

無尾両生類の水調節機構

佐藤 恵 酒井 秀嗣

The water regulation in anuran amphibian

Megumi Sato and Hidetsugu Sakai

1. はじめに

生物にとって水は非常に重要な物質である。水は比熱が大きいことから、生体の温度の急激な変化を防ぎ、また、溶媒として様々な物質を溶かし込んだり、水流に乗せて不溶性の物質を運搬したりと、体内の物質輸送にも必須である。さらに水は生命現象をかかわる化学反応の場を提供する。このような水の重要性から、生体内では様々な場所で水の移動が起きている。しかし、生物の基本単位である細胞の形質膜（細胞膜）は脂質二重層で構成されていて、拡散による水の透過性は非常に低い。細胞の水恒常性を保つために迅速で特異的な調節機構が必要であり、これを担っているのが水チャネル・アクアポリン (aquaporin; AQP) と呼ばれる膜タンパク質である。本稿では生体内での水の移動に係わるアクアポリンと、アクアポリンによってさまざまな水環境に適応した両生類について解説する。

2. アクアポリンの構造

ある種の細胞では、細胞膜を通じた拡散だけでは説明しきれない急速な水の移動があることは古くから知られていた¹⁾。P. Agre らは 1992

年にヒトの赤血球膜の 28 kDa タンパク質 (CHIP 28) が水チャネルであることを同定し²⁾、この発見を含めた細胞膜のチャネルに関する研究に対して 2003 年にノーベル医学生理学賞が授与された。CHIP 28 と同様な化学的性質を持つ分子が見つかり、これらを「水をとす穴」という意味のアクアポリンと呼ぶことが提唱され³⁾、最初に発見された CHIP 28 は AQP 1 となった。その後 AQP は古細菌から植物、動物と普遍的に存在することが明らかになり、現在までに哺乳類では 13 種類の AQP (AQP 0 ~ AQP 12)⁴⁾ が、水によって成長や環境応答が制御される植物では 30 種類以上⁵⁾ の AQP が報告されている。これらの AQP はその構造や性質により、水のみを透過させるクラシカルアクアポリン (classical AQP)、水だけでなくグリセロールや尿素等の低分子も透過させるアクアグリセロポリン (aquaglyceroporin) に、さらに細胞質内に局在する AQP 11 と AQP 12 は非オーソドックスアクアポリン (unorthodox AQP) に分類される⁶⁾。哺乳類では水の再吸収を行い尿の濃縮をする腎臓の他、皮膚、脳、消化器官など様々な部位で AQP が機能していることがわかっている。両生類では、10 種類の哺乳類 AQP パラログが知られており、無尾両生類

日本大学歯学部生物学教室
日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門
〒101-8310 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13
(受理: 2013 年 9 月 20 日)

Department of Biology, Nihon University School of Dentistry
Division of Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry
1-8-13 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8310, Japan

表1 アクアポリンの種類と発現部位

分類	哺乳類	(発現部位)	無尾両生類
クラシカル AQP (水)	AQP 0	水晶体	AQP 0
	AQP 1	腎臓, 血管, etc.	AQP 1
	AQP 2	腎臓	AQP 2
	AQP 4	腎臓, 脳, etc.	AQP 4
	AQP 5	唾液腺, 肺, etc.	AQP 5
	AQP 6	腎臓	
	AQP 8	肝臓, 腸, etc.	AQP 8
アクアグリセロポリン (水, 尿素, グリセロール)	AQP 3	腎臓, 皮膚	AQP 3
	AQP 7	精巣, etc.	AQP 7
	AQP 9	肝臓, 精巣	AQP 9
	AQP 10	十二指腸, 空腸	AQP 10
非オーソドックス AQP (機能不明)	AQP 11	脳, 心臓, etc.	
	AQP 12	睪臓, 腸管, etc.	
無尾両生類特異的 AQP			AQPa 1
			AQPa 2

