

# 전립샘암 세포주에서 $\beta$ -Catenin 및 Matrix Metalloproteinase-7의 발현에 대한 Decursin의 효과

## Effect of Decursin on the Expression of $\beta$ -Catenin and Matrix Metalloproteinase-7 in Prostate Cancer Cell Lines

Ik-jun Choi<sup>1</sup>, Kweonsik Min<sup>1,2</sup>, Sangtaek Oh<sup>3</sup>, Gyu-yong Song<sup>4</sup>, Dongil Kang<sup>1,2</sup>

From the <sup>1</sup>Department of Urology, <sup>2</sup>Paik Institute of Clinical Research, <sup>3</sup>Pharmaco Genomics Research Center, College of Medicine, Inje University, Busan, <sup>4</sup>College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, Korea

**Purpose:** Alterations in the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway are associated with the development and progression of human prostate cancer. Decursin can attenuate the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. We investigated the relationship between the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and decursin in prostate cancer cells.

**Materials and Methods:** PC-3 and LNCaP cell lines were used. Cell viability was measured with methyl-thiazole tetrazolium bromide (MTT) assays, and cell apoptosis analysis was performed by FACScan. The amount of  $\beta$ -catenin protein after treatment with decursin was measured by Western blot analysis. Expression of MMP-7 mRNA was detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR).

**Results:** Death and apoptosis were increased after treatment with decursin 0.5-100  $\mu$ M in PC-3 and LNCaP cells. This was revealed dose and time-dependent increase of cancer cell death on 24, 48 and 72 hours. FACScan showed an increment of apoptosis on 24, 48 hours. Expression of intracellular  $\beta$ -catenin protein was decreased dose-dependently in both of prostate cancer cell lines. Decursin reduced MMP-7 mRNA expression on 6, 12, 24, 48 hours dose-dependently.

**Conclusions:** Decursin affects the viability of prostate cancer cells. Increased cancer cell death was associated with increased apoptosis. This study suggests that decursin may play a role in the treatment of prostate cancer. (Korean J Urol 2009;50:81-88)

**Key Words:** Decursin, Beta-catenin, Matrix metalloproteinase, Prostate

대한비뇨기과학회지  
제 50 권 제 1 호 2009

<sup>1</sup>인제대학교 의과대학  
비뇨기과학교실,  
<sup>2</sup>백인제임상의학연구소,  
<sup>3</sup>약물유전체연구센터,  
<sup>4</sup>충남대학교 약학대학

최익준<sup>1</sup> · 민권식<sup>1,2</sup> · 오상택<sup>3</sup>  
송규용<sup>4</sup> · 강동일<sup>1,2</sup>

접수일자 : 2008년 6월 18일  
채택일자 : 2008년 10월 1일

교신저자 : 강동일  
인제대학교 부산백병원 비뇨기과  
부산시 부산진구 개금동  
633-165  
☎ 614-735  
TEL: 051-890-6383  
FAX: 051-892-9887  
E-mail: ur0kang@hanmail.net

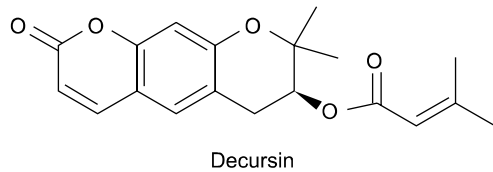
본 논문은 2006년도 인제대학교 학술연구  
조성비보조에 의한 것임.

## 서 론

전립샘암은 미국의 경우 남성에서 발병률이 가장 높고, 사망률이 두 번째인 악성 종양으로, 최근 국내에서도 발병률이 급속하게 증가하고 있다. Prostate-specific antigen (PSA)의 도입으로 전립샘암의 진단 및 치료가 조기에 이루어짐에도 불구하고 전이성 암에서는 호르몬 치료 이외는 특별한 치료가 없는 실정이다. 남성호르몬 비의존성암으로 진행될 경우 평균 18개월 정도의 여명을 기대하고 있다.<sup>1</sup> 최근

docetaxel과 estramustine 등을 기초로 한 항암화학요법이 남성호르몬 비의존성 전립샘암에서 시행되고 있지만 확실한 효과는 보이지 못하고 있다.<sup>2,3</sup>

전립샘암의 발생 및 진행에 대한 여러 가지 학설이 존재한다. Wnt/ $\beta$ -catenin 신호전달체계의 비정상적 활성화도 그 중 하나이다.  $\beta$ -catenin은 세포 내에서 E-cadherin과 함께 세포간의 부착과 세포 내 Wnt 신호전달체계의 중심 단백질이다.<sup>4</sup> E-cadherin 복합체의 소실이 진행성 전립샘암에서 관찰되고, E-cadherin의 비정상적인 발현이 침윤성 또는 전이성 전립샘암과 관련이 있었다.<sup>5-7</sup> 이후 많은 연구에서 catenin이



**Fig. 1.** Chemical structure of decursin isolated from the roots of *Angelica gigas*.

E-cadherin과 상호작용을 하는 물질이며, 이 중  $\beta$ -catenin이 Wnt 신호전달체계에서 주된 역할을 한다고 알려졌다.<sup>8</sup> 비정상적인 Wnt/ $\beta$ -catenin 신호전달체계의 활성화에 의해 세포 내  $\beta$ -catenin의 양이 증가하고, 증가된  $\beta$ -catenin이 핵으로 이동하여 전사인자인 TCF와 결합하여 c-myc, cyclin D1, matrix metalloproteinase (MMP)-7 등의 종양유전자의 발현을 활성화시키거나 남성호르몬 수용체와 결합하여 수용체의 활성을 증가시켜 전이로 진행된다.<sup>9,10</sup>

