



**Ministero dell'Università e della Ricerca  
Direzione Generale della Ricerca**

**Rendiconto di spesa fondi 5 per mille  
Enti della Ricerca Scientifica**

**ANNO FINANZIARIO 2021<sup>1</sup>**

**Ente beneficiario**

Denominazione sociale	<b>Fondazione Humanitas per la Ricerca ETS</b>
Codice fiscale	<b>97408620157</b>
Sede legale	<b>Via Manzoni 113 – 20089 - Rozzano (MI)</b>
Indirizzo posta elettronica (NO PEC)	<a href="mailto:fondazione.humanitasricerca@humanitas.it">fondazione.humanitasricerca@humanitas.it</a>
Scopo dell'attività sociale	<p>La Fondazione non persegue finalità di lucro e ha come scopo di:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- promuovere la ricerca, anche applicata, nei settori della medicina e biomedicina.</li><li>- promuovere iniziative di raccolta fondi per sostenere le proprie finalità;</li><li>- promuovere e sostenere progetti di assistenza e supporto ai pazienti delle strutture cliniche del Gruppo Humanitas.</li></ul> <p>La Fondazione persegue il proprio scopo sia direttamente o indirettamente attraverso il finanziamento e/o la collaborazione con altri enti o persone giuridiche nelle quali essa abbia una partecipazione, con altri enti privati e pubblici, italiani ed esteri, e in particolare ai fini della migliore integrazione tra attività di ricerca scientifica e attività di assistenza clinica con le strutture appartenenti al Gruppo Humanitas.</p> <p>Per raggiungere i propri scopi la Fondazione assume le più opportune iniziative comprese quelle di erogare finanziamenti, borse, premi di studio, contributi, organizzare corsi di formazione e perfezionamento, convegni, seminari, nonché quelle di pubblicazione, nel rispetto della normativa di settore, di prodotti editoriali.</p> <p>Sempre al fine del conseguimento dei propri scopi, la Fondazione, inoltre, potrà gestire e coordinare fondi, lasciti e contributi indirizzati alle strutture del gruppo Humanitas con i quali la Fondazione medesima collaborerà nell'espletamento delle proprie attività.</p> <p>La Fondazione, infine, adotta le misure necessarie per riservare a sè, ovvero - per i settori di interesse di ciascuna di essi - alle sopracitate strutture sanitarie, ovvero a terzi con il cui contributo abbia sviluppato specifici progetti, i diritti di proprietà intellettuale ed industriale conseguenti alla ricerca da essa finanziata.</p>

<sup>1</sup> Indicare l'anno finanziario al quale si riferisce l'erogazione.



Ministero dell'Università e della Ricerca  
Direzione Generale della Ricerca

Nominativo legale rappresentante	Alberto Mantovani
----------------------------------	-------------------

### Contributo percepito

Data percezione	15/06/2023
Importo	669.850,80

### Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0,00	0,00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. Servizio di generazione di anticorpi contro membri della famiglia MS4A da parte di MimAbs SAS 2. Consumabili e reagenti per biologia molecolare, incluso kit per estrazione degli acidi nucleici, servizio di sequenziamento RNA	249.092,82	249.092,82
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	39.103,50	39.103,50
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> <b>Risorse umane</b> 3/4 figure TDB <b>Acquisto beni e servizi</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Consumabili e reagenti per biologia molecolare e cellulare, incluso reagenti chimici, anticorpi e reagenti per citometria, sequenziamento</li><li>- Assicurazione</li><li>- Consumabili e reagenti per biologia molecolare, incluso kit per estrazione degli</li></ul>	381.654,48	381.654,48

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.



**Ministero dell'Università e della Ricerca  
Direzione Generale della Ricerca**

acidi nucleici, servizio di sequenziamento RNA <b>Altro</b> - Viaggi e partecipazione a convegni - Costi indiretti (15%)		
<b>TOTALE</b>	<b>669.850,80</b>	<b>669.850,80</b>

Il seguente rendiconto è pubblicato al seguente indirizzo web

<https://fondazionehumanitasricerca.it/la-fondazione/>

Luogo e data Rozzano, 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs.196/2003 e al Regolamento (UE) 2016/679 (GDPR).

Il Legale Rappresentante



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto complessivo di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 – [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

## **RIEPILOGO RENDICONTI:**

Generazione di anticorpi contro membri della famiglia MS4A	210.882,00
Valutazione del ruolo del genere nel modulare la risposta immunitaria antitumorale e l'efficacia degli immune checkpoint inhibitors	200.000,00
L'impatto dei parametri immunitario-infiammatori-nutrizionali sulla prognosi dei pazienti affetti da tumore solido avanzato in trattamento con agente immunoterapico	34.200,00
Patient participation and health promotion in esophagogastric surgery for cancer: Improving patient outcomes	69.000,00
A new integrated model to predict neoadjuvant treatment response in breast cancer patients	116.921,83
Piattaforma di servizi a supporto degli studi indipendenti promossi in collaborazione con gli ospedali del Gruppo Humanitas	38.846,97
<b>TOTALE IMPORTI SINGOLI PROGETTI</b>	<b>669.850,80</b>
<b>TOTALE FONDI 5X1000 ANNO 2021</b>	<b>669.850,80</b>

Data 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

Generazione di anticorpi contro membri della famiglia MS4A

**Attività**

I membri della famiglia MS4A hanno in larga misura funzione ignota, ma sono associate a varie patologie che vanno dalla neurodegenerazione, al cancro, alle malattie autoimmuni, a Covid-19. Sulla base di queste evidenze alcuni membri della famiglia si candidano come bersagli terapeutici. In particolare i gruppi guidati da Alberto Mantovani e Massimo Locati hanno scoperto la funzione e il ruolo di biomarcatore di due membri di questa famiglia (MS4A4A e MS4A6A). La struttura di queste molecole rende difficile generare anticorpi che riconoscano la parte extracellulare di queste molecole, potenzialmente sviluppabili quali farmaci o reagenti diagnostici. Una tecnologia innovativa (disponibile a Marsiglia da Francois Romagné) ha avuto successo nel generare anticorpi contro molecole con analoga struttura molecolare.

L'obiettivo è la generazione di anticorpi monoclonali diretti contro MS4A4A e MS4A6A. Gli anticorpi saranno utilizzati per l'identificazione delle popolazioni positive tra i fagociti mononucleati, che giocano un ruolo centrale nei tumori e nelle patologie infiammatorie, e saranno sviluppati in modo da possedere effetti depletanti, il che consentirà di valutare il potenziale di queste molecole come target farmacologici in modelli di malattia.

I 2 bersagli molecolari sono potenzialmente sviluppabili come target per la selettiva deplezione di specifiche popolazioni cellulari (presumibilmente mieloidi) di cui è noto il ruolo patogenetico in alcune rilevanti malattie dell'uomo. Si tratta di un progetto "high risk/high gain".

