

表1 医療機関調査の都道府県別対象数, 回収数, 回収率等

	医療機関等 母数	調査対象 医療機関等数	回収 医療機関等数	回収率 (%)	回収数/母数 (%)
00 全 国	58,532	7,479	5,571	74.5%	9.5%
01 北海道	2,200	315	266	84.4%	12.1%
02 青森	567	77	51	66.2%	9.0%
03 岩手	549	73	57	78.1%	10.4%
04 宮城	956	132	111	84.1%	11.6%
05 秋田	444	60	57	95.0%	12.8%
06 山形	681	76	67	88.2%	9.8%
07 福島	890	97	79	81.4%	8.9%
08 茨城	868	112	86	76.8%	9.9%
09 栃木	950	132	89	67.4%	9.4%
10 群馬	888	126	85	67.5%	9.6%
11 埼玉	2,411	283	195	68.9%	8.1%
12 千葉	2,289	228	155	68.0%	6.8%
13 東京都	6,987	910	564	62.0%	8.1%
14 神奈川県	3,686	449	330	73.5%	9.0%
15 新潟	899	98	82	83.7%	9.1%
16 富山	505	63	55	87.3%	10.9%
17 石川	506	70	61	87.1%	12.1%
18 福井	358	49	39	79.6%	10.9%
19 山梨	373	58	41	70.7%	11.0%
20 長野	819	117	77	65.8%	9.4%
21 岐阜	948	119	94	79.0%	9.9%
22 静岡県	1,657	197	161	81.7%	9.7%
23 愛知県	2,869	346	264	76.3%	9.2%
24 三重	898	110	82	74.5%	9.1%
25 滋賀	479	70	64	91.4%	13.4%
26 京都	1,167	160	102	63.8%	8.7%
27 大阪	3,838	512	359	70.1%	9.4%
28 兵庫県	2,912	402	270	67.2%	9.3%
29 奈良	605	68	49	72.1%	8.1%
30 和歌山	606	87	68	78.2%	11.2%
31 鳥取	385	54	51	94.4%	13.2%
32 島根	457	64	46	71.9%	10.1%
33 岡山	1,154	166	132	79.5%	11.4%
34 広島	1,962	273	242	88.6%	12.3%
35 山口	997	143	107	74.8%	10.7%
36 徳島	511	61	53	86.9%	10.4%
37 香川	498	75	59	78.7%	11.8%
38 愛媛	781	107	90	84.1%	11.5%
39 高知	363	36	35	97.2%	9.6%
40 福岡	2,618	298	227	76.2%	8.7%
41 佐賀	451	64	58	90.6%	12.9%
42 長崎	978	104	81	77.9%	8.3%
43 熊本	1,129	96	69	71.9%	6.1%
44 大分	604	85	70	82.4%	11.6%
45 宮崎	581	66	42	63.6%	7.2%
46 鹿児島	904	133	105	78.9%	11.6%
47 沖縄	354	58	44	75.9%	12.4%

表2 都道府県別にみた世代別2回接種人数(集計数, 推計値)

	母数	2回接種(65歳以上)		2回接種(15歳未満)		2回接種(その他)	
		回収数	人数(人)	回収数	人数(人)	回収数	人数(人)
00 全国	58,532	5,507	161,487	5,513	85,913	5,503	117,727
01 北海道	2,200	263	9,625	263	6,430	263	5,344
02 青森	567	51	1,011	51	786	51	814
03 岩手	549	57	2,430	57	762	57	1,803
04 宮城	956	112	3,360	112	1,835	112	1,825
05 秋田	444	57	1,600	57	466	57	1,138
06 山形	681	67	2,578	67	571	67	1,526
07 福島	890	79	2,925	79	1,042	79	1,433
08 茨城	868	85	3,509	85	1,391	85	2,363
09 栃木	950	88	3,221	88	1,303	88	1,488
10 群馬	888	84	2,650	84	536	84	2,046
11 埼玉	2,411	192	6,424	192	3,101	192	5,199
12 千葉	2,289	151	5,975	152	1,849	151	7,203
13 東京	6,987	550	14,363	551	6,958	550	11,860
14 神奈川	3,686	325	10,535	327	6,986	325	8,269
15 新潟	899	80	2,784	82	1,501	80	2,189
16 富山	505	53	1,299	51	790	51	1,068
17 石川	506	59	1,197	59	693	58	670
18 福井	358	37	1,010	38	659	37	696
19 山梨	373	41	1,711	41	981	41	1,018
20 長野	819	76	1,906	76	1,287	76	1,518
21 岐阜	948	94	3,443	94	3,206	94	2,626
22 静岡	1,657	158	5,001	157	3,104	157	3,141
23 愛知	2,869	262	7,743	263	6,960	262	6,809
24 三重	898	81	2,219	81	1,737	81	2,329
25 滋賀	479	63	1,293	63	1,310	64	969
26 京都	1,167	102	1,557	102	878	102	1,079
27 大阪	3,838	356	6,622	356	4,670	356	4,616
28 兵庫	2,912	267	6,857	267	3,477	267	3,523
29 奈良	605	47	1,757	47	929	47	1,642
30 和歌山	606	69	1,217	69	380	69	823
31 鳥取	385	50	1,497	50	387	50	1,393
32 島根	457	46	1,899	46	731	46	1,166
33 岡山	1,154	130	3,849	130	1,941	130	2,107
34 広島	1,962	240	7,228	240	4,488	239	5,451
35 山口	997	105	3,988	105	1,173	105	1,986
36 徳島	511	54	990	54	852	54	782
37 香川	498	60	1,717	60	567	60	1,424
38 愛媛	781	90	3,187	90	1,367	90	2,512
39 高知	363	34	1,191	34	184	34	661
40 福岡	2,618	227	3,803	227	2,333	227	3,547
41 佐賀	451	58	1,346	58	301	58	679
42 長崎	978	81	2,016	81	947	81	1,348
43 熊本	1,129	68	1,844	68	313	68	814
44 大分	604	69	2,505	69	703	69	1,956
45 宮崎	581	42	1,923	42	1,160	42	1,542
46 鹿児島	904	104	3,878	105	1,165	104	2,523
47 沖縄	354	43	804	43	723	43	809

表3 都道府県別にみた世代別1回接種人数(集計数, 推計値)

	母数	1回接種(65歳以上)		1回接種(15歳未満)		1回接種(その他)	
		回収数	人数(人)	回収数	人数(人)	回収数	人数(人)
00 全国	58,532	5,510	49,051	5,514	22,182	5,512	48,562
01 北海道	2,200	263	2,631	263	1,278	262	2,025
02 青森	567	51	486	51	148	51	296
03 岩手	549	57	656	57	454	57	909
04 宮城	956	111	1,955	111	978	111	1,320
05 秋田	444	57	670	57	313	57	528
06 山形	681	67	920	67	87	67	663
07 福島	890	79	881	79	463	79	842
08 茨城	868	86	824	86	746	86	661
09 栃木	950	88	483	88	294	88	1,034
10 群馬	888	84	493	84	176	84	702
11 埼玉	2,411	192	2,070	192	996	192	1,543
12 千葉	2,289	151	2,051	152	377	152	1,605
13 東京	6,987	554	2,767	553	1,701	553	3,524
14 神奈川	3,686	325	1,926	327	1,334	326	2,426
15 新潟	899	79	826	81	249	79	750
16 富山	505	51	183	52	155	51	671
17 石川	506	59	395	59	154	59	314
18 福井	358	38	1,169	38	409	38	684
19 山梨	373	41	287	41	269	41	363
20 長野	819	76	857	76	176	76	1,633
21 岐阜	948	94	1,106	94	478	94	1,264
22 静岡	1,657	160	1,473	159	621	159	1,511
23 愛知	2,869	261	1,802	262	1,914	261	2,276
24 三重	898	80	347	80	196	80	634
25 滋賀	479	64	322	63	192	63	314
26 京都	1,167	102	829	102	115	102	724
27 大阪	3,838	355	1,955	355	1,089	356	3,091
28 兵庫	2,912	266	1,926	266	864	266	1,628
29 奈良	605	47	579	47	188	47	336
30 和歌山	606	69	342	69	58	69	183
31 鳥取	385	50	341	50	129	50	439
32 島根	457	46	271	46	39	46	195
33 岡山	1,154	132	1,215	132	301	132	907
34 広島	1,962	238	1,333	237	835	239	1,219
35 山口	997	107	1,262	107	399	107	1,481
36 徳島	511	54	402	54	35	54	169
37 香川	498	60	351	60	104	60	651
38 愛媛	781	90	537	90	136	90	430
39 高知	363	34	413	34	22	34	280
40 福岡	2,618	228	2,663	228	736	228	2,464
41 佐賀	451	58	650	58	68	58	499
42 長崎	978	81	1,287	81	428	81	997
43 熊本	1,129	68	1,206	68	111	68	493
44 大分	604	69	824	69	226	69	1,059
45 宮崎	581	42	419	42	983	42	364
46 鹿児島	904	104	2,010	105	513	105	1,928
47 沖縄	354	42	656	42	645	43	533

表4 都道府県別にみた世代別実施回数割合(推計値)

