

治験開始に向けた体制整備

業務主任者、担当責任者 石沢 武彰

東京大学医学部附属病院 肝胆膵・人工臓器移植外科 登録研究医

研究要旨：キモトリプシンプローブの非臨床安全性試験を計画・実施するうえで生じた課題、すなわち 1) 膵液漏の発生頻度とリスク因子の再検討、2) 手術室における撮像環境の確立、および 3) gPhe-HMRG 供給体制の整備、の解決を本業務項目の目的とした。1) では、治験の対象として膵切除の術式を膵体尾部切除に設定すべきこと、膵液漏発生頻度に影響する正常膵/硬化膵など因子を考慮して対象を選択する必要があることが示された。2) では、手術室の无影灯を消灯し、すでに市販されている医療用内視鏡装置（自家蛍光モード）の光源を用いることで、HMRG の蛍光と手術操作に必要な背景のイメージが取得可能であることが確認された。3) では gPhe-HMRG の精製方法を改善するとともに治験薬製造のための規格案を作成し、治験レベルのプローブ供給体制を整備することができた。

A. 研究目的

本研究の最終的な目的は、手術中に膵断端から漏出する膵液を標識するための蛍光プローブを開発することである。研究者らはこれまでに、膵液中の chymotrypsin と反応して蛍光を呈する化合物、glutaryl-phenylalanine hydroxymethyl rhodamine green (gPhe-HMRG) を新たに設計・合成し、これに trypsin を添加した「キモトリプシンプローブ」を患者から採取した体外サンプルに散布することにより、膵液漏の可視化と術後膵液漏のリスク評価が可能であることを示した[参考文献 1]。

本業務項目の目的は、キモトリプシンプローブの非臨床安全性試験を計画・実施する中で生じた課題、すなわち 1) 過去の膵切除症例における膵液漏の発生頻度とリスク因子を明らかにすること、2) 蛍光イメージング中に手術操作を行うための撮像環境を確立すること、3) gPhe-HMRG の製造工程

を改善しプローブ供給体制を整備すること、を解決し、治験計画の概要確定に役立てることである。

B. 研究方法

1. 膵切除における膵液漏発生率とリスク因子の検証

i) 2012年2月から2013年3月までに東京大学医学部附属病院で膵切除を行った62症例（膵頭十二指腸切除35例、膵体尾部切除27例）を対象に、術前・術中因子と術後成績との関連を評価した。

ii) 手術を膵体尾部切除に限定し、152例（2006～2013）について術後膵液漏の発生率とリスク因子について検討した。

2. 手術室における撮像環境の評価

i) キモトリプシンプローブの生成物（発光団）である HMRG を PCR チューブに以下の濃度で分注したファントムを作成した：

0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0 μM

ii) 手術室において、手術台の上にファントムを設置し、以下の器機および照明を組み合わせた環境でファントムの蛍光像を取得した (図 1)。

(撮像システム)

システム A: 薬事承認された医療用内視鏡システム (KARL STORZ)

・光源: D-ライト P 光源システム (ハロゲン) の自家蛍光モード (380-460nm)
・撮像装置: フィルター (515nm long-pass) を装着した VITOM スコープに IMAGE 1 HD カメラヘッドを接続

システム B: システム A の光源を、HMRG 励起用波長に最適化した非医療用防水性ポータブル LED 光源 [BM3100G (RGBBlue) にフィルター (490 nm band-pass) を装着] に変更

システム C: システム B の撮像装置を、暗所撮影に特化した非医療用デジタルカメラ (α7s, SONY) に変更 (515nm long-pass フィルターを装着)

(照明環境)

全消灯: 手術室の天井灯 (蛍光灯)、無影灯を全て消灯

天井灯半点灯: 天井灯を半点灯、無影灯を消灯

天井灯全点灯: 天井灯を全て点灯、無影灯を消灯

無影灯点灯: 天井灯を全て点灯、無影灯を点灯

(撮像方法)

・光源および撮像装置先端を手術台に対し垂直に設置し、15cm, 30cm, 60cm の高さから撮影した。

iii) 蛍光強度の評価

・各画像 (RGB モード) においてファントム内とファントム周囲の背景に region of

interest (ROI) を設定し、0-255 の範囲で計算される蛍光強度の平均値を測定、以下のように signal-to-background (S/B) ratio を計算した:

$$(S/B \text{ ratio}) = (\text{ファントム内の蛍光強度}) / (\text{背景の蛍光強度})$$

・HMRG 撮影用の小型蛍光観察装置 (Discovery, INDEC Systems) でもファントムを撮影し、S/B ratio を上記 ii) の組み合わせで撮影した撮像結果と比較した。

3. gPhe-HMRG製造工程の整備

i) 品質規格案の設定

・治験薬を製造するため、品質試験の規格及び試験方法について検討した。

ii) 製造方法の見直し

・現在の製造工程では、凍結乾燥の液量が多く、大量合成に適した方法ではなかった。また、不純物として含まれるトリフルオロ酢酸 (TFA) の除去が困難であった。そのため、結晶化法を検討した。

iii) 出発物質の決定

・骨格を形成する中間体の内結晶として単離が可能で、含量など規格を設定できる化合物を検討した。

(倫理面への配慮)

・臨床データを用いた検討では、臨床研究に関する倫理指針 (厚生労働省告示、平成 20 年 7 月改正) およびヘルシンキ宣言 (2013 年改訂) を遵守して実施した。

C. 研究結果

1. 膵切除における膵液漏発生率とリスク因子の検証

i) 膵切除 62 症例 (膵頭十二指腸切除 35 例、

膵体尾部切除 27 例) における術後膵液漏発生率に関する検討

・ International Study Group of Pancreatic Fistula (ISGPF) の定義[2] による grade B 以上の膵液漏 (有症状で抗生物質投与やドレーン交換などの処置を要す [grade B]、または敗血症や臓器不全を合併し再手術や集中治療を要す [grade C]) の発生頻度は膵頭十二指腸切除で 31% (11 例)、膵体尾部切除で 33% (9 例) であった。

・ Clavien-Dindo 分類[3] における grade III (外科的/内視鏡的/TVR 治療を要する) 以上の術後合併症の発生頻度は、膵頭十二指腸切除で 11% (4 例)、膵体尾部切除で 30% (8 例) であった。

・ Shear wave velocity (SWV) の計測に基づいて膵実質の硬さを hard pancreas (SWV \geq 1.54 m/s, n = 30) と soft pancreas (SWV < 1.54 m/s, n = 32) に分けた場合、ISGPF grade B 以上の術後膵液漏の発生率は後者の方が有意に高かった (13% vs. 63%, $P = 0.001$; Fisher's exact test)。

ii) 膵体尾部切除 152 例における術後膵液漏発生率とリスク因子に関する検討

・ ISGPF grade B 以上の術後膵液漏の発生率は 64% (97 例)、Clavien-Dindo 分類 III 以上の術後合併症発生率は 16% (25 例) であった。手術関連死亡なし。

・ 単変量解析の結果および他施設の既報を参照し、術後 3 病日までに得られる臨床データから術後重症合併症 (Clavien-Dindo 分類 III 以上) 発生のリスク因子を求めめるために多変量解析 (ロジスティック回帰分析) を行った。今回の検討では、術後 3 病日の血中白血球数 $\geq 15000/\mu\text{L}$ (オッズ比 4.40; 95%信頼区間 1.31-15.2; $P = 0.017$; likelihood ratio test), 術前 body mass

index (BMI) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ (3.95; 1.18-13.5; $P = 0.027$), および術前血清アルブミン値 $\leq 3.8 \text{ g/dL}$ (3.69; 1.23-11.6; $P = 0.020$) が独立予測因子として同定された (表 1)。

2. 手術室における撮像環境の評価

・ 手術室における照度は以下の通り :

全消灯, 0.8 lx

天井灯半点灯, 859 lx

天井灯全点灯, 1,800 lx

無影灯点灯, 45,300 lx

・ システム A によるファントムの撮像結果を図 2 に示す。手術台上 15cm の高さから医療用内視鏡システムを用いて撮影した場合、手術室照明の全消灯下では HMRG 濃度 10.0, 3.0, 1.0 μM のサンプルが TV モニター上で視認できた。天井灯半点灯および全点灯の環境でも HMRG 濃度 3.0 μM までモニター上で視認できたが、無影灯点灯下には HMRG 濃度 10.0 μM のサンプルのみわずかに認識可能であった。システム A を使い、全消灯下に撮影距離を変えて検討を行うと、撮影距離 15cm, 30cm では HMRG 濃度 10.0, 3.0, 1.0 μM のサンプルが TV モニター上で視認できたが、撮影距離 60cm では HMRG 濃度 1.0 μM のサンプルが認識困難となった。

・ 光源を HMRG 励起に最適化したシステム B を用いて、手術台 30cm の高さからファントムを撮影したが、TV モニターにおける各サンプル認識の有無は、システム A を用いた撮像結果よりも一段階劣る結果であった (図 3 左列、中列)。すなわち、全消灯下では HMRG 濃度 10.0 および 3.0 のサンプルが、天井灯半点灯および全点灯の環境では HMRG 濃度 10.0 μM のサンプルのみモニター上で視認可能だった。

