

科技部補助
大專學生研究計畫研究成果報告

計 畫 名 稱	: 利用磁振橫向弛緩率量測來反應大腦神經髓鞘相對含量
------------	----------------------------

執行計畫學生：蘇采柔
學生計畫編號：MOST 108-2813-C-040-005-E
研究期間：108年07月01日至109年02月28日止，計8個月
指導教授：蔡炳輝

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學醫學影像暨放射科學系(所)

中華民國 109年03月31日

摘要

臨床上，大腦神經髓鞘含量多寡可以反應出腦部灰質與白質的微觀結構差異。髓鞘含量的定量量測也是許多研究用來探討腦部發育以及神經去髓鞘、神經退化等相關疾病的早期指標。量測髓鞘含量過去大多是透過病理組織切片後染色檢驗，近年來因為核磁共振造影軟硬體的進步，許多進階的磁振技術，如：水分子擴散張量造影 (diffusion tensor imaging, DTI)、磁振頻譜分析(MR spectroscopy)或是磁振縱向弛緩量測(MR longitudinal relaxation measurements)等，都被運用在神經髓鞘的定量應用上。然而，這些方法除了掃描時間過長外，其量測結果亦容易受到不同機器參數設定之影響而變化。本計畫目標希望選擇動物及臨床機器皆可容易取得的多切面多回訊快速自旋回訊造影技術 (multi-slice multi-echo fast spin echo imaging technique)，在臨床允許的掃描時間內，進行鼠腦組織磁振橫向遲緩率(transverse relaxation rate, R2)量測，來反應腦部不同組織間神經髓鞘的相對含量，並搭配病理切片染色檢驗之驗證以探討兩者之關係。期望研究的結果對於臨床神經去髓鞘與神經退化相關疾病之早期診斷有所助益。

關鍵字：磁振橫向遲緩率、髓鞘、多發性硬化症、切面多回訊快速自旋回訊造影

目錄

摘要	1
目錄	2
第一章 緒論.....	3
第一節 研究動機與研究問題.....	3
第二節 文獻探討.....	4
第二章 研究方法.....	7
第一節 研究架構.....	7
第二節 研究設備.....	8
第三節 研究步驟.....	8
第三章 研究結果與討論.....	10
第一節 回訊時間TE參數設定.....	10
第二節 單雙指數擬合結果之差別描述.....	12
第三節 使用不同擬合演算法結果之差別描述分析	13
第四節 大鼠大腦之R2 map影像呈現.....	15
第四章 結論與建議.....	20
第一節 結論.....	20
第二節 建議.....	21
參考文獻.....	22

第一章 緒論

第一節 研究動機與研究問題

根據過去的研究已知，神經軸突的外側因有髓鞘的包覆，神經動作電位的傳導可以 是跳躍式的快速方式，反之，當軸突外包覆的髓鞘結構發生破壞，神經訊號的傳導受到影響，進而造成腦部相觀調控功能發生異常(Figure 1)。依據聯合國世界衛生組織 2017 年底對於痴呆症(dementia)的統計，全球人口中約有 5000 萬人患有痴呆症，並且每年將近有 1000 萬名的新病例。痴呆症不僅對其痴呆症患者，並且對於照護者、家庭與社會都造成心理、生理與經濟的龐大負擔。而阿茲海默症佔了痴呆症中約 60~70%的比例。而有研究顯示，阿茲海默症是一種神經退化疾病，並且與基因遺傳有關。不僅如此，許多腦部記憶與運動的相關病症都與腦部神經的去髓鞘化有關，例如:帕金森氏症、亨丁頓舞蹈症、多發性硬化症與小腦萎縮症。而這些神經退化疾病相關的症狀依據去髓鞘化的嚴重程度被分為早中晚三期，而若能早期診斷，早期提供預防性治療，就有助於神經退化疾病患者的護理與減低患病過程中患者的痛苦。

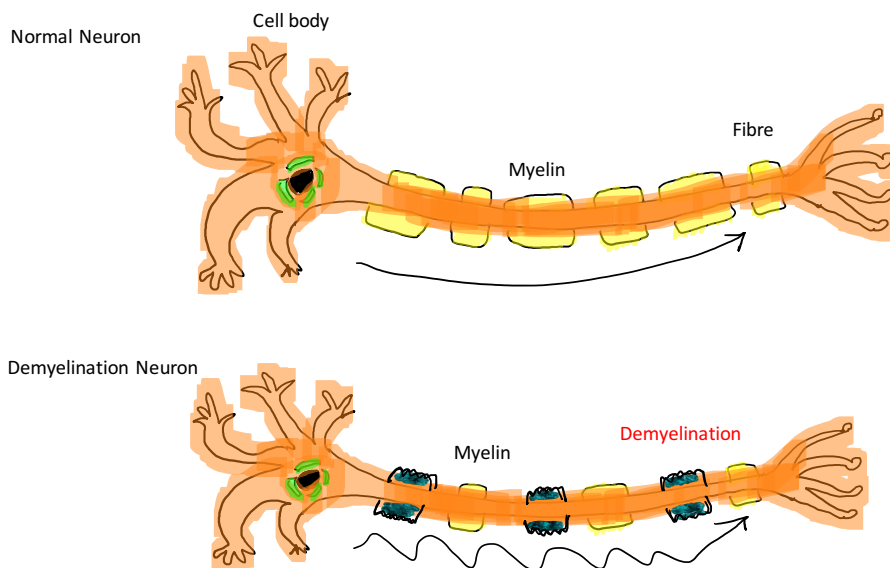


Figure 1. 正常的神經軸突與去髓鞘化的神經軸突比較

髓鞘主要是由脂質與蛋白質相互構成的雙重結構，它包裹在中樞神經或是周圍神經的軸突上。在腦部的中樞神經中，佔白質(WM)約50%的重量，因此藉由量測髓鞘的相對含量就可以推估出腦部白質(WM)與灰質

(GM)的微觀差異，更可以透由此差異，檢驗判斷出異常的白質疾病。以神經退化疾病中的阿茲海默症為例子，因其腦部蛋白結塊沈澱進而造成腦部神經死亡後呈現去髓鞘化的結果，過往通常使用侵入性的病理切片檢查，對病患的生理與經濟都是一大負擔。

