

## Natürliche Killerzellen

Natürliche Killerzellen sind neben T- und B-Lymphozyten die dritte Lymphozytenpopulation des Blutes. Ihre wichtigste Funktion im Rahmen der zellulären Immunabwehr ist die Abtötung virusinfizierter und tumorös entarteter Zellen. Im Unterschied zu den zytotoxischen CD8-Lymphozyten unterliegen sie nicht der MHC-Restriktion, d.h. sie entwickeln eine unspezifische, schnelle und natürliche Abwehr gegen veränderte körpereigene Zellen (first line of defence).

NK-Zellen vermögen Tumorzellen und virusinfizierte Zellen sehr effektiv zu attackieren, insbesondere dann, wenn sie durch körpereigene Zytokine der T-Helferzellen und der Makrophagen voraktiviert sind (LAK/Lymphokin-aktivierte Killerzellen). Wichtig sind dabei besonders Interleukin-12 (IL-12), Interleukin-2 (IL-2) und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Daraus ergibt sich, dass die NK-Zellfunktion nicht unabhängig von der Funktion anderer Immunzellen gesehen werden kann.

### Wie können NK-Zellen ihre Zielzellen abtöten?

NK-Zellen binden unter Mitwirkung zahlreicher, auf ihrer Oberfläche exprimierten Adhäsionsmoleküle an Tumor- oder virusinfizierte Zellen. Die Auslösung des Zellunterganges (Apoptose) erfolgt über zwei Wege. Zum einen werden aus ihren Granula Perforine freigesetzt, die eine Porenbildung in der Zellwand der Zielzelle induzieren. Durch diese Perforationen können Granzyme in die Zielzelle eindringen, welches die Apoptose auslöst. Der zweite Tötungsmechanismus besteht in einem Kontakt von Oberflächenmolekülen zwischen NK-Zellen und entarteter Zielzelle (FAS/FAS-Ligand-Mechanismus). Dieser Kontakt wird auch „Todeskuss“ genannt. Beide Tötungsmechanismen können durch Vermittlung von Antikörpern in ihrer Effizienz gesteigert werden (anti-body-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC). Diesem Mechanismus liegen viele der derzeit laufenden Therapiestudien mit monoklonalen Antikörpern bei Tumorpatienten zu Grunde (siehe Abb.1).

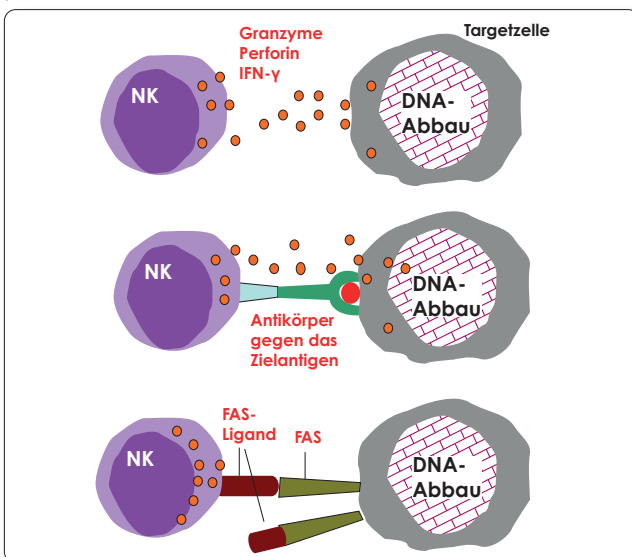



Abb. 1 Die Tötungsmechanismen der NK-Zellen

### Wann treten Funktionsdefekte der NK-Zellen auf?

Angeborene Immundefekte der NK-Zellen sind sehr selten. Von größerer Bedeutung sind sekundäre Funktionsdefizite der NK-Zellen bei Tumorerkrankungen oder chronischen Infektionen und Entzündungen. Durch notwendige belastende Behandlungen wie Bestrahlung, Chemotherapie oder auch länger andauernde antibiotische Therapien werden diese verstärkt. Die Verbesserung der NK-Zell-Zytotoxizität durch eine immunstimulierende Behandlung stellt eine wichtige Maßnahme bei der Immunrestauration dar. Eine verminderte Funktion der NK-Zellen kann auch eine Ursache für chronische Virusinfektionen sein. Insbesondere Reaktivierungen latenter Virusinfektionen (Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus und andere Herpes-Viren) sind zu nennen.

### Wie wird die NK-Zellfunktion untersucht?

Die isolierte Bestimmung der NK-Zellzahl im peripheren Blut durch Immunphänotypisierung ist nicht ausreichend. Entscheidend ist die FUNKTION dieser wichtigen Abwehrbarriere. Die Untersuchung der NK-Zellfunktion erfolgt mit dem NK-Zell-Zytotoxizitätstest. Bei diesem Test werden K562-Tumorzellen mit dem fluoreszierenden Membranfarbstoff Calcein markiert und anschließend unter standardisierten Bedingungen mit den NK-Zellen des Patienten ko-kultiviert. Bei dem durch die NK-Zellen induzierten Apoptoseprozess der Tumorzellen wird der Farbstoff Calcein freigesetzt, der dann quantitativ im Kulturüberstand bestimmt werden kann (siehe Abb.2).



