緑茶抽出物のニトロソ化抑制効果と疫学調査

増田 修一*, 内田 聖子, 寺島 結芽子, 木苗 直秀

静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻食品衛生学研究室

〒422-8526 静岡県静岡市谷田52-1

Inhibitory effect of green tea extracts on nitrosation and epidemiological study on cancer mortality

Shuichi Masuda, Shoko Uchida, Yumeko Terashima and Naohide Kinae

Laboratory of Food Hygiene, Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka, 52-1 Yada, Shizuoka-shi, Shizuoka, 422-8526, Japan

Summary

We are daily exposed to many kinds of chemicals through air, drinking water and foodstuffs. Some of these chemicals show mutagenic and carcinogenic activities. *N*-nitrosamines are potential candidates to induce human carcinogenesis, as these compounds are carcinogenic in animal studies and because they are formed by reaction of secondary amines with nitrite in the stomach environment. In Japan, stomach cancer is the most common malignancy. Therefore it is an important task to know how to inhibit carcinogenesis induced by *N*-nitrosamines. In this study, we examined if green tea acts as an inhibitor of the formation of *N*-nitrosamines. Furthermore, we determined the catechin concentration in a cup of green tea prepared from tea found in 13 countries, and examined the relationship between such concentrations and the incidence of cancer in several organs. Green tea leaves were brewed 8 times in hot water. Sodium nitrite and morpholine were added to each extract and adjusted to pH 3.0. After incubation at 37 °C for 30 min, the concentration of formed *N*-nitrosomorpholine was determined by HPLC with a UV detector. The first and second green tea extracts inhibited the formation of *N*-nitrosomorpholine, while subsequent extracts accelerated its formation. These results suggested that the formation of nitrosamines in stomach may be reduced by green tea brews and that repeated brewing results in diminished inhibition of nitrosamine formation. We also demonstrated that the intake of catechins in tea producing areas is higher than that in non-producing areas. We observed a significant inverse correlation between standardized mortality ratio (SMR) of stomach cancer in males and the catechin concentration in green tea extracts. From these data, it is evident that green tea might be a potential chemopreventive agent to inhibit the formation of *N*-nitrosamine.

Keywords: green tea, catechins, nitrosamine, carcinogenicity, standard mortality ratio

* E-mail: masudas@u-shizuoka-ken.ac.jp

受付: 2004年9月14日 受理: 2004年9月14日

© 日本環境変異原学会

本稿は日本環境変異原学会第15回公開シンポジウム「食べ物によるがん予防戦略を考える—生活環境中の植物成分の抗変異・抗発がん作用とそのメカニズム—」で発表された。

This paper was presented at the 15th JEMS Annual Symposium at the Nagai Memorial Hall, Tokyo, May 29th, 2004. The symposium entitled "Strategy for Cancer Prevention by Foods—The Mechanisms of Antimutagenic and Anticarcinogenic Activities of Edible Plants—", was organized by Naohide Kinae and Masamitsu Honma and sponsored by the Japanese Environmental Mutagen Society.

緒 言

日本人における死亡原因第1位は「がん」であり、その原因の35%が食事、30%がタバコなどの生活環境因子によるものである。これら環境因子中には多種多様の化学物質が存在しており、我々は日常的に曝露されている。それらの中でも特にニトロソアミンは魚類から哺乳類に至る多くの動物種に強い発がん作用を示す変異・発がん物質であり、日常食品や飲料水中に普遍的に存在している。さらに、ニトロソアミンはヒト胃内の酸性条件下で、野菜や水道水中の亜硝酸塩と魚、タバコなどに存在する第二級アミンとの反応により容易に生成するものと考えられている。それ故、ニトロソアミンによる発がんを抑制することは、日本人の主な死亡原因であるがんを予防する上で、極めて重要である。

