



RESEARCH ARTICLE

Open Access / 2020-09-03

Essai randomisé de phase 1 sur les immunothérapies actives spécifiques à l' α -synucléine PD01A et PD03A dans l'atrophie multisystématisée

[Wassilios G. Meissner MD, PhD](#)

[Anne Pavy-Le Traon MD, PhD](#)

[Alexandra Foubert-Samier MD, PhD](#)

[Gergana Galabova PhD](#)

[Monique Galitzky MD](#)

[Alexandra Kutzelnigg MD](#)

[... See all authors](#)

First published: 03 September 2020

<https://doi.org/10.1002/mds.28218>

Funding agencies:: The study was part of an EU-funded program (FP7, SYMPATH grant agreement 602999).

Résumé

L'atrophie multisystématisée (AMS) est une maladie neurodégénérative rare et mortelle avec des options de traitement symptomatique limitées. On pense que l'agrégation de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes est un mécanisme central du processus neurodégénératif. PD01A et PD03A sont 2 nouveaux **candidats-vaccins thérapeutiques contenant des peptides courts en tant que fragments antigéniques conçus pour induire une réponse anticorps soutenue, ciblant spécifiquement les assemblages pathogènes d' α -synucléine**. Les objectifs de la présente étude étaient d'évaluer principalement l'innocuité et la tolérabilité de PD01A et PD03A chez les patients atteints d'AMS à un stade précoce de la maladie. Trente patients (11 femmes) ont été randomisés pour recevoir 5 injections sous-cutanées de PD01A (n = 12), PD03A (n = 12) ou placebo (n = 6) dans un essai clinique de phase 1, en double aveugle, patient et investigateur, contrôlé par placebo, d'une durée de 52 semaines (identifiant ([ClinicalTrial.gov](https://clinicaltrials.gov)) : NCT02270489). L'immunogénicité et les scores cliniques ont été évalués comme objectifs secondaires.

Vingt-neuf patients ont signalé un total de 595 événements indésirables liés au traitement (légers ou modérés, n = 555; sévères, n = 40). Les événements indésirables liés au traitement comprenaient 190 réactions au site d'injection généralement observées dans les essais de vaccination avec une incidence similaire par sujet dans les groupes de traitement au fil du temps.

Des taux d'IgG (immunoglobulines de type G) soutenus ont été observés dans le groupe traité par PD01A, et 89% des patients traités ont développé une réponse anticorps spécifique à PD01 après avoir reçu toutes les injections. Les anticorps induits ont montré une réactivité claire à l'épitope cible de l' α -synucléine. Les taux et le taux de réponse aux anticorps (58%) étaient inférieurs dans le groupe traité par PD03A.

En conclusion, PD01A et PD03A étaient sûrs et bien tolérés. PD01A a déclenché une réponse anticorps rapide et durable qui ciblait spécifiquement l'épitope α -synucléine. © 2020 Les auteurs. *Troubles du mouvement* publié par Wiley Periodicals LLC. au nom de l'International Parkinson and Movement Disorder Society.

L'atrophie multisystématisée (AMS) est une maladie neurodégénérative mortelle caractérisée par une combinaison variable d'insuffisance autonome, de parkinsonisme et de caractéristiques cérébelleuses et pyramidales. La prévalence estimée de cette maladie rare se situe entre 1,9 et 4,9 pour 100000.¹ Sur le plan clinique, deux sous-types principaux sont distingués, l'un avec un parkinsonisme prédominant (AMS-P) et l'autre avec une atteinte cérébelleuse dominante (AMS-C). Les deux ont un mauvais pronostic. Les options de traitement actuelles sont limitées et n'apportent qu'un certain soulagement symptomatique. Par conséquent, les thérapies modificatrices de la maladie restent un besoin urgent non satisfait. [2, 3]

La caractéristique neuropathologique est l'accumulation d' α -synucléine dans les oligodendrocytes, formant des inclusions cytoplasmiques gliales, [4-6] qualifiant l'AMS de synucléinopathie comme la maladie de Parkinson et la maladie à corps de Lewy. L'origine de l' α -synucléine dans les inclusions cytoplasmiques gliales reste en débat, et les mécanismes exacts sous-jacents à la pathogenèse ne sont que partiellement compris. Néanmoins, on pense que l'accumulation d'agrégats d' α -synucléine et leur propagation de cellule à cellule jouent un rôle central aux niveaux moléculaire et cellulaire dans le processus neurodégénératif de la MSA [1, 3, 7-10]

Par conséquent, les thérapies ciblant l' α -synucléine sont actuellement considérées comme une approche prometteuse pour prévenir la progression de la maladie dans l'AMS. [3, 11] Une approche appropriée à l'étude est **l'immunothérapie active spécifique**. Cela implique l'immunisation avec des peptides courts (AFFITOPE) imitant la séquence d'acides aminés d'un segment de la protéine cible.[12] L'AFFITOPE correspondant est conjugué à l'hémocyanine de patelle (KLH)* de la protéine porteuse et absorbé par l'hydroxyde d'aluminium. La protéine porteuse fournit les épitopes T auxiliaires ** nécessaires pour l'induction d'une réponse anticorps de longue durée et amplifiable, tandis que le composant antigénique (c'est-à-dire l'AFFITOPE) fonctionne uniquement comme un épitope de cellule B et est responsable de la spécificité de la réponse immunitaire humorale [immunité acquise, adaptative, par production d'anticorps]. L'immunothérapie active spécifique contre l' α -synucléine a été conçue pour induire

une réponse anticorps de longue durée spécifique des espèces d' α -synucléine agrégées et il a été démontré qu'elle interfère avec les mécanismes pathogènes de l' α -synucléine.[[11-13](#)]

*[L'**hémocyanine**, couramment symbolisée par Hc, est un pigment respiratoire de la famille moléculaire des métalloprotéines contenant du cuivre ayant pour fonction de transporter l'oxygène chez certains animaux parmi lesquels des arthropodes et des mollusques. L'hémocyanine KLH est une grande métalloprotéine porteuse d'oxygène utilisée comme protéine porteuse dans la production d'anticorps.]

** [Un **épitope**, aussi appelé déterminant antigénique, est une molécule qui peut être reconnue par un paratope (partie variable d'un anticorps ou d'un récepteur membranaire des lymphocytes B : BCR), pour déterminer si elle appartient au domaine du soi ou au domaine du non-soi.]

Les candidats d'immunothérapie active spécifique PD01A et PD03A se sont révélés hautement immunogènes et induisent des anticorps spécifiques d'agrégats d' α -synucléine chez la souris.[[14](#), [15](#)]
Dans un modèle murin transgénique d'AMS, l'immunisation active avec PD01A a induit des anticorps spécifiques contre l' α -synucléine et atténué l'accumulation d'agrégats d' α -synucléine, qui était associée à une réduction de la neurodégénérescence.[[14](#)]

Nous avons évalué dans un premier essai chez l'homme, l'innocuité, la tolérabilité et l'immunogénicité des 2 vaccins AFFITOPE PD01A et PD03A ciblant l' α -synucléine chez des patients atteints d'AMS à un stade précoce.

1 MÉTHODES

1.1 Conception de l'étude

Cet essai clinique de phase 1 bicentrique, randomisé, à l'insu des patients et des examinateurs, contrôlé par placebo et en groupes parallèles a évalué l'innocuité, la tolérabilité et l'immunogénicité d'injections sous-cutanées répétées de PD01A, PD03A ou placebo au cours des semaines 0, 4, 8 et 12. et 36 chez les patients atteints d'AMS au stade précoce. Les patients ont été recrutés entre décembre 2014 et mars 2016 sur les 2 sites du Centre Français de Référence AMS des Hôpitaux Universitaires de Bordeaux et Toulouse. Cette étude a reçu l'approbation éthique (CPP Sud - Ouest et Outre - Mer III, 2014/65) et a été menée selon la Déclaration d'Helsinki (EudraCT: 2014-000567-40, identifiant [ClinicalTrial.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02270489): NCT02270489).

Les patients âgés de 30 à 75 ans atteints d'AMS à un stade précoce (défini comme <4 ans à compter de l'apparition des symptômes), satisfaisant aux critères de consensus actuels pour un diagnostic de d'AMS possible ou probable [[16](#)] ont été randomisés pour recevoir un traitement par PD01A (n = 12), PD03A (n = 12) ou un placebo (n = 6); voir la figure 1. Les participants n'avaient aucune déficience cognitive majeure (score d'évaluation cognitive de Montréal au dépistage ≥ 21) et prenaient des médicaments de façon régulière depuis au moins 30 jours lors de la visite de dépistage. Les traitements des maladies concomitantes devaient rester stables pendant toute la durée de l'étude. En outre, des efforts ont été faits pour maintenir les traitements des symptômes de l'AMS (par exemple, thérapie de remplacement de la dopamine, midodrine, fludrocortisone, laxatifs, antidépresseurs) aussi stables que possible pendant toute la période de l'étude. Les patients ont été randomisés selon la méthode des blocs permutés avec une taille de bloc fixe. La séquence de randomisation a été générée par ordinateur par le statisticien du promoteur de l'essai. Les patients ont été randomisés en conséquence par une

personne non aveugle responsable (membre du personnel désigné sur chaque site d'étude sans aucune implication dans les évaluations de l'étude).

