

비타민 K의 골 건강 증진 효과

장영호

안동과학대학 치위생과

Beneficial effect of vitamin K on bone health

Young-Ho Jang

Dept. of Dental Hygiene, Andong Science College

ABSTRACT

Originally, vitamin K was defined as a factor for blood coagulation. Now more attention is focused on vitamin K for bone metabolism and bone health. Vitamin K is a coenzyme for glutamate carboxylase which converts glutamate residues to γ -carboxyglutamate(Gla) residues. Gla residues have calcium binding ability and bound to hydroxyapatite crystals in bone. Vitamin K promotes the carboxylation of osteocalcin and matrix Gla-protein, vitamin K-dependent proteins and improves bone mineral density and bone mass. Vitamin K deficiency causes reductions in bone mineral density and increases the risk of osteoporotic bone fractures, resulting from under-carboxylated osteocalcin.

This paper is to provide a brief information of vitamin K and its role in bone health. (J Korean Soc Dent Hygiene 2011 ; 11(4) : 419-426)

Key words : bone health, osteocalcin, vitamin K

색인 : 골 건강, 비타민 K, osteocalcin

1. 서론

골조직은 인체의 중요한 내부 장기를 외력으로부터 보호하고, 골수를 보호하여 조혈기능을 유지하며, 인체에서 칼슘과 인산 등의 무기물을 저장한다. 골조직은 성장을 마친 후에도 지속적인 골개조가 일어난다. 그러나 골 흡수에는 큰 변화가 없지만 골 생성능력이 크게 저하됨에 따라 골량과 골 밀도가 감소하고, 미세골격구조가 퇴화되면 골다공증이 발생하며, 골다공증은 골질의 주요 원인이 된다. 골다공증은 폐경에 따라 발생하는 골다공증, 노화에 의해 발생하는 골다공증 및 스테로이드와 같은 약물에 의한 골다공증으로 분류할 수 있다¹⁾.

골다공증과 치주염은 전 세계의 남성과 여성 모두에게 많이 발생하는 질환으로 연령 증가에 따라 함께 증가한다. 골다공증은 치조골을 손상시키므로 치주염 발생에 중요한 역할을 할 뿐 아니라 치아 손실도 함께 일으킨다²⁾.

2009 국민건강통계에 의하면 골다공증의 경우 50세 이상 남성의 유병률은 남자 8.1%, 50세 이상 여성의 38.7%로 여성이 남성보다 4배 이상 높게 나타났으며, 연령이 증가할수록 유병 수준도 높아져 여성의 경우 50대 14.6%, 60대 39.1%, 70대 68.2%이었고, 남성도 70대 이상에서는 20% 수준이었다. 치주질환 유병률은 2007년 33.6%에서 2009년 27.4%로 감소하였다. 성인

(만 30세 이상)의 치주질환 유병률은 전체 37.0%, 남자 44.1%, 여자 30.0%로 남자가 높았으며, 특히 50대 이상 남자에서 50% 이상으로 나타났다³⁾.

골다공증 치료제로 사용되는 것은 비타민 D제제와 칼슘제제와 같은 골형성촉진제와 에스트로겐제제, 부갑상선호르몬제, 비스포스포네이트(bisphosphonates)제제 등과 같은 골흡수억제제가 있지만 이러한 약물제제 중에서 비스포스포네이트와 호르몬제제의 사용으로 인한 부작용이 일부 보고되고 있으므로 이러한 문제를 해결하기 위한 대체 약제의 개발이 진행되고 있다⁴⁻⁶⁾.

따라서 본 논문은 비타민 K의 골 건강 증진 효과에 대한 자료를 제시함으로써 비타민 K의 골 건강 증진제로의 활용 가능성에 관한 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 본론

2.1. 비타민 K의 종류와 분포

지용성 비타민의 하나인 비타민 K는 자연계에서 비타민 K₁(phylloquinone)과 비타민 K₂(menaquinone)로 발견되며, 이 중에서 비타민 K₁이 더 많이 분포되어 있다. 비타민 K₁과 비타민 K₂의 기본구조는 2-methyl-1,4 naphthoquinone 고리의 C3 위치에 isoprenoid 측쇄가 있으며, 여기에 phylloquinone은 prenyl기가 4개 있으며, menaquinone는 isophenyl기가 반복적으로 있으므로 menaquinone-*n*(MK-*n*)으로 표시한다(Fig. 1)⁷⁾.

