

## 维生素K<sub>2</sub>的生理作用及其在纳豆中的研究进展

(内文见下页)

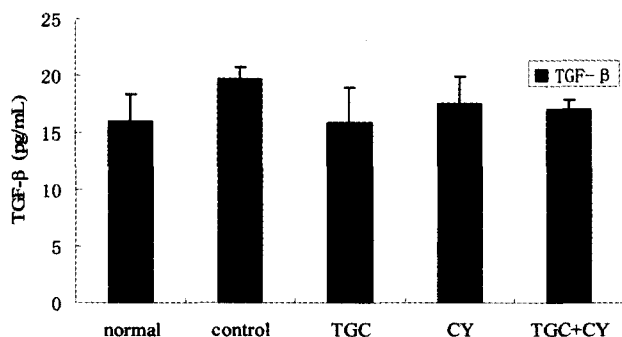


图2 各处理组对S-180荷瘤小鼠产生TGF-β1因子的影响

依据表2可以判断,与对照组比较,模型鼠组、环磷酰胺组和联合干预组TGF-β1分泌显著高于正常组, ( $P < 0.01$ );与对照组比较,林茜草黄酮组和联合干预组TGF-β1分泌显著低于模型组, ( $P < 0.01$ );模型组与环磷酰胺组比较无显著性差异。林茜草黄酮组与正常组比较无显著性差异 ( $P < 0.05$ );林茜草黄酮组降低了TGF-β1的分泌水平,拮抗环磷酰胺的抑制作用,使之恢复至正常分泌水平<sup>[6]</sup>。

### 3 结论与讨论

以S-180荷瘤小鼠实体瘤组织为研究对象,探讨林茜草黄酮对抗肿瘤免疫逃避机制。环磷酰胺属氮芥类烷化剂,在肿瘤组织中的代谢物生成的烷基化CTX氮芥,丙烯醛,去甲肾上腺素氮芥,这些产品均需要由肝脏细胞色素P450代谢活化后,方可发挥烷基化反应<sup>[7]</sup>。静脉注射后,肝内分布最多<sup>[8]</sup>。实验结果表明,环磷酰胺导致胸腺荷瘤小鼠的脾脏萎缩,荷瘤小鼠的免疫功能低下,消瘦,乏力,食欲不振,而林茜草提取的黄酮类化合物可以拮抗这些现象,胸腺,脾脏重量与正常小鼠的相对比例不存在显著的差异。其中,TGC组脾略大于正常组,药物处理会刺激免疫器官体积增大,增强小鼠的免疫功能。

TGF-β1已被证明是一种有效的免疫抑制因子,而同时TGF-β1也是一种免疫抑制剂,抑制T、B细胞增殖,减少主要组织相容性复合体(MHC)Ⅱ类抗原表达<sup>[9]</sup>,主要介导T细胞增殖和细胞毒活性,也被称为T-细胞抑制剂的抑制TGF-β1<sup>[10]</sup>。ELISA结果显示,TGC的免疫抑制因子TGF-β1含量与模型组相比,TGF-β1显著降低,TGC的细胞培养上清液免疫抑制剂受抑制,表明了TGC的抗肿瘤作用的另一个途径。通过抑制肿瘤细胞的抗肿瘤效应分泌免疫抑制因子,来间接地增加免疫细胞的活性,实现抗肿瘤效果。实验

数据表明,林茜草根醇提取物抗肿瘤作用机理同荷瘤小鼠的机体产生相关免疫因子呈相关性。临床实践表明,林茜草黄酮为中西医结合治疗肿瘤提供了基础数据,同时能减轻放化疗的毒副作用<sup>[11]</sup>。

