

임파구 CD38의 효소학적 연구

박향란^a · 김종주^b · 안년형^a

^a원광대학교 약학대학 약학과, ^b전북대학교 의과대학 의학과

Enzymatic study on lymphocyte CD38

Hyang Ran Park^a, Jong Ju Kim^b, and Nyeon Hyoung An^a

^aCollege of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749.

^bChonbuk National University Medical School, Chonju 561-182

Murine CD38 is a 42 kDa type II glycoprotein expressed on cell surface of both B and T lymphocytes. CD38 is a multifunctional enzyme that catalyzes the formation and hydrolysis of cyclic adenosine diphosphoribose (cADPR): ADP-ribosyl cyclase activity of CD38 catalyzes the formation of cADPR from NAD and cADPR hydrolase activity of CD38 catalyzes the hydrolysis of cADPR to ADP-ribose (ADPR). And also, CD38 has the catalytic activity of NAD glycohydrolase (NADase) which catalyzes the hydrolysis of catalyzes the formation and hydrolysis of cyclic adenosine diphosphoribose (cADPR): ADP-ribosyl cyclase activity of CD38 catalyzes the formation of cADPR from NAD to ADPR. In this study, we attempted to purify CD38 from mouse lymphocytes by using the immobilized anti-CD38 monoclonal antibody. The single step immunoaffinity column chromatography resulted in homogeneous purification, showing a single protein of 42 kDa on a SDS polyacrylamide gel. We have investigated the effects of various inhibitors on the enzyme activities of the purified CD38. Cibacron blue (0.5 mM) inhibited all three enzyme activities of CD38, NADase, ADP-ribosyl cyclase and cADPR hydrolase activities. ADPR (2 mM) showed inhibitory effect on both cADPR hydrolase activity and NADase, but not on ADP-ribosyl cyclase activity. However, ATP (2 mM) inhibited only cADPR hydrolase activity. Zn²⁺ (1 mM) showed similar inhibitory effect as that of ADPR, but activated cyclase activity. These results suggest that CD38 has three different catalytic activity domains which might be differentially regulated by their specific inhibitors. (Kor. J. Clin. Pharm. 1998; 8(1): 29-34)

□ Keywords – CD38, NADase, Lymphocytes, Enzyme inhibitor

임파구 막표면 항원의 하나인 CD38은 다효소 기능을 갖고 있는 type II 막-관통 당단백질이다.^{1,2)} 즉, ADP-ribosyl cyclase, ADP-ribosyl hydrolase, 그리고 NAD glycohydrolase (NADase)의 활성을 갖고 있다. ADP-ribosyl cyclase활성은 NAD로부터 cyclic ADP-ribose (cADPR)와 nicotinamide를 생성하는 반응을 촉매하고 ADP-ribosyl hydrolase활성은 cADPR을 ADP-ribose로 전환하는 반응을 촉매한다. CD38은 NAD를 직접 ADP-ribose로 가수분해시키는 NADase의 활성을 갖고 있다. cADPR은 여러세포에서 inositol tris-

phosphate의 작용점과는 다른 세포내 Ca²⁺저장고로부터 Ca²⁺유리에 관여한다고 밝혀졌는데 그 작용점은 ryonidine 수용체라고 알려져 있다.^{3,4)}

CD38은 맨처음 특정 단일 클론 항체에 대하여 반응하는 T임파구의 항원으로서 발견되었다.⁵⁾ 그 후, Ca²⁺신호전달의 연구과정중에 NAD 대사산물이 Ca²⁺유리에 관여한다는 보고가 나왔다.⁶⁾ 이 NAD 대사산물의 구조 분석 결과 이것이 cADPR로 밝혀졌다.⁷⁾ 이 cADPR을 생성하는 반응을 촉매시키는 효소는 맨처음 *Aplysia californica*에서 정제되고 클로닝되어 그 일차구조가 밝혀지게 되었다.⁸⁻¹⁰⁾ 따라서 *Aplysia* ADP-ribosyl cyclase의 아미노산 서열을 인간의 임파구 표면 항원인 CD38의 아미노산 서열과 비교하였을 때에

교신저자: 안년형
570-749 전북 익산시 신룡동 344-2
원광대학교 약학대학 약학과
TEL. 0653-850-6819, FAX. 0653-843-2783

두 분자간에 상당한 상동성이 있음이 밝혀지게 되었다.¹¹⁾ 인체 임파구 CD38의 일차 구조를 보면 이 단백질은 단일 펩타이드로서 짧은 세포질부위, 막-관통부위, 그리고 C-말단쪽인 효소 촉매부위를 갖는 긴 세포의 부위로 나뉘어져 있다.¹⁾ 이것은 촉매부위가 막 외에 존재하는 막외-효소로서 반응산물이 세포외에서 생성됨을 의미하고 있다.