	65歳以上		15歳未満		15～64歳	
	2回接種	1回接種	2回接種	1回接種	2回接種	1回接種
00 全国	76.7%	23.3%	79.4%	20.6%	71.3%	28.7%
01 北海道	78.5%	21.5%	83.4%	16.6%	72.4%	27.6%
02 青森	67.5%	32.5%	84.2%	15.8%	73.3%	26.7%
03 岩手	78.7%	21.3%	62.7%	37.3%	66.5%	33.5%
04 宮城	63.0%	37.0%	65.0%	35.0%	57.8%	42.2%
05 秋田	70.5%	29.5%	59.8%	40.2%	68.3%	31.7%
06 山形	73.7%	26.3%	86.8%	13.2%	69.7%	30.3%
07 福島	76.9%	23.1%	69.2%	30.8%	63.0%	37.0%
08 茨城	81.2%	18.8%	65.4%	34.6%	78.3%	21.7%
09 栃木	87.0%	13.0%	81.6%	18.4%	59.0%	41.0%
10 群馬	84.3%	15.7%	75.3%	24.7%	74.5%	25.5%
11 埼玉	75.6%	24.4%	75.7%	24.3%	77.1%	22.9%
12 千葉	74.4%	25.6%	83.1%	16.9%	81.9%	18.1%
13 東京	83.9%	16.1%	80.4%	19.6%	77.2%	22.8%
14 神奈川	84.5%	15.5%	84.0%	16.0%	77.4%	22.6%
15 新潟	76.9%	23.1%	85.6%	14.4%	74.2%	25.8%
16 富山	87.2%	12.8%	83.9%	16.1%	61.4%	38.6%
17 石川	75.2%	24.8%	81.8%	18.2%	68.5%	31.5%
18 福井	47.0%	53.0%	61.7%	38.3%	51.1%	48.9%
19 山梨	85.6%	14.4%	78.5%	21.5%	73.7%	26.3%
20 長野	69.0%	31.0%	88.0%	12.0%	48.2%	51.8%
21 岐阜	75.7%	24.3%	87.0%	13.0%	67.5%	32.5%
22 静岡	77.5%	22.5%	83.5%	16.5%	67.8%	32.2%
23 愛知	81.1%	18.9%	78.4%	21.6%	74.9%	25.1%
24 三重	86.3%	13.7%	89.7%	10.3%	78.4%	21.6%
25 滋賀	80.3%	19.7%	87.2%	12.8%	75.2%	24.8%
26 京都	65.3%	34.7%	88.4%	11.6%	59.8%	40.2%
27 大阪	77.2%	22.8%	81.0%	19.0%	59.9%	40.1%
28 兵庫	78.0%	22.0%	80.0%	20.0%	68.3%	31.7%
29 奈良	75.2%	24.8%	83.2%	16.8%	83.0%	17.0%
30 和歌山	78.1%	21.9%	86.8%	13.2%	81.8%	18.2%
31 鳥取	81.4%	18.6%	75.0%	25.0%	76.0%	24.0%
32 島根	87.5%	12.5%	94.9%	5.1%	85.7%	14.3%
33 岡山	76.3%	23.7%	86.8%	13.2%	70.2%	29.8%
34 広島	84.3%	15.7%	84.1%	15.9%	81.7%	18.3%
35 山口	76.3%	23.7%	75.0%	25.0%	57.7%	42.3%
36 徳島	71.1%	28.9%	96.1%	3.9%	82.2%	17.8%
37 香川	83.0%	17.0%	84.5%	15.5%	68.6%	31.4%
38 愛媛	85.6%	14.4%	91.0%	9.0%	85.4%	14.6%
39 高知	74.3%	25.7%	89.3%	10.7%	70.2%	29.8%
40 福岡	58.9%	41.1%	76.1%	23.9%	59.1%	40.9%
41 佐賀	67.4%	32.6%	81.6%	18.4%	57.6%	42.4%
42 長崎	61.0%	39.0%	68.9%	31.1%	57.5%	42.5%
43 熊本	60.5%	39.5%	73.8%	26.2%	62.3%	37.7%
44 大分	75.2%	24.8%	75.7%	24.3%	64.9%	35.1%
45 宮崎	82.1%	17.9%	54.1%	45.9%	80.9%	19.1%
46 鹿児島	65.9%	34.1%	69.4%	30.6%	56.9%	43.1%
47 沖縄	54.5%	45.5%	52.3%	47.7%	60.3%	39.7%

表5 都道府県別にみた世代別接種出来なかった人数(集計数, 推計値)

	母数	不足数(65歳以上)		不足数(15歳未満)		不足数(その他)		不足人数(推計値)		
		回収数	人数(人)	回収数	人数(人)	回収数	人数(人)	65歳以上	15歳未満	15~64歳
00 全国	58,532	4,804	46,325	4,784	32,296	4,776	36,406	570,350	399,732	451,417
01 北海道	2,200	249	1,789	247	672	245	950	15,806	5,985	8,531
02 青森	567	40	199	40	101	40	181	2,821	1,432	2,566
03 岩手	549	50	325	48	180	49	337	3,569	2,059	3,776
04 宮城	956	88	1,174	89	606	89	821	12,754	6,509	8,819
05 秋田	444	47	487	46	95	46	252	4,601	917	2,432
06 山形	681	61	656	61	207	60	381	7,324	2,311	4,324
07 福島	890	72	712	72	548	72	592	8,801	6,774	7,318
08 茨城	868	76	954	76	532	76	599	10,896	6,076	6,841
09 栃木	950	74	820	74	392	74	399	10,527	5,032	5,122
10 群馬	888	71	595	70	246	70	529	7,442	3,121	6,711
11 埼玉	2,411	166	2,268	166	1,419	165	1,933	32,941	20,610	28,245
12 千葉	2,289	125	1,106	125	743	126	1,167	20,253	13,606	21,201
13 東京	6,987	492	5,153	489	3,768	489	3,948	73,179	53,838	56,410
14 神奈川	3,686	279	2,410	282	2,164	275	2,149	31,840	28,285	28,804
15 新潟	899	61	544	61	556	60	414	8,017	8,194	6,203
16 富山	505	50	434	46	465	48	512	4,383	5,105	5,387
17 石川	506	51	358	51	579	51	308	3,552	5,745	3,056
18 福井	358	31	220	31	176	31	264	2,541	2,033	3,049
19 山梨	373	35	302	34	156	35	219	3,218	1,711	2,334
20 長野	819	63	367	63	269	63	395	4,771	3,497	5,135
21 岐阜	948	75	474	75	995	75	827	5,991	12,577	10,453
22 静岡	1,657	142	1,792	142	1,241	142	1,317	20,911	14,481	15,368
23 愛知	2,869	224	1,439	222	1,760	224	1,368	18,431	22,745	17,521
24 三重	898	67	565	67	758	67	395	7,573	10,159	5,294
25 滋賀	479	53	427	52	471	52	251	3,859	4,339	2,312
26 京都	1,167	90	629	89	303	89	521	8,156	3,973	6,832
27 大阪	3,838	300	2,030	298	1,616	298	1,608	25,970	20,813	20,710
28 兵庫	2,912	225	2,425	225	1,608	224	1,306	31,385	20,811	16,978
29 奈良	605	43	805	43	365	42	552	11,326	5,135	7,951
30 和歌山	606	66	373	66	218	66	278	3,425	2,002	2,553
31 鳥取	385	43	450	43	223	43	466	4,029	1,997	4,172
32 島根	457	36	305	36	170	36	179	3,872	2,158	2,272
33 岡山	1,154	114	1,318	114	627	114	833	13,342	6,347	8,432
34 広島	1,962	212	2,181	211	2,139	210	1,817	20,185	19,890	16,976
35 山口	997	95	1,135	96	715	96	879	11,912	7,426	9,129
36 徳島	511	48	346	48	336	47	333	3,683	3,577	3,620
37 香川	498	51	548	51	264	51	368	5,351	2,578	3,593
38 愛媛	781	79	543	79	350	79	377	5,368	3,460	3,727
39 高知	363	30	125	30	58	30	236	1,513	702	2,856
40 福岡	2,618	207	2,752	205	1,343	206	2,148	34,805	17,151	27,298
41 佐賀	451	51	368	51	182	51	461	3,254	1,609	4,077
42 長崎	978	72	918	72	549	72	707	12,470	7,457	9,603
43 熊本	1,129	60	977	60	300	60	573	18,384	5,645	10,782
44 大分	604	65	680	64	432	64	501	6,319	4,077	4,728
45 宮崎	581	36	374	36	450	36	270	6,036	7,263	4,358
46 鹿児島	904	97	1,292	97	477	97	1,073	12,041	4,445	10,000
47 沖縄	354	42	181	41	472	41	412	1,526	4,075	3,557

表6 都道府県別にみた世代別不足本数(推計値)

