

P³²による実験的日本脳炎の研究（其の二）

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 Schmidt & Thanhauser 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

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
2. 放射性磷

3. 日本脳炎ウイルス

第2節 実験方法

第3章 実験成績

第4章 総括並に考按

第5章 結 語

第1章 緒 言

核酸は F. Miescher の発見以来、その研究は急速に進歩し、当初は植物核酸及び動物核酸に2分されていたが、種々の分析法により Hammarsten 及び Jorpes³⁶⁾³⁷⁾ (1924, 1928) は脾から、Calvery²²⁾ (1928) は Chicken embryo から、Grégori³¹⁾ (1944) は肝、腎、腸等から RNA を分離した。かくして現在では各種哺乳動物の組織の DNA 及び RNA 含有量も明かとなり (Davidson²⁹⁾), Caspersson 及び Schultz²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾ (1938, 1939, 1940) は紫外線吸収スペクトルを応用して、急激に成長する細胞の原形質内には RNA を高濃度に含む事を明かにし、この方面の研究に新分野を開いた。

次で Caspersson²⁷⁾ (1941), Brachet²⁰⁾ (1942) により細胞質に RNA が多くある時は蛋白質の生物学的合成も非常に活潑である事を提唱し、核酸の有する生物学的意義が画然として来た。剩へ 1935 年 Stanley⁴⁵⁾ は、タバコ・モザイク病の病源体ウイルスを結晶の形で取り出し、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とされた。

ウイルス感染によつて起る宿主細胞の変化

は、Hydén³⁴⁾によつて紫外線吸収スペクトル及び細胞化学的方法によつて探究されたが、市川等¹⁾、小沢⁷⁾は日本脳炎につき細胞化学的に、又堀田¹³⁾はデング熱につき P³² を tracer として適用し、夫々核酸代謝に変動の起る事を明かにしている。

眞に教室の長田⁵⁾、及び私²⁾等は P³² を tracer として用い、日本脳炎感染マウス各臓器の核酸代謝を Schneider 法により追求し、日本脳炎に罹患したマウスでは、所謂内臓期に一致して肝、肺、脾、腎に核酸及び其の類似物質の激しい変動のある事を認め、且つ脳に於ては脳脊髄期に一致して変動を示す事を報告したが、引き続き核酸を Schmidt & Thanhauser 法によつて更に細分し、その変動を P³² を tracer にして経時的に追求し一定の成績を得たので報告する。

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 (P³²)

使用した P³² 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¹¹⁾を用いた。

第2節 実験方法

日本脳炎ウイルス岡山52 B株をマウスに接種発症し瀕死期にあるものの脳を取り出し、pH 7.4 の Bouillon で10倍乳剤とし、之を遠心沈澱(3000r. p. m. 10分間)し、その上清0.03cc宛を多数のマウスに脳内接種した。

その後時間的経過を追いウイルス接種後約20時間及び65時間の2回、即ち潜伏期及び発症期に P³² 10 μ c 宛を腹腔内に注射した。その後両期共に6時間及び24時間を経て無選択的に4~5匹宛のマウスを取り出し頸動脈を切断、放血死せしめ、臓器(肺、脾、腎)を取り出し、次に述べる処置を施した。

尚対照として、健康マウス脳乳剤を健康マウス脳内に同様に接種し、同じく20時間及び65時間の後、P³² 10 μ c 宛腹腔内に注射し、夫々6時間及び24時間を経て殺し、以下同様の操作を行つた。

各臓器を取り出すに当つては、生理的食塩水で十分洗滌し、濾紙上で十分水分を拭きとり、出来るだけ血液成分を除去するに努めた。

而して採取した各臓器は正確に一定量(肺0.6g、脾0.2g、腎0.3g)秤量し、Schmidt & Thanhauser 法⁴⁴⁾に従い次の操作を行つた。

イ) 酸可溶性物質及び脂質の除去。各臓器を約20容の氷冷7%三塩化醋酸(TCA)に懸濁し、ホモジナイザーにより機械的に攪拌し、ホモジネートとなし、之を東洋濾紙 No. 4 をしいた Büchner 氏漏斗で濾過する。残渣を氷冷1% TCA で濾液が無機磷酸を含まなくなるまで洗う。次に水で濾液がリトマスに対しごく僅か酸性を呈する迄洗い、更にアルコール及びエーテルで洗う。次に残渣を還流冷却装置をつけたフラスコ内に入れて、湿量の30~40容のアルコール・エーテル混液(3:1)に懸濁し5分間沸騰せしめる。冷却後濾紙を

