2 beim Pferd. Des Weiteren ist unklar, welche potenziellen Liganden von MRC2 in Müllerzellen gebunden werden und welche Rolle dieser Rezeptor in der lokalen Immunregulation spielen könnte.

MRC2, auch bekannt als Endo180, Urokinase Plasminogen Activator Receptor Associated Protein (UPARAP) und CD280, ist ein transmembranöser endozytotischer Kollagen- und c-Typ-Lektin-Rezeptor, der zur Familie der Mannose-Rezeptoren gehört (SHEIKH et al., 2000; GUCCIARDO et al., 2022; NØRREGAARD et al., 2024; IWAHASHI et al., 2025). MRC2 wird in Mäusen und Menschen von verschieden Zellen mesenchymalen Ursprungs, darunter Fibroblasten, Chondrozyten, Osteoblasten und Osteozyten, sowie von Endothelzellen und von Makrophagen exprimiert (SHEIKH et al., 2000; HOWARD et al., 2004; JI et al., 2020; MAJUMDER et al., 2020; GUCCIARDO et al., 2022; LIAO et al., 2023; ZHENG et al., 2023; YOON et al., 2024). Da Makrophagen als professionelle APZ eine zentrale Rolle in der Immunregulation und Antigenverarbeitung spielen und diese Arbeit einen immunologischen Fokus hat, ist es naheliegend, die Funktionen von MRC2 zunächst in dieser Zellart näher zu betrachten. MRC2 ist ein konstitutiv recycelnder endozytotischer Rezeptor, der sowohl eine intrazelluläre als auch eine extrazelluläre Domäne aufweist (SHEIKH et al., 2000; MADSEN et al., 2013). Der Rezeptor wird über Clathrin-vermittelte Endozytose zusammen mit seinem Liganden in die Zelle internalisiert, ins Endosom transportiert und anschließend unverändert wieder an die Zelloberfläche recycelt (HOWARD und ISACKE, 2002; WIENKE et al., 2003). Während dieser Mechanismus in verschiedenen Zelllinien (darunter Krebszellen) gut untersucht ist, fehlen bisher detaillierte Informationen zu diesem Prozess in Makrophagen (HOWARD und ISACKE, 2002; MADSEN et al., 2013). Die am weitesten untersuchte Funktion von MRC2 in Makrophagen ist seine Rolle bei der Endozytose und Phagozytose von Kollagenen und Kollagenfragmenten, wodurch Makrophagen am Kollagen-Turnover der extrazellulären Matrix beteiligt sind (YE et al., 2010; YE et al., 2011; MADSEN und BUGGE, 2013; MADSEN et al., 2013). Diese Funktion wurde hauptsächlich in der murinen Dermis im Kontext von Fremdkörperreaktionen auf exogene Kollagene und in Wundheilungsprozessen in menschlichem Gewebe untersucht (HONARDOUST et al., 2006; YE et al., 2010; MADSEN et al., 2013). Dabei erfolgt die Phagozytose von Kollagenen durch Makrophagen in der Dermis in Verbindung mit deren vorheriger Spaltung durch Matrix-Metalloproteinasen (YE et al., 2010; MADSEN et al., 2013). *In vitro* wurden die Kollagenfragmente anschließend durch murine Makrophagen effizient lysosomal verdaut (MADSEN et al., 2013). Ob Kollagene auch in eqRMG zu den endozytotischen Liganden von MRC2

gehören ist, nicht bekannt. Kollagene sind auch in der Retina des Säugetieres essenzielle Bestandteile der extrazellulären Matrix (SERJANOV und HYDE, 2023; PRIETO-LÓPEZ et al., 2024). Dort formieren sie ein fibrilläres Netz, das unter anderem die vitreoretinale Adhäsion vermittelt (CREVELING et al., 2022; PRIETO-LÓPEZ et al., 2024). Interessanterweise waren Zellen der humanen Müllerzelllinie MIO-M1 dazu fähig, Perlen mit Kollagen Typ II zu phagozytieren (PONSIOEN et al., 2007). Ein spezifischer Rezeptor oder ein möglicher Mechanismus der Phagozytose wurde in dieser Studie jedoch nicht untersucht (PONSIOEN et al., 2007). Interessanterweise waren Kollagen Typ IV und Kollagen Typ XII in gesunden eqRMG höher abundant und diverse weitere Kollagene in eqRMG konstitutiv exprimiert (https://www.ebi.ac.uk/pride/, Dataset-Identifier: PXD058170). Die Expression von MRC2 in eqRMG und verschiedenen Kollagenen sowie Hinweise auf die Fähigkeit der Kollagen-Phagozytose durch Müllerzellen *in vitro* (PONSIOEN et al., 2007), lassen die Hypothese zu, dass MRC2 in gesunden eqRMG potenziell an der Aufnahme und Verarbeitung von Kollagenen beteiligt sein könnte. Zudem war die Matrix-Metalloproteinase 19 in gesunden eqRMG signifikant höher abundant (Publikation, Table 2). Dieses Enzym wurde bislang noch nicht auf Müllerzellen nachgewiesen. Die kollagenolytische Aktivität dieser Metalloproteinase in anderen Modellen und die mögliche Abhängigkeit der Kollagen-Endozytose durch MRC2 von der Matrix-Metalloproteinasen in murinen Makrophagen liefern zusätzliche Hinweise auf eine Kollageninternalisierung durch gesunde eqRMG (STRACKE et al., 2000; MADSEN et al., 2013; CHIRCO et al., 2016). Zukünftige Untersuchungen sollten klären, ob Kollagen oder Kollagenfragmente, insbesondere Kollagen Typ IV und Typ XII, in eqRMG ebenfalls durch MRC2 internalisiert werden, welche Rolle Matrix-Metalloproteinasen dabei spielen und wie diese rezeptorvermittelte Phago- oder Endozytose ablaufen könnte.

Die extrazelluläre Matrix der Retina unterliegt im Verlauf der ERU tiefgreifenden Veränderungen, an denen auch Modifikationen in eqRMG maßgeblich beteiligt sind (DEEG et al., 2011). Die reduzierte Expression von MRC2 in uveitischen eqRMG (Publikation, Figure 1, Figure 3) könnte weiter zu den Veränderungen der extrazellulären Matrix in der Retina in der ERU beitragen, indem die Kollagen-Internalisierung durch Müllerzellen reduziert ist. Dadurch würde es zu einer Kollagen-Akkumulation in der uveitischen Retina kommen. Diese Kollagen-Akkumulation könnte wiederum zur Formierung von Glianarben beitragen, die im Verlauf der ERU entstehen

(ROMEIKE et al., 1998; DEEG et al., 2007c; BU et al., 2014). Außerdem ist es denkbar, dass ein reduzierter Kollagen-Umsatz in der uveitischen Retina die Infiltration von Entzündungszellen in das retinale Gewebe beeinflusst. In der extrazellulären Matrix führt eine erhöhte Steifigkeit, die durch die Bildung komplexer Kollagennetzwerke entsteht, wie sie unter anderem in Tumorgeweben vorkommen, zu einer Hemmung der Aktivierung, Proliferation und Migration von T-Zellen (SALMON et al., 2012; SAPUDOM et al., 2025). Dies legt nahe, dass ein dichteres Kollagennetzwerk in der extrazellulären Matrix der Retina von Pferden mit ERU die Fähigkeit autoreaktiver T-Zellen, die Retina zu infiltrieren, negativ beeinflussen könnte. In diesem Kontext ist allerdings zu beachten, dass die peripheren Blutlymphozyten aus ERU-Pferden veränderte migratorische Fähigkeiten aufweisen (WIEDEMANN et al., 2020). *In vitro* wanderten diese Lymphozyten schneller, weiter und gezielter durch eine dichte, dreidimensionale Kollagenmatrix als die Zellen von gesunden Kontrollpferden und orientierten sich dabei erfolgreich an verschiedenen Chemoattraktionsgradienten (WIEDEMANN et al., 2020). Dies deutet darauf hin, dass die Migration peripherer Blutlymphozyten, darunter auch die inflammationstreibenden autoreaktiven $CD4^+$ T-Zellen, durch ein dichteres Kollagennetzwerk in der uveitischen Retina möglicherweise nicht signifikant beeinträchtigt wird und diese dennoch effizient in das retinale Gewebe eindringen können. Weiterführende Untersuchungen sollten den Einfluss der Expression von MRC2 in eqRMG auf den Kollagengehalt der retinalen extrazellulären Matrix evaluieren.

Zur Einordnung der ophthalmo-immunologischen Bedeutung von MRC2 in eqRMG in der Retina des Pferdes ist es außerdem sinnvoll auf bestehende Daten aus MRC-Knockout-Modellen zurückzugreifen. Ein MRC2-Knockout führte in Mäusen nicht zu einer offensichtlichen phänotypischen Veränderung (DURRÉ et al., 2018; JENKINS et al., 2022). Allerdings muss betont werden, dass es bislang keine spezifischen ophthalmologischen Studien zu MRC2 generell oder mit MRC2-Knockout gibt und die Auswirkungen dieses Knockouts auf das Immunmilieu des Auges daher noch nicht untersucht wurden (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). Allerdings wurde in der onkologischen Forschung eine signifikante Rolle von MRC2-exprimierenden Krebs-assoziierten Fibroblasten in der Regulation des lokalen Immunmilieus nachgewiesen (JENKINS et al., 2022). In Mäusen mit induziertem Mammakarzinom bewirkten $MRC2^+$ krebs-assoziierte Fibroblasten eine immunsuppressive Tumormikroumgebung (JENKINS et al., 2022). Ein MRC2-Knockout in den untersuchten

Mausmodellen führte zu einer Reduktion des Tumorwachstums und einer verlängerten Überlebenszeit der betroffenen Tiere (JENKINS et al., 2022). Dieser Effekt wurde auf eine erhöhte Anzahl tumorassoziierter $CD8^+$ T-Zellen und ein besseres Ansprechen auf Immun-Checkpoint-Blockaden zurückgeführt (JENKINS et al., 2022). Die Expression von MRC2 in den krebsassoziierten Fibroblasten der Wildtyp-Mäuse führte hingegen zu einer verminderten Infiltration von $CD8^+$ T-Zellen, einer Resistenz gegenüber der Immun-Checkpoint-Blockade und resultierte somit in einem immunologisch „kalten“, kontinuierlich wachsenden Tumor (JENKINS et al., 2022). Angesichts dieser Ergebnisse könnte die reduzierte Expression des potenziell immunsuppressiv wirkenden MRC2 in eqRMG die Infiltration von T-Zellen und die Zusammensetzung des Immunmilieus in der uveitischen Retina direkt beeinflussen. Obwohl $CD8^+$ T-Zellen ebenfalls in der Retina von ERU-Pferden nachgewiesen wurden, sind es nur die $CD4^+$ T-Zellen, die einen autoreaktiven, aktivierten Phänotyp aufweisen (GILGER et al., 1999; KLEINWORT et al., 2016; SALDINGER et al., 2020). Daher sollte der Fokus spezifischer Untersuchungen zum Einfluss der MRC2-Expression in eqRMG auf infiltrierende T-Zellen vorwiegend auf die $CD4^+$ T-Zellen gerichtet werden. In diesem Zusammenhang liefert die Analyse der Rolle von MRC2 in anderen Modellen wertvolle Anhaltspunkte: In einem murinen Endometriose-Modell beeinflusste die MRC2-Expression von endometrialen Stroma-Zellen die Differenzierung von $CD4^+$ T-Zellen (WEI et al., 2016). Die Expression von MRC2 auf ektopischen endometrialen Stromazellen war essenziell für die *in vitro*-Generierung immunsuppressiver $CD4^+$ Tregs (WEI et al., 2016). Diese Ergebnisse lassen die Hypothese zu, dass die reduzierte Expression von MRC2 in eqRMG bei der ERU die T-Zell Differenzierung in der uveitischen Retina beeinflussen könnte. Um diese Hypothese zu überprüfen, sollten funktionelle Studien mit Ko-Inkubation von MRC2-exprimierenden eqRMG und naiven $CD4^+$ T-Zellen aus gesunden sowie an ERU-erkrankten Pferden durchgeführt werden. Ziel dieser Untersuchungen wäre es, zu klären, wie die Expression von MRC2 die Differenzierung und Aktivierung von $CD4^+$ T-Zellen beeinflusst.

Ein weiterer immunologisch relevanter Ligand von MRC2 in gesunden eqRMG könnte THBS1 sein. THBS1 war ebenfalls auf gesunden eqRMG differenziell höher abundant (Publikation, Figure 1, Table 2). THBS1 ist ein sekretiertes Protein der extrazellulären Matrix des Säugetieres mit immunsuppressiven und antiangiogenetischen Eigenschaften (KAUR und ROBERTS, 2024). Die Expression von THBS1

wurde bislang weder auf eqRMG, noch auf Müllerzellen anderer Spezies im Zusammenhang mit der autoimmunen Uveitis nachgewiesen (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). Allerdings exprimierten kultivierte primäre gesunde equine RPE-Zellen THBS1 (SZOBER et al., 2012). In Müllerzellen anderer Spezies, einschließlich der primären Müllerzellen des Meerschweinchens und der humanen MIO-M1-Zellen, wurde THBS1 unter hypoxischen Bedingungen *in vitro* sezerniert (EICHLER et al., 2004; YAFAI et al., 2014).

Die MRC2-vermittelte Regulation von THBS1 wurde in anderen Zelltypen bereits untersucht (NØRREGAARD et al., 2022). In murinen dermalen Fibroblasten wurde extrazelluläres THBS1 *in vivo* und *in vitro* durch MRC2 endozytiert und anschließend lysosomal abgebaut (NØRREGAARD et al., 2022). Die MRC2-gestützte Regulation von THBS1 wurde in diesen Zellen als entscheidend für die Aufrechterhaltung der Gewebehomöostase und für das Gleichgewicht zwischen dem Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix gesehen, mit Auswirkungen auf Krankheitsprozesse wie beispielsweise Fibrose (NØRREGAARD et al., 2022). Angesichts der hohen Abundanz von MRC2 und THBS1 in gesunden eqRMG und ihrer Verringerung bei der ERU stellt sich die Frage, ob eine ähnliche Regulation auch in der equinen Retina erfolgt. Um die Auswirkungen einer potenziell MRC2-vermittelten Regulation von THBS1 in eqRMG sowie die Konsequenzen der reduzierten Abundanz dieser Proteine bei der ERU zu verstehen, muss zunächst die Funktion von THBS1 in der Retina betrachtet werden. Ein Zusammenhang zwischen einer reduzierten THBS1-Abundanz und pathologischen Veränderungen in der Retina wurde bereits bei der murinen IRBP-induzierten EAU gezeigt: An Tag 80 nach der Immunisierung mit IRBP wurde eine reduzierte Abundanz von THBS1 in der Retina festgestellt (CHEN et al., 2012). Ein THBS1-Knockout und anschließende Induktion einer EAU in experimentell verwendeten Mäusen führte in der Retina zu einer progressiven Neovaskularisation, was die Bedeutung von THBS1 in der Gefäßneubildung unterstreicht (ZAMIRI et al., 2005; CHEN et al., 2012). THBS1 in gesunden eqRMG könnte so in der gesunden Retina eine Neovaskularisation verhindern. Da die Neovaskularisation bei der ERU ebenfalls eine – wenn auch geringere – Rolle spielt (ZIPPLIES et al., 2010b), könnte eine reduzierte Abundanz von THBS1 in uveitischen eqRMG zu diesem Prozess beitragen.

Neben seinen antiangiogenetischen Eigenschaften übt THBS1 im Säugetier auch immunsuppressive und immunmodulatorische Funktionen aus (KAUR und

ROBERTS, 2024). Bei der murinen IRBP-induzierten EAU führte die topische Applikation eines THBS1-abgeleiteten, CD47-bindenden synthetischen Peptids zu einer signifikanten Reduktion der retinalen Leukozytenadhäsion und einer Abschwächung der klinischen Symptome der Erkrankung (SORIANO-ROMANÍ et al., 2022). Darüber hinaus ist THBS1 ein potenter Aktivator von TGF-β, einem antiinflammatorischen Zytokin, das in der Retina eine regulatorische Funktion ausführen kann: In einer *ex vivo*-Kultur muriner RPE-Zellen führte von diesen produziertes THBS1 zur Aktivierung von TGF-β (ZAMIRI et al., 2005). Zudem zeigte sich in THBS1-Knockout-Mäusen die Entwicklung einer chronischen Augenerkrankung, die dem Sjögren-Syndrom, einer $CD4^+$ T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankung der Tränen- und Speicheldrüse, ähnelte (TURPIE et al., 2009). In den Tränendrüsen der THBS1-Knockout-Mäuse fanden sich verstärkt Th17-Zell-Infiltrate (TURPIE et al., 2009). Darüber hinaus inhibierte exogenes THBS1 *in vitro* die Differenzierung von $CD4^+$ T-Zellen humaner Psoriasis-Patienten, einer autoimmunen Hauterkrankung, zu Th17-Zellen und begünstigte stattdessen die Generierung von Tregs (RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ et al., 2019). Von gesunden eqRMG sezerniertes THBS1 könnte direkt oder durch die Aktivierung von TGF-β zur Aufrechterhaltung einer immunsuppressiven Mikroumgebung in der Retina beitragen. Eine verringerte THBS1-Abundanz in uveitischen eqRMG könnte eine verstärkte proinflammatorische T-Zell-Aktivierung begünstigen und zur Aufrechterhaltung der retinalen Entzündung in der ERU beitragen. Die hohe Abundanz von THBS1 und MRC2 in gesunden eqRMG und deren potenzielle funktionelle Beziehung deutet darauf hin, dass diese Proteine gemeinsam an der Regulation der retinalen Mikroumgebung beteiligt sein könnten. Während THBS1 antiangiogenetische und immunsuppressive Funktionen aufweist, könnte MRC2 eine Rolle bei der kontrollierten Internalisierung dieses Proteins spielen (NØRREGAARD et al., 2022; KAUR und ROBERTS, 2024). Dieser Zusammenhang könnte in der gesunden Retina dazu beitragen, eine stabile antiangiogenetische und immunsuppressive Mikroumgebung aufrechtzuerhalten. Eine verringerte Abundanz beider Proteine bei der ERU könnte daher einen progressiven Entzündungsverlauf mit Gefäßneubildung und verstärkter Immunzellinfiltration begünstigen. Zukünftige Untersuchungen sollten klären, ob eine MRC2-abhängige Internalisierung von THBS1 in eqRMG in der gesunden Retina tatsächlich eine funktionelle Rolle spielt und inwiefern der Verlust dieser Regulation zur Pathogenese der ERU

beiträgt. Dies könnte durch gezielte Knockdown-Experimente von MRC2 in eqRMG und funktionelle Analysen der THBS1-Sekretion weiter untersucht werden.

Die immunologische Relevanz von MRC2 in eqRMG könnte sich darüber hinaus auch aus seiner Rolle als c-Typ-Lektin Rezeptor ergeben (GUCCIARDO et al., 2022). Im Pferd und auch in der Retina wurde die Funktion von MRC2 noch nicht untersucht, weshalb Beispiele aus anderen Zelltypen herangezogen werden müssen. In murinen Fibroblasten und etablierten Zelllinien vermittelt MRC2 die Bindung und Endozytose von Collectinen, einer Gruppe löslicher Kollagen-beinhaltender c-Typ Lektine (JÜRGENSEN et al., 2019; NØRREGAARD et al., 2020). Collectine, die als Muster-Erkennungsmoleküle fungieren, zirkulieren in der Blutbahn des Säugetiers und binden mit ihren Zuckerepitopen an PAMPs und DAMPs an der Oberfläche von Pathogenen und apoptotischen Zellen (BEHAIRY et al., 2023; CEDZYŃSKI und ŚWIERZKO, 2023; LV et al., 2025). Sie sind damit essenzielle Bestandteile der angeborenen Immunantwort (LV et al., 2025). Des Weiteren sind sie evolutionär zwischen den Säugetierspezies hochkonserviert und wurden bereits im equinen Serum nachgewiesen (FRASER et al., 2018). Allerdings ist bislang nicht bekannt, ob Collectine auch in der equinen Retina vorkommen und welche Funktionen sie dort übernehmen. EqRMG exprimierten konstitutiv das Collectin 12 (https://www.ebi.ac.uk/pride/, Dataset-Identifier: PXD058170). Collectin 12 gehört allerdings in anderen Spezies bislang nicht zu den identifizierten funktionellen Liganden von MRC2 (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). MRC2-transfizierte Chinese Hamster Ovary (CHO)-Zellen und murine dermale Fibroblasten endozytierten lösliche Collectine, darunter das Mannose-bindende Lektin, Collectin 11 und das Surfactant-Protein D, *in vitro* und *in vivo* (JÜRGENSEN et al., 2019). Interessanterweise interagierte MRC2 auf CHO-Zellen nicht nur mit löslichen Collectinen, sondern auch mit immobilisiertem Mannose-bindendem Lektin auf der Oberfläche von *Escherichia coli* und Zymosan, was auf eine mögliche Beteiligung von MRC2 an der Erkennung von Pathogenen hindeutet (NØRREGAARD et al., 2020). Dies lässt die Hypothese zu, dass eqRMG über MRC2 Collectine endozytieren oder Collectin-behaftete Strukturen phagozytieren können. Hier wäre allerdings zunächst zu klären, welche Rolle Collectine in der Physiologie und Pathologie der equinen Retina übernehmen. Während bislang keine Studien zur Expression von Collectinen in der equinen Retina existieren, war Collectin 11 konstitutiv in der gesunden humanen und der murinen Retina exprimiert (DONG et al., 2017a; FANELLI et al., 2017). Collectin

11 vermittelte außerdem die effiziente Opsonophagozytose apoptotischer Photorezeptoren durch eine murine RPE-Zelllinie *in vitro* (DONG et al., 2017a). Sollte Collectin 11 auch in der equinen Retina exprimiert sein und von eqRMG erkannt oder internalisiert werden, stellt sich die Frage, ob eqRMG über MRC2 eine ähnliche phagozytotische Funktion bei der Entfernung von retinalem Debris übernehmen könnten. Da Collectin 12 in eqRMG exprimiert wird, ist zu klären, ob es von eqRMG über MRC2 internalisiert werden kann. Darüber hinaus wäre es denkbar, dass eqRMG über MRC2 die Collectin-Level in der Retina regulieren und so das Gleichgewicht zwischen entzündlichen und antiinflammatorischen Signalen beeinflussen könnten. Zukünftige Studien sollten daher gezielt untersuchen, ob Collectine in der equinen Retina exprimiert werden, ob diese mit MRC2 in eqRMG interagieren und inwiefern eine MRC2-abhängige Collectin-Internalisierung zur Immunhomöostase der Retina beiträgt.

