

## 進化における両生類の陸生適応と腎臓の多様性

吉澤 英樹

松本歯科大学 生物学

Terrestrial adaptation and diversity of the kidney functions in the evolution of amphibia

HIDEKI YOSHIZAWA

*Department of Biology, Matsumoto Dental University School of Dentistry*

### Summary

The amphibia bridge the phyletic gap between the aquatic fishes and the terrestrial vertebrates. This transition has involved many interesting changes of metabolism. In this short review, we have attempted to summarize the kidney structure and functions of osmoregulation in the amphibia. Amphibians excrete the water absorbed through their skin as a dilute urine. The pronephros of tadpoles may start to work in the hatching stages, and the metanephros of tadpoles is well developed and functioning. The glomerular filtration rate is relatively large and glomerular intermittency is important for regulating urine production. The proximal tubule reabsorbs approximately 20–45% of filtered water and sodium. Absorption is driven by the basolateral  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase common to all tubular cells. The diluting segment, an early part of the distal nephron, highly develops basolateral interdigitation and reabsorbs approximately 40% of filtered  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , and  $\text{Cl}^-$ , but is impermeable to water; thus, this part results in the formation of hypo-osmotic tubular fluid. In the late distal tubule, the primary mechanism of reabsorption may be via a luminal  $\text{NaCl}$  synporter, driven by the ubiquitous  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase on the basolateral membrane. In collecting tubules, there are two types of cells, the principal cells and the intercalated cells. Many hormonal and nervous regulations are involved in the glomerular filtration rate and reabsorptions in the amphibian nephrons.

両生類は、最初に陸上で生息することが可能になった脊椎動物であり、典型的な陸生動物である爬虫類へ移行する過程で重要な位置を占めている。なかでもカエル類は脊椎動物門、両生類綱、無尾目に属し、24科339属4382種に分類され、両生類中で最大の群であり、南極大陸を除く全ての

大陸に分布し多様な環境に適応している。多くの種は半陸生あるいは半水生であるが、完全な水生種、産卵時のみ水に入る陸生種、砂漠に生息する種、汽水域や樹上に生息する種など幅広い適応性を示す。このように水環境への依存度は種によって大きく異なるが、幼生時には水から離れて

生存することはできない。

この総説では、両生類が脊椎動物が進化の過程で水中から陸上へ生息の場を拡大してきた際のモデル動物として位置付け、主に水・電解質調節機構について述べる。また無尾両性類の水・電解質代謝に関与する器官は、皮膚、腎臓、膀胱、消化管および幼生期の鰓であるが、ここでは主に腎臓の形態学および生理学的な研究について解説し、その他の器官に関しては簡単に触れるにとどめる。

### 1. 脊椎動物の進化と腎臓の役割

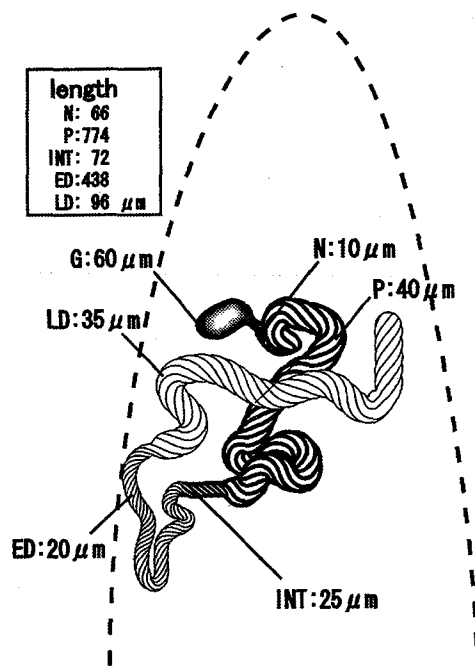
腎臓は単なる排泄器官ではなく、体液量、浸透圧、イオン組成および体内 pH などの生体内部環境維持の中心的な機能を担っている。

脊椎動物の祖先である原索動物は約 6 億年前に古生代カンブリア紀の海底の砂泥中で生活しており、海水を飲み組織を直接海水に浸して体内の不溶物質を単純な腎管で排泄していた<sup>1,2)</sup>。原始脊椎動物が淡水に進出したとき、体内環境は外部環境より高浸透圧になり、大量の水を排泄する器官として大型のネフロンが発達した<sup>3)</sup>。濾過された原尿には種々の有用成分が含まれており、これらの必須物質は浸透圧勾配によって水とともに近位尿細管で再吸収される。また、淡水中では余分な水分を排泄する必要性が高いため、新たにイオン吸収部位として遠位尿細管が発達した。

