

## 総説特集：伝統食品の科学ルーツ、おいしさ、機能 - 5

## 納豆の歴史と機能成分\*

須見 洋行 \*\*

(倉敷芸術科学大学・生命科学部)

納豆中の血栓溶解酵素ナットウキナーゼの存在を明らかにした。即ち、27,724 という比較的低分子のペプチドであること、S-S結合を持たないセリン酵素であり、その経口投与により血栓溶解反応を引き起こすことを示した。また納豆中にはビタミン K<sub>2</sub> (MK-7) が多く、納豆 100 g を摂取するとそのヒト血中濃度は 50 倍以上に高まること、一回の投与によってかなり長時間にわたって亢進持続した。それもほとんどが水溶性ビタミン K<sub>2</sub> として存在することを明らかにした。抗菌物質はいずれの納豆にも非常に多く含まれ、納豆 100 g 当たり約 20 mg のジピコリン酸に相当した。これが強い *Saccharomyces* 類あるいは O-157 等の阻害を示す他、ナットウキナーゼにはない血小板凝集阻害反応を起こすことが考えられた。

その他、納豆菌体のアルコール抽出液には *H. phlori* シドニー株に対する増殖抑制効果を示すなど、納豆のさまざまな可能性を示した。

キーワード：納豆菌、経口投与、ビタミン K<sub>2</sub>、ジピコリン酸、ピロリ菌

## はじめに

納豆売りは京都が元祖のようで、元禄 3 年 (1690 年) に発刊された「人倫訓蒙図彙」には、売る時期や納豆屋の所在地まで明記されている。その後、納豆は豆腐人気に押されて下火になってしまうが、京都に代わってなぜか納豆人気を支えたのが江戸である。

著者が研究を始めた 1985 年頃から考えると、その納豆の売上は今や約 2 倍の 2,000 億円に達する。日本の伝統的食品でこれほどのびているものはない。ちなみにこれまでわが国で使われてきた代表的な血栓溶解酵素 (ウロキナーゼ) の総売り上げが最高 100 億円であるから食がいかに健康に係わってくるかということである。機能性食品の火付け役となったナットウキナーゼを中心に、納豆菌が生産し、その応用性の期待されているものについてまとめる。

## 1. 経口投与とナットウキナーゼの発見

古くは 1963 年 Kabacoff の論文に、動物にとってキモトリプシンなどの異物をウサギの腸管に吸収させるというのがある<sup>1)</sup>。酵素ではないが血栓溶解剤であるストレプトキナーゼの経口剤 (商品名バリターゼをバツカルとして飲ませる) はヨーロッパで使用されている。同様に我が国ではセラチオペプチダーゼが、これは“ダーゼン”という名称で現在も抗炎症剤として使用されている。著者は当時はまだ不純物質の多かったウロキナーゼについて経口化を (1975 年代) 行ってきた。経口投与された薬剤は静注投与に比べて一般に副作用が少なくその効能の持続時間が長いという長所がある。血栓溶解剤の経口化はウロキナーゼからはじまって、ルンブロキナーゼ (地竜)、そして現在のナットウキナーゼと続いているわけである (表 1)。

アメリカのマイケルリース研究所 (シカゴ) での

\* Recieved May 16, 2007; Accepted July 10, 2007

The history and medical food of *Bacillus subtilis natto*

\*\* Hiroyuki Sumi, Department of Physiological Chemistry, Kurashiki University of Science and the Arts, Kurashiki, Japan; sumi@chem.lcusa.ac.jp, Fax+81-86-440-1074

