

고 콜레스테롤 식이 투여 흰쥐에 있어서 녹차의 콜레스테롤 저하 효과

진현화¹ · 양정례¹ · 정종화² · 김양하^{3*}

¹창원대학교 식품영양학과

²경상남도 보건환경연구원

³이화여자대학교 식품영양학과

Hypocholesterolemic Effects of Green Tea in Cholesterol-Fed Rats

Hyun-Hwa Jin¹, Jeong-Lye Yang¹, Jong-Hwa Chung² and Yangha Kim^{3*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Changwon University, Changwon 641-773, Korea

²Gyeongsangnam-do Health and Environmental Research Institute, Changwon 641-241, Korea

³Dept. of Food and Nutritional Science, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Abstract

Green tea, which is high in polyphenols, is thought to have hypocholesterolemic effects. The present study was performed to further elucidate the hypocholesterolemic actions of green tea, specially the catechin and (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) for their effects on the diet-induced hypercholesterolemia in rats. Male Sprague-Dawley rats were fed with green tea-free diet (control), diets containing 4% green tea powder (GTP), 1.0% green tea catechin (catechin) or 0.5% epigallocatechin gallate (EGCG) for 7 wks. All diets that were provided green tea contained approximately 0.5% EGCG. Hypercholesterolemia was induced by adding 1% cholesterol and 0.5% cholic acid to all diets. There were no differences in food intake among groups. The green tea treatments showed significant improvement in the serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, triacylglycerides and atherogenic index in the following order; EGCG>Catechin>GTP ($p<0.05$). The serum HDL-cholesterol level was highest in the EGCG-treated group. The catechin or EGCG diet up-regulated by 5 times the enzyme activity of hepatic cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) compared to control diet ($p<0.05$). Hepatic CYP7A1 mRNA level paralleled the increases in the CYP7A1 activity. These results suggest that the EGCG in the green tea may account for the hypocholesterolemic effect by the induction of CYP7A1 gene expression.

Key words: green tea, catechin, hypocholesterolemic effect, cholesterol 7 α -hydroxylase, epigallocatechin gallate (EGCG)

서 론

최근 폴리페놀이 풍부한 식품, 즉 과일, 채소 및 이들의 주스, 와인, 차, 커피 등의 음료가 항산화성분의 식이공급원으로서 그 생리활성에 주목을 받고 있다. 많은 역학 연구에서 폴리페놀이 풍부한 식품섭취가 심혈관질환에 의한 사망률 저하와 상관성이 있음을 보고하고 있다(1-3). 동맥경화, 심근경색 및 뇌졸중과 같은 심혈관계 질환은 다른 만성 질환에 비하여 식이의 영향을 많이 받는다고 알려져 있으며, 위험인자로는 혈중 콜레스테롤, 고혈압, 흡연, 당뇨 및 비만 등이 있다(4). 따라서 식품 중에 함유된 항동맥경화성 인자들을 추출하고 이들의 생리활성 기능을 과학적으로 밝히고자하는 많은 연구들이 수행되고 있다. 그 중 기호 음료인 녹차의 섭취는 동양과 유럽에서의 역학조사 결과에서 녹차나 홍차를 마시지 않는 사람에 비해 심혈관질환의 발생위험을 낮추어 주는 것으로 보고되고 있다(5).

녹차의 주요 생리활성물질은 폴리페놀의 일종인 catechin으로 알려져 있는데, 녹차 폴리페놀 함량의 약 70% 이상을 차지하고 있으며, 녹차 한 잔 중에는 100 mg 내외의 catechin이 함유되어 있다(6,7). 알려진 녹차의 약리학적 기능으로는 녹차 catechin이 체내에서 유해한 유리기를 제거하고 항산화효소의 활성을 증가시켜 항산화 활성을 나타내며(8,9), 항암성, 항돌연변이성, 항바이러스성, 항염성, 항알레르기성 및 항혈전성을 가진다고 보고되어 있다(10,11). 사람을 대상으로 한 역학연구들(12,13)과 실험동물을 대상으로 한 연구들(14-20)에서 녹차, 오롱차 및 홍차의 동맥경화지수 저하 효과들이 다수 보고되었다. Yang과 Koo(15)는 녹차의 혈중 콜레스테롤 저하효과가 녹차에 다량 함유되어 있는 (-)-epicatechin gallate(ECG)와 (-)-epigallocatechin gallate(EGCG)의 작용을 통한 것임을 보고하였으며, Yamaguchi 등(16)은 동물실험에서 녹차가 농도 의존적으로 혈중 콜레스테롤 저하효과를 나타내었다고 보고하였다. 녹차가 동물의 혈중 콜

