



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

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

ANNO FINANZIARIO 2021¹

Ente beneficiario

Denominazione sociale	Fondazione Humanitas per la Ricerca ETS
Codice fiscale	97408620157
Sede legale	Via Manzoni 113 – 20089 - Rozzano (MI)
Indirizzo posta elettronica (NO PEC)	fondazione.humanitasricerca@humanitas.it
Scopo dell'attività sociale	La Fondazione non persegue finalità di lucro e ha come scopo di: - promuovere la ricerca, anche applicata, nei settori della medicina e biomedicina. - promuovere iniziative di raccolta fondi per sostenere le proprie finalità; - promuovere e sostenere progetti di assistenza e supporto ai pazienti delle strutture cliniche del Gruppo Humanitas. 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. 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. 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. 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.

¹ 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 ²

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
DI FUNZIONAMENTO		
Risorse umane <i>Dettaglio spese:</i> 1. Marani Cecilia (100% - 16/01/2025-31/07/2025) 2. Gotti Alessandro (100% - 01/10/2025-06/02/2026) 3. Simioni Anna (100% - 01/04/2026-31/05/2026) 4. Collura Davis (100% - 01/07/2025-31/05/2026) 5. Pinto Eleonora (100% - 01/01/2026-31/05/2026) 6. Camellini Riccardo (100% - 01/01/2026-31/05/2026) 7. Campiotti Nicola (100% - 29/04/2026-31/05/2026) 8. Tiberio Paola (100% - 09/03/2026-31/05/2026) 9. Valentino Sonia (50% 01/01/2025-31/05/2026)	110.740,20	110.740,20
Acquisto beni e servizi <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 3. Servizio di supporto alla definizione del protocollo e del dataset per il progetto "Patient participation and health promotion in	458.981,32	458.981,32

² Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.



Ministero dell'Università e della Ricerca
Direzione Generale della Ricerca

esophagogastric surgery for cancer"		
ALTRE VOCI DI SPESA ³		
Dettaglio spese: 1. Costi indiretti (15%)	100.129,28	100.129,28
ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI ⁴		
Dettaglio spese: N/A	0,00	0,00
TOTALE	669.850,80	669.850,80

Il seguente rendiconto è pubblicato al seguente indirizzo web

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

Luogo e data Rozzano, 23/07/2026

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

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

⁴ 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 complessivo di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2021
Enti della Ricerca Scientifica

Ente¹: 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;

massimiliano.meoni@humanitas.it

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – stefania.ducoli@humanitas.it

RIEPILOGO RENDICONTI:

Generazione di anticorpi contro membri della famiglia MS4A	252.854,37
Valutazione del ruolo del genere nel modulare la risposta immunitaria antitumorale e l'efficacia degli immune checkpoint inhibitors	200.516,24
L'impatto dei parametri immunitario-infiammatori-nutrizionali sulla prognosi dei pazienti affetti da tumore solido avanzato in trattamento con agente immunoterapico	30.130,00
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	117.350,19
TOTALE IMPORTI SINGOLI PROGETTI	669.850,80
TOTALE FONDI 5X1000 ANNO 2021	669.850,80

Data 23/07/2026

Il Legale Rappresentante

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

Il Legale Rappresentante

¹ 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**

Ente¹: 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;

massimiliano.meoni@humanitas.it

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – stefania.ducoli@humanitas.it

Progetto:

Generazione di anticorpi contro membri della famiglia MS4A

Attività

L'obiettivo di questo progetto è generare uno o più anticorpi monoclonali in grado di riconoscere due membri della famiglia delle tetraspannine MS4A, le proteine MS4A4A e MS4A6A. La famiglia MS4A comprende al momento 18 proteine transmembrana, molte delle quali con funzione ignota. Il membro più noto è MS4A1, o CD20, un marcatore specifico delle cellule B. L'utilizzo di anticorpi monoclonali o farmaci bispecifici che riconoscono porzioni di CD20 è in grado di eliminare selettivamente i linfociti B esprimenti la proteina, rappresentando una terapia innovativa estremamente efficace per alcune malattie ematologiche (quali linfomi non-Hodgkin e leucemia linfatica cronica) o autoimmuni (come sclerosi multipla, artrite reumatoide, lupus eritematoso sistemico).

Sulla base di queste evidenze si ritiene che MS4A4A e MS4A6A, espresse prevalentemente dal lineage mieloidi, possano rappresentare per le cellule mieloidi quello che CD20 rappresenta per i linfociti B. Di conseguenza i gruppi guidati da Alberto Mantovani e Massimo Locati si sono focalizzati sullo sviluppo di anticorpi monoclonali in grado di riconoscere in modo specifico MS4A4A e MS4A6A e promuovere l'eliminazione delle cellule esprimenti le due molecole. A questo scopo ci si è avvalsi di una tecnologia innovativa e validata, sviluppata dal team di Francois Romagné a Marsiglia e già

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

impiegata con successo per molecole con struttura analoga. Nello specifico, la tecnologia si basa su un sistema optofluidico automatizzato (Beacon TM), che permette di isolare e analizzare decine di migliaia di singole cellule su un unico chip; questo approccio consente di effettuare, in tempi molto rapidi, lo screening a singola cellula delle plasmacellule stimulate dopo l'immunizzazione, selezionando i linfociti B che producono gli anticorpi monoclonali più efficaci e specifici.

L'approccio utilizzato purtroppo non ha avuto successo nel caso di MS4A6A, ma ha permesso di ottenere una serie di 7 anticorpi monoclonali contro MS4A4A (Tabella 1), che si sono rivelati specifici per il target espresso su cellule trasfettate. Le regioni variabili delle catene pesanti e delle catene leggere delle immunoglobuline sono state sequenziate e dall'analisi filogenetica delle porzioni CDR è stato possibile concludere che probabilmente i 7 anticorpi identificati si raggruppano in due famiglie clonali. Inoltre tutti gli anticorpi hanno mostrato affinità per il ligando nettamente superiori rispetto ad un anticorpo commerciale anti-MS4A4A utilizzato come riferimento. Per ottimizzare i controlli sperimentali è stato ottenuto con la stessa tecnologia un anticorpo di controllo dello stesso isotipo (HUt_X1DK_ICT).

Tabella 1. Lista anticorpi anti-MS4A4A sviluppati mediante tecnologia BeaconTM				
Nome	ID	EC₅₀ (μg/mL)	EC₅₀ (nM)	Top Max
CHt_X1DK_M4A_3529	3504	0.38	2.56	896,020
CHt_X1DK_M4A_5911	3505	0.47	3.15	1,162,517
CHt_X1DK_M4A_6594	3506	0.40	2.67	1,130,574
CHt_X1DK_M4A_7394	3507	0.48	3.22	1,233,791
CHt_X1DK_M4A_7994	3508	0.51	3.40	1,014,244
CHt_X1DK_M4A_8854	3510	0.55	3.65	1,157,972
CHt_X1DK_M4A_9771	3511	2.16	14.42	1,184,416
HUt_X1DK_ICT	3518	NA	NA	489
Anti-MS4A4A reference antibody	3347	0.68	4.51	576,052

La specificità degli anticorpi è stata analizzata mediante citofluorimetria multiparametrica su cellule CHO transfettate per MS4A4A o MS4A6A (utilizzato come controllo negativo). Le CHO esprimenti MS4A4A sono riconosciute dagli anticorpi anti-MS4A4A, e non dall'anticorpo di controllo, mentre come atteso nessun anticorpo riconosce le cellule esprimenti MS4A6A, a dimostrazione della specificità dell'interazione (Fig. 1A). I

dati sul modello CHO sono stati successivamente validati nel contesto di cellule primarie. I risultati riportati in Figura 1B mostrano che l'anticorpo anti-MS4A4A rileva come atteso l'espressione della proteina in macrofagi umani generati in vitro, con un aumento di espressione nel fenotipo M2 rispetto al fenotipo M0 o M1

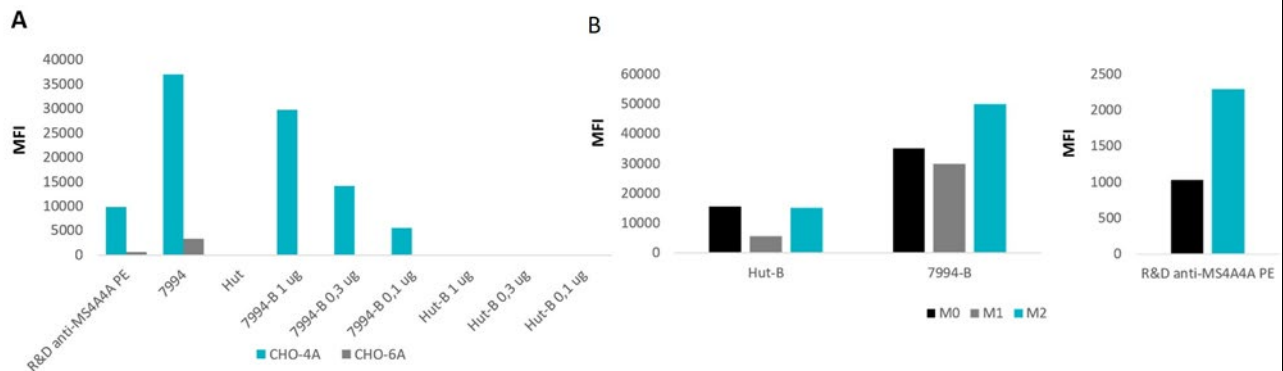


Figura 1– Analisi FACS degli anticorpi anti-MS4A4A (A) Analisi condotte su cellule CHO esprimenti rispettivamente MS4A4A e MS4A6A mediante marcatura con anticorpo anti-MS4A4A (clone #7994), anticorpo di controllo isotipico (Hut), entrambi biotinilati (7994-B/ Hut-B) o non biotinilati, e anti-MS4A4A commerciale (R&D, anti-MS4A4A PE). (B) Analisi FACS condotte su macrofagi umani polarizzati (fenotipi M0, M1, M2) mediante marcatura con anticorpo anti-MS4A4A biotinilato (clone #7994-B), anticorpo di controllo isotipico biotinilato (Hut-B) e anti-MS4A4A commerciale (R&D anti-MS4A4A). I risultati sono riportati come intensità media di fluorescenza (MFI) al netto della MFI dell'anticorpo secondario o della streptavidina, usati rispettivamente per 7994/Hut o 7994-B/Hut-B.

