

蜂毒療法の抗炎症機轉研究에 관한 考察

최정식 · 박장우 · 오민석*

The Review on the Study related to Anti-inflammatory Mechanism of Bee Venom Therapy

Jung-Sik Choi, Jang-Woo Park, Min-Seok Oh

Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine, College of Oriental Medicine, Graduate school of Daejeon University

The obtained results are summarized as follows

1. New findings are reporting year by year as for the study related to Anti-inflammatory mechanism of Bee Venom therapy.
- 2 The Anti-inflammatory effect of Bee Venom therapy is achieved through counterirritation, stimulations to adrenal cortex, immuno-regulation, antioxidation, removal of free radicals, modulation of AGP gene induction
- 3 The chief components of Bee Venom related to Anti-inflammatory effect are Melittin, MCD peptide, Apamin, Adolapin etc.
4. Melittin binds to secretory phospholipase A2 and inhibits its enzymatic activity
5. Melittin blocks neutrophil O₂-production
- 6 MCD peptide(Peptide 401) stimulates the mast cell secretes histamine, Anti-inflammatory effect caused by this is 'conterirritation'.
7. Melittin & Apamin have an anti-inflammatory effect by inducing cortisone secretion
- 8 MCD peptide & Apamin increase immunologic fuction by stimulating hypophysis & adrenal cortex and have an anti-inflammatory effect by inhibiting synthesis of prostaglandin from arachidonic acid
- 9 Adolapin have an anti-inflammatory effect by inhibiting COX
- 10 Bee Venom have an anti-inflammatory effect by supp ressing AGP(α -acid glycoprotein)
- 11 Bee Venom have an anti-inflammatory effect by inhibiting NO, iNOS, PLA2, COX-2, TNF- α , IL-1, NF- κ B, MAP kinase

Key words Bee Venom therapy, Anti-inflammatory, Mrlittin, MCD peptide, PLA-2, COX-2, NF- κ B

I. 緒論

蜂毒療法이란 經絡學說의 원리에 의하여 꿀벌의 毒囊에 들어있는 蜂毒을 추출, 가공한 후 질

병과 관련한 부위 및 穴位에 주입함으로써 자침 효과와 蜂毒의 生化學的 藥理 作用을 동시에 이용하여 생체의 機能을 조정하고 病理 상태를 개선시켜 疾患을 치료하거나 예방하는 新鍼療法の 일종이다¹⁾.

기원전 2000여년경 고대 이집트시대부터 벌침이나 죽은 벌을 아픈 곳에 문질러 질병을 치료했다는 기록과, 최근 중국 장서 馬王堆에서 발굴된

* 대전대학교 한의과대학 재활의학과학교실
· 교신저자 오민석 · E-mail ohmun@dju.ac.kr
· 채택일 2006년 4월 22일

醫書에 蜂毒의 기록²⁾을 보아 오래전부터 蜂毒을 질병치료에 이용했음을 알 수 있다.

蜂毒의 재료로는 서양벌(*Apis mellitera*) 중 일벌만이 대개 사용되며 발침법이나 직자법에 의해 化膿性 疾患이나 捻挫 등 여러 질환에 응용되어 탁월한 臨床的 效果를 나타내고 있다³⁾.

蜂毒의 性味는 苦, 辛, 平, 有毒하여 祛風除濕, 止疼痛, 補益精氣, 消腫降壓하여⁴⁾ 鎮痛, 消炎⁵⁻⁹⁾, 鎮痙¹⁰⁾, 抗癌¹¹⁻¹⁵⁾, 免疫增強¹⁶⁻¹⁸⁾, 循環促進, 抗菌, 放射能抵抗性作用을 나타낸다고 한다. 주요 성분은 약 40여 가지로 peptide, enzymes, amunes, lipids, carbohydrates 및 amino acids 등으로 나누어지며, 이 중 중요한 역할을 하는 peptide는 건조 봉독의 50~60%를 차지하고, melittin (40~50%), apamin(2~3%)과 adolapin(1%)이 등으로 구성되며 抗炎症作用, 免疫作用과 histamine 分泌作用을 한다⁴⁾.

炎症(inflammation)이란 광의의 모든 생명체가 국소손상에 대해 나름대로 생체반응을 일으키는 것으로서, 진정한 의미의 질환이 아니라 非特異 反應이다. 現代 病理學에 있어서 炎症이라 함은 첫째, 생체가 장애나 자극을 받았을 때의 국소반응, 둘째, 자극물을 제거하거나 그곳에 생긴 장애를 修復하는 방위적인 의미, 셋째, 病變이나 壞死(퇴행성 변화), 循環障礙, 組織의 增殖(진행성 변화) 등이 잘 이루어진 복잡한 병변이다¹⁹⁾.

蜂毒의 抗炎症 機轉에 대한 研究는 Billingham 등이²⁰⁾에 의해 처음으로 蜂毒의 構成要素 中 抗炎症作用이 報告된 이래 최근까지도 炎症의 기전에 대한 최신지견이 밝혀짐에 따라 활발하게 진행되고 있다.

이에 본 연구에서는 蜂毒療法의 抗炎症 機轉에 대한 기존의 研究 및 최근의 研究 傾向에 대해 論文 및 書籍을 통해 조사한 바를 報告하고자 한다.

II. 本 論

1. 蜂毒의 成分

건조 蜂毒 成分의 98% 정도는 이미 밝혀져

있다 주요 성분 중 酵素 성분은 phospholipase A2, hyaluronidase, acid phospho monoesterase, α-D-glucosidase, lyso phospholipase 등이 있다. 펩티드 성분은 melittin, melittin-F, apamin, peptide 401(MCD peptide), secarpin, tertiapin, protease inhibitor, procamine A B 등이 있다. 저분자량 유기성분은 histamine, dopamine, noradrenaline 등이 있다 이 중 phospholipase A2, hyaluronidase, melittin, apamin, peptide 401 등은 그 藥理 作用에 대해 어느 정도 研究가 되어 있으나 나머지 성분들은 그 作用에 대해 아직 많은 研究가 필요하다⁴⁾.

1) 酵素成分

(1) Phospholipase A2

Phospholipase A2는 酵素 成分의 대부분을 차지하는 물질이다. 蜂毒 내에 Phospholipase A2가 存在한다는 것이 처음 報告된 것은 1952년이었으며²¹⁾ 분자량은 17500이다. 동결 건조된 Phospholipase A2는 안정하며 실온의 암실에서 보관할 때 수년 까지도 활성의 손실이 일어나지 않는다. 순수한 蜂毒 Phospholipase A2의 LD50은 생쥐에서 정맥 주사로 주입할 때 7.5mg/kg로 비교적 毒性이 없는 편이며 실험동물에서 사망을 유발시켰을 때 그 기전은 용혈과 미세색전에 의한⁴⁾.

Phospholipase A2의 주요 작용으로는 첫째 강력한 抗原性을 들 수 있다 Phospholipase A2는 蜂毒의 주요 allergen이기 때문에 특히 많은 관심을 받아왔다. 둘째 Phospholipase A2는 간접 용해소로서의 작용 즉 세포 용해 촉매작용이 있다. Phospholipase A2는 지방의 가수분해를 촉매하여 lysophosphoglyceride와 지방산을 형성시키며 이들은 강력한 막활성 물질로서 모든 세포 표면의 지질 이중층에 작용할 수 있다. Phospholipase A2가 가수분해 작용을 통해 사람 적혈구에서 막 인지질을 변화시키면 당 이용률이 현저하게 촉진된다. 이것은 막 인지질이 가수분해 되어 만들어진 유리 지방산의 자극 때문인 것으로 보인다²²⁾. 주로 이 효소에 의해 phosphoglyceride가 파괴되고 재생성되는 과정을 거쳐 세포막의 교체가 일

어난다. Phospholipase A2 단독으로도 인지질을 가수분해 시킬 수 있으나 단독으로는 매우 느린 속도로 상당히 오랜 시간이 소요된다

Phospholipase A2와 Melittin 사이에는 상승작용이 있다. 이 둘 각각으로 자극했을 때에는 아무런 영향을 받지 않던 적혈구도 이 둘이 함께 작용하면 용해되어 버리곤 한다. 봉독의 전체 독성의 상당 부분은 간접적 용해작용이 있는 Phospholipase와 직접적 용해작용이 있는 Melittin의 협동작용 때문에 일어나므로 Phospholipase A2의 용해작용을 생각할 때에는 Melittin과의 상승작용을 이해하는 것이 중요하다⁴⁾. Phospholipase A2는 다른 2가 양이온에 의해서는 미약하게 활성화되지만 칼슘에 의해서는 효과적으로 활성화되며²³⁾, 가수분해 작용은 pH5~9, 15~65°C에서 관찰되고 pH 8.0에서 가장 활발한 것으로 알려져 있다.

이 외에도 Phospholipase A2는 막유착성을 조절하고 조직 인지질의 교체에 일정한 역할을 담당하며 조직 아세포층에 광범위하게 존재하여 Prostaglandin의 전구체인 Arachidonic acid의 분비를 조절함으로써 Prostaglandin의 합성을 조절하는 등의 역할을 하고 있다⁴⁾.

그외에 Deregnacourt C²⁴⁾에 의하면 Phospholipase A2는 인간 혈청의 구성을 조절하는 적혈구의 plasmodium falciparum의 특정단계의 성장을 정지시킨다고 하였으며, Nethery D²⁵⁾에 의하면 횡격막의 mitochondria의 ROS(reactive oxygen species)의 형성은 Phospholipase A2에 의지한다고 하였고, Wu YL²⁶⁾에 의하면 TNF(중양괴사인자)에 의한 세포의 Phospholipase A2의 활성화는 세포를 사망에 이르게하는 경로에 신호를 보내는 중요한 요소라고 하였다

(2) Hyaluronidase

Hyaluronidase(hyaluronoglucosaminidase)는蜂毒의 '확산인자'이다. 蜂毒에 확산인자가 있다는 것은 1954년에 처음 발견되었으며²⁷⁾ 이 확산인자가 Hyaluronidase라는 것은 나중에 밝혀졌다. 순수한 Hyaluronidase는 매우 안정하며 짧은 시간동안은 100°C의 열에도 잘 견딘다. 4°C, pH 3~12에서 저

장하거나 -20°C로 동결-해동, 동결-건조시키거나 변성물질인 三鹽化醋酸(trichloroacetic acid)을 가해도 안정하다. 분자량은 35,000 정도이며 乾燥蜂毒의 2% 정도로 소량 포함되어 있다⁴⁾.

蜂毒의 Hyaluronidase는 毒素를 조직 깊이 침투시키는 작용뿐만 아니라 피부의 眞皮組織을 파괴시키는 작용도 하게 된다. Hyaluronidase는 Phospholipase A2와 함께 蜂毒의 주요 allergen이다 따라서 과민반응과 관련해 많은 관심을 받아 왔다⁴⁾.

2) Peptide 성분

분자량이 2,000~6,000인 蜂毒의 Peptide 성분들은 동결건조 蜂毒 질량의 약 50%를 차지하며 특히 Melittin, Apamin, MCD Peptide 등은 그 독특한 생리적 성질 때문에 과학 연구에 광범위하게 응용되어 왔다⁴⁾.

