약학회지 제51권 제5호 301~306 (2007)
Yakhak Hoeji Vol. 51, No. 5

藥學會誌

항당뇨약 Rosiglitazone의 혈관 수축성에 대한 이중성 조절

박진건 · 제현동#
대구가톨릭대학교 약학대학 약물학교실
(Received June 28, 2007; Revised August 28, 2007)

Biphasic Effects of Rosiglitazone on Agonist-induced Regulation of Vascular Contractility

Jin Gun Park and Hyun Dong Je#
Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

Abstract — Rosiglitazone (Avandia®) represents a new class of antidiabetic drugs which are PPARγ agonists. The present study was undertaken to determine whether the new antidiabetic rosiglitazone influences on the agonist-induced regulation of vascular smooth muscle contraction as an antihypertensive and, if so, to investigate the related mechanism. Endothelium-denuded arterial rings from male Sprague-Dawley rats were used and isometric contractions were recorded using a computerized data acquisition system. Rosiglitazone decreased Rho-kinase activating agonist (NaF or thromboxane A_2 mimetic)-induced contraction but not depolarization- or phorbol ester-induced contraction. Surprisingly, it slightly potentiated the latter contraction possibly opening a voltage-dependent calcium channel by its chemical structure on 50 mM KCl- or 1 μM phorbol 12,13-dibutyrate-induced vasoconstriction. In conclusion, this study provides the evidence and possible related mechanism concerning the biphasic effect of an antidiabetic rosiglitazone as a possible antihypertensive on the agonist-induced contraction in rat aortic rings regardless of endothelial function.

Keywords □ KCl, NaF, phorbol 12,13-dibutyrate, Rho-kinase, rosiglitazone, thromboxane A_2 mimetic

당뇨병은 인슐린의 절대적 부족 혹은 그 작용의 문제로 인해 우리 몸의 가장 중요한 에너지원인 포도당이 혈액에서 세포내로 들어가지 못해서 혈중에 다량의 포도당이 존재하게 되는 병이다. 보건복지부에서 최근 발표한 건강보험 재정 및 급여현황에 따르면 우리나라 당뇨병 진료환자는 연간 187만 여명에 이르러 당뇨병이 고혈압과 함께 매우 심각한 생활습관병의 하나임을 극명하게 보여주었다. 당뇨병 중에서도 인슐린은 정상적으로 분비되나 인슐린에 대한 민감성이 떨어져서 생기는 2형 당뇨병에 대한 치료제인 Thiazolidinedione(TZDs)계열의 약은 일차적으로 지방 세포내 PPARγ(Peroxisome proliferators-activated receptor γ)에 결합한 뒤 PPARγ와 retinoid X receptor(RXR)와 상호결합하여 인슐린저항성에 관여하는 많은 단백질을 발현시키는 유전자에 전사인자로 작용하여 인슐린작용성을 증가시키는 새로운 기전의 약물이다.[1,2] 이 실험에서는 TZDs를 대표하는 rosiglitazone와 pioglitazone 중 rosiglitazone을 이용하였다. TZDs의 주 표적은 지방세포와 골격근 이었지만 지금까지의 여러 연구에서 PPARγ는 심장, 신장, 간 그리고 혈관에도 존재함이 밝혀졌고 TZDs는 동물과 사람을 대상으로 한 *in vivo* 실험에서 혈압을 조금 낮추는 효과가 있음이 밝혀졌다.[3,4] 당뇨병 환자의 30~40%가 고혈압을 합병증으로 가지고 있는 것에 주목하면 이런 효과는 TZDs의 항당뇨효과 뿐만 아니라 심혈관계 질환까지 예방할 수 있는 가능성을 생각할 수 있다. 하지만 TZDs가 혈관을 이완시키는 기전은 아직까지 뚜렷이 밝혀지지 않았다. 이 연구에서는 TZDs가 혈관을 이완시키는 기전을 조사하기 위하여 여러 가지 기전으로 rat aortae를 수축시키고 rosiglitazone을 농도 누적적으로 투여하여 그 효과를 관찰하였다. 먼저 탈분극을 유도하여 voltage-dependent calcium channel(VDCC)로의 Ca^{2+} 유입을 통해 수축을 일으키는 KCl을 수축 agonist로 사용하였고 또한 주로 protein kinase C(PKC)의 활성화를 통해 수축을 일으키는 것으로 알려져 왔으나 비교적 최근에 L-type calcium channel을 통한 혈관 수축 활성화 기전도 밝혀진 phorbol ester도 사용하였다.[5,6]

