

大豆サポニンとビタミンK2（メナキノン-7）の構造・吸収・機能

誌名	日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi = Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology
ISSN	1341027X
著者名	佐藤, 俊郎 加茂, 修一
発行元	日本食品科学工学会
巻/号	60巻9号
掲載ページ	p. 527-533
発行年月	2013年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



大豆サポニンとビタミン K₂(メナキノ-7) の構造・吸収・機能

佐藤俊郎*, 加茂修一

株式会社 J-オイルミルズ ファイン研究所

Structure, Absorption and Functions of Soyasaponins and Vitamin K₂ (Menaquinone-7)

Toshiro Sato* and Shuichi Kamo

Fine Chemical Laboratory, J-OIL MILLS, Inc., Nakashinden 1746, Fukuroi-city, Shizuoka 437-1111

Soyasaponins : Soyasaponins are triterpene glycosides that possess an oleanane-type aglycone with 1 or 2 polysaccharide chains. Due to differences in the aglycone compounds, soyasaponins are mainly classified as group A or B soyasaponins. Soyasaponins, especially group B soyasaponins, have been reported to have several physiological functions such as antioxidative, cholesterol-lowering, antiviral, anti-inflammatory, renin-inhibiting, hepatoprotective, and antitumor effects. We found that group B soyasaponins are more readily absorbed than group A soyasaponins, which may explain why group B soyasaponins exhibit more potent effects.

Vitamin K₂ : Vitamin K is a cofactor required for post-translational gamma-carboxylation of vitamin K-dependent proteins, including coagulation factors, anti-coagulation factors, osteocalcin (OC) in bone, and matrix Gla proteins (MGP) in arteries. Among major vitamin K homologues in foods, only vitamin K₂ as menaquinone-7 (MK-7) can activate osteocalcin, which modulates bone structure at nutritional doses. Vitamin K₂ also induces collagen accumulation in bone, contributing to bone quality and strength. In addition, MK-7 activates MGP, an artery calcification inhibitor, and is reported to be associated with the prevention of cardiovascular diseases. The higher efficacy of MK-7 compared to other vitamin K homologues is due to the better absorption and longer half-life of MK-7. (Accepted Mar. 6, 2013)

Keywords : soyasaponins, soyasapogenols, vitamin K, vitamin K₂, menaquinone-7

キーワード : 大豆サポニン, ソヤサポゲノール, ビタミン K, ビタミン K₂, メナキノ-7

1. はじめに

大豆食品中には様々な機能性成分があることが知られ、大豆食品は健康維持に優れた食品であると認識されている。タンパク、イソフラボン、レシチン、ビタミン E など、大豆食品に含まれる機能性成分について数多くの研究がなされてきた。大豆サポニンも古くから脂質代謝に関する研究が行われるなど、機能性成分として知られていたが、吸収性など不明な点が多い素材であった。また、日本の伝統食品である納豆に含まれるビタミン K₂はメナキノ-7と呼ばれる成分でバイオアベイラビリティが高く、栄養摂取基準の範囲で骨代謝や動脈硬化に対する効果が期待されるようになってきた。本稿では大豆食品に含まれる大豆サポニンと納豆に含まれるビタミン K₂の構造・吸収・機能について紹介する。

2. 大豆サポニン

(1) 構造と分布

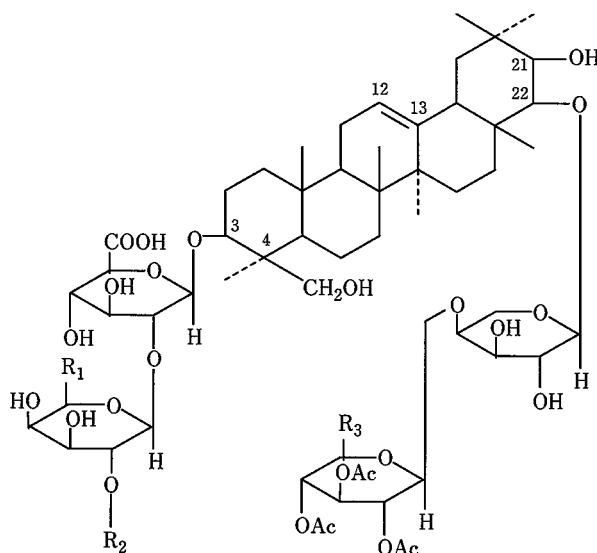
大豆サポニンは、oleanane 型アグリコンに 1 ないし 2 つの糖鎖を保持するトリテルペン配糖体であり、ソヤサポゲノール A をアグリコンとするサポニン A グループとソヤサポゲノール B をアグリコンとするサポニン B グループに大別される (図 1, 2)。大豆サポニン A グループは大豆胚軸に多く含まれ、大豆サポニン B グループは大豆子葉中に多く含まれる。大豆種子全体では、子葉の比率が圧倒的に高いため、大豆食品に含まれる主なサポニンは大豆サポニン B グループである。