비타민 K₁(phylloquinone)은 상추, 브로콜리, 시금치, 양배추 등 녹색 야채와 콩기름, 카놀라기름, 올리브기름 등 식물성 기름에 많으며, menaquinone은 육류,

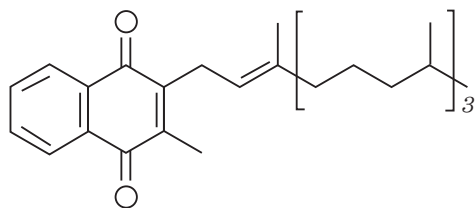
발효제품, 치즈 등에서 많이 함유되어 있다. 비타민 K₂(menaquinone)는 식품에서 대부분 측쇄 길이가 짧은 MK-4의 형태로 존재하며, 측쇄 길이가 긴 MK-7~MK-10은 장내 미생물에 의해서 생산되며, 특히 나토(natto)에 많이 함유되어 있다(Table 1)⁸⁻¹⁰⁾. 비타민 K₃(menadione)은 합성 비타민으로 자연산보다 2~3배 강하지만 골다공증의 치료나 예방에는 사용되지 않고 항암제로 사용된다^{11,12)}.

2.2. 비타민 K의 골 대사 증진 효과

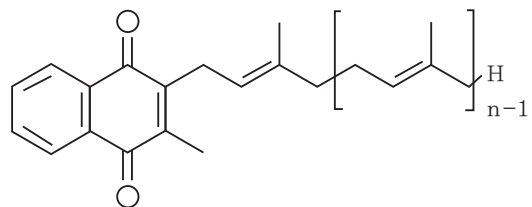
비타민 K는 비타민 K-의존성 단백질에서 글루탐산(glutamic acid)의 카르복실화(carboxylation)를 촉매하여 γ -carboxyglutamic acid(Gla)로 전환시키는 비타민 K-의존성 카르복실라아제(carboxylase)의 조효소 기능을 갖고 있다. 비타민 K-의존성 단백질에는 혈액응고인자[Ⅱ(프로트롬빈), Ⅶ, Ⅸ, X 인자], 혈장단백질(단백질 C, 단백질 S, 단백질 Z), 뼈 단백질(osteocalcin, matrix Gla-protein), 기타 폐, 신장, 비장 등에 존재하는 단백질 등이 있다¹³⁻¹⁶⁾.

골모세포는 칼슘 결합 단백질인 osteocalcin(bone Gla-protein)을 생성하며, matrix Gla-protein(MGP)과 단백질 S는 연골, 혈관 등을 포함한 연조직에서 생성된다. 이들의 기능은 아직까지 명확하지 않지만 osteocalcin과 MGP는 뼈의 무기질 형성을 촉진시키고, 단백질 S는 세포 증식을 촉진시키는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. 또한 MGP는 동맥과 연골의 석회화를 억제하기도 한다^{17,18)}.

Osteocalcin은 3개의 비타민 K-의존성 Gla를 포함하고 있으며, MGP는 5개의 비타민 K-의존성 Gla를 포함하고 있으며, 카르복실화과정에서 생성된 Gla은 칼



Vitamin K₁(phylloquinone)



Vitamin K₂(menaquinone)

Fig 1. Structure of vitamin K

Table 1. Vitamin K content of food supply

unit : $\mu\text{g}/100\text{g}$

Food	Vitamin K ₁ (phylloquinone)	Vitamin K ₂ (MK-4)	Vitamin K ₂ (MK-7)
Brocoli, raw	102±20	N,D	N,D
Cabbage, raw	127±20	1±1	N,D
Spinach, raw	369±54	N,D	N,D
Lettuce, raw	127±15	N,D	N,D
Soybean oil	234±48	N,D	N,D
Butter	2±1	21±7	N,D
Margarine	67±68	0.3±0.6	0.1±0.1
Curry powder	93±23	1±2	6±3
Beef, chuck, raw	0.6±0.1	15±7	N,D
Pork, thigh, raw	N,D	6±2	N,D
Chicken, thigh, raw	N,D	27±15	N,D
Whole egg, raw	0.6±0.3	7±3	N,D
Yogurt, plain	0.3±0.2	1±0.1	0.1±0.2
Processed cheese	2±1	5±2	0.3±0.1
Natto(fermented soybeans)	45±20	2±3	939±753
Black bean natto	50±45	N,D	796±93

N,D : not detectable

슌과 결합하고 수산화인회석(hydroxyapatite)에 흡착되는 성질을 갖고 있다¹⁸⁻²⁰⁾. 따라서 osteocalcin과 MGP의 γ -카르복실화에 의해 생성된 Gla가 칼슌과 결합하고 뼈와 치아의 수산화인회석에 흡착하므로 osteocalcin과 MGP가 뼈와 치아의 석회화를 촉진시킨다.

