

## 녹차가 다이옥신계 TCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)에 노출된 흰쥐의 지질대사 및 간 독성물질대사에 미치는 영향

이준호<sup>1†</sup>, 김현숙<sup>1</sup>, 황석연<sup>2</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 생활과학대학 소비자생활정보학과

<sup>2</sup>주성대학 임상병리학과

### Effects of Green Tea Powder on the Disorders of Lipid Metabolism and Hepatic Functions in Rats treated by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)

JoonHo Lee<sup>1†</sup>, HyunSook Kim<sup>1</sup> and SeokYoun Hwang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of consumers' Life Information, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Clinical Laboratory Science, Juseong College, Chungbuk 363-794, Korea

#### Abstract

This study investigated the effects of green tea on the disorders of lipid metabolism, oxidative system and hepatic functions induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), using adult male rats (SD) for 3 weeks. These 36 animals were divided into four groups. TCDD (50 µg/kg BW) was intraperitoneally injected at the beginning of experiment. Green tea powder was added 1% or 3% levels in basal diets respectively. Relative weights of thymus were decreased about one-third of control group, but those of liver, brain and testis were significantly increased in rats treated TCDD. Neutrophil% and lymphocyte% by TCDD treatment was improved by green tea diets. In liver functional enzyme, elevation of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and alkaline phosphatase (ALP) activities due to TCDD treatment was lowered by green tea diets. The concentrations of serum and liver lipids were significantly increased by TCDD treatment, however, those of serum and liver triglyceride tended to decrease by green tea diets. Fecal lipid excretion was increased in rats fed green tea diets. Especially, fecal total cholesterol level was significantly elevated by 3% green tea diets. The activities of superoxide dismutase (SOD) were increased in rats fed 3% green tea diets. Increment of benzphetamine N-demethylase (BPND) activity by TCDD treatment was declined by 1% green tea diets. These results indicate that green tea can exert improving effects on liver lipid accumulation and unfavorable hepatic functions, and elevate antioxidation.

**Key words:** TCDD, green tea, lipid, SOD, BPND

#### 서 론

다이옥신계 화합물은 내분비 교란물질 중에서 가장 문제 시되는 것으로 우리나라에서는 월남전에서 사용된 고엽제의 합성 부산물로 생성되어 고엽제의 피해 원인물질로 밝혀져(1) 그 독성의 폐해가 알려지기 시작했고 1997년 WHO 산하 기구인 IARC에서 다이옥신을 인체 발암물질로 분류하면서 다이옥신이 독성물질로 심각하게 대두되었다. 1999년 벨기에산 돼지고기, 닭고기 및 가공품에서 다이옥신이 기준량 이상으로 함유되어 수입된 돼지고기와 닭고기의 소비 거부반응 등이 있으면서 세계적으로 더욱 관심을 갖게 되었다. 다이옥신계 화합물질 중에서도 특히 TCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)는 가장 독성이 강한물질로 알려졌으며(1) 인간의 TCDD 내성 범위는 1일 0.01 pg/kg BW로

제시되고 있는데 일상생활에서 1일 1~3 pg/kg BW 정도를 섭취하고 있는 것으로 알려져 있다(2). 이것은 산불이나 화재, 노천소각장 등의 연소과정에서 주로 많이 생성되어 대표적인 환경오염물질 중의 하나이다(1). TCDD의 독성에 대하여 고찰해 보면 동물실험에서 수컷의 정자수 감소(2), 식욕 감퇴(3), 체중저하(4), 고지혈증(5), 지질과산화(6), 탄수화물 대사 이상(7), 간 손상(8) 및 면역기능 저하(9) 등 매우 광범위한 증상이 나타났다고 하며 또한 자손의 기형을 초래하고 암을 유발하였다고 하였다(10). TCDD는 동물실험에서 간 조직의 cytochrome p-450(CYP)계를 유도하며 특히 CYP isozyme 중 CYP 1A와 CYP 1A1을 유도한다고 하였는데(11,12) 이들 isozyme specific monooxygenase인 ethoxy-coumarin o-deethylase(ECOD)와 benzphetamine N-demethylase(BPND)의 활성도 비교를 통하여 확인되었으며

†Corresponding author. E-mail: joonho@cnu.ac.kr  
Phone: 82-42-821-6847, Fax: 82-42-821-8887

(12), CYP는 생체내에서 활성산소 생성의 주요 급원이라고 하였다(13). 본 저자의 선행연구(14)에서도 CYP와 NADPH CYP reductase 활성도 및 CYP 의존성 monooxygenase인 ECOD와 BPND가 TCDD투여에 의해 현저히 상승하였다. Harris 등(4)은 TCDD가 실험동물에서 흉선을 심하게 위축시켰으며 흉선은 cell-mediated immunity의 중심적인 lymphoid 기관이라고 하였다. 본 저자의 선행연구(14)에서도 TCDD 투여군에서 흉선의 상대중량이 대조군의 50%이하의 수준으로 유의적으로 위축되었다. Vos 등(15)도 TCDD에 의해 흉선의 위축과 백혈구수의 유의적인 감소로 면역기능의 억제가 확인되었다고 하였다. Smialowicz 등(16)은 면역체계는 약물과 화학물질에 의한 독성의 주요 표적으로 이들이 체내에 들어오면 약물대사효소에 의해 면역체계에 영향을 받을 수 있다고 제안하였다.

이와 같이 TCDD의 독성이 여러 가지 질병의 근원이 되고 있어 그 방어를 위해 다양한 생리활성을 내는 것으로 알려진 녹차를 고려해 보았다. 녹차의 생리활성을 내는 주체는 주로 catechin류로 알려져 있는데 catechin은 polyphenol 화합물로서 flavanonol의 유도체이다(17). 자연계의 catechin은 14종류가 있는데 녹차에는 약 6종류가 함유되어 있고 그 중에서 epigallocatechin(EGC), epigallocatechin gallate(EGCG), epicatechin, epicatechin gallate가 주로 많고 녹차에 이들 성분이 대략 10~15% 함유되어 자연계에서 가장 많이 함유되어 있는 편이다(18). 이것은 또한 차의 수렴성과 떫은 맛의 주체가 되며 구조상 수산기(-OH)를 많이 가지고 있으므로 항산화작용을 비롯한 여러 가지 생리활성이 뛰어나다고 알려져 있다(19). 지금까지 녹차 catechin의 생리활성에 대한 연구에서 Ikeda 등(20)은 녹차의 catechin이 흰쥐에서 콜레스테롤의 장흡수를 저하시켰다고 하였고, Tomita 등(21)도 녹차의 catechin류가 총콜레스테롤의 감소와 혈장에서 지질 과산화를 억제하였다고 하였다. Kang(22)은 녹차 중 polyphenol류가 항 혈전효과가 있다고 하였고 Lee(23)는 녹차의 성분 EGC와 EGCG가 혈소판 응집억제작용을 한다고 하였다. Ryu와 Chang(24)은 녹차 건분이 알콜 투여한 흰쥐에서 뇌조직의 지질산화를 감소시켰다고 하였으며 Yang과 Rhee(25)는 당뇨상태에서 녹차의 catechin이 유리기 생성계인 mixed function oxidative system(MFO계)의 활성을 저해시키고 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase 등의 항산화계 효소활성을 증가시켰다고 하였다. Hanasaki 등(26)도 catechin류가 superoxide anion 생성에 억제효과가 있으며 그 기전은 xanthine oxidase의 활성을 억제하는 것이라고 하였고 Hatano 등(27)은 catechin성분의 galloyl기가 xanthine oxidase의 활성을 현저히 저해시키는 것으로 보고하였다. 그 외에도 catechin성분이 항암작용(28), 중추신경계 활성화(29), 항돌연변이(30), 면역증강(31) 등의 효과가 있음이 보고되었다.

