

세포 내 Ca^{2+} -의존성/-비의존성 평활근 수축기전에 대한 액틴결합단백질-Caldesmon-의 역할

- 노인성 심혈관질환 관련 노인물리치료 연구를 위한 기초의학적 접근 -

가천길대학 물리치료과 외래교수 · 용인대학교 물리치료학과¹⁾ · 대원과학대학 물리치료과²⁾

가천길대학 물리치료과³⁾ · 이천시 노인종합복지회관 물리치료실⁴⁾

김 중 환¹⁾ · 민 경 옥¹⁾ · 최 영 덕²⁾ · 이 준 희³⁾ · 천 기 영⁴⁾

The Role of Actin Binding Protein -Caldesmon- of the Mechanism of Ca^{2+} -dependent/-independent Smooth Muscle Contraction

-Approach of Basic Medical for the Study of Senile Cardiovascular Disease-related Senile Physical Therapy-

Kim, Jung Hwan, P.T., Ph.D. · Min, Kyung Ok¹⁾, P.T., Ph.D. ·
Choi, Young Duk²⁾, P.T., Ph.D. · Lee, Joon Hee³⁾, P.T., M.S. ·
Chon, Ki Young⁴⁾, P.T., M.S.

A Part-time Lecturer, Dept. of Physical Therapy, Gachongil College

Dept. of Physical Therapy, Yongin University¹⁾

Dept. of Physical Therapy, Daewon Science College²⁾

Dept. of Physical Therapy, Gachongil College³⁾

Dept. of Physical Therapy, I-Chon Senior Welfare Center⁴⁾

It is widely accepted that smooth muscle contraction is triggered by intracellular Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) released from intracellular Ca^{2+} stores such as sarcoplasmic reticulum (SR) and from the extracellular space. The increased $[Ca^{2+}]_i$ can phosphorylate the 20-kDa myosin light chain (MLC₂₀) by activating MLC kinase (MLCK), and this initiates smooth muscle contraction. In addition to the $[Ca^{2+}]_i$ -MLCK-tension pathway, a number of intracellular signal molecules, including mitogen-activated protein kinase (MAPK), protein kinase C (PKC), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), and *Rho*-associated coiled coil-forming protein kinase (ROCK), play important roles in the regulation of smooth muscle contraction. However, the mechanisms regulating contraction of caldesmon (CaD), actin-binding protein, are not entirely elucidated in the presence of Ca^{2+} . It is known that CaD tightly interacts with actin and inhibits actomyosin ATPase activity. Therefore, the purpose of the present study was to investigate the roles of Ca^{2+} -

dependent CaD in smooth muscle contraction. Endothelin-1 (ET-1), G-protein coupled receptor agonist and vasoconstrictor, increased both vascular smooth contraction and phosphorylation of CaD in the presence of Ca^{2+} . These results suggest that ET-1 induces contraction and phosphorylation of CaD in rat aortic smooth muscle, which may be mediated by the increase of $[Ca^{2+}]_i$.

Key words: Caldesmon (CaD), Muscle contraction, Intracellular Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), Mitogen-activated protein kinase (MAPK), Senile cardiovascular disease.

I. 서 론

지금까지 평활근 수축 기전에 대한 연구와 물리치료와의 연관성은 그다지 많지 않은 것으로 여겨오고 있던 것이 사실이다. 그러나 통증전문 물리치료나 노인성 심혈관계 질환의 예방이나 치료를 위한 물리치료적용에 있어서 그 중요성은 매우 높다. 왜냐하면 염증으로 유발되는 통증이나 단순자극 등에 의한 통증유발-전달기전에 혈관의 내외로 이동하는 통증전달물질의 역할이 매우 중요하기 때문이다. 또한 자궁이나 위와 같은 내장 장기의 과도수축이나 신장에 의한 통증에 혈관-내장 평활근의 역할이 절대적이기 때문이다(Kim 등, 2003a). 더욱이 노인성 심혈관계질환의 경우에는 혈관수축 특성의 기질적 혹은 기능적 변화로 이환 되는 질환에 속하므로 이에 대한 물리치료의 중요성은 더욱 강조되고 있다(천기영 등, 2003a, 2003b; Kim 등, 2003b, 2004b).

