

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- γ (IFN- γ). 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).

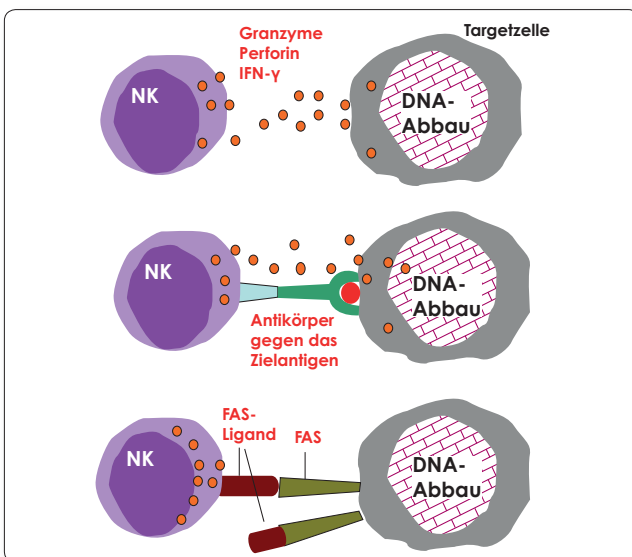


Abb. 1 Die Tötungsmechanismen der NK-Zellen


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	11.5	%	> 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.

Bei fachlichen Fragen zu dieser Analytik helfen Ihnen unsere Kollegen des IMD Berlin unter +49 (0)30 770 01-220 gerne weiter. Bei allen anderen Fragen wenden Sie sich bitte an die Kollegen des IMD Potsdam unter +49 (0)331 28095-0.

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.

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

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

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

Abrechnung

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

Folgende Immunpräparate sind derzeit für den NK-Modulatortest etabliert:

Präparat	Hersteller
Abnoba Viscum Fraxini (Mistel)	Abnoba
Biobran 250	BMT
Bio Immunozyne Forte	Biotics
Blue Green Algae	Supplementa
Boscari (afrikanischer Weihrauch)	Olibanum
Boswellia serrata (indischer Weihrauch)	Capsumed
Delimmun	Kora Heal
Echinacea	Heel
Faktor AF2	Hohenburg-Apotheke
Glycyrrhizinsäure	Flora Apotheke Hannover
Maximum NK Cells	Supplementa
Maitake	Vita World
Ney Dil Nr. 66	Vitorgan
NK Cell Activator	Life Extension
Oregano Oil	Solaray
Pro Curmin Complete II	Tisso
Plantazym	Juventa Care
Pro Phytobiöse	Tisso
Reishi	Capsumed
Ribogen	Life Extension
Roter Ginseng koreanisch	KGV
Salvestrol Xtra	Tavarlin
Shiitake	Symbiopharm
Standardized Cistanche	Life Extension
Stem AFA	Stemtech
Tinofend	Life Extension
Thymus / K	Organomed
Thymus / S	Organomed
Vitamin C	Dr. Loges

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