

---

 総 説
 

---

## CD38/サイクリック ADP リボース情報伝達系の確立と最近の進展

奈良県立医科大学大学生化学講座

高 沢 伸, 広 中(板谷)安佐子, 土 田(桜本)澄 代

### PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL SIGNIFICANCE OF THE CD38/CYCLIC ADP-RIBOSE SIGNAL SYSTEM

SHIN TAKASAWA, ASAKO ITAYA-HIRONAKA and SUMIYO SAKURAMOTO-TSUCHIDA

*Department of Biochemistry, Nara Medical University School of Medicine*

Received September 19, 2007

*Abstract*: 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇は細胞の情報伝達として極めて歴史の古い, 重要な情報伝達系である. 本稿では,  $IP_3$  情報伝達系の華やかな登場の後, 様々な議論を経て, その重要性が認識されつつある CD38 / サイクリック ADP リボース情報伝達系について, 哺乳動物細胞における生理的な意義とその異常による病態を著者らの研究を中心に解説する.

**Key words** : cyclic ADP-ribose, CD38, diabetes, oxytocin, autism

#### 1. はじめに

CD38 は機能が不明の細胞表面抗原 (CD 抗原) であった. 1990 年に Jackson and Bell により cDNA が分離され, ヒト CD38 が 300 アミノ酸からなる Type II 膜蛋白質で, アミノ末端側は短い細胞内領域を形成し, カルボキシル末端側が 4 カ所の N-グリコシド型糖鎖修飾部位を含む細胞外領域となることが明らかにされた<sup>1)</sup>. 一方, これとは独立して米国ミネソタ大学の Lee らは 1987 年にウニの卵に NAD 由来の新しい細胞内  $Ca^{2+}$  動員活性を有する化合物が存在することを報告し<sup>2)</sup>, 1989 年その化合物の化学構造を解明してサイクリック ADP リボース (cADPR) と名付けた<sup>3)</sup>. cADPR は当初, ウニ卵の受精膜形成以外に生理的な意義が不明であったため, 研究者の関心も薄かったが, 1993 年ブドウ糖刺激によるインスリン分泌に関与することが報告され<sup>4)</sup>, 哺乳動物の様々な生理機能をコントロールする細胞内情報伝達物質としての研究が進むようになった<sup>5, 6)</sup>. CD38 と cADPR の関連は, 1991 年にアメフラシ (*Aplysia*) の卵精巢で強い NAD 分解活性を有する酵素が精製され, その構造が

cDNA クローニングで明らかになった<sup>7)</sup>. その後アメフラシの NAD 分解酵素と CD38 との間に一次構造上の相同性が認められ, 1993 年に複数のグループにより, CD38 が cADPR 合成酵素であることが証明され<sup>8-10)</sup>, CD38 の生命科学上の意義が明確となった.

本稿では, この情報伝達系 (CD38 / cADPR 情報伝達系) の生理的意義と病態について概説し, 最近注目を集めているこの情報伝達系のキープレイヤーである CD38 の欠失マウスの特徴, 特に自閉症などの発達障害モデルとしての特性と今後の展望について述べる.

#### 2. インスリン分泌における cADPR の役割

cADPR の研究は米国ミネソタ大学の Lee らが「ウニの卵で NAD の代謝産物に  $IP_3$  とは異なった  $Ca^{2+}$  プールからの  $Ca^{2+}$  動員活性があり, その構造は NAD のニコチン酸アミド部分がはずれ, アデニンの窒素とリボースが結合した環状の化合物である。」と報告したことに始まる<sup>2)</sup>. しかし当時, cADPR はウニ卵の受精膜の形成の際の急激な細胞内  $Ca^{2+}$  上昇に関わる特殊な化合物であると考えられ, 哺乳動物での cADPR の生合成や機能は不明

であった。インスリンを産生・分泌する膵臓のランゲルハンス島β細胞はブドウ糖刺激に応答してインスリンを分泌するが、この過程で細胞内Ca<sup>2+</sup>の上昇を介することが知られている。一方、この細胞の機能発現・機能維持には細胞内NAD量の維持が不可欠であることも知られていた。著者らはインスリン分泌にNADからcADPRが作られ、これが細胞内プールからCa<sup>2+</sup>動員を引き起こすことにより関与している可能性を考え、研究を行った。

膵臓のランゲルハンス島β細胞はブドウ糖刺激という一次刺激に応答してインスリン分泌という明確な生理応答を示す細胞である。一般に細胞内セカンドメッセンジャーの機能や意義を明らかにするには一次刺激とそれに対する生理応答が明確な系が適している。著者らは、この細胞系を用いてCD38/cADPR情報伝達系の解析を進めた。具体的には、ブドウ糖によりランゲルハンス島のcADPRが増加するかどうかを明らかにするために、抗体を用いたラジオイムノアッセイ系を構築しcADPR量を測定した。正常ラットからランゲルハンス島を分離しブドウ糖刺激をすると、ランゲルハンス島中のcADPR量が速やかに増加することが明らかになった<sup>4)</sup>。正常マウスのランゲルハンス島を用いた実験でもブドウ糖刺激により、cADPRが増加することが確認できた<sup>11)</sup>。