・ 撮像装置として暗所撮影に特化したデジ

タルカメラを用いたシステム C を用い、手術台 30cm からファントムを撮影すると、手術室照明全消灯下ではコントロールを除く全てのサンプル (HMRG 濃度 10.0, 3.0, 1.0, 0.3, 0.1 μM) が画像上で認識可能であった (図 3 右列)。天井灯半点灯、全点灯の環境下では、HMRG 濃度 10.0, 3.0 μM のサンプルが、無影灯点灯下では HMRG 濃度 10 μM のサンプルのみ認識できた。この検討ではカメラの ISO 感度をオート設定として撮影したが、得られた画像はフィルター (515nm long-pass) を用いて肉眼で認識される所見とほぼ一致した。

・システム C を用い、手術室照明全消灯下に ISO 感度を変更し (exposure time, 4ms)、手術台 30cm から撮影した結果を図 4 に示す。ISO 感度 128,000 を越えると、最も薄い HMRG 濃度 (0.1 μM) のサンプルが認識可能となった。HMRG 撮影用の小型蛍光観察装置 (Discovery) を用いても HMRG 濃度 0.1 μM のサンプルが描出可能であったが、exposure time は 75ms を要した。

・各撮像条件における S/B ratio の変化を図 5 に示す。Full color 撮影では視野が明るくなると HMRG の蛍光以外の波長の強度も計測されるため、S/B ratio が必ずしも画像上におけるサンプルの視認性と一致するわけではないが (特に ISO 感度を上げた場合、蛍光強度は上昇するが背景のシグナルも上昇するため S/B ratio はむしろ低下する)、各サンプルの視認性は S/B ratio 2 以上の計測値とほぼ一致した。

3. gPhe-HMRG製造工程の整備

i) 品質規格案の設定

・品質規格について検討し、強熱残分などを追加した。また、精製方法の見直しに関連し、含量測定方法を見直した。

ii) 製造方法の見直し

・gPhe-HMRG は、中性条件下で結晶化することがわかった。結晶化法により精製することで、凍結乾燥作業の回避及び TFA の除去が可能となった。

iii) 出発物質の決定

・Fmoc-HMRG \cdot 1/2 硫酸は、結晶として単離が可能であり、出発物質として設定可能と考えられた。

D. 考察

「膵切除における膵液漏発生率とリスク因子の検証」では、まず今回検討した症例では有症状膵液漏の頻度は膵頭十二指腸切除と膵体尾部切除でほぼ同等であったが、重症合併症 (Clavien-Dindo 分類 grade III 以上) の発生率は後者で 3 倍程度高い傾向にあった。また、膵実質の硬さを hard pancreas と soft pancreas に分類すると、有症状膵液漏の発生率は後者の方が 5 倍程度高率であった。そもそも膵頭十二指腸切除と膵体尾部切除では手術方法・手術侵襲が大きく異なることを考慮すると、キモトリプシンプローブの安全性・有効性を評価する治験では、膵断端の再建が不要で手術手技の統一が図りやすい膵体尾部切除を当初の対象に設定するべきであると考えられた。また、治験の際には対象を正常膵に絞る、または正常膵と硬化膵で層別化する、などの対策が求められる。

また、対象を膵体尾部切除に限定した場合、術前の栄養状態と肥満の有無が重篤な術後合併症発生リスク因子となり得ることが示された。今後、キモトリプシンプローブの有効性を検討する臨床試験を計画する際には、上記 2 点について考慮する必要がある。なお今回の検討では、ISGPF 基準にある術後排液ドレーン中の amylase 濃

度は術後合併症のリスク因子として同定されなかった。Amylase は検査室での計測法が確立されているため、術後膵液漏の診断基準として長く用いられているが、糖分解酵素である amylase 自体が合併症の誘因になるわけではなく、膵液中の蛋白分解酵素の surrogate marker に過ぎないという見解もある[1]。今回開発している蛍光イメージング技術は、膵液中の chymotrypsin 活性を利用して膵液漏を描出するものであり、amylase 値を基準とした従来の膵液漏評価よりも正確な診断法として利用できる可能性がある。

「手術室における撮像環境の評価」では、手術室の照明を全消灯すれば、既に薬事承認済みの医療用内視鏡装置（自家蛍光モード）を用いて、低濃度（1.0 μM ）の HMRG を、手術操作の支障にならない高さ（30cm）から描出できることが示された。天井灯を点灯すると、背景の明るさは支障なく手術操作を行うことができる程度に改善するが、高濃度の HMRG は描出されなくなった。無影灯を点灯すると、最高濃度の HMRG（10 μM ）の認識も困難であった。

医療用装置（自家蛍光モード）の光源波長（380-460nm）は HMRG の励起波長（490nm）よりも短いため、光源の波長を最適化して検討を行ったが、HMRG の視認性は改善されなかった。今回の検討では、手術中に術野で使用することを考慮して、全滅菌可能な水中撮影用・ポータブル光源装置を用いたが、LED の光量がハロゲン光源を用いる医療用撮影装置の光量よりも低いことが原因である可能性がある。

一方、ポータブル LED 光源装置を用いても、撮像装置の感度を向上させる（ISO 感度 128,000 以上）ことで、手術室の照明

を全消灯した環境下で最低濃度（0.1 μM ）の HMRG を同定し、かつ手術操作に十分な背景を描出し得ることが示された。環境により異なるが、肉眼による暗所観察の感度は ISO 128,000 相当と考えられている。肉眼観察で得られる視野を画像に再現し定量評価することは困難であるが、今回の検討で全消灯下にフィルターを装着し肉眼でファントムを観察した所見は、ISO 感度 128,000 で撮影された写真と良く一致した。ISO 感度を上げることは、暗所撮影における exposure time を短縮し、手術で求められるブレの少ない画像を提供するために有利である。例えば、HMRG 観察に最適化されたイメージャーを用いて、0.1 μM の HMRG を描出するには 75ms の exposure time が必要だが、ISO 感度 128,000 によるデジタルカメラ撮影の exposure time はわずか 4ms であった。

今回の検討では、S/B ratio が約 2 以上あれば、フィルターを通した肉眼観察または TV モニター上でサンプルを認識できることが示された。蛍光強度の測定方法は異なるが、患者体外サンプルを用いた過去の検討でも、キモトリプシンプローブを用いて膵断端から漏出する膵液が視認され、高率に術後膵液漏を来たした群では、膵液の蛍光の S/B ratio はおよそ 2 以上であった（図 6, [1]）。膵断端においてキモトリプシンプローブと膵液が反応して精製される HMRG の濃度は、膵液漏の有無だけでなく膵液の蛋白分解酵素（chymotrypsin）活性による影響も受けるため、HMRG 濃度に対し撮像装置にどの程度の描出能を持たせることが臨床的に重要であるか、後続研究で明らかにする必要がある。

「gPhe-HMRG 製造工程の整備」では、

gPhe-HMRG の精製方法を見直すことで、高品質の試験物を従来よりも短時間で大量に合成できる方法を見出した。今後、さらに精製効率を向上させ得るか検討を加えたい。また、治験薬を製造するための規格案を作成した。本検討により、治験レベルのプロープ供給体制をつくることができた。

E. 結論

- ・今後予定される治験では、膵体尾部切除を対象とすることが望ましい。
- ・治験にあたっては、患者選択あるいは層別化の因子として術前の栄養状態や肥満の有無、正常膵/硬化膵の別について考慮する必要がある。
- ・本技術に利用する光源として、既に市販されている医療用内視鏡装置を用いることができる。
- ・フィルターを通した肉眼観察では、手術室の照明を全消灯した環境で低濃度の HMRG を、室内灯照明下（無影灯は消灯）でも高濃度の HMRG を認識可能である。
- ・腹腔鏡手術などで膵液の蛍光イメージングを TV モニター上で十分に描出するためには撮像装置の改良が必要である。光源波長の最適化、カメラの感度の大幅な向上により、手術操作に十分な蛍光像が得られる可能性がある。
- ・gPhe-HMRG の品質規格が確定した。また製造工程の改良が図られ、高品質の試験物を安定的に供給する体制が整備された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・Harada N, Ishizawa T, Inoue Y, et al.

Acoustic radiation force impulse imaging of the pancreas for estimation of pathologic fibrosis and risk of postoperative pancreatic fistula. J Am Coll Surg 2014;219:887-894.

2. 学会発表

- ・山下俊、石沢武彰、浦野泰照、他. 膵体尾部切除における予防的腹腔ドレーンの役割と膵液漏評価法の再検討. 第 69 回日本消化器外科学会総会 一般演題.
- ・石沢武彰、浦野泰照、國土典宏、他. 肝癌、胆管、膵液漏を描出する術中蛍光イメージングを如何に臨床応用するか. 第 69 回日本消化器外科学会総会 シンポジウム: 消化器外科における診断・治療のイノベーション.
- ・Ishizawa T, Urano Y, et al. Application of ICG fluorescence imaging to laparoscopic HPB surgery. 34th Annual Meeting of the Korean Society of Endoscopic & Laparoscopic Surgeons and 2014 International Symposium. April 24-25, 2014. Seoul, Korea.
- ・Ishizawa T. Mechanistic background and clinical applications of indocyanine green fluorescence imaging of hepatocellular carcinoma. 28th International Congress and Exhibition of Computer Assisted Radiology and Surgery. June 25-28, 2014. Fukuoka, Japan.
- ・Ishizawa T. Update of application of fluorescence in HPB surgery. 6th Annual Worldwide Congress of the Clinical Robotic Surgery Association. Oct. 23-25, 2014. San Francisco, US.

