

Le traceur PET α -synucléine [18F] ACI-12589 distingue l'atrophie multi-systématisée des autres maladies neurodégénératives

Résumé

Un traceur de tomographie par émission de positons (TEP) détectant la pathologie de l' α -synucléine améliorera le diagnostic et, à terme, le traitement des maladies liées à l' α -synucléine. Nous montrons ici que le ligand PET, [18F]ACI-12589, présente une bonne affinité et une spécificité **in vitro** pour l' α -synucléine pathologique **dans les tissus** de patients présentant différents troubles liés à l' α -synucléine, notamment la maladie de Parkinson (MP) et l'atrophie multisystémique (AMS) en utilisant des techniques d'autoradiographie et de liaison radio. Dans l'évaluation clinique initiale, nous incluons 23 participants atteints de troubles liés à l' α -synucléine, 11 atteints d'autres troubles neurodégénératifs et huit témoins.

In vivo, le [18F]ACI-12589 démontre une liaison claire dans la substance blanche cérébelleuse et les pédoncules cérébelleux moyens des patients AMS, régions connues pour être fortement affectées par la pathologie de l' α -synucléine, mais présente une liaison limitée dans la MP. La liaison sépare statistiquement les patients AMS des témoins sains et des sujets atteints d'autres troubles neurodégénératifs, notamment d'autres synucléinopathies. Nos résultats indiquent que la pathologie de l' α -synucléine dans l'AMS peut être identifiée à l'aide de l'imagerie TEP [18F]ACI-12589, améliorant potentiellement le diagnostic de l'AMS et permettant la détection de l'engagement d'une cible médicamenteuse in vivo de nouvelles thérapies ciblant l' α -synucléine.

Introduction

Les maladies neurodégénératives partagent la caractéristique commune de l'agrégation pathologique des protéines, la β -amyloïde (A β), la tau et l' α -synucléine (α -syn) étant les protéines agrégées les plus répandues. Bien que des progrès significatifs aient été réalisés pour le diagnostic de A β et de tau, aucun biomarqueur d'imagerie fiable n'était jusqu'à présent disponible pour α -syn¹.

Les troubles liés à l' α -syn les plus importants, la maladie de Parkinson (MP), la démence à corps de Lewy (DLB) et l'atrophie multisystématisée (AMS), présentent des manifestations cliniques distinctes correspondant aux différences dans les distributions régionales de la pathologie α -syn sous-jacente. Cliniquement, la MP se caractérise par une rigidité, une bradykinésie et des tremblements au repos. La DLB partage ces symptômes du parkinsonisme, apparaissant parallèlement à des troubles cognitifs caractérisés par des hallucinations et des anomalies cognitives exécutives et visuospatiales fluctuantes^{1,2}. L'AMS se caractérise par une défaillance autonome associée à un parkinsonisme et/ou à une ataxie et évolue fréquemment vers des symptômes du tronc cérébral tels que la dysarthrie et des difficultés de déglutition³. L'AMS peut présenter un phénotype dominé par le parkinsonisme (AMS-P) ou dominé par l'ataxie cérébelleuse (AMS-C), mais un mélange des deux phénotypes est également courant. Le diagnostic de l'AMS peut être difficile, en particulier aux premiers stades de la maladie, car il repose principalement sur des symptômes cliniques partagés avec d'autres troubles du mouvement tels que la MP, la paralysie supranucléaire progressive (PSP) et la dégénérescence corticobasale. Ainsi, les outils d'aide au diagnostic différentiel précoce de l'AMS constitueraient une avancée très significative.

Les dépôts contenant des α -syn sont la marque histopathologique des synucléinopathies, mais l'accumulation d' α -syn est néanmoins hétérogène dans différentes maladies en termes de distribution, de conformation et de capacité d'ensemencement.

- Dans la MP, la pathologie est principalement présente sous forme d'inclusions neuronales sous la forme de corps de Lewy ou de neurites, apparaissant généralement d'abord dans le tronc cérébral, se propageant via le mésencéphale/substantia nigra jusqu'au cortex temporal médial, et via le mésocortex jusqu'au néocortex⁵.

- La DLB présente une pathologie cellulaire similaire à celle de la MP, mais avec une distribution plus large dans les régions corticales⁵.

- **Dans l'AMS, la pathologie distinctive α -syn se manifeste principalement dans les oligodendrocytes sous forme d'inclusions cytoplasmiques gliales, particulièrement importantes dans la substance blanche du tronc cérébral et du cervelet.**

Des différences entre les synucléinopathies aux niveaux ultrastructural et fonctionnel sont également observées. La microscopie cryoélectronique à haute résolution (cryo-EM) révèle que les structures repliées de l' α -syn fibrillaire démontrent des différences de PD et de DLB par rapport à l'AMS. De plus, des techniques d'amplification cyclique récemment établies (par exemple RT-QuIC) démontrent également des différences dans les capacités d'ensemencement α -syn du liquide céphalo-rachidien (LCR) des patients atteints de MP par rapport à l'AMS^{1,8,9}.

Des radiotraceurs par tomographie par émission de positrons (TEP) ont été développés avec succès pour les espèces pathologiques de A β et de tau, fournissant des informations sans précédent sur la corrélation entre la pathologie moléculaire en développement dans le cerveau vivant et l'évolution des symptômes cliniques. En outre, l'imagerie TEP A β a récemment été utilisée comme mesure d'efficacité de substitution unique dans un essai d'immunothérapie contre la maladie d'Alzheimer¹⁰. De plus, les traceurs de tau ont montré leurs capacités non seulement à détecter les inclusions de tau dans le cerveau, mais également à soutenir un diagnostic différentiel basé sur la distribution du signal^{11,12,13}.

Ainsi, **notre premier objectif** était d'exploiter la bibliothèque Morphomer® exclusive d'AC Immune pour **identifier une petite molécule pénétrant dans le cerveau avec une forte affinité pour les agrégats α -syn** et une bonne sélectivité par rapport à d'autres pathologies cérébrales potentielles (ou co-pathologies). Deuxièmement, nous devons déterminer si le radiotracer α -syn candidat sélectionné, [18F]ACI-12589, pouvait fournir un signal robuste et significatif pour révéler in vivo la neuropathologie de la synucléine spécifique à la maladie.

Nous présentons ici les données TEP [18F]ACI-12589 provenant de sujets témoins sains et de patients atteints d' α -synucléinopathies et d'autres diagnostics neurologiques, montrant un modèle de rétention spécifique et reproductible chez les patients atteints d'AMS. Le radiotracer [18F]ACI-12589 peut donc constituer un outil de diagnostic important pour identifier, caractériser et suivre cliniquement la pathologie α -syn dans l'AMS. En tant que tel, cela peut être considéré comme une percée très attendue dans les biomarqueurs d'état des α -synucléinopathies.

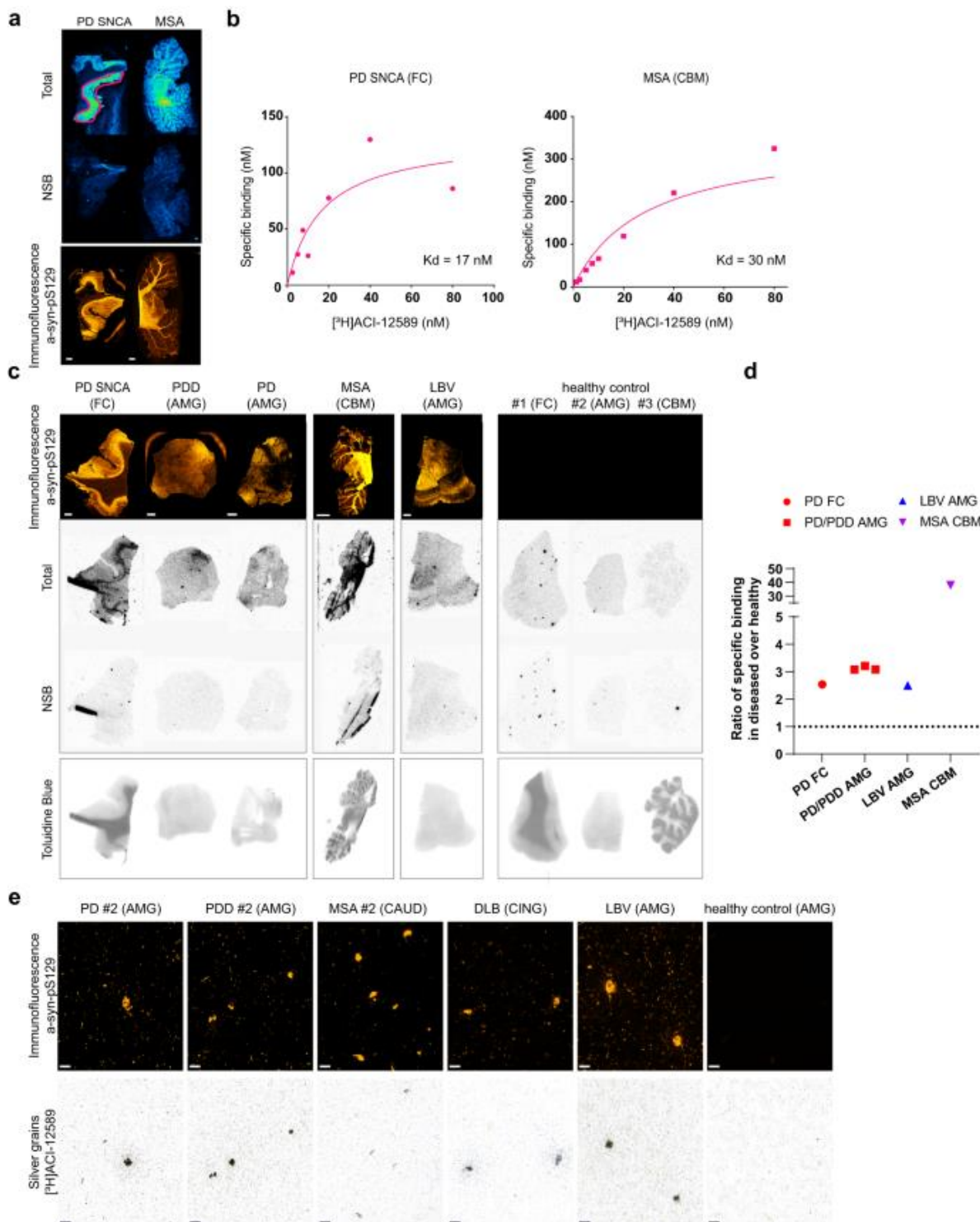
Résultats

Caractérisation préclinique

ACI-12589 est un composé de petit poids moléculaire identifié à partir du criblage de la plateforme Morphomer® d'AC Immune sur la base de ses propriétés de liaison à l' α -synucléine. La structure du traceur [18F]ACI-12589 et de son précurseur, ACI-15051, ainsi que la réaction de radiomarquage, sont présentées dans la Figure 1 .

L'engagement cible de [3H] ACI-12589 a été évalué par autoradiographie dans des coupes cérébrales d'un cas de MP monogénique porteur d'une mutation G51D dans le gène de l' α -synucléine (SNCA) et d'un cas d'AMS. [3H] ACI-12589 a donné un signal clair (Fig. 1a; panneau supérieur) chevauchant la neuropathologie α -syn visualisée par immunohistochimie α -syn (IHC) anti-pS129 (Fig. 1a; panneau inférieur). La spécificité du signal pathologique α -syn a été confirmée par l'étendue de la colocalisation avec l'immunofluorescence pS129 ainsi que par son déplacement par un excès d'ACI-12589 non marqué (Fig. 1a ; panneau du milieu).

Fig. 1 : Propriétés de liaison ex vivo de l'ACI-12589 dans les tissus cérébraux et les contrôles contenant de l' α -syn.



a - Détection autoradiographique de la liaison du [3H]ACI-12589 dans des coupes de tissus cérébraux provenant d'une maladie de Parkinson familiale (SNCA) et d'un cas d'AMS. Total : liaison totale (7,5 nM) ; Liaison non spécifique (NSB) : liaison résiduelle en présence de 5 μ M d'ACI-12589 non marqué. Coloration immunofluorescente des sections adjacentes avec α -syn-pS129. Barre d'échelle, 2 mm. Données représentatives d'au moins deux expériences indépendantes.

b - Études de liaison par saturation avec [3H]ACI-12589 sur des coupes de tissu cérébral humain provenant des cas présentés en (a).

c - Détection autoradiographique de la liaison du [18F]ACI-12589 dans des coupes de tissus cérébraux provenant de différents cas d' α -synucléinopathie et de contrôles sains. Total : liaison totale (1,7 nM) ; Liaison

non spécifique : liaison résiduelle en présence d'ACI-12589 non marqué 10 μ M. Coloration immunofluorescente des sections adjacentes avec α -syn-pS129. Barre d'échelle, 2 mm, sauf pour l'image AMS 5 mm. La coloration au bleu de toluidine différencie les distributions de matière grise et blanche. Données représentatives de deux expériences indépendantes pour PD SNCA (génétique) et PD. Données d'une expérience pour le reste des échantillons.

d - Rapports de liaison spécifique dans les pathologies PD (rouge), LBV-AD (bleu) et AMS (violet) par rapport aux valeurs moyennes de contrôle sain correspondant à la région cérébrale. La ligne pointillée indique le rapport de 1 correspondant à aucune différence par rapport aux témoins sains. La liaison spécifique a été calculée comme la liaison totale moins le NSB pour chaque échantillon. PD FC : cortex frontal (2 répétitions d'un cas SNCA) ; PD/PDD AMG : Amygdale (un cas PD et 2 cas PDD). Chaque point représente un cas. Lorsque deux coupes du même cas ont été analysées (par exemple cas SNCA), la valeur moyenne est affichée.

e - Autoradiographie haute résolution avec [3H]ACI-12589 (60 nM) dans des tissus de PD, PDD, MSA, DLB, LBV-AD et un contrôle sain. Immunofluorescence avec l'anticorps α -syn-pS129 (panneaux supérieurs). Accumulation de grains d'argent sur les corps de Lewy et les neurites sur la même coupe (panneaux du bas), montrant le co-marquage des agrégats α -syn. Barre d'échelle, 20 μ m. Données représentatives d'au moins trois expériences indépendantes. Cervelet CBM, caudé CAUD, cortex cingulaire CING, démence DLB à corps de Lewy, variante LBV-AD à corps de Lewy de la maladie d'Alzheimer, PD idiopathique, PDD maladie de Parkinson avec démence, PD SNCA PD due à une mutation SNCA G51D.

[Full size image Fig 1](#)

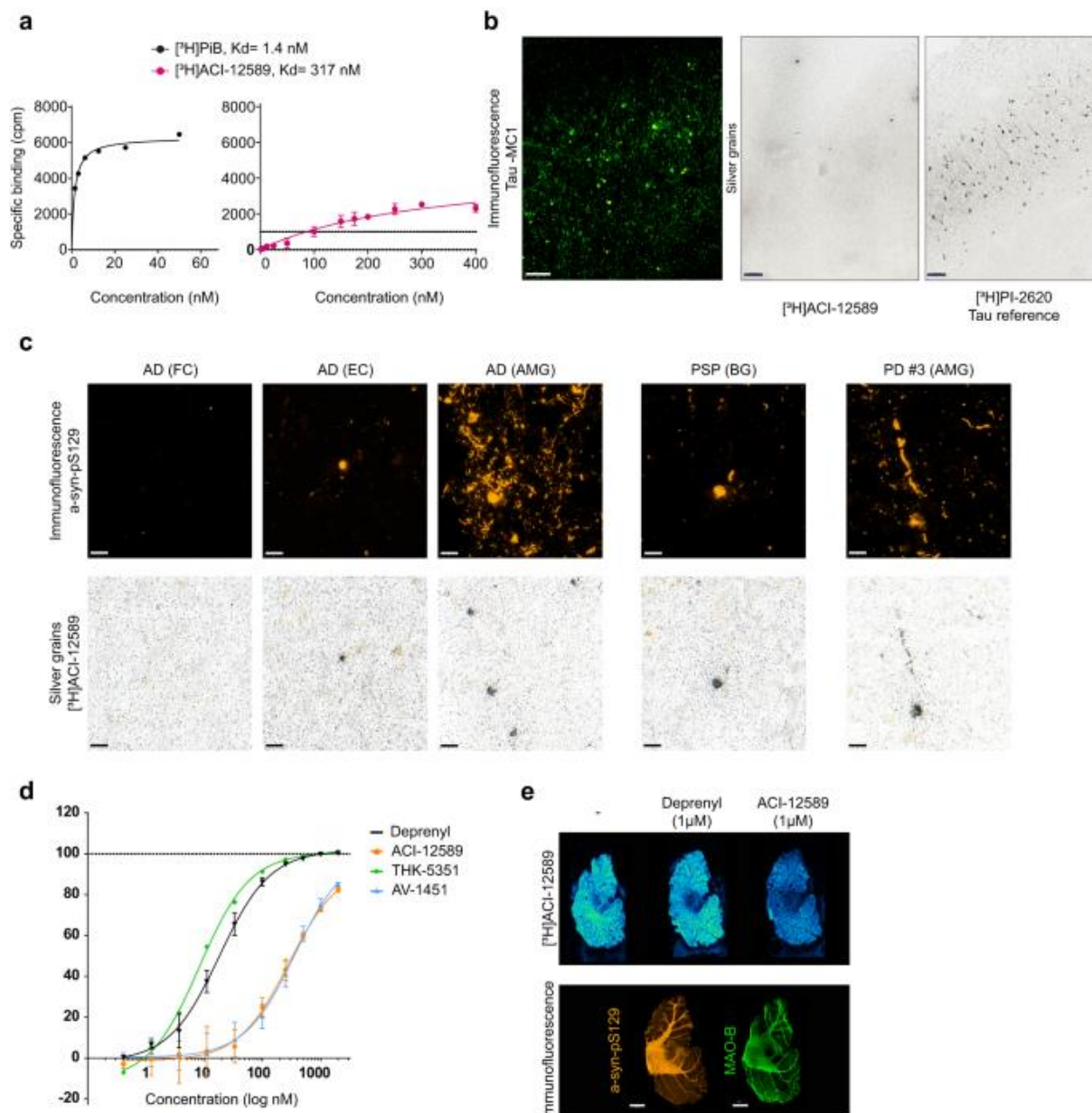
Les expériences de liaison par saturation réalisées par autoradiographie ont montré des constantes de dissociation (K_d) de 17 nM pour un cas de MP familiale et de 28 nM pour un cas d'AMS (Fig. 1b, Fig. 2a supplémentaire et Tableau supplémentaire 1). Dans les cas sporadiques de MP, la valeur moyenne de K_d était de $33,5 \pm 17,4$ nM, mesurée sur plusieurs donneurs en utilisant à la fois des techniques d'autoradiographie et de liaison radio (Tableaux supplémentaires 1 et 2). Ces données indiquent que les affinités de liaison globales étaient similaires dans différents cas de synucléinopathie.

