Journal of Korean Medicine Rehabilitation Vol. 30 No. 3, July 2020 pISSN 1229-1854 eISSN 2288-4114 https://doi.org/10.18325/jkmr.2020.30.3.57



Indomethacin으로 유발된 흰쥐의 위장장애에 ChondroT가 미치는 영향

김주일* · 김선길* · 김지훈* · 윤찬석* · 최지민* · 최찬헌† · 김선종* 동신대학교 한의과대학 한방재활의학과교실*, 생리학교실†

The Inhibitory Effect of ChondroT on Indomethacin-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats

Joo-Il Kim, K.M.D.*, Sun-Gil Kim, K.M.D.*, Ji-Hoon Kim, K.M.D.*, Chan-Suk Yoon, K.M.D.*, Ji-Min Choi, K.M.D.*, Chan-Hun Choi, K.M.D.[†], Seon-Jong Kim, K.M.D.*

Departments of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine* and Physiology of Korean Medicine[†], College of Korean Medicine, Dongshin University

RECEIVED June 11, 2020 ACCEPTED June 24, 2020

CORRESPONDING TO

Seon-Jong Kim, Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dongshin University, Mokpo Oriental Hospital of Dongshin University, 313 Baengnyeon-daero, Mokpo 58665, Korea

TEL (061) 280-7905 (061) 280-7788 E-mail mofoster@hanmail.net

Copyright © 2020 The Society of Korean Medicine Rehabilitation

Objectives The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of ChondroT in indomethacin-induced gastric mucosal injury rat model.

Methods Sprague-Dawley rats were randomly assigned to intact, control Joins, Celebrex, ChondroT50 and ChondroT200. Indomethacin (25 mg/kg) was used to induce damage to the gastric mucosal injury. ChondroT was administered by orally to inhibit the indomethacin-induced gastric mucosal injury. At the end of the experiment, pH level in stomach, stomach contents volume, tumor necrosis factor- α (TNF- α) level, interleukin-1 β (IL-1 β) level, prostaglandin E2 (PGE2) level, myeloperoxidase (MPO) activity, erythrocytes, and thrombocytes were measured. Ophthalmologic and histopathological examination was also analyzed.

Results pH level in stomach and Stomach contents volume had no difference between Control, PC-Joins, PC-Cele, ChondroT50 and ChondroT200 group. TNF- α level was decreased in PC-Joins, PC-Cele, ChondroT50 and ChondroT200 group and there were no significant difference. IL-1 β level was decreased in PC-Joins group and ChondroT200 group compared to control group. PGE2 level had no significant difference between Control, PC-Joins, PC-Cele, ChondroT50 and ChondroT200 group. MPO level and complete blood count level were decreased in PC-Joins, PC-Cele, ChondroT50 and ChondroT200. Symptom score of ophthalmologic examination was decreased in ChondroT50 and ChondroT200 group compared to control group.

Conclusion Based on these results, It could be suggested that ChondroT was effective in reducing damage to the gastric mucosal injury. And further study is needed to conduct a rigorous clinical research. (J Korean Med Rehabil 2020;30(3):57-69)

Key words ChondroT, Osteoarthritis, Gastric disease, Indomethacin

서론»»»

골관절염은 나이, 성별, 과체중, 스트레스 등이 위험 요소로 작용하여 국소 관절의 점진적 연골 소실 및 이 차적 변화를 야기하여 관절통, 압통, 경직감, 부종 등의 주 증상을 동반하는 퇴행성 관절질환이다^{1,2)}. 고령일수 록 발병률이 높고, 여성의 경우 전 연령에서 남성에 비해 유병률이 높다³⁾.

무릎관절은 체중 부하를 받는 말초의 축으로서 골관 절염이 가장 호발하는 부위이며, 평균 수명의 연장과 비만 인구의 증가로 무릎관절의 골관절염 유병률은 지 속적으로 증가하고 있는 추세이다⁴⁻⁶⁾.

최근 연구에 따르면 행동적, 신경학적 요인 등을 통해 골관절염의 통증 및 활동 장애를 예측할 수 있으나, 골관절염의 진행을 막을 수 있는 확실한 치료법은 아직 발견되지 않았다^{7,8)}.

이러한 상황에서 골관절염에 대한 일차적 치료는 보존적 약물 치료이며 해열진통제, 진통소염제(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs), 관절 내 주사 치료법 등이 있다⁹⁻¹¹⁾.

아세트아미노펜(acetaminophen)은 골관절염 치료의 일차적인 약제로 사용되고 있으며, 비교적 안전하나 증 상 개선의 효과가 뚜렷하지 않다^{12,13)}.

NSAIDs는 중등도 이상의 통증과 염증에 전 세계적으로 가장 많이 소비되는 약제 중 하나이며¹⁴⁾, 그 주요 작용은 cyclooxygenase (COX)를 억제하는 것으로 COX-1은 prostaglandin의 합성에 관여하고 염증인자의 확산을 막기 위해 혈관을 수축시키며, COX-2는 prostaglandin을 생성하고 혈전을 예방하며 혈관을 확장시킨다¹⁵⁻¹⁷⁾. 그러나 COX-1, COX-2의 억제로 인하여 혈압 상승 등의 심혈관 관련 질환 악화와 위장관의 궤양 및 출혈 등의 부작용이 발생된다¹⁸⁻²⁰⁾.

최근에는 이러한 약물치료의 부작용을 개선하면서 증상 조절이 가능한 천연물 의약품의 연구가 부각되고 있다. ChondroT는 한약제제 기반 골관절염 치료제로 개발 중인 신약으로서 강활(羌活), 당귀(當歸), 금은화(金銀花), 위령선(威靈仙), 황백(黃柏) 다섯 가지 약재로 구성되어 있다^{21,22}. 선행연구를 통하여 ChondroT 구성 약재의 유효성분을 확인하였고 항염증효능, 연골세포 보호효과를 입증하였다^{21,23-25)}.