혈관의 수축을 일으키는 기전은 고전적으로 세포내 Ca^{2+}의 증가에 따라 Ca-Calmodulin 복합체의 마이오신 경사슬(myosin light chain 20 kDa) 인산화에 따라 수축이 된다고 생각하였지만

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 053-850-3615 (팩스) 053-850-3602
(E-mail) hyundong@cu.ac.kr

세포내 칼슘이온의 증가와 상관없이 다른 기전으로 마이오신 경사슬 인산화를 조절하는 기전들도 밝혀졌다.[7-9] 마이오신 경사슬 인산화는 액틴과 마이오신의 상호작용과 평활근 수축을 촉진한다.[10] 칼슘 비의존적으로 마이오신 경사슬 인산화수준과 수축정도를 조절하는 추가조절기전으로는 Rho GEFs(guanine nucleotide-exchange factors), Rho A, Rho-kinase 등에 의한 마이오신 탈인산화효소의 억제 등이 있다는 것이 연구되어졌다.[11-15] 이런 연구와 관련되어 혈관수축 agonist가 될 수 있는 NaF, thromboxane A_2 유사체인 U-46619도 이번 연구에서 이용되었다. NaF에 의한 혈관 평활근 수축은 NaF 투여 후 세포내에서 생성되는 AlF^-에 의한 G-protein coupled protein 흥분에 의한 기전이 예전부터 알려져 왔고 최근의 연구에 따르면 Rho-kinase에 의한 마이오신 탈인산화효소 억제등의 기전도 밝혀졌다.[16-18] Tromboxane A_2는 주로 혈소판에서 생성되는 평활근 수축과 증식, 혈소판 모양 변화와 응집을 유도하는 물질로 알려져 있다. Tromboxane A_2는 불안정한 물질로 실제 실험에 있어서 tromboxane A_2 유사체인 U-46619라는 화합물질을 사용한다. U-46619는 혈관 평활근의 수축을 유도하는데 그 기전으로는 Rho-kinase활성을 통해 마이오신 탈인산화효소 억제하여 상대적으로 일정한 세포질내 칼슘농도에서 강력한 혈관 수축을 유도한다.[19] Rho-kinase활성을 억제하는 Y-27632를 rosiglitazone과 병용 투여하여 이완 정도를 rosiglitazone 단독 투여군과 비교하여 Y-27632의 기전과 rosiglitazone의 기전을 간접적으로 비교하였다.[20] 이번 연구결과는 항당뇨병 치료약으로서 약간의 혈압강하 효과가 있다고 알려진 rosiglitazone의 수축 agonist의 변화에 따른 혈관 긴장도에 대한 이중성 조절을 보여주었다. 따라서 항당뇨병약인 rosiglitazone이 항고혈압 치료제로 사용될 경우 세심한 주의가 필요하다고 생각된다.

재료 및 방법

재료 시약 및 기기

다음과 같은 약품이 사용되었다. Potassium chloride(Sigma, St. Louis, MO, USA), sodium bicarbonate(Sigma), phorbol 12,13-dibutyrate(Sigma), Y-27632(Sigma), U-46619(Sigma), pentobarbital sodium(Dongwon,Korea), D-(+)-glucose(Sigma), NaF(Sigma)와 그 외 다른 시약은 특급 또는 일급으로 사용하였다. 약품 및 모든 시약은 3차 증류수에 용해하였고 필요에 따라 DMSO를 용매로 사용하기도 하였다. 실험에서 SD(Sprague Dawley) rat을 사용하였고 SD rat은 효창사이언스에서 구입하였다. 그 외 등장력변환기(PowerLab, AD instruments)도 사용하였다.

