茶葉カテキンの構成成分である (－)エピガロカテキンガレートの血中コレステロール低下作用

福 興 眞 弓*, 原 征 彦*, 村 松 敬 一 郎**

* 三井農林株式会社総合研究所

** 静岡大学農学部農芸化学科

Effect of Tea Leaf Catechin, (－)-Epigallocatechin Gallate, on Plasma Cholesterol Level in Rats

Mayumi FUKUYO,* Yukihiko HARA* and Keiichiro MURAMATSU**

*Food Research Laboratories, Mitsui Norin Co., Ltd., Fujieda, 426

**Department of Agricultural Chemistry, Shizuoka University, Shizuoka, 422

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 39, 495~500 (1986)

Previously we observed the fact that crude tea catechins (tannins) extracted from green tea leaf have a hypocholesterolemic effect.

To further investigate the findings we isolated the main component of green tea catechins, (－)-epigallocatechin gallate (EGCg), and studied its effects on lipids metabolism in rats fed a 25% casein diet containing 15% lard and 1% cholesterol (a high-fat cholesterol diet). The diets were supplemented with 0.5% and 1.0% EGCg. Feeding period was 4 weeks in all experiments. The EGCg supplemented diets did not affect the body weight gain and food consumption. Rats fed the high-fat cholesterol diet increased plasma and liver cholesterol concentrations compared to rats fed a 25% casein diet (basal diet). EGCg supplementation decreased plasma total cholesterol and low density lipoprotein (LDL) cholesterol levels and increased high density lipoprotein (HDL) cholesterol concentration. The liver total lipids, total cholesterol and triglyceride concentration were increased in rats fed the high-fat cholesterol diet, but the addition of EGCg decreased those parameters. EGCg feeding increased the fecal excretion of total lipids and cholesterol. Supplementation of 1.0% EGCg to the 25% casein diet had no effect on plasma and liver cholesterol concentrations.

These results demonstrate that EGCg exerts hypocholesterolemic effects in cholesterol-fed rats.

(Received May 14, 1986)

近年、茶葉カテキン(タンニン)は毛細血管抵抗性の増加作用¹⁾、過酸化脂質上昇抑制作用²⁾、油脂における抗酸化作用³⁾⁴⁾、および抗突然変異作用⁵⁾⁶⁾等を有することが報告されている。筆者らは、ラットを用いての実験で、茶葉粗カテキンが血漿コレステロール濃度を低下させる作用を有することを明らかにした⁷⁾。

茶葉粗カテキンには、(－)エピカテキン、(－)エピガロカテキン、(－)エピカテキンガレート、(－)エピガロカテキンガレート(EGCg)等が含まれており、その主要構成成分はEGCgであることが示されている⁴⁾⁸⁾⁹⁾。そこで本研究ではEGCgを高脂コレステロール食に添加した飼料をラットに与え、血中コレステロール濃度に及ぼす影響を中心に調べた。

実験方法

1. (－)エピガロカテキンガレート(EGCg)の分離および精製⁴⁾

材料としてはインド産緑茶 3,000 g を熱湯抽出した液を噴霧乾燥することにより得られた粉末 1,000 g を用いた。分離方法は Fig.1 に示すように、まず上記粉末を温水に溶解し、等量のクロロホルムで処理した後、その水層部を酢酸エチルにて3回分配抽出した。その抽出液を濃縮し、凍結乾燥することによって得られた粗カテキン(総カテキン純度 72%, 290 g)を、逆相分配カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーにかけ、各カテキンを分画・分取した。各分画溶液を窒素ガス中で減圧濃縮、凍結乾燥し、さらに冷水から再結し最終的に結晶状 EGCg 120 g を得た。

* 〒426 藤枝市藤枝 2-1-17

** 〒422 静岡市大谷 836

Fig.1. Separation of tea leaf (-)-Epigallocatechin gallate.