*Corresponding author. E-mail: yhmoon@ewha.ac.kr
Phone: 82-2-3277-3101, Fax: 82-2-3277-2862

콜레스테롤 함량을 유의적으로 감소시켰다는 또 다른 연구결과(21)에서는 녹차의 콜레스테롤 저하기전을 콜레스테롤 흡수 억제 및 담즙산 형태로의 배설을 촉진함으로써 혈중 지질상태를 개선하는 것으로 추정하였다. 최근에는 녹차의 섭취가 지방 및 콜레스테롤의 흡수를 저하시키거나(15) 혹은 내분비계에 영향을 미쳐 식이 섭취를 감소시킴으로써 혈중 콜레스테롤 저하효과를 나타낸다고 보고되기도 하였다(16).

콜레스테롤이 담즙산으로 합성되어 변으로 배설됨으로써 혈중 콜레스테롤 수준이 저하되는데, 이 기전은 간에서 콜레스테롤을 담즙산으로 이화시키는 cholesterol 7 α -hydroxylase(CYP7A1) 효소 활성에 의하여 조절된다(22). 본 연구에서는 실험동물 식이에 녹차 및 녹차 추출물의 첨가가 동맥경화의 주요 위험 인자 중의 하나인 콜레스테롤 대사에 미치는 영향과 그 기전을 규명하기 위하여 녹차 섭취시 CYP7A1 효소의 활성 및 유전자 발현을 측정하여, 녹차의 콜레스테롤 저하기전을 CYP7A1 유전자 발현 측면에서 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 녹차추출물(catechin과 EGCG)은 태평양기술연구원(경기도 용인 소재)에서 녹차로부터 추출한 것(순도 80% 이상)을, 녹차분말은 (주)태평양 제품을 사용하였다. 녹차첨가군은 모두 0.5% EGCG를 함유하는 양으로 계산하여 무첨가군(Control), 4% 녹차분말군(GTP), 1% 녹차 catechin군(Catechin), 0.5% 녹차 EGCG군(EGCG)의 4군으로 나누었다.

실험동물 사육 및 식이

생후 4주령의 male Sprague-Dawley rats(SLC, Japan)을 동물사육실(실내온도 22 \pm 2 $^{\circ}$ C, 상대습도 55 \pm 5%, 12 hour light-dark cycle)에서 물과 AIN-76 diet(Harlan Teklad, Madison, USA)(23)를 제한없이 먹이면서 일주일간 환경에 적응시켰다. 적응 기간 후 체중에 따른 난괴법으로 5마리씩 4군으로 나누어 각 군의 식이를 *ad-libitum*으로 7주간 사육하였다.

각 군의 식이조성은 Table 1과 같다. 고콜레스테롤혈증을 유도하기 위하여 모든 식이는 1% 콜레스테롤과 0.5% cholic acid를 첨가하여 조제하였다.

시료의 수집 및 처리

사육이 끝난 실험동물은 14시간 이상 절식시킨 다음, dry ice로 절식시키고 10 mg EDTA 함유 주사기로 심장에서 채혈하였다. 채혈한 혈액은 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 분석시까지 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 개복 적출한 간은 냉장 생리식염수로 세척하여 무게를 측정된 후 -70 $^{\circ}$ C의 액체질소에 담그어 급속동결시킨 후 분석시까지

Table 1. Compositions of experimental diets¹⁾
(g/100 g diet)

Component	Control	GTP	Catechin	EGCG
Casein	20	20	20	20
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Corn starch	13.5	9.5	12.5	13
Sucrose	45	45	45	45
Cellulose	5	5	5	5
Lard	10	10	10	10
Mineral mix (AIN-76) ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix (AIN-76) ³⁾	1	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	1	1	1	1
Cholic acid	0.5	0.5	0.5	0.5
Green tea ⁴⁾	-	4	1.0	0.5
Total	100	100	100	100

¹⁾Diets were AIN-76 semipurified, and given in powdered form.

