

자궁난소질환에 대한 봉독(Bee Venom)을 활용한 국내외 연구 동향 분석

¹경희대학교 대학원 임상한의학과, ²경희대학교 한방병원 여성의학센터
³경희대학교 한의과대학 부인과교실
이진욱¹, 강나훈¹, 유은실¹, 박남춘¹, 양혜린¹, 김남훈²,
박경선³, 이진무³, 이창훈³, 장준복³, 황덕상³

ABSTRACT

A Review of the Utility of Bee Venom on Gynecological Disorders

Jin-Wook Lee¹, Na-Hoon Kang¹, Eun-Sil Yoo¹, Nam-Chun Park¹,
He-Rynn Yang¹, Nam-Hoon Kim², Kyoung-Sun Park³, Jin-Moo Lee³,
Chang-Hoon Lee³, Jun-Bok Jang³, Deok-Sang Hwang³

¹Dept. of Clinical Korean Medicine, Graduate School, Kyung-Hee University

²Women's Healthcare Center, Kyung-Hee University Korean Medicine Hospital

³Dept. of Gynecology, College of Korean Medicine, Kyung-Hee University

Objectives: Bee Venom has been used to relieve pain and to treat various diseases, such as arthritis, cancer and skin disease. Although Bee Venom has used extensively in gynecological fields, we don't have enough evidence with it. This study is to investigate efficacy and safety of Bee Venom on women by investigating papers, then we are going to suggest the direction of research.

Methods: We searched for papers which had Bee Venom from Pubmed, OASIS, Journal of Korean Obstetrics & Gynecology, Journal of Korean Medicine up to August 2017, then classified according to the type of studies.

Results: Eleven papers have been finally selected. One paper was a case report about atypical squamous cells of undetermined significance. Four papers were *in vivo* studies about 1 endometriosis and 1 polycystic ovarian syndrome and 2 human cervical cancer. Among eight papers that were *in vitro* studies, four papers were reported about ovarian cancer and four papers reported about human cervical cancer. Among ten papers that were experimental studies, two papers have been studied both *in vivo* and *in vitro*. Most of studies have shown that Bee Venom is useful for gynecological disorders.

Conclusions: It has been identified that Bee Venom could be a good treatment for female disorder. However, more clinical reports and well-designed studies will be needed.

Key Words: Bee Venom, Pharmacopuncture, Gynecological Disorder, Immunology

I. 서 론

봉독요법은 고대 그리스와 중국에서부터 기원한 의학적 치료 방법 중에 하나로¹⁾, 한의학에서는 봉독침 혹은 봉약침의 형태로 혈자리에 약물을 주입하여 사용되어 왔다. 봉독에 대한 연구는 수백 년 동안 진행되어 왔으며 대부분 항류머티즘효과나 항염·항암효과, 면역기능 증강에 대해서 말하고 있다⁴⁾. 봉독은 임상적으로 진통의 목적으로 주로 쓰이고, 이외에도 관절염, 류머티즘, 추간판탈출증, 천식, 피부 질환 등의 다양한 질병치료에 사용²⁻⁴⁾되고 있다.

봉독에는 melittin, apamin과 같은 peptide 종류와 phospholipase A₂(PLA₂)과 같은 효소, histamine과 같은 작은 분자물질 등이 포함되어 있다. 이러한 성분들의 작용을 통해 알려지질환이나, 자가면역질환, amyotrophic lateral sclerosis(ALS), parkinson's disease 등의 다루기 힘든 면역질환이나 신경퇴행성질환에 대한 봉독의 치료적 효과가 최근에 많이 알려지고 있다⁵⁻⁸⁾.

최근 PLA₂에 대한 면역학적 효과에 대한 연구가 많이 이루어졌다. 그 중 PLA₂가 영향을 끼치는 Regulatory T-cell (Treg cell)이 임신, 조산, 유산, 자간전증(pre-eclampsia) 등의 산부인과적 질환에 영향을 주는 주된 인자로 연구되어 왔다⁹⁻¹¹⁾. 하지만 이에 대해 봉독을 이용한 직접적 치료나 실험을 통한 연구는 거의 보고된 바가 없다.

부인과질환에 대한 임상적 봉독 활용은 되고 있지만, 그에 대한 자세한 연구나 논문이 많이 없는 실정이다. 임상연구는 자궁경부암의 전암단계인 자궁경부상피내 종양으로 진행할 가능성이 있는

병변으로 인식되고 있는 ASCUS에 대한 치험례 연구¹²⁾만 있을 뿐이었으며 이외에는 모두 실험논문이었다.

본 연구에서는 자궁 및 난소질환에 대한 봉독 활용으로 질환을 개선한 사례나, 효과의 기전을 밝히고 있는 연구들을 정리하였다. 또한 정리를 바탕으로 분석을 통하여 현재 진행된 연구들에 대한 현황을 파악하고 앞으로의 한방부인과에서의 봉독약침 치료에 대한 가능성과 필요성 및 연구동향을 제시하고자 한다.

II. 방 법

1. 문헌선정기준

부인과영역 질환 중 자궁난소질환에 대하여 봉약침요법 혹은 봉독처리를 중재기술로 하고 그 효과나 기전을 연구한 논문을 대상으로 선정하였다. 문헌을 선정하는 과정에서 중복 출판된 논문, 자궁난소질환이 아닌 연구는 제외하였다. 연구 디자인에는 한계를 두지 않았으며 임상연구 이외에도 실험연구(*in vivo*, *in vitro*)도 포함하였다.

2. 데이터베이스 및 검색방법

검색 엔진으로 국내논문은 대한한의학회지, 대한부인과학회지, 오아시스, 국외논문은 pubmed를 이용하였으며, 2000년 1월부터 2017년 8월까지 발표된 부인과영역 질환에 대한 봉독을 활용한 논문을 검색하였다. 검색어는 대한한의학회지, 대한부인과학회지, 오아시스에서는 '봉약침', '봉독'을 검색어로 하였으며, pubmed에서는 "gynecolog*" OR 'ovar*' OR 'uter*' OR 'dysmenorrhea' OR 'amenorrhea'" AND "'bee

venom' OR 'venom' OR 'pharmacopuncture'"으로 검색하였다.