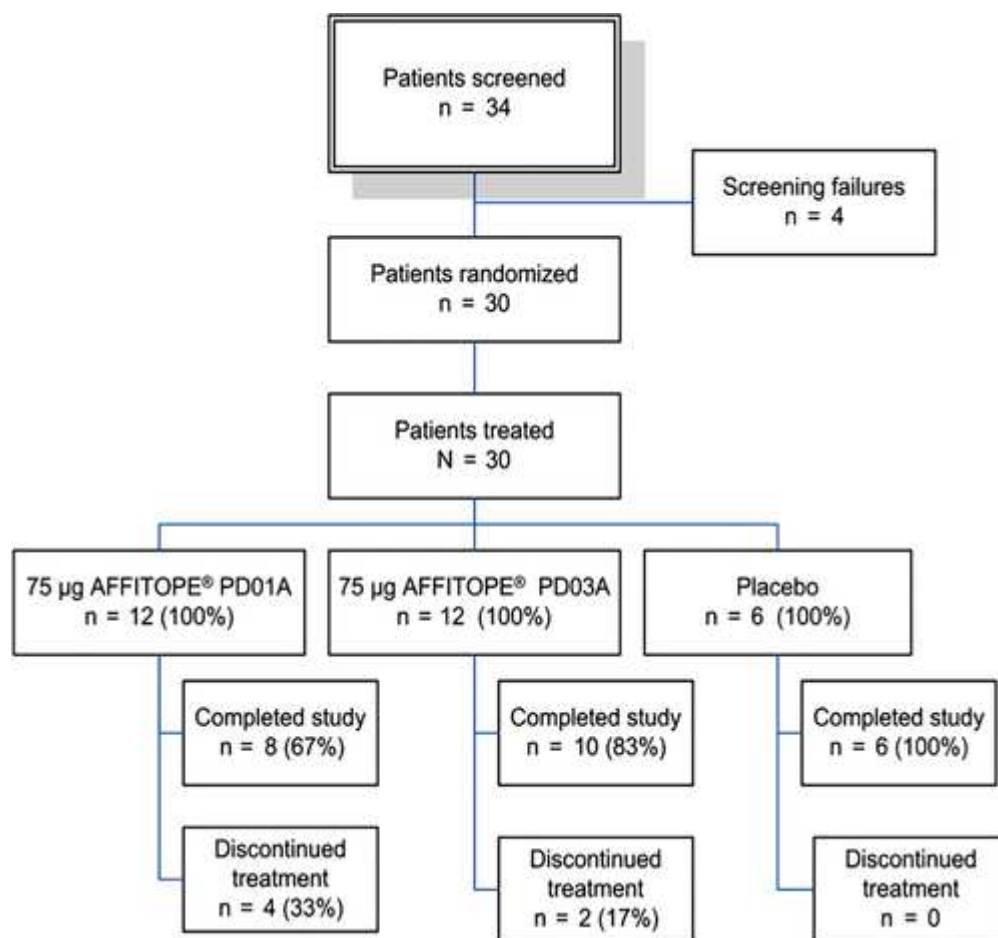


Figure 1

[Open in figure viewerPowerPoint](#)

Conception de l'étude et inclusion des patients. [La figure en couleur peut être consultée sur wileyonlinelibrary.com]

Selon la demande des autorités de régulation françaises (Agence Nationale de Sécurité du Médicament), le recrutement a été arrêté après que le 6^e et le 16^e patient eurent terminé les 3 immunisations primaires pour les évaluations intermédiaires de sécurité. Si un effet indésirable grave inattendu suspecté était signalé, le Data Safety Monitoring Board devait être consulté pour évaluer l'événement et formuler des recommandations concernant la poursuite de l'essai.

1.2 Traitements de l'étude

PD01A, PD03A et un placebo ont été administrés 5 fois par injection sous-cutanée aux semaines 0, 4, 8, 12 et 36. Les injections de PD01A et PD03A contenaient le peptide AFFITOPE (PD01 ou PD03) - KLH conjugués adjuvant à l'hydroxyde d'aluminium (Alhydrogel) dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), alors que les injections de placebo consistaient uniquement en hydroxyde

d'aluminium dans du PBS. La dose administrée de 75 µg correspond à la quantité de peptide immunisant dans le conjugué. Le médicament expérimental (IMP) a été préparé sur place par le membre du personnel responsable de la levée de l'anonymisation (voir ci-dessus).

1.3 Points de fin d'étude

Le critère d'évaluation principal était l'innocuité et la tolérabilité, telles que déterminées par les critères de retrait, les événements indésirables (EI), les événements indésirables graves (EIG), les résultats des examens physiques et neurologiques, les signes vitaux, la masse corporelle, les lectures de sécurité de l'imagerie par résonance magnétique cérébrale (IRM), et évaluations de laboratoire. Les critères d'évaluation secondaires comprenaient l'immunogénicité (c.-à-d. le changement par rapport à la valeur initiale des taux d'anticorps spécifiques pour les peptides immunisants PD01A et PD03A et l'épitope α -synucléine ciblé) et les échelles d'évaluation clinique (c.-à-d. Le changement par rapport à la valeur initiale dans l'échelle de notation MSA unifiée [UMSARS]) I – IV, échelle de dépression gériatrique [GDS] et score composite des symptômes autonomes 31 [COMPASS 31]).

La surveillance de la sécurité effectuée à chaque visite d'étude comprenait des évaluations des réactions locales, des signes vitaux, des examens physiques et neurologiques et des analyses de laboratoire sanguin. Les événements indésirables ont été codés à l'aide du dictionnaire MedDRA version 18.1. La classification des réactions au site d'injection a été réalisée conformément au guide de la Food and Drug Administration pour l'industrie des États-Unis: «Échelle de toxicité pour les patients adultes et adolescents en bonne santé inscrits à des essais cliniques de vaccins préventifs» à partir de 2007. IRM cérébrale en aveugle par investigateur (champ élevé 3,0 T avec localisateur rapide à 3 plans, séquences pondérées T1-3 - D, pondérées T2-3 - D et FLAIR - 3D) et des évaluations cliniques (UMSARS I – IV, GDS et COMPASS 31) ont été réalisées au départ, semaine 26, et la fin des études. Une ponction lombaire a été réalisée au départ et à la semaine 40. La durée totale de l'étude était de 52 semaines.

1.4 Réponse IgG spécifique d'immunothérapie active (immunoglobulines de type G)

Pour les tests d'immunogénicité, les échantillons de sérum ont été dilués en série (étapes de dilution 1: 3) et évalués par un fournisseur externe (eBioscience, Vienne) à l'aide d'un ELISA validé pour détecter spécifiquement les anticorps IgG. Les taux ont été déterminés pour la réactivité avec PD01 ou PD03, avec l'épitope natif sur la protéine α -synucléine cible, un peptide témoin non pertinent et la protéine porteuse KLH (pour confirmer la compétence immunitaire des patients). Une dilution en série d'un pool d'IgG humaines enduit de la plaque ELISA a été utilisée comme courbe d'étalonnage, et les résultats sont présentés sous forme de taux terminaux moyens géométriques. Les taux finaux ont été définis comme la dernière dilution de sérum qui a donné un signal supérieur au signal de la courbe d'étalonnage à l'avant-dernière dilution. Les répondeurs immunitaires (séroconversion) ont été définis comme des patients avec un ratio de titre peptidique PD01 ou PD03 ≥ 4 fois par rapport à la valeur initiale. [\[17\]](#)

1.5 Analyse statistique

La population de tolérance a été définie comme les patients inclus dans l'étude et recevant au moins une vaccination (identique à la population en intention de traiter [ITT]).

Des analyses statistiques ont été effectuées sur la base des 3 groupes de traitement (tableau de fréquence pour les données catégorielles et statistiques descriptives pour les données continues). Tous les tests statistiques de cette étude ont été considérés comme générateurs d'hypothèses et les valeurs P comme descriptives. La taille de l'échantillon de cette étude exploratoire était basée sur une justification clinique; aucun calcul formel de la taille de l'échantillon n'a été effectué.

Les paramètres immunitaires ont été statistiquement comparés entre les groupes de traitement lors des différentes visites en utilisant l'analyse de la covariance avec la ligne de base comme covariable basée sur des données transformées log (moyenne géométrique et IC à 95%). Pour la comparaison des scores UMSARS II (examen moteur) de base et de leur évolution dans le temps, un modèle mixte pour des mesures répétées a été utilisé pour obtenir l'effet moyen du traitement sur toute la période de l'étude avec le paramètre à effets fixes de base, le traitement et le temps comme ainsi que l'interaction traitement par temps. En fonction de la normalité des données, un test *t* apparié ou un test de rang signé de Wilcoxon a été effectué pour comparer les changements des scores UMSARS I / IV, GDS et COMPASS 31 de la ligne de base à la fin de l'étude pour chaque groupe de traitement.

2 RÉSULTATS

2.1 Démographie

Trente patients ont été recrutés (11 femmes) avec un âge médian de 61 ans et un intervalle moyen de 2,75 ans depuis l'apparition des symptômes (0,75 an depuis le diagnostic de MSA). Les caractéristiques de base avec les scores cliniques correspondants sont présentées dans le tableau 1. Vingt-cinq patients ont reçu au moins 1 médicament symptomatique concomitant, principalement un traitement de substitution dopaminergique avec 5 sujets recevant une combinaison de plusieurs médicaments.

