

블랙 초크베리가 HepG2세포에서 콜레스테롤 대사에 미치는 효과

이상길¹ · 김보경^{2,*}

¹부경대학교 식품영양학과, ²부산대학교 식품영양학과

Effects of black chokeberry on cholesterol metabolism in HepG2 cells

Sang Gil Lee¹ and Bohkyung Kim^{2,*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University

²Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

Abstract Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*), a rich source of polyphenols, exerts hypocholesterolemic effects. However, little is known about its effects on the regulation of the hepatic cholesterol metabolism and the underlying mechanisms. In the present study, the effects of polyphenol-rich black chokeberry extract (CBE) on hepatic cholesterol metabolism were investigated by measuring the expression of genes involved in the absorption, de novo synthesis, and efflux of cholesterol in HepG2 cells. There was a significant reduction in the expression levels of genes involved in cholesterol metabolism, the low-density lipoprotein receptor, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, and sterol regulatory element-binding protein 2, in CBE-treated HepG2 cells. Meanwhile, CBE increased the expression levels of genes involved in cholesterol and bile acid efflux. The expression levels of mitochondrial fatty acid oxidation genes increased, whereas those of lipogenic genes decreased following CBE treatment. These data suggest that the consumption of black chokeberry may be beneficial for the prevention of hypercholesterolemia.

Keywords: black chokeberry, *Aronia melanocarpa*, cholesterol metabolism, hypocholesterolemia, HepG2 cells

서 론

심혈관 질환(cardiovascular disease, CVD)은 전 세계 사망 원인 1위로, 우리나라에서도 압 다음으로 사망 원인 2위로 알려져 있다(Virani 등, 2021). 심혈관 질환의 위험 인자로 비만 및 비만 유래 이상 지질혈증, 당뇨병, 고혈압, 만성 저강도 염증(chronic low-grade inflammation), 산화적 스트레스 등이 보고되고 있다. 특히 고콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증 및 고지혈증을 포함한 이상 지질혈증은 심혈관질환의 주요 위험 인자로 간주한다(Nelson, 2013). 콜레스테롤 대사 및 항상성 조절 이상은 고콜레스테롤혈증을 야기하며, 이는 동맥경화 및 심혈관 질환 위험을 증가시킨다. 간과 소장 상의 상호 작용에 의해 유지되는 세포 내 콜레스테롤 대사 항상성은 1) 콜레스테롤 신생합성 2) 지단백질에 의한 운반 3) 수송체에 의한 흡수 4) 담즙산 전환 및 배출 기전에 의하여 조절된다(Millar와 Cuchel, 2018). 콜레스테롤은 인체 내 분해 효소가 존재하지 않아서 완전히 분해되지 않으며, 인체 내에서 제거되기 위해서 간에서 담즙산 형태로 배설되어 제거된다. 특히 고밀도 지단백질(high-density lipoprotein, HDL)을 중심으로 조절되는 콜레스테롤 역수송(reverse cholesterol transport, RCT)은 체

내 콜레스테롤을 배출하는 유일한 경로로 알려져 있다. 즉, 콜레스테롤의 체외 배출은 말초 조직의 콜레스테롤을 간으로 전달한 후, 대변 내 중성 스테롤 또는 담즙산으로 배설되는 것이다(Groen 등, 2014). 최근 간이 주요한 역할을 하는 담즙성 경로뿐만 아니라 비담즙성 경로로 인하여 콜레스테롤이 배출되는 것이 밝혀졌으나, 아직 정확한 기전이 알려져 있지 않다(Temel과 Brown, 2015). 콜레스테롤 배출에 있어 비담즙성 경로의 중요성이 대두되고 있지만, 정상적인 대사 상황에서는 간을 매개로 하는 담즙성 경로가 전체 콜레스테롤 배출의 2/3 이상을 차지하는 것으로 알려져 있다(Wang 등, 2017). 이에 혈중 콜레스테롤 저해 효과에 대한 연구는 대부분 간의 역할에 집중되고 있다.

