

# P<sup>32</sup>による実験的日本脳炎の研究(其の一)

日本脳炎ウイルス脳内接種マウス臓器(肺,脾及び腎)

に於ける核酸代謝のSchneider法による研究

岡山大学医学部平木内科。(主任:平木潔教授)

内 田 豊

〔昭和31年2月10日受付〕

## 内 容 目 次

第1章 緒 言	3. 日本脳炎ウイルス
第2章 実験材料並に実験方法	第2節 実験方法
第1節 実験材料	第3章 実験成績
1. 実験動物	第4章 総括並に考按
2. 放射性燐 (P <sup>32</sup> )	第5章 結 語

## 第1章 緒 言

1913年 Hevesy 及び Paneth は、鉛の放射性同位元素 Pb<sup>210</sup> を指示薬として用い硫化鉛及びクロム酸鉛の溶解度の測定を行い、又1923年 Hevesy は天然放射性同位元素 RaD を用いて植物の鉛の吸収、移動の状態を研究したが当時使用せられた同位元素は、天然の鉛、蒼鉛等に限られたものであつた。1934年 Joliot-Curie 夫妻により人工放射性同位元素が発見され、Hevesy 及び Chiewitz は、成長したネズミに於て骨や歯や筋肉其の他の臓器中に与えられた P<sup>32</sup> が摂取される事を明かにし、いち早く生物学への応用の道を開いた。而して「サイクロトロン」から「パイル」へと原子核転換装置の進歩に伴い、多くの人工放射性同位元素が得られる様になり、この利用は凡ゆる元素に及ぶようになった。即ち之等人工放射性同元素は tracer として、生物体内の物質の移動分布、中間代謝特にその動的平衡の探究に役立つ所大なるものがあり、それ等の研究成果も亦陸続として挙りつゝある。

扱て核酸は細胞の構成物質として生物学上

極めて重要なものであるが、1935年 Stanley<sup>34)</sup> はタバコのモザイク病の病源体であるウイルスを結晶の形で取り出す事に成功し、それが一種の蛋白である事を示し、次でそれが核蛋白である事が明かにされた。<sup>21)35)37)</sup> それ以後多くの植物性、細菌性、動物性ウイルスは純粋に分離、化学的に研究され、すべて核酸を含んでいる事が明示された<sup>28)</sup>。此処に於てウイルス学と核酸とは不可分の関係を生じ来つた。

1942年 Stanley<sup>37)</sup> は始めて人工放射性同位元素 P<sup>32</sup> をタバコ・モザイクウイルスの増殖の研究に応用し、この方面の研究に新開地を開いた。而してウイルス感染細胞に起る核酸を中心とした変化を Caspersson 及び Nydén<sup>27)</sup> (1945年) は紫外線吸収スペクトル及び細胞化学的に追及したが、1952年堀田等<sup>17)</sup> は Dengue 熱感染マウス臓器の燐代謝を P<sup>32</sup> を tracer として用い、感染時に於て核酸を中心とした物質代謝に激しい変動のある事を明かにしている。

日本脳炎に於ては、市川等<sup>3)4)</sup> 及び小沢<sup>7)</sup> は日本脳炎ウイルス接種マウス脳の病理組織化学的研究を行い、神経節細胞内の核酸に変

動がある事を明かにしている。

教室の長田<sup>6)</sup>は、人工放射性同位素  $P^{32}$  を tracer として用い、日本脳炎ウイルス脳内接種マウスの脳及び肝に於ける核酸代謝を Schneider 法<sup>33)</sup> により研究し、既に報告したが、私は引き続き、その肺、脾、腎に於ける核酸代謝を同様の方法で研究し、一定の結果を得たのでここに報告し大方諸賢の御批判を乞う次第である。因みに、斯る研究成績は従来全く報告されておらず、興味ある新知見と考えられる。