La liaison spécifique de [3H] ACI-12589 à l' α -syn pathologique a en outre été confirmée en utilisant des tissus post-mortem provenant de différents donneurs de MSA (Fig. 1c et Figures supplémentaires 2 et 3). De plus, un engagement cible a été observé dans les tissus d'autres synucléinopathies, notamment la MP idiopathique, la MP avec démence (PDD) et la variante AD à corps de Lewy (LBV-AD) (Fig. 1c). Aucun signal spécifique n'a été observé dans les tissus des régions cérébrales correspondantes des cerveaux témoins sans pathologie α -syn. Le déplacement complet du signal [18F] ACI-12589 en présence d'un excès d'ACI-12589 non marqué indique l'absence de liaison non spécifique (NSB) du ligand à la substance grise ou blanche (Fig. 1c, panneau inférieur). **La quantification du signal d'autoradiographie en tant que rapport entre le signal spécifique dans les tissus malades et les tissus témoins (Fig. 1d) a révélé que le [18F] ACI-12589 affichait un signal 2 à 3 fois plus élevé dans les cas de PD/PDD et de LBV-AD, et un signal 30 fois plus élevé dans l'AMS.**

L'autoradiographie à haute résolution a visualisé l'engagement de la cible sur des inclusions α -syn uniques jusqu'à une résolution d'environ 1 μ m en utilisant une émulsion autoradiographique (Fig. 1e). La coloration IHC des inclusions α -syn (Fig. 1e, panneau supérieur) et l'autoradiographie haute résolution avec [3H] ACI-12589 sur les mêmes coupes provenant d'une série de cas de synucléinopathie humaine (Fig. 1e, panneau inférieur) ont montré un chevauchement important. Le signal autoradiographique plus faible observé dans le cas d'AMS est très probablement technique en raison de la plus faible rétention physique de l'émulsion photographique utilisée dans cet essai sur la matière blanche riche en lipides. Contrairement aux échantillons de synucléinopathie, le [3H] ACI-12589 n'a montré qu'une faible liaison à la β -amyloïde en utilisant un homogénat de cerveau provenant d'un cerveau post mortem AD (Fig. 2a, panneau de

droite; Fig. 4 supplémentaire), avec un K_d élevé de environ. 300 nM et une faible occupation de la cible par rapport au ligand β -amyloïde témoin positif $[^3H]PiB$ ($K_d = 1,4$ nM ; Fig. 2a, panneau de gauche). Ces données mesurées lors de l'expérience de liaison directe à saturation avec un homogénat spécifiquement sélectionné pour contenir à la fois des agrégats β -amyloïde et tau (Fig. 4 supplémentaire), suggèrent que l'ACI-12589 n'a aucune liaison pertinente ni à la β -amyloïde ni à aucune des différentes liaisons de tau. La sélectivité par rapport à la tau pathologique a ensuite été évaluée par autoradiographie à haute résolution combinée à l'IHC pour la tau mal repliée (Fig. 2b). Alors que le traceur tau $[^3H]PI-2620$ a montré un signal autoradiographique clair, aucun signal n'a été observé avec $[^3H]ACI-12589$. Aucun signal n'a été détecté non plus avec le $[^3H]ACI-12589$ concernant les inclusions pathologiques de tau 4R dans le tissu PSP (Fig. 5 supplémentaire). Le tissu de dégénérescence frontotemporale (FTD) de type C présentant une pathologie TDP-43 était également négatif pour la liaison du $[^3H]ACI-12589$ (Fig. 6 supplémentaire). Prises ensemble, ces données indiquent un excellent profil de sélectivité in vitro de l'ACI-12589 sur l' α -syn par rapport au β -amyloïde pathologique, au tau et au TDP-43.

Fig. 2 : Sélectivité de l'ACI-12589 sur les co-pathologies courantes et la liaison hors cible



a - évaluation de la sélectivité du $[^3H]ACI-12589$ sur les agrégats β -amyloïde et tau pathologique. Études de liaison par saturation avec le $[^3H]ACI-12589$ et le ligand β -amyloïde $[^3H]PiB$, dans des homogénats dérivés du cerveau de la MA. La moyenne $\pm$ SD de trois expériences indépendantes est présentée pour $[^3H]ACI-12589$.

b - Coloration par immunofluorescence avec l'anticorps MC1, marquant les agrégats de tau, dans le cortex entorhinal d'un patient atteint de MA (à gauche). Autoradiographie haute résolution utilisant [3H]ACI-12589 (60 nM) dans la même coupe de tissu (au milieu). Le ligand de liaison tau [3H]PI-2620 (60 nM) a été inclus à titre de référence (à droite). Barres d'échelle, 200 μ m. Données représentatives d'au moins trois expériences indépendantes.

c - Immunofluorescence avec l'anticorps α -syn-pS129 dans des coupes de tissus cérébraux provenant de cas de MA, PSP et PD montrant une pathologie α -syn (panneaux supérieurs). ARG haute résolution avec [3H]ACI-12589 (60 nM) sur les mêmes sections, montrant le co-marquage des agrégats α -syn (panneaux inférieurs). Barres d'échelle, 20 μ m. Données représentatives de deux expériences indépendantes pour AD (FC), PSP et PD#3 et données d'une expérience pour AD (EC) et AD (AMG).

d - Évaluation de l'affinité de liaison de l'ACI-12589 à la MAO-B dans des homogénats de cerveau sains dérivés de témoins. Études de liaison par compétition avec le [3H]L-déprényl pour déterminer la constante de l'inhibiteur, K_i , les valeurs du déplényl (courbe noire), de l'ACI-12589 (courbe orange), de l'AV-1451 (courbe bleue) et du THK-5351 (courbe verte). Lorsque deux expériences indépendantes ont été réalisées (déprényl, ACI-12589, AV-1451), la moyenne $\pm$ SEM est affichée. e Autoradiographie avec [3H]ACI-12589 (10 nM) dans des tissus humains provenant du cervelet d'un donneur de MSA, contenant à la fois de la MAO-B et des agrégats α -syn pathologiques. Pour évaluer le déplacement du signal, les sections adjacentes ont été incubées avec du [3H] ACI-12589 en présence d'ACI-12589 non marqué ou de déplényl à des concentrations de 1 μ M. Des autoradiogrammes pour chaque cas sont présentés.

Coloration par immunofluorescence des sections adjacentes avec un anticorps contre l' α -syn phosphorylé au niveau de la sérine 129 (pSyn-S129) ou de la MAO-B. Barre d'échelle à 5 mm. Données représentatives de deux expériences indépendantes. Maladie d'Alzheimer AD, autoradiographie ARG, nombres de cpm par minute, MAO-B mono-amine oxydase B, atrophie multisystémique MSA, maladie de Parkinson PD, paralysie supranucléaire progressive PSP.

[Full size image](#)

Pour évaluer si l'ACI-12589 peut se lier à l' α -syn mal repliée dans les maladies neurodégénératives (NDD) avec pathologies protéiques mixtes, des expériences d'autoradiographie à haute résolution ont également été menées sur des tissus AD contenant différents niveaux d'inclusions α -syn (Fig. 2c). Il est intéressant de noter qu'une colocalisation claire entre les inclusions α -syn par IHC (Fig. 2c, panneau supérieur) et le signal autoradiographique [3H] ACI-12589 (Fig. 2c, bas) a été observée dans le tissu AD α -syn-positif. Un chevauchement similaire du signal a également été détecté dans les dépôts α -syn dans la PSP (Fig. 2c). Le marquage de la β -amyloïde et de la tau par IHC de coupes de cas de MA est fourni dans la Fig. 7 supplémentaire.

Enfin, nous avons évalué la liaison potentielle hors cible de l'ACI-12589 à une concentration de 1 μ M contre un panel de plus de 100 récepteurs et enzymes (Fig. 8 supplémentaire), y compris la monoamine oxydase (MAO) A, qui est une substance connue pour sa capacité de liaison hors-cible pour les traceurs TEP cérébraux¹⁴. Aucune liaison de l'ACI-12589 à aucune de ces protéines n'a été détectée par cette méthode. Pour exclure également l'activité de liaison de la MAO-B (Monoamine oxydase), nous avons effectué des tests de déplacement avec l'inhibiteur radiomarké de la MAO-B [3H] déplényl. Comme le montre la figure 2d, ACI-12589 présentait un faible déplacement de l'inhibiteur de la MAO-B, avec un K_i 100 fois plus élevé que le déplényl lui-même. Nous avons en outre étudié l'interférence possible de MAO-B avec la liaison de l'ACI-12589 à α -syn en effectuant des études de déplacement dans la configuration opposée. Ces études ont été réalisées sur des coupes de tissu cérébelleux provenant d'un cas de MSA présentant à la fois une pathologie α -syn abondante et une expression élevée de MAO-B (comme le montre l'IHC sur la figure 2e, panneau inférieur). Le signal autoradiographique obtenu avec le [3H] ACI-12589 a été facilement déplacé par l'ACI-12589 non marqué, mais seulement de manière minime par un excès de déplényl non marqué (figure 2e, panneau supérieur). Ceci suggère que le signal spécifique de l'ACI-12589 était largement indépendant de la liaison de la MAO-B.

Sur la base de la liaison spécifique in vitro à l' α -syn pathologique par rapport à l' α -syn physiologique, ainsi que de la bonne sélectivité par rapport à d'autres protéines sujettes aux agrégats et d'un profil hors cible propre, le [18F]ACI-12589 a été sélectionné pour une évaluation clinique initiale.

Participants

Pour évaluer les performances du [18F]ACI-12589 in vivo, 42 participants au total ont été recrutés. Les participants étaient huit témoins sains et 23 participants atteints de synucléinopathies, dont huit atteints de MP (dont deux avec des duplications du gène SNCA), deux atteints de DLB et 13 atteints d'AMS. Onze participants atteints d'autres NDD ont également été recrutés, dont cinq AD, trois PSP et trois atteints d'ataxies héréditaires (deux avec ataxie de Friedreich et un avec une mutation du gène SAMD9L). Les données démographiques des participants sont présentées dans le tableau 1. Les 25 analyses initiales ont été réalisées sous forme d'analyses dynamiques avec prélèvement de sang artériel ($n = 22$) pour la fonction d'entrée et l'analyse des métabolites. Les analyses restantes ont été réalisées sous forme d'analyses statiques 60 à 90 minutes après l'injection.

	Controls	PD	DLB	MSA	PSP	AD	Ataxia
<i>N</i>	8	8	2	13	3	5	3
Age	63 ± 11	68 ± 6	81 ± 1	61 ± 8	72 ± 9	69 ± 4	54 ± 14
Sex (M/F)	5/3	7/1	2/0	7/6	3/0	4/1	2/1
Injected dose (MBq)	314 ± 39	308 ± 56	289 ± 1	297 ± 13	298 ± 8	296 ± 5	267 ± 67
UMSARS I + II	–	–	–	53 ± 23	–	–	–
UPDRS-III	–	65 ± 16	–	–	–	–	–
Hoehn&Yahr	–	2 ± 0	2 ± 0	3.5 ± 1.2	4 ± 0	–	–
Number with dynamic data (number with arterial input function)	8 (7)	6 (5)	2 (2)	9 (8)	–	–	–

Demographic data of participants. Ataxia includes three participants with hereditary ataxia, two with Friedreich Ataxia and one with a mutation in the *SAMD9L* gene.

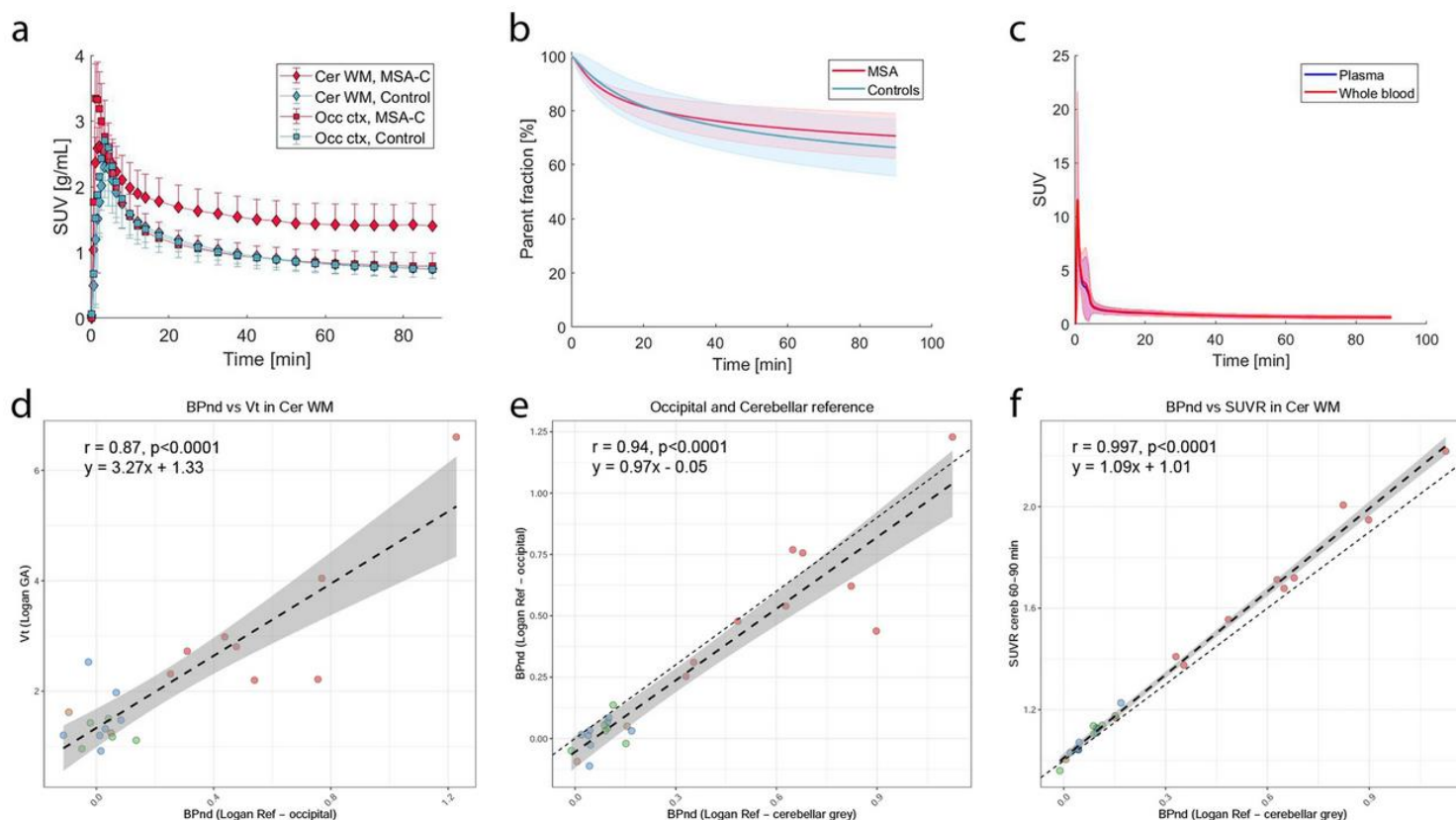
AD Alzheimer's dementia, *DLB* dementia with lewy bodies, *F* female, *M* male, *MSA* multiple system atrophy, *PD* Parkinson's disease, *PSP* progressive supranuclear palsy, *UMSARS* unified MSA rating scale, *UPDRS-III* unified PD rating scale, motor part.

Analyse cinétique in vivo

L'analyse cinétique a indiqué une absorption cérébrale rapide et une élimination rapide du [18F]ACI-12589 radioactif des régions sans liaison spécifique ni rétention du traceur dans des structures cérébrales distinctes, y compris la substance blanche cérébelleuse chez les sujets AMS (Fig. 3a et Fig. 9a). Le radiotraceur a montré une bonne stabilité au cours de l'analyse, avec $66,7 \pm 8,4$ % de la fraction parentale restant à 90 min (Fig. 3b et Fig. 9b supplémentaire). Les fonctions moyennes d'apport de sang total et de plasma sont présentées sur la figure 3c. La cinétique du traceur a montré de bons ajustements à l'analyse multilinéaire Ichise MA1 et à l'analyse graphique Logan, et les volumes de distribution (VT) résultants dérivés de MA1 et du tracé Logan étaient en parfait accord. Les valeurs VT dérivées de l'analyse graphique Logan utilisant l'entrée artérielle n'ont indiqué aucune différence dans l'absorption du traceur entre les groupes de diagnostic dans le cortex occipital ou la matière grise cérébelleuse, indiquant que ces régions pourraient potentiellement être utilisées comme régions de référence dans des analyses simplifiées (Fig. Supplémentaire 10a, b). Les résultats dérivés à l'aide des fonctions d'entrée artérielle (valeurs VT dérivées de l'analyse graphique Logan) et des

tissus de référence BPND (référence SRTM ou Logan) étaient bien corrélés ($R = 0,87$; Fig. 3d et Fig. 10c supplémentaire). La rétention du traceur dans le cortex occipital et la matière grise cérébelleuse étaient fortement corrélées, en utilisant le modèle de référence Logan (Fig. 3e et Fig. 10d supplémentaire). De plus, des analyses simplifiées utilisant un rapport de valeurs d'absorption standardisé avec une région de référence du cortex cérébelleux (SUVR_{cer}) ont montré des relations linéaires avec les valeurs du potentiel de liaison de référence Logan (BPND), indiquant que les valeurs de SUVR_{cer} dérivées d'analyses statiques de 30 minutes au cours de la période de 60 à 90 minutes. l'intervalle de temps après l'injection peut être utilisé pour estimer la rétention du traceur [^{18}F] ACI-12589 (Fig. 3f et Fig. 10e supplémentaire).