일반적으로 혈중 콜레스테롤 및 중성지방을 저하하는 약물로 스타틴, PCSK9 억제제, 선택적 콜레스테롤 흡수 억제제, 피브레이트 및 니아신 등이 처방되고 있으나, 설사, 변비, 메스꺼움, 구토, 위경련, 근육통, 홍조, 피부 발진, 간 기능 이상 등 다양한 부작용 또한 보고되고 있다(Abel과 Feher, 2009; Kashani 등, 2008; Simonson, 2018). 이에 천연물 또는 식품 유래 물질 중 콜레스테롤 대사 조절 효과가 있는 물질에 대한 관심이 증가하고 있고, 특히 폴리페놀 함량이 높은 식품은 심혈관 질환에 대한 보호 효과가 세포, 동물 및 인체 실험에서 보고되고 있다(Quinones 등, 2013; Tangney와 Rasmussen, 2013). 폴리페놀의 심혈관 질환 보호 효과는 산화적 스트레스 및 염증에 대한 보호 효과 및 내피 세포와 이상 지질혈증 조절 효과에 의한 것으로 보고되고 있다(Quinones 등, 2012; Zafra-Stone 등, 2007).

블랙 초크베리(black chokeberry)는 식용 또는 약용으로 북아메리카 및 동유럽 지역에서 널리 이용되어 왔고, 우리나라에는 학명인 아로니아(*Aronia melanocarpa*)로 더 많이 알려져 있다. 전

*Corresponding author: Bohkyung Kim, Ph. D, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 46241, Korea

Tel: +82-51-510-2844

Fax: +82-51-583-3648

Email: bohkyung.kim@pusan.ac.kr

Received July 20, 2022; revised August 5, 2022;

accepted August 8, 2022

세계적으로 블랙 초크베리의 생산량의 90% 이상이 폴란드에서 재배되고 있고, 우리나라에서도 수퍼 푸드 및 기능성 소재로 잘 알려져 소득 증대 농작물로 전국적으로 재배하고 있다. 블랙 초크베리는 다량의 탄닌 함유에서 유래하는 짙은 맛으로 인하여 과일 자체보다는 잼, 주스, 시럽, 파우더 형태 등의 가공 형태로 이용되고 있다. 다른 베리류와 유사하게 블랙 초크베리는 폴리페놀, 안토시아닌 등의 함량이 높으며, USDA 보고에 의하면 블랙 초크베리의 안토시아닌 함량은 다른 베리류와 비교시 최대 12배로 베리 종류 중 가장 많이 함유하는 것으로 보고하였다. 블랙 초크베리의 심혈관 질환 예방 기능성은 세포, 동물 실험 및 임상 실험에서 항산화, 항염증 및 지질 저하 효과에 의한 것으로 보고되고 있고, 이러한 기능성은 폴리페놀 함량에 기인한 것으로 보고되고 있다(Jurikova 등, 2017). 블랙 초크베리의 지질 저하 효과에 대한 연구가 보고되었으나, 간 내 지질 및 콜레스테롤 대사 관련 기전 연구는 부족하다. 이전 연구에서 폴리페놀 함유 블랙 초크베리의 산화적 스트레스 및 염증 보호 효과와 콜레스테롤 대사와 관련 비담즙성 경로인 TICE와 관련된 유전자 발현을 조절하여 보호 효과를 나타내는 것을 보고하였다(Kim 등, 2013). 그러나 블랙 초크베리의 고콜레스테롤혈증에 대한 보호 효과 및 관련 기전 중 실질적으로 콜레스테롤 배출과 관련하여 콜레스테롤 대사 항상성에 관여하는 생합성, 지단백질 운반, 콜레스테롤 및 담즙산 관련 수송체 등 관련 기전을 살펴본 보고는 부족하다. 이에 본 연구에서는 HepG2 세포에서 폴리페놀을 함유하는 블랙 초크베리의 콜레스테롤 대사에 대한 효과를 콜레스테롤 생합성, 이동, 배출과 관련된 유전자 발현을 측정함에 따라 살펴보았다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

블랙 초크베리 추출물(black chokeberry extract, CBE)은 15% 안토시아닌 함유하도록 표준화된 추출물로 Artemis International (Fort Wayne, IN, USA)에서 제공 받아 실험에 사용하였다. 세포 배양과 관련된 시약은 Hyclone Laboratories Inc. (Logan, UT, USA)에서 구매하였다.