**Riferimenti bibliografici**

- Mattioli I, Tomay F, De Pizzol M, Silva-Gomes R, Savino B, Gulic T, Doni A, Lonardi S, Astrid Boutet M, Nerviani A, Carriero R, Molgora M, Stravalaci M, Morone D, Shalova IN, Lee Y, Biswas SK, Mantovani G, Sironi M, Pitzalis C, Vermi

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

W, Bottazzi B, Mantovani A, Locati M. The macrophage tetraspan MS4A4A enhances dectin-1-dependent NK cell-mediated resistance to metastasis. *Nat Immunol* 20:1012-1022, 2019.

- Mattioli I, Mantovani A, Locati M. The tetraspan MS4A family in homeostasis, immunity, and disease. *Trends Immunol* 42:764-781, 2021.
- Silva-Gomes R, Mapelli SN, Boutet M-A, Mattioli I, Sironi M, Grizzi F, Colombo FS, Supino D, Carnevale S, Pasqualini F, Stravalaci M, Porte R, Gianatti A, Pitzalis C, Locati M, Oliveira MJ, Bottazzi B, Mantovani A. Differential expression and regulation of MS4A family members in myeloid cells in physiological and pathological conditions. *J. Leukoc. Biol* 111: 817-836, 2022.

## Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. Servizio di generazione di anticorpi contro membri della famiglia MS4A da parte di MimAbs SAS	183.375,65	183.375,65
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	27.506,35	27.506,35
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
N/A	0.00	0.00
<b>TOTALE</b>	<b>210.882,00</b>	<b>210.882,00</b>

Rozzano, 29/07/2024

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

Valutazione del ruolo del genere nel modulare la risposta immunitaria antitumorale e l'efficacia degli immune checkpoint inhibitors

**Attività**

Nonostante l'evidenza clinica disponibile mostri una differente efficacia della immunoterapia nei pazienti di sesso maschile e femminile affetti da diversi tipi di tumore, inclusi il cancro del polmone non a piccole cellule e il melanoma, non è disponibile una spiegazione esauriente dei meccanismi molecolari che guidano tali differenze.

Con questo progetto, miriamo a caratterizzare nel dettaglio i meccanismi molecolari alla base delle differenze di genere della risposta immunitaria antitumorale, studiando in particolare il ruolo degli ormoni sessuali maschili e femminili.

Per fare ciò, integreremo le evidenze derivanti dalla caratterizzazione molecolare multidimensionale di campioni tumorali di pazienti con melanoma e NSCLC in stadio avanzato e trattati con farmaci anti-PD(L)1, e da esperimenti in-vivo condotti su modelli murini immunocompetenti, altamente rappresentativi delle malattie.

Le evidenze generate saranno infine utilizzate per identificare nuovi biomarcatori, utili per l'allocazione dei pazienti alle diverse immunoterapie disponibili, e per disegnare e testare nuove strategie immunoterapiche "sex-tailored".

Tutto questo aiuterà ad affrontare l'unmet clinical need rappresentato dalla disparità di genere che attualmente caratterizza l'efficacia delle immunoterapie antitumorali, evidenziato dalle nostre precedenti ricerche che mostrano un minore beneficio per le donne rispetto agli uomini in diversi contesti.

**Background e risultati preliminari:**

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Differenze significative della risposta immunitaria innata e adattativa tra uomini e donne contribuiscono a spiegare la diversa prevalenza e mortalità delle malattie autoimmuni, infettive e oncologiche [1,2]

Tali differenze di genere della risposta immunitaria riflettono complesse interazioni tra fattori genetici, ormonali ed ambientali. [3,4]

Di recente, abbiamo dimostrato che il sesso dei pazienti è una variabile che influenza la risposta all'immunoterapia antitumorale. [5,6]

In primo luogo, abbiamo eseguito una meta-analisi che includeva 20 studi clinici randomizzati (RCT) che confrontavano regimi contenenti immunoterapia con trattamenti standard non immunoterapici, in diversi tumori solidi e abbiamo dimostrato che gli uomini ottengono un beneficio di sopravvivenza significativamente maggiore rispetto alle donne quando trattati con anti-CTLA4 o anti- Farmaci PD-1 in monoterapia.[5]

Successivamente, abbiamo dimostrato che le donne con carcinoma polmonare non a piccole cellule avanzato (NSCLC) sperimentano un beneficio di sopravvivenza notevolmente maggiore rispetto agli uomini, dalla combinazione di chemioterapia con farmaci anti-PD(L)1. [6]

Abbiamo ipotizzato che tale eterogeneità di risposta a diverse strategie immunoterapiche, sia dovuta a differenze nei meccanismi molecolari e cellulari che governano la risposta immunitaria antitumorale negli uomini e nelle donne.

Per esplorare tale ipotesi, abbiamo studiato le differenze di genere negli elementi chiave della risposta immunitaria antitumorale, in pazienti di sesso maschile e femminile affetti da NSCLC in stadio iniziale.

Nell'ultimo anno abbiamo creato una rete di collaborazione con partner nazionali e internazionali focalizzata sullo studio di questo tema, che comprende Francis Crick Institute (prof. C. Swanton), Weill Cornell University (prof. G. Giaccone), Harvard Università/Dana Farber Cancer Center (Prof. R. Gelber) e H. Humanitas di Milano (prof. A. Mantovani).

Ciò ci ha permesso di analizzare i dati del trascrittoma di oltre 2500 NSCLC in stadio precoce, nonché i dati di una coorte di 100 campioni di NSCLC ampiamente caratterizzati a livello molecolare nello studio TRACER-X.

I risultati ottenuti, hanno mostrato significative differenze di genere nella composizione cellulare dell'infiltrato immunitario, nonché nei meccanismi sfruttati dai tumori per eludere la risposta immunitaria. Tali differenze non erano correlate ad altre variabili potenzialmente associate al sesso come l'età, lo stadio della malattia, l'istotipo del tumore e lo stato di fumo.

Le differenze osservate suggeriscono che in media le donne sviluppano una risposta immunitaria de-novo (cioè spontanea) più efficace e strutturata contro il NSCLC rispetto agli uomini.

I nostri dati hanno anche mostrato che per eludere tale risposta immunitaria iniziale più efficiente, i tumori polmonari delle pazienti di sesso femminile sviluppano meccanismi di resistenza più complessi e ridondanti.

Per esempio, abbiamo dimostrato uno stato di disfunzione significativamente maggiore delle cellule T che infiltrano il microambiente tumorale (TME) nelle donne, inclusa un'abbondanza significativamente maggiore di cellule T CD4+ e CD8+ con un fenotipo "exhausted".

Rispetto ai maschi, il TME delle pazienti di sesso femminile era caratterizzato da un'espressione significativamente più elevata di "immune checkpoint molecules" con funzioni inibitorie (tra cui TIM3, TIGIT, IDO1, BTLA, ADORA2A, TNFRSF14 e VISTA), così come da una maggiore abbondanza di cellule immunosoppressive, come i fibroblasti associati al cancro (CAF), le "myeloid suppressive cells" (MDSC) e le cellule T regolatorie attivate.