### 参考文献

- [1] 罗千古.天然抗肿瘤药物有效成分及其作用机理的探讨[J].中国实用医药,2011,6(28):162~163
- [2] L. H. YAO., Y. M. JIANG., J. SHI., *et al.* Flavonoids in Food and Their Health Benefits[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2004, 59(3):113~122
- [3] 刘春宇.沙苑子黄酮对实验性肝癌的抑制作用及其机制研究[J].苏州大学,博士论文.2007:99~100
- [4] 章平,毛玉昌,孙斌等.沙棘籽渣黄酮诱导人乳腺癌细胞凋亡相关基因的表达谱变化[J].癌症,2005,24(4):454~460
- [5] 朱黎,范汉东,王雪等.掌叶半夏凝集素的分离纯化及其在体内对外小鼠肉瘤S-180细胞的影响[J].武汉大学学报(医学版).2009,30(01):10~15
- [6] 韩慧敏.肿瘤坏死因子(TNF-α)对耐药肿瘤细胞凋亡诱导作用的研究[D].大连医科大学,2007:123-125.
- [7] 宛春雷,金哲雄.仙鹤草鞣质成分的抗肿瘤作用研究[J].黑龙江医药,2011,24(1):29-31.
- [8] 曾雪瑜,李友娣,陈力力,何飞.香菇菌多糖对免疫低下小鼠的免疫调节作用[J].中国中药杂志,1989,14(2):46-49.
- [9] 胡松.复方鹰不泊对环磷酰胺免疫抑制小鼠血清IFN-γ、IL-2及血T淋巴细胞亚群影响的研究[D].湖南中医学院,2004,57-60
- [10] 王青,袁丹.不同产地枳实与枳壳中黄酮类成分的含量测定[J].黑龙江医药,2008,21(3):1-3.
- [11] L. L. Yuan., G. P. Gan., H. Z. Zhang. A flavonoid glycoside isolated from *Smilax china* L. rhizome in vitro anticancer effects on human cancer cell lines[J]. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007, 113(1): 115~118

收稿日期:2016-04-22

### 更正声明

尊敬的杨晓林作者:

您发表于2016年第1期第152页一文《原发性肝癌肿瘤血管密度及其表达的病理意义》,作者简介刊登有误,正确应为:杨晓林

特此更正!给您带来不便,敬请谅解!

《黑龙江医药》杂志

范加金<sup>1,2\*</sup>, 彭延杰<sup>1,2</sup>, 严为留<sup>3</sup>

1. 山东省生物制品研究所; 2. 山东泰邦生物制品有限公司; 3. 江南大学

**摘要:** 维生素K<sub>2</sub> (Menaguinone, MK) 是一种脂溶性维生素, 具有叶绿醌生物活性的萘醌基团的系列衍生物, 共有14种同系物, 是人体中不可缺少的重要维生素之一。MK主要由肠道细菌以及芽孢杆菌合成, 同时存在于传统食品纳豆中。MK可以促进凝血酶原与磷酸脂质体结合而发生凝血过程, 同时还可以直接参与骨骼代谢, 因此在医药方面有重要作用。本文主要分析了MK在凝血与骨骼代谢方面的生理作用及其在微生物体内的生物合成途径, 并对纳豆菌(芽孢杆菌)合成维生素K<sub>2</sub>进行了综述。

**关键词:** 维生素K<sub>2</sub>; 凝血; 骨骼代谢; 纳豆菌

**中图分类号:** TQ466.6

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-2882(2016)03-396-04

**DOI:** 10.14035/j.cnki.hljyy.2016.03.006

## Physiological Role of Vitamin K<sub>2</sub> and its Research Progress in Natto

Fan Jiajin, et al

Shandong Provincial Institute of Biological Products

**Abstract:** Vitamin K<sub>2</sub> (Menaguinone, MK) is liposoluble and indispensable for human. It has 14 kinds of homologues, which are series of naphthoquinone derivatives of phyloquinone bioactivity. MK is mainly synthesized by Enterobacteria and Bacillus and it exists in the traditional food of natto. MK promotes the coagulation process of prothrombin and phosphate liposome, and also directly participate in bone metabolism. Therefore, MK acts as an important role in medicine. In this paper, the physiological role of MK in clotting and bone metabolism, and biosynthesis pathways in microorganisms were analyzed. Meanwhile, synthesis of vitamin K<sub>2</sub> in natto Bacillus was reviewed.

**Key words:** Vitamin K<sub>2</sub>; clotting; bone metabolism; natto Bacillus

维生素K<sub>2</sub> (Menaguinone, MK), 亦称甲萘醌, 与维生素K<sub>1</sub> (叶绿醌) 是自然界中维生素K主要的两种存在形式。1934年, 丹麦生物化学家Henrik Dam发现一种与凝血有关的脂溶性化合物, 即维生素K<sub>2</sub><sup>[1]</sup>。维生素K<sub>1</sub>天然存在于绿色植物中, 是食物维生素K的主要来源, 而维生素K<sub>2</sub>主要由微生物代谢产生<sup>[2,3]</sup>, 另外还有人工合成的维生素K<sub>3</sub>、K<sub>4</sub>、K<sub>5</sub>和K<sub>7</sub>。虽然维生素K<sub>1</sub>、K<sub>3</sub>都能被人体吸收, 但只有在肝脏中转化为维生素K<sub>2</sub>后能和胃肠微生物产生的MK一起被人体吸收利用。因此, 维生素K<sub>2</sub>具有重要的生物活性和药用价值。

