



Pfriegeer's Digest Niemann-Pick Typ C - Eine Zusammenfassung von ausgewählten Forschungsergebnissen basierend auf begutachteten Veröffentlichungen in Fachzeitschriften.

Von Dr. rer. nat. Frank W. Pfriegeer

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, Centre National de la Recherche Scientifique / Université de Strasbourg, Strasbourg, Frankreich

Liebe Leserin, lieber Leser,

herzlich willkommen zur **sechsten** Ausgabe von Pfriegeer's Digest, die den Zeitraum vom 1. September 2021 bis zum 30. April 2022 umfasst. Der entsprechende Link für die PubMed Suche lautet:

[\(\(niemann-pick type C disease OR niemann-pick disease type C OR niemann-pick type C1 OR niemann-pick type c2 OR npc1 OR npc2\) AND \(\("2021/09/01"\[Date - Publication\] : "2022/04/30"\[Date - Publication\]\)\)\) NOT \(\("2020/01/01"\[Date - Publication\] : "2021/8/31"\[Date - Publication\]\)\)](#)

In diesem Zeitraum erschienen **102** Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Fachzeitschriften, darunter **9** Übersichtsartikel. Zur Erklärung sei kurz angemerkt, dass diese Suche sämtliche Artikel erfasst, in denen die entsprechenden Begriffe im Titel, in der Zusammenfassung (Abstract) oder im Schlagwort-Verzeichnis eines Artikels gelistet sind (eine Volltextsuche ist mit PubMed nicht möglich). Daher hat ein Teil der Artikel nur indirekt etwas mit NPC zu tun. Wenn man die Suche – spasseshalber – auf Titel und Zusammenfassung (mit "[tiab]" nach jedem Begriff) beschränkt, liefert sie 89 Artikel darunter 8 Übersichtsartikel.

Wie immer gilt: 1) Meine Auswahl ist subjektiv, 2) Übersichts-Artikel oder Fallstudien kommentiere ich nicht, 3) ich beschreibe nur Artikel, die ich auch komplett lesen kann, 4) ich bemühe mich um Richtigkeit der Angaben, kann sie aber nicht garantieren, 5) Bewertungen und Interpretationen reflektieren allein meine persönliche Meinung und erheben keinerlei Anspruch auf Gültigkeit, 6) Tipp- und Rechtschreibfehler bitte ich zu entschuldigen. Feedback gerne an fw-pfriegeer@gmx.de oder frank.pfriegeer@unistra.fr.

Patienten

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34682919>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35242574>

Dardis und Kollegen bestätigen in einer neuen Studie an insgesamt 26 Patienten mit NPC1 oder NPC2, dass das Protein Neurofilament L (für light chain) als Biomarker



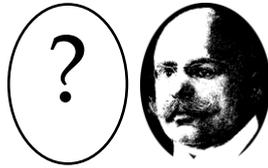
für NPC taugt. Dies hatten bereits frühere Arbeiten angedeutet. Neurofilament ist ein wichtiges Strukturprotein von Nervenzellen, das vor allem in deren Fortsätzen, den Axonen, haust. Wie so oft in der Biologie gibt es davon mehrere Formen mit unterschiedlichen Grössen, *light*, *middle* and *heavy chain*. Wenn die Nervenzellen absterben, werden die Neurofilamente zum Teil wohl freigesetzt und gelangen zunächst in's Hirnwasser (Zerebrospinalflüssigkeit) und von dort in's Blut. Die Gruppe findet tatsächlich erhöhte Werte im Plasma von jungen Patienten im Vergleich zu gleichaltrigen Kontrollen. Bei älteren Patienten funktioniert der Biomarker allerdings nicht mehr ganz so prächtig, weil schon altersbedingt dessen Menge im Blut erhöht ist - mit und ohne Krankheit. Neurofilament L ist damit natürlich kein spezifischer Marker für NPC. Andererseits zeigt Neurofilament L neurologische Symptome an. Daher könnte der Marker helfen den Krankheitsverlauf im Gehirn sowie eventuelle Arzneimittelwirkungen zu verfolgen. Das wär doch schon mal was! Die zweite Studie, von Welford und Kollegen, zeigt, dass die Neurofilament L Konzentration auch im Blut von Patienten mit Gangliosidosen sehr stark erhöht ist.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34794481>

In der Veröffentlichung von Evans und Kollegen geht's um die alte und überaus wichtige Frage: wie erfasst man numerisch, also mit Zahlen, den Ist-Zustand eines NPC Patienten und seinen Krankheitsverlauf. Biomarker sind ja nur eine Sache. Eine Antwort ist natürlich die sogenannte *severity scale*. In der neuen Studie wurde nun mithilfe des sogenannten Delphi-Verfahrens (benannt wohl nach dem Orakel, aber so ganz will mir der Name nicht einleuchten) eine Art Grundkonsens erstellt basierend auf wiederholten Befragungen von 20 Ärzten aus sieben Ländern. Tatsächlich wurden in der NPC Forschung über die Jahre hinweg sechs solcher *severity scales* entwickelt, die unterschiedliche Kategorien beinhalten. Der Grundkonsens unter den Experten ist nun wohl, dass die 17 Domänen umfassende Skala die erste Wahl sein sollte, um die Schwere der Krankheit sowie deren Verlauf in klinischen Studien zu erfassen. Ausserdem kam man überein, dass die reduzierte 5 Domänen Skala, welche Gehen, Kognition, feinmotorische Kontrolle, Sprache und Schlucken umfasst, für den klinischen Routinebetrieb ausreicht. Es wurde angemerkt, dass die Zahl der befragten Experten doch relativ klein ist und daher ein Konsens nicht unbedingt einfach zu erreichen war. Unklar bleibt, von wem und auf welcher Basis die Experten ausgewählt wurden.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34819124>

