

短肢症の実験的成立について*

—X線放射によるマウス胎仔の短肢成立過程—

亀山 義郎**

各種催奇形因子によるマウス胎仔の四肢奇形の成立状況についてはすでに発表し、X線放射では胎生11日の300r放射により前・後肢に高率に短肢症が成立することを報告した^{5, 6)} ひきつづき実験的短肢症の成立機序を検討したが、本編ではX線放射による短肢成立過程の動的観察の結果を報告する。

実験方法

使用マウスは実験動物中央研究所由来のCF₁, ddN両系で、飼育条件、交配方法は従前の報告⁸⁾と同様である。妊娠日の推定は交配の翌朝腔栓を認めた時を妊娠第1日とした。

X線放射はCF₁, ddN両系ともに妊娠11日に300rを1回全身放射を行なった(放射条件は200KVp, 20mA, filterは0.5mmCu+0.5mmAl, 22.2r/min)。観察は放射後6時間, 12時間, 24時間(胎生12日)と、以後1日間隔で胎生19日(出産予定の前日)まで各発生段階の胎仔について行ない、外形およびH・E染色切片標本のほか、胎生13日以降はNoback氏変法⁹⁾によるmethyleneblue軟骨染色の胎仔透明標本を併用、胎生15日以後はさらにDawson法によるalizarine red S骨染色の胎仔透明標本を加え四者の検査方法を併用した。

Methylene-blue軟骨染色の胎仔透明標本はvan Wijhe法のNoback(1916)⁹⁾の変法をGrüneberg²⁾がマウス胎仔の遺伝性骨格異常の観察に利用し好成績を得ているもので、軟骨組織(前軟骨細胞より成熟軟骨まで)のみ選択的に染色され、軟骨性骨格を立体的に観察できる。マウスでは胎生末期でも化骨がまだ不充分のため、胎仔材料で軟骨性化骨を當む骨格の全貌を把握するのに極めて便利な方法として推奨できる。

実験結果

CF₁, ddN両系の間には胎生早期の器官分化の速度に「ずれ」があり、ddN系では四肢の発生分化がCF₁系に比しやや遅れるが、成立臨界期の「ずれ」はビタミンA過剰による短肢症の場合ほど明瞭ではなく、短肢奇形の成立過程は同様のため、本章では系統別の記載は省略しCF₁系についての観察結果をのべる。

胎生19日の短肢症ではいわゆるphocomelia状を呈するものが多いが、一般に手、足、指の形成障害は軽度で欠指の合併はなく、少数の胎仔に短指、多指の合併をみるにすぎない。なお前肢に短縮のつよい胎仔では後肢の短縮は比較的軽く、後肢に短縮のつよい胎仔では前肢の形成は比較的よく保たれ、前・後肢の形成障害の程度が一致しない場合が多い。短肢を骨染色標本で観察すると前肢では長管骨欠損はないが骨形成不全は著明で、大多数の胎仔では上腕骨と橈骨および尺骨が骨性の完全関節癒合をおこしY字状の骨格像を示す。肘関節の骨性癒合は短肢の程度の軽いものにもみられ、短肢と関節の骨性癒合の程度は必ずしも並行しない。これに反し後肢では肢骨欠損が顕著で膝関節の骨性癒合は全くみられない。骨欠損は腓骨にもっとも多く、ついで大腿骨で、脛骨にはまれである。短肢を軟骨染色標本で観察すると上腕、橈、尺骨の骨性癒合のないものには同じ型の軟骨性癒合がみられ、骨性、軟骨性の如何にかかわらず前肢骨の肘関節癒合は著明である。後肢では各長管骨の軟骨成分は存在し、骨染色標本でのいわゆる「骨欠損」はaplasiaでなく軟骨の化骨障害であることがわかる。軟骨の形成不全は大腿に強く大腿骨はほぼ塊状に近く、脛骨は彎曲し腓骨を弦とする弓状を呈する場合が多い。なお後肢でも関節の軟骨性癒合をおこすが、前肢にみられるような

* Study on micromelias in experimental animals.—Process of forming micromelias in the mouse fetus caused by X-radiation of the mother during pregnancy—