Decursin은 한방에서 빈혈 및 조혈기능의 향상에 효과가 있어 사용되던 참당귀 뿌리 (root of *Angelica gigas* Nakai)로부터 추출한 pyranocoumarin계 약물이다 (Fig. 1).<sup>11,12</sup> 최근 decursin의 항암 효과가 밝혀지면서 각 분야에서 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 국내 연구자들에 의해 decursin의 항남성호르몬 효과가 알려지면서 전립샘암에 대한 연구가 진행 중이다.<sup>13-15</sup>

이에 저자들은 남성호르몬 의존성 및 비의존성 전립샘암 세포주에서 decursin의 Wnt/ $\beta$ -catenin 신호전달체계의 주요 단백질인  $\beta$ -catenin과 종양 전이에 관련되는 MMP-7의 발현에 대한 효과를 알아보려고 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 세포주 배양

전립선암 세포 LNCaP, PC-3 세포주는 American Type Culture Collection (Manassas, USA)에서 분양받았다. LNCaP 세포주는 10% fetal bovine serum (FBS)이 포함된 RPMI-1640 배지에서 키웠으며, PC-3 세포주는 10% FBS가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's 배지에서 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 37°C 항온 항습기에 배양하였다.

### 2. 약물 처리

Decursin은 충남대학교 약학대학으로부터 제공받아 dime-thyl sulfoxide에 녹여 1M을 저장 용액으로 사용하였다. 0-100  $\mu$ M 농도로 희석하였다.

### 3. 세포 성장 측정

세포성장은 methyl-thiazoletetrazolium bromide (MTT) 분석법으로 측정하였다.<sup>16</sup> 96-well 배양접시에  $1 \times 10^4$  세포를 각 well에 분주하고 5% FBS가 포함된 RPMI-1640 배지를 200  $\mu$ l로 하였다. 24시간 후에 DMSO 대조군과 decursin 농도를 0, 0.5, 1, 10, 25, 50, 100, 200  $\mu$ M하여 24, 48, 72시간으로 약물에 노출시켰다. 약물에 노출시킨 후 세포배양액을 제거하고 MTT 용해액 200  $\mu$ l를 첨가하여 4시간 동안 반응시켰다. 각 well에 DMSO 200  $\mu$ l를 첨가하여 실온에서 잘 섞어 formazan crystal을 용해시킨 후 Microplate Reader기를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3번 반복하였으며, 평균 $\pm$ 표준편차로 표기하였다.

### 4. FACScan을 통한 세포고사 정도의 분석

Decursin의 세포고사 정도를 분석하기 위하여 decursin을 처리하지 않은 대조군 및 decursin을 10, 50  $\mu$ M로 처리한 군을 6-well plate에 세포 수  $2 \times 10^4$  cells/ml를 분주하고 24시간, 48시간 동안 배양하였다. 이후 배양된 세포를 trypsin-EDTA를 사용하여 plate로부터 세포를 분리하여 원심분리한 후 다시 인산완충용액으로 2회에 걸쳐 세척한 후 결합 완충액 (binding buffer)에서 세포가 잘 부유하도록 한 후 5ml 배양관에 옮기고 15  $\mu$ l의 annexin V-FITC, propidium iodide (PI)를 관에 첨가한 후 잘 혼합하여 약 15분간 암실에서 반응시켰다. 이후 400  $\mu$ l의 FACS buffer (1% FBS in PBS)를 첨가한 후 BD FACSCalibur<sup>TM</sup> (Ver. 3.3 BD biosciences, USA)에서 10,000개 이상이 될 때까지 세포를 측정하였으며 FACScan 유세포계측기 (flowcytometry)의 판독 결과를 annexin V-FITC와 PI의 발현 유무에 따라 세포고사의 정도를 측정하였다.

### 5. 단백질 분리와 Western blot 분석

Decursin을 처리하지 않은 대조군 (0  $\mu$ M) 및 decursin을 10, 25, 50, 100  $\mu$ M로 처리한 세포를 6-well 배양접시에서 배양하였다.

1) 세포 내 총  $\beta$ -catenin 측정:  $\beta$ -catenin 표적 단백질은 6-well 배양접시에서 배양된 세포를 대상으로 검출하였다. 100  $\mu$ l의 용해완충액으로 2개의 well에 세포를 분해시키고 분해물을 원심분리시킨 후 상층액만 모아 단백질 샘플로 사용하였다. 단백질은 Bio-Rad Protein assay kit (Bio-Rad, USA)를 이용하여 정량하였다. 단백질 샘플은 5x SDS gel loading buffer에 넣고 100°C에서 5분간 끓여 변성시킨 후 12% polyacrylamide gel을 사용하여 전기영동하였다. 전기영동 후 겔을 PVDF 막으로 이동하였다. 막을 탈지분유를 함유한 TBS-T에 반응시키고, 1차 항체 mouse monoclonal anti-

$\beta$ -catenin (BD biosciences, USA)를 1:1,000으로 희석시켜 4°C에서 밤새 반응시켰다. 밤새 반응시킨 막을 TBS-T에 10분씩 3회 세척한 후 2차 항체 HRP-conjugated anti-mouse antibody (Amersham Bioscience, USA)를 1:500으로 희석시켜 3시간 반응시켰다.

