



Title	最新MRI法を用いた脳及び椎間板の定量評価
Author(s)	濱口, 裕行
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医理工学)
Dissertation Number	甲第15975号
Issue Date	2024-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15975
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/97161
Type	doctoral thesis
File Information	Hamaguchi_Hiroyuki.pdf



学 位 論 文

最新 MRI 法を用いた脳および椎間板の定量評価
(Quantitative evaluation of the brain and intervertebral disc using
the latest MRI techniques)

2024 年 3 月 25 日

北 海 道 大 学

濱口 裕行
Hiroyuki Hamaguchi

学 位 論 文

最新 MRI 法を用いた脳および椎間板の定量評価
(Quantitative evaluation of the brain and intervertebral disc using
the latest MRI techniques)

2024 年 3 月 25 日

北 海 道 大 学

濱口 裕行
Hiroyuki Hamaguchi

目 次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
-----------------------	-----

緒言	2 頁
----------	-----

略語表	4 頁
-----------	-----

第一章

章のタイトル	6 頁
--------------	-----

緒言	7 頁
----------	-----

実験方法	9 頁
------------	-----

実験結果	25 頁
------------	------

考察	33 頁
----------	------

総括および結論	36 頁
---------------	------

第二章

章のタイトル	37 頁
--------------	------

緒言	38 頁
----------	------

実験方法	41 頁
------------	------

実験結果	48 頁
------------	------

考察	54 頁
----------	------

総括および結論	57 頁
---------------	------

謝辞	58 頁
----------	------

引用文献	59 頁
------------	------

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Hamaguchi, H., Kitagawa, M., Sakamoto, D., Katscher, U., Sudo, H., Yamada, Kudo, K., Tha, K. K. (2023). Quantitative Assessment of Intervertebral Disc Composition by MRI: Sensitivity to Diurnal Variation. *Tomography*. 9, 1029-1040. doi: 10.3390/tomography9030084.

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Hamaguchi, H., Patzke, N., Urushibata, Y., Katscher, U., Tha, K. K. Performance of MRI Sequences in Evaluation of Myelin: A Preliminary Report. The 7th GI-CoRE Medical Science and Engineering Symposium, 19th August 2019, Sapporo, Japan.
2. Hamaguchi, H., Patzke, N., Urushibata, Y., Li, X., Fernandez I., Tha, K. K. In Vivo Myelin Quantification by T1w/T2w: Its Relationship with Other MRI Quantifiers of Myelin and Specificity. ISMRM 28th Annual Meeting and Exhibition, 8th-11th August 2020 (Virtual).
3. 濱口裕行, 漆畑勇太, 李忻南, イザベルフェルナンデス, パツケニーナ, タキンキン. MRI を用いた脳検体の白質評価における各ミエリン指標の性能. 第 49 回日本磁気共鳴医学会大会, 2021 年 9 月 10-12 日・横浜
4. 濱口裕行, 漆畑勇太, パツケニーナ, 兵頭秀樹, 伊藤陽一, タキンキン. ヒト脳におけるミエリン染色と MRI ミエリン指標との相関. 第 50 回日本磁気共鳴医学会大会, 2022 年 9 月 10 日・名古屋

緒言

磁気共鳴画像法 (Magnetic resonance imaging : MRI) は、被ばくが無く、非侵襲的に体内の正常および病的状態を画像提供することが可能であるため、現代の医療に必要不可欠な画像診断ツールとして、広く用いられてきた。従来の MRI 評価は、T1 強調画像や T2 強調画像などの相対値を示す画像を用いた定性評価である。この定性評価には、専門家の知識や経験に基づく解釈が必要であるが、本邦では専門家の人材が不足している (Nakajima et al, 2008)。また定性評価では、微細な変化を把握できない可能性があり、評価者に依存しない、かつ高感度で異常を捉える、数値で評価を行う定量評価が望まれる。しかし、これまで、T1 緩和時間 (T1 relaxation time ; T1 値) や T2 緩和時間 (T2 relaxation time ; T2 値) といった定量評価用の MR 定量指標取得に長時間撮像が必要であった。近年は MRI 撮像技術及び画像解析法の進歩により、以前より短時間で MR 定量指標を取得することができるようになってきている。T1 値や T2 値以外にも、患の評価に有用とされる様々な MR 定量指標が紹介されている。

MR 定量指標は脳領域において多く使用されており、ミエリンの評価もその 1 つである。ミエリンは中枢神経系の非常に重要な組織で、神経細胞の電気活動を安定化させ、神経伝達を促進する機能があり、脂質やたんぱく質を多く含む高分子化合物である (Poitelson et al, 2020 ; Salzer, 2015 ; Fields, 2014)。多発硬化症や視神経脊髄炎などの脱髄疾患には、ミエリンが損傷し、脱髄となる。よって、ミエリンの定量化が非常に重要とされている。非侵襲的なミエリン評価に有用とされる MR 定量指標が複数開発されている。例えば、ミエリン周辺の水 (ミエリン水) に基づき、ミエリンを評価するミエリン水分率 (Myelin water fraction : MWF) や、自由水と高分子間で起こる磁化交換に基づき、ミエリンを評価する磁化交換比 (Magnetization transfer ratio) などがある。いずれも、ミエリン染色濃度と高い相関を示している (Laule et al, 2018 ; Schmierer et al, 2004)。しかし、MR ミエリン定量指標はそれぞれ独立で検討されているため、どの指標が最もミエリンを反映するかが不明である。本研究では、同条件下で様々な MR 定量指標を比較することにより、最適な MR ミエリン定量指標の確立を目指した。

MR 定量指標は骨軟部領域の軟骨評価でも使用されており (Lange et al, 2017)、脳領域以外にもさまざまな領域において MR 定量指標による評価が期待されており、腰椎椎間板もその 1 つである (Wáng et al, 2015 ; Antoniou et al, 2004)。椎間板において、MR 定量指標は、年齢や性別、ボディマス指標 (Body mass index : BMI) の影響を受けることが知られている (Wu et al, 2013 ; Han et al. 2018)。また、MR 定量評価には、標準値が必要である (Li et al, 2022)。MR 定量評価の例である回転フレームにおけるスピン-格子緩和時間 (spin-lattice relaxation time in the rotating frame : T1 ρ 値) (Menon et al, 2018) と平均拡散率 (Mean diffusivity : MD) (Laule et al, 2007) では

標準値の報告がある (Wáng et al, 2015 ; Antoniou et al, 2004 ; Filippi et al, 2013)。しかし、それら定量指標の、1 日の中の変動 (日内変動) についてはそれほど着目されていない。椎間板の高さには日内変動が見られる (Martin et al, 2022) が、一部の MR 定量指標にも日内変動が見られることがあり (Ludescher et al, 2008 ; Liu et al, 2023 ; Katsura et al, 2013)、この日内変動が対象椎間板の正常か異常かの判断に影響を及ぼす可能性がある。そこで本研究では、腰椎椎間板において、MR 定量指標に日内変動が存在し、MR 定量指標への影響があるかどうか調査した。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

AD	Axial diffusivity
AEW	Axonal/extracellular water
BMI	Body mass index
CPMG	Carr-Purcell-Meiboom-Gill
DWI	Diffusion-weighted imaging
DTI	Diffusion-tensor imaging
EPT	Electric properties tomography
FA	Fractional anisotropy
GRASE	Gradient and spin echo
ICC	Intraclass correlation coefficient
IVD	Intervertebral disc
LFB	Luxol Fast Blue
MD	Mean diffusivity
MPF	Macromolecular proton fraction
MPG	Motion probing gradient
MPRAGE	Magnetization prepared rapid gradient echo
MP2RAGE	Magnetization prepared 2 rapid gradient echo
MRI	Magnetic resonance imaging
MSI	Myelin stain intensity
MT	Magnetization transfer
MTI	Magnetization transfer imaging
MTR	Magnetization transfer ratio
MWF	Myelin water fraction
NSA	Number of signal averages
OM	Optical microscope
PB	Phosphate buffer
PFA	Paraformaldehyde
SPM	Statistical parametric mapping
RD	Radial diffusivity
RF	Radiofrequency
ROI	Region-of-interest
TE	Echo time
TEM	Transmission electron microscopy
T1	T1 relaxation time

$T1\rho$	$T1\rho$ relaxation time
$T1w/T2w$	$T1$ -weighted image and $T2$ -weighted image ratio
$T2$ -SPACE	$T2$ -sampling perfection with application optimized contrast using different flip angle evolution
$T2$	$T2$ relaxation time
TR	Repetition time
TSL	Spin lock time
ViSta	Visualization of short transverse relaxation time component
σ	Electrical conductivity
3D-GRE	3D-Gradient echo

第一章 非侵襲的ミエリン評価法の確立

Chapter 1: Comparison of performance of MRI indices in myelin quantification

1. 緒言

ミエリンは中枢神経系を形成する重要な構造の一つで、神経細胞の軸索を外側から何重にも覆っているシート状の構造を形成し、神経伝達を促進する機能を果たしている（図 1-1）（Salzer, 2015）。ミエリン乾燥重量の約 70～85%が脂質で、約 15～30%がタンパク質で構成されており、神経細胞の電気活動を安定化させる電気絶縁体となっている（Poitelon et al, 2020 ; Fields, 2014）。ミエリン含有量は加齢によって変化する。また、解剖学的部位によって異なり、ミエリンが均質に存在しないことが報告されている（Kavroulakis et al, 2018 ; Groeschel et al, 2016 ; Tomassy et al. 2014）。ミエリンは、変性疾患、代謝性疾患、脱髄疾患など様々な疾患で障害されるため、その評価は疾患を把握するために重要である（Aboelwafa et al, 2020 ; Gómez-Pinedo et al. 2018 ; Bando et al, 2015）。

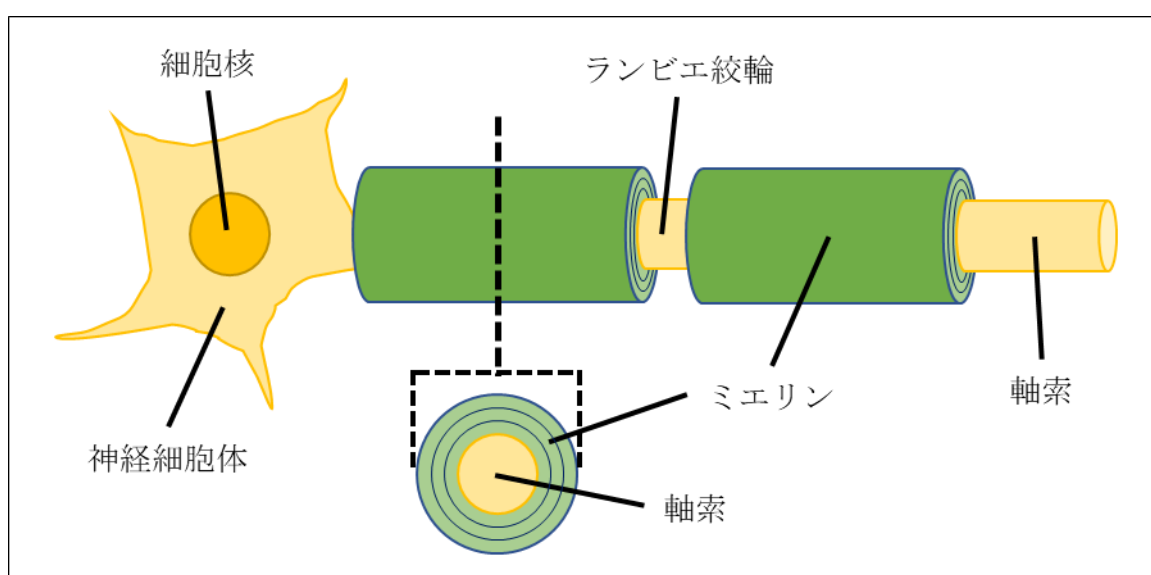


図 1-1 ミエリンのシェーマを示す (Fields, 2014)。緑色の筒状部分がミエリンで、黄色の棒状部分が軸索である。ミエリン間の軸索部分をランビエ絞輪という。ミエリンの輪切り断面を示す。ミエリンは軸索を中心に何層も覆っている。

MRI を用いることで非侵襲的にミエリンを可視化できる可能性があるため、近年は MRI を用いたミエリンの定量化が試みられている。ミエリンの定量評価に用いられる代表的な MRI 指標はミエリン水分率 (Myelin water fraction : MWF) であり、全ての水分（軸索空間内の水分と細胞外液とミエリン空間内の水分）に対するミエリン空間内の水分の比率として定義される (Lee et al, 2021)。その他の MRI 指標として、T1 強調画像と T2 強調画像の信号強度比 (T1-weighted image / T2-weighted image : T1w/T2w) (Glasser et al, 2011)、平均拡散率 (Mean diffusivity : MD) (Laule et al, 2007)、軸方向拡散率 (Axial

diffusivity : AD)、放射状拡散率 (Radial diffusivity : RD) (Laule et al, 2007)、拡散異方性比率 (Fractional anisotropy : FA) (Scholz et al, 2009)、T1 値 (Eminian et al, 2018)、T2 値 (Miot-Noirault et al, 1997)、磁化移動比 (Magnetization transfer ratio : MTR) (Schmierer et al, 2004)、回転フレームにおけるスピン-格子緩和時間である $T1\rho$ 緩和時間 (Spin-lattice relaxation time in the rotating frame : $T1\rho$ 値) (Menon et al, 2018)、高分子プロトン分率 (Macromolecular proton fraction : MPF) (Yarnykh et al, 2015) などがある。T1 強調画像の信号値と T2 強調画像の信号値の割り算である $T1w/T2w$ は、ミエリンと T1 強調画像と T2 強調画像の信号値の相関をうまく利用したものである。ミエリン量は T1 強調画像の信号値と正相関 (Bock et al, 2009)、T2 強調画像の信号値と負の相関を示す (Glasser et al, 2011)。よって、 $T1w/T2w$ は、T1 強調画像や T2 強調画像の信号値を単独で評価するよりも、高感度でミエリン量の変化を捉える (Glasser et al, 2011)。拡散テンソル画像 (Diffusion tensor imaging : DTI) によって算出される指標である MD、AD、RD、FA は、ミエリンや軸索周辺の水分子の拡散を利用したものである (Basser et al, 1994)。ミエリン量は MD、AD、RD と正相関、FA と負の相関を示す (Aung et al, 2013)。自由水プールのプロトンと高分子プールのプロトンとの間で起こる磁化移動 (Magnetization transfer : MT) 効果を利用して、MT 効果を比で表した MTR は、ミエリンの主な成分である Lipid と脂質が高分子であることを利用している。ミエリン量は MTR に正の相関を示す (Schmierer et al, 2004)。一方、回転フレーム内のスピン格子緩和である $T1\rho$ 値は、 $T1\rho$ 緩和時間が高分子量の濃度や組成などを反映することを利用し、ミエリンを高分子化合物として定量することができる。ミエリン量は $T1\rho$ 値に正の相関を示す (Menon et al, 2018)。最後に、MT 効果を利用して、自由水に対する分子運動が制限された生体高分子に結合するプロトンの相対量として定義する MPF は、ミエリンの Lipid と脂質が高分子であることを利用している。ミエリン量は MPF に正の相関を示す (Yarnykh et al, 2015)。

一般的にミエリン評価には、光学顕微鏡 (optical microscope : OM) で収集した染色画像 (光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像。以下、OM 画像) を用いることが多い (Johnson et al, 2019 ; García-García et al, 2024)。OM 画像は、特異的にミエリンと反応する染色液を使い、染色可能な状態に処理を行った脳切片を染色し、染色対象を得る。OM 画像で用いられるミエリン染色法はさまざまあり、銀染色もその 1 つ、古くからよく使用されている。銀染色では、ミエリン鞘に対する銀塩の化学反応によって、顕微鏡で観察できる銀の集積を生じる。これは、ミエリンに結合したコロイド状銀粒子が、特別な物理的現像剤によって顕微鏡サイズまで拡大されたためである (Gallyas, 1979)。その他の染色方法として、ルクソールファストブルー (Luxol Fast Blue : LFB) 染色がある。LFB 染色はミエリンを青、ニッスル小体を紫に染色し、ミエリンと他の組織成

分の間に明確なコントラストを提供する (Carriel et al, 2017)。OM 画像以外にミエリン評価する病理画像として、透過型電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscopy : TEM) で取得する TEM 画像がある。TEM 画像では、処理を行った組織データを TEM で観察することにより、広範囲のサンプリングは適していないが、ミエリンや軸索を超微細構造レベルで直接観察することができる (Gonsalvez et al, 2019)。

OM 画像や TEM 画像などの病理画像はミエリンの状態を正しく評価できるが、これら画像を取得するには、侵襲的な脳生検が必要である。よって、脱髄疾患評価において、ミエリン状態を常に観察することができない。また、病変分布を把握ための広範囲のサンプリングは困難である。MRI によるミエリン評価は、病変を繰り返し評価可能であり、全脳を評価可能である。前記理由により生体で脳生検を行うことは稀であるため、生体におけるミエリン評価を目的とした MR 定量指標同士の比較は多数行われてきた (Mädler et al, 2008 ; Vavasour et al, 1998 ; Berg et al, 2022)。人やマウス、ラットの死後脳において、MR 定量指標とミエリン病理画像との比較が報告されている (Mancini et al, 2020)。しかし、MR 装置仕様により、シーケンス制限や撮像時間の制限などもあり、これまで示した各 MR 定量指標全てを 1 度に評価した報告はない。MR 定量指標を 1 度に評価を行うことで、どの MR 定量指標がミエリンを最も反映するか比較することが可能となる。本研究では、光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像、透過型電子顕微鏡画像という 2 つの病理画像を基準とし、1 度に取り得た各 MR 定量指標と比較を行い、ミエリンを最も反映する MR 定量指標を導き出すことを目的とした。

2. 実験方法

2-1. 撮像対象

撮像対象は、2021 年 5 月から 2021 年 7 月の間で、死因究明教育研究センターにて剖検予定の遺体であった。明らかな頭部外傷がある場合や事前に脳疾患があることが判明した場合は除外対象とした。2 名の成人遺体が対象となった。1 人目は 85 歳の女性で、MR 撮像は死亡時刻から約 32 時間後に行われた。2 人目は 87 歳の男性で、MR 撮像は死亡時刻から約 35 時間後に行われた。MR 検査室の室温が 22℃だったため、撮像対象の直腸温が 22℃に達してから撮像を開始した。

2-2. MR 装置

3T-MRI (MAGNETOM Prisma, SIEMENS Healthineers, Erlangen, Germany) を用いてスキャンした。受信コイルは、64 チャンネルヘッド/ネックコイル (SIEMENS Healthineers, Erlangen, Germany) を使用した。

2-3. MR 撮像条件

MR シーケンス・パラメータと MR 定量指標は表 1-1 に示す。MP2RAGE シーケン

スと MTI シーケンスは、MPF の計算に使用した。撮像条件については、撮像後すべてのシーケンスに対して多断面で再構成を行うため、面内分解能は可能な限り高精細で、ギャップレスで撮像した。合計撮像時間は約 1.5 時間であった。

2-4. MR 画像再構成

撮像シーケンスによって、スライス取得方向やスライス厚が異なるため、まずすべての MR 画像を、スタンドアローンワークステーション Dr. View/LINUX バージョン R2.5.0 (AJS Inc., Tokyo, Japan) にて、1mm 横断像に再構成した。再構成は各定量指標のマップ (DTI、GRASE) またはマップ作成前の画像 (DTI、GRASE 以外) を用いた。後者は得られた 1mm 横断像再構成画像から各 MR 定量指標を再構成した。図 1-2 に本研究における画像処理・画像取得のフローチャートを示す。病理データは剖検後の脳切片から取得したため、剖検前の全脳 MR 定量指標を、剖検後の脳切片 MR 画像 (MP2RAGE 画像) に位置合わせした。その後、比較するミエリン病理画像、電子顕微鏡画像に合わせて、各 MR 定量指標の画像処理を行った。

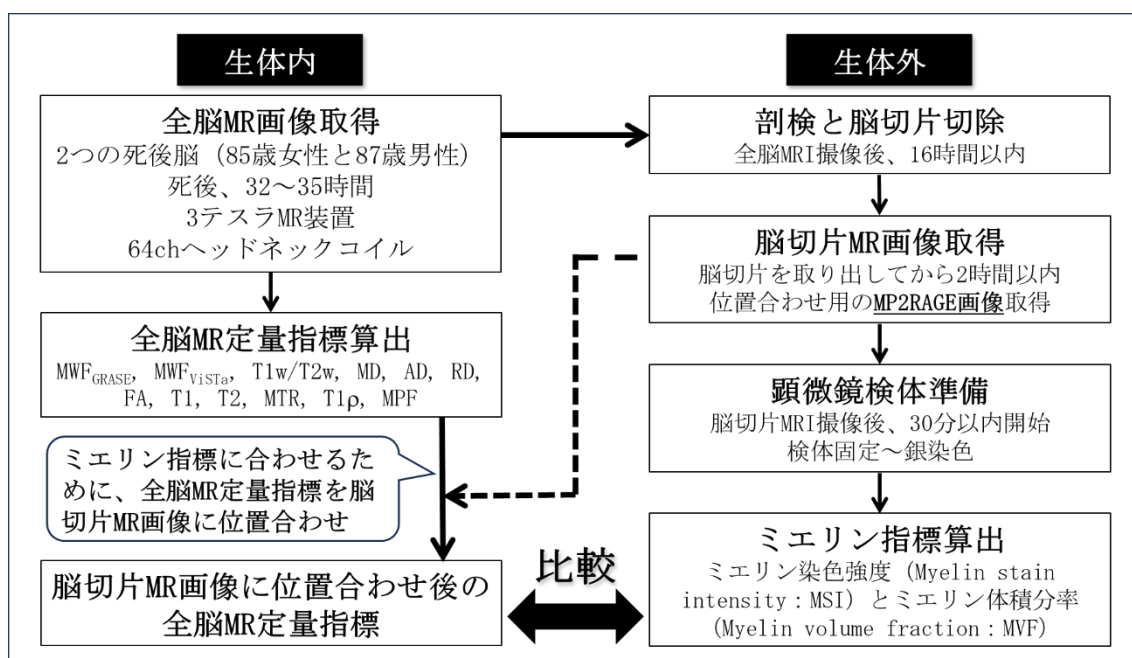


図 1-2 本研究における画像処理・画像取得のフローチャート。全脳 MR 定量指標とミエリン病理画像・電子顕微鏡画像の位置合わせするために、全脳 MR 定量指標を剖検後の脳切片 MR 画像 (MP2RAGE 画像) に位置合わせを行い、MR 定量指標とミエリン指標を比較した。

表 1-1 本研究で使用した MR 定量指標のシーケンス名とスキャンパラメーターである。

MR 定量指標	シーケンス名	TR [ms]/TE [ms]/ フリップ角[°]/加算回数	ボクセルサイズ [mm ³]	撮像面	その他のパラメーター
MWF _{GRASE}	GRASE	500/10/90/1	1.41×1.41×1.4	Axial	エコー数=32 エコー間隔=10 [ms]
MWF _{VisTa}	VisTa	1160/7.6/90/1	1.5×1.5×4	Axial	反転時間 1 (TI ₁) = 560 [ms] 反転時間 2 (TI ₂) = 220 [ms]
T1w/T2w	MPRAGE	1900/2.08/90/1	1.03×1.03×1	Sagittal	TI = 900ms
	T2-SPACE	4000/413/120/1	0.9×0.9×1	Axial	—
MD、AD、RD、FA	DTI	9200/98/90/1	2.5×2.5×2.5	Axial	b 値 (最大) = 8000 [s/mm ²] 軸数=128
T1 値	MP2RAGE	5000/2.97/90/1	1.03×1.03×1	Sagittal	TI ₁ /TI ₂ = 935 [ms]/2770 [ms]
T2 値	CPMG	3760/13.8/180/1	0.9×0.9×4	Sagittal	エコー数=5 エコー間隔=13.8 [ms]
MTR	MTI	22/1.82/12/1	1.03×1.03×1	Sagittal	—
T1 ρ 値	T1 ρ イメージング	5.3/1.96/15/1	0.78×0.78×8	Axial	スピンロック時間=0, 20, 40, 60, 80 [ms]
MPF	MP2RAGE	5000/2.97/90/1	1.03×1.03×1	Sagittal	TI ₁ /TI ₂ = 935 [ms]/2770 [ms]
	MTI	22/1.82/12/1	1.03×1.03×1	Sagittal	—

繰り返し時間 (Repetition time : TR) 、エコー時間 (Echo time : TE) 、反転時間 (Inversion time : TI)