이러한 평활근의 수축기전에는 일반적으로 알려져 있는 myosin light chain kinase(이하 MLCK)를 활성화시키는 “MLCK 경로”와 최근 대두되고 있는 다른 신호경로, 즉 “protein kinase C(이하 PKC) 경로”와 “mitogen-activated protein kinase(이하 MAPK) 경로”, “*Rho*-associated coiled coil-forming protein kinase (이하 ROCK) 경로”, “phosphatidylinositol 3-kinase(이하 PI3K) 경로” 및 myosin light chain phosphatase(이하 MLCP)의 활성 억제 등으로 수축이 유발되는 “ Ca^{2+} sensitization”이 평활근 수축기전에 관여한

다고 보고되고 있다(Horowitz 등, 1996b; Karaki 등, 1997; Somlyo 등, 1999; Somlyo와 Somlyo, 2000; Kim 등, 2004a, 2004b).

또한 평활근 수축기전에 중요한 역할을 하는 것으로써, 액틴과 결합하여 근 수축 조절에 관여하는 단백질인 Caldesmon(이하 CaD)과 Calponin의 중요성이 대두되고 있다(Sobue 등, 1981, 1988; Huber, 1997; Chalovich 등, 1998). 이 단백질은 일반적으로 Ca^{2+} -연관 수축기전이 아닌 Ca^{2+} -비 연관 수축기전에 관여하는 것으로 보고되고 있으나(Walsh 등, 1995; Van Eyk 등, 1998; McFawn 등, 2003) 그 정확한 기전은 학자들간의 이견으로 정립되어 있지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 CaD의 수축기전에 대한 역할과 특히, 세포 내 Ca^{2+} 에 대한 의존성과 비의존성 여부를 살펴봄으로써 물리치료 연구를 위한 기초학적 자료로 도움이 되고자 한다.

II. 이론적 배경

1. Ca^{2+} sensitization

“ Ca^{2+} sensitization”은 평활근 수축발생에 있어서, 수축 증가와 세포 내 Ca^{2+} 의 증가 그리고 myosin light chain(이하 MLC)의 인산화 증가가 모두 동일하게 증가하는 형태의 일반적인 수축 양상이 아닌 기전을 의미한다. 즉 수축의 증가는 일어나지만 세포 내 Ca^{2+} 은 감소하는 경우와 수축의 증가는 일어나지

만 반대로 MLC의 인산화는 감소하는 경우에 나타나는 수축형태를 의미한다(Fig. 1)(Karaki, 1990; Hori와 Karaki, 1998). 이러한 수축의 형태는 평활근의 특성에 속하는 내용으로써, PKC의 Ca²⁺-비의존성 경로와 ROCK을 통한 myosin light chain phosphatase(이하 MLCP)의 활성억제 및 MAPK의 Ca²⁺-비의존성 수축 경로 등이 이에 해당된다(Karaki 등, 1997; Somlyo 등, 1999; Somlyo와 Somlyo, 2000; Kim 등, 2004a, 2004b).

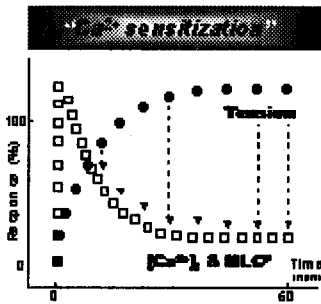


Fig. 1. The schematic representation of Ca²⁺-sensitization in smooth muscle.

[Ca²⁺]_i, intracellular Ca²⁺; MLCP, myosin light chain phosphorylation.