2. 実験動物および飼育条件

ウィスター系雄の離乳ラット（3週齢，体重約 40g，静岡実験動物農協より購入）に，25% カゼインを含む正常食を与え，3～4日間予備飼育し，体重 55～60g に達したものをを用いた。

飼育は，室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，相対湿度 45～55%，6時より 18 時まで照明，18 時より 6 時まで消燈の空調動物室で行なった。ラットは 1 群当たり 6 匹用い，1 匹ずつステンレス製懸垂飼育籠に入れ，飼料と水は自由に摂取させた。4 週間飼育し，飼育期間中の毎日の成長および飼料摂取量を調べた。飼料は粉末で目皿を有する肉厚ガラス製カップに入れて与え，絶乾物として飼料摂取量を求めた。

3. 飼料および実験群

飼料組成は Table 1 に示す。

1) 実験 1 コーン油 5% およびカゼイン 25% を含む正常食 (25C) 群，カゼイン 25%，ラードとショ糖をおののお 15% およびコレステロール 1% を含む高脂コレステロール食 (25CLC) 群，この高脂コレステロール食に 0.5% および 1.0%EGCg を添加した (25CLC+0.5E) 群，(25CLC+1.0E) 群の計 4 群とした。

2) 実験 2 コーン油 5% およびカゼイン 25% を含む正常食 (25C) 群，および正常食に 1.0%EGCg を添加した (25C+1.0E) 群の計 2 群とした。

4. 測定方法

4 週間飼育後 12 時間飢餓にし，あらかじめヘパリン溶液 (1,000 units/ml) を通した注射筒で心臓より採血

Table 1. Composition of diets (%).

Ingredient	Experiment 1				Experiment 2	
	25CA	25CLC	25CLC+0.5E	25CLC+1.0E	25C	25C+1.0E
Casein	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
α -Corn starch	63.9	35.7	35.2	34.7	63.9	62.9
Sucrose	—	15.0	15.0	15.0	—	—
Lard	—	15.0	15.0	15.0	—	—
Corn oil	5.0	2.0	2.0	2.0	5.0	5.0
Salt mixture ^B	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture ^B	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline chloride	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Cholesterol	—	1.0	1.0	1.0	—	—
Na-cholate	—	0.2	0.2	0.2	—	—
EGCg ^C	—	—	0.5	1.0	—	1.0

^A 25C (25% Casein), 25CLC (25C+15% Lard+15% Sucrose+1.0% Cholesterol+0.2% Na-cholate), 25CLC+0.5E (25CLC+0.5% EGCg), 25CLC+1.0E (25CLC+1.0% EGCg), 25C+1.0E (25C+1.0% EGCg).

^B Harper, A.E.: *J. Nutr.*, 68, 405 (1959).

^C EGCg ((-)-Epigallocatechin gallate) was prepared from tea leaf (see Fig.1).

し、遠心分離 (3,000 rpm×20 min) して血漿を得た。

肝臓、腎臓、脳等の組織重量を測定し、肝臓は凍結乾燥した後粉末化して実験に供した。さらに飼育最後の4日間の糞を採取し、凍結乾燥した後粉末化して実験に供した。ヘモグロビンおよびヘマトクリットは解剖の前日に尾の静脈より採血して測定した。

各成分の測定方法は以下に記す。

1) 血漿 ヘマトクリットは毛細管によるマイクロヘマトリット法、ヘモグロビンはシアンメトヘモグロビン法 (hemoglobin-test, Wako), ブドウ糖はムタローゼ・GOD 法 (glucose C-test, Wako), 総コレステロールは Zak 法¹⁰⁾, 遊離コレステロールは酵素法 (free-cholesterol C-test, Wako), HDL-コレステロールはヘパリン・マンガン結合沈殿法 (HDL-cholesterol-test, Wako), LDL-コレステロールは酵素法 (β -lipoprotein C-test, Wako), トリグリセリドは GPO- α -クロロフェノール発色法 (triglyceride G-test, Wako) で測定した。

2) 肝臓 総コレステロールは Zak 法¹⁰⁾, トリグリセリドは GPO- α -クロロフェノール発色法 (triglyceride G-test, Wako), 総脂質は Folch らの方法¹¹⁾により, クロロホルム:メタノール (3:1) で抽出し, その重量を