(1) Melittin

Melittin은 蜂毒의 주요 성분으로 乾燥蜂毒의 40~50%를 차지한다. 1954년에²⁸⁾ 직접 溶血性 요소로서 처음 발견되었고 1972년에²⁹⁾ 赤血球를 용해시키는 세포막 활성 성질이 관찰되었다. Melittin의 분자량은 2,840이고 26개의 아미노산으로 구성된 polypeptide로서 I 과 II의 두가지 형태가 존재하며 蜂毒에는 둘 다 들어있다³⁰⁾. 분자량은 2,840이지만 超遠心分離에 의하면 12,500으로 측정되었다. 아마도 세포막을 파괴하는 작용이 있으며 기타 성분을 혈류 속으로 침투시키는 것을 돕는 작용도 할 수 있기 때문에 이렇게 다량 함유되어 있는 것으로 보인다.

Melittin에는 溶解작용, 酵素작용, 痛症誘發작용, 抗菌작용, 放射能抵抗性 작용 등이 있다.

첫째, Melittin은 界面活性劑적 성질로 비특이적인 직접 溶解작용이 있어서 적혈구, 백혈구, 비반세포, 리소좀, 미토콘드리아 등을 溶解시키며 Phospholipase A2와의 상승작용이 있어서 Phospholipase가 함께 존재하면 溶解작용이 더 강해진다.

둘째, 酵素작용이 있다. Melittin은 그 자체

로 직접 세포막 활성이 있는 것 외에도 Phospholipase A2의 세포막 溶解작용을 유도하고 Peptide 401의 히스타민 유리작용을 도와 모세혈관 혈류와 투과성을 증가시켜 毒 성분의 확산을 촉진시키는 등의 酵素작용을 가지고 있다. Melittin은 내인성 Phospholipase A2의 활성 외에 다른 세포막 酵素에도 영향을 끼친다. Phospholipase A2와 Melittin 사이에 밀접한 상호관계가 있다는 것은 일찍부터 관찰되었다³¹⁾. Phospholipase A2는 Melittin이 함께 존재하는 경우에 인지질 기질에 더 잘 접근하며 상승적으로 적혈구와 합성 인지질 소포나 리소솜에 작용한다^{32,33)}. Melittin은 소포의 융합이나 융해 없이 소포 사이의 인지질 교환을 통해 기질을 보충하여 Phospholipase A2를 활성화시킨다³⁴⁾. 배양된 세포에 Melittin을 첨가했을 때 내인성 Phospholipase A2의 활성이 증가되는 것은 아마도 Melittin이 prostaglandin 합성제한을 촉매함으로써 Phospholipase A2에 대한 정상적 조절기능을 저해하는 것과 관련이 있을 것으로 보인다. 동물 실험상 Melittin은 내인성 Phospholipase A2의 활성을 증가시킴으로써 인지질을 용해시키는데, Melittin의 농도가 높을수록 아라키돈산에서 prostaglandin이 생성되는 양이 적어지며 배양 세포에서 고농도의 Melittin은 prostaglandin 합성을 완전히 차단했다. 낮은 농도의 Melittin에서는 칼슘이 포함된 EDTA가 함께 존재하면 이러한 작용이 관찰되지 않는다³⁵⁾. 이와 반대로 Melittin이 분비성 Phospholipase A2(secretory phospholipase A2; sPLA2)에 결합하여 그의 효소성 활성을 억제함으로써 염증 매개체의 전구물질인 아라키돈산 생성을 막는다는 보고³⁶⁾도 있다. Melittin은 부신피질 자극호르몬(ACTH), 글루카곤(glucagon) 등 다른 펩티드 호르몬보다 103배 강하게 칼슘조절 호르몬인 칼모듈린(calmodulin)에 1:1로 결합하는데 아마 이것도 Melittin이 세포막을 통과해 들어갔을 때 세포를 손상시키는 기전 중 하나일 것으로 보인다. 결국 蜂毒의 독성은 크게 보면 직접 용해소인 Melittin, Melittin에 의해 활성화되는 간접 용해소인

Phospholipase A2의 작용 때문이라고도 할 수 있다⁴⁾.

셋째, Melittin은 痛症 誘發 작용이 다. 蜂毒이 통증을 유발시키는 것은 Melittin 때문이며 이것은 인접한 막전위에 따라 단량체에서 이온운반성 4량체로 Melittin의 구조가 변화되는 것과 관련이 있다³⁷⁾.

넷째, Melittin은 抗菌작용이 있다. 蜂毒에 抗菌작용이 있다는 것은 일찍부터³⁸⁾ 알려져 있었다. 보고에 의하면³⁹⁾ 蜂毒과 Melittin은 30종 세균 중 20종의 성장을 억제하고 蜂毒의 抗菌작용은 주로 Melittin에 의해 일어난다. Melittin 1mg의 抗菌작용은 그람양성균에서는 페니실린 0.1~93단위에, 그람음성균에서는 페니실린 93~1,700단위에 상당하는 작용을 하며 실험에 사용된 그람양성균의 86%, 그람음성균의 46%가 반응을 보였다.

다섯째, Melittin에는 放射能에 저항해 생체를 보호해주는 작용이 있는 것으로 알려져 있다. 蜂毒에는 放射能抵抗性 작용이 있으며 이것은 주로 Melittin에 의한 작용이고, 그 기전은 일종의 適應症候群(adaptation syndrome)으로 생각할 수 있다⁴⁰⁾. 즉 적당한 정도의 스트레스로서 蜂毒이 가해지면 인체가 본래 지니고 있는 자연적인 적응기전이 강화되는 것으로 보인다. 전체 蜂毒을 투여한 경우와 Melittin을 투여한 경우에서 방사선에 노출시킨 실험동물의 생존율을 비교해 보면 전체 蜂毒 투여군보다 Melittin 투여군에서 생존율이 더 높은 것으로 보고되었다⁴¹⁾.

그 외에 Han HJ⁴²⁾는 蜂毒의 Melittin이 토끼 신장의 proximal tubule cell의 Ca²⁺ 흡수와 arachidonic acid 방출을 증가시킨다고 하였으며, Saini SS⁴³⁾는 Melittin이 human monocytic leukemia의 반응을 促進한다고 하였고, Shin SY⁴⁴⁾는 Melittin이 강력한 antibacteria, antimalarial 작용이 있으며 antitumor와 관련이 있다고 하였다.

(2) Apamin

Apamin은 1965년 Habermann과 Reiz에 의해 처음으로 분리되었다. 이것의 분자량은 2,036이며

다른 봉독의 2~3%에 지나지 않지만 그 신경독 작용 때문에 널리 알려져 있다³⁰⁾. 이는 중추성 신경독성 펩티드이며 포유류 조직에서는 말초작용도 강력하다. Apamin은 척수 기능에 심각한 영향을 끼쳐 골격근의 운동성 亢進, 勁縮, 痙攣을 일으킨다. 고용량이 투여되면 주로 호흡부전에 의해 사망을 誘發한다⁴⁾.

Apamin은 항원성 성상을 갖고 있으나 아나필락토젠은 아니다. Apamin의 척수에 대한 작용은 억제성 폴리시냅스 경로보다는 흥분성 폴리시냅스 경로를 더욱 효과 있도록 유도한다.

Apamin에 의해 매개된 norepinephrine과 dopamine의 증가는 Apamin의 약리학적 효과 즉 운동신경 흥분, 전기 작용의 탈동시반응, 혈압증가 등에 관련된 듯하다. serotonin도 이 효과에 관련된 듯하며, Apamin 주입후 시상하부 부위에 serotonin이 3배 정도 증가된다. Apamin의 영향 아래 증가된 부위에 serotonin의 감소는 뇌 구조에 향신경성 약물의 선택적인 효과에 기인한 듯하다³⁰⁾.

그 외에 Lee J⁴⁵⁾는 Apamin은 hypoxia로 誘發된 depolarization을 제거한다고 하였으며, Kwieciën R⁴⁶⁾은 Apamin이 after-spike hyperpolarization을 강하게 減少시킨다고 하였고, Grissmer S⁴⁷⁾는 대부분의 K(Ca) channel이 Apamin에 의해 매우 민감하게 차단된다고 하였다.

(3) MCD Peptide(Peptide 401)

MCD Peptide는 1966년 Fredholm에 의해서 분리되었고, 그 분자량은 2,588이다 1976년 Gauldie 팀에 의해 'Peptide 401'이라고도 불리어진다. 이 Peptide는 비반세포로부터 히스타민을 방출케 하는 Melittin과 Phospholipase A2의 작용보다 더욱더 강력하다³⁰⁾. Phospholipase A2와 Melittin은 피부 비반세포를 용해시켜 histamine 방출을 유도함으로써 histamine성 염증반응을 일으킬 수 있다 세포용해 없이도 과립막과 비반세포 세포막의 융합 후 과립만 세포외유출(exocytosis)시키는 기전으로 비반세포의 과립에 저장되어 있던 histamine 유리를 유도하는 성분

이 蜂毒에 포함되어 있다는 것이 알려졌는데⁴⁹⁾, 이 화합물이 탈과립 펩티드(Mast Cell Degranulating peptide), 즉 MCD Peptide이다. 한편 1969년에는⁵⁰⁾ 염증 모델(carrageenin induced hind-paw edema test)과 관절염 모델(adjuvant arthritis) 동물 실험상 消炎作用을 나타낸 성분이 분리되었고 Peptide 401(peptide 401)이라고 명명되었다. 세포막의 칼슘 관문을 활성화하여 세포의 칼슘의 이용도에 의지해 작용을 나타내는 다른 여러 비반세포 자극물질과 달리 Peptide 401은 세포내에 저장된 칼슘을 이용하는 것으로 알려져 있다⁴⁾.

MCD Peptide 자체의 消炎作用에 대해 이것은 국소적 炎症 유발 작용에 의한 효과일지 모른다는 추정이 있었으나 쥐에 histamine과 serotonin에 대한 길항물질을 사전처치해도 MCD Peptide의 消炎作用은 영향을 받지 않았다는 보고는^{20,51)} 그렇지 않다는 주장을 뒷받침하는 것으로 보였다. MCD Peptide는 쥐에 관절염을 유발시킨 실험에서 炎症의 부종을 용량 의존적으로 감소시키고 관절염의 炎症 반응을 억제시키며 관절염의 진행을 막고 이미 진행된 관절염에서도 증상을 경감시키는 등 강력한 消炎作用이 있는 것으로 보고된 것은 1973년의 일이었다²⁰⁾.

하지만 이전에 보고된 내용과 달리, 1980년 이후 수차례의 보고에 의하면^{52,53,54)} histamine이나 serotonin에 대한 길항 물질로 사전 처치를 하면 동물실험상 유발시킨 관절염의 부종에 대한 Peptide 401의 消炎作用이 거의 차단되었으며 사전에 histamine을 고갈시키는 처치를 한 경우에도 消炎作用이 억제되었다. 그리고 합성 탈과립제(compound 48/80)를 투여해도 부종억제 작용이 나타났으며 사전에 쥐를 선충에 감각시켰다가 다시 이것으로 자극을 준 경우에도 부종 감소 효과가 관찰되었다. 이러한 실험결과에 비추어 보면 Peptide 401은 순수한 소염제로 볼 수 없으며 오히려 비반세포의 histamine 분비를 유도시키는 작용에 의해 촉발되는 미상의 자연적 소염기전에 의해 쥐에서의 부종 감소 효과가 나타나는 것으로 판단되었다⁴⁾.