Fig. 3 : Modélisation cinétique du [^{18}F]ACI-12589 in vivo.



a Courbes d'activité temporelle pour la substance blanche cérébelleuse (losanges) et le cortex occipital (carrés) dans l'AMS (rouge, $n = 6$) et les participants témoins (bleu, $n = 7$) au cours de la TEP (moyenne $\pm$ SD).

b Fractions parentales pour AMS (rouge, $n = 6$) et sujets témoins (bleu ; $n = 7$; moyenne $\pm$ SD).

c Fonctions d'entrée de sang total (rouge) et de plasma (bleu).

d Comparaison des TV dans la substance blanche cérébelleuse dérivées de l'analyse graphique Logan de l'apport sanguin et des valeurs BPND de référence Logan dans la substance blanche cérébelleuse à l'aide d'une région de référence occipitale. Valeur R 0,87 (IC à 95 % [0,71-0,95]) dérivée à l'aide de la corrélation de Pearson ($t = 7,9643$, $df = 20$, valeur $p = 1,2e-07$).

e Comparaison des valeurs BPND de référence Logan dans la substance blanche cérébelleuse avec les régions de référence occipitales et cérébelleuses. La région de référence cérébelleuse présente des valeurs BPND légèrement plus élevées par rapport à la référence occipitale. Valeur R 0,94 (IC à 95 % [0,87-0,97]) dérivée à l'aide de la corrélation de Pearson ($t = 13,401$, $df = 23$, valeur $p = 2,4e-12$).

f Comparaison des valeurs SUVR_{cer} dans la substance blanche cérébelleuse dans l'intervalle de temps de 60 à 90 minutes avec les valeurs BPND de référence Logan, montrant une relation linéaire. Valeur R 0,997 (IC à 95 % [0,992-0,998]) dérivée à l'aide de la corrélation de Pearson ($t = 57,186$, $df = 23$, valeur $p < 2,2e-16$). Les bandes d'erreur dans (d – f) représentent l'IC à 95 % de la ligne de régression linéaire en pointillés. Potentiel de liaison non

déplaçable BPND, substance blanche cérébelleuse Cer WM, démence DLB à corps de Lewy, modèle d'analyse graphique Logan GA Logan, modèle tissulaire de référence Logan Ref Logan, atrophie multi-systématisée AMS, atrophie multi-systématisée AMS-C avec phénotype cérébelleux, PD Maladie de Parkinson, valeur d'absorption standardisée SUV, SUVRcer Rapport de valeur d'absorption standardisée, avec une région de référence de matière grise cérébelleuse, volume de distribution VT.

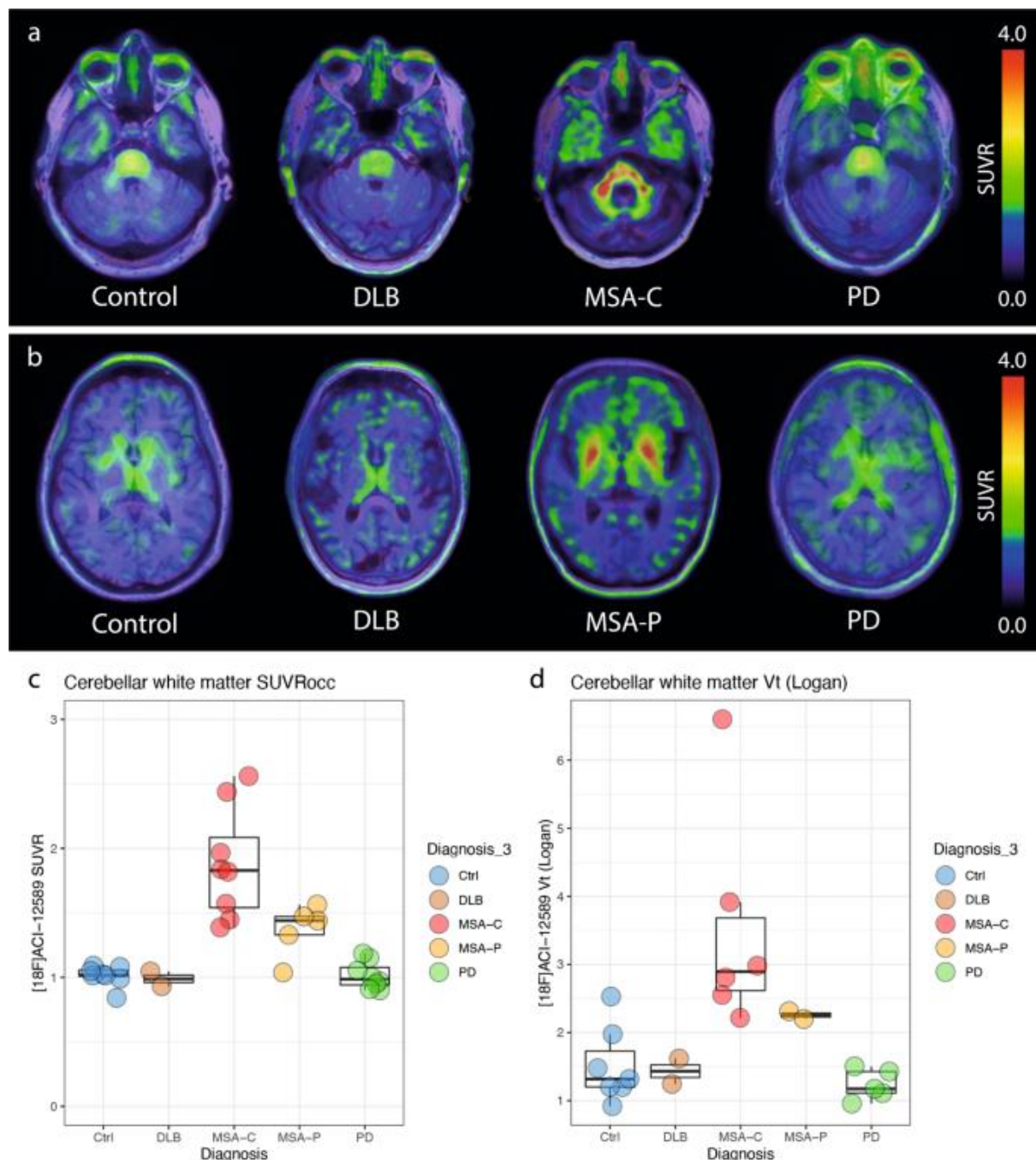
Rétention in vivo dans les synucléinopathies

Des images représentatives de coupes transversales à travers le cervelet et au niveau des noyaux lenticulaires des participants témoins, PD, DLB et AMS sont présentées sur les figures 4a, b (des images supplémentaires pour tous les témoins et les participants AMS sont présentées dans les figures supplémentaires 11 et 12).

Chez les participants atteints d'AMS, il y avait une rétention significativement accrue du radiotracer [18F]ACI-12589 dans la substance blanche cérébelleuse (Fig. 4c, d) par rapport aux témoins sains (AMS : $1,68 \pm 0,44$, contrôles $1,01 \pm 0,08$; rang de Wilcoxon. test de somme $p < 0,0001$) et les participants atteints de la maladie à corps de Lewy (LBD = PD et DLB $1,01 \pm 0,10$; test de somme de rang de Wilcoxon $p < 0,0001$) sans chevauchement entre les groupes AMS-C et LBD. **La rétention dans la substance blanche cérébelleuse était plus élevée chez les participants atteints d'AMS-C que chez les participants atteints d'AMS-P** (MSA-C $1,88 \pm 0,43$, MSA-P $1,37 \pm 0,20$, test de somme des rangs de Wilcoxon $p = 0,02$). Des résultats similaires ont été obtenus pour les pédoncules cérébelleux moyens (Fig. 13a supplémentaire). De plus, **les participants AMS-P ont présenté une rétention accrue de [18F]ACI-12589 dans les noyaux lentiformes qui n'a pas été observée chez les participants AMS-C** sans caractéristiques parkinsoniennes (Fig. 13b supplémentaire ; AMS-P vs contrôles, LBD et MSA-C, test de la somme des rangs de Wilcoxon pour tous les $p < 0,05$).

Fig. 4: TEP ACI-12589 chez des patients atteints d' α -synucléinopathies

- sujets contrôles
- DLB : maladie à corps de Lewy
- **MSA-C ; MSA-P : AMS P ; AMS C**
- PD : maladie de Parkinson



a - Images transversales au niveau des pédoncules cérébelleux moyens chez un participant témoin et des patients atteints de DLB, AMS-C et PD.

b - Images transversales au niveau des noyaux gris centraux chez un participant témoin et des patients atteints de DLB, AMS-P et PD. Les images SUVR pour (a, b) ont été créées en utilisant le cortex occipital comme région de référence. c Valeurs SUVR dans la substance blanche cérébelleuse dans les différents groupes de maladies (Ctrl n = 8, DLB n = 2, AMS-C n = 8, AMS-P n = 5, PD n = 8).

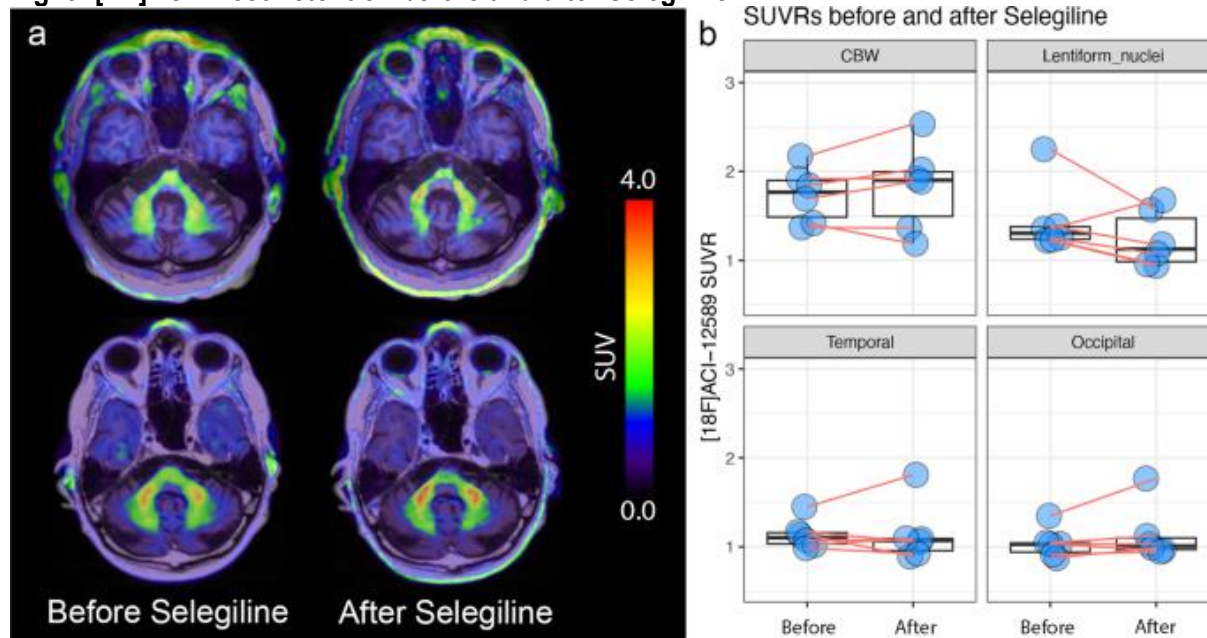
d - Valeurs VT dérivées de la modélisation d'analyse graphique Logan dans la substance blanche cérébelleuse dans les différents groupes de maladies avec des données sanguines et TEP dynamiques disponibles. Les boxplots montrent la médiane, l'IQR (encadré) et les moustaches ($Q1 - 1,5 \cdot IQR / Q3 + 1,5 \cdot IQR$ ou valeur minimale/maximale, valeurs

aberrantes non incluses) (Ctrl n = 7, DLB n = 2, AMS-C n = 6, AMS-P n = 2, PD n = 5). Démence DLB à corps de Lewy, atrophie multi-systématisée AMS-C avec phénotype cérébelleux, atrophie multi-systématisée AMS-P avec phénotype parkinsonien, région de référence du cortex occipital occi, maladie de Parkinson PD, rapport de valeur d'absorption standardisé SUVR, volume de distribution VT.

[Full size image fig 4](#)

Cependant, dans l'ensemble, la rétention du [18F]ACI-12589 dans les noyaux gris centraux était plus difficile à interpréter en raison des niveaux variables de rétention entre les sujets, ainsi que des niveaux visibles de signal des noyaux gris centraux chez certains participants atteints de MP, mais aussi chez un sous-ensemble de contrôles sains (Fig. 13b supplémentaire). Une tendance à une rétention plus faible a été observée dans les noyaux gris centraux des participants à la maladie de Parkinson sous inhibiteurs de la MAO-B, ce qui laisse penser qu'une fraction de la liaison du [18F]ACI-12589 dans les noyaux gris centraux pourrait être liée à la MAO-B (Figure supplémentaire .11). Pour déterminer si le signal spécifique de l'AMS pouvait être expliqué par une liaison hors cible à la MAO-B, six des participants AMS (5 AMS-C et 1 AMS-P) ont été réanalysés après avoir bloqué la MAO-B avec 10 mg de sélégiline par jour pendant 6 jours (Fig. 5). Aucune réduction du signal de la substance blanche cérébelleuse avec le prétraitement à la sélégiline (changement du SUVR : $2 \pm 10 \%$, test de rang signé de Wilcoxon $p = 0,18$) n'a été observée, ce qui indique que ce signal n'était pas attribuable à la MAO-B. Dans les noyaux lentiformes, une variabilité inter-sujet considérable a été notée, avec une diminution globale de $17 \pm 16 \%$ (test de rang signé de Wilcoxon $p = 0,47$) du signal SUVR après administration de sélégiline. Bien que cela suggère une liaison hors cible limitée à la MAO-B dans les noyaux gris centraux dans leur ensemble, des analyses plus approfondies seront nécessaires pour comprendre si cela peut être spécifique à une condition et/ou à une sous-région.

Fig. 5: [18F]ACI-12589 retention before and after Selegiline.



a - montre des images SUV de deux participants atteints d'AMS-C avant (à gauche) et après (à droite) un traitement pendant 6 jours avec 10 mg de sélégiline.

b - montre les modifications du SUVR avant et après le traitement (n = 6) dans la substance blanche cérébelleuse (CBW), les noyaux lentiformes (putamen bilatéral total et globus pallidus), le cortex temporal et le cortex occipital. Les diagrammes "boîtes à moustaches" montrent la médiane, l'IQR (boîte) et les moustaches ($Q1 - 1,5 \cdot IQR / Q3 + 1,5 \cdot IQR$ ou valeur minimale/maximale, valeurs aberrantes non incluses). Matière blanche cérébelleuse CBW, valeur d'absorption standardisée SUV, rapport de valeur d'absorption standardisée SUVR.

[Full size image fig 5](#)

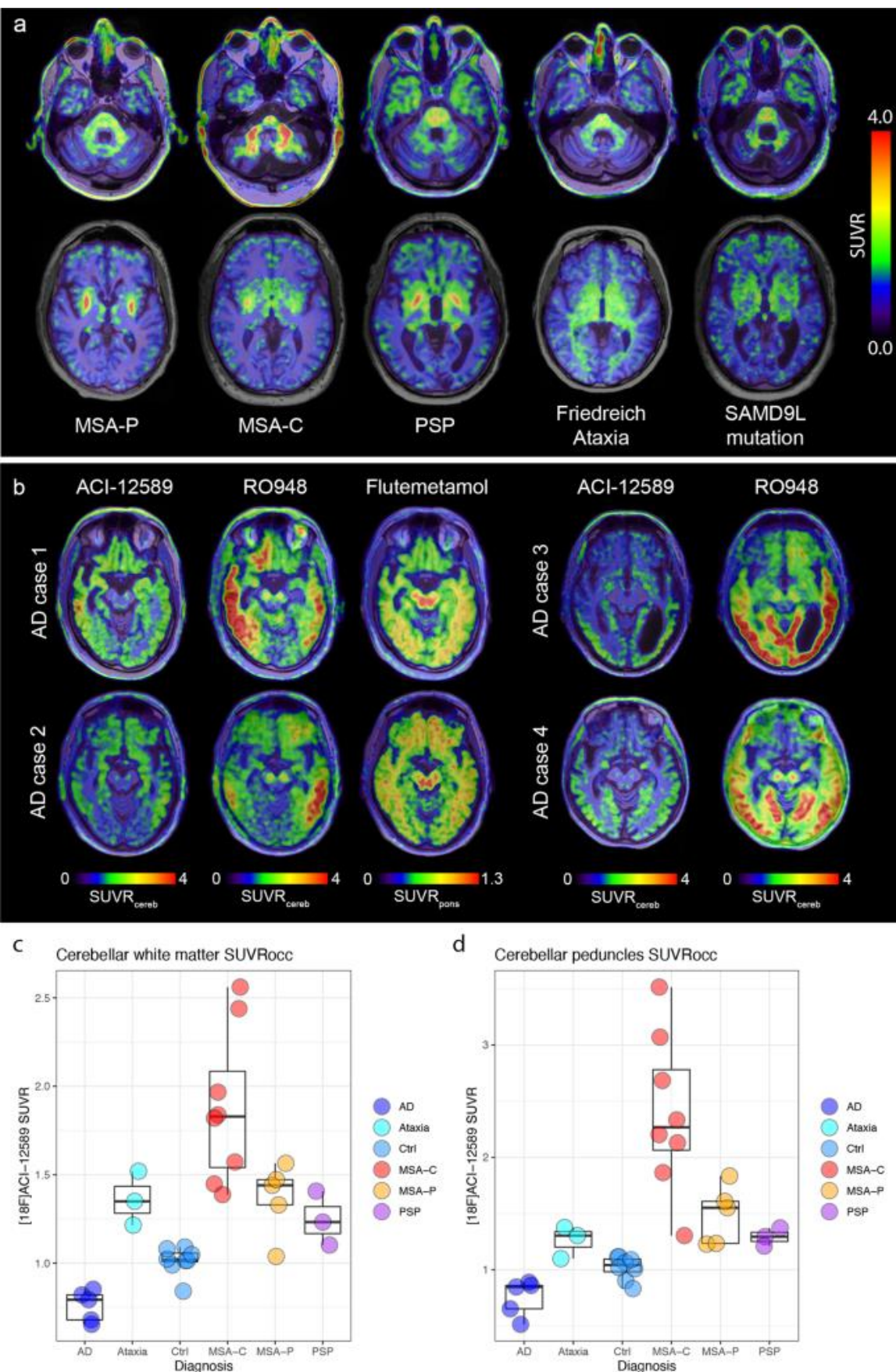
Nous n'avons pas détecté de rétention accrue du traceur dans le tronc cérébral ou dans le cortex cérébral des participants sporadiques PD ou DLB (Fig. Supplémentaire 13c, d, g, h). Chez les deux participants atteints de MP familiale due à une duplication de SNCA (un symptôme très précoce et un avec parkinsonisme et troubles cognitifs légers [MCI]), des signaux de rétention ont été observés au-dessus des niveaux de contrôle dans le pont ainsi que dans la plage supérieure des contrôles dans le mésencéphale et le cortex cérébral (Fig. 14 supplémentaire). Il est intéressant de noter que la rétention corticale était plus prononcée dans le cas du MCI, où l'on pouvait s'attendre à une pathologie α -syn plus répandue sur la base des symptômes cliniques.

