

國立臺灣大學電機資訊學院生醫電子與資訊學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Biomedical Electronics and Bioinformatics

College of Electrical Engineering and Computer Science

National Taiwan University

Master Thesis

應用化學位移影像於偵測大鼠神經膠質瘤之代謝物變化

The Utility of Chemical Shift Imaging in the Detection of the
Metabolic Changes in a Rat Glioma Model



邱豐茂

Feng-Mao Chiu

指導教授：陳志宏博士

張 程博士

Advisors : Jyh-Horng Chen, Ph.D.

Chen Chang, Ph.D.

中華民國 102 年 1 月

January, 2013

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

應用化學位移影像於偵測大鼠神經膠質瘤之代謝物變化

The Utility of Chemical Shift Imaging in the Detection of the
Metabolic Changes in a Rat Glioma Model

本論文係邱豐茂君 (R99945038) 在國立臺灣大學生醫電子與
資訊學研究所完成之碩士學位論文，於民國 101 年 7 月 10 日承下
列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

陳正宏 (指導教授)

杜永堯

黃國書

洪東源

所 長：

莊曜宇

誌謝

完成一本碩士論文仿如行駛一艘船，在未知的航程及終點上，我花兩年半的時間才勉強將這艘船靠岸，掌舵的我很榮幸在這一路上受到很多人的指引及支持，沒有你們這趟航行是不能完成的。

首先非常感謝我的兩位指導教授，陳志宏教授及張程教授，兩位老師在這兩年半的付出了很多時間栽培我，不論是研究方法或態度的琢磨，或者是磨練人生處事的方法，對於此由衷感謝兩位老師真心的付出。

再來我必須感謝我的阿嬤，今天能夠完成這篇碩士論文，有一半是屬於妳的。我是真的很幸運能當妳二十多年的孫子，過去常常一回到家就是跟妳分享生活上的大小細瑣雜事，而妳總是用七八十年的經驗智慧來回應我，到現在我都反覆品味著，我相信每個人都有最珍貴的寶藏，對我來說就是這段回憶，再次謝謝妳把我養這麼大到考上台大，接下來的路我會努力自己走給妳看的。

我的家人，非常感謝你們，常常回家我就臭著臉，還要你們忍受我的爛脾氣，真是委屈你們了。你們是我最強的後盾，每次回家我就一直嚷嚷著實驗失敗做不出來，你們還是對我有信心一直鼓勵我，感謝你們對我一路走來的支持。

洺軒，我的好兄弟，感謝你帶我入門 MRI 的操作與實驗以及你一路的扶持，筠安學長常提供給我許多研究上的寶貴意見，和你討論讓我的思路更清晰，很幸運能跟你一起做研究，建翔學長多謝你一年多的照顧。還有其他實驗室的謝昭賢博士、胤藏學長、億澤學長、孟錡學長、彥良學長、Chester、俊瑋、威而、乃維、Sherry、小麥、慧芬，兩年半的生活因你們而充滿美好回憶。最後，鈺惠謝謝妳。

未來生活上的挑戰，謹以此誌謝與各位共勉之。

中文摘要

分子影像在未來個人化醫療扮演診斷的重要角色，而核磁共振中之化學位移影像正提供非侵入式的方法，來獲取代謝物在不同組織上之分佈與含量，在大腦疾病上之應用可提供不同代謝物與疾病之間的訊息，對於發病機制及治療成效評估上是舉足輕重的一項工具。

多形性神經膠母細胞瘤(Glioblastoma Multiforme, GBM)在腦癌中為侵襲性高以及成長快速之癌細胞，亦是高度惡性的腦癌，並且也是腦瘤中的最大宗。腫瘤治療計畫與療效評估與其癌細胞的生理特性、機制以及狀態有緊密的關係，化學位移影像提供各種代謝物在大腦中的分布，因而此技術可用以觀察組織生理特性與狀態，進一步得到關鍵的訊息。

本論文目的為建立化學位移影像(CheMical Shift Imaging, CSI)之實驗標準化流程，並且將之應用在多形性神經膠母細胞瘤之動物模型。將 C6 神經膠質瘤植入大鼠鼠腦紋狀體，利用化學位移影像以及活體磁共振頻譜觀察神經膠質瘤與其正常對側組織之代謝物，並且比較其之間生理狀態之差異。從實驗結果可以得知，在 C6 神經膠質瘤可以觀察到正常神經元細胞死亡，腫瘤細胞快速生長、代謝活性增加以及腫瘤中心區域缺氧。

總結本實驗所建立起之 CSI 可以將代謝物分佈影像化，從結果可得知化學位移影像具有定量腫瘤組織代謝物組成之潛力，但惟其冗長掃描時間以及其低空間解析度仍有相當大的改進空間，所以未來將針對上述兩者的問題，在脈衝序列以及後處理的方面上改善化學位移影像技術。

關鍵字：分子影像、化學位移影像、多形性神經膠母細胞瘤、代謝物

ABSTRACT

Molecular imaging shall play an important role in the diagnosis for the personalized medicine in the future. Chemical shift imaging (CSI), one of molecular imaging techniques, provides us an opportunity to non-invasively assess the distribution and concentration of the metabolites of interest in different living tissues. In the case of brain diseases, CSI provides insight into the relationship between disease progress and metabolic changes. Therefore, CSI is an invaluable tool to reveal the mechanisms underlying the brain diseases and helpful in conducting the treatment plan.

Glioblastoma multiforme is an aggressive and fast-growing tumor cell in brain cancers, so it is a highly malignant brain cancer. And it is the major of all brain cancer population. The treatment planning and the therapeutic evaluation have close relationship with the physiological characteristics, mechanism, and state of tumor cell. CSI provides the distributions of variable metabolites in the brain, and it can be used to observe physiological characteristics and state of the tissue to get key information.

The aim of this thesis is to establish the experimental standard procedure of the CSI. We've applied it to the rat model of glioblastoma multiforme. After the implantation of C6 glioma cells into the rat striatum, the metabolic changes and physiological status in the growing tumor and the contralateral normal tissue were observed by CSI. Our results showed neuronal loss in the tumor-implanted striatum with rapid growth and increased metabolic activity in C6 tumor, and hypoxia in the core of tumor.

Conclusively, our results demonstrate that CSI can be applied to detect the distribution of metabolites. From the results, it shows the potential of the quantification for the composition of tumor tissues. But there are still great room for improvements of the prolonged scan time and the low spatial resolution. For the above two problems, we'll improve CSI technique on the pulse sequence and post-processing in the future.

Keywords: molecular imaging, chemical shift imaging, glioblastoma multiforme, metabolites



CONTENTS

口試委員會審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
ABSTRACT	iv
CONTENTS	vi
LIST OF FIGURES	ix
LIST OF TABLES	xi
LIST OF ABBREVIATION	xii
Chapter 1 緒論	1
1.1 研究動機	2
1.2 研究目的	3
1.3 論文架構	4
Chapter 2 背景與文獻回顧	5
2.1 原理	5
2.1.1 磁共振影像	7
2.1.2 磁共振頻譜	11
2.1.3 化學位移影像	19
2.2 疾病模型	22
2.2.1 C6 神經膠質瘤動物模型	23
Chapter 3 方法與材料	24
3.1 硬體設備	24

3.2	假體實驗	25
3.2.1	磁共振頻譜實驗	26
3.2.2	化學位移影像實驗	28
3.3	C6 神經膠質瘤模型之準備	29
3.4	活體大鼠實驗	30
3.5	資料分析方法	32
3.5.1	後處理流程	32
3.5.2	分析方法	33
Chapter 4	實驗結果	34
4.1	結果概述	34
4.1.1	假體實驗結果	35
4.1.2	活體大鼠實驗結果	39
Chapter 5	討論與未來展望	46
5.1	實驗結果討論	46
5.1.1	勻場對頻譜之影響	46
5.1.2	表現線圈空間分布靈敏度對訊號之影響	47
5.1.3	代謝物影像之結果探討	48
5.1.4	頻譜之定量方法討論	50
5.1.5	CSI 之參數與掃描時間關係探討	51
5.2	結論	53
5.3	未來展望與技術發展	54
5.3.1	未來展望	54

5.3.2 加速 CSI 之技術發展探討與規劃.....	54
附錄	60
REFERENCES	75



LIST OF FIGURES

圖 2-1 外加磁場下所產生之能階分裂圖.....	5
圖 2-2T2 衰減之相位是意圖.....	6
圖 2-3T1 與 T2 訊號曲線.....	6
圖 2-4 自旋迴音之脈衝序列.....	7
圖 2-5 頻率位置對應圖.....	8
圖 2-6 自旋迴音影像之脈衝序.....	9
圖 2-7 自旋迴音影像之 K space 填法.....	9
圖 2-8 快速聚焦回音取像之脈衝序列圖.....	10
圖 2-9 正常大鼠自旋迴音影像.....	10
圖 2-10 CHESS 波序圖與其原理.....	13
圖 2-11 VAPOR 波序圖.....	14
圖 2-12 PRESS 波序圖.....	16
圖 2-13 活體大鼠鼠腦之頻譜.....	17
圖 2-14Spin-echo CSI 之波序圖.....	20
圖 2-15Spin-echo CSI 之 K space 填法.....	21
圖 2-16 神經膠母細胞瘤之 MRI 影像.....	22
圖 3-1 假體結構及代謝物樣品分布.....	25
圖 3-2 MRS 實驗流程.....	26
圖 3-3 以立體定位儀注射 C6 癌細胞至大鼠紋狀體.....	29
圖 4-1 假體代謝物樣品 VOI.....	35
圖 4-2 假體代謝物樣品 PRESS 結果.....	35

圖 4-3 代謝物假體結構影像.....	36
圖 4-4 代謝物 CSI 頻譜結果.....	36
圖 4-5 代謝物 CSI 影像結果.....	38
圖 4-6 神經膠質瘤模型鼠腦 PRESS 頻譜結果.....	39
圖 4-7 正常鼠腦 CSI 頻譜矩陣.....	40
圖 4-8 正常鼠腦 CSI 頻譜結果.....	41
圖 4-9 正常鼠腦 CSI 代謝物影像.....	41
圖 4-10 神經膠質瘤模型鼠腦 PRESS 頻譜結果.....	42
圖 4-11 神經膠質瘤模型鼠腦 CSI 頻譜矩陣.....	43
圖 4-12 神經膠質瘤模型鼠腦 CSI 頻譜結果.....	43
圖 4-13 神經膠質瘤模型鼠腦 CSI 代謝物影像.....	44
圖 5-1 勻場不佳之 FID.....	46
圖 5-2 勻場較佳之 FID.....	46
圖 5-3 LC Model 之分析介面.....	51
圖 5-4 加入 VAPOR 之 MGE 脈衝序列.....	56
圖 5-5 MGE 之 K space 填法.....	57

LIST OF TABLES

表 4-1 假體代謝物樣品 PRESS 結果之訊噪比及水寬.....	36
表 4-2 假體代謝物樣品 CSI 結果之訊噪比.....	38
表 4-3 正常大鼠鼠腦 PRESS 頻譜之訊噪比、X/Cr.....	40
表 4-4 正常大鼠鼠腦左右紋狀體 CSI 頻譜之訊噪比、X/Cr.....	41
表 4-5 神經膠質瘤模型鼠腦左右紋狀體 PRESS 頻譜之定量分析.....	42
表 4-6 神經膠質瘤模型鼠腦左右紋狀體 CSI 頻譜之訊噪比、X/Cr.....	45



LIST OF ABBREVIATION

Adenosine DiPhosphate , ADP

Adenosine TriPhosphate , ATP

Blood Brain Barrier , BBB

Chemical Shift Imaging , CSI

CHEmical Shift Selective water suppression , CHESS

Epidermal Growth Factor Receptor , EGFR

Fast Automatic Shimming Tech by MAP , FASTMAP

Frequency Encoding , FE

Full Width at Half Maximum , FWHM

GlioBlastoma Multiforme , GBM

Magnetic Resonance Image , MRI

Main magnetic field , B_0

Multi gradient echo, MGE

Multi-Voxel Magnetic Resonance Spectroscopy , MV-MRS

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy , NMRS

Outer Volume Suppression , OVS

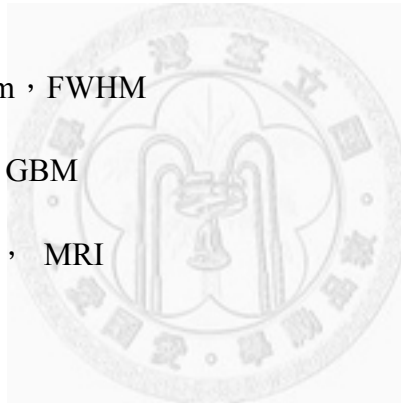
Phase Encoding , PE

PhosphoCholine , PCho

PhosphoCreatine , PCr

Point RESolved Spectroscopy , PRESS

Positron Emission Tomography , PET



Radiofrequency pulse , RF pulse , B1

Rapid Acquisition with Refocused Echoes , RARE

Signal to Noise Ratio , SNR

Single-Voxel Magnetic Resonance Spectroscopy , SV-MRS , MRS

TetraMethylSilane , TMS

VARIABLE pulse Power and Optimized Relaxation delays , VAPOR

Voxel Of Interest , VOI



Chapter 1 緒論

現今醫療技術的發展一日千里，在如此進步的技術下，也使醫學走向個人化醫療的方向，個人化醫療需要具有特異性診斷，也就是達到專一性辨別的能力，分子影像提供針對具有特定性質之分子、代謝物、組織等取像以及定性、定量之能力，因此在個人化醫療扮演了重要的角色。

分子影像所常用的掃描機器(Modality)有核磁共振影像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)、光學影像(Optic imaging)、正子斷層造影(Positron Emission Tomography, PET)等。其中，MRI 是最為安全且空間解析度最好的非侵入式影像技術。

MRI 除了提供高解析度解剖影像，更可以提供具有生理性訊息的影像資訊，例如擴散權重影像(Diffusion weighted imaging)、化學位移影像(Chemical Shift Imaging, CSI)，其中化學位移影像提供具有空間分佈性的頻譜訊息，可取得不同分佈位置之頻譜，提供代謝物在不同組織位置之訊息。

國內每年有超過將近一千人死於腦癌，其中將近五成死於神經膠母細胞瘤(Glioblastoma)，而神經膠母細胞瘤又是腦癌中高度惡性的腫瘤[1]，是目前腦癌之中癒後最不樂觀的一種，其復發後的存活率更甚為低，所以治療計劃本身是非常重要的。其治療計畫主要參考腫瘤生長位置、生理特性與狀態以及腫瘤細胞的代謝狀況來制訂。

而現今腫瘤的位置與型態主要以電腦斷層輔以對比劑來確認，但是電腦斷層本身提供的影像是以電子密度為主，對比劑的顯影方式也是透過提高電子密度來產生對比[2]，影像的訊息基本上是沒有包含生理性的訊息存在，組織的特性目前

還是透過活體組織切片檢查(Biopsy)以侵入式的方法來檢查，但對大腦做活體組織切片檢查是非常高風險的一項手術，開腦本身已有很高的風險，而繞過正常組織及血管獲取腫瘤組織更提高整體的風險，所以實際臨床上在最初的治療計畫是鮮少併入生理與組織特性的訊息。

正子斷層掃描雖提供直接的代謝訊息，但其是以代謝率為主要訊息，此外正子斷層掃描每次掃描皆需要注射對比劑產生訊號，惟其對比劑本身具有高輻射劑量，且掃描時間冗長及低空間解析度[3]，以及對比劑製程繁雜及價錢昂貴。

1.1 研究動機

代謝物在大腦不同神經化學解剖構造的分佈，是診斷諸多大腦疾病的重要訊息，CSI 在此所扮演的角色，就是同時取得大腦不同區域位置各代謝物之化學位移的訊息，藉以推得各代謝物的分布與大小的訊息，接著進一步對代謝物做定性定量之分析。

諸多大腦疾病中，多形性神經膠母細胞瘤(Glioblastoma Multiforme, GBM)在腦癌中為侵襲性高以及成長快速之癌細胞，也因此是高度惡性的腦癌。GBM 的治療計畫與療效評估與其癌細胞的生理特性、機制以及狀態有緊密的關係。

CSI 以非侵入式的方法提供不同代謝物濃度高低之訊息，此訊息可用以反應組織本身之生理特性與狀態，可以改善依以往臨床上缺乏代謝物組成與分布的關鍵訊息，更可以使早期的治療計畫更為精確及有效，使患者的癒後改善和提高其術後存活率。因此，本研究為建立 CSI 方法並用以觀察及比較 GBM 疾病模型在大鼠腦上正常側與腫瘤側生理特性與代謝物分佈之差異。

1.2 研究目的

本論文之研究目的為建立化學位移影像之實驗標準化流程，藉以建立一個穩定及重複性高的實驗流程與分析方法，並且利用建立起來的化學位移影像技術來觀察及比較 GBM 疾病模型所造成的代謝物變化。

首先以假體實驗驗證其磁共振頻譜以其化學位移影像之結果，接著掃描正常活體大鼠確定代謝物之分布，再以 C6 神經膠質瘤(C6 glioma)作為實驗之 GBM 疾病模型，將 C6 腫瘤細胞注入大鼠腦內之紋狀體(Striatum)，觀察代謝物在大腦正常側與腫瘤側之分佈差異以及偵測腫瘤生理特性與狀態比較正常對側腦區之變化，包括觀測腫瘤造成正常神經元死亡以及腫瘤核心區域血液供應不足產生無氧代謝物的狀態。



1.3 論文架構

本論文一共分為五個章節。

第一章為緒論，包含分子影像和腦癌的簡介以及現在臨床的趨勢，然後從中指出 CSI 能提供的優勢，以此為研究動機，並且闡明本論文之目的。

第二章為背景與文獻回顧，主要以 MRI 的基本原理，並分別介紹磁共振影像、磁共振頻譜以及化學位移影像之成像原理，接著是人類的神經膠質瘤的簡介，以及其在大鼠上對應的疾病模型介紹。

第三章為方法與材料，首先會介紹使用的 MRI 硬體設備，然後是假體實驗之流程、參數與內容，以及 C6 神經膠質瘤模型之準備，再來是活體大鼠的實驗之流程、參數與內容，最後是資料分析的方法。

第四章為實驗結果，其中包含假體、正常大鼠及疾病模型之影像及頻譜的結果。

第五章為結果討論與未來展望，討論將針對實驗的硬體效能、掃描參數、假體結果、疾病模型結果、掃描參數之極限做討論，最後對此研究做結論，並以討論之結果探討未來改進方法與發展方向。

Chapter 2 背景與文獻回顧

2.1 原理

人體組成大約有百分之七十為水，水分子本身帶有兩個質子，而且此質子可在 MRI 之儀器產生訊號，因此在臨床上及研究上常以質子為共振核種，在本論文研究實驗中即以質子為核種。當質子進入 MRI 中的高磁場環境(1T=10000Gauss，0.5Gauss 為地球磁場，研究用動物磁共振儀器從 4.7~11T 都有)中，其物理特性如同一根小磁鐵棒，其排列方向會順著外加的高磁場方向，並且每個質子會以特定頻率做旋進(Precession)之動作，也因此又將此質子稱為自旋(Spin)，根據拉莫方程式(Larmor equation)

$$\bar{\omega} = \gamma \bar{B} \quad (2.1)$$

$\bar{\omega}$ 為旋進頻率， γ 為拉莫常數， \bar{B} 為外加磁場，旋進頻率與外加磁場成正比關係。根據 Zeeman Effect，在一個外加磁場下，又稱為主磁場(Main magnetic field, B_0)，spin 會產生能階分裂，磁場越高則能階差越大(圖 2-1)，而高低能階兩群組之個數差也會隨之變大，因此在接收激發能量後所能產生的訊號群也因此提高，這也是目前研究用 MRI 會傾向用高磁場的規格之原因。

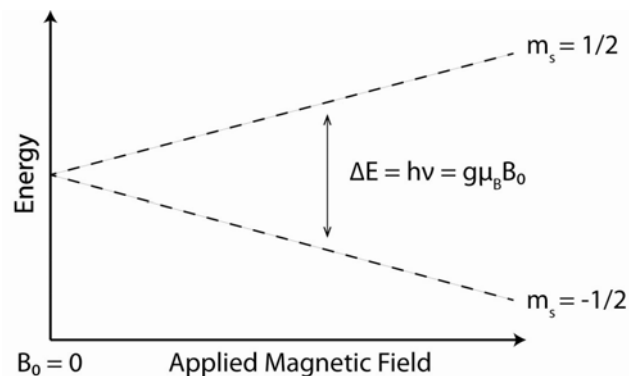


圖 2-1 外加磁場下所產生之能階分裂圖[4]