In einer Studie von Mengel et al. geht es um eine wichtige und eigentlich leicht zu beantwortende Frage: wie beeinflusst die NPC Krankheit die Lebensqualität der



Patienten, und der sie betreuenden Personen, darunter natürlich hauptsächlich die Familienangehörigen. Dazu wurden 49 Betroffene in UK und USA befragt, darunter 43 Familienangehörige, die Patienten verschiedenen Alters betreuen, sowie sechs erwachsene Patienten. Das Ziel war es, quantitative das heisst zahlenbasierte Daten zu erheben. Die Ergebnisse sind nicht überraschend, es seien hier nur einige genannt. Als schwerwiegendste Symptome wurden verminderte Mobilität (Ambulation), Schluck- und Sprachstörungen, Gedächtnisverlust und verminderte Kognition angegeben, entsprechend sind diese Symptome ja auch teil der bereits erwähnten *severity scale*. Wie beeinträchtigen nun die Symptome die Lebensqualität? Von den Befragten am häufigsten genannten Punkte für Patienten sind Frustration, die Unmöglichkeit früheren "Lieblingstätigkeiten" nachzugehen, Angst und die Einschränkung sozialer Kontakte. Für die Betreuer und Betreuerinnen gibt es Veränderungen im täglichen Verhalten, zusätzliche Betreuungsarbeit, die Notwendigkeit noch wachsammer zu sein, die Überwachung der Mahlzeiten, und der Patiententransport. Schliesslich leidet deren Lebensqualität unter Trauer, Angst, Not und sozialer Isolation. Ich nehme mal an, dass das für viele Leserinnen und Leser nichts Neues ist. Dennoch scheint es gut, das alles mal schriftlich und quantitativ zu haben, nicht zuletzt zur Vorlage bei den Zulassungsbehörden. Natürlich ist die Zahl der Befragten eher klein, aber ein Anfang ist gemacht.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34810067>

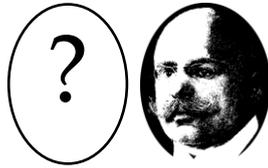
Eine Studie aus dem grossen *Bambino Gesù* Kinderkrankenhaus in Rom zeigt, dass quasi der "Fett-Fingerabdruck" im Blut, also die Mengen an vielen unterschiedlichen Fettstoffen sich bei NPC Patienten und altersgleichen gesunden Spendern stark unterscheiden. Die Gruppe um Federica Deodato fand sogar, dass es innerhalb der Patienten verschiedene Gruppen mit ganz unterschiedlichen "Fett-Mustern" gibt. Man wird sehen, ob dieser Ansatz als Biomarker taugt.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35389779>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35389781/>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35513515>

Obacht, ich mach jetzt mal was Neues: ich schreib über drei neue Studien, die nichts mit NPC zu tun haben – es geht um Autoimmunerkrankheiten (Yazar et al., 2022; Perez et al., 2022 beide in *SCIENCE*) und um Parkinson (Kamath et al., 2022 *Nature Neuroscience*). Sie bringen meines Erachtens wichtige Erkenntnisse, die unter anderen auch NPC betreffen. Es geht um zwei wichtige Fragen: erstens, warum gehen nur manche Nervenzellen kaputt und andere nicht? Zweitens, warum sind die Symptome, der Krankheitsverlauf und die Reaktion auf Therapien so unterschiedlich von Patient zu Patient? Ein möglicher Grund sind genetische



Faktoren, die von Mensch zu Mensch variieren. Wie das? Nun, es mag Gene/Proteine unabhängig von NPC1 geben, die in Zelle X exprimiert werden müssen, damit sie funktioniert, die aber gleichzeitig deren Empfindlichkeit gegenüber kaputtem NPC1 erhöhen. Ausserdem gibt es kleine Abweichungen oder Varianten über das Erbgut – also den DNS (engl. DNA) Faden – verteilt, welche die Expression von Proteinen beeinflussen darunter auch NPC1 – egal ob kaputt oder ganz. Ein Beispiel sind die sogenannten *single nucleotide polymorphisms*. Da steht dann irgendwo auf irgendeinem Abschnitt der DNA bei Mensch Nummer 1 ein A für Adenin und beim Mensch Nummer 2 ein T für Thymin. Diese kleinen Unterschiede können bestimmen, wieviel NPC1 von der Zelle in jedem Individuum produziert wird oder wie die Zelle auf das kaputte NPC1 reagiert. Die Identifikation dieser Krankheits-verändernden Varianten ist eine Grossbaustelle der Biomedizin, entsprechend gibt es viele Studien - nur wenige allerdings zu NPC. Die beiden Artikel in SCIENCE zeigen nun, dass der Einfluss der genetischen Varianten auch noch vom Zelltyp abhängt. In unserem Beispiel würde also die Variante A bei Mensch 1 in Zelltyp X die Expression von NPC1 erhöhen, in Zelle Y eventuell erniedrigen oder gleich lassen und die Variante T würde dann bei Mensch 2 und so weiter... Wenn dem so ist, dann wächst natürlich der Aufwand, um derlei Varianten und deren Einfluss zu untersuchen. Schliesslich noch zur dritten Studie, darin geht's um Parkinson. In dieser ebenfalls herkulanischen Arbeit wurde "einfach mal so" die Genexpression in hunderttausenden von einzelnen Zellen aus dem Hirn von gesunden Menschen und Parkinsonpatienten untersucht - und zwar aus post-mortem Material, also nach deren Ableben. Die Arbeit zeigt, dass es bei Menschen mindestens zehn Typen von dopaminergen Nervenzellen gibt, die sich in ihrem Genexpressionsmuster und in ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Krankheit unterscheiden. Ausserdem zeigt sich, dass es einige dieser Nervenzelltypen weder in Maus noch Affe gibt. Was lernen wir daraus: wir müssen auf einzelne Zellen schauen in den unterschiedlich betroffenen Hirnregionen von post-mortem Material von Patienten. Der Aufwand wird um einiges grösser, aber mit Maus oder Katze wird man eventuell nicht zum Ziel kommen. Abgesehen davon ist NPC ja bekanntlich keine Haut- oder Fibroblastenkrankheit. Ich weiss, schwere Kost, aber nun gut, willkommen in der Biologie, dem Result von Jahrmillionen evolutionärer Tüftelei. Es sei noch erwähnt, wie irrsinnig Personal-, Material- und Zeit-aufwändig diese und natürlich andere hier zitierte Studien sind. Eine jede kostet leicht mal mehrere Millionen Euro/Dollar und einiges an Frau-/Mannjahren.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35140266>