近年來因為核磁共振造影的進步使我們可以將其運用在量測髓鞘的應用上。在臨床使用上，經常使用常規的 MRI T2 加權的 FLAIR 圖像評估白質病變，其中的高信號強度可能表示神經炎症或去髓鞘的神經退化疾病。儘管還有幾種更加先進的 MR 成像技術，例如髓鞘水成像和 diffusion，但由於腦部脫髓鞘化病症的複雜病理生理機制，特异性並不好，需要更多的臨床驗證。過去的研究指出，組織的磁振橫向遲緩時間長短可反映出組織的化學特性與微結構變化，其數值變化與疾病的演進關係密切。

本計畫期望能利用磁振橫向遲緩率來反應腦部神經髓鞘的相對含量。首先我們將在高磁場動物磁振造影下建立高解析與高影像品質之鼠腦磁振橫向遲緩率圖像，同時利用病理組織切片染色驗證各組織間的髓鞘含量差異並研究兩者之相關性。我們希望利用橫向鬆弛率量測反應髓鞘含量的方式可以進一步了解腦部組織微結構變化與疾病之關係，更能協助臨床評估脫髓鞘疾病的診斷。

第二節 文獻探討

● 使用MR影像量測髓鞘含量

目前許多研究聚焦在於使用不同的 MR 影像來直接或間接地量測髓鞘含量，包含傳統的 MR T1、T2-weighted imaging、磁共振頻譜分析(MR Spectroscopy)、擴散張量造影(Diffusion tensor imaging)、磁化轉移影像(Magnetization transfer imaging)以及橫向遲緩量測(Transverse relaxation measurements)，相關的文獻討論如下所示：

1. 傳統的T1加權或T2加權影像(conventional T1-weighted and T2-weighted imaging) [1]:因為T1加權與T2加權影像對於腦部有優秀的軟組織對比度，因此在解析髓鞘結構中，T1加權影像加速了腦部疾病發展病理學的進展。

然而，傳統的T1加權影像對於腦部髓鞘變異的病理敏感性並不高，在許多的腦部疾病病灶區都會顯示出明亮的區域。故對於成人而言，並無法適用T1加權影像來量測髓鞘含量。在Laule的研究中提出在胎兒在早期腦部發育中，唯一的非水狀組織便是髓鞘組織，因此在兩歲以前的嬰幼兒可以使用T1加權影像作為髓鞘發育診斷的定性標準。

2. 磁共振頻譜(MR spectroscopy):在此Narayana等人研究中，發現可以利用磁共振能譜的特性，觀察髓鞘中所含的中性脂質的能峰是否存在，在某些情況下，峰值的增加可能和髓鞘磷脂質的分解相關，故透由此現象可以間接量測出髓鞘的含量變化，特別運用在質子磁共振光譜(MRS)分析當中。文獻回顧中極少提到此方式，因此對於質子磁共振光譜拿來對腦部量測髓鞘含量的準確程度目前還無法證明。 [3]

3. 擴散張量影像(diffusion tensor image):Kolind在2009年時提出使用3T的單切面DTI 成像出髓鞘影像。主要DTI是透過水分子的動力學，測量不同軸向中水的擴散張量 [4]。這部分有許多相關的文獻回顧，討論水分子擴散影像與神經纖維方向的相關性，例如Beaulieu便在2002年提出，有證據顯示水分子擴散的結果和軸突的累積有相關性，軸突的表膜與軸突本身可能阻礙了水的擴散[5]。然而在某些無髓鞘神經的實驗中，發現水擴散對於髓鞘並沒有方向依賴性，即水分子擴散的方向差異性並不受髓鞘與否而改變。

Song等人更在其研究中證明在小鼠的實驗當中，DTI可以提供有關髓鞘形成與變化的數據[6]。然而DTI無法提供相對準確的數據，因擴散張量分量取決於髓鞘纖維束的取向順序，故無法提供準確標準化的髓鞘數據。

4. 磁轉移影像(magnetization transfer imaging):Wolff 等人在該研究中說明，磁化轉移影像的成像原理是因為 MRI 觀察到游離的氫原子和非游離的氫原子之間會進行磁化交換，並且將此量測為磁化傳遞比(MTR)[7]。而其之間的交換比率取決於體內氫原子的鬆弛特性。故由此可知，MT是一種量測腦部神經退化病症非常敏感的方式。

然而，Gareau 在2000年的實驗中發現，他們預計大分子結構的分解(例如脫髓鞘) 會造成 MTR 的降低，即認為游離水分子的增加會使MTR數值輕微下降，可以將此推測運用在多發性硬化症(MS)的診斷當中[8]。然而，實驗結果卻發現磁化轉移影像容易受到腦部發炎的組織部位影響，量測出較不準確的MTR數值，故磁化轉移影像不太適合用於量測髓鞘含量。

5. 橫向遲緩量測(transverse relaxation measurements):有許多實驗顯示，橫向遲緩時間的長短已經被證實可以用來分辨多發性硬化症區域與正常腦組織區域。Blystad 與 Weat 在報告中更顯示在多發性硬化症的病患中，藉由 T2 relaxation量測提高了腦部的組織分辨率，即表示橫向遲緩量測的資訊可以用來辨別腦部組織之差異[9] [10]。

- 橫向鬆弛率之量測

過去研究提到大腦神經白質除了由細胞內外的長T2自由水組成外，另一部分的髓鞘水則是屬於短T2成分，故使用一般規回波時間(TE)的臨床磁共振成像(MRI) 序列無法完整的偵測到腦部神經白質訊號。Du 等人在其研究中便使用3T超短回波時間序列(UTE)的方式，得到腦部白質中較短T2的成分，以用來量化。在此研究當中所使用的超短回波時間序列(UTE)，以同時保留超短T2 *物質及長T2自由水之磁振訊號，再通過有效抑制長T2自由水信號，以凸顯大腦白質中超短 T2 *成分的顯著性，達到成功量測大腦髓鞘含量的功效[11] [12]。

另一方面，有文獻顯示，在多發性硬化症的患者中，使用橫向鬆弛率定量，因其對於鐵與水分子的敏感性，能顯示出多發性硬化症的病理改變，其作者提出 $T2^* / R2^*$ 的變異數值或能作為多發性硬化症患者腦中組織完整性的生物標誌物的作用[14]。雖然由文獻可知道，使用橫向鬆弛率可以敏銳地分辨出腦內的組織，再利用 UTE 的回波序列更能檢測到腦內白質。考量臨床 MRI 機器極少建置有超短回訊造影技術以及組織 T2*訊號衰簡易受外部磁場變化影響，本計畫將使用參數最佳化之快速自旋回訊造影技術來量測鼠腦 R2 圖像。

