

# Effect Ca<sup>2+</sup>-mobilizing second messenger cyclic ADP-ribose on brain function

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/30245">http://hdl.handle.net/2297/30245</a>

## 【総説】

カルシウム動員セカンドメッセンジャー・サイクリックADPリボースの  
脳機能における役割Effect of  $Ca^{2+}$ -mobilizing second messenger cyclic ADP-ribose on brain function金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻脳細胞遺伝子学  
(細胞遺伝子学)

橋 井 美 奈 子

## はじめに

カルシウムイオン ( $Ca^{2+}$ ) は、細胞内において情報伝達物質としての重要な役割を担っている。外部からの刺激に应答して細胞質のカルシウムイオン濃度 [ $Ca^{2+}$ ]<sub>i</sub> が上昇すると、これがシグナルとなって様々な現象、すなわち受精・発生・細胞分裂・細胞死といった生命の根幹となる細胞反応、また免疫応答、遺伝子発現、ホルモンの放出などの生理現象などが引き起こされる。

細胞質 $Ca^{2+}$ 上昇を生じる機序は、細胞外からの $Ca^{2+}$ 流入と小胞体 $Ca^{2+}$ 貯蔵プールから細胞質への $Ca^{2+}$ 放出の2つによる。このうち、後者の $Ca^{2+}$ 動員システムは2つに大別できる。一つはクラシカルなセカンドメッセンジャーであるイノシトール三リン酸 ( $IP_3$ ) が小胞体膜の $IP_3$ 受容体に結合して $Ca^{2+}$ 放出が起こる系であり、もう一つは細胞質の $Ca^{2+}$ 濃度の上昇に反応して、すなわち $Ca^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$  release (CICR) によりリアノジン受容体- $Ca^{2+}$ チャネルが開閉し、 $Ca^{2+}$ 放出が起こる系である。リアノジン受容体には1型(骨格筋型)、2型(心筋型)、3型(脳型)のサブタイプに分けられるが、このうち特に2型および3型リアノジン受容体の開口を促進するセカンドメッセンジャーとして、これから述べるサイクリックADPリボース (cADPR) が注目されている。そこでまずこの分子のプロフィールを紹介したい。

cADPRの発見は今から25年前の1987年にさかのぼる。この最初の報告は「ユニ卵の $NAD^+$ 代謝産物に細胞内 $Ca^{2+}$ 動員をおこす活性があることを見いだした」という、ミネソタ大学のHon Cheung Lee博士 (以下Lee) によるものであった。2年後の1989年にLeeらによりこの物質の一次構造が決定されたが、それは左回りにニコチンアミド-リボース-リン酸-リボース-アデニンとつながった $NAD^+$ 構造からニコチンアミドがはずれ、アデニンとリボース間で結合した環状化合物であり、「サイクリックADPリボース」と命名された。従来ヌクレオチドからセカンドメッセンジャーが産生する例として、ATPからアデニル酸シクラーゼによりサイクリックAMPが、GTPからグアニル酸シクラーゼを介してサイクリックGMPが作られ、それぞれ蛋白質のリン酸化反応やG蛋白質活性化反応を調節することが知られていたが、加えて $NAD$ からもサイクリック構造をもつ化合物が作られ、細胞内

$Ca^{2+}$ シグナリング調節作用を有することを示す重要な発見であった。当時は哺乳類におけるcADPRの機能は明らかでなかったが、4年後の1993年にcADPRが脾 $\beta$ 細胞でセカンドメッセンジャーとして細胞内 $Ca^{2+}$ 上昇に働くという画期的な結果が東北大学の岡本宏博士 (以下Okamoto) らから報告されると<sup>1)</sup>、cADPRの生物学的意義がクローズアップされるようになった。

その後、白血球などの細胞表面抗原として知られるCDファミリーの一つであるCD38にcADPR産生酵素としての活性があることがわかり、CD38は全身の種々の組織で生理的な役割を担っている事が明らかとなった。現在では、CD38が慢性リンパ性白血病・HIV感染症・糖尿病・自閉症における診断ツールとして応用研究されるようになり、さらにCD38は将来的な遺伝子治療のターゲットとしても注目されている。

筆者の属する東田研究室においても20年余りにわたりcADPRの研究が続けられている<sup>2)</sup>。cADPRのイオンチャネルへの生理作用について調べることから始まり、cADPR産生のメカニズムをG蛋白共役受容体との関連で生化学的に解明した。そしてcADPR産生酵素であるCD38が母親の養育行動・社会行動を営むために重要な分子であることを発見し、この知見は自閉症の症例にCD38遺伝子変異がみられたことにより裏づけられた。一方で、将来的な創薬をめざしての安定型cADPR誘導体の発掘や、CD38以外のcADPR産生酵素の解析にもすそ野が広がっている。本稿では、これらの成果を含めてcADPRおよび産生酵素であるCD38の生体内での役割、その臨床的意義と将来的展望について解説する。

