

녹차가루가 당뇨 쥐의 골 대사 지표 및 골밀도에 미치는 영향

최 미 자^{1*} · 조 현 주²

¹계명대학교 식품영양학과, ²세계사이버대학 약용건강식품학과

Effects of Green Tea Powder on Bone Markers and Bone Mineral Density in STZ-Induced Diabetic Rats

Mi-Ja Choi^{1*} and Hyun-Ju Jo²

¹Department of Food and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

²Dept. of Medicinal Food and Health, World Cyber College, Gyeonggi 464-895, Korea

Abstract

The purpose of this study was to examine the effects of dietary green tea powder supplementation on bone metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Thirty-two male Sprague-Dawley rats (body weight 210±3 g) were divided into two groups, diabetic and non-diabetic groups. Each group was randomly divided into two subgroups which were fed with the control and 1% green tea powder diets. The serum and urine concentrations of calcium and phosphorus were determined. Serum osteocalcin and ALP and urinary DPD crosslinks value were measured in order to monitor bone formation and resorption. Bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) were estimated using PIXImus in the spine and femur. Body weight gain and FER were lower in the diabetic group than in the non-diabetic group regardless of diets. The serum concentration of calcium and phosphorus were not changed among all groups. Urinary calcium and phosphorus excretion were higher in the diabetic group than in the non-diabetic group regardless of diets; however, they were not significantly different by green tea powder intake. Serum alkaline phosphatase (ALP) was increased in the diabetic group than in the non-diabetic group. Further, there were no significant differences in serum osteocalcin and urinary deoxypyridinoline crosslinks value among all groups. The levels of spine and femur bone mineral density of the diabetic group were significantly lower than that of the non-diabetic group. Within the diabetic group, spine BMD was significantly higher in rats fed with the green tea powder diet than in rats fed the control diet. Therefore, this study suggests that green tea powder has a beneficial effect on bone health, although it is not directly applicable to humans.

Key words: Green tea powder, diabetic rats, BMD, BMC.

서 론

최근 우리나라는 빠른 속도로 진행되는 인구의 노령화와 서구화된 식생활로 각종 성인병 이환율이 증가하는 추세이며, 국민 소득과 생활수준의 향상으로 건강과 웰빙에 대한 욕구가 증가하면서 웰빙 식품에 대한 선호도가 높아졌다(Byun & Han 2004). 식품이나 음료 선택 시 질병 예방과 회복 및 노화 예방과 같은 기능성을 고려하게 되면서 다양한 생리적 기능을 가진 차에 대한 관심이 높아지고 있다.

우리나라에서 제조되는 차의 대부분은 비발효차인 녹차이며, 발효차나 후발효차의 상품화는 녹차에 비해 미비한 실정이다(Kim & Han 2010). 녹차는 flavanol, flavanone, flavonoid 등의 polyphenol류를 많이 함유하고 있어 강한 항산화력을 나

타내며, 이러한 물질들은 차 건조중량의 30%를 차지한다(Park & Lee 2011, Peterson *et al* 2005). 녹차의 polyphenol류는 주로 catechin으로 알려진 flavonol류(Kuriyama *et al* 2006)로 catechin 중 생리활성이 강한 ECG((-)Epigallocatechin gallate) 및 EGCG((-)Epicatechin gallate)의 함량이 높다(Lee *et al* 2008). 이러한 녹차의 catechin 성분들은 세포 내 free radical을 제거함으로써 산화스트레스에 대한 세포 보호 효과가 있는 것으로 보고되었으며, 이러한 체내에서의 항산화 작용으로 여러 가지 퇴행성 질병에 유리한 것으로 알려져 있다(Nakagawa *et al* 2002, Park & Lee 2011). 지금까지 밝혀진 녹차의 효능은 주로 혈압 강하 효과, 지질 개선과 콜레스테롤 저하 효과, 심장질환 예방 효과, 항염증 효과, 항균성 효과, 항암성 효과, 중금속 제거 및 해독 효과, 항알레르기 및 항돌연변이 효과 등이다(Chatterjee *et al* 2012, Cooper *et al* 2005, Higdon & Frei 2003, Ishikawa *et al* 1997, Sur *et al* 2001).

당뇨병은 우리나라에서 대표적인 성인 질환으로, 국민건

* Corresponding author : Mi-Ja Choi, Tel : +82-53-580-5874, Fax : +82-53-580-5885, E-mail: choimj@kmu.ac.kr

강영양조사(Ministry of health & welfare 2012)에 따른 당뇨병 유병률(만 30세 이상, 표준화)은 2001년 8.6%(남자 9.5%, 여자 7.9%)에서 2011년 9.8%(남자 11.0%, 여자 8.3%)로 최근 10년간 약 1%p 증가하였다. 연령별 당뇨병 유병률을 보면 50대 13.8%, 60대 19.6%, 70세 이상 21.5%로 남녀 모두 연령이 증가할수록 유병률이 증가하여 70대 이후에는 5명 중 1명(21.5%)이 당뇨병 유병자인 상황이다(Ministry of health & welfare 2012). 또한 인구의 고령화에 따라 당뇨병 유병자 수는 더욱 증가할 것으로 예상되는 가운데, 이에 대한 사회적·국가적 우려를 하는 이유 중 하나는 수반되는 합병증 발병률이 높다는 특성을 가지고 있기 때문이다.

최근 연구에서는 당뇨와 같은 대사증후군과 골밀도의 관련성이 보고된 바 있으며(Lee & Choi-Kwon 2011), 당뇨병과 골다공증 환자 이환율이 모두 증가하고 있는 상황에서 당뇨병으로 인해 발생할 수 있는 여러 심각한 합병증 중에서 당뇨성 골다공증 또는 골감소증 등이 관심의 대상이 되고 있다. 당뇨병은 골 대사에 영향을 주어 골감소증이나 골다공증을 유발하여 골절의 위험을 증가시킨다(Yoon *et al* 2006). 제 2형 당뇨병군과 건강한 정상인을 비교한 결과에서 골 질량이 감소하는 것을 발견하였으며(Sosa *et al* 1996), 당뇨로 인한 골 감소는 골절의 위험성을 증가시키고, 골절의 치유 및 골의 성장을 지연시키는 것으로도 보고된 바 있다(Loder RT 1988). 제 1형과 2형 당뇨 환자 모두 정상인에 비하여 골감소증과 골다공증에 의한 골절 발생이 높으며, 고관절에서의 골절 발생에 있어 매우 중요한 요인으로 나타났다(Ivers *et al* 2001).