따라서 본 연구에서는 환경 호르몬인 다이옥신계 TCDD

독성 중에서 혈액성분조성, 지질대사, 항산화계효소 및 간 독성물질 관련대사에 관한 이상 현상에 대하여 녹차에 의한 방어효과를 생화학적 연구를 통해 과학적으로 규명하고 그 실효도를 높이고자 하였다.

재료 및 방법

실험설계 및 동물사육

실험용 동물로 체중 약 211 g 되는 Sprague-Dawley(수컷 흰쥐) 36마리를 대한 바이오텍에서 구입하여 4일간 상업용 고형배합사료로 환경에 적응시킨 후 4군으로 분배하여 대조군, TCDD군, TCDD+녹차 1%군, TCDD+녹차 3%군으로 하였고 TCDD(ACCU Standard Inc., USA)는 corn oil: 아세톤을 9:1의 비율로 된 용액에 녹여 50 µg/kg BW수준으로 실험 초에 복강내 주입하였고 대조군은 placebo로 corn oil:아세톤(9:1) 용액만을 동일수준으로 주입하였다(Fig. 1). 실험식은 AIN-93G(32)를 기준으로 하였다(Table 1). 실험식에 사용한 녹차는 분말된 녹차로 산장녹차식품회사에서 첫물 작설차를 구입하여 이용하였으며 녹차 첨가군의 식이중량조절은 corn starch의 양으로 조절하였다. 실험동물의 체중과 식이섭취량은 2일에 한번씩 측정하며 식이와



Fig. 1. Experimental design.

Control: basal diets, TCDD: basal diets and TCDD treated, GT1T: green tea 1% diets and TCDD treated, GT3T: green tea 3% diets and TCDD treated.

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

Ingredients	Basal <sup>1)</sup>	GT 1%	GT 3%
Casein	140	140	140
Soybean oil	50	50	50
Vitamin mix (AIN-93-VX) <sup>2)</sup>	10	10	10
Mineral mix (AIN-93-MX) <sup>3)</sup>	35	35	35
Cellulose powder	50	50	50
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Sucrose	100	100	100
L-Cystine	1.8	1.8	1.8
Green tea powder	-	10	30
Corn starch	610.7	600.7	580.7
Tert-butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008

GT: green tea powder.

<sup>1)</sup>Diets based on AIN-93M pattern.

<sup>2)</sup>AIN-93-VX (ICN Biomedicals, Inc, USA).

<sup>3)</sup>AIN-93M-MX (ICN Biomedicals, Inc, USA).

물은 자유롭게 급여하고 물은 증류수를 급여하였다. 실험 종료 전 3일 동안 변을 수집하였다. 실험동물 사육실 환경은 온도 22±2°C, 상대습도 65±5%로 유지하고 명암은 12시간 주기로 일정하게 조절하였고 실험기간은 3주간으로 하였다. 실험 종료 후 실험동물을 ether로 마취하여 복부 대동맥에서 혈액을 채취한 다음 혈액성상의 분석과 혈청의 생화학적 성분의 분석을 위해 EDTA 처리된 샘플과 처리되지 않은 샘플에 나누어서 주입하고 EDTA 처리되지 않은 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 혈청을 분리하였다. 채혈 후 2시간, 고환, 흉선, 뇌를 적출하여 무게를 측정하고 다음 액체질소로 급냉동시킨 후 혈청과 함께 -70°C의 냉동고에 보관하였다.

**실험방법**

**혈액성분 분석:** 적혈구(red blood cells, RBC) 수, 백혈구(white blood cells, WBC) 수, 헤마토크리트(hematocrits), 헤모글로빈(hemoglobin, Hb) 농도 및 혈소판(platelets, PLT) 수의 측정을 위해 항응고제인 EDTA가 처리된 튜브에 혈액을 채취한 다음 혈액자동분석기(NE-8000, TOA Medical Co., LTD, Japan)를 이용하여 측정하였고, 혈청의 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT) 및 alkaline phosphatase(ALP)의 활성도는 생화학자동분석기(Hitachi-7150, Hitachi Medical Co., LTD, Japan)를 이용하여 분석하였다.

**혈청, 간 및 변의 지질분석:** 혈청의 cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 농도는 생화학자동분석기를 이용하여 분석하였다. 간조직과 변 중의 총 지질 함량은 Folch 등(33)의 방법으로, cholesterol 함량은 Sperry와 Webb(34)의 방법으로, triglyceride 함량은 Fletcher(35)의 방법으로 정량하였다. 변 중의 담즙산 함량은 Tokunaga(36)의 방법으로 변에서 담즙산을 추출한 후 담즙산 kit(Wako Co.)를 사용하여 측정하였다.

**항산화효소활성도 측정:** 간 cytosol에서 superoxide dismutase(SOD)의 활성도는 Lee와 Yu(37)의 방법을 이용하여 측정하였으며, 간 cytosol의 단백질 함량을 Lowry 등(38)의 방법에 의해 bovine serum albumin(BSA)을 표준물질로 사용하여 측정 후 이를 기준하여 활성도를 산출하였다.

