

P³² による実験的 日本脳炎の研究

第 三 編

腹腔内病毒接種マウス臓器（脳，肝）に於ける核酸代謝の
核酸磷比放射能による研究

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木 潔教授）

松 久 光 雄

〔昭和 32 年 10 月 2 日受稿〕

目 次

第一章 緒 言

第二章 実験材料並に実験方法

第一節 実験材料

第二節 実験方法

第三章 実験成績

第四章 総括並に考按

第五章 結 論

文 献

第一章 緒 言

近時原子物理学の進歩と共に人工放射性同位元素が生物学或は医学の領域に応用せられるようになって華々しい成果を挙げているが、最近に於ける放射性同位元素の応用範囲は更にウイルスにも及んで、ウイルスに関する研究は飛躍的な進歩をみせつつある。

即ち 1942 年 Stanley²⁷⁾ がタバコモザイクウイルスの研究に始めて放射性同位元素を用いて以来、Graham¹⁹⁾ の放射性磷（以下 P³² と略す）によるインフルエンザウイルスの核酸代謝の研究、更に Putman²³⁾、Cohen¹⁴⁾ 等の P³² による大腸菌ウイルスの研究等幾多の業績が続出している。

本邦に於ても 1952 年堀田等¹⁰⁾ は P³² により Deng 熱感染マウス臓器の磷代謝を研究し、感染極期に核酸を中心とした物質に激しい変動がおこることを明かにしているが、日本脳炎罹患マウス臓器に放射性同位元素という新しい手段を用いて研究し、ウイルス感染に伴う宿主細胞の動きを観察したのは教室の長田⁴⁾ 及び内田²⁾ である。

即ち長田は P³² を tracer として用い脳炎

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追求し、続いて内田²⁾ も肺，脾，腎に於ける核酸代謝を同様 Schneider 法²⁶⁾ により研究し、P³² 活性度の測定により何れも脳炎潜伏期所謂内臓期に一致して内臓臓器の核酸に関連した物質に激しい変動のおこることを明かにした。

先に私も腹腔内ウイルス接種マウス脳及び肝の核酸代謝を Schmidt-Thannhauser 法²⁵⁾ により研究し、肝では既に潜伏期に於て R. N. A（リボ核酸）及び D. N. A（デオキシリボ核酸）各分割の P³² 活性度は共に増大の傾向を示し、長田⁴⁾ の脳内接種法とはほぼ同一傾向をみしことを報告¹²⁾ したが、今回更に Schneider 法²⁶⁾ により脳及び肝核酸磷比放射能を求め再吟味せんと意企した。

大方諸賢の御批判を乞う次第である。

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
- (2) P³²
- (3) 実験動物

以上のすべては第一編及び第二編に使用せ

しものと同一なるものを用いた。

第二節 実験方法

教室保存の岡山52B株の脳内接種により罹患発症し瀕死期にあるマウス脳を pH 7.4 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 0.3 cc 宛多数のマウス腹腔内に接種した。

なお予備実験として脳炎ウイルス 0.3 cc 腹腔内接種マウスは発症をおこすに 6 日間を要することを確かめている。

その後時間的経過を追いウイルス接種後約 48 時間、及び 120 時間の 2 回、即ち潜伏期及び発症期に P^{32} 10 μ c 宛を腹腔内に注射した。その後両期ともに 6 時間及び 24 時間を経て、それぞれ無選択的に 4~5 匹宛のマウスを取り出し頸動脈を切断して放血死せしめ、臓器（脳及び肝）を取り出して次に述べる処置を施した。

なお対照としては、健康マウス脳乳剤を健康マウス腹腔内に同様に接種し、同じく 48 時間及び 120 時間の後 P^{32} 10 μ c 宛腹腔内に注射し、それぞれ 6 時間及び 24 時間を経て殺し以後同様の操作を行った。