表1 酵素剤の経口投与。

1962 Innerfield 1967 Fischbacher	Streptokinase	Human Gastric Juice	ヨーロッパではバツカルの型で使用された。 Current Therapeutic Research, 4:524 商品名 Varidase
1980 Miyata 1982 Kakinuma	Seratio protease	Rat, Dog Human	$\alpha$ 2 マクログロブリンと結合する。抗炎症剤 商品名 Dasen Biochemical Pharmacology, 31:2861
1980 Sumi 1985 Sumi 1971 Toki	Urokinase	Dog Rat intraduodenal Human	15,000-120,000IU で経口化。 Thromb. Res., 20:711 Enzyme, 33:121 J. Clin. Invest., 75:1212
1991 Mihara 1993 Sumi	Lumbrokinase	Human	経口化で使用。商品名 Boluoka Jpn. J. Physiol., 41:461, Comp. Biochem. Physiol., 106B:763
1985 Sumi 1990 Sumi 2001 Sumi	Nattokinase	Dog Rat, Human	Pro-UKの活性化に働く。 Acta. Hematol., 84:139 <i>Natto bacillus</i> を用いる Food Sci. Technol. Res., 10:17

著者の研究はウロキナーゼの分子構造を調べるため毎日人工的な血栓を作り、測定することの連続であった<sup>2)</sup>。購入した納豆を研究所へ持っていき人工血栓にのせてみたのが1980年であった。図1は市販の納豆抽出物(N)をシャーレの中の人工血栓にのせた時の写真である。納豆のまわりが特有のギザギザ模様になっているのが分かる。納豆中のこの酵素の力は大変強力で、その1g(3~4粒)が血栓症の治療に使われているウロキナーゼの約1,600国際単位(IU)に相当した。これは単純計算すると市販品1パック(約100g)を食べると、普通臨床で血栓症治療に使われている1回分である。

この酵素は1982年、著者が帰国して宮崎医大に赴任してから本格的に分析された。N末端がAlaの275のアミノ酸からなる比較的安定なタンパク質であった(計算分子量27,724)。1987年、スイスの科学雑誌のExperientiaに掲載された<sup>3)</sup>。命名した“nattokinase”はそのまま世界に登録された。

その特異性はウロキナーゼと異なり、特にフィブリン分解能がはるかに強いことがわかる。即ち、図2の上がナットウキナーゼの分子構造であるが、例えばBacillus属のプロテアーゼとしてよく知られているCarlsbergと70%の相同性を示した。また、両酵素は共にSuc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNAを分解するが、それと比較したフィブリン分解能は116倍

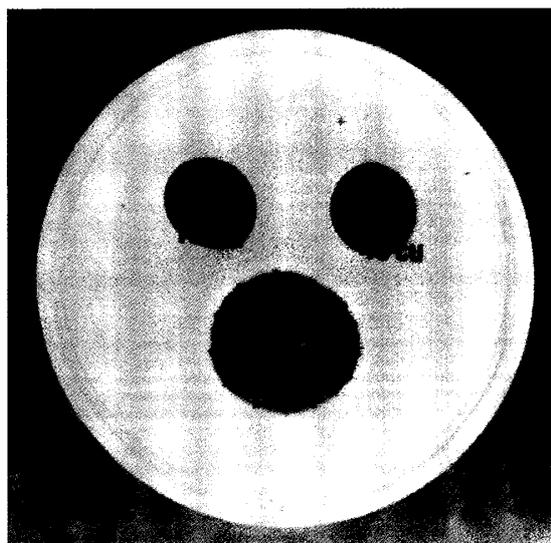


図1 納豆成分(ナットウキナーゼ)による血栓溶解。

人工血栓の上に納豆抽出液(N)、あるいは血栓溶解剤(薬品)としてウロキナーゼ(U)あるいはプラスミン(P)を1滴のせて、37℃においた時の写真(1981)。他にも約200種類の食品で検索が行われたが、結局は納豆よりも強い活性をもつものはなかった。

ナットウキナーゼの方が優れていた<sup>4)</sup>。腸溶カプセルにしたナットウキナーゼの投与はヒト血液内の線溶活性を亢進(ELT短縮あるいはEPA増加)する。また一過性であるが血栓の分解産物(FDP)を増加させる<sup>5)</sup>。さらに、その作用のうち臨床で最も注目されているのは、投与後血中に生じるプラスミノゲ