(2) 機能

大豆サポニンは、食品添加物として認められており、その主な機能は乳化機能である。乳化機能は A グループの方が優れており、食品添加物として利用されるサポニンは大豆胚軸から抽出製造される。ただ、A グループは B グ

〒437-1111 静岡県袋井市中新田 1746

* 連絡先, toshiro.sato@j-oil.com



	分子量	R ₁	R ₂	R ₃
soyasaponin Aa (A4)	1365	CH ₂ OH	β-D-Glc	H
soyasaponin Ab (A1)	1437	CH ₂ OH	β-D-Glc	CH ₂ OAc
soyasaponin Ac	1422	CH ₂ OH	α-L-Rha	CH ₂ OAc
soyasaponin Ad	1408	H	β-D-Glc	CH ₂ OAc
soyasaponin Ae (A5)	1203	CH ₂ OH	H	H
soyasaponin Af (A2)	1275	CH ₂ OH	H	CH ₂ OAc
soyasaponin Ag (A6)	1173	H	H	H
soyasaponin Ah (A3)	1245	H	H	CH ₂ OAc

Glc, glucose
Rha, rhamnose
Ac, acetyl group

図1 大豆サポニン A グループの種類および構造

グループと比べ苦味および収斂味が強い欠点を有する¹⁾。そのほか、大豆サポニンは、抗酸化機能²⁾³⁾も知られており、食品添加物としての利用のほか、機能性食品の素材として利用されてきた。

健康機能としては、コレステロール低下作用⁴⁾、抗ウイルス作用⁵⁾、抗炎症作用⁶⁾、レニン阻害作用⁷⁾、肝機能保護作用⁸⁾、抗腫瘍作用^{9)~11)}、血糖値上昇抑制作用¹²⁾などが報告されている。これらの効果のうちの多くが、大豆サポニン B グループに見出されている^{4)~8)10)~12)}。

(3) 抗肥満、抗メタボリックシンドローム作用

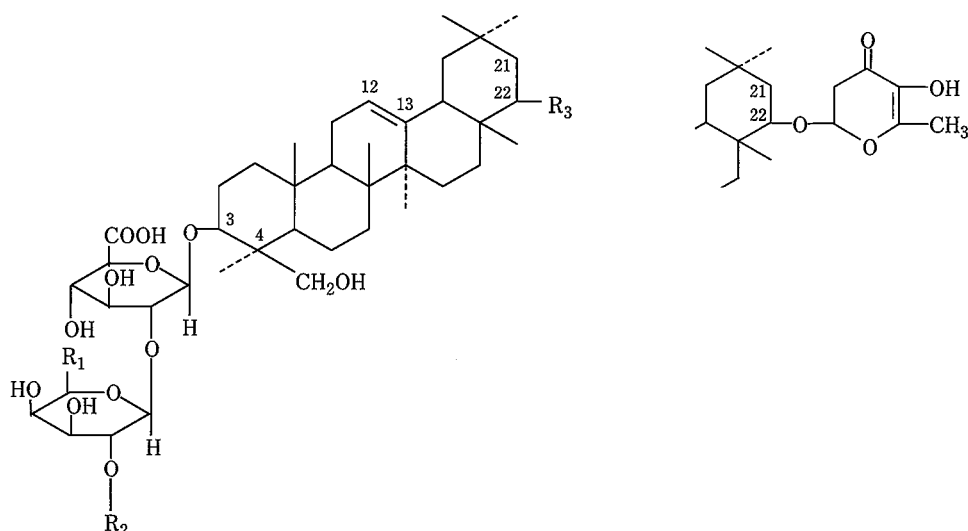
ゴールドチオグルコースによる肥満モデルマウスには、小腸の sucrase 活性上昇および小腸絨毛面積の拡大がみられる。このマウスに、10, 50, 100mg/kg 体重の大豆サポニンを7週間投与すると、投与量依存的に sucrase 活性が低下し、小腸絨毛面積が縮小し、さらに体重増加も抑制されることが報告されている¹³⁾。