	不足本数(推計値)			
	総数	65歳以上 1, 2回	15歳未満 2回	15~64歳 1, 2回
00 全国	#REF!	#REF!	399,732	#REF!
01 北海道	#REF!	#REF!	5,985	#REF!
02 青森	#REF!	#REF!	1,432	#REF!
03 岩手	#REF!	#REF!	2,059	#REF!
04 宮城	#REF!	#REF!	6,509	#REF!
05 秋田	#REF!	#REF!	917	#REF!
06 山形	#REF!	#REF!	2,311	#REF!
07 福島	#REF!	#REF!	6,774	#REF!
08 茨城	#REF!	#REF!	6,076	#REF!
09 栃木	#REF!	#REF!	5,032	#REF!
10 群馬	#REF!	#REF!	3,121	#REF!
11 埼玉	#REF!	#REF!	20,610	#REF!
12 千葉	#REF!	#REF!	13,606	#REF!
13 東京	#REF!	#REF!	53,838	#REF!
14 神奈川	#REF!	#REF!	28,285	#REF!
15 新潟	#REF!	#REF!	8,194	#REF!
16 富山	#REF!	#REF!	5,105	#REF!
17 石川	#REF!	#REF!	5,745	#REF!
18 福井	#REF!	#REF!	2,033	#REF!
19 山梨	#REF!	#REF!	1,711	#REF!
20 長野	#REF!	#REF!	3,497	#REF!
21 岐阜	#REF!	#REF!	12,577	#REF!
22 静岡	#REF!	#REF!	14,481	#REF!
23 愛知	#REF!	#REF!	22,745	#REF!
24 三重	#REF!	#REF!	10,159	#REF!
25 滋賀	#REF!	#REF!	4,339	#REF!
26 京都	#REF!	#REF!	3,973	#REF!
27 大阪	#REF!	#REF!	20,813	#REF!
28 兵庫	#REF!	#REF!	20,811	#REF!
29 奈良	#REF!	#REF!	5,135	#REF!
30 和歌山	#REF!	#REF!	2,002	#REF!
31 鳥取	#REF!	#REF!	1,997	#REF!
32 島根	#REF!	#REF!	2,158	#REF!
33 岡山	#REF!	#REF!	6,347	#REF!
34 広島	#REF!	#REF!	19,890	#REF!
35 山口	#REF!	#REF!	7,426	#REF!
36 徳島	#REF!	#REF!	3,577	#REF!
37 香川	#REF!	#REF!	2,578	#REF!
38 愛媛	#REF!	#REF!	3,460	#REF!
39 高知	#REF!	#REF!	702	#REF!
40 福岡	#REF!	#REF!	17,151	#REF!
41 佐賀	#REF!	#REF!	1,609	#REF!
42 長崎	#REF!	#REF!	7,457	#REF!
43 熊本	#REF!	#REF!	5,645	#REF!
44 大分	#REF!	#REF!	4,077	#REF!
45 宮崎	#REF!	#REF!	7,263	#REF!
46 鹿児島	#REF!	#REF!	4,445	#REF!
47 沖縄	#REF!	#REF!	4,075	#REF!

表7 都道府県別にみた世代別需要見込人数(集計数, 推計値)

	母数	需要数(65歳以上)		需要数(15歳未満)		需要数(その他)		需要人数(推計値)		
		回収数	人数(人)	回収数	人数(人)	回収数	人数(人)	65歳以上	15歳未満	15~64歳
00 全国	58,532	5,277	302,338	5,237	160,955	5,266	228,074	3,349,570	1,786,245	2,558,333
01 北海道	2,200	255	16,416	248	9,491	249	9,400	141,628	84,194	83,052
02 青森	567	50	1,919	50	1,309	50	1,471	21,761	14,844	16,681
03 岩手	549	55	3,823	54	1,604	55	3,142	38,160	16,307	31,363
04 宮城	956	105	7,563	105	3,958	107	4,492	68,859	36,037	40,134
05 秋田	444	51	3,249	52	784	51	2,518	28,285	6,694	21,921
06 山形	681	66	4,643	66	1,102	65	3,054	47,907	11,371	31,997
07 福島	890	75	5,705	75	2,713	75	3,311	67,699	32,194	39,291
08 茨城	868	83	6,171	82	3,127	83	3,982	64,535	33,100	41,643
09 栃木	950	85	5,310	85	2,449	85	3,651	59,347	27,371	40,805
10 群馬	888	83	4,647	83	1,333	83	3,644	49,717	14,261	38,986
11 埼玉	2,411	181	11,361	180	5,792	181	9,006	151,334	77,581	119,964
12 千葉	2,289	139	10,523	137	3,629	139	10,622	173,289	60,633	174,919
13 東京	6,987	519	26,387	516	12,889	521	21,938	355,233	174,526	294,205
14 神奈川	3,686	313	16,898	312	12,253	311	13,878	198,997	144,758	164,483
15 新潟	899	80	5,569	81	3,138	80	4,244	62,582	34,828	47,692
16 富山	505	52	2,634	51	1,422	51	2,494	25,580	14,081	24,695
17 石川	506	58	2,642	58	1,900	57	1,650	23,049	16,576	14,647
18 福井	358	36	2,718	37	992	36	1,716	27,029	9,598	17,065
19 山梨	373	39	2,898	38	1,688	38	1,612	27,717	16,569	15,823
20 長野	819	69	3,703	70	2,037	69	3,767	43,953	23,833	44,713
21 岐阜	948	88	5,459	88	4,963	88	5,170	58,808	53,465	55,695
22 静岡	1,657	154	9,032	154	5,924	154	6,335	97,182	63,741	68,163
23 愛知	2,869	252	13,107	250	10,835	252	12,159	149,222	124,342	138,429
24 三重	898	76	3,663	75	2,811	76	3,858	43,281	33,657	45,585
25 滋賀	479	63	2,864	62	2,646	63	2,104	21,775	20,442	15,997
26 京都	1,167	97	3,460	95	1,504	96	2,655	41,627	18,475	32,275
27 大阪	3,838	336	11,802	331	7,726	335	10,470	134,810	89,584	119,952
28 兵庫	2,912	257	13,910	256	7,191	256	6,966	157,611	81,798	79,238
29 奈良	605	47	3,209	47	1,362	47	2,634	41,307	17,532	33,906
30 和歌山	606	65	2,431	65	675	64	1,658	22,664	6,293	15,699
31 鳥取	385	48	2,899	48	917	48	2,301	23,252	7,355	18,456
32 島根	457	45	2,931	45	1,225	46	1,973	29,766	12,441	19,601
33 岡山	1,154	128	8,129	128	4,022	128	4,788	73,288	36,261	43,167
34 広島	1,962	227	13,063	223	8,192	226	9,351	112,906	72,075	81,180
35 山口	997	104	7,121	104	3,478	104	5,156	68,266	33,342	49,428
36 徳島	511	51	1,948	51	1,358	51	1,242	19,518	13,607	12,444
37 香川	498	59	3,329	59	1,292	58	2,933	28,099	10,905	25,183
38 愛媛	781	86	4,783	85	2,335	85	3,543	43,436	21,455	32,554
39 高知	363	34	2,201	33	567	34	1,238	23,499	6,237	13,217
40 福岡	2,618	210	11,166	209	4,465	211	9,133	139,203	55,930	113,318
41 佐賀	451	57	3,191	54	707	56	2,245	25,248	5,905	18,080
42 長崎	978	78	5,005	77	2,121	78	3,250	62,755	26,939	40,750
43 熊本	1,129	66	4,558	66	975	66	2,260	77,969	16,678	38,660
44 大分	604	69	4,411	68	1,676	69	3,342	38,612	14,887	29,255
45 宮崎	581	42	3,408	41	3,723	42	2,613	47,144	52,758	36,147
46 鹿児島	904	103	8,274	102	2,585	104	6,340	72,618	22,910	55,109
47 沖縄	354	41	2,205	41	2,070	43	2,765	19,038	17,873	22,763

表8 都道府県別にみた世代別需要見込本数(推計値:最大値)

	需要本数(推計値:最大値)			
	総数	65歳以上 1, 2回	15歳未満 2回	15~64歳 1, 2回
00 全国	#REF!	#REF!	1,786,245	#REF!
01 北海道	#REF!	#REF!	84,194	#REF!
02 青森	#REF!	#REF!	14,844	#REF!
03 岩手	#REF!	#REF!	16,307	#REF!
04 宮城	#REF!	#REF!	36,037	#REF!
05 秋田	#REF!	#REF!	6,694	#REF!
06 山形	#REF!	#REF!	11,371	#REF!
07 福島	#REF!	#REF!	32,194	#REF!
08 茨城	#REF!	#REF!	33,100	#REF!
09 栃木	#REF!	#REF!	27,371	#REF!
10 群馬	#REF!	#REF!	14,261	#REF!
11 埼玉	#REF!	#REF!	77,581	#REF!
12 千葉	#REF!	#REF!	60,633	#REF!
13 東京	#REF!	#REF!	174,526	#REF!
14 神奈川	#REF!	#REF!	144,758	#REF!
15 新潟	#REF!	#REF!	34,828	#REF!
16 富山	#REF!	#REF!	14,081	#REF!
17 石川	#REF!	#REF!	16,576	#REF!
18 福井	#REF!	#REF!	9,598	#REF!
19 山梨	#REF!	#REF!	16,569	#REF!
20 長野	#REF!	#REF!	23,833	#REF!
21 岐阜	#REF!	#REF!	53,465	#REF!
22 静岡	#REF!	#REF!	63,741	#REF!
23 愛知	#REF!	#REF!	124,342	#REF!
24 三重	#REF!	#REF!	33,657	#REF!
25 滋賀	#REF!	#REF!	20,442	#REF!
26 京都	#REF!	#REF!	18,475	#REF!
27 大阪	#REF!	#REF!	89,584	#REF!
28 兵庫	#REF!	#REF!	81,798	#REF!
29 奈良	#REF!	#REF!	17,532	#REF!
30 和歌山	#REF!	#REF!	6,293	#REF!
31 鳥取	#REF!	#REF!	7,355	#REF!
32 島根	#REF!	#REF!	12,441	#REF!
33 岡山	#REF!	#REF!	36,261	#REF!
34 広島	#REF!	#REF!	72,075	#REF!
35 山口	#REF!	#REF!	33,342	#REF!
36 徳島	#REF!	#REF!	13,607	#REF!
37 香川	#REF!	#REF!	10,905	#REF!
38 愛媛	#REF!	#REF!	21,455	#REF!
39 高知	#REF!	#REF!	6,237	#REF!
40 福岡	#REF!	#REF!	55,930	#REF!
41 佐賀	#REF!	#REF!	5,905	#REF!
42 長崎	#REF!	#REF!	26,939	#REF!
43 熊本	#REF!	#REF!	16,678	#REF!
44 大分	#REF!	#REF!	14,887	#REF!
45 宮崎	#REF!	#REF!	52,758	#REF!
46 鹿児島	#REF!	#REF!	22,910	#REF!
47 沖縄	#REF!	#REF!	17,873	#REF!

