

# Mind the gatekeeper

## Citation for published version (APA):

Goncalves Magro Dos Reis, I. A. (2022). *Mind the gatekeeper: key role of NPC1 protein and lysosomal cholesterol in metabolic diseases and therapeutical implications*. Gildeprint Drukkerijen. <https://doi.org/10.26481/dis.20220126im>

## Document status and date:

Published: 01/01/2022

## DOI:

[10.26481/dis.20220126im](https://doi.org/10.26481/dis.20220126im)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary

In recent years, lysosomal dysfunction has increasingly been acknowledged as a trigger and a contributing factor to a wide range of diseases, including NASH, atherosclerosis, dementia and several types of cancer. Among different mechanisms underlying lysosomal dysfunction, chronic lysosomal cholesterol buildup is of particular interest in the current age, as the number of individuals with obesity/overweight and MetS has been steadily increasing worldwide, in adults and children alike. Metabolic disturbances following chronic unhealthy lifestyles (i.e., excessive calory consumption in parallel with reduced physical activity) can trigger lysosomal cholesterol buildup, resulting in lysosomal and cellular dysfunction, inflammation and disease. In addition, deleterious mutations or SNPs compromising the activity of lysosomal cholesterol efflux protein NPC1 predispose individuals to lysosomal cholesterol accumulation, metabolic dysfunction and inflammation, as is well shown in the severity of NPC1 disease. As such, exploring mechanisms contributing to lysosomal cholesterol accumulation may shed light to develop further therapeutic strategies to prevent severe disease burden in overweight/obese patients and patients with genetic NPC1 impairments alike.

In **chapter 2**, we investigated whether interfering with dietary cholesterol absorption in the intestines via dietary plant stanol supplementation can reduce systemic symptoms of NPC1 disease. Our findings suggest that long-term consumption of plant stanols, especially at a higher dose, can reduce hepatic cholesterol accumulation, improve hepatic lipid metabolism, and reduce hepatic and systemic inflammation in NPC1 disease. Thus, this study suggests that dietary plant stanol supplementation may be an accessible tool to ameliorate metabolic dysfunction and inflammation following NPC1 impairment and lysosomal cholesterol accumulation.

In **chapter 3**, we aimed to determine whether dietary plant stanol supplementation can improve hepatic inflammation in the absence of excessive cholesterol intake, in a model for metabolic inflammation characterized by hematopoietic NPC1 dysfunction. While we could not fully exclude direct anti-inflammatory effects from plant stanols, this study suggests that the benefits of dietary plant stanol consumption are largely tied in with their effects on intestinal absorption of dietary cholesterol.

In **chapter 4**, we explored the effects of NPC1 dysfunction in bone marrow-derived immune cells on the gut microbiome. Our findings indicate that, in parallel with changes in lipid metabolism parameters, hematopoietic NPC1 dysfunction increases the diversity of the gut microbiome composition following a high fat, high cholesterol diet. This study strengthens

the link between disturbances in lipid metabolism and gut microbiome, and further highlights the impact of host genetic mutations in the composition of the gut microbiome.

In **chapter 5**, we investigated whether increasing antibody levels against oxLDL by pneumococcal immunization can reduce systemic and neurological symptoms of NPC1 disease. In this study, pneumococcal immunization effectively reduced hepatic cholesterol accumulation, inflammation and apoptosis. In addition, pneumococcal immunization reduced brain inflammation and improved motor deficits in NPC1 disease mice. These results suggest that pneumococcal immunization may be an effective therapeutic tool to ameliorate NPC1 disease symptoms. In addition, our findings emphasize the role of oxLDL in NPC1 disease pathology.

In **chapter 6**, we conducted a clinical pilot study to analyze whether administration of a pneumococcal vaccine commonly used in the clinic (Prevenar 13) induces higher levels of anti-oxLDL IgM antibodies in patients with partial lipodystrophy, familial hypercholesterolemia, and Niemann-Pick type B. Despite having analyzed a small and heterogeneous sample of patients, our results suggest that a single dose of Prevenar 13 is not suitable to increase anti-oxLDL IgM antibody levels in humans, emphasizing the need to investigate alternative strategies to target oxLDL in patients.