エーテルで洗つて乾燥せしめ、メタノール・クロ、フォルム混液(1:1)の30~40容と30分間沸騰せしめる。冷却濾過後、濾紙を十分量のエーテルで洗つてから乾燥せしめる。

2) アルカリ分解：この乾燥した濾紙を試験管に移す。これに N-苛性カリの一定量(1.0gの新鮮組織について10ccの割合)を正確に加え、ゴム栓で密栓して37°Cに少くとも15時間放置する。この操作で完全に組織は溶解する。その0.2容の6N-HClと1容の5% TCA を加えて沈澱を起させ濾過する。この沈澱は全 DNA を含み、RNA と燐蛋白の分解産物はすべて濾液中に含まれる。

この残渣及び濾液に含まれる放射能の強さを測定した。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ベンに入れ、硫酸、硝酸各2ccを加え湿式灰化した。灰化が完了せば、コルベンに蒸留水を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%アム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¹⁰⁾の提唱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性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である。測定には1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。

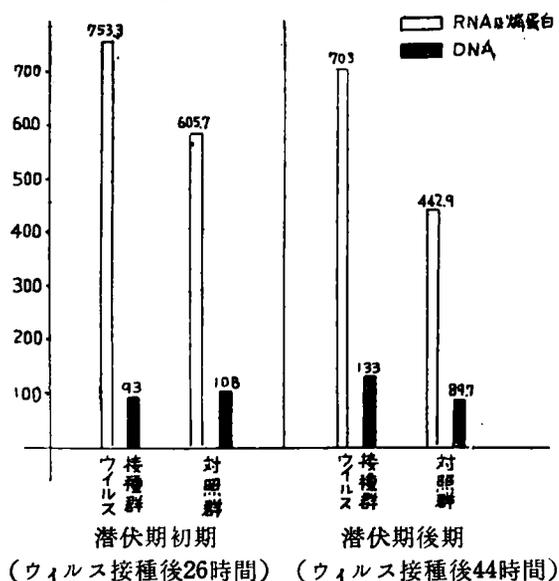
第3章 実験成績

1) 肺 0.6g 各分割当 G. M. 計数值は第 I 図及び第 II 図に示す如くである。之等は日本脳炎罹患マウスの潜伏期（ウイルス接種後20時間）及び発症期（ウイルス接種後65時間）に、P³² を腹腔内に注射し、其の後 6 時間及び 24 時間を経たウイルス接種群及び対照群の P³² 放射能活性度（Counts/min./0.6g 臓器）を比較したものである。

