バソプレシン／バソトシンの浸透圧調節作用からみた脊椎動物の環境適応と進化

今 野 紀 文*

脊椎動物にとって、身体に「水」を保持することは生命を維持する上で必要不可欠である。バソプレシン [vasopressin (VP)]／バソトシン [vasotocin (VT)] は、体内水分の喪失 (脱水) に応答して脳下垂体後葉から放出され、腎臓において尿からの水再吸収を促進する抗利尿ホルモンとして働いている。この水を保持する作用は、V2受容体を介した水チャネル (AQP2) の発現促進によって発揮されるが、この仕組み (VP/VT-V2受容体-AQP2系) はこれまで両生類以降の動物群でしか見つかっておらず、原始的な両生類の陸上進出に伴って獲得されたと考えられてきた。しかし、最近、我々は両生類に最も近縁な魚類である肺魚にもこの仕組みが備わっていることを発見し、淡水中では機能しないが、夏眠と呼ばれる陸生化にともなって機能して、水の保持に働くことを明らかにした。また、肺魚と同じ肉鰭類のシーラカンスにも、この分子基盤が備わっていること、条鰭類や軟骨魚類のゲノムにはAQP2やAQP0p (四肢動物AQP2の祖先遺伝子) が存在していないことから、VP/VTによる抗利尿作用は原始肉鰭類を起源とし、魚類の水中から陸上への進出に重要な役割を果たしたことを示した。さらに、四肢動物とは系統が異なる条鰭類にもV2受容体が存在していることを発見し、その機能について調べた。本稿では、V2受容体を介したVP/VTの浸透圧調節作用が脊椎動物の進化や環境適応に果たした役割について紹介する。

1. はじめに

約5億年前に地球上に現れた脊椎動物の祖先は、魚類、両生類、爬虫類や鳥類、哺乳類へと進化の道筋を辿り、その過程で生息環境も海洋から淡水へ、淡水から陸上へと拡大させてきた。しかし、これには様々な形態学的な変化だけでなく、生理学的な変化もまた求められた。そのひとつが浸透圧の変化に対する対応である。原始的な円口類のスタウナギの細胞外液は、ほとんど海水組成と同じであるが、サメやエイといった軟骨魚類とシーラカンスはNa⁺やCl⁻を海水の半分以下に抑え、その一方で尿素を血液中に蓄えて体液浸透圧を海水の浸透圧よりも高く維持することで脱水を免れている。一方、円口類と軟骨魚類を除く脊椎動物の体液浸透圧は海水の約3分の1である300ミリオスモル (mOsmol) 程度に維持されている。しかし、それ故に、外部環境と体液 (内部環境) との間の浸透圧の差が問題となってくる。硬骨魚類は、なぜ体液よりも高張な海水の中で脱水せずに生きていけるのか? また、水が体内に流入してくる淡水環境では、なぜ水ぶくれになってしまわないのか?

さらに、我々ヒトを含めた四肢動物は、生存に必須である水から離れた陸上環境をなぜ生活の場として選び、どのようにして陸上環境に適応してきたのだろうか? 脊椎動物が多様な環境に生息する上で、外部環境と体液との浸透圧差の問題は、克服すべき課題である。

著者が研究の道に入って最初に扱った動物はカエルであった。カエルは、水辺に生息し、水場から離れては生きていけない動物だと思っていたが、実際には、北極圏を除く全ての大陸に分布しており、河川や湖沼は言うまでもなく、水を容易に得ることができない樹上や砂漠にまで生息している。また、東南アジアの海岸に生息するカニクイガエルは、両生類で唯一海水環境に適応できることが知られており、このような多様な環境への適応に体液の浸透圧調節は非常に重要な仕組みである。この浸透圧調節機構を担う内分泌因子の1つが本稿で紹介するバソプレシン (VP)／バソトシン (VT) である。