脊椎動物が陸上に移動すると、脱水という大きな問題が生じた。爬虫類では糸球体濾過能力が低下したが、水に不溶な尿酸として窒素代謝物を排泄することで過剰な水分排泄を抑えた。哺乳類では糸球体濾過量は高いままであったが、Henle ループが発達して体液より高張に尿濃縮を行うことで水の保持を可能にした<sup>4-6)</sup>。

### 2. 脊椎動物の腎機能の比較生理

多くの脊椎動物の腎ネフロンは、腎小体、近位尿細管、移行部、遠位尿細管から構成されており、機能的に 3 つの部位に分けられる (Fig. 1)。腎小体では、糸球体を流れる血液が限外濾過され、原尿が生成される。近位尿細管では、等張性に塩類と有機溶質を吸収する。遠位尿細管では、能動的に塩類の吸収を行い、自由水を生産する。機能的な水の再吸収は水・電解質代謝関連ホルモ



**Fig. 1 :** Graphic reconstruction of a nephron indicating the position, diameters and length of the various segments. Reconstructions of single nephrons were performed from serial longitudinal sections using a computer. The length of neck segment (N), proximal tubule (P), intermediate segment (INT), early distal tubule (ED) and late distal tubule (LD) is 66, 774, 72, 438 and 96  $\mu\text{m}$ , respectively. The diameter of glomerulus (G), N, P, INT, ED and LD is 60, 10, 40, 25, 20 and 35  $\mu\text{m}$ , respectively.

ンの影響下にあり、鰓や皮膚および消化管からの水流入と流出の均衡が保てるよう、補償的に作用している。

原始的な脊椎動物であるメクラウナギは、腎臓で  $\text{Na}^+$  再吸収ができない浸透順応型動物である。淡水生の硬骨魚になると体液調節に腎臓が関与し、 $\text{Na}^+$  再吸収により薄い尿を産生することができ、遠位尿細管が発達している。海水に適応した硬骨魚は、移行部および遠位尿細管を持たず、近位尿細管が集合管に直接開口している。腎小体を持たない無糸球体魚は、 $\text{Mg}^{2+}$  の分泌とそれに伴う水の移動が尿生成過程の主要な部分である。両生類以上の腎臓は、上記の 4 基本構造を備えており、鳥類と哺乳類では Henle ループと呼ばれ

る構造がある<sup>7)</sup>.

### 3. 両生類幼生の腎構造と機能

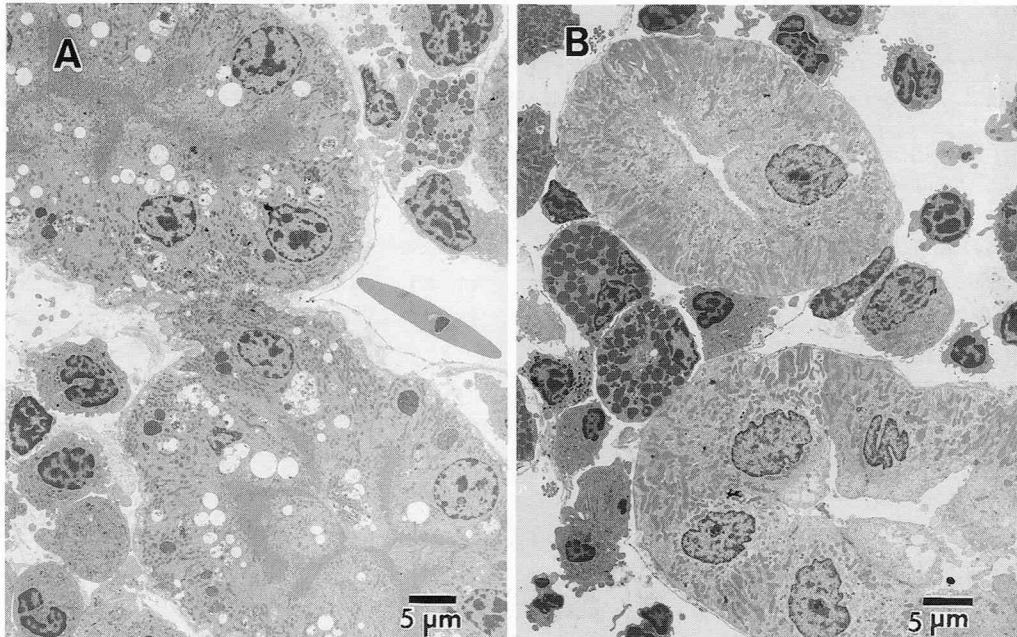
ほとんどの幼生は、変態が完了するまで水中で生活する。腎臓は体節と側板間の中胚葉性の腎節から発生し、その後、前腎と前腎管に分化する<sup>8)</sup>。前腎は体腔に開く腎口とそれに連なる線毛を持った管からなる。各管は曲集合管を経て前腎管となり、総排泄口に開口する。背部大動脈の分枝は前腎の腎口まで伸張し、そこで限外濾過が行われる。前腎による排泄機能は尾芽胚期に開始され、浸透により流入する水分を排泄し、鰓蓋形成期にタンパク質吸収が開始されると考えられている<sup>9,10)</sup>。前腎管の伸張に伴い、腎小体に始まり前腎管に注ぐ新しいタイプのネフロン形成が進み、前腎管は中腎と名前が変わる。この中腎形成は孵化した時から開始されるため、幼生は前腎と中腎の両方の器官で浸透調節を行っている。幼生後期になると前腎が退化し<sup>8,11)</sup>、中腎はさらに発達し (Fig. 2), それに伴い糸球体濾液の40-80%が再吸収されるようになる<sup>12,13)</sup>。排泄尿は体液に比べて低張であり、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ イオンの吸収率は

