

# U-373-MG 세포의 이동 및 침윤에 미치는 simvastatin의 효과

김환규\*

전북대학교 자연과학대학 생물과학부

## Effect of Simvastatin on the Migration and Invasion of U-373-MG Cells

Hwan Gyu Kim\*

Division of Biological Sciences, Chonbuk National University, Chonju, Chonbuk 561-756, Korea

**Abstract** Simvastatins are widely used to reduce endogenous cholesterol synthesis and improve hypercholesterolemia. Also, simvastatin have been shown to induce both angiogenic and angiostatic responses. In this study, It was attempted to resolve this controversy by studying the effects of simvastatin on the cell migration and invasion with the proteinases secretion and expression pattern. U-373-MG cells treated with low dose of simvastatin (0.001~0.5  $\mu$ M) showed the induction of migration and invasion compared with the addition of a control buffer. On the contrary, high dose of simvastatin (1~20  $\mu$ M) showed the reduction of migration and invasion compared with the addition of a control buffer. It was also showed that simvastatin-regulated migrative and invasive phenotypes were consistent with the secretion and expression pattern of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9 and plasmin.

**Keywords:** simvastatin, migration, invasion, MMP, plasmin

### 서 론

Simvastatin은 HMG-CoA reductase의 억제제로서 혈액내의 콜레스테롤과 기타 지방물질을 감소시키기 위해 사용되고 있다 [1]. HMG-CoA reductase는 HMG-CoA를 mevalonate로 전환한 다음 콜레스테롤 전구체인 farnesyl pyrophosphate (FPP)로 전환 시킨다 [2]. Simvastatin은 HMG-CoA reductase의 억제를 통해 mevalonate 경로를 봉쇄하여 FPP와 콜레스테롤의 합성을 감소시킨다. 이러한 과정을 통해 simvastatin은 암의 성장과 전이 및 심혈관계 질환의 위험성을 감소시킨다고 알려져 있다 [3,4].

혈관신생이란 기존에 존재하는 혈관으로부터 새로운 혈관이 생성되는 과정으로 대부분의 종양에서 성장과 악성 전이를 동반한다. 혈관신생의 초기단계는 세포외기질을 분해하여

세포가 이동할 통로를 형성하는 복잡한 과정이다 [5]. 혈관신생이 일어나기 위해서는 혈관내피세포들의 이동이 요구되는데 이때 단백질분해효소가 필요하다 [6]. 대표적인 단백질분해효소로는 MMPs와 플라스민이 있다. MMPs는 아연 의존성 endopeptidase로서 세포외기질을 분해한다고 알려져 있다 [7]. 이 중 MMP-2는 젤라틴과 피브로넥틴 등의 세포외기질을 분해하며 주로 종양이나 종양 주위의 간질조직에서 높게 나타난다 [8]. MMP-9 (gelatinase B)은 호중구, 대식세포와 결합조직세포 등을 포함하는 염증세포에 의해 불활성형으로 생성되었다가 92 kDa의 활성형으로 전환되어 Type IV, V 콜라겐과 엘라스틴을 분해한다 [9]. 세린계 단백질분해효소 중에서 urokinase-type plasminogen activator (uPA)는 플라스미노젠을 플라스민으로 전환시키는데, 활성화된 플라스민은 세포의 이동 시 세포외기질에 존재하는 피브린을 분해한다 [10].

Simvastatin은 콜레스테롤-감소작용 외에 혈관신생에도 관여한다고 알려져 있다. Simvastatin은 RhoA의 geranylgeranylation과 membrane localization의 억제를

### \*Corresponding author

Tel: +82-63-270-3352, Fax: +82-63-270-3362

e-mail: hgkim@jbnu.ac.kr

통해 혈관신생을 억제한다 [11]. Rho는 vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2)의 tyrosine 인산화를 촉진한다 [12]. Simvastatin은 또한 항-염증효과를 갖고 있다. Simvastatin 처리에 의해 전립선암의 전이 위험이 감소 되는 것으로 보아 종양 내에서 염증 억제가 simvastatin의 항-전립선암의 작용기작일 것으로 알려졌다 [13,14].