- Ishizawa T, Urano Y, et al. Clinical applications of fluorescence imaging for enhancing safety and therapeutic efficacy of hepatobiliary and pancreatic surgery. Photonics West 2015. Feb. 7-12, 2015. San Francisco, US.
- Ishizawa T. Application of Fluorescence Imaging in HPB Surgery. 2nd Annual International Congress of Fluorescent Guided Imaging Surgery. Feb. 14, 2015. Miami, US.
- Yamashita S, Ishizawa T, Urano Y, et al. Application of FIGS for Pancreatic Leaks. 2nd Annual International Congress of Fluorescent Guided Imaging Surgery. Feb. 14, 2015. Miami, US.
- Urano Y. Cancer Imaging Using Activatable Fluorescence Probes for γ -Glutamyltranspeptidase. 2nd Annual International Congress of Fluorescent Guided Imaging Surgery. Feb. 14, 2015. Miami, US.

H. 知的財産権の出願・登録情報

1. 特許取得: 高感度膵液漏迅速検出法

(特願 2012-123478) について PCT 移行中。

2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

(参考文献)

1. Yamashita S, Ishizawa T, Urano Y, et al. Visualization of the leakage of pancreatic juice using a chymotrypsin-activated fluorescent probe. Br J Surg 2013;100:1220-1228.
2. Bassi C, Dervenis C, Butturini G, et al.; International Study Group on Pancreatic Fistula Definition. Postoperative pancreatic fistula: an international study group (ISGPF) definition. Surgery 2005;138:8-13.
3. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. Ann Surg 2004;240:205-213.

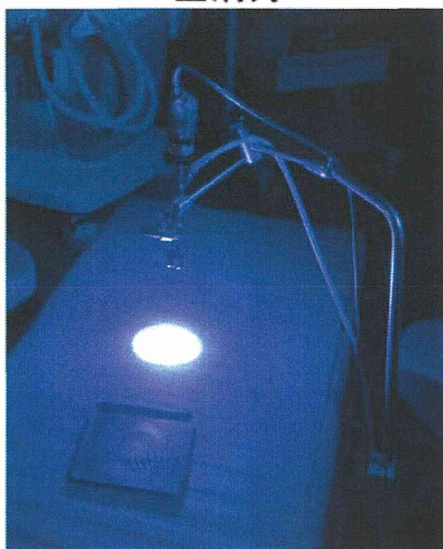
表 1. 膵体尾部切除 152 例における術後合併症のリスク因子

	C-D 分類 III 以上の合併症		単変量 <i>P</i> [†]	Odds ratio	95% 信頼区間	多変量 <i>P</i>
	N	N (%)				
性別						
男	77	16 (21)	0.144	2.85	[0.93, 9.83]	0.068
女	75	9 (12)				
年齢 (歳)						
≥65	81	15 (19)	0.462	1.28	[0.41, 4.09]	0.671
<65	71	10 (14)				
病理所見						
Pancreatic cancer	55	14 (25)	<i>0.024</i>	1.57	[0.53, 4.62]	0.407
Others	97	11 (11)				
糖尿病						
Yes	44	11 (25)	0.069	1.57	[0.53, 4.55]	0.415
No	108	14 (13)				
BMI (kg/m ²)						
≥25	22	8 (36)	<i>0.007</i>	3.95	[1.18, 13.5]	<i>0.027</i>
<25	129	17 (13)				
血清 Albumin (g/dL)*						
≤3.8	43	13 (30)	<i>0.004</i>	3.69	[1.23, 11.6]	<i>0.020</i>
>3.8	108	12 (11)				
術中出血量 (g)						
≥1000	18	4 (22)	0.530	2.06	[0.52, 9.89]	0.313
<1000	129	21 (16)				
手術時間 (分)						
≥300	75	15 (20)	0.230	-	-	-
<300	71	9 (13)				
膵切離法						
Clamp crushing	130	20 (15)	0.530	-	-	-
Stapler	22	4 (18)				
術後 1 病日の 排液中 amylase 濃度 (IU/L)						
>4000	112	21 (19)	0.200	2.10	[0.63, 8.74]	0.240
≤4000	40	4 (10)				
術後 1 病日の 排液中 amylase 濃度 (IU/L) *						
≥375	103	20 (19)	0.255	-	-	-
<375	43	5 (12)				
術後 3 病日の 白血球数 (μL)						
≥15000	27	9 (33)	<i>0.009</i>	4.40	[1.31, 15.2]	<i>0.017</i>
<15000	125	16 (13)				

*施設における上限値の 3 倍を基準とした. †Fisher's exact test.