세포 배양 및 처리

인체 간세포인 HepG2 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구매하여, DMEM 배지에 100 U/mL의 penicillin, 100 µg/mL의 streptomycin, 1X vitamin 및 10% fetal bovine serum을 추가한 배지를 이용하여 배양하였다. HepG2 세포는 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 세포의 passage가 10 passage가 넘지 않도록 조절하며 배양하였다. 실험은 세포 성장률이 90%일 때 실험을 진행 하였고, HepG2 세포에 블랙 초크베리 추출물 50 µg/mL 또는 100 µg/mL을 24시간 처리하여 실험을 진행하였다.

Quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR)

간세포 내 유전자 발현 변화를 측정하기 위하여 qRT-PCR 분석을 실행하였다. CBE를 처리한 HepG2 세포 내 총 RNA는 Trizol Reagent (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 추출한 후 RNA 농도는 Cytation 1 (BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 측정하였다. cDNA는 역전사에 의하여 세포에서 추출된 RNA를 이용하여 MMLV reverse transcriptase (Promega, Madison, WI, USA)로 합성하였다. qRT-PCR 분석은 SYBR green 및 CFX 96 Touch Real-Time PCR Detection System (BioRad,

Hercules, CA, USA)을 사용하였다. 유전자 발현 분석은 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)에 정상화(normalization)시킨 상대적인 수치를 비교하여 분석 하였다.

Western blot analysis

블랙 초크베리에 의한 콜레스테롤 대사 관련 단백질 발현의 변화를 측정하기 위하여 CBE를 처리한 HepG2 세포 내 단백질은 lysis buffer를 이용하여 추출하였다. 추출한 세포 단백질은 Pierce BCA protein assay kit (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 정량 하였다. 단백질은 4-16%의 SDS-polyacrylamide gel에서 전기 영동을 통하여 분리한 후 PVDF membrane으로 transfer하였다. 이후 membrane은 1시간 동안 5% skim milk로 blocking한 후 콜레스테롤 대사 관련 단백질 1차 항체를 4°C에서 overnight하여 반응 시켰다. 그 후 해당 하는 2차 항체와 상온에서 1시간 반응 시킨 후 enhanced chemiluminescence (ECL) solution을 이용하여 Chemidoc (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 단백질 발현을 확인하였다. 관련 항체는 Abcam (Cambridge, MA, USA)에서 구매하였다.

통계처리

GraphPad Prism 7.01 software를 이용하여 통계 처리 및 결과 분석을 하였고, 결과는 각 mean±SEM로 나타내었다. 실험군간 비교는 일원분산분석(one-way ANOVA)로 분석한 후 Newman-Kuel post hoc test로 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

블랙 초크베리의 간세포 내 콜레스테롤 흡수 및 합성에 미치는 영향

CBE의 간 내 콜레스테롤 대사 조절 효과를 살펴보기 위해 HepG2 세포에서 콜레스테롤 생합성과 지단백질 흡수에 관련된 유전자의 mRNA 발현을 측정하였다. HDL 관련 콜레스테롤을 선택적으로 흡수하는 지단백질 수용체인 scavenger receptor class type I (SR-B1)은 혈중에서 콜레스테롤 제거를 통하여 콜레스테롤 역수송에 중요한 역할을 한다(Shen 등, 2018). 간 내 콜레스테롤 유출하는 운반체 ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)은 신생 HDL 합성에 중요한 역할을 한다(Chung 등, 2010). CBE를 처리한 HepG2 세포는 대조군과 비교하여 SR-B1 발현이 농도의존적 및 유의적으로 증가하였다. ABCA1 발현은 100 µg/mL 농도에서 유의적으로 증가하였다(Fig. 1). 이러한 결과는 폴리페놀 함유 천연 유래 물질이 간에서 HDL 콜레스테롤 대사에 주요한 역할을 하는 SR-B1 및 ABCA1의 발현을 증가하는 것과 일치하는 것으로 나타났다. 특히 HepG2 세포 및 마우스 간에서 퀘세틴(queretin)은 SR-B1 발현을 증가시켰고, 와인 농축액은 ABCA1 발현을 증가 시킨 것으로 나타났다(Lee 등, 2013; Ren 등, 2018). 간 내 low-density lipoprotein (LDL) receptor (LDLR)과 LDLR-related protein 1 (LRP1)은 혈액 내 콜레스테롤이 풍부한 apoE를 함유하는 지단백질 제거에 중요한 역할을 한다. HMG-CoA reductase (HMGR)는 HMG-CoA를 mevalonate로 변환시키는 효소로 간 세포 내 콜레스테롤 합성 속도를 조절하는 효소이다(Goldstein과 Brown, 1990). 현재 이상 지질혈증 및 고지혈증에 광범위하게 사용되는 스타틴은 HMGR을 억제하여 혈중 지질을 낮춘다(Simonson, 2018). 본 연구에서 CBE를 처리한 HepG2 세포에서 콜레스테롤 흡수 및 합성에 관여하는 유전자인 LDLR 및 HMGR의 발현이 농도의존적 및 유의적으로 감소하였다. 그러나

