

氏名	中嶋 智美
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博乙第 3022 号
学位授与年月	令和 3 年 12 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	ワルファリン内服患者のための低ビタミン K 含有納豆の開発と臨床試験

主査	筑波大学教授	博士（薬学）	本間 真人
副査	筑波大学教授	医学博士	山海 知子
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	石津 智子
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	錦井 秀和

論文の内容の要旨

中嶋智美氏の博士學位論文は、低ビタミン K 含有納豆を開発し、ワルファリン服用患者がその納豆を摂取してもワルファリンの効果に影響しないことを臨床研究で検証したものである。その要旨は以下のとおりである。

ワルファリンはビタミン K の代謝に拮抗し、ビタミン K 依存凝固因子を阻害する経口抗凝固薬であり、その服用にあたってはビタミン K との薬物相互作用が問題となる。すなわち 150 μ g/日以上のビタミン K の摂取はワルファリンの抗凝固効果を減弱させるため、ワルファリン服用中の患者ではビタミン K を含む医薬品や食品の摂取が制限されている。納豆はビタミン K₂（主体はメナキノ-7：MK-7）を含有する（900 μ g/100g）食品であり、ワルファリン服用中の摂取は禁止されている。著者は、ワルファリン服用患者でも安全に摂取可能な低 MK-7 納豆を開発すること、および低 MK-7 納豆の安全性やワルファリン服用患者における許容可能量を確認することを目的として研究を行なっている。

（方法）

著者は、市販の納豆に使用する納豆菌の *Bacillus subtilis* (natto) strain TTCC904-2 を紫外線に暴露し、従来の約 44-62%まで MK-7 の産生を抑える strain TTCC2051（低 MK-7 納豆菌）を発見している。さらに発酵時間と発酵前の煮豆へのグルタミン酸添加を検討し、MK-7 含有量を通常の 20%まで低減した低 MK-7 納豆を開発している。また、この納豆について粘度の定量試験と官能試験によって独特の風味、外観、香り、食感、糸引きを評価している。

著者は、健康ボランティア 10 名（男性/女性：5/5、39.3 \pm 11.8 歳）を対象とした摂食試験を行い、

低 MK-7 納豆の摂取が血清 MK-7 値に与える影響を通常納豆と比較している。Sample L-10g（低 MK-7 納豆 10g、MK-7 含量：27 μ g/10g/日）、Sample S-10g（通常納豆 10g、MK-7 含量：119 μ g/10g/日）、Sample S-50g（通常納豆 50g、MK-7 含量：595 μ g/50g/日）の 7 日間連続摂食試験を行い、その前後で血清 MK-7 値、血清メナキノン-4 値（MK-4）、血清ビタミン K1（PK）値を測定している。血清 MK-7 値、MK-4 値および PK 値の測定に用いた高性能液体クロマトグラフィーの定量限界はそれぞれ 1.0 ng/mL、0.06 ng/mL および 0.06 ng/mL であり、それ未満の値は参考値として取り扱っている。

また著者は、ワルファリン服用患者に対する低 MK-7 納豆の安全性の確認および許容摂取量を検討している。患者 10 名（男性/女性：6/4、35.2 \pm 13.6 歳）を対象とし、Sample L-10g（低 MK-7 納豆 10g、MK-7 含量：22~23 μ g/10g/日）とその 2 倍量の Sample L-20g を 7 日間連続摂取した前後で血清 MK-7 値、プロトロンビン時間国際標準比（PT-INR）を測定している。

（結果）

低 MK-7 納豆菌を用い、発酵時間を従来の 2/3 へと短縮し、発酵前の煮豆にグルタミン酸を添加することで製造した納豆は、MK-7 含有量が 220 μ g/100g と通常の 19-24%に低減することを確認している。また低 MK-7 納豆は、通常納豆と比較して糸引きの粘度がやや低値であるが、独特の風味、外観、香り、食感などは同等であることを官能試験によって確認している。

健康ボランティアを対象とした摂食試験において、通常納豆の Sample S-10g と Sample S-50g の摂取後の血清 MK-7 値は、参考値も含めてそれぞれ 3.0 \pm 1.3 ng/mL と 13.7 \pm 5.9 ng/mL であり、低 MK-7 納豆の Sample L-10g 摂取後（1.5 \pm 0.7 ng/mL）の方が低いことを確認している。なお、血清 MK-4 値は Sample S-10g を投与した 1 例を除いて全て定量限界未満であり、血清 PK 値は Sample L-10g、Sample S-10g、いずれの摂取でも有意な変化を認めていない。

ワルファリン服用患者を対象とした摂食試験において、Sample L-10g の摂取後の血清 MK-7 値は 2 名（1.6 ng/mL と 2.7 ng/mL）を除いて全て定量限界未満であり、PT-INR 値も摂取前後で有意な変化を認めていない（それぞれ 1.72 \pm 0.33 と 1.61 \pm 0.32）。Sample L-20g の試験でも、摂取後の血清 MK-7 値は 2 例（1.3 ng/mL と 1.7 ng/mL）を除いて全て定量限界未満であり、PT-INR は摂取前後で有意な変化を認めていない（それぞれ 1.52 \pm 0.34 と 1.44 \pm 0.28）。

（考察）

著者は納豆摂取が制限されるワルファリン服用患者へ向けて、日常的に摂取できる低 MK-7 納豆の開発を試みている。疾病治療中の食事制限では、代用食品や模造食品が推奨されるが、納豆は特徴的な風味と食感のため模造が困難である。特にうまみや納豆に特徴的な糸引きを維持しながら、ワルファリンの効果を減弱する MK-7 含有量を減らすことは極めて難しい。開発した低 MK-7 納豆は、風味や食感の点ではまだ改善の余地はあるものの、許容可能な糸引きと官能性を有していると、著者は考えている。

低 MK-7 納豆の MK-7 含有量は、22-27 μ g/10g であり、これは茹でたブロッコリー 10g や炒めたほうれん草 10g に相当する。ワルファリン服用患者のビタミン K 摂取許容量は 150 μ g/日以下とされており、許容範囲内の低 MK-7 納豆を 1 日 20g（MK-7 を 44 μ g 含有）、7 日間の連続摂取であっても、PT-INR の短縮などワルファリンの効果に影響しないことを患者での摂食試験で確認している。このことから著者は、低 MK-7 納豆はワルファリン服用中の日常の食事に安全に追加できると考えている。

（批評）

著者は、1 日 1 回 20g の摂取であれば、PT-INR 値に有意な変化をもたらすことなく、ワルファリン服

用患者でも摂取できる低 MK-7 納豆を開発した。著者が行った低 MK-7 納豆に関する研究はワルファリン服用患者に対して納豆摂取の機会を確保する点で有用であり、患者の生活の質向上に寄与する食品として期待される。

令和 3 年 11 月 1 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、学力の確認を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。