** Yoshiro Kemama. Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University.
名古屋大学環境医学研究所 病理・胎生部門

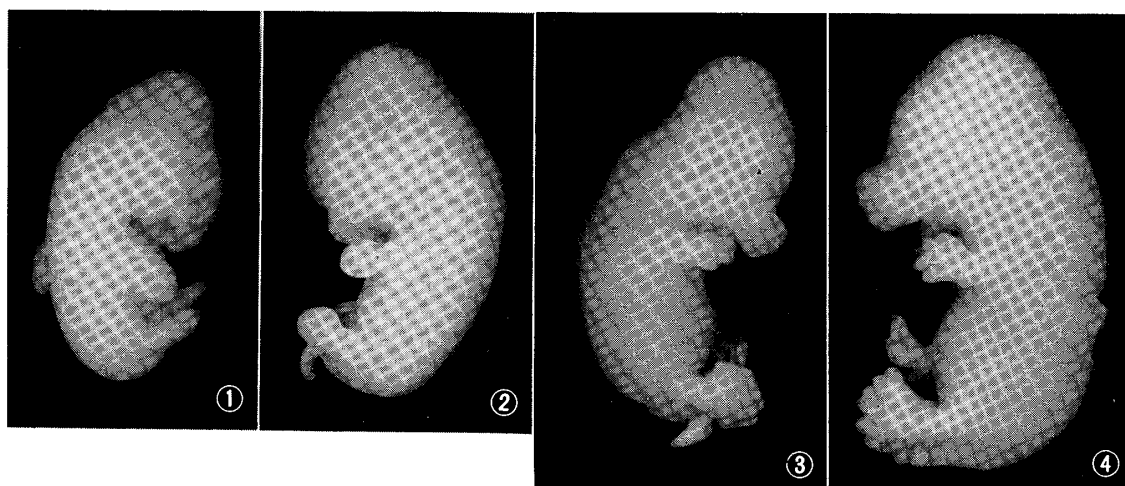


図1~4：妊娠第11日のX線放射（300r）によるマウス胎仔（CF₁）の短肢症

1. 胎生12日（放射後24時間）， 2. 胎生13日， 3. 胎生14日， 4. 胎生15日

3 関節の完全癒合はなく，大腿骨・脛骨の癒合および脛骨・腓骨の近位端での癒合が多い。

以下短肢症の形成過程について胎仔の発生段階を追って観察するが，本編では手，足の異常は別にして肢の部分のみについて報告する。

A. 対照例の肢骨の発生

胎生12日では肢芽の間葉細胞の増生により軟骨芽の形成がすでにはじまり 3 個の肢骨原基の存在が認められるようになる。胎生13日になると軟骨芽を構成する間葉成分すなわち軟骨芽細胞が肢の長軸方向に平行に規則正しく配列し両端に向って増生し，長管骨原基としての形態が明瞭になり，同時に軟骨芽組織の内部より前軟骨細胞が分化をはじめ。胎生14日には前軟骨細胞よりなる前軟骨核が長軸方向に伸長し，当該骨の将来の形を大体においてとるようになる。この段階になると methylene blue で軟骨が鮮明に染色される（図5，6）。

一方，前軟骨核の中央部では軟骨細胞が分化しはじめるが，各前軟骨核の間，周縁には将来関節嚢，靭帯などを形成する軟骨芽組織が存在する。胎生14~15日には軟骨細胞の分化が骨幹部より長軸の両端に向って進行し，中央部では骨膜性化骨ははじまり（図7，8）化骨部分が alizarin red S で染色されるようになる。胎生15~16日以後では関節の形態分化が進み（図9，10），骨幹部では骨髄の形成もはじまる。

B. 短肢の成立過程

X線放射を行なった胎生11日では肢芽は前後肢ともすでに発生した後であるから，短肢が肢芽形成後の発生障害によって成立することはあきらかである。

1. X線放射後6~12時間には前肢芽の橈骨側中央部，ついで後肢芽の外側面中央部に半透明の水胞が形成さ

れる。放射後24時間（胎生12日）では皮下の水胞は縮小し前肢芽がやや下方に屈折するが，肢芽の大きさ，長さ是对照例に比較してやや劣る程度で短肢の判別は困難である（図1）。胎生13日になると水胞は消失し，指盤は比較的良く形成されるが肢部分の短小は明瞭で短肢の存在が判別できるようになる（図2）。胎生14~15日では肢の短小はさらに著明になり（図3，4），胎生16日には胎生末期の短肢症とほぼ同様な状態になる。よって胎生13日以降の観察は外形で短肢が明瞭な胎仔のみをとりあげ，その所見を記す。

2. 軟骨染色標本の観察では胎生13日になると前肢にわずかに1個の軟骨が出現してくるが，軟骨の形成遅延が顕著のため形態異常はいまだあきらかでない。後肢にはいまだ軟骨は認められない。胎生14日の短肢では前肢に先端が叉状をなす短い1本の軟骨（図15），あるいは2個の突起をもった小塊状の軟骨があらわれる。これは後述の切片標本の観察によって上腕，橈，尺の各軟骨の癒合像で，各肢骨原基はそれぞれ不完全ながら形成されるが，形成当初より相互に結合していることがわかる。後肢でも軟骨の形成遅延は著明で胎生14日ようやくその存在を認めうる程度になるが，大腿，脛，腓の各軟骨の存在は判別できる（図16）。やや発生の進んだ胎仔では大腿骨原基の短小と，大腿骨・脛骨の癒着を認めうる。

胎生15日の短肢では各軟骨の変形があきらかになり，前肢では各軟骨は短かく相互の癒合によってY字型あるいはF字型を呈する（図17）。後肢では大腿骨軟骨の塊状化と大腿骨・脛骨および近位端の脛骨・腓骨の軟骨癒合が明瞭となるが（図18），前肢にみられるようなY字状の完全癒合はおこさない。胎生16日の

