

녹차가 고지방식을 섭취한 암컷 쥐의 골대사지표에 미치는 영향

정 윤 정[†]

계명대학교 식품영양학과 조교수

Effects of Green Tea Powder on Bone Markers in Female Rats Fed High Fat Diet

Yun-Jung Jung[†]

Assistant Professor, Dept. of Food and Nutrition, Keimyung University, Daegu 42601, Republic of Korea

ABSTRACT

This study examined the influence of green tea powder supplemented diet on bone formation, bone resorption markers, and bone metabolism-related hormones in female rats fed high fat and cholesterol diets. Twenty-one Sprague-Dawley female rats (3 weeks old) were divided into the Control, High-fat, and Green-tea groups. The experimental diets were provided for 6 weeks. The serum and urine concentrations of calcium and phosphorus were determined. Serum ALP and urinary DPD crosslinks value were measured to monitor bone formation and resorption. Parathyroid hormones related to bone metabolism were determined. In summary, the weight increase at the end of the 6-week experiment was significantly higher in the high fat diet groups than in the Control group, but it was not significantly different from that of the Green-tea group. On the other hand, the serum P and urinary P excretion levels were significantly higher in rats in the Green-tea group than in the Control and High-fat groups. The level of alkaline phosphate (ALP), a bone formation marker, was significantly higher in the Green-tea group than in the Control and High-fat groups. The level of DPD crosslinks value, a bone resorption marker, was similar in the High-fat and Green-tea groups. Among the three groups, rats that received the high fat diet had significantly lower parathyroid hormones, which is related to bone metabolism. But it was not significantly different from that of the Green-tea group. In conclusion, Green-tea supplemented diet seems to have a positive effect on bone metabolism by increasing the ALP concentration and decreasing the urinary P excretion levels in female rats fed high fat diet.

Key words: green tea powder, high fat diet, female rats, bone marker

서 론

최근 국민건강영양조사 결과, 우리나라 19세 이상 성인의 고중성지방혈증 유병률은 2022년 남자 20.1%, 여자 6.4%로 남자가 다소 증가한 수준을 나타내었으며, 고콜레스테롤혈증 유병률은 2013년 남자 11.6%, 여자 12.6%였으나 2022년 남자 20.9%, 여자 22.6%로 10여 년간 추이가 남녀 모두 약 2배 정도 증가하였다. 이처럼 한국인의 이상지질혈증 유병률은 지속적으로 증가하고 있어 이에 대한 적절한 관리가 필요한 실정이다(Ministry of Health and Welfare 2023). 또한, 국민건강보험공단 보고에 따르면, 우리나라 인구 10만 명당 골다공증 환자 수는 2021년 2,215명으로 2017년 1,794명과 비교하여 23.5% 증가하였고, 이 중 남자는 2017년 219명에서 2021년 255명으로 16.4% 증가하였고, 여자는 2017년 3,381명에서 2021년 4,181명으로 23.7% 증가한 것으로 나타났다.

이로 인한 골다공증 진료비는 건강보험 총진료비 기준 2021년 3천 268억 원으로 2017년 2천 152억 원과 비교하여 1천 116억 원이 상승하여 이는 2017년 대비 51.9% 증가한 것이며, 연평균 11.0% 정도 진료비 증가율을 보였다(National Health Insurance Service 2023). 이처럼 국가적으로 골다공증으로 인한 의료비용 부담이 급격하게 증가하고 있는 실정이며, 골다공증성 골절은 치료를 위한 수술적 처치가 어렵고 예후 또한 좋지 않아 수술 이후에도 골절 재발이 유발되어 일상적인 삶을 살아가는 데 영향을 미치므로 골다공증은 무엇보다 예방이 중요하다.

노화에 따른 골손실은 조골세포 수 감소, 조골세포 및 파골세포 자살(apoptosis) 증가, 골형성률(bone remodeling) 감소와 관련된다(Sanghani-Kerai A 등 2018). 골격의 노화과정에서 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)은 골다공증 발생의 주요 원인 중 하나로 작용한다. 과도한 활성산소종에 의한 만성염증이나 산화스트레스의 증가는 DNA, 단백질, 지질 손상을 유발하고 골다공증의 진행을 촉진하는 것으로 알

[†] Corresponding author : Yun-Jung Jung, Tel: +82-53-580-5871, E-mail: jyunj@kmu.ac.kr

려져 있다(Shen CL & Chyu MC 2016; Nagaoka M 등 2019). 산화스트레스는 골손실의 원인으로 작용하므로 골손실 감소 및 골다공증 예방을 위한 활용 가능한 전략으로 항산화제 섭취로 산화스트레스를 감소시키는 것이다. 따라서 과도한 산화스트레스 조절은 골다공증 관리를 위한 잠재적 표적으로 활용할 수 있다(Zhou Q 등 2016).

녹차는 전 세계적으로 쉽게 섭취하는 음료로 녹차 폴리페놀의 80% 이상이 카테킨(catechins, 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone)으로 유리라디칼 제거능과 항산화능이 잘 알려진 기능성 물질이다(Zhao CN 등 2019). 최근 성장기 쥐를 대상으로 고지방식이와 함께 녹차 및 홍차를 분말형태로 첨가하여 공급한 선행연구에서 혈중 중성지방 농도 및 간의 과산화지질인 malondialdehyde 함량을 감소시켰으며 항산화효소인 catalase 활성을 증가시키는 것으로 보고하였다(Yun JS & Choi MJ 2021). 이러한 결과는 성장기 동안 고지방 섭취로 유도된 혈중 및 간조직의 산화는 녹차나 홍차의 섭취로 조절 가능성을 제시하였다. 항산화능을 가진 녹차 카테킨의 골다공증 예방효과를 보고한 선행연구는 골다공증을 유도한 노령 쥐를 대상으로 녹차의 카테킨 추출물을 음용수로 섭취시킨 결과 항산화작용과 더불어 골대사에 유효한 결과를 도출하였다(Shen CL 등 2009). 반면에 렙틴 결핍 비만 수컷 쥐를 대상으로 2% 수준 고용량 녹차추출물을 처치한 결과 대퇴와 척추 골량 증가율을 감소시켜 골대사에 불리한 효과를 보고하였다(Iwaniec UT 등 2009). 또한 골다공증 모델인 난소절제 쥐를 대상으로 녹차 분말 첨가식을 공급하여 척추 및 대퇴부위 골밀도 및 골함량을 직접 분석한 선행연구에서는 측정부위에 따라 다소 차이를 보였으나 대퇴 골함량은 SHAM 대조군과 유사한 수준으로 유지시켜 난소절제로 인한 골손실 감소에 효과적인 것으로 나타났다(Choi MJ & Jung YJ 2010). 또한, 난소절제 쥐를 대상으로 12주간 0.5% 농도의 백차를 경구투여한 연구에서 골흡수 지표인 TRAP과 CTX 농도를 감소시켰고 대퇴 골함량을 증가시켜 장기간 지속적인 차의 섭취는 난소절제로 유도된 골다공증 모델 쥐에서 골흡수를 감소시킴으로써 골격 보호 효과가 있음을 보고하였다(Yıldırım M 등 2020). 이처럼 녹차가 골격에 미치는 영향에 대한 다양한 조건에서 이루어진 선행연구는 생애주기별, 질환 상태별 및 녹차 수준별에 따라 상이한 결과를 보이고 있으며, 대부분 녹차 추출물인 카테킨을 단독으로 고용량 투여하여 골대사와의 관련성을 제시한 것이다.