第 I 図 (a) は潜伏期の初期と見做される時期であるが、RNA 及び燐蛋白分割は、ウ

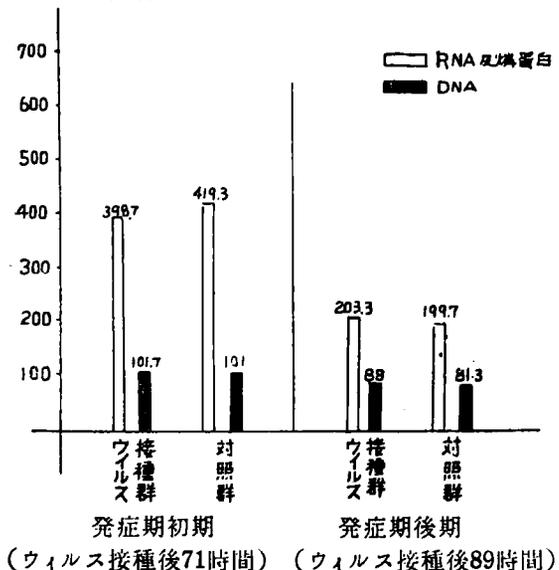
第 I 図 肺 0.6g 各分割当 G. M. 計数值

(a) P³² 注射後 6 時間 (b) P³² 注射後 24 時間



第 II 図 肺 0.6g 各分割当 G. M. 計数值

(a) P³² 注射後 6 時間 (b) P³² 注射後 24 時間



イルス接種群は対照群に比して高値を示している。然し DNA 分割では著変を見ない。

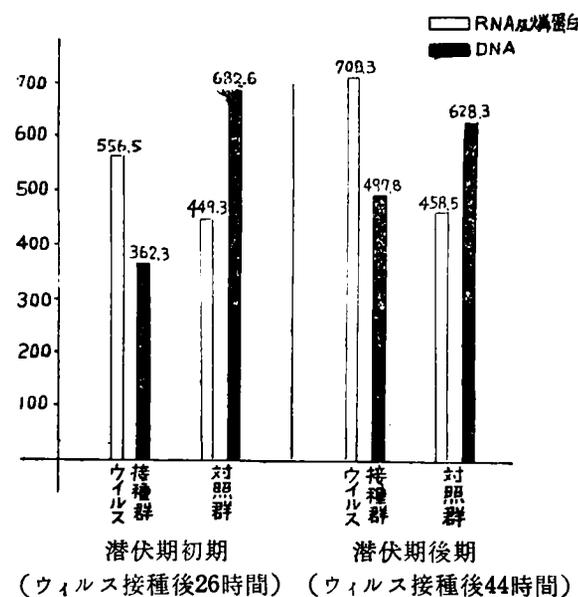
第 I 図 (b) 即ち、潜伏期の後期では、RNA 及び燐蛋白分割は (a) と同様ウイルス接種群は対照に比し高値を示している。DNA 分割に於ても、ウイルス接種群は前者と同じく高い活性度を示している。

発症期に於ては第 II 図 (a) 及び (b) に示す如くで、その初期及び後期を通じ、ウイルス接種群と対照群との間に、RNA 及び燐蛋白分割も DNA 分割も共に P³² 放射能活性度に著しい差を認めない。

2) 脾 0.2g 各分割当 G. M. 計数值は第 III 及び第 IV 図に示す如くである。潜伏期初期に於ける P³² 放射能活性度 (Counts/min./0.2g 臓器) は、第 III 図 (a) に示す如くで、RNA 及び燐蛋白分割は、ウイルス接種群の方が対

第 III 図 脾 0.2g 各分割当 G. M. 計数值

(a) P³² 注射後 6 時間 (b) P³² 注射後 24 時間

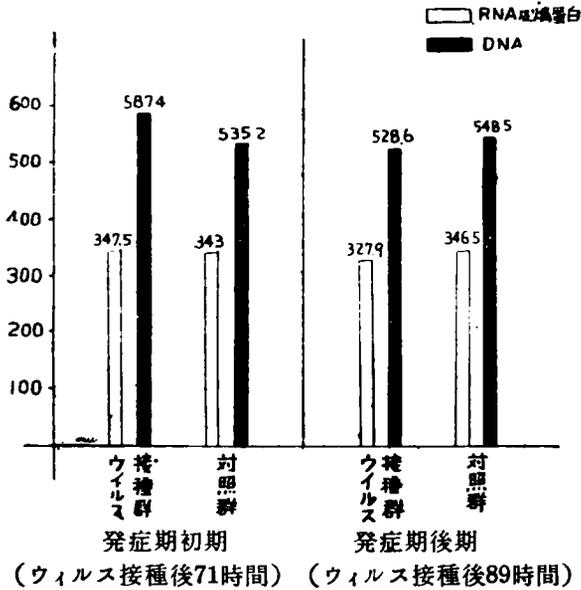


照群よりも高値を示すが、DNA 分割では却つて対照群の方がウイルス接種群よりも高値を示している。潜伏期の後期に於ても、第 III 図 (b) に見る如く、ウイルス接種群は、RNA 及び燐蛋白分割、DNA 分割共に (a) よりも P³² の放射能活性度の増大が認められたが、対照群と比較すれば (a) に於て認められたと同様な結果を得た。只此処で注目せられるのは、対照群では、DNA 分割の方が、

