

# 〔シリーズ：HLA 研究者の個人史〕 HLA と私

徳永 和夫

福岡県赤十字血液センター、品質管理部

## 1. はじめに

私は九大薬学部を卒業して1972年に福岡県赤十字血液センターに就職した。最初の4年間は技術部の製剤係に勤務した。その頃は現在のようにビニールバッグではなくガラス瓶で採血されていた。全て200mlでほとんど全血でしたが、遠心後、長針と短針のついた連結管及び減圧ポンプを使って血液を分離し、濃厚血小板も製造した。有効期限は6時間でした。1975年に針刺し事故でB型肝炎になり1976年に職場復帰後、血清細菌学課へ配置替えとなりHLAに出会いました。因みに福岡県のB型肝炎の労災認定は私が最初でした。

## 2. 日赤「抗白血球抗体」研究班

私と与えられたテーマは、血液センターらしく「輸血副作用と抗白血球抗体との関係」でした。日赤にはこのテーマを研究するための研究班があり、当時の基幹センター（北海道、中央、大阪、福岡）と京都センターがメンバーで、班長は当時中央センター所長の徳永栄一先生でした。私は班員の吉成所長の代理で研究班の会合に参加するようになった。

## 3. HLA 検査法の習得

さて、HLA 関連の書籍を読んでも比重遠沈法やマイクロシリッジ等が理解できないので、九大病院中央検査部に実習に行った。大河内先生自身は輸血後肝炎の追跡をされていましたが、若い女性の方が分娩血を濾過して凍結保存し、HLA 抗体のスクリーニングをされていました。私はその方から Amos の二段法（血清・補体の反応物をスナッピングにより捨てトリパンブルーで染色）を習った。この時以来大河内先生にはお世話になっています。仕事以外の話の時は優しいのですが、仕事の話になると目の

色、顔つきも変わってそれは厳しいもので、私はいつも冷汗をかいていました。



1978年 大河内先生の研究室で

## 4. 女性献血者の抗体スクリーニング

試薬を揃え検査法を練習し、1976年5月から女性献血者の血清を対象に抗体スクリーニングを実施し、リンパ球をブルーに染める血清を数%見つけた。この時はニコンの生物顕微鏡（倒立でも位相差でもない）でトレイを見ていた。5%エオシン液と10%ホルマリン液で染色固定するテラサキ法に変更後もこの顕微鏡で何十枚も検鏡していたので近視がひどくなった。その後倒立の位相差顕微鏡を購入してもらいリンパ球の明瞭な反応像に感激した。この頃テラサキトレイは今より高価でしたので、使用後はすぐ洗浄し洗剤に漬け良く洗って何度も使用していた。しかしホルマリン固定するとなかなか綺麗にならず再使用は困難でした。ところで女性献血者の中でも当然経産婦の方が良いので、献血の受付の段階で妊娠経験の有無について聞いてもらった。すぐ高校生のお母さんから「なぜ娘に妊娠の経験有りなどと言わせるのか」と抗議の電話があり聞くことはやめた。抗体陽性の血清があると直ぐに製剤に行き貴重全血や凍結血漿を研究用として頂いた。

## 5. 補体は自家製

ヘキスト社製の補体は高かったので、九大一外科（斉藤先生、豊田先生）、九大中検（佐藤先生）、福大二内科（内藤先生）で協力して家兎から補体を作製した。家兎の首にカニューレを刺し脱血する。赤かった兎の目がやがて白くなります。一度に20匹程度から採血して1~2ℓの新鮮血清を確保するが後で検定すると使用できないものもあった。