3. 최종선택논문

검색어를 통해 검색된 문헌에서 제목을 보고 1차적으로 채택하였으며, 채택된 논문에 대하여 배제기준에 따라 먼저 중복된 연구는 제외하였다. 그 다음, 논문들의 초록을 검토하여 자궁난소 질환

에 대한 연구가 아닌 논문을 제외하였다. 최종적으로 증례보고 1편, 실험논문 10편로 총 11편의 논문이 선택되었다(Fig. 1). 실험논문 중 2편의 논문^{15,16)}에서는 *in vivo*, *in vitro* 모두를 다루고 있었다. 선정된 논문들을 연구디자인별(임상논문, *in vivo*, *in vitro*)로 분류하였고, 대상질환, 치료대상, 치료 방법 및 연구 결과 등을 각 논문별로 표로 정리하였다.

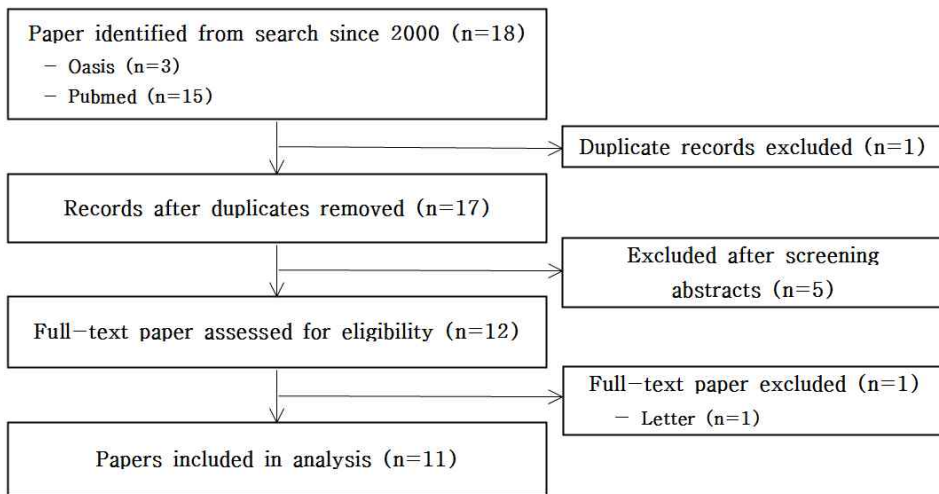


Fig. 1. Flowchart of the literatures selection process.

Ⅲ. 결 과

1. 발표 연도 및 연구 국가 따른 분류

최종문헌으로 채택된 논문을 발표 연도로 분류했을 때 2005년에 1편, 2006년 1편, 2008년 1편, 2011년 1편, 2012년 1편, 2013년 2편, 2015년 2편, 2016년 1편, 2017년 1편으로 확인되었다. 2012년 발표된 논문 한편 중 2011년 출판된 논문과 다른 학회지에 발간되었지만 동일한 내용으로 출판되어 중복으로 생각하고 본 논문의 최종선택문헌에서 제외하였다.

최종논문을 연구 국가별로 분류했을 때 중국, 이란, 한국, 영국에서 연구가 진행되었으며 각각 1편, 2편, 6편, 2편으로 확인되었다(Table 1).

2. 질환에 따른 분류

최종문헌으로 채택된 논문에서 다루고 있는 질환은 난소암 4편, 자궁경부암 4편으로 가장 많았으며, 자궁내막증 1편, 다낭성 난소 증후군 1편, ASCUS(Atypical squamous cells of undetermined significance)가 1편이었다(Table 2).

Table 1. Amount of Literatures by Year and Country of Literatures

Year	Paper (n)	Country	Paper (n)
2005	1	China	1
2006	1	Iran	2
2008	1	Korea	6
2011	1	United Kingdom	2
2012	1		
2013	2		
2015	2		
2016	1		
2017	1		
Total	11		11

Table 2. Diseases of Literatures

Disease	Paper (n)
Ovarian cancer	4
Cervical cancer	4
Endometriosis	1
Polycystic ovarian syndrome	1
Atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS)	1
Total	11

Table 3. Clinical Trial of Bee Venom (BV) Treatment on Gynecological Diseases

Study	Patient	Treatment	Result		
			Pap smear	HPV test	Cervical biopsy
1 Kim SW (2005) ¹²⁾	Female, 51y (normal menstruation)	1 st -4 th day : 0.2 cc 5 th -10 th day : 0.4 cc 11 th -12 th day : 0.6 cc	Reactive changes → Negative for intraepithelial lesion or malignancy	HPV 39(+) → negative	Immature metaplasia → Squamous metaplasia
	Female, 61y (menopause state)	1 st day : 0.1 cc 2 nd -3 rd day : 0.2 cc 4 th -12 th day : 0.6 cc	Negative for intraepithelial lesion or malignancy	HPV 51,16(+) → negative	Squamous metaplasia → Koilocytotic change

3. 최종선정논문의 개요

부인과질환 중 자궁난소질환과 관련한 봉약침 논문은 임상연구 중에선 ASCUS 환자 2례를 보고하고 있었고(Table 3), 실험논문 중 *in vivo* 연구는 4편(Table 4)으로 자궁내막증, 다낭성 난소 증후군 1편씩, 나머지 2편에서는 자궁경부암을 다루고 있었다. 실험논문 중 *in vitro* 연구는 총 8편(Table 5)으로 그 중 4편은 난소암 세포를 이용한 연구이며, 4편은 자궁경부암 세포를 이용한 연구였다. *In vitro* 연구를 보면 주제는 비슷했지만 사용하는 세포가 다양했다. 난소암 세포를 이용한 연구에서는 SKOV3, PA-1, A2780cp, A2780, A2780CR 등 다양한 세포를 이용한 반면, 자궁경부암 세포를 이용한 연구 3편 모두 CaSki 세포를 이용하였으며, 김 등¹⁵⁾의 연구에서는 CaSki 세포 이외에도 C33A, HeLa 세포를 이용하였다.