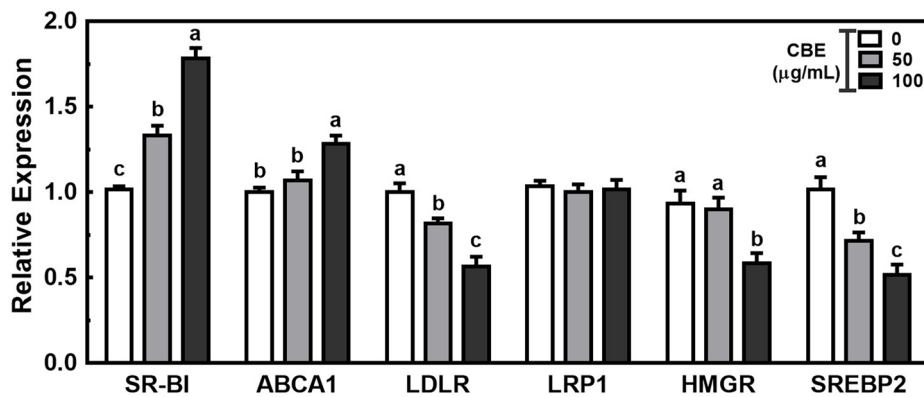


Fig. 1. Effects of CBE on the expressions of genes involved in cholesterol absorption and biosynthesis in HepG2 cells. Data are expressed as relative expressions to control. Bars with different letters are significantly different ($p < .05$). Values are means \pm SEM; $n=6$. CBE, polyphenol-rich chokeberry extract; SR-B1, scavenger receptor class type I; ABCA1, ATP-binding cassette transporter A1; LDLR, low-density lipoprotein receptor; LRP1, LDLR-related protein 1; HMGR, HMG-CoA reductase; SREBP2, sterol regulatory element-binding protein 2

LDLR family 중 LRP1의 발현은 CBE에 의해 변화를 나타내지 않았다. CBE가 콜레스테롤 흡수 및 생합성 관련 유전자 발현을 조절함에 따라, 이러한 mRNA 발현 조절이 전사 조절에 의한 것인지 살펴보기 위하여 콜레스테롤 대사 전사 인자를 측정하였다. 콜레스테롤 대사의 주요 조절 전사 인자인 sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2)는 세포 내 콜레스테롤 필요에 의하여 콜레스테롤 생합성 및 흡수를 하는 HMGR 및 LDLR의 발현을 조절하여 콜레스테롤 대사를 조절한다(Madison, 2016). SREBP2는 SREBP cleavage activating protein (SCAP)과 insulin-induced gene (INSIG)에 의하여 조절된다. 활성화 되지 않은 SREBP2 전구체는 SCAP과 INSIG와 결합하여 소포체에 존재한다. 세포 내 콜레스테롤이 결핍되면, 구조 변화를 발생한 SCAP은 INSIG 및 SREBP2 결합에서 분리된다. 분리된 INSIG 및 SREBP2 복합체는 골지체로 이동한 후 S1P 및 S2P 프로테아제에 의해서 절단되고, 활성화된 SREBP2는 핵으로 이동하여 콜레스테롤 합성 및 흡수에 관련된 유전자 발현을 전사한다(Brown과 Goldstein, 1998; Sato, 2010). CBE 처리는 SREBP2 발현을 유의적 및 농도의존적으로 감소시킨 것으로 나타나, CBE의 콜레스테롤 흡수 및 생합성 관련 유전자 조절 효과는 SREBP2에 의한 전사 조절에 의한 것으로 나타났다. 폴리페놀이 풍부한 천연 유래 물질은 본 연구 결과와 유사하게 콜레스테롤 흡수 및 생합성에 관련된 유전자 발현을 조절하는 것으로 보고되었다. 폴리페놀 일종인 루테올린(luteolin)은 HepG2 세포에서 HMGR과 SREBP2 발현을 감소시켰다(Wong 등, 2015). 안토시아닌 함유 라스베리 또한 HMGR 및 LDLR 조절을 통하여 이상 지질혈증을 감소시킨 것으로 보고되었다(Tu 등, 2019). 단백질 발현의 경우 mRNA 발현 결과와 유사하게, CBE를 처리한 HepG2 세포에서 SR-B1 및 ABCA1 단백질은 현저하게 증가한 반면, HMGR 및 LDLR, SREBP2의 단백질 발현은 감소하였다(Fig. 2). 폴리페놀 함량이 높은 블랙 초크베리의 콜레스테롤 저하 효과는 간에서 콜레스테롤 흡수 및 생합성에 관여하는 유전자 발현을 조절함에 의한 것으로 사료된다.