## 納豆の歴史と機能成分

	10	20	30	40	50	60	70
"Nattokinase" Carlsberg	AQSVPYGISQIKAPALHSQGYTGSNVKVAVIDSGIDSSHPDLNVRGGASFVPAETNPYQDGSSSHGTHVAG						
	80	90	100	110	120	130	140
"Nattokinase" Carlsberg	TIAALNNSIGVLGVAPSASLYAVKVLDTSTGSGQYSWIINGIEWAISNNMDVINMSLGGPSTSTALKTVVD						
	150	160	170	180	190	200	210
"Nattokinase" Carlsberg	KAVSSGIVVAAAAGNEGSSGSTSTVGYPAKYPSTIAVGAVNSSNQRAFSSVGSSELDVMAPGVSISQSTLP						
	220	230	240	250	260	270	
"Nattokinase" Carlsberg	GGTYGAYNGTSMATPHVAGAAALILSKHPTWTNAQVRDRLESTATYLGNSFFYKGLINVQAAAQ						
	TNTYATLNGTSMASPHVAGAAALILSKHPNLSASQVRNRLSSTATYLGSSFFYKGLINVEAAAQ						

図2 ナットウキナーゼのアミノ酸配列。

ナットウキナーゼはS-S結合のない一本鎖のセリン酵素で、275残基からなる。分子量27,724。

ンアクチベーターの抗原性が現在第二世代の血栓溶解剤として開発されつつあるTPAと一致することである。つまり、腸内に入った納豆中のナットウキナーゼが直接血栓に働くというより間接的に生体自らが持つ（おそらく血管内皮細胞由来の）プラスミノーゲンアクチベーターの産生を促して血中の線溶亢進を引き起すと考えられる訳である。

ナットウキナーゼの効果は、実験的な血栓症の動物モデルでも確認され、投与している酵素剤が腸管で吸収されることが証明されている。ビーグルに腸溶カプセルにしたナットウキナーゼを1回経口投与した場合、対照群が血栓作製後18時間目まで血管造影(macroangiography)されなかったのに対して、投与群では5時間目には完全な再開通が確認された<sup>5)</sup>。また、各種血栓溶解剤を右大腿静脈から一定速度(23.5  $\mu$ l/min)で20分間かけて注入、投与開始から30分後までの血液回復状態を連続測定した。高純度に精製したナットウキナーゼは、投与開始5分後から血液の回復が認められ、60分後には安静状態の60%まで回復する。しかし、プラスミン投与群での血流は60分の観察時間内で安静状態の約20%しか回復せず、エラスターゼにいたっては血液の回復はまったく認められなかった。観察終了後、直ちに各投与群の血栓形成部位の切片を作成して検鏡したところ、ナットウキナーゼ投与群の血栓はプラスミン投与群と比較して顕著に溶解されていた<sup>6)</sup>。

## 2. 世界一のビタミンK<sub>2</sub> (メナキノン-7) 含量

大豆を蒸煮し納豆菌を接種して発酵させた納豆には、もとの豆に比べてビタミンB<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>が豊富に含まれ、特にビタミンK<sub>2</sub>にいたっては納豆菌によって約124倍にも増える。

ビタミンK<sub>2</sub>をこれほど多く含む食品は納豆が世界で唯一である。ちなみに同じ発酵食品でもチーズやヨーグルトなどの乳酸菌、酒、味噌などの酵母でビタミンK<sub>2</sub>は合成されることはない。さて、納豆を摂取するとどのくらい血中に取り込まれるのか。その一例として、市販納豆を著者の研究室の学生に摂取してもらった時のHPLC法による血漿中のビタミンK<sub>2</sub>の分析パターンが図3である<sup>7)</sup>。もともとメナキノン-7の溶出される保持時間(Rt)約18分目にほとんどなかったピークが、摂取後は著しく増加していることが分かる。納豆100gを摂取して4時間目には摂取前後の50倍以上に高まること、また1回の摂取でメナキノン-7濃度をかなり長時間にわたって亢進持続する作用を持っていることが分かる<sup>8)</sup>。

実は、納豆が含むこのメナキノン-7は一般にいわれている脂溶性のビタミンではなくその70%以上が高分子の酸性タンパクと結合した“水溶性ビタミンK<sub>2</sub>”として存在し、それが一般のfreeタイプのものよりはるかに長時間効果が続くのである<sup>9)</sup>。したがって、大量の納豆を食べると、腸内に残る納豆菌が生産するビタミンK<sub>2</sub>の相乗効果もあって、長い人では1週間近くも血中濃度の亢進が起こる

