

筑波大学

博士（医学）学位論文

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

2021

筑波大学

中 嶋 智 美

# 論 文 概 要

## 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

## 紹介教員：

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻  
平松祐司教授

所 属：筑波大学附属病院 心臓血管外科

氏 名： 中嶋 智美

## 目的：

ワルファリンはビタミン K 代謝に拮抗し、ビタミン K 依存凝固因子の合成を阻害する経口抗凝固薬である。納豆は水溶性ビタミン K2 を 600-1000 µg/100 g と多量に含有しており、その主体はメナキノン-7 (MK-7) である。150 µg/日以上のビタミン K 摂取はワルファリンの抗凝固効果に影響を及ぼす可能性が示されており、ワルファリンによる抗凝固療法中の患者は納豆の摂取が禁止されている。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量を確認することを目的とした。

## 対象と方法：

市販の納豆に使われている納豆菌、*Bacillus subtilis (natto) strain TTCC904-2* を親株とし、紫外線に暴露し、従来の納豆菌の約 44-62 %の MK-7 を含有する *Bacillus subtilis (natto) strain TTCC2051* (低MK-7納豆菌)を同定した。発酵時間を従来の 2/3 へと短縮し、発酵前に煮豆にグルタミン酸を添加することで、納豆らしい糸引きと独特の風味を得られるようにした。外観、香り、風味、食感、糸引きの 5 項目の官能評価を行い、糸引きについては粘度の定量評価も行った。

開発した低 MK-7 納豆を用いて健康ボランティアを対象とした摂食試験を行い、低 MK-7 納豆と通常納豆の摂取が血清 MK-7 値に与える影響を確認した。20 歳から 59 歳までの健康なボランティア 10 名を対象とし、Sample L-10g (低 MK-7 納豆 10 g、MK-7 = 27 µg/10 g/日)、Sample S-10g (通常納豆 10 g、MK-7 = 119 µg/10 g/日)、Sample S-50g (通常納豆 50 g、MK-7 = 595 µg/50 g/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 (MK-4) 値、血清ビタミン K1 (PK) 値を測定した。これらの測定は高性能液体クロマトグラフィーを用いて行った。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た。

ボランティアを対象とした摂食試験の結果を用いて、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の検討のための臨床試験を計画した。20 歳から 69 歳、かつ、臨床ガイドラインに基づき、必須とされていない理由でワルファリンを服用している患者 10 名を対象とし、Sample L-10g (低 MK-7 納豆 10 g、MK-7 = 22-23 µg/10 g/日) 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) を測定した。Sample L-10g の摂食試験後、安全性が確認され、試験継続が許可された者に対

して、Sample L-20g（低 MK-7 納豆 20 g、MK-7 = 44-46  $\mu\text{g}/20 \text{ g}/\text{日}$ ）を用いてさらに 7 日間の連続摂食試験を行い、同様に血清 MK-7 値、PT-INR 値を測定した。

## 結果：

低 MK-7 納豆菌を用いて作成した納豆は通常の納豆と比較して糸引きの粘度が低値であったが、短時間発酵であってもグルタミン酸を添加することにより粘度は倍増した。作成した低 MK-7 納豆は通常の納豆の 19-24%に相当する 220  $\mu\text{g}/100 \text{ g}$  まで MK-7 含有量を低減した上で、官能評価や糸引きについても一定の満足が得られる評価となった。

健康ボランティアを対象とした摂食試験には 39.3  $\pm$  11.8 歳の 10 名が参加し、うち 5 名が女性 (50%) であった。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 摂取後は 1.5  $\pm$  0.7 ng/mL とより低値を示していた。血性 MK-4 値は Sample S-10g を摂取した 1 例を除いて全例定量限界未満であり、血性 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なかった。

ワルファリン服用患者を対象とした臨床試験には 35.2  $\pm$  13.6 歳 (20 - 54 歳) の 10 名が参加し、うち 4 名が女性 (40%) であった。Sample L-10g の 7 日間の納豆摂取後、血清 MK-7 値が定量限界以上となったものは 2 例 (1.6, 2.7 ng/mL) であり、PT-INR は摂取前 1.72  $\pm$  0.33 から摂取後 1.61  $\pm$  0.32 ( $p = 0.46$ ) と有意な変化を認めなかった。全 10 名が参加した Sample L-20g の試験では、摂取後に血清 MK-7 値が定量限界以上となったものは 2 例 (1.3, 1.7 ng/mL) であり、PT-INR は摂取前 1.52  $\pm$  0.34 から摂取後 1.44  $\pm$  0.28 ( $p = 0.59$ ) と有意な変化を認めなかった。

## 考察：

我々は納豆摂取が日常生活において大切な意味をもつ日本のワルファリン服用患者へ向けて、初めて低 MK-7 納豆を開発し、試験を行い報告することに成功した。治療中の食事制限にあたっては、代用食品や模造食品が推奨されることも多いが、納豆はその特徴的な風味と食感のため、容易に模造することができない。

安全性の担保は最も重要な課題である。我々の低 MK-7 納豆の MK-7 含有量は 10 g あたり 22-27  $\mu\text{g}$ 、20 g あたり 44-54  $\mu\text{g}$  である。これはゆでたブロッコ

リー10 g や油で炒めたほうれん草 10 g と同等のビタミン K 含有量であり、ワルファリン服用患者のビタミン K 摂取許容量の 150  $\mu\text{g}$ /日以下である。臨床試験の結果から、MK-7 はおよそ 44  $\mu\text{g}$ /日、7 日間の連続摂取までであれば安全であることがわかった。PT-INR が短縮しなかったこと、他の食品の影響がないことから、この新開発の納豆は日常の食事に安全に追加することが可能であると考えられる。

この納豆が広く受け入れられるために重要な 2 つ目の点は、納豆の独特な品質、とりわけ風味や食感を可能な限り維持することである。うまみや納豆に特徴的な糸引きを維持しながら MK-7 含有量を減らすことは極めて難しい。風味や食感の点ではまだ改善の余地はあるものの、MK-7 含有量を低値に保ちながら許容可能な糸引きと官能性を生み出すことができた。

## 結論：

低 MK-7 納豆は 1 日 1 回最大 20 g 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安全に摂取できる。長期の安全性や 1 日最大摂取許容量の確認のためにさらなる研究が必要ではあるが、納豆という文化的にも重要な食品に触れる機会が得られることで、ワルファリン服用患者の生活の質向上がもたらされるものと考えられる。