



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO  
DI SCIENZE MEDICHE  
E CHIRURGICHE

*Modulo richiesta incarico di ricerca ai sensi dell'art. 22 ter legge 240/2010*

#### **TUTOR**

**Pier Luigi Zinzani**

#### **TITOLO DEL PROGETTO DI RICERCA**

**AIRC IG, Rif. 27350 - Role of the gut microbiome in the outcome of diffuse large B-cell lymphoma patients treated with CAR-T cell therapy - Ruolo del microbioma intestinale nell'esito dei pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule B trattati con terapia cellulare CAR-T**

#### **DESCRIZIONE DEL PROGETTO DI RICERCA**

##### **Background**

La terapia con cellule T autologhe CAR (Chimeric Antigen Receptor) specifiche per CD19 rappresenta un trattamento nuovo e promettente per i pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) recidivato/refrattario, consentendo a circa il 35–40% di essi di ottenere una risposta completa e duratura.

Tuttavia, una quota rilevante di pazienti va incontro a progressione di malattia dopo l'infusione delle cellule CAR-T e la maggior parte dei pazienti trattati presenta eventi avversi immuno-correlati. Inoltre, la neutropenia prolungata e l'aplasia delle cellule B sono associate a complicanze infettive che richiedono trattamenti anti-infettivi, mentre la sindrome da rilascio di citochine e la neurotossicità vengono frequentemente trattate con alte dosi di steroidi. Queste terapie possono alterare il profilo del microbioma intestinale (MI), che a sua volta può influenzare l'esito dell'immunoterapia con cellule T.

##### **Ipotesi**

Ipotizziamo che il microbioma intestinale rappresenti il punto di connessione tra l'ospite e l'ambiente nella definizione dell'esito terapeutico iniziale e a lungo termine (in termini sia di risposta sia di tossicità) nei pazienti con DLBCL sottoposti a terapia con cellule CAR-T. Ci aspettiamo che la composizione e la funzionalità del microbioma intestinale individuale

#### **SETTORE PERSONALE**

##### **UFFICIO PERSONALE NON STRUTTURATO**

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia

Responsabile del procedimento: Luisa Romagnoli | [sam.nonstrutturati@unibo.it](mailto:sam.nonstrutturati@unibo.it)



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO  
DI SCIENZE MEDICHE  
E CHIRURGICHE

all'esordio, così come la sua dinamica temporale durante la terapia, influenzino l'esito terapeutico nel DLBCL e che possano essere implementati nuovi criteri di stratificazione dei pazienti basati su nuovi determinanti del microbioma.

### **Obiettivi**

In primo luogo, studieremo l'effetto reciproco della chemioterapia precedente (terapia di bridging/deplezione linfocitaria), dei trattamenti antimicrobici o steroidei e dell'eterogeneità del microbioma intestinale sulla risposta e sulla tossicità associate alla terapia con cellule CAR-T. Successivamente, ci proponiamo di identificare diverse categorie di rischio sulla base della stratificazione dei pazienti candidati alla terapia con CAR-T in funzione del loro microbioma intestinale.

### **Disegno sperimentale**

Si tratta di uno studio prospettico, non interventistico e sperimentale, con raccolta di campioni biologici. I pazienti seguiranno le indicazioni terapeutiche prescritte secondo la normale pratica clinica e non saranno sottoposti ad alcuna procedura diversa da quelle previste dalla pratica clinica standard. Fino a 90 pazienti adulti ( $\geq 18$  anni) con DLBCL recidivato/refrattario sottoposti a terapia con cellule CAR-T saranno arruolati nell'arco di 3 anni, trattati e seguiti con raccolta di campioni fecali fino a 18 mesi dopo l'infusione delle cellule CAR-T.