1. cADPRによる細胞内 $Ca^{2+}$ シグナル調節作用

セカンドメッセンジャーcADPRには細胞内 $Ca^{2+}$ シグナルの調節という重要な作用があり、これは図1の様に種々のイオンチャネルの働きを調節することにより行われている。うち代表的なものは細胞内 $Ca^{2+}$ チャネルに分類されるリアノジン受容体であり、小胞体膜に存在するリアノジン受容体- $Ca^{2+}$ チャネルに作用してCICR機構を活性化し、細胞質 $Ca^{2+}$ 動員を起こす。cADPRがリアノジン受容体を活性化する性質は、リアノジン受容体阻害剤であるリアノジン等で前処理し、cADPRの $Ca^{2+}$ 遊離作用に対する阻害効果を検討することによりわか

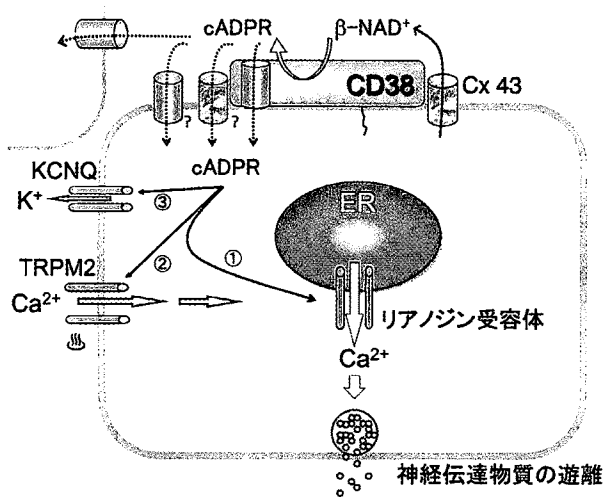


図1. セカンドメッセンジャー-cADPRを介する細胞内シグナル調節機構

cADPRは、コネクシン43により細胞外へくみ出されて細胞内から外側に出た $\beta$ -NAD<sup>+</sup>を基質として、細胞外酵素CD38によって産生される。そして2量体を形成したCD38の間か、ヌクレオチドトランスポーターか、あるいは別ルートを通じて細胞内に流入し、①~③に示すイオンチャンネルに作用し、神経伝達物質の遊離などを調節する。① リアノジン受容体に作用して小胞体からのCa<sup>2+</sup>遊離を促進、② 細胞内側から暖温感受性TRPM2チャンネルに作用しその開口を促進しCICRを増強、③ アセチルコリン感受性のKCNQ K<sup>+</sup>チャンネル開口を調節。

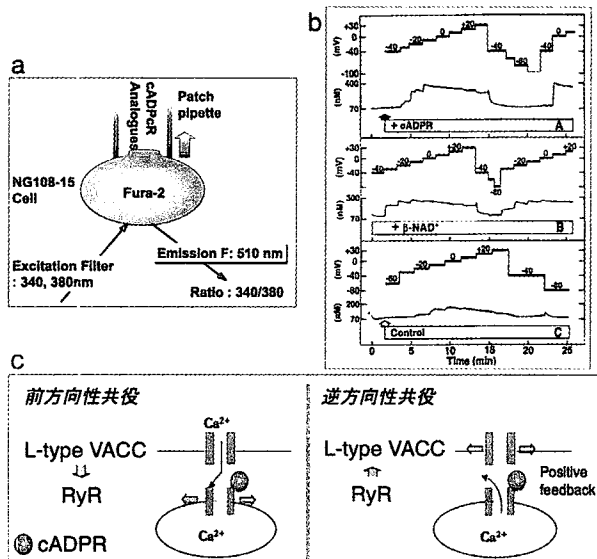


図2. cADPRを介するL型Ca<sup>2+</sup>チャンネルとリアノジン受容体間の共役

a: Fura-2色素を取り込ませたNG108-15神経細胞にホールセルパッチクランプを行い、細胞膜電位を固定するとともに、パッチピペットよりcADPRを細胞内へ注入。同時に[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>をモニター。b: 細胞膜を静止膜付近の-40mVから0mV付近にまでステップ状に脱分極させていくと[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の増加がみられる。cADPRおよび $\beta$ -NAD<sup>+</sup>注入群では、コントロール群に比べてより[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が増加。c: L型チャンネルとリアノジン受容体間の共役モデル。前方向性共役では、L型Ca<sup>2+</sup>チャンネル開口による細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入がリアノジン受容体からのCa<sup>2+</sup>遊離を増強し、cADPRはこのCa<sup>2+</sup>遊離を促進する。逆方向性の共役では、リアノジン受容体-Ca<sup>2+</sup>チャンネル開口による細胞内のCa<sup>2+</sup>増加がL型チャンネルの開口をさらに促進する。cADPRはこの正のフィードバックを促進する。(文献3より抜粋)

る。リアノジン受容体には1型(骨格筋型)、2型(心筋型)、3型(脳型)のサブタイプに分けられるが、cADPRは一般的には2型および3型に作用し、心筋収縮や、脳では遺伝子発現やシナプス伝達などを促進することがわかっている。

