

원저

人體 滑膜細胞를 대상으로 한 蜂藥鍼液의 炎症 治療 機轉 研究

배철우 · 송호섭

경원대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

The Study of Anti-inflammatory Mechanism with Bee Venom on Human Synoviocytes

Bae Chul-woo, Song Ho-sueb

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Objective : The purpose of this study was investigation how the bee venom(BV) prevents inflammation in human cell.

Methods : we induced inflammation on human synoviocyte cell by lipopolysaccharide(LPS) and sodium nitroprusside(SNP), treated the bee venom and melittin on this cell, surveyed the expression of Nitric oxide(NO), inducible nitric oxide synthase(iNOS), Cyclooxygenase-2(COX-2), cytolitic phospholipase A₂(cPLA₂), Prostaglandin E₂(PGE₂) and nuclear factor-κB(NF-κB), and got below conclusions.

-
- 접수 : 2004년 4월 19일 · 수정 : 2004년 5월 15일 · 채택 : 2004년 5월 15일
 - 교신저자 : 송호섭, 서울시 송파구 송파동 20-8 경원대부속서울한방병원 침구과
Tel. 02-425-3456 E-mail : hssong@zaigen.co.kr

Results : Compared with control

1. Expressions of LPS-induced PGE₂(BV 1, 5µg/ml) and SNP-induced PGE₂(BV 0.5, 1, 5µg/ml) were decreased significantly.
2. Expressions of LPS-induced NO(BV 0.5, 1, 5µg/ml) and SNP-induced NO(BV 1, 5µg/ml) were decreased significantly.
3. Expressions of LPS-induced COX-2(BV 1, 5µg/ml) and SNP-induced COX-2(BV 5µg/ml) were decreased significantly.
4. Expressions of LPS-induced iNOS(BV 0.5, 1, 5µg/ml) and SNP-induced iNOS(BV 5µg/ml) were meaningless by all dose.
5. Expressions of LPS-induced cPLA₂(BV 1, 5µg/ml) and SNP-induced cPLA₂(BV 1, 5µg/ml) were decreased significantly.
6. Expressions of LPS-induced NF-κB(BV 5µg/ml, melittin 5µg/ml) and SNP-induced NF-κB(BV 0.5, 1, 5µg/ml, melittin 5, 10µg/ml) were decreased significantly.
7. Expressions of LPS-induced NF-κB binding activity (BV 1µg/ml, melittin 5µg/ml, melittin 5µg/ml + DTT 20mM) were decreased significantly.

Conclusion : The bee venom treatments on synoviocyte showed significant changes in LPS and SNP induced NO, iNOS, COX-2, cPLA₂, PGE₂ and NF-κB, these results suggest that bee venom is effective to inflammations and establish the process of bee venom therapy, so we expect active use of bee venom to control the inflammation.

Key words : bee venom, melittin, synoviocyte, LPS, SNP

I. 緒 論

關節炎은 關節에 炎症性 病變이 일어나 肢體, 筋肉, 關節에 疼痛, 痠麻, 痲木, 重着, 屈伸不利들의 증상을 일으키는 질환¹⁾으로 韓醫學의 으로는 痺症, 歷節風, 白虎歷節風, 鶴膝風, 痛風²⁻⁴⁾의 範疇에 속한다고 볼 수 있고, 風寒濕熱, 瘀血, 痰飲들의 內傷外感과 虛勞가 原因이 된다. 治法으로는 補氣血, 疎風, 散寒, 去痰, 活血, 清熱利濕²⁻⁴⁾ 등의 方法이 適用되고 있다.

蜂藥鍼療法은 양봉 꿀벌(*Apis mellifera ligustica*)의 毒囊에 있는 毒을 가공 추출하여 질병치료에 연관된 部位나 穴位에 주입하는 鍼治療와 蜂毒이 인체에 미치는 生化學的 藥理作用을 치료에 이용하는 新鍼療法이다⁵⁾.

최근 蜂藥鍼을 이용한 실험적 연구로서 實驗的 急慢性 關節炎⁶⁾, 關節炎 滑液細胞⁷⁾, 류머티스 關節炎 滑液細胞⁸⁾, 細胞活性⁹⁾, 細胞毒性¹⁰⁾에 미치는 영향들이 보고되고 있으나, 蜂藥鍼液에 의한 항염증 효과의 기전 연구¹¹⁾는 진행되고 있지만 부족한 실정이다.

