カドミウム腎症のスクリーニング検査としての 尿タンパク、尿糖定性・定量試験の検討

青 島 恵 子, 加 藤 輝 隆, 寺 西 秀 豊, 加 須 屋 実

富山医科薬科大学医学部公衆衛生学教室

Evaluation of Qualitative and Quantitative Tests for Proteinuria and Glucosuria as Screening Tests for Cadmium-induced Renal Tubular Dysfunction

Keiko Aoshima, Terutaka Katoh, Hidetoyo Teranishi and Minoru Kasuya

*Toyama Medical and Pharmaceutical University, Faculty of Medicine,
Department of Public Health, Toyama*

To evaluate the screening tests for cadmium-induced renal tubular dysfunction, qualitative and quantitative tests for urinary protein and glucose have been done in 146 urine samples obtained from subjects who had lived in the cadmium-polluted Jinzu River basin in Toyama Prefecture, Japan. The subjects consisted of 66 men and 80 women aged 55 to 71 years with β_2 -microglobulinuria exceeding 1,000 $\mu\text{g/g}$ creatinine. The results obtained from this study were as follows;

- 1) The positive reaction (above 1+) for protein by the dipstick method was seen in 19.7% of men and 20.0% of women, and for glucose using Tes-tape in 48.5% of men and 33.8% of women.
- 2) The geometric means of protein and glucose concentrations in urine were 16.4 mg/dl and 12.7 mg/dl in men, and 14.2 mg/dl and 6.8 mg/dl in women, respectively.
- 3) The criteria of the primary screening in the health survey system for the residents in cadmium-contaminated areas conducted by the Japan Environment Agency were a proteinuria level exceeding 10 mg/dl and a glucosuria above ($\pm$) with Tes-tape. Nearly all subjects with urinary β_2 -microglobulin exceeding 30 mg/g creatinine were screened by these criteria in both sexes, whereas only 52.9% of men and 30.0% of women who had urinary β_2 -microglobulin between 10 to 30 mg/g creatinine could be screened in this manner. These results indicate that semiquantitative tests are insufficient as initial tests for screening cadmium-induced renal tubular dysfunction.

Key words: Cadmium, Screening, Urinary protein, Urinary glucose, β_2 -Microglobulin
カドミウム, スクリーニング, 尿タンパク, 尿糖, β_2 -マイクログロブリン

緒 言

全国各地のカドミウム環境汚染地域住民を対象にした健康影響調査が、環境庁により昭和51年から59年度にわたって実施された¹⁾。この調査では、カドミウム暴露によってもっとも早期に出現する腎臓障害（尿細管障害）の発見に主眼が置かれた。調査方法は、第1次のAとB、第2次、第3次の4段階に分かれており、第1次Aのスクリーニングの規準は、Kingsbury-Clark (K-C) 法による尿タンパク10 mg/dl 以上、かつテスト・テープ法による

尿糖 ($\pm$) 以上である¹⁾。

他方著者らは、富山県神通川流域カドミウム汚染地住民を対象に、尿細管障害の早期指標として尿 β_2 -マイクログロブリンを用いた疫学調査を実施し²⁾、1,000 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン以上の高 β_2 -マイクログロブリン尿例における、テスト・テープ法 ($\pm$) 以上の尿糖陽性率は36%にすぎないことを報告した³⁾。

本報では、カドミウム腎症のスクリーニング試験としての尿タンパク、尿糖の定性・定量試験の再評価を行う目的で、第1に、尿中タンパク定量法として最近広く用

いられている Coomassie-brilliant-blue G-250 法 (CBB 法) と、従来よりスクリーニングに用いられてきた K-C 法との比較検討を行った。第 2 に、尿 β_2 -マイクログロブリン 1,000 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン以上を呈するカドミウム汚染地住民の尿タンパク、尿糖定性・定量試験成績と尿 β_2 -マイクログロブリン値との関連について検討した。