ゴールデンハムスターに高脂肪食と大豆サポニン B グループを 128mg/kg 体重/日、4週間摂取させた研究において、糞中の胆汁酸および中性ステロールの増加、血中の総ステロールおよび中性脂質が低下することが示された⁴⁾。

2型糖尿病モデルマウスである KK-Ay マウスに対して、大豆サポニン A グループおよび B グループを 0.5% 混餌投与した研究において、A グループ投与群ではコントロールと比べて血糖値に差が認められず、B グループ投与群では有意に血糖値の上昇が抑制されていた¹²⁾。

また、血圧調節の要となる酵素レニンの活性阻害成分として大豆サポニン B グループの代表的な同族体であるソヤサポニン I が同定された。高血圧自然発症モデルラットである SHR ラットに対してソヤサポニン I を 40mg/kg 体重、7週間投与した実験において、収縮期血圧の上昇が抑制されることが報告されている⁷⁾。

(4) 大豆サポニンの吸収



	分子量	R ₁	R ₂	R ₃
soyasaponin Ba (V)	959	CH ₂ OH	β-D-Glc	OH
soyasaponin Bb (I)	943	CH ₂ OH	α-L-Rha	OH
soyasaponin Bc (II)	913	H	α-L-Rha	OH
soyasaponin Bb' (III)	797	CH ₂ OH	H	OH
soyasaponin Bc' (IV)	767	H	H	OH
soyasaponin αg	1085	CH ₂ OH	β-D-Glc	O-DDMP
soyasaponin βg	1069	CH ₂ OH	α-L-Rha	O-DDMP
soyasaponin βα	1039	H	α-L-Rha	O-DDMP
soyasaponin γg	923	CH ₂ OH	H	O-DDMP
soyasaponin γa	893	H	H	O-DDMP

Glc, glucose

Rha, rhamnose

O-DDMP, 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one

図 2 大豆サポニン B グループ (左) および DDMP グループ (右) の種類と構造

上記のような、様々な生理活性が報告されているにもかかわらず、大豆サポニンの吸収に関しては不明なままであった¹⁴⁾¹⁵⁾。我々は、*in vivo* および *in vitro* の系で大豆サポニンの吸収の評価系を確立し、サポニン A グループと B グループの吸収性を調べた。その結果、大豆サポニン B グループの方がよく吸収されることがわかった。大豆サポニンのうち B グループの活性が高いのは、吸収性の違いによることも一因と示唆された¹⁶⁾。

3. ビタミン K₂ (メナキノ-7)

(1) 構造と分布

ビタミン K 活性のある化合物は 2-メチル-1,4-ナフトキノ環を持ち、3 位の炭素につく構造が異なる同族体がある。自然界に存在するビタミン K には、植物に含まれるビタミン K₁ と主に微生物によって作られるビタミン K₂ (メナキノ-n, MK-n) がある (図 3)。ビタミン K₁ は、緑黄色

野菜に比較的多く含まれ、ヒトの主要なビタミン K 源となっている。ビタミン K₂ は、納豆に MK-7 が例外的に多く含まれている他は、動物性食品中に MK-4 が、また、発酵食品中に MK-5~MK-9 がごく微量含まれるのみである¹⁷⁾。

(2) 補因子としての機能

ビタミン K は、ビタミン K 依存性タンパク質中に存在する特異的なグルタミン酸残基を γ-カルボキシグルタミン酸 (Gla) に転換するのに必要なビタミンである。プロトンピンなど血液凝固に関わる因子にビタミン K 依存性タンパク質が多く、ビタミン K は正常な血液凝固に必須の栄養素である。血液凝固系以外では骨芽細胞から作られるオステオカルシン (OC) や血管などで作られるマトリックス Gla タンパク質 (matrix Gla protein; MGP) の機能に関して注目されている。カルシウムが血管に沈着 (石灰化) すると動脈が硬くなり弾力性がなくなるが、MGP は血管