이에 연구자는 蜂藥鍼液의 함염증 효과에

대해 연구하기 위하여 인체 활막세포에 lipopolysaccharide(LPS), sodium nitroprusside (SNP)로 염증을 유도하고, 蜂藥鍼液을 일정하게 처리하여 炎症 기전의 指標들에 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 시약

Lipopolysaccharide 1 μ g/ml, sodium nitroprusside 200 μ m, 기타 細胞培養과 western blotting 試藥은 연구용에 적합한 것들을 사용하였다.

2) 시료

乾燥 粉末 蜂毒[乳蜜蜂毒(주), 韓國] 및 melittin [sigma, USA]을 蒸溜水에 희석하여 사용하였다.

3) 기기

Liquid scintillation counter(model LS 3801, USA), image analyser (Mitsubishi electric Co., Japan), FACS calibur flow cytometer (Becton Dickinson, NJ), Delta Scan System (Photon technology international; Princeton, NJ, USA), ELISA(Sunrise, Austria), Luminometer (LB 69P WinGlow, Germany), Spectrometry (Spectra MAX plus, CA USA), Gel dryer (Model 583 Gel dryer, CA USA), Centrifuge (HA-1000-3, KOREA), CO₂ incubator (MCO-

17AIC, JAPAN)이다.

2. 방법

1) 시료 조제

粉末 蜂毒을 3차 증류수로 희석하여 0.5, 1.0 및 5.0 μ g/ml 농도로 나누어 蜂藥鍼液으로 사용하였다.

Melittin을 3차 증류수로 희석하여 5.0, 10.0 μ g/ml 농도로 나누어 melittin液으로 사용하였다.

2) 세포주 배양 및 세포내 유전자 주입

Synoviocyte를 2 \times 10⁵cells로 penicillin (100U/ml), streptomycin (100mg/ml) 및 10% heat inactivated FBS가 포함된 DMEM 배지에 배양하였다. 세포가 90% 이상 배지에 차면 세포에 plasmid를 lipofectamine을 이용하여 세포내로 도입 시킨다. Transfection을 위하여 DNA-lipofectamine을 준비하였다. 이때 조성은 2,000 complexes로 다음과 같았다. Dilute NF-B-luc plasmid DNA (0.8g) 및 -gal plasmid DNA (0.2g)를 Opti-MEMI Reduced Serum Medium without serum (or other medium without serum) 50 μ l에 넣어 섞었다.

Lipofectamin 2000 사용 전 Opti-MEM I Medium (or other medium without serum) 50 μ l에 Lipofectamine 2,000 3 μ l를 섞어 실온에서 배양. 이때 DNA를 섞어 주었다. 5분간 배양하여[DNA with the diluted Lipofectamine 2,000(total volume; 100 μ l)] 섞고 20분간 실온에서 방치하여 DNA-Lipofectamine 2,000 복합체를 형성하였다. (DNA-Lipofectamine. 2,000 complexes는 실온에서 6시간 동안 안정하였음)

Optimem serum-free medium으로 well을 잘 닦고 DNA-Lipofectamine 2,000 complexes 100 μ l/well을 각 well에 넣어 가볍게 흔들어서

transfection 시켰다. 이때 *NF- κ B-Luciferase* reporter를 비교군으로 사용하였다. 37°C CO₂ incubator 에서 24-48시간 배양 후 transfection 시켰다. transfection 24시간 후 48시간 더 배양 하고 LPS(1.0 μ g/ml) 및 sample(inhibitors)처리 하였다.

3) 군 분류

(1) 정상군(Normal group)

정상군은 활막세포에 아무 처리도 하지 않았다.

(2) 대조군(Control group)

대조군은 활막세포에 각각 LPS 1.0 μ g/ml, SNP 200 μ M를 처리하였다.

(3) 실험군(Treatment group)

실험군은 활막세포에 LPS 1.0 μ g/ml, SNP 200 μ M로 유발 후 蜂藥鍼液 0.5, 1.0 및 5.0 μ g/ml를 각각 처리하였다.

4) 蜂藥鍼液이 LPS, SNP에 의해 유도된 COX2, iNOS, cPLA₂들에 미치는 영향

Western blotting을 이용하여 發色 정도를 분석하고, 현상한 film의 구획을 정한 후 光學 濃度計를 이용하여 相對 濃度를 각각 측정 비교하였다.

5) 蜂毒藥鍼이 NO와 PGE₂에 미치는 영향

PGE₂는 detemination of PGE₂를, nitric oxide는 nitrite assay를 시행하여 관찰하였다.

