

Curcumin이 인체 유방암세포 MDA-MB-231 Cell의 전이 과정과 Matrix Metalloproteinase-9 활성화에 미치는 영향*

방 명 희 · 김 우 경[§]

단국대학교 자연과학대학 식품영양학 전공

Effect of Curcumin on Cancer Invasion and Matrix Metalloproteinase-9 Activity in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cell*

Bang, Myung Hee · Kim, Woo Kyoung[§]

Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-712, Korea

ABSTRACT

Curcumin has been known for its anti-proliferative and apoptotic effects on several cancer cells. We examined the inhibitory effects of curcumin on cancer cell adhesion, motility, invasion and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activity in MDA-MB-231 human breast cancer cells. MDA-MB-231 cells were cultured with 0, 5, 10 or 20 μ M of curcumin. Curcumin significantly inhibited the adhesion of cancer cells to the fibronectin at 20 μ M and suppressed the motility and invasion of cancer cells at all concentrations. Also, the MMP-9 activity was inhibited by curcumin, but MMP-9 protein amounts were not affected. Our data indicate that curcumin inhibits motility, invasion and MMP-9 activity of MDA-MB-231 cells. Therefore, curcumin may contribute to the potential beneficial food component to prevent the cancer metastasis in human breast cancer. (*Korean J Nutrition* 39(8) : 756~761, 2006)

KEY WORDS : curcumin, invasion, matrix metalloproteinase-9, metastasis, breast cancer.

서 론

암의 전이는 암의 치료를 어렵게 할 뿐만 아니라 암 환자의 생존율을 낮게 만들게 된다.¹⁾ 그러므로 암의 초기 발생을 막는 것이 가장 중요하지만 암 발생 이후에 각 진행단계를 차단시켜 치료를 용이하게 하는 것 또한 중요하다. 암 전이는 전이력이 강한 암세포가 1차 장기로부터 떨어져 나와 기질과 기저막에 부착하게 되고, 여러 단백 분해 효소를 분비하여 기질과 기저 막을 분해하면서 시작된다.²⁾ 파괴된 기질과 기저 막을 통해 암세포는 혈관이나 림프절을 이용하여 다른 장기로 이동하게 되며 2차 조직에 부착되고 성장과 영양 공급을 위해 신생 혈관 생성 등 새로운 환경을 만들어 가

며 증식하게 된다.³⁾

암 전이 과정 중 기질과 기저 막을 분해하는 단백분해 효소로는 matrix metalloproteinases (MMPs)가 대표적이다.⁴⁾ MMP는 collagen, fibronectin, laminin과 같은 기저 막 성분을 분해하며 분해시키는 기질 성분에 따라 gelatinase, collagenase, stromelysins, stromelydin-like MMP, matrilysin 등으로 나뉜다. 이중에서도 MMP-2와 MMP-9은 기저 막 주요 성분인 type IV collagen을 분해하는 효소로 전이성이 큰 암 조직과 그 주변 조직에서 활성이 활발한 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 이에 MMP 활성을 억제시키는 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

최근까지 개발된 암 치료 방법은 외과적 수술, 방사선 치료와 약물치료 등으로 암 환자의 일부 생존율을 향상시키기는 하였지만 항암 치료의 독성과 부작용이 크고, 재발의 위험도 큰 것으로 보고되고 있다.⁶⁾ 그러므로 부작용은 적으면서 암을 효율적으로 치료할 수 있는 식물 유래의 천연 물질에 대한 연구가 국내외적으로 활발히 진행되고 있다.⁷⁾

Curcumin [1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione]은 curcuma longa

접수일 : 2006년 8월 8일

채택일 : 2006년 10월 29일

*This study was supported by grant No. R04-2003-000-10120-0 from the Basic Research Programe of the Korea Science and Engineering Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : wkkim@dankook.ac.kr