MRI 之訊號來源主要由一群 spin 所產生之淨磁向量合(Net magnetization)貢獻，而我們可以用古典物理的模型來解釋訊號在激發前後的變化。九十度脈衝會將順著主磁場的淨磁向量倒向與主磁場垂直之平面，此時由於 Spin-spin relaxation 使得 spin 間的失相(Dephase)，淨磁向量合降低而訊號降低，此訊號降低稱 T2 衰減(T2 decay)。T2 衰減公式為

$$S(t) = M e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (2.2)$$

S 為隨 t 時間而衰減的訊號，M 為原始訊號大小，訊號衰減為自然對數指數衰減。

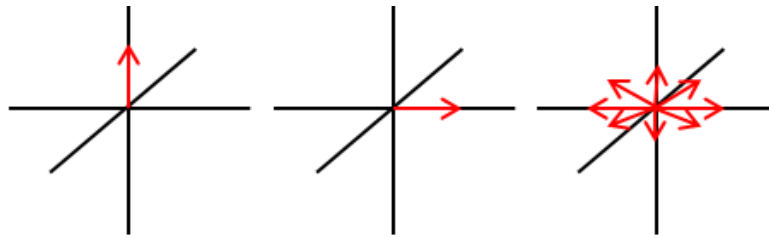


圖 2-2 由左至右依序為激發前、九十度脈衝激發後、經一段時間後之失相而隨著時間淨磁向量在與主磁場平行之分量則會隨時間回復原來大小，稱為 T1 回復(T1 recovery)，T1 回復公式為

$$S(t) = M(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad (2.3)$$

S 為隨 t 時間而回復的訊號，M 為原始訊號大小，訊號回復為自然對數指數衰減。

兩者的時間變化曲線皆為自然對數之衰減與回復曲線(圖 2-3)。

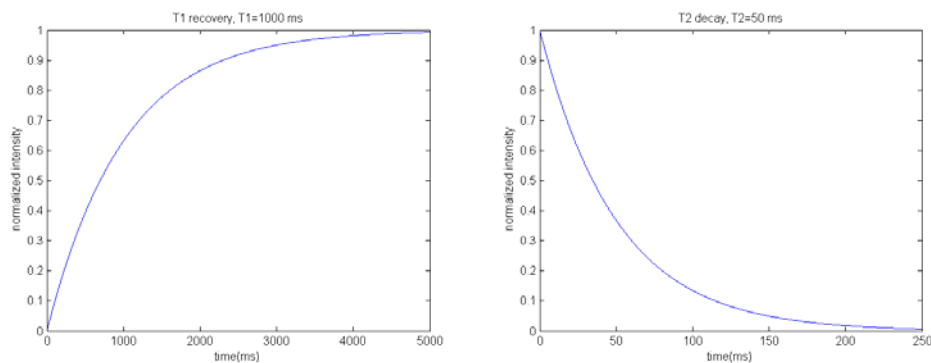


圖 2-3 左為 T1 回復曲線(T1=1000 ms)，右為 T2 衰減曲線(T2=50 ms)

收取訊號時主要有兩個時間參數，重複時間(Repetition time, TR)、迴音時間(Echo time, TE)，TR 為發射激發脈衝後與下一次發射脈衝的時間間隔，TE 為發射激發脈衝後與開始收取訊號的時間間隔，激發後所收取之訊號為自由誘發衰減(Free induction decay, FID)，若有一百八十度脈衝參與其中扮演聚焦之角色，則收取之訊號為回音(Echo)，此方法則為自旋回音(Spin echo)(圖 2-4)。

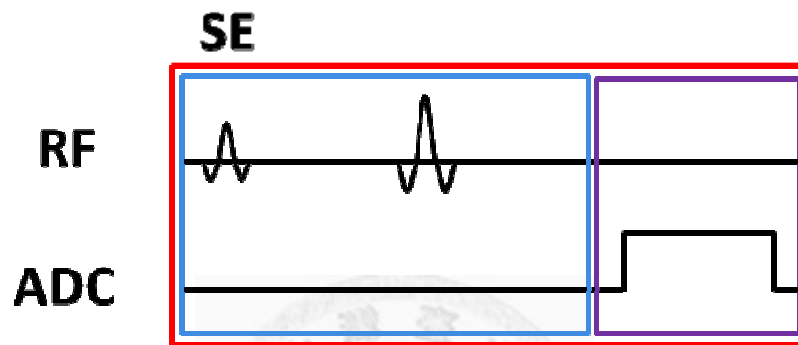


圖 2-4 自旋回音，紅框為重複時間，藍框為脈衝，紫框中心為迴音時間

2.1.1 磁共振影像

MRI 之成像原理可分為激發(Excitation)、共振(Resonance)、空間編碼(Spatial encoding)、取像(Acquisition)、訊號後處理(Post-processing)五步驟。其中，我們假設 MRI 的主磁場之空間分布均勻，射頻脈衝之磁場均勻，梯度磁場具有良好之線性度。

以自旋回音為例激發之目的為將特定頻率之 spin 使其產生共振吸收所激發之能量。根據布拉格方程式(Bloch equation)利用射頻脈衝(Radiofrequency pulse, RF pulse, B1)以 spin 旋進頻率之電磁波激發，使得 spin 可以有效地吸收所激發電磁波之磁場能量，而此一現象稱之為共振(Resonance)，此特性可用以激發特定之截面位置，降低來自其他區域產生訊號干擾。

實際上作法為外加一個線性的梯度磁場，使空間中磁場產生一個連續線性之磁場分布，此線性分布會使空間中的 spin 具有不同之頻率，故可用特定中心頻率及頻寬之射頻脈衝來激發所感興趣的截面(圖 2-5)，而單體素磁振頻譜(Single-voxel MR spectroscopy, SV-MRS, 以下以 MRS 簡稱之) 即利用此方法來激發感興趣之體素(Voxel Of Interest, VOI)。

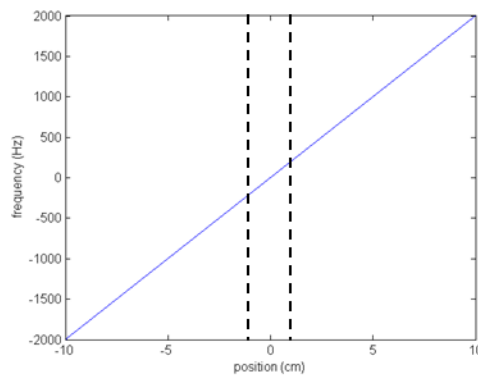


圖 2-5 頻率位置對應圖，黑色虛線頻寬 400 赫茲，對應厚度為 2 公分

其中激發脈衝包含九十度激發脈衝以及一百八十度聚焦脈衝。在九十度脈衝激發後，spin 之相位會隨時間散開，使磁向量分散而訊號降低，一百八十度脈衝則將散開的相位再次聚焦使訊號回升，此脈衝編排為自旋迴音(Spin echo)。

空間編碼顧名思義是將空間中的訊息分佈編碼，使之在收取訊號後可以分析訊號在空間中的分佈，經由空間編碼所收到的訊號維影像在頻率域(Frequency domain)的訊號，此值域又稱為 K 空間(K space)。空間編碼分為相位編碼(Phase Encoding, PE)與頻率編碼(Frequency Encoding, FE)，兩者原理都是利用外加梯度磁場在一定時間內所累積的相位在 K space 中做編碼，差異在於 PE 是在收訊前預先累積相位，FE 則是一邊收取訊號一邊累積相位。兩者在 K space 上主要是影響填寫訊號的位置，所以填 K space 的軌跡(Trajectory)可以經由編碼梯度的開啟與關

閉來設計。FE 由於是同時編碼及收訊，所以為了使訊號中心在 K space 中心，必須先開啟一個聚焦梯度(Refocusing gradient)預先累積相位，使其收訊時能使相位聚焦在 K space 中央，但其效果不同於聚焦脈衝，聚焦脈衝會將所有造成相位累積的效應都聚焦，聚焦梯度只聚焦外加梯度所造成的相位。收取訊號之 TE 設定在 spin 相位聚焦之位置，ADC 開啟收訊之時間中心點為 TE(圖 2-6)。實際上空間編碼梯度磁場開啟時會影響訊號填進 K space 的位置(圖 2-7)，故空間編碼又可視為填 K space 空間軌跡的一種設計，脈衝序列根據不同目的以及填 K space 的方法會有不同的設計，進而產生不同的收訊效率與訊號特性。

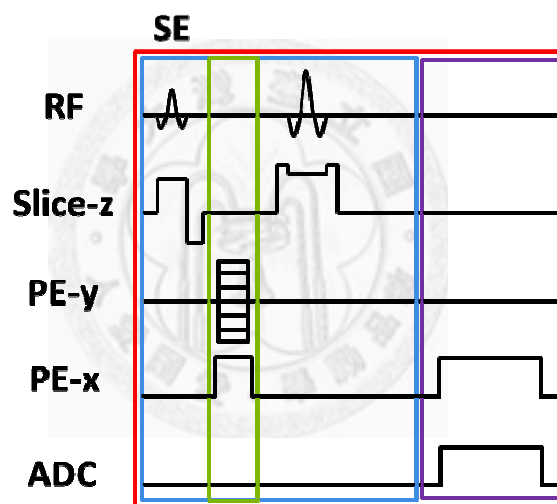


圖 2-6 自旋迴音影像之脈衝序

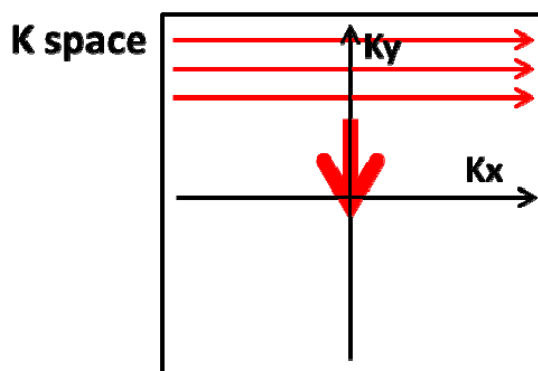


圖 2-7 自旋迴音影像之 K space 填法

實際上自旋回音影像常會使用一連串的一百八十度脈衝來回聚焦訊號(圖 2-8)，提高收訊的效率，此掃描序列又稱快速聚焦回音取像(Rapid Acquisition with Refocused Echoes, RARE)，其使用的聚焦面衝列的長度為加速的倍數，此加速因子又稱 RARE factor。

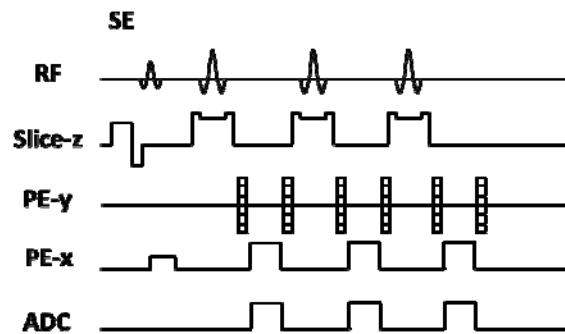


圖 2-8 快速聚焦回音取像之脈衝序列圖，RARE factor 為 3

在取像完後，所取得訊號為頻率域，故在後處理需要將此訊號做傅立葉轉換 (Fourier Transform, FT)，將 K space 轉換成空間域之影像，到此，MRI 即可提供簡單的二維影像。



圖 2-9 正常大鼠自旋迴音影像(TR/TE=4000/70ms, NEX=4)

掃描時間公式為

$$T = TR \times Nx \times Ny \times Nz \times NEX \quad (2.4)$$

Nx 、 Ny 、 Nz 為在 x 、 y 、 z 上之 PE steps， NEX 為激發次數(Number of excitation)。

2.1.2 磁共振頻譜

傳統核磁共振頻譜(Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMRS)雖提供高頻譜解析度及高訊號之頻譜，但此項檢查為侵入式破壞性檢查，而磁共振頻譜(Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS)提供非侵入式且可定位之能力，雖然頻譜解析度與訊號較 NMRS 低，依然在臨床研究上具重要地位，因為 MRS 提供我們一個非侵入式採取方代謝物組成及含量的方法，得以長期觀測活體代謝物的變化，藉此評估生理變化、病理進程及治療效果。

化學位移(Chemical shift)是指 spin 受到分子鍵結的電子雲影響，使旋進頻率有所改變。旋進頻率與 spin 所感受到的磁場成正比，而分子鍵結的電子雲，會對 spin 所感受到的外加磁場產生改變，進而使旋進頻率改變，而電子雲通常會遮蔽或增加部分外加磁場，此一效應為遮蔽效應(Shielding effect)，由於此頻率偏移來源，是從 spin 所鍵結分子上的化學結構而影響，故稱為化學位移，而一般分子結構通常是穩定的，故電子雲的遮蔽效應也會固定，所以在不同外加磁場的情況下，各分子之化學位移的相對位置都會一樣。

MRS 從訊號本身是否具有空間解析度上可分為單體素磁共振頻譜及多體素磁共振頻譜(Multi-Voxel MRS, MV-MRS)，其中 MV-MRS 亦即所謂的 CSI。

在進行 MRS 實驗前，勻場(Shimming)的工作是必須且重要的，由於代謝物的訊號將近水的一萬分之一倍，所以實驗環境對於訊號的影響會更為明顯且劇烈，而局部磁場不均勻(Local field inhomogeneity)會使得欲觀察 VOI 內的 spin 感受到不同大小的磁場，進而讓在同一個 VOI 內的 spin 各自累積不同的相位而造成 dephase，使訊號衰減速度比原本的 T2 衰減更快，考慮進場不均勻的衰減稱為 T2*衰減(T2* decay)。為了降低 T2*衰減造成的訊號散失，必須外加一個穩定的磁場，藉以補償

原本不均勻的磁場，使 VOI 內的每一個 spin 都感受到相同的磁場大小。而此勻場效果亦會影響訊號在頻譜上峰形(peak)的半高全寬(Full Width at Half Maximum, FWHM)，勻場效果越好，peak 的半高全寬就會越窄，T2*衰減速度越慢，半高全寬與 T2*的關係式為

$$\text{FWHM} = \frac{1}{T2^*} \quad (2.5)$$

當勻場效果使得磁場均勻度接近理想狀態時，T2*會趨近於 T2，訊號衰減將不受場不均勻影響。

MRS 之取像原理與 MRI 相似，分為準備、激發、收訊、後處理，MRS 有許多脈衝序列，本論文採用單點解析頻譜(Point RESolved Spectroscopy, PRESS)。其中，我們假設 MRI 的主磁場之空間分布均勻，射頻脈衝之磁場均勻，梯度磁場具有良好之線性度。

在準備的步驟中包含抑制水訊號以及抑制 VOI 以外之訊號，由於 MRS 在活體中主要訊號以欲觀察之代謝物為主，一般大腦代謝物之濃度為 1~20mM，訊號大小與水大約差一萬倍，因此水訊號常造成基線(baseline distortion)扭曲，而激發脈衝波形在實際上輸出是無法達到理想的方波，在空間選擇激發時，頻帶選擇的邊界會發生脈衝滲漏(RF leakage)，使在選擇的空間範圍外也會產生訊號，以一百八十度脈衝作為聚焦時此現象會使角度激發不準，進而聚焦失敗，讓訊號本身夾帶其他複雜的訊息，故在準備步驟中需要將水訊號以及脈衝滲漏產生之訊號抑制。抑制 VOI 以外之訊號則是利用體積外抑制(Outer Volume Suppression, OVS)，抑制水訊號之方法有化學位移選擇性水抑制(CHEMical Shift Selective water suppression, CHESS) 以及從 CHESS 改進的多變脈衝能量最佳化猶豫延遲(VARiable pulse Power and Optimized Relaxation delays, VAPOR)。

OVS 是開啟低度磁場激發特定中心頻率及頻寬，亦即激發欲抑制訊號的位置，接著開啟梯度磁場使其磁向量 dephase，進一步使被抑制的地方在激發時無法產生訊號，一般 OVS 會用六個截面去圍立方體形的 VOI，目前的一般常用之 OVS 所需要花費的時間大約為 50 ms。

CHES 是利用水在頻譜上所佔有的中心頻率及頻寬，針對特定頻帶以九十度脈衝激發，接著開啟梯度磁場使其磁向量 dephase，使水在被激發時無法產生訊號，如此一來即可抑制水訊號之產生又可以使其他代謝物仍然能產生訊號，一般 CHES 為重複上述流程三次來達成有效的抑制水訊號，亦即使用三組脈衝(圖 2-10)，目前常用的 CHES 之頻寬為 150 Hz，所需時間大約為 35 ms。

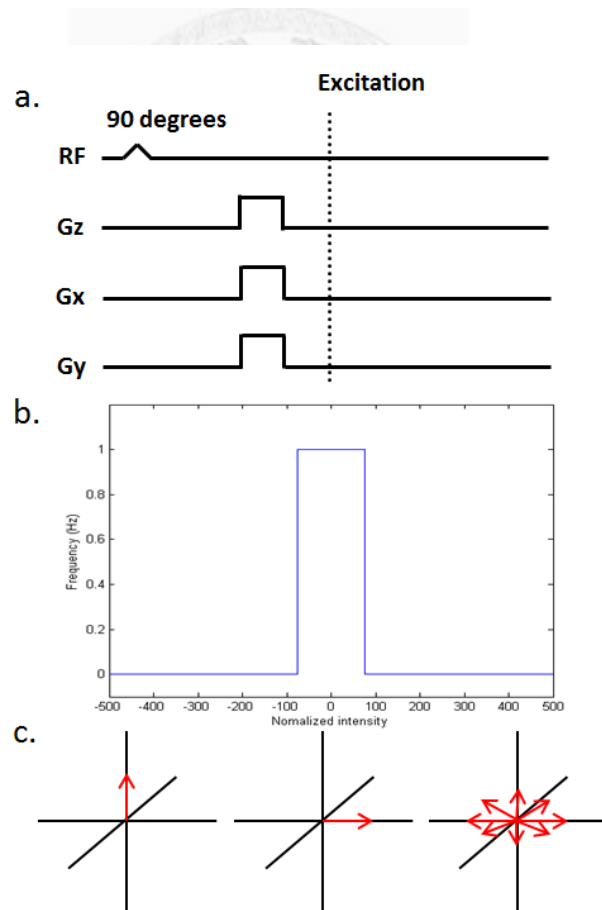


圖 2-10 CHES 波序圖與其原理，a 為 CHES 波序圖，b.是理想的頻帶選擇，頻寬 150Hz，c.由左至右為激發前、脈衝激發後及以梯度磁場使水訊號 dephase

CHES 的一般做法為重複三次循環，而每次 CHES 抑制後的水，由於 T1 回復使得遲豫性 (Relaxivity) 會改變，進而使訊號抑制不完全，而由於水與代謝物的訊號相差一萬倍，抑制稍有不完全很容易造成殘餘水訊號，使代謝物訊號被水訊號所覆蓋，故 VAPOR 將 CHES 再加入不同能量之脈衝，利用其 T1 回復的特性增加其抑制效率。

在過去發展 VAPOR 的文獻中[5]，從圖 2-10 可以看出在不同的脈衝大小下，最後均達到非常好的水訊號抑制，故 CHES 與 VAPOR 兩者之抑制效率及均勻度以 VAPOR 較佳，但是所需之時間(影響到最小 TR 長度)較 CHES 長兩到三年以上。在本實驗中加入一百八十度脈衝，將淨磁向量翻轉到與主磁場之反方向，利用其在 T1 recovery 過程中，回復到該方向之向量為零的時間點做激發，而不同於 CHES，VAPOR 交叉使用四組九十度脈衝級三組一百八十度脈衝，並且以一百八十度脈衝為最後一組。

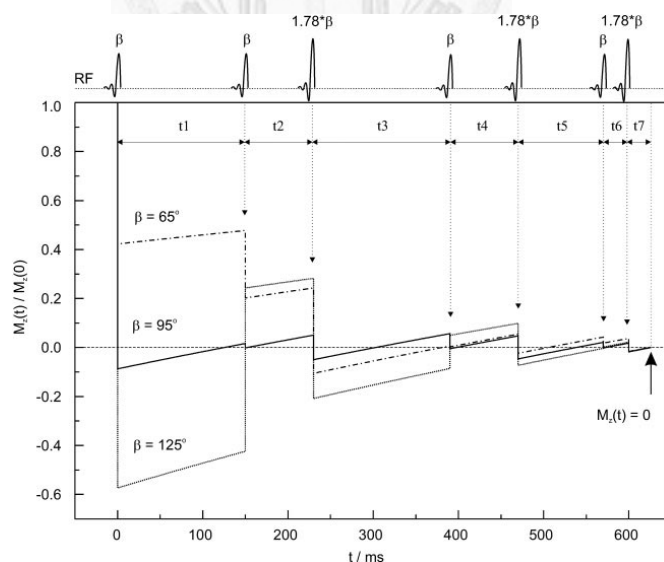


圖 2-11 VAPOR 波序圖，利用不同能量大小之脈衝與與遲豫時間延遲，降低水抑制對於激發場不均勻性的敏感度，圖中共使用七組脈衝，每一個脈衝之後均有開

啟梯度磁場以 dephase 水訊號[5]

在 VAOPR 的參數中，最後一組一百八十度脈衝距離激發脈衝的延遲時間(time delay)是影響抑制效率的一個關鍵參數，由於 VAPOR 是利用 T1 反轉回復來提升抑制效率，所以最後一個 time delay 的設定與預估之欲抑制水訊號的 T1 大小有關，故此參數在使用 VAPOR 前必需校正至最佳化。