90%にも達する<sup>14,15)</sup>。ただしカニクイガエル幼生は、汽水域に生息しているため新たな生理機構を有している<sup>16,17)</sup>。

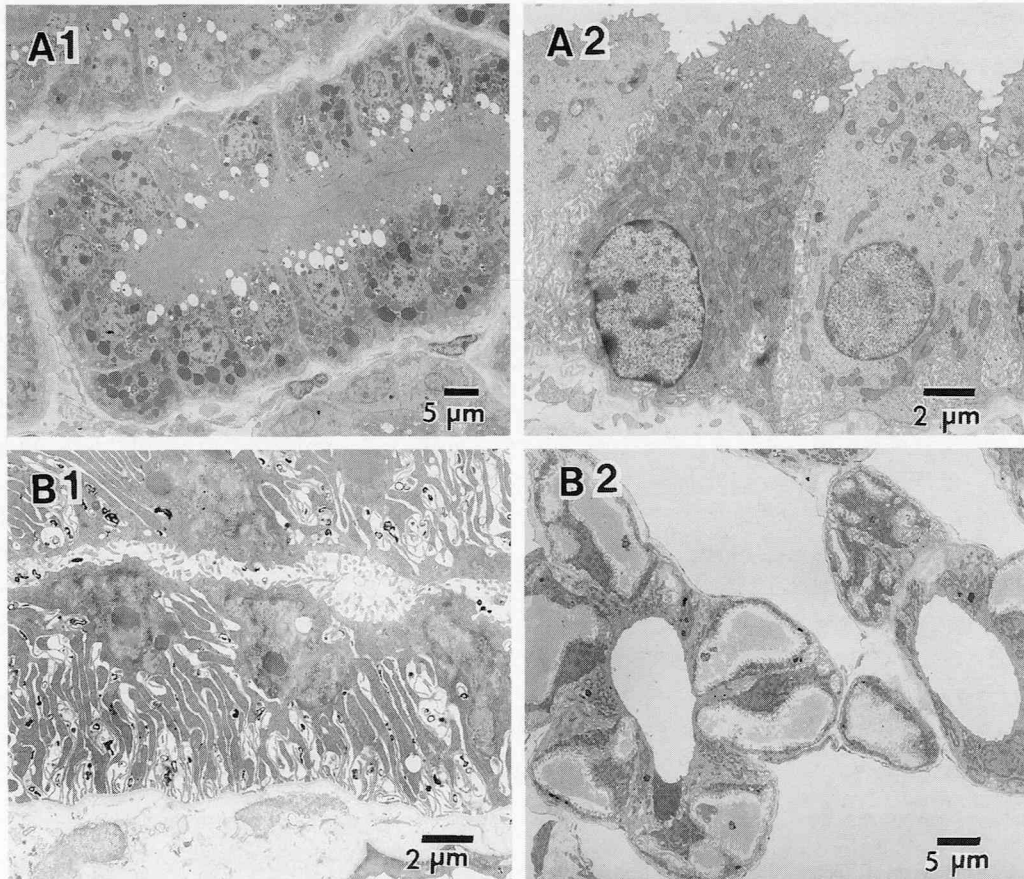
### 4. 両生類成体の腎構造と機能

成体の腎臓は中腎であり、体腔の後背側に1対存在し、その形は体形に依存している。無足類は蛇のような体形をしており、腎臓は細長く体腔の端から端までを占める。有尾類は厚みのある体形に似合った直方体形の腎臓であり、無尾類は短躯なためよりコンパクトな腎臓をしている。腎臓の内部構造は、腹内側の中央層と背外側の周囲層の2層からなる。腎小体はこの2層間にあり、中央層には遠位尿細管が、周囲層には近位尿細管およびそれ以外の尿細管が存在する。ネフロンは、腎小体、頸節、近位尿細管、中間節、遠位尿細管起始部、遠位尿細管末部および集合管の7部位に分けることができる。またこれらのネフロン各部は集合管とは直角に走行している (Fig. 1)。