(Linn)의 페놀 성분으로, 노란색의 색소와 향신료로 사용되고 있다.⁸⁾ Curcumin은 오랜 기간 식생활에 사용되어왔으며, 인도의 경우 수세기 동안 섭취해온 기록이 있다.⁹⁾ 인도의 경우, 하루에 60~100 mg의 curcumin을 섭취하는 것으로 보고되고 있으며,¹⁰⁾ 인체가 하루에 8000 mg의 curcumin을 3개월 동안 복용하였을 경우에도 부작용이 나타나지 않았다는 보고가 있고,¹¹⁾ 미국 FDA에서는 GRAS (Generally Recognized as Safe)로 분류되어 있다.⁹⁾ Curcumin은 실험 쥐에서 benz (a)pyren, 7,12-dimethylbenz (a)anthracen, phorbol ester로 유도시킨 피부암, 위암, 구강암등의 형성과 촉진을 억제시키며, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin으로 유발시킨 위암형성을 억제한다고 보고하고 있다.¹²⁾ 그리고 HL-60 (골수성 백혈병), K562 (골수암), MCG-7 (유방암), HeLa (자궁경부암)등의 다양한 암 세포주와,¹³⁾ scleroderma lung fibroblasts (SLF)에서¹⁴⁾ curcumin은 효과적으로 세포사멸을 촉진하므로써 항암효과를 가지는 것으로 보고 있다.

이와 같이 curcumin의 암세포 증식 억제 효과는 많이 보고 되었으나, 전이 과정에 미치는 영향에 대한 연구는 미비하다. 그러므로 본 연구는 curcumin이 전이성이 강한 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231에 있어 암의 전이 과정인 세포 부착 (adhesion), 이동 (motility), 침윤 (invasion)과 전이 과정에서 중요한 역할을 하는 단백 분해 효소인 MMP-9 활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기로 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 세포 배양

Curcumin은 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 25 mM의 농도로 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해하여 -20℃에 보관하였으며, 배지에 희석하여 사용하였다. DMEM/F12 (Dulbecco's modified Eagle's medium/nutrient mixture Ham's F12), fetal bovine serum (FBS), trypsin-EDTA 등의 세포 배양에 필요한 성분은 Gibco/BRL (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. 실험에 사용된 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231 cell은 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. 세포는 습윤한 5% CO₂, 37℃ 배양기에서 DMEM/F12에 10% FBS, 100 units/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Gibco/BRL)이 포함되도록 배지 용액을 만들어 배양하였다. 세포가 80~90% 정도 dish를 덮을 정도로 자라면 phosphate buffered saline solution (PBS)로 2번 씻어내고 trypsin-EDTA를 처리하여 세포

를 모은 후 계대 배양하고 배지는 2~3일마다 교환하였다.

2. 세포 부착성

세포의 부착성 실험은 Palmieri 등의 방법¹⁵⁾을 변형하여 실시하였다. 20 µg/ml로 희석된 fibronectin (BD, Bedford, UK)을 96 well non-treated cell culture plate에 분주하여 37℃ 배양기에서 1시간 동안 배양시킨 후 serum free medium (SFM)으로 blocking 시킨 후 건조시켰다. 세포는 8 × 10⁵ cells/ml로 만들어 curcumin을 0, 5, 10, 20 µM 농도로 처리하고 미리 fibronectin으로 코팅된 plate에 분주하였다. 1시간 동안 37℃ 배양기에서 배양 시킨 후 PBS로 세척하고 MTT assay를 실시하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 세포 이동성

Gelatin으로 코팅된 filter를 사용한 Boyden chamber motility assay는 Strack 등¹⁶⁾의 방법을 변형하여 실시하였다. 세포를 2 × 10⁶ cells/ml로 만들고 각각 curcumin을 처리하여 upper chamber에 분주하고, Low chamber에는 attractant로 10% FBS 배지를 사용하였다. 37℃ CO₂ 배양기에서 12시간 배양한 후 upper chamber를 종이 타월로 닦아내고 filter를 Diff-quick stain solution (Dade Behring Inc., DE, USA)으로 염색하고 filter 아래로 이동한 세포를 디지털 카메라로 5군데를 무작위 촬영하여 그 수를 측정하였다.