Al contrario, il TME del NSCLC insorto negli uomini era "più freddo" e significativamente

arricchito per un fenotipo "immune-excluded". I nostri risultati preliminari, suggeriscono che tale riconoscimento ed infiltrazione tumorale più scarsa da parte del sistema immunitario degli uomini, dipende almeno in parte da una presentazione meno efficiente dei neoantigeni tumorali al sistema immunitario, a causa di una minore espressione di molecole di HLA di classe I e II e una maggiore frequenza di eventi di perdita di eterozigosi (LOH) nei geni del HLA e di alterazioni molecolari in altri geni coinvolti del meccanismo di presentazione dell'antigene.

### **Proposta:**

I nostri dati preliminari mostrano significative differenze di genere nella risposta immunitaria antitumorale nei pazienti affetti da NSCLC in stadio precoce.

Con questo nuovo progetto di ricerca, miriamo ad approfondire l'argomento del dimorfismo sessuale della risposta immunitaria antitumorale nei pazienti affetti da NSCLC in stadio avanzato.

Lo studio dei tumori in stadio avanzato, rispetto allo stadio precoce, è di notevole rilevanza per due motivi:

- 1) i fenomeni di progressione tumorale e di immunoediting, verosimilmente, rendono le differenze di genere della risposta immunitaria antitumorale ancora più profonde e complesse di quelle osservabili in stadio precoce.
- 2) possibilità di studiare potenziali differenze di genere dei meccanismi di resistenza alla immunoterapia con immune checkpoint inhibitors.

Gli obiettivi principali di questo progetto saranno:

- valutare le differenze di genere nelle caratteristiche molecolari della risposta immunitaria antitumorale spontanea (cioè non stimolata da farmaci) nei pazienti con NSCLC in stadio avanzato.
- valutare le differenze di genere nei meccanismi molecolari di resistenza alla immunoterapia con farmaci anti-PD(L)1.

Il progetto prevede a) uno studio clinico pilota prospettico a basso livello di intervento e b) uno studio clinico retrospettivo di validazione.

Nello studio clinico pilota prospettico, verranno arruolate due coorti parallele di 10 pazienti maschi e 10 femmine, affette da NSCLC in stadio avanzato, candidati a un trattamento standard con un farmaco anti-PD(L)1.

I principali criteri di inclusione saranno i seguenti:

- Diagnosi istologica di Non small cell lung cancer (NSCLC).
- Malattia metastatica in stadio IV.
- Pazienti candidati ad un trattamento standard con farmaci anti-PD1 o anti-PDL1.
- Malattia misurabile secondo criteri RECIST 1.1
- Età >18 anni.
- ECOGPS <2.
- Adeguata funzionalità d'organo

I principali criteri di esclusione saranno i seguenti:

- Qualsiasi condizione medica che preclude la possibilità di eseguire una biopsia
- Disordini autoimmuni non controllati.
- Alterazioni patogenetiche (i.e. mutazioni o traslocazioni) dei seguenti oncogeni: EGFR,

## ALK, ROS1

-Precedente trattamento con farmaci anti-PD1 o PD-L1 o anti-CTLA4.

L'arruolamento dei pazienti sarà condotto presso Humanitas Gavazzeni e durerà tre anni. Ciascun paziente arruolato sarà sottoposto al basale (cioè prima dell'inizio del trattamento) ad una biopsia di un sito di malattia accessibile. Durante la fase di trattamento, i pazienti riceveranno un trattamento con un anti-PD(L)1, somministrato secondo la pratica clinica standard.

Nei pazienti con una progressione della malattia [PD] definita secondo RECIST 1.1, o con una persistenza radiologica della malattia dopo 6 mesi di trattamento, verrà eseguita una nuova biopsia della malattia, se fattibile e sicuro per il paziente.

A ciascun paziente arruolato nello studio verrà prelevata una quantità pari a 10 ml di sangue periferico, al basale e a progressione, se fattibile e sicuro per il paziente.

Le biopsie eseguite al basale (i.e. prima dell'avvio del trattamento) in pazienti maschi e femmine saranno studiate comparativamente per identificare le differenze di genere nella composizione e attivazione della risposta immunitaria antitumorale.

Applicheremo a tale fine strategie di analisi multiparametrica applicabili ai campioni tissutali prelevati, come descritto di seguito. Una sottocoorte selezionata di 5 maschi e 5 femmine verrà analizzata attraverso analisi dell'RNA a singola cellula spaziale (piattaforma Nanostring) e analisi di citometria di massa su tessuto (piattaforma Hyperion). Questi approcci permetteranno una caratterizzazione completa dell'infiltrato immunitario dei tumori su base trascrizionale (scRNAseq) e fenotipica (Hyperion). Esploreremo le interazioni cellulari esistenti tra sottopopolazioni immunitarie e tra cellule immunitarie e cellule cancerose e stromali. Inoltre integreremo i dati trascrizionali con la distribuzione spaziale delle cellule immunitarie in rapporto alle cellule tumorali e stromali. Queste analisi multiomiche verranno integrate con tecniche di sequenziamento di RNA totale e immunohistochimica (IHC) che saranno applicate a tutte le biopsie raccolte. Infine applicheremo analisi di citofluorimetria multiparametrica su PBMC (cellule mononucleate del sangue periferico) isolate dal sangue periferico dei pazienti arruolati allo scopo di esplorare la composizione immunitaria e le dinamiche delle popolazioni linfoidi e mieloidi prima e dopo trattamento.

Le nostre analisi permetteranno di investigare i seguenti aspetti:

A) composizione cellulare e attivazione degli infiltrati immunitari intratumorali (comparto immunitario linfoide e mieloide) e delle popolazioni immunitarie periferiche;

B) Studio della localizzazione delle popolazioni studiate e analisi delle interazione cellula-cellula;

C) T-cell receptor repertoires dei linfociti T e B infiltranti il tumore;

D) Livelli di espressione da parte dei linfociti T e delle popolazioni mieloidi, quali macrofagi e neutrofili, di geni coinvolti nella risposta immunitaria e potenzialmente regolati dagli ormoni sessuali e/o localizzati nei cromosomi sessuali;

E) composizione, stato funzionale, dinamica e architettura clonale di diverse sottopopolazioni di cellule T, comprese le cellule CD8+ (naïve, effector, resident memory, pre and exhausted), CD4+ convenzionali (naïve, central memory, effector, pre and exhausted) cellule e cellule CD4+ T-regolatorie.

F) livelli di espressione delle immune-checkpoint molecules e immune-related pathways nelle cellule tumorali e nelle popolazioni linfoidi e mieloidi;

G) antigenicità del tumore (i.e., tumor neoantigen load e stato funzionale del macchinario di presentazione dell'antigene).

Tumor paired-biopsies (i.e. biopsie effettuate prima dell'inizio del trattamento e alla progressione della malattia) saranno analizzate comparativamente per studiare le differenze di genere nei meccanismi di resistenza al trattamento con anti-PD(L)1,

utilizzando le stesse metodiche descritte in precedenza.