최근 차의 생리활성 물질인 polyphenol은 항산화작용을 하여 골 흡수를 억제하고, 골 형성을 증가시킴으로써 골 손실을 지연시키는 것으로 보고된 바 있다(Kanis *et al* 1999). Shen *et al*(2008)은 난소 절제 쥐에서 녹차의 polyphenol이 노화로 인한 골 감소에 대해 방어 작용을 하였으며, 이는 녹차 polyphenol에 의한 항산화 활성의 증가로 산화 스트레스가 감소됨에 따라 노화와 난소 절제 두 가지 요인 모두에 의한 복합적 골 손실에 대한 방어 작용을 하였다고 보고하였다.

반면, 차에는 catechin 이외에 카페인도 함유되어 있는데, 카페인 섭취는 폐경 모델에서 골밀도에 부정적인 영향을 주는 것으로 보고되었다(Harris & Dawson-Hughes 1994). 이처럼 차의 섭취가 골 대사에 미치는 영향에 대해서는 일관되지 않는 결과가 제시되고 있다. 녹차의 기능성 연구 결과들을 통해 다양한 녹차의 생리적 기능들이 지속적으로 보고되고 있으며, 녹차가 당뇨에 미치는 영향에 대한 연구 또한 다양한 대상을 상대로 이루어지고 있으나, 녹차가 당뇨 상태에서 골격 및 골 대사에 미치는 영향에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다. 또한 당뇨병 환자의 경우 catechin 성분이 완전히 우려나지 않는 녹차를 음용하는 것보다 파우더 형태로 식품에

첨가하여 섭취할 경우, 차에 함유된 수용성 물질 이외의 성분까지 동시에 섭취할 수 있으며, 다양한 음식에 응용이 가능하고, 식이섬유소와 같은 성분을 통한 기능적인 면에서도 도움이 될 것으로 사료된다. 그러나 기존 녹차의 기능성 연구들이 주로 차 또는 추출물 형태로 음용하였을 때의 효과에 집중되어 있는 반면에, 녹차를 기능성 식품으로서 분말 형태로 섭취하였을 때의 효과에 대한 연구 결과는 비교적 적은 편이다.

따라서 본 연구에서는 당뇨 환자의 혈당 조절 효과가 있는 것으로 알려진 녹차가 당뇨성 골감소증이나 골다공증을 예방하기 위한 차원에서 골밀도 및 골 대사에 미치는 효과를 검증해 보기 위하여 당뇨 유발 흰쥐를 대상으로 1% 수준의 녹차 분말을 첨가한 식이를 4주간 공급한 후 칼슘과 골격대사 및 골밀도에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

연구 방법

1. 실험 동물

Sprague-Dawley 수컷 흰쥐(평균체중 약 210±10 g) 48마리를 오리엔트 바이오사(Seoul, Korea)로부터 분양 받아 1주일 간의 적응기간 동안 고품사료(삼양사, 한국)로 사육한 후, 난피법을 이용하여 각각 24마리씩 당뇨유발군과 비당뇨군으로 나누어 당뇨를 유발하였다. 당뇨유발군은 streptozotocin(50 mg/kg of body weight)을 0.25 M citrate buffer(pH 4.5)에 용해하여 대퇴부 근육에 주사하여 당뇨를 유발하였고, 대조군은 동량의 citrate buffer 용액을 주사하였다. 당뇨 유발 확인은 streptozotocin 주사 4일 후 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당량이 300 mg/dl 이상인 경우 당뇨가 유발된 것으로 간주하였다.

실험군은 총 4군(비당뇨-대조군, 비당뇨-녹차군, 당뇨-대조군, 당뇨-녹차군)으로, 당뇨유발 쥐와 비당뇨 쥐를 각각 12마리씩 임의 배치하여 대조 식이와 녹차가루 첨가 식이를 4주간 공급하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 2차 증류수로 자유롭게 섭취(*ad libitum*)하게 하였다. 실험동물은 stainless-steel wire cage에서 한 마리씩 분리하여 사육하였으며, 사육실 온도(22±2℃)와 습도(63±5%)는 일정하게 유지하였으며, 자동 조절 장치를 이용하여 매일 12시간(6:00~18:00)간격으로 광주기와 암주기를 조절하였다.

2. 실험식이

대조군의 실험식은 AIN-93G에 기준하여 조제하였다(Reeves *et al* 1993). 녹차 첨가 식이는 대조군 식이에 녹차가루(100 mg catechin/g)를 첨가하여 녹차가루 1% 첨가 식이를 조제하였다. 녹차가루는 동서식품(Dongsuh Food Co., Korea)에서 제공분아 사용하였다. 실험식이의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Control	Green tea
Casein ¹⁾	200	200
Corn starch	529.5	519.5
Sucrose	100	100
Soybean oil	70	70
α -Cellulose ²⁾	50	50
Min-mixture ³⁾	35	35
Vit-mixture ⁴⁾	10	10
L-cystein ⁵⁾	3	3
Choline ⁶⁾	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone ⁷⁾	0.014	0.014
Green tea powder ⁸⁾	-	10

¹⁾ Casein, Maeil Dairy Industry Co., 480 Gagok-ri, Jinwi-myun Pyungtaek-city, Kyunggi-do, Korea.

²⁾ α -Cellulose, SIGMA Chemical Co., ST. Louis, MO, USA.

³⁾ Mineral-Mix, AIN-93G-MX, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA.

⁴⁾ Vitamine-Mix, AIN-93-VX, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA.

⁵⁾ L-Cystein, Sigma Chemical Co., ST. Louis, MO, USA.

⁶⁾ Choline bitartate, Sigma Chemical Co., ST. Louis, MO, USA.

⁷⁾ Tert-butyl hydroquinone, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA.