各臓器を取り出すに当つては生理的食塩水で充分洗滌し、濾紙上で充分水分を拭きとり出来るだけ血液成分を除去するように努めた。而して採取せる脳及び肝の 1 g を正確に秤量し Schneider 法²⁶⁾に従い ①酸可溶性磷分劃（磷酸、モノヌクレオチド、糖類その他低分子磷酸エステル等を含む）②磷脂質分劃 ③核酸分劃 ④磷蛋白分劃に分かちた。即ち ①酸可溶性磷分劃：各臓器の一定量の 20% ホモジネート 1.0 cc に 10% 氷冷トリクロール醋酸 (TCA) 2.5 cc 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 2.5 cc 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劃に利用する。この上清は先の上清と合併して酸可溶性磷分劃として除去する。

② 磷脂質分劃：①の沈澱を 1.0 cc の水に懸濁し 4.0 cc の 95% アルコールと混ぜ遠心分離する。沈澱を 5.0 cc のアルコールに懸

濁し再び遠心分離して 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) 5.0 cc 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操作して計 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劃として除去する。

③ 核酸分劃：②の沈澱を 1.2 cc の冷水に懸濁し 10% 氷冷 TCA 1.3 cc を混じ遠心分離する。次に沈澱を 5% TCA 5.0 cc 中に再び懸濁し 90°C の湯浴中で 15 分間加熱後冷却し遠心分離する。上清をとり沈澱に 5% TCA 2.5 cc を加えよく混ぜてから遠心分離する。これらの抽出液を合併して核酸分劃とし保存しておく。

④ 磷蛋白分劃：③の沈澱を 2% 苛性ソーダに溶解せしめて得られるが、実験に必要な量故③の沈澱をそのまま除去する。

次に保存しおきし核酸分劃の P^{32} 放射能活性度 (Counts/Min/1.0 g) 及び臓器核酸磷量 (P^{31} mg%) を測定し臓器核酸磷比放射能 (P^{32} Cpm/ P^{31} mg), 即ち臓器核酸磷一定量当りの放射性核酸磷量を求めた。 P^{32} 放射能活性度 (P^{32} -活性度と略す) の測定は、第二編に述べし如くキエルダールフラスコに入れ硫酸硝酸で湿式灰化の上、磷を磷酸マグネシウムアンモンとして沈澱し、その放射能を Geiger-Müller 管により測定した。又臓器核酸磷量の測定は第一編に述べし如く、③の上清の一定量をとり湿式灰化後 Fiske-Subbarow 法¹⁸⁾により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いて磷量を求めた。

第三章 実験成績

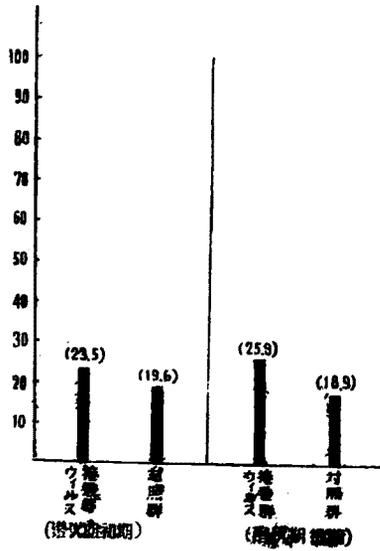
1) 潜伏期に於ける脳核酸磷比放射能を第 1 表に、その平均値を第 1 図に示した。

即ち潜伏期初期 (P^{32} 注射後 6 時間) 及び後期 (P^{32} 注射後 24 時間) の比放射能 (Specific Activity = 以下 SA と略す) を比較検討してみるに、ウイルス接種群の SA は共にその対照群に比し増大を示し、又両者の間では後

