

Varun Venkataramani: Türöffner zu einem neuen Forschungsfeld

Große Entdeckungen erscheinen in der Rückschau oft so einleuchtend, dass man sich fragt, warum sie nicht viel früher gemacht worden sind. Das gilt auch für die Entdeckung, die Varun Venkataramani zufällig im Rahmen seiner medizinischen Doktorarbeit an der Universität Heidelberg machte. Sie betrifft besonders bösartige Gehirntumore, die Glioblastome. Was bis 2015 niemand wusste, als Venkataramani es durch ein Elektronenmikroskop als Erster sah: Die Tumorzellen, auch Gliomzellen genannt, bilden elektrochemische Verbindungen (Synapsen) mit den Nervenzellen des Gehirns aus. Über diese Synapsen greifen Glioblastome Impulse aus dem Nervensystem ab, die ihre Teilung fördern und ihre Ausbreitung beschleunigen. Aus dieser überraschenden Entdeckung, die Venkataramani im Lauf des vergangenen Jahrzehnts zusammen mit seinen Heidelberger Mentoren und Mitarbeitenden und in Kooperation mit einer Forschungsgruppe der Universität von Stanford validierte und vertiefte, ist das neue Forschungsgebiet der „Cancer Neuroscience“ entstanden, dem die Europäische Gesellschaft für Krebsforschung (EACR) in diesem Oktober erstmals eine ganze Konferenz widmen wird. Vor allem aber ergeben sich aus dieser Entdeckung neue therapeutische Ansätze für bisher unheilbare Gehirntumore.

In einer Hochburg der Hirntumorforschung

Im Gehirn eines Menschen arbeiten schätzungsweise 86 Milliarden Nervenzellen (Neuronen). Fast alle sind ausgereift und nicht mehr teilungsfähig. Aus ihnen können also keine Hirntumoren hervorgehen - wohl aber aus den Gliazellen, deren Gesamtzahl ähnlich hoch ist wie die der Neuronen. Besonders gefährlich sind die Glioblastome. Sie entstehen meist aus neuronalen Vorläuferzellen. Glioblastome wachsen sehr schnell. Innerhalb eines Monats verdoppeln sie ihr Volumen und infiltrieren das Gehirn entlang der Nervenbahnen in alle Richtungen. Selbst bei einer nach heutigem Standard optimalen Therapie beträgt die mittlere Überlebenszeit maximal 18 Monate. Der Herausforderung, diese bedrückende Prognose zu verbessern, stellen sich Grundlagenforscher und Kliniker in Heidelberg mit besonderer Intensität. Hier fand der gebürtige Hannoveraner Varun Venkataramani sich in einer Hochburg der Hirntumorforschung wieder, nachdem er sich nach Ableistung seines Zivildienstes in Ratingen entschlossen hatte, Medizin zu studieren. An Heidelberg lockte ihn auch die Aussicht, in das MD/PhD-Programm für eine

medizinisch-naturwissenschaftliche Doppelpromotion aufgenommen zu werden. Ein Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes gab seiner Ausbildung zusätzlichen Schwung. Stets blieb Venkataramani ein Tüftler, der begeistert neue Forschungsmethoden entwickelte. Folglich wählte er für seinen Dr. med. ein eher technologiebezogenes Promotionsthema, betreut von Heinz Horstmann, einem Pionier avancierter elektronenmikroskopischer Methoden.

