

造影超音波を使用した移植膵内分泌機能評価

會田直弘・劍持 敬・伊藤泰平・西川 徹¹
平塚いづみ²・四馬田恵²・鈴木敦詞²・長谷川みどり³

日下 守⁴・星長清隆⁴

(藤田医科大学医学部・移植・再生医学教室)

(¹藤田医科大学医学部・肝胆膵内科学教室)

(²藤田医科大学医学部・内分泌・代謝内科学教室)

(³藤田医科大学医学部・腎臓内科学教室)

(⁴藤田医科大学医学部・腎泌尿器外科学教室)

緒 言

膵臓移植は1型糖尿病に対する確立した治療法であり、その成績は免疫抑制療法の進歩などにより着実に向上している。近年はドナーの年齢や循環動態などと移植成績の関連が報告され、ドナー選定の参考として広く用いられている。しかしながらドナー不足である日本では、条件の厳しいドナー（マージナルドナー）からの移植が数多く行われている。藤田医科大学においても2012年より現行の移植プログラムを開始し、マージナルドナーからの移植を数多く行うも良好な成績を築いてきた⁴。

膵臓移植は血糖の安定化を目的としており、移植後のグラフト機能評価は重要である。特にマージナルドナーからの移植においては、グラフト機能自体の低下が懸念される。しかしながら、移植後早期は手術侵襲や免疫抑制薬として高用量のステロイドを使用しており、正確なグラフト機能の評価は難しいとされてきた。一方で劍持らは、イヌ膵臓移植においてドナー膵の機械灌流保存下の組織灌流量が移植後のグラフト機能と相関していることを報告した⁵。このことより、ヒト膵臓移植においても組織灌流の程度が分かれば、グラフト機能が予測できる可能性が示唆される。そこで我々が着目したのが造影超音波である。

造影超音波は血流をリアルタイムで評価することが可能である。超音波検査装置が移動可能であれば、ベッドサイドで施行できるため術後早期にも施行できる。膵臓移植においてはいくつかのグループが造影超音波の血管描出能に着目しており、我々も移植後のグラフト血栓症のスクリーニングに有用であることを報告し

てきた¹⁰。造影超音波は優れた血管描出能のみならず、継時的な変化を記録することが可能である。そこで造影超音波を用いて組織血流を評価することを着想した。

本研究は膵臓移植においてグラフトの組織血流を造影超音波によって評価し、組織血流との関連について検討した。

研究の方法

対 象

当院にて膵臓移植を施行した患者17名。術式の内訳は膵腎同時移植(SPK)12例、腎移植後膵移植(PAK)5例。

造影超音波

移植後24時間以内に造影超音波を施行した。使用した超音波検査装置はGE社のLOGIQ E9で、造影剤としてペルフルブタンマイクロバブル（ソナゾイド[®]、第一三共）を用いた。造影剤は1回4μLを経静脈的に投与し、移植膵の造影効果を投与後20秒以上動画にて記録した。

組織灌流は既報の通り¹¹、記録した動画上の移植膵実質と移植門脈にそれぞれROIを設定し、それぞれのピーク時間の差をDelta-Tp (P-V)_{24h}として組織灌流の目安とした（図1）。

内分泌機能検査

移植後1か月に75g経口ブドウ糖検査(OGTT)とグルカゴン負荷試験を施行した。また、継時的変化を評価するために3か月時にもOGTTを行った。

OGTTでは負荷前、負荷後30分、60分、90分、120分、180分に血糖値とインスリン値を測定した。

グルカゴン負荷試験の手技は既報の通り¹²、1 mgのグルカゴンを静脈投与し負荷前後のCペプチド値とその変化量 (Delta-CPR) を計算した。

統計解析

結果は中央値 (四分位範囲) で表記した。統計解析はR (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) のユーザーインターフェースであるEZR (Saitama Medical Center, Jichi Medical Univer-

sity, Saitama, Japan) を使用した¹³。相関の検討はSpearmanの順位相関係数を用いた。2群比較はMann-Whitney U検定を使用した。P値が0.05未満を有意差と判断した。

結 果

Delta-Tp (P-V)_{24h} は中央値 4.56 (3.35-7.49) 秒と症例ごとに差を認めた (図2)。ドナー背景のうち、ドナー年齢とDelta-Tp (P-V)_{24h} は正の相関を示しており (r = 0.496)、ドナー年齢が高値であるほど移植後の組織灌流が緩やかであった。

移植後1か月時に施行したグルカゴン負荷試験は、全例で反応は良好であった。負荷試験におけるCペプチド増加分 (deltaCPR) は中央値 2.59 (1.24-3.40) ng/mlであった。Delta-CPRとDelta-Tp (P-V)_{24h} は強い負の相関を示しており (r = -0.634, 図3)、移植直後の組織灌流が緩やかであるほど移植後1か月のインスリン分泌が低値であった。