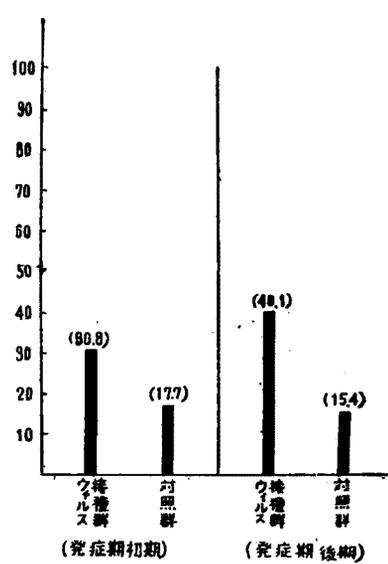
第1表 脳核酸磷比放射能 (P³² Cpm×100/P³¹ mg) <潜伏期>

試料	P ³² 注射後6時間						P ³² 注射後24時間					
	ウイルス接種群			対照群			ウイルス接種群			対照群		
	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA
I	21	106	19.8	18	98	18.3	25	100	25.0	22	125	17.6
II	23	109	21.1	23	110	20.9	24	99	24.2	25	130	19.2
III	28	110	25.4	21	109	19.2	27	97	27.8	19	111	17.1
IV	28	101	27.7	23	115	20.0	28	104	26.9	26	118	22.0
平均			23.5			19.6			25.9			18.9

第1図 脳核酸磷比放射能平均値 (潜伏期) (P³² cpm×100/P³¹mg)



第2図 脳核酸磷比放射能平均値 (発症期) (P³² cpm×100/P³¹mg)



第2表 脳核酸磷比放射能 (P³² Cpm×100/P³¹ mg) <発症期>

試料	P ³² 注射後6時間						P ³² 注射後24時間					
	ウイルス接種群			対照群			ウイルス接種群			対照群		
	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA
I	40	131	30.5	26	128	20.3	58	151	38.5	16	129	12.4
II	41	135	30.3	19	124	15.3	64	155	41.2	20	128	15.6
III	47	138	34.0	22	131	16.8	70	160	43.7	21	135	15.6
IV	38	133	28.5	25	135	18.5	62	167	37.0	24	134	17.9
平均			30.8			17.7			40.1			15.4

期の SA により増大の傾向がみられた。

2) 発症期に於ける脳核酸磷比放射能を第2表に、その平均値を第2図に示した。

即ちウイルス接種群の SA は発症期初期より後期にかけてその対照群に比し益々有意の差を認め、脳核酸磷比放射能は潜伏期初期よ

り漸次増大し発症期に入り急激に増大するのが認められた。又発症期初期、後期、共に核酸燐量の増加に伴いてウイルス接種群の SA の増大を認めた。

3) 潜伏期に於ける肝核酸燐比放射能を第

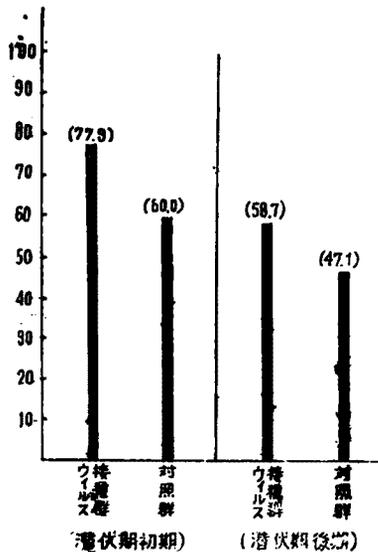
3 表に、その平均値を第 3 図に示した。

即ちウイルス接種群の SA は初期、後期、共にその対照群に比し明かに増大を示し、特に初期に於ては顕著な増大をみるのが注目される。

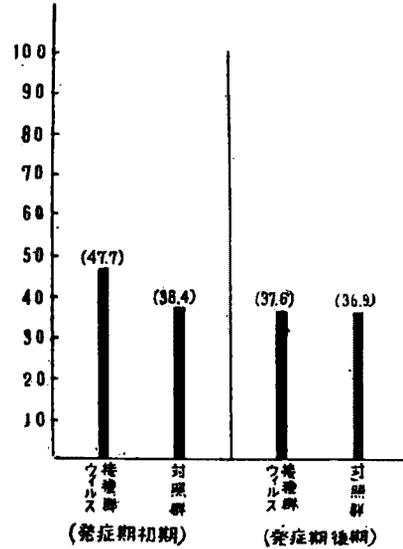
第 3 表 肝核酸燐比放射能 (P^{32} Cpm \times 100/ P^{31} mg) <潜伏期>

