

## 極端な減塩食による心臓(pro)renin 受容体系亢進を介する 心臓障害のメカニズム解明

湊口 信也, 岡本 千尋, 小牧 久晃, 山田 好久, 早川 由香

岐阜大学医学系研究科循環呼吸病態学講座

**概要【はじめに】** 日本人の食事摂取基準(2015年版)の成人における食塩摂取の目標量は、男性 8.0 g, 女性 7.0 g であり、高血圧治療ガイドライン 2014 にも高血圧を予防するためには国民全体のさらなる減塩の推進が必要であると記されている。一方で、食塩の推定平均必要量は 1.5 g と示すように、全く食塩を摂取しない状態では身体に悪影響を及ぼす可能性がある。そこで、本研究ではラットを用いて無塩食摂取が生体に及ぼす影響を血行動態、心機能、分子生物学的手法、病理学的所見から検討する。

**【方法】** WKY-normal salt (NS) 群, WKY-excessively low salt (ELS) 群, SHR-NS 群, SHR-ELS 群の 4 群に分け、定期的に体重、収縮期血圧、心拍数、心エコーを実施し、腹部後大静脈より静脈血を、また心臓・肺・腎臓の組織を採取した。その後、ウエスタンブロッティングを施行し心臓組織における renin-angiotensin-aldosterone 系, prorenin-(pro)renin 受容体系のシグナル伝達のタンパク発現を調査し、さらに、組織標本を作製し心臓の心筋細胞径、心筋間質内および血管周囲の線維化について調査した。データは SPSS Statistics 24 を使用し分散分析にて有意差を確認した後 Bonferroni (優位水準 0.05) にて分析した。なお、本研究は岐阜大学大学院医学系研究科動物実験審査委員会 (承認番号: 23-6) によって承認されている。

**【結果】** 収縮期血圧は、WKY, SHR ともに normal salt (NS) 群と excessively low salt (ELS) 群に有意差を認めなかった。心拍数は、WKY, SHR ともに ELS 群が有意に上昇した。静脈血は、血漿レニン活性、アンギオテンシン I, II, アルドステロン、アドレナリン、ノルアドレナリンは WKY, SHR ともに ELS 群が有意に上昇した。心エコーでは、IVS は加齢とともに肥厚したが、WKY, SHR ともに ELS 群の肥厚がより強かった。ウエスタンブロッティングでは、WKY, SHR ともに心臓組織の renin, (pro)renin 受容体, angiotensinogen, angiotensin II 受容体 (AT1), phosphorylated (p)-p38MAPK, p-ERK1/2, p-HSP, TGF- $\beta$ 1 は、NS 群に比し ELS 群が強く発現した。心筋間質線維化と血管周囲線維化は、NS 群に比し ELS 群の方が強かった。心筋細胞径は、NS 群に比し ELS 群の方が大きかった。

**【結語】** 極端に塩分摂取の少ない状態では、renin-angiotensin-aldosterone 系・交感神経系の活性化、(pro)renin 受容体系の活性化により、心拍数の上昇、左室壁肥厚、心筋間質内線維化、血管周囲線維化がもたらされる。極端な減塩食は心臓障害を惹起する。

### 1. 研究目的

本研究の目的は、極端な減塩食負荷による血中 renin-angiotensin 系と心臓組織 (pro)renin 受容体の発現とその下流シグナル伝達と心筋組織の病理学的変化、心機能変化を評価し、極端な減塩が心臓に及ぼす影響について研究することである。

現在、我が国の食塩摂取量は 10.6 g/day と世界一の多さである。一般的に、食塩摂取量が増加すればするほど心血管イベントによる死亡率が増加することが報告され広く受け入れられている。しかし、逆に食塩摂取量が極端に低下すればむしろ心血管イベントによる死亡率は増加するとの報告もある<sup>1,2)</sup>。このことは、極端な塩分制限はむしろ

る心血管イベントを発生させ、生命予後が悪化する可能性を示している。石器時代の人類の食塩摂取量は 0.5～3.0 g/日であったとの報告があり、人間にとっての食塩摂取量はむしろ少ない方が妥当であるとの意見がある一方、介入試験で安全が確認されているのは 3.8 g/day までである<sup>3)</sup>。しかし、極端な低塩分摂取が心血管イベントを発生させるのであればそのメカニズムは何なのか、また最適な食塩摂取量がどの程度なのかについては未だ不明である。すなわち、塩分摂取量と心血管イベントとの関係には、血圧値と同様に Jカーブが存在する可能性が高い<sup>4)</sup>。最近、我々は Wistar Kyoto Rat (WKY) と自然発症高血圧ラット (SHR) を用いて、高塩食が心臓 (pro)renin 受容体を強発現させ、細胞内シグナル伝達が亢進し、血管周囲線維化、心筋間質内線維化、心肥大が起こり心機能低下を惹起する分子メカニズムを解明し報告した<sup>5)</sup>。本研究では、WKY と SHR を用いて、逆に塩分をほとんど摂取しない極端な減塩食が心臓障害を誘発するか否かの検討を行い、神経体液性因子、血中および心臓組織 renin-angiotensin 系、心臓 (pro)renin 受容体の関与を明らかにし、その分子メカニズムを解明する。

## 2. 研究方法

### 2.1 実験プロトコール

8 週齢(♂)の WKY と SHR (WKY/Izm, SHR/Izm: 日本 SLC 株式会社) に対し、それぞれ通常食 (normal salt: NS) と極端な減塩食 (excessively low salt: ELS) に分けて 16 週齢まで飼育した。saltless は、植物由来の飼料 AIN-93G (オリエンタル酵母工業株式会社) の NaCl 無添加分をセ

ルコースパウダーで調整した特注飼料を使用した。この特注飼料の残存成分中の Na 量(原料由来の含有量)は 4.64 mg/100 g, 食塩相当量に換算しても 0.01% と極めて 0% に近く、本研究ではこれを excessively low salt (ELS) と定義した。