多様な環境に生息する尾無両生類は、腎臓構造、イオンポンプの分布状態や機能にも生息環境を反映して種差が見られる (Fig. 3, 4)。陸生や



**Fig.2** : Electron micrographs of the kidney of *Rana catesbeiana* tadpole (T-K stage IV). A : Proximal tubules with a brush border are consist of tall columnar cells. B : Distal tubule is consist of cuboidal cells with elongated interdigitating processes of basal cytoplasm and long mitochondria. Dark cytoplasmic cell can be seen.



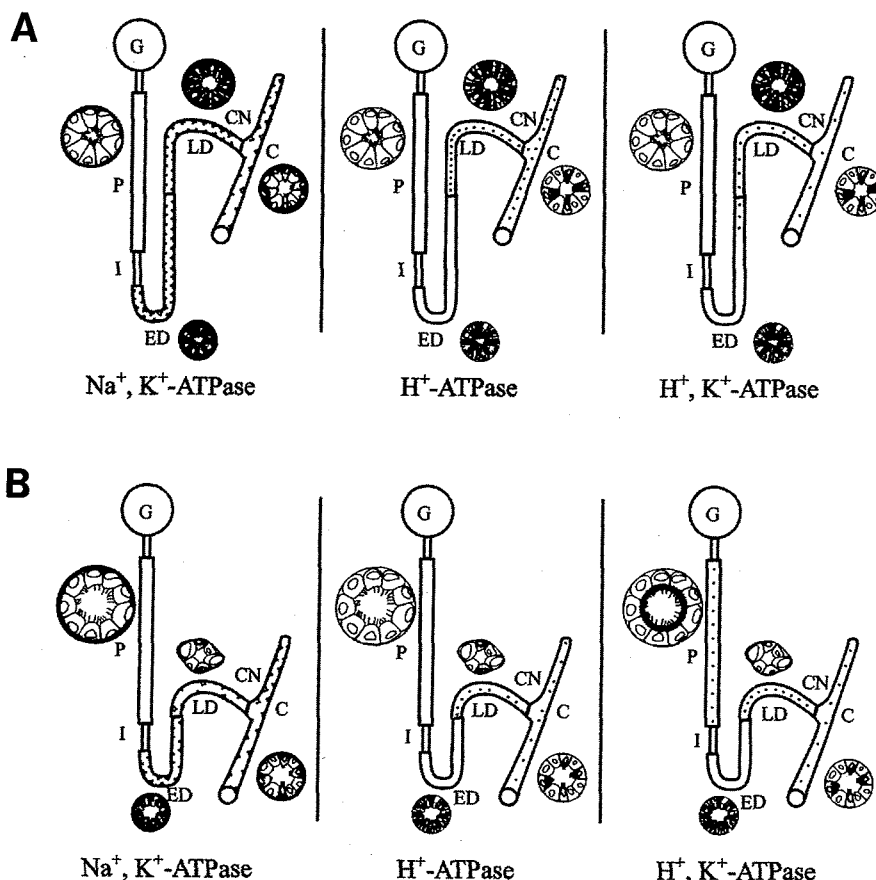
**Fig.3** : Electron micrographs of the kidney cells in two anuran species, *Bufo japonicus formosus* (A) and *Xenopus laevis* (B). A 1 : Proximal tubule. A 2 : Connecting tubule cells, the intercalated dark cell with abundant mitochondria and the principal cells with a pale cytoplasm. B 1 : Early distal tubule. B 2 : Connecting tubule cells with vacuolated and/or canaliculi cytoplasm.