Hara 등²¹⁾은 비타민 K₂는 뼈에서 칼슌 용출을 억제하고, 파골세포와 같은 다핵세포의 형성을 억제하지만 비타민 K₁은 같은 농도에서 억제 효과가 없었다. 이와 같은 비타민 K₂의 뼈 재흡수 억제효과는 γ -카르복실화 때문이 아니라 비타민 K₂의 측쇄 때문이라고 하였으며, Schurgers 등²²⁾은 비타민 K₂의 측쇄가 mevalonate(mevalonic acid) 경로를 억제하여 파골세포의 활성을 억제한다고 하였다.

비타민 K는 골다공증 환자의 뼈 미네랄 밀도를 증가시킬 뿐 아니라 파괴 속도를 줄일 수 있으며, 골 대사에서 가장 필요한 칼슌 균형을 높일 수 있다²⁰⁾. 골다공증 환자에게 비타민 K₁을 권장량의 15배를 복용시킬 때 혈

액 중 undercarboxylated osteocalcin(UcOC)의 비율은 감소하였지만 뼈의 무기질 손실을 방지하기에는 부족하였다. 그러나 비타민 K₂는 뼈에서 추가적인 무기질 손실과 파절의 위험을 효과적으로 방지하였다²³⁾. 혈청에서 비타민 K 농도가 낮은 사람은 osteocalcin의 카르복실화가 완전하게 일어나지 않으며, 골절을 경험한 혈액 투석 환자는 혈청에서 비타민 K 함량이 적었으며, 비타민 K가 부족하면 순환 osteocalcin의 농도가 감소된다^{24,25)}. 고령의 여성은 젊은 여성에 비해 UcOC의 비율이 높으므로 골절될 가능성이 높고, 이는 비타민 K가 부족하기 때문이다. 비타민 K 부족으로 일어나는 현상은 건강한 어린이에게도 동일하다^{26,27)}. 비타민 K와 골 건강에 대한 역학조사 <Table 2>와 비타민 K의 골에 미치는 영향 <Table 3>에 의하면^{8,28-39)} 비타민 K가 부족하면 UcOC가 증가하게 되고 이에 따라 골 밀도가 감소하므로 골절의 위험성이 증가하며, 비타민 K를 공급하면 UcOC가 감소하면서 골 밀도도 증가한다고 하였다.

Table 2. Epidemiologic studies of vitamin K and bone health^a

Subjects	Variables Studied	Outcome	Reference
195 elderly women ^b	UcOC, hip fracture rate	Fracture risk 5.9 times higher in women with elevated UcOC at start of study	Szulc et al. (1993)
72,327 women	Vitamin K intake, hip fracture rate, BMD	Vitamin K intake of >109µg/day reduced risk of hip fracture by 30%; no correlation between vitamin K and BMD	Feskanish et al. (1996)
113 postmenopausal women	UcOC, BMD	UcOC and BMD inversely related	Jie et al. (1996)
183 elderly women ^c	UcOC, hip fracture rate	Fracture risk 3.1 times higher in women with elevated UcOC at start of study	Szulc et al. (1996)
888 men and women	Vitamin K intake, hip fracture rate, BMD	65% reduced risk of fractures in highest quartile of vitamin K intake compared with lowest quartile	Booth et al. (2000)

^aUcOC = undercarboxylated osteocalcin level, BMD = bone mineral density, OC = osteocalcin level.

^b18-month prospective study.

^cThree-year follow-up study.

