

[ナットメッド著者の論文;PMC 2021 年 7 月 8 日に入手可能。](#)

最終編集版として以下の通り公表された:

[ナットメッド 2020 年 6 月 26 日\(6\):964-973.](#)

2020 年 6 月 11 日、オンライン公開。doi:10.1038/s41591-020-0934-0

PMCID:PMC8265154

NIHMSID:NIHMS1712232

PMID:32528151

1 ヒトの食物に対する食後の反応と精密栄養の可能性

Sarah E.Berry,#,1 Ana M.バルデス、*#,3,4 David A.Drew,5 Francesco Asnicar,6
モフセン Mazidi,2 Jonathan Wolf,7 ジョアン・カプデビラ、7 George Hadjigeorgiou,7
リチャード・デービス、7 Haya Al ハティーブ、1,7 Christopher ボネット、7 Sajaysurya
聖天、7 Elco Bakker,7 Deborah Hart,2 Massimo Mangino,2 ジョルディ Merino,5
Inbar Linenberg,7 パトリック・ワイヤット、7 Jose M.Ordovas,8 Christopher
D.Gardner,9 Linda M.Delahanty,5 Andrew T.Chan,5 Nicola Segata,6,#Paul
W.Franks,21011,#and Tim D.スペクター*#,2

著者情報著作権および使用許諾情報免責事項

この記事の最終編集版は Nat Med から入手できる。

Nat Med,第 26 巻(828 ページ)の解説「食後の反応をマッピングすることで、目標を
定めた食事に関するアドバイスができるようになる」を参照のこと。

Nat Rev Endocrinol,第 16 巻(473 ページ)の注釈「Toward precision nutrition.」を参
照。

この記事は修正されている。Nat Med を参照。2020 年 10 月 20 日;::

公開された論文を引用している PMC の他の記事を参照すること。

2 関連データ

[補足資料](#)

[以下にアクセスする:](#)

3 抄録

食物に対する代謝反応は心血管代謝疾患のリスクに影響するが、大規模な高分解能研究は不足している。我々は英国で 1002 人の双生児と非血縁の健康成人を PREDICT1 研究に登録し、クリニックと家庭で食後の代謝反応を評価した。同一の食事に対する食後の血中トリグリセリド(103%),グルコース(68%)およびインスリン(59%)の反応に大きな個体間変動(母集団変動係数[SD/平均]%)が認められた。腸内細菌叢などの個人特異的因子は、食後高脂血症(3.6%)に対して食事の多量栄養素(7.1%の分散)よりも大きな影響を及ぼしたが、食後血糖値(それぞれ 6.0%および 15.4%)には影響を及ぼさなかった。遺伝的変異は予測にわずかな影響を及ぼした(グルコースで 9.5%、トリグリセリドで 0.8%、C ペプチドで 0.2%)。知見は米国のコホート(n=100)において独立して妥当性が確認された。筆者らは、食物摂取に対するトリグリセリド(r=0.47)および血糖(r=0.77)の反応を予測する機械学習モデルを開発した。これらの知見は、個別化された食事戦略を開発する上で有益となる可能性がある。ClinicalTrials.gov 登録:NCT03479866.

[以下にアクセスする:](#)

4 Introduction

栄養関連非伝染性疾患(NCD)¹ の世界的な膨大な負担を軽減するためには、効果的な予防戦略が必要である。栄養研究とそれに対応するガイドライン 2-4 では、母集団の平均に焦点が当てられている。しかし、食品や減量食に対する反応には個人差が大きい⁵ ため、より個別化されたアプローチを開発する必要がある。経験に基づく精密栄養には、適切な検出力を備えた研究から得られた多次元高分解能時系列データを用いた研究が必要である⁶。多くの食後(非空腹時)の形質を大規模なコホートや実臨床の場で正確かつ正確に定量化するための技術が応用されたことで、この研究分野の可能性が広がってきている。

空腹時血液検査は多くの臨床診断で用いられているが、ほとんどの人は起床時に主に食後の状態にある。食後の脂質、グルコースおよびインスリンの異常恒常性は、NCD および肥満の独立した危険因子である^{7,8,9}。食後高血糖は、空腹時血糖が正常な人でも心血管系疾患(CVD)、冠動脈疾患(CHD)¹⁰、および心血管系死亡のリスクを上昇させ¹¹、食後トリグリセリドは空腹時濃度よりも CVD の予測

因子であり 1213,食事とその代謝結果が心血管系リスクに関連することを強調している。

特定の食事について先に示したように、個人固有の食後の血糖および lipiaemic の反応は、その生物学的特性(例えば、微生物叢や核 DNA の変異)と生活習慣の特性に起因する可能性が高い

(214)。食後の血糖反応は重要な健康決定因子であるが、血糖コントロールはトリグリセリド(グルコースの主要な代替エネルギー基質)およびインスリン(グルコースおよびトリグリセリドの輸送および代謝を調節する)を含むより複雑な代謝方程式の一部にすぎない 15。したがって、食後の脂質調節の特徴を明らかにし、個人差の原因となる因子を同定することは、心血管代謝の健康状態をより広範に改善することを目標とした食事の推奨を最適化するのに役立つ可能性がある。

PREDICT 1 臨床試験(NCT03479866)は、標準化された食事に対する食後のトリグリセリド、グルコースおよびインスリン反応の個人差を定量化して予測することを目的としてデザインされた。PREDICT 1 試験では、英国から双生児と非血縁成人が登録され、遺伝、代謝、

微生物叢の組成、食事の組成および食事の状況に関するデータが得られ、食事に対する個々の反応の予測因子が識別された。これらの予測は、米国の成人からなる独立したコホートにおいて妥当性が確認された。

著者らの知見は、一卵性双生児であっても、食後の反応に大きな個人差があることを示しており、その大部分は修正可能な因子に起因する。ある食事に対する代謝反応が悪い人は、同じ多量栄養素プロフィールをもつ他の食事に対する反応が悪い可能性が高く、食後のグルコースとトリグリセリド反応の全体的な相関は弱いことがわかった。我々が開発した食後予測モデルは、個別化された食事の推奨を最適化するのに役立つ可能性がある。

[以下にアクセスする:](#)

5 結果:

英国の健康な成人 1002 人が、混合栄養食の連続負荷に対する食後代謝反応(0-6 時間;血中トリグリセリド、グルコースおよびインスリン濃度)から成るベースライン臨床測定を完了した。得られた知見は、米国の健康成人 100 人のコホートで検証された。その後の 13

日間にわたり自宅で追加データが収集された。そこでは持続的血糖モニター(CGM)および乾燥血斑(DBS)分析を用いて、様々な多量栄養素(脂肪、糖質、蛋白および繊維)含有量の異なる8回の食事(7回2回)に対する食後の反応が測定された。試験計画の詳細は方法及び図1に記載し、被験者の選択基準及び記述的特徴を補足の表1に示す。研究デザインの詳細については、本論文にリンクされた Life Sciences Reporting Summary を参照のこと。

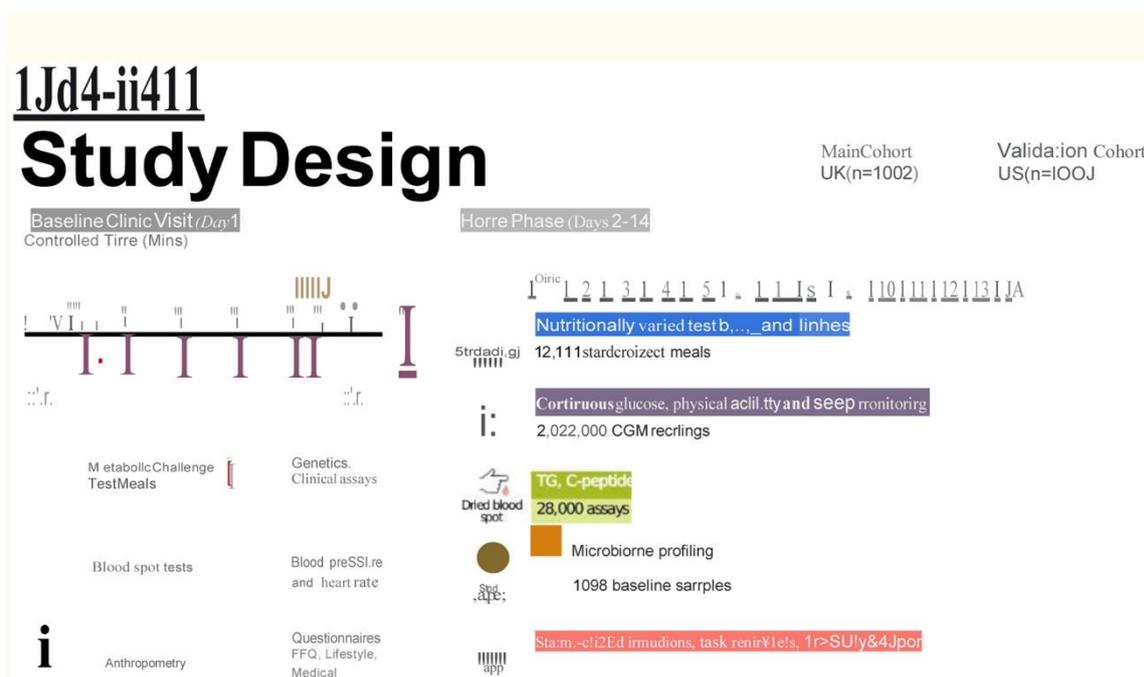


図 1.

実験計画

PREDICT 1 試験は、英国ベースの主要コホート(nmax=1002)と米国ベースの独立した検証コホート(nmax=100)から構成された。

6 食後反応の個体間及び個体内変動

厳格に管理された臨床環境において、食後の反応における個人間変動が、絶食後の一連の標準化された試験食を用いて検討された(図 2a)。各転帰に対する反応の個人間のパターンを、レベンの分散検定を用いて評価した。食後の全時点(絶食から 6 時間まで)における不均一性は、トリグリセリド($p=3.931e-11$)、グルコース($p=2.91e-194$)およびインスリン($p=2.45e-17$)の濃度で大きく異なっていた。血清中のポピュレーション変動係数は、空腹時トリグリセリド値(50%,10%)と比較して、食後トリグリセリド値(6 時間上昇)(103%)と glucoseiAUC 値(0~2 時間上昇)(68%)で大きかった。これは空腹時(69%)と比較して 0~2 時間(59%)の insuliniAUC では当てはまらず(図 2a)、このことから、食後のトリグリセリドおよびグルコース濃度のこれらの測定値は空腹時値よりも良好に代謝耐性を識別できるが、インスリンの測定値は識別できないことが示唆される。

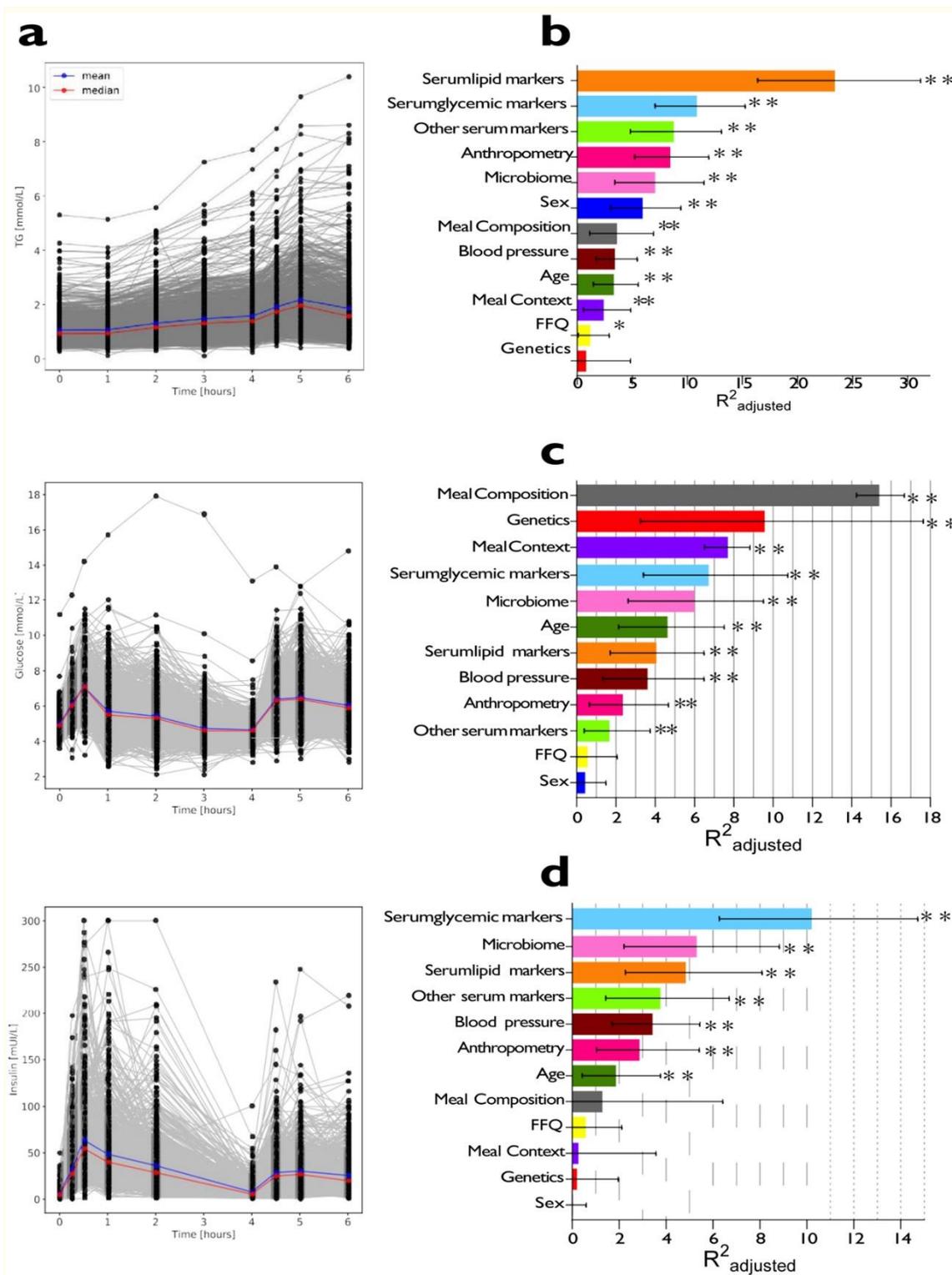


図 2.