蜂毒의 消炎作用에 대해 부신을 자극하여 호르몬 분비를 유도하는 기전도 제시되었다. 蜂毒에 함유된 Peptide 401은 消炎作用을 일으키기에는 양이 너무 적어서 Peptide 401이 消炎作用이 있다고 해도 蜂鍼 1회 자극시의 蜂毒에 함유된 양으로는 消炎作用을 나타내기 어려울 것이다. 관절염 동물실험상 蜂毒을 주사하면 혈장 cortisol이 상승되며, 부신을 절제한 쥐에 관절염을 유발시킨 경우에는 蜂毒에 반응을 보이지 않은 것으로 나타났다^{55,56}. 하지만 부신을 절제해도 관절염의 부종 감소 효과에 거의 영향이 없다는 보고도 있었다²⁰. 蜂毒의 消炎作用이 전적으로 蜂毒의 부신피질 호르몬을 증가시키는 작용 때문이라고 볼 수는 없을 것이다. Peptide 401가 비만세포의 탈과립을 유발시켜 분비되는 histamine의 양보다 蜂毒이 투여된 국소의 비만세포가 Phospholipase A2와 Melittin의 독성작용에 의해 손상된 후 유출되는 histamine의 양이 훨씬 많을 것이므로 蜂毒의 작용 기전은 대항자극(counterirritant) 효과로 보는 것이 더 타당할 것이라는 견해가 제시되었다. 예를 들면 적절한 한도 내에서 분비된다면 일정 정도의 histamine 상승은 인체가 본래 지니고 있는 자연적 消炎 기전을 촉발시켜 결과적으로 인체에 유익한 방향으로 작용할 수 있는데 蜂毒의 치료효과는 이런 기전을 통해 얻어지는 것일 수 있다⁴.

쥐 뇌에 MCD Peptide와 친화성이 높은 결합 장소가 알려져 있고 칼륨 채널과 관련 있는 결합 장소에 경쟁적으로 결합하는 것이 관찰되었다. 구조적으로 비슷한 apamin이 칼슘 의존성 칼륨 채널을 차단하는 것으로 보아 MCD Peptide도 특이적인 양이온채널 차단 작용이 있을 것으로 보인다⁵⁷. 또한 MCD Peptide는 해마의 신경에서 시냅스 전도의 장시간 강화효과를 유도한다⁵⁸.

(4) Adolapin (Oa)

消炎作用이 있는 蜂毒의 또다른 성분으로서 1965년에 Oa라는 이름으로 알려졌고⁵⁹ 1982년에 Shkenderov에 의해 새로운 성분이 존재함이 보고되었다. 이것의 분자량은 11,500이다. Adolapin은 抗炎症 작용뿐만 아니라 진통 작용이 있다.

이것의 cyclooxygenase 억제작용이 抗炎症 작용과 진통효과의 기본 기전일 것으로 추측된다. prostaglandin 합성효소의 억제와 비스테로이드성 약물들의 항염증 및 진통작용과의 관계는 잘 알려져 있다³⁰.

대부분의 진통제들은 조직과 뇌의 c-CMP를 증가시키고 c-AMP를 감소시킨다. Adolapin도 적은 용량(20 μ g/kg)에서 c-CMP를 쥐 비장에서는 2배, 뇌에서는 1.4배 증가시킨다. 또한 쥐 비장의 c-AMP를 감소시키는 것을 볼 수 있다. 'tail flick' 시험으로 Adolapin의 진통작용에 대한 것을 볼 수 있다. 물론 중독 해독약인 날록손(naloxone)에 의해서 Adolapin에 의한 진통작용이 부분적으로 억제되는데 이것은 중추적 기전에 의한 것으로 볼 수 있다³⁰.

Adolapin은 다른 항염증약과 유사한 작용으로 열을 떨어뜨리는 해열작용이 있다. 쥐에게서 곱광이에 의해 올라가는 열에 대해 Adolapin은 용량에 따라 그 효과가 다르게 나타난다. 해열작용은 40 μ g/kg 주입시 5시간째 잘 나타나며 62% 효과가 나타난다³⁰.

(5) 단백효소 억제제(Protease Inhibitor)

단백효소 억제제는 1973년 Shkenderov에 의해 처음으로 보고되었으며 트립신(trypsin) 용해 작용을 현저하게 억제한다. 이것의 총량은 乾燥蜂毒의 0.8%이며 분자량은 8,000~10,000이다. 단백효소 억제제들은 중성이나 산성 용액에서 온도상으로 안전하다³⁰. 칼리크레인(Kallikrein)이나 유로키나제(Urokinase)에는 작용하지 못하지만 다른 여러 단백분해 효소에 대해 억제작용이 있다. 이 단백분해효소 억제제가 카라기닌(carrageenin), prostaglandin E1, bradykinin, histamine으로 유발시킨 쥐의 급성 염증성 부종을 40% 정도 억제시키는 消炎作用을 보였다는 보고도 있었다⁶⁰.

(6) Secarpin

Secarpin은 건조 봉독의 0.5%이하로 존재하는 소수 성분이다. 이것은 Gaudie 연구팀에 의해 1976년에 분리되었고 그 특성 및 1차 구조가 결

정되었다.

이 펩티드는 봉독의 다른 어떤 펩티드와 구조적 상동성은 명확하게 없다. 이 펩티드는 포유동물에 무독하며 LD50은 생쥐에 피하주사시 40mg/kg 이상이고 80mg/kg 용량에서는 저온증, 진정작용이 약간 있다. 이 펩티드는 중추 작용과 연관이 있을지도 모른다고 추측되어진다³⁰⁾.

(7) Tertiapin

Tertiapin은 마른 봉독에 0.1% 미만인 소수 성분이며 하나의蜂鍼에서 약 70mg을 공급한다. 1976년 Gaudie 연구팀에 의해 분리되고 그 특성이 보고되었으며 1980년 Ovchinnikov 연구팀에 의해 1차 구조가 결정되었다.

Tertiapin의 생물학적 활성에 대해서는 아직 한정된 정보만을 알고 있다. 이것은 비교적 독성이 없고 MCD Peptide와 유사하며 LD50은 생쥐의 정맥주사시 40mg/kg이다. 이것은 비반세포를 탈과립하기도 하나, 그 효력은 MCD Peptide에 비하면 약 20% 정도에 지나지 않는다³⁰⁾.

(8) Procamine

Procamine은 유일한 특징인 C-말단에 histamine을 부착한 2개 또는 3개의 동질성 펩티드의 그룹을 말한다. 이것은 1968년에 분리되었고 그 아미노산 순서도 결정되었다. 이들은 천연물에서 발견된 첫번째 histamine 함유 펩티드이다. 이 펩티드의 생물학적 활성은蜂毒의 방사선 보호 성질과 관련되어 있다³⁰⁾.

3) 저분자량 비펩티드 성분

(1) 생물성 아민(Biogenic Amines)

蜂毒 속에는 질소기를 가진 네 가지 성분이 발견되었다. 이들 중 histamine만이蜂毒 자체 내에서 발견되며 dopamine, norepinephrine, serotonin 등은毒腺 및毒囊의 연구에서만 볼 수 있다.

① 히스타민(Histamine)

건조蜂毒의 0.5~0.7% 정도 들어있다. 이것의 독성은 포유동물에서 다양하며 일반적으로 생쥐에서는 매우 낮다(LD50 1,300mg/kg).蜂毒 속에

들어있는 histamine이 벌침에 나타나는 생리학적 반응에 관여된다고도 할 수 있으나 이 용량이 아주 낮으므로 Melittin, Phospholipase A2, MCD Peptide에 의한 비반세포 파괴 중에 방출되는 histamine양과 비교할 때는 아주 미미하다³⁰⁾.

② 도파민(Dopamine)

꿀벌의毒囊에서 발견되는 dopamine의 수치는 계절과 꿀벌의 나이에 따라서 다르다. 20~25일된 꿀벌에 가장 많이 들어있다(1,500±200ng/venom sac) 이 아민은 일반 신경전달 물질로 알려져 있고 어떤 곤충의 중추에 전달체로서 작용을 하나 이런 용량에서는 포유동물에는 거의 작용이 없다³⁰⁾.

③ 노르에피네프린(Norepinephrine)

꿀벌의 독낭에서 발견되며 그 용량은 나이에 따라 달라지며 약 40일된 꿀벌에 가장 많이 들어있다(1,880±170ng/venom sac). 이런 용량은 포유동물에 있어 현저한 약리학적 효과를 산출하기에는 불충분하지만 어떤 곤충에 대해서는 아주 유효하게 작용할 수 있다³⁰⁾.

④ 5-하이드록시트립타민(5-Hydroxytryptamine = Serotonin)

1972년 Crzcki에 의해 꿀벌 독선의 상피세포 내에서 5-Hydroxytryptamine이 극소량 들어 있는 것이 확인되었다³⁰⁾.

(2) 아미노산(Amino Acid)

1968년 Nelson 및 O'Connor는蜂毒에서 19개의 유리 아미노산이 있는 것을 발견했다. 이것의 총량은 건조蜂毒의 1% 미만이다³⁰⁾.

(3) 탄수화물(Carbohydrates)

1967년 O'Connor 및 공동 연구자에 의해서蜂毒 속에 2개의 탄수화물이 발견되었다. 하나는 포도당(Glucose)이며, 건조蜂毒의 0.7%를 차지하고 또 하나는 과당(Fructose)으로 건조蜂毒에 0.9% 정도 존재한다³⁰⁾.

(4) 지질(Lipids)

1967년 O'Connor 팀에 의해서 보고된 바에 의하면 蜂毒에는 다섯 내지 여섯 종류의 지질이 들어있고 건조 蜂毒에 약 5% 정도 존재한다.

(5) 기타

1959년 Neuman 및 Habermann에 의해서 蜂毒 속에 아세틸콜린이 극소량 들어있는 것이 보고되어 있다³⁰⁾.

2. 蜂毒의 抗炎症 작용

蜂毒의 抗炎症 작용에 대해서는 1992년^{61,62)} 이래 지속적으로 연구가 발표되고 있다. 蜂毒의 消炎鎮痛 작용은 비교적 오래 전부터 관심을 받아왔지만 蜂毒에서 분리한 Peptide 401이라는 성분이 염증, 관절염 모델 실험동물에서 消炎作用이 있었다는 발표는(1969)⁵⁰⁾ 蜂毒 특히 Peptide 401의 消炎作用에 대해 관심이 모아지는 계기가 되었다. 이후 관련 연구가 계속 발표되었고, 그 기전에 대해서도 대항자극효과, 부신피질 자극효과, 면역계에 대한 조절작용, 대식세포와 인터루킨 생산 억제효과, 항산화작용, 자유기를 제거하는 작용, 유전자 발현(AGP)에 끼치는 영향 등으로 다양하게 연구되었다. 蜂毒의 消炎鎮痛 작용 기전에 대해서는 부신피질 자극효과, 대항자극효과(counterirritant effect), 기타로 크게 나누어 생각해 보기로 한다.