4. 세포 침윤성

세포의 침윤성은 Plater 등¹⁷⁾의 방법을 변형하였으며, matrigel invasion chamber (BD)를 사용하였다. 세포는 1 × 10⁶ cells/ml 농도로 만들어 각각 curcumin을 처리하였다. Attractant로 10% FBS 배지를 사용하였으며 curcumin으로 처리된 cell을 upper chamber에 분주하여 37℃ 배양기에서 12시간 배양시켰다. 배양을 끝낸 후 matrigel을 통과하지 못한 cell을 면봉으로 닦아내고 통과된 cell을 Diff-Quick stain solution을 이용하여 염색한 후 filter를 유리판에 고정하였다. 현미경으로 관찰하며 디지털 카메라로 5군데를 무작위 촬영하여 그 세포 수를 측정하였다.

5. Matrix metalloproteinases (MMPs)의 활성과 양

MMPs의 활성을 알아보기 위하여 Huang 등¹⁸⁾의 방법을 이용하여 gelatin zymography를 실시하였다. 세포는 1 × 10⁶ cells/ml의 농도로 6 well plate에 분주하고 48시간 후 curcumin을 농도 별로 처리하였다. 12시간 동안 배양시킨 후 배지를 얻어 10배 농축하였다. 모아진 시료로 전기영동하고, gel은 renaturing buffer에 반응시킨 후 developing buffer에서 37℃에서 48시간 배양시켰다. 0.25% comassie blue

용액으로 16시간 염색하고 destain solution (methanol : acetic acid : water = 50 : 10 : 40)으로 세척하여 단백질 분해 정도를 측정하였다. MMP-9의 양은 enzyme-linked immunosorbant assay¹⁹⁾로 측정하였다. 시료는 zymography와 같은 방법으로 curcumin을 처리한 후 배지를 농축하여 사용하였다. 96 well plate에 MMP-9 antibody (1 : 200)를 분주 하고 4°C에서 48시간 방치하였다. Washing buffer로 well을 세척하고, 1% BSA solution으로 blocking 한 후 각각의 시료를 분주하고 3시간 반응시켰다. Mouse antibody (1 : 1000)로 2시간 반응시킨 후 TMB substrate solution을 처리하여 빛을 차단시킨 상태로 overnight하여 발색시켰다. 1 M H₂SO₄를 첨가하여 반응을 중지시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하여 curcumin을 첨가하지 않은 군을 100% 기준으로 하여 통계 처리하였다.

6. 통계 처리

본 연구의 모든 실험은 독립적으로 3번 이상 실시하였다. 실험 결과는 SAS 프로그램 (v 9.1)을 이용하여 각 실험 군의 평균과 표준편차로 계산되었고 ANOVA 분석 후 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 처리군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 세포 부착성 (Adhesion)

세포 외 기질 성분 중 하나인 fibronectin에 대한 암세포의 부착성이 curcumin의 처리로 감소될 수 있는지 알아보았다. 그 결과, curcumin을 0, 5, 10, 20 μ M으로 처리하였을 때 20 μ M에서 암세포의 fibronectin에 대한 부착성이 유

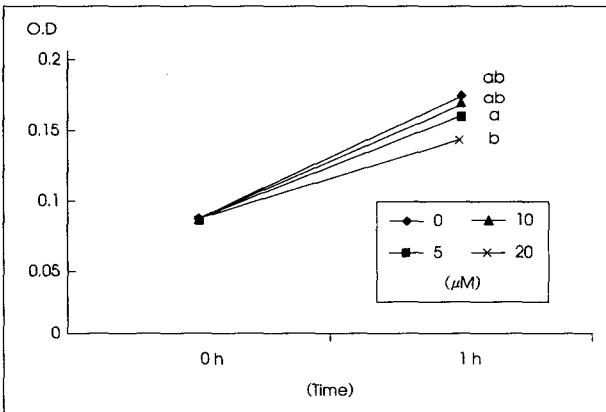


Fig. 1. Effect of curcumin on adhesion of MDA-MB-231 human breast cancer cells. The cells were cultured in the presence of various concentrations of curcumin for 1 h with fibronectin plate. Data were mean \pm SD of at least three different experiments ($p < 0.05$).