図 1. 手術室における蛍光イメージングの撮影環境

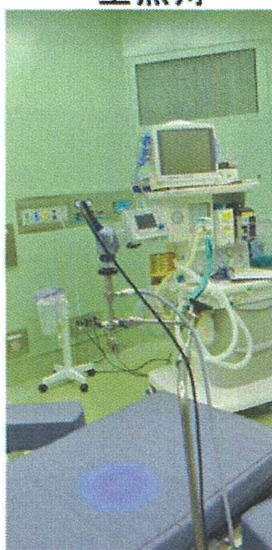
全消灯



天井灯
半点灯



天井灯
全点灯

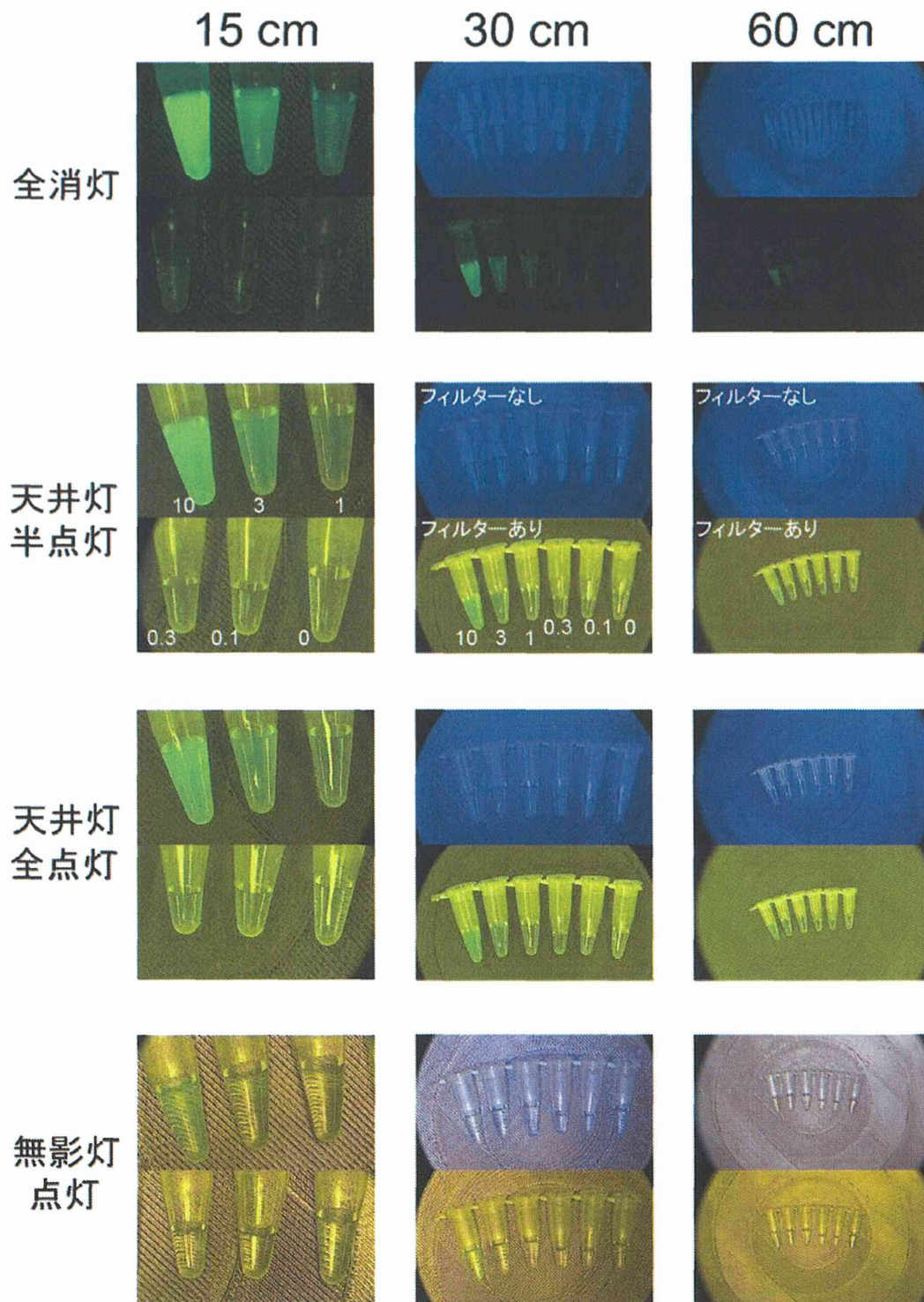


無影灯
点灯



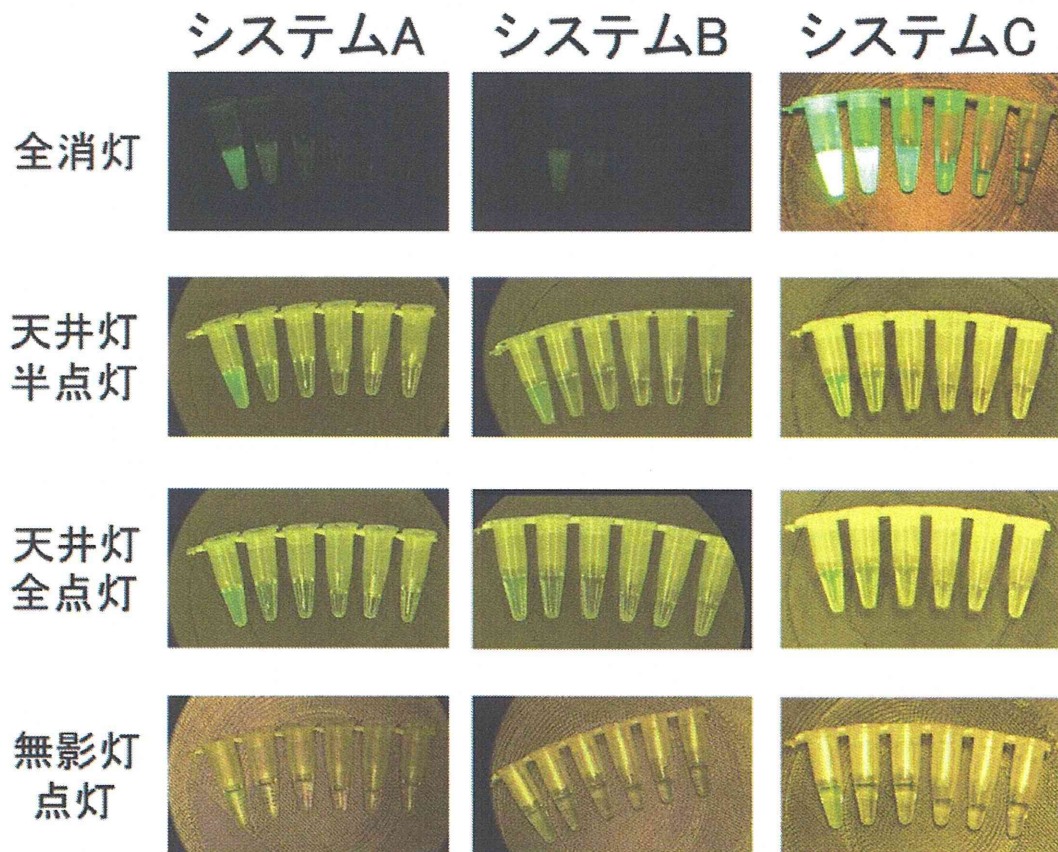
天井灯反転灯の写真ではシステム B（非医療用ポータブル光源）を用いて撮影している。
それ以外の写真ではシステム A（医療用内視鏡装置）を用いている。

図 2. システム A (医療用内視鏡装置 自家蛍光モード) を用いたファントムの撮影



手術台より 15cm, 30cm, 60cm の高さから、4 種類の照明条件で HMRG ファントムの撮影を行った。中/右列上段はフィルター (515nm long-pass) 装着なし、下段は装着あり。天井灯半点灯の図中の数字は HMRG の濃度 (μM)。

図 3. システム A, B, C を用いたファントムの撮影 (手術台から 30cm)



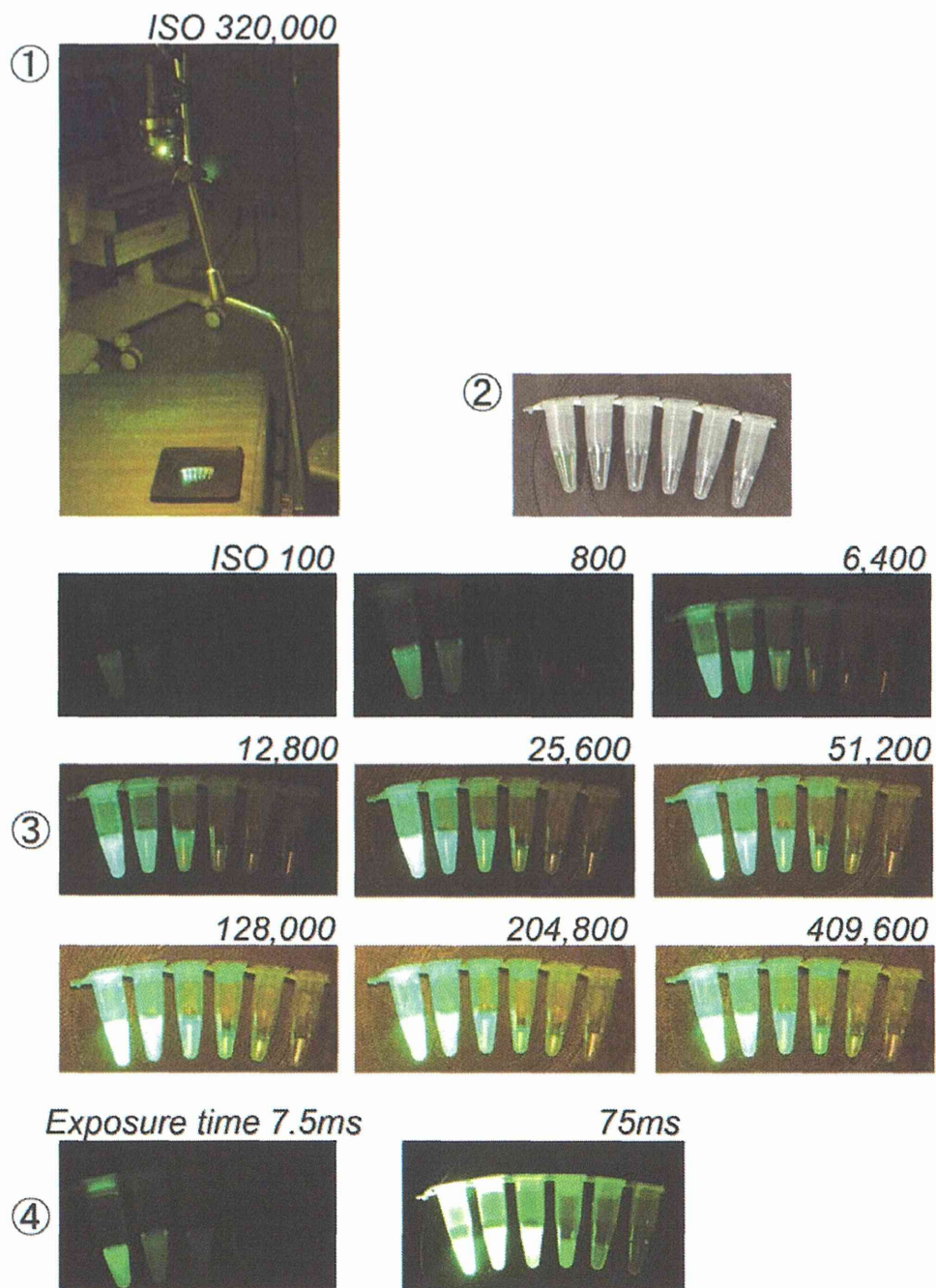
システム A は医療用内視鏡装置にフィルター (515nm long-pass) を装着して撮影。

システム B では、システム A の光源をポータブル LED 光源に変更した。

システム C は、光源としてシステム B と同じ LED 光源を用い、フィルター (515nm long-pass) を装着した暗所撮影用のデジタルカメラで撮影。撮影条件は以下の通り：

全消灯 (exposure time, 4ms; ISO 感度, 128,000)、天井灯半点灯 (6.25ms; ISO 1600)、
天井灯全点灯 (6.25ms, ISO 1600)、无影灯点灯 (6.25ms; ISO 125)

図 4. システム C および Discovery を用いたファントムの撮影 (手術台から 30cm)