Infine due dei sette anticorpi ottenuti sono stati testati in un saggio di citotossicità anticorpo-mediata e i risultati preliminari ottenuti indicano per entrambi gli anticorpi una significativa capacità di indurre la lisi delle cellule target mediata dalle cellule NK. Questi risultati andranno ulteriormente sostanzati, ma suggeriscono che MS4A4A sia un possibile target per la selettiva deplezione di specifiche popolazioni mono-macrofagiche.

Spese sostenute ²

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
DI FUNZIONAMENTO		
Risorse umane <i>Dettaglio spese:</i> 1. Valentino Sonia – tecnico di laboratorio (50% 01/01/2025-31/05/2026)	32.367,72	32.367,72
Acquisto beni e servizi <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
ALTRE VOCI DI SPESA ³		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	37.111,00	37.111,00
ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI ⁴		
N/A	0.00	0.00
TOTALE	252.854,37	252.854,37

Rozzano, 23/07/2026

Il Legale Rappresentante

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

Il Legale Rappresentante

² Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

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

⁴ 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**

Ente¹: 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;

massimiliano.meoni@humanitas.it

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – stefania.ducoli@humanitas.it

Progetto:

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

Background e razionale:

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.

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Negli ultimi anni 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. [7,8]

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. [8]

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. [8]

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". [8]

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. [8]

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 scarso 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. [8]

Disegno dello studio:

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, abbiamo 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 sono stati:

- 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 ha previsto uno studio clinico pilota prospettico a basso livello di intervento.

Nello studio clinico prospettico, sono state 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 sono stati 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 sono stati 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 è stato condotto presso Humanitas Gavazzeni ed è durato tre anni.

Ciascun paziente arruolato è stato 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 hanno ricevuto un trattamento con un anti-PD(L)1, somministrato secondo la pratica clinica standard.

A ciascun paziente arruolato nello studio è stata prelevata una quantità pari a 10 ml di sangue periferico, al basale, durante la terapia e a progressione.

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

Sono state eseguite a tale fine strategie di analisi multiparametrica applicabili ai campioni tissutali prelevati, come descritto di seguito. Una sottocoorte selezionata di tumori è stata analizzata attraverso analisi dell'RNA a singola cellula spaziale (piattaforma Nanostring) e analisi di citometria di massa su tessuto (piattaforma Hyperion). Questi approcci permettono una caratterizzazione completa dell'infiltrato immunitario dei tumori su base trascrizionale (scRNAseq) e fenotipica (Hyperion). Permettono inoltre di esplorare le interazioni cellulari esistenti tra sottopopolazioni immunitarie e tra cellule immunitarie e cellule cancerose e stromali. Queste analisi multiomiche verranno infine integrate con tecniche di sequenziamento di RNA totale e immunoistochimica (IHC) che saranno applicate a tutte le biopsie raccolte. Infine sono state eseguite 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.

Risultati ottenuti:

Ad oggi, 22 pazienti con NSCLC metastatico sono stati arruolati prospetticamente nello studio. Campioni di sangue periferico sono stati raccolti longitudinalmente dalla maggior parte dei pazienti arruolati al basale, durante il trattamento e alla progressione di malattia, ove possibile. Plasma e PBMC sono stati isolati e crioconservati con successo per le successive analisi multi-omiche e immunologiche. Il profiling in citofluorimetria è stato completato su campioni di PBMC di 8 pazienti in diversi timepoint di trattamento, mentre le restanti analisi sono attualmente in corso. Il tessuto tumorale raccolto prima dell'immunoterapia è stato processato con approcci spaziali e single-cell complementari, tra cui Imaging Mass Cytometry (piattaforma Hyperion), single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) e trascrittomica spaziale mediante la piattaforma 10x Genomics Visium HD. Questi dataset hanno permesso di ottenere una caratterizzazione integrata del microambiente tumorale e delle risposte immunitarie sistemiche, consentendo lo studio dei meccanismi sesso-specifici associati alla risposta e alla resistenza al blocco dei checkpoint immunitari.

I seguenti risultati sono stati ottenuti:

1. Analisi scRNA-seq su campioni tissutali (Figure 1-4)

Abbiamo ricostruito l'abbondanza delle cellule immunitarie del microambiente tumorale (TME) per valutare le differenze di sesso. Abbiamo eseguito scRNAseq su 10 campioni totali (6 maschi e 4 femmine) e ulteriori sei campioni sono già stati processati e sono pronti per l'acquisizione. Abbiamo osservato molteplici differenze meritevoli di attenzione, alcune con significatività statistica e altre con un chiaro trend. Ad esempio, le pazienti di sesso femminile mostrano un infiltrato intratumorale caratterizzato da una maggiore abbondanza di macrofagi, cellule dendritiche e linfociti T (Fig. 1). Oltre alle differenze nell'abbondanza cellulare, sono stato osservato anche differenze sesso-specifiche nei profili di espressione genica in molteplici tipi cellulari immunitari. I risultati della “gene set enrichment analysis” (GSEA), condotta sui geni differenzialmente espressi (DEG) per sesso in tipi cellulari immunitari selezionati, sono mostrati in fig. 2. Coerentemente tra diversi tipi cellulari, i risultati mostrano che le cellule immunitarie delle femmine hanno un arricchimento di pathway coinvolte nell'immunità antitumorale funzionale, come il l'attivazione dei recettori delle chemochine, la regolazione della risposta immunitaria e le relative funzioni effettrici. Al contrario, le pathway significativamente arricchite nelle cellule immunitarie dei tumori maschili sono prevalentemente associati a processi metabolici e ossidativi disfunzionali. Abbiamo successivamente eseguito analisi di scRNA-seq focalizzate alle sottopopolazioni linfoidi (fig. 3) e mieloidi (fig. 4) con ruoli chiave nell'immunità antitumorale. I risultati di tale analisi suggeriscono che i meccanismi di immune-evasion sfruttati dai tumori possano differire tra uomini e donne. Nello specifico, le cellule T regolatorie e i macrofagi associati ai lipidi — entrambi tipi cellulari noti per contribuire ai meccanismi di immune-evasion e alla resistenza agli ICI — mostrano pattern di arricchimento sesso-specifici: i macrofagi predominano nel microambiente tumorale dei maschi, mentre le Treg predominano in quello delle femmine.

2. Analisi FACS su campioni di sangue periferico (Figure 5-7)

Il profiling FACS è stato condotto su campioni ematici di nove pazienti (cinque femmine e tre maschi) raccolti al basale, al ciclo 4 di trattamento con ICI e alla progressione di malattia. Nel sangue periferico, abbiamo identificato differenze sesso-associate al basale: ad esempio, gli uomini mostravano una maggiore abbondanza di cellule T, mentre le donne mostravano livelli più elevati di cellule NK (fig. 5). Inoltre, le donne mostravano una maggiore abbondanza basale di specifiche sottopopolazioni di cellule T, tra cui le cellule Ki-67⁺ PD-1⁺ CD4 TEM e le cellule AR⁺ CD8⁺ TEMRA, entrambe note mediatrici della risposta all'immunoterapia (fig. 6e). Abbiamo confermato un'espressione significativa del recettore degli androgeni (AR) nelle cellule CD8⁺ TEMRA, suggerendo che la loro attività funzionale possa essere modulata dagli ormoni sessuali, contribuendo potenzialmente alle differenze di sesso nella risposta al trattamento (fig. 6b). Infine, abbiamo monitorato i cambiamenti dinamici nelle sottopopolazioni di cellule T e NK durante il trattamento con ICI. Come illustrato nelle fig. 5 e 6, il trattamento con ICI induce una modulazione dinamica di molteplici sottopopolazioni di cellule T e NK. In particolare, i pattern di modulazione differiscono per sesso: l'abbondanza delle sottopopolazioni di cellule NK TIM3⁺OX40⁺ evolve diversamente nei pazienti maschi e femmine, con livelli che diventano più alti negli uomini rispetto alle donne dopo quattro cicli di trattamento con ICI (fig. 7d). I restanti campioni di PBMC sono già stati processati e sono pronti per l'acquisizione. Il completamento dell'acquisizione dei dati di citofluorimetria e delle relative analisi a valle per l'intera coorte di pazienti è previsto entro la fine di agosto, fornendo una potenza statistica sufficiente per validare queste osservazioni preliminari.