目前 VAPOR 常用之脈衝頻寬為 150 Hz，所需時間大約為 650 ms，由此可以發現 VAPOR 比 CHESS 所需的時間長約 18 倍，更甚耗時，因此在縮短 TR 時會受到其時間所限制，但是實際上代謝物的訊號都很小，會藉由拉長 TR 來達到足夠的 T1 回復，在 4.7T 的主磁場下會大約將 TR 拉長至 2500 ms，所以目前常用的水抑制因為 TR 的拉長而有足夠的空餘時間，還是會採用 VAPOR 來達到最佳的抑制效果。

PRESS 為針對特定 voxel 之區域激發以收取頻譜的訊號，所以在激發時利用 voxel selection 的方法進行空間選擇，因此不需要額外的空間編碼。PRESS 激發時採用三個連續之脈衝(九十度-一百八十度-一百八十度)，激發的同時會開啟梯度磁場做為截面選擇，利用三個互相垂直之截面(圖 2-11)，只有截面間中央交集的 voxel 最後會被聚焦，其餘沒有被聚焦的區域，會因為開啟梯度磁場的關係而 dephase，因此而不產生訊號。

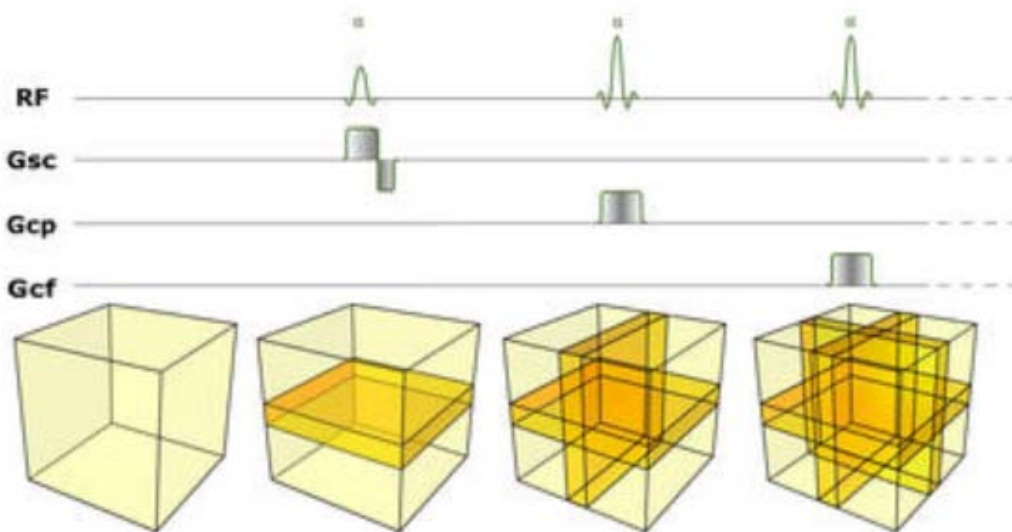


圖 2-12 PRESS 波序圖，利用脈衝與梯度磁場產生之頻率選擇切面，以三個切面共同交集選擇欲觀察之 voxel[6]

在收訊過程中，經激發特定 voxel 後，會在 spin 聚焦時收取訊號，此時將不會開啟任何梯度磁場，藉以收取化學位移在頻譜的資訊，收取完訊號必須將收取之 FID 作後處理，將 FID 做離散時間傅立葉轉換(Discrete-time Fourier transform)為頻譜，此時的頻譜由於梯度磁場開關不完美所造成的渦電流(Eddy current)，會使訊號累積額外的相位讓頻譜扭曲，故須針對此做相位校正(Phase correction)，此外頻譜亦會受到殘存水訊號的因素，故需要針對此做基線校正(Baseline correction)，將水訊號造成的增益降低。

在本論文中欲透過頻譜觀察之代謝物包含 NAA、Cr、Cho、Lac、Gly(圖 2-13)。

而一般在化學位移的頻譜上，坐標軸會以百萬分之一(ppm)為橫軸，藉以表示化學位移的相對位置。其坐標軸 ppm 的計算方法為

$$\delta = \frac{\omega' - \omega_{TMS}}{\omega_0} \quad (2.6)$$

δ 是化學位移， ω' 是 spin 本身的旋進頻率， ω_{TMS} 是標準化分子四甲基矽烷 (TetraMethylSilane, TMS) 的旋進頻率， ω_0 是主磁場的共振頻率。TMS 是目前 NMR 通用的共振頻率校正標準樣品，其中校正的核種包含 1H 、 ^{13}C 、 ^{29}Si ，而 TMS 在三個核種的頻譜上，均呈現單一的 peak，TMS 上的 1H 均不會互相干擾，並且可以忽略鍵結上電子雲的遮蔽效應，因此 TMS 的化學位移會被當作零點，而純水的化學位移是位於 4.7 ppm，本文的代謝物化學位移，均以 TMS 為 0 ppm，並將水設定在 4.7 ppm。

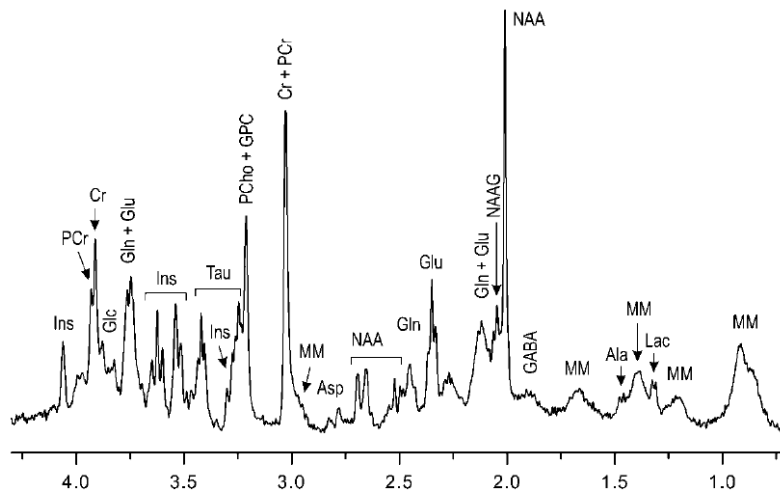


圖 2-13 活體大鼠鼠腦之頻譜[5]

本論文所觀察之五種代謝物分別代表不同的生理意義，NAA 在頻譜上位置為 2.02ppm，由粒線體(Mitochondria)製造並被運輸至神經元之細胞質(Neuronal cytoplasm)內，為代表神經元密度(Neuronal density)及神經元存活率(Neuronal viability)；Cr 在 MRS 頻譜 3.05ppm 位置的訊號包含肌酐酸以及磷酸肌酐酸(PhosphoCreatine, PCr)，PCr 轉換成 Cr 時會將磷酸根提供給雙磷酸腺苷(Adenosine DiPhosphate, ADP)轉換為三磷酸腺苷(Adenosine TriPhosphate, ATP)，故被認為是能量代謝的指標；Cho 在頻譜上位置為 3.22ppm，Cho 的訊號來源主要為 Cho 及磷酸膽鹼(PhosphoCholine, PCho)，亦即細胞膜之前驅物，故為細胞膜之密度與完整度的指標；Lac 在頻譜上位置為 1.33 ppm，當細胞進行無氧呼吸時便會產生 Lac，因此 Lac 被認為是有氧或無氧呼吸的指標，而 Lac 有 J-modulation 影響其訊號，為觀察到 Lac 所以在 TE 選擇上會選擇 J-modulation(7 Hz in Lac)產生 echo 之時間點 136 ms；Gly 在頻譜上位置為 3.5ppm，是一種抑制性神經傳導物質(inhibitory neurotransmitter)，在 C6 腫瘤後期會出現，但在腫瘤生長機制所扮演的角色未明。

[5][7][8]

2.1.3 化學位移影像

在本實驗中之 CSI 為三維 CSI(3D CSI)，包含兩個空間維度以及一個頻譜維度，亦即指激發單一截面，並在兩維空間維度上以相位編碼將空間訊息紀錄，在訊號收取時則如同 MRS 不開起梯度磁場，避免空間訊息疊加，以收取頻譜維度之訊號。

勻場在 CSI 所扮演的角色比 MRS 更為重要，影響除了訊號的衰減外，由於 CSI 所取景的範圍比 MRS 大很多倍，也因此的空間解析時，場不均勻所造成梯度磁場非線性會使頻譜的訊息有重疊(Overlap)的問題，重疊問題會使鄰近位置的頻譜互相干擾，使得代謝物訊號在空間上的解析度降低，而非線性問題也會使 OVS 的空間定位準確度降低，此外場不均勻亦會使 VAPOR 在抑制水時頻帶偏移，使抑制效率降低，故勻場在 CSI 的地位更為重要。

CSI 之成像原理可分為準備、激發、共振、空間編碼、取景、訊號後處理六步驟，成像之步驟與 MRI 相仿。

在收取頻譜時，CSI 與 MRS 一樣會有水訊號過大造成基線扭曲的問題，故需要在準備步驟以 CHESS 或 VAPOR 抑制水訊號，在本 CSI 實驗中會採用 VAPOR 以獲得更均勻及更有效的水抑制，並且合併 OVS 來降低外界所會造的訊號干擾，所以在準備步驟中如同 MRS，需要以 VAPOR 及 OVS 來抑制非必要的訊號干擾。

將 CSI 與自旋回音影像的脈衝波需圖比較(圖 2-13)，可以發現 CSI 激發與共振之步驟與自旋回音影像原理相同，而為獲得頻譜維度資訊，空間編碼皆採用相位編碼，以避免空間訊息與頻譜的訊息互相疊加，故在訊號收取時則如同 MRS 不開起梯度磁場，以收取頻譜維度之訊號，TE 時間點定義在 spin 聚焦的時間點上並同時收取訊號，將收取之 FID 做三維離散時間傅立葉轉換，以得到不同空間分佈位置之頻譜。

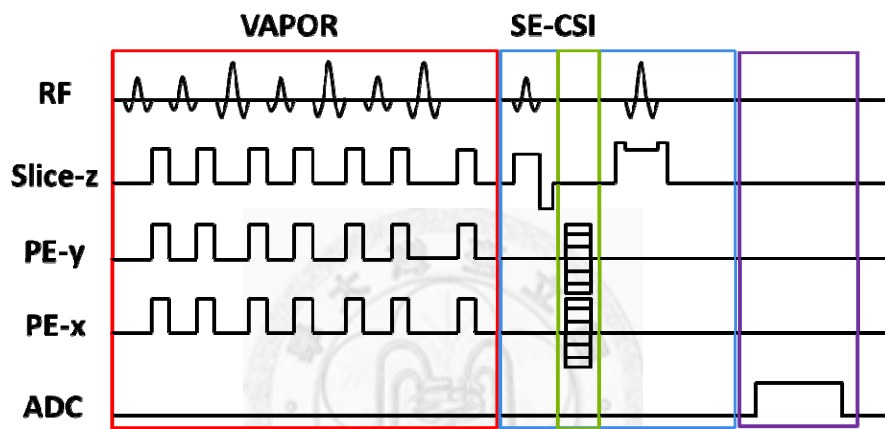


圖 2-14 Spin-echo CSI 之波序圖

在此亦可發現化學位移影像與自旋回音影像在空間編碼上，化學位移影像以相位編碼取代頻率編碼，所以在填 K space 時(圖 2-14)，由於需要多收頻譜維度的資訊，化學位移影像的效率會比自旋回音影像的效率差一個空間維度，這樣會使化學位移影像的掃描時間，比自旋回音影像多花一個維度的時間做相位編碼，使掃描時間劇增。

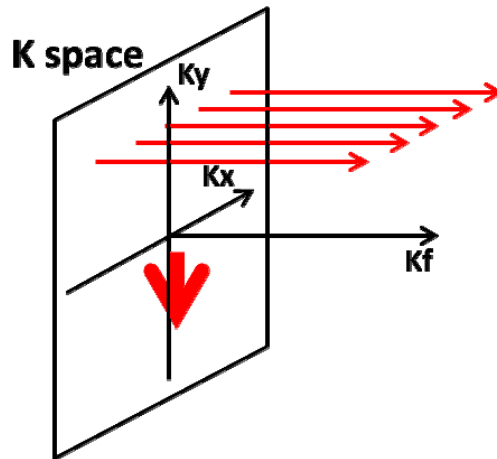


圖 2-15 Spin-echo CSI 之 K space 填法

CSI 的後處理又較 MRS 更為繁雜，由於大範圍的掃描關係，CSI 中的頻譜最常出現的問題幾乎都集中在邊界、介面以及結構複雜的位置，這些位置場不均勻的程度是更甚嚴重的，故其訊號衰減速度又較組織均勻的地方快很多，此外在頻譜上 peak 的半高全寬也會因此變大，使得頻譜解析度降低，代謝物分離也將更困難，所以常會在 K space 上使用一個濾波器(Filter)藉以提高訊噪比(Signal to Noise Ratio, SNR)。

傅立葉轉換後的頻譜，經相位校正及基線校正後，針對不同代謝物各自分布的化學位移，在頻譜上做積分，即可得到代謝物影像。

2.2 疾病模型

現今國內每年有超過將近一千人死於腦癌，其中大約五成死因為神經膠母細胞瘤(Glioblastoma)，而神經膠母細胞瘤是腦癌之中的高度惡性的腫瘤[1]，是目前腦癌之中癒後最不樂觀的一種，其復發後的存活率更甚為低。

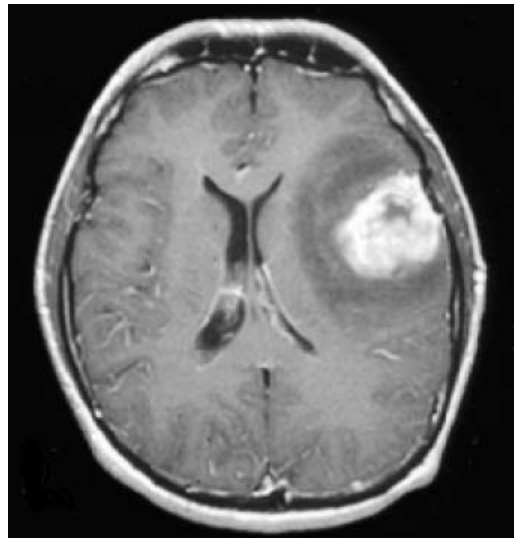


圖 2-16 神經膠母細胞瘤之 MRI 影像[9]

多形性神經膠母質瘤(GBM)為一種常見且侵略性高之腦癌，由於其高浸潤性(Infiltration)，從圖 2-14 的 MRI 影像可以觀察到腫瘤生長在右側大腦，腫瘤周圍訊號較正常組織低，並且邊界不甚明顯。腫瘤組織與正常腦組織之邊界常不易辨識，使得手術摘除不易，更造成腫瘤組織移除不完全以至於高復發率，故其癒後以及存活率常因為腦組織摘除過度或是殘留癌細胞再度復發，因而不盡理想，即使採用積極型治療其平均存活壽命僅十四個月[7]。GBM 會產生之癥狀有癲癇、噁心、嘔吐、頭痛、輕微偏癱及記憶、性格與神經之衰退，其中記憶與性格衰退為顳葉與額葉遭到癌細胞破壞造成，而具體癥狀主要由腫瘤生長之區域決定。

目前治療神經膠母質瘤的療法，不論是化學治療(Chemotherapy)、放射治療(Radiotherapy)或是合併上述兩種治療方法，療效均不佳[10]，由於神經膠母質瘤對化學治療及放射治療的抵抗性高，此兩種治療均會傷害正常腦組織，再加上腦組織本身修復能力有限，更因為有血腦障蔽(Blood Brain Barrier, BBB)使得藥物不易輸送至腦內，因此大多的治療方向主要以姑息療法以及減輕病狀為主。

2.2.1 C6 神經膠質瘤動物模型

目前 C6 神經膠質瘤是常被用來研究神經膠質瘤之血管新生(angiogenesis)、細胞侵襲機制及設計和評估治療方法。

其在 Sprague-Dawley 大鼠生長型態具有包膜(Encapsulated)，生長模式較類似於腦轉移腫瘤快速且惡性，C6 神經膠質瘤容易向血管豐富的區域生長，這也表示其對於血管之高度親和力[11]。

快速生長、惡性度高以及容易植入使得 C6 神經膠質瘤適合用在本論文中的實驗，而此疾病模型亦是接近於常見於人腦的神經膠質瘤，目前一般相信其表皮生長因子受體(Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR)的過度表現，由腫瘤幹細胞所刺激而因起，而此腫瘤幹細胞對一般化學治療及放射治療抗性高，使得神經膠質瘤對傳統的治療反應不佳。

Chapter 3 方法與材料

3.1 硬體設備

實驗所使用之儀器為 Bruker Biospec 47/40 animal MRI 以及 Bruker PharmaScan 70/16 animal MRI (Bruker BioSpin, Ettlingen, Germany)。

47/40 animal MRI 主磁場為 4.7T，共振頻率約為 200MHz，掃描通道管徑為 40 公分，勻場線圈頻道十五組，共包含三組一次項 (X、Y、Z)、五組二次項 (Z^2 、 X^2-Y^2 、XY、XZ、YZ)、七組三次項 (Z^3 、 X^3 、 Y^3 、 XZ^2 、 ZXY 、 YZ^2 、 $Z(X^2-Y^2)$)。

70/16 animal MRI 主磁場為 7.0T，共振頻率約為 300MHz，掃描通道管徑為 16 公分，勻場線圈頻道八組，共包含三組一次項 (X、Y、Z)、五組二次項 (Z^2 、 X^2-Y^2 、XY、XZ、YZ)。

兩者所用激發線圈為鳥籠體線圈(Birdcage volume coil)以達到均勻地激發磁場，而接收線圈皆使用四相位表面線圈(Quadrature surface coil)以提高訊噪比，但使用表面線圈接收訊號，會有訊號隨掃描深度增加而衰減的現象，而表面線圈的半徑為兩公分，鼠腦底部的深度約為一公分，訊號上足並且衰減程度不明顯，因為經校正後的訊號，雜訊會隨深度增加而放大，故此一衰減問題將不作校正。

勻場線圈頻道基本上越多越能夠將磁場補償至理想的均勻場，但是其補償效果由勻場線圈組的半徑、功率輸出及穩定度所決定，4.7T 與 7.0T 的 MRI 勻場線圈組的功率輸出及穩定度皆相近，雖然 4.7T 的勻場線圈組半徑約為 7.0T 之 2.5 倍，但是 4.7T 的頻道較 7.0T 多了將近一倍，所以根據水訊號勻場後的半高全寬，在實際的掃描上 4.7T 的勻場效果還是優於 7.0T，也因此 4.7T 上做 CSI 實驗。

操作軟體 ParaVision3.0 及 ParaVision4.0 (Bruker BioSpin, Ettlingen, Germany), MRS 實驗在 ParaVision3.0 下操作, CSI 在 ParaVision4.0 下操作。

3.2 假體實驗

假體實驗包含 MRS 以及 CSI 兩部分, 主要目的為對照兩者之間的結果以驗證一致性, 並且觀察樣品代謝物之分離效果與分布是否與實際假體情形相符。

假體製做是先泡製重量濃度百分之五洋菜膠(Agarose), 接著將各裝有 NAA、Cr、Lac 樣品管埋入洋菜膠中, 樣品濃度均為 50mM(圖 3-1), 各標準樣品皆以磷酸鹽緩衝液(Phosphate buffer saline buffer, PBS buffer)泡製, 緩衝液之酸鹼值為 7.2。

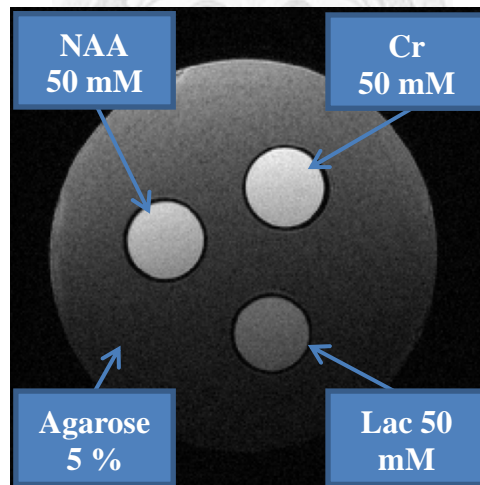


圖 3-1 假體結構及代謝物樣品分佈

3.2.1 磁共振頻譜實驗

在磁共振頻譜實驗所採用之脈衝序列為 PRESS，分別對各樣品管內之溶液收取頻譜訊號，接著做一維傅立葉轉換，並取其訊號之強度大小(Magnitude)以去除相位位移，如此將不必做相位校正的步驟，只需經過基線校正，最後針對個別代謝物樣品在頻譜上的訊號做訊噪比分析。