次にcADPRにより小胞体からのCa<sup>2+</sup>放出が起きるか

を、ラット膵ランゲルハンス島からマイクロソームを調製しCa<sup>2+</sup>蛍光指示薬であるFluo 3を用いた蛍光法で検討した。cADPRはランゲルハンス島マイクロソームからCa<sup>2+</sup>放出を引き起こした。また連続的にcADPRを加えると、Ca<sup>2+</sup>放出反応のattenuationが認められた。一方、細胞内Ca<sup>2+</sup>動員のセカンドメッセンジャーとして従来から広く知られているIP<sub>3</sub>はCa<sup>2+</sup>放出を引き起こさなかった。これに対し小脳マイクロソームはIP<sub>3</sub>、cADPRのいずれに対してもCa<sup>2+</sup>放出を引き起こしたが、IP<sub>3</sub>レセプターの阻害剤であるヘパリン存在下ではIP<sub>3</sub>の作用は抑えられるのに対してcADPRの作用は影響されなかった。従って、ランゲルハンス島ではcADPRのみがCa<sup>2+</sup>放出を引き起こし、そのCa<sup>2+</sup>放出のメカニズムはIP<sub>3</sub>とは異なると考えられた<sup>4)</sup>(図1)。

さらにcADPRによってインスリン分泌が起きるかどうかを digitonin で permeabilize したランゲルハンス島を用いて検討した。cADPRによりCa<sup>2+</sup>と同様にインスリン分泌が起こったが、IP<sub>3</sub>ではインスリン分泌が起こらなかった。cADPRの効果はCa<sup>2+</sup>と non-additive で、EGTA でCa<sup>2+</sup>をキレートすることにより阻止された<sup>4)</sup>。

以上のことからインスリン産生細胞においてブドウ糖刺激によってNADからcADPRが作られ、このcADPRが小胞体からのCa<sup>2+</sup>放出を引き起こし、インスリン分泌に至ると考えられた。

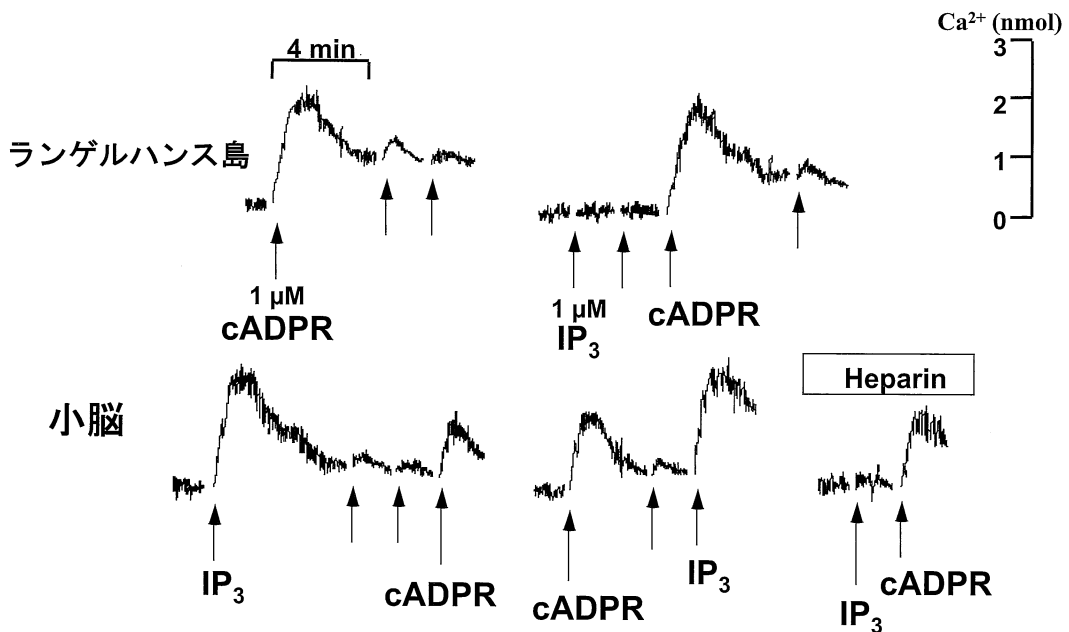


図1. サイクリック ADP リボースによるマイクロソームからのCa<sup>2+</sup>放出(文献4より改変)

### 3. cADPR 合成・分解酵素である CD38

CD38 が哺乳動物の cADPR 合成酵素である可能性が考えられるようになった<sup>7)</sup>ことを受け、1993 年、ヒト赤血球から精製した CD38 を使用した実験<sup>8)</sup>、マウス CD38 cDNA を用いた発現実験<sup>9)</sup>、ヒト CD38 cDNA を使用した発現実験<sup>10)</sup>が行われ、一次構造の相同性から予想されたように CD38 には NAD から cADPR を合成する活性があることが明らかになった。しかしこれらの実験でアメフラシの酵素は NAD から cADPR を合成する活性しかないのに対して、CD38 には cADPR 合成活性に加え、cADPR を  $\text{Ca}^{2+}$  動員活性のない ADP リボース (ADPR) へと分解する cADPR 水解酵素活性も存在することが示された。生体物質の量の調節は一般にその合成と分解のバランスによるので、CD38 が cADPR の合成/分解酵素であるということから、細胞内 cADPR 量の調節における CD38 の重要性が認識されるようになった。実際に ATP が CD38 の水解酵素活性を阻害し<sup>10, 12)</sup>、細胞内 cADPR 量の調節を行っていることも示されている<sup>11)</sup> (図 2)。