2. Caldesmon과 평활근 수축

Caldesmon(이하 CaD)은 chicken gizzard로부터 처음 분리된 단백질로써, Ca²⁺이 존재하는 상태에서 calmodulin(이하 CaM)과 결합하며, Ca²⁺이 존재하지 않는 상태에서 F-actin과 상호 작용하는 단백질로 보고되었다(Sobue 등, 1981). 이러한 CaD은 분자량에 따라 분자량이 큰 고분자량-CaD(high molecular CaD, 약 120~150 kDa, 이하 H-CaD)과 저분자량-CaD(low molecular CaD, 약 70~80 kDa, 이하 L-CaD)으로 구분하고 있다(Sobue 등, 1981, 1988). H-CaD는 근 세포에 존재하고 L-CaD는 비근세포 모두에 존재하는 것으로 알려지고 있다(Dingus 등, 1986; Ueki 등, 1987). 이러한 CaD는 열에 안정한 특성을 지님과 동시에, H-CaD와 L-CaD 모두가 CaM과 tropomyosin 그리고 actin과 결합하고, 마이오신의 actin-activated Mg²⁺-ATPase의 활성을 억제하는 억제제로 작용하는 것으로 알려져 있다(Bretscher, 1984; Sobue 등, 1985, 1988). 또한 CaD 단백질의 길이는 H-CaD가 약 74nm이고 L-CaD가

53nm로 각각의 차이점을 나타내고 있다(Graceffa 등, 1988).

한편, CaD는 액틴과 결합함으로써 actin-activated Mg²⁺-ATPase를 억제하거나 액틴과 마이오신의 상호작용을 억제함으로써 근 수축을 방해한다. 그러나 PKC나 MAPK, Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase II(이하 Ca²⁺/CaMKII), casein kinase II, cdc2 protein kinase 등(Umekawa와 Hidaka, 1985; Mak 등, 1991; Yamashiro 등, 1991; Gerthoffer 등, 1996)이 CaD를 인산화시켜 활성상태로 만들면 액틴에 대한 CaD의 친화성이 억제되어, 즉 마이오신에 대한 actin-activated Mg²⁺-ATPase 활성을 억제하고 있던 CaD의 억제능력이 감소됨으로써, 결국 액틴과 마이오신의 상호반응·증가로 근 수축을 야기하게 된다(Vorotnikov 등, 1988; Tanaka 등, 1990).

또한 CaD는 4개의 소단위로 구성되어 있으며(Fig. 2) 그 특징은 다음과 같다. 첫 번째 소단위는 N-말단부위로 아미노산 서열로 약 210개의 잔기가 포함되는 부분을 말한다. 이 부분은 마이오신과 tropomyosin과 결합하며 CaM과는 약한 결합력을 나타내는 부분이다. 두 번째 소단위는 첫 번째 소단위로부터 약 250개의 잔기가 포함된 부분으로 나선형의 형태를 취하는 특성과 함께 tropomyosin과 결합하는 부위이다. 세 번째 소단위는 두 번째 소단위로부터 약 180개의 잔기가 포함된 부분으로 나선형의 형태를 취하며, 각 소단위 중에서 가장 짧은 부위이다. 이 부위는 흡사 troponin T의 역할과 유사한 기능을 가지며 troponin 및 tropomyosin과 결합하는 역할을 한다. 마지막 소단위는 C-말단부위로서 부분적 나선형으로 치밀한 구조를 띄고 있으며, 액틴과 Ca²⁺-결합 단백질, 마이오신 및 tropomyosin과 상호작용 한다. 이 마지막 부위가 CaD에서 기능적으로 가장 중요한 부분이 된다. 즉, 이 부위가 Ca²⁺과 Ca²⁺-결합 단백질이 존재하지 않은 상태에서 액틴과 강하게 결합하여 actomyosin ATPase의 활성을 강하게 억제하는 역할을 담당한다(Fig. 2)(Huber, 1997; Chalovich 등, 1998).