対象と方法

1. 尿タンパク定量法のスルホサリチル酸法 (K-C 法) と Coomassie-brilliant-blue G-250 法 (CBB 法) との比較検討

K-C 法と CBB 法を比較するために、早朝尿 167 検体について両方法で測定した。測定用の尿検体は、3% 酢酸を加え弱酸性にし、 -20°C で凍結保存した。K-C 法は、濾過して完全に透明化した尿 0.5 ml に 3 g/dl スルホサリチル酸-7% Na_2SO_4 溶液 2.5 ml を加えて混合し、室温に 7 分間放置後ゆるやかに転倒混和し、620 nm の吸光度を測定した⁴⁾。CBB 法はトネイン-TP (大塚アッセイ) を用い、尿 50 μl に呈色試薬 3 ml を加え混和後、590 nm の吸光度を測定した。標準液は、両方法ともトネイン-TP 添付のヒト血清アルブミンを用いた。

2. 高 β_2 -マイクログロブリン尿例の尿タンパク、尿糖の定性・定量試験方法

富山県神通川流域カドミウム汚染地住民を対象にした尿細管障害の疫学調査²⁾において、早朝尿中の β_2 -マイクログロブリンが 1,000 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン以上であった男 70 人 (56~71 歳、平均 63.2 歳)、女 85 人 (55~71 歳、平均 62.3 歳) を対象にした³⁾。朝食を摂らない空腹状態で、午前 8 時から 10 時までの 2 時間尿を採取した。尿 pH を pH メーター (東亜電波工業、HM-12A) で測定した。尿タンパクと糖の定性試験は、尿検査多項目複合試験紙 (ウロラプスティック III, マイルス・三共) を用いた。尿糖についてはさらに、テス・テープ (塩野義製薬) による検査を次のように行った。試験紙の端をわずか (5 mm) に浸し直ちに引き上げ、正確に 1 分後に試験紙内を浸透し移動した尿先端部と非浸透部の境界部分の呈色を判定した⁵⁾。わずかにでも緑色を呈したときは弱陽性とし、陽性以上は色調表と比較して判定した。定性試験は判定者間誤差を防ぐために、同一人が全検体について判定した。

定量試験は、尿タンパクは CBB 法、糖は酵素法 (Glucose C-Test Wako, 和光純薬工業)、 β_2 -マイクログロブリンは radioimmunoassay 法 (β_2 -マイクログロブリン・栄研、栄研化学)、クレアチニンは Folin-Wu 法 (クレアチニン-テストワコー、和光純薬工業) によった。な

お、女性の結果のうち尿 β_2 -マイクログロブリンと尿糖との関連については他の論文でも報告した³⁾。

結 果

1. 尿タンパク定量法の K-C 法と CBB 法の比較

早朝尿 167 検体の K-C 法と CBB 法による尿タンパク濃度の相関を、Fig. 1 に示した。相関係数 0.818 と有意な ($p < 0.001$) 相関をみたが、両者の値は一致せず回帰直線式 $y = 0.50x + 1.10$ (x : CBB 法, y : K-C 法) と CBB 法が平均 1.8 倍の高値を示した。この回帰直線式より K-C 法による 10 mg/dl は、CBB 法では 18.0 mg/dl に相当した。

Fig. 1 Comparison between the Coomassie brilliant blue G-250 (CBB) method and the Kingsbury-Clark (K-C) method for measuring urinary total protein.

2. 高 β_2 -マイクログロブリン尿例の尿タンパク、尿糖の定性・定量試験によるスクリーニングの検討

1) 尿 β_2 -マイクログロブリンの pH による影響

尿 β_2 -マイクログロブリンは、尿の pH や温度による影響を受け易く、pH 5.6~5.7 以下で急に不安定性を増し、変性することが知られている⁶⁾。Fig. 2 に男 70 人、女 85 人の尿 pH と β_2 -マイクログロブリン値との関連を示した。pH 5.8 未満の尿は、男女各 3 例にみられたが、Fig. 2 にみるように、これら 6 例においてとくに著しい β_2 -マイクログロブリン値の低下はみられなかった。本報における尿検体は 2 時間尿であり、膀胱における貯留時間が短いことから、pH による β_2 -マイクログロブリンへの影

Fig. 2 Relationship between pH and the concentration of β_2 -microglobulin in urine from 70 men (A) and 85 women (B).