## 6. タイピングトレイの作製

抗体スクリーニングの結果得られた抗体陽性血清の特異性の同定をするためにはHLA抗原の分かったパネルが要り、それにはタイピングトレイが要る。当初は斉藤先生からテラサキラボのトレイを分けてもらい職員をタイプした。そしてNIHに血清を頼んだり、愛知県がんセンターの赤座先生、東大の十字先生、内藤先生等から抗血清を分与してもらいトレイを作った。間もなく九大中検、九大一外科、福大、血液センターで共通のトレイを補体作製と同様に共同で一回に数百枚作製した。今のように血清分注器は無かったので全て手作りでした。トレイはその当時提案されている抗原を可能な限りタイプできるように設計した。因みにその当時のトレイは60穴でしたので、2枚で120本の血清を用意した。まず4施設で利用可能な血清をリストアップし、次に不足の血清を他の施設に依頼した。この頃は400μℓのベックマンチューブに1, 2本いただけませんかという慎ましい頼み方で、それに皆抗血清が無いという悲劇を共通に理解していたのでほとんど断られたことはありませんでした。こういう意味でもHLAはマフィアでした。血清のマスターシートができると各施設に用意すべき血清のリストとチューブの本数を連絡し、用意すべき小道具・資材（各種マイクロシリンジ、オイル分注用のマイクロピペッターと注射器、ピアノ線、テラサキトレイ等）を確認した。トレイにトレイ番号をマジックで書き、広い机の上に並べ、一方で持参した血清をシートに合わせて並べた。ベックマンの小型遠心器で遠心して乳びや混濁が無いか見てあれば血清を綺麗にした。この為血清が不足するときはトレイの底を黒く塗った。血清を6本づつ縦に入れていき、一人

がマルチプルシリンジ（6本）にて血清を分注した。そのすぐ後から血清が入っていることを確認しながらマイクロピペッターもしくは注射器でミネラルオイルを血清が乾く前に分注していった。3組位でやった。広い場所と忍耐と体力が必要でした。出来たトレイを血清の分注レベルに応じてグレードに分け公平に真剣に分配し、ビニールに詰めドライアイスを入れて持ち帰った。夕方にまた集まってピヤガーデン等でねぎらいの会を持った。これが本当に楽しかった。このトレイ作りは結構長く続いた。新しい抗原や血清の評価に数ラボで協力してやるこの意味は大きかったが、抗原の数が増加し、各施設のトレイの使用量が増えるに従いお世話ができなくなり、10年後位にはやめた。

## 7. 定山溪温泉の熱情

HLAをはじめて間もなく札幌市郊外の定山溪温泉で文部省特定研究班の会合があった。どういう経緯で私が参加することになったか覚えていないが、ここでその当時のHLAに関わっていた研究者の一同に会うことが出来た。相沢先生、板倉先生、野本先生、辻先生、脇坂先生、十字先生……そして私が感じたものはHLAへの熱情でした。

## 8. 抗体の特異性の同定

献血者からの抗体陽性血清が集まったので抗体の特異性の同定をした。特異性（A2, A10, A11, B5, B35, B7, B22, B40）の高い血清があることが分かったので、松本市で1977年に開催された第25回日本輸血学会総会で発表した。これが私の初めての学会発表で同定、データ解析そしてスライド作製まで豊田先生に「おんぶにだっこ」でお世話になった。相関係数等も全て卓上計算器を使って一本一本計算した。この時発表が終わると会場から拍手があった。大河内先生が一般演題の私の発表に拍手してくれたのでした。正直感激しました。こんなことはこれ以後一度も経験がありません。

## 9. 第5回日本HLAワークショップ

同定の終わった血清を千葉大学の宮島先生がお世話していた第5回日本HLAワークショップ（WS）

に提出した。この時日本ではラボコードがアルファベット順で「A: 北大」から始まっていた。福岡センターは「U」でした。後には日本でも国際 WS のラボネームが使用されました。1977年に千葉大学に10数ヶ所のラボが集まって WS が開催され、一部屋で「ロ」の字型になって討論があった。数本の血清が標準血清となり嬉しかった。