의적으로 감소하였다 (Fig. 1).

Fibronectin과 세포의 부착은 세포의 receptor가 fibronectin을 인식하고 receptor가 세포 표면상으로 이동하여 결합하는 과정을 거치게 된다.²⁰⁾ 세포막의 부착은 정상 세포에서는 성장과 발달, 기관 형성에 중요한 역할을 하게 되지만, 암세포에서 부착성의 증가는 전이 과정으로 이어지게 된다.²¹⁾ Ohasi 등²²⁾은 hepatocellular carcinoma cell인 CBO140C12에서 본 실험보다 낮은 3 μ M 이상에서 curcumin이 fibronectin과 laminin에 대한 부착력을 감소시켰다고 보고하였다.

2. 세포 이동성

Gelatin으로 코팅된 PVDF filter를 암세포가 통과하는 정도로 이동성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2A는 세포가 filter 윗부분에서 아랫면으로 이동한 세포를 염색하여 현미경으로 관찰한 사진이며, Fig. 2B는 filter 아랫면에 이동된 세포를 무작위 5군데 지정하여 그 수를 세어 통계 처리한 것이다. Curcumin을 처리하였을 때 5 μ M 이상에서 이동성이 유의적으로 감소되었다. Holy는²³⁾ 전립선 암 세포주인 PC-3와 LNCap에서 curcumin을 60 μ M로 처리하였을 때 세포의 이동성이 유의적으로 감소되었다고 보고하였다. 세포의 이동성은 정상 세포에서는 태아 발달과 상처 조직의 회

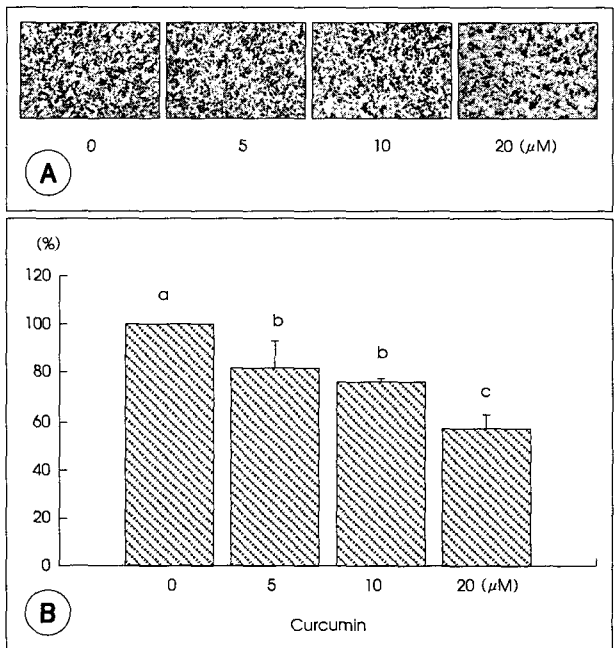


Fig. 2. Effects of curcumin on cell motility in MDA-MB-231 human breast cancer cells. The cells were cultured in the presence of various concentrations of curcumin for 12 h with boyden chamber. A: Microphotography of cells on filter. B: Quantitative analysis of boyden chamber motility assay. Each bar represents the mean \pm S.D. from three independent experiments. Comparisons among different concentration of curcumin that yielded significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