第二章 研究方法

第一節 研究架構

本研究將對 8 週齡的正常大白鼠(Sprague Dawley, SD)進行相關造影與分析。在動物麻醉之後(3.5%之氣體麻醉劑Isoflurane)，鼠腦磁共振造影的部分將在7.0T 動物 MR 掃描儀(PharmaScan, Bruker, Erlangen, Germany) (Figure 2)，搭配使用 72mm 體線圈作訊號激發與正交表面線圈來收集磁振訊號。使用的脈衝序列順序如下:1)常規回波序列用來做基本定位與取得相關鼠腦部位置資訊 2)多切面多回波快速自旋成像(multi-slice multi-echo fast spin-echo imaging) 用來得到 25 個 6.5ms 至 163.6ms 範圍內的不同回波時間(TE)的 25 個圖像。

掃描參數如下:TR = 2000ms，FOV = 25×25mm²，矩陣尺寸= 256×256(零填充 至 512×512)，切片厚度= 1mm，NEX = 4，總掃描時間小於 1.5 小時。



Figure 2. Bruker PharmaScan 7 T animal MRI

第二節 研究設備

- **磁振造影(MR Imaging)**

7.0T 動物 MR 掃描儀(PharmaScan, Bruker, Erlangen, Germany),強磁場適合使用在體型較嬌小的實驗動物上,實驗搭配使用72mm體線圈做訊號激發與正交表面線圈,使掃描訊號增強,得到更加的掃描結果。

- **使用麻醉劑**

Isoflurane 異氟醚(Figure 3),為一種氣體麻醉劑,需要搭配使用汽化器調控麻醉劑濃度等,維持麻醉時間與穩定度。在動物實驗上是一種常見的全身麻醉藥,可用於誘導或維持麻醉。雖對於實驗動物氣管具有刺激性,但誘導與恢復期快,且對心血管抑制較小。



Figure 3. Isoflurane 異氟醚

第三節 研究步驟

本研究依照研究執行、研究分析、分析方式,茲分別說明如下:

本研究針對研究動機,首先對於國內外相關文獻與評估工具,經動物試驗倫理委員會審核通過,才進行正式收案。

- **研究執行**

將正常六隻大鼠放入 7T 核磁共振造影儀中掃描,得到基準影像,隨後將六隻大鼠取得磁共振影像後人道犧牲取下大腦組織結構,並浸泡於福馬林液體中,後續取得髓鞘鹼性蛋白病理切片染色。

- **研究分析**

將掃描得到的 MRI 利用 Matlab 2018b 軟件運算為橫向磁矩遲緩率圖形(R2 map),並觀察大腦中不同區域的 R2 值。另一方面,利用髓鞘鹼性蛋白病理切片進行病理組織學驗證,以相關性分析,驗證磁振造影橫向遲緩率是否能反映鼠腦組織間的髓鞘相對含量,以得到結論。

- **分析方式**

- 橫向磁振鬆弛率分析**

取得鼠腦 MRI 影像後,後續的橫向磁矩遲緩率圖形(R2 map)將於 Matlab 2018b 軟件平台上進行運算。分別與Isqcurvefit和 Fminsearch兩種擬合方式運算,包含 mono-exponential 和 bi-exponential fitting schemes 來進行計算與比較。再對於大鼠腦部中來自第一回波(first echo)圖像上的感興趣區域(ROI)進行圈選,依解剖構造選出四種含有不同髓鞘量的腦部灰白質結構:大腦皮質區(cortical region)、胼胝體(corpus callosum)、丘腦(thalamus)與海馬迴(hippocampus)。最後計算各區域內的 R2 數值平均(mean)與各區域的標準差(standard deviation)。

- 病理組織學驗證**

另一方面,取得磁振造影影像後的鼠腦將在人道犧牲後取下大腦組織結構,並浸泡於福馬林液體中,後續並進行該組織切片後保存。而過去研究報導已指出,使用特定的抗體染色可以針對神經髓鞘上的髓鞘鹼性蛋白(Myelin basic protein, MBP)進行染色與定量分析,故切下的鼠腦組織將利用此方法進行免疫組織化學 (Immunohistochemistry, IHC)分析,以評估鼠腦組織中不同結構的髓鞘含量。

- 組織學分析結果與磁振橫向磁矩鬆弛率之相關性分析**

利用病理組織學的染色結果,得出鼠腦真實的髓鞘含量,再對比磁振橫向鬆弛率所得到的不同組織之量化結果,進行兩者量測之相關性分析,以驗證不同組織內量測的磁振橫向鬆弛率是否能反映出鼠腦組織間髓鞘的相對含量,並比較再設定的參數之下,單指數模型或雙指數模型具有較佳之結果。

第四章 研究結果與討論

第一節 回訊時間 TE 參數設定

本研究計畫我們將收集大鼠腦部 MRI 影像來計算其 R2 橫向遲緩率定量量測之穩定性，並透過病理切片染色來驗證R2數值與腦部組織髓鞘含量之關係，通過此技術建立將助於臨床了解腦部神經去髓鞘化等相關疾病之生理機制與診斷。

過去的研究指出大腦神經纖維的 T2 relaxation time 分布包含了細胞內外自由水的長 T2 衰減與myelin water的短T2衰減(約10~20 ms)。(Figure 4)為了更準確的量測 myelin water的R2數值，我們透過脈衝程序的設定，將最短回訊時間設在 6.5 ms，確保造影時保留較多的myelin water訊號。