Table 4. *In vivo* Studies of Bee Venom (BV) Treatment on Gynecological Diseases

Study	Disease	Animal type	Intervention		Result
			Concentration	Acupoint	
1 Lee YH (2006) ¹³	Endometriosis	Spalague-Dawley (n=2) (female, 200±20 g)	BV 10% (0.1 g/ml)	關元穴 (CV4)	The E2, IL-2 concentrations were significantly lower and the IL-6, IL-10 concentrations were significantly higher in the serum of the experimental group than in the control group.
2 Latifeh K. (2013) ¹⁴	Polycystic Ovarian Syndrome	Wistar (n=24) (female, 170±20 g)	BV 0.5 mg/kg	N/A	Thickness of theca layer, number and diameter of cysts and levels of IL-6 significantly decreased in BV group relative to PCOS group. The immunohistochemical analysis showed an increase of COX-2 and VEGF expression in PCOS group.
3 Kim YW (2015) ¹⁵	Cervical Cancer	C57BL/6 mice (n=15) (female, N/A)	PBS (n=5) BV 1.0 mg/kg (n=5) BV 2.5 mg/kg (n=5)	N/A (intratumor)	The mRNA and protein expression levels of HPV 16 E6&E7 were decreased by BV in TC-1 tumors. 2.5 mg/kg BV-treated group showed that the tumor growth was significantly suppressed as compared with other groups.
4 Lee HL (2015) ¹⁶	Human Cervical tumor	BALB/c nude mice (female, 20-25 g)	BV 1 mg/kg	N/A	The inhibitory effect of BV on growth of cervical tumor was significant in xenograft model mice. Tumor weight and volume were significantly smaller in 1 mg/kg BV-treated compared with those saline-treated CaSki bearing mice.

Table 5. *In vitro* Studies of Bee Venom (BV) Treatment on Gynecological Diseases

Study	Disease	Cell	IC ₅₀ value of intervention	Result
1 Jo MR (2011) ¹⁷	Ovarian cancer	SKOV3	BV 1.5 µg/ml Melittin 3.8 µg/ml	BV and melittin induce apoptotic cell death in ovarian cancer cells through enhancement of DR3,4 and 6 expression and inhibition of STAT3 pathway.
		PA-1	BV 1.2 µg/ml Melittin 2.6 µg/ml	
2 Masoumehzaman Alizadehnohi (2012) ¹⁸	Ovarian cancer	A2780cp	BV 8.0 µg/ml	Morphological and biochemical analysis indicated an apoptotic type of cell death induced by bee venom (BV) & cisplatin (Cis), separately and in combination. Immunocytochemistry demonstrated a reduction in the levels of the Bcl2 protein.
			Cis 25 mg/ml BV+Cis 4/10 µg/ml+mg/ml	
3 Sanad Alonezi (2016) ¹⁹	Ovarian cancer	A2780	BV 4.5 µg/ml	After exposure to melittin, the levels of most of the significantly altered metabolites, particularly amino acids and TCA cycle intermediates, were lower in A2780 compared to A2780CR cell, suggesting different metabolic responses in the two cell lines.
		A2780CR	BV 6.8 µg/ml	
4 Sanad Alonezi (2017) ²⁰	Ovarian cancer	A2780	Cis 4.9 µg/ml Mel 6.8 µg/ml Cis+Mel 5 µg/ml+2 µg/ml	The most significantly affected metabolites due to the melittin (Mel)+cisplatin (Cis) combination treatment in both cell lines were in the TCA cycle, oxidative phosphorylation, purin and pyrimidine metabolism, and arginine/proline pathways.
		A2780CR	Cis 10.8 µg/ml Mel 4.5 µg/ml Cis+Mel 2 µg/ml+10 µg/ml	

5	IP SW (2008) ²¹⁾	Human Cervical Epidermoid Carcinoma	CaSki	N/A	BV-induced apoptosis occurs via a FAS receptor pathway involving mitochondrial-dependent pathways and is closely related to the level of cytoplasmic Ca ²⁺ in CaSki cells.
6	Shin JM (2013) ²²⁾	Human Cervical Carcinoma	CaSki	Melittin 3 or 4 µg/ml	Melittin specifically suppressed EGF-induced VEGF secretion and new blood vessel formation by inhibiting HIF-α. Melittin may inhibit human cervical cancer progression and angiogenesis by inhibiting HIF-α and VEGF expression.
7	Kim YW (2015) ¹⁵⁾	Cervical Cancer	CaSki	(after 12 hr) BV 9.8 µg/ml (after 24 hr) BV 5.4 µg/ml	In BV-treated CaSki cells, the mRNA expression and protein levels of HPV 16 E6&E7 were significantly decreased by BV, while HPV 18 E6&E7 mRNA expression levels were not significantly altered by BV-treated HeLa cell.
			HeLa	(after 12 hr) BV 10.0 µg/ml (after 24 hr) BV 9.7 µg/ml	
			C33A	(after 12 hr) BV 10.1 µg/ml (after 24 hr) BV 14.3 µg/ml	
8	Lee HL (2015) ¹⁶⁾	Human Cervical Tumor	CaSki	BV 2.9 µg/ml	Morphologic observation indicated the cell were gradually reduce in size. BV treatment clearly increased DR3 and DR6 expression in a concentration dependent manner in both cell, and expression of FAS in CaSki and DR4 in C33A cancer cells was increase by BV.
			C33A	BV 5.5 µg/ml	

김 등¹²⁾은 자궁경부암의 전암단계인 자궁경부 상피내 종양으로 진행할 가능성이 있는 병변으로 인식되고 있는 ASCUS(Atypical squamous cells of undetermined significance)로 진단된 환자 2명에게 내원기간동안 1주일에 1회로 전체 12회 오직 봉독치료만 실시하며, 세포진 검사(Papanicolaou test), 질확대경, 인간 유두종 바이러스(Human papillomavirus, HPV) 검사 및 자궁경부 생검을 6개월마다 추적관찰하여 그 변화를 살폈다. 봉약침의 병소부위 국소주입을 통해 병변이 정상 상피조직으로 회복한 사례를 보고하고 있다.