Im Verlauf der ERU könnte diese Regulation von Collectinen durch eqRMG jedoch potenziell gestört sein. Die geringere Expression von MRC2 in uveitischen eqRMG könnte dazu führen, dass Collectine nicht mehr effizient durch eqRMG internalisiert werden, was eine Anreicherung von Collectinen in der uveitischen Retina zur Folge hätte. Zusätzlich könnten erhöhte Collectin-Level durch den Durchbruch der Blut-Retina-Schranke begünstigt werden, da Collectine im Blut zirkulieren (FRASER et al., 2018). Diese Veränderungen könnten die Entzündungsdynamik bei der ERU beeinflussen, da Collectin 11 und das Mannose-bindende Lektin in ihrer Funktion als Muster-Erkennungsmoleküle auch beim Pferd potente Aktivatoren des Lektinwegs des Komplementsystems sind (PODOLSKY et al., 2006; NAUSER et al., 2018; ASANUMA et al., 2023; DOBÓ et al., 2024; EKINCI et al., 2024). Auch das von eqRMG konstitutiv exprimierte Collectin 12, das bislang nicht als funktioneller Ligand von MRC2 untersucht wurde, spielt beim Menschen eine Rolle bei der Aktivierung des alternativen Komplementwegs über die Properdin-vermittelte Stabilisierung der C3-Konvertase (MA et al., 2015; ZHANG et al., 2020). Seine genaue Funktion im equinen Immunsystem ist jedoch unklar, da Collectin 12 bisher beim Pferd nicht beschrieben wurde (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). Die Bindung von Muster-Erkennungsmolekülen an Zielmoleküle, wie apoptotische Zellen oder Pathogene, aktiviert komplementassoziierte Serinproteasen, die wiederum die Komplementkaskade in Gang setzen (DOBÓ et al., 2024). Eine Akkumulation des Mannose-bindenden Lektins, Collectin 11 und auch Collectin 12 in der uveitischen

Retina könnte also zu einer unkontrollierten Aktivierung des Komplementsystems führen. Dass eine Aktivierung des Komplementsystems an der Pathogenese der ERU beteiligt ist, wurde bereits nachgewiesen: im Serum, sowie in infiltrierenden Entzündungszellen in den Augen von an ERU erkrankten Pferden waren Komplementfaktoren und ihre Spaltprodukte im Vergleich zu gesunden Tieren erhöht (DEEG et al., 2007a; ZIPPLIES et al., 2010b; ZIPPLIES et al., 2010a). Diese Studien zeigten eine Beteiligung des klassischen und potenziell des alternativen Aktivierungswegs des Komplementsystems am Krankheitsgeschehen (ZIPPLIES et al., 2010b; ZIPPLIES et al., 2010a). Ob auch der Lektinweg zur Aktivierung des Komplementsystems bei der ERU beiträgt, bleibt bislang ungeklärt und sollte weiter untersucht werden. Die reduzierte Expression von MRC2 in uveitischen eqRMG könnte zu einer gestörten Regulation der Collectin-Level in der Retina führen. Da MRC2 in gesunden eqRMG vermutlich an der Internalisierung von Collectinen beteiligt ist, könnte seine reduzierte Abundanz bei der ERU zu einer Akkumulation von Collectinen, darunter das Mannose-bindende Lektin und Collectin 11, sowie Collectin 12 beitragen. Dies könnte sowohl die Aktivierung des Komplementsystems über den Lektinweg initiieren als auch eine verstärkte Aktivierung über den alternativen Weg begünstigen. So würde die Entzündungsreaktion in der uveitischen Retina verstärkt werden. Zur Klärung dieser Zusammenhänge sollte die Collectin-Expression in der equinen Retina analysiert, die Collectin-Konzentration im Serum gesunder und erkrankter Pferde bestimmt, und die MRC2-abhängige Internalisierung von Collectinen in eqRMG untersucht werden. Diese Erkenntnisse könnten zeigen, ob eine Fehlregulation des Lektinwegs zur ERU-Pathogenese beiträgt und ob MRC2 eine Schutzfunktion gegen überschießende Komplementaktivierung übernimmt.

EqRMG könnten darüber hinaus durch die potenziellen endo- und phagozytotischen Eigenschaften von MRC2 an der Antigenverarbeitung beteiligt sein. Während diese Funktion für verschiedene c-Typ-Lektin-Rezeptoren bereits untersucht wurde (GEIJTENBEEK et al., 2004; BURGDORF et al., 2006; ZEHNER und BURGDORF, 2013; REIS et al., 2024), ist sie für MRC2 bislang nicht charakterisiert. C-Typ-Lektin-Rezeptoren fungieren auf myeloiden Zellen des Säugetiers als Scavenger-Rezeptoren und PRRs und sind so in die Endozytose sowie Phagozytose von Antigenen involviert (REIS et al., 2024). Aufgenommene Antigene können anschließend prozessiert und über MHC Klasse I cross-präsentiert werden (GEIJTENBEEK et al.,

2004; REIS et al., 2024). Allerdings wurde MRC2 kürzlich in krebsassoziierten Fibroblasten von Patienten mit Prostatakarzinomen als Marker für eine neuartige Subpopulation antigenpräsentierender und antigenprozessierender Fibroblasten identifiziert (WANG et al., 2024a). Während die Funktion von MRC2 auch in diesem Zelltyp bislang nicht näher untersucht wurde (WANG et al., 2024a), ist es naheliegend, eine Rolle von MRC2 bei der Endozytose von Antigenen zukünftig zu analysieren.
Für eine effektive Antigenverarbeitung müssen aufgenommene Antigene einer geeigneten Antigenpräsentationsmaschinerie zugeführt werden (OHARA und MURPHY, 2023). Interessanterweise wiesen gesunde eqRMG im Vergleich zu uveitischen eqRMG eine erhöhte Abundanz einer schweren Kette des equinen MHC-Klasse-I-Moleküls MHCB3 auf (Publikation, Figure 1, Table 2). Bislang wurde MHCB3 noch nicht auf eqRMG nachgewiesen, sodass dieses Ergebnis für die equine Retina eine neue Beobachtung darstellt. MHCB3 weist eine nicht-klassische MHC-I-Sequenz auf und konnte keinem spezifischen Equine Leukocyte Antigen-Haplotyp zugeordnet werden (ELLIS et al., 1995; CHUNG et al., 2003; TALLMADGE et al., 2010). Ob es sich funktionell um ein nicht-klassisches MHC-I-Molekül handelt, oder ob es trotz abweichender Sequenz klassische antigenpräsentierende Funktionen übernimmt, ist bisher nicht geklärt. Die erhöhte Abundanz von MHCB3 in gesunden eqRMG ist besonders im Zusammenhang mit MRC2 bemerkenswert, da beide Moleküle potenziell in die Antigenaufnahme und -präsentation involviert sein könnten. Während MHC Klasse I-Moleküle primär die Präsentation endogener Peptide in kernhaltigen Zellen des Säugetiers an $CD8^+$ T-Zellen vermitteln (PISHESHA et al., 2022; BRUNNBERG et al., 2024), ist ihre Funktion auf retinalen Müllerzellen im physiologischen Zustand der immunprivilegierten Retina bislang nicht erforscht. Allerdings induzieren eqRMG, genau wie Müllerzellen aus anderen Spezies, über bestimmte inflammatorische Stimulation die Expression von MHC Klasse I-Molekülen (SCHMALEN et al., 2021; LORENZ et al., 2021b; INTONTI et al., 2025).
Die Cross-Präsentation exogener Antigene über MHC Klasse I ist ein spezialisierter Prozess, der primär von professionellen APZ, wie dendritischen Zellen, aber auch von atypischen APZ wie neutrophilen Granulozyten ausgeführt werden kann (CRUZ et al., 2023; BJØRNESTAD et al., 2024). Ob Müllerzellen generell Antigene cross-präsentieren können, ist nicht bekannt (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). Im Verlauf der Cross-Präsentation gelangt MHC Klasse I in das Endosom, kann dort

exogene Peptide binden und anschließend an der Zelloberfläche präsentieren (BJØRNESTAD et al., 2024). Die Rezeptor-vermittelte Endozytose ist ein wichtiger Mechanismus, über den professionelle APZ exogene Antigene aufnehmen können (ZHANG et al., 2023; HUIS IN 'T VELD et al., 2025). Dies kann insbesondere durch c-Typ-Lektin-Rezeptoren wie MRC1 erfolgen, der MRC2 strukturell sehr ähnlich ist und nachweislich an der Cross-Präsentation exogener Antigene in professionellen APZ beteiligt ist (BURGDORF et al., 2006; ZEHNER und BURGDORF, 2013; LI und HU, 2019; ZHANG et al., 2023; REIS et al., 2024). In murinen und humanen Zelllinien wird MRC2 zusammen mit seinem Liganden in das frühe Endosom internalisiert, wo der Ligand abgespalten wird (HOWARD und ISACKE, 2002; WIENKE et al., 2003). Sollte dieser Mechanismus auch in eqRMG ablaufen, wäre es denkbar, dass diese Zellen exogene Antigene aufnehmen und verarbeiten können. In dendritischen Zellen werden über die Rezeptor-vermittelte Endozytose aufgenommene Antigene im Endosom prozessiert, ins Zytosol freigesetzt, über das Proteasom verdaut und schließlich über MHC-Klasse-I-Moleküle präsentiert – ein Mechanismus, der als zytosolischer Weg der Antigen-Cross-Präsentation bekannt ist (HUIS IN 'T VELD et al., 2025). Sollte sich bestätigen, dass Müllerzellen zur Cross-Präsentation fähig sind, könnte dies auf eine bislang unbekannte Rolle dieser Zellen in der Immunregulation der Retina hinweisen. Da die Retina ein immunprivilegiertes Gewebe ist, müssen Immunreaktionen dort besonders streng reguliert werden, um neuronale Schäden zu vermeiden (TEABAGY et al., 2023; WU et al., 2024). Eine Cross-Präsentation durch eqRMG über MRC2 und MHCB3 könnte daher eine fein abgestimmte Form der Immunüberwachung ermöglichen, die zwischen Toleranz gegenüber harmlosen Antigenen und der gezielten Erkennung pathogener Strukturen unterscheidet. Zukünftige Untersuchungen sollten klären, ob eqRMG durch diese Mechanismen aktiv zum Erhalt der immunprivilegierten Umgebung der Retina beitragen und ob sie als Schnittstelle zwischen Immunhomöostase und Immunüberwachung fungieren.

Während gesunde eqRMG potenziell immunmodulatorisch zur Aufrechterhaltung der retinalen Homöostase beitragen, stellt sich die Frage, wie sich ihr Phänotyp unter den inflammatorischen Bedingungen der ERU verändert und welche spezifischen immunologischen Funktionen sie im Krankheitsgeschehen übernehmen. Im Verlauf der ERU überwinden in der Peripherie aktivierte autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen

die Blut-Retina-Schranke, erkennen retinale Autoantigene und lösen eine progressive retinale Entzündung aus (DEEG et al., 2001; DEGROOTE et al., 2014; DEGROOTE et al., 2017; WIEDEMANN et al., 2020). Damit die autoreaktiven $CD4^+$ T-Zellen diese retinalen Autoantigene in der Retina erkennen können, müssen diese von APZ über MHC-Klasse-II-Moleküle präsentiert werden (MCPHERSON et al., 2022; QUINN et al., 2024). Welche Zellen in der uveitischen Retina diese antigenpräsentierende Funktion übernehmen, ist bislang ungeklärt (Stand der PubMed-Recherche: Februar 2025). Der Beitrag des Zielorgans Retina spielt dabei eine zentrale Rolle, insbesondere im Kontext des Epitop-Spreadings der retinalen Autoantigene, das während und zwischen den inflammatorischen Schüben stattfindet (DEEG et al., 2006a). Während initial nur eine begrenzte Anzahl von Epitopen der Autoantigene erkannt wird, kommt es durch die Gewebeschädigung und die verstärkte Freisetzung retinaler Antigene zu einer sukzessiven Ausweitung des T-Zell-Repertoires (DEEG et al., 2006a) (siehe Kapitel 2.3.2.). Es ist daher entscheidend, zu klären, welche Zellen in der Retina die freigesetzten Antigene prozessieren und über MHC-Klasse-II-Moleküle präsentieren. Da es Hinweise darauf gibt, dass eqRMG diese Funktion in der uveitischen Retina übernehmen könnten (ROMEIKE et al., 1998; HAUCK et al., 2007; LORENZ et al., 2021b), wurde im Rahmen der hypothesengetriebenen Auswertung des für diese Arbeit generierten Datensatzes ein besonderer Schwerpunkt auf Proteine gelegt, die mit der Antigenpräsentation oder mit APZ assoziiert sind (Publikation, Figure 1, Table 1, Figure 2, Figure S1). Hierbei wurden MHC Klasse II, potenzielle ko-stimulatorische Moleküle und mehrere Interferon-induzierte Proteine als immunologische Marker identifiziert, die auf eine antigenpräsentierende Funktion von uveitischen eqRMG hindeuten. Darüber hinaus konnte erstmals in einem natürlichen Modell der autoimmunen Uveitis die Expression des mit professionellen APZ assoziierten Enzyms Arginase 1 (ARG1) in uveitischen Müllerzellen nachgewiesen werden.

MHC Klasse II war ausschließlich in uveitischen eqRMG differenziell abundant und in gesunden eqRMG nicht nachweisbar (Publikation, Figure 1, Table 1). Dies unterstützt nicht nur die Hypothese, dass uveitische eqRMG eine antigenpräsentierende Funktion übernehmen, sondern stimmt auch mit früheren Studien zur MHC-Klasse-II-Expression in der equinen uveitischen Retina überein (ROMEIKE et al., 1998). Während die Expression von MHC Klasse II in uveitischen eqRMG bislang nur immunhistochemisch analysiert wurde (KALSOW und DWYER, 1998; ROMEIKE et

al., 1998), zeigt die hier vorliegende hoch-auflösende differenzielle Proteomanalyse erstmals eine quantitative Erfassung der Abundanz von MHC Klasse II in diesen Zellen.

Da eine Expression von MHC Klasse II allein nicht ausreicht, um eine vollständige Aktivierung von $CD4^+$ T-Zellen zu gewährleisten, erfordert eine effektive Antigenpräsentation durch professionelle APZ zusätzlich die Expression von Adhäsions- und ko-stimulatorischen Molekülen sowie die Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine (GUERDER und FLAVELL, 1995; CHAPMAN et al., 2020; ISHINA et al., 2023; BECKERS et al., 2024; CARBONE et al., 2024). In primären eqRMG konnte eine konstitutive Expression verschiedener Moleküle nachgewiesen werden, die potenziell an der Ko-Stimulation und Adhäsion von $CD4^+$ T-Zellen beteiligt sind (Publikation, Figure S1). Dazu zählen CD40 und CD58, sowie ICAM-1, CD9, CD48 und CD81 (MCARDEL et al., 2016; SCHULTZ et al., 2022; ROETS et al., 2023; HAMMER et al., 2024; KHOPANLERT et al., 2024). Zukünftige Studien zur funktionellen Relevanz dieser Proteine in eqRMG könnten entscheidende Erkenntnisse darüber liefern, in welchem Umfang diese Zellen tatsächlich als atypische APZ fungieren und eine direkte Interaktion mit $CD4^+$ T-Zellen eingehen können.

Eine Ko-Stimulation von $CD4^+$ T-Zellen durch eqRMG könnte zum einen über die CD40/CD40-Ligand (CD40L)-Achse ermöglicht werden. CD40 ist ein kanonisches, auch beim Pferd von professionellen APZ exprimiertes, ko-stimulatorisches Molekül, das an den CD40L auf $CD4^+$ T-Zellen bindet, wodurch die T-Zell-Proliferation und die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine induziert werden (CAVATORTA et al., 2009; SPONSELLER et al., 2016; KARNELL et al., 2019; TANG et al., 2021). Primäre eqRMG aus gesunden und an ERU erkrankten Pferden exprimierten CD40 konstitutiv (Publikation, Figure S1). Zudem war die Abundanz von CD40 nach LPS-Stimulation signifikant erhöht (LORENZ et al., 2021b). Während CD40 auf Müllerzellen im Kontext der autoimmunen Uveitis bislang nicht nachgewiesen wurde, wird es von humanen Müllerzellen von Patienten mit diabetischer Retinopathie, sowie von murinen Müllerzellen in experimentellen Modellen dieser Erkrankung hochreguliert (SUBAUSTE, 2019; PORTILLO et al., 2022; PORTILLO et al., 2024). Murine Müllerzellen verstärkten bei der experimentellen diabetischen Retinopathie über den ATP-P2X-Purinorezeptor-7-Signalweg die inflammatorische Reaktion und Zytokin-Freisetzung von Mikroglia und Makrophagen und spielten so eine zentrale Rolle in der Pathogenese (PORTILLO et al., 2017; PORTILLO et al.,

2022). Interessanterweise zeigten periphere CD4⁺ T-Zellen von Patienten mit anteriorer autoimmuner Uveitis eine signifikant höhere Oberflächenexpression von CD40L im Vergleich zu gesunden Menschen und Patienten mit monosymptomatischer optischer Neuritis (ØGARD et al., 2005). Dies deutet darauf hin, dass die CD40-CD40L-Achse eine Rolle in der Pathogenese der autoimmunen Uveitis des Menschen spielen könnte (ØGARD et al., 2005). Da die ERU ein etabliertes spontanes Tiermodell für die autoimmune Uveitis des Menschen darstellt (DEEG et al., 2008), unterstreicht dies die Notwendigkeit, die CD40-CD40L-Achse bei der ERU vor allem auch im Rahmen der retinalen Antigenpräsentation weiter zu untersuchen.
Ein weiteres potenziell ko-stimulatorisches und T-Zell-aktivierendes Protein, das in eqRMG konstitutiv exprimiert wurde, ist CD58 (Publikation, Figure S1). Die Expression von CD58 auf Müllerzellen, sowohl im Pferd, als auch in anderen Spezies, wurde bislang noch nicht nachgewiesen (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). Auf murinen und humanen professionellen APZ bindet CD58 an CD2 auf CD4⁺ T-Zellen, wo es eine zentrale Rolle bei der Formierung der immunologischen Synapse und der Aktivierung der T-Zellen spielt (BINDER et al., 2020; CAPERA et al., 2024). Die CD58-CD2-Achse ist beim Pferd noch nicht untersucht. Andere als atypische APZ agierende Zellen, humane neutrophile Granulozyten, aktivierten gegen Pollenantigene gerichtete CD4⁺ T-Zellen *in vitro* über die CD58-CD2-Achse ohne den Einfluss zusätzlicher ko-stimulatorischer Faktoren (POLAK et al., 2019). Daher stellt die CD58-CD2-Achse ebenfalls einen vielversprechenden Ansatz dar, um die potenzielle Rolle von eqRMG in der T-Zell-Ko-Stimulation weiter zu untersuchen.
Außerdem könnte ICAM-1 auf eqRMG einen signifikanten Beitrag zur retinalen CD4⁺ T-Zell vermittelten Entzündung leisten. ICAM-1 war ebenfalls konstitutiv auf primären eqRMG exprimiert (Publikation, Figure S1). ICAM-1 konnte über die Stimulation mit LPS auf primären eqRMG induziert werden (LORENZ et al., 2021b). Als Adhäsionsmolekül ist ICAM-1 wesentlich an der Infiltration und Adhäsion von Leukozyten in entzündetes Gewebe beteiligt und interagiert mit dem Lymphocyte Function-associated Antigen-1 (LFA-1) auf Leukozyten, wodurch es deren Rekrutierung und Aktivierung im entzündlichen Umfeld fördert (BUI et al., 2020). Im Kontext der autoimmunen Uveitis wurde ICAM-1 bislang nicht auf Müllerzellen nachgewiesen (Stand der PubMed-Recherche: März 2025). In der murinen EAU, die durch den adoptiven Transfer uveitogener CD4⁺ T-Zellen induziert wurde, wurde ICAM-1

vor allem von Endothelzellen und RPE-Zellen exprimiert und war so mit der äußeren Blut-Retina-Schranke assoziiert (DEWISPELAERE et al., 2015). Gleichzeitig wurde LFA-1 auf einem Großteil der infiltrierenden $CD4^+$ T-Zellen nachgewiesen, was eine direkte Interaktion mit ICAM-1 nahelegte (DEWISPELAERE et al., 2015). Da die $CD4^+$ T-Zell-Infiltration bei der ERU über die innere Blut-Retina-Schranke im vaskularisierten Bereich des Nervus Opticus beginnt und eqRMG dort höchstwahrscheinlich auch zur Blut-Retina-Schranke beitragen (SCHNITZER, 1988; DEEG et al., 2002b), könnten sie dort über ICAM-1 gezielt die Migration und Infiltration der $CD4^+$ T-Zellen unterstützen.

Ob uveitische eqRMG über die CD40-CD40L-Ache, die CD58-CD2-Achse und über ICAM1-LFA-1 eine Ko-Stimulation und damit eine funktionelle Antigenpräsentation über MHC Klasse II an $CD4^+$ T-Zellen ermöglichen können, müssen zukünftige Untersuchungen klären. Hierzu sollte in uveitogenen $CD4^+$ T-Zellen zunächst die Expression von CD40L, CD2 und LFA-1 untersucht und quantifiziert werden. In funktionellen Studien könnte anschließend analysiert werden, ob eqRMG über diese Proteine $CD4^+$ T-Zellen effektiv aktivieren und deren Proliferation beeinflussen.

Auffällig ist, dass im Rahmen der für diese Arbeit durchgeführten differenziellen Proteomanalyse die für professionelle APZ kanonischen ko-stimulatorischen Moleküle CD80 und CD86 nicht in eqRMG detektiert wurden (Publikation, https://www.ebi.ac.uk/pride/, Dataset-Identifier: PXD058170). CD80 und CD86 gehören zur B7-Familie und binden an CD28 auf $CD4^+$ T-Zellen, wodurch eine klassische Ko-Stimulation und T-Zell-Aktivierung ermöglicht wird (IMANISHI und SAITO, 2020; MAEHARA et al., 2024). Das Fehlen dieser Moleküle legt nahe, dass eqRMG – anders als periphere professionelle APZ – im Rahmen der ERU keine klassische Ko-Stimulation über die CD80/CD86-CD28-Achse vermitteln. Dies könnte verschiedene Gründe haben: bei der ERU werden autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen bereits in der Peripherie durch bislang ungeklärte Mechanismen gegen retinale Antigene aktiviert, noch bevor sie die Blut-Retina-Schranke überwinden (WIEDEMANN et al., 2020; SÖTH et al., 2024). Für diese bereits aktivierten $CD4^+$ T-Zellen könnten daher generell andere ko-stimulatorische Voraussetzungen gelten als für naive periphere $CD4^+$ T-Zellen. Diese Hypothese wird durch Erkenntnisse aus anderen Autoimmunerkrankungen gestützt. Autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen aus Patienten mit multipler Sklerose proliferierten *in vitro,* im Gegensatz zu den $CD4^+$ T-Zellen gesunder Kontrollpersonen, auch ohne die Ko-Stimulation durch CD80/CD86, wenn sie mit MHC-

II-transfizierten Zellen kultiviert wurden (SCHOLZ et al., 1998). Diese Beobachtung wird durch das Vorhandensein einer $CD28^{-}$ $CD4^{+}$ T-Zell-Subpopulation in Patienten mit Multipler Sklerose erklärt (MARKOVIC-PLESE et al., 2001). Diese Zellen benötigten keine klassische Ko-Stimulation über CD80/CD86, sondern proliferierten *in vitro* unabhängig davon und produzierten hohe Mengen an IFN-γ (MARKOVIC-PLESE et al., 2001). Ähnliche Mechanismen wurden auch bei Patienten mit autoimmuner primärer biliärer Cholangitis beschrieben (KAMIHIRA et al., 2003). Bei betroffenen Patienten fanden sich ebenfalls vermehrt autoreaktive $CD4^{+}$ $CD28^{-}$ T-Zellen, die unabhängig von einer Ko-Stimulation mit CD80/CD86 aktiviert werden konnten (KAMIHIRA et al., 2003). Während periphere $CD4^{+}$ T-Zellen gesunder Menschen in Abwesenheit einer Ko-Stimulation in einen Zustand der Anergie versetzt wurden, blieben die autoreaktiven $CD4^{+}$ $CD28^{-}$ T-Zellen von Patienten mit biliärer Cholangitis funktionell aktiv (KAWANO et al., 2007). Ob bei der ERU ebenfalls eine aktivierte $CD28^{-}$ $CD4^{+}$ T-Zell-Population existiert müssen zukünftige Untersuchungen klären. Falls eine solche Subpopulation in uveitischen $CD4^{+}$ T-Zellen vorhanden ist und unabhängig von der klassischen CD80/CD86-Ko-Stimulation aktiviert werden kann, könnte dies erklären, warum dieser Signalweg in eqRMG nicht induziert ist.