須見

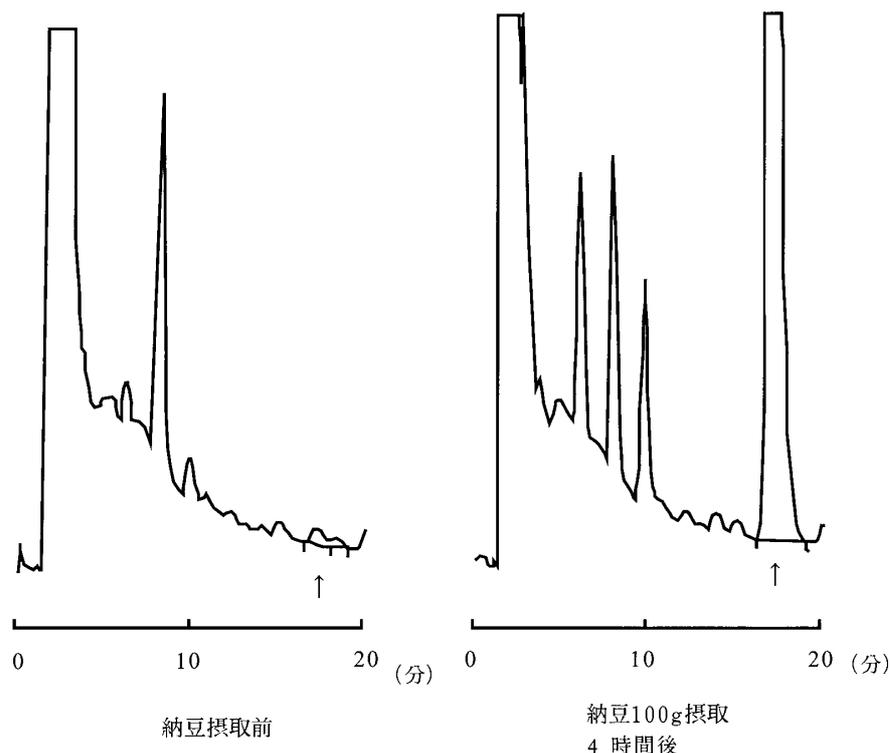


図3 血中のビタミン K<sub>2</sub>(MK-7) 濃度の比較。  
HPLC パターンで 18 分目 (矢印) が MK-7 のピークである。

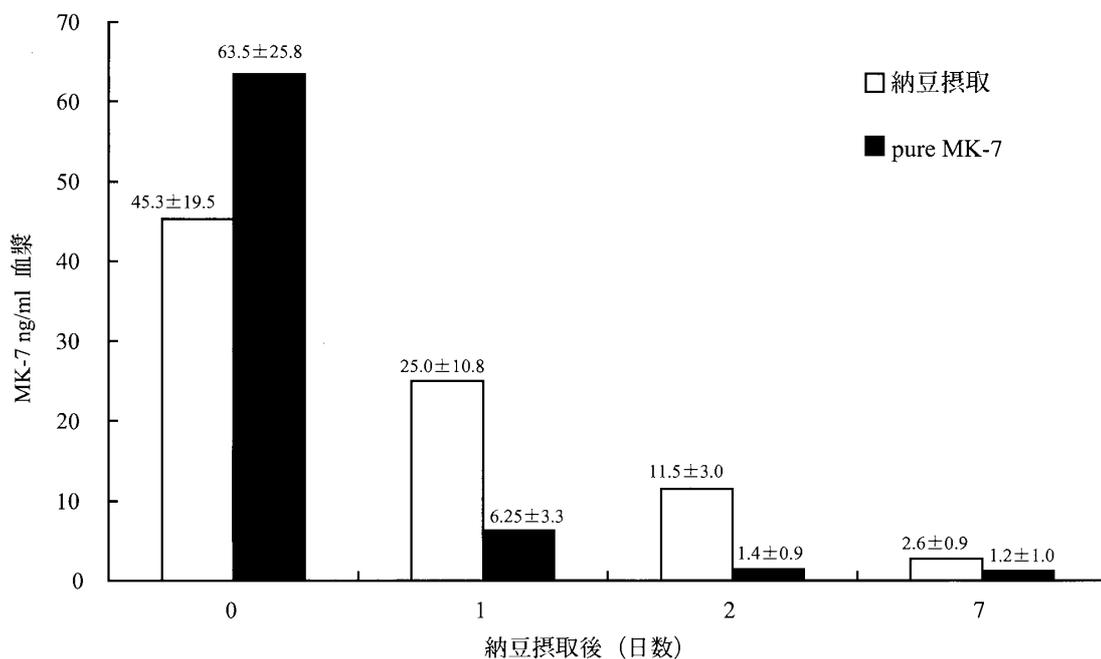


図4 納豆摂取によるビタミン K<sub>2</sub>(MK-7) の補給。  
1 回摂取して 1,2,7 日間後の MK-7 濃度を示す。

ことが分かった (図4)<sup>10)</sup>。

### 3. 抗菌活性

納豆菌に抗菌性のあることはわが国で食されてき

た納豆の長年の経験から認められたもので、江戸時代の食べ物の辞典ともいえる「本朝食鑑」にも、その効果が記載されている<sup>11)</sup>。また、この性質が古くは我が国の海軍を中心に納豆がコレラ、チフスの予

## 納豆の歴史と機能成分

表2 納豆および納豆菌中のジピコリン酸。

試料	試料 (g)	収量 (mg)	100g 当りの含量 (mg)
市販納豆			
抗菌納豆	56.2	27.10	48.22
有機百倍納豆	52.3	7.36	14.07
おかめ納豆	52.1	6.08	11.67
幻の納豆	56.1	3.43	6.12
しそ海苔納豆	48.1	3.80	7.91
KSD-1納豆	20.0	17.45	87.25
抗菌納豆 (加熱未処理)	62.1	4.12	6.64
調製納豆			
宮城野菌	37.8	6.49	17.18
成瀬菌	36.7	13.00	35.45
高橋菌	36.8	7.84	21.30
雲南菌 SL-001	43.4	10.02	23.07
枯草菌発酵物	34.7	0.59	1.70