따라서 본 연구는 암컷 쥐를 대상으로 고콜레스테롤이 함유된 고지방식을 섭취하는 동안 천연식품인 녹차 잎 그대로 분말 형태로 식이에 첨가하여 골대사에 미치는 영향을 파악하고자 골형성 및 골흡수 지표와 골대사 호르몬을 분석하였다.

연구방법

1. 실험동물 및 실험식이

본 연구의 실험동물은 Sprague-Dawley 3주령 암컷 흰쥐 (60±5 g)를 대한동물사육센터로부터 공급받아 고형사료로 7일간 실험실에 적응하도록 하였다. 7일간 적응 사육 후 난괴법을 이용하여 대조군 및 실험군당 7마리씩 배정하여 실험 식이를 공급하였다. 실험기간 동안 실험식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였고 스테인리스스틸 케이지(stainless steel wire cage)에 한 마리씩 분리 사육하였다. 동물실험실 기본환경은 실험동물 사육조건에 준한 기준에 따라 적정 온도(25±2℃)와 습도(63±5%) 및 12시간 간격(light 6:00~18:00)으로 광주기와 암주기를 자동 조절하였고 물은 2차 이온교환수를 공급하였다. 본 동물실험의 전과정은 실험동물 윤리규정에 준하여 실시하였다.

실험군은 1주간의 적응 후 암컷 쥐를 대조군(control), 고지방군(high-fat), 녹차군(green-tea) 총 3군으로 구분하여 6주간 실험식이를 공급하였다. 실험식은 AIN-93G(Reeves PG & Nielsen FH 1993)의 식이조성을 기준으로 고지방식은 식이 중 지방 섭취비율이 45% 수준으로 하였고 콜레스테롤은 1% 수준으로 첨가하였다. 녹차군 실험식이의 녹차 첨가 수준은 선행연구(Choi MJ & Jung YJ 2010)를 참고하여 고지방식에 녹차분말을 1%(1 g green tea/100 g diet) 첨가하여 조제하였다. 본 연구의 실험식이 조성은 Table 1에 나타내었다.

2. 식이섭취량 및 체중 측정

실험식이를 시작한 날을 기준으로, 식이섭취량은 이틀에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였고, 체중은 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio; FER)은 6주의 실험기간 동안 체중증가량을 6주간 총 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

3. 골대사관련 생화학적 지표 분석

실험동물은 사육 후 12시간 동안 절식시킨 후 요를 수집하였고, 마취하에 복부를 절개하여 대동맥에서 전혈을 채취하였으며 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 이후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청과 요는 분석할 때까지 -70℃에서 냉동 보관하였다. 혈청과 요 중 칼슘은 칼슘이 함유되어 있는 시료에 o-CPC(o-cresolphthalein complexone)를 첨가하여 생성되는 발색복합물의 흡광도를 570 nm에서 측정된 비색정량법으로 분석하였다(Morin LG 1974). 혈청 인은 시료에 몰리브덴산을 첨가하여 생성되는 인-몰리브덴산 복합체의 발색정도를 340 nm에서

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

Ingredients	Control	High fat	Green tea
Casein ¹⁾	200	200	200
Corn starch	529.486	349.486	339.486
Sucrose	100	100	100
Soybean oil	70	60	60
α -Cellulose ²⁾	50	50	50
Min-mixture ³⁾	35	35	35
Vit-mixture ⁴⁾	10	10	10
L-Cystine ⁵⁾	3	3	3
Choline bitartrate ⁶⁾	2.5	2.5	2.5
TBHQ ⁷⁾	0.014	0.014	0.014
Lard ⁸⁾	-	180	180
Cholesterol ⁹⁾	-	10	10
Green tea powder ¹⁰⁾			10

¹⁾ Casein, Maeil Dairy industry Co., Kyunggi-Do, Korea.

²⁾ α -Cellulose, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.

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

⁴⁾ AIN-93-VM, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA.

⁵⁾ L-Cystine, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.

⁶⁾ Choline bitartrate, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.

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

⁸⁾ Lard, Chungil Food Co., Ltd. Chungcheongnam-Do, Korea.

⁹⁾ Cholesterol, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.

¹⁰⁾ Green tea powder, Amore Pacific Co., Kyunggi-Do, Korea.

측정한 인-몰리브덴산 비색정량법으로 분석하였다(Daly JA & Ertingshausen G 1972). 혈중 Alkaline phosphatase (ALP) 는 p-nitrophenyl phosphate(PNPP) 기질에 ALP가 함유된 시료를 첨가하여 PNPP를 p-nitrophenol로 분해시킨 후 p-nitrophenol의 발색정도를 405 nm에서 비색정량법으로 측정하였다(Moss DW 1987). 혈청 부갑상선호르몬(parathyroid hormone; PTH) 분석은 시험관에 부착된 항체와 I^{125} 로 표식된 항체를 사용하여 항원과 항체간에 'sandwich'를 형성하게 하는 비경쟁 방사면역학적 분석법(Nanda N 등 1994)을 이용하였고 DSL-8000 ACTIVE™ Intact PTH IRMA kit (Diagnostic System Laboratories, Inc., USA)로 분석하였다. 요중 deoxypyridinoline(DPD)과 creatinine의 측정은 collagen crosslinks™ Kit(Metra Biosystems Inc., USA)을 이용하여 ELISA(enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석한 후 crosslinks value(crosslinks value(nM/mM)=DPD(nM)/creatinine(mM))를 구하였다.