TABLEAU 1. Données démographiques et caractéristiques cliniques de base

Parameter		PD01A (n = 12)	PD03A (n = 12)	Placebo (n = 6)	Total (n = 30)
Age (years)	Median	62	60	66	61
	(range)	(42–74)	(47–71)	(48–70)	(42–74)
Body weight (kg)	Median	69.5	76.5	73.0	73.0
	(range)	(45–97)	(56–102)	(57–94)	(45–102)
Sex, n	Female	6	4	1	11
	Male	6	8	5	19
Time since symptom onset (years)	Mean	2.93	2.50	2.88	2.75
Time since MSA diagnosis (years)	Mean	0.68	0.79	0.82	0.75
MSA-P/MSA-C	Number	7/5	6/6	1/5	14/16
UMSARS I score	Median	16.0	16.5	15.5	—
	(range)	(4–25)	(8–21)	(10–27)	
UMSARS II score	Median	14.5	18.5	14.5	—
	(range)	(7–32)	(11–27)	(12–29)	
UMSARS III: systolic blood pressure in supine position (mm Hg)	Median	128	142	135	—
	(range)	(103–223)	(104–170)	(116–203)	
UMSARS III: diastolic blood pressure in supine position (mm Hg)	Median	79	83	85	—
	(range)	(63–125)	(67–100)	(70–96)	
Maximal drop in systolic blood pressure (mm Hg)	Mean	30	28	31	—
Maximal drop in diastolic blood pressure (mm Hg)	Mean	13	13	14	—
UMSARS III: orthostatic symptoms	No/yes	8/4	7/5	4/2	—
UMSARS IV	Median	2	2	2	—
	(range)	(1–4)	(1–2)	(1–3)	
GDS	Median	4.0	5.5	7.5	—

Parameter		PD01A (n = 12)	PD03A (n = 12)	Placebo (n = 6)	Total (n = 30)
	(range)	(0–9)	(0–11)	(2–10)	
COMPASS 31 score	Median	41.0	37.1	53.1	—
	(range)	(3.2– 56.6)	(11.1– 57.1)	(1.9– 59.8)	

2.2 Sécurité

La population de tolérance comprenait les 30 sujets inscrits. Au total, 595 événements indésirables survenus en cours de traitement (TEAE) ont été signalés par 29 patients (tableau 2). Quinze événements indésirables graves (EIG) ont été rapportés dans cette étude chez onze patients (10 EIG chez 7 patients PD01A, 2 EIG chez 2 patients PD03A et 3 EIG chez 2 patients traités par placebo; tableau S1).

TABLEAU 2. Aperçu des TEAE par gravité et relation avec le médicament à l'étude

Parameter		PD01A (n = 12)	PD03A (n = 12)	Placebo (n = 6)	Total (n = 30)
All TEAE	Subjects (events)	11 (231)	12 (217)	6 (147)	29 (595)
Mild TEAE		11 (116)	12 (108)	6 (101)	29 (325)
Moderate TEAE		11 (94)	11 (92)	6 (41)	28 (227)
Severe TEAE		8 (19)	7 (16)	2 (5)	17 (40)
Fatal events		2 (2)	1 (1)	0	3 (3)
SAE		7 (10)	2 (2)	2 (3)	11 (15)
Treatment-related AE	Subjects (events)	11 (109)	10 (97)	6 (71)	27 (277)
Unrelated AE		11 (122)	12 (120)	6 (76)	29 (318)

- AE, adverse event; treatment-related AE, AE classified as possibly, probably, or certainly related to the IMP; SAE, serious adverse event; TEAE, treatment-emergent AE; data from ITT population.
- EI, événement indésirable; EI lié au traitement, EI classé comme possiblement, probablement ou certainement lié à l'IMP (médicament expérimental) ; SAE, événement indésirable grave; TEAE, EI survenu en cours de traitement; données de la population ITT.

Vingt-quatre patients ont terminé l'essai et 6 ont interrompu le traitement de l'étude. Les raisons de l'arrêt de l'étude étaient le décès (2 patients), le retrait rapidement suivi du décès (1 patient), la fatigue (2 patients) et la maladie concomitante (1 patient). La cause de décès rapportée était l'aggravation des

affections liées à l'AMS pour 2 patients et l'embolie pulmonaire pour 1 (l'embolie pulmonaire et le diagnostic d'AMS ont été confirmés chez ce patient par autopsie). Les 3 décès ont été considérés comme non liés aux traitements actifs après une enquête détaillée impliquant l'Autorité Nationale de Sécurité du Médicament et le Comité de Surveillance de la Sécurité des Données.

La grande majorité des EIT rapportés étaient d'intensité légère ou modérée, laissant 40 événements indésirables classés comme graves (tableau 2). Le nombre d'EET et d'EI liés au traitement par sujet était très similaire dans tous les groupes de traitement. Dans l'ensemble, il y a eu 190 réactions locales et 200 réactions systémiques en incluant uniquement les événements avec une incidence > 10% des sujets (tableau S2). Il y a eu 17 réactions au site d'injection après la première immunisation et 52 après la deuxième immunisation, suivies d'un plateau à la fois en nombre absolu et chez les sujets affectés. Des réactions locales sévères ont été observées sporadiquement.

Il y a eu 277 événements indésirables classés comme liés au médicament à l'étude (possiblement, probablement ou certainement liés), dont 190 étaient des réactions au site d'injection, généralement observées dans les essais de vaccination, et des événements systémiques tels que fatigue, maux de tête et nausées. Le nombre de réactions au site d'injection par sexe était similaire pour PD01A, mais plus élevé pour les femmes des groupes PD03A et placebo (PD01A, 8,6 ISR / femme vs 8,8 ISR / homme; PD03A, 9,3 ISR / femme vs 5,4 ISR / homme; placebo, 11,0 ISR / femme vs 6,8 ISR / homme); voir le tableau S3.

En lien avec la maladie sous-jacente, les signes vitaux, les examens physiques et neurologiques et certains résultats de laboratoire d'hématologie et de chimie clinique étaient anormaux et considérés comme cliniquement significatifs au départ et pendant l'étude. Les évaluations de l'IRM cérébrale et du liquide céphalo-rachidien (LCR) n'ont révélé aucun signe de réponse neuroinflammatoire indésirable induite par l'IMP.

2.3 Mesure des taux d'anticorps

Les deux traitements actifs, PD01A et PD03A, ont induit une réponse anticorps IgG soutenue contre les peptides immunisants PD01 et PD03, respectivement (Fig. 2A, B). Les taux ont culminé à la semaine 12 (4 semaines après la troisième immunisation), puis ont diminué, avec une demi-vie d'environ 12 semaines. Le titre moyen du groupe géométrique contre le peptide immunisant a augmenté de manière significative dans le groupe traité par PD01A par rapport au placebo par un facteur de 114, passant de 1:41 au départ à 1: 4673 à la semaine 12 ($p = 0,0078$ changement par rapport au départ; Fig. 2A) et dans le groupe traité par PD03A par rapport au placebo par un facteur de 14,6, de 1:94 à 1: 1379 ($p = 0,0179$ changement par rapport à la valeur initiale; Fig. 2B).

Après 3 injections d'amorçage, 9 des 11 patients du groupe PD01A (82%) et 7 des 12 patients du groupe PD03A (58%) ont atteint le seuil prédéfini de séroconversion. L'immunisation de rappel à la semaine 36 a réactivé la réponse anticorps, avec des taux maximaux atteints 4 semaines après l'administration, résultant en des taux moyens géométriques du groupe de 1: 6740 dans le groupe PD01A ($p = 0,0066$ par rapport au placebo, avec 8 patients sur 9 présentant une séroconversion - 89%) et 1: 1080 dans le groupe PD03A ($p = 0,0437$ par rapport au placebo, avec 7 des 12 patients classés

comme répondeurs sérologiques - 58%). Dans les deux groupes, la vaccination de rappel a déclenché une réponse anticorps de longue durée, qui a pu être observée jusqu'à la fin de l'étude.