하지만 ChondroT의 위장관에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 연구는 보고된 바가 없다. 이에 저자는 indomethacin으로 위장장애를 유발한 흰쥐에 ChondroT, Joins tab, Cerebrex 등을 투여한 후 ChondroT의 위장관 손상에 대한 억제효과를 확인하여 유의한 결과를 얻었 기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법>>>>

1. 실험 재료

1) 시료

본 실험에 사용한 ChondroT는 ㈜정우신약(서울, 한국)에서 공급받아 사용하였으며, 처방구성은 Table I과 같다.

ChondroT는 1정(730 mg)에 금은화 중 chlorogenic acid 로서 1.7 mg 이상, 당귀 중 총 decursin 및 decursinol angelate의 총 합 0.85 mg 이상, 황백 중 berberine chloride 로서 1.15 mg 이상을 함유하는 장방형의 녹색 필름코팅정제로 지표 성분을 확인하기 위해 high-performance liquid chromatography (HPLC)를 통해 3종 성분을 확인하였다^{24,25)}.

2) 동물

동물은 생후 7주령 Sprague-Dawley (SD)계 수컷 흰 쥐를 실험동물 생산 전문기업인 ㈜샘타코바이오코리아 (오산, 한국)에서 공급받아 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일 동안 사육실 환경(실내온도 24±2℃, 습도 50±5%, 12시간 dark/light)에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험 전 동물실험계획승인을 획득하였다(승인번호: 2018-04-02).

Table I. Prescription Composition of ChondroT

Scientific name	Rate
Ostericum koreanum Maximowicz	6
Angelica gigas Nakai	4
Clematis manshurica Ruprecht	4
Lonicera japonica Thunberg	4
Phellodendrom amurense Ruprecht	3

2. 실험 방법

1) 위장장애 유발

Indomethacin 투여 전 24시간 절식한 후 indomethacine (Sigma Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, USA) 25 mg/kg 의 용량을 경구투여하여 위장장애를 유발하였다.

2) 군 분류

ChondroT의 소화관 부작용 저해 효과 관찰을 위해 양성대조군으로 조인스정(Joins tab 200 mg; SK제약, 서울, 한국)과 쎄레브렉스(Celebrex cap 100 mg; 한국화 이자, 서울, 한국)로 설정하였다. 위장장애를 유발하지 않은 정상군(Intact, n=8), 위장장애를 유발하고 약물 처 치를 하지 않은 대조군(Control, n=8), 위장장애를 유발 하고 조인스정 20 mg/kg를 투여한 양성대조군(PC-Joins, n=8), 위장장애를 유발하고 쎄레브렉스 6.6 mg/kg를 투 여한 양성대조군(PC-Cele, n=8), 위장장애를 유발하고 ChondroT 50 mg/kg를 구강 투여한 군(ChondroT50, n=8), 위장장애를 유발하고 ChondroT 200 mg/kg를 구강 투 역한 군(ChondroT200, n=8) 군으로 나누었다.

3) 약물 투여

약물 투여는 indomethacin을 투여하기 1시간 전에 경 구 투여하였고, 대조군은 약물 대신 생리식염수를 경구 투여하였다.

4) 채혈 및 혈청 분리

실험동물을 indomethacin 투여 6시간 후 마취한 다 음 심장천자로 혈액을 채집하여 약 100 μL를 ethylenediaminetetraacetic acid-bottle에 넣은 후 Multispecies Hematology Analyser (HEMAVET®950; The Americas Drew Scientific Inc., Oxford, CT, USA) 呈 white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), platelet (PLT)를 측정하였다. 나머지 혈액은 원심분리기 ((주)비전과학, 서울, 한국)에서 3,000 rpm으로 20분간 원심분리를 시행하여 혈청을 분리하였다.

5) 위 산도 측정

수집된 위 내용물은 pH paper (Johnson Test Papers Ltd., Oldbury, UK)를 이용하여 측정하였다. 측정지를

위 내용물이 담긴 튜브에 담근 후 측정 색상표와 대조 하여 pH값을 측정하였다.

6) 위 내용물 양(gastric volume)의 측정

Indomethacin 투여 6시간 후 실험동물을 마취하여 희 생한 다음 위 부분을 적출하였다. Phoshate buffered saline (PBS)(Lonza, Walkersville, MD, USA) 1 mL로 위 내부를 세척한 후, 내용물을 수집하여 5분간 2,000 g에 서 원심분리한 다음 부피를 측정하였다.

7) 위 점막 및 식도 점막 손상 측정

적출된 위의 안쪽 곡률을 따라 자른 후 적당량의 PBS (Gibco®)로 세척하여 깨끗한 티슈 위에 전개하였으며 이를 광학 디지털카메라(SONY, Tokyo, Japan)를 이용 하여 촬영하였다. 촬영된 위 점막 및 식도 점막의 손상 정도는 symptom score를 매겨 각 군별로 통계적 유의성 을 비교하였다.

8) Myeloperoxidase (MPO) 활성도 측정

적출된 위를 lysis buffer (MBS2090451, Mybiosource, San Diego, CA, USA)를 이용하여 균질화하여 10,000×g 에서 원심분리한 다음 모아진 상등액을 이용하여 MPO ELISA kit (Mybiosource, San Diego, CA, USA)를 사용 하여 분석하였다.

9) Prostaglandin E2 (PGE2) 측정

적출된 위를 PBS (Gibco®)를 이용하여 균질화하여, 1,000×g에서 원심분리한 다음 모아진 상등액을 PGE2 ELISA kit (Mybiosource)를 사용하여 분석하였다.

10) Cytokine 측정

분리된 혈청을 이용하여 1.5 mL 마이크로 튜브에 옮 겨 담은 후 -80℃ 냉동 보관하였다. 이 혈청은 사이토카 인 tumor necrosis factor-α (TNF-α) (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), interleukin-1β (IL-1β)(Invitrogen) ELISA assay kit를 이용하여 실험 매뉴얼에 따라 수행하였고, 분 석기기는 ELISA reader (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 를 이용하여 측정하였다.