4. 통계 분석

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Science 27, IBM Corp., Armonk, NY, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. 각 실험군의 변수들은 평균과 표준편차를 구하여 나타내었으며 각 군의 비교는 one-way ANOVA test를 하였고 군 간의 통계적 유의성은 Duncan's multiple range test에 의해 유의수준 0.05에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 녹차섭취여부에 따른 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

Table 2는 고지방식에 녹차첨가식을 6주 동안 공급한 후 체중의 변화 및 식이섭취량 나타낸 것이다. 실험 시작 시 체중은 대조군 87.5±8.5 g, 고지방군 87.7±7.5 g, 녹차군 87.8±8.2 g으로 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 실험 종료 시 체중은 대조군 215.4±25.8 g, 고지방군 239.9±29.9 g, 녹차군 231.0±28.7 g이었고, 실험기간 동안 체중증가량은 대조군 127.8±26.9 g, 고지방군 152.1±28.3 g, 녹차군 143.2±29.9 g으로 고지방군과 녹차군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 고지방식이군내에서 녹차섭취에 따른 체중증가는 녹차군이 고지방군보다 약 5.9% 낮았으나 유의적 차이는 없었다.

렙틴 결핍 비만 쥐에게 1% 녹차추출물의 체중감소 효과(Iwaniec UT 등 2009) 및 EGCG로 인한 열 발생 및 지방 산화 효과(Dulloo AG 등 1999) 등 선행연구에서 녹차 카테킨에 의한 항비만 작용은 체장의 탄수화물 및 지방 분해효소 활성화에 영향을 주어 주된 칼로리원인 탄수화물과 지방의 소화를 억제함으로써 칼로리 섭취를 방해하는 것으로 제시하였다(Gupta S 등 2002). 선행연구(Iwaniec UT 등 2009)에서 나타낸 녹차의 체중감소 효과는 녹차잎을 분말형태로 식이의 1% 수준으로 섭취시킨 본 연구에서는 나타나지 않았는데 이러한 선행연구 결과는 녹차추출물에 의한 체중감소 효과로 보여진다. 특히 성장기 수컷 쥐에게 1% 녹차추출물을 본 연구의 실험기간과 동일하게 6주간 공급시 성장기 수컷 쥐의 체중감량은 카테킨을 고순도 및 고용량으로 처치한 결과이며, 실험동물의 체중 상태가 비만 또는 정상체중인지에 따라서도 상이한 결과를 보였다(Iwaniec UT 등 2009). 녹차잎 자체를 식품으로 섭취시킨 본 연구에서는 고농도의 녹차추출물에 의해 도출된 체중 감소효과는 나타나지 않아 선행연구와 상이한 결과를 보였다. 이는 녹차추출물 형태로 공급한 것과 비교하여 녹차잎 자체로 섭취하는 것은 체중감량에 효과를 가지는 주요 성분인 카테킨 함유량의 차이로 보여진다.

실험기간동안 평균 식이섭취량은 대조군 24.5±8.1 g/day,

Table 2. Effects of green tea on body weight and food intake in rats fed high fat diets

Group	Control	High fat	Green tea
Initial weight (g)	87.5±8.5 ^{1)a2)}	87.7±7.5 ^a	87.8±8.2 ^a
Final weight (g)	215.4±25.8 ^a	239.9±29.9 ^b	231.0±28.7 ^b
Weight gain (g)	127.8±26.9 ^a	152.1±28.3 ^b	143.2±29.9 ^b
Food intake (g/day)	24.5±8.1 ^a	22.7±9.7 ^a	21.9±8.8 ^a
FER ³⁾	0.12±0.04 ^a	0.16±0.04 ^b	0.15±0.04 ^b

¹⁾ Values were mean±S.D. of 7 rats per group.

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

³⁾ Food efficiency ratio.

고지방군 22.7±9.7 g/day, 녹차군 21.9±8.8 g/day로 고지방식이군 다소 섭취량이 낮았으나 실험군간에 유의적인 차이가 없었으며, 고지방군내에서도 녹차섭취 여부에 따른 유의적 차이가 없었다. 식이효율(food efficiency ratio; FER)은 6주의 실험기간 동안 체중증가량을 총 식이섭취량으로 나누어 산출한 것으로 대조군에 비해 고지방군과 녹차군이 유의적으로 높았고 고지방식이군내에서는 녹차 섭취여부에 따른 유의적 차이는 없었다.

실험동물을 대상으로 EGCG를 복강투여 및 경구 투여시 비만 쥐 및 정상체중 수컷 쥐는 대조군과 비교하여 평균 식이섭취량이 약 절반 수준 또는 15% 적게 섭취하여 고순도의 EGCG의 처치로 인해 식이섭취량이 줄어드는 것으로 나타났다(Kao YH 등 2000), 본 연구에서는 고지방식으로 인한 평균 식이섭취량은 다소 감소하였으나 선행연구 결과와 달리 대조군 및 고지방군과 비교하여 녹차섭취 여부에 따른 유의한 차이는 없었다. 이는 녹차 추출물과 녹차 자체로 식이로 섭취하는 녹차의 주요형태에 따라 식이섭취량에도 영향을 미치는 것으로 보여진다.

2. 혈중 칼슘과 인의 농도 및 뇨중 칼슘과 인의 배설량

Table 3은 실험동물의 혈중 칼슘과 인의 농도를 나타낸 것

이다. 혈중 칼슘 농도는 대조군 9.82±0.26 mg/dL, 고지방군 10.18±0.32 mg/dL, 녹차군 10.23±0.25 mg/dL로 고지방군과 녹차군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 혈중 인 농도는 대조군 6.70±0.53 mg/dL, 고지방군 7.27±0.44 mg/dL, 녹차군 8.28±0.49 mg/dL로 고지방군과 녹차군이 대조군보다 유의적으로 높았다.

생체 내 칼슘의 99%는 골격에 존재하는 것으로 혈중 칼슘 농도의 변화는 골흡수와 관련되어 영향을 미치므로 골대사에서 있어 혈중 칼슘의 변화량은 골격상태를 반영하는 지표가 된다(Kim GY 등 2009). 실험동물에서 혈중 칼슘과 인의 농도 기준치를 살펴보면, 혈중 칼슘의 정상농도 수준은 7.2~13.0 mg/dL이고, 혈중 인의 정상농도 수준은 3.11~11.0 mg/dL 정도이다(Mituka BM & Rawnsley HM 1987). 본 연구의 실험군 모두는 혈중 칼슘과 인의 농도가 정상농도에 해당하는 수준으로 항상성을 유지하고 있는 것으로 나타났다. 혈중 칼슘과 인 농도는 실험식이에 따라 고지방군과 녹차군이 대조군보다 높은 농도의 정상범위에 해당하였다. 따라서 고지방식이 섭취시 녹차첨가로 인해 혈중 칼슘과 인은 대조군, 고지방군, 녹차군 순으로 높았으나 정상수준에 해당하였다.