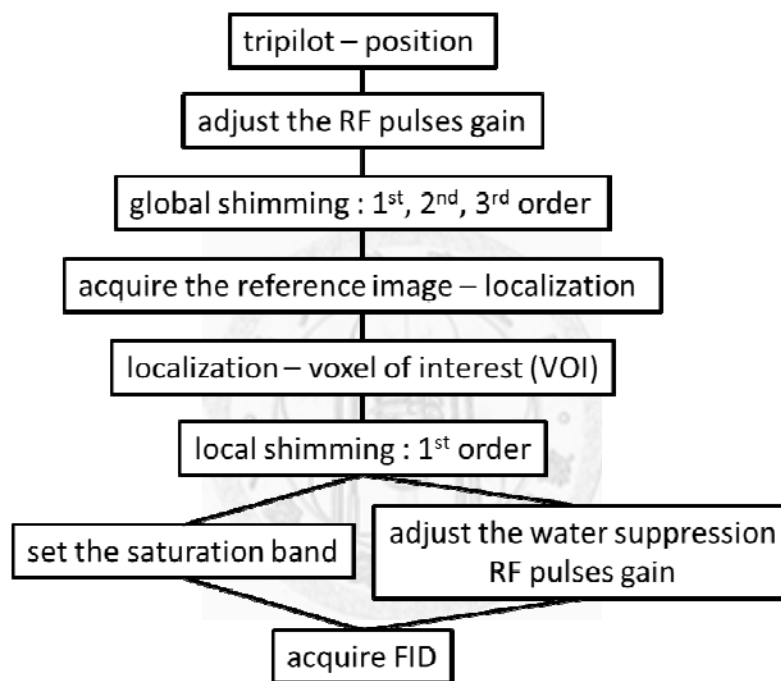


圖 3-2 MRS 實驗流程

實驗流程如(圖 3-2)，將欲掃描之區域移動到 MRI 磁場中心點，調整激發體線圈共振頻率以及阻抗匹配(Tune and match)，進行整體性勻場(Global shimming)並調整各勻場頻道直至 FID 訊號達到最大值，在頻譜上可以觀察到水訊號之半高全寬越來越窄，FID 的衰減速度越來越慢，而勻場的頻道順序為高次項至低次項，每調整完一個高次項，必須重新調整其相關的低次項，因為低次項的勻場頻道會與高

次項互相感應耦合，而實際調整例如調整完 XYZ 頻道必須依次調整 XY、YZ、XZ、X、Y、Z。接著調整激發脈衝強度以求得最大訊號強度，收取 T2 自旋回音影像作為 PRESS 定位用，確認 VOI 位置後再次調整激發脈衝，此時將針對 VOI 區域做激發並且調整激發脈衝強度以求得最大訊號強度，爾後進行局部勻場(Local shimming)，局部勻場將針對 VOI 區域做激發並且調整一次項頻道直至 FID 訊號有最大值，並且使水之半高全寬(Water line width)最窄，亦即提高訊號及頻譜解析度，勻場後將調整抑制水訊號之脈衝強度以達到抑制最佳化，最後以 PRESS 收取頻譜訊號。

而在準備步驟中 OVS 會穿插在 VAPOR 之中，但是 OVS 會擺在 VAPOR 的後半部，因為 OVS 主要抑制的訊號群以短 T1 訊號為主，故穿插在 VAPOR 後半部減少其 T1 回復所造成的訊號恢復。

收取 T2 自旋回音影像之脈衝序列為 RARE，參數如下，TR 為 2500 ms，TE 為 60 ms，average 為 4，RARE factor 為 8，矩陣大小(Matrix size)設定為 256 × 256，截面厚度(Slice thickness) 設定為 2 mm，視野(Field Of View，FOV) 大小為 3 × 3 cm²。

PRESS 所使用之參數如下，TR 為 2500 ms，TE 為配合 Lac 的 J coupling 而設定為 136 ms，average 為 256，因此時間將達十分鐘左右，VOI 大小 2 × 2 × 2 mm³，頻譜之頻寬(Band width，BW)為 4960.32 Hz，水抑制的方法由於操作版本(PV3.0.1)支援的限制，故使用 CHESS，其頻寬為 150 Hz。

3.2.2 化學位移影像實驗

在 CSI 實驗中使用之脈衝序列為 spin echo-CSI，一次收取整體之頻譜訊號，將收取後之訊號做三維傅立葉轉換，針對個別樣品代謝物在活體上主要訊號的化學位移範圍做積分以影像表示，並個別分析其訊噪比。

實驗流程與 MRS 相同(圖 3-2)，唯局部勻場時乃針對欲觀察之截面做激發，其餘流程相同，最後以 spin echo-CSI 收取頻譜訊號。

T2 定位影像使用 RARE 收取，參數如下，TR 為 2500 ms，TE 為 60 ms，average 為 4，RARE factor 為 8，矩陣大小(Matrix size)設定為 256×256 ，截面厚度(Slice thickness) 設定為 2 mm，視野(Field Of View, FOV) 大小為 $3 \times 3 \text{ cm}^2$ 。

spin echo-CSI 所使用之參數如下，TR 為 2500 ms，TE 為 136 ms，average 為 8，matrix size 為 16×16 ，掃描時間長達八十分鐘，截面厚度(Slice thickness)為 2 mm，FOV 大小為 $3.2 \times 3.2 \text{ cm}^2$ ，頻譜頻寬(Band width, BW)為 6510.42 Hz，水抑制使用 VAPOR，其頻寬為 150 Hz。其中為針對欲觀察之 VOI，將使用六張抑制截面(Saturation slice)把 VOI 外之訊號抑制以降低外界訊號干擾，截面與 VOI 間隔為各 VOI 方向尺寸十分之一。

3.3 C6 神經膠質瘤模型之準備

實驗使用之動物為 Spraque-Dawley 大鼠(SD rat)，性別為雄性，體重範圍為 300~400g。

C6 神經膠質瘤細胞株為生物資源保存及研究中心(Bioresource Collection and Research Center，ATCC number: CCL-107)所提供，細胞株培養在 Dulbecco's modified Eagle's medium(DEME)培養基，使用百分之十胎牛血清(Fetal bovine serum，FBS，Gibco, NY, USA)以及青黴素-鏈黴素(Penicillin-streptomycin，Gibco, NY, USA)，實驗中所用到的 C6 細胞均培養在單層十公分培養皿上，溫度攝氏三十七度，百分之九十五空氣及百分之五二氧化碳之混和氣，濕度百分之一百。



圖 3-3 以立體定位儀注射 C6 癌細胞至大鼠紋狀體

立體定位注射(圖 3-3)首先使用水化氯醛(Chloral hydrate)腹腔注射麻醉大鼠，以立體定位儀(Stoelting Co., IL, USA)固定大鼠頭部並沿著腦顱骨(cranial bone)中線切開一公分，注射位置為鼠腦左側紋狀體(Bregma = 0.2 mm, lateral = 3.0 mm, and depth = 5.0 mm)，注射所穿過之頭骨洞經標準鼠腦立體結構圖譜(Paxinos and

Watson 1998)確認, 孔徑為 1mm, 注射細胞液之體積為 0.6 μ L, 濃度為 $2 \times 10^6/10\mu\text{L}$, 注射時使用針頭三十號針(Hamilton, NV, USA)以及微量注射幫浦(Model 310; KD Scientific, MA, USA)。注射完之後將針頭緩慢抽出, 並以牙固粉(Dental cement)將頭骨洞口彌封。

3.4 活體大鼠實驗

實驗過程中, 大鼠皆先以百分之五 isoflurane 與氧氣混和之氣體麻醉, 流量為 1L/min, 待大鼠完全麻醉後 isoflurane 濃度則調降為百分之一到二, 接著將大鼠固定於客製化大鼠固定架, 並將其頭部固定完善以防止震動或移動。

活體大鼠實驗在儀器使用上, MRS 實驗為在 7T animal MRI 上執行, CSI 實驗為在 4.7T animal MRI 上執行。

實驗用大鼠一共六隻, 一隻為正常大鼠以及五隻在單側注射 C6 腫瘤細胞大鼠, 正常大鼠僅提供鼠腦在正常狀況下之代謝物分佈, 控制組與 C6 神經膠質瘤組比較, 以帶有腫瘤之大鼠同一鼠腦內腫瘤側(左側)與大腦對側(右側)做比較, 目的為避免不同大鼠間之先天生理特性差異以及當日實驗條件之些微差異。

大鼠之實驗流程與假體之實驗流程相同, 而為求高訊噪比、頻譜解析度以及大鼠鼠腦在磁場中的變化, 實驗所用之參數將有所改變。

收取 T2 對位影像之脈衝序列為 RARE, 參數如下, TR 為 4000 ms, TE 為 70 ms, average 為 4, RARE factor 為 8, 矩陣大小(Matrix size)大小為 256×256 , 截面厚度(Slice thickness)為 1 mm, 視野(Field Of View, FOV)大小為 $3.2 \times 3.2 \text{ cm}^2$ 。

PRESS 所使用之參數如下, TR 為 3000 ms, TE 為 136 ms, average 為 256, VOI 分別有 $2 \times 2 \times 2$ 、 $4 \times 1 \times 2$ 以及 $2.5 \times 2.5 \times 2.5 \text{ mm}^3$ 三種大小, 而此三

種大小之體積皆一致，頻譜之頻寬(Band width, BW)為 4960.32 Hz，水抑制為 CHESS。

spin echo-CSI 所使用之參數如下，TR 為 2500 ms，TE 為 136 ms，average 為 10，matrix size 為 16×16 ，掃描時間長達一百分鐘，截面厚度(Slice thickness)為 2.5 mm，FOV 之大小為 $3.2 \times 3.2 \text{ cm}^2$ ，激發之 VOI 為 $16 \times 16 \times 2.5 \text{ mm}^3$ ，頻譜頻寬(Band width, BW)為 3004.81 Hz，在此頻寬下不會有頻譜反摺(Aliasing)，又能透過降低頻寬來降低雜訊，水抑制使用 VAPOR，其頻寬為 150 Hz。其中為針對欲觀察之 VOI，將使用八張抑制截面(Saturation slice)把 VOI 外之訊號抑制以降低外界訊號干擾，截面與 VOI 間隔為各 VOI 方向尺寸十分之一。

正常大鼠為一隻並進行 MRS 以及 CSI，神經膠質瘤模型之大鼠為五隻，在腫瘤注射後三周半至四周間進行 MRS 以及 CSI。



3.5 資料分析方法

PRESS 以及 spin echo-CSI 所收取訊號為 FID，故需經傅立葉轉換後才可做進一步校正及處理，PRESS 之 FID 以一維傅立葉轉換之，spin echo-CSI 則以三維傅立葉轉換之。轉換後之頻譜為求移除相位之影響，皆取頻譜之訊號大小，但此一作法會降低頻譜解析度，使訊號之半高全寬提高為原本的 $\sqrt{3}$ 倍。

3.5.1 後處理流程

PRESS 之原始 FID 將直接由 MatLab R2010a (The MathWorks Inc., Natick/MA, USA)讀取並進行一維傅立葉轉換，由於 PRESS 所收取之訊號不易產生基線扭曲，故不校正此扭曲以避免訊號在處理過程中下降。

Spin echo-CSI 資料分析一開始會從 MRI 控制電腦取出以收取完之原始 FID，在 windows 7 下以 3D Interactive Chemical Shift Imaging v1.9.1.0，3DiCSI (Department of Radiology, Columbia University/New York, USA)讀取原始 FID，並以此平台做初步校正，讀取後經三維傅立葉轉換之頻譜需做基線校正，基線校正乃使用 3DiCSI 本身所內建之 convolution difference 功能[7]，若脂肪訊號過度污染頻譜將使用 3DiCSI 內建之 lipid separation-signal space projection 功能移除脂肪訊號，但為保留 Lac 訊號脂肪之移除將不盡完全，處理後之頻譜資料將存為 ASCII 檔案格式以供 MatLab 讀取。

而 spin echo-CSI 所建立之代謝物影像將由 3DiCSI 處理輸出，代謝物影像所使用之原始頻譜將在 K space 之空間維度方向填零(zero filling)以提高空間解析度，矩陣大小將內差為原來之四倍，亦即將 16×16 的矩陣內插至 64×64 ，影像產生之

方法為對頻譜上特定代謝物化學位移範圍進行手動圈選，在所有空間位置上的頻譜上對於圈選之化學位移範圍作訊號積分，最後以影像顯示之。

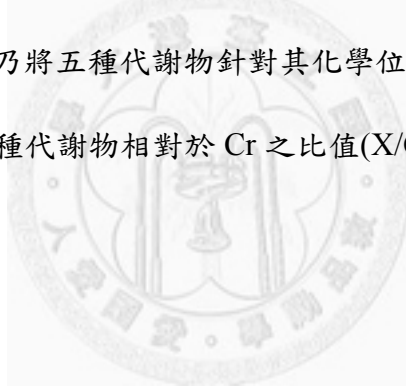
3.5.2 分析方法

PRESS 以及 spin echo-CSI 校正後之頻譜，將在 MatLab 上進行資料分析，包含對於欲觀察之五種代謝物個別量測訊噪比，訊噪比計算之公式為

$$\text{SNR} = \frac{\text{peak height}}{(2 * \sigma_b)} \quad (3.1)$$

peak height 為代謝物訊號之峰值， σ_b 為背景標準差；SNR 在取頻譜訊號大小後會使標準差減為二分之一，故將以 $2 * \sigma_b$ 為雜訊以表示真實訊噪比。

而相對定量的方法，乃將五種代謝物針對其化學位移範圍做積分，以 Cr 為標準化之對象，計算其餘四種代謝物相對於 Cr 之比值(X/Cr)。



Chapter 4 實驗結果

4.1 結果概述

實驗結果分為假體實驗以及活體大鼠實驗兩部分。

假體實驗預期在 MRS 的結果中，觀察到各 VOI 內代謝物樣品相對應之頻譜分佈，在 CSI 結果中預期觀察到各代謝物影像之分佈與假體實際分佈相符，所以在實驗流程上，CSI 之參數設定、流程步驟的順序以及詳細設定從結果看來是正確的，故假體實驗之各項實驗設定將用至活體大鼠實驗，並做些微修改。

綜觀 C6 神經膠質瘤動物模型結果，可以看到 NAA 下降所代表的正常神經元的死亡，Cr 下降所代表的代謝率下降，Cho 上升表示細胞快速的分裂、Lac 上升為無氧呼吸代謝的累積、Gly 上升代表腫瘤的高惡性度。

C6 神經膠質瘤動物模型結果乃與正常側相比較，預期在 MRS 的結果中，在訊噪比觀察到腫瘤側 NAA、Cr 下降，Cho、Lac、Gly 上升，在 Cr 比值觀察到 NAA/Cr 下降，Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 上升。

在 CSI 結果中預期觀察到 NAA、Cr 代謝物影像腫瘤側比正常側訊號低，Cho、Lac、Gly 代謝物影像腫瘤側比正常側訊號高，在 Cr 比值觀察到 NAA/Cr 下降，Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 上升，趨勢亦與 MRS 相同。

4.1.1 假體實驗結果

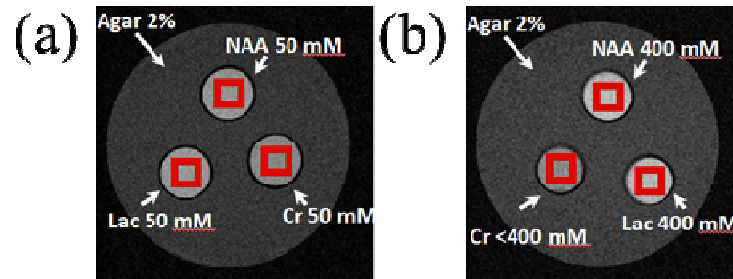


圖 4-1 代謝物樣品 VOI。(a)(b)各為 50 及 400 mM 假體結構影像與 VOI

假體實驗之 MRS 結果顯示各代謝物樣品(圖 4-1)之頻譜，與預期代謝物在頻譜上分佈位置相同，NAA-2.02ppm，Cr-3.05ppm，Lac-1.3ppm(圖 4-2)。各頻譜所量測之訊噪比紀錄在表一，背景雜訊範圍為 6~8ppm，水寬在各頻譜實驗均為 3Hz。

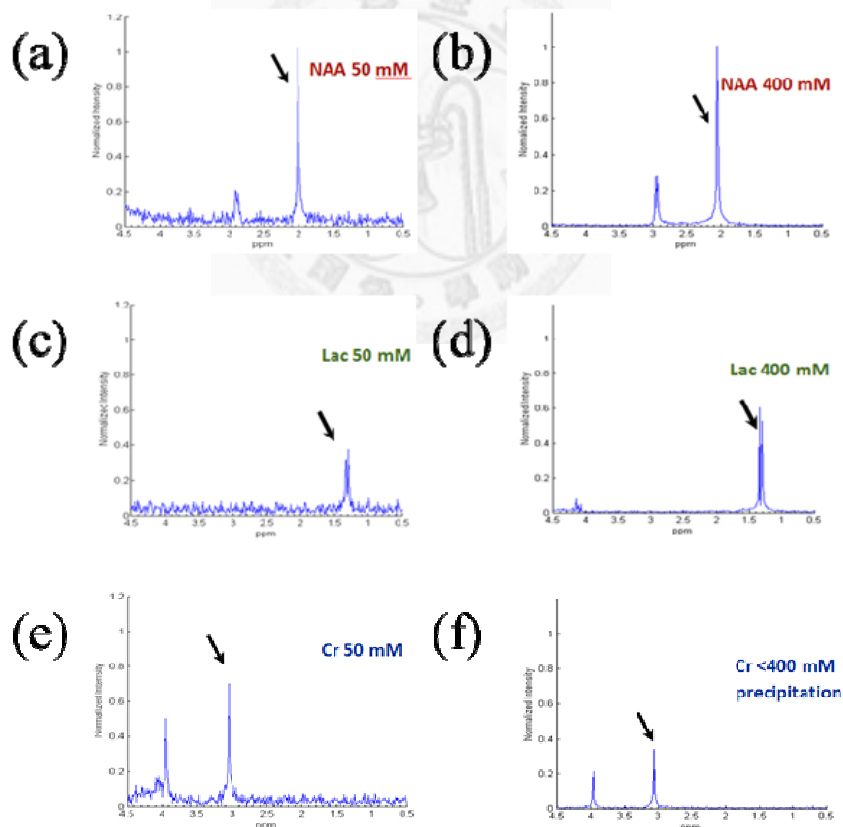


圖 4-2 (a)(b)Cr 頻譜(3.05ppm)，(c)(d) NAA 頻譜(2.02ppm)，(e)(f) Lac 頻譜(1.3ppm)。

從結果上看來樣品濃度確實影響到訊噪比，訊噪比上升的程度與高低濃度的比例相當，但製備 400 mM Cr 實有析出現象，故訊噪比上升程度不及 NAA 及 Lac 高，而在 NAA 頻譜上亦觀察到其次訊號群、Cr 樣品兩個訊號群，由於樣品濃度較一般活體高五倍，所以可在假體實驗結果中清楚被偵測到，而活體內 NAA 以 2.02ppm 為主要訊號，Cr 以 3.05 為主要訊號，其餘次訊號常因濃度低而較難偵測。除此，Lac 因 J-modulation 產生峰分裂(Peak splitting)的現象也在頻譜上觀察到。

	50 mM	400 mM
NAA (2.02ppm)	23.38	248.59
Lac (1.33ppm)	9.33	142.46
Cr (3.05ppm)	17.18	88.00

表 4-1 為圖 4-2 中各頻譜代謝物之訊噪比。

50mM 假體實驗之 CSI 結果顯示各代謝物樣品之頻譜，與預期代謝物在假體上分佈位置相同(圖 4-3)。

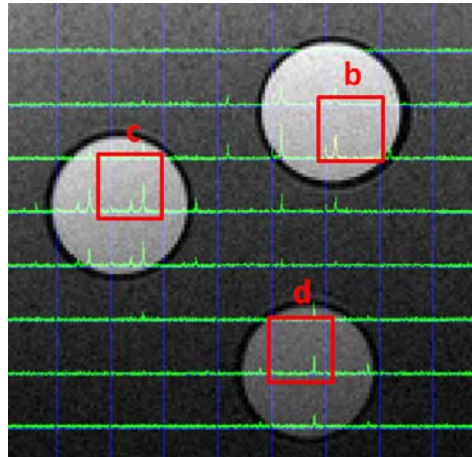


圖 4-3(a)為假體影像與 CSI 頻譜矩陣相對位置圖

在各代謝物樣品位置之頻譜均與 MRS 結果相近(圖 4-4)，與圖 4-4 相對應頻譜所量測之訊噪比紀錄在表 4-2，背景雜訊範圍為 6~8ppm，該假體局部勻場之水寬為 5.84Hz。