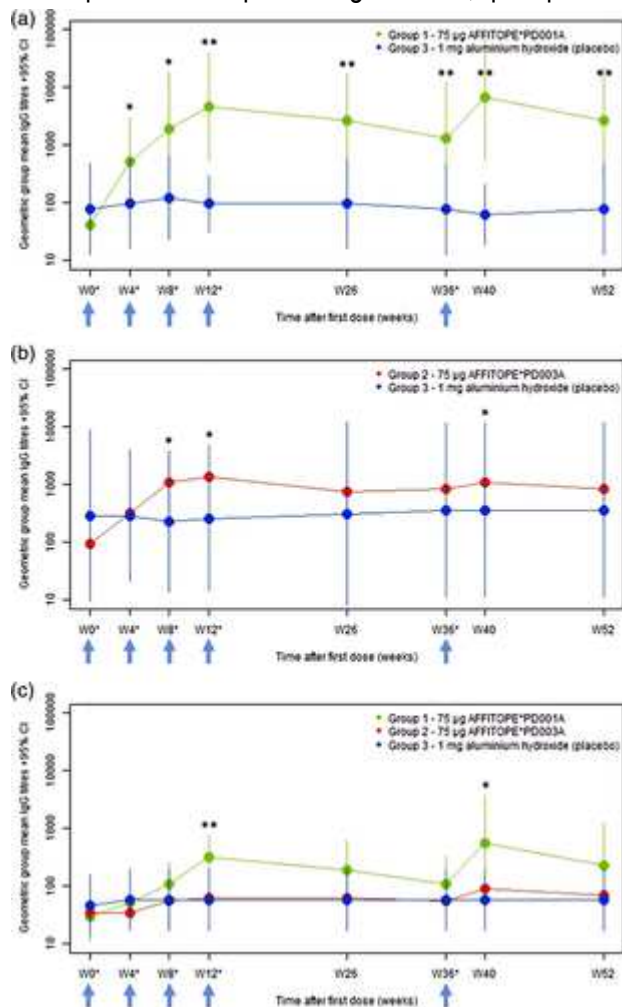


Figure 2

[Open in figure viewerPowerPoint](#)

PD01, PD03 et α -synucléine ciblent les taux spécifiques de l'épitope au fil du temps. Réponse immunitaire primaire aux peptides immunisants PD01 (A), PD03 (B) et à l'épitope cible de l' α -synucléine (C). Les barres représentent les intervalles de confiance à 95%. Les flèches indiquent les heures d'injection. * $P < 0,05$ par rapport au placebo (changement par rapport au départ); ** $P < 0,01$ par rapport au placebo (changement par rapport au départ). [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Les taux d'anticorps contre l'épitope cible de l' α -synucléine étaient inférieurs à ceux mesurés contre les deux peptides immunisants, mais le profil temporel du développement des anticorps était très similaire pour tous.

Après l'immunisation avec le peptide PD01A, les taux d'anticorps contre l'épitope cible de l' α -synucléine ont augmenté de 1:30 au départ à 1:324 à la semaine 12 ($P = 0,0097$ par rapport au placebo; Fig. 2C) et 1:562 à la semaine 40 ($P = 0,0273$ par rapport au placebo; Fig.2C).

Les niveaux d'anticorps contre l'épitope cible de l' α -synucléine n'ont pas augmenté de manière significative dans le groupe PD03A, atteignant des taux moyens de groupe géométriques de 1:62 et 1:90 aux semaines 12 et 40, respectivement (Fig.2C). Comme prévu, la réactivité des anticorps aux

peptides immunisants PD01A et PD03A et à l'épitope cible α -synucléine n'a pas changé avec le temps dans le groupe placebo (Fig. 2A – C).

2.4 Scores d'évaluation clinique

Les résultats pour UMSARS I – IV, GDS et COMPASS 31 au fil du temps sont résumés dans le tableau 3. Les scores UMSARS I et II ont augmenté de manière significative pendant la période d'essai dans les 3 groupes de traitement (PD01A: changement UMSARS I [V0 – V8], $P = 0,0261$; modifier UMSARS II [V0 – V8], $P = 0,0322$; PD03A: modifier UMSARS I [V0 – V8], $P = 0,0031$; modifier UMSARS II [V0 – V8], $P = 0,0043$; placebo: modifier UMSARS I [V0 – V8], $P = 0,0028$, changer UMSARS II [V0 – V8], $P = 0,0033$). Les différences entre les groupes n'étaient pas significatives et les changements observés dans les activités de la vie quotidienne et les symptômes moteurs se situaient dans les limites attendues en raison de la progression de la maladie dans tous les groupes.

TABLEAU 3. Scores cliniques au fil du temps par groupe de traitement

Parameter		PD01A (n = 12/10/8) ^a	PD03A (n = 12/12/11) ^a	Placebo (n = 6/6/6) ^a
UMSARS I score, median (range)	Baseline	16.0 (4–25)	16.5 (8–21)	15.5 (10–27)
	Week 26 (V5)	18.0 (9–33)	20.5 (7–29)	19.5 (12–37)
	Week 52 (V8)	19.5 (10–34)	20.0 (7–26)	23.5 (18–40)
UMSARS II score, median (range)	Baseline.	14.5 (7–32)	18.5 (11–27)	14.5 (12–29)
	Week 26 (V5)	20.5 (5–32)	21.5 (15–35)	23.0 (11–35)
	Week 52 (V8)	22.5 (5–41)	26.0 (11–41)	24.5 (20–43)
UMSARS III: orthostatic hypotension (yes/no)	Baseline	8/4	9/3	4/2
	Week 26 (V5)	7/3	7/5	5/1
	Week 52 (V8)	6/2	7/4	5/1
UMSARS IV score median (range)	Baseline	2.0 (1–4)	2.0 (1–2)	2.0 (1–3)
	Week 26 (V5)	2.5 (1–4)	2.0 (1–4)	2.0 (2–4)
	Week 52 (V8)	2.0 (1–4)	3.0 (1–3)	2.0 (2–4)
GDS score, median (range)	Baseline	4.0 (0–9)	5.5 (0–11)	7.5 (2–10)
	Week 26 (V5)	4.5 (0–9)	5.5 (0–12)	9.5 (2–13)

Parameter		PD01A (n = 12/10/8) ^a	PD03A (n = 12/12/11) ^a	Placebo (n = 6/6/6) ^a
COMPASS 31 score, median (range)	Week 52 (V8)	4.0 (1–11)	5.0 (1–12)	9.0 (2–12)
	Baseline	41.0 (3.2–56.6)	37.1 (11.1–57.1)	53.1 (1.9–59.8)
	Week 26 (V5)	35.3 (13.5–54.3)	22.7 (3.1–52.3)	47.4 (5.0–52.3)
	Week 52 (V8)	39.6 (13.0–53.1)	40.2 (1.6–52.4)	52.8 (12.2–71.8)

- ^a Number of evaluated subjects at baseline/V5/V8; data from ITT population.

Les scores UMSARS IV ont augmenté dans le groupe de traitement PD03A (changement V0 – V8, P = 0,0261), alors qu'aucun changement significatif n'a été observé pour GDS et COMPASS 31 pour tous les groupes de traitement.

3 DISCUSSION

L'objectif principal de ce premier essai de phase 1 randomisé chez l'homme était d'évaluer l'innocuité et la tolérabilité des administrations répétées de 2 immunothérapies actives spécifiques, PD01A et PD03A, chez des patients diagnostiqués AMS à un stade précoce par rapport au placebo. Le calendrier de vaccination avait été conçu pour évaluer à la fois la réponse anticorps primaire après les premières immunisations administrées dans les 12 semaines et la réponse anticorps de longue durée après la vaccination de rappel à la semaine 36.

Le profil de sécurité global n'a montré aucune différence substantielle entre les 3 groupes de traitement. Les 3 décès rapportés dans cette étude ont tous été classés comme non liés à l'IMP après examen externe, comme pour tous les EIG, bien que le nombre total d'EIG était plus élevé dans le groupe PD01A. Il y avait un nombre plus élevé de réactions au site d'injection et un nombre plus faible d'événements indésirables systémiques dans les groupes de traitement actif par rapport au placebo. Le nombre élevé d'événements indésirables rapportés était attendu en raison de la gravité de la maladie sous-jacente elle-même, des événements indésirables possibles des médicaments symptomatiques concomitants et des TEAE causés par les immunisations actives.

Les TEAE classés comme liés à PD01A et PD03A étaient attendus et généralement bien tolérés, y compris la fatigue, les maux de tête, les nausées et les réactions au site d'injection. L'incidence des réactions locales a augmenté après la première immunisation, mais est restée relativement constante après la deuxième immunisation sans preuve de gravité cumulative.

La réponse anticorps détectée déclenchée par PD01A était supérieure à celle de PD03A.

L'immunisation avec PD01A a entraîné une augmentation significative des taux contre le peptide immunisant AFFITOPE PD01 à la semaine 12 (4 semaines après la troisième immunisation), ce qui

s'est traduit par une réponse immunitaire humorale contre l'épitope cible de l' α -synucléine d'environ 1 ordre de grandeur inférieur. La réponse anticorps a augmenté rapidement après une injection de rappel à la semaine 40 (4 semaines après l'application de rappel), ce qui suggère que les immunisations d'amorçage ont produit un effet mémoire significatif et que les niveaux d'anticorps ont persisté jusqu'à la fin de l'étude.

L'observation de taux inférieurs pour l'épitope cible α -synucléine par rapport au peptide immunisant AFFITOPE peut au moins partiellement s'expliquer par la liaison des anticorps induits par le vaccin à la structure cible (c'est-à-dire en masquant le nombre d'anticorps détectés). Les taux d'IgG surveillés après l'application de PD03A étaient inférieurs à ceux observés pour PD01A. Les raisons de cette observation ne sont actuellement pas claires, bien que la capacité altérée du système immunitaire dans le groupe de traitement PD03A puisse être exclue, car la réponse immunitaire contre la protéine porteuse KLH était presque identique dans les deux groupes de traitement actif.

Aucune donnée n'est encore disponible sur le niveau d'anticorps spécifiques de l' α -synucléine dans le cerveau requis pour obtenir un effet clinique thérapeutique. Cependant, les niveaux d'anticorps dans le LCR et probablement aussi dans le cerveau semblent dépendre de la concentration d'anticorps dans la circulation.^{18, 19} De plus, différentes dynamiques de concentration d'anticorps induites par une immunothérapie active ou passive pourraient influencer davantage la concentration d' α - synucléine-anticorps spécifiques dans le cerveau.