CD38이 세포외로부터의 신호를 수용하는 기능을 할지도 모른다는 생각은 여러 가지 실험결과들에 의해 근거하고 있다. 대부분의 이러한 실험들은 CD38 수용체와 그의 리겐드간의 상호작용을 모방하는 촉진적인 항-CD38 단일클론항체의 이용으로부터 나왔다. 그 첫 번째가 말초혈액 단핵구와 T 세포주의 CD38의 결찰이 활성화와 증식 신호를 유발시켰다.¹²⁾ 또다른 흥미있는 관찰은 CD38의 결찰이 단백질 인산화를 유발시키는 것이었다. CD38의 결찰은 단백질 인산화 효소 *syk*의 타이로신 인산화의 유발과 그 인산화 효소 활성을 증가시켰다.¹³⁾ HL-60 세포에 retinoic acid (RA)를 처리하면 CD38의 발현이 크게 증가한다.^{14,15)} 이 RA-분화 HL-60 세포에서 CD38의 결찰은 120 kDa *c-cbl* proto-oncogene 산물을 포함하여 몇 개의 단백질에 타이로신 인산화를 유발시켰다.¹⁶⁾ 이런 결과는 p120^{cas}을 포함한 세포내 단백질의 타이로신 인산화가 CD38에 의해 매개되는 막관통 신호전달에 필요한 단계임을 시사해준다.

그러나 이 CD38의 효소학적 활성과 관련한 생체내 기능은 물론 효소활성의 조절기전에 관해서도 뚜렷이 알려지지 않았다. 본 연구에서는 마우스 임파구로부터 CD38을 정제하여 효소학적인 특성을 밝혀보기 위하여 몇가지 효소 억제제를 이용하여 정제한 CD38의 효소활성에 미치는 영향을 조사하여 보았다.

실험재료 및 방법

실험재료

NAD, 1-N⁶-etheno-NAD⁺, ADP-ribose, ATP, cibacron blue, ZnCl₂, RPMI 1640, leupeptin, pepstatin, tresyl chloride-activated agarose 등은 Sigma사, rat anti-mouse CD38 monoclonal antibody와 anti-rat IgG은 Pharmingen사, poly(ethyleneimine)-cellulose TLC sheet는 Schleicher & Schuell사, [³²P]NAD는 NEN사에서 구입하였다.

마우스 임파구의 분리

마우스 임파구를 분리하기 위하여 적출한 마우스의

비장을 RPMI 1640 배지에서 조심스럽게 핀셋을 이용하여 비장세포를 추출한 후 원심분리하였다. 가라앉은 세포에 적혈구 용혈액(154 mM NH₄Cl, 12.9 mM NaHCO₃, 0.01 mM NaEDTA, pH 7.2)을 가하여 적혈구를 용혈시킨 후 RPMI 1640으로 2회 세척하였다. 이 세포들을 2×10⁶ cells/ml 농도로 희석하고 2시간 동안 CO₂ 배양기에서 배양시켜 부착세포를 제거한 후 정제에 이용하였다.

CD38의 정제

1) CD38 affinity column 조제

CD38은 면역친화 column 크로마토그래피를 시행하여 정제하였다. CD38 affinity column으로 항-CD38 항체-agarose gel를 제조하기 위하여 100 mg의 tresyl chloride-activated agarose를 0.2 M HEPES, pH 7.2로 녹이고 여기에 100 µg의 항-CD38 항체를 가하여 16시간 동안 4 °C에서 흔들면서 반응시키고 0.1 M ethanolamine, pH 8.0으로 2시간 가량 실온에서 부치시켜 남아 있는 tresyl기를 blocking시켰다. 이 겔을 0.5 M NaCl 이 함유된 0.1 M sodium acetate buffer, pH 4.0으로 세척한 다음 0.5 M NaCl로 세척하고 증류수로 세척하였다. 또한 비특이적으로 결합하는 단백질을 제거할 목적으로 항-CD38 항체 대신 항-rat IgG 항체를 같은 방법으로 반응시켜 항-IgG-agarose gel을 제조하였다.