納豆菌			
日東菌 L001			
日東菌 L002	1.0	12.87	1287.00
目黒菌 BN-(1)	1.0	17.72	1772.00
目黒菌 BN-(2)	1.0	5.23	523.00
	1.0	24.09	2409.00
* 目黒菌 BN-(3)(solid-stateculture)	1.0	36.44	3644.00
枯草菌 IAM12118	1.0	1.98	198.00

\*他と異なり、これのみ乾燥物当りの測定値で示す。

防に利用された。江口、神代らは5ヶ月間糞便中にパラチフス菌を排泄して、いかなる処方も効果をみなかった保菌者に納豆菌を投与し、短時間に排菌を止め得たとしている。また、有馬はマウスあるいは猿の腸管内で納豆菌が異型赤痢菌の増殖を抑制し、生体の感染発病を防止すると報告した<sup>12)</sup>。なにしろ、市販納豆1g中には10億個以上の納豆菌が含まれ、抗菌に作用すると考えられている。

ジピコリン酸は諸外国での抗生物質の発見に先立って、1936年、我が国の有働が納豆のネバリ中に発見した一種のポリジンジカルボン酸であり、これはもともと大豆中にはなく、納豆菌によりはじめて納豆中に作り出される物質である<sup>13)</sup>。このものはそれ自体が納豆菌の生育抑制にも働くが、大腸菌を含めた他の細菌類に対してはさらに鋭敏に抑制効果を発揮することが分かっている。納豆菌が持つこうした抗菌作用がすでに医薬にも応用されており、0-111および0-114などの病原性大腸菌を用いた実験成績も報告されている<sup>14)</sup>。著者らは、同じ条件下で $10^6$ /mlの納豆菌を病原性大腸菌0-157と混合してハートインヒュージョンブイヨン培地を用いて培