2. バソプレシン／バソトシンによる水保持機構

VP/VTは、9つのアミノ酸からなるペプチドホルモンで、哺乳類ではVPが、非哺乳類ではVTが作用している^{1,12)}。脳視床下部の神経細胞で産生されたVP/VTは、軸索輸送により下垂体後葉 (神経葉) へと運ばれて貯留され、浸透圧変化の刺激に応答して血中へと放出され末梢器官に作用する。最近では、社会行動²⁾、記憶や学習³⁾といった中枢作用もクローズアップされているが、本稿ではVP/VTの作用として最も有名な「抗利尿作用」についてフォーカスをあてる。

我々の体の約3分の2は水でできており、体重の10%の水を失うと死に至る。病気や過度の運動によって水分が失われると、体液浸透圧が上昇し、その刺激は脳の視床下部へと伝わり、下垂体後葉からVP/VTが血中へと放出される。そして、腎臓に発現しているV2受容体を介して水チャネル (AQP2) の発現を誘起し、糸球体で濾し出された原尿のうち99%の水を体内へと再吸収することで水の保持に働いている (図1)。この作用こそが、VP/VTが「抗利尿ホルモン」と呼ばれる所以である⁸⁾。このVP/VT-V2受容体-AQP2系の破綻は、尿崩症という深刻な病気を引き起こし¹⁰⁾、尿を濃縮できずに水を失ってしまうことから、この仕組みの重要性は言うまでもない。つまり、我々は体内の水を効率よく保持する仕組みを持つことで、陸上という水から離れた環境にも生息し繁栄できたのではないだろうか。

* Norifumi KONNO, 富山大学大学院理工学研究部生体制御学講座 (〒930-8555 富山県富山市五福3190)

Received 17 February 2014, Accepted 27 March 2014

図1 四肢動物のV2受容体を介した水保持機構 脱水刺激によって脳下垂体から放出されたバソプレシン(VP)は、腎臓に発現するV2受容体を介して尿細管腔側膜上のAQP2発現を増加させ、尿からの水の再吸収を促進する。

3. 抗利尿作用の起源：肺魚での探索

脊椎動物の進化の中で、魚類から両生類(四肢動物)への進化、すなわち、水中から陸上への進出は、これまで水中生活を営んでいた魚類にとって劇的な環境の変化といえよう。陸上環境では常に体内水分の喪失という危険に晒されるため、前述した水保持機構の獲得が必要不可欠であったことは間違いない。実際、V2受容体やAQP2といった水保持機構を構成する分子は両生類以上の動物群で見ついている¹¹⁾。一方、魚類では、最近まで魚類のゲノム情報があまり整っていなかったこともあって、水保持機構の分子群が見つかっていないだけでなく、魚類におけるVTの作用自体も明確にはされていなかった。このため、VP/VT-V2受容体-AQP2系による水保持機構は陸上に最初に進出した両生類で獲得されたと推測されてきた¹³⁾。確かに、この仮説は疑いようもなかったが、「本当にそうなのか？」と考えさせられるきっかけが、肺魚という古代魚との出会いにあった。

硬骨動物(硬骨魚類)は主として真骨魚類が属する条鰭類と、我々、四肢動物(四肢類)を含む肉鰭類に大別されるが、肺魚はシーラカンスよりも現生の四肢動物に最も近縁な魚種として知られている(図10)。また、多くの肺魚類は通常、河川や湖沼といった淡水中で生活しているが、水が干上がる乾季になると泥の中で繭を作って夏眠(estivation)し、水の無い数ヶ月間を生き抜くことができる優れた乾燥耐性を有している(図2)。したがって、夏眠を行う肺魚類は魚類でありながら陸上動物と同様に水保持機構が備わっているのではないかと考えた。もしそうならば、魚類の水中から陸上への進出に果たしたであろう生理学的な仕組みとその起源を明らかにできると考えた。

そこで、肺魚にVP/VT-V2受容体-AQP2系による水保持機構が備わっているか否かについて調べた。研究には、夏眠の誘導が容易にできるアフリカ肺魚(*Protopterus*