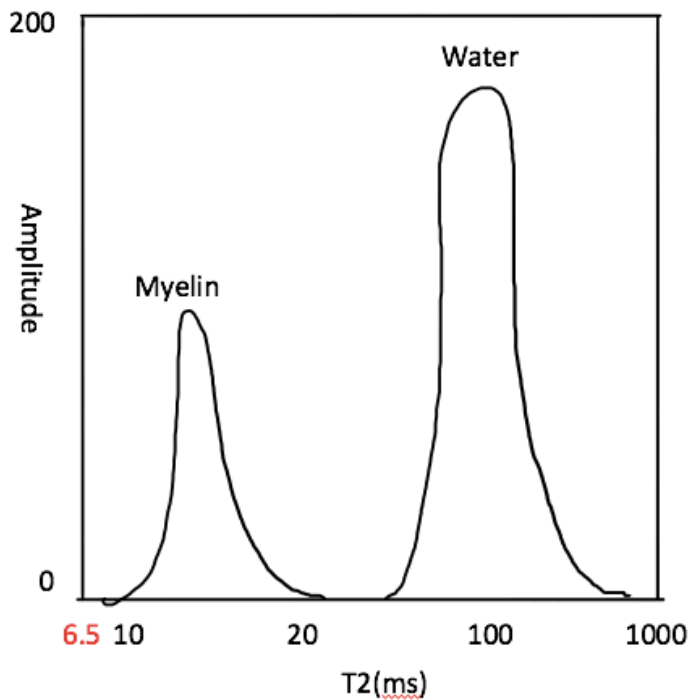


Figure 4.大腦神經纖維的 T2 relaxation time 分布，包含細胞內外自由水的長 T2 訊號與 myelin water 的短 T2 訊號。

為了確認磁振造影的回訊時間(TE)參數設定，可提供足夠的影像品質與訊號強度來進行後續準確地 R2 數值計算，我們先透過 Matlab 的數值模擬方法，假設一像素內同時存在短 T2 衰減訊號(T2=10 ms)

與長 T2 衰減訊號($T_2=80$ ms)，在指數衰減的模型下，產生無雜訊的磁振訊號變化。接著加入不同比例的雜訊(1~10%)，每種雜訊範圍皆隨機產生 300 組訊號變化，來模擬收集的影像在不同的訊雜比(Signal-to-noise ratio)下，使用mono-exponential fitting 與bi-exponential fitting計算的T2 值變化。模擬的T2平均值與標準差如下圖。

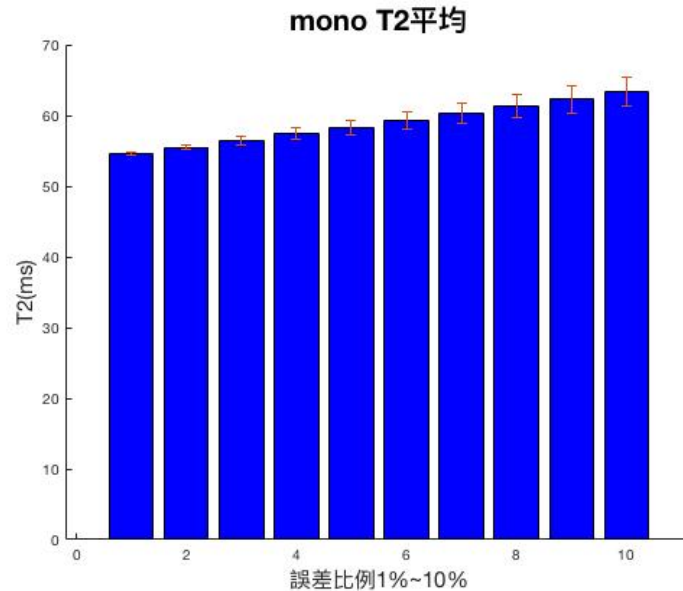


Figure 5. mono-exponential fitting在不同雜訊程度下，計算出T2平均值與標準差

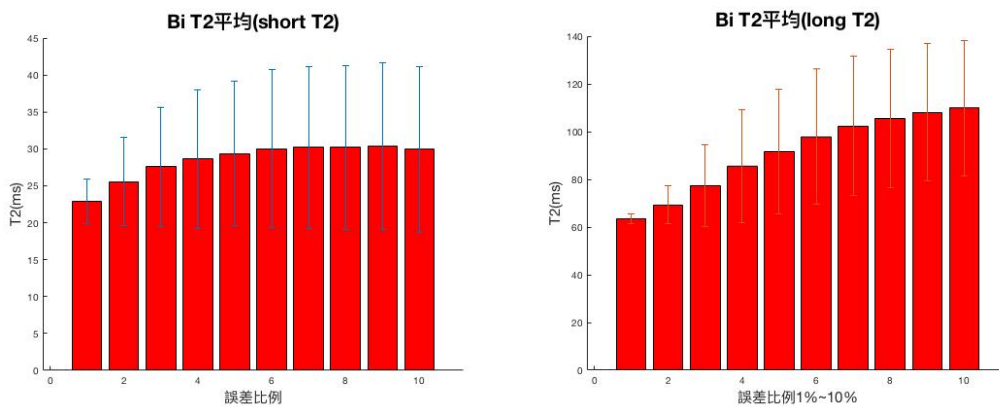


Figure 6. Bi-exponential fitting在不同雜訊程度下，計算出T2平均值與標準差

由上圖結果的呈現，我們發現當磁振影像的雜訊不大於 10%的狀態之下，透過mono-exponential fitting指數衰減模型，計算出橫向弛緩時間可維持在接近理想的 T2 數值，而且其計算的變異數也維持在可接受的範圍之內。雖然Bi-exponential fitting所模擬出的結果不太理想，但此問題後續會再進行討論。因此，我們預期實驗 protocol 參數設定，包含最小

回訊時間與收集的回訊數目，可提供足夠的影像品質來進行腦部組織的橫向弛緩率量測，並透過組織切片染色檢驗來反映出不同腦部神經組織間髓鞘的相對含量。

第二節 單雙指數擬合結果之差別描述

在過往文獻回顧中，過去的研究會使用不同的exponential fitting方法，以用來回歸出T2 relaxation time。大多是Mono-exponential fitting和Bi-exponential fitting兩種，根據T2 relaxation time的公式{1}可以知道，所計算出的T2 value受到物質內部短與長T2物質的共同影響(Figure 7)，故先前的研究中表示，若使用Bi-exponential fitting取代Mono-exponential fitting可以個別擬合出短T2與長T2,以達到精準量測的短T2物質含量的目的。因此本研究會探討使用不同的exponential fitting方法是否對於量測大腦髓鞘含量有影響。