その後、ヒト CD38 遺伝子は 8 個のエクソンから構成される遺伝子で、染色体 4p15 にマップされることも明ら

かにされ<sup>13, 14)</sup>、ヒトにおける遺伝子異常と疾患の関連性を検討する基盤も形作られた。

### 4. インスリン分泌における CD38 / cADPR 情報伝達系とその異常

CD38 が cADPR 代謝 (合成/分解) 酵素であることが明らかになったので、CD38 トランスジェニックマウス、CD38 欠失マウス (CD38KO) が作出され、これを用いた *in vivo* 実験により *in vitro* の実験結果から考えた以下の仕組みが確かめられた。すなわち、ブドウ糖刺激によりこの細胞で ATP 濃度が上昇し、ATP が CD38 の cADPR 分解酵素活性を抑制し、細胞内 cADPR が増加する。そして cADPR は細胞内プールから  $\text{Ca}^{2+}$  動員を引き起こし、インスリン分泌が起こるというもので、CD38 / cADPR 情報伝達系と呼ばれるようになった<sup>4-6, 10-12, 15, 16)</sup>。また、千葉大学内科と著者らの共同研究で、2 型の糖尿病患者の約 3 ~ 4 %、家族歴を有する患者の 10% 以上で CD38 の 140 番目のアルギニンがトリプトファンに変異した遺伝子異常が見出され、変異 CD38 の cADPR 合成活性が低下していることが報告された<sup>17)</sup>。また、東北大学内科と著者らの共同研究で糖尿病患者に CD38 に対する自己

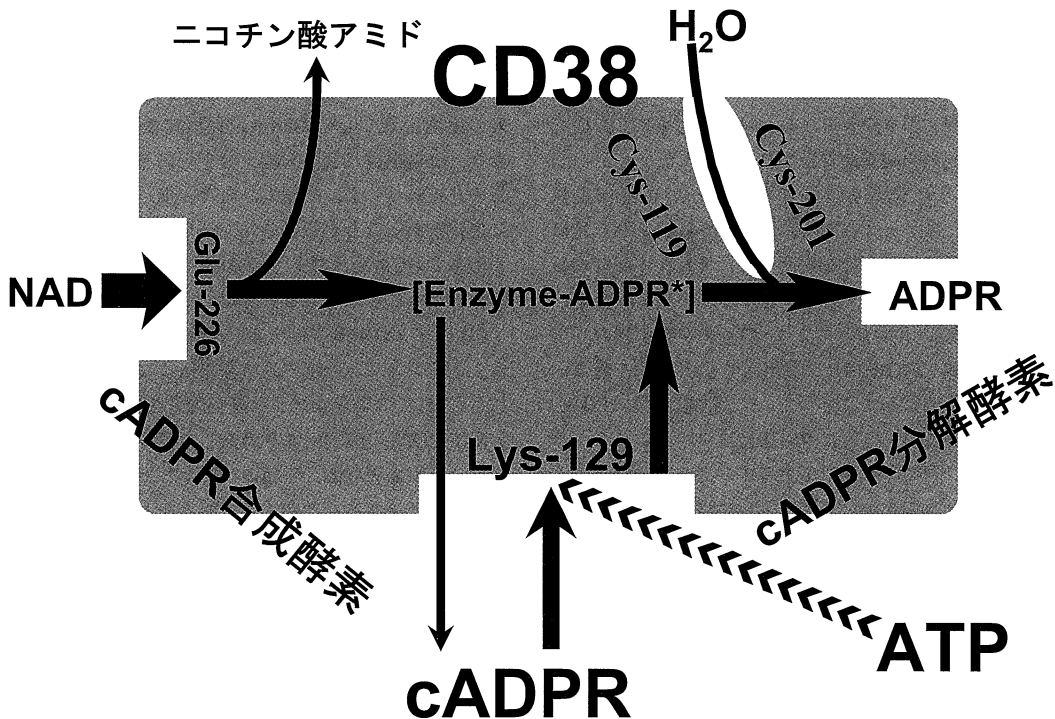


図 2. CD38 によるサイクリック ADP リボース代謝と酵素活性に重要なアミノ酸残基(文献 12 より改変)