食後反応の変動。

a.臨床における朝食および昼食時の負荷に対するトリグリセリド、グルコースおよびインスリンの食後反応の個体間変動(n=1002)b.DBS から測定したトリグリセリド 6 時間上昇の決定因子(食事 1 と 7 の比較)。c.CGM により測定された glucoseiAUC 0~2 時間の決定因子(1、2、4、5、6、7、8 の 7 つの試験食の比較)。d.インスリンの代用として DBS から測定した C ペプチド 1 時間上昇の決定因子(食事 2 と 3 の比較)。各入力変数について説明される形質の変動は、別々の(階層的でない)回帰モデルから導かれる。値は調整済み-R²を表し、エラーバーは 95%信頼区間を示す。食事の被験者数から食事組成と食事の状況で調整した R² 値を以下のように算出した:トリグリセリド 6 時間上昇 n=712、glucoseiAUC 0~2 時間上昇 n=9102、C ペプチド 1 時間上昇 n=186。その他の全ての決定因子の値は、食事の被験者数から以下のように算出された:トリグリセリド値 6 時間上昇、n=920;glucoseiAUC 値 0~2 時間上昇、n=958;C ペプチド値 1 時間上昇、n=960。TG=トリグリセリド、DBS=乾燥血液スポット、CGM=持続的血糖モニタリング。多変量直線回帰を用いて、*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001。

個別化された予測アルゴリズムを開発する際の重要な前提条件

は、同じ食事に対する個人固有の反応は再現性があるということである。食事介入に対する反応を検討した研究で観察された表現型の個人間変動の多くは、単一の検査反応シナリオのみが含まれていた場合、平均値への回帰の結果であったり、その他のエラーの原因であったりする可能性がある。反復測定(個体内で単一の測定時点及び複数の測定時点にわたって行われる複数の測定)は、真の生物学的変動から誤差を区分するために用いることができ、それにより推定値の精度を向上させることができる。そのため、様々な多量栄養素組成の試験食を参加者 1 人当たり 2 回、同様の条件下で投与した(詳細については方法および補足の表 2 を参照)。また、持続

血糖測定装置(CGM)も使用し、試験期間中 5 分間隔で連続的に血糖値を測定した。個体内変動(反復性)は、トリグリセリド、C ペプチド(DBS アッセイで測定)及びグルコース(CGM で測定)のクラス内相関係数(ICC)を用いて評価された。ICC は、トリグリセリド 6 時間上昇=0.46[95%CI 0.37,0.54]、glucoseiAUC 0-2 時間上昇=0.74[95%CI 0.72,0.75]、C ペプチド 2 時間上昇=0.62[95%CI 0.54,0.69]であった(補足表 3)。トリグリセリド、C ペプチドおよびグルコースの測定値間の ICC の差は、用いられた測定法(DBS および CGM)の違いを一部反映している(方法を参照)。

7 集団内における個々の食後反応の予測

著者らはまず多変量線形回帰を用いて、入力変数(補足表 3)が個人的な食後反応(図 2b-d)を予測する全体的な程度を評価した。入力変数には、i)ベースライン特性(年齢、性別、臨床生化学(脂肪、血糖、その他の測定項目)、人体測定)、ii)遺伝(一塩基多型[SNPs])、iii)腸内微生物叢の特徴、iv)習慣的食事(食物摂取頻度調査法[FFQ])、v)食事の状況(睡眠、前回の食事、身体活動、食事の順序および/またはタイミング)、vi)食事の構成(炭水化物、糖、脂肪、蛋白、繊維からのエネルギー)などがある。診療所および家庭における

血清および CGM 測定値から食後血糖反応を測定した(標準化された 7 食および 6616 回の測定値から;方法を参照)。臨床および家庭で採取した血清および DBS アッセイから、食後の C ペプチドおよびトリグリセリドが(標準化された 2 回の食事から)測定された。また、空腹時と食後の特性との相関を検討したところ、食後のグルコース値と食後の C ペプチド値に関して、食後のトリグリセリド値の相関は低いことが判明した(図 3a)。

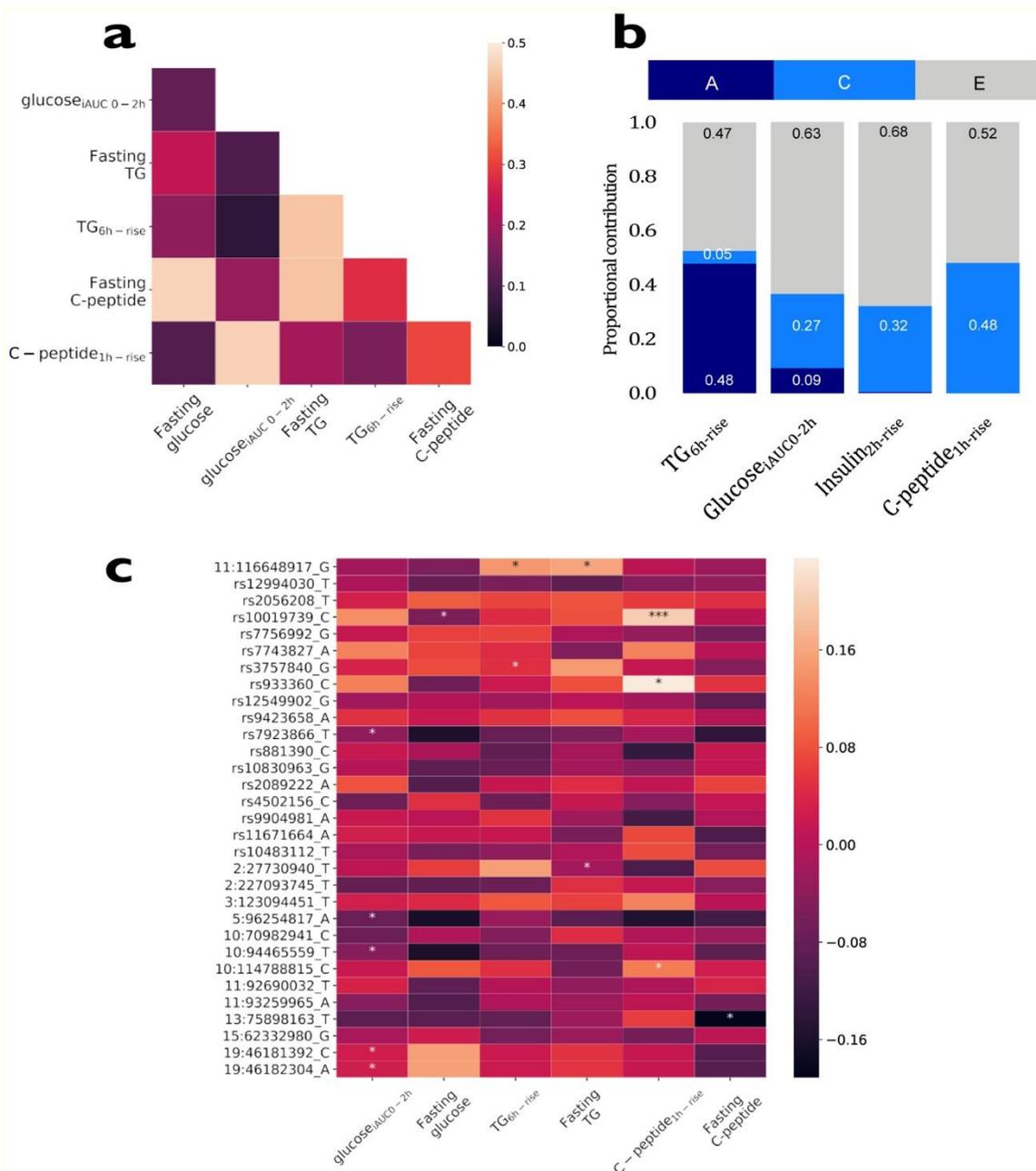


図 3.

ベースライン値、遺伝因子およびマイクロバイオーーム因子と食後反応との関係

a. 英国コホートの被験者 980 人におけるベースライン値と食後の予測尺度とのピアソン相関 b. 183 MZ 及び 47 DZ の双生児ペアにおける食後反応の遺伝率 (ACE モデルはトリグリセリド、グルコース、インスリン及び C ペプチドに関する対数スケールの食後反応に適合させた) A; 相加的な遺伝的要素 C; 共有された環境的要素 E; 個人の環境的要素 c. 公表されている食後形質 GWAS17-21 で同定された SNP に焦点を当て

た食後測定との SNP の関連($n=241$, * $p<0.05$, *** $p<0.001$, 両側カイニ乗検定を用いる)。

8 個々のベースライン特性

個々のベースライン特性によって説明される特性分散の割合は、トリグリセリド 6 時間上昇、glucoseiAUC 0~2 時間上昇、C ペプチド 1 時間上昇についてそれぞれ図 2b、cc、anddd に示されている(補足表 3)。

9 遺伝因子

英国コホートにおける食後反応の遺伝率は、古典的な twin 法(分散成分分析)を用いて検討され、直接測定された遺伝的変異から予測される値の上限が設定された。コホートの 3 分の 2 が TwinsUK 登録 16 から採用され、そのうち 230 組の双生児($n=460$; 183 MZ および 47 DZ)について遺伝率が研究された。相加的遺伝因子は glucoseiAUC の 0~2 時間の変動の 30%を説明したのに対して、トリグリセリドの 6 時間上昇の変動のわずか 4%とインスリンの 2 時間上昇の変動の 9%しか説明できなかった(図 3b)。インスリン 1 時間上昇と C ペプチド 1 時間上昇の推定遺伝的分散はほぼ 0 であった(補足表 4)。

10 SNP に基づく遺伝因子

TwinsUK コホートの一部であり、過去に利用可能な GWAS データを用いてゲノムワイドな遺伝子型解析が行われていた参加者のサブグループ(n=241)において、我々は、過去のゲノムワイドな食後血糖値、インスリン値、またはトリグリセリド値 17-21 のスキャンから得られた 32 個の SNP が、ここで検討された食後の変数とも関連するかどうかを検討した。いくつかの SNP はこれらの変数と有意 ($p < 0.05$) に関連していたが(図 3c および補足表 4)、総合的に説明できるのは glucoseiAUC 0~2 時間で観察された変動の約 9%のみであり(図 2c)、食後トリグリセリドおよび食後 C ペプチドの変動は 1%未満であった(図 2b および 2 d 2 d)。

11 腸内細菌叢(16S rRNA)。

我々は、ベースラインの便検体の 16S rRNA ハイスループット配列決定から導き出された細菌分類の相対的な存在量と群集の多様性および豊かさの尺度を用いて、腸内細菌叢の組成の寄与を推定した(補足の表 4)。その他の個人特性を調整しない場合、腸内微生物叢の組成は、食後トリグリセリドの 6 時間上昇の 7.5%、食後 glucoseiAUC の 0~2 時間上昇の 6.4%、食後 C ペプチドの 1 時間上昇の 5.8%を説明することができた。

食事の主要栄養素組成の影響を明らかにするため、参加者のサブセット(それぞれ $n=712$ および $n=186$)を対象として、主要栄養素組成を対照とする 2 種類の標準家庭での食事(トリグリセリドについては食事 1 および 7 の比較:朝食時に炭水化物 85 g 対 28g および脂肪 50 g 対 40 g,両方ともその後炭水化物 71g および脂肪 22g の昼食時;C ペプチドについては食事 2 および 3 の比較:炭水化物 71g 対 41 g および脂肪 22g 対 35 g;Supplement Table 2)についてトリグリセリド 6 時間上昇および C ペプチド 1 時間上昇を測定した。GlucoseiAUC の 0~2 時間が 7 回の標準化された食事(食事 1、2、4、5、6、7 および 8 の比較:糖質 28~95 g;脂肪 0~53 g)について測定され、計 920 人が合計 9102 食を摂取した。食事組成、習慣的な食事、食事の内容によって説明される分散の割合は、トリグリセリド 6 時間-グリセインについては図 2b に、glucoseiAUC 0-2 ヒンについては図 2c に、C ペプチド 1 時間-グリセインについては図 2d に示されている。多変数回帰モデル(食事 1、2、4、5、6、7、8)では、GlucoseiAUC 0-2 時間($\text{mmol/L}\cdot\text{s}$)/ $\text{L}\cdot\text{s}$)は脂肪、繊維、蛋白 1g 当たりそれぞれ 79、142、185 と有意に($P<0.001$)減少した。

分析した因子の偏りのない予測効用を推定するために、過剰適合に対して頑健な機械学習アプローチを用いた²²。英国コホートデータセットにおけるトリグリセリド 6 時間上昇、glucoseiAUC 0~2 時間上昇および C ペプチド 1 時間上昇を予測するために、全ての情報的特徴(食事組成、習慣的食事、食事の状況、身体計測、遺伝、マイクロバイオーム、臨床および生化学パラメータ)を用いてランダムフォレスト回帰モデル²³が適合された。Pearson 相関係数(r)を用いて各形質の予測値と実測値を比較したところ、トリグリセリド値 6 時間上昇、glucoseiAUC 値 0-2 時間上昇、C ペプチド値 1 時間上昇でそれぞれ $r=0.47$ 、 $r=0.77$ 、 $r=0.30$ であった。同様の相関は、ホールアウトバリデーションセット(米国コホート)においても認められ、モデルによるトリグリセリド値の 6 時間上昇と glucoseiAUC 値の 0-2 時間上昇の予測値はそれぞれ $r=0.42$ と $r=0.75$ であったが、C ペプチド値の 1 時間上昇の予測値($r=0.14$)ははるかに低かった(図 4)。モデルを適合させるために用いた特徴を補足の表 5 に示す。機械学習モデルの再現性と頑健性を Extended Data の図 4 に示す。