$$M_{xy} = M_0 e^{-t/T_2} + M_0 e^{-t/T_2'} \quad \{1\}$$

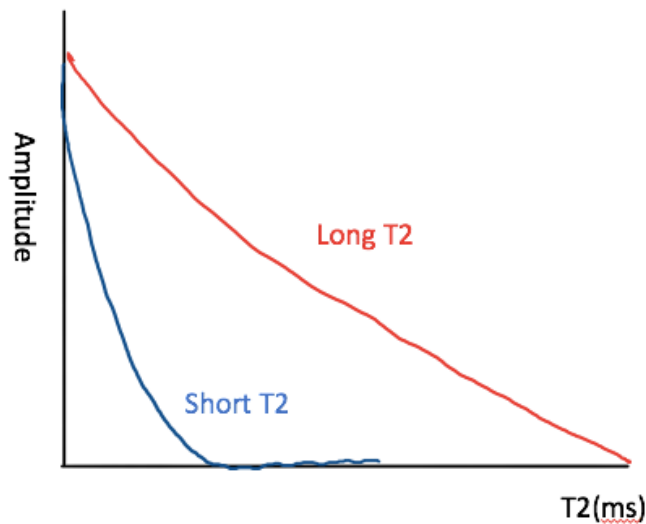


Figure 7. Long T2和short T2共同影響擬合出的T2 value

但由先前模擬的圖表中(Figure 5 與 Figure 6)可以看見，Bi-exponential fitting 的標準差遠大於 Mono-exponential fitting。且在實際老鼠擬合出的T2 結果也可以看到(Tab 1)，其 Bi weight(即 short T2 所佔的含量)中，在 CSF upper 中，高達 37%，可以反推成在腦脊髓液中有 30%的髓鞘含量，

但根據 Mengler 等人在 2014 年的研究，大鼠 CSF 中所含的髓鞘含量並不高，更不可能高達 30%[17]因此我們可以總結，使用 Bi-exponential fitting 擬合髓鞘相對含量的結果，其準確度應小於使用 Mono-exponential fitting 的方法。

part	Bi weight	Bi long T2 value(ms)	Bi short T2 value(ms)
Gray matter (right)	0.18	56.3	50.7
Gray matter (left)	0.33	53.7	50.4
White matter	0.60	76.3	44.2
Thalamus(right)	0.59	60.1	46.1
Thalamus(left)	0.56	59.5	46.5
CSF(upper)	0.37	193.2	56.1
CSF(lower)	0.11	195.9	38.9

Tab 1.實際六隻大鼠使用Bi-exponential fitting得出之結果

第三節 使用不同擬合演算法結果之差別描述分析

磁振造影所收到的訊號點為每個時間點線圈所收到的訊號量(Figure 8),必須利用擬合進而計算出實際的 R2 值，而由於擬合的曲線會受到所收到的訊號中包含的雜訊影響，造成 R2 值不準確的結果。本研究希望透過不同的擬合方法降低雜訊的影響，已達到提升準確度的目標。

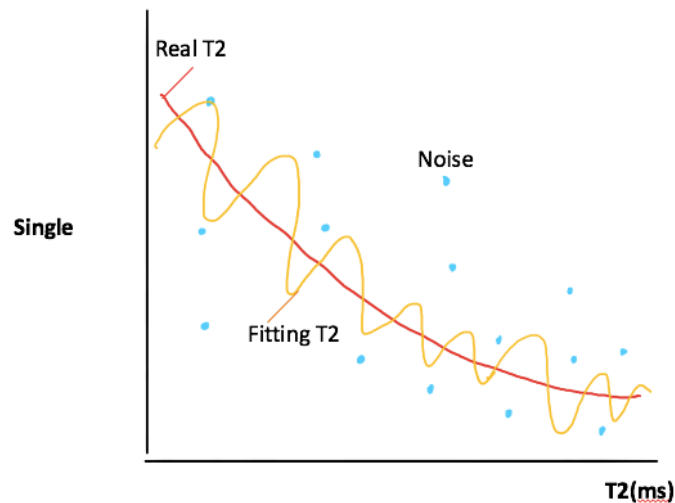


Figure 8. 收到的訊號與雜訊影響擬合的 T2 value

由於核磁共振所收集到的訊號複雜，必須使用多次迭代才可擬合出最佳化解答，故本研究採非線性最小二乘法擬合。利用 Matlab 2018b 軟體中兩款非線性最小二乘法擬合的語法'Isqcurvefit'與'Fminsearch'進行模擬擬合比較。(Figure 9)

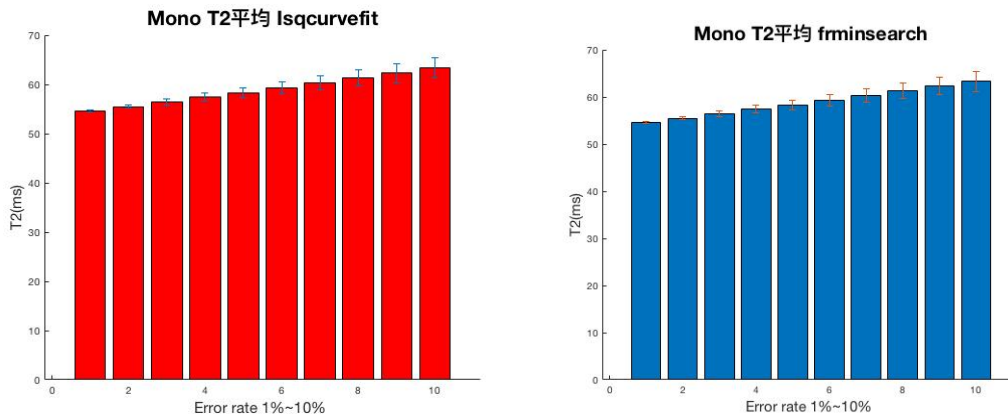


Figure 9. 兩種擬合方式，不同雜訊程度下，計算出T2平均值與標準差

由 Mono-exponential fitting 的兩種擬合方式可以發現，結果差距並不大，但在擬合時間的方面，Isqcurvefit 約 30 分鐘，而 Fminsearch 的擬合計算時間約 4 分鐘，所耗時間相差大。

但在 Bi-exponential fitting 的 Long T2 擬合中(Figure 10)可以看出，當誤差範圍越大時，兩種擬合方式的誤差便隨之變大。但相比之下，Isqcurvefit 的標準差大於使用 Fminsearch 的，且其擬合數值離初始 Long T2(80ms)較 Fminsearch 大。且 Isqcurvefit 擬合時間 Bi-exponential fitting 約 50 分鐘，Fminsearch 約 25 分鐘。