表9 都道府県別にみた世代別需要見込本数(推計値:最小値)

	需要本数(推計値:最小値)			
	総数	65歳以上 1回	15歳未満 2回	15~64歳 1回
00 全国	4,740,196	1,674,785	1,786,245	1,279,166
01 北海道	196,535	70,814	84,194	41,526
02 青森	34,065	10,881	14,844	8,341
03 岩手	51,069	19,080	16,307	15,681
04 宮城	90,533	34,430	36,037	20,067
05 秋田	31,798	14,143	6,694	10,961
06 山形	51,323	23,954	11,371	15,998
07 福島	85,689	33,850	32,194	19,645
08 茨城	86,190	32,268	33,100	20,822
09 栃木	77,447	29,674	27,371	20,403
10 群馬	58,613	24,859	14,261	19,493
11 埼玉	213,229	75,667	77,581	59,982
12 千葉	234,737	86,644	60,633	87,460
13 東京	499,245	177,617	174,526	147,103
14 神奈川	326,498	99,498	144,758	82,242
15 新潟	89,965	31,291	34,828	23,846
16 富山	39,218	12,790	14,081	12,348
17 石川	35,424	11,525	16,576	7,324
18 福井	31,645	13,515	9,598	8,532
19 山梨	38,339	13,858	16,569	7,912
20 長野	68,166	21,977	23,833	22,356
21 岐阜	110,717	29,404	53,465	27,848
22 静岡	146,413	48,591	63,741	34,081
23 愛知	268,168	74,611	124,342	69,215
24 三重	78,090	21,641	33,657	22,793
25 滋賀	39,329	10,888	20,442	7,999
26 京都	55,426	20,814	18,475	16,137
27 大阪	216,965	67,405	89,584	59,976
28 兵庫	200,222	78,805	81,798	39,619
29 奈良	55,139	20,654	17,532	16,953
30 和歌山	25,475	11,332	6,293	7,850
31 鳥取	28,209	11,626	7,355	9,228
32 島根	37,124	14,883	12,441	9,801
33 岡山	94,488	36,644	36,261	21,583
34 広島	169,118	56,453	72,075	40,590
35 山口	92,189	34,133	33,342	24,714
36 徳島	29,588	9,759	13,607	6,222
37 香川	37,547	14,050	10,905	12,592
38 愛媛	59,450	21,718	21,455	16,277
39 高知	24,595	11,749	6,237	6,609
40 福岡	182,191	69,601	55,930	56,659
41 佐賀	27,569	12,624	5,905	9,040
42 長崎	78,692	31,378	26,939	20,375
43 熊本	74,993	38,985	16,678	19,330
44 大分	48,820	19,306	14,887	14,627
45 宮崎	94,403	23,572	52,758	18,073
46 鹿児島	86,774	36,309	22,910	27,555
47 沖縄	38,773	9,519	17,873	11,382

表10 都道府県別にみた卸売業者のワクチン供給本数など

	供給本数	供給不能本数	実不足本数
全 国	3,126,492	549,022	385,362
1 北海道	148,307	27,500	8,500
2 青森	28,354	3,570	1,700
3 岩手	30,997	1,770	330
4 宮城	38,934	4,897	1,600
5 秋田	31,918	2,171	710
6 山形	36,045	5,420	2,100
7 福島	34,203	6,752	5,523
8 茨城	81,341	7,879	6,301
9 栃木	61,002	6,912	5,603
10 群馬	34,183	2,303	1,391
11 埼玉	142,555	25,712	20,555
12 千葉	155,496	22,521	19,273
13 東京	375,438	41,939	30,660
14 神奈川	191,822	15,125	9,331
15 新潟	61,357	12,037	6,400
16 富山	24,373	3,264	1,700
17 石川	28,901	5,480	2,480
18 福井	23,250	3,220	1,200
19 山梨	27,043	4,450	3,670
20 長野	53,086	19,395	16,135
21 岐阜	67,545	15,731	9,320
22 静岡	99,757	13,410	10,520
23 愛知	210,081	19,005	11,030
24 三重	59,122	5,090	3,970
25 滋賀	19,387	2,510	1,990
26 京都	41,648	6,150	4,730
27 大阪	157,733	8,020	4,812
28 兵庫	98,319	5,000	3,000
29 奈良	25,253	4,710	3,040
30 和歌山	18,091	100	100
31 鳥取	19,074	4,045	1,285
32 島根	24,625	5,825	2,820
33 岡山	54,052	11,723	2,150
34 広島	77,129	27,033	9,350
35 山口	47,098	7,490	4,430
36 徳島	37,800	6,500	4,700
37 香川	29,282	7,100	6,100
38 愛媛	34,476	10,100	7,689
39 高知	19,540	5,154	4,154
40 福岡	100,650	25,824	18,553
41 佐賀	15,257	4,795	11,450
42 長崎	49,547	7,278	5,640
43 熊本	65,904	18,864	15,274
44 大分	41,979	15,080	9,285
45 宮崎	21,545	8,022	8,835
46 鹿児島	54,644	14,660	11,487
47 沖縄	28,349	14,500	14,500
不 明	-	52,986	49,986

厚生科学研究費補助金（特別研究事業）

分担研究報告書

細胞内サイトカイン染色法によるインフルエンザウイルス特異的
リンパ球の解析

分担研究者 神谷 齊 国立療養所三重病院長
研究協力者 伊藤 正寛 三重大学小児科助教授

研究要旨：細胞内サイトカイン染色法によりインフルエンザウイルス抗原に反応するリンパ球を解析した。健康成人の末梢血 CD4 リンパ球中にはインフルエンザウイルス抗原の刺激によりインターフェロン(IFN) γ 、インターロイキン(IL) 2、TNF α を産生するリンパ球が検出された。その頻度は IFN γ 0.03%—0.08%、IL-2 は 0.01—0.06%、TNF- α は 0.02-0.1%であった。本方法を用いてインフルエンザウイルス特異的 CD4 リンパ球の定量的解析が可能である。

[はじめに] インフルエンザウイルス感染症の治癒には血清抗体と細胞性免疫機能が関与していることが知られている。末梢血中のインフルエンザウイルス特異的リンパ球に関する研究は少ない。細胞性免疫機能細胞はウイルス抗原によるリンパ球幼弱化反応が用いられているが、細胞内サイトカイン染色法を用いて、末梢血中の HIV、CMV、EBV に反応する特異的リンパ球の解析が報告されている。本方法をインフルエンザウイルスに応用してインフルエンザウイルス特異的リンパ球の解析が可能であるかを検討した。

[材料]

- 1)インフルエンザウイルス抗原：A/Beijing(H1N1)、A/Sydney(H3N2)、B/Shangdong の全ウイルス抗原または精製 HA 抗原（阪大微生物病研究会高見沢昭久氏より分与）
- 2)抗体：抗 CD28 抗体 (Pharmingen)、PerCP 標識抗 CD4、CD8 抗体、PE 標識抗 CD69 抗体、FITC 標識抗インターフェロン(IFN) γ 抗体、抗インターロイキン(IL) 2、抗 TNF- α 抗体、抗インターロイキン 4 抗体、PE 標識 CD45RO 抗体（Beckton Dickinson）、抗 CD18 精製抗体、抗精製 CD11b 抗体 (Pharmingen)

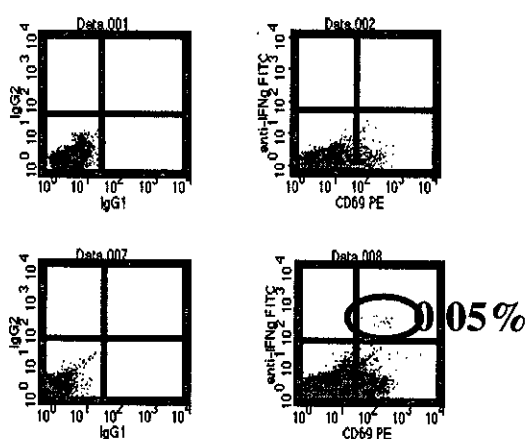
[方法]

1) 末梢血単核球を分離し、それぞれのウイルス抗原（最終蛋白濃度 5 mcg/ml）と抗 CD28 抗体を添加し 1 時間培養後、Brefeldin を添加しさらに 5 時間培養した。培養終了後細胞表面抗原を抗 CD4 または抗 CD8 抗体で染色後、細胞膜透過処理を行った後、抗 CD69 抗体、抗インターフェロン(IFN) γ 抗体、抗インターロイキン(IL)2、抗 TNF- α 抗体、抗インターロイキン 4 抗体で染色し、CD 4 または CD8 陽性細胞中におけるサイトカイン陽性細胞の割合をフローサイトメトリーで解析した。また一部の実