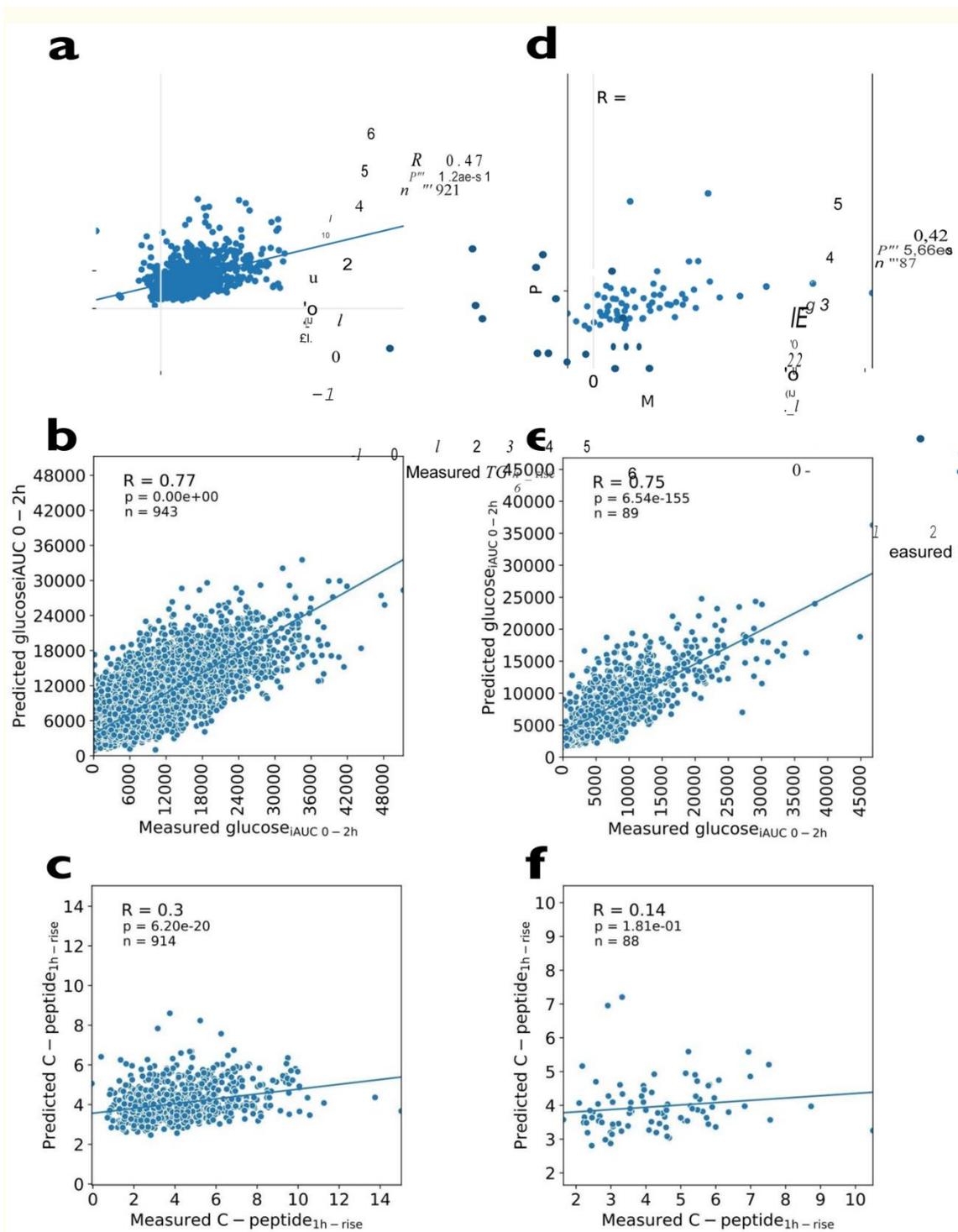


図 4-

機械学習モデルを食後の測定値に適合させた。

- a. 英国コホートにおける TG 6 時間上昇の機械学習モデル
- b. 英国コホートにおける 0 ~ 2 時間の glucose iAUC の機械学習モデル
- c. 英国コホートにおける C ペプチド 1 時

間上昇食後反応の機械学習モデル米国の検証コホートにおける機械学習モデルを図 4 d-f に示す。変数間の関係はピアソンの相関係数(r)として表され、回帰直線で示される; n は参加者数を表す;各値の予測に用いられる特徴は、図 2b-d の線形モデルに列挙されたものと同じである。

14 臨床アウトカムの代替スコアとの関連における食後の反応

著者らは、異なるバイオマーカーの空腹時濃度および食後濃度が耐糖能障害(OGTT の 2 時間後に 7.8-11~0 mmol/L)および動脈硬化性心血管疾患(ASCVD)の 10 年リスクスコア(方法)の予測にどの程度利用できるかを、受信者動作特性曲線下面積(ROC-AUC)曲線を比較することにより比較した。図 5.ASCVD リスクの ROC-AUC には空腹時トリグリセリドとトリグリセリド 6 時間上昇が同程度寄与しており、両方を含める方が一方のみを含めるよりも有益であることが明らかにされた(図 5a)。また、食後血糖値は空腹時血糖値ほど有用ではなかったが、空腹時血糖値に glucose_iAUC 0-2 時間値を加算すると、ASCVD の 10 年リスクの ROC-AUC がわずかに高くなることも判明した(0.72 対 0.69)。ASCVD の予測において、空腹時 C ペプチドおよび空腹時血糖は空腹時トリグリセリドと同程度に有効であったが(ROC AUC=0.69),食後 C ペプチド(ROC AUC==0.63)および食後血糖(ROC AUC=0.62)は食後トリグリセリド(ROC AUC=0.71)よりも弱かった。空腹時および食後のトリグリセリド濃度は耐糖能障害

(IGT)の弱い予測因子であり(ROC AUC=それぞれ 0.55 および 0.59)、空腹時および食後の C ペプチドは中等度の予測因子であった(ROC AUC=それぞれ 0.64 および 0.65)が、併用時には追加の適中率は認められなかった。CGM グルコースを用いた IGT の予測はここには含めなかった。その理由は、IGT は OGTT 2 時間後の血糖値のみに基づいて定義され、OGTT 2 時間後の血糖値は CGM による血糖値の記録から得られるため、予測因子の導出と臨床スコアの変数は互いに大きく依存していると考えられる。結果は英国と米国のコホートで同様であった(図 5)。

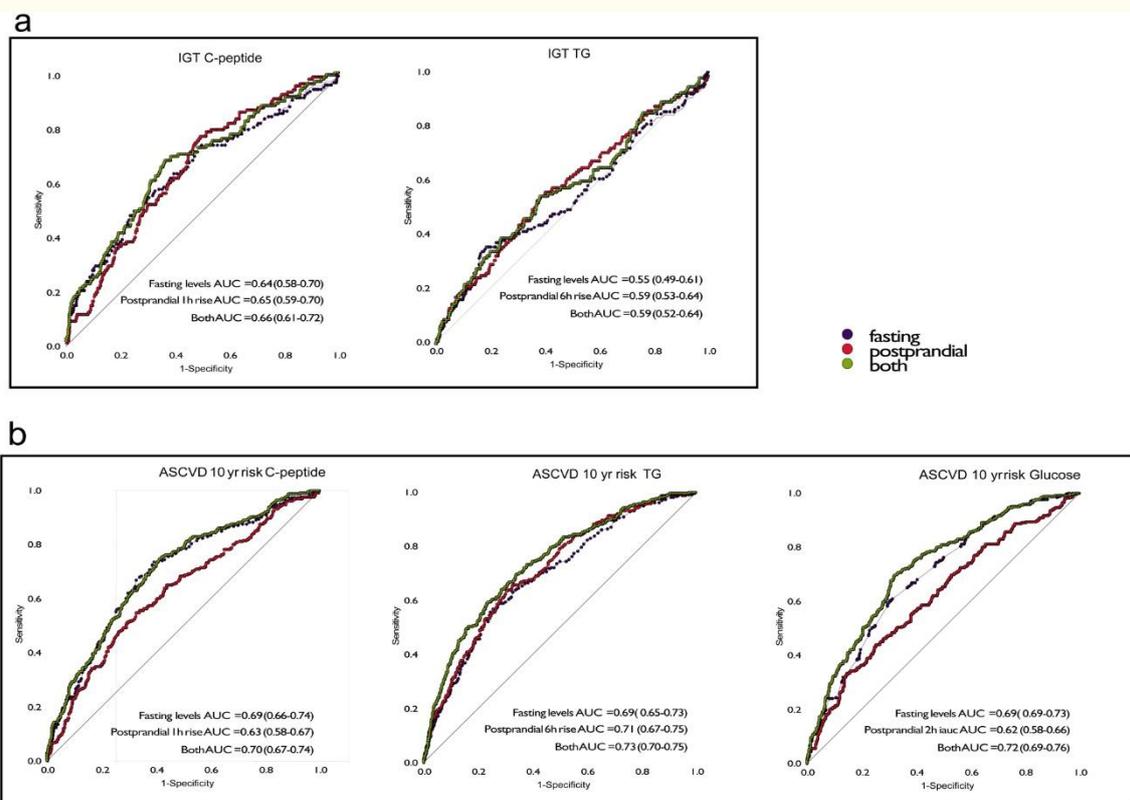


図 5.

英国コホートにおける空腹時および食後の TG、C ペプチドおよびグルコース濃度と臨床測定値との関連

a についてコホートの下位 70%と上位 30%を識別するための空腹時および食後 TG、グルコース、C ペプチド測定の予測有用性を示す受信者動作特性曲線(ASCVD の 10 年リスクのカットオフ値は 0.0183)。動脈硬化性心血管疾患(ASCVD)の 10 年リスク n=951 英国および b から採取した独立した検体。耐糖能異常(impaired glucose tolerance:IGT)n=826 英国から採取した独立した検体同じ解析が米国コホート(n=92 独立標本)で実施された結果、ASCVD の 10 年リスクに対する ROC AUC(95%CI)値は以下の通りとなった:C ペプチド空腹時 AUC=0.68(0.56-0.80),食後 AUC=0.66(0.54-0.77),両方とも AUC=0.69(0.58-0.81);TG 空腹時 AUC=0.73(0.63-0.84),食後 AUC=0.75(0.65-0.85),両方とも AUC=0.77(0.67-0.88);およびグルコース空腹時 AUC=0.74(0.63-0.85),食後 AUC=0.64(0.52-0.76),両方とも AUC=0.76(0.64-0.85)。耐糖能障害の値は、空腹時 C ペプチド AUC=0.66(0.53-0.80),食後 AUC=0.59(0.46-0.72),両方とも AUC=0.67(0.54-0.80),空腹時トリグリセリド AUC=0.66(0.53-0.80),食後 AUC=0.59(0.46-0.72),両方とも AUC=0.61(0.54-0.80)であった。

15 個々の反応を解釈する

集団内での食後の反応を検討した結果、次に個人レベルでの反応について検討した。我々は血糖反応を検討したが、これは自宅で収集した顆粒状の CGM データにより実臨床での効果を詳細に評価することができたためであり、トリグリセリドや C ペプチドでは不可能であった。著者らは、個々の患者の食後反応のうちどの程度が食事の血糖特性に起因するかを調べ、食事のタイミング、運動、睡眠などの他の修正可能な因子による変動と比較した。

最初に食事の寄与を検討した。1人の個人では食事の構成の変化が食物に対する反応の変化の主な原因であり、食事に対する反応の順位はすべての人で同じであるべきであるという考え方が広く支持されているが(24-25)、我々はその個人に固有の食事特異的反応が存在するかどうかを検討した。家庭で摂取する標準化された食事の組み合わせごとに、各参加者の glucoseiAUC の 0~2 時間の順位をランク付けした。次に、これらの順位が各参加者でどの程度の頻度で異なるかを明らかにした。ほとんどの食事で、順位はすべての被験者で同じであった(例えば、OGTT では参加者全員が高繊維マフィンよりも 0~2 時間の glucoseiAUC が高かった[図 6a])。しかし、特定の組み合わせの食事では、最大 48%の被験者で順位が逆転していた。例えば、昼食時の中脂肪および炭水化物と朝食時の高糖質(727 人中 350 人)などであった(食事 2 vs 食事 4;補足表 2)。被験者 498 人中 186 人(37.3%)では、高脂肪食と高タンパク質食(食事 7 と 8)の間にも不一致がみられた。PREDICT 研究の参加者におけるこれらの食事のランク付け方法の分布を Extended Data 2 に示す。

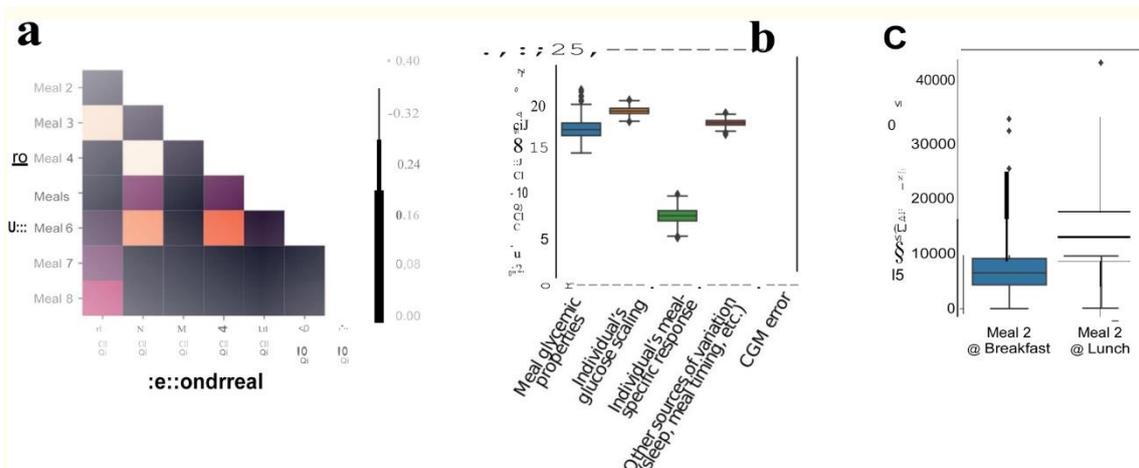


図 6.

食後反応におけるヒト特異的な多様性

a. PREDICT 1 試験において、定食に対する血糖反応 (glucose iAUC 0~2 時間) の順位が変化した回数の割合 (n=828、英国コホート) b. 血糖反応を説明する因子の効果量。異なる変動要因は、補足表 3 に記載されているように、ANOVA を用いて推定された。x 軸は、モデルパラメータ (n=483 例) に起因する iAUC の増加率 (又は減少率) として概ね解釈することができる。c. 時間帯の影響 (n=920、英国コホート)。四角は四分位 (25, 50, 75 パーセンタイル) を示し、ウイスキーは 95% の区間を示す。

ここで注目したいのは、食事のランキングが並べ替えられたのはノイズが原因である可能性があるということである。そこで筆者らは ANOVA を用いて、血糖反応を説明する様々な因子 (図 6b) に対する効果の大きさを推定したが、これには個人特異的な効果 (食事間ではなく人によって変化する効果) が含まれていた。方法に記載されているように、反応 (食事の組成) における食事の多量栄養素およびエネルギー含量の影響だけでなく、各個人が集団に対して全定食に対して平均的にどのように反応するか (個人の血糖測定)、各個人の食

事特異的反応の影響、血糖測定に起因する誤差、その他の変動の原因(睡眠、概日リズム、運動などの是正可能な変動の原因を含む)についても検討した。

先に述べた線形モデルと一致するように、ANOVA モデルでは、個々の血糖反応を説明する食事関連因子が 3 つあることが示された。食事の多量栄養素の組成は iAUC を 16.73%(95%CI 15.37-18.92%)変化させるが、個々の血糖測定の方が大きく、iAUC をおよそ 18.74%(17.96-19.46%)変化させる一方、個々の食事特異的反応ははるかに小さく、最終的な食事 iAUC には 7.63%(6.11-8.96%)の影響を及ぼす。食事の時間、運動、睡眠など、食事の組成に直接関連しない他の修正可能な変動源は、食事の組成と同程度の変動に寄与していた(図 6b および c)。c)。食事の摂取順序と 1 日の時間を変更することが血糖反応に影響を及ぼすかどうかを検討するため、朝食と昼食で同じ食事(食事 2)を摂取している被験者を対象として検討を行った。同じ被験者の平均血糖反応は、昼食時(2 時間 iAUC の平均血糖値=14254 SD=6593)(代謝負荷朝食後 4 時間)に食事を摂取した場合(2 時間 iAUC の平均血糖値=7216,SD=4157)

