Prot. n. 0115539 del 20/09/2024 - [UOR: SI001070 - Classif. II/8]

PIANO NAZIONALE DI RIPRESA E RESILIENZA (PNRR)
MISSIONE 6 - COMPONENTE 2 - INVESTIMENTO 2.1 VALORIZZAZIONE E POTENZIAMENTO DELLA RICERCA BIOMEDICA DEL SSN

Convenzione attuativa tra la Ex Direzione generale della ricerca ed innovazione in sanità, Dipartimento della prevenzione, della ricerca e delle emergenze sanitarie del Ministero della salute, il Soggetto attuatore-beneficiario **Ospedale Policlinico San Martino** e il Principal Investigator della ricerca **Guido Ferlazzo**, per la regolamentazione dello svolgimento del progetto della sezione **Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari e socio-assistenziali** con codice WFR **PNRR-MCNT2-2023-12378122**, dal titolo **"Improving Cancer Immunotherapy responsiveness by inducing Tertiary Lymphoid structures via the activation of innate lymphocytes (ICI-TeL)"** afferente al secondo avviso pubblico PNRR.

Premesso che

VISTA la legge 7 agosto 1990, n. 241 "Nuove norme in materia di procedimento amministrativo e di diritto di accesso ai documenti amministrativi" e s.m.i.;
VISTA la legge 14 gennaio 1994 n. 20 "Disposizioni in materia di giurisdizione e controllo della Corte dei Conti" e s.m.i.;
VISTO l'articolo 12 bis, comma 3, del decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 502/1992 e s.m.i.;
VISTO il decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 11 febbraio 2014, n. 59, recante il regolamento di organizzazione del Ministero della salute e, in particolare, gli articoli 1, comma 7, e 12, comma 2;
VISTO il decreto del Presidente della Repubblica 28 marzo 2013, n. 44, recante il regolamento di riordino degli organi collegiali e degli altri organismi operanti presso il Ministero della salute e, in particolare gli artt. 3 e 4 che prevedono la composizione del Comitato tecnico sanitario;
VISTO il decreto del Ministro della salute 8 agosto 2013, registrato dall'Ufficio centrale di bilancio presso il Ministero della salute in data 13 agosto 2013, visto n. 934 e, in particolare, l'articolo 1, che dispone la ripartizione dei componenti tra le sezioni del Comitato tecnico sanitario;
VISTO il decreto del Ministro della salute 15 dicembre 2021, registrato dall'Ufficio centrale del bilancio presso il Ministero della salute in data 7 gennaio 2022, visto n. 33, recante la ricostituzione del Comitato tecnico sanitario, avente una durata di tre anni dalla data di insediamento;
VISTO il Regolamento (UE) 2021/241 del Parlamento europeo e del Consiglio del 12 febbraio 2021 che istituisce il dispositivo per la ripresa e la resilienza dell'Unione Europea;
VISTO il Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR) valutato positivamente con Decisione del Consiglio ECOFIN del 13 luglio 2021, notificata all'Italia dal Segretariato generale del Consiglio con nota LT161/21, del 14 luglio 2021, ed in particolare la Missione 6, Componente 2, Investimento 2.1 "Valorizzazione e potenziamento della ricerca biomedica del SSN", che consiste nel "rafforzare il sistema della ricerca biomedica tramite due linee di intervento: a) il finanziamento di progetti Proof of Concept (PoC), sostenendo lo sviluppo di tecnologie con un basso grado di maturità tecnologica e promuovendo il trasferimento di tecnologie verso l'industria; b) il finanziamento di programmi o progetti di ricerca nel campo delle malattie rare e dei tumori rari e di altre malattie altamente invalidanti";
VISTO il Regolamento (UE) 2018/1046 del 18 luglio 2018, che stabilisce le regole finanziarie applicabili al bilancio generale dell'Unione, che modifica i Regolamenti (UE) n. 1296/2013, n. 1301/2013, n. 1303/2013, n. 1304/2013, n. 1309/2013, n. 1316/2013, n. 223/2014, n. 283/2014 e la decisione n. 541/2014/UE e abroga il regolamento (UE, Euratom) n. 966/2012;
VISTO il decreto legge del 31 maggio 2021, n. 77, convertito con modificazioni dalla legge 29 luglio 2021, n. 108 «Governance del Piano nazionale di ripresa e resilienza e prime misure di rafforzamento delle strutture amministrative e di accelerazione e snellimento delle procedure»;
VISTO il decreto del Presidente del Consiglio dei ministri 9 luglio 2021 recante l'individuazione delle amministrazioni centrali titolari di interventi previsti nel PNRR, ai sensi dell'articolo 8, comma 1, del citato decreto legge 31 maggio 2021, n. 77, convertito, con modificazioni, dalla legge 29 luglio 2021, n. 108;

VISTO il decreto del Ministro dell'economia e delle finanze del 6 agosto 2021 relativo all'assegnazione delle risorse in favore di ciascuna Amministrazione titolare degli interventi PNRR e corrispondenti milestone e target;
VISTO il decreto del Ministro della salute, di concerto con il Ministro dell'economia e delle finanze 15 settembre 2021, di istituzione dell'Unità di Missione del Ministero della salute titolare di interventi PNRR, ai sensi dell'articolo 8 del citato decreto legge n. 77 del 2021;
VISTO l'atto di indirizzo del Ministro del 12 ottobre 2021 con il quale sono stati individuati i relativi Soggetti Attuatori nell'ambito degli interventi e sub-interventi di investimento del piano Nazionale di ripresa e resilienza (PNRR) a titolarità del Ministero della salute;
VISTO il decreto legge 6 novembre 2021, n. 152 "Disposizioni urgenti per l'attuazione del Piano nazionale di ripresa e resilienza (PNRR) e per la prevenzione delle infiltrazioni mafiose";
VISTA la legge 16 gennaio 2003, n. 3 "Disposizioni ordinamentali in materia di pubblica amministrazione" e, in particolare, l'articolo 11, comma 2-bis, ai sensi del quale "Gli atti amministrativi anche di natura regolamentare adottati dalle Amministrazioni di cui all'articolo 1, comma 2, del decreto legislativo 30 marzo 2001, n. 165, che dispongono il finanziamento pubblico o autorizzano l'esecuzione di progetti di investimento pubblico, sono nulli in assenza dei corrispondenti codici di cui al comma 1 che costituiscono elemento essenziale dell'atto stesso";
VISTA la delibera del CIPE n. 63 del 26 novembre 2020 che introduce la normativa attuativa della riforma del CUP;
VISTO l'articolo 1, comma 1042, della legge 30 dicembre 2020, n. 178 ai sensi del quale con uno o più decreti del Ministro dell'economia e delle finanze sono stabilite le procedure amministrativo-contabili per la gestione delle risorse di cui ai commi da 1037 a 1050, nonché le modalità di rendicontazione della gestione del Fondo di cui al comma 1037;
VISTO l'articolo 1, comma 1043, secondo periodo, della legge 30 dicembre 2020, n. 178, ai sensi del quale al fine di supportare le attività di gestione, di monitoraggio, di rendicontazione e di controllo delle componenti del Next Generation EU, il Ministero dell'economia e delle finanze - Dipartimento della Ragioneria generale dello Stato sviluppa e rende disponibile un apposito sistema informatico;
VISTO l'articolo 17 del Regolamento (UE) 2020/852 che definisce gli obiettivi ambientali, tra cui il principio di non arrecare un danno significativo (DNSH, "Do no significant harm"), e la Comunicazione della Commissione UE 2021/C 58/01"Orientamenti tecnici sull'applicazione del principio «non arrecare un danno significativo» a norma del regolamento sul dispositivo per la ripresa e la resilienza";
VISTI i principi trasversali previsti dal PNRR, quali, tra l'altro, il principio del contributo all'obiettivo climatico e digitale (c.d. tagging), il principio di parità di genere e l'obbligo di protezione e valorizzazione dei giovani;
VISTI gli obblighi di assicurare il conseguimento di target e milestone e degli obiettivi finanziari stabiliti nel PNRR;
VISTO il Regolamento delegato (UE) 2021/2106 della Commissione del 28 settembre 2021 che integra il regolamento (UE) 2021/241 del Parlamento europeo e del Consiglio, che istituisce il dispositivo per la ripresa e la resilienza, stabilendo gli indicatori comuni e gli elementi dettagliati del quadro di valutazione della ripresa e della resilienza, che prevede, in particolare, che "affinché il quadro di valutazione, compresi gli indicatori comuni, sia aggiornato in modo coerente e uniforme due volte l'anno, tutti gli Stati membri riferiscono alla Commissione due volte l'anno nell'ambito del semestre europeo sui progressi compiuti nella realizzazione dei piani per la ripresa e la resilienza, comprese le modalità operative, e sugli indicatori comuni."
VISTE le "Linee Guida per lo svolgimento delle attività connesse al monitoraggio del PNRR", predisposte dal Servizio Centrale per il PNRR, presso il Ministero dell'economia e delle finanze (MEF) - Dipartimento Ragioneria generale dello Stato (RGS), che descrivono le funzionalità del sistema informativo "*ReGiS*" sviluppato dal Ministero dell'economia e delle finanze – Dipartimento della Ragioneria Generale dello Stato in attuazione dell'articolo 1, comma 1043, della legge 30 dicembre 2020,
n. 178;
VISTO il documento "Sistema di Gestione e Controllo (Si.Ge.Co.) PNRR - Ministero della salute", adottato con Decreto del 29 luglio 2022 e ss.mm.ii.;
VISTE le "Linee Guida per lo svolgimento delle attività di controllo e rendicontazione delle Misure PNRR di competenza delle Amministrazioni centrali e dei Soggetti attuatori", predisposte dal Servizio Centrale per

il PNRR, presso il Ministero dell'economia e delle finanze (MEF) - Dipartimento Ragioneria generale dello Stato (RGS), che contengono indicazioni procedurali per un corretto espletamento delle attività di controllo e rendicontazione delle spese e di Milestone & Target e di ogni altro adempimento previsto dalla normativa comunitaria e nazionale applicabile al PNRR, a norma dell'art. 8, punto 3, del decreto legge 77 del 31 maggio 2021, come modificato dalla legge di conversione 29 luglio 2021, n. 108;
VISTO il decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 15 settembre 2021 "Modalità, regole e strumenti per il conferimento dei dati";
VISTA la Circolare MEF-RGS del 14 ottobre 2021, n. 21 "Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR) - Trasmissione delle Istruzioni Tecniche per la selezione dei progetti PNRR";
VISTO il Decreto interministeriale del 7 dicembre 2021 per l'adozione delle linee guida volte a favorire la pari opportunità di genere e generazionali, nonché l'inclusione lavorativa delle persone con disabilità nei contratti pubblici finanziati con le risorse del PNRR e del PNC;
VISTA la Circolare MEF-RGS del 30 dicembre 2021, n. 32, recante "Guida operativa per il rispetto del principio di non arrecare danno significativo all'ambiente";
VISTA la Circolare MEF-RGS del 31 dicembre 2021, n. 33 "Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR) – Nota di chiarimento sulla Circolare del 14 ottobre 2021, n. 21 - Trasmissione delle Istruzioni Tecniche per la selezione dei progetti PNRR – Addizionalità, finanziamento complementare e obbligo di assenza del c.d. doppio finanziamento"
VISTA la Circolare MEF-RGS del 21 giugno 2022, n. 27 "Monitoraggio delle misure PNRR";
VISTA la Circolare MEF-RGS dell'11 agosto 2022, n. 30 sulle procedure di controllo e rendicontazione delle misure PNRR;
VISTA la Circolare del 28 marzo 2024, n. 13 "Integrazione delle Linee Guida per lo svolgimento delle attività di controllo e rendicontazione delle Misure PNRR di competenza delle Amministrazioni centrali e dei Soggetti Attuatori. Adozione delle Appendici tematiche: La prevenzione e il controllo del conflitto di interessi ex art. 22 Reg. (UE) 2021/241; La duplicazione dei finanziamenti ex art. 22 par. 2 lett. c) Reg. (UE) 2021/241";
VISTA la Comunicazione della Commissione 2014/C 198/01 "Disciplina degli aiuti di Stato a favore di ricerca, sviluppo e innovazione" e s.m.i.;
VISTO il Regolamento (UE) n. 651/2014 della Commissione, del 17 giugno 2014, che dichiara alcune categorie di aiuti compatibili con il mercato interno in applicazione degli articoli 107 e 108 del trattato;
VISTA la comunicazione della Commissione 2016/C 262/01 sulla nozione di aiuto di Stato di cui all'articolo 107, paragrafo 1, del trattato sul funzionamento dell'Unione europea;
VISTA la Comunicazione della Commissione del 19 marzo 2020, C(2020) 1863 "Quadro temporaneo per le misure di aiuto di Stato a sostegno dell'economia nell'attuale emergenza della COVID-19", da ultimo rettificata attraverso la comunicazione del 18 novembre 2021, C(2021) 8442 "Sesta modifica del quadro temporaneo per le misure di aiuto di Stato a sostegno dell'economia nell'attuale emergenza della COVID-19 e modifica dell'allegato della comunicazione della Commissione agli Stati membri sull'applicazione degli articoli 107 e 108 del trattato sul funzionamento dell'Unione europea all'assicurazione del credito all'esportazione a breve termine";
VISTO il decreto del Ministro della salute 1° aprile 2022, che nella annessa tabella A ha distinto gli interventi di cui alla Missione 6, Componente 2, Investimento 2.1 – "Valorizzazione e potenziamento della ricerca biomedica del Servizio Sanitario Nazionale" del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza nei sub-interventi, per risorse complessive pari a €524.140.000,00 così ripartite:
- 2.1.1 – progetti di ricerca finanziati con voucher Proof of concept, per € 100.000.000,
- 2.1.2 – progetti di ricerca finanziati per Malattie rare e Tumori rari, per € 100.000.000
- 2.1.3 – progetti di ricerca finanziati per Malattie altamente invalidanti, per € 324.140.000;
VISTO il decreto direttoriale n.27 del 2 novembre 2022, registrato con visto n.1054 dall'ufficio centrale di bilancio in data 18 novembre 2022 con il quale è stata approvata la graduatoria dei progetti di ricerca del primo avviso pubblico PNRR - Missione 6, Componente 2, Investimento 2.1;
VISTO il secondo avviso pubblico PNRR del 14 aprile 2023, registrato dall'ufficio centrale di bilancio presso questo Dicastero il 5 maggio 2023, al n. 541, per la presentazione e selezione di progetti di ricerca da finanziare nell'ambito del PNRR, Missione 6, Componente 2, Investimento 2.1, sulle tematiche: 1. Proof of concept (PoC) 2. Tumori Rari (TR) 3. Malattie Rare (MR) 4. Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari e socioassistenziali: *a. Innovazione in campo diagnostico; b.*

Innovazione in campo terapeutico; 5. Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT1) ad alto impatto sui sistemi sanitari e socioassistenziali: *a. Fattori di rischio e prevenzione; b. Eziopatogenesi e meccanismi di malattia;*
VISTO il decreto del Ministro della salute del 28 dicembre 2023 n.136, registrato dall'Ufficio centrale di bilancio presso il Ministero della salute in data 19 gennaio 2024 con n.62 e dalla Corte dei conti in data 5 febbraio 2024 con n.263 con il quale, a seguito delle risultanze della graduatoria dei progetti di ricerca afferenti al primo avviso pubblico PNRR, approvata con decreto direttoriale n.27 del 2 novembre 2022, è modificata l'allocazione delle risorse finanziarie indicate nell'allegato 1 del sopracitato decreto ministeriale 1° aprile 2022 assegnate al secondo avviso pubblico PNRR per i progetti di ricerca sulle seguenti tematiche progettuali: Proof of Concept, Malattie rare, Malattie croniche non trasmissibili, ad alto impatto sui sistemi sanitari e socioassistenziali (tematiche: Fattori di rischio e prevenzione; Eziopatogenesi e meccanismi di malattia);
VISTO il decreto n.5 del 29 marzo 2024 del Capo ad interim del Dipartimento della prevenzione, della ricerca e delle emergenze sanitarie del Ministero della salute, registrato dall'ufficio centrale di bilancio presso questo Ministero in data 4 aprile 2024 al n.225, con il quale, in osservanza alle disposizioni del Comitato tecnico sanitario, sezione c) espresse all'unanimità nella riunione del 26 marzo 2024, è stata approvata la graduatoria dei progetti di ricerca del secondo avviso pubblico PNRR- Missione 6 - Componente 2 - Investimento 2.1, afferenti alle tematiche progettuali Proof of Concept, Tumori Rari, Malattie Rare, Malattie Croniche non Trasmissibili, ad alto impatto sui sistemi sanitari e socio-assistenziali (tematiche: Innovazione in campo diagnostico; Innovazione in campo terapeutico), Malattie Croniche non Trasmissibili, ad alto impatto sui sistemi sanitari e socio-assistenziali (tematiche: Fattori di rischio e prevenzione; Eziopatogenesi e meccanismi di malattia), e sono stati individuati i Destinatari istituzionali e i Principal Investigator;
VISTO il Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 30 ottobre 2023, n. 196, recante il nuovo «Regolamento di organizzazione del Ministero della salute» ai sensi dell'articolo 6-bis del decreto legge 11 novembre 2023, n. 173, che abroga il precedente Regolamento di organizzazione di cui al Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 11 febbraio 2014, n. 59;
VISTO il decreto del Ministro della Salute del 3 gennaio 2024, recante la disciplina transitoria dell'assetto organizzativo del Ministero della Salute previsto dal D.P.C.M. 30 ottobre 2023, n. 196;
VISTO il decreto del Presidente della Repubblica del 21 febbraio 2024 registrato alla Corte dei conti il 29 febbraio 2024 al n. 433 con il quale il dott. Giovanni Leonardi è stato nominato Capo ad interim del Dipartimento della prevenzione, della ricerca e delle emergenze sanitarie del Ministero della salute;
TENUTO CONTO che la ex Direzione generale della Ricerca e dell'innovazione in sanità risulta attualmente priva di titolare;
VISTO il decreto del Ministro della Salute del 4 marzo 2024, comunicato agli organi di controllo, con il quale per il corrente esercizio finanziario ai dirigenti generali titolari dei Centri di responsabilità amministrativa, sulla base delle linee programmatiche, degli obiettivi strategici e dei risultati attesi definiti nella Direttiva generale per l'attività amministrativa e la gestione per l'anno 2024, emanata dal Ministro della Salute in data 29 febbraio 2024 e in corso di registrazione, sono stati assegnati i contingenti delle risorse umane, nonché le risorse economico-finanziarie indicate nei rispettivi programmi di spesa e relative azioni sottostanti dello stato di previsione del Ministero della Salute;
CONSIDERATO che il citato decreto del 4 marzo 2024 ha assegnato al Dipartimento della Prevenzione, della ricerca e delle emergenze sanitarie anche le risorse economico-finanziarie del programma 17.20 Ricerca per il settore della sanità pubblica, con le relative azioni sottostanti;
VISTO il decreto del Ministro dell'8 aprile 2015, recante "Individuazione degli uffici dirigenziali di livello non generale";
VISTO il decreto direttoriale del 22 febbraio 2022, registrato dalla Corte dei Conti in data 23 marzo 2022 al numero 670, con il quale ai sensi dell'art. 19, comma 5, del D. Lgs. n. 165/2001, è stato conferito, alla Dr.ssa Maria Teresa Camera D'Afflitto, Direttore dell'Ufficio 4 della Ex Direzione generale della ricerca e dell'Innovazione in sanità, l'incarico dirigenziale non generale di durata triennale, a decorre dal 1° marzo 2022 fino al 28 febbraio 2025;
CONSIDERATO che l'Ufficio 3 di questa Direzione generale è competente, tra l'altro, alla sottoscrizione, al monitoraggio e alla verifica dei progetti di ricerca concernenti gli Istituti di ricovero e cura a carattere scientifico (IRCCS);

TENUTO CONTO che dal 1° aprile 2024 l'incarico di direttore dell'Ufficio 3 ex DGRIC risulta vacante a seguito del collocamento a riposo del Dirigente titolare;
VISTO il decreto del Capo Dipartimento ad interim del 22 aprile 2024 con il quale è stata affidata alla dott.ssa Maria Teresa Camera d'Afflitto la sottoscrizione delle convenzioni relative ai progetti di ricerca di cui al 2° avviso pubblico nell'ambito del PNRR, sia relativamente agli IRCCS che relativamente a tutti gli altri soggetti attuatori-beneficiari delle risorse ovvero Regioni e Province autonome e Istituto superiore di sanità;
VISTO il messaggio trasmesso da questa amministrazione per il tramite della piattaforma Workflow della ricerca in data 8 aprile 2024 con il quale è stato comunicato al Soggetto attuatore-beneficiario che la valutazione della proposta progettuale ha avuto esito positivo e che, pertanto, la stessa è stata ammessa a finanziamento;

tanto premesso si stipula e si conviene quanto segue tra

il Ministero della Salute (di seguito "Ministero"), in qualità di Amministrazione titolare, rappresentato dalla **Dr.ssa Maria Teresa Camera d'Afflitto** – Direttore dell'Ufficio 4 della Ex Direzione generale della ricerca e dell'innovazione in sanità (di seguito "Ex DGRIC")

e

il Soggetto attuatore-beneficiario **Ospedale Policlinico San Martino** del progetto, rappresentato dal Dott. **Marco Damonte Prioli** in qualità di legale rappresentante, codice fiscale **02060250996** (di seguito "Soggetto attuatore-beneficiario")

e

il/la dott. **Guido Ferlazzo** (codice fiscale **FRLGDU62S30G224S**) in qualità di PRINCIPAL INVESTIGATOR del progetto con codice **PNRR-MCNT2-2023-12378122** dal titolo "***Improving Cancer Immunotherapy responsiveness by inducing Tertiary Lymphoid structures via the activation of innate lymphocytes (ICI-TeL)***"

di seguito congiuntamente definite le "Parti"

Art. 1 Premesse

1. Le premesse sono parte integrante e sostanziale della presente Convenzione.
2. Fa altresì parte integrante e sostanziale della presente Convenzione, quale oggetto della stessa, il progetto di ricerca, i cui contenuti sono definiti ed eventualmente aggiornati nel tempo, mediante condivisione delle parti, senza necessità di espressa nuova sottoscrizione della presente Convenzione.

Art. 2 Soggetto attuatore-beneficiario e Principal Investigator

Il Soggetto attuatore-beneficiario e il Principal Investigator sono i responsabili dell'attuazione del progetto in questione e della regolarità delle relative spese ai sensi del bando e della normativa vigente.