また、移植後1か月時の75g OGTTは、17例中9例が正常型を示した (図4)。7例は境界型、1例は糖尿病型を示したが、それぞれのDelta-Tp (P-V)_{24h} は中央値で4.05 (3.35-4.66)、6.10 (3.77-8.50)、10.35秒と判定区分が悪くなるほど組織灌流が緩やかであつ

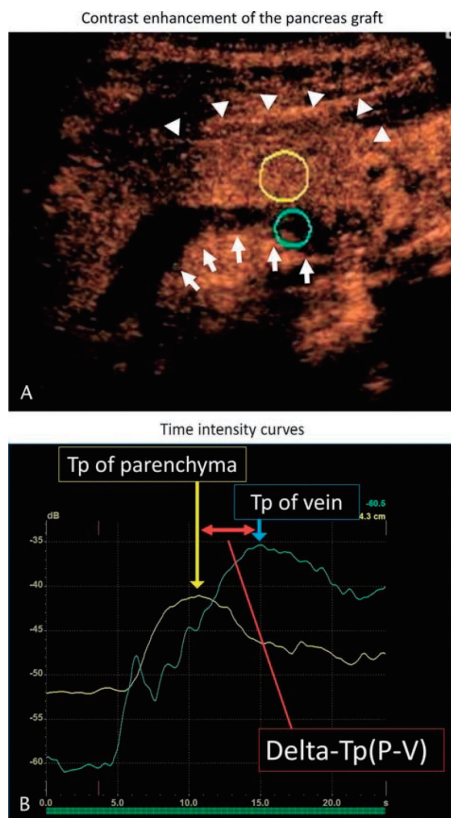


図1 組織灌流の計算法 (文献11 figure1を引用)
 A 移植臓実質 (矢頭) と門脈 (矢印) にそれぞれROIを設定する。
 B 実質 (parenchyma) と門脈 (vein) のピーク時間差をDelta-Tp (P-V) とする。

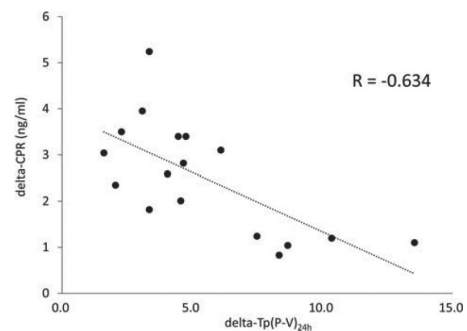


図3 Delta-Tp (P-V)_{24h} とDelta-CPRの相関 (文献11 figure4を引用) 両者は強い負の相関を認めた。

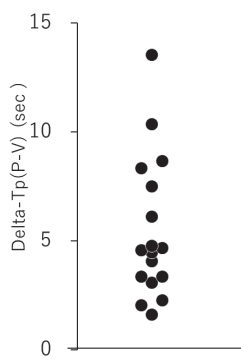


図2 Delta-Tp (P-V)_{24h}

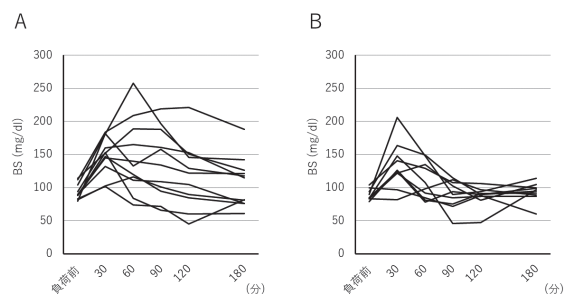


図4 OGTTの血糖推移
 A. 1か月時。1例が糖尿病型、3例が境界型を示した。
 B. 3か月時。全例が正常型であった。

た。また、検査中の血糖値の曲線下面積 (BS_{AUC}) は $\Delta\text{-Tp (P-V)}_{24h}$ と正の相関を示し ($r = 0.531$)、インスリン値の曲線下面積 (Ins_{AUC}) と負の相関を示していた ($r = -0.414$)。移植直後に組織灌流が緩やかであるほど、1 か月時のインスリン分泌は低値で、結果として血糖値は高い傾向にあることが示された。

以上の結果より、 $\Delta\text{-Tp (P-V)}_{24h}$ は移植臓器のインスリン分泌と相関していることが推察された。そこで、組織灌流の程度からインスリン分泌の予測が可能か否かを判断するため、グルカゴン負荷試験での $\Delta\text{-CPR} \geq 2.0 \text{ ng/ml}$ をインスリン分泌良好と規定し、ROC 曲線を作成することにより $\Delta\text{-Tp (P-V)}_{24h}$ 6.1 秒をカットオフ値として求めた。カットオフ値にて 2 群に分け、比較を行った。