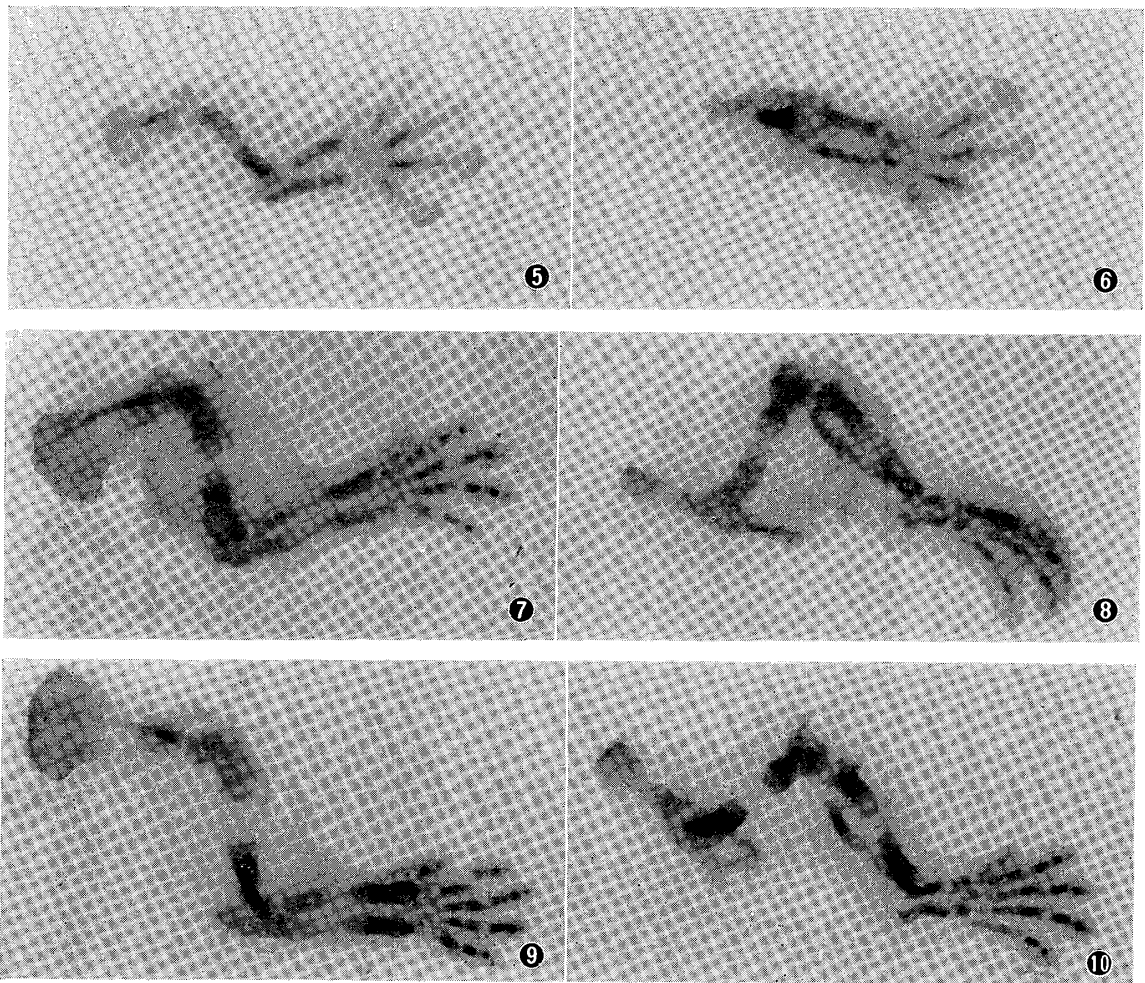


図5, 6: 胎生14日の対照例 (軟骨染色標本, 5 前肢, 6 後肢)

図7, 8: 胎生15日の対照例; 各肢骨の中央部に化骨が始まる (軟骨染色標本, 7 前肢, 8 後肢)

図9, 10: 胎生16日の対照例; 四肢骨格は略完成した形態を示す
各肢骨幹部の不染は化骨を示す (軟骨染色標本, 9 前肢, 10 後肢)

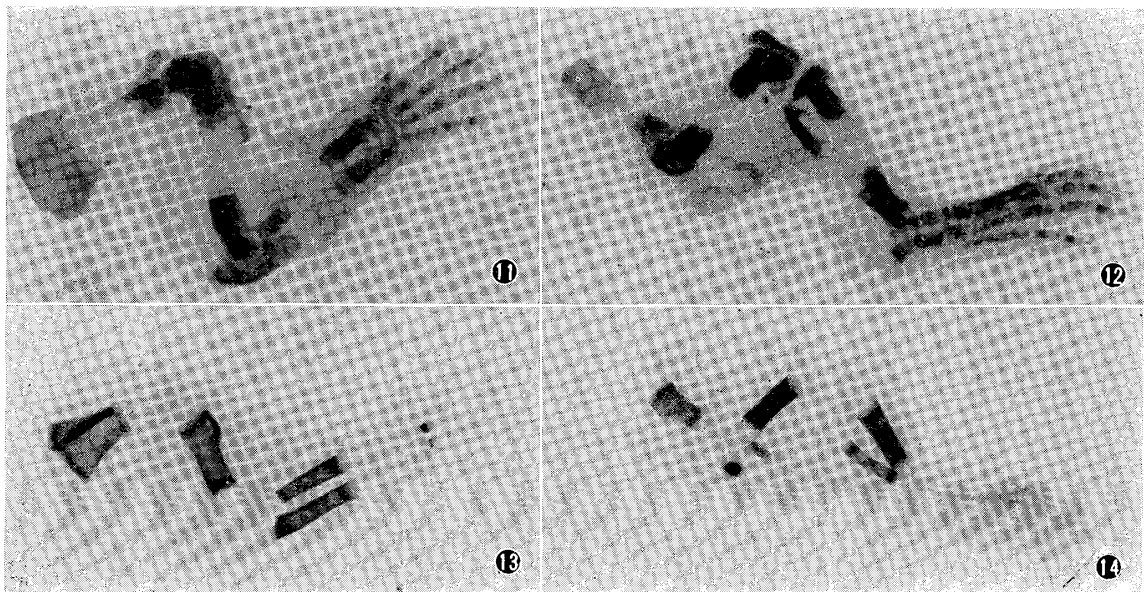


図11, 12: 胎生17日の対照例 (軟骨染色標本, 11 前肢, 12 後肢)