の方が朝食時に摂取した場合(2 時間 iAUC の平均血糖値=2721 d.f.; $P<0.001$)よりも平均 2 倍高かったが(個人的なばらつきは大きかった[図 6c])。35.7

[以下にアクセスする:](#)

16 考察:

栄養と健康は密接に関連している。人々は毎日、特定の食物および飲料に起因する健康上の便益および害だけでなく、楽しみおよび満腹感の知覚に影響された食事に関する決定を下している。標準的な栄養ガイドライン(2-4 年版)は一般的に集団平均に基づいている。しかし、1 つのサイズの栄養に関する推奨が全てに当てはまるわけではないことが次第に明らかになってきており、これは厳格に管理された生活習慣介入試験 26-29 の有効性が一定でないことによって例証されている。これらの課題に対処するため、我々は 2 週間の介入試験を実施した。この試験では、厳格に管理された外来診療日と 2 週間の在宅診療期間が設定され、一連の標準化された食事に対する食後代謝反応が英国および米国の健康成人 1,000 人以上で得られた。主な目的は、特定の食物に対する食後の代謝反応を予

測するアルゴリズムを導き出すことであった。これらのバイオマーカーが協調して心血管代謝リスクに影響を及ぼすことから、コアアウトカムはトリグリセリド、グルコースおよびインスリン(または C ペプチド)の血中濃度の変動であった 830。

多くの症例で、従来の臨床ベースの研究で報告されていた反応とは対照的な反応が観察されたことから、食物に対する反応に影響を及ぼす重要な因子に関する結論が再形成された。例えば、遺伝的影響は特にトリグリセリドでは予想よりも小さかったが、食事のタイミングなどの修正可能な因子は予想よりも大きな影響をもたらした。

食事の組成は食後のインスリンおよび脂血症反応に大きな影響を及ぼす 31 いくつかの小規模研究では、脂肪および/またはタンパク質含量の高い食事は、炭水化物含量が同じ低脂肪および/またはタンパク質の食事と比較して、食後の反応に大きな差をもたらすことが示唆されている(31 件のレビュー)。食事の脂肪の種類も脂血症反応 32 を変化させる。しかしながら、大規模コホートにおける自宅での食後トリグリセリドおよび C ペプチドの測定は、いずれもロジスティック的に困難であり、にかなりの負担をかける。したがって、実

際的な理由から、食後のトリグリセリドおよび C ペプチド反応の算出には 2 組の食事(それぞれ高脂肪食および高糖質食)のみを用いており、これらの食事の多量栄養素含量の差は小さかった。異なる食事の数が限られており、それらの主要栄養素の含量が比較的類似していることから、食後のトリグリセリドおよび C ペプチドに対する作用が予想よりも低かった理由を説明できる可能性がある。

空腹時のトリグリセリドおよびグルコースの濃度に加えて、食後のトリグリセリドおよびグルコース濃度が IGT および CVD リスクの判定に有用であることがわかった。しかし、食後の C ペプチド測定からは空腹時濃度以上の追加情報は得られなかった。著者らは、食後のトリグリセリドおよびグルコースの反応には個人差が大きいものの、同じ食事に対する反応は類似していることが多く、したがって予測可能であることを明らかにした。どの個人も一般的に同じ多量栄養素プロファイルの異なる食事に対して同等の反応を示し、ほとんどの食事で食後の大きな変動を経験する人もいれば、一貫して軽度の反応を経験する人もいる。これは、特定の食物に対する各個人の食

後の反応がわかれば、他の食物に対する反応を推測できることを示唆しているため、個別の予測や推奨を行う上で重要である。

その人の血糖反応は、全ての食事に対する反応が高いか低いかを決定する個人特異的な血糖測定の結果であるだけでなく、個人に固有の食事特異的の反応も存在することを示した。考えられる説明としては、高デンプン食を消化する能力における個々の遺伝的差異などがある³³。ゼエビら⁵は、被験者の1人がバナナに対しては過剰な血糖反応を示したが、クッキーに対しては反応を示さなかった一方、2人目の被験者では逆の反応がみられた例を報告した。我々のデータでこの現象を評価したところ、個別の血糖測定と食事特異的の反応の両方が存在することが判明した。しかし、個別の食事特異的の反応は一般的にスケーリングよりもはるかに効果的である。

食事介入に対する反応は人によって大きく異なる。例えば、DIETFITS で実施された研究では、609 人を健康な低脂肪食と健康な低糖質食のいずれかに 12 カ月間にわたってランダムに割り付けた³⁴。試験終了時までの平均体重減少量は群間で同程度であったが(約 5-6 kg)、群間では大きなばらつきがみられた(-30 kg~+10

kg)。別の研究では、糖尿病予防プログラム(Diabetes Prevention Program)により、食事の変化に焦点を当てた標準化された生活習慣への集中的介入(個人のエネルギー所要量のみに合わせて調整)により糖尿病リスクは大幅に低下したが²⁸、その有効性は研究対象集団間で大きく異なり^{26,27}、遺伝因子によってある程度決定されたことが示された²⁹。食事介入に対する反応はアドヒアランスに一部依存するが、PREDICT 試験やその他の^{35,36}年の研究結果からは、アドヒアランスの高い参加者であってもかなりの反応のばらつきが存在することが示唆されており、それは予測可能である可能性がある。PREDICT 試験では、非食物特異的な要因(例えば、食事のタイミング、睡眠、活動)がこれらの個人特異的な反応に非常に有用であった。

自由生活条件下での食後のトリグリセリドおよびインスリン濃度の評価は困難であるため、食後の反応に関する過去の大規模研究では血糖アウトカムのみが焦点が当てられてきた⁽²²⁵⁾。今回は CGM を用いて血糖反応を評価したが、検証済みの DBS 法と特別に設計されたモバイルアプリによる支援(Methods)を用いて、研究期間中の

自宅でのトリグリセリドおよび C ペプチド濃度も評価した。トリグリセリドとグルコースの相関が低いことから、グルコースのみに依存する予測アルゴリズムでは、調節不全のトリグリセリド反応を検出するには不十分であることが示唆される。

我々が開発した予測アルゴリズムは、過去の研究で用いられたような超生理学的な脂質や炭水化物の問題ではなく、実臨床の場でみられる多量栄養素の組み合わせを反映したランダムな混合食を使用することで強化された可能性が高い。

一般に遺伝学は、我々の予想に反して、これらの反応の主要な決定因子ではなかった。1 時間後の C ペプチドおよび/またはインスリン濃度の遺伝的割合(相加的遺伝因子によって説明される形質のばらつき)は非常に低く(0.3%)、2 時間後も低いまま(9.1%)であったことが判明した。食後トリグリセリド(6 時間上昇)およびグルコース(2 時間 iAUC)反応の遺伝性分画は高値であったが、それでも中等度であった(それぞれ 16%および 30%)。公表されている SNP データは豊富であるにもかかわらず(www.type2diabetesgenetics.org 参照)、公表されている血清形質のほぼ全ての GWAS が空腹時値に

焦点を当てているため、これらの特異的な食後形質に関する確固たるデータは存在しない。それにもかかわらず、探索的解析では、負荷後のトリグリセリド、グルコースまたはインスリン濃度と以前に関連付けられていた遺伝子座の適中率を検討したが(17-21)、これらの変異体の適中率は低く、特にトリグリセリドとCペプチドでは低かった(図3c)。食後の形質の遺伝率が低いということは、この形質分散の大部分が既知のDNA変異体によって説明されるという非現実的で楽観的なシナリオであっても、DNA変異体のデータのみを用いた予測アルゴリズムが成功する可能性は低いということを意味しており、これは多くの消費者向け栄養ゲノム学企業が提唱している。

これらの形質には主要な遺伝的要素がないことから、修正可能な環境曝露が関与している可能性が高いことが浮き彫りになる。実際、食事の組成と背景(食事のタイミング、運動、睡眠、概日リズムなど)が食後代謝の主要な決定因子であることが明らかになった。これらの予測は、腸内細菌叢の多様性に関するデータを用いて強化された。全ての関連データを組み合わせた機械学習を用いれば、個人の食後のトリグリセリドおよび血糖の反応を意味のある形で予測す

ることができ、米国の検証コホートでも同様の結果が得られた。C ペプチドについては、バリデーションコホートでの予測値ははるかに低かった($r=0.30$ 英国、 $r=0.14$ 米国)。これは、入力変数の数に比べて試験食の数が少ないことを反映している可能性があり、予測の信頼性に悪影響を及ぼす可能性がある³⁷。食後血糖値の予測結果は、ゼエビら⁵が報告したものと類似していたが、解析方法と入力値の特徴を直接比較することはできなかった。

これらの予測アルゴリズムは開発されているものの、今回の研究よりも多様な食事介入を取り入れたり、状況的因子のより詳細な評価を行ったりするなど、改善の余地はある。技術の進歩も予測の改善に役立つ可能性がある。例えば、グルコースはCGMで連続的に評価できるが、インスリンおよびトリグリセリドの連続濃度を自由生活で評価するのに適した市販の装置は現在のところ存在しない。さらに、脂肪³⁸と比較した場合の炭水化物の忍容性および検出可能な反応の下限値に差があることから、著者らの試験では、方法論的にトリグリセリド反応よりも食後血糖値の予測の方が優れていることが示唆されている(図 2b-d 参照)。トリグリセリドとグルコースの変化

を直接比較することが困難であったことが、本研究の限界であった。これらの特性を継続的かつ正確に測定することにより、モデル誤差が減少し、反応の非線形パターンを研究できるようになるため、予測精度が大幅に向上する可能性があり、これは重要であると考えられる。深い「オミックス」データを含めることで、これらのアルゴリズムの予測能力がさらに強化される可能性がある。例えば、ここでは 16S RNA 配列決定から得られたマイクロバイームデータを使用した。このデータは予測に有用であることが証明されている(グルコース応答とトリグリセリド応答の分散のそれぞれ 6.4%と 7.5%を説明できる)が、より高分解能のメタゲノム配列決定から得られれば、さらに有益な情報が得られる可能性がある。メタボローム(血液 39 と糞便 40 の両方)内で検出可能な栄養特性から、より大規模なメタボロミクスパネルや、おそらくは他のメタボロミクスデータ(メタトランスクリプトミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクスなど)をアルゴリズムに組み込むことで、コストが増加するだけでなく、予測精度も向上することが示唆される。著者らは FFQ を用いて、習慣的食事が個人の食後反応のごく一部(2%未満)を説明することを明らかにした。しかしながら、FFQ にはよく知られた限界があり、その他の客観的な

アプローチでは偏りがかなり少なく、エラーが発生しやすい 27。

PREDICT study のアプリに含まれている秤量した食事記録などの短期評価と組み合わせることで、これらの制限を緩和するのに役立つ可能性がある。より包括的な負荷試験によっても食後代謝の新たな側面が明らかになる可能性がある。ここでは、ほとんどの参加者が受け入れる可能性が高いと考えられる最長の試験時間として 6 時間の食事負荷試験を用いた。グルコースとトリグリセリドの反応に関しては、より長時間(8 時間まで)の負荷試験のデータから価値ある情報が得られる。

食後のトリグリセリドおよびグルコースの反応については、英国のコホートで得られた予測モデルは、米国の独立した検証コホートでもほぼ同程度の成績を示し、環境因子の差を考慮すると安心できる結果となった。それにもかかわらず、両コホートは欧州系の健康な若年成人で構成されていた。したがって、我々の知見を一般化するには、欧州系以外の人々、高齢者、糖尿病など代謝に影響を及ぼす疾患を有する人々における検証が必要であろう。我々の予測が臨

床的に意味をもつためには、適切な検出力を備えた縦断的研究が必要である。

結論として、これは厳格な介入条件下での栄養上の問題に対する代謝反応に関する現時点で最も包括的な評価である。我々は、同じ食事に対する食後の代謝反応にかなりの個人差があることを観察し、標準化された食事推奨の論理に疑問を呈した。これらの知見は、評価方法のスケラビリティとここで述べた予測アルゴリズムの正確性に加えて、少なくとも心血管代謝の健康の観点からは、集団全体の個別化栄養が疾患予防の戦略として有望であることを意味している。

[以下にアクセスする:](#)

17 方法

18 研究対象集団、研究デザイン、募集基準、食事の問題、Zoe アプリ

19 試験対象集団

PREDICT 1 試験(Personalized Responses to Dietary Composition Trial)は、2018年6月5日から2019年5月8日の間に実施された国際共同試験である。主要コホートは英国ロンドンの St.Thomas'Hospital で採用され、バリデーショコホート(英国と同じプロファイリングを実施)はマサチューセッツ州ボストンの Massachusetts General Hospital(MGH)で評価された(治験実施計画書 41 の詳細に記載されている)。英国では、本マニュアルの別の箇所に記載されている進行中の研究コホートである TwinsUK コホートとオンライン広告から参加者(目標登録数=1,000人)が募集された(拡大データ図 1a)。米国では、オンライン広告、研究参加者データベース、Rally for Research(<https://rally.partners.org/>);臨床試験のオンライン募集ポータル)を通じて参加者(目標登録者数=100人)が募集された(拡大データ図 1b)。本試験の倫理的な承認は、英国では Research Ethics Committee and Integrated Research Application System(IRAS 236407)から、米国では Institutional Review Board(Partners Healthcare IRB 2018P002078)から取得された。この試験は、PREDICT Programme of research への登録の一環として ClinicalTrials.gov(登録番号:NCT03479866)に登録され

た。PREDICT Programme of research には、他の 2 つの試験プロトコルコホートも含まれている。本試験はヘルシンキ宣言及び GCP に従って実施された。

被験者は 18-65 歳の健康な個人であり、文書によるインフォームド・コンセントを得ることができた。適格性の評価に用いた基準は、拡大データ表 1 に記載されている。除外基準には、現在進行中の炎症性疾患、過去 3 年間のがん(皮膚癌は除く)、IBD やセリアック病(グルテン性アレルギー)などの長期にわたる消化器疾患(IBS は含まない)、以下の薬剤を毎日服用している患者が含まれた:免疫抑制薬、過去 3 カ月以内の抗菌薬、毛細血管血糖値 $>12\text{mmol/L}$ (または 216mg/dL)または I 型糖尿病、または II 型糖尿病の薬剤を服用している患者、臨床的に急性の抑うつ状態と診断されている患者、過去 6 カ月以内に心臓発作(心筋梗塞)または脳卒中を発症している患者、妊娠している患者、完全菜食主義者、摂食障害がある患者、試験に含まれる食物を摂取しない患者。