2) CD38 affinity column을 이용한 CD38의 정제

임파구(2×10⁸ 세포)에 20 mM HEPES, pH 7.2, 0.15 M NaCl, 1% Triton X-100을 가하여 lysis시킨 다음 원심분리하여 깨지지 않은 세포를 제거하였다. 여기에 위에서 조제한 항-IgG-agarose gel을 가하여 4 °C에서 4시간 동안 반응시킨 후 원심분리하여 상층액을 취한 후 그 상층액에 항-CD38 항체-agarose gel을 가하고 4 °C에서 4시간 동안 반응시켰다. 0.1% Triton X-100이 함유된 5 mM Tris-HCl, pH 6.8(buffer A)로 이 겔을 세척하고 다시 2 M KCl이 함유된 buffer A, 1 M KCl 이 함유된 buffer A, buffer A 등으로 차례로 세척한 후 결합된 CD38을 4 M MgCl₂가 함유된 buffer A로 유출시켰다. 단백질의 전기영동상 동정은 Lamli 등¹⁷⁾이 기술한 방법에 따라 10% SDS-polyacrylamide 겔(SDS-PAGE)로 시행하였다.

CD38 효소활성 측정

NADase 활성은 형광측정법¹⁸⁾으로 실시하였다. 기질로는 1,N⁶-etheno-NAD⁺를 사용하였다. 즉, 100 µl의 반응액중에 효소원과 50 mM phosphate buffer, 200 µM

1,N⁶-etheno-NAD⁺ 넣고 37°C에서 10분간 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid (TCA)를 100 µl 넣어 반응을 정지시키고 원심분리하여 상층액을 얻은 다음 그 중 100 µl를 900 µl의 0.1 mM sodium phosphate buffer와 섞고 fluorometer (Hitachi 3010)을 사용하여 297 nm의 여기 파장과 410 nm의 발광 파장으로 형광 정도를 측정하였다. NADase 활성 단위는 µmol/min/mg으로 표시하였다. ADP-ribosyl cyclase활성은 기질로 100 µM NGD를 사용하여 위에서 기술한 NADase 측정방법에 준하여 측정하였다. cADPR hydrolase의 활성을 측정하기 위하여 기질 [³²P]cADPR을 [³²P]NAD로부터 *Aplysia* ovotestis에서 정제한 ADP-ribosyl cyclase를 이용하여 전술한 방법대로 조제하였다.⁸⁾ 20 µl의 반응액중에 효소원과 50 mM phosphate buffer, 100 µM [³²P]cADPR을 넣고 37°C에서 20분간 반응시킨 후 10% TCA를 20 µl 넣어 반응을 정지시키고 원심분리하여 상층액을 얻은 다음 ether를 이용하여 TCA를 추출한 후 2 µl를 poly (ethyleneimine)-cellulose TLC sheet에 loading하여 0.1 M acetic acid and 0.1 M LiCl로 전개시켰다. [³²P]ADPR spot를 오려내어 liquid scintillation counting을 시행하여 반응산물인 ADPR을 계산하였다.

실험 결과

마우스 임파구로부터 CD38의 정제

CD38을 실험방법에서 기술한 바와같이 마우스 임파구 Triton X-100 lysate를 얻은후 항-CD38 항체-agarose gel 면역 친화성 column chromatography를 시행하여 정제하였다. 최종적으로 얻은 조제물을 환원 상태의 SDS-PAGE에서 분석한 결과 42 kDa의 단일 band를 보였다(Fig. 1).

활성 억제제들에 의한 CD38의 NADase 활성 억제

Fig. 2에서 보는 바와 같이 1 mM Cibacron blue는 NADase 효소 활성을 완전히 억제하였다. Zn²⁺의 경우는 2 mM에서 효소 활성을 거의 억제하였다. ADPR은 2 mM에서 NADase 효소활성을 약 80% 억제하였다. ATP는 4 mM 에서도 CD38의 NADase활성을 전혀 억제하지 않았다.