요중 칼슘 배설량은 대조군 0.38±0.31 mg/day, 고지방군 0.58±0.62 mg/day, 녹차군 0.79±0.44 mg/day로 실험식이에

Table 3. Effects of green tea on serum calcium and phosphorus concentrations and urinary calcium and phosphorus excretion in rats fed high fat diet

Group	Control	High fat	Green tea
Ca (mg/dL)	9.82±0.26 ^{1)a2)}	10.18±0.32 ^b	10.23±0.25 ^b
P (mg/dL)	6.70±0.53 ^a	7.27±0.44 ^b	8.28±0.49 ^c
Urinary Ca (mg/day)	0.38±0.31 ^a	0.58±0.62 ^a	0.79±0.44 ^a
Urinary P (mg/day)	18.0±8.9 ^a	21.5±10.2 ^a	28.1±8.5 ^b

¹⁾ Values were mean±S.D. of 7 rats per group.

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

다른 유의적인 차이가 없었다. 요중 인 배설량은 대조군 18.0 ± 8.9 mg/day, 고지방군 21.5 ± 10.2 mg/day, 녹차군 28.1 ± 8.5 mg/day로 고지방식이군내에서 녹차군이 고지방군보다 유의적으로 높게 나타났다. 이는 혈중 인의 농도가 실험식에 따른 유의적 차이로 녹차군이 정상수준의 농도를 유지하는 하나 실험군 중 가장 높은 수준을 나타내었는데 소변을 통한 인의 배설량을 높여서 혈중 인의 항상성 유지를 위해 녹차군의 경우 소변으로 인 배설량을 증가시킨 것으로 보여진다.

임상에서 만성 신성골격 질환자의 사망률은 혈중 칼슘과 인의 농도가 높은 수준과 관련 있는 것으로 알려져 있다 (Tentori F 등 2008). 실험동물 대상으로 한 본 연구에서도 고지방식은 혈중 인의 농도를 증가시키지만 녹차첨가식은 혈중의 높은 인의 농도를 조절하기 위해 소변 중 인의 배설량을 증가시키는 작용을 하는 것으로 보여진다. 암컷 쥐에서 고지방식에 1% 수준의 녹차첨가식이의 섭취는 소변 중 인의 배설량을 증가시키는 것으로 나타났다.

3. 골대사 지표: 골형성 및 골흡수 지표

본 연구에서 분석한 골대사 지표는 골형성 지표로 혈청 alkaline phosphatase(ALP) 농도를 측정하였고, 골흡수 지표로 요중 deoxypyridinoline(DPD) 배설량을 측정하여 crosslinks value를 구하여 제시하였다. Table 4는 골형성 지표로 혈중 ALP 농도를 나타낸 것이다. 혈중 ALP 농도는 대조군 83.6 ± 15.1 U/L, 고지방군 145.4 ± 14.1 U/L, 녹차군 170.3 ± 29.6 U/L로 실험식에 따른 유의적 차이를 보여 대조군, 고지방군, 녹차군의 순으로 높았다. 고지방식을 섭취하는 암컷 쥐에서 녹차첨가식은 골형성 지표인 ALP를 유의적으로 증가

시켰다.

ALP는 골아세포에 존재하며 국소부위의 골에 무기질이 침착되는 것을 증가시키는 역할을 하여 조골세포의 활성을 나타내는 인자이다. 녹차 카테킨이 *in vitro* 연구에서 골대사 관련 지표에 미치는 영향을 분석한 선행연구에서 녹차추출물 EGCG 형태로 인체 골수 줄기세포에 1 및 10 microM(μ M)의 투여한 결과, 골대사관련 호르몬인 오스테오칼신, ALP 활성 및 무기질화를 향상시키는 것으로 나타났다(Lin SY 등 2018). 특히 ALP 활성은 카테킨 처리 후 7일과 14일째 모두 증가하여 2주 후 무기질화가 향상되었다. 또한, 인체 조골세포 유사세포(human osteoblast-like cells)에 1~5 microM 농도의 EGCG 처리는 용량 의존적으로 ALP 활성 및 무기질화를 증가시키는 것으로 나타났다(Vali B 등 2007). *In vivo* 연구에서 SD계 암컷 쥐를 대상으로 매일 체중당 EGCG 5 mg(5 mg/kg/day)를 공급한 결과 골형성 지표인 ALP와 항산화효소인 SOD가 유의적으로 증가하였다(Liu S 등 2018).

이러한 세포 수준의 선행연구에서 녹차추출물 카테킨 형태로 고용량 처리시 ALP 증가를 보고하였는데 본 연구에서는 천연식품인 녹차를 분말 형태로 고지방식과 함께 섭취시킨 결과, 1% 수준의 섭취량으로 골형성 지표인 ALP 증가를 나타내었다. 하지만 골형성 지표로서 혈중 ALP는 민감도가 다소 낮은 지표임을 감안하면, 녹차첨가식으로 인한 골대사 변화가 유도된 것으로 판단하기에는 제한점이 있다.

Table 5는 골흡수 지표로 요중 deoxypyridinoline(DPD), creatinine 및 crosslinks value를 나타내었다. 요중 DPD 농도는 대조군 574.0 ± 136.8 nM, 고지방군 482.3 ± 154.6 nM, 녹차군 385.3 ± 160.5 nM로 대조군, 고지방군, 녹차군 순으로 낮았으며, 녹차군이 대조군보다 유의적으로 낮았다. 고지방군내

Table 4. Effects of green tea on serum alkaline phosphatase (ALP) in rats fed high fat diet

Group	Control	High fat	Green tea
ALP (U/L)	$83.6 \pm 15.1^{1)a2)}$	145.4 ± 14.1^b	170.3 ± 29.6^c

¹⁾ Values were Mean \pm S.D. of 7 rats per group.

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

Table 5. Effects of green tea on deoxypyridinoline (DPD), creatinine and crosslinks value in rats fed high fat diet

Group	Control	High fat	Green tea
DPD (nM)	$574.0 \pm 136.8^{1)a2)}$	482.3 ± 154.6^{ab}	385.3 ± 160.5^b
Creatinine (mM)	11.5 ± 2.9^a	9.1 ± 6.5^a	6.0 ± 4.5^a
Crosslinks value (nM/mM)	50.9 ± 21.8^a	53.1 ± 37.6^a	64.3 ± 31.2^a

¹⁾ Values were mean \pm S.D. of 7 rats per group.

