

## 日本脳炎に関する実験的研究

## 第二報

日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸量，特にそれに及ぼす  
放射性同位元素 P<sup>32</sup> の影響

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木 潔教授）

方 円 ・ 幸 彦

〔昭和 31 年 4 月 12 日受稿〕

## 内 容 目 次

第一章 緒 論	場合脳に於ける核酸量の時間的消長
第二章 実験材料並に実験方法	第一項 正常マウスに P <sup>32</sup> 投与後脳に於ける核酸量の消長
第一節 実験材料	第二項 日本脳炎罹患マウスに P <sup>32</sup> 投与後脳に於ける核酸量の消長
第二節 実験方法	第四章 総括並に考按
第三章 実験成績	第五章 結 論
第一節 正常マウス脳に於ける核酸量	
第二節 日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸量の時間的消長	
第三節 P <sup>32</sup> をマウス腹腔内に投与せる	

## 第一章 緒 論

核酸は栄養源としては殆んど価値なきため従来はその存在について一般に注意されなかつたが、核酸研究の進むにつれて、蛋白質、脂質、炭水化物と同様重要性を認められる高分子物質で核、細胞質、ウイルス等に存在する事が明かにされつつある。

核酸研究に関しては、1869年 Miescher によつて始められ、彼は膿球より新物質を発見し Altmann によつて核酸 Nucleic Acid と名付けられた。

核には特異な燐蛋白の存在する事は知られていた。併しその本態はなお不明であつたが、その後これに関して系統的な研究が行われた結果、核蛋白と呼ばれ細胞核の重要成分であると見做されるに至つた。

1800年の終り頃から多くの学者により生物材料から核蛋白の抽出が試みられる様になり、核酸の化学的性質も次第に明らかにされ細胞

は核蛋白より構成されている事が一般的に認められるに至つたが、その後引きつづき二種類の核酸の存在が知られた。即ち一つは酵母から分離されたもの、他の一つは胸腺から分離されたものであつた。その後酵母核酸の糖は d-Ribose、胸腺核酸のそれは 2-desoxyribose なる事が確められ、而も両核酸の著しい相異は糖の性質の差異によるものである故、それぞれリボ核酸 (ribonucleic Acid, R. N. A) デソキシリボ核酸 (desoxyribonucleic Acid, D. N. A) と呼ばれるに至つた。

Feulgen等<sup>46)</sup>は核には DNA 細胞質には RNA の存在を指摘し、Caspersson<sup>31)</sup>は紫外線吸収スペクトルを用い、DNA は核の染色質に、RNA は細胞質に多いと述べ、又細胞質に於ける RNA は蛋白合成機能と関係を有する事も明らかにされた。

ウイルスと核酸との関係についての研究は、歴史浅く尚未解決の問題が山積しているが、各種ウイルスは核蛋白を主成分としている事

は Stanley<sup>62)</sup> の発表以来明瞭となり、その後 Hydén<sup>50)</sup>, Cohen<sup>34,35)</sup>, Anderson<sup>27)</sup>, Knight<sup>64,65)</sup>, Taylor<sup>66)</sup> 及び市川<sup>1)</sup> 等によりウイルスと核酸に関する研究は次第に明らかにされて来た。

さきに市川<sup>1)5)</sup>, 小沢<sup>10)</sup> 等は日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸の消長を病理組織学的に検索し、時間の経過と共に細胞核内に DNA の異常増多を認めているが、化学的定量を行つた文献は私の知れる範囲にはない様に思われる。