その後、cADPRは細胞膜のイオンチャンネルにも作用することがわかってきた。興奮性細胞、すなわち神経細胞には種々の膜電位作動性イオンチャンネルを発現しているが、このうちL型Ca<sup>2+</sup>チャンネルとリアノジン受容体との間に機能的共役、すなわち直接の蛋白-蛋白結合はないが何らかのメッセンジャーを介して協調的に活性化される現象が報告され、L型Ca<sup>2+</sup>チャンネルの開口がリアノジン受容体-Ca<sup>2+</sup>チャンネルの開口を促進し(正方向性共役)、またリアノジン受容体-Ca<sup>2+</sup>チャンネルの開口がポジティブフィードバックによりさらにL型Ca<sup>2+</sup>チャンネルの開口を促進する(逆方向性共役)という仮説が提唱された。そこで、はたしてcADPRがこの共役を調節するかについて、NG108-15神経腫瘍細胞を用いたホールセルパッチクランプ実験により検討した。図2aに示すように、蛍光色素fura-2を細胞内に取り込ませたNG神経細胞を用い、ホールセルパッチクランプにより細胞膜電位を固定し、パッチピペット経路でcADPRなどヌクレオチドを細胞内に注入し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の変化をモニターした。その結果、膜を脱分極すると膜電位作動性Ca<sup>2+</sup>チャンネルが開いて細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が増加するが(図2b-C)、この増加をcADPRが促進する現象が見られ(図2b-A)、すなわちcADPRがL型Ca<sup>2+</sup>チャンネルとリアノジン受容体との共役を促進することが示唆された<sup>3)4)</sup>(図2c)。

この他にも、cADPRは神経細胞膜のKCNQカリウムチャンネルにも作用することがHigashidaらにより報告されており、ムスカリン性アセチルコリン受容体に依存したKCNQチャンネルの阻害機序を調節していることが予想される。

一方、非興奮性細胞の細胞膜ではcADPRがtransient receptor potential (TRP) チャンネルファミリーのうち、体温付近で活性化されるTRPM2チャンネルに働いて細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入を促進する現象が膵細胞で報告されており、膵細胞膜のTRPM2チャンネルを活性化してインシュリン分泌を促す作用が想定されている<sup>5)</sup>。そこで神経細胞においてもcADPRが暖温感受性TRPM2チャンネルを開くセカンドメッセンジャーとして機能するかについて調べた。図3に示すように、cADPRをNG108-15神経腫瘍細胞の細胞外に投与し、同時に細胞外液の温度を35℃から40℃にシフトすると、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の顕著な増加がみられた。この増加はTRPM2チャンネルの阻害剤である2-APBの前処理により阻害され、またTRPM2チャンネルのmRNA発現がNG細胞でみられたことより、細胞外に投与したcADPRが細胞内へ流入し、細胞膜に存在するTRPM2チャンネルを内側から活性化して細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入を促進、これによりCICR機構が促進したと考えられる<sup>6)</sup>。この結果から、膵細胞のみならずニューロンに

においても、細胞外で産生されたcADPRが何らかのルートを通じて細胞内に流入し、セカンドメッセンジャーとして暖温感受性TRPM2チャンネルに細胞内側から作用して、TRPM2チャンネルの開口を促進することが示唆される。TRPM2チャンネルは脳内に多く発現していることから、現在脳におけるcADPRの暖温感受性TRPM2チャンネルへの作用についての解析を進めている。

2. cADPR産生の調節機構

どのような細胞内シグナルが引き金となってcADPRが産生されるのかという疑問に対して、現在まで多くの

実験が行われてきた。cADPRは、図1,4に示すようにcADPR合成酵素であるADP-リボシルシクラーゼ (ADP-ribosyl cyclase) によって基質のβ-NAD<sup>+</sup>からニコチンアミドが遊離し、アデニンとリボース間で結合することによって産生される。ADP-リボシルシクラーゼは膜結合型、あるいは可溶型として存在するが、膜結合型は通常NAD<sup>+</sup>をADPRへ分解するNAD<sup>+</sup>グリコヒドラーゼ活性を併せ持つ。ADP-リボシルシクラーゼのうち、ヒトでわかっているのがCD38と、CD38に相同性を有するCD157である。私たちのグループを含めて現在まで、前者のCD38に注目して研究が進められてきた。後者のCD157については、GPI結合型膜タンパクであり細胞表面層でのシグナル伝達に重要な役割を担うことが予想され、新たな発見が待たれる。

白血球などの細胞の表面抗原であるCDファミリーの一つのCD38は、細胞外領域に酵素部位をもつecto型酵素であり、細胞内から外へみ出されたβ-NAD<sup>+</sup>を基質にしてcADPRを合成するというユニークな働きがある。どのような細胞外刺激・環境・細胞膜受容体、そしてどのような細胞内シグナルがCD38の酵素活性を調節し、cADPRの産生を制御するのかについて多くの実験が行われてきた。多様なリン酸化酵素によりCD38のリン酸化、そしてcADPRが産生される可能性があり、プロテインキナーゼAの関与が報告される一方で、Ca<sup>2+</sup>およびプロテインキナーゼGの関与も推測されている<sup>7)</sup>。受容体レベルでは、私たちは以前にNG108-15神経細胞から得た細胞膜標本などを用いて、cGDPR蛍光法などによりcADPR産生量を測定し、ムスカリン性アセチルコリン受容体 (1および3型)、アンギオテンシン受容体、代謝性グルタミン酸受容体 (1, 3, 5, 6型) の活性化がcADPRの

