

微量精子不動化試験法による頸管粘液内 補体依存性精子不動化因子の検索

兵庫医科大学産科婦人科学教室

*香川回生病院産婦人科

香山 浩二 鎌田 敏雄* 伊熊健一郎
窪田 耕三 磯島 晋三

Detection of Complement Dependent Sperm Immobilizing Factors in the Cervical Mucus from Pre-Ovulatory Women by Micro-Sperm Immobilization Test

Koji KOYAMA, Toshio KAMATA*, Kenichiro IKUMA, Kozo KUBOTA and Shinzo ISOJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Hyogo Medical College, Hyogo

**Department of Obstetrics and Gynecology, Kaisei Hospital, Kagawa*

概要 血中抗精子抗体の中でも、補体依存性の精子不動化抗体は不妊症婦人にもみ検出されるが、この抗体による不妊症発生機序を解明する為には、血中のみならず性器管内に於ける抗体の存在を明らかにすることが必要である。本論文に於ては、性器管内分泌液の中でも実験材料として採取が容易である排卵前頸管粘液(CM)を用いて、その抽出液中の精子不動化抗体の有無について検討した。

抗体検出法は実験材料が微量である為新たに考案した精子不動化試験の microtechnique を用いて行つた。すなわち microtray に流動パラフィンを充填し、流動パラフィン下で CM 抽出液 10 μ l, 精子浮遊液 1 μ l, 補体成分としてモルモット血清 2 μ l を混合して、倒立顕微鏡下で精子運動率を経時的に算定し対照 (C%) に比べて検体中の精子運動率 (T%) が 50% 以下になつた場合、すなわち C/T が 2 以上の場合を陽性と判定した。

血中精子不動化抗体保有不妊婦人に於ては 13 例中 10 例 (76.9%) に CM 中の補体依存性精子不動化因子を認めた。血中精子不動化因子を保有しない不妊婦人に於ても 72 例中 11 例 (15.3%) に CM 中の補体依存性精子不動化因子が検出され、抗精子抗体の局所産生が示唆される結果を得た。周期的に CM 中の精子不動化因子を調べてみると、血中抗体価とは必ずしも平衡せず、また周期によつては血中抗体が陽性にもかかわらず、CM 中に精子不動化因子の検出されない時期のあることを知つた。

Synopsis The presence of sperm immobilizing antibody has been reported by our research group in the sera of some sterile women with unknown cause. In this report, the presence of sperm immobilizing factor in the cervical mucus of sterile women with and without sperm immobilizing antibody in their sera was tested, by using our new developed micro-sperm immobilization test.

The results were as follows:

1. The complement dependent sperm immobilizing factor was proved in the cervical mucus of 10 sterile women out of 13 (76.9%) with sperm immobilizing antibody in their sera.
2. The same sperm immobilizing factor was detected in the cervical mucus of 11 sterile women out of 72 (15.3%) without sperm immobilizing antibody in their sera.
3. The titers of sperm immobilizing factor in the cervical mucus were not parallel with serum titers and variable in cycle to cycle over through a long period.

The results elucidated the presence of complement dependent sperm immobilizing factor in the cervical mucus which could be transmitted from the serum or locally produced in sterile women with unknown cause, and also suggest the possible direct impairment of motile spermatozoa by this factor in the cervical mucus.

Key words: Unexplained sterility • Sperm immobilizing antibody • Cervical mucus • Micro sperm immobilization test • Local antibody production

緒 言

補体依存性の精子不働化抗体が原因不明不妊婦人の血中に特異的に検出されることを著者ら¹⁰⁾¹¹⁾は見出し、その後多くの研究者⁶⁾¹³⁾²⁰⁾によつても認められている。一般に精子免疫による妊孕性障害の原因として精子輸送障害、精子受精能障害あるいは受精卵への障害作用が考えられているが、いずれにしても抗精子抗体の障害作用発現の場所が性器管内であることは想像に難くない事である。しかし婦人に於て生理的状态で性器管内分泌液を十分に採取するということは非常に困難であり性器管内分泌液中における抗精子抗体の存在の有無については未だ充分に解明されていない。動物実験によつては精子で免疫したモルモット腔分泌液中に精子不働化抗体の証明されること⁷⁾、及びアイソトープを標識した抗精子抗体をラットに注射した場合、これが予め注入した子宮内精子に結合してくることから¹⁾¹⁴⁾、循環抗精子抗体が性器管内に移行し精子に結合することが直接的に証明されている。婦人に於ても比較的採取が容易である排卵前の頸管粘液を用いて一部の婦人に血液型抗原に対する抗A、抗B抗体と共に精子に対する凝集抗体あるいは細胞障害抗体の存在することが報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾²³⁾²⁵⁾。また最近では血中精子凝集抗体と頸管粘液中の精子凝集素との関係を調べた報告があるが²²⁾²⁴⁾、精子凝集反応は抗精子抗体以外の色々な因子によつても生じやすいため、本論文においては、我々が考案した微量精子不働化試験法を用いて頸管粘液中の補体依存性精子不働化因子の検討を行い、興味ある結果を得たので報告する。