図2 肺魚の夏眠(estivation) 淡水飼育した肺魚(A)と3ヶ月間夏眠させている肺魚(B)。体表から分泌された粘液で繭を作り、乾燥した土の中で数ヶ月も夏眠することができる。

annectens)を用いた。四肢動物の既知の配列情報をもとに縮重プライマーを作成してクローニングを行ったところ、肺魚の脳からVT前駆体遺伝子を、腎臓からV2受容体遺伝子と、夏眠個体の腎臓でのみ発現する水チャネル(AQP)遺伝子を同定することに成功した^{6,7)}。同定した遺伝子の分子系統解析から得られた肺魚の受容体は両生類V2受容体の枝に隣接したが、肺魚AQPはAQP2のグループには含まれず、眼に特異的に発現するAQP0のグループに含まれた。そこで、肺魚の眼からAQP0のオースログ遺伝子を単離し、再度、系統解析を行ったところ、腎臓から得たAQPはAQP0の新規なパラログ遺伝子であることが解り、これをAQP0 paralogue (AQP0p)と命名した⁷⁾。AQP0pの分子進化については後に述べる。

次に、同定した受容体遺伝子やAQP0p遺伝子が機能的な分子であるか否かを確かめるため、各遺伝子の機能解析を行った。その結果、肺魚V2受容体を強制発現させた培養細胞へのVT添加によって、細胞内cAMP(V2受容体のセカンドメッセンジャー)濃度はVT濃度依存的に上昇した。同様に、AQP0p遺伝子を導入してAQPタンパク質を発現させた*Xenopus*卵母細胞において、cAMPの添加はAQP0p分子の細胞膜上への輸送を促進し、AQP0pを介した水の透過性を増大させた。つまり、同定した両遺伝子は、機能的な分子として働き、四肢動物のV2受容体やAQP2と同じ機能的特徴を示すことが明らかとなった⁷⁾。

AQP0pが肺魚V2受容体を介して調節を受けているかを確認する為に、AQP0pの5'プロモーター領域をinverse-PCRによって単離し、cAMP応答配列(CRE)の有無を調べた。その結果、開始コドンより1.5 kbp上流にCRE配列が存在することがわかった。また、腎臓における肺魚V2受容体とAQP0pの局在を免疫染色によって調べたところ、遠位尿細管後部の管腔側細胞膜上にAQP0pの陽性シグナルが、その基底側細胞膜にV2受容体の陽性シグナルが検出され、両分子は同じネフロン分節上に共に局在していることが示された(図3)。四肢動物においても遠位尿細管後部是水再吸収の盛んな分節として知られており、肺魚での結果を支持した。

次に、これらの遺伝子が、肺魚の水生から陸生への移行に伴って生体内でどのような発現動態を示すのかを調べるため、淡水群(FW)と夏眠群(EST)における遺伝子の発現変化をリアルタイムPCRにより解析した。その結果、3ヶ月間の夏眠処理によって、体液の脱水と浸透圧の上昇が起こり、脳でのVT産生量も増加した。腎臓のV2受容体mRNA発現量に顕著な変化は見られなかったが、AQP0p

図3 夏眠した肺魚の腎臓ネフロンにおけるAQP0pとV2受容体の局在 AQP0pとV2受容体は遠位尿細管後部に共に局在し、AQP0pの尿管腔側での発現は夏眠させた時のみ観察され、淡水飼育下の肺魚の腎臓では検出されない。

mRNAおよびタンパク質発現量は著しく増加した(図4)。さらに、AQP0p mRNAの発現は、夏眠状態から水中への再適応によって24時間以内に検出されなくなった。つまり、AQP0pは肺魚の陸上適応時にのみ発現し、水の再吸収に働いていることが示唆された。

今回、我々が新たに発見したVT感受性水チャネルAQP0pは、四肢動物のAQP2と同様に腎臓での水再吸収に働くが、分子系統解析から眼に特異的に発現するAQP0のパラログ遺伝子であることが明らかとなった。シーラカンスのゲノムにも、AQP0とAQP0p遺伝子が既に存在していること、肉鰭類よりも原始的な軟骨魚類ゾウギンザメの