### **Risultati attesi**

- (i) individuazione di nuovi determinanti del microbioma intestinale in grado di predire l'esito della terapia con cellule CAR-T e il mantenimento della risposta;
- (ii) progettazione di nuove strategie integrate e personalizzate di intervento di precisione volte a mantenere un assetto del microbioma intestinale onco-protettivo;
- (iii) criteri innovativi di stratificazione dei pazienti basati anche sul microbioma intestinale, che consentano un'assegnazione razionale e basata sulle conoscenze di interventi terapeutici integrati e personalizzati di precisione, favorendo migliori esiti terapeutici (in termini di efficacia e sicurezza).

### **Impatto sul cancro**

Sono disponibili pochi dati sul microbioma intestinale e la terapia con cellule CAR-T nel DLBCL. Questo studio fornirà per la prima volta un monitoraggio ad alta risoluzione delle modificazioni composizionali e funzionali del microbioma intestinale che si verificano durante il percorso terapeutico con CAR-T nel DLBCL e nei successivi 18 mesi di follow-up. Ne deriverà un duplice beneficio: da un lato, terapie molto costose saranno indirizzate in modo mirato solo ai pazienti per i quali risultano efficaci; dall'altro, sarà garantita la sostenibilità e l'efficienza del sistema sanitario migliorando gli esiti della terapia farmacologica (più risposte e minore tossicità). La rilevanza traslazionale di questo studio appare evidente considerando il numero crescente di malattie ematologiche (e oncologiche) potenzialmente curabili con la terapia con cellule CAR-T.

**SETTORE PERSONALE**

**UFFICIO PERSONALE NON STRUTTURATO**

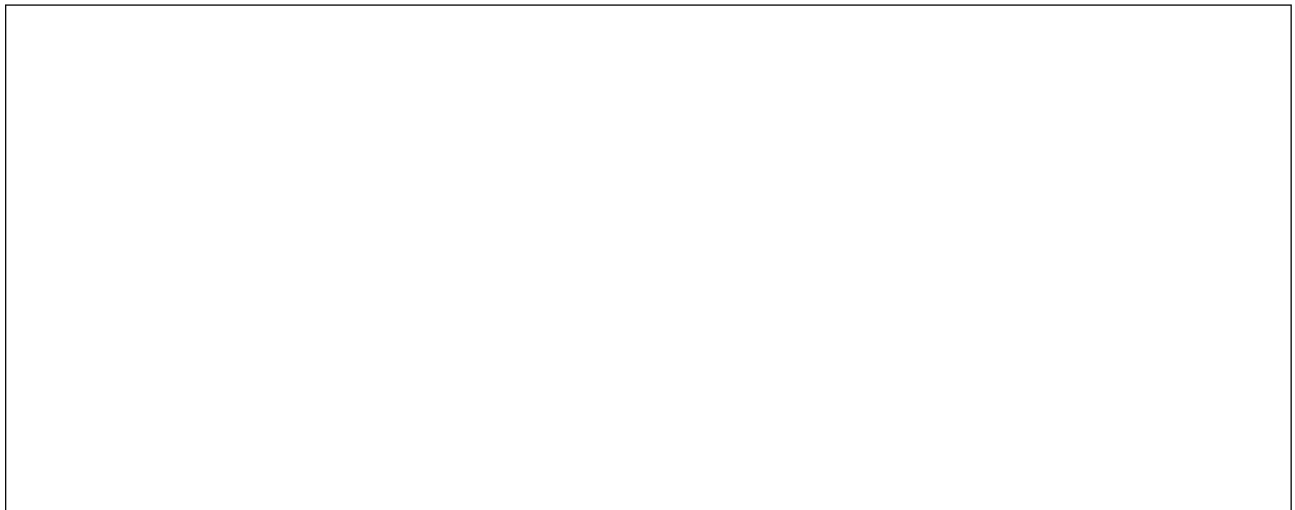
c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia

Responsabile del procedimento: Luisa Romagnoli | [sam.nonstrutturati@unibo.it](mailto:sam.nonstrutturati@unibo.it)



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO  
DI SCIENZE MEDICHE  
E CHIRURGICHE