²⁾AIN-76 mineral mixture.

³⁾AIN-76 vitamin mixture.

⁴⁾Control: green tea-free, GTP: 4% green tea power, Catechin: 1% green tea catechin extract, EGCG: 0.5% green tea EGCG extract.

-70 $^{\circ}$ C의 deep freezer에 보관하였다.

혈청 총콜레스테롤, 중성지방 및 HDL-콜레스테롤 함량

혈청의 총콜레스테롤, 중성지질 및 HDL-콜레스테롤정량은 효소비색법을 이용한 kit(Sigma, USA)를 사용하여 분석하였다. LDL 콜레스테롤 함량은 Friedewald의 공식(24)를 이용하여 구하였다.

간에서의 cholesterol 7 α -hydroxylase 활성 측정

간조직은 teflon pestle이 달린 Potter-Elvehjem homogenizer를 이용하여 균질화하고 microsome은 차별원심분리법으로 분리하였다. 간으로부터 조제한 microsome은 효소 활성 측정 직전에 가용화하여 Hiroaki 등(25)의 방법으로 측정하였다. 즉, 가용화한 microsomal protein 2 mg/mL 2 mL에 최종농도 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4), 0.1 mM EDTA, 50 mM NaF, 2 mM NADPH, 20 mM cysteamine, 200 μ M cholesterol, 1.5 mg/mL Tween 80, 6 μ Ci [7(n)-H³] cholesterol (Amersham, UK)을 첨가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 후 20% TCA 6 mL을 가하여 반응을 중지시켰다. 원심분리(1,500 \times g, 10분)한 후 동위원소 표지된 cholesterol을 chloroform으로 2회 추출하였다. 상층액 1 mL을 scintillation counter(COBR A II, A Packard Bioscience Company, USA)에서 radioactivity를 측정하였다.

Northern blot analysis에 의한 cholesterol 7 α -hydroxylase mRNA 함량 측정

cholesterol 7 α -hydroxylase 재조합 DNA를 CaCl₂를 이용하여 competent cell과 함께 섞어 냉장상태에서 42 $^{\circ}$ C의 열충격을 가한 다음 다시 얼음에 보관함으로써 유전자를 transformation하여 kanamycin에 저항성을 가진 선택배지에서 키웠다(26). 확인된 클로닝 벡터는 EndoFree Plasmid kits

(QIAGEN, Germany)를 이용하여 plasmid DNA를 분리하였다. 간조직에서의 total RNA를 guanidium을 이용하여 추출하였다(26). 분리한 RNA는 formaldehyde를 이용한 RNA의 depaturing gel electrophoresis를 실시하고, denatured RNA를 nitro-cellulose filter(Hybond-N+, Amersham)에 transfer한 후, P³²-random primed cDNA probe를 첨가하여 Northern hybridization과정을 행하였다. -70°C에서 membrane을 X-ray film에 16~24시간 노출시켜 현상하여 autoradiography를 하였다.

통계분석

모든 실험결과는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 Duncan's multiple range test로 general linear model (GLM)을 이용하여 p<0.05수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량, 체중증가량 및 식이 효율

녹차 식이를 7주간 섭취한 실험동물의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 2와 같다. 시작체중과 식이섭취량은 모든 군간에 유의적인 차이가 없었으며, 체중증가량과 식이효율은 4% 녹차분말을 첨가한 GTP군에서 가장 낮게 나타났다. Lee 등(27)이 흰쥐를 대상으로 카페인 및 녹차가 체지방축적에 미치는 영향을 연구한 보고에서 녹차분말군의 식이섭취량이 대조군과 카페인 섭취군에 비해 현저히 낮았음을 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 결과를 보고하였다. 또한, Tonooka 등(28)은 3.5%의 녹차 catechin을 흰쥐에 섭취시킨 경우, 30일 후의 체중이 대조군보다 유의적으로 낮

아졌으며 2% catechin 첨가로 3개월간 사육했을 경우에는 녹차군과 대조군의 차이가 없었다고 하여 녹차섭취가 체중에 미치는 영향은 첨가량과 기간에 따라 다르게 나타나는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 녹차분말 섭취시에 나타난 체중 감소효과는 녹차의 쓴맛이 식이 섭취를 감소시켰거나 녹차 분말에 함유된 식이섬유의 영향으로 사료된다.