6) 蜂藥鍼液이 NF- κ B에 미치는 영향

핵추출물과 NF- κ B oligoneucleotide의 결합

정도를 알아보기 위해 EMSA를 수행하였다. 전기영동에 사용한 gel은 3M filter paper에 polyacrylamide gel을 올려놓고 slab gel dryer (Hoffer Scientific Co. SE-1160)로 80°C에서 1 시간 건조시킨 후 -70°C에서 감광시켰다. 하루 후 감광된 X-ray film (Kodak Bio-Max film)을 현상하여 NF- κ B 결합능력의 활성도를 확인하였다.

7) 통계 처리

모든 실험값은 평균값 \pm 표준편차로 하였고, 통계학적 분석은 sigma state program(SPSS, USA)을 이용하였다. 통계학적 유의성은 ANOVA test 후 대조군과 실험군의 비교는 tukey test에 의해 P<0.05인 경우를 유의한 것으로 간주 하였다.

III. 成 績

1. PGE₂ 발현에 미치는 영향

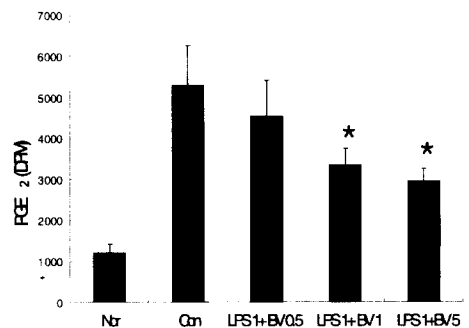


Fig. 1. The Effect of Bee Venom on LPS-Induced Exprssion of PGE₂ in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

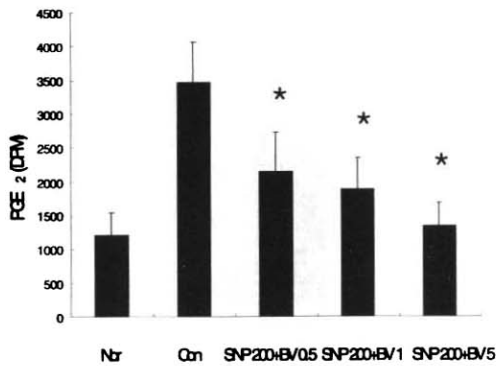


Fig. 2. The Effect of Bee Venom on SPN-Induced Exprssion of PGE₂ in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

2. NO 발현에 미치는 영향

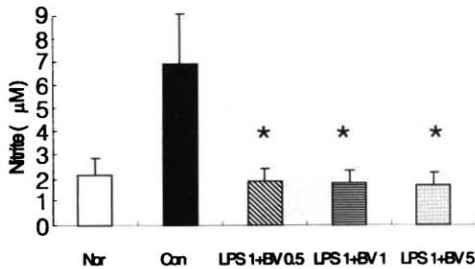


Fig. 3. The Effect of Bee Venom on LPS-Induced Exprssion of NO in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

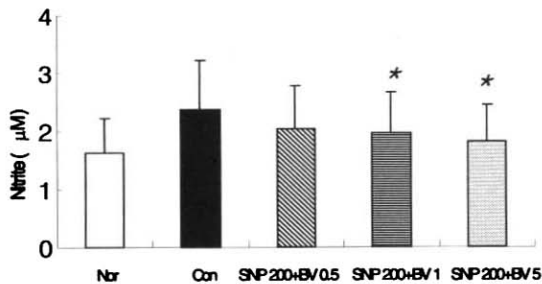


Fig. 4. The Effect of Bee Venom on SNP-Induced Exprssion of NO in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

3. COX-2 발현에 미치는 영향

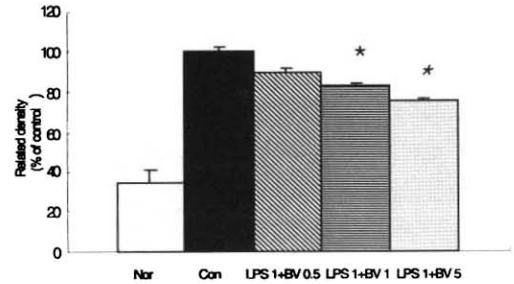


Fig. 5. The Effect of Bee Venom on LPS-Induced Exprssion of COX-2 in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