響は小さいと考え、pH 5.8未満の尿6検体も含めて解析した。

2時間尿の β_2 -マイクログロブリンの幾何平均値(範囲)は、男70例では8.18 mg/g クレアチニン (0.37~84.53 mg/g クレアチニン)、女85例では7.09 mg/g クレアチニン (0.50~137.76 mg/g クレアチニン)であった(Fig. 2)。今回の対象は、早朝尿中の β_2 -マイクログロブリン1,000 μ g/g クレアチニン以上の例としたが、2時間尿の β_2 -マイクログロブリン値は男4例、女5例が1,000 μ g/g クレアチニン未満であった。そこで、高 β_2 -マイクログロブリン尿例における尿タンパク、糖の定性・定量試験成績の解析には、2時間尿の β_2 -マイクログロブリン値1,000 μ g/g クレアチニン以上の男66例、女80例を対象とした。

2) 尿 β_2 -マイクログロブリン値別尿定性試験成績

Table 1に、対象男66人、女80人を尿 β_2 -マイクログロブリン値別に4群に分け、尿タンパクと尿糖(テス・テープ)の試験紙法による成績をまとめた。尿タンパク(+)以上の陽性率は男19.7% (13人)、女20.0% (16人)であった。尿 β_2 -マイクログロブリン値別の陽性率は、尿 β_2 -マイクログロブリン値が高くなるにしたがい増加したが、30 mg/g クレアチニン以上でも陽性率は40~50%であった。試験紙法の感度を知るために、判定規準別に尿タンパク濃度分布を検討した。その結果、(-)の最高濃度

Table 1 Results of screening tests for proteinuria and glucosuria with a dipstick in 146 individuals with β_2 -microglobulinuria living in the cadmium-polluted Jinzu River basin.

		β_2 -microglobulin (mg/g creatinine)				Total
		1 — 3	3 —10	10—30	30<	
Number of subjects	Men	15	20	17	14	66
	Women	18	29	20	13	80
Proteinuria						
Negative	(—)	7 (46.7%)	9 (45.0%)	3 (17.6%)	0	19 (28.8%)
		11 (61.1%)	18 (62.1%)	6 (30.0%)	0	35 (43.8%)
Trace	(±)	7 (46.7%)	9 (45.0%)	10 (58.8%)	8 (57.1%)	34 (51.5%)
		7 (38.9%)	7 (24.1%)	8 (40.0%)	7 (53.8%)	29 (36.3%)
Positive	(+)	1 (6.6%)	2 (10.0%)	4 (23.5%)	6 (42.9%)	13 (19.7%)
		0	4 (13.8%)	6 (30.0%)	6 (46.2%)	16 (20.0%)
Glucosuria						
Negative	(—)	13 (86.7%)	15 (75.0%)	5 (29.4%)	1 (7.1%)	34 (51.5%)
		18 (100 %)	21 (72.4%)	12 (60.0%)	2 (15.4%)	53 (66.3%)
Trace	(±)	2 (13.3%)	2 (10.0%)	2 (11.8%)	1 (7.1%)	7 (10.6%)
		0	6 (20.7%)	7 (35.0%)	3 (23.1%)	16 (20.0%)
Positive	(+)	0	3 (15.0%)	10 (58.8%)	12 (85.7%)	25 (37.9%)
		0	2 (6.9%)	1 (5.0%)	8 (61.5%)	11 (13.8%)

Proteinuria was examined with Uro-labstick-III® and glucosuria was examined with Tes-tape®. The upper and lower columns depict the numbers and prevalences of men and women, respectively.

は16.1 mg/dl, (+) の最低濃度は23.3 mg/dl, (±) 判定の濃度範囲は6.8~47.3 mg/dl であった。すなわち、尿タンパク濃度20 mg/dl 以上は(±) あるいは(+) と判定され、明らかな(+) の判定は45~50 mg/dl 以上であった。

テスト・テープによる尿糖定性試験では、(±) 以上の陽性率は男48.5% (32人), 女33.8% (27人) であった。尿 β_2 -ミクログロブリン値別の陽性率は、尿 β_2 -ミクログロブリン値が高くなるにしたがい増加し、30 mg/g クレアチニン以上群の陽性率は85~93%であった。テスト・テープ法の感度を知るために、判定規準別に尿糖濃度分布を検討すると、(-) の最高濃度は9.9 mg/dl, (±) 判定の濃度範囲は9.9~14.3 mg/dl, (+) の最低濃度は16.2 mg/dl であった。したがって、テスト・テープによる尿糖(±) の感度は10 mg/dl であった。