Befunde aus der murinen EAU legen außerdem nahe, dass die Mechanismen der T-Zell-Aktivierung im Auge von denen in der Peripherie abweichen könnten: die kombinierte systemische Blockade der CD28- und Inducible T-cell co-Stimulator (ICOS)-Achsen in Mäusen unterdrückte die Induktion einer EAU (WILSON et al., 2023). Die intravitreale Applikation desselben Inhibitors hingegen führte lediglich zu einer geringfügigen Reduktion der Entzündungsreaktion, die keinen signifikanten Unterschied zu unbehandelten uveitischen Augen aufwies (WILSON et al., 2023). Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass das intraokuläre Milieu andere immunologische Voraussetzungen für die Aktivierung von $CD4^{+}$ T-Zellen schaffen könnte als die Peripherie. Während in der systemischen Immunantwort bei der EAU die CD28- und ICOS-Ko-Stimulation eine zentrale Rolle spielt (WILSON et al., 2023), scheint diese im Auge potenziell eine untergeordnete Bedeutung zu haben. Für die ERU bedeutet dies, dass die T-Zell-Aktivierung in der Retina möglicherweise über alternative Signalwege erfolgt. Das Fehlen der CD80/CD86-Ko-Stimulation auf eqRMG legt nahe, dass diese Zellen andere Ko-Stimulations-Achsen nutzen könn-

ten, um infiltrierende autoreaktive CD4⁺ T-Zellen zu aktivieren. Die konstitutive Expression von CD40, CD58 und ICAM-1 auf eqRMG weist auf potenzielle alternative Proteine hin, über die eine T-Zell-Ko-Stimulation erfolgen könnte. Zukünftige Studien sollten die funktionelle Bedeutung der CD40-CD40L-, CD58-CD2- und ICAM-1-LFA-1-Achsen genauer untersuchen, um zu bestimmen, in welchem Maß eqRMG zur Aktivierung von T-Zellen bei der ERU fähig sind.

Neben der direkten Ko-Stimulation von CD4⁺ T-Zellen könnte auch das von eqRMG produzierte Zytokin-Milieu eine entscheidende Rolle für deren Aktivierung und Differenzierung spielen (GUERRIERO, 2019; CARBONE et al., 2024). Das Zytokin IFN-γ ist ein zentraler Mediator des retinalen Entzündungsgeschehens bei der ERU- und wird sowohl von uveitischen eqRMG, als auch von den inflammationstreibenden Th1-Zellen produziert (GILGER et al., 1999; HAUCK et al., 2007; SALDINGER et al., 2020). Auf uveitischen eqRMG waren diverse Interferon-induzierte Proteine wie das Interferon-induced Protein 1 (IFIT1), Interferon-induced Protein 44 (IFI44), Interferon-induced Protein 44-like (IFI44L), Interferon-induced with Helicase C Domain 1 (IFIH1), Interferon-stimulated Gene 15 Ubiquitin-like Modifier (ISG15) und das Interferon-induced Protein 4 (IFIT4) differenziell abundant (Publikation, Table 1). Keines dieser Interferon-induzierten Proteine wurde bislang auf eqRMG nachgewiesen. Interessanterweise war allerdings IFI44 auf murinen uveitischen Müllerzellen bei der AIRE-Knockout-EAU signifikant höher exprimiert (HENG et al., 2019). Zudem waren die Signalwege „Interferon signaling“, „Interferon alpha/ beta signaling“ und „Interferon gamma signaling“ in der Pathway-Enrichment-Analyse signifikant in uveitischen eqRMG induziert (Publikation, Table S2). Die erhöhte Abundanz der Interferon-assoziierten Proteine, sowie die Induktion Interferon-assoziierter Signalwege weisen darauf hin, dass eqRMG im Rahmen der ERU eine IFN-vermittelten Immunantwort mediieren oder einer IFN-vermittelten Immunantwort unterliegen könnten. In der murinen AIRE-Knockout-EAU zeigten uveitische Müllerzellen ebenfalls eine erhöhte Expression Interferon-assoziierter Proteine (HENG et al., 2019). Dazu gehörten unter anderem der Interferon Regulatory Factor 1 und IFI44, begleitet von einer Hochregulation von MHC Klasse II (HENG et al., 2019). Während die Induktion interferonassoziierter Signalwege in uveitischen eqRMG darauf hindeutet, dass sie in die lokale Immunantwort eingebunden sind, bleibt unklar, in welchem Maße sie durch ihre Zytokin-Sekretion die Aktivität infiltrierender CD4⁺ T-Zellen beeinflussen. Daher sollte das Sekretom kultivierter uveitischer und gesunder

eqRMG weiterführend analysiert werden. In nachfolgenden funktionellen Studien könnte beispielsweise gezielt untersucht werden, wie die durch eqRMG sezernierten Zytokine die Aktivierung, Differenzierung und Zytokin-Produktion von uveitischen und gesunden $CD4^+$ equinen T-Zellen beeinflussen.

Die Ergebnisse dieser Studie liefern Hinweise darauf, dass eqRMG bei der ERU immunologisch aktiv sind und möglicherweise als atypische APZ fungieren könnten. Dennoch bleibt unklar, ob sie tatsächlich in der Lage sind, autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen funktionell zu aktivieren und Antigene effizient zu präsentieren. Dies bleibt eine zentrale Fragestellung und erfordert weiterführende funktionelle Studien.

Neben der möglichen Rolle uveitischer eqRMG in der Antigenpräsentation stand in dieser Arbeit auch die differenzielle Expression des Enzyms ARG1 im Fokus, einem weiteren mit professionellen APZ assoziierten Protein (Publikation, Figure 1, Table 1, Figure 2). ARG1 ist ein zytosolisches Enzym, das in Säugetieren am Ende des Harnstoffzyklus steht und L-Arginin zu L-Ornithin und Harnstoff umwandelt (CANÈ et al., 2024). Während ARG1 in Säugetieren, auch beim Pferd, vorwiegend in der Leber exprimiert wird (AMINLARI und VASEGHI, 1992; MAKRIS et al., 2024), variiert ihre Funktion in extrahepatischen Geweben je nach Zell- und Gewebetyp (CANÈ et al., 2024). Insbesondere in Immunzellen spielt sie eine bedeutende Rolle und wird unter anderem von humanen und murinen Makrophagen exprimiert (WAGENER et al., 2017; WOO et al., 2024). ARG1 ist dort ein Schlüsselmarker der M1/M2-Polarisierung und gilt in diesen Spezies als Marker für M2-Makrophagen mit antiinflammatorischen Funktionen (MENJIVAR et al., 2023; BAO et al., 2025). Allerdings hat die starre M1/M2-Einteilung *in vivo* nur begrenzte Relevanz, da Makrophagen und auch Mikroglia je nach lokalem Gewebemilieu ein dynamisches Aktivierungsspektrum aufweisen (PAOLICELLI et al., 2022; ISHIDA et al., 2023; ZHU et al., 2024; BAO et al., 2025). Dies könnte insbesondere auch für atypische APZ wie eqRMG gelten, deren Funktion im retinalen Entzündungsgeschehen bislang kaum untersucht wurde. Die Funktion von ARG1 in eqRMG lässt sich daher nicht analog zu klassischen Polarisierungsschemata muriner und humaner professioneller APZ einordnen. ARG1 wurde vorher noch nicht in eqRMG nachgewiesen. Die vorliegende Studie zeigt darüber hinaus erstmals die Expression von ARG1 in den Müllerzellen eines natürlich entstehenden Modells für die autoimmune Uveitis. Die funktionelle Bedeutung von ARG1 in eqRMG bleibt jedoch unklar. In einem experi-

mentellen Uveitis-Modell, der murinen LPS-inudzierten EIU, wiesen uveitische Müllerzellen *in vivo* eine erhöhte ARG1-Abundanz auf (ZHANG et al., 2009). *In vitro* wiesen primäre murine Müllerzellen und Mikroglia nach LPS-Stimulation zudem eine erhöhte enzymatische Aktivität von ARG1 auf (ZHANG et al., 2009). Die selektive Inhibierung der ARG1 sowie die Deletion einer Kopie des ARG1-Gens führten in EIU-Mäusen zu einer reduzierten proinflammatorischen Zytokinsekretion, einer verringerten Adhäsion infiltrierender Entzündungszellen an die Blutgefäßwand und einer abgeschwächten retinalen Pathologie (ZHANG et al., 2009). Der pathogene Mechanismus der ARG1 bei der EIU wurde auf ihre Konkurrenz mit der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthetase (engl. Inducible Nitric Oxide Synthetase, iNOS) um das gemeinsame Substrat L-Arginin zurückgeführt, ein Mechanismus, der in extrahepatischen Geweben bei gleichzeitiger Expression dieser beiden Enzyme auftreten kann (ZHANG et al., 2009; CANÈ et al., 2024). Dieser Effekt tritt jedoch nur unter Bedingungen einer limitierten L-Arginin-Verfügbarkeit auf (MOMMA und OTTAVIANI, 2022). Aufgrund der höheren Substrataffinität von ARG1 kann es bei gleichzeitiger Expression der iNOS oder einer ihrer Isoformen zur sogenannten NOS-Entkopplung kommen (ZHANG et al., 2009; GERICKE und BUONFIGLIO, 2024). Dabei reagiert die NOS mit molekularem Sauerstoff, was zur Bildung von Superoxid, Peroxynitritradikalen und weiteren gewebeschädigenden ROS führt (CANÈ et al., 2024; GERICKE und BUONFIGLIO, 2024). Ein solcher Mechanismus wurde in der murinen Retina auch für die endotheliale NOS (eNOS) beschrieben, deren Entkopplung durch Müllerzell-assoziierte ARG1 in einem Modell der diabetischen Retinopathie mit vaskulärer Dysfunktion assoziiert war (PATEL et al., 2013). Bemerkenswerterweise wurden in primären eqRMG gemäß den Analysekriterien der in dieser Arbeit durchgeführten Proteomanalyse keine NOS-Isoformen nachgewiesen (https://www.ebi.ac.uk/pride/, Dataset-Identifier: PXD058170). Da im Rahmen dieser Studie eqRMG in frühen Krankheitsstadien untersucht wurden, wäre es von Interesse, die iNOS-Expression in histologischen Retina-Schnitten in späteren Stadien der Erkrankung zu charakterisieren. Die Ergebnisse aus dieser Studie lassen darauf schließen, dass der Müllerzell-assoziierte L-Arginin Metabolismus in frühen Stadien der ERU primär durch ARG1 reguliert wird.

Die Expression von ARG1 könnte allerdings auch unabhängig von der iNOS zu oxidativem Stress im retinalen Entzündungsgeschehen beitragen. Die Aktivierung des Stoffwechselwegs „Oxidative Stress Induced Senescence“ in uveitischen eqRMG

(Publikation, Table S2) deutet auf eine Beteiligung von oxidativem Stress am retinalen Entzündungsgeschehen hin. Zudem produzierten periphere $CD4^+$ T-Zellen aus ERU-Pferden *in vitro* erhöhte Mengen an ROS (SÖTH et al., 2024). Dies könnte darauf hindeuten, dass eqRMG oxidativem Stress durch infiltrierende Immunzellen ausgesetzt sind und darauf reagieren. Gleichzeitig könnten sie selbst zur Entstehung von oxidativem Stress in der Retina beitragen. Ein möglicher Mechanismus hierfür, wäre die verstärkte Polyamin-Biosynthese (MURRAY STEWART et al., 2018; HAN et al., 2024b; SCHIBALSKI et al., 2024). Polyamine entstehen als Metaboliten von L-Ornithin, einem Spaltprodukt des durch ARG1 abgebauten L-Arginins, und wurden bereits in gesunden Müllerzellen verschiedener Säugerspezies nachgewiesen (BIEDERMANN et al., 1998; CANÈ et al., 2024). Während Polyamine für zahlreiche zelluläre Prozesse im Säugetierorganismus essenziell sind, kann ihr Abbau durch die Polyaminoxidase und Sperminoxidase zur Bildung von Wasserstoffperoxid und reaktiven Aldehyden führen, was wiederrum intra- und extrazellulären oxidativem Stress verursacht (HAN et al., 2024b; SCHIBALSKI et al., 2024). Ein besonders reaktives Abbauprodukt ist das Aldehyd Acrolein, das unter anderem aus der Oxidation von Spermin entsteht und zur oxidativen Schädigung der Retina im Rahmen der diabetischen Retinopathie beiträgt (YONG et al., 2010; DONG et al., 2017b; ALFARHAN et al., 2020; MURATA et al., 2020). Eine vergleichbare Rolle von Acrolein-vermittelten Schäden bei der ERU ist bislang nicht untersucht. Allerdings könnte eine ARG1-abhängige Polyaminproduktion in eqRMG zur Akkumulation dieser schädlichen Metabolite in der Retina führen. Darüber hinaus wirken sezernierte Polyamine und ihre Abbauprodukte in der Retina neurotoxisch: In der Nager-Retina wurde dies nach intravitrealer Injektion von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) sowie durch die Exposition retinaler Ganglienzellen gegenüber Polyamin-Abbauprodukten nachgewiesen (PERNET et al., 2007; WOOD et al., 2007; PICHAVARAM et al., 2019). Bei Ratten führte ie intravitreale Injektion von NMDA zu einer Induktion von ARG1 in Müllerzellen, was auf eine Beteiligung dieser Zellen an der Polyamin-Produktion hinweist (PERNET et al., 2007). Die Hemmung der Polyamin-Synthese in der NDMA-injizierten-Retina wirkte neuroprotektiv auf retinale Ganglienzellen (PERNET et al., 2007). Zukünftige Studien sollten daher für die ERU untersuchen, ob uveitische eqRMG über eine ARG1-abhängige Polyamin-Produktion zur neuronalen Dysfunktion beitragen könnten.

Neben der potenziellen Rolle von ARG1 bei der Generierung von oxidativem Stress in der Retina könnte ihre erhöhte Expression in uveitischen eqRMG auch direkte Auswirkungen auf infiltrierende CD4$^+$ T-Zellen haben. Eine zentrale Frage ist hierbei, inwiefern ARG1 den L-Arginin-Stoffwechsel in der Retina beeinflusst. Eine erhöhte ARG1-Expression könnte die extrazelluläre Verfügbarkeit von L-Arginin in der Retina verringern. In anderen Modellen wird die immunsuppressive Wirkung der in professionellen peripheren APZ exprimierten ARG1 auf die Depletion der extrazellulären L-Arginin Pools zurückgeführt, was zu einer reduzierten Proteinbiosynthese führen und die T-Zell-Differenzierung negativ beeinflussen kann (RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2022; MENJIVAR et al., 2023; CANÈ et al., 2024). Allerdings könnten in einer durch autoreaktive CD4$^+$ T-Zellen vermittelten retinalen Entzündung andere Mechanismen eine Rolle spielen. Hier könnten Polyamine eine potenzielle Wirkung auf die T-Zell-vermittelte Autoimmunität haben: in der murinen experimentellen autoimmunen Enzephalopathie wiesen pathogene murine Th17-Zellen einen erhöhten Polyamin-Metabolismus auf (WAGNER et al., 2021). Die Inhibierung der Polyamin-Synthese *in vitro* veränderte das Th17-Effektorprofil und führte zur Induktion eines Treg-Phänotyps (WAGNER et al., 2021). Zudem waren murine CD4$^+$-T-Zellen in der Lage, ihre intrazellulären Polyamin-Reserven durch extrazelluläre Polyamine aufzufüllen (WU et al., 2020). Eine gleichzeitige Blockade der Polyaminsynthese und der Polyamin-Aufnahme führte zu einer Erschöpfung des intrazellulären Polyamin-Pools und hemmte die T-Zell-Proliferation (WU et al., 2020). Darüber hinaus hemmte eine kombinierte Blockade der Polyaminsynthese und -aufnahme der autoreaktiven CD4$^+$ T-Zellen die Krankheitsprogression der murinen experimentellen autoimmunen Enzephalopathie vollständig, während eine einzelne Blockade dieser Prozesse nicht ausreichte (WU et al., 2020). Eine Supplementierung mit Polyaminen reduzierte darüber hinaus die Abhängigkeit der CD4$^+$T-Zell-Proliferation von der Verfügbarkeit von L-Arginin, was darauf hindeutet, dass ein zentraler Aspekt des L-Arginin-Katabolismus in autoreaktiven CD4$^+$ T-Zellen der Polyaminbiosynthese zugeführt wird (WU et al., 2020). Da murine CD4$^+$ T-Zellen in der Lage sind extrazelluläre Polyamine aufzunehmen und für ihre Proliferation zu nutzen (WU et al., 2020), stellt sich die Frage, ob ein ähnlicher Mechanismus auch in den inflammationstreibenden CD4$^+$ T-Zellen bei der ERU eine Rolle spielt. Sollte dies der Fall sein, könnten von eqRMG durch ARG1 generierte Polyamine trotz einer geringeren Bioverfügbarkeit von L-Arginin möglicherweise zur Proliferation autoreaktiver CD4$^+$

T-Zellen beitragen. Ob uveitische eqRMG durch die erhöhte Expression von ARG1 Polyamine generieren und wie diese auf die infiltrierenden $CD4^+$ T-Zellen wirken, sollte in zukünftigen Studien geklärt werden. Hierbei sollten sowohl das Sekretom uveitischer eqRMG als auch der Polyamingehalt uveitischer Glaskörperspülproben analysiert und der Polyamin-Metabolismus autoreaktiver $CD4^+$ T-Zellen aus ERU-Pferden charakterisiert werden.

Die Ergebnisse dieser Studie liefern Hinweise darauf, dass eqRMG bei der ERU immunologisch aktiv sind und möglicherweise als atypische APZ fungieren könnten. Dennoch bleibt unklar, ob sie tatsächlich in der Lage sind, autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen funktionell zu aktivieren und Antigene effizient zu präsentieren. Dies bleibt eine zentrale Fragestellung und erfordert weiterführende funktionelle Studien.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die ERU ist eine $CD4^+$ T-Zell-vermittelte, organspezifische Autoimmunerkrankung mit hoher veterinärmedizinischer Relevanz. Charakteristisch sind rezidivierende Entzündungsschübe mit progressivem Verlauf, die zur Erblindung führen können. Im Verlauf der Pathogenese überqueren in der Peripherie aktivierte, autoreaktive $CD4^+$ T-Zellen durch bisher ungeklärte Mechanismen die Blut-Retina-Schranke, attackieren retinale Autoantigene und induzieren so eine destruktive Entzündung. Dazu müssen die Autoantigene von antigenpräsentierenden Zellen über MHC Klasse II präsentiert werden. Da das immunprivilegierte Auge keine professionellen antigenpräsentierenden Zellen besitzt, bleibt unklar, welche retinalen Zellen diese Funktion bei der ERU übernehmen. Müllerzellen, die primären Makrogliazellen der nahezu avaskulären Retina, nehmen in der ERU einen gliotischen Phänotyp an, exprimieren MHC Klasse II und sezernieren Interferon-γ. Dies gibt Hinweise darauf, dass Müllerzellen in der uveitischen Retina immunologisch aktiviert sind und als atypische APZ agieren könnten. Die genauen Funktionen dieser Zellen sind jedoch sowohl in der retinalen Gesundheit, als auch im Verlauf der ERU bislang unzureichend charakterisiert.

Ziel dieser Studie war es daher, gesunde und uveitische equine Müllerzellen vergleichend auf der Proteinebene zu charakterisieren. Die hochauflösende differenzielle Proteomanalyse ergab 4198 identifizierte und quantifizierte Proteine in gesunden und uveitischen Müllerzellen. Davon wiesen 310 Proteine eine differenzielle Abundanz auf: 99 waren im gesunden Zustand signifikant erhöht abundant, während 211 Proteine im uveitischen Zustand eine signifikant höhere Abundanz zeigten. Die identifizierten und quantifizierten Proteine wurden gezielt auf immunologische Funktionen analysiert. Für weiterführende Charakterisierungen wurden daraus Proteine ausgewählt, die mit der Antigenpräsentation oder antigenpräsentierenden Zellen in Verbindung stehen könnten.

Gesunde equine Müllerzellen wiesen eine differenzielle Abundanz des endozytotischen c-Typ-Lektin- und Kollagen-Rezeptors MRC2, sowie seines potenziellen Liganden, des immunsuppressiven und antiangiogenetischen Thrombospondin 1 auf. Zudem war das MHC-Klasse-I Molekül MHCB3, das eine nicht klassische MHC I-Sequenz aufweist, in gesunden Müllerzellen differenziell abundant. Eine immunhistochemische Analyse zeigte erstmals die differenzielle Expression von MRC2 in der

Retina, sowie spezifisch in Müllerzellen sowohl unter physiologischen Bedingungen, als auch im Kontext einer retinalen Autoimmunerkrankung. In gesunden Müllerzellen war MRC2 deutlich exprimiert, insbesondere in den Endfüßen und distalen Fortsätzen, während in uveitischen Müllerzellen die Expression deutlich reduziert und auf die inneren Stammfortsätze beschränkt war. Zukünftige Untersuchungen sollten die endozytotischen Liganden von MRC2 identifizieren, sowie seine Funktion bei der Endozytose Liganden-gebundener Moleküle und die daraus resultierenden immunologischen Konsequenzen in der gesunden und der uveitischen Retina analysieren. Zudem ist zu klären, ob die endozytotische Funktion von MRC2 eine Antigen-Cross-Präsentation über MHC Klasse I ermöglicht und inwiefern MRC2 die Differenzierung uveitogener T-Zellen beeinflusst.

Uveitische equine Müllerzellen wiesen eine exklusive differenzielle Abundanz von MHC Klasse II auf und zeigten eine erhöhte Abundanz von Interferon-induzierten Proteinen, wie IFIT1, IFI44, IFI44L, ISG15 und IFIT4. Zudem exprimierten sie konstitutiv teilweise auch für equine periphere professionelle und atypische APZ kanonische ko-stimulatorische Moleküle wie CD40, CD58 und ICAM-1. Dies stützt die Hypothese, dass Müllerzellen in der ERU als atypische APZ agieren könnten. Ob eine funktionelle Antigenpräsentation an und eine Aktivierung von $CD4^+$ T-Zellen durch equine Müllerzellen möglich ist, sollte in zukünftigen Studien untersucht werden.

Ein weiteres immunologisch relevantes Protein mit differenzieller Abundanz war die Arginase 1, ein Enzym, das auch von professionellen murinen und humanen peripheren APZ exprimiert wird. Im Zuge dieser Arbeit wurde erstmals die differenzielle Expression von ARG1 in Müllerzellen eines spontanen Modells für die autoimmunen Uveitis nachgewiesen. In gesunden Müllerzellen war die Arginase 1 in den Endfüßen, Perikarya und distalen Fortsätzen exprimiert, während in uveitischen Müllerzellen eine insgesamt erhöhte und räumlich veränderte Expression vorlag. In den Endfüßen der uveitischen Müllerzellen war die Expression der Arginase 1 teils reduziert oder nicht nachweisbar, während sie in den inneren Stammfortsätzen und den Perikarya deutlich erhöht war. Zukünftige Studien sollten die funktionellen Konsequenzen der erhöhten Expression der Arginase 1 besonders im Kontext von oxidativem Stress, sowie die Rolle von Metaboliten der Arginase 1, wie Polyaminen, im retinalen Entzündungsgeschehen eingehend untersuchen.

6 SUMMARY

Equine Recurrent Uveitis is a $CD4^+$ T-cell-mediated, organ-specific autoimmune disease that is highly relevant for veterinary medicine. It is characterized by recurrent inflammatory episodes with a progressive course that can lead to blindness. The pathogenesis of autoimmune uveitis is driven by pre-activated autoreactive CD4+ T cells from the periphery, which cross the blood retinal barrier through mechanisms, that are unclear to date. In the retina, they attack retinal autoantigens, causing detrimental inflammation. For this to occur, the autoantigens must be presented by antigen-presenting cells via MHC class II. Since the immune-privileged eye lacks professional antigen presenting cells, it remains unclear which retinal cells carry out this function in the course of ERU. Müller glial cells, the principal macroglial cells of the nearly avascular retina, adopt a gliotic phenotype in ERU, express MHC class II, and secrete interferon-γ. This suggests that Müller cells in the uveitic retina are immunologically activated and might act as atypical APCs. However, the precise functions of these cells in retinal health and in the course of ERU remain to be elucidated.