실험과정

연구는 US National Institute of Health(NIH, 1996)에 의해 출판된 실험동물의 care와 use에 대한 guide에 따라서 수행하였다. 무게 300~350 g의 성숙한 수컷 Sprague-Dawley 쥐를 실험에 사용하였다. 실험동물은 분리된 상자에 개별적으로 수용하였고 1주일 이상 사료와 물을 충분히 공급하였다. 실험당일 pentobarbital sodium(50 mg/kg)을 복강으로 투여하여 마취 및 고정하였다.

대동맥 적출

중부 절개로 흉곽이 열렸고 수술도구로 심장과 주변 부위를 노출시켰다. 심장과 폐는 분리되지 않았고 대동맥 적출을 위한 충분한 공간을 확보하기 위해 좌측으로 밀어서 생리식염수로 적셔진 천을 덮었다. 대동맥은 간 근처에서 심장부근까지 적출하였고 즉시 차가운 Krebs용액에 넣었다. 대동맥내 혈액과 각종 결합조직, 혈관의 내피는 조심스럽게 제거하였다. 대동맥은 4 mm 길이의 고리로 잘랐다.

기계적 활성 측정

동맥의 고리 조각은 2개의 금속 갈고리로 수조내에 현수하였다. 아래쪽 갈고리는 수조바닥에 고정하였고 위쪽 갈고리는 등장력변환기에 연결하였다. 등장력 변환기의 신호는 컴퓨터의 소프트웨어를 통해 수집하였다. 수조의 부피는 10 ml이고 수조내 용액은 37°C에서 95% O_2와 5% CO_2로 포화되었다. Krebs 용액의 조성(mM)은 다음과 같다. NaCl, 118.4; KCl, 4.7; $CaCl_2$ 2.5; $MgCl_2$, 1.18; $NaHCO_3$, 25; KH_2PO_4, 1.2; glucose, 11.7. 용액의 최종 pH는 7.4~7.5로 유지되었다. 1시간의 평형기간동안 휴지기 장력은 2.0 g으로 조절되었다. 평형기간 후 대동맥 고리는 50 mM KCl로 자극되었고 근육이 충분히 수축할 경우 실험이 시작되었다. 용량-반응 곡선을 얻기 위해 혈관수축제들이 수조내로 투여되었다.

통계분석

모든 실험결과들은 평균±표준오차 나타내었고 통계 처리는 Student's t-test를 실시하여 $p<0.05$를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험결과 및 고찰

내피를 제거한 쥐 대동맥에서 KCl에 의한 수축에 대한 rosiglitazone의 농도누적적인 혈관이완효과

내피의 제거여부는 1 μM Acetylcholine을 투여했을 때 이완효과가 없음으로 판단하였다. KCl(50 mM)에 의한 충분한 수축으로 실험에 적당한 정도의 근육조직의 활성을 확인한 후 이를 씻어 내고 안정화시킨 다음 다시 KCl(50 mM)로 근육을 수축시킨 다음 장력이 최대에 다다랐을 때부터 농도 누적적으로 rosiglitazone을 투여하여 근육의 이완효과를 관찰하였다.

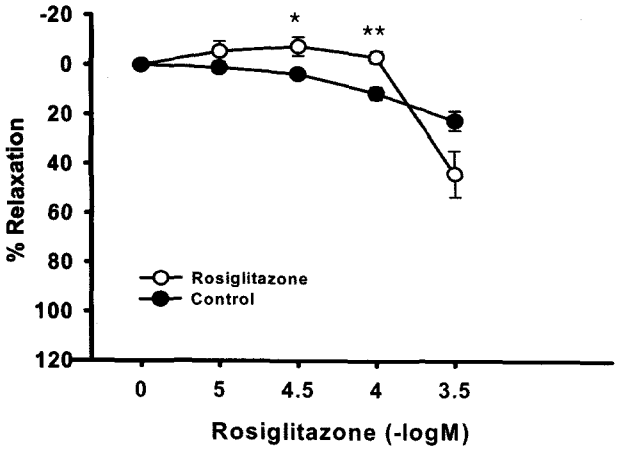

Fig. 1 – Relative relaxation effect of rosiglitazone on 50 mM KCl-induced contraction in the aortae with endothelium denuded. Data are expressed as means of 3~4 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P<0.01, presence versus absence of rosiglitazone.