3. Profiling spaziale ad alta dimensionalità nei tessuti tumorali (Hyperion e trascrittomico spaziale)

Imaging Mass Cytometry (IMC): l'IMC è stata eseguita utilizzando il sistema Hyperion Imaging su 10 sezioni di tessuto incluso in paraffina e fissato in formalina (FFPE) (6 femmine e 4 maschi), colorate con un pannello di 32 anticorpi coniugati con metalli, mirati a marcatori epiteliali, immunitari, stromali e funzionali. Sono state acquisite in totale 2-5 regioni di interesse (ROI) in aree tumorali e peritumorali rappresentative.

La segmentazione single-cell e la quantificazione dei marcatori hanno permesso di identificare i principali compartimenti cellulari, tra cui cellule epiteliali tumorali, linfociti T, linfociti B, macrofagi, cellule dendritiche, cellule endoteliali, fibroblasti e cellule natural killer. Analisi di clustering non supervisionato basato sull'espressione normalizzata dei marcatori ha permesso di risolvere 36 popolazioni cellulari fenotipicamente distinte, ciascuna caratterizzata da una combinazione unica di marcatori di lineage e di attivazione (Figure 8, 9). La riduzione dimensionale mediante Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) ha dimostrato una netta separazione delle popolazioni immunitarie, stromali ed epiteliali, confermando la solidità della strategia di clustering. La visualizzazione tramite heatmap ha confermato i pattern di espressione attesi per i marcatori canonici, con i cluster epiteliali arricchiti in pan-Citocheratina ed EpCAM, le popolazioni di cellule T che esprimono CD3 e CD8 o CD4, le sottopopolazioni di macrofagi che esprimono CD68 e CD163, e i fibroblasti caratterizzati dall'espressione di α -SMA e collagene. Le analisi dell'organizzazione spaziale delle sottopopolazioni immunitarie e delle interazioni di "neighborhood" sono attualmente in corso. Le evidenze generate

mostrano che il compartimento linfoide è più arricchito nelle femmine, mentre i compartimenti mieloide ed epiteliale sono più arricchiti nei maschi (figura 9). In particolare, le cellule T con un fenotipo esausto (exhausted), incluse le cellule T regolatorie (Treg), sono risultate più arricchite nei tumori di pazienti donne rispetto ai campioni maschili, in linea con le osservazioni dell'analisi FLEX (figura 9).

Analisi di trascrittomica spaziale: l'analisi di trascrittomica spaziale è stata avviata utilizzando la piattaforma Visium Spatial Gene Expression per valutare l'espressione genica e la distribuzione spaziale dei trascritti in sezioni di tessuto FFPE. 8 campioni tissutali (4 maschi e 4 femmine) sono stati sottoposti a preparazione delle librerie, profiling trascrittomico spaziale e sequenziamento. L'acquisizione dei dati è stata completata e le analisi bioinformatiche sono attualmente in corso. I profili di espressione genica spaziale risultanti verranno integrati con il dataset di Imaging Mass Cytometry per fornire una caratterizzazione completa del microambiente tissutale.

4. Profiling proteomico (Olink)

I campioni di plasma di tutti i pazienti arruolati (per un totale di 50 campioni tra i diversi timepoint), raccolti al basale, al ciclo 4 e alla progressione di malattia, sono stati sottoposti a profiling proteomico mediante la piattaforma Olink. Sono stati selezionati due pannelli proteici complementari per caratterizzare in modo completo il proteoma circolante: i) un pannello metabolico, mirato alle proteine coinvolte nei pathway e nella regolazione metabolica, e ii) un pannello infiammatorio, progettato per quantificare citochine infiammatorie e altri mediatori immuno-correlati. La quantificazione proteica è stata avviata secondo i protocolli standardizzati, e il controllo di qualità, l'elaborazione bioinformatica e le analisi statistiche a valle sono attualmente in corso. Al termine, i dati proteomici risultanti verranno integrati con i dataset di Imaging Mass Cytometry e di trascrittomica spaziale Visium per fornire una caratterizzazione multi-omica completa della coorte di studio e del suo microambiente tissutale.

Conclusioni e attività in corso e previste:

Le evidenze finora prodotte confermano la presenza di rilevanti differenze sesso-specifiche nei meccanismi molecolari alla base della risposta immunitaria antitumorale. Sebbene alcuni risultati mostrino al momento solo un trend verso la significatività statistica — probabilmente a causa della dimensione campionaria limitata finora analizzata — prevediamo che l'espansione della coorte di pazienti e l'integrazione delle analisi spaziali in corso consentiranno di validare e approfondire ulteriormente le differenze sesso-specifiche osservate nei meccanismi molecolari di risposta e resistenza all'immunoterapia.

Nel complesso, l'attività di ricerca svolta finora ha contribuito alla realizzazione delle seguenti pubblicazioni scientifiche:

1) Sex hormones, the anticancer immune response, and therapeutic opportunities.

Conforti F, Pala L, Di Mitri D, Catania C, Cocorocchio E, Laszlo D, Ceresoli G, Locatelli M, Facella F, De Pas T, Rambaldi B, Rambaldi A, Viale G, Bagnardi V, Giaccone G, Mantovani A.

Cancer Cell. 2025 Mar 10;43(3):343-360. doi: 10.1016/j.ccell.2025.02.013.

PMID: 40068594

2) Estrogen Signaling in Early-Stage Breast Cancer: Impact on Neoadjuvant

Chemotherapy and Immunotherapy.

Corti C, Binboğa Kurt B, Koca B, Rahman T, **Conforti F**, Pala L, Bianchini G, Criscitiello C, Curigliano G, Garrido-Castro AC, Kabraji SK, Waks AG, Mittendorf EA, Tolaney SM. Cancer Treat Rev. 2025 Jan;132:102852. doi: 10.1016/j.ctrv.2024.102852. PMID: 39571402 .

3) Sex dimorphism and cancer immunotherapy: May pregnancy solve the puzzle?

Venanzi FM, Bini M, Nuccio A, De Toma A, Lambertini M, Ogliari FR, Oresti S, Viganò MG, Brioschi E, Polignano M, Naldini MM, Riva S, Ferrara M, Fogale N, Damiano G, Russo V, Reni M, Veronesi G, Foggetti G, **Conforti F**, Bulotta A, Ferrara R. Cancer Treat Rev. 2023 Dec;121:102648. doi: 10.1016/j.ctrv.2023.102648. PMID: 37918169

4) Heterogeneity of progression-free survival surrogacy by sex in randomized trials testing immunotherapy in non-small cell lung cancer.

Pagan E, Sala I, Pala L, Natali F, Merlo F, Oriecuia C, Specchia C, De Pas T, Catania C, Cocorocchio E, Laszlo D, Ceresoli G, Locatelli M, Cascetta P, Facella F, Tinterri B, Pino M, Canzian J, Giaccone G, Bagnardi V, **Conforti F**. JNCI Cancer Spectr. 2025 Sep 1;9(5):pkaf085. doi: 10.1093/jncics/pkaf085. PMID: 40833935

5) Sex-Related Differences in Immunotherapy Toxicities: Insights into Dimorphic Responses.

Canzian J, **Conforti F**, Jacobs F, Benvenuti C, Gaudio M, Gerosa R, De Sanctis R, Zambelli A. Cancers (Basel). 2025 Mar 21;17(7):1054. doi: 10.3390/cancers17071054. PMID: 40227458

6) Improved outcomes in women with BRAF-mutant melanoma treated with BRAF/MEK-targeted therapy across randomized clinical trials. A systematic review and meta-analysis.

Pala L, De Pas T, Pagan E, Minucci S, Catania C, Digiacomio N, Cocorocchio E, Laszlo D, Di Muzio A, Barigazzi C, Stucchi E, De Grandi L, Stucchi S, Viale G, Gelber RD, Bagnardi V, **Conforti F**. Semin Oncol. 2023 Feb-Apr;50(1-2):34-39. doi: 10.1053/j.seminoncol.2023.03.003. PMID: 36967333

7) Gender-based differences in the efficacy of anti-EGFR/BRAF/MEK targeted therapy in patients with BRAF-mutated metastatic colorectal cancer.

Pala L, De Pas T, Cocorocchio E, Catania C, Ceresoli G, Laszlo D, Zattarin E, Rossi G, **Conforti F**. Semin Oncol. 2025 Feb;52(1):10-13. doi: 10.1053/j.seminoncol.2024.10.004. PMID: 39627078

8) Androgen receptor blockade promotes response to BRAF/MEK-targeted therapy.

Vellano CP, White MG, Andrews MC, Chelvanambi M, Witt RG, Daniele JR, Titus M, McQuade JL, **Conforti F**, Burton EM, Lastrapes MJ, Ologun G, Cogdill AP, Morad G, Prieto P, Lazar AJ, Chu Y, Han G, Khan MAW, Helmink B, Davies MA, Amaria RN, Kovacs JJ, Woodman SE, Patel S, Hwu P, Peoples M, Lee JE, Cooper ZA, Zhu H, Gao G, Banerjee H, Lau M, Gershenwald JE, Lucci A, Keung EZ, Ross MI, Pala L, Pagan E, Segura RL, Liu Q, Borthwick MS, Lau E, Yates MS, Westin SN, Wani K, Tetzlaff MT, Haydu LE, Mahendra M, Ma X, Logothetis C, Kulstad Z, Johnson S, Hudgens CW, Feng N, Federico L, Long GV, Futreal PA, Arur S, Tawbi HA, Moran AE, Wang L, Heffernan TP, Marszalek JR, Wargo JA.