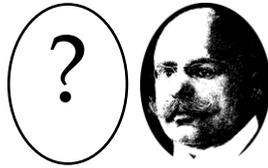
Wir bleiben beim Thema und kommen zu einem Artikel aus den NIH (nicht Muppett) Laboratorien (Baxter et al., 2022). Diese Arbeit folgt auf eine frühere



Studie, es geht um zweierlei: erstens um die Frage, ob man mit irgendeiner Methode von Fibroblasten aus Hautbiopsien auf das Alter bei Krankheitsbeginn und die neurologischen Symptome von Patienten schliessen kann. Ein gewagtes Unternehmen! Die altbekannte Filipinfärbung erlaubt das nicht wirklich. Die Arbeit zeigt, dass das mit dem sogenannten LysoTracker eventuell geht. Hierbei handelt es sich um eine chemische Substanz, die sich im sauren Milieu von Lysosomen ansiedelt und, wenn mit einem Farbstoff gekoppelt, fluoresziert. Die Anhäufung von Cholesterin im endosomalen-lysosomalen System von NPC Zellen führt eben auch zu einer starken Vergrößerung dieses Organelles, was man mit dem LysoTracker dann messen kann - zumindest in Fibroblasten. Dazu braucht es noch nicht einmal ein Mikroskop, man kann das auch mit einem sogenannten *fluorescence activated cell sorter* tun (der kostet aber genausoviel). Dazu löst man die Fibroblasten von der Zellkulturschale ab, und jagt sie durch die Maschine. Die misst dann die Fluoreszenz-Intensität in jeder einzelnen Zelle und, wenn man noch mehr Geld ausgibt, sortiert sie sogar die Zellen entsprechend (die guten ins Töpfchen, die schlechten ...). Und damit kommen wir zum Teil der Studie, der dann wieder was zu tun hat mit dem bereits erwähnten Thema genetische Faktoren. Baxter und Kollegen haben das Genexpressionsmuster der sortierten Patienten-Fibroblasten untersucht, um festzustellen, ob es Gene gibt, deren Expression (und mittelbar Menge an Protein) mit dem LysoTrackersignal und dem klinischen Bild der Patienten korreliert. Das ist in der Tat so. Die Autoren zeigen eine Liste mit Genen und erwähnen auch einige, die eventuell als Angriffsziel für neue Therapien dienen können. Jetzt kann man natürlich basierend auf die zuvor erwähnten Artikel anmerken: Erstens wurden hier Fibroblasten untersucht. Es kann also sein, dass die genetischen Faktoren nur bei Fibroblasten relevant sind, nicht aber in Zellen des Gehirns. Und umgekehrt ist es möglich, dass in Hirnzellen andere Gene eine Rolle spielen, die man in Fibroblasten gar nicht finden kann. Ausserdem wurde hier die Genexpression nicht in einzelnen Fibroblasten gemessen. Das wirft die Frage auf inwieweit es unterschiedliche Subtypen von Fibroblasten gibt, in denen dann die genetischen Faktoren unterschiedlich wirken. Das ist leider die Crux in der Biologie: jede neue Antwort auf eine alte Frage wirft neue Fragen auf.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35164809>

Eine Studie von Bolton und Kollegen wertet Daten der internationalen Patientendatenbank (registry) aus und zeigt deren Nutzen. Hier seien nur einige Ergebnisse erwähnt: von den 203 erfassten Patienten starben 10 an der schweren neonatalen Form und 168 zeigten neurologische Symptome. Das sind 87% der Patienten, in denen die Veränderungen im Gehirn sich überhaupt manifestieren können, weil sie ein entsprechendes Alter erreichen. Von den 97 Patienten mit



bekannter Mutation weist ein Drittel die I1062T Variante auf. Und knapp 63% nehmen Miglustat.

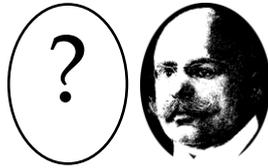
Tiermodelle

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34410604/>

Eine chinesische Gruppe berichtet mal was ganz Neues (Han et al., 2021). Die Kollegen untersuchten Veränderungen in der sogenannten *long non-coding RNA* in NPC1-defizienten Mäusen im Vergleich zu gesunden Mäusen. Da braucht's jetzt ein wenig neue Biologie: Das Erbgut/DNA enthält ja bekanntlich sämtliche Instruktionen, um daraus Zellen und letztlich einen Menschen zu basteln.