11) 조직학적 분석

희생시킨 흰쥐에서 위, 식도를 분리하였으며 이를 10% phosphate-buffered formalin에서 하루 이상 고정하 였다. 멸균생리식염수에 하루 이상 담근 후 50% ethanol에서 1시간, 70% ethanol에서 1시간, 80% ethanol에 서 1시간, 95% ethanol에서 1시간, 100I% ethanol에서 1 시간, 100II% ethanol에서 1시간, 100III% ethanol에서 1 시간씩 단계적으로 탈수시켰다. Alchol:Xylen (1:2 비율) 에 1시간, XyleneI에서 1시간, XyleneII에서 1시간 과정 후 paraffin:Xylene (1:1 비율)에 1시간, paraffin:Xylene (1:2 비율)에 1시간, paraffin:Xylene (1:3 비율)에 1시간, paraffin에서 1시간을 실시한다. 포매과정(embedding)을 거쳐 약 6 µm의 두께로 박절(paraffin-section)하여 slide 위에 조직을 얹고 건조시킨 후 Hematoxylin-Eosin (H&E) 염색을 하였다. Slide의 물기를 없애고 mounting medium (Sigma Aldrich Co., Ltd.)을 떨어뜨린 후 조직과 cover glass 주위에 공기가 생기지 않도록 주의하면서 cover glass를 덮어 영구 보존할 수 있도록 하였다.

3. 통계 분석

실험을 통해 얻어진 성적은 통계프로그램(SPSS statistics ver. 22; IBM Co., Armonk, NY, USA)을 사용하 여 유의성을 검증하였다. 통계적 검증은 일원배치 분산 분석(one-way analysis of variance)을 시행하였고, 사후 검정은 Tukey를 이용하였으며 p-value가 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 인정하였다.

결과>>>>

1. 위 산도 측정

흰쥐 각각의 위장 내용물의 pH 농도를 측정한 결과 실험군 간의 차이는 유의하지 않았다(Table II, Fig. 1).

2. 위 내용물 양(gastric volume) 측정

위장 내의 내용물 양의 차이를 측정한 결과 Control 군에 비해 모든 실험군의 위 내용물이 증가하였으나 통 계적인 유의성은 없었다(Table III, Fig. 2).

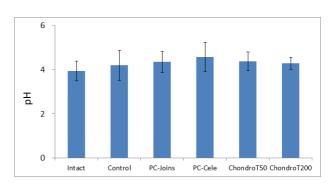


Fig. 1. Effect of drug administration on pH level in stomach. Values are expressed as mean and standard deviation. Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table II. Effect of Drug Administration on pH Level in Stomach

Characteristics	Intact (n=8)	Control (n=8)	PC-Joins (n=8)	PC-Cele (n=8)	ChondroT50 (n=8)	ChondroT200 (n=8)
Mean	3.9	4.2	4.3	4.6	4.4	4.3
Standard deviation	0.44	0.68	0.49	0.67	0.42	0.28

Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

3. TNF-α 측정

TNF-α를 측정한 결과, Control군에 비해 양성대조군 및 ChondroT 투여군 모두에서 감소하는 경향을 보였으 나 통계적인 유의성은 없었다(Table IV, Fig. 3).

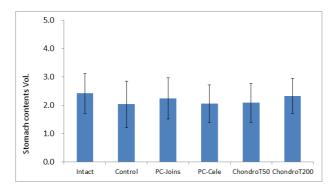


Fig. 2. Effect of drug administration on stomach contents volume. Values are expressed as mean and standard deviation. Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

4. IL-1*β* 측정

IL-1β를 측정한 결과 Control군에 비해 모든 실험군 에서 감소되는 경향을 보였으며 이 중 조인스정 투여군 (PC-Joins)과 ChondroT200 투여군에서 통계적으로 유 의한 감소를 보였다(Table V, Fig. 4).

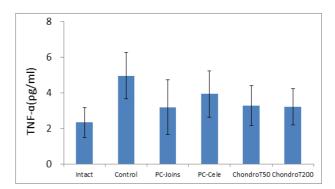


Fig. 3. Effect of drug administration on TNF- α level in rats. Values are expressed as mean and standard deviation. TNF-α: tumor necrosis factor-α, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table III. Effect of Drug Administration on Stomach Contents Volume

Characteristics	Intact (n=8)	Control (n=8)	PC-Joins (n=8)	PC-Cele (n=8)	ChondroT50 (n=8)	ChondroT200 (n=8)
Mean	2.41	2.03	2.24	2.05	2.08	2.32
Standard deviation	0.70	0.82	0.72	0.66	0.69	0.62

Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table IV. Effect of Drug Administration on TNF-α Level in Rats

Characteristics	Intact (n=5)	Control (n=8)	PC-Joins (n=7)	PC-Cele (n=7)	ChondroT50 (n=7)	ChondroT200 (n=7)
Mean	2.34	4.97	3.20	3.94	3.30	3.22
Standard deviation	0.83	1.30	1.53	1.30	1.11	1.02

TNF-α: tumor necrosis factor-α, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

5. PGE2 측정

PGE2를 측정한 결과 Control군에 비해 다른 모든 군 들이 증가한 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었 다. 다만 사후검정 결과 Control군에 대한 ChondroT200

평균값의 p값이 0.05로 유의성의 경계에 있었다(Table VI, Fig. 5).

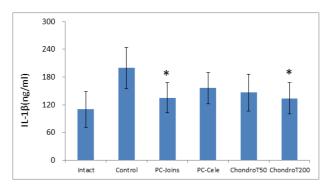


Fig. 4. Effect of drug administration on IL-1β level in rats. Values are expressed as mean and standard deviation. IL-1β: interleukin-1β, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder. *Statistically significant difference with Control group (*p<0.05).