Die Gunst der Geistesgegenwart

Heinz Horstmann hatte eine Präparation entwickelt, die es ermöglicht, im Elektronenmikroskop Gliomzellen zu betrachten, die Magnetresonanztomographen (MRT) verborgen bleiben - diejenigen Zellen des Tumors nämlich, die aus seiner Hauptmasse heraus diffus durch das Gehirn ziehen. Diese Methode fortzuentwickeln und dabei die Ultrastrukturen neuronaler Synapsen in den Blick zu nehmen und zu beschreiben, hatte Horstmann seinem Doktoranden zur Aufgabe gemacht. Da erweiterte eine Entdeckung von Frank Winkler, dem Chef der benachbarten Abteilung für Neurologie, plötzlich Venkataramanis Forschungshorizont. Winkler hatte herausgefunden, dass sich den Tumorzellen eines Glioblastoms extrem dünne und lange Fortsätze entspinnen, Nervenfasern ähnlich, die sich während des Wachstums des Tumors zu einem dichten Netzwerk verbinden, gerade so, als bildeten sie in einem bestehenden Gehirn ein neues. „Frank Winkler bat uns, im Elektronenmikroskop festzustellen, wie es im Inneren dieser Tumorzellfortsätze aussieht.“ Der offene Blick des Doktoranden aber verharrte nicht innen, sondern schweifte nach außen. Und blieb dort geistesgegenwärtig und verblüfft an einem Bildausschnitt hängen: Was er dort auf einem der Tumorzellfortsätze sah, war eindeutig eine Synapse mit einer Nervenzelle! Das klang so verrückt, dass weder Winkler noch Horstmann noch dessen Chef Thomas Kuner es anfangs glauben konnten. „Wir alle haben das jahrelang sehr skeptisch betrachtet“, sagt Venkataramani. „Aber es war für mich klar, dass man das verfolgen muss.“ Dass er das in seiner naturwissenschaftlichen Doktorarbeit unter der Ägide von Kuner und Winkler tatsächlich tun konnte, habe er als glückliche Fügung empfunden. Das Top-Journal *Nature* sah deren Ergebnisse, die Venkataramani im September 2018 zur Publikation einreichte, offenbar als so ungewöhnlich an, dass es vier externe Experten darauf ansetzte, die viele kritische Nachfragen stellten. Alle wurden gründlich und zufriedenstellend beantwortet. Fast ein Jahr nach der Einreichung veröffentlichte *Nature* Venkataramanis Paper¹.

Nervenströme fördern das Krebswachstum

„Unsere Entdeckung stimmte nicht mit der traditionell vorherrschenden Sicht überein, wonach der Tumor im Mittelpunkt steht und alles um ihn herum Beiwerk ist“, sagt Venkataramani. Den Blutgefäßen und dem Immungeschehen in dessen Umfeld habe die Onkologie zwar zunehmende Aufmerksamkeit gewidmet, dass aber auch Nervenzellen Tumoren beeinflussen könnten, habe sie nicht auf dem Schirm gehabt. Hatte er im Elektronenmikroskop eventuell nur ein Artefakt gesehen? Das konnte er elektrophysiologisch widerlegen. Die Synapsen auf den Tumorzellen funktionierten. An ihrem präsynaptischen Ende liefen Signale aus Nervenzellen ein und lösten dort die Ausschüttung des Botenstoffs Glutamat aus, der postsynaptisch an AMPA-Rezeptoren der Tumorzellen andockte, in die daraufhin Kalziumionen einströmten, was einen elektrischen Strom entstehen ließ. Nun legt diese Abfolge von präsynaptischer Nervenfasern und postsynaptischer Tumorzellfasern die Vermutung nahe, dass es die Nervenzellen sind, die den Kontakt zu den Tumorzellen suchen. Es ist aber aller bisherigen Evidenz nach umgekehrt. Die Tumorzelle ist charakterisiert durch Genexpressionsmuster, die dafür sorgen, dass ihr postsynaptische Fasern entspringen. Mit diesen verlockt sie die Nervenzelle dazu, ihr mit präsynaptischen Fasern entgegenzuwachsen. Je mehr Input Gliomzellen von Nervenzellen erhalten, je stärker sie also mit Neuronen verkabelt sind, desto aggressiver treiben sie ihr Wachstum und ihre Ausbreitung voran. Aus ihrer Einbettung in neuronale Stromkreise erklärt sich vermutlich auch die im Vergleich zu anderen Gehirntumoren hohe Therapieresistenz von Glioblastomen.

Ein methodisches Meisterstück

„Auf welche Weise der neuronale Input die Signalwege des Tumors triggert, bleibt eine offene Frage“, sagt Venkataramani. Dank seines technologischen Geschicks konnte er freilich die Frage beantworten, wie es Glioblastomen gelingt, sich so schnell im Gehirn auszubreiten. Zusammen mit seinem Team kombinierte er dazu eine Reihe avancierter Methoden zu einem Arbeitsablauf, der Bildgebung und molekulare Profilierung übereinanderlegt. Menschliche Gliomzellen, die mit einem grünen Farbstoff markiert waren, wurden in das Gehirn immundefizienter Mäuse implantiert, um ihr Wachstum *in vivo* zu beobachten. Das geschah mit einem Zwei-Photonen-Mikroskop, dessen Aufnahmen im Zeitraffer zu bewegten Bildern verschmolzen wurden. Mit Hilfe von KI-Algorithmen wurden die Bilder entstört und interpretiert. Zusätzlich wurde ein roter Farbstoff injiziert. Er wurde nur von solchen Gliomzellen aufgenommen, die miteinander vernetzt waren. Nicht-vernetzte Zellen leuchteten weiterhin grün. „Diese Zellen wanderten kreuz und quer ins Gehirn ein.“ Mittels einer Durchflusszytometrie wurden die verschiedenfarbigen Tumorzelltypen anschließend voneinander getrennt und dann einer Einzelzell-RNA-Sequenzierung