1) 부신피질 자극효과

부신피질에서 분비되는 corticosteroid는 세포막의 phospholipase의 작용을 저지하여 아라키돈산의 생성을 차단함으로써 抗炎症 작용을 나타낸다⁶³⁾

초기 연구에서는 蜂毒이 부신피질 자극효과로 消炎作用을 나타낸다고 보았으나 계속된 연구에 의해 부신피질 자극 효과만으로는 蜂毒의 작용기전을 설명하기 부족하다는 것이 여러 차례 지적되었다. 연구자에 따라 부신을 절제한 상태에서 Peptide 401에 의한 쥐에서의 염증 억제 효과가 큰 변화 없이 유지되거나²⁰⁾ 혹은 작용이 약화

되기는 했지만 여전히 消炎效果를 나타내는 것으로 나타났다⁵¹⁾. 따라서 부신피질 호르몬 분비를 자극하는 기전으로는 蜂毒의 消炎作用 중 일부 효과를 설명할 수 있는 것으로 볼 수 있다.

한편 蜂毒이 관절염의 진행을 정지시키는 것은 부신피질 호르몬과는 다른 작용 기전을 통해 작용하며 그 기전을 뇌하수체-부신피질 축을 자극하는 것으로 보는 것은 무리가 있으며, 오히려 항원 자극에 의한 면역계의 변화 가능성을 비롯하여 다른 기전이 복합적으로 관여하고 있을 것으로 추정할 수 있다⁶⁴⁾. 생리학적 관점에서는 cortisol이 蜂毒의 면역반응성에 의해 분비된다고 보았다. 즉 항원에 대해 자극을 받은 단핵구에서 분비되는 IL-1과 IL-6가 시상하부에서 CRH분비를 자극하거나, 감염시에 대식세포로부터 분비되는 TNF가 직접 뇌하수체를 자극하여 ACTH분비를 촉진하여 cortisol이 분비된다고 보았다. 또한 T-cell에서 분비되는 IL-2가 직접 또는 간접적으로 ACTH분비를 촉진하여 cortisol이 분비되기도 한다^{65,66)}.

2) 대항자극효과

Peptide 401도 초기 연구와 나중의 연구가 다르게 나와 현재는 최근의 연구 결과를 따르고 있다.

1969년⁵⁰⁾ 이래 Peptide 401은 그 자체에 소염 작용이 있다는 발표들이 있었다^{20,51)}. 이에 의하면 Peptide 401을 투여하면 histamine, serotonin, prostaglandin, bradykinin 등에 의한 혈관투과성 항진을 억제하고 실험적으로 유발시킨 쥐의 관절염 부종도 억제했다. 그리고 혹시 국소적 염증 유발작용 때문에 소염효과가 있었는지 확인해 보기 위해 10ng-100 μ g/ml 범위의 MCD Peptide와 Melittin이나 합성 탈과립제(compound 48/80)를 비교해 보았으나 MCD Peptide 만이 혈관투과성 항진을 억제하거나 관절염 부종을 억제하는 작용이 나타났다. 사전에 histamine이나 serotonin의 작용을 차단하는 처치를 한 경우 합성탈과립제(compound 48/80)나 MCD Peptide의 소염, 혈관투과성 항진작용은 억제되나 MCD Peptide의 消

炎作用은 거의 영향이 없었다. 하지만 나중의 보고에 의하면^{52,53)} histamine과 serotonin의 작용을 차단하는 사전처치를 했을 때 Peptide 401의 消炎作用이 억제되는 것이 확인되었고 합성 탈과립제(compound 48/80)나 선충에 감각시켜 자극한 경우에도 부종감소 효과가 관찰되었다. 또한 자극제와 Peptide 401을 함께 쥐 뒷발에 주입했을 때의 효과를 관찰해 본 결과 Peptide 401은 消炎作用은 없었으며 오히려 카라기닌이나 합성 탈과립제(compound 48/80)처럼 강하지는 않았지만 炎症을 유발시키는 작용이 있었다. 만일 Peptide 401이 순수한 消炎作用을 가지고 있다면 자극제와 함께 주입했을 때 그 자극제로 인한 炎症을 억제시켜야 한다. 이것을 근거로 보면 MCD Peptide는 비만세포에서의 histamine 분비를 유도하는 염증유발 자극을 일으키며 MCD Peptide의 消炎作用은 대항자극효과에 의한 것으로 판단되었다. 蜂毒이 투여되면 Peptide 401의 탈과립 반응에 따라 분비되는 histamine 등의 양보다 훨씬 많은 양이 Phospholipase A2와 Melittin의 독성 작용에 의해 손상된 국소조직의 여러 비만세포로부터 분비되며 Peptide 401에 의해 분비된 물질보다 더 큰 영향을 끼칠 수 있다. 이런 식으로 蜂毒의 치료작용도 전체적으로 대항자극효과에 의한 것으로 볼 수 있다는 의견이 제시되기도 했다⁵⁴⁾.

蜂毒이라는 고전적인 자극에 반응하여 인체의 자연적 방어기전이 다시 일깨워지고 활성화되기 때문에 蜂毒의 치료효과가 나타나게 된다⁶⁷⁾. 유해자극이 지나치게 강하면 인체에 해를 끼치지만 적절한 정도라면 인체의 자연치유기전을 자극시켜 오히려 치료라는 유익한 결과를 가져올 수 있다.

3) 기타

혈장이나 세포에 炎症 자극이 있으면 화학적 炎症 매개물이 유리되고 혈관과 세포의 炎症에 대한 반응에 상당한 영향을 끼치게 된다⁶⁸⁾ 炎症 반응의 화학적 매개물은 크게 4개 군으로 나눈다. 첫째는 혈관작용성 아민으로서 histamine과 serotonin이다. 둘째는 혈장 단백질분해효소로서

bradykinin이나 kallikrein 등 키닌계, 보체계 그리고 응집-섬유소 용해계이다. 셋째는 아라키돈산(arachidonic acid)의 대사산물로서 사이클로옥시제나제(cyclooxygenase) 경로의 엔도퍼옥시드(endoperoxide), 프로스타글란딘(prostaglandin, PG), 트롬복산(thromboxane, TX) 등이 있고, 리폭시지나제(lipoxygenase) 경로의 HPETE, HETE, 류코트리엔(leukotriene, LT) 등이다. 넷째는 리소좀 성분으로서 산소유도 자유기(oxygen derived free radicals), 사이토카인(cytokine), 혈소판 활성화 인자(PAF, platelet activating factor), 성장인자(growth factor) 등이 있다. 炎症이 발생할 때 Phospholipase A2가 세포막의 인지질에 작용함으로써 생기는 아라키돈산의 대사과정은 크게 2가지 경로를 밟는다. 즉 아라키돈산에 사이클로옥시제나제(cyclooxygenase)가 작용하면 유리산소기와 prostaglandin, thromboxane 등이 생기며, 아라키돈산에 리폭시지나제(5-lipoxygenase)가 작용하면 5-HETE, 류코트리엔 등이 생긴다. 소염제는 이 대사과정을 차단하는 작용을 한다. 부신피질 스테로이드(corticosteroid)는 세포막 인지질에서 Phospholipase의 작용으로 아라키돈산이 생기는 과정을 차단하며, 아스피린(aspirin), 인도메타신(indomethacin) 등 비스테로이드성 소염제(NSAID)는 아라키돈산에 사이클로옥시제나제(cyclooxygenase)가 작용하여 prostaglandin 등이 생성되는 과정을 차단한다. 염증반응 과정에서 분출되는 산소유도 자유기는 혈관 내피세포를 손상시켜 혈관투과성을 항진시키고 항단백용해 효소를 비활성화시켜서 결국 조직이나 세포 단백질의 파괴가 촉진되고 여러 세포가 손상된다. 하지만 인체의 정상적인 혈장, 조직액 등에서는 자체 방어기전이 항산화작용을 하고 있어서 건강한 상태에서는 대사과정에서 산생되는 유해 자유기에 의한 손상이 최소화된다. 결국 염증시 유해산소에 손상을 입게 되는지의 여부는 염증 조직세포에서 나오는 유해산소 대사산물의 작용과 이들 유해산소 대사산물을 비활성화시키는 신체의 저항작용 사이의 균형이 잘 유지되는지에 달려 있다고 할 수 있다.

蜂毒에 대해서도 세포막의 인지질이 분해되어

아라키돈산으로부터 prostaglandin 등 대사산물이 생성되기까지의 대사과정을 차단함으로써 消炎作用이 나타난다는 견해가 있었다. 생체의 실험상 Peptide 401이 아라키돈산으로부터 prostaglandin E가 생합성되는 과정을 차단하는 것이 관찰된 바 있으며⁶⁶⁾ 생체 실험에서 Melittin은 내인성 Phospholipase A2의 활성을 증가시킴으로써 인지질을 용해시켰으며 Melittin의 농도가 높을수록 아라키돈산에서 prostaglandin이 생성되는 양이 적어지고 배양세포에 고농도의 Melittin을 접촉시키면 prostaglandin 합성이 완전히 차단된다고 한다⁷⁰⁾. 반면 1997년에 발표된 논문에 의하면, Melittin이 Phospholipase A2와 결합하여 Phospholipase A2의 활성화를 막음으로써 염증 매개체의 전구물질인 arachidonic acid의 생성을 막아 抗炎症 작용을 나타낸다고 하였다³⁶⁾. 그리고, Melittin이 calmodulin과 결합하여 calmodulin이 Phospholipase A2를 활성화⁷¹⁾하는 것을 억제한다고도 한다.

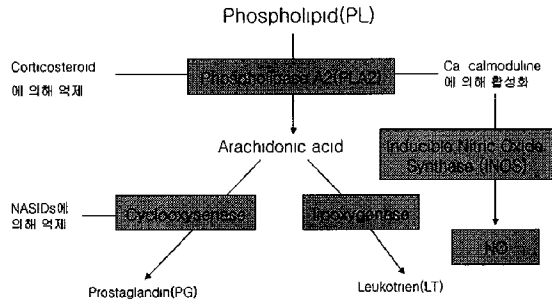
한편 蜂毒의 Oa, adolapin 성분이 아라키돈산 대사과정을 차단한다고 발표된 적이 있으나 이 성분은 아직 입증되지 않은 상태이다. 일찍이 1965년에 봉독의 Oa 성분이 사이클로옥시제나제(cyclooxygenase)를 억제하며 진통효과가 있다고 발표되었다⁵⁹⁾. adolapin은 고양이 비장 미소체의 cyclooxygenase를 억제하는 기전을 통해 鎮痛作用과 消炎作用을 나타내며⁷²⁾ 解熱作用도 있는데 그것은 뇌 prostaglandin 생합성을 억제하기 때문으로 생각되었다⁷³⁾ 또한 adolapin은 카라기닌(carrageenin)으로 유발된 炎症浮腫에서의 prostacyclin이나 thromboxane A2 농도상승을 억제하고 cyclooxygenase 활성도 60~80% 정도 억제하는 것으로 보고되었다⁶⁰⁾.