ゲノムデータから、軟骨魚類ではAQP0遺伝子の重複は起こっておらずパラログ遺伝子は存在しないことが示唆されているため、AQP0pは軟骨魚類から肉鰭類に至る進化の過程で生じたと考えられる⁷⁾。また、静岡大学の鈴木と田中による最近の研究¹⁴⁾で、四肢動物のAQP2とAQP5はAQP0のパラログ遺伝子からさらなる遺伝子重複によって生じたとする仮説が提唱されており、今回、肺魚やシーラカンスで発見したAQP0pは、AQP2とAQP5の祖先遺伝子である可能性が高い(図5)。つまり、VP/VTによる抗利尿作用は肺魚類やシーラカンスの先祖に起源していると推測された。

4. 硬骨魚条鰭類のV2受容体とその機能

ミドリフグやゼブラフィッシュ、メダカといったモデル魚種のゲノム解読が進むにつれて、これまで魚類での存在が疑問視されていたV2受容体の姿が垣間見えてきた。そこで、最も原始的な条鰭類の一種であるポリプテルスと真骨

図4 肺魚の淡水および夏眠下における3遺伝子の発現変化 脳のVT (A) および腎臓のAQP0p (C) の遺伝子発現は、夏眠下で高い値を示した。腎臓のV2受容体 (B) の発現は両群間で差は見られなかった。VTとAQP0p発現との間には有意な正の相関関係が存在した。統計処理はunpaired Student's *t*-test ($n = 7 \sim 8$, $** p < 0.01$), 相関はSpearman's correlation analysis.

図5 肺魚AQP0pの分子進化 肺魚AQP0pは、夏眠時に腎臓に発現して水再吸収に働き、淡水および夏眠時には肺にも発現しており、粘膜の保湿に働いている可能性がある。四肢動物では、この2つの機能がAQP2とAQP5へと機能分化しており、この点からもAQP0pがAQP2とAQP5の祖先遺伝子である可能性が示唆される。

魚のメダカを対象にしてV2受容体を探索したところ、肺魚V2受容体と相同性の高い受容体遺伝子を同定することができた⁵⁾。ポリプテルスのV2受容体は肺魚や四肢動物のV2受容体と同程度のアミノ酸数(357残基)で構成され、構造的にも類似していたが、メダカのV2受容体はG蛋白質が結合する第3細胞内ループが150アミノ酸以上も伸長し、505アミノ酸残基であった。この第3細胞内ループの伸長はゼブラフィッシュやフグ、トゲウオなどでもみられ、真骨魚類に共通している可能性が示唆された。両種のV2受容体遺伝子を培養細胞に導入して発現させ、リガンドとの反応性を解析したところ、両種のV2受容体はともにVTと結合し、細胞内cAMP濃度の上昇も起こることが示された⁵⁾。また、VTによるcAMP濃度の上昇はV2受容体のアンタゴニストであるOPC-31260(大塚製薬より提供)の共添加によって阻害されたため、これらの受容体は紛れもなくV2受容体のオースログであることが確かめられた⁵⁾。

次に、我々はメダカV2受容体に特異的な抗体を作成し、腎臓で免疫染色を行った。その結果、肺魚での結果と同様に、遠位尿細管と集合管の基底側細胞膜に強い免疫陽性反応が観察された(図6)。しかし、ここで問題に思ったことは、淡水魚のメダカの腎臓でV2受容体がどのような役割を担っているのか、ということである。なぜなら、淡水魚は

四肢動物のように積極的な水の再吸収は必要なく、また水再吸収に働く肺魚AQP0pやAQP2といった遺伝子は真骨魚類に存在しないことがゲノム情報から解っているため、メダカ腎臓でのV2受容体の機能は水輸送以外にあると考えられたからである。そこで、注目した分子がサイアザイド感受性Na⁺-Cl⁻共輸送体(NCC)である。NCCは、四肢動物において腎臓の遠位尿細管に特異的に発現し、原尿からのNaCl再吸収に働く輸送体として知られている。そこで、メダカNCCを同定し、組織発現分布を調べたところ、メダカNCCは腸と腎臓に特異的に発現しており、さらにメダカNCC遺伝子の5'上流プロモーター領域には四肢動物AQP2や肺魚AQP0pと同じくCREが存在していることが明らかとなった。そこで、メダカを淡水から海水へと移行させた際のVT、V2受容体、NCC遺伝子の発現変化について解析した(図7)。その結果、これらの遺伝子の発現量は淡水環境下で高く、海水環境への移行に伴って著しく減少した。反対に、海水から淡水への移行によって、これら3つの遺伝子発現量は有意に増加した。さらに、腎臓集合管における管腔膜上のNCCタンパク質発現を蛍光免疫染色によって可視化し、その蛍光シグナル強度を淡水飼育下の個体と海水飼育下の個体と比較した。その結果、管腔膜上のNCC発現は淡水飼育個体で高いが、海水飼育個体では著しく低下