特異的な2種類の AQP_a 1, AQP_a 1 の存在が確認されている⁷⁾ (表1)。

AQP は約 270 個のアミノ酸残基から成り, 約 30 kDa の分子質量を示す。6 回膜貫通領域とそれを繋ぐ A-E の 5 カ所はループ構造をとり, N 末端および C 末端は細胞質側の細胞膜表面にある (図1)。AQP の二次構造は分子間でかなり保存されており, 多くの AQP はこれと同様の構造を示す。疎水性の B ループと E ループには NPA モチーフと呼ばれるアスパラギン酸-プロリン-アラニン配列が含まれ, 脂質二重層内部で重なり, 直径 3 Å 程度の孔状の構造を作り, その隙間を水分子が通過する^{8,9)}。AQP のタイプによってこの孔の直径が異なり, 水のみを通すのか, 水だけでなくグリセロールや尿素を通すのかが決まる。AQP は分子多様性を示し, 組織分布には特異性がある。

AQP による水バランス調節の例としては哺乳類の腎臓における水の再吸収がある。陸生の脊椎動物の中で哺乳類と鳥類だけが尿を濃縮す

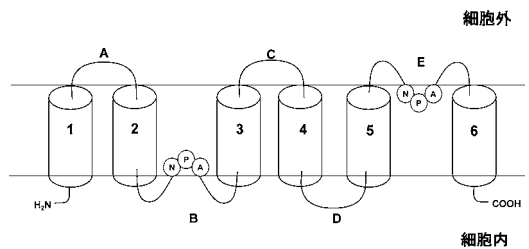


図1 哺乳類 AQP1 単量体の2次構造モデル

ることができる¹⁰⁾。ヒトでは原尿として腎臓に流れ込むのは1日約180Lだが, 尿として排出されるのは1日約2Lだけで, 近位尿細管で60%, ヘンレのループの特に下行脚で20%, 遠位尿細管で15%, 集合管で4-5%が再吸収される。ヒトの腎臓では7種類の AQP の発現が確認されており, このうち AQP 2 の働きは, 下垂体神経葉で産生される哺乳類の抗利尿ホルモンであるアルギニン-バソプレシン (AVP) によって調節されている¹¹⁾。腎臓の他にも全身の各部位において様々な AQP が発現し, 水の細胞内外の移動に寄与している。

3. 無尾両生類の水環境適応

両生類は約3億6000万年前の古生代デボン紀に初めて陸上に進出した脊椎動物で、乾燥した環境下でも生存できるような体液の調節機構を発達させなければならなかった。現存の両生類は2013年9月現在7191種、そのうちカエル目(無尾類)は6337種、イモリ目(有尾類)は655種、アシナシイモリ目(無足類)は199種が報告されている¹²⁾。無尾類は両生類全体の88%を占める最大のグループで、幼生はオタマジャクシとして水中で成長するため水環境が必須であるにもかかわらず、成体は砂漠、高山、寒冷地、汽水域など水の乏しい厳しい環境にも分布する^{13,14)}。

無尾類はその生息領域によって終生水中で生活するアフリカツメガエルなど水棲型、ウシガエル、トノサマガエルなど水棲と陸棲生活を行き来する半水棲型、ヒキガエルなど一生の大部分で陸棲生活をする陸棲型、アマガエルなど樹上生活をする樹上棲型に大別される。両生類は、水適応戦略を発展させ、多様な生活様式を獲得してきた。その一つとして皮膚では常に水分を多量に含み湿っているが、これは皮膚腺(小顆粒腺、粘液腺)に特異的に発現するAQPが関与している¹⁵⁾。またpelvic patchと呼ばれる下腹部から大腿部にかけての特別な腹側皮膚領域が高い水吸収能を示し、独自の水バランス調節機構として働く。カエルが腹部を下げ地面に密着させている姿を観察することができるが、これは口から水を飲まないカエルがその代わりに腹側の皮膚から水を吸収している様子である。さらに、カエルは膀胱に蓄えた尿から水分を再吸収するという独特の機構も持つ¹⁶⁾。カエルの尿からの水の再吸収は膀胱で起こるものが主で、哺乳類と異なり腎臓の腎髄質対向流系が欠如しているので、腎臓での尿の濃縮はできない¹⁷⁾。