혈청 지질 수준

녹차 식이를 7주간 섭취한 실험동물의 혈청 total, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방함량 및 HDL/LDL의 비를 측정된 결과는 Table 3과 같다. Catechin, EGCG군에서 혈청 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방함량이 유의적으로 감소되었다(p<0.05). 녹차섭취에 따른 혈청내 지질 수준의 감소 효과는 EGCG>Catechin>GTP군의 순으로 나타났다. 이와 같은 결과는 다른 많은 연구에서의 결과와 유사하여 catechins이 풍부한 녹차 물 추출물 급여가 혈청내 중성지방 농도 감소(10)와 quercetin과 catechin이 콜레스테롤 및 어유를 섭취한 흰쥐의 혈청과 간에서 콜레스테롤과 중성지방 수준을 저하시킨다는 연구결과(29)와 일치하고 있다. Matsuda 등(30)이 고지방 식이를 섭취한 mice를 대상으로 tea catechins이 혈청 지질에 미치는 영향 연구에서 (-)-EGCG와 (-)-ECG의 경구투여가 혈청과 간의 콜레스테롤을 유의적으로 감소시켰음을 보고하였다. 동맥경화를 개선시켜주는 요인으로 알려져 있는 HDL-콜레스테롤함량은 본 실험에서 군간에 유의적인 차이는 없었으나 EGCG군에서 다소 증가하였으며 HDL/LDL 비는 모든 녹차 첨가군에서 증가하여 EGCG군에서 가장 큰 효과를 나타내었다. HDL은 말초조직으로부터 과잉의 콜레스테롤을 간으로 이동시키고 거품세포형성을 방해하여 동맥경화의 진행과정을 늦추는 역할을

Table 2. Body weight gain, food intake, and food efficiency of rats fed experimental diets

Group	Initial body weight (g)	Weight gain (g/7 weeks)	Food intake (g/7 weeks)	Food efficiency ⁴⁾
Control	124.4 ± 13.1 ^{1)NS2)}	313.9 ± 33.8 ^{ab3)}	1097 ± 26.3 ^{NS}	0.29 ± 1.3 ^{ab}
GTP	129.2 ± 18.5	271.1 ± 12.5 ^b	1040 ± 12.5	0.26 ± 0.9 ^b
Catechin	121.1 ± 16.9	344.7 ± 39.6 ^a	1112 ± 25.4	0.30 ± 1.6 ^a
EGCG	128.1 ± 15.3	308.9 ± 34.3 ^{ab}	1025 ± 17.1	0.30 ± 2.0 ^a

¹⁾Values are expressed as mean ± SE, n=5.

²⁾NS: not significant.

³⁾Values in a column with different superscripts are significantly different, p<0.05.

⁴⁾Weight gain (g)/Food intake (g).

Table 3. Lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations in serum of rats fed experimental diets (mg/dL)

Group	Total cholesterol	HDL cholesterol	LDL cholesterol ⁴⁾	Triglyceride	HDL/LDL
Control	245.6 ± 1.46 ¹⁾²⁾	11.6 ± 0.05 ^{NS3)}	222.0 ± 0.80 ^a	60.2 ± 0.09 ^a	0.05 ± 0.06 ^b
GTP	227.7 ± 2.80 ^{ab}	11.9 ± 0.05	205.0 ± 1.54 ^{ab}	53.9 ± 0.19 ^{ab}	0.06 ± 0.03 ^{ab}
Catechin	189.2 ± 0.75 ^b	11.9 ± 0.07	166.8 ± 0.39 ^{ab}	52.2 ± 0.07 ^{ab}	0.07 ± 0.17 ^{ab}
EGCG	161.4 ± 0.56 ^b	13.5 ± 0.19	138.4 ± 0.22 ^b	47.7 ± 0.15 ^b	0.09 ± 0.16 ^a

¹⁾Values are expressed as mean ± SE, n=5.

²⁾Values in a column with different superscripts are significantly different, p<0.05.