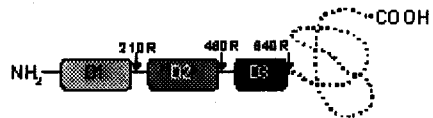


Fig. 2. The schematic diagram of smooth muscle caldesmon (CaD) structure.

D1, domain 1; D2, domain 2; D3, domain 3.

III. 연구 방법

1. 실험 동물

본 연구에 사용한 실험동물은 170~190g의 웅성 랫드 20수와 자성 랫드 10수를 사용하였다(대한바이오링크). 각 7주령의 자웅 랫드를 사육장에 분리하여 12시간의 명암주기로 사육하였다. 입하 후 첫 1주일은 환경 적응 기간으로 하였다. 물과 사료(실험동물전용사료, 대한바이오링크)는 충분히 공급하였으며, 사육장의 온도는 자동온도조절시스템(허리케인0300, 천우이엔씨)을 이용하여 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하였다.

2. 근 수축 실험

본 연구를 위해, 랫드는 후두부를 강타하여 실신시킨 뒤 경동맥을 절개하여 혈액을 충분히 방혈시킨 뒤 흉대동맥을 적출하였다. 적절한 조직은 생리적 식염수가 든 용기에 옮긴 후 핀으로 고정하고 실온에서 결합조직과 지방을 제거하였다. 제작된 근 조직은 이전에 본 저자가 실시한 방법과 동일한 방법으로 시행하였다(Kim 등, 2003a).

3. 세포 내 Ca^{2+} 농도 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 측정

세포 내 Ca^{2+} 농도(이하 $[\text{Ca}^{2+}]_i$)의 측정은 Kim 등(1992)과 같은 방법으로 Ca^{2+} 의 형광지시약인 fura-PE3/AM을 이용하여 측정하였다. 실험전행은 수축 측정 시와 동일한 방법으로 작성된 근육조직을 사용하였다. 작성된 근육조직은 340nm와 380nm의 두 파장의 excitation을 48Hz로 순차적으로 조사하였고, 이때 발생하는 500nm의 형광(F340과 F380)을 형광광도계(CAF110, JASCO, Japan)로 분석하였다. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 의 변화는 F340과 F380의 비율(R340/380)로서 표시하였다. 세포질에서 Ca^{2+} 에 대한 fura-PE3의 결합계수는 In Vitro에서의 결과와 차이가 있으므로 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 의 절대치를 구하지 않고 정지 시와 고농도의 KCL의 자극 시에 얻어진 비율을 각각 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 의 0%와 100%로 하였다.

4. Caldesmon 단백질 인산화 측정

Caldesmon 단백질의 인산화를 측정하기 위하여 수축실험과 동일한 연구과정을 거쳐 조직을 준비하였다. 준비된 조직은 이전에 본 저자가 실시한 western blotting의 방법을 적용하여 본 연구에 임하였다(Kim 등, 2004b). 본 연구에서는 CaD의 단백질 정량을 위해 non-phospho CaD antibody를 사용하였으며, 활성을 측정하기 위해 phospho-CaD antibody를 이용하여 본 연구에 임하였다. 연구결과 나타난 면역반응 결과는 이미지 분석기(Bioprofil, Vilber Lourmat, France)로 정량하였다.

5. 사용 시약

본 연구에 사용된 시약은 다음과 같다. 세포 내 Ca^{2+} 측정에 사용된 시약은 Nacalai tesque INC. (Japan)과 Taflabs(USA)에서 구입하였으며, 단백질 정량을 위해 사용된 시약은 Sigma Chemical Co.(USA)와 Pharmacia Biotech(USA), 그리고 New England Biolabs Inc.(USA) 및 Santa Cruz Biotechnology Inc.(USA)에서 구입하였다. 또한 수축실험에 필요한 시약은 Junsei Pure Chemical Co. (Japan)에서 구입하였다.

6. 자료 처리

본 연구의 통계처리는 SAS 소프트웨어 6.12를 사용하였으며, Student's t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 일 때 유의한 차이가 있는 것으로 보았다. 연구 성적은 $\text{mean} \pm \text{s.e.m.}$ 으로 나타내었다.