図13, 14: 胎生17日の対照例 (骨染色標本, 13 前肢, 14 後肢)

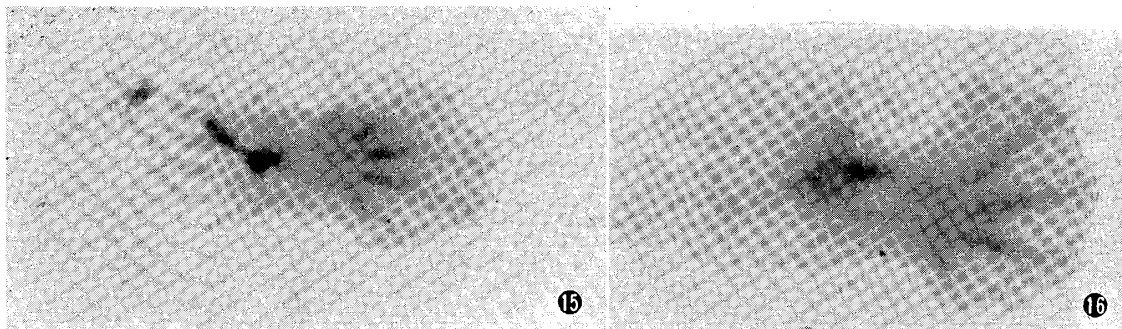


図15, 16: 胎生14日の短肢症; 前後肢の軟骨形成遅延は著明, 前肢ではすでに軟骨の短小と癒合を認める (軟骨染色標本, 15 前肢, 16 後肢)

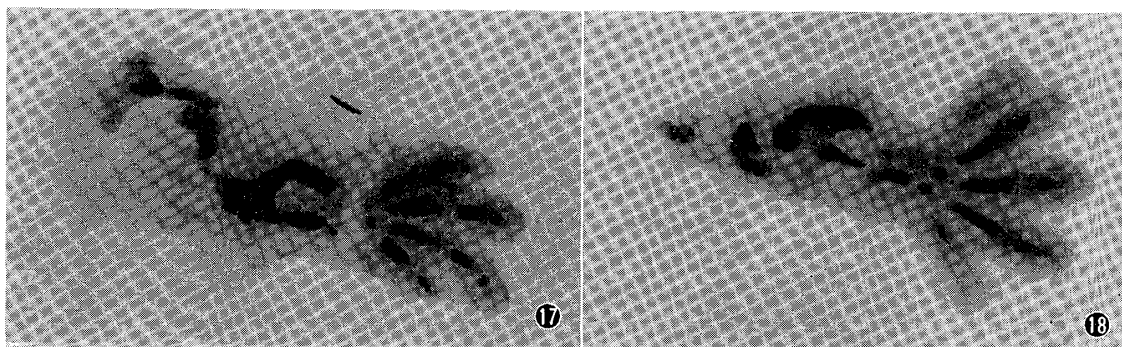


図17, 18: 胎生15日の短肢症; 前肢の上腕, 橈, 尺の各軟骨は完全癒合によりY字状を呈する. 後肢の大腿骨は塊状で脛, 腓骨との癒着を認める (軟骨染色標本, 17 前肢, 18 後肢)

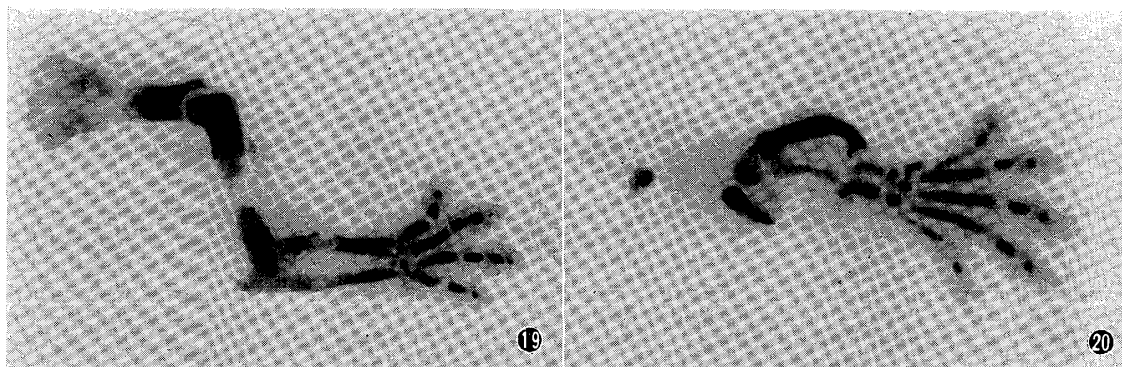


図19, 20: 胎生16日の短肢症; 前肢の肘関節癒合と後肢の大腿骨の塊状化が著明, 前肢の各軟骨と後肢の脛骨の中央部に化骨が始まる (軟骨染色標本, 19 前肢, 20 後肢)

