

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 nunmehr vierten Ausgabe von Pfriegeer's Digest. Es gibt kleine Änderungen im Design: das Portrait von Ludwig Pick schmückt nun den Zeitungskopf. Allerdings fehlt ein Bild von Albert Niemann, ich habe bisher keines gefunden. Daher hier mein Aufruf an alle (siehe auch letzte Chamäleon Ausgabe):

**"Findet Niemann!"**

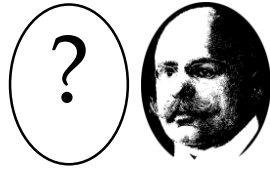
Vielleicht findet jemand ein Bild oder zeichnet / malt bastelt selbst ein "Fantasie-Portrait". (Obacht, viele Bilder im WWW zeigen seinen gleichnamigen Vater, einen Opernsänger, oder den nicht-verwandten Chemiker). Ich würde mich sehr über Zusendungen freuen und sie dann statt der Leerstelle einfügen. So viel dazu.

Die neue Ausgabe umfasst den Zeitraum vom 1. November 2020 bis 15. März 2021. Entsprechend lautet der Link für die PubMed Suche:

[\(\(niemann pick type c OR niemann pick type C1 OR niemann pick type c2 OR npc1 OR npc2\) AND \(\("2020/11/01"\[Date - Publication\] : "2021/03/15"\[Date - Publication\]\)\)\) NOT \(\("2020/01/01"\[Date - Publication\] : "2020/10/31"\[Date - Publication\]\)\)](#).

In diesem Zeitraum erschienen **54** Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Fachzeitschriften. Hier sei mal erwähnt, dass bei einer grossen Zahl der Veröffentlichungen sogenannte *conflicts of interest* also Interessenkonflikte deklariert werden (z.B. weil ein Autor oder eine Autorin eine Firma gegründet hat oder Honorar bezahlt bekommt). Diese Offenlegung wird von den Zeitschriften vorgeschrieben.

Im übrigen gilt: 1) Ich beschreibe nur Artikel, die ich auch komplett lesen kann. 2) Meine Auswahl ist subjektiv. 3) Übersichts-Artikel oder Fallstudien werden nicht kommentiert. 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/33139814/>

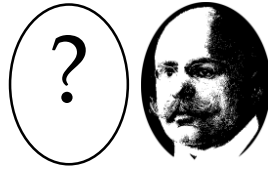
Chiorean et al. (2020) untersuchten Art und Häufigkeit der NPC1 Mutationen in der sogenannten Genome Aggregation Datenbank, kurz gnomAD. Diese Sammlung enthält genetische Informationen (für Spezialisten: Exom- und einige Genomsequenzen) von 141.456 nicht-verwandten Individuen. Eigentlich war die Frage, ob heterozygote Träger von NPC1 Mutationen ein erhöhtes Risiko für Fettleibigkeit aufweisen. Einen solchen Zusammenhang meinten einige frühere Studien entdeckt zu haben, andere fanden den Zusammenhang nicht, je nach Datensatz und Definition der Fettleibigkeit. Jedenfalls zeigt die neue Studie, dass die Häufigkeit der NPC1 Mutationen über ethnische Gruppen hinweg variiert. Die Frage ist natürlich, wie repräsentativ derlei Sequenz-Sammlungen bislang sind angesichts von 10 Milliarden Menschen, und wie solide die Zuordnung zu ethnischen Gruppen.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33257258/>

Sidhu et al. (2020) stellen einen neuen Blut-Test vor, der das Team "Biomarker" verstärken soll. Zur Erinnerung: Biomarker sind möglichst im Blut nachweisbare Substanzen, welche die zuverlässige Diagnose von NPC1 ermöglichen und den Erfolg von therapeutischen Ansätzen messen. Mittlerweile spielen mindestens drei Marker auf Feld, die Oxysterole (C-triol), die aus den Oxysterolen gebildeten Gallensäuren, darunter das sogenannte TCG - für Profis N-(3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihydroxy-cholan-24-oyl) - sowie N-palmitoyl-O-phosphocholine, auch LysoSM-509 genannt. Der neue Blut-Test basiert auf TCG und scheint Niemann-Pick Typ C Patienten noch zuverlässiger zu erkennen, als die anderen Marker. Man wird sehen, wie sich der Test in der Praxis bewährt.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33228797/>