**간의 독성물질대사 효소활성도 측정 :** 간의 마이크로솜 분획물 조제는 Bansal 등(39)의 방법에 의해 실시하였고, 이것을 사용하여 cytochrome P-450 활성도는 Omura와 Sato(40)에 의해, NADPH cytochrome P-450 reductase 활성도는 Williams와 Kamin(41)의 방법에 의해, ethoxycoumarin-o-deethylase(ECOD)의 활성도는 Greenlee와 Poland(42)의 방법에 의해, benzphetamin-N-demethylase(BPND)의 활성도는 Thomas(43)의 방법에 의해 분석하고 마이크로솜 단백질 함량을 기준하여 계산하였으며 구체적인 분석방법은 본 저자의 선행연구(14)와 동일하게 하였다.

**통계분석**

실험결과는 SAS program을 이용하여 평균과 표준편차를 산출하였다. 각 군 간의 분석항목별 유의성 검증은 ANOVA test 후, Duncan's multiple range test로 검증하였다. 그 결과는 p<0.05수준에서 유의적 차이를 인정하였다.

**결과 및 고찰**

**동물의 성장과 식이섭취량**

실험 3주 동안의 흰쥐의 성장과 식이섭취량은 Table 2와 같았다. 체중증가와 식이섭취량이 TCDD 투여군에서 모두 유의적으로 감소되었다.

**장기의 무게**

체중 100 g당 장기무게를 보면 TCDD 투여군 모두에서 간과 뇌 및 고환무게가 유의적으로 증가되었고 흉선의 무게는 대조군의 1/3정도로 현저하게 감소하였다(Fig. 2). Harris 등(4)도 TCDD가 면역의 중심기관인 흉선을 심하게 위축시켜 면역기능을 억제한다고 하였다. 그런데 TCDD 투여에 의한 장기무게의 변화에 대하여 녹차의 효과는 보이지 않았다.

**혈액성분**

혈액성분에서 적혈구, 백혈구의 수와 헤모글로빈, 헤마토크리트의 값에서는 군 간에 유의적인 차이가 없고, 정상수준의 범위를 나타내었다. 혈소판에서는 TCDD투여에 의해 대조군에 비하여 현저히 저하하였으나 녹차 3% 첨가식에 의해 증가되는 경향을 보여 주었다(Table 3). Neutrophill%는 염증이 상관성이 있는 것으로 TCDD 단독 투여군에서 대조군에 비하여 높은 수준이었고, 녹차 첨가군에서는 TCDD군에 비하여 약간 낮게 나타났다. 면역성에 관련된 lymphocyte%는 대조군에 비하여 TCDD투여군에 의해 유의적으로 감소하였으나 녹차 첨가량에 따라 개선되는 경향을 보였다(Fig. 3).

**혈청의 간기능 관련 효소의 활성도**

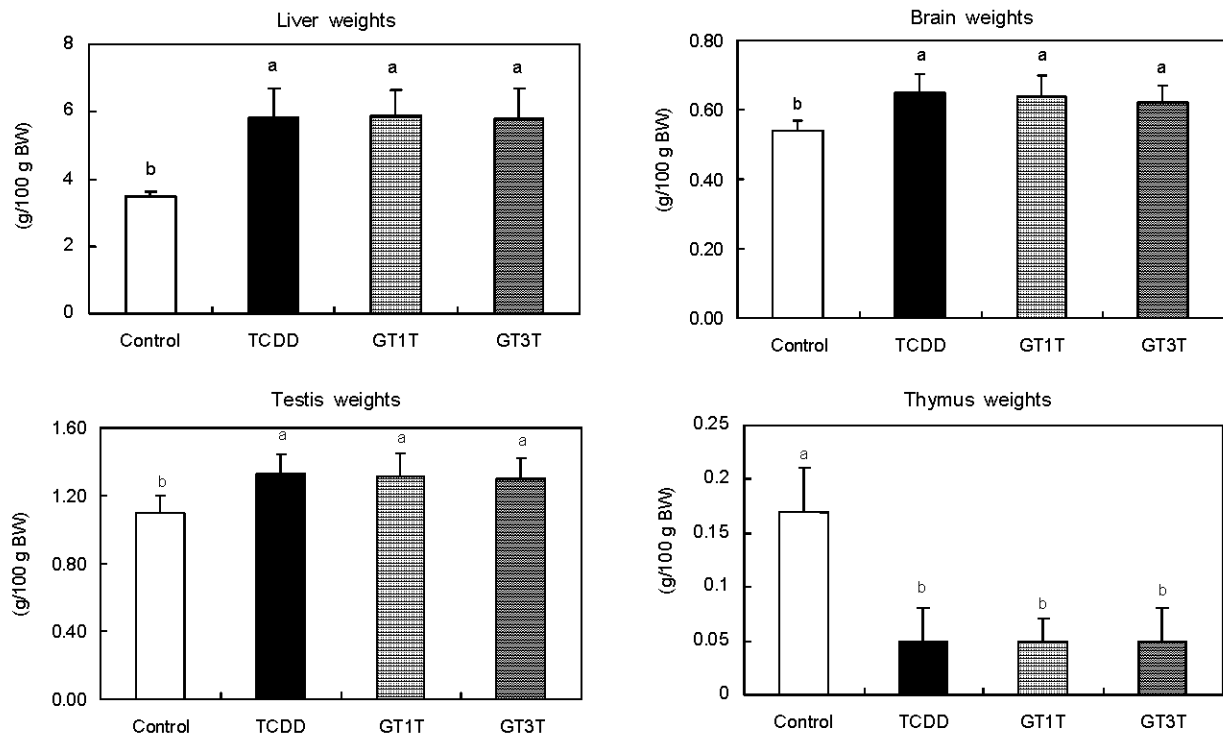
혈청 GOT활성도는 대조군에 비하여 TCDD투여군에서 약 2배 정도 증가하였다가 녹차첨가군에 의해 현저히 저하되어 개선시켰고, 혈청 ALP활성도도 대조군에 비하여

**Table 2. Effects of green tea diets on growth parameters in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)**

Groups	Body weight (g)		Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)
	Initial	Final		
Control	211±9 <sup>1)</sup>	327±16 <sup>a2)</sup>	5.54±0.52 <sup>a</sup>	18.4±0.90 <sup>a</sup>
TCDD	211±9	254±24 <sup>b</sup>	2.32±0.98 <sup>b</sup>	13.2±1.07 <sup>b</sup>
GT1T	211±7	260±29 <sup>b</sup>	2.70±0.74 <sup>b</sup>	13.2±1.70 <sup>b</sup>
GT3T	211±7	263±31 <sup>b</sup>	2.48±1.34 <sup>b</sup>	12.9±1.76 <sup>b</sup>

Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1.  
<sup>1)</sup>Mean±SD of 9 rats per group.

<sup>2)</sup>Values with different superscript letters in the same column are significantly different (p<0.05).