Tutte le differenze di genere evidenziate in questo studio pilota, verranno successivamente validate attraverso uno studio retrospettivo, condotto su coorti più numerose di uomini e donne con NSCLC avanzato e trattati con farmaci anti-PD(L)1, per i quali sono disponibili dati clinico-epidemiologici (compresa la valutazione dell'efficacia dei trattamenti) e tessuto-FFPE tumorale.

La caratterizzazione dell'immuno-infiltrato intratumorale su campioni di FFPE, sarà condotta attraverso approcci consolidati basati su IHC e bulk-RNAseq deconvolution analysis.[5]

Considerazioni statistiche e calcolo del sample size:

Studi clinico pilota prospettico e retrospettivo

Lo studio pilota prospettico, sarà di tipo esplorativo, per cui il sample size è stato stabilito sulla base della stima dei pazienti arruolabili nel periodo di tempo dello studio, tenendo in considerazione il flusso annuo dei pazienti presso la struttura arruolatrice (i.e. Humanitas Gavazzeni) e dei criteri di inclusione ed esclusione previsti dal protocollo. Nello studio clinico pilota prospettico, verranno pertanto arruolate due coorti parallele di 10 pazienti maschi e 10 femmine.

Le differenze di genere identificate nello studio prospettico pilota saranno successivamente validate nello studio retrospettivo su coorti adeguatamente ampie di pazienti con NSCLC avanzato.

Un calcolo formale del sample size, per definire il numero di campioni tumorali da analizzare nello studio retrospettivo, verrà eseguito sulla base della entità delle differenze e variabilità osservate nello studio pilota, in modo tale da avere una potenza del 80% ed errore alpha <5% per ciascuna delle analisi da condurre.

### **Riferimenti bibliografici**

- 1) Klein S, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. Nat Rev Immunol 2016; 16:626– 38.
- 2) Markle, J.G., Fish, E.N. Sex matters in immunity. Trends in Immunology 2014; 35:97-104.
- 3) Özdemir BC, Csajka C, Dotto GP, et al. Sex Differences in Efficacy and Toxicity of Systemic Treatments: An Undervalued Issue in the Era of Precision Oncology. J Clin Oncol. 2018; 36:2680- 2683
- 4) Conforti F, Pala L, Goldhirsch A. Different effectiveness of anticancer immunotherapy in men and women relies on sex-dimorphism of the immune system. Oncotarget. 2018; 9:31167-31168.
- 5) Conforti F, Pala L, Bagnardi V, et al. Cancer immunotherapy efficacy and patients' sex: a systematic review and meta-analysis. Lancet Oncol. 2018; 19:737-746.
- 6) Conforti F, Pala L, Bagnardi V, et al. A. Sex-based heterogeneity in response to lung cancer immunotherapy: a systematic review and meta-analysis. J Natl Cancer Inst. 2019;111:772-781.
- 7) Jamal-Hanjani M, Wilson GA, McGranahan N, et al. Tracking the Evolution of Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2017; 376:2109-2121.

## Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> <b>Acquisto beni e servizi</b> - Consumabili e reagenti per biologia molecolare e cellulare, incluso reagenti chimici, anticorpi e reagenti per citometria, sequenziamento - Assicurazione <b>Altro</b> - Viaggi e partecipazione a convegni - Costi indiretti (15%)	200.000,00	200.000,00
<b>TOTALE</b>	<b>200.000,00</b>	<b>200.000,00</b>

Rozzano, 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

L'impatto dei parametri immunitario-infiammatori-nutrizionali sulla prognosi dei pazienti affetti da tumore solido avanzato in trattamento con agente immunoterapico

**Attività**

Il microambiente tumorale è l'ambiente cellulare nel quale si trova il tumore. Esso include i vasi sanguigni circostanti, le cellule immunitarie, i fibroblasti, numerose altre cellule, molecole di segnalazione e matrice extracellulare. Il microambiente che il tumore viene a creare a seguito della sua insorgenza e crescita ha delle caratteristiche peculiari che sono in grado di sopprimere l'immunità naturale e promuovere la crescita neoplastica. Tale contesto viene comunemente definito "microambiente infiammatorio".

Il microambiente è costituito non solo da cellule tumorali ma contempla un gran numero di cellule tra cui cellule T, macrofagi, globuli bianchi ed altre che saranno presenti in misura diversa da tumore a tumore.

In alcuni tumori poi la risposta infiammatoria derivante dall'immunità innata può essere anche di grado marcato e costituire una parte importante della massa tumorale.

Al Sistema Immunitario (SI) si riconosce una doppia valenza: da un lato quella antitumorale, dall'altro può contribuire addirittura allo sviluppo del tumore e limitare l'attività e l'efficacia dei trattamenti antineoplastici. In questo senso al microambiente infiammatorio viene attribuito un ruolo sempre più crescente non solo nell'insorgenza del tumore ma anche nella sua cura, rappresentando un potenziale target e un elemento di studio (1).

Ne deriva che non è solo importante colpire le cellule tumorali ma anche conoscere e "gestire" il microambiente infiammatorio che, a sua volta, regola le risposte al trattamento. L'immunoterapia rappresenta una opzione terapeutica in un numero sempre crescente di tumori solidi (polmone, melanoma, vescica, rene ecc). Ad oggi sono molteplici gli agenti immunoterapici definiti immune-checkpoint inhibitors (Anti PD-1 e Anti PDL-1) approvati e dispensabili nel nostro Paese per il trattamento dei tumori solidi sia in prima che in

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

seconda linea a seguito della dimostrata superiorità rispetto alla chemioterapia standard sia in termini di efficacia che di safety. L'unico biomarker approvato per la scelta di un trattamento immunoterapico rispetto alla chemioterapia è il PDL1. Ad esempio nella patologia tumorale polmonare a seconda della sua percentuale di espressione nella pratica clinica quotidiana possiamo candidare il paziente ad un trattamento con immune check-point inhibitor in monoterapia (nel caso di PDL1  $\geq 50\%$  pembrolizumab o cemiplimab o atezolizumab) o combinato al trattamento chemioterapico (nel caso di PDL1  $< 50\%$ : cisplatinum-base chemotherapy + pembrolizumab o cisplatinum-base chemotherapy Il cicli associato a Nivolumab-Ipilimumab) (2).

Recentemente, diversi studi hanno supportato l'evidenza che la prognosi è determinata non solo dalle caratteristiche del tumore ma anche da fattori legati al paziente. Tra questi fattori lo stato infiammatorio dell'host e l'indice immuno-nutrizionale hanno assunto rilievo quali possibili fattori prognostici e biomarcatori utili nel prevedere la risposta ai farmaci antitumorali. L'ipotesi che si vuole esplorare è dunque se lo stato immuno-nutrizionale dell'ospite possa assumere un significato predittivo di beneficio clinico a seguito di trattamento con agente immunoterapico (3-5).