#### 10. Homozygous Typing Cell

(HTC): DHO⇒Dw 12

HLA がホモと思われるセンター職員が二人いた。東京医科歯科大の笹月先生に送付したところ一人が HTC でした。その細胞の名前は TOK で抗原名は DHO と決められ、DP 抗原も東海大の能勢先生により提唱された新抗原 Cp 63 であった。後に ABC, DR, DQ, DP 全てホモであることが分かった。兼岡先生（現福大病院）が留学していたスタンフォード大学のエングルマン先生が、NIH の研究資金で HTC の持ち主をリンパ球採取のため呼んだ。400 ml 採血し遠心してバッフィコートを取って残りを返却するというのを4回繰り返した。凍結されたリンパ球の半分は NIH に送付された。因みに日本でも細胞がなくなると400ml 採血をしていた。しかし成分採血装置が血液センターに導入されてからは、リンパ球採取二時間位で  $3 \times 10^9$  の9乗個程度取れるようになり非常に楽になった。とにかくこの人のリンパ球は世界中で実験材料に使用されることになった。この人は日本人をカモと思っていたエングルマン先生にテニスで勝ってしまったために HLA と違って日本人では無いのではと疑われた。この人こそ私であり、つくづく他の人でなくて良かったと何度も思った。

#### 11. SN-2 (Bw 39. 2 ⇒ B 67),

CwTo 1 (Tok-1 ⇒ Cw 7)

面白くもない抗体スクリーニングは、集めた血清をトレイに分注し最初の10人位のリンパ球を反応させて検鏡するときに報われる。トレイの底を読みながら頭はこの血清の特異性をリンパ球の HLA 抗原から推測している。この時の楽しさは大変なものであった。自動判定の場合はこのワクワクする楽し

みがない。ところが SN-2 (B 67) のときはこれが無かった。つまりこの血清 (JR 50-290) は40人位のリンパ球と反応させても、全く細胞毒性を示さない。よくあるスクリーニングの時の間違いかと思っていた。その頃は50位のパネルを使用していたが、ある職員の細胞の時にのみはっきりと8で反応した。何かの間違いかなと思ったが、その職員の B ローカスはひとつしか無かったので密かに期待した。この血清の特異性は齊藤・内藤先生が提唱していた SN-2 で、この職員の家系調査をしたところ本人を含む兄弟4人とも SN-2 を持ち血液型も HLA 型も全く同じでした。そしてこの頃新しい C ローカスの抗原を規定する血清として考えていた JR 50-253 が、この SN-2 と連鎖して反応した。この抗原を CwTo 1 として第6回日本 HLAWS で報告した。BFU, Cw 4s, Bu (B 70), Bw 22 new 等も全て職員がいたおかげでした。

#### 12. 第1回アジアオセアニア HLAWS

東海大学の辻先生のお世話で1979年に箱根の小涌園ホテルで1st AOHWS が開催された。私はこのとき初めて Amos 先生などの肉声を聞いた。しかし意味不明であった。でも HLA の世界を近くに感じることができた。

#### 13. 第8回世界 HLAWS

テラサキ先生が主催の WS がロスアンゼルス有名なホテルで開催された。私は一人で行って空港からホテルまでタクシーに乗って通常の料金の倍はばられた。この WS で SN-2 公認のために JR 50-290 を提出したが、何とこの血清には黒人に特有な B 42 が含まれていたために SN-2 の存在が疑問視された。とにかく SN-2 は日本人に特有でかつ頻度が低い抗原なので B 42 に埋もれてしまいました。外国人パネルの必要性を前にも増して痛感した。

そして JR 50-253 の CwTo 1 ですが、私は1979年の第27回日本輸血学会総会で報告したのですが、同じ年に Dausset 先生の Dehay さんが CVE として報告していた。経緯は知りませんが同じと思われるふたつの抗原をまとめて報告するように依頼が

あり、テラサキラボから直径 30cm 程のテープが送られて来た。電算が分からない私は佐藤先生に相談しながら九大の電算機センターに行って解析した。この頃の言語は FORTRAN でした。最後には大河内先生の家に出発の前の夜にお邪魔して朝までお世話になり報告書を作製して家に帰ってすぐ出発しました。それなのに結局英語に自信がなくて笹月先生に報告をお願いしました。日本人では A 24-B 7, B 39, A 11-SN-2 等と、白人では典型的なハプロタイプの A 1-B 8, A 3-B 7 と連鎖していたのでほぼ間違いないと思っていた。そして Cw 7 と認定された。