Inoltre, le analisi molecolari attualmente in fase di completamento, o comunque già avviate, consentiranno di approfondire ulteriormente le differenze legate al sesso in elementi chiave della risposta immunitaria antitumorale spontanea, tra cui:

- L'abbondanza delle diverse cellule immunitarie e la loro distribuzione spaziale all'interno del microambiente immunitario tumorale (TIME)
- i livelli di espressione di immune checkpoint molecole e delle pathway immuno-relate nel TIME
- l'arricchimento di specifici fenotipi immunitari intratumorali (ad es. infiltrato, immuno-escluso o immuno-deserto)
- la composizione, il differenziamento e lo stato funzionale delle cellule dendritiche la polarizzazione dei macrofagi
- la composizione, il differenziamento e lo stato funzionale delle cellule natural killer (NK)
- la composizione, gli stati funzionali, il lineage, le dinamiche e l'architettura clonale delle varie sottopopolazioni di cellule T, incluse le cellule CD8+ (naïve, effettrici, di memoria residente, pre-esaurite ed esaurite), le cellule CD4+ convenzionali (naïve, di memoria centrale, effettrici, pre-esaurite ed esaurite) e le cellule T regolatorie CD4+
- i livelli di espressione dei geni immuno-correlati regolati dagli ormoni sessuali e/o localizzati sui cromosomi sessuali, sia nelle cellule immunitarie innate sia in quelle adattative

Infine, tutte le differenze di genere evidenziate in questo studio prospettico 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]

Infine, le evidenze generate saranno utilizzate per tentare di identificare nuovi biomarcatori, utili per l'allocazione dei pazienti alle diverse immunoterapie disponibili, e per disegnare 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

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.

8) Conforti F, Pala L, Pagan E, et al. Sex-Based Dimorphism of Anticancer Immune Response and Molecular Mechanisms of Immune Evasion. *Clin Cancer Res.* 2021;27(15):4311-4324.

Figure 1

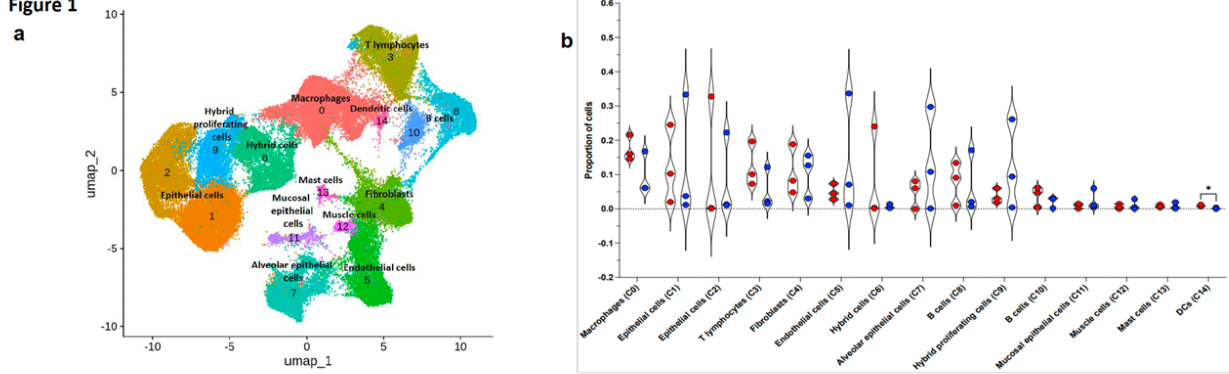


Figure 1: Single-cell RNA sequencing of tumor samples (3 males and 3 females) highlights differences of abundance of immune cell subpopulations in TIME in males and females
a) UMAP visualization of single-cell RNA sequencing data from six tumor samples (3 males and 3 females), annotated through reference mapping to identify cell populations.
b) Quantification of TIME abundance of different immune cell types by patient gender.

Figure 2:

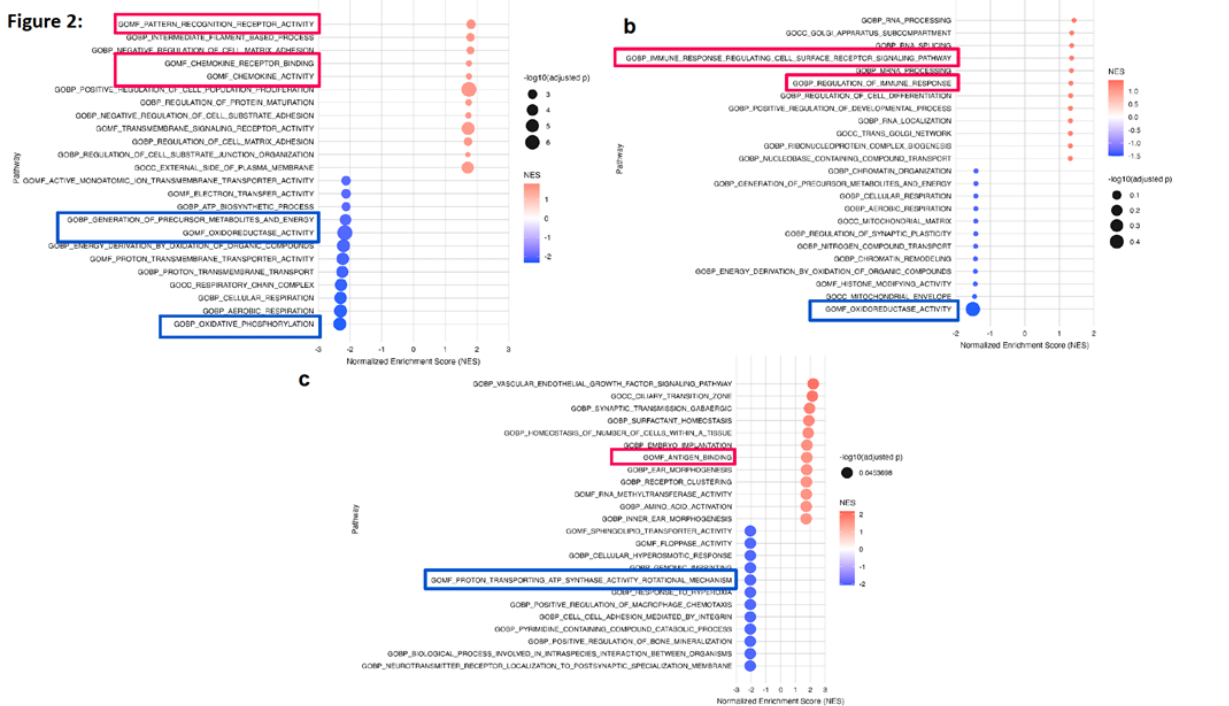


Figure 2: Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) reveals sex-specific biological pathways across immune cell subpopulations
GSEA of DEGs by gender in (a) cell-type cluster 0 (macrophages), (b) cell-type cluster 3 (T lymphocytes), and (c) cell-type cluster 14 (dendritic cells). Red dots indicate gene sets enriched in females, and blue dots in males.