2.3 비타민 K₂ 생산 미생물

비타민 K₂는 장내 미생물뿐 아니라 다른 미생물에 의해서도 생산된다. *Flavobacterium meningosepticum* 돌연변이주는 MK-6를 배양액 1당 3.4mg, 건조 세포당 5.5mg을 생산하였다⁴⁰⁾. 나토(natto)에서 분리한 *Bacillus subtilis* MH-1로부터 분리한 diphenylamine에 저항성을 갖는 돌연변이주 D200-41은 MK-7을 생산한다. MK-7은 정치배양을 할 때 생산량이 많으며, 특히 37°C에서 1일 동안 진탕배양을 한 후 45°C에서 5일 동안 배양하여 MK-7을 최대 60mg까지 생산하였으며, menadione에 저항성을 갖는 *Bacillus subtilis* 돌연변이주는 기존 균주보다 30%의 MK를 더 생산하였고, 최대 생산량은 4일 배양할 때 1당 35.0mg이었다. *Bacillus subtilis natto*를 10mM of dipicolinic acid를 첨가한 배지에서 배양한 결과 평소보다 MK-7을 4배 더 생산하였으며, 진탕배양과 정치배양에 따른 MK-7 생산량의 차이점은 발견되지 않았다⁴¹⁻⁴³⁾. 뼈 형성을 촉진시키는 나토를 개발하기 위해 osteocalcin의 카르복실화에 중요한 역할을 하는 MK-7을 많이 생산하는 균주를 선발하였다. 선발된 균주

OUV23481는 *Bacillus subtilis* (Natto)이며, 기존의 균주보다 MK-7을 2배 이상(1,719µg/100g 나토) 생산하였으며, 이 균주를 사용하여 제조한 나토는 외관, 맛, 풍미, 질감 등에서 좋은 품질을 나타내었다⁴⁴⁾.

비타민 K₂(menaquinone)을 생산하는 젖산균에는 *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Leuconostoc lactis* 등이 있으며, 이들 중에서 menaquinone을 건조 세포당 230nmol/g 생산하는 균주를 선발하였고, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* YIT2001과 *Leuconostoc lactis* YIT3001을 환원탈지유 또는 두유에 배양할 때 menaquinone을 1당 29~123µg 생산하였다⁴⁵⁾. Propionibacteria는 tetrahydromenaquinone-9[MK-9(4H)]을 생산하며, 특히 스위스 에멘탈과 노르웨이 Jarlsberg 치즈에는 MK-9(4H)가 200~650ng/g으로 매우 많이 포함되어 있다⁴⁶⁾.

이와 같이 나토 또는 치즈를 발효시키는 미생물과 발효제품에 스타터로 사용되는 젖산균이 비타민 K를 생산하므로 이러한 미생물을 활용한 발효제품을 통하여 비타민 K의 섭취를 보완할 수 있다.

Table 3. Intervention studies of vitamin K's effect on bone variables^a

Subjects	Treatment	Outcome	Reference
20 postmenopausal women	Phytonadione 1mg/day for 2 wk with or without vitamin D ₂ 400 units/day	Carboxylation of OC improved in both groups; vitamin D ₂ had no effect	Douglas et al. (1995)
219 healthy men and women	Phytonadione 1mg/day for 2 wk	In all treated groups, mean UcOC decreased from 7.6% to 3.4%; age and sex did not affect the decrease	Binkley et al. (2000)
92 postmenopausal women with osteoporosis	Group D: Vitamin D ₃ 0.75μg/day Group K: Menaquinone 45mg/day Group DK: D and K treatment Group C: Calcium 2g/day All treatments for 2 yr	BMD improved more in group DK than in group D or group K; increase in lumbar spine BMD significantly greater in group DK than group C	Iwamoto et al. (2000)
113 women with fractures and 91 women without fractures	Menaquinone 45mg/day, vitamin D ₃ 1 μg/day, or both for 4 wk	UcOC decreased in menaquinone groups but not group receiving vitamin D ₃ only	Takahashi et al.(2001)
94 postmenopausal women with osteoporosis (84 controls, 10 treated)	Menaquinone 45mg/day with either conjugated estrogens 0.625mg/day or medroxyprogesterone acetate 2.5mg/day for 1 yr	Menaquinone-hormonal treatment improved BMD that had been decreasing during hormonal treatment alone	Hidaka et al. (2002)
46 women with osteoporosis	Menaquinone 45mg/day for 2 yr	Treated group had fewer new vertebral fractures (13) than placebo group (30)	Shiraki et al. (2002)
20 elderly women with osteoporosis	Calcium 200mg/day for 2 wk with or without menaquinone 45mg/day	Menaquinone group had reduction in UcOC without change in OC	Miki et al. (2003)

^aBMD = bone mineral density, UcOC = undercarboxylated osteocalcin level, OC = osteocalcin level, %carbOC = percentage of total osteocalcin that is carboxylated.