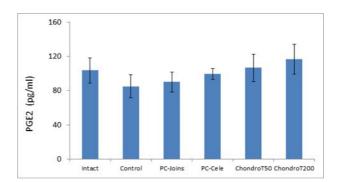


Fig. 5. Effect of drug administration on PGE2 level in rats. Values are expressed as mean and standard deviation. PGE2: prostaglandin E2, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, Chondro T50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table V. Effect of Drug Administration on IL-1\beta Level in Rats

Characteristics	Intact (n=5)	Control (n=8)	PC-Joins (n=7)	PC-Cele (n=7)	ChondroT50 (n=7)	ChondroT200 (n=7)
Mean	110.00	199.76	135.28	156.11	146.39	133.89
Standard deviation	38.37	44.58	32.67	34.02	39.94	33.61

IL-1β: interleukin-1β, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table VI. Effect of Drug Administration on PGE2 Level in Rats

Characteristics	Intact (n=5)	Control (n=8)	PC-Joins (n=7)	PC-Cele (n=7)	ChondroT50 (n=7)	ChondroT200 (n=7)
Mean	103.588	85.0784	90.0784	99.6373	106.549	116.647
Standard deviation	14.6626	13.2655	11.4995	6.5329	16.1606	17.2815

PGE2: prostaglandin E2, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

6. MPO 측정

MPO의 활성을 측정한 결과 Control군에 비해 다른 모든 군들이 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의 성은 없었다(Table VII, Fig. 6).

7. Complete blood count (CBC) 측정

CBC 항목을 관찰한 결과. WBC에서 Control군에 비 해 다른 실험군이 감소하는 경향이 보였으나 통계적 유 의성은 없었으며, 다른 항목에서도 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다(Table VIII, Fig. 7).

8. 육안적 증상 관찰

위장을 적출한 후 점막을 펼치고 염증과 관련된 지표 를 비교 분석한 결과, Control군에 비해 ChondroT 투여군

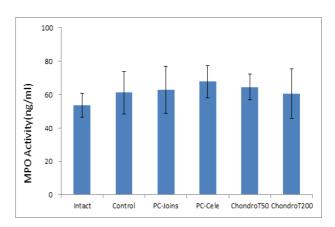


Fig. 6. Effect of drug administration on MPO level in rats. Values are expressed as mean and standard deviation. MPO: myeloperoxidase, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table VII. Effect of Drug Administration on MPO Level in Rats

Characteristics	Intact (n=5)	Control (n=8)	PC-Joins (n=7)	PC-Cele (n=7)	ChondroT50 (n=7)	ChondroT200 (n=7)
Mean	53.64	61.32	62.93	67.77	64.64	60.48
Standard deviation	7.14	12.74	14.10	9.53	7.63	14.85

MPO: myeloperoxidase, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

Table VIII. Effect of Drug Administration on CBC Level in Rats

Characteristics		Intact (n=8)	Control (n=8)	PC-Joins (n=8)	PC-Cele (n=8)	ChondroT (n=8)	50 ChondroT200 (n=8)
WBC $(K/\mu L)$	Mean	3.44	9.33	7.12	6.01	6.54	6.57
	SD	1.39	2.34	2.03	2.44	1.90	2.74
RBC (M/dL)	Mean	8.26	8.43	7.93	8.03	7.78	8.28
	SD	0.50	0.38	0.60	0.36	0.52	0.59
Hb (g/dL)	Mean	16.63	16.42	16.80	16.73	16.46	17.53
	SD	0.91	2.53	1.25	1.14	0.77	0.96
PLT $(K/\mu L)$	Mean	994	1,104	1,098	1,201	1,225	1,242
	SD	76	234	111	113	128	78

CBC: complete blood count, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

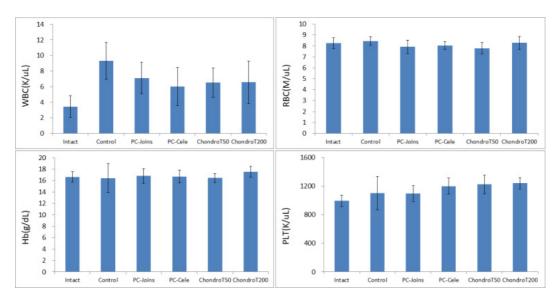


Fig. 7. Effect of drug administration on CBC level in rats. Values are expressed as mean and standard deviation. CBC: complete blood count, Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder. WBC: white blood cell, SD: standard deviation, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin, PLT: platelet.

Table IX. Effect of Drug Administration on the Symptom Score

Characteristics	Intact (n=8)	Control (n=8)	PC-Joins (n=8)	PC-Cele (n=8)	ChondroT50 (n=8)	ChondroT200 (n=8)
Mean	0	8.8	7.5	7.8	5.3	5.5
Standard deviation	0	0.5	0.6	1.0	1.3	1.3

Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

모두에서 유의성 있게 감소되었다(Table IX, Figs. 8, 9).

9. 조직학적 관찰

H&E 염색을 통한 조직학적 관찰 결과 Intact군에서는 mucosal defect가 보이지 않았으며 Control군에서는 점막 훼손과 염증반응이 관찰되었으나 ChondroT 투여군에서는 약간의 상피조직 손상만 관찰되었다(Fig. 10).

고찰>>>>

골관절염은 점진적으로 진행되는 비대칭적인 관절질

환으로 골증식, 연골하골경화증과 같은 뼈의 형태와 관련된 연골의 상실을 원인으로 발생한다²⁶⁻²⁸⁾. 기계적 자극이 가해진 관절 연골에 기질적 손상 및 변화가 유발되어 IL-1β, TNF-α 등 염증성 cytokine에 의해 파괴와재형성이 진행되며, matrix metalloproteinase (MMPs), PGE2 등의 분비가 증가하여 골세포의 사멸이 발생하고, 이러한 일련의 과정 중에 관절의 점진적 운동장애및 강직감, 관절 부위의 통증, 발열, 종창 등의 증상이발생한다^{7,29)}. 그 중 주요 증상은 통증이며 관절의 강직은 주로 아침이나 활동하지 않은 시간 후에 발생하고, 골관절염이 진행됨에 따라 제한된 관절운동 소견을 보인다^{27,28)}. 그러나 골관절염에 대한 명확한 정의가 어렵기에 최근 병태생리학적 접근이 중요시되고 있다^{30,31)}.