³⁾NS: not significant.

⁴⁾LDL cholesterol was calculated by the method of Friedewald formula.

하는 것으로 알려져 있다(31). 또한 HDL/LDL-콜레스테롤 비율은 동맥경화에 의한 사망률과 높은 관계가 있고 발생위험을 예측하여 적절한 조치를 취하는 유용한 지표로 사용되므로(32) 본 실험의 결과로 녹차의 섭취가 식이로 고콜레스테롤을 유도한 경우에도 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤을 감소시키고 HDL-콜레스테롤을 상승시키는 결과를 가져와 심장순환계질환의 예방과 치료에 효과적일 것으로 사료된다. 또한, 녹차 섭취에 따른 혈중 콜레스테롤 저하효과는 주로 EGCG에 기인하고 있음을 알 수 있었다.

간에서의 cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) 활성측정과 mRNA함량

Cholesterol 7 α -hydroxylase(CYP7A1)는 간에서 콜레스테롤을 담즙산으로 분해시키는 과정의 속도제한효소이며, 주로 소장으로부터 재흡수되는 담즙산의 억제 feedback에 의해서 조절되고 있다(33). 따라서 CYP7A1 활성증가는 간의 콜레스테롤을 담즙산으로 배설시키는 과정을 up-regulation하게 된다.

녹차 식이를 7주간 섭취한 실험동물의 간 CYP7A1 활성과 유전자 발현을 측정한 결과는 Fig. 1, 2와 같다. 녹차섭취군에서 CYP7A1의 높은 활성증가가 나타났으며 특히 Catechin과 EGCG군은 대조군에 비하여 5배 가량 증가하였다. CYP7A1 mRNA 유전자 발현정도에서는 Catechin군과 EGCG군에서 발현이 증가하였으며, 효소활성 증가와 유사하게 EGCG군에서 가장 높은 발현을 보였다. Yang과 Koo(17)의 연구에서는 고콜레스테롤 식이를 한 흰쥐에 2% catechin 급여는 cholesterol 7 α -hydroxylase 활성에서 유의적인 효과가 없었으나 4% Catechin군에서는 본변으로 담즙산과 콜레스테롤 배설이 증가하였는데 이는 간에서의 CYP7A1 활성증가에 기인한 것이라고 보고하였다. 본 연구에서 녹차 섭취군 특히 EGCG군에서의 현저한 혈중 콜레스테롤 저하작용은 CYP7A1 유전자 발현 및 효소의 활성증가에 따른 콜레스테롤의 담즙

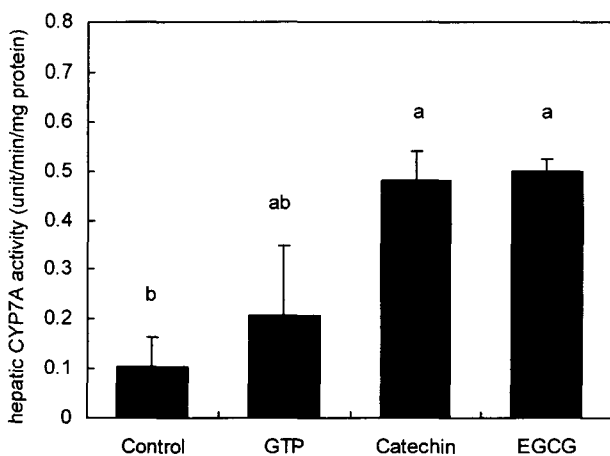


Fig. 1. Hepatic CYP7A1 activity. Effect of green tea on hepatic CYP7A1 activity (unit/min/mg protein). Values are expressed as mean \pm SE, n=5.

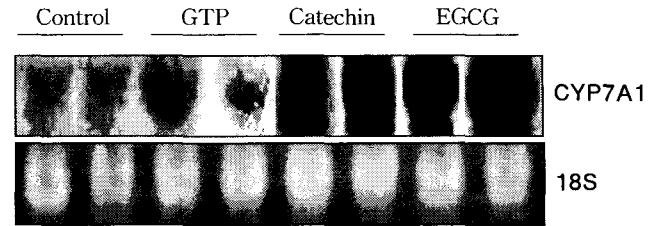


Fig. 2. Levels of CYP7A1 mRNA expression. Representative Northern analysis of CYP7A1 mRNA and ethidium bromide staining of 18S rRNA. Each lane contains 20 μ g RNA.