이 등¹³⁾은 자궁내막증을 유도한 Splague-Dawley 성숙 암컷 쥐에게 골도법에 준한 關元穴(CV4)에 10%(0.1 mg/ml) 봉약침을 0.1 ml씩 주 3회 총 18회 주입하며, 혈중 progesterone, estradiol(E2)과 혈중 TNF-α, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10의 함량변화를 살폈다. 혈중 progesterone과 E2를 방사능 측정법으로 검사한 결과

수치의 감소는 보였으나, 혈중 E2에서만 대조군에 비해 실험군이 유의한 감소를 보였다. 혈중 cytokine(TNF-α, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10)를 ELISA법으로 정량한 결과, IL-2에서는 대조군에 비해 실험군에서 유의한 감소, IL-6, IL-10에서 유의한 증가를 보였으며 혈중 TNF-α, IL-4에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 연구에서는 이소성 자궁내막조직에 대한 봉약침의 시술로 자궁내막조직의 증식을 억제하였음을 확인하였다. IL-6, 10의 증가를 보여 논란의 여지가 있지만 E2, IL-2의 유의한 감소와 육안적인 감소를 통해 봉약침이 자궁내막조직의 증식을 억제한다고 보고하고 있다.

Latifeh Karimzadeh 등¹⁴⁾은 PCOS군과 14일 동안 0.5 mg/kg의 BV를 복강내 주입한 PCOS+HBV군으로 나누어 난소의 무게 변화, 화학 발광 분석제를 이용한 Estradiol(E2), testosterone, progesterone의 농도변화, 난소 내 난포수의 변화 및

IL-6의 농도 변화, vascular endothelial growth factor(VEGF)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현 변화를 살폈다. 처치를 받지 않은 PCOS군에 비해 봉약침 치료를 받은 군에서 유의한 난소 무게 감소가 나타났다. 호르몬의 변화에서는 처치를 받은 군에서 E2, testosterone은 유의한 농도 감소를 보였으나, progesterone은 유의한 감소는 보이지 않았다. 봉약침을 처치한 군에서 원시난포, 전동난포 및 황체의 수가 증가했지만, 반면 cyst의 수는 감소하였다. IL-6의 농도는 처치한 군에서 통계적으로 유의한 정도로 감소하였고($p < 0.01$), COX-2, VEGF의 발현도 감소하거나 없었다. 전반적인 측정지표를 통해 봉약침이 PCOS 쥐에게 유의한 효과를 보였다고 보고하고 있다.

조 등¹⁷⁾은 봉독과 그 성분 중 하나인 melittin을 이용하여 난소암세포(SKOV3, PA-1)의 세포성장 및 세포사멸에 대한 영향, apoptotic cell death, death receptors(DRs)의 발현에 대한 효과를 살폈다. 봉독과 melittin을 사용했을 때 SKOV3 세포는 IC₅₀값이 각각 1.5, 3.8 $\mu\text{g/ml}$ 이었고, PA-1 세포는 각각 1.2, 2.6 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 세포사멸과 관련하여 봉독과 melittin을 사용한 SKOV3, PA-1세포에서 각각 55~65%, 60~80%의 apoptosis가 발생하였다. DRs와 관련하여 두 세포군 모두에서 DR3, DR6 mRNA 농도가 증가했으며, TNFR1, TNFR2, FAS, DR5의 변화는 없었으며, DR4는 PA-1 세포에서만 발현이 증가됨을 보여주었다.

Masoumehzaman Alizadehnohi 등과 Sanad Alonezi 등은 난소암 항암화학치료제 중 하나인 cisplatin과의 병용치료에 대한 봉독 및 melittin의 효과를 확인하고자 세포실험을 하였다. Masoumehzaman Alizadehnohi

등¹⁸⁾은 cisplatin 저항성을 가진 A2780cp 세포를 이용하여 대조군, 봉독(BV), cisplatin, BV와 cisplatin을 함께 처리한 4개의 군(Control, BV, cisplatin, BV/cisplatin)으로 나누어 세포성장 억제에 대한 효과, apoptosis를 시작하는 중재물질의 용량, Bcl2 단백질의 발현을 살폈다. 세포들이 apoptosis 초기 단계에 시작하는 용량은 BV군에서는 BV 8 $\mu\text{g/ml}$, cisplatin군에서는 cisplatin 25 mg/ml, BV/cisplatin군에서는 BV 4 $\mu\text{g/ml}$ /cisplatin 10 mg/ml로 나타났다. 또한 각각의 용량에서 Bcl2 단백질 발현이 뚜렷하게 감소하였다.

Sanad Alonezi 등^{19,20)}은 cisplatin-sensitive type인 A2780세포와 cisplatin-resistant type인 A2780CR 세포에 melittin을 처리한 후 proline/glutamine/arginine pathway에서의 아미노산의 감소, carnitines, polyamines, adenosine triphosphate(ATP), nicotinamide adenine dinucleotide(NAD⁺)의 변화를 통해 봉독의 암치료와 관련된 효과를 살폈다. A2780CR 세포가 A2780 세포보다 melittin에 대하여 더 민감하여 저용량에서 세포 감소가 일어났다. ATP, 당분해는 A2780 세포에서 더 적은 농도를 보이는 것을 파악하고, 탄소대사에 있어 차이를 보여 melittin에 의해 반응하는 두 세포의 기전이 다를 것으로 보고하고 있다. 다른 논문에서는 cisplatin을 처리한 A2780, A2780CR 세포에 melittin을 처리하였을 때 각각 melittin+cisplatin combination 효과는 5 $\mu\text{g/mL}+2 \mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}+10 \mu\text{g/mL}$ 일 때 성장저해효과가 가장 좋은 것으로 보고하고 있다. 또한 BV를 함께 썼을 때가 melittin만을 사용하는 것보다 우선적으로 지방산, 아미노산, TCA 회로의 중간물질 및 산화적인산화(oxidative phosphorylation),

퓨린과 피리미딘 대사, arginine/proline pathway에 영향을 준다고 보고하고 있다.

