

髄液蛋白のポーログラフ的研究

I 髄液蛋白波の一般的特性及び分裂病者 髄液蛋白波について

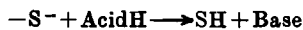
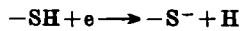
岡山大学医学部神経精神医学教室 (主任: 奥村教授)

藤 田 英 彦

[昭和 33 年 6 月 24 日受稿]

緒 言

1933 年 Brdička¹⁾ は, Polarography を用いて, Cobaltamine 緩衝液中に血清を加える事に依り, Cobalt の電解曲線に続いて二重の極大を示す, 新しい電解曲線を発見し, 之を蛋白波と名付けた. 此の蛋白波は接触還元波であつて, Brdička は其の発生機転を蛋白質中又はアミノ酸の acidhydryl group の水素についての直接の還元に基づいている²⁾.



此の理論を応用した蛋白波の生物化学的研究に対する Polarograph 蛋白波の利点は, 微量の蛋白しか含まない被検物を用いて, その中の蛋白質の変性ができるだけ少ない状態で, 極めて簡単に而かも Spectroanalysis で得られる程度の測定が可能であると言われる点と, 又質的には, 蛋白分子中の SH 基の変動に依つてその質的差異を極めて鋭敏に捕え得る点である.

医学領域では既に此の方法を癌の診断に応用すべく試みたが³⁾⁴⁾, その非特異性の故に失敗に終つたものの, 上述の利点から今日益々その応用範囲は拡大され, 血清⁵⁾, リンパ液, 眼房水, 人乳, 尿⁶⁾, 羊水及び脳組織蛋白⁷⁾ 髄液⁸⁾ 等の研究に用いられて多大の成果を挙げている⁹⁾¹⁰⁾.

さて髄液蛋白の研究については, 最近濾紙電気泳動法の普及, 発達に依つて, その知見は深められ, 血清蛋白質に対し殊にグロブリン分劃と Vorfraktion に於て特異性が明らかにされて来た. 其れにしても髄液蛋白グロブリン分劃と血清蛋白との差異は r Fraktion を除き, グロブリン分劃中の各 Fraktion 間の量的差異に基づくものであつて, 髄液蛋白分子の質的持異性を論ずるには未だ不充分の様思われ

る. 更に又各種疾患時に於ける髄液蛋白の所見については, 一, 二の場合を除きそれのみによつて疾患に特異的とするに足る所見は得られてない様である¹¹⁾¹²⁾.

こう言つた理由から, 髄液蛋白分子中の SH 基の動向を指標として, 髄液蛋白の微細な性状をより明らかにし, 更に各種精神神経疾患の際の変化を検討する為に, Polarograph 蛋白波第一反応, 及び第二反応 (濾液反応) について一連の実験を行つたが, 本編に於ては先づ髄液蛋白の Polarograph の一般的特性及び分裂病者髄液のポーログラムについて述べたい.

実験方法

1) 緩衝液: 低蛋白含有被検材料の蛋白波実験に用いる電解液を作るには, 難波⁷⁾の記載に従つて, 次の原液を用意する.

a) $CoCl_2$ 8×10^{-3} M 水溶液 (Co^{++})

b) $Co(NH_3)_6Cl_3$ (Luteo 塩) 1×10^{-2} M 水溶液 (Co^{+++})

c) 1.0 M NH_4Cl

d) 1.0 M NH_4OH

上記各液を使用の都度次の割合に混合し, Co^{++} を含むものを第一反応に, Co^{+++} を含むものを第二反応に用いる.

10.0 cc NH_4Cl + 40.0 cc aq. dest + 20.0 cc $CoCl_2$ + 30.0 cc NH_4OH

10.0 cc NH_4OH + 10.0 cc $Co(NH_3)_6Cl_3$ + 80.0 cc NH_4OH

各原液を上記の順序に混合して最後に NH_4OH を加える.