砂漠の *Bufo* 属では、遠位尿細管を構成する細胞の側基底部の陥入が著しく、近位尿細管と集合管の細胞高がほぼ等しいという特徴がある。一方、半水棲の *Rana* 属では、遠位尿細管および近位尿細管とも体の大きさに比較して、比較的小型の細胞で構成されている。水生のアフリカツメガエルは大形の腎小体を持ち、細胞高の高い近位尿細管と著しく低い遠位尿細管起始部とそれよりもやや高い遠位尿細管末部からなる。加えて、集合管起始では細胞内細管を持つ細胞から構成されているのが大きな特徴である<sup>16)</sup>。耐塩性を持つカニクイガエルでは、集合管はアフリカツメガエルと異なり、分枝した小溝のある介在細胞が主細胞間に挟まれて存在するという特徴が見られる<sup>17)</sup>。Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>-ATPase は、全種の近位尿細管細胞基底膜、

遠位尿細管細胞基底陥入部および集合管細胞基底膜において免疫陽性を示した<sup>16,18)</sup>。ただし、遠位尿細管の基底陥入構造に違いがあるため、本酵素の分布密度には種差がある (Fig. 4)。

両生類は比較的大形の糸球体を持つが、糸球体濾過圧が低いため、濾過量は水分の供給状態を反映して大きく変動する<sup>19)</sup>。単一糸球体濾過量は他の下等脊椎動物に比べて大きな値を示し、過剰な水を排泄するには有効である。また糸球体濾過を行わない休止ネフロンの存在も、体内水分量の調節に重要な役割を果たしている。

近位尿細管は、細管内を流れる原尿から必要な物質を再吸収して体液に戻し、不要な代謝産物などを排泄している。体液量や浸透圧調節には関与せず、細管内は体液と等張である。細胞間隙は



**Fig.4**: Diagrammatic representations of nephrons and localization of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase,  $\text{H}^+$ -ATPase and  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, along the nephron of anuran amphibians. A: Schematic nephrons of *Bufo japonicus formosus*. B: Schematic nephrons of *Xenopus laevis*.

$\text{Na}^+$ に対する透過性が高く管内の  $\text{Na}^+$ 濃度が低下することはない。

中間節の細胞は長い線毛を備えており、腎小体に続く頸節と同様に管内液に流れを作り、濾過圧の低さを補っていると思われる。

遠位尿細管起始部は、深い基底陥入を持つ。集合管は、明調な細胞質を持つ主細胞とその間に散在する暗調でミトコンドリアを豊富に持つ介在細胞から構成されている (Fig. 3)。

#### 5. 無機イオン輸送

哺乳類や鳥類は99%以上の無機イオンを再吸収するが、両生類は濾過された  $\text{Na}^+$ と  $\text{Cl}^-$ の35-97%を再吸収することしかできない<sup>7)</sup>。また、哺乳類は濾過量の60-80%を近位尿細管で、25-35%

を遠位尿細管で再吸収するが、両生類は20-45%を近位尿細管で、50-70%を遠位尿細管で再吸収する。両生類の遠位尿細管起始部は、哺乳類のHenleループの上行脚に相当しており、管腔側膜に  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ - $2\text{Cl}^-$ の共輸送体が存在し、基底膜側には  $\text{Na}^+$ ポンプが存在する。また、この部は水に対する透過性が低く、希釈部とも呼ばれている。遠位尿細管は管腔側にアミロライド感受性の  $\text{Na}^+$ チャネルがあり、基底膜側には  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaseに依存する輸送系が存在する<sup>20)</sup>。また、管腔側と基底膜側に  $\text{K}^+$ チャネルが存在する可能性がある。遠位尿細管後部と集合管に見られる主細胞には、 $\text{Na}^+$ - $\text{Cl}^-$ の共輸送系が管腔側膜に存在し、基底膜側には  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase輸送系がある (Fig. 4)。介在細胞は  $\text{Na}^+$ ポンプをほとん

ど有しておらず、 $H^+$ 分泌と  $HCO_3^-$ 分泌および  $K^+$ の再吸収に関与していると考えられている<sup>7)</sup>。ただし、単独の  $K^+$ ポンプによるのか、 $H^+$ 分泌と共役した  $H^+-K^+$ ポンプなのかは不明である。