Rosiglitazone은 KCl에 의한 수축에서 10 μM 농도에서는 수축을 증강시키는 경향을 보였고 그 보다 더 고농도인 30 μM~0.1 mM에서는 유의성있는 수축증강현상을 보였다. 그리고 0.3 mM에서는 다시 혈관 이완 경향을 보였다(Fig. 1).

내피를 제거한 쥐 대동맥에서 PDBu에 의한 수축에 대한 rosiglitazone의 농도누적적인 혈관이완효과

KCl(50 mM)에 의한 충분한 수축으로 실험에 적당한 정도의 근육조직의 활성은 확인한 후 이를 씻어 내고 다시 휴지기 장력 2.0 g을 인위적으로 맞춘 후 안정화 시키고 PDBu(phorbol 12,13-dibutyrate) 1 μM로 근육을 수축시킨 다음 장력이 최대에 다다랐을 때부터 농도 누적적으로 rosiglitazone을 투여하여 근육에 대한 효과를 관찰하였다.

PDBu에 의한 수축에서는 저농도(10 μM)부터 0.1 mM까지 유의성있는 수축증강 효과가 나타났다(Fig. 2).

내피를 제거한 쥐 대동맥에서 U-46619에 의한 수축에 대한 rosiglitazone의 농도누적적인 혈관이완효과

KCl(50 mM)에 의한 충분한 수축으로 실험에 적당한 정도의 근육조직의 활성을 확인한 후 이를 씻어내고 다시 휴지기 장력 2.0 g을 인위적으로 맞춘 후 안정화시키고 thromboxan A_2 mimetic(U-46619) 1uM으로 근육을 수축시킨 다음, 장력이 최대에 다다랐을 때부터 농도누적적으로 rosiglitazone을 투여하여 근육의 이완효과를 관찰하였다. Thromboxane A_2 mimetic(U-46619)에 의한 수축에서는 저농도부터 고농도까지 모든 실험농도(10 μM~0.3 mM)에서 유의성있는 이완효과가 나타났다(Fig. 3).

내피를 제거한 쥐 대동맥에서 NaF에 의한 수축에 대한 rosiglitazone의 농도누적적인 혈관이완효과

KCl(50 mM)에 의한 충분한 수축으로 실험에 적당한 정도의 근육조직의 활성을 확인한 후 이를 씻어내고 다시 휴지기 장력 2.0 g을 인위적으로 맞춘 후 안정화시키고 NaF(8 mM)로 근육을 수축시킨 다음, 장력이 최대에 다다랐을 때부터 농도누적적으로 rosiglitazone을 투여하여 근육의 이완효과를 관찰하였다. NaF에 의한 수축에서는 두번째로 낮은 농도(30 μM)에서부터 유의성있는 이완효과를 관찰하였다(Fig. 4).

따라서 앞에서 보여준 KCl과 PDBu에 의한 수축에서와는 달리, rho-kinase가 수축기전에 관련이 되어있다고 보고된 NaF와

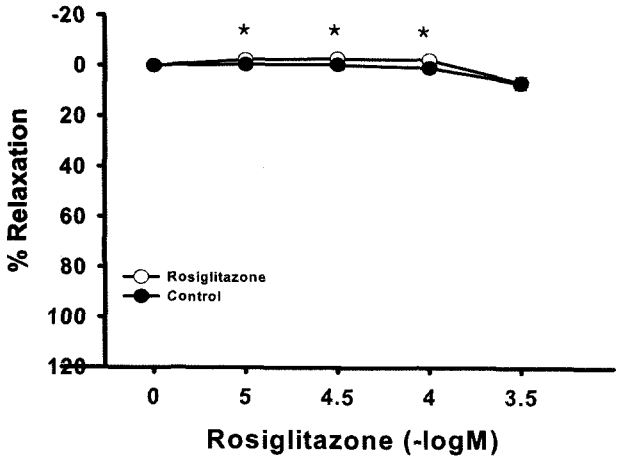

Fig. 2 – Relative relaxation effect of rosiglitazone on 1 μM PDBu (phobol 12,13-dibutylate)-induced contraction in the aortae with endothelium denuded. Data are expressed as means of 3~4 experiments with vertical bars showing SEM. *P< 0.05, **P<0.01, presence versus absence of rosiglitazone.