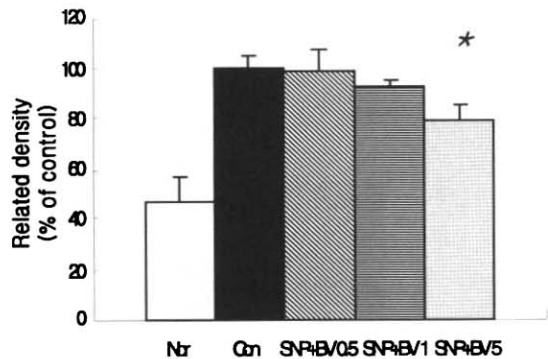


Fig. 6. The Effect of Bee Venom on SNP-Induced Exprssion of COX-2 in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

4. cPLA₂ 발현에 미치는 영향

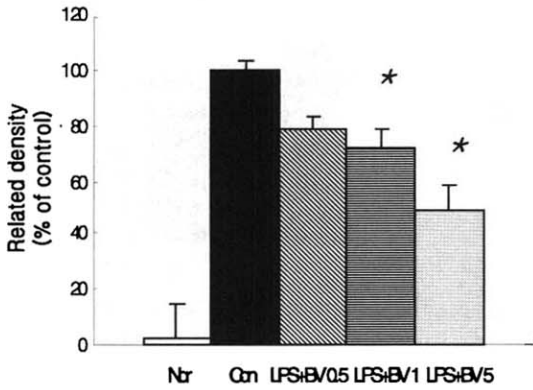


Fig. 7. The Effect of Bee Venom on LPS-Induced Expression of cPLA₂ in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

5. iNOS 발현에 미치는 영향

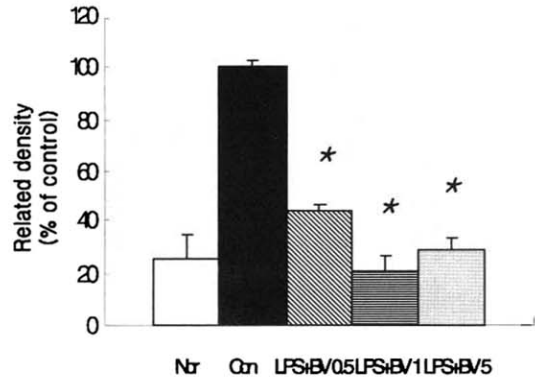


Fig. 9. The Effect of Bee Venom on LPS-Induced Expression of COX-2 in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

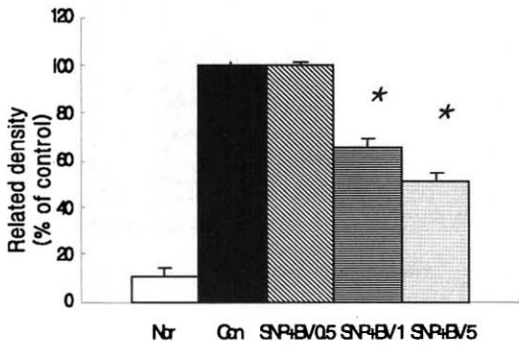


Fig. 8. The Effect of Bee Venom on SNP-Induced Expression of COX-2 in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

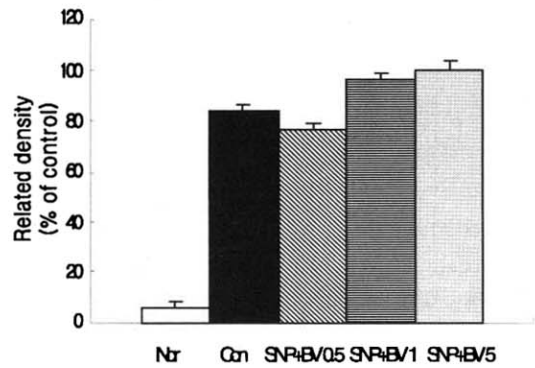


Fig. 10. The Effect of Bee Venom on SNP-Induced Expression of iNOS in Synoviocytes

6. 蜂毒藥鍼과 Melittin이 NF-κB 발현에 미치는 영향

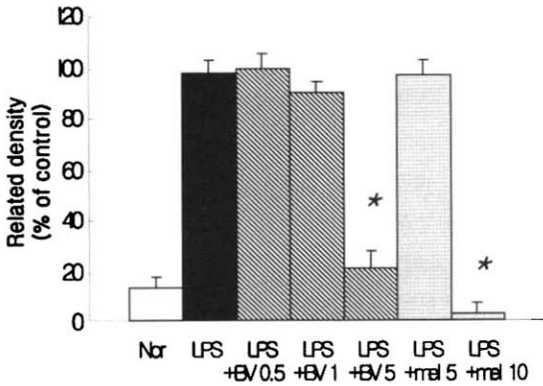


Fig. 11. The Effect of Bee Venom and Melittin on LPS-Induced Expression of NF-κB in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