#### 6. 無機イオンの輸送を調節する因子

無機イオンの輸送については、両生類を含め下等脊椎動物で十分解明されたとは言いが、内分泌や神経系による調節があることは明らかである。無尾類ではアルドステロンは膀胱膜での  $Na^+$ 輸送に重要であり<sup>19,20)</sup>、遠位尿細管前部で  $H^+-Na^+$ 交換に関与する可能性がある<sup>23)</sup>。アルギニンバソトシンは抗利尿ホルモン作用を有し、糸球体濾過量の低下と遠位尿細管での  $Na^+$ 再吸収、集合管での水の再吸収に働くと考えられている<sup>24)</sup>。メソトシンは、体液量や体液  $Na^+$ 量の増加に反応して、糸球体濾過量の増加と尿細管での  $Na^+$ 吸収を抑制して利尿反応を生じさせる<sup>25)</sup>。アンギオテンシンは、腹皮で水吸収を調節する<sup>26)</sup>ことに加え、糸球体濾過量を低下させ水と  $Na^+$ 再吸収促進作用を有しており、体液量維持に働いている<sup>27)</sup>。プロラクチンは、近位尿細管細胞にその受容体の存在が示唆されているが<sup>28,29)</sup>、生理学的証明はなされていない。Na利尿ホルモンは糸球体に受容体を有しており、糸球体濾過量を増加させると考えられている<sup>30-32)</sup>。アドレナリン作動性神経は、 $Na^+$ 再吸収を促進する可能性がある。

#### 7. 窒素代謝

脊椎動物の窒素代謝の最終産物はアンモニア、尿酸そして尿素であり、多くの動物は3種類のいずれか1つというより、複数の最終産物を排泄する。

水生下等脊椎動物のほとんどの種は、アンモニアとして排泄する。アンモニアは水によく溶け、拡散性があるので、鰓から周囲の水に排泄される。またこのアンモニアの排泄は、体内の酸塩基平衡にも重要である。

多くの鳥類や爬虫類は、尿酸として排泄し、陸生や半水生の無尾両生類の一部も同様に尿酸を排泄することが知られている<sup>33)</sup>。尿酸の溶解性は非常に低いので、体内の水分を喪失することなく結晶として排泄することができる利点がある。

尿素は全哺乳類、水生魚類、有尾両生類および

多くの無尾両生類の窒素代謝最終産物である。尿素は水に溶けやすく、体内の細胞内外液によく分散し、浸透圧調節機能を有する。尿素を利用して血漿浸透圧を高浸透性に維持することは、海水適応や陸生を可能にした大きな要因となっている。面白いことに、現生軟骨魚や一部の硬骨魚では、オルニチン回路に必要な全酵素が肝臓にあり、Gulf toadfish は脱水や pH 変化などの様々なストレス下において、通常のアンモニアから速やかに尿素へと排泄様式を変える<sup>34)</sup>。

無尾類の幼生は、魚類と同様アンモニア排泄を行い、変態後には尿素排泄を行うようになる。成体は、いずれの種類も水透過性の良い皮膚をしているので、水から陸へあるいは陸から水へ移動する際に水の輸送が逆方向になる。両生類は腎臓の濃縮能力に限界があるため、電解質や窒素老廃物を排泄するのに多くの水を必要とするにもかかわらず、多くの両生類が脱水、窒素老廃物や電解質の蓄積に対して高い抵抗性を有することは、彼らが広範囲に生息環境を広げることのできた要因の一つである。数種の両生類は砂漠や汽水域などの体液変動を受けやすい環境下で、尿素を体内に蓄積し体液浸透圧を高調に保つことで脱水から免れるという報告がある<sup>17,35-37)</sup>。加えて、この尿素は肝臓の尿素回路の酵素活性上昇によってもたらされることも示されている<sup>38,39)</sup>。無尾類の幼生は、尿素合成と蓄積能力が低いため、成体に比べて耐塩性が低い<sup>36)</sup>。しかし、海水に順応できる唯一の種であるカニクイガエル幼生は、海水を飲み、鰓から塩を排泄することで体液浸透圧を低調に保っていると考えられる<sup>40,41)</sup>。

#### 8. 腹皮と膀胱

無尾両生類の水代謝を考えると、腹皮と膀胱からの無機イオンと水分吸収は非常に重要であるため、水と電化質代謝に関して多くの研究がなされた<sup>42-46)</sup>。両生類成体の多くは発達した膀胱を持ち、陸生種は水生種に比べてより多く蓄尿できる<sup>47)</sup>。脱水状態になると、膀胱に蓄えた希薄尿を吸収する<sup>35)</sup>。両生類の膀胱は、他の脊椎動物が排尿前の尿を一時的に蓄える嚢であるのに対して、総排泄腔の前壁が膨らんで形成された水分と無機イオンを吸収することのできる重要な器官である。一方、両生類幼生は水生であるため、膀胱は

小さく水分保持に機能している可能性は少ない。

### おわりに

両生類は、空中や海洋を除いて様々な環境に生息している。ここでは、私たちが取り組んでいる腎臓の構造と機能を中心に、カエル類の巧みな環境適応戦略の一端を紹介した。本総説で、両生類に対する興味を多少なりとも持っていただければ幸いである。