항체 반응을 끝내고 TBS-T에 10분씩 3회 세척한 후 ECL (Amersham Bioscience, USA)을 처리하고 Chemiluminescence (Las-3000 Lite, biobank)에서 표적 단백질을 검출하였다.

2) 세포질에서의  $\beta$ -catenin 측정: 세포질 분리액은 이전에 기술된 것과 같은 방법으로 준비하였다.<sup>17</sup> 단백질을 4-12% gradient SDS-PAGE를 이용하여 분리하고 nitrocellulose 막 (Amersham Bioscience, USA)에 옮겼다. 막을 5% 탈지 분유로 blocking 시킨 후 일차 항체인 mouse monoclonal anti  $\beta$ -catenin (BD biosciences, USA)을 처리하였다. 일차 항체 처리 후 TBS-T로 5회 씻어내고, 이차 항체인 anti-mouse IgG- HRP (Santa Cruz Biotechnology, USA) 처리하였다. 밴드는 ECL (Amersham Bioscience, USA)을 사용하여 확인하였다.

## 6. RNA 분리

Decursin를 처리하지 않은 대조군 (0  $\mu$ M) 및 decursin을 10, 25, 50, 100  $\mu$ M로 처리한 세포를 6-well 배양접시에서 6, 12, 24, 48시간 동안 배양하였다. 전체 RNA는 TRIzol reagent (Invitrogen, USA)를 이용하여 6-well 배양접시에 키운 세포에서 분리하였고 RNA는 정해진 방법대로 실험을 수행하였다. 분리시킨 전체 RNA는 RNasin을 처리하였고, 농도와 순도는 nanodrop을 이용하여 측정하였다. First strand cDNA는 AccuPower RT Premix (바이오니어, 한국)를 이용하였으며 2  $\mu$ g의 total RNA와 19mer oligo dT (바이오니어, 한국)를 첨가하여 정해진 방법대로 실험을 수행하였다. 합성되어진 cD-

NA는 사용하기 전에 -20°C에 보관하였다. 프라이머는 GenBank database를 통해 예전에 입증되어진 human MMP-7과 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 시퀀스를 기반으로 선택하였으며 GAPDH를 대조군으로 사용하였다. Human MMP-7 프라이머의 염기서열은 다음과 같다. 정방향 프라이머 5'-tgg cct acc tat aac tgg aa-3', 역방향 프라이머, 5'-tcc cta gac tgc tac cat cc-3'.

## 7. 실시간 중합효소 연쇄반응

실시간 정량적 중합효소 연쇄반응은 SYBR Green I (Bio-rad, Hercules, USA)을 사용하여 IQ5 real-time PCR Detection System (Bio-Rad, Hercules, USA)을 통해 시행하였다. PCR 반응액의 최종량은 20  $\mu$ l로 microcapillary 튜브를 사용하였다. 20  $\mu$ l PCR 반응액의 조성은 각각 10  $\mu$ mol/l 정방향 프라이머와 역방향 프라이머 1  $\mu$ l, SYBR GreenI 10  $\mu$ l, H<sub>2</sub>O 7  $\mu$ l, cDNA template 1  $\mu$ l로 이루어지도록 준비하였다. mRNA 정량은 표준곡선 방법을 사용하였다. 표준 곡선은 순차적인 희석 표준 주형을 이용하였으며 중합효소 연쇄반응 산물의 양을 GAPDH로 정량하여 수치화 하였다.

## 8. 통계 처리

통계처리 방법은 Student's t-test를 사용하여 검정하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계학적인 유의성을 인정하였다.