現在、健康増進・発病予防というがんに対する一次予防が重視され、それらを含む生活習慣病の予防に役立つ食経験豊富で且つ、安全性が高い機能性食品の開発が求められている。特に緑茶(*Cameria sinensis*)は、我々日本人に古くから飲用され、広く親しまれており、カテキン類、カフェイン、食物繊維、ビタミンC、カロチン、ビタミンE、アミノ酸などが含まれているため、生体機能性に関する研究が積極的に行われてきた。緑茶の機能成分のうち最もよく研究されてきたのはカテキン類で、その効果としては、発がん抑制作用(Yang et al., 2000)、抗腫瘍作用(Agarwal et al., 1992)、突然変異抑制作用(Kada et al., 1985)、抗酸化作用(Yang et al., 2000)、血中コレステロール上昇抑制作用(Vinson and Dabbagh, 1998)、血小板凝集抑制作用(Neiva et al., 1999)、血糖上昇抑制作用(Shimizu et al., 2000)、抗菌作用(Mabe et al., 1999)、抗インフルエンザ作用(Nakayama et al., 1993)などがある。また、Wuらは、緑茶をはじめとする各種茶葉抽出物がニトロソアミンの変異原性に対して抑制効果を示すこと(Wu et al., 1993)、さらにTanakaらはニトロソアミンの生成に対して緑茶が阻害活性を持つことを報告している(Tanaka et al., 1998)。しかし、我々が実際に飲用している濃度における阻害効果についてはほとんど検討されていない。

また、これまでにヒトのがん発生に対する緑茶の予防効果に関する疫学的な研究が行われており、緑茶の摂取ががん予防をもたらすとの報告をしている(Oguni et al., 1989, Kono et al., 1988, Setiawan et al., 2001)。しかし、近年、茶のがん予防効果が認められないとの報告もみられている(Tsubono et al., 2001, Hoshiyama et al., 2002, Koizumi et al., 2003)。しかしながら、それらの研究データには実験材料である緑茶の濃度などの不明確な点がみられ、また、調査方法が粗雑である可能性が強いとの指摘もある。したがって、緑茶の摂取とがん予防との関係を明らかにするには飲用する緑茶中のカテキン濃度と生

物活性の関連を把握することは重要である。

そこで、本研究では、①緑茶を煎じる条件で調製し、抗酸化性、ラジカル捕捉活性を調べ、また、浸出回数によりカテキン濃度がどの程度変化するか、②各浸出液のニトロソアミン生成抑制能はどのように変動するか、③13都道府県14ヶ所の一般家庭で日常的に飲用されている緑茶浸出液中のカテキン類を定量し、胃がん、肺がん、大腸がんの標準化死亡比(Standardized Mortality Ratio : SMR)との間の相関があるのかを調べることを目的として以下の実験を行った。

実験材料および方法

平成15年度静岡茶業試験場から寄与された緑茶を通常飲んでいる濃度で煎じ(茶葉5gに対して熱水(37℃, 70℃, 80℃)200 mLを加えた)、1煎目から8煎目の浸出液を得た。各浸出液の抗酸化性は2,2-azobis(2-amino-propane)dihydrochloride(AAPH)法により、ラジカル捕捉活性は1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)法により検定した。各茶葉浸出液中のカテキン類(Epicatechin(EC), Epigallocatechin(EGC), Epicatechin galate(ECG), Epigallocatechin galate(EGCG)濃度は以下の操作により調べた。茶浸出液1 mLに酢酸エチル1 mLを加え攪拌し、遠心分離(1500 rpm, 5分間)した後、酢酸エチル層を分取した。この操作を2回繰り返した後、酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮し、残留物にHPLC測定用の移動相(0.1 Mリン酸緩衝液(pH 2.5):アセトニトリル=83:17)10 mLを加え、溶解したものを試料として、HPLC(ECD検出器)により測定した。次に各浸出液のニトロソアミン生成に対する作用を、二級アミンとしてモルホリンを用いて検討した。各浸出液に亜硝酸ナトリウムを7.25 mMになるように加え、塩酸を用いてpH 3.0に調整した。次にモルホリンを2 mMになるように加え、37℃で30分間反応させた。反応液を試料として、生成したニトロソモルホリン量をHPLC(UV 240 nm)を用いて定量した。また、使用する茶葉の量を変化させ(0.5~5 g)、同様の反応系を用いて生成するニトロソモルホリン量および浸出液中のカテキン濃度をHPLCにより測定した。また、カテキンが実際にニトロソ化反応を促進・抑制する作用があるのかどうかを確認するために、市販の(+)-catechinを用いて、亜硝酸との反応時におけるモル比の影響についても検討した。

