



UNIVERSITÀ
DI SIENA
1240

DIPARTIMENTO DI
SCIENZE
DELLA VITA
— DSV

Dottorato di Ricerca in Scienze della Vita -Life Sciences

TRIAD

*Il Ruolo del Microbioma Intratissutale nella Definizione delle Malattie Associate
all'Infiammazione*

The Role of the Intratissue Microbiome in Deciphering Inflammatory-Associated Diseases

Borsa finanziata – Università degli Studi di Firenze

Contact person: Prof. Amedeo Amedei

amedeo.amedei@unifi.it

Abstract in italiano;

Contesto: Le malattie croniche associate all'infiammazione — tra cui le malattie infiammatorie intestinali (IBD), l'artrite reumatoide, le sindromi metaboliche e alcune neoplasie tessuto-specifiche — rappresentano un pesante onere per la salute globale, caratterizzato da eziologie complesse e ancora poco comprese. Sebbene i microbiomi delle mucose e del lume intestinale siano stati ampiamente mappati, evidenze recenti indicano l'esistenza di comunità microbiche distinte e a bassa biomassa, che risiedono direttamente all'interno di tessuti dell'ospite precedentemente considerati sterili. Tuttavia, il preciso contributo funzionale di questo microbioma intratissutale all'infiammazione cronica, all'omeostasi immunitaria e alla patogenesi della malattia rimane fondamentalmente irrisolto.

Ipotesi e Obiettivi: Questo progetto di dottorato si basa sull'ipotesi centrale che i microbi residenti nei tessuti non siano spettatori transitori, ma modulatori biologici attivi del microambiente immunitario locale. La disbiosi o le alterazioni strutturali all'interno del microbioma intratissutale scatenano vie di segnalazione immunitaria aberranti nell'ospite, guidando o esacerbando cascate infiammatorie croniche. Per valutare questa ipotesi, il progetto perseguirà tre obiettivi principali:



- Obiettivo 1: Profilare e caratterizzare in modo completo la composizione strutturale e la distribuzione spaziale dei microbiomi intratessutali all'interno dei tessuti target affetti da malattie infiammatorie, rispetto ai controlli sani.
- Obiettivo 2: Elucidare i meccanismi molecolari e cellulari specifici attraverso i quali questi microrganismi intracellulari o interstiziali interagiscono con le popolazioni immunitarie dell'ospite e con le cellule somatiche.
- Obiettivo 3: Valutare il potenziale terapeutico preclinico del targeting di queste comunità microbiche specifiche di nicchia per alleviare l'infiammazione tessutale cronica.

Metodologia: Superare le sfide intrinseche dell'analisi microbica a bassa biomassa richiede un flusso di lavoro multi-omico e di imaging avanzato, altamente sensibile e interdisciplinare:

- Sequenziamento ad Alta Sensibilità: Impiego di sequenziamento del gene 16S rRNA ultra-puro e metagenomica shotgun profonda, integrati con rigorose pipeline computazionali e sperimentali per il controllo della contaminazione, al fine di filtrare in modo robusto il background ambientale.
- Biologia Spaziale e Imaging: Implementazione della trascrittomica spaziale abbinata all'ibridazione in situ a fluorescenza (FISH) multiplexata ad alta risoluzione per mappare visivamente e validare la localizzazione microbica nel contesto architettonico nativo del tessuto dell'ospite.
- Caratterizzazione Funzionale: Utilizzo di modelli di co-coltura in vitro derivati da pazienti (organoidi) e modelli murini in vivo di infiammazione personalizzati per studiare il cross-talk molecolare ospite-microbo, concentrandosi fortemente sull'attivazione dei recettori di riconoscimento del pattern (PRR) e sulla metabolomica microbica localizzata.