## 결 과

### 1. 세포 성장 분석

남성호르몬 의존성/비의존성 전립샘암 세포주는 0-100  $\mu$ M의 농도로, 시간은 24, 48, 72시간 동안 decursin에 노출시

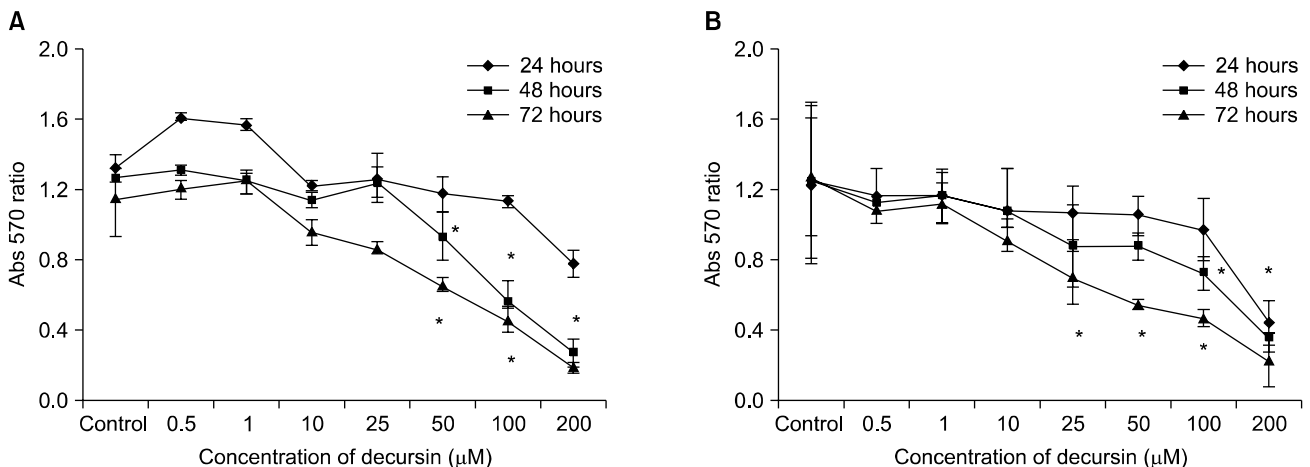
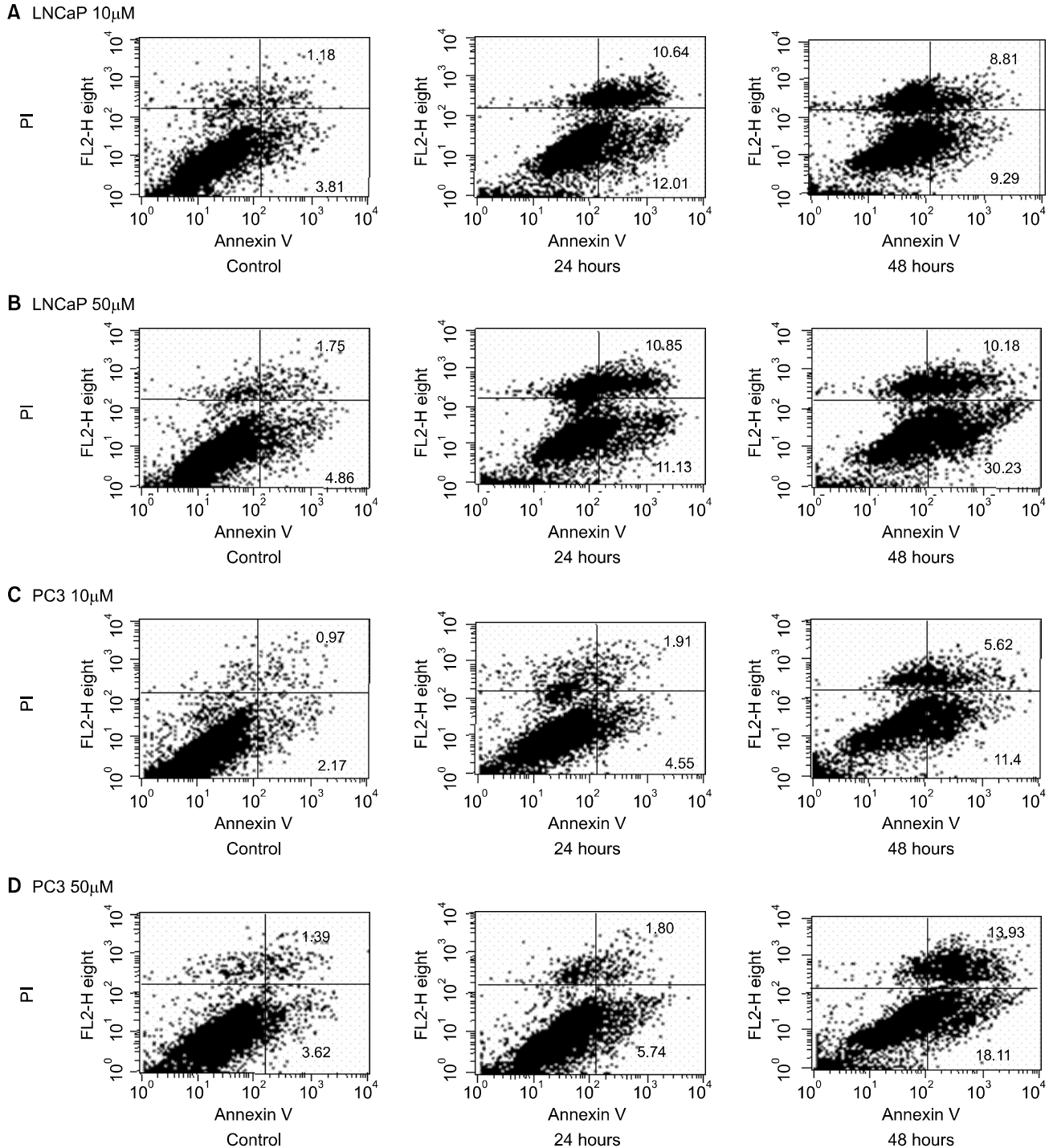


Fig. 2. The growth rate of prostatic cancer cell lines. (A) LNCaP cell line, (B) PC-3 cell line. \*p < 0.05 versus control.

켰다. MTT 분석 결과 남성호르몬 의존성/비의존성 전립샘 암 세포주 모두에서 시간 및 농도에 비례하여 세포 생존율이 감소하였다 (Fig. 2).