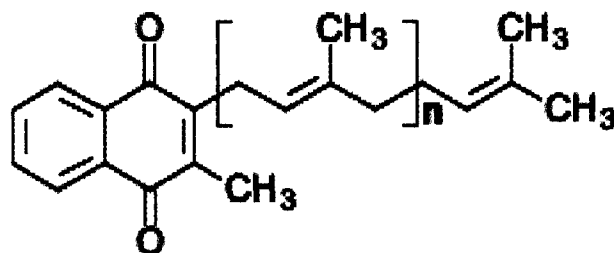


图1 维生素K<sub>2</sub>的化学结构图

MK是一系列化合物, 晶体呈淡黄色, 其基本结构是由一条C-3上异戊二烯侧链和一个甲基萘醌母环组成, 根据

\*通讯作者: 范加金(1973), 男, 主管技师(中级), 研究方向: 血液制品的分离纯化。

基金项目: 重大新药创制专项“凝血因子类新产品开发及产业化关键技术研究”(2014ZX09508003)。

C-3 上异戊二烯长短不同,维生素 $K_2$ 一共有 14 种存在形式,以 MK-n 表示(如图 1 所示)。C-3 侧链上异戊二烯个数为 7 时,维生素 $K_2$ 即 MK-7。发酵的纳豆产品中就含有维生素 $K_2$ ,其中 MK-7 占大多数,约 98%,另外还有少量的 MK-4。

### 1 维生素 $K_2$ 在血液凝固中的作用

维生素 $K_2$ 最初发现于凝血功能相关实验,其最经典的作用就是维持机体的正常凝血功能。凝血素(II)、前转化素(VII)、斯图亚特因子(X)、克雷马斯因子(IX)、蛋白质 C、蛋白质 S、蛋白质 Zv 以及 Gas 6 等凝血因子中的 Glu-残基转移后并进行 $\gamma$ -羧化才能发挥凝血作用<sup>[4]</sup>,而维生素 $K_2$ 正是作为谷氨酸- $\gamma$ -羧化酶的辅酶参与其凝血过程,是不可或缺的。与凝血过程中其它的维生素 K 依赖型因子相比,蛋白质 C 和 X 可以作为抗凝剂。在 $Ca^{2+}$ 的促进下,凝血酶原酶与磷脂质体聚合而产生血凝现象;但当维生素 K 缺乏时,凝血酶原对 $Ca^{2+}$ 的亲合性就大大降低<sup>[5,6]</sup>。因此,饮食外的维生素 K 补充对人体有重要的保健作用。近年来,人工合成的维生素 $K_1$ (短链)已广泛应用于食品补充剂。另外,天然的维生素 $K_2$ 也已经作为保健品上市。维生素 $K_1$ 与 $K_2$ 较容易被人体吸收利用,血液浓度达到峰值的时间都为摄入后 4 h,只是 $K_2$ 的半衰期更长,因此, $K_2$ 在血液中的水平更加稳定。