さらに、一般家庭で通常飲用されている浸出液中のカテキン濃度と胃がんによる死亡率との関係を調べるため、以下の実験を行った。全国の緑茶生産地域および非生産地域を含む13都道府県14ヶ所を調査地点とし、各調査地点の一般家庭で日常的に飲用されている緑茶浸出液を冷蔵しつつ、宅急便で研究室に搬入した。茶浸出液中のカテキン濃度は上述のHPLC法により測定した。また、タンニン濃度は食品分析法に基づき、酒石酸鉄比色

Fig. 1 Change of antioxidative activity of green tea as functions of brewing temperature and frequencies

Fig. 2 Quantification of green tea catechins by HPLC

法により測定した。試料中のカテキン量およびタンニン量と各調査地点におけるSMR値との相関関係を検討した。各調査地点のSMR値は在団法人 健康・体力づくり事業団ホームページ内全国市町村別健康マップ(2003)を参照して用いた。

結果および考察

我々は日常的に緑茶を飲用しており、緑茶の持つ各種生物活性に関して多くの研究がなされている。それらのうち、抗酸化性、ラジカル捕捉活性に関して既に多くの報告がある(Yang et al., 2000)。今回、著者らは緑茶を実際に飲用している条件で浸出し、日常的に飲用している浸出液がどの程度の活性を保持しているのかを検定するため、緑茶の乾燥葉 5 g、熱水温度 37℃、70℃、80℃で

煎じた場合の1煎目から8煎目の浸出液の抗酸化性、ラジカル捕捉活性を調べた。37℃、70℃、80℃いずれの浸出温度においても、浸出回数が増えるにしたがい、両活性は減少した(Fig. 1)。特に8煎目では1煎目に比べ、1/5～1/10にまで減少していた。また、浸出液中のカテキン濃度を測定したところ、70℃、80℃においては1、2煎目までは500 ppm以上の高濃度のカテキンが含まれていた(Fig. 2)。しかし、3煎目においては1、2煎目の50%程度のカテキン量となり、4煎目以降ではカテキン含量が100 ppm以下であった。37℃においては、2煎目が最も高く、カテキン濃度は約200 ppmであった。これらの結果より、我々が実際に緑茶を飲用する場合、ラジカル捕捉活性および抗酸化性が高く、またカテキン含量が多い、2煎目で茶葉を交換した方が良いと考えられた。

Fig. 3 Effect of brewing frequencies of green tea on the formation of nitrosomorpholine and the concentration of catechins in each infusion

Fig. 4 Effect of the weight of green tea leaves on the formation of nitrosomorpholine and the concentration of catechins in infusions

また、緑茶葉中の抗酸化物質として知られるアスコルビン酸も同様に煎じ回数が増えるにしたがい、減少していることがわかった。

次に、胃がんの原因として考えられるニトロソアミン生成に対する緑茶浸出液の作用を煎じ回数により比較検討した。緑茶葉 5 g、80℃の熱水 200 mLで煎じた場合の

1煎目から8煎目までの浸出液についてニトロソモルホリン生成に対する阻害作用を調べたところ、1、2煎目の浸出液はコントロールに比べて有意にニトロソモルホリンの生成を抑制した (Fig. 3)。

しかし、3煎目以降の浸出液では逆にニトロソモルホリンの生成を促進した。各浸出液中のカテキン量を比較

Fig. 5 Influence of molar ratio of catechin to nitrite on the formation of nitrosomorpholine (Morpholine: 2.0 mM, NaNO₂: 7.25 mM, (+)-catechin: 0.18 ~ 7.25 mM)

したところ、1, 2煎目の浸出液中には600 ppm以上のカテキン類が含まれていた。また、ニトロソ化反応の促進効果が確認できた3煎目においては、浸出液のカテキン濃度は370 ppmであり、4煎目以降ではさらに減少していた。

また、緑茶葉の量を変えて(0~5 g)煎じた浸出液のニトロソモルホリン生成に対する阻害作用を同様に検討した。5 gの茶葉量ではニトロソモルホリンの生成を抑制したが、2.5 g以下の茶葉では促進した(Fig. 4)。5 gの茶葉を用いて煎じた浸出液中には685 ppmのカテキン類が含まれていた。促進効果を示した2.5 gの茶葉を用いた浸出液中には315 ppmのカテキン類が含まれ、1.0 g以下の茶葉を用いた浸出液ではさらに減少していた。以上の結果より、緑茶のニトロソアミン生成に対する抑制・促進作用は浸出液中のカテキン濃度に強く依存していることが示唆された。