定期的に収縮期血圧と心拍数を測定し、16 週齢目に心エコーにて心機能を計測する。さらに以下は 16 週齢の時点での実験終了時に行う。

- 1) レニン活性 (PRA), angiotensin I, II 濃度, aldosterone 濃度, adrenaline 濃度, noradrenaline 濃度を測定する。
- 2) 心臓組織の renin, prorenin, angiotensinogen, angiotensin II 受容体, 心臓 (pro)renin 受容体, (pro)renin 受容体の下流シグナル伝達である ERK1/2, p38MAPK, TGF- $\beta$ 1, HSP27 を western blot で測定する。
- 3) HE 染色, Masson trichrome 染色により、心筋組織の病理学的検討を行う。

### 2.2 分析

データは WKY-NS 群, WKY-ELS 群, SHR-NS 群, SHR-ELS 群の 4 群に分け、正規性の検定後、一元配置分散分析にて検討する (SPSS Statistics 24)。

### 2.3 倫理的配慮

本研究は、第 82 回岐阜大学大学院医学系研究科動物実験審査委員会 (承認番号: 23-6) によって承認されている。

## 3. 研究結果

### 3.1 収縮期血圧 (Fig. 1)

WKY-NS 群の 8 週齢では 115.7 $\pm$ 2.2 mmHg, 9 週齢で

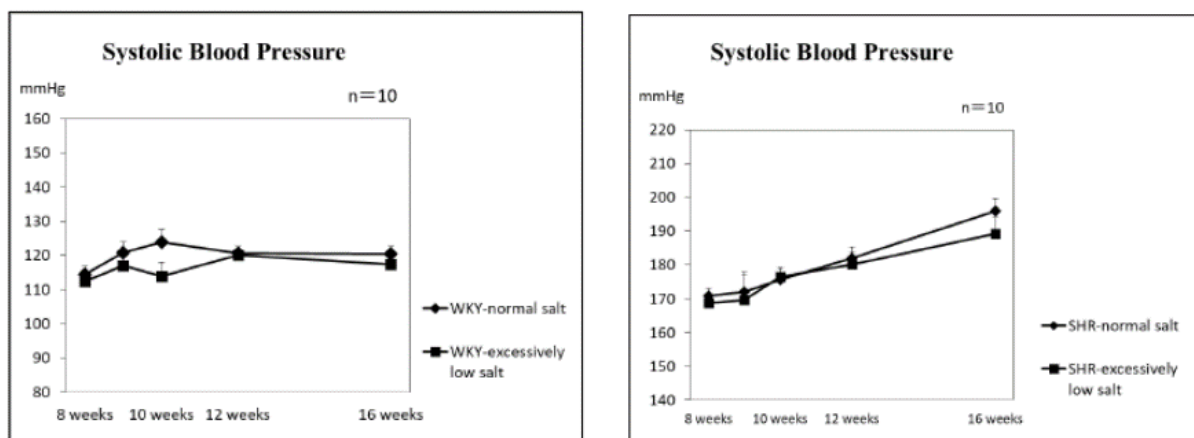


Fig. 1. Systolic blood pressure

は  $120.7 \pm 2.9$  mmHg, 10 週齢では  $125.6 \pm 3.6$  mmHg, 12 週齢では  $121.0 \pm 1.9$  mmHg, 16 週齢では  $124.2 \pm 2.7$  mmHg であった。WKY-ELS 群の 8 週齢では  $114.3 \pm 2.9$  mmHg, 9 週齢では  $118.7 \pm 3.1$  mmHg, 10 週齢では  $118.0 \pm 4.0$  mmHg, 12 週齢では  $121.6 \pm 1.5$  mmHg, 16 週齢では  $119.1 \pm 3.2$  mmHg であった。

SHR-NS 群の 8 週齢では  $170.3 \pm 2.9$  mmHg, 9 週齢では  $172.4 \pm 4.1$  mmHg, 10 週齢では  $179.6 \pm 4.0$  mmHg, 12 週齢では  $181.8 \pm 3.2$  mmHg, 16 週齢では  $194.8 \pm 3.1$  mmHg であった。SHR-ELS 群の 8 週齢では  $165.9 \pm 2.6$  mmHg, 9 週齢では  $168.8 \pm 5.2$  mmHg, 10 週齢では  $175.3 \pm 2.0$  mmHg, 12 週齢では  $180.3 \pm 2.9$  mmHg, 16 週齢では  $187.1 \pm 3.7$  mmHg であった。

統計処理の結果, 有意差は認めなかった。

### 3. 2 心拍数 (Fig. 2)

WKY-NS 群の 8 週齢では  $338.1 \pm 5.3$  回/分, 9 週齢では  $344.1 \pm 9.1$  回/分, 10 週齢では  $340.8 \pm 6.9$  回/分, 12 週齢では  $361.9 \pm 9.8$  回/分, 16 週齢では  $352.9 \pm 10.7$  回/分であった。WKY-ELS 群の 8 週齢では  $354.0 \pm 7.2$  回/分, 9 週齢では  $372.8 \pm 8.1$  回/分, 10 週齢では  $375.3 \pm 5.9$  回/分, 12 週齢では  $389.0 \pm 6.8$  回/分, 16 週齢では  $386.8 \pm 10.4$  回/分であった。

SHR-NS 群 (n=14) の 8 週齢では  $362.2 \pm 13.3$  回/分, 9 週齢では  $356.2 \pm 9.4$  回/分, 10 週齢では  $337.4 \pm 13.3$  回/分, 12 週齢では  $386.2 \pm 11.2$  回/分, 16 週齢では  $332.1 \pm 12.8$  回/分であった。SHR-ELS 群 (n=15) の 8 週齢では  $361.2 \pm 8.1$  回/分, 9 週齢では  $378.5 \pm 9.6$  回/分, 10

週齢では  $398.6 \pm 10.5$  回/分, 12 週齢では  $386.2 \pm 10.5$  回/分, 16 週齢では  $424.2 \pm 13.3$  回/分であった。