1. È individuato quale Soggetto attuatore-beneficiario **Ospedale Policlinico San Martino** codice fiscale **02060250996;**
2. È individuato quale Principal investigator (di seguito anche "PI") il/la dott. **Guido Ferlazzo**, codice fiscale **FRLGDU62S30G224S;**

Art. 3 Oggetto

1. La presente Convenzione disciplina i rapporti tra le Parti per la realizzazione del progetto codice **PNRR-MCNT2-2023-12378122** dal titolo "**Improving Cancer Immunotherapy responsiveness by inducing Tertiary**

Lymphoid structures via the activation of innate lymphocytes (ICI-TeL)", nell'ambito della realizzazione degli obiettivi previsti dal PNRR, Missione 6 – Componente 2 – Investimento 2.1.

2. La presente Convenzione definisce, tra l'altro, gli obblighi delle Parti, le procedure di rendicontazione e quelle di pagamento.
3. Il soggetto attuatore-beneficiario e il Principal Investigator svolgono il progetto di ricerca secondo quanto riportato nel progetto presentato, parte integrante della presente convenzione, e approvato dal Ministero e in ottemperanza a quanto previsto dal presente avviso pubblico.

Art. 4 Termini di attuazione del progetto, durata e importo della Convenzione

1. La presente convenzione ha la durata di 24 mesi prorogabile eventualmente di ulteriori 6 mesi come previsto dal successivo articolo 11.
2. L'attività di ricerca, da svolgersi nell'arco temporale della vigenza della convenzione, deve avere inizio improrogabilmente entro e non oltre il 31 agosto 2024, comunicando la data effettiva di avvio con nota sottoscritta digitalmente dal proprio rappresentante legale e dal Principal investigator della ricerca che deve essere trasmessa almeno 30 giorni prima dell'inizio effettivo, correlata di documentazione di cui al successivo comma 4.
3. Il Soggetto attuatore-beneficiario entro e non oltre 15 giorni dall'invio della presente convenzione da parte del Ministero per la sottoscrizione provvede alla restituzione della convenzione firmata dal legale rappresentate e controfirmata dal Principal Investigator, tramite il sistema di monitoraggio del WFR, accompagnata dalla comunicazione del codice CUP MASTER e dei codici fiscali delle singole Unità operative. Le parti riconoscono che il bando di cui alle premesse prevede la decadenza dal finanziamento in caso di inadempienza della presente disposizione.
4. Il Soggetto-beneficiario, entro e non oltre 30 giorni precedenti la scadenza del termine di cui al comma 2 del presente articolo, pena la decadenza dal finanziamento, è tenuto a trasmettere - con nota sottoscritta digitalmente in maniera congiunta dal proprio rappresentante legale e dal Principal Investigator della ricerca - la seguente documentazione, soggetta a verifica da parte del Ministero al fine di autorizzare l'avvio del progetto:

a) la dichiarazione da parte del legale rappresentante e del Principal Investigator con cui si dichiari che il progetto in questione o parti significative di esso non siano oggetto di altri finanziamenti pubblici a favore dell'Ente attuatore-beneficiario o del Principal Investigator e che, in ogni caso, sarà posta in essere ogni iniziativa volta ad evitare il doppio finanziamento;
b) la dichiarazione da parte del legale rappresentante e del ricercatore responsabile di ciascuna unità operativa partecipante con cui si dichiari che per la propria attività attinente al progetto in questione o per parti significative di esso non siano oggetto di altri finanziamenti pubblici a favore dell'Unità operativa medesima o dei ricercatori di tali unità operative elencati nella proposta progettuale e che, in ogni caso, sarà posta in essere ogni iniziativa volta ad evitare il doppio finanziamento;
c) la dichiarazione da parte degli Enti che svolgono funzioni di unità operativa e dei relativi responsabili di accettazione dei termini della presente convenzione;
d) la dichiarazione con la quale il Soggetto attuatore-beneficiario attesta che il Principal Investigator svolgerà la propria attività di ricerca, per l'intero periodo relativo all'attuazione del progetto, esclusivamente presso la propria sede o presso la struttura del S.S.N. afferente al medesimo, controfirmata dall'interessato;
e) il parere positivo del Comitato etico competente e/o l'autorizzazione di cui all'articolo 31 del decreto legislativo n. 26 del 4 marzo 2014 riguardante la sperimentazione animale, ove previsti;
f) la comunicazione del codice CUP delle singole Unità operative e per ognuna di esse anche il codice fiscale dei soggetti designati a operare sul sistema ReGiS attraverso specifico format excel che verrà condiviso da parte della Ex DGRIC che dovrà essere restituito firmato digitalmente;
g) la traduzione in lingua italiana della proposta progettuale senza apportare alcuna modifica alla versione in inglese allegata alla presente convenzione.

5. Per la realizzazione delle attività, l'importo ammesso a finanziamento è pari a **€950.000,00** (**novecentocinquantamila/00**) a valere sulle risorse assegnate per le tematiche progettuali, stanziate in base alla tabella allegata al decreto ministeriale 1° aprile 2022, modificato con decreto ministeriale del 28 dicembre 2023 n.136, concernente la ripartizione degli interventi di investimento della Missione 6, Componente 2, Investimento 2.1 del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza relativo all'innovazione, alla

ricerca e alla digitalizzazione del Servizio sanitario nazionale e al potenziamento del sistema della ricerca biomedica.

6. La presentazione della richiesta di pagamento della rata intermedia delle spese al Ministero, secondo le modalità previste dall'art. 13, paragrafo 13.1 del bando, dovrà essere effettuata, previo caricamento della documentazione a supporto nel sistema ReGiS, entro 10 giorni dall'invio della comunicazione da parte del Ministero dell'approvazione della relazione scientifica intermedia.
7. La presentazione della richiesta di pagamento finale delle spese al Ministero dovrà essere effettuata successivamente all'invio entro 30 giorni dalla data di conclusione del progetto eventualmente prorogata secondo i termini della presente convenzione della relazione scientifica finale e della relativa rendicontazione economica complessiva del progetto e avverrà solo dopo l'invio della comunicazione da parte del Ministero dell'approvazione della relazione scientifica finale.
8. Il mancato adempimento di quanto previsto dai commi 2 e 3 del presente articolo equivale alla rinuncia a realizzare il progetto e comporta la decadenza dal contributo previsto e la decadenza dal finanziamento.

Art. 5 Obblighi del Soggetto attuatore-beneficiario e del Principal Investigator

1. Con la sottoscrizione della presente Convenzione, il Soggetto attuatore-beneficiario e il Principal Investigator, per quanto di competenza, si obbligano a:

1) assicurare il rispetto di tutte le disposizioni previste dalla normativa comunitaria e nazionale, con particolare riferimento a quanto previsto dal Reg. (UE) 2021/241 e dal D. L. n. 77 del 31/05/2021, convertito con modificazioni dalla L. 29 luglio 2021, n. 108;
2) garantire il rispetto di eventuali previsioni normative, orientamenti o istruzioni tecniche emanate dal Ministero della salute, dal Ministero dell'economia e delle finanze, dalla Commissione Europea ovvero da altri soggetti coinvolti nell'attuazione verifica e controllo delle azioni relative al PNRR, anche successivamente alla sottoscrizione della presente Convenzione;
3) assicurare l'adozione di misure adeguate volte a rispettare il principio di sana gestione finanziaria secondo quanto disciplinato nel Regolamento finanziario (UE, Euratom) 2018/1046 e nell'art. 22 del Regolamento (UE) 2021/241, in particolare in materia di prevenzione e contrasto dei conflitti di interessi, delle frodi, della corruzione, del doppio finanziamento e di recupero e restituzione dei fondi che sono stati indebitamente assegnati;
4) rispettare, a pena di sospensione o revoca del finanziamento in caso di accertata violazione, il principio di "non arrecare danno significativo" (DSNH) agli obiettivi ambientali a norma dell'articolo 17 del Regolamento (UE) 2020/852, i principi trasversali previsti dal PNRR quali, tra l'altro, il principio del contributo all'obiettivo climatico e digitale (c.d. tagging), la parità di genere, producendo dati relativi ai destinatari effettivi dei progetti anche disaggregati per genere (in relazione agli articoli 2, 3, paragrafo 3, del TUE, 8, 10, 19 e 157 del TFUE, e 21 e 23 della Carta dei diritti fondamentali dell'Unione europea), l'obbligo di protezione e valorizzazione dei giovani ed eventuali ulteriori requisiti e condizionalità specifiche dell'investimento oggetto della presente Convenzione;
5) adottare proprie procedure interne, assicurando la conformità ai regolamenti comunitari e a quanto indicato dal Ministero nella descrizione delle funzioni e delle procedure in essere dal Ministero;
6) dare piena attuazione al progetto così come illustrato nel Programma di ricerca, ammesso a finanziamento dal Ministero, garantendo l'avvio tempestivo delle attività progettuali per non incorrere in ritardi attuativi e concludere il progetto nella forma, nei modi e nei tempi previsti, nel rispetto della tempistica prevista dal relativo cronoprogramma di attuazione e di sottoporre al Ministero le eventuali modifiche al progetto;
7) assicurare il rispetto della normativa vigente sugli aiuti di Stato;
8) assicurare il rispetto dei criteri di ammissibilità delle spese e delle quote percentuali previste dal presente avviso pubblico per le varie voci di costo, che saranno calcolate, a consuntivo, sulle spese rendicontate, al netto di eventuali economie riscontrate sul finanziamento assegnato e sulle sole spese eleggibili, dopo verifica da parte del Ministero;
9) garantire, nel caso in cui si faccia ricorso alle procedure di appalto, il rispetto di quanto previsto dal decreto legislativo n. 50/2016 e s.m.i.; rispettare, in caso di ricorso diretto ad esperti esterni all'Amministrazione, la conformità alla pertinente disciplina comunitaria e nazionale, nonché alle eventuali specifiche circolari/disciplinari che potranno essere adottati dal Ministero;
10) individuare eventuali fattori che possano determinare ritardi che incidano in maniera considerevole sulla

tempistica attuativa e di spesa definita nel cronoprogramma, relazionando il Ministero sugli stessi;
11) mitigare e gestire i rischi connessi al progetto nonché porre in essere azioni mirate connesse all'andamento gestionale ed alle caratteristiche tecniche;
12) effettuare i controlli ordinari di gestione e di regolarità amministrativo-contabile previsti dalla normativa vigente, e le verifiche sul conflitto di interessi, sul doppio finanziamento e quelle previste dalla normativa antiriciclaggio ("titolare effettivo");
13) utilizzare il sistema informatico "ReGiS, finalizzato a raccogliere, registrare e archiviare in formato elettronico i dati per ciascuna operazione necessari per la sorveglianza, la valutazione, la gestione finanziaria, la verifica e l'audit, secondo quanto previsto dall'art. 22.2 lettera d) del Regolamento (UE) 2021/241 e tenendo conto delle indicazioni che verranno fornite dagli organi competenti per il tramite del Ministero;
14) caricare sul portale Workflow della Ricerca e nel sistema "ReGiS" la documentazione tecnico scientifica sullo stato di avanzamento del progetto atta a comprovare il corretto svolgimento dello stesso;
15) caricare sul sistema informativo "ReGiS" la documentazione atta a comprovare il corretto svolgimento dei controlli ordinari previsti dalla normativa vigente in merito alle procedure di gara espletate per l'aggiudicazione degli eventuali appalti o subcontratti e eventuali altra documentazione richiesta dalle Amministrazioni centrali deputate alla gestione complessiva del PNRR;
16) garantire la correttezza, l'affidabilità e la congruenza con il tracciato informativo previsto per l'alimentazione del sistema informativo "ReGiS" dei dati di monitoraggio riferiti al CUP Master e ai CUP delle singole Unità operative sull'avanzamento finanziario, fisico e procedurale, e di quelli che comprovano il conseguimento degli obiettivi dell'intervento quantificati in base agli stessi indicatori adottati per le milestones e i target della misura e assicurarne l'inserimento con cadenza almeno bimestrale delle spese (nel termine massimo di 10 giorni successivi all'ultimo giorno del bimestre) nel portale Workflow della Ricerca e sul sistema informativo "ReGiS", unitamente alla documentazione probatoria pertinente, salvo diversa comunicazione;
17) rispettare l'obbligo di indicazione del CUP su tutti gli atti amministrativo/contabili relativi al progetto e sui documenti collegati alle relative procedure di acquisto e fatturazione;
18) fornire tutte le informazioni richieste relativamente alle procedure e alle verifiche in relazione alle spese rendicontate conformemente alle procedure e agli strumenti adottati dal Ministero;
19) garantire la conservazione della documentazione progettuale in fascicoli cartacei e/o informatici per assicurare la completa tracciabilità delle operazioni - nel rispetto di quanto previsto all'art. 9, punto 4, del D.L. n. 77 del 31 maggio 2021, convertito con modificazioni dalla L. n. 108/2021 - che, nelle diverse fasi di controllo e verifica previste dal sistema di gestione e controllo del PNRR, dovranno essere messi prontamente a disposizione su richiesta dell'Amministrazione centrale titolare di intervento PNRR, del Servizio centrale per il PNRR del MEF, dell'Unità di Audit, della Commissione europea, dell'OLAF, della Corte dei Conti europea (ECA), della Procura europea (EPPO) e delle competenti Autorità giudiziarie nazionali, autorizzando la Commissione, l'OLAF, la Corte dei conti e l'EPPO a esercitare i diritti di cui all'articolo 129, paragrafo 1, del regolamento finanziario (UE; EURATOM) 1046/2018;
20) facilitare le verifiche dell'Ufficio competente per i controlli del Ministero, dell'Unità di Audit, della Commissione europea e di altri organismi autorizzati, che verranno eventualmente effettuate anche attraverso controlli in loco;
21) assicurare che le spese del Progetto di ricerca non siano oggetto, anche parzialmente, di altri finanziamenti, contributi o agevolazioni a valere su fondi pubblici nazionali e/o comunitari (divieto del doppio finanziamento);
22) garantire la disponibilità dei documenti giustificativi relativi alle spese sostenute e ai target realizzati così come previsto ai sensi dell'articolo 9 punto 4 del decreto legge n. 77 del 31/05/2021, convertito in legge 29 luglio 2021, n. 108;
23) predisporre i pagamenti secondo le procedure stabilite dal Ministero, nel rispetto del piano finanziario e cronogramma di spesa approvato, inserendo, allo scadere dei 12 e 24 mesi (prorogabili eventualmente di 6 mesi) nel portale Workflow della Ricerca e sul sistema informativo "ReGiS" i relativi documenti riferiti alle procedure e i giustificativi di spesa e pagamento necessari ai controlli ordinari di legalità e ai controlli amministrativo-contabili previsti dalla legislazione nazionale applicabile, nel rispetto di quanto previsto dall'articolo 22 del Reg. (UE) n. 2021/241 e dell'art. 9 del decreto legge n. 77 del 31/05/2021, convertito in legge 29 luglio 2021, n. 108 la documentazione;

24) assicurare che tutte le spese rendicontate siano state effettuate entro il periodo di svolgimento del progetto e che gli eventuali pagamenti per fatture emesse nel periodo di svolgimento del progetto siano completate entro i 30 giorni successivi alla scadenza progettuale e in tempo utile per il caricamento sul sistema di rendicontazione ReGiS;
25) inoltrare, allo scadere dei 12 e 24 mesi (prorogabili eventualmente di 6 mesi),le richieste di pagamento al Ministero tramite il portale Workflow della Ricerca e/o il sistema informativo "ReGiS" con allegata la rendicontazione dettagliata delle spese effettivamente sostenute e del contributo al perseguimento delle milestones e dei target associati alla misura PNRR di riferimento, unitamente ai documenti giustificativi appropriati secondo le tempistiche e le modalità riportate nei dispositivi attuativi;
26) garantire l'utilizzo di un conto corrente dedicato necessario per l'erogazione dei pagamenti e l'adozione di una contabilità separata o di un'apposita codificazione contabile e informatizzata per tutte le transazioni relative al progetto al fine di assicurare la tracciabilità dell'utilizzo delle risorse del PNRR;
27) assicurare, direttamente o attraverso le Istituzioni da esso dipendenti in cui saranno svolte le attività di ricerca, l'anticipazione delle somme necessarie allo svolgimento della ricerca;
28) partecipare, ove richiesto, alle riunioni convocate dal Ministero.
29) garantire, anche attraverso la trasmissione di relazioni periodiche sullo stato di avanzamento del progetto, che il Ministero riceva tutte le informazioni necessarie, relative alle linee di attività per l'elaborazione delle relazioni annuali di cui all'articolo 31 del Regolamento (UE) n. 2021/241, nonché qualsiasi altra informazione eventualmente richiesta;
30) conseguire il raggiungimento degli obiettivi dell'intervento, quantificati secondo gli stessi indicatori adottati per le milestones e i target della misura PNRR di riferimento, e fornire, su richiesta dal Ministero, le informazioni necessarie per la predisposizione delle dichiarazioni sul conseguimento di target e milestones e delle relazioni e documenti sull'attuazione dei progetti;
31) garantire il rispetto degli obblighi in materia di comunicazione e informazione previsti dall'art. 34 del Regolamento (UE) 2021/241 indicando nella documentazione progettuale che il progetto è finanziato nell'ambito del PNRR, con esplicito riferimento al finanziamento da parte dell'Unione europea e all'iniziativa Next Generation EU (ad es. utilizzando la frase "finanziato dall'Unione europea – Next Generation EU – PNRR M6C2 - Investimento 2.1 Valorizzazione e potenziamento della ricerca biomedica del SSN"), riportando nella documentazione progettuale il logo dell'Unione europea e fornire un'adeguata diffusione e promozione del progetto, anche online, sia web sia social, in linea con quanto previsto dalla Strategia di Comunicazione del PNRR;
32) fornire i documenti e le informazioni necessarie secondo le tempistiche previste e le scadenze stabilite dai Regolamenti comunitari e dal Ministero e per tutta la durata del progetto;
33) garantire una tempestiva diretta informazione agli organi preposti, tenendo informato il Ministero sull'avvio e l'andamento di eventuali procedimenti di carattere giudiziario, civile, penale o amministrativo che dovessero interessare le operazioni oggetto del progetto, comunicare le irregolarità, le frodi, i casi di corruzione e di conflitti di interessi, nonché i casi di doppio finanziamento, riscontrati a seguito delle verifiche di competenza e adottare le misure necessarie, nel rispetto delle procedure adottate dallo stesso Ministero in linea con quanto indicato dall'art. 22 del Regolamento (UE) 2021/2041;
34) garantire che il Ministero riceva attraverso il sistema "ReGiS" tutte le informazioni necessarie per l'aggiornamento dell'indicatore comune n. 8 "Ricercatori che lavorano in centri di ricerca beneficiari di un sostegno", riconducibile alla misura oggetto del presente avviso pubblico, tenuto conto che, ai sensi dell'art. 3, comma 3, del Regolamento delegato (UE) 2021/2106 della Commissione del 28 settembre 2021 che integra il regolamento (UE) 2021/241 del Parlamento europeo e del Consiglio, che istituisce il dispositivo per la ripresa e la resilienza "la comunicazione di informazioni per l'aggiornamento degli indicatori comuni ha luogo ogni anno entro il 28 febbraio e il 31 agosto. Il periodo di riferimento copre l'intero periodo di attuazione del piano, dal 1° febbraio 2020 in poi, se del caso, fino alle rispettive date limiti del 31 dicembre e del 30 giugno di ogni anno."

Art. 6 Procedura di monitoraggio e rendicontazione della spesa e dei target

1. Il Ministero con la presente convenzione rappresenta alla controparte che il monitoraggio tecnico-scientifico sarà svolto dalla Ex DGRIC, mentre i controlli rispetto alla rendicontazione delle spese saranno svolte dall'Unità di missione per l'attuazione degli interventi del PNRR presso il Ministero della salute.

2. Il Soggetto attuatore-beneficiario, secondo le indicazioni fornite dal Ministero, deve registrare su base almeno bimestrale, entro 10 giorni successivi all'ultimo giorno del periodo considerato, i dati sull'avanzamento finanziario, fisico e procedurale del progetto nel sistema informatico "ReGiS" e implementare tale sistema con la documentazione specifica relativa a ciascuna procedura di affidamento e a ciascun atto giustificativo di spesa e di pagamento, al fine di consentire l'espletamento dei controlli amministrativo-contabili a norma dell'art. 22 del Reg. (UE) 2021/241 da parte dall'Unità di missione per l'attuazione degli interventi del PNRR presso il Ministero della salute.
3. Il Soggetto attuatore-beneficiario, allo scadere dei 12 e 24 mesi (prorogabili eventualmente di 6 mesi) deve trasmettere i dati sull'avanzamento tecnico-scientifico del progetto tramite il portale Workflow della Ricerca e il sistema "ReGiS" corredata di documentazione specifica relativa a ciascuna procedura di affidamento e a ciascun atto giustificativo di spesa e di pagamento, al fine di consentire l'espletamento dei controlli amministrativo-contabili e delle verifiche sullo stato di avanzamento del progetto.
4. Il Soggetto attuatore-beneficiario, pertanto, dovrà inoltrare allo scadere dei 12 e 24 mesi (prorogabili eventualmente di 6 mesi) tramite il portale Workflow della Ricerca e il sistema informatico "ReGiS", la richiesta rendicontazione delle spese volte a supportare le richieste di pagamento che dovranno essere formalmente trasmesse all'Unità di Missione del Ministero comprensiva dell'elenco di tutte le spese effettivamente sostenute nel periodo di riferimento, gli avanzamenti relativi agli indicatori di intervento/progetto con specifico riferimento alle milestones e ai target del PNRR. Tale richiesta dovrà essere corredata dalla documentazione specificatamente indicata nelle procedure in essere del Ministero.
5. Le spese incluse nelle richieste di pagamento del Soggetto attuatore/beneficiario, se afferenti ad operazioni estratte a campione, sono sottoposte, per il tramite del Sistema Informatico "ReGiS", alle verifiche, se del caso anche in loco da parte delle strutture deputate al controllo del Ministero.
6. Nello specifico, l'Unità di missione per l'attuazione degli interventi del PNRR del Ministero della Salute e eventuali altre amministrazioni coinvolte a diversi livelli di controllo eseguono le verifiche sulle procedure, sulle spese e sui target in conformità con quanto stabilito dall'art. 22 del Regolamento (UE) 2021/241 al fine di garantire la tutela degli interessi finanziari dell'Unione, la prevenzione, individuazione e rettifica di frodi, di casi di corruzione e di conflitti di interessi, nonché il recupero di somme erroneamente versate o utilizzate in modo non corretto.
7. La Ex DGRIC del Ministero della Salute svolge nel merito le funzioni di verifica tecnico-scientifica sullo stato di avanzamento del progetto in questione in coerenza con lo stato di rendicontazione delle spese.