験では CD45RO（メモリーリンパ球）陽性または陰性細胞中 IFN γ 陽性細胞の割合、抗 CD18 抗体、抗 CD11b 抗体による抑制試験を行った。

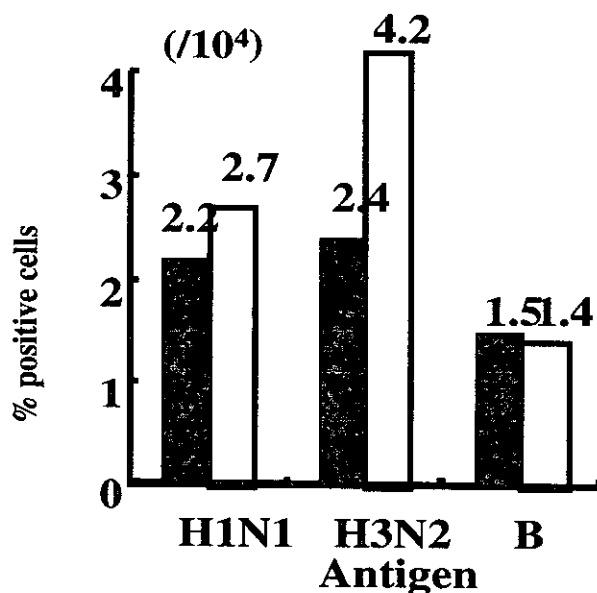
[対象] 上気道炎などの症状のない健康成人 7 名

[結果] 代表的なフローサイトメトリーによる解析を示す（図 1）。CD4 陽性リンパ球分画における IFN γ 陽性細胞を示す。H3N2 抗原で刺激した場合の CD69+IFN γ +細胞は 0.05%、培養液では 0 であった。図 2 に精製ウイルスと HA 抗原との比較を示す。両者に有意の差は認められなかったので以後の実験では精製 HA 抗原を用いた。



(図 1)

上段：培養液 下段：H3N2
右：FITC-IFN γ 、PE-CD69
左：コントロール抗体

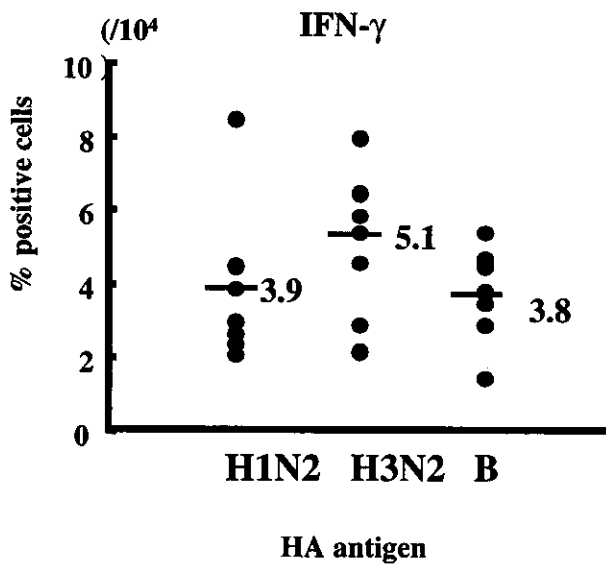


(図 2)

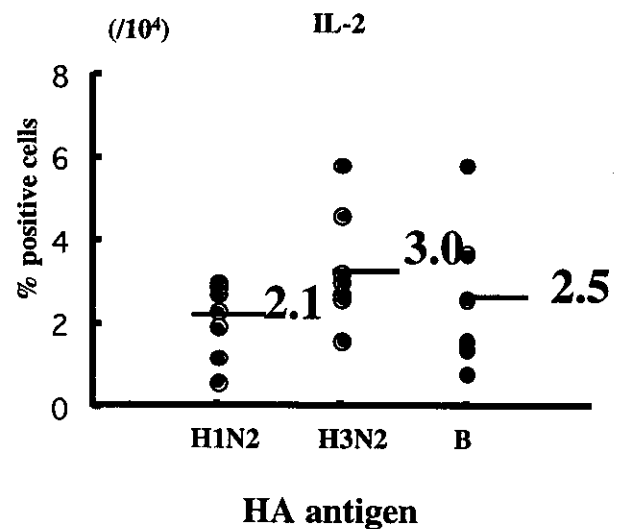
健康成人末梢血単核球をそれぞれのインフルエンザウイルス抗原で刺激した場合の 10^4 CD4 陽性リンパ球中の IFN γ 陽性細胞、IL-2 陽性細胞細胞数を示す (図 3、4)。TNF- α 陽性細胞は 0.02-0.1% であった。HN1、H3N2、B の間では有意な差は認められなかった。いずれの抗原によっても IL-4 陽性細胞の増加は認められなかった。また CD8 陽性細胞においてはいずれのサイトカインも有意な変

化はみとめられなかった。臍帯血リンパ球では CD4、CD8 いずれにおいてもサイトカイン陽性細胞は変化が認められなかった。IFN γ 陽性細胞を CD45RO 陽性細胞と陰性細胞で比較すると IFN γ 陽性細胞は主に CD45RO 陽性メモリーリンパ球に認められた (図 5)。また抗原添加と同時に CD18 抗体、抗 CD11b 抗体、または両抗体を添加すると IFN γ 陽性細胞の増加が抑制された (図 6)。

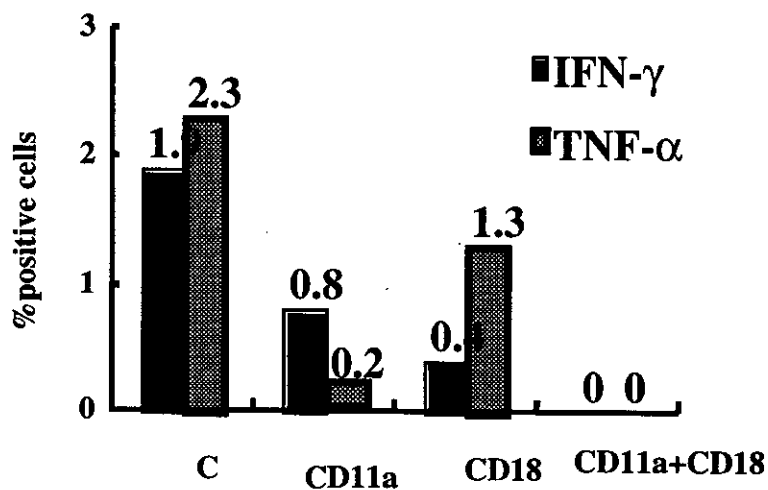
(図 3)



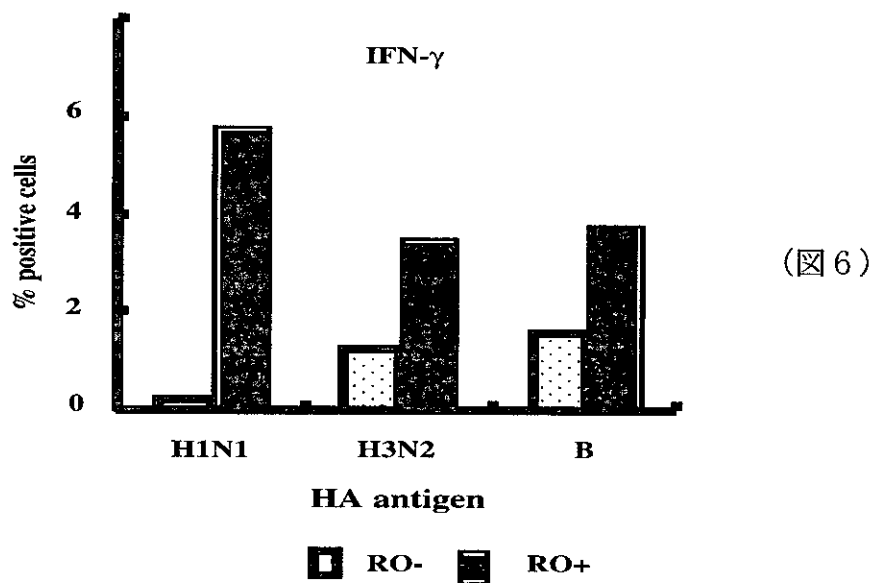
(図 4)



LFA-1(CD11a/CD18)の関与



(図 5)



(図6)

[考察] 健康成人の末梢血リンパ球の CD4 陽性リンパ球中にはインフルエンザウイルス抗原に反応して IFN γ 、IL-2、TNF- α を産生するメモリーリンパ球が存在する。その頻度は IFN γ 0.03%—0.08%、IL-2 は 0.01—0.06%、TNF- α は 0.02-0.1%と極めて微量であるが、培養液単独より有意に多くまた臍帯血リンパ球では認められなかった。H1N1、H3N2、Bそれぞれの抗原でも有意な差は認められなかった。また抗 CD18 抗体、抗 CD11b 抗体を添加することにより
(文献)

IFN γ 陽性細胞の増加が抑制されことより細胞内サイトカイン産生には LFA-1 のシグナルが関与していることが示唆された。本方法により末梢血中におけるインフルエンザウイルス特異的メモリー CD4 リンパ球の解析が可能である。今後インフルエンザワクチン接種後の動態、自然感染後の変化について検討し、インフルエンザウイルス感染における病態の解析に有用であるかを検討する予定である。

- 1) Waldrop SL et al. Determination of antigen-specific memory/effector CD4+ T cell frequencies by flowcytometry. J.Clin. Invest.99,1739-1750,1997.
- 2) Pitcher JC et al. HIV-specific CD4+ T cells are detectable in most individuals with acute HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression, Nature Medicine ,5,518-525,1999.