Mengel et al. (2020) berichten Ergebnisse einer prospektiven, also vorausschauenden Studie, die von der Firma Orphazyme gesponsort wurde. Die Veröffentlichung zeigt den Krankheitsverlauf von 31 Patienten über 6 bis 14 Monate hinweg anhand einer vereinfachten Schweregradsskala (NPC Clinical Severity Scales) sowie verschiedener Biomarker, darunter der Oxysterole. Alle Patienten bekamen Miglustat, die Hälfte der Teilnehmer zeigte einen Krankheitsbeginn im späten Kindesalter. Was lernen wir? Die Krankheitsverläufe sind sehr unterschiedlich und korrelieren wenig mit den Mutationen, die vereinfachte Skala scheint mehr oder minder genauso gut wie die kompliziertere. Was die Biomarker angeht, so bilden die Oxysterole den Schweregrad relativ gut ab. Natürlich gilt wie schon öfters: die relativ kleine Anzahl der Studienteilnehmer zusammen mit der grossen Variabilität zwischen den Patienten machen Aussagen schwierig. Man darf



gespannt sein auf die Arimoclolmol Daten, vor allem auf einen Vergleich der Krankheit vor und nach der Behandlung jedes Patienten.

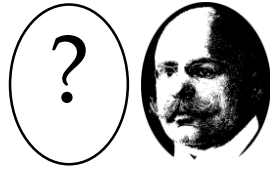
## Tiermodelle

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33345999/>

Die Studie von Meneses-Salas und Kollegen (2021) bringt eine neue Folge aus der Serie: "Überraschung: es kommt anders als gedacht!" Arbeiten verschiedener Teams hatten gezeigt, dass ein bestimmtes Protein namens Annexin-6 beim Cholesterintransport innerhalb der Zelle eine Rolle spielt. Erhöhte Mengen an Annexin-6 führten zu Cholesterinanhäufung ähnlich wie die NPC1 Fehlfunktion. Eine weitere Studie an Zellkulturen zeigte dann, dass eine erniedrigte Menge an Annexin-6 die Cholesterinanhäufung in NPC1 defizienten Zellen rückgängig macht. Wunderbar! Aber nein! Wider Erwarten ist das im lebenden Tier ganz anders: Die genetische Wegnahme von Annexin-6 in NPC1-defizienten Mäusen verschlimmerte sogar deren Leberfunktion und verringerte ihre Lebensdauer. Die Versuche in vivo ergeben also genau das Gegenteil von dem, was man basieren auf Zellkultur-Experimenten vermutet hatte. Willkommen in der Biologie!

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33738443/>

Neues zum Thema Azetylleuzin, auch bekannt unter dem Namen Tanganil: Die Gruppen um Michael Strupp und Frances Platt (Kaya et al., 2021) berichten über dessen Wirkung in NPC Patienten und Mäusen. Zur Erinnerung: Mäuse aus der sogenannten BALB/c Linie, denen das NPC1 Protein fehlt, entwickeln die ersten neurologischen Symptome in der sechsten Lebenswoche und sterben in der 10. bis 12. Woche. Zum Vergleich: gesunde Labormäuse werden ungefähr zwei Jahre alt. Die Studie zeigt, dass Azetylleuzin tatsächlich die Bewegungsstörungen in Patienten und Mäusen verbessert. Bei letzteren zeigte sich eine leichte Lebensverlängerung nach Kombi-Behandlung mit Azetylleuzin und Miglustat. Was den möglichen Wirkmechanismus anbelangt, so deutet die Maus-Studie darauf hin, dass Azetylleuzin evtl. in den Zuckerstoffwechsel sowie die oxidative Stressabwehr eingreift. Aber, jetzt aufgepasst: Die Studie zeigt, dass eigentlich nur die L aber nicht die D Form von Azetylleuzin aktiv ist in NPC Mäusen. Was soll das nun heissen? Etwas Chemie: viele Moleküle, darunter Aminosäuren wie Leuzin, gibt es in zwei spiegelverkehrten Formen, genannt D und L. Die verhalten sich zueinander wie rechte und linke Hand (sogenannte Chiralität). Wichtig ist nun: die D und L Form eines Moleküls können ganz unterschiedliche Wirkungen haben. Klassisches Beispiel entdeckt vom italienischen Chemiker Piutti Ende des 19. Jahrhunderts: die Aminosäure L-Asparagin (Spargel!) schmeckt süß, D-Asparagin schmeckt nicht.