산으로의 배설 증가에 기인하는 것으로 추측된다. 녹차의 혈중 콜레스테롤 저하 기전을 분자적 수준에서 살펴본 연구는 이제까지 없었으므로 본 연구의 결과를 바탕으로 녹차와 녹차성분이 CYP7A1 유전자의 전사를 조절하는 인자와 기전을 규명하는 것이 급후의 과제일 것이다.

요 약

본 연구는 녹차의 혈중 콜레스테롤 저하 효과 및 녹차 추출물인 catechin과 EGCG가 hypocholesterolemic 효과에 미치는 정도를 식이로 고콜레스테롤혈증을 유도한 흰쥐에서 평가하고자 수행하였다. 4주령의 수컷 SD계 흰쥐를 난피법에 따라 각 군당 5마리씩 무녹차섭취군(대조군), 4% 녹차분말군(GTP), 1% 녹차 catechin군(Catechin), 0.5% 녹차 EGCG군(EGCG)의 4군으로 7주간 사육을 하였다. 녹차 첨가군은 모두 0.5% EGCG를 함유하도록 녹차 첨가량을 결정하였으며 모든 식이는 고콜레스테롤혈증을 유도하기 위하여 1% cholesterol과 0.5% cholic acid를 첨가하였다. 식이섭취량은 각 군간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 혈청 총 및 LDL-콜레스테롤 수준은 Catechin군이 189.2 mg/dL, 166 mg/dL, EGCG군에서는 161.4 mg/dL, 138 mg/dL로 나타나 대조군(245 mg/dL, 222 mg/dL)에 비하여 유의적으로 감소되었고 ($p < 0.05$), EGCG군에서 그 효과는 더욱 크게 나타났다. 혈청의 중성지방농도는 녹차섭취군이 대조군보다 낮았으며 EGCG군에서 가장 낮게 나타났다. HDL-콜레스테롤 수준은 유의적이지는 않았지만 녹차섭취군이 대조군보다 높은 경향을 보였고, HDL/LDL-콜레스테롤 비율은 대조군에 비하여 녹차섭취군에서 증가하여 EGCG군에서 가장 높았다. 이와 같은 결과는 녹차의 섭취가 혈중 콜레스테롤 및 중성지방을 감소하고, HDL-콜레스테롤을 증가시킴으로써 동맥경화 위험을 줄일 수 있는 가능성을 반영하고 있다. 간에서의 CYP7A1 활성과 유전자 발현정도는 Catechin군, EGCG군이 대조군에 비하여 높게 나타났으며, EGCG군에서 가장 많이 증가하여 혈청에서의 지질수준 감소 경향과 일치하였다. 이상의 본 연구 결과들은 녹차 섭취군에서의 혈중 콜레스테롤 저하작용 특히 EGCG군에서의 현저한 hypocholesterolemic 효과는 CYP7A1 유전자 발현 및 효소의 활성증가에 따른 콜레스테롤의 담즙산으로의 배설 증가에 기인하는 것으로 추측된다.

감사의 글

이 논문은 2002년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2002-003-F00052).