Art. 7 Valutazione intermedia

1. Allo scadere dei 12 mesi dall'inizio dell'attività della ricerca e comunque non oltre trenta (30) giorni da tale termine, il Soggetto attuatore-beneficiario trasmette al Ministero tramite il portale Workflow della ricerca la relazione intermedia sullo stato d'attuazione scientifica della ricerca, sottoscritta digitalmente dal legale rappresentante del Soggetto attuatore/beneficiario e dal Principal Investigator, contenente la descrizione delle attività progettuali svolte complessivamente e dalle singole unità operative, da cui risulti lo stato avanzamento lavori (SAL) e il regolare svolgimento della ricerca, secondo quanto riportato nel progetto approvato. Tale relazione deve contenere una sintesi, a cura del Principal Investigator, che illustri, nella globalità, lo stato di avanzamento dei lavori, inclusa la descrizione delle attività realizzate da eventuali Enti co-finanziatori e l'apporto fornito da eventuali subcontraenti. La relazione intermedia, previa verifica tecnico-scientifica da parte della Ex DGRIC, sarà caricata dal Soggetto attuatore/beneficiario e dal Principal Investigator all'interno del sistema informativo "ReGiS".
2. Il Ministero ha facoltà, previa comunicazione preventiva al Soggetto attuatore-beneficiario, di attivare le procedure per la sospensione del finanziamento e il recupero delle somme erogate, comprensive degli eventuali interessi legali maturati, qualora il Soggetto attuatore/beneficiario non adempia a quanto previsto entro i termini di cui al comma 1 del presente articolo.
3. La Ex DGRIC del Ministero della Salute, previa comunicazione preventiva al Soggetto attuatore-beneficiario, ha facoltà di comunicare all'Unità di missione per l'attuazione degli interventi del PNRR del medesimo Ministero, che sussistono le condizioni per non erogare le successive quote a rimborso, subordinandole all' esito positivo del giudizio in ordine alla relazione finale, qualora la relazione intermedia, all'esito dell'istruttoria, non sia considerata idonea a dimostrare che siano stati pienamente

raggiunti gli obiettivi medio termine o emerga che essa sia stata condotta non in piena conformità con quanto previsto nel progetto approvato. In tal caso il Ministero potrà procedere con il rimborso a saldo. Laddove non vengano rispettati i termini di cui alla presente convenzione, che non consentano la tempestiva erogazione dei fondi, il Soggetto attuatore-beneficiario esonera il Ministero da qualsiasi responsabilità per eventuali ritardi nell'erogazione delle somme spettanti.

4. Il Ministero, previa comunicazione preventiva al Soggetto attuatore-beneficiario, può sottoporre al Comitato tecnico sanitario sez. c), un dossier, qualora la relazione intermedia, all'esito della istruttoria ministeriale, non consenta di esprimere un compiuto motivato parere. La decisione del suddetto Comitato è vincolante per il Soggetto attuatore-beneficiario ai fini del prosieguo della convenzione.

Art. 8 Valutazione finale

1. Fatta salva l'eventuale concessione di proroga della durata delle attività progettuali, al termine di ventiquattro mesi e comunque non oltre trenta (30) giorni dopo la data fissata per il termine della ricerca ai fini dell'erogazione del saldo, il Soggetto attuatore-beneficiario, con nota firmata digitalmente dal rappresentante legale, trasmette contestualmente al Ministero la seguente documentazione, redatta dal Principal Investigator e recante la firma digitale dello stesso:
   - la relazione finale della ricerca, contenente quanto posto in essere anche da eventuali Enti cofinanziatori, che documenti, per ciascuna unità operativa, la coerenza delle attività svolte con il progetto approvato e gli obiettivi raggiunti;
   - copia dei lavori pubblicati su riviste impattate a seguito dello svolgimento della ricerca;
   - la rendicontazione delle spese sostenute con i fondi ministeriali;
   - indicazioni del repository pubblico dove sono resi disponibili i dati grezzi progettuali e quelli utilizzati per le pubblicazioni scientifiche correlate;
   - il rispetto dei costi sostenuti rispetto ai vincoli del bando in materia di gender e spese effettuate da parte di istituzioni nell'aree del meridione.
2. La rendicontazione economica dovrà essere corredata da una relazione di certificazione e di apposita check list di verifica dei requisiti minimi del bando, rilasciata da un Revisore esterno indipendente, iscritto all'Ordine dei Dottori Commercialisti ed Esperti Contabili e al Registro dei Revisori Legali, in possesso dei requisiti richiesti dalla Direttiva 2014/56/UE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 aprile 2014, che modifica la direttiva 2006/43/CE relativa alle revisioni legali dei conti annuali e dei conti consolidati, e dalla relativa legislazione nazionale di attuazione, che certifichi la regolarità amministrativo-contabile delle spese sostenute per la realizzazione del progetto, la loro conformità alla normativa di riferimento vigente, il rispetto delle condizionalità e di tutti i requisiti previsti dal presente avviso pubblico e dalla presente Convenzione il rispetto delle normative nazionali ed europee in materia e la congruenza con le attività svolte ed i risultati raggiunti.
3. Tutta la sopra richiamata documentazione deve essere redatta e trasmessa tramite il portale Workflow della ricerca e il sistema informatico "ReGiS" e secondo le indicazioni previste dal sistema informatico di monitoraggio economico e utilizzando congiuntamente il sistema di comunicazione del Workflow della ricerca, a disposizione dei destinatari istituzionali che può essere integrato con comunicazioni tramite posta elettronica certificata (PEC) da parte del Soggetto attuatore/beneficiario.
4. La documentazione di supporto deve essere a disposizione del Ministero e degli Organi di controllo e verifica del PNRR, presso il Soggetto attuatore-beneficiario, che deve provvedere alla relativa custodia.
5. La Ex DGRIC del Ministero della salute provvede ad applicare una decurtazione pari al 10% della rata del saldo, qualora la documentazione di cui al comma 1 del presente articolo sia trasmessa al Ministero in un periodo compreso tra il trentunesimo e il quarantesimo giorno dalla data di conclusione del progetto.
6. Il Ministero provvede ad applicare una decurtazione pari al 20% della rata del saldo, qualora la documentazione di cui al comma 1 del presente articolo sia trasmessa al Ministero in un periodo compreso tra il quarantunesimo e il cinquantesimo giorno dalla data di conclusione del progetto.
7. Il Ministero, previa comunicazione preventiva al Soggetto attuatore-beneficiario, attiva le procedure per la sospensione del finanziamento e la conseguente economia della rata finale, nonché per il recupero di tutte delle somme già erogate, anche quelle già utilizzate per il personale facente parte del gruppo della ricerca,

comprensive degli interessi legali maturati, qualora la documentazione di cui al comma 1 del presente articolo non sia trasmessa al Ministero entro il cinquantesimo giorno dalla data di conclusione del progetto.

8. Il Ministero si riserva la facoltà di chiedere informazioni ed eventuale documentazione integrativa al Soggetto attuatore/beneficiario, che deve fornire riscontro entro e non oltre i successivi 15 giorni, qualora:
   - la relazione finale non sia considerata idonea a dimostrare il regolare svolgimento della ricerca, in conformità a quanto previsto nel progetto e nel piano finanziario approvati;
   - la rendicontazione risulti incompleta o incongruente sia sui dati contabili sia sulle descrizioni.
9. Il Ministero provvederà ad emettere la valutazione finale sulla base di quanto acquisito agli atti. In caso di mancato o esaustivo riscontro da parte del Soggetto attuatore-beneficiario delle richieste di cui al precedente comma, il Ministero comunica al Soggetto attuatore-beneficiario il parere negativo in ordine alla relazione finale e conseguentemente in ordine all'erogazione del saldo ed ha facoltà di chiedere la restituzione delle somme già erogate, comprensive degli interessi legali maturati, in caso di mancato riscontro oppure laddove dall'istruttoria della documentazione integrativa emerga che sono stati disattesi gli obiettivi di cui al progetto
10. Il Ministero, previa comunicazione preventiva al Soggetto attuatore-beneficiario, può sottoporre al Comitato tecnico sanitario sez. c) un dossier, qualora la relazione finale, all'esito della istruttoria ministeriale, non consenta di esprimere un compiuto motivato parere. La decisione del suddetto Comitato è vincolante per il Soggetto attuatore-beneficiario ai fini del prosieguo della convenzione.

Art. 9 Verifica finanziaria preventiva

Il Soggetto attuatore-beneficiario, al fine dell'erogazione del finanziamento, deve trasmettere al Ministero della salute, Unità di missione per l'attuazione degli investimenti del PNRR, tramite il sistema "ReGiS" la rendicontazione economica corredata da certificato di verifica finanziaria, di cui al comma 2 dell'articolo 8 della presente convenzione, redatto in lingua inglese ed in italiano da parte di soggetti qualificati all'Audit a livello europea, che certifichi la correttezza della procedura di spese, la completezza della documentazione in base alle disposizioni del bando e alle norme nazionale e a quelle europee.

Art. 10 Procedura di pagamento al Soggetto beneficiario

1. Le procedure di erogazione dei fondi su richiesta del Soggetto attuatore-beneficiario a titolo di anticipazione e a titolo di rimborso all'Unità di missione del Ministero della salute seguono le specifiche modalità in conformità con quanto indicato nel presente avviso pubblico e di seguito riportate:
   - massimo 40% al momento della comunicazione, da parte del Soggetto beneficiario, dell'inizio dell'attività di ricerca, a titolo di anticipazione.
   - quota a rimborso per un ulteriore massimo complessivo pari al 70% dopo l'invio, al 12° mese dall'inizio delle attività progettuali, da parte del Soggetto attuatore-beneficiario della relazione scientifica intermedia e dopo la sua approvazione, sulla base della presentazione delle richieste di pagamento a titolo di rimborso per le spese effettivamente sostenute dal Soggetto beneficiario, come risultanti dal sistema informatico di cui all'articolo 1, comma 1043, della legge 30 dicembre 2020, n. 178.
   - quota a rimborso residuale a saldo pari al 30% (ovverosia fino al 100% della richiesta complessiva) a conclusione della ricerca, dopo l'invio da parte del Soggetto attuatore-beneficiario della relazione scientifica finale e della rendicontazione economica, sulla base della presentazione della richiesta di pagamento finale attestante la conclusione del progetto, in coerenza con le risultanze del sistema di monitoraggio di cui all'articolo 1, comma 1043, della legge 30 dicembre 2020, n. 178.
2. A garanzia della coerenza con l'inizio dell'attività dichiarata, il Soggetto attuatore-beneficiario si impegna ad anticipare le risorse economiche necessarie, nell'eventualità in cui le somme da corrispondersi da parte del Ministero siano in regime di perenzione.
3. Laddove non vengano rispettati i termini di cui alla presente convenzione, che non consentano la tempestiva erogazione dei fondi, il Soggetto attuatore-beneficiario esonera il Ministero da qualsiasi responsabilità per eventuali ritardi nell'erogazione delle somme spettanti.
4. Al termine delle verifiche la Ex DGRIC del Ministero della Salute comunicherà dall'Unità di missione per l'attuazione degli interventi del PNRR del Ministero Salute le risultanze delle verifiche per consentire l'effettuazione degli eventuali successivi pagamenti.

Art. 11 Variazioni del progetto e del piano dei costi

1. A partire dal 3° mese successivo all'avvio del progetto e fino a 3 mesi prima della scadenza del progetto, il Soggetto attuatore-beneficiario, con nota firmata dal proprio rappresentate legale e dal Principal Investigator, trasmessa tramite il portale Workflow della ricerca e il sistema informatico "ReGiS", può proporre variazioni al progetto, coerenti con gli obiettivi progettuali, o alla distribuzione di fondi tra le unità operative, purché non comportino un aumento del finanziamento complessivo a carico del Ministero, che dovranno essere accolte con autorizzazione scritta del Ministero. La richiesta di modifica deve dimostrare le necessità scientifiche alla base della richiesta e l'equivalenza della modifica proposta rispetto al raggiungimento degli obiettivi progettuali previsti, modifica che avrà efficacia solo dopo l'approvazione da parte del Ministero con successivo necessario adeguamento del piano dei costi per il CUP Master e per i CUP delle singole Unità operative da parte del Soggetto attuatore-beneficiario.
2. Non è consentito al di fuori del periodo di cui al comma 1 avanzare richieste di modifica. In caso di eventuale necessità di un'ulteriore modifica progettuale è possibile presentare tale richiesta di modifica solo dopo 3 mesi dall'approvazione da parte del Ministero dell'ultima modifica progettuale della stessa tipologia ovverosia scientifica o economica.
3. Il piano dei costi, riportato nella proposta progettuale, è da ritenersi vincolante relativamente al solo totale del finanziamento assegnato e al riparto iniziale tra unità operative, mentre ha valore meramente indicativo per quanto riguarda la ripartizione tra voci di costo e le motivazioni fornite a giustificazione di tali costi.
4. La distribuzione delle somme tra le diverse voci di costo, nell'ambito di ogni singola unità operativa, è consentita sotto la responsabilità del Soggetto attuatore-beneficiario che ha presentato il progetto e che dovrà verificare il rispetto delle percentuali ed i vincoli previste dal bando.
5. Qualsiasi proposta emendativa deve essere adeguatamente motivata dal Principal Investigator per documentare che quanto richiesto risulti indispensabile per assicurare il raggiungimento degli obiettivi a suo tempo prefissati.
6. Solo dopo l'approvazione del Ministero, il soggetto attuatore-beneficiario potrà procedere all'applicazione delle modifiche di cui al comma 1 del presente articolo. In caso di eventuali inadempimenti al presente articolo il Ministero ha facoltà di procedere sia alla risoluzione della convenzione, dandone comunicazione al Soggetto attuatore/beneficiario, sia alla sospensione del finanziamento, nonché al recupero di tutto l'importo erogato.

Art. 12 Proroga

1. Il termine della ricerca può essere prorogato dal Ministero per un periodo massimo di 6 mesi dalla data di scadenza originale, solo a seguito di formale, motivata e documentata istanza firmata digitalmente dal legale rappresentante del Soggetto attuatore-beneficiario e dal Principal Investigator, trasmessa tramite il portale Workflow della ricerca.
2. La richiesta di cui al comma 1 può essere avanzata solo dopo la presentazione della relazione di medio termine ovverosia dopo 12 mesi dall'avvio progetto e fino a 3 mesi precedenti il termine del progetto, con formale e motivata istanza da parte del Soggetto attuatore-beneficiario e del Principal Investigator, che dimostri le necessità scientifiche alla base della richiesta rispetto alle necessità per il raggiungimento degli obiettivi progettuali previsti e avrà efficacia solo dopo l'approvazione da parte del Ministero.

Art. 13 Proprietà e diffusione dei risultati

1. La proprietà degli studi, dei prodotti e delle metodologie sviluppati nell'ambito del progetto è regolamentata dalla normativa vigente in materia, salvo particolari accordi stipulati tra le parti firmatarie del presente atto, ferma restando la possibilità dei soggetti istituzionali del Servizio Sanitario Nazionale di fruirne, previa richiesta alle parti firmatarie.
2. Nel caso in cui il Soggetto attuatore/beneficiario intenda trasferire ad altri soggetti qualsiasi diritto, anche parziale, relativo alla ricerca in questione, ai risultati della stessa o ad eventuali brevetti derivati deve darne preventiva comunicazione al Ministero.

3. Il Soggetto attuatore-beneficiario si impegna a garantire un'adeguata diffusione e promozione del progetto, anche online, sia sul web che sui social media.
4. Qualsiasi documento prodotto, ivi comprese le pubblicazioni scientifiche inerenti al progetto di ricerca oggetto della presente convenzione – per i quali deve essere assicurato l'accesso non oneroso al Ministero - deve contenere l'indicazione che il progetto è finanziato nell'ambito del PNRR, con un'esplicita dichiarazione che reciti "finanziato dall'Unione europea – Next Generation EU – PNRR M6C2 - Investimento 2.1 Valorizzazione e potenziamento della ricerca biomedica del SSN", l'emblema dell'Unione Europea ed il codice del progetto.
5. I prodotti di cui al precedente comma 4 devono essere resi pubblici attraverso sistemi che consentano l'immediata fruizione da parte del pubblico (ad esempio open-access) e non potranno essere oggetto di pubblicazione scientifica per la quale sia necessario il pagamento di una sottoscrizione ovvero il pagamento per la consultazione relativa L'eventuale violazione del presente comma, anche per una sola pubblicazione, sarà oggetto di una penale pari al 25% del finanziamento complessivo
6. Il Ministero non riconosce l'eleggibilità dei costi delle pubblicazioni sui propri fondi qualora in dette pubblicazioni non si faccia espressa menzione del finanziamento ottenuto nell'ambito del PNRR e del codice progetto.
7. Le parti convengono che il Ministero possa dare direttamente diffusione, anche attraverso il proprio sito web, dell'estratto della proposta progettuale e dei risultati della ricerca sia in forma completa che sintetica e delle pubblicazioni scientifiche da essa derivate.

Art. 14 Casi di riduzione, sospensione o revoca del contributo

1. Il Ministero procede a dichiarare la sospensione o revoca totale o parziale del finanziamento concesso, con conseguente eventuale restituzione delle somme già erogate, comprensive degli interessi legali maturati, nei seguenti casi:

a. modifiche ingiustificate alla composizione del gruppo di ricerca;
b. mancato rispetto dei vincoli previsti dal presente avviso pubblico;
c. mancato rispetto degli obblighi di cui all'art. 5 della presente Convenzione;
d. mancato raggiungimento, nei tempi assegnati, delle milestones e dei target previsti per lo svolgimento del progetto;
e. mancata o ritardata presentazione della relazione intermedia sullo stato d'attuazione della ricerca;
f. mancata o ritardata presentazione - oltre il cinquantesimo giorno dalla data di conclusione del progetto - della relazione finale della ricerca e della rendicontazione delle spese sostenute con i fondi ministeriali;
g. modifiche del progetto o variazioni nella distribuzione dei fondi tra le unità operative non autorizzate.

2. Il Ministero applica riduzioni finanziarie in misura variabile e/o consistenti nel mancato riconoscimento delle spese nei seguenti casi:

a. mancato rispetto dei criteri di ammissibilità di cui all'art. 10 del presente avviso pubblico; spese eccedenti i massimali previsti per alcune categorie di spese dall'art. 10 dell'Avviso; costi delle pubblicazioni in cui non si faccia espressa menzione del finanziamento ottenuto nell'ambito del PNRR e del codice progetto;
b. riduzione finanziaria nella misura del 5% della rata del saldo nel caso in cui il Soggetto attuatore/beneficiario al termine delle attività progettuali inoltri copia dei lavori pubblicati su riviste impattate a seguito dello svolgimento della ricerca dalla quale risulti che solo alcune pubblicazioni prodotte recano la menzione del finanziamento ottenuto nell'ambito del PNRR e del codice progetto;
c. riduzione finanziaria nella misura del 10% della rata del saldo qualora la relazione finale della ricerca e la rendicontazione delle spese sostenute siano trasmesse al Ministero in un periodo compreso tra il trentunesimo e il quarantesimo giorno dalla data di conclusione del progetto;
d. riduzione finanziaria nella misura del 20% della rata del saldo qualora la relazione finale della ricerca e la rendicontazione delle spese sostenute siano trasmesse al Ministero in un periodo compreso tra il quarantunesimo e il cinquantesimo giorno dalla data di conclusione del progetto;
e. riduzione finanziaria nella misura del 5% dell'intero finanziamento nel caso in cui il Soggetto attuatore/beneficiario al termine delle attività progettuali inoltri copia dei lavori pubblicati su riviste impattate a seguito dello svolgimento della ricerca privi della menzione del finanziamento ottenuto nell'ambito del PNRR e del codice progetto;

f. riduzione finanziaria nella misura del 10% dell'intero finanziamento nel caso in cui il Soggetto attuatore/beneficiario al termine delle attività progettuali non inoltri la copia dei lavori pubblicati su riviste impattate a seguito dello svolgimento della ricerca e/o le indicazioni del *repository* pubblico dove sono resi disponibili i dati grezzi progettuali e quelli utilizzati per le pubblicazioni scientifiche correlate.

Art. 15 Risoluzione di controversie

1. Per qualsiasi controversia, il Soggetto attuatore-beneficiario può rivolgersi agli Uffici della Ex DGRIC del Ministero della salute, che sottoporranno le eventuali problematiche al parere di competenza del Comitato tecnico sanitario (CTS) operante presso il Ministero. Le parti, con la sottoscrizione della presente convenzione, accettano fin d'ora il parere che sarà espresso dal Comitato tecnico sanitario (CTS) in caso di controversie sulla conduzione scientifica del progetto e le eventuali ricadute economiche.
2. Con la firma della presente convenzione il Principal Investigator accetta quanto previsto dal precedente comma 1.
3. Qualora a seguito della valutazione del CTS, di cui al comma 1 sussistano ulteriori eventuali controversie, diverse da quelle del comma 1, che dovessero sorgere in ordine al presente avviso pubblico il Foro competente è il Foro di Roma.

Art. 16 Risoluzione per inadempimento

1. Il Ministero potrà avvalersi della facoltà di risolvere la presente Convenzione qualora il Soggetto attuatore-beneficiario non rispetti gli obblighi imposti a suo carico e, comunque, pregiudichi l'assolvimento da parte dello stesso Ministero degli obblighi imposti dalla normativa comunitaria.

Art. 17 Diritto di recesso

1. Il Ministero potrà recedere in qualunque momento dagli impegni assunti con la presente Convenzione nei confronti del Soggetto attuatore-beneficiario qualora, a proprio giudizio, nel corso di svolgimento delle attività, intervengano fatti o provvedimenti che modifichino la situazione esistente all'atto della stipula della presente Convenzione o ne rendano impossibile o inopportuna la conduzione a termine.

Art. 18 Comunicazioni e scambio di informazioni

1. Ai fini della digitalizzazione dell'intero ciclo di vita del progetto, tutte le comunicazioni con il Ministero della salute devono avvenire attraverso il sistema di monitoraggio delle ricerche denominato Workflow della ricerca, a disposizione del Soggetto attuatore-beneficiario e laddove necessario attraverso il sistema messo a disposizione dal Ministero dell'Economie e Finanze denominato "ReGiS".
2. Il Soggetto attuatore/beneficiario attraverso il proprio rappresentate legale, nonché il Principal Investigator devono firmare digitalmente tutti gli atti inerenti alla ricerca.

Art. 19 Tracciabilità dei flussi finanziari

1. Le parti si impegnano all'osservanza, per quanto di rispettiva competenza, delle disposizioni inerenti alla tracciabilità dei flussi finanziari di cui all'art. 3 della Legge 13 agosto 2010, n. 136 e s.m.i..