なお多項目複合試験紙による尿糖判定結果は、(-) が男75.8% (50人), 女87.5% (70人), (±) が男15.2% (10人), 女11.3% (9人), (+) 以上が男9.1% (6人), 女1.2% (1人) であった。尿糖(±) の検出感度は50 mg/dl であった。

3) 尿タンパクと尿糖を規準にしたカドミウム腎症のスクリーニング方法の検討

環境庁により実施されたカドミウム環境汚染地域住民健康調査¹⁾における第1次スクリーニング規準は、「尿タンパク10 mg/dl 以上で、かつ尿糖(±) 以上」とされている。検査法は尿タンパク定量がK-C法、尿糖定性は酵素試験紙法(テスト・テープ)である。このスクリーニング規準について以下に検討した。

CBB法による尿タンパク濃度と酵素法による尿糖濃度による本対象例の分布を、男女別にFig. 3に示した。尿タンパク濃度の幾何平均値(範囲)は、男16.4 mg/dl (1.8~95.7 mg/dl), 女14.2 mg/dl (3.9~92.0 mg/dl) であり、50 mg/dl 以上は男7.5% (5例), 女3.8% (3例), 10 mg/dl 以下は男女とも約30% (男20例, 女26例) であった。尿糖濃度の幾何平均値(範囲)は、男12.7 mg/dl (0.95~2900 mg/dl), 女6.80 mg/dl (0.2~2430 mg/dl), 10 mg/dl 以上は男47.0% (31例), 女35.0% (28例) であった。

1) で述べたように、K-C法による尿タンパク濃度10 mg/dl はCBB法では18 mg/dl に相当したので、ここの尿タンパク濃度のスクリーニング値は18 mg/dl とした。また、テスト・テープ(±) 以上は、尿糖濃度10 mg/dl 以上に相当したので、尿糖濃度の規準値は10 mg/dl とした。男女各対象において、尿タンパクと尿糖の両規

Fig. 3 Scattergram of protein and glucose in urine from subjects with β_2 -microglobulinuria exceeding 30 mg/g creatinine (●), 10 to 30 mg/g creatinine (○), and below 10 mg/g creatinine (▼) found in the cadmium-polluted Jinzu River basin; (A): men (n=66); (B): women (n=80). The dashed lines represent cutoff levels of protein and glucose concentrations in urine.

準値を超えたのは、男23例 (34.8%), 女19例 (23.8%) であった。すなわち、尿 β_2 -ミクログロブリン1,000 μ g/g クレアチニン以上を示す尿細管障害例中の25~35%が、環境庁方式の第1次Aスクリーニング規準に該当した。

尿細管障害の重症度を表す尿 β_2 -ミクログロブリン値別にスクリーニング率を検討すると、30 mg/g クレアチニン以上では、男12例, 女11例がスクリーニングされ、男女ともに約85%のスクリーニング率であった。10~30 mg/g クレアチニン例におけるそれは、男52.9% (9例), 女30.0% (6例) であった。

実際の運用においては、「尿タンパク10 mg/dl 以上、または尿糖(±) 以上」を第1次Aのスクリーニング規準としている²⁾。この規準を本対象例にあてはめると、該当率は、男57.5% (38人), 女42.5% (34人) となった。尿 β_2 -ミクログロブリン値別のスクリーニング率は、30 mg/g クレアチニン以上では、男92.9% (13例), 女100% (13例) であったが、10~30 mg/g クレアチニンでは男76.8% (13例), 女55.0% (11例) であった。

考 察

1. 尿タンパク定量法の K-C 法と CBB 法の比較

尿タンパク定量法の K-C 法と CBB 法を比較したところ、高い相関関係は得られたが両者の値は一致せず、CBB 法が約1.8倍高い値であった。K-C 法と CBB 法の乖離に関し佐野らは、尿中にスルホサリチル酸可溶性タンパク質の存在を見出し⁷⁾、正常ヒト尿では分子量9.4万の Tamm-Horsfall タンパク質、疾患尿では α_1 -酸性糖タンパク質がその主たるものと報告している⁸⁾。カドミウム汚染地住民では、尿中低分子量タンパクの増加が顕著であることから、今回みられた K-C 法と CBB 法の乖離の原因として、スルホサリチル酸可溶性タンパク質の存在が考えられた。