試 料	P^{32} 注射後 6 時間						P^{32} 注射後 24 時間					
	ウイルス接種群			対 照 群			ウイルス接種群			対 照 群		
	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA
I	77	91	84.5	71	109	65.0	85	132	64.5	62	138	44.9
II	68	101	67.3	70	103	68.0	70	138	50.7	69	149	46.4
III	70	89	78.6	59	115	51.5	86	144	59.7	70	150	46.6
IV	78	96	81.0	62	112	55.3	83	139	59.7	68	135	50.3
平 均			77.9			60.0			58.7			47.1

第 3 図 肝核酸燐比放射能平均値 (潜伏期) (P^{32} cpm \times 100/ P^{31} mg)



第 4 図 肝核酸燐比放射能平均値 (発症期) (P^{31} cpm \times 100/ P^{31} mg)



第 4 表 肝核酸燐比放射能 (P^{32} Cpm \times 100/ P^{31} mg) <発症期>

試 料	P^{32} 注射後 6 時間						P^{32} 注射後 24 時間					
	ウイルス接種群			対 照 群			ウイルス接種群			対 照 群		
	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA	Cpm	mg (%)	SA
I	69	147	47.0	52	145	35.9	59	176	33.5	54	138	39.2
II	72	135	53.3	59	142	38.9	68	183	37.2	47	138	34.0
III	68	140	48.5	58	160	36.3	67	170	39.4	57	145	39.3
IV	63	149	42.2	63	148	42.6	64	169	40.2	50	142	35.2
平 均			47.7			38.4			37.6			36.9

又潜伏期に於ける脳核酸磷比放射能に較べ初期、後期、共に極めて有意の高値を示している。

4) 発症期に於ける肝核酸磷比放射能を第4表に、その平均値を第4図に示した。

即ちウイルス接種群のSAは初期、後期、共にその対照群に比しては増大を示せど、急激に減少の傾向を示している。

又発症期後期に核酸磷量の増大が認められたが、脳の場合と異りSAは逆に減少を示しているのが注目される。

第四章 総括並に考按

以上総括するに脳に於けるウイルス接種群のSAは、その対照群に比し潜伏期初期より発症期後期にかけ漸次相加的に増大の傾向がみられ、特に発症期に入り急激な増大がみられる。肝に於ては潜伏期特にその初期には非常に顕著な増大を示すが、発症期に入ると急激なる減少の傾向がみられる。

又脳に於ては発症期に於けるウイルス接種群の核酸磷量の増加に併行してそのSAの増大を認めるも、肝に於ては発症後期に於ける核酸磷量の増加にも拘わらず、そのSAは逆に減少しているのが注目される。

さて脳に於ける無機磷と有機磷酸エステルとの間に急速な磷の交替が行われることは、Lindberg及びErnster²²⁾、Sacks及びGulbreth等²⁴⁾の報告により明かであり、更に磷脂質及び核蛋白磷に於ても亦有機磷酸エステル程速かでないが絶えず磷の交替が行われていることはChaikoff¹³⁾等、Dawson¹⁶⁾、中⁶⁾等により証明せられている。

Chaikoff¹³⁾等は磷脂質の磷酸基は無機磷酸より附加せられるものでなく、恐らく有機磷酸エステル特に高エネルギー磷酸エステルより附加せられるものであろうといっている。

脳組織に接種せられた無機磷は速かに有機磷酸エステル類に合成せられ²²⁾²⁴⁾、更にこの両者は短時間内(約30分)に平衡状態に達し、無機磷の比放射能と有機磷酸エステルの比放射能とはほぼ等しくなることが証明されてい

る。

従つて一定時間後に於ては有機磷酸エステルの比放射能を現わす値として、両者を含む酸可溶性磷の比放射能を充当しても不合理ではないとされている²²⁾。

核酸磷の磷交替率に於ては叙上の如き立証に接しないが、Dawson¹⁷⁾等は磷脂質の場合と同様の考え方からその磷交替率を算出しており、中沢⁷⁾もこれを採用することが不合理でないと考え実験を行つている。

然かしTuttle²⁰⁾等は動物例えばマウスにP³² 磷酸塩が入れば、先ず血漿磷酸塩となり組織に達して細胞内に透過し次いで核酸の構成成分になると云い、Hevesy²⁰⁾及びChiewitz²⁰⁾によると投与されたP³²は細胞間液の磷と交換が行われ、次いで核酸の諸成分になると述べ、甲論、乙駁、明確な意見の一致をみていない。