블랙 초크베리의 간세포 내 콜레스테롤 유출

다음으로 블랙 초크베리가 HepG2 세포에서 실질적으로 콜레스테롤 유출에 담당하는 유전자에 미치는 영향을 측정하였다. ABCG5/G8은 담즙으로 콜레스테롤 분비에 필수적인 역할을 하

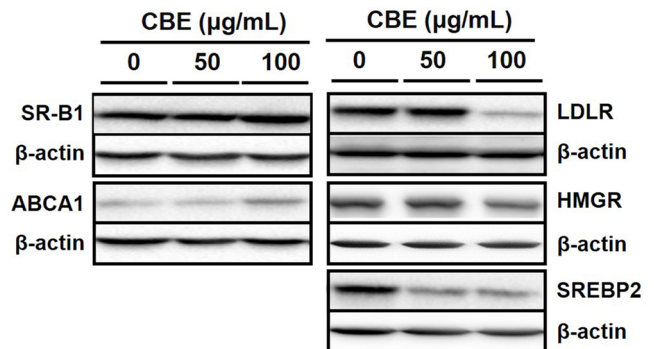


Fig. 2. Effects of CBE on the protein levels involved in cholesterol absorption and biosynthesis in HepG2 cells. The representative images of the western blot is shown. β -actin was used as a loading control. CBE, polyphenol-rich chokeberry extract; SR-B1, scavenger receptor class type I; ABCA1, ATP-binding cassette transporter A1; LDLR, low-density lipoprotein receptor; LRP1, LDLR-related protein 1; HMGR, HMG-CoA reductase; SREBP2, sterol regulatory element-binding protein 2

고, 간 Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1)은 담즙에서 간으로 콜레스테롤을 재흡수한다(Dijkers와 Tietge, 2010; Jia 등, 2011). CBE를 처리한 HepG2 세포에서 ABCG5/G8의 발현은 유의적으로 증가한 반면, NPC1L1의 발현은 농도의존적 및 유의적으로 감소하였다(Fig. 3A). 이러한 결과는 폴리페놀 함량이 높은 커피 아라비카 펄프 추출물이 HepG2 세포에서 ABCG5/G8 조절을 통하여 콜레스테롤 유출 증가시킨 결과와 유사한 것으로 나타났다(Ontawong 등, 2021). Cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1)은 콜레스테롤을 담즙으로 전환하고, ABCB11은 담즙을 간에서 담관으로 배출하여 담즙산 분비 대사에 관여한다(Chiang, 2004). 담즙 분비에 관여하는 유전자의 경우 CBE를 100 μ g/mL 처리한 HepG2 세포에서 CYP7A1 및 ABCB11의 mRNA 발현이 유의적으로 증가하였다(Fig. 3A). 이는 폴리페놀이 담즙 합성 및 분비 조절을 통하여 콜레스테롤 대사에 관여한다는 결과와 일치한다(Chambers 등, 2019). 콜레스테롤 및 담즙 유출에 관여하는 단백질의 경우, CBE에 의하여 콜레스테롤 분비를 위한 운반체인 ABCG8의 단백질은 증가한 반면, 재흡수와 관련된 NPC1L1 단백질은 감소하