2) 電解装置; 器械は柳本製作所製品を使用し, 毛細管は何時も同じもので大きな水銀滴の得られる

ものを用いた。

3) 被検材料; 一般的検査法で病的所見を認めなかつた分裂病者 10 例から腰椎穿刺で得た髄液約 10.0 cc を用いた。被検髄液は予め鏡検して赤血球の混入していないもののみを用いた。

4) 試料の調製; 試料は実験の目的により次の 4 種を作る。Tab. 1 に示す。

Tab. 1 実験方法

| 第一反応 | | 第二反応 | |
|---|-------|----------------------------|-------|
| Native (N ₁) | | Native (N ₂) | |
| 髄液 | 1.0cc | 髄液 | 2.8cc |
| Co ⁺⁺⁺ | 5.0cc | 20%SSA | 2.4cc |
| | | 20°C | 10分 |
| | | 濾 | 過 |
| Deutared (D ₁) | | 濾液 | 2.0cc |
| 髄液 | 3.0cc | Co ⁺⁺⁺ | 5.0cc |
| 尿素 | 1.1g | | |
| 20°C | 30分 | Deutared (D ₂) | |
| | | 髄液 | 3.0cc |
| | | 尿素 | 1.1g |
| | | 20°C | 30分 |
| | | | |
| | | | 2.8cc |
| 蛋白波試験液 | | 20%SSA | 2.4cc |
| Co ⁺⁺⁺ | | 20°C | 10分 |
| 1.6×10 ⁻³ M CoCl ₂ | | 濾 | 過 |
| 0.1 N NH ₄ Cl | | 濾液 | 2.0cc |
| 0.1 N NH ₃ | | Co ⁺⁺⁺ | 5.0cc |
| Co ⁺⁺⁺ | | 測定条件 | |
| 10 ⁻³ M Luteo 塩 | | ガルバノメ | 1/500 |
| Co(NH ₃) ₆ Cl ₃ | | ーター感度 | |
| 0.1 N NH ₄ Cl | | 電 圧 | 4volt |
| 0.8 N NH ₃ | | 温 度 | 20°C |
| | | 濾紙...Munktells | |

SSA = スルホサルチル酸 No.00 径 7.0cm

i) 第一反応 Native (N₁); 髄液 1.0 cc に Co⁺⁺⁺ 蛋白波試験液 5.0 cc を加える。

ii) 第一反応 Denatured. (D₁); 髄液 3.0 cc に 6 Mol の割合に尿素を添加し 20°C 30 分放置し充分変性させた後その 2.0 cc に Co⁺⁺⁺ 蛋白波試験液 5.0 cc を加える。

iii) 第二反応 Native (N₂); 髄液 2.8 cc に 20% SSA 2.4 cc を加え 20°C 10 分間放置後 Munktells No.00 径 7.0 cm の濾紙で濾過しその濾液 2.0 cc に Co⁺⁺⁺ 蛋白波試験液 5.0 cc を加える。

iv) 第二反応 Deutared (D₂); 髄液 3.0 cc に尿素を 6 Mol の割合に添加し 20°C 30 分間放置後其の 2.8 cc に Native と同様 2.4 cc の 20% SSA を加え 20°C 10 分放置後濾過しその濾液 2.0 cc に Co⁺⁺⁺ Buffer を 5.0 cc 加える。

5) 波高測定; 上記の如くにして得たポーラログラムに於て常法に従い、-0.9 Volt の所に基線を引き之より第一、第二極大、同極小の midpoint の高さを mm で表わし夫々第一波高、第二波高、第一極小、第二極小とした。

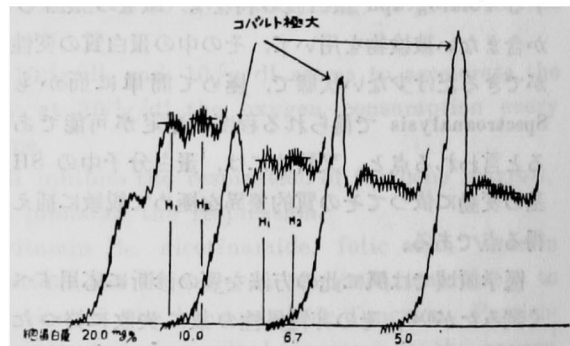
6) 蛋白量測定; 蛋白染料である Amidoschwarz 10 B を用いて V. Türgen. Frühr, Otto-Süelhintz 等の法に依り、Beckmann 光電比色計 (島津製) を用いて髄液中総蛋白量 (G) 及び濾液中蛋白量 (F) を測定した。