他方放射性同位元素による研究は次第に盛んとなり、核酸については、その代謝、酵素的分解、ウイルスとの関係等多岐にわたつて使用され幾多の興味ある成績を得つつある。

殊に核酸代謝への応用は 1935 年 Hevesy Chiewitz<sup>36)</sup> が放射性燐 ( $P^{32}$ ) を動物組織の燐代謝に応用して以来、Hevesy<sup>52)</sup>, Davidson<sup>37)</sup>, Barnes, Schoenheimer<sup>28)</sup>, Brues<sup>30)</sup> 及び堀田<sup>21)</sup> 等により放射性燐 ( $P^{32}$ ) 放射性窒素 ( $N^{15}$ ) を用いて種々の研究が行われて来た。殊に  $P^{32}$  は直接核酸の指標となるため核酸研究に際し他の同位元素に比し最も屢々用いられている。

当教室に於ても  $P^{32}$  使用により幾多の業績をあげているが、平木教授並に教室長田<sup>20)</sup> は実験的日本脳炎罹患マウスに  $P^{32}$  を用いて対照群に比し発症並に死亡日数の延長を認めた。ここに於て私は平木教授の御指導のもとに、日本脳炎接種マウス臓器に於ける核酸燐を Schmidt-Thannhauser 法<sup>60)</sup> にて分割し、時間的に定量し日本脳炎罹患マウス臓器に於ける核酸の消長を検索し、ついでこれに  $P^{32}$  を投与し前回と同様に定量し、以つて日本脳炎罹患マウス臓器の核酸に及ぼす  $P^{32}$  の影響について追求した。

臓器として私は日本脳炎に於て最も強い変化を受ける脳を先ず選んだ。

## 第二章 実験材料並に実験方法

### 第一節 実験材料

#### (1) 日本脳炎病毒

日本脳炎ウイルス株は昭和27年当内科教室に於て分離固定せる岡山 52 B 株を使用した。

#### (2) 放射性燐 ( $P^{32}$ )

実験に使用せる  $P^{32}$  は米国 Oak-Ridge 国立研究所より配布された正燐酸である。これを 5% 葡萄糖にて適当に溶解稀釈して使用した。

#### (3) 実験動物

生後 2 ヶ月以上を経過した体重 10g 前後の幼若白色普通マウスを環境に習熟せしめて使用した。栄養良好にして動作活発なものを選んだ事は勿論である。

## 第二節 実験方法

### (1) 日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸燐の定量

当内科教室保存の岡山 52 B 株の脳内接種により、定型的に発症したマウスの新鮮脳を取り出し、これを pH 7.6 ブイオンにて 10 倍エムルジョンとなし、毎分 3000 回転 15 分間遠心沈澱し、その上清を 0.03 cc ずつ多数の健康マウス脳内に接種した。

その後潜伏期 (接種 48 時間後)、潜伏末期 (72 時間後)、発症期 (108 時間後) に於て、10~12 頭宛マウスを取り出し、頸動脈を切断して失血死させ脳を採取した。

取り出した脳は生理的食塩水にて充分その表面を洗滌した後、濾紙にて水分を除き血液成分を出来るだけ除去した。

而して採取せる脳の一定量を正確に秤量し Schmidt-Thannhauser 法<sup>60)</sup> にて (1) RNA 分割, (2) DNA 分割, (3) 燐蛋白分割に分つた。

即ち組織一定量を正確に秤量し、これに約 20 容の氷冷 7% トリクロール醋酸 (T. C. A) を加え、Homogeneizer で完全に homogenize した後、これを濾紙をしいた Büchner のオートで濾過し、残渣を氷冷 1% TCA で充分洗い、次いで水で濾液がリトマスに対し極く僅か酸性を呈するに至る迄洗い、更にアルコール及びエーテルで洗い、次いで残渣を還流冷却器をつけたフラスコの中に入れ、これに湿量の 30~40 容のアルコール、エーテル混液

(3:1)を加え、数分間沸騰せしめ冷却後濾過し、残渣にエーテル、クロロフォルム混液(1:1)の30~40容を加え、30分間沸騰せしめ、冷却後濾過し残渣をエーテルにて洗い乾燥させる。