そこで、市販の(+)-catechinをモルホリンと亜硝酸塩との反応系に添加し、ニトロソモルホリン生成における亜硝酸塩とのモル比の影響を検討した。その結果、(+)-catechinと亜硝酸とのモル比が1:40~1:10の間において、ニトロソモルホリンの生成を促進しており、特にモル比が1:20で、生成量が1.84倍に増大した。しかし、

Fig. 6 Comparison of catechin and tannin concentrations in tea infusion taken in tea producing areas and non producing areas in Japan. □: Producing area, ■: Non producing area

Fig. 7 Relationship between catechin or tannin concentrations and stomach cancer SMR (1995-1999)

モル比が3:20~2:5とカテキンの割合が増えるにしたがい、抑制効果を確認した(Fig. 5)。Tanakaらは緑茶をはじめとする茶抽出液やカテキン類の *in vitro* でのニトロソアミン生成に対する作用を検討し、茶抽出液、カテキン類はいずれもニトロソ化反応を抑制したことを報告している(Tanaka et al., 1998)。しかし、茶抽出液およびカテキンの濃度は、我々が今回行った試験よりも亜硝酸塩濃度に対して高濃度であるため、茶抽出液およびカテキンの抑制作用だけを確認している。Pignatelliらはresorcinol, catechin, chlorogenic acidなどのニトロソ化反応における作用を報告している(Pignatelli et al., 1982)。彼らはこれらポリフェノール類濃度を変えて試験を行い、低濃度においてはニトロソ化反応を促進し、高濃度の場合は抑制することを確認している。Nakamuraらも緑茶抽出液の濃度を変化させて、ニトロソ化反応への影響を確認しており、同様に緑茶抽出液のニトロソ化反応の促進・抑制効果を報告している(Nakamura et al., 1981)。したがって、今回、我々が行った実験においても同様の作用が確認できたことから、ヒトの胃内におけるニトロソアミン生成には実際に飲用している緑茶浸出液のカテキン濃度が大きく影響していることが明らかになった。しかし、そのメカニズムにつ

いては未だ解明できていないため、さらなる研究が必要である。

次に全国14地域の緑茶生産地域と非生産地域の一般家庭で飲用されている緑茶浸出液中のカテキン含量を測定し、各地域における胃がん、肺がん、大腸がんSMRとの関係を調べた。各地域の一般家庭で飲用されている緑茶中のカテキン含量を測定したところ、180~750 ppmの範囲内であった(Fig. 6)。緑茶生産地と非生産地のカテキン濃度を比較したところ、緑茶生産地の一般家庭では、高濃度のカテキンを含む緑茶浸出液を飲んでいる傾向がみられた。また、タンニン濃度においても同様の傾向がみられた(Fig. 6)。

さらに、各地域の胃がん、肺がん、大腸がんSMRと緑茶浸出液中のカテキン濃度およびタンニン濃度との関係を有意水準0.05にて検定した。胃がん、肺がんにおいては、男性のSMRはカテキン濃度およびタンニン濃度の間に有意な相関を示した(Fig. 7, 8)。また、女性のSMRには有意な相関はみられなかったが、カテキン濃度が高いほどSMR値が減少する傾向がみられた(Fig. 7, 8)。大腸がんにおいては、男性のSMRはタンニン濃度のみ、有意な相関がみられた(Fig. 9)。カテキン濃度においては男性のSMR値は濃度の上昇に伴い、減少す

Fig. 8 Relationship between catechin or tannin concentrations and lung cancer SMR (1995–1999)

る傾向がみられ、女性のSMRにおいてもカテキンおよびタンニン濃度で同様の結果が得られた。以上の結果より、全国の一般家庭からサンプリングした緑茶浸出液中のカテキン濃度およびタンニン濃度が高い地域では、胃がん、肺がん、大腸がんのSMR値が減少していることが示唆された。

これまでに緑茶のがん予防に関する疫学的研究がいくつか行われている。Oguniらは静岡県におけるがんの疫学調査で緑茶の生産が多い地域では①胃がんの標準化死亡比(SMR)が低いこと、②緑茶生産地の住民は緑茶を多飲していること、③茶葉を頻繁に取り替え、濃いめの緑茶を摂取していることなどを報告している(Oguni et al., 1989)。また、Konoらによる北九州地方での調査では、1日10杯以上緑茶を摂取することにより胃がんの発生が低下すると報告している(Kono et al., 1988)。さらに、Setiawanらは中国における緑茶摂取量と胃がんの罹患率との関係を調べた結果、緑茶の摂取量が多い人ほど胃がんになる確率が低いと報告している(Setiawan et al., 2001)。これらの研究は症例対象研究であり、既になんになった患者に緑茶をどの程度飲んでいたのであるか思い出して、回答してもらっているため、正確さに問題があるとされている。