1981年 シドニーの BASHIR 先生の家で

#### 14. 日赤の白血球抗原研究会

日赤の抗白血球抗体研究班は、1983年に白血球・血小板抗原研究会となって当センターの吉成所長が会長となった。研究会は全国70のセンターを対象にしたもので白血球や血小板抗原・抗体の検査を血液センターに定着させ、各血液センターがその地域のタイピングラボラトリーとして医療の一端をになうことができるようにすることを目的とした。そこで8つの協力センターがタイピングトレイを全国に配布したり、全センターが参加する第5回日赤 HLAWS を1984年に福岡で開催した。この WS には十字先生、赤座先生、森島先生（名大）、笹月先生（九大）など日赤以外の HLA 研究者に大変なご協力を頂いた。研究会にのめり込んだ HLA 担当者達は、「HLA 馬鹿」と命名され、事務局の私は若くして「馬鹿の会の会長」と言われた。研究会では精度管理のためにブロック単位でセルイクスチェンジ

を定期的実施したり、補体を検定して全国共通のものを使用した。この時は1ロット最低100ℓの補体が必要だったが、その確保のために（株）ペリタスに随分ご尽力いただいた。また、教育のために HLA 担当者が集まる研修会を開催した。若い人が HLA を担当したので、あっと言う間に HLA 検査は全国のセンターに定着したが、WS 等のために担当者の時間外が多くなり、かなりのセンターから苦情が殺到した。



1982年 テラサキ先生を囲んで

#### 15. HLA 適合血小板

HLA 担当者の一つの関心は HLA 適合血小板でした。研究会が発足したその年に福岡に HLA 適合血小板輸血で有名だった Duquesnoy 先生を招待して、HLA 適合血小板について講演していただいた。その後大河内先生から「中央センターに（採血）枕を持って男を追いかける女性がいる。」と徳永先生から聞いたが知っているかと聞かれた。その人こそ荒木（後に内川）さんで HLA 適合血小板の供給を日本で最初に実践された人でした。この頃は成分採血もまだ定着していなかった頃で、わざわざ依頼に応じて2時間近くかかる血小板フェレーシスに来てくれる人がいるか疑問視されていた時代でした。荒木さんは持ち前のパンダ力ですごいドナープールを作り日本でもできることを証明したのです。AHG-LCT も実用化しました。私は1000人程度の成分献血者をタイピングして、福岡の血液研究会で HLA 適合血小板が供給できずと説明した後、直ぐに米国留学に行ったので、リストは全く役に立たなかったなどと帰国後に随分苦言を呈されました。

## 16. 日中共同研究

佐治先生が本社の依頼を受けて、日本赤十字社と中国紅十字社の間で血液事業に関する共同研究の具体化について尽力していました。HLA も中国側の希望項目にありましたので私も協力を依頼されました。1983年から1985年まで調査のために2回、実習や追加実習のために3回、主に北京と成都に行きました。フリーザーからマイクロシリンジ、エオシンから補体まであらゆるものを一式揃えました。目指すところは中国で準備できるものでの HLA 検査でした。それにしても大量の荷物を手荷物で持ち込んだので、北京の税関が通してくれません。中国紅十字の人が政府の許可書を持ってきてやっと通関できました。中国では紅十字も政府の一機関なのでした。私と荒木さんは北京の血液センターで DR 検査（ナイロンカラム法）の実習をしました。検鏡すると死んで染色されているはずの B セルがない。中国製のエオシンのせいで細胞が溶けてしまうのです。メルク製のエオシンを持参していたので助かりましたが、原因が分かるまでパニックでした。何故か上海製のテラサキトレイとベックマンチューブは既にありました。



1983年 中国成都輸血研究所で

## 17. オリент代表は中国人

パネル作製のために職員のタイピングを始め、中国人の HLA 抗原の多様性に心から驚いた。B 13 は多いし B 8 もあるし A 29 もあるし DR 7 はゴロゴロだし、今まで人種別 HLA 抗原の頻度でオリエンタルとして日本人のデータが記載されていたが、これは中国人のデータにすべきと思った。さらに抗体