Ärztlicher Befundbericht

**NK-Zell-Zytotoxizitätstest**

Im Test wird die Rate an K562-Tumorzellen analysiert, die durch die aus Heparinblut des Patienten isolierten Natürlichen Killer-Zellen (NK-Zellen) abgetötet werden. Die Tumorzell-Apoptoserate kennzeichnet die aktuelle NK-Zellfunktion des Patienten. Der Wert für die Apoptose-Rate-IL2-stimuliert gibt die zusätzliche Stimulierbarkeit der NK-Zellen an.

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Tumorzell-Apoptose-Rate	<b>11.5</b>	%	> 21
Apoptose-Rate-IL2-stimuliert	44.1	%	

**Interpretation**

Die NK-Zellfunktion ist vermindert. Eine stimulierende Therapie ist aus der Sicht dieses Befundes indiziert. Durch Stimulation der NK-Zellen mit Interleukin-2 lässt sich die NK-Zellfunktion signifikant verbessern, was anzeigt, dass durch eine therapeutische Immunstimulation eine Rekonstitution der NK-Zellfunktion (in vitro) möglich ist. Wir empfehlen eine Kontrolle frühestens 4 Wochen nach Therapiebeginn.

Abb. 2 Musterbefund Reduzierte NK-Zellfunktion, aber gute Aussicht für eine immunstimulierende Therapie (weil deutliche Steigerung im IL-2-Ansatz).

Durch Paralleluntersuchung standardisierter Kontrollansätze kann der prozentuale Anteil an Tumorzellen bestimmt werden, der von den NK-Zellen des Patienten zerstört wurde.

**Haben Sie Fragen? Unser Service Team beantwortet sie gerne unter +49 (0)30 770 01-220.**

Diese spontane NK-Zell-induzierte Apoptoserate stellt die aktuelle NK-Zellfunktion des Patienten dar (siehe Musterbefund).

### Was sagt der Interleukin-2-stimulierte Wert aus?

Parallel zur Untersuchung der spontanen NK-Zellfunktion werden in einem parallel durchgeführten Laboransatz die NK-Zellen des Patienten zusätzlich mit dem Zytokin Interleukin 2 (IL-2) stimuliert. Die prozentuale Steigerung der Lysekapazität drückt die Aktivierbarkeit der Patienten-NK-Zellen aus. Das Ergebnis gibt Aufschluss darüber, welche Erfolgsaussichten eine Immunstimulation im individuellen Fall hätte. In den Fällen, wo auch mit dem Stimulator IL-2 keine nennenswerte Steigerung im Test möglich ist, sollte eine weiterführende Diagnostik mit der Bestimmung der NK-Zellzahl (zellulärer Immunstatus) und/oder dem LTT-Immunfunktion (Funktion der Helferzellen) erfolgen.

### Mit dem NK-Zell-Modulatortest kann die Wirksamkeit von Immunpräparaten vorausgesagt werden.

Mit Immunstimulantien können NK-Zellen mehr oder weniger gut aktiviert werden. Mit dem NK-Zell-Modulatortest kann man Präparate vor deren Einsatz dahingehend untersuchen, inwieweit sie bei dem betreffenden Patienten zur NK-Aktivierung in der Lage sind. Die Immunaktivierung von NK-Zellen wird an Hand der Expression von CD69 auf ihrer Oberfläche erfasst. Die Beurteilung erfolgt an Hand der Steigerung der CD69-Expression unter Zugabe des Präparates im Vergleich zu einem nicht ko-stimulierten Kulturansatz von Patienten-NK-Zellen.

Eine Übersicht zu den im Labor vorrätigen Immunstimulierenden Präparaten können Sie in unserer Service-Abteilung unter der Tel. +49 (0)30 770 01-220 anfordern.

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht
<b>NK-Zell-Modulatortest</b>		
Es wird die Aktivierbarkeit von NK-Zellen nach Inkubation mit Immunmodulatoren anhand der induzierten Expression des NK-Zellaktivierungsmarker CD69 auf der Zelloberfläche bestimmt.		
	<b>Ergebnis</b>	<b>Einheit</b>
<b>Basalwert</b>	<b>4.1</b>	%
<b>Mitogen-Aktivierung</b>	<b>95.8</b>	%
<b>Biobran</b>	<b>30.5</b>	%
<b>Procurmin</b>	<b>28.5</b>	%
<b>Glycyrrhizinsäure</b>	<b>5.7</b>	%
<b>Oregano Oil</b>	<b>5.2</b>	%

Abb. 3 Musterbefund eines NK-Modulatortestes. Eine sehr gute NK-Aktivierung wird hier mit Biobran und Procurmin erreicht.

### Material

**NK-Zell-Zytotoxizitätstest:** 10 ml Heparin-Blut

**NK-Zell-Modulatortest:** 10 ml Heparin-Blut (bis 5 Präparate)

Das Blutentnahme- und Versandmaterial wird vom Labor kostenfrei zur Verfügung gestellt.

### Abrechnung

Eine Abrechnung ist nur im privatärztlichen Bereich (GOÄ) gegeben. Für Selbstzahler kostet der NK-Zell-Zytotoxizitätstest 71,11 € und der NK-Zell-Modulatortest einmalig 41,96 € und zusätzlich 14,57 € pro zu testendes Präparat.

### Literatur

- Roden MM, Lee KH, Panelli MC, Marincola FM. A novel cytotoxicity assay using fluorescent labeling and quantitative fluorescent scanning technology. J Immunol Methods. 1999 Jun 24;226(1-2):29-41