The aim of this study was to comparatively characterize healthy and uveitic equine Müller cells at the protein level. High-resolution differential proteome analysis identified and quantified 4,198 proteins in healthy and uveitic Müller cells. Of these, 310 proteins were differentially abundant: 99 were significantly more abundant in the healthy state, whereas 211 proteins showed significantly higher abundance in the uveitic condition. The identified and quantified proteins were specifically analyzed for immunological functions. The proteins selected for further analysis were chosen based on their association to antigen presentation or antigen-presenting cells.

Healthy equine Müller cells exhibited differential abundance of the endocytic c-type lectin and collagen receptor MRC2, as well as its potential ligand, the immunosuppressive and antiangiogenic Thrombospondin 1. On top of that, the MHC class I molecule MHCB3, which has a non-classical MHC I sequence, was differentially abundant in healthy Müller cells. Immunohistochemical analysis revealed the differential expression of MRC2 in the retina, specifically in Müller cells, both under physiological conditions and in the context of retinal autoimmune disease for the first time. In healthy Müller cells, MRC2 was strongly expressed, particularly in the end-

feet and distal processes, whereas in uveitic Müller cells, its expression was significantly reduced and restricted to the inner stem processes. Future investigations should identify the endocytic ligands of MRC2, analyze its role in the endocytosis of ligand-bound molecules, and determine the potential immunological consequences in both healthy and uveitic retinas. Moreover, it should be clarified whether the endocytic function of MRC2 enables antigen cross-presentation via MHC class I and to what extent MRC2 influences the differentiation of uveitogenic T cells.

Uveitic equine Müller cells exhibited exclusive differential abundance of MHC class II and showed increased abundance of interferon-induced proteins, such as IFIT1, IFI44, IFI44L, ISG15, and IFIT4. Furthermore, they constitutively expressed canonical co-stimulatory molecules such as CD40, CD58, and ICAM-1, which are found partially in equine peripheral professional and atypical APCs. This supports the hypothesis that Müller cells might act as atypical antigen presenting cells in ERU. Whether equine Müller cells can functionally present antigens and activate $CD4^+$ T cells should be addressed in future studies.

Another immunologically relevant protein with differential abundance was Arginase 1, an enzyme also expressed by professional murine and human peripheral antigen presenting cells. This study provides the first evidence of differential expression of Arginase 1 in Müller cells in a model for autoimmune uveitis with spontaneous onset. In healthy Müller cells, Arginase 1 was expressed in the endfeet, perikarya, and distal processes. In uveitic Müller cells, its expression was overall increased and showed an altered spatial distribution. In the endfeet of uveitic Müller cells, Arginase 1 expression was either reduced or undetectable, while it was significantly elevated in the inner stem processes and perikarya. Future studies should thoroughly investigate the functional consequences of the increased expression of Arginase 1, particularly in the context of oxidative stress in the retina. The potential role of Arginase 1's metabolites, such as polyamines, in retinal inflammation should also be addressed.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Abramson J, Dobeš J, Lyu M, Sonnenberg GF. The emerging family of RORγt+ antigen-presenting cells. Nature Reviews Immunology 2024; 24: 64-77.

Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. Nature 2003; 422: 198-207.

Aebersold R, Mann M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. Nature 2016; 537: 347-55.

Agarwal RK, Silver PB, Caspi RR. Rodent models of experimental autoimmune uveitis. Methods Mol Biol 2012; 900: 443-69.

Akagbosu B, Tayyebi Z, Shibu G, Paucar Iza YA, Deep D, Parisotto YF, Fisher L, Pasolli HA, Thevin V, Elmentaite R, Knott M, Hemmers S, Jahn L, Friedrich C, Verter J, Wang ZM, van den Brink M, Gasteiger G, Grünewald TGP, Marie JC, Leslie C, Rudensky AY, Brown CC. Novel antigen-presenting cell imparts T(reg)-dependent tolerance to gut microbiota. Nature 2022; 610: 752-60.

Aleksander SA, Balhoff J, Carbon S, Cherry JM, Drabkin HJ, Ebert D, Feuermann M, Gaudet P, Harris NL, Hill DP, Lee R, Mi H, Moxon S, Mungall CJ, Muruganugan A, Mushayahama T, Sternberg PW, Thomas PD, Van Auken K, Ramsey J, Siegele DA, Chisholm RL, Fey P, Aspromonte MC, Nugnes MV, Quaglia F, Tosatto S, Giglio M, Nadendla S, Antonazzo G, Attrill H, Dos Santos G, Marygold S, Strelets V, Tabone CJ, Thurmond J, Zhou P, Ahmed SH, Asanitthong P, Luna Buitrago D, Erdol MN, Gage MC, Ali Kadhum M, Li KYC, Long M, Michalak A, Pesala A, Pritazahra A, Saverimuttu SCC, Su R, Thurlow KE, Lovering RC, Logie C, Oliferenko S, Blake J, Christie K, Corbani L, Dolan ME, Drabkin HJ, Hill DP, Ni L, Sitnikov D, Smith C, Cuzick A, Seager J, Cooper L, Elser J, Jaiswal P, Gupta P, Jaiswal P, Naithani S, Lera-Ramirez M, Rutherford K, Wood V, De Pons JL, Dwinell MR, Hayman GT, Kaldunski ML, Kwitek AE, Laulederkind SJF, Tutaj MA, Vedi M, Wang SJ, D'Eustachio P, Aimo L, Axelsen K, Bridge A, Hyka-Nouspikel N, Morgat A, Aleksander SA, Cherry JM, Engel SR, Karra K, Miyasato SR, Nash RS, Skrzypek MS, Weng S, Wong ED, Bakker E, Berardini TZ, Reiser L, Auchincloss A, Axelsen K, Argoud-Puy G, Blatter MC, Boutet E, Breuza L, Bridge A, Casals-Casas C, Coudert E, Estreicher A, Livia Famiglietti M, Feuermann M, Gos A, Gruaz-Gumowski N, Hulo C, Hyka-Nouspikel N, Jungo F, Le Mercier P, Lieberherr D, Masson P, Morgat A, Pedruzzi I, Pourcel L, Poux S, Rivoire C, Sundaram S, Bateman A, Bowler-Barnett E, Bye AJH, Denny P, Ignatchenko A, Ishtiaq R, Lock A, Lussi Y, Magrane M, Martin MJ, Orchard S, Raposo P, Speretta E, Tyagi N, Warner K, Zaru R, Diehl AD, Lee R, Chan J, Diamantakis S, Raciti D, Zarowiecki M, Fisher M, James-Zorn C, Ponferrada V, Zorn A, Ramachandran S, Ruzicka L, Westerfield M. The Gene Ontology knowledgebase in 2023. Genetics 2023; 224

Alfarhan M, Jafari E, Narayanan SP. Acrolein: A Potential Mediator of Oxidative Damage in Diabetic Retinopathy. Biomolecules 2020; 10

Amadi-Obi A, Yu C-R, Liu X, Mahdi RM, Clarke GL, Nussenblatt RB, Gery I, Lee YS, Egwuagu CE. TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1. Nature Medicine 2007; 13: 711-8.

Aminlari M, Vaseghi T. Arginase distribution in tissues of domestic animals. Comp Biochem Physiol B 1992; 103: 385-9.

Amlerova Z, Chmelova M, Anderova M, Vargova L. Reactive gliosis in traumatic brain injury: a comprehensive review. Front Cell Neurosci 2024; 18: 1335849.

Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, von Boehmer H, Bronson R, Dierich A, Benoist C, Mathis D. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. Science 2002; 298: 1395-401.

Aronson SB, Hogan MJ, Zweigart P. Homoimmune Uveitis in the Guinea Pig: I. General Concepts of Auto- and Homoimmunity, Methods, and Manifestations. Archives of Ophthalmology 1963; 69: 105-9.

Asanuma Y, Nozawa K, Matsushita M, Kusaoi M, Abe Y, Yamaji K, Tamura N. Critical role of lectin pathway mediated by MBL-associated serine proteases in complement activation for the pathogenesis in systemic lupus erythematosus. Heliyon 2023; 9: e19072.

Augustine J, Pavlou S, Harkin K, Stitt AW, Xu H, Chen M. IL-33 regulates Müller cell-mediated retinal inflammation and neurodegeneration in diabetic retinopathy. Dis Model Mech 2023; 16

Ayten M, Straub T, Kaplan L, Hauck SM, Grosche A, Koch SF. CD44 signaling in Müller cells impacts photoreceptor function and survival in healthy and diseased retinas. Journal of Neuroinflammation 2024; 21: 190.

Balzamino BO, Cacciamani A, Dinice L, Cecere M, Pesci FR, Ripandelli G, Micera A. Retinal Inflammation and Reactive Müller Cells: Neurotrophins' Release and Neuroprotective Strategies. Biology (Basel) 2024; 13

Bansal S, Barathi VA, Iwata D, Agrawal R. Experimental autoimmune uveitis and other animal models of uveitis: An update. Indian J Ophthalmol 2015; 63: 211-8.

Bao C, Ma Q, Ying X, Wang F, Hou Y, Wang D, Zhu L, Huang J, He C. Histone lactylation in macrophage biology and disease: from plasticity regulation to therapeutic implications. EBioMedicine 2025; 111: 105502.

Barfusser C, Wiedemann C, Hoffmann ALC, Hirmer S, Deeg CA. Altered Metabolic Phenotype of Immune Cells in a Spontaneous Autoimmune Uveitis Model. Front Immunol 2021; 12: 601619.

Barfüßer C, Wiedemann C, Hoffmann ALC, Hirmer S, Deeg CA. Altered Metabolic Phenotype of Immune Cells in a Spontaneous Autoimmune Uveitis Model. Front Immunol 2021; 12: 601619.

Beckers D, Jainarayanan AK, Dustin ML, Capera J. T Cell Resistance: On the Mechanisms of T Cell Non-activation. Immune Netw 2024; 24: e42.

Behairy MY, Tawfik NZ, Eid RA, Nasser Binjawhar D, Alshaya DS, Fayad E, Elkhatib WF, Abdallah HY. Mannose-binding lectin gene polymorphism in psoriasis and vitiligo: an observational study and computational analysis. Front Med (Lausanne) 2023; 10: 1340703.

Bejarano-Escobar R, Sánchez-Calderón H, Otero-Arenas J, Martín-Partido G, Francisco-Morcillo J. Müller glia and phagocytosis of cell debris in retinal tissue. J Anat 2017; 231: 471-83.

Benfey N, Foubert D, Ruthazer ES. Glia Regulate the Development, Function, and Plasticity of the Visual System From Retina to Cortex. Front Neural Circuits 2022; 16: 826664.

Biedermann B, Skatchkov SN, Brunk I, Bringmann A, Pannicke T, Bernstein HG, Faude F, Germer A, Veh R, Reichenbach A. Spermine/spermidine is expressed by retinal glial (Müller) cells and controls distinct K+ channels of their membrane. Glia 1998; 23: 209-20.

Biedermann B, Bringmann A, Reichenbach A. High-affinity GABA uptake in retinal glial (Müller) cells of the guinea pig: electrophysiological characterization, immunohistochemical localization, and modeling of efficiency. Glia 2002; 39: 217-28.

Biedermann B, Bringmann A, Franze K, Faude F, Wiedemann P, Reichenbach A. GABA(A) receptors in Müller glial cells of the human retina. Glia 2004; 46: 302-10.

Billingham RE, Boswell T. Studies on the problem of corneal homografts. Proc R Soc Lond B Biol Sci 1953; 141: 392-406.

Binder C, Cvetkovski F, Sellberg F, Berg S, Paternina Visbal H, Sachs DH, Berglund E, Berglund D. CD2 Immunobiology. Front Immunol 2020; 11: 1090.

Bjørnestad SA, Solbakken MH, Krokene P, Thiede B, Hylland K, Jakobsen KS, Jentoft S, Bakke O, Progida C. The Atlantic Cod MHC I compartment has the properties needed for cross-presentation in the absence of MHC II. Sci Rep 2024; 14: 25404.

Bludau I, Aebersold R. Proteomic and interactomic insights into the molecular basis of cell functional diversity. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2020; 21: 327-40.

Boff JM, Shrestha AP, Madireddy S, Viswaprakash N, Della Santina L, Vaithianathan T. The Interplay between Neurotransmitters and Calcium Dynamics in Retinal Synapses during Development, Health, and Disease. Int J Mol Sci 2024; 25

Bora K, Kushwah N, Maurya M, Pavlovich MC, Wang Z, Chen J. Assessment of Inner Blood-Retinal Barrier: Animal Models and Methods. Cells 2023; 12

Bowers CE, Calder VL, Greenwood J, Eskandarpour M. Experimental Autoimmune Uveitis: An Intraocular Inflammatory Mouse Model. J Vis Exp 2022;

Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, Osborne NN, Reichenbach A. Müller cells in the healthy and diseased retina. Progress in Retinal and Eye Research 2006; 25: 397-424.

Bringmann A, Iandiev I, Pannicke T, Wurm A, Hollborn M, Wiedemann P, Osborne NN, Reichenbach A. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects. Prog Retin Eye Res 2009b; 28: 423-51.

Bringmann A, Grosche A, Pannicke T, Reichenbach A. GABA and Glutamate Uptake and Metabolism in Retinal Glial (Müller) Cells. Front Endocrinol (Lausanne) 2013; 4: 48.

Brown CC, Rudensky AY. Spatiotemporal regulation of peripheral T cell tolerance. Science 2023; 380: 472-8.

Brunnberg J, Barends M, Frühschulz S, Winter C, Battin C, de Wet B, Cole DK, Steinberger P, Tampé R. Dual role of the peptide-loading complex as proofreader and limiter of MHC-I presentation. Proc Natl Acad Sci U S A 2024; 121: e2321600121.

Brunner AD, Thielert M, Vasilopoulou C, Ammar C, Coscia F, Mund A, Hoerning OB, Bache N, Apalategui A, Lubeck M, Richter S, Fischer DS, Raether O, Park MA, Meier F, Theis FJ, Mann M. Ultra-high sensitivity mass spectrometry quantifies single-cell proteome changes upon perturbation. Mol Syst Biol 2022; 18: e10798.

Bu S-C, Kuijer R, van der Worp RJ, Huiskamp EA, Renardel de Lavalette VW, Li X-R, Hooymans JMM, Los LI. Glial Cells and Collagens in epiretinal Membranes associated with idiopathic macular holes. RETINA 2014; 34

Bui TM, Wiesolek HL, Sumagin R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. J Leukoc Biol 2020; 108: 787-99.

Burgdorf S, Lukacs-Kornek V, Kurts C. The Mannose Receptor Mediates Uptake of Soluble but Not of Cell-Associated Antigen for Cross-Presentation1. The Journal of Immunology 2006; 176: 6770-6.

Burgdorf S, Kurts C. Endocytosis mechanisms and the cell biology of antigen presentation. Curr Opin Immunol 2008; 20: 89-95.

Canè S, Geiger R, Bronte V. The roles of arginases and arginine in immunity. Nature Reviews Immunology 2024;

Capera J, Jainarayanan A, Navarro-Pérez M, Valvo S, Demetriou P, Depoil D, Estadella I, Kvalvaag A, Felce JH, Felipe A, Dustin ML. Dynamics and spatial organization of Kv1.3 at the immunological synapse of human CD4+ T cells. Biophys J 2024; 123: 2271-81.

Carbone F, Russo C, Colamatteo A, La Rocca C, Fusco C, Matarese A, Procaccini C, Matarese G. Cellular and molecular signaling towards T cell immunological self-tolerance. J Biol Chem 2024; 300: 107134.

Caspi RR, Roberge FG, McAllister CG, el-Saied M, Kuwabara T, Gery I, Hanna E, Nussenblatt RB. T cell lines mediating experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in the rat. J Immunol 1986; 136: 928-33.

Caspi RR, Roberge FG, Chan CC, Wiggert B, Chader GJ, Rozenszajn LA, Lando Z, Nussenblatt RB. A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. J Immunol 1988; 140: 1490-5.

Caspi RR, Silver PB, Chan CC, Sun B, Agarwal RK, Wells J, Oddo S, Fujino Y, Najafian F, Wilder RL. Genetic susceptibility to experimental autoimmune uveoretinitis in the rat is associated with an elevated Th1 response. J Immunol 1996; 157: 2668-75.

Caspi RR. Experimental autoimmune uveoretinitis in the rat and mouse. Curr Protoc Immunol 2003; Chapter 15: 15.6.1-.6.20.

Caspi RR. A look at autoimmunity and inflammation in the eye. J Clin Invest 2010; 120: 3073-83.

Cassano JM, Leonard BC, Martins BC, Vapniarsky N, Morgan JT, Dow SW, Wotman KL, Pezzanite LM. Preliminary evaluation of safety and migration of immune activated mesenchymal stromal cells administered by subconjunctival injection for equine recurrent uveitis. Front Vet Sci 2023; 10: 1293199.

Castresana-Aguirre M, Guala D, Sonnhammer ELL. Benefits and Challenges of Pre-clustered Network-Based Pathway Analysis. Front Genet 2022; 13: 855766.

Cavatorta DJ, Erb HN, Flaminio MJ. Ex vivo generation of mature equine monocyte-derived dendritic cells. Vet Immunol Immunopathol 2009; 131: 259-67.

Cedzyński M, Świerzko AS. Collectins and ficolins in neonatal health and disease. Front Immunol 2023; 14: 1328658.

Chao TI, Grosche J, Friedrich KJ, Biedermann B, Francke M, Pannicke T, Reichelt W, Wulst M, Mühle C, Pritz-Hohmeier S, Kuhrt H, Faude F, Drommer W, Kasper M, Buse E, Reichenbach A. Comparative studies on mammalian Müller (retinal glial) cells. J Neurocytol 1997; 26: 439-54.

Chapman NM, Boothby MR, Chi H. Metabolic coordination of T cell quiescence and activation. Nat Rev Immunol 2020; 20: 55-70.

Chen J, Qian H, Horai R, Chan CC, Falick Y, Caspi RR. Comparative analysis of induced vs. spontaneous models of autoimmune uveitis targeting the interphotoreceptor retinoid binding protein. PLoS One 2013; 8: e72161.

Chen J, Qian H, Horai R, Chan CC, Caspi RR. Mouse Models of Experimental Autoimmune Uveitis: Comparative Analysis of Adjuvant-Induced vs Spontaneous Models of Uveitis. Curr Mol Med 2015; 15: 550-7.

Chen M, Copland DA, Zhao J, Liu J, Forrester JV, Dick AD, Xu H. Persistent Inflammation Subverts Thrombospondin-1-Induced Regulation of Retinal Angiogenesis and Is Driven by CCR2 Ligation. The American Journal of Pathology 2012; 180: 235-45.

Chirco KR, Hazlewood RJ, Miller K, Workalemahu G, Jampol LM, Lesser GR, Mullins RF, Kuehn MH, Fingert JH. MMP19 expression in the human optic nerve. Mol Vis 2016; 22: 1429-36.

Chung C, Leib SR, Fraser DG, Ellis SA, McGuire TC. Novel classical MHC class I alleles identified in horses by sequencing clones of reverse transcription-PCR products. European Journal of Immunogenetics 2003; 30: 387-96.

Clarke E, Varela L, Jenkins RE, Lozano-Andrés E, Cywińska A, Przewozny M, van Weeren PR, van de Lest CHA, Peffers M, Wauben MHM. Proteome and phospholipidome interrelationship of synovial fluid-derived extracellular vesicles in equine osteoarthritis: An exploratory 'multi-omics' study to identify composite biomarkers. Biochem Biophys Rep 2024; 37: 101635.

Collins RC. Experimental Studies On Sympathetic Ophthalmia*. American Journal of Ophthalmology 1949; 32: 1687-99.

Cooley PL, Wyman M, Kindig O. Pars plicata in equine recurrent uveitis. Vet Pathol 1990; 27: 138-40.

Cousins SW, McCabe MM, Danielpour D, Streilein JW. Identification of transforming growth factor-beta as an immunosuppressive factor in aqueous humor. Invest Ophthalmol Vis Sci 1991; 32: 2201-11.

Creveling CJ, Alsanea Y, Coats B. Correlation of collagen fibril properties and inner limiting membrane thickness with vitreoretinal adhesion in human eyes. Exp Eye Res 2022; 223: 109189.

Cruz FM, Chan A, Rock KL. Pathways of MHC I cross-presentation of exogenous antigens. Semin Immunol 2023; 66: 101729.

Cuartero-Martínez A, García-Otero X, Codesido J, Gómez-Lado N, Mateos J, Bravo SB, Rodríguez-Fernández CA, González-Barcia M, Aguiar P, Ortega-Hortas M, Otero-Espinar FJ, Fernández-Ferreiro A. Preclinical characterization of endotoxin-induced uveitis models using OCT, PET/CT and proteomics. International Journal of Pharmaceutics 2024; 662: 124516.

D'Orazio TJ, Niederkorn JY. Splenic B cells are required for tolerogenic antigen presentation in the induction of anterior chamber-associated immune deviation (ACAID). Immunology 1998; 95: 47-55.

de Smet MD, Yamamoto JH, Mochizuki M, Gery I, Singh VK, Shinohara T, Wiggert B, Chader GJ, Nussenblatt RB. Cellular immune responses of patients with uveitis to retinal antigens and their fragments. Am J Ophthalmol 1990; 110: 135-42.

Deeg CA, Kaspers B, Gerhards H, Thurau SR, Wollanke B, Wildner G. Immune responses to retinal autoantigens and peptides in equine recurrent uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001; 42: 393-8.

Deeg CA, Thurau SR, Gerhards H, Ehrenhofer M, Wildner G, Kaspers B. Uveitis in horses induced by interphotoreceptor retinoid-binding protein is similar to the spontaneous disease. Eur J Immunol 2002a; 32: 2598-606.

Deeg CA, Ehrenhofer M, Thurau SR, Reese S, Wildner G, Kaspers B. Immunopathology of Recurrent Uveitis in Spontaneously Diseased Horses. Experimental Eye Research 2002b; 75: 127-33.

Deeg CA, Reese S, Gerhards H, Wildner G, Kaspers B. The uveitogenic potential of retinal S-antigen in horses. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004; 45: 2286-92.

Deeg CA, Amann B, Raith AJ, Kaspers B. Inter- and intramolecular epitope spreading in equine recurrent uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006a; 47: 652-6.

Deeg CA, Pompetzki D, Raith AJ, Hauck SM, Amann B, Suppmann S, Goebel TWF, Olazabal U, Gerhards H, Reese S, Stangassinger M, Kaspers B, Ueffing M. Identification and Functional Validation of Novel Autoantigens in Equine Uveitis. Molecular & Cellular Proteomics 2006b; 5: 1462-70.

Deeg CA, Altmann F, Hauck SM, Schoeffmann S, Amann B, Stangassinger M, Ueffing M. Down-regulation of pigment epithelium-derived factor in uveitic lesion associates with focal vascular endothelial growth factor expression and breakdown of the blood-retinal barrier. Proteomics 2007a; 7: 1540-8.

Deeg CA, Hauck SM, Amann B, Kremmer E, Stangassinger M, Ueffing M. Major retinal autoantigens remain stably expressed during all stages of spontaneous uveitis. Mol Immunol 2007b; 44: 3291-6.

Deeg CA, Raith AJ, Amann B, Crabb JW, Thurau SR, Hauck SM, Ueffing M, Wildner G, Stangassinger M. CRALBP is a highly prevalent autoantigen for human autoimmune uveitis. Clin Dev Immunol 2007c; 2007: 39245.

Deeg CA, Hauck SM, Amann B, Pompetzki D, Altmann F, Raith A, Schmalzl T, Stangassinger M, Ueffing M. Equine recurrent uveitis--a spontaneous horse model of uveitis. Ophthalmic Res 2008; 40: 151-3.