の特異性の同定をすると当然ながら日本では得難い抗血清が沢山見つかった。パネルが充実すれば 56 民族あると云われている中国ならいくらでも新抗原が見つかるのではと思った。この共同研究は人材の育成や基礎の確立に役立ったと思ったが、天安門事件のためにこの時の人たちの多くが海外に流出したのは残念です。

## 18. 休職

色々と自分で手を動かさないで働いているうちに干からびてしまったので、ある人の紹介でテラサキ先生のお世話になりました。休職して1985年8月から1986年7月まで家族と一緒に米国に行きました。この時は岩城先生、竹内先生に大変お世話になりました。英語も上達せず、テラサキ先生やパーク先生の期待に応えず、論文も「輸血と腎移植」の一つだけでした。テラサキ先生が「米国に来た意義は、英語になれることと、アメリカを旅行することだよ」と諭され、最後の2週間、家族とヨセミテ公園などを旅行したのが家族にとって良い思い出です。腎移植のコーディネーターになろうと思って米国にいきましたが、日本の現状では血液センターにいて腎移植のお手伝いはできないと考え骨髄移植の方に力を入れることにしました。

## 19. 骨髄幹細胞の凍結保存

帰国後、骨髄移植医から依頼されて、骨髄液から幹細胞を濃縮したり、抗癌剤で処理したり、凍結保存もした。ドナーがいなくて同種骨髄移植ができないために自家骨髄を保存しておくというのが多かったが、中には同種骨髄移植後の生着不全に対処するためというのもあった。森島先生に教わってプロトコルを書いて練習して万全を期したが、初めて幹細胞の濃縮をしたときは手が震えた。50ml のプラスチックチューブを使い HLA 検査でリンパ球を分離する方法で幹細胞（単核球）を取るのだが、1ℓ以上の赤黒い骨髄液が最後には0.5ml程度の白いペレットになる。これに患者さんの将来がかかっていると思うと絶対に失敗（細菌汚染、分取ミス）は許されないと緊張してしまう。最初は自分でやっていたが、成分採血装置を使って採血課の看護

婦さんに濃縮を依頼し、次には無菌操作に慣れている製剤課をお願いして今に至っている。これは現在臍帯血を凍結保存するのに引き継がれている。後述する骨髄バンクへの取り組みも含めて「環境は血液センターで整備するので臨床医には臨床に専念してほしい」という福岡センターの方針があったのでこういうことが可能であったと今思っても感謝です。

## 20. 骨髄バンクを！

HLA 検査を始めてしばらくすると医療機関から腎移植や骨髄移植の適合者選択のために検査を依頼されるようになった。当初は無料で引き受けていたが HLA 検査室を維持するために数年後に有料にした。腎移植も骨髄移植も移植されて初めて HLA 検査費用を含んだ移植料を保健請求できる。つまり適合者がいない時は患者負担となる。国公立では保健診療以外のお金を患者に請求できないので大学によっては HLA 検査料は教室の講座費などからでていた。それはともかく皆さんご存じのように家族で骨髄提供者が見つかる患者の割合は 30～40% で残りの人は他人に頼るしかない。適合者の見つからない患者家族は、時に私に適合血小板ドナーの中に適合した人がいないかと聞いてくる。何とかしなければと思った。その頃、仙台市で輸血学会が開催された時、十字先生や佐治先生と骨髄バンクを作ろうと話し合った。1988 年第 9 回国際 HLAWS がプリンストンで開催された時上記メンバーに森島先生も加わってバンク設立について熱い議論をした。翌年の 1989 年 11 月に森島先生等は名古屋で東海骨髄バンクを設立した。私は 1987 年頃から骨髄バンク設立のために活動することを認めていただき、1988 年にボランティア団体の福岡骨髄バンク推進連絡会議を結成した。十字先生、森島先生、佐治先生等の協力により九州全県でシンポジウムを開催し、多くの方の協力を得て 1991 年 4 月に九州骨髄バンクを設立した。バンクそのものは 1993 年 4 月に日本骨髄バンクの発展に合わせて解散した。その間に 8 人のドナーから 7 人の患者に骨髄を提供できた。その内 3 人が現在も元気でいてくれるのは嬉しい限りである。