그간의 연구 결과 simvastatin이 낮은 농도에서는 혈관 신생을 유도하고 높은 농도에서는 혈관신생 억제효과를 갖는다고 알려져 있으나, 그 작용기작은 명확하지 않다. 따라서, 본 연구에서는 인간의 악성신경교종 세포주로서 강력한 이동 및 침윤 특성을 갖고 있는 U-373-MG 세포를 사용하여 simvastatin이 세포의 이동 및 침윤에 미치는 효과와 단백질분해효소의 분비에 미치는 효과를 조사하였다. 본 연구 결과, 낮은 농도의 simvastatin은 U-373-MG 세포의 이동 및 침윤을 유도하고 높은 농도의 simvastatin은 U-373-MG 세포의 이동 및 침윤을 억제하였으며, simvastatin에 의한 세포의 이동 및 침윤 조절은 부분적으로 MMP-2, MMP-9 및 플라스민의 분비 조절에 의한 것이라 사료된다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 세포 배양

MMP-2, MMP-9와 플라스민의 enzyme immunoassay kits는 R & D System (Minneapolis, MN, USA)으로부터 구입하였다. MMP-2, MMP-9 및  $\beta$ -액틴 항체와 MMPs 스탠다드는 Cal-Biochem (La Jolla, CA, USA)과 Boehringer Mannheim (Mannheim, Germany)으로부터 구입하였다. 배지와 혈청은 Life Technology Inc. (Gaithersburg, MD, USA)로부터 구입하였으며, 그외 특별히 적시하지 않은 시약은 Sigma (St. Louis, MO, USA) 사로부터 구입하여 사용하였다. U-373-MG 세포주는 한국세포주 은행에서 구입하여 10% FBS (v/v) 첨가 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에서 5%의 CO<sub>2</sub>, 37°C 조건으로 배양하였다.

### 세포의 생존에 미치는 Simvastatin의 효과

세포의 생존에 미치는 simvastatin의 효과는 formazan에 대한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylate-trazolium bromide (MTT)의 환원 발색방법으로 조사하였다 [15]. 즉, U-373-MG 세포 (10<sup>5</sup> cells/well)에 지시된 양의 simvastatin을 첨가한 후 24시간 배양한 다음 phosphate-buffered saline으로 2회 세척한 후, MTT (100  $\mu$ g/0.1 mL)를 세포에 처리하였다. 이후 37°C에서 2시간 동안 배양한 다음 100  $\mu$ L의 dimethyl sulfoxide를 첨가하여 formazan 결정을 용해시킨 후 흡광광도계 (Spectra MAX, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 세포의 이동 및 침윤 효과 조사

세포의 이동은 U-373-MG 세포를 10% FBS (v/v)가 함유된 DMEM 배지에 well 당 1  $\times$  10<sup>5</sup> 세포 밀도로 챔버의 위쪽 칸에 접종한 다음, QCM™ 24-well colorimetric 세포 이동 assay kits (Chemicon, Temecula, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 침윤 효과를 조사하기 위해서는 8- $\mu$ m 공극을 갖는 여과막이 부착된 Matrigel-coated 챔버 (Beckton Dickinson, Bedford, MA, USA)의 상단에 1  $\times$  10<sup>5</sup> 세포를 접종하였다. 이후 여과막을 건조, 염색한 다음 200  $\mu$ L의 추출 완충용액이 포함된 well로 옮긴 다음, Emax® microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Enzyme Immunoassay

U-373-MG 세포를 24-well plate에 세포 밀도가 5  $\times$  10<sup>4</sup>이 되도록 접종한 다음, 10% FBS (v/v) 첨가 DMEM 배지에서 24시간 배양한 후 confluent한 U-373-MG 세포를 무-혈청 및 무-phenol red 배지에서 24시간 동안 배양하였다. 세포를 새로운 배지로 세척한 다음 대조완충용액 또는 simvastatin을 지정된 시간만큼 처리하였다. 분비된 MMP-2, MMP-9 및 플라스민의 실제량은 제조회사의 지시에 따라 enzyme immunoassay kits로 측정하였다.

