DOI:10.16016/j.1000-5404.202101113

使用7.0T MRI信号强度比和扩散张量成像定量分析小鼠脱髓鞘模型的研究

丁 爽,杜思霖,祝琦源,严子淳,李咏梅,曾 春 400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院放射科

[摘要] **目的** 用7.0 T MRI扫描改良双环己酮草酰二腙(cuprizone, CPZ)小鼠多发性硬化(multiple sclerosis, MS)脱髓鞘模型,探讨信号强度比(signal intensity ratio, SIR)联合扩散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)定量检测和分析小鼠MS模型灰、白质脱髓鞘的价值。**方法** 20只小鼠使用随机数字表法分为实验组(n=10)及对照组(n=10),分别使用CPZ-羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMCNa)悬浊液及0.5% CMCNa溶液灌胃6周后,在7.0T MRI上对两组小鼠行T_1WI及T_2WI扫描,在空间配准后计算SIR,同时行DTI扫描获取各向异性分数(fractional anisotropy, FA)、平均扩散率(mean diffusivity, MD)等扩散张量参数,并行脑组织病理染色。选择胼胝体(corpus callosum, CC)、双侧大脑皮层(cortex, CTX)、双侧丘脑(thalamus, THA)及双侧海马体(hippocampus, HIP)为感兴趣区(regions of interest, ROI),比较两组SIR、FA、MD及病理染色平均灰度值(mean grayscale value, MGSV)的差异,并行影像及病理参数的两两相关分析及线性拟合。**结果** 与对照组相比,实验组小鼠CC呈明显脱髓鞘改变,SIR及FA值显著降低(P<0.05),而MD值差异无统计学意义,病理MGSV显著升高(P<0.05);其余部位两组SIR、FA、MD值及病理MGSV比较差异均无统计学意义。相关性分析显示SIR、FA值均与MGSV呈负相关,且$|r_{SIR}|>|r_{FA}|$。**结论** 利用SIR联合DTI可以定量评估MS模型白质脱髓鞘改变。

[关键词] 磁共振成像;信号强度比;扩散张量成像;多发性硬化;脱髓鞘;Cuprizone模型

[中图法分类号] R-332; R445.2; R744.51 [文献标志码] A

Quantitative analysis of demyelination mouse model using signal intensity ratio and diffusion tensor imaging at 7.0 Tesla MRI

DING Shuang, DU Silin, ZHU Qiyuan, YAN Zichun, LI Yongmei, ZENG Chun Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To assess the value of combined signal intensity ratio (SIR) and diffusion tensor imaging (DTI) measured at 7.0 T MRI in quantitative detection and analysis of gray and white matter demyelination in the modified cuprizone (CPZ)-induced mouse model of multiple sclerosis (MS). **Methods** A total of 20 mice were randomly divided into experimental group (n=10) and control group (n=10), and were intragastrically administrated with CPZ-carboxymethyl cellulose sodium (CMCNa) suspension and 0.5% CMCNa solution, respectively. In 6 weeks after administration, the mice of both groups were given T_1WI and T_2WI scanning on 7.0 T MRI, and the SIR value was calculated by linear registration of T_1WI and T_2WI. Besides, DTI scanning was also conducted in both groups to obtain the diffusion parameters such as fractional anisotropy (FA) and mean diffusivity (MD). Moreover, pathological observation was performed on cerebral

[基金项目] 重庆市卫健委医学科研青年项目(2018QNXM004)

[通信作者] 曾 春,E-mail: zengchun19840305@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

tissues after Luxol fast blue staining for mean grayscale value (MGSV). Then corpus callosum (CC), bilateral cerebral cortex (CTX), bilateral thalamus (THA), and bilateral hippocampus (HIP) were selected as the regions of interest (ROI). SIR, FA, MD and MGSV of above regions were subsequently compared between the experimental and control groups. Finally, pairwise correlation analysis and linear fitting were carried out on the MRI metrics and pathological parameters. **Results** As compared with the control group, the CC region in the experimental group showed significant demyelinating changes, with lower SIR and FA values and higher MGSV ($P<0.05$), while the MD value showed no statistical significance ($P>0.05$). However, in terms of other cerebral regions, there were no significant differences between the 2 groups in SIR, FA, MD and MGSV values ($P>0.05$). Correlation analysis suggested that both SIR and FA values were negatively correlated with MGSV, with $|r_{SIR}|>|r_{FA}|$. **Conclusion** SIR combined with DTI can quantitatively evaluate the demyelination changes of white matter in MS model.