英国(UK)の一般的に健康な成人 1002 人(非双胎、同一[一卵性;MZ]および同一[二卵性;DZ]双胎)および米国(US)の健康な成人 100 人(非双胎;検証コホート)が登録され、ベースラインの臨床測定が完了した。主なアウトカムとしては、厳格に管理された診療所で 1 日目に投与された混合栄養食(0-6 時間時点で炭水化物 86g および脂肪 53g を含有;4 時間時点で炭水化物 71g および脂肪 22g を含有)に対する食後代謝反応(0 時間時点;血中トリグリセリド、グルコースおよびインスリン濃度)が挙げられる(図 1)。2 つ目のアウトカムセットは、その後 13 日間にわたり自宅で評価された。脂肪および炭水化物の組成が異なる 2 種類の標準食に対する脂血症および C ペプチド反応(インスリンの代用として)が、食後の 3 時点で採取した乾燥血斑(DBS)アッセイを用いて自宅で評価された。連続血糖モニター(CGM)を用いて、様々な多量栄養素(脂肪、炭水化物、タンパク質および繊維)を含む 8 回の食事(7 回ずつ)に対する血糖反応を評価した。さらに、研究期間中、被験者は身体活動モニターおよび睡眠モニターを装着し、マイクロバイオームプロファイリング用の便検体を提供した。

測定項目ごとに異なる病態生理学的プロセスを反映するように、トリグリセリド、グルコース、インスリンおよび C ペプチドについて特定の時点および増分を選択した。コンプライアンスをモニタリングするために、被験者が摂取したすべての試験食を Zoe アプリ(写真付き)に記録し、試験の栄養士がリアルタイムで確認した。標準化された食事プロトコルに従って摂取した試験食のみが解析に含まれた。

21 ベースラインの来院日(1 日目):

英国の被験者には、来院前の試験パックとともに、採便キットおよび健康・生活習慣に関する質問票(改訂版 Twins Research 健康・生活習慣質問票 42 および食物摂取頻度調査法(European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition[EPIC]Food-Frequency Questionnaire[FFQ]43))が郵送された。米国では、健康および生活習慣に関する質問票が米国の集団に適合するように若干の修正が加えられ、EPIC FFQ の代わりに米国で妥当性が確認された Harvard Semi-quantitative FFQ が用いられた。便の採取と質問票は自宅で記入し、ベースライン来院時に試験スタッフに返却した。事前の 24 時間は運動を控え、脂肪、繊維およびアルコールの摂取量を制限し、ベースライン来院の前日の夜 6 時からカフェイン

を控えるよう被験者に指示した。参加者は来院のため午前 8 時 30 分に到着し、前夜の午後 9 時から絶食した後、前腕(肘前静脈)にカテーテルを挿入して絶食時の血液検体を採取した後、ウェアラブルデバイス(持続血糖モニター[CGM;Freestyle Libre Pro,Abbott,Abbott Park,IL,US])および手関節型三軸加速度計[AX3,Axivity,Newcastle,UK])を装着した。絶食時に自動血圧測定装置を用いて心拍数および血圧を測定した(3 回測定し、2 回目と 3 回目の平均値を記録)。被験者の体重、身長、股関節周囲長およびウエスト周囲長が標準的な臨床手法を用いて測定された。英国および米国では、それぞれ HemoCue Glucose 201+System(Radiometer,クローリー、UK)または Stat Strip(Nova Biomedical,Waltham,MA,US)を用いて空腹時血糖値を測定した。

ベースライン時の採血に続いて、被験者は朝食(0 分時点でマフィンとミルクケーキ)および昼食(240 分時点でマフィン)の試験食(補足表 2)を摂取し、それぞれ 10 分以内に摂取するようにした。追加の静脈血を 15 分、30 分、60 分、120 分、180 分、240 分、270 分、300 分および 360 分の時点でカニューレにより採取した。参加者は

診察中ずっと水を飲んでですることができた。採血と採血の間に、標準化された検査食をいつどのように摂取するか、DBS を実施するか、Zoe study app を使用するかなど、自宅で研究を完了する方法について被験者を訓練した。ベースラインの来院を完了した時点で、参加者はホームフェーズを完了するために必要なすべての要素を受け取った。

22 国内試験(2-14 日目):

研究のホームフェーズでは、被験者は CGM および加速度計を装着している間、9-11 日間にわたって朝食と昼食に標準化された複数の試験食を摂取し、主要栄養素の組成(炭水化物、脂肪、タンパク質および繊維)が異なっていた。被験者は研究期間を通して、食事摂取量と運動の全てを Zoe study のアプリに記録した。DBS 検査は、オンラインプロトコル 41 で概説されているように、検査食の前後 4 日間に完了した。内相終了後、参加者はすべての試験検体および装置を標準郵便で試験スタッフに返却した。

23 試験食の調製、栄養組成、タイミングおよび参加者の標準化された試験食に関する指示

ベースラインの来院を完了した時点で、被験者には試験食の成分(栄養成分)を含む自家製の食事パックが配布された。標準的な指示に従って朝食(一部の日は昼食時)に摂取した。試験食は経口ブドウ糖負荷試験(OGTT;2日間)またはマフィンのいずれかで構成され、それらはそのまま摂取するか、チョコレートミルク、タンパク質シェイク、市販の食物繊維バーと組み合わせて摂取し、補足表2に記載された3つのプロトコール群のいずれかに従ってオーダーした。3つの試験実施計画書群の食事の順序は、Microsoft Accessを用いて被験者ごとにランダム化され、2ブロックのランダム化と1ブロックの非ランダム化が行われた。

被験者には朝食前8時間以上の絶食を指示し、朝食後3時間または4時間の絶食を指示した(試験食の種類に応じて、プロトコール1では、絶食時間は食事5では3時間、その他の食事は4時間であった。プロトコール2および3では、絶食時間は朝食と昼食の組み合わせを除く全ての朝食で3時間であり、朝食時間は4時間、昼食時間は2時間であった)。患者には、運動を制限し、絶食期間中は真水のみを飲むよう助言した。絶食が完了した時点で、その日の残

りの時間は自由に飲食して運動することができた。被験者にはマフィンをベースとした食事を 10 分以内に全て摂取し、OGTT を 5 分以内に摂取するよう指示し、摂取できない場合は試験スタッフに通知するよう指示した。この場合、データは解析から除外された。参加者が自家製マフィン型の検査食を紅茶またはコーヒー(0.1%脂肪牛乳を 40 mL まで含むが、砂糖および甘味料は含まない)と一緒に摂取することを選択した場合は、研究期間を通して全てのマフィン型の検査食と並行して、この飲料を一貫して同じ濃度および量で摂取するよう指示された。被験者には、OGTT と並行して水以外の飲食物を一切摂取しないこと、および OGTT 後の 3 時間の絶食期間中は運動を避けることを指示した。

被験者は試験食および絶食期間中に摂取した食事内容(付随する飲料を含む)を Zoe アプリに正確な摂取時間と成分量とともに記録し、遵守状況を試験スタッフがモニタリングできるようにした。指示に従って完了した試験食のみが解析対象とされた。

試験食は Dietetics Kitchen(Department of Nutritional Sciences,King's College London,London,UK)で調製および包装さ

れ、小麦粉、砂糖、ベーキングパウダー、バニラエッセンス、牛乳、卵、塩、高オレイン酸ヒマワリ油、ホエイプロテインパウダー、チョコレートミルクセーキパウダー(Nesquik,Nestle,Gatwick,UK)および市販の繊維バー(Chocolate Fudge Brownie,Fiber One,ゼネラルミルズ社、MN,US;Goodness Bar Apple&Walnut,The Food Doctor,UK,ヘッスル)の標準的な原材料を使用した。介入のばらつきを抑えるため、試験食は温度管理された条件下で凍結して米国に輸送された。被験者には、マフィンを自宅で冷凍し、一晩冷蔵庫で解凍してから摂取するよう指示した。試験食用飲料は、事前に小分けされた粉末の小袋と提供された長寿命牛乳(Meal 1:0.1%脂肪乳 220 mL)を参加者が自宅で調製した。8食、1.6%脂肪乳 200 ml)。粉末の小袋及び繊維の棒は消費するまで室温で保存した。OGTT(Meal 5)は、あらかじめ小分けされた粉末ブドウ糖の小袋で構成され、参加者は英国内で水 300 mL と混合した。米国では、参加者にはあらかじめ混合された OGTT(Cat#82028-512;VRW,米国)が提供された。

24 Zoe の研究アプリと食事評価の方法論

Zoe アプリは PREDICT 1 試験を支援するために開発されたもので、試験業務の電子ノート、全食事摂取量を記録するツール、試験スタ

ツフとのコミュニケーションのポータルとして機能した。このアプリでは、特定の時点(検査用の昼食会や DBS の締め切り日など)でタスクを完了するよう通知やリマインダーが参加者に送信され、Flint 44 が短縮した視覚的アナログ尺度を用いて空腹レベルと覚醒レベルを報告するよう被験者に依頼した。被験者には、手首に装着した加速度計ではうまく記録できない運動(サイクリングなど)をアプリに記録するよう依頼した。被験者は 14 日間の研究期間中にアプリを用いて全食事摂取量(標準化された検査食、自由生活食、飲料[水を含む]および薬剤を含む)を記録した。アプリに記録されたデータはリアルタイムでデジタルダッシュボードにアップロードされ、記録の正確性と研究ガイドラインの遵守について研究スタッフがレビューおよび評価を行った。

「研究スタッフはベースラインの来院時に、写真、製品のバーコード、製品固有の 1 回分のサイズ、およびデジタルスケールを用いて、Zoe study のアプリを通じて正確な体重測定と食事摂取量の記録方法について全被験者を訓練した。また研究栄養士は、被験者がアップロードした写真とアプリに記録した項目を比較することで、

食品記録データのレビューも行った。不確実な点があれば、参加者が研究に参加している間に、アプリのメッセージシステムまたは電話を通じて参加者とともに積極的に明らかにした。

25 治験実施計画書の改訂版及び改訂版

PREDICT 試験の治験実施計画書の改訂、試験開始後及び被験者登録は以下のとおりである。First Amendment(2018年8月1日に英国 IRAS により承認された)では、追加の検査食をホームフェーズに含めることが認められたほか、診療当日に Metabolic Challenge Breakfast(Meal 1)を用いて被験者の消化管通過時間を記録することも認められた。DBS プロトコルもバイオマーカー(トリグリセリドまたは C ペプチド)の生理学的ピークに従って変更された。2018年8月28日から、試験は第2-3日目の空腹時、食後30分および360分の時点で測定し、C ペプチドは第4-5日目の空腹時、食後30分および120分の時点で定量した。また、2回目の唾液検体の採取を診察当日の代謝負荷朝食後30分時点に追加して、食後の唾液中アミラーゼ産生を測定し、空腹時アミラーゼ値との比較を行った。第2次改訂(2018年9月2日に英国 IRAS により承認された)では、適格基準となる BMI 下限値が $16.5\text{kg}/\text{m}^2$ (当初

は 20 kg/m²)に変更された。倫理上の承認を必要としない軽微な食事の変更が行われたことにより、治験実施計画書グループ 3(2019 年 1 月に実施)となった。米国では、2019 年 1 月 3 日、IRB は英国で導入されたグループ 3 の食事の変更に対処し、同じ参加者に複数の CGM を使用できるようにするための改訂版(PREDICT-US v2.0)を承認した。米国では、研究期間中に介入プロトコルにその他の大きな改訂は行われなかった。

26 アウトカム変数ならびに検体採取、取扱いおよび解析

27 乾燥血斑の採取、分析法のバリデーション及び分析

28 乾燥血斑採取物

トリグリセリドおよび C ペプチドは、ベースライン来院時(ベースラインの空腹時および朝食後 300 分時点;方法の妥当性確認のため)および家庭での最初の 4 日間の試験食摂取時(試験のタイミングおよび付随する食事の概要はオンラインプロトコル 41 に記載されている)に参加者が実施した DBS 試験から定量された。

Zoe のアプリは所定の時間に DBS 検査を完了するよう参加者にリマインダーを送信し、参加者は検査時の時間と記入済みのカードの写真を記録することでアプリにログインし、検査スタッフによる品質

評価を受けることができた。品質プロトコルに適合しない検査カード(複数の小さなスポットまたは不十分な適用範囲)は解析対象としなかった。検査カードは、記入後に乾燥剤とともにアルミニウム袋に入れて保管し、試験終了時または参加者がカードを試験実施施設に返送するまで冷蔵庫に保管した。DBS カードはその後凍結(-80°C)され、分析用に出荷された(ヴィタス Analytical Services,Oslo,Norway)。

29 乾燥血斑法のバリデーション:

DBS の C ペプチド濃度およびトリグリセリド濃度は、ベースライン来院時の朝食検査食の 0 分後および 300 分後に採取した静脈血血清濃度と比較して、PREDICT 中に検証された。2 つの方法間の相関は高いことが明らかにされた。トリグリセリド(1772 対)Pearson の $r=0.94$;C ペプチド(1679 対)ピアソンの $r=0.91$ 。

30 DBS からの総トリグリセリドの定量:

DBS サンプルから 2 つのパンチを採取して HPLC バイアルに移し、600 rpm、25°Cのメタノールで 3 時間脂質を抽出した。得られた抽出物をトリグリセリドキット(FUJIFILM Wako Chemicals GmbH,Neuss,Germany)を用いて 600 rpm,37°Cで 2.5 時間処理した

後、生成物を HPLC-UV で分析した。HPLC は、HP 1260/1290 infinity 液体クロマトグラフ(Agilent Technologies,Palo Alto,CA,US) を用い、紫外吸光光度計を用いて実施した。4.6 mm×100 mm の逆相カラムを用い、40°Cで試料をマトリックス成分から分離する。このキットを用いて酵素反応後のトリグリセリド標準品を分析し、1 点検量線を作成した。分析法は 0~5-6 mmol/L の範囲で直線性を示し、定量限界は 0.3 mmol/L である。

31 DBS からの C ペプチドの定量:

DBS 中の C ペプチドは、MercoDia 固相 2-site 酵素免疫測定法 (ELISA;MercoDia AB,Uppsala,Sweden)を用いて測定された。3 つのスポットを、ウェルに結合した抗 C ペプチド抗体とともにキットプレートに打ち込んだ。アッセイ用緩衝液を加え、4°Cでスポットから C ペプチドを抽出した。洗浄後、ペルオキシダーゼ結合抗 C ペプチド抗体を加え、2 回目のインキュベーション及び洗浄工程の後、結合した複合体を 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)と反応させて検出した。酸を加えて反応を停止させた後、比色分析のエンドポイントを測定し、波長 450 nm で吸光度を測定した。

32 便検体採取、方法のバリデーションおよび微生物分析

33 便検体の採取:

参加者は来院前に自宅で便検体を採取した。検体は EasySampler 採取キット(ALPCO,NH,US)を用いて、DNA/RNA Shield 緩衝液 (Zymo Research,CA,US)を入れた便採取管に採取した。検査室での受領後、試料を均一化し、分注した後、Qiagen Germany 社製 1.5 mL チューブ(PowerBeads Qiagen)を用いて-80°Cで保存した。検体採取手順については、保存条件(新鮮、凍結、緩衝液)、DNA 抽出キット(PowerSoilPro、FastDNA、ProtocolQ、Zymo)及び配列決定技術(16S rRNA 及びアレイ)の違いを比較することにより、社内で試験及びバリデーションが実施された(データは示されていない)。