①全消灯下における蛍光観察中の手術室の撮影。肉眼観察に近い（この写真では手術台からの距離は 60cm）。

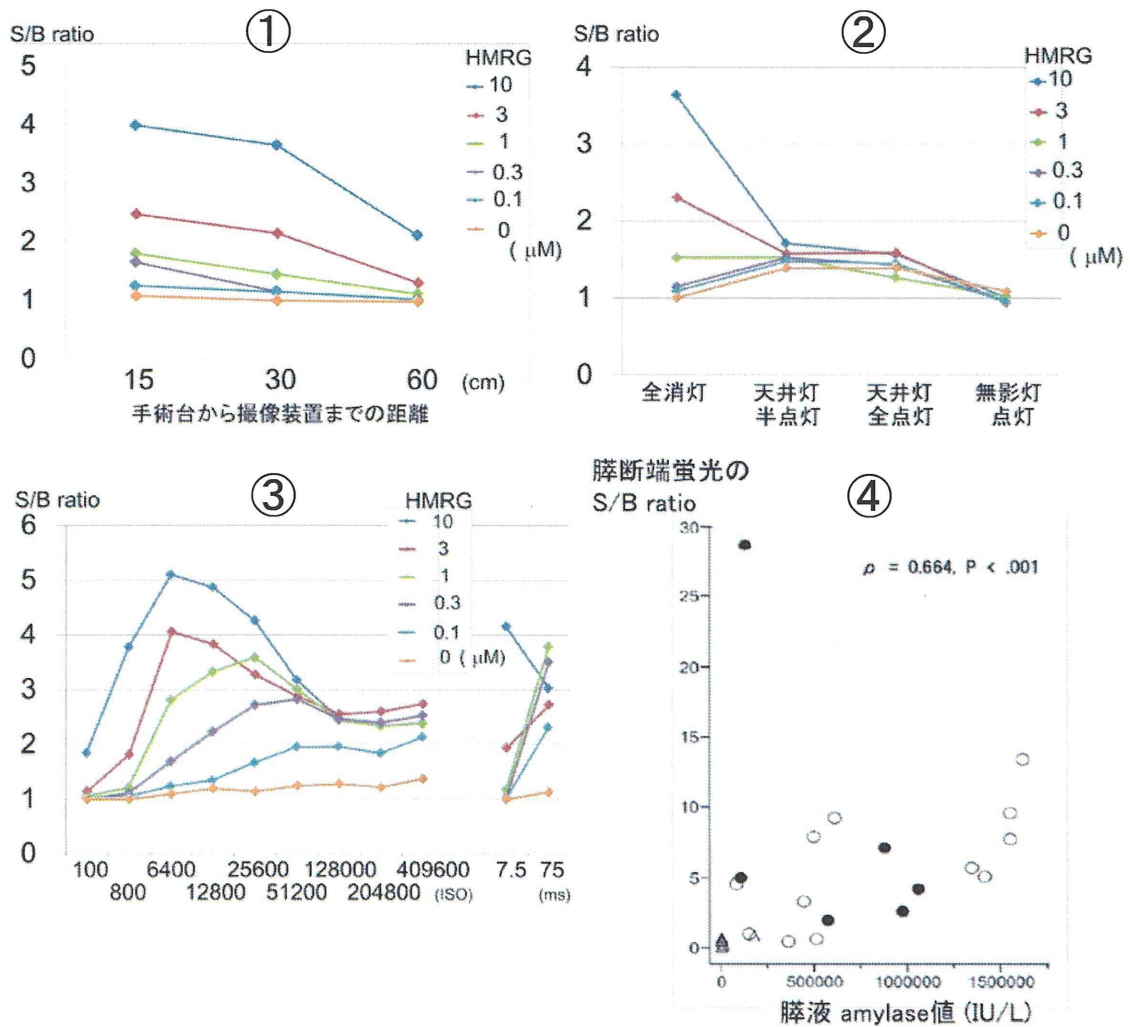
②白色光観察によるファントムの撮影。

③全消灯下に、システム C のカメラ ISO 感度を変えてファントムを撮影。

Exposure time はすべて 4ms。

④HMRG 用小型蛍光観察装置 (Discovery) の暗室内にファントムを設置して撮影。

図 5. S/B ratio と撮影環境との関係



①手術台からの距離を変え、全消灯下にシステム A を用いてファントムを撮影。

60cm の高さからでも、10 μ M の HMRG サンプルでは S/B ratio は 2 以上であった。

②手術室の照明条件を変え、手術台 30cm の高さからシステム A を用いて撮影。

天井灯半点灯より明るい条件では、全てのサンプルで S/B ratio は 2 以下となった。

(①、②は図 2 に対応している)

③全消灯下に手術台 30cm の高さから、システム C の ISO 感度を変えて撮影

(exposure time, 4ms)。背景が明るくなるため、高濃度のサンプルでは ISO 128,000 以上で S/B ratio が低下するが 2 以上であり、画像上もサンプルの蛍光が認識できる

(図 4 に対応)。右の 7.5ms, 75ms のデータは Discovery による測定結果を外挿している。

④膵切除 30 例における、キモトリブシンプローブ散布後の膵断端の蛍光イメージングにより測定された S/B ratio と、術後 1 病日の膵液中 amylase 値との関係 (Δ , 肉眼的

蛍光なし; \circ , 主膵管断端にのみ肉眼的蛍光あり; \bullet , 膵断端全体にび漫性に肉眼的蛍光

あり[1])。肉眼的に蛍光が観察されない 7 例の S/B ratio は 2 以下であり、肉眼的蛍光

を同定し得た 23 症例のうち 20 例 (87%) で S/B ratio が 2 以上であった。

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「手術中に胆汁の漏出部位を同定し蛋白分解酵素活性を評価する蛍光イメージング技術の開発」

機関名：国立大学法人 東京大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
膵体尾部切除における予防的腹腔ドレーンの役割と胆汁漏評価法の再検討（口頭、一般演題）	山下俊, 石沢武彰, 金子順一, 赤松延久, 青木琢, 阪本良弘, 菅原寧彦, 長谷川潔, 國土典宏	第69回日本消化器外科学会総会	2014年7月	国内
肝臓、胆管、胆汁漏を描出する術中蛍光イメージングを如何に臨床応用するか（口頭、シンポジウム）	石沢武彰、浦野泰照、國土典宏	第69回日本消化器外科学会総会	2014年7月	国内
Application of ICG fluorescence imaging to laparoscopic HPB surgery（口頭）	Ishizawa T, Kokudo N	34th Annual Meeting of the Korean Society of Endoscopic & Laparoscopic Surgeons and 2014 International Symposium.	2014年4月	国外
Mechanistic background and clinical applications of indocyanine green fluorescence imaging of hepatocellular carcinoma（口頭）	Ishizawa T	28th International Congress and Exhibition of Computer Assisted Radiology and Surgery.	2014年6月	国外
Update of application of fluorescence in HPB surgery（口頭）	Ishizawa T	6th Annual Worldwide Congress of the Clinical Robotic Surgery Association.	2014年10月	国外
Clinical applications of fluorescence imaging for enhancing safety and therapeutic efficacy of hepatobiliary and pancreatic surgery（口頭）	Ishizawa T, Urano Y, Kokudo N	Photonics West 2015	2015年2月	国外
Application of Fluorescence Imaging in HPB Surgery（口頭）	Ishizawa T, Inoue Y	2nd Annual International Congress of Fluorescent Guided Imaging Surgery.	2015年2月	国外
Application of FIGS for Pancreatic Leaks（口頭）	Yamashita S, Ishizawa T, Urano Y, Kokudo N	2nd Annual International Congress of Fluorescent Guided Imaging Surgery.	2015年2月	国外

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所（学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Acoustic radiation force impulse imaging of the pancreas for estimation of pathologic fibrosis and risk of postoperative pancreatic fistula.	Harada N, Ishizawa T, Inoue Y, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Sugawara Y, Tanaka M, Fukayama M, Kokudo N.	Journal of the American College of Surgeons 2014;219:887-894.	Nov. 2014	国外

（注1）発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者先頭にして全員を記載すること。

（注2）本様式はexcel形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。

Acoustic Radiation Force Impulse Imaging of the Pancreas for Estimation of Pathologic Fibrosis and Risk of Postoperative Pancreatic Fistula



Nobuhiro Harada, MD, Takeaki Ishizawa, MD, PhD, Yosuke Inoue, MD, PhD, Taku Aoki, MD, PhD, Yoshihiro Sakamoto, MD, PhD, Kiyoshi Hasegawa, MD, PhD, Yasuhiko Sugawara, MD, PhD, Mariko Tanaka, MD, PhD, Masashi Fukayama, MD, PhD, Norihiro Kokudo, MD, PhD

BACKGROUND: We sought to evaluate whether pancreatic elasticity, measured using acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging, can determine the degree of pancreatic fibrosis and risk of pancreatic fistula (PF) in patients undergoing pancreatic resection. Although soft pancreatic texture is a reliable predictor of postoperative PF, noninvasive, quantitative methods of assessing pancreatic hardness have not been established.

STUDY DESIGN: Shear wave velocity (SWV) of the pancreas was preoperatively measured by ARFI imaging in 62 patients undergoing pancreatic resection. Correlations of SWV with pathologic degree of fibrosis in the resected pancreas, exocrine function of the remnant pancreas, and the incidence of postoperative PF were determined.