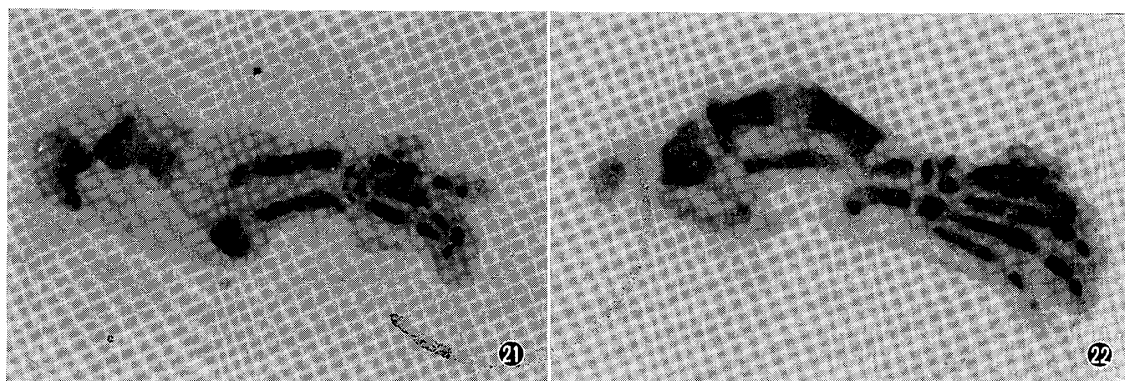


図21, 22: 胎生17日の短肢症; 前肢の肘関節癒合部が化骨し完全骨性癒合を呈する. 後肢は脛骨-腓骨幹部のみに化骨がみられる (軟骨染色標本, 22 前肢, 21 後肢)

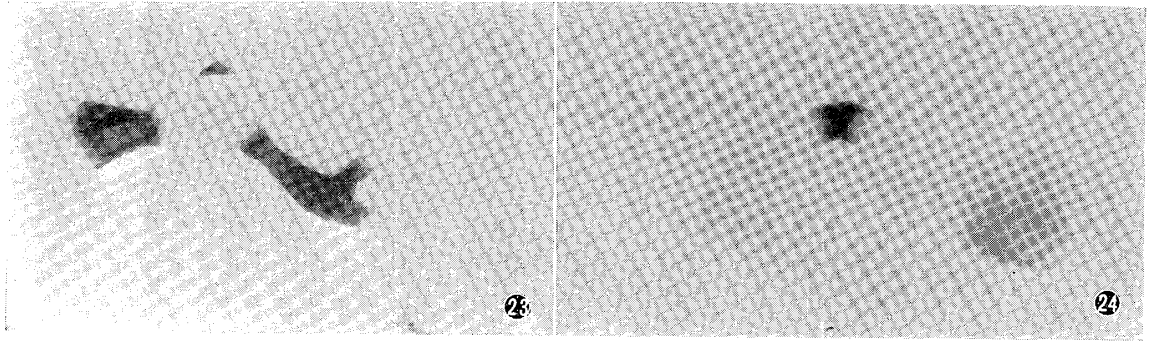


図23, 24 : 胎生17日の短肢の骨染色標本, 前肢骨はY字状, 後肢骨は脛骨のみ化骨し四肢骨格像は胎生14日の軟骨像 (図15, 16) に相似する (23 前肢, 24 後肢)

短肢では前後肢ともに軟骨性骨格の原型はほぼ完成し, 軟骨の hypoplasia と変形は前述の胎生末期の所見と同様になる (図19, 20). なお この時期になると前肢の各軟骨の中央部と後肢の脛骨中央部に化骨がはじまる.

3. 短肢の形成過程をH・E染色切片標本で観察すると, 胎生11日の放射後6時間には肢芽の基部より中央部にかけて間葉細胞の散在性の壊死とそれによる間葉組織の粗鬆化, 辺縁血管腔の拡大が著明である. 放射後12時間後には表皮下に水胞が形成され間葉組織の崩壊産物が水胞内に流入していく像がみられる (図25). 対照例では胎生11~12日に軟骨芽が形成されるが, 実験群の胎生12日 (放射後24時間) では間葉組織のX線傷害により軟骨芽の形成が阻害され, いまだ肢骨原基としての明瞭な形をあらわさない. 胎生13日になると間葉細胞の変性, 壊死像は消失し, 崩壊産物は吸収され水胞も消失する. 前肢では各軟骨芽の存在が判別できるようになるが, 相互に連結しそれぞれの軟骨芽間の境界が明らかでない. 胎生14日になり軟骨芽から前軟骨細胞への分化が進み軟骨の輪廓があきらかになるに従って各軟骨の短小と癒合が判明する (図26).

胎生15日では前肢の軟骨は上腕, 橈, 尺骨の癒合によりY字状あるいはF字状を呈し, 前軟骨細胞が癒合部の前後を通じて連続的に配列して関節部に軟骨芽細胞の介在をみない. 胎生16日になり軟骨の分化が進むと骨幹部と癒合部の細胞成分の連続性も一層著明になる (図27, 28). 後肢も各軟骨芽は形成され胎生14~15日には軟骨組織の輪廓があきらかになるが, 前肢のような完全な軟骨癒合はなく大腿骨と脛骨の癒合部は, くびれて不完全ながら関節の存在を示す場合が多い. なお胎生15日には前肢の上腕, 橈, 尺の各軟骨の骨幹部において成熟軟骨細胞が分化をはじめ, 胎生16日になると当該部位より骨膜性化骨がはじまる. 後肢では胎生16日に脛骨の骨幹部に軟骨細胞の成熟化がお

こるが, 大腿骨, 腓骨には成熟細胞はみられない.