복 등에 필수적이거나 암세포의 이동성은 생리적 조절 기능을 벗어나 암 전이를 촉진시키게 되므로 암 치료에 치명적이라 할 수 있다.²⁴⁾

3. 세포 침윤성

생체 기저 막 성분으로 코팅된 matrigel chamber를 이용하여 침윤성을 알아본 결과 Fig. 3A, B와 같이, curcumin을 처리하면 5 μ M 이상에서 첨가농도가 증가함에 따라 침윤성이 유의적으로 감소하였다. Curcumin 처리로 인한 암세포의 이동성과 침윤성 억제가 curcumin에 의한 세포 독성으로 일어나는 것인지 알아보기 위한 예비실험에서 curcumin을 20 μ M으로 처리하고, 이동성과 침윤성 실험과 같은 조건으로 12시간 배양하여 MTT assay를 실시하였을 때, curcumin을 첨가하지 않은 군과 세포수에 유의적인 차이가 없었다. 이는 curcumin의 이동성과 침윤성 억제효과는 세포 독성과 독립적으로 나타나는 것으로 사료된다. Chen 등²⁵⁾은 lung adenocarcinoma cell인 CL1-5에서 본 실험결과와 같이 curcumin을 5 μ M 이상으로 처리하였을 때 침윤성이 유의적으로 감소하였으며, Kim 등²⁶⁾은 human astrogloma cell에서 curcumin을 10 μ M로 첨가하였을 때 침윤성이 유의적으로 억제되었다고 보고하였다.

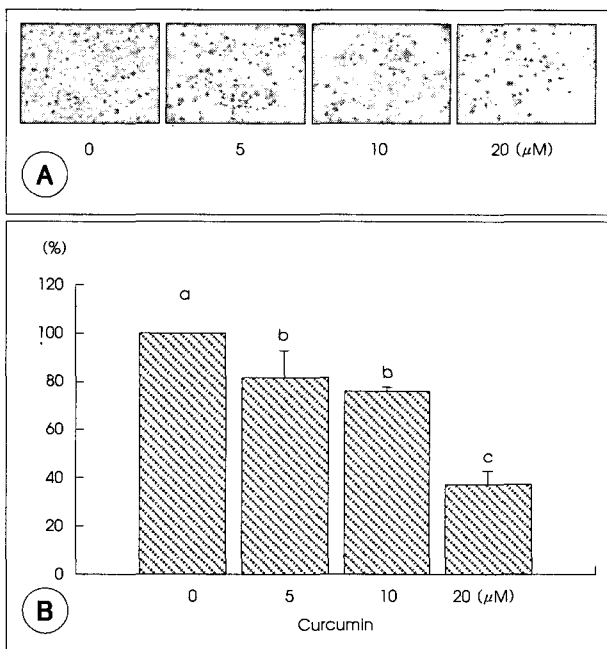


Fig. 3. Effects of curcumin on invasion in MDA-MB-231 human breast cancer cells. The cells were cultured in the presence of various concentrations of curcumin for 12 h with invasion chamber. A: Microphotography of cells on filter. B: Quantitative analysis of invasion assay. Each bar represents the mean \pm S.D. from three independent experiments. Comparisons among different concentration of curcumin that yielded significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

4. MMP-9 활성과 양

암세포가 기저 막을 분해하고 침윤하여 이동하는 과정에서 중요한 역할을 하는 MMP-9의 활성을 gelatin zymography로 알아보고 MMP-9의 단백질 양을 측정하였다. Curcumin을 처리하여 12시간을 배양하고 배지를 수거한 후 농축하여 실험을 실시하였을 때, Fig. 4와 같이 curcumin 처리 10 μ M 이상에서 MMP-9 활성이 유의적으로 감소되었다. MDA-MB-231 세포의 경우 MMP-2의 활성이 약하게 나타나 수치화 하기는 어려웠으나 MMP-9와 같이 감소하는 경향을 볼 수 있었다.

본 실험에서 curcumin의 처리로 암세포와 fibronectin과의 부착성이 감소하고 MMP-9의 활성이 감소하였는데, Thant 등²⁷⁾의 보고에 의하면 fibronectin은 MEK-MARK와 PI3K-Akt pathway를 통하여 MMP-9의 활성을 증가시킨다고 하였다. 그러므로 curcumin의 처리로 감소된 암세포와 fibronectin과의 부착성이 MMP-9의 활성 감소의 결과를 나타낸 것으로 사료된다. 또한 curcumin에 의해 MMP-9의 활성이 유의적으로 감소된 것이 앞의 침윤성 감소 결과