RESULTS: The SWV was positively correlated with the degree of pancreatic fibrosis (Spearman's rank correlation coefficient [ρ] = 0.660, $p < 0.001$) and inversely correlated with postoperative amylase concentrations and daily output of pancreatic juice. The incidence of postoperative PF was significantly higher in the 32 patients with soft (SWV < 1.54 m/s) than in the 30 with hard (SWV \geq 1.54 m/s) pancreata (63% vs 17%, $p < 0.001$). Multivariate analysis showed that a soft pancreas (SWV < 1.54 m/s) was an independent predictor of postoperative PF (odds ratio 38.3; 95% CI 5.82 to 445; $p = 0.001$).

CONCLUSIONS: Pancreatic elasticity on preoperative ARFI imaging accurately reflected the pathologic degree of fibrosis and exocrine function of the pancreas, enabling surgeons to adopt appropriate surgical procedures according to the risk of postoperative PF in each patient undergoing pancreatic resection. (J Am Coll Surg 2014;219:887–894. © 2014 by the American College of Surgeons)

Despite recent advances in surgical techniques and perioperative management of pancreatic resection, postoperative pancreatic fistula (PF) remains a major postoperative concern, with an incidence of 10% to 50%.¹⁻⁵ Because postoperative PF can lead to life-threatening events such

as severe infections and massive hemorrhage, it is important to accurately estimate the risk of PF in individual patients undergoing pancreatic resection. Several clinical factors were found to be significant predictors of postoperative PF, including soft pancreatic texture,^{2,6-11} small main pancreatic duct,¹¹⁻¹⁵ tumor pathology other than adenocarcinoma,^{15,16} and larger amounts of intraoperative blood loss.^{6,15,17} Despite its subjectivity, hardness of the pancreas by palpation during surgery is regarded as a simple and reliable indicator for the development of postoperative PF. Quantitative methods are needed to assess the hardness of pancreatic tissue and to determine whether hardness correlates with the degree of pathologic fibrosis.

Several ultrasound elastographic techniques were recently developed for noninvasive evaluation of tissue elasticity.^{18,19} One method, acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging, measures the velocity of shear waves generated by tissue after irradiation with

Disclosure Information: Nothing to disclose.

Support: This work was supported by grants from the Takeda Science Foundation; the Kanae Foundation for the Promotion of Medical Science; the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan; and the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

Received May 29, 2014; Revised July 17, 2014; Accepted July 30, 2014.
From the Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery Division, Department of Surgery (Harada, Ishizawa, Inoue, Aoki, Sakamoto, Hasegawa, Sugawara, Kokudo), and the Department of Pathology (Tanaka, Fukayama), Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
Correspondence address: Norihiro Kokudo, MD, PhD, Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery Division, Department of Surgery, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan. email: KOKUDO-2SU@h.u-tokyo.ac.jp

Abbreviations and Acronyms

ARFI	= acoustic radiation force impulse
DP	= distal pancreatectomy
MPD	= main pancreatic duct
OR	= odds ratio
PD	= pancreatoduodenectomy
PF	= pancreatic fistula
POD	= postoperative day
ROC	= receiver operating characteristic
ROI	= region of interest
SWV	= shear wave velocity

short-duration acoustic pulses and enables evaluation of tissue elasticity in a small (<1.0 cm) region of interest (ROI) on conventional B-mode ultrasonographic images.^{20,21} Using this technique, shear wave velocity (SWV) correlates with tissue hardness. In clinical settings, ARFI imaging has been used mainly to estimate the degree of hepatic fibrosis without biopsy in patients with chronic liver disease,^{19,22-24} and has been used for the differential diagnosis of nodular lesions in the liver,²⁵ breast,²⁶ thyroid,²⁷ and pancreas.²⁸ To our knowledge, however, ARFI imaging has not been used to estimate pancreatic hardness or whether the latter predicts a risk of PF after pancreatic surgery, except in the recent preliminary study by Lee and colleagues.²⁹ The aim of this study was to evaluate whether the SWV of the pancreas, as measured by preoperative ARFI imaging, correlates with the pathologic degree of pancreatic fibrosis and pancreatic exocrine function in patients undergoing pancreatic resection. The ability of “soft” vs “hard” pancreata, based on preoperative SWV, to predict postoperative PF was also assessed.

METHODS

This study was conducted with the approval of the Institutional Ethics Review Board of our institution. All patients provided written informed consent.

Patients

The study cohort consisted of 68 patients who underwent pancreatic resection at the University of Tokyo Hospital between February 2012 and February 2013. Preoperative ARFI imaging could not be performed in 6 of these patients because of difficulties obtaining clear and static images of the pancreatic parenchyma. In the remaining 62 patients, the SWV of the pancreas was measured by ARFI imaging before pancreatoduodenectomy (PD, n = 35) or distal pancreatectomy (DP, n = 27), with these SWVs compared with postoperative pancreatic exocrine function and the incidence of PF.

Pancreatoduodenectomy was performed as previously described.^{30,31} Briefly, the pancreatic parenchyma was divided using the clamp crushing method, with meticulous ligation of small vessels. Two Roux limbs were created and used for digestive reconstruction: one for biliary and pancreatic anastomoses, and the other for gastrojejunostomy. Patients with a narrow main pancreatic duct (MPD) and/or a soft pancreatic texture, as assessed by manual palpation, underwent PD without pancreatojejunostomy, ie, totally external tube pancreatostomy, followed 3 months later by 2-stage pancreatojejunostomy.³⁰ Other patients underwent pancreatojejunostomy with duct-to-mucosa anastomosis and external tube pancreatostomy during PD. Distal pancreatectomy was also performed by dividing the pancreatic parenchyma using the clamp crushing

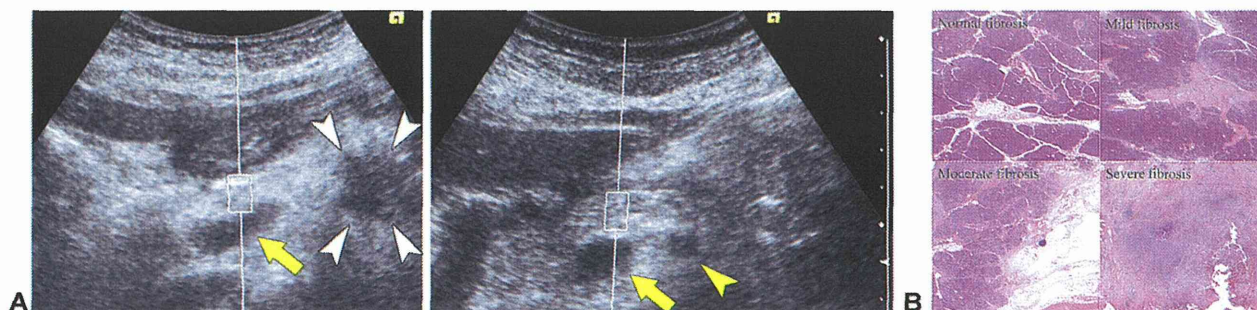


Figure 1. Preoperative acoustic radiation force impulse imaging of the pancreas and pathologic images of the resected specimen. (A) The shear wave velocity (SWV) of the pancreas was measured by setting a region of interest (ROI) in the pancreatic body above the confluence of the splenic and superior mesenteric veins (yellow arrows), away from the pancreatic tumor (arrowheads in left) and the superior mesenteric artery (yellow arrowhead in right). (B) Pathologic pancreatic fibrosis grading according to Klöppel's criteria. The SWVs were 1.01 m/s for normal fibrosis, 1.35 m/s for mild fibrosis, 1.70 m/s for moderate fibrosis, and 1.81 m/s for severe fibrosis.

Table 1. Relationships Between Pancreatic Shear Wave Velocity and Patient Demographic and Clinical Characteristics

Variables	n	SWV, m/s	p Value
Age, y			
>70	30	1.77 (1.01–3.52)	0.041
≤70	32	1.45 (0.85–2.37)	
Sex			
Male	38	1.68 (0.94–3.52)	0.435
Female	24	1.49 (0.85–2.50)	
MPD diameter, mm			
>3	34	1.78 (1.14–3.52)	0.001
≤3	28	1.40 (0.85–3.19)	
Body mass index, kg/m ²			
>25.0	50	1.61 (0.85–3.52)	0.908
≤25.0	12	1.59 (0.94–2.37)	
Diabetes mellitus			
Present	28	1.68 (0.95–3.52)	0.392
Absent	34	1.55 (0.85–2.98)	
Pathologic diagnosis			
Pancreatic cancer	31	1.71 (0.94–3.52)	0.078
Other diseases*	31	1.50 (0.85–2.98)	

Continuous data are shown as median (range).

*Including intraductal papillary mucinous neoplasm (n = 9); carcinoma of the papilla of Vater (n = 5), the lower bile duct (n = 4), and the duodenum (n = 2); pancreatic neuroendocrine tumor (n = 5), gastric cancer (n = 2), serous cystic neoplasm (n = 2), solid-pseudopapillary neoplasm (n = 1), and chronic pancreatitis (n = 1).

MPD, main pancreatic duct; SWV, shear wave velocity.

method and by ligating the small vessels and the MPD.³² Prophylactic abdominal drains were routinely placed on the superior and inferior aspects of the pancreatic stump.