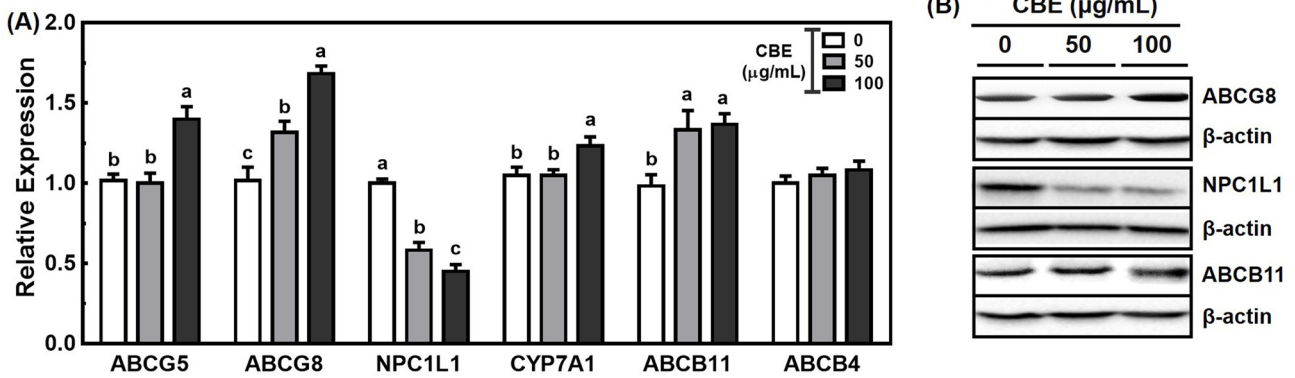


Fig. 3. Effects of CBE on the cholesterol efflux-related genes in HepG2 cells. (A) mRNA expressions in CBE-treated HepG2 cells. Data are expressed as relative expressions to control. Bars with different letters are significantly different ($p < .05$). Values are means \pm SEM; n=6. (B) Western blot images in CBE-treated HepG2 cells. CBE, polyphenol-rich chokeberry extract; ABCG5/G8, ATP-binding cassette transporter G5/G8; NPC1L1, Niemann-Pick C1-Like 1; CYP7A1, Cholesterol 7 α -hydroxylase; ABCB11, ATP-binding cassette transporter B11; ABCB4, ATP-binding cassette transporter B4

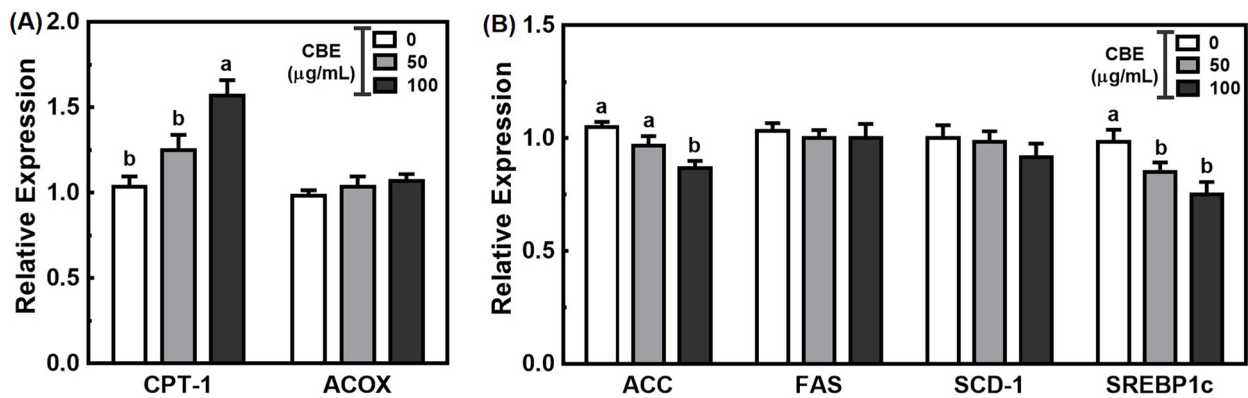


Fig. 4. Effects of CBE on the expressions of genes involved in fatty acid metabolism in HepG2 cells. (A) mRNA expression for fatty acid oxidation in CBE-treated HepG2 cells. (B) expression of lipogenic genes in CBE-treated HepG2 cells. Data are expressed as relative expressions to control. Bars with different letters are significantly different ($p < .05$). Values are means \pm SEM; n=6. CBE, polyphenol-rich chokeberry extract; CPT-1, Carnitine palmitoyltransferase 1; ACOX, acyl-coenzyme A oxidase; ACC, acetyl-coenzyme A carboxylases; FAS, fatty acid synthase; SCD-1, Stearoyl-CoA desaturase1; SREBP1c, sterol regulatory element-binding protein 1

였다. 담즙 분비와 관련된 ABCB11 단백질 발현도 CBE에 의하여 증가하였다(Fig. 3B). 이러한 결과는 CBE의 콜레스테롤 저하 효과가 간 내 콜레스테롤을 담즙 전환 및 유출에 관련된 유전자 조절을 통한 것으로 사료된다.