## 21. 骨髄液を熊本からドイツへ

バンク設立後、西ドイツから 17 才の日系 2 世の少女のために適合ドナーを探しているとファックスが入った。彼女の HLA は B 46 を含む典型的な日本人のハプロタイプであったので、当時世界中に数十万人いたドナーからは見つからず、九州の 1,000 人にも満たないドナーの中に一人適合者が見つかった。まだバンクの体制が不十分で断ろうと思っていたが、服部絢一理事長の「できるかぎりの努力をなさい。」という強い決意にコーディネートを開始した。服部先生と航空自衛隊に飛行機を飛ばしてくれるように依頼に行ったが、成田には軍用機が着陸できないことを初めて知った。朝 8 時の熊本発の飛行機に乗るために、国立熊本病院の先生たちは朝 3 時半に集合して骨髄を採取してくれた。羽田からバスに乗り成田へ、13 時発の JAL でフランクフルトへ、そして飛行機を乗り換えデュッセルドルフへ、赤十字社の青い点滅灯の緊急車に乗って大学病院へ着いて直ぐ点滴されました。採取後 21 時間 30 分でした。この時全く面識のない日本航空福岡支店に電話して飛行機のダブルブッキングや空港で骨髄液の X 線検査の免除とか色々お世話になった。彼女が見に行く予定であった大相撲公演がデュッセルドルフであったが移植後 1 ヶ月だったので、貴の花や若の花が見舞いに行った。無菌室は一階にあり外からマイクロホンで話ができるようになっていた。残念だがその後容態が急変し 1 ヶ月して亡くなった。

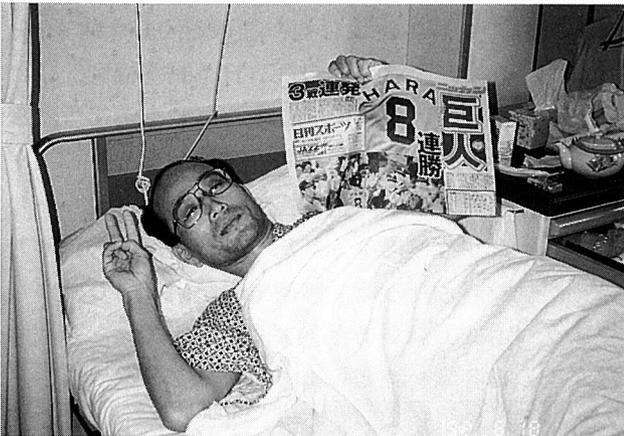


1992 年 国立熊本病院で

## 22. 骨髄提供

帰国翌月の20回目の結婚記念日に骨髄を提供した。私のHLAは日本人に一番多いのだから何時かこの日がくることを確信していた。私はバンクのコーディネーターだったので自分で子供と妻へ説明をし同意してもらった。忙しかったので血液センターで採血してもらった自己血液を持参して採取前日の午後マスコミを避けて病院の裏口からこっそり入院した。翌日朝8時30分に筋弛緩剤を注射されストレッチャーに乗せられ手術室へ。麻酔ですと言われマスクを着けられた。この麻酔医は前日説明にきた女医さんだと気が付いた時までしか覚えていない。目が覚めたら病室に戻っていた。10時頃手術場室で覚醒して色々面白いことを喋ったらしいが私には記憶がない。内容は守秘義務なので教えてくれない。私はこの時以来、T字帯ことクラシカルパンツのとりこになり今も愛用しております。テニスの時を除いて。

話をさせてもらっています。



1992年 骨髄提供後に病室で

## 23. 最後に

臆気な記憶と限られた資料に基づいて書いたので間違いや、お世話になっているのに登場していない方が多々あります。どうかお許しください。私はHLAに出会い、人に出会い、良い人生を歩ませてもらったと思っています。助かった患者さん、亡くなった患者さん、そしてその家族の方達がいて私の今があることを実感します。HLAを離れた今もこれらのことを感謝して、血液疾患の長期治療のため遠方から入院してくる患者・家族の方達が、家庭的な雰囲気を楽しみながら利用できる宿泊施設のお世