[**Key words**] magnetic resonance imaging; signal intensity ratio; diffusion tensor imaging; multiple sclerosis; demyelination; cuprizone model

Supported by the Youth Medical Research Project of Chongqing Health Commission (2018QNXM004). Corresponding author: ZENG Chun, E-mail: zengchun19840305@163.com

多发性硬化(multiple sclerosis,MS)是中枢神经系统最常见的自身免疫性炎性脱髓鞘疾病,具有典型的灰、白质髓鞘丢失等特点[1]。常规 MRI 如 T_1WI 及 T_2WI 虽可作为 MS 非生物学特异性的定性依据[2],但难以对病灶进行客观定量分析。近年来,有学者提出 T_1W/T_2W 即信号强度比(signal intensity ratio,SIR)可作为衡量脑组织灰、白质髓鞘髓磷脂的生物学特异性候选指标[3]。同时,扩散张量成像(diffusion tensor imaging,DTI)可敏感检测脑组织灰、白质微观结构的完整性,评估组织受损改变[4-5]。因人脑 MS 病理组织难以获得,对于 MR 多参数定量评估髓鞘含量结果缺乏组织病理学结论支持,而小鼠双环己酮草酰二腙(cuprizone,CPZ)诱导模型能够模拟 MS 典型脱髓鞘病理机制[6-7];由于 3.0T MRI 对小鼠脑结构等较小体积的组织存在分辨率不足及图像对比度较低等问题,本研究使用具有更高空间分辨率及更高图像对比的超高场 7.0T MRI 对 CPZ 模型行 T_1WI、T_2WI 及 DTI 序列扫描,通过仿射变换线性配准图像空间的方式获取 SIR 图,结合 DTI 扩散张量参数并通过病理组织学验证,定量分析 CPZ 模型脱髓鞘组织和正常组织的差异,同时行影像与病理指标相关性分析及线性拟合,以期提供 SIR 联合 DTI 检测 MS 脱髓鞘的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物模型

动物实验及相关研究符合国家《实验动物管理条例》,并获得重庆医科大学动物伦理委员会批准[2019 年科研伦理(2019-065)号]。实验动物使用重庆医科大学实验动物中心提供的无特定病原体级 6~8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠(共 20 只),以随机数字表法分为对照组($n=10$)及实验组($n=10$)。所有动物饲养于重庆医科大学实验动物中心独立通气笼具,维持 12 h 昼夜循环及 24 ℃室温。小鼠适应环境 1 周后开始实验。

适应结束后,实验组小鼠使用 CPZ 与羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMCNa)均匀混合后配置的 CPZ-CMCNa 悬浊液连续灌胃 6 周以诱导脱髓鞘。具体做法参照 ZHEN 等[7]的方法,即按照含 0.2%质量分数(CPZ/总饲料质量)的 CPZ 饲料喂养小鼠所需剂量进行换算及剂量优化,将 400 mg/kg CPZ(Sigma-Aldrich 公司, 美国)加入 0.5% CMCNa (Solarbio 公司,北京)溶液中,使用超声振荡仪振荡为均质悬浊液,再按照造模所需最低安全摄入量(10 mL/kg)对实验组小鼠进行每日 1 次、连续 6 周的强饲灌胃。对照组小鼠使用 0.5%CMCNa 溶液以相同剂量连续灌胃 6 周。造模结束后,两组小鼠分别进行 7.0T MRI 扫描及病理取材。造模期间观察并记录小鼠一般情况及体质量变化。

1.2 7.0T MR 扫描

MR 扫描采用陆军军医大学大坪医院放射科 Bruker 7.0T 小动物磁共振仪(Bruker BioSpec USR 70/20,Paravision 6.0.1,德国)。小鼠使用 4%异氟烷气体

麻醉以后,采用四通道头部线圈进行头部定位扫描,并行 T_1WI、T_2WI 及 DTI 扫描。扫描参数如下,①T_1WI(RARE 序列):RARE factor=4,TR=693.0 ms,TE=6.0 ms,翻转角 90°,FOV =25 mm×25 mm,矩阵 256×256,层厚 0.6 mm,层数=22,扫描时间 10 min;②T_2WI(TurboRARE 序列):RARE factor=6,TR=3 000 ms,TE=45 ms,翻转角 90°,FOV=25 mm×25 mm,矩阵 256×256,层厚 0.6 mm,层数=22,扫描时间 10 min;③DTI(EPI 序列):TR=3 000 ms,TE=40 ms,FOV=20 mm×20 mm,矩阵 128×128,层厚 1.0 mm,层数=22,b 值=0、800 s/mm^2,取 30 个不同方向,扫描时间 30 min。各组扫描期间使用 1.5%异氟烷持续麻醉,并使用生命检测仪监测生命体征。两组扫描方法及扫描参数一致。

