

# Proteínas de Niemann-Pick C1L1 como objetivos terapéuticos moleculares para el tratamiento de cálculos biliares de colesterol

Ibrahim Guillermo Castro-Torres <sup>1</sup>, Gustavo Adolfo Bravo-Duarte <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, D.F., México. <sup>2</sup> Facultad de Medicina "Lic. Miguel Alemán Valdés", Universidad Veracruzana, Veracruz, México

## RESUMEN

Los cálculos biliares de colesterol son una enfermedad de alta prevalencia, que se origina por el desequilibrio en la secreción de los principales lípidos de la bilis. La colecistectomía es el tratamiento quirúrgico invasivo para cálculos biliares sintomáticos debido a la terapia farmacológica limitada. Asociado a esto último, las proteínas de Niemann-Pick C1L1 (NPC1L1), localizadas en enterocitos y hepatocitos, juegan un papel muy importante en la absorción intestinal y secreción biliar de colesterol, que son importantes vías para el tratamiento y prevención de cálculos biliares de colesterol; en diferentes estudios básicos y clínicos, la regulación en la expresión de estas proteínas puede disminuir los niveles de colesterol intestinal, hepático, plasmático y biliar. Esta revisión tiene el objetivo de proporcionar una visión crítica sobre el papel de las proteínas NPC1L1 (hepática e intestinal) en el transporte del colesterol y su posible función como dianas terapéuticas para el tratamiento de cálculos biliares de colesterol.

**Palabras clave:** cálculos biliares, proteína NPC1L1, colecistectomía, colesterol

## ABSTRACT

**Niemann-Pick C1L1 proteins as molecular therapeutic targets for the treatment of cholesterol gallstones**

Cholesterol gallstones are a highly prevalent disease, caused by an imbalance in the secretion of the main lipids of bile. Cholecystectomy is the invasive surgical treatment for symptomatic gallstones due to the limited pharmacological treatment options. Because of this problem, Niemann-Pick C1L1 proteins (NPC1L1) localized in enterocytes and hepatocytes play an important role in intestinal absorption and biliary secretion of cholesterol. As such, these are important pathways for the treatment and prevention of cholesterol gallstones. In various clinical studies, the regulation of expression of these proteins can decrease levels of intestinal, hepatic, plasmatic and biliary cholesterol. This review provides a critical review of the role of NPC1L1 proteins (intestinal and hepatic) in the cholesterol transport and their possible function as therapeutic targets for the treatment of cholesterol gallstones.

**Key words:** gallstones, NPC1L1 protein, cholecystectomy, cholesterol

## INTRODUCCIÓN

Los cálculos biliares son una enfermedad presente a nivel mundial; más del 80% están formados por colesterol y se asocian al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, como la aterosclerosis (1). Los cálculos prevalecen en el 10-15% de la sociedad occidental; en Estados

**Autor para correspondencia:** Q.F.B. Ibrahim G. Castro-Torres. Instituto de Química, UNAM, Circuito exterior, Ciudad Universitaria, C.P. 04510. Delegación Coyoacán, México, D.F. Teléfono: (+52) 55 56224403. **E-mail:** ibrahim1002@hotmail.com