Prises ensemble, ces données indiquent que le signal observé dans la substance blanche et les pédoncules cérébelleux différencie les cas d'AMS des témoins et autres synucléinopathies et, sur la base de sa distribution spatiale, identifie une pathologie α -syn sous-jacente.

Rétention in vivo dans d'autres maladies neurodégénératives

Dans l'étape suivante, la rétention du [18F]ACI-12589 dans d'autres NDD a été étudiée afin d'évaluer si sa liaison était unique à l'AMS. Nous avons inclus des participants atteints de PSP (car il s'agit d'une entité diagnostique différentielle clé de l'AMS), d'ataxies cérébelleuses héréditaires (car elles affectent également le cervelet ; Fig. 6a) et de MA (la MA provoquant une neurodégénérescence généralisée ; Fig. 6b). Dans la PSP, nous avons détecté une certaine absorption dans des sous-régions des noyaux gris centraux chevauchant la rétention dans l'AMS (Fig. 6a et Figures supplémentaires 11 et 13b). Chez les participants à l'ataxie, une rétention a été observée dans la substance blanche cérébelleuse et les pédoncules cérébelleux, dont les niveaux se situaient dans la plage inférieure des signaux observés chez les patients AMS (Fig. 6c, d). Dans les cas de MA, une rétention de [18F]ACI-12589 a été observée dans le cortex cérébral, avec des niveaux plus faibles dans le cervelet. **Il est intéressant de noter que les régions de rétention corticale accrue étaient corrélées, bien que ne se chevauchant pas complètement, avec les zones d'absorption du traceur tau ([18F] RO948) (Fig. 6b et Fig. 15a – d supplémentaires).** En revanche, seule une faible corrélation entre la rétention du [18F]ACI-12589 et le PET β -amyloïde ([18F]flutémétamol) a été observée (Fig. 6b et Fig. Supplémentaire, Fig. 15e, f).

Fig. 6: [^{18}F]ACI-12589 rétention dans d'autres maladies neurodégénératives.



a - images transversales au niveau des pédoncules cérébelleux moyens (rangée supérieure) et des noyaux gris centraux (rangée du bas) chez des patients représentatifs atteints d'AMS-C, d'AMS-P, de PSP, d'ataxie de Friedreich et d'ataxie cérébelleuse due à une mutation SAMD9L. Les images SUVR en (a) ont été créées en utilisant le cortex occipital comme région de référence.

b images transversales au niveau de la substance noire chez des patients atteints de MA en utilisant le [^{18}F]ACI-12589, le [^{18}F]RO948 (tau) et le [^{18}F]Flutémétamol (β -amyloïde) comme indiqué ci-dessus. Les images SUVR ont été générées à l'aide d'une région de référence cérébelleuse (ACI-12589 et RO948) ou pons (Flutemetamol). c Valeurs SUVR_{ROC} dans la substance blanche cérébelleuse dans les différents groupes de maladies.

d Valeurs SUVR_{ROC} dans les pédoncules cérébelleux moyens dans les différents groupes de maladies. Les boxplots montrent la médiane, l'IQR (boîte) et les moustaches

($Q1 - 1,5 \cdot \text{IQR} / Q3 + 1,5 \cdot \text{IQR}$ ou valeur minimale/maximale, valeurs aberrantes non incluses). N—nombres pour (c, d) : AD n = 5, Ataxia n = 3, Ctrl n = 8, MSA-C n = 8, MSA-P n = 5, PSP n = 3). Maladie d'Alzheimer, ataxie cérébelleuse ataxie (Ataxie de Friedreich et ataxie cérébelleuse due à une mutation SAMD9L), région de référence de la matière grise cérébrale cérébelleuse, sujets témoins Ctrl, atrophie multisystémique MSA-C avec phénotype cérébelleux,

atrophie multisystémique MSA-P avec phénotype cérébelleux phénotype parkinsonien, paralysie supranucléaire progressive PSP, SUVRocc SUVR avec une région de référence du cortex occipital, rapport de valeur d'absorption standardisé SUVR.

[Full size image](#) Fig 6

Discussion

Un ligand ¹ TEP pour détecter la pathologie α -syn in vivo constitue depuis longtemps un besoin clinique non satisfait. L'obstacle majeur à cette réussite a été l'identification de ligands capables de détecter sélectivement les inclusions d' α -syn, qui sont présentes à une densité bien inférieure à celle d'autres cibles, telles que la β -amyloïde pathologique ou la tau10. Nous rapportons ici la caractérisation préclinique et clinique initiale de l'ACI-12589, qui a démontré :

- (i) qu'il est possible de visualiser la pathologie cérébrale α -syn chez les patients par TEP et,
- (ii) (ii) que ce signal peut différencier les cas d'AMS des témoins. et d'autres cas NDD.

Les propriétés in vitro de l'ACI-12589 indiquent que le traceur se lie spécifiquement à l' α -syn avec des valeurs Kd de $33,5 \pm 17,4$ nM, tout en montrant une bonne sélectivité par rapport à la β -amyloïde et à la tau.

Ex vivo, l'engagement de la cible a été démontré dans les inclusions α -syn présentes à la fois comme pathologie primaire, comme dans les tissus AMS, PD, DLB et PDD, mais également comme co-pathologie, comme dans les tissus AD et PSP.

Enfin, chez les patients, un signal TEP élevé pour le [18F]ACI-12589 a été observé dans la substance blanche cérébelleuse et les pédoncules cérébelleux moyens chez les participants présentant à la fois une AMS dominée par l'ataxie cérébelleuse (AMS-C) et une AMS dominée par le parkinsonisme (AMS-P). La rétention dans les structures cérébelleuses était plus élevée chez les participants présentant des symptômes cérébelleux et du tronc cérébral (AMS-C) que chez les participants AMS-P. L'absorption de traceurs a également été observée dans les noyaux lentiformes des participants atteints d'AMS-P, ce qui indique une atteinte des noyaux gris centraux. L'absorption était donc bien corrélée à la distribution attendue de la pathologie α -syn dans les deux sous-types d'AMS 6,15.

Les présents résultats sont conformes à un bref rapport décrivant les modèles de liaison différentielle du radiotraceur α -syn [18F] SPAL-T-06 dans une étude limitée de quatre participants, trois avec AMS et un témoin16. Contrairement au rapport précédent, la présente étude décrit un vaste corpus de travaux qui étendent nos observations initiales présentées dans les actes de la conférence17 et établissent l'utilisation de traceurs de ciblage α -syn, tels que le [18F]ACI-12589, pour démontrer un effet spécifique et schéma pathologique reproductible chez les patients présentant à la fois les sous-types AMS-P et AMS-C.

La rétention de [18F]ACI-12589 dans la substance blanche cérébelleuse et les pédoncules cérébelleux distinguait clairement les participants atteints d'AMS des témoins et les participants atteints de PD ou de DLB. Aucune rétention spécifique à une région n'a été observée dans PD ou DLB. Il existe plusieurs explications potentielles à l'absence de rétention claire du [18F] ACI-12589 dans la PD et la DLB. Une raison probable est la plus faible densité de pathologie α -syn dans ces troubles par rapport à l'AMS18. Cette notion est étayée par la rétention élevée de [18F]ACI-12589 trouvée dans les cas de MP familiale en raison de la duplication du gène α -syn (SNCA), qui devraient présenter une pathologie α -syn plus dense et plus répandue par rapport aux cas de MP idiopathique18, 19. Il est intéressant de noter que l'un des cas de MP monogénique avec duplication de SNCA présentant des troubles

¹ Un ligand est une molécule qui a tendance à se lier se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique. Des ligands marqués radioactivement ou radioligands sont utilisés dans différentes techniques d'imagerie médicale, comme la scintigraphie ou la tomographie par émission de positons. Ceci permet de visualiser sélectivement les zones où se fixe le ligand marqué et donc où se trouve sa cible dans l'organisme.

cognitifs présentait également une certaine rétention corticale de [18F] ACI-12589, ce qui correspond à la charge pathologique attendue sous-jacente à ce phénotype. **Néanmoins, des études sur d'autres cas de synucléinopathie non AMS avec des charges α -syn et des modèles de distribution attendus différents seront nécessaires pour tirer des conclusions définitives.**

Une autre explication possible de la faible liaison dans PD/DLB réside dans les différences potentielles dans la conformation des agrégats α -syn dans PD/DLB idiopathique par rapport à l'AMS. De telles différences ont été récemment décrites au niveau moléculaire par cryo-EM^{7,8,9} et sont également rapportées sur la base des tests d'amplification par ensemencement RT-QuIC récemment développés^{8,9}. De plus, les différences dans l'expression de l'isoforme α -syn et les modifications post-traductionnelles entre les différentes synucléinopathies pourraient potentiellement expliquer les différences dans la rétention de [18F]ACI-12589.

En comparant les cas d'AMS avec des participants atteints d'autres TND, tels que les ataxies héréditaires, la PSP et la MA, une certaine rétention de traceurs a été observée dans les zones cérébrales touchées par la maladie, même dans les cas non-AMS. Les raisons de cette rétention ne sont pas entièrement claires et une liaison hors cible à un autre processus neurodégénératif ou la présence de copathologies α -syn sont des explications potentielles et non mutuellement exclusives. La présence de co-pathologies multiples est une caractéristique connue des NDD²¹, et des dépôts α -syn sont fréquemment trouvés dans la MA, mais également signalés dans les PSP, entre autres^{22,23,24}.

L'hypothèse selon laquelle le signal TEP observé pourrait être en partie lié à l' α -syn est en outre étayée par des données montrant que **l'ACI-12589 peut se lier à la copathologie α -syn dans les tissus AD et PSP ex vivo**. Bien que l'ACI-12589 présente un profil hors cible in vitro, nous ne pouvons pas exclure que certains signaux liés à la maladie in vivo représentent une liaison hors cible. Nous avons cependant examiné certains des contributeurs les plus probables associés aux processus neuroinflammatoires ou neurodégénératifs. Un paradigme établi in vivo de blocage de la MAO-B avec la sélégiline²¹ n'a montré aucune interférence avec la rétention du [18F]ACI-12589 dans la substance blanche cérébelleuse dans l'AMS, s'opposant à une contribution significative de la liaison de la MAO-B au signal TEP observé dans cette région. Les données in vitro ont également caractérisé la liaison possible de la MAO-B comme étant limitée. Néanmoins, **nous ne pouvons pas exclure une contribution de la MAO-B à la rétention du [18F]ACI-12589, en particulier dans les zones à forte expression de MAO-B telles que les noyaux gris centraux**. Nous avons trouvé une colocalisation et une corrélation significative entre le [18F]ACI-12589 et le [18F]RO948 (un ligand tau-PET) in vivo dans la MA. De même dans la PSP, la rétention du [18F]ACI-12589 correspondait à la distribution attendue de la pathologie tau. Comme aucun engagement cible de l'ACI-12589 dans les enchevêtrements neurofibrillaires tau n'a été signalé ex vivo, il est peu probable que la liaison à la protéine tau pathologique soit la principale source de ce signal TEP. Il est possible que la colocalisation des signaux [18F]ACI-12589 et [18F]RO948 reflète une liaison hors cible à un processus neurodégénératif en aval de tau. **La nature exacte de la liaison de ce ligand PET dans différents NDD fera l'objet de travaux futurs.**

En tant que premiers scans chez l'homme, le but du présent travail était de comprendre l'utilité du [18F]ACI-12589 comme traceur TEP pour les NDD à médiation α -syn, ce qui a conduit à la découverte de sa capacité à discriminer de manière significative les cas d'AMS. La principale limite de cette étude est le nombre relativement faible de participants, en particulier pour les synucléinopathies autres que l'AMS et les autres NDD. **Par conséquent, les résultats concernant la liaison dans ces maladies doivent être considérés comme préliminaires.** De même, la liaison faible et variable dans la MP sporadique mérite des études plus approfondies avec des cohortes de patients plus importantes. Les points forts de l'étude sont la caractérisation préclinique approfondie de l'ACI-12589 et les données in vitro soutenant la spécificité et la sélectivité de l' α -syn, l'analyse dynamique avec prélèvement de sang

artériel et la modélisation cinétique des performances in vivo du radiotraceur, ainsi que la relative grande cohorte de participants AMS recrutés.

En conclusion, les présents résultats indiquent que le [18F]ACI-12589 pourrait être utilisé pour améliorer le bilan diagnostique de l'AMS, conduisant à un diagnostic plus précoce. En outre, ces résultats indiquent que les traceurs α -syn pourraient permettre la détection de l'engagement d'une cible médicamenteuse in vivo dans des essais cliniques de nouvelles thérapies ciblant α -syn.

Voir données méthodologiques et bibliographie, non traduites, à la fin du document en anglais ci-après

The α -synuclein PET tracer [18F] ACI-12589 distinguishes multiple system atrophy from other neurodegenerative diseases

[Ruben Smith](#), [Francesca Capotosti](#), [Martin Schain](#), [Tomas Ohlsson](#), [Efthymia Vokali](#), [Jerome Molette](#), [Tanja Touilloux](#), [Valerie Hliva](#), [Ioannis K. Dimitrakopoulos](#), [Andreas Puschmann](#), [Jonas Jögi](#), [Per Svenningsson](#), [Mattias Andréasson](#), [Christine Sandiego](#), [David S. Russell](#), [Patricia Miranda-Azpiazu](#), [Christer Halldin](#), [Erik Stomrud](#), [Sara Hall](#), [Klas Bratteby](#), [Elina Tampio L'Estrade](#), [Ruth Luthi-Carter](#), [Andrea Pfeifer](#), [Marie Kosco-Vilbois](#), [Johannes Streffer](#) ; [Oskar Hansson](#)

[Nature Communications](#) volume 14, Article number: 6750 (2023) [Cite this article](#)

Abstract

A positron emission tomography (PET) tracer detecting α -synuclein pathology will improve the diagnosis, and ultimately the treatment of α -synuclein-related diseases. Here we show that the PET ligand, [18F]ACI-12589, displays good in vitro affinity and specificity for pathological α -synuclein in tissues from patients with different α -synuclein-related disorders including Parkinson's disease (PD) and Multiple-System Atrophy (MSA) using autoradiography and radiobinding techniques. In the initial clinical evaluation we include 23 participants with α -synuclein related disorders, 11 with other neurodegenerative disorders and eight controls. In vivo [18F]ACI-12589 demonstrates clear binding in the cerebellar white matter and middle cerebellar peduncles of MSA patients, regions known to be highly affected by α -synuclein pathology, but shows limited binding in PD. The binding statistically separates MSA patients from healthy controls and subjects with other neurodegenerative disorders, including other synucleinopathies. Our results indicate that α -synuclein pathology in MSA can be identified using [18F]ACI-12589 PET imaging, potentially improving the diagnostic work-up of MSA and allowing for detection of drug target engagement in vivo of novel α -synuclein targeting therapies.

Introduction

Neurodegenerative diseases share the common feature of pathologic protein aggregation, with β -amyloid (A β), tau and α -synuclein (α -syn) being the most prevalent aggregating proteins. While significant progress has been made for the diagnosis of A β and tau, no reliable imaging biomarker has so far been available for α -syn¹.

The most prominent α -syn-related disorders, Parkinson's disease (PD), dementia with Lewy bodies (DLB), and multiple system atrophy (MSA), show distinct clinical manifestations corresponding to the differences in regional distributions of the underlying α -syn pathology. Clinically, PD is characterized by rigidity, bradykinesia and resting tremor. DLB shares these symptoms of parkinsonism, appearing in parallel with cognitive impairment characterized by hallucinations and fluctuating executive and visuospatial cognitive abnormalities^{1,2}. MSA is characterized by autonomic failure in combination with parkinsonism and/or ataxia and frequently progresses to involve brain stem symptoms such as dysarthria and swallowing difficulties³. MSA can present with a phenotype dominated by parkinsonism (MSA-P) or one dominated by cerebellar ataxia (MSA-C), but a mix of the two phenotypes is also common. Diagnosis of MSA can be difficult, particularly in early disease stages, because this relies mainly on clinical symptoms⁴ that are shared with other movement disorders such as PD, progressive supranuclear palsy (PSP) and corticobasal degeneration. Thus, tools to aid in the early differential diagnosis of MSA would comprise a highly significant advance.

α -syn-containing deposits are the histopathologic hallmark of synucleinopathies, but α -syn accumulation is nonetheless heterogeneous in different diseases in terms of its distribution, conformation and seeding capacity. In PD, the pathology is mainly present as neuronal inclusions in the form of Lewy bodies or neurites, typically appearing first in the brainstem, spreading via the midbrain/substantia nigra to the medial temporal cortex, and via the mesocortex to the neocortex⁵. DLB presents a cellular pathology similar to that of PD, but with a wider distribution in cortical regions⁵. In MSA, the distinguishing α -syn pathology manifests primarily in oligodendrocytes as glial cytoplasmic inclusions, which are especially prominent in the white matter of the brainstem and cerebellum^{5,6}. Differences between the synucleinopathies at the ultrastructural and functional levels are also observed. High-resolution cryo-electron microscopy (cryo-EM) reveals that the folding structures of fibrillar α -syn demonstrate differences in PD and DLB compared to MSA^{7,8}. Moreover, recently established cyclic amplification techniques (e.g. RT-QuIC) also demonstrate differences in α -syn seeding capacities of cerebrospinal fluid (CSF) from patients with PD versus MSA^{1,8,9}.

Positron emission tomography (PET) radiotracers have been successfully developed for pathological species of A β and tau, providing unprecedented insights in correlating the developing molecular pathology in the living brain with evolving clinical symptoms. In addition, A β PET imaging has recently been used as a single primary surrogate efficacy measure in an Alzheimer's disease immunotherapy trial¹⁰. Furthermore, tau tracers have shown their capabilities not only to detect tau inclusions in the brain but also to support differential diagnosis based on signal distribution^{11,12,13}.

Thus, our first aim was to leverage AC Immune's proprietary Morphomer® library to identify a brain-penetrant small molecule with high affinity for α -syn aggregates and good selectivity over other potential brain pathologies (or co-pathologies). Secondly, we needed to determine whether the selected candidate α -syn radiotracer, [¹⁸F]ACI-12589, could provide a robust and meaningful signal to reveal disease-specific synuclein neuropathology in vivo.