1.3 MR 图像后处理及计算

对于 SIR 的处理,首先使用 ITK-snap 软件(http://www.itksnap.org/;ITK-snap,v3.8.0)对同一只小鼠的 T_1WI 及 T_2WI 分别手动制作脑组织掩模,再使用 FSL 软件(https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/;FMRIB Software Library,v5.0.10)分别对小鼠 T_1WI 及 T_2WI 图像计算掩模去除颅骨及脑外组织,提取脑组织图像;然后通过仿射变换将去除脑外组织的 T_1WI 图像线性配准到同样去除脑外组织后的 T_2WI 图像,使得两者空间对齐,再使用 fslmaths 程序根据公式(SIR=T_1W/T_2W)得到 SIR。对于 DTI 图像,则使用 FSL 进行头动矫正及扩散梯度方向矫正预处理,获得 b0 相及基于 b0 相的脑组织掩模,并使用 FSL Diffusion Toolkit 程序计算各向异性分数(fractional anisotropy,FA)及平均扩散率(mean diffusivity,MD)。

最后在获得的 SIR 图、b0 相上使用基于感兴趣区(regions of interest,ROI)的方法提取各脑区 SIR 值及 FA 值、MD 值。ROI 的勾画由 1 名 5 年以上 MR 研究经验的医师重复进行 3 次勾画,并由另 1 名 10 年以上 MR 研究经验的医师进行复核。由于序列分辨率不同,各 ROI 在 SIR 图及 b0 相的体积不会完全一致,参照小鼠标准立体定位解剖图谱,在 SIR 图及 b0 相上选取最大病灶层面及相邻两层图像手动勾画胼胝体(corpus callosum,CC)、双侧大脑皮层(cortex,CTX)、双侧丘脑(thalamus,THA)以及双侧海马体(hippocampus,HIP),并使用 fslmaths 程序计算各参数图 ROI 内的 SIR 值、FA 值及 MD 值。各序列所选 ROI 体积见表 1。所有数据测量重复 3 次并取平均值。

表 1 SIR 及 b0 相不同脑区 ROI 的体积(mm^3)

指标	CC	CTX	THA	HIP
SIR	1.5	8.5	6.5	4.0
b0	0.8	8.0	5.8	3.4

CC:胼胝体;CTX:双侧大脑皮层;THA:双侧丘脑;HIP:双侧海马体

1.4 实验动物脑组织提取与病理学染色

小鼠扫描后使用过量异氟烷气体深度麻醉,手术暴露心脏,穿刺心尖并剪开右心耳,依次泵入 150 mL 磷酸缓冲盐溶液及 150 mL 4%多聚甲醛溶液冲洗血液及内固定组织。内固定完成后,立即剥除颅骨并取出完整的脑组织,然后在 4%多聚甲醛溶液外固定 48 h,后续采用酒精梯度脱水及石蜡包埋。基于 MRI 图像结果对照,在距离前囟-1.0 mm 处以 5 μm 厚度进行连续切片,将切片脱蜡、水化后,使用预热 8 h 至 60 ℃的牢固蓝染液(luxol fast blue,LFB;Sigma-Aldrich 公司,美国)进行髓鞘染色 6 h,并使用伊红染液复染 5 min。完成染色后使用酒精梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。

1.5 病理指标分析

使用 Axioscope5 显微镜(Carl Zeiss 公司,德国)对小鼠切片以相同光学参数进行×100 倍拍摄,并使用 Fiji 软件(https://imagej.net/Welcome;ImageJ Fiji,Java 8)将图像转换为 8-bit 灰度图像后,对照在线小鼠脑组织病理学图谱(http://mouse.brain-map.org/static/atlas/),按照上述 ROI 对每只小鼠脑组织切片进行逐张勾画,使用软件内置算法矫正面积并计算各小鼠 LFB 染色灰度图中各 ROI 的平均灰度值(mean grayscale value,MGSV)。

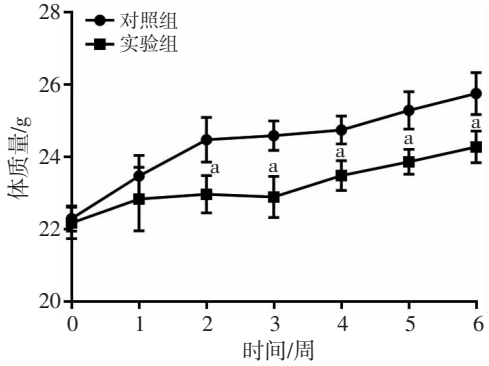
1.6 统计学分析

使用 SPSS 24.0 统计软件。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间差异比较采用独立样本 t 检验,并使用 Pearson 相关分析(采用单尾检验)对各影像指标及 MGSV 进行两两相关性分析及线性拟合。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

造模期间,对照组小鼠体质量正常增加,未见明显神经病学异常改变。实验组小鼠随着造模时间延长,体质量先缓慢增加,2~3 周下降,然后再继续增长,体质量增长较对照组滞后;小鼠精神逐渐萎靡,活动度降低,部分严重个体偶见拒食现象,但无其他明显神经病学症状改变(图 1)。实验期间未出现小鼠个体死亡。



