

〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕 HLAタイピングをはじめたころ (愛知県がんセンター時代)

赤座 達也

日本赤十字社中央血液センター，検査部

編集委員の徳永勝士先生から、この欄の執筆を電話で依頼された時に気安く引き受けてしまった。慌てて前の能勢、脇坂両先生のものを読み返してみて、さて私は何を書いたらいいのか、はたと困った。2度も職場を替わっているのに、昔の記録は手元になく、年のせいか記憶も薄れかけ、その上文才もない。締め切りをとくに過ぎているので、なにか書かなければとワープロに向かっているが、全体のことを見直す余裕はないので、最初の職場である、愛知県がんセンター時代のことについて書くことに決めたものの、学会誌の一部として掲載していただくのがもったいない内容しか書けないとは思いつつ書きなぐるので、以下、読まないことが上、読み飛ばして頂くのが中、著者に批評をいうのが下と承知してお読み下さい。

HLA を始めた頃

日本の HLA の歴史は30年になろうとしている。パイオニアの何人かの先生方が切り開き、それに続く人達と共に、欧米から10年以上の遅れているといわれていた、日本の HLA を欧米と肩を並べるところまで発展させてきた。そんな歴史の中で、私が HLA と初めて接したのは、1970年だったと思う。私は、1968年に地元名古屋の大学の理学部を出て、設立後、まもない、愛知県がんセンターの臨床検査部に就職した。当時検査部長であった、須知泰山先生が検査部に、少し毛色の変ったのが必要と考えられ、医療資格がないと洩る人事担当を説得して採用された。仕事はルーチン3割、研究(的な仕事)7割でよいとされ、細菌血清検査室に配属された。当時の検査部は、できたばかりで、寄り道をしてい

て26才で初めて働いた私より若い人、女性が多い職場で、須知先生の人柄もあって進取の気風のある雰囲気、経歴の違った私にも居心地がよかった。検査として担当したのは、当時、始まったばかりの免疫学的な検査で、イムグロブリンの定量、血清免疫電気泳動を手探りで始めた。一方研究的な仕事として、併設の研究所ウイルス部の、当時室長であった吉田孝人先生の下で、仕事をする事となった。当時、吉田先生は、補体やがんウイルス抗体などをテーマとして研究されており、免疫学的な検査法に詳しく、人脈も豊かで、いろいろなことを教えていただいた。HLA タイピングを始める前は、オーストラリア抗原、アルファフェトプロテインのオクタロニー法の検査など、吉田先生から教えていただいて、キット化される前に、検査部で応用したものも多くあった。吉田先生は当時、免疫は、がん免疫、自己免疫、移植免疫と総合的に研究する必要があると思われており、なんのきっかけは忘れたが、その一端として、HLA も取り上げることとなった。そのころ中学の同級生で皮膚科の医師であった池谷敏彦君が、吉田先生の研究室に補体の研究にきていた。吉田先生から池谷君とふたりで、HLA をテーマにといわれ、当時、慶応大学にみえた辻公美先生の研究室を訪れることとなった。ふたりとも妻が東京出身なのでよるこんでいった覚えがある。辻先生の研究室は地下室にあり、そこで HLA についてのお話を初めて伺った。辻先生は Amos の研究室で HLA を研究されて帰国されて間もない頃ではなかったかと思うのですが、Amos 法を丁寧に教えてくださった。Amos 法は現在ではほとんど使われていないが、反応液をスナッピングで捨てる操作があり、助手

の女性が辻先生のスナッピングでテクニックにはかなわないと言っていたことを覚えている。名古屋に帰っても抗血清がないので、当面検査できない状態であった。そのうちに池谷君は臨床にもどり、現在では愛知医科大学の教授になっている。須知先生との相談の結果、HLA タイピングは検査部でおこなうこととなり、NIHのマニュアルと血清のリストを吉田先生が持ってみえたので、相談しながら器具を揃えていった。抗血清は、日米会議を通じて吉田先生が入手されたものを使い、パネルは、職場の人達の協力を得るなど、徐々に体制を作っていた。その後吉田先生とは、国際ワークショップには「YOS」、日本ワークショップは「F」のコード名で共同で参加したり、「東海 HLA 研究会」や「東海地区 HLA ワークショップ」を開催したりした。吉田先生の直接部下となることはなかったが、公私共にお世話になり、現在までお付き合いいただいている。