## 2. 세포자멸사의 측정

초기 세포자멸사는 decursin을 처리한 세포주에서 annexin V(+)/PI(-), 후기 세포자멸사 또는 세포 괴사는 annexin V



**Fig. 3.** Effects of decursin-induced apoptosis in prostate cancer cell lines. Cells were incubated for 24 or 48 hours and stained with annexin V and PI. (A) LNCaP cells with 10  $\mu$ M decursin, (B) LNCaP cells with 50  $\mu$ M decursin, (C) PC-3 cells with 10  $\mu$ M decursin, (D) PC-3 cells with 50  $\mu$ M decursin.

(+)/PI(+))인 경우이다. 두 세포주에서 시간에 비례하여 초기 및 후기 세포자멸사가 증가하였다 (Fig. 3).

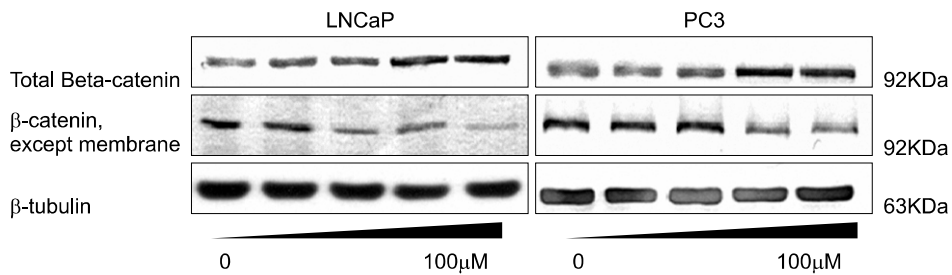
### 3. Decursin의 남성호르몬 의존성/비의존성 전립샘암 세포주에서 $\beta$ -catenin 단백질 발현에 대한 영향

PC-3, LNCaP에서 decursin을 처리한 후  $\beta$ -catenin의 총량을 측정하였다. 세포 전체  $\beta$ -catenin은 모두에서 decursin의 농도가 증가할수록 발현이 증가하였다. 하지만 세포막을

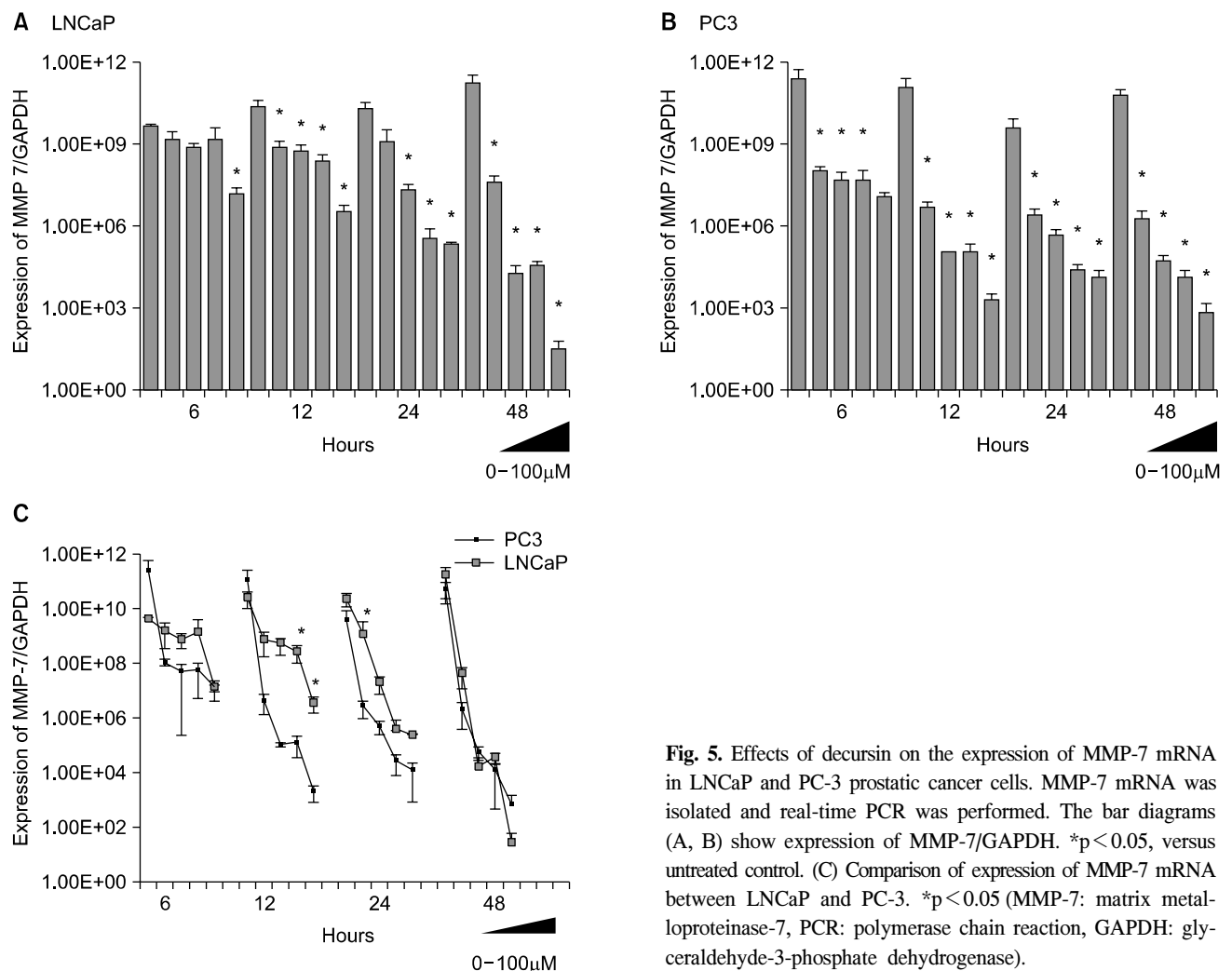
제외한 세포질의  $\beta$ -catenin은 decursin의 농도가  $50 \mu\text{M}$  및  $100 \mu\text{M}$ 일 때, 남성호르몬 의존성 및 비의존성 전립샘암 세포주 모두에서 대조군보다 발현이 감소하였다 (Fig. 4).