## 第2章 実験材料並に実験方法

### 第1節 実験材料

#### 1. 実験動物

体重 10g 前後の健康白色マウスを用いた。

#### 2. 放射性磷 ( $P^{32}$ )

使用した  $P^{32}$  は米国 Oak Ridge 国立研究所より配布された正磷酸である。実験に当つては之を 5% 葡萄糖で適当に溶解稀釈して使用した。

#### 3. 日本脳炎ウイルス

昭和27年当教室にて分離同定した岡山52 B 株<sup>15)</sup> を用いた。

### 第2節 実験方法

日本脳炎ウイルス岡山52 B 株の脳内接種をうけ罹患発症し、瀕死期にあるマウス脳を pH7.4 のブイオンで 10% 乳剤を作り、遠心沈澱 (毎分 3000 回転 10 分間) し、その上清を 0.03cc 宛多数のマウス脳内に接種した。

その後 48 時間、即ち日本脳炎潜伏期に 4~5 匹宛無選択的に取り出して、 $P^{32}$  10 $\mu$ c をマウス腹腔内に注入し、 $P^{32}$  を注入して 12 時間後にマウス頸動脈を切断、放血致死せしめ、各臓器 (肺、脾、腎) を取り出した。次で他のマウスは、発症期即ちウイルス感染後 96 時間を経て同様に  $P^{32}$  10 $\mu$ c を夫々腹腔内に注射し、その後 12 時間を経て殺し、各臓器を取り出し次の操作を行つた。

尚対照として健康白色マウス脳乳剤を健康マウス脳内に接種し、接種後 48 時間及び 96 時間目に同じく  $P^{32}$  を同量注射して 12 時間後

に殺し、以下同様の操作を行つた。

各臓器を採取するに当つては、生理的食塩水で充分洗滌後濾紙上にて水分を十分に除き、出来る限り血液成分を除去するに努めた。

而して採取せる各臓器は一定量 (肺は 2g 脾及び腎は 1g) 正確に秤量し、Schneider 法に従い、① 酸可溶性磷分割 ② 磷脂質分割 ③ 核酸及び磷蛋白分割に分つた。即ち

① 酸可溶性磷分割：各臓器の一定量の 20% ホモジネート 1.0cc に、10% 氷冷トリクロール醋酸 (TCA) 2.5cc を加え速かに遠心分離する。上清を除き沈澱に再び 10% 氷冷 TCA 2.5cc を加え懸濁液となし、速かに遠心分離する。沈澱は次の磷脂質分割に利用する。この上清は、先の上清と合併して酸可溶性磷分割とする。

② 磷脂質分割 ① の沈澱を水に懸濁し、4.0cc の 95% アルコールと混ぜ遠心分離する。沈澱を 5.0cc のアルコールに懸濁し再び遠心分離し、① で用いられた TCA を出来るだけ除去する。次に沈澱をアルコール・エーテル混液 (3:1) 5cc に懸濁し、温浴中で 3 分間沸騰せしめる。冷後遠心分離し、得られた沈澱を同様にして計 3 回抽出する。3 回分のアルコール・エーテル抽出液を合併し、磷脂質分割とする。

③ 核酸及び磷蛋白分割：② の沈澱を 1.2cc に懸濁し、10% 氷冷の冷水 TCA 1.3cc を混じり遠心分離する。上清を除去し、この沈澱を核酸及び磷蛋白分割とする。

次で之等の各分割に含まれる放射能を測定した。放射能測定に当つては、上述の如くして取り出した各分割全部を湿式灰化した。即ち、各分割全部をケルダールのコルペンに入れ、硫酸、硝酸各 2cc を加え湿式灰化した。灰化が完了せばコルペンに蒸留水を 10cc 宛注入し、十分洗滌し、ピーカーに洗い込む。更にそれに carrier として 0.1 モル第 1 磷酸カリ溶液の一定量 (4cc) を加え、同様ピーカーに洗い込んだ。次で指示薬として、それに 1% フェノールフタレイン溶液 3 滴宛滴下し、更にマグネシア混液 5cc を加え、20%