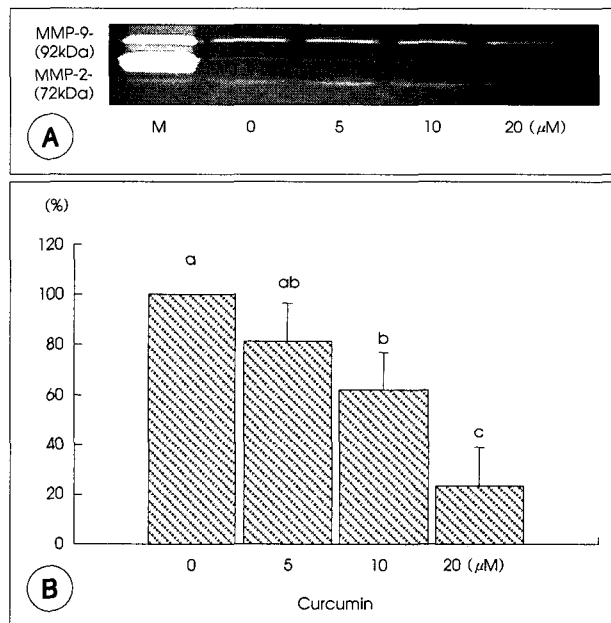


Fig. 4. Effect of curcumin on MMP-9 activity in MDA-MB-231 human breast cancer cells. MDA-MB-231 cells were plated in 6 well plates at a density 1×10^6 cell/well with DMEM/F12 supplemented with 10% FBS. Forty-eight hours after plating, medium were collected and concentrated for zymography. A: Photographs of zymography bands, which were representative of three independent experiments, are shown. B: Quantitative analysis of zymography bands. Relative abundances of each band was estimated by densitometer analysis. Each bar represents the mean \pm S.D. from three independent experiment. Comparisons among groups that yielded significant differences by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

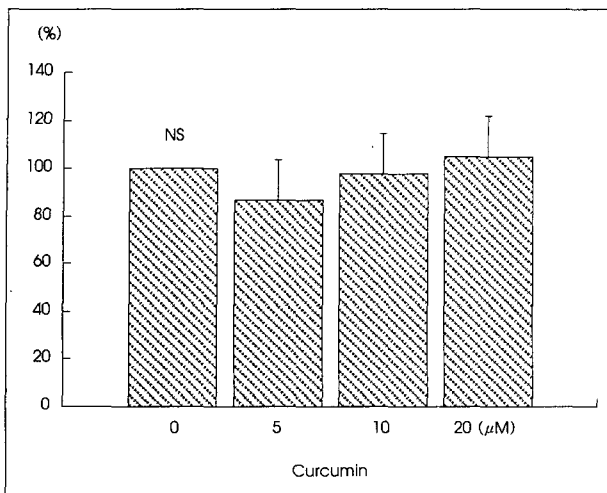


Fig. 5. Effects of curcumin on the amount of MMP-9 protein in MDA-MB-231 human breast cancer cells. MDA-MB-231 cells were plated in 6 well plates at a density 1×10^6 cell/well with DMEM/F12 supplemented with 10% FBS. Forty-eight hours after plating, medium were collected and concentrated for enzyme-linked immunosorbent assay. Results were expressed as % control and data represents the mean \pm S.D. from three independent experiments. NS: not significant.

와도 일치하였다. 그러나 MMP-9 단백질의 양은 Fig. 5와 같이 변화가 없는 것으로 나타났다. Woo 등²⁸⁾은 인체 astrogloma cell에 curcumin을 처리하였을 때 5 μ M 부터 MMP-9의 활성이 감소되었고, western blotting analysis로 관찰한 MMP-9 단백질의 발현이 감소하여 curcumin이 MMP-9의 단백질 양과 관계없이 MMP-9의 활성을 감소시킨 본 연구결과와는 다른 결과를 보고하였다. 그러나 뇌 암세포인 MDA 1986 cell에서는 curcumin을 처리하였을 때 25 μ M까지는 MMP-9의 발현에 영향을 주지 않으나 50 μ M로 처리하였을 때는 MMP-9의 단백질 발현을 감소시키는 것으로 보고되어²⁹⁾ 세포의 종류에 따라 처리하는 농도에 영향을 받는 것으로 보인다. 본 연구의 조건인 유방암 세포인 MDA-MB-231에서는 20 μ M까지는 curcumin은 MMP-9 단백질 양에는 영향 없이 MMP-9의 활성을 억제하는 것으로 보여진다.