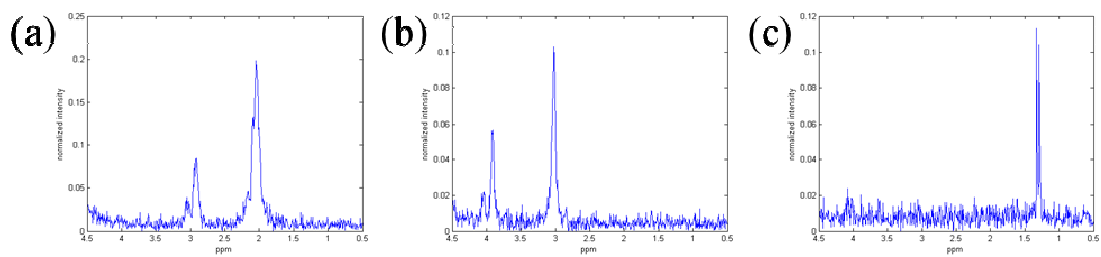


圖 4-4(a)、(b)、(c)各為圖 4-3 矩陣上代謝物樣品之頻譜，(a) to b，(b) to c，(c) to d

	SNR
NAA (2.02ppm)	16.87
Cr (3.05ppm)	14.01
Lac (1.3ppm)	13.62

表 4-2 與圖 4-4(b)、(c)、(d) 頻譜相對應代謝物之訊噪比。

在 CSI 頻譜矩陣重建的代謝物影像(圖 4-5)結果中,可以觀察到各代謝物與 T2 影像的結構非常吻合,並且代謝物影像的分布與樣品配置的位置相同,但是可以發現到代謝物影像在 T2 結構影像上的分布,有從中間向外衰減的趨勢,在邊緣處更是明顯,而此現象乃是原始代謝物影像的解析度低,經重建及內插後在邊緣造成模糊(Blurring)的效果。

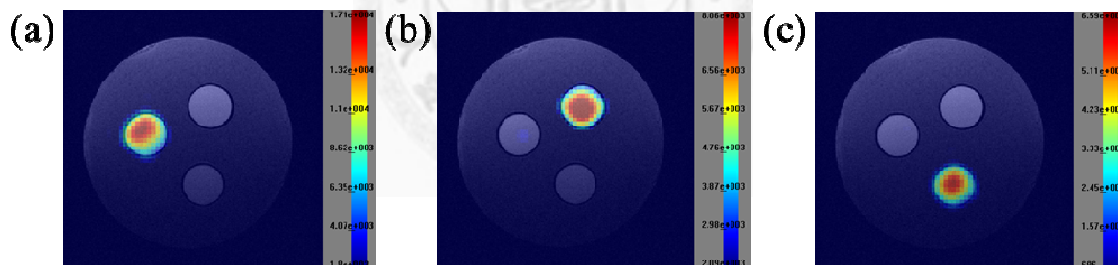


圖 4-5 (a)、(b)、(c) 為針對各代謝物在化學位移上訊號分佈之積分影像,依次為 NAA、Cr、Lac。

而表 4-3 中的各代謝物的訊噪比由小到大為 NAA、Cr、Lac,造成的原因與代謝物內能產生訊號的 spin 數目有關,而由有效 spin 由小到大為 Cr、NAA、Lac,由於 Lac 有 J coupling 造成 peak 分裂(Splitting)兩部分,故訊噪比反而最小。

4.1.2 活體大鼠實驗結果

正常活體大鼠

正常活體大鼠實驗之 MRS 結果顯示(圖 4-6)，在不同區域腦組織的代謝物含量各有差異，NAA 在大腦皮質具有較高訊號乃由於較高神經元密度，在紋狀體及腦中隔則有許多軸突束(Axon bundle)經過使神經元比例下降故 NAA 訊號稍低；Cr 在各頻譜訊號差異並不大，僅在紋狀體區域訊號較低；Cho 在紋狀體及腦中隔為質呈現較皮質高訊號，是因為該區域經過許多軸突束，其髓鞘聚集許多細胞膜故 Cho 訊號高(表 4-3)。圖 4-6 中各頻譜所量測之訊噪比及 X/Cr 紀錄在表 4-3，背景雜訊範圍為 6~8ppm，所有頻譜均以 1~5ppm 中最高訊號為標準化對象。

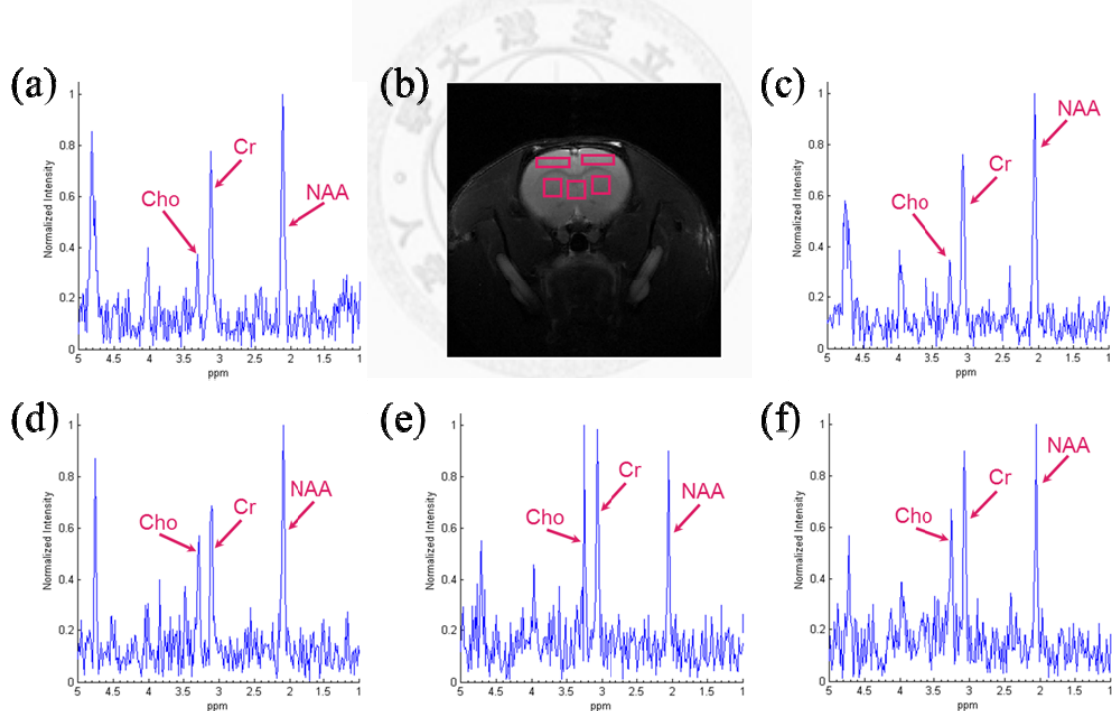


圖 4-6(b)為大鼠鼠腦與 PRESS 之 VOI 相對位置圖，(a)、(c)、(d)、(e)、(f)各相對應至(b)之 VOI。

	皮質-左(a)	皮質-右(c)	紋狀體-左(d)	紋狀體-右(f)	腦中隔(e)
NAA-SNR	10.27	11.09	10.70	7.62	7.76
Cr-SNR	8.03	8.43	7.76	6.90	8.22
Cho-SNR	3.73	3.90	5.50	5.63	8.21
NAA/Cr	1.26	1.24	1.18	1.03	1.04
Cho/Cr	0.46	0.48	0.82	0.75	0.74

表 4-3 與圖 4-6(a)、(c)、(d)、(e)、(f)相對應代謝物之訊噪比及 X/Cr。

正常活體大鼠實驗之 CSI 結果與 MRS 結果相近，NAA 代謝物影像上可以觀察到皮質區域訊號高，紋狀體部分訊號低；Cr 代謝物影像分佈較 NAA 為均勻且紋狀體部分訊號較低；Cho 代謝物影像以胼胝體中央及兩側紋狀體訊號高，此三區域皆為軸突束密集區塊，各代謝物影像之分佈與該位置之組織特性相符(圖 4-4)，並且與 MRS 結果趨勢相近。

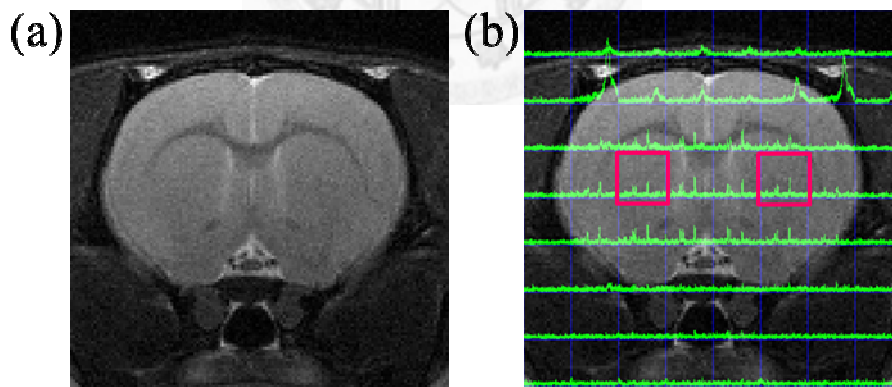


圖 4-7(a)、(b)為正常大鼠鼠腦與 CSI 頻譜矩陣相對位置圖

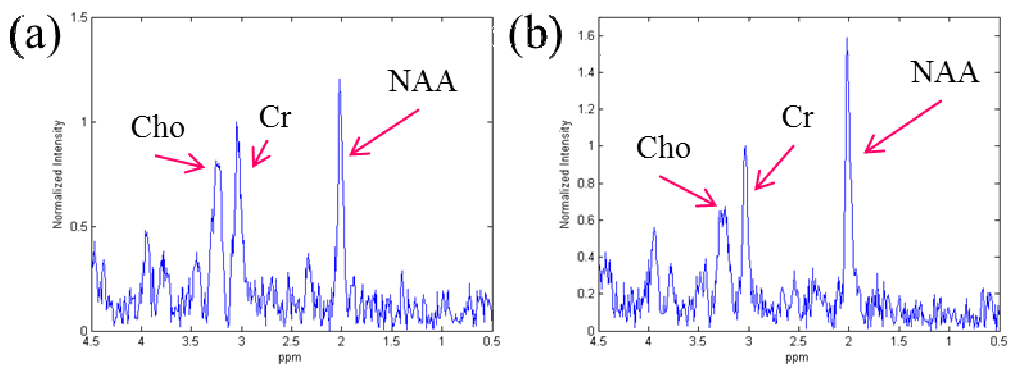


圖 4-8(a)、(b)各圖 4-7-b 為矩陣上左、右紋狀體內頻譜

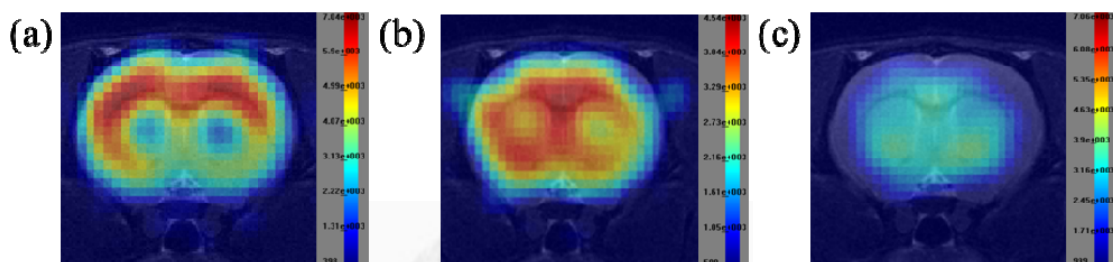


圖 4-9(a)、(b)、(c)為針對各代謝物在化學位移上訊號分佈之積分影像，依次為 NAA、Cr、Cho

	紋狀體-左(a)	紋狀體-右(b)
NAA-SNR	5.73	8.97
Cr-SNR	4.15	5.76
Cho-SNR	4.21	4.17
NAA/Cr	1.13	1.01
Cho/Cr	0.94	0.83

表 4-4 與圖 4-8(a)、(b)頻譜相對應代謝物之訊噪比及 X/Cr。

C6 神經膠質瘤模型大鼠

C6 神經膠質瘤大鼠實驗之 MRS 結果顯示，腫瘤植入後第二十四天在腫瘤側 NAA/Cr 略為下降，Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 明顯上升與預期結果相符(圖 4-5 (b))，從定量分析結果(表 4-5)看來腫瘤所造成的代謝物變化以 Lac/Cr、Gly/Cr 最大，Cho/Cr 次之，NAA/Cr 最小，而 Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 三者之數值皆高於正常對側，NAA/Cr 則是在腫瘤側數值略低於正常對側。

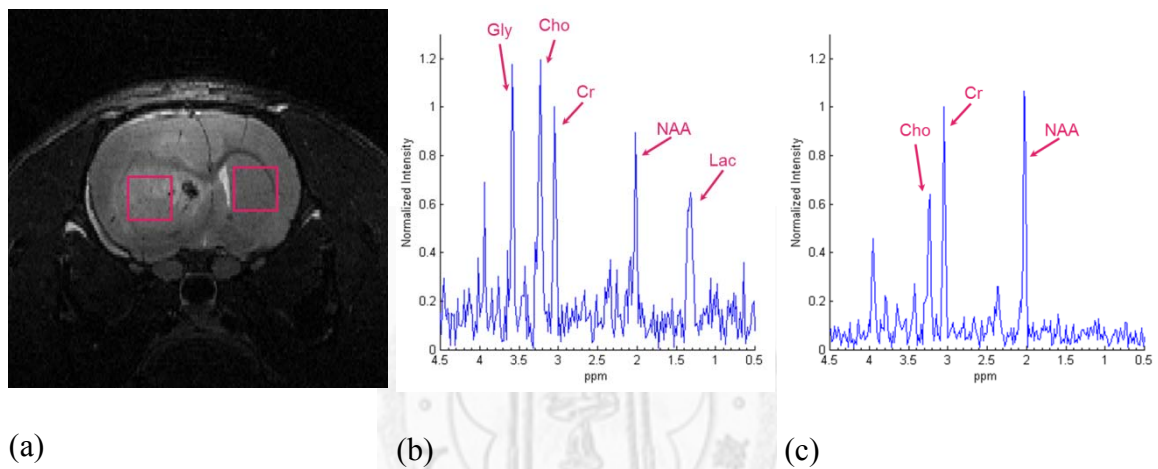


圖 4-10(a)為第二十四天腫瘤模型鼠腦與 PRESS 之 VOI 相對位置圖，(b)為鼠腦腫瘤內之頻譜，(c)為鼠腦腫瘤對側之頻譜。

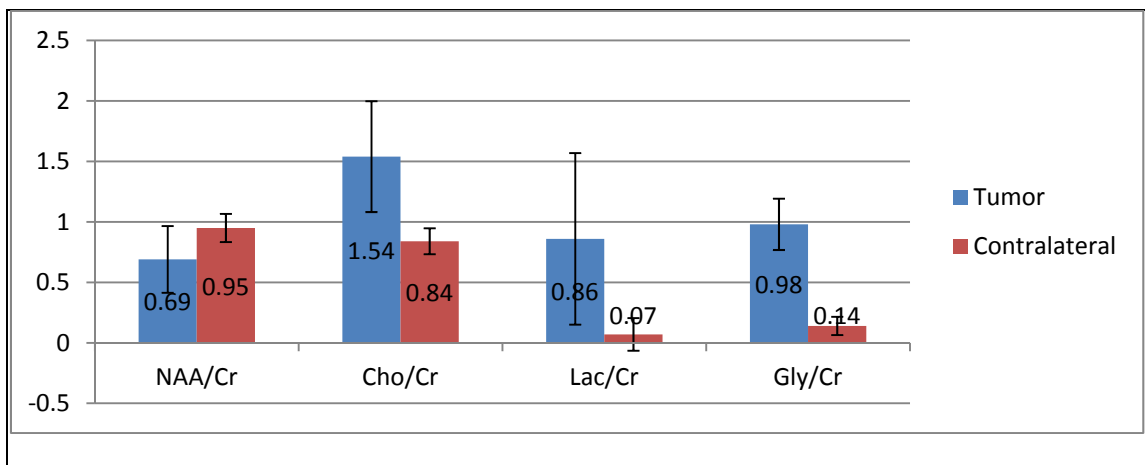


表 4-5 圖九腫瘤模型鼠腦在腫瘤側及對側之 NAA/Cr、Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 定量分析。

C6 神經膠質瘤大鼠實驗之 CSI 結果顯示(圖 4-11)，腫瘤植入後第二十七天在 T2 解剖影像上發現腫瘤大小已比對側紋狀體面積大，並且向外壓迫使正常腦組織結構扭曲。

在圖 4-12 的頻譜更可發現，在腫瘤測的頻譜，偵測到 Lac 以及 Gly 的訊號，在正常對側是沒有偵測到訊號，而 NAA 在腫瘤側亦是完全偵測不到訊號，Cho 的訊號在腫瘤側校正常對側高。

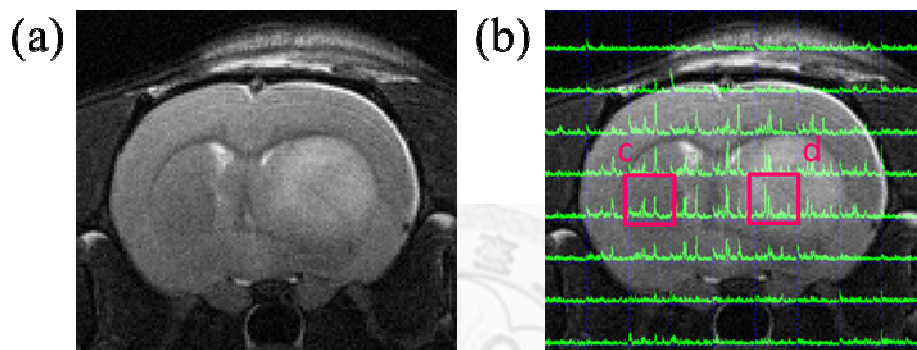


圖 4-11 (a)、(b)各為神經膠質瘤模型鼠腦影像與 CSI 頻譜矩陣相對位置圖

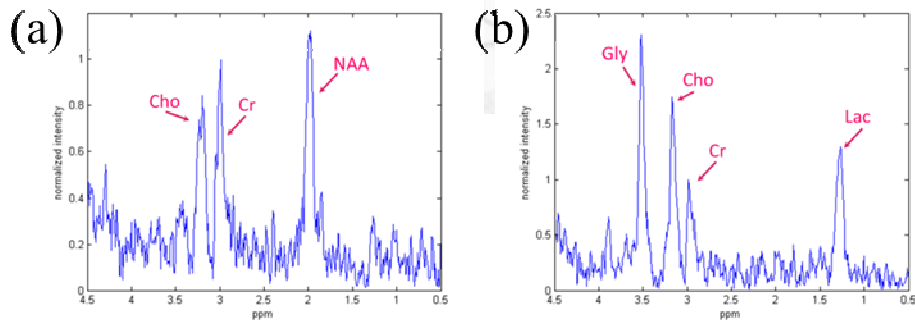


圖 4-12 (a)、(b)各圖 4-11-b 為矩陣上左、右紋狀體內頻譜

在 C6 神經膠質瘤大鼠的代謝物影像中(圖 4-13)，NAA、Cr 影像觀察到腫瘤側訊號較對側為低，分布也較為稀疏，Cho 影像觀察到腫瘤側整體訊號上升以及腫瘤外圍及周圍組織訊號比腫瘤內部更高，Lac、Gly 影像觀察到在腫瘤區域上訊號集中，並且分布以腫瘤區域為主。在正常側與腫瘤側頻譜上觀察到與 MRS 相似趨勢，亦即在腫瘤側 NAA 偵測不到訊號、Cr 訊號下降、Cho 訊號上升、出現 Lac 及 Gly 訊號(表 4-7)。

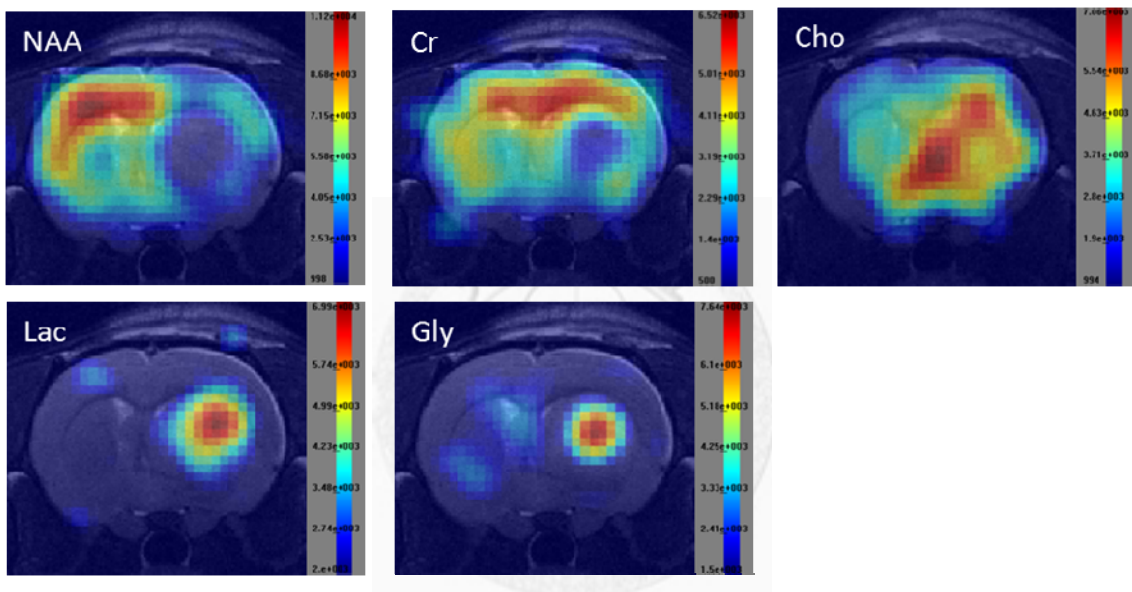


圖 4-13 神經膠質瘤模型鼠腦各代謝物在化學位移上訊號分佈之積分影像

	紋狀體-左(a)	紋狀體-右(b)
NAA-SNR	8.35	2.08
Cr-SNR	7.43	4.32
Cho-SNR	6.27	7.56
Lac-SNR	2.88	6.47
Gly-SNR	2.38	10.56
NAA/Cr	1.29	0.42
Cho/Cr	0.99	1.87
Lac/Cr	0.41	1.68
GLy/Cr	0.60	2.21