⁸⁾ Green tea powder, Dongsuh Food, Co., 546 Dohoa-dong, Seoul, Korea.

3. 시료 분석

1) 식이 섭취량 및 체중 측정

실험기간 동안 식이 섭취량은 이틀에 한 번씩, 체중은 1주일마다 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio : FER)은 총 식이 섭취량에 총 체중 증가량을 나누어 계산하였다.

2) 생화학적 지표 분석

4주간 사육한 후 생화학적 지표 분석을 위하여 희생 전 24시간 요와 12시간 절식 후 혈액을 채취하였다. 혈청과 요중 칼슘(Anderegg *et al* 1954, Zak *et al* 1975), 인(Daly & Ertings 1972)과 혈청 alkaline phosphatase(ALP)(Tietz NW 1980)는 비색정량법으로 측정하였다. Osteocalcin은 경쟁적 방사면역 분석법(competitive-radioimmunoassay)에 기초한 OSTEOCALCIN MARIA kit(Techno genetics, Italy)으로 분석하였다(Guarnero *et al* 1994). 요중 deoxypyridinoline(DPD)과 creatinine의 측정은 collagen crosslinks™ kit(Metra Biosystems Inc., USA)을 이용하여 ELISA(enzyme-linked immuno sorvent assay)법

에 의해 분석한 후 crosslinks value를 구하였다.

3) 골밀도 및 골 함량 측정

실험동물의 골밀도 측정은 동물전용 골밀도 측정기인 PIXImus(GE Lunar Co., USA)를 이용하여 척추와 대퇴부의 골밀도(bone mineral density, BMD)와 골무기질 함량(bone mineral content, BMC)을 측정하였다. 체중은 골밀도와 골 함량에 영향을 미치는 요인이므로 골밀도와 골 함량을 체중으로 나누어 체중 당 골밀도 및 골 함량을 제시하였다.

4. 통계 처리

본 실험에서 얻은 결과의 통계 분석은 SAS package(ver 9.12: Institute Inc. Cary, NC, USA)를 이용하였다. ANOVA test를 통해 각 변인마다 실험군별 평균과 표준편차를 구하였으며, 각 군 간의 통계적 유의성은 $\alpha < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이효율에 미치는 영향

실험 시작과 실험 종료 시 체중, 실험 기간 동안의 체중 증가량, 식이 섭취량과 식이효율을 Table 2에 제시하였다. 실험 시작 시 체중은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 4주간의 실험 종료 시 체중은 당뇨군이 비당뇨군보다 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 따라서 실험 4주간 총 체중 증가량이 비당뇨-대조군과 비당뇨-녹차군이 185.8 g과 186.7 g인 것에 비해 당뇨-대조군과 당뇨-녹차군은 20.0 g과 22.3 g으로 유의적으로 낮아, 당뇨실험 모델에서 나타나는 현저한 체중 저하 현상을 나타내었다($p < 0.05$). 당뇨군과 비당뇨군 내에서 녹차가루 섭취에 따른 체중 증가량의 차이는 없었다.

Table 2에 제시된 실험기간 동안의 식이 섭취량과 식이효율 결과를 보면, 식이 섭취량은 당뇨군이 비당뇨군보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 식이 섭취량이 많은 반면, 체중 증가량은 낮았던 당뇨-대조군과 당뇨-녹차군의 식이효율은 비당뇨군들의 식이효율보다 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 녹차가루 첨가에 따른 식이 섭취량과 식이효율의 차이는 없는 것으로 나타났다.

본 연구와 유사한 주령의 수컷 흰쥐를 대상으로 0.5% 녹차 열수 추출물을 공급한 연구(Won HR 2005)에서도 본 연구에서와 같이 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이효율에는 녹차 섭취에 따른 차이가 없었다. 최근 Lee *et al*(2013)의 연구에서도 당뇨 유발 흰쥐에 9주간 녹차 식이와 녹차 발효 식이를 공급한 결과, 녹차군과 발효 녹차군의 체중과 식이효율에 영

Table 2. The effect of green tea powder on body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
Initial weight (g)	221.3±4.28 ¹⁾	221.5±3.50	220.7±7.88	219.6±7.07
Final weight (g)	407.1±19.66 ^{a2)}	408.2±27.19 ^a	240.7±6.53 ^b	242.0±17.14 ^b
Weight gain (g)	185.8±18.98 ^a	186.7±24.80 ^a	20.0±12.90 ^b	22.3±19.27 ^b
Food intake (g/day)	22.13±0.76 ^b	23.34±1.86 ^b	30.46±0.36 ^a	31.04±1.03 ^a
FER ³⁾	0.29±0.02 ^a	0.28±0.04 ^a	0.02±0.01 ^b	0.02±0.01 ^b

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ Values with different superscripts within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

³⁾ FER : food efficiency ratio.

향을 미치지 않았다. 제 1형과 제 2형 당뇨병 모델 쥐에게 4주간 2% 녹차 추출물 첨가 식이를 공급한 Lee *et al*(2007)의 연구에서도 체중과 식이 섭취량의 경우, 녹차 섭취에 따른 유의한 차이가 없었다고 하여 본 연구보다 더 높은 농도 또는 더 긴 기간의 녹차 섭취에서도 체중과 식이 섭취량에 대한 결과는 본 연구 결과와 일치하였다. 정상과 당뇨 상태 모두에서 1% 수준의 녹차 분말 식이는 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이효율에는 영향을 미치지 않았다.