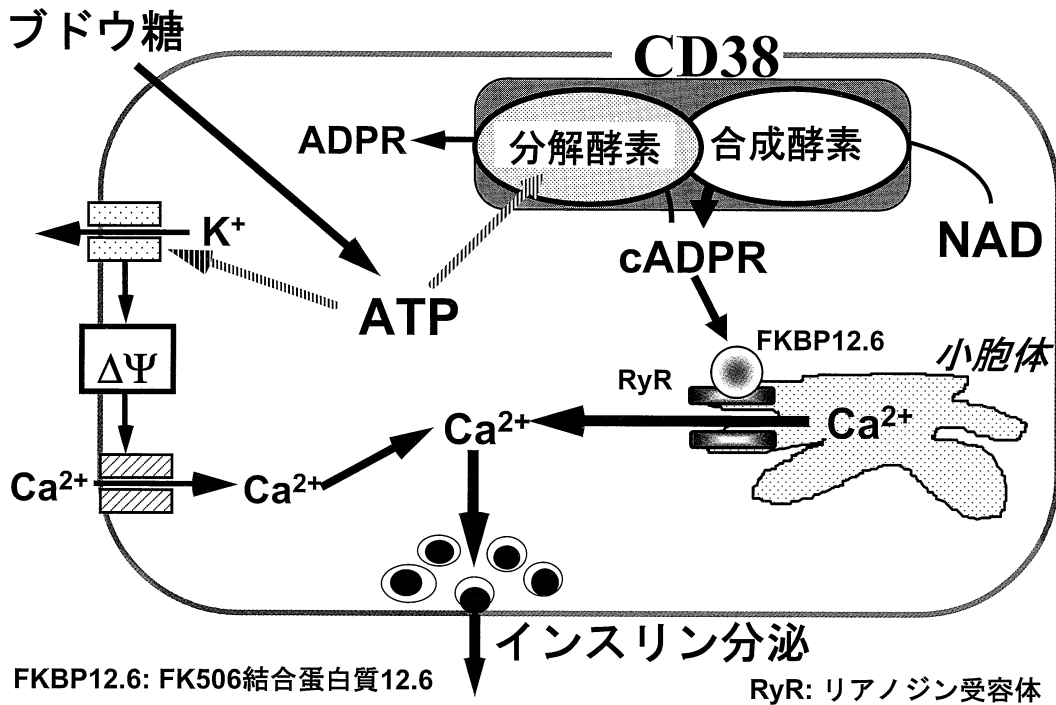


図3. CD38 /サイクリック ADP リボース情報伝達系によるインスリン分泌機構(文献28より改変)

抗体が見出された。この自己抗体は1型, 2型の何れでも約10~15%の患者に認められ, 自己抗体によりCD38の酵素活性の抑制が認められた<sup>18)</sup>。著者らの日本人を対象にした研究に引き続きヨーロッパ人を対象にした研究が行われ, 同様の結果が報告されている<sup>19-22)</sup>。

以上のように著者らは図3右の新しい情報伝達系CD38 /サイクリック ADP リボース情報伝達系を見出し, その分子機構と病態を解明した。また, 本稿では紙数の関係で詳説できないが, cADPRが小胞体からCa<sup>2+</sup>放出を引き起こす機構として, cADPRが小胞体のリアノジン受容体・FKBP12.6に作用してCa<sup>2+</sup>放出を起こすということも明らかにした<sup>23, 24)</sup>。この問題については最近, 東北大学の野口らとともにFKBP12.6ノックアウトマウスを作製し, このマウスで実際にインスリン分泌が低下していることも明らかにしている(論文投稿中)。

### 5. CD38 / cADPR 情報伝達系の広がり

CD38 / cADPR 情報伝達系の鍵となるCD38は発現量の多少はあるもののほとんど全ての細胞に発現している<sup>5, 6, 10, 14)</sup>。CD38KOは, インスリン分泌におけるCD38 / cADPR 情報伝達系の意義を明らかにするために開発されたマウスであるが, インスリン分泌細胞以外にも細胞

内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇を介する生理現象は多いので, CD38KOはこうした系でこの情報系が関与している可能性を検討する良いモデルと考えられる。実際, インスリン分泌以外の生理現象でもCD38KOが頻繁に使用されるようになり, CD38KOで脾外分泌, 好中球の走化性, 液性免疫, 骨のリモデリング, 心肥大, 血管収縮, 気道の反応性等に変化があることが報告され, Ca<sup>2+</sup>シグナルを介する多くの系でIP<sub>3</sub>系だけでなくCD38 / cADPR 情報伝達系が働いていることが分かってきた<sup>5, 6, 25-28)</sup>。

CD38 / cADPR 情報伝達系研究では最初にブドウ糖によるインスリン分泌の系で情報伝達の仕組みが明らかにされた。この場合はブドウ糖が代謝されATP濃度が上昇してCD38の酵素活性を調節している。一方, 上述の脾外分泌や血管収縮, 気道の反応などではアセチルコリンや神経伝達物質などが一次刺激となっている。こうした場合にはG蛋白質を介してCD38の酵素活性が調節を受けて働いていることも解ってきている<sup>28, 29)</sup>(図4)。