## **OBIETTIVI DELLO STUDIO**

### **Obiettivi principali:**

Obiettivo principale dello studio è quello di descrivere lo stato immuno-infiammatorio e immuno-nutrizionale dell'host prendendo in considerazione pazienti affetti da neoplasia solida in fase localmente avanzata /avanzata di malattia in trattamento con agente immunoterapico.

I primi saranno valutati e descritti tramite l'impiego di indici validati quali ad es SII (Systemic Immune Inflammation Index) (6,7) , PNI Prognostic Nutritional Index) (8) , NLR (Neutrophil-Lymphocyte Ratio, PLR (Platelets-Lymphocytes Ratio) (9) . I secondi verranno valutati tramite parametri quali la risposta obiettiva al trattamento (ORR), la sopravvivenza libera da progressione (PFS) e la safety dei trattamenti secondo criteri NCI CTC Versione 3.0 (10).

Lo scopo finale è quello di valutare se esista una ipotesi di correlazione tra lo stato immuno-infiammatorio-nutrizionale e gli outcomes di efficacia dell'immunoterapia in pazienti affetti da tumore solido localmente avanzato/avanzato e trattati con agente immunoterapico +/- chemioterapia.

## **DISEGNO DELLO STUDIO**

### **Tipo di Studio:**

si tratta di uno studio osservazionale prospettico condotto su pazienti affetti da tumore solido avanzato in stadio localmente avanzato/avanzato trattati con agente immunoterapico +/- chemioterapia seguito presso la SC Oncologia Medica di Humanitas Gradenigo Torino.

## **METODI**

### **Popolazione di studio e criteri di inclusione ed esclusione**

#### **Popolazione dello studio**

La popolazione dello studio include tutti i pazienti affetti da tumore solido localmente avanzato/avanzato con diagnosi cito-istologica che afferiscono al servizio di Oncologia Medica e che verranno trattati con agente immunoterapico +/-chemioterapia.

#### **Criteri di inclusione**

I criteri di inclusione allo studio sono:

Diagnosi cito-istologica di neoplasia solida in fase avanzata di malattia che vengano sottoposti ad un trattamento con agente immunoterapico da solo o in combinazione con chemioterapia ( sono compresi tumori del polmone, del rene, dell'urotelio, melanoma ecc).

Consenso informato scritto;

ECOG Performance Status  $\leq 2$ ;

Aspettativa di vita  $\geq 6$  mesi.

Età  $> 18$  aa.

**Criteri di esclusione:**

Età  $< 18$  anni;

Incapacità a firmare un consenso informato

Terapia steroidea ad alto dosaggio o patologia autoimmune o qualsiasi altra causa che controindichi l'uso di agente immuno check point inhibitor.

**ARRUOLAMENTO DEI SOGGETTI E REGISTRAZIONE**

E' previsto l'arruolamento di 30 pazienti affetti da patologia neoplastica in stadio avanzato di malattia come da criteri di inclusione nel periodo di durata dello studio.

**Procedure di registrazione**

Ad ogni paziente verrà assegnato un codice univoco anonimo di riconoscimento, al fine di proteggere i dati registrati secondo standard di sicurezza e in accordo su quanto previsto dall'attuale normativa sulla "Privacy" e dalle GCP. ' L'associazione tra soggetto e codice sarà nota solo agli sperimentatori. I dati verranno raccolti in un database excel criptato con password che verrà comunicata separatamente ai Centri partecipanti. Questi dati saranno raccolti e trattati con le adeguate precauzioni per garantire la riservatezza e il rispetto delle leggi sulla protezione della privacy e dei regolamenti vigenti (D.Lgs. 196/2003, GDPR n° 2016/679/EU, D. Lgs. N° 101/2018 e successivi aggiornamenti).

**Raccolta dati**

Per ogni paziente incluso nello studio verranno raccolti i seguenti dati:

Alla firma del CI i dati raccolti saranno i seguenti:

**Dati paziente:**

- dati anagrafici (età, sesso...);
- comorbidità,
- terapie farmacologiche concomitanti
- Dati antropometrici (altezza, peso, BMI, BIA)

**Dati malattia:**

- Istologia
- Stadio (cTNM)
- Accertamenti strumentali (TC, PET ...)

**Indici Prognostici:**

- SII
- PNI

- NLR
- PLR

Gli indici prognostici saranno calcolati come segue:

SII -> Valore piastrine x NLR

PNI -> Valore albumina (g/L) + (conta linfociti x 5)

NLR -> Valore neutrofili / valore linfociti

PLR -> Valore piastrine / valore linfociti

### **Schede QoL e Fatigue (EORTC QLQ C30, FACIT-F)**

La **ristadiazione** di malattia verrà effettuata mediante esame radiologico TAC (cranio) torace addome con mdc secondo le tempistiche definite dalla pratica clinica in base allo specifico tumore solido in trattamento.

### **PROCEDURE DELLO STUDIO**

In questo studio verranno raccolte le caratteristiche basali del paziente e della malattia. Inoltre verranno raccolti dati relativi al trattamento sistemico con agente immunoterapico +/- chemioterapia e gli outcomes relativi al trattamento quali la Overall Response (ORR) secondo i criteri iRECIST (11) e la Progression Free Survival (PFS) intesa come sopravvivenza libera dalla progressione di malattia e calcolata dalla data di avvio del trattamento alla data di progressione radiologica.

Inoltre verranno raccolti e valutati i dati di safety al fine di stabilire se esista una ipotesi di correlazione tra lo stato infiammatorio/nutrizionale e la eventuale tossicità a seguito di trattamento con agente immunoterapico +/- chemioterapia.

### **Dimensionamento del campione, analisi dei dati.**

Trattandosi di una raccolta prospettica monocentrica si prevede di includere nello studio un numero di 30 pazienti nell'arco di un anno dall'avvio del protocollo.

### **Bibliografia:**

- 1) Arner EN, Rathmell JC., Metabolic programming and immune suppression in the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2023 Mar 13;41(3):421-433. doi: 10.1016/j.ccell.2023.01.009. Epub 2023 Feb 16.
- 2) Zhang N, Jiang J, Tang S, Sun G (2020) Predictive value of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio in nonsmall cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: a meta-analysis. *Int Immunopharmacol* 85:106677
- 3) Mirili C, Guney IB, Paydas S, Seydaoglu G, Kapukaya TK, Ogul A, Gokcay S, Buyuksimsek M, Yetisir AE, Karaalioglu B et al(2019) Prognostic significance of neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and correlation with PET-CT metabolic parameters in small cell lung cancer (SCLC). *Int J Clin Oncol* 24(2):168–178.
- 4) Hu G, Ding Q, Zhong K, Wang S, Wang S, Huang L. Low pretreatment prognostic nutritional index predicts poor survival in breast cancer patients: a meta-analysis. *PLoS One* 2023 Jan 20;18(1):e0280669. doi: 10.1371/journal.pone.0280669. eCollection 2023.
- 5) Yang R, Chang Q, Meng X, Gao N, Wang W (2018) Prognostic value of Systemic immune-inflammation index in cancer: A metaanalysis. *J Cancer* 9(18):3295–3302