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

에서는 녹차첨가 여부에 따른 유의적 차이가 없었다. 1% 수준의 녹차첨가식이 정상식이의 대조군과 비교하여 요중 DPD 배설을 낮추는 영향을 미치는 것으로 나타났으나 crosslinks value는 실험식이에 따른 유의적 차이가 없었다.

산화스트레스에 노출된 어린이를 대상으로 골대사 지표와의 관련성을 분석한 선행연구에서는(El Amrousy D 등 2021) 당뇨병인 산화스트레스에 노출된 어린이는 대조군과 비교하여 요중 DPD가 유의적으로 높았으나 혈중 ALP 농도는 유의적인 차이가 없었다고 보고하였고, 특히 요중 DPD는 항산화효소인 superoxide dismutase(SOD)와 음의 상관성을, 과산화지질인 malondialdehyde(MDA)와 양의 상관성을 보여 산화스트레스는 골교체율을 증가시킴으로써 골격에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 선행연구 결과를 바탕으로 산화스트레스는 조골세포의 분화를 방해하면서 파골세포의 골교체율을 촉진시킴으로써 산화스트레스와 골교체율 지표는 유의적인 관련성을 보고하고 있어 항산화 기능이 있는 녹차의 적절한 섭취는 생체 내 산화스트레스를 낮추어 골교체율을 감소시키는 작용이 가능할 것으로 기대된다. 그러나 본 연구는 고지방식이내에서 1% 수준의 녹차분말 첨가식은 요중 DPD를 감소시키는 경향을 보였으나 골교체율을 낮추는 수준이 아니기 때문에 다양한 녹차 첨가수준 및 섭취형태에 따라 골흡수지표에 미치는 추후 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다.

4. 골대사관련 호르몬: 부갑상선호르몬(parathyroid hormone, PTH)

Table 6은 골대사관련 호르몬으로 혈중 부갑상선호르몬(PTH) 농도를 나타낸 것이다. 혈중 부갑상선호르몬 농도는 대조군 29.7±6.4 pg/mL, 고지방군 5.4±3.1 pg/mL, 녹차군 7.0±4.0 pg/mL로 고지방군과 녹차군이 대조군보다 유의적으로 낮았으나 고지방군내에서 녹차섭취 여부에 따른 유의적 차이는 없었다.

부갑상선호르몬은 신장 세뇨관에서 칼슘 재흡수를 직접적으로 증가시키고 장내 칼슘 흡수를 간접적으로 증가시킴으로써 칼슘 항상성을 조절하는 주요한 골대사 관련 호르몬이다(Pleiner-Duxneuner J 등 2009). 부갑상선호르몬은 골흡수를 유도하는 파골세포를 통하여 혈청 칼슘 분비를 증가시키

며, RANKL(receptor activator for nuclear factor kappa-B ligand) 증가를 유도하는 조골세포를 자극하고 파골세포 분화를 촉진함으로써(Kužma M 등 2021) 골격대사에 관여한다. 혈중 부갑상선호르몬 농도를 분석한 선행연구는 다소 상이한 결과를 나타내고 있어 일관된 결론이 제시되지 않으나 일반적으로 노령화 및 골다공증 증상을 가지고 있는 경우, 성별에 따라서는 여성 노인이 남성 노인보다 높은 것으로 보고되고 있으며, 특히 여성의 경우 폐경 여부에 따라 폐경 여성의 부갑상선호르몬 농도가 증가하는 것으로 알려져 있다(Moreno-Reyes R 등 2009). 암컷 쥐를 대상으로 녹차 섭취시 혈중 부갑상선호르몬 농도를 분석한 선행연구가 없어 직접적인 비교가 되지 않지만 골대사 관련 인체 대상 선행연구에서 혈중 부갑상선호르몬 농도의 분석결과를 참고해보면 55~69세 중국인 폐경여성을 대상으로 혈중 부갑상선호르몬 농도와 골밀도와의 관련성을 분석한 선행연구(Gao C 등 2017)에서는 혈중 부갑상선호르몬 농도는 대퇴경부 및 엉덩이 골밀도와 유의적인 음의 상관성을 보였으나 척추 골밀도는 이러한 상관성을 나타내지 않았다. 다양한 인종과 연령의 건강한 성인을 대상으로 한 대규모 단면연구에서 혈중 부갑상선호르몬 농도와 골밀도는 음의 상관성인 것으로 알려져 있으며, 혈중 부갑상선호르몬 농도는 골밀도 측정 부위 중 66% 정도 유의한 관련성이 있다고 보고하였다(Mendes MM 등 2019). Qu Z 등(2020)은 혈중 부갑상선호르몬 수준과 골밀도의 상관성은 연구결과별 상이하므로 생애주기에 따른 골대사 변화, 생체 골격 부위 및 측정 방법 등 실험대상 및 실험조건에 따라 일관된 결과가 아닌 것을 고려할 필요가 있다고 제시하였다.

본 연구에서는 암컷 쥐를 대상으로 6주간의 정상식이 섭취와 비교하여 고지방식이 섭취시 1% 수준의 녹차첨가식이 섭취는 혈중 부갑상선호르몬 농도를 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났으나, 고지방식이군내에서 녹차 첨가여부에 따른 혈중 부갑상선호르몬 농도는 유의적인 차이가 없었다. 녹차군은 정상식이 대조군과 비교하여 혈중 부갑상선호르몬 농도가 감소하였고, 노중 칼슘 배설량은 고지방식이군에 증가하는 경향이었으나 유의적 차이가 없어 부갑상선호르몬 농도 감소를 통해 암컷 쥐의 칼슘 항상성 조절에 관여한 것으로 보여진다. 또한, 인은 신장을 통해 재흡수되거나 배설된

Table 6. Effects of green tea on serum parathyroid hormone (PTH) in rats fed high fat diet

Group	Control	High fat	Green tea
PTH (pg/mL)	29.7±6.4 ^{1)a2)}	5.4±3.1 ^b	7.0±4.0 ^b

¹⁾ Values were mean±S.D. of 7 rats per group.