蜂毒의 消炎作用은 자유기(free radicals)에 대한 영향으로 설명하기도 한다. 과산화물, 수산화기 등 산소기(oxygen radicals)는 호중구가 박테리아를 죽일 때나 아라키돈산의 대사과정 등에서 생리적으로 필요하고 또 필연적으로 발생된다 하지만 제대로 처리되지 않을 경우 세포막 지질을 과산화시키거나 핵산염기를 수산화시켜 신체를 손상시킬 수도 있다. 평소 체내에는 산화제와 항

산화제 사이에 미묘한 균형이 유지되고 있다. 이 균형이 깨지면 조직이 손상되어 여러 병증이 유발될 수 있고 특히 지속적으로 면역계를 자극하고 세포를 손상시킴으로써 만성염증이 유발되기도 한다⁷⁴⁾. 蜂毒은 사람 다형핵 백혈구에서 과산화물, 과산화수소의 생산을 용량 의존적으로 억제하며, 최대효과를 나타내는 용량은 독성을 나타낼 수 있는 10 μ g/ml보다 충분히 작은 용량인 1.5 μ g/ml인 것으로 확인되었다⁷⁵⁾. 특히 蜂毒의 성분 중 apamin, Phospholipase A2, Peptide 401 등에서는 O₂⁻ 생산을 억제시키는 작용이 관찰되지 않았으나 Melittin에서는 다형핵 백혈구에 독성 없이 직접적으로 작용해 용량 의존적으로 O₂⁻ 생산을 억제시키는 작용이 관찰되었으며, 이것은 Melittin이 과산화물 생성과정에 깊이 관련된 세포막의 어떤 물질과 상호작용하기 때문으로 보인다는 보고가 있었다⁷⁶⁾. 蜂毒을 투여하면 지질의 과산화가 거의 완전히 차단되고 수산화기(OH⁻)가 제거되며 이에 비추어볼 때 蜂毒이 消炎作用을 하고 관절염을 치료하는 기전에는 항산화작용도 일정한 역할을 하고 있는 것으로 보인다⁷⁷⁾.

막을 안정화시키는 기전으로 蜂毒의 消炎作用을 설명한 연구도 있었다. Peptide 401은 질량대비로 볼 때 histamine에 의한 리소좀 막 손상을 막는 효능이 살리실산염보다 2배나 강력하며²⁰⁾ 저용량 Melittin은 리소좀 막을 안정화시켜 消炎作用을 나타낸다는 보고도 있었다⁷⁸⁾. 하지만 이미 살펴본 것처럼 Melittin은 그 자체로 직접 세포막 활성 즉 계면활성제적 성질이 있어서 각종 막에 직접 작용해 투과성을 증가시키는 등 구조적·기능적 변화를 유발시킨다. 전체 蜂毒으로 보면 특히 고용량일 경우 세포막의 안정성을 파괴하는 작용이 현저해서 사용상 주의가 요망된다. 적혈구가 열 용혈효과 측정 실험상 봉독액을 투여했을 때 농도 의존적으로 용혈작용이 증가된다⁸⁾.

Eicosanoid의 생합성



4) 최근의 연구 경향

최근 蜂鍼을 이용한 抗炎症 기전에 대한 연구로 송⁷⁹⁾은 NO, H₂O₂, IL-1에, 하⁸⁰⁾는 PLA₂, COX-2, iNOS, AA 및 PG에, 윤⁸¹⁾은 PLA₂ 및 Calcium Concentration에, 김⁸²⁾은 iNOS, TNF- α 및 NF- κ B에 심⁸³⁾은 COX-2, p38, EPK 및 JNK에 蜂鍼이 미치는 영향들이 보고되었다.

炎症을 유발시키는 기전으로 세포에 LPS (lipopolysaccharide), SNP(sodium nitroprusside) 등의 자극에 의해 IL-1(interleukin-1), TNF(tumor necrosis factor), IL-6(interleukin-6) 같은 炎症性 cytokine이 분비됨에 따라 NF- κ B(nuclear factor kapp. a B), iNOS(inducible nitric oxide synthase), TNF- α , COX-2(cyclooxygenase-2)의 발현 등에 관련되어 炎症이나 細胞消滅이 유발되는 것으로 알려져 있다. NF- κ B의 활성화는 炎症 반응에 관여하는 COX-2 및 신경세포의 산화적 손상을 유발하는 NO 등을 생성하는 iNOS의 발현과 관련되어 있다⁸³⁾. NO는 수용성 free radical gas로서 혈관내피세포 뿐만 아니라 대식세포나 뇌의 특수한 신경세포에서도 생성된다 이는 NO synthase(NOS)의 작용에 의해 생성되는데, NOS에는 두 가지 형태가 있다. 혈관내피세포나 신경세포의 NOS는 세포질내에 정상적으로 존재하고 있으며, calmodulin 존재하에 세포질내의 칼슘이온이 증가하면 활성화되므로 세포내로의 칼슘의 유입은 빠른 NO의 생성을 일으킨다 이와는 대조적으로 대식세포내의 NOS는 cytokines(IFN- γ 등) 또는 다른 물질에 의해 활성화될 때 만들어지는 것으로서 칼슘의 세포내 증가를 필요로 하지 않는

다. 혈관 평활근 이완뿐만 아니라 NO는 혈소판 응집과 유착을 감소시키므로 염증 반응에서도 중요한 역할을 한다 대식세포에서 생성된 NO는 free radical로 작용하는데, 이는 몇몇 미생물이나 종양세포에 세포독작용을 일으킨다⁸³⁾.

細胞消滅에 관여되는 물질로는 ERK(extra-signal response kinase), JNK(jun N-terminal kinase) 및 p38 kinase로 구성된 MAP kinase가 있다고 알려져 있다 MAP kinase 신호전달계는 세포가 외부의 환경변화에 따른 자극들을 인지하여 그 정보를 세포질 및 세포핵 내부로 전달하는 과정에 관여하는 대표적인 신호전달계이다. 특히 세포의 成長, 發生, 分化, 死滅 등의 조절기전에 관여한다고 알려져 있다

細胞消滅과 炎症에 관련하여 JNK와 p38 MAP kinase보다는 ERK/MAP kinase pathway에 관한 연구가 많이 진행되고 있으며, 실제로 세포주에서 항암제가 ERK/MAP kinase pathway를 통하여 세포소멸을 유발한다고 보고되고 있다.

蜂鍼이 細胞消滅과 炎症에 관련되는 물질들에 영향을 줄 수 있는 기전은 아래 도식으로 표현할 수 있다⁸³⁾.

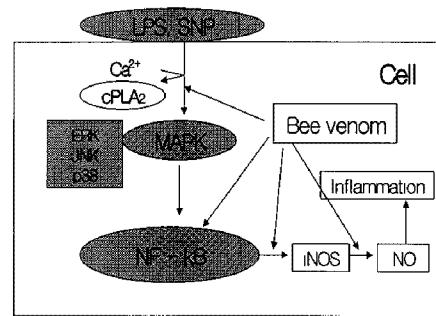


그림 The Pathway of Inflammation related with NO, iNOS, MAP kinase and Bee Venom

이상을 토대로 강⁸³⁾ 등은 蜂毒과 그 주성분인 melittin이 세포소멸 및 炎症에 미치는 영향을 연구하기 위하여 RAW 2647 세포에 LPS, SNP로 細胞炎症을 유발한 후 실험한 결과, 細胞炎症 機轉의 지표로 알려진 NO, iNOS와 MAPK family인 ERK, JNK 및 p38의 상승을 蜂毒과 melittin

이 억제함을 밝혔다.

III. 考 察

蜂毒이란 꿀벌의 毒囊에 들어있는 約 40여 가지의 有效成分으로 構成된 物質로 炎症, 알러지 등을 誘發하는 作用이 있으나 臨床에서는 鎮痛, 解熱, 消炎, 鎮痙 및 免疫 增強 및 抗癌 作用 등의 效能이 있는 것으로 알려져 있다³⁰⁾.

蜂毒의 成分은 크게 Enzymes, Peptide components, Non peptide components로 構成되어 있으며⁸⁴⁾, 이중 Enzymes의 主要成分으로는 Phospholipidase A2와 Hyaluronidase를 들 수 있다⁸⁵⁾.

Enzymes 중 Phospholipase A2는 間接的 分解 酵素로 作用하여 Phospholipid의 細胞膜을 分解하고, 다른 細胞膜 融解酵素의 作用을 誘導함으로 脂肪酸의 分解에 最初의 連鎖反應을 誘導하는 物質이 된다. Hyaluronidase는 細胞膜의 가장 表層에 자리잡고 있는 mucopolysaccharide의 構成成分인 Hyaluronic acid를 加水分解하는데 觸媒로 作用하여 蜂毒의 擴散을 도와준다.

Peptide components는 건조 蜂毒의 약 50%를 構成하고 있으며, 主要成分으로는 Melittin, Apamin, MCD peptide를 들 수 있고, 이들은 蜂毒의 特性을 說明하는데 큰 역할을 하고 있다. 그 중에서 가장 많이 분포하는 Melittin(40~50%)은 26개의 amino acid로 構成된 活性 peptide로 크게 溶血作用과 酵素作用을 하고 있다^{86,87)} 溶血作用에서는 Phospholipase A2와 상승적으로 作用하여 서로의 活動성을 增加시켜 주며 酵素 作用에서는 뇌하수체와 부신피질체계를 자극하여 catecholamine과 cortisone 분비를 促進시킨다. Melittin은 Phospholipase A2의 세포막에 대한 間接적 분해 作用으로 세포 내부에 저장된 物質을 공격한다. 또한 특이한 mast cell에서 histamine을 방출시켜 말초혈관의 혈류를 增加시켜 毒症 成分을 확산시키는 作用을 도와준다. histamine의 방출을 도와주는 것이 炎症 反應을 誘發할 수도 있으나 자연스런 抗炎症 反應은 조직의 histamine level을 어느 정도 增加시켜야 그

시발점이 이루어지므로 반드시 필요약은 아니며 이것이 蜂毒으로 炎症性 질환이나 기타 질환에 오랫동안 응용되어진 治療기전이 아닌가 하는 생각이 든다. 활성 peptide로 製劑처럼 강한 界面활성 作用이 있고 물에도 기름에도 모두 섞일 수 있는 친화성을 갖고 있으므로 다른 세포막에 대해서도 막의 투과성을 변화시키는 작용도 있다⁸⁸⁾

또한 혈중 분포가 낮은 때는 ($0.5 \times 10^{-10} \sim 0.5 \times 10^{-11} \text{g/ml}$)으로 Blood Viscosity를 減少시키고, 높을 때는 ($0.5 \times 10^{-5} \sim 0.5 \times 10^{-6} \text{g/ml}$)으로 Blood Viscosity를 증가시키는 것을 현미경적 분석으로 확인할 수 있는데 이는 혈액 순환계질환에 치료적이면서 독성적인 양면성을 지니고 있다. 또한 대식세포의 이동을 강하게 억제하며 lysosome 세포막을 안정시켜 炎症을 억제한다.