そもそもP³²により核酸代謝を検討する際、その交替の度を表わす方法は諸家により色々である。即ち臓器の一定湿量中の放射性核酸磷量を以てする方法、臓器核酸磷一定量当りの放射性核酸磷量即ち比放射能を以てする法、更には核酸磷比放射能の無機磷比放射能に対する百分率、即ち相対比放射能による法の三法がある。最初の方法は核酸磷代謝の動的な面を示さず、後二者については何れが適当であるか決論がないが、この両者は平行して増減して相反することはない様であり、私は叙上の如き理由より比放射能を採つた。

今日、日本脳炎は脳の病変の追求を主眼とした従来の観点とは異つて、専ら全身感染という見地から追求されている。

この端緒となつたのは緒方、高木³⁾の報告で、本症は中枢神経のみならず各内臓に一定の病変のみられることから全身感染症であり、これに初期内臓期及び脳脊髄期を区別し得、更に初期病毒血症の存在が形態学的に認められることを明かにしている。

諏訪⁵⁾は本症の内臓の動きを形態学的にみると、その全身感染の表現である臓器の変化(主として肝と脾)は極めて速かに極期に達

しかつ速かに消退するものと考え、その極期は形態学的にみて結局2～3病日位にあり、4病日以降は比較的速かに消退すると述べている。

かかる緒方³⁾の所謂内臓期に於ける臓器の変化を始めて人工放射性同位元素を用いて追求し、もつて脳炎の全身感染症としての特性を核酸代謝の面より明かにしたのは、教室長田⁴⁾である。

即ち長田⁴⁾は、脳炎感染マウス肝の核酸及び磷蛋白分割に於ける P^{32} 活性度をSchneider法²⁶⁾により求め、所謂内臓期に一致して増大することを認めて、肝組織内の核酸に関連した物質に激しい変動のおこることを推察している。

更に教室内田²⁾も同様の研究法により肺、脾、腎に於ても脳炎の内臓期に一致して、ウイルスにより宿主細胞の核酸を中心とする物質に変動のおこることを観察している。

Tuttle²⁹⁾等によれば、成熟動物の肝臓の様な増殖休止臓器では、外来の放射性磷は既存の核酸分子中の標識されていない磷の一部と交替するに止り、この場合核酸分子中の放射磷の増加はそれに相当量の非放射性磷(P^{31})の喪失を意味するが、これに反し増殖力の旺盛な幼若動物の臓器、腫瘍細胞、或は白血病のリンパ組織等、又成熟動物でも核酸成分に富む生産物をつくる臓器、例えばリンパ球を造成する類リンパ組織等では、与えられた放射性磷は核酸磷の新生に多く使用され従つてこれらの臓器の核酸磷の比放射能は、他の臓器のそれに比べ大きくなる訳で、核酸磷の比放射能から核酸代謝の動的な面を観察することが出来ると云つている。

体内に投与された P^{32} は、脳に於ては実験期間を通じ漸次増加¹⁾¹⁵⁾するといわれ、他の組織に於ては10時間前後に最大に達し、後減少することが報ぜられているが¹⁵⁾、腹腔内に P^{32} を投与する場合には肝に蓄積する速度が極めて速い¹⁵⁾といわれている。

翻つて私の上記実験成績を検討してみると、潜伏期初期即ち所謂内臓期初期に一致して、

肝に於ける核酸磷比放射能は顕著なる増大を認め、これは脳内接種法と異り高濃度のウイルスが腹腔内に接種せられたが為に、肝組織に於ける核酸代謝が非常に亢進しているものと推察される。

又脳に於ては、その核酸磷比放射能は潜伏期初期より漸次増大し、発症期に入つて急に増大の傾向を示すが、これは脳炎の脳脊髓期に一致して脳に於ける核酸代謝に著しい変動が惹起せるためと思われる。