**Recibido:** el 9 de diciembre de 2012 **Aceptado para publicación:** el 6 de mayo de 2013

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb132425.pdf>

Unidos, más de 20 millones de personas padecen esta enfermedad, generando costos elevados cada año; en América Latina, México, Chile y Argentina son los países más afectados por cálculos biliares; las comunidades del este de Asia y de África Subsahariana son las de menor prevalencia por litiasis (1). La secreción biliar de colesterol, así como la absorción intestinal, son importantes procesos dentro de la fisiopatología de cálculos biliares de colesterol (2,3). El tratamiento farmacológico es limitado y, cuando se presentan cálculos sintomáticos, está indicada la colecistectomía o extirpación de vesícula biliar (4). Dentro de los fármacos empleados para la disolución de cálculos biliares, se encuentran el ácido ursodesoxicólico y ezetimiba (5); este último pertenece a la familia de azetidionas e inhibe la absorción intestinal de colesterol, ya que su blanco terapéutico es la proteína NPC1L1 que se encuentra en el intestino (6). La proteína NPC1L1 se expresa en el yeyuno proximal de diferentes especies; sólo el humano y los primates no humanos la expresan en el hígado (7). Ezetimiba inhibe la formación de cálculos biliares de colesterol en ratones, pero estos animales no expresan la proteína en el hígado, sólo en el intestino delgado (8). Otros órganos en los que se expresa la proteína NPC1L1 son: páncreas, riñón, corazón, pulmón y cerebro, pero su concentración es muy baja (9). La función de esta proteína en el hígado aún no está descrita en su totalidad; sin embargo, a nivel intestinal interviene en regular la concentración y el transporte de colesterol (8). El propósito de la presente revisión es hacer una evaluación bibliográfica sobre el papel de las proteínas NPC1L1 hepática e intestinal, porque en diferentes investigaciones están asociadas con la prevención y el tratamiento de cálculos biliares de colesterol.

### **Proteína NPC1L1 intestinal**

La proteína NPC1L1 se localiza en el intestino delgado, particularmente en las células que forman el borde en cepillo de los enterocitos; su región de mayor expresión es el yeyuno

proximal, sitio de absorción del colesterol (9). La proteína de los humanos contiene 1,332 aminoácidos y 13 dominios transmembrana, de los cuales cinco funcionan como sitios para detección de esteroides (10). En la absorción del colesterol interviene esta proteína y los transportadores ABCG5 y ABCG8 (11); el colesterol de la dieta se absorbe en el intestino y llega al hígado a través de la circulación enterohepática; por lo tanto, la participación de la proteína NPC1L1 es muy importante, porque puede determinar la cantidad de colesterol que circula al hígado y, a su vez, permitir su eliminación como esteroide neutro. La secreción de colesterol biliar es el desajuste fisiopatológico necesario para formar cálculos de colesterol (12) y esta secreción puede depender de la absorción intestinal del lípido y de su concentración en el hígado.

El intestino recibe colesterol principalmente de la alimentación, de la secreción biliar y, en menor medida, de la descamación que sufre su epitelio (13). El transporte a través de la proteína NPC1L1 es altamente selectivo, a diferencia de otros esteroides; se realiza por medio de endocitosis vesicular mediada por la proteína clatrina (14). Se ha identificado a otra molécula llamada caveolina-1 (probablemente también sea diana terapéutica de ezetimiba) como necesaria para la absorción intestinal de colesterol (15). Este lípido llega a la membrana canalicular de los enterocitos en micelas mixtas o vesículas de fosfolípidos (liposomas); estos complejos de transporte deben liberarlo para que pueda ser captado por los dominios específicos de la proteína NPC1L1; si viene esterificado, lo hidroliza una lipasa pancreática (colesterol éster hidrolasa) para que pueda ser absorbido (16, 17). La proteína NPC1L1 contiene un dominio N-terminal conservado y otro dominio glicosilado rico en cisteína, homólogo a un dominio de la proteína de Niemann-Pick C1 (NPC1), que sirve para la detección de esteroides (15).

Después que el colesterol atravesó la membrana del enterocito, se dirige al retículo endoplásmico, donde es esterificado por la

## Proteínas NPC1L1 en tratamiento de cálculos biliares

Acil-Coenzima A-Colesterol-Acil Transferasa (ACAT2); una vez en ese sitio, la molécula es transportada en los quilomicrones, que circulan en el sistema linfático del intestino, el conducto torácico y finalizan su ruta en la circulación enterohepática, donde el colesterol llega al hígado en remanentes de quilomicrones (18).

Existen evidencias preclínicas y clínicas sobre la participación de la proteína NPC1L1 intestinal en la enfermedad por cálculos biliares de colesterol, particularmente asociadas a la inhibición de su expresión, de la cual se han producido investigaciones orientadas más a la prevención que al tratamiento, tomando en cuenta el costo-beneficio que se produce.