### 6. 発達障害(自閉症)モデルとCD38 / cADPR 情報伝達系

自閉症は社会認知力(社会性・コミュニケーション・想像力)の障害を主徴とする発達障害で, 我が国の患者数は

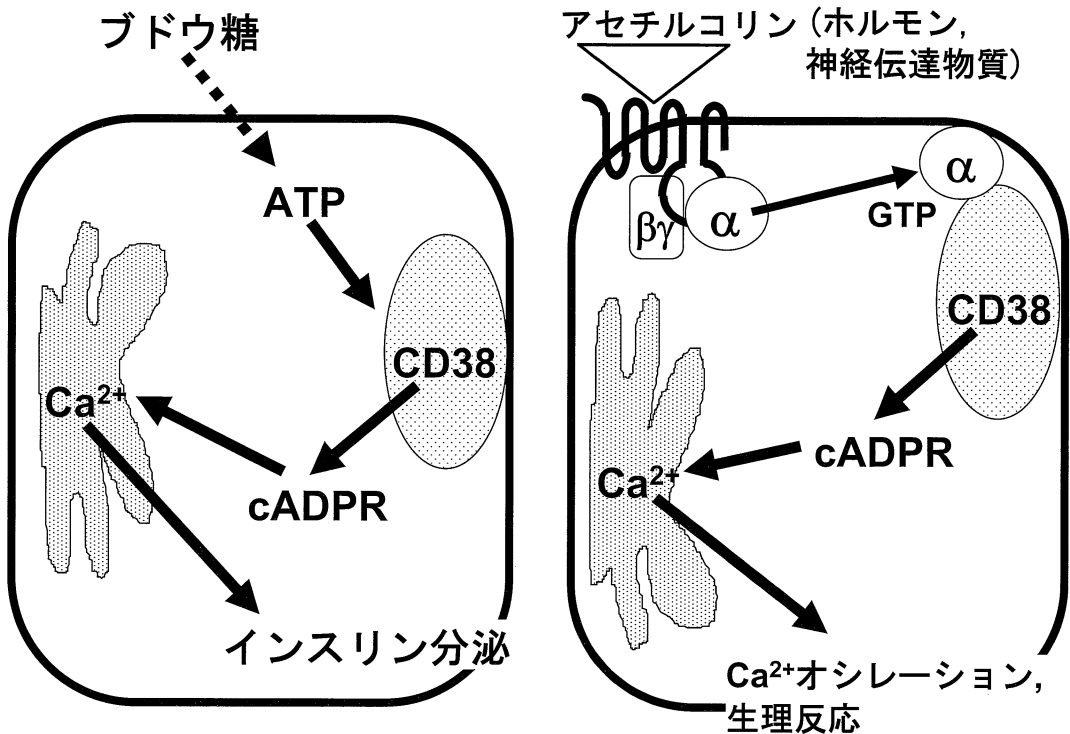


図4. ブドウ糖を一次刺激とした CD38 / cADPR 情報伝達系(左:代謝型調節)とアセチルコリンなどのホルモンや神経伝達物質を一次刺激とした CD38 / cADPR 情報伝達系(右:G 蛋白質介在型調節). (文献 28 より改変)

推定 120 万人で、その数は増加傾向にあるとされている。原因は多数の遺伝的要因が関与した脳の先天性機能障害と考えられており、いくつかの候補遺伝子も報告されるようになっているが、ヒトの疾患(現在は、正常と画然とした境界を考えるよりは、病像の多様性と連続性を考慮して自閉症スペクトラムとして理解されるようになっていく)の大部分を説明しうるほどの明確な原因は特定されていなかった。

CD38KO はほとんどの飼育者に「何かちょっと変わっている」という印象を抱かせるマウスであったが、「変わっている」内容を客観的・定量的に評価するには至っていなかった。最近、金沢大学の東田らが中心となり雌の保育行動、雄の雌マウスを探索・認識する行動を定量的に観察・評価した(これらの行動テストはモデル動物のヒト自閉症との関連を見る際に一般的に行われるテストである)<sup>30</sup>。野生型雌マウスは飼育箱の中にバラバラに仔マウスを配置すると、すぐに仔マウスに近づき、これをくわえて自分がいた飼育箱の隅に運び、仔マウスの上に乗って体温保持と授乳に努める。これに対し、CD38KO では

すぐには上記の養育行動を起こさず、行動を開始しても仔マウスに近づいては離れを繰り返す、ようやく仔マウスを集めはじめても途中で仔マウスを落とすなど、容易に仔マウスの体温保持・授乳開始することが出来ず、最終的には授乳行動に至るものの、観察時間内で仔マウスに対する保育時間が短いことが明らかになった。野生型雄マウスでは別の飼育箱で飼育され過去に一度も出会ったことのない雌マウスが飼育箱に入ってくるとその生殖器部分に鼻を近づけ臭いを嗅ぐという探索・認識行動を行うが、同じ雌を繰り返し飼育箱に入れると雌マウスの探索・認識に要する時間が徐々に短縮していく。しかし、CD38KO では同一の雌を繰り返し飼育箱に入れても、探索・認識に要する時間の短縮が認められないことが明らかになった(図 5 A, B)。こうした行動上の異常は CD38KO に CD38 発現レンチウイルスで CD38 を発現させると正常化するが、ヒト糖尿病患者で見出された cADPR 合成活性の低下した CD38(R140W)<sup>10</sup>では正常化出来なかった(図 5 C)。上述の CD38KO と類似の表現型がオキシトシンやオキシトシン受容体のノックアウト