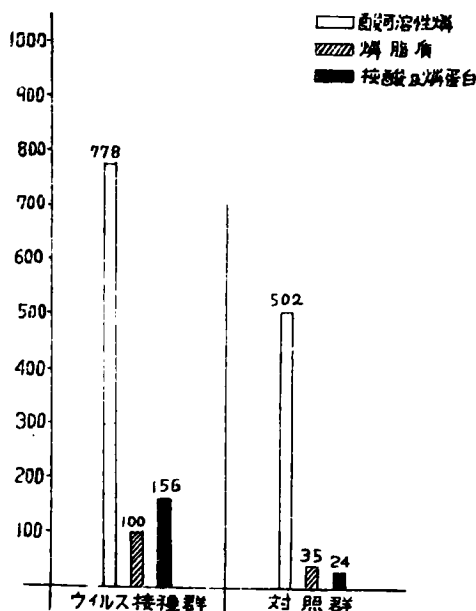
アモニア溶液を全体が微紅色を呈する迄加え、更に全量の $\frac{1}{4}$ までそれを追加し、30分以上放置して磷酸マグネシウムアムモンの沈澱が完全に析出した後に沈澱を吸引濾過して測定用濾過皿にとる。この測定用濾過皿は菊池教授<sup>10)</sup>の提晶になるペニシリン瓶のアルミニウムキャップで自製せるもので、測定条件を一定にする為規格を同一に定めた。この測定用濾過皿の上で試料を充分に乾燥せしめカウンターにかけた。用いたカウンターは、神戸

工業製ガイガー・ミュラー計数管、高压電源装置、増幅器及びスクレーラーを用いた。測定には一試料につき2分間、計5回の計数結果を平均し、その1分当りの換算値を定め、それより実験前後に於て測定せる自然係数を減じその値を計数值とした。

### 第3章 実験成績

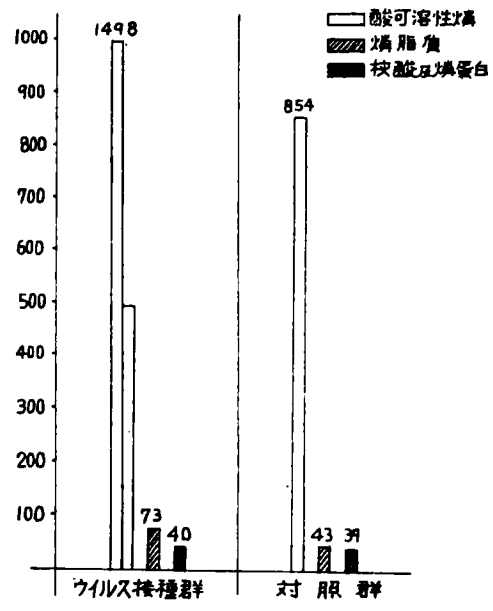
1) 肺臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值は第 I 及び第 II 図に示す如くである。即ち各分割

第 I 図 肺臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值 (P<sup>32</sup>注射後12時間)



潜伏期 (ウイルス接種後48時間)

第 II 図 肺臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值 (P<sup>32</sup>注射後12時間)



発症期 (ウイルス接種後4日)

に於けるP<sup>32</sup>放射能活性度 (Counts/min. /0.2g 臓器) をウイルス接種群及び対照群両者を比較すると潜伏期に於ては第 I 図に示す如く、核酸及び磷蛋白分割に於てはウイルス接種群は、対照群に比し著しく高値を示している事が明かである。酸可溶性磷分割及び磷脂質分割でもウイルス接種群は対照群に比しやゝ高値を示している。

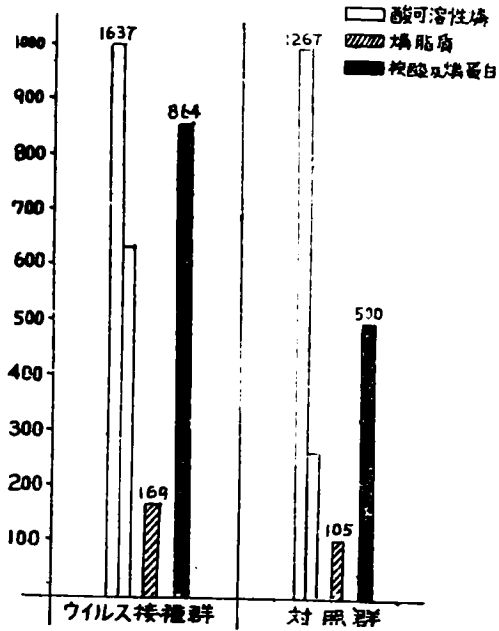
発症期に於ては第 II 図に示す如く、核酸及び磷蛋白分割はウイルス接種群と対照群との間に差は認められないが、磷脂質分割ではウイルス接種群が対照群よりも稍々高値を示し酸可溶性磷分割に於ては、ウイルス接種群の