測定した。

3) 糞 総コレステロールおよび総脂質は肝臓と同様にして測定した。

有意差検定は, 一元分散分析法¹²⁾に従って行なった。

結 果

1. 実験 1

成長, 飼料摂取量および飼料効率 は Table 2 に示すように, 0.5% および 1.0% (一)エピガロカテキンガレート (EGCg) を添加してもまったく影響が見られなかった。各組織重量は Table 3 に示すとおり, 25C 群に比べ, 25CLC 群では肝臓重量の増加が見られ, EGCg 添加群と 25CLC 群との間に有為差は見られなかった。1.0%EGCg 添加群で盲腸の肥大が見られたが, その他の組織重量は各群とも 25C 群との間に差はなく, 異常は認められなかった。

Table 4 に示すように, ヘマトクリット値, ヘモグロビンおよびブドウ糖濃度は各群とも正常値を示した。血漿トリグリセリド濃度は, 25CLC 群およびこれに EGCg を添加した群との間にとくに差は見られなかったが, 25C 群では高値を示した。血漿総コレステロール濃度

Table 2. Body weight and food intake (Experiment 1). (/4 weeks)

Groups	Body weight gain (g)	Food intake (g)	Food efficiency ^A
25C	140±5 ^{aB}	336±5 ^a	0.417±0.011 ^a
25CLC	146±4 ^{ab}	311±5 ^a	0.468±0.007 ^{bc}
25CLC+0.5E	155±4 ^b	329±7 ^a	0.472±0.006 ^b
25CLC+1.0E	141±2 ^a	315±4 ^a	0.449±0.005 ^c

^A Body weight gain (g)/food intake (g).

^B Values are the mean±S.E. (n=6 rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.

Table 3. Relative organ weights (Experiment 1).

	Brain	Lung	Heart	Liver	Kidney	Spleen	Testis	Adrenal	Stomach	Cecum
Relative organ weights (g/100g B.W.)										
25C	0.80 ±0.35	0.40 ±0.01	0.32 ±0.01	3.87 ±0.06 ^{aA}	0.83 ±0.01	0.23 ±0.01	1.21 ±0.03	0.01 ±0.002	0.46 ±0.01	0.26 ±0.01 ^a
22CLC	0.73 ±0.02	0.40 ±0.01	0.32 ±0.004	5.94 ±0.12 ^{ab}	0.83 ±0.01	0.24 ±0.01	1.15 ±0.02	0.02 ±0.002	0.44 ±0.02	0.26 ±0.02 ^a
25CLC+0.5E	0.74 ±0.01	0.41 ±0.01	0.32 ±0.01	6.05 ±0.13 ^b	0.85 ±0.02	0.22 ±0.01	1.11 ±0.02	0.01 ±0	0.41 ±0.01	0.25 ±0.01 ^a
25CLC+1.0E	0.78 ±0.04	0.41 ±0.01	0.32 ±0.01	5.49 ±0.06 ^{ab}	0.82 ±0.01	0.21 ±0.003	1.16 ±0.02	0.02 ±0.002	0.43 ±0.01	0.33 ±0.002 ^b

^A Values are the mean±S.E. (n=6 rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.

Table 4. Hematological data, plasma cholesterol and triglyceride concentrations (Experiment 1).

	25C	25CLC	25CLC+0.5E	25CLC+1.0E
Hematocrit (%)	46.5±1.6 ^{AA}	44.6±1.0 ^a	43.9±0.8 ^a	42.7±0.6 ^a
Hemoglobin (g/dl)	14.7±0.2 ^a	13.2±0.10 ^a	13.5±0.1 ^a	13.2±0.2 ^a
Glucose (mg/dl)	177±4 ^a	179±7 ^a	183±7 ^a	186±5 ^a
Total cholesterol (mg/dl)	93.4±4.9 ^a	224±14 ^b	143±5 ^c	114±9 ^a
Free cholesterol (mg/dl)	26.7±1.3 ^a	39.7±1.7 ^a	28.2±1.5 ^a	22.6±1.3 ^a
Cholesterol ester (mg/dl) ^B	66.7±3.7 ^a	184±13 ^b	115±4 ^c	91.8±7.5 ^c
HDL-cholesterol (mg/dl)	53.5±2.9 ^a	21.6±1.5 ^b	31.1±1.5 ^c	29.7±1.1 ^c
LDL-cholesterol (mg/dl)	11.3±0.8 ^a	164±11 ^b	85.3±4.6 ^c	53.9±4.8 ^d
Total chol-HDL-chol/HDL-chol ^C	0.75±0.03 ^a	9.73±1.25 ^b	3.65±0.25 ^c	2.88±0.34 ^c
Triglyceride (mg/dl)	163±7 ^a	92.1±8.0 ^b	74.1±6.1 ^b	71.9±8.9 ^b