unterzogen, um ihr molekulares Innenleben zu studieren. Dabei zeigte sich, dass die invasiven grünen Gliomzellen nicht nur innerlich große Ähnlichkeit mit unreifen Nervenzellen haben, sondern auch deren Mechanismen der Ausbreitung „kapern“, wie Venkataramani das nennt. Ihre Bewegungen erinnern an die Wanderung unreifer Nervenzellen während der Gehirnentwicklung². „Wie Mimikry von unreifen Neuronen“ sei das, sagt Venkataramani, ein wenig unheimlich, wenn man bedenke, dass sie dafür auch noch direkte elektrische Unterstützung normaler Neuronen erhielten.

Ein Epilepsie-Medikament gegen Glioblastome

Hoffnungsvoll stimmt es den Heidelberger Forscher und seine Kollegen deshalb, dass es schon Medikamente gibt, die den Stromfluss zwischen Nerven- und Tumorzellen im Gehirn von Glioblastompatienten stoppen könnten. Diese Medikamente hemmen die Wirkung des Botenstoffes Glutamat. Sie sind zur Behandlung der Epilepsie zugelassen, die durch eine übermäßige Aktivierung glutaminerger Signalwege gekennzeichnet ist. Weil Glutamat auch die elektrische Kopplung von Neuronen und Gliomzellen chemisch vermittelt, ist die Wirksamkeit der zwei älteren Antiepileptika Gabapentin und Levetiracetam gegen Glioblastome bereits mit einigem Erfolg überprüft worden. Das geschah allerdings in retrospektiven Studien. Beide haben zudem unspezifische Wirkmechanismen und strahlen nur indirekt auf Glutamat-Signale aus. Anders verhält es sich mit dem in Europa seit 2012 verfügbaren Perampanel. Das ist ein selektiver AMPA-Rezeptor-Antagonist. Er blockiert also exakt die Stelle, über die Gliomzellen Nervenimpulse empfangen. Venkataramani und seine Kollegen wählten dieses Epilepsiemedikament deshalb für ein „Repurposing“ aus und entwickeln es für die bisher nicht zugelassene Indikation Glioblastom. Weil den Behörden aus der ursprünglichen Zulassung viele Daten bereits vorliegen, schreitet diese Entwicklung zügig voran und hat schon die Phase II der klinischen Prüfung erreicht. Es ist eine prospektive, multizentrische Studie. Die präklinischen Ergebnisse seien ermutigend gewesen, sagt Venkataramani. Allerdings habe Perampanel ein enges therapeutisches Fenster. Es müsse also behutsam dosiert werden, um schwere Nebenwirkungen zu vermeiden. „Dennoch erhoffe ich mir von Perampanel einen Effekt auf das Wachstum in der diffusen Infiltrationszone.“ Aber Perampanel sei für ihn der Anfang und nicht das Ende der Entwicklung effektiver Glioblastom-Therapien.

Ein therapeutischer Trick nimmt den Tumor vom Netz

Seit 2022 führt Varun Venkataramani am Universitätsklinikum Heidelberg seine eigene 15-köpfige Forschungsgruppe. Technologie- und Therapieentwicklung gehen in ihr Hand in Hand, wie deren rezente brillante Publikation zeigt³. Sie erbringt präklinisch den Machbarkeitsnachweis für ein gentherapeutisches Verfahren, das eines Tages