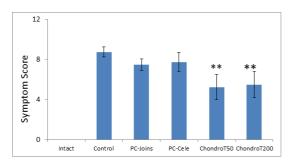


Fig. 8. Effect of drug administration on the symptom score. Values are expressed as mean and standard deviation. Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder. **Statistically significant difference compared with control group (**p<0.01).

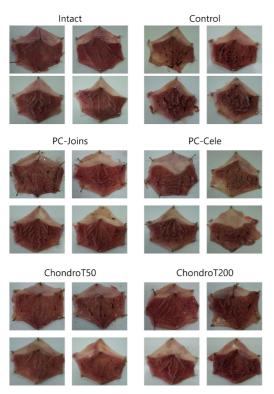


Fig. 9. Effect of drug administration on the ophthalmologic examination. Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

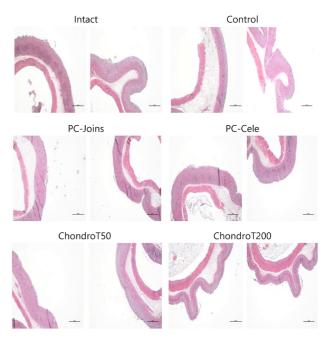


Fig. 10. Effect of drug administration on the Hematoxylin-Eosin staining (40×). Intact: naive rats, Control: non-medicine group after gastrointestinal disorder induction, PC-Joins: group administered 20 mg/kg of Joins tab after inducing gastrointestinal disorder, PC-Cele: group administered 6.6 mg/kg of Celebrex cap after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT50: group administered 50 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder, ChondroT200: group administered 200 mg/kg of ChondroT after inducing gastrointestinal disorder.

골관절염의 발생을 예방하거나 진행을 막기 위한 치 료법의 부재와 비만 인구의 증가 등은 개인적, 사회적 부담으로 나타나고 있으며, 국내 65세 이상 노인인구 비율이 2060년에는 40%로 증가될 것으로 예상되어 고 령 인구의 증가와 맞물려 골관절염의 치료가 중요한 문 제로 대두되고 있다31,32).

고령화 추세와 더불어 관절염 및 근골격계 질환으로 NSAIDs를 장기 복용하는 노인 환자가 증가하고 있으 며 NSAIDs를 장기 복용한 환자의 25%에서 위장관 궤 양이, 이들의 2-4%에서 출혈이나 천공 등의 합병증이 유발되고 있다³³⁻³⁷⁾. NSAIDs 복용에 따른 부작용 때문 에 환자별로 치료적 유익성과 부작용 위험성 사이의 균 형을 맞추고자 미국심장학회와 영국 National Institute for Health and Care Excellence (NICE)에서는 가이드라인 을 통해 환자에 맞는 적절한 사용을 권고하고 있다^{38,39)}.

NSAIDs는 arachidonic acid에서 prostaglandin을 합성 하는데 관여하는 COX를 억제하는 작용을 하는데. COX-1 은 생체기능 유지를 위해 정상적으로 생성되는 prost-glandin의 합성에 관여하여 위장관, 신장, 혈소판에서 각 장기의 기능을 유지하도록 하고, 또한 혈관수축물질 인 thromboxane A2를 생성하여 혈액을 응고시키고 혈액의 순환을 지연시키며 COX-2는 염증유발물질 prostaglandin을 생성하고 prostacyclin를 생성하여 혈관을 확장하고 혈전을 예방한다¹⁵⁻¹⁷⁾. COX-1과 COX-2를 동시에 억제하는 비선택적 NSAIDs는 혈전예방작용을 함과 동시에 위점막을 손상시키고, 선택적 COX-2 억제제는 COX-1의 활동에 관여하지 않으므로 위점막 손상은 다소 피할 수 있으나 혈전 생성 및 혈관 수축에 따른 혈압상승으로 심혈관 관련 질환을 악화시킬 수 있다^{20,40)}.

이에 골관절염의 약물적 치료 부작용을 개선하면서 증상의 조절이 가능한 천연물 의약품의 연구가 부각되고 있으며 천연물 의약품의 연구는 꾸준히 증가하는 추 세로 전 세계 인구의 80%가 질병 치료와 예방에 천연 물 의약품을 사용하고 있다^{18,41)}.

ChondroT는 Bio-informatics 기법⁴²⁾과 실험적 연구를 통해 5가지 한약재로 구성된 골관절염 치료 목적의 한약제제이다. 제제의 표준화를 위하여 HPLC를 사용하여 ChondroT를 구성하는 3 종의 지표성분을 확립하였고, 동물모델 실험을 통하여 무릎관절에 다양한 방법으로 유발된 골관절염의 치료에 ChondroT가 유효함을 입중하였으며 동물모델에 대한 단회 및 반복 투여 독성실험을 통해 ChondroT의 무독성량을 설정하였고, 혈소판응집에 대한 항응고 작용을 확인하였다^{18,21,25,43,44}).

골관절염에 대한 ChondroT의 유효성과 안전성은 확인하였으나, 위장관에 미치는 영향에 대한 평가는 아직진행되지 않았기에 본 연구에서는 indomethacin으로 위장장애가 유발된 SD계의 흰쥐에 골관절염 치료에 사용되는 천연물 의약품인 Joins Tab⁴⁵⁾과 선택적 COX-2 억제제인 Celebrex⁴⁶⁾, 그리고 저용량과 고용량의 ChondroT를 투여하여 위 산도 측정, 위 내용물 양 측정, cytokine 측정, PGE2 측정, MPO 활성도 측정, erythrocyte와 thrombocyte 측정, 위점막 및 식도점막 손상 측정 및 조직학적 분석의 과정을 통해 ChondroT가 위장관에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 실험 기간 모든 군에서 시험물질 투여에 따른 빈사 및 폐사 동물은 관찰되지 않았다.