GRASE : gradient and spin echo、ViSTa : Visualization of short transverse relaxation time component、MPRAGE : Magnetization prepared rapid gradient echo、T2-SPACE : T2-sampling perfection with application optimized contrast using different flip angle evolution、DTI : Diffusion tensor imaging、MP2RAGE : Magnetization prepared 2 rapid gradient echo、CPMG : Carr-Purcell-Meiboom-Gill、MTI : Magnetization transfer imaging

2-4-1. MWF_{GRASE} マップ画像再構成

ミエリン空間内の水をミエリン水 $Water_{Myelin}$ とし、軸索内空間や細胞外空間にある水 (axonal/extracellular water : AEW) を $Water_{AEW}$ とすると、ミエリン水は AEW に比べて、T2 値が短いため、ある T2 値をしきい値として分けることで、両者を分離可能である (Lee et al, 2021)。 MWF_{GRASE} は全ての水に対するミエリン水の割合となるため、次の式 (1-1) で計算される。

$$MWF_{GRASE} = \frac{Water_{Myelin}}{Water_{AEW} + Water_{Myelin}} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-1)$$

本研究の MWF_{GRASE} マップ画像再構成については、Jongho Lee らの方法に基づいて行った。 $GRASE$ 画像から MWF_{GRASE} マップを作成するために、非負最小二乗法と Stimulated echo 補正を用いて算出した各ボクセルの T2 減衰曲線から T2 分布 ($T2=0.01-2s$) を求めた。ミエリン水の T2 値は 10-40ms とした。計算は MATLAB (R2020a, The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) を使用した。

2-4-2. MWF_{ViSta} マップ画像再構成

ミエリン水の T1 値は 400ms 以下で、AEW の T1 値 (約 800ms) に比べて短く (Lee et al, 2021)、3 テスラ MRI におけるミエリン水の T1 値は 118ms であるという報告もある (Labadie et al, 2013)。また 3 テスラで、白質の長い T1 値成分は 750~1000ms、灰白質 1300~1800ms、脳脊髄液で約 4000ms である (Oh et al, 2013)。ViSta シーケンスのシーケンスチャートを図 1-2 に示す。のように、2 つの Inversion time (TI ; 反転時間) を利用することで (本研究では $TI_1=560ms$ 、 $TI_2=220ms$)、単一の T1 値ではなく、長め T1 値を広範囲で抑制することができ、短い T1 値成分大半を占めることになる。長め T1 値を抑制することで、軸索内空間や細胞外空間にある水や、T1 値の長い白質成分や灰白質または脳脊髄液の信号が抑制され、残りの信号のほとんどが T1 値の短いミエリン水からの信号となる。ViSta シーケンスで得られた信号の約 95.4% が T2*値の短い成分であったという報告がある (Oh et al, 2013)。本研究では撮像で得られた画像を MWF_{ViSta} マップとして使用した。

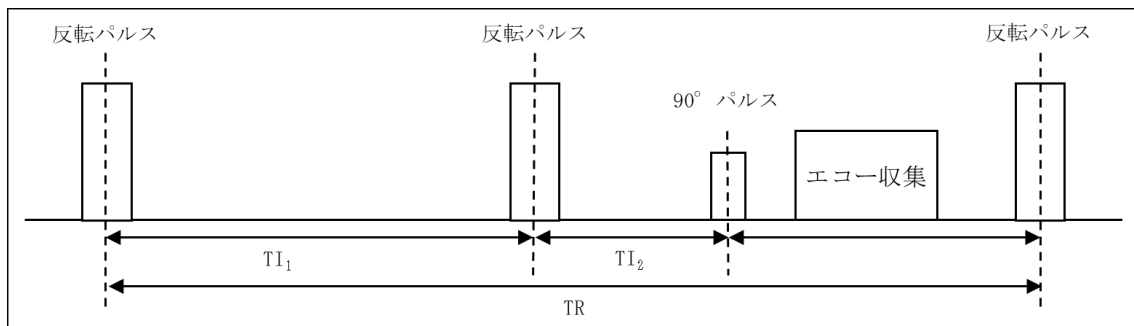


図 1-2 ViSta シーケンスのシーケンスチャートを示す。90° パルスの前に、プリパルスとして 2 つの反転パルスを使用することで、特定の T1 値だけでなく、広範囲の T1 値を抑制することが可能である。1 回目の反転パルスから 2 回目の

反転パルスまでの時間が TI_1 (Inversion time 1)、2回目の反転パルスから 90° パルスまでの時間が TI_2 である。

2-4-3. MD、AD、RD、FA マップ画像再構成

MD は次式 (1-2) で計算した。

$$MD = \frac{\ln(S_0/S)}{b-b_0} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-2)$$

b は拡散重み付け b -factor (b 値) で、 S_0 と S はそれぞれ、motion probing gradient (MPG) パルスなしの DTI ($b_0=0$) と MPG パルスありの DTI (b) の信号強度である (Maekawa et al, 2020)。

MD は次式 (1-3) でも計算可能である (Hsu et al, 2020)。

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-3)$$

ここで、 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 は 3 つの主拡散係数 (MD の固有値) である。AD は次式 (1-4) で算出可能である。

$$AD = \lambda_1 \cdot \cdot \cdot \cdot (1-4)$$

RD は次式 (1-5) で算出可能である。

$$RD = \frac{\lambda_2 + \lambda_3}{2} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-5)$$

MD、AD、RD マップは Fang-Cheng が開発した DSI Studio (Version 2020 Oct, <http://dsi-studio.labsolver.org>) で算出した。このとき、脳全体をカバーする脳マスクを決定した。

FA マップは次の式 (1-6) で算出した (Papadakis et al, 1999)。

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2} \frac{\sqrt{(\lambda_1 - MD)^2 + (\lambda_2 - MD)^2 + (\lambda_3 - MD)^2}}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-6)$$

MD マップと同様に、FA マップも DSI Studio にて算出した。

2-4-4. T1 マップ画像再構成

図 1-3 は高速スピンエコー法のシーケンスチャートである。1 回目の 90° パルスから 2 回目の 90° パルスまでの時間が繰り返し時間 (Repetition time: TR) で、 90° パルスからエコー収集までの時間がエコー時間 (Echo time: TE) である。

T1 値は次式 (1-7) で算出した (An et al, 2001)。

$$S = S_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T1}\right) \right] \cdot \cdot \cdot \cdot (1-7)$$

S_0 は T1 値の影響がない場合 (すなわち $TR=0$ ms) の信号強度であり、 S は S_0 から TR の間に単一の指数関数で減衰する信号強度であった。T1 マップは MR 装置コンソールにて算出した。

T1 値は次式 (1-8) でも計算可能であった (Marques et al, 2010)。

$$S = \text{real} \left(\frac{GRE_{TI_1}^* GRE_{TI_2}}{|GRE_{TI_1}|^2 + |GRE_{TI_2}|^2} \right) \cdot \cdot \cdot \cdot (1-8)$$

GRE_{TI_1} は TI_1 で収集したデータの複素数の信号強度、 $GRE_{TI_1}^*$ は GRE_{TI_1} の複素共役、 GRE_{TI_2} は TI_2 で収集したデータの複素数の信号強度であった。S は MP2RAGE の信号強度であった。ここでは計算は MR 装置コンソールにて行った。

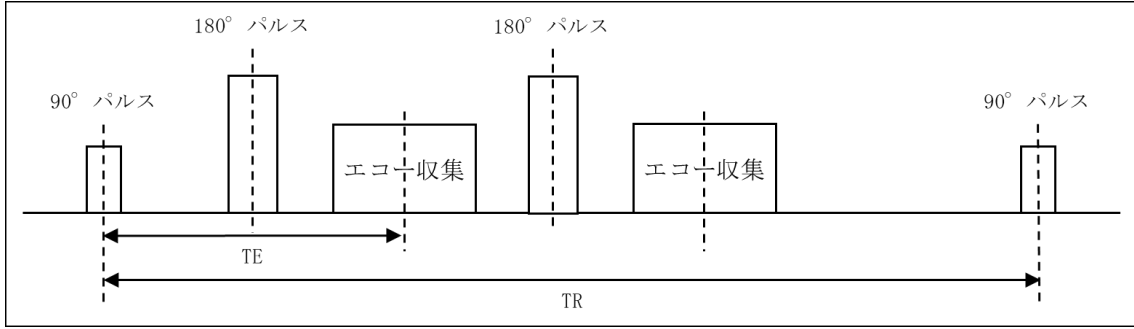


図 1-3 高速スピンエコー法のシーケンスチャートである。1 回目の 90° パルスから 2 回目の 90° パルスまでの時間が繰り返し時間 (Repetition time: TR) で、90° パルスからエコー収集までの時間がエコー時間 (Echo time: TE) である。180° パルス後のエコー収集と次のエコー収集までの時間も TE である。

2-4-5. T2 マップ画像再構成

T2 値は次式 (1-9) で算出した (Mulkern et al, 1996)。

$$S = S_0 \exp \left(-\frac{TE}{T_2} \right) \cdot \cdot \cdot \cdot (1-9)$$

S_0 は T2 値の影響がない場合 (すなわち $TE=0$ ms) の信号強度であり、 S は S_0 から TE 中に単一指数関数で減衰する信号強度である。また、T2 マップはスタンドアローンワークステーション Jim version 8 (Xinapse Systems, Leicester, UK) にて算出した。

2-4-6. MTR マップ画像再構成

MTR は次式 (1-10) で算出した (Stanisz et al, 2005)。

$$MTR = \frac{M_{off} - M_{on}}{M_{off}} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-10)$$

M_{off} は RF 飽和パルスなし、 M_{on} は RF 飽和パルスありの 3D-GRE 画像である。計算はスタンドアローンワークステーション Dr. View/LINUX R2.5.0 (AJS Inc. 日本) にて行った。

2-4-7. T1ρ マップ画像再構成

T1ρ 値は次式 (1-11) で算出した (Li et al. 2018)。

$$S = S_0 \exp \left(-\frac{TSL}{T_{1\rho}} \right) \cdot \cdot \cdot \cdot (1-11)$$

S_0 はスピンロックパルス無し、すなわちスピンロック時間 (Spin lock time : TSL) が 0ms の信号強度で、TSL は、スピンロックパルス (B1) によって倒れた磁化を y' 軸方向にロックしている時間 (図 1-4) である。 S は S_0 から TSL 中に単指数関数で減衰した信号強度である。T1 ρ マップは Jim 8 にて算出した。



図 1-4 T1 ρ のシーケンスチャートの一部。

2-4-8. MPF マップ画像再構成

MPF は、スタンドアローンフリーソフトウェア MPF.maps (Department of radiology, University of Washington, Washington, USA) を使用し、図 1-5 の方法にて算出した (Yarnykh et al, 2015)。本研究では、Correction of inhomogeneity 不均一性の補正は行わずに算出した。

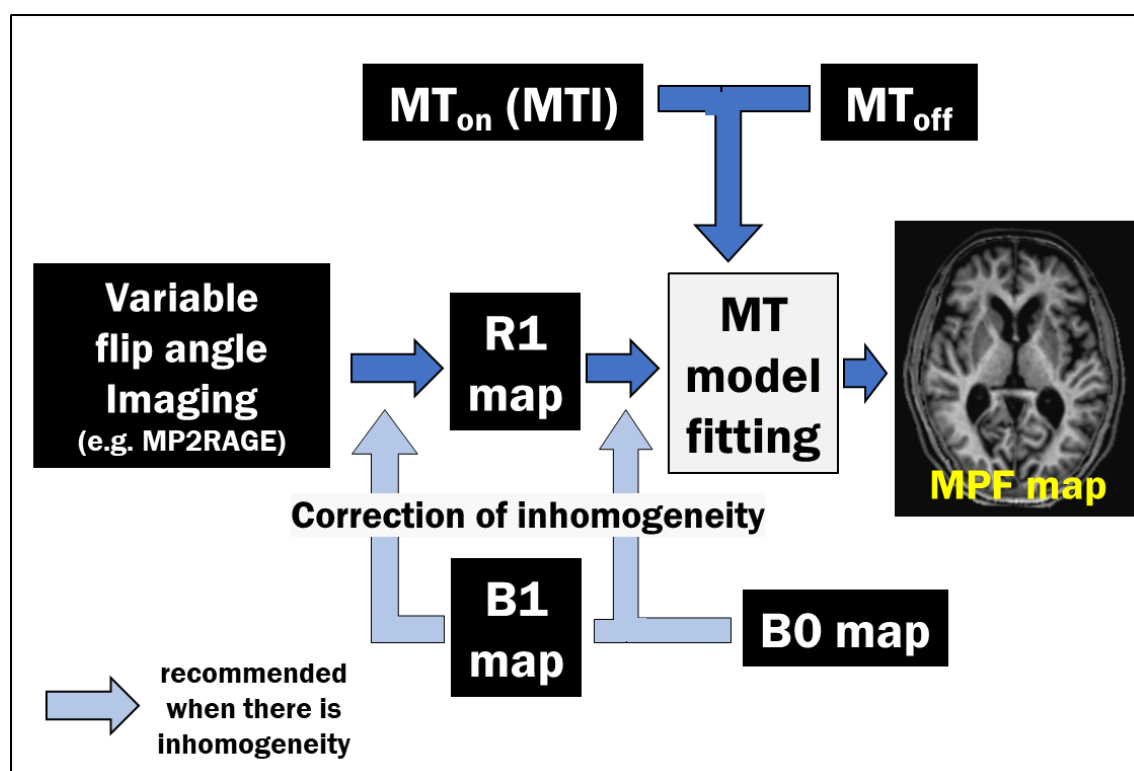


図 1-5 MPF の算出方法。

2-4-10. MR 定量指標画像

本研究で使用した MR 定量指標画像を図 1-6 に示す。

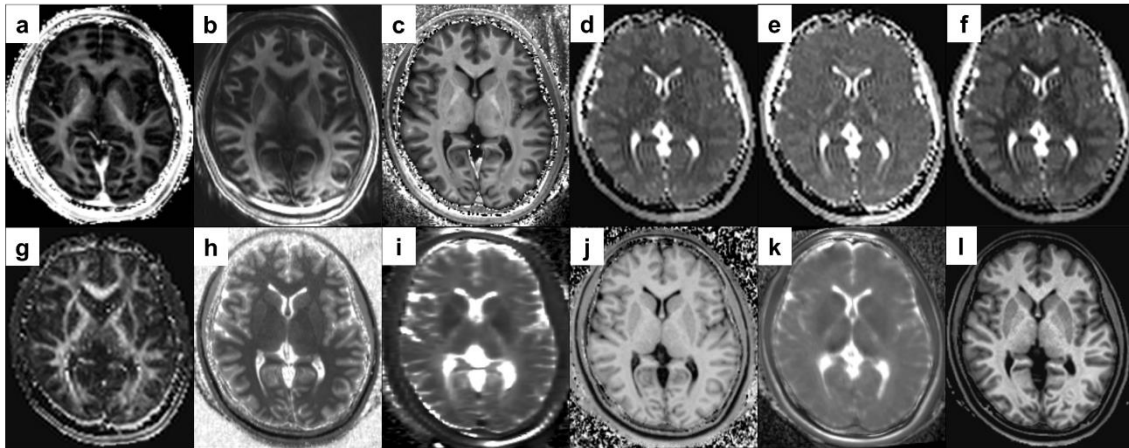


図 1-6 MR 定量指標画像 MWF_{GRASE} (a)、MWF_{ViSta} (b)、T1w/T2w (c)、MD (d)、AD (e)、RD (f)、FA (g)、T1 値 (h)、T2 値 (i)、MTR (j)、T1 ρ 値 (k)、MPF (l) の基底核領域における横断像を示す。

2-5. MR 定量指標と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像によるミエリン染色強度との比較

2-5-1. MR 画像取得

前述したように、MR 画像と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像（OM 画像）取得のフローチャートを図 1-7 に示す。死亡後 36 時間以内に全脳 MR 画像の撮像を行い、全ての MR 画像を取得した。全脳 MR 画像の総撮影時間は約 1.5 時間であった。MRI 後 16 時間以内に剖検を行い、脳を摘出し、そこから基底核を含む約 5cm の厚さの冠状断面の脳切片を切り出し、約 15 分以内に MR 装置で MP2RAGE を撮像した。この MP2RAGE 画像は、脳切片から取得する病理画像と脳を摘出する前の脳 MR 画像の位置合わせに用いるためである。

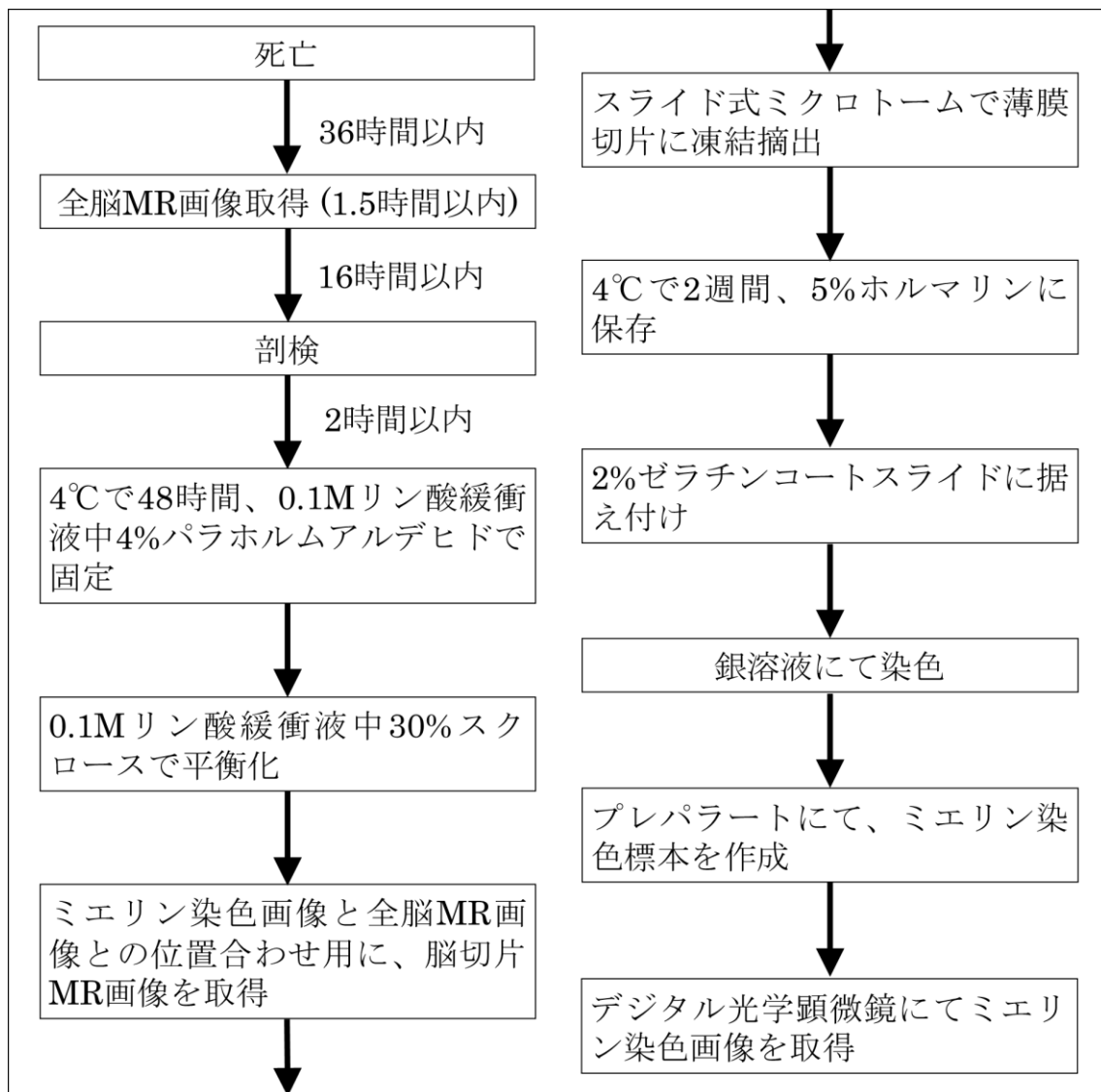


図 1-7 MR 画像と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像取得に関するフローチャート

2-5-2. 光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像取得

2-5-2-1. ミエリン染色標本取得

光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像（OM 画像）は脳切片の半分（片側）を用いた。剖検後 2 時間以内に、脳切片を 0.1M リン酸緩衝液（Phosphate buffer : PB）中 4 %パラホルムアルデヒド（Paraformaldehyde : PFA）に 4℃で 48 時間浸漬固定した。その後、0.1 M PB 中の 30 %スクロースで平衡化を行った。平衡化した脳切片の半脳を MR 撮像し（図 1-8-a）、先に記載した位置決め画像用の MP2RAGE 画像を取得した。その後、脳切片をスライド式ミクロトームで 50 μ m 厚の薄膜切片に凍結摘出した（図 1-8-b、1-8-c）。その後、薄膜切片をミエリン染色した。ミエリン染色に用いた薄膜切片は、まず 5%ホルマリンで 4℃、2 週間保存した後、2%ゼラチンコートしたスライドにマウントし、その後銀溶液で

染色してミエリン鞘を明らかにした (Gallyas, 1979)。プレパラートにて、ミエリン染色標本を作成した (図 1-9-a)。

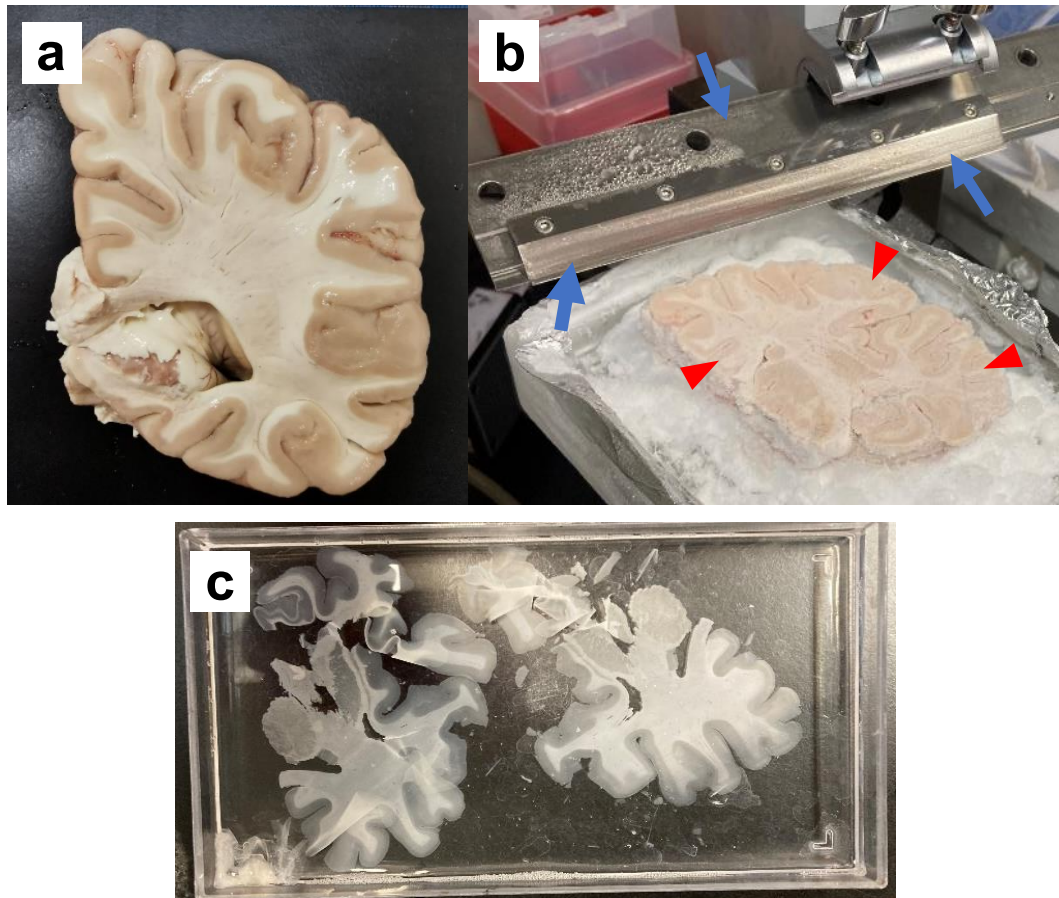


図 1-8 固定・平衡化を施した半脳切片 (a)。スライド式マイクローム (青矢印→) で、a の半脳切片 (赤三角▲) から薄膜切片を冷凍摘出した (b)。冷凍摘出した薄膜切片で、厚さは $50\mu\text{m}$ 厚であった (c)。

2-5-2-2. 光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像取得

ミエリン染色標本をデジタル顕微鏡システム (BZ-X800、KEYENCE 社、日本) でスキャンし、光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像 (OM 画像) を取得した。ミエリン染色標本 1 枚に対して、 $1920 \times 1440\text{pixel}$ (解像度: 96dpi)、色分解能 24bit (RGB: 各 8bit) で 480 枚収集し、KEYENCE 社の BZ-X800 解析アプリケーションで連携合成を行った。連携合成後の画像は $3002 \times 4173\text{pixel}$ (解像度: 96dpi)、色分解能は 24bit (RGB: 各 8bit) であった (図 1-9-b)。