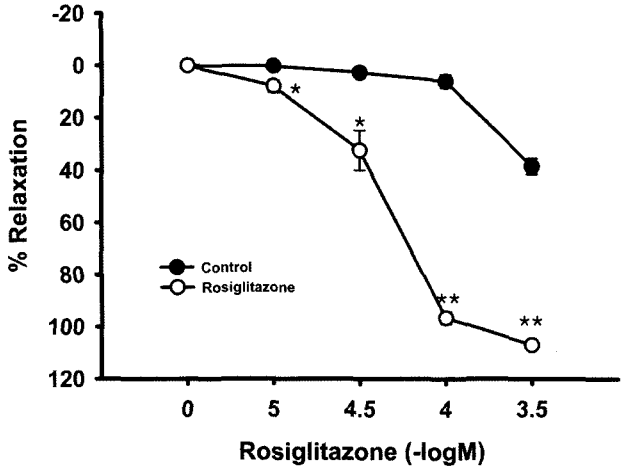

Fig. 3 – Relative relaxation effect of rosiglitazone on 8 mM NaF-induced vascular contraction in the aortae with endothelium denuded. Data are expressed as means of 3~4 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P< 0.01, presence versus absence of rosiglitazone.

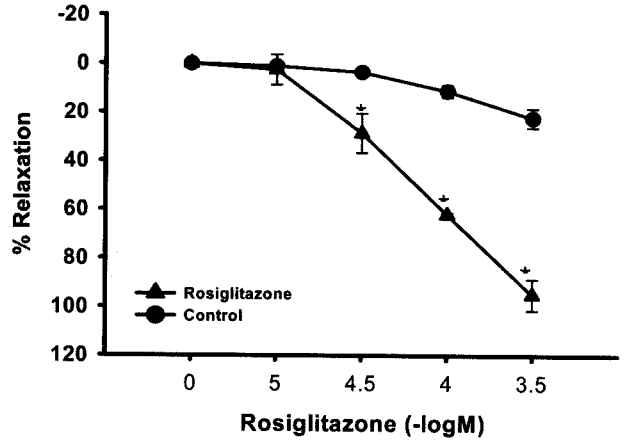

Fig. 4 – Relative relaxation effect of rosiglitazone on 1 μM thromboxane A_2 mimetic-induced vascular contraction in the aortae with endothelium denuded. Data are expressed as means of 3~4 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P<0.01, presence versus absence of rosiglitazone.

U-46619에서 rosiglitazone은 현저한 이완효과를 보였다. 그러므로 rosiglitazone이 Rho-kinase를 억제하여 혈관의 이완을 일으킨다고 가정하고 Rho-kinase inhibitor로 알려진 Y-27632를 이용하여 추가적인 실험을 하였다.

내피를 제거한 쥐 대동맥에서 thromboxane A2 mimetic(U-46619)에 의한 수축에 대한 Y-27632와 rosiglitazone의 병용투여에 의한 혈관이완효과

KCl(50 mM)에 의한 충분한 수축으로 실험에 적당한 정도의 근육조직의 활성을 확인한 후 이를 씻어 내고 다시 휴지기 장력 2.0 g을 인위적으로 맞춘 후 안정화 시키고 thromboxan A_2 mimetic(U-46619) 1 μM로 근육을 수축시킨 다음, 장력이 최대에 다다랐을 때 Y-27632(0.1 μM)와 rosiglitazone의 실험최저농도(10 μM)을 병용투여하고 이전과 같은 실험농도로 rosiglitazone을 투여하였다. 그 결과 rosiglitazne 단독으로 투여했을 때보다 조금 더 이완현상을 보이다가 고농도(0.1 mM)에서는 rosiglitazone 단독 투여 때와 같은 정도의 이완을 보였다(Fig. 5). 이는 이 실험에서의 rosiglitazone의 혈관이완효과는 Y-27632의 Rho-kinase 억제효과와 비슷하며 rosiglitazone이 Y-27632와 비슷한 기전으로 이완을 일으킨다고 생각할 수 있다.