図6 メダカの腎臓におけるV2受容体とNCCの局在 メダカの腎臓ネフロンは糸球体(G)、近位尿細管(PT-I, PT-II)、遠位尿細管(DT)の前部(ED)と後部(LD)、集合管(CT)からなり、V2受容体はLDとCTにおいてNCCと共局在した。メダカではV2受容体はAQP(水輸送)ではなく、NCCとリンクしてNaClの再吸収に関与していると考えられる。

図7 メダカの海水順化および淡水順化における3遺伝子の発現変化 脳のVT(A)および腎臓のV2受容体(B)とNCC(C)の発現は、海水環境下で低く、淡水環境下で高い値を示した。統計処理はOne-way ANOVA (n = 7~8, $p < 0.05$)。異なるアルファベット間で統計学的に有意な差が存在する。

図8 メダカの海水順化における腎臓集合管でのNCCタンパク質発現の局在変化 淡水(A), 50%海水(B), 100%海水(C) 下での集合管管腔側から基底側への直線上におけるNCCタンパク質発現を解析した。管腔側および細胞質でのNCCタンパク質発現強度は淡水から海水への移行に伴って減少した(D)。統計処理はOne-way ANOVA (n = 5, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)。

していることが示された(図8)。したがって、腎臓のNCCは淡水環境下でNaClの再吸収に働いていることが示唆された。

次に、NCCの発現がVTとV2受容体による制御を受けているか否かを検証するため、等張環境(300 mOsmol)で飼育したメダカの腹腔にVT (1 pmol/g body weight)あるいはV2受容体の特異的アンタゴニストであるOPC-31260 (100 pmol/g body weight)を投与し、腎臓におけるNCC mRNAの発現変化をリアルタイムPCR法により解析した。その結果、VT投与はNCC遺伝子の発現を有意に増加させたが、VTとOPC-31260の同時投与はVT投与によるNCC発現の増加作用を減弱させた(図9)。この結果は、NCC発現がVT-V2受容体系によって制御されていることを示唆している。

以上の結果から、真骨魚メダカの腎臓において、VTは

図9 腎臓のNCC発現に及ぼすVTとV2受容体アンタゴニストの影響 メダカへのVTの腹腔内投与は腎臓でのNCC遺伝子の発現量を増加させ、その作用はV2受容体アンタゴニスト(OPC-31260)の同時投与によって抑制された。統計処理はTwo-way ANOVA (n = 5, $p < 0.05$)。異なるアルファベット間で統計学的に有意な差が存在する。

V2受容体を介してNCCの発現を制御し、NaClの再吸収に作用していることが示唆された。淡水魚にとって、塩類の保持は体液浸透圧を維持する上で必要不可欠であることから、VTがNaCl再吸収に作用するという結果は理に適っていると言えよう。

5. バソプレシン/バソトシンの異なる浸透圧調節作用

一連の研究によって、ヒトを含め陸上動物へとつながる肉鰭類では、VP/VTはV2受容体とAQP2 (AQP0p)を通して水の保持(抗利尿)に働き、一方、条鰭類のメダカでは腎臓において塩類の再吸収に働くことが明らかとなっていった。しかし、最近の研究で、哺乳類の腎臓においても、VPがNCCの機能調節に作用することが報告され、VP/VTは条鰭類と肉鰭類に共通して Na^+ の輸送調節に作用していることが明らかとなった。また、条鰭類だけでなく軟骨魚類のゲノムにもAQP2やAQP0pといった遺伝子が存在していない一方で、NCCは軟骨魚類の腎臓にも存在して Na^+ 吸収に働いていることから、VP/VTのV2受容体を介した浸透圧調節作用は、おそらく、 Na^+ 保持が本質的な作用であり、我々が良く知る「抗利尿作用」は肉鰭類の進化の過程で獲得したVT調節性AQP0pによって生じた作用ではないかと推察している(図10)。