Deeg CA, Eberhardt C, Hofmaier F, Amann B, Hauck SM. Osteopontin and fibronectin levels are decreased in vitreous of autoimmune uveitis and retinal expression of both proteins indicates ECM re-modeling. PLoS One 2011; 6: e27674.

Deeg CA, Amann B, Lutz K, Hirmer S, Lutterberg K, Kremmer E, Hauck SM. Aquaporin 11, a regulator of water efflux at retinal Muller glial cell surface decreases concomitant with immune-mediated gliosis. J Neuroinflammation 2016; 13: 89.

Degroote RL, Hauck SM, Amann B, Hirmer S, Ueffing M, Deeg CA. Unraveling the equine lymphocyte proteome: differential septin 7 expression associates with immune cells in equine recurrent uveitis. PLoS One 2014; 9: e91684.

Degroote RL, Uhl PB, Amann B, Krackhardt AM, Ueffing M, Hauck SM, Deeg CA. Formin like 1 expression is increased on CD4+ T lymphocytes in spontaneous autoimmune uveitis. J Proteomics 2017; 154: 102-8.

Degroote RL, Deeg CA. Immunological Insights in Equine Recurrent Uveitis. Front Immunol 2021; 11: 609855.

Degroote RL, Schmalen A, Hauck SM, Deeg CA. Unveiling Differential Responses of Granulocytes to Distinct Immunostimulants with Implications in Autoimmune Uveitis. Biomedicines 2023; 12

Del Río P, Irmler M, Arango-González B, Favor J, Bobe C, Bartsch U, Vecino E, Beckers J, Hauck SM, Ueffing M. GDNF-induced osteopontin from Müller glial cells promotes photoreceptor survival in the Pde6brd1 mouse model of retinal degeneration. Glia 2011; 59: 821-32.

Derluyn N, Foucart V, Verce M, Abdo R, Vaudoisey L, Lipski D, Flamand V, Everard A, Bruyns C, Willermain F. High salt diet alleviates disease severity in native experimental autoimmune uveitis. Front Ophthalmol (Lausanne) 2024; 4: 1370374.

DeVoss J, Hou Y, Johannes K, Lu W, Liou GI, Rinn J, Chang H, Caspi RR, Fong L, Anderson MS. Spontaneous autoimmunity prevented by thymic expression of a single self-antigen. J Exp Med 2006; 203: 2727-35.

Dewispelaere R, Lipski D, Foucart V, Bruyns C, Frère A, Caspers L, Willermain F. ICAM-1 and VCAM-1 are differentially expressed on blood-retinal barrier cells during experimental autoimmune uveitis. Exp Eye Res 2015; 137: 94-102.

Dmitriev AV, Dmitriev AA, Linsenmeier RA. K(+)-dependent Müller cell-generated components of the electroretinogram. Vis Neurosci 2021; 38: E010.

Dmitriev AV, Dmitriev AA, Linsenmeier RA. Extracellular K(+) reflects light-evoked changes in retinal energy metabolism. Exp Eye Res 2022; 221: 109133.

Dobó J, Kocsis A, Farkas B, Demeter F, Cervenak L, Gál P. The Lectin Pathway of the Complement System-Activation, Regulation, Disease Connections and Interplay with Other (Proteolytic) Systems. Int J Mol Sci 2024; 25

Doekes G, van der Gaag R, Rothova A, van Kooyk Y, Broersma L, Zaal MJM, Dijkman G, Fortuin ME, Baarsma GS, Kijlstra A. Humoral and cellular immune responsiveness to human S-antigen in uveitis. Current Eye Research 1987; 6: 909-19.

Donato L, Scimone C, Alibrandi S, Scalinci SZ, Mordà D, Rinaldi C, D'Angelo R, Sidoti A. Human retinal secretome: A cross-link between mesenchymal and retinal cells. World J Stem Cells 2023; 15: 665-86.

Dong X, Wu W, Ma L, Liu C, Bhuckory MB, Wang L, Nandrot EF, Xu H, Li K, Liu Y, Zhou W. Collectin-11 Is an Important Modulator of Retinal Pigment Epithelial Cell Phagocytosis and Cytokine Production. J Innate Immun 2017a; 9: 529-45.

Dong Y, Noda K, Murata M, Yoshida S, Saito W, Kanda A, Ishida S. Localization of Acrolein-Lysine Adduct in Fibrovascular Tissues of Proliferative Diabetic Retinopathy. Curr Eye Res 2017b; 42: 111-7.

Dreffs A, Henderson D, Dmitriev AV, Antonetti DA, Linsenmeier RA. Retinal pH and Acid Regulation During Metabolic Acidosis. Curr Eye Res 2018; 43: 902-12.

Drescher KM, Whittum-Hudson JA. Modulation of immune-associated surface markers and cytokine production by murine retinal glial cells. J Neuroimmunol 1996; 64: 71-81.

Du Y, Yan B. Ocular immune privilege and retinal pigment epithelial cells. J Leukoc Biol 2023; 113: 288-304.

Duan T, Du Y, Xing C, Wang HY, Wang RF. Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. Front Immunol 2022; 13: 812774.

Duan Y, Chen X, Shao H, Li Y, Zhang Z, Li H, Zhao C, Xiao H, Wang J, Zhang X. Enhanced immunosuppressive capability of mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles with high expression of CD73 in experimental autoimmune uveitis. Stem Cell Res Ther 2024; 15: 149.

Duda HC, von Toerne C, Korbonits L, Didier A, Scholz AM, Märtlbauer E, Hauck SM, Deeg CA. Cathepsin S Is More Abundant in Serum of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis-Infected Dairy Cows. Metabolites 2024; 14

Durré T, Morfoisse F, Erpicum C, Ebroin M, Blacher S, García-Caballero M, Deroanne C, Louis T, Balsat C, Van de Velde M, Kaijalainen S, Kridelka F, Engelholm L, Struman I, Alitalo K, Behrendt N, Paupert J, Noel A. uPARAP/Endo180 receptor is a gatekeeper of VEGFR-2/VEGFR-3 heterodimerisation during pathological lymphangiogenesis. Nat Commun 2018; 9: 5178.

Dyer MA, Cepko CL. Control of Müller glial cell proliferation and activation following retinal injury. Nature Neuroscience 2000; 3: 873-80.

Eastlake K, Heywood WE, Banerjee P, Bliss E, Mills K, Khaw PT, Charteris D, Limb GA. Comparative proteomic analysis of normal and gliotic PVR retina and contribution of Müller glia to this profile. Exp Eye Res 2018; 177: 197-207.

Eberhardt C, Amann B, Feuchtinger A, Hauck SM, Deeg CA. Differential expression of inwardly rectifying K+ channels and aquaporins 4 and 5 in autoimmune uveitis indicates misbalance in Muller glial cell-dependent ion and water homeostasis. Glia 2011; 59: 697-707.

Eberhardt C, Amann B, Stangassinger M, Hauck SM, Deeg CA. Isolation, characterization and establishment of an equine retinal glial cell line: a prerequisite to investigate the physiological function of Müller cells in the retina. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2012a; 96: 260-9.

Eberhardt C, Amann B, Stangassinger M, Hauck SM, Deeg CA. Isolation, characterization and establishment of an equine retinal glial cell line: a prerequisite to investigate the physiological function of Muller cells in the retina. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2012b; 96: 260-9.

Egwuagu CE, Charukamnoetkanok P, Gery I. Thymic expression of autoantigens correlates with resistance to autoimmune disease. J Immunol 1997; 159: 3109-12.

Ehrenhofer MC, Deeg CA, Reese S, Liebich HG, Stangassinger M, Kaspers B. Normal structure and age-related changes of the equine retina. Vet Ophthalmol 2002; 5: 39-47.

Eichler W, Yafai Y, Wiedemann P, Reichenbach A. Angiogenesis-related factors derived from retinal glial (Müller) cells in hypoxia. Neuroreport 2004; 15: 1633-7.

Ekinci G, Deniz O, Tüfekci E, Timur MC, Onmaz AC, Günes V, Citil M, Keles I, Hoven RVD. Could Serum Collectin-11, surfactant protein-A and D be suitable biomarkers for assessing pulmonary damage caused by Rhodococcus equi infection in foals on large farms? Pol J Vet Sci 2024; 27: 355-62.

Ellis SA, Martin AJ, Holmes EC, Morrison WI. At least four MHC Class I Genes are transcribed in the Horse: Phylogenetic Analysis suggests an usual evolutionary History for the MHC in this Species. International Journal of Immunogenetics 1995; 22: 249-60.

ElTanbouly MA, Noelle RJ. Rethinking peripheral T cell tolerance: checkpoints across a T cell's journey. Nat Rev Immunol 2021; 21: 257-67.

Fabregat A, Jupe S, Matthews L, Sidiropoulos K, Gillespie M, Garapati P, Haw R, Jassal B, Korninger F, May B, Milacic M, Roca CD, Rothfels K, Sevilla C, Shamovsky V, Shorser S, Varusai T, Viteri G, Weiser J, Wu G, Stein L, Hermjakob H, D'Eustachio P. The Reactome Pathway Knowledgebase. Nucleic Acids Res 2018; 46: D649-d55.

Fanelli G, Gonzalez-Cordero A, Gardner PJ, Peng Q, Fernando M, Kloc M, Farrar CA, Naeem A, Garred P, Ali RR, Sacks SH. Human stem cell-derived retinal epithelial cells activate complement via collectin 11 in response to stress. Scientific Reports 2017; 7: 14625.

Faunce DE, Sonoda K-H, Stein-Streilein J. MIP-2 Recruits NKT Cells to the Spleen During Tolerance Induction1. The Journal of Immunology 2001; 166: 313-21.

Fedorov, II, Protasov SA, Tarasova IA, Gorshkov MV. Ultrafast Proteomics. Biochemistry (Mosc) 2024; 89: 1349-61.

Fenn JB, Mann M, Meng CK, Wong SF, Whitehouse CM. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. Science 1989; 246: 64-71.

Forrester JV. Uveitis: pathogenesis. Lancet 1991; 338: 1498-501.

Forrester JV, Klaska IP, Yu T, Kuffova L. Uveitis in Mouse and Man. International Reviews of Immunology 2013; 32: 76-96.

Forrester JV, McMenamin PG. Evolution of the ocular immune system. Eye 2024;

Francke M, Makarov F, Kacza J, Seeger J, Wendt S, Gärtner U, Faude F, Wiedemann P, Reichenbach A. Retinal pigment epithelium melanin granules are phagocytozed by Müller glial cells in experimental retinal detachment. J Neurocytol 2001; 30: 131-6.

Fraser RS, Arroyo LG, Meyer A, Lillie BN. Identification of genetic variation in equine collagenous lectins using targeted resequencing. Veterinary Immunology and Immunopathology 2018; 202: 153-63.

Gao F, Xu LJ, Zhao Y, Sun XH, Wang Z. K+ Channels of Müller Glial Cells in Retinal Disorders. CNS Neurol Disord Drug Targets 2018; 17: 255-60.

Garg E, Zubair M. Mass Spectrometer. In: StatPearlsTreasure Island (FL): StatPearls Publishing
2025:

Geijtenbeek TB, van Vliet SJ, Engering A, t Hart BA, van Kooyk Y. Self- and nonself-recognition by C-type lectins on dendritic cells. Annu Rev Immunol 2004; 22: 33-54.

Geirsdottir L, David E, Keren-Shaul H, Weiner A, Bohlen SC, Neuber J, Balic A, Giladi A, Sheban F, Dutertre CA, Pfeifle C, Peri F, Raffo-Romero A, Vizioli J, Matiasek K, Scheiwe C, Meckel S, Mätz-Rensing K, van der Meer F, Thormodsson FR, Stadelmann C, Zilkha N, Kimchi T, Ginhoux F, Ulitsky I, Erny D, Amit I, Prinz M. Cross-Species Single-Cell Analysis Reveals Divergence of the Primate Microglia Program. Cell 2019; 179: 1609-22.e16.

Gerber-Tichet E, Blanchet FP, Majzoub K, Kremer EJ. Toll-like receptor 4; a multifunctional virus recognition receptor. Trends in Microbiology 2025; 33: 34-47.

Gerding JC, Gilger BC. Prognosis and impact of equine recurrent uveitis. Equine Veterinary Journal 2016; 48: 290-8.

Gericke A, Buonfiglio F. Physiological and Pathophysiological Relevance of Nitric Oxide Synthases (NOS) in Retinal Blood Vessels. FBL 2024; 29

Gery I, Caspi RR. Tolerance Induction in Relation to the Eye. Front Immunol 2018; 9: 2304.

Gilbert RM, Zhang X, Sampson RD, Ehrenstein MR, Nguyen DX, Chaudhry M, Mein C, Mahmud N, Galatowicz G, Tomkins-Netzer O, Calder VL, Lightman S. Clinical Remission of Sight-Threatening Non-Infectious Uveitis Is Characterized by an Upregulation of Peripheral T-Regulatory Cell Polarized Towards T-bet and TIGIT. Front Immunol 2018; 9: 907.

Gilger BC, Malok E, Cutter KV, Stewart T, Horohov DW, Allen JB. Characterization of T-lymphocytes in the anterior uvea of eyes with chronic equine recurrent uveitis. Vet Immunol Immunopathol 1999; 71: 17-28.

Gilger BC, Michau TM. Equine recurrent uveitis: new methods of management. Vet Clin North Am Equine Pract 2004; 20: 417-27, vii.

Gilger BC. Equine recurrent uveitis: the viewpoint from the USA. Equine Vet J Suppl 2010: 57-61.

Gilger BC. Immune Relevant Models for Ocular Inflammatory Diseases. Ilar j 2018; 59: 352-62.

Gilger BC, Degroote R, Deeg C. Diseases of the Uvea, Uveitis, and Recurrent Uveitis. In: Equine Ophthalmology: 2022: 441-98.

Gillani M, Pollastri G. Protein subcellular localization prediction tools. Comput Struct Biotechnol J 2024; 23: 1796-807.

Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, Mehler MF, Conway SJ, Ng LG, Stanley ER, Samokhvalov IM, Merad M. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. Science 2010; 330: 841-5.

Gould J, Wells M, de Linde Henriksen M, Gilger BC. Causes, treatment, and outcome of hyphema, fibrin, and vitreal hemorrhage in horses: 219 cases (2012-2023). J Am Vet Med Assoc 2024; 262: S94-s101.

Graca AB, Hippert C, Pearson RA. Müller Glia Reactivity and Development of Gliosis in Response to Pathological Conditions. Adv Exp Med Biol 2018; 1074: 303-8.

Grimes WN, Berson DM, Sabnis A, Hoon M, Sinha R, Tian H, Diamond JS. Layer-specific anatomical and physiological features of the retina's neurovascular unit. Curr Biol 2025; 35: 109-20.e4.

Gu C, Liu Y, Lv J, Zhang C, Huang Z, Jiang Q, Gao Y, Tao T, Su Y, Chen B, Jia R, Liu X, Su W. Kurarinone regulates Th17/Treg balance and ameliorates autoimmune uveitis via Rac1 inhibition. J Adv Res 2024;

Guan Y, Li F, Li N, Yang P. Decoding Behcet's Uveitis: an In-depth review of pathogenesis and therapeutic advances. J Neuroinflammation 2024; 21: 133.

Gucciardo F, Pirson S, Baudin L, Lebeau A, Noël A. uPARAP/Endo180: a multifaceted protein of mesenchymal cells. Cell Mol Life Sci 2022; 79: 255.

Guerder S, Flavell RA. T-cell activation. Two for T. Curr Biol 1995; 5: 866-8.

Guerriero JL. Macrophages: Their Untold Story in T Cell Activation and Function. Int Rev Cell Mol Biol 2019; 342: 73-93.

Günther M, Sticht J, Freund C, Höfer T. Antigen presentation by MHC-II is shaped by competitive and cooperative allosteric mechanisms of peptide exchange. Structure 2025; 33: 389-400.e13.

Guzman UH, Martinez-Val A, Ye Z, Damoc E, Arrey TN, Pashkova A, Renuse S, Denisov E, Petzoldt J, Peterson AC, Harking F, Østergaard O, Rydbirk R, Aznar S, Stewart H, Xuan Y, Hermanson D, Horning S, Hock C, Makarov A, Zabrouskov V, Olsen JV. Ultra-fast label-free quantification and comprehensive proteome coverage with narrow-window data-independent acquisition. Nat Biotechnol 2024; 42: 1855-66.

Hahn J, Monavarfeshani A, Qiao M, Kao AH, Kölsch Y, Kumar A, Kunze VP, Rasys AM, Richardson R, Wekselblatt JB, Baier H, Lucas RJ, Li W, Meister M, Trachtenberg JT, Yan W, Peng Y-R, Sanes JR, Shekhar K. Evolution of neuronal cell classes and types in the vertebrate retina. Nature 2023; 624: 415-24.

Hama K, Mizukawa A, Kosaka T. Fine structure of the Müller cell revealed by high-voltage electron microscopy. Sens Processes 1978; 2: 296-9.

Hammer Q, Perica K, Mbofung RM, van Ooijen H, Martin KE, Momayyezi P, Varady E, Pan Y, Jelcic M, Groff B, Abujarour R, Krokeide SZ, Lee T, Williams A, Goodridge JP, Valamehr B, Önfelt B, Sadelain M, Malmberg KJ. Genetic ablation of adhesion ligands mitigates rejection of allogeneic cellular immunotherapies. Cell Stem Cell 2024; 31: 1376-86.e8.

Han C, Li Y, Zheng X, Zhang X, Li G, Zhao L, Chen Z, Yang Y, Zhang W. AQP4- and Kir4.1-Mediated Müller Cell Oedema Is Involved in Retinal Injury Induced By Hypobaric Hypoxia. Molecular Neurobiology 2024a;

Han X, Wang D, Yang L, Wang N, Shen J, Wang J, Zhang L, Chen L, Gao S, Zong WX, Wang Y. Activation of polyamine catabolism promotes glutamine metabolism and creates a targetable vulnerability in lung cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 2024b; 121: e2319429121.

Harper JW, Bennett EJ. Proteome complexity and the forces that drive proteome imbalance. Nature 2016; 537: 328-38.

Hauck SM, Schoeffmann S, Amann B, Stangassinger M, Gerhards H, Ueffing M, Deeg CA. Retinal Mueller glial cells trigger the hallmark inflammatory process in autoimmune uveitis. J Proteome Res 2007; 6: 2121-31.

Hauck SM, Dietter J, Kramer RL, Hofmaier F, Zipplies JK, Amann B, Feuchtinger A, Deeg CA, Ueffing M. Deciphering membrane-associated molecular processes in target tissue of autoimmune uveitis by label-free quantitative mass spectrometry. Mol Cell Proteomics 2010; 9: 2292-305.

Hauck SM, Hofmaier F, Dietter J, Swadzba ME, Blindert M, Amann B, Behler J, Kremmer E, Ueffing M, Deeg CA. Label-free LC-MSMS analysis of vitreous from autoimmune uveitis reveals a significant decrease in secreted Wnt signalling inhibitors DKK3 and SFRP2. J Proteomics 2012; 75: 4545-54.

Heng JS, Hackett SF, Stein-O'Brien GL, Winer BL, Williams J, Goff LA, Nathans J. Comprehensive analysis of a mouse model of spontaneous uveoretinitis using single-cell RNA sequencing. Proceedings of the National Academy of Sciences 2019; 116: 26734-44.

Hippert C, Graca AB, Barber AC, West EL, Smith AJ, Ali RR, Pearson RA. Müller glia activation in response to inherited retinal degeneration is highly varied and disease-specific. PLoS One 2015; 10: e0120415.

Hofmaier F, Hauck SM, Amann B, Degroote RL, Deeg CA. Changes in matrix metalloproteinase network in a spontaneous autoimmune uveitis model. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011; 52: 2314-20.

Holländer H, Makarov F, Dreher Z, van Driel D, Chan-Ling T, Stone J. Structure of the macroglia of the retina: Sharing and division of labour between astrocytes and Müller cells. Journal of Comparative Neurology 1991; 313: 587-603.

Honardoust HA, Jiang G, Koivisto L, Wienke D, Isacke CM, Larjava H, Häkkinen L. Expression of Endo180 is spatially and temporally regulated during wound healing. Histopathology 2006; 49: 634-48.

Horai R, Silver PB, Chen J, Agarwal RK, Chong WP, Jittayasothorn Y, Mattapallil MJ, Nguyen S, Natarajan K, Villasmil R, Wang P, Karabekian Z, Lytton SD, Chan CC, Caspi RR. Breakdown of immune privilege and spontaneous autoimmunity in mice expressing a transgenic T cell receptor specific for a retinal autoantigen. J Autoimmun 2013; 44: 21-33.

Howard MJ, Isacke CM. The C-type lectin receptor Endo180 displays internalization and recycling properties distinct from other members of the mannose receptor family. J Biol Chem 2002; 277: 32320-31.

Howard MJ, Chambers MG, Mason RM, Isacke CM. Distribution of Endo180 receptor and ligand in developing articular cartilage. Osteoarthritis Cartilage 2004; 12: 74-82.

Hu A, Zhang J, Zhang L, Wang Z, Dai J, Lin L, Yan G, Shen F, Shen H. Efficient Cancer Biomarker Screening and Multicancer Detection Enabled by a

Multidimensional Serum Proteomic Strategy. Anal Chem 2024; 96: 19294-303.

Hu H, Liu X, Nie D, Fang M, Zhang J, Zhang G. Insights into CD154-mediated pathways in ocular hypertensive glaucoma: The role of Müller cells and P2X7 in retinal neuroprotection and therapeutic potential. Cell Biol Int 2023; 47: 1441-52.

Hu X, Zhao GL, Xu MX, Zhou H, Li F, Miao Y, Lei B, Yang XL, Wang Z. Interplay between Müller cells and microglia aggravates retinal inflammatory response in experimental glaucoma. J Neuroinflammation 2021; 18: 303.

Huang C, Zhang Z, Gu J, Li D, Gao S, Zhang R, Shi R, Sun J. Combined Therapy of Experimental Autoimmune Uveitis by a Dual-Drug Nanocomposite Formulation with Berberine and Dexamethasone. Int J Nanomedicine 2023; 18: 4347-63.

Huang J, Wang X, Li N, Fan W, Li X, Zhou Q, Liu J, Li W, Zhang Z, Liu X, Zeng S, Yang H, Tian M, Yang P, Hou S. YY1 Lactylation Aggravates Autoimmune Uveitis by Enhancing Microglial Functions via Inflammatory Genes. Adv Sci (Weinh) 2024a; 11: e2308031.

Huang Y, Zhang Y, Liu Y, Jin Y, Yang H. PRDX4 mitigates diabetic retinopathy by inhibiting reactive gliosis, apoptosis, ER stress, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction in Müller cells. J Biol Chem 2024b; 301: 108111.

Huis In 't Veld LG, Cornelissen LA, van den Bogaard L, Ansems M, Ho NI, Adema GJ. Saponin-based adjuvant uptake and induction of antigen cross-presentation by CD11b+ dendritic cells and macrophages. NPJ Vaccines 2025; 10: 15.

Hume DA, Perry VH, Gordon S. Immunohistochemical localization of a macrophage-specific antigen in developing mouse retina: phagocytosis of dying neurons and differentiation of microglial cells to form a regular array in the plexiform layers. J Cell Biol 1983; 97: 253-7.

Huppes T, Hermans H, Ensink JM. A retrospective analysis of the risk factors for surgical site infections and long-term follow-up after transpalpebral enucleation in horses. BMC Vet Res 2017; 13: 155.

Huttlin EL, Bruckner RJ, Navarrete-Perea J, Cannon JR, Baltier K, Gebreab F, Gygi MP, Thornock A, Zarraga G, Tam S, Szpyt J, Gassaway BM, Panov A, Parzen H, Fu S, Golbazi A, Maenpaa E, Stricker K, Guha Thakurta S, Zhang T, Rad R, Pan J, Nusinow DP, Paulo JA, Schweppe DK, Vaites LP, Harper JW, Gygi SP. Dual proteome-scale networks reveal cell-specific remodeling of the human interactome. Cell 2021; 184: 3022-40.e28.