6.1 秒未満を良好群、6.1 秒以上を遅延群とすると、良好群 12 例、遅延群 5 例に分けられた。2 群の背景比較では遅延群においてドナー年齢が高齢である傾向を認めたが (良好群 46.5 (42–51.3) 歳 vs 遅延群 55 (54–62) 歳, $p = 0.09$)、それ以外のドナー背景、レシピエント背景、手術手技などに差は認めていない。

グルカゴン負荷試験では、基礎 CPR は両群で差を認めないものの、良好群の $\Delta\text{-CPR}$ は有意に高値であった (3.07 (2.53–3.43) vs 1.10 (1.04–1.20) ng/ml , $p < 0.01$)。

1 か月時の OGTT は、良好群は正常型 8 例、境界型 4 例であった。一方で遅延群は、正常型は 1 例のみで、境界型 3 例、糖尿病型 1 例と判定区分が悪い傾向にあった。

Ins_{AUC} は、良好群 96.0 (82.7–123.3) $\mu\text{U/ml} \cdot \text{h}$ に対し、遅延群では 76.9 (70.0–84.0) $\mu\text{U/ml} \cdot \text{h}$ と低い傾向にあった ($p = 0.06$)。

3 か月時の OGTT は施行した全例が正常型であった。 Ins_{AUC} を比較すると、良好群で有意に高値であった (134.3 (110.0–161.0) vs 85.6 (71.5–93.5) $\mu\text{U/ml} \cdot \text{h}$, $p = 0.01$)。さらに 1 か月時から 3 か月時の Ins_{AUC} の推移をみると、良好群のみが有意に上昇していた。

考 察

本研究は臓器移植におけるグラフトの組織灌流と機能の関連を検討したものである。本研究において重要な点は、まず、体内の移植臓器の組織灌流の定量化が可能となったことである。臓器移植領域では、組織灌流を測定することが困難であることから同様の研究は

ごく少数に限られていた^{14–16}。従来は観血的に血流を測定するか、ヨード造影剤などを用いなければリアルタイムに組織灌流を評価することは困難であった。しかしながら、我々が着目した造影超音波 (CEUS) は造影効果を記録、解析することで組織灌流を定量することが可能である。加えて腎毒性がなくベッドサイドで行うことができる¹⁷、安全かつ低侵襲な検査である。本手法は臓器移植のみならず、他の分野においても有効な手技と考える。

本研究では移植直後の組織灌流と移植後 1 か月の内分泌機能の相関が示された。これは、組織灌流の傷害の程度とグラフト機能が相関していることを示している。本研究においては、移植手技、レシピエント背景に大きな差がないことから、グラフトの傷害は主にドナー要因によると推察される。事実ドナー年齢と組織灌流には正の相関を認めていた。本邦においては高齢のドナーが多く、このように傷害が強い臓器の機能がどのように推移するかというのは重要な課題であり、今後の研究が望まれる。

組織灌流が良好である群は、1 か月時から 3 か月時にかけてインスリン分泌が向上していた。これは、CEUS が初期のインスリン分泌能だけでなく、その後の改善程度を評価できることを示唆する。ここで着目したいのは、組織灌流が緩やかである遅延群は、継時的変化を見てもインスリン分泌能が改善しない点である。組織学的な評価は行っていないが、これは強いグラフト傷害下では組織 (とくに β 細胞) の新生が行われないと考えられる。Mittal らは、移植後早期の耐糖能低値はグラフト廃絶のリスクであると報告しているが、本研究結果からも同様の経過が予想される。しかしながら、GLP-1 や GIP などのインクレチンは β 細胞の増殖を誘導することが報告されており¹⁹、移植後早期にこれらを投与することでグラフト機能の改善に期待できる可能性がある。これらの点について、今後研究を進めていく。

結 語

本研究では移植直後の組織灌流を CEUS により定量化することを可能とした。また、定量化した組織灌流 ($\Delta\text{-Tp (P-V)}_{24h}$) は移植後早期のインスリン分泌と負の相関を認めていた。加えて、 $\Delta\text{-Tp (P-V)}_{24h}$ が低値である群は継時的なインスリン分泌の改善を認め、これにより CEUS が初期のインスリン分泌能を評価できるだけでなく、継時的なグラフト機能の改善があるか否かを評価できることが示唆された。CEUS は臓器移植後の内分泌機能評価に有用である。