Figure 3

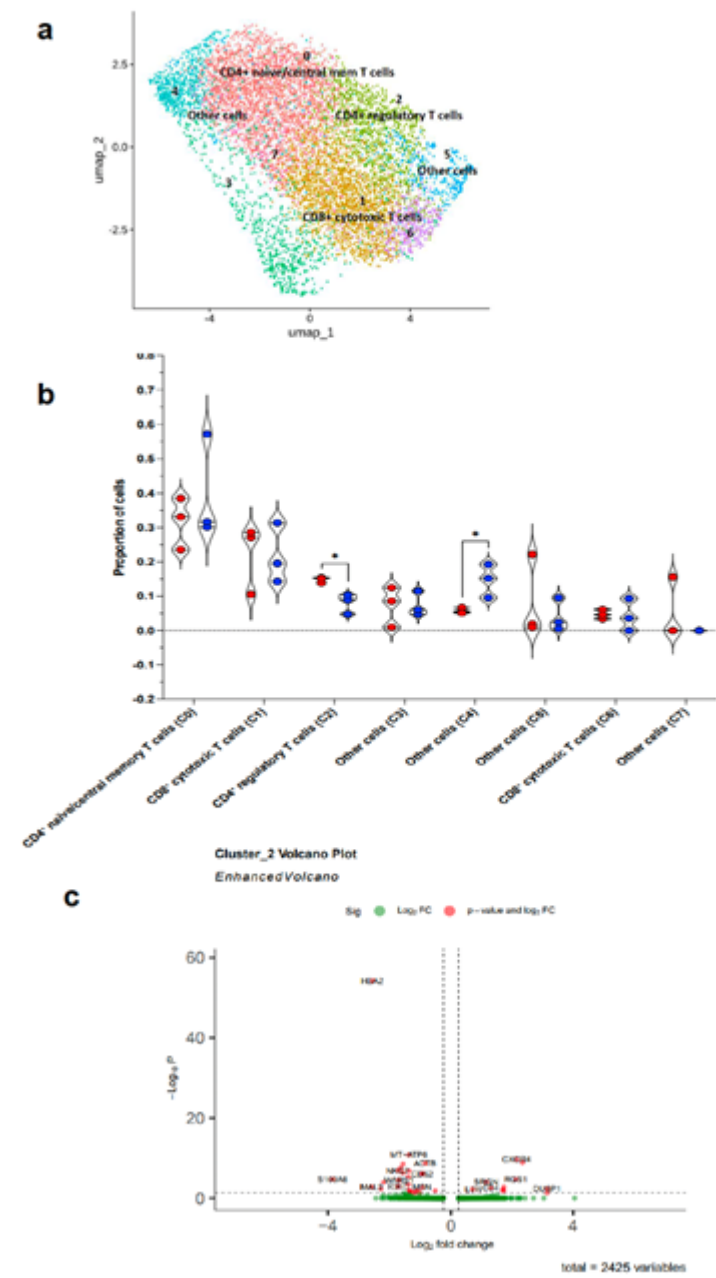


Figure 4

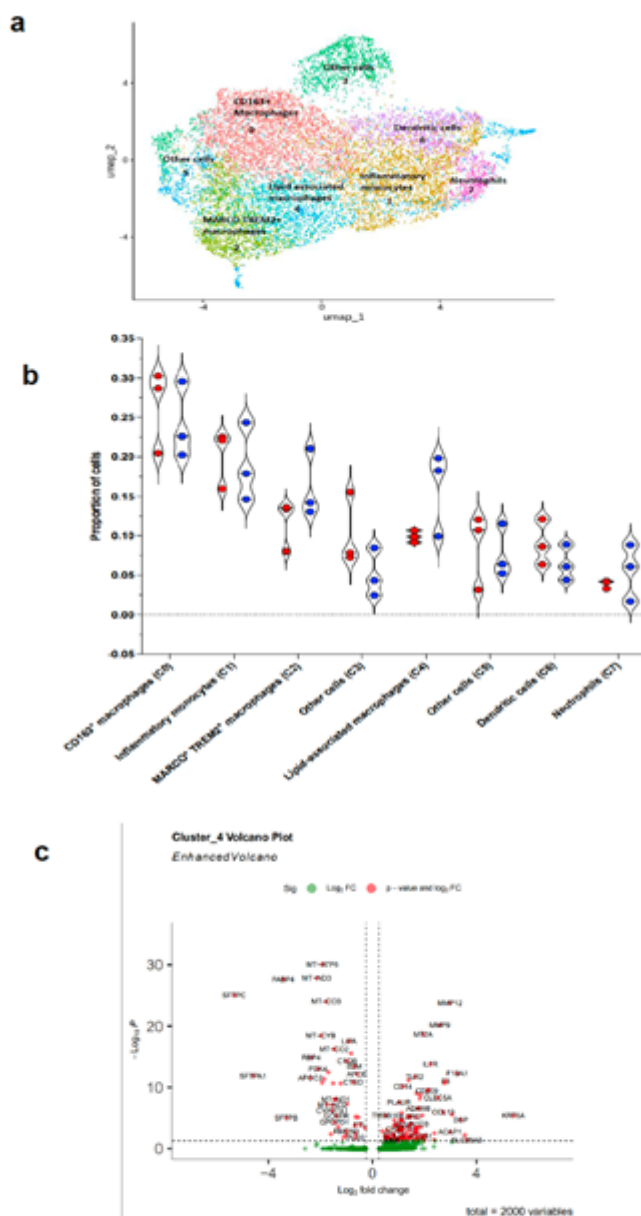


Figure 3: Males' TIME is enriched in lipid associated macrophages, which upregulate genes involved in lipid metabolism (FABP4, APOC2, APOE)

- a) UMAP plot of scRNA-seq data from tumor samples, restricted to myeloid cell clusters
b) Quantification of TIME abundance of myeloid cell subpopulations by gender.
c) Volcano plot of DEG by gender in cluster 4 (lipid-associated macrophages): positive values indicate gene upregulation in females, negative values indicate gene upregulation in males

Figure 5

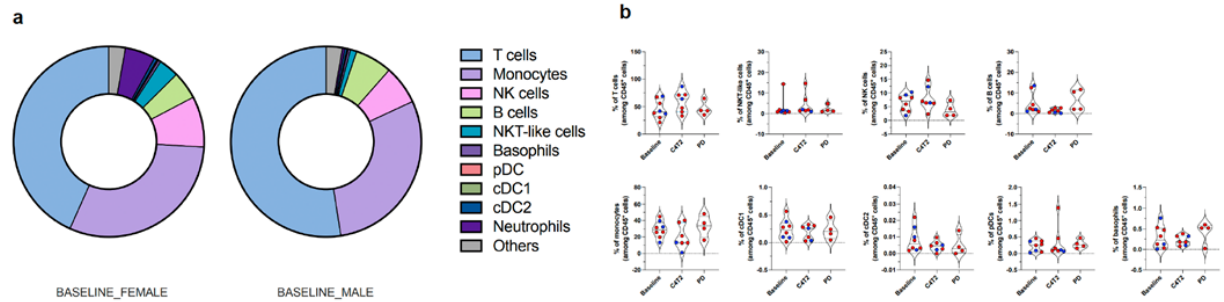


Figure 4. Manual FACS analysis of CD45+ cells at baseline shows higher T cell frequencies in males and increased NK cell proportions in females
a) Pie chart showing the abundance of CD45+ subpopulations in PBMCs by gender at baseline.
b) Box plots showing the abundance of CD45+ subpopulations in PBMCs collected at baseline, C4 timepoint, and at PD.

Figure 6

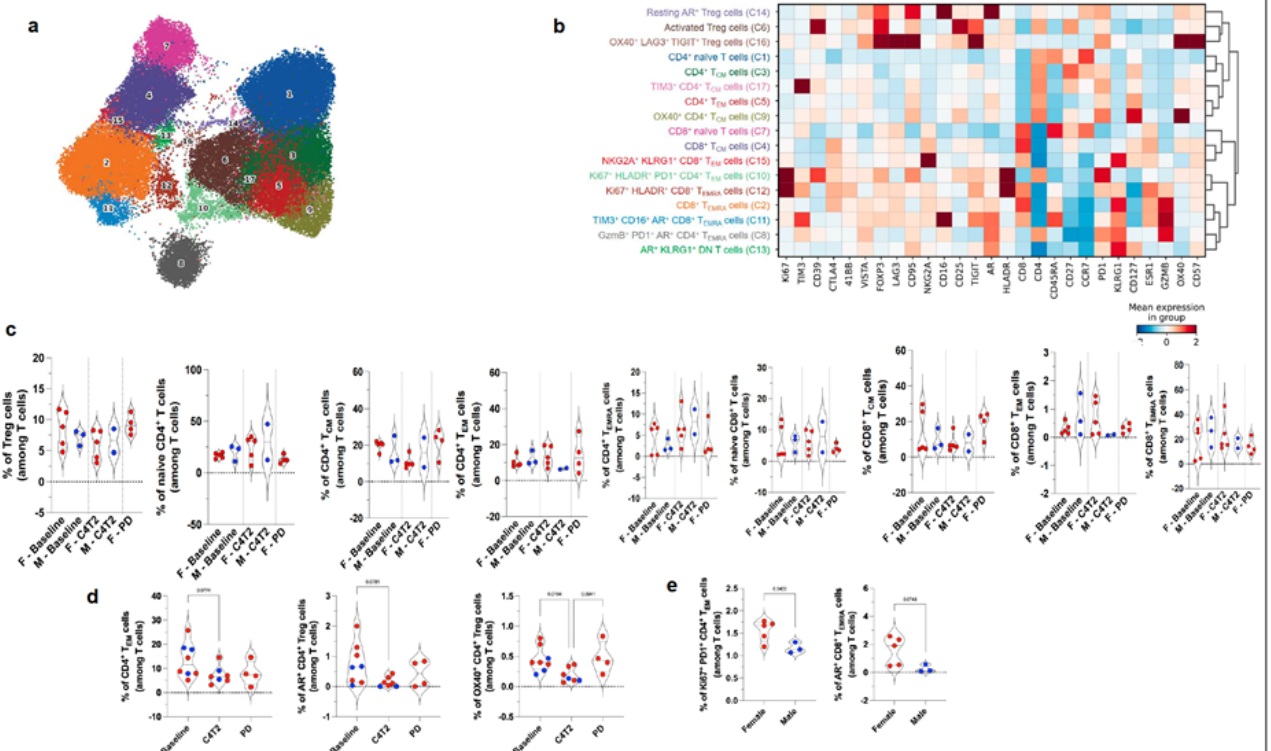


Figure 5: CD4+ TEM cells, AR+ CD4+ Tregs and OX40+ CD4+Treg cells are modulated by anti PD-(L)1 in males and females; females exhibited a higher baseline proportion of CD8+ TEMRA T cells expressing FACS data from nine blood samples (3M, 6F) showing reference-based annotation of T cell subpopulations.
a) UMAP representation of FACS data from nine blood samples (3M, 6F) showing reference-based annotation of T cell subpopulations.
b) Heatmap showing the differential expression of functional genes across identified T cell clusters.
c) Box plots showing the abundance of different T cell subpopulations by gender at baseline, at the C4 timepoint, and at PD
d) Box plots showing the abundance of selected T cell subpopulations at baseline, C4 timepoint and at PD
e) Box plots showing the abundance of selected T cell subpopulations by gender at baseline