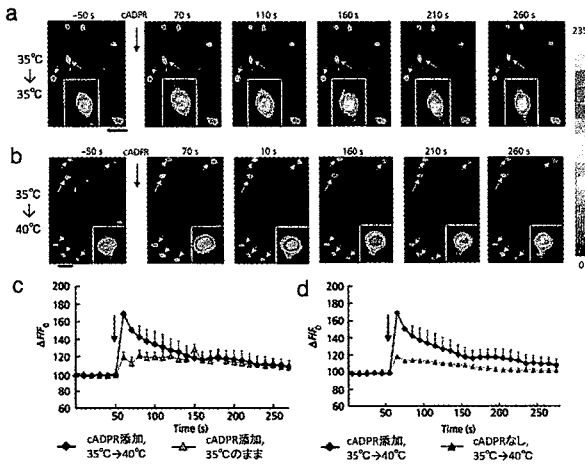


図3. 細胞外cADPRの細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度増加に対する促進効果  
a, b: 細胞外液にcADPRを投与し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) の変化を疑似カラー表示するArgus50にてモニター。↓の時点でcADPR (50 μM) を投与。aではcADPR投与後も細胞外液温を35℃に保ったまま、bではcADPR投与と同時に液温を35℃から40℃へシフトさせた。c: [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>変化を、cADPR投与後の投与前に対する比率で表しプロット。温度が35℃の一定条件下でcADPRのみを加えても[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加は弱い、35℃から40℃への温度をシフトさせる操作を加える事により[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加が増強。d: 温度を35℃から40℃へシフトさせる操作のみでは[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加は弱い、cADPRを加える事により[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加が増強。(文献6より抜粋)

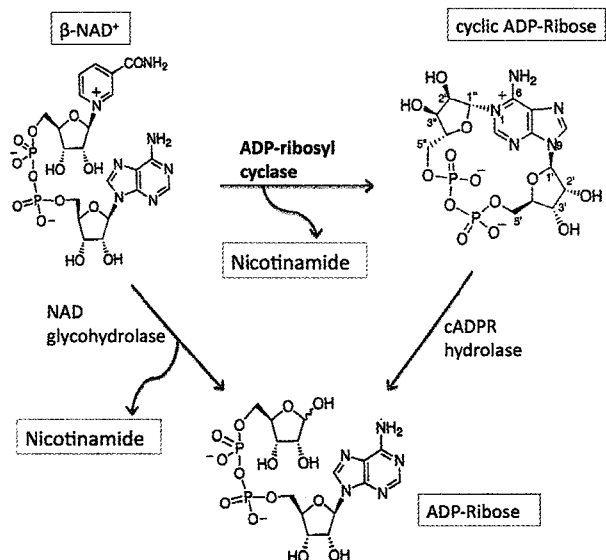


図4. β-NAD<sup>+</sup>, cADPR, ADPRの化学構造と、代謝ステップに働く酵素。

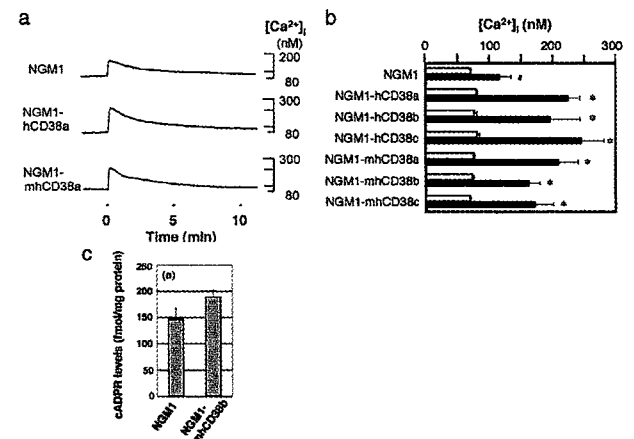


図5. CD38発現NGM1細胞におけるカルバミルコリン依存性細胞内Ca<sup>2+</sup>遊離の増強  
a, b: human CD38とM1ムスカリン性アセチルコリン受容体とを共発現させたNG108-15細胞 (NGM1-hCD38, NGM1-mhCD38), およびM1ムスカリン性アセチルコリン受容体のみを発現させたNG108-15細胞 (NGM1) におけるカルバミルコリン (100 nM) 投与後の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>変化を比較。c: NGM1-mhCD38細胞とコントロールNGM1細胞におけるcADPR産生量をサイクリングアッセイにより測定し比較した。(文献8より抜粋)