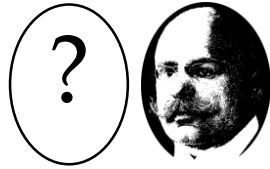
Eine frühere Studie von Strupp und Platt zeigte, dass das Azetyl-D-Leuzin die Aufnahme von Azetyl-L-Leuzin eventuell verringert oder dessen Umwandlung von Azetyl-L-Leuzin zu L-Leuzin vermindert. Tanganil ist ein 50:50 Gemisch aus Azetyl-L-Leuzin und Azetyl-D-Leuzin, es handelt sich um ein sogenanntes Razemat, wie der Chemiker sagen würde. Basierend auf den neuen Daten muss man feststellen, dass das eher nicht so gut ist, denn erstens hat man nur die halbe Dosis der aktiven Substanz und zweitens könnte die D Form die Wirkung der L Form verringern. Schaumermal wie's da weitergeht!

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33466390/>

Das Thema Biomarker bleibt uns treu: eine Studie aus Japan (Fukaura et al., 2021) zeigt, dass intrazerebroventrikuläre (also ins Hirn direkt) Injektionen von 2-Hydroxypropyl-beta-Zyklodextrin in NPC Mäusen die Konzentration eines Proteins namens "*glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B*" (es hat noch weitere Namen, das ist der schönste) verringert. Frühere Untersuchungen zeigten erhöhte Blutwerte bei Patienten mit NPC, Parkinson und Alzheimer sowie bei bestimmten Formen von Krebs. Die Funktionen des Proteins sind noch nicht klar, es kommt in sehr vielen Organen vor, darunter auch im Hirn, wo es eventuell Entzündungsreaktionen dämpft. Da gibt's noch einiges zu entdecken.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33256498/>

Kollegen aus Japan berichten über den Erfolg einer weiteren Gentherapie-Studie in NPC1-defizienten Mäusen (Kurokawa et al., 2021). Seit 2017 wurden ja bereits drei Artikel veröffentlicht, welche die Durchführbarkeit und Wirksamkeit der Virus-basierten Gentherapie im Mausmodell bestätigen. Die neue Studie baut auf den vorherigen auf und bringt eine Neuerung, welche das Ergebnis durchaus verbessert. Was braucht's für die Gentherapie? Erstens einen sogenannten Vektor, der den genetischen Plan des normalen NPC1 Proteins in die Zellen bringt. Wie andere zuvor nutzt die japanische Gruppe den sogenannten *adeno-associated virus 9* kurz AAV9. Zweitens einen sogenannten *promoter*, also Sequenzen aus dem Erbgut, welche bestimmen, wo und wann ein Gen exprimiert und damit das gewünschte Protein (= NPC1) hergestellt wird. In der vorliegenden Studie kam ein sogenannter "starker" *promoter* zum Einsatz, der egal in welcher Zelle die Genexpression und damit die Proteinproduktion "voll aufdreht". Drittens muss natürlich der Vektor noch zu den Zellen gelangen. Hier haben die japanischen Kollegen was Neues ausprobiert: sie haben den Virus über zwei unterschiedliche Wege ins Gehirn gebracht, nämlich durch Injektion in den lateralen Ventrikel und in die sogenannte Cisterna magna. Die Doppel-Injektionen ermöglichten eine viel grössere Verbreitung im Hirn als einzelne. Der Virus wurde einmalig in fünf bis sechs Tage alte Mäuse



injiziert. Die Ergebnisse sind ermutigend: die Lebensdauer der Mäuse wurde quasi verdoppelt, die Bewegungsstörungen und das Absterben der Purkinjezellen im Kleinhirn wurde stark vermindert. Das muss noch besser werden, aber immerhin!

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33627648/>

Eine Studie der Gruppe um Sabina Tahirovic in München (Colombo et al., 2021) untersuchte in NPC1 Mäusen den Zustand der sogenannten Mikrogliazellen, die im Gehirn sozusagen als THW, Feuerwehr und Müllabfuhr gleichzeitig werkeln. Die Zellen in kranken Mäusen zeigen deutliche Defekte, die durchaus zur Fehlfunktion und zum Absterben der Nervenzellen beitragen. Sie könnten auch als Angriffspunkt für neue Therapien dienen. Gliazellen wurden tatsächlich lange vernachlässigt, weil man dachte Nervenzellen sterben nur deshalb, weil ihnen das NPC1 fehlt. Da hat man eventuell die Rechnung ohne den Wirt gemacht!