^A Values are the mean±S.E. ($n=6$ rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.

^B Total cholesterol (mg/dl) - Free cholesterol (mg/dl).

^C Total cholesterol-HDL-cholesterol (mg/dl)/HDL-cholesterol (mg/dl).

Table 5. Total lipids, cholesterol and triglyceride concentrations in liver (Experiment 1).

	25C	25CLC	25CLC+0.5E	25CLC+1.0E
Liver weight (g)	7.50±0.28 ^{AA}	11.9±0.5 ^b	12.8±0.5 ^b	10.6±0.2 ^c
Total lipids (mg/g liver)	52.0±1.3 ^a	330±7 ^b	287±8 ^c	240±6 ^d
Total cholesterol (mg/g liver)	4.83±0.11 ^a	106±3 ^b	84.3±2.2 ^c	71.4±3.0 ^d
Triglyceride (mg/g liver)	11.7±0.6 ^a	161±8 ^b	128±3 ^c	98.4±6.6 ^d

^A Values are the mean±S.E. ($n=6$ rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.

Table 6. Total lipids and cholesterol excretion in feces (Experiment 1).

	25C	25CLC	25CLC+0.5E	25CLC+1.0E
Total dry feces (g/4 days)	1.85±0.07 ^{AA}	2.31±0.11 ^b	3.03±0.16 ^c	3.63±0.10 ^d
(A) Total lipids intake (g/4 days)	2.97±0.11 ^a	9.42±0.25 ^b	9.99±0.37 ^b	9.54±0.29 ^b
(B) Excreted total lipids (mg/4 days)	155±6 ^a	360±27 ^b	543±18 ^c	669±13 ^d
(B)/(A)×100 (%)	5.28±0.34 ^a	3.80±0.20 ^b	5.45±0.14 ^a	7.04±0.23 ^c
(C) Total cholesterol intake (mg/4 days)	—	523±14 ^a	555±21 ^a	530±16 ^a
(D) Excreted total cholesterol (mg/4 days)	45.6±1.0 ^a	223±12 ^b	348±14 ^c	383±4 ^d
(D)/(C)×100 (%)	—	42.7±1.8 ^a	62.8±1.6 ^b	74.1±1.0 ^c

^A Values are the mean±S.E. ($n=6$ rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.

は、25C 群に比べ 25CLC 群がきわめて大きな値を示したのに対して 0.5% および 1.0%EGCg 添加群では低い値を示し、EGCg 添加によるコレステロール上昇抑制効果が確認された。とくに 1.0%EGCg 添加群の値は、25C 群の値と有意差が見られなかった。HDL-コレステ

ロールは、25CLC 群に比べ EGCg 添加群で高く、逆に LDL-コレステロールは、25CLC 群で高く EGCg 添加群では低かった。Total chol-HDL-chol/HDL-chol は 25CLC 群で高く、EGCg 添加群では低い値を示した。

肝臓の全脂質、総コレステロールおよびトリグリセリ

Table 7. Body weight and food intake (Experiment 2). (/4 weeks)

Groups	Body weight gain (g)	Food intake (g)	Food efficiency ^A
25C	140±4 ^{aB}	323±7 ^a	0.436±0.015 ^a
25C+1.0E	135±4 ^a	330±4 ^a	0.424±0.015 ^a

^A Body weight gain (g)/food intake (g).^B Values are the mean±S.E. ($n=6$ rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.

Table 8. Plasma and liver lipid concentrations and fecal lipid contents (Experiment 2).