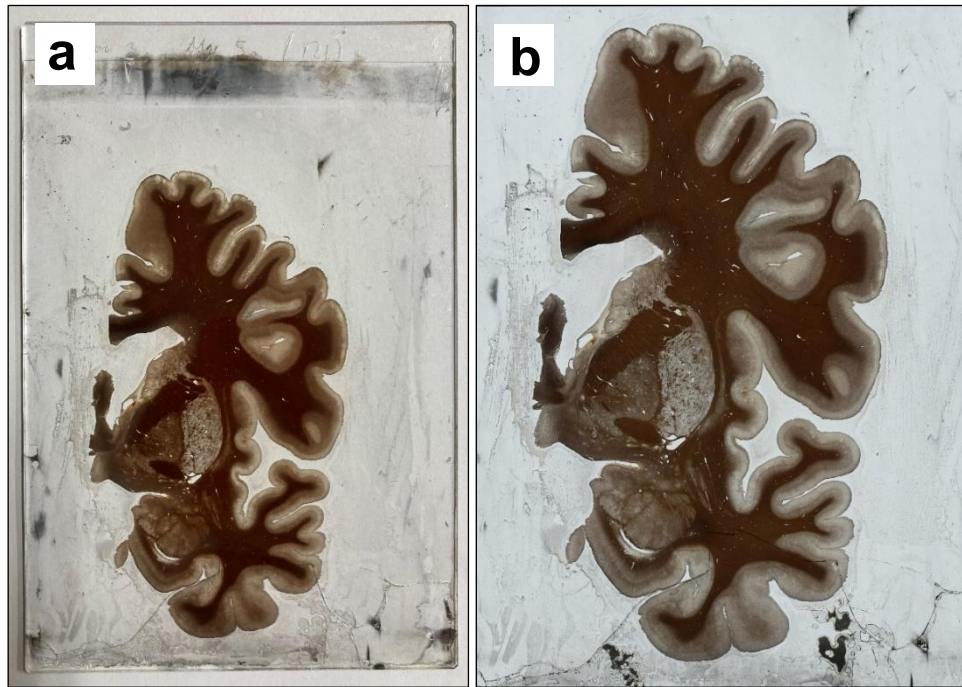


図 1-9 薄膜切片を染色し、プレパラートに固定したミエリン染色標本 (a)。ミエリン染色標本からデジタル光学顕微鏡で取得したミエリン染色画像 (b)。

2-5-3. 画像処理

2-5-3-1. MR 定量指標画像と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像の位置合わせ

始めに、Fiji / ImageJ 1.53q (National Institutes of Health, USA) (<https://fiji.sc/>) を用いて、ミエリン染色画像 (OM 画像) をグレースケールに変換した (図 1-10)。次に MR 定量指標と OM 画像の位置合わせを行った。脳切片の OM 画像と剖検後の脳切片 MP2RAGE 画像は解剖部位と位置が一致すると仮定し、Statistical Parametric Mapping (SPM) 12 (The Wellcome Centre for Human Neuroimaging, UCL Queen Square Institute of Neurology, London, UK) (<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>) を使い、脳切片の MP2RAGE 画像と剖検前の全脳 MR 画像 (各 MR 定量指標) の完全自動位置合わせを行った。最後に、Fiji を用いて、OM 画像と剖検前の全脳 MR 画像 (各 MR 定量指標) と半自動位置合わせを行い、小さいズレを修正した。

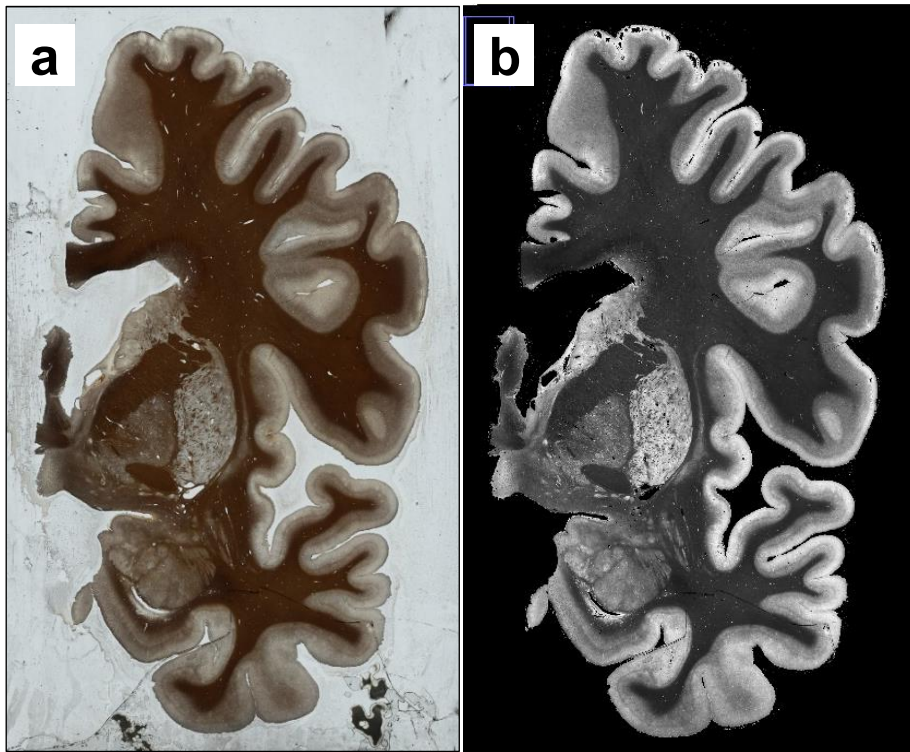


図 1-10 ミエリン染色標本からデジタル光学顕微鏡で取得したミエリン染色画像 (a) と Fiji / ImageJ 1.53q (National Institutes of Health, USA) (<https://fiji.sc/>) を用いて、ミエリン染色画像をグレースケール変換後の画像 (b)。

2-5-3-2. 画像解析

2-5-3-2-1. MR 定量指標と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度の取得

Fiji にて光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像 (OM 画像) からミエリン染色強度 (Myelin stain intensity: MSI) のヒストグラムを抽出し (Bagnato et al, 2018a; Sethi et al, 2023)、MRicron (Downloaded 2016 May, NeuroImaging Tools and Resources Collaboratory, Columbia, USA) (Rorden et al, 2007) にて、MSI の強度パーセンタイル (0~100%) に基づく 10 個の関心領域 (Regions of interest: ROI) を設定し、各 ROI における平均 MSI を算出した。MR 画像上に上記の ROI を配置し、各 ROI の平均値を測定し、各 MR 定量指標と OM 画像の MSI との相関を検証した。MR 画像と OM 画像の位置合わせから MSI 取得までのフローチャートを図 1-11 に示す。

2-5-3-2-2. MR 定量指標値と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度との相関

MR 定量指標と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度 (MSI) との相関は、Shapiro-wilk の検定により、正規性があったため、Pearson の積率相関分析を用いて検定した。統計ソフトは Statistical Package for Social

Sciences : SPSS ソフトウェアバージョン 26 (IBM, New York, USA) を使用した。Bonferroni 法により、調整化された有意水準 (*corrected-p*) を求め、Pearson の積率相関分析結果に対して *corrected-p* で判定を行った。*corrected-p* < 0.05 で有意差ありとした。MR 定量指標と MSI はともに正規化し、対数変換した値を用いた。

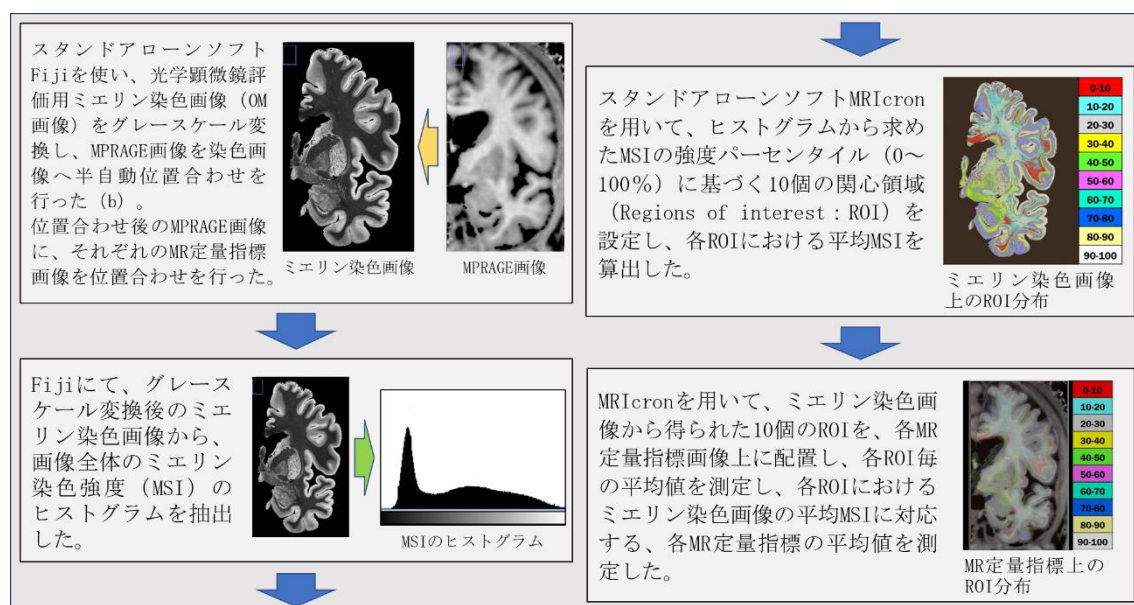


図 1-11 MR 画像と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像の位置合わせからミエリン染色強度取得までのフローチャート

2-6. MR 定量指標と透過型電子顕微鏡画像との比較

2-6-1. 透過型電子顕微鏡画像取得

透過型電子顕微鏡画像 (TEM 画像) の取得は、先の成人 1 名の遺体で行った。光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像取得に使用した半脳の反対側の半脳を使用した。パラホルムアルデヒドで固定した脳切片から約 1mm 角で取り出した組織をエポキシ樹脂にて固定し、トリミングを行った。トリミングしたエポキシ樹脂ブロックをダイヤモンドナイフで超薄切を行い、観察用切片を作成した。切片を株式会社日立ハイテクノロジーズ社製透過型電子顕微鏡 (H-7650) で観察し、TEM 画像を取得した。画像収集倍率は 0.2k ($0.875 \mu\text{m}/\text{px}$) ~ 1.0k ($0.175 \mu\text{m}/\text{px}$) であった。脳の TEM 取得部位は、脳梁 (Corpus callosum : CC)、深部白質 (Deep white matter : DWM)、灰白質 (Gray matter : GM)、被殻 (Putamen : Pu)、表在白質 (Superficial white matter : SWM)、視床 (Thalamus : Th) の 6 か所であった。切片取得時は、MR2RAGE 画像と照らし合わせ、動物生物学者、放射線科医師、放射線技師の 3 人で、ノギスで測定しながら位置を十分に確認した。

2-6-2. ミエリン体積分率 (Myelin volume fraction : MVF) の測定

ミエリンと軸索を写し出した透過型電子顕微鏡画像 (TEM 画像) のシェーマを図 1-12 に示す。A (緑) がミエリン、B (黄) が軸索、C (青) がそれ以外の組織を表す。ミエリンの面積を $Area_{myelin}$ 、軸索の面積を $Area_{axon}$ 、それら以外の組織の面積を $Area_{other}$ とすると、ミエリン体積分率 (MVF) は、ミエリンが占めるボクセルの割合として定義され、下記の式 (1-12) で表される (Thiessen et al, 2013 ; Stikov et al, 2015)。

$$MVF = \frac{Area_{myelin}}{Area_{myelin} + Area_{axon} + Area_{other}} \cdot \cdot \cdot \cdot (1-12)$$

TEM 画像をスタンドアローンフリーソフトウェア Myeltracer (バージョン 13.1) (McGovern Institute for Brain Research, Cambridge, USA) (Kaiser et al, 2021) で読み込み、 $Area_{myelin}$ 、 $Area_{axon}$ および $Area_{other}$ を測定し、MVF を算出した (図 1-13-a, b)。ミエリンの割合が多いほど、MVF の値が大きくなる。MVF を透過型電子顕微鏡画像によるミエリン指標として、各 MR 定量指標との相関を評価とした。

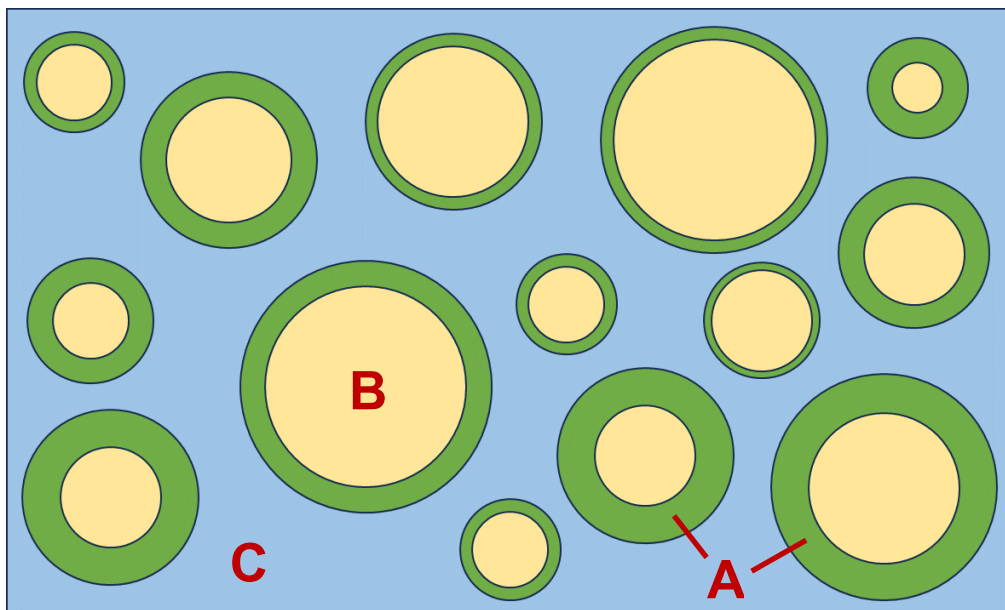


図 1-12 ミエリンと軸索を写した透過型電子顕微鏡画像のシェーマ。A の範囲 (緑色) がミエリン、B の範囲 (黄色) が軸索、C の範囲 (青) がミエリンと軸索以外の組織である。

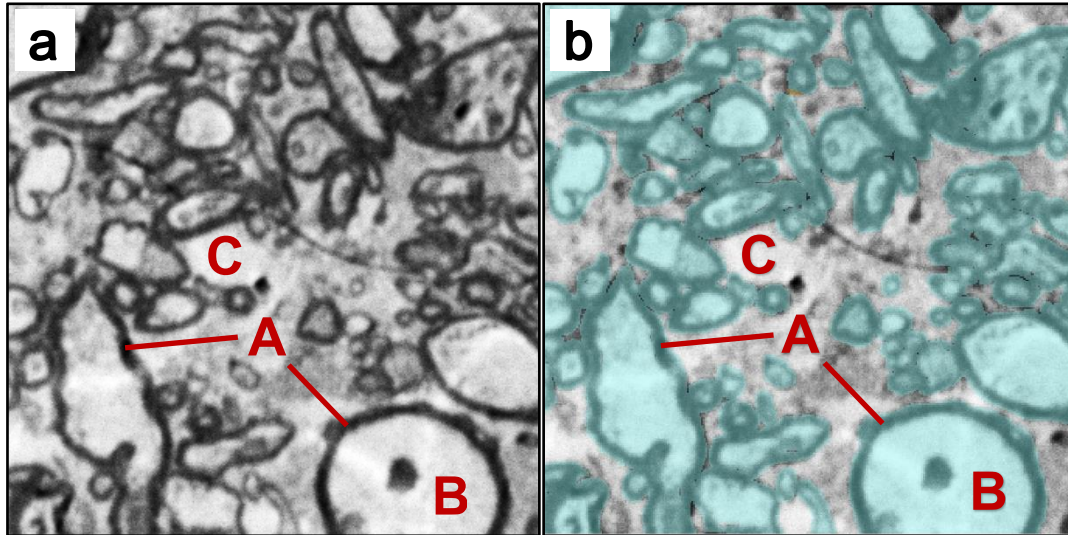


図 1-13 Myeltracer 処理前の透過型電子顕微鏡画像。A、B、C はそれぞれミエリン、軸索、ミエリンと軸索以外の組織である (a)。A、B、C の選択は、それぞれの濃度によって半自動で行った (b)。

2-6-3. 画像解析

2-6-3-1. 透過型電子顕微鏡画像取得部位における MR 定量指標値の取得

透過型電子顕微鏡画像 (TEM 画像) は剖検後の脳切片から取得した。先の光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度取得時に、脳切片 MR 画像と位置合わせを行った後の MR 定量指標に対し、TEM 画像取得部位である脳梁、深部白質、灰白質、被殻、表在白質、視床の 6 か所で中心と前後・左右・上下合わせて 7pixel の関心領域 (Region-of-interest : ROI) の測定を行った (図 1-14、1-15)。各 ROI における MR 定量指標と TEM 画像のミエリン体積分率との相関を検証した。

2-6-3-2. MR 定量指標と透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率との相関

各 MR 定量指標と透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率 (MVF) との相関は、Shapiro-wilk の検定により、正規性が無かったため、Spearman の順位相関分析を用いて検定した。統計ソフトは SPSS を使用した。Bonferroni 法により、調整された有意水準 (*corrected-p*) を求め、Spearman の順位相関分析結果に対して *corrected-p* で判定を行った。*corrected-p* < 0.05 で有意差ありとした。MR 定量指標と MVF はともに正規化し、対数変換した値を用いた。

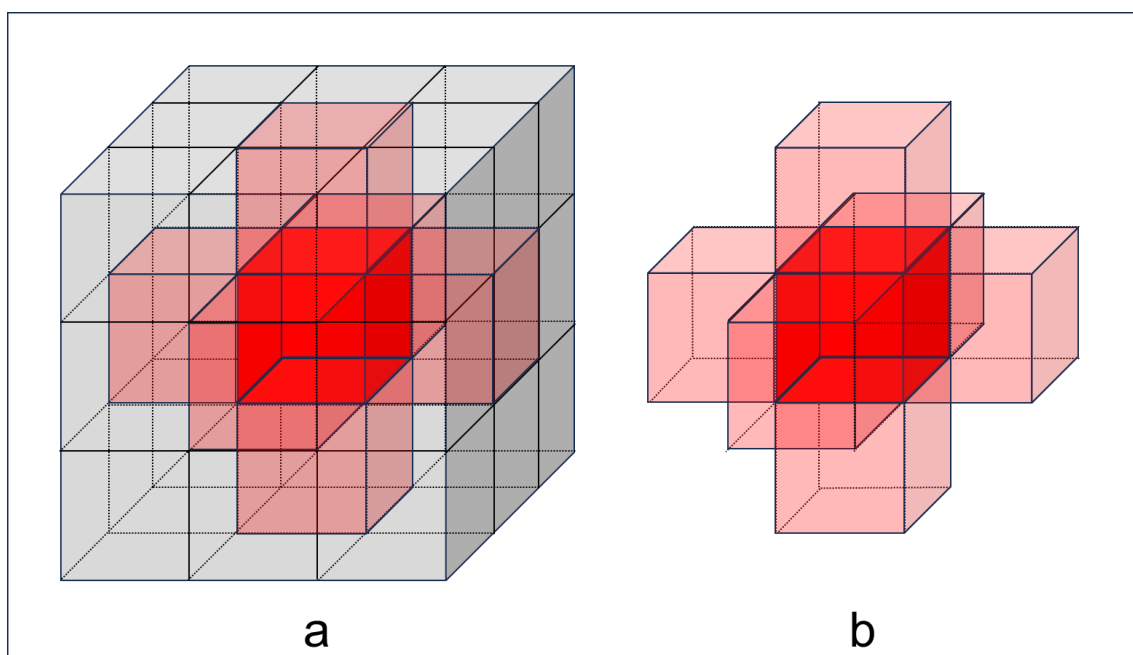


図 1-14 透過型電子顕微鏡画像取得部位における MR 定量指標値の取得の目的で
使用した関心領域のシェーマ。濃赤のボクセルを中心にして、前後・左右・
上下（薄赤）のボクセルを使用。a は周辺 9 ボクセルを表示し、b は使用した
ROI だけを表示した。

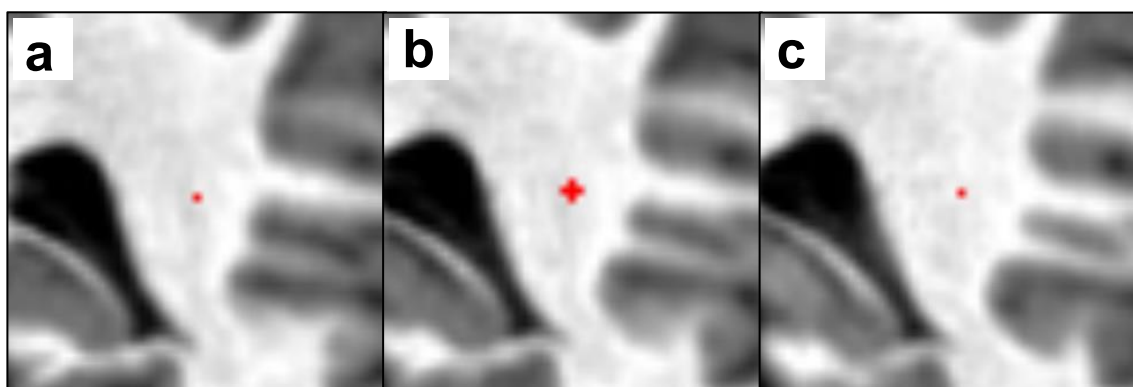


図 1-15 透過型電子顕微鏡画像取得部位における MR 定量指標値の取得の目的
で、実際に使用した関心領域の配置例。b の画像を中心として、a と c は前後画
像である。

3. 実験結果

MR 定量指標と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度 (MSI) との相関を表 1-2 と図 1-16~1-18 に示す。また、各 MR 定量指標と透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率 (MVF) との相関を表 1-3、図 1-19~1-21 に示す。OM 画像の MSI は、いくつかの MR 定量指標が 0.9 以上の非常に強い相関を示した。MPF が最も強い相関を示し、次いで RD、MD、 MWF_{GRASE} の順であった。T1 ρ 値または T2 値と MSI との間には有意な相関は認められなかった。透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率 (MVF) と最も強い相関があったのは、MPF であった ($\rho = 0.724$, *corrected-p* < 0.05)。次いで、MTR も強い相関があった ($\rho = 0.704$, *corrected-p* < 0.05)。その他の指標、 MWF_{VisTa} 、 MWF_{GRASE} 、FA、MD、T1 値、T1w/T2w、RD、T2 値、T1 ρ 値、AD では有意な相関がなかった。

表1-2 MR定量指標であるGRASEシーケンスで取得したミエリン水分率 (MWF_{GRASE})、ViStaシーケンスで取得したミエリン水分率 (MWF_{ViSta})、T1強調画像とT2強調画像の比 (T1w/T2w)、平均拡散率 (MD)、軸方向拡散率 (AD)、放射状拡散率 (RD)、拡散異方性比率 (FA)、T2値 (T2)、T1値 (T1)、磁化移動比 (MTR)、T1 ρ 緩和時間 (T1 ρ) と高分子プロトン分率 (MPF) と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度 (MSI) との相関を示す。

		MWF_{GRASE}	MWF_{ViSta}	T1w/T2w	MD	AD	RD	FA	T2	T1	MTR	T1 ρ	MPF
MSI	r	-0.953	-0.937	-0.886	0.959	0.935	0.966	-0.941	0.506	0.928	-0.945	0.561	-0.970
	<i>corrected-p</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.28	<0.05	<0.05	0.12	<0.05

*corrected-p*はBonferroni補正後の値である。*corrected-p*<0.05 (有意差あり) は太字で記載している。

表 1-3 MR 定量指標である GRASE シーケンスで取得したミエリン水分率 (MWF_{GRASE})、ViSta シーケンスで取得したミエリン水分率 (MWF_{ViSta})、T1 強調画像と T2 強調画像の比 (T1w/T2w)、平均拡散率 (MD)、軸方向拡散率 (AD)、放射状拡散率 (RD)、拡散異方性比率 (FA)、T2 値 (T2)、T1 値 (T1)、磁化移動比 (MTR)、T1 ρ 値 (T1 ρ)、高分子プロトン分率 (MPF) と透過型電子顕微鏡のミエリン体積分率 (MVF) との相関を示す。