次に乾燥せる残渣を試験管内に移し、これに1N苛性カリの一定量を正確に加え、37°Cに少くとも15時間放置後濾紙を除き遠心分離し先ず上清の一定量を取り湿式灰化し、Fiske-Subbarow法<sup>47)</sup>により2.5%モリブデン酸アンモニウム及びアミノナフトールスルホン酸溶液各0.5ccずつ加え、更に全量8.0ccとなる迄水を加え、10分暗所に放置後生成した青色をベックマン分光光度計にて比色し、予め作製した検量曲線に基づいて燐量を求めた。

次にRNA及び無機燐を定量するため、上清の任意の一定量を試験管に取り、その0.2容の6N HClと1容の5% TCAを加えて沈澱を起させる。この沈澱は全DNAを含みRNA及び燐蛋白の分解物はすべて濾液中に含まれる故、この濾液の一定量を取り前と同様に燐量を定量し、更にこの濾液から他の一定量を取り Delory<sup>42)53)</sup>の処理法を行い無機燐を定量した。

#### (2) 日本脳炎罹患マウスにP<sup>32</sup>を投与した場合脳に於ける核酸燐の定量

前回と同様な方法にて日本脳炎ウイルスを多数の健康マウス脳内に接種し、潜伏期(接種48時間後)に於て無選択的に取り出し、P<sup>32</sup> 10 $\mu$ cずつマウス腹腔内に投与し、このマウスを12~13頭宛2群に分ち、1群はP<sup>32</sup>投与の6時間後、他の1群は同じく24時間後に頸動脈を切断して脳を採取し、次いで他のマウスはウイルス脳内感染後暫く放置し、ウイルス接種84時間後にP<sup>32</sup> 10 $\mu$ cをそれぞれ腹腔内に投与し、このマウスを前と同様12~13頭宛2群に分ち、1群はP<sup>32</sup>投与の6時間後、他の1群は24時間後に頸動脈を切断して脳を採取した。別に健康マウス乳脳剤を健康マウス脳内に接種し、同様にP<sup>32</sup>を同量注射し6時間、24時間後に脳を採取した。

取り出した脳は生理的食塩水にてその表面を充分洗滌し血液を除き、その一定量を正確に秤量し、前と同様にSchmidt-Thannhauser法<sup>60)</sup>にて分割しFiske-Subbarow法<sup>47)</sup>にて定量した。

### 第三章 実験成績

#### 第一節 正常マウス脳に於ける核酸量

正常マウス脳に於ける核酸定量を行い第1表の如き成績を得た。

第1表 正常マウス脳に於ける核酸量

例数	新鮮脳100g中の	
	RNA-P mg	DNA-P mg
1	40.31	18.52
2	33.63	16.06
3	24.92	12.30
4	37.15	20.42
5	44.94	13.36
6	27.03	25.78
7	30.04	17.40
8	42.74	15.18
9	35.12	25.66
10	39.65	19.92
平均	35.55	18.44

RNA/DNA 1.9

#### 第二節 日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸量の時間的消長

日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸燐量を潜伏期、潜伏末期及び発症期につき測定した結果は、第2表及び第1図に示す如く、潜伏期に於てはRNA-P、DNA-P共に正常値に比し殆んど著変は認められなかつたが、潜伏末期に於ては、RNA-Pの稍々増多の傾向あるも、DNA-Pは潜伏期に於ける場合と同様正常値に比し殆んど著変は認められなかつた。発症期に入ればRNA-Pは正常値に復したが、DNA-Pの軽度増多を認めた。