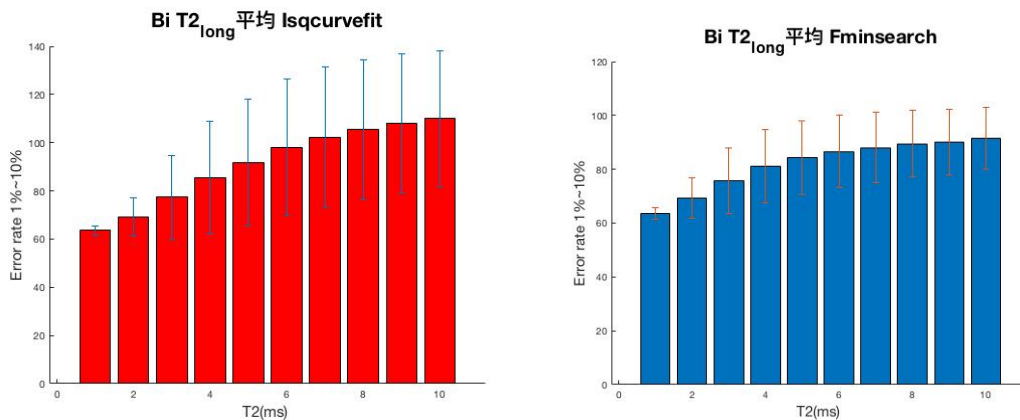


Figure 10. 兩種擬合方式，不同雜訊程度下，計算出 Bi-exponential fitting longT2 平均值與標準差

雖然此兩種擬合方式都是採用非線性最小二乘法，但由於內部迭代最佳化演算法的不同，導致 Fminsearch 較 Isqcurvefit 精準(Tab 2)。雖然皆是使用拉格朗日算子求出極值，但 Isqcurvefit 採用線搜索(Line search)的方式進行最佳優化解，可能會造成得到的結論為區域最佳解而非全體最佳解，即是造成 Isqcurvefit 方法不準確的主因。

而 Fminsearch 法改用梯度下降法縮短擬合時間之外，還加上了 Simplex

Downhill search 協助找到全體最佳解，因此由演算法的部分可以得知，Fminsearch 的方式應比 Isqcurvefit 接近真實結果。

	Isqcurvefit	Fminsearch
Fitting method	Non-Linear least squares method	Non-Linear least squares method
Extremum Algorithm	Lagrange multiplier	Lagrange multiplier
Optimization Algorithm	line search Levenberg–Marquardt algorithm	Gradient Descent Simplex Downhill search

Tab 2.兩種擬和方式所使用的演算法

第四節 大鼠大腦之 R2 map 影像呈現

本研究依據 Paxinos 等人在 2006 年出版的 The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates 一書中分割大鼠大腦之解剖構造，並將大鼠大腦中四個感興趣的位置，分別是白質、灰質、丘腦與腦脊髓液(Figure 11)，再者臨床時去髓鞘疾病可能為單邊病灶區，故本研究依每個區域左、右兩邊來討論。

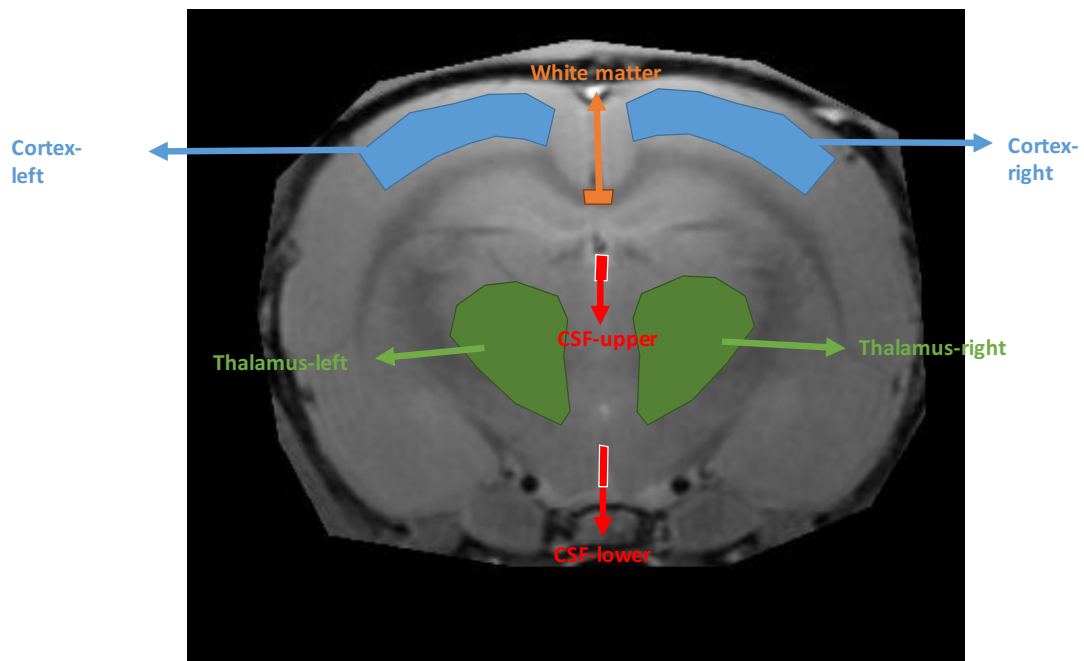


Figure 11.本研究所分析的區域圖示

本研究主要目的為量測大腦髓鞘相對含量，已知髓鞘佔白質 50% 的體積，故白質為我們最為感興趣的區域。在利用先前擬合出的 T2 值倒數得到 R2 值即橫向鬆弛率 $\{2\}$ 。此步驟有助於臨床上使用，由於去髓鞘疾病好

發於白質區域，使用橫向鬆弛率量測髓鞘含量可將病灶區反白，變為較易人眼辨別之顏色。(figure 12)