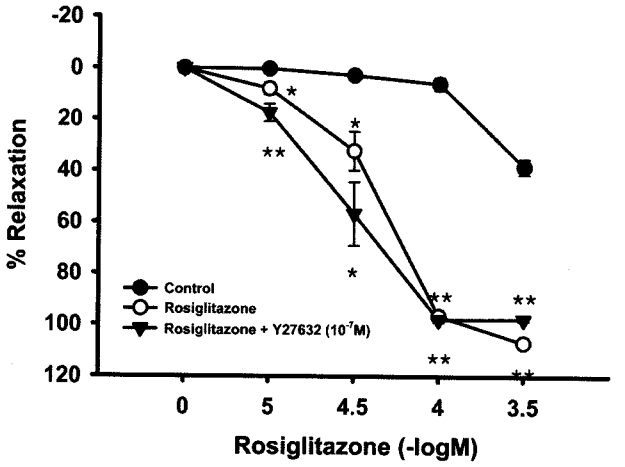

Fig. 5 – Relative additional relaxation effect of Rho-kinase inhibitor Y-27632 on rosiglitazone-induced vasorelaxation in the aortae with endothelium denuded precontracted with 1 μM thromboxane A_2 mimetic. Data are expressed as means of 3~4 experiments with vertical bars showing SEM. *P< 0.05, **P<0.01, presence versus absence of Rosiglitazone.

이번 실험에 사용된 rosiglitazone은 GSK(glaxosmithkline)에서 1999년 Avandia라는 상품명으로 발매된 제2형 당뇨약이다. 우리나라를 비롯해 전세계에서 널리 쓰이고 있다. 최근에는 뉴잉글랜드 저널 오브 메디신 지에 rosiglitazone이 심장병발생률을 크게 증가시킨다고 해서 안정성면에서 문제가 제기되었다.[21] 이러한 심혈관계에 대한 안정성 문제에 대해 GSK에서는 기존의 당뇨병약과 비교했을 때 유의한 차이를 보이지 않는다는 보도자료를 언론을 통해 발표하였다. 이 실험의 결과를 볼 때 rosiglitazone은 분명히 혈관에 어떤 유의성 있는 영향을 끼친다고 말할 수 있다. NaF 또는 throboxane A_2 mimetic으로 유도된 Rho-kinase관련 수축기전에 의해 수축된 혈관에서는 유의성 있는 이완효과가 나타났고 그 외에 전압 의존성(voltage-dependant) 수축이나 PKC(protein kinase C) 의존성 기전과 전압 의존성 기전이 동시에 관련된 혈관수축에서 rosiglitazone이 혈관을 유의성있게 더욱 수축시키는 결과를 나타내었다. PDBu에 의한 수축에 PKC활성에 대한 효과와 Ca^{2+} 유입증대에 의한 효과 모두가 관여될 수 있지만, KCl에 의한 수축과 일치되는 공통적인 기전

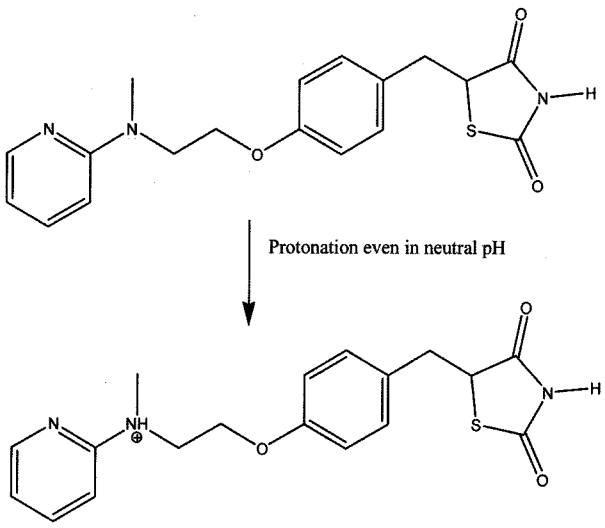

Fig. 6 – Putative chemical shift of rosiglitazone in normal rat aortic cell (pH 7.4).