<1 周为适应期;1~6 周为实验阶段;a:$P<0.05$,与对照组比较

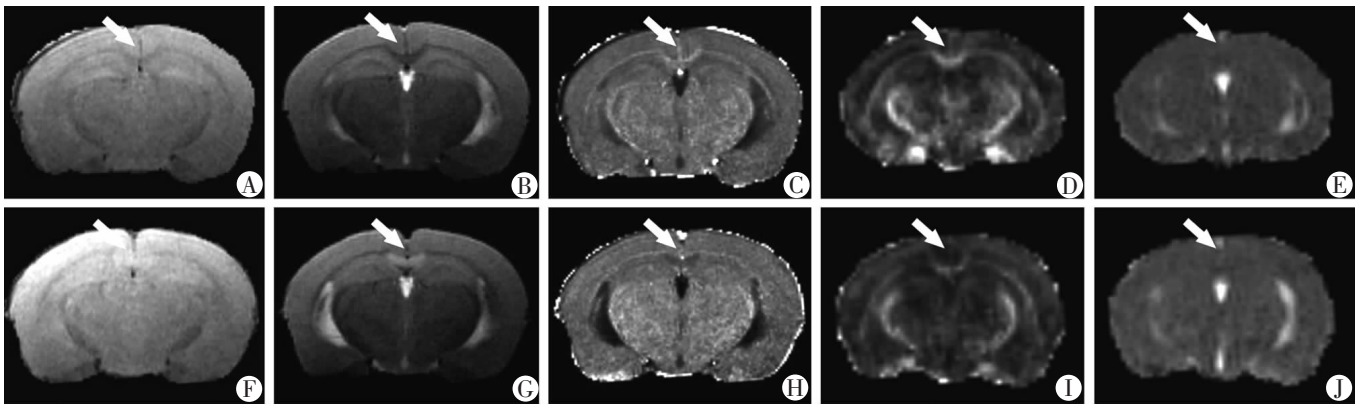
图 1 对照组与实验组小鼠体质量变化

2.2 7.0T MRI 图像结果与参数比较

对照组常规MRI CC呈弓形,T_1WI为稍低信号(图 2A),T_2WI 为低信号(图 2B),而 SIR 为高信号(图 2C),在 FA 图(图 2D)和 MD 图(图 2E)形态、信号均未见明显异常。实验组 CC 呈月牙形,T_1WI 为稍高/等信号(图 2F),T_2WI 为高信号(图 2G),而 SIR 为明显低信号(图 2H),FA 图可观察到白质纤维破坏且形态不规整(图 2I),MD 图肉眼未见明显异常表现(图 2J)。有趣的是,实验组 CTX、THA 及 HIP 等各图像均未见明显异常信号、形态改变。

与对照组 SIR 比较,实验组 CC 的 SIR 值显著降低($t=4.167$,$P<0.01$),而 CTX、THA 及 HIP 等的 SIR 值差异无统计学意义(表 2)。

与对照组 DTI 扩散张量参数比较,实验组 CC 的 FA 值显著降低($t=2.916$,$P<0.01$),而 CTX、THA 及 HIP 等的 FA 值差异无统计学意义。两组 CC、CTX、THA 及 HIP 等的 MD 值差异均无统计学意义(表 3)。



A~E:对照组小鼠 MRI 图像,全脑未见明显异常信号改变;A:T_1WI,正常组织胼胝体呈稍低信号(箭头示);B:T_2WI,正常组织胼胝体呈低信号(箭头示);C:SIR 图,正常组织胼胝体呈高信号(箭头示);D:FA 图,正常组织胼胝体形态,结构完整(箭头示);E:MD 图,全脑未见明显异常信号改变(箭头示);F~J:实验组小鼠 MRI 图像,与对照组相比,胼胝体呈现异常信号变化;F:T_1WI,病变胼胝体呈稍高/等信号(箭头示);G:T_2WI,病变胼胝体呈高信号(箭头示);H:SIR 图,病变胼胝体呈低信号(箭头示);I:FA 图,病变胼胝体结构破坏(箭头示);J:MD 图,病变胼胝体未见明显异常信号改变(箭头示)

图 2 对照组与实验组 MR 图像

表 2 对照组与实验组各 ROI 的 SIR 值比较($\bar{x}\pm s$)