### 4. Decursin의 남성호르몬 의존성/비의존성 전립샘암 세포주에서 MMP-7 mRNA의 발현에 대한 영향

실시간 정량적 중합효소 연쇄반응을 통해 발현된 MMP-7 mRNA는 12, 24, 48시간대에서 용량 의존적으로 감소하였



**Fig. 4.** Effects of decursin on the expression of  $\beta$ -catenin protein in LNCaP and PC-3 prostatic cancer cells. Total and except membrane  $\beta$ -catenin protein was isolated and Western blot analysis was performed.



**Fig. 5.** Effects of decursin on the expression of MMP-7 mRNA in LNCaP and PC-3 prostatic cancer cells. MMP-7 mRNA was isolated and real-time PCR was performed. The bar diagrams (A, B) show expression of MMP-7/GAPDH. \* $p < 0.05$ , versus untreated control. (C) Comparison of expression of MMP-7 mRNA between LNCaP and PC-3. \* $p < 0.05$  (MMP-7: matrix metalloproteinase-7, PCR: polymerase chain reaction, GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase).

다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 5A, 5B) LNCaP에서보다 PC-3에서 12, 24 시간 mRNA의 발현이 더 감소하여 decursin의 영향을 더 받았다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 5C).

## 고 찰

당귀로부터 추출 정제한 decursin을 남성호르몬 의존성 및 비의존성 전립샘암 세포주에 처리한 후 그 효과를 조사하였다. 본 연구에서는 decursin은 남성호르몬 의존성/비의존성 전립샘암 세포주 모두에서 Wnt 신호전달체계의 중요한 단백질인  $\beta$ -catenin의 발현에 영향을 미쳤으며, decursin 용량의존적으로  $\beta$ -catenin의 표적단백질인 MMP-7의 mRNA의 발현이 감소하였다.

Decursin은 LNCaP 및 PC-3 세포주에서도 Yim 등<sup>13</sup>이 DU-145 세포주에서와 같이 용량 및 시간에 비례하여 세포들의 성장이 억제되었으며, 또한 Annexin V/PI 염색에서 세포자멸사에 의해 세포들이 사멸됨을 알 수 있었다. 세포의 성장 억제는 대조군과 비교하여 48시간, 72시간, 50  $\mu$ M 이상의 농도에서 의미 있게 감소가 일어났다.

Decursin은 DU-145에서 G1 세포주기 정지를 통해 세포자멸사를 일으킨다. 또한 decursin의 DU-145 세포주에서의 세포자멸사에는 caspase-dependent/independent 기전에 모두 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>13</sup>

참당귀의 추출물인 decursin은 항남성호르몬효과 및 남성호르몬 수용체 단백을 저활성화시킨다.<sup>15</sup> 전립샘의 성장 및 전립샘암의 성장에 남성호르몬 및 남성호르몬 수용체가 영향을 미친다.<sup>18,19</sup> 전립샘암의 성장은 세포의 증식과 사멸 비율의 변화 때문인데, 남성호르몬은 이러한 비를 조절하는 주된 조절인자이다. 따라서 남성호르몬 제거 요법이 이러한 증식 비율을 낮추게 되고 따라서 전립샘암의 성장을 억제하게 되는 것이다. 그러나 시간이 지남에 따라 남성호르몬 의존성 전립샘암에서 비의존성으로 변화가 일어나게 되면 남성호르몬 제거 요법이 효과가 없어지게 된다. 이러한 변화는 유전자의 변이 때문에 일어나게 된다.<sup>20</sup> 남성호르몬 비의존성 전립샘암을 유발하는 유전자 변이를 설명하는 기전은 크게 hypersensitive pathway, promiscuous pathway, outflow pathway, bypass pathway, lurker cell pathway의 5가지가 있다.<sup>19</sup> 이러한 기전 중 bypass pathway 와 lurker cell theory를 제외한 경로에서는 남성호르몬 수용체의 발현 및 작용이 관여하게 된다. Decursin은 bicalutamide와 비교하여 남성호르몬 수용체 단백질의 발현을 유의하게 억제한다.<sup>15</sup>

일반적으로 전립선암 세포주에서  $\beta$ -catenin은 정상세포보다 발현이 증가한다.<sup>21</sup> 전립샘종양조직에서  $\beta$ -catenin의 발현을 확인할 수 있다.<sup>22-24</sup> 그리고, 전립선암조직에서 Jaggi

등<sup>25</sup>은  $\beta$ -catenin의 발현이 Gleason score가 증가할수록 증가하고, 핵 내의 발현도 증가한다고 보고하였다. 또한 전립샘암의 전이조직에서도  $\beta$ -catenin의 발현이 증가한다고 보고되고 있다.<sup>21</sup>