IV. 결과 및 고찰

1. 근 수축에 대한 세포 내 Ca^{2+} 의 역할

본 연구에서 실시한 근 수축반응의 증가 및 감소에는 세포 내 Ca^{2+} 의 변동이 서로 밀접한 연관성을 나타냄을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 이러한 수축반응과 세포 내 Ca^{2+} 의 연관성은 조직특이성을 보이지 않은 반응으로 위의 유문동 조직과 자궁 그리고 혈관조직 모두에서 동일한 양상을 나타내었다(Fig. 3). 이러한 결과는 이전의 다른 결과와 동일한 양상을 나타냈다(Karaki, 1990; Kim 등, 1992).

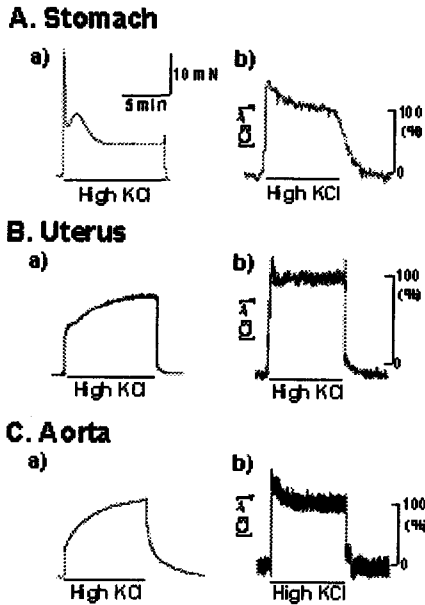


Fig. 3. Representation tracing obtained by high KCl-induced muscle tension (a) and by high KCl-induced intracellular Ca²⁺ (b) from rat stomach (A), uterus (B), and thoracic aorta (C).

2. Ca²⁺-의존성 근 수축에 대한 caldesmon(CaD)의 역할

Caldesmon은 위에서 설명한 내용처럼 액틴과 마이오신의 상호작용을 조절함으로써 근 수축을 조절하는 액틴-결합 단백질이다. 일반적으로 CaD의 관여로 나타나는 평활근의 수축반응은 Ca²⁺ 비의존적으로 나타나는 것으로 보고되고 있다 (Walsh 등, 1995; Van Eyk 등, 1998; McFawn 등, 2003). 그러나 Ca²⁺ 존재 하에서도 수축이 일어난다는 내용도 보고되고 있어 정확한 기전은 모호한 상태에 있다. 더욱이 본 연구에서 실시한 결과 Ca²⁺ 존재 하에서 실시한 ET-1-유도 근 수축반응이 CaD 단백질의 활성반응 증가양상과 동일한 결과를 보였다 (Fig. 4). 이러한 내용은 이전의 결과들과 일치하는 양상을 나타내었다(Gorenne 등, 2004; Kim 등, 2004b).

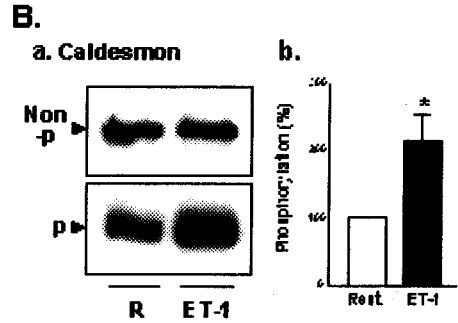
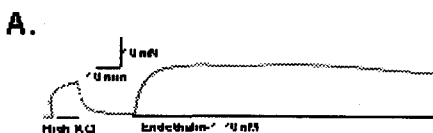


Fig. 4. Representation tracing obtained by endothelin-1-induced muscle tension (A) and by endothelin-1-induced phosphorylation of caldesmon (B) from rat aorta.

Non-p, non-phosphorylation of caldesmon; p, phosphorylation of caldesmon, * $p < 0.05$ vs resting state.