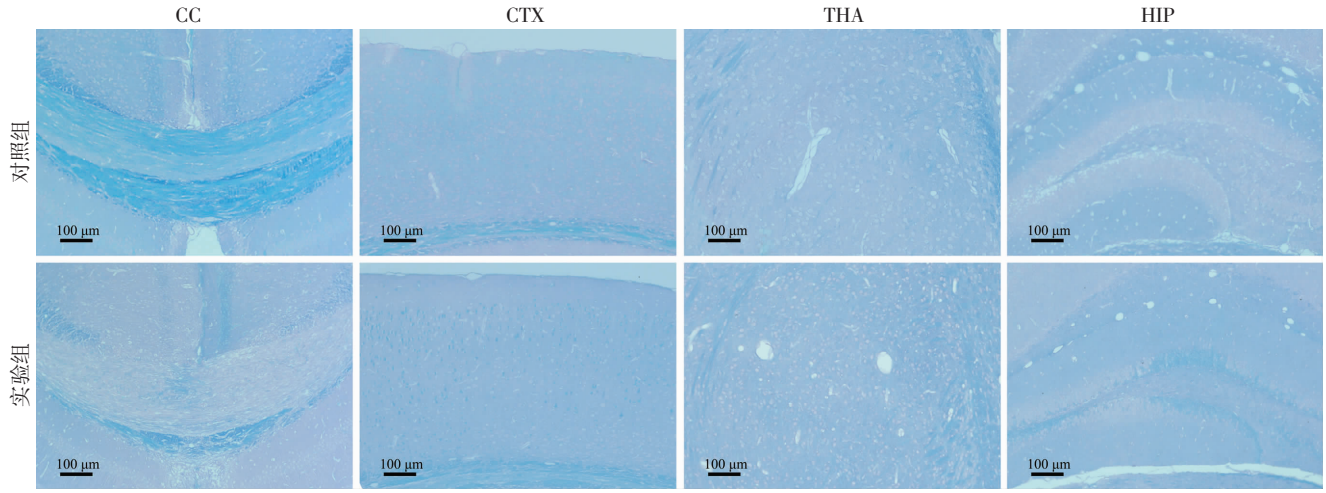
组别	n	CC	CTX	THA	HIP
对照组	10	2.044±0.119	1.979±0.151	2.237±0.110	1.961±0.183
实验组	10	1.851±0.086	1.947±0.102	2.220±0.113	1.975±0.113
t 值		4.167	0.542	0.333	−0.207
P 值		0.001	0.594	0.743	0.838

SIR:信号强度比;CC:胼胝体;CTX:双侧大脑皮层;THA:双侧丘脑;HIP:双侧海马体

表 3 对照组与实验组在 DTI 各 ROI 的 FA 值、MD 值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FA				MD ($\times10^{-3}$ mm^2/s)			
		CC	CTX	THA	HIP	CC	CTX	THA	HIP
对照组	10	0.349±0.033	0.165±0.029	0.201±0.025	0.160±0.018	0.589±0.039	0.589±0.036	0.577±0.040	0.579±0.037
实验组	10	0.307±0.032	0.156±0.018	0.206±0.017	0.157±0.023	0.608±0.057	0.598±0.032	0.591±0.028	0.611±0.023
t 值		2.916	0.828	−0.644	0.322	−0.831	−0.577	−0.919	−2.237
P 值		0.009	0.419	0.527	0.751	0.417	0.571	0.370	0.388

FA:各项异性分数;MD:平均扩散率;CC:胼胝体;CTX:双侧大脑皮层;THA:双侧丘脑;HIP:双侧海马体



对照组髓鞘染为蓝色,细胞质染为淡红色,各区域染色未见明显异常;与对照组相比,实验组胼胝体蓝染髓鞘大片丢失,暴露的神经轴突细胞质染为淡红色,其余区域未见明显髓鞘失;CC:胼胝体;CTX:大脑皮层;THA:丘脑;HIP:海马体

图 3 LFB 染色观察两组小鼠大脑各区域病理学变化

表 4 对照组与实验组各 ROI 的 MGSV 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CC	CTX	THA	HIP
对照组	10	182.404±8.268	199.459±3.652	188.003±5.560	196.987±7.353
实验组	10	198.139±4.358	197.842±4.965	189.681±6.696	197.409±4.293
t 值		−5.323	0.830	−0.610	−0.157
P 值		< 0.001	0.417	0.550	0.877