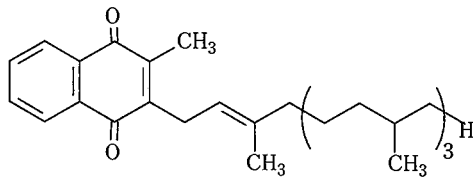
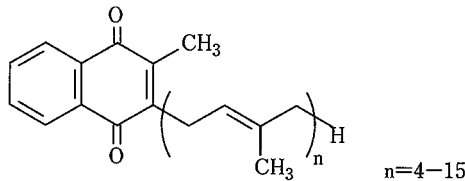
ビタミンK₁ (フィロキノン)ビタミンK₂ (メナキノン, MK-n)

図3 ビタミンKの構造

の石灰化を防止し動脈硬化を防いでいる。血液凝固系でビタミンK不足になることはないが、OCやMGPの活性化を指標にするとビタミンKが必ずしも充足していないと考えられている¹⁸⁾。

(3) ビタミンKの吸収と同族体の比較

ビタミンKは、小腸から吸収されキロミクロンにとりこまれ、リンパを介して肝臓に移行する。肝臓に運ばれたビタミンKは、血液凝固に関わる因子を活性化されるのに利用されるほか、LDLを介して血中を移動し臓器へ運ばれる。腸内細菌は、長鎖MK (MK-8~MK-13) を多く作る。従来、腸内細菌の作るMKを利用できるので成人ではビタミンK欠乏は起こらないと考えられてきた。しかしながら、腸内細菌由来のMKを遠位消化管から吸収することは難しく¹⁹⁾、腸内細菌由来のMKの利用だけでは、ビタミンKを十分に得ることができないことが知られている²⁰⁾²¹⁾。

ビタミンK₁、MK-4およびMK-7が食品由来のビタミンKとして多く摂取されている。これらのうち、ビタミンK活性は、MK-7などの側鎖の長いビタミンK₂の活性が高いことが動物実験²²⁾²³⁾ならびにヒト試験¹⁷⁾²⁴⁾で明らかにされている。MK-7とビタミンK₁との吸収性比較試験では、MK-7の血中半減期がより長く、効果が持続することが確認されている²⁴⁾。また、栄養レベルの摂取量の場合、MK-7摂取により血中MK-7濃度が顕著に上昇するのにに対し、MK-4摂取では血中にMK-4は検出されず、MK-4のバイオアベイラビリティは低い(図4)²⁵⁾。OCを活性化するためにはMK-4を1日1500 μ g摂取する必要がある²⁶⁾のに対し、MK-7は45~90 μ g程度の栄養レベルでの摂取で効果が認められる²⁷⁾²⁸⁾。

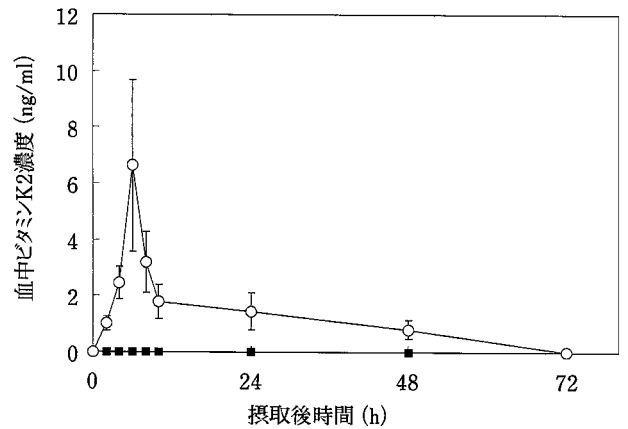


図4 ヒトにおけるメナキノン-4とメナキノン-7の吸収性の比較²⁵⁾

■=MK-4; ○=MK-7, Mean \pm SEM, n=5.