Figure 7

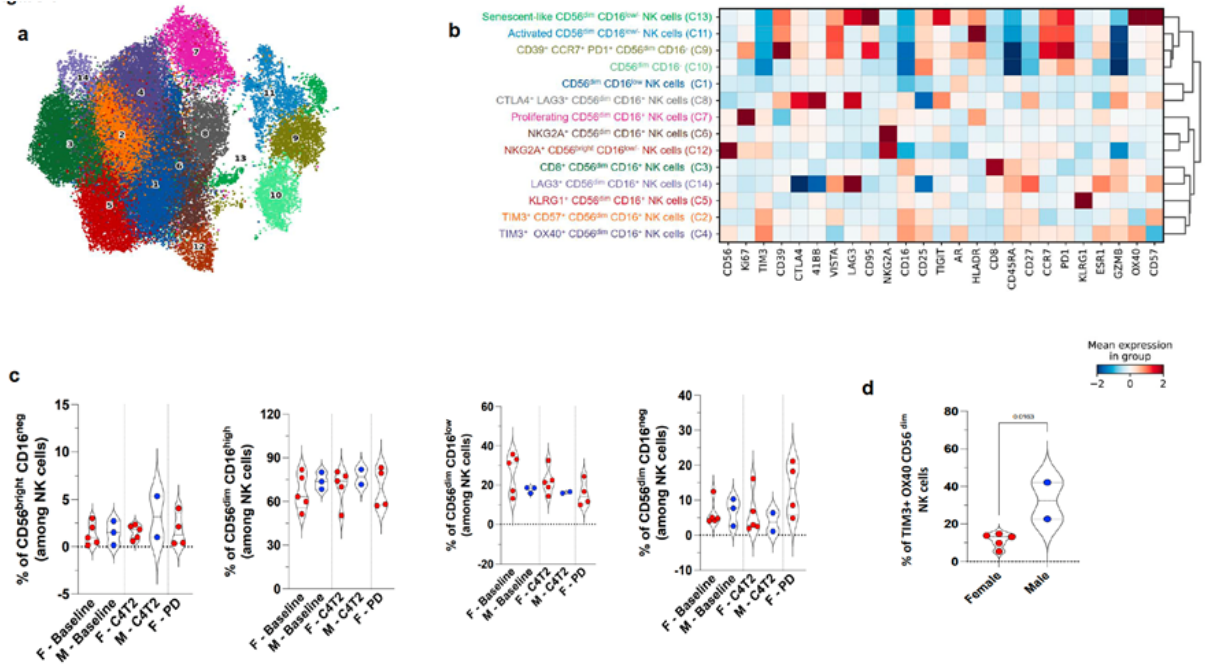
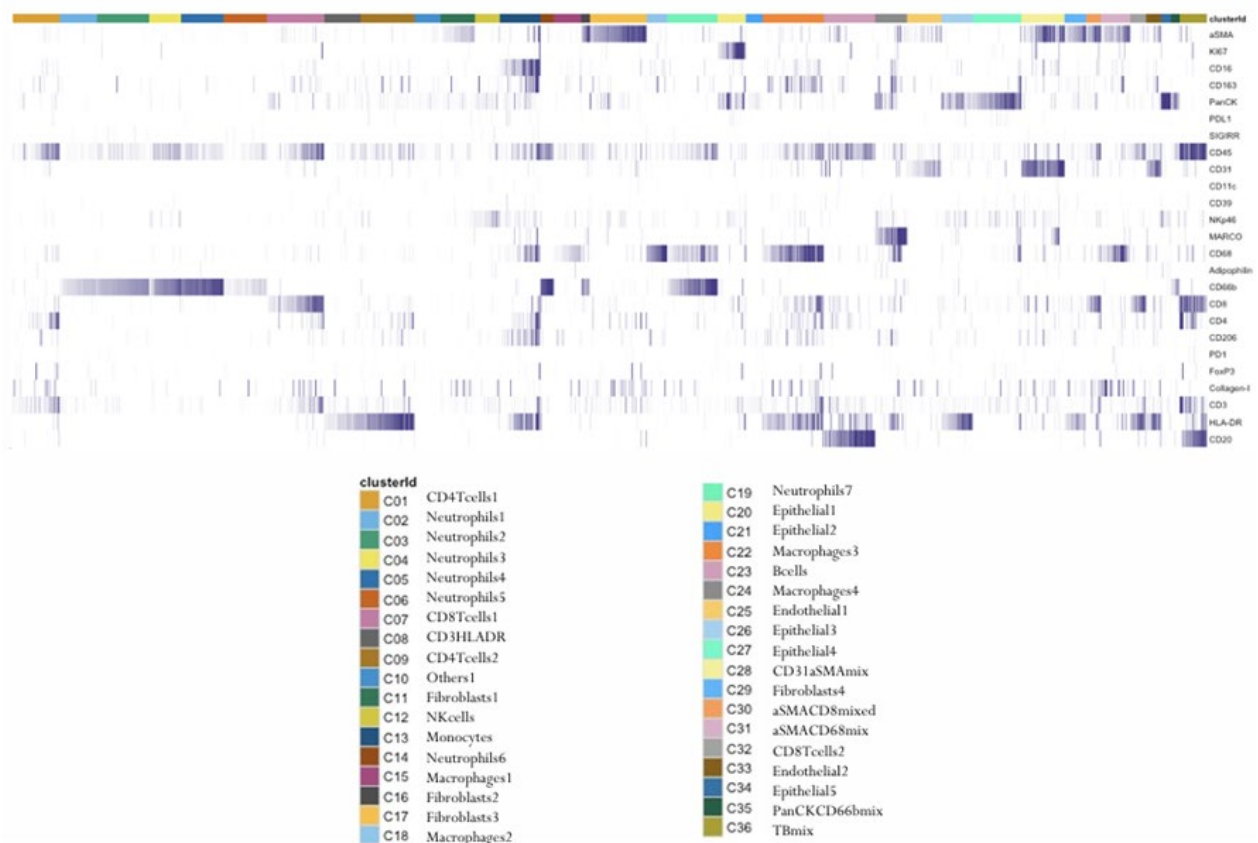
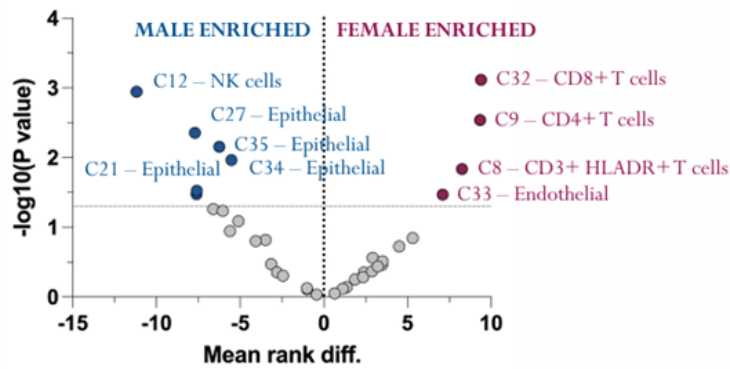
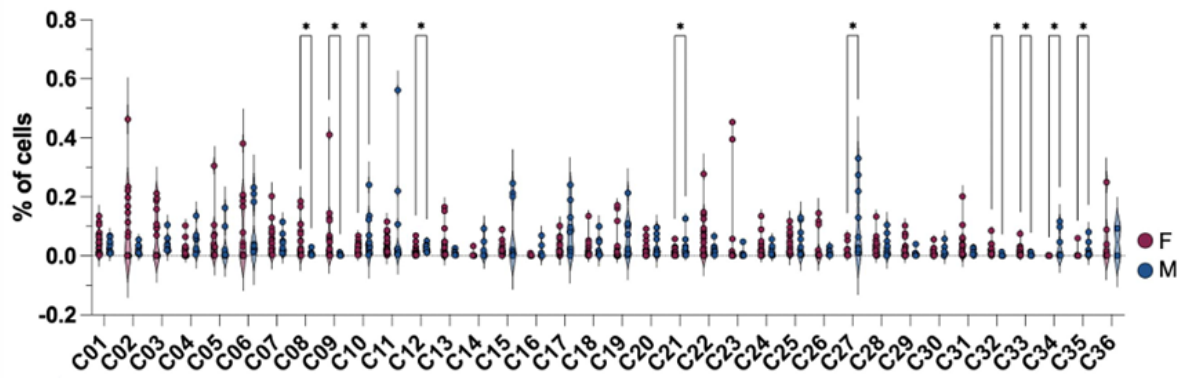


Figure 6: TIM3+ OX40+ CD56 dim NK cells are significantly reduced in females vs males after 4 cycles of anti PD-[L]1
 a) UMAP representation of FACS data from nine blood samples (3 M, 6 F) showing reference-based annotation of NK cells subpopulations.
 b) Heatmap showing the differential expression of functional genes across identified NK cells subpopulations
 c) Box plot showing the abundance of NK subpopulations across therapy at baseline, C4 and at PD by gender
 d) Box plot showing the abundance by gender of TIM3+ OX40+ CD56dim NK cells subpopulations at C4 timepoint

First clustering (heatmap)



First clustering (frequency)



Spese sostenute ²

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
DI FUNZIONAMENTO		
Risorse umane <i>Dettaglio spese:</i> 1. Marani Cecilia (100% - 16/01/2025-31/07/2025) 2. Gotti Alessandro (100% - 01/10/2025-06/02/2026) 3. Simioni Anna (100% - 01/04/2026-31/05/2026)	20.322,48	20.322,48
Acquisto beni e servizi <i>Dettaglio spese:</i> 1. Consumabili e reagenti per biologia molecolare, incluso kit per estrazione degli acidi nucleici, servizio di sequenziamento RNA	150.193,76	150.193,76
ALTRE VOCI DI SPESA ³		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	30.000,00	30.000,00
ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI ⁴		
<i>Dettaglio spese:</i> N/A	0,00	0,00
TOTALE	200.516,24	200.516,24

Rozzano, 23/07/2026

Il Legale Rappresentante

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

Il Legale Rappresentante

² Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

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

⁴ 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

Ente¹: 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;

massimiliano.meoni@humanitas.it

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – 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

La maggior parte dei tumori solidi avanzati vede nel trattamento con agenti immunoterapici lo standard terapeutico nel tentativo di contrastare la crescita e sviluppo del tumore. A fronte di un notevole beneficio per alcuni tumori e alcuni pazienti, un numero non trascurabile di essi non ottiene risultati soddisfacenti. Tra le varie ipotesi che giustifichino il beneficio più o meno evidente del trattamento immunoterapico sembrano giocare un ruolo importante lo stato immuno-infiammatorio del paziente e del tumore nonché quello nutrizionale. Oggi esistono parametri che descrivono in modo semplice ed affidabile tali aspetti e che permettono quindi di valutare se esista una ipotesi attendibile di correlazione tra essi e la risposta all'agente immunoterapico.