Here, we present [¹⁸F]ACI-12589 PET data from healthy control subjects and patients with α -synucleinopathies and other neurological diagnoses, showing a specific and reproducible retention pattern in patients with MSA. The radiotracer [¹⁸F]ACI-12589 may therefore constitute an important diagnostic tool to identify, characterize and track α -syn pathology in MSA clinically. As such, this can be considered a long-awaited breakthrough in state biomarkers for α -synucleinopathies.

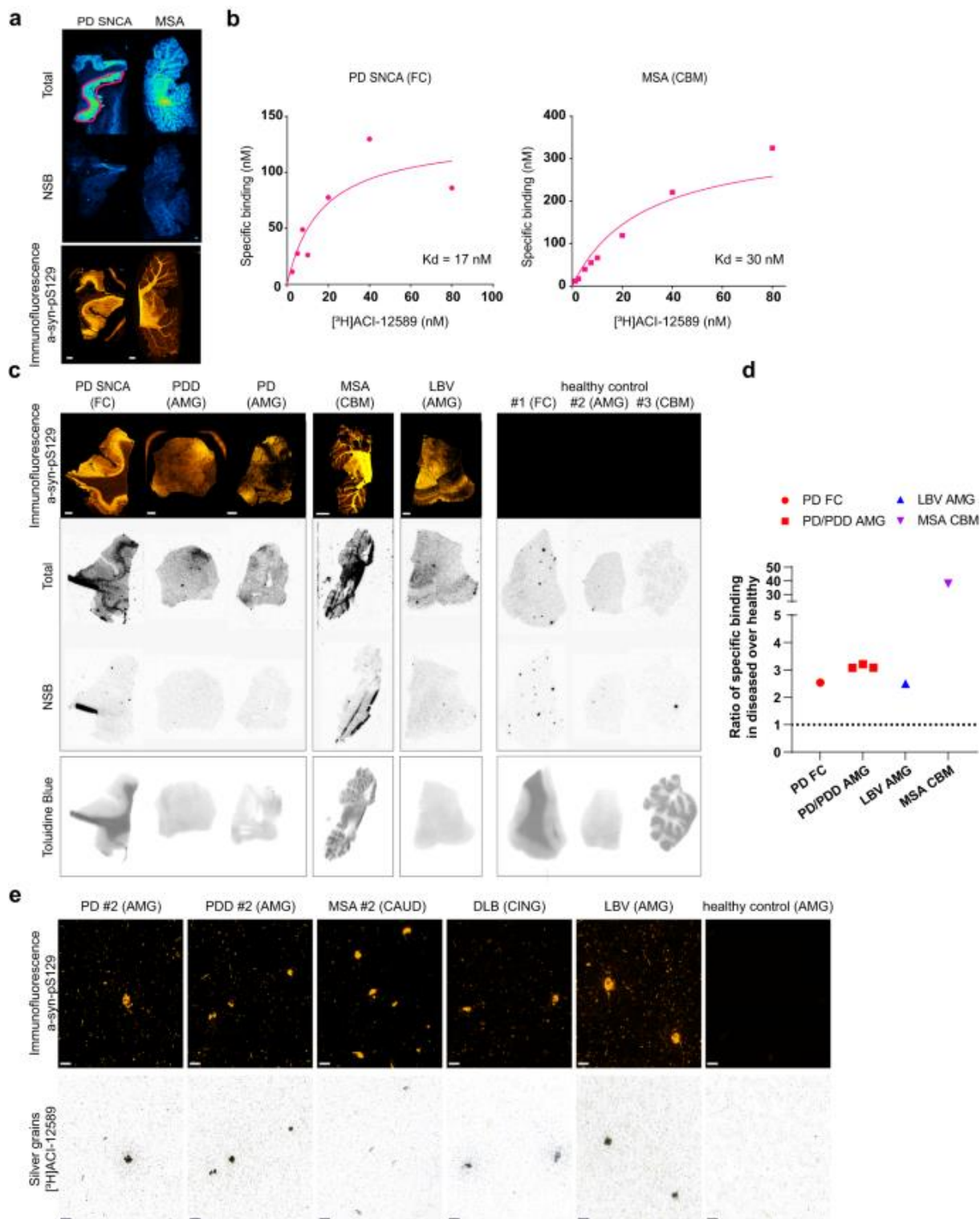
Results

Preclinical characterization

ACI-12589 is a small molecular weight compound identified from the screening of AC Immune's Morphomer® platform based on its α -synuclein-binding properties. The structure of the tracer [^{18}F]ACI-12589 and its precursor, ACI-15051, as well as the radiolabeling reaction, are shown in Supplementary Fig. [1](#).

Target engagement of [^3H]ACI-12589 was evaluated using autoradiography in brain sections from one monogenic PD case carrying a G51D mutation in the α -synuclein (*SNCA*) gene and one MSA case. [^3H]ACI-12589 gave a clear signal (Fig. [1a](#); top panel) overlapping with α -syn neuropathology visualized using anti-pS129 α -syn immunohistochemistry (IHC) (Fig. [1a](#); bottom panel). The specificity of the pathological α -syn signal was confirmed by the extent of co-localization with pS129 immunofluorescence as well as its displacement by an excess of unlabeled ACI-12589 (Fig. [1a](#); middle panel).

Fig. 1: ACI-12589 ex vivo binding properties in α -syn containing brain tissues and controls.



a Autoradiographic detection of $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ binding in brain tissue sections from a familial PD (SNCA) and an MSA case. Total: total binding (7.5 nM); Non-specific binding (NSB): residual binding in the presence of 5 μM unlabeled ACI-12589. Immunofluorescent staining of adjacent sections with α -syn-pS129. Scale bar, 2 mm. Representative data of at least two independent experiments. **b** Saturation binding studies with $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ on human brain tissue sections from the cases shown in (a). **c** Autoradiographic detection of $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ binding in brain tissue sections from different α -synucleinopathy cases and healthy controls. Total: total binding (1.7 nM); Non-specific binding: residual binding in the presence of 10 μM unlabeled ACI-12589. Immunofluorescent staining of adjacent sections with α -syn-pS129. Scale bar, 2 mm, except for MSA image 5 mm. Toluidine blue staining differentiates gray versus white matter distributions. Representative data of two independent experiments for PD SNCA and PD. Data from one experiment for the rest of the samples. **d** Ratios of specific binding in PD (red), LBV-AD (blue) and MSA (purple) pathology over the

mean, brain region-matched, healthy control values. Dotted line indicates the ratio of 1 corresponding to no difference from healthy controls. Specific binding was calculated as total binding minus NSB for each sample.; PD FC: Frontal cortex (2 replicates of one SNCA case); PD/PDD AMG: Amygdala (one PD and 2 PDD cases). Each dot represents one case. When two sections of the same case were analyzed (e.g. SNCA case), the mean value is shown. **e** High-resolution autoradiography with [³H]ACI-12589 (60 nM) in tissue from PD, PDD, MSA, DLB, LBV-AD and a healthy control. Immunofluorescence with α-syn-pS129 antibody (top panels). Accumulation of silver grains on Lewy bodies and neurites on the same section (bottom panels), showing co-labeling α-syn aggregates. Scale bar, 20 μm. Representative data of at least three independent experiments. CBM cerebellum, CAUD caudate, CING cingulate cortex, DLB dementia with Lewy Bodies, LBV-AD Lewy body variant of Alzheimer's disease, PD idiopathic PD, PDD Parkinson's disease with dementia, PD SNCA PD due to a SNCA G51D mutation.

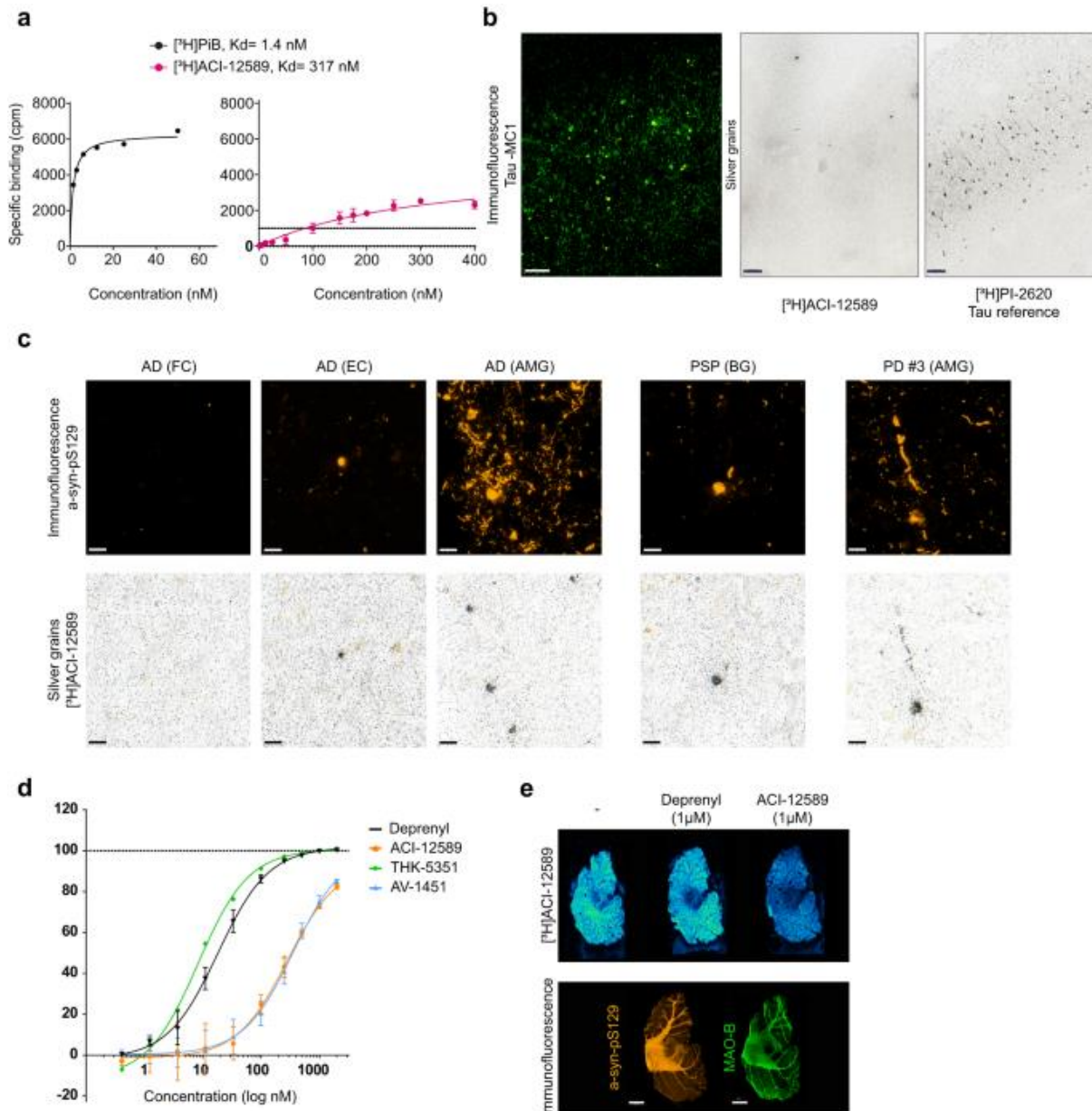
[Full size image](#)

Saturation binding experiments performed by autoradiography showed dissociation constants (K_d) of 17 nM for a familial PD case and 28 nM for a MSA case (Fig. [1b](#), Supplementary Fig. [2a](#), and Supplementary Table [1](#)). In sporadic PD cases, the mean K_d value was 33.5 ± 17.4 nM measured across multiple donors using both autoradiography and radiobinding techniques (Supplementary Tables [1](#) and [2](#)). These data indicate that overall binding affinities were similar across different synucleinopathy cases.

Specific binding of [³H]ACI-12589 to pathological α-syn was further confirmed using post-mortem tissue from different MSA donors (Fig. [1c](#) and Supplementary Figs. [2](#) and [3](#)). In addition, target engagement was observed in tissues from other synucleinopathies, including idiopathic PD, PD with dementia (PDD), and Lewy Body Variant AD (LBV-AD) (Fig. [1c](#)). No specific signal was observed in tissues from corresponding brain regions from control brains without α-syn pathology. The complete displacement of the [¹⁸F]ACI-12589 signal in the presence of an excess of unlabeled ACI-12589 indicates the absence of non-specific binding (NSB) of the ligand to either gray or white matter (Fig. [1c](#), bottom panel). Quantification of the autoradiography signal as the ratio of the specific signal in disease versus control tissues (Fig. [1d](#)) revealed that [¹⁸F]ACI-12589 displayed a 2-3-fold higher signal in PD/PDD and LBV-AD, and a 30-fold higher signal in MSA.

High-resolution autoradiography visualized target engagement on single α-syn inclusions down to a resolution of ~1 μm using autoradiographic emulsion (Fig. [1e](#)). IHC staining of α-syn inclusions (Fig. [1e](#), top panel) and high-resolution autoradiography with [³H]ACI-12589 on the same sections from a series of human synucleinopathy cases (Fig. [1e](#), bottom panel) showed an extensive overlap. The weaker autoradiographic signal observed in the MSA case is most likely technical due to the lower physical retention of the photographic emulsion used in this assay on lipid-rich white matter. In contrast to the synucleinopathy samples, [³H]ACI-12589 showed only weak binding to β-amyloid using a brain homogenate from an AD post-mortem brain (Fig. [2a](#) right panel; Supplementary Fig. [4](#)), with a high K_d of approx. 300 nM and a low target occupancy compared to the positive control β-amyloid ligand [³H]PiB (K_d = 1.4 nM; Fig. [2a](#) left panel). These data measured in the direct saturation binding experiment with homogenate specifically selected to contain both β-amyloid and tau aggregates (Supplementary Fig. [4](#)), suggests that ACI-12589 has no relevant binding neither to β-amyloid nor to any of the different binding sites of tau. Selectivity over pathological tau was further assessed by high-resolution autoradiography combined with IHC for misfolded tau (Fig. [2b](#)). While the tau tracer [³H]PI-2620 showed a clear autoradiographic signal, no signal was observed with [³H]ACI-12589. Neither was any signal detected with [³H]ACI-12589 to the 4R pathological tau inclusions in PSP tissue (Supplementary Fig. [5](#)). Frontotemporal degeneration (FTD) type C tissue with TDP-43 pathology was also negative for [³H]ACI-12589 binding (Supplementary Fig. [6](#)). Taken together, these data indicate an excellent in vitro selectivity profile of ACI-12589 on α-syn versus pathological β-amyloid, tau, and TDP-43.

Fig. 2: ACI-12589 selectivity over common co-pathologies and off-target binding.



a Assessment of selectivity of $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ over β -amyloid and pathological tau aggregates. Saturation binding studies with $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ and the β -amyloid ligand $[^3\text{H}]\text{PiB}$, in AD brain-derived homogenates. Mean $\pm$ SD of three independent experiments is shown for $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$. **b** Immunofluorescence staining with MC1 antibody, labeling tau aggregates, in the entorhinal cortex of an AD patient (left). High-resolution autoradiography using $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ (60 nM) in the same tissue section (middle). The tau-binding ligand $[^3\text{H}]\text{PI-2620}$ (60 nM) was included for reference (right). Scale bars, 200 μm . Representative data of at least three independent experiments. **c** Immunofluorescence with $\alpha\text{-syn-pS129}$ antibody in brain tissue sections from AD, PSP and PD cases showing $\alpha\text{-syn}$ pathology (top panels). High-resolution ARG with $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ (60 nM) on the same sections, showing co-labeling of $\alpha\text{-syn}$ aggregates (bottom panels). Scale bars, 20 μm . Representative data of two independent experiments for AD (FC), PSP and PD#3 and data from one experiment for AD (EC) and AD (AMG). **d** Evaluation of ACI-12589 binding affinity to MAO-B in healthy control-derived brain homogenates. Competition binding studies with $[^3\text{H}]\text{L-deprenyl}$ to determine the inhibitor constant, K_i , values for deprenyl (black curve), ACI-12589 (orange curve), AV-1451 (blue curve) and THK-5351 (green curve). When two independent experiments were performed (deprenyl, ACI-12589, AV-1451), Mean $\pm$ SEM is shown. **e** Autoradiography with $[^3\text{H}]\text{ACI-12589}$ (10 nM) in human tissue from the cerebellum of an MSA donor, containing both MAO-B and pathological $\alpha\text{-syn}$ aggregates. To assess signal displacement, adjacent sections were incubated with

[³H]ACI-12589 in the presence of unlabeled ACI-12589 or Deprenyl at 1 μ M concentrations. Autoradiograms for each case are shown. Immunofluorescence staining of adjacent sections with an antibody against phosphorylated α -syn at serine 129 (pSyn-S129) or MAO-B. Scale bar at 5 mm. Representative data of two independent experiments. AD Alzheimer's disease, ARG autoradiography, cpm counts per minute, MAO-B mono-amine oxidase B, MSA multiple system atrophy, PD Parkinson's disease, PSP progressive supranuclear palsy.

[Full size image](#)

To assess whether ACI-12589 can bind to misfolded α -syn in neurodegenerative diseases (NDD) with mixed protein pathologies, high-resolution autoradiography experiments were also conducted on AD tissues containing different levels of α -syn inclusions (Fig. 2c). Interestingly, a clear co-localization between α -syn inclusions by IHC (Fig. 2c, top panel) and [³H]ACI-12589 autoradiographic signal (Fig. 2c, bottom) was observed in α -syn-positive AD tissue. A similar overlap in signal was also detected in α -syn deposits in PSP (Fig. 2c). Labeling of β -amyloid and tau by IHC of sections from AD cases are provided in Supplementary Fig. 7.