WKY でも SHR でも, ELS 群の方が NS 群と比較して有意に上昇していた。

### 3. 3 静脈血(血漿) (Table 1)

レニン活性は WKY-NS 群が  $18.7 \pm 1.3$  ng/ml/時間, WKY-ELS 群が  $77.5 \pm 7.1$  ng/ml/時間, SHR-NS 群が  $33.9 \pm 2.2$  ng/ml/時間, SHR-ELS 群が  $87.6 \pm 10.3$  ng/ml/時間であり, WKY でも SHR でも ELS 群の方が NS 群と比較して有意に上昇していた。

血漿 angiotensin I 濃度は, WKY-NS 群が  $9,060 \pm 1,190.7$  pg/ml, WKY-ELS 群が  $55,100 \pm 4,325.4$  pg/ml, SHR-NS 群が  $19,700 \pm 1,140.6$  pg/ml, SHR-ELS 群が  $68,600 \pm 7,510.3$  pg/ml であり, WKY でも SHR でも ELS 群の方が NS 群と比較して有意に上昇していた。

血漿 angiotensin II 濃度は, WKY-NS 群が  $179 \pm 46.4$  pg/ml, WKY-ELS 群が  $1,112 \pm 234.2$  pg/ml, SHR-NS 群が  $208.6 \pm 50.8$  pg/ml, SHR-ELS 群が  $1,035 \pm 217.1$  pg/ml であり, WKY でも SHR でも ELS 群の方が NS 群と比較して有意に上昇していた。

血漿 aldosterone 濃度は, WKY-NS 群が  $336.2 \pm 14.5$  pg/ml, WKY-ELS 群が  $1,609 \pm 483$  pg/ml, SHR-NS 群が  $259.6 \pm 11.8$  pg/ml, SHR-ELS 群が  $1,372.7 \pm 242.5$  pg/ml であり WKY において ELS 群の方が normal salt 群と比較して有意に上昇していた。SHR では, NS 群と ELS 群の p 値は 0.06 であり, 有意差は認めなかったものの上昇の傾向を示した。

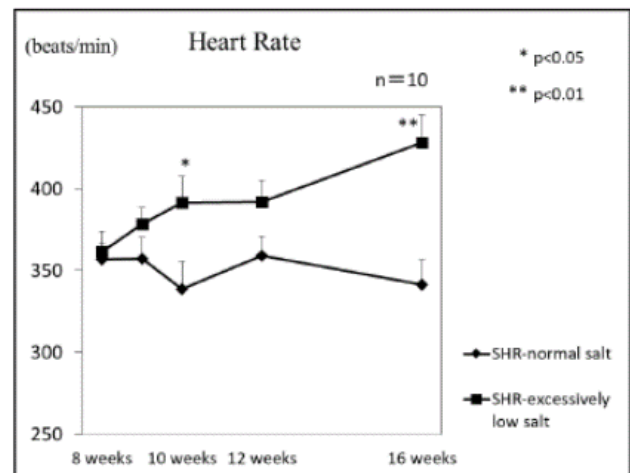
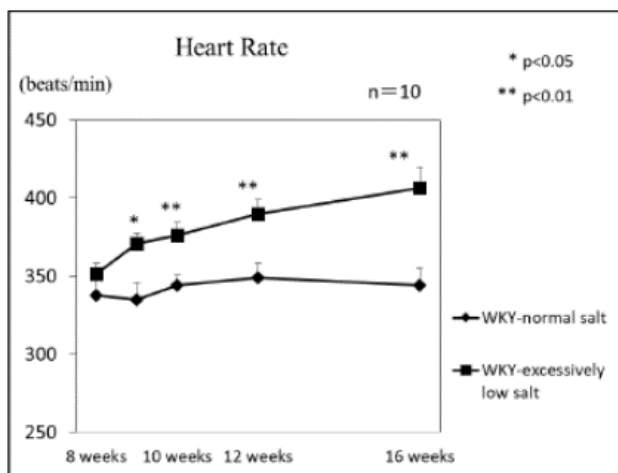


Fig. 2. Heart rate

**Table.1** Venous blood

WKY		normal salt		saltless	
		mean±SE		mean±SE	
plasma	renin activity	18.7±1.3		77.5±7.3 ††	
	angiotensin I	9060±1190.7		55100±4325.4 ††	
	angiotensin II	179±46.4		1112±234.2 ††	
	aldosterone	336.2±14.5		1609±483 ††	
	adrenalin	2712.5±318.4		7993.1±628 ††	
	noradrenalin	1275.5±416.8		4223.7±684.3 ††	
SHR		normal salt		saltless	
		mean±SE		mean±SE	
plasma	renin activity	33.9±2.2	**	87.6±10.3	** ††
	angiotensin I	19700±1140.6	**	68600±7510.3	** ††
	angiotensin II	208.6±50.8	**	1035±217.1	** ††
	aldosterone	259.6±11.8	**	1372.7±242.5	(p=0.06 vs SHR-ns) ††
	adrenalin	3514.9±639	**	8316.3±1221	** ††
	noradrenalin	1388.7±340.1	**	3629.5±301.8	** †

\* < 0.05 vs WKY-normal salt, † < 0.05 vs SHR-normal salt, ‡ < 0.05 vs WKY-saltless  
 \*\* < 0.01 vs WKY-normal salt, †† < 0.01 vs SHR-normal salt, ††† < 0.01 vs WKY-saltless