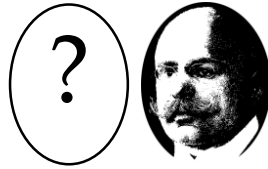
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33722902/>

Eine Arbeit zum Thema Wünsche, die in Erfüllung gehen: es gibt jetzt ein neues Fischmodell basierend auf NPC2, zwei Fische mit mutiertem NPC1 lagen ja schon auf dem Teller (siehe PD Ausgabe 3). Die Gruppe von Denny Porter am NIH (Tseng et al., 2021) berichtet wie's dem Zebrafisch (*Danio rerio*) ohne NPC2 geht: ganz schlecht! Das Cholesterin häuft sich an, die Bewegung ist gestört, und die Fische sterben vorzeitig. Das Ganze wird noch schlimmer, wenn die Fischlein auch kein mütterliches NPC2 mehr bekommen, das Protein wird ja bekanntlich aus Zellen freigesetzt und schwappt so von Fischmutter zu Fischkind.

## Zellen

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33144569/>

Zurück zum Thema neue Mitspieler: Van den Boomen et al. (2020) berichten über einen Neuzugang zum grossen Protein-Team, welches den Cholesterin-Pegel in Zellen regelt. Man sollte ja meinen, dass nach 250 Jahren Forschung zum Thema Cholesterin mal langsam "alles gschwätzt isch", wie der Schwabe sagen würde, und dass man alle Spieler kennt. Aber nein! Die Gruppe hat - wie andere zuvor - einen sogenannten *genetic screen* durchgeführt. Damit kann man Komponenten identifizieren, die an normalen oder pathologischen Vorgängen in Zellen beteiligt sind. Was braucht's dazu? Erstens einen *readout*, also eine Messgrösse, die über den Vorgang von Interesse Auskunft gibt, und dann eine Möglichkeit, systematisch, jedes Gen, das in der Zelle exprimiert wird, einzeln auszuschalten. Das ist so, als hätte man ein Radio aber keine Ahnung, wie es funktioniert. Beim *screen* würde man der Musik vom Lieblingssender lauschen (*readout*) und dann systematisch jede Komponente einmal herausnehmen und jeden Draht einmal durchschneiden und



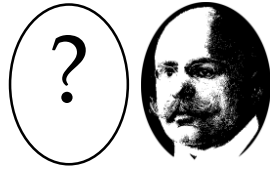
dann hören, ob immer noch Musik aus dem Radio kommt. Van den Boomen nutzten für ihren *screen* eine Zelllinie (Radio) und als *readout* (Musik) ein Lichtsignal, das darüber Auskunft gibt, ob die Zelle ihren Cholesterinsynthesemaschine anschaltet. Langer Rede kurzer Sinn: ein Gen namens *C18orf8*, von dem man nicht wusste, wozu es da ist (daher der Name), gehört zur einer grossen Maschine, die bestimmt, ob ein wichtiger Schalter, das sogenannte Rab7 Protein, EIN oder AUS ist. Und dieser Schalter hinwiederum reguliert, ob und wie Cholesterin über NPC1 aus dem endosomalen-lysosomalen System ausgeschleust werden kann. Eine künstliche Erhöhung der Menge an Schalterprotein verringerte den Transportdefekt in Fibroblasten von NPC Patienten. Immerhin!

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33308480/>

Wir bleiben beim Thema Schalter, und es wird noch komplizierter. Das Team von Roberto Zoncu (Davis et al., 2021) untersuchte, was eigentlich im Lysosom der Zellen schief geht, wenn das NPC1 Protein kaputt ist. Nochmal zur Erinnerung, das Lysosom ist zugleich Häcksler und Wertstoffhof der Zelle. Die Zoncu Truppe berichtet, dass kaputtes NPC1 dazu führt dass der Proteinabbau nicht mehr funktioniert, sowie das Recycling der Mitochondrien. Ausserdem wird ein anderer Schalter der Zellen, das sogenannte mTor1, daueraktiviert. Die Gruppe zeigt weiter, dass man allein durch Hemmung von mTor1 einige der Schäden reparieren kann. Man wird sehen, ob und inwieweit diese Zusammenhänge auch in den spezialisierten Zellen im lebenden Tier gelten.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33311479/>