$$R_2 = \frac{1}{T_2} \text{ (ms)} \quad \{2\}$$

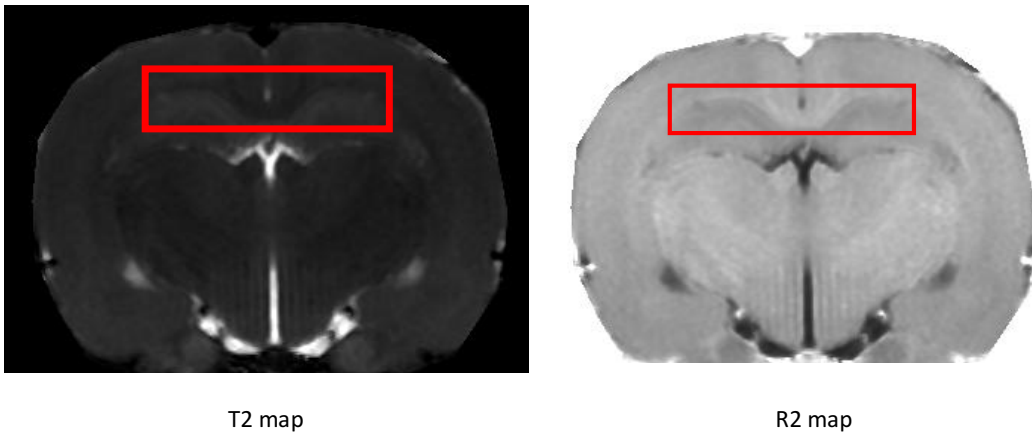


Figure 12.將 T2 map 轉換成 R2 map 後對於白質區域之對比

由以下 Mono-exponential fitting 的 R2 map 影像(Figure 13),可以見到大腦實質區域中，白質的區域最亮，其次是丘腦區域與灰質區域，最暗的區域則是 CSF,對應表 3 的平均 R2 數值可知(Tab 3),髓鞘含量最多的白質，其平均 R2 value 最高，平均為 0.0216ms,而髓鞘含量最低的 CSF 也反應在 R2 數值上，為 0.00056ms。

Mono-exponential R2 map

Mono-exponential R2 map

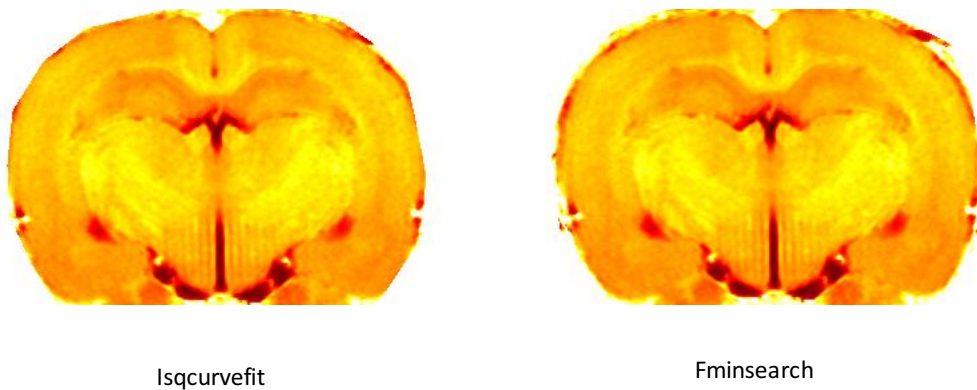


Figure 13. Mono-exponential fitting 的 R2 map 影像

Mono-exponential R2 value

part	Mono R2 value(ms)
Gray matter (right)	0.01957
Gray matter (left)	0.01976
White matter	0.02160
Thalamus(right)	0.02146
Thalamus(left)	0.02119
CSF(upper)	0.00750
CSF(lower)	0.00556

Mono-exponential R2 value

part	Mono R2 value(ms)
Gray matter (right)	0.01957
Gray matter (left)	0.01976
White matter	0.02160
Thalamus(right)	0.02146
Thalamus(left)	0.02119
CSF(upper)	0.00750
CSF(lower)	0.00556

Isqcurve

Fminsearch

Tab 3. Mono-exponential fitting 的 R2 平均數值

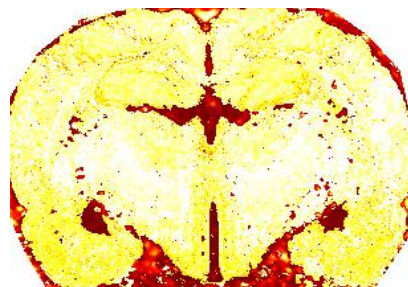
在 Bi-exponential fitting 的 short R2 map 可以看見(Figure 14)，在較精準的 Fminsearch 方法上，CSF 處的 R2 都較其他處小，應證了 R2 數值的大小和髓鞘含量成正相關性。而在 Isqcurvefit 方法中，雖然結果並沒有如同 Fminsearch 方法明顯的差異，但在 R2 數值上，依然可以證明 R2 數值的大小和髓鞘含量成正相關性的結論。(Tab 4)(Tab 5)

Bi-exponential R2 short map

Bi-exponential R2 short map



Isqcurvefit

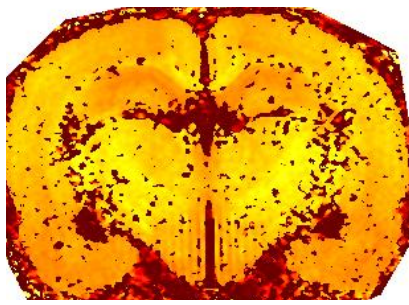


Fminsearch

Figure 14. Bi-exponential fitting 的 R2 short map 影像

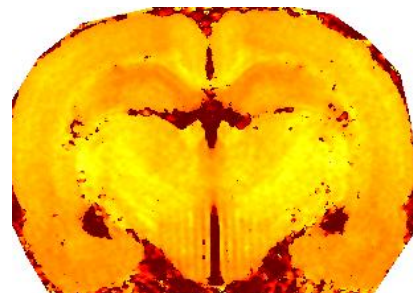
而在 Bi-exponential fitting 的 long R2 map 則發現(Figure 15)，白質的數值相較其他區域較大，相輔佐證我們的結論，R2 數值的大小和髓鞘含量成正相關性。而在 Isqcurvefit 的方式中，也能看見在腦實質中，有許多 R2 value 較低的點，這是由於演算法上的問題，部分區域擬合出的結果為區域最佳解，造成擬合上的錯誤解答，此結論可以輔佐第三章所說的'擬合方法中 Fminsearch 較 Isqcurvefit 精準'的論點。

Bi-exponential R2 long map



Isqcurvefit

Bi-exponential R2 long map



Fminsearch

Figure 15. Bi-exponential fitting 的 R2 long map 影像

由 R2 long map 上可知使用 Isqcurvefit 擬合方式較 Fminsearch 不精準，因此在此處我們不討論使用 Isqcurvefit 擬合的 long R2 value。由 Tab 5 可見, long R2 中數值最高的為白質與丘腦並列，最末為 CSF 處，且兩者數值相差約 24%。

Bi-exponential R2 value

part	Bi short R2 weight	Bi long R2 value(ms)	Bi short R2 value(ms)
Gray matter (right)	0.18	0.01776	0.01972
Gray matter (left)	0.33	0.01862	0.01984
White matter	0.60	0.01311	0.02262
Thalamus(right)	0.59	0.01664	0.02169
Thalamus(left)	0.56	0.01681	0.02151
CSF(upper)	0.37	0.00518	0.01783
CSF(lower)	0.11	0.00510	0.02571