実験材料及び実験方法

1. 頸管粘液抽出液の分離：

当科不妊外来に通院中の患者で血中精子不働化抗体の有無にかかわらず基礎体温が2相性を示し排卵障害の認められない婦人を選び、排卵前頸管粘液をツベルクリン注射器で採取し、その性状が良好なものすなわち半透明で粘稠度低く粘液量0.2ml以上、牽糸性20cm以上、しだ状結晶も良好でpH 7.0以上のものを実験に用いた。採取した頸管粘液はプラスチック製の小容器に入れ、-20℃に凍結保存した。頸管粘液抽出後の分離に際しては溶解後、重量測定を行い、これに前以つて精子不働化抗体を保有していないことを試験済みの非働化未婚女性血清（稀釈用血清）を等量（頸管粘液1mgに対して血清1μl）加えて攪拌し、4℃、30分間静置した後、9,700G、30分間の遠心分離を行いその上清を頸管粘液抽出液とした（図1）。従つて分離された頸管粘液抽出液中に含まれる可溶性成分の濃度は、もとの頸管粘液に含まれる濃度に比べて約2倍に稀釈されている。頸管粘液抽出液はすべて56℃、30分間非働化を行った後実験に用いた。

2. 精子浮遊液の調製：

健康男子 donor より用手法で採取した精液を室温に20分間放置して液化させた後、遠心分離（1,350G、5分間）し、分離精子を10%稀釈用血清含有生食水で1回洗浄した後、再び洗浄沈澱精子に少量の10%稀釈用血清含有生食水を加えてしばらく室温で静置し、上清中に遊泳してくる活動性精子のみを採取し¹²⁾、その精子濃度を $40 \times 10^6/\text{ml}$ に調製して実験に用いた。

3. 補体（モルモット血清）の調製：

モルモット血清の中には人精子に対して運動性障害作用を示すものがあるので、各々のモルモットより採取した血清は前以つて人精子に対する障

図1 Extraction of cervical mucus for micro-sperm immobilization test

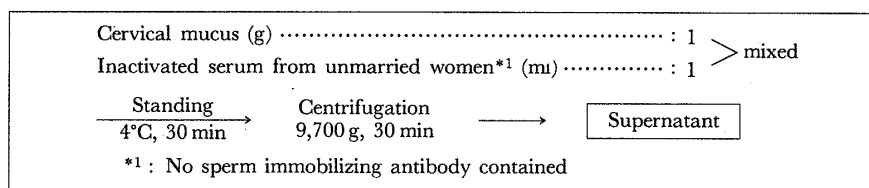
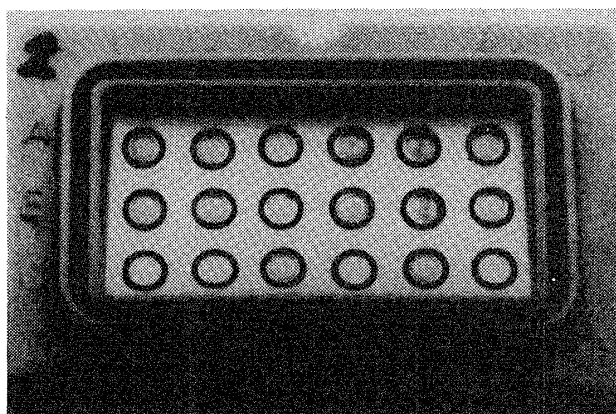


図2 Procedure for micro-sperm immobilization test in CM

CM extract	10 μ l	} $\xrightarrow[1\text{ hr, 2 hr, 3 hr.}]{32^\circ\text{C}}$	Sperm motility (T %)
Sperm suspension	1 μ l		
Complement (G.P. serum)	2 μ l		
CM extract	10 μ l	} $\xrightarrow[1\text{ hr, 2 hr, 3 hr.}]{32^\circ\text{C}}$	Sperm motility (C %)
Sperm suspension	1 μ l		
Inactivated G.P. serum	2 μ l		
SIV _{CM} : Sperm immobilization value = $\frac{C}{T}$			≥ 2 positive
			< 2 negative