謝 辞

超音波検査を施行していただいた超音波センターの皆様へ深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Gruessner AC, Sutherland DE, and Gruessner RW : Long-term outcome after pancreas transplantation. *Curr. Opin. Organ. Transplant.* 2012 ; 17 : 100 – 105.
- 2) Kapur S, Bonham CA, Dodson SF, Dvorchik I, and Corry RJ : Strategies to expand the donor pool for pancreas transplantation. *Transplantation.* 1999 ; 67 : 284 – 290.
- 3) Troppmann C, Gruessner AC, Papalois BE, Sutherland DE, Matas AJ, Benedetti E, et al : Delayed endocrine pancreas graft function after simultaneous pancreas-kidney transplantation. Incidence, risk factors, and impact on long-term outcome. *Transplantation.* 1996 ; 61 : 1323 – 1330.
- 4) Ito T, Kenmochi T, Ono S, Oshima M, Aida N, Suzuki A, et al : Single institution outcomes in the first 3 years of pancreas transplantation from brain dead donors. *J. Hepatobiliary. Pancreat. Sci.* 2016 ; 23 : 270 – 275.
- 5) Kenmochi T, Asano T, Nakagouri T, Enomoto K, Isono K, and Horie H : Prediction of viability of ischemically damaged canine pancreatic grafts by tissue flow rate with machine perfusion. *Transplantation.* 1992 ; 53 : 745 – 750.
- 6) Boggi U, Morelli L, Amorese G, Bargellini I, Marchetti P, and Mosca F : Contribution of contrast-enhanced ultrasonography to nonoperative management of segmental ischemia of the head of a pancreas graft. *Am. J. Transplant.* 2009 ; 9 : 413 – 418.
- 7) Aboutaleb E, Leen E, and Hakim N : Assessment of viability of the pancreas for transplantation using contrast-enhanced ultrasound. *Transplant. Proc.* 2011 ; 43 : 418 – 421.
- 8) Kersting S, Ludwig S, Eehalt F, Volk A, and Bunk A : Contrast-enhanced ultrasonography in pancreas transplantation. *Transplantation.* 2013 ; 95 : 209 – 214.
- 9) Rennert J, Farkas S, Georgieva M, Loss M, Dornia C, Jung W, et al : Identification of early complications following pancreas and renal transplantation using contrast enhanced ultrasound (CEUS)--first results. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2014 ; 58 : 343 – 352.
- 10) Ito T, Kenmochi T, Nishikawa T, Maruyama M, Kusaka M, Sasaki H, et al : A novel screening test for detecting graft thrombosis after pancreatic transplantation using contrast-enhanced ultrasonography with sonazoid. *Transplant. Proc.* 2014 ; 46 : 1917 – 1919.
- 11) Aida N, Kenmochi T, Ito T, Nishikawa T, Hiratsuka I, Shibata M, et al : Prediction of Insulin Secretion Ability With Microcirculation Evaluated by Contrast-enhanced Ultrasonography in Pancreas Transplantation. *Pancreas.* 2018 ; 47 : 617 – 624.
- 12) Hiratsuka I, Suzuki A, Kondo-Ando M, Hirai H, Maeda Y, Sekiguchi-Ueda S, et al : Utility of glucagon stimulation test in type 1 diabetes after pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 2014 ; 46 : 967 – 969.
- 13) Kanda Y : Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 2013 ; 48 : 452 – 458.
- 14) Benz S, Pfeffer F, Adam U, Schareck W, and Hopt UT : Impairment of pancreatic microcirculation in the early reperfusion period during simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transpl. Int.* 1998 ; 11 Suppl 1 : S433 – 435.
- 15) Benz S, Bergt S, Obermaier R, Wiessner R, Pfeffer F, Schareck W, et al : Impairment of microcirculation in the early reperfusion period predicts the degree of graft pancreatitis in clinical pancreas transplantation. *Transplantation.* 2001 ; 71 : 759 – 763.
- 16) Schaser KD, Puhl G, Vollmar B, Menger MD, Stover JF, Köhler K, Neuhaus P, and Settmacher U : In vivo imaging of human pancreatic microcirculation and pancreatic tissue injury in clinical pancreas transplantation. *Am. J. Transplant.* 2005 ; 5 : 341 – 350.
- 17) Landmark KE, Johansen PW, Johnson JA, Johansen B, Uran S, and Skotland T : Pharmacokinetics of perfluorobutane following intravenous bolus injection and continuous infusion of sonazoid in healthy volunteers and in patients with reduced pulmonary diffusing capacity. *Ultrasound Med. Biol.* 2008 ; 34 : 494 – 501.

- 18) Mittal S, Nagendran M, Franklin RH, Sharples EJ, Friend PJ, and Gough SC : Postoperative impaired glucose tolerance is an early predictor of pancreas graft failure. *Diabetologia*. 2014 ; 57 : 2076 – 2080.
- 19) Baggio LL and Drucker DJ : Biology of incretins : GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007 ; 132 : 2131 – 2157.