Art. 20 Protezione dei dati personali

1. Nel corso dell'esecuzione delle attività oggetto della presente Convenzione, ciascuna delle Parti potrà trovarsi nella condizione di dover trattare dati personali riferibili a dipendenti e/o collaboratori dell'altra Parte, motivo per cui le stesse si impegnano sin d'ora a procedere al trattamento di tali dati personali in conformità alle disposizioni di cui al Regolamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 aprile 2016, relativo alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali, nonché alla libera circolazione di tali dati e che abroga la direttiva 95/46/CE (Regolamento generale sulla protezione dei dati - GDPR) e successive norme nazionali di adeguamento.

2. Le Parti si impegnano a condurre le suddette attività di trattamento sulla base dei principi di correttezza, liceità, trasparenza e tutela della riservatezza dei soggetti interessati e per il solo ed esclusivo fine di perseguire le finalità di cui alla presente Convenzione, nonché degli eventuali obblighi di legge allo stesso connessi. Tali dati saranno trattati dalle Parti con sistemi cartacei e/o automatizzati ad opera di propri dipendenti e/o collaboratori che, in ragione della propria funzione e/o attività, hanno la necessità di trattarli, per le sole finalità suindicate e limitatamente al periodo di tempo necessario al loro conseguimento.

Art. 21 Efficacia

1. La presente convenzione, vincolante all'atto della sottoscrizione per il Soggetto attuatore-beneficiario e il Principal Investigator, diventerà efficace per il Ministero a seguito della registrazione da parte degli organi di controllo.

Art. 22 Disposizioni Finali

1. Per quanto non previsto dalla presente Convenzione si rinvia alle norme comunitarie e nazionali di riferimento.

Letto, confermato e sottoscritto con firma digitale, ai sensi del decreto legislativo 7 marzo 2005, n. 82 e s.m.i..

Roma, (data della sottoscrizione come quella dell'ultima firma digitale apposta)

per il Ministero della salute
Dr.ssa Maria Teresa Camera d'Afflitto - Direttore dell'Ufficio 4
Ex Direzione generale della ricerca e dell'innovazione in sanità

per il Soggetto attuatore-beneficiario **Ospedale Policlinico San Martino,**
Marco Damonte Prioli, codice fiscale **DMNMRC64S12Z133D** (Legale rappresentante)

Per presa visione ed accettazione:
Il Principal Investigator - **Guido Ferlazzo**, codice fiscale **FRLGDU62S30G224S**

1 - General information

Project code: PNRR-MCNT2-2023-12378122 **Project topic:** E2) Malattie croniche non trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari e socio-assistenziali: innovazione in campo terapeutico

PI / Coordinator: Ferlazzo Guido **Applicant Institution:** Ospedale Policlinico San Martino

Call section: Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari e socio-assistenziali

Proposal title: Improving Cancer Immunotherapy responsiveness by inducing Tertiary Lymphoid structures via the activation of innate lymphocytes (ICI-TeL)

Duration in months: 24

MDC primary: Ematologia e Immunologia

MDC secondary: Oncologia

Project Classification IRG: Immunology

Project Classification SS: Innate Immunity And Inflammation - III

Project Keyword 1: effector functions of innate immune cells (e.g., neutrophils, monocytes, macrophages, dendritic cells, NK cells, basophils, eosinophils, mast cells, gdT cells, B1 cells)

Project Request: **Animals:** [X] **Humans:** [X] **Clinical trial:** [ ]

Project total financing request to the MOH: € 950.000

Free keywords: Immune Check Point Inhibitors; Tertiary Lymphoid Structures; Immunotherapy; Innate lymphoid cells; Natural Killer cells; gamma/delta T cells;

Declarations

In case of a Synergy grant application 'Principal Investigator'(PI) means 'corresponding Principal Investigator on behalf of all Principal Investigators', and 'Host Institution' means 'corresponding Host Institution'.

1) The Principal Investigator declares to have the written consent of all participants on their participation and on the content of this proposal, as well as of any researcher mentioned in the proposal as participating in the project (either as other PI, team member or collaborator).	[X]
2) The Principal Investigator declares that the information contained in this proposal is correct and complete.	[X]
3) The Principal Investigator declares that all parts of this proposal comply with ethical principles (including the highest standards of research integrity — as set out, for instance, in the European Code of Conduct for Research Integrity — and including, in particular, avoiding fabrication, falsification, plagiarism or other research misconduct).	[X]
4) The Principal Investigator is only responsible for the correctness of the information relating to his/her own organisation. Each applicant remains responsible for the correctness of the information related to him and declared above.	[X]

Personal data protection

The assessment of your grant application will involve the collection and processing of personal data (such as your name, address and CV), which will be performed pursuant to Regulation (EC) No 45/2001 on the protection of individuals with regard to the processing of personal data by the Community institutions and bodies and on the free movement of such data. Unless indicated otherwise, your replies to the questions in this form and any personal data requested are required to assess your grant application in accordance with the specifications of the call for proposals and will be processed solely for that purpose. Details concerning the purposes and means of the processing of your personal data as well as information on how to exercise your rights are available in the privacy statement. Applicants may lodge a complaint about the processing of their personal data with the European Data Protection Supervisor at any time.

Abstract

In recent years, strategies harnessing tumor-specific T cells have uncovered the potential of immunotherapy in inducing rapid and durable immune control of cancer. However, although some patients can experience dramatic beneficial responses to this type of treatment, the majority of patients do not. Therefore, there is urgent need to develop strategies that target not only neoantigen-specific CD8+ T cells but also synergistic effector cells that have lower thresholds or different pathways of activation.
Emerging data have recently suggested that the efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICI) is also largely dependent on the quality, quantity and spatial organization of the immune infiltrate into the tumor and, in this context, it was recently published that Tertiary Lymphoid Structures (TLS) are positively associated to ICI efficacy in solid tumors. TLS are ectopic lymphoid structures that appear in inflamed non-lymphoid tissues as aggregates of immune cells and may be represented by mere aggregates of dendritic cells (DC), T and B cells, or mature TLS with a T zone, containing T lymphocytes and DC, a B zone presenting a germinative center, B lymphocytes, follicular dendritic cells and high endothelium venules. In agreement with their association with ICI efficacy, TLS density is positively correlated to the global immune infiltration of the tumor in CD4 and CD8 T lymphocytes. It was lately reported that the presence of mature TLS can predict ICI efficacy even in solid tumors not expressing PD-L1. At the same time, pretreatments by some conventional anti-cancer therapies may be associated with a better ICI response as well as to TLS frequency. For instance, cisplatin has been recently shown to favor lymphoid aggregated in tumors and improve responsiveness to ICI treatment. Similarly, high dose radiotherapy delivered in a small volume has been reported to increase the efficacy of ICI, at least in certain tumors. However, mechanisms at the basis of this phenomenon remain elusive, thus preventing the precise identification of the interventions able to generate this beneficial effect.
Events leading to the development of TLS are not fully understood and the literature suggests that several paths may lead to the development of TLS. We hypothesize that innate lymphocytes such as innate lymphoid cells and gamma/delta T cells, may be activated by selected cytotoxic therapies and therefore actively participate in the formation of TLS in the tumor bed. We aim to identify antiblastic tretaments currently employed as neo-adjuvant therapy (i.e. before undergoing surgical operation) by retrospectively analyze the frequency and maturation of TLS in tumor samples resected after the neo-adjuvant treatment. We hypothesize that some therapies could cause cell death-associated inflammation and trigger innate lymphocytes for TLS development and organization.
As a whole, this project aims at shedding some light on the mechanisms that can lead to the development of TLS in tumors for identifying therapeutic interventions with abscopal effects able to induce tumor-associated TLS and a better immune response upon ICI treatment.

In order to best review your application, do you agree that the above non-confidential proposal title and abstract can be used, without disclosing your identity, when contacting potential reviewers? Yes

2 - Participants & contacts

Project Code: PNRR-MCNT2-2023-12378122 **Call section:** Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari

Applicant Institution: Ospedale Policlinico San Martino **Applicant/PI Coordinator:** Ferlazzo Guido

Operative Units

Institution that perform as UO	CF Institution	Department / Division / Laboratory	Role in the project	Southern Italy	SSN
1 - Ospedale Policlinico San Martino	02060250996	Experimental Pathology and Immunology	Retrospective analysis of neoadjuvant therapies able to induce tumor TLS; spatial multiomic and analysis of ILC3 LT-inducing properties		X
2 - IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital	80403930581	Innate Lymphoid Cell Unit/Immunology Area	Analysing in vivo the role of Innate Lymphocytes and identifying cytotoxic therapies and novel factors able to induce TLS		X
3 - AOU Policlinico P.Giaccone	05841790826	Central Laboratory of Advanced Diagnosis and Biomedical Research(Cladibior)	Investigating circulating and tumor gd-T cells	X	X
4 - University of Messina	80004070837	Dept. Human Pathology/ laboratory of immunology and biotherapy	Investigating circulating and tumor-resident NK cells	X	

Principal Research Collaborators

Key Personnel Name	Operative Unit	Role in the project
1 - Vitale Massimo Andrea	Ospedale Policlinico San Martino	Coordinating activities; experimental developments of part of Aim 1 and 2
2 - MEAZZA RAFFAELLA	Ospedale Policlinico San Martino	Performing histo-pathological, immunohistochemical, immunofluorescent analyses and confocal microscopy,
3 - De Maria Andrea	Ospedale Policlinico San Martino	Preparation of experimental protocols for flow cytometry and cell sorting and providing bioinformatics expertise
4 - CARREGA PAOLO	University of Messina	Experimental development of part of aim 2, with emphasis on NK cells
5 - MERAVIGLIA SERENA	AOU Policlinico P.Giaccone	Characterization of g/d T cells infiltrating tumors.
6 Under 40 - QUATRINI LINDA	IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital	Conducting the in vivo part of the experimental plan. She will be mainly responsible for Aim 3.
7 Under 40 - FIORE PIERA FILOMENA	IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital	Supporting in vivo experiments. Establishment of solid tumor cancer models in vivo

Key Personnel Name	Co-PI	Resp. CE	Resp. Animal	Birth Date	Gender
1 - Vitale Massimo Andrea	X			27/02/1963	M
2 - MEAZZA RAFFAELLA				10/10/1967	F
3 - De Maria Andrea				15/06/1958	M
4 - CARREGA PAOLO				09/12/1980	M
5 - MERAVIGLIA SERENA				08/08/1977	F
6 Under 40 - QUATRINI LINDA			X	07/09/1987	F
7 Under 40 - FIORE PIERA FILOMENA				21/10/1987	F

Additional research collaborators under 40 to hire

Key Personnel Name	Operative Unit	Birth Date	Gender	Role in the project	Degree	Actual Pos. and Inst.
0 - Marchiafava Salvatore	AOU Policlinico P.Giaccone	10/12/1998	M	To perform the phenotypic and functional study of g/d T cells through flow cytometry	Biological Sciences	unemployed
1 - tuberosa claudia	University of Messina	22/03/1984	F	To perform the phenotypic and functional study of NK cells through multiparametric flow cytometry analysis in tumor samples	Health Biology	Biologist-Humanitas Catania

2.1 Administrative data of participating

Operative Unit Number 1:

Address: Largo R. Benzi, 10
Genoa, 16132-Italy
PEC: protocollo@pec.hsanmartino.it

Operative Unit Number 2:

Address: Via San Paolo, 15
Rome, 00146-Italy
PEC: direzione.scientifica@pec.opbg.net

Operative Unit Number 3:

Address: Via del Vespro, 129
Palermo, 90127-Italy
PEC: protocollo@cert.policlinico.pa.it

Operative Unit Number 4:

Address: Via Consolare Valeria 1, (AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO "G. MARTINO")
Messina, 98125-Italy
PEC: dipartimento.patologiaumanadetev@pec.unime.it

Operative Unit Number 5 (self financing):

Address: N/A
PEC: N/A

2.2 Principal Investigator (PI) Profile

Last Name: Ferlazzo
First Name: Guido
Last name at birth:
Gender: M

Title: Principal investigator
Country of residence: ITALY
Nationality: Italiana
Country of Birth: ITALY
Date of birth: 30/11/1962
Place of Birth: Padova

Official H index (Scopus or Web of Science): 44.0

Scopus Author Id:57197724816 **ORCID ID:**0000-0002-3874-8554 **RESEARCH ID:**J74092016

Contact address

Current organisation name: Ospedale Policlinico San Martino
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Experimental Pathology and Immunology
Street: IRCCS Ospedale Policlinico San Martino
Postcode / Cedex: 16132 **Town:** Genova
Phone:+393406439884 **Phone 2:** 090 221 2043

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Messina, Italy School of Medicine, Medicine and Surgery	Single-cycle master's degree / Laurea magistrale a ciclo unico	Medical Doctor Degree	1981	1987
University of Messina, Italy	Specialization / Specializzazione	General and Medical Oncology	1987	1991

Personal Statement:

My research activity has covered several aspects of human immunology, for over 30 years. My group has given relevant contribution to NK and ILC biology, particularly in their interactions with other cells of the innate immunity and their role in protective immune responses against cancer and infectious pathogens.
In this project, beside coordinating the project, I will provide expertise for the study of ILC in cancer, to evaluate their frequency, functions and role in inducing intratumoral TLS.
My main duties in this project include the management of the research and planning of experiments as well as taking part to the preparation of special experimental protocols, including GeoMX spatial imaging. I will also perform the analysis and interpretation of the experimental results.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
Karmanos Cancer Institute - Wayne State University	Clinical and Experimental Therapeutics	Detroit, MI- USA	Research Associate	1997	1999
The Rockefeller University	Laboratory of Cellular Physiology and Immunology (Lab.of Ralph M. Steinman, Nobel Laureate 2011)	New York, NY, U.S.A.	Research Associate	2001	2004
The Rockefeller University	Laboratory of Cellular Physiology and Immunology	New York, NY - USA	Adjunct Faculty	2004	2008
University of Messina	Dept. of Human Pathology	Messina, Italy	Associate Professor of Immunology	2005	2014
University of Messina	Dept. of Human Pathology and DETEV	Messina, Italy	Full Professor of General Pathology and Immunology	2014	2022
Azienda Ospedaliera Universitaria "G.Martino"	Department of Surgery and Oncology	Messina, Italy	Director "Cell Therapy" Program	2011	2017
University Hospital AOU "G.Martino"	Clinical Pathology	Messina, Italy	Director	2017	2022
University Hospital AOU "G.Martino"	Department of Diagnostic	Messina, Italy	Director	2020	2023
University of Genoa	Dept. of Experimental Medicine	Genoa, Italy	Full Professor	2023	2023
IRCCS Ospedale Policlinico San Martino	Unit of Experimental Pathology and Immunology	Genoa, Italy	Director	2023	2023

Other awards and honors

-2010: Award Carlo Chianello Foundation for Research in the field of experimental and clinical oncology
Palermo, Italy
-2011: 24th Khwarizmi International Award for Scientitific research in tumor immunology
Teheran, Iran

Other CV informations

Prof. Ferlazzo carried out studies fundamental in human Immunology. He perfomed the first characterization of NK/DC interactions in humans. These studies provided the bases for the understanding of diseases involving the immune system and for improving prophylactic and therapeutic interventions such as vaccines, cell theray and bone marrow transplantation. The main publication related to these studies (J.Exp.Med. 2002) was cited 1178 times.
Another relevant contribution is represented by the discovery and characterization of NK cells in human lymphnodes (J.Immunol. 2004; 701 citations).
He also lately identified for the first time group 3 innate lymphoid cells within the immune infiltrate of human cancer, also elucidating their functional properties (Nature Comm. 2015; 219 citations).

Selected peer-reviewed publications of the PI valid for minimum expertise level

Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
T cell polarizing properties of probiotic bacteria	Review	337-342	168	2015	10.1016/j.imlet.2015.11.005	26554608	18	C

Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
Cutting Edge: Hyperinflammatory Monocytes Expressing CD56 Abound in Severe COVID-19 Patients	Article	655-659	209	2022	10.4049/jimmunol.2200021	35896335	1	L
Cross-dressing: An alternative mechanism for antigen presentation	Review	349-354	168	2015	10.1016/j.imlet.2015.11.002	26551033	72	C
Circulating ILC precursors expressing CD62L exhibit a type 2 signature distinctly decreased in psoriatic patients	Article	1792-1798	51	2021	10.1002/eji.202048893	33728641	3	L
Dendritic cell recognition by group 3 innate lymphoid cells through DNAX accessory molecule 1 triggers proinflammatory reciprocal cell activation	Article	1118-1122.e6	144	2019	10.1016/j.jaci.2019.06.008	31247267	2	L
Acquisition and presentation of tumor antigens by dendritic cells	Review	349-364	35	2015	10.1615/CritRevImmunol.v35.i5.10	26853848	6	L
Human Hepatitis B Virus Negatively Impacts the Protective Immune Crosstalk Between Natural Killer and Dendritic Cells	Article	550-565	74	2021	10.1002/hep.31725	33482027	7	L
ILC in chronic inflammation, cancer and targeting with biologicals	Review	NOT_FOUND	80	2021	10.1016/j.mam.2021.100963	33726947	7	L
Drag cells in immunity: Plasmacytoid DCs dress up as cancer cells	Review	e27897-1-e27897-2	3	2014	10.4161/onci.28184	NOT_FOUND	3	L
Myeloma cells induce the accumulation of activated CD94^{low} NK cells by cell-to-cell contacts involving CD56 molecules	Article	2297-2307	4	2020	10.1182/bloodadvances.2019000953	32453840	6	L
Symptomatic carotid atherosclerotic plaques are associated with increased infiltration of natural killer (NK) cells and higher serum levels of NK activating receptor ligands	Article	NOT_FOUND	10	2019	10.3389/fimmu.2019.01503	31354703	18	L
Characterization of human afferent lymph dendritic cells from seroma fluids	Article	4858-4866	191	2013	10.4049/jimmunol.1300760	24078697	10	L
Natural killers are made not born: How to exploit NK cells in lung malignancies	Review	NOT_FOUND	8	2017	10.3389/fimmu.2017.00277	NOT_FOUND	20	L
Novel perspectives on dendritic cell-based immunotherapy of cancer	Review	6-10	155	2013	10.1016/j.imlet.2013.09.021	24076312	16	L
The Yin and Yang of Innate Lymphoid Cells in Cancer	Review	29-35	179	2016	10.1016/j.imlet.2016.06.003	27296768	24	L
Membrane transfer from tumor cells overcomes deficient phagocytic ability of plasmacytoid dendritic cells for the acquisition and presentation of tumor antigens	Article	824-832	192	2014	10.4049/jimmunol.1301039	24337377	24	L
Dendritic cell editing by natural killer cells	Review	67-75	19	2014	10.1615/CritRevOncog.2014010827	24941374	42	F
Cross-talks between natural killer cells and distinct subsets of dendritic cells	Review	NOT_FOUND	5	2014	10.3389/fimmu.2014.00159	NOT_FOUND	121	F
CD56^{bright}perforin^{low} noncytotoxic human NK cells are abundant in both healthy and neoplastic solid tissues and recirculate to secondary lymphoid organs via afferent lymph	Article	3805-3815	192	2014	10.4049/jimmunol.1301889	24646734	133	L

Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
NCR + ILC3 concentrate in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures	Article	NOT_FOUND	6	2015	10.1038/ncomms9280	26395069	154	L

* Position: F=First L=Last C=Correspondent O=Other N=Not applicable

** Autocertificated

Selected peer-reviewed publications of the PI for the evaluation CV

Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**
Dendritic cell editing by natural killer cells	Review	67-75	19	2014	10.1615/CritRevOncog.2014010827	24941374	42
An historical overview: The discovery of how NK cells can kill enemies, recruit defense troops, and more	Review	NOT_FOUND	10	2019	10.3389/fimmu.2019.01415	31316503	41
Vitamin D and inflammatory bowel disease	Review	NOT_FOUND	2015	2015	10.1155/2015/470805	26000293	72
Cross-dressing: An alternative mechanism for antigen presentation	Review	349-354	168	2015	10.1016/j.imlet.2015.11.002	26551033	72
Molecular mechanisms directing migration and retention of natural killer cells in human tissues	Review	NOT_FOUND	9	2018	10.3389/fimmu.2018.02324	30364222	78
A think tank of TINK/TANKs: Tumor-infiltrating/tumor-associated natural killer cells in tumor progression and angiogenesis	Review	NOT_FOUND	106	2014	10.1093/jnci/dju200	25178695	98
The engagement of CTLA-4 on primary melanoma cell lines induces antibody-dependent cellular cytotoxicity and TNF-? production.	Article	NOT_FOUND	11	2013	10.1186/1479-5876-11-108	23634660	112
Cross-talks between natural killer cells and distinct subsets of dendritic cells	Review	NOT_FOUND	5	2014	10.3389/fimmu.2014.00159	NOT_FOUND	121
CD56^{bright}perforin^{low} noncytotoxic human NK cells are abundant in both healthy and neoplastic solid tissues and recirculate to secondary lymphoid organs via afferent lymph	Article	3805-3815	192	2014	10.4049/jimmunol.1301889	24646734	133
NCR + ILC3 concentrate in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures	Article	NOT_FOUND	6	2015	10.1038/ncomms9280	26395069	154

** Autocertificated

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
Ministero della Salute	AOU Policlinico G Martino, Messina, Italy	2011	Microambiente tumorale: ruolo progressione neoplastica ed effetti sulle difese dell'ospite	Collaborator	110.370,00	https://www.salute.gov.it/portale/home.html
Comunità Europea	University of Messina, Italy	2011	Master universitario di II livello in Biotecnologie avanzate per la salute e le scienze della vita	Coordinator	179.820,00	https://www.unime.it/it

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
Comunità Europea	University of Messina, Messina, Italy	2012	Piattaforma Regionale di ricerca traslazione per la salute	Collaborator	2.000.000,00	https://www.polime.it/
Università degli Studi di Messina	Università degli Studi di Messina	2015	Innate Lymphoid Cells in human solid cancers and their cross-talk with Dendritic Cells in tumor microenvironment	Coordinator	72.428,00	https://www.unime.it/it
Ministero Istruzione Università e Ricerca	University of Messina, Italy	2017	Meccanismi di flogosi intestinale e sviluppo di cancro colon-rettale: ruolo dell¿immunita¿ innata	Coordinator	129.650,00	https://www.miur.gov.it/
Ministero della Salute	AOU Policlinico "G. Martino", Messina, Italy	2018	Soluble ligands of nk cell activating receptors as novel predictive serum biomakers for carotd plaque instability https://www.salute.gov.it/portale/home.htm l	Coordinator	448.490,00	https://www.salute.gov.it/portale/home.html
Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro	University of Messina, Italy	2011	Novel roles of innate immunity in delivering the third signal to tumor-specific T lymphocytes	Coordinator	165.000,00	https://www.airc.it/
Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro	University of Messina, Italy	2012	Role of Lymphoid-Tissue inducer-like NK cells and tumor-associated LT-neoformation in...	Coordinator	180.000,00	https://www.airc.it/