由于 MK 具有 14 种同系物,其凝血效果有所差异<sup>[7]</sup>。侧链长度与其发挥作用的时间呈正比,其中 MK-4、MK-5 和 MK-6 的凝血效果最佳;而 MK-7 与 MK-8 能够轻微提高血液凝固能力;其余几种 MK 维生素对于低凝血酶原血症没有改善。MK 的治疗效果与摄入途径有关,鸡口服给药 MK 时, MK-4 的效果最佳,而当老鼠心脏给药 MK 时, MK-7、MK-8、MK-9 和 MK-10 的效果更好<sup>[8]</sup>。同样, MK-4、MK-5 和 MK-6 能有效改善低凝血酶原血症<sup>[9]</sup>,并且在降低 PIVKA-II(一种由维生素 K 缺乏时由拮抗剂诱导产生的无凝血活性的异常凝血酶原)水平上, MK-7 明显优于 MK-4。Leon 等<sup>[10]</sup>经研究发现,人工合成的维生素 $K_1$ 和微生物来源的 MK-7 在凝血功能方面存在明显差异, MK-7 在血液中的稳定半衰期更长,但过多摄入 MK-7 会干扰抗凝剂(口服)的治疗。研究发现,维生素 $K_1$ 、MK-4 和 MK-9 在结肠内的吸收均不大,因此对机体内的维生素 K 水平贡献不大。然而在缺乏维生素 K 的鼠体中, MK-9 对凝血酶原合成的激活效果最强,维生素 $K_1$ 次之, MK-4 激活效果最弱,维生素 $K_1$ 的激活效果是 MK-4 的 3 倍,而 MK-9 则至少是 MK-4 的 6.5 倍;在抗凝剂处理鼠体内,维生素 $K_1$ 和 MK-4 的效果相似,但 MK-9 吸收量很小而不起作用<sup>[11,12]</sup>。导致各种维生素 K 吸收差异的原因可能是它们在亚细胞器上的差异分布,从而导致短链维生素 K 与微粒体膜结合不牢固,更容易被胞内酶还原。同样, MK-9 易被内质网上的 KO 还原酶作用,抗凝剂处理时, KO 还原途径被阻断,短链维生素 K 通过 DT-二氢硫辛酸脱氢酶还原,而脂溶性更强的 MK-9 则几乎不与酶接触。

### 2 维生素 $K_2$ 在骨骼代谢中的作用

研究发现, MK 除了具有凝血作用,还参与人体骨骼代谢。例如,基质- $\gamma$ -羧化谷氨酸蛋白(MGP)、骨- $\gamma$ -羧化谷氨酸蛋白(BGP,亦称骨钙素)和蛋白 S 中的 Glu-残基转变为 $\gamma$ -羧基谷氨酸才会具有生理活性,而 MK 是这一过程的必需因子。

体内和体外实验证明 MK 可直接参与骨骼代谢。体外实验表明, MK 可以通过抑制白细胞介素-6 和前列腺素 $E_2$ 等骨质再生物的产生从而抑制骨骼的再吸收,而且 MK 还能将骨钙素中的 Glu-残基羧化,与羟基磷灰石结合提高矿化作用水平,并且在类固醇处理以及卵巢切除的大鼠试验中显著地抑制骨流失<sup>[13]</sup>。Ehara<sup>[14]</sup>等研究发现当 MK 浓度为 $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,能够显著提高正常大鼠干骺端组织中碱性磷酸酶的活力和钙离子的含量,并且在这个剂量下,硫酸锌对骨钙离子的刺激作用明显提高。

在日本, MK 已广泛应用于治疗骨质疏松症。由于大豆发酵产品-纳豆含有丰富的 MK-7,每 100 g 纳豆中含量达 870  $\mu\text{g}$ ,因此,纳豆已经成为骨质疏松症病人的重要营养补充物质。同时,生产纳豆所用的芽孢杆菌(发酵菌株)也已成为 MK 膳食补充的重要来源<sup>[14]</sup>。Katsuyama 等<sup>[15]</sup>评估了 MK-7 对成骨细胞的直接作用,经研究发现,表明 MK-7 能明显抑制 MC3T3E1 细胞的增殖;在 RNA 水平上, MK-7 能诱导护骨素、骨钙素以及原癌基因 NFKappaB 配体 RANKL 的 mRNA 的产生;另外,免疫化学分析还表明 MK-7 可以提高 RANKL 和骨钙素的蛋白量水平。因此, MK-7 可以直接作用于 MC3T3E1 细胞,刺激成骨细胞的分化,而且还能诱导成骨细胞关键基因的表达,包括护骨素、骨钙素、原癌基因 NFKappaB 及其配体的受体激活因子<sup>[16]</sup>。Forli 等<sup>[17]</sup>研究发现,每天补充 180  $\mu\text{g}$  MK-7,持续一年以上时间,可以明显提高病人腰椎的骨矿密度(BMD)。Van 等<sup>[18]</sup>研究指出,在人体青春前期少量补充 MK-7 可以显著提高人体内游离的 MK-7 含量,从而加强骨钙蛋白的羧化作用。