**Fig. 2.** Effects of green tea diets on organ weights in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1. Mean±SD of 9 rats per group. <sup>ab</sup>Values not sharing a common superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Effects of green tea diets on hematological values in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)

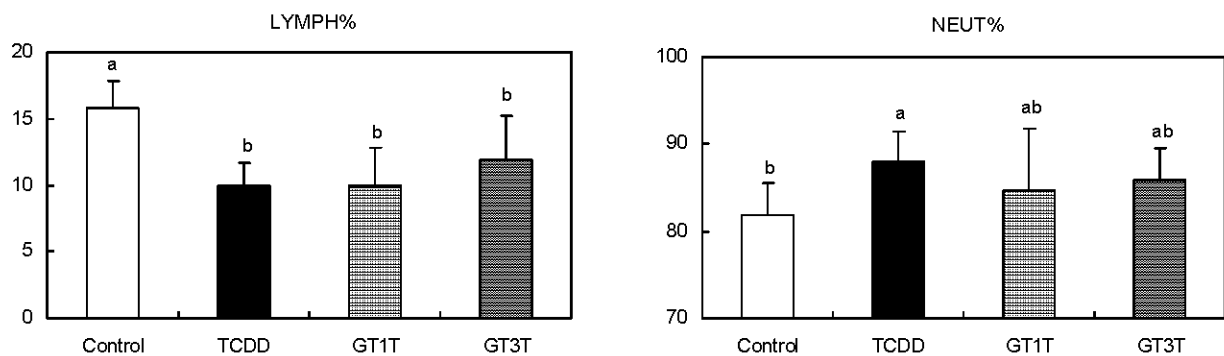
Groups	WBC ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	RBC ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	Hb (g/dL)	Hct (%)	PLT ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )
Control	5.95±0.68 <sup>1)</sup>	7.32±0.25	13.6±0.37	42.5±1.6	920±88.0 <sup>2)</sup>
TCDD	6.57±1.52	7.27±0.30	13.1±0.46	41.3±1.8	624±107 <sup>bc</sup>
GT1T	5.75±1.35	7.47±0.60	13.4±1.00	42.4±2.8	539±161 <sup>c</sup>
GT3T	7.01±1.69	7.40±0.30	13.2±0.27	42.0±1.9	735±82.9 <sup>b</sup>

Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1.

WBC: white blood cell, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin, Hct: hematocrite, PLT: platelet.

<sup>1)</sup>Mean±SD of 9 rats per group.

<sup>2)</sup>Values with different superscript letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 3.** Effects of green tea diets on blood neutrophil (NEUT)% and lymphocyte (LYMPH)% in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD).

Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1.

Mean±SD of 9 rats per group. <sup>ab</sup>Values not sharing a common superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

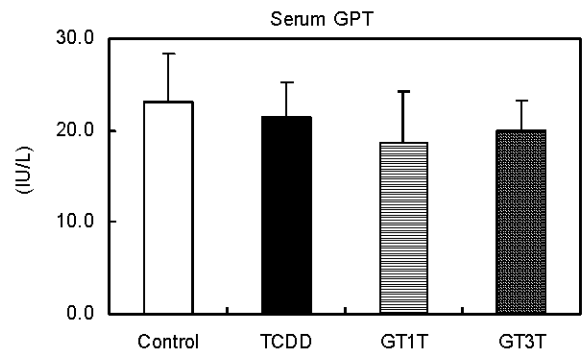
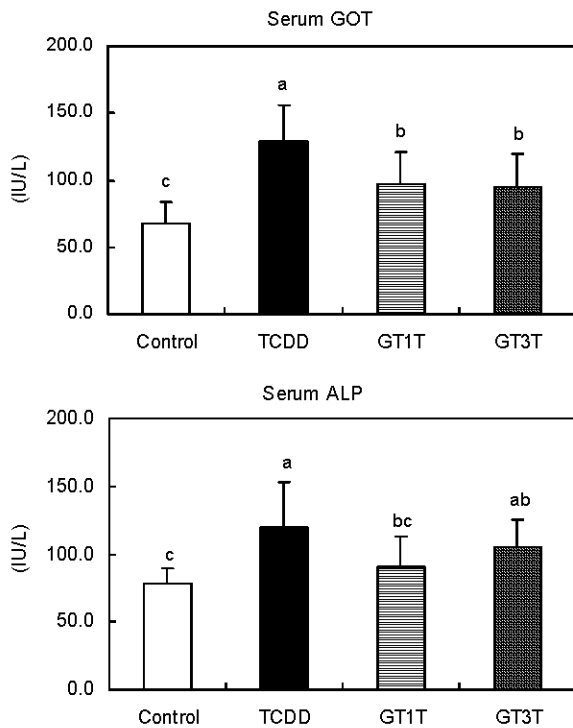


Fig. 4. Effects of green tea diets on glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and alkaline phosphatase (ALP) in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1. Mean±SD of 9 rats per group. <sup>a-c</sup>Values not sharing a common superscript letter are significantly different (p<0.05).

TCDD투여군에서 유의적으로 높았고 녹차첨가에 의해 저하되어 개선되는 경향을 보였으며 혈청 GPT활성도는 군간에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 4). Kien과 Ganther(44)는 간 기능이 손상되면 혈청 총 단백질 또는 알부민농도가 감소하고 GOT, GPT 및 ALP 등의 활성도가 상승한다고 보고하였다. 이들 효소의 활성도는 간의 parenchyma cell의 손상을 직접적으로 나타내는 지표로서 TCDD에 노출된 노동자들에서 상승하였다고 하였다(45). 한편 본 연구에서 TCDD에 의한 이들 효소의 상승이 녹차의 식이에 의해 저하되어 간 기능의 손상을 억제하는 효과가 보였는데 Kwon 등(46)의 연구에서도 catechin이 GOT의 활성을 낮추어 간 기능의 손상을 억제시켰다고 하여 본 논문과 유사한 결과를 나타내었다.

혈청지질함량

혈청 총 콜레스테롤과 HDL-, LDL-콜레스테롤함량이 대조군에 비하여 TCDD투여군에서 모두 상승하였으며 특히 HDL-콜레스테롤함량은 유의적인 차이를 나타냈다(Fig. 5). Tomita 등(21)은 녹차가 총콜레스테롤을 저하시켰다고 하였는데 본 연구에서는 TCDD의 콜레스테롤 상승작용에 대하여 녹차의 저하작용이 보이지 않았다. 그리고 이들 각각의 그림에서 콜레스테롤함량의 경향이 유사한 것은 혈청 총 콜레스테롤함량에 의한 영향인 것 같았다. 혈청 triglyceride 함량은 대조군과 TCDD단독 투여군에 비하여 녹차 첨가군에서 낮게 나타나 녹차에 의한 혈청 triglyceride억제의 경향이 보였다(Fig. 5). Kim(47)의 연구에서도 녹차건분 공급에 의해 혈장 triglyceride가 유의적으로 감소하였다고 보고되었다. Matsuda 등(48)도 고지혈증 쥐에서 녹차의 catechin

이 혈청 triglyceride의 양을 감소시켰다고 하였다.