RNA 及び燐蛋白分割よりも高い放射能活性度を示しているのに、ウイルス接種群では、この関係が逆になっている事である。

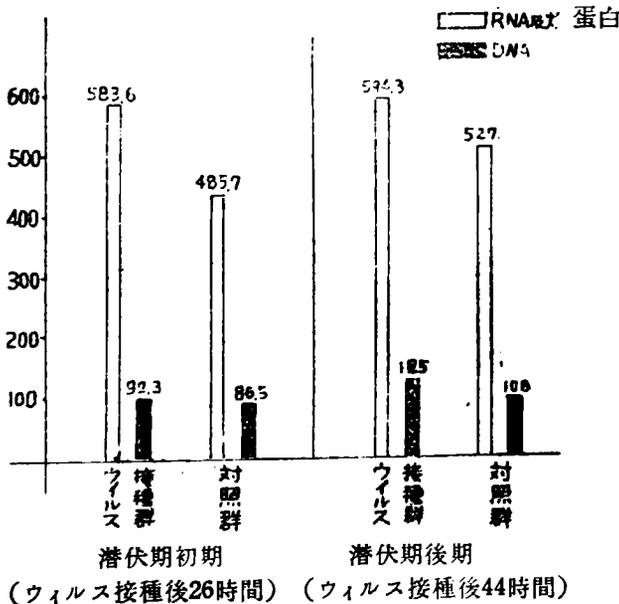
第IV図 (a) には発症期初期に於ける P³² の放射能活性度を示すが、ウイルス接種群と対照群との間には著差を認めず、又第IV図 (b) に示す如く、発症期の後期に於ても同様大差を認めない。

第IV図 脾 0.2g 各分割当 G. M. 計数值
(a) P³² 注射後 6 時間 (b) P³² 注射後 24 時間



3) 腎 0.3g 各分割当の G. M. 計数值を第V及び第VI図に示す。潜伏期の初期及び後期に於ける P³² の放射能活性度 (Counts/mir. /0.3g

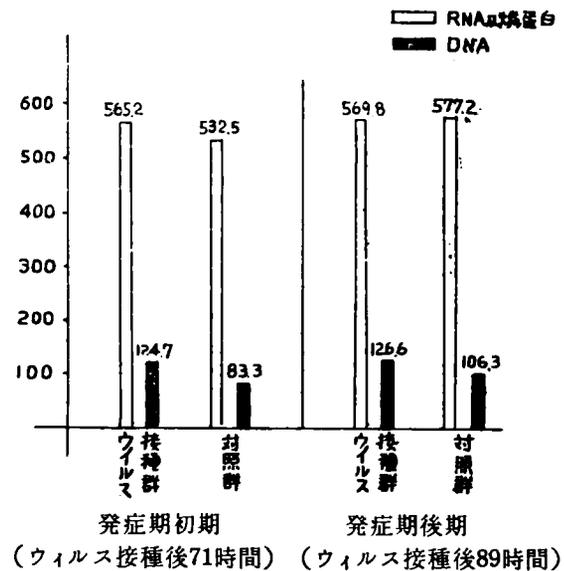
第V図 腎 0.3g 各分割当 G. M. 計数值
(a) P³² 注射後 6 時間 (b) P³² 注射後 24 時間



臓器) は、第V図 (a) 及び (b) に示す如く、ウイルス接種群は、対照群に比し、潜伏期初期及び後期共に RNA 及び燐蛋白分割は少々高値を示している。DNA 分割は潜伏期後期に於てのみ対照よりも高い活性度を示している。

発症期に於ては、第VI図 (a) 及び (b) に示す如く RNA 及び燐蛋白分割は、その初期及び後期共に対照群に比し有意の差を認めないが、DNA 分割に於てはその初期、後期共に対照群よりも高い活性度を示している。

第VI図 腎 0.3g 各分割当 G. M. 計数值
(a) P³² 注射後 6 時間 (b) P³² 注射後 24 時間



第4章 総括並に考按

以上私の得た実験成績を総括すると次の如くなる。即ち日本脳炎罹患マウス臓器(肺、脾、腎)の核酸分割の P³² 放射能活性度は、

1) 肺では、潜伏期初期には RNA 及び燐蛋白分割、同後期には RNA 及び燐蛋白分割と DNA 分割が対照群に比して高値を示し、発症期に至れば対照との間に著差を認めなくなる。