Klassischerweise schreibt der Apparat aus den Abschnitten der DNA, welche die Information für die Proteine enthält, genannt das Gen, erstmal die sogenannte Boten RNA (Transkription), welche dann für die Herstellung des Proteins benutzt wird (Translation). Lange dachte man, das war's! Eben nicht! Mit der Entschlüsselung des gesamten Erbguts fand man, dass es ganz viele Abschnitte auf der DNA gibt, die nur Unsinn enthalten. Dachte man so, stimmt aber nicht! Viele dieser Abschnitte werden auch in RNA umgeschrieben, nur dass aus dieser RNA wohl keine Proteine werden, die sind also nicht kodierend, oder *non-coding* auf Englisch. Ausserdem gibt's die sogenannte *non-coding RNA* auch noch in zwei Versionen, lang und kurz. Zellen stellen tausende verschiedener *long non-coding RNA* her. Die Frage ist, was machen die? Seit einigen Jahren gibt's einen richtigen Hype um diese Dinger, denn man fand heraus, dass diese Faden-Stückchen alle mögliche Vorgänge in spezialisierten Zellen regulieren, darunter beispielsweise die Zellteilung. Daher rührt das grosse Interesse in der Tumormedizin, es gibt aber auch Hinweise auf eine Rolle bei Neurodegeneration. Andererseits ist unklar, wie viele und welcher dieser *long non-coding RNA* Schnipsel nur Transkriptionsschrott oder eben doch Protein-kodierend sind. Alles möglich. Biologie eben! Auch könnten die Schnipsel als Biomarker oder Angriffspunkte für Therapien dienen, die Jagd danach ist also in vollem Gange, kurz und gut: *hot topic*.

Die chinesische Gruppe hat nun gefunden, dass im Kleinhirn von NPC1-defizienten Mäusen tatsächlich die Menge an bestimmten *long non-coding RNA* verändert ist, von manchen gibt es mehr, von anderen weniger, was dann die Zellen und ihre Interaktionen beeinflusst. Beispielsweise stellen die Kollegen fest, dass eine bestimmte Sorte mit dem schönen Namen H19 verändert ist. Wichtige Fragen sind nun natürlich: Was ist deren Funktion, ob und wie tragen sie zum Krankheitsverlauf bei? Auf künftige Antworten darf man gespannt sein. Das Thema wird uns noch länger beschäftigen.



<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34580197>

Die Gruppe von Eamon Dickson (Tiscione et al., 2021) zeigt, wie das defekte NPC1 eventuell Nervenzellen umbringt. Da muss man jetzt etwas ausholen. Es geht um's Kalzium. Kennt man! Die eine denkt sofort an Knochen, der andere an Kalk in der Leitung. In Zellen generell, und in Nervenzellen im speziellen, ist Kalzium ein wichtiger Botenstoff, sprich die lokale Konzentration von Kalzium innerhalb der Zelle reguliert alles mögliche, darunter die Signalübertragung an den Synapsen. Wenn da was schief geht, dann geht's der Zelle an den Kragen. Entsprechend verfügen Zellen über ausgefuchste Mechanismen, die Kalzium-Konzentration in der Zelle zu regulieren. Nun weiss man seit geraumer Zeit, dass die Kalzium-Regulation bei NPC durcheinanderkommt, die Dickson Gruppe hatte davon berichtet (Tiscione et al., 2019). Die neuere Arbeit zeigt nun einen relativ komplizierten Weg auf, der vom NPC1 über das Kalzium zum Absterben führt. Dabei kommt es mal wieder anders als gedacht. Tatsächlich reagieren wohl Nervenzellen mit defektem NPC1 auf bestimmte Reize mit einer stärkeren Ausschüttung von Kalzium aus den intrazellulären Speichern, was dann den Mitochondrien sozusagen auf den Magen schlägt und eventuell zum Zelltod führt. Dabei bringt die Arbeit mindestens einen neuen Spieler ins Spiel, den sogenannten IP3 Rezeptor Typ 1, der als neues Ziel für therapeutische Ansätze dienen könnte.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34802899>

Hinweise auf einen neuen therapeutischen Ansatz für NPC bringt auch eine Studie der Porter Gruppe (Cougoux et al., 2021). Ausgangspunkt ist eine frühere Beobachtung, dass in NPC1-defizienten Mäusen der sogenannte Glutamat-Transporter in bestimmten Gliazellen verringert ist. Was soll das nun heissen? Nun, Glutamat ist der häufigste Neurotransmitter im Nervensystem, die meisten Synapsen funktionieren damit. Damit das alles reibungslos funktioniert, muss das Glutamat nach seiner Freisetzung an der Synapse schnell wieder weggeräumt werden, da sonst eine Art Erregungstod droht, die sogenannte *excitotoxicity*. Derlei kennt man auch aus anderen Lebenssituationen, aber im Hirn ist das Glutamat schuld: zu viel davon aktiviert die Rezeptoren auf den Nervenzellen und bringt sie dann mittelfristig um. Wer räumt das Glutamat weg? Die sogenannten Gliazellen, genauer gesagt die Astrozyten. Deren winzige Fortsätze, alle so im Nanometerbereich, umhüllen die Synapsen und tragen sogenannte Glutamat-Transporter. Diese saugen quasi ständig das freigesetzte Glutamat auf und verhindern, dass die Nervenzellen vor Erregung draufgehen. Wenn also bei NPC zu wenig Glutamat-Transporter da wären, könnten die neurologischen Symptome bzw. das Absterben der Zellen durch zu viel Glutamat an den Synapsen verursacht werden. Nun ist die *excitotoxicity* schon seit langer Zeit im Gespräch als Ursache für



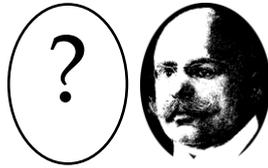
die verschiedensten neurodegenerativen Erkrankungen, und es gibt auch zugelassene Arzneimittel. Die Porter Gruppe hat eines davon in Mäusen ausprobiert, das sogenannte Riluzol, welches zur Behandlung der multiplen Sklerose verabreicht wird. Die Behandlung der NPC Mäuse mit Riluzol verlangsamte den Fortgang der neurologischen Symptome, und verlängerte leicht die Lebenserwartung der Mäuse. Man darf gespannt sein, ob man das Mittel in Patienten ausprobieren wird und wenn was dann dabei herauskommt.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34944681>