### 3 维生素 $K_2$ 的合成途径以及代谢调控

维生素 $K_2$ 是系列化合物,其基本结构包括甲萘醌骨架和 C-3 上的戊二烯侧链。其中甲萘醌骨架是从赤藓糖-4-磷酸(Erythrose-4-phosphate)开始合成,途经莽草酸(SA)、分枝酸(CA)、异分枝酸(ICA)、2-琥珀酰-6-羟基-2,4-环己二烯-1-羧酸(SHCHC)以及邻苯甲酸(OSB)等一系列化合物,最终合成 1,4-二羟基-2-萘甲酸(DNHA),以此作为甲萘醌骨架来源。其中分枝酸同时也是芳香族氨基酸的中间物和前体物质,因此, DNHA 的合成受芳香族氨基酸的反馈抑制调节。乙酰-CoA 是异戊二烯侧链合成的起始化合物,途经甲羟戊酸(MVA)、异戊烯焦磷酸(IPP)、等中间化合物,合成侧链聚异戊二烯焦磷酸。萘醌骨架与异戊二烯侧链经酶的作用催化合成,再甲基化就合成了维生素 $K_2$ 。

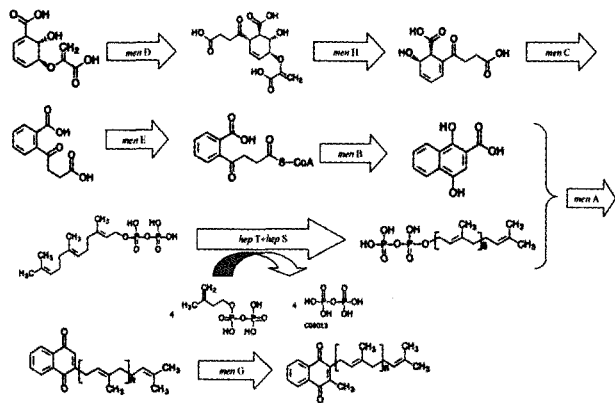
图2 维生素K<sub>2</sub>的合成途径

图2是从分支酸到维生素K<sub>2</sub>合成途径,有图可知,共有8个酶分步控制从分支酸到甲萘醌骨架的合成以及从异戊烯焦磷酸开始的侧链的合成,共有9个基因参与这一过程,它们分别是men A、men B、men C、men D、men E、men G、men H、hep T和hep S,其中hep T和hep S控制同一个酶的两个亚基的合成。这些合成基因对进一步研究维生素K<sub>2</sub>的代谢途径具有重要的意义。

#### 4 利用纳豆芽孢杆菌合成维生素K<sub>2</sub>

纳豆是大豆经过纳豆菌(芽孢杆菌)发酵而得到的,是日本的传统食品,不仅含有纳豆激酶,还含有丰富的维生素K<sub>2</sub>、SOD、纳豆多糖、软磷脂、皂苷、谷胱甘肽等上百种活性物质<sup>[19]</sup>。但是大豆中MK含量较低,因而纳豆中的MK主要是芽孢杆菌发酵而得来的。

泛醌和萘醌是两类在原核生物的膜结合蛋白复合体中传递电子的脂溶性化合物。比如大肠杆菌在厌氧的条件下利用MK-8来传递电子,而在有氧的条件下则以CoQ-8来传递电子。然而枯草芽孢杆菌却只能利用萘醌来传递电子,从而维持生命活动<sup>[20]</sup>。并且,纳豆芽孢杆菌合成的维生素K<sub>2</sub>中MK-7含量达98%,因此,纳豆芽孢杆菌合成维生素K<sub>2</sub>得到越来越多的关注。

村泽久司等将大豆经芽孢杆菌发酵后,其中MK-7的含量提高了3倍,达到了0.058 mg·g<sup>-1</sup><sup>[21]</sup>。研究报道指出,芽孢杆菌中的MK含量在孢子形成的早期阶段最高,但当孢子完全长成之后,MK不再产生。因此静态培养比振荡培养能产生更多的MK,为了提高MK产量,应当在细胞数量达到最大之前静置<sup>[22]</sup>。Sato等<sup>[23]</sup>研究发现,50 mg·L<sup>-1</sup>的二苯胺(DPA)能够降低MK的产量,并且微弱抑制细胞的生长,而100 mg·L<sup>-1</sup>的DPA则能够完全抑制细胞的生长。因此筛选出了一株具有DPA抗性的MK-7产生菌*Bacillus subtilis* MH-1,以大豆抽提物和甘油为主要营养物质,经过5 d的静置培养后MK-7产量达到了60 mg·L<sup>-1</sup>。同样通过抗性筛选,Sato等得了一株具有甲萘醌抗性的突变株,MK的产量提高了30%,达到了35 mg·L<sup>-1</sup><sup>[24]</sup>,在发酵过程中,pH出现了反弹,pH降至5.5后又回升到7.7-8.0,Sato认为这一pH变化