Imanishi T, Saito T. T Cell Co-stimulation and Functional Modulation by Innate Signals. Trends Immunol 2020; 41: 200-12.

Inoue-Yanagimachi M, Himori N, Uchida K, Tawarayama H, Sato K, Yamamoto M, Namekata K, Harada T, Nakazawa T. Changes in glial cells and neurotrophic factors due to rotenone-induced oxidative stress in Nrf2 knockout mice. Exp Eye Res 2023; 226: 109314.

Intonti S, Kokona D, Zinkernagel MS, Enzmann V, Stein JV, Conedera FM. Glia Modulates Immune Responses in the Retina Through Distinct MHC Pathways. Glia 2025; 73: 822-39.

Ishida K, Nagatake T, Saika A, Kawai S, Node E, Hosomi K, Kunisawa J. Induction of unique macrophage subset by simultaneous stimulation with LPS and IL-4. Front Immunol 2023; 14: 1111729.

Ishina IA, Zakharova MY, Kurbatskaia IN, Mamedov AE, Belogurov AA, Jr., Gabibov AG. MHC Class II Presentation in Autoimmunity. Cells 2023; 12

Iwahashi H, Kawashima Y, Masaki H, Taga A. Lemon Balm (Melissa officinalis L.) Leaf Extract Promotes Endo180 Production in Dermal Fibroblasts and has Antiwrinkle Effect on Human Skin. Photodermatol Photoimmunol Photomed 2025; 41: e70006.

Izumi Y, Shimamoto K, Benz AM, Hammerman SB, Olney JW, Zorumski CF. Glutamate transporters and retinal excitotoxicity. Glia 2002; 39: 58-68.

Jahnke L, Zandi S, Elhelbawi A, Conedera FM, Enzmann V. Characterization of Macroglia Response during Tissue Repair in a Laser-Induced Model of Retinal Degeneration. Int J Mol Sci 2023; 24

Jenkins L, Jungwirth U, Avgustinova A, Iravani M, Mills A, Haider S, Harper J, Isacke CM. Cancer-Associated Fibroblasts Suppress CD8+ T-cell Infiltration and Confer Resistance to Immune-Checkpoint Blockade. Cancer Res 2022; 82: 2904-17.

Ji B, Chen J, Zhen C, Yang Q, Yu N. Mathematical modelling of the role of Endo180 network in the development of metastatic bone disease in prostate cancer. Comput Biol Med 2020; 117: 103619.

Jiang L, He H, Yang P, Lin X, Zhou H, Huang X, Kijlstra A. Splenic CD8+ T cells secrete TGF-beta1 to exert suppression in mice with anterior chamber-associated immune deviation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2009; 247: 87-92.

Jo AO, Ryskamp DA, Phuong TT, Verkman AS, Yarishkin O, MacAulay N, Križaj D. TRPV4 and AQP4 Channels Synergistically Regulate Cell Volume and Calcium Homeostasis in Retinal Müller Glia. J Neurosci 2015; 35: 13525-37.

Jürgensen HJ, Nørregaard KS, Sibree MM, Santoni-Rugiu E, Madsen DH, Wassilew K, Krustrup D, Garred P, Bugge TH, Engelholm LH, Behrendt N. Immune regulation by fibroblasts in tissue injury depends on uPARAP-mediated uptake of collectins. J Cell Biol 2019; 218: 333-49.

Kalinovskiy A, Leser S, Ehrle A, Reese S, Jones S, Gerhards H. Phacoemulsification Combined with Pars Plana Vitrectomy: Outcome in Horses with Acquired Cataracts Associated with Uveitis. Animals (Basel) 2024; 14

Kalsow CM, Dwyer AE. Retinal immunopathology in horses with uveitis. Ocular Immunology and Inflammation 1998; 6: 239-51.

Kamihira T, Shimoda S, Harada K, Kawano A, Handa M, Baba E, Tsuneyama K, Nakamura M, Ishibashi H, Nakanuma Y, Gershwin ME, Harada M. Distinct costimulation dependent and independent autoreactive T-cell clones in primary biliary cirrhosis. Gastroenterology 2003; 125: 1379-87.

Kammrath Betancor P, Böhringer D, Maier P, Lapp T, Reinhard T. Splenectomy as a Risk Factor for Graft Rejection Following Endothelial Transplantation: Retrospective Study. Interact J Med Res 2024; 13: e50106.

Karagianni AE, Lisowski ZM, Hume DA, Scott Pirie R. The equine mononuclear phagocyte system: The relevance of the horse as a model for understanding human innate immunity. Equine Vet J 2021; 53: 231-49.

Karas M, Bachmann D, Hillenkamp F. Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. Analytical chemistry 1985; 57: 2935-9.

Karnell JL, Rieder SA, Ettinger R, Kolbeck R. Targeting the CD40-CD40L pathway in autoimmune diseases: Humoral immunity and beyond. Adv Drug Deliv Rev 2019; 141: 92-103.

Kaur S, Roberts DD. Emerging functions of thrombospondin-1 in immunity. Semin Cell Dev Biol 2024; 155: 22-31.

Kawano A, Shimoda S, Kamihira T, Ishikawa F, Niiro H, Soejima Y, Taketomi A, Maehara Y, Nakamura M, Komori A, Migita K, Ishibashi H, Azuma M, Gershwin ME, Harada M. Peripheral tolerance and the qualitative characteristics of autoreactive T cell clones in primary biliary cirrhosis. J Immunol 2007; 179: 3315-24.

Khopanlert W, Choochuen P, Maneechai K, Jangphattananont N, Ung S, Okuno S, Steinberger P, Leitner J, Sangkhathat S, Viboonjuntra P, Terakura S, Julamanee J. Co-stimulation of CD28/CD40 signaling molecule potentiates CAR-T cell efficacy and stemness. Mol Ther Oncol 2024; 32: 200837.

Kielczewski JL, Horai R, Jittayasothorn Y, Chan CC, Caspi RR. Tertiary Lymphoid Tissue Forms in Retinas of Mice with Spontaneous Autoimmune Uveitis and Has Consequences on Visual Function. J Immunol 2016; 196: 1013-25.

Kim T, Iseri E, Peng MG, Medvidovic S, Silliman T, Pahlavan P, Niu G, Huang C, Simonyan A, Pahnahad J, Yao P, Lam P, Garimella V, Shahidi M, Bienkowski MS, Lee DJ, Thomas B, Lazzi G, Gokoffski KK. Electric field stimulation directs target-specific axon regeneration and partial restoration of vision after optic nerve crush injury. PLoS One 2025; 20: e0315562.

Kingsley NB, Sandmeyer L, Norton EM, Speed D, Dwyer A, Lassaline M, McCue M, Bellone RR. Heritability of insidious uveitis in Appaloosa horses. Anim Genet 2022a; 53: 872-7.

Kingsley NB, Sandmeyer L, Bellone RR. A review of investigated risk factors for developing equine recurrent uveitis. Vet Ophthalmol 2022b; 26: 86-100.

Kiritsy MC, McCann K, Mott D, Holland SM, Behar SM, Sassetti CM, Olive AJ. Mitochondrial respiration contributes to the interferon gamma response in antigen-presenting cells. Elife 2021; 10

Klein L, Petrozziello E. Antigen presentation for central tolerance induction. Nature Reviews Immunology 2025; 25: 57-72.

Kleinwort KJH, Amann B, Hauck SM, Feederle R, Sekundo W, Deeg CA. Immunological Characterization of Intraocular Lymphoid Follicles in a Spontaneous Recurrent Uveitis Model. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2016; 57: 4504-11.

Knight LJ, Martis RM, Donaldson PJ, Acosta ML, Lim JC. Changes in glutamate and glutamine distributions in the retinas of cystine/glutamate antiporter knockout mice. Mol Vis 2023; 29: 274-88.

Kofuji P, Ceelen P, Zahs KR, Surbeck LW, Lester HA, Newman EA. Genetic inactivation of an inwardly rectifying potassium channel (Kir4.1 subunit) in mice: phenotypic impact in retina. J Neurosci 2000; 20: 5733-40.

Kofuji P, Biedermann B, Siddharthan V, Raap M, Iandiev I, Milenkovic I, Thomzig A, Veh R, Bringmann A, Reichenbach A. Kir potassium channel subunit expression in retinal glial cells: Implications for spatial potassium buffering. Glia 2002; 39: 292-303.

Kozak Yd, Sakai J, Thillaye B, Faure JP. S antigen-induced experimental autoimmune uveo-retinitis in rats. Current Eye Research 1981; 1: 327-37.

Kreitzer MA, Swygart D, Osborn M, Skinner B, Heer C, Kaufman R, Williams B, Shepherd L, Caringal H, Gongwer M, Tchernookova BK, Malchow RP. Extracellular H(+) fluxes from tiger salamander Müller (glial) cells measured using self-referencing H(+)-selective microelectrodes. J Neurophysiol 2017; 118: 3132-43.

Kumar A, Shamsuddin N. Retinal Muller glia initiate innate response to infectious stimuli via toll-like receptor signaling. PLoS One 2012; 7: e29830.

Lazarević M, Stanisavljević S, Nikolovski N, Dimitrijević M, Miljković Đ. Complete Freund's adjuvant as a confounding factor in multiple sclerosis research. Front Immunol 2024; 15: 1353865.

Lee JE, Liang KJ, Fariss RN, Wong WT. Ex Vivo Dynamic Imaging of Retinal Microglia Using Time-Lapse Confocal Microscopy. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2008; 49: 4169-76.

Lei S, Hu M, Wei Z. Single-cell sequencing reveals an important role of SPP1 and microglial activation in age-related macular degeneration. Frontiers in Cellular Neuroscience 2024; 17

Lew DS, McGrath MJ, Finnemann SC. Galectin-3 Promotes Müller Glia Clearance Phagocytosis via MERTK and Reduces Harmful Müller Glia Activation in Inherited and Induced Retinal Degeneration. Front Cell Neurosci 2022; 16: 878260.

Lewis GP, Fisher SK. Up-regulation of glial fibrillary acidic protein in response to retinal injury: its potential role in glial remodeling and a comparison to vimentin expression. Int Rev Cytol 2003; 230: 263-90.

Lewis GP, Sethi CS, Carter KM, Charteris DG, Fisher SK. Microglial cell activation following retinal detachment: a comparison between species. Mol Vis 2005; 11: 491-500.

Li B, Hu L. Cross-presentation of Exogenous Antigens. Transfus Clin Biol 2019; 26: 346-51.

Li J, Sun F, Zhu D, Hou Y, Cheng G, Wang P, Jin X, Zhou W, Sun X, Li Z, Liu T. Deficiency of peripheral CLA(+) Tregs and clinical relevance in Behcet's syndrome. Arthritis Res Ther 2024; 26: 76.

Liao X, Ruan X, Chen X, Zheng B, Wu X, Deng Z, Yang Z, Wang F, Qin S, Jiang H. The Long Noncoding RNA Gm9866/Nuclear Factor-κB Axis Promotes Macrophage Polarization. Mediators Inflamm 2023; 2023: 9991916.

Lin H-H, Faunce DE, Stacey M, Terajewicz A, Nakamura T, Zhang-Hoover J, Kerley M, Mucenski ML, Gordon S, Stein-Streilein J. The macrophage F4/80 receptor is required for the induction of antigen-specific efferent regulatory T cells in peripheral tolerance. Journal of Experimental Medicine 2005; 201: 1615-25.

Lipski DA, Dewispelaere R, Foucart V, Caspers LE, Defrance M, Bruyns C, Willermain F. MHC class II expression and potential antigen-presenting cells in the retina during experimental autoimmune uveitis. J Neuroinflammation 2017; 14: 136.

Liu K, Iyoda T, Saternus M, Kimura Y, Inaba K, Steinman RM. Immune tolerance after delivery of dying cells to dendritic cells in situ. J Exp Med 2002; 196: 1091-7.

Liu L, Steinle JJ. Toll-like receptor 4 regulates insulin signal transduction in retinal Müller cells. Growth Factors 2017; 35: 234-8.

Liu M, Li H, Yang R, Ji D, Xia X. GSK872 and necrostatin-1 protect retinal ganglion cells against necroptosis through inhibition of RIP1/RIP3/MLKL pathway in glutamate-induced retinal excitotoxic model of glaucoma. J Neuroinflammation 2022a; 19: 262.

Liu Y, Zhao C, Meng J, Li N, Xu Z, Liu X, Hou S. Galectin-3 regulates microglial activation and promotes inflammation through TLR4/MyD88/NF-kB in experimental autoimmune uveitis. Clinical Immunology 2022b; 236: 108939.

Lorenz L, Amann B, Hirmer S, Degroote RL, Hauck SM, Deeg CA. NEU1 is more abundant in uveitic retina with concomitant desialylation of retinal cells. Glycobiology 2021a; 31: 873-83.

Lorenz L, Hirmer S, Schmalen A, Hauck SM, Deeg CA. Cell Surface Profiling of Retinal Muller Glial Cells Reveals Association to Immune Pathways after LPS Stimulation. Cells 2021b; 10

Lu L, He H, Feng J, Hu Z, Zhang S, Yang L, Liu Y, Wang T. Post-translational modification in the pathogenesis of vitiligo. Immunol Res 2024; 72: 1229-37.

Lu YB, Iandiev I, Hollborn M, Körber N, Ulbricht E, Hirrlinger PG, Pannicke T, Wei EQ, Bringmann A, Wolburg H, Wilhelmsson U, Pekny M, Wiedemann P, Reichenbach A, Käs JA. Reactive glial cells: increased stiffness correlates with increased intermediate filament expression. FASEB J 2011; 25: 624-31.

Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, Bowman EP, Sgambellone NM, Chan C-C, Caspi RR. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. Journal of Experimental Medicine 2008; 205: 799-810.

Lv F, Zhou W, Li K. The roles of collectins in renal diseases and transplantation. Immunology Letters 2025; 271: 106945.

Ma YJ, Hein E, Munthe-Fog L, Skjoedt M-O, Bayarri-Olmos R, Romani L, Garred P. Soluble Collectin-12 (CL-12) Is a Pattern Recognition Molecule Initiating Complement Activation via the Alternative Pathway. The Journal of Immunology 2015; 195: 3365-73.

Madsen DH, Leonard D, Masedunskas A, Moyer A, Jürgensen HJ, Peters DE, Amornphimoltham P, Selvaraj A, Yamada SS, Brenner DA, Burgdorf S, Engelholm LH, Behrendt N, Holmbeck K, Weigert R, Bugge TH. M2-like macrophages are responsible for collagen degradation through a mannose receptor-mediated pathway. J Cell Biol 2013; 202: 951-66.

Madsen DH, Bugge TH. Imaging collagen degradation in vivo highlights a key role for M2-polarized macrophages in extracellular matrix degradation. Oncoimmunology 2013; 2: e27127.

Maehara Y, Takeda K, Tsuji-Yogo K, Morimoto K, Harada M, Kuriyama K, Hirota S, Yagita H, Okumura K, Uchida K. Blockade of CD80/CD86-CD28 co-stimulation augments the inhibitory function of peptide antigen-specific regulatory T cells. Biomed Res 2024; 45: 115-23.

Majumder S, Amin M, Pushpakumar S, Sen U. Collagen receptor- and metalloproteinase-dependent hypertensive stress response in mesangial and glomerular endothelial cells. Mol Cell Biochem 2020; 466: 1-15.

Makris G, Veit L, Rüfenacht V, Klassa S, Zürcher N, Matsumoto S, Poms M, Häberle J. Expression and function of the urea cycle in widely-used hepatic cellular models. J Inherit Metab Dis 2024; 47: 1228-38.

Malalana F, Ireland JL, Pinchbeck G, McGowan CM. Equine uveitis in the UK: a retrospective study (2008-2018). Vet Rec 2020; 186: 92.

Malalana F. What's new in equine recurrent uveitis? In Practice 2020; 42: 348-53.

Markovic-Plese S, Cortese I, Wandinger KP, McFarland HF, Martin R. CD4+CD28-costimulation-independent T cells in multiple sclerosis. J Clin Invest 2001; 108: 1185-94.

Martínez-Gil N, Maneu V, Kutsyr O, Fernández-Sánchez L, Sánchez-Sáez X, Sánchez-Castillo C, Campello L, Lax P, Pinilla I, Cuenca N. Cellular and molecular alterations in neurons and glial cells in inherited retinal degeneration. Front Neuroanat 2022; 16: 984052.

McArdel SL, Terhorst C, Sharpe AH. Roles of CD48 in regulating immunity and tolerance. Clin Immunol 2016; 164: 10-20.

McCurry CM, Sunilkumar S, Subrahmanian SM, Yerlikaya EI, Toro AL, VanCleave AM, Stevens SA, Barber AJ, Sundstrom JM, Dennis MD. NLRP3 Inflammasome Priming in the Retina of Diabetic Mice Requires REDD1-Dependent Activation of GSK3β. Invest Ophthalmol Vis Sci 2024; 65: 34.

McMenamin PG, Holthouse I, Holt PG. Class II major histocompatibility complex (Ia) antigen-bearing dendritic cells within the iris and ciliary body of the rat eye: distribution, phenotype and relation to retinal microglia. Immunology 1992; 77: 385-93.

McMullen RJ, Fischer BM. Medical and Surgical Management of Equine Recurrent Uveitis. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 2017; 33: 465-81.

McPherson SW, Heuss ND, Abedin M, Roehrich H, Pierson MJ, Gregerson DS. Parabiosis reveals the correlation between the recruitment of circulating antigen presenting cells to the retina and the induction of spontaneous autoimmune uveoretinitis. Journal of Neuroinflammation 2022; 19: 295.

Medawar PB. Immunity to homologous grafted skin; the fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue, and to the anterior chamber of the eye. Br J Exp Pathol 1948; 29: 58-69.

Medawar PB. Immunological Tolerance. Nature 1961; 189: 14-7.

Meng J, Yang XM, Scheer O, Lange J, Müller H, Bürger S, Rothemund S, Younis R, Unterlauft JD, Eichler W. Pigment Epithelium-Derived Factor Binding to VEGFR-1 (Flt-1) Increases the Survival of Retinal Neurons. Invest Ophthalmol Vis Sci 2024; 65: 27.

Menjivar RE, Nwosu ZC, Du W, Donahue KL, Hong HS, Espinoza C, Brown K, Velez-Delgado A, Yan W, Lima F, Bischoff A, Kadiyala P, Salas-Escabillas D, Crawford HC, Bednar F, Carpenter E, Zhang Y, Halbrook CJ, Lyssiotis CA, Pasca di Magliano M. Arginase 1 is a key driver of immune suppression in pancreatic cancer. Elife 2023; 12

Mestas J, Hughes CCW. Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. The Journal of Immunology 2004; 172: 2731-8.

Michelson DA, Hase K, Kaisho T, Benoist C, Mathis D. Thymic epithelial cells co-opt lineage-defining transcription factors to eliminate autoreactive T cells. Cell 2022; 185: 2542-58.e18.

Miller CN, Waterfield MR, Gardner JM, Anderson MS. Aire in Autoimmunity. Annu Rev Immunol 2024; 42: 427-53.

Mochizuki M, Kuwabara T, McAllister C, Nussenblatt RB, Gery I. Adoptive transfer of experimental autoimmune uveoretinitis in rats. Immunopathogenic mechanisms and histologic features. Invest Ophthalmol Vis Sci 1985; 26: 1-9.

Momma TY, Ottaviani JI. There is no direct competition between arginase and nitric oxide synthase for the common substrate l-arginine. Nitric Oxide 2022; 129: 16-24.

Morén S, Kallberg M, Strom L. Equine uveitis: Outcome and adverse effects after one or two intravitreal low-dose gentamicin injections. Equine Vet J 2024;

Müller H. Zur Histologie der Netzhaut. Z Wiss Zool 1851: 234-7.

Murata M, Noda K, Ishida S. Pathological Role of Unsaturated Aldehyde Acrolein in Diabetic Retinopathy. Front Immunol 2020; 11: 589531.

Murray Stewart T, Dunston TT, Woster PM, Casero RA, Jr. Polyamine catabolism and oxidative damage. Journal of Biological Chemistry 2018; 293: 18736-45.

Nagelhus EA, Horio Y, Inanobe A, Fujita A, Haug FM, Nielsen S, Kurachi Y, Ottersen OP. Immunogold evidence suggests that coupling of K+ siphoning and water transport in rat retinal Müller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. Glia 1999; 26: 47-54.

Nakamura T, Sonoda KH, Faunce DE, Gumperz J, Yamamura T, Miyake S, Stein-Streilein J. CD4+ NKT cells, but not conventional CD4+ T cells, are required to generate efferent CD8+ T regulatory cells following antigen inoculation in an immune-privileged site. J Immunol 2003; 171: 1266-71.

Nanke Y, Kotake S, Goto M, Ujihara H, Matsubara M, Kamatani N. Decreased percentages of regulatory T cells in peripheral blood of patients with Behcet's disease before ocular attack: a possible predictive marker of ocular attack. Modern Rheumatology 2008; 18: 354-8.

Natoli R, Fernando N, Madigan M, Chu-Tan JA, Valter K, Provis J, Rutar M. Microglia-derived IL-1β promotes chemokine expression by Müller cells and RPE in focal retinal degeneration. Mol Neurodegener 2017; 12: 31.

Nauser CL, Howard MC, Fanelli G, Farrar CA, Sacks S. Collectin-11 (CL-11) Is a Major Sentinel at Epithelial Surfaces and Key Pattern Recognition Molecule in Complement-Mediated Ischaemic Injury. Front Immunol 2018; 9: 2023.

Naylor A, Hopkins A, Hudson N, Campbell M. Tight Junctions of the Outer Blood Retina Barrier. International Journal of Molecular Sciences 2020; 21: 211.

Netti V, Cocca MA, Cutrera N, Molina Ponce T, Ford P, Di Giusto G, Capurro C. Osteopontin Regulates AQP4 Expression by TRPV4 Activation in Müller Cells: Implications for Retinal Homeostasis. Molecular Neurobiology 2024;

Newman EA, Frambach DA, Odette LL. Control of extracellular potassium levels by retinal glial cell K+ siphoning. Science 1984; 225: 1174-5.

Newman EA. A physiological measure of carbonic anhydrase in Müller cells. Glia 1994; 11: 291-9.

Newman EA. Glial cell inhibition of neurons by release of ATP. J Neurosci 2003; 23: 1659-66.

Newman EA. Glial cell regulation of neuronal activity and blood flow in the retina by release of gliotransmitters. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2015; 370

Ng TF, Taylor AW. Stimulating the Melanocortin System in Uveitis and Diabetes Preserves the Structure and Anti-Inflammatory Activity of the Retina. Int J Mol Sci 2023; 24

Niederer RL, Sharief L, Tomkins-Netzer O, Lightman SL. Uveitis in Sarcoidosis - Clinical Features and Comparison with Other Non-infectious Uveitis. Ocul Immunol Inflamm 2023; 31: 367-73.

Niederkorn JY, Streilein JW. Alloantigens placed into the anterior chamber of the eye induce specific suppression of delayed-type hypersensitivity but normal cytotoxic T lymphocyte and helper T lymphocyte responses. The Journal of Immunology 1983; 131: 2670-4.

Niederkorn JY. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege. Nature Immunology 2006; 7: 354-9.

Nishino R, Nomura-Komoike K, Iida T, Fujieda H. Cell cycle-dependent activation of proneural transcription factor expression and reactive gliosis in rat Müller glia. Sci Rep 2023; 13: 22712.

Nomura-Komoike K, Nishino R, Fujieda H. Effects of different alkylating agents on photoreceptor degeneration and proliferative response of Müller glia. Sci Rep 2024; 14: 61.

Nørregaard KS, Krigslund O, Behrendt N, Engelholm LH, Jürgensen HJ. The collagen receptor uPARAP/Endo180 regulates collectins through unique structural elements in its FNII domain. J Biol Chem 2020; 295: 9157-70.