2. 혈청 칼슘과 인의 농도에 미치는 영향

4주간 1% 녹차 첨가 식이를 섭취한 실험군들의 혈청 칼슘과 인의 농도를 Table 3에 나타내었다. 혈청 칼슘 농도는 비당뇨-대조군 9.7 mg/dl, 비당뇨-녹차군 9.4 mg/dl, 당뇨-대조군 8.5 mg/dl, 당뇨-녹차군 8.4 mg/dl로 당뇨군이 비당뇨군에 비해 낮은 경향이었으나 유의적인 차이는 없었으며, 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이도 없었다. 혈청 인의 농도도 혈청 칼슘과 같이 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

Al-Othman *et al*(2012)은 성장기 청소년을 대상으로 한 연구에서 평균 차를 전혀 마시지 않는 군과 가장 많이 마시는 군(주당 9~12회 섭취) 간에 차 섭취 수준에 따른 혈 중 칼슘과 인의 농도에는 남녀 학생 모두 차이가 없는 것으로 보고하였다. 혈중 칼슘은 호르몬들의 상호조절로 대부분의 생리

적 변화에도 불구하고 항상성을 유지한다. 본 연구에서도 당뇨 유무와 녹차가루 첨가에 따른 혈중 칼슘과 인의 농도에는 변화가 없었으며, 본 연구 결과는 Choi & Jo(2003)의 연구에서 같은 종 수컷 흰쥐의 혈청 칼슘과 인 수준과 크게 다르지 않았다.

3. 요중 칼슘과 인의 배설량에 미치는 영향

녹차 섭취가 실험군들의 요중 칼슘과 인의 배설량에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. 요중 칼슘 배설량은 당뇨-대조군 0.75 mg/dl, 당뇨-녹차군 0.61 mg/dl으로 비당뇨-대조군 0.29 mg/dl, 비당뇨-녹차군 0.41 mg/dl보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 뇨중 인의 배설량은 당뇨-대조군 > 당뇨-녹차군 > 비당뇨-녹차군 > 비당뇨-대조군의 순으로 나타났으며, 당뇨 대조군의 인 배설량이 유의적으로 높아 당뇨 상태에서 요중 칼슘과 인의 배설량이 증가함을 확인하였다($p < 0.05$). 요중 칼슘과 인의 배설량에는 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 비당뇨군에서는 녹차 섭취 시 요중 칼슘과 인의 배설량이 증가하는 경향이었으며, 당뇨군에서는 녹차 섭취 시 요중 칼슘과 인의 배설량이 감소하는 경향이였다.

요중 칼슘 배설량은 식이와 생리적 상태에 영향을 받는다. 기존 연구에서 녹차 섭취가 무기질의 흡수율을 유의적으로 낮추었다는 보고(Lee & Lee 1998)도 있었으나, Won HR(2005)

Table 3. The effect of green tea powder on serum Ca and P concentrations in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
Ca (mg/dL)	9.7±0.53 ^{1)NS2)}	9.4±0.53	8.5±1.77	8.4±1.79
P (mg/dL)	10.8±0.64	11.4±2.95	9.8±2.23	8.4±3.54

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ NS Not significant by ANOVA test.

Table 4. The effect of green tea powder on urinary Ca and P excretion in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
Ca (mg/day)	0.29±0.02 ^{1) b2)}	0.41±0.03 ^b	0.75±0.06 ^a	0.617±0.25 ^a
P (mg/day)	6.12±1.09 ^b	7.30±1.03 ^b	9.82±1.37 ^a	7.79±0.87 ^{ab}

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ Values with different superscripts within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

은 실험 3주 후 0.5% 녹차 열수 추출물 첨가군과 대조군 간에 혈중 칼슘과 인의 농도 및 요중 칼슘과 인의 배설량에는 유의적인 차이가 없었다고 보고하였으며, 섭취한 녹차의 열수 추출 고형물이 식이의 0.02%에 해당하는 양으로 사람으로 환산하면 약 녹차 티백 5잔 정도에 해당하는 양이므로, 적정량의 녹차 섭취는 칼슘 등의 체내 무기질 이용에는 영향을 미치지 않은 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 식이에 1% 수준으로 첨가된 녹차 분말은 체내 칼슘 배설에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

본 연구 결과는 당뇨 상태에서 요중 칼슘과 인의 배설량이 유의적으로 증가하였다. Raskin *et al*(1978)은 당뇨 상태에서는 요중 칼슘 배설량이 증가하여 칼슘 손실이 증가한다고 보고한 바 있다. 요중 칼슘 배설량은 골 대사에서 골흡수의 지표로 활용되기도 하지만, 보다 칼슘 섭취량에 더욱 영향을 받게 된다(Starup-Linde J 2013). 따라서 실험 시 요중 칼슘 배설량을 골 교체의 임상적 지표로 사용하기 위해서는 칼슘 섭취량을 고려할 필요가 있다. 본 실험에서는 당뇨군의 식이 섭취량이 대조군보다 유의적으로 많았으며, 이는 식이에 동일한 비율로 함유되어 있는 칼슘과 인의 섭취량도 상대적으로 많았음을 의미한다. 당뇨 상태인 두 군의 요중 칼슘과 인의 배설량이 비당뇨인 두 군에 비해 많았던 것은 당뇨로 인한 요중 칼슘 배설의 증가뿐만 아니라, 당뇨군의 식이 섭취량이 유의적으로 많았던 것도 한 가지 요인으로 작용하였을 것으로 사료된다.

4. 골 형성 지표와 골 용해 지표에 미치는 영향

1) 골 형성 지표인 혈청 alkaline phosphatase(ALP)와 osteocalcin

골 대사에서 골 형성 지표인 혈청 alkaline phosphatase(ALP)와 osteocalcin의 분석 결과를 Table 5에 나타내었다. 혈청 alkaline phosphatase(ALP) 농도는 당뇨-대조군이 71.1 IU/L로 가장 높아 비당뇨-대조군 45.2 IU/L와 비당뇨-녹차군 42.9 IU/L에 비하여 당뇨-대조군이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 당뇨-녹차군의 ALP 농도는 59.3 IU/L으로 당뇨-대조군보다 낮았다($p < 0.05$). 혈청 osteocalcin의 농도는 당뇨 유무와 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이가 없었다.

2) 골 용해 지표인 요중 deoxypyridinoline(DPD)의 crosslinks value

골 대사에서 골 용해 지표인 요중 deoxypyridinoline(DPD), creatinine, crosslinks value에 대한 결과를 Table 6에 나타내었다. 요중 deoxypyridinoline(DPD)는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 골 용해 지표인 요중 deoxypyridinoline(DPD)과 creatinine의 crosslinks value는 당뇨와 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이가 없었으나, 당뇨와 비당뇨 시 모두 녹차가루 첨가군이 낮은 경향이였다. Crosslinks value는 비당뇨-녹차군이 99.1 nM/mM으로 비당뇨-대조군 148.2 nM/mM 보다 낮은 경향이였으며, 당뇨-녹차군이 131.3 nM/mM으로 당뇨-대조군 214.4 nM/mM보다 낮은 경향이였다.