2.3 CO-PI Profile

Last Name: Vitale
First Name: Massimo Andrea

Last name at birth: Vitale
Gender: M

Title: Coordinating activities; experimental developments of part of Aim 1 and 2

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: Ovada

Nationality: Italiana
Date of birth: 27/02/1963

Official H index (Scopus or Web of Science): 52.0

Scopus Author Id:7102795807 **ORCID ID:**0000-0001-5372-7885 **RESEARCH ID:**G-5135-2016

Contact address

Current organisation name: Ospedale Policlinico San Martino
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Experimental Pathology and Immunology
Street: L.go R. Benzi 10
Postcode / Cedex: 16132 **Town:** Genova
Phone:+393397848208 **Phone 2:** 3397848208

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Genoa, Genoa, Italy	PhD	Immunology	1990	1995
University of Genoa, Genoa, Italy	Single-cycle master's degree / Laurea magistrale a ciclo unico	Biology	1982	1989

Personal Statement:

As the CoPI of the proposal, I will have coordinating activities during the project. From the experimental side, I have extensive knowledge on the isolation and characterization of tissue-resident lymphocytes, with particular focus on NK cells and other ILC subsets. I will carry out experimental developments of part of Aim 1 and 2 and will investigate phenotypic features of ILCs in blood and tissue specimens, ex-vivo. Moreover, I will set out in vitro experiments aimed at analyzing functional competence of ILCs cells isolated from patients' samples.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
IRCCS Ospedale Policlinico San Martino	U.O. Pathology and experimental Immunology	Genoa, Italy	Permanent position as High Specialization of Strategic Importance Staff Scientist	2018	2023
IRCCS A.O.U. San Martino-IST	U.O. Immunology	Genoa, Italy	Highly qualified Senior investigator, permanent position	2011	2018
IST - National Institute for Cancer Research - Genoa	U.O. Experimental Pathology D	Genoa, Italy	Highly qualified Senior investigator, permanent position	2003	2011
IST - National Institute for Cancer Research - Genoa	U.O. Immunopathology	Genoa, Italy	Assistant member, permanent position	1993	2003

Other awards and honors

Reviewer for: Blood, Cancer Res., Cancer Immunol. Research, Haematologica, others
Reviewer for International Research Projects
Flemish League against Cancer - Belgium (2013)
Swiss National Science Foundation (2021)
Guest Editor in "Frontiers in Immunology"
Member of International PhD Jury: Marseilles (2014), Ghent (2015)
- Member of EATI - European Academy of Tumor Immunology 2016
- Academic Board of the PhD Course in Clin and Exp Immunology
University of Genoa

Other CV informations

Listed in the "top Italian scientists" (VIA-Academy)
Licensor of 2 mAbs for research use
1 patent application IT 102018000004853

Selected peer-reviewed publications of the Co-PI valid for minimum expertise level

Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
Hypoxia downregulates the expression of activating receptors involved in NK-cell-mediated target cell killing without affecting ADCC	Article	2756-2764	43	2013	10.1002/eji.201343448	23913266	149	L
Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function	Review	1582-1592	44	2014	10.1002/eji.201344272	24777896	240	F
Role of NK cells in immunotherapy and virotherapy of solid tumors	Review	861-882	7	2015	10.2217/imt.15.53	26314197	11	L
Natural Killer (NK)/melanoma cell interaction induces NK-mediated release of chemotactic High Mobility Group Box-1 (HMGB1) capable of amplifying NK cell recruitment	Article	NOT_FOUND	4	2015	10.1080/2162402X.2015.1052353	NOT_FOUND	17	L

Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
NK Cells, Tumor Cell Transition, and Tumor Progression in Solid Malignancies: New Hints for NK-Based Immunotherapy?	Review	NOT_FOUND	2016	2016	10.1155/2016/4684268	27294158	51	L
NK-cell editing mediates epithelial-to-mesenchymal transition via phenotypic and proteomic changes in melanoma cell lines	Article	3913-3925	78	2018	10.1158/0008-5472.CAN-17-1891	29752261	34	L
Hypoxia modifies the transcriptome of human NK cells, modulates their immunoregulatory profile, and influences NK cell subset migration	Article	NOT_FOUND	9	2018	10.3389/fimmu.2018.02358	30459756	67	C
The uncovered role of immune cells and nk cells in the regulation of bone metastasis	Review	NOT_FOUND	10	2019	10.3389/fendo.2019.00145	NOT_FOUND	7	L
An historical overview: The discovery of how NK cells can kill enemies, recruit defense troops, and more	Review	NOT_FOUND	10	2019	10.3389/fimmu.2019.01415	31316503	41	F
Escape of tumor cells from the NK cell cytotoxic activity	Review	1339-1360	108	2020	10.1002/JLB.2MR0820-652R	32930468	8	L

* Position: F=First L=Last C=Correspondent O=Other N=Not applicable

** Autocertificated

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
Ministero della Salute: Ricerca Corrente (funds ¿5per1000 year 2011¿)	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2013	¿Interazioni funzionali fra cellule NK e Microambiente tumorale: ruolo nella progressione del tumore e nella regolazione del reclutamento di cellule effettrici¿	Coordinator	16.000,00	https://www.ospedalesanmartino.it/
AIRC IG 2014 Id: 15428	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2015	Id: 15428; ¿NK cell/tumor microenvironment cross-talk: consequences on the NK cell infiltrate and on tumor progression¿.	Coordinator	172.000,00	https://www.airc.it/
Ministero della Salute: Ricerca Corrente 2016 (funds ¿5per1000 year 2013¿)	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2018	¿Interazioni funzionali fra cellule NK e Microambiente tumorale: ruolo nella progressione del tumore e nella regolazione del reclutamento di cellule effettrici¿	Coordinator	30.000,00	https://www.ospedalesanmartino.it/
Ministero Salute/ Ricerca Finalizzata 2018	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2018	cod. RF-2018-12366714/Min Sal. ¿Study of the mechanisms regulating NK cell infiltration and function in bone metastases induced by cancer stem cells of non-small cell lung cancer in view of novel effective therapeutic approaches¿.	Coordinator	448.300,00	https://www.salute.gov.it/portale/home.html

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
AIRC	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2021	AIRC IG20-25023: ¿Identification of new targets for the use of NK cells to control metastases in non-small cell lung cancer (NSCLC)¿.	Coordinator	729.000,00	https://www.airc.it/

2.3 Research Collaborators n. 2

Last Name: MEAZZA
First Name: RAFFAELLA
Last name at birth:
Gender: F

Title: Performing histo-pathological, immunohistochemical, immunofluorescent analyses and confocal microscopy,
Nationality: Italiana
Date of birth: 10/10/1967
Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: La Spezia

Official H index (Scopus or Web of Science): 32.0

Scopus Author Id:57226218754 **ORCID ID:**0000-0003-0242-3157 **RESEARCH ID:**AAC-2425-2019

Contact address

Current organisation name: Ospedale Policlinico San Martino
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Experimental Pathology and Immunology
Street: Largo R. Benzi, 10
Postcode / Cedex: 16132 **Town:** Genova
Phone:+393483224577 **Phone 2:** 0105558218

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Genoa, Genoa, Italy	Specialization / Specializzazione	Clinical Pathology	1998	2003
University of Milan, Milan, Italy	PhD	Biotechnology applied to pharmacology and Cellular and Molecular Biotechnology	1993	1997
University of Genoa, Genoa, Italy	Single-cycle master's degree / Laurea magistrale a ciclo unico	Biological Sciences	1985	1991

Personal Statement:

I will provide my expertise to perform histo-pathological, immunohistochemical, immunofluorescent analyses and confocal microscopy, when required, on tumor tissue sections to quantify infiltrating innate lymphocyte and analyze their immunophenotypical profile and expression of lymphoid tissue-inducing mediators. In addition, GeoMX spatial imaging and subsequent molecular biology analyses, will be performed in selected tissue samples from both retrospective cohort and novel tumor samples.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
IRCCS Ospedale Policlinico San Martino (formerly IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro)	Pathology and Experimental Immunology (ex Immunology) Lab	Genoa (Italy)	Permanent position as highly qualified senior investigator	2016	2023
IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro	Immunology Lab	Genoa (Italy)	Permanent position as senior investigator	2011	2016
IRCCS Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST)	Immunology Lab	Genoa (Italy)	Permanent position as senior investigator	2010	2011
IRCCS Istituto G. Gaslini	linical and Experimental Immunology Lab (in collaboration with Immunopharmacology Lab, IST)	Genoa (Italy)	Junior Investigator (research contract)	2002	2006
University of Genoa and IRCCS Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST)	DOBIG, Immunopharmacology Lab	Genoa (Italy)	PhD student (PhD program "Biotechnology applied to pharmacology and Cellular and Molecular Biotechnology¿" in collaboration with the University of Milan) and post-Doc fellow	1993	2000

Other awards and honors

"Merit Award" at the "XIII International Congress of histocompatibility and Immunogenetics", Seattle, May 2002.

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
5x1000 2020 Ospedale Policlinico San Martino	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2022-2023	Grant ID: 5M-202023682086 "Selezione delle cellule Natural Killer con maggiore attività antileucemica in protocolli di immunoterapia adottiva e nel trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche da donatore aploidentico"	Coordinator	25.000,00	https://www.ospedalesanmartino.it/component/publiccompetitions/document/15592.html?view=document&id=15592:elenco-dei-progetti&Itemid=1402
H202O-MSCA-ITN-2017-European Commission	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2018-2022	Project ID 765104: Manufacturing of Tumor Reactive NK cells-MATURE NK.	Collaborator	258.061,32	https://cordis.europa.eu/project/id/765104

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
AIRC IG 2020	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2020-2025	Grant ID25023: "Identification of new targets for the use of NK cells to control metastases in non-small cell lung cancer (NSCLC)" PI M. Vitale.	Collaborator	729.000,00	www.airc.it
AIRC IG 2015	IRCCS Ospedale Policlinico San Martino/Genoa/Italy	2016-2018	¿ NK cell repertoire relevant for anti-leukemia activity in haploidentical hematopoietic stem cell transplants¿ PI D. Pende.	Collaborator	213.000,00	www.airc.it

2.4 Research Collaborators n. 3

Last Name: De Maria
First Name: Andrea

Last name at birth:
Gender: M

Title: Preparation of experimental protocols for flow cytometry and cell sorting and providing bioinformatics expertise

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: GENOVA

Nationality: ITALIANA
Date of birth: 15/06/1958

Official H index (Scopus or Web of Science): 48.0

Scopus Author Id:7007010813 **ORCID ID:**0000-0001-5782-333X **RESEARCH ID:**GCD-9758-2022

Contact address

Current organisation name: Ospedale Policlinico San Martino
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Experimental Pathology and Immunology
Street: Largo R.Benzi 10
Postcode / Cedex: 16132 **Town:** Genova
Phone:+393470700097 **Phone 2:**

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
Infectious Disease and Immunogenetics Section (IDIS),Department of Transfusion Medicine, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland	Specialization / Specializzazione	Visiting Scientist/ Immunology, Immunogenetics, virology	2010	2010
National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases NIAID, Bethesda, MD, USA	Specialization / Specializzazione	Fellowship in Immunology, Laboratory of Immunoregulation Dr.AS Fauci 1989-91: Immunology, Infectious Diseases, virology	1989	1992
University of Genova, Genoa, Italy	Specialization / Specializzazione	fellowship in Infectious Diseases: Infectious diseases, viology, Immunology	1990	1994
University of Genova, Genoa, Italy	Specialization / Specializzazione	Fellowship in Internal Medicine	1983	1988
University of Genoa, Genova, Italy	Single-cycle master's degree / Laurea magistrale a ciclo unico	Medicine	1977	1983

Personal Statement:

I have extensive experience on innate leukocyte biology, including both NK cells and NK-like T cells, in infective disease and cancer pathologies. My main duties in this project include the preparation of experimental protocols, in particular special procedures for flow cytometry and cell sorting. I will also provide bioinformatics expertise for the analysis and interpretation of the experimental results obtained by spatial multiomics.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
UNIVERSITY OF GENOVA	INFECTIUOS DISEASES/Lab. Immunology	UNIVERSITY OF GENOVA, GENOA, ITALY	ASSOCIATE PROFESSOR	1996	2023
OSPEDALE SAN MARTINO	INFECTIUOS DISEASES/Lab. Immunology	UNIVERSITY OF GENOVA, GENOA, ITALY	STAFF MD	1988	1996

Other awards and honors

Student awards during Internal Medicine Fellowship 1984&1985
Peer REviewer for international Journals incl. Blood, JExp Med, NAt.Comm, J virology, J.Immunology, Lancet, Am J Med, AIDS.
Abilitazione Nazionale di Idoneità a Professore Ordinario in Malattie Infettive conseguita negli anni 2012 e 2018 tuttora attiva.
President Society for Infectious Diseases (SIMIT), Regional Chapter 2018-present

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
n/a	n/a	n/a	n/a	Collaborator	0,00	n/a

2.5 Research Collaborators n. 4

Last Name: CARREGA
First Name: PAOLO

Last name at birth:
Gender: M

Title: Experimental development of part of aim 2, with emphasis on NK cells

Nationality: ITALIANA
Date of birth: 09/12/1980

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: NOVI LIGURE

Official H index (Scopus or Web of Science): 21.0

Scopus Author Id: 16229687900 **ORCID ID:** 0000-0001-8541-9115 **RESEARCH ID:** G-4883-2018

Contact address

Current organisation name: University of Messina
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Dept. Human Pathology/ laboratory of immunology and biotherapy

Street: VIA CONSOLARE VALERIA 1
Postcode / Cedex: 98125 **Town:** MESSINA
Phone: +393393683410 **Phone 2:** +390902212081

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Genoa (Genoa), Italy	PhD	PhD Programme in Experimental and Clinical Immunology	2006	2009
University of Milan (Milan);	Single-cycle master's degree / Laurea magistrale a ciclo unico	Medical Biotechnology;	1999	2004

Personal Statement:

Having extensive knowledge on the isolation and characterization of tissue-resident lymphocytes, with particular focus on NK cells and other ILC subsets both in human tissues and mouse models,
I will carry out experimental development of part of aim 2. I will investigate phenotypic features of NK cells in blood and tumor specimens, ex-vivo. Moreover, I will set out in vitro experiments aimed at analyzing functional competence of NK cells isolated from patients' samples.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
University of Zurich	Institute of Experimental Immunology/Viral Immunobiology Lab	Zurich, Swiss	Visiting scientist	2013	2014
University of Genoa	dept. Experimental medicine	Genoa, Italy	PhD student	2006	2008
Giannina Gaslini Institute	Laboratory of Immunology	Genoa, Italy	Post-Doctoral Fellow	2009	2016
University of Messina	dept. human pathology/ laboratory of immunology and biotherapy	Messina, Italy	ricercatore a tempo determinato lett. b) legge 240/2010.	2016	2021
University of Messina	dept. human pathology/ laboratory of immunology and biotherapy	Messina, Italy	ricercatore a tempo determinato lett. b) legge 240/2010.	2021	2023

Other awards and honors

2010: Triennal Fellowship 2010-2012 5x1000, Federazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (FIRC)
2011: Travel award (EFIS) Course, Riccione.
2013: Young Investigator Award, Fondazione Umberto Veronesi.
2013: 3-MonthsTravel Grant (EFIS).
2020:Abilitazione Scientifica Nazionale Professore II° fascia (06/A2) PATOLOGIA GENERALE E PATOLOGIA CLINICA

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
Individual funding/Ministry of University and Research	University of Messina, dept. human pathology/ laboratory of immunology and biotherapy"	2017	(FFABRA2017)	Coordinator	3.000,00	https://www.mur.gov.it/it
Ricerca Finalizzata/MOH/ITALY	Policlinico Universitario G. Martino, Messina, Italy	2018	RF-2018-12367242: SOLUBLE LIGANDS OF NK CELL ACTIVATING RECEPTORS AS NOVEL PREDICTIVE SERUM BIOMARKERS FOR CAROTID PLAQUE INSTABILITY	Collaborator	448.490,00	https://www.salute.gov.it/portale/home.html
Ricerca Finalizzata/MOH/ITALY	IRCCS AOU San Martino, Genoa, Italy	2014	GR-2013- 02356568) :Immunoregulatory role of innate immunity cells in the tumor microenvironment¿	Collaborator	427.700,00	https://www.salute.gov.it/portale/home.html

2.6 Research Collaborators n. 5

Last Name: MERAVIGLIA
First Name: SERENA
Last name at birth:
Gender: F

Title: Characterization of g/d T cells infiltrating tumors.
Country of residence: ITALY
Nationality: Italiana
Country of Birth: ITALY
Date of birth: 08/08/1977
Place of Birth: palermo

Official H index (Scopus or Web of Science): 29.0

Scopus Author Id:6506259147 **ORCID ID:**0000-0002-0383-5818 **RESEARCH ID:**K-5164-2016

Contact address

Current organisation name: AOU Policlinico P.Giaccone
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Central Laboratory of Advanced Diagnosis and Biomedical Research(Cladibior)

Street: Via del vespro 129
Postcode / Cedex: 90127
Town: palermo
Phone:+393383222559
Phone 2: 3383222559

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Palermo, Palermo, Italy	Specialization / Specializzazione	Clinical Pathology	2002	2006
University of Palermo, Palermo, Italy	Single-cycle master's degree / Laurea magistrale a ciclo unico	Medicine	1995	2001

Personal Statement:
Given my expertise, I will characterize phenotypically and functionally g/d T cells infiltrating tumors. For this, I will employ multiparametric flow cytometry to analyze the phenotype, activation markers, exhaustion molecules and functions of infiltrating g/d T cells with emphasis on lymphoid tissue-inducing properties. I will take part mainly to Aim 2 and will provide expertise for Aim 1, in particular for dissecting multiomics data related to g/d T cells.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
Deutsches Rheuma-Forshungzentrum	Dept of Innate Immunity	Berlin, Germany	Visiting student	2015	2015
AOP Paolo Giaccone	Dept. of Diagnostic, UO Cladibior	Palermo, Italy	Physicians	2015	2023
AOP Paolo Giaccone	Diagnostic Department, Blood Bank and Immunohematology Center	Palermo, Italy	Physicians	2008	2014
University of Palermo	Department of Biopathology, genral pathology	Palermo, Italy	Researcher	2006	2020
University of Palermo	Department of Biomedicine, Neurosciences and Advanced Diagnosis	Palermo, Italy	Associate Professor	2020	2022

Other awards and honors

2006: Winner of concourse for Assistant Researcher at Department of Biopathology, University of Palermo (SSD MED/04);
2020: Winner of concourse for Associate Professor at Depatment of Biomedicine, Neurosciences and Advanced Diagnosis, University of Palermo (SSD MED/04)

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
Ministero della salute	AOU Paolo Giaccone	2023	A next generation DNA vaccine coding for immunodominant sequences of alpha-enolase to cure pancreatic cancer	Collaborator	950.000,00	www.salute.gov.it
Ministero della salute	AOU Paolo Giaccone	2016	Ricerca Sanitaria Finalizzata: Role of Human spheroids from adipose-derived stem cells (SASCs) in hind-limb vascular composite allostransplatation: can they prevent rejection?	Coordinator	455.435,00	www.salute.gov.it
MIUR	Università di palermo	2017	PRIN: Intrinsic and extrinsic innate immunesurveillance against high-risk human papilloma virus infection: molecular mechanisms and novel intervention strategies	Collaborator	85.758,00	www.mur.gov.it

2.7 Research Collaborators n. 6 - Under 40

Last Name: QUATRINI
First Name: LINDA

Last name at birth:
Gender: F

Title: Conducting the in vivo part of the experimental plan. She will be mainly responsible for Aim 3.