無尾両生類の膀胱と腎臓ではそれぞれ膀胱

型、腎臓型の器官特異的なAQPが発現し、水の再吸収に寄与している¹⁸⁾。腹側皮膚では種によって異なるが、例えばニホンアマガエルの場合は腹側皮膚型AQPに加え、膀胱型AQPが発現し、AQPを介して水バランス調節が行われる。これらのAQPは下垂体神経葉から分泌される抗利尿ホルモンであるアルギニン-バソトシン(AVT)によって調節され、腹側皮膚を介した外部からの水の取り込みと、膀胱における体内の水の再吸収により、生体内の水恒常性が維持されていると考えられる。腹側皮膚におけるAQPの発現と、AVTに対する応答性は無尾両生類の生息環境と関連がある^{19,20)}。下腹部皮膚におけるAQPの発現パターンは生息域によって異なり、比較的水の乏しい環境に生息する樹上棲のアマガエルや、陸棲のヒキガエルでは、下腹部皮膚に膀胱型と腹側皮膚型の2種類のAQPが発現していた。一方、水辺に生息する半水棲のウシガエル、トノサマガエル、アカガエルでは、下腹部皮膚に膀胱型AQPが発現せず、腹側皮膚型の1種類のみが発現していた。さらに、水棲種では、下腹部皮膚において膀胱型AQPの発現は認められず、腹側皮膚型AQPに関しては、mRNAの発現は認められるが、タンパク質としては検出されないことから、機能はしていないと考えられる。

比較乾燥した環境で生息している樹上棲や陸棲の種では、下腹部皮膚に2種類のAQPを発現することで水を積極的に取り込むと考えられる。水に接する機会の多い半水棲の場合は1種類のAQPのみが発現し、下腹部から水を吸収している。さらに、身体を水に取り囲まれている水棲の種では、下腹部にはAQPを発現させず、過剰な水の取り込みを防いでいると考えられる。また、カエルの皮膚の水透過性や、AQPを調節して水吸収を高めるはたらきをもつAVTに対する応答性も、種により異なる²¹⁾。陸棲種の皮膚は刺激を与えない状態でも水透過性

が高く、半水棲・水棲種ではそれより低い。また、AVTによる刺激を与えると水透過性が高まるが、中でも半水棲種で最も透過性が高まる。それに対して水棲のアフリカツメガエルでは、AVTの刺激を与えても、水透過性はほとんど変化しない。これらの皮膚の水透過性やAVTに対する応答の違いは、それぞれのカエル皮膚に発現するAQPに由来する¹⁹⁾。

最近の研究で腹側皮膚をひとまとめにせず、エリアごとでAQP発現を解析することで、新たな知見が得られた。腹側皮膚を、後肢、下腹部、胸部の3箇所にて区別し、それぞれの部位におけるAQPの発現を調べたところ、半水棲のニホンアカガエル腹側皮膚では、後肢に腹側皮膚型AQPが発現していたが、下腹部、胸部では発現が認められなかった。水の乏しい環境に生息する陸棲のカエルでは、後肢皮膚において強い腹側皮膚型AQPの発現が検出され、それよりは弱いシグナルが下腹部皮膚と胸部皮膚で認められた。水棲のアフリカツメガエルの場合は、後肢、下腹部、胸部のいずれの部位でも腹側皮膚型AQPは検出されなかったが、mRNAの発現を調べたところ、後肢、下腹部、胸部いずれの部位においても発現していることが確認された。水棲のニホンアカガエル、トノサマガエルで後肢の皮膚のみにAQPが発現するという結果は、カエルの水吸収には腹部よりも後肢の方が重要であることを示している。また、同じ半水棲の種でもウシガエルの場合は後肢から胸部にかけて広くAQPが発現しており、このような違いは生息地の水環境や動物の生活様式となんらかの関連があると考えられる。このように、生息環境によって腹側皮膚に発現するAQPの種類が異なるだけでなく、発現しているエリアが種や生息環境によって異なることが明らかになった。さらに、水棲のアカガエル、トノサマガエル、ウシガエルと陸棲のオオヒキガエル腹側の後肢、下腹部、胸部の皮膚をそれぞれ摘出

し、*in vitro*での水透過性を調べたところ、後肢の皮膚はAVTに反応して水透過能が顕著に増大した。また、陸棲のオオヒキガエルでは下腹部、胸部でも同程度の水吸収能が増大し、半水棲のウシガエルでは後肢に比べると非常に弱いが水吸収能の増大が認められた。腹側皮膚の部位ごとの水透過能とAVTに対する応答性は種によって異なるが、共通して主に後肢の皮膚が水吸収に寄与していると考えられる。

このように腹側皮膚を介した外部からの水の取り込みと、膀胱、腎臓における体内の水の再吸収がカエル生体内の水恒常性を維持することで、厳しい水環境にも耐え多様な環境での生息が可能になったと考えられる。