表 4-6 與圖 4-12(a)、(b)頻譜相對應代謝物之訊噪比及 X/Cr。

綜觀活體大鼠實驗結果，在正常大鼠鼠腦中，代謝物影像與鼠腦的神經結構分布趨勢相近，並且與該神經結構特性吻合，在神經膠質瘤模型鼠腦中，Cho、Lac、Gly 與腫瘤的分布成正相關，而 NAA、Cr 在鼠腦的分布上，會因為腫瘤的存在而呈低訊號區，其腫瘤對代謝物影像分布的影像亦符合預期變化。

Chapter 5 討論與未來展望

5.1 實驗結果討論

5.1.1 勻場對頻譜之影響

勻場不論在 MRS 或者 CSI 的實驗中皆扮演舉足輕重的角色，尤其是在 CSI 的實驗中更是明顯，而勻場的好壞會直接影像到 FID(圖 5-1 5-2)，可以看見在勻場不佳的情況底下會造成 FID 中頻率成分會有所變化，也會看見在 FID 末端的訊號衰減較為嚴重。



圖 5-1 勻場不佳之 FID[12]

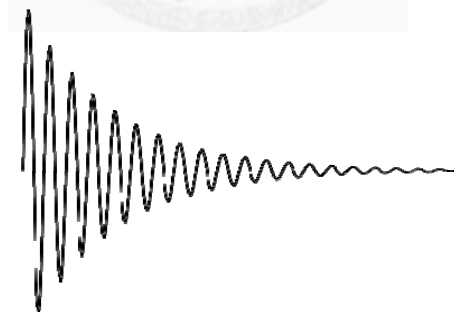


圖 5-2 勻場較佳之 FID[12]

在整體的實驗中，勻場本身並不包含在實際掃描的過程中，而是在收取 CSI 資料前的一個前置作業，所以在每次實驗的最開端是必須將勻場最佳化的，目前常用的最佳化的方法有半手動勻場、快速自動地圖勻場技術(Fast Automatic

Shimming Tech by MAP, FASTMAP)以及場圖勻場(MapShim)，第一者乃是直接調整各勻場頻道，紀錄每次微調所得 FID 的訊號大小，從中取 FID 最大者為最佳數值，第二者是利用開啟梯度磁場將物體訊號投影至六個軸向上，以此六個投影的訊號形狀大小回推空間中磁場的分布，然後再計算各勻場頻道應輸出之功率大小，再將訊號投影一次估計誤差，以此反覆疊代數次以求得最佳化勻場，第三者是擷取雙回音的梯度回音影像(Dual echo gradient echo)，將兩者之相位影像(Phase image)相減併除以兩個 echo 的時間差來求磁場圖(Field map)，以此計算各勻場頻道應輸出之功率大小。

半手動勻場的勻場效果是最佳的，但是所耗費的時間是最長的，實際上每次頻道調整使磁場改變 1Hz 的步階(Step)，就需要耗費近二十分鐘，而 FASTMAP 以及 MapShim 目前在機器上皆有自動化的流程，勻場時間皆僅需近五分鐘，相對半手動勻場快速，但惟其勻場效果不及半手動勻場，兩者實際上勻場所得之水訊號半高全寬，在活體大鼠鼠腦的掃描中約為半手動勻場的 1.5 倍，半手動勻場之水訊號半高全寬每次活體大鼠鼠腦實驗大約為 120 Hz 左右。由於半手動勻場佳且耗費時間尚在接收範圍內，故在本論文中的實驗皆採用半手動勻場。

5.1.2 表現線圈空間分布靈敏度對訊號之影響

使用表面線圈收取訊號可以提高訊造比，因此大部分鼠腦實驗都會使用表面線圈收訊號，但是表面線圈的其中一個特點就是訊號隨掃描深度增加而改變，就是物體距離線圈越遠，訊號就衰減越多，這是由線圈接收靈敏度(Sensitivity)隨空間變化而導致，所以用表面線圈收取的訊號，實際上必需將此作強度校正(Intensity correction)，此校正需要事先獲得線圈在各相對於線圈的空間位置的訊號靈敏度，

然後再用以校正收取的影像訊號，此校正會放大雜訊，其雜訊放大程度隨深度增加而增加，而 CSI 的頻譜本身的雜訊對於代謝物是相對於水訊號大的，所以在實際校正 CSI 影像時造成鼠腦底部雜訊被放大而受到干擾，而實驗中所用的線圈半徑尚能包含到大鼠下巴，所以訊號衰減的曲線在要觀察的大腦部位的平坦度尚能接受，所以在最後重組的代謝物影像並未校正之。

5.1.3 代謝物影像之結果探討

在假體實驗中，代謝物影像分佈位置確實與相對應樣品空間位置互相吻合，與 MRS 所獲得之頻譜亦互相對應，表示 MRS 及 CSI 是具有良好空間定位能力。但在結果中發現兩個現象，第一是 Cr 影像中發現在 NAA 樣品位置也出現訊號，與頻譜上化學位移分佈做比較可以發現，我們針對 Cr 做積分的位置(3.05ppm)與 NAA 次訊號群(2.8~3.1ppm)重疊，故在選擇代謝物化學位移範圍時亦須考量其他代謝物使否有相近或相同之範圍；第二是在樣品邊緣上訊號分佈與實際濃度分佈不一致，從影像上會將濃度梯度視為線性下降，但實際上樣品管內的濃度應為均勻分布，此原因應為部份體積效應(Partial volume effect)造成，由於 CSI 解析度低使得單一體素跨越樣品內外幅度變化大，使得此效應在內插後的影像上更為明顯，然而在鼠腦的結構中，其皮質、灰質及紋狀體等結構變化又比假體的樣品管細微，部份體積效應將會在鼠腦中更甚影響，而此效應亦會稀釋在單一體素內之代謝物含量，使訊號將低，若是含量低於儀器之靈敏度會直接收不到代謝物訊號，因此解析度將是一個需要改善的課題。

MRS 以及 CSI 在大腦腫瘤上已有不少研究，大部分研究乃探討腫瘤在惡化過程中代謝物的變化以及治療策略對於腫瘤代謝變化之評估，而過去文獻中指出，

惡性腫瘤會使神經元結構破壞使 NAA 下降，惡性神經膠質瘤會提高代謝活性使 Cr 下降，快速腫瘤成長會使 Cho 提高，腫瘤內核由於血液難以供應行無氧呼吸使 Lac 提高[12][14]，C6 神經膠質瘤大鼠 MRS 所取得之頻譜，在正常側與腫瘤側的比較上皆觀察到與過去文獻有相同趨勢[11][14][15](表 4-5)，其中將 Cr 作為標準化對象計算比值，Cr 在腫瘤側訊號降低是否為適當標準化對象，參照在前人研究中[14][15][16]方法依然以 Cr 作為標準化對象，比較結果仍可以觀察到腫瘤側與正常側之差異，故在做法上採取於前人相同作法。在比較定量分析結果上也觀察到腫瘤側與正常側預期之差異(表 4-5)，亦即 NAA/Cr 在腫瘤側下降，而在腫瘤側 Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 上升，其中又以 Lac/Cr、Gly/Cr 的差異性最高。

Gly 為一種抑制性神經傳導物質，作用機制是與其受體結合後開啟氯離子通道，產生抑制性突觸後電位，同時也是構成身體二十種基本胺基酸之一，在過去研究中發現[17] Gly 在頻譜上表現之訊號可當作惡性腫瘤指標，而 Gly 本身也具有促進神經細胞生存功能[19]。在 MRS 實驗中均在腫瘤側偵測到 Gly 之訊號，並且在對側皆無訊號，從此結果可以推測 Gly 是可以當作一個適當的腫瘤標記，並且可以判斷腫瘤生長至此天數乃達較高惡化程度，故推測此時腫瘤血管已不易供應腫瘤內部，以致無氧呼吸而偵測到 Lac。

在 C6 神經膠質瘤大鼠鼠腦 CSI 所重組出的代謝物影像中(圖 4-7)，NAA 影像顯示在腫瘤區域訊號下降，推測為腫瘤區域正常神經元結構遭到破壞而數量減少；Cr 影像亦在腫瘤區域呈現訊號下降之趨勢，可能是為腫瘤快速生長提高代謝速度導致，而其訊號分佈較正常老鼠為不均勻，此腫瘤生長天數為二十七天，從 T2 影像上可觀察到原有正常腦組織及周圍組織已受到腫瘤推擠產生之位移，故 Cr 影像分佈不均勻可能為組織受推擠使得原有血管受壓迫，造成 Cr 供應下降；Cho 影像

在腫瘤區域呈現訊號上升之趨勢，並且在腫瘤外圍呈現更高訊號之趨勢，與過去研究結果相似[19]，推測造成此分佈乃是腫瘤中心區域組織缺乏血液供應使得生長速度緩下，而外側組織血液供應充足使生長速度相對於中心快，並且腫瘤組織有向外延伸之趨勢；在 Lac 與 Gly 影像其分佈非常吻合，皆在腫瘤區域呈現高訊號，其 Lac 在腫瘤中心之高訊號可推測其缺乏血液供應而產生無氧呼吸，而 Gly 可推測在腫瘤中心惡性度較周為高，但從 Gly 具有促進神經細胞生存功能[18]上看來，亦有可能是腫瘤中心細胞因為其生長環境惡劣(血管供應不良)而分泌 Gly 以求生存。

5.1.4 頻譜之定量方法討論

本實驗中 CSI 的在定量方法上屬於相對定量，目前定量方法以峰形擬合(Peak fitting)為主，以勞倫斯線形(Lorentzian shape)去擬合頻譜中各個代謝物的 peak，計算其最小差方誤差(Least square error)來疊代求得個代謝物之訊號大小，其頻譜需有較高的頻譜解析度，因此大部分皆使用頻譜中的實部(real part)訊號來擬合，故頻譜需要做相位校正以及基線校正，絕對定量則需要再考慮線圈在空間上的靈敏度、物體對線圈的承載>Loading)以及標準樣品的訊號。然而現今頻譜的定量已有穩定的商用軟體，該軟體為線性組合模型(Linear Combination Model, LC Model)[20](圖 5-3)，該軟體廣泛用於 NMRS、in vivo MRS 及 CSI 的相對定量及絕對定量，未來希望能以此軟體做更準確之代謝物定量。

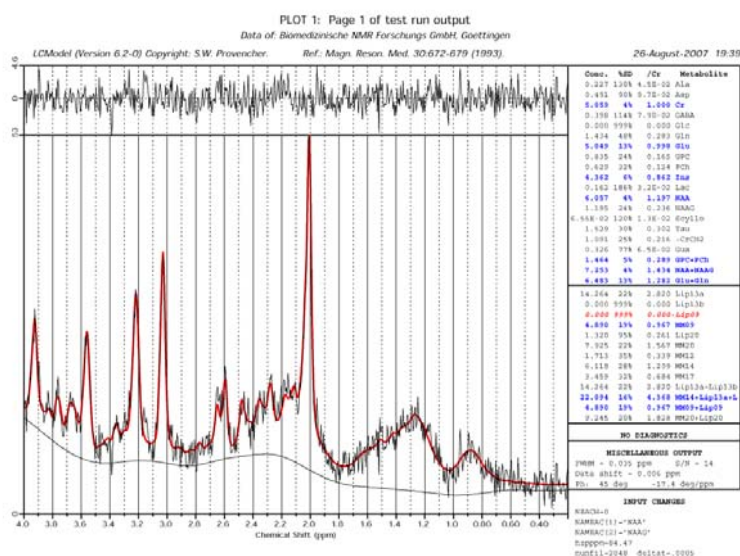


圖 5-3 LC Model 之分析介面[20]

5.1.5 CSI 之參數與掃描時間關係探討

從實驗結果中可以發現 CSI 提供代謝物在不同組織位置含量的能力，而 MRS 僅提供單一局部 VOI 的頻譜訊息，在空間定位上 CSI 比 MRS 具有更全面性的偵測，所以 CSI 更能提供腫瘤邊界的描繪與分佈，然而，實驗進行時由於 CSI 的取像範圍比 MRS 大上許多倍，故對勻場的敏感度更為高以致於在組織介面或邊界的頻譜訊號及解析度較為低，此外部分體積效應亦使 CSI 的實際解析度更為低。另一方面，CSI 之空間編碼為相位編碼，因此造成掃描時間非常冗長，活體大鼠的掃描時間即需要一小時四十分鐘，掃描時間拉長將使過程中鼠腦位置移動機率上升，而在取向過程中的移動會使頻譜扭曲並且使鄰近頻譜交疊，而在掃描時間已達如此長的時間下，空間解析度亦使相位編碼階數受限制，因而使實際的參數需要採取低空間解析度以避免更長的掃描時間。低空間解析度將使細部的組織代謝物分佈模糊化，亦會提高部分體積效應，從假體實驗的代謝物影像中即可看見此效應

在邊界所造成的效果，對於組織或腫瘤邊界的界定將造成一定程度的影響。

本論文的 CSI 為 spin echo CSI，是激發單張截面，再加上空間編碼梯度磁場來做空間解析，為避免頻譜 aliasing 的問題，需要將 FOV 設定到包含整個腦部切面影像，在維持相同解析度下就需要增加矩陣大小，使相位編碼次數增多，最後拉長整體掃描時間，然而，aliasing 的問題可以透過修改激發方式來解決，使 FOV 縮小及矩陣大小降低。激發的脈衝實際上可以更改成 PRESS 的 voxel selection，利用 VOI 的激發來避免外界區域產生訊號而 aliasing，而此一做法能有效降低矩陣大小。

在本論文的鼠腦實驗中，實際上能將矩陣邊長縮為原本的二分之一，根據掃描時間的公式，掃描時間會降為原本的四分之一，也就是二十五分鐘，對於冗長的掃描時間是大幅改善，但對於提高解析度以及動態的代謝物掃描，在此脈衝序列下還是難以實行，由於代謝物本身訊號非常小，所以提高對代謝物訊號的靈敏度將是一大課題。

另一方面，不論是 spin echo CSI 或是 PRESS CSI 皆是傳統的 CSI 作法，亦即使用相位編碼作為空間編碼，使用相位編碼雖然耗時，但是可以避免化學位移假影以及頻譜在空間上的疊加，而綜觀此脈衝序列填 K space 的方法，其收訊效率不佳，未來改進傳統 CSI 脈衝序列的收訊效率將是另一大課題。

5.2 結論

MRS 在實驗結果中幫助我們觀察 C6 神經膠質瘤的生理狀態，在腫瘤組織觀察到 NAA 及 Cr 下降，Cho、Lac、Gly 上升，以及 NAA/Cr 下降，Cho/Cr、Lac/Cr、Gly/Cr 上升，CSI 之結果除了在同一區域觀察到一致的趨勢，更取得代謝物影像進一步獲得代謝物在不同組織位置間含量差異。從實驗結果看來，在神經膠質瘤觀察到正常神經元細胞死亡，腫瘤細胞快速生長及代謝活性增加，腫瘤中心區域缺氧。

綜合上述結論，在實驗中所建立起之 CSI 是可以協助將代謝物分佈影像化，並且具有定量的潛力，而實際上 CSI 本身尚有冗長掃描時間、低空間解析度的問題待解決，這也是目前 CSI 此項技術能否臨床化的重大課題。



5.3 未來展望與技術發展

5.3.1 未來展望

CSI 所提供之化學位移訊息，直接反應出代謝物種類及含量的資訊，對於生理狀態的觀測以及疾病造成之生理變化是直接有利的一項工具，在大腦疾病上扮演舉足輕重的角色，未來可應用在自發性腦瘤觀察其隨著時間成長之生理變化，此外也可應用在中風疾病上，觀察缺血腦組織半影區以利在治療上做出更好的決策。

目前所建立起之 CSI 由於其解析度低，使得部分體積效應佔有一定之影響，對於細部的神經組織代謝物含量會使其在影像上定位困難，以及在邊界的界定上造成判斷上疑慮，所以提高解析度將是一個重要的議題。而提高解析度會使其靈敏度降低造成低濃度代謝物更難偵測，故靈敏度將會是未來要解決的另一個課題。冗長掃描時間一直是 CSI 目前在臨床上很少執行的主要原因之一，未來如何維持一定的訊號靈敏度並且加快掃描速度將是臨床化的重要一步。

5.3.2 加速 CSI 之技術發展探討與規劃

過去CSI空間解析皆以相位編碼，其缺點為需要耗時在多維PE時間上，所以又有許多人提出利用加入頻率編碼來加速CSI，爾後R. Pohmann, M. von Kienlin, and A. Haase等人提出評估諸多加速方法之效益[22]，隨著硬體技術及效能的提升，B. Gagoski提出結合螺旋影像(Spiral imaging)來加速CSI[23]。

而在2004年Scott B. Reeder提出IDEAL(Iterative Decomposition with Echo Asymmetry and Least-square)的演算法[24]利用化學位移分離水及脂肪，Florian

Wiesinger更提出結合Spiral imaging及IDEAL在C-13的核種上分離數種代謝物之影像，並且獲取時間解析度為兩秒之動態影像[25]，更突顯IDEAL演算法在CSI分離代謝物訊號之應用。

近年寬頻技術應用至MRI加速，由Edzer L. Wu提出之寬頻技術成功降低掃描時間且維持加速前之SNR[26]，利用寬頻技術結合IDEAL，相信能夠將加速CSI的研究帶至新的發展方向。

不論何種加速CSI的脈衝序列改進，皆是在加速K space擷取速度，故只要能在K space擷取到足夠的維度及大小，該K space亦能重組出不同代謝物之影像。傳統CSI擷取的K space維度的順序為 K_f 、 K_x 、 K_y (以一般3D CSI為例，2D空間，1D頻譜)每個TR只收取 K_f 維度的訊號。

多梯度回音(Multi gradient echo, MGE)影像收取的K space與CSI的本質上是相同的，不同TE所收的訊號可以視為在FID上某一時間點，故在足夠多的TE及夠短的回音間隔(Echo spacing)，MGE擷取之K space是與CSI相近的，如不納入脈衝序列間的特性，而MGE擷取的K space維度的順序為 K_x 、 K_f 、 K_y ，每個TR收取 K_x 及 K_f 維度的訊號，所以MGE乃利用頻率編碼取像，其掃描時間為比CSI多省去一個維度的相位編碼 steps 的倍數，此外，更可利用寬頻技術加速其影像擷取時間，所以整體掃描時間能夠大幅縮短。

在後處理上除了用傳統方法經傅立葉轉換後在頻譜上做積分以外，亦能以IDEAL演算法去分離不同代謝物影像，此演算法假設已知所有代謝物之化學位移，故可以降取樣(Down sampling)減少所需的TE點數，進而縮短TR。

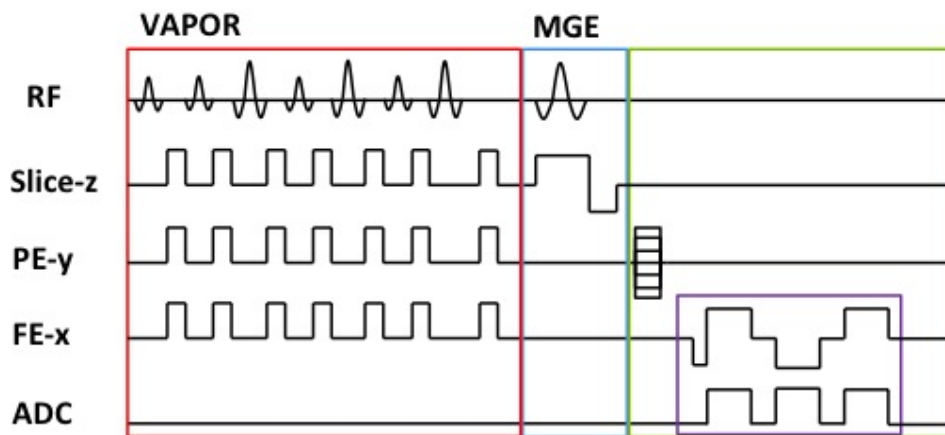


圖 5-4 加入 VAPOR 之 MGE 脈衝序列

由於 MGE 脈衝序列所收之 K space 性質與 CSI 相同，故欲收取代謝物訊號亦需將水訊號抑制，所以其脈衝序列需要在準備步驟中加入 VAPOR(圖 5-4)，在抑制水訊號後便以九十度度脈衝激發單一切面(以 2D 掃描為例)，與自旋回音不同的是訊號會以 T_2^* 而非 T_2 衰減，故訊號衰減速度會較快，激發完後接著開啟空間編碼低度磁場，首先會先開啟相位編碼梯度磁場決定 K_y 位置，接著開啟頻率編碼並收取訊號填入 K_x 取像，且緊接著開啟相反大小的梯度磁場繼續頻率編碼收取訊號取像，以此收取多的回音列(Echo train)的訊號， K_f 的維度上會隨著時間不停推進，與任何外加梯度磁場無關，此 echo train 可視為不停的在 K space 上的 K_f 軸填入訊號，其填法等於是沿著 K_x 方向填完一條 K 線(K line)，接著往下一個 K_f 的時間點在 K_x 方向填 K line(圖 5-5)。因此 MGE 與 CSI 的掃描時間在相同幾何參數下，會快一個維度的 PE steps 倍數。