Nationality: Italiana
Date of birth: 07/09/1987

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: Roma

Official H index (Scopus or Web of Science): 21.0

Scopus Author Id:55382382900 **ORCID ID:**0000-0002-6994-2595 **RESEARCH ID:**AAA-4580-2019

Contact address

Current organisation name: IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Innate Lymphoid Cell Unit/Immunology Area
Street: Via San Paolo 15
Postcode / Cedex: 00146 **Town:** Roma
Phone:+393386785613 **Phone 2:**

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
Sapienza University of Rome	PhD	Immunological, Hematological and Rheumatic Sciences;	2011	2015
Sapienza University of Rome	Master's Degree / Laurea Magistrale	Medical Biotechnologies	2009	2011
Sapienza University of Rome	Bachelor Degree / Laurea Triennale	Biotechnologies	2006	2009

Personal Statement:
I have a consolidated expertise in the study of Innate Lymphoid Cell biology and tumor immunology, in both the human and mouse settings. My background will allow to successfully conduct the in vivo part of the experimental plan. I will be responsible for most of the tasks foreseen in Aim 2.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
Sapienza University of Rome	Laboratory of Immunology and Immunopathology directed by Prof Angela Santoni	Rome (Italy)	Post-doc	2015	2015
Centre d'Immunologie de Marseille Luminy (CIML)	Laboratory of NK cells and Innate Immunity directed by Prof Eric Vivier	Marseille (France)	Post-doc	2015	2018
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù	Immunology Area/Laboratory of Tumor Immunology directed by Prof Lorenzo Moretta	Rome (Italy)	Researcher	2018	2022
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù	Immunology Area/Laboratory of Innate Lymphoid Cells directed by Dr Paola Vacca	Rome (Italy)	Principal Investigator	2023	2023

Other awards and honors

2023-2028: Recipient of a MFAG from AIRC
2022-2024: Recipient of a Ricerca Corrente Grant from OPBG
2022-2023: Recipient of a Veronesi Fellowship
2019: Travel Award from Aegean Conference committee
2018-2022: Recipient of an iCARE-2 reintegration fellowship co-funded by AIRC and European Union¿s Horizon 2020 Marie Sklodowska-Curie program
2015-2016: Recipient of a FIRC fellowship for abroad
2013-2014: Recipient of an Avvio alla Ricerca grant from Sapienza University of Rome

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
My First AIRC Grant/Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro/Italy	Ospedale Pediatrico Bambino Gesù	2022	Impact of corticosteroids on ILC reconstitution and function upon HSC transplantation to cure hematologic malignancies	Coordinator	499.991,00	https://www.airc.it/ricercatori/i-nostri-ricercatori/linda-quatrini

2.8 Research Collaborators n. 7 - Under 40

Last Name: FIORE
First Name: PIERA FILOMENA

Last name at birth:
Gender: F

Title: Supporting in vivo experiments. Establishment of solid tumor cancer models in vivo

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: barletta

Nationality: italiana
Date of birth: 21/10/1987

Official H index (Scopus or Web of Science): 10.0

Scopus Author Id:57201022877 **ORCID ID:**0000-0002-6810-2172 **RESEARCH ID:**AAA-1601-2020

Contact address

Current organisation name: IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Innate Lymphoid Cell Unit/Immunology Area
Street: Viale Di San Paolo 15
Postcode / Cedex: 00146 **Town:** roma
Phone:+393297469432 **Phone 2:**

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
Università degli Studi di Roma "Sapienza"	PhD	Morphogenesis and tissue engineering	2012	2017
Università degli Studi di Roma "Sapienza"	Master's Degree / Laurea Magistrale	Medical Biotechnology	2007	2012

Personal Statement:

I will support in vivo experiments and will work in strict collaboration with the animal facilities of O.U.2. I will be responsible for obtaining the solid tumor cancer models by inoculation of syngeneic cancer cells in C57BL/6 immunocompetent mice.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
Università degli Studi di Roma "Sapienza"	Dipartimento di medicina molecolare	Rome, Italy	Graduated Research fellow	2012	2013
Techbical University of Munich (TUM)	Translational Pancreatic Cancer Research Center	Munich, Germany	Guest Research Scientists	2022	2022
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù	Immunology Area/Laboratory of Innate Lymphoid Cells	Rome, Italy	Post-doctoral fellow	2017	2023

Other awards and honors

01/12/2022	Post-Doctoral Fellowship 2023 di Fondazione Umberto Veronesi - Fondazione Umberto Veronesi
07/06/2020	EFIS-IL Fellowships Short Term Fellowship - European Federation of Immunological Societies (EFIS)
01/04/2015	Grant ¿Avvio alla ricerca 2015¿ ¿ Sapienza University, Rome. MIUR MIUR
02/04/2014	Grant ¿Avvio alla ricerca 2014¿ ¿ Sapienza University, Rome. MIUR MIUR

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
nd	nd	nd	nd	Collaborator	0,00	nd

2.9 Additional Research Collaborators n. 2 - Under 40 to hire

Last Name: Marchiafava
First Name: Salvatore

Last name at birth:
Gender: M

Title: To perform the phenotypic and functional study of g/d T cells through flow cytometry

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: Licata

Nationality: Italiana
Date of birth: 10/12/1998

Official H index (Scopus or Web of Science): 0.0

Scopus Author Id:nd **ORCID ID:**nd **RESEARCH ID:**nd

Contact address

Current organisation name: AOU Policlinico P.Giaccone
Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Central Laboratory of Advanced Diagnosis and Biomedical Research(Cladibior)

Street: Via Consolare Valeria n1
Postcode / Cedex: 98125 **Town:** Messina
Phone:+393801583473 **Phone 2:**

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Messina	Bachelor Degree / Laurea Triennale	Biological Sciences	2017	2021

Personal Statement:

My background in molecular biology, multiparametric flow cytometry on pathological human samples will allow me to support unit 3 in the development of the project. In particular, I will contribute to perform the phenotypic and functional study of g/d T cells through multiparametric flow cytometry analysis in coloncancer tumor samples of patients recruited at Policlinico P.Giaccone in Palermo, as well as for lung cancer and melanoma provided by O.U.1 for studying putative LT-inducing properties of g/d T cells.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
nd	nd	nd	nd	0	0

Other awards and honors

nd

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
nd	nd	nd	nd	Collaborator	0,00	nd

2.10 Additional Research Collaborators n. 3 - Under 40 to hire

Last Name: tuberosa
First Name: claudia

Last name at birth: TUBEROSA
Gender: F

Title: To perform the phenotypic and functional study of NK cells through multiparametric flow cytometry analysis in tumor samples

Country of residence: ITALY
Country of Birth: ITALY
Place of Birth: catania

Nationality: italia

Date of birth: 22/03/1984

Official H index (Scopus or Web of Science): 3.0

Scopus Author Id:56137074400 **ORCID ID:**0000-0001-8106-162X **RESEARCH ID:**nd

Contact address

Current organisation name: University of Messina

Current Department / Faculty / Institute / Laboratory name: Dept. Human Pathology/ laboratory of immunology and biotherapy

Street: contrada cubba 54

Postcode / Cedex: 95045 **Town:** misterbianco

Phone:+393286857732 **Phone 2:**

Education / training

Educational institution and location	Degree	Field of study	From year	To year
University of Genoa, Genoa, Italy	PhD	PhD Programme in Experimental and Clinical Immunology; Immunology, Vaccinology and Organ Transplantation	2010	2014
University of Catania, Catania, Italy	Master's Degree / Laurea Magistrale	Health Biology	2004	2009

Personal Statement:

I have an excellent expertise in the study of the tissue microenvironment and immunological mechanisms implicated in the pathogenesis of diseases. My broad background in molecular biology, multiparametric flow cytometry on pathological human samples will allow me to support unit 4 in the development of the project. In particular, I will contribute to perform the phenotypic and functional study of NK cells through multiparametric flow cytometry analysis in tumor samples of the recruited patients.

Positions and honors

Positions

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
IRCSS- IST Ospedale San Martino	La. of immunology	Genoa, Italy	Undergraduate student	2010	2010
University of Genoa	Dept. of Experimental Medicine	Genoa, Italy	PhD student	2011	2014
AOU Policlinico Universitario"G Martino"	Dept. of Human Pathology/ Lab. of Immnulogy and Biotherapy	Messina, Italy	Post-Doc fellow	2014	2015
ANALISI SERVICE	n/a	Catania, Italy	Biologist	2016	2019
Humanitas Catania	nd	Catania, Italy	Biologist	2020	2023

Other awards and honors

Selected as visiting fellow at RIKEN Institute for International Summer Program: RISP 2013-- Yokohama- Japan
Title of the stage: ¿Trafficking and developmental relationships of human NK cell subsets¿

Grant

Funded by Institution	Researcher inst. where grant is/was performed	Year	Title	Position in Projects	Fund (euro)	Source website grant listed
n/a	n/a	0	n/a	Collaborator	0,00	n/a

2.17 Expertise Research Collaborators

Selected peer-reviewed publications of the Research Group / Collaborators

Collaborato	Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
tuberosa claudia	Diagnosing XLP1 in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis	Article	1381-1387.e7	134	2014	10.1016/j.jaci.2014.04.043	24985396	8	O
tuberosa claudia	XLP1 inhibitory effect by 2B4 does not affect DNAM-1 and NKG2D activating pathways in NK cells	Article	1526-1534	44	2014	10.1002/eji.201344312	24496997	11	O
De Maria Andrea	Toward a comprehensive view of cancer immune responsiveness: A synopsis from the SITC workshop	Review	NOT_FOUND	7	2019	10.1186/s40425-019-0602-4	31113486	30	O
De Maria Andrea	An historical overview: The discovery of how NK cells can kill enemies, recruit defense troops, and more	Review	NOT_FOUND	10	2019	10.3389/fimmu.2019.01415	31316503	41	O
De Maria Andrea	Natural killer cells in HIV controller patients express an activated effector phenotype and do not up-regulate NKp44 on IL-2 stimulation	Article	11970-11975	110	2013	10.1073/pnas.1302090110	23818644	48	L
De Maria Andrea	Molecular signatures mostly associated with NK cells are predictive of relapse free survival in breast cancer patients	Article	NOT_FOUND	11	2013	10.1186/1479-5876-11-145	23758773	57	O
De Maria Andrea	Human NK cell receptors/markers: A tool to analyze NK cell development, subsets and function	Review	702-713	83	2013	10.1002/cyto.a.22302	23650273	125	O
FIORE PIERA FILOMENA	Pharmacological Inhibition of PKC? Counteracts Muscle Disease in a Mouse Model of Duchenne Muscular Dystrophy	Article	150-161	16	2017	10.1016/j.ebiom.2017.01.001	28089792	7	O
FIORE PIERA FILOMENA	Gene expression profiling in behcet¿s disease indicates an autoimmune component in the pathogenesis of the disease and opens new avenues for targeted therapy	Article	NOT_FOUND	2018	2018	10.1155/2018/4246965	29850627	36	O
FIORE PIERA FILOMENA	Wilms¿ tumor primary cells display potent immunoregulatory properties on nk cells and macrophages	Article	1-22	13	2021	10.3390/cancers13020224	NOT_FOUND	5	F

Collaborato	Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
FIORE PIERA FILOMENA	Interleukin-15 and cancer: Some solved and many unsolved questions	Review	NOT_FOUND	8	2020	10.1136/jitc-2020-001428	33203664	27	F
FIORE PIERA FILOMENA	Polymorphonuclear Myeloid-Derived Suppressor Cells Are Abundant in Peripheral Blood of Cancer Patients and Suppress Natural Killer Cell Anti-Tumor Activity	Article	NOT_FOUND	12	2022	10.3389/fimmu.2021.803014	35116033	10	O
CARREGA PAOLO	Human NK cells and NK receptors	Review	168-173	161	2014	10.1016/j.imlet.2013.12.009	24361820	45	O
CARREGA PAOLO	Therapeutic Implications of Tumor Microenvironment in Lung Cancer: Focus on Immune Checkpoint Blockade	Review	NOT_FOUND	12	2022	10.3389/fimmu.2021.799455	NOT_FOUND	35	O
CARREGA PAOLO	NCR + ILC3 concentrate in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures	Article	NOT_FOUND	6	2015	10.1038/ncomms9280	26395069	154	F
CARREGA PAOLO	Association Between Response to Nivolumab Treatment and Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Patients With Non-small Cell Lung Cancer	Article	NOT_FOUND	11	2020	10.3389/fimmu.2020.00125	32117275	34	O
CARREGA PAOLO	Interleukins 12 and 15 induce cytotoxicity and early NK-cell differentiation in type 3 innate lymphoid cells	Article	2679-2691	1	2017	10.1182/bloodadvances.2017008839	NOT_FOUND	31	O
MERAVIGLIA SERENA	NKp46-expressing human gut-resident intraepithelial V?1 T cell subpopulation exhibits high antitumor activity against colorectal cancer	Article	NOT_FOUND	4	2019	10.1172/jci.insight.125884	31689241	40	O
MERAVIGLIA SERENA	IL4 primes the dynamics of breast cancer progression via DUSP4 inhibition	Article	3268-3279	77	2017	10.1158/0008-5472.CAN-16-3126	28400477	33	O
MERAVIGLIA SERENA	Squamous cell tumors recruit ?? T cells producing either IL17 or IFN? depending on the tumor stage	Article	397-407	5	2017	10.1158/2326-6066.CIR-16-0348	28351891	41	C
MERAVIGLIA SERENA	Distinctive features of tumor-infiltrating ?? T lymphocytes in human colorectal cancer	Article	NOT_FOUND	6	2017	10.1080/2162402X.2017.1347742	29123962	69	F
MERAVIGLIA SERENA	Single-cell RNA sequencing unveils the shared and the distinct cytotoxic hallmarks of human TCRV?1 and TCRV?2 ?? T lymphocytes	Article	11906-11915	116	2019	10.1073/pnas.1818488116	31118283	74	O
QUATRINI LINDA	NK cells and ILCs in tumor immunotherapy	Review	NOT_FOUND	80	2021	10.1016/j.mam.2020.100870	32800530	69	O

Collaborato	Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
QUATRINI LINDA	Glucocorticoids and the cytokines IL-12, IL-15, and IL-18 present in the tumor microenvironment induce PD-1 expression on human natural killer cells	Article	349-360	147	2021	10.1016/j.jaci.2020.04.044	32417134	33	F
QUATRINI LINDA	The immune checkpoint PD-1 in natural killer cells: Expression, function and targeting in tumour immunotherapy	Review	1-21	12	2020	10.3390/cancers12113285	NOT_FOUND	54	C
QUATRINI LINDA	Endogenous glucocorticoids control host resistance to viral infection through the tissue-specific regulation of PD-1 expression on NK cells	Article	954-962	19	2018	10.1038/s41590-018-0185-0	30127438	84	F
QUATRINI LINDA	Ubiquitin-dependent endocytosis of NKG2D-DAP10 receptor complexes activates signaling and functions in human NK cells	Article	NOT_FOUND	8	2015	10.1126/scisignal.aab2724	26508790	27	F
MEAZZA RAFFAELLA	Inhibitory 2B4 contributes to NK cell education and immunological derangements in XLP1 patients	Article	1051-1061	47	2017	10.1002/eji.201646885	28386908	9	F
MEAZZA RAFFAELLA	Exploiting Natural Killer Cell Engagers to Control Pediatric B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia	Article	291-302	10	2022	10.1158/2326-6066.CIR-21-0843	35078821	7	O
MEAZZA RAFFAELLA	ERAP1 regulates natural killer cell function by controlling the engagement of inhibitory receptors	Article	824-834	75	2015	10.1158/0008-5472.CAN-14-1643	25592150	39	O
MEAZZA RAFFAELLA	?? T-cell reconstitution after HLA-haploidentical hematopoietic transplantation depleted of TCR-??⁺/CD19⁺ lymphocytes	Article	2349-2358	125	2015	10.1182/blood-2014-09-599423	25612623	145	O
MEAZZA RAFFAELLA	Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after ab T-cell and B-cell depletion	Article	677-685	130	2017	10.1182/blood-2017-04-779769	28588018	163	O
Vitale Massimo Andrea	NK cell-based immunotherapy in cancer metastasis	Review	NOT_FOUND	11	2019	10.3390/cancers11010029	NOT_FOUND	60	O
Vitale Massimo Andrea	Hypoxia modifies the transcriptome of human NK cells, modulates their immunoregulatory profile, and influences NK cell subset migration	Article	NOT_FOUND	9	2018	10.3389/fimmu.2018.02358	30459756	67	O

Collaborato	Title	Type	Pag	Vol	Year	DOI	PMID	Cit.**	P.*
Vitale Massimo Andrea	Hypoxia downregulates the expression of activating receptors involved in NK-cell-mediated target cell killing without affecting ADCC	Article	2756-2764	43	2013	10.1002/eji.201343448	23913266	112	L
Vitale Massimo Andrea	Killer Ig-like receptors (KIRs): Their role in NK cell modulation and developments leading to their clinical exploitation	Review	NOT_FOUND	10	2019	10.3389/fimmu.2019.01179	31231370	169	O
Vitale Massimo Andrea	Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function	Review	1582-1592	44	2014	10.1002/eji.201344272	24777896	167	F

* Position: F=First L=Last C=Correspondent O=Other N=Not applicable

** Autocertificated

3 - Ethics

1. HUMAN EMBRYOS/FOETUSES	
Does your research involve Human Embryonic Stem Cells (hESCs)?	No
Does your research involve the use of human embryos?	No
Does your research involve the use of human foetal tissues / cells?	No
2. HUMANS	
Does your research involve human participants?	No
Does your research involve physical interventions on the study participants?	No
3. HUMAN CELLS / TISSUES	
Does your research involve human cells or tissues (other than from Human Embryos/ Foetuses?	Yes
4. PERSONAL DATA	
Does your research involve personal data collection and/or processing?	No
Does your research involve further processing of previously collected personal data (secondary use)?	No
5. ANIMALS	
Does your research involve animals?	Yes

6. ENVIRONMENT & HEALTH and SAFETY	
Does your research involve the use of elements that may cause harm to the environment, to animals or plants?	No
Does your research deal with endangered fauna and/or flora and/or protected areas?	No
Does your research involve the use of elements that may cause harm to humans, including research staff?	No
7. DUAL USE	
Does your research involve dual-use items in the sense of Regulation 428/2009, or other items for which an	No
8. EXCLUSIVE FOCUS ON CIVIL APPLICATIONS	
Could your research raise concerns regarding the exclusive focus on civil applications?	No
9. MISUSE	
Does your research have the potential for misuse of research results?	No
10. OTHER ETHICS ISSUES	
Are there any other ethics issues that should be taken into consideration? Please specify	No

I confirm that I have taken into account all ethics issues described above and that, if any ethics issues apply, I will complete the ethics self-assessment and attach the required documents. [X]

4 - Call-specific questions

Eligibility	
I acknowledge that I am aware of the eligibility requirements for applying as specified in the Call-PNRRXXXX_M6/C2, and certify that, to the best of my knowledge my application is in compliance with all these requirements. I understand that my proposal may be declared ineligible at any point during the evaluation or granting process if it is found not to be compliant with these eligibility criteria.	[X]
I confirm that the proposal that I am about to submit draws substantially don't repeat on an existing or recently finished GRANT funded.	[X]
Data-Related Questions and Data Protection (Consent to any question below is entirely voluntary. A positive or negative answer will not affect the evaluation of your project proposal in any form and will not be communicated to the evaluators of your project.)	
For communication purposes only, the MoH asks for your permission to publish,in whatever form and medium, your name, the proposal title, the proposal acronym, the panel, and host institution, should your proposal be retained for funding.	[X]
Some national and regional public research funding authorities run schemes to fund MoH applicants that score highly in the MoH's evaluation but which can not be funded by the MoH due to its limited budget. In case your proposal could not be selected for funding by the MoH do you consent to allow the MoH to disclose the results of your evaluation (score and ranking range) together with your name, non- confidential proposal title and abstract, proposal acronym, host institution and your contact details to such authorities?	[X]

The MoH is sometimes contacted for lists of MoH funded researchers by institutions that are awarding prizes to excellent researchers. Do you consent to allow the MoH to disclose your name, non-confidential proposal title and abstract, proposal acronym, host institution and your contact details to such institutions?	X
The Ministry of Health occasionally could contacts Principal Investigators of funded proposals for various purposes such as communication campaigns, pitching events, presentation of their project's evolution or outcomes to the public, invitations to represent the Ministry of Health in national and international forums, studies etc. Should your proposal be funded, do you consent to the Ministry of Health staff contacting you for such purposes?	X
For purposes related to monitoring, study and evaluating implementation of MoH actions, the MoH may need that submitted proposals and their respective evaluation data be processed by external parties. Any processing will be conducted in compliance with the requirements of Regulation 45/2001.	

5 – Description Project

Summary description

Despite dramatic beneficial responses to immune check point inhibitors (ICI) in several solid cancers, there is urgent need to develop strategies aimed at improving the rate of responding patients.
It was recently reported that Tertiary Lymphoid Structures (TLS), ectopic lymphoid structures that appear in inflamed non-lymphoid tissues, correlate with ICI efficacy. Also, pretreatments by some conventional anti-cancer therapies (e.g. cisplatin, high-dose low-volume radiotherapy) associate with a better ICI response as well as to TLS frequency.
Events leading to the development of TLS are not fully understood and we here hypothesize that innate lymphocytes may be activated by selected anti-blastic therapies to actively participate in the formation of TLS in tumors.
This project will shed light on the mechanisms leading to TLS development for identifying therapies with abscopal effects able to induce tumor-associated TLS and therefore a better immune response upon ICI treatment.

Background / State of the art and Preliminary data (if available)

Emerging data suggest that the efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICI) in cancer therapy is largely dependent on the quality, quantity and spatial organization of tumor immune infiltrate. In this context, it has been recently shown that TLS are positively associated to ICI efficacy in solid tumors and that some cytotoxic cancer therapies associate to both TLS formation and responsiveness to ICI. It was also reported that mature TLS can predict ICI efficacy even in solid tumors not expressing PD-L1.
Although the mechanisms leading to the formation of TLS are not fully understood, current literature indicates that at least some innate lymphocytes appear particularly endowed with lymphoid tissue (LT) inducing properties. Innate lymphocytes represent a family of immune effector cells, comprising both innate lymphoid cells (ILCs, NK cells) and innate-like T cells (g/d T, MAIT and NKT cells), rapidly responding to changes in their surrounding environment to bridge innate and adaptive immunity. This places innate lymphocytes as pivotal orchestrators of the antitumor inflammatory response and, in particular, of TLS organization.
Our preliminary data identified an association between ILC3 and stroma/TLS in lung cancer (Fig.1). Also, we manage to dissect the localization and functions of tumor-resident NK cells showing they are hypofunctional but able to release chemoattractant factors for adaptive lymphocytes as well as for LT-organizer cells such as DC (Fig.2).

Description and distribution of activities of each operating unit

O.U. 1
This O.U. will work at the Ospedale Policlinico San Martino in Genoa and will responsible of the retrospective analysis

aimed at identifying neo-adjuvant regimens of chemo/radio therapy able to induce TLS in the eventually resected tumor samples.
Also, this O.U. will collect human samples of non-small-cell lung cancers and melanoma and the distribution of ILC subsets within the tumors will be investigated. This O.U. will focus on group 3 ILC (ILC3), which we already showed to be associated to TLS within lung cancers. In addition to flow cytometry and immune-histochemistry analysis, the O.U. will study the importance of ILC3 in the development of TLS by spatial multiomics analyses from tumor sections to be able to look at gene expressions variations inside and out of TLS, close or afar from ILC3, NK cells or g/d T cells. This should allow a better understanding of the role of innate lymphocytes in TLS development. The multiomics analyses will be performed using GeoMX spatial imager, a technology allowing spatial imaging of both mRNA and protein, allowing for a comprehensive study of the microenvironment.

O.U. 2
The OU Bambino Gesù Children's Hospital in Rome will investigate the impact of chemo/radio therapy on the formation of tertiary lymphoid structures (TLS) in vivo. Mouse models of solid tumor by ectopic implantation of syngeneic tumor cells in immunocompetent mice (C57BL/6 strain) will be generated inoculating LLC cells for the lung adenocarcinoma model and MC38 and B16 respectively for colon adenocarcinoma and melanoma models. Tumor cells will be injected i.p. and the tumors allowed to establish. Mice will then undergo radiotherapy or chemotherapy (according to indications derived by the retrospective analyses performed in patient¿s samples by O.U.1 and the formation of TLS in the tumor will be evaluated. To understand the contribution of innate lymphocyte subsets on the TLS formation upon specific chemo/radio therapy, each innate lymphocyte subset will be specifically depleted.
In addition to visualize immune cell distribution in lymphoid structures, tumor single cell suspensions will be analysed for frequency and LT-inducing properties of cell subsets in the immune infiltrate.

O.U. 3
The O.U. at Policlinico P.Giaccone in Palermo has a long expertise in gamma/delta (g/d) T cells biology and will be fundamental for investigating the role of this innate lymphocyte subset. They will also be responsible of collection of human colorectal cancer samples and will provide part of them to O.U.1 for spatial multiomics analyses and contribute to data interpretation for g/d T cell involvement.
The distribution and putative LT-inducing properties of gamma/delta T cells will be analysed by flow cytometry and RNA sequencing on colorectal cancers as well as on lung and melanoma samples provided by O.U.1.