#### 第三節 P<sup>32</sup>をマウス腹腔内に投与せる場合脳に於ける核酸量の時間的消長

##### 第一項 正常マウスにP<sup>32</sup>投与後脳に於ける核酸量の消長

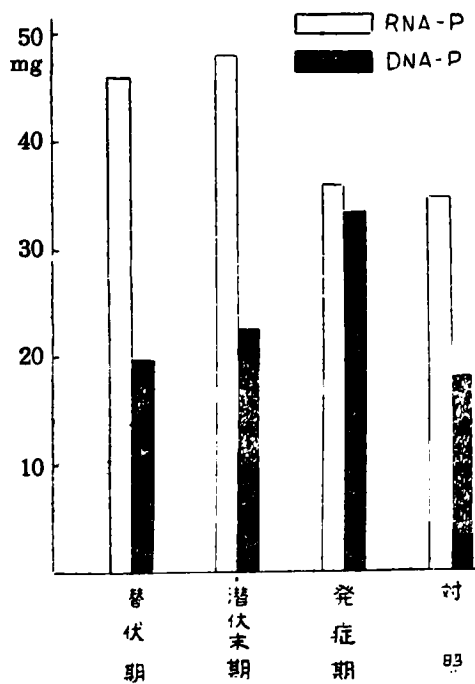
第2表 日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸量

	例数	新鮮脳 100g 中の	
		RNA-P mg	DNA-P mg
潜伏期	1	45.34	17.90
	2	53.10	20.14
	3	39.86	22.63
潜伏末期	1	44.70	25.98
	2	55.01	15.43
	3	43.25	26.71
発症期	1	41.28	36.96
	2	40.27	29.70
	3	27.69	35.14

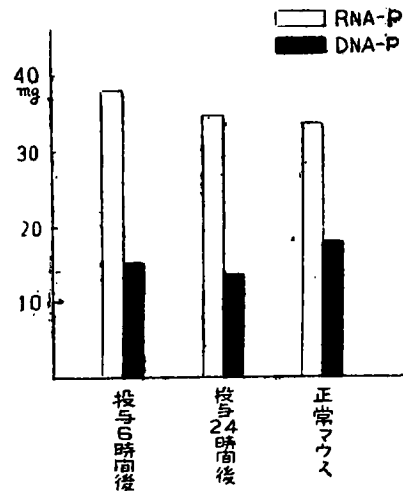
第3表 正常マウスに P<sup>32</sup> 10 $\mu$ c 投与した場合脳に於ける核酸量

	例数	新鮮脳 100g 中の	
		RNA-P mg	DNA-P mg
P <sup>32</sup> 投与6時間後	1	45.34	13.46
	2	38.72	19.09
	3	30.71	14.67
P <sup>32</sup> 投与24時間後	1	41.52	17.32
	2	40.46	12.48
	3	24.66	10.54

第1図 日本脳炎罹患マウス脳に於ける核酸量 (新鮮脳 100g 中の P の量をmgで表す)



第2図 正常マウスに P<sup>32</sup> 10 $\mu$ c 投与した場合脳に於ける核酸量 (新鮮脳 100g 中のPの量をmgで表す)



正常マウスに P<sup>32</sup> 10 $\mu$ c 腹腔内に投与し、6時間後、24時間後に検索した脳に於ける核酸量は第3表並びに第2図の如く、RNA-Pは投与後6時間、24時間後共に正常値に比し殆んど著変は認められなかつた。DNA-PもP<sup>32</sup>投与24時間後に於ては6時間後に比し少々減少の傾向が見られる様であるが、何れも正常値に比し殆んど顕著な差は認められなかつた。

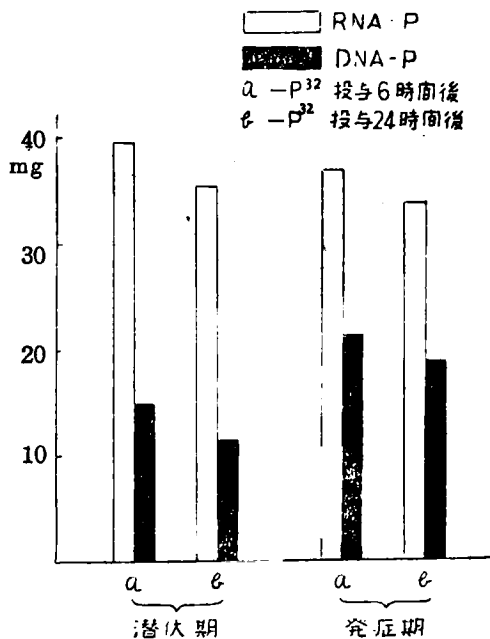
第二項 日本脳炎罹患マウスに P<sup>32</sup> 投与後脳に於ける核酸量の消長