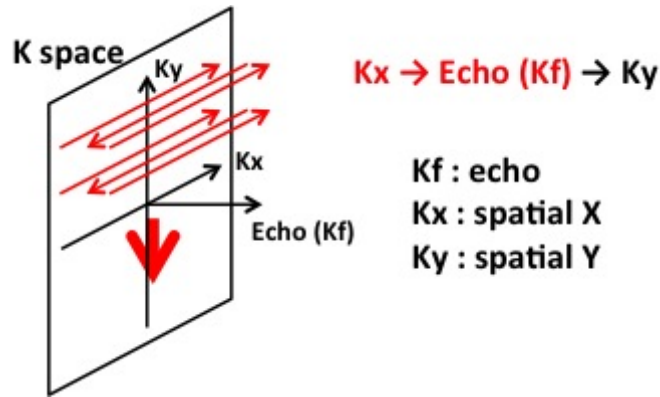


圖 5-5 MGE 之 K space 填法

寬頻技術可以在相位編碼的梯度磁場做修改，加速相位編碼方向的擷取速度，降低 Ky 維度所需花費的相位編碼 steps，使脈衝序列在頻率編碼取像時，可以同時收取下一個 Ky 位置的 K line，但實際上加入額外的梯度磁場做寬頻加速，實際上必須考量此梯度磁場造成場不均匀，使 $T2^*$ decay 速度加快，相位累積變快，因此需要針對此問題再做脈衝序列的修改。

而在實際面的脈衝序列設計上，必須考量理想上 K space 之軌跡與實際擷取 K space 之間的差異性，由於梯度磁場在開啟與關閉時，線圈本身有充放電延遲的問題，其梯度升降(Ramp up & down)會造成相位累積的誤差，所以聚焦梯度本身的聚焦準確性便會下降，此一現象會沿著 Kf 軸不斷累積，使得每個 echo spacing 會不相等(Unequal echo spacing)，也就是造成設定的 echo train 與實際的 echo train 會有偏差，所以必須透過修改機器梯度磁場以及後處理校正 echo train)來補償誤差，前者是在機器上微調聚焦梯度磁場大小及梯度磁場校正設定，後者是利用程式找出每一條 K line 最大值的位置(實際聚焦點，一般聚焦點設在正中心)，計算其與正中心的位移來反推實際 TE。

然而 trajectory 除了要校正實際填寫 K space 的位置外，還必須考量取樣點的密度，特別是 Kf 軸上的點與點的間距，亦即 echo spacing，也就是在 Kf(也可視為 FID)上的取樣頻率(Sampling rate)，不論是傅立葉轉換或者是 IDEAL 演算法去分離代謝物，根據取樣理論(Sampling theorem)，取樣頻率都必須大於代謝物化學位移頻率的兩倍，亦即 echo spacing 必須小於代謝物與水之間累積相位還未超過 180 度，以防止訊號的 aliasing。

實際上在設定 echo spacing 時，會碰到硬體已達極限但還是無法取得足夠小的 echo spacing，所以在實驗的作法上可以採用分離法(Segmentation)，例如將所需的 echo train 分成奇數位以及偶數位的 echo train 兩次取得，如此一來將可以用兩倍的 echo spacing 取得原本一倍 echo spacing，以此降低對硬體的負荷及提高梯度磁場的穩定度。此時被分為兩個 train 的第一個 echo 的 TE 就必須謹慎選擇，若兩者第一個 echo 的間距不等於 echo spacing，會造成非等回音間距(Unequal echo spacing)，Unequal echo spacing 本身會造成取樣點不均勻(Sampling heterogeneously)，此一現象會使有效頻寬大於原本取樣頻率的頻寬，但是其頻率響應會因此造成不均勻的問題，會分別使高、低頻的頻率響應比中頻高，因此會使演算法所分離的 frequency component 受到影響而失真，所以在設定第一個 echo 的 TE 必須計算精準及調整。

以 MGE 收取完訊號後，其訊號除了可以用傳統在頻譜上做 fitting 外，亦可適用 IDEAL 演算法，IDEAL 的作法即是在 FID 上做 fitting，不同於 FT 後做 fitting，在 FID 做 fitting 必須先得知所有頻率組成(Frequency component，亦稱化學物種，Chemical species)，然後利用已知的 frequency component 去做線性組合與實際訊號 fitting，回推各個代謝物的原始訊號大小。

未來結合寬頻技術配合 IDEAL 演算法將會是加速 CSI 的一個新方向，期望能以這兩種方法將收訊效率提至最高，藉以補償微弱的代謝物訊號，進一步實現高解析度動態代謝物影像在臨床上的應用與貢獻。



附錄

寬頻化學位移影像技術實驗報告

Wideband CSI Technique project

Introduction

核磁共振影像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)至今已發展二十餘年，其所提供諸多生理性、功能性影像是大多數影像系統(ex. 電腦斷層)無法比擬，但惟其掃描時間過於冗長(見 Tab. 1)，使得臨床上的常規掃描無法在短時間內獲取大部分的生理資訊，在研究上則是因為其過長掃描時間造成時間解析度太低，而難以應用在動態觀察生理性變化的實驗。

	TR (ms)	Phase encoding steps	NEX	Scan time	Resolution
Human brain 3T	1500	16 * 16 * (4)	1~4	25 mins	1 cm ³
Rat brain 7T	1000 ~2500	8 * 8 ;	4 ~ 8	16 ~ 90 mins	1000 ~2500

Tab. 1 臨床及研究常用之 CSI 參數及掃描時間

化學位移影像(CheMical Shift Imaging, CSI)在 MRI 中扮演著同時提供多種代謝物影像的技術，但隨著二十年多的發展，此項技術依舊需要長時間才能完成掃描(見 Tab. 1)，然而代謝物影像提供定性定量的資訊，不論於臨床上的至鑑別診斷與治療評估，或是研究上的代謝觀察，皆提供直接且有效的訊息。

近十年來有許多團隊都在針對加速 CSI 做研究，不論是在脈衝序列(Pulse Sequence)或減少 K 空間(K space)取像上的改進，大多都對於設備以及勻場(Shimming)條件有很高的要求，而且其代償(Trade off)是降低一定比例的訊噪比(Signal to Noise Ratio, SNR)。

本實驗室開發之寬頻技術可以維持相同解析度及 SNR，大幅降低掃描時間，並且能於其他加速技術(ex. 平行影像(Parallel Imaging))合併使用，對於 CSI 的加速有一定的助益，在未來代謝體的研究上更能利用此寬頻化學位移影像技術(Wideband CSI, WB CSI)窺探更多新的領域。

Literature review

過去 CSI 由 Truman T. Brown(Proc. Natl Acad. Sci. USA, Vol. 5, 1982)提出，其空間解析皆以相位編碼(Phase encoding, PE)，其缺點為需要耗時在多維 PE 時間上，所以又有許多人提出利用加入頻率編碼(Frequency encoding, FE)來加速 CSI，爾後 R. Pohmann, M. von Kienlin, and A. Haase 等人提出評估諸多加速方法之效益(Journal of Magnetic Resonance, Vol. 129, 1997)，隨著硬體技術及效能的提升，B. Gagoski 提出結合 Spiral imaging 來加速 CSI(MRM, 2011)。

而在 2004 年 Scott B. Reeder 提出 IDEAL(Iterative Decomposition with Echo Asymmetry and Least-square)的演算法(MRM, Vol. 51, 2004)利用化學位移分離水及

脂肪，Huanzhou Yu 利用其演算法以多梯度回音(Multi gradient echo, MGE)分離水及脂肪並且取得 R2* 影像。Florian Wiesinger 更提出結合 Spiral imaging 及 IDEAL 在 C-13 的核種上分離數種代謝物之影像，並且獲取時間解析度為兩秒之動態影像 (MRM, Vol. 68, 2012)，更突顯 IDEAL 演算法在 CSI 分離代謝物訊號之應用。

近年寬頻技術應用至 MRI 加速，由 Edzer L. Wu 提出之寬頻技術成功降低掃描時間且維持加速前之 SNR(Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 17, 2009)，利用寬頻技術結合 IDEAL，相信能夠將加速 CSI 的研究帶至新的發展方向。

Materials and Methods

一般 MRI 的成像有五個步驟，分別為準備(Preparation)、激發(Excitation)、空間編碼(Spatial encoding)、取像(Acquisition)、後處理(Post-processing)，而前面四個步驟取像完後的資料為 K space，其資料的特性為頻率域(Frequency domain)的訊息，所以在後處理中對所有維度予以傅立葉轉換(Fourier transform, FT)，將其頻率域轉換至空間域(Spatial domain)，便可得到一般所觀察的影像。

化學位移(Chemical shift)是由不同分子結構的鍵結造成，鍵結的電子雲會對旋子(Spin)造成不同程度的遮蔽效應，進而影響旋進頻率(Precession frequency)，所以在頻譜上可以觀察到特定代謝物的訊號會在其對應的頻率出現，由於此頻率的位移(相對於 TMS(化學位移為零))是由於其化學結構造成，故稱化學位移。

CSI 擷取之訊號比一般影像訊號的 K space 多一個維度(K frequency, Kf)，此維度之訊號亦即自由感應衰減(Free induction decay, FID)，各個代謝物之化學位移資訊將存在此維度中，FID 經 FT 後即為頻譜(Spectrum)，代謝物影像乃利用不同代謝物在特定頻譜位置的訊號，對特定頻帶做積分而重組成影像，也因此能同時取

得多種代謝物影像。

一般影像與 CSI 的擷取 K space 方法不盡相同，一般影像之空間編碼與取像同時，其取像時的空間編碼為 FE，而 CSI 在收取時 FID 為避免訊號在 K space 上同時在其他維度上的影響，會關閉所有的梯度(Gradient)，因此其空間編碼皆會採取 PE，而掃描時間公式為 $T=TR \times N_x \times N_y \times N_z \times NEX$ (N_x 、 N_y 、 N_z 為在 x、y、z 上之 PE steps，TR 為重複時間(Time repetition)，NEX 為激發次數(Number of excitation))，所以整體掃描時間在相同幾何參數下，會比一般影像多一個維度 PE steps 的倍數。

不論何種加速 CSI 的脈衝序列改進，皆是在加速 K space 擷取速度，故只要能在 K space 擷取到足夠的維度及大小，該 K space 亦能重組出不同代謝物之影像。傳統 CSI 擷取的 K space 維度的順序為 K_f 、 K_x 、 K_y (以一般 3D CSI 為例，2D 空間，1D 頻譜) 每個 TR 只收取 K_f 維度的訊號。

多梯度回音(Multi gradient echo, MGE)影像收取的 K space 與 CSI 的本質上是相同的，不同回音時間(Echo time, TE)所收的訊號可以視為在 FID 上某一時間點，故在足夠多的 TE 及夠短的回音空隔(Echo spacing)，MGE 擷取之 K space 是與 CSI 相近的(如不納入脈衝序列間的特性)，而 MGE 擷取的 K space 維度的順序為 K_x 、 K_f 、 K_y ，每個 TR 收取 K_x 及 K_f 維度的訊號，所以 MGE 乃利用 FE 取像，其掃描時間為比 CSI 多省去一個維度的 PE steps 的倍數，此外，更可利用寬頻技術加速其影像擷取時間，所以整體掃描時間能夠大幅縮短。

在後處理上除了用傳統方法經 FT 後在頻譜上做積分以外，亦能以 IDEAL 演算法去分離不同代謝物影像，此演算法假設已知所有代謝物之化學位移，故可以降低取樣(down sampling)減少所需的 TE 點數，進而縮短 TR。

Pulse sequence structure

脈衝序列根據不同目的以及填 K space 的方法會有不同的設計，但大致上結構可分為準備(Preparation)、激發(Excitation)、空間編碼(Spatial encoding)、取像(Acquisition)，通常一般影像序列的空間編碼會與取像同時進行以節省時間(以 Fig. 1 之 Fat suppression Gradient echo 為例)。

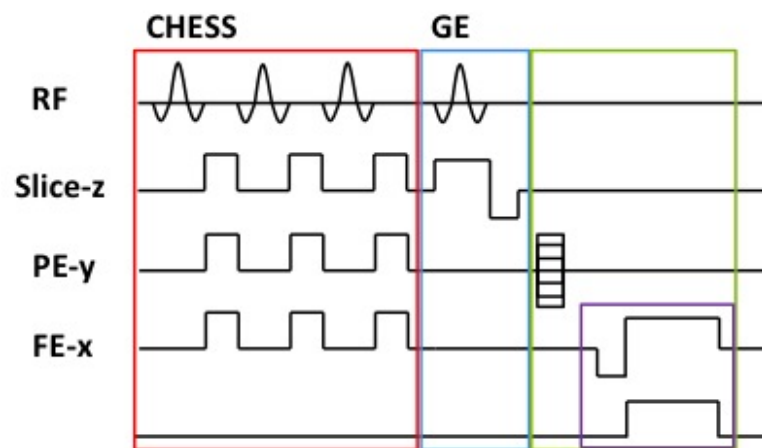


Fig. 1 Fat suppression Gradient echo, preparation (red), excitation (blue), spatial encoding (green), acquisition (purple)

準備步驟中的序列通常是為了取得特殊對比影像或訊號而做設計，而在收取化學位移影像訊號時，由於水的訊號大約為一般代謝物的一萬倍，在準備步驟時需要執行抑制水訊號的序列，現今最常用的方法為 VAPOR(Variable Pulse Power and Optimized Relaxation Delays)，其原理與傳統的 CHESS(Chemical Shift Selective Suppression)相近，皆是針對欲抑制的化學位移激發，接著開啟擾流梯度(Spoiler gradient)將訊號擾散以達到抑制效果，而 VAPOR 又加入 180 度的脈衝利用逆回復(Inversion recovery)的原理針對特定 T1 做抑制，藉以降低對磁場不均勻(Field inhomogeneity)的敏感度。

激發一般分為單純 90 度脈衝激發或再加上 180 度聚焦脈衝(Refocusing pulse) 聚焦，前者優點為可收取到短 TE 訊號，但會累積場不均勻而造成的 T2* 衰減效應 (T2* decay)，後者則是將場不均勻所造成的訊號衰減聚焦回來，但因其中間多一個脈衝的關係，其 TE 通常無法縮很短。

空間編碼分為相位編碼(PE)與頻率編碼(FE)，兩者原理都是利用外加梯度磁場在一定時間內所累積的相位在 K space 中做編碼，差異在於 PE 是在收訊前預先累積相位，FE 則是一邊收取訊號一邊累積相位。兩者在 K space 上主要是影響填寫訊號的位置，所以填 K space 的軌跡(Trajectory)可以經由編碼梯度的開啟與關閉來設計。FE 由於是同時編碼及收訊，所以為了使訊號中心在 K space 中心，必須先開啟一個聚焦梯度(Refocusing gradient)使其相位聚焦在 K space 中央，但其效果不同於聚焦脈衝，聚焦脈衝會將所有造成相位累積的效應都聚焦，聚焦梯度只聚焦外加梯度所造成的相位。

取像則是開啟數位轉換器(Analog to Digit Converter, ADC)收訊號，其過程可以與 FE 同步以節省時間，而訊號在 K space 的 Kf 的維度上會隨著時間不停推進，與任何外加梯度磁場無關，而通常取像時間(Acquisition time)因為頻寬(Bandwidth)夠高，其時間是短到足以忽略單一取像窗(Acquisition window)在 Kf 軸上的相位累積。

Pulse sequence feature

一般 CSI 脈衝序列(見 Fig. 2)是針對代謝物掃描，所以會在激發前先以 VAPOR 抑制掉大部分的水訊號，然後利用 Spin echo 激發單張切面產生訊號，並在 90 及 180 度脈衝中間加入 PE 的梯度磁場，使空間訊號展開，得以編碼填進 K space 的特定位置，最後在聚焦時間點開啟 ADC 收取訊號。掃描時間受到 TR、PE steps、NEX 決定，而 CSI 其 PE steps 的維度比相同幾何參數的一般影像序列多一個維度，此為 CSI 掃描時間冗長的主因。

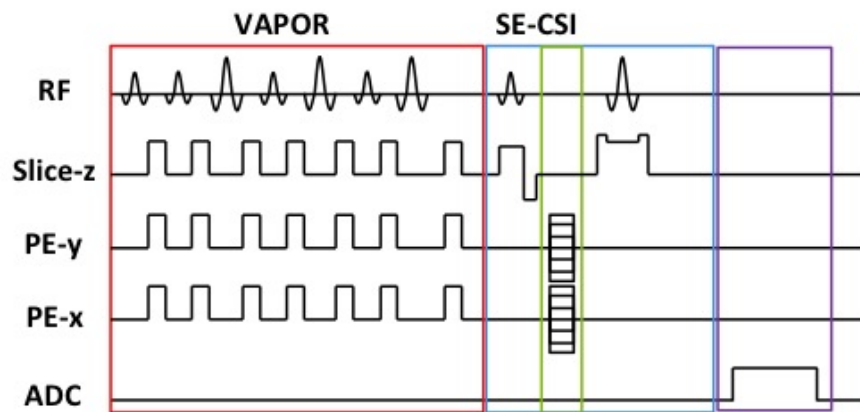


Fig. 2 Spin Echo-CSI (SE-CSI)

MGE 脈衝序列所收之 K space 性質與 CSI 相同，故欲收取代謝物訊號亦需將水訊號抑制，所以其脈衝序列需要在準備步驟中加入 VAPOR(見 Fig. 3)，在抑制水訊號後便以 90 度脈衝激發單一切面(以 2D 掃描為例)，與 spin echo 不同的是訊號會以 T_2^* 而非 T_2 衰減，故訊號衰減速度會較快，激發完後接著開啟空間編碼低度磁場，首先會先開啟 PE 梯度決定 K_y 位置，接著開啟 FE 並收取訊號填入 K_x 取像，且緊接著開啟相反大小的梯度磁場繼續 FE 收取訊號取像，以此收取多的回音列 (Echo train) 的訊號， K_f 的維度上會隨著時間不停推進，與任何外加梯度磁場無關，此 echo train 可視為不停的在 K space 上的 K_f 軸填入訊號，其填法等於是沿著 K_x

方向填完一條 K 線(K line)，接著往下一個 Kf 的時間點在 Kx 方向填 K line。因此 MGE 與 CSI 的掃描時間在相同幾何參數下，會快一個維度的 PE steps 倍數。

寬頻技術可以在 PE 的梯度磁場做修改，加速 PE 方向的擷取速度，降低 Ky 維度所需花費的 PE steps，使脈衝序列在 FE 取像時，可以同時收取下一個 Ky 位置的 K line，但實際上加入額外的梯度磁場做寬頻加速，實際上必須考量此梯度磁場造成場不均勻，使 T2* decay 速度加快，相位累積變快，因此需要針對此問題再做脈衝序列的修改。

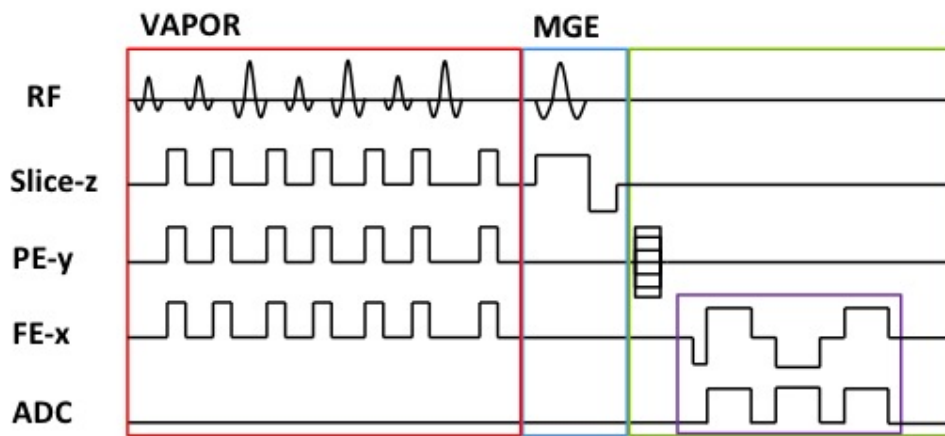


Fig. 3 Multi Gradient Echo (MGE) with VAPOR

K space trajectory

不同脈衝序列所填的 K space 的軌跡(Trajectory)是有所差異的，也因此會影響到掃描時間的長短，所以 trajectory 的設計及其取像效率是加速 CSI 的關鍵之一。