En ratones C57L/J, la cepa más susceptible para desarrollar litiasis biliar de colesterol, se produce un descenso en la secreción de colesterol biliar cuando se disminuye la expresión de la proteína NPC1L1 intestinal (19). En la vesícula biliar se lleva a cabo un proceso importante de la fisiopatología de cálculos biliares; la hipersecreción de colesterol biliar provoca cambios en la motilidad vesicular, reacciones inflamatorias, producción acelerada de proteínas mucinas y otros factores de nucleación; por lo tanto, la reducción del colesterol biliar por la vía de la proteína NPC1L1 intestinal favorece no sólo la prevención de cálculos biliares, sino también el tratamiento, porque está demostrado que la baja absorción intestinal de colesterol genera una disminución de colesterol y fosfolípidos en bilis, sin alterar el contenido de sales biliares (19). Estos efectos son trascendentes, porque considerando que, aunque no se altere la concentración de sales biliares, al ser los solutos mayoritarios de la bilis tienen la capacidad de transportar al colesterol a través de micelas mixtas, disminuyendo el tamaño de cálculos biliares y, asociado al colesterol biliar libre, pueden evitar su cristalización.

Un estudio clínico realizado en 12 pacientes chinos con cálculos biliares y 31 pacientes controles demostró que, por causa de la litiasis biliar, los niveles de ARNm de las proteínas NPC1L1 y ACAT2 se incrementaron,

produciendo su sobreexpresión, mientras que en los transportadores ABCG5/8 no se observaron cambios; estos resultados se obtuvieron a partir del análisis en biopsias de yeyuno (20). Este estudio clínico es importante y, con base en el conocimiento que ya se tiene sobre la expresión de NPC1L1 y ACAT2, podemos argumentar que, en condiciones de cálculos biliares, hay una alta concentración de colesterol intestinal; por lo tanto, el lípido debe ser transportado y esterificado, razón por la cual en el análisis se detectó sobreexpresión en NPC1L1 y ACAT2; en cambio, la regulación negativa en la expresión de NPC1L1 intestinal puede reducir la cantidad de colesterol hepático y, con ello, la secreción de colesterol biliar hacia la vesícula. Si en este órgano se disminuye el índice de saturación del colesterol, las sales biliares tienen la capacidad de emulsificar de manera gradual el contenido de este lípido en los cálculos, reduciéndolos de tamaño con posibilidades de desintegración. Estos hallazgos pueden ser los pioneros en la búsqueda de un tratamiento farmacológico para cálculos de colesterol, teniendo como mecanismo de acción disminuir la expresión de la proteína NPC1L1 intestinal.

Actualmente, el fármaco ezetimiba tiene la función de disminuir la absorción intestinal de colesterol (4); pero sólo existe un estudio clínico asociado al tratamiento de cálculos biliares de colesterol, en donde la acción del fármaco (20 mg/kg/día) reduce la secreción de colesterol biliar en pacientes enfermos, disminuyendo el tamaño de los cálculos biliares (19). Estos descubrimientos están relacionados con la investigación realizada en hámsteres sirios dorados, los cuales fueron alimentados con una dieta rica en grasas y con ezetimiba 2 mg/kg/día; los roedores redujeron la secreción de colesterol biliar a consecuencia del efecto farmacológico, es decir, la disminución en la expresión de NPC1L1 intestinal (21). Es necesario analizar más proteínas involucradas en el transporte y el metabolismo del colesterol, con la finalidad de encontrar diferentes mecanismos de acción.

Las proteínas NPC1L1 hepática e intestinal se encuentran en medios celulares diferentes y bajo regulación genética específica; ezetimiba inhibe la proteína NPC1L1 del intestino, pero aún no existen estudios de litiasis biliar donde evalúen el efecto de este fármaco sobre la proteína NPC1L1 hepática, con la finalidad de comparar resultados.