日本脳炎ウイルスを正常マウス脳内に接種し、48時間及び84時間後に P<sup>32</sup> 10 $\mu$ c 腹腔内に投与し、それぞれ6時間、24時間後に検索した脳に於ける核酸量は第4表並びに第3図に示すが如くにして、これを P<sup>32</sup> を用いない場合即ち日本脳炎罹患マウスに於ける場合と比較すれば、RNA-Pは潜伏期、発症期を通じ6時間、24時間後共に著変は認められなかつた。DNA-Pは潜伏期に於ては、RNA-Pの場合と同様著変は認められなかつたが、発症期に於ては P<sup>32</sup> 投与の場合には軽度減少を示した。

第4表 日本脳炎罹患マウスに P<sup>32</sup> 10 $\mu$ c 投与した場合脳に於ける核酸量

		例数	新鮮脳 100g 中の	
			RNA-P mg	DNA-P mg
潜伏期	P <sup>32</sup> 投与 6時間後	1	33.16	18.36
		2	44.82	10.66
		3	40.43	15.20
	P <sup>32</sup> 投与 24時間後	1	43.24	11.40
		2	45.24	12.58
		3	22.52	16.34
発症期	P <sup>32</sup> 投与 6時間後	1	39.69	16.43
		2	29.44	15.16
		3	44.43	33.30
	P <sup>32</sup> 投与 24時間後	1	34.62	17.21
		2	33.98	14.59
		3	35.09	27.24

第3図 日本脳炎罹患マウスに P<sup>32</sup> 10 $\mu$ c 投与した場合脳に於ける核酸量 (新鮮脳 100g 中の P の量を mg で表はす)



第四章 総括並に考按

私は先ず日本脳炎ウイルス接種マウス脳に於ける核酸量を時間的に検索した。以下これについて総括し批判を加えてみたい。

種々の動物組織に於て核酸を分析した結果、一般に如何なる組織に於ても RNA 並に DNA が発見され、而してこの両核酸は蛋白

と結合し、所謂核蛋白として存在している事が判明した。

核には DNA、細胞質には RNA が存すると考えられていたが<sup>46)</sup>、その後の研究により RNA は核にも存在する事が判明した<sup>59)</sup>。

Caspersson<sup>31)</sup> は紫外線吸収スペクトルによつて増殖する細胞には RNA が極めて多い事を指摘し、政山等<sup>22)</sup>も核酸を化学的に定量し、鶏卵胚大豆の芽根の如き生長増殖するものでは悪性腫瘍の場合と同様 RNA の増量する事を認めている。

更に Caspersson 等<sup>32)</sup> は唾液腺、脾臓、胃腸の如く蛋白質を分泌する細胞には増殖する細胞と同様 RNA を豊富に含む事を報じている。而して RNA は蛋白合成に關係を有する事は Greenstein<sup>49)</sup>、政山<sup>22)</sup>等の認むる所であるが、放射性同位元素を使つた Spiegelmann 等<sup>61)</sup>の実験に於ては、RNA の転換率は蛋白合成に伴つて急速に増加すると述べている。

Davidson<sup>37)</sup> は P<sup>32</sup> を 10 $\mu$ c の割合に種々の動物に投与し、一定時間後に肝に於ける DNA、並に RNA の代謝状況を観察した結果、RNA は DNA に比べて遙かに大であるが、ネズミの再生肝では DNA の比活性度 (P<sup>32</sup>の放射能活性度と計測に用いられた物質の P<sup>31</sup>の量との比) は増大し、更にウサギ胎児に於ては、DNA の比活性度は著しく増大する事を認めている。又 Vilee 等<sup>67)</sup>はウニの受精卵を P<sup>32</sup> を含んだ海水中に入れて発生させると P<sup>32</sup> は RNA よりも DNA に多く入り込む事を認めている。