혈청 ALP는 골격 형성의 지표로서 가장 흔하게 사용되며, 조골세포의 활성을 반영한다. 성인에서는 연령 증가와 함께 증가하며, 특히 폐경 이후 여성에서 증가한다. Osteocalcin은

Table 5. The effect of green tea powder on serum ALP and osteocalcin concentrations in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
ALP ³⁾ (IU/L)	45.2±7.7 ^{1) b2)}	42.9±4.93 ^b	71.12±14.21 ^a	59.35±26.36 ^{ab}
Osteocalcin	4.3±0.25	5.2±0.31	4.4±0.27	4.5±0.18

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ Values with different superscripts within the row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

³⁾ ALP : alkaline phosphatase.

Table 6. The effect of green tea powder on urinary deoxypyridinoline (DPD) crosslinks value in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
DPD (nM)	404.4±227.02 ¹⁾	520.8±286.05	371.0±203.25	193.5±111.16
Creatinine (mM)	2.7±1.13 ^{b2)}	5.6±1.65 ^a	1.8±1.09 ^b	1.3±0.47 ^b
Crosslinks value (nM/mM)	148.28±32.14	99.14±50.42	214.45±96.05	131.35±63.87

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

뼈에 매우 특이적인 단백질로서 조골세포의 활성성을 평가하고 골 형성 정도를 반영하는 가장 좋은 단일 지표로 보고되었다(Johnell *et al* 2002).

본 연구에서는 혈중 ALP 농도는 비당뇨군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 증가하였으나, osteocalcin 농도와 골용해 지표인 DPD crosslink value는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 선행 연구에서, Cutrim *et al*(2007)은 당뇨환자 중에서 대사조절이 잘 되지 않는 군은 정상인군과 대사조절이 안정적인 군보다 ALP 농도가 높았으며, osteocalcin 농도는 낮았으며, DPD 농도는 차이가 없었다고 보고하였다. 본 연구에서와 같이 STZ 유발 수컷 당뇨 쥐를 대상으로 한 연구에서 요중 DPD 농도는 당뇨 상태에 따른 차이가 없었다고 보고하여 본 연구 결과와 일치하였으며(Akiyama *et al* 2010), 제 1형과 제 2형 당뇨환자에서도 당뇨로 인한 DPD 농도의 차이가 없었다(Valerio *et al* 2002, Miazgowski *et al* 2012).

한편, 60세 이상 노인 중 제 2형 당뇨환자와 정상인을 비교한 연구에서 골 형성 지표인 혈중 ALP 농도는 당뇨군에서 유의적으로 감소하였으나, 골 특이적 bone specific-ALP와 요중 hydroxyproline/creatinine은 정상인군과 차이가 없었다(Chen *et al* 2013). Shu *et al*(2012)은 폐경 후 여성 중 당뇨 환자들의 osteocalcin 농도가 정상인군에 비해 낮아 폐경 후 당뇨환자에게서 골형성 지표의 감소 현상을 보고한 바 있다. 또한, 당뇨 상태에서 DPD가 증가하였다는 보고(Abd El Dayem *et al* 2011, Hampson *et al* 1998)도 있었으나, 젊은 제 1형 당뇨환자에서는 DPD 농도가 정상인에 비해 높았으나, 정상적인 범위 내의 수치였다고 하였고(Abd El Dayem *et al* 2011), 제 2형 당뇨에서 DPD의 농도가 증가하였다고 하였다(Hampson *et al* 1998).

녹차 섭취로 인한 골 대사 지표의 변화에 대한 연구는 많지 않은 실정이다. Won HR(2005)은 SD 중 수컷 흰쥐에서 녹차 열수 추출물 섭취군과 대조군 간에 혈청 ALP는 유의적인 차이가 없다고 하였으며, Jung & Choi(2012)은 5% 우롱차 첨가 식이를 6주간 공급한 결과, 유의적인 차이는 없었으나, 우롱차 섭취군에서 혈청 ALP와 DPD crosslink value가 낮

은 경향을 나타내었다고 보고한 바 있다. 당뇨 상태 또는 녹차 섭취가 골 형성 지표와 골 흡수 지표들에 미치는 영향에 대해서는 연구자마다 조금씩 다른 결과를 보고하고 있다.

5. 골밀도와 골 무기질 함량이 미치는 영향

1) 척추 골밀도와 골 무기질 함량

실험동물들의 척추 골밀도와 골 무기질 함량을 측정된 결과를 Table 7에 나타내었다. 척추 골밀도는 비당뇨-녹차군 > 비당뇨-대조군 > 당뇨-녹차군 > 당뇨-대조군의 순으로 나타났으며, 비당뇨군들의 척추 골밀도가 당뇨군들보다 유의적으로 높았다($p<0.05$). 비당뇨군의 경우 녹차가루 첨가군의 척추 골밀도가 대조식이군에 비해 유의적으로 높았다($p<0.05$).

척추 골 무기질 함량은 비당뇨-녹차군 > 비당뇨-대조군 > 당뇨-대조군 > 당뇨 녹차군의 순으로 나타났으며, 비당뇨군들의 척추 골무기질 함량이 당뇨군들보다 유의적으로 높았다($p<0.05$). 척추 골무기질 함량에서는 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

2) 대퇴 골밀도와 골무기질 함량

대퇴 골밀도와 골 무기질 함량을 Table 8에 나타내었다. 대퇴 골밀도와 골 무기질 함량은 비당뇨-녹차군 > 비당뇨-대조군 > 당뇨-녹차군 > 당뇨-대조군의 순으로 나타났으며, 대퇴 골에서도 당뇨 쥐들에 비해 비당뇨 쥐들의 골밀도와 골 무기질 함량이 유의적으로 높았다($p<0.05$). 대퇴 골밀도와 골 무기질 함량에서 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 비당뇨군과 당뇨군 모두 녹차 첨가군에서 높은 경향을 나타내었다.