腎臓移植と HLA

当時、がんセンター総長の今永一先生は、がんの治療は切ることばかりでなく、切った後の治療として臓器移植が必要と考えられていた。HLA タイピングを開始後、しばらくすると、米国で腎臓移植を研究されていた高木弘先生が、がんセンター病院の外科に着任された。がんセンターでも腎臓移植を研究的に行うこととなり、HLA タイピングは検査部でおこない、MLC 検査などをするため、臓器移植研究室がつくられた。高木先生は、自分で HLA の研究室を作るつもりで、最新の器具、情報をもって帰国された。器具のほとんどはゆずっていただいたが、情報も豊富で、その一つが、比重法によるリンパ球の分離法であった。原理は、赤血球を凝集させる働きのあるフィコールと、極めて比重の高い水溶液の血管造影剤のコンレイを混ぜて、浸透圧を生食水と同じにして、比重を1.077に調節し、血管細胞を比重差で分けるものである。それ以前は、デキストラン溶液を血液に混ぜ、赤血球に沈殿させ、白血球層に鉄粉を混ぜたり、ガラス球カラムを通過させたりして、多核白血球を取り除くものであった。比重法の検討をするため、放射線部からコンレイのテ

スト用の余ったアンプルをもらい、10mlのメスフラスコで比重の測定と、浸透圧を測ったりして条件を確認し、リンパ球の分離法として確立されていった。腎臓移植は血縁者間移植から開始されたので、血縁者の適合ドナーをみつけるため、患者家族の HLA の検査を担当した。HLA のスプリット抗原や、新抗原の確認の手段として、当時もっとも有力な方法であった、家系の HLA タイピングを数多くできたことは、HLA を理解するうえで私には大変役にたった。家族には様々なドラマがあることも知り、父親由来で説明できない HLA 抗原が、子供に出現する例が1%前後みられたが、母親由来で説明できない抗原はなかった。今だに疑問を持ちつづけている家系は、5人兄弟でまん中の子だけがB51で、他の父親由来のB52を持っていた。当時B51とB52に分けることができてまもないことではあったが、あきらかに反応は他の兄弟と異なっていた。当時の HLA タイピングでは、それ以上に調べようがないので、主治医から母親に密かに聞いてもらったところ、即座に「わたしはそんな不始末をしたことはない」と即座に否定された。赤血球抗原を調べるため保存しておいたが、もうがんセンターには残っていないであろう。MLC 検査については、奈良県立医科大学から来ていた研修医の森本先生と加村さんが担当して、移植成績や、HLA との関係をこつこつと研究し、ワークショップにも参加していた。森本先生は外科医としてがんセンターに残り、加村さんは、名古屋第二赤十字病院の組織適合検査に移動された。

Terasaki 研究室

HLA を本格的に勉強するには一度、米国へ行って習った方がよいと吉田先生から強く勧められていた。私の英語が苦手なことは人並みではない。中学一年で、「フラワー」の発音でつまずいて以来の筋金入りの英語嫌いで、高校一年の時に結核で一年休学したあとに復学したころは、英語はまったく読めない状態であったし、浪人したのも英語の成績だけのためと固く信じている。そんな私なので海外に行く気はまったくなく、最初に Dr.Amos のところに行かないかといわれたのは、簡単に断ってしまった。

しかし HLA がおもしろくなるにつれ、自分では解決できない疑問もでき、進んだ研究室を見たいと思うようになった。結局、2回目の Dr.Terasaki の研究室へ行く話は断りきれず、1975年の11月に家族4人で行くこととなった。当時 Terasaki の研究室には日本から二人の外科医、千葉大学の木内政寛先生と、大阪大学の松山正経先生が来ておられた。松山先生は帰国後も大阪大学で HLA の研究をされていたが、現在は奈良で開業されている。木内先生は帰国後、法医学に移られ、教授となられている。たった5カ月の滞在ではあったが、お二人に大変お世話になり、家族ともども楽しく、有意義に過ごせた。Terasaki 研究室をみて、検体数の多さ、職員の多さ、分業化のシステム、マニュアルの整備、コンピュータ管理システムなど学ぶことが多かった。規模の違いは圧倒される程で、当時名古屋でも妊産婦血清を集めはじめていたが、年間1,000本程度で、Terasaki に抗血清の収集について聞かれ、正直に答えたところ、なんとも言えない顔をされてしまった。出発前に吉田先生と相談して、我々の日本人のパネルを Terasaki 研究室で同定してもらおうと計画し、私の到着後、日本から分離したリンパ球を送ってもらったが、血小板が完全に取り除いてなかったため、保存液が酸化して黄色くなっており、殆ど死に絶えていて残念ながらタイプできなかった。手弁当で行っているのもノルマもなく、自由にさせてもらって過ごした。滞在の後半は、コンピュータで整理された宝の山と感じる程の大量のデータを使わせてもらい、解析する方法を学ぶことにした。当時のコンピュータは大学本部にある大型機の端末を使っているため、経費の計算が厳密で、使用時間数と支払い費用付きで、データが出力されるようになっていた。新たに並び替えたデータを出力するときは、Terasaki の許可がなければ、出してくれなかった。データをアパートに持って帰り、色鉛筆で塗り分けて整理していると、子供が自分もしたいといっていたのも懐かしい思い出である。帰る頃になって B40 関連のデータで、ブランクを持つパネルと、反応している血清があり、日本でも当時 B40 のスプリットの可能性を考えていたので、Terasaki に報告したところ、おもしろいからもう少し残って調べてみない

