

令和 5 年 4 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08926

研究課題名(和文) Curebest 95GCのマイクロアレイ法からRNA-Seq法への移行研究

研究課題名(英文) RNAseq analysis for Curebest 95GC

研究代表者

直居 靖人(Naoi, Yasuto)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教授

研究者番号：30646211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、Curebest 95GCをマイクロアレイのみならず、RNA-Seqでも解析可能なように改良することである。本研究では最初に32例ペア(マイクロアレイ&RNAseq)のトレーニングセットを対象に、マイクロアレイと相関性が高くなるような新規のRNA-Seq発現量算出法を開発した。次に117例ペアの独立したValidation setを対象に、95GCスコア(再発Lowリスク群：0-50、再発Highリスク群：51-100)の相関性を検証したところ、 $R=0.94$ と高い相関性を確認できた。これをもって95GCのRNAseqへのプラットフォーム移行は可能であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌の再発予測法の開発は、術後補助化学療法の適応を決定する上で臨床現場のニーズが高い。我々は多重遺伝子診断法としてマイクロアレイによる原発巣の95個遺伝子発現値を用いた再発予測法 Curebest 95GCを開発し、2013年に実用化し、乳癌診療ガイドライン2015に掲載された。現在、国内121病院にて採用されている。本研究の目的は、Curebest 95GCをマイクロアレイのみならず、RNA-Seqでも解析可能なようにすることである。この事により一回の95GCの検査で、発現情報のみならず遺伝子変異、融合遺伝子、スプライスバリエーション等の情報も得られる可能性があり有意義である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to improve Curebest 95GC so that it can analyze not only microarray but also RNA-Seq. In this study, we first developed a novel RNA-Seq expression level calculation method that has a high correlation with the microarray using a training set of 32 patient pairs (microarray & RNAseq). Next, we examined the correlation between the 95GC scores (low risk group for recurrence: 0-50, high risk group for recurrence: 51-100) for an independent validation set of 117 patient pairs, and found a high correlation of  $R = 0.94$ . With this results, it was considered possible to transfer the platform of 95GC to RNAseq.

研究分野：乳癌外科学

キーワード：RNA sequence マイクロアレイ Curebest 95GC 乳癌 多遺伝子診断法 網羅的遺伝子発現解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

「Curebest 95GC®のマイクロアレイ法から RNA sequence 法への移行研究」

乳癌の再発予測法の開発は、術後補助化学療法の適応を決定する上で臨床現場のニーズが高い。我々は再発予測精度が高い多重遺伝子診断法として、網羅的遺伝子発現解析用マイクロアレイによる原発巣の 95 個遺伝子発現値を用いた再発予測法 95GC (製品名 Curebest 95GC®) を開発し、2013 年に実用化し、乳癌診療ガイドライン 2015 に掲載された。現在、国内 104 病院施設及び韓国の 3 つの癌センターにて採用されている。しかしながら本法では旧来のマイクロアレイ法を用いるため、遺伝子発現情報しか得られないことが将来の発展の妨げになっている。近年研究トレンドは、マイクロアレイから RNA sequence (以下 RNA-Seq) へ移行しており、近い将来にマイクロアレイの生産が終了する可能性もある。そこで本研究の目的は、Curebest 95GC® を RNA-Seq でも解析可能なようにして、発現情報のみならず融合遺伝子、スプライスバリエーション等の情報も得られる新たな検査法として改良することである。

### 2. 研究の目的

Curebest 95GC®においては、旧来のマイクロアレイ法を用いるため、遺伝子発現情報しか得られないことが将来の発展の妨げとなってきた。そこで本研究の目的は、Curebest 95GC®を RNA sequence でも使用可能なようにして、発現情報のみならず融合遺伝子、スプライスバリエーション等の情報も得られる新たな検査法として改良することである。一方、国外においては、乳癌の再発予測のための多重遺伝子診断法(国内未承認)として、Oncotype DX®(Genomic Health 社)、MammaPrint®(Agendia 社)、Prosigna®(NanoStrings 社)が既に実用化されているものの、いずれも旧来の RT-PCR 法やマイクロアレイ法を採用しており、RNA sequence に移行した診断法は存在しない。従って本研究は学術的独自性と創造性を有する。

