

## Morin Suppresses Cellular Invasion by Decreasing Nuclear Factor- $\kappa$ B-Mediated Matrix Metalloproteinase-9 Activity

Matharage G. DILSHARA<sup>1</sup>, Wisurumuni A.H.M. KARUNARATHNE<sup>1</sup>,  
Ilandarage M.N. MOLAGODA<sup>1</sup>, Chang-Hee KANG<sup>2</sup>, Yung H. CHOI<sup>3</sup> & Gi-Young KIM<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Marine Life Sciences, Jeju National University,  
Jeju 690-756, Republic of Korea

<sup>2</sup> Nakdonggang National Institute of Biological Resource, Sangju-si,  
Gyeongsangbuk-do 37242, Republic of Korea

<sup>3</sup> Department of Biochemistry, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University,  
Busan 614-050, Republic of Korea

**SUMMARY.** Morin (3,5,7,2',4'-pentahydroxyflavone) is a flavone originally isolated from members of the Moraceae family that have been reported to possess anti-carcinogenic effects. However, there is insufficient evidence regarding the anti-invasive activity of morin. Therefore, we investigated the effects of morin on invasion of MDA-MB-231 breast cancer cells and further analyzed the underlying anti-invasive mechanism of morin by suppressing matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activity. Regardless of the presence or absence of serum, no cytotoxicity was observed in MDA-MB-231 cells treated with morin. Matrigel invasion assay showed that phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) resulted in a 4-fold increase of MDA-MB-231 cell invasion and morin substantially reduced PMA-induced invasion. Moreover, zymography data confirmed that morin significantly attenuated PMA-induced MMP-9 activity in MDA-MB-231 cells in a dose-dependent manner. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), western blot analysis and luciferase reporter assay showed that morin decreased PMA-induced MMP-9 gene and protein expression. Additionally, the DNA binding ability of nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) remarkably increased in PMA-stimulated MDA-MB-231 cells compared to that of the untreated control group. However, treatment with morin significantly decreased the PMA-stimulated DNA binding ability of NF- $\kappa$ B. Moreover, our study demonstrated that a specific NF- $\kappa$ B inhibitor, pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC), inhibited PMA-stimulated expression of MMP-9 mRNA and protein. Taken together, our results indicate that morin attenuates PMA-induced expression and activity of MMP-9 by suppressing NF- $\kappa$ B activity and consequently, decreasing PMA-mediated MDA-MB-231 cell invasion.

**RESUMEN.** Morina (3,5,7,2',4'-pentahidroxiflavona) es una flavona originalmente aislada de miembros de la familia Moraceae que se ha informado que poseen efectos anticancerígenos. Sin embargo, no hay pruebas suficientes sobre la actividad antiinvasiva de la morina. Por lo tanto, investigamos los efectos de la morina sobre la invasión de células de cáncer de mama MDA-MB-231 y analizamos además el mecanismo antiinvasivo subyacente de la morina mediante la supresión de la actividad metaloproteinasas-9 de la matriz (MMP-9). Independientemente de la presencia o ausencia de suero, no se observó citotoxicidad en las células MDA-MB-231 tratadas con morina. El ensayo de invasión de Matrigel mostró que el forbol-12-miristato-13-acetato (PMA) dio como resultado un aumento de 4 veces de la invasión de células MDA-MB-231 y la morina redujo sustancialmente la invasión inducida por PMA. Además, los datos de zimografía confirmaron que la morina atenúa significativamente la actividad de MMP-9 inducida por PMA en células MDA-MB-231 de una manera dependiente de la dosis. La reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR), el análisis de transferencia Western y el ensayo reportero de luciferasa mostraron que la morina disminuye la expresión del gen y la proteína MMP-9 inducida por PMA. Además, la capacidad de unión al ADN del factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aumentó notablemente en células MDA-MB-231 estimuladas con PMA en comparación con las del grupo de control no tratado. Sin embargo, el tratamiento con morina disminuyó significativamente la capacidad de unión de ADN estimulada por PMA de NF- $\kappa$ B. Además, nuestro estudio demostró que un inhibidor específico de NF- $\kappa$ B, el ditiocarbamato de pirrolidina (PDTC), inhibía la expresión estimulada por PMA del ARNm y la proteína de MMP-9. Tomados en conjunto, nuestros resultados indican que la morina atenúa la expresión y la actividad inducida por PMA de MMP-9 mediante la supresión de la actividad de NF- $\kappa$ B y, en consecuencia, la disminución de la invasión de células MDA-MB-231 mediada por PMA.

**KEY WORDS:** invasion, matrix metalloproteinase-9, morin, nuclear factor  $\kappa$ -B

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: slee76@jejunu.ac.kr (S.H. Lee) & immunkim@jejunu.ac.kr