4. 短肢の骨格の化骨過程をH・E染色標本, 軟骨染色, 骨染色標本について観察すると, 前肢では胎生16~17日には軟骨細胞の成熟化が上腕, 橈, 尺骨の3方向より癒合部におよび (図27, 28, 29), それに引きつづき骨膜性化骨が進行し, 胎生17日には3長管骨の骨性癒合が完成する (図21, 23). 癒合部の化骨は当該部の軟骨の変形とY字状あるいはF字状の癒合の型に従って複雑な形態を示す. 一方, 胎生17日には骨髄の形成がはじまり, 胎生末期には癒合部の骨組織にも骨髄が形成される (図31). 後肢では軟骨の成熟は脛骨のみにみられ (図30), 化骨および骨髄形成も脛骨骨幹部に限られ膝関節の骨性癒合はおこらない (図22, 24). 形成障害のつよい大腿骨と腓骨は胎生末期も未成熟軟骨組織に止まる場合が多い (図32).

以上300r X線放射による短肢症の形成過程を要約すると, 肢芽間葉細胞のX線傷害によって形成始期の軟骨芽の分化が阻害され, 軟骨芽より前軟骨核にいたる過程で軟骨組織の hypoplasia と関節部癒合が現われる. 軟骨の癒合は前肢では上腕骨と腓骨, 尺骨の間の3関節完全癒合によってY字状あるいはF字状を呈するものが多く, 後肢では大腿骨と脛骨および脛骨と橈骨の2関節癒合が多い. 前肢では前軟骨核形成後の軟骨の成熟と化骨過程自体には著明な障害はなく癒合部は化骨し骨髄も形成される. これに反し後肢では大腿骨と腓骨原基の形成障害がつよく, 軟骨の成熟がおくれ化骨も阻害される.

考 察

X線放射では短肢症の成立臨界期に当る胎生11日は前後肢の肢芽がすでに発生した後で軟骨芽の分化がはじまる時期に相当する. そのため本症が肢芽間葉組織への直接侵襲による肢骨原基の形成障害に基づくことは容易に推定できる. 胎生11日の300r放射では短肢症が高率に成立するが, 前後肢が同程度につよく侵される場合はむしろ