Apamin은 신경계에 作用하는 peptide로서 calcium-potassium의 결합에 변화를 주어 중추 신경 및 말초신경에 영향을 미친다. 과량($0.5 \text{ml}/100 \text{g}$)을 혈관내에 주입하면 Skeletal muscle에 경련을 유발하고, 더 많은 양을 주입하면 호흡부전을 일으키며 뇌혈관계의 방어기전을 뚫고 뇌의 단백질에 영향을 미쳐 혼수를 일으키고 사망하게 된다 ($\text{LD}_{50}=4 \text{mg}/100 \text{mg}$). 그러나 Apamin의 선택적 목표물과 신경계에 영향을 미치는 기전은 아직 밝혀지지 않았으며 말초신경계 또한 중추신경계의 영향과 비슷하여 평활근의 경련을 유발한다⁸⁹⁾. Melittin과 Apamin은 cortisone분비를 증가시켜 消炎效果를 나타내고 시상하부에 serotonin의 증가를 유도하여 면역체계를 억제하는 특성을 갖고 있는데, 蜂毒의 인체 면역기능에 대한 기전은 아직 연구중에 있다.

MCD peptide는 Mast cell의 溶解와 Histamine 확산을 증가시키는 作用이 있어, 喘息, 發熱 등의 allergy 유발에 관여한다고 보고되었다. Apamin과 MCD peptide는 세포면역학적 실험과 동물실험에서 뇌하수체와 부신피질을 흥분시켜 免疫機能을 증가시키고 Prostaglandin E가 Prostaglandin으로 합성되는 것을 억제하여 鎮痛, 消炎 效果를 나타내며, 거핵세포의 이동을 억제하고, 혈장단백질의 변성을 억제하며, 백혈구의

食作用을 억제하고, 혈장의 纖維化를 저하시키는 효능이 입증되었다⁹⁰⁾.

Non peptide components의 主要成分⁹¹⁾은 Histamine, Dopamine, Noradrenaline으로 구성되어 있는데, Histamine은 한 마리의 벌에 약 1.8~2.0 μ g이 함유되어 있으며 부교감신경 흥분제인 Acetylcholine과 유사한 작용을 한다. 즉, 평활근과 기관지 및 위장관을 수축시키고 모세혈관을 확장시켜 혈압 강하를 초래하며, 체내의 Histamine 수용체에 결합하여 Allergy를 유발한다고 믿어진다. 이에 過敏反應을 일으킬 경우 抗 Histamine제 의 복용이나 脫感作療法이 필요하게 된다(LD50=27mg/100mg)

Dopamine은 Norepinephrine의 전구물질로서 광범위한 생물적 작용을 하며, Noradrenaline은 α, β 수용체에 작용하여 혈관수축작용과 출혈방지, 炎症의 腫脹分泌를 감소시키고 유해한 약물의 흡수도 감소시킨다⁹¹⁾.

炎症이 일어나는 과정은 감염성 물질(infectious agents), 허혈(ischemia), 항원~항체 반응, 열 또는 다른 신체적인 상처 등과 같은 수많은 자극에 의하여 유도되는 일련의 반응을 수반한다. 炎症 반응에는 紅斑(erythema), 浮腫(edema), 壓痛(tenderness), 痛症 등의 임상증상이 나타나며 각각의 다른 기전에 의해 매개되는 명확한 세 단계로 일어나게 된다 첫째 국소적인 혈관확장(vasodilation)과 모세혈과 투과성 증가가 특징인 급성, 일과성 단계(acute, transient phase), 둘째, 백혈구(leukocytes)와 식세포성 세포(phagocytic cells)의 침윤이 특징인 지연성, 아 급성 단계(delayed, subacute phase), 셋째, 組織變成(tissue degeneration)과 纖維化(fibrosis)가 일어나는 만성, 증식성 단계(chronic, proliferative phase)로 일어난다. 그 외 많은 다른 기전들이 炎症반응의 과정에 수반된다⁹²⁾. 炎症 소견 중 redness와 heat는 혈류량의 증가 때문이고, swelling은 vascular permeability의 증가 때문이며, pain은 primary afferent nerve fibers의 activation과 sensitization 때문이다.

炎症 및 통증에 관여한다고 알려진 prostaglandin이 생성되는 기전은 세포내 calcium을 증가시키면

phospholipase A2를 활성화시켜 세포막의 인지질(phospholipid)로부터 arachidonic acid를 생산하고 이러한 세포내 arachidonic acid는 cyclooxygenase(COX)에 의하여 prostaglandin을 생산한다. Phospholipase A2는 인간에게 炎症성 질병을 유발시키는 효소로 알려져 있어 이의 효과적인 저해제는 치료제로 개발될 수 있다.

Phospholipase A2는 membrane에 존재하는 Phospholipid의 sn-2 acyl ester 결합을 가수분해하여 free fatty acid와 lysophospholipid를 생성하는 효소로서 생체 내에서 다양한 생리작용에 관여하고 있다. Phospholipase A2의 분해산물인 lysophospholipid는 platelet-activating factor (PAF)의 전구물질이며, free fatty acid 중에서 arachidonic acid는 세포내에서 COX와 lipoxygenase의 작용을 받아 prostaglandin, thromboxane, leukotrience으로 변환되며 이러한 eicosanoid들은 배란, 혈소판 응집, 신장 수분평형 및 면역작용 등을 포함하는 다양한 생리기작에 관여한다.

Phospholipase A2는 생체내에서 크게 분비형(secretory form)과 세포질형(cytosolic form)으로 나누어지며, 또한 calcium에 의해 효소활성이 영향을 받는 성질에 따라 calcium independent Phospholipase A2로 나누어진다. cPLA2 (cytosolic Phospholipase A2)는 85~110 kD의 분자량을 가지며 인산화에 의하여 활성화되고 세포질의 칼슘 농도의 상승에 따라 세포막으로부터 부착되어 arachidonic acid를 유리한다. cPLA2는 sn-2의 위치에 arachidonic acid를 포함한 기질에서 10 배정도 더 높은 친화력을 가지기 때문에 prostaglandin 합성을 포함하는 반응 촉진제에 의한 신호 전달 과정에 중요한 역할을 할 것으로 생각하고 있다 sPLA2(secretory phospholipase A2)는 14~17 kD의 작은 분자량을 가지고 있으며 활성화를 위하여 mM 수준의 칼슘 농도를 요하며 sn-2 위치에 선택도가 뚜렷한 cPLA2와는 달리 sn-2 이외의 위치에 결합된 arachidonic acid도 유리시키는 specific activity가 보다 강력한 isoform이다.

Prostaglandin은 통증과 염증에 관여, 위장관계 점막에서 세포보호, 신장 혈류량과 기능 유지, 그리고 신체의 평형 유지 등에 매우 중요한 역할을 한다⁹³⁾.

PGE₂(Prostaglandin E₂)는 COX 활성화에 따른 주요 산물로서 염증 질환, 자가면역질환 그리고 종양성 질환의 병리에서 중요한 역할을 하며, 특히 염증 반응의 중요한 매개물질로 작용한다⁹⁴⁾. 비스테로이드성 소염제(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, 이하 NSAIDs)는 COX를 억제함으로써消炎과鎮痛 효과를 보인다고 보고한 이후 그 작용기전에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. COX는 arachidonic acid를 불안정한 중간물(intermediate)인 PGG₂(Prostaglandin G₂)와 PGH₂(Prostaglandin H₂)로 변환시키며, 이 효소는 현재 COX-1과 COX-2의 두 가지 형태로 존재하는 것으로 알려져 있다⁹⁵⁾. COX-1(cyclooxygenase type 1; constitutive form)은 조직의 구성 요소이며 위장관계를 포함한 조직에 산재한다. 각 조직에서 혈류(vascular flow)의 유지, 세포분화(cell division), 점액(mucus)과 중탄산염(bicarbonate)의 생성 등에 관여하는 국소적인 prostaglandin의 양을 조절한다. 이러한 COX-1의 활성을 NSAIDs가 저해함으로써 통증은 억제하지만 위장관과 신장의 부작용 및 항혈소판 작용(antiplatelet activity)이 나타난다. 반면에 COX-2는 뇌와 신장에서 주로 발견되며 일부 염증성 세포(inflammatory cell)에서도 발견되고, 특히 염증부위에서 유도된다. 그 염증부위에서 고농도의 prostaglandin은 염증과 통증의 매개물질로서 중요한 역할을 한다. COX-1은 염증부위에서 거의 유도되지 않으므로 COX-1의 억제작용은 거의 없는 선택적인 COX-2 저해제를 고안하게 되었다. 선택적인 COX-2 저해제는 염증과 통증을 감소시킬 수 있는 반면에 COX-1에는 영향을 끼치지 않기 때문에 위장관계에는 안전한 것으로 제시된다⁹⁶⁾. 현재 사용되는 거의 대부분의 NSAIDs는 COX-1과 COX-2를 비선택적으로 억제하거나 또는 구성요소인 COX-1에 약간의 선택성을 갖고 있는 제제들이다⁹⁷⁾. 이 NSAIDs의

사용으로 인하여 부작용이 빈번하게 발생한다. 따라서 NSAIDs의 抗炎症 효과 및 진통효과와는 비슷한 효능을 가지면서도 이러한 NSAIDs에서 흔히 나타나는 위장관 부작용은 없는 선택적인 COX type 2 저해제(selective inhibitors of COX-2)가 이미 개발되어 임상에 사용되고 있다. 蜂毒은 정⁹⁸⁾이 행한 실험에 의하면 sPLA₂, COX-1의 mRNA의 발현을 억제시켜 抗炎症 작용을 나타낸다고 하였다. 또한 황⁹⁹⁾의 실험에서는 봉독이 COX-2 mRNA의 발현을 선택적으로 억제한다고 하였다.

또한 iNOS는 arginine에서 NO를 생성시키는 효소로, 관절염에서 많이 증가되는데 이 NO는 COX-2의 활성을 촉진하며 염증시기에 동반하는 물질인데, 이¹⁰⁰⁾의 실험에 의하면, 國産蜂毒과 精製蜂毒 藥鍼液이 활액세포의 COX-2 및 iNOS mRNA의 발현을 억제함으로써 抗炎症 효과를 나타낸다고 하였다.

염증 반응에는 IL-1, TNF- α 와 같은 cytokine도 관여하는데 이¹⁰¹⁾는 蜂毒藥鍼液 자극에 의해 TNF- α 와 IL-1 receptor가 유의하게 억제되었다고 보고하였다.

이외에도 염증에 관여하는 것으로 AGP(α -acid glycoprotein)가 있는데, AGP는 granulocyte, monocyte, lymphocyte의 막표면에 존재하는 것으로 염증 발현과 관련있는데 蜂毒이 이를 억제함으로써, 면역체계에 관여하여 염증을 억제한다¹⁰²⁾는 논문도 있다.

최근 蜂藥鍼을 이용한 抗炎症 機轉에 대한 연구로 송⁷⁹⁾은 NO, H₂O₂, IL-1에, 하⁸⁰⁾는 PLA₂, COX-2, iNOS, AA 및 PG에, 윤⁸¹⁾은 PLA₂ 및 Calcium Concentration에, 김⁸²⁾은 iNOS, TNF- α 및 NF- κ B에 심⁸³⁾은 COX-2, p38, EPK 및 JNK에 蜂毒藥鍼이 미치는 영향들이 보고되었다.