이 VDCC로의 Ca^{2+} 유입을 통한 수축임을 고려할 때 PDBu수축에 대한 rosiglitazone의 수축증대효과에서 PKC활성에 대한 영향보다는 L-type calcium channel의 활성에 의한 Ca^{2+}의 유입증가에 대한 효과가 더 중요하리라고 생각된다. 본 실험에서는 NO를 생성하는 내피의 기능을 제거하여 실험하였다. 그런데 최근에 PPARγ ligand가 내피세포에서 NO생성을 증대시켰다는 보고[22]가 있었는데 따라서 내피기능이 유지된다면 일부 효능약에 의한 혈관 수축에 대해 rosiglitazone의 증대효과가 상쇄되어 실제 내피기능이 유지된 생체내 rosiglitazone 투여시 심혈관계 부작용은 감소되리라 생각된다. KCl 또는 PDBu에 의해 유도된 수축에 대해 rosiglitazone이 그 수축을 더욱 증강시키는 기전은 분자약리학적으로 더 연구해 보아야 하나 rosiglitazone의 구조를 고려할 때 pH 7.4 환경에서 피리딘옆의 아민기의 protonation에 의해 평활근세포막의 탈분극에 영향을 주어 약간의 수축증대효과가 있었던 것으로 추측된다(Fig. 6).

결 론

이번 실험에서는 여러 가지 수축제들을 이용하여 rat의 대동맥을 수축시킨 후 rosiglitazone을 투여해 rosiglitazone의 혈관긴장도에 대한 직접적인 효과를 평가하였다. 그 결과 NaF 또는 thromboxane A_2 mimetic에 의해 활성화된 rho-kinase에 의해 수축된 혈관에서는 rosiglitazone의 투여가 유의성 있는 이완효과를 보였다. 하지만 놀랍게도 PDBu(phorbol 12,13-dibutyrate)에 의해 PKC(protein kinase C)의 활성화나 VDCC 개방에 의한 수축이나, KCl에 의해 VDCC 개방 단독에 의한 수축에서는 이완효과가 아니라 모두 유의성 있는 수축증대효과를 보여 rosiglitazone의 혈관에 대한 수축성 증강 조절의 가능성을 보여주었다. 이는 최근에 대두된 아반디아의 심혈관계질환 관련 불안정성에 의미 있는 내용이 될 것이다. 이번 연구결과는 항당뇨병 치료약으로서 약간의 혈압강하 효과가 있다고 알려진 rosiglitazone의 수축 agonist의 변화에 따른 혈관 긴장도에 대한 이중성 조절을 보여준다. 따라서 항당뇨병약인 rosiglitazone이 항고혈압 치료제로 사용될 경우 고혈압의 유형에 따라 세심한 주의가 필요하다고 생각된다.