ビタミンK不足になると血中の低カルボキシル化OC (undercarboxylated OC; ucOC)が増加するが、高齢者の血中ucOC濃度と大腿骨頸部骨折のリスクが相関する²⁹⁾³⁰⁾。ucOCは大腿骨頸部骨折の独立したリスクファクターとされており、食品からのビタミンKの積極的な摂取が重要と考えられる。

(4) 骨質とビタミンK

強く折れにくい骨を形成するためには、骨密度を高めるだけでなく、骨質も重要視されている。ビタミンKの骨代謝に対する効果の特徴として骨質に対する効果が注目されている。骨粗鬆症モデルである卵巣摘出ラットを用いた実験において、偽手術(Sham)群に対して卵巣摘出(OVX)群で骨密度が顕著に下がったのに対し、MK-7投与群で骨密度の低下が有意に改善された(図5)³¹⁾。このとき骨密度に対する効果はそれほど高くないのに対し、MK-7投与群の骨強度は、卵巣摘出群と比べて顕著に高くなった(図5)。すなわち、MK-7の骨に対する効果は、骨密度に対する作用よりも、骨の質的な改善をすることにより骨強度を高めることが示唆された。また、閉経後の女性に対してMK-4(45mg/日)を3年間投与した結果、骨密度には変化が見られないものの、骨量の減少が抑制されており、骨強度の指標は維持されていることが報告されている³²⁾。

ビタミンKの骨質に対する作用に関わる因子として、OCとコラーゲンがある。OCを欠損したマウスでは、骨がむしろ太くなる³³⁾が、骨の脆弱性が高まっており、骨質は悪くなっていた³⁴⁾。このことから、OCは骨代謝をコントロールし、骨質を維持する機能を有していると考えられている。一方、コラーゲンは骨の体積の半分近くを占め、カルシウムやマグネシウムなどのミネラルがつく基礎を形成するとともに、骨の弾力性に寄与していると考えられる。ビタミンKのうち、ビタミンK₂には、骨芽細胞から生産されるコラーゲンを蓄積させる機能が明らかにされてい

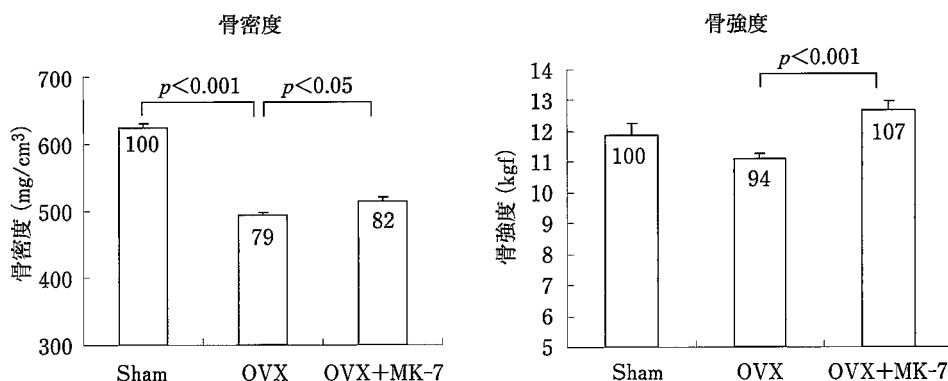


図 5 卵巣摘出ラットの骨密度および骨強度に対するビタミン K₂ (メナキノン-7) の効果⁴¹⁾

Sham, 偽手術群; OVX, 卵巣摘出対照群; OVX+MK-7, 卵巣摘出 MK-7 投与群.
Mean ± SEM, n=10.

る³⁵⁾. MK-7 は, 骨形成に関わる骨芽細胞を活性化し³⁶⁾, 骨吸収 (骨の破壊) に関わる破骨細胞の作用を抑制し³⁷⁾, 骨代謝を調節することも知られている. MK-7 の骨形成および骨吸収に対する作用は, MK-7 が NF-κB の活性化経路を抑制することにより作用するものであることが明らかにされている³⁸⁾.

(5) 動脈硬化とビタミン K

動脈にカルシウムが沈着する動脈石灰化が動脈硬化症の重要な症状の 1 つとして認識されるようになってきた. 血管で作られるビタミン K 依存性タンパク質である MGP は, 最も強力な動脈石灰化抑制因子の 1 つであることが知られている¹⁸⁾. MGP を欠損したノックアウトマウスは, 全身の動脈にカルシウムが沈着し死亡する³⁹⁾. また, ビタミン K 阻害剤をラットに投与すると, MGP 欠損マウスと同様, 動脈石灰化が生じる⁴⁰⁾ ことから, ビタミン K 依存性の Gla 化が動脈石灰化防止に必須であることがわかった. ヒトにおいてもワルファリン等のビタミン K 阻害剤を摂取している患者では, 動脈石灰化が生じていることがわかっている⁴¹⁾.