활성 억제제들에 의한 CD38의 ADP-ribosyl cyclase 활성 억제

Fig. 3에서 보는 바와 같이 Cibacron blue는 0.5 mM 농도에서 ADP-ribosyl cyclase 효소 활성을 완전히 억제

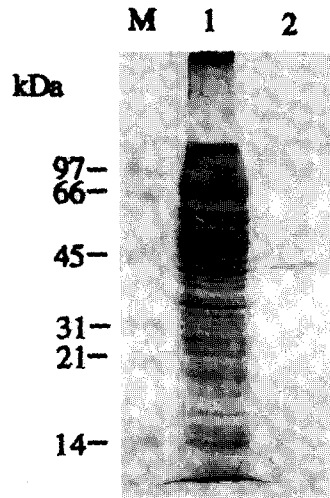


Fig. 1. Coomassie blue-stained SDS-PAGE (10% gel) of Triton X-100 lysate of mouse spleen (lane 1; 20 µg) and purified CD38 from mouse lymphocytes (lane 2; 0.1 µg). Lane M, molecular size standards.

하였다. ADPR과 ATP는 2 mM까지의 농도에서 cyclase활성에 전혀 영향을 미치지 않았다. Zn²⁺의 경우는 오히려 cyclase 효소 활성을 증가시키는 경향을 보였다.

활성 억제제들에 의한 CD38의 cADPR hydrolase 활성 억제

Fig. 4에서 보는바와같이 Cibacron blue는 0.5 mM

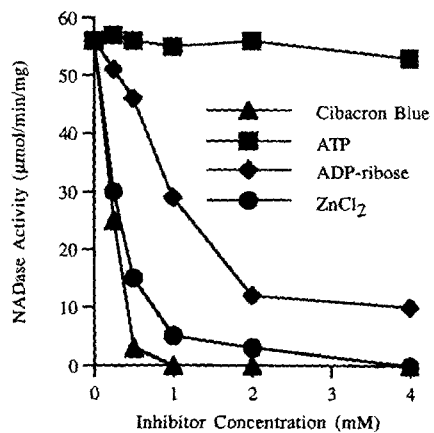


Fig. 2. Effect of various inhibitors on NADase activity of mouse lymphocyte CD38. After purified CD38 were pre-incubated for 10 min in 50 mM phosphate buffer, pH 7.2, containing the compounds indicated at the concentrations, the mixtures were assayed for NADase as described in Materials and Methods.

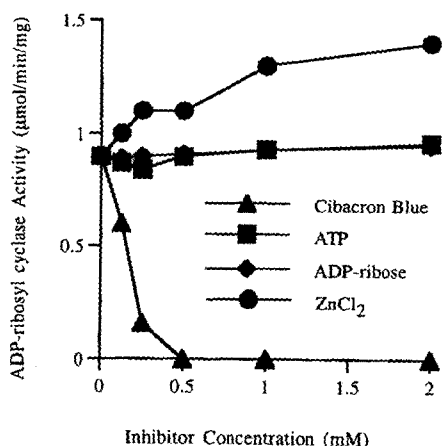


Fig. 3. Effect of various inhibitors on ADP-ribosyl cyclase activity of mouse spleen CD38. After purified CD38 were pre-incubated for 10 min in 50 mM phosphate buffer, pH 7.2, containing the compounds indicated at the concentrations, the mixtures were assayed for ADP-ribosyl cyclase as described in Materials and Methods.

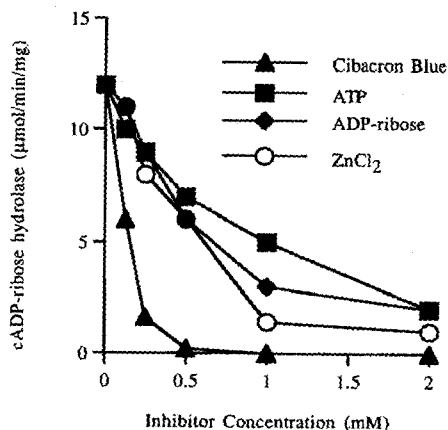


Fig. 4. Effect of various inhibitors on cADP-ribose hydrolase activity of mouse spleen CD38. After purified CD38 were pre-incubated for 10 min in 50 mM phosphate buffer, pH 7.2, containing the compounds indicated at the concentrations, the mixtures were assayed for cADP-ribose hydrolase as described in Materials and Methods.

농도에서 cADPR hydrolase 효소 활성을 완전히 억제하였다. Zn²⁺의 경우는 1 mM에서 효소 활성을 거의 억제하였다. ADPR과 ATP는 2 mM에서 hydrolase 효소 활성을 약 80% 억제하였다.