条鰭類の中でも、メダカなどの広塩性淡水魚と、ヒラメやタイといった広塩性海水魚では、浸透圧変化に対するバソトシンの応答が異なるという報告がある。前述したように、魚類の体液浸透圧が海水の3分の1であることを考えると、海水環境は陸上と同様に脱水が起こる過酷な環境と言える。最近、ヨーロッパヘダイ(*Sparus aurata*)を塩分濃度が高い環境下に晒すと、腎臓でのV2受容体の発現が増加することが報告された⁹⁾。また、ヒラメへの高浸透圧負荷は脳内VT mRNA発現レベルを増加させること¹⁵⁾が報告されている。一方、メダカへの海水負荷はVT-V2受容体系を低下させた。メダカと同様の結果はニジマス⁴⁾でも観察されており、この高浸透圧負荷に対する相反する結果はおそらく生息環境と密接に関係していると考えられる。ヨーロッパヘダイやヒラメは基本的に海水魚であり、メダカやニジマスは高い海水適応能力を有しているが淡水に生

図10 V2受容体を介したバソプレシン/バソトシンの浸透圧調節作用 AQP0p/AQP2を介した抗利尿作用は肺魚やシーラカンスの祖先において獲得され、陸上への進出に寄与したと考えられる。V2受容体を介した浸透圧調節作用の本質はおそらくNCCを介したNa⁺再吸収作用であり、条鰭類と肉鰭類が分岐する前に存在した可能性が考えられる。

息している。この異なる作用がどのようなメカニズムで生じているかは解らないが、そのヒントは彼らが生まれ育った環境の違いにあるのかもしれない。

6. むすび

このように、VP/VTによる抗利尿作用の起源を探る研究は、これまで魚類での存在が疑問視されていたV2受容体の発見によって、魚類での新たなホルモン機能と環境適応における役割を明らかにすることへとつながった。そして、最近、我々は、軟骨魚類のゾウギンザメやメダカ、ツメガエルなどで、新規のV2受容体 (V2b 受容体) を発見した¹⁶⁾。分子系統解析から、この受容体は既知のV2受容体 (V2a 受容体と改名) のグループに含まれたが、そのシグナル伝達系を調べると、既知のV2受容体が全てセカンドメッセンジャーとしてcAMPを産生するのに対して、新規受容体はcAMPではなくV1受容体の特徴であるCa²⁺をセカンドメッセンジャーとすることが明らかとなった。現在、この特徴をもった分子群は軟骨魚類から鳥類までで確認されており、原始的な哺乳類である有袋類のオポッサムでは偽遺伝子化していることも明らかとなっている。一方で、既知のV2a 受容体は軟骨魚類のゲノムに見出されず、軟骨魚類以降に出現したと考えられる。つまり、条鰭類と肉鰭類の肺魚、両生類、爬虫類、鳥類は2種類のV2受容体を有しており、さらに新規V2b 受容体は既知のV2a 受容体よりも以前に出現していることが推測された。しかしながら、発見されて間もないこともあり、V2b 受容体の機能はほとんど解っていない。また、なぜ哺乳類では偽遺伝子化してその機能を失ってしまったのかなど、V2b 受容体の役割は未だ謎に満ちている。今後、この2つのV2受容体が脊椎動物の

進化の中で、いつ誕生し、どのような機能を有しているのか解き明かされることで、VP/VTの新たな機能と、それが脊椎動物の進化に果たした役割が明らかになってくるだろう。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、東京大学大気海洋研究所の兵藤晋先生、国立循環器病研究センター研究所の海谷啓之博士、富山大学大学院理工学研究部の内山実先生らとの共同研究として行ったものです。ここに深く感謝申し上げます。また、このような寄稿の機会を与えて頂きました関係者の方々に感謝いたします。