Nørregaard KS, Jürgensen HJ, Ingvarsen SZ, Heltberg SS, Hagensen CE, Gårdsvoll H, Madsen DH, Jensen ON, Engelholm LH, Behrendt N. The endocytic receptor uPARAP is a regulator of extracellular thrombospondin-1. Matrix Biology 2022; 111: 307-28.

Nørregaard KS, Jürgensen HJ, Heltberg SS, Gårdsvoll H, Bugge TH, Schoof EM, Engelholm LH, Behrendt N. A proteomics-based survey reveals thrombospondin-4 as a ligand regulated by the mannose receptor in the injured lung. Journal of Biological Chemistry 2024; 300

Nussenblatt RB, Gery I, Ballintine EJ, Wacker WB. Cellular Immune Responsiveness of Uveitis Patients to Retinal S-Antigen. American Journal of Ophthalmology 1980; 89: 173-9.

O'Leary F, Campbell M. The blood-retina barrier in health and disease. Febs j 2023; 290: 878-91.

Oakley B, 2nd, Wen R. Extracellular pH in the isolated retina of the toad in darkness and during illumination. J Physiol 1989; 419: 353-78.

Ochoa-de la Paz LD, Gulias-Cañizo R. Glia as a key factor in cell volume regulation processes of the central nervous system. Front Cell Neurosci 2022; 16: 967496.

Ochrietor JD, Clamp MF, Moroz TP, Grubb JH, Shah GN, Waheed A, Sly WS, Linser PJ. Carbonic anhydrase XIV identified as the membrane CA in mouse retina: strong expression in Müller cells and the RPE. Exp Eye Res 2005; 81: 492-500.

Øgard C, Sørensen TL, Krogh E. Increased CD40 ligand in patients with acute anterior uveitis. Acta Ophthalmologica Scandinavica 2005; 83: 370-3.

Ohara RA, Murphy KM. The evolving biology of cross-presentation. Semin Immunol 2023; 66: 101711.

Okunuki Y, Mukai R, Nakao T, Tabor SJ, Butovsky O, Dana R, Ksander BR, Connor KM. Retinal microglia initiate neuroinflammation in ocular autoimmunity. Proc Natl Acad Sci U S A 2019; 116: 9989-98.

Oliveira Pinheiro F, Leuzinger-Dias M, Fernandes BM, Fonseca D, Vilaça J, Figueira L, Brito I. Outcome of Uveitis in Juvenile Idiopathic Arthritis and Spondyloarthritis Patients - A 5-Year Follow-Up Study. ARP Rheumatol 2023; 2: 17-21.

Padovani-Claudio DA, Morales MS, Smith TE, Ontko CD, Namburu NS, Palmer SA, Jhala MG, Ramos CJ, Capozzi ME, McCollum GW, Penn JS. Induction, amplification, and propagation of diabetic retinopathy-associated inflammatory cytokines between human retinal microvascular endothelial and Müller cells and in the mouse retina. Cellular Signalling 2024; 124: 111454.

Pais R, Bhowmick S, Chattopadhyay S, Lemire Y, Sharafieh R, Yadav R, O'Rourke J, Cone RE. An intracameral injection of antigen induces in situ chemokines and cytokines required for the generation of circulating immunoregulatory monocytes. PLoS One 2012; 7: e43182.

Pannicke T, Iandiev I, Uckermann O, Biedermann B, Kutzera F, Wiedemann P, Wolburg H, Reichenbach A, Bringmann A. A potassium channel-linked mechanism of glial cell swelling in the postischemic retina. Molecular and Cellular Neuroscience 2004; 26: 493-502.

Pannicke T, Ivo Chao T, Reisenhofer M, Francke M, Reichenbach A. Comparative electrophysiology of retinal Müller glial cells-A survey on vertebrate species. Glia 2017; 65: 533-68.

Paolicelli RC, Sierra A, Stevens B, Tremblay ME, Aguzzi A, Ajami B, Amit I, Audinat E, Bechmann I, Bennett M, Bennett F, Bessis A, Biber K, Bilbo S, Blurton-Jones M, Boddeke E, Brites D, Brône B, Brown GC, Butovsky O, Carson MJ, Castellano B, Colonna M, Cowley SA, Cunningham C, Davalos D, De Jager PL, de Strooper B, Denes A, Eggen BJL, Eyo U, Galea E, Garel S, Ginhoux F, Glass CK, Gokce O, Gomez-Nicola D, González B, Gordon S, Graeber MB, Greenhalgh AD, Gressens P, Greter M, Gutmann DH, Haass C, Heneka MT, Heppner FL, Hong S, Hume DA, Jung S, Kettenmann H, Kipnis J, Koyama R, Lemke G, Lynch M, Majewska A, Malcangio M, Malm T, Mancuso R, Masuda T, Matteoli M, McColl BW, Miron VE, Molofsky AV, Monje M, Mracsko E, Nadjar A, Neher JJ, Neniskyte U, Neumann H, Noda M, Peng B, Peri F, Perry VH, Popovich PG, Pridans C, Priller J, Prinz M, Ragozzino D, Ransohoff RM, Salter MW, Schaefer A, Schafer DP, Schwartz M, Simons M, Smith CJ, Streit WJ, Tay TL, Tsai LH, Verkhratsky A, von Bernhardi R, Wake H, Wittamer V, Wolf SA, Wu LJ, Wyss-Coray T. Microglia states and nomenclature: A field at its crossroads. Neuron 2022; 110: 3458-83.

Patel C, Rojas M, Narayanan SP, Zhang W, Xu Z, Lemtalsi T, Jittiporn K, Caldwell RW, Caldwell RB. Arginase as a mediator of diabetic retinopathy. Front Immunol 2013; 4: 173.

Peña JS, Vazquez M. Harnessing the Neuroprotective Behaviors of Müller Glia for Retinal Repair. Front Biosci (Landmark Ed) 2022; 27: 169.

Peng X, Li H, Zhu L, Zhao S, Li Z, Li S, DongtingWu, Chen J, Zheng S, Su W. Single-cell sequencing of the retina shows that LDHA regulates pathogenesis of autoimmune uveitis. Journal of Autoimmunity 2024; 143: 103160.

Pereiro X, Miltner AM, La Torre A, Vecino E. Effects of Adult Müller Cells and Their Conditioned Media on the Survival of Stem Cell-Derived Retinal Ganglion Cells. Cells 2020; 9

Pereiro X, Ruzafa N, Azkargorta M, Elortza F, Acera A, Ambrósio AF, Santiago AR, Vecino E. Müller glial cells located in the peripheral retina are more susceptible to high pressure: implications for glaucoma. Cell Biosci 2024; 14: 5.

Pernet V, Bourgeois P, Di Polo A. A role for polyamines in retinal ganglion cell excitotoxic death. J Neurochem 2007; 103: 1481-90.

Pfeiffer RL, Marc RE, Jones BW. Müller Cell Metabolic Signatures: Evolutionary Conservation and Disruption in Disease. Trends in Endocrinology & Metabolism 2020; 31: 320-9.

Pichavaram P, Palani CD, Patel C, Xu Z, Shosha E, Fouda AY, Caldwell RB, Narayanan SP. Targeting Polyamine Oxidase to Prevent Excitotoxicity-Induced Retinal Neurodegeneration. Frontiers in Neuroscience 2019; 12

Pishesha N, Harmand TJ, Ploegh HL. A guide to antigen processing and presentation. Nature Reviews Immunology 2022; 22: 751-64.

Podolsky MJ, Lasker A, Flaminio MJ, Gowda LD, Ezekowitz RA, Takahashi K. Characterization of an equine mannose-binding lectin and its roles in disease. Biochem Biophys Res Commun 2006; 343: 928-36.

Polak D, Samadi N, Vizzardelli C, Sánchez Acosta G, Rosskopf S, Steinberger P, Jahn-Schmid B, Bohle B. Neutrophils promote T-cell–mediated inflammation in allergy. Journal of Allergy and Clinical Immunology 2019; 143: 1923-5.e3.

Ponsioen TL, van Luyn MJA, van der Worp RJ, Nolte IM, Hooymans JMM, Los LI. In vitro phagocytosis of collagens by immortalised human retinal Müller cells. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology 2007; 245: 82-92.

Portillo JC, Lopez Corcino Y, Miao Y, Tang J, Sheibani N, Kern TS, Dubyak GR, Subauste CS. CD40 in Retinal Muller Cells Induces P2X7-Dependent Cytokine Expression in Macrophages/Microglia in Diabetic Mice and Development of Early Experimental Diabetic Retinopathy. Diabetes 2017; 66: 483-93.

Portillo JC, Yu JS, Vos S, Bapputty R, Lopez Corcino Y, Hubal A, Daw J, Arora S, Sun W, Lu ZR, Subauste CS. Disruption of retinal inflammation and the development of diabetic retinopathy in mice by a CD40-derived peptide or mutation of CD40 in Muller cells. Diabetologia 2022; 65: 2157-71.

Portillo JC, Pfaff A, Vos S, Weng M, Nagaraj RH, Subauste CS. Advanced Glycation End Products Upregulate CD40 in Human Retinal Endothelial and Müller Cells: Relevance to Diabetic Retinopathy. Cells 2024; 13

Pow DV, Robinson SR. Glutamate in some retinal neurons is derived solely from glia. Neuroscience 1994; 60: 355-66.

Prieto-López L, Pereiro X, Vecino E. The mechanics of the retina: Müller glia role on retinal extracellular matrix and modelling. Front Med (Lausanne) 2024; 11: 1393057.

Quinn J, Salman A, Paluch C, Jackson-Wood M, McClements ME, Luo J, Davis SJ, Cornall RJ, MacLaren RE, Dendrou CA, Xue K. Single-cell transcriptomic analysis of retinal immune regulation and blood-retinal barrier function during experimental autoimmune uveitis. Sci Rep 2024; 14: 20033.

Rapp J, Hospach A, Liang P, Schwämmle M, Renz L, Agostini H, Schlunck G, Bucher F. Oncostatin M Reduces Pathological Neovascularization in the Retina Through Müller Cell Activation. Invest Ophthalmol Vis Sci 2024; 65: 22.

Rasmussen K-E. The müller cell: A comparative study of rod and cone retinas with and without retinal vessels. Experimental Eye Research 1974; 19: 243-57.

Rauen T, Taylor WR, Kuhlbrodt K, Wiessner M. High-affinity glutamate transporters in the rat retina: a major role of the glial glutamate transporter GLAST-1 in transmitter clearance. Cell Tissue Res 1998; 291: 19-31.

Regan DP, Aarnio MC, Davis WS, Carmichael KP, Vandenplas ML, Lauderdale JD, Moore PA. Characterization of cytokines associated with Th17 cells in the eyes of horses with recurrent uveitis. Veterinary Ophthalmology 2012; 15: 145-52.

Reichenbach A, Bringmann A. New functions of Müller cells. Glia 2013; 61: 651-78.

Reichenbach A, Bringmann A. Role of Purines in Müller Glia. J Ocul Pharmacol Ther 2016; 32: 518-33.

Reichenbach A, Bringmann A. Glia of the human retina. Glia 2020; 68: 768-96.

Reis ESC, Yamasaki S, Brown GD. Myeloid C-type lectin receptors in innate immune recognition. Immunity 2024; 57: 700-17.

Reynisson H, Kalloniatis M, Fletcher EL, Shivdasani MN, Nivison-Smith L. Loss of Müller cell glutamine synthetase immunoreactivity is associated with neuronal changes in late-stage retinal degeneration. Front Neuroanat 2023; 17: 997722.

Roberge FG, Caspi RR, Nussenblatt RB. Glial retinal Müller cells produce IL-1 activity and have a dual effect on autoimmune T helper lymphocytes. Antigen presentation manifested after removal of suppressive activity. J Immunol 1988; 140: 2193-6.

Rodríguez-Jiménez P, Chicharro P, Llamas-Velasco M, Cibrian D, Trigo-Torres L, Vara A, Jiménez-Fernández M, Sevilla-Montero J, Calzada MJ, Sánchez-Madrid F, de la Fuente H, Daudén E. Thrombospondin-1/CD47 Interaction Regulates Th17 and Treg Differentiation in Psoriasis. Front Immunol 2019; 10: 1268.

Rodríguez-López JM, Iglesias-González JL, Lozano-Sánchez FS, Palomero-Rodríguez M, Sánchez-Conde P. Inflammatory Response, Immunosuppression and Arginase Activity after Cardiac Surgery Using Cardiopulmonary Bypass. J Clin Med 2022; 11

Roets M, Sturgess D, Tran T, Obeysekera M, Perros A, Tung JP, Flower R, van Zundert A, Dean M. Intraoperative cell salvage: The impact on immune cell numbers. PLoS One 2023; 18: e0289177.

Romeike A, Brügmann M, Drommer W. Immunohistochemical studies in equine recurrent uveitis (ERU). Vet Pathol 1998; 35: 515-26.

Rozanova S, Barkovits K, Nikolov M, Schmidt C, Urlaub H, Marcus K. Quantitative Mass Spectrometry-Based Proteomics: An Overview. Methods Mol Biol 2021; 2228: 85-116.

Ruzafa N, Pereiro X, Lepper MF, Hauck SM, Vecino E. A Proteomics Approach to Identify Candidate Proteins Secreted by Müller Glia that Protect Ganglion Cells in the Retina. Proteomics 2018; 18: e1700321.

Sakami S, Imanishi Y, Palczewski K. Müller glia phagocytose dead photoreceptor cells in a mouse model of retinal degenerative disease. FASEB J 2019; 33: 3680-92.

Saldinger LK, Nelson SG, Bellone RR, Lassaline M, Mack M, Walker NJ, Borjesson DL. Horses with equine recurrent uveitis have an activated CD4+ T-cell phenotype that can be modulated by mesenchymal stem cells in vitro. Vet Ophthalmol 2020; 23: 160-70.

Salman A, Amoros AB, Storm T, Moralli D, Bryika P, Russell AJ, Davies SG, Barnard AR, MacLaren RE. Spontaneously Immortalised Nonhuman Primate Müller Glia Cell Lines as Source to Explore Retinal Reprogramming Mechanisms for Cell Therapies. J Cell Physiol 2024;

Salmon H, Franciszkiewicz K, Damotte D, Dieu-Nosjean MC, Validire P, Trautmann A, Mami-Chouaib F, Donnadieu E. Matrix architecture defines the preferential localization and migration of T cells into the stroma of human lung tumors. J Clin Invest 2012; 122: 899-910.

Sandmeyer LS, Bauer BS, Feng CX, Grahn BH. Equine recurrent uveitis in western Canadian prairie provinces: A retrospective study (2002-2015). Can Vet J 2017; 58: 717-22.

Sandmeyer LS, Kingsley NB, Walder C, Archer S, Leis ML, Bellone RR, Bauer BS. Risk factors for equine recurrent uveitis in a population of Appaloosa horses in western Canada. Vet Ophthalmol 2020; 23: 515-25.

Sapudom J, Alatoom A, Tipay PS, Teo JCM. Matrix stiffening from collagen fibril density and alignment modulates YAP-mediated T-cell immune suppression. Biomaterials 2025; 315: 122900.

Schauer M, Kleinwort KJH, Degroote RL, Wiedemann C, Kremmer E, Hauck SM, Deeg CA. Interaction of septin 7 and DOCK8 in equine lymphocytes reveals novel insights into signaling pathways associated with autoimmunity. Sci Rep 2018; 8: 12332.

Schibalski RS, Shulha AS, Tsao BP, Palygin O, Ilatovskaya DV. The role of polyamine metabolism in cellular function and physiology. Am J Physiol Cell Physiol 2024; 327: C341-c56.

Schmalen A, Lorenz L, Grosche A, Pauly D, Deeg CA, Hauck SM. Proteomic Phenotyping of Stimulated Muller Cells Uncovers Profound Pro-Inflammatory Signaling and Antigen-Presenting Capacity. Front Pharmacol 2021; 12: 771571.

Schnitzer J. Astrocytes in the guinea pig, horse, and monkey retina: their occurrence coincides with the presence of blood vessels. Glia 1988; 1: 74-89.

Scholz C, Patton KT, Anderson DE, Freeman GJ, Hafler DA. Expansion of autoreactive T cells in multiple sclerosis is independent of exogenous B7 costimulation. J Immunol 1998; 160: 1532-8.

Schultz LM, Czerwinski DK, Levy R, Levy S. CD81 costimulation skews CAR transduction toward naive T cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2022; 119

Serjanov D, Hyde DR. Extracellular Matrix: The Unexplored Aspects of Retinal Pathologies and Regeneration. Adv Exp Med Biol 2023; 1415: 309-17.

Shamsuddin N, Kumar A. TLR2 mediates the innate response of retinal Muller glia to Staphylococcus aureus. J Immunol 2011; 186: 7089-97.

Shao W, Lam H. Tandem mass spectral libraries of peptides and their roles in proteomics research. Mass Spectrom Rev 2017; 36: 634-48.

Sheikh H, Yarwood H, Ashworth A, Isacke CM. Endo180, an endocytic recycling glycoprotein related to the macrophage mannose receptor is expressed on fibroblasts, endothelial cells and macrophages and functions as a lectin receptor. J Cell Sci 2000; 113 (Pt 6): 1021-32.

Shome A, Mugisho OO, Niederer RL, Rupenthal ID. Comprehensive Grading System for Experimental Autoimmune Uveitis in Mice. Biomedicines 2023; 11

Shuken SR. An Introduction to Mass Spectrometry-Based Proteomics. J Proteome Res 2023; 22: 2151-71.

Singh PK, Shiha MJ, Kumar A. Antibacterial responses of retinal Müller glia: production of antimicrobial peptides, oxidative burst and phagocytosis. J Neuroinflammation 2014; 11: 33.

Skelsey ME, Mayhew E, Niederkorn JY. CD25+, interleukin-10-producing CD4+ T cells are required for suppressor cell production and immune privilege in the anterior chamber of the eye. Immunology 2003; 110: 18-29.

Skelton LA, Ramachandra Rao S, Allen RS, Motz CT, Pardue MT, Fliesler SJ. Retinal gliosis and phenotypic diversity of intermediate filament induction and remodeling upon acoustic blast overpressure (ABO) exposure to the rat eye. Exp Eye Res 2023; 234: 109585.

Soriano-Romaní L, Mir FA, Singh N, Chin I, Hafezi-Moghadam A, Masli S. CD47 Binding on Vascular Endothelial Cells Inhibits IL-17-Mediated Leukocyte Adhesion. International Journal of Molecular Sciences 2022; 23: 5705.

Söth R, Hoffmann ALC, Deeg CA. Enhanced ROS Production and Mitochondrial Metabolic Shifts in CD4+ T Cells of an Autoimmune Uveitis Model. International Journal of Molecular Sciences 2024; 25: 11513.

Spagnolo P, Cela E, Patel MA, Tweddell D, Daley M, Clarson C, Stranges S, Cepinskas G, Fraser DD. Differential expression of plasma proteins and pathway enrichments in pediatric diabetic ketoacidosis. Mol Med 2025; 31: 4.

Spiess BM. Equine recurrent uveitis: the European viewpoint. Equine Vet J Suppl 2010: 50-6.

Sponseller BA, Clark SK, Gilbertie J, Wong DM, Hepworth K, Wiechert S, Chandramani P, Sponseller BT, Alcott CJ, Bellaire B, Petersen AC, Jones DE. Macrophage effector responses of horses are influenced by expression of CD154. Vet Immunol Immunopathol 2016; 180: 40-4.

Steckel A, Papp D, Uray K, Schlosser G. Collision-Induced Dissociation of Citrullinated Peptide Anions. J Am Soc Mass Spectrom 2023; 34: 1569-75.

Stracke JO, Hutton M, Stewart M, Pendás AM, Smith B, López-Otin C, Murphy G, Knäuper V. Biochemical Characterization of the Catalytic Domain of Human Matrix Metalloproteinase 19: EVIDENCE FOR A ROLE AS A POTENT BASEMENT MEMBRANE DEGRADING ENZYME *. Journal of Biological Chemistry 2000; 275: 14809-16.

Streilein JW, Niederkorn JY. Induction of anterior chamber-associated immune deviation requires an intact, functional spleen. J Exp Med 1981; 153: 1058-67.

Streilein JW, Cousins SW. Aqueous humor factors and their effect on the immune response in the anterior chamber. Curr Eye Res 1990; 9 Suppl: 175-82.

Subauste CS. The CD40-ATP-P2X (7) Receptor Pathway: Cell to Cell Cross-Talk to Promote Inflammation and Programmed Cell Death of Endothelial Cells. Front Immunol 2019; 10: 2958.

Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, Paulovich A, Pomeroy SL, Golub TR, Lander ES, Mesirov JP. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102: 15545-50.

Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Usui Y, Takahashi M, Mochizuki M. Suppression of IL-22-producing T helper 22 cells by RPE cells via PD-L1/PD-1 interactions. Invest Ophthalmol Vis Sci 2013; 54: 6926-33.

Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, Lyon D, Kirsch R, Pyysalo S, Doncheva NT, Legeay M, Fang T, Bork P, Jensen LJ, von Mering C. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. Nucleic Acids Res 2021; 49: D605-d12.

Szober CM, Hauck SM, Euler KN, Fröhlich KJ, Alge-Priglinger C, Ueffing M, Deeg CA. Profound re-organization of cell surface proteome in equine retinal pigment epithelial cells in response to in vitro culturing. Int J Mol Sci 2012; 13: 14053-72.

Takeuchi M, Alard P, Streilein JW. TGF-beta promotes immune deviation by altering accessory signals of antigen-presenting cells. J Immunol 1998; 160: 1589-97.

Tallmadge RL, Campbell JA, Miller DC, Antczak DF. Analysis of MHC class I genes across horse MHC haplotypes. Immunogenetics 2010; 62: 159-72.

Tang J, Zhu W, Silver PB, Su S-B, Chan C-C, Caspi RR. Autoimmune Uveitis Elicited with Antigen-Pulsed Dendritic Cells Has a Distinct Clinical Signature and Is Driven by Unique Effector Mechanisms: Initial Encounter with Autoantigen Defines Disease Phenotype1. The Journal of Immunology 2007; 178: 5578-87.

Tang T, Cheng X, Truong B, Sun L, Yang X, Wang H. Molecular basis and therapeutic implications of CD40/CD40L immune checkpoint. Pharmacol Ther 2021; 219: 107709.

Tayal A, Daigavane S, Gupta N. Vogt-Koyanagi-Harada Disease: A Narrative Review. Cureus 2024; 16: e58867.

Taylor AW, Streilein JW, Cousins SW. Identification of alpha-melanocyte stimulating hormone as a potential immunosuppressive factor in aqueous humor. Curr Eye Res 1992; 11: 1199-206.

Taylor AW, Ng TF. Negative regulators that mediate ocular immune privilege. Journal of Leukocyte Biology 2018; 103: 1179-87.

Taylor OB, El-Hodiri HM, Palazzo I, Todd L, Fischer AJ. Regulating the formation of Müller glia-derived progenitor cells in the retina. Glia 2025; 73: 4-24.

Taylor S, Srinivasan B, Wordinger RJ, Roque RS. Glutamate stimulates neurotrophin expression in cultured Müller cells. Brain Res Mol Brain Res 2003; 111: 189-97.

Tchernookova BK, Gongwer MW, George A, Goeglein B, Powell AM, Caringal HL, Leuschner T, Phillips AG, Schantz AW, Kiedrowski L, Chappell R, Kreitzer MA, Malchow RP. ATP-mediated increase in H(+) flux from retinal Müller cells: a role for Na(+)/H(+) exchange. J Neurophysiol 2021; 125: 184-98.

Teabagy S, Wood E, Bilsbury E, Doherty S, Janardhana P, Lee DJ. Ocular immunosuppressive microenvironment and novel drug delivery for control of uveitis. Adv Drug Deliv Rev 2023; 198: 114869.