위점막은 내외부의 공격인자에 항상 노출되어 있다.

정상적인 생리상태에서는 고유방어기전에 의하여 염산, 펩신 및 담즙산 등의 내인성 공격인자들로부터 보호되며 내부 공격인자 이외에도 여러 외부 인자에 의한 공격을 받는다⁴⁷⁾. 위염은 공격인자가 강해지거나 또는 방어인자가 약해지면 발생하는데 이때에 위내 산성도가변화할 수 있고, 심한 경우엔 미란, 출혈 및 궤양 등의위 손상을 일으킬 수 있다⁴⁸⁾. 위산도 측정을 위해 흰쥐각 개체의 위장 내용물의 pH 농도를 측정한 결과 실험군 가유의한 차이가 보이지 않았으며, 위장 내용물의양의 차이를 측정하기위해 각흰쥐 개체의위장 내용물의양의 차이를 측정하기위해 각흰쥐 개체의위장 내용물을 채취하여무게를 측정한 뒤 각개체의체중에따라 환산한결과 Control군에 비하여실험군의위장 내용물이증가하였으나 통계적인유의성은 발견할수 없었다.

연골에 기계적 자극이 가해지면 연골조직의 손상이 나 변화를 연골세포가 감지하게 되고 cytokine이 연골 의 동화작용과 이화작용의 평형을 저해하게 된다⁷⁾. TNF-α는 이화작용을 일으키는 cytokine으로서 활성화 된 단핵구 및 대식세포에 의해 생산되어 연골을 파괴하 는 단백 분해 효소를 생성하며 파골세포를 자극해 염증 반응을 주도하는 것으로 알려져 있고^{7,49)}, IL-1β는 연골 및 활막세포로부터 PGE2, nitric oxide 등의 염증 매개 체 생산 및 MMPs의 발현을 자극해 연골 분해를 일으 키는 cytokine으로 알려져 있다⁵⁰⁾. TNF-α, IL-1β를 측정 한 결과 TNF-α는 Control군에 비하여 양성대조군 및 ChondroT 투여군 모두에서 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었으며 IL-1β의 경우 Control군에 비해 양성대조군 및 모든 ChondroT 투여군에서 감소되 는 경향을 보였고, 그 중 PC-Joins군과 ChondroT200에 서 통계적으로 유의한 감소를 보였다.

PGE2는 유도형 효소인 COX-2의 활성에 따른 주 산물로 염증 반응의 매개물질로서 혈관 확장과 통증 및발열을 유도하며 다양한 염증성 질환에서 증가하는 것으로 알려져 있다^{51,52)}. PGE2 관찰 결과 Conrol군에 비하여 다른 모든 군에서 증가한 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었으나, 사후검정 결과 Control군에 대하여 ChondroT200군의 평균 p값이 0.05로 유의성의 경계에 있었다.

MPO는 백혈구의 primary granule로서 백혈구의 활성 화 시기에 혈중으로 방출되어 백혈구의 병리적 역할에

관여하는 인자로서 MPO의 농도 및 활성도를 통해 염 증상태를 추정할 수 있다⁵³⁾. 본 실험에서 MPO를 측정 한 결과 Control군에 비하여 다른 모든 군에서 증가하 는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.

백혈구는 염증 반응 및 면역 반응의 주된 세포성분으 로서 과립구, 림프구, 단핵구로 구성되며 혈청검사에서 만성 염증 및 면역 기능을 평가하는 지표 중 하나이다⁵⁴⁾. Joins tab과 Celebrex, ChondroT의 투여에 따른 변화된 CBC 항목을 관찰한 결과 WBC에서 Control군에 비해 다 른 실험군이 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의 성을 확인할 수 없었으며 다른 항목에서도 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

H&E 염색은 조직 성분의 변화를 관찰하기 위한 단 순염색으로서 hematoxylin은 호염기성, eosin은 호산성 이며 ucleus, proteoglycan, cytoplasm 등을 염색시켜 조 직 변화를 관찰할 수 있게 한다⁵⁵⁾. 위장을 적출한 후 육 안적 검사와 H&E 염색을 통한 조직변화를 관찰한 결 과 육안적 증상 관찰에서는 위장 점막을 펼치고 염증과 관련된 지표를 비교 분석한 결과 Control군에 비하여 ChondroT50군 및 ChondroT200군에서 유의성 있게 감 소한 것으로 관찰되었다. H&E 염색을 통한 조직학적 관찰에서 Intact군에서는 mucosal defect가 보이지 않았 으며, Control군에서는 점막의 훼손과 염증 반응이 관찰 되었으나 그에 반해 ChondroT50군 및 ChondroT200군 에서는 약간의 상피조직 손상만이 관찰되었다.

위의 결과를 종합해보면 indomethacin으로 유발된 흰 쥐의 위장관 손상의 억제효과에 대한 비교연구를 통하 여 ChondroT가 Joins tab과 Celebrex에 비해서 염증 반 응 매개 cytokine인 IL-1β 농도에서 유의한 효과를 보였 으며, PGE2의 측정 결과에서도 통계적으로 유의한 차 이에 가깝게 효과를 나타냈다. 또한 육안적 관찰과 조 직학적 관찰 결과 ChondroT 복용군에서 양성대조군에 비하여 위장관 보호효과가 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 실험 결과를 바탕으로 ChondroT가 Joins tab, Celebrex에 비하여 위장관 손상에 대한 억제 효과가 있 음을 유추할 수 있었다. 그러나 유의미한 결과를 확인 할 수 있었던 관찰 항목이 적으며, 단순 위장 점막 손상 에 대한 연구이므로 추후 실험 관찰 항목의 세분화와 위궤양 등 확장된 위장 손상 동물 모델 등을 통하여 심 도 있는 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론》》》