	25C	25C+1.0E
Plasma		
Total cholesterol (mg/dl)	95.1±4.1 ^{aA}	104±5 ^a
Free cholesterol (mg/dl)	30.2±1.7 ^a	31.5±1.4 ^a
Cholesterol ester (mg/dl) ^B	64.9±2.5 ^a	72.0±4.2 ^a
HDL-cholesterol (mg/dl)	55.6±2.9 ^a	61.7±2.1 ^a
LDL-cholesterol (mg/dl)	14.2±1.8 ^a	17.2±1.4 ^a
Total chol-HDL-chol/HDL-chol ^C	0.69±0.03 ^a	0.61±0.05 ^a
Triglyceride (mg/dl)	164±22 ^a	165±23 ^a
Liver		
Liver weight (g)	7.79±0.25 ^a	8.11±0.29 ^a
Total lipids (mg/g liver)	53.5±1.9 ^a	45.8±0.5 ^a
Total cholesterol (mg/g liver)	4.55±0.15 ^a	4.36±0.07 ^a
Triglyceride (mg/g liver)	11.7±1.0 ^a	8.90±0.60 ^a
Feces		
Total dry feces (g/4 days)	1.54±0.06 ^a	3.25±0.10 ^b
(A) Total lipids intake (g/4 days)	2.70±0.09 ^a	2.84±0.06 ^a
(B) Excreted total lipids (mg/4 days)	123±8 ^a	170±12 ^b
(B)/(A)×100 (%)	4.58±0.31 ^a	5.99±0.39 ^b
Excreted total cholesterol (mg/4 days)	33.0±2.9 ^a	58.7±1.4 ^b

^A Values are the mean±S.E. ($n=6$ rats) and those without common superscripts are significantly different at $p<0.05$.^B Total cholesterol (mg/dl) - Free cholesterol (mg/dl).^C Total cholesterol-HDL-cholesterol (mg/dl)/HDL-cholesterol (mg/dl).

ド濃度は、25C 群に比べ 25CLC 群では著しく高かったが、EGCg 添加群ではいずれも有意に低下した (Table 5)。

糞の全脂質および総コレステロール濃度は、25CLC 群に比べ EGCg 添加群で著しく増加した (Table 6)。

2. 実験 2

成長および飼料摂取量は、Table 7 に示すように、25C 群と 1.0%EGCg 添加群との間に差は見られず、と

もに正常だった。盲腸重量は 25C 群が 0.21 g/100 g B.W. のに対し、EGCg 添加群では 0.49 g/100 g B.W. と肥大していたが、その他の組織は肝臓をはじめとして EGCg 添加による影響は見られなかった。

ヘマトクリット値、ヘモグロビンおよびブドウ糖濃度は 2 群とも正常値を示した (Table 8)。血漿総コレステロール濃度も 25C 群と EGCg 添加群との間に有意差は見られず、その他の成分についても同様な結果が得られ

た。

肝臓の全脂質は、2群の間に有意差はなく、総コレステロールおよびトリグリセリド濃度も同様な結果が得られた。

糞の総乾物重量は、25C群に比べ1.0%EGCg添加群では多く、脂質およびコレステロール排泄量もEGCg添加群のほうが大きな値を示した。

考 察

いわゆる茶葉タンニンは、数種のカテキン類とその没食子酸エステルの混合物で緑茶の渋味を形成し、このうち(一)エピガロカテキンガレート(EGCg)は50~60%を占めている。

本研究では、この茶葉タンニンの主要構成成分であるEGCgの血中コレステロール濃度に対する影響を調べた。その結果、EGCgはラットに高脂コレステロール食(25CLC)を与えたとき、血漿および肝臓のコレステロール濃度の上昇を強く抑制し、糞中への脂質の排泄を促進する効果があることが確認された(実験1)。正常食(25C)にEGCgを添加したときには、血漿および肝臓のコレステロール濃度に影響を与えなかった(実験2)。