産生に関与するという結果を得ている<sup>2)</sup>。

そこで、ムスカリン性アセチルコリン受容体の活性化がcADPRの産生を引き起こすかについて細胞レベルで検討を試みた。図5に示すように、M1ムスカリン性アセ

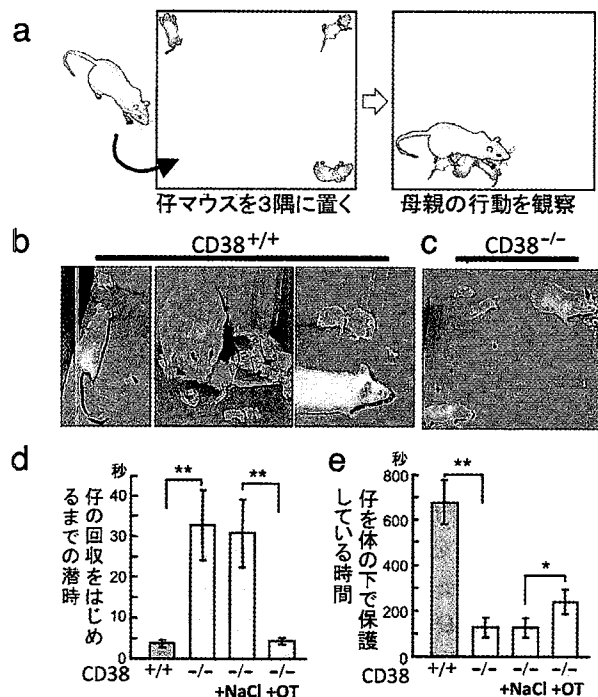


図6. CD38欠損マウスに見られる養育行動の障害  
 a: 母マウスと産仔を10分間引き離れた後に、ケージの4隅に母マウスと産仔1匹ずつを置き、母親の行動をモニター。  
 b: 野生型では母マウスはすぐに仔マウスを集め、温めて保護。  
 c: CD38欠損マウスでは母親は仔に不規則に近づいては離れたりして、仔を無視する行動がみられた。  
 d: 母親が仔マウスの回収をはじめまでの潜時を測定。CD38欠損マウスではなかなか乳幼仔回収にとりかからなかったが、オキシトシン (OT) を皮下注射すると、野生型とほぼ同じレベルに回復した。  
 e: 母親マウスが仔を3匹とも集め、体の下で保護している時間を測定。CD38欠損マウスでは野生型に比べて有意に短縮していたが (\*\*, P<0.01), OTを皮下注射することにより延長した。(文献9より抜粋)

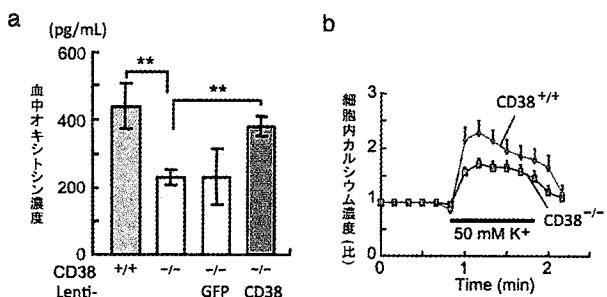


図7. CD38欠損マウスにみられる細胞内Ca<sup>2+</sup>遊離障害とオキシトシン分泌障害  
 a: 血中オキシトシン濃度について、野生型、CD38欠損マウス、CD38欠損マウスにレンチ-GFPベクター導入、CD38欠損マウスにレンチ-CD38ベクターを導入したマウス間で血中オキシトシン濃度を比較。  
 b: 野生型およびCD38欠損マウスより視床下部神経終末を取り出して急性培養し、50 mM KCL脱分極による[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇を比較。(文献9より抜粋)

チルコリン受容体をステーブル導入したNG108-15細胞(NGM1)にCD38遺伝子を導入し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を測定した。その結果、CD38を発現したNGM1細胞では、アセチルコリン刺激後のピーク[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>が非発現細胞に比べて有意に増加しており、また刺激後の細胞内cADPR量も増加していた。この結果より、ムスカリン性アセチルコリン受容体の活性化によって引き起こされるCa<sup>2+</sup>動員にCD38により産生されたcADPRが関与していることが示唆される<sup>9)</sup>。

### 3. 社会行動に重要な役割を果たすCD38分子

cADPRおよび合成酵素であるCD38は、生体においてどのような機能を担っているのだろうか。そこでCD38の脳での役割について、Okamotoらにより作製されたCD38欠損マウスをもちいて以下の行動実験により検討した<sup>9)</sup>。図6にみられるように、母親と幼仔を分離し、仔をケージの隅においた所(図6a)、野生型の母親マウスはすぐに仔に近づき、温めて保護した(図6b)。一方CD38欠損マウスでは、母親は仔に関心がないような行動をとった(図6c)。このような養育行動の障害はオキシトシン受容体欠損マウスでも報告されているので、CD38欠損型の母親マウスにオキシトシンを投与した所、養育行動の障害が回復した(図6d, e)。そこでCD38欠損マウスのオキシトシン濃度を測定した結果、血中および脳脊髄液中のオキシトシン濃度が、共に野生型の半分にまで減少していた(図7a)。一方、視床下部と下垂体のオキシトシン含量は増加しており、電子顕微鏡の所見ではCD38欠損マウスの軸索終末内部にオキシトシン顆粒が高密度に存在していた。そこで、単離し急性培養した視床下部細胞体から下垂体へ伸びる軸索末端標本を用いて、