염증을 유발시키는 기전으로 세포에 LPS(lipopolysaccharide), SNP(sodium nitroprusside) 등의 자극에 의해 IL-1(interleukin-1), TNF(tumor necrosis factor), IL-6(interleukin-6) 같은 염증성 cytokine이 분비됨에 따라 NF- κ B(nuclear factor kappa. α B), iNOS(inducible

nitric oxide synthase), TNF- α , COX-2 (cyclooxygenase-2)의 발현 등에 관련되어 염증이나 細胞消滅이 유발되는 것으로 알려져 있다. NF- κ B의 활성화는 염증 반응에 관여하는 COX-2 및 신경세포의 산화적 손상을 유발하는 NO 등을 생성하는 iNOS의 발현과 관련되어 있다.

細胞消滅에 관여되는 물질로는 ERK(extra-signal response kinase), JNK(jun N-terminal kinase) 및 p38 kinase로 구성된 MAP kinase가 있다고 알려져 있다. 이에 강⁸³⁾ 등은 蜂毒藥液과 그 주성분인 melittin이 세포소멸 및 염증에 미치는 영향을 연구하기 위하여 RAW 264.7 세포에 LPS, SNP로 세포염증을 유발한 후 실험한 결과, 세포염증기전의 지표로 알려진 NO, iNOS와 MAPK family인 ERK, JNK 및 p38의 상승을 蜂毒藥液과 melittin이 억제함을 밝혔다.

IV. 結 論

蜂毒의 抗炎症 機轉에 관하여 論文 및 書籍을 통해 研究한 결과 얻은 結論은 다음과 같다.

1. 蜂毒의 抗炎症 機轉에 대한 研究는 蜂毒 관련 논문 중에서 비교적 많은 비율을 차지하고 있으며, 해가 갈수록 이전의 研究 결과를 뒤엎는 새로운 사실들이 발표되고 있다.
2. 蜂毒의 抗炎症 機轉은 대항자극효과, 부신피질 자극효과, 면역계에 대한 조절작용, 대식세포와 인터루킨 생산억제 효과, 항산화작용, 자유기를 제거하는 작용, 유전자 발현(AGF)에 끼치는 영향 등으로 다양하게 연구되고 있다.
3. 蜂毒의 成分 중 현재까지 밝혀진 바에 따라 抗炎症과 비교적 많은 관련이 있는 成分은 Melittin, MCD peptide, Apamin, Adolapin 등이다
- 4 Melittin은 calmodulin과 결합하여 calmodulin이 PLA2(Phospholipase A2)를 활성화하는 것

을 억제하여 염증 매개체의 전구물질인 arachidonic acid의 생성을 막아 抗炎症 효과를 나타낸다.

5. Melittin은 중성구의 O₂-생산을 차단하여 염증을 억제시킨다.
6. MCD peptide(Peptide 401)는 비만세포에서의 histamine 분비를 유도하는 염증 유발 자극을 일으키며, 이의 抗炎症 작용은 대항자극효과에 의한 것이다.
7. Melittin과 Apamin은 cortisone 분비를 증가시켜 抗炎症 효과를 나타낸다.
8. MCD peptide와 Apamin은 뇌하수체와 부신피질을 흥분시켜 면역기능을 증가시키고 Arachidonic acid로부터 Prostaglandin이 합성되는 것을 억제하여 鎮痛, 消炎 효과를 나타낸다.
9. Adolapin은 cyclooxygenase를 억제하여 prostaglandin 합성 기전을 막아 抗炎症 효과를 나타낸다.
- 10 蜂毒은 AGP(α -acid glycoprotein)를 억제함으로써, 면역체계에 관여하여 염증을 억제한다.
- 11 최근에 활발하게 연구된 바에 따르면, 蜂毒은 NO, iNOS, PLA2, COX-2, TNF- α , IL-1, NF- κ B, MAP kinase 등을 억제하여 抗炎症 효과를 나타낸다.

參 考 文 獻

1. 정혜윤, 고흥균 . 蜂毒 藥液이 炎症 및 炎症 關聯 遺傳子 發現에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 19(3):42, 2002.
2. 인광식, 고흥균 : 蜂毒療法에 대한 韓醫學 最初의 文獻紀錄. 馬王堆醫書의 蜂毒療法 2例,

- 大韓鍼灸學會誌, 15(1):143~147, 1998.
3. 성은찬 . 난치병의 蜂毒療法, 서울, 전국농업기술자협회출판부, p. 59. 1985.
 4. 고희균, 권기록, 인창식 . 蜂毒藥鍼療法, 서울, 경희대학교 출판국, pp. 103~162, p. 215, 2004.
 5. 고희균 : 蜂毒鍼療法이 抗炎, 鎮痛 및 解熱에 미치는 效能에 관한 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 13(1):238~292, 1992.
 6. 도원석, 장준혁, 김경호 외 2인 . 蜂毒療法이 흰쥐의 膝關節 炎症性 浮腫에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 12(1):211~220, 1995.
 7. 권기록, 고희균 . 蜂毒藥鍼療法이 抗炎, 鎮痛 및 解熱에 미치는 效能에 관한 實驗的 研究, 大韓鍼灸學會誌, 15(2):97~103, 1998.
 8. 김지영, 고희균, 김용섭 외 3인 : 蜂毒藥鍼療法의 抗炎症 作用에 관한 實驗的 研究, 大韓鍼灸學會誌, 15(1):317~331, 1998
 9. 도원석, 김경호, 김갑성 : 柳根皮 桂皮 牛膝 蜂毒 및 牛黃 熊膽 麝香 複合製劑 藥鍼이 mouse의 LPS 誘發 關節炎의 血液學的 變化에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 18(1):157~169, 2001.
 10. 공현숙, 고희균, 김창환 . 蜂針毒療法이 抗癌學에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 10(1):159~165, 1993.
 11. 권기록, 고희균, 김창환 외 3인 . 蜂毒藥鍼刺戟이 3-MCA 誘發 上皮腫에 대한 抗癌 및 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 14(2):157~172, 1997.
 12. 박찬열, 서정철, 최도영 외 1인 : 蜂毒藥鍼의 抗癌效果에 대한 分子生物學的 研究, 大韓藥鍼學會誌, 3(1):1~19, 2000.
 13. 김윤미, 이재동, 박동석 : 藥鍼用 蜂毒成分 中 apamin의 抗癌效果와 MAP-kinase 神毫傳達體系에 대한 研究, 18(4):101~115, 2001.
 14. 권도희, 이재동, 최도영 : 藥鍼用 蜂毒成分 中 apamin, melittin의 抗癌作用, 大韓鍼灸學會誌, 18(1):129~145, 2001.
 15. 오기남, 이재동, 박동석 : 蜂毒藥鍼이 C57BL mouse의 黑色腫에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌, 19(2):78~91, 2002.
 16. J.E. Gerst, Y. Salomon : Inhibition by melittin and fluphenazine of melanotropin receptor fuction and adenylate cyclase in M2R melanoma cell membranes Endocrinology 121(5):1766~1772, 1987.
 17. 권기록, 고희균 . 蜂藥鍼療法의 免疫反應에 관한 臨床的 研究, 大韓鍼灸學會誌, 17(1):169~174, 2000.
 18. 이승덕, 김갑성 牛膝 및 蜂毒藥鍼이 생쥐의 LPS 誘發 關節炎의 細胞性 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 16(3):283~315, 1999.
 19. 김춘원 : 병리학개론, 서울, 신광출판사, p. 65, 2004.
 20. Billingham M.E.J., Morley J., Hanson JM, Shipolini R.A., Vernon C.A An anti-inflammatory peptide from bee venom. Nature 245:163~164, 1973.
 21. Neumann W., Habermann E, Amend G. Zur papierelektrophoretischen fraktionierung tierischer gifte. Naturwissenschaften 39:286~287, 1952.
 22. Miwa I., Duan Y.-J., Murase S., Fukatsu H., Tamura A., Okuda J. . Stimulatory effect of phospholipase A2 treatment on glucose utlization in human erythrocytes. Biochem Biophys Acta 1175:174~180, 1993.
 23. Shipolini R.A : Phospholipase A from bee venom eur J Biochem 20 459~468, 1971.
 24. Deregraucourt C, Schrevel J : Bee Venom phospholipase A2 induces stage-specific growth arrest of the intraerythrocytic Plasmodium falciparum via modifications of human serum components. J Biol Chem Sep 14. 2000.
 25. Nethery D, DiMarco A, Supinski G : PLA(2) dependence of diaphragm

- mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J App. 1 Physiol* Jul 89(1):72~80, 2000.
26. Wu YL, Jiang XR, Newland AC, Kelsey SM : Failure to activate cytosolic phospholipase A2 causes TNF resistance in human leukemic cells. *J Immunol.* Jun 15 160(12):5925~35, 1998.
 27. Kemeny D.M., Dalton N., Lawrence A.J., Pearse FL, Veron CA. : The purification and characterisation of hyaluronidase from the venom of the honey bee. *Apis mellifera*, *Eur J Biochem* 139:217~223, 1984.
 28. Neumann W., Habermann E. : Beitrage charakterisierung der wiestoffe des bienen giftes. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmakol* 222:367~387, 1954.
 - 29 Habermann E. : Bee and wasp venoms. *Science* 177:314~322, 1972.
 30. 김문호 · 봉독요법과 봉침요법, 서울, 한국교육기획, pp. 67~126, 1992.
 31. Habermann E. · Manometrische bestimmung von phospholipase A. *Biochem Z* 328:474~484, 1957.
 32. Vogt W., Patzor p., Legs L., Oldigs H.-D., Wille G. Synergism between phospholipase A2 and various peptides and SH-reagents in causing haemolysis. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Phamakol* 265:442~447, 1970.
 33. Mollay C., Krel G. : Enhancement of bee venom phospholipase A2 activity of melittin, direct lytic factor from cobra venom and polymyxin B. *FEBS Lett* 46:141~144, 1974.
 34. Cajal Y., Jain M.K. : Synergism between melittin and phospholipase A2 from bee venom; app. arent activation by intervesicle exchange of phospholipids. *Biochemistry* 36(13):3882~3893, 1997.
 35. Shier W.T. : Activation of self-destruction as a mechanism of action for cytolytic toxins, in Eaker D., Wadstrom T. ed(1980), *Natural Toxins*, Oxford, Pergamon, pp. 193~200, 1980.
 36. Sami SS, Peterson JW, Chopra AK. : Melittin binds to secretory phospholipase A2 and inhibits its enzymatic activity. *Biochem Biophys Res Commun* Sep 18;238(2):436~442, 1997.
 37. Prince R.C., Gunson D.E., Scapra A. : Sting like a bee The ionophoric properties of melittin. *Trends biochem Sci* 10:99, 1985
 38. Schmidt-Lange W. : The germucidal effect of bee venom. *Muench Med Wchenschr* 83:935, 1940.
 39. Fennell J.F., Schipman W.H., Cole L.J. : Antibacterial action of melittin, a polypeptide from bee venom. *Proc Soc Exp Biol Med* 127:707~710, 1968.
 40. Shipman W.H., Cole L.J. : Increased resistance of mice to X-irradiation after the injection of bee venom *Nature* 215:311~312, 1967.
 41. Gunsberg N.J., Dauer M., Slotta K.H. : Melittin used as a protective agent against X-irradiation. *Nature* 220:1968, 1968.
 42. Han HJ, Lee JH, Park SH, Choi HJ, Yang IS, Mar WC, Kang SK, Lee HJ : Effect of Bee Venom and Its Melittin on Apical Transporters of Renal Proximal Tubule Cells. *Kidney Blood Press Res* 23(6):393~399, 2000
 43. Von Garnier C, Astori M, Kettner A, Dufour N, Heusser C, Corradin G, Spertini F : Allergen-derived long peptide immunotherapy down-regulates specific IgE response and protects from anaphylaxis. *Eur J Immunol.* Jun;30(6):1638~1645, 2000.
 44. Shin SY, Lee MK, Kim KL, Hahm KS :