Il 2024 ha visto un lungo iter approvativo presso il CE di riferimento dell'Ospedale Molinette – AOU Città della Salute e della Scienza di Torino.

L'approvazione definitiva è arrivata nel febbraio 2025.

Durante il periodo indicato tuttavia, in ragione del fatto che la maggior parte delle procedure indicate nel protocollo fanno parte della routine clinica per la gestione dei pazienti affetti da neoplasia solida ed in trattamento con agente immunoterapico singolo o in doppietta o con schedula chemioterapica, ha visto la valutazione di numerosi pazienti. Ciò ha permesso di aumentare le skills dei conduttori della sperimentazione (PI, subinvestigators, infermiere di ricerca e datamanager).

Al momento attuale lo studio è attivo e sono stati avviati i primi screening di pazienti per la valutazione di eleggibilità al trattamento.

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

AGGIORNAMENTO 2026 – Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico a Febbraio 2025 e prevedeva arruolamento di minimo 30 pz., successivamente è stato effettuato emendamento con cambio P.I. a settembre 2025. Lo studio ha preso il via a febbraio 2026. Attualmente sono stati arruolati 3 pz. (il primo arruolato a fine febbraio 2026).

Spese sostenute ²

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
DI FUNZIONAMENTO		
Risorse umane <i>Dettaglio spese:</i> 1. Collura Davis (100% - 01/07/2025-31/05/2026)	25.000,00	25.000,00
Acquisto beni e servizi <i>Dettaglio spese:</i> 1. N/A	0,00	0,00
ALTRE VOCI DI SPESA ³		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	5.130,00	5.130,00
ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI ⁴		
<i>Dettaglio spese:</i> Risorse umane N/A	0,00	0,00
TOTALE	30.130,00	30.130,00

Rozzano, 23/07/2026

Il Legale Rappresentante

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

Il Legale Rappresentante

² Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

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

⁴ 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

Ente¹: 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;

massimiliano.meoni@humanitas.it

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – stefania.ducoli@humanitas.it

TITOLO

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

DESCRIZIONE

I tumori dell'esofago e dello stomaco rappresentano neoplasie a prognosi spesso sfavorevole e richiedono percorsi terapeutici complessi, basati su un approccio multidisciplinare che include chirurgia, chemioterapia e/o radioterapia. Nei pazienti sottoposti a esofagectomia o gastrectomia, le sequele postoperatorie possono influenzare significativamente la qualità di vita, determinando problematiche nutrizionali, digestive, dolore e affaticamento. In questo contesto, la partecipazione attiva del paziente e la sua adesione al percorso di cura sono riconosciute come fattori fondamentali per migliorare gli esiti clinici, la gestione delle complicanze e la continuità assistenziale, anche attraverso strumenti di telemedicina e monitoraggio digitale.

Quesito, razionale e fattibilità dello studio

Lo studio si è proposto di valutare il livello di partecipazione e responsabilizzazione dei pazienti con tumore esofagogastrico candidati a chirurgia, analizzando le loro rappresentazioni del percorso terapeutico e della salute. Il razionale risiedeva nell'ipotesi che una maggiore consapevolezza e adesione al trattamento favoriscano una migliore gestione delle sequele postoperatorie e un miglioramento della qualità di vita. A tal fine è stato sviluppato un questionario dedicato, le cui risposte sono state analizzate mediante metodologia MADIT per costruire un indice di partecipazione del paziente. I dati raccolti hanno permesso successivamente di sviluppare un sistema digitale automatizzato e algoritmi di supporto basati su intelligenza artificiale.

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Il progetto ha pertanto avuto l'obiettivo di favorire la partecipazione attiva del paziente al percorso terapeutico attraverso lo sviluppo e la sperimentazione di strumenti digitali innovativi per la raccolta di patient-reported outcomes e la valutazione della qualità di vita.

Fase 1 Sviluppo dello strumento

Nella prima fase del progetto è stato costituito un gruppo multidisciplinare di esperti che ha definito le principali aree di interesse relative alla qualità di vita, alla responsabilizzazione del paziente e alla partecipazione al percorso di cura. Sulla base di tali indicazioni è stato sviluppato un questionario dedicato e sono state avviate le attività di reclutamento dei pazienti e raccolta dei dati preliminari.

Fase 2 – Implementazione degli strumenti digitali

I dati raccolti sono stati utilizzati per sviluppare e affinare strumenti digitali basati su algoritmi di Intelligenza Artificiale, finalizzati a identificare i bisogni dei pazienti e a supportarne il coinvolgimento nel percorso terapeutico. Contestualmente è proseguito il reclutamento dei pazienti e la raccolta sistematica dei questionari.

Fase 3 – Sperimentazione e analisi dei risultati

Gli strumenti sviluppati sono stati sperimentati in una coorte di pazienti sottoposti a trattamento chirurgico per neoplasie del tratto gastroesofageo. I questionari sono stati somministrati nei diversi momenti del percorso clinico e i dati ottenuti sono stati analizzati per valutare il livello di partecipazione del paziente, l'aderenza al percorso di cura e l'impatto sulla qualità di vita.

Il progetto ha consentito di sviluppare un questionario dedicato alla valutazione della partecipazione del paziente e della qualità di vita.

L'analisi dei dati raccolti, effettuata con tecnica MADIT dal gruppo di psicologi dedicati, ha permesso di identificare pattern precisi ed oggettivabili di bisogno di salute del paziente. Tale costrutto ha permesso di fornire uno strumento fruibile dai sanitari di analisi del bisogno di salute del paziente con conseguente stratificazione di eventuali interventi terapeutici preventivi ove indicati.

Spese sostenute ²

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
DI FUNZIONAMENTO		
Risorse umane <i>Dettaglio spese:</i> 1. Pinto Eleonora (100% - 01/01/2026-31/05/2026) 2. Camellini Riccardo (100% - 01/01/2026-31/05/2026) 3. Campiotti Nicola (100% - 29/04/2026-31/05/2026)	28.150,00	28.150,00
Acquisto beni e servizi <i>Dettaglio spese:</i> 1. Servizio di supporto alla definizione del protocollo e del dataset per il progetto	30.500,00	30.500,00
ALTRE VOCI DI SPESA ³		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	10.350,00	10.350,00
ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI ⁴		
<i>Dettaglio spese:</i> Risorse umane 1-2 figure TDB Altro Costi indiretti (15%)	0,00	0,00
TOTALE	69.000,00	69.000,00

Rozzano, 23/07/2026

Il Legale Rappresentante

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

Il Legale Rappresentante

² Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

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

⁴ 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**

Ente¹: 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;

massimiliano.meoni@humanitas.it

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – stefania.ducoli@humanitas.it

Progetto:

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

Attività

Il progetto si propone di identificare fattori predittivi di risposta alla terapia preoperatoria (cosiddetta “neoadiuvante”), combinando dati clinici semplici, come quelli derivati dai questionari sulle abitudini generali di vita (incluse alimentazione ed attività fisica), con l'analisi avanzata di dati strumentali come le immagini ottenute dalla PET e l'analisi dei batteri che compongono il microbiota tumorale, salivare e fecale. Se il tumore si riduce o scompare con la chemioterapia preoperatoria, ciò si traduce in due benefici per le pazienti: sia la possibilità di un intervento meno aggressivo sia un aumento delle probabilità di sopravvivenza.

Il progetto ha attualmente raggiunto il target di popolazione che ci eravamo prefissati.

Analizzando le immagini PET delle prime 82 pazienti arruolate nello studio, abbiamo osservato che alcune presentavano una maggior captazione a livello intestinale del farmaco utilizzato come mezzo di contrasto per l'esame PET di stadiazione (glucosio radiomarcato). La captazione intestinale è risultata maggiore per le donne che avevano abitudini alimentari meno sane, come un eccessivo consumo di alcolici o di carne rossa e insaccati. Al contrario, lo stato infiammatorio intestinale è risultato inferiore in coloro che facevano un uso quotidiano di frutta e verdura – alimenti sani e noti per le loro proprietà anti-infiammatorie. Inoltre, le donne con una minore captazione a livello intestinale sono risultate essere quelle che avevano una riduzione più marcata del volume tumorale dopo chemioterapia. Questi dati preliminari sembrano confermare che uno stile di vita poco sano possa causare uno stato infiammatorio, che a sua volta può influenzare negativamente la risposta al trattamento oncologico preoperatorio (recente pubblicazione su rivista internazionale “Nutrients”).

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Parallelamente sono state condotte le analisi riguardanti il microbiota tumorale, che hanno mostrato come la presenza di uno specifico batterio all'interno del tumore sia associata ad una minore possibilità di rispondere al trattamento oncologico preoperatorio. Sono attualmente in corso le analisi sul microbiota salivare e fecale.