本総説を書くにあたり、多くの助言をいただいた富山大学理学部生物学科生体制御学講座の内山実教授に感謝いたします。

### 文 献

- 1) Smith HW (1951) The kidney, Oxford Univ. Press, New York.
- 2) Smith HW (1953) From fish to philosopher, CIBA Pharmaceutical Products, Inc, New Jersey.
- 3) Ruppert EE (1994) Evolutionary origin of the vertebrate nephron. *Amer Zool* **34** : 542-53.
- 4) Marshall EK Jr and Smith HW (1930) The glomerular development of vertebrate kidney in relation to habitat. *Biol Bull* **59** : 135-53.
- 5) Schmidt-Nielsen B (1979) Urinary concentrating processes in vertebrates. *Yale J Biol Med* **52** : 545-61.
- 6) Natchin YV (1996) Evolutionary aspects of renal function. *Kidney Int* **49** : 1539-42.
- 7) Dantzer WH (1989) Comparative physiology of the vertebrate kidney. Berlin, Springer-Verlag.
- 8) Fox H (1963) The amphibian pronephrons. *Quarterly Review of Bilogy* **38** : 1-25.
- 9) Rappaport R (1955) The initiation of pronephric function in *Rana pipiens*. *J Exp Zool* **128** : 481-8.
- 10) Jaffee OC (1963) Cellular differentiation in the anuran pronephrons. *Anat Rec* **145** : 179-82.
- 11) Taylor AC and Kollros JJ (1946) Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. *Anat Rec* **94** : 7-23.
- 12) Schmidt-Nielsen B and Mackay WC (1970) Osmotic and diffusional water permeability in metamorphosing *Rana clamitans* tadpoles. *Bulletin of the Mount Desert Island Laboratory* **10** : 71-5.
- 13) Brown PS, Murphy MJ and Brown SC (1989) Effects of prolactin on water balance and kidney function in bullfrog tadpoles. *Gen Comp Endocrinol* **75** : 389-96.
- 14) Stiffler DF and Alvarado RH (1974) Renal function in response to reduced osmotic load in larval salamanders. *Am J Physiol* **226** : 1243-9.
- 15) DeRuyter and Stiffler (1986) Interrenal function in larval *Ambystoma tigrinum* : 2. Control of aldosterone secretion and electrolyte balance by ACTH. *Gen Comp Endocrinol* **62** : 298-305.
- 16) 内山 実, 松田恒平, 吉澤英樹 (2000) 無尾両生類腎臓の比較形態-水生から陸生へ-*Space Utilization Research* **16** : 67-70.
- 17) Uchiyama M, Murakami T, Yoshizawa H and Wakasugi C (1990) Structure of the kidney in the crab-eating frog, *Rana cancrivora*. *J Morphol* **204** : 147-56.
- 18) Uchiyama M and Yoshizawa H (2002) Nephron structure and immunohisto-chemical localization of ion pumps and aquaporins in the kidney of frogs inhabiting different environments. Osmoregulation and Drinking in Vatebraes. (eds by N.Hazon and G.Flik) BIOS Scientific Publishers Limited. United Kingdom.
- 19) Schmidt-Nielsen B and Forster RP (1954) The effect of dehydration and low temperature on renal function in the bullfrog. *J Cell Comp Physiol* **44** : 233-46.
- 20) Katayama M, Konno N, Kamijo M, Matsuda K, Uchiyama M, Yamashita M, Yoshizawa H and Kawahara I (2002) Habitats and kidney structure in amphibians - Immunocytochemical localization of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and H<sup>+</sup>-ATPase in the nephron-. *Space Utilization Research* **18** : 81-4.
- 21) Garty H and Edelman IS (1985) Hormonal regulation fo Na<sup>+</sup> channels in tight epithelia. In *Regulation and Development of Membrane Transport Process*. Vol.39 (ed. J.S. Graves), 105-20, New York, John Wiley.
- 22) Gnionsahe A, Claire M, Koechilin N, Bonvalet JP and Farman N (1989) Aldosterone binding sites along nephron of *Xenopus* and rabbit. *Am J Physiol* **257** : R 87-95.
- 23) Oberleithner H, Lang F, Messner G and Wang W (1984) Mechanism of hydrogen ion transport in the diluting segment of frog kidney. *Pflugers Arch* **402** : 272-80.
- 24) Uchiyama M (1994) Sites of action of arginine vasotocin in the nephron of the bullfrog kidney. *Gen Comp Endocrinol* **94** : 366-73.
- 25) Uchiyama M, Murakami T and Pang PKT (1986) Renal and vascular responses of the