実験成績

A) 蛋白量と蛋白波との関係; 上述の測定条件に基き髄液の蛋白濃度を変えた時にポーラログラム上に現われる波形と波高との関係を検討した。

i) 第一反応; 蛋白量が 20.0 mg% から 5.0 mg% 迄の Polarogram を取つた。(Fig. 1 に示す) 蛋白

Fig. 1 第一反応交叉現象 (分裂病)



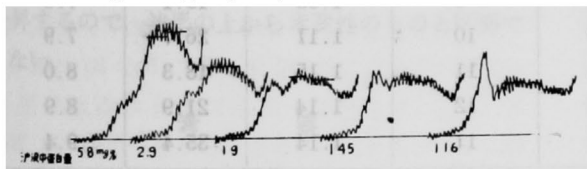
量が 20.0 mg% では、Cobalt 極大波が僅かに現われ始めている。蛋白波はきれいな二重波を示し、第二波は第一波より少々高く、又第二極小は第一極小よりも高く典型的な蛋白波形を示す。更に蛋白濃度 10.0 mg% になると、Cobalt 極大は更に著明となり蛋白波よりも高くなる。蛋白波はまだきれいな二重波を示すが、第一、第二波は同高となり第二極小は第一極小よりも逆に低下する。蛋白量 6.7 mg% になると、蛋白波はかなり不明瞭になり、殊に第二波の低下は著しく、第一極小も亦明らかでない。第二極小は益々低下する。蛋白量 5.0 mg% になると蛋白

白波は益々不明瞭となり第一、第二波高とも益々低下する。特に第二波の低下が著しい。同様に第一、第二極小も低下する。Cobalt 極大はここでは原点から蛋白波高の約2倍に達している。第一、第二波高の推移を検討してみると両者の関係は更に明らかになる。即ち蛋白量 20.0 mg% の所では第二波高は第一波高より高いが、蛋白量 10.0 mg% の所では両者は同高となり、蛋白量が其以下では逆に第一波が第二波より高くなる。此の両波高が丁度逆になる点を、Tropp¹⁴⁾ は Crossing Point と呼び、夫々の蛋白質に特有なものであるとしているが、髄液の第一反応では、10.0 mg% の所にある事がわかった。

又こうした蛋白濃度に対する波高の推移は直線を示さず、Crossing Point 以上の蛋白濃度では、波高は蛋白濃度に比例して高くなり、又 Crossing Point 以下では波高は急に低下する傾向を示している。

ii) 第二反応；第一反応と同様に蛋白濃度と波高及び波形につき検討した。蛋白量 5.8 mg% では Cobalt 極大は未だ現われていない。第二波は第一波より稍高いが、両者の差は著明でなく、又第一極大がかなり高いので両波の分離が稍困難である。波形は全体としてみると富士山型を呈する。Fig. 2

Fig. 2 第二反応交叉現象 (分裂病)



に示す。第二極小は第一極小に比べて非常に低い。蛋白濃度 2.9 mg% になると Cobalt 極大がごく僅か現われてくる。蛋白波は第一、第二波共に低下するが殊に第二波の低下が目立ち第一波よりも低くなる。之れに反し第一極小は其程低下しない為波形は全体として、第一波から第二波の方向にゆるやかな弧を描いて低下している。第二極小は同様に低下するが、その割合は、第一、第二波高の減少に比べて僅かである為第一極小との差が減少する。蛋白量 1.9 mg% になると Cobalt 極大は更に明らかになるが、まだ蛋白波を超えるに至らない。ここでも第一、第二波の低下がみられる。波形は全体として平坦になり最早第一、第二波を明瞭に区別できない。第二極小は之れに比し低下しない。蛋白量が 1.45 mg% になると Cobalt 極大は始めて、蛋白波よりは高くなる。蛋白波は益々平坦にはなるが、その高さは殆

ど蛋白量 1.9 mg% の場合と変わらなくなっている。更に 1.16 mg% になると蛋白波は全体として僅かに低下する。第二極小はここでも変化しない。

第一反応同様に蛋白量に対する第一、第二波高の推移を追求すると、第一波と第二波の波高曲線は正常の蛋白濃度の附近では夫々直線を示し、両者は蛋白量 3.7 mg% の所で交叉し (Crossing Point) 其より以下の蛋白濃度では第二波高は第一波高より低下する。Crossing Point は夫々の蛋白濃度に於ける第 I、第 II 波高との関係より作図により求める。