O.U. 4
The O.U. at the University of Messina has a long lasting expertise in the analysis of NK cells infiltrating human solid tissues. They will focus on the distribution and functional properties (e.g. production of cytokines able to support TLS organization) of tumor-resident NK cells. They will also be able to collect colorectal samples, while receiving part of lung and melanoma samples from O.U.1. Similar to O.U.3 for g/d T cells, they will provide NK cell expertise for deciphering data obtained by the spatial multiomics analyses of the microenvironment in the different cancers investigated.

5.4 Specific Aims and Experimental Design

Specific aim 1

To retrospectively identify specific regimens of chemo or radiotherapy able to induce inflammatory neogenesis of TLS

Immunotherapies and in particular immune checkpoint inhibitors (ICI), gained a lot of attention in the past decade, providing new therapeutic tools in cancer. However, the efficacy of ICI is, in part, dependent on the quality, quantity and spatial organization of the immune infiltrate into the tumor, and it was recently published that Tertiary Lymphoid Structures (TLS)

are positively associated to ICI efficacy in solid tumors. TLS can be mere aggregates of dendritic cells (DC), T and B cells, or mature TLS with a T zone, containing T lymphocytes and DC, a B zone presenting a germinative center, B lymphocytes, follicular dendritic cells and high endothelium venules. In agreement with their association with ICI efficacy, TLS density is positively correlated to the global immune infiltration of the tumor in CD4 and CD8 T lymphocytes.
Cisplatin has been recently shown to favor lymphoid aggregated in tumors and improve responsiveness to ICI treatment. Similarly, high dose radiotherapy delivered in a small volume has been reported to increase the efficacy of ICI, at least in certain tumors.
We aim to identify anti-blastic therapies currently employed as neo-adjuvant therapy (i.e. before undergoing surgical operation) by retrospectively analyze the frequency and maturation of TLS in tumor samples resected after the neo-adjuvant treatment. We hypothesize that some therapies could cause cell death-associated inflammation and trigger innate lymphocytes for TLS development and organization.

Specific aim 2

To study the link between innate lymphocytes, TLS development and responsiveness to immunotherapy with immune check point inhibitors.

ILC3 are key to the rise in immune cells to the tumor after cisplatin together with an increase in lymphoid aggregate also after cisplatin (and most likely after some other cytotoxic therapies). On the basis of current literature and of our preliminary data, we believe that innate lymphocytes play a critical role in this process by sensing changes in the tumor microenvironment through the expression of various integrins, chemokine and cytokine receptors, enabling them to promptly mount potent cytokine responses, a key feature for organizing lymphoid structures within the tumors.
However, events leading to the development of TLS are not fully understood and the literature suggests that several paths may lead to the development of TLS. We propose to analyze, both in vitro and in vivo, the contribution of three main subsets of innate lymphocytes, namely ILC3, NK cells and g/d T cells, which represent suitable candidates as LT-inducing cells in adults during inflammation. Tumor sections from lung cancers, melanoma and coloncancer will be analyzed by spatial multiomics, and eventually validated on cells isolated from freshly resected tumor samples, to shed light on innate lymphocytes distribution within tumors, on their LT-inducing capabilities and finally their association with TLS.
This specific aim is designed to understand the mechanisms that can lead to the development of TLS in tumor in order to obtain a better immune response against the tumor after treatment.

Specific aim 3

Identifying in vivo current anti-blastic therapies and/or novel treatment targeting innate lymphocytes able to favor TLS development and overcome immune checkpoint inhibitor resistance.

Starting from data obtained in analyses of Aim 1, we will treat mice with chemo/radiotherapies supposed to induce TLS and investigate whether ICI immunotherapy will result improved. The results will validate in vivo whether some specific treatments, already in clinical use, could be immediately implemented for increasing the efficacy of ICI in patients. Also, we will investigate in animal models other possible intralesional treatments (e.g. CCL20, IL-1beta, known to be associated to TLS development and increased in tumor upon cisplatin administration) can also result in TLS formation and increased ICI efficacy. By depleting specific innate lymphocyte subsets, we will also compare innate lymphocytes for their ability to induce TLS and overcome ICI resistance. This latter information will guide the identification of novel therapies able to specifically trigger the cell subset(s) most relevant for the induction of intratumoral TLS.

Experimental design aim 1

TLS frequency and their level of maturation are known to positively affect the antitumor potential of patient immune

responses. We aim to assess the amount/maturity of TLS in tumor samples stored in the Biobank of IRCCS San Martino, Genova, which have been derived from patients who received different kind of neo-adjuvant (pre-surgical) chemo/radiotherapy. We will also identify their location regarding the tumor and the distinct subsets of innate lymphocytes. To assess the maturity levels of TLS after neoadjuvant therapy and the localization of innate lymphocytes, we will study the localization of B lymphocytes (CD19+), T lymphocytes (CD3+) as well as their proliferation (Ki67+) to identify germinal centers. Mature DCs (CD83+) in the T cell zone, follicular DCs (CD21+) in the B cell zone and HEV (Pnad+) will also be looked at when germinal centers are detected, using serial slides (Vanhersecke, L. et al. Lab Invest 2023 doi: 10.1016/j.labinv.2023.100063). These stainings will be carried out in a series of lung/colon/melanoma tumors of patients treated or not with pre-surgical therapy. This will allow us to compare the impact of different types of neoadjuvant therapy on the number and maturity of TLS. We will look for a correlation between TLS and the presence of ILC3, NK cells and g/d T cells, their localization and the development and maturity levels of TLS.

Experimental design aim 2

To shed light on the role played by innate lymphocytes on TLS formation, we will perform spatial multiomics (mRNA and proteins) analyses from human lung/colon/melanoma tumor sections to see the differences in gene expression associated to ILC3/NK/gd T cells located close to or afar from TLS. We will perform those analysis on slides coming from FFPE tumor blocks and will use the GeoMx SMI spatial molecular imager from nanoString, that will allow us to get protein and mRNA data from tumor slides, providing insights on cell-cell interactions, cellular processes and cell states depending on the localization in tumor. We will first perform an immunofluorescent staining on FFPE slides of lung tumors against SYTO13 (nucleus staining), CD3, CD19, NKp46, RORg/T, TCRg/d. These stainings will allow us to identify areas of interests, i.e.TLS, while also visualizing innate lymphocytes. A transcriptomic analysis will then be performed on those areas of interest. We will compare the gene expression in cells close to innate lymphocytes compared to similar cells further away, within a TLS and outside of a TLS. This should allow us to better understand the impact of the different kind of innate lymphocytes on TLS formation, after chemo/radiotherapy or without neo-adjuvant therapy.
If some particular molecule appears to be of major interest, we will validate its importance in vitro by using cells derived from freshly isolated tumors performing multicolor flow cytometry to characterize cell subset and relevant molecules expressed. Cell suspensions obtained by tissue processing will be analyzed for the presence of target populations. Thus, we will isolate and characterize different populations of innate lymphoid cells, as well as their committed precursors, and comparative analysis will be performed with the aim of identifying their involvement in TLS development and/or maturation. For the ex vivo immunophenotyping of innate lymphocytes, polychromatic flow cytometry capable of simultaneously investigating 27 parameters for the detection of surface and intracellular antigens will be performed, using a panel of mAbs able to dissect target subpopulations and we will analyse activating/inhibitory markers, markers related to differentiation/polarization and intracellular cytokines/chemokines.
We will also perform functional assays aimed at confirming that specific population(s) of innate lymphocytes isolated from the human tumors can be able to produce the factors (cytokines, chemokines) involved in TLS formation and/or maturation.

Experimental design aim 3

In the framework of Aim3, we will validate in vivo whether anti-blastic therapies, already in clinical use, could be immediately implemented for increasing the efficacy of ICI by their potential in inducing TLS. We will generate mouse models of solid tumor by intraperitoneal injection of LLC, MC38 and B16 cells (10^6 cells/mouse) for the lung adenocarcinoma, colon adenocarcinoma and melanoma models, respectively. We will allow the tumor to establish in approximately 2 weeks. Mice will then undergo radiotherapy or chemotherapy (i.e. the anti-blastic therapies and/or novel treatments targeting innate lymphocytes identified in the analyses performed in patients' samples in Aim 1 and 2) and after 2 weeks they will be sacrificed and tumor mass will be harvested.
The formation of TLS in the tumor will be evaluated by immunohistochemistry from tumor cryosections, which will be

stained with specific antibodies to allow the detection of innate lymphocytes (using as markers CD3, TCR g/d, NKp46 and Rorgt). We will analyse the effect of chemo/radio therapy on both the number and dimensions of TLS within the tumor. We will also measure in tumor tissue homogenates the concentration of cytokines and chemokines involved in TLS formation and known to be increased upon chemo/radio therapy (e.g. CCL20 and IL1beta).
In addition, to visualize immune cell distribution in lymphoid structures in the tumor, tumor mass will be dissociated and single cell suspensions will be analysed by flow cytometry to measure the abundance and frequency of cell subsets in the immune infiltrate. To understand the contribution of innate lymphocyte subsets on the TLS formation upon chemo/radio therapy, we will isolate by cell sorting from resected tumors ILC3s, NK cells and g/d T cells and then test ex vivo their lymphoid tissue-inducing properties. For each subset, we will analyse the effect of the therapy on the expression of molecules involved in the organization of the immune response (LTa, LTb, TNFa, IL8) and on the ability to induce upregulation of adhesion molecules (ICAM, VCAM) on bone marrow-derived mesenchymal stem cells upon coculture.
To understand the contribution of innate lymphocyte subsets on the TLS formation upon chemo/radio therapy, we will repeat tumor inoculation and therapy in mice upon depletion of NK cells and ILC3 by injection of anti-NKp46 and selective depletion of NK cells and g/d T cells by injection of anti-NK1.1 or anti-TCR g/d respectively. Mice will receive anti-PDL1 treatment (200 microg Ab/mouse 5 times every other day starting from day 3 after tumor establishement) to finally demonstrate that anti-blastic therapies improve responsiveness to ICI treatment through innate lymphocyte-mediated TSL formation.

Picture to support preliminary data

Preliminary data.pdf

Hypothesis and significance

We hypothesize that innate lymphocytes, as effector cells acting at the very early phase of the immune response, might actively participate in the formation of TLS in the tumor bed if appropriately activated in order to overcome the immune suppression of the tumor microenvironment. Also, recent data suggest that some anticancer therapies, already employed in humans, are able to trigger TLS and we believe that danger signals derived from cell death could activate innate immunity, including innate lymphocytes able to sense pro-inflammatory signals derived by cell death consequent to the cytotoxic therapies.
Thus, our overall hypothesis is that some cytotoxic therapies, if administered with the proper modalities, can improve the efficacy of ICI immunotherapy, today still effective only in a too limited number of patients. The final objective is to target innate lymphocytes to favor the development of TLS and lift the resistance to ICI, a current urgent need for cancer patients. We expect that this project could provide tools allowing clinicians to test and identify therapies able to elicit the molecular cues leading to activation of innate lymphocytes, TLS increase and an improved antitumor immune response, therefore avoiding resistance to ICI. This project could also provide clinicians with additional biomarkers to help decide the treatment best suited to their patients individually and also help in developing innovative therapies targeting the best lymphocyte effectors to promote better immune response and improve patient outcome in immuno-resistant tumor.

5.5 Methodologies and statistical analyses

Methods of data collection

- A retrospective cohort of pts affected by lung and colon cancer and melanoma, which underwent neoadjuvant therapies followed by surgery, will be selected at the Tissue Biobank at IRCCS San Martino (Genova). Additionally, disease-matched samples from untreated pts will be also included. All the archival FFPE specimens will be investigated for TLS features and accessory cell populations. Staining will be performed by using a Dako autostainer, slides numerized using Olympus VS2000 scan and analysed with the Qpath software.

- Samples from newly diagnosed pts affected by lung and colon cancer and melanoma will be also collected at IRCCS San Martino, Genova, at G. Martino Hospital, Messina and Giaccone Hospital, Palermo.
Fresh tissue specimens will be split in two parts, one will be cryopreserved or FFPE, depending on conditions. The remaining part will be mechanically and enzymatically processed, then lymphocytes or myeloid cells isolated by density-gradient separations, and finally cryopreserved in liquid nitrogen for further experiments.

- Spatial multiomics (mRNA and proteins) analyses will be performed on tumor specimens (either stored in the Tissue Biobank or freshly isolated) of selected pts that displayed high level of TLS (TLShigh). FFPE tumor sections will be first stained with immunofluorescent markers for the identification of TLS rich and TLS poor tumor areas, as well as markers of ILC3, NK cells and g/d T cells, then each region of interest (ROIs) will be assessed by the use of the GeoMx RNA and Protein Assays on GeoMx Digital Spatial Profiler from nanoString, in order to detect simultaneously RNA and Protein from the same tissue section slide. DEGs and PCA analyses will be performed on the GeoMx DSP instrument software.

- To confirm and validate interactions/molecules obtained by spatial multiomics, we will carry on multicolor immunofluorescence on matched tissue slides.

- For immunophenotyping of freshly-isolated human lymphocytes/myeloid cells, flow cytometry analysis will be performed using multiparametric panels of mAbs able to dissect ILC3, NK, g/dT cells, precursor cell subsets or DCs. Different combinations of the followng markers will be employed to distinguish the three different populations of relevant innate lymphocytes: NKp46, NKp80; CD56; CD3; TCRg/d; CD127; CRTH2; CD117; Ror-g/t; T-bet; Eomes; NKp44. In addition, the expression of the following additional molecules, including markers of tissue residency, will be assessed in intratumoral lymphocytes: NKG2A; NKG2D; CD16; Perforin and Granzymes; DNAM-1; TIGIT; CD103; CD49a; CD49e; CD69; CXCR6; CCR7. DCs will be identified as CD11c+BDCA1/3+ cells. We wil also look for TLS-associated follicular DCs assessing CD21, CD32; HLA-DR and CXCL13 production.

- Cell cytokine/chemokine production on freshly-isolated human immune cells will be measured by intracellular staining and flow cytometry or, alternatively, by ELISA and/or Luminex platforms.

- The lymphoid-tissue inducing assay will be performed as previously reported (Carrega et al, 2015) by employing mesenchymal stromal cells in the presence or absence of blocking TNFRII- and LTbR-Fc-soluble molecules.

- For in vivo experimentations, mouse models of solid tumor will be established in C57BL/6 mice by intraperitoneal injection of LLC, MC38 and B16 cells (10^6 cells/mouse) for the lung adenocarcinoma, colon adenocarcinoma and melanoma models, respectively. To understand the contribution of innate lymphocyte subsets on the TLS formation the same experimental setting we will be repeated in mice upon injection of anti-NKp46, anti-NK1.1 or anti-TCR g/d. For mice receiving anti-IC therapy, an anti-PDL1 treatment (200 microg Ab/mouse 5 times every other day starting from day 3 after tumor establishment) will be scheduled.

-The frequency and size of TLS in the mouse tumor, identification of cells and functional assays will be analyzed similarly to experimentations in human samples.

Statistic plan

The sample size (n=180) will be chosen to allow the detection of 20% difference in TLS and abundance of target lymphocytic populations within experimental groups, using a one-way ANOVA test, with a study power of 0.8 and significance level of 0.05.
For the in vivo experimental models, in order to achieve robust and reproducible results, sample size will be calculated on

the basis of our previous published studies, preliminary data and pilot experiments, and will be chosen considering an estimate of the minimum relevant effect size, the distribution of the data, a statistical power of 80%, and a significance level for P values lower than 0.05. Minimum sample size will be calculated with the aim to reduce as much as possible the number of animals to be sacrificed, according to the "Reduction" ethical principle. Our experiments will be conducted minimizing pain and suffering of animals, according to the 3Rs principles and to the Italian DL116/92.
To minimize/avoid bias, animals will always be purchased from the same supplier (Charles River) and allowed to rest for 1 week after being delivered to the animal facility before starting the experiments, to let them adapt to the new environment and minimize the stress, which may affect the results. C57BL/6 male mice aged 7-8 weeks will always be used, to avoid any bias due to sex and age. Littermates will randomly be included in experimental groups and the experiments will be performed blindly until the final analysis of the data. Masking will favor objectivity in data collection, outcome assessment and data interpretation.

Statistical analysis

Comparisons between two groups will be performed using t-tests or analysis of variance (ANOVA) when more than two groups will be compared. If variables will be not normally distributed, the corresponding nonparametric tests (Wilcoxon Mann Whitney and Kruskal-Wallis tests) will be applied. If necessary, a multiple comparison test will be applied. All tests will be two-tailed tests and a p-value <0.05 will be considered statistically significant. Correlation analyses were calculated by Spearman correlation test. The software used for statistical analyses will be GraphPad Prism(version 10). For animal studies, continuous variables will be reported as mean and standard deviation (median and interquartile range in case of non-normality).
For spatial sequencing, statistics will be conducted between ¿TLS rich¿ and ¿TLS poor¿ areas. Spatial sequencing samples in the same disease category can be considered biological replicates. The software used for analyses will be GeoMx DSP analysis suite (Nanostring).
Multicolor flow cytometry data will be analyzed by FlowJo software (v10). Given the inherent complexity of data, an unsupervised analysis approach, such as combining PCA visualization (tSNE, UMAP) and automatic clustering techniques (Phenograph, FlowSOM algorithms) will be employed.

Timing of analysis data

The project will be carried out in an interval of time of 24 months.
Human tumor samples are already available at the Bio Bank present at U.O. 1. In order to obtain suitable number of fresh human biological samples, tissue specimens and blood components will be collected along the whole study until month 18, with remaining period almost entirely dedicated to analyses. Only for the in vivo studies, experiments will be performed also in the last quarter of the second year, since studies on experimental animal models will be mainly performed in the second year of the project.
In general, all the analyses associated to the human studies will start as early as possible in order to allow for possible refinement of relevant biomarkers.

5.6 Expected outcomes

Aim1
TLS observation in immunohistology after neoadjuvant (pre-surgical) therapy, correlation between TLS presence and maturity and innate lymphocytes in human cancers.

Aim2
1 Observation of fewer and lesser mature TLS in absence of innate lymphocytes (at least in the absence of one specific

subset).
2 Obtaining a list of molecules with potential role in TLS formation in presence of a higher concentration one or more human innate lymphocyte subset.

Aim 3
Identification of the effects of the molecules identified in Aims 1 and 2 on:
1. TSL and tumor microenvironment composition in vivo
2. ILC3s, NK cells and g/d T cells lymphoid tissue-inducing properties ex vivo
3. The direct NK and g/d T cells contribution to improved responsiveness to ICI treatment in vivo

5.7 Risk analysis, possible problems and solutions

Aim 1
Risk and pitfalls
1 (low) no mature TLS observed
2 (low) difficulties in stainings for ILC3 in human
Fall-back solutions
1 To test different kind of therapy and duration of the therapy before surgery
2 Trying different antibody for ROR¿t on the market (there are convincing report in the literature)

Aim 2
Risk and pitfalls
1 (low) no difference in TLS maturity or number in absence of ILC3
2 (medium) list of potential molecules is too long
Fall-back solutions
1 Trying to find a marker in fomation/maturation of TLS, independent of innate lymphocytes to explain their development
2 Restricting the list of molecules according to current literature and commercially available reagents for validation in vitro.

Aim 3
Risk and pitfalls
1 (low) No effect of the therapies on TLS formation in mice
2 (medium) No effect of the therapies on responsiveness to ICI treatment in mice
Fall-back solutions
1 Trying a different inoculation route for tumor establishment (e.g. intravenous injection)
2 Trying a different ICI approach (e.g. treatment with anti-PD1/PDL1 or anti-CTLA4 antibodies or combination of them)

5.8 Significance and Innovation

This work is original in that it will study the dynamics of the chemo/radio-induced immune response and the development of TLS in situ. The final aim regards our ability to find alternative to immunoresistance, a phenomenon that affects a great percentage of patients. Understanding the genesis of TLS is nowadays a major issue in diseases like cancer.
Innovative technologies such as the use of polychromatic flow cytometry panels capable of simultaneously investigating 28 parameters and spatial multiomics, will be here employed. Spatial multiomics will be performed by GeoMx spatial molecular imager from nanoString, allowing to get protein and mRNA data from tumor slides, providing insights on cell-cell interactions, cellular processes and cell states depending on the localization in tumor.

This project will deal with the central question of immunoresistance around a research program featuring both fundamental and translational research with leading edge technologies and innovations.

5.9 Bibliography

Bando JK et al. Innate lymphoid cell function in the context of adaptive immunity. Nat Immunol. 17(7):783-9 (2016).

Barry KC et al. . A natural killer-dendritic cell axis defines checkpoint therapy-responsive tumor microenvironments. Nat Med. 8:1178-1191 (2018).

Böttcher JP et al. NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. Cell.172(5):1022-1037 (2018).

Bruchard, M. et al. Recruitment and activation of type 3 innate lymphoid cells promote antitumor immune responses. Nat Immunol 23, 262-274 (2022).

Bruno, T. C. New predictors for immunotherapy responses sharpen our view of the tumour microenvironment. Nature 577, 474-476 (2020).

Cabrita, R. et al. Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma. Nature 577, 561-565 (2020).

Carrega, P. et al. NCR(+)ILC3 concentrate in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures. Nat Commun 6, 8280 (2015).

Ji H, Zhou Z A 'Hybrid' Radiotherapy Regimen Designed for Immunomodulation: Combining High-Dose Radiotherapy with Low-Dose Radiotherapy. Cancers (Basel). 14(14):3505 (2022).

Sautes-Fridman, C., Petitprez, F., Calderaro, J. & Fridman, W. H. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer 19, 307-325 (2019).

Schumacher, T. N. & Thommen, D. S. Tertiary lymphoid structures in cancer. Science 375, eabf941 (2022).

Vanhersecke, L. et al. Mature tertiary lymphoid structures predict immune checkpoint inhibitor efficacy in solid tumors independently of PD-L1 expression. Nat Cancer 2, 794-802 (2021).

Vanhersecke, L. et al. Standardized Pathology Screening of Mature Tertiary Lymphoid Structures in Cancers. Lab Invest 103 (2023).

Villacampa G, Cresta Morgado P, Navarro V, Viaplana C, Dienstmann R. Comprehensive evaluation of surrogate endpoints to predict overall survival in trials with PD1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors plus chemotherapy. Cancer Treat Rev.;116:102542 (2023)

5.10 Timeline / Deliverables / Payable Milestones

The project plan combines clinical data and both in vitro and in vivo strategies.

A list of deliverables follows (See also Gantt Chart):

1. Retrospective analyses on tissue specimens stored at the Biobank (from patients treated or not with different neoadjuvant therapies). Months 3-12

2. Collection of cancer samples for Spatial multiomics analyses. Months 1-18

3. Validation of omics data on live cells obtained upon cancer tissue processing (Flow cytometry and functional assays on innate lymphocyte subsets). Months 6-18

4. Impact of chemo/radio therapy on the formation of TLS in animal models. Months 9-24

Milestones 12 month

1. Identification of chemotherapies or radiotherapy regimens preferentially able to support TLS formation/maturation.

2. First assessment on which innate lymphocyte subset can play a major role in TLS formation by spatial multiomics analyses.