以上の成績より静止状態にある DNA は安定しているが、細胞分裂が起ると DNA の新しい合成を伴う事が考えられる。

各臓器に於ける核酸の含有量については、一般に核酸代謝の盛んな臓器例えば脾、小腸、リンパ節、肝臓等に多い。

臓器別に見ると脾、肝等は RNA を多く含み、DNA に富む臓器は脾、胸腺がこれに属すと云われている<sup>37)</sup>。

さて Schmidt-Thannhauser 法<sup>60)</sup>にて分割し、Fiske-Subbarow 法<sup>47)</sup>にて比色定量した

正常マウス脳に於ける核酸量は第1表に示す如く、これを Davidson<sup>37)</sup> より引用した第5表と比較すれば何れの場合に於ても、脳に於ては DNA に比し RNA を多く含んでいる。

第5表 正常動物脳に於ける核酸量

報 告 者	項 目 動種 物 の 類	新 鮮 脳 100g 中		RNA DNA
		RNA-Pmg	DNA-Pmg	
Davidson Waymouth	ヒツジ	—	—	2.1
Schneider	ネズミ	15~20	12~13	1.5
Schmidt- Thannhauser	ネズミ	33	15	2.2
Schneider	ネズミ	20.5±0.1	19.1±1.4	1.0

これに関して Caspersson, Landstörn<sup>57)</sup> 等は神経細胞について紫外線顕微鏡で吸収スペクトルを取つた結果、2600 Å で強い吸収極大を示し且つ Feulgen 反応陰性なので多量の RNA の存する事を報じている。

ウイルスと核酸との関係について、植物性ウイルスはいずれも RNA と蛋白から構成され化学的に最も簡単なウイルスとして認められている<sup>50)</sup>。これに反し動物性ウイルス及び細菌性ウイルスは植物性ウイルスよりも複雑で核蛋白以外に他の成分を含んでいる。而して動物性ウイルスの核酸は RNA 又は DNA の何れか一方のみである。

Hydén<sup>50)</sup> によれば伝染性軟疣 (Molluscum Contagiosum), 尋常性疣 (Verrucae Vulgaris), 恐水病, Neurovaccina 等の核酸は何れも DNA であり、脊髓灰白質炎のそれは RNA を含むと述べ、又 Knight<sup>54)</sup> は天熱痘を分析して DNA を見出したと報じている。一般に植物性ウイルスの如き構成の簡単なウイルスは RNA を含むと Hydén<sup>50)</sup> は述べ、更にすべての究明された動物性ウイルスは脊髓灰白質炎のそれを除き他はデソキシペントース型の核酸であるとは Anderson<sup>27)</sup> の文献に認める事が出来る。

ウイルス病変に於ける封入体については、従来はただ診断的価値のみしか考えられなかつたが、市川は封入体につき組織化学的検索を行つた結果、狂犬病ネグリー小体は RNA<sup>2)</sup>

を、鶏痘ボリソグレル小体は DNA を含む事<sup>3)</sup> を唱えている。

日本脳炎については、浜崎教授<sup>18)</sup> は日本脳炎ウイルス接種廿日ネズミに特殊核包含体を発見し詳細に研究しているが、このものは Feulgen 反応陰性で石炭酸フクシン沃度法にてケトエノール物質を証明しないと述べ、又 Beard<sup>29)</sup> はアメリカ馬脳炎ウイルスを分析して RNA を認めている。

日本脳炎に於ける核酸量については、宇野等<sup>7)</sup> は日本脳炎患者に於ける髄液中の核酸定量を行い、有熱時には RNA, DNA 共に高値を示し、体温下降期に至れば RNA は減少するも DNA は尚高値を示し、平熱になると減少し正常値に復すと述べている。