		MWF_{GRASE}	MWF_{ViSta}	T1w/T2w	MD	AD	RD	FA	T2	T1	MTR	T1 ρ	MPF
MVF	ρ	0.515	0.653	0.506	-0.375	-0.0740	-0.444	0.511	0.368	-0.588	0.704	0.253	0.724
	<i>corrected-p</i>	0.50	0.07	0.55	1.00	1.00	1.00	0.52	1.00	0.20	<0.05	1.00	<0.05

*corrected-p*はBonferroni補正後の値である。*corrected-p*<0.05 (有意差あり) は太字で記載している。

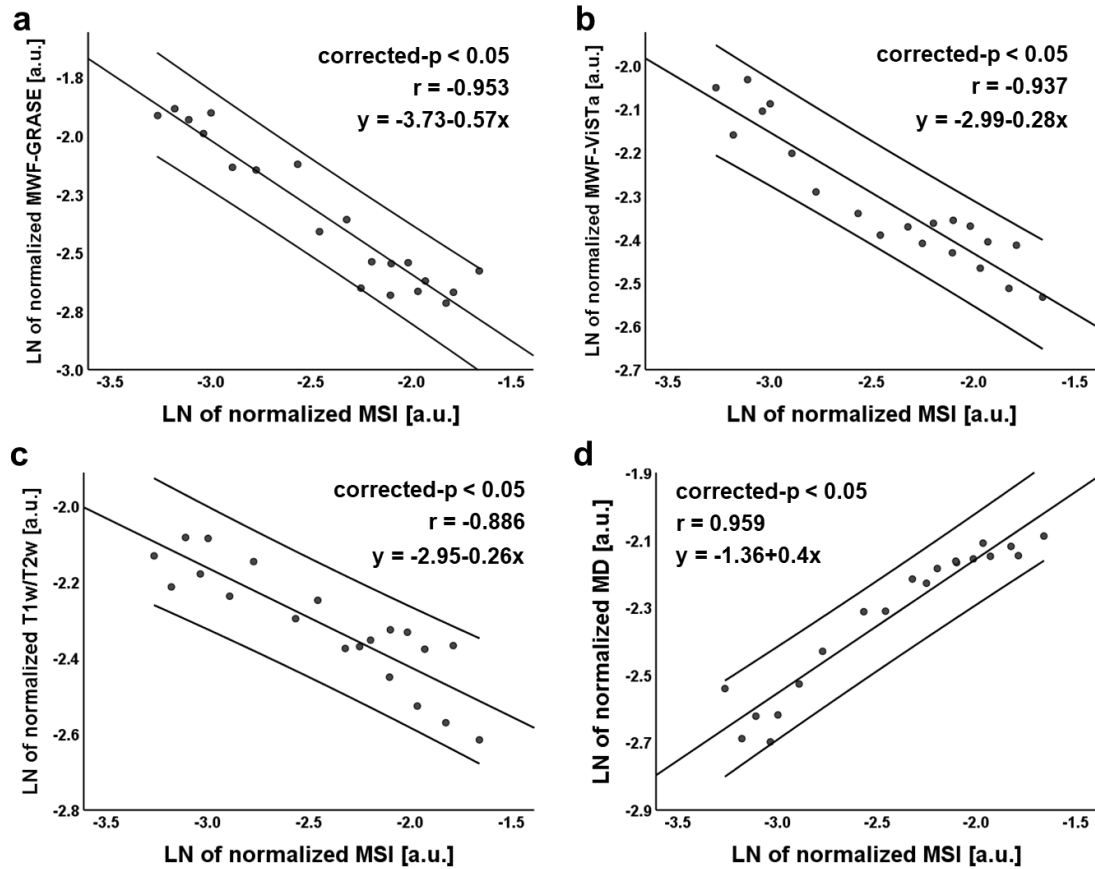


図1-16 グラフはGRASEによりミエリン水分率 (MWF_{GRASE}) (a)、ViStaによりミエリン水分率 (MWF_{ViSta}) (b)、T1強調画像とT2強調画像の比 (T1w/T2w) (c)、平均拡散率 (MD) (d) と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度 (MSI) との相関を示す散布図である。縦軸は各MR定量指標を正規化し対数変換した値、横軸はMSIを正規化し対数変換した値である。グラフの中央線は平均値を表し、他の2本の線は95%の信頼区間を表す。

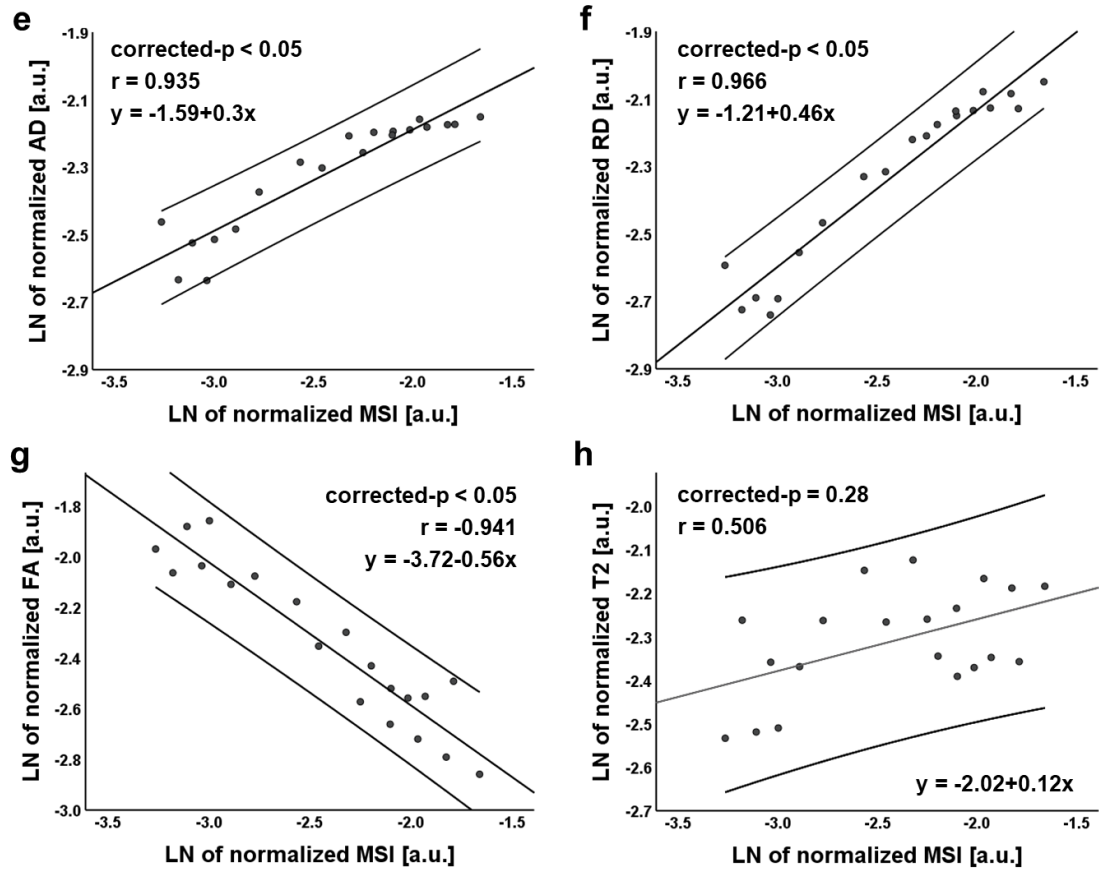


図1-17 グラフは軸方向拡散率（AD）（e）、放射状拡散率（RD）（f）、拡散異方性比率（FA）（g）、T2値（T2）（h）と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度（MSI）との相関を示す散布図である。縦軸は各MR定量指標を正規化し対数変換した値、横軸はMSIを正規化し対数変換した値である。グラフの中央線は平均値を表し、他の2本の線は95%の信頼区間を表す。

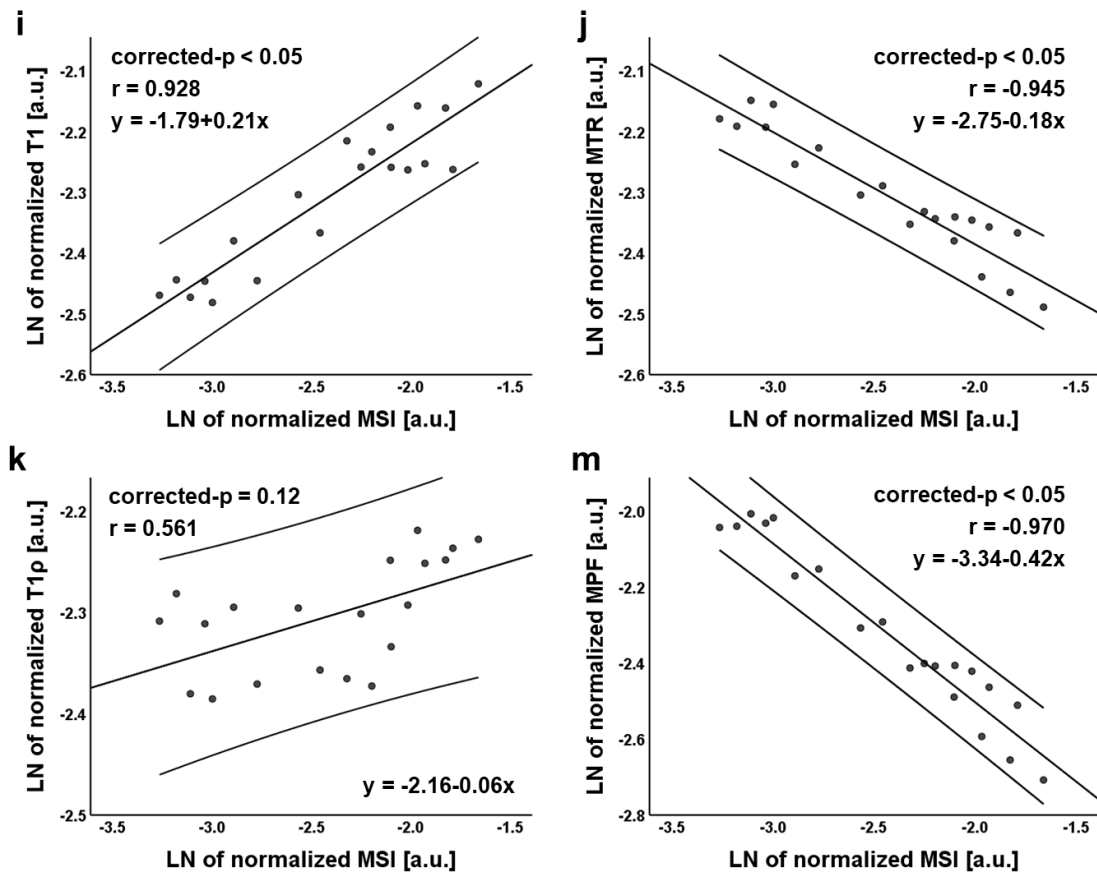


図1-18 グラフはT1値 (T1) (i)、磁化移動比 (MTR) (j)、T1ρ 値 (T1ρ) (k) と高分子プロトン分率 (MPF) (m) と光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像のミエリン染色強度 (MSI) との相関を示す散布図である。縦軸は各MR定量指標を正規化し対数変換した値、横軸はMSIを正規化し対数変換した値である。グラフの中央線は平均値を表し、他の2本の線は95%の信頼区間を表す。

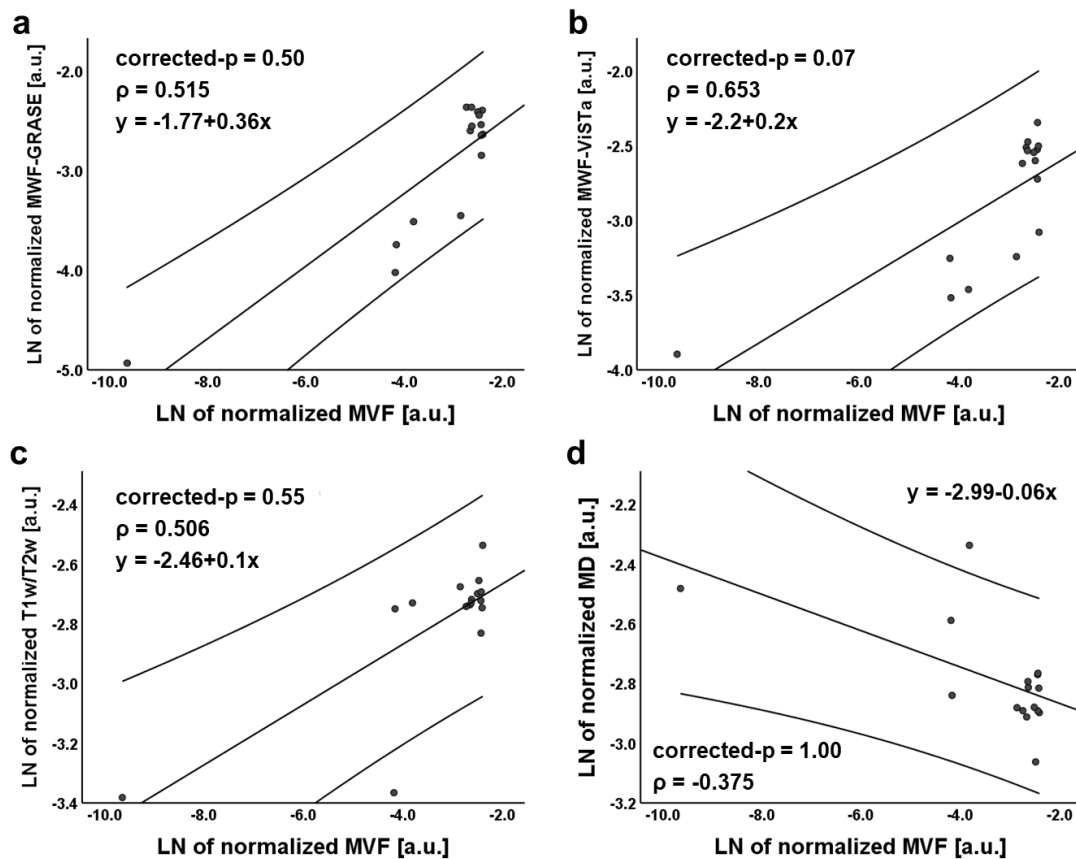


図1-19 グラフはGRASEによりミエリン水分率 (MWF_{GRASE}) (a)、ViStaによりミエリン水分率 (MWF_{ViSta}) (b)、T1強調画像とT2強調画像の比 (T1w/T2w) (c)、平均拡散率 (MD) (d) と透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率 (MVF) との相関を示す散布図である。縦軸は各MR定量指標を正規化し対数変換した値、横軸はMVFを正規化し対数変換した値である。グラフの中央線は平均値を表し、他の2本の線は95%の信頼区間を表す。

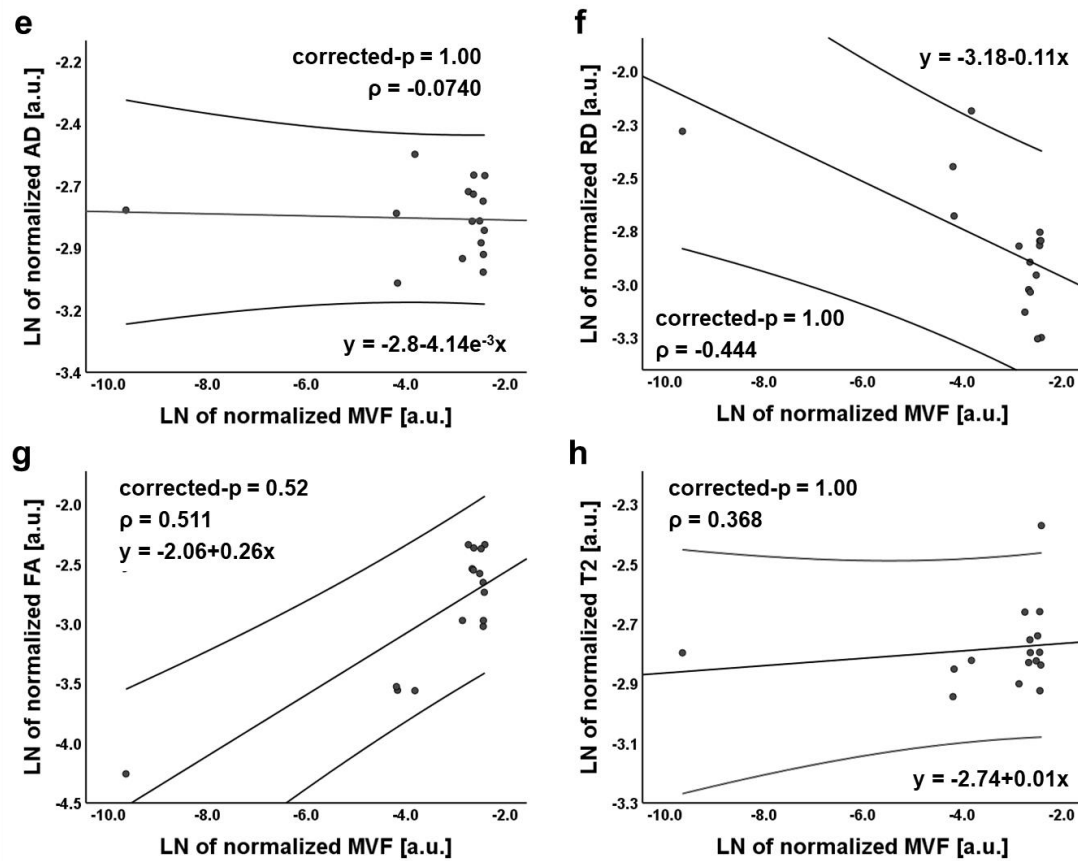


図1-20 グラフは軸方向拡散率（AD）（e）、放射状拡散率（RD）（f）、拡散異方性比率（FA）（g）、T2値（T2）（h）と透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率（MVF）との相関を示す散布図である。縦軸は各MR定量指標を正規化し対数変換した値、横軸はMVFを正規化し対数変換した値である。グラフの中央線は平均値を表し、他の2本の線は95%の信頼区間を表す。

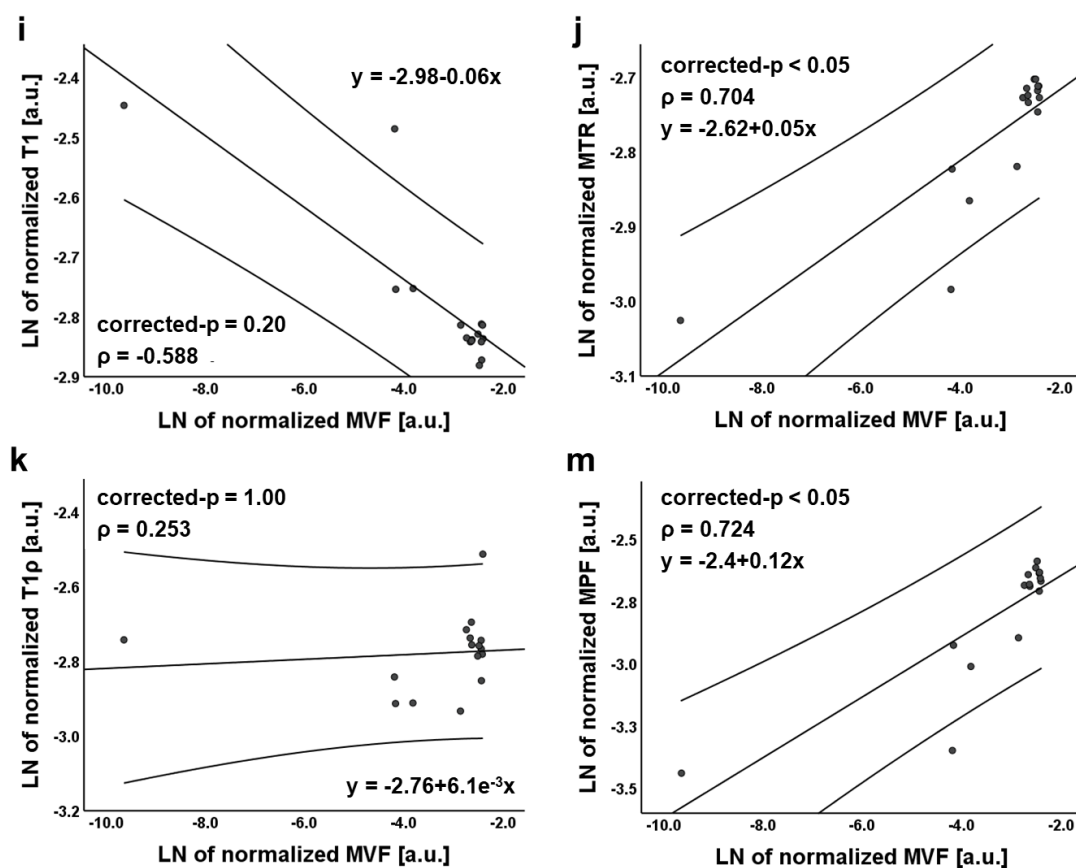


図1-21 グラフはT1値 (T1) (i)、磁化移動比 (MTR) (j)、T1 ρ 値 (T1 ρ) (k) と高分子プロトン分率 (MPF) (m) との透過型電子顕微鏡画像のミエリン体積分率 (MVF) との相関を示す散布図である。縦軸は各MR定量指標を正規化し対数変換した値、横軸はMVFを正規化し対数変換した値である。グラフの中央線は平均値を表し、他の2本の線は95%の信頼区間を表す。

4. 考察

本研究の目的は、光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像（OM 画像）と透過型電子顕微鏡画像（TEM 画像）という2つの病理画像を基準とし、1度取得した各 MR 定量指標と比較を行い、非侵襲的なミエリン評価に最も有用な MR 定量指標を提案することである。剖検予定の2名の成人遺体において、組織学的ミエリン指標として、OM 画像及び TEM 画像におけるミエリン指標と、各 MR 定量指標の相関を評価した。複数の MR 定量指標のなかで、高分子プロトン分率（MPF）が OM 画像、TEM 画像ともにもっと強い相関を示した。過去の報告でも、MPF と OM 画像間で強い相関を認めており、本研究結果と一致している（Khodanovich et al, 2019 ; Khodanovich et al, 2017）。また、ウサギモデルの結果であるが、TEM 画像のミエリン体積分率（MVF）とも強い相関という報告があり、研究結果と一致している（Drobyshevsky et al, 2023）。MPF は、磁化移動（MT）効果を利用する MR 定量指標であり、MT 効果に関与する分子運動が制限された高分子プロトンの相対量（%）として定義される（Yarnykh et al, 2012）。ウサギのデータであるが、脳の白質領域においてミエリン形成と MPF が一致しており（Kisel et al, 2022）、ヒト対象のデータにおいては、脱髄と MPF の低下との間の良好な一致が確認されている（Schmierer et al, 2007 ; Bagnato et al, 2018b）。ミエリンの主な構成成分であるタンパク質と Lipid が高分子である（Poitelon et al, 2020 ; Fields, 2014）。ミエリン水や、ミエリンの Lipid、ミエリン周辺の水分子の拡散を反映する他の MR 定量指標に比べて、生体高分子に結合するプロトンの相対量として定義する MPF は、よりミエリンを反映していると考ええる。MPF と同様に、磁化移動比（MTR）も高分子を反映している。MTR は高分子プロトンのプールと自由水プロトンのプールの2プールモデルとして仮定し、高分子プロトンと自由水プロトンとの磁化移動（MT）効果を利用する。MT パルスにより自由水プロトンの縦磁化が減少し、その減少分が全て高分子プールに移動するとして、MT パルス無しの自由水プロトンの縦磁化に対する、縦磁化の減少量の比と定義しており、高分子プロトンを間接的に反映すると言われている（Piredda et al, 2021）。対して、MPF は MTR と同様に MT 効果を利用するが、さらに T1 マップを追加することで、測定結果から直接高分子プロトンと水分子プロトンの割合を推定する手法であるため、MTR より精度高く、高分子化合物であるミエリンを評価可能であると考ええる（Yarnykh et al, 2012）。本研究で MPF が染色画像と TEM 画像、2つの組織学的評価において最も強い相関を示したため、MR 定量指標において組織学的に最もミエリンを反映する可能性が高いと示唆された。

拡散テンソルイメージングにおいて、放射状拡散率（RD）と平均拡散率（MD）が OM 画像と高い相関を示した。一方、軸方向拡散率（AD）も OM 画像と高い相関は示したが、AD の相関係数 r は RD や MD の係数より低い値であった。過去に RD はミエリンと相関が強いと報告があり（Laule et al, 2007）、本研究結果も