过程对MK产量有重要的作用。严为留等以玉米液化液为主要碳源,采用静态培养,并经响应面优化培养条件后,MK-7产量达到了67.22 mg·L<sup>-1</sup><sup>[6]</sup>。Yoshinori等<sup>[25]</sup>利用结构类似物抗性筛选到了一株MK-7高产菌,发酵后产量达到1719 μg·100g<sup>-1</sup>,比出发菌的产量提高了2倍。他们还发现,莽草酸途径能够被几种芳香族氨基酸反馈抑制,当向培养基中同时加入100 mg·L<sup>-1</sup>的酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸时,MK-7的含量会降低80%。Yanagisawa等<sup>[26]</sup>研究指出,纳豆芽孢杆菌菌体内存在大量的水溶性MK-7,每克湿菌体中MK-7含量为85 μg,是培养基中含量的100倍,并且指出水溶性MK-7的出现是由于形成了胞内蛋白复合物并在培养过程被释放到胞外。另外,产生MK-7的纳豆菌通常副生纳豆激酶,对于血栓具有良好的溶解作用,进一步扩大了其应用范围<sup>[27]</sup>。

#### 5 展望

维生素K<sub>2</sub>对于凝血和骨骼健康以及抗肿瘤方面有着重要的意义。纳豆是天然维生素K<sub>2</sub>的重要来源,同时也是溶血栓理想药物-纳豆激酶的重要来源,因此,研究以纳豆菌为模板产维生素K<sub>2</sub>具有重要意义。现阶段MK产生菌主要从纳豆或其它样品直接分离而来,代谢工程手段很少用于MK产生菌的改造,产量不高是制约其快速发展的重要障碍。MK的生物合成途径已研究清晰,通过基因工程手段改造其关键酶,过表达关键酶加强主代谢流或减弱支路代谢,解除关键酶的反馈抑制调节,将是MK产生菌选育的未来方向。

#### 参考文献

- [1] 陈良. 维生素K<sub>2</sub>对骨质疏松大鼠I型胶原影响的实验研究[D]. [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2015.
- [2] 沙长青, 杨志兴, 赵长山. 维生素K<sub>2</sub>的合成方法研究[D]. [硕士学位论文]. 重庆: 重庆大学, 2012.
- [3] 许薇. 维生素K<sub>2</sub>的合成研究[D]. [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [4] 詹芝娅. 凝血/纤溶系统与SIRS、Sepsis[J]. 黑龙江医药, 2008, 21(5): 69-71.
- [5] 严为留, 张伟国, 钱和等. 纳豆芽孢杆菌发酵生产MK-7的产物提取与检测[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(8): 39-45.
- [6] 严为留, 张伟国, 钱和. 响应面法优化维生素K<sub>2</sub>(MK-7)发酵条件[J]. 工业微生物, 2015, 45(3): 14-23.
- [7] Huang Z B, Wan S L, Lu Y J, et al. Does vitamin K<sub>2</sub> play a role in the prevention and treatment of osteoporosis for postmenopausal women: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Osteoporosis International*, 2015, 26(3): 1175-1186.
- [8] 鲁洋. 低嘌呤低MK-7和高酶活纳豆激酶产品的研发[D]. [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [9] 李文锦. 湖南地区血栓性疾病患者凝血酶原G1787T突变频率分析[D]. [硕士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [10] Leon J S, Kirsten J F T, Karly H, et al. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and nat-

## 聚氨基葡萄糖酸钠医用生物胶体液止血作用的实验研究

张晴<sup>1</sup>, 胡颖<sup>1\*</sup>, 叶兰<sup>1</sup>, 黄昌平<sup>2</sup>, 郑茂鑫<sup>2</sup>

1. 贵州医科大学(贵州 贵阳 550004); 2. 贵州扬生医用器材有限公司(贵州 贵阳 550001)

**摘要** 目的: 观察聚氨基葡萄糖酸钠医用生物胶体液(术优康)的止血作用, 为其临床用药提供实验依据。方法: 测定家兔体外血液凝固时间; 建立家兔耳动脉出血模型及家兔体表创面出血模型, 分别测定出血时间。结果: 术优康可显著缩短体外血液凝固时间( $P < 0.01$ )、家兔耳动脉出血时间( $P < 0.01$ )及家兔体表创面出血时间( $P < 0.05$ )。结论: 术优康具有较好的止血作用。