### 젤라틴 및 피브린 Zymography

MMP-2와 MMP-9 및 플라스민의 기질 분해 활성은 젤라틴 및 피브린 zymography를 행하여 확인하였다. U-373-MG 세포를 24-well plate에 세포 밀도가 5  $\times$  10<sup>4</sup>이 되도록 접종한 다음, 20% FBS (v/v) 첨가 DMEM 배지에서 24시간 배양하였다. 이후, 새로운 배지로 세척한 다음 confluent한 U-373-MG 세포를 무-혈청 및 무-phenol red 배지에서 대조완충용액 또는 simvastatin을 처리한 후 12시간 동안 배양하였다. 젤라틴 zymography는 MMP-2 및 MMP-9의 기질인 젤라틴을 SDS-PAGE의 running gel에 첨가한 후 환원 조건에서 전기영동한 다음 1% Triton X-100 완충용액에서 재변성시킨 후 배양 완충용액 (0.05 M Tris-HCl, pH 7.5, 0.02 M NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.02% Brij-35)에서 16시간 반응시켰다 (37°C). 이후 0.5% Coomassie brilliant blue R250으로 3시간 염색시킨 다음, 10% acetic acid, 30% 메탄올 용액에서 투명한 밴드가 나타날 때까지 탈색시켰다. 플라스민 활성은 기질로 피브린을 첨가하여 피브린 zymography를 행하였다.

### Western Hybridization

단백질분해효소 억제제 (10  $\mu$ g/mL trypsin, 10  $\mu$ g/mL aprotinin, 10  $\mu$ g/mL leupeptin, 1 mM PMSF, 200 mM

Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 100 mM NaF)가 포함된 용해 완충용액 (50 mM HEPES, 150 mM NaCl, 10% glycerol, 1% Triton X-100, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA)으로 세포를 용해시킨 다음 원심분리 (14,000 g)에 의해 상등액을 얻은 후, BCA protein assay reagents (Pierce, Rockford, IL, USA)를 사용하여 단백질을 정량하였다. 단백질을 10% SDS-polyacrylamide 젤 상에서 분리한 다음, nitrocellulose 막으로 옮긴 후, 2% skim milk 함유 TBS 완충용액에서 막의 비특이적 부위들을 차단하였다. 완충용액을 제거한 다음 1차 항체와 함께 배양한 후, horseradish peroxidase-conjugated 2차 항체를 처리한 다음 ECL (Amersham International, Buckingham, England)로 발색시켰다.

### 통계처리

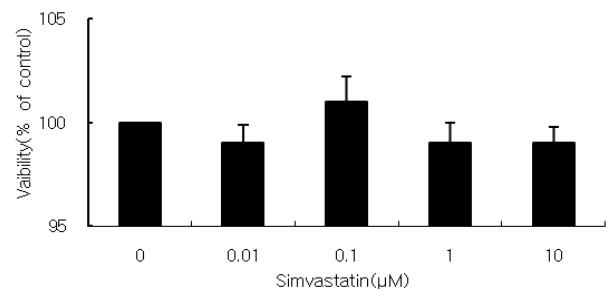
자료는 평균 ± SD로 나타냈으며, 유의성은 Student-Newman-Keuls test에 의한 one-way ANOVA를 이용하여 검사하였다. 통계적 유의성은  $P < 0.05$ 를 기준으로 하였다.

### 결과 및 고찰

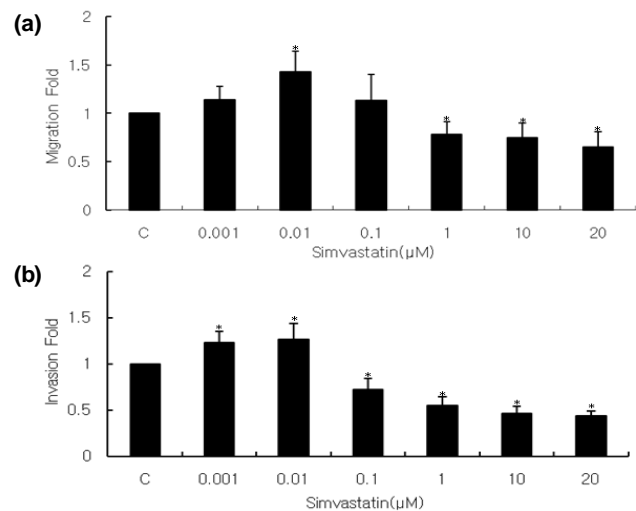
#### U-373-MG 세포의 이동 및 침윤에 미치는 Simvastatin의 효과