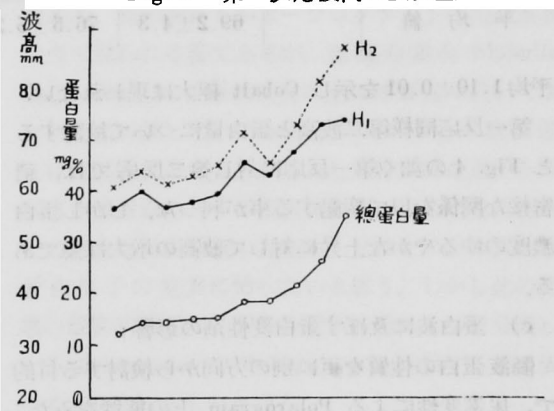
B) 分裂病髄液蛋白のポーラログラム

分裂病者髄液についてグロブリン反応陰性、液圧正常、細胞数正常値で赤血球を混じらない 10 例の髄液について波高、波形と蛋白量の関係を検討した。

i) 第一反応；先づ第一反応では、Tab. 2 の如く総蛋白量は 12.8 mg% から 35.4 mg% の範囲に散在する。此の程度の蛋白濃度では、Fig. 3 に示す様に何時も第二波が第一波よりも高く、第一波高は 57 mm から 74 mm、第二波高は 61 mm から 88 mm を示し、第一波高と第二波高の差 ($H_2 - H_1$) は 2~14 mm の間にある。更に H_2/H_1 は 1.03~1.19 平均 1.09 ± 0.01 を示している。之等を図示すると

Fig. 3 の如く通常分裂病者に於いては、蛋白濃度と波高との間にはかなり密接な関係があるが、その関係は Crossing Point の場合に示した様に直線的ではない。

Fig. 3 第一反応波高と蛋白量



ii) 第二反応；次に第二反応について第一反応に於けると同様の事を検討した。Tab. 3 に示す様に濾液中蛋白量は 4.2~9.4 mg% の間に、第一波高は 48~90 mm の間に、そして第二波高は 51~100 mm の間に散在している。

$H_2 - H_1$ は 3~12 mm の間にあり H_2/H_1 の値は

Tab. 2 第一反応波高及蛋白量

| 番号 | 氏名 | 病名 | H ₁ mm | H ₂ mm | H ₂ -H ₁ | H ₂ /H ₁ | 総蛋白量 mg% | |
|-----|----|----|-------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------|------|
| 1 | 明 | ○ | 分裂病 | 57 | 61 | 4 | 1.07 | 12.8 |
| 2 | 西 | ○ | " | 60 | 64 | 4 | 1.07 | 14.1 |
| 3 | 石 | ○ | " | 57 | 61 | 4 | 1.07 | 14.6 |
| 4 | 山 | ○ | " | 58 | 63 | 5 | 1.09 | 14.9 |
| 5 | 牧 | ○ | " | 60 | 65 | 5 | 1.08 | 15.1 |
| 6 | 石 | ○ | " | 66 | 72 | 6 | 1.09 | 18.3 |
| 7 | 小 | ○ | " | 63 | 65 | 2 | 1.03 | 18.5 |
| 8 | 斉 | ○ | " | 68 | 73 | 5 | 1.07 | 21.9 |
| 9 | 池 | ○ | " | 73 | 82 | 9 | 1.12 | 26.7 |
| 10 | 段 | ○ | " | 74 | 88 | 14 | 1.19 | 35.4 |
| 平均値 | | | | 64.2±1.9 | 69.1±2.9 | 5.6±1.1 | 1.09±0.01 | |