MGSV:平均灰度值;CC:胼胝体;CTX:双侧大脑皮层;THA:双侧丘脑;HIP:双侧海马体

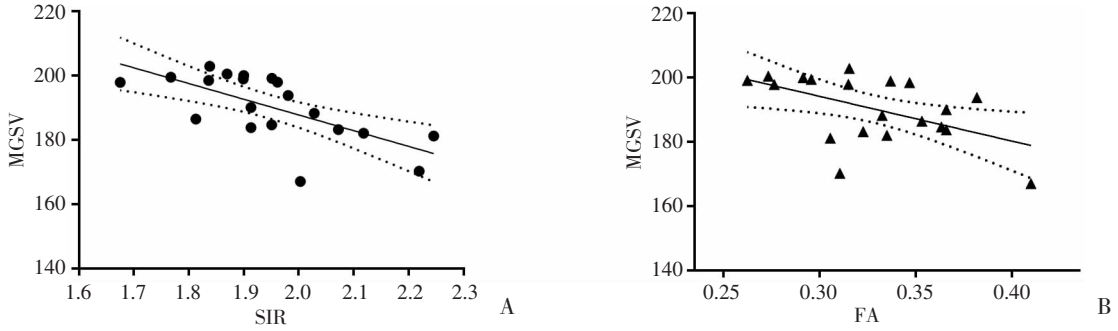
2.3 病理染色结果与病理学指标比较

对照组小鼠 LFB 染色脑内未见明显病理改变,其中 CC 处髓鞘被 LFB 染料染为蓝色,髓鞘包裹下的神经元轴突胞质未见明显暴露,其余神经胞质被伊红染液染为淡红色,纤维排列规律紧密,走行正常;CTX、THA 及 HIP 灰、白质 LFB 髓鞘染色均一,胞质被伊红复染为淡红色(图 3)。实验组小鼠 LFB 染色可见 CC 呈明显脱髓鞘改变,大片蓝色染色的髓鞘纤维丢失,暴露出的轴突胞质被伊红染为淡红色,其中可见部分尚未完全丢失的髓鞘碎片;而 CTX、THA 及 HIP 等 LFB 染色均一,未见明显脱髓鞘改变,胞质伊红复染为淡红色(图 3)。

与对照组比较,实验组 CC 的 MGSV 显著升高($t=-5.323$,$P<0.001$);两组 CTX、THA 及 HIP 的 MGSV 差异无统计学意义(表 4)。

2.4 影像、病理学指标相关性分析

影像及病理结果表明 CC 存在明显脱髓鞘改变,两组 SIR 及 FA 值差异具有统计学意义,因此对 SIR、FA 与 MGSV 分别进行 Pearson 相关分析及线性拟合。Pearson 相关分析表明 SIR、FA 分别与 MGSV 之间具有负相关关系($P<0.05$),且$|r_{SIR}|>|r_{FA}|$,线性拟合也表明 SIR、FA 与 MGSV 分别存在线性关系(图 4)。线性拟合参数见表 5。其中拟合方程 y=MGSV 取值范围为 0~255。



A:SIR 与 MGSV 拟合;B:FA 与 MGSV 拟合

图 4 胼胝体 SIR、FA 与 MGSV 的线性关系

表 5 胼胝体 SIR、FA 值分别与 MGSV 进行相关分析及线性拟合参数分析

线性拟合方程	SIR	FA
Pearson 相关系数(r, P)	−0.670, 0.001	−0.521, 0.009
拟合方程(y=ax+b)	y =−48.839x+285.400	y =−139.166x+235.940
截距(b)	285.400±24.921	235.940±17.756
斜率(a)	−48.839±12.762	−139.166±53.752
95%*CI*(b)	233.043, 337.757	198.637, 273.243
95%*CI*(a)	−75.652, −22.027	−252.094, −26.238
决定系数(r^2)	0.449	0.271
调整后决定系数(r^2)	0.418	0.231

3 讨论

MS 是中枢神经系统典型的白质脱髓鞘疾病之一,常规 MRI 对于脑组织具有较好的组织分辨率,成像时间较短,在临床上广泛应用于 MS 患者的辅助诊断及随访[8]。近年来,超高场 7.0T MRI 逐渐被广泛地应用在中枢神经系统影像临床及科研上。相较于 3.0T MRI 而言,7.0T MRI 具有更高的空间分辨率,对于 MS 小易感性病灶识别更具优势,同时对于小动物疾病模型中较小体积的脑组织结构能够产生更高的信噪比和对比度噪声比,对于细小解剖结构及病灶有着更高的敏感性[9]。因此 7.0T MRI 在 MS 等中枢神经系统疾病诊断及研究中具有重要的作用。近年来,GLASSER 等[3]提出 T_1W/T_2W 即 SIR 可能是定量髓鞘含量的潜在影像学指标;同时 DTI 可利用 FA 及 MD 等扩散张量参数敏感地检测脑组织灰、白质结构改变[10-11],但对于以上各项指标与病理组织学的关系还需要进一步研究。

由于 MS 患者脑组织病理标本难以获得,本研究使用 CPZ 模型用于模拟 MS 患者脱髓鞘病理机制。CPZ 是一种铜离子螯合剂,通过选择性影响形成髓鞘的少突胶质细胞的代谢,使其发生凋亡,继而发生典型的 MS Ⅲ型脱髓鞘改变[12],在研究 MS 中具有重要的意义。传统 CPZ 模型使用含 0.2%质量分数的 CPZ 毒性饲料造模,但存在诸如小鼠间的摄食差异导致的模型个体差异大、造模周期差异大、普遍造模时间较长(6~12 周)[13-15],以及常规 MRI 病灶不典型等问题。因此,本研究参考等剂量换算 CPZ 有效剂量及强饲法造模的方法[7],在经过 6 周改良 CPZ-CMCNa 悬浊液灌胃造模后,结合 MR 及病理结果发现实验组 CC 发生了典型的白质脱髓鞘改变,而 CTX、THA 及 HIP 等皮层及深部灰质尚未发现明显异常。这种脱髓鞘模式可能与 CPZ 的作用部位具有选择性有关,与多项研究结果类似[16-18]。