Tesena P, Kingkaw A, Vongsangnak W, Pitikarn S, Phaonakrop N, Roytrakul S, Kovitvadhi A. Preliminary Study: Proteomic Profiling Uncovers Potential Proteins for Biomonitoring Equine Melanocytic Neoplasm. Animals (Basel) 2021; 11

Tomita Y, Qiu C, Bull E, Allen W, Kotoda Y, Talukdar S, Smith LEH, Fu Z. Müller glial responses compensate for degenerating photoreceptors in retinitis pigmentosa. Experimental & Molecular Medicine 2021; 53: 1748-58.

Tsirouki T, Dastiridou A, Symeonidis C, Tounakaki O, Brazitikou I, Kalogeropoulos C, Androudi S. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. Ocul Immunol Inflamm 2018; 26: 2-16.

Turpie B, Yoshimura T, Gulati A, Rios JD, Dartt DA, Masli S. Sjögren's syndrome-like ocular surface disease in thrombospondin-1 deficient mice. Am J Pathol 2009; 175: 1136-47.

Uhl PB, Amann B, Hauck SM, Deeg CA. Novel localization of peripherin 2, the photoreceptor-specific retinal degeneration slow protein, in retinal pigment epithelium. Int J Mol Sci 2015; 16: 2678-92.

Unterlauft JD, Claudepierre T, Schmidt M, Müller K, Yafai Y, Wiedemann P, Reichenbach A, Eichler W. Enhanced survival of retinal ganglion cells is mediated by Müller glial cell-derived PEDF. Experimental Eye Research 2014; 127: 206-14.

van der Houwen TB, van Hagen PM, van Laar JAM. Immunopathogenesis of Behçet's disease and treatment modalities. Semin Arthritis Rheum 2022; 52: 151956.

Vanderlugt CJ, Miller SD. Epitope spreading. Curr Opin Immunol 1996; 8: 831-6.

Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, Pereiro X, Sharma SC. Glia–neuron interactions in the mammalian retina. Progress in Retinal and Eye Research 2016; 51: 1-40.

Vendomèle J, Khebizi Q, Fisson S. Cellular and Molecular Mechanisms of Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (ACAID): What We Have Learned from Knockout Mice. Front Immunol 2017; 8: 1686.

Virág D, Schlosser G, Borbély A, Gellén G, Papp D, Kaleta Z, Dalmadi-Kiss B, Antal I, Ludányi K. A Mass Spectrometry Strategy for Protein Quantification Based on the Differential Alkylation of Cysteines Using Iodoacetamide and Acrylamide. Int J Mol Sci 2024; 25

von Hofsten S, Fenton KA, Pedersen HL. Human and Murine Toll-like Receptor-Driven Disease in Systemic Lupus Erythematosus. Int J Mol Sci 2024; 25

von Toerne C, Menzler J, Ly A, Senninger N, Ueffing M, Hauck SM. Identification of a novel neurotrophic factor from primary retinal Müller cells using stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC). Mol Cell Proteomics 2014; 13: 2371-81.

Wacker WB, Kalsow CM. Autoimmune uveo-retinitis in the rat sensitized with retina photoreceptor cell antigen. Int Arch Allergy Appl Immunol 1973; 45: 582-92.

Wagener J, MacCallum DM, Brown GD, Gow NA. Candida albicans Chitin Increases Arginase-1 Activity in Human Macrophages, with an Impact on Macrophage Antimicrobial Functions. mBio 2017; 8

Wagner A, Wang C, Fessler J, DeTomaso D, Avila-Pacheco J, Kaminski J, Zaghouani S, Christian E, Thakore P, Schellhaass B, Akama-Garren E, Pierce K, Singh V, Ron-Harel N, Douglas VP, Bod L, Schnell A, Puleston D, Sobel RA, Haigis M, Pearce EL, Soleimani M, Clish C, Regev A, Kuchroo VK, Yosef N. Metabolic modeling of single Th17 cells reveals regulators of autoimmunity. Cell 2021; 184: 4168-85.e21.

Walmsley SJ, Guo J, Tarifa A, DeCaprio AP, Cooke MS, Turesky RJ, Villalta PW. Mass Spectral Library for DNA Adductomics. Chem Res Toxicol 2024; 37: 302-10.

Wang F, Ruppell KT, Zhou S, Qu Y, Gong J, Shang Y, Wu J, Liu X, Diao W, Li Y, Xiang Y. Gliotransmission and adenosine signaling promote axon regeneration. Dev Cell 2023; 58: 660-76.e7.

Wang M, Ma W, Zhao L, Fariss RN, Wong WT. Adaptive Müller cell responses to microglial activation mediate neuroprotection and coordinate inflammation in the retina. J Neuroinflammation 2011; 8: 173.

Wang S, Osgood AO, Chatterjee A. Uncovering post-translational modification-associated protein-protein interactions. Curr Opin Struct Biol 2022a; 74: 102352.

Wang W, Li T, Xie Z, Zhao J, Zhang Y, Ruan Y, Han B. Integrating single-cell and bulk RNA sequencing data unveils antigen presentation and process-related CAFS and establishes a predictive signature in prostate cancer. J Transl Med 2024a; 22: 57.

Wang X, Zhao L, Zhang J, Fariss RN, Ma W, Kretschmer F, Wang M, Qian HH, Badea TC, Diamond JS, Gan WB, Roger JE, Wong WT. Requirement for Microglia for the Maintenance of Synaptic Function and Integrity in the Mature Retina. J Neurosci 2016; 36: 2827-42.

Wang X, Xu C, Bian C, Ge P, Lei J, Wang J, Xiao T, Fan Y, Gu Q, Li HY, Xu J, Hu Z, Xie P. M2 microglia-derived exosomes promote vascular remodeling in diabetic retinopathy. J Nanobiotechnology 2024b; 22: 56.

Wang Y, Goldschneider I, O'Rourke J, Cone RE. Blood mononuclear cells induce regulatory NK T thymocytes in anterior chamber-associated immune deviation. J Leukoc Biol 2001; 69: 741-6.

Wang Y, Yang X, Li Q, Zhang Y, Chen L, Hong L, Xie Z, Yang S, Deng X, Cao M, Yi G, Fu M. Single-cell RNA sequencing reveals the Müller subtypes and inner blood-retinal barrier regulatory network in early diabetic retinopathy. Front Mol Neurosci 2022b; 15: 1048634.

Wei C, Mei J, Tang L, Liu Y, Li D, Li M, Zhu X. 1-Methyl-tryptophan attenuates regulatory T cells differentiation due to the inhibition of estrogen-IDO1-MRC2 axis in endometriosis. Cell Death & Disease 2016; 7: e2489-e.

Weigand M, Hauck SM, Deeg CA, Degroote RL. Deviant proteome profile of equine granulocytes associates to latent activation status in organ specific autoimmune disease. J Proteomics 2021; 230: 103989.

Wiedemann C, Amann B, Degroote RL, Witte T, Deeg CA. Aberrant Migratory Behavior of Immune Cells in Recurrent Autoimmune Uveitis in Horses. Front Cell Dev Biol 2020; 8: 101.

Wienke D, MacFadyen JR, Isacke CM. Identification and characterization of the endocytic transmembrane glycoprotein Endo180 as a novel collagen receptor. Mol Biol Cell 2003; 14: 3592-604.

Wilbanks GA, Streilein JW. Characterization of suppressor cells in anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) induced by soluble antigen. Evidence of two functionally and phenotypically distinct T-suppressor cell populations. Immunology 1990; 71: 383-9.

Wilbanks GA, Streilein JW. Studies on the induction of anterior chamber-associated immune deviation (ACAID). 1. Evidence that an antigen-specific, ACAID-inducing, cell-associated signal exists in the peripheral blood. J Immunol 1991; 146: 2610-7.

Wilbanks GA, Streilein JW. Macrophages capable of inducing anterior chamber associated immune deviation demonstrate spleen-seeking migratory properties. Reg Immunol 1992; 4: 130-7.

Wilbanks GA, Mammolenti M, Streilein JW. Studies on the induction of anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) III. Induction of ACAID depends upon intraocular transforming growth factor-β. European Journal of Immunology 1992; 22: 165-73.

Wilson L, Lewis KE, Evans LS, Dillon SR, Pepple KL. Systemic Administration of Acazicolcept, a Dual CD28 and Inducible T cell Costimulator Inhibitor, Ameliorates Experimental Autoimmune Uveitis. Transl Vis Sci Technol 2023; 12: 27.

Wolf J, Boneva S, Rosmus DD, Agostini H, Schlunck G, Wieghofer P, Schlecht A, Lange C. In-Depth Molecular Profiling Specifies Human Retinal Microglia Identity. Front Immunol 2022; 13: 863158.

Woo SJ, Kim Y, Kang HJ, Jung H, Youn DH, Hong Y, Lee JJ, Hong JY. Tuberculous pleural effusion-induced Arg-1(+) macrophage polarization contributes to lung cancer progression via autophagy signaling. Respir Res 2024; 25: 198.

Wood PL, Khan MA, Moskal JR. The concept of "aldehyde load" in neurodegenerative mechanisms: cytotoxicity of the polyamine degradation products hydrogen peroxide, acrolein, 3-aminopropanal, 3-acetamidopropanal and 4-aminobutanal in a retinal ganglion cell line. Brain Res 2007; 1145: 150-6.

Wu C, Feng H, Tian M, Chu B, Liu X, Zeng S, Wang Y, Wang H, Hou S, Liang Q. Identification and validation of diagnostic genes IFI44 and IRF9 in insomnia-associated autoimmune uveitis. Front Immunol 2025; 16: 1519371.

Wu M, Fletcher EL, Chinnery HR, Downie LE, Mueller SN. Redefining our vision: an updated guide to the ocular immune system. Nature Reviews Immunology 2024;

Wu R, Chen X, Kang S, Wang T, Gnanaprakasam JR, Yao Y, Liu L, Fan G, Burns MR, Wang R. De novo synthesis and salvage pathway coordinately regulate polyamine homeostasis and determine T cell proliferation and function. Sci Adv 2020; 6

Wu X, Tao M, Zhu L, Zhang T, Zhang M. Pathogenesis and current therapies for non-infectious uveitis. Clin Exp Med 2023; 23: 1089-106.

Xiao R, Huang X, Gao S, Duan J, Zhang Y, Zhang M. Microglia in retinal diseases: From pathogenesis towards therapeutic strategies. Biochemical Pharmacology 2024; 230: 116550.

Xu H, Rizzo LV, Silver PB, Caspi RR. Uveitogenicity is associated with a Th1-like lymphokine profile: cytokine-dependent modulation of early and committed effector T cells in experimental autoimmune uveitis. Cell Immunol 1997; 178: 69-78.

Xu X, Xu S, Gao Y, He S, He J, Chen X, Guo J, Zhang X. Remote ischemic conditioning slows blood-retinal barrier damage in type 1 diabetic rats. Brain Research 2025; 1846: 149253.

Xue L, Ding P, Xiao L, Hu M, Hu Z. Nestin, a new marker, expressed in Müller cells following retinal injury. Can J Neurol Sci 2010; 37: 643-9.

Yadav UCS, Ramana KV. Endotoxin-Induced Uveitis in Rodents. Methods Mol Biol 2019; 1960: 161-8.

Yafai Y, Eichler W, Iandiev I, Unterlauft JD, Jochmann C, Wiedemann P, Bringmann A. Thrombospondin-1 is produced by retinal glial cells and inhibits the growth of vascular endothelial cells. Ophthalmic Res 2014; 52: 81-8.

Yang SN, Shi Y, Berggren PO. The anterior chamber of the eye technology and its anatomical, optical, and immunological bases. Physiol Rev 2024; 104: 881-929.

Ye Q, Xing Q, Ren Y, Harmsen MC, Bank RA. Endo180 and MT1-MMP are involved in the phagocytosis of collagen scaffolds by macrophages and is regulated by interferon-gamma. Eur Cell Mater 2010; 20: 197-209.

Ye Q, Harmsen MC, Ren Y, Bank RA. The role of collagen receptors Endo180 and DDR-2 in the foreign body reaction against non-crosslinked collagen and gelatin. Biomaterials 2011; 32: 1339-50.

Yeh S, Li Z, Forooghian F, Hwang FS, Cunningham MA, Pantanelli S, Lew JC, Wroblewski KK, Vitale S, Nussenblatt RB. CD4+Foxp3+ T-regulatory cells in noninfectious uveitis. Arch Ophthalmol 2009; 127: 407-13.

Yin H, Zhu J. Methods for quantification of glycopeptides by liquid separation and mass spectrometry. Mass Spectrom Rev 2023; 42: 887-917.

Yong PH, Zong H, Medina RJ, Limb GA, Uchida K, Stitt AW, Curtis TM. Evidence supporting a role for N-(3-formyl-3,4-dehydropiperidino)lysine accumulation in Müller glia dysfunction and death in diabetic retinopathy. Mol Vis 2010; 16: 2524-38.

Yoon CH, Ko JH, Lee HJ, Song HB, Oh JY. Subconjunctival aflibercept inhibits corneal angiogenesis and VEGFR-3+CD11b+ cells. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology 2024;

Yuan F, Zhang R, Li J, Lei Q, Wang S, Jiang F, Guo Y, Xiang M. CCR5-overexpressing mesenchymal stem cells protect against experimental autoimmune uveitis: insights from single-cell transcriptome analysis. J Neuroinflammation 2024; 21: 136.

Yuan T-F, Liang Y-X, Peng B, Lin B, So K-F. Local proliferation is the main source of rod microglia after optic nerve transection. Scientific Reports 2015; 5: 10788.

Zamiri P, Masli S, Kitaichi N, Taylor AW, Streilein JW. Thrombospondin Plays a Vital Role in the Immune Privilege of the Eye. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2005; 46: 908-19.

Zehner M, Burgdorf S. Regulation of antigen transport into the cytosol for cross-presentation by ubiquitination of the mannose receptor. Mol Immunol 2013; 55: 146-8.

Zhang C, Liu X, Gu C, Su Y, Lv J, Liu Y, Gao Y, Chen H, Xu N, Xiao J, Xu Z, Su W. Histone deacetylases facilitate Th17-cell differentiation and pathogenicity in autoimmune uveitis via CDK6/ID2 axis. Journal of Advanced Research 2024a;

Zhang F, Shan S, Fu C, Guo S, Liu C, Wang S. Advanced Mass Spectrometry-Based Biomarker Identification for Metabolomics of Diabetes Mellitus and Its Complications. Molecules 2024b; 29

Zhang G, Annan RS, Carr SA, Neubert TA. Overview of peptide and protein analysis by mass spectrometry. Curr Protoc Protein Sci 2010; Chapter 16: Unit16.1.

Zhang J, Song L, Pedersen DV, Li A, Lambris JD, Andersen GR, Mollnes TE, Ma YJ, Garred P. Soluble collectin-12 mediates C3-independent docking of properdin that activates the alternative pathway of complement. Elife 2020; 9

Zhang M, Zhang X. T cells in ocular autoimmune uveitis: Pathways and therapeutic approaches. Int Immunopharmacol 2023; 114: 109565.

Zhang Q, Qi S, You J, Wang C. The role of retinal glial cells and related factors in macular edema. Biochem Biophys Res Commun 2024c; 695: 149415.

Zhang T, Aipire A, Li Y, Guo C, Li J. Antigen cross-presentation in dendric cells: From bench to bedside. Biomedicine & Pharmacotherapy 2023; 168: 115758.

Zhang W, Baban B, Rojas M, Tofigh S, Virmani SK, Patel C, Behzadian MA, Romero MJ, Caldwell RW, Caldwell RB. Arginase activity mediates retinal inflammation in endotoxin-induced uveitis. Am J Pathol 2009; 175: 891-902.

Zhang Y, Ma Y, Ji YK, Jiang YF, Li D, Mu W, Yao MD, Yao J, Yan B. Co-targeting of glial activation and inflammation by tsRNA-Gln-i-0095 for treating retinal ischemic pathologies. Cell Commun Signal 2025; 23: 18.

Zhao Q, Han B, Xu Q, Wang T, Fang C, Li R, Zhang L, Pei Y. Proteome and genome integration analysis of obesity. Chin Med J (Engl) 2023; 136: 910-21.

Zheng P, Zhang W, Wang J, Gong Q, Xu N, Chen N. Bioinformatics and functional experiments reveal that MRC2 inhibits atrial fibrillation via the PPAR signaling pathway. J Thorac Dis 2023; 15: 5625-39.

Zhong Z, Su G, Kijlstra A, Yang P. Activation of the interleukin-23/interleukin-17 signalling pathway in autoinflammatory and autoimmune uveitis. Prog Retin Eye Res 2021; 80: 100866.

Zhou J, Hu X, Zhang N, Chu Y, Wang J, Cui X, Zhang Y, Han R, Liu C, Yang S, Li J. Proteomic Analysis Reveals Differential Protein Expression in Placental Tissues of Early-Onset Preeclampsia Patients. J Proteome Res 2024; 23: 4433-42.

Zhou ZX, Xu LJ, Wang HN, Cheng S, Li F, Miao Y, Lei B, Gao F, Wang Z. EphA4/ephrinA3 reverse signaling mediated downregulation of glutamate transporter GLAST in Müller cells in an experimental glaucoma model. Glia 2023; 71: 720-41.

Zhu LW, Li Z, Dong X, Wu H, Cheng Y, Xia S, Bao X, Xu Y, Cao R. Ficolin-A induces macrophage polarization to a novel pro-inflammatory phenotype distinct from classical M1. Cell Commun Signal 2024; 22: 271.

Zipplies JK, Kirschfink M, Amann B, Hauck SM, Stangassinger M, Deeg CA. Complement factor B expression profile in a spontaneous uveitis model. Immunobiology 2010a; 215: 949-55.

Zipplies JK, Hauck SM, Schoeffmann S, Amann B, van der Meijden CH, Stangassinger M, Ueffing M, Deeg CA. Kininogen in autoimmune uveitis: decrease in peripheral blood stream versus increase in target tissue. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010b; 51: 375-82.

Zirm EK. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik (A successful total keratoplasty). 1906. Refract Corneal Surg 1906; 5: 258-61.

Zwanzig A, Meng J, Müller H, Bürger S, Schmidt M, Pankonin M, Wiedemann P, Unterlauft JD, Eichler W. Neuroprotective effects of glial mediators in interactions between retinal neurons and Müller cells. Experimental Eye Research 2021; 209: 108689.

DANKSAGUNG

An erster Stelle gilt mein herzlichster Dank meiner Doktormutter, Prof. Dr. Cornelia Deeg, für die Möglichkeit an ihrem Lehrstuhl über dieses faszinierende ophthalmo-immunologische Thema zu promovieren. Ich bedanke mich besonders für die hervorragende und engmaschige Betreuung, die schnellen und hilfreichen Korrekturen und für ihre Unterstützung während der gesamten Erstellung dieser Arbeit. Hervorzuheben sind auch ihre ständige Ansprechbarkeit und Erreichbarkeit, die bei weitem nicht selbstverständlich sind und die ich sehr zu schätzen wusste.
Ich bedanke mich zudem herzlich bei Dr. Stefanie Hauck, unter deren Leitung die proteomische Untersuchung durchgeführt wurde, sowie bei Dr. Christine von Törne für ihre fachliche Unterstützung. Vielen herzlichen Dank möchte ich außerdem dem Team der Metzgerei Veit aussprechen für die zuverlässige Bereitstellung von Probenmaterial über die gesamte Dauer meiner Doktorarbeit. Ebenso danke ich Dr. Kristin Brandt und Giulia di Garbo für ihr Engagement und das Überlassen wertvoller ERU-Proben.
Ein riesiges Dankeschön gilt meinen lieb gewonnenen aktuellen und ehemaligen Kolleginnen und Kollegen, auf die ich mich jeden Tag gefreut habe und die zu echten Freunden geworden sind. Vielen Dank an unsere Postdocs Dr. Roxane Degroote, Dr. Kristina Kleinwort, Dr. Adrian Schmalen und Dr. Ulrich Wilk für die liebe und geduldige Unterstützung. Danke, dass ich mich mit jeder Frage zu jeder Tageszeit an euch wenden konnte und ihr immer ein offenes Ohr und einen guten Rat für mich hattet! Besonders danken möchte ich Roxy und Adrian für ihren konstanten Support und ihren fachlichen Input während der Erstellung der Publikation und darüber hinaus. Vielen lieben Dank auch an meine ehemaligen und aktuellen Mitdoktorandinnen und Mitdoktoranden: Dr. Lucia Korbonits, Dr. Marie-Christin Schilloks, Dr. Anne Hoffmann, Dr. Felix Gard, Heidi Duda, Ronja Söth, Lili Flad, Carolin Sprenzel, Sabrina Albinger, Ismini Christofi und Barbara Riedel. Besonders danken möchte ich Ronja, dass sie immer für mich da war und ich mich somit nie alleine durch die Herausforderungen des Doktorandendaseins kämpfen musste – über fleckige Western Blots, nicht signifikante Zytos, den Stress des Schreibens und den stetig wachsenden Pfandflaschenberg. Vielen lieben Dank auch an Felix, der stets Trost und eine Lösung parat hatte, wenn ich mal nicht wie sonst „die Ruhe

selbst“ war. Außerdem möchte ich Marie danken, die mir immer Mut gemacht hat, wenn es mal nicht ganz so rund lief. Mein Dank gilt zudem Dr. Lea Lorenz, die sich besonders am Anfang viel Zeit genommen hat, um ihr mir gesammeltes Wissen zur Präparation von Müllis zu vermitteln. Außerdem danke ich ganz herzlich unseren ehemaligen und derzeitigen TAs: Bärbl Amann, Sieglinde Hirmer, Stefanie Püls, Lydia Hoffmann, Mirjam Telorac, Tanja Weißer, Jonas Liedl und Ulla Cramer. Besonders möchte ich mich bei Tanja bedanken, die mich von Anfang an so geduldig und kompetent unterstützt hat und an die ich mich mit jeder Frage und jedem Anliegen wenden durfte. Ganz lieben Dank an Miri und auch Steffi, die sich während meiner Schreibezeit liebevoll um meine Müllis gekümmert haben. Außerdem möchte ich Bärbl danken, die mir besonders im immunhistochemischen Teil dieser Arbeit mit ausdrucksstarkem Rat und Tat zur Seite gestanden ist. Mein besonderer Dank gilt außerdem Sieglinde, die ihren wohl verdienten Ruhestand des Öfteren verlassen hat, um mich besonders am Anfang in allen technischen Augen-Angelegenheiten zu unterstützen. Ich werde euch alle sehr vermissen!

Vielen lieben Dank auch an meine Familie und meine Freunde. Besonders danken möchte ich meiner Mama, die immer für mich da ist und die mich mein Leben lang unterstützt hat. Ebenso möchte ich meinem Papa und meinen Brüdern Nicolas, Daniel und Krischa danken. Vielen Dank auch an meine Oma Erika und meinen Opa Hermann, wo auch immer sie jetzt sein mögen. Danke an alle meine lieben Freundinnen und Freunde, besonders Anna, Lejla, Lilli, Melli, Pauli, Regina, Ronja, Sandra und Vici, die mit mir mitgelitten haben und immer für mich da waren während dieser herausfordernden Zeit! Ein besonders großes Dankeschön gilt an dieser Stelle auch Lili, Ronja, Lilli, Adrian, Daniel, meinem Papa und meiner Mama, die Teile dieser Arbeit Korrektur gelesen haben und deren Feedback mir sehr geholfen hat. Vielen lieben Dank auch meinem Freund Matthias, der mich bekocht hat, an mich geglaubt hat und für den der Stress fast so schlimm war wie für mich. Darüber hinaus möchte ich meiner Tante Ulli und meinem Onkel Basti danken, die mich im letzten Monat meiner Schreibezeit bei sich auf dem Lande aufgenommen und mir jeden Wunsch von den Augen abgelesen haben. Zu guter Letzt möchte ich meiner lieben Hündin Lotta danken, die mich an die wichtigen Dinge im Leben erinnert hat und mit ihrer Begeisterung für Bälle, Käse und Spaziergänge selbst die anstrengendsten Tage besser gemacht hat.