34 *マイクロバイオーム 16S rRNA 遺伝子の配列決定と解析*

DNA は DNeasy(R)96 PowerSoil(R)Pro を用いて QIAGEN Genomic Services により単離された。吸光度測定は、分光光度計定量法(Tecan Infinite 200)を用いて実施した。その後、16S rRNA 遺伝子の V4 高可変領域が Genomescan(Leiden)で増幅された。ライブラリーは、Illumina NovaSeq6000 プラットフォームを用いて 300 bp のペアエンド読み取りの配列が決定された。合計で 9.6 Pbp が生成され、未処理の読み取り値は 1 サンプル当たり 360k の読み取り値にまで減少した。得られた測定値は DADA2 パイプライン 45

を用いて解析された。読み取りの精度管理は、DADA2 パッケージの「filterAndTrim」機能を用いて、各読み取りから 8 つのヌクレオチドを切り捨ててバーコードを除去し、精度が 20 未満の読み取りはすべて廃棄し、N が 1 つ以上の読み取りはすべて廃棄し、phiX Illumina のスパイクインを除去することで実施した。少なくとも 120 bp で、予想される DADA2 エラーが 4 未満のペアエンド読み取りのみが、下流の分析のために保持された。エラー発生率は、クリーニングされた一連の読み取り値から推定され(「learnErrors」関数)、重複除外後の読み取り値を統合するための DADA2 アルゴリズム(「mergePairs」関数)に用いられた(「derepFastq」関数)。結合された読み取りはさらに処理され、長さの分布の大部分を占める 280～290 bp の範囲内の読み取りのみが保持された。読み取りはさらに処理され、コンセンサス法を用いた「removeBimeraDenovo」関数を用いてキメラを除去した。最後に、SILVA データベース(バージョン 132)を用い、「assignTaxonomy」関数を用いて分類が割り当てられた。このデータベースでは、操作可能な分類単位(コノハズク属)の相対存在量の表を得るために、ブートストラップの最小値を 80 とする必要があった。微生物叢のデータセット 46 における組成の問題

に対処するため、47 に記載されているように(arcsin-sqrt)変換を用いて相対存在量の値を正規化した。 α 多様性の測定値が算出された(47 参照)。変換した 16S 存在度データにおける α 多様性の Simpson 指数と Shannon 指数の分布を補足表 4 に示す。

35 静脈血検体採取

参加者は午前 8 時 30 分に臨床研究施設に到着し、前腕の肘前静脈にカテーテルが挿入された。静脈血は 0 分後(試験朝食前)と食後 9 時点(15 分、30 分、60 分、120 分、180 分、240 分、270 分、300 分、360 分)に採取した。シュウ酸フッ化物含有試験管に採取した血液検体から血漿グルコースを分析し、1900 g で 10 分間 4°C で遠心分離した。血清 C ペプチド、インスリン、トリグリセリド、空腹時脂質プロファイル、甲状腺刺激ホルモン、アラニンアミノトランスフェラーゼ、および肝機能パネルを、ゲル分離血清チューブに採取した血液検体から分析し、室温で放置した後、4°C で 10 分間 1900 g で遠心分離した。試料を小分けし、-80°C で保存した。全血球算定(CBC)用の血液が EDTA 入り試験管に採取され、4°C に保たれた後、採血から 12 時間以内に分析が行われた。

36 血清バイオマーカー

英国では、インスリン、グルコース、トリグリセリド及び C ペプチドの分析が Affinity Biomarkers Labs(英国ロンドン)により実施された。グルコースおよびトリグリセリドの分析は、Siemens 社製アッセイキット(Siemens Healthcare Diagnostics Ltd,Surrey,UK)を用いて Siemens ADVIA 1800 により実施された。トリグリセリドは Fossati の 3 段階酵素反応に基づく ADVIA 化学トリグリセリド法を用いて Trinder エンドポイントで分析した。グルコースの分析には、ADVIA 化学グルコースオキシダーゼ(GLUO)法(改変 Keston 法に基づく)が用いられた。2-site sandwich immunoassay を用いた Siemens ADVIA ケンタウロス XP システムを用いて C ペプチド及びインスリンを分析した。英国コホートでは、Viapath(London,UK)が標準的な自動臨床化学手法を用いて血算を測定した。アフィニティ分析による PREDICT 試料の分析間変動係数は、インスリン 3.4%、C ペプチド 7.9%、トリグリセリド 3.7%、グルコース 2.6%であった。

米国では、MGH Core Laboratory の新鮮血検体を用いて CBC が確立された。Hb1AC 検査は MGH Diabetes A 1 シー・ラボが実施した。グルコース、インスリン、トリグリセリドおよび C ペプチドは、クエスト・

ダイアグノスティクス(Boston,MA)が標準的な自動臨床化学手法を用いて測定した。

米国での試験終了後、凍結した血清および血漿検体が米国から英国に送付され、Affinity Biomarkers Labs による肝機能検査、全脂質(TC、HDL-C、LDL-C およびトリグリセリド)、甲状腺刺激ホルモンおよびアラニンアミノトランスフェラーゼの測定が全コホートで実施された。詳細は別の箇所に記載されている 48。

37 持続血糖モニタリングによる血糖

Freestyle Libre Pro 持続血糖モニター(Abbott 社、Abbott Park,IL,US)を用いて 15 分毎に間質血糖を測定した。モニターは、訓練を受けた看護師によりベースラインの来院時に利き手ではない上腕に装着され、耐久性を向上させるために Opsite Flexifix 接着フィルム(スミス・アンド・ネフュー Medical Ltd,Hull,England)で覆われ、試験期間中(14 日間)装着された。装置の作動後 12 時間以降に収集したデータを解析に用いた。被験者のサブグループ(n=377)については、2 台のモニターを腕に装着し、標準化された食事に対する

iAUC 反応の変動係数(CV=11.75%)と相関($r=0.97$)を算出した(拡張データ図 2b)。

38 解析時点:

39 :ブドウ糖

2 時間血糖値 iAUC が臨床分析と自宅分析の両方に用いられた。

40 インスリン及びC ペプチド:

DBS から測定した C ペプチドの信頼性はインスリンよりも高く(49 参照),C ペプチドは紙フィルター上で最長 6 カ月間安定しているため、C ペプチドはインスリン分泌の代用として家庭で測定された 49。食後 60 分の時点で C ペプチドが測定されたが、これは臨床で健康な人にみられる C ペプチドのピークに一致しており、食後 120 分の時点ではインスリン濃度の大幅な低下に一致していた(拡張データ図 2c)。しかし、過去の遺伝学的研究では 120 分時点での食後インスリンの遺伝率が測定されていたため、この時点を経験解析の対象に含めた(図 2b-c)。その他の全ての分析は C ペプチドの 1 時間後の上昇に関するものである。

41 トリグリセリド:

食後 6 時間時点でのトリグリセリド値の上昇(トリグリセリド値 6 時間上昇)は、診療所および自宅で実施した DBS 試験で採取した血清検体から得られた食後の高脂血症反応を表す指標として選択された。これはアテローム形成性リポ蛋白と最も密接に相関する脂血症の指標であり、iAUC 0-6 時間、Cmax および 4 時間トリグリセリド濃度(50-52 参照)と比較して評価できる。

42 活動および睡眠

エネルギー消費量は、3 軸加速度計(Ax3、英国 Axivity 社)を用いて測定され、ベースラインの来院時に看護師が利き手ではない方の手首に装着し、試験期間中(シャワーや水泳などの水中での活動時を除く)装着された。50 Hz で±8 g(g は 9.8 m/s² に等しい局所的な重力)のダイナミックレンジで加速度を測定するように加速度計をプログラムした。非磨耗期間は、1 時間以上のウィンドウが 3 軸のうち 2 軸で 13 mg 未満、または 3 軸のうち 2 軸で 50 mg 未満と定義された。睡眠ウィンドウは 53 章に記載されている方法を用いて測定された。

43 遺伝子型

過去の TwinsUK 試験では、英国のコホートから 241 人の全ゲノム遺伝子型解析が実施された。遺伝子型解析は Illumina Infinium HumanHap610 を用いて実施した。標準化された GWAS の強度データを併合し、Illuminus アルゴリズムに基づいて遺伝子型を解析した。最も可能性の高いコールが事後確率(0.95)を下回る場合は、コールを割り当てなかった。共有された 100 個のランダムな SNP を視覚的に検査することにより、明らかなバッチ効果(いずれも観察されなかった)についてプーリングのバリデーションが実施された。コール率が低く(90%以下)、Hardy-Weinberg の p 値が 10^{-6} 未満で、副対立遺伝子の頻度が 1%未満の SNP は除外され、コール率が 95%未満の検体は除外された。網羅性を高めるために遺伝子型の埋め込みが行われた。品質管理段階を通過した全ての多型 SNP について、Michigan Imputation Server(<https://imputationserver.sph.umich.edu>)を用いて、1000G Phase3 v5 参照パネル 54 を用いて遺伝子型の補完が行われた。過去に食後血糖、トリグリセリドまたはインスリン GWAS17-20 との関連が報告されていた SNP は、PLINK を用いてゲノムワイドな

遺伝子型の全セットから抽出され、線形回帰法を用いて食後の測定値との関連が検証された。

44 習慣的な食事情報の処理

英国の栄養素摂取量は FETA ソフトウェアを用いてマクロおよびミクロ栄養素のデータを算出して算出された⁴³。未回答の食物が 10 個を超える場合、または被験者の推定基礎代謝率(Harris-Benedict の式で算出)⁴³ に対する比として FFQ から算出した総エネルギー摂取量の推定値がこの比の平均値から標準偏差の 2 倍を超える (<0.52 または >2.58) 場合には、提出された FFQ は除外された。

45 統計解析

46 基本的な分析

試験参加者の記述的特徴を補足表 1 に要約する。データの次元を小さくするために、直交変換(バリマックス法)を用いた主成分分析(PCA)を適用して、個人特性(20 個の PCA)、微生物叢(40 個の PCA)、食事組成(1 個の PCA)、習慣的食事(5 個の PCA)、食事状況(5 個の PCA)を代表する主成分(PC)を導き出した(入力変数の完全なリストについては補足表 3 を参照)。直線性、Kaiser Meyer Olkin 測定値(0.88)、真球度の有意なバートレッツ駅検定($p < 0.001$)

を含むすべての必要条件を満たした。各参加者は上記の各カテゴリーについてスコアを与えられた。各アウトカム(iAUC、トリグリセリド 6 時間上昇、C ペプチド 1 時間上昇)と曝露(個々のベースライン特性、微生物叢(16S)、食事内容、習慣的な食事および食事の状況)との関連性を検討するため、多変量回帰分析が適用され、R² が報告された。さらに、人体計測学的因子、生化学的/臨床的因子、身体活動、睡眠の特徴に対する PCA を別々に導き、それらの役割を検討した。各段階 55 における分散膨張係数(VIF)を用いて、多重線形回帰の多重共線性を評価した。VIF が 1038 を超える場合、多重共線性は高いと考えられた。受信者動作特性(ROC)曲線を作成し、曲線下面積(AUC)を算出して、耐糖能障害を検出するための(空腹時血糖 vs 2 時間血糖 iAUC),(空腹時トリグリセリド vs トリグリセリド 6 時間上昇)および(空腹時 C ペプチド vs C ペプチド 1 時間上昇)の識別力、ならびに ASCVD の 10 年リスク(70%をカットオフ値として適用)を評価した。AUC の値は 0.5~1 の範囲であり、0.5 は弁別能なし、1 は完全弁別能を示す(2)。p 値 0.05 以上が統計学的に有意とされた。全ての解析は R(version 3.4.2 R Core Team(2017))を用いて実施された。

血糖反応に及ぼす多量栄養素の影響を推定するため、炭水化物、脂肪、繊維およびタンパク質を食事 1 回目、2 回目、4 回目、5 回目、6 回目、7 回目および 8 回目の予測因子として多変量回帰モデルを当てはめた。

これらの予測因子について VIF を用いて多重共線性を評価したところ、VIF は存在しないと結論した(VIF<10)。回帰係数はいずれも有意であり($p<0.001$),炭水化物で補正後の脂肪、繊維およびタンパク質の値はそれぞれ-79.23 mmol/L*,-142.41 mmol/L*,および-185.49 mmol/L*であった。

遺伝率を推定するために、古典的 ACE モデルに従ってデータを解析した。このモデルでは、遺伝率は母集団 56 における食後反応の分散に対する相加的な遺伝的差異の相対的重要性の近似値である。共有または家族的環境の影響は、双子の類似性に寄与する経験を反映する。非共有または個人特異的な環境影響とは、家族が共有しない環境経験の寄与を指す。共有される遺伝的および環境

的影響に関する情報は、OA における分散の 154 の原因を説明するために、接合体によって双生児のモデルを適合させる構造方程式モデリング技術によって最もよく推定される。したがって、形質の全分散は、遺伝的分散(A),共有(家族性)環境分散(C),および個体特異的環境分散(E)に分けることができる。いずれの解析においても、統計学的有意水準は $p < 0.05$ と設定され、統計解析には、ソフトウェア R(バージョン 3.0.2)及び「mets」(Multivariate Event Times)パッケージ(<https://rdr.io/cran/mets/src/R/methodstwinlm.R>)が用いられた。

49 食事のランキング

6 種類の食事を被験者ごとに、2 時間 iAUC の血糖値が最も高い食事(ランク 6)と 2 番目に高い食事(ランク 5)にランク付けした。グルコース 2 時間 iAUC(ランク 1)が最も低い方を下方に移動する。これらの「対面でのランキング」の分布を拡張データ(Extended Data)の図 3 に示す。

50 食事に対する個別反応の役割を評価するための多重線形 ANOVA

食事 2346 と食事 8 の血糖反応における様々な変動要因(補足の表 3 に記載)について、Multilevel Linear ANOVA⁴⁰ モデルを用いて解析した。また、Gelman と Hill⁵⁷ が記載したマルチレベル(階層的)線形ベイズ ANOVA モデルを用いて解析した。

(Gelman&Hill 2007)に記載された多段階(階層的)線形ベイズ分散分析モデル(Linear Bayesian ANOVA model)を用いて、食事 2346 の血糖反応における様々な変動要因を解析した。

階層ベイズモデルは、古典的な分散分析モデルや多層線形モデルに組み込むことが困難な非正規従属変数に対応することができる。このアプローチは、2 つのレベルのサブモデルから構成されている: レベル 1 では個人、食事、人と食事の相互作用のパラメータを、レベル 2 ではレベル 1 のパラメータが引き出される分布のモーメントを用いる。レベル 2 では、レベル 1 のパラメータにある程度の均質性を課す。以下に例を挙げる。

- $\alpha_m \sim N(0, \sigma^2)$ 、すなわち、食事条件は同じ標準偏差 σ で正規分布され、均質性が保証される。

- $aa \sim \text{HalfCauchy}(5)$ すなわち、上記の分布の標準偏差には特定の事前分布(尺度係数 5 の半コーシー分布)がある。

その他の項($\{3p, y_{m,p}, E_{m,p,k}, E_{m,p,k,n}\}$)も同様の階層的分布を示す(ただし、 $E_{m,p,k}, E_{m,p,k,n}$ の標準偏差はコーシーの半分ではなく均一な事前分布を示す)。