同様であった。RD は AD よりもミエリンを反映するが、軸索に垂直な方向に沿った脳脊髄液や細胞外水の影響も受けるため (Billiet et al, 2015)、MPF より相関が弱くなった可能性がある。AD は軸索に強く影響するとの報告があり (Budde et al, 2009)、本研究でもその影響で相関が弱かったと推測する。RD と AD から計算される MD も強い相関関係にあったが、AD の影響のため、RD より弱かったと考える。

ミエリンの評価で使用されることが多い MWF_{GRASE} は、ミエリン水から生じる MR 信号を総水信号で割った数値であり、ミエリンの重要な定量指標として使用されている。 MWF_{GRASE} はミエリンの変化を非侵襲的に評価するために使用されており、多発性硬化症患者にてミエリンの喪失を早期に完治できる可能性があると言われている (Kitzler et al, 2012)。我々の研究では、OM 画像ではミエリン染色強度 (MSI) と MWF_{GRASE} の相関が MPF の相関より弱かった。 MWF_{GRASE} は、T2 値が短い水をミエリン水 (本研究のミエリン水の T2 値は 10-40ms) とし、それ以外を軸索内空間や細胞外空間にある水 (AEW) として、ミエリン水と AEW の総数に対するミエリン水として定義されている。死後の前頭葉の白質、灰白質は生体時に比べて T2 値が有意に延長し、尾状核、視床、被殻は変化がなかったという報告がある (Tashiro et al, 2015)。この報告では、前頭葉の白質の T2 値は、生体脳 : 死後脳 = 78.1ms : 96.1ms で、灰白質の T2 値は、生体脳 : 死後脳 = 95.4ms : 116.8ms であった。尾状核、視床、被殻の死後脳の T2 値はそれぞれ、84.1ms、82.7ms、74.5ms であった。本研究では死後脳を用いており、前頭葉の白質の T2 値が約 102ms、灰白質の T2 値が約 123ms であった。尾状核、視床、被殻の T2 値は、約 86ms、約 95ms、被殻 : 約 73ms であった。本研究の対象は男女 1 名ずつで、平均年齢は 86 歳であった。田代らの報告は、男 22 名、女 8 名の計 30 名で、平均年齢は 58.2 歳であった。年齢も男女比も異なるが、視床以外の領域で死後脳の T2 値は田代らの報告に近いと、本研究でも生体脳より T2 値が延長している可能性が高い。ミエリン水の T2 値が延長した場合は、しきい値から外れるため、ミエリン水がうまく選択できなかった可能性がある。

本研究では、MR 定量指標の評価対象として、組織学指標である OM 画像と TEM 画像を選択した。2 つ使用したのは、OM 画像も TEM 画像も病理データであるが、OM 画像ではミエリン量を染色濃度として評価しており、TEM 画像ではミエリンの面積を測定でき、本研究では、ミエリン量を全体面積に対するミエリン面積の割合として評価しており、異なるミエリン指標として使用した。OM 画像では MSI をミエリン指標として使用した (Bagnato et al, 2018a ; Sethi et al, 2023)。今回用いた銀染色では、コロイド状銀粒子がミエリンに直接結合する。特殊な物理現象剤を加えることで、光学顕微鏡で観察可能なまでに拡大された銀粒子を観察している (Gallyas, 1979)。TEM 画像では、ミエリン指標として、MVF をミエリン指標として使用した。MVF で用いたミエリンの面積 $\text{Area}_{\text{myelin}}$ は図 1-12 のように測定している。TEM 画像による MVF との相関を認めなかった、MWF、

FA、MD、RD、AD、T1、T1w/T2w の値は、ミエリンの面積に影響を受けないと示唆された。本研究では、多くの MR 定量指標でミエリンの染色濃度と相関が見られたが、ミエリンの面積とは相関が見られた MR 定量指標は 2 つであった。ミエリンの染色濃度はミエリンの面積を反映しない可能性が示唆された。過去にはミエリンの厚さについて報告があるため、ミエリン染色濃度とミエリンの厚さについて、更なる検討が必要と考える。

T2 については、OM 画像において相関が低く、TEM 画像でも有意な相関が見られなかった。T2 は水分子を反映するが、ミエリン水だけでなく軸索内空間や細胞外空間にある水も反映するため、ミエリン指標と相関が低いもしくは相関が無かったと考える。

本研究で病理画像との比較に、ミエリン定量指標として用いた MR 定量指標は、MWF、MD、AD、RD、T1w/T2w、T1、T2、MTR、T1 ρ 、MPF である。MWF は T2 値のしきい値を決めて、ミエリン水と他の水を分けたのち、ミエリン水の割合を算出するため計算が複雑である。MPF は高分子プロトンのプールと水分子プロトンのプールの 2 プールモデルとして仮定し、測定結果から高分子プロトンと水分子プロトンの割合を推定する手法のため計算が複雑であり、MR 装置本体で算出することが難しい。AD、RD の式は (1-4) (1-5) と単純であるが、現行の MR 装置本体で計算する機能がない。T1 ρ の式も (1-11) と単純であるが、現行の MR 装置本体では計算できないことが多い。対して、MD、T1w/T2w、T1、T2、MTR は MR 装置本体で算出可能である。本研究では、TEM 画像と相関があったのは MPF と MTR だけであり、MTR とは -0.704 で強い相関が見られ、MTR は OM 画像と -0.945 で非常に強い相関関係にあった。MTR は撮像後、MR 装置本体で計算でき、ミエリンの病理画像とも強い相関を示すため、臨床現場において MTR は有用であると示唆された。

limitation

第 1 に、撮像シーケンスによって、スライス厚が異なるため、パーシャルボリュームの影響を受けた可能性がある。パーシャルボリュームの影響を無くすために、撮像スライス厚は可能な限り、揃えたほうが良い。第 2 に、研究対象を増やすことで、結果の精度が上がる可能性がある。第 3 に、本研究ではミエリン評価に有用とされる定量指標を数多く用いたが、評価に含まれていない指標も存在する。第 4 に、今回位置合わせは全自動ではなく半自動で行った。生体から取り出した脳は、体内にある状態に比べて、脳室が縮むため、自動の位置合わせでは限度があり、半自動で行った。位置合わせは全自動で行うことにより、バイアスを排除できる。今回は剛体位置合わせを使用した。非剛体位置合わせを使用することで、全自動位置合わせできる可能性がある。

5. 総括および結論

本研究では、2 つの組織学的指標を用いて、MR 定量指標によるミエリン評価の確立を目的とした。MPF は光学顕微鏡評価用ミエリン染色画像においても透過型電子顕微鏡画像においても、ミエリン指標と高い相関があり、最もミエリンを反映しうる MR 定量指標である可能性がある。

第二章 最新 MRI 法を用いた椎間板の定量画像評価

Chapter 2: Diurnal variation in quantitative MRI indices reflecting intervertebral disc composition

1. 緒言

椎間板 (Intervertebral disc : IVD) は、隣接する椎体間の関節を形成する線維軟骨構造であり、第 2 頸椎から第 1 仙椎まで存在する (Humzah et al, 1988)。各椎間板は、隣接する椎体間の運動を可能にし、衝撃を吸収し、椎体を通して荷重を伝達する (Lundun et al, 2001)。椎間板は、前述の機能を実現するために、特定の組成を持つ複雑な構造体として発達している。椎間板は、中央の髄核と呼ばれるゼラチン状の塊、線維輪と呼ばれる繊維状の外輪、および上面と下面を覆う軟骨状の椎体終板から形成される (図 2-1) (Humzah et al, 1988 ; Lundun et al, 2001)。水、プロテオグリカン、コラーゲンは椎間板の主成分であり、加齢や変性性椎間板疾患では、これらの減少が報告されている (Lundun et al, 2001 ; Scott et al, 1994)。

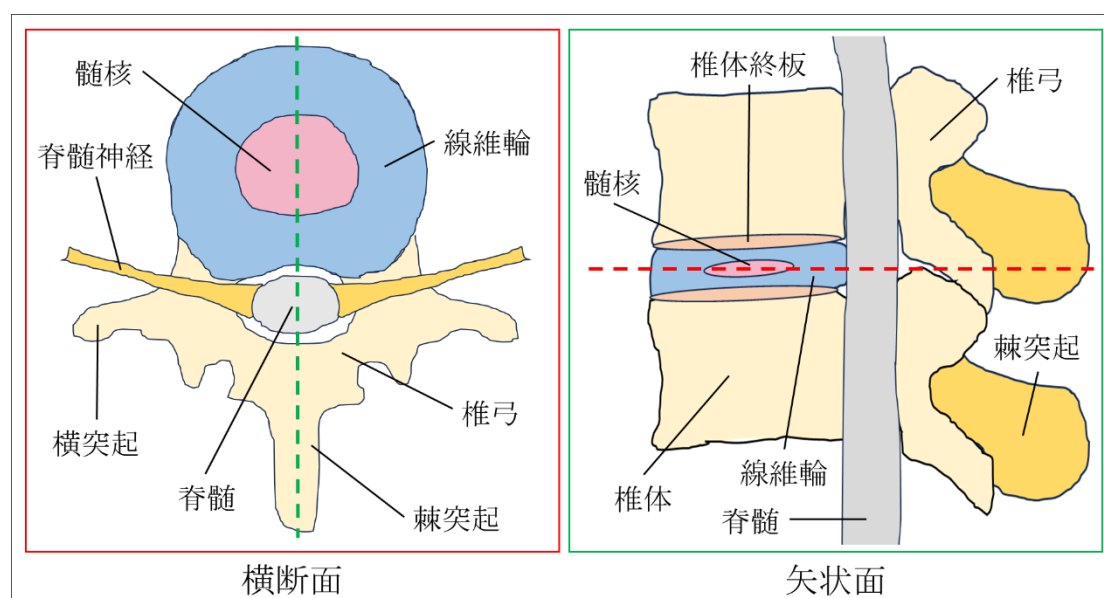


図 2-1 図は椎間板の横断面と矢状面である。緑点線は正中矢状面の位置、赤点線は椎間板横断面の位置を示す。椎間板は、中心に髄核、その周りを線維輪で包み込み、それらを頭尾方向に挟む椎体終板の 3 組織で構成している。

椎間板は朝夕など活動の変化により、椎間板内圧が変化している (Chan et al, 2011)。椎間板の高さには日内変動が見られ、1つの研究では、一日あたりの椎間板体積が平均で 16.2%変動すると報告されている (Botsford et al, 1994)。夕方の方の椎間板の高さの低下は、非活動時と活動時の内圧の差によるものと考えられている (Martin et al, 2022)。

磁気共鳴画像 (Magnetic resonance imaging : MRI) は椎間板を非侵襲的に評価するために広く用いられている。T2 強調画像を用いて椎間板の変性を視覚的に評価する Pfirrmann グレード (図 2-2) は、特別な MR シーケンスや知識を必要としないため、長らく標準的な定量法とされてきた (Pfirrmann et al,

2001)。 Pfirrmann グレード I は、椎間板の構造は均一で、高輝度白色信号であり、椎間板の高さは正常である。グレード II は、椎間板の構造は不均一で、高強度の白色信号を伴う。核と骨膜の境界は明瞭であり、椎間板の高さは正常で、水平灰白の有無は問わない。グレード III は、椎間板の構造は不均一で、灰色信号である。核と骨膜の区別は不明瞭で、椎間板の高さは正常かわずかに増加している。グレード IV は、椎間板の構造は不均一で、高輝度の暗灰色の信号を示す。核と骨膜の区別はなく、椎間板の高さは正常か中等度低下している。グレード V は、椎間板の構造は不均一で、強い黒色点状信号があり、椎間板の核と骨膜の境界はなく、椎間板腔は消失している。これらの視覚評価は専門知識が必要であり、観察者のバイアスがないとは限らない。さらに、先行研究では、Pfirrmann グレードと腰痛などの臨床症状との相関がないことが報告されている (Jensen et al, 1994 ; Boden et al, 1994)。そのため、偏りのない定量的指標を用いた評価が望まれている。T1 ρ イメージングや拡散強調画像 (diffusion-weighted imaging : DWI) などの MR 定量指標が、椎間板の評価に有用である可能性が示されている。T1 ρ 値は、水プロトンとプロテオグリカンの相互作用を反映しているため、椎間板内のプロテオグリカン濃度の変化に非常に敏感であることが知られており (Wáng et al, 2015)、DWI から得られる平均拡散率 (Mean diffusivity : MD) は、水分量の変化に敏感である (Antoniou et al, 2004)。また、椎間板内の水成分には負の電荷を持つ OH 基があり、高含有量のプロテオグリカンは負の電荷を持つため、陽イオンであるナトリウムイオンとは反応が良い。このため、プロテオグリカンと水がナトリウムイオンと強い親和性を持つことから、ナトリウムイメージングの椎間板評価の有用性を示唆する研究がある (Noebauer-Huhmann et al, 2012)。電気伝導度 (electrical conductivity : σ) は、電気特性トモグラフィ (electric properties tomography : EPT) から導出され、非侵襲的にナトリウムイオン濃度を反映するものとして選択した。EPT は最近開発された MRI 技術であり、標準的な MR シーケンスの画像を後処理するだけで組織の σ をマッピングすることができる (Katscher et al, 2017)。 σ はナトリウムイオン濃度の変化に高感度であることが知られている。ナトリウムイメージングによるナトリウムイオン濃度の測定には専用のコイルが必要であり、臨床で使用している Radiofrequency (RF) コイルでは通常撮像できない (Noebauer-Huhmann et al, 2012)。一方、EPT による σ の推定は、専用のコイルを必要としないため、臨床 MR 装置への導入が容易である。

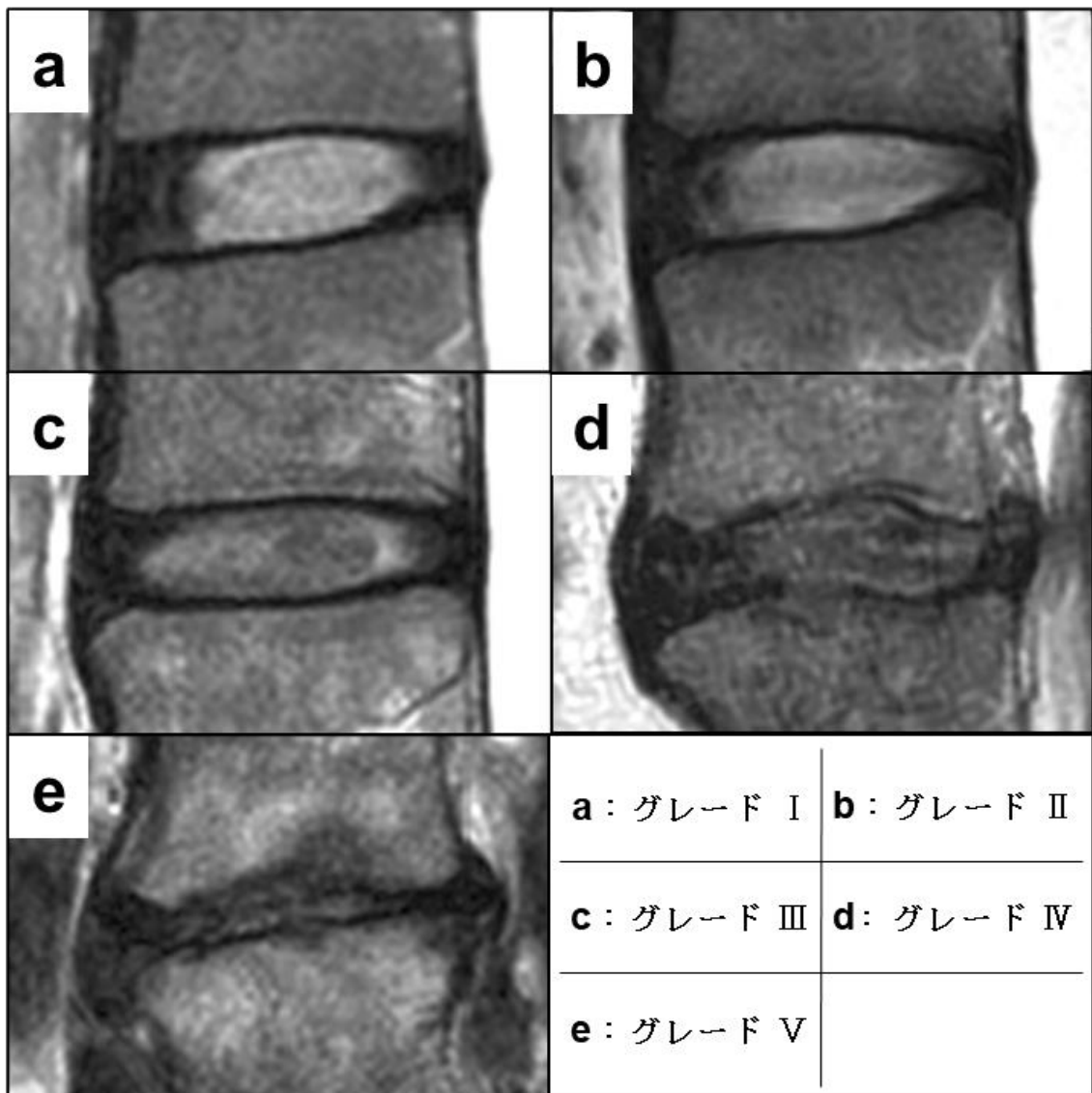


図 2-2 Pfirrmann グレードは、T2 強調画像の正中矢状断にて椎間板変性を視覚的に評価する方法である。A: グレード I は、椎間板の構造は均一で、高輝度白色信号であり、椎間板の高さは正常である。B: グレード II は、椎間板の構造は不均一で、高強度の白色信号を伴う。核と骨膜の境界は明瞭であり、椎間板の高さは正常で、水平灰白の有無は問わない。C: グレード III は、椎間板の構造は不均一で、灰色信号である。核と骨膜の区別は不明瞭で、椎間板の高さは正常かわずかに増加している。D: グレード IV は、椎間板の構造は不均一で、高輝度の暗灰色の信号を示す。核と骨膜の区別はなく、椎間板の高さは正常か中等度低下している。E: グレード V は、椎間板の構造は不均一で、強い黒色点状信号があり、椎間板の核と骨膜の境界はなく、椎間板腔は消失している。

MRI による定量評価は、評価者の経験や先入観による影響が少ないため、強く望まれているが、MRI による定量評価には、標準値が必要である (Li et al, 2022)。腰椎椎間板の $T1\rho$ 値と MD の標準値は報告されているが (Wáng et al,

2015 ; Antoniou et al, 2004 ; Filippi et al, 2013)、その日内変動についてはあまり注目されていない。実際、椎間板の高さに日内変動が見られるが (Martin et al, 2022)、MR 定量指標にも日内変動が見られることがあり、この日内変動が対象椎間板の正常か異常かの判断に影響を及ぼす可能性がある。

腰椎椎間板の MD の日内変動に関する研究は少数であるが、MD は朝に比べて夕方の方が低いと報告されている (Ludescher et al, 2008 ; Liu et al, 2023 ; Katsura et al, 2013)。T1 ρ 値はプロテオグリカン濃度に敏感であり (Wang et al, 2015)、ナトリウムイオン濃度も椎間板評価有用であると報告があるが (Noebauer-Huhmann et al, 2012)、T1 ρ 値とナトリウムイオン濃度に日内変動があるかどうかはあまり知られていない。これらの MR 定量指標間の関係も不明である。これらの MR 定量指標の日内変動に関する知識は、椎間板変性の程度、画像評価などの臨床的判断や椎間板の主要成分の代謝調節を理解するために不可欠である。

椎間板評価において、MR 定量指標に日内変動があると仮定すると、治療後の経過観察といった微細な変化の評価に、MRI の撮像タイミングが影響する可能性があるため、MR 定量指標の日内変動を把握しておくことは重要である。

本研究では、成人腰椎椎間板の T1 ρ 、MD、 σ の日内変動と、それらの相互関係および臨床指標との関係性を評価することを目的とした。

2. 実験方法

2-1. 対象者

労作活動による椎間板への影響を避けるために、ボランティア対象は日中に日常的な非労作活動に従事している座位労働者とした。ペースメーカーなどが理由で MRI 禁忌である場合、腰痛などが理由で体制維持困難である場合、腰椎椎間板に病変がある場合は除外対象とした。本研究は、北海道大学病院の生命・医学系研究倫理審査委員会の承認を受け、ボランティアに十分なインフォームドコンセントを行い実施した (倫理承認番号：自 017-0455)。研究期間は 2020 年 3 月～2020 年 10 月であった。25～48 歳の被験者 17 人 (男性 14 人、女性 3 人) (平均年齢=33.41 $\pm$ 5.70 歳) であった。痛みが無い場合を 0 として、痛みがある場合を 1～10 (10 が最大の痛み) とした 11 段階の疼痛評価スケールでは、MRI 検査当日のボランティアの腰痛スコアの平均は 1.12 $\pm$ 1.32 (範囲=0～3) であった (Nugent et al, 2021)。肥満度 (body mass index : BMI) が椎間板変性に関連するため測定したところ、平均 BMI は 21.12 $\pm$ 2.24 であった。

2-2. MR 装置

撮像は 3T-MRI (Achieva TX, Philips Healthcare, Best, Netherlands) を用いて行った。コイルは 32-channel torso/radiofrequency コイルを使用した。スキャン範囲はすべての腰椎と仙骨を含むように設定した。

2-3. MR 撮像条件

MR シーケンス・パラメータおよび MR 定量指標は表 2-1 に示す。取得画像は全て、正中を含むものであった。健常ボランティアが日中に行っている日常的な非労作活動に対して、座位労働前の早朝（午前 7 時 00 分から 8 時 30 分の間）と座位労働後の夕方（17 時から 20 時 30 分の間）の 1 日 2 回撮像し、2 回の平均間隔は 10.78 ± 0.66 時間（9.93～12.23 時間）であった。スキャン時間は約 20 分であった。

測定値の再現性を評価するために、1 名のボランティアにおいて、同一検査で T1 ρ イメージング、DWI および EPT をそれぞれ 3 回撮像した。

2-4. 画像再構成

T1 ρ イメージングは Statistical Parametric Mapping (SPM) 12 (The Wellcome Centre for Human Neuroimaging, UCL Queen Square Institute of Neurology, London, UK)

(<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>) を使用し、TSL = 0ms の画像を基準に各スピンロック時間 (Spin lock time : TSL) の画像との位置合わせを行った。T1 ρ マップ、MD マップ、 σ マップ画像再構成後、SPM12 を使用し、それぞれの夕方のデータを基準に朝のデータとの位置合わせを行った。

2-4-1. T1 ρ マップ画像再構成

T1 ρ 値は次式 (2-1) で算出した (Li et al. 2018)。

$$S = S_0 \exp\left(-\frac{TSL}{T1\rho}\right) \cdot \cdot \cdot \cdot (2-1)$$

S_0 は TSL = 0 ms の信号強度であり、 S は S_0 から TSL 中に単指数関数で減衰した信号強度で、TSL はスピンロックパルス (B1) によって倒れた磁化を y' 軸方向にロックしている時間である。T1 ρ マップはスタンドアローンワークステーション Jim version 8 (Xinapse Systems, Leicester, UK) にて算出した。

2-4-2. MD マップ画像再構成

MD は次式 (2-2) で計算した。

$$MD = \frac{\ln(S_0/S)}{b-b_0} \cdot \cdot \cdot \cdot (2-2)$$

b は拡散重み付け b 値で、 S_0 と S はそれぞれ、motion probing gradient (MPG) パルスなしの DWI ($b_0=0$) と MPG パルスありの DWI (b) の信号強度である (Maekawa et al, 2020)。MD の再構成は MR 装置コンソールで行った。

2-4-3. σ マップ画像再構成

スタンドアローンコンピュータにて、式 (2-3) を用いて EPT データの位相から σ マップを再構成した。

$$\sigma \cong \frac{\partial_x^2 \varphi}{2\mu_0 \omega} \cdot \cdot \cdot \cdot (2-3)$$

ここで、 ϕ は透過位相、 μ_0 は磁気真空透磁率、 ω はラーモア周波数（3 テスラでは 128MHz）である。この式は EPT の一般的なバージョンとは異なり、省略したヘルムホルツ方程式 (2-4) を数値的に解くことに基づいている。

$$\sigma = \frac{\nabla^2 \phi}{2\mu_0 \omega} = \frac{(\partial_x^2 + \partial_y^2 + \partial_z^2) \phi}{2\mu_0 \omega} \dots \dots (2-4)$$

x、y、z の 3 つの空間方向の偏導関数は、三次元の画像データを必要とするため、xy 平面を撮像断面とする二次元での EPT 撮像を可能とする以下の近似式 (2-5) を用いた。

$$\sigma \cong \frac{(\partial_x^2 + \partial_y^2) \phi}{2\mu_0 \omega} \dots \dots (2-5)$$