문 헌

1) Touyz, R. M. and Schiffrin, E. L. : Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical implications. *Vascul. Pharmacol.* **45**, 19 (2006).
2) Panchapakesan, U., Chen, X. M. and Pollock, C. A. : Drug insight: thiazolidinediones and diabetic nephropathy--relevance to renoprotection. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* **1**, 33 (2005).
3) Kurtz, T. W. : New treatment strategies for patients with hypertension and insulin resistance. *Am. J. Med.* **119**, S24 (2006).
4) Chetty, V. T. and Sharma, A. M. : Can PPARgamma agonists have a role in the management of obesity related hypertension? *Vascular Pharmacology* **45**, 46 (2006).
5) Nobe, K. and Paul, R. J. : Distinct pathways of Ca^{2+} sensitization in porcine coronary artery: effects of Rho-related kinase and protein kinase C inhibition on force and intracellular Ca^{2+}. *Circ. Res.* **88**, 1283 (2001).
6) Cobine, C. A., Callaghan, B. P. and Keef, K. D. : Role of L-type calcium channels and PKC in active tone development in rabbit coronary artery. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **292**(6), H3079 (2007).
7) Somlyo, A. P. and Somlyo, A. V. : From pharmacomechanical coupling to G-proteins and myosin phosphatase. *Acta. Physiol. Scand.* **164**, 437 (1998).
8) Sakurada, S., Takuwa, N., Sugimoto, N., Wang, Y., Seto, M., Sasaki, Y. and Takuwa, Y. : Ca^{2+}-dependent activation of Rho and Rho-kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. *Circ. Res.* **93**, 548 (2003).
9) Uehata, M., Ishizaki, T., Satoh, H., Ono, T., Kawahara, T., Morishita, T., Tamakawa, H., Yamagami, K., Inui, J., Maekawa, M. and Narumiya, S. : Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature* **389**, 990 (1997).
10) Murphy, R. A. : Myosin phosphorylation and crossbridge regulation in arterial smooth muscle. *Hypertension* **4**, 3 (1982).
11) Amano, M., Ito, M., Kimura, K., Fukata, Y., Chihara, K., Nakano, T., Matsuura, Y. and Kaibuchi, K. : Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho-kinase). *J. Biol. Chem.* **271**, 20246 (1996).
12) Kitazawa, T., Masuo, M. and Somlyo, A. P. : Protein-mediated inhibition of myosin light-chain phosphatase in vascular smooth muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 9307 (1991).
13) Leung, T., Manser, E., Tan, L. and Lim, L. : A novel serine/threonine kinase binding the Ras-related RhoA GTPase which translocates the kinase to peripheral membranes. *J. Biol. Chem.* **270**, 29051 (1995).
14) Gilman, A. G. : Guanine nucleotide-binding regulatory proteins and dual control of adenylate cyclase. *J. Clin. Invest.* **73**, 1 (1984).
15) Gohla, A., Schultz, G. and Offermanns, S. : Roles for G(12)/G(13) in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. *Circ. Res.* **87**, 221 (2000).
16) Blackmore, P. F. and Exton, J. H. : Studies on the hepatic calcium-mobilizing activity of aluminum fluoride and glucagon. Modulation by cAMP and phorbol myristate acetate. *J. Biol.*

Chem. **261**, 11056 (1986).

17) Jeon, S. B., Jin, F., Kim, J. I., Kim, S. H., Suk, K., Chae, S. C., Jun, J. E., Park, W. H. and Kim, I. K. : A role for Rho kinase in vascular contraction evoked by sodium fluoride. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **343**(1), 27 (2006).

18) Cockcroft, S. and Taylor, J. A. : Fluoroaluminates mimic guanosine 5'-[gamma-thio]triphosphate in activating the polyphosphoinositide phosphodiesterase of hepatocyte membranes. Role for the guanine nucleotide regulatory protein Gp in signal transduction. *Biochem. J.* **241**, 409 (1987).

19) Wilson, D. P., Susnjar, M., Kiss, E., Sutherland, C. and Walsh, M. P. : Thromboxane A_2-induced contraction of rat caudal arterial smooth muscle involves activation of Ca^{2+} entry and Ca^{2+} sensitization: Rho-associated kinase-mediated phosphorylation of MYPT1 at Thr-855, but not Thr-697. *Biochem. J.* **389**, 763 (2005).

20) Asano, M. and Nomura, Y. : Comparison of inhibitory effects of Y-27632, a Rho kinase inhibitor, in strips of small and large mesenteric arteries from spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *Hypertens. Res.* **26**, 97 (2003).

21) Nissen, S. E. and Wolski, K. : Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N. Engl. J. Med.* **356**(24), 2457 (2007).

22) Polikandriotis, J. A., Mazzella, L. J., Rupnow, H. L. and Hart, C. M. : Peroxisome proliferators-activated receptor gamma ligands stimulate endothelial nitric oxide production through distinct peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanisms. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **25**(9), 1810 (2005).