H₁.....第一波高H₂.....第二波高

Tab. 3 第二反応波高及蛋白量

| 番号 | 氏名 | 病名 | H ₁ mm | H ₂ mm | H ₂ -H ₁ | H ₂ /H ₁ | 総蛋白量 mg% | 濾液中蛋白量 mg% | |
|-----|----|----|-------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------|------------|-----|
| 1 | 山 | ○ | 分裂病 | 48 | 51 | 3 | 1.06 | 14.9 | 4.2 |
| 2 | 石 | ○ | " | 56 | 61 | 5 | 1.09 | 14.6 | 4.9 |
| 3 | 西 | ○ | " | 53 | 56 | 3 | 1.06 | 14.1 | 5.4 |
| 4 | 明 | ○ | " | 66 | 73 | 7 | 1.11 | 12.8 | 6.0 |
| 5 | 小 | ○ | " | 61 | 65 | 4 | 1.07 | 18.5 | 6.4 |
| 6 | 牧 | ○ | " | 74 | 80 | 6 | 1.08 | 15.1 | 7.0 |
| 7 | 池 | ○ | " | 90 | 100 | 10 | 1.11 | 26.7 | 7.9 |
| 8 | 石 | ○ | " | 72 | 83 | 11 | 1.15 | 18.3 | 8.0 |
| 9 | 斉 | ○ | " | 88 | 100 | 12 | 1.14 | 21.9 | 8.9 |
| 10 | 段 | ○ | " | 76 | 87 | 11 | 1.14 | 35.4 | 9.4 |
| 平均値 | | | | 69.2±4.3 | 76.5±5.2 | 7.6±1.1 | 1.10±0.01 | | |

平均1.10±0.01を示し Cobalt 極大は現われない。

第一反応同様第二波高と蛋白量について検討すると Fig. 4 の如く第一反応に対し第二反応では、稍密接な関係を以て変動する事が判つた。しかし蛋白濃度のゆるやかな上昇に対して波高の増大は急である。

c) 蛋白波に及ぼす蛋白変性剤の影響；

髄液蛋白の性質を更に別の方向から検討する目的で、尿素変性による Polarogram 上の態度をみた。既述の方法で尿素変性をした髄液蛋白の Polarogram をとつてみると Fig. 5, Fig. 6 にみる如く、第一、第二反応ともに波高の著しい変動を認めた。即ち第一反応では、H₁, H₂ ともに低下し、殊に H₂ の低下が目立つ。その為 H₂-H₁ は未変性のもより小となつてくる。又第一極小はより明らかになり

Fig. 4 第二反応波高と濾液中蛋白量

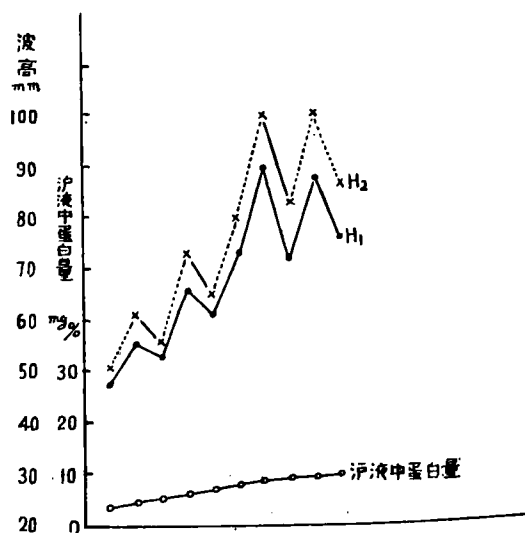


Fig. 5 第一反応ポーラログラム

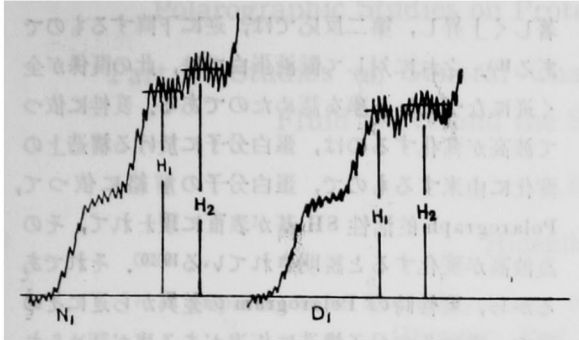
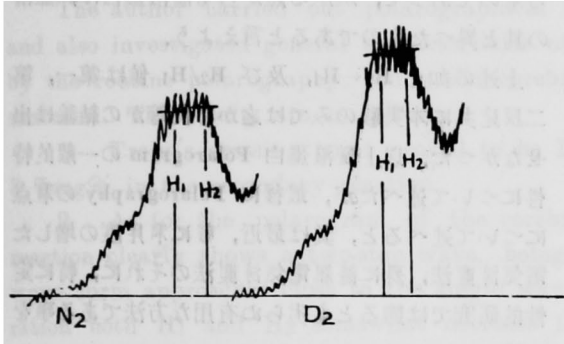