この近似式は、各椎間板に平行な軸（前述の式では x と呼ぶ）に沿ったものに限定され、境界効果による再構成の影響を避けるために使用した。

2-5. 視覚的評価

すべての画像とマップを放射線科医師（経験年数 23 年）と放射線技師（経験年数 15 年）が画像アーチファクトの有無を視覚評価し、体動などのアーチファクトのない画像のみを解析に用いた。各腰椎椎間板の Pfirrmann グレードの決定は、正中矢状断 T2 強調画像を用いて、先の放射線科医師により盲検化した状態で行った (Pfirrmann et al, 2001)。

表 2-1 本研究で使⽤した MR 定量指標のシーケンス名とスキアンパラメーター

MR 定量指標	シーケンス名	TR [ms]/TE [ms]/FA [°] /加算回数	ボクセルサイズ [mm ³]	撮像面	その他のパラメーター
—	T2 強調画像	4000/90/90/1	0.63×0.63×4	Sagittal	—
T1 ρ 値	T1 ρ イメージング	5.8/0.944/15/1	1.56×1.56×8	Sagittal	スピンロック時間=0, 20, 40, 80 [ms]
MD	DWI	3100/71/90/6	1.56×1.54×8	Sagittal	b 値=0, 1000 [s/mm ²]
σ 値	EPT	3.04/1.52/30/40	1.92×1.93×5	Sagittal	—

繰り返し時間 (repetition time : TR)、エコー時間 (echo time : TE)、フリップ角 (flip angle : FA)

Mean Diffusivity : MD、Diffusion weighted imaging : DWI、electrical conductivity : σ、EPT : electric properties tomography、

2-6. 関心領域 (Region of interest : ROI) の設定と測定

測定 ROI は各腰椎椎間板 (第 1-第 2 腰椎椎間板から第 5 腰椎-仙骨椎間板まで) に配置した。T1 ρ および MD 測定用 ROI は、Jim 8 を用いて各シーケンスの正中矢状断画像上に半自動で設定した。測定 ROI は TSL=0ms の T1 ρ イメージングと、画像のコントラストが最大となる傾斜磁場の印加のないエコープラナー画像 ($b=0\text{s/mm}^2$) に描画した。各 ROI が腰椎椎間板全体を含み、かつ近傍の構造が含まれないように注意した。その後、対応するマップに、測定 ROI を重ね合わせた。ROI の位置の正確さは、放射線技師 (経験年数 15 年) によって確認された。ROI の例を以下に示す (図 2-3)。 σ マップの場合、事前にセグメンテーションされた椎間板全体を含むように ROI を設定した。

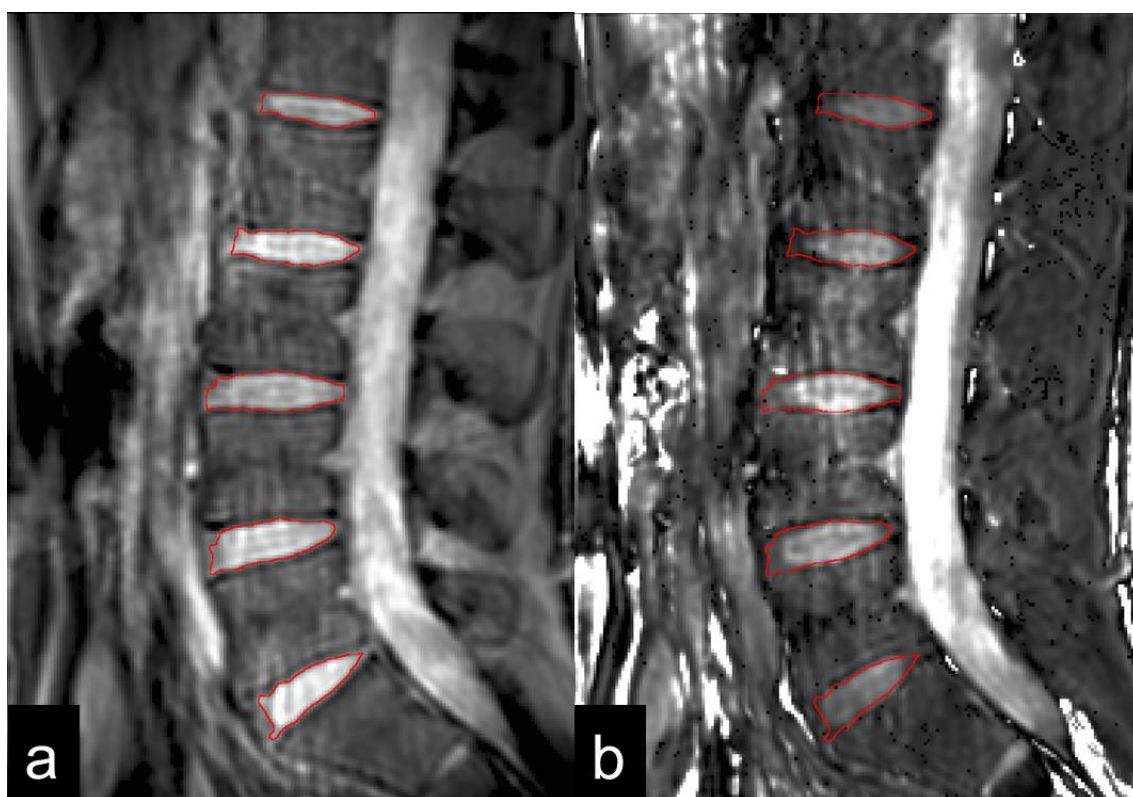


図 2-3 T1 ρ マップの関心領域 (ROI) の設定を示す。赤丸で囲んだ部分は、スピンロック時間 (TSL) = 0 ms で画像上に半自動的に設定した (a)。次に、ROI を対応する T1 ρ マップに重ねて測定した (b)。

各 MR 定量指標について、ROI の平均値を求め、平均値 $\pm$ 5 標準偏差 (Standard deviation : SD) 以上のボクセルをノイズと定義し、測定から除外した。

MR 定量指標の日内変動と椎間板の高さの日内変動との関係性を評価するため、正中矢状断 T2 強調画像を用いて、椎間板の高さ指標も測定した。測定方法を専門家である放射線科医師から訓練を受けた放射線技師 (経験 4 年) がスタンド

アローン DICOM ビューア (RadiAnt DICOM Viewer, Medixant, Poznan, Poland) で測定を行った。椎間板の高さ指標は過去の報告に従い (Shi et al, 2011)、椎間板の高さを椎体の高さで除した値とした。椎間板の高さ指標の算出方法は、椎間板の第 1-第 2 腰椎椎間板 (L1/L2) と、第 2-第 3 腰椎椎間板 (L2/L3)・第 3-第 4 腰椎椎間板 (L3/L4)・第 4-第 5 腰椎椎間板 (L4/L5) と、第 5-仙椎椎間板 (L5/S1) の 3 パターンに分けた (図 2-4)。

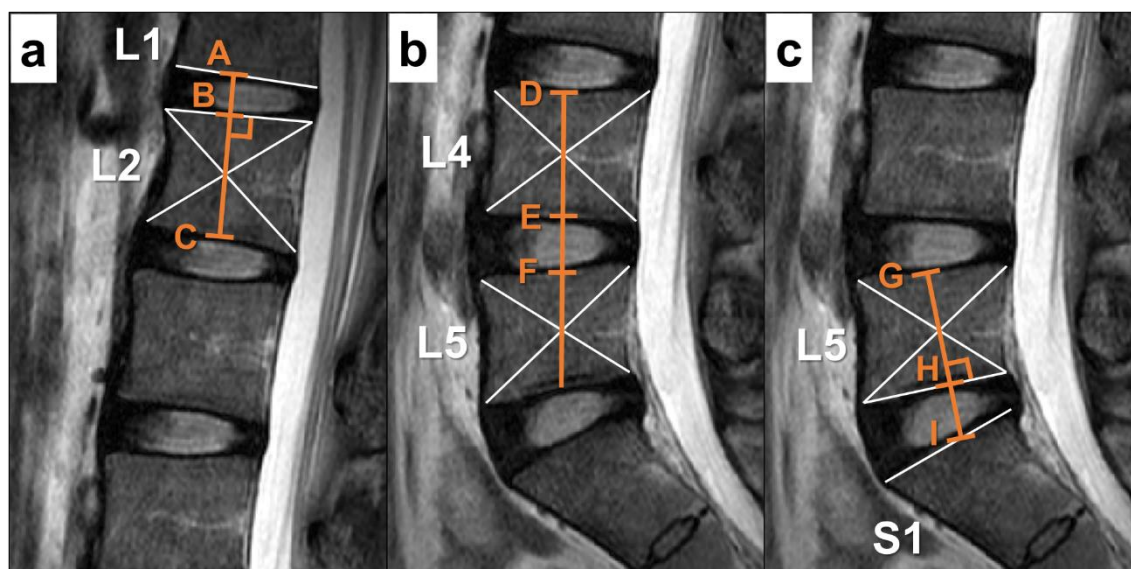


図 2-4 椎間板の高さ指標の算出方法を示す。椎間板の高さ指標は椎間板の高さを椎体の高さで除した値とし、椎間板の第 1-第 2 腰椎椎間板 (L1/L2) のパターン (a) と、第 2-第 3 腰椎椎間板 (L2/L3)・第 3-第 4 腰椎椎間板 (L3/L4)・第 4-第 5 腰椎椎間板 (L4/L5) のパターン (b) と、第 5-仙椎椎間板 (L5/S1) パターン (c) の 3 パターンに分けた。a では、L2 椎体上縁の垂線が L2 椎体の対角線交点を通る場合、垂線と L1 椎体下縁との交点を A、L2 椎体上縁との交点を B、L2 椎体下縁との交点を C とすると、L1/L2 の椎間板高さ指標は AB/BC となる。b では、L4/L5 の場合を例とすると、L4 椎体の対角線交点と L5 椎体の対角線交点を通る直線において、L4 椎体上縁を D、下縁を E、L5 椎体上縁を F とすると、L4/L5 の椎間板高さ指標は EF/DE となる。c では、L5 椎体下縁の垂線が L5 椎体の対角線交点を通る場合、L5 椎体上縁との交点を G、L5 椎体下縁との交点を H、S1 椎体上縁との交点を I とすると、L5/S1 の椎間板高さ指標は HI/GH となる。

2-7. 統計解析

T1 ρ 値、MD、 σ 値および椎間板の高さの測定の再現性は、同一検査セッションで2回の繰り返し検査を行ったボランティアデータにて検証した。同じスキャンセッションで2回の繰り返しスキャンが行われた。級内相関係数 (Intraclass correlation coefficient : ICC) を用い、ICCが0.75より大きけれ

ば繰り返し性があるとした (Koo et al, 2016)。

すべての腰椎椎間板の T1 ρ 値、MD、 σ 値および椎間板の高さを、対応のある t 検定または Wilcoxon の符号順位検定を用いて、朝と夕方間（2 時点間）で比較した。2 時点間の各指標の関係、および各 MR 定量指標の日内変動の関連性は、2 時点間の各指標の値の差で与えられる。日内変動との関連性を検討した。各 MR 定量指標の日内変動、他の MR 定量指標、椎間板の高さの日内変動、年齢、Pfarrmann グレード、BMI、椎間板レベル、および 2 回のスキャン間隔=2 時点と他の MR 定量指標との差 (Δ) を Pearson の積率相関分析を用いて検定した。椎間板レベル間のばらつきは、反復測定分散分析 (ANOVA) を用いて評価した。すべての比較において、 $p < 0.05$ を統計的に有意とした。本研究は探索的な研究のため、多重補正は行わなかった。統計解析は Statistical Package for Social Sciences : SPSS ソフトウェアバージョン 26 (IBM, New York, NY, USA) を用いて行った。

3. 実験結果

ボランティア 17 名に対して 1 名あたり 5 個の腰椎椎間板で、計 85 個を評価した。T1 ρ 値測定はすべての椎間板で評価可能であった。MD 測定は 84 個が、 σ 値測定は 83 個が有効であった。腰椎椎間板の Pfirrmann グレードは、グレードⅡが 7、グレードⅢが 70、グレードⅣが 8 であった。T1 ρ 値、MD、 σ 値測定の ICC はそれぞれ 0.874、0.858、0.974 であり、T1 ρ 値、MD、 σ 値の再現性が高いことが示唆された。

各時点における椎間板の T1 ρ 値、MD、 σ 値と椎間板の高さ指数と Pfirrmann グレードの内訳を表 2-2 に示した。一般に、椎間板の T1 ρ 値と MD は夕方に減少したが(図 2-5) (図 2-6) (図 2-8)、 σ 値は夕方には増加した ($p<0.05$) (図 2-7) (図 2-8)。夕方の椎間板の高さ指数の有意な低下も観察された ($p<0.001$) (図 2-8)。

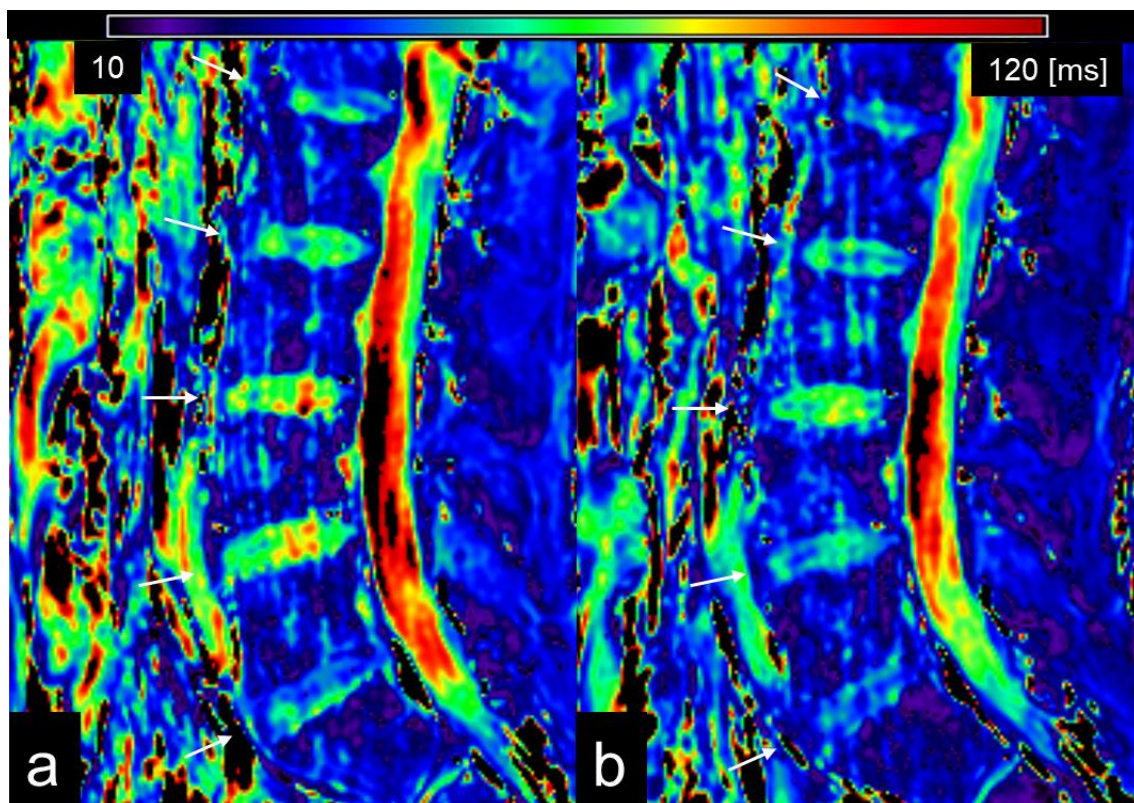


図 2-5 椎間板 の T1 ρ 値の日内変動。a は朝、b は夕方である。白矢印は椎間板を示す。

表 2-2 朝夕における各椎間板（IVD）の $T1\rho$ 、平均拡散率（MD）、および電気伝導率（ σ ）の値を示す。椎間板の高さ指標と Pfirrmann グレードの内訳も示す。Pfirrmann グレード以外のデータは、平均 $\pm$ 標準偏差で示す。 p 値は、朝夕間の全椎間板または各椎間板の比較における有意性を示す。N はサンプル数である。L1/2 は 1 番目と 2 番目の腰椎間の椎間板を表し、L5/S1 は第 5 腰椎と仙骨の間の椎間板を表す。

		全椎間板	椎間板				
			L1/L2	L2/L3	L3/L4	L4/L5	L5/S1
椎間板の高さ指標	朝	0.410 $\pm$ 0.071	0.341 $\pm$ 0.049	0.403 $\pm$ 0.062	0.449 $\pm$ 0.044	0.461 $\pm$ 0.059	0.410 $\pm$ 0.071
		(0.25–0.55)	(0.28–0.47)	(0.27–0.54)	(0.37–0.53)	(0.30–0.55)	(0.25–0.51)
	夕	0.382 $\pm$ 0.073	0.313 $\pm$ 0.057	0.374 $\pm$ 0.066	0.422 $\pm$ 0.054	0.428 $\pm$ 0.051	0.371 $\pm$ 0.074
		(0.20–0.52)	(0.23–0.45)	(0.25–0.52)	(0.36–0.52)	(0.29–0.51)	(0.20–0.51)
	サンプル数	85	17	17	17	17	17
		$p<0.001$					
$T1\rho$ [ms]	朝	59.069 $\pm$ 15.308	51.426 $\pm$ 8.338	61.095 $\pm$ 13.444	70.199 $\pm$ 16.177	63.409 $\pm$ 18.038	49.215 $\pm$ 8.467
		(32.6–98.98)	(40.0–70.05)	(32.66–87.01)	(48.0–98.98)	(39.3–96.88)	(33.3–70.78)
	夕	56.292 $\pm$ 12.991	49.835 $\pm$ 10.490	59.103 $\pm$ 12.061	65.635 $\pm$ 11.930	58.293 $\pm$ 13.502	48.596 $\pm$ 9.657
		(32.7–90.19)	(32.7–69.47)	(33.8–74.57)	(43.3–86.13)	(36.7–90.19)	(36.57–70.42)
	サンプル数	85	17	17	17	17	17
		$p=0.002$					
MD [$\times 10^{-6}$ mm ² /s]	朝	1784.633 $\pm$ 124.527	1744.867 $\pm$ 84.098	1810.641 $\pm$ 116.277	1849.257 $\pm$ 89.464	1776.74 1 $\pm$ 168.954	1738.196 $\pm$ 127.040
		(1328.54– 2005.07)	(1633.64– 1909.40)	(1507.33– 2005.07)	(1689.26– 1986.82)	(1328.54– 1922.59)	(1345.55– 1872.46)
	夕	1761.456 $\pm$ 134.130	1728.474 $\pm$ 63.042	1769.122 $\pm$ 142.371	1824.274 $\pm$ 103.646	1751.606 $\pm$ 183.742	1733.224 $\pm$ 142.604
		(1247.46– 1972.04)	(1605.50– 1849.15)	(1356.50– 1926.90)	(1602.80– 1972.04)	(1247.46– 1897.12)	(1376.50– 1912.06)

	サンプル数	84	17	17	17	16	17
		$p<0.001$					
σ [mS/m]	朝	374.696 ± 123.957	333.879 ± 155.562	365.987 ± 93.528	440.309 ± 98.890	375.274 ± 96.922	361.091 ± 149.300
		(94.83－ 770.99)	(137.39－ 770.99)	(209.03－ 568.22)	(295.05－ 605.21)	(186.04－ 520.26)	(94.83－ 717.46)
	夕	401.607 ± 113.978	348.211 ± 81.711	396.742 ± 108.578	420.614 ± 99.149	440.663 ± 98.776	403.005 ± 160.339
		(108.88－ 777.75)	(241.14－ 492.45)	(177.25－ 556.25)	(182.58－ 609.89)	(299.25－ 585.64)	(147.30－ 661.28)
	サンプル数	83	17	17	16	17	16
		$p=0.035$					
Pfirrmann グレード	グレード II	7	2	2	2	1	0
	グレード III	70	14	14	15	12	15
	グレード IV	8	1	1	0	4	2

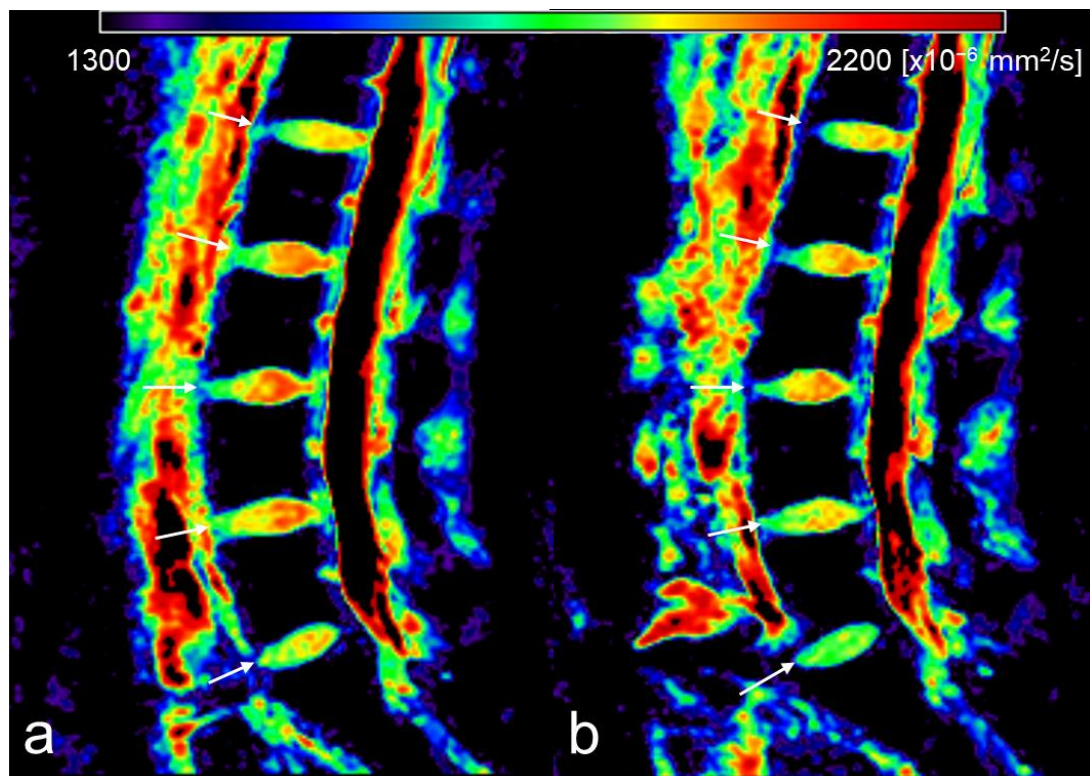


図 2-6 椎間板 の Mean diffusivity (MD) の日内変動。a は朝、b は夕方である。白矢印は椎間板を示す。

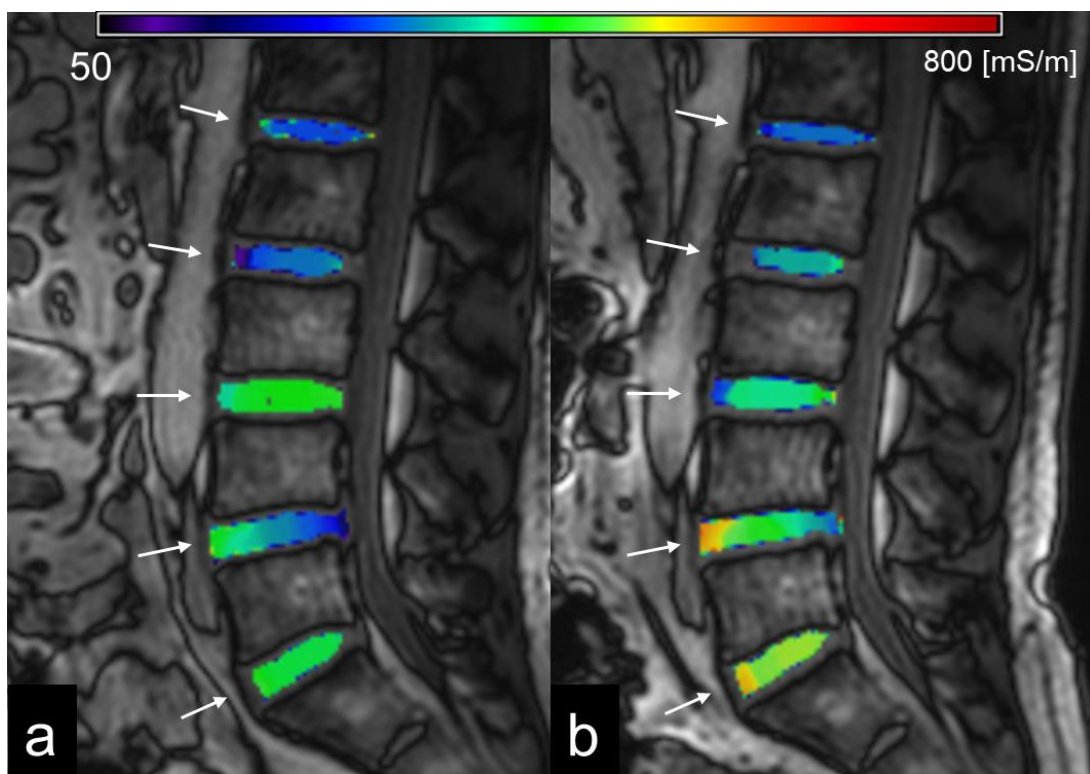


図 2-7 椎間板 の電気伝導度 (σ) の日内変動。a は朝、b は夕方である。白矢印は椎間板を示す。

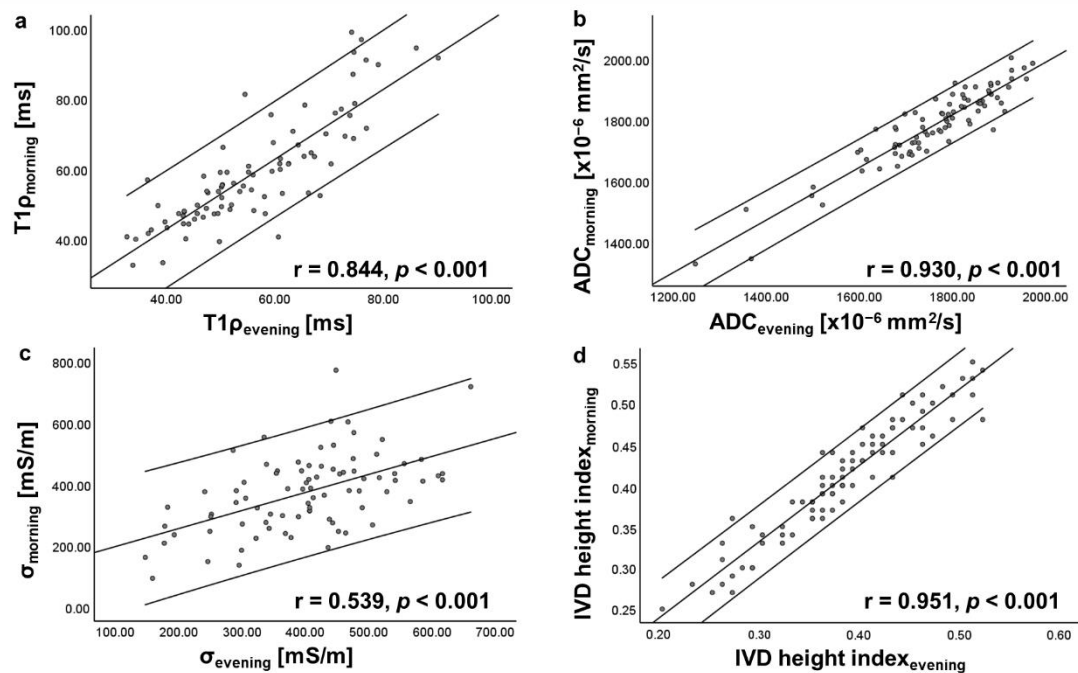


図 2-8 T1 ρ 値 (a)、平均拡散率 (MD) (b)、電気伝導度 (σ) (c)、椎間板の高さ (d) の朝タスキャン間の相関を示す散布図。縦軸は朝の各 MR 定量指標、横軸の各 MR 定量指標である。グラフの中央線は平均値を表し、他の 2 本の線は 95% の信頼区間を表す。