さきに市川等<sup>15)</sup> は日本脳炎ウイルス接種マウス脳につき病理組織学的に検索し、時間の経過と共に核内に DNA の異常増多を認め、小沢<sup>10)</sup> も日本脳炎ウイルス接種マウス脳を Pylonin-Methylgreen 染色法にて核酸の消長を時間置きに観察した結果、初め RNA の増加を認むるも後神経細胞核内に DNA の増多を認めている。

さて私の実験に於ては前述の如く感染末期に至り DNA の増多を認めた事は、市川<sup>15)</sup>、小沢<sup>10)</sup> 等の成績と比較し、一方は化学的に、他方は病理組織学的にと観察の面こそ異なるも殆んど相一致した成績を示した事は全く興味深く感ぜられる。

次に日本脳炎罹患マウスに P<sup>32</sup> 10 μc 投与した場合には潜伏期、発症期を通じ RNA-P, DNA-P 共に対照群に比し著明な変化は認められなかつたが、教室長田<sup>14)</sup> は日本脳炎罹患マウスに P<sup>32</sup> を投与し脳に於ける核酸代謝を追求し発症期に於て DNA 分割に於ける P<sup>32</sup> 活性度の増大を認めている。即ちこの二つの成績を合せ検討するに、感染末期に於て DNA 分割の燐量には認むべき変化なきも、P<sup>32</sup> 活性度の増大が認められた事は感染末期に DNA 分割に於ける燐代謝の著明な亢進を物語っている様に思われる。

既に堀田等は<sup>21)</sup> P<sup>32</sup> を用いてデング熱感染

マウス臓器に於ける磷代謝を追求し、感染時に於て核酸を中心とする物質の激しい変動ある事を認め、又さきに平木教授及び教室長田等<sup>19)</sup>は日本脳炎罹患マウス脳を Schneider 法にて分割し、発症期に核酸分割に於ける磷代謝の亢進せる事を報告した。

これらの成績よりウイルスの感染に伴つて宿主細胞の核酸に著しい変動の起る事が推定される。

次に日本脳炎罹患マウスに於ける核酸量に及ぼす  $P^{32}$  の影響について検索した。以下これについて検討を加えてみたい。

レ線の核酸に及ぼす影響については、種々の報告あるも諸説区々にして軽々にこれを断ずる事は出来ない。

Ely 等<sup>43)</sup>は白ネズミに 600r の照射を行い核酸の消長を組織化学的に検した結果、RNA、DNA 共に減少すると述べ、松田<sup>23)</sup>はマウスに 600r 照射後組織学的に肝に於ける DNA を検し著変を認めずと述べている。

然るに一方 Mitchell<sup>58)</sup>はレ線照射により細胞質内に RNA の蓄積を認めている。

Hevesy<sup>51)</sup>が引用した Jones の実験では乳癌移植ネズミに  $P^{32}$  クロム燐酸のコロイド溶液の一定量 (0.1~1.0 mc) を静注し、 $P^{32}$  から放射する  $\beta$  線が DNA 形成に如何なる影響を与えるかを検した結果、 $\beta$  線放射の強さに一致して乳癌の DNA 形成が低下する事を認めている。

$P^{32}$  の体内諸臓器に分配される量は脳に於ては他の臓器に比し最も少量であると云われている<sup>33)</sup>。而して  $P^{32}$  の量は脳に於ては他の臓器と異つて時間の経過と共に増加すると云われている<sup>33)6)</sup>。

翻つて私の成績は前述の如く正常マウスに  $P^{32}$  を投与せる場合には RNA-P は正常値に比し著変を認めず、DNA-P も投与 6 時間、24 時間後共に正常値に比し殆んど有意の差は認められなかつた。

菊池教授等<sup>15)</sup>の骨髓に於ける核酸を中心とする研究に於て、一般に核酸代謝の亢進せる場合には体内に注入された  $P^{32}$  は優先的にそ