간의 지질함량

간의 콜레스테롤과 triglyceride 함량을 보면 대조군에 비하여 TCDD 투여군에서 2배 이상의 높은 수치를 나타내었는데 녹차 3% 혼합식이에 의해 콜레스테롤 및 triglyceride 수준이 저하되는 경향을 보였다(Fig. 6). Kim(47)의 연구에서도 녹차 건분이 간 triglyceride와 콜레스테롤의 저하효과를 보였다고 하였다. 본 연구에서 TCDD투여에 의해 간의 지질과 간의 상대중량이 현저하게 높았던 결과로부터 간 조직내의 지질축적이 간 비대증을 초래한 요인 중 하나로 보며 Hilton 등(49)은 간 비대증이 조직병리학적으로 보면 smooth endoplasmic reticulum과 rough endoplasmic reticulum의 증식 때문이라고 하였다.

변의 지질함량 및 담즙산 함량

일일 변 배설량은 군 간에 유의적인 차이는 없었으나 녹차 3% 첨가 식이군에서 다른 군에 비하여 약간 높은 경향을 보였고, 변 중 총지질 배설량은 대조군에 비하여 녹차 첨가군에서 모두 유의적으로 증가하여 녹차에 의한 지질배설효과가 뚜렷하게 나타났다(Fig. 7). 변 중 총 콜레스테롤 함량은 다른 군에 비하여 녹차 3% 첨가식이군에서 유의적으로 높아 녹차의 콜레스테롤 배설효과도 명확하였다. 변 중 담즙산 배설량은 녹차 3%에서 약간 높은 경향을 보였다. 따라서 녹차에 의해 변 중의 총 지질과 콜레스테롤 및 담즙산 배설량의 촉진효과가 확실하였다. Kim(47)의 연구에서도 본 연구와 같이 녹차 건분에 의해 변의 배설량이 대조군보다 유의적으로 높았으며 이 원인은 녹차의 성분이 지질흡수를 저하

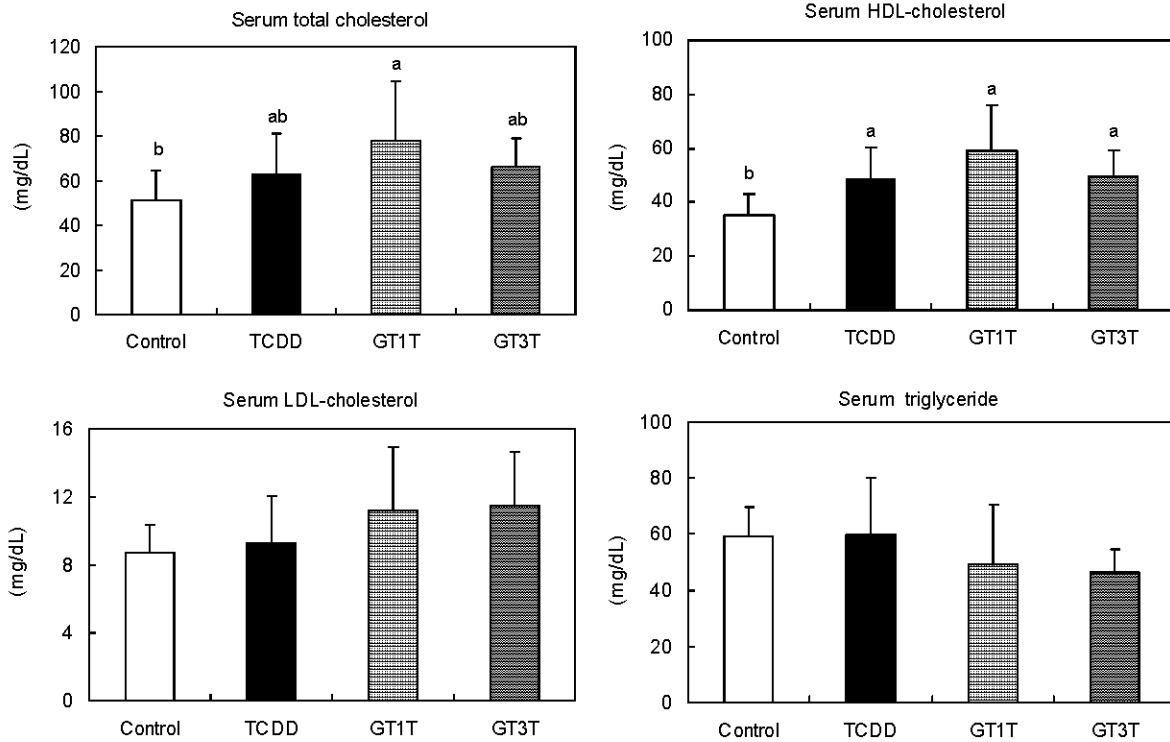


Fig. 5. Effects of green tea diet on serum total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1. Mean±SD of 9 rats per group. <sup>ab</sup>Values not sharing a common superscript letter are significantly different (p<0.05).

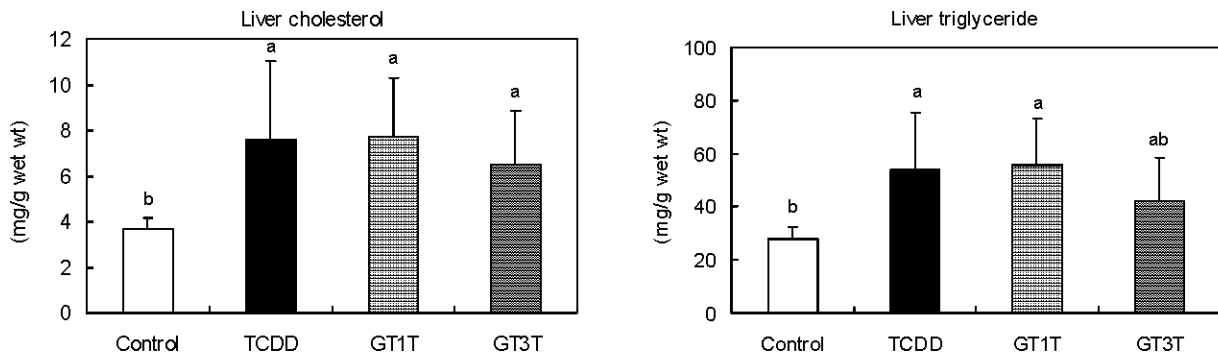


Fig. 6. Effects of green tea diets on liver total cholesterol and triglyceride in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1. Mean±SD of 9 rats per group. <sup>ab</sup>Values not sharing a common superscript letter are significantly different (p<0.05).