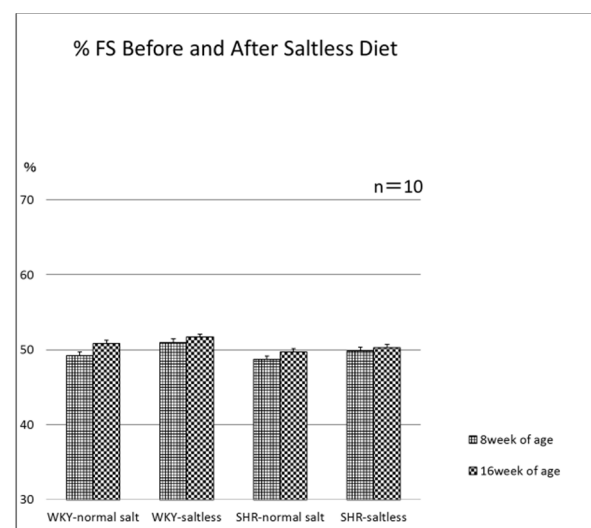
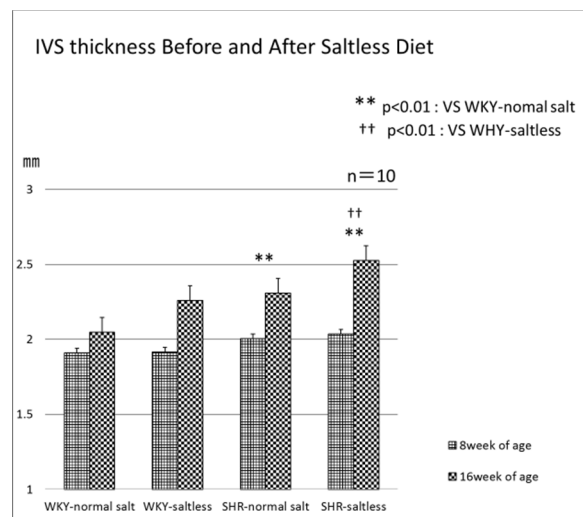
Adrenaline は WKY-NS 群が 2,712.5±318.4 pg/ml, WKY-ELS 群が 7,993.1±628 pg/ml, SHR-NS 群が 3,514.9±639 pg/ml, SHR-ELS 群が 8,316.3±1,221 pg/ml であり, WKY でも SHR でも ELS 群の方が NS 群と比較して有意に上昇していた。

Noradrenaline は WKY-NS 群が 1,275.5±416.8 pg/ml, WKY-ELS 群が 4,223.7±684.3 pg/ml, SHR-NS 群が 1,388.7±340.1 pg/ml, SHR-ELS 群が 3,629.5±301.8 pg/ml であり, WKY でも SHR でも ELS 群の方が NS 群と比較して有意に上昇していた。

**3. 4 心エコー (Fig. 3)**

IVS は WKY-NS 群の実験開始時は 1.88±0.05 mm, 16 週齢では 2.04±0.06 mm であった。WKY-ESL の実験開始時は 1.96±0.08 mm, 16 週齢では 2.25±0.05 mm であった。SHR-NS の実験開始時は 2.01±0.09 mm, 16 週齢では 2.27±0.08 mm であった。SHR-ELS 群の実験開始時は 2.04±0.07 mm, 16 週齢では 2.51±0.08 mm であった。SHR において ELS 群の方が NS 群と比較して有意に肥厚していた。

%FS は WKY-NS 群の実験開始時は 51.8±1.1%, 16 週齢では 46.6±1.6% であった。WKY-ELS の実験開始時は 48.3±1.3%, 16 週齢では 49.3±1.6% であった。SHR-NS の実験開始時は 51.3±1.1%, 16 週齢では 48.0±2.0% であった。SHR-ELS の実験開始時は 47.5±1.0%, 16 週齢では 50.4±0.6% であった。統計の結果, 有意差は認めず 4 群と



**Fig. 3.** Echocardiography

も正常範囲内であった。

### 3. 5 Western blot (Fig. 4, Fig. 5)

Western blot を施行し、心臓組織の renin, prorenin receptor, angiotensinogen, angiotensin II(AT1)受容体の発現を確認し、WKYとSHRのいずれもELS群の方がNS群と比較して強く発現していた (Fig. 4)。さらに、WKY と SHR とともに心臓組織の phosphorylated (p)-p38MAPK, p-ERK1/2, p-HSP, TGF-β1 は、NS 群に比し ELS 群で強く発現した (Fig. 5)。

### 4. 病理学的検討

心筋間質線維化と血管周囲線維化は、NS 群に比し ELS 群の方が強かった。(Fig. 6)

## 5. 考察

### 5. 1 血圧変動

これまで、多くの先行研究で減塩により血圧は下がると報告されている<sup>6)</sup>。そのため、過度の減塩食でも血圧は下がると考えていたが、本研究結果では血圧は低下傾向を示したが正常塩分食群に比較して有意差はでなかった。このように血圧が有意に低下しなかった要因として、①血中 renin-angiotensin-aldosterone 系亢進、②交感神経系亢進が考えられる。まず①血中 renin-angiotensin 系の亢進について説明する。renin は腎灌流低下、血液容量低下、血圧低下、Na 欠乏に反応して腎臓から遊離される酵素である。renin は肝臓で angiotensinogen と呼ばれるポリペプチドから angiotensin I への変換を促進する。angiotensin I