Ip Siu-wan 등²¹⁾은 자궁경부암세포인 CaSki 세포에 BV를 노출한 후 세포의 형태학적 변화, 세포의 생존능력, 세포주기의 중단 및 apoptosis에 대한 효과를 살폈으며, 그 기전을 알아보려고 Cdk4, -6, pRb, p53, p21, p27, p18, Cyclin E, E2F-1, Bax, Bad, cytochrome c, caspase의 변화를 살폈다. 봉독은 형태학적인 변화를 촉진하고, CaSki 세포의 생존율을 낮추고, G0/G1기에서의 중단을 야기했다고 보고한다. 이는 caspase-8을 증가시키고, Bcl-2/Bax의 비율을 낮추며, 미토콘드리아의 부전을 야기함으로써 발생시키는 것으로 기전을 추측하고 있다. 신 등²²⁾은 CaSki 세포에 melittin을 처리한 결과 ERK, mTOR, p70S6K 과정을 방해하여 hypoxia-inducible factor-1 α (HIF- α)의 생성을 낮추었고, 그 결과 VEGF의 발현이 낮춰져 암세포의 항신생혈관생성 효과를 가짐을 보고하였다.

김 등¹⁵⁾은 *in vivo* 실험으로 TC-1 tumor를 이식한 C57BL/6 mice 3그룹(PBS, 1.0 mg/kg BV, 2.5 mg/kg BV)를 투여하여 tumor의 성장속도와 부피를 살폈으며, 이를 통해 다른 그룹에 비해 2.5 mg/kg를 주입한 그룹에서 유의한 억제 효과가 있었다($p < 0.0001$)고 보고하고 있다. *In vitro* 실험에서는 HPV 16 감염된 CaSki 세포, HPV 18 감염된 HeLa 세포, HPV 감염되지 않은 C33A 세포를 이용하여 BV 처리 후 E6/E7 단백질 발현을 살폈으며, BV 처리를 통해 각 세포의 성장이 억제되며, CaSki, HeLa 세포의 HPV의 E6/E7 단백질 발현이 BV를 처리하지 않은 C33A보다 현저히 적었다.

이를 통해 BV의 자궁경부암 세포에 대한 항바이러스효과 및 항암효과를 보고하고 있다.

이 등¹⁶⁾은 *in vivo* 실험으로 CaSki 세포를 이종이식한 BALB/c nude mice에 BV 1 mg/kg를 주입하여 종양의 무게와 부피를 측정하였으며, 이를 통해 봉독을 처리한 쥐가 식염수를 처리한 쥐보다 통계적으로 유의한 효과가 있다고 보고한다. *In vitro* 실험에서는 CaSki 세포와 C33A 세포를 이용하여 봉독처리 후 세포증식, 세포자멸과 FAS, DR3, DR6의 발현 증가를 통해 봉독이 자궁경부 종양세포의 성장을 억제한다고 보고하고 있다.

IV. 고 찰

봉독은 꿀벌의 독낭에 들어있는 약 40여 가지의 성분으로 구성된 물질로 한의학에서는 性味가 辛, 甘, 鹹, 大熱 有毒하고 그 효능이 祛風除濕, 止疼痛, 解瘰疬, 消腫降壓 것으로 알려져 있다. 항염, 진통, 해열, 면역증강 및 항암 등의 효능이 있어 임상에서는 이를 추출, 가공하여 질병과 관련한 부위 및 혈위에 주입함으로써 자침 효과와 생화학적 약리 작용을 동시에 이용하여 생체의 기능을 조정하고 병리 상태를 개선시켜 질환을 치료한다. 적응증으로는 근육통, 근막통증 증후군(Myofascial pain syndrome, MPS), 급만성 관절염, 통풍(gout), 신경통, 신경염, 편두통, 류마티성 관절염, 급성 류마티성열과 심내막염, 피부염 등에 효과가 있다^{23,24)}.

2013년 발표된 한 등²⁵⁾의 연구에 의하면 우리나라에서 발표된 봉독(Bee Venom,

BV)에 대한 연구는 1992년 『蜂鍼毒療法이 抗炎, 鎮痛 및 解熱에 미치는 效能에 關한 實驗的 研究』가 처음으로 게재된 이후 90년대 말부터 꾸준히 연구가 증가되었으며, 2000년 이후 매년 두 자리 숫자의 논문이 발표되었고, 2003년에 처음으로 30편이상의 논문이 게재되었으며 2006년 36편으로 제일 많았다. 2012년까지 국내에서 발표한 봉독 연구는 365편으로 그 중 임상연구가 205편으로 56%를 차지하였다.

국외에서는 1858년 프랑스의 Desjardin이 최초로 류마티드 질환에 응용한 결과를 발표한 것을 시작으로 1968년 Habermann는 봉독의 생화학적 성분에 대해 보고하였으며, 이후로 봉독에 대한 각 성분들의 효능, 작용 및 allergy 반응에 대한 많은 실험 및 임상논문들이 발표되었다. Chen J 등²⁶⁾은 사람과 동물에 대한 봉독치료의 효과 및 부작용에 대한 내용을 통한 유효성과 유해성 모두를 지적하기도 했으며, 이 등²⁷⁾은 류마티드 관절염과 관련하여 체계적 문헌고찰을 통해 봉독 치료에 의한 효과를 분석하였다.

기존 부인과영역이 아닌 질병에서의 봉독의 활용과 관련 연구는 많이 나오는데 반해, 부인과 영역에서는 봉침을 이용한 임상적 치료나 봉독처리를 통한 실험연구가 많이 보고되고 있지 않다. 본 논문에서 선택한 논문을 기준으로 보면 2005년부터 13년 동안 국내외에서 연구된 자궁난소질환에 대한 연구는 총 11편으로 1년에 1편도 안 되는 정도로 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서는 현재까지 나온 자궁난소질환의 연구를 정리해보고, 추후 필요한 연구방향 등에 대해 생각해보고자 한다.