**关键词:** 聚氨基葡萄糖酸钠; 止血

**中图分类号:** R318

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-2882(2016)03-399-03

**DOI:** 10.14035/j.cnki.hljjy.2016.03.007

**基金项目:** 国家火炬计划产业化示范项目(2014GH021267)

**通信作者:** 胡颖。

(内文见下页)

- to-derived menaquinone-7[J]. *Blood*, 2007, 109: 3279-3283.
- [11] Shiraishi E, Iijima H, Shinzaki S, *et al.* Vitamin K deficiency leads to exacerbation of murine dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51 (4): 346-356.
- [12] Kamali F, Wood P, Ward A. Vitamin K deficiency amplifies anticoagulation response to ximelagatran: possible implications for direct thrombin inhibitors and their clinical safety[J]. *Ann Hematol*, 2009, 88 (2): 141-149.
- [13] Thomson Reuters, Montvale. PDR for Nutritional Supplements 2nd ed. NJ, 2008: 711.
- [14] Ebrahiminezhad A, Varma V, Yang S, *et al.* Magnetic immobilization of *Bacillus subtilis* natto cells for menaquinone-7 fermentation[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100 (1): 173-108.
- [15] Katsuyama H, Otsuki T, Tomita M, *et al.* Menaquinone-7 regulates the expressions of osteocalcin, OPG, RANKL and RANK in osteoblastic MC3T3E1 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2005, 15 (2): 231-6.
- [16] Katsuyama H, Saijoh K, Otsuki T, *et al.* Menaquinone-7 regulates gene expression in osteoblastic MC3T3E1 cells[J]. *Int J Mol Med*, 2007, 19 (2): 279-84.
- [17] Forli L, Bollerslev J, Simonsen S, *et al.* Dietary vitamin K<sub>2</sub> supplement improves bone status after lung and heart transplantation[J]. *Transplantation*, 2010, 89 (4): 458-64.
- [18] Van Summeren M J, Braam L A, Lilien M R, *et al.* The effect of menaquinone-7 (vitamin K<sub>2</sub>) supplementation on osteocalcin carboxylation in healthy prepubertal children[J]. *Br J Nutr*, 2009, 102 (8): 1171-8.
- [19] 霍金柱. 高效纳豆激酶菌株的筛选及纳豆生产[D]. [硕士学位论文]: 重庆: 重庆师范大学, 2011.
- [20] Tooshige H, Kazuo F, Jun I, *et al.* An alternative menaquinone biosynthetic pathway operating in microorganisms[J]. *Science*, 2008, 321: 1673-1673.
- [21] 村泽久司, 荒木伸, 磯部洋祐等. ビタミンK高含有納豆の製造方法[P]. 日本, 公开特许公报(A), JP8009916, 1996.
- [22] 吴元锋, 郑裕国. 微生物法生产维生素K-2 (MK)[J]. 科技通报, 2004, 20 (5): 428-433.
- [23] Sato T, Yamada Y, Ohtani Y, *et al.* Production of menaquinone (vitamin K<sub>2</sub>)-7 by *Bacillus subtilis*[J]. *J Biosci Bioeng*, 2001, 91 (1): 16-20.
- [24] Sato T, Yamada Y, Ohtani Y, *et al.* Efficient production of menaquinone (vitamin K<sub>2</sub>) by a menadione-resistant mutant of *Bacillus subtilis* [J]. *J Ind Microbiol*, 2001, 26: 115-120.
- [25] Yoshinori T, Makoto K, Hiroyuki K. Construction of a *Bacillus subtilis* (natto) with high productivity of vitamin K<sub>2</sub> (menaquinone-7) by analog resistance[J]. *Bioci. Biotechnol. Biochem*, 2001, 65 (9): 2007-2015.
- [26] Yanagisawa Y, Sumi H. Natto *Bacillus* contains a large amount of water-soluble vitamin K (menaquinone-7) [J]. *J Food Biochem*, 2005, 29: 267-277.
- [27] 吴杰忱, 张伟, 张友芹. 纳豆和纳豆激酶在预防和治疗疾病中的作用[J]. 黑龙江医药, 2003, 16 (1): 36-37.

收稿日期: 2016-05-09