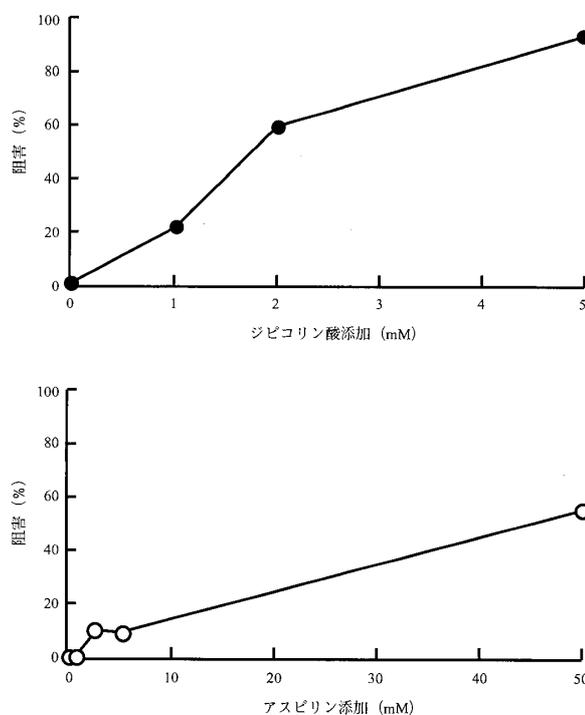


図5 ジピコリン酸による抗血小板凝集反応。

ADPを血小板凝集惹起物質として $30\mu\text{M}$ 加える。ジピコリン酸添加時(上図)、及び同じ条件下でのアスピリンの反応をコントロールとする(下図)。

## 須見

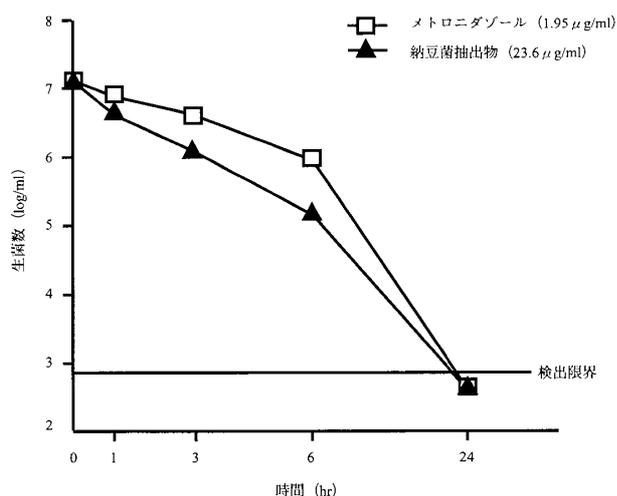


図6 ピロリ菌 (Sydney 株) に対する殺菌作用。

納豆菌の抽出液中には強い抗菌活性のあることが分かる。

養し、経日的にサンプリングしてその中に含まれる生菌数を調べてみた。O-157の生育は納豆菌により強く抑制され、培養液中の中で4日後には完全消失してしまうことが分かった<sup>15)</sup>。その他、試みに納豆菌培養液の無菌濾過液を調製、あるいは市販納豆からの抽出液を用いてかなり強い抗菌活性が含まれることを確認した。特に酵母類 (*Saccharomyces cerevisiae* Hansen; Wine yeast Yokotsuka; Sherry wine yeast Goto; Sake yeast Kyokai No.7) に対して非常に強力な阻害活性が認められた<sup>16)</sup>。表2は、我々が行った納豆、あるいは納豆菌中のジピコリン酸の分析結果であるが、これらの値はかつての我が国の納豆に比べて低いものであった。といっても1パック100gの納豆を食べると約20mgのジピコリン酸を摂取する計算になる。