봉약침을 이용한 임상연구는 2005년 대한한방부인과학회지에 수록된 ASCUS 환자에 대한 치험례 2례가 있었다. 자궁경부 전암병변이라 불리는 자궁경부 상피내 종양(Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)의 전단계인 ASCUS로 진단 받은 환자 2명에게 국소 병변 봉독을 주입한 후 경과를 보고하고 있다. 봉독 이외의 처치는 하지 않았으며, 병변에 대한 경과는 세포진 검사, 질확대경, HPV 검사, 자궁경부 생검을 통해 비교하였다. 봉독 주입 후 검사결과 상의 호전을 논문의 결과로 보여주고 있으나, 봉독의 농도나 제조회사 등이 밝혀져 있지 않고 환자에게 처치한 봉독 용량 변화에 대한 근거가 충분히 제시되고 있지 않다. 하지만 봉독을 이용한 부인과적 치료에 대한 임상적 활용과 효과를 보고하고 있는 임상 논문으로 앞으로의 임상연구에 대한 좋은 발판이 될 것으로 사료된다.

In vivo 연구에는 자궁내막증, 다낭성 난소 증후군과 자궁경부암에 대한 연구 2편으로 총 4편이 있었다. 이 등¹³⁾이 연구한 자궁내막증을 유도한 쥐의 關元穴(CV4)에 봉독을 주입한 후 혈액검사를 통해 E2와 IL-2의 유의한 감소 및 육안적인 감소를 확인하였다. 이 논문은 최종선정논문 중 자궁내막증에 대한 유일한 연구이며, 혈자리를 취혈하여 봉독처리를 한 유일한 논문이라는 점을 특징으로 볼 수 있다. 다낭성 난소 증후군에 대한 연구¹⁴⁾에서는 대조군과의 비교를 통해 봉독처리를 한 PCOS군에 대한 봉독 효과를 PCOS의 조직학적 특성과 혈액학적 변화를 통해 보고하고 있다. 대조군 설정을 통하여 보다 객관적인 치료효과를 보고하고 있었다. 하지만 구체적인

혈자리나 치료부위를 제시하지 않고 있다는 점에서 한계가 있다. 두 개의 자궁경부암 연구는 모두 *in vitro* 실험과 함께 진행된 연구로 두 논문^{15,16)} 모두에서 이식한 종양의 크기와 부피를 통해서 육안적으로 느낄 수 있는 종양의 증식억제 효과를 판단하고 보고하고 있었다. 암에 대해 연구된 *in vivo* 실험 논문이었다는 부분에서 의미가 있었지만, *in vivo* 그 자체만으로는 효과를 밝히는 데 한계가 있기 때문에 *in vitro* 연구 결과와 함께 봐야한다.

In vitro 실험에서는 난소암에 대한 4편의 논문과 자궁경부암에 대한 4편의 논문이 있었다. 난소암에 대한 연구 중 조 등¹⁷⁾은 봉독과 그 성분 중 하나인 melittin을 이용하여 난소암세포인 SKOV3와 PA-1 세포의 성장억제와 세포사멸에 대한 반응을 관찰하였다. 세포의 이상증식을 억제하고 암세포의 사멸을 유도하는 p53 유전자에 대한 wild-type(PA-1), null-type(SKOV3)을 비교를 통해 봉독과 melittin이 p53의 발현과 연관이 있다는 점을 밝혀내고 있었다.

난소암에 대한 나머지 3개의 논문에서는 난소암 항암제 중 하나인 cisplatin과의 병용치료에 대한 봉독의 synergistic effect를 알아보고 있다. Masoumehzaman Alizadehnohi 등¹⁸⁾은 세포사멸 내재적 경로(apoptotic intrinsic pathway)에서 세포사를 억제하는 Bcl2 단백질 농도를 통해 cisplatin을 단용한 세포보다 봉독을 병용한 세포에서 저용량의 cisplatin을 적용할 수 있음을 밝히고 있다. Sanad Alonezi 등^{18,19)}은 cisplatin-sensitive한 A2780 세포와 cisplatin-resistant type의 A2780CR 세포를 이용하여 melittin에 대한 반응여부,

두 세포간의 차이를 ATP, NAD⁺를 통해 파악하였다. 이후 2017년 발표한 연구에서는 cisplatin을 처리한 A2780, A2780CR 세포에 melittin을 처리하여 병용치료에 대한 효과와 적정용량을 보여주고 있으며, 두 세포간의 적정 약물 용량의 차이를 통해 다른 기전임을 추측하고 있다. 이들의 연구에 의해 난소암 환자에게 봉독 병용치료를 통해 구역질, 구토, 신장기능장애 등의 cisplatin의 부작용을 줄일 수 있는 새로운 치료법의 가능성을 보여줬다.

자궁경부암에 대한 연구 중 Ip Siu-wan 등²¹⁾은 CaSki 세포에 봉독을 처리하여 G0/G1기에서의 세포주기 중단을 알아내고, 기타 단백질의 발현을 통해 그 기전을 알아보고자 하였다. 신 등²²⁾은 같은 CaSki 세포를 이용하였지만 melittin만을 처리하였으며, HIF- α 생성과 VEGF의 발현 감소를 통하여 봉독의 암세포에 대한 신생혈관저해효과를 보고하고 있다. 김 등¹⁵⁾은 CaSki 세포 이외에도 HPV 18에 감염된 HeLa세포, HPV에 감염되지 않은 C33A를 이용하여 바이러스감염에 따른 봉독의 효과를 연구하였다. 결과를 통해 HPV에 감염되지 않은 C33A에 대한 세포증식억제 효과보다 HPV에 감염된 세포들(CaSki, HeLa)에 대한 효과가 좋았으며, 그 중에서도 HPV 16에 감염된 CaSki 세포에 대한 효과가 더 좋은 것을 보고하고 있다. 이 등¹⁶⁾은 FAS, DR3, DR6의 발현 증가를 발견하였으며, 이를 통해 apoptotic cell death 활성화를 보고하고 있었다.