본 연구에서 decursin을 처리하였을 때 세포 내 총  $\beta$ -catenin 양은 증가하고, 세포질 내의  $\beta$ -catenin 양은 감소하였다. 세포 내 총  $\beta$ -catenin의 양이 증가하는 것은 설명하기 어려우나 Van Veldhuizen 등<sup>26</sup>의 연구에서 유사한 결과를 나타낸다. Van Veldhuizen 등<sup>26</sup>은 남성호르몬 의존성/비의존성 전립샘암 세포주에 2-methoxyestradiol (2-ME)을 처리한 후  $\beta$ -catenin의 총량과 세포막, 세포질 및 핵에서의 발현을 조사하였으며, 이 때 전체 및 세포막의  $\beta$ -catenin의 발현은 증가하고 핵 내  $\beta$ -catenin의 발현은 감소하였다. 이는 2ME에 의해  $\beta$ -catenin이 핵 내로의 이동이 억제되고, 핵 내에서의  $\beta$ -catenin 전사가 감소하기 때문에 이와 같은 결과가 나온다고 설명하고 있다. 본 실험에서도 세포막의  $\beta$ -catenin의 발현을 따로 알아보지 않았지만,  $\beta$ -catenin의 전체 및 세포질에서의 발현 양상이 유사한 결과가 나왔다. 또한 LNCaP 세포주에서보다 PC-3에서 세포질 내  $\beta$ -catenin의 발현이 더 영향을 받았다. 이전의 연구에서는 PC-3 세포주에서  $\beta$ -catenin의 영향에 대해 기술되었지만 본 연구는 decursin이 남성호르몬 의존성 전립샘암보다 비의존성암에서 더 영향을 미칠 것이라고 예상할 수 있다.<sup>14</sup>

Plasma matrix metalloproteinase (MMP)는 세포외 기질을 분해시킬 수 있는 능력을 가진 단백질을 모두 언급하는 용어이다. 현재 인간에게 알려져 있는 MMP는 모두 22종이다. MMP는 주로 종양세포에서 발견이 되며, 종양의 침윤과 전이를 유발하는 세포외막 방어벽의 제거와 관련되어 종양의 침윤에 중요한 역할을 한다. MMP와 종양의 관련성에 대한 연구는 침윤성 방광암에서 처음 이루어졌다.<sup>27</sup> 이 연구에서 MMP-9, MMP-12가 비침윤성 방광암에 비해서 침윤성 방광암에서의 발현이 증가되어 있음을 알 수 있었다. MMP-9이 기저막을 구성하는 주요 물질인 제4형 콜라겐을 파괴함으로써 방광암의 침윤이 이루어진다고 밝혀졌다. 그리고 방광암 환자의 소변에서 MMP-9이 검출되었고, MMP-9이 방광암의 병기 단계와 밀접한 관련이 있음이 방광근층을 침범한 방광암 환자의 소변과 대조군과의 비교를 통해 알 수 있었다. 최근의 연구에서는 진행성 전립샘종양에서 MMP-7의 과발현이 관찰되었고, MMP-7은 Wnt/ $\beta$ -catenin pathway에서  $\beta$ -catenin/TCF-4 복합체에 의해 핵 내에서의 발현이 되며, 종양 발생에서 중요한 전사요소 중의 하나이다.<sup>28,29</sup> 또한 MMP-7은 전이와 관련되어 설명되는데, 직장·결장암의 전이된 종양의 경계부위에서 발견되었다.<sup>30</sup>

본 실험에서 저자들은 decursin 투여 후 세포질의  $\beta$ -

catenin의 발현 변화에 따라 MMP-7의 발현에 어떠한 변화가 일어나는지를 알아보고자 하였다. Decursin 투여 후 처치 시간 및 농도에 비례하여 MMP-7의 발현이 감소하였다. 또한 남성호르몬의존성 및 비의존성 전립샘암 세포주의 비교에서 LNCaP 세포주보다 PC-3 세포주에서 더 많이 발현이 억제됨을 확인할 수 있었다.

## 결론

Decursin은 남성호르몬 비의존성 전립샘암 세포주 뿐만 아니라 의존성 전립샘암 세포주에서 Wnt/ $\beta$ -catenin 신호전달체계의 주요 물질인  $\beta$ -catenin의 발현에 영향을 미쳤다. 또한  $\beta$ -catenin에 의해 조절되는 MMP-7 mRNA의 발현을 감소시킬 수 있었다. 특히 남성호르몬 비의존성 전립샘암 세포주에서 의존성인 경우보다 decursin에 의한 MMP-7의 발현은 더욱 더 감소하였다. 현재 여러 가지 항암 화학요법이 시행되고 있지만 특별한 치료법이 없는 비의존성 전립샘암의 치료에서 decursin이 새로운 방법을 제시할 수 있을 것으로 생각되며 추후 기전에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