両レベルのパラメータ(すなわち、全ての a_m と aa 、その他のパラメータについても同様)は、pymc358 のマルコフ連鎖モンテカルロチェーンを用いてサンプリングされ、得られた aa 、 $a/3$ 、 ay 、 aE 、 aE_n の各値が図 6b にプロットされる。

$$\log(iAUC) = y_{m,p,k,n} = \alpha_m + \beta_p + \gamma_{m,p} + \varepsilon_{m,p,k} + \varepsilon_{m,p,k,n}$$

ここで:

- $\log(iAUC) = y_{m,p,k,n}$: cgm n で測定した k 回目の被験者 p (食事 m を摂取) の 2 時間 $iAUC$ (以下に記載する部分集団について 2 つの CGM のデータが利用可能であることを前提とする)

cgm n で測定した k 回目の患者 p (食事 m を摂取)の 2 時間
iAUC(2 時間 iAUC)(多くの人に 2 cgm がある場合)

- a_m :食事 m の食事内容(全体)(例:高炭水化物食と低炭水化物食)
- $\{3p$:被験者 p に関する個別の血糖測定値(全食事を通して)(例:反応が高い被験者と低い被験者全体)
- $y_{m,p}$:食事 m に対する個々の p の食事特異的な反応。例えば、ある特定の人が特定の食事に特に強く反応する場合など。
- $E_{m,p,k,n}$:cgm に起因する誤差(本解析で選択した被験者は 2 つの CGM 機器を装着していたため、 n は測定を行った機器の指標となる)
- $E_{m,p,k}$:食事のタイミング、運動、睡眠、概日リズムなど、その他の変動要因

このベイズの ANOVA モデルはベイズの階層的モデルであり、食事の観察された $\log(\text{iAUC})$ をカテゴリ用語の合計として説明しようとするものである。すなわち、個体はいかなる特徴によっても分類されず、様々な食事の $\log(\text{iAUC } 2\text{h glucose})$ を有する固有の個体として含まれる。これが拡張グリセミック指数モデルであれば、 $\log(\text{iAUC})$ を食事の項目(食事のグリセミック負荷に相当する)と個別化した項目の合計として表すことに相当する。この「各個人の血糖測定尺度」は、個人の特性(年齢、性別、BMI など)の線形関数ではなく、各食の $\log(\text{iAUC})$ 値を与えられた各個人が全体的に順位を付ける方法である。これにより、食事と人との間に相互作用の用語、すなわち特定の食事に対する個別反応の要素が存在するかどうかを検証することができた。この要素は、単に反応者が高い、平均的または低い、あるいは他の食事(高脂肪マフィンなど)よりも平均して高い血糖反応(OGTT など)を示すだけのものではない。ある人が特定の食事を繰り返し摂取し、同じ食事について複数の CGM 測定値が得られていることから、このモデルを拡張して、人と食事の相互作用と CGM エラーを含めることができた。同様に、CGM に起因するエラーと、特定の食事に対するある人の反応が一貫してグリセミック指数モデル

から予想されるものより高いまたは低い程度、すなわち個別のグリセミック負荷を推定することができた。人と食事の相互作用の影響により、食事に対する血糖反応の順序は人によって異なるため、ある人は食事 B よりも食事 A に強く反応し、別の人は食事 A よりも食事 B に強く反応する可能性がある。図 6c はモデルにおける効果の標準偏差の 50%と 95%の区間を示している。これらは、モデル内の様々な効果による iAUC の増加率(又は減少率)として概ね解釈することができる。

51 CGM の再現性

被験者の一部(n=483)は 2 つの連続血糖測定装置を同時に装着し、摂取した食事の測定値を重複して測定することで、CGM エラーを原因不明の変動源と鑑別することができた。この解析では、英国からの 483 人の参加者が合計で摂取した 3280 食の食後血糖値が用いられた。(拡張データ図 2b)。

52 臨床指標の算出

53 動脈硬化性心血管疾患の 10 年リスク:

(AHA/JACC ASCVD の 10 年リスク)10 年動脈硬化性心血管疾患

(ASCVD)59 リスクスコアは、性別および人種に特異的な単一多変

量リスク評価ツールであり、個人の 10 年 CVD リスクを推定するために用いられ、臨床的には Framingham-10 年心血管リスクスコアに取って代わっている。年齢、性別、民族、総コレステロールおよび HDL コレステロール、収縮期血圧、喫煙状況、降圧薬の使用、2 型糖尿病(T2D)の有無に基づいて評価する。

54 耐糖能障害

American Diabetes Association⁶⁰ の標準的な定義(空腹時血漿血糖値 <7.0 mmol/L および OGTT 2 時間値 ≥ 7.8 mmol/L 以上 11.1 mmol/L 未満)を用いた。

55 機械学習モデルの交差検証と差の検証(Bland-Altman プロット)

機械学習予測の信頼性をさらに説明するために、leave-one-out cross validation procedure を実施し、Bland-Altman プロットを作成して 2 つの一致度を分析した。Bland-Altman プロットを作成するために、予測された食後反応と測定された食後反応を示す英国および米国の予測データを用いた。各バイオマーカー(トリグリセリド、C ペプチドおよびグルコース)の食後反応の予測値と測定値について、Bland-Altman プロットを作成した。(拡張データ図 4a)。

56 Predict UK における leave-one-out cross-validated Pearson R スコア

k 倍交叉バリデーションを行うには、データセット全体を k 個のグループに分割する。各グループを試験セットとし、残りのグループを訓練セットとして、モデルを k 回適合させる。モデル評価の指標としては、フィッティングしたモデルから得られた予測値と試験セットで測定された値との間のピアソン s'R が用いられ、クロスバリデーションされたピアソン R と呼ばれる。

k をデータセットのサイズとする特別なケースを leave-one-out cross-validation と呼び、対応する評価指標を leave-one-out cross-validated Pearson R と呼ぶ。対象となる 3 つのバイオマーカーの機械学習モデルは、前述の指標を用いて評価され、Extended Data の図 4b に報告されている。これらのスコアは、本文中の交差検定された 5 倍スコアと類似している。

[以下にアクセスする:](#)

57 拡張データ

58 拡張データ図 1.

a		b	
Assessed for eligibility (n= 1270)	Excluded from enrolment (n=268)	Assessed for eligibility (n= 355)	Excluded from enrolment (n=255)
Enrolled(n=1002)	<ul style="list-style-type: none"> • Withdrew (n=20) • Lost to follow-up (n=15) 	Enrolled(n=100)	<ul style="list-style-type: none"> • Withdrew (n=4) • Lost to follow-up (n=1)
Successfully completed the study (n=967)		Successfully completed the study (n=95)	

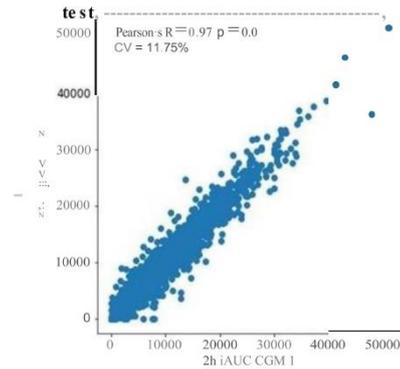
PREDICT 1 試験における(a)英国人集団と(b)米国人集団の Consort 図

59 拡張データ図 2.

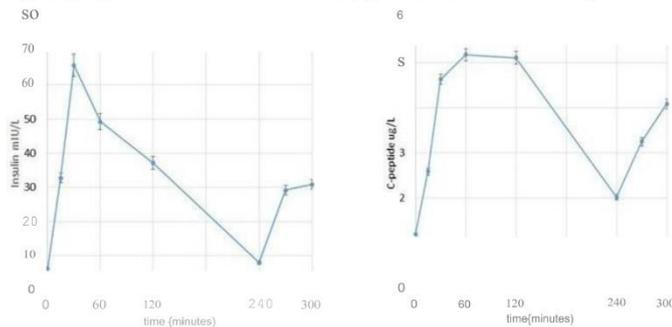
a. Intraclass correlations

Metabolic outcome	num meals	Timepoint/ trait/CC	95%CI
TG	648	fasting	0.670.60 - 0.72
		Sh	0.660.60 - 0.72
		6h	0.730.68 - 0.78
		fasting-Sh rise	0.410.32 - 0.49
		fasting-6h rise	0.460.37 - 0.54
2lucose	8038	2h-iAUC	0.74 0.72 - 0.75
c-peptide	626	fasting	0.720.66 - 0.77
		0.Sh	0.560.47 - 0.64
		2h	0.710.64 - 0.76
		fasting-0.S h rise	0.470.37 - 0.56
		fasting-2h rise	0.620.54 - 0.69

b. Pearson's correlation and CV of 2h-iAUCs measured with two monitors worn by the same participant (n=377). P-value from two-sided t-test



c. Mean and standard error of fasting and postprandial serum insulin and C-peptide concentrations during the clinic visit in the PREDICT 1 study, n=1,036.



PREDICT 1 試験の再現性

60 拡張データ図 3.

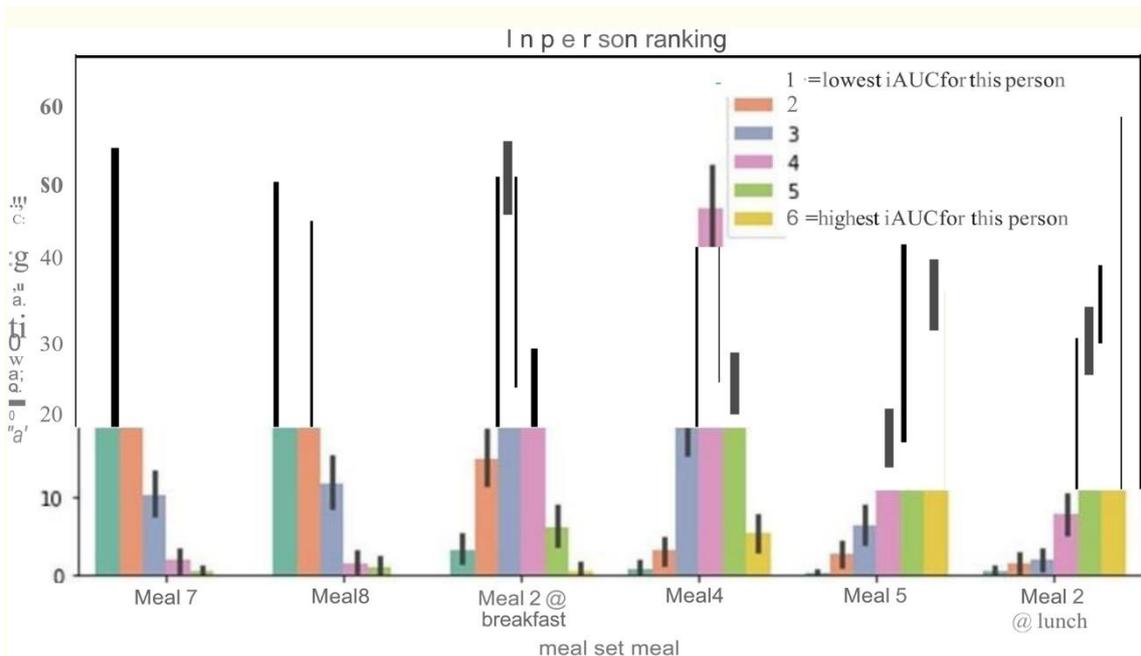
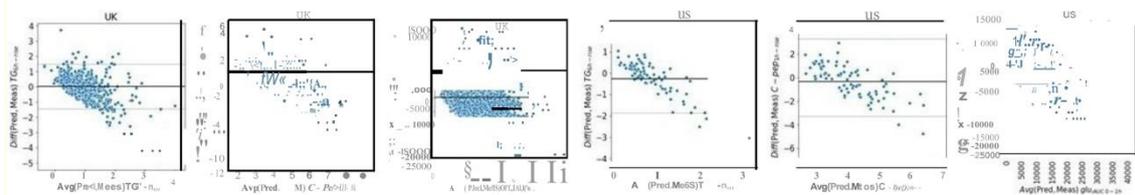


図 6a に示された 6 回の食事(高脂肪 40g=食事 7 回、高タンパク質=食事 8 回、英国平均値=食事 2 回、高炭水化物=食事 4 回、OGTT=食事 5 回、昼食時の英国平均値=食事 2 回)の個人レベルでのランキングの頻度分布。n=1102 人の参加者

61 拡張データ図 4.

a. Bland-Alt man plots comparing predicted and measured postprandial responses in TG, glucose and C-peptide using UK and US data. The sample sizes used n=number of meals: tri glyceride UK: n=958 US: n=91; C-peptide UK: n=957 US: n=93; Glucose UK:n=1150 US: n=1200

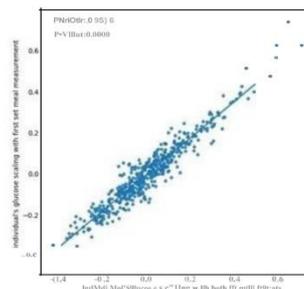


b. Leave-one-out cross-validated Pearson R scores in PREDICT UK. 5-fold cross validation for Triglyceride 6 hour rise on n=958 meals, for Glucose 2h iAUC on n=1150 meals, p-values shown for two-sided t-test

UK data set TG 6h-rise	Glucose Au co-2h
Leave-one-out 0.49, p = 2.03e-56	0.77, p = 0.0

c. comparison of models using repeat meals vs not using them

individual glucose scaling estimate using all repeat meals :
 18.7% change in glucose 2h iAUC 95% CI [17.9-19.5%]
 individual using only a single meal from each set (one OGTT, one high carb, one high fat etc).
 18.2% change in glucose 2h iAUC 95% CI [17.2-19.2%]



[以下にアクセスする:](#)

62 補足資料

63 付録の表

表示するにはここをクリックしてください。(264K,xlsx)

[以下にアクセスする:](#)

64 謝辞

PREDICT 1 試験の参加者に心から感謝する。本論文に対する貴重なフィードバックをいただいた Mark McCarthy(University of Oxford) とリアーン Hodson(University of Oxford)に感謝する。Zoe Global、Department of Twin Research、Massachusetts General Hospital のスタッフには、本研究の実施とデータ収集に貢献してくれたたゆまぬ努力に感謝する。Abbott 社の CGM の利用に対する支援に感謝する。本研究は Zoe Global Ltd の支援を受けたほか、Wellcome Trust(212904/Z/18/Z)および Medical Research Council(MRC)/British Heart Foundation Ancestry and Biological Informative Markers for Stratification of Hypertension(AIMHY;MR/M016560/1)からの助成金も受けた。