Inoltre, sono stati valutati i livelli di un biomarcatore su sangue, noto in letteratura per essere associato a una peggiore prognosi in alcuni tipi di tumore e alla presenza del batterio identificato sulle biopsie tumorali.

Come ultimo fine, stiamo completando la costruzione di un modello predittivo in grado di prevedere la risposta alla terapia preoperatoria e che inglobi le analisi avanzate delle immagini PET, i dati di microbiota e di biomarcatori plasmatici, oltre ai parametri clinici maggiormente rilevanti. I primi modelli costruiti hanno mostrato una buona capacità di previsione della risposta al trattamento oncologico.

Il modello costruito si è rivelato in grado di discriminare con buona attendibilità le pazienti che avranno una risposta tumorale completa al trattamento da quelle che invece avranno una persistenza di malattia nonostante il trattamento pre-operatorio. Per una migliore definizione della risposta al trattamento, abbiamo utilizzato anche un indice che determina quantitativamente il carico residuo di malattia dopo il trattamento preoperatorio (RCB). Anche impiegando questa diversa definizione della risposta tumorale, il modello costruito ha mostrato delle performance promettenti.

Attualmente è in corso la validazione dei due modelli. Se questi dati saranno confermati e validati, questo ci permetterà in futuro di identificare facilmente donne che probabilmente non risponderanno alla terapia preoperatoria e quindi andranno indirizzate ad altri tipi di trattamento in modo da evitare alle stesse una terapia che non porterebbe loro i benefici desiderati ma solo effetti collaterali.

A latere delle analisi per l'individuazione di un modello predittivo in grado di determinare la risposta al trattamento preoperatoria, è stato condotto anche uno studio che esaminava la connessione tra mal di testa e tumore al seno. Lo studio ha dimostrato che il mal di testa, in particolare l'emicrania, è associato ad una migliore risposta alla terapia preoperatoria. Sono attualmente in corso ulteriori indagini per approfondire il legame tra mal di testa e tumore al seno, in modo da poter comprendere a fondo l'impatto di questa interazione sulla risposta alla terapia e di conseguenza ottimizzare il trattamento.

Infine, un ulteriore studio secondario che si è avvantaggiato dell'utilizzo dei campioni dello studio RIMNAC ha dimostrato come le immagini della PET pre-operatoria possano essere utilizzate per valutare efficacemente la risposta al trattamento. Se questi dati saranno confermati su coorti più ampie, sarebbe ulteriormente supportato la nuova linea di ricerca in chirurgia senologica che sta testando la possibilità di omettere l'intervento chirurgico per quelle pazienti che mostrano agli esami di stadiazione pre-chirurgica (PET, integrata con le procedure classiche di restaging locale) una risposta completa al trattamento.

Nel 2024 sono state terminate le analisi di microbiota salivare e intestinale sui campioni basali della casistica iniziale. Globalmente, a livello di specie, sono stati rilevati moltissimi batteri diversi nei campioni di feci e in quelli salivari (rispettivamente più di 1000 e circa 500). Questi dati, insieme a quelli già analizzati del microbiota intratumorale e ai dati radiomici e clinici, sono stati testati al fine ottenere un modello predittivo ancora più performante. Il nuovo modello ottenuto includeva 9 geni e 3 batteri. Questo modello si è rivelato in grado di discriminare con un'ottima attendibilità le pazienti che avranno una risposta tumorale completa al trattamento da quelle che invece avranno una persistenza di malattia nonostante il trattamento pre-operatorio (superando le performance del modello precedente). Una volta terminata l'analisi derivante dai campioni tumorali, salivari e fecali delle pazienti della corte di validazione, verranno testati entrambi i modelli predittivi (i.e., quello ottenuto dalla prima analisi solo sul microbiota intratumorale e il modello recentemente ottenuto dall'integrazione dei dati di microbiota buccale e fecale) su questa casistica per corroborarne la validità.

AGGIORNAMENTO 2026 – attività 2025

Durante il 2025 sono stati testati i modelli predittivi (i.e., quello ottenuto dalla prima analisi solo sul microbiota intratumorale e il modello ottenuto dall'integrazione dei dati di microbiota buccale e fecale) sulla casistica di validazione, ottenendo scarsi risultati a livello di performance. È in corso la stesura del lavoro per la pubblicazione dei dati.

PUBBLICAZIONI

Tiberio P, Antunovic L, Gaudio M, Viganò A, Pastore M, Miggiano C, Jacobs F, Benvenuti C, Farina E, Chiti A, Santoro A, De Sanctis R. The Relationship among Bowel [18F]-FDG PET Uptake, Pathological Complete Response, and Eating Habits in Breast Cancer Patients Undergoing Neoadjuvant Chemotherapy. *Nutrients*. 2023 Jan 1;15(1):211. doi: 10.3390/nu15010211. PMID: 36615868; PMCID: PMC9824388. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9824388/>

Lalioti A, Verzeletti L, Tiberio P, Gerosa R, Gaudio M, Saltalamacchia G, Pastore M, Zambelli A, Santoro A, De Sanctis R. Common Misconceptions about Diet and Breast Cancer: An Unclear Issue to Dispel. *Cancers (Basel)*. 2024 Jan 11;16(2):306. doi: 10.3390/cancers16020306. PMID: 38254795; PMCID: PMC10814151. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10814151/>

Antunovic L, Artesani A, Viganò A, Chiti A, Santoro A, Sollini M, Morbelli SD, De Sanctis R. Imaging Correlates between Headache and Breast Cancer: An [18F]FDG PET Study. *Cancers (Basel)*. 2023 Aug 17;15(16):4147. doi: 10.3390/cancers15164147. PMID: 37627174; PMCID: PMC10453040. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10453040/>

Gelardi, F., Tiberio, P., Torrisi, R., Zanca, R., Rodari, M., Zambelli, A., Santoro, A., Fernandes, B., Sagona, A., Errico, V., Testori, A., Tinterri, C., Chiti, A., De Sanctis, R., Sollini, M., & Antunovic, L. (2025). Using [18F]FDG PET/CT to Identify Optimal Responders to Neoadjuvant Therapy in Breast Cancer-Results from a Prospective Patient Cohort. *Cancers*, 17(13), 2133. <https://doi.org/10.3390/cancers17132133>

PRESENTAZIONE DEI RISULTATI (POSTER, CONVEGNI SCIENTIFICI, ATTIVITA' SUL TERRITORIO ECC)

Poster "The relationship among bowel FDG-PET uptake, pathological complete response, and the influence of eating and exercise habits in breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy" presentato al convegno internazionale Molecular Analysis for Precision Oncology (MAP) Congress 2022 (Amsterdam, 14-16 ottobre 2022).

Poster "The relationship among bowel FDG-PET uptake, pathological complete response, and eating habits in breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy" presentato al convegno internazionale European Breast Cancer Conference EBCC-13 (Barcellona, 16-18 novembre 2022).

Poster "Integrative Predictive Machine-Learning based Modelling for Pathological Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer: A Comprehensive Analysis of Breast Microbiota, Imaging, and Clinical Features" presentato al convegno internazionale 14th European Breast Cancer Conference (EBCC-14) che si è tenuto a Milano dal 20 al 22 Marzo 2024.

Poster "Exploring the Predictive Potential of [18F]FDG PET/CT for Pathological Complete Response to Neoadjuvant Therapy: A Prospective Study" presentato al convegno internazionale ESMO Breast Cancer 2024 che si è tenuto a Berlino dal 15 al 17 Maggio 2024.

Presentazione orale "Assessing the Role of [18F]FDG PET/CT in Predicting Pathological Complete Response to Neoadjuvant Therapy in Breast Cancer: A Prospective Study" presentata al convegno nazionale AIMN 2024 che si è tenuto a Milano dal 20 al 23

Giugno 2024 .

Poster "Potentials of [18F]FDG PET/CT for the Assessment of Pathological Response to Neoadjuvant Therapy in Breast Cancer: A Prospective Study" presentato al convegno internazionale EANM 2024 che si è tenuto ad Hamburg (Germania) dal 19 al 23 Ottobre 2024 .

Poster ""Utility of [18F]FDG PET/CT in Predicting Pathological Complete Response to Neoadjuvant Therapy in Breast Cancer: A Prospective Study" presentato al convegno internazionale ASCO 2024 che si è tenuto a Chicago (USA) dal dal 31 Maggio al 4 Giugno 2024.

Spese sostenute ²

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
DI FUNZIONAMENTO		
Risorse umane <i>Dettaglio spese:</i> 1. Tiberio Paola (100% - 09/03/2026-31/05/2026)	4.900,00	4.900,00
Acquisto beni e servizi <i>Dettaglio spese:</i> 1. Consumabili e reagenti per biologia molecolare, incluso kit per estrazione degli acidi nucleici, servizio di sequenziamento RNA	94.911,92	94.911,92
ALTRE VOCI DI SPESA ³		
<i>Dettaglio spese:</i> 1. Costi indiretti (15%)	17.538,27	17.538,27
ACCANTONAMENTI PROGETTI PLURIENNALI ⁴		
<i>Dettaglio spese:</i> N/A	0,00	0,00
TOTALE	117.350,19	117.350,19

Rozzano, 23/07/2026

Il Legale Rappresentante

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

Il Legale Rappresentante

² Evidenziare la loro riconduzione alle finalità ed agli scopi istituzionali del soggetto beneficiario.

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

⁴ 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.