척추 골밀도와 대퇴 골밀도는 모두 비당뇨-녹차군 > 비당뇨-대조군 > 당뇨-녹차군 > 당뇨-대조군의 순으로 나타났으며, 당뇨군의 척추와 대퇴 골밀도가 비당뇨군보다 유의적으로 낮아($p<0.05$), 당뇨 그 자체로 골질량이 낮아지는 요인으로 작용한다(Sta & Li-Yu 2007)는 주장을 확인할 수 있었다. 여러 선행 연구 결과들에서도 본 연구와 유사한 결과를 보고

Table 7. The effect of green tea powder on spine bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
Spine BMD (g/cm ²)	0.139±0.011 ^{1) b2)}	0.145±0.001 ^a	0.130±0.008 ^c	0.133±0.007 ^c
Spine BMC (g)	0.502±0.060 ^a	0.511±0.027 ^a	0.412±0.038 ^b	0.394±0.027 ^b

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 8. The effect of green tea powder on femur bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) in diabetic rats

Variables	Nondiabetic		Diabetic	
	Control	Green tea	Control	Green tea
Femur BMD (g/cm ²)	0.185±0.006 ^{1) a2)}	0.190±0.010 ^a	0.152±0.008 ^b	0.157±0.012 ^b
Femur BMC (g)	0.416±0.022 ^a	0.426±0.027 ^a	0.310±0.022 ^b	0.312±0.035 ^b

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

한 바 있다. 당뇨 환자 중 40대에서 80대 환자 75명과 연령대 비 대조군 62명을 대상으로 DEXA를 이용하여 골밀도를 측정한 연구에서 남녀 모두 당뇨군의 골밀도가 낮았으며, 연령에 따른 비교와 체지방 지수에 따른 비교에서도 모두 당뇨군의 골밀도가 대조군보다 낮았다(Yoon *et al* 2006). 남녀 제 2형 당뇨환자들을 대상으로 한 연구에서도 정상인에 비해 치밀골의 골량 감소가 크고, 이로 인해 당뇨환자의 척추골과 대퇴골의 골밀도가 정상인에 비해 낮았다(Xia *et al* 2012). 60세 이상의 당뇨환자와 정상 노인의 골밀도 비교에서도 당뇨환자군의 대퇴와 척추의 골밀도가 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며(Chen *et al* 2013), 젊은 여성 중 제 1형 당뇨환자의 경우에도 같은 연령의 정상군 여성에 비하여 골밀도가 낮다고 보고(Mastrandrea *et al* 2008)하여 여러 선행 연구들에서도 당뇨로 인한 골밀도 감소 현상을 확인할 수 있었다.

녹차 섭취가 골밀도에 미치는 영향에 대한 선행 연구는 비교적 많지 않은데, Park *et al*(2012)은 폐경 여성의 골다공증 발병과 관련된 식습관 연구에서 유제품과 녹차를 즐겨 마시는 습관이 전통적인 한국인 식습관이나 서구형 식습관을 가진 여성들에 비해 골다공증에 대한 위험을 낮추는데 유용하다고 하였다. Shen *et al*(2008)은 난소 절제 쥐에서 녹차의 polyphenol이 노화로 인한 골 감소에 대해 방어작용을 하였으며, 이는 녹차 polyphenol에 의한 항산화 활성의 증가로 산화 스트레스가 감소됨에 따라 노화와 난소 절제 두 가지 요인 모두에 의한 복합적 골 손실에 대한 방어 작용을 하였다고 보고하였다.

녹차의 생리활성 물질인 polyphenol은 항산화 작용을 하여 골흡수를 억제하고 골형성을 증가시킴으로써 골손실을 지연시키는 것으로 보고된 바 있다(Kanis *et al* 1999, Shen *et al* 2011). 산화적 스트레스는 골 손실의 요인으로 작용하며, 골 형성의 분화를 방해하고, 파골 세포의 분화를 증가시킴으로 골다공증을 유발할 수 있다(Shen *et al* 2011). 녹차 섭취는 산화 스트레스에 의한 손상을 감소시킴으로 인해 골 손실을 줄여 골다공증으로 인한 골절의 위험을 감소시켜준다(Shen *et al* 2011). 본 연구에서도 비당뇨군에서는 녹차가루 첨가 시 척추 골밀도가 유의적으로 높게 나타났다. 한편, 당뇨군에서는 녹차가루 첨가에 따른 골밀도의 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이는 당뇨로 인한 고혈당 상태의 지속으로 산화적 스트레스가 크게 증가하였기 때문으로 사료된다. 당뇨로 인한 고혈당 상태에서는 활성산소 생성계의 활성화 또는 항산화 체계의 기능 저하로 유리에 대한 방어 능력이 떨어져 체내 산화적 손상이 가속화 되고, 염증 반응이 증가하는 것으로 보고되었다(Park *et al* 2009). 당뇨 상태에서 산화적 스트레스의 높은 증가로 인해 녹차가루가 비당뇨 상태와 같이 골 흡수를 억제하고 골 형성을 증가시킬 수 있는 항산화 작용을 충분히 할 수 없었던 것으로 사료된다. 또한, STZ-유도 당뇨 쥐를 대상으로 16주간의 골밀도 변화를 보고한 선행 연구(Jung *et al* 2002)에서 당뇨군의 골밀도는 암수 모두 당뇨 유발 4주 이후부터 정상군보다 유의적으로 감소하는 현상을 나타내었으며, 시간이 갈수록 당뇨군의 골밀도 감소 현상이 두드러져 정상군과의 골밀도 차이가 커졌다. 또