古くから、酒造りに係わる杜氏は“納豆”に触れることはご法度とされていたが、それは経験的に納豆に含まれる強力な抗菌物質の影響を嫌ったからと考えられる。

さらに、最近の研究で、ジピコリン酸には強力な抗血小板凝集活性のあることも分かってきた(図5)<sup>17)</sup>。納豆中のナットウキナーゼはできてしまった血栓の溶解に働くが、ジピコリン酸はその前の血栓形成の段階を抑えるということで、納豆には「血の巡り」をよくするダブル効果が期待できることになる。

#### 4. その他の活性

納豆あるいは納豆菌発酵物の抽出液中には、かな

り強いリゾチーム活性が認められ、また抗ピロリ菌活性も確認されている。ピロリ菌は日本の50歳以上の成人男子の約70%が感染しており、胃ガンに罹る率が高まることで恐れられている胃粘膜に住む特殊細菌である。図6は、日本化学疫学会標準法の寒天平板希釈による測定で行った *H. pylori* シドニー株に対する各抽出液の添加試験の結果である<sup>18)</sup>。納豆菌体のアルコール抽出物には特に強いピロリ菌に対する増殖抑制効果が認められ、またその強さは臨床薬であるメトロニダゾールに劣らないものであることが分かった。

その他、納豆の中には「血の巡り」に係わる線溶賦活物質<sup>19)</sup>、血中のPAI-1を分解する<sup>20)</sup>、香り成分であるピラジン化合物 (2,5-dimethylpyridine)<sup>21)</sup>、血圧降下に働く<sup>22)</sup>、活性酸素消去系酵素SOD活性<sup>23)</sup>、消酒効果がある<sup>24)</sup>、あるいはインターフェロン誘導活性<sup>25)</sup>に関する報告もあるが、ここでは省略する。

#### おわりに

*Bacillus subtilis* (*natto*) という学名は、アメリカで発行されている世界的に著名なバーギーの細菌分類便覧「*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*」第6版(1948年) *Bacillus subtilis* (枯草菌) に含まれ、残念ながら納豆菌は国際的には独立した菌種として認められていない。また、分類学上は大腸菌と同じ仲間に入れられることに問題がある。とにかく、*Bacillus subtilis* といえば何でもあやしげな菌まで納豆の仲間に入れられてしまう感がある。ただし、わが国の納豆関係者の間では、今も納豆菌の名前(例えば宮城野菌、高橋菌、成瀬菌など)は親しく用いられているのは周知の通りである。例えば、そこから真の意味での“ナットウキナーゼ”が採れば、逆にそれは本物の納豆からでしかありえないということになる。日本の伝統食品である納豆-ナットウキナーゼが世界に誇りうる血栓溶解剤として飛躍することを期待している。

#### 参考文献

- 1) Kabacoff BL, Wohlman A, Umhey M and Avakian S: Absorption of chymotrypsin from the intestinal tract. *Nature* 199, 815 (1963)
- 2) Sumi H and Robins KC: A functionally active heavy chain derived human high molecular weight uro-