方が断然高い値を示している。

2) 脾臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值を第 III 及び第 IV 図に示した。P<sup>32</sup> 放射能活性度 (Counts/min. /0.2g 臓器) をウイルス接種群及び対照群両者を比較すると、第 III 図に示す如く、潜伏期に於ては核酸及び磷蛋白分割は、ウイルス接種群は対照群に比し明かに高値を示している。酸可溶性磷分割及び磷脂質分割に於てもウイルス接種群は対照群に比し稍々高値を示している。

発症期に於ては第 IV 図に示す如くで、核酸及び磷蛋白分割に於てはウイルス接種群と対

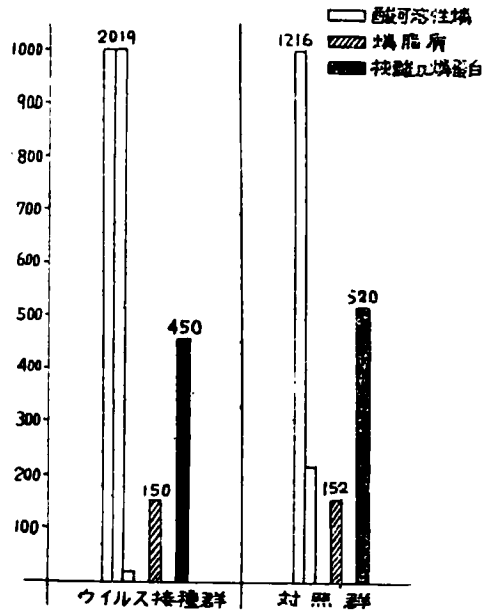
第Ⅲ図 脾臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值 (P<sup>32</sup>注射後12時間)



潜伏期 (ウイルス接種後48時間)

照群との間には差が認められず、燐脂質分割に於ても同様であるが、酸可溶性燐分割に於てはウイルス接種群は対照群に比して明かに

第Ⅳ図 脾臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值 (P<sup>32</sup>注射後12時間)

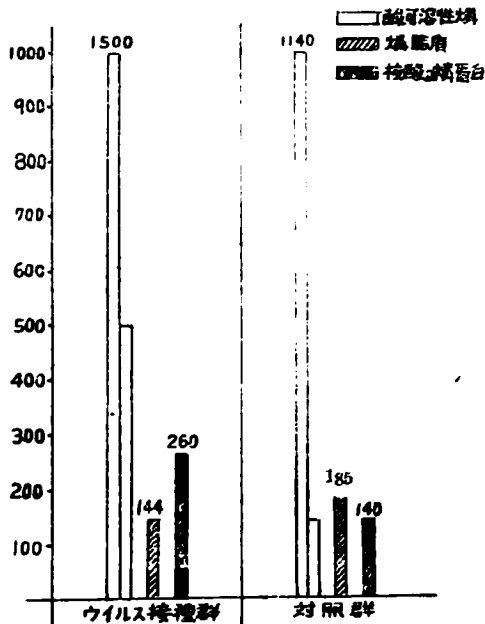


発症期 (ウイルス接種後4日)

高値を示している。

3) 腎臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值を第V及び第Ⅵ図に示す。即ち潜伏期に於ける

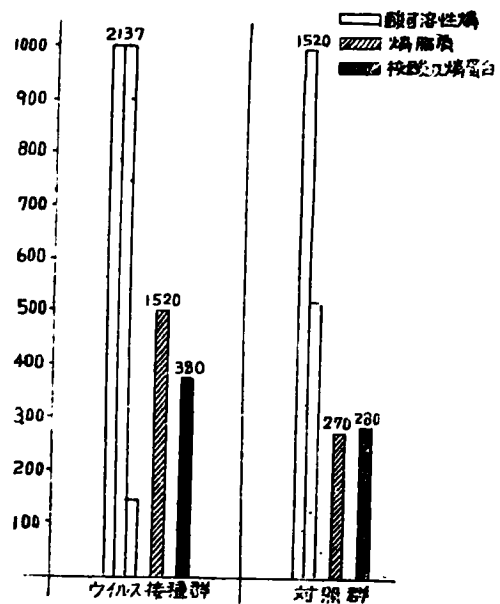
第Ⅴ図 腎臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值 (P<sup>32</sup>注射後12時間)