U-373-MG 세포의 생존에 미치는 simvastatin의 효과를 확인하기 위해 MTT 전환 assay를 수행하였다. U-373-MG 세포에 0.001~10  $\mu$ M의 농도로 simvastatin을 24시간 동안 처리한 결과, 생존율이 거의 100%를 나타내 simvastatin이 U-373-MG 세포에 독성을 나타내지 않았다 (Fig. 1). Medina 등 [16]은 0.5  $\mu$ M simvastatin에서의 혈관신생 억제효과가 simvastatin 자체의 세포독성 때문이라고 보고 했으나, U-373-MG 세포를 사용한 본 연구에서는 세포독성 효과가 나타나지 않았는데, 이러한 효과는 세포-특이적 현상이라 여겨진다 [17]. 이전의 연구에서 simvastatin은 저농도 (0.005  $\mu$ M)에서는 혈관신생을 촉진하고, 고농도 (0.5  $\mu$ M)에서는 혈관신생을 억제한다고 알려져 있다 [17,18]. 세포의 이동과 침윤은 혈관신생에서 나타나는 주요 특성이다. 따라서, U-373-MG 세포에서 simvastatin이 혈관신생에 관여하는지를 확인하고자 simvastatin 처리에 의한 U-373-MG 세포의 이동 및 침윤 능력을 조사하였다. 그 결과, 0.01  $\mu$ M simvastatin에서 세포의 이동이 약 43% 증가되었으나 1  $\mu$ M과 20  $\mu$ M에서는 세포의 이동이 각각 28%와 35% 억제되었다 (Fig. 2(a)). 즉, 저농도의 simvastatin은 세포의 이동을 촉진하나 고농도의 simvastatin은 세포의 이동을 억제하는 상반된 효과를 보여 주었다. Simvastatin이 U-373-MG 세포의 이동에 영향을 미친다는 것은 simvastatin이 침윤에도 영향을 미칠 것이라 생각할 수 있다. 따라서 세포의 침윤에 미치는 simvastatin의 효과를 확인한 결과, 세포의 이동에 미치는 효과와 일치하게

0.001  $\mu$ M simvastatin에서는 약 23%, 0.01  $\mu$ M에서는 세포 침윤이 약 26% 증가되었다. 그러나, 0.1  $\mu$ M simvastatin에서는 세포의 침윤이 약 28% 억제되었으며 1  $\mu$ M에서는 약 45%가 억제되었고 10  $\mu$ M에서는 약 54%가 억제되었다 (Fig. 2(b)). Simvastatin의 이러한 이중효과는 retinal microvascular endothelial cells (RMECs)을 이용한 연구에서도 유사하게 나타났다 [16]. 그러나 HUVECs을 이용한 Magomed 등 [19]의 연구에서는 1~10  $\mu$ M simvastatin에서 세포의 증식과 관형성이 촉진되었다는 결과로 보아 simvastatin의 작용은 사용하는 세포에 특이적인 것으로 여겨진다.



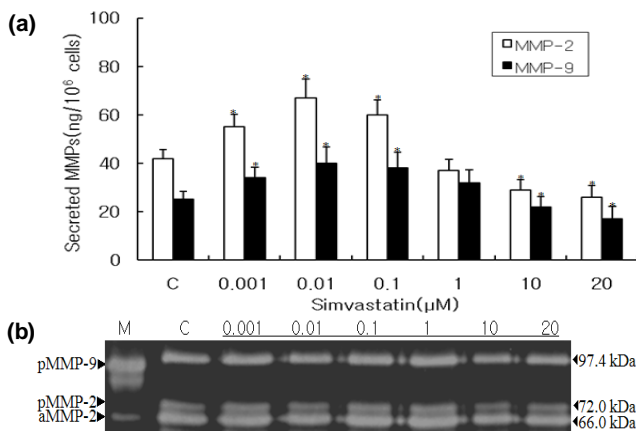
**Fig. 1.** Effects of simvastatin on the viability of U-373-MG cells. U-373-MG cells were treated with various concentrations of simvastatin for 24 h. Viability of U-373-MG cells was determined by MTT assay and its percentage was calculated as a ratio of A<sub>570</sub> of control cells (treated with 0.05% phosphate-buffered saline vehicle). Data are mean ± SD from three independent experiments. \* $P < 0.05$  versus control buffer.