7. 蜂毒藥鍼과 Melittin이 NF-κB binding activity에 미치는 영향

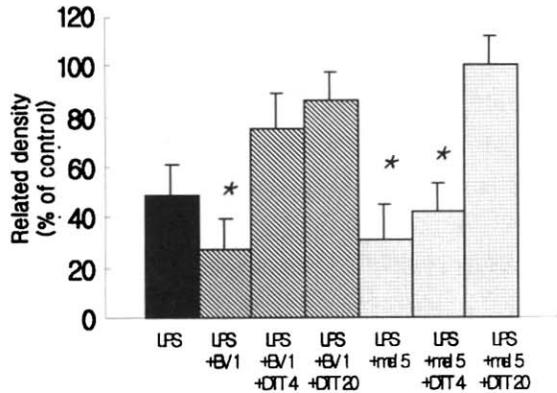


Fig. 13. The Effect of Bee Venom and Melittin and DTT on LPS-Induced NF-κB Binding Activity. *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

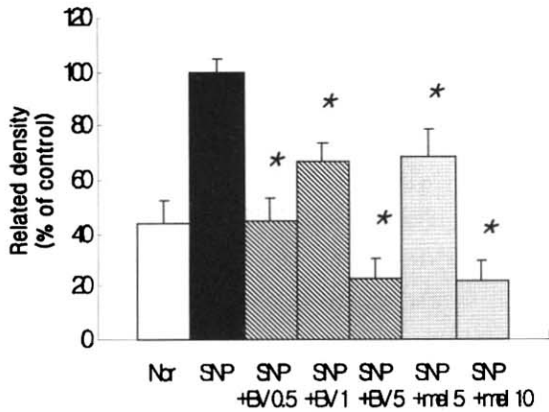


Fig. 12. The Effect of Bee Venom and Melittin on SNP-Induced Expression of NF-κB in Synoviocytes *P<0.05 Statistical Significance Compared with Control

IV. 考 察

關節炎은 關節에 炎症性 病變이 일어나 肢體, 筋肉, 關節에 疼痛, 痠痛, 痲木, 重着, 屈伸不利들의 증상을 일으키는 질환¹⁾으로 韓醫學的으로는 痺症, 歷節風, 白虎歷節風, 鶴膝風, 痛風²⁻⁴⁾의 範疇에 속한다고 볼 수 있고, 風寒濕熱, 瘀血, 痰飲들의 內傷外感과 虛勞가 原因이 된다²⁻⁴⁾. 治法으로는 補氣血, 疎風, 散寒, 去痰, 活血, 清熱利濕^{2,3,4)} 등의 方法이 適用되고 있다.

일반적으로 알려진 바로는 염증이나 세포소멸이 유발되는 기전은 세포에 LPS, SNP 들의 자극에 의해 interleukin-1(IL-1), TNF, interleukin-6 (IL-6) 같은 염증성 cytokine이 분비되어 NF-κB, iNOS, TNF-α, COX-2들이

발현된다¹²⁾. 이 중 세포의 염증반응에는 TNF- α 등과 같은 염증 매개 물질 및 NF- κ B와 같은 전사 인자의 활성이 관련되며¹³⁾, NF- κ B의 활성은 염증 반응에 관여하는 COX-2 및 신경 세포의 산화적 손상을 유발하는 NO들을 생성하는 iNOS의 발현과 관련되고 있다.

PLA₂는 세포막에 존재하는 phospholipid의 sn-2 acylester 결합을 가수분해하여 free fatty acid와 lysophospholipid를 생성하는 酵素다¹²⁾. Lysophospholipid는 platelet-activating factor (PAF)의 前驅 物質이며, free fatty acid 중에서 AA는 세포 내에서 COX와 lipooxygenase (LOX)의 작용을 받아 PG, thromboxane, leukotrience으로 변환되는데, 이들은 排卵, 血小板 凝集, 腎水分 平衡, 免疫 作用 등을 포함하는 다양한 생리 기전에 관여한다¹³⁾.