## **Samenvatting**

In de afgelopen jaren wordt lysosomale disfunctie steeds meer erkend als een oorzakelijk factor die bijdraagt aan een breed scala van ziekten, waaronder NASH, atherosclerose, dementie en verschillende soorten kanker. Langdurige opstapeling van lysosomaal cholesterol wordt tegenwoordig beschouwd als één van de belangrijkste factoren die aan de grondslag liggen van lysosomale disfunctie, onder meer door de gestage toename van personen (volwassenen en kinderen) die lijden aan obesitas/overgewicht en het geassocieerde MetS. Metabole stoornissen die zijn geïnduceerd door een chronische ongezonde levensstijl (overmatige calorie-inname in combinatie met verminderde fysieke activiteit) kunnen namelijk lysosomale cholesterolfoping veroorzaken, resulterend in lysosomale en cellulaire disfunctie, ontsteking en ziekte. Verder brengen schadelijke mutaties of SNP's de activiteit van het lysosomaal cholesterolefflux-eiwit NPC1 in gevaar, waardoor individuen vatbaar worden voor lysosomale cholesterolaccumulatie, metabole disfunctie en ontsteking (hetgeen zeer goed is beschreven in de context van de NPC1-ziekte. Als zodanig kan het onderzoeken van mechanismen die bijdragen aan de accumulatie van lysosomaal cholesterol inzicht bieden aan de ontwikkeling van nieuwe therapeutische strategieën om ernstige ziektelast bij patiënten met overgewicht / obesitas en patiënten met genetische NPC1-stoornissen te voorkomen.

In **hoofdstuk 2** hebben we onderzocht of het moduleren van de opname van cholesterol in de darmen via plantaardige stanolsuppletie in de voeding de systemische symptomen van de NPC1 ziekte kan verminderen. Onze bevindingen suggereren dat langdurige consumptie van plantenstanolen, vooral bij een hogere dosis, de accumulatie van cholesterol in de lever kan verminderen, het lipidenmetabolisme in de lever kan verbeteren en hepatische en systemische ontsteking bij de ziekte van NPC1 kan verminderen. Deze studie suggereert verder dat toevoeging van plantaardige stanolen in het dieet een toegankelijk hulpmiddel kan zijn om metabole disfunctie en ontsteking te verminderen in NPC1-stoornissen en stoornissen gelinkt aan lysosomale cholesterolfoping.

In **hoofdstuk 3** bepaalden we of toevoeging van plantaardige stanolen in de voeding leverontsteking kan verbeteren bij afwezigheid van overmatige cholesterolinname, in een model voor metabole inflammatie gekenmerkt door hematopoëtische NPC1-disfunctie. Hoewel we de directe ontstekingsremmende effecten van plantenstanolen niet volledig konden uitsluiten, deze studie suggereert dat de voordelen van de consumptie van plantaardige stanolen in de voeding grotendeels samenhangen met hun effecten op de opname van cholesterol in de darmen.

In **hoofdstuk 4** hebben we de effecten van NPC1-disfunctie in uit-beenmerg-afgeleide-immuuncellen op het darmmicrobioom onderzocht. Onze bevindingen geven aan dat, parallel met veranderingen in de parameters van het lipidenmetabolisme, hematopoëtische NPC1-disfunctie de diversiteit van de samenstelling van het darmmicrobioom verhoogt na een dieet met een hoog vetgehalte en een hoog cholesterolgehalte. Deze studie versterkt het verband tussen verstoringen in het lipidenmetabolisme en het darmmicrobioom, en benadrukt verder de impact van genetische mutaties van de gastheer op de samenstelling van het darmmicrobioom.

In **hoofdstuk 5** hebben we onderzocht of het verhogen van antilichaamspiegels tegen oxLDL door pneumokokkenimmunisatie de systemische en neurologische symptomen van de NPC1-ziekte kan verminderen. In deze studie verminderde pneumokokkenimmunisatie effectief de accumulatie van cholesterol, ontsteking en apoptose in de lever. Bovendien verminderde pneumokokken-immunisatie hersenontsteking en verbeterde motorische tekorten bij muizen met de ziekte van NPC1. Deze resultaten suggereren dat immunisatie met pneumokokken een effectief therapeutisch hulpmiddel kan zijn om de symptomen van de NPC1-ziekte te verlichten. Bovendien benadrukken onze bevindingen de rol van oxLDL in de pathologie van de ziekte van NPC1.

In **hoofdstuk 6** hebben we een klinische pilootstudie uitgevoerd om te analyseren of toediening van een pneumokokkenvaccin dat vaak in de kliniek wordt gebruikt (Prevenar 13), hogere niveaus van anti-oxLDL IgM-antilichamen induceert bij patiënten met partiële lipodystrofie, familiale hypercholesterolemie en Niemann-Pick-type. B. Ondanks dat we een kleine en heterogene steekproef van patiënten hebben geanalyseerd, suggereren onze resultaten dat een enkele dosis Prevenar 13 niet geschikt is om de anti-oxLDL IgM-antilichaamspiegels bij mensen te verhogen, wat de noodzaak benadrukt om alternatieve strategieën te onderzoeken om oxLDL bij patiënten te verminderen.