然し以上の成績を吟味するに当つては、 P^{32} 自身が放射する β 線の核酸代謝に及ぼす影響を考慮せねばならない。

この問題に関しては既に私¹¹⁾は脳炎罹患マウス臓器の核酸量の変動の面から研究し、 P^{32} の β 線が脳炎ウイルスの増殖を或る程度抑制し、発症並に死亡日数を延長せしめることを認めたが、教室方円⁹⁾も正常マウスに P^{32} を10 μ c投与し、脳、肝、肺、腎に於ける核酸の消長を追求し、RNA-Pは著変なくDNA-Pは肝に於てのみ投与6時間後に減少の傾向を認めている。

Jones²¹⁾は肝に於ける β 線放射の強さに一致して乳癌のDNA形成の低下を認め、Hevesy²⁰⁾によれば β 線はDNAの転換率を低下せしめるといつている。

かくの如く私の実験に於ても P^{32} による β 線の核酸代謝への抑制を、勿論考慮せねばならないが対照群に比し著しい核酸磷比放射能を示したことは、高濃度のウイルス接種により生ずる β 線の影響にうち勝つてウイルスが旺盛な増殖を示し、もつて核酸代謝の亢進をみるものと推察される。

次に日本脳炎感染マウス臓器の核酸量に関しては、潜伏期に於ては脳及び肝のDNA-P、RNA-Pは共に対照群に比し著変をみず、発症期に於て脳、肝共にDNA-Pのみ増量することが認められているが¹²⁾、私の上記実験に於ても脳に於ては発症期初期より増量し、肝に於ては発症期後期に於て増大が観察された。

然かし脳に於ては核酸量の増量と比放射能

の増大とは平行するも、肝に於ては逆に減少をみ、核酸量の増減と比放射能とは必ずしも相伴わないと推察される。

これに関しては難波⁹⁾も生理的又は病理的機能と核酸代謝とを結びつける場合、量的推移と比放射能の推移とを明瞭に区別する必要があると云っている。

以上私は今回の実験に於てウイルス腹腔内接種マウス脳及び肝に於ける核酸代謝を、動的把握の目的より臓器核酸比放射能を求めて追求し、肝では潜伏期初期に脳では発症期後期に顕著なる比放射能の増大を認め、肝に於ては内臓期に、脳に於ては脳脊髄期に一致して、ウイルス感染により核酸代謝の亢進せることが推察せられ、これは既に教室長田⁴⁾により施行せられし脳内接種法の実験結果と同一の傾向を示し、もつてウイルス接種法の如何に拘わらず、脳炎の全身感染症としての特性を明かにし得て、誠に興味深く感ぜられる。

第五章 結 論

私は腹腔内日本脳炎病毒接種マウス脳及び肝の核酸代謝を P³² を応用してその動的变化を追求せんとし、Schneider 法²⁶⁾及び Fiske-Subbarow 法¹⁸⁾により各臓器の核酸比放射能を求めて研究し、次の如き結果を得た。

文 献

- 1) 稲永他 1 名：脳と神経，5巻，164頁，昭和28年。
- 2) 内田：岡山医学会雑誌，68巻，5号，昭和31年。
- 3) 緒方，高木：日本医学及び健康保険，3269号，271頁，昭和17年。
- 4) 長田：日本内科学会雑誌，44巻，93頁，昭和30年。
- 5) 諏訪：日本脳炎，1948～1949，日脳調研協，25頁，昭和25年。
- 6) 中：生体の科学，4，106～112，昭和27年。
- 7) 中沢：ラヂオアイソトープ，3巻，2号，12月号，昭和29年。
- 8) 難波：岡山医学会雑誌，67巻，1号，昭和31年。
- 9) 方円：印刷中。
- 10) 堀田他 2 名：Virus，2巻，26頁，昭和27年。
- 11) 松久：岡山医学会雑誌，68巻，11号，別巻，69頁，昭和31年。
- 12) 松久：同上，59頁。
- 13) Chaikoff, I. L.: *Physiol. Review*, 22, 291～317, 1942.
- 14) Cohen, S. S.: *J. Biol. Chem.*, 174, 295, 1948.
- 15) Cohn, W. E., Greenberg, D. M.: *J. Biol. Chem.*
- 16) Dawson, R. M. C.: *Biochem. J.*, 55, 507～517, 1953.
- 17) Dawson, R. M. C. and Richter, D.: *Proc. Roy. Soc. B*, 137, 252～267, 1950.
- 18) Fiske-Subbarow: *J. Biol. Chem.*, 66, 375,