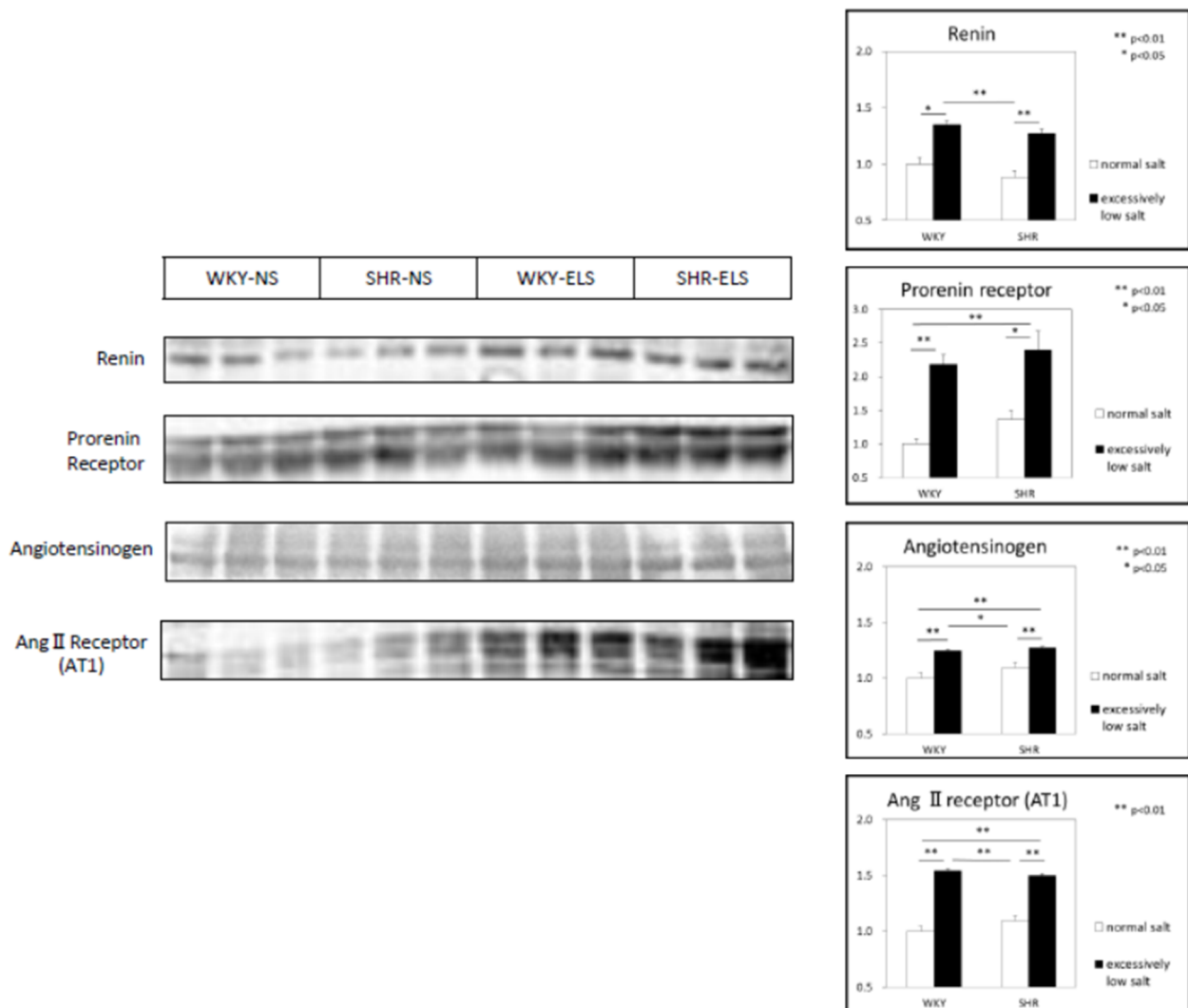


Fig. 4. Western Blot



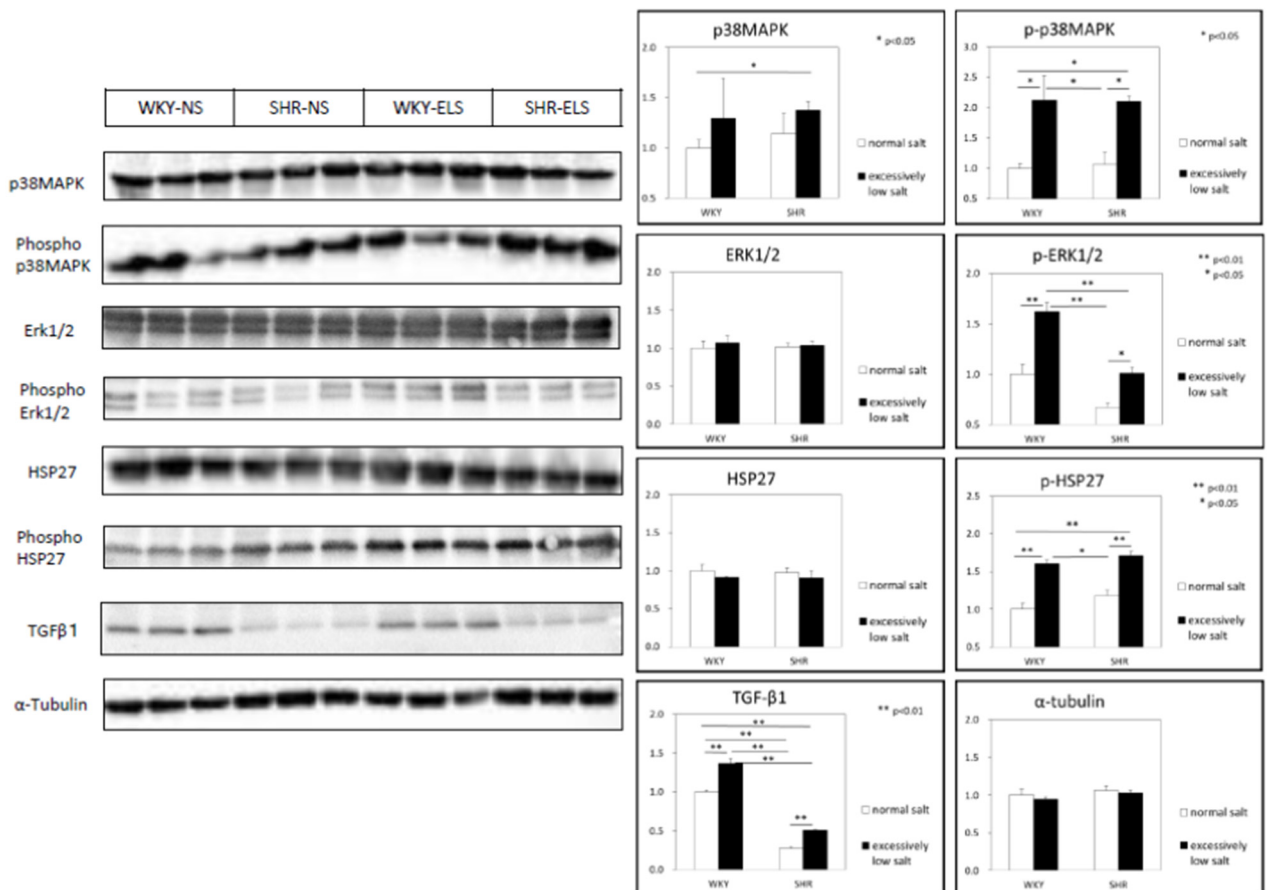


Fig. 5. Western Blot

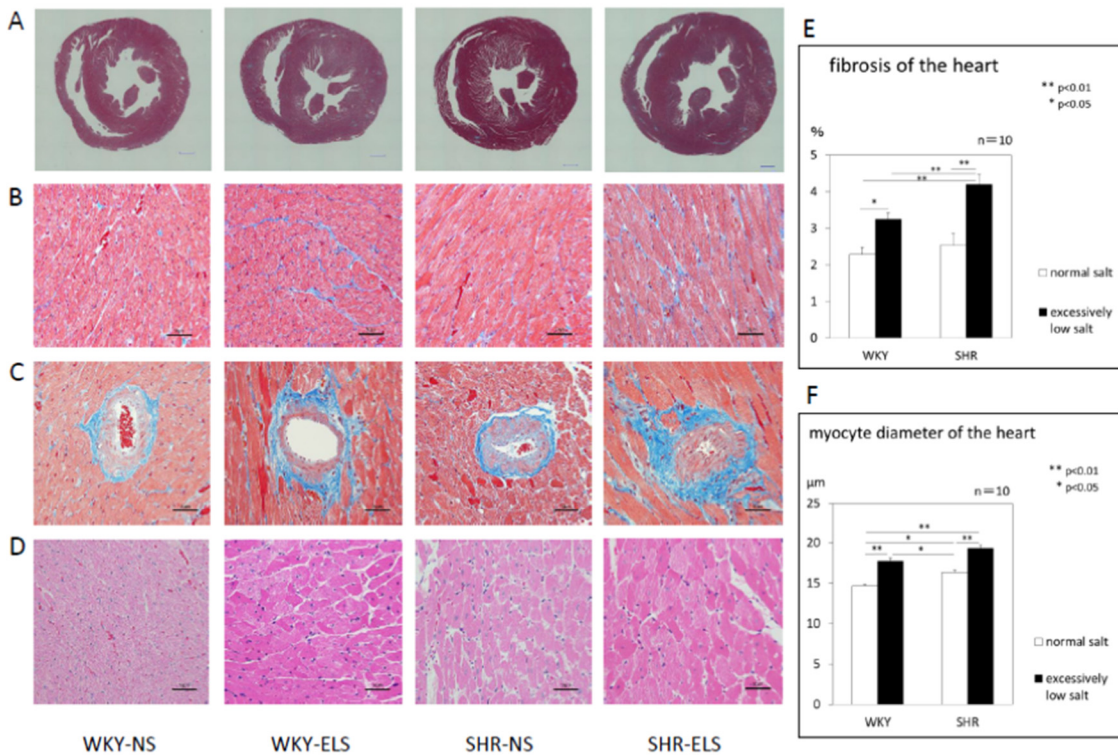


Fig. 6. 病理所見

は循環し、肺やそのほかの毛細血管に存在する angiotensin I 変換酵素の活性化により、angiotensin II へ変換される。Angiotensin II は強力な血管収縮因子であり、本研究においても有意に上昇していた。そのため、過度な減塩食により、Na 不足を起し、血管内血液量の低下をきたし、一過性の血圧低下を起した結果、反射性に血中 renin-angiotensin-aldosterone 系が亢進し、血管収縮により血圧を維持したため、有意な血圧低下には至らなかったのではないかと考えられる。

また、angiotensin II は副腎皮質から腎臓に作用して Na を保持するホルモンであり、aldosterone および水分を保持する抗利尿ホルモンを放出することにより、血液容量を保持する。本研究においても過度な減塩食では血漿 aldosterone 濃度が有意に上昇し、循環血液量が維持された結果、血圧が維持された可能性が考えられる。

ただし、Aldosterone の高値が生体に及ぼす影響として、1990 年初め Brilla らが高塩食下で aldosterone を負荷すると高血圧、心筋線維化が観察されたと報告している<sup>7)</sup>。