요약 및 결론

본 연구는 curcumin이 MDA-MB-231 유방암세포의 전이 과정에 미치는 영향에 대하여 알아보았다. 암세포의 부착성은 curcumin을 20 μ M로 처리하였을 때 유의적으로 감소하였으며, 암세포의 이동성, 침윤성은 curcumin의 첨가 농도가 증가함에 따라 억제되었다. 단백 분해 효소인 MMP-9의 활성은 curcumin을 10 μ M이상으로 처리하였을 때 유의적으로 감소하였으며 본 실험조건에서는 MMP-9의 양과

는 관련성이 나타나지 않았다. 본 연구의 결과 curcumin은 MDA-MB-231 인체 유방암 세포에서 암세포 전이 과정을 차단하는 것으로 나타나 암전이 억제 식품으로써 개발 가능성을 제시하였다. 그러나 이에 대한 동물실험 및 자세한 기전 연구가 진행되어야 할 것이다.

Literature cited

- 1) Yoon HS, Hong SH, Kang HJ, Xu X, Ahn SH. Survival analysis and its prognostic factors after distant relapse in breast cancer patients. *J Korean Surg Soc* 64: 101-108, 2003
- 2) Song IH. Cancer metastasis and metastasis suppressors. *Korea J Gastron* 43: 1-7, 2004
- 3) Liotta LA. Cancer cell invasion and metastasis. *Sci Am* 266: 34-41, 1992
- 4) Chang C, Werb Z. The many faces of metalloproteinases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol* 11 (11): S37-S42, 2001
- 5) Hong MK, Cho KY, Oh SJ, Kim KM, Yu SJ. Implication of the activation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) on the metastasis in breast cancer. *J Korean Surg Soc* 62 (1): 18-25, 2002
- 6) Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 78: 517S-520S, 2003
- 7) Waladkhani AR, Clemens MR. Effect of phytochemicals on cancer development. *Int J Mol Med* 1: 747-753, 1998
- 8) Huang MT, Lou YR, Xie JG, Ma W, Lu YP, Yen P, Zhu BT, Newmark H, Ho CT. Effect of dietary curcumin and dibenzoylmethane on formation of 7,12-dimethylbenz [a]anthracene-induced mammary tumors and lymphomas/leukemias in Sencar mice. *Carcinogenesis* 19: 1697-1700, 1998
- 9) Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *J Altern Complement Med* 9 (1): 161-168, 2003
- 10) Shah BH, Nawaz Z, Petani SA, Roomi A, Mahmood H, Saeed SA, Gilani AH. Inhibitory effect of curcumin, a food spice from tumeric, on platelet-activating factor and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca^{2+} signaling. *Biochem Pharmacol* 58: 1167-1172, 1999
- 11) Cheng AL, Hsu CH, Lin KJ, Hsu MM, Ho YF, Shen TS, Ko JY, Lin JT, Lin BR, Ming-Shiang W, Yu HS, Jee SH, Chen GS, Chen TM, Chen CA, Lai MK, Pu YS, Pan MH, Wang YJ, Tsai CC, Hsieh CY. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res* 21: 2895-2900, 2001
- 12) Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schneckeburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 223: 181-190, 2005
- 13) Roy M, Chakraborty S, Siddiqi M, Bhattacharya RK. Induction of apoptosis in tumor cells by natural phenolic compounds. *Asian Pac J Cancer Prev* 3: 61-67, 2002
- 14) Tourkina E, Gooz P, Oates JC, Ludwicka Bradley A, Silver RM, Hoffman S. Curcumin-induced cytotoxicity: induction of apopto-