부인암에 대한 한방치료의 수요증가와 임상적인 치료 시도가 늘어나는 가운데, 이러한 봉독을 활용한 암세포연구는 앞으로 한방부인과에서 봉독치료의 안정성

을 가지고 치료할 수 있는 근거가 될 수 있다. 수술 후 방사선요법이나 항암화학요법을 받는 환자에게서 발생할 수 있는 부작용을 봉독치료를 통해 완화하고 증상에 대한 개선도 얻을 수 있다.

한방부인과 임상에서 봉독은 다양하게 활용되고 있으나 아직까지 그 근거를 입증하는 관련 연구 및 활용에 대한 연구도 많지 않은 것이 사실이다. 우리는 다른 질환을 통해 밝혀진 봉독의 소염, 진통, 해열 및 면역증강 등의 작용을 부인과질환에 응용해 볼 수 있을 것이며, 이에 대한 증례보고나 연구를 통해 적정용량과 치료경과 등에 대한 보고가 필요하다.

최근에는 봉독의 구성성분 중 하나인 Phospholipase A₂(PLA₂)가 영향을 준다고 알려져 있는 regulatory T-cell(Treg cell)에 대한 산부인과적 연구들이 많이 이루어지고 있다. 특히 임신부의 Treg cell이 임신의 안정성을 높여 유산, 조산을 방지^{9,10,28)}하거나 유산의 위험에 대한 예측인자로 작용할 수 있다는 연구²⁹⁾가 있고, Treg cell과 자간전증의 발생률과의 연관성에 대한 연구^{30,31)}도 보고되고 있다. 하지만 이러한 기전이 봉독이나 PLA₂ 추출물을 직접 이용한 연구는 보고되어 있지 않았다.

한방부인과에서 2017년 봉독을 이용한 면역학적 효과에 대한 연구가 보고된 바 있는데, 강³²⁾은 유산을 유도한 쥐에게 봉독을 처리하여 Phospholipase A₂(PLA₂)의 면역학적효과를 보고자 하였다. Phospholipase A₂가 regulatory T-cell(Treg cell)의 수를 증가시켜 배아에 대한 거부 반응 조절을 통한 유산을 방지할 것이라고 보고한다.

본 논문에서 정리한 11개의 논문 이외에도 한방부인과에서는 봉독을 활용한

다양한 임상연구 및 실험연구가 필요하다. 또한 그 동안의 다른 질환에 대해 밝혀진 봉독의 효과와 기전을 바탕으로 봉독을 임신부에게 적용했을 때의 안정성에 대한 연구를 하여, 임신부가 겪을 수 있는 근골격계질환이나 안면마비 등의 질환에 대한 활용의 근거가 필요하다. 마지막으로 봉독의 면역학적효과를 통한 유산, 임신, 조산 등과 같은 임신관련질환에 대한 치료연구도 더 많이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

한방부인과에서 다루는 자궁 및 난소 질환에서 봉독(Bee Venom)이 사용될 수 있는 근거를 고찰하기 위해 국내외 검색엔진을 이용하여 영어, 한국어로 쓰인 2000년 이후 논문을 검색하였다. 최종적으로 임상 증례보고 1편, 실험논문 10편으로 총 11편을 대상으로 하였다.

1. 2005년 이후로 13년 동안 총 11편의 논문이 보고되었으며, 이 중 우리나라에서 6편으로 가장 많이 연구되고 있었다. 또한 난소암 4편, 자궁경부암 4편, ASCUS 1편으로 부인암에 대한 연구가 가장 활발히 이루어지고 있었다.
2. 임상논문 1편은 ASCUS 진단 받은 환자 2명에게 봉독을 국소병변에 주입하였으며, 세포진 검사, 질확대경, HPV 검사, 자궁경부 생검을 통해 봉독이 유효함을 보여주었다.
3. *In vivo* 연구 4편 중 2편에서는 각각 자궁내막증과 다낭성 난소 증후군을 유도한 쥐에게 봉독을 처리한 후 중

양의 크기 및 혈액학적 지표, 조직학적검사를 통하여 봉독의 효과를 확인하였다. 나머지 2편은 자궁경부암 세포를 이식한 쥐에게 봉독을 처리한 후 종양증식억제를 확인하였다.

4. *In vitro* 연구는 난소암 4편, 자궁경부암 4편으로 각각의 질환의 세포를 이용하여, 봉독(혹은 melittin)을 처리를 통해 세포증식억제 효과 및 세포사멸 기전을 보고하고 있었다. 또한 난소암 세포를 이용한 연구에서는 cisplatin과의 병행치료에 대한 봉독의 활용 가능성을 보여주었다.

- Received : Oct 27, 2017
- Revised : Oct 29, 2017
- Accepted : Nov 17, 2017

감사의 글

이 성과는 2015년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2015R1C1A1A02037172).

This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government (MSIP)(NRF-2015R1C1A1A02037172).

References

1. Hwang DS, et al. Therapeutic Effects of Bee Venom on Immunological and Neurological Diseases. *Toxins*. 2015; 7(7):2413-21.
2. Choi MS, et al. Bee Venom Ameliorates Ovalbumin Induced Allergic Zsthma via Modulating CD4+CD25+ Regulatory T Cells in Mice. *Cytokine*. 2013;61(1):256-65.
3. Lee JD, et al. An Overview of Bee Venom Acupuncture in the Treatment of Arthritis. *Evid. Based Complement. Altern. Med*. 2005;2(1):79-84.
4. Son DJ, et al. Therapeutic Application of Anti-arthritis, Pain-releasing, and Anti-cancer Effects of Bee Venom and its Constituent Compounds. *Pharmacol. Ther*. 2007;115(2):246-70.
5. Cho SY, et al. Effectiveness of Acupuncture and Bee Venom Acupuncture in Idiopathic Parkinson's Disease. *Park. Relat. Disord*. 2012;18(8):948-52.
6. Kang SY, et al. Repetitive Treatment with Diluted Bee Venom Reduces Neuropathic Pain via Potentiation of Locus Coeruleus Noradrenergic Neuronal Activity and Modulation of Spinal NR1 Phosphotylation in Rats. *J Pain*. 2012; 13(2):155-66.
7. Lee HJ, et al. Bee Venom-associated Th1/Th2 Immunoglobulin Class Switching Results in Immune Tolerance of NZB/W F1 Murine Lupus Nephritis. *Am J Nephrol*. 2011;34(2):163-235.
8. Yang EJ, et al. Bee venom attenuates neuroinflammatory events and extends survival in amyotrophic lateral sclerosis models. *Neuroinflamm*. 2010;7(1):1-12. Available from:URL:<http://doi.org/10.1186/1742-2094-7-69>.
9. Ernerudh J, Berg G, Mjosberg J. Regulatory T Helper Cells in Pregnancy and their Roles in Systemic versus