写真1



害作用を調べ、精子運動障害作用のないものだけを選び出してその補体力価を羊赤血球の溶血反応により求め、その溶血補体力価 (C/H 50) が200以上を示すものをプールして実験に用いた (文献2参照)。

4. 微量精子不動化試験法:

写真1に示すような18個の micro chamber を有する microtray (Møller Coates A/S, Moss, Norway) に32°Cに加温した流動パラフィンを充填した後、Hamiltonの microsyringe (Anaheim, California) を用いて流動パラフィン下の micro chamber に頸管粘液抽出液10 μ l, 精子浮遊液 (40 $\times$ 10⁶/ml) 1 μ l, 補体としてモルモット血清2 μ lを注入混合し、32°Cの保温器内で反応させ、1時間、2時間、3時間後の精子運動率を倒立顕微鏡下 (200倍率) で算定した。補体対照として、非働化モルモット血清を加えたものを用い、検体対照として頸管粘液抽出液の代わりに非働化未婚女性血清を加えたものを同時に用いて、対照精子運動率を算定した。補体対照が検体対照に比して、

精子運動率が著しく低い場合は、頸管粘液中に補体非依存性の精子運動障害因子が含まれるものとして実験結果から除外した。判定は従来の精子不動化試験に準じて行い、実験群の精子運動率 (T %) が対照群 (この場合は補体を加えない群) の精子運動率 (C %) に比べて50%以下になった場合、すなわち C/T (精子不動化値 sperm immobilization value: SIV) が2以上の場合を陽性と判定した (図2)。

実験結果

まず、不妊婦人の中で血中精子不動化抗体保有婦人の頸管粘液について検討を加えた。原因不明不妊婦人の中で、血中精子不動化抗体を保有する13名より、数周期に亘って排卵前の頸管粘液を採取し、実験材料の項で述べた criteria に従って性状良好と判定された頸管粘液より、抽出液を分離し、微量精子不動化試験法を用いて補体依存性の精子不動化因子の検討を行つた。13名中10名の婦人の頸管粘液抽出液中に精子不動化因子の存在を認めた。その結果の一部は定量的精子不動化試験法⁴⁾⁵⁾によつて測定した血中精子不動化抗体価 (50%精子不動化値: SI₅₀) と共に表1に示した。表より明らかなように頸管粘液抽出液中で、補体を加えない場合には3時間反応させても精子運動率はほとんど低下を示さないが、補体を加えた場合には反応1時間から3時間にかけて強い精子運動率の低下が認められた。この頸管粘液抽出液中に認められる補体依存性の精子不動化因子の強さ (SIV 値) は血中精子不動化抗体価 (SI₅₀ 値) とは必ずしも平行関係を示さず、また血中抗体保有婦人においても必ずしも毎周期頸管粘液中に精

表1 Micro-SIT*¹ using CM-extract from infertile women containing sperm immobilizing antibody in sera

Patients	SI ₅₀ * ² in serum	Complement	Sperm motility (%) and SIV _{CM} * ⁴					
			1 hr		2 hr		3 hr	
			%	SIV* ³	%	SIV	%	SIV
Y. I.	194.0	— +	76 40	1.9	80 12	6.7	72 8	9.0
K. W.	53.0	— +	84 6	14.0	72 2	38.0	72 0	∞
S. T.	51.5	— +	83 30	2.8	76 18	4.2	66 0	∞
M. M.	48.2	— +	80 78	1.1	75 24	3.1	75 12	6.4
T. T.	26.1	— +	71 64	1.1	72 29	2.5	68 17	4.0
I. I.	2.7	— +	65 8	8.1	66 0	∞	60 0	∞

*¹ Micro-SIV: Micro sperm immobilization test*² SI₅₀: 50% sperm immobilization unit by quantitative sperm immobilization test⁵⁾*³ SIV: Sperm immobilization value*⁴ SIV_{CM}: Sperm immobilization value in cervical mucus extract

表2 Follow up results of sperm immobilizing activities in the serum and cervical mucus from a infertile woman (M.M.) over through a long period