Preoperative acoustic radiation force impulse imaging of the pancreas

Preoperative ARFI imaging was performed using the ACUSON S2000 (Siemens Medical Solutions) in the Virtual Touch Tissue Quantification mode, as described.^{19–29,33} Briefly, patients in the fasting state were placed in the decubitus position. To accurately measure SWVs, conventional B-mode ultrasonography was performed to visualize the pancreatic parenchyma within a depth of 8 cm from the transducer.^{21,33} An ROI measuring 10 mm axially by 6 mm in width was set in the pancreatic body above the confluence of the splenic and portal veins (splenoportal junction), away from the pancreatic tumors and the superior mesenteric artery (Fig. 1A).

Before using preoperative ARFI imaging to evaluate the study population, the reproducibility of this technique was validated in 3 healthy volunteers (3 men, ages 24, 31, and 38 years) and in 3 patients (2 men

and 1 woman, ages 71, 72, and 82 years) who underwent PD for biliary or pancreatic malignancies. Three surgeons, blinded to results obtained by the others, measured SWVs 10 times in each subject. In this validation trial, pancreatic SWVs measured by the 3 surgeons did not differ significantly, either in the group of healthy volunteers or in the group of patients undergoing PD (ANOVA, Appendix 1: Supplementary Tables 1 to 5, online only).

Shear wave velocities in the study population were measured 5 times in each of the 62 patients; the mean SWV of the median 3 values for each patient was calculated and used in further analyses.

Pathologic assessment of the pancreas

Pancreatic tissue samples were obtained 0.5 to 1.0 cm from the pancreatic stump, fixed in formalin, and stained with hematoxylin and eosin. These slides were evaluated by an experienced pathologist (MT), blinded to each patient's clinical data and postoperative course. The degree of pancreatic fibrosis was scored according to perilobular and intralobular fibrosis and divided into 4 categories of Klöppel scores: 1 to 3, normal tissue; 4 to 6, mild fibrosis; 7 to 9, moderate fibrosis; and 10 to 12, severe fibrosis (Fig. 1B).³⁴ Fatty infiltration into pancreatic tissue was evaluated microscopically as 1 to 2, no fatty infiltration or 3 to 4, fatty infiltration.¹⁰

Based on the results of SWVs and pancreatic fibrosis score, cut-off values of SWV predicting pathologic pancreatic fibrosis, defined as a Klöppel score ≥ 7 , were calculated using a receiver operating characteristic (ROC) curve and a common optimization step maximizing Youden's index.³⁵

Evaluation of pancreatic exocrine function and postoperative pancreatic fistula

As indicators of pancreatic exocrine function, amylase concentrations and daily amounts of pancreatic juice were evaluated using fluid samples drained from an external pancreatic tube in 35 patients who underwent PD. The amylase concentrations in pancreatic juice were not evaluated in 5 patients; 2 showed no discharge of pancreatic juice after surgery, and amylase concentrations were not determined in the other 3. Postoperative PF was defined as an amylase concentration in fluid more than 3 times the upper limit of serum amylase concentration after the third postoperative day.⁵

Statistical analyses

Continuous data were expressed as median (range). Quantitative and categorized variables were compared using the Wilcoxon rank-sum test and Fisher's exact test, respectively. The correlations of SWV with fibrosis score, fatty

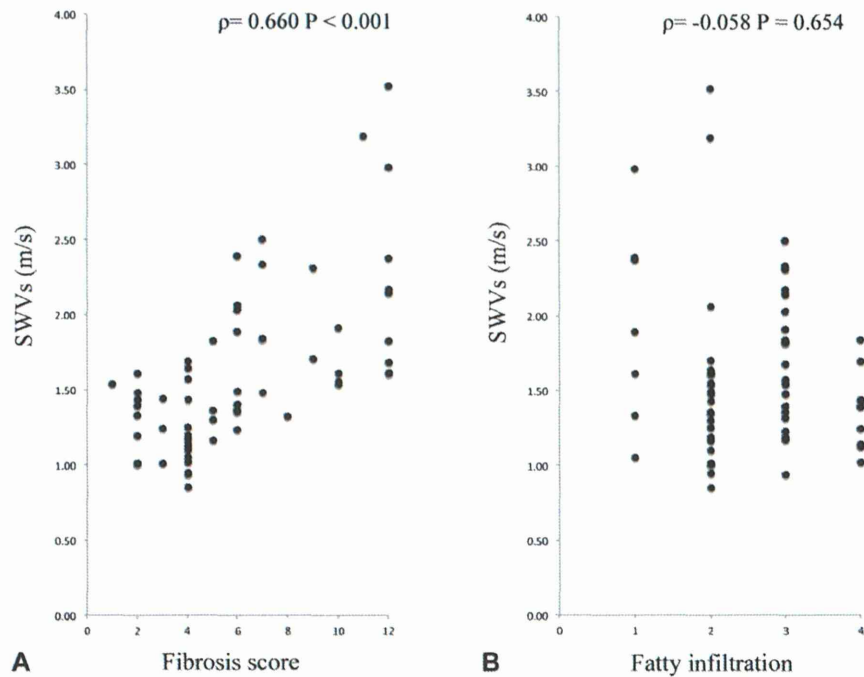


Figure 2. Correlations between pancreatic shear wave velocity and pathologic findings of resected specimens. The preoperative shear wave velocity (SWV) of the pancreas was positively correlated with (A) pathologic fibrosis score (Spearman's rank correlation coefficient [ρ] = 0.660, $p < 0.001$), but not with (B) pathologic fatty infiltration score ($\rho = -0.058$, $p = 0.654$).

infiltration score, and pancreatic exocrine function were evaluated using Spearman's rank correlation test.

Multivariate analysis was performed to evaluate the ability of preoperative SWV to predict the risk of postoperative PF. Due to their clinical significance, 8 potentially important preoperative and intraoperative factors were included in the analysis: age (≤ 70 years vs > 70 years),³⁶ sex,⁶ diabetes mellitus (yes vs no), body mass index (≤ 25 kg/m² vs > 25 kg/m²),^{6,37} pathology of the tumor (pancreatic cancer vs other neoplasm),^{15,16} amount of blood loss ($\leq 1,000$ mL vs $> 1,000$ mL),^{6,15,17} MPD diameter (≤ 3 mm vs > 3 mm),^{12,13} and SWV (≤ 1.54 m/s vs > 1.54 m/s, based on ROC curve analysis). The results were expressed as adjusted odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI), and p values were calculated using the likelihood ratio test. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. All statistical analyses were performed using JMP software version 9.0.0 (SAS Institute).

RESULTS

Shear wave velocities of the pancreas and patients' background characteristics

The study subjects consisted of 38 men and 24 women, ranging in age from 28 to 85 years (median 70 years).

Median preoperative pancreatic SWV was 1.49 m/s (range 0.85 to 3.52 m/s). Preoperative SWVs of the pancreas were higher in patients aged 70 years or younger and in patients with an MPD diameter of 3 mm or less (Table 1). The median time to measure SWV of the pancreas was 157 seconds (range 42 to 490 seconds).

Shear wave velocities of the pancreas and pathologic diagnosis of fibrosis and fatty infiltration

Preoperative SWV of the pancreas significantly correlated with pathologic fibrosis score (Spearman's rank correlation coefficient [ρ] = 0.660, $p < 0.001$; Fig. 2A), but not with pathologic fatty infiltration score ($\rho = -0.058$, $p = 0.654$; Fig. 2B).

Receiver operating characteristic curve analysis was performed to determine a cut-off value of SWV predictive of pancreatic fibrosis, defined as a Klöppel score ≥ 7 (Fig. 3). An SWV cut-off of 1.54 m/s yielded an area under the curve of 0.881 ($p < 0.001$). The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of this cut-off were 91%, 75%, 67%, and 93%, respectively. Based on these results, the 62 patients enrolled in this study were divided into soft (SWVs < 1.54 m/s, $n = 32$) and hard (SWV ≥ 1.54 m/s, $n = 30$) pancreas groups in the subsequent analyses.

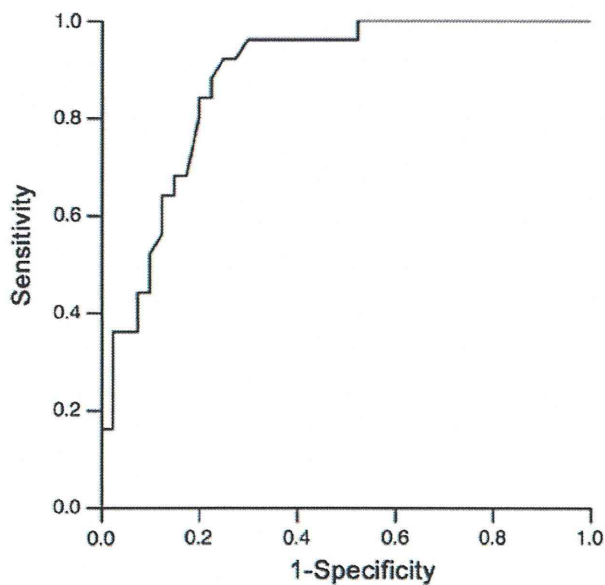


Figure 3. Receiver operating characteristic curves analysis of shear wave velocity for predicting pathologic fibrosis of the pancreas. Receiver operating characteristic curve analysis was used to determine the cut-off value of shear wave velocity (SWV) for predicting pancreatic fibrosis, defined as a Klöppel score ≥ 7 . When the SWV cut-off was set at 1.54 m/s, it provided an area under the curve of 0.881 ($p < 0.001$) with sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of 91%, 75%, 67%, and 93%, respectively.