厚生科学研究費補助金(インフルエンザ研究事業)
分担研究報告書

乳幼児のインフルエンザ初感染および HA ワクチン接種時における特異的並びに非特異的免疫の動態に関する研究

分担研究者 熊谷 卓司 医療法人社団恒仁会くまがい小児科理事長

研究要旨 インフルエンザワクチン接種を若年幼児および乳児の感染予防あるいは症状軽減の目的で積極的に進めるに当たって、ワクチンが誘導する免疫の性質、特に初感染における免疫を検討することは不可欠の要件である。しかしながら多くの自然感染、ワクチン接種後の免疫についての研究は成人において行われ、従って初感染免疫について正確な情報を提供しているとは言い難い。今般、本研究を始めるに当たって研究の諸条件について、少数例の自然感染インフルエンザ症例において予備的検討を行い、使用する抗原、検体採取条件等についての予備的実験成績を得たので報告する。

A. 研究目的

予防接種をある集団に大規模に行う際には、野外試験による疫学的な vaccine efficacy の検討に加えて、そのワクチンがどのような免疫を生体に付与するかという研究が不可欠である。すなわち、予防接種の有効性を論ずる際には疫学的検討と実験室的検討が車の両輪のような関係で機能する必要がある。ワクチンが付与する免疫の性質について検討を行うには、まず自然感染の経過中の innate および adaptive (antigen specific) immunity の詳細な検討が行われていなければならない。つぎにワクチン接種後に得られる免疫について検討し、自然感染に比して何が同等で、何が不完全あるいは異なっているかを比較することが必要である。

インフルエンザについて概括してみると、その社会に与える影響の大きさから古くから精力的な研究が行われてきたことが伺われる。殊に液性免疫については多くの研究がなされ、自然感染の 80% の症例で抗体価が上昇すること¹⁾、symptomatic なインフルエンザの発症月例と移行抗体価との間には相関があることは古くから知られている²⁾。さらに最近、IgA 抗体が細胞内でウイルスの増殖を抑制していることも明らかになった³⁻⁵⁾。しかし全く homo-logous なインフルエンザ A ウイルスにも再感染することは、単回の感染によって獲得される免疫は"不完全"である事を示している。この不完全免疫が得られる原因として、一回目の感染の後徐々に

抗体産生細胞が減少することが考えられている。新しい subtype に感染した後、抗体は新しい epitope にしか反応しないと言う事実はこの感染症への対策の難しさを示している。

インフルエンザウイルス特異的細胞性免疫に関しては、古くからリンパ球増殖反応が用いられ特異的リンパ球の活性は感染後 3-5 日の間に上昇を始め、day 28 で baseline に戻ると言う観察がなされた⁶⁾。その後開発された ⁵¹Cr release assay よる class I restricted cytotoxic T cell の動態の検索結果から、急性期と回復早期ではリンパ球の blast 化および皮内テストが抑制されるにも拘わらずインフルエンザ特異的細胞性免疫が成立することが報告された^{7,8)}。これらリンパ球増殖反応、class I restricted cytotoxicity では subtype 間の cross reactivity が見られる⁹⁾。hypogammaglobulinemia の患者が pandemic influenza を正常に経過したという観察¹⁰⁾、B lymphocyte deficient mice でも influenza lethal dose から回復すること¹¹⁾、中和抗体のない人が CTL によって Protect されたという例があることなどから¹²⁾、細胞性免疫の重要性が推測されている。最近では、老人のインフルエンザ感染並びにワクチン接種後の CTL の動態が注目されている¹³⁻¹⁷⁾。Innate immunity の中心的な存在として、NK 細胞のインフルエンザとの関わりについても多くの報告が見られる¹⁸⁻²¹⁾。

このように多くの研究成績が発表されているが、

その大部分は健康成人ないし老人を対象としたものであり、従ってインフルエンザの自然感染の既往があることが考えられ、得られた結果は種々のレベルの booster infection の結果を見ているものと考えざるを得ない。初感染インフルエンザについての研究報告は驚くほど少ない²⁾。これは乳幼児からの血液を含む検体の sampling の回数および量に厳しい限界があることの反映であろう。しかしながら今後、乳幼児にインフルエンザワクチンを積極的に進めて行くに当たって、初感染時の virus host relationship についての研究は急務である。ワクチンによって免疫学的な priming を行うことについても laboratory based の研究が必要であることは論を待たない。さらに最近問題になっているインフルエンザ脳炎・脳症の発症はこの年齢層に集中しており、発症病理についての情報は乏しい。その観点からも初感染インフルエンザとそれに対する免疫応答に関する情報が待たれている。そこで著者はインフルエンザ特異的および非特異的細胞性免疫について検討する基礎的条件設定を行う目的で少数例での検索を行った。さらに必要血液検体量を抑制することの可能性についても検討を行った。その結果を報告し、さらに今回検討出来なかったいくつかの方法について、主として検体必要量と感度の面から考察を加え検討したい。

B. 研究方法

(1) 研究対象

インフルエンザ自然感染およびワクチン接種後に獲得される免疫の性質を検討するための基礎的実験条件を設定する目的で、Directigen FLU-A によって A 型インフルエンザの自然感染が確認された小児 12 例を対象とした。インフルエンザ感染急性期から経時的に 4 回ないし 5 回の採血を試みた。患者の保護者から informed consent を得た。対象患児の臨床的事項を表 1 に示す。症例 1, 2 および 12 は病歴から初感染と思われた例で、その他の症例は冬季に何回かの発熱の既往があった。症例 3 は今期のインフルエンザワクチン接種を受け、その後に罹患した例である。症例 4, 5, 6, 7 は年齢、各冬季シーズン中の発熱の病歴からいずれもインフルエンザ感染歴があると推定される症例である。以上合計 7 症例は経時的に 4 回ないし 5 回の検体採取が可能であった例である。症例 8 から 12 は単回の検体採取のみ可能であったが、発症からの経過日数が

様々であり、今回の検討に加えた。

(2) ウイルス抗原

使用したウイルス抗原は大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課奥野良信博士より分与を受けた、A/北京/262/95(H1N1), A/シドニー/5/97(H3N2) の精製ウイルスを用いた。この抗原は高度に精製濃縮され PBS に浮遊させたウイルス粒子で、それぞれの抗原力価は HA 価で各々 10000, 50000, 25600 であった。各々の抗原には 1ml 当たり数十 μ g の HA 抗原が含まれていると推定される。

(3) 血清抗体価測定

赤血球凝集抑制反応(HI)を用いた。抗体価測定は大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課に依頼した。

(4) インフルエンザウイルス特異的末梢血リンパ球増殖反応(lymphocyte proliferation test: LPT)

ヘパリン加末梢血を採取し、Ficoll-Hypaque に重層して密度勾配遠心法により単核球を分離し PBS にて 3 回洗浄した。10%自家血漿加 RPMI1640 培養液に浮遊させ、細胞数を 1×10^6 /ml に調製した末梢血単核球浮遊液を U 型 microplate に各 well 200 μ l ずつ分注した。さらに、種々の濃度に希釈したウイルス抗原および対照としての PBS を 20 μ l ずつ各希釈について 3 well に添加し、37°C の炭酸ガス培養器で 5 日間培養した。培養終了の 24 時間前に 3 H-thymidine 0.2 μ Ci を各 well に添加した。Cell harvester を用いて得られた単核球付着 glass fiber filter の radioactivity を液体シンチレーションカウンターでカウントし、ウイルス抗原添加、対照抗原添加培養の uptake ratio すなわち stimulation index(SI) を算定した。今回多数の陰性対照群について検討することが出来なかったため、多くの先行文献から $SI \geq 3.0$ を陽性とした。

さらに今研究の対象が乳幼児であることに鑑み、全血から単核球を分離せず、従って必要採血量が極めて少量(1 検体当たり 0.5ml 前後)で済む微量全血培養法(Whole blood microculture assay)を採用することの可否について検討した。ヘパリン加末梢血を血清を加えない RPMI1640 培養液で 10 倍希釈し、この希釈液を前述した全血から分離した末梢血単核球と同様に培養、処理し同一検体について一部比較検討した。