Indomethacin으로 위장장애가 유발된 SD 흰쥐에 Joins tab과 Celebrex, 그리고 저용량의 ChondroT (ChondroT50) 과 고용량의 ChondroT (ChondroT200)을 투여하여 위장장 애 억제효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1. ChondroT는 모든 투여군에서 위 산도에 유의성 있는 영향을 미치지 않았다.
- 2. ChondroT는 모든 투여군에서 위 내용물 양(gastric volume)에 유의성 있는 영향을 미치지 않았다.
- 3. ChondroT는 모든 투여군에서 TNF-α 수치를 감소 시켰으나 유의성은 없었다.
- 4. ChondroT는 ChondroT200 투여군에서 IL-1β 수치 를 유의성 있게 감소시켰다.
- 5. ChondroT는 모든 투여군에서 PGE2 수치를 감소 시켰으나 유의성은 없었다.
- 6. ChondroT는 모든 투여군에서 MPO의 활성에 유의 성 있는 변화를 보이지 않았다.
- 7. ChondroT는 모든 투여군에서 WBC를 감소시켰으 나 유의성은 없었다.
- 8. ChondroT는 모든 투여군에서 대조군에 비해 육안 적으로 위장 점막의 염증 지표를 유의성 있게 감 소시켰다.
- 9. ChondroT는 모든 투여군에서 대조군에 비해 조직 학적으로 위장 점막의 손상이 경미하였다.

이상과 같이 이전에 유효성과 안전성이 확인된 ChondroT 는 육안적 관찰과 조직학적 관찰 결과 ChondroT 복용 군에서 양성대조군에 비하여 위장관 손상 억제 효과가 있어 향후 골관절염의 치료에 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

References»»»

Richmond J, Hunter D, Irrgang J, Jones MH, Levy B, Marx R, Snyder-Mackler L, Watters WC 3rd, Haralson RH 3rd, Turkelson CM, Wies JL, Boyer KM, Anderson S, St Andre J, Sluka P, McGowan R. Treatment of osteoarthritis of the knee (nonarthroplasty). J Am Acad Orthop Surg. 2009;17:591-600.

- Cross M, Smith E, Hoy D, Nolte S, Ackerman I, Fransen M, Bridgett L, Williams S, Guillemin F, Hill CL, Laslett LL, Jones G, Cicuttini F, Osborne R, Vos T, Buchbinder R, Woolf A, March L. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. Ann Rheum Dis. 2014;73:1323-30.
- Busija L, Bridgett L, Williams SRM, Osborne RH, Buchbinder R, March L, Fransen M. Osteoarthritis. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2010;24:757-68.
- Felson DT, Zhang Y. An update on the epidemiology od knee and hip osteoarthritis with a view to prevention. Am Coll Rheumatol. 1998;41:1343-55.
- 5. Duncan R, Peat G, Thomas E, Hay EM, Croft P. Incidence, progression and sequence of development of radiographic knee osteoarthritis in a symptomatic population. Ann Rheum Dis. 2011;70:1944-8.
- Zhang Y, Jordan JM. Epidemiology of osteoarthritis. Clin Geriatr Med. 2010;26:355-69.
- 7. The Korean Orthopaedic Association. Orthopaedics. 7th ed. Seoul:ChoiSin medical Publishing Co. 2013:317-27.
- 8. Dekker J. Exercise and physical functioning in osteoarthritis. New York, NY:Springer. 2014.
- Hunter DJ, Lo GH. The management of osteoarthritis: an overview and call to appropriate conservative treatment. Rheum Dis Clin N Am. 2008;34:689-712.
- Jordan KM. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). Ann Rheum Dis. 2003;62:1145-55.
- 11. Harvey WF, Hunter DJ. The role of analgesics and intra-articular injections in disease management. Rheum Dis Clin N Am. 2008;34:777-88.
- 12. Knee Surgery & Related Research. Guidelines for the treatment of osteoarthritis of the knee. Knee Surg Relat Res. 2010:22:69-74.
- 13. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, Bierma-Zeinstra S, Brandt KD, Croft P, Doherty M, Dougados M, Hochberg M, Hunter DJ, Kwoh K, Lohmander LS, Tugwell P. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. Osteoarthritis Cartilage. 2008;16:137-62.
- Laine L. Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high-risk patient. Gastroenterology. 2001;120:594-606.
- 15. Kelton JG, Blajchman MA. Prostaglandin I2 (prostacycin). CMA Journal. 1980;122:175-9.
- Vane JR, Botting RM. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. Inflamm Res. 1995; 44:1-10.

- FitzGerald GA. Coxibs and cardiovascular disease. N Engl J Med. 2004;351:1707-9.
- Bae KJ. Anti-osteoarthritic effects of ChondroT in a MIA-induced rat model [dissertation]. Naju:Dongshin University; 2016.
- 19. Kim HA. Pharmacological treatment of osteoarthritis. J Korean Orthop Res Soc. 2010;13:16-22.
- Frishman WH. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy on blood pressure and peripheral edema. Am J Cardiol. 2002;89:18-25.
- Won JY, Jeong JW, Na CS, Kim SJ. Analgesic effects of ChondroT in collagenase-induced osteoarthritis rat model. J Korean Med Rehabil. 2016;26:17-30.
- Bae KJ, Jeong JW, Song MY, Kim TG, Kim SJ. The domestic trends of osteoarthritis-related research on each constituent herb of ChondroT - focused on the Journal of Korean Medicine. J Korean Med Rehabil. 2015;25:55-63.
- Park JU, Kim SJ, Na CS, Choi CH, Seo CS, Son JK, Kang BY, Kim YR. Chondroprotective and anti-inflammatory effects of ChondroT, a new complex herbal medication. BMC Complement Altern Med. 2016;16:213-23.
- Bae KJ, Jeong JW, Choi CH, Won JY, Kim TG, Kim YR, Na CS, Kim SJ. Antiosteoarthritic effects of ChondroT in a rat model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. Evid Based Complement Alternat Med. 2018;2018:1-11.
- Jeong JW, Bae KJ, Kim SG, Kwak DW, Moon YJ, Choi CH, Kim YR, Na CS, Kim SJ. Anti-osteoarthritic effects of ChondroT in a rat model of collagenase-induced osteoarthritis. BMC Complement Altern Med. 2018; 18:131-40.
- Dequeker J, Luyten FP. The history of osteoarthritisosteoarthrosis. Ann Rheum Dis. 2008;67:5-10.
- Nakasato Y, Yung RL. Geriatric rheumatology. New York, NY:Springer. 2011.
- 28. Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. Lancet. 2011;377:2115-26.
- 29. Lee EJ, Oh MS. effects of keonbodan on MIA-Induced osteoarthritis in rat. J Korean Med Rehabil. 2014;24:51-64.
- Neogi T. Clinical significance of bone changes in osteoarthritis. Ther Adv Musculoskel Dis. 2012;4:259-67.
- 31. Conaghan PG, Vanharanta H, Dieppe PA. Is progressive osteoarthritis an atheromatous vascular disease? Ann Rheum Dis. 2005;64:1539-41.
- Lee HS. Prevalence of osteoarthritis and related risk factors in the elderly: data from the fifth Korea national health and nutrition examination survey (KNHANES V), 2010~2012. J Korean Diet Assoc. 2014;20:99-109.
- 33. Larkai EN, Smith JL, Lidsky MD, Graham DY.

