

Indirubin-3'-monoxime Inhibits AP-1-Mediated Matrix Metalloproteinase-9 in LNCaP Prostate Cancer Cells by Activating the Nrf2/HO-1 Signaling Pathway

Matharage G. DILSHARA¹, Ilandarage M.N. MOLAGODA¹, Rajapaksha G.P.T JAYASOORIYA², Yung H. CHOI³, Cheol PARK⁴, Seunghun LEE^{1,*} & Gi-Young KIM^{1,*}

¹ Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

² Department of Food Technology, Faculty of Technology, Rajarata University of Sri Lanka, Mihintale 50300, Sri Lanka

³ Department of Biochemistry, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University, Busan 47227, Republic of Korea

⁴ Department of Molecular Biology, College of Natural Science, Dong-Eui University, Busan 47340, Republic of Korea

SUMMARY. Indirubin-3'-monoxime (I3M) is a synthetic derivative of indirubin and approved as a potent anticancer agent modulating cell cycle arrest and apoptosis; however, its anti-invasive function has not been fully elucidated. Therefore, in the current study, we investigated whether I3M suppresses the invasiveness of LNCaP prostate cancer cells. Matrigel invasion assay showed that I3M substantially reduced phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)-induced cell invasion and significantly downregulated the expression and luciferase activity of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). In addition, I3M enhanced nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)-mediated hemeoxygenase-1 (HO-1) expression in LNCaP cells, and transient knockdown of Nrf2 significantly blocked the anti-invasive activity of I3M following inhibition of MMP-9 expression. I3M also reduced PMA-induced activator protein-1 (AP-1) activity and the expression of its family members, such as c-Jun and c-Fos. Furthermore, inhibition of Nrf2 and HO-1 enhanced PMA-induced phosphorylation of c-Jun and c-Fos, suggesting that AP-1 may be critically required to induce MMP-9 expression. Collectively, we found that I3M activated the Nrf2/HO-1 signaling pathway, which inhibited PMA-induced MMP-9 expression by suppressing AP-1 activity, resulting in anti-invasive activity on LNCaP prostate cancer cells. These data indicated that I3M would be a promising small-molecule inhibitor of cancer cell invasion.

RESUMEN. La indirubina-3'-monoxima (I3M) es un derivado sintético de la indirubina y está aprobado como un potente agente anticancerígeno que modula la detención y la apoptosis del ciclo celular; Sin embargo, su función anti-invasiva no ha sido completamente aclarada. Por lo tanto, en el estudio actual investigamos si I3M suprime la invasividad de las células de cáncer de próstata LNCaP. El ensayo de invasión de Matrigel mostró que I3M redujo sustancialmente la invasión celular inducida por forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) y redujo significativamente la expresión y la actividad luciferasa de la metaloproteína de matriz 9 (MMP-9). Además, I3M mejoró la expresión de hemoxygenasa-1 mediada por factor 2 eritroide 2 (Nrf2) relacionada con el factor nuclear eritroide 2 (HO-1) en células LNCaP, y la eliminación transitoria de Nrf2 bloqueó significativamente la actividad antiinvasiva de I3M después de la inhibición de la expresión de MMP-9. I3M también redujo la actividad de la proteína activadora inducida por PMA 1 (AP-1) y la expresión de los miembros de su familia, como c-Jun y c-Fos. Además, la inhibición de Nrf2 y HO-1 mejoró la fosforilación inducida por PMA de c-Jun y c-Fos, lo que sugiere que AP-1 puede ser críticamente necesario para inducir la expresión de MMP-9. Colectivamente, encontramos que I3M activó la vía de señalización de Nrf2 / HO-1, que inhibió la expresión de MMP-9 inducida por PMA al suprimir la actividad AP-1, lo que resultó en actividad antiinvasiva en las células de cáncer de próstata LNCaP. Estos datos indican que I3M sería una prometedora pequeña molécula inhibidora de la de la invasión de células cancerosas.

KEY WORDS: activator protein-1, hemeoxygenase-1, indirubin-3-monoxime, matrix metalloproteinase-9, nuclear factor erythroid 2-related factor 2.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mail: slee76@jejunu.ac.kr (S. Lee) and immunkim@jejunu.ac.kr (G.-Y. Kim).