Fig. 6 第二反応ポーラログラム



反対に第二極小は第二波に比べて僅かしか低下しなく不明瞭となつて finale に続く。

第二反応では変性により軽度の波高の上昇を認めしたが、 H_1 , H_2 , 第一極小, 第二極小共に同程度に上昇するので、波形の上から未変性のものと区別できない。

考 察

一定量の血清が呈する蛋白波の高さが、癌や、其の他の病的血清では、健康者の其れに比べて低く、特に変性すると其の差異がはつきりする⁹⁾。之がポーラログラム癌反応の原則であり、ひいては Polarography が医学領域に利用せられるきつかけとなつた。此の反応には全血清を用いる第一反応と、酸及び熱非凝固の蛋白を対象とする第二反応のある事は緒言で述べた通りである。

第一反応の医学的意義に就いては、今日次の如く考えられている。即ち血清の第一反応に現われた結果は、蛋白の量と質との二要素についての表現をもたらしたもので、其の変動は血清中の Alb. と G1b. の量比が主体である¹⁰⁾。之に依つて蛋白波形（第一波, 第二波, 第一, 第二極小）は変化するものであると考えられている。更に第二反応はより鋭敏且つ安定なものとして登場し、其の本態はムコイド体とも言われ、Winzler, Mayer¹⁵⁾ 笹井¹⁶⁾ 等に依つて其の

物理化学的性状が明らかにされている。

しかし又一方では、蛋白波波形及び波高は各種蛋白就中精製蛋白でも、其の種類に依り異つたものであり¹⁷⁾、その Crossing Point は各蛋白質につき一定している事が明らかにされた¹⁴⁾。こう言つた事実が髄液蛋白についても言えるかどうか、私は此等の点を明らかにする為、分裂病者の髄液蛋白をポーラログラム的に検討した。被検材料を分裂病に求めたのは、此の疾患では今日迄髄液蛋白分割に病的所見は認められていないからである。さて第一反応について先づ血清の第一反応の波形と比べると髄液及び血清の間には何等特異的の差異を認めなかつた。しかし文献に現われた血清の Crossing Point を、髄液の其と比較してみると、血清では、172.0 mg% と 19.0 mg% の 2ヶ所にあり¹⁴⁾、之に対し髄液では 10.0 mg% の点に現われている。又 G1b. は 12.5 mg% より高い蛋白濃度に、Alb. は其よりも低い蛋白濃度の所に現われている。即ち Crossing Point の点からみると髄液第一反応に関する蛋白は、血清のグロブリン、アルブミンの夫等と質的に相違したものである事が判つた。此の事は電気泳動的所見と比べても、すでに明らかな事実であつて今更付言を要しないが¹¹⁾¹²⁾¹⁸⁾、重要な事は髄液に於ける Polarographic の所見と、電気泳動所見とどの点で一致しているかと云う所である。質的な面から言うと髄液蛋白の血清蛋白に対する、電気泳動的相違点は、云う迄もなく前者には Vorfraktion と τ 波が存在している事であり、次には蛋白中の各要素の含有量の差異である。此の何れもがポーラログラム上の相違点となつて現われる筈であるが、血清の場合 Globulin 及び Albumin の量的変化は主に波高差に於いて現われるのに反し¹⁰⁾、Crossing Point は寧ろ波高差とは無関係に蛋白各分割に対して特異的な点から¹⁴⁾、私は血清蛋白に対する髄液蛋白第一反応の特異性をその特異な蛋白分割の存在か、又はもつと本質的な蛋白粒子の差異に帰したいと思う。しかし此の問題の最終的解明は、蛋白の電気泳動によつて分離した各 Component の Polarogram を比較する事に依つて達せられるものと思う。

第二反応についても、第一反応に於けると同様な事が言える。即ち人の血清では Crossing Point の極小波高と第一、及び第二波高との平行関係が無く、波高が低くなつても高くなつても、波型は同一方向に変化するから Crossing Point は現われないう筈であるが、髄液は 3.7 mg% の所で交叉するという点

に於いて、殊に血清と髄液蛋白の著しい相違点を見出すのである。

又第一反応と違つて第二反応の場合は、波形に於いても血清に対し明瞭な相違を示し、一方髄液の第二反応波形はむしろ胃腺ムコプロテイン及び、Mucopolipeptide の夫れに極めて類似しているのは興味がある。