心臓病とビタミン K 摂取量を調べた疫学研究では, ビタミン K₂ の摂取量が高い群では低い群と比べて心臓病による死亡率が, 半分程度であることが報告された⁴²⁾. 一方で, ビタミン K₁ の摂取量が高い群と低い群との間で, 心臓病発症率に差が認められなかった. このとき, ビタミン K₂ 摂取量が多い群ではカルシウム沈着量が低かったことから, ビタミン K₂ 摂取によって動脈石灰化が抑制され, その結果として心臓病による死亡が減少したものと考えられた. ビタミン K₂ のうちでは, 特に MK-7 などの側鎖の長い同族体の寄与が高いと示唆されている. さらに, 閉経女性を対象とした介入試験において, ビタミン K を 3 年間投与すると, 血管の弾力性が維持されることが報告されている⁴³⁾.

不活性型 MGP (desphospho-ucMGP) が冠状動脈疾患の

マーカーとなりうるということがわかってきたことから⁴⁴⁾, ビタミン K 摂取と MGP の活性化, 動脈石灰化との関係についてさらに研究が進むものと期待される. 特に MK-7 は栄養レベルの摂取で MGP を活性化することが知られ, 現在臨床試験が実施されている.

4. おわりに

日本の伝統食品から長い食経験のある大豆サポニンとビタミン K₂ (MK-7) は, 安全性と健康機能の面で優れた特徴を有する. これらの機能性成分が, 高齢化社会に対応する食品成分として広く活用されるよう期待される.

文 献

- 1) Okubo, K., Iijima, M., Kobayashi, Y., Yoshikoshi, M., Uchida, T. and Kudou, S., Components responsible for the undesirable taste of soybean seeds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **54**, 99-103 (1992).
- 2) Yoshikoshi, M., Yoshiki, Y., Okubo, K., Seto, J. and Sasaki, Y., Prevention of hydrogen peroxide damage by soybean saponins to mouse fibroblasts. *Planta Med.*, **62**, 252-255 (1996).
- 3) Ishii, Y. and Tanizawa, H., Effects of soyasaponins on lipid peroxidation through the secretion of thyroid hormones. *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 1759-1763 (2006).
- 4) Lee, S.O., Simons, A.L., Murphy, P.A. and Hendrich, S., Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **230**, 472-478 (2005).
- 5) Nakashima, H., Okubo, K., Honda, Y., Tamura, T., Matsuda, S. and Yamamoto, N., Inhibitory effect of glycosides like saponin from soybean on the infectivity of HIV in vitro. *AIDS*, **3**, 655-658 (1989).
- 6) Lee, I.A., Park, Y.J., Yeo, H.K., Han, M.J. and Kim, D.H., Soyasaponin I attenuates TNBS-induced colitis in mice by inhibiting NF-κ B pathway. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 10929-10934 (2010).
- 7) Takahashi, S., Hori, K., Shinbo, M., Hiwatashi, K., Gotoh, T. and Yamada, S., Isolation of human renin inhibitor from soybean: soyasaponin I is the novel human renin inhibitor in