- bullfrog, *Rana catesbeiana*, and the toad, *Bufo bufo japonicus*, to mesotocin. 10 th Int. Symp. Comp. Endocrinol, Abstracts, Copper Mountain, Colorado.
- 26) Hillyard SD (1999) Behavioral molecular and integrative mechanisms of amphibian osmoregulation. *J Exp Zool* **283** : 662-74.
- 27) Kloas W and Hanke W (1992) Angiotensin II binding sites in frog kidney and adrenal. *Peptides* **13** : 349-54.
- 28) White BA and Nicoll CS (1979) Prolactin receptors in *Rana catesbeiana* during development and metamorphosis. *Science* **204** : 851-3.
- 29) 内山 実, 長田悦子, 佐野祐司, 松田恒平, 吉澤英樹 (2001) ウシガエルにおいて, 体液変動は下垂体ホルモン産生に影響する. *Space Utilization Research* **17** : 80-3.
- 30) Uchiyama M, Takeuchi T and Matsuda K (1998) Effects of homologous natriuretic peptides in isolated skin of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp Biochem Physiol C* **120** : 37-42.
- 31) Uchiyama M, Takeuchi T and Matsuda K (1999) Physiological functions of homologous natriuretic peptides in the bullfrog. In *Recent Developments in Comparative Endocrinology and Neurobiology*. (eds by E. W. Roubos, S. E. Wendelaar Bonga, H. Vaudry and A. De Loof) Maastricht, Shaker Pub. B. V.
- 32) Meier SK, Toop T and Donald JA (1999) Distribution and characterization of natriuretic peptide receptors in the kidney of the toad, *Bufo marinus*. *Gen Comp Endocrinol* **115** : 244-53.
- 33) Shoemaker VH and McClanahan LL (1975) Evaporative water loss, nitrogen excretion and osmoregulation in phyllomedusine frogs. *J Comp Physiol* **100** : 331-45.
- 34) Walsh PJ (1997) Evolution and regulation of urea synthesis and ureotely in (Batrachoidid) fishes. *Annu Rev Physiol* **59** : 299-323.
- 35) Shoemaker VH and Nagy KA (1977) Osmoregulation in amphibian and reptiles. *An Rev Physiol* **39** : 449-71.
- 36) Balinsky JB (1981) Adaptation of nitrogen metabolism to hyperosmotic environment in amphibia. *J Exp Zool* **215** : 335-50.
- 37) Katz U and Gabby S (1986) Water retention and plasma rennin composition in doads (*Bufo viridis* Laur) under burrowing conditions. *J Comp Physiol* **156 B** : 735-40.
- 38) Balinsky JB, Dicker SE and Elliott AB (1972) The effect of long-term adaptation to different levels of salinity on urea synthesis and tissue amino acid concentrations in *Rana cancrivora*. *Comp Biochem Physiol* **43 B** : 71-82.
- 39) Lee AR, Silove M, Katz U and Balinsky JB (1982) Urea cycle enzymes and glutamate dehydrogenase in *Xenopus laevis* and *Bufo viridis* adapted to high salinity. *J Exp Zool* **221** : 169-72.
- 40) Gordon M and Tucker VA (1965) Osmotic regulation in the tadpoles of the crab-eating frog (*Rana cancrivora*). *J Exp Biol* **42** : 437-45.
- 41) Uchiyama M and Yoshizawa H (1992) Salinity tolerance and structure of external and internal gills in tadpoles of the crab-eating frog, *Rana cancrivora*. *Cell Tissue Res* **267** : 35-44.
- 42) Kirshner LB (1983) Sodium chloride absorption across the body surface, frog skins and other epithelia. *Am J Physiol* **244** : R 429-43.
- 43) Van Driessche W and Zeiske W (1985) Ionic channels in epithelial cell membranes. *Physiol Rev* **65** : 833-903.
- 44) Harvey BJ (1992) Energization of sodium absorption by the H<sup>+</sup>-ATPase pump in mitochondria-rich cell of frog skin. *J Exp Biol* **172** : 289-309.
- 45) Ehrenfeld J and Klein U (1997) The key role of the H<sup>+</sup>V-ATPase in acid-base balance and Na<sup>+</sup> transport processes in frog skin. *J Exp Biol* **200** : 247-56.
- 46) Harvey WR and Wiczorek H (1997) Animal plasma membrane energization by chemiosmotic HV-ATPase. *J Exp Biol* **200** : 203-16.
- 47) Bentley PJ (1971) *Endocrines and osmoregulation: A comparative account of the regulation of salt and water in vertebrates*. New York, Springer-Verlag.