2. カドミウム腎症における試験紙法による尿タンパク、尿糖検査の問題点

試験紙法による尿タンパク検査は簡便なことから、腎障害のスクリーニングに広く使われている。しかしながら試験紙法は、アルブミンには敏感であるが、グロブリンに対しては鈍感であるため、アルブミンに対しグロブリンの比率が高い尿細管性タンパク尿の検出には不適当である⁹⁾。本結果においても、1+以上の陽性率は約20%と低率であった。今回の試験紙法の感度は45~50 mg/dl であり、アルブミン尿での試験紙法の感度30 mg/dl¹⁰⁾ に比較し低下していた。また尿タンパク濃度は、大部分が50 mg/dl 以下であり、試験紙法の感度では見逃してしまうタンパク濃度であった。

テスト・テープによる尿糖定性検査では、弱陽性の判定が黄色から緑色への変化をとらえる点で容易であり、その感度は10 mg/dl であった。一方、多項目試験紙での尿糖(±)の検出感度は50 mg/dl とテスト・テープ法の5分の1であり、尿糖濃度の低い腎性糖尿を捉えるには不適切であった。

3. カドミウム腎症のスクリーニング方法の検討

今回検討した環境庁による調査方式は、昭和51年に改訂されたものである¹¹⁾。すなわち、それ以前の骨病変重視の調査方式から、尿細管障害の検索を主体とした方式へと改訂され、低分子量タンパク尿、尿細管リン再吸収率、尿アミノ酸分析、血液ガス分析の諸検査を含む、非常に高度な内容の方式である¹²⁾。この改訂した調査方式により実施された石川県、長崎県、兵庫県、秋田県、群馬県、福島県、大分県の7県のカドミウム汚染地域住民健康調査では、57例のファンコニー症候群が見いだされた¹²⁾。昭和54年から59年にわたって実施された富山県神通川流域

カドミウム汚染地域住民健康調査では、276例のファンコニー症候群が発見されている¹⁾。斎藤ら¹³⁾は、この方式では対照地域住民のほとんどが低分子量タンパク尿検査の段階(第1次Bスクリーニング)でふるい落とされたと報告している。

本報では、尿 β_2 -ミクログロブリン1,000 μ g/g クレアチニン以上の尿細管障害例を対象に、第1次Aのスクリーニング規準について検討した結果、「尿タンパク10 mg/dl 以上で、かつ尿糖(±)以上」に該当した例は女約25%、男約35%であった。城戸ら¹⁴⁾は、石川県梯川流域カドミウム汚染地住民を対象に同様の検討を行い、12.4%の該当率であったと報告している。いずれにしても、第1次Aのスクリーニング規準では、尿 β_2 -ミクログロブリン1,000 μ g/g クレアチニン以上の尿細管機能障害例の約10~30%がスクリーニングされるに留まった。尿 β_2 -ミクログロブリン排泄量は尿細管障害の程度をも表わす⁹⁾ことから、尿 β_2 -ミクログロブリン値別にスクリーニング率を検討すると、30 mg/g クレアチニン以上の高度の尿細管障害例では大部分がスクリーニングされたが、10~30 mg/g クレアチニン例では30~50%のスクリーニング率であった。すなわち、尿 β_2 -ミクログロブリン10 mg/g クレアチニン以上を呈する明らかな尿細管障害例の50~70%がスクリーニングされるに留まった。尿 β_2 -ミクログロブリン1~10 mg/g クレアチニンという初期の尿細管障害例では、尿タンパク・尿糖を規準にしたスクリーニング法ではとらえることはできなかった。以上のことから、カドミウム腎症をより軽症のものからとらえるためには現在の方式を改訂し、 β_2 -ミクログロブリンに代表される尿中低分子量タンパクを第1次のスクリーニング規準として、カドミウム汚染地域住民の健康調査を実施することが必要であろう。

ま と め

カドミウム腎症のスクリーニング方法を検討するために、富山県神通川流域カドミウム汚染地住民中、尿 β_2 -ミクログロブリン1,000 μ g/g クレアチニン以上を呈した男66人、女80人について尿タンパク、尿糖の定性・定量試験を行い、以下の結果を得た。

1) 尿多項目複合試験紙によるタンパク陽性率は男19.7%、女20.0%、糖陽性率は男9.1%、女1.2%であった。テスト・テープ(±)以上の陽性率は男48.5%、女33.8%であった。