**Fig. 2.** Effects of simvastatin on the migration and invasion of U-373-MG cells. Cells were incubated in 10% FBS (v/v) DMEM for 20 h. Next, the media were changed to serum-free DMEM that was amended with control buffer (C) and various amounts of simvastatin (0.001 to 20  $\mu$ M). Cell migration (a) and invasion (b) were examined as described in Materials and Methods. Bars represent mean ± SD from three independent experiments. Statistical significance was tested using one-way ANOVA followed by the Students *t* test. \* $P < 0.05$  versus control buffer.

### MMP-2 및 MMP-9의 분비에 미치는 Simvastatin의 효과

MMPs는 혈관신생 초기단계에 작용하는 효소로 기저층의 기질을 분해한다. 따라서 simvastatin에 의한 U-373-MG 세포의 이동 및 침윤 능력 변화는 부분적으로 MMPs의 분비 조절과 관련이 있을 것으로 여겨진다. Simvastatin 농도에 따른 MMP-2 및 MMP-9의 분비량을 조사한 결과, 0.001  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 MMP-2의 분비량이 약 30%가 증가되었으며, 0.01  $\mu\text{M}$ 에서는 약 59% 증가되었고 0.1  $\mu\text{M}$ 에서는 약 43% 증가되었다. 그러나, 10  $\mu\text{M}$ 에서는 MMP-2의 분비가 약 31% 억제되었고 20  $\mu\text{M}$ 에서는 약 60%가 억제되었다 (Fig. 3(a)). MMP-9의 분비 역시 0.001~0.1  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 약 36~60% 증가되었으나 10  $\mu\text{M}$ 에서는 약 12% 억제되었고 20  $\mu\text{M}$ 에서는 약 32%가 억제되어 MMP-2와 유사한 양상을 보여주었다 (Fig. 3(a)). 한편, MMP-2 및 MMP-9의 활성은 젤라틴 zymography를 수행하여 확인하였다. 그 결과 enzyme immunoassay 결과와 유사하게 0.001~1  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 MMP-2 및 MMP-9의 분비 증가가 관찰되었으며 10  $\mu\text{M}$ 과 20  $\mu\text{M}$ 에서는 MMP-2와 MMP-9 모두 분비가 감소되었다 (Fig. 3(b)). Simvastatin의 농도가 낮을 때 MMP-2 및 MMP-9의 분비가 증가되고 높은 농도에서 분비가 감소되는 현상은 NIH 3T3 세포주와 유방암 세포주에서도 동일하게 관찰되었다 [20,21].

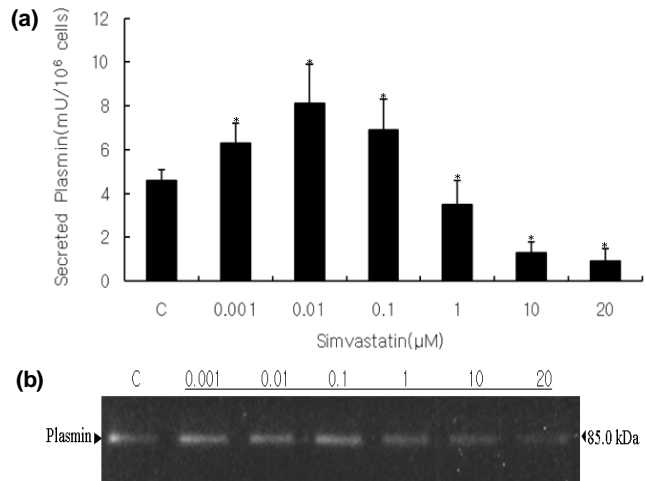


**Fig. 3.** Effects of simvastatin on the secretion of MMP-2 and MMP-9 in U-373-MG cells. (a) Cells were incubated in serum- and phenol red-free DMEM for 12 h. Then, the cells were incubated for 12 h after addition of a control buffer (C) and various amounts of simvastatin (0.001 to 20  $\mu\text{M}$ ), and media were quantitatively assayed by enzyme immunoassay. Bars represent the mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Statistical significance was tested using one-way ANOVA followed by the Students *t* test.  $P < 0.05$  versus control buffer. (b) Gelatin zymography of MMP-2 and MMP-9 in culture medium of U-373-MG cells treated with simvastatin. Equal amounts of proteins (10  $\mu\text{g}/\text{lane}$ ) from supernatants were loaded into each lane. Lane M contains standards of MMP-2 and MMP-9.