따라서 이러한 결과와 보고를 배경으로 다음과 같은 Ca²⁺-의존성 caldesmon-연관 수축기전을 요약하여 보았다(Fig. 5).

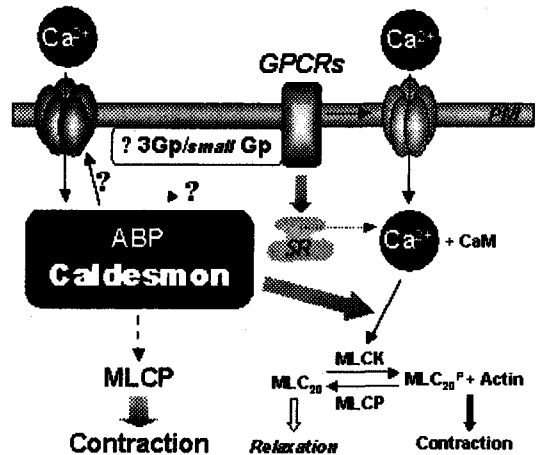


Fig. 5. The schematic representation of caldesmon-related smooth muscle contraction.

GPCRs, G-protein coupled receptors; ABP, actin binding protein; MLCP, myosin light chain phosphatase; SR, sarcoplasmic reticulum; CaM, calmodulin; PM, plasma membrane; MLC₂₀, 20-kDa myosin light chain; MLCK, myosin light chain kinase.

3. 근 수축 기전 연구를 통한 물리치료적 접근과 방향

비정상적인 과도한 평활근 수축으로 유발될 수 있는 질환에는 노인성 심혈관질환의 중요 원인이 되는 고혈압을 비롯하여, 천식발작, 복통과 같은 급격한 근 경련의 유발과 함께 나타나는 통증, 그리고 자궁의 비정상적인 수축으로 인하여 발생하는 조기분만 및 통증 등이 있다(Fig. 6A). 그러나 이러한 질환 가운데 본 연구자들은 노인성 심혈관질환의 중요한 원인이 되는 고혈압에 중점을 두어 예방 및 조절에 대한 병용요법 혹은 대체요법으로 의미가 있는 물리치료 방법의 모색 등에 대한 기초과학적 연구를 실시해 오고 있다(천기영 등, 2003a, 2003b; Park 등, 2003; Kim 등, 2002, 2003b, 2004a, 2004b).

또한 본 저자들은 평활근 수축기전의 연구와 관련하여 물리치료 영역에서 지속적으로 연구해야 할 질환을 크게 4개의 군으로 요약해 보았다. 첫 번째가 노인성 심혈관질환이며, 두 번째가 치매, 세 번째가 퇴행성 질환, 마지막으로 통증에 대한 물리치료적 연구가 더욱 체계적이고 다각적으로 이루어져야 한다고 사료된다(Fig. 6B).

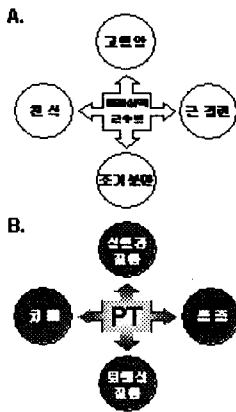


Fig. 6. The schematic representation of abnormal muscle contraction-induced smooth muscle disease and physical therapy for adverse disease.

PT, physical therapy.

V. 결 론

이상의 결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 평활근 수축기전에는 세포 내 Ca^{2+} 이 매우 중요한 역할을 하고 있음을 직접 확인할 수 있었다.
2. 본 연구에서 나타난 수축 Ca^{2+} 연관성은 조직적 특이성을 보이지 않았다.
3. Ca^{2+} 이 존재하는 상태에서 나타난 근 수축반응과 caldesmon의 활성 변동이 동일한 양상을 나타냈다.
4. 비정상적인 근 수축으로 고혈압과 같은 노인성 심혈관질환 등이 발생할 수 있다.
5. 따라서 고혈압을 비롯한 치매, 퇴행성관절 질환 및 통증에 대한 깊고 체계적인 물리치료적 연구가 절실히 필요하다.