潜伏期 (ウイルス接種後48時間)

P<sup>32</sup> 放射能活性度 (Counts/min. 0.2g 臓器) は、第Ⅴ図に示す如くで、核酸及び燐蛋白分割ではウイルス接種群の方が対照群に比し明

第Ⅵ図 腎臓 0.2g 各分割当 G. M. 計数值 (P<sup>32</sup>注射後12時間)



発症期 (ウイルス接種後4日)

らかな高値を示しているが、燐脂質分割ではウイルス接種群の方が対照群に比し僅かではあるが低値を示している。酸可溶性燐分割に

於ては、ウイルス接種群は対照群に比して核酸及び燐蛋白分割同様稍々高値を示している。発症期では第VI図に示す如く、核酸及び燐蛋白分割、燐脂質分割及び酸可溶性燐分割共に対照群に比して高値を示している。

4) 以上3臓器の P<sup>32</sup> 放射能活性度は、ウイルス接種群も対照群も共に最も高いのは脾臓で、次で腎臓、肺臓の順に低値を示している。

#### 第4章 総括並に考按

以上総括するに、日本脳炎ウイルス接種群の肺臓、脾臓、腎臓に於ては、既に潜伏期に於て核酸及び燐蛋白分割の P<sup>32</sup> 放射能活性度は対照群に比し明かな高値を示している。酸可溶性燐分割に於ても亦同様である。燐脂質分割に於ては、肺臓ではウイルス接種群が対照群よりも高値を示し、脾臓も同様であり、腎臓では却つてウイルス接種群が対照群よりも低値を示している。発症期に於ては、肺臓及び脾臓に於ては核酸及び燐蛋白分割の P<sup>32</sup> 放射能活性度は対照群に比し有意の差を認めないが、腎臓ではウイルス接種群の方が対照群に比し稍々高値を示している。燐脂質分割に於ては、肺及び腎臓に於てウイルス接種群の方が対照群よりも高値を示している。酸可溶性燐分割に於ては、肺臓、脾臓、腎臓何れもウイルス接種群は対照群に比して明かに増大の傾向を示している。

さて核酸は動物細胞の主要構成成分として不可欠の存在を示している。而して核酸の哺乳動物の諸種組織への分布は Davidson<sup>24)</sup> の綜説に一表に附されているが、同位元素の新陳代謝研究への導入により、之等細胞構成要素は常に更新が行われ、そこで動的に平衡が保れている事が明かとなつて来た。曩に Caspersson<sup>22)</sup> は、細胞質及び仁に於ける RNA の存在が、之等構造に於ける蛋白質の合成に重要な意義を有する事、同様に DNA は染色体に於ける遺伝子蛋白の合成に重要な意義がある事を指摘し、その門下 Hydén<sup>27)</sup> は紫外線吸収スペクトルによる研究から、諸

種ウイルス感染細胞内の核酸の動きを追求し、之等ウイルスは宿主細胞の蛋白合成装置に寄生し増殖する事、その攻撃部位はウイルスの種類によつて異なるが、何れにしる宿主細胞はウイルスの寄生によつて蛋白合成活性の増進を来し、之等はウイルス自身の増殖に利用される事を述べている。

市川等<sup>1)2)3)4)</sup> は細胞化学的検索を応用し Bollinger 小体の発生機序を究明し、それが DNA と密接に結合している事を示し、又日本脳炎感染マウス脳神経節細胞の DNA の異常増殖、RNA の蛋白合成を認めている。同様に小沢<sup>7)</sup> は日本脳炎ウイルス脳内接種マウス脳に Pylonin-Methyl 緑染色を施し神経細胞内の核酸代謝を追求し、始め核仁の RNA 増加、次で減少を認め、細胞核内 DNA は 48時間目頃から仁附属染色質として仁に接して漸増する事を認めた。