表1 対象症例

症例番号	年齢・性	臨床症状	発症月日	検体採取日	発症後経過日数	H1N1北京	H1N1東大阪56	H3N2Sydney	H3N2堺-40	B山東
1	1y11m M	発熱持続6日間. 最高体温40℃. 咳, 鼻汁, 下痢.	2000.2.27	2000.2.28	1	<10	<10	20	20	<10
				2000.2.21	4	<10	<10	40	20	<10
				2000.2.25	8	<10	<10	40	20	<10
				2000.3.3	15	40	20	40	20	<10
				2000.3.17	29	40	20	20	20	<10
2	11m M	発熱持続2日間. 最高体温39.3℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.29	2000.3.1	1	<10	<10	10	<10	<10
				2000.3.6	6	<10	<10	10	<10	<10
				2000.3.13	13	40	20	<10	<10	<10
				2000.3.27	27	40	20	10	<10	<10
3	3y3m M	発熱持続4日間. 最高体温39℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.19	2000.2.19	0	40	<10	20	10	20
				2000.2.25	6	160	20	20	10	20
				2000.3.3	13	640	160	40	10	10
				2000.3.17	27	640	160	20	10	10
4	2y11m M	発熱持続4日間. 最高体温39℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.18	2000.2.19	1	<10	<10	80	80	<10
				2000.2.21	3	<10	<10	160	160	<10
				2000.2.26	8	<10	<10	80	80	<10
				2000.3.3	14	10	<10	80	80	<10
				2000.3.17	28	20	10	160	160	<10
5	7y M	発熱持続2日. 最高体温39℃. 鼻汁.	2000.2.20	2000.2.21	1	<10	<10	40	80	<10
				2000.2.28	8	<10	<10	40	80	<10
				2000.3.6	15	40	20	80	80	<10
				2000.3.23	32	40	20	<10	<10	<10
6	7y1m F	発熱持続1日間. 最高体温39.1℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.25	2000.2.25	0	<10	<10	640	640	<10
				2000.3.2	6	<10	<10	640	640	<10
				2000.3.9	13	<10	<10	640	320	<10
				2000.3.23	27	20	10	640	640	<10
7	4y6m F	発熱持続4日間. 最高体温39.4℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.27	2000.2.28	1	<10	<10	40	80	<10
				2000.3.6	10	<10	<10	40	40	<10
				2000.3.13	17	10	<10	80	80	<10
				2000.3.27	27	10	<10	80	40	<10
8	5y5m F	発熱持続7日間. 最高体温40.5℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.12	200.2.19	7	<10	<10	10	<10	<10
9	6y1m M	発熱持続7日間. 最高体温40℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.12	2000.2.19	7	<10	<10	40	80	<10
10	11y5m M	発熱持続3日間. 最高体温40℃. 咳, 鼻汁, 嘔吐.	2000.2.20	2000.2.21	1	<10	<10	80	160	10
11	7y6m M	発熱持続5日間. 最高体温38.7℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.19	2000.2.24	5	40	20	160	160	<10
12	7m F	発熱持続4日間. 最高体温39.6℃. 咳, 鼻汁.	2000.2.27	2000.2.29	2	<10	<10	10	<10	<10

(5) Natural killer (NK)細胞活性測定

自然免疫(innate immunity)の代表としてNK細胞活性を測定するための基礎的条件を検討する目的で以下の実験を行った. 10% fetal calf serum (FCS)加 RPMI 1640 で培養維持したヒトNK細胞感受性の erythroleukemia cell line, K562 cell を target cell として用いた. $2\sim5\times 10^5$ cells/ml の増殖期の K562 cell を遠心後, その pellet に $75\mu\text{Ci } ^{51}\text{Cr-Na chromate}/10^6$ cells を添加し培養液を追加して $100\mu\text{l}$ の細胞浮遊液として 37°C , 1 時間振盪を加えて incubate した. RPMI 1640 で 3 回洗浄し 10% FCS

加 RPMI 1640 に 5×10^4 または $2\times 10^5/\text{ml}$ に浮遊調製した.

Effector cell は末梢血単核球を前述のように分離し, 10% FCS 加 RPMI 1640 に浮遊し 96 穴 U 型 microplate に effector : target (E/T)比が 100:1, 50:1, 25:1, 12.5:1, 6.25:1 になるように細胞濃度を調整し triplicate で $100\mu\text{l}/\text{well}$ 分注した. $5\times 10^4/\text{ml}$ の target cell を $100\mu\text{l}/\text{well}$ 添加した. 自然 ^{51}Cr 遊離用, 最大 ^{51}Cr 遊離用の well では effector cell のかわりに培養液, 5% Triton X-100 をそれぞれ添加した. 37°C の炭酸ガス培養器で 4 時間

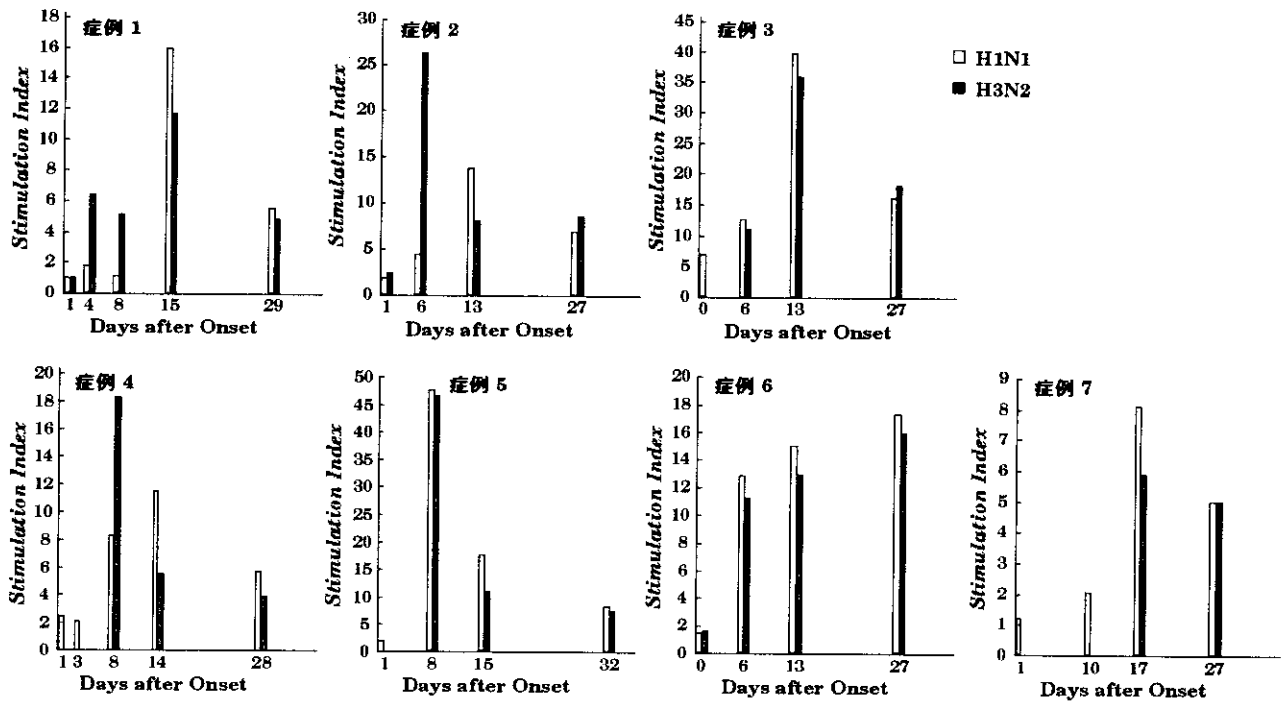


Fig. 1. Lymphoproliferative response directed against H1N1 and H3N2 antigen, expressed as the stimulation index, in patients with influenza with various history.

incubate 後各 well の上清 100 μ l を回収し, scintillator 1ml を加え液体シンチレーションカウンターで radioactivity を測定した. Triplicate の平均 cpm を算出し, 以下のように% lysis を計算した.

% lysis = [実験 ^{51}Cr 遊離(cpm) - 自然 ^{51}Cr 遊離(cpm)] \times 100 / [最大 ^{51}Cr 遊離(cpm) - 自然 ^{51}Cr 遊離(cpm)]

さらに最近 NK 細胞活性の測定にも 18 時間 incubation によるヘパリン加全血培養法が開発され, 極めて少量の末梢血(1 検体当たり 0.6ml)による測定が可能となった²³⁾. 前述したごとく対象が乳幼児である場合の NK 細胞活性の検討をする際に極めて魅力的な方法であるため, 一部の検体について同法による測定を試み, 同一検体での分離末梢血単核球を用いた 4 時間 incubation 法(standard assay)による結果と比較した. ヘパリン加末梢血を RPMI 1640 で 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 に希釈し, triplicate で 100 μ l/well 分注した. 各 well に 10% FCS 加 RPMI 1640 を添加し, さらに 2×10^5 /ml の target cell を 50 μ l/well 分注した. 自然 ^{51}Cr 遊離用, 最大 ^{51}Cr 遊離用の well では effector cell のかわりに培養液, 5% Triton X-100 をそれぞれ添加した. 同様の assay 系を 2 セット作成し, 37°C

の炭酸ガス培養器で 4 時間および 18 時間 incubate 後各 well の上清 100 μ l を回収した. 前述のように% lysis を算出した.

C. 研究結果

(1) 血清抗体価測定

測定した HI 抗体価を表 1 に示す. A/東大阪/56/2000(H1N1)および A/堺/40/2000(H3N2)は今シーズン大阪で分離されたウイルス株である. 抗体価の推移から症例 1~6 は A ソ連に罹患したことが推測されるが, 症例 7 は抗体価の上昇が低くどちらに罹患したか判然としない. 症例 8 から 12 は単回の検体採取しかできなかったため血清学的診断は不明である. B 型に対する抗体価上昇例はなかった. 症例 1 は過去に冬期間の発熱の既往が無く初感染と考えていたが, 発症後 1 日の時点ですでに H3N2 に対する抗体が検出され, 年齢から考えて移行抗体とは思われないのでいずれかの時点で極めて臨床症状の少ないインフルエンザに罹患していたものと思われる. 注目すべきは症例 3 でインフルエンザワクチン 2 回接種終了 9 週後に発症した例で臨床経過は通常インフルエンザであった. この症例の day0 (発症当日)の抗体価はワクチン株の A/北京/(H1N1)に対して 40 倍と上昇していたが, 今シーズン分離株である A/東大阪/56/2000(H1N1)に対しては $<10 \times$ と陰性であり, 3 管程度のずれが

あり、抗原 drift の反映と思われた。他の症例では 2 管から 4 管の抗体価上昇を認めた。

(2) インフルエンザウイルス特異的末梢血リンパ球増殖反応(lymphocyte proliferation test: LPT)