Isqcurvefit

Tab 4. Bi-exponential fitting 使用 Isqcurvefit 的 R2 平均數值

Bi-exponential R2 value

part	Bi short R2 weight	Bi long R2 value(ms)	Bi short R2 value(ms)
Gray matter (right)	0.01	0.01949	0.08525
Gray matter (left)	0.00	0.01969	0.08772
White matter	0.05	0.02024	0.04993
Thalamus(right)	0.01	0.02091	0.09066
Thalamus(left)	0.02	0.02055	0.05325
CSF(upper)	0.35	0.00523	0.01989
CSF(lower)	0.12	0.00510	0.02090

Fminsearch

Tab 5. Bi-exponential fitting 使用 Fminsearch 的 R2 平均數值

綜合以上所敘，茲證明大鼠大腦髓鞘相對含量和 R2 數值呈現正相關性，且利用 Mono-exponential fitting 搭配 Fminsearch 擬合方法較為精準。

第四章 結論與建議

第一章 結論

本研究指在找尋R2 value和大鼠大腦髓鞘之關聯性，近而探討不同擬合方式，擬合參數之個數是否對於其結論有所影響。究者歸納第三章之研究結果與討論，統整出以下結論，並提出相關建議。本章分為兩節，第一節為結論，第二節為建議，茲分述如下：

壹.R2 value 大小和髓鞘含量具有正相關性

由實驗結果可知,R2 數值的大小和髓鞘相對含量的多寡成正比。雖然本研究由於時間關係，切片染色的結果尚未完成，還無法以黃金標準病理切片證明之，但以現階段的結論對照解剖學中已知大鼠大腦的髓鞘含量處，依然可以證明 R2 數值的大小和髓鞘相對含量的多寡成正比。

貳.Mono-exponential fitting 較 Bi-exponential fitting 擬合精準

根據 Bi weight 比較髓鞘含量的位置可以推定，Bi-exponential fitting 的擬合結果可能較不準確

參.Fminsearch 較 Isqcurvefit 所得出的擬合方式準確

依據演算法內容得知，Isqcurvefit 的結果可能出現區域最佳解的錯誤答案，故應改用 Fminsearch 較佳。

第二章 建議

現今去髓鞘化疾病的好發年紀有越來越低的傾向，且人數有越來越多的趨勢，如何快速並準確的診斷顯得越來越重要。本研究提出如何利用橫向鬆弛率來量測大鼠大腦的相對髓鞘含量，期望未來能將此方法優化後應用於臨床上，為臨床診斷提供新技術。

此研究階段性已完成，後續實驗將會將加入去髓鞘化疾病之老鼠分析，並且以病理切片或以臨床病患進行掃描後證明此結果在人體上依然成立。並同時尋找不同擬合演算法，以增進擬合之速度與準確度，期望有一日能將此方式運用在臨床分析上。

(六)参考文献

1. Barkovich A. Magnetic resonance techniques in the assessment of myelin and myelination. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2005;28(3):311-343.
2. Fatouros P, Marmarou A. Use of magnetic resonance imaging for in vivo measurements of water content in human brain: method and normal values. *Journal of Neurosurgery*. 1999;:109-115.
3. Narayana P. Magnetic Resonance Spectroscopy in the Monitoring of Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*. 2005;15:46S-57S.
4. Kolind S, Mädler B, Fischer S, Li D, MacKay A. Myelin water imaging: Implementation and development at 3.0T and comparison to 1.5T measurements. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2009;62(1):106-115.
5. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR in Biomedicine*. 2002;15(7-8):435-455.
6. Song S, Sun S, Ju W, Lin S, Cross A, Neufeld A. Diffusion tensor imaging detects and differentiates axon and myelin degeneration in mouse optic nerve after retinal ischemia. *NeuroImage*. 2003;20(3):1714-1722.
7. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR in Biomedicine*. 2002;15(7-8):435-455.
8. Gareau P, Rutt B, Karlik S, Mitchell J. Magnetization transfer and multicomponent T2 relaxation measurements with histopathologic correlation in an experimental model of MS. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2000;11(6):586-595.
9. Blystad I, Håkansson I, Tisell A, Ernerudh J, Smedby Ö, Lundberg P et al. Quantitative MRI for Analysis of Active Multiple Sclerosis Lesions without Gadolinium-Based Contrast Agent. *American Journal of Neuroradiology*. 2015;37(1):94-100.
10. West J, Warntjes J, Lundberg P. Novel whole brain segmentation and volume estimation using quantitative MRI. *European Radiology*. 2011;22(5):998-1007.
11. Du J, Ma G, Li S, Carl M, Szevenenyi N, VandenBerg S et al. Ultrashort echo time (UTE) magnetic resonance imaging of the short T2 components in white matter of the brain using a clinical 3T scanner. *NeuroImage*. 2014;87:32-41.
12. Waldman A, Rees J, Brock C, Robson M, Gatehouse P, Bydder G. MRI of the brain with ultra-short echo-time pulse sequences. *Neuroradiology*.

- 2003;45(12):887-892.
13. Bagnato F, Hametner S, Boyd E, Endmayr V, Shi Y, Ikonomidou V et al. Untangling the R2* contrast in multiple sclerosis: A combined MRI-histology study at 7.0 Tesla. PLOS ONE. 2018;13(3):e0193839.
 14. Amor S, Peferoen L, Vogel D, Breur M, van der Valk P, Baker D et al. Inflammation in neurodegenerative diseases - an update. Immunology. 2014;142(2):151-166.
 15. Bouhrara M, Reiter D, Bergeron C, Zukley L, Ferrucci L, Resnick S et al. Evidence of demyelination in mild cognitive impairment and dementia using a direct and specific magnetic resonance imaging measure of myelin content. Alzheimer's & Dementia. 2018;14(8):998-1004.
 16. Blystad I, Håkansson I, Tisell A, Ernerudh J, Smedby Ö, Lundberg P et al. Quantitative MRI for Analysis of Active Multiple Sclerosis Lesions without Gadolinium-Based Contrast Agent. American Journal of Neuroradiology. 2015;37(1):94-100.
 17. Guglielmetti, C, Veraart, J, Roelant, E, Mai, Z., Daans, J, Van Audekerke, J, Naeyaert. Diffusion kurtosis imaging probes cortical alterations and white matter pathology following cuprizone induced demyelination and spontaneous remyelination. NeuroImage, 2016; 125(26):363-377.