시키고 배설을 촉진시켜 혈액과 간의 지질수준을 낮추었다고 하였다.

항산화효소 활성도

항산화효소인 간조직의 superoxide dismutase(SOD)의 활성도를 보면 대조군과 TCDD 단독 투여군에 비하여 TCDD 처리하고 녹차 3%를 공급한 군에서 유의적으로 높게 나타났다(Table 4). Kim(47)의 연구에서도 녹차 건분군에서 대조군에 비하여 SOD활성도가 유의적으로 높았으며 Chang

과 Ryu(50)의 연구에서는 녹차 분말군과 녹차의 에탄올 추출물군에서 SOD활성도가 대조군에 비하여 유의적인 차이는 없었지만 높은 경향을 보여주었다고 하였다. 따라서 녹차의 항산화작용을 충분히 인정할 수 있었다.

간의 독성물질대사 관련효소 활성도

간 마이크로솜의 cytochrome p-450(CYP)는 대조군에 비하여 TCDD 투여군에서 모두 증가되는 경향이었고 NADPH CYP reductase는 TCDD 단독 투여군에 비하여 TCDD투여

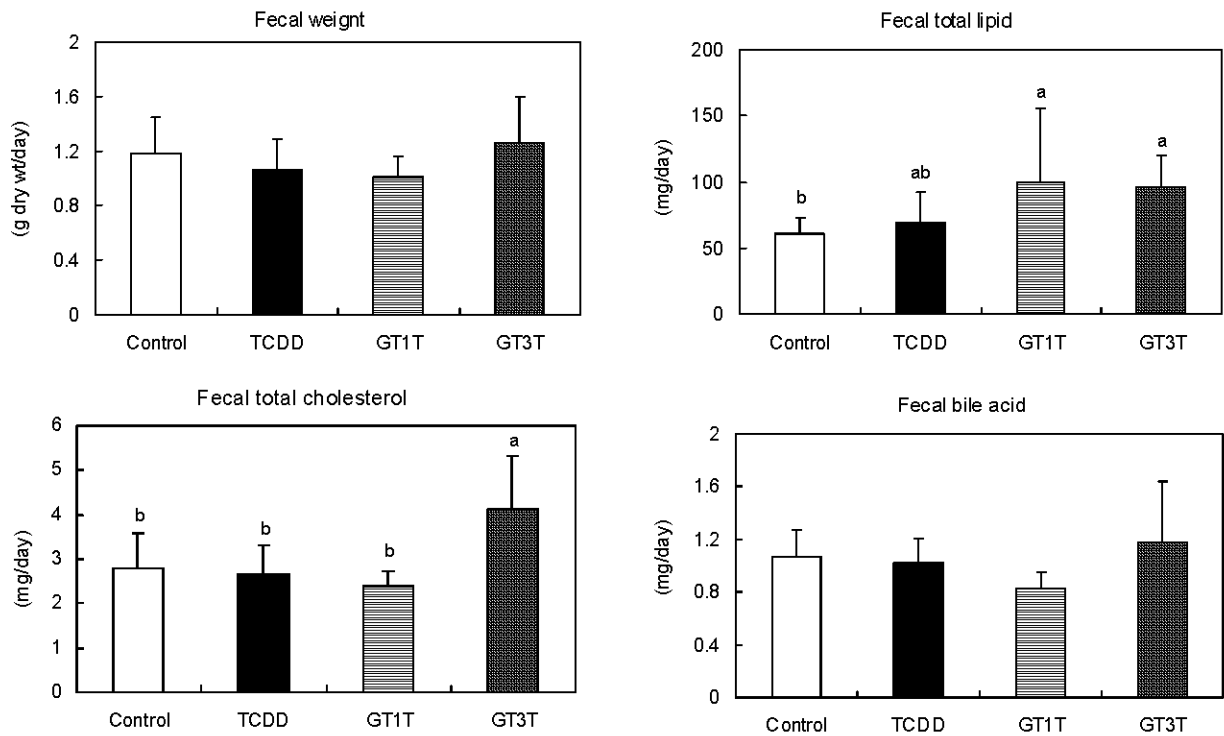


Fig. 7. Effects of green tea diets on fecal weight, total lipid, total cholesterol and bile acid in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD).

Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1.

Mean±SD of 9 rats per group. <sup>ab</sup>Values not sharing a common superscript letter are significantly different (p<0.05).

Table 4. Effects of green tea diets on superoxide dismutase (SOD) and hepatic microsomal enzymes in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)

Groups	SOD	CYP	NADPH CYP reductase	ECOD	BPND
	(µg/mg protein)	(nmoles/mg protein/min)			(nmoles/mg protein/min)
Control	2.93±0.25 <sup>1)2)</sup>	0.30±0.04 <sup>c</sup>	11.8±1.53 <sup>ab</sup>	2.97±0.38 <sup>b</sup>	9.80±1.13 <sup>b</sup>
TCDD	3.07±0.39 <sup>b</sup>	0.33±0.07 <sup>bc</sup>	12.2±0.84 <sup>a</sup>	3.18±0.40 <sup>b</sup>	11.4±0.85 <sup>a</sup>
GT1T	2.94±0.21 <sup>b</sup>	0.39±0.09 <sup>a</sup>	13.4±2.58 <sup>a</sup>	2.97±0.40 <sup>b</sup>	7.91±0.65 <sup>c</sup>
GT3T	3.72±0.90 <sup>a</sup>	0.44±0.11 <sup>ab</sup>	10.3±0.95 <sup>b</sup>	3.74±0.43 <sup>a</sup>	12.0±1.47 <sup>a</sup>

Control, TCDD, GT1T and GT3T: See the legends in Fig. 1.

CYP: cytochrome p-450, ECOD: 7-ethoxycoumarin o-deethylase, BPND: benzphetamine N-demethylase.

<sup>1)</sup>Mean±SD of 9 rats per group.

<sup>2)</sup>Values with different superscript letters in the same column are significantly different (p<0.05).