Eine Studie aus Belgien und Deutschland (van Hoecke et al., 2021) zeigt einen weiteren neuen Therapie-Ansatz auf. Dabei geht es um die sogenannten extrazellulären Vesikel, ein *hot topic* in der biomedizinischen Forschung, die Zahl der damit befassten Veröffentlichungen explodiert geradezu. Es geht um den "Nachrichtenaustausch" zwischen Zellen. Die extrazellulären Vesikel, auch Exosomen genannt, werden von allen möglichen Zellen gebildet und auf vielerlei Wegen ins extrazelluläre Milieu, also nach "draussen", abgegeben. Dabei enthalten diese Vesikel einen Zell-typ spezifischen Mix aus Botenstoffen. Sie werden von Zielzellen aufgenommen, wo sie dann bestimmte Veränderungen hervorrufen. Mittlerweile werden die Vesikel zur Behandlung von vielen Krankheiten ausprobiert, an erster Stelle stehen sicher bösartige Tumore. Als Quelle dienen dabei sogenannte mesenchymale Stammzellen beispielsweise aus Knochenmark oder Nabelschnur. Die Gruppe zeigt nun in NPC Mäusen, dass eine mehrmalige Injektion von extrazellulären Vesikeln in's Blut das Entzündungsniveau und pathologische Veränderungen in verschiedenen Organen darunter auch dem Gehirn verringern. Man darf gespannt sein, wie es hier weitergeht.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34948052>

Ein weiteres Fass von wegen mögliche Angriffspunkte für Therapien macht die Hecimovic Gruppe aus Zagreb auf (Dominko et al., 2022). Hier geht es um den sogenannten Retromerkomplex, ein zentraler und uralter Bestandteil von Zellen (von Hefe bis Mensch). Er reguliert den Transport von Proteinen vom sogenannten Endosom zu verschiedenen Zielen innerhalb der Zelle. Das Ganze ist allerdings kompliziert, und grösstenteils noch unverstanden. Man weiss, dass Mutationen in Retromer-Komponenten Krankheiten verursachen oder dazu beitragen, darunter Parkinson. Die Gruppe zeigt nun, dass in NPC1-defizienten Zell-Linien sowie im Hirn von NPC1-defizienten Mäusen die Verteilung des Retromers innerhalb der Zelle sowie seine Zusammensetzung verändert sind. Die Ergebnisse werfen einige Fragen auf, darunter ob und wie eine Störung der Retromerfunktion zur Symptomatik in NPC beiträgt und ob das Retromer als Therapieziel taugt.



<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35081253>

Eine Studie aus Australien (Castiblanco et al., 2022) beschäftigt sich mit einem ganz bestimmten Zelltyp des Immunsystems, den sogenannten zytotoxischen T Lymphozyten. Diese Zellen sind eine wichtige Komponente der Immunantwort: sie bringen Zellen um, die ihnen irgendwie spanisch vorkommen, also infizierte Zellen oder Tumorzellen. Dazu docken sie an diese Zellen an und setzen lokal einen Mix aus toxischen Substanzen frei, der die Zellen umbringt. Dazu gehört ein Protein namens Perforin, welches Löcher in die Zielzellen bohrt. Experimente mit Zellen aus Mäusen und Patienten zeigen, dass bei NPC das Perforin weniger gut funktioniert, offenbar weil es irgendwie durch den angehäuften Fettschrott zugemüllt wird. Behandelt man die Zellen mit Zyklodextrin funktioniert das Ganze wieder. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass NPC Patienten ein erheblich geschwächtes Immunsystem haben, und zwar je jünger desto schwächer. Ausserdem könnten Aktivitätsmessungen der zytotoxischen T Lymphozyten vielleicht bei der Diagnose und bei Entwicklung von Wirkstoffen für NPC helfen.

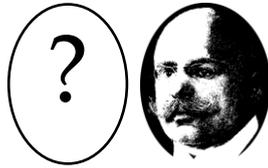
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35452076>

Nochmal zurück zum Thema *severity scale* und zur Frage, wie man den Verlauf und die Schwere der Krankheit zahlenmässig erfasst. Das Problem besteht ja auch bei Mäusen und anderen Tiermodellen auch für andere neurodegenerative Erkrankungen. Und es wird natürlich ganz akut, wenn man die Wirkungen von Therapiekandidaten präklinisch erfassen will. Entsprechend gibt es eine Vielzahl an Verhaltenstests, die über die Jahrzehnte entwickelt wurden insbesondere für Mäuse und Ratten. Ein Problem ist dabei, dass diese Tests oft kompliziert und mit einem erheblichen apparativen Aufwand verbunden sind. Dazu kommt, dass man die Ergebnisse von einem Test zum anderen oft nicht vergleichen kann. Yerger und Kollegen (2022) haben sich nun einen bereits etablierten Test vorgenommen, der die Motorik von Mäusen erfasst, dabei aber "relativ" einfach (und billig) ist. Den Test, der insgesamt fünf Kategorien umfasst, könnten "normale" Freiwillige ohne spezielles Gerät durchführen. Dazu muss man die Maus genau anschauen und auf bestimmte Dinge achten, sie rumlaufen lassen, mal hochheben. Dann gibt's Punkte für jede Kategorie und ein Gesamtzahl. Mal sehen, ob sich dieser Test durchsetzen wird. Leider ist das Einfachste nicht immer das, was auch benutzt wird.