각 활성 억제제들에 의한 CD38의 세가지 효소 활성

억제 비교

Cibacron blue는 500 µM 농도에서 CD38의 세가지 효소 활성을 거의 완전히 억제하였다(Fig. 5C). 2 mM ADPR은 NADase와 hydrolase 두 효소만을 억제하였다(Fig. 5B). 2 mM ATP는 CD38의 NADase와 cyclase의 활성은 억제하지 않고 hydrolase 활성만을 선택적으로 억제하였다(Fig. 5A). 1 mM Zn²⁺의 경우는 ADPR와 같은 방식으로 NADase와 hydrolase 두 효소만을 억제하였는데 특이한 점은 cyclase의 활성을 증가시키는 결과를 보였다(Fig. 5D).

고찰

본 연구 결과는 세포막 CD38 분자의 효소 활성 부위가 확연히 세 개의 다른 자리에 위치하면서 서로 독립적으로 촉매작용을 나타내고 있다는 것을 시사해주고 있다. 본 연구에서 사용하였던 CD38의 각 효소 활성에 영향을 미쳤던 화합물들의 작용점을 생각해 본다면 Cibacron blue의 경우는 이 분자가 기질 NAD 분자의 구조와 비슷하기 때문에 CD38 분자의 NAD 결합 부위에 결합하므로써 억제하기 때문에 CD38에 기질의 결합이 이루어지지 않게 하므로써 세가지 효소 활성을 모두 억제하였다고 본다. ADPR과 Zn²⁺는 CD38 분자의 두 가수분해 효소 활성인 NADase와 cADPR hydrolase의 활성에 중요한 단계인 물분자의 작용점에 작용하여 이 두 효소를 억제하였다고 할 수 있다. 따라서, ADPR과 Zn²⁺는 두 가수분해 효소반응을 억제하여 결과적으로 ADP-ribosyl cyclase의 기질 이용도가 증가하게 되므로써 이 효소활성의 증가가 있어났다고 볼 수 있다. ATP는 CD38의 NADase와 ADP-ribosyl cyclase의 활성은 억제하지 않고 cADPR hydrolase 활성만을 선택적으로 억제하였는데 이는 CD38 분자에 cADPR의 결합을 ATP가 선택적으로 억제한다고 생각할 수 있다. Takasawa 등¹⁹⁾은 높은 농도의 ATP를 인간 CD38 cDNA 발현 단백질에 작용시켰을 때 cADPR 생성활성이 증가되는 것을 관찰한 바 있다. 이러한 결과들은 cADPR hydrolase 촉매부위에 ATP에 대한 특이적 결합자리가 위치하면서 생체내에서 CD38에 의한 cADPR의 생성능을 증가시키는 하나의 조절기전으로 이용할지도 모를 것을 시사해주고 있다. 왜냐하면 ATP는 세포의 에너지 준위의 지표가 되고 동시에 인산화와 같은 조절반응의 기질로서 이용되기 때문이다. 본 연구에서 관찰한 CD38 분자에 작용하여 그 활성을 변조시키는 화합물들 중 Zn²⁺를 제