Dates	SI ₅₀ in serum	SIV in CM-extract		
		1 hr	2 hr	3 hr
1977. 4. 21	26.2	2.5	32.0	∞
7. 22	25.1	1.0	1.0	1.0
9. 19	4.8	1.0	1.0	0.9
1978. 1. 26	29.0	1.0	1.8	3.5
2. 23	48.2	1.0	3.1	6.3
3. 23	N.D.	1.0	1.7	2.6
5. 16	78.0	1.0	1.0	1.0
6. 13	73.7	1.7	2.8	3.2

SI₅₀: 50% sperm immobilization unit

SIV: Sperm immobilization value

N.D.: Not determined

子不働化因子が認められるとはかぎらなかった。表2は同一患者につき数周期に亘り血中精子不働化抗体価と頸管粘液中精子不働化因子の相関をみたものである。血中抗体価もかなりの動揺を示しているが、これにもまして頸管粘液中の精子不働化因子の動揺は激しく、周期によつては全く精子不働化因子の認められない時期のあることを示している。

次いで血中に精子不働化抗体を持たない原因不

表3 Positive results of micro-SIT in CM-extracts from infertile women with negative SIT in sera

Patients	SIV in serum	SIV in CM-extract		
		1 hr	2 hr	3 hr
1. J. K.	1.1	2.3	5.4	15.0
2. Y. H.	1.1	3.6	7.9	9.3
3. T. N.	1.0	2.4	—	6.3
4. M. A.	1.0	1.7	2.6	4.3
5. M. H.	1.4	1.7	2.8	6.7
6. T. K.	1.1	1.0	2.2	4.2
7. F. T.	1.0	1.2	2.0	7.8
8. S. H.	1.0	1.6	2.8	3.8
9. T. G.	0.9	1.0	2.4	2.6
10. S. S.	1.0	1.4	2.2	2.7
11. J. M.	1.0	1.3	6.6	7.2

SIT: Sperm immobilization test

SIV: Sperm immobilization value

明不妊婦人における頸管粘液中精子不働化因子について検討を行つた。72名の不妊婦人より数周期に亘り排卵前頸管粘液を採取してその抽出液中の補体依存性精子不働化因子を測定した。同一症例により複数の頸管粘液中に一度でも精子不働化因子が認められた場合を陽性と判定した場合には、78名中11名の婦人の頸管粘液抽出液中に補体依存性の精子不働化因子が陽性を示した。表3には血中抗体は陰性にもかかわらず頸管粘液中に精子不

表4 Negative results of micro-SIT in CM-extracts from infertile women with negative SIT in sera

Patients	SIV in serum	SIV in CM-extract		
		1 hr	2 hr	3 hr
1. T. G.	1.0	1.0	0.9	0.9
2. T. N.	1.1	1.0	1.1	1.1
3. N. I.	1.0	1.0	1.0	1.0
4. M. S.	1.1	1.0	1.0	1.0
5. J. T.	1.0	1.0	1.0	1.0
6. N. M.	1.0	1.0	1.0	1.1
7. T. S.	1.0	0.9	1.0	1.1
8. T. U.	1.0	1.2	0.9	1.0
9. T. K.	1.2	0.9	1.1	1.1
10. H. O.	1.1	0.9	1.0	1.1

SIT: Sperm immobilization test

SIV: Sperm immobilization value

表5 Percentage of positive results by micro-SIT in CM-extracts from infertile women with and without sperm immobilizing antibody in sera

SIT in sera.	No. of patients	No. of positive micro-SIT in CM-extracts
Positive	13	10 (76.9%)
Negative	72	11 (15.3%)

動化因子の認められた11症例の実測値を示した。表4は血中及び頸管粘液中に共に精子不動化作用の認められなかつた症例の一部を示したものである。なお血清中の精子不動化抗体の有無は従来の定性的精子不動化試験法によつて調べたものでありその値 SIV は反応1時間における C/T(対照血清中精子運動率/被検血清中精子運動率)を示している。表5は血中精子不動化抗体保有不妊婦人と非保有不妊婦人の頸管粘液中精子不動化因子の検出率を比較したものであるが、前者においては13名中10名(76.9%)に、後者においては72名中11名(15.3%)に頸管粘液中に補体依存性の精子不動化因子が検出されたことを示している。

考 察

頸管粘液中に種々の蛋白成分が含有されており、この中には抗体成分の一種である γ -globulin の存在が古くより知られている¹⁶⁾¹⁷⁾²¹⁾。著者らが正常月経周期婦人より採取した排卵前頸管粘液の超遠心分離後上清について調べた結果でも、IgM は例外的に検出されるにすぎないが、IgG 及び