Zell-basierte Modelle

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34440927/>

In einer Studie aus Chile (Balboa et al., 2021) geht es um Biomarker und Angriffsziele von Therapien. Die Zanlungo Truppe hat sich Leberzellen



vorgenommen mit einem mittlerweile klassischen experimentellen Ansatz. Dabei wird sozusagen Schnappschuss-artig die Gesamtheit aller Proteine einer Zelle analysiert, und dann die Menge jedes einzelnen Proteins in gesunden und kranken Zellen verglichen. Es gab bereits Studien, welche Veränderungen an Proteinen in der Leber von NPC1 Mäusen untersuchten. Hier nun wurden Leberzellen aus dem Gewebe der Maus isoliert und dann in Zellkultur untersucht. Die Kollegen konnten fast 4000 Proteine in den Leberzellen identifizieren und fanden, dass das NPC1 Defizit 155 Proteine zuverlässig ändert, die meisten davon werden "hochreguliert", es gibt also mehr davon. Darunter sind Komponenten, welche den Lipidstoffwechsel regeln, aber auch solche, welche bei Leberschäden sowie Entzündungsreaktionen eine Rolle spielen. Man wird sehen, ob und welche Komponenten nun relevant sind.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34592985>

Wichtige Neuigkeiten in Sachen experimentelle Modelle für NPC. Prabhu und Kollegen (2021) entwickelten einen neuen Ansatz, um die Auswirkung der NPC1 Mutationen in Nervenzellen zu untersuchen. Dieser beruht auf einer neuen Variante der zwar etwas künstlichen, aber dafür effizienten und flexiblen Stammzelltechnologie. Dabei macht man aus menschlichen Stammzellen durch allerlei Tricks (Stichwort genetisches Umprogrammieren) in einer Rekordzeit von 10 Tagen Nervenzellen. Das ist viel schneller als mit bisherigen Methoden. Gleichzeitig kann man den Zellen mit der famosen CRISPR-CAS Genschere – der Scherenvergleich lahmt meines Erachtens – auch beliebige NPC Varianten aufbrummen und so herausfinden, wie die sich auf Nervenzellen auswirken. Es gibt weitere Vorteile: erstens nutzt man menschliche Zellen, aber man braucht keine Hautfibroblasten, zweitens kann man eine homogene Schar von Nervenzellen in relativ beliebiger Menge produzieren, und drittens bekommt man eine "saubere" sogenannte isogene Kontrolle, also Zellen welche die "normale" Version von NPC1 (oder 2) tragen, aber ansonsten genetisch identisch sind. Die Arbeit zeigt, dass das Cholesterin sich anhäuft, wenn man bestimmte Mutationen einführt. Und sie zeigt, dass das kaputte NPC1 eben auch ganz spezielle Vorgänge in Nervenzellen kaputt macht, darunter beispielsweise den Transport von Lysosomen entlang ihrer Fortsätze (Axone). Ausserdem geht der Energiestoffwechsel der Nervenzellen in die Knie, weil die Mitochondrien beschädigt werden. Man kann dieses Modell, genannt i3Neuron, für die Suche nach neuen Medikamenten nutzen, die speziell in Nervenzellen wirken. Inwieweit allerdings diese Nervenzellen die "Echten" im Gehirn von Patienten abbilden, bleibt unklar. Jedenfalls sind sie schon mal näher "dran" als Fibroblasten.



<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34830064>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35159129>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35159316>

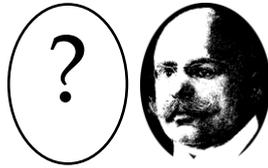
In gleichen Zusammenhang seien drei neue Studien der Frech Gruppe erwähnt (Völkner et al., 2021; Völkner et al., 2022; Liedke et al., 2022), die mit zu den Pionieren in Sachen NPC Stammzellen gehört. In der ersten Arbeit wurden Fibroblasten einer Patientin mit der adulten Form von NPC zunächst in Stammzellen und dann in Nervenzellen sowie Leberzellen verwandelt. Dann wurde die Verteilung von Cholesterin sowie die Menge an NPC1 und auch dessen Verteilung innerhalb der Zelle untersucht. Die Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass ein relativ später Ausbruch der Krankheit darauf zurückzuführen ist, dass die entsprechende Variante von NPC1 noch ganz passabel funktioniert.

In der zweiten Arbeit geht es um neue therapeutische Ansatzpunkte. Die Ergebnisse liefern erste Hinweise, dass das sogenannte *abiraterone acetate* die Cholesterin-Anhäufung in Nerven- und Leberzellen teilweise rückgängig macht. Bislang bekannte Zielproteine der Substanz sind der Androgenrezeptor, der beispielsweise Testosteron bindet, sowie Enzyme, welche Testosteron und andere Androgene synthetisieren. Abiraterone wird für die Behandlung von bestimmten Formen des Prostatakrebs verwendet. Weitere Studien an Mäusen müssen zeigen, ob die Substanz auch als Therapeutikum für NPC taugt.

In der dritten Arbeit wurden die Mitochondrien untersucht in Nervenzellen, die aus Fibroblasten von verschiedenen Patienten über die Stammzelltechnologie hergestellt wurden. Die neuen Ergebnisse bestätigen, dass NPC1 Defekte tatsächlich die Funktion von Mitochondrien, deren Transport innerhalb der Nervenzellen sowie deren Abbau und Recycling beeinträchtigen. Diese Veränderungen waren zudem je nach Patient unterschiedlich stark ausgeprägt. Inwieweit die an künstlich in Zellkultur hergestellten Nervenzellen gewonnenen Ergebnisse für die "echten" im Hirn gelten bleibt abzuwarten. Allerdings mehren sich mittlerweile die Hinweise auf eine gestörte Mitochondrienfunktion und damit Energieversorgung in Nervenzellen bei NPC.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34296265>