Aldosterone による心筋線維化は高塩食負荷がないと誘発されないとされているが、Makhanova らは、aldosterone 合成酵素遺伝子である CYP11B2 を過剰発現させたマウスでは血中 aldosterone 濃度が 1.5 倍ほど高く、これらのマウスに高塩食を摂取させることにより心筋組織の繊維化が起こり、aldosterone の生理的な濃度の上昇でも臓器障害が起こることを明らかにしている<sup>8)</sup>。また、原発性アルドステロン症では血圧の程度に比べて脳血管障害が多いことは知られており、aldosterone が脳血管障害に作用していることは明らかである<sup>9)</sup>。本研究においても血中 aldosterone 濃度の上昇が臓器障害をもたらした可能性は否定できない。

次に②交感神経系の亢進について説明する。交感神経系は、情動ストレス、運動、圧反射、低血圧、心不全などに反応し、興奮性伝達物質である noradrenaline が交感神経から、また adrenaline が副腎から放出される。adrenaline は心筋の  $\beta_1$ -adrenergic 受容体を刺激し、心拍出量を増加させる作用を持つ。さらに血管拡張を惹起する  $\beta_2$ -adrenergic 受容体にも作用し、末梢血管抵抗を減少させる。そのため拡張期血圧は低下するが心拍出量の上昇により収縮期血圧が上昇する。また、angiotensin II には noradrenaline の放出を増加させる作用があり、遊離された

noradrenaline は血管  $\alpha$ -受容体を刺激することにより血管を収縮させ血圧を上昇させる。

本研究においても、過度の減塩食摂取によって血漿 noradrenaline 濃度と血漿 adrenaline 濃度及び上昇したことから、これらの作用によって収縮期血圧が低下しなかったと考えられる。