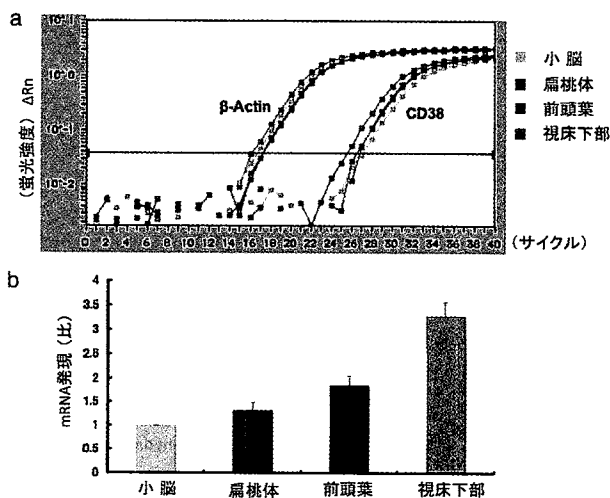


図8. CD38 mRNA発現レベルの脳内各部位での比較  
 a: 閾値サイクル値 (C<sub>t</sub>) はリアルタイムPCR GeneAmp 7700 sequence detection systemによって算出した直線との交差点より得た。ΔC<sub>t</sub> = C<sub>t</sub>(CD38遺伝子) - C<sub>t</sub>(β-actin遺伝子)、遺伝子発現レベルは2<sup>-ΔC<sub>t</sub></sup>と予測。  
 b: mRNA発現比は、小脳のmRNA発現レベルを1とし、扁桃体・前頭葉・視床下部での相対的な発現量を算出。視床下部では小脳の約3.3倍のCD38 mRNAの発現がみられる。(文献9より抜粋)

膜脱分極による細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度の増加程度を調べると、CD38欠損マウス標本では増加が抑制されていた(図7b)。これらの結果よりCD38欠損マウスではオキシトシン合成には異常なく、視床下部でのcADPR合成障害によりオキシトシン分泌が障害され、養育行動に異常をきたすことが示唆された。オキシトシンは神経内分泌によって

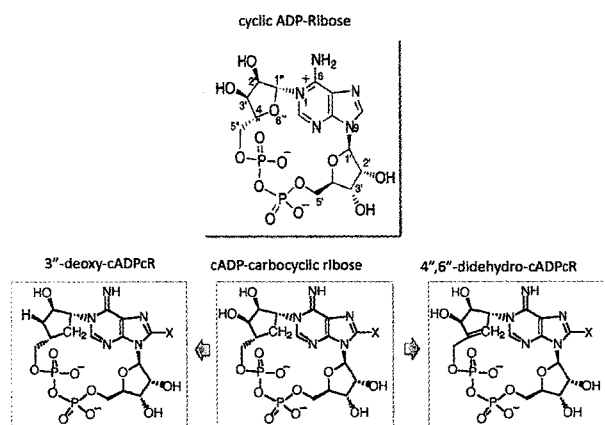


図9. cADP-カーボサイクリックリボースおよびこの同族体の化学構造

中央：cADP-カーボサイクリックリボース(cADPR)はcADPRのノザンリボースの6位をOから $CH_2$ に変えている。左図：3''-deoxy-cADPRは、cADPRからさらにノザンリボースの3位をOHからHに変えている。右図：4'',6''-didehydro-cADPRはノザンリボースの4位と6位のdehydro反応により4位と6位の間が2重結合となっている。(文献11,12より抜粋)

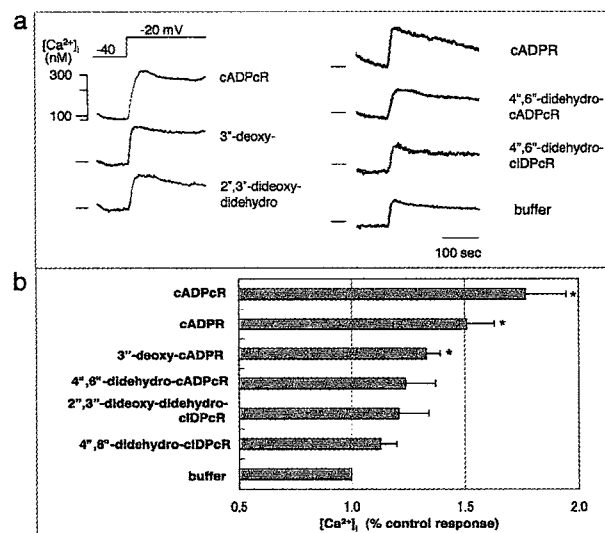


図10. NG108-15細胞における脱分極性 $[Ca^{2+}]_i$ 濃度増加に対するcADPRアナログの効果

a: パッチクランプによる膜電位固定下のNG108-15細胞におけるcADPR, cADPR, 3''-deoxy-cADPR, 4'',6''-didehydro-cADPR とこのイノシン同族体の、脱分極性の細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )増加に対する効果を比較検討。各々トレースは、NG細胞にcADPRおよびアナログ $10\mu M$ ずつを細胞内注入し $[Ca^{2+}]_i$ 変化をモニター。トレース開始より100秒前に細胞膜を破りアナログを注入、その後膜電位を-40 mVから-20 mVにシフトした。b: -20 mVに脱分極した時のピーク $[Ca^{2+}]_i$ を-40 mVの $[Ca^{2+}]_i$ に対する%で表した(mean $\pm$ SEM)。\*はコントロールに比べ有意な増加,  $P < 0.05$ 。(文献12より抜粋)