PWF は、European Research Council(CoG-2015_681742_NASCENT)、Swedish Research Council、Novo Nordisk Foundation および Swedish Foundation for Strategic Research(IRC award)からの助成金により一部支援を受けた。AMV は National Institute for Health Research Nottingham Biomedical Research Centre の支援を受けた。TwinsUK は、Wellcome Trust, Medical Research Council, European Union, Chronic Disease Research Foundation(CDRF), Zoe Global Ltd および National Institute for Health Research(NIHR)が資金を提供する BioResource, Clinical Research Facility および Biomedical Research Centre(Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust を拠点とし、King's College London と提携する)から資金提供を受けている。

[以下にアクセスする:](#)

65 脚注

利益相反に関する記述: TD スペクター、SE Berry、AM バルデス、F Asnicar、PW Franks、LM Delahanty、N Segata は、Zoe Global Ltd(「Zoe」)のコンサルタントである。J Wolf、G Hadjigeorgiou、R Davies、H Al ハティーブ、J Capdevilla、C ボネット、S 聖天、E Bakker、P Wyatt および I Lineneberg は、Zoe の従業員であるか、過去に従業員であった。他の著者らには、宣言すべき利益相反関係はない。

データの利用可能性

本研究の解析に用いたデータは、Kings College London の Twin Research 部門が保有している。データは、Wellcome Trust およびそのガイドラインが監督する通常の手順を用いて、当社のコア資金の一部として善意の研究者に開示することができる。当社のデータセットには毎年約 100 件のリクエストが寄せられており、月に 3 回独立したメンバーとのミーティングを開催して、提案を評価している。申請は <https://twinsuk.ac.uk/resources-for-researchers/access-our-data/> を介して行われる。つまり、データは匿名化され、GDPR の基準に適合する必要がある。具体的には、本論文では、モデルで使用されたすべての変数と、各個人のアウトカムの要約尺度を要求することができる。ここで用いた 16S 微生物叢のデータは、EBI のウェブサイト(無制限アクセスが可能な <https://www.ebi.ac.uk/>)にアップロードされる。

コードの入手可能性

統計解析用のスクリプトは、Department of Twins Research の要請に応じて無料で入手できる。申請は <https://twinsuk.ac.uk/resources-for-researchers/access-our-data/> を介して行われる。

[以下にアクセスする:](#)

66 参考文献

1. Collaborator, G.B.D.D. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990-2017: Global Burden of Disease Study 2017 の系統的解析。Lancet 393, 1958-1972 (2019). [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- 2 農業 (U.S.D.o.H.a.H.S.a.U.S.D.o.U.S.D.o.) 米国では 2015~2020 年の食生活指針。第 8 版。2015 年 12 月。 <https://health.gov/our-work/food-and-nutrition/2015-2020-dietary-guidelines/>. (2015) で入手可能。 [Google Scholar]
3. Karpyn A Food and public health: a practical introduction, xv, 368 pages (オックスフォード大学出版局、New York, 2018). [Google Scholar]
4. (EFSA)、E.F.S.A. Dietary Reference Values for nutrients Summary report. 10.2903/sp.efsa.2017.e15121 (2017). [CrossRef]

- 5.ゼエビ D et al.,Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses
細胞 163,1079-1094(2015).[PubMed][Google Scholar]
- 6.メタボロミクスによる精密栄養への道を拓く Tebani A&Bekri SFront Nutr
6,41(2019).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 7.Kolovou GD et al.Assessment and clinical relevance of non-fasting and
postnatal triglycerides:an expert panel statement.Curr バスク Pharmacol
9,258-70(2011).[PubMed][Google Scholar]
- 8.アストリーCM et al.,Genetic Evidence That Carbohydrate-Stimulated Insulin
Secretion Leads to Obesity.Clin Chem 64,192-200(2018)。 [PMC free
article][PubMed][Google Scholar]
- 9.Blaak EE et al.,Impact of postnatal glycemia on health and prevention of
disease.Obe Rev 13,923-84(2012)[PMC free article][PubMed][Google
Scholar]
- 10.Decode Study Group、t.E.D..Glucose tolerance と心血管死亡率:空腹時と 2
時間後の診断基準の比較 Arch Intern Med 161,397-
405(2001).[PubMed][Google Scholar]
- 11.Ning F et al.:欧州人における心血管疾患死亡率と正常血糖範囲内の空腹
時および 2 時間血漿血糖値との関係 Diabetes Care 33,2211-6(2010).[PMC
free article][PubMed][Google Scholar]
- 12.Bansal S et al.,女性における空腹時トリグリセリドと非空腹時トリグリセリドの
比較および心血管イベントのリスク JAMA 298,309-
16(2007).[PubMed][Google Scholar]
- 13.Norwegian Counties Study のリンドマン AS,Veierod MB,Tverdal
A,Pedersen JI&Selmer R 男女における非空腹時トリグリセリド値と心血管疾患
による死亡リスク Eur J Epidemiol 25,789-98(2010).[PMC free
article][PubMed][Google Scholar]
- 14.Jackson KG,Poppitt SD&Minihane AM 食後脂肪血症と心血管系疾患の
リスク:食事、生理的、遺伝的決定因子の相互関係アテローム性動脈硬化
220,22-33(2012)。 [PubMed][Google Scholar]
- 15.Stumvoll M,Goldstein BJ&van Haeften TW 2 型糖尿病:発生機序と治療法
の原則 Lancet 365,1333-46(2005).[PubMed][Google Scholar]
- 16.Moayyeri A,Hammond CJ,Hart DJ&スペクターTD The UK Adult Twin
Registry(TwinsUK Resource).Twin Res Hum ジェネット属 16,144-
9(2013).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

- 17.プロコペンコ I et al.ヒトの膵島機能の調節における GRB10 の中心的な役割 PLoS ジェネット属 10,e1004235(2014).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 18.Saxena R et al.GIPR の遺伝的変異は、経口ブドウ糖負荷に対するブドウ糖およびインスリンの反応に影響を及ぼす。Nat ジェネット属 42,142-8(2010).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 19.Wojczynski MK et al.,NHLBI Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network(GOLDN)の参加者を対象とした、高脂肪食に対するトリグリセリドの反応に関するゲノムワイド関連研究代謝 64,1359-71(2015)。[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 20.Sanna S et al.,腸内細菌叢と短鎖脂肪酸および代謝性疾患の因果関係 Nat ジェネット属 51,600-605(2019).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 21.Almgren P et al.Genetic Determinants of GIP and GLP-1 concentr-1 concentration.JCI Insight 2(2017).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 22.Wojcikowski M,Ballester PJ&Siedlecki P Structure-based virtual screening における機械学習スコアリング機能のパフォーマンス。Sci Rep 7,46710(2017).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 23.ヘイスティ T,Tibshirani R&Friedman J The Elements of Statistical Learning:Data Mining,Inference,and Prediction,(Springer;New York,2013).[Google Scholar]
- 24.Russell WR et al.,Impact of Diet Composition on Blood Glucose Regulation.Crit Rev Food Sci Nutr 56,541-90(2016).[PubMed][Google Scholar]
- 25.Jeong Y et al.,A Review of Recent Evidence from Meal-Based Diet Interventions and Clinical Biomarkers for Improvement of Glucose Regulation(食事ベースの食事介入と血糖調節改善のための臨床バイオマーカーからの最近のエビデンスのレビュー)Prev Nutr Food Sci 25,9-24(2020).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 26.Delahunty LM et al.,Diabetes Prevention Program における糖尿病発生率および心代謝特性の変化に対する体重減少、体重サイクル、および体重減少の維持の影響 Diabetes Care 37,2738-45(2014).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 27.Diabetes Prevention Program Research,G.et al.による、Diabetes Prevention Program Outcomes Study における糖尿病発生率および体重減少

- の 10 年間の追跡調査。Lancet 374,1677-86(2009).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 28.Knowler WC et al.生活習慣への介入またはメトホルミンによる 2 型糖尿病の発生率低下 N Engl J Med 346,393-403(2002).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 29.Papandonatos GD et al.,Genetic Prerequisite to Weight Loss and Regain With Lifestyle Intervention:Analyses From the Diabetes Prevention Program and the Look AHEAD Randomized Controlled Trials.糖尿病 64,4312-21(2015)。[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 30.Taylor R バンテイング記念講演(2012 年):2 型糖尿病の双子のサイクルを逆転させる糖尿病 30,267-75(2013).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 31.Bell KJ et al.,Impact of fat,protein,and glycemic index on postnatal glucose control in 1 型糖尿病:implications for intensive diabetes management in the continuous glucose monitoring(持続血糖モニタリング時代における集中的な糖尿病管理の意義).Diabetes Care 38,1008-15(2015).[PubMed][Google Scholar]
- 32.ハンソン P et al.,Meals that Similar Fat content from Different Dairy Products in Healthy Adults:A Randomized Controlled Cross-Over Trial:Induced Different Postnatal Triglyceride Response in Healthy Adults:A Randomized Controlled Cross-J Nutr 149,422-431(2019).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 33.Atkinson FS,Hancock D,Petocz P&Brand-Miller JC ヒトアマラーゼ遺伝子のコピー数における変動の生理学的および表現型的意義。Am J Clin Nutr 108,737-748(2018)。[PubMed][Google Scholar]
- 34.Gardner CD et al.,Effect of Low-Fat vs Low-Carbohydrate Diet on 12-Month Weight Loss in Overweight Adults and the Association With Genotype Pattern or Insulin Secretion:The DIETFITS Randomized Clinical Trial.JAMA 319,667-679(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 35.Viitasalo A et al.,小児および青年における体脂肪を増加させるが心代謝リスクを低下させる遺伝的素因 Int J Obes(Lond)43,2007-2016(2019).[PubMed][Google Scholar]
- 36.Hughes RL,Kable ME,Marco M&ケイム NL The Role of the Gut microbiome in Predicting Response to Diet and the Development of Precision Nutrition Models(食事に対する反応の予測と精密栄養モデルの開発における腸内細菌

叢の役割)パート II:結果 Adv Nutr(2019).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

37.Lee JG et al.,Deep Learning in Medical Imaging:General Overview.韓国 J Radiol 18,570-584(2017).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

38.Dubois C et al.Effects of graded amount(0-50 g)の食事脂肪が、正常脂血症の成人における食後の脂血症およびリポ蛋白に及ぼす影響 Am J Clin Nutr 67,31-8(1998)。[PubMed][Google Scholar]

39.Garcia-Perez I et al.代謝表現型を用いた食事パターンの客観的評価:ランダム化比較クロスオーバー試験。Lancet Diabetes Endocrine 5,184-195(2017).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

40.ジーラー社 Jらによる「腸内細菌叢の機能的読み出しとしての糞便メタボローム」Nat ジェネット属 50,790-795(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

41.ベリーS,DD,Lineberg I,Wolf J,Hadjigeorgiou G,Davies R,Al ハティーブ H,Hart D,Surdulescu G,Yarand D,Nessa A,シーディーA,Vijay A,Asnicar,Segata N,Chan A,Franks P,バルデス A,スペクターT.Personalized RESPONSEs to Dietary Composition Trial(PR ED):食物に対する食後の反応の個人差を測定するための介入試験。Protocol Exchange(2020).[Google Scholar]

42.Verdi S et al.TwinsUK:The UK Adult Twin Registry Update.Twin Res Hum ジェネット属、1-7(2019).[PubMed][Google Scholar]

43.マリガン AA et al.食物摂取頻度調査法データを栄養素および食品群の値に変換するための新しいツール:FETA の研究方法と利用可能性 BMJ Open 4,e004503(2014).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

44.Flint A、Raben A、Blundell JE&Astrup A 単回試験における食欲感覚評価における視覚的アナログ尺度の再現性、検出力及び妥当性 Int J Obes Relat Metab Disord 24,38-48(2000).[PubMed][Google Scholar]

45.キャラハン BJ et al.,DADA2:illumina アンプリコンデータから推定した高分解能試料 Nat 法 13,581-3(2016).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

46.Gloor GB,Wu JR,Pawlowsky-Glahn V&Egozcue JJ いずれも相対的なものであり、マイクロバイオームのデータを組成として分析する。Ann Epidemiol 26,322-9(2016).[PubMed][Google Scholar]

47.Thomas AM et al.,Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets (により、クロスコホートの微生物学的診断シグネチャーとコリン分解との関連が同定された。Nat Med 25,667-678(2019).[PubMed][Google Scholar]

- 48.Soininen P,Kangas AJ,Wurtz P,スナ川 T&Ala-コルペラ M 心血管疫学および遺伝学における定量的血清核磁気共鳴メタボロミクス *CircCardiovasc ジェネット* 8,192-206(2015). [PubMed][Google Scholar]
- 49.乾燥血斑中のヨハンセン J,ベッカーC,パーシオン NG,Fex M&Torn C C-ペプチド *Scand J Clin Lab Invest* 70,404-9(2010).[PubMed][Google Scholar]
- 50.Samson CE,Garia AL,Llave KI,ザカリアス MB および Mercado-Asis LB 治療を行っても基礎心疾患を有する患者におけるトリグリセリドおよび VLDL の食後のピークおよびプラト一期 *Int J Endocrinol Metab* 10,587-93(2012).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 51.マドゥーS,アントニオ・ナエルソン B,Aslam M,Mehrotra G&Dwivedi S 糖尿病患者の糖尿病前一親等における食後トリグリセリド反応および内皮機能 *J Clin Lipidol* 11,1415-1420(2017).[PubMed][Google Scholar]
- 52.Nakamura A et al.,Different postnatal lipid metabolism and insulin resistance between non-diabetic patients with an coronary artery disease.*J Cardiol* 66,435-44(2015).[PubMed][Google Scholar]
- 53.van Hees VT et al.,Estimator を用いた睡眠日誌を用いない睡眠パラメータの推定 *Sci Rep* 8,12975(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 54.エイテル I et al.,Genome-wide association study in たこつぼ syndrome- Preliminary results and future directions.*Int J Cardiol* 236,335-339(2017).[PubMed][Google Scholar]
- 55.Slinker BK&Glantz SA 生理学的データ解析のための重回帰:多重共線性の問題。 *Am J Physiol* 249,R1-12(1985).[PubMed][Google Scholar]
- 56.ツイン解析における遺伝子と環境の相互作用に関するパーセル S 分散構成要素モデル *Twin Res* 5,554-71(2002).[PubMed][Google Scholar]
- 57.Gelman A&Hill J *Data Analysis using regression and multilevel/hierarchical models*,xxii,625 p.(ケンブリッジ大学出版局、Cambridge;New York,2007).[Google Scholar]
- 58.Salvatier J、Wiecki TV、Fonnesbeck C *PyMC3 を使った Python での確率的プログラミング*。 *Peerj Computer Science*(2016 年)[Google Scholar]
- 59.Goff DC Jr.et al.,2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk:a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.*Circulation* 129,S49-73(2014).[PubMed][Google Scholar]
- 60.American Diabetes,A.2「糖尿病の分類と診断」*Diabetes Care* 39 Suppl 1,S13-22(2016).[PubMed][Google Scholar]