참고문헌

- 천기영, 김중환, 김순희, 민경옥. 은침점전기자극이 Na^+ , K^+ 이온과 Ca^{2+} 이온변동에 미치는 효과. 대한물리치료사학회지, 10(1); 158-169, 2003a.
- 천기영, 김중환, 김순희, 민경옥. Aldosterone 유도체-고혈압의 음성적 유해와 은침점전기자극의 aldosterone 억제. 대한물리치료사학회지, 10(2); 199-207, 2003b.
- Bretscher A. Smooth muscle caldesmon. Rapid purification and F-actin cross-linking properties. J. Biol.Chem., 259(20); 12873-12880, 1984.
- Chalovich JM, Sen A, Resetar A, Leinweber B, Fredricksen RS, Lu F, and Chen YD. Caldesmon: binding to actin and myosin and effects on elementary steps in the ATPase cycle. Acta. Physiol., Scand., 164(4); 427-435, 1998.
- Dingus J, Hwo S, and Bryan J. Identification by monoclonal antibodies and characterization of human platelet caldesmon. J. Cell Biol., 102(5); 1748-1757, 1986.
- Gerthoffer WT, Yamboliev IA, Shearer M, Pohl J, Haynes R, Dang S, Sato K, and Sellers JR. Activation of MAP kinases and phosphorylation of caldesmon in canine

- colonic smooth muscle. *J. Physiol.*, 495 (Pt 3):597-609, 1996.
- Gorenne I, Su X, and Moreland RS. Caldesmon phosphorylation is catalyzed by two kinases in permeabilized and intact vascular smooth muscle. *J. Cell Physiol.*, 198(3); 461-469, 2004.
- Graceffa P, Wang CL, and Stafford WF. Caldesmon. Molecular weight and subunit composition by analytical ultracentrifugation. *J. Biol. Chem.*, 263(28):14196-14202, 1988.
- Hori M and Karaki H. Regulatory mechanisms of calcium sensitization of contractile elements in smooth muscle. *Life Sci.*, 62(17-18); 1629-1633, 1998.
- Horowitz A, Menice CB, Laporte R, and Morgan KG. Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol. Rev.*, 76(4); 967-1003, 1996.
- Huber PA. Caldesmon. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 29(8-9); 1047-1051, 1996.
- Karaki H. The intracellular calcium-force relationship in vascular smooth muscle. Time- and stimulus-dependent dissociation. *Am. J. Hypertens.*, 3(8 Pt 2); 253S-256S, 1990.
- Karaki H, Ozaki H, Hori M, Mitsui-Saito M, Amano K, Harada K, Miyamoto S, Nakazawa H, Won KJ, and Sato K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol. Rev.*, 49(2); 157-230, 1997.
- Kim B, Kim J, Kim A, Kim YS, Lee YR, Bae YM, Cho S, and Rhyu MR. Ligusticum wallichii-induced vasorelaxation mediated by mitogen-activated protein kinase in rat aortic smooth muscle. *J. Ethnopharmacol.*, 90(2-3); 397-401, 2004a.
- Kim B, Kim J, Bae YM, Cho SI, Kwon SC, Jung JY, Park JC, and Ahn HY. Mitogen-activated protein kinase contributes to diminished aortic contraction by endothelin-1 in DOCA-salt hypertensive rats. *Hypertension*, 43; 1-6, 2004b.
- Kim B, Kim YS, Ahn J, Kim J, Cho S, Won KJ, Ozaki H, Karaki H, and Lee SM. Conventional-type protein kinase C contributes to phorbol ester-induced inhibition of rat myometrial tension. *Br. J. Pharmacol.*, 139(2); 408-414, 2003a.
- Kim B, Mitsui M, and Karaki H. The long-term inhibitory effect of a Ca²⁺ channel blocker, nisoldipine, on cytosolic Ca²⁺ and contraction in vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, 223(2-3); 157-162, 1992.
- Kim J, Kim B, Kim AR, Park SH, Bae YM, and Cho SI. Epidermal growth factor induces contraction via mitogen-activated protein kinase in aortic smooth muscle from deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rat. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 6 Suppl. II; S39, 2002.
- Kim J, Kim B, Bae YM, Lee YR, Kim IU, and Cho SI. The MAPK pathway increases vascular resting tone in DOCA-salt hypertensive rats. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 7 Suppl. II; S51, 2003b.
- Mak AS, Watson MH, Litwin CM, and Wang JH. Phosphorylation of caldesmon by cdc2 kinase. *J. Biol. Chem.*, 266(11); 6678-6681, 1991.
- McFawn PK, Shen L, Vincent SG, Mak A, Van Eyk JE, and Fisher JT. Calcium-independent contraction and sensitization of airway smooth muscle by p21-activated protein kinase. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 284(5); L863-L870, 2003.
- Park S, Kim B, Kim J, Won KJ, Lee S, Kwon S, and Cho S. Tamoxifen induces vasorelaxation via inhibition of mitogen-activated protein kinase in rat aortic smooth muscle. *J. Vet. Med. Sci.*, 65(11); 1155-1160, 2003.
- Somlyo AP and Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J. Physiol.*, 522 Pt 2; 177-185, 2000.
- Somlyo AP, Wu X, Walker LA, and Somlyo AV. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 134; 201-234, 1999.
- Sobue K, Kanda K, Tanaka T, and Ueki N. Caldesmon: a