- 6) Li X, Hu P, Liu J, Zhang J, Liu Q (2020) Systemic immuneinflammation index predicted overall survival and radiosensitivity in advanced non-small-cell lung cancer. *Future Oncol* 16(5):103–115.
- 7) Jin S, Cao S, Xu S, Wang C, Meng Q, Yu Y (2018) Clinical impact of pretreatment prognostic nutritional index (PNI) in small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Respir J* 12(9):2433–2440.
- 8) Zhang CL, Jiang XC, Li Y, Pan X, Gao MQ, Chen Y, Pang B. Independent predictive value of blood inflammatory composite markers in ovarian cancer: recent clinical evidence and perspective focusing on NLR and PLR. *J Ovarian Res.* 2023 Feb 9;16(1):36. doi: 10.1186/s13048-023-01116-2.  
PMID: 36759864.
- 9) Trotti A et al, CTCAE v3.0: development of a comprehensive grading system for the adverse effects of cancer treatment. *Semin Radiat Oncol* 2003 Jul;13(3):176-81. doi: 10.1016/S1053-4296(03)00031-6.
- 10)Bohnsack O et al. Adaptation of the immune-related response criteria: irRECIST. *Ann Oncol* 2014;25 (suppl 4):iv361–iv372.

## Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> <b>Risorse umane</b> 1 figura TDB	34.200,00	34.200,00

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.

<b>Altro</b> Costi indiretti (15%)		
<b>TOTALE</b>	<b>34.200,00</b>	<b>34.200,00</b>

Rozzano, 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**TITOLO**

Patient participation and health promotion in esophagogastric surgery for cancer:  
Improving patient outcomes

**DESCRIZIONE**

In all branches of clinical care telemedicine tools are increasing in order to ensure the continuity of care for oncologic patients. Through Artificial Intelligence (AI) devices and algorithms of Machine Learning (ML) patients submit data, and can be monitored and evaluated by physicians. According to international literature and to national law regarding healthcare facilities (Italian Law No. 24/2017; 219/ 2017) however, the triggering of a process of active participation by the patient has been proved crucial. Patient's participation maximizes the benefits provided by the hospital service: if patients are competent in managing the implications of the care pathway, they can appropriately activate clinical roles, increase the ways in which they can effectively deal with post-treatment scenarios and are able to have a better compliance and treatment outcomes in terms of quality of life. Thus, in this project the role of the patients changes: not submitted to decisions but the main role in the management of their own clinical pathway and the responsible for adherence to this. An effective patients' participation in the treatment path improves not only the patient's clinical pathway, but also the healthcare system as a whole, supporting and making treatment management more effective and efficient, for example reducing the possible comorbidities deriving from it. The problem of the long-term effects of long and complex oncological treatment is particularly evident in tumours with poor prognosis such as esophagogastric cancers with a poor overall survival (up to 12-25% at 5 years). In patients undergoing esophagectomy or total gastrectomy the surgical sequelae and postoperative complications impact on several aspects, such as digestion, pain and atigue levels with long-term effects also on the performance of family, social and work roles.

This project's aim is therefore implementing patients' competencies allowing patients' participation, responsibility and adherence to the treatment path.

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Project phases and corresponding actions are shown below:

**1) Construction and administration of the automated questionnaire (Months: 1-2)**

The first phase of the project will be dedicated to the construction of the first part of the project's technological system, i.e. the automated questionnaire for evaluating the methods used by the patient before surgery and the related strengths and critical aspects concerning patient's responsibility and active management.

Actions: Construction of the pre-surgery competencies measurement system (month: 1); development of the automated questionnaire (month: 2).

Roles involved: psychologist, mathematician and surgeon as consultant.

Milestone: Measurement system of the oncological patients' competencies.

Deliverable: Automated questionnaire for assessing pre-surgery competencies.

**2) Promotion of study participation (Months 1-3; 7-8).**

The second phase will consist in sessions with the medical-health team to share the proper way to follow patients' rehabilitation even through AI devices and in dialogue with the patients, aiming to reach at least 10 participants for phase A (phase 3) and 30 for phase B (phase 4) of device development. Such step therefore involves the organization of group meetings with the healthcare team for describing the experimentation phase and for sharing patients enrolment (month: 1); patients enrollment and administration of the first automated questionnaire with pilot conversations (months 2-3); patient enrollment and administration of the first automated questionnaire (months: 7-8) in the experimental arm and in the control arm. Roles involved: psychologist and surgeon in informed consent and enrollment, psychologist in the administration of the automated questionnaire and in the related pilot conversations for collecting text and patient reported outcomes and the case manager for identifying eligible patients.

All consecutive patients who access the UpperGI Surgical Unit will be enrolled according to the following inclusion criteria: diagnosis of adenocarcinoma of the stomach or esophagogastric junction, squamous cell carcinoma of the esophagus; eligibility for resection surgery for the above malignancies; be able to express their willingness to participate in the study (patients will be adequately informed about the methods of carrying out the study through information and consent); understanding of the Italian language. No additional digital skills are required.

Milestone: Meeting with the health team; meetings with single patients.

Deliverable: Confirmation of participation in the trial

**3) AI Devices development – Phase A (Months 4-15)**

This phase is dedicated to the development of the AI tool, consisting of the application functions for the development of skills and an automated Chatbot. Starting from the patient reports of the 15 pilot patients, the ML system will be defined in order to identify the most critical responses regarding responsibility and participation in the therapeutic process. In this way the ML system will develop the possible pertinent responses from which patients can choose thus gradually making them responsible and effective in their clinical pathway management.

Activities: Texts collection of "pilot conversations" with cancer patients and related analysis (Months 4-6); ML learning based on pilot conversations (Months: 5-9); Phase A of the AI tools development, a) application for the competencies development and b) automated Chatbot (Months: 10-15).

Roles involved: mathematician for the technical implementation of the application and the first version of the Chatbot, psychologist for the formulation of answers based on the data offered by the surgeon role in phase 1 of the project.

Milestone: "pilot conversations" dataset; automatic identification system for patients competencies at risk of a lack of participation and responsibility.

Deliverable: application for competencies development; automated Chatbot (v1); dataset containing all the textual data generated by the interactions between

operator and patients.

#### **4) AI Devices development – Phase B (Months 16-21)**

This phase is dedicated to the improvement of the AI tools. Phase B will define a ML system capable of dividing patients into groups based on the particular risk profile in empowerment and participation in treatment and its sequelae, interacting with the patient in a targeted way, under the supervision of the human observer. In this phase the mathematician will be involved for the technical realization of the second version of the chatbot and the psychologist for the formulation of the answers on the basis of the data of the previous phase (3).

Milestone: Automatic system for producing responses/solicitations for cancer patients based on levels of competencies at risk of a lack of participation and responsibility. Deliverable: automated Chatbot (v2); dataset containing all the textual data generated by the interactions between researchers, health professionals and patients.