한 이러한 변화의 양상은 골격의 부위와 성별에 따라 다르게 나타났다고 하였으므로(Jung *et al* 2002) 후속 연구에서 실험 기간을 연장하여 당뇨 상태에서의 녹차가루 효과를 검증해 볼 필요가 있다고 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 기능성 식품으로서 녹차가 당뇨로 인해 발생할 수 있는 골격대사의 이상을 예방하는 차원에서 골격대사에 미치는 영향을 검증해 보기 위하여 당뇨 유발쥐에서 1% 녹차 분말 식이의 섭취가 골 대사 지표 및 골밀도와 골무기질 함량에 미치는 영향을 알아보았다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 식이 섭취량은 당뇨군이 비당뇨군에 비하여 유의적으로 높았으나, 체중 증가량과 식이 효율은 유의적으로 낮았다($p<0.05$). 녹차가루 첨가에 따른 체중 변화와 식이 섭취량에 유의한 차이는 없었다.
2. 칼슘과 인의 혈청 농도는 당뇨 유무와 녹차 분말 섭취 여부에 따른 차이가 없었다. 칼슘과 인의 요중 배설량은 당뇨군에서 유의적으로 높았으며($p<0.05$), 당뇨군과 비당뇨군 내에서 녹차가루 첨가에 따른 유의적인 차이는 없었다.
3. 골형성 지표인 혈청 alkaline phosphatase(ALP)는 당뇨 상태에서 유의적으로 증가하였으며($p<0.05$), osteocalcin과 요중 deoxypyridinoline(DPD)의 crosslink value는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.
4. 당뇨군은 비당뇨군보다 척추와 대퇴의 골밀도와 골무기질 함량이 유의적으로 낮았고($p<0.05$), 비당뇨군 내에서 녹차가루 첨가군이 척추 골밀도가 유의적으로 높은 반면($p<0.05$), 당뇨군 내에서는 녹차가루 첨가군이 높은 경향이었으나 유의적인 차이는 없었다. 대퇴 골밀도는 비당뇨군과 당뇨군 내에서 녹차가루 첨가군이 높은 경향이었으나 유의적인 차이는 없었다.

이상의 연구 결과, 비당뇨 쥐에서는 1% 녹차가루 첨가식이 척추 골밀도 유지에 유의하게 작용하였다. 이는 녹차가루가 골격을 위한 기능성 식품으로서의 가능성을 보여주는 것이라 사료된다. 당뇨 쥐에서는 1% 녹차가루 첨가식이 골밀도에 통계적으로 유의한 영향을 미치지 않았으나, 당뇨군의 골밀도가 비당뇨군의 골밀도에 비해 유의적으로 낮았던 것을 고려하여 효과적인 섭취 수준과 섭취 기간에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구를 위하여 casein을 공급해 주신 매일유업과 녹차가루를 공급해 주신 동서식품에 감사드립니다.

문헌

- Abd El Dayem SM, El-Shehaby AM, Abd El Gafar A, Fawzy A, Salama H (2011) Bone density, body composition and markers of bone remodeling in type 1 diabetic patients. *Scand J Clin Lab Invest* 71: 387-393.
- Akiyama S, Katsumat SI, Suzuki K, Ishimi Y, Wu J, Uehara M (2010) Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced marginal type 1 diabetic rats. *J Clin Biochem Nutr* 46: 87-92.
- Al-Othman A, Al-Musharaf S, Al-Daghri NM, Yakout S, Alkharfy KM, Al-Saleh Y, Al-Attas OS, Alokail MS, Moharram O, Sabico S, Kumar S, Chrousos GP (2012) Tea and coffee consumption in relation to vitamin D and calcium levels in Saudi adolescents. *Nutr J* 20: 11-26.
- Anderegg G, Flaschka H, Sallmann R, Schwarzenboch G (1954) Metal indicators. A phthalein responding to alkaline earth ions and its analytical applications. *Helv chim Acta* 37: 111-120.
- Byun JO, Han JS (2004) A study on perception and actual status of utilization for green tea. *Korean J Food Culture* 19: 184-192.
- Chatterjee A, Saluja M, Agarwal G, Alam M (2012) Green-tea: A boon for periodontal and general health. *J Indian Soc Periodontol* 16: 161-167.
- Chen HL, Deng LL, Li JF (2013) Prevalence of osteoporosis and its associated factors among older men with type 2 diabetes. *Int J Endocrinol*. Article ID 285729. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3562686>. Accessed October 10, 2013.
- Choi MJ, Jo HJ (2003) Effects of soy protein and isoflavones on the bone mineral density of growing female rats. *Korean J Nutr* 36: 359-367.
- Cooper R, Morr  DJ, Morr  DM (2005) Medicinal benefits of green tea: Part I. review of noncancer health benefits. *J Altern Complement Med* 11: 521-528.
- Cutrim DM, Pereira FA, de Paula FJ, Foss MC (2007) Lack of relationship between glycemic control and bone mineral density in type 2 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res* 40: 221-229.
- Daly JA, Ertings HG (1972) Direct method for determining