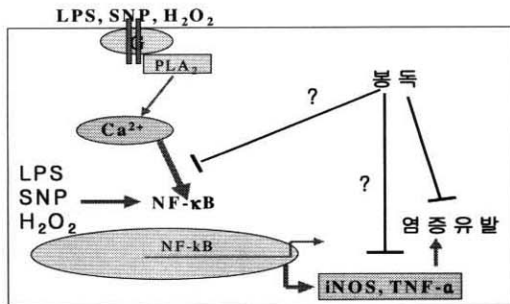


Fig. 14. The Pathway of Inflammation related with NF- κ B, iNOS and TNF- α

蜂藥鍼療法은 꿀벌의 毒囊에 들어있는 蜂毒을 추출 가공하여 질병 치료와 관련된 穴位, 壓痛點 혹은 體表의 陽性反應點에 주입함으로써 鍼 效果와 蜂毒의 物理的, 藥理學的 效果를 동시에 이용한 것이다. 이는 생체의 기능을 조절하고 병리 상태를 개선시켜 질병을 치료하고 방어하는 藥鍼療法으로, 일찍이 2천여 년 전부

터 임상에서 각종 질환 들에 응용하여 왔다¹⁴⁾.

최근 蜂藥鍼을 이용한 임상 연구로는 왕¹⁵⁾ 및 김¹⁶⁾은 膝關節炎, 황¹⁷⁾은 류마토이드 關節炎, 배¹⁸⁾는 腰椎間板脫出症, 김¹⁹⁾은 足跟痛, 김²⁰⁾은 胸·腰椎壓迫骨折, 황²¹⁾은 두피지루피부염 등 염증과 손상성 질환에 蜂藥鍼이 유효함을 보고 하였다.

실험적 연구로는 김²²⁾, 이²³⁾ 및 김²⁴⁾은 實驗的 急慢性 關節炎, 한⁶⁾ 및 이⁷⁾는 關節炎 滑液 細胞, 이⁷⁾ 및 황²⁵⁾은 류머티스 關節炎 滑液 細胞에 봉약침이 유효함을 보고하였으며, 이⁸⁾는 細胞活性, 박⁹⁾, 이²⁶⁾ 및 이²⁷⁾는 細胞毒性에 미치는 영향들을 보고하였다. 하¹⁰⁾, 윤²⁸⁾, 김²⁹⁾ 및 심³⁰⁾에 의한 蜂藥鍼液에 의해 유도된 항염증 효과의 기전에 대한 연구는 진행되고 있지만 부족한 실정이다.

이에 연구자는 蜂藥鍼液의 염증 치료 기전에 대하여 究明하기 위하여 관절염 환자의 활막세포에 LPS, SNP로 염증을 유도하고, 蜂藥鍼液을 일정하게 처리하여 炎症 기전의 指標로 알려진 NO, iNOS, COX-2, cPLA₂, PGE₂ 및 NF- κ B를 관찰하였다.

PGE₂ 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 1, 5 μ g/ml 처리군에서 유의한 억제를 보였고, SNP로 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 μ g/ml 처리 모든 군에서 유의한 억제를 보였다.

NO 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 μ g/ml 처리 모든 군에서 유의한 억제를 보였고, SNP 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 1, 5 μ g/ml 처리 모든 군에서 유의한 억제를 보였다.

COX-2 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 1, 5 μ g/ml 처리군에서 유의한 억제를 보였고, SNP 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 5

$\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였다. 이는 심³¹⁾이 보고한 Raw 264.7 cell을 대상으로 한 실험과 유사한 결과를 보였다.

cPLA₂ 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 1, 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였고, SNP 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 1, 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였다.

iNOS 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리 모든 군에서 유의한 억제력을 보였고, SNP 유도 대조군에 비해 봉약침액 모든 처리군에서 유의한 억제력을 보이지 않았다. 이는 김³⁰⁾이 LPS로 유도한 iNOS가 蜂藥鍼液으로 감소하였다는 보고와 같지만 SNP로 유도된 iNOS는 蜂藥鍼液에 의하여 감소하였다는 보고와는 상이하였다.

NF- κ B 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 1, 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였고, SNP로 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리 모든 군에서 유의한 억제력을 보였다. 또한 LPS와 SNP로 유도된 NF- κ B의 상승이 蜂藥鍼液으로 감소됨을 보여주었다.