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

에 따라 생체내에서 적정한 수준으로 조절되는데 신장에서 인의 재흡수는 비타민 D와 PTH가 관여하게 된다. 인의 재흡수는 비타민 D에 의해 증가되고 PTH에 의해 감소됨에 따라 항상성이 유지된다. 본 연구에서 고지방식이 녹차첨가식은 유의적인 차이는 아니지만 대조군에 비해 PTH 농도가 높은 수준이어서 높아진 PTH가 이로 인해 신장에서 인의 재흡수를 감소시켜 소변 중 인 배설량을 증가시킨 것으로 보여진다. 추후 연구에서 고지방식이 섭취시 녹차 첨가량을 달리한 수준별 녹차섭취가 골대사 호르몬에 미치는 영향을 파악하는 것도 필요하겠다.

본 연구의 녹차군 실험식에 첨가한 녹차가루에 함유된 총 카테킨 함량은 13.79%로 총 카테킨 중 주요 카테킨 형태는 EGC와 EGCG인데 EGC가 6.01%로 가장 많이 함유되어 있고, 다음으로는 EGCG가 5.36% 함유되어 대부분을 차지하고 있다. 녹차가루에 함유된 카테킨 함유비율인 13.79%에 근거하여 녹차군에 첨가한 녹차비율은 총 식이의 1% 수준임으로 실험동물이 실험기간 중 섭취한 실험식의 평균 식이섭취량을 기준으로 녹차군이 섭취한 카테킨 양은 30.2 mg/diet/day로 산출된다. 이는 실험동물 단위체중 kg 당 130.74 mg의 카테킨에 해당하는 양이다. 본 연구의 녹차군이 1일 섭취한 평균 녹차섭취량의 수준을 인체에 적용해서 환산해보면(Reagan-Shaw S 등 2008) 성인 약 70 kg 기준으로 1일 1,484 mg 카테킨에 해당하는 수준으로 1일 녹차가루 기준 10.7 g이다. 일반적으로 말차 1잔 당 1 티스푼인 5 g의 녹차가루 사용하는 것으로 적용하면 녹차가루를 이용한 말차의 형태로 약 2잔 정도 섭취하는 양에 해당하는 수준이다.

노령 암컷 쥐를 대상으로 본 연구와 동일한 수준의 45% 고지방식사와 함께 녹차 폴리페놀을 0.5% 수준으로 음용수에 첨가하여 4달 동안 공급한 선행연구에서는(Shen CL 등 2012) 체지방비율은 증가시키고 체지방 비율을 감소시켜 고지방식이 섭취시 0.5% 녹차 폴리페놀은 체성분을 변화시켰다. 또한, 동일한 실험조건의 다른 선행연구(Shen CL 등 2013)에서는 노령 암컷 쥐에서 고지방식으로 유도한 경우 녹차 폴리페놀을 0.5 g/100 mL 농도 음용수로 4달 동안 공급한 결과, 비만 암컷 쥐의 골교체율(bone turnover)을 억제시킴으로써 대퇴 골밀도를 유의적으로 증가시킨 것으로 나타났다. 정소제거로 골다공증을 유도한 수컷 쥐에게 녹차 폴리페놀을 0.5 g/100 mL 농도 음용수로 4달 동안 공급한 선행연구에서는 혈중 오스테오칼신 농도가 유의적으로 증가하여 대퇴 골밀도를 유의적으로 증가시켰다. 이처럼 대부분 녹차가 골대사에 미치는 영향을 분석한 선행연구는 노령의 골다공증 유도 암컷 및 수컷 쥐를 대상으로 녹차 폴리페놀을 0.5% 첨가한 음용수의 형태로 장기간 음용시킨 결과, 노화에 따른 골교체율 증가를 억제시킴으로써 골밀도에 유리하였다.

골대사 관련 선행연구의 대부분은 노령의 골다공증 유도 난소절제 쥐를 대상으로 골다공증 감소에 중점을 둔 연구가 대부분이고, 녹차의 섭취가 골격대사에 미치는 영향은 녹차 섭취방법에 따라 상반된 연구결과도 보고되어 있다. 녹차와 골대사 연구가 일관된 결과가 아닌 점을 감안하여 본 연구는 성장기의 암컷 쥐를 대상으로 고지방식이에 녹차 분말을 6주간 식이의 형태로 공급하여 골대사 지표에 미치는 영향을 분석한 결과, 혈청 ALP 농도를 증가시키고 노중 DPD crosslink value를 유지하여 골흡수보다 골형성 증가에 영향을 미치는 것으로 나타났는데 이로 인해 골교체율 증가를 감소시켜 골격 성장에 유리할 것으로 보여진다. 하지만, 이러한 골대사 지표의 변화가 고지방식을 섭취한 성장기 암컷 쥐에서 1% 수준의 녹차 식이섭취가 부작용 없이 성장기 골밀도 증가에 실질적으로 기여하는지에 대한 추후연구가 필요하다고 사료된다. 또한 녹차를 식품의 형태로 식이에 공급하여 섭취하는 것은 고농도의 추출물의 형태로 공급받는 것과는 차이가 있어 장기간의 식이 섭취에 따른 유용성과 부작용에 대한 연구가 함께 이루어져야 할 것으로 판단된다.

녹차가루 100 g당 일반성분의 함량은 단백질 22.3, 지질 2.47, 콜레스테롤 0 mg, 식이섬유 40.4 g, 칼슘 717 mg, 마그네슘 277 mg, 인 279 mg, 칼륨 1,471 mg, 나트륨 23 mg, 셀레늄 13.49 µg, 베타카로틴 7,579 µg으로 녹차 잎 자체가 천연적으로 함유하고 있는 다양한 일반성분을 그대로 함유하고 있다(Rural Development Administration 2020). 일상적인 식이에서는 대부분 녹차는 차잎 자체를 직접 섭취하지 않고 물에 우려내어 차의 형태로 음용하기 때문에 95% 이상의 수분을 주로 섭취하게 된다. 차잎 자체를 분말로 섭취하는 것과 비교하여 녹차 잎에 풍부하게 함유된 칼슘 등 무기질이나 베타카로틴 등 음용수에 용출되지 않는 불용성의 다양한 영양성분은 전혀 섭취할 수 없는 형태로 마시게 되는 것이다. 따라서 녹차를 섭취하는 형태가 녹차 잎을 우려내어 음용하는 방법과 녹차 잎 자체를 분말 형태로 섭취하는 방법에 따라 골대사에 미치는 정도는 차이가 있을 것으로 사료되나, 섭취 기간 및 섭취량, 섭취 형태에 따라 연구대상 연령별 차이가 반영되어야 할 것으로 보여진다. 녹차와 유사하게 항산화작용이 뛰어난 생리활성물질 중 라이코펜이 골대사에 미치는 영향을 분석한 선행연구를 살펴보면, 난소절제 쥐를 대상으로 12주간 라이코펜(15, 30 and 45 mg/kg)을 공급한 결과, 요중 DPD 수준은 15 mg/kg의 라이코펜은 감소시키는 효과가 없었으나, 라이코펜을 고용량(30 and 45 mg/kg)으로 처치한 난소절제 쥐의 요중 DPD 수준은 유의적으로 감소시켰다(Ardawi MM 등 2016). 이처럼 항산화 성분의 용량별에 따라 골대사 지표에 미치는 영향이 다르게 나타나 유효성분의 노출수준이 주요 변수가 되나 녹차의 경우 카테킨 이외에 카