一方、コホート研究による緑茶のがん予防に関する研究が最近報告されている。コホート研究は健康時の食生活について質問し、追跡調査により病気の発生を確認する調査で信頼性が高いと考えられている。Tsubonoらは、宮城県民2万6311人を9年間追跡したところ、緑茶を1日5杯以上飲んでも、胃がんのリスクは低くならないと報告している(Tsubono et al., 2001)。また、Hoshiyamaらは全国約30地域で行われている文部科学省コホートの解析を行い、7万2851人を約8年間追跡したところ、1日10杯以上の緑茶を飲むグループでも、胃がんの死亡率は低くないと報告している(Hoshiyama et al., 2002)。また、Koizumiらは、宮城県の地域住民4万人を7年間追跡したところ、1日5杯以上飲んでも、胃がんの罹患率は下がらなかったと報告している(Koizumi et al., 2002)。このように近年、前向きコホート研究においては、緑茶には明確ながん予防効果がみられないとする結果がいくつか報告されている。

しかし最近、Sasazukiらは前向きコホート研究において、緑茶をよく飲む女性では胃がんにかかるリスクが低くなることを報告している(Sasazuki et al., 2004)。全国7地域に住む7万2943人(男性3万4832人、女性3万8111人)のうち、追跡期間中に892人(男性665人、女性

Fig. 9 Relationship between catechin or tannin concentrations and colon cancer SMR (1995-1999)

227人)が胃がんになり、緑茶を飲む量が1日1杯未満の人を基準として、1日1～2杯、3～4杯、5杯以上飲むと答えた人の胃がんのリスクをそれぞれ計算したところ、女性では緑茶を1日5杯以上飲む人で胃がんになるリスクが33%低下した。また、熱水による胃上部のがん発生を考慮して、胃がんの発生部位を分けて評価し、緑茶の胃がん予防効果は特に胃の下部に発生する場合に有効であったと報告している。

さらに現在、多くの科学者が緑茶のがん予防効果について動物実験から疫学的な調査に至るまで研究している。しかし、緑茶のがん予防に対する疫学的な研究は、飲用した茶浸出液の容量のみの評価であり、緑茶の濃さ、つまり実際にがん発生に対して抑制効果を持つとされるカテキン濃度を考慮した評価はなされていない。したがって今回、我々が得た結果より、今後、前向きコホート研究をはじめとする疫学的な調査を行う際には、実際に飲用している緑茶浸出液中のカテキン濃度を測定して、がん発生との関連を検討することが必要であると思われる。

結 語

緑茶は日本人にとって、古くから慣れ親しんできた嗜

好飲料であり、緑茶自体の持つ風味、香りなどを楽しみつつ、さらに茶道といった独特な文化が築かれてきた。我々が日常的に飲用している緑茶に、がんを含む生活習慣病を予防する効果があることは先人達の驚くべき知恵であったといえ、緑茶を飲用することが、がん予防に結びつくのであれば、医食同源から考えても極めて大変有効な手段である。このような緑茶の有用な作用を期待する緑茶の煎じ方法として、①飲用時の茶葉量を多く使用すること、②煎じ回数を2回目までとすること、③70℃以上の熱水で煎じることなどを推奨することができよう。これらの方法に準じて緑茶を煎じることにより、十分なカテキンを摂取することができ、さらにがんに対する予防効果が期待できるものと考えている。

参考文献

- Agarwal, R., S.K. Katiyar, S.I. Zaidi and H. Mukhtar (1992) Inhibition of skin tumor promoter-caused induction of epidermal ornithine decarboxylase in SENCAR mice by polyphenolic fraction isolated from green tea and its individual epicatechin derivatives, *Cancer Res.*, 52, 3582-3588.
- Hoshiyama, Y., T. Kawaguchi, Y. Miura, T. Mizoue, N. Tokui, H. Yatsuya, K. Sakata, T. Kondo, S. Kikuchi, H. Toyoshima, N.