Nochmal zum Thema, Träume werden wahr. In unserem Übersichtsartikel über experimentelle Modelle für NPC (Pallottini & Pfriege, 2020) hatten wir den Wunsch geäussert, dass es bald sogenannte Organoid Kulturen für NPC gibt. Et voilà, prompt wurde dieser Wunsch erfüllt. Gerade hat eine koreanische Gruppe ein solches Modell vorgestellt. Worum geht's? Normale Zellkulturen sind zwei-dimensional: die Zellen leben auf der Oberfläche einer platten Plastikschaale - ähnlich wie die Leute im Norden. Das ist zwar praktisch, hat aber mit der Realität im lebenden Organismus wenig zu tun, denn alle Organe, selbst die Haut, sind drei-dimensional und bestehen aus verschiedenen Zelltypen. Genau das versucht man mit sogenannten Organoid Kulturen nachzuahmen: verschiedene Zelltypen finden sich zusammen in einer drei-dimensionalen Matrix und bilden so ein Organ (Hirn, Leber etc.) nach. Diese Kulturen haben einige Vorteile, denn Zellen verhalten sich anders, wenn sie in einem drei-dimensionalen Raum wachsen, statt auf einer langweiligen Ebene. Lee et al. (2020) haben nun Hirn-Organoid hergestellt aus Patientenfibroblasten. Dazu müssen letztere zuerst zu sogenannten neuronalen



Stammzellen und dann zu spezialisierten Zelltypen "umprogrammiert" werden. Die Herstellung dieser Organoide ist also aufwendiger als normale Feld-Wald-Wiesen Kulturen. Die Ergebnisse zeigen, dass die NPC Organoide im Vergleich zu Organoiden aus "normalen" Fibroblasten einige charakteristische Merkmale von NPC aufweisen, darunter natürlich die Anhäufung von Cholesterin im endosomalen-lysosomalen System. Ausserdem eignen sie sich für Tests von neuen therapeutischen Ansätzen. Mal sehen, ob sich diese Modelle durchsetzen.

## Vermischtes

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33141558/>

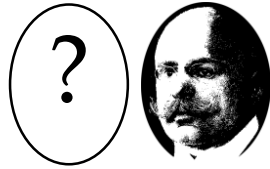
Die Gruppe um Daniel Wüstner (Moesgaard et al., 2020) zeigt im Reagenzglas, dass die Hefeversion des NPC2 Proteins, also dem kleinen flinken Helferlein vom grossen NPC1, noch andere Fettstoffe bindet und transportiert als nur Cholesterin, insbesondere sogenannte Phospholipide. Ob das auch für die Säugerversion von NPC2 gilt, müssen weitere Versuche zeigen. Eventuell wurden die Bindungseigenschaften des Proteins im Zuge der Evolution - Merke: Zuerst kam die Hefe, dann der Mensch! - verfeinert, so dass die Version der Säugetiere nur noch Cholesterin bindet - oder auch nicht.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33240109/>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32750126/>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33418888/>

Neues aus dem Tierreich, es geht um Insekten und die seltenen Stummelfüssler. *Arma chinensis*, eine entfernte Verwandte von *Arma custos*, dem heimischen "Waldwächter", ist ein Vertreter der sogenannten *predatory stink bugs* also der räuberischen Stinkwanzen. *A. chinensis* hilft zunehmend bei der "biologischen" Schädlingsbekämpfung. Chinesische Forscher zeigen, dass das Tier in seinem rüsselartigen Riechapparat das NPC2 Protein nutzt eventuell zur Auffindung von Beute und Fortpflanzungspartnern. Wurden die Tiere ausgehungert, verringerte sich der Gehalt an NPC2 bei den Männchen, nicht aber bei den Weibchen. Forscher aus Barcelona und Kassel zeigen, dass der bis zu 5 cm lange Stummelfüssler *Euperipatoides rowelli* in den feuchten Wäldern Südost-Australiens sage und schreibe 11 verschiedene NPC2 Gene besitzt - das ist beachtlich, die Fruchtfliege hat weniger. Schliesslich sei noch vermerkt, dass das NPC2 Gen in der Luzernen-Blattschneiderbiene *Megachile rotundata*, einem überaus wichtigen Bestäuber von Saat-Luzernen, exprimiert wird - leider aber nicht stabil genug, dass man es als "Biomarker" für den Bienengesundheitszustand nutzen könnte. Gut zu wissen!



<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33191681/>

Zu guter Letzt noch eine Nachricht für Haustier-Freunde und -Allergiker: chinesische Forscher zeigen, dass NPC2 als Katzen-Allergen wirkt, und zwar auf weibliche Allergikern stärker also auf männliche. Die Studie reiht sich ein in frühere Berichte, die NPC2 bereits als Milben- und Hunde-Allergen identifizierten.