文 献

- 1) Du Vigneaud, V., Gish, D.T. & Katsoyannis, P.G.: J. Am. Chem. Soc., 76, 4751-4752 (1954)
- 2) Ferris, C.F., Albers, H.E., Wesolowski, S.M., Goldman, B.D. & Luman, S.E.: Science, 224, 521-3 (1984)
- 3) Gülpinar, M.A. & Yegen, B.C.: Curr. Protein Pept. Sci., 5, 457-473 (2004)
- 4) Hyodo, S. & Urano, A.: J. Comp. Physiol., 161, 549-556 (1991)
- 5) Konno, N., Kurosawa, M., Kaiya, H., Miyazato, M., Matsuda, K. & Uchiyama, M.: Peptides, 31, 1273-1279 (2010)
- 6) Konno, N., Hyodo, S., Yamaguchi, Y., Kaiya, H., Miyazato, M., Matsuda, K. & Uchiyama, M.: J. Exp. Biol., 212, 2183-2193 (2009)
- 7) Konno, N., Hyodo, S., Yamaguchi, Y., Matsuda, K. &

- Uchiyama, M.: *Endocrinology*, 151, 1089-1096 (2010)
- 8) Lolait, S.J., O'Carroll, A.M., McBride, O.W., König, M., Morel, A. & Brownstein, M.J.: *Nature*, 357, 336-339 (1992)
 - 9) Martos-Sitcha, J.A., Fuentes, J., Mancera, J.M. & Martínez-Rodríguez, G.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, 197C, 5-17 (2014)
 - 10) Morello, J.P. & Bichet, D.G.: *Annu. Rev. Physiol.*, 63, 607-630 (2001)
 - 11) Nishimura, H. & Fan, Z.: *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 136, 479-498 (2003)
 - 12) Oliver, G. & Schafer, E.A.: *J. Physiol.*, 18, 277-279 (1895)
 - 13) Pang, P.K.: *J. Exp. Biol.*, 106, 549-556 (1983)
 - 14) Suzuki, M. & Tanaka, S.: *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 153, 231-241 (2009)
 - 15) Warne, J.M., Bond, H., Weybourne, E., Sahajpal, V., Lu, W. & Balment, R.J.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, 144, 240-247 (2005)
 - 16) Yamaguchi, Y., Kaiya, H., Konno, N., Iwata, E., Miyazato, M., Uchiyama, M., Bell, J.D., Toop, T., Donald, J.A., Brenner, S., Venkatesh, B. & Hyodo, S.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, 178, 519-528 (2012)

Abstract

How did bony fish adapt from water to land and from seawater to freshwater?

Norifumi KONNO

University of Toyama, 3190 Gofuku, Toyama-shi, Toyama 930-8555, Japan

The vasopressin/vasotocin-V2-type receptor-aquaporin 2 (VP/VT-V2R-AQP2) axis plays a pivotal role in renal water reabsorption in tetrapods. It is widely thought that this axis evolved with the emergence of the tetrapods, reflecting a requirement of water retention in terrestrial environment. Here we report that lungfish, the closest living relatives of tetrapods, already possess a system similar to the VT-V2R-AQP2 axis in the kidney, but the system is functional only in the terrestrial estivating condition. In the research process, we discovered a novel AQP from the kidney of estivating lungfish. Characterization of the lungfish AQP showed that the AQP is a paralogous gene of AQP0 which is proposed as the ancestral gene of tetrapod AQP2 and AQP5. Furthermore, we identified a functional V2R in medaka and bichir, but the physiological role of fish V2R still remains to be clarified. In the present study, we showed that VT appears to act on NaCl retention via the VT-V2R-NCC axis in FW teleosts. This mechanism probably plays a key role in the maintenance of body fluid homeostasis in a FW environment. The evolution of VT functions from teleosts to tetrapods is of great interest from the perspective of phylogenetic evolution and the habitat expansion of tetrapods to terrestrial environments.

Keywords: vasotocin, aquaporin, kidney, lungfish, Na⁺-Cl⁻ cotransporter (NCC)