常规 T_1WI 及 T_2WI 信号强度主要受组织水成分的影响,同时也与髓鞘含量、脂质成分、组织铁磁性物质等有关。一般认为 T_1WI 及 T_2WI 难以区分组织病灶内水成分的来源,且信号强度受扫描参数及序列影响,不具有生物学特异性[19],难以有效地进行定量分析。近年来部分中枢神经系统研究提出了使用 T_1W/T_2W 定量绘制人脑皮层髓鞘髓磷脂定量图的方法[20-21]。GLASSER 等[3]提出可以使用 T_1W/T_2W 图像强度的比率来消除与 MR 相关的图像强度偏差并增强髓磷脂的对比度与信噪比。在 T_1WI 序列中,信号

强度与髓鞘含量成正比,在 T_2WI 序列中,信号强度与髓鞘含量成反比,因此信号之间的比率(SIR)可突出正常髓鞘成分的信号,使其在 SIR 图中呈现高信号[21];而在脱髓鞘与炎症浸润导致的如纤维方向、组织水肿和细胞密度等变化则会改变 T_1WI 和 T_2WI 的强度,使得在 SIR 中病灶呈现出低信号改变[22-23]。本研究表明实验组 CC 脱髓鞘组织 SIR 图呈低信号,而对照组 CC 正常组织 SIR 图呈高信号,呈现明显图像信号对比,且实验组 CC 的 SIR 值较对照组明显降低,两组差异具有统计学意义。表明该区域髓鞘丢失,提示 SIR 可敏感地用于检测组织脱髓鞘改变,与之前的研究结果[3,21-23]基本一致。

DTI 通过检测组织内水分子扩散来推断组织结构损伤变化,其中 FA 用于评价组织微观完整性,MD 反映组织内与扩散方向无关的水分子扩散率[18,24]。在白质纤维密集区(如 CC 等),FA 值降低可能代表该区域发生了髓鞘丢失及炎症水肿等改变,MD 值增加可能表明该区域出现细胞膜结构损伤、细胞外间隙扩大和组织细胞外水扩散增多等改变[10]。本研究结果显示:实验组小鼠 CC 脱髓鞘后 FA 值较对照组降低,差异具有统计学意义,而 MD 值较对照组升高,但差异不具有统计学意义。提示 FA 可以敏感反映脱髓鞘组织微观完整性受到破坏,而 MD 对于脱髓鞘组织的检测可能不如 FA 敏感。

基于 MRI 结果的比较,为了进一步判断 SIR 及 FA 与髓鞘的关系,本研究对病理 LFB 染色进行了定量分析,并对 CC 病灶 SIR、FA 值分别与 MGSV 进行了相关性分析及线性拟合。在组织病理学中,髓鞘主要是由包裹神经轴突的富含髓磷脂的磷脂双分子膜构成的,LFB 染色可以特异性地将髓鞘髓磷脂染为蓝色,用于定性分析髓鞘组织变化[25]。本研究使用 LFB 髓鞘特异性染色并采用平均灰度法对彩色图像进行灰度转化,从而使用 MGSV 定量比较脱髓鞘组织和正常组织的髓鞘含量。在灰度图中,MGSV 取值范围为 0~255,MGSV 越接近 255 则灰度越浅,越接近 0 则灰度越深,即脱髓鞘组织表现为更浅的灰度,而正常髓鞘组织表现为更深的灰度[26]。本研究结果表明:CC 病灶脱髓鞘区域 MGSV 高于正常髓鞘组织,且差异具有统计学意义。证实 SIR 联合 FA 可以用于评估 MS 脱髓鞘改变[21]。同时根据线性拟合参数,SIR 与 MGSV 的相关系数、校正后决定系数等线性拟合参数均较 FA 更高,表明 SIR 可能在评价髓鞘改变方面更优于 FA。

本研究也存在一定的局限性。本研究是基于动物模型超高场 MRI 扫描仪及序列参数,得到的是较为理想化条件的结果,而临床使用不同的扫描仪器和扫描参数,使用的场强也多为 3.0T MRI,且 MS 患者临床情况复杂,仍需要进一步开展临床研究。同时结合影像及病理结果,本研究仅表明了白质脱髓鞘变化,尚未检测出典型的灰质脱髓鞘改变,仍需要进一步研究。