Impatto Previsto: Spostando l'attuale paradigma scientifico dalle interfacce microbiche organo-lume all'architettura tessutale interna, questo progetto di ricerca mira a ridefinire fundamentalmente la nostra comprensione della simbiosi ospite-



UNIVERSITÀ
DI SIENA
1240

DIPARTIMENTO DI
SCIENZE
DELLA VITA
— DSV

Dottorato di Ricerca in Scienze della Vita -Life Sciences

microbo e dell'eziologia delle malattie. Svelare i fondamenti meccanicistici del microbioma intratissutale consentirà di identificare biomarcatori diagnostici innovativi e altamente precisi e aprirà la strada allo sviluppo di terapie antimicrobiche, probiotiche o metaboliche mirate alla nicchia, offrendo una frontiera di nuova generazione nella medicina personalizzata per i disturbi infiammatori cronici.

Parole chiave: Microbioma intratissutale, Infiammazione cronica, Multi-omica, Trascrittomica spaziale, Interazioni ospite-microbo, Medicina personalizzata.

Abstract in inglese.

Background: Chronic inflammatory-associated diseases—including inflammatory bowel disease (IBD), rheumatoid arthritis, metabolic syndromes, and certain tissue-specific malignancies—represent profound global health burdens with complex, poorly understood etiologies. While mucosal and gut lumen microbiomes have been extensively mapped, recent evidence points to the existence of low-biomass, distinct microbial communities residing directly within internal host tissues previously considered sterile. However, the precise functional contribution of this intratissue microbiome to chronic inflammation, immune homeostasis, and disease pathogenesis remains fundamentally unresolved.

Hypothesis and Objectives: This doctoral project operates on the central hypothesis that tissue-resident microbes are not transient bystanders, but active biological modulators of the local immune microenvironment. Dysbiosis or structural alterations within the intratissue microbiome trigger aberrant host immune signaling pathways,



thereby driving or exacerbating chronic inflammatory cascades. To evaluate this hypothesis, the project will pursue three core objectives:

- *Objective 1:* To profile and comprehensively characterize the structural composition and spatial distribution of intratissue microbiomes within targeted inflammatory disease tissues relative to healthy controls.
- *Objective 2:* To elucidate the specific molecular and cellular mechanisms by which these intracellular or interstitial micro-organisms interact with host immune populations and somatic cells.
- *Objective 3:* To evaluate the preclinical therapeutic potential of targeting these niche-specific microbial communities to alleviate chronic tissue inflammation.

Methodology: Overcoming the inherent challenges of low-biomass microbial analysis requires a highly sensitive, interdisciplinary multi-omics and advanced imaging workflow:

- *High-Sensitivity Sequencing:* Deployment of ultra-pure 16S rRNA gene sequencing and deep shotgun metagenomics, integrated with rigorous, state-of-the-art computational and experimental contamination-control pipelines to robustly filter environmental backgrounds.
- *Spatial Biology and Imaging:* Implementation of spatial transcriptomics paired with high-resolution multiplexed fluorescence in situ hybridization (FISH) to visually map and validate microbial localization within the native architectural context of the host tissue.
- *Functional Characterization:* Utilization of patient-derived in vitro co-culture models (organoids) and tailored in vivo murine models of inflammation to investigate host-microbe molecular cross-talk, focusing heavily on pattern recognition receptor (PRR) activation and localized microbial metabolomics.

Anticipated Impact: By shifting the current scientific paradigm from organ-lumen microbial interfaces to the internal tissue architecture, this research project aims to fundamentally redefine our understanding of host-microbe symbiosis and disease



UNIVERSITÀ
DI SIENA
1240

DIPARTIMENTO DI
SCIENZE
DELLA VITA
— DSV

Dottorato di Ricerca in Scienze della Vita -Life Sciences

etiology. Uncovering the mechanistic foundations of the intratissue microbiome will identify novel, highly precise diagnostic biomarkers and pioneer the development of niche-targeted antimicrobial, probiotic, or metabolite therapies, offering a next-generation frontier in personalized medicine for chronic inflammatory disorders.

Keywords: Intratissue Microbiome, Chronic Inflammation, Multi-omics, Spatial Transcriptomics, Host-Microbe Interactions, Personalized Medicine.