CSI 的 trajectory(見 Fig. 4，對應至 Fig. 2 之脈衝序列)是每個 TR 只填一條 K line(Kf 軸向)，接著依序填進 Kx 及 Ky 的位置(由 PE 之梯度磁場決定)，故根據其填法，掃描時間之公式為 $T=TR \times N_x \times N_y \times NEX$ 。

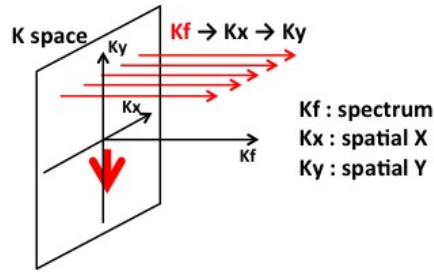


Fig. 4 K space trajectory of SE-CS

MGE 的 trajectory(見 Fig. 5，對應至 Fig. 3 之脈衝序列)是每個 TR 先填一條 K line(Kx 軸向)，接著往下一個 Kf 的時間點在 Kx 方向反向回填 K line，接著在下一個 TR 依序填進 Ky 的位置(由 PE 之梯度磁場決定)，故根據其填法，掃描時間之公式為 $T=TR \times Ny \times NEX$ 。由此可觀察到 MGE 在每個 TR 會填進 Kx-Kf 平面，其填寫效率比 CSI 高一個 Kx 的維度，所以在脈衝序列上的就可以應用於加速傳統 CSI。

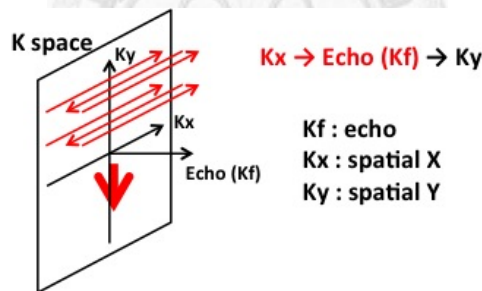


Fig. 5 K space trajectory of MGE

寬頻技術可直接加於一般影像的脈衝序列，使 trajectory 的擷取效率提高，在單一 TR 內填一條 K line(Kx 軸向)，接著利用寬頻技術繼續在同一條 K line 上受取下一個 Ky 位置上的 K line，然後在下一個 Kf 的時間點往 Kx 方向反向回填 K line，以此方法可以增加 trajectory 在 PE 的收取效率，但是寬頻技術會造成 K space 的形變，使得 trajectory 填寫訊號時會增加 Kf 軸上的誤差以及拉長最小 echo spacing，因此寬頻技術未來需要在這方面做最佳化以取得平衡。

而在實際面的脈衝序列設計上，必須考量 trajectory 與實際擷取 K space 之間的差異性，由於梯度磁場在開啟與關閉時，線圈本身有充放電延遲的問題，其梯度升降(ramp up & down)會造成相位累積的誤差，所以聚焦梯度本身的聚焦準確性便會下降，此一現象會沿著 Kf 軸不斷累積，使得每個 echo spacing 會不相等(unequal echo spacing)，也就是造成設定的 echo train 與實際的 echo train 會有偏差，所以必須透過修改機器梯度磁場以及後處理校正 echo train 來補償誤差，前著是在機器上微調聚焦梯度磁場大小及梯度磁場校正設定，後著是利用程式找出每一條 K line 最大值的位置(實際聚焦點，一般聚焦點設在正中心)，計算其與正中心的位移來反推實際 TE。

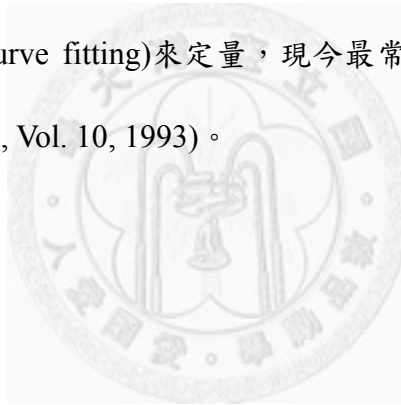
然而 trajectory 除了要校正實際填寫 K space 的位置外，還必須考量取樣點的密度，特別是 Kf 軸上的點與點的間距，亦即 echo spacing，也就是在 Kf(也可視為 FID)上的取樣頻率(Sampling rate)，不論是 FT 或者是 IDEAL 演算法去分離代謝物，根據取樣理論(Sampling theorem)，取樣頻率都必須大於代謝物化學位移頻率的兩倍，亦即 echo spacing 必須小於代謝物與水之間累積相位還未超過 180 度，以防止訊號的摺疊(Aliasing)。

實際上在設定 echo spacing 時，會碰到硬體已達極限但還是無法取得足夠小的 echo spacing，所以在實驗的作法上可以採用分離法(Segmentation)，例如將所需的 echo train 分成奇數位以及偶數位的 echo train 兩次取得，如此一來將可以用兩倍的 echo spacing 取得原本一倍 echo spacing，以此降低對硬體的負荷及提高梯度磁場的穩定度。此時被分為兩個 train 的第一個 echo 的 TE 就必須謹慎選擇，若兩者第一個 echo 的間距不等於 echo spacing，會造成非等回音間距(Unequal echo spacing)，Unequal echo spacing 本身會造成取樣點不均勻(Sampling heterogeneously)，此一現

象會使有效頻寬大於原本取樣頻率的頻寬，但是其頻率響應會因此造成不均勻的問題，會分別使高、低頻的頻率響應比中頻高，因此會使演算法所分離的 frequency component 受到影響而失真，所以在設定第一個 echo 的 TE 必須計算精準及調整。

IDEAL algorithm

一般 CSI 分離代謝物的方法乃是利用 FT 轉換 K space，藉以得到不同空間位置上的頻譜，針對各個頻譜做相位校正(Phase correction)，去除 background field 所累積的相位，接著再做基線校正(Baseline correction)，去除殘存水訊號的影響，最後取其實部訊號(Real part signal)處理。CSI 是利用頻譜的實部訊號針對不同代謝物訊號位置，做曲線擬合(Curve fitting)來定量，現今最常用的定量軟體為 LC model (Stephen Provencher, MRM, Vol. 10, 1993)。



然而除了在頻譜上 fitting，也可以從 FID 做 fitting，IDEAL 的作法即是在 FID 上做 fitting，不同於 FT 後做 fitting，在 FID 做 fitting 必須先得知所有頻率組成 (Frequency component, 亦稱化學物種, Chemical species), 然後利用已知的 frequency component 去做線性組合與實際訊號 fitting，回推各個代謝物的原始訊號大小，實際訊號的大小 (Magnitude) 由各代謝物及水組合而成，並受 T2* 效應影響 (以 MGE 為例)，但相位則除了各代謝物之化學位移影響，更受 background field 影響，將訊號隨時間變化寫成式子為：

$$S(TE) = \left(\sum_j \rho_j e^{i2\pi f_j TE} \right) e^{i2\pi\psi TE} e^{-\frac{TE}{T_2^*}}$$

S : acquired signal
j : jth chemical species
ρ : chemical species signal
f : chemical shift
ψ : background field

Least square error =

$$|S_{acq.} - S_{fit}(\rho, \psi, T_2^*)|^2$$

所以在實際作法上便是利用最小化實際訊號與 fitting 訊號的誤差來逼近各個代謝物的原始訊號大小，此外亦可獲得 background field 及 T2* map 的影像，而在疊代的演算法當中，我們假設所有 chemical species 的 T2* 都相通，此乃我們在實際收取訊號時，是擷取位於 T2* decay curve 的前端，所以此時個代謝物之間尚未因 T2* 而產生對比，故可忽略此誤差。

目前程式來源為 ISMRM 2012 Water and Fat Separation Workshop 所提供的 toolbox，使用的演算法為 Hernando 所提出的 Graphcut fitting，其演算法主要為計算適當的 background field 當做初次猜測(Initial guess)使 fitting 過程避免掉進錯誤的局部最小值(Local minimum)，以增加運算的速度及準確度。

Experiment overview

整體實驗分為驗證實驗及活體實驗兩部分。驗證實驗包含程式驗證、MGE 水脂肪分離實驗、WBMGE 水脂肪分離實驗、WBMGE 脈衝序列外加 VAPOR 測試、WBMGE-WS 高濃度代謝物假體實驗、WBMGE-WS 低濃度代謝物假體實驗，活體實驗包括 MGE 膝蓋水脂肪分離實驗、WBMGE 膝蓋水脂肪分離實驗、WBMGE 大腦水脂肪分離實驗、WBMGE-WS 大腦代謝物影像分離實驗。(見 Fig. 6)

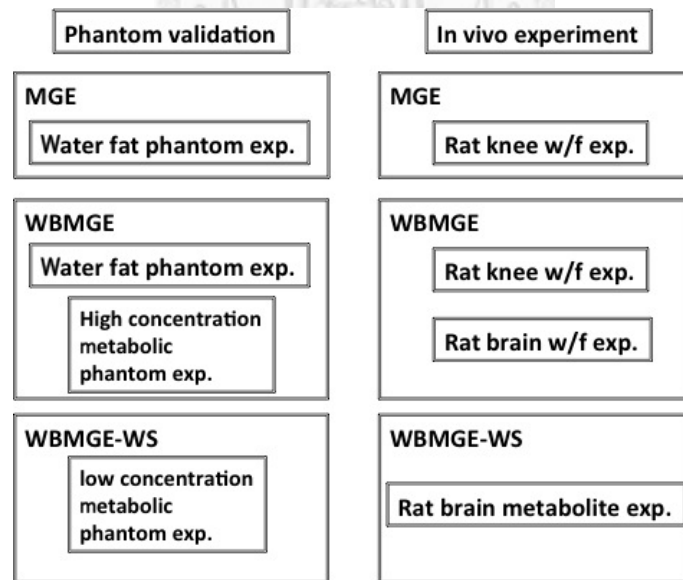


Fig. 6 Experiment list

實驗過程中需要注意的是 shimming 的步驟，雖然 background field 在演算法中有考慮進去 fitting 的參數中，但實際上 background field 的影響過大會使演算法疊代失敗，故實驗上若是 shimming 良好，能提高疊代正確性與運算速度。

Recent results

目前已在 Bruker animal 7T MRI 上初次掃描過大鼠膝蓋，並且利用 toolbox 分離水及脂肪影像(見 Fig. 7)。

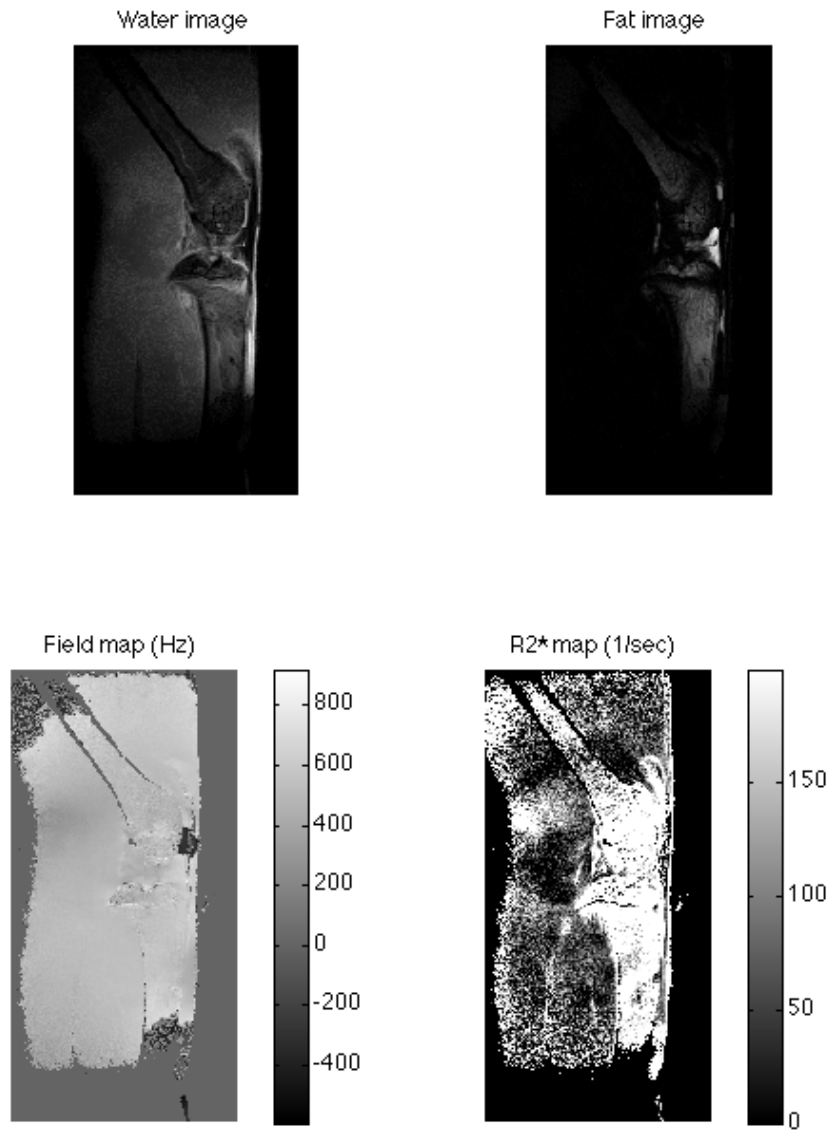


Fig. 7 由 MGE 獲得之分離影像，包括水影像、脂肪影像、Field map、R2* map，

參數：TR/TE = 250 / [2.0 2.3 2.6 2.9 3.3 3.6] ms，FOV = 1.6*3.2 cm，Matrix size =

128*256，Threshold = 0.1。

由分離影像可以看到水與脂肪影像的分布是合理的，水影像的訊號主要分布在整個機關節周遭的肌肉，脂肪影像的訊號主要分佈骨頭內填充骨髓腔，並且在膝蓋骨處有一塊脂肪板。

但可以從 Field map 上看到整體分布是均勻的，惟其關節處的磁化率變化可能過大，造成演算法在此會疊代錯誤，但而對照回水及脂肪的分離影像也可以發現此處的分離是有問題的，分離錯誤的部分的訊號都集中在水影像，因此可能要再對該部分更進一步做 local shimming，此外 field map 的的數值大約落在 400~800 Hz 附近，此部分可能需要做進一步的確認，而 $R2^*$ map 的分布趨勢是合理的，在骨頭中的骨髓腔本身的 $R2^*$ 是較強的也因此訊號衰減速度是很快的，與原始影像的趨勢是相同的，但對比不佳，需要再做城市的最佳化，此外也需要再另外掃描 in-phase $R2^*$ map 做驗證。



Future work

現階段狀況需要先做 MGE 的聚焦梯度的聚焦準確性校正，確定整個 echo train 的聚焦位置是一致的，並且在 echo train 的末端的 echo 聚焦中心位在 K line 中央，再來是假體實驗以驗證分離及定量之能力，而脈衝序列部分已修改完成，尚需測量脈衝序列是否與修改前能產生相同影像，以及抑制水訊號之效果。

未來活體實驗部分，可以與傳統 CSI 做比較，在相同幾何參數的條件下，比較代謝物影像之分佈以及其定量大小是否有相同趨勢及訊號大小。

REFERENCES

- [1] 行政院衛生署統計室民 100 年死因統計年報
- [2] Thomas S. Curry III, James E. Dowdey, Robert C. Murry Jr., Christensen's Physics of Diagnostic Radiology, 1990
- [3] Paul E. Christian, Kristen M. Waterstream-Rich, Nuclear Medicine and PET/CT Technology and Techniques, 2007
- [4] Energy vs. Applied magnetic field. Available: <http://chemwiki.ucdavis.edu/>
- [5] I. Tkac, Z. Starcuk, I.-Y. Choi, R. Gruetter, In vivo ^1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 msec echo time, *Magn. Reson. Med.*, 41 (1999), pp. 649–656
- [6] PRESS voxel selection sequence. Available: <http://www.imaios.com/en/e-Courses/e-MRI/Magnetic-Resonance-Spectroscopy-MRS/single-voxel-spectroscopy>
- [7] Van Meir, E. G.; Hadjipanayis, C. G.; Norden, A. D.; Shu, H. K.; Wen, P. Y.; Olson, J. J.. Exciting New Advances in Neuro-Oncology: The Avenue to a Cure for Malignant Glioma. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **60** (3): 166–93
- [8] D.P. Soares; M. Law. Magnetic resonance spectroscopy of the brain:review of metabolites and clinical applications.*Curr Top Behav Neurosci.* 2011 Nov 11
- [9] M Lacroix, D Abi-Said, DR Fourny et al., "A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival", *J Neurosurg*, 95 2001, pp. 190–198
- [10] Lawson, H. Christopher; Sampath, Prakash; Bohan, Eileen; Park, Michael C.; Hussain, Namath; Olivi, Alessandro; Weingart, Jon; Kleinberg, Lawrence et al.. Interstitial chemotherapy for malignant gliomas: the Johns Hopkins experience. *Journal of Neuro-Oncology.* 2006, 83 (1): 61–70

- [11] Grobben B, De Deyn PP, Slegers H. Rat C6 glioma as experimental model system for the study of glioblastoma growth and invasion. *Cell Tissue Res.* 2002 Dec;310(3):257-70
- [12] Good and bad shimming of FID. Available:
[http://en.wikipedia.org/wiki/Shim_\(magnetism\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Shim_(magnetism))
- [13] Brizel DM, Schroeder T, Scher RL, Walenta S, Clough RW, Dewhirst MW, Mueller-Klieser W. Elevated tumor lactate concentrations predict for an increased risk of metastases in head-and-neck cancer., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001; 51: 349–353
- [14] Dminique Marion; Mitsuhiko Ikura; Ad Bax. Improved Solvent Suppression in One- and Two-DimensionalNMR Spectra by Convolution of Time-*Domain* Data. *Journal of Magnetic Resonance*, 84,425-430(1989)
- [15] Lowry OH, Berger SJ, Chi MM, et al. Diversity of metabolic patterns in human brain tumor. High energy phosphate compounds and basic composition. *J Neurochem*, 1977;29: 959-77
- [16] Remy C, Von Kienlin M, Lotito S, Francois A, Benabid AL, Decorps M. In vivo ¹H NMR spectroscopy of an intracerebral glioma in the rat. *Magn Reson Med.* 1989 Mar;9(3):395-401
- [17] Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA, Stubbs M, Saunders DE, Murphy M, Wilkins P, Opstad KS, Doyle VL, McLean MA, Bell BA, Griffiths JR. Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med.* 2003 Feb;49(2):223-32
- [18] McKnight TR. Proton magnetic resonance spectroscopic evaluation of brain tumor metabolism. *Semin Oncol.* 2004 Oct;31(5):605-17
- [19] Furuya S, Tabata T, Mitoma J, Yamada K, Yamasaki M, Makino A, Yamamoto T,

- Watanabe M, Kano M, Hirabayashi Y, L-serine and glycine serve as major astroglia-derived trophic factors for cerebellar Purkinje neurons. *Proc Natl Acad Sci.USA* 97:11528–11533
- [20] Li X, Jin H, Lu Y, Oh J, Chang S, Nelson SJ. Identification of MRI and ¹H MRSI parameters that may predict survival for patients with malignant gliomas. *NMR Biomed.* 2004 Feb;17(1):10-20
- [21] Provencher S. W., Automatic quantitation of localized in vivo ¹H spectra with LCModel. *NMR Biomed.* 2001 Jun;14(4):260-4.
- [22] Pohmann R, von Kienlin M, Haase A., Theoretical evaluation and comparison of fast chemical shift imaging methods, *J Magn Reson.* 1997 Dec;129(2):145-60.
- [23] Gagoski A. B., Spiral chemical shift imaging at 3T using 32 channel receive array and online reconstruction. *Prilozi.* 2010 Dec;31(2):135-49.
- [24] Scott B. Reeder, Zhifei Wen, Huanzhou Yu, Angel R. Pineda, Garry E. Gold, Michael Markl, Norbert J. Pelc, Multicoil Dixon chemical species separation with an iterative least-squares estimation method. *Magn Reson Med.*2004. vol. 51, p.35-45
- [25] Wiesinger F., Weidl E., Menzel M.I., Janich MA, Khagai O., Glaser S.J., Haase A., Schwaiger M., Schulte R.F., IDEAL spiral CSI for dynamic metabolic MR imaging of hyperpolarized [1-¹³C]pyruvate. *Magn Reson Med.* 2012 Jul;68(1):8-16.
- [26] E. L. Wu, J-H. Chen, T-D. Chiueh, Wideband MRI: A New Dimension of MR Image Acceleration. *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 17, 2009