3. Validation on live cells derived from fresh cancer specimens and in vitro identification of the LTi properties of tumor-associated innate lymphocytes.

Milestones 24 month

1. Correlation between TLS frequency and specific innate lymphocytes in human cancers.

2. List of molecules associated to innate intratumoral innate lymphocytes with potential role in TLS formation.

3. Confirmation in the experimental mouse models of the ability of candidate molecules to induce TLS.

Gantt chart

Gantt Chart PNRR 2023 (10-july-23).pdf

5.11 Equipment and resources available

Facilities Available

All the methodologies proposed are mastered by the team, allowing us to move forward efficiently. The mouse experiments will be performed after approval by the local ethical committee and the national ministry. For Human samples, part of the needed authorizations have already been obtained.
Unit 1 will carry out the experiments at the Operative Unit of Experimental Pathology and Immunology of the IRCCS Ospedale Policlinico San Martino in Genoa. The Institute hosting Unit 1 has all facilities necessary for the study. These include last generation flow cytometry (including BD Symphony cell sorter), digital real-time PCR; instrumentation for next-generation sequencing (Illumina), GeoMx spatial molecular imager from NanoString, BD Rhapsody Single-Cell Analysis System, two photon microscopy, confocal microscopies, Ion PGM Sequencer for NGS, computers and specific software to

statistically analyze data. Unit 1 also have a facility composed by a team of bioinformaticians that will help us interpreting those data.
Unit 2 group will carry out the experiments at the IRCCS Ospedale Bambin Gesu' in Rome. The laboratories have equipments for cellular and molecular biology. Unit 2 will have access to the following facilities: animal (SPF level), genomics bulk and single cell, bioinformatics, cell sorting, microscopies.
The resources available for Unit 3 include fully equipped laboratories at the University Hospital in Palermo (AOUP) at the Biomedical Research Centre (CLADIBIOR) which contain facilities for genomics, confocal microscopy, tissue culture, flow cytometry (6 flow cytometers and FACS Aria). Moreover, Unit 3 is equipped with all instruments for the fulfillment of the study, including all major equipment required molecular biology and biochemistry procedures as ELISA, Elispot and Luminex platforms and scRNAseq.
Unit 4 will carry out the experiments at the Laboratory of Immunology and Biotherapy at the Department of Human Pathology of the University of Messina. The Laboratory has virtually all the facilities necessary for the study. These include cell culture and storage equipments, 3 flow cytometers (FACS Canto II, Aria III cell sorter, and Symphony A5; multispectral imaging flow cytometry (Image Stream, Amnis), instrumentation for next-generation sequencing (Illumina).

Subcontract

U.O. 2 will need a subcontract for the management of the animal facility.

5.12 Desc. of the complementarity and sinergy of secondary collab. researchers

Most of the expertise for carrying out the present proposal are already available within the four research O.U. and associated institutional core facilities.
In addition, we will collaborate with Dr. Marco Mora, a pathologist working at the same Institution of O.U.1 (Ospedale Policlinico San Martino), for the selection of sections from cancer patients undergone neo-adjuvant therapies and eventual surgical procedure. Dr. Mora will also provide suggestions and expertise for the identification of TLS in tumor sections. Dr. Paola Orecchia (Ospedale Policlinico San Martino) will also provide technical expertise on immunohistochemistry procedures and will help for spatial multiomics analyses from tumor sections. In addition, Dr. Carlo Genova, an oncologist at the same Institution, will provide clinical information on the patients.
An agreement has already been established between the OU Bambino Gesù Children¿s Hospital, that will investigate the impact of chemo/radio therapy on the formation of tertiary lymphoid structures in vivo, and the animal facility of the same Institution. In the animal facility mice will be housed and experiments will be performed upon generation of solid tumor mouse models by ectopic implantation of syngeneic tumor cells in immunocompetent mice.
Finally, we have a long lasting collaboration with Dr. Vincenzo Fontana, a skilled biostatistician with considerable experience in omics analysis will support the interpretation of rsults

5.13 Translational relevance and impact for the national health system (SSN)

What is already know about this topic?

It has been lately shown that Tertiary Lymphoid Structures (TLS) correlate with the efficacy Immune Check-Point Inhibitors (ICI) Immunotherapy (Vanhersecke et al. Nat.Cancer 2021; doi:10.1038/s43018-021-00232-6), in particular mature TLS showing an organized germinal center (Cabrita, R. et al. Nature 2020; doi:10.1038/s41586-019-1914-8 (2020)). On the other hand, pre-treatments by cisplatin or high-dose low-volume radiotherapy associate with TLS frequency and a better ICI response, respectively (Bruchard et al, Nat.Immunol. 2022; doi: 10.1038/s41590-021-01120-y; Ji and Zhou Cancers 2022 doi:10.3390/cancers14143505).
In this context, innate lymphocytes emerge as a subset of lymphocytes endowed with the ability of organizing TLS and promote their maturation (Carrega et al, Nat.Comm. 2015; doi: 10.1038/ncomms9280).

Details on what is already know about this topic

Events leading to the development of TLS are not fully understood. However, it is plausible that innate lymphocytes, such as innate lymphoid cells and gamma/delta T cells, may be involved, given their peculiar properties. ILC3 are endowed with the ability of organizing TLS and promote their maturation (Carrega et al, Nat.Comm. 2015; doi: 10.1038/ncomms9280), moreover they are radioresistant, differently from T cells that are radiosensitive (Bando JK. Nat Imm 2016 doi: 10.1038/ni.3484). Regarding NK cells, chemotherapy can induce the modulation of various NK cell ligands on tumor cells and the release of damage-associated molecular patterns (DAMPs) directly and indirectly affecting NK cell functions. Moreover, they have been linked to a critical role in the recruitment and maturation of cross-presenting DCs (Bottcher JP, Cell 2018; Barry KC Nat Med 2018).

What this reasearch adds?

This project aims to identify conventional treatments, that could be immediately implemented, able to induce TLS and therefore boost immune response against cancer to overcome ICI resistance (Sautes-Fridman et al. Nat.Rev.Cancer 2019; doi: 10.1038/s41568-019-0144-6). Also, we expect to also find innovative factors, acting downstream of the above mentioned treatments, able to trigger innate lymphocytes for TLS induction avoiding the side effects of cytotoxic therapies. These novel factors might represent novel therapeutic avenue for boosting immune response against cancer upon ICI immunotherapy.
In addition, results from this proposal will shed light on the mechanism at the basis of TLS development within tumor tissues and on the effector cells involved in their induction (Schumacher, and Thommen, Science 2022; doi:10.1126/science.abf9419).
In the long term, this project could pave the way to the development of therapies targeting innate lymphocytes to promote better immune response.

Details on what this reasearch adds

This project will identify molecular pathways for TLS development and maturation. By using a combination of different approaches, in human and mouse models, we will provide the information needed to obtain a comprehensive landscape of innate lymphocytes involvement in the generation of ectopic TLS within solid cancer. This, in turn, may provide hints for improving current ICI therapy, as well as novel predictive biomarkers of responsiveness.
Results from this project will also improve our understanding of solid tumor immune microenvironment, useful to drive novel therapeutic interventions. Indeed, innate lymphocytes are now emerging as pivotal elements in the immune network of the tumor microenvironment. Seminal studies showed that their anti-tumor functions are not merely limited to cytotoxicity, as they are associated to the recruitment and maturation of cross-presenting DCs at the tumor site. This latter event may be crucial for triggering the neogenesis and organization of TLS.

What are the implications for public health, clinical practice, patient care?

Increasing the rate of patients responding to ICI is an urgent need in oncology (Bruno, Nature 2020; doi:10.1038/d41586-019-03943-0). Expected results will allow to identify therapies that can be immediately implemented as ICI pre-treatment for favoring intratumoral TLS development, a process shown to be able to boost ICI efficacy. This should help reducing the risk of resistance and improve patients¿ survival.
By investigating the mechanisms at the basis of TLS development, this project might also provide clinicians with additional biomarkers to help decide the treatment best suited to their patients individually (Villacampa et al. Cancer Treat Rev. 2023; doi: 10.1016/j.ctrv.2023.102542). The choice of this strategy is clearly in line with the challenges of modern oncology, which seeks to administer treatments in a personalized manner.
As a whole, this proposal addresses the current challenges of identifying and eluding the mechanisms of resistance of "cold" tumors to immunotherapy.

Details on what are the implications for public health, clinical practice, patient care

In the short term, this project has a great potential to move forward the field on onco-immunology and results will be seen in international publications. This project will shed light on TLS development with the identification of molecular and cellular cues of development. In the medium term, we trust to be able to develop new tools to help clinicians choose the best potential treatment for their patients, able to trigger one or more innate lymphocyte subset to release LTi factors (e.g. CCL20 and IL-1ß production). This should help reduce the risk of resistance and improve patient treatment and survival. This project will also provide clinicians with additional biomarkers to help decide the treatment best suited to their patients individually. In the long term, this project could provide the bases for the development of therapies targeting innate lymphocytes (or most likely a specific subset) to promote better immune response and improve patient outcome in immuno-resistant tumors.

6 - Budget

Total proposed budget (Euro)

Costs	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the MOH	Percentage of total proposed to the MOH
1 Staff Salary	100.098,40	100.098,40	not permitted	0,00
2 Researchers' Contracts	195.000,00	0,00	195.000,00	20,53
3a.1 Equipment (Leasing -	0,00	0,00	0,00	0,00
3a.2 Equipment (buying)	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	554.480,00	0,00	554.480,00	58,37
3c Model Costs	70.000,00	0,00	70.000,00	7,37
4 Subcontracts *	19.100,00	0,00	19.100,00	2,01
5 Patient Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT Services and Data Bases	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	13.754,00	0,00	13.754,00	1,45
8 Publication Costs	21.978,00	0,00	21.978,00	2,31
9 Dissemination	5.875,00	0,00	5.875,00	0,62
10 Overheads *	65.163,00	0,00	65.163,00	6,86
11 Coordination Costs	4.650,00	0,00	4.650,00	0,49
Total	1.050.098,40	100.098,40	950.000,00	100,00

* percentage calculated as average value between all the Operating Units.

Report the Co-Funding Contributor:

University of Genoa; IRCCS Ospedale Policlinico San Martino; IRCCS Bambino Gesu' Children Hospital; A.O.U. Policlinico P.Giaccone; University of Messina.

Budget Justification

1 Staff Salary	U.O.1: Prof. Ferlazzo: 2 months/year; Prof. De Maria: 1 month/year; Dr. Vitale:1 month/year; Dr. Meazza: 1 month/year U.O.2: Dr. Quatrini 3 months/year U.O.3: Prof. Meraviglia 1 month/year U.O.4: Dr. Carrega: 2 months/year

2 Researchers' Contracts	U.O.2: One Fellowship for two years U.O.3: One research contract for 2-years U.O.4: One research contract for 2 years
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	NA
3a.2 Equipment (buying)	NA
3b Supplies	Reagents (monoclonal ab., reagents for tissue processing, reagents for GeoMx DSP, citokines), disposable glassware and plasticware, recombinant proteins, cytokine detection kit , cell culture materials,
3c Model Costs	U.O.2: Mouse models
4 Subcontracts	U.O.2: Cost for the animal facility
5 Patient Costs	NA
6 IT Services and Data Bases	NA
7 Travels	Travel expenses for participation to national and international congresses.
8 Publication Costs	Costs for publication of primary research results in open access high impact international journals
9 Dissemination	Scientific results divulgation by seminars, media, social network, newspaper and media interviews
10 Overheads	Institutional overheads for covering general expenses
11 Coordination Costs	Costs for meeting and reciprocal personnel and materials exchanges among the 4 units

(Data changed during the moratorium period)

Proposed total budget UO1 Institution: Ospedale Policlinico San Martino (Euro)

Costs	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the MOH	Percentage of total proposed to the MOH
1 Staff Salary	58.018,40	58.018,40	not permitted	0,00
2 Researchers' Contracts	0,00	0,00	0,00	0,00
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	0,00	0,00	0,00	0,00
3a.2 Equipment (buying)	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	243.000,00	0,00	243.000,00	86,79
3c Model Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
4 Subcontracts	0,00	0,00	0,00	0,00
5 Patient Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT Services and Data Bases	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	5.250,00	0,00	5.250,00	1,88
8 Publication Costs	6.125,00	0,00	6.125,00	2,19
9 Dissemination	1.375,00	0,00	1.375,00	0,49
10 Overheads	19.600,00	0,00	19.600,00	7,00
11 Coordination Costs	4.650,00	0,00	4.650,00	1,66
Total	338.018,40	58.018,40	280.000,00	100,00

Budget Justification	
1 Staff Salary	Prof. Ferlazzo: 2 month/year; Prof. De Maria: 1month/year; Dr. Vitale:1month/year; Dr. Meazza: 1month/year
2 Researchers' Contracts	NA
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	NA
3a.2 Equipment (buying)	NA
3b Supplies	Reagents (monoclonal antibodies, reagents for tissue prossesing, reagents for GeoMx DSP, citokines), disposable glassware and plasticware
3c Model Costs	NA
4 Subcontracts	NA
5 Patient Costs	NA
6 IT Services and Data Bases	NA
7 Travels	Travel expenses for participation to national and international congresses.
8 Publication Costs	Costs for publication of primary research results in open access high impact international journals.
9 Dissemination	Divulgation of scientific results by seminars, media, social network, newspaper and media interviews
10 Overheads	Institutional overheads
11 Coordination Costs	Costs for meetings (including kick-off initial meeting) and reciprocal exchanges of personnel and materials between the 4 units

Project Code: PNRR-MCNT2-2023-12378122	**Call section:** Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari
Applicant Institution: Ospedale Policlinico San Martino	**Applicant/PI Coordinator:** Ferlazzo Guido

Proposed total budget UO2 Institution: IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital (Euro)

Costs	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the MOH	Percentage of total proposed to the MOH
1 Staff Salary	19.760,00	19.760,00	not permitted	0,00
2 Researchers' Contracts	60.000,00	0,00	60.000,00	25,00
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	0,00	0,00	0,00	0,00
3a.2 Equipment (buying)	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	69.992,00	0,00	69.992,00	29,16
3c Model Costs	70.000,00	0,00	70.000,00	29,17
4 Subcontracts	19.100,00	0,00	19.100,00	7,96
5 Patient Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT Services and Data Bases	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	0,00	0,00	0,00	0,00
8 Publication Costs	5.445,00	0,00	5.445,00	2,27
9 Dissemination	0,00	0,00	0,00	0,00
10 Overheads	15.463,00	0,00	15.463,00	6,44
11 Coordination Costs	not permitted	not permitted	not permitted	0,00
Total	259.760,00	19.760,00	240.000,00	100,00

Budget Justification

1 Staff Salary	Dr. Quatrini 3 months/year
2 Researchers' Contracts	One fellowship for two years
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	NA
3a.2 Equipment (buying)	NA
3b Supplies	Reagents, monoclonal antibodies
3c Model Costs	Mouse models
4 Subcontracts	Cost for animal facility management
5 Patient Costs	NA
6 IT Services and Data Bases	NA
7 Travels	NA
8 Publication Costs	Costs for publication of primary research results in open access high impact international journals
9 Dissemination	NA
10 Overheads	Istitutional overheads
11 Coordination Costs	NA

(Data changed during the moratorium period)

Project Code: PNRR-MCNT2-2023-12378122	**Call section:** Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari
Applicant Institution: Ospedale Policlinico San Martino	**Applicant/PI Coordinator:** Ferlazzo Guido

Proposed total budget UO3 Institution: AOU Policlinico P.Giaccone (Euro)

Costs	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the MOH	Percentage of total proposed to the MOH
1 Staff Salary	3.400,00	3.400,00	not permitted	0,00
2 Researchers' Contracts	80.000,00	0,00	80.000,00	37,21
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	0,00	0,00	0,00	0,00
3a.2 Equipment (buying)	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	109.092,00	0,00	109.092,00	50,74
3c Model Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
4 Subcontracts	0,00	0,00	0,00	0,00
5 Patient Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT Services and Data Bases	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	4.450,00	0,00	4.450,00	2,07
8 Publication Costs	6.408,00	0,00	6.408,00	2,98
9 Dissemination	0,00	0,00	0,00	0,00
10 Overheads	15.050,00	0,00	15.050,00	7,00
11 Coordination Costs	not permitted	not permitted	not permitted	0,00
Total	218.400,00	3.400,00	215.000,00	100,00

Budget Justification	
1 Staff Salary	Prof. Meraviglia 1 month/year
2 Researchers' Contracts	One research contract for 2-years
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	NA
3a.2 Equipment (buying)	NA
3b Supplies	Disposable materials,antibodies, recombinant proteins, cytokine detection kit , cell culture materials, monoclonal antibodies.
3c Model Costs	NA
4 Subcontracts	NA
5 Patient Costs	NA
6 IT Services and Data Bases	NA
7 Travels	Attending national and international meetings
8 Publication Costs	Costs for publication of primary research results in open access high impact international journals.
9 Dissemination	NA
10 Overheads	Institutional overheads
11 Coordination Costs	NA

Proposed total budget UO4 Institution: University of Messina (Euro)

Costs	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the MOH	Percentage of total proposed to the MOH
1 Staff Salary	18.920,00	18.920,00	not permitted	0,00
2 Researchers' Contracts	55.000,00	0,00	55.000,00	25,58
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	0,00	0,00	0,00	0,00
3a.2 Equipment (buying)	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	132.396,00	0,00	132.396,00	61,58
3c Model Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
4 Subcontracts	0,00	0,00	0,00	0,00
5 Patient Costs	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT Services and Data Bases	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	4.054,00	0,00	4.054,00	1,89
8 Publication Costs	4.000,00	0,00	4.000,00	1,86
9 Dissemination	4.500,00	0,00	4.500,00	2,09
10 Overheads	15.050,00	0,00	15.050,00	7,00
11 Coordination Costs	not permitted	not permitted	not permitted	0,00
Total	233.920,00	18.920,00	215.000,00	100,00

Budget Justification	
1 Staff Salary	Dr. Carrega: 2months/year
2 Researchers' Contracts	One research contract for 2-years
3a.1 Equipment (Leasing - Rent)	NA
3a.2 Equipment (buying)	NA
3b Supplies	Disposable materials,recombinant proteins, cytokine detection kit , cell culture materials, monoclonal antibodies.
3c Model Costs	NA
4 Subcontracts	NA
5 Patient Costs	NA
6 IT Services and Data Bases	NA
7 Travels	Attending national and international meetings
8 Publication Costs	Expenses for publication of results in scientific journals
9 Dissemination	Results dissemination by seminars, media, social network, newspaper and media interviews
10 Overheads	Institutional overheads
11 Coordination Costs	NA

Principal Investigator Data

Cognome: Ferlazzo
Nome: Guido
Genere: M
Codice fiscale: FRLGDU62S30G224S
Documento: Patente, Numero: U177G4771Y
Data di nascita: 30/11/1962
Luogo di nascita: Padova
Provincia di nascita: PD
Indirizzo lavorativo: IRCCS Ospedale Policlinico San Martino
Città: Genova
CAP: 16132
Provincia: GE
Email: guido.ferlazzo@unime.it
Altra email: guido.ferlazzo@hsanmartino.it
Telefono: +393406439884
Altro telefono: 090 221 2043
Qualifica: Direttore UOC Patologia ed Immunologia Sperimentale
Struttura: UOC Patologia Clinica
Istituzione: A.O.U. Policlinico G.Martino, Messina
Datore/ente di lavoro? Yes
Datore/ente di lavoro SSN? Yes
Nome datore/ente di lavoro non SSN:
Nome istituzione SSN: Ospedale Policlinico San Martino, Genova
Tipo contratto: Professore Ordinario distaccato presso IRCCS/IZS/ISS/Ente SSN (convenzione di clinicizzazione e/o ricerca)

Con l'invio della presente proposta si dichiara che la stessa o parti significative di essa non sono oggetto di altri finanziamenti pubblici o privati e che di conseguenza vi è assenza del c.d. doppio finanziamento ai sensi dell'art. 9 del Regolamento (UE) 2021/241, ossia che non ci sia una duplicazione del finanziamento degli stessi costi da parte di altri programmi dell'Unione, nonché con risorse ordinarie da Bilancio statale.

By submitting this proposal, I declare that no significant part or parts of it are recipient of any other public or private funding and that consequently there isn't any so-called double financing pursuant to art. 9 of Regulation (EU) 2021/241, i.e. that there is no duplication in the financing of the same costs by other Euopean Union programs or any other ordinary resources from the State budget.

Project Code: PNRR-MCNT2-2023-12378122	**Call section:** Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT2) ad alto impatto sui sistemi sanitari
Applicant Institution: Ospedale Policlinico San Martino	**Applicant/PI Coordinator:** Ferlazzo Guido

Project validation result

Message: Success

Project validation result after moratorium changes

Message: Success

IMPROVING CANCER IMMUNOTHERAPY RESPONSIVENESS BY INDUCING TERTIARY LYMPHOID STRUCTURES VIA THE ACTIVATION OF INNATE LYMPHOCYTES (ICI-TEL)

Specific Aims and Activity	OU Responsible	1st YEAR				2nd YEAR			
		1	2	3	4	1	2	3	4
AIM 1: To retrospectively identify specific regimens of neoadjuvant therapy able to induce inflammatory neogenesis of TLS									
Collection of archival samples from a retrospective cohort of treated / untreated pts	OU1								
Testing staining panels	OU1								
IHC staining for TLS & target lymphoid/myeloid populations	OU1								
Data analysis & correlations	OU1								
AIM 2: To study the link between innate lymphocytes, TLS development and responsiveness to immunotherapy with immune check point inhibitors.									
Collection of fresh tumor samples, isolation & storage of leukocytes populations	OU1/OU3/OU4								
Spatial multiomics on selected samples	OU1								
Data analysis of multiomics data	OU1								
Validation of omics data on matched tumor samples and/or live cells obtained upon cancer tissue processing	OU1/OU3/OU4								
Data analysis & correlations	OU1/OU3/OU4								
AIM 3: Identifying in vivo current anti-blastic therapies and/or novel treatment targeting innate lymphocytes able to favor TLS development and overcome immune checkpoint inhibitor resistance.									
In vivo experimental model of tumor treated w/neoadjuvant therapies	OU2								
Ex-vivo experimentations on freshly-isolated lymphocytes from mouse tumors	OU2								
Selective depletion of lympho subsets and/or treatment w/ ICI in tumor bearing mice pretreated w/ neoadjuvant therapy	OU2								
Data analysis & correlations	OU2								