혈관신생에 의한 암세포의 이동 및 침윤에는 세포외기질의 분해에 필요한 단백질분해효소의 분비 및 활성화가 요구된다. 따라서 simvastatin에 의해 유도된 세포의 이동 및 침윤의 촉진 또는 억제는 부분적으로 MMP-2와 MMP-9의 분비 조절에 의한 것이라 사료된다. 이러한 결과는 simvastatin이 암의 전이를 조절하는데 치료 목적으로 쓰일 수 있을 가능성을 제시하는 자료라 여겨진다.

### 플라스민 분비에 미치는 Simvastatin의 효과

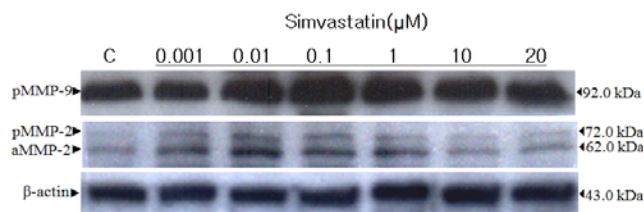
Simvastatin에 의한 U-373-MG 세포의 침윤과 플라스민의 분비가 상관관계가 있는지를 확인하고자 simvastatin에 의한 플라스민의 분비양상을 enzyme immunoassay로 조사하였다. 그 결과, 0.001  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 약 36%, 0.01  $\mu\text{M}$ 에서는 약 76%, 0.1  $\mu\text{M}$ 에서는 약 50%의 플라스민의 분비 증가가 나타났으며, 1  $\mu\text{M}$ 에서는 약 24%, 10  $\mu\text{M}$ 에서는 약 72%의 분비 억제효과가 나타났다 (Fig. 4(a)). 또한 플라스민의 분비양상을 피브린 zymography로 확인한 결과, enzyme immunoassay와 유사하게 0.001~0.1  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 플라스민의 분비 증가가 관찰되었으나, 1~20  $\mu\text{M}$ 에서는 플라스민의 분비가 감소되었다 (Fig. 4(b)). 이러한 결과는 U-373-MG 세포의 침윤에 플라스민이 부분적으로 관여할 것임을 보여준다고 여겨진다.



**Fig. 4.** Effect of simvastatin on the secretion of plasmin in U-373-MG cells. Cells were incubated in serum- and phenol red-free DMEM for 20 h. Then, cells were incubated for 12 h after addition of a control buffer (C) and various amounts of simvastatin (0.001 to 20  $\mu\text{M}$ ), and media were quantitatively assayed by enzyme immunoassay (a). Data are mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Statistical significance was tested using one-way ANOVA followed by the Students *t* test.  $P < 0.05$  versus control buffer. (b) Fibrin zymography of plasmin in culture medium of U-373-MG cells treated with simvastatin. Equal amounts of proteins (10  $\mu\text{g}/\text{lane}$ ) from supernatants were loaded into each lane.

## MMP-2 및 MMP-9 단백질의 생성에 미치는 Simvastatin의 효과

Simvastatin이 MMP-2와 MMP-9 단백질의 생성에 미치는 효과를 조사하기 위해 U-373-MG 세포를 무혈청 상태에서 대조완충용액으로 1시간 동안 배양한 다음, simvastatin을 처리한 후 20시간 동안 배양하여 단백질을 추출하였다. Western hybridization 결과 0.001~1  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 MMP-2와 MMP-9 생성이 증가되었으나 10~20  $\mu\text{M}$ 에서는 MMP-2와 MMP-9의 생성이 감소되었다 (Fig. 5). 이러한 결과는 simvastatin에 의한 U-373-MG 세포의 이동 및 침윤, MMP-2와 MMP-9의 분비 그리고 플라스민의 분비 등의 결과와 동일한 유형을 보여주는 것이다. 이 결과는 낮은 농도의 simvastatin (0.005  $\mu\text{M}$ )은 혈관신생을 촉진시키고 높은 농도의 simvastatin (0.5  $\mu\text{M}$ )은 혈관신생을 억제한다는 이전의 연구 결과와 일치한다 [17,18]. 혈관신생에 의한 암세포의 침윤에는 세포의 이동과 세포외기질의 분해에 필요한 단백질분해효소의 분비 및 활성화 등이 요구된다 [22]. 따라서 simvastatin에 의한 세포의 이동 및 침윤 조절은 부분적으로 MMP-2 및 MMP-9의 생성 및 분비 조절에 의한 것이라 사료된다. 이러한 결과는 simvastatin이 혈관신생에 의한 암의 성장을 억제할 수 있는 치료제로서의 가능성을 제시하고 있다.