- Structure-antitumor and hemolytic activity relationships of synthetic peptides derived from cecropin A-magainin 2 and cecropin A-melittin hybrid peptides. *J Pept Res* Oct;50(4):279~285, 1997.
45. Lee J, Lim W, Eun SY, Kim SJ, Kim J : Inhibition of pamin-sensitive K⁺ current by hypoxia in adult rat adrenalchromaffin cells *Pflugers Arch* Apr.439(6):700~4, 2000
 46. Kwiecien R, Robert C, Cannon R, Hammond C . Endogenous pacemaker activity of rat tumour somatotrophs. *J Physiol* May 1,508 (Pt 3):883~905, 1988.
 47. Grissmer S, Lewis RS, Cahalan MD : Ca²⁺-activated K⁺ channels in human leukemic T cells. *J Gen Physiol* Jan;99(1):63~84, 1992.
 48. Fredholm B. : Studies on a mast cell degranulating factor in bee venom, *Biochem Pharmacol* 15:2037~2042, 1966.
 49. Fredholm B. . Studies on a mast cell degranulating factor in bee venom. *Biochem Pharmacol* 15:2037~2042, 1966.
 50. Vernon C.A., Hanson J.M., Brimblecombe R.W. : Peptides, British Patent No 1324823, 1969.
 51. Hanson J.M., Morley J., Soria-Herrera C. : Anti-inflammatory property of the bee *Apis mellifera*(L.). *Br J Pharmacol* 50:383~392, 1974.
 52. Banks B.E.C., Dempsey C.E., Vernon C.A., Yamey J. . The mast cell degranulating peptide from bee venom. *J Physiol(London)* 308. 95~96, 1980.
 53. Banks B.E.C., Dempsey C.E, Barboni E. : Anti-inflammatory activity in the venom of *apis mellifera* *Toxicon* Supp. 1 3:29~32, 1983.
 54. Banks B.E.C., Shipolini R.A. Chemistry and pharmacology of honey bee venom; in Piek T. ed(1986), *Venoms of the hymenoptera*, London, Academic press, pp. 329~416, 1986.
 55. Vick J.A., Shipman W.H. . Effects of whole bee venom and its fractions(apamin and melittin) on plasma cortisol levels in dogs. *Toxicon* 10: 377~380, 1972.
 56. Zurier R.B., Mitnick H., Bloomgarden D., Weissmann G. . Effect of bee venom on experimental arthritis. *Ann Rheum Dis* 32:466~470, 1973.
 57. Dotimas E.M., Hamid K.R., Hider R.C., Ragnarsson U. : Isolation and structure analysis of bee venom mast cell degranulating peptide. *Biochem Biophys Acta* 911:285~293, 1987
 58. Cherubini E, Ben Ari Y., Gho M., Bidard J.N, Lazdunski M. : Long-term potentiation of synaptic transmission in the hippocampus induced by a bee venom peptide *Nature* 328:70~73, 1987.
 59. Habermann E., Reiz K.G. : Ein neues verfahren zur gewinnung der komponenten von bienengift, insbesondere des zentralwirksamen peptides apamin. *Biochem Z* 341:451~466, 1965.
 60. Shkenderov S., Koburova K, Chavdarova V. Bee venom adolapin; Effect on thromboxane A₂ and prostacycline plasma levels in rats with model acute inflammation. *Comptes rendus de l'Academie bulare des Sciences* 39 155~157, 1986.
 61. 고흥균 :蜂鍼毒療法이 抗炎, 鎮痛 및 解熱에 미치는 效能에 관한 實驗的 研究, 대한한 의학회지, 13(1):283~292, 1992.
 62. 이종석, 권기록, 고흥균 : 中완 및 족삼리의 봉독요법이 진통 효과에 미치는 영향, 경희한 의대 논문집 15:483~495, 1992.
 63. 대한병리학회 : 병리학 I (제2판), 서울, 고문

- 사, p. 86, p. 88, 1995.
- 64 Chang Y.H, Bliven M.L. Anti-arthritis effect of bee venom. *Agents Actions* 9(2):205~211(abstract), 1979.
65. 김정근, 강성길, 박동석 : 鍼, 灸 및 친구수침이 흰쥐의 Adjuvant 관절염에 미치는 영향, *大韓鍼灸學會誌*, 15(2):137~50, 1989.
66. A. Magnan, V. martin, L. Mely, J. Birnbaum, S. Romanet, p Bongrand, D Vervloet. Venom Immunotherapy Induced Monocyte Activation. *Clinical and Experimental Allergy* 31:1303~1309, 2001.
67. Broadman J. : Bee venom therapy. Silver Spring, Health resources press(originally published as 'Bee venom: the natural curative for arthritis and rheumatism', New York, Putnam, 1962) pp. 38~40, 1997.
- 68 Cortan R.M., Kumar V., robbins S.L. . Robbins pathologic basis of disease(4th ed.), Philadelphia, W.B. Saunders Company, p 40, pp. 52~60, 1989.
69. Banks B.E.C., Rumjanek F.D., Sinclair N.M., Vernon C.A . Possible therapeutic use of a peptide from bee venom, *Bulletin, Pasteur Institute* 74:137~144, 1976
70. Shier W.T. Activation of self-destruction as a mechanism of action for cytolytic toxins; in Eaker D, Wadstrom T. ed(1980), *Natural Toxins*, Oxford, Pergamon, pp. 193~200, 1980
71. 홍사석 : 이우주의 약리학 강의, 서울, 의학문화사, pp. 313~320, 1993.
72. Shkenderov S., Koburova K : Adolapine-a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. *Toxicon* 20:317~321, 1982.
73. Koburova K.L., Michailova S.G., Shkenderov S.V. . Further investigation on the anti-inflammatory properties of adolapin-bee venom polypeptide. *Acta Physiol Pharmacol Bulgaria* 11(2):50~55, 1985.
- 74 Olson J.A, Kobayashi S : antioxidants in health and disease, overview. *P.S.E.B.M* 200:245~247, 1992.
75. Somerfield S.D., Stach J.L., Mraz C., Gervais F., Skamene E : Bee venom inhibits superoxide production by human neutrophils *Infammation* 8:385~391, 1984.
76. Somerfield S.D, Stach J.L., Mraz C., Gervais F., Skamene E. Bee venom and adjuvant arthritis. *J Rheumatol* 15(12):1878, 1988
77. Rekka E., Kourounakis L, Kourounakis P. . Antioxidant activity of and interleukin production affected by honey bee venom *Arzneimittel Forschung-Drug Research* 40:912~913, 1990.
78. Shkenderov S., Chavdarova V. : Effects of melittin on lysosomal membrane stability. *Toxicon* 17 Supp I 1:168, 1986.
- 79 송정렬 : 蜂毒藥鍼이 NO, H₂O₂, IL-1에 미치는 影響, 경원대학교 대학원 석사학위논문, 2002.
80. 하성중 : 蜂毒藥鍼이 PLA₂, COX-2, iNOS, AA 및 PG에 미치는 影響, 경원대학교 대학원 석사학위논문, 2002.
81. 윤종일 : 蜂毒藥鍼이 RAW 264.7 세포의 PLA₂ 및 Calcium concentration에 미치는 影響. 경원대학교 대학원 석사학위논문, 2003.
82. 김군중 : 蜂毒藥鍼이 RAW 264.7 세포의 iNOS, TNF- α 및 NF- κ B에 미치는 影響, 경원대학교 대학원 석사학위논문, 2003.
- 83 심재영 : 蜂毒藥鍼이 RAW 264.7 세포의 COX-2, p38, ERK 및 JNK에 미치는 影響, 경원대학교 대학원 석사학위논문, 2003.
84. Habermann E . Chemistry, Pharmacology and toxicology of bee, wasp and hornet venoms. In *Venomous Animals and their Venoms*. Academic Press 3:61, 1971.

85. Barbara Rudolf : Chemistry and Pharmacology of Honey Bee Venom. Academic Press pp 329~402, 1986.
86. Assen E. SK. et al : A peptide from the venom of the Honey Bee. Brit Pharmacol pp. 337~338, 1973.
87. Spoerri, PE. : Apamin from bee venom. Neurobiology 3:207~214, 1973.
88. Gerst JE, Salmon Y : Inhibition by Melittin and fluphenazine of melanotropin receptor fuction andadenylate cyclase in M2R melanoma cell membranes. Endocrinology. Nov 121(5):1766~1772, 1987.
89. Allen DH, Lepp. le-Wienhues A, Cahalan MD : Ion channel phenotype of melanoma cell lines. J Membr Biol. Jan 1:155(1):27~34, 1997.
90. 朴贊烈 外의 : 藥鍼用蜂毒液이 黑色腫細胞에 미치는 抗癌效果에 對한 分子生物學的 研究, 大韓針灸學會誌, 17(2), pp 178~179, 2000.
91. Assem ES. Atkinson G. : Histamine release by MCDP (401), a peptide from the venom of the honey bee. Brit. Pharmacol pp. 337~338, 1973.
92. Insel PA. : Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Hardman JG, et al., eds The pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. USA: McGraw-Hill. pp. 617~624, 1996.
93. Cryer B, Dubois A. : The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. Prostaglandins Other Lipid Mediat 56(5~6). 341~361, 1998.
94. Horton JK, Williams AS, Smith-Phillips Z, Martin RC, O'Beirne G : Intracellular measurement of prostaglandin E2' effect of anti-inflammatory drugs cyclooxygenase activity and prostanoid expression Anal Biochem 271(1):18~28, 1999.
95. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, Lipsky PE. : Cyclooxygenase in biology and disease. FASEB J 12(12):1063~1073, 1998.
96. Kaufmann WE, Andreasson KI, Isakson PC, Worley PF. . Cyclooxygenases and the central nervous system. Prostaglandins 54(3):601~624, 1997.
97. 대한통증의학회 : 통증의학, 서울, 군자출판사, pp. 8~26, 2000.
98. 정혜윤, 고흥균 : 蜂毒 藥鍼液이 炎症 및 痛症 關聯 遺傳子 發現에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 19(3):41~50, 2002.
99. 황대연 外 : Bee Venom induces apoptosis and inhibits COX-2 in human osteosarcoma cell line MG-63, 大韓鍼灸學會誌, 20(3):63~74, 2003.
100. 이윤섭 外 : 國産 蜂毒 및 精製 蜂毒藥鍼液이 류머티스 關節炎 滑液細胞에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 19(2):28~38, 2002
101. 이용경 外 蜂毒藥鍼液이 비만세포주의 CD/cytokine 遺傳子 發現에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 20(5):50~62, 2003.
102. 김태우 外 . PubMed 검색을 이용한 관절염 관련 봉독 연구에 대한 고찰, 大韓鍼灸學會誌, 18(5):164~178, 2001.