Eine Studie aus dem Pavan Labor (Rodriguez-Gil et al., 2021) berichtet die Ergebnisse einer weiteren Herkules- (NICHT Sisyphos-!) Arbeit. Hier wurde untersucht, wie sich die Genexpression in kultivierten Fibroblasten aus Hautbiopsien von 42 (!) verschiedenen Patienten ändert nach Behandlung mit Zyklodextrin. Die Arbeit zeigt einerseits dass die Zykllo-Behandlung relativ wenige Gene hoch- oder runterdreht. Andererseits zeigt die Studie auch, dass die Reaktion auf Zykllo von Patient zu Patienten variiert, wobei erstaunlicherweise deren



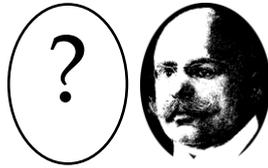
Geschlecht eine Rolle spielt. Schliesslich bestätigt die Studie das Protein mit dem kryptischen Namen GPNMB als Biomarker (s. Tagungsberichte), das bei NPC1 Patienten aber auch in den NPC Mäusen (sowie anderen Krankheiten) erhöht und durch Zyklbehandlung verringert wird. Bislang ist die Funktion dieses Proteins unklar. Es sitzt wohl in Membranen, kommt im Lysosom vor, wird aber auch ins extrazelluläre Milieu freigesetzt, eventuell von Mikrogliazellen.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34851695>

Mit diesen Zellen geht's munter weiter. Ganz was Neues berichtet die Wyss-Coray Gruppe aus Stanford (Pluvinage et al., 2021), eine komplizierte Geschichte. In Kürze: es geht um die sogenannten Mikrogliazellen, die im Gehirn die Funktion von Feuerwehr und Müllabfuhr übernehmen. Die Geschichte beginnt mit einer Überraschung: eine frühere Arbeit der Gruppe, prominent publiziert 2019 in NATURE, hatte in Mäusen gezeigt, dass ein bestimmtes Protein namens CD22 die Phagozytose von Mikrogliazellen hemmt, also deren Kapazität Müll zu schlucken und zu recyceln. Zur grossen Überraschung fand die Gruppe nun heraus, dass im menschlichen Gehirn CD22 gar nicht von Mikrogliazellen produziert wird, sondern von einem anderen Typ der Gliazellen, nämlich den sogenannten Oligodendrozyten kommt. Diese stellen die Kabelisolation der Hirnnerven sicher. Hunderte Experimente und einige Millionen US Dollar später zeigt sich, dass CD22 eventuell als neuer Angriffspunkt für eine NPC Therapie dienen könnte. Wahr bleibt, dass CD22 irgendwie die lysosomale Funktion von Mikrogliazellen hemmt. Die Gruppe identifizierte den sogenannten *insulin-like growth factor 2 receptor* als Teil des Komplexes an den CD22 auf den Mikrogliazellen bindet und entwickelte mal noch schnell ein neues Zellkulturmodell für NPC mit menschlichen Mikrogliazellen. Damit konnten sie dann schliesslich zeigen, dass eine Hemmung von CD22 mit – ja, auch noch schnell neu-entwickelten Antikörpern – die Cholesterin-Anhäufung in den Mikrogliazellen mit der I1061T Variante reduziert. Die Ergebnisse zeigen auch, dass Mikrogliazellen von Maus und Mensch unterschiedlich sind (siehe oben), und dass daher die NPC Mäuse eventuell nicht geeignet sind um die Rolle dieser Zellen bei NPC zu untersuchen.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34886684>

Einen neuen Spieler bei der zellulären Cholesterin-Regulation, sogar einen möglichen Bindungspartner für NPC1, bringt eine Studie aus dem Boucher Labor in Strasbourg (Awan et al., 2022), in der es eigentlich um Arteriosklerose ging und um das sogenannte Wnt5a Protein. Da muss man etwas ausholen: Die sogenannten Wnt Proteine bilden eine grosse Familie von Signalstoffen (beim Menschen insgesamt 19!), die zwischen Zellen hin und her geschickt werden, in Zielzellen an Rezeptoren



(davon gibt's mindestens 10) binden und dann bestimmte Vorgänge auslösen, beispielsweise die Zellteilung. Ohne manche dieser Wnts geht gar nix, oder es kommt zu Fehlbildungen. Einige Wnts sind an der Tumorbildung beteiligt. Woher der Name? Nun bei der Namensfindung sind Biologen bisweilen faul. Das erste Wnt Protein wurde 1982 entdeckt und hiess *int1* für *integration site 1*, ich erspare Details. Später fand man heraus, dass *int1* ähnlich ist wie *wingless*, ein Gen in der Fruchtfliege, das die Entwicklung der Fliegenlarven steuert. Irgendwann wurde aus *wingless* und *int1* eben *Wnt*. Dies nur am Rande. Interessant ist auch, dass sämtliche Wnt Proteine wohl hydrophob sind, sie mögen also Wasser nicht (Katzenähnlich?) und brauchen daher irgendein Träger, der sie huckepack durch's wässrige Milieu schleust. Im Falle von Wnt5a sind das eventuell Lipoproteine. Womit wir dem Cholesterin näherkommen. Die neue Studie zeigt nun, dass Wnt5a eventuell an NPC1 bindet und den Cholesterin-Stoffwechsel, das altbekannte mTORC1 Signalsystem wie auch die Lysosomproduktion beeinflusst.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35088900>