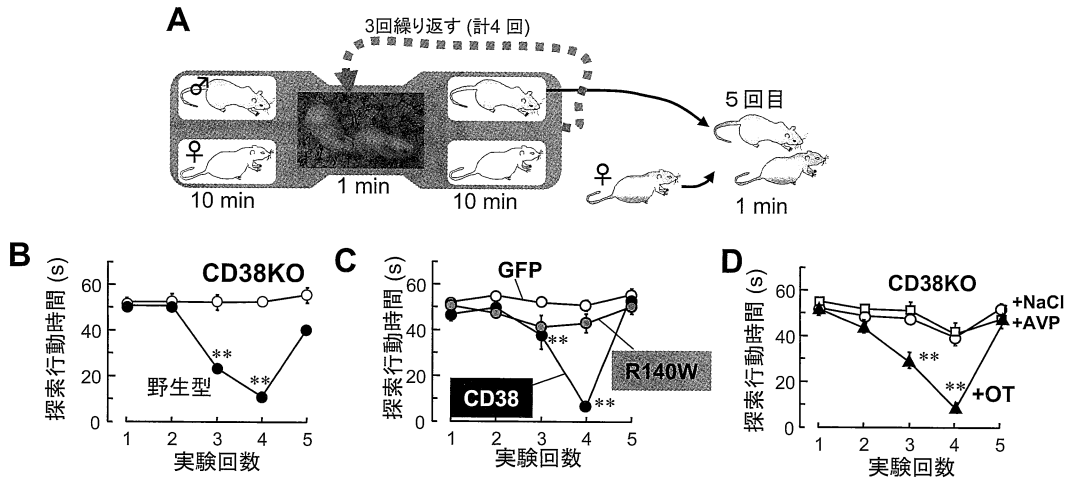


図5. CD38KOを用いた雄の雌マウス探索・認識実験

A, 探索・認識力測定実験の方法. 飼育箱に1-4回目まで同じ雌を, 5回目は新しい別の雌を入れる. 雌マウスと同一飼育箱にいる1分間に雄マウスが雌の性器を嗅ぐ時間を測定する. B, 野生型マウスは実験を繰り返すと認識までの時間が短縮するが, CD38KOでは時間の短縮が認められない. C, CD38KOにCD38の野生型(WT)とcADPR合成酵素活性が低下している変異型CD38(R140W)を導入した. CD38KOの表現型はCD38(WT)で野生型表現型に復帰しているが, R140Wでは復帰しない. D, CD38KOに生理食塩水(NaCl), oxytocin(OT), oxytocinと同じ下垂体後葉ホルモンである vasopressin (AVP)を投与して比較. CD38KOの表現型はOTの投与で野生型表現型に復帰している. (文献30より改変)

マウスで認められること<sup>31, 32</sup>, さらにヒト自閉症患者では血中のオキシトシン濃度が低下している<sup>33</sup>という報告があることなどから, オキシトシンについて野生型とCD38KOを比較した. CD38KOでは血中・脳脊髄液中のオキシトシン濃度が低く, オキシトシンを産生・貯蔵している視床下部と脳下垂体のオキシトシン含量が高いこと, cADPRによりオキシトシン分泌神経末端からのオキシトシン分泌が増加し, それがcADPRのアンタゴニストにより阻害されること, さらにCD38KOの行動異常がオキシトシンの投与により正常化することが示された(図5D). こうしたことから, CD38/cADPR情報伝達系がオキシトシン分泌で重要な役割を果たしており, CD38の異常(欠失・酵素活性低下)がCD38KOの自閉症様の行動異常の原因であることが明らかになった.

## 7. おわりに

CD38/cADPR情報伝達系は種々の細胞機能に関与している. オキシトシン分泌もこの一つであり, CD38KOはオキシトシン分泌不全を介する発達障害モデルと捉えうる. CD38は遺伝子変異や自己抗体が糖尿病患者で報告されているが, その際の対照群(非糖尿病群)においても1~2%の遺伝子変異や自己抗体陽性者が検出されて

いることから<sup>17, 18</sup>, CD38KOはヒトの自閉症(スペクトラム)を考える上での良いモデルとなることが期待される. 今後は, こうした考え方に立脚し, 実際のヒトの自閉症(スペクトラム)におけるCD38遺伝子変異や自己抗体の有無やその疾患との関連の検討が課題と考えられる.

## 文 献

- 1) Jackson, D.G. and Bell, J.I. : Isolation of a cDNA encoding the human CD38 (T10) molecule, a cell surface glycoprotein with an unusual discontinuous pattern of expression during lymphocyte differentiation. *J. Immunol.* **144** : 2811-2815, 1990.
- 2) Clapper, D.L., Walseth, T.F., Dargie, P.J. and Lee, H.C. : Pyridine nucleotide metabolites stimulate calcium release from sea urchin egg microsomes desensitized to inositol trisphosphate. *J. Biol. Chem.* **262** : 9561-9568, 1987.
- 3) Lee, H.C., Walseth, T.F., Bratt, G.T., Hayes, R.N. and Clapper, D.L. : Structural determination of a cyclic metabolite of NAD<sup>+</sup>