**SETTORE PERSONALE**

**UFFICIO PERSONALE NON STRUTTURATO**

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia

Responsabile del procedimento: Luisa Romagnoli | [sam.nonstrutturati@unibo.it](mailto:sam.nonstrutturati@unibo.it)



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO  
DI SCIENZE MEDICHE  
E CHIRURGICHE

## PIANO DELLE ATTIVITÀ DEL TITOLARE DI INCARICO DI RICERCA

### 1. Centralizzazione dei campioni

In continuità con le attività dell'anno precedente, ho proseguito la centralizzazione dei nuovi campioni biologici provenienti dai pazienti recentemente arruolati nello studio, in collaborazione con il Clinical Project Manager. Tutti i campioni sono stati correttamente tracciati, conservati e registrati presso il laboratorio della **Human Microbiomics Unit**.

### 2. Estrazione del DNA e analisi 16S rRNA dei nuovi campioni

È stata effettuata l'estrazione del DNA fecale dai nuovi campioni raccolti, seguita dal sequenziamento della regione V3–V4 del gene 16S rRNA. Le relative pipeline bioinformatiche sono state eseguite per ottenere i profili tassonomici e di diversità del microbiota intestinale, in continuità con la coorte precedentemente analizzata.

### 3. Sequenziamento metagenomicoshotgun dei campioni precedenti

Dei **132 campioni biologici** centralizzati e caratterizzati nell'anno precedente, è stato condotto un **sequenziamento metagenomicoshotgun ad alta profondità**, con l'obiettivo di ottenere una risoluzione tassonomica e funzionale più dettagliata rispetto alle analisi 16S. I dati grezzi sono stati sottoposti a controllo qualità e pre-processamento secondo standard consolidati.

### 4. Analisi bioinformatica e funzionale

Sono state eseguite pipeline bioinformatiche per la **profilazione metagenomica a livello di specie e ceppo**, con successiva **ricostruzione di genomi batterici paziente-specifici (MAGs)**.

5. **Analisi funzionali** su questi genomi per identificare potenziali **driver genici** associati agli **outcome clinici** dei pazienti, con particolare attenzione alle vie metaboliche e ai geni di resistenza agli antibiotici.

SETTORE PERSONALE

UFFICIO PERSONALE NON STRUTTURATO

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia

Responsabile del procedimento: Luisa Romagnoli | [sam.nonstrutturati@unibo.it](mailto:sam.nonstrutturati@unibo.it)



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO  
DI SCIENZE MEDICHE  
E CHIRURGICHE

<b>Commissione proposta</b> 3 Commissari + 1 Supplente	Prof.ssa Argnani Lisa
	Dr. Stefoni Vittorio
	Dr. Broccoli Alessandro
	Supplente: Prof. Castagnetti Fausto
<b>SEDE PREVALENTE ATTIVITÀ DI RICERCA</b>	
DIMEC, Istituto di Ematologia Seragnoli, IRCCS Policlinico S. Orsola, PAD. 8 via Massarenti, 9 - Bologna	

**Scheda attività assistenziale (se prevista)**

<b>ATTIVITÀ ASSISTENZIALI DEL TITOLARE DI INCARICO DI RICERCA/N. ORE SETTIMANA (max 18 ore settimanali) – DESCRIZIONE ATTIVITÀ'</b>
<b>AZIENDA SANITARIA PRESSO CUI IL TITOLARE DI INCARICO DI RICERCA SVOLGERÀ L'ATTIVITÀ</b>

**L'impegno formale del responsabile della struttura sanitaria a far svolgere l'attività assistenziale al titolare dell'incarico è in via di acquisizione**

**SETTORE PERSONALE**

**UFFICIO PERSONALE NON STRUTTURATO**

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia

Responsabile del procedimento: Luisa Romagnoli | [sam.nonstrutturati@unibo.it](mailto:sam.nonstrutturati@unibo.it)