Notre étude comporte des limites.

Premièrement, la petite taille de l'échantillon nous a permis d'obtenir des premières informations sur le profil d'innocuité du PD01A / PD03A et des mesures d'efficacité potentielles chez les patients atteints d'AMS, ce qui aidera à concevoir de futures études cliniques. Cependant, la taille de l'échantillon n'était pas suffisante pour détecter des différences statistiquement significatives et l'étude n'a pas été conçue pour effectuer de tels tests.

Deuxièmement, l'anonymisation était limitée aux patients et aux examinateurs. Cependant, l'implication d'une personne « non aveugle » pour la randomisation et la préparation de l'IMP sans aucune implication dans les évaluations de l'étude, un nombre similaire d'EET dans les 3 groupes de traitement et l'évaluation des taux d'anticorps après la fin de la dernière visite de suivi de l'étude ont assuré la réussite de l'insu des patients et des examinateurs tout au long de l'essai.

En conclusion, les traitements de fond ou neuroprotecteurs restent un besoin de traitement urgent et non satisfait pour l'AMS, et cibler l' α -synucléine avec une immunothérapie active spécifique semble une stratégie prometteuse à cet égard. Les résultats de cet essai en termes de sécurité, de tolérabilité et de réaction immunitaire des administrations répétées de 2 immunothérapies actives, PD01A et PD03A, justifient une étude plus approfondie de l'immunothérapie active spécifique chez les patients atteints d'AMS.

Acknowledgments

The study was part of an EU-funded program (FP7, SYMPATH grant agreement 602999).

Remerciements

L'étude faisait partie d'un programme financé par l'UE (7e Programme Cadre, convention de subvention SYMPATH 602999).

A Phase 1 Randomized Trial of Specific Active α -Synuclein Immunotherapies PD01A and PD03A in Multiple System Atrophy

[Wassilios G. Meissner MD, PhD](#)

[Anne Pavy-Le Traon MD, PhD](#)

[Alexandra Foubert-Samier MD, PhD](#)

[Gergana Galabova PhD](#)

[Monique Galitzky MD](#)

[Alexandra Kutzelnigg MD](#)

[... See all authors](#)

First published: 03 September 2020

<https://doi.org/10.1002/mds.28218>

Relevant conflicts of interest/financial disclosures:: W.G.M., R.M., and W.P. have received consultancy fees from Affiris. G.G., A.K., G.S., and A.S. are currently or were in the past employed by Affiris AG.

Funding agencies:: The study was part of an EU-funded program (FP7, SYMPATH grant agreement 602999).

[Sections](#)



[PDF](#)

[Tools](#)

[Share](#)

Abstract

Multiple system atrophy (MSA) is a rare and fatal neurodegenerative disease with limited symptomatic treatment options. Aggregation of α -synuclein in oligodendrocytes is believed to be a central mechanism of the neurodegenerative process. PD01A and PD03A are 2 novel therapeutic vaccine candidates containing short peptides as antigenic moieties that are designed to induce a sustained antibody response, specifically targeting pathogenic assemblies of α -synuclein. The objectives of the

current study were to evaluate primarily the safety and tolerability of PD01A and PD03A in patients with early MSA. Thirty patients (11 women) were randomized to receive 5 subcutaneous injections of either PD01A (n = 12), PD03A (n = 12), or placebo (n = 6) in this patient- and examiner-blinded, placebo-controlled, 52-week phase 1 clinical trial ([ClinicalTrial.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02270489) identifier: NCT02270489). Immunogenicity and clinical scores were assessed as secondary objectives. Twenty-nine patients reported a total of 595 treatment-emergent adverse events (mild or moderate, n = 555; severe, n = 40). Treatment-related adverse events included 190 injection-site reactions typically observed in vaccination trials with similar per-subject incidence in the treatment groups over time. Sustained IgG titers were observed in the PD01A-treated group, and 89% of treated patients developed a PD01-specific antibody response after receiving all injections. Induced antibodies displayed clear reactivity to the α -synuclein target epitope. Titers and antibody responder rate (58%) were lower in the PD03A-treated group. In conclusion, both PD01A and PD03A were safe and well tolerated. PD01A triggered a rapid and long-lasting antibody response that specifically targeted the α -synuclein epitope. © 2020 The Authors. *Movement Disorders* published by Wiley Periodicals LLC. on behalf of International Parkinson and Movement Disorder Society.

Multiple system atrophy (MSA) is a debilitating and fatal neurodegenerative disease characterized by a variable combination of autonomic failure, parkinsonism, and cerebellar and pyramidal features. The estimated prevalence of this rare disease ranges between 1.9 and 4.9 per 100,000.¹ Clinically, 2 major subtypes are distinguished, one with predominant parkinsonism (MSA-P) and one with dominating cerebellar impairment (MSA-C). Both have poor prognosis. Current treatment options are limited and provide only some symptomatic relief. Therefore, disease-modifying therapies remain an urgent unmet need.^{2, 3}

The neuropathological hallmark is the accumulation of α -synuclein in oligodendrocytes, forming glial cytoplasmic inclusions,⁴⁻⁶ qualifying MSA as a synucleinopathy together with Parkinson's disease and Lewy body dementia. The origin of α -synuclein in glial cytoplasmic inclusions remains under debate, and the exact mechanisms underlying the pathogenesis are only incompletely understood. Nevertheless, the accumulation of α -synuclein aggregates and their cell-to-cell propagation are believed to play a central role at molecular and cellular levels in the neurodegenerative process in MSA.^{1, 3, 7-10}

As a consequence, α -synuclein-targeting therapies are currently considered a promising approach to prevent disease progression in MSA.^{3, 11} One suitable approach being investigated is specific active immunotherapy. This involves immunization with short peptides (AFFITOPEs) mimicking the amino acid sequence of a segment of the target protein.¹² The respective AFFITOPE is conjugated to the carrier protein keyhole limpet hemocyanin (KLH) and is absorbed to aluminum hydroxide. The carrier protein provides the required T-helper epitopes for the induction of a long-lasting and boostable antibody response, whereas the antigenic component (ie, the AFFITOPE) operates solely as a B-cell epitope and is responsible for the specificity of the humoral immune response. Specific active immunotherapy against α -synuclein has been designed to induce a long-lasting antibody response specific for aggregated α -synuclein species and has been shown to interfere with α -synuclein pathogenic mechanisms.¹¹⁻¹³

The specific active immunotherapy candidates PD01A and PD03A have proven to be highly immunogenic and to induce α -synuclein aggregate-specific antibodies in mice.^{14, 15} In a transgenic mouse model of MSA, active immunization with PD01A induced specific antibodies against α -synuclein and mitigated the accumulation of α -synuclein aggregates, which was associated with reduced neurodegeneration.¹⁴

Here, we assessed in a first-in-human trial, the safety, tolerability, and immunogenicity of the 2 α -synuclein targeting AFFITOPE vaccines PD01A and PD03A in patients with early MSA.

1 METHODS

1.1 Study Design

This bicenter, randomized, patient- and examiner-blinded, placebo-controlled, parallel-group phase 1 clinical trial assessed safety, tolerability, and immunogenicity of repeated subcutaneous injections of either PD01A, PD03A or placebo in weeks 0, 4, 8, 12, and 36 in patients with early MSA. Patients were enrolled between December 2014 and March 2016 at the 2 sites of the French Reference Center for MSA at the University Hospitals in Bordeaux and Toulouse. This study received ethical approval (CPP Sud-Ouest et Outre-Mer III, 2014/65) and was conducted according to the Declaration of Helsinki (EudraCT: 2014-000567-40, [ClinicalTrial.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study?term=NCT02270489) identifier: NCT02270489).

Patients between 30 and 75 years with early MSA (defined as ≤ 4 years from symptom onset) fulfilling current consensus criteria for a diagnosis of possible or probable MSA¹⁶ were randomized to receive treatment with either PD01A (n = 12), PD03A (n = 12), or placebo (n = 6); see Figure 1. Participants had no major cognitive impairment (Montreal Cognitive Assessment score at screening ≥ 21) and were on stable medications for at least 30 days at the screening visit. Treatments for concomitant illnesses had to remain stable during the entire study period. In addition, efforts were made to keep treatments for MSA symptoms (eg, dopamine replacement therapy, midodrine, fludrocortisone, laxatives, antidepressants) as stable as possible during the entire study period. Patients were randomized according to the permuted blocks method with fixed block size. The randomization sequence was computer-generated by the trial sponsor's statistician. Patients were randomized accordingly by a responsible unblind person (designated staff member at each study site without any involvement in the study assessments).