Eine Gruppe aus Tschechien hat einen neuen Test erfunden, mit dem man die Anhäufung von Cholesterin in Fibroblasten von Patienten biochemisch nachweisen und eventuell auch die verschiedenen Formen von NPC unterscheiden kann (Majer et al., 2022). Dazu braucht's Cholesterin, das Deuterium statt Wasserstoff enthält, und das an sogenannte Dextranmoleküle gekoppelt ist. Dextrane sind langkettige nicht-toxische Zuckermoleküle, die man industriell aus Bakterien gewinnt, und für allerlei verwendet. Sie werden von Zellen aufgenommen und abgebaut. Der Test ist eventuell etwas genauer als der Filipin-basierte und könnte ergänzend eingesetzt werden, allerdings braucht's dazu Fibroblasten und die nötige Ausrüstung.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34936700>

Eine neue Studie aus dem Pfeffer Labor berichtet Ergebnisse eines weiteren genetischen *screens* zur Entdeckung von Proteinen, welche den Stoffwechsel und die intrazelluläre Verteilung von Cholesterin und LBPA/BMP regulieren (Lu et al., 2022). Diese *screens* sind ja ein Lieblingswerkzeug der biomedizinischen Forschung um Komponenten, also Gene/Proteine zu entdecken, die an bestimmten zellulären Vorgängen – ob normal oder pathologisch – beteiligt sind (s. PfriegersDigest 4). Die Pfeffer Gruppe wollte herausfinden, welche Proteine die Menge an Cholesterin und LBPA/BMP in normalen Zellen und in Zellen mit gehemmtem NPC1 kontrollieren. Eine der neuen Komponenten ist ein Protein namens SNX13. Dieses Protein sitzt wohl an Kontaktstellen zwischen dem endoplasmatischen Retikulum und dem Endosom-Lysosom. Interessanterweise führt seine Eliminierung dazu, dass das Cholesterin in NPC1-defizienten Zellen sich wieder normal verteilt. Wie das passiert



und ob dieses Protein als Ziel für therapeutische Ansätze taugt, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Die Gruppe hat übrigens auch die Ergebnisse früherer *screens* verglichen und festgestellt, dass die Ergebnisse nur teilweise überlappen. Jeder *screen* bringt wohl neue Komponenten hervor. Das ist eventuell nicht überraschend, weil jedesmal unterschiedliche Zellen, Tools und Messgrößen verwendet werden.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35190686>

Diese Studie ist eventuell bahnbrechend für die biomedizinische Forschung, wobei die Autoren NPC "nur" als Beispiel genommen haben, um ihre Technologie auszuprobieren (Erwood et al., 2022). Es geht um die bereits erwähnte Frage, welche genetischen Varianten im Erbgut wie den Krankheitsverlauf bei NPC beeinflussen. Eines der Probleme in dieser Angelegenheit ist schlicht, dass unsere Zellen diploid sind. Das heisst jede Zelle hat zwei Ausgaben des gleichen Chromosoms, und damit zwei Ausgaben eines Gens, sagen wir mal NPC1. Will man nun den Einfluss von genetischen Faktoren testen, muss man natürlich dafür sorgen, dass beide Versionen des Gens ein und dieselbe Variante tragen. Das ist nicht einfach, und bei Patienten auch selten der Fall, da die Eltern oft unterschiedliche Varianten beitragen. Alternativ sorgt man dafür, dass die Zellen haploid sind, also nur einen Chromosomensatz tragen. Allerdings sind diese Zellen sehr instabil und schwierig im Labor zu züchten. Die Gruppe hatte nun die gute Idee, dass man die Zellen nur in dem Abschnitt der DNA, welche die zu untersuchenden Genvarianten enthält, haploid macht. Um das zu erreichen, haben die Kollegen eine erst 2019 von einer anderen Gruppe entwickelte Technologie benutzt, genannt CRISPR prime editing. Sie beruht, wie der Name sagt, auf dem CRISPR-CAS Genschere-Prinzip und erlaubt quasi eine Art Search/Replace/Modify Strategie um den DNA Text zu ändern. Ich erspare Details. Jedenfalls hat das Ganze funktioniert und die Arbeit zeigt, dass man mit dieser Methode - zugegeben künstliche - Zellen erzeugen kann, welche die NPC1 Mutationen und genetische Varianten in beliebiger Kombination tragen. Damit kann man dann den Einfluss dieser Faktoren auf die NPC1 Proteinproduktion und die Cholesterin-Anhäufung etc. testen. Man darf sehr gespannt sein, ob und wie diese Technologie die NPC Forschung sowie die Entwicklung von Therapeutika beeinflussen wird.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35408815>

Weiter geht's mit einer Studie aus Italien (Pepponi et al., 2022), in der ein neuer Therapieansatz zumindest an Patienten-Fibroblasten ausprobiert wurde. Basis dafür ist der Befund, dass in diesen Zellen wohl die Adenosin-Konzentration durcheinander gerät. Adenosin an sich oder mit anderen Molekülen verbandelt ist



ein wichtiger Signalstoff in- und ausserhalb der Zelle. Die Gruppe zeigt, dass die Behandlung von Zellen mit einer Substanz namens Dipyrinadol die Cholesterin-Anhäufung in Fibroblasten verringert. Dipyrinadol wird zur Behandlung von Thrombosen und Embolien benutzt. Ob es aber zur Behandlung von NPC taugt, müssen weitere Studien insbesondere an Mäusen zeigen.

Vermischtes

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35261748>

An alle Reisliebhaber: Einer der wohl übelsten Schädlinge im Reisanbau namens *Nilaparvata lugens* oder *brown planthopper*, ein Vertreter der Spitzkopfzikaden, hat einen mächtigen Feind, nämlich die zugegeben winzige max. 1 Millimeter grosse Eierschlupfwespe *Anagrus nilaparvatae*. Chinesische Kollegen berichten, dass diese wiederum NPC2 exprimiert, bei Männchen mehr als bei Weibchen. Wozu weiss man noch nicht, wahrscheinlich als Überträger von Geruchsstoffen.