#### **5) Experimentation of the AI tool (months: 7-21)**

30 patients consecutively enrolled in this phase and allocated in the experimental versus control arm with permuted block randomization, will be administered the automated questionnaire before surgery in order to identify the starting level of competencies and their degree of responsibility and participation. On the basis of this level, the application for the development of skills will be modulated and will be offered exclusively to the experimental arm in four steps during hospitalization, specifically: at patient mobilization (1); at fluid intake (2); at dietary intake (3); at discharge (4). Otherwise, the automated Chatbot will always be available to experimental patients 24 hours a day and 7 days a week during the 3 months following hospital discharge. Each AI tools use by patients and the related data will be monitored by the dedicated human researcher: this will allow to observe progresses during the first three postoperative months, in addition this will permit to manage any alerts may arise, consequently activating the surgical team (which will be periodically kept apprised).

Milestone: Intermediate reports concerning the use of the AI tools by the patient and the researcher and health professional; interim reports regarding patient's competencies and health risk.

Deliverable: AI tools prototype.

Activities: Description and delivery of the tool to patients participating in the trial (month: 7); monitoring of the use of the tool by sample patients, management of alerts and possible activation of the healthcare team (months: 8-15; 18-21); regular data sharing on patients competencies and the relative degree of responsibility and participation (months: 9, 11, 13, 15, 19, 21).

Roles involved: psychologist for assistance in the use of devices, surgeon in response to specific alerts.

#### **6) Evaluation of the effectiveness of the tool and dissemination of results (months: 22-24)**

At the end of the third postoperative month, experimental and control arms will be re-administered the automated questionnaire. Thus, the effectiveness of the intervention carried out through the devices (application and chatbot) used, will be evaluated.

Milestone: Degree of effectiveness of the AI tool; final report on AI tools testing and the results achieved.

Deliverable: Scientific publications.

Activity: Administration of the automated questionnaire (month: 22); analysis of results and report drafting (months: 22-23); writing and submission of scientific articles (months: 23-24).

In general, this project breakthrough lies in interaction: by patients outcomes reported in AI tools, patients will receive consequent and appropriate further inputs/questions. This interaction will be specifically aimed at implementing patients' responsibility and participation so that they can be consistently 'trained' with the health professional supervision.

## Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> <b>Risorse umane</b> 1-2 figure TDB <b>Altro</b> Costi indiretti (15%)	69.000,00	69.000,00
<b>TOTALE</b>	<b>69.000,00</b>	<b>69.000,00</b>

Rozzano, 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

A new integrated model to predict neoadjuvant treatment response in breast cancer patients

**Attività**

**Background and rationale:**

Neoadjuvant systemic therapy (NST) has improved outcomes for locally advanced and early breast cancer (BC) patients, expanding surgical indications, facilitating breast-conserving surgery, and providing insights into individual long-term prognosis, since pathological complete response (pCR) is considered a surrogate endpoint for invasive disease-free and overall survival. Neoadjuvant treatment response is affected by a complex tumor-host interaction in which the role of environmental factors has not yet been completely elucidated. Microbiota, identified in extra gut sites like breast tissue, may influence the immune-metabolic profile of BC cells. Chitinase-3 like-protein-1 (CHI3L1) is a non- enzymatic chitinase-like protein that plays a role in tumor growth, angiogenesis, apoptosis resistance, metastasis, and is associated with a worse prognosis in several cancer types. [18]F-FDG PET/CT scan, commonly used for BC staging, allows advanced image analysis using computer-automated software to extract high-throughput quantitative features that quantify disease heterogeneity. In the present study, we aim to combine advanced imaging features from [18]F-FDG PET/CT scan with microbiota characterization and clinical-pathological data in order to develop a robust NST prediction model.

BC patients eligible for standard NST will be enrolled in a prospective observational study. Before starting NST, a staging [18] F-FDG PET/CT scan will be performed, and BC tissues, blood, oral, and fecal samples will be collected. BC tissues, fecal and oral samples will be employed for microbiota analysis. Whereas, blood samples will be used to measure CHI3L1 levels. BC tissues from baseline biopsy will also be utilized for

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

transcriptomic analyses. In addition, BC patients will complete a survey on their eating habits. After NST, patients will perform a re-staging [18]F-FDG PET/CT scan, and blood samples will be collected. Patients eligible for genetic counseling will be evaluated during NST, and a blood sample will be collected for genetic testing. The association of pCR with clinical-pathological characteristics, tissue microbiota, genetic information, CHI3L1 levels, and imaging features from [18]F-FDG PET/CT scan will be analyzed. Features will be selected using least absolute shrinkage selection operator regression (LASSO) and a support machine learning (ML) model will be employed. Model performance will be evaluated using the receiver operating characteristic (ROC) and calculating the area under curve (AUC).

### Activity description

The project involves a prospective observational study with breast cancer patients eligible for standard neoadjuvant systemic therapy. It integrates [18]F-FDG PET/CT scan imaging, microbiota analysis from various samples (BC tissues, blood, oral, and fecal), measurement of CHI3L1 levels in blood, transcriptomic analysis of baseline biopsy tissues, dietary habit surveys, and genetic testing. The association of pathological complete response (pCR) with clinical-pathological characteristics, microbiota, genetic information, CHI3L1 levels, and imaging features will be analyzed using LASSO regression and a support machine learning model. Evaluation will be based on ROC analysis and AUC calculation to assess the predictive model's performance.