2) 脾に於ては、潜伏期は初期及び後期共に DNA 分割は対照よりも低い RNA 分割では明かに高い放射能活性度が認められる。之はその初期よりも後期に著しい。而して対照たる正常マウスでは、DNA 分割が、RNA 及び燐蛋白分割よりも高値を示しているが、ウイルス接種群では、RNA 及び燐蛋白分割

の方が高い値を示し、この関係が逆になっている。

発症期では、その初期及び後期共にウイルス接種群は、対照群に比較して著差を認めない。

3) 腎では、潜伏期の初期には、RNA 及び燐蛋白分割、後期には RNA 及び燐蛋白分割、DNA 分割何れも対照群よりも高値を示す。

発症期では、RNA 及び燐蛋白分割には変化を認めないが、DNA 分割はその初期及び後期共に対照よりも高い活性度を示している。

曩に長田⁵⁾、及び私等²⁾は、P³² を tracer として用いて、日本脳炎罹患マウス各臓器の核酸代謝を追求し、その潜伏期即ち内臓期に一致して肝、脾、肺、腎に核酸を中心とした激しい物質代謝の変動のある事を明かにした。

こゝに行つた実験成績を見ると、先づ肺、脾、腎共に、RNA 及び燐蛋白分割の放射能活性度が潜伏期の当初から対照に比し高値を示していることが注目せられる。

各臓器によつてその RNA 及び DNA の含量に差のあることは Davidson²⁹⁾ により明かである。而して Caspersson²⁷⁾ は、RNA は核の仁と細胞質とを通じてその塩基好性の原因を作り、核染色質乃至は染色体の塩基好性の原因は DNA であると結論した。又 Caspersson²⁷⁾ 及び Brachet²⁰⁾ は、RNA は、細胞の蛋白合成に対して重要な意義を有するものである事を主張した。又 Caspersson²⁸⁾ 等、政山¹⁶⁾ 等は、癌細胞の如き急激に増殖を営む細胞には RNA が多い事を見出し、Thorell⁴⁵⁾ は、骨髓に於ける造血細胞にも同様の事が認められる事を報告した。

而して Stanley⁴⁶⁾ は始めて放射性同位元素を用いて、タバコ・モザイク・ウイルス増殖に関する研究を行つたが次で Cohen²³⁾、Putnam⁴²⁾ 等の大腸菌ウイルス、Graham³⁰⁾ 等のインフルエンザウイルス増殖の研究への P³² の応用等、ウイルス研究、特にその増殖に関する研究に放射性同位元素が応用されて来た。Rafelson⁴³⁾ は RNA 型と見られる脳脊

髄炎ウイルスをマウス脳磨碎組織に P³² 無機燐酸塩を加えたものに培養し、ウイルス増殖最盛期には、蛋白に結合している燐酸塩分割と燐脂質の P³² 摂取が非常に促進され、前者分割に於ける燐の交替率の増加は主にその内の RNA 燐のそれの増加によるもので、DNA 燐の交替率の増加は殆んど影響をうけていないことを示し、又感染組織は末感染組織に比べて RNA の含有量が高く、DNA のそれは少い事を明かにした。

菊地¹⁰⁾等は骨髓の燐代謝を P³² を用いて追求し、写血貧血家兎骨髓では、核酸及び燐脂質特に前者の P³² 放射能活性度が著しく増加するのを認めている。又 Kenney³⁸⁾ や Lawrence 及びその協同研究者³⁵⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴⁶⁾ 等は、急速に成長しつゝある組織や、特に腫瘍組織は正常組織よりも P³² はより多く入り込む事を明かにしている。一般に臓器に於ける燐代謝が亢進する場合には、体内に注入された P³² は優先的にその臓器に集積し、従つてその放射能活性度は増加するものである。

而して緒方⁴⁾によれば、日本脳炎に感染した動物では、先づ全身病毒血症を起し、脳以外の内臓に滲出性機転が認められ、之を内臓期と称し、次で中枢神経系に主とした病変が起つて来る。之を脳脊髓期と称した。

以上勘案するに、各臓器(肺、脾、腎)に於て、RNA 及び燐蛋白分割の P³² 放射能活性度が、日本脳炎潜伏期の初期から増加するのは、各内臓に於て起る滲出性機転によつて RNA を中心とした物質の代謝が早期から亢進する事を示すものと考えられる。