- Local Immune Tolerance. American Journal of Reproductive Immunology. 2011;66(1):31-43.
10. Lee SK, et al. Th17 and Regulatory T cells in Women with Recurrent Pregnancy Loss. American Journal of Reproductive Immunology. 2012; 67(4):311-8.
 11. Dorota DK, et al. The Predominance of Th17 Lymphocytes and Decreased Number and Function of Treg Cells in Preeclampsia. Journal of Reproductive Immunology. 2012;93(2):75-81.
 12. Kim SW, et al. A Report of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance(ASCUS) Treated by Bee Venom Therapy. J Korean Obstet Gynecol. 2005;18(2):169-75.
 13. Lee YH, et al. Effects of Bee Venom Acupuncture on Surgically Induced Endometriosis Rats. Journal of Pharmacopuncture. 2006;9(1):21-32.
 14. Karimzadeh L, et al. Effect of Bee Venom on IL-6, COX-2 and VEGF Levels in Polycystic Ovarian Syndrome Induced in Wistar Rats by Estradiol Valerate. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases. 2013;19(1):1-8. Available from:URL: <http://doi.org/10.1186/1678-9199-19-32>.
 15. Kim YW, et al. Honeybee Venom Possesses Anticancer and Antiviral Effects by Differential Inhibition of HPV E6 and E7 Expression on Cervical Cancer Cell Line. Oncology Reports. 2015;33(4):1675-82.
 16. Lee HL, et al. Bee Venom Inhibits Growth of Hyman Cervical Tumors in Mice. Oncotarget. 2015;6(9):7280-92.
 17. Jo MR, et al. Anti-cancer Effect of Bee Venom Toxin and Melittin in Ovarian Cancer Cells through Induction of Death Receptors and Inhibition of JAK2/STAT3 Pathway. Toxicology and Applied Pharmacology. 2011;258(1):72-81.
 18. Alizadehnohi M, et al. The Synergistic Cytotoxic Effect of Cisplatin and Honey Bee Venom on Human Ovarian Cancer Cell Line A2780cp. J Venom Res. 2012;3:22-7.
 19. Alonezi S, et al. Metabolomic Profiling of the Effects of Melittin on Cisplatin Resistant and Cisplatin Sensitive Ovarian Cancer Cells Using Mass Spectrometry and Biolog Microarray Technology. Metabolites. 2016;6(4):1-18. Available from:URL:<http://dx.doi.org/10.3390/metabo6040035>.
 20. Alonezi S, et al. Metabolomic Profiling of the Synergistic Effects of Melittin in Combination with Cisplatin on Ovarian Cancer Cells. Metabolites. 2017;7(2):1-18. Available from:URL: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo7020014>.
 21. Ip SW, et al. Bee Venom Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Cervical Epidermoid Carcinoma Ca Ski Cells. Anticancer Research. 2008; 28(2A):833-75.
 22. Shin JM, et al. Melittin Suppresses HIF-1 α /VEGF Expression through Inhibition of ERK and mTOR/p70S6K Pathway in Human Cervical Carcinoma

- Cells. Plos One. 2013;8(7):77-84.
23. Park JW, et al. An Analysis of the Study Tendency on Bee Venom - Focusing on Study of Bee Venom in Domestic Theses. J Oriental Rehab Med. 2006;16(2):31-52.
 24. Kim MH. Bee Venom Therapy & Bee Acupuncture Therapy. Seoul:Korean Education Company. 1992:144.
 25. Han CH, et al. The Review on the Study of Bee Venom in the Journals of Korean Medicine. Korean Journal of Acupuncture. 2013;30(1):27-36.
 26. Chen J, Lariviere WR. The Nociceptive and Anti-nociceptive Effects of Bee Venom Injection and Therapy: a Double-edged Sword. Progress in Neurobiology. 2010;92(2):151-83.
 27. Lee JA, et al. Bee Venom Acupuncture for rheumatoid Arthritis: a Systematic Review of Randomised Clinical Trials. Complementary Medicine. 2014;4(11):1-9. Available from:URL:<http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006140>.
 28. Teles A, Ana Claudia Zenclussen, Anne Schumacher. Regulatory T Cells are Baby's Best Friends. American Journal of Reproductive Immunology. 2013;69(4):331-9.
 29. Winger EE, Reed JL. Low Circulating CD4+ CD25+ Foxp3+ T Regulatory Cell Levels Predict Miscarriage Risk in Newly Pregnant Women with a History of Failure. American Journal of Reproductive Immunology. 2011:66(4):320-8.
 30. Prins JR, et al. Preeclampsia is Associated with Lower Percentages of Regulatory T Cells in Maternal Blood. Hypertension in Pregnancy. 2009;28(3):300-11.
 31. Santner-Nanan B, et al. Systemic Increase in the Ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T Cells in Healthy Pregnancy but not in Preeclampsia. J Immunol. 2009;183(11):7023-30.
 32. Kang NH. Bee Venom Phospholipase A2 Protects Against Lipopolysaccharide Induced Abortion in Mice. Department of Clinical Korean Medicine, Graduate School, Kyung Hee University. 2017.