### Proteína NPC1L1 hepática

Esta proteína se expresa en la membrana canalicular del hepatocito y su función en el transporte del colesterol aún no ha sido bien explicada. Dentro de su participación en la homeostasis, regula la expresión de la proteína de Niemann-Pick C2 (NPC2) e involucra la participación de muchos factores de transcripción (22). El colesterol relacionado con esta proteína es el que proviene de la circulación enterohepática y el que se sintetiza *de novo* en el hígado (23). En hígados de rata capaces de expresar la proteína humana, se ha determinado que existe un transporte complejo, realizado por endocitosis vesicular mediada por un complejo de clatrina AP2. La proteína NPC1L1 hepática tiene microdominios específicos en donde se puede llevar a cabo la interacción lípido-proteína; este tipo de transporte se realiza por balsas de lípidos y en él intervienen las proteínas flotilinas 1 y 2. Con el incremento en la expresión de NPC1L1 hepática, la secreción de colesterol biliar disminuye y existe una reabsorción hepática, pero está demostrado que se produce un mínimo incremento del colesterol en hígado (24), lo que indica que no necesariamente se acumula en el hepatocito; los resultados se demuestran al no encontrar diferencias significativas en cuanto a la expresión de las proteínas asociadas a los receptores hepáticos X (SREBP1c, ABCG5 y ABCG8) y a la proteína SREBP2 (HMG-CoA reductasa y receptor LDL), importantes factores de transcripción de la homeostasis y el transporte del colesterol hepático (25). Continuando con estos efectos de la proteína NPC1L1, se debe considerar que la expresión del transportador hepático ABCA1 aumenta y

también se incrementan las lipoproteínas ricas en apolipoproteína A1, que da como resultado un incremento en los niveles de colesterol plasmático (23). En este apartado encontramos un efecto que, si bien favorece el tratamiento y la prevención de cálculos biliares, tiene como reacción adversa el incremento del colesterol plasmático.

El medio celular de la proteína NPC1L1 hepática y el tipo de regulación genética que recibe determinan que su efecto sobre el colesterol del hepatocito no sea el mismo que el del colesterol intestinal; por lo tanto, su participación como diana terapéutica en el tratamiento de cálculos biliares de colesterol debe ser diferenciada cuidadosamente.

Los ratones son los modelos experimentales más empleados en el estudio de litiasis biliar, pero no expresan la proteína NPC1L1 en el hígado (8); ante ello, se han podido crear roedores transgénicos que sí expresan la proteína humana en los hepatocitos. En tales estudios, han determinado que la sobreexpresión disminuye la secreción de colesterol biliar (23). Son reducidos los estudios básicos en donde analizan la proteína en condiciones de litiasis biliar, pero afortunadamente se han realizado estudios clínicos. Uno de ellos fue efectuado en China e incluyó a 57 mujeres no obesas, con valores normales de lípidos plasmáticos y con cálculos biliares; los resultados se compararon con 12 mujeres sanas (24). En las pacientes con cálculos, hubo una disminución en los niveles de ARNm de la proteína NPC1L1 hepática; estos valores se correlacionaron con los niveles de ARNm de SREBP2, importante regulador del transporte de colesterol (26). Sólo en mujeres se ha demostrado que los cálculos biliares producen una disminución en la expresión de la proteína NPC1L1 hepática; esto puede deberse a la constante secreción de colesterol hacia la vesícula. Con estos resultados y aunque se haya evaluado la expresión proteica en el sexo femenino, podemos correlacionar los niveles de expresión proteica con la secreción de colesterol biliar, es decir, a mayor expresión de NPC1L1