블랙 초크베리의 간세포 내 지방산 대사에 미치는 영향

이상 지질혈증과 지방산 대사 조절은 밀접하게 관련되어 있으므로, 지방산 대사에 미치는 CBE의 효과를 살펴보기 위하여 지방산 산화 및 합성에 관련된 유전자 발현을 측정하였다. Carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT-1) 및 acyl-coenzyme A oxidase (ACOX)는 각각 미토콘드리아와 피옥시좀 내 지방산 산화에 관여하는 효소이다. CBE를 100 µg/mL 처리한 HepG2 세포에서 CPT-1 발현은 유의적으로 증가하였으나, ACOX 발현 변화는 나타나지 않았다(Fig. 4A). 지방산 생합성에 관련된 주요 효소인 acetyl-coenzyme A carboxylases (ACC), fatty acid synthase (FAS), stearoyl-CoA desaturase1 (SCD-1)과 지방산 합성 전사 인자인 SREBP1c의 발현을 측정된 결과, CBE는 지방산 합성 속도를 조절해 주는 ACC와 전사 인자인 SREBP1c의 발현을 100 µg/mL 농도에서 유의적으로 감소시킨 것으로 나타났다(Fig. 4B). 이러한 결과는 다양한

천연물에서 추출된 폴리페놀이 지방산 합성을 저해시키고, 지방산 산화를 증가시켜 심혈관계 질환 예방 효과를 나타낸다는 결과들과 유사하다(Quinones 등, 2012; Quinones 등, 2013; Zafra-Stone 등, 2007).

요 약

본 연구에서는 폴리페놀 함유 블랙 초크베리가 콜레스테롤 대사에 미치는 영향을 HepG2 세포에서 콜레스테롤 대사 관련 유전자 발현을 측정함에 따라 조사하였다. 블랙 초크베리는 콜레스테롤 대사와 관련하여 콜레스테롤 흡수, 생합성, 유출과 관련된 유전자 발현을 조절하는 것으로 나타났다. 이는 블랙 초크베리의 혈중 콜레스테롤 저하 효과가 콜레스테롤 및 담즙 대사 관련 유전자 발현을 조절함에 의한 것으로 사료된다. 추후 블랙 초크베리 내 어떠한 생리활성물질이 콜레스테롤 대사 유전자 발현을 조절하여 이러한 효과를 나타내는 지에 대한 연구가 필요하며, 블랙 초크베리의 콜레스테롤 저하 효과를 동물 및 임상에서 기전 연구를 진행하여 천연 유래 기능성 소재로서의 블랙 초크베리의 중요성을 검증할 필요가 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