- soybean. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3232-3236 (2008).
- 8) Kinjo, J., Imagire, M., Udayama, M., Arao, T. and Nohara, T., Structure-hepatoprotective relationships study of soyasaponins I-IV having soyasapogenol B as aglycone. *Planta Med.*, **64**, 233-236 (1998).
- 9) Kerwin, S.M., Soy saponins and the anticancer effects of soybeans and soy-based foods. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents.*, **4**, 263-272 (2004).
- 10) Zhang, W. and Popovich, D.G., Group B oleanane triterpenoid extract containing soyasaponins I and III from soy flour induces apoptosis in Hep-G2 cells. *J. Agric. Food. Chem.*, **58**, 5315-5319 (2010).
- 11) Ellington, A.A., Berhow, M. and Singletary, K.W., Induction of macroautophagy in human colon cancer cells by soybean B-group triterpenoid saponins. *Carcinogenesis*, **26**, 159-167 (2005).
- 12) Tanaka, M., Watanabe, T., Uchida, T., Kanazawa, T., Osanai, T. and Okumura, K., Hypoglycemic effect of soyasaponin B extracted from hypocotyl on the increasing blood glucose in diabetic mice (KK-Ay/Ta). *J. Jap. Soc. Clin. Nutr.*, **27**, 358-366 (2006).
- 13) Kawano-Takahashi, Y., Ohminami, H., Okuda, H., Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Arichi, S. and Hayashi, T., Effect of soy saponins on gold thioglucose (GTG)-induced obesity in mice. *Int. J. Obes.*, **10**, 293-302 (1986).
- 14) Hu, J., Reddy, M. B., Hendrich, S. and Murphy, P. A., Soyasaponin I and saponin B have limited absorption by Caco-2 intestinal cells and limited bioavailability in women. *J. Nutr.*, **134**, 1867-1873 (2004).
- 15) Hu, J., Zheng, Y.L., Hyde, W., Hendrich, S. and Murphy, P.A., Human fecal metabolism of soyasaponin I. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2689-2696 (2004).
- 16) 加茂修一, 鈴木俊佑, 佐藤俊郎, 大豆サポニンBグループの吸収性, 日本栄養・食糧学会第65回大会講演要旨集, p. 136, 東京 (2011).
- 17) Schurgers, L.J. and Vermeer, C., Determination of phylloquinone and menaquinones in food. *Haemostasis*, **30**, 298-307 (2000).
- 18) Cranenburg, E.C., Schurgers, L.J. and Vermeer, C., Vitamin K, The coagulation vitamin that became omnipotent. *Thromb. Haemost.*, **98**, 120-125 (2007).
- 19) Will, B. H. and Suttie, J. W., Comparative metabolism of phylloquinone and menaquinone-9 in rat liver. *J. Nutr.*, **122**, 953-958 (1992).
- 20) Suttie, J.W., Mummah-Schendel, L.L., Shah, D.V., Lyle, B.J. and Greger, J.L., Vitamin K deficiency from dietary vitamin K restriction in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, **47**, 475-480 (1988).
- 21) Ferland, G., Sadowski, J. A. and O'Brien, M. E., Dietary induced subclinical vitamin K deficiency in normal human subjects. *J. Clin. Invest.*, **91**, 1761-1768 (1993).
- 22) Groenen-van Dooren, M.M., Ronden, J.E., Soute, B.A. and Vermeer, C. Bioavailability of phylloquinone and menaquinones after oral and colorectal administration in vitamin K-deficient rats. *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 797-801 (1995).
- 23) Sato, T., Ohtani, Y., Yamada, Y., Saitoh, S. and Harada, H., Difference in the metabolism of vitamin K between liver and bone in vitamin K-deficient rats. *Br. J. Nutr.*, **87**, 307-314 (2002).
- 24) Schurgers, L.J., Teunissen, K.J., Hamulyák, K., Knapen, M.H., Vik, H. and Vermeer, C., Vitamin K-containing dietary supplements : comparison of synthetic vitamin K₁ and natto-derived menaquinone-7. *Blood*, **109**, 3279-3283 (2007).
- 25) Sato, T., Schurgers, L.J. and Uenishi, K., Comparison of menaquinone-4 and menaquinone-7 bioavailability in healthy women. *Nutr. J.*, **11**, 93 (2012).
- 26) 竹内綾子, 増田泰伸, 木村 守, 岡島蘭子, 松岡亮輔, 長谷川峯夫, 高濱美里, 大貫 学, 健康者の血清オステオカルシン濃度を与えるビタミン K₂ (MK-4) の最小有効量および MK-4 添加カルシウム錠多量摂取による安全性の評価, 日本臨床栄養学会雑誌, **26**, 254-260 (2005).
- 27) van Summeren, M.J., Braam, L.A., Lilien, M.R., Schurgers, L. J., Kuis, W. and Vermeer, C., The effect of menaquinone-7 (vitamin K₂) supplementation on osteocalcin carboxylation in healthy prepubertal children. *Br. J. Nutr.*, **102**, 1171-1178 (2009).
- 28) Brugè, F., Bacchetti, T., Principi, F., Littarru, G.P. and Tiano, L., Olive oil supplemented with menaquinone-7 significantly affects osteocalcin carboxylation. *Br. J. Nutr.*, **106**, 1058-1062 (2011).
- 29) Seibel, M.J., Robins, S.P. and Bilezikian, J.P., Serum undercarboxylated osteocalcin and the risk of hip fracture. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **82**, 717-718 (1997).
- 30) Vergnaud, P., Garnero, P., Meunier, P.J., Bréart, G., Kamihagi, K. and Delmas, P.D., Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **82**, 719-724 (1997).
- 31) 村澤久司, 荒木 伸, 三ツ井陳雄, 代田 智, 池田亮一, 金森千夏, ビタミン K 高含有納豆の開発と骨粗鬆症予防効果の研究, 「食品素材の機能性創造・制御技術」, 初版, ニューフード・クリエーション技術研究組合編, (恒星社厚生閣, 東京), pp. 131-146 (1999).
- 32) Knapen, M.H., Schurgers, L.J. and Vermeer C., Vitamin K₂ supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporosis Int.*, **18**, 963-972 (2007).
- 33) Ducy, P., Desbois, C., Boyce, B., Pinero, G., Story, B., Dunstan, C., Smith, E., Bonadio, J., Goldstein, S., Gundberg, C., Bradley, A. and Karsenty, G., Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*, **382**, 448-452 (1996).
- 34) Boskey, A.L., Gadaleta, S., Gundberg, C., Doty, S.B., Ducy, P. and Karsenty, G., Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone*, **23**, 187-196 (1998).
- 35) Ichikawa, T., Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Blumberg, B. and Inoue, S., Steroid and xenobiotic receptor SXR mediates vitamin K₂-activated transcription of extracellular matrix-related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells. *J. Biol. Chem.*, **281**, 16927-16934 (2006).
- 36) Yamaguchi, M., Sugimoto, E. and Hachiya, S., Stimulatory effect of menaquinone-7 (vitamin K₂) on osteoblastic bone formation *in vitro*. *Mol. Cell. Biochem.*, **223**, 131-137 (2001).
- 37) Yamaguchi, M. and Ma, Z.J., Inhibitory effect of menaquinone-7 (vitamin K₂) on osteoclast-like cell formation and osteoclastic bone resorption in rat bone tissues *in vitro*. *Mol. Cell. Biochem.*, **228**, 39-47 (2001).
- 38) Yamaguchi, M. and Weitzmann, M.N., Vitamin K₂ stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis by suppressing NF- κ B activation. *Int. J. Mol. Med.*, **27**, 3-14 (2011).
- 39) Luo, G., Ducy, P., McKee, M.D., Pinero, G.J., Loyer, E., Behringer, R.R. and Karsenty, G., Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*, **386**, 78-81 (1997).