かくの如くウイルス感染によつて宿主細胞には核酸を中心とする物質代謝の変動が惹起する事は明かである。

而して菊池等<sup>9)</sup> は、P<sup>32</sup>により写血貧血、X線照射家兎骨髓の核酸燐を中心とする燐代謝の研究で、写血貧血家兎骨髓では、核酸及び燐脂質(特に前者)の P<sup>32</sup> 放射能活性度が著しく増加するが、X線照射家兎では特に核酸燐の P<sup>32</sup> 放射能活性度の減少を認めている。即ち一般に臓器の燐代謝が充進する場合には、体内に注入された P<sup>32</sup> は優先的にその臓器に集積し、従つて P<sup>32</sup> の活性度は増大するものである。

私の実験に於て、日本脳炎感染マウスの肺臓、脾臓、腎臓に於て、何れも潜伏期に既に核酸及び燐蛋白分割の P<sup>32</sup> 放射能活性度が増大している事は、この時期に於て核酸を中心とした新陳代謝が激しく起つていると考えられるのである。

ひるがえつて、緒方及び高木<sup>5)</sup> は、その日本脳炎罹患マウス各臓器の病理組織学的研究に於て、日本脳炎感染早期、末だ脳脊髄に組織学的に炎性変化の現れない時期を確認し、この時期に既に各種内臓に炎症性変化の起つ

ている事、即ち初期病毒血症乃至全身感染症を証明し、脳脊髄期に対し、之を内臓期と唱えた。

而して教室の長田<sup>6)</sup>の研究によれば、日本脳炎罹患マウスの肝に於ては、既に潜伏期、即ち所謂内臓期に一致してウイルス接種群は対照群に比し核酸分割に著しい変動が観察されたという。

私の上記実験成績を之を以て勘按すれば、所謂内臓期に一致して肝臓のみならず、肺、脾、腎に於ても亦核酸を中心とした激しい物質代謝の変動がある事が推定される。

酸可溶性燐分割に於ては、各臓器共に、潜伏期、発症期何れの時期にも P<sup>32</sup> 放射能活性度が高い事が示された。Tuttle等<sup>38)</sup>は正常及び白血病マウスに於ける P<sup>32</sup> を用いた燐代謝の研究に於て、酸可溶性燐分割の活性度が正常組織よりも白血病組織に於て高い活性度を示す事を報告しているが、之は白血病性浸潤の為に glycolysis の中間代謝産物たる含水炭素の燐酸エステルの増量の為か、又はこの代謝過程に於て化合物の燐交換の割合が増加した為と考えられ、恐らくは後者の方が重要であろうと述べている。又、Warburg 等<sup>3)</sup>及び南<sup>30)</sup>は癌細胞に於ける解糖作用は増強している事を認めたが、Joseph Victor 等<sup>28)</sup>は西部馬脳脊髄炎ウイルスに感染した鶏胎組織の嫌気性の glycolysis は低下している事を報告している。又同様に、Racker 等<sup>31)32)</sup>は poliomyelitis 及び Theiler 株マウス脳脊髄炎ウイルス、杉野<sup>14)</sup>は日本脳炎ウイルス中山株、狂犬病固定毒に感染したマウス脳の解糖作用の低下を認めている。教室木山<sup>11)</sup>によれば日本脳炎ウイルス感染マウスの脳以外の内臓に於ても同様に嫌気性好気性解糖作用は低下しているという。而して堀田<sup>17)</sup>は、デング熱感染マウス臓器(脳、肝)の酸可溶性燐分割の活性が初期から増量する事を認め、之は向神経性ウイルスの感染によつて脳血管の透過性が高まる事を示したものであると説明している。日本脳炎感染マウス臓器に於ても前述の如く、初期に滲出性変化を来す事が認められ