DNA 分割の P³² 放射能活性度は、肺では潜伏期後期に、腎では潜伏期後期及び発症期にウイルス接種群は対照に比し高い放射能活性度を示す。脾に於ては、ウイルス接種群の活性度は、潜伏期後期にはその初期よりも増大しているが、それでも尚対照には及ばない。

Hevesy³³⁾等によれば、P³² の DNA 交替率は小腸粘膜に最も大きく、脾が之に次ぎ肝や腎は極めて低いと云う。Andreasen¹⁹⁾ 等は、胸

腺, リンパ腺, 脾及び骨髓に於ける DNA 交替率を研究し, 造血組織たる之等の臓器では高い値を示すが, 中でも骨髓が最も高値を示す事を報告している. 又 Davidson²⁰⁾, Brues²¹⁾ 等は, 再生肝に於ける DNA 交替率は正常肝のそれよりも高い値を示し, 肝の有糸分裂の頻度と DNA に P³² が入り込む割合とは平行する事を明かにしている. 又種々の成長度に於けるネズミの肝と脾の DNA の交替率は, ネズミの成長と共に低下する事を認めた Ahlström¹⁷⁾ 等の実験や, Leblond⁴¹⁾ 等の P³² 投与動物に於ける腸の Lieberkühn 氏腺に於けるラチオオートグラフによつて, 細胞分裂と DNA の P³² の豊富さとが平行する事を認めている報告等から, DNA に P³² が入り込む事と細胞の有糸分裂とは密接な関係がある事が考えられる.

而して一方に於ては前述の Rafelson⁴¹⁾ の実験や, Cohen²³⁾ の大腸菌ウイルス (DNA 型) の増殖に関する実験, 又 Hydén³⁴⁾ の紫外線吸収顕微鏡撮影によるウイルス感染細胞に起る核酸の推移に関する実験を見るも, ウイルス感染細胞内に於ては各ウイルスに特有なる核酸の合成が行われる事が窺われる. 日本脳炎ウイルスに於ては市川¹⁾, 小沢⁷⁾ により組織化学的に脳神経節細胞に DNA の増加が観察された. 又宇野³⁾ 等は, 日本脳炎患者の脳脊髄液中の核酸を定量し, 有熱時に於ては DNA, RNA 共に高値を示し, DNA は体温下降時も猶お高く, 平熱になると減少すると述べている. そしてこの成績は, 高熱期の神経組織に於ける滲出性病変による主として血管周囲細胞の崩壊並にウイルスそのものの増加に関係があると考察している.

教室の長田⁶⁾ の P³² を用いた実験に於ても亦日本脳炎感染マウス脳に於ては, 発症期に至り DNA 分割の活性度が増大する事を認め, 且つ肝に於ては, その潜伏期から RNA 及び燐蛋白分割及び DNA 分割の活性度が増大する事を明かにしている. 又教室の方円¹⁵⁾ によれば, 日本脳炎感染マウス肺, 脾及び腎の核酸定量により, 内臓期に一致して, その初め

に RNA, 次で DNA の増加する事が認められると云う.

翻へつて私の実験成績を見るに, 日本脳炎罹患マウスの肺及び腎に於ける DNA 分割の活性度は, その潜伏期, 即ち内臓期に一致してその後期に増大した. 脾に於ては, DNA 分割の活性度の増加は認められなかつた.

脾は DNA の多い臓器として知られているが, 又核酸代謝の面から見ても Hevesy 等³²⁾ や, Ahlström 等¹⁷⁾, Andreassen 等¹⁹⁾ の実験でも明かな様に, 他の臓器に較べて P³² は DNA により多く取り入れられる. 本実験対照例に於ても DNA の方が, RNA 及び燐蛋白分割よりも高い放射能活性度を示している. 然るに日本脳炎ウイルス接種群では, この関係が逆になり俄然 RNA 及び燐蛋白分割の放射能活性度が高値を示し, DNA 分割のそれは恰も何者かに抑制されたかの如き印象さえも受ける.