3. 결론

비타민 K는 혈액 응고에 필요한 인자로 알려져 있을 뿐 아니라 골 대사에도 관여하고 있다. 비타민 K는 비타민 K-의존성 단백질인 osteocalcin과 matrix Gla-protein(MGP)의 글루타민산을 γ-carboxyglutamic acid(Gla)로 전환시키는 카르복실라제의 조효소로 작용하며, 이때 생성된 Gla는 칼슘과 결합하고 수산화인회석(hydroxyapatite)에 흡착되는 성질을 갖고 있다. 따라서 비타민 K가 osteocalcin과 MGP의 카르복실화를 향상시키므로 비타민 K는 골 대사를 촉진시킨다.

비타민 K가 결핍되면 uncarboxylated osteocalcin(UcOC)가 증가하므로 골 밀도가 감소하여 골다공

증이 발생한다. 골다공증은 골절의 위험성이 높기 때문에 반드시 약물치료가 필요하며, 사용되는 약물제제는 골 흡수 억제제와 골 합성 제제가 있다. 그러나 지속적인 약물제제의 사용은 중독성 및 부작용을 일으킬 수 있으므로 이러한 문제를 해결하기 위하여 대체 약제에 대한 개발이 진행되고 있으며, 지금까지 제안된 대체 약제로는 식물성 에스트로젠, 한약제제, DHEA 등이 있다.

따라서 비타민 K-의존성 단백질인 osteocalcin과 MGP의 카르복실화를 향상시켜 골 밀도를 증가시킬 수 있는 비타민 K를 골 건강 증진제로 활용할 방법을 모색할 필요가 있으며, 이에 대한 지속적인 연구가 진행되어 부작용이 없는 새로운 골 건강 증진제가 개발되기를 기대한다.

참고문헌

1. 민병무. 구강생화학. 서울:대한나래출판사;2007:77-83.
2. Pejčić A, Kojović D, Grigorov I, Stamenković B. Periodontitis and osteoporosis. *Med Biol* 2005;12:100-103.
3. 보건복지부 질병관리본부. 2009 국민건강통계: 국민 건강영양조사 제4기 3차년도(2009). 서울:보건복지부;2010:56,64.
4. 강병문. 골다공증 치료의 의학약제와 대체 약물의 비교. *대한산부인과학회지* 2006;49:2459-2473.
5. Marx RE. Pamidronate(Aredia) and zolendronate(Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115-1117.
6. 박용덕, 김영한, 김덕운 외 4인. 한국인 치과 의사의 비스포스포네이트 관련 약골괴사에 대한 인식 연구: 예비 보고. *대한구강악안면외과학회지* 2009;35:153-157.
7. Kaczor T. Vitamin K and osteoporosis. *Natural Med J* 2009;1:1-12.
8. Adam J, Pepping J. Vitamin K in the treatment and prevention of osteoporosis and arterial calcification. *Am J Health-Syst Pharm* 2005;62:1574-1581.
9. Kamao M, Suhara Y, Tsugawa N et al. Vitamin K Content of Foods and Dietary Vitamin K Intake in Japanese young women. *J Nutr Sci Vitaminol* 2007;53:464-470.
10. Damon M, Zhang NZ, Haytowitzb DB, Bootha SL. Phylloquinone(vitamin K₁) content of vegetables. *J Food Com Anal* 2005;18:751-758.
11. 박광균, 김영진, 박영민, 정원윤. *치과영양학*. 2판. 서울:대한나래출판사;2007:130-132.
12. Lamson, DW, Plaza SM. The anticancer effects of vitamin K. *Alternative Med Rev* 2003;8:303-318.
13. Suttie JW. Vitamin K and human nutrition. *J Am Diet Assoc* 1992;92:585-590.
14. Büel S. Vitamin K and bone health. *Proc Nutr Soc* 2003;62:839-843.
15. Uotila L. The metabolic functions and mechanism of action of vitamin K. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1990;201:109-117.
16. Vermeer C, Jie KSG, Knapen MHJ. Role of vitamin K in bone metabolism. *Ann Rev Nutr* 1995;15:1-22.
17. Shearer MJ. Role of vitamin K and Gla proteins in the pathophysiology of osteoporosis and vascular calcification. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000;3:433-438.
18. Price PA, Otsuka AS, Poser JW, Kristaponis J, Raman N. Characterization of a gamma-carboxyglutamic acid containing protein from bone. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1976;73:1447-1451.
19. Hauschka PV, Lian JB, Cole DEC, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: Vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev* 1989;69:990-1047.
20. Weber P. Vitamin K and Bone Health. *Nutr* 2001;17:880-887.
21. Hara K, Akiyama Y, Nakamura T, Murota S, Morita I. The inhibitory effect of vitamin K₂(menatetrenone) on bone resorption may be related to its side chain. *Bone* 1995;16:179-184.
22. Schurgers LJ, Knapen MHJ, Vermeer C. Vitamin K₂ improves bone strength in postmenopausal women. *Int Congr Ser* 2007;1297:179-187.
23. Zittermann A. Effects of vitamin K on calcium and bone metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001;4:483-487.
24. Kohlmeier H, Salomon A, Saupe J, Shearer MJ. Transport of vitamin K to bone in humans. *J Nutr* 1996;126:1192S-1196S.