페인도 함유하고 있어 골격대사에 부정적인 역할을 하는 카페인의 노출수준 또한 고려하여 적정수준의 섭취량을 생체에 적용하는 것이 중요할 것으로 보여진다. 성장기 쥐를 대상으로 단기간과 장기간 기간별 녹차추출물을 섭취시킨 연구에서는 기간별 녹차추출물 섭취로 인한 골흡수 지표는 유의적인 차이가 없었으나 결과적으로 성장기 중 장기간 고농축의 녹차추출물은 체중당 골함량을 감소시켜 성장하는 쥐의 뼈, 특히 소주골 손실 및 미세구조 기형에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다(Minematsu A 등 2018). 이상의 연구결과를 바탕으로 녹차의 섭취형태 및 기간 등 녹차에 노출되는 여러 가지 조건에 따라 상이한 결과를 보이는 것을 감안한다면 녹차추출물 형태의 섭취는 고용량의 카테킨 섭취로 인한 부작용이 수반되며, 녹차 잎을 차로 우려서 섭취하는 것은 차에 우려난 수용성 성분만을 섭취하게 되는 단점이 있다. 반면, 녹차 잎을 건조하여 분말의 형태로 섭취하게 되면 수용성의 용출 성분 이외의 식이섬유와 같은 찻잎에 함유된 모든 유용성분을 함께 섭취할 수 있으므로 생체 내에서 녹차 섭취의 효용성을 충분히 활용할 수 있는 적합한 섭취방법인 것으로 보여지나 골격대사에서 녹차 섭취의 효용성을 위한 추후연구가 필요하다고 판단된다.

요약 및 결론

본 연구는 암컷 쥐를 대상으로 고콜레스테롤이 함유된 고지방식이 섭취시 녹차분말 첨가식이 골대사에 미치는 영향을 파악하기 1% 수준의 녹차첨가식을 6주간 공급한 후 골형성 및 골흡수 지표와 골대사 호르몬을 분석하였다. 본 연구결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 실험종료시 체중 및 실험기간동안 체중증가량은 고지방군이 대조군보다 유의적으로 높았고 고지방군내에서는 녹차섭취 여부에 따른 유의적인 차이가 없었다.
2. 실험군의 평균 식이섭취량은 식이에 따른 유의적인 차이가 없었으나, 식이효율은 고지방군이 대조군보다 유의적으로 높았고 고지방군내에서는 녹차섭취 여부에 따른 유의적인 차이가 없었다.
3. 혈청 칼슘농도는 녹차군과 고지방군이 대조군보다 유의적으로 높았고, 혈청 인농도는 녹차군, 고지방군, 대조군 순으로 유의적 차이를 보여 녹차군이 가장 높게 나타났으며, 모든 실험군의 혈청 칼슘과 인의 농도는 정상에 해당하는 수준이었다.
4. 요중 칼슘 배설량은 녹차군이 많았으나 식이섭취에 따른 유의적인 차이가 없었고, 요중 인 배설량은 녹차군이 대조군과 고지방군보다 유의적으로 높았다.
5. 골형성 지표인 혈청 ALP(alkaline phosphatase) 농도는

녹차군, 고지방군, 대조군 순으로 유의적 차이를 보여 녹차군이 가장 높았다.

6. 골흡수 지표인 요중 DPD crosslinks value는 녹차섭취에 따른 유의적인 차이가 없었다.
7. 골대사 관련 호르몬인 혈청 부갑상선호르몬(PTH) 농도는 녹차군과 고지방군이 대조군보다 유의적으로 낮았으나 녹차섭취에 따른 유의적인 차이는 없었다.

이상의 연구결과에서 녹차의 섭취는 고콜레스테롤 함유 고지방식을 섭취한 암컷 쥐의 혈중 인의 농도와 요중 인 배설량을 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났으며, 식이 1% 수준의 녹차분말 섭취는 골형성 지표는 증가시켰으나 골용해 지표 및 골대사 호르몬은 영향이 없는 것으로 나타났으므로 골교체를 지표 및 골밀도 조직학적 변화에 유효한 영향을 미치는 녹차 섭취수준 및 섭취형태에 대한 추후연구가 필요하겠다.

REFERENCES

- Ardawi MM, Badawoud MH, Hassan SM, Rouzi AA, Ardawi JMS, AlNosani NM, Qari MH, Mousa SA (2016) Lycopene treatment against loss of bone mass, microarchitecture and strength in relation to regulatory mechanisms in a postmenopausal osteoporosis model. *Bone* 83: 127-140.
- Choi MJ, Jung YJ (2010) Effects of green tea powder on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized rats. *Journal of the Korean Tea Society* 16(1): 89-94.
- Daly JA, Ertingshausen G (1972) Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the centrifichem. *Clin Chem* 18(3): 263-265.
- Dulloo AG, Duret C, Rohrer D, Girardier L, Mensi N, Fathi M, Chantre P, Vandermander J (1999) Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 70(6): 1040-1045.
- El Amrousy D, El-Afify D, Shabana A (2021) Relationship between bone turnover markers and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Res* 89(4): 878-881.
- Gao C, Qiao J, Li S, Yu WJ, He JW, Fu WZ, Zhang ZL (2017) The levels of bone turnover markers 25(OH)D and PTH and their relationship with bone mineral density in postmenopausal women in a suburban district in China. *Osteoporos Int* 28(1): 211-218.