- 40) Price, P. A., Faus, S. A. and Williamson, M. K., Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. *Arterioscler. Thromb. Vac. Biol.*, **18**, 1400-1407 (1998).
- 41) Rennenberg, R.J., van Varik, B.J., Schurgers, L.J., Hamulyak, K., Ten Cate, H., Leiner, T., Vermeer, C., de Leeuw, P.W. and Kroon, A.A., Chronic coumarin treatment is associated with increased extracoronary arterial calcification in humans. *Blood*, **17**, 5121-5123 (2010).
- 42) Geleijnse, J.M., Vermeer, C., Grobbee, D.E., Schurgers, L.J., Knapen, M. H., van der Meer, I. M., Hofman, A. and Witteman, J.C., Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease : the Rotterdam Study. *J. Nutr.*, **131**, 3100-3105 (2004).
- 43) Braam, L. A., Hoeks, A. P., Brouns, F., Hamulyák, K., Gerichhausen, M.J. and Vermeer, C., Beneficial effects of vitamins D and K on the elastic properties of the vessel wall in postmenopausal women: a follow-up study. *Thromb. Haemost.*, **91**, 373-380 (2004).
- 44) Ueland, T., Gullestad, L., Dahl, C.P., Aukrust, P., Aakhus, S., Solberg, O.G., Vermeer, C. and Schurgers, L. J., Undercarboxylated matrix Gla protein is associated with indices of heart failure and mortality in symptomatic aortic stenosis. *J. Intern. Med.*, **268**, 483-492 (2010).

(平成 25 年 3 月 6 日受理)