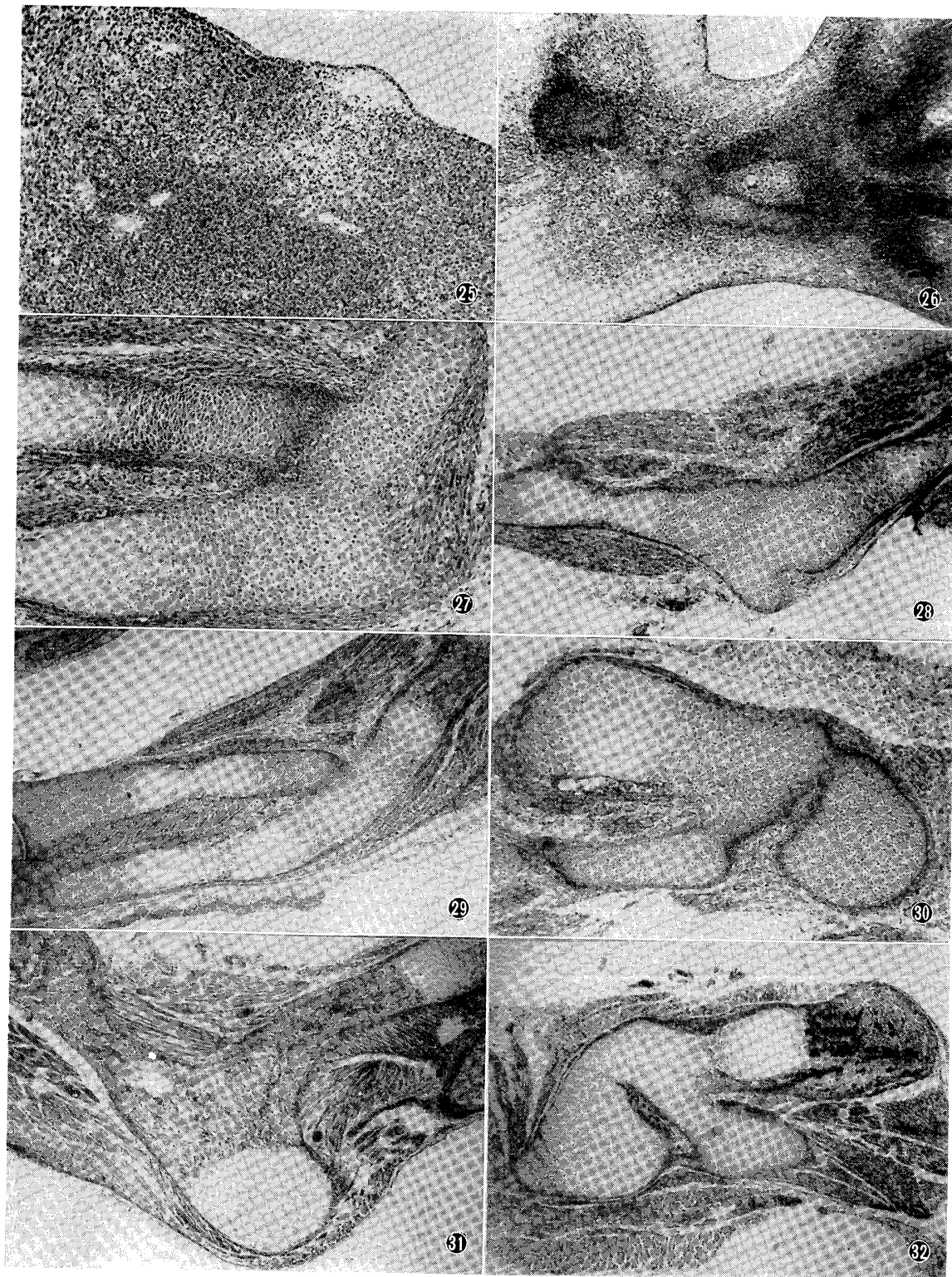


図25：X線放射後12時間の前肢芽；表皮下の水胞形成と，間葉組織の崩壊産物の水胞内流入を示す（H・E染色，以下同じ）

図26：胎生14日の短肢症の前肢；上腕，橈，尺の各軟骨の癒合を示す（図15参照）

図27：胎生16日の短肢症の前肢肘関節部；上腕，橈，尺の軟骨の癒合部の細胞成分の連続性を示す（図19の軟骨標本参照）

図28：胎生16日の短肢症の前肢骨；上腕骨（右側）と尺骨（左側）の完全癒合によりあたかも1本の長管骨のように見える。

図29：胎生17日の短肢症の前肢骨；上腕骨，橈骨，尺骨のそれぞれの骨幹部の化骨が3方向より癒

合部におよぶ (図21参照)

図30: 胎生17日の短肢症の後肢骨; 大腿骨の軟骨の塊状化と, 大腿骨・脛骨および腓骨・腓骨の軟骨癒合を示す. 軟骨細胞の成熟は脛骨にのみみられる.

図31: 胎生19日の短肢症の前肢肘関節部; 上腕骨 (左側) と橈骨 (右側) の癒合部骨組織の骨髄形成を示す.

図32: 胎生19日の短肢症の後肢骨; 化骨および骨髄形成は脛骨にのみみられ, 大腿骨と腓骨には軟骨組織の成熟がみられない.

ろまれて, 前肢に短縮のつよい胎仔では後肢は比較的軽く, 後肢につよい胎仔は前肢は軽い場合が多い. 肢芽の形成は後肢が前肢にくらべや遅れるが, 胎生11日の放射で前後肢の形成障害に程度の差があらわれることは両者の障害感受性の差すなわち発生段階の「ずれ」の鋭敏な反映とみなすことができる. しかも200r, 300r放射のいずれの場合も短肢症の成立臨界期は胎生11日で, 線量の増加によって臨界期の延長がみられない. これらの事実はX線放射が分化過程の肢芽間葉組織に対する組織選択性がつよいことを示すものである.

胎生11日の300r放射によって肢芽に最初にあらわれる変化は間葉細胞の壊死崩壊像であるが, 肢芽の基部より中央部にかけて散在性におこり傷害部分の領界は明瞭でない. Hicks (1956) はラット胚のX線放射によって間葉組織に散在性の壊死を認め, 間葉系の全般を通じ primitive differentiating cells がつよい傷害をうけると論じている. しかし胎生11日の発生段階では軟骨芽はいまだあきらかな形をとらず, また個々の間葉細胞が分化あるいは発生の段階に従って規則的な配置を示さないため, 肢芽間葉成分の中で将来骨格を形成する細胞と軟部組織を形成する細胞とを通常の形態学的検査では判別できない. 従ってこの段階ではX線傷害の組織選択性を肢芽の細胞あるいは細胞群について形態学的に明確に指摘することはできない. これは分化段階に従って層構造をなしX線放射の選択的傷害が明瞭な形でとらえられる中枢神経組織^{3,4)} と相違する点である. しかし軟骨芽の形成は間葉細胞の増生によるため, 軟骨芽を構成すべき細胞は増生能が高く, 将来軟部組織を構成する細胞にくらべ放射感受性が高いことは当然期待される. よって本実験にみられる壊死細胞は主として軟骨芽を形成すべき間葉細胞とみなすことができる. 事実間葉のX線損傷にひきつづき軟骨芽の形成は著明な障害をうける. すなわち軟骨芽は欠損にはいたらないがその形成は遅れ, 軟骨芽が相互に連絡した不完全な形であられる. 軟骨芽が前軟骨細胞に分化してくると形成異常は明瞭となり, 将来の骨格奇形の原型が前軟骨核にはぼそのままの形で示されるようになる.

前後肢の成形異常の差異は軟骨芽の段階ではあきらか

でないが, 前軟骨核の形成によって明瞭になってくる. 前肢では上腕, 橈, 尺の各前軟骨核が癒合してY字状あるいはF字状をなすが, 各軟骨芽の細胞成分は連続的につながり, 癒合というよりむしろY字型の1個の前軟骨核のような組織像を示す. この軟骨核の枠内でのその後の細胞の分化, 成熟は比較的正常的な経過をたどり, 上腕, 橈, 尺のそれぞれの軟骨内にはじまる軟骨細胞の成熟と化骨は癒合部におよび, 胎生末期には肘関節の完全骨性癒合と癒合部の骨髄形成をもたらす. すなわち前肢では骨原基発生当初の形成障害はつよいが, その後の軟骨細胞の成熟と化骨にはつよい障害がおよばないと解釈できる.