るので酸可溶性燐分割の活性度の増大は矢張りその血管透過性が亢進するに起因するものと考えられる。

燐脂質分割中の P<sup>32</sup> 放射能活性度については一定の成績を得られなかつた。

平木教授等<sup>16)</sup>は、生体内に於て P<sup>32</sup> は日本脳炎ウイルスに直接作用し、日本脳炎罹患マウスの発症が遅延する事を認めている。又小田<sup>8)</sup>は、成熟マウスに P<sup>32</sup> を注入し、経的に諸臓器に組織学的検索を施し、DNA 及び RNA の消長を探究し、P<sup>32</sup> よりの  $\beta$  線の DNA、RNA 代謝へ影響がある事を報告している。教室の方円<sup>18)</sup>は、P<sup>32</sup> 注入マウスの血液像の変化を観察しているが、かかる放射能の生体に対する影響は X 線にも亦見られる事であり (Hevesy<sup>26)</sup>, Ahlström<sup>19)20)</sup>), 放射性物質を実験及び治療に使用するに当つて特に考慮すべきで、Friedell<sup>25)</sup> は P<sup>32</sup> のラッテに於ける LD<sub>50</sub> は 4.5  $\mu$ c/g である事を示し、白血球減少、血小板減少、及び貧血が死因である事を指摘している。

かくの如く、私の実験に於ても P<sup>32</sup> による  $\beta$  線の物質代謝への抑制を勿論考慮しなければならぬが、それでも正常マウスに比して著しい P<sup>32</sup> 放射能活性度を示した事は、宿主細胞内でこの影響を上廻る移り変りのあつた事を示すものと考えられる。

Cohn 及び Greenberg<sup>21)</sup> はネズミに P<sup>32</sup> を飲ませ、その吸収、体内分布、排泄を見ているが、始め 2 時間で速かに吸収が進み、8 時間にしてほぼ完了し、体内分布は、各臓器 1g 当り、骨、肝、胃腸、心、腎、肺、血液、筋肉、皮膚、脳の順である事を示した。倉光<sup>12)</sup>、小山<sup>13)</sup>等の実験に於ても多少の差はあるが同様の成績を得ている。

私の実験に於ては、最も高い活性度を示した臓器は脾臓で、次で腎臓、最も低い活性度を示したものは肺臓であり、前者の成績と一致する。

以上要するに、ウイルス感染マウス体内に於ては、それに伴つて起る各臓器の病理学的変化と共に、宿主細胞内に物質代謝の変動が

起る事が想像されるのであるが、こゝに放射性燐 P<sup>32</sup> を用いて日本脳炎罹患マウス臓器に、核酸を中心とした激しい物質代謝の変動のあることが観察された。

## 第5章 結 論

1) 日本脳炎罹患マウスに P<sup>32</sup> を tracer として与え、肺臓、脾臓及び腎臓核酸代謝を検討した。即ち日本脳炎ウイルス岡山52 B株をマウスに接種し時間を追つて P<sup>32</sup> を注射し、一定時間後に肺臓、脾臓、腎臓を取り出し、Schneider 法により酸可溶性燐分割、燐脂質分割及び核酸及び燐蛋白分割に分ち、放

射能活性度を測定し、検討を加えた。

2) ウイルス感染マウスの肺臓、脾臓、腎臓は教室の長田が肝臓に於て認めたと同じく何れも潜伏期、即ち日本脳炎の内臓期に一致して核酸及び燐蛋白分割の著しい増大が認められた。即ち日本脳炎内臓期に於ては核酸及び燐蛋白に関連した物質の激しい変動のある事が明かとなつた。

酸可溶性燐分割に於ても同様に内臓期より高値を示したが、之は発症期に至るも尚認められ、血管透過性の亢進が考えられる。

稿を終へるに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲の労を賜つた恩師み木教授に深甚なる謝意を表す。