T1 ρ 値の差 (Δ T1 ρ) は年齢 ($r=-0.216$, $p=0.047$) およびスキャン間隔 ($r=-0.231$, $p=0.033$) と弱い負の相関を示した (図 2-9) (図 2-10)。 Δ MD はスキャン間隔と弱い負の相関を示した ($r=-0.236$, $p=0.031$) (図 2-10)。 σ について記載 各指標の差 (Δ) と朝夕の各指標、Pfarrmann グレード、 Δ BMI との間には有意な相関は認められなかった ($p>0.05$)。どの指標においても、 Δ の程度は椎間板間で有意な違いはなかった (Δ T1 ρ は $p=0.910-1.000$ 、 Δ MD は $p=0.463-1.000$ 、 Δ σ は $p=0.107-1.000$)。

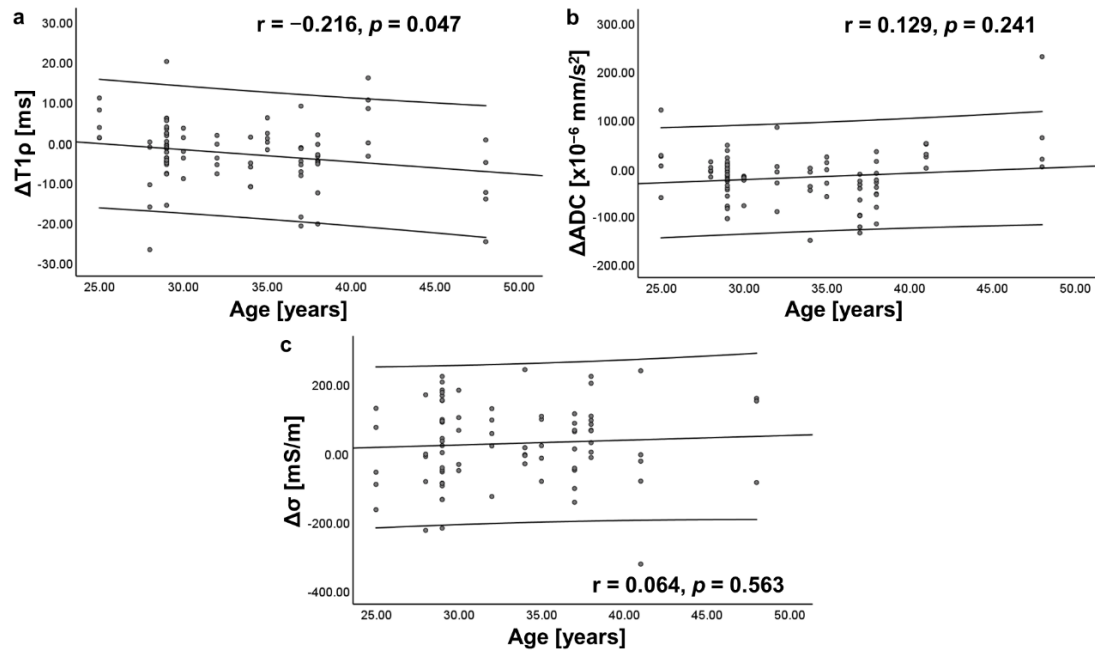


図 2-9 $T1\rho$ 値 (a)、平均拡散率 (MD) (b)、電気伝導率 (σ) (c) の日内変動 (Δ) と年齢との相関を示す散布図。縦軸は各 MR 定量指標の朝夕間の差で、横軸は年齢である。グラフの中央線は平均値を表し、他の 2 本の線は 95% の信頼区間を表す。

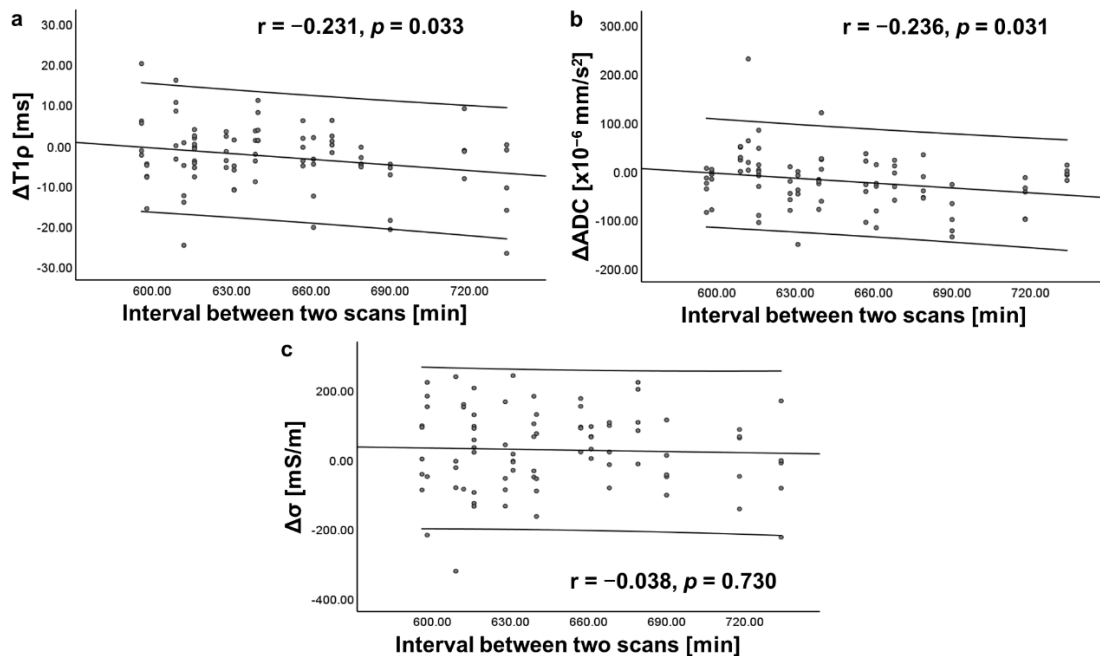


図 2-10 $T1\rho$ 値 (a)、平均拡散率 (MD) (b)、電気伝導率 (σ) (c) の日内変動 (Δ) とスキャン間隔との相関を示す散布図。縦軸は各 MR 定量指標の朝夕間の差で、横軸は朝夕間のスキャン間隔である。グラフの中央線は平均値を表し、他の 2 本の線は 95% の信頼区間を表す。

4. 考察

本研究では、一般的に知られている椎間板の高さ指標の日内変動に加えて、腰椎椎間板の $T1\rho$ 値、MD および σ 値の日内変動を報告した (Martin et al, 2022)。3 つの MR 定量指標すべてに日内変動が存在したことから、これらの指標に基づいて臨床判断を行う際には、この変動を考慮する必要がある。疾患の診断、疾患の進行や治療反応性の評価に MR 定量指標を取り入れる傾向が強まっていることから (Sawamura et al, 2020 ; Tha et al, 2010 ; Tha et al, 2018)、それぞれの指標における朝の標準値、夕方の標準値が必要となってくる。

椎間板の高さの日内変動は一般的に生じることが報告されている。過去の研究によると、活動後最大で約 2cm もしくは身長約 1% の椎間板の高さの減少が起こり、翌日には回復する (Chan et al, 2011 ; Jentzsch et al, 2020)。この朝夕の差は活動変動に応じた椎間板内圧の日内変動によって誘発される (Sivan et al, 2006)。直立姿勢では静水圧が上昇し、その結果、椎間板から液体が排出される (Chan et al, 2011 ; Sivan et al, 2006)。この研究では、椎間板の高さの平均が 7.5% 低下したことが観察された。

椎間板の水分の約 20~25% が、1 日で活動時に流出し、睡眠時に補充されると報告がある (Sivan et al, 2006)。この変化の大きさは、MD の変化を引き起こすことに十分である。MD は細胞内外の水分子の拡散に非常に敏感である (Tha et al, 2006)。本研究では、MD は夕方に有意に減少し、2 時点間の差は平均 2.5% であった。髄核では 1.6%、線維輪では 5.2% の MD 低下が夕方に見られたと報告されている (Ludescher et al, 2008)。ここでの MD 低下は椎間板からの水分流出によるものと考えられる。

$T1\rho$ 値は、スピンロック RF パルスによって生成される非常に弱い B1 磁場強度における横磁化の減衰の時定数である (Wang et al, 2015)。運動制限された水分子とその高分子環境との相互作用が、 $T1\rho$ 緩和の主要な寄与メカニズムである。椎間板の高分子環境における初期の生化学的変化 (プロテオグリカンの消失など) は、 $T1\rho$ 値に反映されると報告がある。これと一致して、変性した椎間板では $T1\rho$ 値が低下することがいくつかの研究で示されている (Wang et al, 2013 ; Wang et al, 2015)。また、 $T1\rho$ 値と髄核中のプロテオグリカン含有量との間に負の関係があることも示されている (Hatcher et al, 2017)。椎間板変性の検出において、 $T1\rho$ 値が T2 値や MD よりも優れていることを示唆する研究もある (Paul et al, 2018)。しかし、 $T1\rho$ 値の日内変動に関する情報は少ない。本研究では、夕方に $T1\rho$ 値の有意な短縮が観察され、椎間板内のプロテオグリカン濃度が高いことが示唆された。椎間板からの液体排出によるプロテオグリカン濃度の相対的上昇が、日内変動に起因したと考える。

σ 値を測定する他の方法とは違い、EPT による σ 値推定では、外部電流の注入などは必要としない。EPT による σ 測定は、脳腫瘍や乳腫瘍、肝線維症において有用である可能性が報告されている (Tha et al, 2018 ; Tha et al,

2021 ; Shin et al, 2014)。最近の研究では、EPT で運動によって引き起こされる筋肉の σ 値の変化を検出する感度と測定の再現性について報告されている (Lee et al, 2022)。我々の知る限り、本研究は腰椎椎間板の σ 値に関する最初の報告である。T1 ρ 値や MD と同様に σ 値でも、椎間板の日内変動が観察され、夕方は朝よりも高い値を示した。この日内変動の正確なメカニズムはまだ解明されていない。しかし、ナトリウムイオン濃度の変化を反映している可能性がある。体外診断用医薬品のナトリウムイメージングに関する先行研究では、以下のことが示されている。ナトリウム濃度と椎間板のプロテオグリカンとの間に直線的な関係を示している (Noebauer-Huhmann et al, 2021)。椎間板では、プロテオグリカン分子が凝集して、約 100 個のグリコサミノグリカンを形成している。これらの側鎖は、広範囲に硫酸化およびカルボキシル化されており、分子全体が生理的 pH で負に強く帯電している。この負電荷は陽イオン（主にナトリウムイオン）を引き寄せる。そのため、夕方におけるプロテオグリカンの相対的な増加は、局所的なナトリウムイオン濃度を増加させ、椎間板の σ 値増加を引き起こす可能性がある。

本研究では、MR 定量指標の日内変動について、年齢やスキャン回数との相関をいくつか示した。 Δ T1 ρ と年齢との相関は、加齢に伴う椎間板内のプロテオグリカン濃度の減少を反映していると考えられる。この所見は先行研究と一致している (Scott et al, 1994 ; Roughley et al, 1993)。 Δ T1 ρ または Δ MD とスキャン間隔との相関はやや弱かった。この研究ではスキャン間隔は 9.93～12.23 時間であった。椎間板への負荷がより長いと、日内変動がさらに強調される可能性がある。また、 Δ が 3 つの指標間で有意な相関を示さなかったことは、これらの指標が互いに独立していることを示している。 Δ MD と Δ 椎間板の高さ指標との相関が予想された (Ludescher et al, 2018)。しかし、相関の傾向のみが観察された。有意な相関が得られなかったのは、標本数の制限によるものであると考える。これらの変化と Pfirrmann グレードまたは椎間板レベルとの相関が認めなかったことから、椎間板変性の程度や椎間板レベルは日内変動に影響しないことを示唆している。また、Pfirrmann グレードとの相関がないのは、ほとんどが Pfirrmann グレードⅢの椎間板が多く含まれているためである。ボディマス指数 (BMI) は日内変動に影響を与えることが報告されているが、本研究では再現できなかった (Liu et al, 2023)。本研究では、椎間板の 8.2%、82.4%、9.4% がそれぞれ Pfirrmann グレードⅡ、Ⅲ、Ⅳに分類された。Pfirrmann グレードⅠまたはグレードⅤに分類された椎間板は無かった。この分布は一般人口を代表していると考ええる。無症候性椎間板変性は MRI でよく観察される。以前の 18～55 歳の 1043 人を対象に椎間板変性の有病率を評価した報告では、30 歳未満の 40% に腰椎椎間板変性が観察された。別の研究では、15～30 歳の腰椎椎間板変性の有病率は 56% であった。腰痛の既往歴がない 15～30 歳の人に腰椎椎間板変性が 56% 存在することが示されている (Chadha et

al, 2022)。ある研究では、Pfirrmann グレードⅣとグレードⅤのみを変性とみなすことを提案している (Teraguchi et al, 2014)。

limitation

いくつかのリミテーションがある。第 1 に、すべての測定は正中矢状断のみを用いた。この選択はパーシャルボリュームアーチファクトを抑制するために行った。すべてのスライスもしくはボリューム測定を行うことが理想的な可能性がある。第 2 に、今回の測定 ROI には線維輪と髄核の両方が含まれている。別々に測定することで、椎間板で生じる動的变化の理解が深まる可能性がある。しかし、線維輪と髄核の分離は、特に変性した椎間板では困難である (Pfirrmann et al, 2001)。臨床では、椎間板全体を含む ROI が望ましいと考える。第 3 に、 $\Delta T1\rho$ 値または ΔMD と年齢またはスキャン間隔との間に弱い相関が観察された、これらの所見は、多重比較の補正後では保持することができなかった。これらの結果を証明するためにはより多数のサンプルサイズの検討を行う必要がある。第 4 に、今回の σ マップの再構成は省略したヘルムホルツ方程式を変換した式を用いた。椎間板の実際の値は、本研究で報告された値よりも大きくなる可能性が高い。

5. 総括および結論

本研究では、座位労働者における腰椎椎間板の T1 ρ 値、MD および σ 値の日内変動について報告する。これらの MR 定量指標には日内変動が存在し、日々の生理学的事象を反映している。臨床的判断のために、この変動に関する知識はこれらの指標を解釈する上で重要である。本研究の結果は、腰椎椎間板の基準値となる可能性がある。

今後の課題

本研究の脳のエリスン評価では、多発性硬化症などの脱髄疾患無い人を対象とした。脱髄疾患におけるエリスン染色画像・透過型電子顕微鏡画像と MR 定量指標と比較を進めていきたい。本研究では、長時間撮像することによる対象への影響を排除するために MR パラメーターや時間の制限に制限があったため、スライス厚や分解能などを揃えることが難しかった。近年では、MR も人工知能 (Artificial Intelligence : AI) 技術により、高信号・高分解能画像が得られるようになってきている。AI などを使用して、各撮像パラメーターの差を無い状態で比較したい。本研究では各 MR 定量指標の成績が確かめられた、今後は、多発性硬化症といった脱髄性疾患における診療的意義について評価を行いたい。

本研究の椎間板による評価は、明らかな椎間板変性疾患のないボランティアによって行われた。今後は、椎間板変性疾患のある対象にて評価を行う際に日内変動の可能性を考慮する必要がある。

謝辞

本研究において研究計画から論文作成までご指導いただきました北海道大学大学院医学研究院医理工学グローバルセンター Khin Khin Tha 准教授に、深く感謝し厚く御礼申し上げます。

副指導教員としてご指導いただきました北海道大学大学院医理工学院 高尾聖心先生に、厚く御礼申し上げます。

本研究の病理データ取得に多大なるご協力いただきました北海道大学死因究明教育研究センター 兵頭秀樹先生、北海道大学理学部生物科学科（生物学）パツケニーナ先生、ケビン・ウェイクマン先生に厚く御礼申し上げます。また、病理データ保存でお世話になりました、北海道大学理学部生物科学科（生物学）研究室の皆様、厚く御礼申し訳あげます。

MR シーケンスの調整ならびにデータ解析について多大なるご協力いただきましたシーメンスヘルスケア 漆畑勇太様、データ解析について多大なるご協力いただきました Philips Research Laboratories 所属 Ulrich Katscher 様、統計解析についてご助言をいただきました北海道大学病院医療・ヘルスサイエンス研究開発機構データサイエンスセンター 伊藤陽一先生に、厚く御礼申し訳あげます。

本研究の共同研究者として多大なるご協力をいただきました北海道大学大学院医学研究科脊椎・脊髄先端医学分野 須藤英毅先生、北海道大学病院整形外科 山田勝久先生、北海道大学大学院医学研究院画像診断学分野 工藤興亮先生に厚く御礼申し訳あげます。

本研究に健常ボランティアとしてご協力いただきました皆様、研究に関するご助言をいただきました北海道大学病院医療技術部放射線部門 石坂欣也様、大学院の研究活動のために多大なるご協力をいただきました北海道大学病院 医療技術部放射線部門藤田勝久様、孫田恵一様をはじめ、放射線部門スタッフの皆様に厚く御礼申し訳あげます。

本研究の共同研究者として、データ解析やご助言など、多大なるご協力をいただきました北海道大学大学院医理工学院医理工学専攻 北川真歩様、坂本大貴様、データ解析やご助言など、多大なるご協力をいただきました李 忻南様、本研究にご助言をいただきました北海道大学大学院医理工学院生物指標画像科学研究室の皆様、厚く御礼申し訳あげます。

引用文献

- Abuelwafa, H. R., El-Kott, A. F., Abd-Ella, E. M., and Yousef, H. N. (2020). The possible neuroprotective effect of silymarin against aluminum chloride-prompted Alzheimer's-like disease in Rats. *Brain Sciences*, 10, 628.
- An, H., and Lin, W. (2001). Spin Density, T1, T2, T2* Relaxation and Bloch Equations. *Current Protocols in Magnetic Resonance Imaging*, B3-1.
- Antoniou, J., Demers, C. N., Beaudoin, G., Goswami, T., Mwale, F., Aebi, M., and Alini, M. (2004). Apparent diffusion coefficient of intervertebral discs related to matrix composition and integrity. *Magnetic resonance imaging*, 22(7), 963-972.
- Aung, W. Y., Mar, S., and Benzinger, T. L. (2013). Diffusion tensor MRI as a biomarker in axonal and myelin damage. *Imaging in medicine*, 5, 427.
- Bagnato, F., Hametner, S., Boyd, E., Endmayr, V., Shi, Y., Ikonomidou, V., Chen, G., Pawate, S., Lassmann, H., Smith, S. et al. (2018a). Untangling the R2* contrast in multiple sclerosis: a combined MRI-histology study at 7.0 Tesla. *PLoS One*, 13(3), e0193839.
- Bagnato, F., Hametner, S., Franco, G., Pawate, S., Sriram, S., Lassmann, H., Gore, J., Smith, SE., and Dorch, R. (2018b). Selective inversion recovery quantitative magnetization transfer brain MRI at 7T: clinical and postmortem validation in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 28, 380-388.
- Bando, Y., Nomura, T., Bochimoto, H., Murakami, K., Tanaka, T., Watanabe, T., and Yoshida, S. (2015). Abnormal morphology of myelin and axon pathology in murine models of multiple sclerosis. *Neurochemistry international*, 81, 16-27.
- Basser, P. J., Mattiello, J., and LeBihan, D. (1994). MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical journal*, 66, 259-267.
- Belykh, E., Kalinin, A. A., Patel, A. A., Miller, E. J., Bohl, M. A., Stepanov, I. A., Bardanova, L. A., Kerimbaev, T., Asantsev, A. O., Giers, M. B., Preul, M. C., and Byvaltsev, V. A. (2017). Apparent diffusion coefficient maps in the assessment of surgical patients with lumbar spine degeneration. *PLoS One*, 12(8), e0183697.
- Berg, R. C., Menegaux, A., Amthor, T., Gilbert, G., Mora, M., Schlaeger, S., Pongratz, V., Lauerer, M., Sorg, C., Doneva, M., Vavasour, I., Mühlau, M., and Preibisch, C. (2022). Comparing myelin-sensitive magnetic resonance imaging measures and resulting g-ratios in healthy and multiple sclerosis brains. *Neuroimage*, 264, 119750.