References

- Abel T, Feher J. Statin therapy and muscle disorders. *Orv Hetil.* 150: 261-263 (2009)
- Brown MS, Goldstein JL. Sterol regulatory element binding proteins (SREBPs): controllers of lipid synthesis and cellular uptake. *Nutr Rev.* 56: S1-3; discussion S54-75 (1998)
- Chambers KF, Day PE, Aboufarrag HT, Kroon PA. Polyphenol effects on cholesterol metabolism via bile acid biosynthesis, CYP7A1: a review. *Nutrients.* 11 (2019)
- Chiang JY. Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms. *J. Hepatol.* 40: 539-551 (2004)
- Chung S, Gebre AK, Seo J, Shelness GS, Parks JS. A novel role for ABCA1-generated large pre-beta migrating nascent HDL in the regulation of hepatic VLDL triglyceride secretion. *J. Lipid Res.* 51: 729-742 (2010)
- Dikkers A, Tietge UJF. Biliary cholesterol secretion: More than a simple ABC. *World J. Gastroenterol.* 16: 5936-5945 (2010)
- Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature.* 343: 425-430 (1990)
- Groen AK, Bloks VW, Verkade H, Kuipers F. Cross-talk between liver and intestine in control of cholesterol and energy homeostasis. *Mol. Aspects Med.* 37:77-88 (2014)
- Jia L, Betters JL, Yu L. Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annual Review of Physiology.* 73: 239-259 (2011)
- Jurikova T, Mlcek J, Skrovankova S, Sumczynski D, Sochor J, Hlavacova I, Snopek L, Orsavova J. Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. *Molecules.* 22 (2017)
- Kashani A, Sallam T, Bheemreddy S, Mann DL, Wang Y, Foody JM. Review of side-effect profile of combination ezetimibe and statin therapy in randomized clinical trials. *Am. J. Cardiol.* 101: 1606-1613 (2008)
- Kim B, Park Y, Wegner CJ, Bolling BW, Lee J. Polyphenol-rich black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract regulates the expression of genes critical for intestinal cholesterol flux in Caco-2 cells. *J Nutr Biochem.* 24: 1564-1570 (2013)
- Lee D-H, Choi S-S, Kim B-B, Kim S-Y, Kang B-S, Lee S-J, Park H-J. Effect of alcohol-free red wine concentrates on cholesterol homeostasis: An in vitro and in vivo study. *Process Biochemistry.* 48: 1964-1971 (2013)
- Madison BB. Srebp2: A master regulator of sterol and fatty acid synthesis. *J. Lipid Res.* 57: 333-335 (2016)
- Millar JS, Cuchel M. Cholesterol metabolism in humans: a review of methods and comparison of results. *Curr. Opin. Lipidol.* 29: 1-9 (2018)
- Nelson RH. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Primary Care.* 40: 195-211 (2013)
- Ontawong A, Pasachan T, Trisuwan K, Soodvilai S, Duangjai A, Pongchaidecha A, Amornlerdpison D, Srimaroeng C. Coffea arabica pulp aqueous extract attenuates oxidative stress and hepatic lipid accumulation in HepG2 cells. *J. Herb. Med.* 29 (2021)
- Quinones M, Miguel M, Aleixandre A. The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease. *Nutr. Hosp.* 27: 76-89 (2012)
- Quinones M, Miguel M, Aleixandre A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacol. Res.* 68: 125-131 (2013)
- Ren K, Jiang T, Zhao GJ. Quercetin induces the selective uptake of HDL-cholesterol via promoting SR-BI expression and the activation of the PPARgamma/LXRalpha pathway. *Food Funct.* 9: 624-635 (2018)
- Sato R. Sterol metabolism and SREBP activation. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 501: 177-181 (2010)
- Shen WJ, Azhar S, Kraemer FB. SR-B1: a unique multifunctional receptor for cholesterol influx and efflux. *Annu. Rev. Physiol.* 80: 95-116 (2018)
- Simonson W. Update on statin drugs for lipid disorders. *Geriatr. Nurs.* 39: 350-351 (2018)
- Tangney CC, Rasmussen HE. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler Rep.* 15: 324 (2013)
- Temel RE, Brown JM. A new model of reverse cholesterol transport: enTICEing strategies to stimulate intestinal cholesterol excretion. *Trends Pharmacol. Sci.* 36: 440-451 (2015)
- Tu L, Sun H, Tang M, Zhao J, Zhang Z, Sun X, He S. Red raspberry extract (*Rubus idaeus* L shrub) intake ameliorates hyperlipidemia in HFD-induced mice through PPAR signaling pathway. *Food Chem. Toxicol.* 133: 110796 (2019)
- Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Cheng S, Delling FN, Elkind MSV, Evenson KR, Ferguson JF, Gupta DK, Khan SS, Kissela BM, Knutson KL, Lee CD, Lewis TT, Liu J, Loop MS, Lutsey PL, Ma J, Mackey J, Martin SS, Matchar DB, Mussolino ME, Navaneethan SD, Perak AM, Roth GA, Samad Z, Satou GM, Schroeder EB, Shah SH, Shay CM, Stokes A, VanWagner LB, Wang NY, Tsao CW, American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2021 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 143: e254-e743 (2021)
- Wang DQ, Portincasa P, Tso P. Transintestinal cholesterol excretion: a secondary, nonbiliary pathway contributing to reverse cholesterol transport. *Hepatology.* 66: 1337-1340 (2017)
- Wong TY, Lin SM, Leung LK. The flavone luteolin suppresses SREBP-2 expression and post-translational activation in hepatic cells. *PLoS One.* 10: e0135637 (2015)
- Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 51: 675-683 (2007)