謝 辞

本研究の一部は平成23,24年度日本大学歯学部佐藤奨学金研究費の助成によって得られたものである。

文 献

- 1) Brown D (1989) Membrane recycling and epithelial cell function. *Am J Physiol* 256, F1-12.
- 2) Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P (1992) Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 256, 385-387.
- 3) Agre P, Preston GM, Smith BL, Jung JS, Raina S, Moon C, Guggino WB, Nielsen S (1993) Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel. *Am J Physiol* 265, F463-476.
- 4) Ishibashi K, Kondo S, Hara S, Morishita Y (2011) The evolutionary aspects of aquaporin family. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 300, R566-576.
- 5) Danielson JA, Johanson U (2008) Unexpected complexity of the aquaporin gene family in

- the moss *Physcomitrella patens*. *BMC Plant Biol* 8, 1471-2229.
- 6) Morishita Y, Matsuzaki T, Hara-chikuma M, Andoo A, Shimono M, Matsuki A, Kobayashi K, Ikeda M, Yamamoto T, Verkman A, Kusano E, Ookawara S, Takata K, Sasaki S, Ishibashi K (2005) Disruption of aquaporin-11 produces polycystic kidneys following vacuolization of the proximal tubule. *Mol Cell Biol* 25, 7770-7779.
 - 7) Suzuki M, Tanaka S (2010) Integrative biology of aquaporins in anuran amphibians. In: *Synthetic and Integrative Biology*, edited by Gevona J: Nova Science publisher, Inc., p.41-60.
 - 8) Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot B, Philippsen A, Grubmuller H, Agre P, Engel A (2002) Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol* 12, 509-515.
 - 9) Walz T, Fujiyoshi Y, Engel A (2009) The AQP structure and functional implications. *Handb Exp Pharmacol* 190, 31-56.
 - 10) Nishimura H, Yang Y (2013) Invited Review: Aquaporins in Avian Kidneys -Function and Perspectives. *Am J Physiology Reg Integr Comp Physiol* (Epub ahead of print).
 - 11) Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA (2002) Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Review* 82, 205-244.
 - 12) AmphibiaWeb, <http://www.amphibiaweb.org/index.html>
 - 13) Bentley PJ, Yorio T (1978) Evaporative water loss in anuran amphibia A comparative study. *Comp Biochem Physiol Part A: Physiol* 62, 1005-1009.
 - 14) Suzuki M, Tanaka S (2010) Molecular diversity of vasotocin-dependent aquaporins closely associated with water adaptation strategy in anuran amphibians. *J Neuroendocrinol* 22, 407-412.
 - 15) Hillyard SD, Willumsen NJ (2011) Chemosensory function of amphibian skin: integrating epithelial transport, capillary blood flow and behaviour. *Acta Physiol* 202, 533-548.
 - 16) Tanaka S, Hasegawa T, Tanii H, Suzuki M (2005) Immunocytochemical and phylogenetic distribution of aquaporins in the frog ventral skin and urinary bladder. *Ann N Y Acad Sci* 1040, 483-485.
 - 17) Bentley PJ (2002) Endocrines and Osmoregulation. A Comparative Account in Vertebrates. In: *The Amphibia*, edited by Bentley P. Springer, New York, 155-186.
 - 18) Hasegawa T, Tanii H, Suzuki M, Tanaka S (2003) Regulation of water absorption in the frog skins by two vasotocin-dependent water-channel aquaporins, AQP-h2 and AQP-h3. *Endocrinol* 144, 4087-4096.
 - 19) Ogushi Y, Akabane G, Hasegawa T, Mochida H, Matsuda M, Suzuki M, Tanaka S (2010) Water adaptation strategy in anuran amphibians: molecular diversity of aquaporin. *Endocrinol* 151, 165-173.
 - 20) Ogushi Y, Tsuzuki A, Sato M, Mochida H, Okada R, Suzuki M, Hillyard SD, Tanaka S (2010) The water-absorption region of ventral skin of several semiterrestrial and aquatic anuran amphibians identified by aquaporins. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 299, R1150-1162.
 - 21) Ogushi Y, Kitagawa D, Hasegawa T, Suzuki M, Tanaka S (2010) Correlation between aquaporin and water permeability in response to vasotocin, hydrin and beta-adrenergic effectors in the ventral pelvic skin of the tree frog *Hyla japonica*. *J Exp Biol* 213, 288-294.