NF- κ B 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 5 $\mu\text{g/ml}$, melittin 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였고, SNP 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 $\mu\text{g/ml}$, melittin 5, 10 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였다. 이는 蜂藥鍼液과 그 주성분인 melittin이 염증을 유발하는 NF- κ B의 증가를 감소시킴을 보여준다.

NF- κ B binding activity 발현에서 LPS 유도 대조군에 비해 蜂藥鍼液 0.1, 1 및 5 $\mu\text{g/ml}$, melittin 0.5, 5 및 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리군에서 유의한 억제력을 보였다.

Protein의 결합을 파괴하는 Dithiothrethol (DTT)를 처리하게 되면 p50과 봉침 또는

melittin의 결합을 파괴시킬 수 있다. LPS 유도 대조군에 비해 봉침약액 1 $\mu\text{g/ml}$, melittin 5 $\mu\text{g/ml}$ 및 melittin 5 $\mu\text{g/ml}$ 과 DTT 4mM 처리군에서 유의한 억제력을 보였다. 이는 NF- κ B의 결합을 방해하는 DTT를 처리한 후 NF- κ B의 발현이 증가함을 보여준다.

이상으로 보아 본 연구는 蜂藥鍼液이 NO, iNOS, COX-2, cPLA₂, PGE₂ 및 NF- κ B 발현에 유의한 영향을 줌을 확인하여 염증 치료 효과와 그 기전에 대하여 입증한 것이며, 향후 임상에서의 활용 뿐만 아니라 지속적인 연구를 통하여 임상에서 활용되는 봉약침 효과에 대한 기전 연구가 더욱 진행해야 할 과제로 생각된다.

V. 結 論

蜂藥鍼液의 항염증 치료 기전에 대해 연구하기 위하여 인체활막세포등에 LPS 및 SNP로 염증을 유도한 후 봉약침액과 melittin을 처리한 후, NO, iNOS, COX-2, cPLA₂, PGE의 발현 및 NF- κ B등을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PGE₂ 발현에서 蜂藥鍼液 1, 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리군은 LPS 유도 대조군에 비하여 유의한 억제력을 보였고, 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리한 모든 군에서 SNP 유도 대조군에 비하여 유의한 억제력을 보였다.
2. NO 발현에서 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 $\mu\text{g/ml}$ 처리한 모든 군에서 LPS 유도 대조군에 비하여 유의한 억제력을 보였고, 蜂藥鍼液

- 1, 5 μ g/ml 처리군에서 SNP 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였다.
3. COX-2 발현에서 蜂藥鍼液 1, 5 μ g/ml 처리군에서 LPS 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였고, 蜂藥鍼液 5 μ g/ml 처리군에서 SNP 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였다.
4. iNOS 발현에서 蜂藥鍼液 0.5, 1 및 5 μ g/ml 처리한 모든 군에서 LPS 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였고, 蜂藥鍼液을 처리한 모든 군에서 SNP 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보이지 않았다.
5. cPLA₂ 발현에서 蜂藥鍼液 1, 5 μ g/ml 처리군에서 LPS 및 SNP 각각으로 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였다.
6. 蜂藥鍼液 및 melittin의 NF- κ B 발현에서 蜂藥鍼液 5 μ g/ml와 melittin 10 μ g/ml 처리군은 LPS 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였고, 蜂藥鍼液 0.5, 1, 5 μ g/ml 및 melittin 5, 10 μ g/ml 처리군은 SNP 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였다.
7. NF- κ B binding activity 발현에서 蜂藥鍼液 1 μ g/ml, melittin 5 μ g/ml 및 melittin 5 μ g/ml과 DTT 4mM 처리군은 LPS 유도 대조군에 비하여 유의한 억제를 보였다.

VI. 參考文獻

1. 대한정형외과학회. 整形外科學. 서울: 최신의학서. 1991 : 121-137.