- Hayakawa, A. Tamakoshi, Y. Ohno, T. Yoshimura; Japan Collaborative Cohort Study Group (2002) A prospective study of stomach cancer death in relation to green tea consumption in Japan, *Br. J. Cancer*, 87(3), 309-313.
- Kada, T., K. Kaneko, S. Matsuzaki, T. Matsuzaki and Y. Hara (1985) Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens. A case of the green tea factor, *Mutat. Res.*, 150, 127-132.
- Koizumi, Y., Y. Tsubono, N. Nakaya, Y. Nishino, D. Shibuya, H. Matsuoka and I. Tsuji (2003) No association between green tea and the risk of gastric cancer: pooled analysis of two prospective studies in Japan, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 12(5), 472-473.
- Kono, S., M. Ikeda, S. Tokudome and M. Kuratsune (1988) A case-control study of gastric cancer and diet in northern Kyushu, Japan, *Jpn. J. Cancer Res.* 79(10), 1067-1074.
- Mabe, K., M. Yamada, I. Oguni and T. Takahashi (1999) In vitro and in vivo activities of tea catechins against *Helicobacter pylori*, *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 43, 1788-1791.
- Nakamura, M., T. Kawabata (1981) Effect of Japanese green tea on nitrosamine formation in vitro, *J. Food Sci.*, 46, 306-307.
- Nakayama, M., K. Suzuki, M. Toda, S. Okubo, Y. Hara and T. Shimamura (1993) Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols, *Antiviral Res.*, 21, 289-299.
- Neiva, T.J., L. Morais, M. Polack, C.M. Simoes and E.A. D'Amico (1999) Effects of catechins on human blood platelet aggregation and lipid peroxidation, *Phytother Res.*, 13, 597-600.
- Oguni, I., K. Nasu, Y. Ota, S. Yamamoto and T. Nomura (1989) Epidemiological and experimental studies on the antitumor activity by green tea extracts, *Jpn. J. Nutr.*, 47, 93-102.
- Pignatelli, B., J.C. Berezat, G. Descotes, H. Bartsch (1982) Catalysis of nitrosation in vitro and in vivo in rats by catechin and resorcinol and inhibition by chlorogenic acid., *Carcinogenesis*, 3(9), 1045-1049.
- Sasazuki, S., M. Inoue, T. Hanaoka, S. Yamamoto, T. Sobue and S. Tsugane (2004) Green tea consumption and subsequent risk of gastric cancer by subsite: The JPHC Study, *Cancer Causes Control*, 15, 483-491.
- Setiawan, V.W., Z.F. Zhang, G.P. Yu, Q.Y. Lu, Y.L. Li, M.L. Lu, M.R. Wang, C.H. Guo, S.Z. Yu, R.C. Kurtz and C.C. Hsieh (2001) Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer, *Int. J. Cancer*, 92(4), 600-604.
- Shimizu, M., Y. Kobayashi, M. Suzuki, H. Satsu and Y. Miyamoto (2000) Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins, *Biofactors*, 13, 61-65.
- Tanaka, K., T. Hayatsu, T. Negishi and H. Hayatsu (1998) Inhibition of *N*-nitrosation of secondary amines in vitro by tea extracts and catechins, *Mutat. Res.*, 412(1), 91-98.
- Tsubono, Y., Y. Nishino, S. Komatsu, C.C. Hsieh, S. Kanemura, I. Tsuji, H. Nakatsuka, A. Fukao, H. Satoh and S. Hisamichi (2001) Green tea and the risk of gastric cancer in Japan, *N. Engl. J. Med.*, 344(9), 632-636.
- Vinson, J.A. and Y.A. Dabbagh (1998) Effect of green and black tea supplementation on lipids, lipid oxidation and fibrinogen in the hamster mechanisms for the epidemiological benefits of tea drinking, *FEBS Lett.*, 433, 44-46.
- Wu, Y.N., H.Z. Wang, J.S. Li and C. Han (1993) The inhibitory effect of Chinese tea and its polyphenols on in vitro and in vivo *N*-nitrosation, *Biomed. Environ. Sci.*, 6(3), 237-258.
- Yang, C.S., J.Y. Chung, G. Yang, S.K. Chhabra and M.J. Lee (2000) Tea and tea polyphenols in cancer prevention, *J. Nutr.*, 130, 472S-478S.