Shear wave velocities of the pancreas and pancreatic exocrine function

In the 35 patients who underwent PD, higher preoperative SWV of the pancreas was significantly correlated with a lower volume of pancreatic juice on postoperative day (POD) 7 (Fig. 4A) and lower maximum amylase concentrations in pancreatic juice on PODs 1 and 3 (Fig. 4B). Of the 35 patients who underwent PD, 23 had a hard and 12 had a soft pancreas, with the former having significantly lower median volumes of pancreatic juice on POD 7 (40 mL [range 0 to 155 mL] vs 215 mL [range 130 to 420 mL], $p < 0.001$) and significantly lower median maximum amylase concentrations in pancreatic juice on PODs 1 to 3 (3,062 units/L [range 2 to 16,350 units/L] vs 22,747 units/L [range 8,154 to 54,270 units/L], $p < 0.001$).

Shear wave velocity-based hardness of the pancreas and operative outcomes

Postoperative PF (International Study Group on Pancreatic Fistula [ISGPF] grade B or higher) developed in 12 of the 35 patients who underwent PD (34%) and 27 of those who underwent DP (44%). Among the 35 PD patients, the incidences of postoperative PF were 25% (7 of 28)

and 71% (5 of 7) in the patients who had undergone primary and secondary pancreatojejunostomy. The incidence of postoperative PF (63% vs 17%, $p = 0.001$) and the morbidity rate, defined as Clavien-Dindo grade III or higher³⁸ (28% vs 10%, $p = 0.108$) were significantly higher in the soft than in the hard pancreas group (Table 2).

Multivariate analysis revealed that soft pancreas, defined as a preoperative SWV < 1.54 m/s, was an independent predictive factor of postoperative PF (odds ratio [OR] 38.3, 95% CI 5.82 to 445; $p = 0.001$). Other independent predictors of postoperative PF were age ≥ 70 years (OR 7.69, 95% CI 1.44 to 62.3; $p = 0.030$) and male sex (OR 8.87, 95% CI 1.71 to 67.8; $p = 0.018$, Table 3).

DISCUSSION

In this study, pancreatic SWV, measured by preoperative ARFI imaging, showed significant correlations with grade of pathologic fibrosis and exocrine function of the pancreas. When pancreatic elasticity was dichotomized as “hard” or “soft,” based on the preoperative SWV, the incidence of PF after PD was significantly lower in patients with “hard” than “soft” pancreata, although the risk of postoperative PF might have also been affected by surgical procedures used in this series. These results suggest that preoperative ARFI imaging of the pancreas enables accurate estimation of the degree of fibrotic changes and exocrine function of the pancreas, both of which are associated with the risk and severity of PF after pancreatic resection.

The major advantage of ARFI imaging is that it provides a quantitative measurement of pancreatic elasticity, a parameter previously evaluated subjectively by palpation of the pancreatic parenchyma during surgery. The reliability of ARFI imaging in measuring tissue elasticity was observed in patients with chronic liver diseases^{19,22-25} and with chronic pancreatitis.³³ In patients undergoing pancreatic resection, the median (range) SWV of the pancreas was reported to be 1.51 m/s (range 0.80 to 3.40 m/s),²⁹ which is similar to the results in our series (1.49 m/s [range 0.85 to 3.52 m/s]). In addition, the ARFI imaging method is safe, feasible, and noninvasive: using a commercially available ARFI imaging system, the SWV of the pancreas can be measured in approximately 160 seconds during preoperative work-up by conventional B-mode ultrasonography, with little inter-observer difference. A potential pitfall in ARFI imaging is that SWVs can be affected by arterial pulsation and respiratory movement of the diaphragm, as previously reported.³⁹ When the pancreatic SWVs are

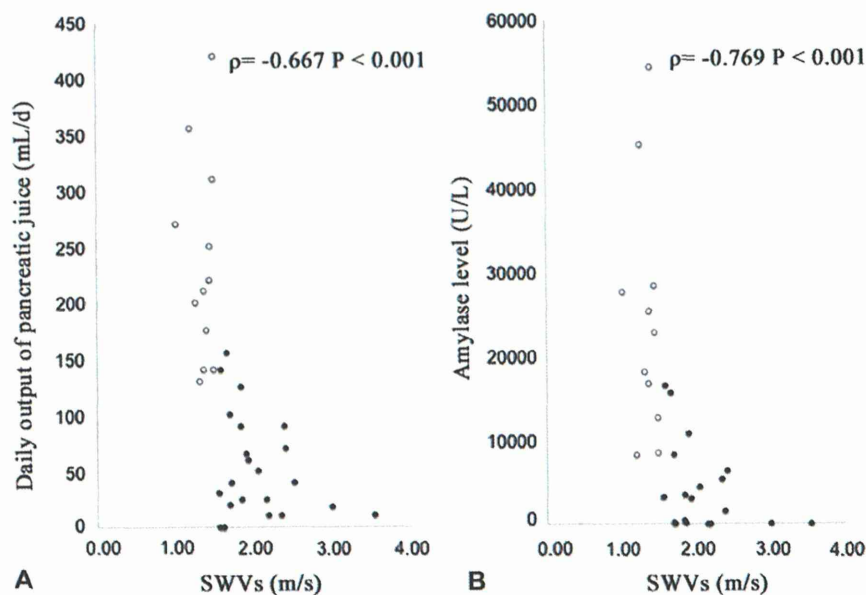


Figure 4. Correlations between pancreatic shear wave velocity and (A) daily output of pancreatic juice and (B) maximum amylase concentrations in pancreatic juice after pancreatoduodenectomy. In the 35 patients who underwent pancreatoduodenectomy, (A) preoperative shear wave velocity (SWV) was negatively correlated with daily output of pancreatic juice on postoperative day (POD) 7 ($\rho = -0.667$, $p < 0.001$). (B) Preoperative SWV was also negatively correlated with maximum amylase concentration in pancreatic juice on PODs 1 to 3 ($\rho = -0.769$, $p < 0.001$). Open and closed circles indicate patients with “soft” (SWV < 1.54 m/s, $n = 12$) and “hard” (SWV ≥ 1.54 m/s, $n = 23$) pancreata, respectively.

measured, ROI should be set apart from the major arteries such as the superior mesenteric artery.

At present, no technique has been established to completely prevent postoperative PF. Many perioperative management strategies are strict and complicated, including those involved in closure of the pancreatic stump,⁴⁰⁻⁴³ pancreatic anastomosis,^{3,7,30,44,45} and drainage of pancreatic juice and abdominal fluid,⁴⁶ all designed to prevent PF from developing into a life-threatening complication. For example, our group has used 2-stage pancreatojejunostomy for PD in patients with a thin MPD and the pancreas is soft on palpation.³⁰ Although we found that the in-hospital mortality after PD was zero,³⁰ this strategy has potential disadvantages, including requiring patients to wait for 3 months before secondary

surgery, consisting of pancreatojejunostomy with an external pancreatic drainage tube. Using this technique, patients must wait until thick connective tissues cover the vessel stumps around the anastomotic site, preventing bleeding caused by PF. The ability of ARFI imaging to accurately predict the risk of postoperative PF, based on quantitative evaluation of pancreatic elasticity, may identify patients who require such meticulous surgical procedures, such as 2-stage pancreatojejunostomy, as well as those in whom even prophylactic abdominal drainage could be omitted. So, preoperative ARFI imaging may enhance the safety and efficacy of pancreatic surgery.

Acoustic radiation force impulse imaging failed to measure SWVs of the pancreas in 6 of the 68 patients (9%), because massive amounts of gastrointestinal air covered

Table 2. Relationship Between Shear Wave Velocity-Based Hardness of the Pancreas and Operative Outcomes

Variable	Hard pancreas, SWV ≥ 1.54 m/s	Soft pancreas, SWV < 1.54 m/s	p Value
PF (ISGPF grade B or higher), n (%) [*]	4 (17)	20 (63)	0.001
Postoperative morbidity (Clavien-Dindo grade III or higher), n (%) [†]	3 (10)	9 (28)	0.108
Postoperative hospital stay, d, median (range)	21 (9–65)	20 (7–77)	0.751

^{*}PF grades A/B/C = 13/20/4.

[†]Postoperative morbidity included PF (ISGPF grade B or higher, $n = 24$), delayed gastric emptying ($n = 2$), cholangitis ($n = 1$), diarrhea ($n = 1$), and postoperative pneumonia ($n = 1$).

ISGPF, International Study Group of Pancreatic Fistula; PF, pancreatic fistula; SWV, shear wave velocity.