視床下部一下垂体後葉から血中に放出され末梢器官に作用すると共に、'dendritic release'すなわち視床下部の樹状突起から脳内にも放出される。実際CD38の脳内発現パターンを調べてみると、図8に示す様に視床下部で高いことがわかった。これらの結果より、CD38がcADPR産生を介して視床下部神経終末から脳内へのオキシトシン遊離を促進し、社会行動に重要な役割を果たすことが予想される<sup>9)10)</sup>。

#### 4. リード化合物としてのcADPR誘導体

cADPR研究を治療に役立てようという試みもある。cADPR誘導体は新薬を「導き出す」いわゆるリード化合物としても重要であることから、創薬研究領域などでcADPR誘導体の合成実験が活発に行われている。

cADPRの構造と代謝についてcADPRは結晶解析やNMRから、図4および図9に示す様にアデニン・2つのリボース・リン酸より構成されるヌクレオチドであり、その代謝については、 $\beta$ -NAD<sup>+</sup>に環状化酵素であるADPリボシルサイクラーゼ(ADP-ribosyl cyclase)が作用すると、 $\beta$ -NAD<sup>+</sup>からニコチンアミドが脱離し、リボース部の炭素原子がアデニン環の1位の窒素原子(N-1)とグリコシル結合し、環状のサイクリックADPリボース(cADPR)が生成する。生理的条件下ではcADPRの作用は一過性で、 $Ca^{2+}$ 遊離を起こすとcADPRヒドラーゼ(cADPR hydase)により速やかにN-1グリコシル結合部で加水分解されてADPリボース(ADPR)となる。またcADPRを細胞外に投与した場合に、生理的条件下では細胞内に流入しにくい。そこで、1)加水分解を受けにくい安定型で、2)細胞外に投与した場合に細胞内に取り込まれ易く、3)cADPRと同等の生理活性を有し、4)大量に合成できる、などを目標に合成が試みられてきた。北海道大・周東智博士(Shuto)らはN-1リボース部テトラヒドロフラン環をシクロペンタン環で置換したcADPR誘導体であるサイクリックADP-カーボサイクリックリボース(cADPR)およびそのアナログを化学合成した<sup>11)12)</sup>(図9)。これらはN-1グリコシル結合を持たないので安定型であるのが利点であり、NG108-15細胞を用いて効果を検討した結果、cADPRにcADPRと同等、あるいはそれ以上の活性がみられた(図10)。細胞膜透過性の良い特徴などを備えたアナログの開発がさらに模索されている。

#### 5. cADPR/CD38研究の今後の展望

最後にcADPRおよび産生酵素としてのCD38(cADPR/CD38)研究の臨床的な意義について述べてみたい。私たちはcADPR/CD38の神経系への作用に注目して研究を進めてきたが、CD38は生体に広く存在しており、その分布は脳以外にも、免疫担当細胞、骨髄、脾臓、リンパ節、胸腺細胞、眼、前立腺、腸管上皮、膵臓 $\beta$ 細胞、腎糸球体、骨格筋、平滑筋、骨組織などに広がっている。そして近年CD38欠損マウスの解析により、CD38によって産生されたcADPRが生体内の広い範囲で

機能していることが分かってきた。例えば免疫系では好中球・キラー細胞・樹状細胞などの遊走を促進し、CD38の発現の高いB細胞では、増殖や免疫反応をトリガーする役割が言われている。cADPRを介する細胞内Ca<sup>2+</sup>上昇により、膵β細胞ではインスリン分泌を促進し、腎ではアンジオテンシンIIなどによる血管収縮を増強すること、破骨細胞では骨のミネラル密度の維持に働くことがわかってきた。

cADPR/CD38研究は診断の一助を目的としても発展しつつある。CD38が疾患の診断に重要な役割を果たすことがわかっている疾患として、HIV-1感染症、急性リンパ性白血病 (CLL)、糖尿病、自閉症などがあげられる。このうちHIV-1感染症では、ウイルスに感染後、病態の進行とともにCD38陽性T細胞の割合が高くなることが言われており、経過をみるマーカーとして重要視されている。CLLにおいては不良な予後とCD38陽性度が相関することから、CLLの予後マーカーとして使われている。糖尿病とCD38との関連については、特に2型糖尿病症例におけるCD38自己抗体の出現率が国際レベルで疫学調査されており、さらに自閉症とCD38との関連については、CD38分子の140番目のアルギニンがトリプトファンに変異したポリモルフィズムが日本人症例の0.6–4.6%にみられることがわかっており、治療への応用も期待される<sup>10)</sup>。

このようにcADPRの発見から4半世紀を経た今、種々の組織でのcADPRの生理的な解明が進む一方、CD38の診断マーカーとしての意義、さらに疾患におけるCD38の遺伝子変異検索など、様々な疾患の病因解明や診断に役立てる方向で発展が続いている。