## 納豆の歴史と機能成分

- kinase. *J. Biol. Chem.* 258, 8014-8019 (1983)
- 3) Sumi H, Hamada H, Tsushima H, Mihara H and Muraki H: A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean in food of the Japanese diet. *Experientia* 43, 1110-1111 (1987)
  - 4) Sumi H: Structure and fibrinolytic properties of nattokinase. *Basic Clin. Asp. Jap. Trad. Food Natto*, 1, 49-56 (1994)
  - 5) Sumi H, Hamada H, Nakanishi K and Hiratani H: Enhancement of fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase. *Acta Haematol.* 84, 139-143 (1990)
  - 6) Fujita M, Hong K, Ito Y, Fujii R, Kariya K and Nishimuro S: Thrombolytic effect of nattokiase on a chemically induced thrombosis model in rat. *Biol. Pharm. Bull.* 18, 1387-1391 (1995)
  - 7) Sumi H: Accumulation of vitamin K (menaquinone-7) in plasma after ingestion of natto and natto bacilli (*B. subtilis natto*). *Food Sci. Technol. Res.* 5, 48-50 (1999)
  - 8) 須見洋行：納豆菌発酵，および納豆摂取時の被験者血液中のビタミン K（メナキノ-7）濃度。日本家政誌 5, 48-50 (1999)
  - 9) Yanagisawa Y and Sumi H: natto bacillus contains a large amount of water-soluble vitamin K (menaquinone-7). *J. Food Biochem.* 29, 267-277 (2005)
  - 10) Yatagai C, Yanagisawa Y, Ohsugi T and Sumi H: Prolonged increase of plasma vitamin K2 concentration by natto (*Bacillus subtilis natto*) ingestion, The Mediterranean League against Thromboembolic Diseases, eds. Stegner M, Bozic M, Kozak M, Peternel P, Medimond, Italy, pp.115-120 (2004)
  - 11) 人見必見：本朝食鑑（島田勇雄訳），平凡社，東京，(1978)
  - 12) 有馬玄：納豆菌ト赤痢菌トノ拮抗作用ニ関スル實驗的研究。第一報，海軍軍艦界雑誌 25, 509-527 (1936)
  - 13) 有働繁三：納豆の成分に就て，納豆中のジピコリン酸の存在とその影響。日本農化誌 12, 386-394 (1936)
  - 14) 鹿江雅光：動物由来数種病原菌に対する *Bacillus natto* の発育阻害作用。山口大学農学部学術報告 33, 1-24 (1982)
  - 15) 須見洋行：納豆菌と抗菌活性。新しい食品素材と機能，CMC，東京，pp.190-196 (1997)
  - 16) 須見洋行，大杉忠則：納豆および納豆菌中の抗菌成分ジピコリン酸。日本農化誌 73, 1289-1291 (1999)
  - 17) Ohsugi T, Ikeda S and Sumi H: Anti-platelet aggregation and blood coagulation activities of dipicolinic acid, a spored component of *Bacillus subtilis natto*. *Food Sci. Technol. Res.* 11, 308-310 (2005)
  - 18) Sumi H, Yatagai C, Ikeda S and Ohsugi T: Dipicolinic acid in *Bacillus subtilis natto* and strong anti-H. Pylori activity. *Clin. Pharm. Therapy* 16, 261-266 (2006)
  - 19) 須見洋行，佐々木智広，矢田貝智恵子，小崎泰宣：納豆中に含まれる線溶賦活物質とその性質。日本農化誌 74, 1259-1264 (2000)
  - 20) Urano T, Ihara H, Umemura K, Suzuki Y, Oike M, Akita S, Fukumoto Y, Suzuki I and Takada A: The profibrinolytic enzyme subtilisin NAT purified from *Bacillus subtilis* cleaves and inactivates plasminogen activator inhibitor Type 1. *J. Biol. Chem.* 276, 24690-24696 (2001)
  - 21) Kosuge T, Zenda H, Tsuji K, Yamamoto T and Narita H: Studies on flavor components of food-stuffs. *Agr. Biol. Chem.* 35, 693-696 (1971)
  - 22) Maruyama M and Sumi H: Effect of diet on blood pressure. *Basic clin. Asp. Jap. Trad. Food Natto* 2, 1-3 (1994)
  - 23) Sumi H, Yatagai C and Sumi A: Superoxide radical scavenging enzymes detected in the fermented soybean natto. *J. Brew. Soc. Japan* 94, 1016-1018 (1999)
  - 24) Sumi H, Yatagai C, Wada H, Yoshida E and Maruyama M: Blood ethanol lowering effect of natto-fermented product. *Basic Clin. Asp. Jap. Trad. Food Natto* 1, 119-125 (1994)
  - 25) 佐藤徳枝：納豆中のインターフェロン誘発に関する研究。東医大誌 33, 815-826 (1980)

<著者紹介>

須見 洋行 (すみ ひろゆき) 氏略歴

医学博士

山梨大学工学部発酵生産学科卒業後、徳島大学医学部大学院修了。宮崎医科大学生理学助教授、岡山県立大学栄養学科助教授を経て、現在、倉敷芸術科学大学生命科学部生命科学科教授。前学部長。通産省外郭団体 JTTAS「天然物・生理機能素材研究委員会」会長、バイオアクティブおかやま会長、おかやま食料産業クラスター協議会役員などを務める。