Lastly, we evaluated the potential off-target binding of ACI-12589 at a concentration of 1 μ M against a panel of more than 100 receptors and enzymes (Supplementary Fig. 8), including monoamine oxidase (MAO) A, which is a known off-target liability for brain PET tracers¹⁴. No binding of ACI-12589 to any of these proteins was detected by this method. To also rule out MAO-B binding activity, we conducted displacement assays with the radiolabeled MAO-B inhibitor [³H]deprenyl. As shown in Fig. 2d, ACI-12589 exhibited weak displacement of the MAO-B inhibitor, with a

100-fold higher K_i than deprenyl itself. We further investigated the possible interference of MAO-B with ACI-12589 binding to α -syn by performing displacement studies in the opposite configuration. These studies were performed in cerebellar tissue sections from a MSA case with both abundant α -syn pathology and elevated MAO-B expression (as shown by IHC in Fig. 2e, bottom panel). The autoradiographic signal obtained with [³H]ACI-12589 was easily displaced by unlabeled ACI-12589 but only minimally displaced by an excess of unlabeled deprenyl (Fig. 2e top panel). This suggests that the specific ACI-12589 signal was largely independent of MAO-B binding. Based on the specific in vitro binding to pathological versus physiological α -syn, as well as the good selectivity over other aggregate-prone proteins and a clean off-target profile, [¹⁸F]ACI-12589 was selected for an initial clinical evaluation.

Participants

To evaluate the performance of [¹⁸F]ACI-12589 in vivo a total of 42 participants were recruited. Participants consisted of eight healthy controls, and 23 participants with synucleinopathies, comprising eight with PD (including two with duplications of the *SNCA* gene), two with DLB, and 13 with MSA. Eleven participants with other NDDs were also recruited, comprising five AD, three PSP, and three with hereditary ataxias (two with Friedreich ataxia and one with a mutation in the *SAMD9L* gene). Participant demographics are presented in Table 1. The initial 25 scans were performed as dynamic scans with arterial blood sampling ($n = 22$) for input function and metabolite analysis. Remaining scans were performed as static scans 60–90 min post injection.

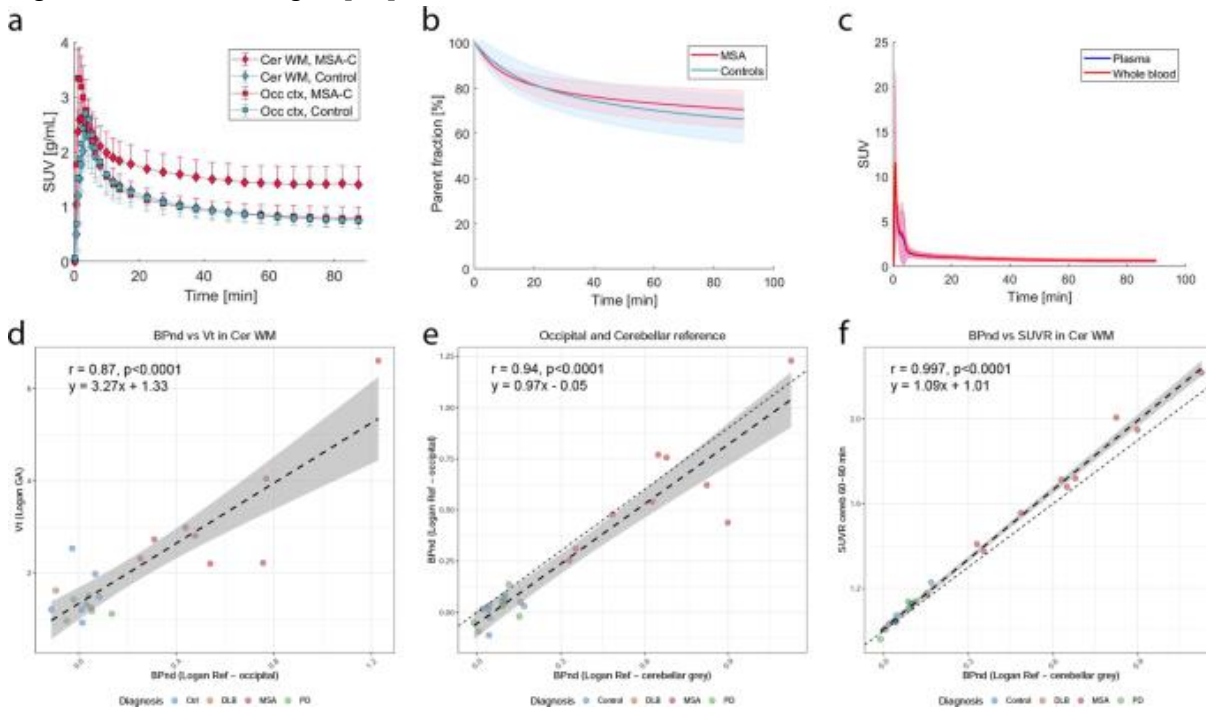
Table 1 Demographics

[Full size table](#)

In vivo kinetic analysis

Kinetic analysis indicated a rapid brain uptake and a rapid washout of radioactive [^{18}F]ACI-12589 from regions without specific binding and retention of the tracer in distinct brain structures, including the cerebellar white matter in MSA subjects (Fig. 3a and Supplementary Fig. 9a). The radiotracer showed a good stability over the time of the scan with $66.7 \pm 8.4\%$ of the parent fraction remaining at 90 min (Fig. 3b and Supplementary Fig. 9b). Mean whole blood and plasma input functions are shown in Fig. 3c. Tracer kinetics showed good fits to Ichise Multilinear analysis MA1 and Logan graphical analysis, and the resulting distribution volumes (V_T) derived with MA1 and Logan plot were in close agreement. V_T values derived by Logan graphical analysis using arterial input indicated no difference in tracer uptake between diagnostic groups in the occipital cortex or cerebellar gray matter, indicating that these regions could potentially be used as reference regions in simplified analyses (Supplementary Fig. 10a, b). Outcomes derived using arterial input functions (V_T values derived from Logan graphical analysis) and reference tissues BP_{ND} (SRTM or Logan reference) were well correlated ($R = 0.87$; Fig. 3d and Supplementary Fig. 10c). The retention of the tracer in the occipital cortex and cerebellar gray matter were highly correlated, using the Logan reference model (Fig. 3e and Supplementary Fig. 10d). Moreover, simplified analyses using standardized uptake value ratio with a cerebellar cortex reference region ($SUVR_{\text{cer}}$) showed linear relationships to the Logan reference binding potential (BP_{ND}) values, indicating that $SUVR_{\text{cer}}$ values derived from 30-min static scans in the 60–90-min time interval after injection can be used to estimate [^{18}F]ACI-12589 tracer retention (Fig. 3f and Supplementary Fig. 10e).

Fig. 3: Kinetic modeling of [^{18}F]ACI-12589 in vivo.



a Time activity curves for cerebellar white matter (diamonds) and occipital cortex (squares) in MSA (red, $n = 6$) and control participants (blue, $n = 7$) over the course of the PET scan (mean $\pm$ SD). **b** Parent fractions for MSA (red, $n = 6$) and control subjects (blue; $n = 7$; mean $\pm$ SD). **c** Whole blood (red) and plasma (blue) input functions. **d** Comparison of V_T s in the cerebellar white matter derived from blood input Logan graphical analysis and Logan reference BP_{ND} values in the cerebellar white matter using an occipital reference region. R -value 0.87 (95% C.I. [0.71–0.95]) derived using Pearson's correlation ($t = 7.9643$, $df = 20$, p value = $1.2e-07$). **e** Comparison of Logan reference BP_{ND} values in the cerebellar white matter with occipital and cerebellar reference regions. The cerebellar reference region shows slightly higher BP_{ND} values in comparison to the occipital reference. R -value 0.94 (95% C.I. [0.87–0.97]) derived using Pearson's correlation ($t = 13.401$, $df = 23$, p value = $2.4e-12$). **f** Comparison of $SUVR_{\text{cer}}$ values in the cerebellar white matter in the 60–90 min time interval with Logan reference BP_{ND} values, showing a linear relationship. R -value 0.997 (95% C.I. [0.992–0.998]) derived using Pearson's correlation ($t = 57.186$, $df = 23$, p value < $2.2e-16$). The error bands in

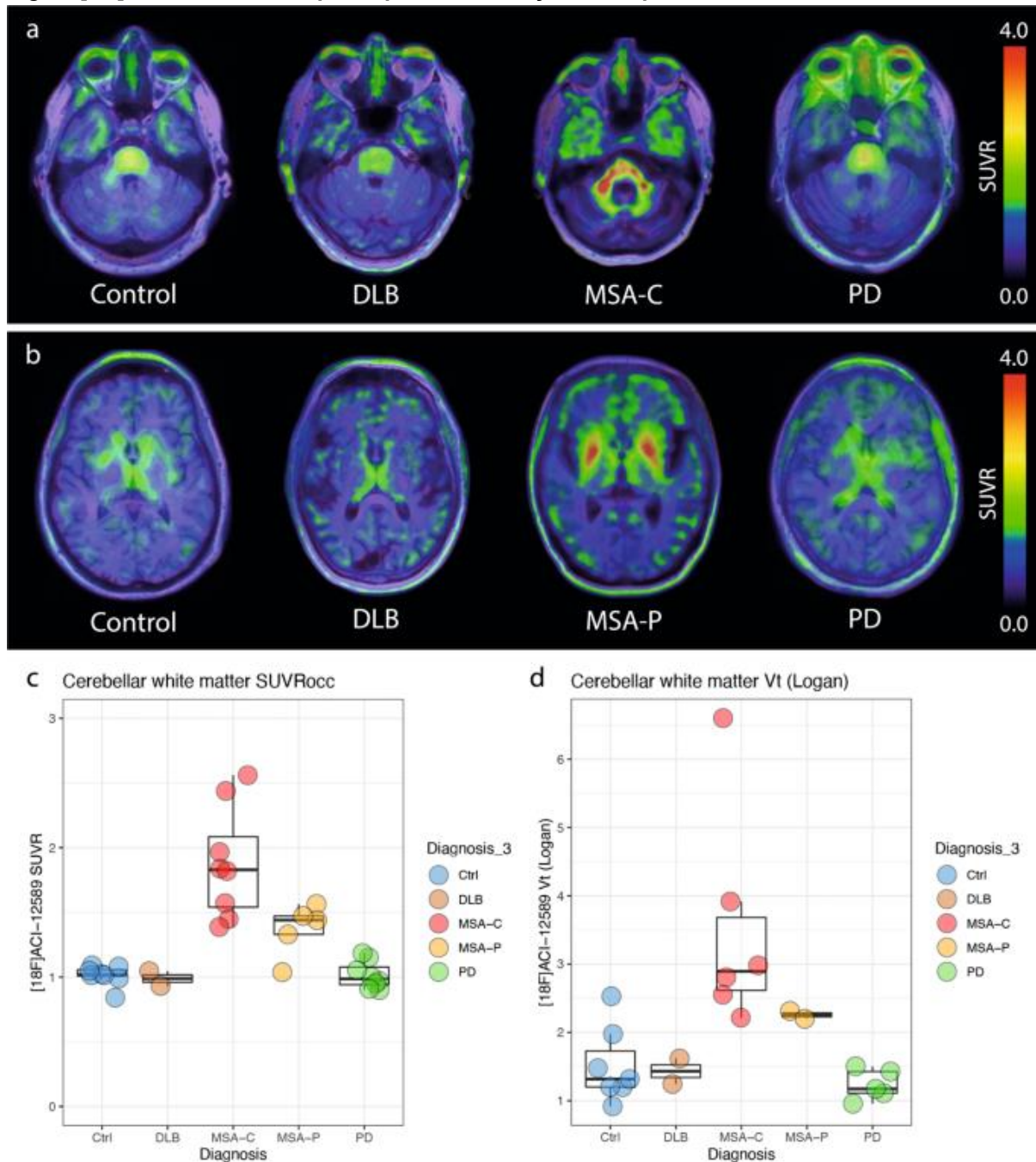
(d–f) represent the 95% C.I. of the dashed linear regression line. BP_{ND} non-displaceable binding potential, Cer WM cerebellar white matter, DLB dementia with Lewy bodies, Logan GA Logan graphical analysis model, Logan Ref Logan reference tissue model, MSA multiple system atrophy, MSA-C multiple system atrophy with a cerebellar phenotype, PD Parkinson's disease, SUV standardized uptake value, $SUVR_{cer}$ Standardized uptake value ratio, with a cerebellar gray matter reference region, V_T volume of distribution.

[Full size image](#)

In vivo retention in synucleinopathies

Representative images of transverse sections through the cerebellum and at the level of the lenticular nuclei in control, PD, DLB and MSA participants are shown in Fig. [4a, b](#) (additional images for all controls and MSA participants are presented in Supplementary Figs. [11](#) and [12](#)). In participants with MSA, there was a significantly increased retention of the [^{18}F]ACI-12589 radiotracer in the cerebellar white matter (Fig. [4c, d](#)) compared to healthy controls (MSA: 1.68 ± 0.44 , Controls 1.01 ± 0.08 ; Wilcoxon rank sum test $p < 0.0001$) and participants with Lewy body disease (LBD = PD and DLB 1.01 ± 0.10 ; Wilcoxon rank sum test $p < 0.0001$) with no overlap between MSA-C and the LBD groups. The retention in the cerebellar white matter was higher in participants with MSA-C compared to MSA-P (MSA-C 1.88 ± 0.43 , MSA-P 1.37 ± 0.20 , Wilcoxon rank sum test $p = 0.02$). Similar results were obtained for the middle cerebellar peduncles (Supplementary Fig. [13a](#)). Moreover, the MSA-P participants exhibited an increased retention of [^{18}F]ACI-12589 in the lentiform nuclei that was not seen in MSA-C participants without parkinsonian features (Supplementary Fig. [13b](#); MSA-P vs controls, LBD and MSA-C, Wilcoxon rank sum test all $p < 0.05$).

Fig. 4: [^{18}F]ACI-12589 PET in participants with α -synucleinopathies.

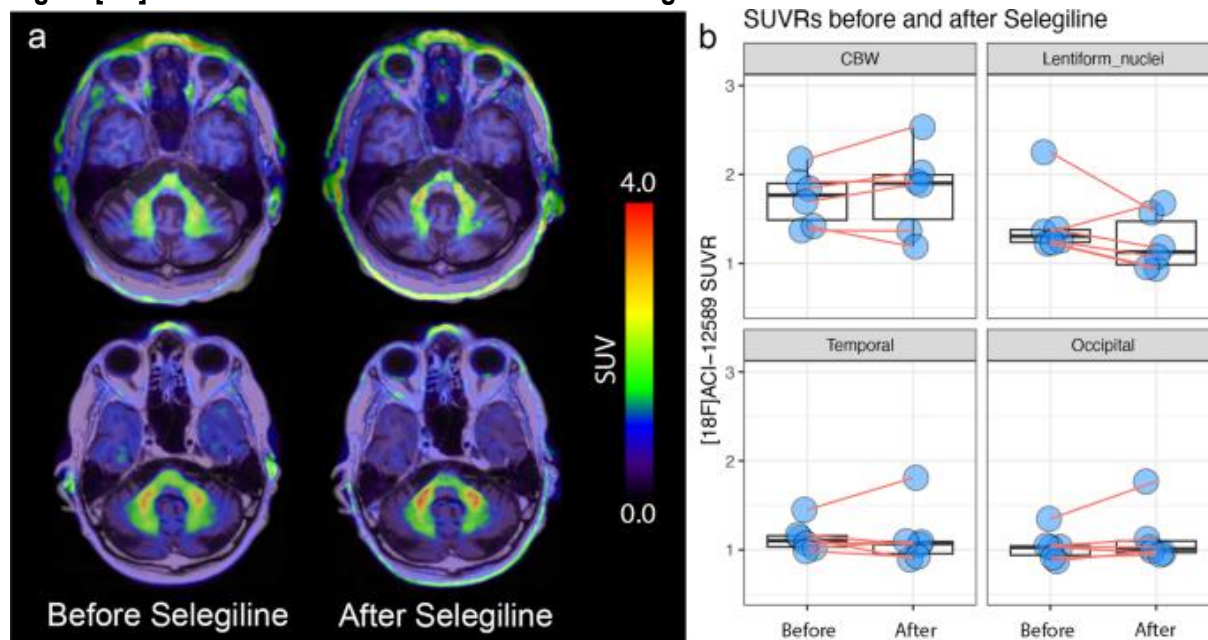


a Transversal images at the level of the middle cerebellar peduncles in a control participant, and patients with DLB, MSA-C and PD. **b** Transversal images at the level of the basal ganglia in a control participant, and patients with DLB, MSA-P and PD. SUVR images for (**a**, **b**) have been created using occipital cortex as a reference region. **c** SUVR values in the cerebellar white matter in the different disease groups (Ctrl $n = 8$, DLB $n = 2$, MSA-C $n = 8$, MSA-P $n = 5$, PD $n = 8$). **d** V_t values derived from Logan graphical analysis modeling in the cerebellar white matter in the different disease groups with available blood and dynamic PET data. Boxplots show median, IQR (box) and whiskers ($Q1 - 1.5 \cdot IQR / Q3 + 1.5 \cdot IQR$ or minimum/maximum value, outliers not included) (Ctrl $n = 7$, DLB $n = 2$, MSA-C $n = 6$, MSA-P $n = 2$, PD $n = 5$). DLB dementia with Lewy bodies, MSA-C multiple system atrophy with a cerebellar phenotype, MSA-P multiple system atrophy with a parkinsonian phenotype, occ occipital cortex reference region, PD Parkinson's disease, SUVR standardized uptake value ratio, V_t volume of distribution.

[Full size image](#)

Overall, however, the retention of [^{18}F]ACI-12589 in the basal ganglia was more difficult to interpret because of the variable levels of retention between subjects, as well as visible levels of basal ganglial signal in some participants with PD, but also in a subset of healthy controls (Supplementary Fig. 13b). A tendency for a lower retention was observed in the basal ganglia of PD participants on MAO-B inhibitors, raising the possibility that a fraction of the [^{18}F]ACI-12589 binding in the basal ganglia could be MAO-B-related (Supplementary Fig. 11). To elucidate whether the MSA-specific signal could be explained by off-target binding to MAO-B, six of the MSA-participants (5 MSA-C and 1 MSA-P) were rescanned after blocking MAO-B with 10 mg selegiline daily for 6 days (Fig. 5). No reduction of the cerebellar white matter signal with selegiline pre-treatment (SUVR change: $2 \pm 10\%$, Wilcoxon signed rank test $p = 0.18$) was observed, indicating that this signal was not attributable to MAO-B. In the lentiform nuclei, a considerable inter-subject variability was noted, with an overall $17 \pm 16\%$ (Wilcoxon signed rank test $p = 0.47$) decrease in the SUVR signal after selegiline administration. Although this suggests limited off-target binding to MAO-B in the basal ganglia overall, further analyses will be required to understand whether this may be condition- and/or subregion-specific.