平木教授等¹¹⁾ は, 日本脳炎感染マウスに対し, P³² はその死期を延長せしめ, 之は β 線による影響であろうとし, 又, 方円¹⁴⁾ は, マウス血液像に対する P³² の影響を観察している. 又小田⁸⁾ は, P³² よりの β 線のマウス臓器核酸への影響を病理組織学的に検索し, RNA, DNA 共に影響を受ける事を報告している. Hevesy³³⁾, Ahlström 等^{17), 18)} は, Jensen 肉腫に対し X 線を照射し, その DNA の合成の著しい低下を認めている. かくの如く, 放射能によつて核酸特に DNA の合成は特異的に抑制されるので, 私の実験に於ても特にこの点に留意しなければならないが, それにしても対照群を併せ考えて見れば, 脾のみが特異的に高度に β 線の影響を蒙っているものとは考えられない. 従つて脾に於ては, ウイルス感染により滲出性機転の惹起せる時は, DNA よりも RNA 及び燐蛋白分割に於て遙かに活潑な代謝が営まれるものと思われる.

さきに私は, Schneider 法により, 日本脳炎罹患マウスの内臓 (肺, 脾及び腎) に於ては, 脳炎内臓期に一致して核酸代謝の激しい変動を示す事を明らかにしたが, Schmidt & Thanhauser 法による実験に於ても亦同様に内

臓期に一致して RNA 及び燐蛋白分割, 或は DNA 分割の活性度の増大を示す事が観察された。

第5章 結 語

日本脳炎罹患マウスに P³² を tracer として与え, その内臓諸器官(肺, 脾, 腎)の核酸代謝を観察した。即ち, 日本脳炎ウイルス岡山 52 B 株をマウスに脳内接種し, 経時的に P³² を腹腔内に注射し, 一定時間の後に臓器を取り出し Schmidt & Thanhauser 法により RNA 及び燐蛋白分割, DNA 分割に分ち,

各々につきその P³² 放射能活性度を測定し対照と比較した。

その結果日本脳炎罹患マウスの肺及び腎に於ては, その潜伏期即ち内臓期に一致して RNA 及び燐蛋白分割, DNA 分割の高い活性度が認められるが, 前者は潜伏期の早期から, 後者は潜伏期後期に増大する事が観察され, 脾に於ても同じく内臓期に一致して RNA 及び燐蛋白分割の活性度が増大する事が認められ, それらにつき若干の考察を加えた。

擧筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師平木教授に深甚なる謝意を表する。

文 献

- 1) 市川收他 1 名 医学と生物学, 16 卷, 257 頁, 昭和 25 年.
- 2) 内田豊: 岡山医学会雑誌掲載予定.
- 3) 宇野立男他 1 名: 環境医学研究所年報, 3 号, 38 頁, 昭和 27 年.
- 4) 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.
- 5) 長田高寿: 日本内科学会雑誌, 44 卷, 93 頁, 昭和 30 年.
- 6) 長田高寿: 岡山医学会雑誌掲載予定.
- 7) 小沢豊: 日本体質学雑誌, 18 卷, 100 頁, 昭和 28 年.
- 8) 小田修: 細胞核病理学雑誌, 1 卷, 269 頁, 昭和 29 年.
- 9) 菊池武彦他 6 名: 最新医学, 6 卷, 816 頁, 昭和 26 年.
- 10) 菊池武彦他 4 名: 綜合臨床, 3 卷, 100 頁, 昭和 29 年.
- 11) 平木潔他 3 名: 綜合医学, 10 卷, 317 頁, 昭和 28 年.
- 12) 平木潔他 1 名: 東京医事新誌, 71 卷, 7 頁, 昭和 29 年.
- 13) 堀田進: Virus, 2 卷, 26 頁, 昭和 27 年.
- 14) 方円幸彦: 岡山医学会雑誌日本脳炎特輯号, II., 昭和 30 年.
- 15) 方円幸彦: 岡山医学会雑誌掲載予定.
- 16) 政山龍徳他 1 名: ガン, 37 卷, 288 頁, 昭和 19 年.
- 17) Ahlström, L., Euler, H. V., and Hevesy, G.: Arkiv. Kem. Mineral. Geol. 19A, No. 9, 1944.
- 18) Ahlström, L., Euler, H. V., and Hevesy, G.: Arkiv. Kem. Mineral. Geol. 19A, No. 13, 1945.
- 19) Andreasen, J., and Ottessen, J.: Acta Scand., 11, 258, 1945.
- 20) Brachet, J.: Arch. Biol., 53, 207, 1942.
- 21) Brues, A. M., Tracy, M. M., and Cohn, W. E.: J. Biol. Chem., 155, 619, 1944.
- 22) Calvery, J.: J. Biol. Chem., 77, 489, 1928.
- 23) Cohen, S. S.: J. Biol. Chem., 174, 295, 1948.
- 24) Caspersson, T., and Schultz, J.: Nature, Lond., 142, 294, 1938.
- 25) Caspersson, T., and Schultz, J.: Nature, Lond., 143, 602, 1939.
- 26) Caspersson, T., and Schultz, J.: Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 26, 507, 1940.
- 27) Caspersson, T.: Naturwiss., 29, 33, 1941.
- 28) Caspersson, T., and Santesson, L.: Acta Radiol. Supplem., 46, 1942.
- 29) Davidson, G. N.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 12, 50, 1947.
- 30) Graham, A. F., and McClelland, L.: Nature, 163, 949, 1949.
- 31) Grégoire, J.: cit. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 12, 50, 1947.
- 32) Hevesy, G., and Ottessen, J.: Acta Physiol. Scand., 5, 237, 1943.
- 33) Hevesy, G.: Rev. Modern Physiol., 17, 102,