## 5.2 心拍変動

心拍数を上げる要因としては、①循環血液量の増加による前負荷増大、②交感神経活性化を介した心臓  $\beta$  受容体刺激による心拍数増加があげられる。①の循環血液量に関しては、一般的には食塩の過剰摂取により腎臓での Na 貯留が循環血液量を増加させると言われているが、本研究は過度の減塩食であり、Na 貯留による循環血液量の増加は考えにくい。そのため、②の交感神経活性化を介した心臓  $\beta$  受容体刺激による心拍数増加が誘因ではないかと考える。つまり、過度の減塩食により一過性に血圧は低下し、圧受容体反射が活性化される。圧受容体は遠心性迷走神経を抑制し、遠心性交感神経を活性化させるため noradrenaline が洞房結節を刺激し、さらに副腎髄質から遊離された adrenaline が心拍数を上昇させる。本研究においても、過度の減塩食によって血漿 adrenaline 及び noradrenaline 濃度が有意に上昇したことから、これらの活性化が心臓  $\beta$  受容体刺激による心拍数増加を惹起し、過度の減塩食の WKY, SHR ともに通常食と比較して心拍数が有意に上昇したものと考えられる。

ここで危惧されることは、心拍数の上昇が死亡率と正の相関関係にあることはこれまでの先行研究でも明らかであり<sup>10-11)</sup>、日本人を対象に実施された大規模コホート研究としては大迫研究が有名である<sup>12)</sup>。過度の減塩食が生体にもたらす影響として、慢性的な心拍数の増加は、心血管病の発症率を増加させる可能性がある。

## 5.3 心機能

%FS(左室内径短縮率)に関しては WKY, SHR それぞれ通常食と過度な減塩食の間には有意差は無く、過度の減塩食は心収縮力には大きな影響を与えないことが明らかになった。しかし IVS(ラットの場合は心室前壁厚)については、WKY, SHR ともに過度の減塩食が肥厚傾向にあった。これは、過度の減塩食群の血漿 angiotensin II および noradrenaline 濃度が有意に上昇していることが、左室壁の肥厚を示した可能性があると考えられる。Simpson らは、

培養心筋細胞に noradrenaline を投与すると心筋細胞は肥大し、これらは  $\alpha 1$  受容体遮断薬の投与により特異的に抑制されたことを報告し、noradrenaline が  $\alpha 1$  受容体の刺激を介して心筋肥大をもたらすことを明らかにしている<sup>13)</sup>。本研究においても、血漿 noradrenaline 濃度の上昇が、 $\alpha 1$  受容体を介して左室壁を肥厚させたと考えられる。また、angiotensin IIも心筋細胞を成長させ、心筋肥大をもたらす。そのメカニズムとして、angiotensin IIは angiotensin II(AT1) 受容体に作用してマイトジェン活性化プロテイン(MAP) キナーゼを刺激する。MAP キナーゼには成長とアポトーシスの両方を促進するコンポーネントが含まれているため、mRNA 核内転写を活性化し、細胞の成長と肥大を引き起こすことが知られている。本研究では過度の減塩食による心機能の低下は認められなかったものの、左室壁が有意に肥厚していることが明らかになり、この変化は血漿 noradrenalin 濃度と血漿 angiotensin II濃度の上昇に起因する可能性が示された。

#### 5. 4 Western blot による蛋白発現

WKY, SHR について、通常食と過度な減塩食の心臓における蛋白発現について検討した結果、WKY, SHR と

もに心臓組織の renin, (pro) renin 受容体, angiotensinogen, angiotensin II 受容体(AT1), phosphorylated (p)-p38MAPK, p-ERK1/2, p-HSP, TGF- $\beta 1$  は、通常食群に比し、過度な減塩食群で有意に強く発現した。以上のことから、過度な減塩食によって、心臓組織の renin-angiotensin 系, prerenin-(pro)renin 受容体系の亢進がもたらされて、angiotensin II AT1 受容体および(pro) renin 受容体の下流のシグナル伝達が亢進していることが明らかとなった。

#### 5. 5 病理所見

心筋間質線維化と血管周囲線維化は、通常食群に比し、過度な減塩食群の方が有意に強かった。心筋細胞径は、通常食群に比し、極端な減塩食群の方が大きかった。これらの所見は、過度な減塩食が、心臓 angiotensin II AT1 受容体と(pro) renin 受容体の刺激を惹起し、それぞれの受容体のシグナル伝達を亢進させた結果、生じたものであることが明らかとなった。