後肢では大腿骨の前軟骨核の短小が下腿にくらべてつよく, 関節癒合は前肢に比較して軽い. 軟骨細胞の成熟と化骨は脛骨では比較的順調で骨髄も形成されるにもかかわらず大腿骨と腓骨ではつよく阻害され, 従って関節の骨性癒合はおこらない. 後肢の関節癒合が前肢にくらべて軽い理由の一つとして関節の解剖学的構造の差異をあげることができるが, 軟骨の短縮が大腿につよく下腿に軽い点および軟骨の成熟と化骨の阻害がつよい点は前肢と著しく異なり, 骨格の形態の差異あるいは放射時における肢芽発生過程の差では解釈できない. 後肢のみに肢骨の化骨欠如がみられるのは200r放射の場合も^{1,2)} 同様で線量の大小も関係ない. 他の催奇形因子による短肢の成立をみても, 胎生10日を成立臨界期とする酸素欠乏(225mmHg 低圧5時間)では短肢は後肢のみに成立し, X線放射と同様に胎生11日を成立臨界期とするtrypan-blue (2% 0.1cc 注射)による短肢も後肢のみに成立する.^{1,2)} これらの事実は前肢と後肢とでは形成障害に際して何らかの本質的な差異が内在することを示唆している.

つぎに300r X線放射による短肢症とビタミンA過剰(15,000 I.U./mouse)による短肢症の成立機序を比較考察すると, 両者とも胎生11日を成立臨界期とし肢芽発生後の侵襲による形成障害である点は同様であるが, ビタミンA過剰による短肢では軟骨の肥厚性 dysplasia と化骨障害を特徴とし形成過程の差異は著明である. すなわちビタミンA過剰では軟骨芽形成当初は組織障害は軽

いが、細胞自体の機能的障害のため軟骨への分化に従って進行性の *dysplasia* をおこし軟骨細胞の成熟能力は障害され化骨がおこりにくいと考えられる。これに対しX線放射では侵襲が組織選択的な細胞壊死で傷害が急性で強いかわり、その消退も速かのため傷害をこうむらなかつた細胞への持続的影響は一般に少ない。従って肢芽間葉のX線損傷によって軟骨に強い形成障害をもたらすが、異常形成は進行性でなくX線傷害をまぬがれた間葉成分より分化した軟骨細胞には成熟能力が維持されると解釈できる。すなわち 300 r X線放射による短肢症の作因特異性とみなされる軟骨の *hypoplasia* と前肢の肘関節完全骨性癒合は主として肢骨原基発生当初の組織選択的な急性傷害にもとづくものである。

マウスの遺伝性短肢症の胎生期の成立過程については Grüneberg (1963)¹⁾ によって 多種類の系統について発表されているが、遺伝性のもではほとんど後肢の脛骨あるいは腓骨の半肢症 (*hemimelia*) で当該骨のみの軟骨芽の *aplasia* あるいは *hypoplasia* によるものでX線放射による短肢症とは基本的に異なる機序で成立するものと解釈できる。

総 括

1. X線放射による実験的短肢症の成立機構を検討するため CF₁, ddN 両系マウスの妊娠第11日 (短肢症の成立臨界期) に 300 r を1回全身放射し胎仔の短肢成立過程を観察した。
2. 観察には放射後6時間より胎生末期までの各発生段階の胎仔につき H・E 染色切片標本, methylene-blue による軟骨染色胎仔透明標本および alizarin red S による骨染色透明標本を併用した。
3. 300r X線放射による短肢症は肢芽間葉組織のX線損傷による軟骨芽形成障害に出発し、軟骨芽より前軟骨核にいたる過程での各肢骨原基の *hypoplasia* と関節部癒合によって成立する。前肢では肘関節の3関節完全癒合が、後肢では大腿骨・脛骨および脛骨・腓骨の2関節癒合が多い。前肢では化骨障害は比較的軽く肘関節は骨性癒合を示すが、後肢では大腿骨と腓骨の化骨障害が著明である。
4. X線放射による短肢症には肢骨原基の欠損はなく、軟骨の *hypoplasia* と関節癒合を特徴とする。

本編の概要は1964年7月10日第4回日本先天異常学会総会に発表した。

なお、本研究は村上氏廣に対する文部省科学研究費 (特定研究) の援助による。

文 献

1. Grüneberg, H. The pathology of development. Blackwell Pub. Oxford, 1963.
2. Grüneberg, H. Genetical studies on the skeleton of the mouse, VII. Congenital hydrocephalus. J. Genet. 51: 327—358, 1953.
3. Hicks, S. P. Regeneration and malformation in the nervous system, eye, mesenchyme of the mammalian embryo after radiation injury. Am. J. Path. 33: 459—481, 1957.
5. Kameyama, Y., Nogami, U. and Murakami, U. Study on micromelias in the mouse fetus caused by x-radiation, hypoxia, trypan-blue injection or hypervitaminosis-A upon the mother animals during pregnancy. Ann. Rep. Environ. Med. Nagoya Univ. 12 (1963) : 29—41, 1964.
4. Hicks, S. P., D'Amato, C. J. and Lowe, M. J. The development of the mammalian nervous system. J. Comp. Neurol. 113: 435—469, 1959.
6. 亀山義郎・野上宏・村上氏廣 短肢症の実験的成立について, X線放射, 酸素欠乏, トリパン青注射, ビタミンA過剰による短肢症の成立状況. 先天異常4: 5—12, 1964.
7. 亀山義郎 短肢症の実験的成立について, ビタミンA過剰によるマウス短肢症の成立過程 (予報) 環研年報, 16(1964), 1965.
8. Murakami, U., Kameyama, Y. and Nogami, H. Malformations of the extremity in the mouse fetuses caused by X-radiation of the mother during pregnancy. J. Embryol. exp. Morph. 11: 549—569, 1963.
9. Noback, G. J. The use of the van Wijhe method for the staining of the cartilaginous skeleton. Anat Rec. 11: 292—294, 1916.

(昭和39年11月29日受付)