- Billiet, T., Vandenbulcke, M., Mädler, B., Peeters, R., Dhollander, T., Zhang, H., Deprez, S., Van-den-Bergh, B. R., Sunaert, S., and Emsell, L. (2015). Age-related microstructural differences quantified using myelin water imaging and advanced diffusion MRI. *Neurobiology of aging*, 36(6), 2107–2121.
- Bock, N. A., Kocharyan, A., Liu, J. V., and Silva, A. C. (2009). Visualizing the entire cortical myelination pattern in marmosets with magnetic resonance imaging. *Journal of neuroscience methods*, 185, 15–22.
- Boden, S. D., McCowin, P. R., Davis, D. O., Dina, T. S., Mark, A. S., and Wiesel, S. (1990). Abnormal magnetic-resonance scans of the cervical spine in asymptomatic subjects. A prospective investigation. *JBJS*, 72(8), 1178–1184.
- Botsford, D. J., Esses, S. I., and Ogilvie-Harris, D. J. (1994). In vivo diurnal variation in intervertebral disc volume and morphology. *Spine*, 19, 935–940.
- Budde, M. D., Xie, M., Cross, A. H., and Song, S. K. (2009). Axial diffusivity is the primary correlate of axonal injury in the experimental autoimmune encephalomyelitis spinal cord: a quantitative pixelwise analysis. *Journal of Neuroscience*, 29(9), 2805–2813.
- Carriel, V., Campos, A., Alaminos, M., Raimondo, S., and Geuna, S. (2017). Staining methods for normal and regenerative myelin in the nervous system. *Histochemistry of single molecules: methods and protocols*, 207–218.
- Chadha, M., Srivastava, A., Kumar, V., and Tandon, A. (2022). Disc Degeneration in Lumbar Spine of Asymptomatic Young Adults: A Descriptive Cross-Sectional Study. *Indian Journal of Orthopaedics*, 56(6), 1083–1089.
- Chan, S. C., Ferguson, S. J., and Gantenbein-Ritter, B. (2011). The effects of dynamic loading on the intervertebral disc. *European spine journal*, 20, 1796–1812.
- Chatterjee, A., Devaraj, A., Mathew, M., Szasz, T., Antic, T., Karczmar, G. S., and Oto, A. (2019). Performance of T2 maps in the detection of prostate cancer. *Academic radiology*, 26, 15–21.
- Cheung, K. M., Karppinen, J., Chan, D., Ho, D. W., Song, Y. Q., Sham, P., Cheah, K. S., Leong, J. C., and Luk, K. D. (2009). Prevalence and pattern of lumbar magnetic resonance imaging changes in a population study of one thousand forty-three individuals. *Spine*, 34(9), 934–940.
- Drobyshevsky, A., Synowiec, S., Goussakov, I., Lu, J., Gascoigne, D., Aksenov, D. P., and Yarnykh, V. (2023). Temporal trajectories of normal

myelination and axonal development assessed by quantitative macromolecular and diffusion MRI: Ultrastructural and immunochemical validation in a rabbit model. *Neuroimage*, 270, 119974.

Eminian, S., Hajdu, S. D., Meuli, R. A., Maeder, P., and Hagmann, P. (2018). Rapid high resolution T1 mapping as a marker of brain development: normative ranges in key regions of interest. *PloS one*, 13, e0198250.

Fields, R. D. (2014). Myelin—more than insulation. *Science*, 344, 264–266.

Filippi, C. G., Duncan, C. T., Watts, R., Nickerson, J. P., Gonyea, J. V., Hipko, S. G., and Andrews, T. (2013). In vivo quantification of T1 ρ in lumbar spine disk spaces at 3 T using parallel transmission MRI. *AJR Am J Roentgenol*, 201(1), W110–116.

Gallyas, F. (1979). Silver staining of myelin by means of physical development. *Neurological research*, 1, 203–209.

García-García, Ó. D., Carriel, V., and Chato-Astrain, J. (2024). Myelin histology: a key tool in nervous system research. *Neural Regeneration Research*, 19, 277–281.

Glasser, M. F., and Van-Essen, D. C. (2011). Mapping human cortical areas in vivo based on myelin content as revealed by T1- and T2-weighted MRI. *Journal of neuroscience*, 31, 11597–11616.

Gómez-Pinedo, U., Duran-Moreno, M., Sirerol-Piquer, S., and Matias-Guiu, J. (2018). Myelin changes in Alexander disease. *Neurología (English Edition)*, 33, 526–533.

Gonsalvez, D. G., Yoo, S., Fletcher, J. L., Wood, R. J., Craig, G. A., Murray, S. S., and Xiao, J. (2019). Imaging and quantification of myelin integrity after injury with spectral confocal reflectance microscopy. *Frontiers in molecular neuroscience*, 12, 275.

Groeschel, S., Hagberg, G. E., Schultz, T., Balla, D. Z., Klose, U., Hauser, T. K., Nägele, T., Bieri, O., Prasloski, T., MacKay, A. L., Krägeloh-Mann, I., and Scheffler, K. (2016). Assessing White Matter Microstructure in Brain Regions with Different Myelin Architecture Using MRI. *PLoS One*. 11, e0167274.

Gübitz, R., Lange, T., Gosheger, G., Heindel, W., Allkemper, T., Stehling, C., Gerss, J., Kanthak, C., and Schulte, T. L. (2017). Influence of Age, BMI, Gender and Lumbar Level on T1 ρ Magnetic Resonance Imaging of Lumbar Discs in Healthy Asymptomatic Adults. *RoFo: Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin*, 190(2), 144–151.

Han, Z., Gao, L., Shi, Q., Chen, L., and Chen, C. (2018). Quantitative magnetic resonance imaging for diagnosis of intervertebral disc degeneration of the cervico-thoracic junction: a pilot study. *American Journal of Translational Research*, 10(3), 925.

Hatcher, C. C., Collins, A. T., Kim, S. Y., Michel, L. C., Mostertz III, W. C., Ziemian, S. N., Spritzer, C. E., Guilak, F., DeFrate, L. E., and McNulty, A. L. (2017). Relationship between T1rho magnetic resonance imaging, synovial fluid biomarkers, and the biochemical and biomechanical properties of cartilage. *Journal of biomechanics*, 55, 18-26.

Hsu, Y., Chou, M. C., Yeh, P. S., Wu, T. C., Ko, C. C., and Chen, T. Y. (2020). Magnetic-Resonance Diffusion-Tensor Tractography in the Diagnosis of Tumefactive Spinal-Cord Lesions in Neuromyelitis Optica. *Diagnostics*, 10, 401.

Humzah, M. D., and Soames, R. W. (1988). Human intervertebral disc: structure and function. *The Anatomical Record*, 220(4), 337-356.

Jensen, M. C., Brant-Zawadzki, M. N., Obuchowski, N., Modic, M. T., Malkasian, D., and Ross, J. S. (1994). Magnetic resonance imaging of the lumbar spine in people without back pain. *New England Journal of Medicine*, 331(2), 69-73.

Jentzsch, T., Farshad-Amacker, N. A., Mächler, P., Farei-Campagna, J., Hoch, A., Roskopf, A. B., and Werner, C. M. (2020). Diurnal T2-changes of the intervertebral discs of the entire spine and the influence of weightlifting. *Scientific Reports*, 10(1), 14395.

Johnson, J. H., and Al Khalili, Y. (2019). Histology, Myelin.

Kaiser, T., Allen, H. M., Kwon, O., Barak, B., Wang, J., He, Z., Jiang, M., and Feng, G. (2021). MyelTracer: a semi-automated software for myelin g-ratio quantification. *Eneuro*, 8.

Kamei, N., Nakamae, T., Nakanishi, K., Tamura, T., Tsuchikawa, Y., Morisako, T., Harada, T., Maruyama, T., and Adachi, N. (2022). Evaluation of intervertebral disc degeneration using T2 signal ratio on magnetic resonance imaging. *European Journal of Radiology*, 152, 110358.

Katscher, U., and van den Berg, C. A. (2017). Electric properties tomography: Biochemical, physical and technical background, evaluation and clinical applications. *NMR in Biomedicine*, 30(8), e3729.

Katsura, M., Suzuki, Y., Hata, J., Hori, M., Sasaki, H., Akai, H., Mori, H., Kunimatsu, A., Masutani, Y., Aoki, S., and Ohtomo, K. (2014). Non - Gaussian diffusion - weighted imaging for assessing diurnal changes in

intervertebral disc microstructure. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 40(5), 1208–1214.

Kavroulakis, E., Simos, P. G., Kalaitzakis, G., Maris, T. G., Karageorgou, D., Zaganas, I., Panagiotakis, S., Basta, M., Vgontzas, A., and Papadaki, E. (2018). Myelin content changes in probable Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: associations with age and severity of neuropsychiatric impairment. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 47, 1359–1372.

Khodanovich, M. Y., Sorokina, I. V., Glazacheva, V. Y., Akulov, A. E., Nemirovich-Danchenko, N. M., Romashchenko, A. V., Tolstikova, T. G., Mustafina, L. R., and Yarnykh, V. L. (2017). Histological validation of fast macromolecular proton fraction mapping as a quantitative myelin imaging method in the cuprizone demyelination model. *Scientific reports*, 7, 46686.

Khodanovich, M., Pishchelko, A., Glazacheva, V., Pan, E., Akulov, A., Svetlik, M., Tyumentseva, Y., Anan'ina, T., and Yarnykh, V. (2019). Quantitative imaging of white and gray matter remyelination in the cuprizone demyelination model using the macromolecular proton fraction. *Cells*, 8, 1204.

Kitzler, H. H., Su, J., Zeineh, M., Harper-Little, C., Leung, A., Kremenchutzky, M., Deoni, S. C., and Rutt, B. K. (2012). Deficient MWF mapping in multiple sclerosis using 3D whole-brain multi-component relaxation MRI. *Neuroimage*, 59(3), 2670–2677.

Koo, T. K., and Li, M. Y. (2016). A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *Journal of chiropractic medicine*, 15(2), 155–163.

Labadie, C., Lee, J. H., Rooney, W. D., Jarchow, S., Aubert - Frécon, M., Springer Jr, C. S., and Möller, H. E. (2014). Myelin water mapping by spatially regularized longitudinal relaxographic imaging at high magnetic fields. *Magnetic resonance in medicine*, 71(1), 375–387.

Lange, T., Knowles, B. R., Herbst, M., Izadpanah, K., Zaitsev, M. (2017). Comparative T2 and T1 ρ mapping of patellofemoral cartilage under in situ mechanical loading with prospective motion correction. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 46(2), 452–460.

Laule, C., Vavasour, I. M., Kolind, S. H., Li, D. K., Traboulsee, T. L., Moore, G. W., and MacKay, A. L. (2007). Magnetic resonance imaging of myelin. *Neurotherapeutics*, 4, 460–484.

Laule, C., and Moore, G. W. (2018). Myelin water imaging to detect

demyelination and remyelination and its validation in pathology. *Brain Pathology*, 28(5), 750–764.

Le Bihan, D., and Iima, M. (2015). Diffusion magnetic resonance imaging: what water tells us about biological tissues. *PLoS biology*, 13, e1002203.

Lee, J., Hyun, J. W., Lee, J., Choi, E. J., Shin, H. G., Min, K., Nam, Y., Kim, H. J., and Oh, S. H. (2021). So you want to image myelin using MRI: an overview and practical guide for myelin water imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 53, 360–373.

Lee, J. H., Yoon, Y. C., Kim, H. S., Lee, J., Kim, E., Findeklee, C., and Katscher, U. (2022). In vivo electrical conductivity measurement of muscle, cartilage, and peripheral nerve around knee joint using MR-electrical properties tomography. *Scientific Reports*, 12(1), 73.

Li, R. K., Ren, X. P., Yan, F. H., Qiang, J. W., Lin, H. M., Wang, T., Zhao, H. F., and Chen, W. B. (2018). Liver fibrosis detection and staging: a comparative study of T1 ρ MR imaging and 2D real-time shear-wave elastography. *Abdominal Radiology*, 43, 1713–1722.

Li, X., Abiko, K., Sheriff, S., Maudsley, A. A., Urushibata, Y., Ahn, S., and Tha, K. K. (2022). The Distribution of Major Brain Metabolites in Normal Adults: Short Echo Time Whole-Brain MR Spectroscopic Imaging Findings. *Metabolites*, 12(6), 543.

Liu, C., Ran, J., Morelli, J. N., Hou, B., Li, Y., and Li, X. (2023). Determinants of diurnal variation in lumbar intervertebral discs and paraspinal muscles: A prospective quantitative magnetic resonance imaging study. *European Journal of Radiology*, 160, 110712.

Ludescher, B., Effelsberg, J., Martirosian, P., Steidle, G., Markert, B., Claussen, C., and Schick, F. (2008). T2 - and diffusion - maps reveal diurnal changes of intervertebral disc composition: an in vivo MRI study at 1.5 Tesla. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 28(1), 252–257.

Lundon, K., and Bolton, K. (2001). Structure and function of the lumbar intervertebral disk in health, aging, and pathologic conditions. *Journal of orthopaedic & sports physical therapy*, 31(6), 291–306.

Mädler, B., Drabycz, S. A., Kolind, S. H., Whittall, K. P., and MacKay, A. L. (2008). Is diffusion anisotropy an accurate monitor of myelination?: Correlation of multicomponent T2 relaxation and diffusion tensor anisotropy in human brain. *Magnetic resonance imaging*, 26, 874–888.

- Maekawa, T., Hori, M., Murata, K., Feiweier, T., Kamiya, K., Andica, C., Hagiwara, A., Fujita, S., Koshino, S., Akashi, T., Kamagata, K., Wada, A., Abe, O., and Aoki, S. (2020). Differentiation of high-grade and low-grade intra-axial brain tumors by time-dependent diffusion MRI. *Magnetic Resonance Imaging*, 72, 34-41.
- Mancini, M., Karakuzu, A., Cohen-Adad, J., Cercignani, M., Nichols, T. E., and Stikov, N. (2020). An interactive meta-analysis of MRI biomarkers of myelin. *elife*, 9, e61523.
- Marques, J. P., Kober, T., Krueger, G., van der Zwaag, W., Van de Moortele, P. F., and Gruetter, R. (2010). MP2RAGE, a self bias-field corrected sequence for improved segmentation and T1-mapping at high field. *Neuroimage*, 49, 1271-1281.
- Martin, J. T., Oldweiler, A. B., Kosinski, A. S., Spritzer, C. E., Soher, B. J., Erickson, M. M., Goode, A. P., and DeFrate, L. E. (2022). Lumbar intervertebral disc diurnal deformations and T2 and T1rho relaxation times vary by spinal level and disc region. *European Spine Journal*, 31(3), 746-754.
- Menon, R. G., Sharafi, A., Windschuh, J., and Regatte, R. R. (2018). Bi-exponential 3D-T1 ρ mapping of whole brain at 3 T. *Scientific reports*, 8, 1176.
- Miot-Noirault, E., Barantin, L., Akoka, S., and Le Pape, A. (1997). T2 relaxation time as a marker of brain myelination: experimental MR study in two neonatal animal models. *Journal of neuroscience methods*, 72, 5-14.
- Mulkern, R. V., Meng, J., Oshio, K., and Tzika, A. A. (1996). Line scan imaging of brain metabolites with CPMG sequences at 1.5 tesla. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 6, 399-405.
- Nakajima, Y., Yamada, K., Imamura, K., and Kobayashi, K. (2008). Radiologist supply and workload: international comparison: Working Group of Japanese College of Radiology. *Radiation medicine*, 26, 455-465.
- Niu, G., Yang, J., Wang, R., Dang, S., Wu, E. X., Guo, Y. (2011). MR imaging assessment of lumbar intervertebral disk degeneration and age-related changes: apparent diffusion coefficient versus T2 quantitation. *American Journal of Neuroradiology*, 32(9), 1617-1623.
- Noebauer-Huhmann, I. M., Juras, V., Pfirrmann, C. W., Szomolanyi, P., Zbyn, S., Messner, A., Wimmer, J., Weber, M., Friedrich, K. M., Stelzeneder, D., and Trattnig, S. (2012). Sodium MR imaging of the lumbar intervertebral disk at 7 T: correlation with T2 mapping and modified

Pfarrmann score at 3 T-preliminary results. *Radiology*, 265(2), 555-564.

Nugent, S. M., Lovejoy, T. I., Shull, S., Dobscha, S. K., and Morasco, B. J. (2021). Associations of pain numeric rating scale scores collected during usual care with research administered patient reported pain outcomes. *Pain Medicine*, 22(10), 2235-2241.

Oh, S. H., Bilello, M., Schindler, M., Markowitz, C. E., Detre, J. A., and Lee, J. (2013). Direct visualization of short transverse relaxation time component (ViSta). *Neuroimage*, 83, 485-492.

Papadakis, N. G., Xing, D., Houston, G. C., Smith, J. M., Smith, M. I., James, M. F., Parsons, A. A., Huang, C. L., Hall, L. D., and Carpenter, T. A. (1999). A study of rotationally invariant and symmetric indices of diffusion anisotropy. *Magnetic resonance imaging*, 17(6), 881-892.

Paul, C. P., Smit, T. H., de Graaf, M., Holewijn, R. M., Bisschop, A., van de Ven, P. M., Mullender, M. G., Helder, M. N., and Strijkers, G. J. (2018). Quantitative MRI in early intervertebral disc degeneration: T1rho correlates better than T2 and ADC with biomechanics, histology and matrix content. *PLoS One*, 13(1), e0191442.

Pfarrmann, C. W., Metzendorf, A., Zanetti, M., Hodler, J., and Boos, N. (2001). Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. *spine*, 26(17), 1873-1878.

Piredda, G. F., Hilbert, T., Thiran, J. P., and Kober, T. (2021). Probing myelin content of the human brain with MRI: A review. *Magnetic resonance in medicine*, 85(2), 627-652.

Poitelon, Y., Kopec, A. M., and Belin, S. (2020). Myelin fat facts: an overview of lipids and fatty acid metabolism. *Cells*, 9, 812.

Pollintine, P., Przybyla, A. S., Dolan, P., and Adams, M. A. (2004). Neural arch load-bearing in old and degenerated spines. *Journal of biomechanics*, 37, 197-204.

Rorden, C., Karnath, H. O., and Bonilha, L. (2007). Improving lesion-symptom mapping. *Journal of cognitive neuroscience*, 19, 1081-1088.

Roughley, P. J., White, R. J., Magny, M. C., Liu, J., Pearce, R. H., and Mort, J. S. (1993). Non-proteoglycan forms of biglycan increase with age in human articular cartilage. *Biochemical Journal*, 295(2), 421-426.

Salzer, J. L. (2015). Schwann cell myelination. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7, a020529.

Sawamura, D., Narita, H., Hashimoto, N., Nakagawa, S., Hamaguchi, H., Fujima, N., Kudo, K., Shirato, H., and Tha, K. K. (2020). Microstructural alterations in bipolar and major depressive disorders: a diffusion

kurtosis imaging study. *Journal of magnetic resonance imaging*, 52(4), 1187-1196.

Schmierer, K., Scaravilli, F., Altmann, D. R., Barker, G. J., and Miller, D. H. (2004). Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Annals of neurology*, 56, 407-415.

Schmierer, K., Tozer, D. J., Scaravilli, F., Altmann, D. R., Barker, G. J., Tofts, P. S., and Miller, D. H. (2007). Quantitative magnetization transfer imaging in postmortem multiple sclerosis brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 26, 41-51.

Scholz, J., Klein, M. C., Behrens, T. E., and Johansen-Berg, H. (2009). Training induces changes in white-matter architecture. *Nature neuroscience*, 12, 1370-1371.

Scott, J. E., Bosworth, T. R., Cribb, A. M., and Taylor, J. R. (1994). The chemical morphology of age-related changes in human intervertebral disc glycosaminoglycans from cervical, thoracic and lumbar nucleus pulposus and annulus fibrosus. *Journal of anatomy*, 184(Pt 1), 73.

Sethi, S., Friesen -Waldner, L. J., Wade, T. P., Courchesne, M., Nygard, K., Sarr, O., Sutherland, B., Regnault, T. R. H., and McKenzie, C. A. (2023). Feasibility of MRI Quantification of Myelin Water Fraction in the Fetal Guinea Pig Brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 57(6), 1856-1864.

Shi, H., Zhu, L., Jiang, Z. L., and Wu, X. T. (2021). Radiological risk factors for recurrent lumbar disc herniation after percutaneous transforaminal endoscopic discectomy: a retrospective matched case-control study. *European Spine Journal*, 30, 886-892.

Shin, J., Kim, M. J., Lee, J., Nam, Y., Kim, M. O., Choi, N., Kim, S., and Kim, D. H. (2015). Initial study on in vivo conductivity mapping of breast cancer using MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 42(2), 371-378.

Sivan, S., Neidlinger-Wilke, C., Würtz, K., Maroudas, A., and Urban, J. P. G. (2006). Diurnal fluid expression and activity of intervertebral disc cells. *Biorheology*, 43(3-4), 283-291.

Stanisz, G. J., Odrobina, E. E., Pun, J., Escaravage, M., Graham, S. J., Bronskill, M. J., and Henkelman, R. M. (2005). T1, T2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3T. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 54, 507-512.

- Stikov, N., Campbell, J. S., Stroh, T., Lavelée, M., Frey, S., Novek, J., Nuara, S., Ho, M. K., Bedell, B. J., and Dougherty, R. F. (2015). In vivo histology of the myelin g-ratio with magnetic resonance imaging. *Neuroimage*, 118, 397-405.
- Tashiro, K., Shiotani, S., Kobayashi, T., Kaga, K., Saito, H., Someya, S., Miyamoto, K., and Hayakawa, H. (2015). Cerebral relaxation times from postmortem MR imaging of adults. *Magnetic Resonance in Medical Sciences*, 14(1), 51-56.
- Teraguchi, M., Yoshimura, N., Hashizume, H., Muraki, S., Yamada, H., Minamide, A., Oka, H., Ishimoto, Y., Nagata, K., Kagotani, R. et al. (2014). Prevalence and distribution of intervertebral disc degeneration over the entire spine in a population-based cohort: the Wakayama Spine Study. *Osteoarthritis and cartilage*, 22(1), 104-110.
- Tha, K. K., Terae, S., Kudo, K., Yamamoto, T., Hamada, S., Ogata, A., Sasaki, H., and Miyasaka, K. (2006). Early detection of subacute sclerosing panencephalitis by high b-value diffusion-weighted imaging: a case report. *Journal of computer assisted tomography*, 30(1), 126-130.
- Tha, K. K., Terae, S., Yabe, I., Miyamoto, T., Soma, H., Zaitzu, Y., Fujima, N., Kudo, K., Sasaki, H., and Shirato, H. (2010). Microstructural white matter abnormalities of multiple system atrophy: in vivo topographic illustration by using diffusion-tensor MR imaging. *Radiology*, 255(2), 563-569.
- Tha, K. K., Katscher, U., Yamaguchi, S., Stehning, C., Terasaka, S., Fujima, N., Kudo, K., Kazumata, K., Yamamoto, T., Van-Cauteren, M. et al. (2018). Noninvasive electrical conductivity measurement by MRI: a test of its validity and the electrical conductivity characteristics of glioma. *European radiology*, 28, 348-355.
- Tha, K. K., Kikuchi, Y., Ishizaka, K., Kamiyama, T., Yoneyama, M., and Katscher, U. (2021). Higher Electrical Conductivity of Liver Parenchyma in Fibrotic Patients: Noninvasive Assessment by Electric Properties Tomography. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI*, 54(5), 1689-1691.
- Thiessen, J. D., Zhang, Y., Zhang, H., Wang, L., Buist, R., Del, Bigio, M. R., Kong, J., Li, XM., and Martin, M. (2013). Quantitative MRI and ultrastructural examination of the cuprizone mouse model of demyelination. *NMR in Biomedicine*. 26, 1562-1581.
- Tomassy, G. S., Berger, D. R., Chen, H. H., Kasthuri, N., Hayworth, K. J., Vercelli, A., Seung, H. S., Lichtman, J. W., and Arlotta, P. (2014).

Distinct profiles of myelin distribution along single axons of pyramidal neurons in the neocortex. *Science*, 344, 319–324.

Travis, A. R., and Does, M. D. (2005). Selective excitation of myelin water using inversion-recovery - based preparations. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 54, 743–747.

Vavasour, I. M., Whittall, K. P., Mackay, A. L., Li, D. K., Vorobeychik, G., and Paty, D. W. (1998). A comparison between magnetization transfer ratios and myelin water percentages in normals and multiple sclerosis patients. *Magnetic resonance in medicine*, 40, 763–768.

Wáng, Y. X. J., Zhang, Q., Li, X., Chen, W., Ahuja, A., and Yuan, J. (2015). T1 ρ magnetic resonance: basic physics principles and applications in knee and intervertebral disc imaging. *Quantitative imaging in medicine and surgery*, 5(6), 858.

Wang, Y. X. J., Zhao, F., Griffith, J. F., Mok, G. S., Leung, J. C., Ahuja, A. T., and Yuan, J. (2013). T1 ρ and T2 relaxation times for lumbar disc degeneration: an in vivo comparative study at 3.0-Tesla MRI. *European radiology*, 23, 228–234.

Wu, N., Liu, H., Chen, J., Zhao, L., Zuo, W., Ming, Y., Liu, S., Liu, J., Su, X., Gao, B., Tang, Z., Qiu, G., Ma, G., Wu, Z. (2013). Comparison of apparent diffusion coefficient and T2 relaxation time variation patterns in assessment of age and disc level related intervertebral disc changes. *PLoS One*, 8(7), e69052.

Yarnykh, V. L. (2012). Fast macromolecular proton fraction mapping from a single off-resonance magnetization transfer measurement. *Magn Reson Med*, 68, 166–78.

Yarnykh, V. L., Bowen, J. D., Samsonov, A., Repovic, P., Mayadev, A., Qian, P., Gangadharan, B., Keogh, B. P., Maravilla, K. R., and Jung Henson, L. K. (2015). Fast whole-brain three-dimensional macromolecular proton fraction mapping in multiple sclerosis. *Radiology*, 274, 210–220.