## REFERENCES

- Harris KA, Reese DM. Treatment options in hormone-refractory prostate cancer: current and future approaches. *Drugs* 2001; 61:2177-92
- Logothetis CJ. Docetaxel in the integrated management of prostate cancer. Current applications and future promise. *Oncology* 2002;16(6 Suppl 6):63-72
- Han KS, Cho KS, Lee SH, Hong SJ. Estramustine phosphate based chemotherapy for hormone refractory prostate cancer. *Korean J Urol* 2007;48:684-90
- Clevers H. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006;127:469-80
- Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HF, Schaafsma HE, et al. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res* 1992;52:5104-9
- Richmond PJ, Karayiannakis AJ, Nagafuchi A, Kaisary AV, Pignatelli M. Aberrant E-cadherin and  $\alpha$ -catenin expression in prostate cancer: correlation with patient survival. *Cancer Res* 1997;57:3189-93
- Luo J, Lubaroff DM, Hendrix MJ. Suppression of prostate cancer invasive potential and matrix metalloproteinase activity by E-cadherin transfection. *Cancer Res* 1999;59:3552-6
- Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt,  $\beta$ -catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004;303:1483-7
- Verras M, Sun Z. Roles and regulation of Wnt signaling and  $\beta$ -catenin in prostate cancer. *Cancer Lett* 2006;237:22-32
- Kim TH, Kim YS, Myoung SC, Lee JH, Won EH. Prostaglandin E receptor II and IV increase the expression of matrix metalloproteinase-7 in PC (prostate cancer)-3 cells. *Korean J Urol* 2004;45:478-84
- Ahn KS, Sim WS, Kim IH. Decursin: a cytotoxic agent and protein kinase C activator from the root of *Angelica gigas*. *Planta Med* 1996;62:7-9
- Lee S, Lee YS, Jung SH, Shin KH, Kim BK, Kang SS. Anti-tumor activities of decursinol angelate and decursin from *Angelica gigas*. *Arch Pharm Res* 2003;26:727-30
- Yim D, Singh RP, Agarwal C, Lee S, Chi H, Agarwal R. A novel anticancer agent, decursin, induces G1 arrest and apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Cancer Res* 2005;65:1035-44
- Song GY, Lee JH, Cho M, Park BS, Kim DE, Oh S. Decursin suppresses human androgen-independent PC3 prostate cancer cell proliferation by promoting the degradation of  $\beta$ -catenin. *Mol Pharmacol* 2007;72:1599-606
- Jiang C, Lee HJ, Li GX, Guo J, Malewicz B, Zhao Y, et al. Potent antiandrogen and androgen receptor activities of an *Angelica gigas*-containing herbal formulation: identification of decursin as a novel and active compound with implications for prevention and treatment of prostate cancer. *Cancer Res* 2006; 66:453-63
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63
- Dignam JD, Lebovitz RM, Roeder RG. Accurate transcription initiation by RNA polymerase II in a soluble extract from isolated mammalian nuclei. *Nucleic Acids Res* 1983;11:1475-89
- Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr Rev* 2004;25:276-308
- Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer* 2001;1:34-45
- Hyytinen ER, Thalmann GN, Zhou HE, Karhu R, Kallioniemi OP, Chung LW, et al. Genetic changes associated with the acquisition of androgen-independent growth, tumorigenicity and metastatic potential in a prostate cancer model. *Br J Cancer* 1997;75:190-5
- Chen G, Shukeir N, Potti A, Sircar K, Aprikian A, Goltzman D, et al. Up-regulation of Wnt-1 and  $\beta$ -catenin production in patients with advanced metastatic prostate carcinoma: potential pathogenetic and prognostic implications. *Cancer* 2004;101: 1345-56
- Saha B, Arase A, Imam SS, Tsao-Wei D, Naritoku WY, Groshen S, et al. Overexpression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin proteins in metastatic prostate cancer cells in bone. *Prostate* 2008;68:78-84
- Whitaker HC, Girling J, Warren AY, Leung H, Mills IG, Neal DE. Alterations in  $\beta$ -catenin expression and localization in prostate cancer. *Prostate* 2008;68:1196-205

24. Bismar TA, Humphrey PA, Grignon DJ, Wang HL. Expression of beta-catenin in prostatic adenocarcinomas: a comparison with colorectal adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2004;121: 557-63
  25. Jaggi M, Johansson SL, Baker JJ, Smith LM, Galich A, Balaji KC. Aberrant expression of E-cadherin and beta-catenin in human prostate cancer. *Urol Oncol* 2005;23:402-6
  26. Van Veldhuizen PJ, Ray G, Banerjee S, Dhar G, Kambhampati S, Dhar A, et al. 2-methoxyestradiol modulates beta-catenin in prostate cancer cells: a possible mediator of 2-methoxyestradiol-induced inhibition of cell growth. *Int J Cancer* 2008; 122:567-71
  27. Kader AK, Liu J, Shao L, Dinney CP, Lin J, Wang Y, et al. Matrix metalloproteinase polymorphisms are associated with bladder cancer invasiveness. *Clin Cancer Res* 2007;13:2614-20
  28. Leeman MF, Curran S, Murray GI. New insights into the roles of matrix metalloproteinases in colorectal cancer development and progression. *J Pathol* 2003;201:528-34
  29. Brabletz T, Jung A, Dag S, Hlubek F, Kirchner T. Beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer. *Am J Pathol* 1999;155:1033-8
  30. Zeng ZS, Shu WP, Cohen AM, Guillem JG. Matrix metalloproteinase-7 expression in colorectal cancer liver metastases: evidence for involvement of MMP-7 activation in human cancer metastases. *Clin Cancer Res* 2002;8:144-8
-