われわれはすでに茶葉粗カテキン(タンニン)を用いた実験で、茶葉粗カテキンが血漿および肝臓のコレステロール濃度の上昇を強く抑制することを明らかにした⁷⁾。その主要構成成分であるEGCgを用いた本研究でも、粗カテキンと同様な結果が得られたことから、粗カテキンの効果は、おもにEGCgに由来していると思われるが、それ以外のカテキンにも同様な効果が期待される。

茶葉粗カテキンを用いたわれわれの実験で、2%粗カテキン添加で正常に成長することが確認され⁷⁾、本実験でも1%EGCg添加でまったく成長抑制は見られなかった。しかし、タンニン類は添加量が多い場合、成長阻害をおこすことが示されており¹³⁾¹⁴⁾、EGCgも食餌への添加量に限界があると思われる。

EGCgの血漿コレステロール濃度上昇を抑制する作用がどのような機構によるものかは興味のあるところだが、糞中への脂質およびコレステロールの排泄増加に加え粗カテキン添加食を用いての実験で、糞中への胆汁酸の排泄増加も確認されている(未発表)ことから、食餌由来コレステロールおよび胆汁酸の吸収ならびに再吸収を阻害することにより、これらの糞中排泄を高め、結果的に血中コレステロール低下を導くものと考えられる。

要 約

先にわれわれは緑茶より抽出した茶葉粗カテキン(タンニン)は血中コレステロール濃度を低下させる作用を

持つことを観察した。

この事実をさらに調べるために、われわれは緑茶カテキンの主成分である(一)エピガロカテキンガレート(EGCg)を分離し、15%ラードと1%コレステロール含有25%カゼイン食(高脂コレステロール含有食)投与ラットの脂質代謝に対する効果を調べた。EGCgは0.5%、1.0%濃度で添加した。飼育期間は全実験で4週間とした。EGCgの添加は成長および飼料摂取に対して影響を与えなかった。高脂コレステロール含有食を与えたラットでは、25%カゼイン食(正常食)を与えたラットに比べて血漿および肝臓コレステロール濃度は増加した。EGCg投与で血漿総コレステロールとLDL-コレステロール濃度は減少し、HDL-コレステロール濃度は増加した。肝臓全脂質、全コレステロールおよびトリグリセリド濃度は高脂コレステロール含有食投与ラットで増加したが、EGCg添加群ではこれらの濃度は減少した。さらに、EGCg投与は糞中への全脂質およびコレステロールの排泄量を増加させた。25%カゼイン食への1.0%EGCg添加では、血漿および肝臓コレステロール濃度に影響を与えなかった。

これらの結果は、EGCgはコレステロール投与ラットの血漿コレステロール低下作用を持つことを示している。

文 献

- 1) Das, D.N.: *Ann. Biochem. Exp. Med.*, **13**, 219 (1963)
- 2) 木村善行, 奥田拓道, 毛利和子, 奥田拓男, 有地滋: *栄食誌*, **37**, 223 (1984)
- 3) Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H. and Arichi, S.: *Chem. Pharmacol. Bull.*, **31**, 1625 (1983)
- 4) 松崎妙子, 原 征彦: *農化*, **59**, 129 (1985)
- 5) Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, S., Matsuzaki, T. and Hara, Y.: *Mutat. Res.*, **150**, 127 (1985)
- 6) Okuda, T., Mori, K. and Hayatsu, H.: *Chem. Pharmacol. Bull.*, **32**, 3755 (1984)
- 7) Muramatsu, K., Fukuyo, M. and Hara, Y.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32** (1986) (印刷中)
- 8) 広瀬真一, 玉田重吉: *茶葉研究報告*, **50**, 51 (1979)
- 9) 前田 茂, 中川致之: *茶葉研究報告*, **45**, 85 (1977)
- 10) Zak, B.: *Am. J. Clin. Pathol.*, **27**, 583 (1957)
- 11) Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957)
- 12) Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.: *Statistical Methods*, 6th Ed., Chapter 10 (1967), The Iowa State University Press (U.S.A.)
- 13) Glick, Z. and Joslyn, M.A.: *J. Nutr.*, **100**, 509 (1970)
- 14) Joslyn, M.A. and Glick, Z.: *J. Nutr.*, **98**, 119 (1969)

(昭和61年5月14日受理)