こう云つた相違は、各種臓器の抽出液、尿、唾液等でも確かめられていて、その原因を矢張り蛋白の構造上の相違に帰している様である。

第二反応にあづかる物質、即ち Mucoid 体は、Mucoprotein と云われその化学的組成も明らかにされている一種の低分子量の糖蛋白であるが¹⁵⁾、髄液濾液物質が電気泳動上に於ける各 Component のどれと最も関係が深いかと云つた点については、他の方法による決定をまたわねばならない。しかし何れにせよ、以上の事実は髄液蛋白が血清蛋白のそれと量的ばかりでなく、蛋白の構造殊にその一つ一つの Component の構造上の相違に基くものであつて、この事から髄液蛋白の由来について、重要な手懸りを与えるものと思われる。

さて以上述べた事は普通の蛋白濃度以下の所見であるが、実際に実験を進めるにつれて、正常蛋白濃度と思われるあたりで測定してみると、第一反応では余り定量的意味が無かつたが、第二反応では、その意義を認める事が出来た。此の事は血清¹⁶⁾及び大黒鼠脳髓⁷⁾の第二反応について明らかにされている事であつて、各種の濾液物質に共通した性質の様に思える。

以上で私は髄液蛋白の Polarograph 的特性について述べたが、更に之を裏づけるものとして変性時の Polarogram が血清の其より異つている点を指摘したい。即ち人血清の第一反応では、健康人及び

痲患者の何れも血清を変性する事に依つて、波高は著しく上昇し、第二反応では、逆に下降するものである¹⁶⁾。之れに対して髄液蛋白では、此の關係が全く逆になつている事を認めたのである。変性に依つて波高が変化するのは、蛋白分子に於ける構造上の変化に由来するもので、蛋白分子の解絡に依つて、Polarograph 的活性 SH 基が表面に現われて、その波高が変化すると説明されている¹⁹⁾²⁰⁾。それであるから、変性時の Polarogram の差異から逆にその蛋白、殊にその分子構造に相違がある事が認められるものであつて、かかる点からも髄液蛋白は、血清の其と異つたものであると言えよう。

上述の如く H_2-H_1 、及び H_2/H_1 値は第一、第二反応共に本実験のみでは之から何等かの結論は出せなかつた。以上髄液蛋白 Polarogram の一般的特性について述べたが、最後に Polarography の利点について述べると、其は最近、毎に利用度の増した電気泳動法、殊に濾紙電気泳動法のそれに、特に定性的研究では勝るとも劣らぬ有用な方法である事を強調したい。

結 論

1) Tropp の Crossing Point は第一反応では 10.0 mg%, 第二反応では 3.7 mg% を示す。

2) 分癩病者髄液の Polarogram については、第一反応は明確な二重波を示し常に $H_2 > H_1$ である。第二反応では波形は一段波に近くなるが矢張り $H_2 > H_1$ であり、尿素変性により第一反応では H_1, H_2 とともに稍低下し第二反応では軽度の上昇を認めた。

3) 髄液中の第一及び第二反応にあづかる物質はいずれも血清中の其等とは質的に異なる事を明らかにした。

Polarographic Studies on Proteins of the Cerebrospinal Fluid
Part 1. Studies on General Characteristics of the Cerebrospinal
Fluid Wave and the Same in Schizophrenics

By

Hidehiko Fujita

Department of Neuro-Psychiatry Okayama University Medical School
(Director: Prof. Nikichi Okumura)

The author carried out polarographical studies on proteins of the cerebrospinal fluid, and also investigated general characteristics of the wave of the cerebrospinal fluid proteins by the routine polarography, using the cerebrospinal fluid of schizophrenic patients as the material. The results are as follows:

1. Tropp's crossing point proved to be 10.0mg% in the primary reaction while it was 3.7mg% in the secondary reaction.
 2. As for the polarogram of the cerebrospinal fluid of schizophrenia, the primary reaction clearly shows a two-step wave, being always $H_2 > H_1$. In the secondary reaction the wave form approaches close to the single wave, but still it is $H_2 > H_1$. By the urea denaturation both H_1 and H_2 somewhat decrease in the primary reaction, whereas both increase slightly in the secondary reaction.
 3. It has been clarified that the substances involved in the primary and secondary reactions in the cerebrospinal fluid are different from the similar substances in the serum.
-