IgA は大部分の頸管粘液中に検出され、また補体成分の一つである C₃ 成分も約半数の症例に検出された³⁾。これらの抗体成分の中には ABO 血液型抗原物質、細菌 (*Escherichia coli*), *Candida albicans* 等に対する抗体が含まれることも証明されており¹⁸⁾²³⁾²⁶⁾、また一部の婦人では確定的ではないにしても精子、精漿抗原に対する抗体が存在することも示唆されている¹⁵⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁵⁾。

本論文においては原因不明不妊婦人の中でも血中精子不動化抗体保有患者と血中に抗体を持たない患者の両グループについてその頸管粘液中の補体依存性精子不動化因子の検討を行つた。排卵前といつても頸管粘液の採取出来る量は非常に少量であるため、従来用いられてきた精子不動化試験法では測定が不可能であり、Husted and Hjort⁹⁾の micro-cytotoxicity test を改良して我々が独自に考案した微量精子不動化試験を用いて実験を行つた。同じ精子不動化抗体含有血清について両者の方法によりその精子不動化値 (SIV) を求めて、両測定法の比較を行つてみたが、それぞれの測定値に有意差はみられず2つの測定法はほぼ同程度の感度でもつて補体依存性精子不動化抗体の検出を行うものと考えられる。検体として用いた頸管粘液はたとえ排卵前のものであつても粘稠性の為に測定検体として不適当であるため、等量の抗精子抗体を含まない未婚女性血清を加えて抽出したものを測定用検体とした。従つてすべての検体中にはもとの頸管粘液中に含まれる可溶性成分の1/2に稀釈された濃度しか含まれず、血清に比べて頸管粘液中に約2倍量の抗体量がなければ血清と同じ測定値が得られないということになるので頸管粘液中の精子不動化抗体の有無についてはたとえ1時間の反応時間で SIV 値が2以下であつても、2時間の反応時間で2以上となるものは陽性と判定した。また本論文では頸管粘液中に検出された補体依存性の精子不動化作用を有する物質を抗体と呼ばずすべて因子と呼称しているがその理由は未だ頸管粘液中の精子不動化因子についてその性状分析を行つておらず、生物学的作用からのみ推定しているのであるが、その作用発現に

必ず補体を必要とする点より考えておそらく血清中に含まれる精子不動化抗体と同様抗体そのものであると考えられる。

血中抗精子抗体保有不妊婦人では76.9%の婦人に、頸管粘液中にも補体依存性の精子不動化因子が検出された。この頸管粘液中の精子不動化因子が、循環血液中の抗体移行によるものなのか¹⁴⁾、子宮頸管で局所産生されたもの⁸⁾によるものなのかは不明であるが、血中に精子不動化抗体を検出出来なかつた不妊婦人72名中11名(15.3%)の頸管粘液中に精子不動化因子が検出された事実は抗精子抗体の局所産生を強く示唆するものである。血中精子不動化抗体保有婦人の中にも頸管粘液中に精子不動化因子を証明し得ない症例もあり、また同じ症例でも周期によつて抗体又は補体が検出される場合とされない場合があることが判明したので、血中又は頸管粘液中に精子不動化抗体を保有する婦人は、非常に妊娠しにくいことは間違いない事実としても、頸管粘液中に抗体又は補体が分泌されていない場合は精子の通過は良好であるので、機会は少ないとしても妊娠の機会が絶無とはいえない。この現象が、精子不動化抗体保有婦人(低単位の場合)が、稀に自然妊娠する場合の理由と考えられる。