**Fig. 5.** Effects of simvastatin on the expression of MMP-2 and MMP-9. Cells were incubated in serum- and phenol red-free DMEM for 20 h. Then, cells were incubated for 12 h after addition of a control buffer (C) and various amounts of simvastatin (0.001 to 20  $\mu\text{M}$ ) and the levels of MMP-2 and MMP-9 expression were determined by Western blotting with MMP-2 and MMP-9 specific antibodies. Protein expression levels of  $\beta$ -actin in cell lysates were used as a control.

## 요약

본 연구에서는 simvastatin에 의한 U-373-MG 세포의 이동 및 침윤에 미치는 효과와 그 가능한 기작에 대해 조사하였다. U-373-MG 세포의 이동에 미치는 simvastatin의 효과를 확인한 결과, 0.01  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 U-373-MG 세포의 이동이 약 43% 증가되었으나 1  $\mu\text{M}$ 과 20  $\mu\text{M}$ 에서는 세포의 이동이 각각 28%와 35% 억제되었다. 세포의 침윤 역시 0.001  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 23%, 0.01  $\mu\text{M}$ 에서는 26%의 침윤 증가가 관찰되었으나, 1  $\mu\text{M}$ 과 10  $\mu\text{M}$ 에서는

세포의 침윤이 각각 45%와 54%가 억제되었다. 0.001  $\mu\text{M}$ 과 0.01  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin 처리에 의해 MMP-2의 분비량이 각각 30%와 59% 증가되었으나, 10  $\mu\text{M}$ 과 20  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin 처리에 의해 MMP-2의 분비량은 각각 31%와 60% 감소되었다. MMP-9 및 플라스민의 분비에 미치는 simvastatin의 효과도 MMP-2에 미치는 효과와 유사하였다. Simvastatin이 MMP-2와 MMP-9 단백질의 생성에 미치는 효과를 조사한 결과, 0.001~1  $\mu\text{M}$ 의 simvastatin에서는 MMP-2와 MMP-9 생성이 증가되었으나 10~20  $\mu\text{M}$ 에서는 MMP-2와 MMP-9의 생성이 감소되었다. 이러한 결과는 낮은 농도의 simvastatin은 혈관신생을 유도하고 높은 농도의 simvastatin은 혈관신생을 억제한다는 것을 보여주는 것이다.

접수 : 2010년 3월 15일, 게재승인 : 2010년 6월 22일

## REFERENCES

- Molgaard J., H. von Schenck, and A. G. Olsson (1988) Effects of simvastatin on plasma lipid, lipoprotein and apolipoprotein concentrations in hypercholesterolaemia. *Eur. Heart J.* 9: 541-551.
- Graaf, M. R., D. J. Richel, C. J. van Noorden, and H. J. Guchelaar (2004) Effects of statins and farnesyltransferase inhibitors on the development and progression of cancer. *Cancer Treat. Rev.* 30: 609-641.
- Campbell, M. J., L. J. Esserman, Y. Zhou, M. Shoemaker, M. Lobo, E. Borman, F. Baehner, A. S. Kumar, K. Adduci, C. Marx, E. F. Petricoin, L. A. Liotta, M. Winters, S. Benz, and C. C. Benz (2006) Breast cancer growth prevention by statins. *Cancer Res.* 66: 8707-8714.
- Matar, P., V. R. Rozados, M. M. Binda, E. A. Roggero, R. D. Bonfil, and O. G. Scharovsky (1999) Inhibitory effect of Lovastatin on spontaneous metastasis derived from a rat lymphoma. *Clin. Exp. Metastasis* 17: 19-25.
- Folkman, J. and Y. Shing (1992) Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 267: 10931-10934.
- Pepper, M. S. (2001) Extracellular proteolysis and angiogenesis. *Thromb. Haemost.* 86: 346-355.
- Sounni, N. E. and A. Noel (2005) Membrane type-matrix metalloproteinases and tumor progression. *Biochimie* 87: 329-342.
- Anita, E. Y., A. N. Murphy, and W. G. Stetler-Stevenson (1988) 72 kDa gelatinase (gelatinase A): structure, activation, regulation, and substrate specificity. pp. 85-113. In: W. C. Parks. and R. P. Mecham, (eds.). *Matrix Metalloproteinases*. Academic Press, London, UK.
- Brown, P. D. (1998) Matrix metalloproteinase inhibitors.