- Gastroduodenal mucosa and dyspeptic symptoms in arthritic patients during chronic NSAIDs use. Am J Gastroenterol. 1987;82:1153-8.
- 34. Laine L. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. Gastrointest Endosc Clin N Am. 1996;6:489-504.
- 35. Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus T, Whelton A, Makuch R, Eisen G, Agrawal NM, Stenson WF, Burr AM, Zhao WW, Kent JD, Lefkowith JB, Verburg KM, Geis GS. Gastrointestinal toxicity with Celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: The CLASS study: a randomized controlled trial. JAMA. 2000;284:1247.
- 36. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Bosi Ferraz M, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 2000;343:1520-8.
- 37. Hawkey CJ. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. Gastroenterology. 2000;119:521-35.
- 38. Antman EM, Bennett JS, Daugherty A, Furberg C, Roberts H, Taubert KA, Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation. 2007;115:1634-42.
- 39. NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence). NSAIDs prescribing issues [Internet] 2015 [cited 2020 Jun 10]. Available from: URL: http://cks.nice.org.uk/nsa ids-prescribing-issues.
- 40. Park YB. Cyclooxygenase-2 inhbitors and cardiovascular risk. Hanyang Med Rev. 2005;25:67-72.
- 41. Son CY, Baek IH, Song GY, Kang JS, Kwan KI. Pharmacological effect of decursin and decursinol angelate from Angelica gigas Nakai. J Pharm Soc Korea. 2009:53:303-13.
- 42. Choi W, Choi CH, Kim YR, Kim SJ, Na CS, Lee H. HerDing: herb recommendation system to treat diseases using genes and chemicals. Database (Oxford). 2016; 2016:doi:10.1093/database/baw011.
- 43. Kim SG, Jeong JW, Lim YH, Kim JH, Na CS, Kim SJ. A study on the anti-condensing effect of ChondroT components. J Korean Med Rehabil. 2018;28:47-60.
- 44. Lim YH, Jeong JW, Kim SG, Kim JH, Kim SJ. DRF

- and single dose oral toxicity study of ChondroT in rat. J Korean Med Rehabil. 2018;28:61-72.
- 45. Kwan SW. Research and development trends for new natural products (oriented by development research). Biotech Information Portal. 2012;59.
- 46. Koki AT, Masferrer JL. Celecoxib: A specific COX-2 inhibitor with anticancer properties. Cancer Control. 2002;9:28-35.
- 47. Kang MH, Tae IW, Cho SW. The studies on antiulcer effect of herbal medicines against experimental gastric ulcer. J Korea Acad-Ind Coop Soc. 2009;10:607-11.
- 48. Oh TY, Ryu BK, Ko JI, Ahn BO, Kim SK, Kim WB, Lee EB, Jin JH, Hahm KB. Protective effect of DA-9601, an extract of Artemisiae Herba, against naproxen-induced gastric damage in arthritic rats. Arch Pharm Res. 1997;20:414-9.
- 49. Ryu MS, Yun YC, Kim JH. The effect of Angelica gigas NAKAI pharmacopuncture at ST36 and BL23 on Freund's adjuvant arthritis in rats. J Korean Acupuncture Moxibustion Soc. 2010;27:25-34.
- 50. Hulejová H, Barešová V, Klézl Z, Polanská M, Adam M, Senolt L. Increased level of cytokines and matrix metalloproteinases in osteoarthritic subchondral bone. Cytokine 2007;38:151-6.
- 51. Kung SE, Oh MS. Effects of Sayeok-tang on papain-induced osteoarthritis in mice. Korean J Orient Physiol Pathol. 2013;27:212-24.
- 52. Kim DH, Kang SI, Song MY, Choi JB, Bae KJ, Han JS, Yang MS, Shin YJ. Effect of Bangkeehwangkeetang treatment on the monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. J Korean Med Rehabil. 2014;24: 15-29.
- 53. Huang J, Milton A, Arnold RD, Huang H, Smith F, Panizzi JR, Panizzi P. Methods for measuring myeloperoxidase activity toward assessing inhibitor efficacy in living systems. J Leukoc Biol. 2016;99:541-8.
- 54. Kim DH, Jeong SH, Seo IB, Kim SJ. Suppression effects of Sopunghwalhyeol-tang (Shufenghuoxie-tang) on the monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. J Korean Med Rehabil. 2011:21:57-77.
- 55. Feldman AT, Wolfe D. Tissue processing and Hematoxylin and Eosin staining. In: Day CE, ed. Histopathology. New York, NY:Springer. 2014:31-43.