## Proteínas NPC1L1 en tratamiento de cálculos biliares

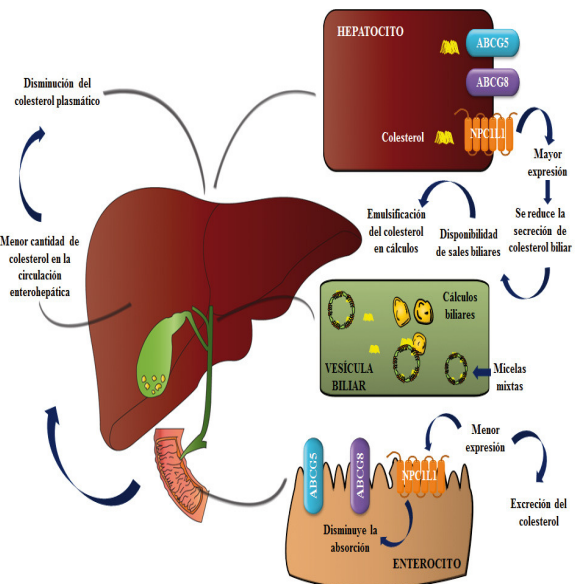
hepática, menor secreción de colesterol biliar y a menor expresión de NPC1L1 hepática, mayor secreción de colesterol biliar y aumento en el riesgo para desarrollar cálculos. A diferencia de la proteína intestinal, la hepática requiere la regulación positiva de su expresión para inhibir la secreción de colesterol biliar.

En la fisiopatología de los cálculos biliares de colesterol, destacan dos factores importantes que son: la absorción intestinal y la secreción biliar de colesterol; en estos procesos las proteínas NPC1L1 son esenciales; sin embargo, se deben controlar los destinos del colesterol en el cuerpo, porque inhibirlo a nivel intestinal o biliar no significa una eliminación óptima del lípido cuando se encuentra en altas concentraciones; la cantidad de colesterol en el hepatocito y en las lipoproteínas plasmáticas garantiza que puedan ser sitios de acumulación; además, las lipoproteínas pueden participar en el desarrollo de aterosclerosis. Un resultado adecuado sería su eliminación como esteroles neutros a través de las heces fecales. La proteína NPC1L1 hepática requiere de más investigaciones asociadas con el tratamiento de cálculos biliares de colesterol.

### Las proteínas NPC1 y NPC2

La proteína NPC1 del hepatocito participa de manera importante en la distribución del colesterol intracelular, obtenido de las lipoproteínas por medio de endocitosis; esta proteína juega un papel importante en el control de colesterol biliar, cuyo desajuste genera cálculos de colesterol (27). En ratones deficientes de la proteína NPC1, NPC1 (-/-), se reduce la secreción de colesterol biliar tras la administración de una dieta litogénica (1% de colesterol y 0.5% de ácido cólico), lo que previene la formación de cálculos biliares de colesterol, en comparación con ratones controles; sin embargo, estos efectos producen una acumulación del colesterol hepático (28). La regulación en la expresión hepática de la proteína NPC1 es importante para controlar la secreción de colesterol biliar; por lo tanto, su participación como futura diana terapéutica es

crucial. Actualmente, no hay estudios clínicos de esta proteína asociados con cálculos biliares de colesterol.



**Figura 1. Proteínas NPC1L1 hepática e intestinal.** La regulación en la expresión de ambas proteínas tiene efectos sobre el contenido de colesterol, que en desajustes fisiopatológicos puede producir cálculos biliares. La sobreexpresión de la proteína NPC1L1 hepática reduce la secreción de colesterol biliar; se ha corroborado que este efecto no altera el contenido de fosfolípidos ni de sales biliares; por lo tanto, existe una mayor facilidad de producir micelas mixtas, para emulsificar el colesterol de los cálculos biliares, aspecto que promovería su desintegración gradual. La disminución en la expresión de la proteína NPC1L1 del intestino produce una menor absorción intestinal del lípido, teniendo como efectos la disminución del colesterol hepático y plasmático, resultados que conllevan a la disminución de la secreción biliar de colesterol y a evitar la formación de cálculos.