### Bibliography

1. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*. 2009 Dec 18;326(5960):1694-7. doi: 10.1126/science.1177486. Epub 2009 Nov 5. PMID: 19892944; PMCID: PMC3602444.
2. Eren AM, Maignien L, Sul WJ, Murphy LG, Grim SL, Morrison HG, Sogin ML. Oligotyping: Differentiating between closely related microbial taxa using 16S rRNA gene data. *Methods Ecol Evol*. 2013 Dec 1;4(12):1111-9. doi: 10.1111/2041-210X.12114. PMID: 24358444; PMCID: PMC3864673.
3. Fernández MF, Reina-Pérez I, Astorga JM, Rodríguez-Carrillo A, Plaza-Díaz J, Fontana L. Breast Cancer and Its Relationship with the Microbiota. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Aug 14;15(8):1747. doi: 10.3390/ijerph15081747. PMID: 30110974; PMCID: PMC6121903.
4. Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science*. 2015 Apr 3;348(6230):80-6. doi: 10.1126/science.aaa4972. PMID: 25838377; PMCID: PMC5535753.
5. Laborda-Illanes A, Sanchez-Alcoholado L, Dominguez-Recio ME, Jimenez-Rodriguez B, Lavado R, Comino-Méndez I, Alba E, Queipo-Ortuño MI. Breast and Gut Microbiota Action Mechanisms in Breast Cancer Pathogenesis and Treatment. *Cancers (Basel)*. 2020 Aug 31;12(9):2465. doi: 10.3390/cancers12092465. PMID: 32878124; PMCID: PMC7565530.
6. Terrisse S, Derosa L, Iebba V, Ghiringhelli F, Vaz-Luis I, Kroemer G, Fidelle M, Christodoulidis S, Segata N, Thomas AM, Martin AL, Sirven A, Everhard S, Arahamian F, Nirmalathasan N, Aarnoutse R, Smidt M, Ziemons J, Caldas C, Loibl S, Denkert C, Durand S, Iglesias C, Pietrantonio F, Routy B, André F, Pasolli E, Delalogue S, Zitvogel L. Intestinal microbiota influences clinical outcome and side effects of early breast cancer treatment. *Cell Death Differ*. 2021 Sep;28(9):2778-2796. doi: 10.1038/s41418-021-00784-1. Epub 2021 May 7. PMID: 33963313; PMCID: PMC8408230.
7. Di Modica M, Gargari G, Regondi V, Bonizzi A, Arioli S, Belmonte B, De Cecco L, Fasano E, Bianchi F, Bertolotti A, Tripodo C, Villani L, Corsi F, Guglielmetti S, Balsari A, Triulzi T, Tagliabue E. Gut Microbiota Condition the Therapeutic Efficacy of Trastuzumab in HER2-Positive Breast Cancer. *Cancer Res*. 2021 Apr 15;81(8):2195-2206. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1659. Epub 2021 Jan 22. PMID: 33483370.
8. Costantini L, Magno S, Albanese D, Donati C, Molinari R, Filippone A, Masetti R, Merendino N. Characterization of human breast tissue microbiota from core needle biopsies through the analysis of multi hypervariable 16S-rRNA gene regions. *Sci Rep*. 2018 Nov 15;8(1):16893. doi: 10.1038/s41598-018-35329-z. PMID: 30442969; PMCID: PMC6237987.
9. Urbaniak C, Gloor GB, Brackstone M, Scott L, Tangney M, Reid G. The Microbiota of Breast Tissue and Its Association with Breast Cancer. *Appl Environ Microbiol*. 2016 Jul 29;82(16):5039-48. doi: 10.1128/AEM.01235-16. PMID: 27342554; PMCID: PMC4968547.
10. Dela Cruz CS, Liu W, He CH, Jacoby A, Gornitzky A, Ma B, Flavell R, Lee CG, Elias JA. Chitinase 3-like-1 promotes *Streptococcus pneumoniae* killing and augments host tolerance to lung antibacterial responses. *Cell Host Microbe*. 2012 Jul 19;12(1):34-46. doi: 10.1016/j.chom.2012.05.017. PMID: 22817986;

PMCID: PMC3613130.

11. Pozzi C, Levi R, Braga D, Carli F, Darwich A, Spadoni I, Oresta B, Dioguardi CC, Peano C, Ubaldi L, Angelotti G, Bottazzi B, Garlanda C, Desai A, Voza A, Azzolini E, Cecconi M; ICH COVID-19 Task-force; Mantovani A, Penna G, Barbieri R, Politi LS, Rescigno M. A 'Multiomic' Approach of Saliva Metabolomics, Microbiota, and Serum Biomarkers to Assess the Need of Hospitalization in Coronavirus Disease 2019. *Gastro Hep Adv.* 2022;1(2):194-209. doi: 10.1016/j.gastha.2021.12.006. Epub 2022 Feb 7. PMID: 35174369; PMCID: PMC8818445.

12. Antunovic L, De Sanctis R, Cozzi L, Kirienko M, Sagona A, Torrisi R, Tinterri C, Santoro A, Chiti A, Zelic R, Sollini M. PET/CT radiomics in breast cancer: promising tool for prediction of pathological response to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2019 Jul;46(7):1468-1477. doi: 10.1007/s00259-019-04313-8. Epub 2019 Mar 26. PMID: 30915523

## Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. Consumabili e reagenti per biologia molecolare, incluso kit per estrazione degli acidi nucleici, servizio di sequenziamento RNA	65.717,17	65.717,17
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	11.597,15	11.597,15
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> <b>Acquisto beni e servizi</b> Consumabili e reagenti per biologia molecolare, incluso kit per estrazione degli acidi nucleici, servizio di sequenziamento RNA <b>Altro</b> Costi indiretti (10%)	39.607,51	39.607,51
<b>TOTALE</b>	<b>116.921,83</b>	<b>116.921,83</b>

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.

Rozzano, 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante



**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Grant Office – 02/8224.5147 [grants.office@humanitas.it](mailto:grants.office@humanitas.it);

[massimiliano.meoni@humanitas.it](mailto:massimiliano.meoni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

Piattaforma di servizi a supporto degli studi indipendenti promossi in collaborazione con gli ospedali del Gruppo Humanitas

**Attività**

La ricerca clinica indipendente è un pilastro fondamentale per migliorare la salute e il benessere degli individui e della società nel suo complesso. È importante sostenere e promuovere la ricerca indipendente per garantire risultati affidabili, sicuri e innovativi per tutti.

Nell'ambito della propria mission FHR promuove e sostiene gli studi indipendenti finalizzati all'integrazione tra le conoscenze cliniche e la ricerca clinica traslazionale, creando ponti tra la pratica clinica all'avanguardia e la ricerca di alto livello. Inoltre, consente di identificare nuovi approcci diagnostici e terapeutici e di introdurre nella organizzazione nuovi modelli e metodi nella gestione clinico assistenziale dei pazienti.

La piattaforma di servizi si costituirà da strumenti informatici e personale specialistico e dedicato alle diverse fasi degli studi clinici, dalla definizione del protocollo, al supporto delle attività sperimentali (siano esse cliniche o di laboratorio), alla gestione della documentazione del soggetto promotore e dei centri partecipanti, alla raccolta e gestione dei dati.

A supporto della conduzione degli studi indipendenti il personale dedicato si occuperà della definizione dei protocolli, della gestione dei dati degli studi, della tracciabilità del processo analitico delle attività, della gestione dei campioni biologici anche attraverso banche dati costruite ad hoc.

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

## Spese sostenute <sup>2</sup>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
<b>DI FUNZIONAMENTO</b>		
<b>Risorse umane</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>Acquisto beni e servizi</b> <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ALTRE VOCI DI SPESA <sup>3</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0.00	0.00
<b>ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI <sup>4</sup></b>		
<i>Dettaglio spese:</i> <b>Risorse umane</b> 1 figure TBD impiegata al 100% sulle attività del progetto <b>Altro</b> Costi indiretti (15%)	38.846,97	38.846,97
<b>TOTALE</b>	<b>38.846,97</b>	<b>38.846,97</b>

Rozzano, 29/07/2024

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

<sup>2</sup> Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>3</sup> Altre voci di spesa comunque destinate ad attività direttamente riconducibili alle finalità e agli istituzionali del soggetto beneficiario.

<sup>4</sup> Eventuali accantonamenti delle somme percepite per la realizzazione di progetti pluriennali, con durata massima triennale, fermo restando l'obbligo di rendicontazione successive al loro utilizzo.