## 文 献

- 1) 市川収：医学と生物学，15巻，213頁，昭和24年。
- 2) 市川収：医学と生物学，15巻，314頁，昭和24年。
- 3) 市川収他1名 医学と生物学，16巻，257頁，昭和25年。
- 4) 市川収他3名 医学と生物学，16巻，351頁，昭和25年。
- 5) 緒方知三郎他1名 日本医学及び健康保健，3269号，271頁，昭和17年。
- 6) 長田高寿：日本内科学会雑誌，44巻，93頁，昭和30年。
- 7) 小沢豊：日本体質学会雑誌，18巻，100頁，昭和28年。
- 8) 小田修：細胞核病理学雑誌，1巻，269頁，昭和29年。
- 9) 菊池武彦他4名：綜合臨床，3巻，100頁，昭和29年。
- 10) 菊池武彦他6名：最新医学，6巻，816頁，昭和26年。
- 11) 木山敦磨：未発表。
- 12) 倉光一郎他1名：医療，8巻，523頁，昭和29年。
- 13) 小山豪他2名 日本放射線学会雑誌，14巻，323頁，昭和29年。
- 14) 杉野俊一：日本伝染病学会雑誌，26巻，103頁，昭和27年。
- 15) 平木潔他3名：綜合医学，10巻，317頁，昭和28年。
- 16) 平木潔他1名：東京医事新誌，71巻，7頁，昭和29年。
- 17) 堀田進：Virus，2巻，26頁，昭和27年。
- 18) 方円幸彦 岡山医学会雑誌，日本脳炎特輯号II，昭和30年。
- 19) Ahlstsöm, L., Euler, H. V., and Hevesy, G., Arkiv. Kem. Mineral. Geol., 19A No. 9, 1944.
- 20) Ahlström, L., Euler, H. V., and Hevesy, G., Arkiv. Kem. Mineral. Geol. 19A, No. 13, 1945.
- 21) Bawden, F. C., and Pirie, N. W., Proc. Roy. Soc. B., 123, 274, 1937.
- 22) Caspersson, T., Naturwiss., 29, 33, 1941.
- 23) Cohn, W. E., and Greenberg, D. M., J. Biol. Chem., 123, 185, 1938.
- 24) Davidson, G. N., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 12, 50, 1947.
- 25) Friedell, H. L., and Storsali, J. P., J. Clin. Invest., 28, 1038, 1949.
- 26) Hevesy, G., Rev. Modern Physiol., 17, 102, 1945.
- 27) Hydén, H., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 12, 104, 1947.
- 28) Joseph Victor, M. D., and C. H. Huany, M. D., J. Exp. Med., 79, 129, 1944.
- 29) Knight, C. A., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 12, 115, 1947.
- 30) Minami, S., Bioch. Zschr., 142, 334, 1923.

- 31) Racker, E., and Kabat, H., J. Exp. Med., 76, 579, 1942.
- 32) Racker, E., and Krimsky, I., J. Exp. Med., 84, 715, 1947.
- 3) Schneider, W. C., J. Biol. Chem., 161, 293, 1945.
- 34) Stanley, W. M., Science, 81, 644, 1935.
- 35) Stanley, W. M., Ann. Rev. Biochem., 9, 545, 1940.
- 36) Stanley, W. M., Am. Scientist, 36, 59, 1948.
- 37) Stanley, W. M., J. Gen. Physiol. 25, 881, 1942.
- 38) Tuttle, L. W., Erf, L. A., and Lawrence, J. H., J. Clin. Invest., 20, 57, 1941.
- 39) Warburg, O., u. Minami, S., klin. Wochenschr., 2 Jz., 776, 1923.

---

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

### Experimental studies on Japanese B Encephalitis with radioactive P<sup>32</sup>.

#### 1. Phosphorus metabolism, investigated by Schneider's method, in lung, spleen and kidney of the mouse infected with Japanese B Encephalitis.

By

Yutaka Uchida

Phosphorus metabolism in lung, spleen and kidney was investigated in connection with the virus infection. For this purpose radioactive P<sup>32</sup> was employed as the tracer and its incorporation and distribution were examined on three organs of the infected mouse.

The mice were intracerebrally inoculated and various hours after the inoculation they were intraperitoneally injected with adequate amounts of P<sup>32</sup>. Twelve hours after the injection of P<sup>32</sup> each of the lung, spleen and the kidney was fractionated by Schneider's method, respectively.

Acid soluble fractions, phospholipid fractions and nucleic acid-phospho protein fractions were obtained and examined on their radioactivities.

Remarkable incorporation of P<sup>32</sup> to the nucleic acid phospho protein fractions of lung, spleen and kidney of the infected mouse was observed just at the incubation stage or the so-called visceral phase of Japanese B Encephalitis.

This seems to imply that rapid metabolic changes in nucleic acid and phospho protein or other related substances take place in these organs at the visceral phase of Japanese B Encephalitis.

---