## 謝 辞

本誌説執筆にあたり、ご指導賜りました金沢大学大学院医学系研究科脳医学専攻脳細胞遺伝子学講座の東陽博教授、ならびに多大な協力をいただきました研究室の皆様へ深謝いたします。また、今回執筆の機会を与えていただきました金沢大学十全医学会編集委員長の井関尚一教授ならびに関係方々に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Takasawa S, Nata K, Yonekura H, Okamoto H. Cyclic ADP-ribose in insulin secretion from pancreatic beta cells. *Science* 259: 370-373, 1993
- 2) Higashida H, Salmina AB, Olovyanikova RY, Hashii M, Yokoyama S, Koizumi K, Jin D, Liu HX, Lopatina O, Amina S, Islam MS, Huang JJ, Noda M. Cyclic ADP-ribose as a universal calcium signal molecule in the nervous system. *Neurochem Int* 51: 192-199, 2007
- 3) Hashii M, Minabe Y, Higashida H. cADP-ribose potentiates cytosolic Ca<sup>2+</sup> elevation and Ca<sup>2+</sup> entry via L-type voltage-activated Ca<sup>2+</sup> channels in NG108-15 neuronal cells. *Biochem J* 345: 207-215, 2000
- 4) Hashii M, Shuto S, Fukuoka M, Kudoh T, Matsuda A, Higashida H. Amplification of depolarization-induced and ryanodine-sensitive cytosolic Ca<sup>2+</sup> elevation by synthetic carbocyclic analogs of cyclic ADP-ribose and their antagonistic effects in NG108-15 neuronal cells. *J Neurochem* 94: 316-323, 2005
- 5) Togashi K, Hara Y, Tominaga T, Higashi T, Konishi Y, Mori Y, Tominaga M. TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion. *EMBO J* 25: 1804-1815, 2006
- 6) Amina S, Hashii M, Ma WJ, Yokoyama S, Lopatina O, Liu HX, Islam MS, Higashida H. Intracellular calcium elevation induced by extracellular application of cyclic-ADP-ribose or oxytocin is temperature-sensitive in rodent NG108-15 neuronal cells with or without exogenous expression of human oxytocin receptors. *J Neuroendocrinol* 22: 460-466, 2010
- 7) Rah SY, Mushtaq M, Nam TS, Kim SH, Kim UH. Generation of cyclic ADP-ribose and nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate by CD38 for Ca<sup>2+</sup> signaling in interleukin-8-treated lymphokine-activated killer cells. *J Biol Chem* 285: 21877-21887, 2010
- 8) Higashida H, Bowden SE, Yokoyama S, Salmina A, Hashii M, Hoshi N, Zhang JS, Knijnik R, Noda M, Zhong ZG, Jin D, Higashida K, Takeda H, Akita T, Kuba K, Yamagishi S, Shimizu N, Takasawa S, Okamoto H, Robbins J. Overexpression of human CD38/ADP-ribosyl cyclase enhances acetylcholine-induced Ca<sup>2+</sup> signalling in rodent NG108-15 neuroblastoma cells. *Neurosci Res* 57: 339-346, 2007
- 9) Jin D, Liu HX, Hirai H, Torashima T, Nagai T, Lopatina O, Shnyder NA, Yamada K, Noda M, Seike T, Fujita K, Takasawa S, Yokoyama S, Koizumi K, Shiraishi Y, Tanaka S, Hashii M, Yoshihara T, Higashida K, Islam MS, Yamada N, Hayashi K, Noguchi N, Kato I, Okamoto H, Matsushima A, Salmina A, Munesue T, Shimizu N, Mochida S, Asano M, Higashida H. CD38 is critical for social behaviour by regulating oxytocin secretion. *Nature* 446: 41-45, 2007
- 10) Lopatina O, Liu HX, Amina S, Hashii M, Higashida H. Oxytocin-induced elevation of ADP-ribosyl cyclase activity, cyclic ADP-ribose or Ca<sup>2+</sup> concentrations is involved in autoregulation of oxytocin secretion in the hypothalamus and posterior pituitary in male mice. *Neuropharmacology* 58: 50-55, 2010
- 11) Kudoh T, Fukuoka M, Ichikawa S, Murayama T, Ogawa Y, Hashii M, Higashida H, Kunerth S, Weber K, Guse AH, Potter BV, Matsuda A, Shuto S. Synthesis of stable and cell-type selective analogues of cyclic ADP-ribose, a Ca<sup>2+</sup>-mobilizing second messenger. Structure-activity relationship of the N1-ribose moiety. *J Am Chem Soc* 127: 8846-8855, 2005
- 12) Kudoh T, Murayama T, Hashii M, Higashida H, Sakurai T, Maechling C, Spiess B, Weber K, Guse AH, Potter BVL, Arisawa M, Matsuda A, Shuto S. Design and synthesis of 4', 6"-unsaturated cyclic ADP-carbocyclic-ribose, a Ca<sup>2+</sup>-mobilizing agent selectively active in T cells. *Tetrahedron* 64: 9754-9765, 2008
- 13) Munesue T, Yokoyama S, Minabe Y, Higashida H. *et al.* Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. *Neurosci Res* 67: 181-191, 2010