2) 尿タンパク、尿糖濃度の幾何平均値はそれぞれ、男16.4、12.7 mg/dl、女14.2、6.8 mg/dl であり、尿タ

ンパク、尿糖は概して低い濃度であった。

3) 環境庁によるカドミウム環境汚染地住民健康調査における第1次Aのスクリーニング規準 (Kingsbury-Clark 法による尿タンパク10 mg/dl 以上、かつテス・テープ (±) 以上) の該当率は、男34.8% (23例)、女23.8% (19例) であった。尿 β_2 -マイクログロブリン値別の該当率は、30 mg/g クレアチニン以上では男女各85%、10~30 mg/g クレアチニンでは男52.9%、女30.0%であった。したがって、尿タンパクと尿糖を指標とした環境庁方式のスクリーニング規準では、尿 β_2 -マイクログロブリン10 mg/g クレアチニン以上の尿細管機能障害例の確実なスクリーニングは困難であった。

謝 辞

多くの貴重な御助言を頂きました長崎大学医学部衛生学教室斎藤 寛教授に深謝致します。なお本研究は昭和60年および61年度文部省科学研究費補助金 (課題番号60030029および61030052) によって行われた。

文 献

- 1) 「カドミウムによる環境汚染地域住民健康調査」検討委員会：カドミウムによる環境汚染地域住民健康調査、環境保健レポート、**56**, 69-345 (1989)。
- 2) Aoshima, K.: Epidemiology of renal tubular dysfunction in the inhabitants of a cadmium-polluted area in the Jinzu River basin in Toyama Prefecture, *Tohoku J. exp. Med.*, **152**, 151-172 (1987)。
- 3) 青島恵子, 岩田孝吉, 加須屋実：カドミウム環境汚染による健康影響に関する研究, 第1報, 富山県神通川流域カドミウム汚染地住民の尿細管機能, とくに尿 β_2 -マイクログロブリン値との関連において, *日衛誌*, **43**, 853-863 (1988)。
- 4) 金井 泉, 金井正光：臨床検査法提要 (改訂第29版), p. 117, 金原出版, 東京 (1983)。
- 5) 斎藤 寛：腎機能検査, *臨床検査*, **28**, 1479-1487 (1984)。
- 6) 榎本博光, 伊藤喜久：測定法変更による尿中 β_2 -マイクログロブリン値の変化, *臨床検査*, **31**, 1518-1521 (1987)。
- 7) 佐野紀代子, 金森きよ子, 中尾 真, 中嶋克行, 中川裕史：尿蛋白定量法に関する研究—スルホサリチル酸法とクマシーブリリアントブルー-G-250法との乖離—, *臨床病理*, **31**, 174-178 (1983)。
- 8) 中尾順子, 芝紀代子：色素を用いる微量定量, *臨床検査*, **30**, 877-882 (1986)。
- 9) 斎藤 寛, 古山 隆：尿細管性蛋白尿——その概念, 出現機序, 臨床的意義, *臨床病理*, **36** (特集), 173-196 (1979)。
- 10) エームス尿検査試験紙添付文書。
- 11) カドミウムによる環境汚染暫定対策要領の一部 (住民健康調査方式) 改正について (昭和51年5月10日付環境庁企画調整局長通知)。
- 12) 斎藤 寛, 中野篤浩：カドミウム環境汚染と人間の健康—生態中毒学のアプローチ, “エコトキシコロジー” (大井 玄, 鈴木継美, 井村伸正編), p. 119-128, 篠原出版, 東京, (1983)。
- 13) 斎藤 寛, 都 幸三, 古川洋太郎, 塩路隆治, 古山隆, 吉永 馨：カドミウム腎障害—慢性カドミウム中毒およびいわゆるイタイイタイ病の腎病変と骨軟化症—, *日本臨床*, **36**, 3431-3438, (1978)。
- 14) 城戸照彦, 本多隆文, 石崎昌夫, 釣谷伊希子, 山田裕一, 能川浩二：尿糖, 尿蛋白を指標とした環境カドミウム暴露による住民健康調査の問題点, *日衛誌*, **45**, 484 (1990)。

(受付 1990年7月12日 受理 1990年8月18日)