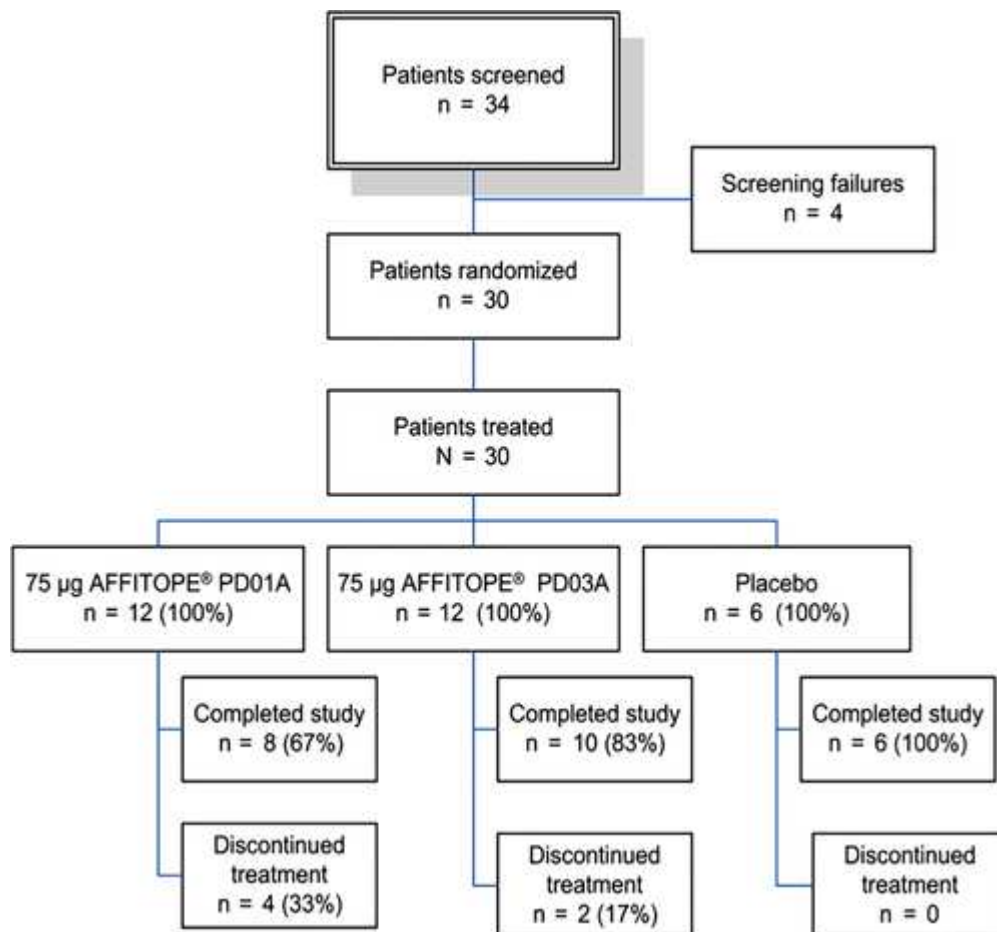


Figure 1

[Open in figure viewerPowerPoint](#)

Study design and patient enrollment. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

According to the request of the French regulatory authorities (Agence Nationale de Sécurité du Médicament), enrollment was stopped after the 6th and 16th patient had completed the 3 primary immunizations for interim safety assessments. If a suspected unexpected serious adverse reaction was reported, the Data Safety Monitoring Board was to be consulted to evaluate the event and to provide recommendations concerning continuation of the trial.

1.2 Study Treatments

PD01A, PD03A, and placebo were administered 5 times via subcutaneous injection in weeks 0, 4, 8, 12, and 36. Injections of PD01A and PD03A contained the AFFITOPE peptide (either PD01 or PD03)-KLH conjugates adjuvanted with aluminum hydroxide (Alhydrogel) in phosphate-buffered saline (PBS), whereas placebo injections consisted of aluminum hydroxide in PBS only. The administered dose of 75 µg corresponds to the amount of immunizing peptide in the conjugate. The investigational medicinal product (IMP) was prepared on site by the responsible unblind staff member (see above).

1.3 Study End Points

The primary end point was safety and tolerability as determined by withdrawal criteria, adverse events (AEs), serious adverse events (SAEs), physical and neurological examination results, vital signs, body mass, safety reads of brain magnetic resonance imaging (MRI), and laboratory assessments.

Secondary end points included immunogenicity (ie, the change from baseline of antibody titers specific for the immunizing peptides PD01A and PD03A and the targeted α -synuclein epitope) and clinical rating scales (ie, the change from baseline in Unified MSA Rating Scale [UMSARS] I–IV, Geriatric Depression Scale [GDS], and Composite Autonomic Symptom Score 31 [COMPASS 31] scores).

Safety monitoring performed at every study visit included assessments of local site reactions, vital signs, physical and neurological examinations, and blood laboratory testing. Adverse events were coded using MedDRA dictionary version 18.1. Grading of injection-site reactions was performed according to the US Food and Drug Administration Guidance for Industry: “Toxicity Scale for Healthy Adult and Adolescents Patients Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trials” from 2007. Investigator-blinded brain MRI (high-field 3.0 T with fast 3-plane localizer, T1-3-D-weighted, T2-3-D-weighted, and FLAIR-3D sequences) and clinical assessments (UMSARS I–IV, GDS, and COMPASS 31) were performed at baseline, week 26, and the end of study. Lumbar puncture was performed at baseline and week 40. The total study duration was 52 weeks.

1.4 Specific Active Immunotherapy IgG Response

For immunogenicity testing, serum samples were serially diluted (1:3 dilution steps) and evaluated by an external provider (eBioscience, Vienna) using an ELISA validated to specifically detect IgG antibodies. Titers were determined for reactivity with either PD01 or PD03, with the native epitope on the target α -synuclein protein, an irrelevant control peptide, and the carrier protein KLH (to confirm patients' immune competence). A serial dilution of a human IgG pool coated to the ELISA plate was used as a calibration curve, and results are presented as geometric mean end-titers. End-titers were defined as last serum dilution that gave a signal that was higher than the signal of the calibration curve at penultimate dilution. Immune responders (seroconversion) were defined as patients with a PD01 or PD03 peptide titer ratio $\geq$ 4-fold relative to baseline.^{[17](#)}

1.5 Statistical Analysis

The safety population was defined as patients enrolled into the study and receiving at least 1 immunization (identical to the intention-to-treat population [ITT]).

Statistical analyses were performed based on the 3 treatment groups (frequency table for categorical data and descriptive statistics for continuous data). All statistical tests in this study were regarded as hypothesis-generating and *P* values as descriptive. The sample size of this exploratory study was based on a clinical rationale; no formal sample size calculation was performed.

Immune parameters were statistically compared between treatment groups at the different visits using analysis of covariance with baseline as covariate based on log-transformed data (geometric mean and 95% CI). For the comparison of baseline UMSARS II (motor examination) scores and their change over time, a mixed model for repeated measurements was used to obtain the average treatment effect over

the whole study period with the fixed-effects parameter baseline, treatment, and time as well as treatment-by-time interaction. Depending on normality of data, a paired *t* test or a Wilcoxon signed-rank test was performed to compare the changes of UMSARS I/IV, GDS, and COMPASS 31 scores from baseline to study end for each treatment group.

2 RESULTS

2.1 Demographics

Thirty patients were enrolled (11 women) with a median age of 61 years and a mean interval of 2.75 years since symptom onset (0.75 years since MSA diagnosis). Baseline characteristics with corresponding clinical scores are presented in Table 1. Twenty-five patients received at least 1 concomitant symptomatic medication, mostly dopamine replacement therapy with 5 subjects receiving a combination of several drugs.

TABLE 1. Demographics and clinical baseline characteristics

Parameter		PD01A (n = 12)	PD03A (n = 12)	Placebo (n = 6)	Total (n = 30)
Age (years)	Median	62	60	66	61
	(range)	(42–74)	(47–71)	(48–70)	(42–74)
Body weight (kg)	Median	69.5	76.5	73.0	73.0
	(range)	(45–97)	(56–102)	(57–94)	(45–102)
Sex, n	Female	6	4	1	11
	Male	6	8	5	19
Time since symptom onset (years)	Mean	2.93	2.50	2.88	2.75
Time since MSA diagnosis (years)	Mean	0.68	0.79	0.82	0.75
MSA-P/MSA-C	Number	7/5	6/6	1/5	14/16
UMSARS I score	Median	16.0	16.5	15.5	—
	(range)	(4–25)	(8–21)	(10–27)	
UMSARS II score	Median	14.5	18.5	14.5	—
	(range)	(7–32)	(11–27)	(12–29)	
UMSARS III: systolic blood pressure in supine position (mm Hg)	Median	128	142	135	—
	(range)	(103–223)	(104–170)	(116–203)	
UMSARS III: diastolic blood pressure in supine position (mm Hg)	Median	79	83	85	—
	(range)	(63–125)	(67–100)	(70–96)	
Maximal drop in systolic blood pressure (mm Hg)	Mean	30	28	31	—
Maximal drop in diastolic blood pressure (mm Hg)	Mean	13	13	14	—

Parameter		PD01A (n = 12)	PD03A (n = 12)	Placebo (n = 6)	Total (n = 30)
Hg)					
UMSARS III: orthostatic symptoms	No/yes	8/4	7/5	4/2	—
UMSARS IV	Median	2	2	2	—
	(range)	(1–4)	(1–2)	(1–3)	
GDS	Median	4.0	5.5	7.5	—
	(range)	(0–9)	(0–11)	(2–10)	
COMPASS 31 score	Median	41.0	37.1	53.1	—
	(range)	(3.2–56.6)	(11.1–57.1)	(1.9–59.8)	

- UMSARS, Unified Multiple System Atrophy Rating Scale I–IV; GDS, Geriatric Depression Scale; COMPASS 31, Composite Autonomic Symptom Score; data from ITT population.