文 献

- 磯島晋三：妊孕現象に関する免疫学的研究。第23回日産婦学会宿題報告要旨，37，1971。
- 鎌田敏雄，窪田耕三，伊熊健一郎，香山浩二，磯島晋三：抗体による精子不動化作用に於ける補体活性経路について。日産婦誌，31：1913，1979。
- 香山浩二：頸管粘液の異常の診断から治療へ—特に精子適合性について—。臨産婦，29：373，1975。
- 香山浩二，磯島晋三：不妊婦人に存在する精子不動化抗体とその検出法。ホと臨，24：617，1976。
- 香山浩二，伊熊健一郎，窪田耕三，鎌田敏雄，磯島晋三：定量的精子不動化試験とその臨床応用。日産婦誌，31：1906，1979。
- Ansbacher, R., Keuny-Yeuny, K. and Behrman, S.J.: Clinical significance of sperm antibodies in infertile couples. Fertil. Steril., 24: 305, 1973.
- Ashitaka, Y., Isojima, S. and Ukita, M.: Mechanism of experimental sterility induced in guinea pigs by injection of homologous testis and sperm. II. Relationship between sterility and the sperm immobilizing antibody. Fertil. Steril., 15: 213, 1964.
- Hulka, J.F. and Omran, K.F.: The uterine cervix as a potential local antibody secretor. Am. J. Obstet. Gynecol., 104: 440, 1978.
- Husted, S. and Hjort, T.: Microtechnique for simultaneous determination of immobilizing and cytotoxic sperm antibodies. Methodological and clinical studies. Clin. Exp. Immunol., 22: 256, 1975.
- Isojima, S., Li, T.S. and Ashitaka, Y.: Immunological analysis of sperm-immobilizing factor found in sera of women with unexplained infertility. Am. J. Obstet. Gynecol., 101: 677, 1968.
- Isojima, S., Tsuchiya, K., Koyama, K., Tanaka, C., Naka, O. and Adachi, H.: Further studies on sperm-immobilizing antibody found in sera of unexplained cases of sterility in women. Am. J. Obstet. Gynecol., 112: 199, 1972.
- Isojima, S. and Koyama, K.: Quantitative estimation of sperm immobilizing antibody in the sera of women with sterility of unknown etiology: The 50% sperm immobilization unit (SI₅₀), First International Congress on Human Reproduction, 10. Excerpta Medica., Rio de Janeiro, Brazil, 1974.
- Jones, W.R., Ing, R.M.Y. and Kaye, M.D.: A comparison of screening tests for antisperm activity in the serum of infertile women. J. Reprod. Fert., 32: 357, 1973.
- Koyama, K., Isojima, S. and Adachi, H.: Direct proof of transmission of antibodies against spermatozoa into the uterine cavity of the rat, Proceeding of 7th World Congress of Fertility and Sterility, 562. Excerpta Medica., Tokyo, 1971.
- Mettler, L., Gradd, T. and Mäder, Ch.: Disc-electrophoretic protein pattern of cervical mucus in cases of humoral sensitization against spermatozoa. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 55: 35, 1976.
- Moghissi, K., Neuhaus, O.W. and Stevenson, C.S.: Composition and properties of human cervical mucus. 1. Electrophoretic separation and identification of proteins. J. Clin. Invest., 29: 1358, 1960.
- Moghissi, K.S. and Neuhaus, O.W.: Cyclic

- changes of cervical mucus proteins. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 96: 91, 1966.
18. *Parish, W.E., Carron-Brown and Richards, C.B.*: The detection of antibodies to spermatozoa and to blood group antigens in cervical mucus. *J. Reprod. Fert.*, 13: 469, 1967.
19. *Parish, W.E. and Ward, A.*: Studies of cervical mucus and serum from infertile women. *J. Obstet. Gynecol. British Commonwealth*, 75: 1089, 1968.
20. *Petrunia, D.M., Taylor, P.J. and Watson, J.I.*: A comparison of methods of screening for sperm antibodies in the serum of women with otherwise unexplained infertility. *Fertil. Steril.*, 27: 655, 1976.
21. *Schumacher, G.B.F., Strauss, E.K. and Weid, G.L.*: Serum proteins in cervical mucus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 91: 1035, 1965.
22. *Schulman, S. and Friedman, M.R.*: Antibodies to Spermatozoa, V. Antibody activity in human cervical mucus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122: 101, 1975.
23. *Solish, G.I., Gershowitz, H. and Berhman, S.J.*: Occurrence and titer of isohemagglutinins in secretions of the human uterine cervix. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 108: 645, 1961.
24. *Sudo, N., Shulman, S. and Stone, M.L.*: Antibodies to Spermatozoa, IX. Sperm-agglutination phenomenon in cervical mucus in vitro; A possible cause of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 129: 360, 1977.
25. *Waldman, R.H., Cruz, J.M. and Rowe, D.S.*: Sperm migration-inhibition antibody in human cervicovaginal secretions. *Clin. Exp. Immunol.*, 12: 49, 1972.
26. *Waldman, R.H., Cruz, J.M. and Rowe, D.S.*: Intravaginal immunization of humans with candida albicans. *J. Immunol.*, 109: 662, 1972.

(No. 4573 昭54・7・9 受付)