25. Compston JE. Boning up on vitamin K. *Gut* 2001;48:448-449.
26. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest* 1993;91:1769-1774.
27. van Summeren M, Braam L, Noirt F, Kuis W, Vermeer C. Pronounced elevation of undercarboxylated osteocalcin in healthy children. *Pediatr Res* 2007;61:366-370.
28. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest* 1993;91:1769-1774.
29. Feskanish D, Weber P, Willett WC. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1999;69:74-79.
30. Jie KS, Bots ML, Vermeer C. 1996. Vitamin K status and bone mass in women with and without aortic atherosclerosis: a population-based study. *Calcif Tissue Int* 59:352-356.
31. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture: a three year follow-up study. *Bone* 1996;18:487-488.
32. Booth SL, Tucker KL, Chen H. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1201-1208.
33. Douglas AS, Robins SP, Hutchison JD. Carboxylation of osteocalcin in postmenopausal osteoporotic women following vitamin K and D supplementation. *Bone* 1995;17:15-20.
34. Binkley NC, Krueger DC, Engelke JA. Vitamin K supplementation reduces serum concentrations of undergamma-carboxylated osteocalcin in healthy young and elderly adults. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1523-1528.
35. Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. Effect of combined administration of vitamin D₃ and vitamin K₂ on bone mineral density of the lumbar spine in postmenopausal women with osteoporosis. *J Orthop Sci* 2000;5:546-551.
36. Takahashi M, Naitou K, Ohishi T. Effect of vitamin K and/or D on undercarboxylated and intact osteocalcin in osteoporotic patients with vertebral or hip fractures. *Clin Endocrinol* 2001;54:219-224.
37. Hidaka T, Hasegawa T, Fujimura M. Treatment for patients with postmenopausal osteoporosis who have been placed on HRT and show a decrease in bone mineral density: effects of concomitant administration of vitamin K₂. *J Bone Miner Metab* 2002;20:235-239.
38. Shiraki M, Shiraki Y, Aoki C. Vitamin K₂(menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2000;15:515-521.
39. Miki T, Nakatsuka K, Naka H. Vitamin K₂(menaquinone 4) reduces serum undercarboxylated osteocalcin level as early as 2 weeks in elderly women with established osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 2003;21:161-165.
40. Tani Y, Asahi S, Yamada H. Menaquinone(vitamin K₂)-6 production by mutants of *Flavobacterium meningosepticum*. *J Nutr Sci Vitaminol* 1986;32:137-45.
41. Sato T, Yamada Y, Ohtani Y et al. Production of menaquinone(vitamin K₂)-7 by *Bacillus subtilis*. *J Biosci Bioeng* 2001;91:16-20.
42. Sato T, Yamada Y, Ohtani Y et al. Efficient production of menaquinone(vitamin K₂) by a menadione-resistant mutant of *Bacillus subtilis*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2001;26:115-120.

43. Sumi H, Ikeda S, Ohsugi T. Increasing the production of nattokinase and vitamin K₂ in natto with dipicolinic acid. *Open Food Sci J* 2009;3:10-14.
44. Tsukamoto Y, Kasai M, Kakuda H. Construction of a *Bacillus subtilis*(Natto) with high productivity of vitamin K₂(menaquinone-7) by analog resistance. *Biosci Biotechnol Biochem* 2001;65:2007-2015.
45. Morishita T, Tamura N, Makino T, Kudo S. Production of menaquinones by lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1999;82:1897-1903.
46. Hojo K, Watanabe R, Mori T, Taketomo N. Quantitative measurement of tetrahydromenaquinone-9 in cheese fermented by propionibacteria. *J Dairy Sci* 2007;90: 4078-4083.