まず抗原の至適濃度について検討した。文献上、至適抗原濃度は 0.05-0.4 μg HA/ml であることは分かっているが、日本のインフルエンザウイルスの力価表示が諸外国と異なっているため、当初分与された抗原を 10 \times , 100 \times , 1000 \times , 10000 \times に希釈して dose response study を行った。次にさらに絞り込むため 4 \times , 16 \times , 64 \times , 256 \times , 1024 \times の希釈列で dose response study を行った。各抗原ウイルスの力価が異なっていたが、至適抗原濃度が分からない状態から実験を始めたため、一番薄い抗原濃度まで希釈することがためらわれ、今回の予備実験では HA 価で抗原濃度を調整することなく直接原液から上記の希釈列を作成した。発症 2 週目の検体を用いて検討をしたところ、16 \times , 64 \times , 256 \times の希釈列で peak 値を得た(data not shown)。以後の実験はこの希釈の抗原を用いて行った。

次に各症例のインフルエンザウイルス特異的 LPT の経時的推移を Fig. 1 に示す。A/北京/262/95(H1N1)および A/シドニー/5/97(H3N2) の両抗原に対する反応性を測定したが、一部の症例においては回収された末梢血単核球の量が不足したため前者に対する反応のみの結果しか得られなかった。しかしながら subtype 間で cross reactivity があることは良く知られているので、経時的推移の大まかな傾向は十分把握可能と思われる。そこで症例 2 の初感染症例の経緯についてみると、発症後各々 6 日にはすでに LPT が陽性化しており、ピーク値は 6 日に出現していた。前述のごとくワクチン接種を受けていて発病した症例 3 において、発熱出現当日から LPT が陽性であったことが注目されるが、臨床経過にどのような影響があったかは判然としない。症例 8, 9, 11 はそれぞれ発病後 7 日, 7 日, 5 日後に採血をしたが、LPT 活性は A/北京/262/95(H1N1)抗原, A/シドニー/5/97 (H3N2) 抗原に対してそれぞれ症例 8, 38.74, 76.3, 症例 9, 20.32, 40.48, 症例 11, 5.29 (後者抗原に対しては測定できず)と高値を示した。

これらの成績から LPT 活性は発病後 5 日ないし 8 日で陽性となり、ピーク値は第 2 週までには出現

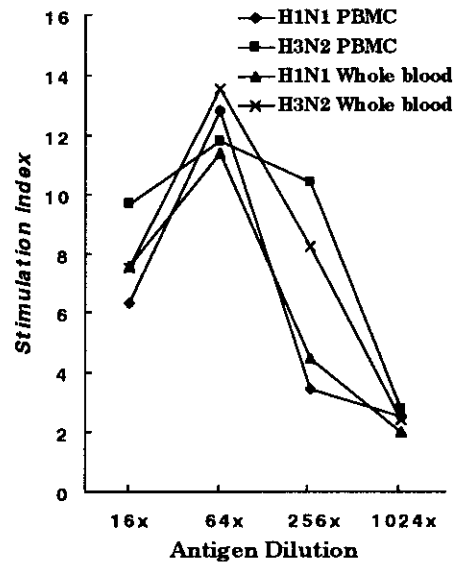


Fig. 2. Lymphoproliferative responses directed against various concentrations of H1N1 and H3N2 antigen employing PBMC and whole blood microculture assay.

するものと思われた。初感染における特異的免疫については症例を増やし、さらに臨床経過との対比も必要になると思われた。症例 6 においては LPT 活性はやや趣の異なる time kinetics を示し、発症後 27 日でもさらに LPT 活性が上昇する傾向を示したが原因は不明である。なお、両抗原に対する time kinetics が一部異なっていたが、その理由については不明である。また今までの研究で subtype 間では cross reactivity があるものの、homologous な抗原に対してより強い反応の出現が観察されてき

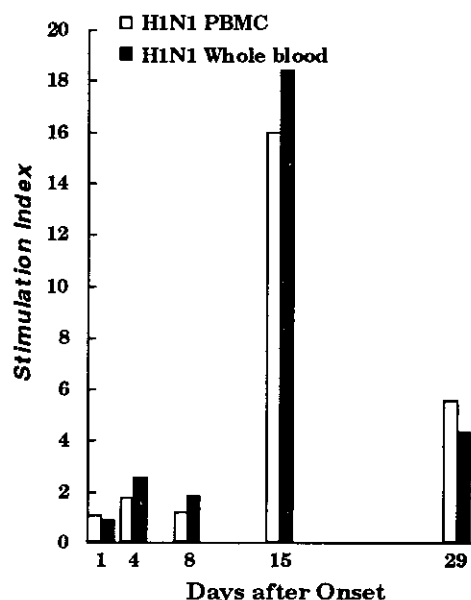


Fig. 3. Lymphoproliferative response directed against H1N1 antigen detected by PBMC and whole blood microculture assay in time kinetics experiment.

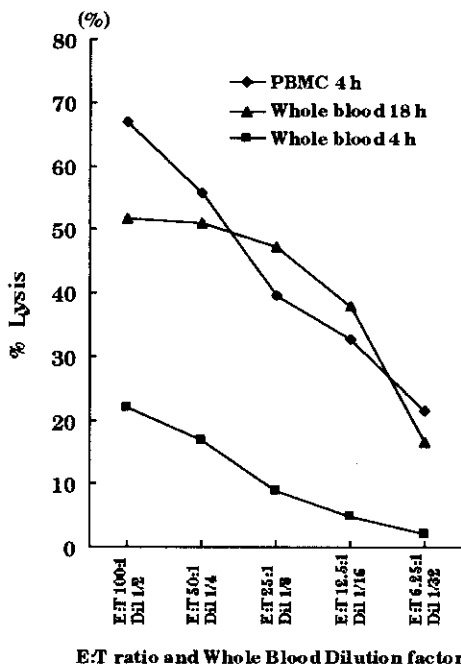


Fig. 4. NK mediated lysis curves obtained from co-cultures of K562 cells with either PBMC for 4 h, whole blood for 4 h or whole blood for 18 h in representative experiment.

たが、今回の検討では A/ソ連(H1N1)の感染であったにもかかわらず A/シドニー/5/97(H3N2)に対してより高い SI 値を示した症例が見られた。

次に微量全血培養法(Whole blood microculture assay)について検討した結果を Fig. 2, 3 に示す。全血から分離した末梢血単核球で行った反応よりも場合によっては高い SI が得られ、この方法がインフルエンザの系でも使用できることが明らかとなった。

(3) Natural killer (NK)細胞活性測定

NK 細胞活性については全血培養による assay 系確立が遅れ、今シーズンのインフルエンザの流行には間に合わず経時的な検索をする事が出来なかった。しかしながら、Bromelow らによって開発された whole blood natural killer cell assay が著者の研究室で稼働することを確認するために行った実験では、乳幼児について NK 細胞活性を測定する系として良好な結果が得られた。症例 2 の day27 に採取した検体を用いて行った実験結果を代表的な検討例として Fig. 4 に示す。分離した末梢血単核球を 4 時間 incubate した後の % lysis は E:T 比が 100:1 で 66.8%を示した。一方、全血培養法の希釈 1/2 で 4 時間 incubate した後の % lysis は 21.9%であったが、18 時間 incubate した後の結果は 51.7%であった。全血法 4 時間 incubation では明らかに

活性が低く十分な window 幅(dynamic range)がとれず定量性と感度に欠けることが示された。incubate する時間を 18 時間に延長することによってその活性は standard assay で得られた値に近くなり、十分な window 幅がとれることが確認された。

D. 考察

インフルエンザはその流行の規模の大きさから社会に与える大きな影響があるが、それに対する一義的な予防手段がインフルエンザワクチン接種であることは広く受け入れられている²⁴⁾。従来健康成人においては自然感染インフルエンザ、ワクチンに関して、ボランティアによる感染実験を含む多くの研究がなされてきた^{6& 25)}。最近になって高齢者におけるデータの発表も多く見られる^{13,17)}。我が国においても高齢者のインフルエンザにおける死亡率の高さから社会的な関心の高まりとともに、研究成果の報告も見られるようになった²⁶⁾。一方、従来の小児に対する感染予防の方法としては学童に対する集団接種が中心であり、乳幼児を対象とした積極的なアプローチはなされなかった。近年、インフルエンザに伴う脳炎、脳症が初感染インフルエンザの年齢層に集中的に発生していることから、この年齢層でのワクチン接種が注目されつつある。しかしながら、初感染インフルエンザにおける virus-host relationship については極めて限られた情報が得られているにすぎない²³⁾。殊に急性期に複数回の採血を行い、経時的な免疫反応の動態を詳細に検討するというアプローチはなされていない。

自然感染インフルエンザ、インフルエンザワクチン接種後の経過における、特異的並びに非特異的免疫の動態について明らかにするためには多数例における検討が不可欠である。本研究はその為の予備研究として行ったが、ウイルス抗原でリンパ球を刺激する際の至適抗原濃度を明らかにすることが出来た。また、A/ソ連(H1N1)の感染であったにもかかわらず A/シドニー/5/97(H3N2)に対してより高い SI 値を示した症例が見られたが、これは抗原力価の差を反映していると思われ、今回の検討の際には HA 価をそろえる必要があることを示唆している。今回明らかとなったウイルス抗原濃度は、CTL 誘導の際の生ウイルスの濃度としてもそのまま応用がきくことが知られている²⁷⁾。さらにインフルエンザウイルス特異的細胞性免疫反応が急性期から回復期に