문헌

1. St Leger AS, Cochrane AL, Moore F. 1979. Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *Lancet* 1: 1017-1020.
2. Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Int Med* 155: 381-386.
3. Tijburg LB, Mattern T, Folts JD, Weisgerber UM, Katan MB. 1997. Tea flavonoids and cardiovascular disease: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 37: 771-785.
4. Glowinska B, Urban M, Koput A. 2002. Cardiovascular risk factors in children with obesity, hypertension and diabetes: lipoprotein(a) levels and body mass index correlate with family history of cardiovascular disease. *Eur J Pediatr* 161: 511-518.
5. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007-1011.
6. Khokhar S, Magnusdottir SGM. 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J Agric Food Chem* 50: 565-570.
7. Graham HN. 1992. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Prev Med* 21: 334-350.
8. Robak J, Gryglewski RJ. 1998. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology* 37: 837-841.
9. Husain SR, Cillard J, Cillard P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26: 2489-2491.
10. Yang CS, Wang ZY. 1994. Tea and cancer. *J Natl Cancer Inst* 85: 1038-1049.
11. Miura Y, Chiba T, Tomita I, Koizumi H, Miura S, Umegaki K, Hara Y, Ikeda M, Tomita T. 2001. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. *J Nutr* 131: 27-32.
12. Kono S, Shinchi K, Wakabayashi K, Honjo S, Todoroki I, Sakurai Y, Imanishi K, Nishikawa H, Ogawa S, Katsurada M. 1996. Relation of green tea consumption to serum lipids and lipoproteins in Japanese men. *J Epidemiol* 6:128-133.
13. Green MS, Harari G. 1992. Association of serum lipoproteins and health-related habits with coffee and tea consumption in free-living subjects examined in the Israeli CORDIS Study. *Prev Med* 21: 532-545.
14. Kono S, Shinchi K, Ikeda N, Yanai F, Imanishi K. 1992. Green tea consumption and serum lipid profiles: a cross-sectional study in northern Kyushu, Japan. *Prev Med* 21: 526-531.
15. Yang TT, Koo MW. 1997. Hypocholesterolemic effects of Chinese tea. *Pharmacol Res* 35: 505-512.
16. Yamaguchi Y, Hayashi M, Yamazoe H, Kunitomo M. 1991. Preventive effects of green tea extract on lipid abnormalities in serum, liver and aorta of mice fed a atherogenic diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 7: 329-337.
17. Yang TT, Koo MW. 2000. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion. *Life Sci* 66: 411-423.
18. Yang M, Wang C, Chen H. 2001. Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet. *J Nutr Biochem* 12: 14-20.
19. Sayama K, Lin S, Zheng G, Oguni I. 2000. Effects of green tea on growth, food utilization and lipid metabolism in mice. *In Vivo* 14: 481-484.
20. Kao YH, Hiipakka RA, Liao S. 2000. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology* 141: 980-987.
21. Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. 1986. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 2: 613-622.
22. Russell DW, Setchell KDR. 1992. Bile acid biopsynthesis. *Biochemistry* 31: 4737-4749.
23. Bieri JG. 1979. AIN-76 diet. *J Nutr* 109: 925-926.
24. Friedewald WT, Levey RI. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
25. Nina L, Kaaren AJ. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. Sambrook J, Russell DW, eds. Cold Spring Harbor, New York. Vol 3, p 16.15-16.20.
26. Hiroaki O, Okumura Y, Hitomi Y, Ozaki K, Nagaoka S, Yoshida A. 1989. Effect of dietary methionine and polychlorinated biphenyls on cholesterol metabolism in rats fed a diet containing soy protein isolate. *J Nutr Sci Vitaminol* 35: 333-348.
27. Lee H, Choi BK, Lee WC, Park CI, Furugawa Y, Kimura S. 1992. Effect of dietary protein levels, caffeine and green tea on body fat deposition in wistar rats. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 595-600.
28. Tonooka F, Matsumoto N, Ishigaki A, Hara Y. 1991. The effects of crude catechins of tea on the food intake and body fat in rat. Proceeding Int. Symp. Tea Sci. p 336.
29. Kwon MN, Choi JS, Byun DS. 1993. Effect of flavonoid(+)-catechin as stabilizer in rat fed fresh and peroxidized fish oil. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 381-391.
30. Matsuda H, Chisaka T, Kubomura Y, Yamahara J, Sawada T, Fujimura H, Kimura H. 1986. Effects of crude drugs on experimental hypercholesterolemia. I. Tea and its active principles. *J Ethnopharma* 17: 213-224.
31. Tall AR. 1990. Plasma high density lipoproteins metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86: 379-384.
32. Castelli WP. 1984. Epidemiology of coronary heart disease. The framingham study. *Am J Med* 76: 4-12.
33. Heuman DM, Hernandez CR, Hylemon PB, Kubaska WM, Hartman C, Vlahcevic ZR. 1988. Regulation of bile acid synthesis. I. Effects of conjugated ursodeoxycholate and cholate on bile acid synthesis in chronic bile fistula rat. *Hepatology* 8: 358-365.

(2003년 6월 23일 접수; 2003년 12월 10일 채택)