La proteína NPC2 es una molécula de unión que regula el transporte de colesterol en los hepatocitos; está fuertemente asociada a la proteína NPC1L1, la cual se encarga de regular negativamente su expresión (29). En ratones que presentan alelos hipomorfos de NPC2, se reduce la secreción de colesterol biliar; este efecto previene la saturación y la cristalización del colesterol en la vesícula, después de la administración de una dieta litogénica (30). Estos resultados son importantes, pero deben

seguirse ahondando.

En la **Figura 1**, se ejemplifica la participación de las proteínas NPC1L1 del hígado en intestino en el contenido de colesterol, así como la consecuencia de tales efectos sobre los cálculos biliares de colesterol.

## CONCLUSIÓN

La función que las proteínas NPC1L1 hepática e intestinal tienen sobre el transporte de colesterol es un aspecto muy importante en la investigación sobre un tratamiento para la enfermedad por cálculos biliares de colesterol, ya que se ha determinado que su regulación está implicada en la disminución del colesterol biliar, principal factor fisiopatogénico de litiasis. Las proteínas NPC1L1 pueden ser las futuras dianas terapéuticas de una enfermedad con numerosos factores de riesgo.

## REFERENCIAS

1. **Stinton LM & Shaffer EA.** Epidemiology of gallbladder disease: cholelithiasis and cancer. *Gut Liver.* 2012 Apr; 6(2): 172-87.
2. **Castro-Torres IG.** Cholesterol gallstones formation: new scientific advances. *Rev GEN.* 2012 Jan-Mar; 66(1): 57-62.
3. **Portincasa P & Wang DQ.** Intestinal absorption, hepatic synthesis, and biliary secretion of cholesterol: where are we for cholesterol gallstone formation? *Hepatology.* 2012 May; 55(5): 1313-16.
4. **Portincasa P, Ciaula AD, Bonfrate L, Wang DQ.** Therapy of gallstone disease: What it was, what it is, what it will be. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2012 Apr; 3(2): 7-20.
5. **Lioudaki E, Ganotakis ES, Mikhailidis DP.** Lipid lowering drugs and gallstones: a therapeutic option? *Curr Pharm Des.* 2011 Nov; 17(33): 3622-31.
6. **de Barrio O, Neuschwander-Tetri BA, Liu M, Portincasa P, Wang DQ.** Ezetimibe: its novel effects on the prevention and the treatment of cholesterol gallstones and nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipids* 2012 Nov; PMID: 22132342.
7. **Deffieu MS, Pfeffer SR.** Niemann-Pick type C1 function requires luminal domain residues that mediate cholesterol-dependent NPC2 binding. *Proc Natl Acad Sci.* 2011 Nov; 108(47): 18932-6.
8. **Pramfalk C, Jiang ZY, Parini P.** Hepatic Niemann-Pick C1-like 1. *Curr Opin Lipidol.* 2011 Jun; 22(3): 225-30.
9. **Davis HR Jr, Altmann SW.** Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) an intestinal sterol transporter. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Jul; 1791(7): 679-83.
10. **Wang LJ, Song BL.** Niemann-Pick C1-Like 1 and cholesterol uptake. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Jul; 1821(7): 964-72.
11. **Krawczyk M, Lütjohann D, Schirin-Sokhan R, Villarreal L, Nervi F, Pimentel F, et al.** Phytosterol and cholesterol precursor levels indicate increased cholesterol excretion and biosynthesis in gallstone disease. *Hepatology.* 2012 May; 55(5): 1507-17.
12. **Van Erpecum KJ.** Pathogenesis of cholesterol and pigment gallstones: an update. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011 Apr; 35(4): 281-7.
13. **Davis HR Jr, Tershakovec AM, Tomassini JE, Musliner T.** Intestinal sterol transporters and cholesterol absorption inhibition. *Curr Opin Lipidol.* 2011 Dec; 22(6): 467-78.
14. **Wang LJ, Wang J, Li N, Ge L, Li BL, Song BL.** Molecular characterization of the NPC1L1 variants identified from cholesterol low absorbers. *J Biol Chem.* 2011 Mar; 286(9): 7397-408.
15. **Tang W, Jia L, Ma Y, Xie P, Haywood J, Dawson PA, et al.** Ezetimibe restores biliary cholesterol excretion in mice expressing Niemann-Pick C1-Like 1 only in liver. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Sep; 1811(9): 549-55.
16. **Grenier E, Garofalo C, Delvin E, Levy E.** Modulatory role of PYY in transport and metabolism of cholesterol in intestinal epithelial cells. *PLoS One.* 2012 Jul; 7(7): e40992.
17. **Castro-Torres IG, Martínez-Vázquez M.** Biliary lipids transporters: an update review. *Rev GEN;* 2013 Jan-Mar; 67(1): 49-57.
18. **Bettors JL, Yu L.** NPC1L1 and Cholesterol Transport. *FEBS Lett.* 2010 Jul; 584(13): 2740-7.
19. **Wang HH, Portincasa P, Méndez-Sánchez N, Uribe M, Wang DQ.** Effect of ezetimibe on the prevention and dissolution of cholesterol gallstones. *Gastroenterology.* 2008 Jun; 134(7): 2101-10.
20. **Jiang ZY, Jiang CY, Wang L, Wang JC, Zhang SD, Einarsson C, et al.** Increased NPC1L1 and ACAT2 expression in the jejunal mucosa from Chinese gallstone patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Jan; 379(1): 49-54.
21. **Valasek MA, Repa JJ, Quan G, Dietschy JM, Turley SD.** Inhibiting intestinal NPC1L1 activity prevents diet-induced increase in biliary cholesterol in Golden Syrian hamsters. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008 Oct; 295(4): G813-22.
22. **Yamanashi Y, Takada T, Shoda JI, Suzuki H.** A novel function of NPC1L1 as a negative regulator of NPC2 protein. *Hepatology* 2011 Mar. 55(3): 953-64.
23. **Cianciola NL, Carlin CR, Kelley TJ.** Molecular