- Angiogenesis* 1: 142-154.
10. Liotta, L. A., R. H. Goldfarb, and V. P. Terranova (1981) Cleavage of laminin by thrombin and plasmin: alpha thrombin selectively cleaves the beta chain of laminin. *Thromb. Res.* 15: 663-673.
  11. Vincent, L., C. Soria, F. Mirshahi, P. Opolon, Z. Mishal, J. P. Vannier, J. Soria, and L. Hong (2002) Cerivastatin, an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase, inhibits endothelial cell proliferation induced by angiogenic factors *in vitro* and *in vivo* models. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22: 623-629.
  12. Gingras, D., S. Lamy, and R. Beliveau (2000) Tyrosine phosphorylation of the vascular endothelial-growth-factor receptor-2 (VEGFR-2) is modulated by Rho proteins. *Biochem. J.* 348: 273-280.
  13. Murphy, D. M., I. A. Forrest, P. A. Corris, G. E. Johnson, T. Small, D. Jones, A. J. Fisher, J. J. Egan, T. E. Cawston, C. Ward, and J. L. Lordan (2008) Simvastatin attenuates release of neutrophilic and remodeling factors from primary bronchial epithelial cells derived from stable lung transplant recipients. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 294: 592-599.
  14. Bañez, L. L., J. C. Klink, J. Jayachandran, A. L. Lark, L. Gerber, R. J. Hamilton, E. M. Masko, R. T. Vollmer, and S. J. Freedland (2010) Association between statins and prostate tumor inflammatory infiltrate in men undergoing radical prostatectomy. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 19: 722-728.
  15. Kwon, K. B., J. Y. Yang, D. G. Ryu, H. W. Rho, J. S. Kim, J. W. Park, H. R. Kim, and B. H. Park (2001) *Vibrio vulnificus* cytotoxin induces superoxide anion-initiated apoptotic signaling pathway in human ECV304 cells. *J. Biol. Chem.* 276: 47518-47523.
  16. Medina, R. J., C. L. O'Neill, A. B. Devine, T. A. Gardiner, and A. W. Stitt (2008) The pleiotropic effects of simvastatin on retinal microvascular endothelium has important implications for ischemic retinopathies. *PLoS One* 3: e2584(1-12).
  17. Weis, M., C. Heeschen, A. J. Glassford, and J. P. Cooke (2002) Statins have biphasic effects on angiogenesis. *Circulation* 105: 739-745.
  18. Chen, J., Z. G. Zhang, Y. Li, Y. Wang, L. Wang, H. Jiang, C. Zhang, M. Lu, M. Katakowski, C. S. Feldkamp, and M. Chopp (2003) Statins induce angiogenesis, neurogenesis, and synaptogenesis after stroke. *Ann. Neurol.* 53: 743-751.
  19. Magomed, K., W. Wenze, A. Junaid, B. Y. Kang, L. H. Paul, and L. M. Jawahar (2009) Statins and angiogenesis: Is it about connections? *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 387: 543-547.
  20. Wang, I. K., S. Y. Lin-Shiau, and J. K. Lin (2000) Suppression of invasion and MMP-9 expression in NIH 3T3 and v-H-Ras 3T3 fibroblasts by lovastatin through inhibition of ras isoprenylation. *Oncology* 59: 245-254.
  21. Denoyelle, C., M. Vasse, M. Korner, Z. Mishal, F. Ganne, J. P. Vannier, J. Soria, and C. Soria (2001) Cerivastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, inhibits the signaling pathways involved in the invasiveness and metastatic properties of highly invasive breast cancer cell lines: an *in vitro* study. *Carcinogenesis* 22: 1139-1148.
  22. Böhle, A. S. and H. Kalthoff (1999) Molecular mechanisms of tumor metastasis and angiogenesis. *Langenberks Arch. Surg.* 384: 133-144.