2. 許俊. 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂. 1994 : 305-307, 370-372.
3. 楊繼洲. 鍼灸大成. 서울 : 大成文化社. 1985 : 343, 410.
4. 張介賓. 景岳全書(上). 서울 : 大成文化社. 1988 : 229.
5. 김문호. 蜂毒療法과 蜂針療法. 서울 : 韓國教育企劃. 1992 : 20-37, 41-42, 64-67, 104-112.
6. 김태우, 최도영, 이재동. 蜂毒藥鍼이 제2형 콜라겐誘導 關節炎에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19(4) : 92-104.
7. 한상원, 박기현, 정태영 외 1인. 蜂毒 및 melittin 藥鍼液이 關節炎 滑液細胞에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19(4) : 74-88.
8. 이운섭, 서정철, 이승우 외 1인. 國產蜂毒 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. 2002 ; 19(4) : 28-38.
9. 이승훈, 서정철, 한상원 외 5인. 蜂藥鍼液이 細胞活性에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2002 ; 19(5) : 57-72.
10. 박원, 김용석, 고흥균. 蜂毒 藥鍼液의 細胞毒性에 關한 研究. 대한침구학회지. 2002 ; 19(2) : 65-77.
11. 하성중. 蜂藥鍼液이 PLA₂, COX-2, iNOS, AA 및 PG에 미치는 影響. 暎園大學校 韓醫科大學 碩士學位論文. 2002.
12. 김세중. 免疫學. 서울 : 高麗醫學. 1994 : 263-264.
13. Kaltschmidt, B, Spama, T. and Kaltschmidt, C.. Related Articles. Activation of NF-kappa B by reactive oxygen intermediates in the nervous system.

- Antioxid Redox Signal. Summer. 1999 ; 1(2) : 129-144.
14. 인창식, 고흥균. 蜂毒療法에 대한 韓醫學 最初の 文獻紀錄: 마왕퇴의사의 蜂毒療法 2例. 大韓鍼灸學會誌. 1998 ; 15(1) : 143-147.
 15. 왕오호, 안규범, 임진강 외 1인. 退行性 膝關節炎의 蜂毒藥鍼 治療效果에 대한 臨床的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(3) : 35-47.
 16. 김지훈, 이재동. 膝關節炎에 대한 蜂毒藥鍼의 臨床的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 1999 ; 16(3) : 25-36.
 17. 황유진, 이견목, 황우준 외 5인. 蜂藥鍼을 이용한 류마티오이드 關節炎의 臨床的 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(5) : 33-42.
 18. 배은정, 이현, 이병렬 외 7인. 蜂毒藥鍼을 行治療한 腰椎間板脫出症 患者의 臨床 考察. 대한침구학회지. 2002 ; 19(1) : 54-64.
 19. 김기현, 안광현, 송호섭 외 5인. 足跟痛에 蜂藥鍼療法이 미치는 影響. 대한침구학회지. 2002 ; 19(5) : 149-160.
 20. 김기현, 이성노, 송호섭 외 6인. 蜂藥鍼 治療를 竝行한 胸·腰椎壓迫骨折 患者의 臨床的 考察. 대한침구학회지. 2002 ; 19(6) : 35-48.
 21. 황민섭, 윤중화, 김갑성 외 1인. 蜂藥鍼療法으로 치료한 두피 지루피부염에 대한 임상적 고찰. 대한침구학회지. 2002 ; 19(6) : 24-34.
 22. 김태우, 최도영, 이재동. 蜂毒藥鍼이 제2형 콜라겐誘導 關節炎에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19(4) : 92-104.
 23. 이재웅. 蜂藥鍼이 實驗的 急慢性 關節炎에 미치는 效果와 機轉 研究. 暎園大學校 韓醫科大學 碩士學位論文. 2002.
 24. 김민정, 김경호, 김갑성. 쥐의 Collagen 유발 관절염의 활액에서 단백분해효소의 활성 및 유리기 손상에 미치는 봉독약침의 억제 효과. 대한침구학회지. 2002 ; 19(5) : 161-175.
 25. 황유진, 이견목, 황우준 외 5인. 蜂藥鍼을 이용한 류마티오이드 關節炎의 臨床的 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(5) : 33-42.
 26. 이종석, 고흥균, 김창환. 藥鍼用 蜂毒液의 急性毒性에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 1994 ; 11(1) : 177-195.
 27. 이종석, 고흥균, 김창환. 藥鍼用 蜂毒液의 局所毒性試驗에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 1995 ; 16(1) : 227-252.
 28. 윤종일. 蜂藥鍼液이 Raw 264.7 세포의 PLA2 및 Calcium Concentration에 미치는 影響. 暎園大學校 韓醫科大學 碩士學位論文. 2003.
 29. 김군중. 蜂藥鍼液이 Raw 264.7 세포의 iNOS, TNF- α 및 NF- κ B에 미치는 影響. 暎園大學校 韓醫科大學 碩士學位論文. 2003.
 30. 심재영. 蜂藥鍼液이 Raw 264.7 세포의 COX-2, P38, ERK 및 JNK에 미치는 影響. 暎園大學校 韓醫科大學 碩士學位論文. 2003.