- with intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilizing activity. *J. Biol. Chem.* **264** : 1608-1615, 1989.
- 4) Takasawa, S., Nata, K., Yonekura, H. and Okamoto, H. : Cyclic ADP-ribose in insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells. *Science* **259** : 370-373, 1993.
  - 5) Okamoto, H. and Takasawa, S. : Recent advances in the Okamoto model: the CD38-cyclic ADP-ribose signal system and the regenerating gene protein (Reg)-Reg receptor system in  $\beta$ -cells. *Diabetes* **51** : S462-S463, 2002.
  - 6) Takasawa, S. and Okamoto, H. : Pancreatic  $\beta$ -cell death, regeneration and insulin secretion: Roles of poly(ADP-ribose) polymerase and cyclic ADP-ribose. *Int. J. Exp. Diabetes Res.* **3** : 79-96, 2002.
  - 7) Glick, D.L., Hellmich, M.R., Beushausen, S., Tempst, P., Bayley, H. and Strumwasser, F. : Primary structure of a molluscan egg-specific NADase, a second-messenger enzyme. *Cell Regul.* **2** : 211-218, 1991.
  - 8) Zocchi, E., Franco, L., Guida, L., Benatti, U., Bargellesi, A., Malavasi, F., Lee, H.C. and De Flora, A. : A single protein immunologically identified as CD38 displays NAD<sup>+</sup> glycohydrolase, ADP-ribosyl cyclase and cyclic ADP-ribose hydrolase activities at the outer surface of human erythrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **196** : 1459-1465, 1993.
  - 9) Howard, M., Grimaldi, J.C., Bazan, J.F., Lund, F.E., Santos Argumedo, L., Parkhouse, R.M., Walseth, T.F. and Lee, H.C. : Formation and hydrolysis of cyclic ADP-ribose catalyzed by lymphocyte antigen CD38. *Science* **262** : 1056-1059, 1993.
  - 10) Takasawa, S., Tohgo, A., Noguchi, N., Koguma, T., Nata, K., Sugimoto, T., Yonekura, H. and Okamoto, H. : Synthesis and hydrolysis of cyclic ADP-ribose by human leukocyte antigen CD38 and inhibition of the hydrolysis by ATP. *J. Biol. Chem.* **268** : 26052-26054, 1993.
  - 11) Takasawa, S., Akiyama, T., Nata, K., Kuroki, M., Tohgo, A., Noguchi, N., Kobayashi, S., Kato, I., Katada, T. and Okamoto, H. : Cyclic ADP-ribose and inositol 1,4,5-trisphosphate as alternate second messengers for intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization in normal and diabetic  $\beta$ -cells. *J. Biol. Chem.* **278** : 2497-2500, 1998.
  - 12) Tohgo, A., Munakata, H., Takasawa, S., Nata, K., Akiyama, T., Hayashi, N. and Okamoto, H. : Lysine 129 of CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) participates in the binding of ATP to inhibit the cyclic ADP-ribose hydrolase. *J. Biol. Chem.* **277** : 3879-3892, 1997.
  - 13) Nakagawara, K., Mori, K., Takasawa, S., Nata, K., Takamura, T., Berlova, A., Tohgo, A., Karasawa, T., Yonekura, H., Takeuchi, T. and Okamoto, H. : Assignment of CD38, the gene encoding human leukocyte antigen CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase), to chromosome 4p15. *Cytogenet. Cell Genet.* **69** : 38-39, 1995.
  - 14) Nata, K., Takamura, T., Karasawa, T., Kumagai, T., Hashioka, W., Tohgo, A., Yonekura, H., Takasawa, S., Nakamura, S. and Okamoto, H. : Human gene encoding CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase): organization, nucleotide sequence and alternative splicing. *Gene* **186** : 285-294, 1997.
  - 15) Kato, I., Takasawa, S., Akabane, A., Tanaka, O., Abe, H., Takamura, T., Suzuki, Y., Nata, K., Yonekura, H., Yoshimoto, T. and Okamoto, H. : Regulatory role of CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) in insulin secretion by glucose in pancreatic beta cells. Enhanced insulin secretion in CD38-expressing transgenic mice. *J. Biol. Chem.* **270** : 30045-30050, 1995.
  - 16) Kato, I., Yamamoto, Y., Fujimura, M., Noguchi, N., Takasawa, S. and Okamoto, H. : CD38 disruption impairs glucose-induced increases in cyclic ADP-ribose,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  and insulin secretion. *J. Biol. Chem.* **274** : 1869-1872, 1999.
  - 17) Yagui, K., Shimada, F., Mimura, M., Hashimoto, N., Suzuki, Y., Tokuyama, Y., Nata, K., Tohgo, A., Ikehata, F., Takasawa, S., Okamoto, H., Makino, H., Saito, Y. and Kanatsuka, A. : A missense mutation in the