Fig. 5: [^{18}F]ACI-12589 retention before and after Selegiline.



a shows SUV images from two participants with MSA-C before (left) and after (right) treatment for 6 days with 10 mg Selegiline. **b** shows changes in SUVR before and after treatment ($n = 6$) in Cerebellar white matter (CBW), Lentiform Nuclei (summed bilateral putamen and globus pallidus), Temporal cortex and Occipital cortex. Boxplots show median, IQR (box) and whiskers ($Q1 - 1.5 \cdot IQR / Q3 + 1.5 \cdot IQR$ or minimum/maximum value, outliers not included). CBW cerebellar white matter, SUV standardized uptake value, SUVR standardized uptake value ratio.

[Full size image](#)

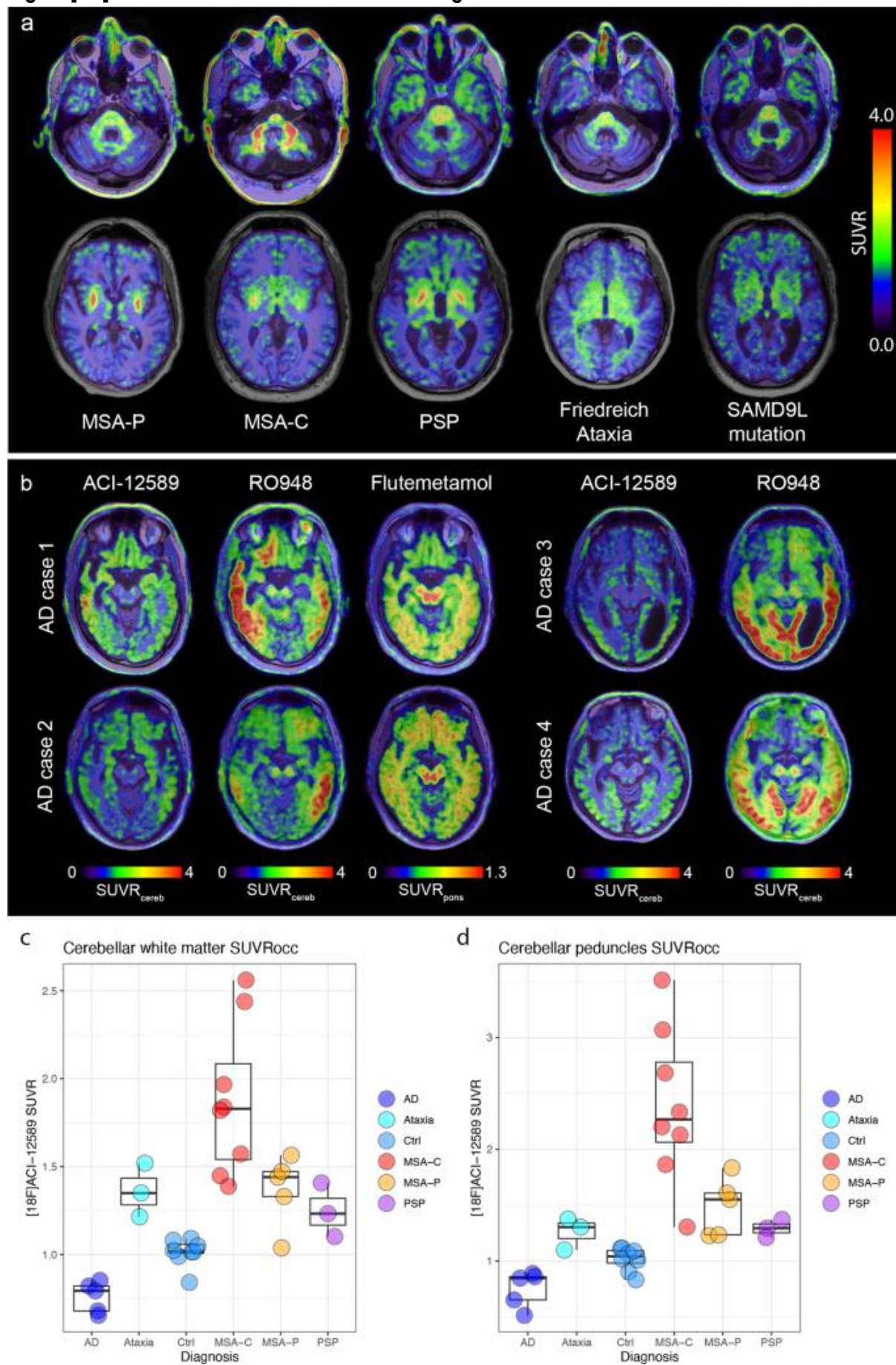
We did not detect an increased retention of the tracer in the brainstem or in the cerebral cortex of sporadic PD or DLB participants (Supplementary Fig. 13c, d, g, h). In the two participants with familial PD due to an SNCA duplication (one very early symptomatic and one with parkinsonism and mild cognitive impairment [MCI]), retention signals were observed above control levels in the pons as well as in the upper range of controls in the midbrain and cerebral cortex (Supplementary Fig. 14). Interestingly, the cortical retention was more pronounced in the case with MCI, where a more widespread α -syn pathology might be expected based on clinical symptoms.

Taken together, these data indicate that the signal observed in the cerebellar white matter and peduncles differentiates MSA cases from controls and other synucleinopathies and, based on its spatial distribution, identifies an underlying α -syn pathology.

In vivo retention in other neurodegenerative diseases

As a next step, the retention of [^{18}F]ACI-12589 in other NDDs was investigated to evaluate whether its binding was unique to MSA. We included participants with PSP (as it is a key differential diagnostic entity to MSA), hereditary cerebellar ataxias (as they also affect the cerebellum; Fig. [6a](#)) and AD (as AD cause widespread neurodegeneration; Fig. [6b](#)). In PSP, we detected some uptake in subregions of the basal ganglia overlapping with the retention in MSA (Fig. [6a](#) and Supplementary Figs. [11](#) and [13b](#)). In the ataxia participants, retention was observed in the cerebellar white matter and cerebellar peduncles, the levels of which were within the lower range of signals observed in MSA patients (Fig. [6c, d](#)). In AD cases, retention of [^{18}F]ACI-12589 was observed in the cerebral cortex, with lower levels in the cerebellum. Interestingly, the regions of increased cortical retention were correlated to, albeit not completely overlapping with, areas of tau tracer ([^{18}F]RO948) uptake (Fig. [6b](#) and Supplementary Fig. [15a–d](#)). In contrast, only a weak correlation between the retention of [^{18}F]ACI-12589 with β -amyloid ([^{18}F]flutemetamol) PET was observed (Fig. [6b](#) and Supplementary Fig. [15e, f](#)).

Fig. 6: [^{18}F]ACI-12589 retention in other neurodegenerative disorders.



a transversal images at the level of the middle cerebellar peduncles (upper row) and the basal ganglia (bottom row) in representative patients with MSA-C, MSA-P, PSP, Friedreich Ataxia and cerebellar ataxia due to a *SAMD9L* mutation. SUVR images in (**a**) have been created using occipital cortex as reference region. **b** transversal images at the level of the substantia nigra in patients with AD using [^{18}F]ACI-12589, [^{18}F]RO948 (tau), and [^{18}F]Flutemetamol (β -amyloid) as indicated above. SUVR images were generated using a cerebellar (ACI-12589 and RO948) or pons (Flutemetamol) reference region. **c** SUVR_{occ} values in the cerebellar white matter in the different disease groups. **d** SUVR_{occ} values in the middle cerebellar peduncles in the different disease groups. Boxplots show median, IQR (box) and whiskers ($Q1 - 1.5 \cdot \text{IQR}/Q3 + 1.5 \cdot \text{IQR}$ or minimum/maximum value, outliers not included). *N*—numbers for (**c**, **d**): AD *n* = 5, Ataxia *n* = 3, Ctrl *n* = 8, MSA-C *n* = 8, MSA-P *n* = 5, PSP *n* = 3). AD Alzheimer's disease, Ataxia cerebellar ataxias (Friedreich Ataxia and cerebellar ataxia due to a *SAMD9L* mutation), cereb cerebellar gray matter reference region, Ctrl control subjects, MSA-C multiple system atrophy with a cerebellar phenotype, MSA-P multiple system atrophy with a parkinsonian phenotype, PSP progressive supranuclear palsy, SUVR_{occ} SUVR with an occipital cortex reference region, SUVR standardized uptake value ratio.

[Full size image](#)

Discussion

A PET ligand to detect α -syn pathology in vivo has long been an unmet clinical need. The major obstacle to this achievement has been the identification of ligands capable of selectively detecting α -syn inclusions, which are present at a much lower density than other targets, such as pathological β -amyloid or tau¹⁰. We report here the preclinical and initial clinical characterization of ACI-12589, which has demonstrated: (i) that it is possible to visualize brain α -syn pathology in patients by PET and, (ii) that this signal can differentiate MSA cases from controls and other NDD cases.

The in vitro properties of ACI-12589 indicate that the tracer binds specifically to α -syn with K_d values of 33.5 ± 17.4 nM, while showing good selectivity versus β -amyloid and tau. Ex vivo, target engagement was demonstrated to α -syn inclusions present both as primary pathology, such as in MSA, PD, DLB and PDD tissues, but also as co-pathology, such as in AD and PSP tissues. Finally, in patients, a high PET signal for [^{18}F]ACI-12589 was observed in the cerebellar white matter and middle cerebellar peduncles in participants with both MSA dominated by cerebellar ataxia (MSA-C) and MSA dominated by parkinsonism (MSA-P). The retention in cerebellar structures was higher in participants with cerebellar and brain stem symptoms (MSA-C) as compared to MSA-P. Tracer uptake was also observed in the lentiform nuclei of participants with MSA-P, indicative of a basal ganglia involvement. The uptake thus correlated well with the expected distribution of α -syn pathology in both MSA subtypes^{6,15}. The present results are congruent with a short report describing differential binding patterns of the α -syn radiotracer [^{18}F]SPAL-T-06 in a limited study of four participants, three with MSA and one control¹⁶. In contrast to the previous report, the present study describes a large body of work that extends our initial observations presented in conference proceedings¹⁷ and establishes the use of α -syn targeting tracers, such as [^{18}F]ACI-12589, to demonstrate a specific and reproducible pattern of pathology in patients with both MSA-P and MSA-C subtypes.

[^{18}F]ACI-12589 retention in the cerebellar white matter and cerebellar peduncles clearly distinguished participants with MSA from controls and participants with PD or DLB. No region-specific retention was observed in PD or DLB. There are several potential explanations for the lack of clear retention of [^{18}F]ACI-12589 in PD and DLB. One likely reason is the lower density of α -syn pathology in these disorders compared to MSA¹⁸. This notion is supported by elevated [^{18}F]ACI-12589 retention found in the familial PD cases due to α -syn (*SNCA*) gene duplication, who are expected to exhibit a more dense and widespread α -syn pathology compared to idiopathic PD cases^{18,19}. Interestingly, one of the monogenic PD cases with *SNCA* duplication who exhibited cognitive impairment, also displayed some cortical retention of [^{18}F]ACI-12589 which is consistent with the expected pathologic burden underlying this phenotype. Nonetheless, studies in

additional non-MSA synucleinopathy cases with different expected α -syn loads and distribution patterns will be needed to draw any firm conclusions. Another possible explanation for the low binding in PD/DLB is potential differences in the conformation of the α -syn aggregates in idiopathic PD/DLB compared to MSA. Such differences have been recently described at a molecular level by cryo-EM^{7,8,9}, and are also reported based on the recently developed RT-QulC seeding amplification assays^{8,9}. Additionally, differences in α -syn isoform expression and post-translational modifications between the different synucleinopathies²⁰ could potentially explain differences in [¹⁸F]ACI-12589 retention.

When comparing MSA cases with participants with other NDDs, such as hereditary ataxias, PSP and AD, some tracer retention was observed in disease-affected brain areas even in the non-MSA cases. The reasons for this retention are not fully clear and off-target binding to another neurodegenerative process or the presence of α -syn co-pathologies are potential and not mutually exclusive explanations. The presence of multiple co-pathologies is a known feature in NDDs²¹, and α -syn deposits are frequently found in AD, but also reported in PSP, among others^{22,23,24}. The premise that the observed PET signal could in part be α -syn-related is further supported by data showing that ACI-12589 can bind to α -syn co-pathology in AD and PSP tissues *ex vivo*. Although ACI-12589 has a clean off-target profile *in vitro*, we cannot rule out that some of the disease-related signal *in vivo* represent off-target binding. We have, however, considered some of the most likely contributors associated with neuroinflammatory or neurodegenerative processes. An established *in vivo* paradigm of blocking MAO-B with selegiline²¹ showed no interference with [¹⁸F]ACI-12589 retention in the cerebellar white matter in MSA, speaking against a meaningful contribution of MAO-B binding to the observed PET signal in this region. *In vitro* data also characterized possible MAO-B binding as limited. Nonetheless, we cannot rule out a contribution of MAO-B to the retention of [¹⁸F]ACI-12589, particularly in high MAO-B-expressing areas such as the basal ganglia. We found a colocalization and significant correlation between [¹⁸F]ACI-12589 and [¹⁸F]RO948 (a tau-PET ligand) *in vivo* in AD. Similarly in PSP, [¹⁸F]ACI-12589 retention matched the expected distribution of tau pathology. As no target engagement of ACI-12589 to tau neurofibrillary tangles was reported *ex vivo*, it is unlikely that binding to pathological tau is the primary source for this PET signal. Possibly, the co-localization of [¹⁸F]ACI-12589 and [¹⁸F]RO948 signals might reflect off-target binding to a neurodegenerative process downstream of tau. The exact nature of the binding of this PET ligand in different NDDs will be a focus of future work.

As the first scans in humans, the aim of the present work was to understand the utility of [¹⁸F]ACI-12589 as a PET tracer for α -syn-mediated NDDs, which led to the discovery of its capacity to significantly discriminate MSA cases. The main limitation of this study is the relatively low number of participants, particularly for synucleinopathies other than MSA and other NDDs. Therefore, results concerning binding in these diseases should be considered preliminary. Similarly, the low and variable binding in sporadic PD merits further in-depth studies with larger patient cohorts. Strengths of the study are the extensive preclinical characterization of ACI-12589 and the *in vitro* data supporting α -syn specificity and selectivity, the dynamic scanning with arterial blood sampling and kinetic modeling of the *in vivo* performance of the radiotracer, as well as the relatively large cohort of MSA participants recruited.

In conclusion, the present results indicate that [¹⁸F]ACI-12589 could be used to improve the diagnostic work-up of MSA, leading to an earlier diagnosis. Furthermore, these findings indicate that α -syn tracers could allow detection of drug target engagement *in vivo* in clinical trials of novel α -syn targeting therapies.

Methods

Human brain samples

Post-mortem frozen tissue blocks from different brain regions of control donors and donors with confirmed α -syn pathology were acquired from the Netherlands Brain Bank (NBB; Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam (open access www.brainbank.nl)), Queen Square Brain Bank (QSBB), Banner Health Institute Brain & Tissue Bank, and

commercial providers (Tissue Solutions Ltd., Glasgow, UK). All tissues have been collected from donors for or from whom a written informed consent for a brain autopsy and the use of the material and clinical information for research purposes had been obtained. The QSBB is supported by the Reta Lila Weston Institute of Neurological Studies, UCL Queen Square Institute of Neurology. Tissues included one familial Parkinson's disease (PD) case with a mutation (G51D) in the Synuclein Alpha (SNCA) gene, one sporadic PD case, two PD dementia cases, three MSA cases, one Lewy body variant Alzheimer's disease (LBV-AD), one AD and one PSP case. Demographics of the donors are summarized and neuropathology reports in Supplementary Tables 4 and 5. Frozen tissue blocks from the frontal cortex, entorhinal cortex, amygdala, basal ganglia and cerebellum of patients and control cases were processed using a cryotome to generate 10 μ m sections that were mounted on glass slides. Sections were kept at -80 °C until use. The presence or absence of pathological α -syn aggregates in tissue sections from α -synucleinopathy or control donors, respectively, was confirmed by immunostaining. Sections were counterstained with Toluidine blue (TB) to differentiate the gray versus white matter.

Immunofluorescence staining

Sections were fixed for 15 min at 4 °C with 4% formaldehyde (Sigma, 252549) and washed three times 5 min with 1 $\times$ PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, Sigma D1408) at room temperature (RT). Next, sections were blocked and permeabilized in blocking buffer (PBS, 10% NGS, 0.25% Triton X-100) for 1 h at RT and incubated overnight at 4 °C with an antibody specific for phosphoserine 129 α -syn (α -syn-pS129, 1:500, Abcam 51253), or the conformation-dependent anti-Tau antibody (MC1, 1:200), or anti-pTDP-43 pS409/410 (Biolegend, 829901, 1:500), or an antibody against MAO-B (ThermoFisher, PA5-28338, 1:500). The following day, sections were washed three times 5 min with 1 $\times$ PBS before incubation with a secondary, AlexaFluor647-labeled goat-anti-rabbit antibody (Abcam, ab150079, 1:500) or goat-anti-mouse antibody (Jackson ImmunoResearch, 115-605-166, 1:500) or AlexaFluor633-labeled goat-anti-rat antibody (Invitrogen, A-21094, 1:500). Following incubation with secondary antibody the sections were washed three times in PBS. For image acquisition, sections were mounted using ProLong Gold Antifade reagent (Invitrogen P36930) and imaged on a Panoramic250 Slide Scanner (3DHistech) with a $\times$ 20 objective.

[¹⁸F]ACI-12589 and [³H]ACI-12589 autoradiography

[¹⁸F]ACI-12589 was synthesized as described below. Frozen human sections were first equilibrated for 30 min in assay binding buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 0.1% BSA] and then incubated with 1.8 nM [¹⁸F]ACI-12589 (specific activity 11.1 GBq/ μ mol) in assay binding buffer for 60 min at RT or with 10 nM [³H]ACI-12589 or increasing concentrations of [³H]ACI-12589 in the range of 1.25 nM to 80 nM (specific activity 51.1 Ci/mmol) in assay binding buffer for 120 min at RT. To determine non-specific binding (NSB), adjacent brain sections were incubated with [¹⁸F]ACI-12589 mixed with 10 μ M of unlabeled ACI-12589 or with [³H]ACI-12589 mixed with 5 μ M of unlabeled ACI-12589. To assess potential competition between [³H]ACI-12589 and Deprenyl for binding to MAO-B, 10 nM [³H]ACI-12589 was mixed with 1 μ M of unlabeled Deprenyl or ACI-12589, respectively.