- sis through generation of reactive oxygen species, down-regulation of Bcl-XL and IAP, the release of cytochrome c and inhibition of Akt. *Carcinogenesis* 24: 1199-1208, 2003
- 15) Palmieri D, Lee JW, Juliano RL, Church F. Plasminogen activator inhibitor-1 and -3 increase cell adhesion and motility of MDA-MB-435 breast cancer cells. *J Bio Chem* 277 (43) : 40950-40957, 2002
 - 16) Stracker ML, Engel JD, Wilson LW, Rechler MM, Liotta LA, Schiffmann E. The Type I insulin-like growth factor receptor is a motility receptor in human melanoma cells. *J Bio Chem* 264 (36) : 21544-21549, 1989
 - 17) Plater N, Prevostel C, Deroco D, Joubert D, Rochefort H, Garcia M. Breast cancer invasiveness: Correlation with protein kinase C activity and differential regulation by phorbol ester in estrogen receptor -positive and -negative cells. *Int J Cancer* 75: 750-756, 1998
 - 18) Huang Q, Shen HM, Ong CN. Inhibitory effect of emodin on tumor invasion through suppression of activator protein 1 and nuclear factor- κ B. *Biochem Pharmacol* 68: 361-371, 2004
 - 19) Rha SY, Park JO, Gong SJ, Park SH, Yoo NC, Yang WI, Roh JK, Min JS, Lee KS, Kim BS, Chung HC. Clinical relevance of urokinase-type plasminogen activator, uPA receptor, plasminogen activator inhibitor-1 co expression from tissue and serum of breast cancer as targets of biotherapy. *J Korean Cancer Assoc* 31 (2) : 56-266, 1999
 - 20) Garbisa S, Sartor L, Biggin S, Salvato B, Benelli R, Albini A. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-2-gallate. *Cancer* 91: 822-832, 2001
 - 21) Johannig GL. Modulation of breast cancer adhesion by unsaturated fatty acids. *Nutrition* 12: 810-816, 1996
 - 22) Ohashi Y, Tsuchiya Y, Koizumi K, Sakurai H, Saiki I. Prevention of intrahepatic metastasis by curcumin in an orthotopic implantation model. *Oncology* 65: 250-258, 2003
 - 23) Holy J. Curcumin inhibits cell motility and alters microfilament organization and function in prostate cancer cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 58: 253-268, 2004
 - 24) Lee HY, Bae GU, Jung ID, Lee JS, Kim YH, Noh SH, Stracke ML, Park CG, Lee HW, Han JW. Autotaxin promotes motility via G protein-coupled phosphoinositide 3-kinase γ in human melanoma cells. *FEBS Letters* 515: 137-140, 2002
 - 25) Chen HW, Yu SL, Chen JJ, Li HN, Lin YC, Yao PL, Chou HY, Chien CT, Chen WJ, Lee YT, Yang PC. Anti-invasive gene expression profile of curcumin in lung adenocarcinoma based on a high throughput microarray analysis. *Mol Pharmacol* 65 (1) : 99-110, 2004
 - 26) Kim SY, Jung SH, Lim HS. Curcumin is a potent broad spectrum inhibitor of matrix metalloproteinase gene expression in human astrogloma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 337 (2) : 510-516, 2005
 - 27) Thant AA, Nawa A, Kikkawa F, Ichigotani Y, Ahang Y, Sein TT, Amin AR, Hamaguchi M. Fibronectin activates matrix metalloproteinase-9 secretion via the MEK1-MARK and the PI3K-Akt pathways in ovarian cancer cells. *Cli Exp Metastasis* 18 (5) : 423-428, 2000
 - 28) Woo MS, Jung SH, Kim SY, Hyun JW, Ko KH, Kim WK, Kim HS. Curcumin suppresses phorbol ester-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting the PKC to MAPK signaling pathways in Human astrogloma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 335: 1017-1025, 2005
 - 29) Aggarwal S, Takada Y, Singh S, Myers JN, Aggarwal BB. Inhibition of growth and survival of human head and neck squamous cell carcinoma cells by curcumin via modulation of nuclear factor- κ B signaling. *Int J Cancer* 111: 679-692, 2004