- 1945.
- 34) Hydén, H.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 12, 104, 1947.
- 35) Jones, H. B., Chaikoff, I. L., and Lawrence, J. H.: Am. J. Cancer, 40, 243, 1940.
- 36) Jorpes, E.: Biochem. Z., 151, 227, 1924.
- 37) Jorpes, E.: Acta Med. Scand., 68, 501, 1928.
- 38) Kenney, J. M., Marinelli, L. D., and Woodward, H. Q., Radiology, 37, 683, 1941.
- 39) Lawrence, J. H., and Scott, K. G.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 40, 694, 1939.
- 40) Lawrence, J. H., Tuttle, L. W., Scott, K. G., and Connor, C. L.: J. Clin. Invest., 19, 267, 1940.
- 41) Leblond, C. P., Stevens, C. E., and Bogoroch, R.: Science, 108, 531, 1948.
- 42) Putnam, F. W., and Kozloff, L. M.: Science, 108, 386, 1948.
- 43) Rafelson, M. E., Winzler, Jr., and Pearson, H. E.: J. Biol. Chem., 181, 583, 1948.
- 44) Schmidt, G., and Thanhauser, S. J.: J. Biol. Chem., 161, 83, 1945.
- 45) Stanley, W. M.: Science, 81, 644, 1935.
- 46) Stanley, W. M.: J. Gen. Physiol., 25, 881, 1942.
- 47) Thorell, B.: Acta Med. Scand., 127, 534, 1944.
- 48) Tuttle, L. W., Erf, L. A., and Lawrence, J. H.: J. Clin. Invest., 20, 57, 1941.

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

Experimental studies on Japanese B Encephalitis with radioactive P³².

2. Nucleic acid metabolism, investigated by Schmidt & Thanhauser's method, in lung, spleen and kidney of the mouse infected with Japanese B Encephalitis.

By

Yutaka Uchida

Somewhat detailed knowledge was obtained on the nucleic acid metabolism in lung, spleen and kidney of the infected mouse P³² was used as the tracer and was injected to each mouse intraperitoneally various hours after the intracerebral inoculation of the virus.

6 and 24 hours after the injection of P³² the organs were collected and fractionated by Schmidt-Thanhauser's method into RNA-phosphoprotein fraction and DNA fraction, which were then examined on their radioactivities.

Just at the incubation stage or the visceral phase of Japanese B encephalitis the organs, lung, spleen and kidney, of the mouse proved to have high radioactivities, both in their RNA-phosphoprotein fractions and DNA fractions.

It is interesting to note that the radioactivity in DNA fraction was observed to increase rather late in the incubation stage while the other appeared from the first of that stage on. The fact that in case of spleen higher radioactivity of RNA-phosphoprotein fraction than that of DNA fraction was observed should further be pointed out.

In contrast to this, the high radioactivities in acidsoluble fractions also observed at the incubation stage remained unaltered even at the acme stage of the disease.