1. 脳に於てはウイルス接種群の核酸比放射能は、潜伏期ではその対照群に比し著変は認められないが、発症期に入ると益々対照群に比し有意の差を認め、発症期後期 (P³² 注射後24時間) に於て最大に達する。

肝に於てはウイルス接種群の核酸比放射能は、潜伏期初期 (P³² 注射後 6 時間) に、その対照群に比し非常に顕著なる増大を示したが、発症期に入ると急激なる減少の傾向を示した。

これは潜伏期即ち日本脳炎の内臓期に一致して肝に、その脳脊髄期に一致して脳に、核酸代謝に激しい変動のおこりしことを暗示している。

2. 以上の実験結果は、既に長田⁴⁾、方円⁹⁾、内田²⁾によつて施行せられし脳内接種法による実験結果と同一傾向にあることを確認した。

3. 核酸量の増減と比放射能とは必ずしも相伴わない。故に生理的又は病理的機能と核酸代謝とを結びつける場合、今後は量的推移と比放射能の推移とを明瞭に区別する必要があると云う難波⁹⁾の研究結論を、上記実験成績により確認した。

欄筆するに当り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師平木教授に深甚の謝意を表する。

- 1952.
- 19) Graham, A. F., Mc Clelland, L.: *Nature*, **163**, 949, 1949.
- 20) Hevesy: *Biochem. J.*, **17**, 439, 1923.
- 21) Jones, B., Cited in Hevesy, G.: *Advances in Biol. Med. Phys.* **1**, 409, 1948.
- 22) Lindberg, O. and Ernster, L.: *Biochem. J.*, **46**, 43~47, 1950.
- 23) Putman, F. W.: *Kozloff. L. M. Science*. **108**, 386, 1948.
- 24) Sacks, J. and Gulbreth, G. G.: *Am. J. Physiol.*, **165**, 251~256, 1951.
- 25) Schmidt e. Thannhauser: *J. Biol. Chem.* Vol. **161**, P. 83, 1945.
- 26) Schneider: *J. Biol. Chem.*, **161**, 293, 1945.
- 27) Stanley, W. M.: *J. Gen. Physiol.* **25**, 881, 1942.
- 28) Tuttle et al.: *J. Clin. Invest.*, **20**, 57, 1941.
- 29) Tuttle, I. W., Erf, L. A. and Laurence, J. H.: *J. Clin. Invest.* **20**, 57, 1947.

Experimental Studies on Japanese B Encephalitis with the Radioactive P³²

Part 3

Investigation Of Nucleic Acid Metabolism in the Organs, especially in Brain And Liver, of Mice Inoculated Intraperitoneally with Japanese B Encephalitis Virus from the Viewpoint of the Specific Activity of P³².

By

Mitsuo Matsuhisa

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

Nucleic acid metabolism in brain and liver, which had been formerly investigated by the measurement of P³² activity, was examined from the viewpoint of the specific activity of P³² in order to make clear the nucleic acid metabolism in its progressive form.

As in my last experiment, Japanese B Encephalitis Virus was intraperitoneally inoculated. P³² was intraperitoneally injected into the mice respectively 48 and 120 hours after they were inoculated with the virus, and after 6 and 24 hours, the nucleic acid metabolism in brain and liver was observed from the point of view of the P³² specific activity.

As the control objects, the healthy mice injected intraperitoneally with P³² were used.

An increase of the P³² specific activity in liver was recognized during the incubation period, especially in its earlier stage.

This fact, as Osada once reported, seems to imply that rapid metabolic changes of the nucleic acid in liver take place during the incubation period or the so-called visceral phase of Japanese B Encephalitis.

The P³² specific activity in liver at the later stage of infection decreases in spite of the increase of nucleic acid amount; and the ups and downs in nucleic acid amount does not always go parallel with the P³² specific activity.