かといわれたが、子供の入学のこともあって帰国した。日本で疑問におもっていた、HLA の検査としての信頼性の確認、データの管理など、基本的に同じ状況であることがわかり、HLA の検査を続けていくうえでの自信となり、Terasaki の好意にあらためて感謝している。

HLA タイピング

HLA タイピングを本格的に始めると、東海地方では唯一の検査施設であったため、いろいろなところから検査依頼があった。当時の検査部の技師は25名ほどいたが、細菌血清検査室は、私と、細菌検査を担当していた中村多美夫君のふたりだけであった。当時、細菌検査室では、血液寒天培地を作っており、そのために兎を飼っていた。HLA 検査には、補体が必要であるが、当初ヒトやラットの補体も使っていたが、兎が一番良いとなってきた。中村君は兎の耳や心臓から採血する名人で、何羽もの兎から採血し、補体価を調べて、5羽に1羽ぐらいいた、補体インヒビターの高いものを除いてプールしていたので、補体については、質量共に心配したことがなかった。また、中村君には臨床検査や、検査部のことについていろいろ教えて頂いたが、不運にも海水浴中の事故で7年ほど前に亡くなられた。HLA タイピングや抗血清の収集を本格的に行おうとしても、人手は足りないが、増員するわけにはいかなかった。須知先生の許可をもらって、アルバイトを雇うことにした。大学の先輩で椋山女子大学の中島馨子教授の紹介で、何人かに来てもらった。アルバイトと二人三脚で、家族調査、依頼検体、ワークショップなどの HLA タイピングをこなしていった。HLA の検査結果をほとんど独りで判定したので、データは安定しており、ワークショップで一定の評価をされたのではないかと思う。アルバイトの女性は、安い賃金で皆さんよくやっていただいた。疾患との関連の仕事では、琵琶湖の大島の集団調査に加わったり、五島列島の疫学調査に参加したが、当時の HLA タイピングレベルでは充分解析できず、HLA のデータとしてまとめることなく終わってしまった。抗血清の収集は Terasaki の研究室に行く1年ほど前から始めた。高木先生の紹介で、名古屋で

一番出産数の多い、名古屋第一赤十字の産科センターが協力してくれることになった。自宅からがんセンターとは反対の方向であったが、車で通勤していたので気にならず、週2回回収に立ち寄ることが、がんセンターをやめるまで続いた。出産血からの血清分離法も手探りで、コストと手間をかけないことをモットーに集め、保存もハルンカップにふたをしないで重ねて省スペースを心掛けた。須知先生は、常々、サンプルを保存することの重要性、特にがんセンターのような病院は貴重なサンプルが集まるので大切であると、説いてみえた。そのため、血清検査の残りの検体をすべて保存するための、フリーザーは確保されていたので、その一部を利用させてもらった。不思議なもので、集めだして1月近く、60本目まではまったく陽性血清がなく、なにか間違っているかと不安になったが、61本目からは普通の陽性率で次々と陽性血清がみつかり、最初は抗A2血清でもうれしかった。その後、運もあって、A26.1やB40関連の新抗原などの発見に至る血清や、B52, DR 5などの貴重な血清を確保することができた。抗血清は番号をつけようと、吉田先生の案でAYシリーズとすることとした。70年後半から、Bリンパ球が分離できるようになり、HLA クラス(II)の検査が始まった。抗血清の同定も大変であったが、Bリンパ球の分離にも悩まされた。Bリンパ球の純度をみるのは、羊血球でロゼットを形成させて、Tリンパ球を数える方法が使われていたが、羊血球が古かたりすると反応が悪くなり、正確な割合を出せなくなる。血液検査室に小池孝一君がいてT, Bの割合を正確にだして、リンパ腫の分類をするために、Bリンパ球とイースト菌でロゼットを形成させる方法を確立した。羊血球とイースト菌を用いればBリンパ球の純度が正確にわかるようになり、クラス(II)のタイピングのためのBリンパ球分離の改良に役立たせてもらった。