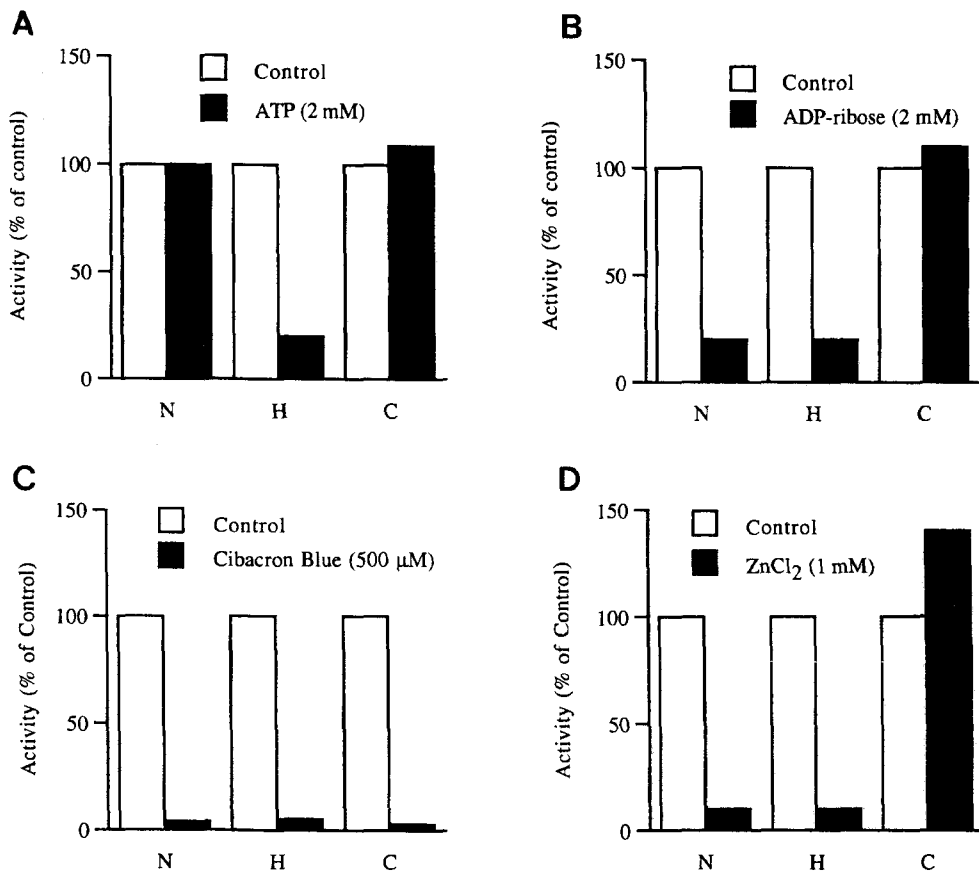


Fig. 5. Comparison of the inhibition of the compounds on three enzyme activities of CD38. After purified CD38 were pre-incubated for 10 min in 50 mM phosphate buffer, pH 7.2, containing the compounds indicated at the concentrations, the mixtures were simultaneously assayed for NADase (N), ADP-ribosyl cyclase (C), and cADP-ribose hydrolase (H) as described in Materials and Methods.

외하고 모두 세포외액에 소량 존재한다. 이는 이들 화합물들이 작용하기 위해서는 세포내에서 충분한 농도로 존재할 때 CD38분자 활성화에 영향을 주리라 생각한다. 또 이들 화합물들이 복합적으로 동시에 CD38분자에 작용할 때 CD38분자 활성화에 어떤 영향을 줄지에 대하여는 더 연구해 보아야할 과제이다. 앞으로 이들 분자들의 CD38분자와의 결합방식 등을 연구하여 본다면 더 정확한 조절기전이 밝혀지리라 생각된다.

결론

CD38은 B와 T임파구의 표면에 존재하는 막-관통 당단백질으로서 기질 NAD로부터 cyclic ADP-ribose

(cADPR)을 생성하고(ADP-ribosyl cyclase 활성화) cADPR을 ADP-ribose (ADPR)로 가수분해하고(ADP-ribosyl hydrolase 활성화) 또 NAD로부터 ADPR을 직접 가수분해 하는(NAD glycohydrolase (NADase) 활성화) 세가지 효소 기능을 갖고 있는 효소이다. 본 연구에서는 고정된 항-CD38 항체를 이용하여 가용화시킨 마우스 임파구로부터 CD38의 정제를 시도하였다. 한단계의 면역침화 column 크로마토그래피에 의하여 SDS-PAGE 상에서 42 kDa의 단일 band를 보이는 순수한 정제를 하였다. 제된 CD38의 효소 활성화에 대한 여러 억제제들의 효과를 연구하여 보았다. 500 μM Cibacron blue는 CD38의 세가지 효소 활성을 거의 완전히 억제하였다. 2 mM ADPR은 NADase와 hydrolase 두가지 효소활성만을 억제하였다. 2 mM ATP는 CD38의 NA-

Dase와 cyclase의 활성은 억제하지 않고 cADPR hydrolase 활성만을 선택적으로 억제하였다. 1 mM Zn²⁺의 경우는 ADPR와 같은 방식으로 NADase와 hydrolase 두 효소만을 억제하였는데 특이한 점은 cyclase의 활성을 증가시키는 결과를 보였다. 본 실험 결과는 CD38은 세가지 효소 촉매부위를 갖고 있으면서 각각의 효소에 특이한 억제제에 의하여 다르게 조절될수 있음을 시사해주고 있다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 원광대학교 교내연구비의 지원에 의하여 수행되었다.