For [¹⁸F]ACI-12589 autoradiography, slides were washed three times for 5 min in washing buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.4) at 4 °C] and then, dipped briefly in distilled water. For [³H]ACI-12589 autoradiography, slides were washed sequentially in washing buffer for 1 min; twice in ice-cold PBS for 1 min; and in washing buffer for 1 min.

For [¹⁸F]ACI-12589 autoradiography, slides were allowed to air-dry before being placed under Phosphor imaging screens (Fujifilm Plate BAS-TR2025, Fujifilm, Tokyo, Japan) in imaging cassettes for 55 min. Imaging screens were scanned using a phosphor imaging system (Fujifilm BAS-5000 phosphor imager, Tokyo, Japan) and resulting images were analyzed using Multi Gauge 3.2 phosphor imager software (Fujifilm, Tokyo, Japan) for ROI delimitation and quantification and GraphPad Prism v7 for analyses. Specific binding was determined by subtracting the non-specific

signal from the total signal. When artifacts were present, appearing as randomly placed black dots in some of the samples, they were excluded from the analyses. The ratio of specific signal in diseased versus control tissues was determined by dividing the specific signal in the diseased tissue over the average (if several cases were tested) specific signal in the control tissue for each brain region.

For [³H]ACI-12589 autoradiography, slides were allowed to air-dry before being exposed and scanned in a real-time autoradiography system (BeaQuant instrument, ai4R) for 2 h. ROI delimitation and quantification of signal was performed by using the image analysis software Beamage (ai4R). Specific binding was determined by subtracting the non-specific signal (NSB) from the total signal. K_d (dissociation constant) values were calculated in GraphPad Prism v7 by applying a nonlinear regression curve fit using a one site, specific binding model.

Assessment of target engagement of [³H]ACI-12589 by high-resolution micro-autoradiography

The protocol was adapted from Marquie et al.²⁵. Sections were incubated with 60 nM of [³H]ACI-12589 or [³H]PI-2620 for one hour at room temperature (RT). Sections were then washed as follows: One time in ice-cold 50 mM Tris-HCl pH 7.4 buffer for 1 min, two times in 70% ice-cold ethanol for 1 min, one time in ice-cold 50 mM Tris-HCl pH 7.4 buffer for 1 min and finally rinsed briefly in ice-cold distilled water. Sections were subsequently dried and then exposed to Ilford Nuclear Emulsion Type K5 (Agar Scientific, AGP9281) in a light-proof slide storage box. The sections were developed by immersing them successively in the following solutions: (1) Ilford Phenisol Developer (Agar Scientific, AGP9106), (2) Ilfostop solution (Agar Scientific, AGP9104), (3) Ilford Hypam Fixer (Agar Scientific, AGP9183) and finally rinsed with H₂O. Immunostaining was also performed on the same section using an antibody specific for phosphorylated serine at amino acid 129 α -synuclein (α -syn-pS129, Abcam 51253), as described above. For image acquisition, sections were mounted using ProLong Gold Antifade reagent (Invitrogen P36930) and imaged on a Panoramic150 Slide Scanner (3DHistech) with a $\times 20$ objective.

Participants and PET-imaging

Thirteen MSA, three PD—two of which carried a duplication in the α -syn (*SNCA*) gene²⁶, two DLB, three PSP, five AD, two with Friedreich Ataxia²⁷ and one with a mutation in the *SAMD9L* gene²⁸, as well as three normal control participants were recruited at the Memory Clinic and the Department of Neurology, Skåne University Hospital, Sweden (Sept 2021–May 2022) whereas five PD patients and five normal controls were recruited by Invicro, LLC (New Haven, Connecticut, USA). Both males and females were recruited to the study. 30 participants were assigned a male sex and 12 a female sex. Participants were not asked for gender identity or self-reported sex. No sex or gender-based sub-analysis of the results was performed due to the low number of participants. MSA participants fulfilled criteria for probable or possible MSA according to the 2008 Gilman-criteria²⁹. LBD participants fulfilled National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) diagnostic criteria for PD³⁰, or the McKeith-criteria for DLB². AD participants fulfilled DSM-V criteria for dementia due to AD and PSP participants 2017 Movement disorder society criteria for PSP³¹. Written informed consent was obtained from all participants prior to entering the study. The study was approved by the Swedish Ethical Review Authority. Participants were compensated for travel expenses.

Twenty-five participants underwent dynamic scans 0–90 min after injection of 305 ± 39 MBq [¹⁸F]ACI-12589 on a GE Discovery MI digital PET/CT scanner (Lund) or a ECAT EXACT HR+ scanner (Invicro, LLC). Arterial blood samples for plasma input function and metabolite analysis were collected in 22/25 participants with dynamic scans. Image data was collected in LIST-mode and were reconstructed into 6×30 s, 4×60 s, 4×120 s, 15×300 s time frames. The remaining 19 participants underwent static scans (6×5 min frames) in the 60–90 min time interval post injection. Images were reconstructed using a VPFX-S (ordered subset expectation maximization combined with corrections for time-of-flight and point spread function) algorithm, with 6 iterations and 17 subsets, 3 mm smoothing in plane smoothing, standard Z

filter, and a 25.6-cm field of view (256 × 256 matrix)¹². PET-images were motion corrected and co-registered to T1-MPRAGE MRI images using Pmod 3.7 (Pmod Ltd, Zürich, Switzerland). Regions of interest (ROIs) were defined using the Automated Anatomical Labeling (AAL) atlas as implemented in Pmod 3.7. The middle cerebellar peduncles were manually delineated on the MRI (Supplementary Fig. 16). The co-registration between MRI and PET images was checked manually and the ROIs in subcortical structures in the brain were manually adjusted for all subjects (using the MRI data only) to exclude cerebrospinal fluid from the ROIs. Kinetic analysis was performed using Pmod 3.7 and using an in-house developed kinetic pipeline as described in the Supplementary Information.

Radiosynthesis, metabolite and radioactivity analysis

The radiosynthesis of [¹⁸F]ACI-12589, quality control, blood sampling and metabolite analysis is detailed in the Supplementary Methods, in Supplementary Table 3 and Supplementary Fig. 17.

Statistics

All statistical tests were two-tailed with a significance level of 0.05. Kruskal–Wallis and Wilcoxon rank sum tests were used for group comparisons. Wilcoxon signed rank tests were used for paired comparisons. Correlations were calculated as Pearson correlations. All analyses were performed using the R programming language (v 4.0.3).

Reporting summary

Further information on research design is available in the [Nature Portfolio Reporting Summary](#) linked to this article.

Data availability

Anonymized data will be shared by request from a qualified academic investigator for the sole purpose of replicating procedures and results presented in the article and if data transfer is in agreement with EU legislation on the general data protection regulation and decisions by the Swedish Ethical Review Authority, which should be regulated in a material transfer agreement. [Source data](#) are provided with this paper.

References

1. Hansson, O. Biomarkers for neurodegenerative diseases. *Nat. Med.* **27**, 954–963 (2021).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
2. McKeith, I. G. et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth Consensus Report of the DLB Consortium. *Neurology* **89**, 88–100 (2017).
[Article](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
3. Fanciulli, A. et al. Multiple system atrophy. *Int. Rev. Neurobiol.* **149**, 137–192 (2019).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
4. Miki, Y. et al. Improving diagnostic accuracy of multiple system atrophy: a clinicopathological study. *Brain* **142**, 2813–2827 (2019).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
5. Goedert, M., Spillantini, M. G., Del Tredici, K. & Braak, H. 100 years of Lewy pathology. *Nat. Rev. Neurol.* **9**, 13–24 (2013).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
6. Brettschneider, J. et al. Progression of alpha-synuclein pathology in multiple system atrophy of the cerebellar type. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **43**, 315–329 (2017).

- [Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
7. Schweighauser, M. et al. Structures of alpha-synuclein filaments from multiple system atrophy. *Nature* **585**, 464–469 (2020).
[Article](#) [ADS](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
 8. Shahnawaz, M. et al. Discriminating alpha-synuclein strains in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Nature* **578**, 273–277 (2020).
[Article](#) [ADS](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
 9. Singer, W. et al. Alpha-synuclein oligomers and neurofilament light chain in spinal fluid differentiate multiple system atrophy from lewy body synucleinopathies. *Ann. Neurol.* **88**, 503–512 (2020).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
 10. van Dyck, C. H. et al. Lecanemab in early Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **388**, 9–21 (2023).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 11. Brendel, M. et al. Assessment of 18F-PI-2620 as a biomarker in progressive supranuclear palsy. *JAMA Neurol.* **77**, 1408–1419 (2020).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 12. Leuzy, A. et al. Diagnostic performance of RO948 F 18 tau positron emission tomography in the differentiation of Alzheimer disease from other neurodegenerative disorders. *JAMA Neurol.* **77**, 955–965 (2020).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 13. Ossenkoppele, R. et al. Discriminative accuracy of [18F]flortaucipir positron emission tomography for Alzheimer disease vs other neurodegenerative disorders. *JAMA* **320**, 1151–1162 (2018).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
 14. Harada, R. et al. Imaging of reactive astrogliosis by positron emission tomography. *Front. Neurosci.* **16**, 807435 (2022).
[Article](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
 15. Jellinger, K. A., Seppi, K. & Wenning, G. K. Grading of neuropathology in multiple system atrophy: proposal for a novel scale. *Mov. Disord.* **20**, S29–S36 (2005).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 16. Matsuoka, K. et al. High-contrast imaging of alpha-synuclein pathologies in living patients with multiple system atrophy. *Mov. Disord.* **37**, 2159–2161 (2022).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
 17. Smith, R. et al. Initial clinical scans using [18F]ACI-12589, a novel α -synuclein PET-tracer. *Alzheimers Dement.* **18**, e065394 (2022).
[Article](#) [Google Scholar](#)
 18. Tong, J. et al. Brain alpha-synuclein accumulation in multiple system atrophy, Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: a comparative investigation. *Brain* **133**, 172–188 (2010).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 19. Konno, T., Ross, O. A., Puschmann, A., Dickson, D. W. & Wszolek, Z. K. Autosomal dominant Parkinson's disease caused by SNCA duplications. *Parkinsonism Relat. Disord.* **22**, S1–S6 (2016).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 20. Brudek, T. et al. Altered alpha-synuclein, parkin, and synphilin isoform levels in multiple system atrophy brains. *J. Neurochem.* **136**, 172–185 (2016).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
 21. Villemagne, V. L. et al. First-in-humans evaluation of (18)F-SMBT-1, a novel (18)F-labeled monoamine oxidase-B PET tracer for imaging reactive astrogliosis. *J. Nucl. Med.* **63**, 1551–1559 (2022).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

22. Popescu, A., Lippa, C. F., Lee, V. M. & Trojanowski, J. Q. Lewy bodies in the amygdala: increase of alpha-synuclein aggregates in neurodegenerative diseases with tau-based inclusions. *Arch. Neurol.* **61**, 1915–1919 (2004).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
23. Robinson, J. L. et al. Neurodegenerative disease concomitant proteinopathies are prevalent, age-related and APOE4-associated. *Brain* **141**, 2181–2193 (2018).
[Article](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
24. Chung, E. J. et al. Clinical features of Alzheimer disease with and without Lewy bodies. *JAMA Neurol.* **72**, 789–796 (2015).
[Article](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
25. Marquie, M. et al. Validating novel tau positron emission tomography tracer [F-18]-AV-1451 (T807) on postmortem brain tissue. *Ann. Neurol.* **78**, 787–800 (2015).
[Article](#) [MathSciNet](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
26. Puschmann, A. et al. Alpha-synuclein multiplications with parkinsonism, dementia or progressive myoclonus? *Parkinsonism Relat. Disord.* **15**, 390–392 (2009).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
27. Ygland, E. et al. Atypical Friedreich ataxia in patients with FXN p.R165P point mutation or comorbid hemochromatosis. *Parkinsonism Relat. Disord.* **20**, 919–923 (2014).
[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
28. Goricenco, S. et al. Ataxia-pancytopenia syndrome with SAMD9L mutations. *Neurol. Genet.* **3**, e183 (2017).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
29. Gilman, S. et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology* **71**, 670–676 (2008).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)
30. Gelb, D. J., Oliver, E. & Gilman, S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch. Neurol.* **56**, 33–39 (1999).
[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)
31. Hoglinger, G. U. et al. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: the movement disorder society criteria. *Mov. Disord.* **32**, 853–864 (2017).
[Article](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

[Download references](#)

Acknowledgements

Work at Skåne University Hospital and Lund University was supported by the Michael J Fox Foundation (MJFF-019169), the Swedish Research Council (2022-00775), ERA PerMed (ERAPERMED2021-184), the Knut and Alice Wallenberg foundation (2017-0383), the Strategic Research Area MultiPark (Multidisciplinary Research in Parkinson's disease) at Lund University, the Swedish Alzheimer Foundation (AF-980907), the Swedish Brain Foundation (FO2021-0293), The Parkinson foundation of Sweden (1294/20, 1412/22), the Cure Alzheimer's fund, the Konung Gustaf V:s och Drottning Victorias Frimurarestiftelse, the Skåne University Hospital Foundation (2020-0000028), Regionalt Forskningsstöd (2022-1259) and the Swedish federal government under the ALF agreement (2020-Projekt0110, 2022-Projekt0080). Work at AC Immune was supported by the Michael J Fox Foundation (MJFF-010312, MJFF-019055, MJFF-019169). Human tissue was kindly provided by the Netherlands Brain Bank (NBB); the Queen Square Brain Bank and Banner Sun Health Research Institute Brain and Body Donation Program. The Queen Square Brain Bank is supported by the Reta Lila Weston Institute of Neurological Studies, UCL Queen Square Institute of Neurology. The Banner Sun Health Research Institute Brain and Body Donation Program is supported by the National Institute of

Neurological Disorders and Stroke (U24 NS072026 National Brain and Tissue Resources for Parkinson's Disease and Related Disorders), the National Institute on Aging (P30 AG19610 Arizona Alzheimer's Disease Core Center), the Arizona Biomedical Research Commission (contracts 4001,0011,05–901 and 1001 to the Arizona Parkinson's Disease Consortium), and the Micheal J. Fox Foundation for Parkinson's Research. We also thank Professor Andrea Varrone for his contribution to the autoradiography work performed at the Karolinska Institute.

Funding

Open access funding provided by Lund University.

Author information

Author notes

1. These authors contributed equally: Ruben Smith, Francesca Capotosti.

Authors and Affiliations

1. Clinical Memory Research Unit, Department of Clinical Sciences, Malmö, Lund University, Lund, Sweden
Ruben Smith, Martin Schain, Erik Stomrud, Sara Hall & Oskar Hansson
2. Department of Neurology, Skåne University Hospital, Lund, Sweden
Ruben Smith & Andreas Puschmann
3. AC Immune SA, EPFL Innovation Park, Building B, 1015, Lausanne, Switzerland
Francesca Capotosti, Efthymia Vokali, Jerome Molette, Tanja Touilloux, Valerie Hliva, Ioannis K. Dimitrakopoulos, Ruth Luthi-Carter, Andrea Pfeifer, Marie Kosco-Vilbois & Johannes Streffer
4. Antaros Medical, Mölndal, Sweden
Martin Schain
5. Neurobiology Research Unit, Copenhagen University Hospital, Copenhagen, Denmark
Martin Schain
6. Department of Radiation Physics, Skånes University Hospital, Lund, Sweden
Tomas Ohlsson, Klas Bratteby & Elina Tampio L'Estrade
7. Neurology, Department of Clinical Sciences Lund, Lund University, Lund, Sweden
Andreas Puschmann
8. SciLifeLab National Research Infrastructure, Lund University, Lund, Sweden
Andreas Puschmann
9. Department of Clinical Physiology and Nuclear Medicine, Skåne University Hospital, Lund, Sweden
Jonas Jögi
10. Department of Neurology, Academic Specialist Center, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden
Per Svenningsson & Mattias Andréasson
11. Invicro, LLC, New Haven, CT, USA
Christine Sandiego & David S. Russell
12. Clinical Neuroscience, PET Division, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden
Patricia Miranda-Azpiazú & Christer Halldin
13. Memory Clinic, Skåne University Hospital, Lund, Sweden
Erik Stomrud, Sara Hall & Oskar Hansson
14. Department of Biomedical Sciences, University of Antwerp, Antwerp, Belgium
Johannes Streffer

Contributions

R.S., F.C., J.S., and O.H. contributed to the design and implementation of the research and to the analysis of the results. JM contributed to the invention of ACI-12589. I.K.D., T.O., K.B., and E.T.L. contributed to radiosynthesis process development and optimization. R.S., M.S., O.H., and C.S. contributed to acquisition and analysis of clinical data. E.V. contributed to the design of the preclinical research. P.M.-A. and C.H. contributed to the autoradiography experiment with [^{18}F]ACI-12589. R.S., A. Puschmann, P.S., M.A., D.S.R., and S.H. contributed to recruitment of the subjects. V.H., T.T., E.S., and J.J. contributed to clinical operations. R.S., F.C., M.S., E.V., R.L.-C., M.K.-V., A. Pfeifer, and O.H. drafted the manuscript. All authors revised the manuscript.

Corresponding authors

Correspondence to [Johannes Streffer](#) or [Oskar Hansson](#).

Ethics declarations

Competing interests

R.S. has received a speaker fee from Roche. F.C., E.V., J.M., T.T., V.H., I.K.D., R.L.-C., A. Pfeifer, M.K.-V., and J.S. are employees of AC Immune SA. M.S. is an employee of Antares Medical. A Puschmann receives reimbursement from Elsevier for his work as Associate Editor for Parkinsonism and Related Disorders. P.S. has received consultancy/speaker fees from Abbvie, Amylyx, Lundbeck, and Takeda. C.S. and D.S.R. are employees of Invivo, LLC. O.H. has acquired research support (for the institution) from ADx, AVID Radiopharmaceuticals, Biogen, Eli Lilly, Eisai, Fujirebio, GE Healthcare, Pfizer, and Roche. In the past 2 years, he has received consultancy/speaker fees from AC Immune, Amylyx, Alzpath, BioArctic, Biogen, Cerveau, Eisai, Eli Lilly, Fujirebio, Genentech, Merck, Novartis, Novo Nordisk, Roche, Sanofi, and Siemens. T.O., J.J., M.A., P.M.-A., C.H., E.S., S.H., K.B., and E.T.L. report no disclosures.

Peer review

Peer review information

Nature Communications thanks Robert Mach and the other, anonymous, reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. A peer review file is available.

Additional information

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Supplementary information

[Supplementary Information](#)

[Peer Review File](#)

[Reporting Summary](#)

Source data

Rights and permissions

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.