もうひとつ、がんセンター時代に始めだして、今の仕事にまで結ぶついているのが、コンピューターである。研究所の疫学部には日立製の中型コンピューター、Hitac 2000といったかと思う、があり、疫学部の黒石さんと小川さんに教えていただいた。当時の入力は、パンチカードを使っており、国際ワー

クショップのデータも自分でパンチして送っていた。また、コンピューターの必要性が広がり始めたころで、センター内で「FORTRAN」の講習会があったり、「BASIC」で100行ほどのプログラムをできるシャープのポケコン(10万円!)を、やりくりして買い、 χ 二乗の計算をする簡単なプログラムをつくったりしていた。そんな状況の中で、プログラム作りの基礎となる、「FOR……NEXT」と「IF……THEN」を覚えたことが、日赤に移動してから作ったプログラムの基となった。またこの頃、千葉大学の宮島先生から、血清の特異性を解析する「FORTRAN」のプログラムをいただき、自分でパンチカードに入力して試行錯誤でテストするうちに、プログラムの構造と考え方を学ぶことができた。宮島先生は、非常に馬力のあった方で、日本ワークショップの強力な推進者であったが、その後HLAの世界から去っていかれたことは残念であるし、日本のHLA学会にとっても損失であったと思う。もう一つコンピューターの重要性を気付かせてもらったのが、北大の板倉先生である。国際ワークショップの日本の打ち合わせのときに、日本のデータにミスが多いことに業を煮やして、「コンピューターがしっかりできない施設は参加すべきでない」と発言され、これはしっかりせねばと発憤したものだ。その板倉先生も亡くなられて久しい。東海地方では最初のHLAタイピング施設なので、多くの施設から検体の依頼もあったが、習いにくる人もあり、多くの人と知り会えた。その中で、今でも関りのある方のひとりが、名古屋大学の第一内科の森島先生で、骨髄移植や白血病の患者のHLAタイピングのため私達の検査室にしばしば訪れてみえた。その後、森島先生は名古屋骨髄移植グループのリーダーとして、東海骨髄バンクや日本骨髄バンクの設立に深く関り、中央血液センターにある中央骨髄データセンターとして一緒に仕事をさせていただいている。森島先生は昨年、部長となって、愛知県がんセンターに赴任されて、診療に当たってみえる。愛知県赤十字血液センターからは、最初に検査課長をしていた、長谷川先生が、続いて、卒業したばかりの倉知透(旧姓:白木)さんが、習いにきた。白木さんはTS1(B75)の発見にまでいたるほど、HLAの世界に

のめりこんでいったが、残念ながら今は別の仕事をされている。このお二人の仲立ちで、赤十字血液センターの「白血球抗原研究班」と関係するようになり、「HLA ばかの会」と呼ばれる赤十字センターのグループの人達とも付き合いだし、ミイラ取りがミイラになって、今までどっぴりと赤十字血液センターの HLA の世界に埋没している。

最後に

がんセンターではその後、今永総長が引退され、吉田先生が浜松医科大学の、高木先生が名古屋大学の教授としてそれぞれ赴任された。1981年に名古屋第二赤十字病院に、腎臓移植センターが作られ、組織適合検査センターも併設された。センターの設立を推進していた高木先生から、HLA 専任で仕事をしないかと誘われ、1年待つて1982年の3月に14年間お世話になったがんセンターを退職した。HLA タイピングを、がんセンターで集めた抗血清も含めて、移動することになるにもかかわらず、須知先生は快く認めてくださった。最初から最後までお世話になりっぱなしであったとつくづく思う。

こうして振り返ってみると、がんセンターで私の現在の方向付けのほとんどをしてきたことを改めて感じた。私がかんセンターにいた時期は、場所にも、人にも恵まれ臨床検査が確立されていく時代の中、HLA の勃興期であり、新抗原の発見、疾患との関係、移植への応用など、携わっているだけで楽しい思いを沢山させていただいた。今から思えば簡単にできたはずのことや、もっとしっかりやっておけばよかったと思うことも多く、力不足で期待に添えなかったことも多くあった。今、愛知県がんセンターは、HLA タイピングにはまったく関係なくなっているが、東海地方のがん専門病院として、何度も改築され、ますます設備の充実した病院となって、本来の役目を果たしている。