- inorganic phosphate in serum with the centrifichem. *Clin Chem* 18: 263-265.
- Guarnero P, Grimaux M, Seguin P, Delmas P (1994) Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated *in vivo* and *in vitro*. *J Bone Miner Res* 9: 692-698.
- Hampson G, Evans C, Pettitt RJ, Evans WD, Woodhead SJ, Peters JR (1998) Bone mineral density, collagen type 1 (alpha) 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus. *Diabetologia* 41: 1314-1320.
- Harris SS, Dawson-Hughes B (1994) Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 60: 573-578.
- Higdon JV, Frei B (2003) Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43: 89-143.
- Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T (1997) Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 2: 261-266.
- Ivers RQ, Cumming RG, Mitchell P (2001) Diabetes and risk of fracture: The blue mountains eye study. *Diabetes Care* 24: 1198-1203.
- Johnell O, Oden A, De Laet C, Garner P, Delmas PD, Kanis JA (2002) Biochemical indices of bone turnover and the assessment of fracture probability. *Osteoporos Int* 13: 523-526.
- Jung YJ, Choi MJ (2012) Effects of oolong tea supplementation on bone mineral density and bone-related markers in ovariectomized rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 22: 480-488.
- Jung SY, Shin SH, Kim WK, Jung IK, Park BS (2002) The study of bone mineral density in the mandible of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 28: 95-102.
- Kanis J, Johnell O, Gullberg B, Allander E, Effors L, Rantam J, Dequeker J, Dilsen G, Gennari C, Vaz A, Lyritis G (1999) Risk factors for hip fracture in men from southern Europe: the MEDOS study. *Osteoporos Int* 9: 45-54.
- Kim KH, Han YS (2010) A study on market segmentation by selection attributes of tea consumers. *Journal of the Korean Tea Society* 16: 1-12.
- Kuriyama S, Shimazu T, Ohmori K (2006) Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer and all causes in Japan. *J Amer Med Asso* 10: 1255-1265.
- Lee VSY, Chen CR, Liao YW, Tzen JTC, Chang CL (2008) Structural determination and DPPH radical-scavenging activity of two acylated flavonoid tetraglycosides in oolong tea. *Chem Pharm Bull* 56: 851-853.
- Lee HY, Choi-Kwon SM (2011) Metabolic syndrome and bone mineral density among elderly Korean women. *J Korean Biol Nurs Sci* 13: 134-141.
- Lee BR, Koh KO, Park PS (2007) Antihyperglycemic effects of green tea extract on alloxan-induced diabetic and OLETF rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 696-702.
- Lee SH, Lee YS (1998) Effects of late-harvested green tea extract on lipid metabolism and calcium absorption in rats. *Korean J Nutr* 31: 999-1005.
- Lee SY, Park YD, Nam YD, Yi SH, Lim SI (2013) Anti-diabetic effects of fermented green tea in KK-A diabetic mice. *Korean J Food Sci Technol* 45: 488-494.
- Loder RT (1988) The influence of diabetes on the healing of closed fractures. *Clin Orthop Relat Res* 232: 210-216.
- Mastrandrea LD, Wactawski-Wende J, Donahue RP, Hovey KM, Clark A, Quattrin T (2008) Young women with type 1 diabetes have lower bone mineral density that persists over time. *Diabetes Care* 31: 1729-1735.
- Miazgowski T, Noworyta-Zietara M, Safranow K, Ziemak J, Widecka K (2012) Serum adiponectin, bone mineral density and bone turnover markers in post-menopausal women with newly diagnosed Type2 diabetes: a 12-month follow-up. *Diabet Med* 29: 62-69.
- Ministry of Health & Welfare (2012) Korea health statistics 2011: Korea national health and nutrition examination survey (KNHANES V-2). Korea. pp. 421-423.
- Nakagawa T, Yokozawa T, Terasawa K, Shu S, Juneja LR (2002) Protective activity of green tea against free radical and glucose-mediated protein damage. *J Agric Food Chem* 50: 2418-2422.
- Park SH, Lee SJ (2011) The analysis of the physiologic activities of the Jeju teas according to the fermentational degree. *Korean J Plant Res* 24: 236-242.
- Park SJ, Joo SE, Min HS, Park JK, Kim YJ, Kim SS, Ahn YJ (2012) Dietary patterns and osteoporosis risk in postmenopausal Korean women. *Osong Public Health Res Perspect* 3: 199-205.
- Park SK, Park NY, Lim YS (2009) Effects of short term anti-

- oxidant cocktail supplementation on the oxidative stress and inflammatory response of renal inflammation in diabetic mice. *Korean J Nutr* 42: 673-681.
- Peterson S, Dwyer J, Bahgwat S, Haytowitz D, Holden J, Eidge A, Beecher G, Aladesanmi J (2005) Major flavonoids in dry tea. *J Food Compos Anal* 18: 487-501.
- Raskin P, Stevenson MR, Barilla DE, Pak CY (1978). The hypercalciuria of diabetes mellitus: its amelioration with insulin. *Clin Endocrinol* 9: 329-335.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents. *J Nutr* 123: 1939-1951.
- Shen OL, Yeh JK, Cao JJ, Chyu MC, Wang JS (2011) Green tea and bone health: evidence from laboratory studies. *Pharmacol Res* 64: 155-161.
- Shen OL, Wang P, Guerrieri J, Yeh JK, Wang JS (2008) Protective effect of green tea polyphenols on bone loss in middle-aged female rats. *Osteoporos Int* 19: 979-990.
- Shu A, Yin MT, Stein E, Cremers S, Dworakowski E, Ives R (2012) Bone structure and turnover in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos Int* 23: 635-641.
- Sosa M, Dominguez M, Navarro MC (1996) Bone mineral metabolism is normal in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Diabetes Complication* 10: 201-205.
- Sta RM, Li-Yu JT (2007) Investigation of the relationship between type 2 diabetes and osteoporosis using Bayesian inference. *J Clin Densitom* 10: 386-390.
- Starup-Linde J (2013) Diabetes, biochemical markers of bone turnover, diabetes control and bone. *Front Endocrinol* 4: 21-31.
- Sur P, Chaudhuri T, Vedasiromoni R, Gomes A, Ganuly DK (2001) Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea [*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze] root extract. *Phytother Res* 15: 174-176.
- Tietz NW (1980) Alkaline phosphatase study group, committee on standards of the AACC, subcommittee on enzymes. progress in the development of a recommended method for alkaline phosphatase activity measurements. *Clin Chem* 26: 1023-1027.
- Valerio G, del Puente A, Esposito-del Puente A, Buono P, Mozzillo E, Franzese A (2002) The lumbar bone mineral density is affected by long-term poor metabolic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Horm Res* 58: 266-272.
- Won HR (2005) The effect of hot water soluble extract from green tea on metabolism of calcium and bone strength in rats fed soy protein diet. *Korean J Community Living Sci* 16: 59-64.
- Xia J, Zhong Y, Huang G, Chen Y, Shi H, Zhang Z (2012) The relationship between insulin resistance and osteoporosis in elderly male type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Annales d'Endocrinologie* 73: 546-551.
- Yoon SW, Choi SJ, Jung DI, Park RJ, Kim HS, Kim HS, Kim TY, Kim KY (2006) Comparison of bone mineral density in type ii diabetic patient's and healthy elderly individuals. *J Korean Soc Phys Thera* 18: 17-24.
- Zak B, Epstein E, Baginski ES (1975) Apthalein responding to alkaline earth ions and analytical applications. *Ann Clin Lab Sci* 5: 195-215.

접 수: 2013년 11월 26일
 최종수정: 2013년 12월 11일
 채 택: 2013년 12월 30일