하고 녹차 3% 첨가식이한 군에서 유의적 감소되어 녹차에 의한 개선의 효과를 보여주었다(Table 4). Park(51)도 당뇨 상태의 쥐에서 녹차의 catechin이 CYP의 활성을 정상군 수준으로 개선시켰다고 하였다. 한편 TCDD에 의해 유도된 CYP 동위효소의 유형을 확인하기 위해 CYP1A, CYP1A1 specific monooxygenase로 알려진(52) 7-ethoxycoumarin o-deethylase(ECOD)와 CYP2B Specific monooxygenase 로 알려진(52) benzphetamine N-demethylase(BPND)의 활성도를 Table 4에서 보면 ECOD 활성도는 녹차 3% 첨가식이에서 높은 반면 BPND 활성도는 TCDD 단독 투여군에서 유의적으로 높았는데 녹차 1% 첨가식에 의해 현저하게 감소되었다. 이들의 활성도가 TCDD투여에 의해 상승된 것

은 Kang(53)의 연구에서도 유사한 결과이었다.

### 요 약

다이어옥신계 TCDD에 노출된 흰쥐의 지질대사, 및 간 독성 물질대사에 있어서 녹차의 방어효과를 알아보기로 Sprague-Dawley rat(수컷, 6주령)를 이용하여 녹차는 건분으로 1%, 3% 첨가식이를 공급하고 TCDD는 실험 초에 복강내 주입하여 3주간 실험하였다. 사육 종료후 혈액조성과 혈청, 간 및 변의 지질을 분석하고 간 조직에서 항산화 효소 활성도와 간 독성물질대사 관련효소의 활성도를 측정하였다. 체중증가와 식이섭취량이 TCDD투여군 모두에서 감소하였다. 간

과 뇌 및 고환의 중량은 TCDD투여군에서 모두 유의적으로 증가하였는데 흉선의 무게는 TCDD투여군 모두에서 대조군의 1/3 정도로 현저하게 감소하였고 녹차에 의한 효과는 보이지 않았다. 혈액성분에서 적혈구, 백혈구의 수와 헤모글로빈, 헤마토크리트의 값은 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 혈소판의 수와 lymphocyte%가 TCDD투여에 의해 저하되었다가 녹차 3% 첨가군에서 증가되어 개선되는 경향을 보였다. neutrophill%는 TCDD투여에 의해 상승했다가 녹차 첨가에 의해 저하되는 경향이였다. 간 기능 지표가 되는 효소인 혈청 GOT와 ALP활성도에서는 TCDD투여에 의한 상승을 녹차첨가에 의해 저하시켜 개선되었다. 혈청 총콜레스테롤과 HDL-, LDL-콜레스테롤함량은 모두 대조군보다 TCDD 투여군에서 모두 높은 경향을 보였으며 녹차의 콜레스테롤 저하효과는 나타나지 않았다. 혈청 triglyceride는 녹차 첨가식이에 의해 저하되는 경향을 보였다. 간의 콜레스테롤 및 triglyceride 함량은 TCDD투여에 의해 2배 정도의 상승을 보였는데 녹차 3%첨가에 의해 억제작용이 나타났다. 변의 총 배설량과 총지질, 총콜레스테롤의 배설량이 녹차 첨가에 의해 현저하게 많았으며 특히 콜레스테롤 배설이 녹차 3% 첨가식이에 의해 유의적으로 증가하였다. 따라서 녹차의 성분이 지질흡수를 저하시키고 배설을 촉진하는 작용이 확인되었다. 항산화효소인 SOD의 활성도가 다른 군보다 녹차 3% 첨가 식이군에서 유의적으로 높아 녹차의 항산화성이 높은 것으로 나타났으며 간의 독성물질대사 효소활성도에서 TCDD투여에 의한 NADPH cytochrome p-450 reductase의 상승을 녹차 3%첨가 식이에 의해, 그리고 cytochrome p-450 의존성 monooxygenase인 BPND는 TCDD투여에 의한 상승을 녹차 1% 첨가식이에 의해 유의적으로 감소시켰다. 이상의 결과에서 녹차가 TCDD투여에 의한 간지질의 축적을 억제시키고 변으로 지질배설량을 증가시켰으며 간 기능에 관련된 효소활성도를 정상화시키는 경향이 있었고 항산화효소인 SOD 활성도를 상승시켜 항산화성을 높이는 것이 확인되었다.

### 감사의 글

이 논문은 2002년도 충남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

### 문헌

1. Kwon HJ, Yu HC, Kim JW. 2003. *Food Safety*. Kyomunsa, Seoul. p 169-171.
2. Hanson JD. 1991. Dioxin toxicity: New studies prompt debate, regulatory action. *C & EN Aug*; 12: 7-14.
3. Brewster DW, Matsumura F. 1984. TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin) reduces lipoprotein lipase activity in the adipose tissue of the guinea pig. *Biochem Biophys Res Commun* 122: 810-817.
4. Harris MW, Moore JA, Vos JG, Gupta BN. 1973. General biological effects of TCDD in laboratory animals. *Environ Health Perspect* 9: 101-109.
5. Swift LL, Gasiewicz TA, Dunn D, Soule PD, Neal RA. 1981. Characterization of the hyperlipidemia in guinea pigs induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 59: 489-499.
6. Shertzer HG, Nebert DW, Puga A, Ary M, Sonntag D, Dixon K, Robinson LJ, Cianciolo E, Dalton TP. 1998. Dioxin causes a sustained oxidative stress response in the mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 253: 44-48.
7. Enan E, Liu PCC, Matsumura F. 1992. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin causes reduction of glucose transporting activities in the plasma membrane of adipose tissue and pancreas from the guinea pig. *J Biol Chem* 267: 19785-19791.
8. Jones G, Butler WH. 1992. A morphological study of the liver lesion induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rats. *J Pathol* 112: 93-97.
9. Germolec DR, Henry EC, Maronpot R, Foley JF, Adams NH, Gasiewicz TA, Luster MI. 1996. Induction of CYP1A1 and ALDH-3 in lymphoid tissue from Fisher 344 rats exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Toxicol Appl Pharmacol* 137: 57-66.
10. Marilyn AF. 1991. Cancer mortality in workers exposed 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *New Engl J Med* 324: 212-218.
11. Hakansson H, Johansson L, Manzoor E, Ahlberg UG. 1994. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on the hepatic 7-ethoxyresorufin *O*-deethylase activity in four rodent species. *Eur J Pharmacol* 270: 279-284.
12. Iba MM, Fung J, Cooper KR, Thomas PE, Wagner GC, Park Y. 2000. Effect of gestational and lactational exposure on the level and catalytic activities of hepatic microsomal CYP1A in prepubertal and adult rats. *Biochem Pharmacol* 59: 1147-1154.
13. Sakai H, Park SS, Kikkawa Y. 1992. Differential oxidase activity of hepatic and pulmonary microsomal cytochrome p-450 isozymes after treatment with cytochrome p-450 inducers. *Biochem Biophys Res Commun* 187: 1262-1269.
14. Lee JH, Hwang SY, Lee YS. 2005. Preventive effects of chitosan on the disorders of hepatic functions and lipid metabolism in rats treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Korean J Nutr* 38: 689-697.
15. Vos JG, Moore JA, Zinkl JG. 1973. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on the immune system of laboratory animals. *Environ Health Perspectives* 5: 149-162.
16. Smialowicz RJ, Riddle MM, Williams WC, Diliberto JJ. 1994. Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on humoral immunity and lymphocyte subpopulations: differences between mice and rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 124: 248-256.
17. Chae SK. 1996. *Food chemistry*. Hyoil Publishing Co., Seoul. p 352-353.
18. Matsuzaki T, Hata Y. 1985. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaish* 59: 129-134.
19. Rhee SJ. 2003. Physiological activities of green tea. United symposium on the development and research direction of functional food. p 21-27.
20. Ikeda I, Masato Y, Nakayama M, Takeo T, Yayabe F, Sugano M. 1991. Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. International symposium on tea science (shizuoka) Abstr. 11-A-3.
21. Tomita I, Nakamura Y, Sano M, Watanabe J, Miura S, Suzuki N, Yoshino K. 1993. Preventive effects of green tea against oxidative damage and mutagenesis. Proceedings of