- Gupta S, Saha B, Giri AK (2002) Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: A review. *Mutat Res* 512(1): 37-65.
- Iwaniec UT, Turner RT, Koo SI, Kaur R, Ho E, Wong CP, Bruno RS (2009) Consumption of green tea extract results in osteopenia in growing male mice. *J Nutr* 139(10): 1914-1919.
- Kao YH, Hiipakka RA, Liao S (2000) Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology* 141(3): 980-987.
- Kim, GY, Sim KC, Kim GD, Cho GS, Kim KY (2009) The effect of soybean sprouts extract isoflavone on bone related hormones and histological change in the osteoporosis of rats caused by ovariectomy. *J Korean Health & Fundamental Med Sci* 2(1): 23-30.
- Kužma M, Jackuliak P, Killinger Z, Payer J (2021) Parathyroid hormone-related changes of bone structure. *Physiol Res* 70(Suppl 1): S3-S11.
- Liu S, Yang L, Mu S, Fu Q (2018) Epigallocatechin-3-gallate ameliorates glucocorticoid-induced osteoporosis of rats *in vivo* and *in vitro*. *Front Pharmacol* 9: 447.
- Lin SY, Kang L, Wang CZ, Huang HH, Cheng TL, Huang HT, Lee MJ, Lin YS, Ho ML, Wang GJ, Chen CH (2018) (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) enhances osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Molecules* 23(12): 3221.
- Mendes MM, Hart KH, Lanham-New SA, Botelho PB (2019) Association between 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, vitamin D and calcium intake, and bone density in healthy adult women: A cross-sectional analysis from the D-SOL study. *Nutrients* 11(6): 1267.
- Minematsu A, Nishii Y, Imagita H, Sakata S (2018) Long-term intake of green tea extract causes mal-conformation of trabecular bone microarchitecture in growing rats. *Calcif Tissue Int* 102(3): 358-367.
- Ministry of Health and Welfare, Korea Centers for Disease Control and Prevention (2023) Korea Health Statistics 2022: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES IX-1). Sejong, Korea. p 28.
- Mituka BM, Rawnsley HM (1987) Clinical, Biochemical and Hematological Reference Value in Normal Experimental Animals and Normal Humans. 2nd ed. Masson, New York. p 160.
- Moreno-Reyes R, Carpentier YA, Boelaert M, El Mounni K, Dufourny G, Bazelmans C, Leveque A, Gervy C, Goldman S (2009) Vitamin D deficiency and hyperparathyroidism in relation to ethnicity: A cross-sectional survey in healthy adults. *Eur J Nutr* 48(1): 31-37.
- Morin LG (1974) Direct colorimetric determination of serum calcium with o-cresolphthalein complexon. *Am J Clin Pathol* 61(1): 114-117.
- Moss DW (1987) Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin Biochem* 20(4): 225-230.
- Nagaoka M, Maeda T, Chatani M, Handa K, Yamakawa T, Kiyohara S, Negishi-Koga T, Kato Y, Takami M, Niida S, Lang SC, Kruger MC, Suzuki K (2019) A delphinidin-enriched maqui berry extract improves bone metabolism and protects against bone loss in osteopenic mouse models. *Antioxidants (Basel)* 8(9): 386.
- Nanda N, Joshi H, Subbarao SK, Sharma VP (1994) Two-site immunoradiometric assay (IRMA): Detection, efficiency, and procedural modifications. *J Am Mosq Control Assoc* 10(2 Pt 1): 225-227.
- National Health Insurance Service (2023) The Korean Health Insurance Statistical Yearbook. <https://www.nhis.or.kr> (accessed on 9. 2. 2023).
- Pleiner-Duxneuner J, Zwettler E, Paschalis E, Roschger P, Nell-Duxneuner V, Klaushofer K (2009) Treatment of osteoporosis with parathyroid hormone and teriparatide. *Calcif Tissue Int* 84(3): 159-170.
- Qu Z, Yang F, Hong J, Wang W, Yan S (2020) Parathyroid hormone and bone mineral density: A Mendelian randomization study. *J Clin Endocrinol Metab* 105(11): e4038-e4045.
- Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N (2008) Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J* 22(3): 659-661.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents. *J Nutr* 123(11): 1939-1951.
- Rural Development Administration, National Institute Agricultural Sciences (2020) Food Composition Table. ver. 9.2. Rural Development Administration. National Institute Agricultural Sciences, Suwon, Korea. pp 396-397.
- Sanghani-Kerai A, Osagie-Clouard L, Blunn G, Coathup M (2018) The influence of age and osteoporosis on bone marrow stem cells from rats. *Bone Joint Res* 7(4): 289-297.
- Shen CL, Cao JJ, Dagda RY, Chanjaplammoosil S, Lu C,

- Chyu MC, Gao W, Wang JS, Yeh JK (2012) Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet-induced obese rats. *Nutr Res* 32(6): 448-457.
- Shen CL, Chyu MC (2016) Tea flavonoids for bone health: From animals to humans. *J Investig Med* 64(7): 1151-1157.
- Shen, CL, Chyu MC, Cao JJ, Yeh JK (2013) Green tea polyphenols improve bone microarchitecture in high-fat-diet-induced obese female rats through suppressing bone formation and erosion. *J Med Food* 16(5): 421-427.
- Shen CL, Yeh JK, Stoecker BJ, Chyu MC, Wang JS (2009) Green tea polyphenols mitigate deterioration of bone microarchitecture in middle-aged female rats. *Bone* 44(4): 684-690.
- Tentori F, Blayney MJ, Albert JM, Gillespie BW, Kerr PG, Bommer J, Young EW, Akizawa T, Akiba T, Pisoni RL, Robinson BM, Port FK (2008) Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* 52(3): 519-530.
- Vali B, Rao LG, El-Sohemy A (2007) Epigallocatechin-3-gallate increases the formation of mineralized bone nodules by human osteoblast-like cells. *J Nutr Biochem* 18(5): 341-347.
- Yıldırım M, Saral S, Mercantepe T, İskender H, Tümkaya L, Atak M, Taşçı F (2020) White tea reduced bone loss by suppressing the TRAP/CTX pathway in ovariectomy-induced osteoporosis model rats. *Cells Tissues Organs* 209(1): 64-74.
- Yun JS, Choi MJ (2021) Effects of green tea and black tea supplementation on serum lipids and antioxidant enzyme activity in rats on a high fat diet. *Journal of the Korean Tea Society* 27(1): 41-48.
- Zhao CN, Tang GY, Cao SY, Xu XY, Gan RY, Liu Q, Mao QQ, Shang A, Li HB (2019) Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas. *Antioxidants* 8(7): 215.
- Zhou Q, Zhu L, Zhang D, Li N, Li Q, Dai P, Mao Y, Li X, Ma J, Huang S (2016) Oxidative stress-related biomarkers in postmenopausal osteoporosis: A systematic review and meta-analyses. *Dis Markers* 2016: 7067984.

Date Received Apr. 4, 2024
Date Revised May 14, 2024
Date Accepted Jun. 10, 2024