2.2 Safety

The safety population included all 30 enrolled subjects. A total of 595 treatment-emergent adverse events (TEAEs) were reported by 29 patients (Table 2). Fifteen serious adverse events (SAE) were reported in this study in eleven patients (10 SAEs in 7 PD01A patients, 2 SAEs in 2 PD03A patients, and 3 SAEs in 2 placebo-treated patients; Table S1).

TABLE 2. Overview of TEAE by severity and relation to study medication

Parameter		PD01A (n = 12)	PD03A (n = 12)	Placebo (n = 6)	Total (n = 30)
All TEAE	Subjects (events)	11 (231)	12 (217)	6 (147)	29 (595)
Mild TEAE		11 (116)	12 (108)	6 (101)	29 (325)
Moderate TEAE		11 (94)	11 (92)	6 (41)	28 (227)
Severe TEAE		8 (19)	7 (16)	2 (5)	17 (40)
Fatal events		2 (2)	1 (1)	0	3 (3)
SAE		7 (10)	2 (2)	2 (3)	11 (15)
Treatment-related AE	Subjects (events)	11 (109)	10 (97)	6 (71)	27 (277)
Unrelated AE		11 (122)	12 (120)	6 (76)	29 (318)

- AE, adverse event; treatment-related AE, AE classified as possibly, probably, or certainly related to the IMP; SAE, serious adverse event; TEAE, treatment-emergent AE; data from ITT population.

Twenty-four patients completed the trial, and 6 discontinued the study treatment. Reasons for study discontinuation were death (2 patients), withdrawal shortly followed by death (1 patient), fatigue (2 patients), and concomitant disease (1 patient). The reported cause of death was worsening of MSA-related conditions for 2 patients and pulmonary embolism for 1 (pulmonary embolism and MSA diagnosis were confirmed in this patient by autopsy). All 3 deaths were considered unrelated to the active treatments after a detailed investigation involving the French Competent Authority (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) and the Data Safety Monitoring Board.

The vast majority of reported TEAE were of mild or moderate intensity, leaving 40 adverse events classified as severe (Table [2](#)). The number of TEAEs and treatment-related AEs per subject was very similar in all treatment groups. Overall, there were 190 local reactions and 200 systemic reactions when including only events with an incidence >10% of subjects (Table [S2](#)). There were 17 injection-site reactions after the first immunization and 52 after the second immunization, followed by a plateau in both absolute number and affected subjects. Severe local reactions were sporadically observed.

There were 277 adverse events classified as related to study medication (possibly, probably, or certainly related), of which 190 were injection-site reactions, typically observed in vaccination trials, and systemic events such as fatigue, headache, and nausea. The number of injection-site reactions per sex was similar for PD01A, but higher for women in the PD03A and placebo treatment groups (PD01A, 8.6 ISR/woman vs 8.8 ISR/man; PD03A, 9.3 ISR/woman vs 5.4 ISR/man; placebo, 11.0 ISR/woman vs 6.8 ISR/man); see Table [S3](#).

Compatible with the underlying disease, vital signs, physical and neurological examinations, and some hematology and clinical chemistry laboratory results were abnormal and considered clinically significant at baseline and during the study. Brain MRI and cerebrospinal fluid (CSF) assessments did not reveal any sign of an adverse neuroinflammatory response induced by the IMP.

2.3 Antibody Titers

Both active treatments, PD01A and PD03A, induced a sustained IgG antibody response against the immunizing peptides PD01 and PD03, respectively (Fig. [2A,B](#)). Titers peaked in week 12 (4 weeks after the third immunization) and subsequently declined, with a half-life of approximately 12 weeks. The geometric group mean titer against the immunizing peptide increased significantly in the PD01A-treated group compared with placebo by a factor of 114, from 1:41 at baseline to 1:4673 in week 12 ($P = 0.0078$ change from baseline; Fig. [2A](#)) and in the PD03A-treated group compared with placebo by a factor of 14.6, from 1:94 to 1:1379 ($P = 0.0179$ change from baseline; Fig. [2B](#)). After 3 priming injections, 9 of 11 patients in the PD01A group (82%) and 7 of 12 patients in the PD03A group (58%) met the predefined cutoff for seroconversion. The boost immunization in week 36 reactivated the antibody response, with peak titers achieved 4 weeks after the administration, resulting in geometric group mean titers of 1:6740 in the PD01A group ($P = 0.0066$ compared with placebo, with 8 of 9 patients showing seroconversion — 89%) and 1:1080 in the PD03A group ($P = 0.0437$ compared with placebo, with 7 of 12 patients classified as serological responders — 58%). In both groups, the booster immunization triggered a long-lasting antibody response, which could be observed until the end of the study.

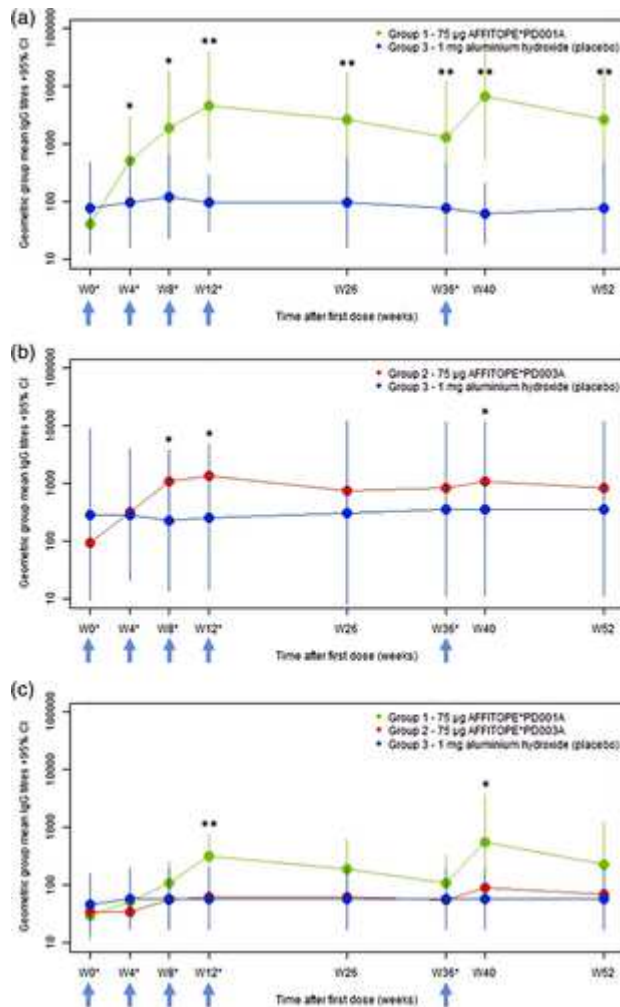


Figure 2

[Open in figure viewerPowerPoint](#)

PD01, PD03, and α -synuclein target epitope-specific titers over time. Primary immune response to the immunizing peptides PD01 (A), PD03 (B), and the α -synuclein target epitope (C). Bars represent the 95% confidence intervals. Arrows indicate times of injection. * $P < 0.05$ compared with placebo (change from baseline); ** $P < 0.01$ compared with placebo (change from baseline). [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Antibody titers against the α -synuclein target epitope were lower than those measured against both immunizing peptides, but the time profile of antibody development was very similar for all. Following immunization with PD01A peptide, antibody titers against the α -synuclein target epitope increased from 1:30 at baseline to 1:324 in week 12 ($P = 0.0097$ compared with placebo; Fig. 2C) and 1:562 in week 40 ($P = 0.0273$ compared with placebo; Fig. 2C). Antibody levels against the α -synuclein target epitope did not increase significantly in the PD03A group, reaching geometric group mean titers of 1:62 and 1:90 in weeks 12 and 40, respectively (Fig. 2C). As expected, antibody reactivity to the immunizing PD01A and PD03A peptides and to the α -synuclein target epitope did not change over time in the placebo group (Fig. 2A–C).

2.4 Clinical Rating Scores

Results for UMSARS I–IV, GDS, and COMPASS 31 over time are summarized in Table 3. UMSARS I and II scores increased significantly during the trial period in all 3 treatment groups (PD01A: change UMSARS I [V0–V8], $P = 0.0261$; change UMSARS II [V0–V8], $P = 0.0322$; PD03A: change UMSARS I [V0–V8], $P = 0.0031$; change UMSARS II [V0–V8], $P = 0.0043$; placebo: change UMSARS I [V0–V8], $P = 0.0028$, change UMSARS II [V0–V8], $P = 0.0033$). Differences between groups were not significant, and observed changes in activities of daily living and motor symptoms were within the expected ranges because of disease progression in all groups.