- common actin-linked regulatory protein in the smooth muscle and nonmuscle contractile system. *J. Cell Biochem.*, 37(3); 317-325, 1988.
- Sobue K, Muramoto Y, Fujita M, and Kakiuchi S. Purification of a calmodulin-binding protein from chicken gizzard that interacts with F-actin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78(9); 5652-5655, 1981.
- Sobue K and Sellers JR. Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. *J. Biol. Chem.*, 266(19); 12115-12118, 1991.
- Sobue K, Takahashi K, and Wakabayashi I. Caldesmon150 regulates the tropomyosin-enhanced actin-myosin interaction in gizzard smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 132(2); 645-651, 1985.
- Tanaka T, Ohta H, Kanda K, Tanaka T, Hidaka H, and Sobue K. Phosphorylation of high-Mr caldesmon by protein kinase C modulates the regulatory function of this protein on the interaction between actin and myosin. *Eur. J. Biochem.*, 188(3); 495-500, 1990.
- Ueki N, Sobue K, Kanda K, Hada T, and Higashino K. Expression of high and low molecular weight caldesmons during phenotypic modulation of smooth muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 84(24); 9049-9053, 1987.
- Umekawa H and Hidaka H. Phosphorylation of caldesmon by protein kinase C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 132(1); 56-62, 1985.
- Van Eyk JE, Arrell DK, Foster DB, Strauss JD, Heinonen TY, Furmaniak-Kazmierczak E, Cote GP, and Mak AS. Different molecular mechanisms for Rho family GTPase-dependent, Ca²⁺-independent contraction of smooth muscle. *J. Biol. Chem.*, 273(36); 23433-23439, 1998.
- Vorotnikov AV, Shirinsky VP, and Gusev NB. Phosphorylation of smooth muscle caldesmon by three protein kinases: implication for domain mapping. *FEBS Lett.*, 236(2); 321-324, 1988.
- Walsh MP, Kargacin GJ, Kendrick-Jones J, and Lincoln TM. Intracellular mechanisms involved in the regulation of vascular smooth muscle tone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 73(5); 565-573, 1995.
- Yamashiro S, Yamakita Y, Hosoya H, and Matsumura F. Phosphorylation of non-muscle caldesmon by p34cdc2 kinase during mitosis. *Nature.*, 349(6305); 169-172, 1991.