문헌

- Jackson DG, Bell JI. Isolation of cDNA encoding the human CD38 (T10) molecule, a cell surface glycoprotein with an unusual discontinuous pattern of expression during lymphocyte differentiation. *J. Immunol.* 1990; 144: 2911-5.
- Kim H, Jacobson EL, Jacobson MK. Synthesis and degradation of cyclic ADP-ribose by NAD glycohydrolases. *Science* 1993; 261: 1330-3.
- Deaglio S, Dianzani U, Horenstein A, Fernandez JE, Van Kooten C, Bragardo M, Garbarono G, Funaro A, DiVirgilio F, Banchereau J, and Malavasi F. Human CD38 ligand. A 120-kDa protein predominantly expressed by endothelial cells. *J. Immunol.* 1996; 156: 727-34.
- Galione A, Lee HC, Busa WB. Ca²⁺-induced Ca²⁺ release in sea urchin egg homogenates: Modulation by cyclic ADP-ribose. *Science* 1991; 253: 1143-6.
- Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G, Levy RH, Schlossman SF. Discrete stage of human intrathymic differentiation: analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts on T-cell lineages. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 1980; 77: 1588-91.
- Clapper DL, Walseth TF, Dargi PJ, Lee HC. Pyridine nucleotide metabolite stimulate calcium release from sea urchin egg microsomes desensitized to inositol trisphosphate. *J. Biol. Chem.* 1987; 262: 9561-8.
- Lee HC, Walseth TF, Bratt GT, Hayes RN, Clapper DL. Structural determination of a cyclic metabolite of NAD with intracellular Ca²⁺ mobilizing activities. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 1608-15.
- Hellmich MR, Strumwasser F. Purification and characterization of a molluscan egg-specific NADase, a second-messenger enzyme. *Cell Regulation* 1991; 2: 193-202.
- Glick DL, Hellmich MR, Beushausen S, Tempst P, Bayley H, Strumwasser F. Primary structure of a molluscan egg-specific NADase, a second-messenger enzyme. *Cell Regulation* 1991; 2: 211-8.
- Lee HC, Aarhus R. ADP-ribosyl cyclase: an enzyme that cyclizes NAD⁺ into a calcium-mobilizing metabolite. *Cell Regulation* 1991; 2: 203-9.
- Takasawa S, Nata K, Yonekura H, Okamoto H. Cyclic ADP-ribose in insulin secretion from pancreatic β -cells. *Science* 1993; 259: 370-3.
- Funaro A, Spagnoli GC, Ausiello CM, Allesio M, Roggero S, Delia D, Zaccolo M, Malavasi F. Involvement of the multilineage CD38 molecule in a unique pathway of cell activation and proliferation. *J. Immunol.* 1990; 145: 2390-6.
- Silvennoinen O, Nishigaki H, Kitanaka A, Kumagai M, Ito C, Malavasi F, Lin Q, Conley ME, Campana D. CD38 signal transduction in human B cell precursor. *J. Immunol.* 1996; 156: 100-7.
- Kontani K, Nishina H, Ohoka Y, Takahashi K, Katada T. NAD glycohydrolase specifically induced by retinoic acid in human leukemic HL-60 cells. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 16895-8.
- Han MK, An NH, Kim UH. Expression of glycosylphosphatidylinositol-anchored NAD glycohydrolase in differentiated HL 60 cells by phorbol ester. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 213: 730-6.
- Kontani K, Kukimoto I, Nishina H, Hoshino S, Hozeki O, Konaho Y, Katada T. Tyrosine phosphorylation of the *c-cbl* proto-oncogene product mediated by cell surface antigen CD38 in HL-60 cells. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 1534-7.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-5.
- Han MK, Lee JY, Cho YS, Song YM, An NH, Kim HR, Kim UH. Regulation of NAD⁺ glycohydrolase activity by NAD⁺-dependent auto-ADP-ribosylation. *Biochem. J.* 1996; 318: 903-8.
- Takasawa S, Tohgo A, Noguchi N, Koguma T, Nata K, Sugimoto T, Yonekura H, Okamoto H. Synthesis and hydrolysis of cyclic ADP-ribose by human leukocyte antigen CD38 and inhibition of the hydrolysis by ATP. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 26052-4.