#### 5. 6 メカニズムの提唱

極端な減塩食が心臓障害を惹起するメカニズムについて Fig. 7 に示す。

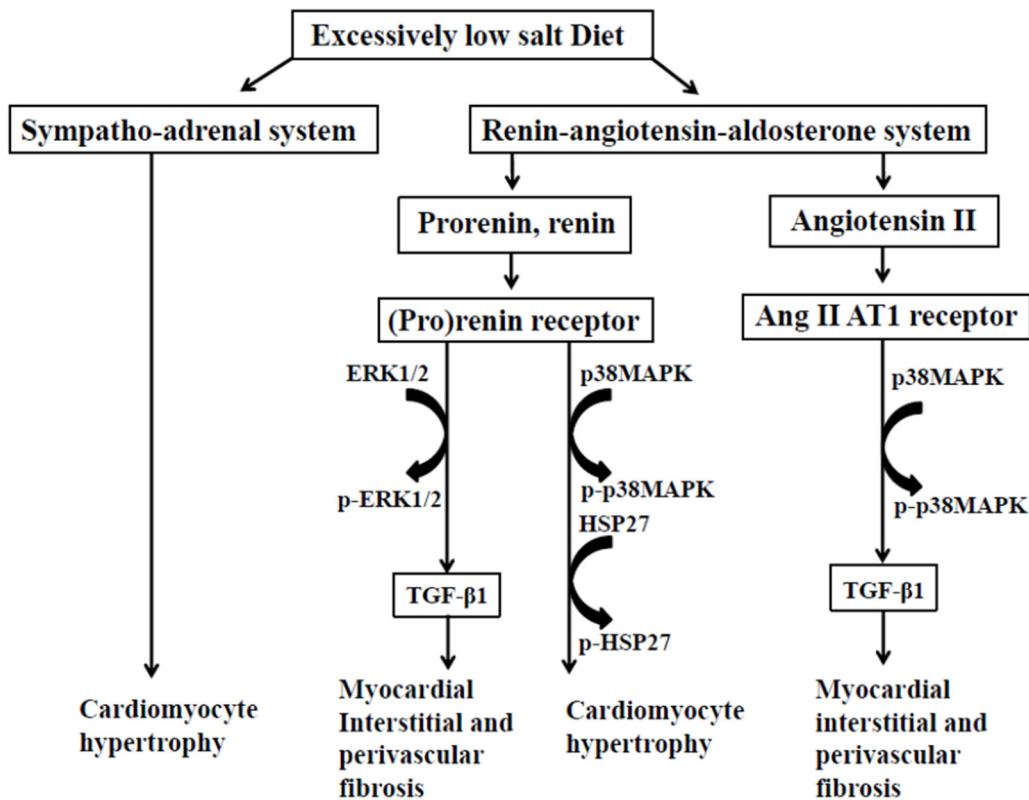


Fig. 7. Proposed mechanism



## 6. 結語

極端に塩分摂取の少ない状態では, renin-angiotensin-aldosterone 系・交感神経系の活性化, (pro)renin 受容体系の活性化により, 心拍数の上昇, 左室壁肥厚, 心筋間質内線維化, 血管周囲線維化がもたらされる。極端な減塩食は心臓障害を惹起する。

## 7. 文献

- 1) Stolarz-Skrzypek, K. et al: Fatal and nonfatal outcomes, incidence of hypertension, and blood pressure changes in relation to urinary sodium excretion. *JAMA* 305, 1777-1785, 2011.
- 2) O'Donnell MJ et al: Urinary sodium and potassium excretion and risk of cardiovascular events. *JAMA* 306, 2229-2238, 2011.
- 3) Sacks FM et al: Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Eng J Med* 344, 3-10, 2001.
- 4) Alderman MH et al: dietary sodium and cardiovascular disease: the 'J'-shaped relation. *Journal of Hypertension*, 903-907, 2007.
- 5) Hayakawa Y, Minatoguchi S et al: High salt intake damages the heart through activation of cardiac (pro) renin receptors even at an early stage of hypertension. *Plos One*, 10(3), 2015.
- 6) 上島弘嗣: 減塩は有害とする論文への批判-減塩の重要性は揺るがない-, *医学のあゆみ*, 241(13), 1103-1107, 2012.
- 7) Brilla CG, Weber KT: Mineralocorticoid excess, dietary sodium, and myocardial fibrosis. *J Lab Clin Med*, 120, 893-901, 1992.
- 8) Makhanova N et al: Salt-sensitivity of blood pressure in mice with increased expression of aldosterone synthase. 33<sup>rd</sup> International Aldosterone Conference Toronto, Canada, 2007.
- 9) 武田仁勇: 食塩とアルドステロン, *血圧*, 14(10), 975-979.
- 10) Lavigne, H. J. et al: Rest Heart Rate and Life Expectancy. *J Am Coll Cardiol* 30, 4, 1104-1106, 1997.
- 11) Gillman MW. et al: Influence of heart rate on mortality among persons with hypertension: the Framingham Study. *Am Heart J*, 125, 1148-1154, 1993.
- 12) Hozawa A. et al: Prognostic value of home heart rate for cardiovascular mortality in general population. *Am J Hypertens*, 17, 1005-1010, 2004.
- 13) Simpson P: Stimulation of hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells through an alpha1-adrenergic receptor and induction of beating through an alpha 1-and beta 1-adrenergic receptor interaction. Evidence for independent regulation of growth and beating. *Circulation Research*, 56, 884-894, 1985.

## Excessively Low Salt Diet Damages the Heart through Activation of Cardiac (Pro) Renin Receptor, Renin-Angiotensin-Aldosterone, and Sympatho-Adrenal Systems in Spontaneously Hypertensive Rats

Shinya Minatoguchi, Chihiro Okamoto, Hisaaki Komaki, Yoshihisa Yamada, Yuka Hayakawa

Department of Cardiology, Gifu University Graduate School of Medicine

### Summary

A high salt intake causes hypertension and leads to cardiovascular disease. Therefore, a low salt diet is now recommended to prevent hypertension and cardiovascular disease. However, it is still unknown whether an excessively low salt diet is beneficial or harmful for the heart. Wistar Kyoto rats (WKYs) and spontaneously hypertensive rats (SHRs) received normal salt chow (0.9 % salt diet) and excessively low salt chow (0.01% salt diet referred to as saltless diet) for 8 weeks from 8 to 16 weeks of age. The effects of the excessively low salt diet on the cardiac (pro) renin receptor, renin-angiotensin-aldosterone, and sympatho-adrenal systems were investigated.

The excessively low salt diet did not affect the systolic blood pressure but significantly increased the heart rate both in WKYs and SHRs. The excessively low salt diet significantly elevated plasma renin activity, plasma angiotensin I, II and aldosterone concentrations, and plasma noradrenaline and adrenaline concentrations both in WKYs and SHRs. Cardiac expressions of renin, prorenin, (P)RR, angiotensinogen, and angiotensin II AT1 receptor and phosphorylated (p)-ERK1/2, p-HSP27, p-38MAPK, and TGF- $\beta$ 1 were significantly enhanced by the excessively low salt diet in both WKYs and SHRs. The excessively low salt diet accelerated cardiac interstitial and perivascular fibrosis and increased the cardiomyocyte size and interventricular septum thickness in WKYs and SHRs but the extent was greater in SHRs.

In conclusion, an excessively low salt diet damages the heart through activation of plasma renin-angiotensin-aldosterone and sympatho-adrenal systems and activation of cardiac (P)RR and angiotensin II AT1 receptor and their downstream signals both in WKYs and SHRs.