### 3. 研究の方法

本研究では最初に 32 例ペア(マイクロアレイ & RNAseq)のトレーニングセットを対象に、マイクロアレイと相関性が高くなるような新規の RNA-Seq 発現量算出法を開発し、Curebest 95GC をマイクロアレイから RNA-Seq へ再現性高く移行する方法を決定した。

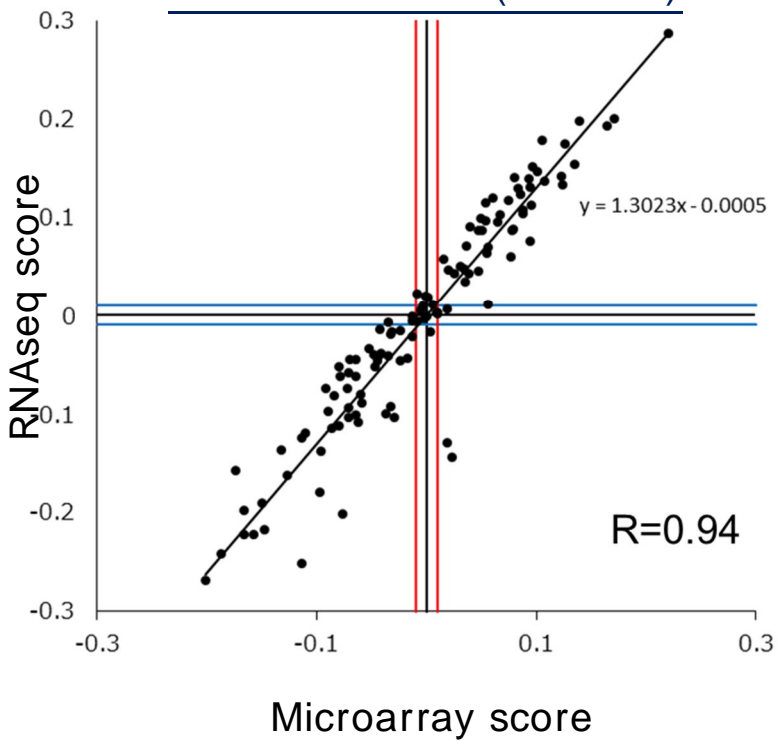
次に 117 例ペアの独立した Validation set を対象に、95GC スコア(再発 Low リスク群: 0-50、再発 High リスク群: 51-100)の相関性を検証した。

### 4. 研究成果

上記の 117 例ペア(マイクロアレイ & RNAseq)の独立した Validation set において、95GC スコアは  $R=0.94$  と高い相関性を確認する事ができた(次頁図)。これをもって 95GC のマイクロアレイから RNAseq へのプラットフォーム移行は可能であると考えられた。

現在、RNAseq DATA を対象に変異解析を試みているものの、RNAseq における数億に及ぶ膨大な配列情報を 100 人以上以上解析するには、大阪大学のスーパーコンピューターを用いても 2 カ月程度かかり、途中のトラブルもあり難渋している。これら解析が終了し、当初の目的である遺伝子変異、融合遺伝子、スプライスバリエーション等の情報も得られることを確認してから論文発表予定である。

Validation set (n=117)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 YASUTO NAO11, RYO TSUNASHIMA2, KENZO SHIMAZU3, MASAHIRO OIKAWA4, SEIICHI IMANISHI5, HIROSHI KOYAMA6, YOSHIHIKO KAMADA7, KAZUHIRO ISHIHARA8, MASAHIKO SUZUKI9, TOMO OSAKO10, TAKAYUKI KINOSHITA11, AKIHIKO SUTO12, SEIGO NAKAMURA13, HITOSHI TSUDA14 and SHINZABURO NOGUCHI15	4. 巻 25
2. 論文標題 Validation of the prognosis of patients with ER positive, HER2 negative and node negative invasive breast cancer classified as low risk by Curebest 95GC Breast in a multi institutional registry study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ONCOLOGY LETTERS 25: 209, 2023	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2023.13794	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 直居靖人
2. 発表標題 閉経前乳癌の治療
3. 学会等名 日本乳癌学会 2023シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------