auch klinisch für die Diagnostik und für die Therapie von Glioblastomen eingesetzt werden könnte. Das Ziel dieses Verfahrens ist es, die mit einem Tumor verbundenen Nervenzellen zu markieren und auszuschalten. Bei diesem sogenannten retrograden Virustracing werden Tumorzellen so vorbereitet, dass sie modifizierte Tollwutviren aufnehmen können, die einen fluoreszierenden Farbstoff in sich tragen. Die Viren breiten sich in den postsynaptischen Fortsätze der Tumorzellen rückwärts durch deren präsynaptische Fasern in verbundene Nervenzellen aus. Weiter kommen sie nicht. Nur das Netzwerk der mit dem Tumor direkt verbundenen Neuronen leuchtet unter dem Mikroskop auf. Die Zellen dieses Netzwerks kann man gezielt abtöten, wenn man sich folgenden Tricks bedient: Zuerst transportiert man mit Hilfe viraler Genfähren in alle Nervenzellen in der weiteren Umgebung des Tumors die inaktiven Vorstufen eines Gens ein, dessen Aktivierung diese Zellen in den Selbstmord (Apoptose) treibt. Das Aktivierungssignal baut man in die modifizierten Tollwutviren ein. Infolgedessen bringen sich nur die mit dem Tumor verbundenen Neuronen um, was den Tumor gewissermaßen vom Stromnetz nimmt. „Das ist natürlich ein drastischer Ansatz“, sagt Venkataramani. „Aber er könnte richtungsweisend sein.“ Eine Kombination von gentherapeutischen und pharmakologischen Maßnahmen hätte zusammen mit Standard-Chemotherapien und Bestrahlung das Potential, Glioblastomen den Garaus zu machen.

Teamwork zur Entschlüsselung des Tumorkonnektoms

Seine grundlegende Aufgabe sehe er jedoch darin, das „Tumorkonnektom“ zu entschlüsseln, sagt Venkataramani. Das Tückische dieses Netzwerks aus Tumor- und Nervenzellen ist nämlich, dass es sich in einem noch weitgehend symptomlosen Glioblastom-Stadium unbemerkt auszubilden beginnt. Je genauer man diesen Prozess auf molekularer, zellbiologischer und pathophysiologischer Ebene verstehe, desto eher werde man Angriffspunkte für frühe Interventionsmöglichkeiten finden. Für einen *Clinician Scientist*, der klinische Verpflichtung und Forschungstätigkeit miteinander verbindet, bedeutet dieser Anspruch enorme Strapazen. Eine Nebentätigkeit wird Forschung für ihn aber nie sein, der für seine Pionierleistungen schon manch renommierten Preis erhalten hat. Das beflügelt ihn, lässt ihn aber nicht abheben. „All diese Arbeiten, über die wir jetzt reden, sind eindeutig ein Werk von sehr vielen Leuten“, sagt er. „Ich freue mich über Anerkennung, weiß aber, dass kein Preis die Realität der Forschung widerspiegelt, in der jede Leistung nur im Team erbracht werden kann.“ Auf seinem Weg zu einer unbefristeten Professur unterstützt die Aventis Foundation ihn mit einem Life Sciences Bridge Award.

¹ Venkataramani, V., Tanev, D.I., Strahle, C., Studier-Fischer, A., Fankhauser, L., Kessler, T., Körber, C., Kardorff, M., Ratliff, M., and Xie, R. (2019). Glutamatergic synaptic input to glioma cells drives brain tumour progression. *Nature* 573, 532-538. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-019-1564-x>

² Venkataramani, V., Yang, Y., Schubert, M.C., Reyhan, E., Tetzlaff, S.K., Wißmann, N., Botz, M., Soyka, S.J., Beretta, C.A., and Pramatarov, R.L. (2022). Glioblastoma hijacks neuronal mechanisms for brain invasion. *Cell* 185, 2899-2917. e31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2022.06.054>

³ Tetzlaff, S. K., E. Reyhan, N. Layer, C. P. Bengtson, A. Heuer, J. Schroers, A. J. Faymonville, A. P. Langeroudi, N. Drewa, E. Keifert, J. Wagner, S. J. Soyka, M. C. Schubert, N. Sivapalan, R. L. Pramatarov, V. Buchert, T. Wageringel, E. Grabis, N. Wissmann, O. T. Alhalabi, M. Botz, J. Bojcevski, J. Campos, B. Boztepe, J. G. Scheck, S. H. Conic, M. C. Puschhof, G. Villa, R. Drexler, Y. Zghaibeh, F. Hausmann, S. Hanzelmann, M. A. Karreman, F. T. Kurz, M. Schroter, M. Thier, A. K. Suwala, K. Forsberg-Nilsson, C. Acuna, J. Saez- Rodriguez, A. Abdollahi, F. Sahm, M. O. Breckwoldt, B. Suchorska, F. L. Ricklefs, D. H. Heiland, and V. Venkataramani.* Characterizing and Targeting Glioblastoma Neuron-Tumor Networks with Retrograde Tracing. *Cell* 188, 390-411 e36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2024.11.002>.