の臓器に集積することが認められている。私の実験に於て日本脳炎罹患マウスに  $P^{32}$  を投与せる場合には、投与せざる場合 (即ち日本脳炎罹患マウスの場合) に比し発症期に DNA-P の軽度減少を示したことは、発症並に死亡日数の延長<sup>20)</sup> と照合して考える時  $P^{32}$  が脳内ウイルスの増殖を或る程度抑制せるものと推定され興味深く感ぜられる。

## 第五章 結 論

私は日本脳炎罹患マウス及びこれに  $P^{32}$  を投与せる場合につき、脳に於ける核酸定量を行い次の如き結果を得た。

(1) 日本脳炎ウイルスを脳内に接種し、時間的に脳を取り出し、Schmidt-Thannhauser 法にて分割し Fiske-Subbarow 法にて燐量を定量した。

その結果潜伏期に於ては RNA-P、DNA-P 共に正常値に比し著変は認められなかつたが、潜伏末期に於て RNA-P の軽度増多の傾向を、発症期に於ては DNA-P の増多を認めた。

(2) 正常マウスに  $P^{32}$  10  $\mu$ c 投与せる場合に於ける脳核酸燐量については、RNA-P は正常値に比し著変を認めず、DNA-P に於ても投与 6 時間、24 時間後共に正常値に比し有意の差は認められなかつた。

(3) 日本脳炎罹患マウスに  $P^{32}$  10  $\mu$ c 投与せる場合には、 $P^{32}$  を投与せざる場合 (即ち日本脳炎罹患マウスに於ける場合) に比し DNA-P は発症期に於て軽度減少を示した。即ち  $P^{32}$  の  $\beta$  線が脳内ウイルスの増殖を或る程度抑制せるものと推定される。

擧筆するに当り御懇篤なる御指導並に御校閲を賜わりし恩師平木教授に謹しみて衷心より感謝の意を表わすと共に、多大の御教示を賜わりし大藤助教に併せて深謝の意を表す。

尚本稿の要旨は昭和30年4月3日第29回日本伝染病学会総会に於て発表した。

文献は第三報の終りに合せて掲載した。

Department of Internal Medicine, Okayama University, Medical School  
(Director · Prof. Dr. K. Hiraki)

## Experimental Study on Japanese B Encephalitis

### II. Determination of the nucleic acid contents in the brain of infected mouse, with special reference to the effects of radioactive P<sup>32</sup>-administration.

By

Yukihiko Hoen

The mice infected with Japanese B Encephalitis were determined to the nucleic acid contents of their brain in connexion with the effects of P<sup>32</sup>-administration.

The brains were fractionated into two fractions, DNA- and RNA-fractions by Schmidt-Thannhauser's method. On these two fractions phosphorus contents were determined by Fiske-Subbarow's method. In this experiment the virus was inoculated intracerebrally.

The results are summarized as follows:

1. The brains were picked out at intervals after the inoculation of virus and phosphorus contents of their DNA- and RNA-fractions were determined. At the latent period, no definite differences were evidenced in the DNA-P- as well as in the RNA-P-contents as compared with those obtained from the normal mouse. However, a slight increase in the RNA-P-content at the endstadium of the latent period and also increase in the DNA-P-contents at the manifestation period were observed.

2. When 10  $\mu$ c. of P<sup>32</sup> was administered to each one of the infected mice, the DNA-P-content of the brain at the manifestaion period showed a slight decrease, as compared with that obtained from the brains of infected mice with no P<sup>32</sup>-administration.

3. Administration of the same doses of P<sup>32</sup> to normal mice induced no appreciable change in the RNA-P-contents as compared with those of the normal ones. This was also the case in their DNA-P-contents determined 6 as well as 24 hours after the administration of P<sup>32</sup>.

From all these observations it is assumed that the  $\beta$ -ray irradiated from P<sup>32</sup> is as effective as to inhibit the virus multiplication in the brain to some extent.

---