- the 2nd International symposium on green tea, September 1: 69-73.
22. Kang WS. 1995. Antithrombotic activities of polyphenols in green tea. *MS thesis*. Chungbuk Nat'l Univ, p 32-33.
  23. Lee JH. 1993. Antiplatelets activities of tea catechins. *MS thesis*. Chungbuk Nat'l Univ, p 20.
  24. Ryu SM, Chang NS. 2002. Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in 9 month old rat brain regions. *Korean J Nutr* 35: 24-29.
  25. Yang JA, Rhee SJ. 2000. Effects of green tea catechin on platelet phospholipase A<sub>2</sub> activity and the liver antioxidative defence system in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Food Sci Nutr* 5: 213-218.
  26. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med* 16: 845-850.
  27. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda Y. 1991. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Med* 57: 83-84.
  28. Cheng SJ. 1986. The preliminary study of inhibitory effects of green tea antioxidant on mutation. *Acta Experimental Biology* 9: 328-334.
  29. Hayashi E, Hayashi M, Yamazoe HY. 1990. Pharmacological action of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo Yakuri* 40: 351-356.
  30. Kada T, Kaneko K, Matsuzaki T, Hara Y. 1985. Detection and chemical identification of natural bioantimutagens. *Mutat Res* 150: 127-131.
  31. Faas MM, Van Der Schaaf G, Schipper M, Moes H. 2003. Glomerular immunoglobulin deposits induce glomerular inflammation in pregnant but not in non-pregnant rats. *Am J Reprod Immunol* 49: 57-63.
  32. American Institute of Nutrition. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
  33. Folch J, Less M, Sloaestanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-502.
  34. Sperry WM, Webb M. 1950. A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J Biol Chem* 187: 97-106.
  35. Fletcher MJ. 1968. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chim Acta* 22: 393-397.
  36. Tokunaga T, Oku T, Hosoya N. 1986. Influence of chronic intake of new sweetener fructooligosaccharide (neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 111-121.
  37. Lee DW, Yu BP. 1990. Modulation of free radicals and superoxide dismutase by age and dietary restriction. *Aging Clin Exp Res* 2: 357-362.
  38. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
  39. Bansal SK, Love J, Gurtoo HL. 1983. High pressure liquid chromatographic separation of multiple forms of cytochrome P-450. *Biochem Biophys Res Commun* 117: 268-274.
  40. Omura T, Sato P. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* 239: 2370-2378.
  41. Williams CH Jr, Kamin M. 1962. Microsomal triphosphopyridine nucleotide-cytochrome C reductase of liver. *J Biol Chem* 237: 587-595.
  42. Greenlee WF, Poland A. 1978. An improved assay of 7-ethoxycoumarin O-deethylase activity: Induction of hepatic enzyme activity in C57BL/6J and DBA/2J mice by phenobarbital, 3-methyl-cholanthrene and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p dioxin. *J Pharmac Exp Ther* 205: 596-605.
  43. Thomas PE, Lu AYH, Ryant D, West B, Kawarek J, Levin W. 1976. Multiple forms of rat liver cytochrome P-450. Immunochemical evidence with antibody against cytochrome P-448. *J Biol Chem* 251: 1385-1391.
  44. Kien CL, Ganther HE. 1983. Manifestations of chronic selenium deficiency in a child receiving total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 37: 319-328.
  45. Webb KB, Ayers SM, Mikes J, Evans G. 1986. The diagnosis of dioxin-associated illness. *Am J Prev Med* 2: 103-108.
  46. 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.
  47. Kim SK, Lee HJ, Kim MK. 2001. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. *Korean J Nutr* 34: 499-512.
  48. Matsuda H, Chisaka T, Kubomura Y, Yamahara J, Sawada T, Fujimura H, Kimura H. 1986. Effect of crude drug on experimental hypercholesterolemia. 1. Tea and its active principles. *J Ethnopharmacol* 17: 213-214.
  49. Hilton DE, Glaumann H, Trump BF. 1978. Studies on the cellular toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs). 1. Effects of PCBs on microsomal enzymes and on synthesis and turnover of microsomal and cytoplasmic lipids of rat liver; a morphological and biochemical study. *Virchows Arch B* 27: 279-306.
  50. Chang NS, Ryu SM. 2001. Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in rat brain regions. *Korean J Nutr* 34: 525-531.
  51. Park GY. 1995. Effects of green tea catechin on the peroxidative damage and antioxidative defense system in streptozotocin induced diabetic rats. *MS thesis*. Taegu Hyosung Catholic Univ, p 44-45.
  52. Ryan DE, Levin W. 1992. Purification and characterization of hepatic microsomal cytochrome p-450 inducers. *Biochem Biophys Res Commun* 187: 1262-1269.
  53. Kang HS. 2002. Effects of chitosan and chitosan oligomer diets on the lipid metabolic disorders in rats treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *PhD Dissertation*. Seoul Nat'l Univ, p 127-128.

(2006년 8월 23일 접수; 2006년 10월 23일 채택)