- CD38 gene, a novel factor for insulin secretion: association with Type II diabetes mellitus in Japanese subjects and evidence of abnormal function when expressed in vitro. *Diabetologia* **41** : 1024-1028, 1998.
- 18) Ikehata, F., Satoh, J., Nata, K., Tohgo, A., Nakazawa, T., Kato, I., Kobayashi, S., Akiyama, T., Takasawa, S., Toyota, T. and Okamoto, H. : Autoantibodies against CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) that impair glucose-induced insulin secretion in noninsulin-dependent diabetes patients. *J. Clin. Invest.* **102** : 395-401, 1998.
- 19) Pupilli, C., Giannini, S., Marchetti, P., Lupi, R., Antonelli, A., Malavasi, F., Takasawa, S., Okamoto, H. and Ferrannini, E.: Autoantibodies to CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) in Caucasian patients with diabetes: Effects on insulin release from human islets. *Diabetes* **48** : 2309-2315, 1999.
- 20) Mallone, R., Ortolan, E., Baj, G., Funaro, A., Giunti, S., Lillaz, E., Saccucci, F., Cassader, M., Cavallo Perin, P. and Malavasi, F. : Autoantibody response to CD38 in Caucasian patients with type 1 and type 2 diabetes: immunological and genetic characterization. *Diabetes* **50** : 752-762, 2001.
- 21) Antonelli, A., Baj, G., Marchetti, P., Fallahi, P., Surico, N., Pupilli, C., Malavasi, F. and Ferrannini E. : Human anti-CD38 autoantibodies raise intracellular calcium and stimulate insulin release in human pancreatic islets. *Diabetes* **50** : 985-991, 2001.
- 22) Mallone, R., Ortolan, E., Pinach, S., Volante, M., Zanone, M.M., Bruno, G., Baj, G., Lohmann, T., Cavallo Perin, P. and Malavasi, F. : Autoimmunity to CD38 and GAD in Type I and Type II diabetes: CD38 and HLA genotypes and clinical phenotypes. *Diabetologia* **45** : 1298-1306, 2002.
- 23) Takasawa, S., Ishida, A., Nata, K., Nakagawa, K., Noguchi, N., Tohgo, A., Kato, I., Yonekura, H., Fujisawa, H. and Okamoto, H. : Requirement of calmodulin-dependent protein kinase II in cyclic ADP-ribose-mediated intracellular  $Ca^{2+}$  mobilization. *J. Biol. Chem.* **270** : 30257-30259, 1995.
- 24) Noguchi, N., Takasawa, S., Nata, K., Tohgo, A., Kato, I., Ikehata, F., Yonekura, H. and Okamoto, H. : Cyclic ADP-ribose binds to FK506-binding protein 12.6 to release  $Ca^{2+}$  from islet microsomes. *J. Biol. Chem.* **272** : 3133-3136, 1997.
- 25) Fukushi, Y., Kato, I., Takasawa, S., Sasaki, T., Ong, B.H., Sato, M., Ohsaga, A., Sato, K., Shirato, K., Okamoto, H. and Maruyama, Y. : Identification of cyclic ADP-ribose-dependent mechanisms in pancreatic muscarinic  $Ca^{2+}$  signaling using CD38 knockout mice. *J. Biol. Chem.* **276** : 649-655, 2001.
- 26) Partida-Sánchez, S., Cockayne, D.A., Monard, S., Jacobson, E.L., Oppenheimer, N., Garvy, B., Kusser, K., Goodrich, S., Howard, M., Harmsen, A., Randall, T.D., Lund, F.E. : Cyclic ADP-ribose production by CD38 regulates intracellular calcium release, extracellular calcium influx and chemotaxis in neutrophils and is required for bacterial clearance in vivo. *Nature Med.* **7** : 1209-1216, 2001.
- 27) Takahashi, J., Kagaya, Y., Kato, I., Ohta, J., Isoyama, S., Miura, M., Sugai, Y., Hirose, M., Wakayama, Y., Ninomiya, M., Watanabe, J., Takasawa, S., Okamoto, H. and Shirato, K. : Deficit of CD38/cyclic ADP-ribose is differentially compensated in mice by gender. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **312** : 434-440, 2003.
- 28) Takasawa, S. and Okamoto, H. : The CD38-cyclic ADP-ribose signal system in pancreatic  $\beta$ -cells. The discovery and biological significance of a novel signal system in mammalian cells. In *Cyclic ADP-Ribose and NAADP: Structure, Metabolism and Functions.* (Lee, H.C., ed.), Kluwer, Dordrecht, pp. 269-299, 2002.
- 29) Higashida, H., Yokoyama, S., Hashii, M., Taketo, M., Higashida, M., Takayasu, T., Ohshima, T., Takasawa, S., Okamoto, H. and Noda, M. : Muscarinic receptor-mediated dual regulation of ADP-ribosyl cyclase in NG108-15



- neuronal cell membranes analyzed by thin layer chromatography. *J. Biol. Chem.* **272** : 31272-31277, 1997.
- 30) Jin, D., Liu, H.X., Hirai, H., Torashima, T., Nagai, T., Lopatina, O., Shnayder, N.A., Yamada, K., Noda, M., Seike, T., Fujita, K., Takasawa, S., Yokoyama, S., Koizumi, K., Shiraiishi, Y., Tanaka, S., Hashii, M., Yoshihara, T., Higashida, K., Islam, M.S., Yamada, N., Hayashi, K., Noguchi, N., Kato, I., Okamoto, H., Matsushima, A., Salmina, A., Munesue, T., Shimizu, N., Mochida, S., Asano, M. and Higashida, H. : CD38 is critical for social behavior by regulating oxytocin secretion. *Nature* **446** : 41-45, 2007.
- 31) Ferguson, J.N., Aldag, J.M., Insel, T.R. and Young, L.J. : Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nature Genet.* **25** : 284-288, 2000.
- 32) Takayanagi, Y., Yoshida, M., Bielsky, I.F., Ross, H.E., Kawamata, M., Onaka, T., Yanagisawa, T., Kimura, T., Matzuk, M.M., Young, L.J. and Nishimori, K. : Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102** : 16096-16101, 2005.
- 33) Modahl, C., Green, L., Fein, D., Morris, M., Waterhouse, L., Feinstein, C. and Levin, H. : Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol. Psychiatry* **15** : 270-277, 1998.