---

**Proteínas NPC1L1 en tratamiento de cálculos biliares**

- pathways for intracellular cholesterol accumulation: Common pathogenic mechanisms in Niemann–Pick disease Type C and cystic fibrosis. *Archiv Biochem Biophys.* 2011 Nov; 515(1-2): 54-63.
24. **Temel RE, Tang W, Ma Y, Rudel LL, Willingham MC, Ioannou YA, et al.** Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe. *J Clin Invest.* 2007 Jul; 117(7): 1968-78.
  25. **Cui W, Jiang ZY, Cai Q, Zhang RY, Wu WZ, Wang JC, et al.** Decreased NPC1L1 expression in the liver from Chinese female gallstone patients. *Lipids Health Dis.* 2010 Feb; 9: 17.
  26. **Pramfalk C, Jiang ZY, Cai Q, Hu H, Zhang SD, Han TQ, et al.** HNF1 $\alpha$  and SREBP2 are important regulators of NPC1L1 in human liver. *J Lipid Res.* 2010 Jun; 51(6): 1354-62.
  27. **Lange Y, Ye J, Steck TL.** Activation mobilizes the cholesterol in the late endosomes-lysosomes of Niemann Pick type C cells. *PLoS One* Jan. 2012; 7(1): e30051.
  28. **Morales MG, Amigo L, Balboa E, Acuña M, Castro J, Molina H, et al.** Deficiency of Niemann-Pick C1 protein expression protects against diet-induced gallstone formation in mice. *Liver Int.* 2010 Jul; 30(6): 887-97.
  29. **Yamanashi Y, Takada T, Yoshikado T, Shoda J, Suzuki H.** NPC2 regulates biliary cholesterol secretion via stimulation of ABCG5/G8-mediated cholesterol transport. *Gastroenterology.* 2011 May; 140(5): 1664-74.
  30. **Balboa E, Morales G, Aylwin P, Carrasco G, Amigo L, Castro J, et al.** Niemann-Pick C2 protein expression regulates lithogenic diet-induced gallstone formation and dietary cholesterol metabolism in mice. *Lipids.* 2012 Jan; 47(1):13-25.