TABLE 3. Clinical scores over time by treatment group

Parameter		PD01A (n = 12/10/8) ^a	PD03A (n = 12/12/11) ^a	Placebo (n = 6/6/6) ^a
UMSARS I score, median (range)	Baseline	16.0 (4–25)	16.5 (8–21)	15.5 (10–27)
	Week 26 (V5)	18.0 (9–33)	20.5 (7–29)	19.5 (12–37)
	Week 52 (V8)	19.5 (10–34)	20.0 (7–26)	23.5 (18–40)
UMSARS II score, median (range)	Baseline	14.5 (7–32)	18.5 (11–27)	14.5 (12–29)
	Week 26 (V5)	20.5 (5–32)	21.5 (15–35)	23.0 (11–35)
	Week 52 (V8)	22.5 (5–41)	26.0 (11–41)	24.5 (20–43)
UMSARS III: orthostatic hypotension (yes/no)	Baseline	8/4	9/3	4/2
	Week 26 (V5)	7/3	7/5	5/1
	Week 52 (V8)	6/2	7/4	5/1
UMSARS IV score median (range)	Baseline	2.0 (1–4)	2.0 (1–2)	2.0 (1–3)
	Week 26 (V5)	2.5 (1–4)	2.0 (1–4)	2.0 (2–4)
	Week 52 (V8)	2.0 (1–4)	3.0 (1–3)	2.0 (2–4)
GDS score, median (range)	Baseline	4.0 (0–9)	5.5 (0–11)	7.5 (2–10)
	Week 26 (V5)	4.5 (0–9)	5.5 (0–12)	9.5 (2–13)
	Week 52 (V8)	4.0 (1–11)	5.0 (1–12)	9.0 (2–12)
COMPASS 31 score, median (range)	Baseline	41.0 (3.2–56.6)	37.1 (11.1–57.1)	53.1 (1.9–59.8)
	Week 26 (V5)	35.3 (13.5–54.3)	22.7 (3.1–52.3)	47.4 (5.0–52.3)

Parameter	PD01A (n = 12/10/8) ^a	PD03A (n = 12/12/11) ^a	Placebo (n = 6/6/6) ^a
Week 52 (V8)	39.6 (13.0– 53.1)	40.2 (1.6–52.4)	52.8 (12.2– 71.8)

- ^a Number of evaluated subjects at baseline/V5/V8; data from ITT population.

UMSARS IV scores increased within the PD03A treatment group (change V0–V8, $P = 0.0261$), whereas no significant changes were observed for GDS and COMPASS 31 for all treatment groups.

3 DISCUSSION

The primary objective of this first-in-human randomized phase 1 trial was to evaluate the safety and tolerability of repeated administrations of 2 specific active immunotherapies, PD01A and PD03A, in patients diagnosed with early MSA compared with placebo. The immunization schedule had been designed to both evaluate the primary antibody response after the first immunizations administered within 12 weeks and the long-lasting antibody response after the boost immunization in week 36.

The overall safety profile showed no substantial difference between the 3 treatment groups. The 3 deaths reported in this study were all classified as unrelated to the IMP after external review, similar to all SAEs, although the total number of SAEs was higher in the PD01A group. There was a higher number of injection-site reactions and a lower number of systemic adverse events in the active treatment groups compared with placebo. The high number of reported adverse events was expected because of the severity of the underlying disease itself, possible adverse events of the concomitant symptomatic medications, and the TEAEs caused by the active immunizations. The TEAEs classified as related to PD01A and PD03A were expected and generally well tolerated including fatigue, headache, nausea, and injection-site reactions. The incidence of local reactions increased after the first immunization, but remained relatively constant after the second immunization with no evidence for cumulative severity.

The detected antibody response triggered by PD01A was higher than that of PD03A. Immunization with PD01A resulted in a significant increase in titers against the immunizing AFFITOPE PD01 peptide in week 12 (4 weeks after the third immunization), which translated to a humoral immune response against the α -synuclein target epitope of approximately 1 order of magnitude lower. The antibody response increased rapidly following a booster injection in week 40 (4 weeks after the booster application), suggesting that the priming immunizations produced a significant memory effect, and antibody levels persisted until the end of the study. The observation of lower titers for the α -synuclein target epitope compared with the immunizing AFFITOPE peptide may at least partially be explained by the binding of vaccine-induced antibodies to the target structure (ie, masking the number of detected antibodies). IgG titers monitored after PD03A application were lower than those observed for PD01A. The reasons for this observation are currently unclear, although impaired capacity of the immune system in the PD03A treatment group could be ruled out, as the immune response against the carrier protein KLH was almost identical in both active treatment groups.

No data are yet available about the level of α -synuclein-specific antibodies in the brain required to achieve a therapeutic clinical effect. However, antibody levels in CSF and presumably also in the brain seem to be dependent on the antibody concentration in the circulation.[18](#), [19](#) Furthermore, different antibody concentration dynamics induced either by active or passive immunotherapy might further influence the concentration of α -synuclein-specific antibodies in the brain.

Our study has limitations. First, the small sample size allowed us to obtain first insights into the safety profile of PD01A/PD03A and potential efficacy measures in MSA patients, which will help design future clinical studies. However, the sample size was not sufficient to detect statistically significant differences, and the study was not designed to perform such tests. Second, blinding was limited to patients and examiners. However, the involvement of an unblind person for randomization and IMP preparation without any involvement in the study assessments, a similar number of TEAEs in all 3 treatment groups and the assessment of antibody titers after completion of the last study follow-up visit ensured successful blinding of patients and examiners throughout the trial.

In conclusion, disease-modifying or neuroprotective treatments remain an urgent unmet treatment need for MSA, and targeting α -synuclein with specific active immunotherapy seems a promising strategy in this regard. The results of this trial in terms of safety, tolerability, and immune reaction of repeated administrations of 2 active immunotherapies, PD01A and PD03A, warrant further investigation of specific active immunotherapy in MSA patients.

Acknowledgments

The study was part of an EU-funded program (FP7, SYMPATH grant agreement 602999).

AFF009 Study Investigators

Mathieu Anheim, CHU Strasbourg, Strasbourg, France.

Anna Castrioto, CHU Grenoble, Grenoble, France.

Pascal Derkinderen, CHU Nantes, Nantes, France.

Sophie Drapier, CHU Rennes, Rennes, France.

Alexandra Eusebio, CHU de la Timone, Marseille, France.

David Grabli, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France.

Ana Marques, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France.

Caroline Moreau, CHRU Lille, Lille, France.

Elena Moro, CHU Grenoble, Grenoble, France.

Christine Tranchant, CHU Strasbourg, Strasbourg, France.

Author Roles

- 1) Research project: A. Conception, B. Organization, C. Execution;
- 2) Statistical Analysis: A. Design, B. Execution, C. Review and Critique;
- 3) Manuscript: A. Writing of the first draft, B. Review and Critique.

W.G.M.: 1A-C, 2C, 3A.

A.P.L.T.: 1B, 1C, 3B.

A.F.S.: 1B, 1C, 3B.

G.G.: 1C, 3B.

M.G.: 1B, 1C, 3B.

A.K.: 1B, 1C, 3A.

B.L.: 1C, 3B.

P.L.: 2C, 3A.

R.M.: 2C, 3A.

P.P.: 1B, 1C, 3B.

U.S.: 1C, 3B.

S.V.: 1C, 3B.

D.V.: 1A, 3B.

W.P.: 1A, 3B.

A.S.: 1A-C, 3B.

G.S.: 1B, 1C, 2C, 3A.

O.R.: 1A-C, 2C, 3B.

Financial Disclosures of all authors for the preceding 12 months

W.G.M. has received fees for editorial activities with Springer Nature and Elsevier, has served as adviser for Lundbeck and Biohaven, has received teaching honoraria from UCB and Boehringer Ingelheim, as well as research support from the Michael J. Fox Foundation, the University Hospital Bordeaux, the French Health Ministry, the European Community, ANR, ARAMISE, PSP-France, MSA Coalition, LABEX Excellence Initiative.

A.P.L.T. has received research support from the French Health Ministry.

A.F.S. has received personal fees from LVL medical.

G.G. is an employee of Origenis GmbH.

M.G., B.L., U.S., and S.V. have nothing to declare.

A.K. was an employee of Affiris AG.

P.L. is employed by Affiris AG.

R.M. serves as consultant for Affiris AG.

P.P. has served as consultant for Roche.

D.V. has contracts with Roche (PASSPORT-study) and Biohaven (M-STAR study).

W.P. reports personal fees from AbbVie, Affiris, AstraZeneca, BIAL, Boston Scientific, Britannia, Intec, Ipsen, Lundbeck, Neuroderm, Neurocrine, Denali Pharmaceuticals, Novartis, Orion Pharma, Prexton, Teva, UCB, and Zambon (consultancy and lecture fees in relation to clinical drug development programmes for PD). He has also received royalties from Thieme, Wiley Blackwell, Oxford University Press and Cambridge University Press.

A.S. is employed by Acanis GmbH.

G.S. is employed by Affiris AG.

O.R. has served on advisory boards or as consultant for AbbVie, Adamas, Acorda, Addex, AlzProtect, Apopharma, Astrazeneca, Bial, Biogen, Britannia, Buckwang, Clevexel, INC Reasearch, Lundbeck, Lupin, Merck, MundiPharma, Neuratris, Neuroderm, Novartis, ONO Pharma, Orion Pharma, Osmotica, Oxford Biomedica, Parexel, Pfizer, Prexton Therapeutics, Quintiles, Sanofi, Servier, Sunovion, Théranexus, Takeda, Teva, UCB, Watermark Research, XenoPort, XO, Zambon. He has received research funding from Agence Nationale de la Recherche (ANR), CHU de Toulouse, France-Parkinson, INSERM-DHOS Recherche Clinique Translationnelle, MJFox Foundation, Programme Hospitalier de Recherche Clinique, European Commission (FP7, H2020), as well as a grant to participate in a symposium and contribute to the review of an article IPMDS.