综上所述,本研究通过超高场 MRI 扫描常规 T_1WI、T_2WI 及 DTI 序列,获得 SIR、FA 及 MD 等影像学参数,结合病理学指标综合分析 CPZ 脱髓鞘模型,发现胼胝体发生了显著的髓鞘丢失,组织微观完整性受损,表明 SIR 及 DTI FA 可以定量反映脑组织脱髓鞘改变。同时相关分析表明 SIR 与髓鞘的关系可能更强于 FA,提示 SIR 在 MS 中具有良好的临床应用前景,值得进一步研究。

参考文献:

[1] FILIPPI M, BAR-OR A, PIEHL F, *et al*. Multiple sclerosis [J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4(1): 43. DOI: 10.1038/s41572-018-0041-4.

[2] FILIPPI M, PREZIOSA P, ROCCA M A. MRI in multiple sclerosis: what is changing? [J]. Curr Opin Neurol, 2018, 31(4): 386-395. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000572.

[3] GLASSER M F, VAN ESSEN D C. Mapping human cortical areas *in vivo* based on myelin content as revealed by T1-and T2-weighted MRI[J]. J Neurosci, 2011, 31(32): 11597-11616. DOI:10.1523/jneurosci.2180-11.2011.

[4] KLISTORNER A, WANG C, YIANNIKAS C, *et al*. Evidence of progressive tissue loss in the core of chronic MS lesions: a longitudinal DTI study[J]. Neuroimage Clin, 2018, 17: 1028-1035. DOI:10.1016/j.nicl.2017.12.010.

[5] BEZUKLADOVA S, TUISKU J, MATILAINEN M, *et al*. Insights into disseminated MS brain pathology with multimodal diffusion tensor and PET imaging[J]. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2020, 7(3): e691. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000691.

[6] 雷楚, 黄嘉璐, 陈昊炜, 等. 双环己酮草酰二腙诱导脱髓鞘模型小鼠情绪及神经递质的变化[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(11): 1263-1269. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201511029.
LEI C, HUANG J L, CHEN H W. Correlation between emotional changes and neurotransmitters in cuprizone-induced demyelination mice [J]. J Third Mil Med Univ, 2016,38(11): 1263-1269. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201511029.

[7] ZHEN W, LIU A, LU J, *et al*. An alternative cuprizone-induced demyelination and remyelination mouse model[J]. ASN Neuro, 2017, 9(4): 1759091417725174. DOI: 10.1177/1759091417725174.

[8] MINNEBOO A, UITDEHAAG B M, JONGEN P, *et al*. Association between MRI parameters and the MS severity scale: a 12 year follow-up study[J]. Mult Scler, 2009, 15(5):632-637. DOI: 10.1177/1352458509102617.

[9] TREABA C A, GRANBERG T E, SORMANI M P, *et al*. Longitudinal characterization of cortical lesion development and evolution in multiple sclerosis with 7.0-T MRI[J]. Radiology, 2019, 291(3):740-749. DOI: 10.1148/radiol.2019181719.

[10] 周津如, 李咏梅, 时晓清, 等. 7.0T 磁共振扩散张量成像在实验性自身免疫性脑脊髓炎大脑皮层及胼胝体病变中的应用[J]. 中国医学影像学杂志, 2017, 25(3):169-173. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2017.03.003.
ZHOU J R, LI Y M, SHI X Q, *et al*. Diffusion tensor imaging of 7.0T magnetic resonance on cerebral cortex and corpus callosum lesions in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Chin J Med Imaging, 2017, 25(3): 169-173. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2017.03.003.

[11] 熊华, 唐茁月, 李晓姣, 等. 多发性硬化患者皮质及白质受累的相关性[J]. 中国医学影像学杂志, 2020, 28(7): 499-503. DOI:10.3969/j.issn.1005-5185.2020.07.004.
XIONG H, TANG Z Y, LI X J, *et al*. Correlation between cortical and white matter in patients with multiple sclerosis [J]. Chin J Med Imaging, 2020, 28(7):499-503. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2020.07.004.

[12] VEGA-RIQUER J M, MENDEZ-VICTORIANO G, MORALES-LUCKIE R A, *et al*. Five decades of cuprizone, an updated model to replicate demyelinating diseases[J]. Curr Neuropharmacol, 2019, 17(2): 129-141. DOI:10.2174/1570159x15666170717120343.

[13] OAKDEN W, BOCK N A, AL-EBRAHEEM A, *et al*. Early regional cuprizone-induced demyelination in a rat model revealed with MRI[J]. NMR Biomed, 2017, 30(9):e3743. DOI: 10.1002/nbm.3743.

[14] PETIET A, AIGROT M S, STANKOFF B. Gray and white matter demyelination and remyelination detected with multimodal quantitative MRI analysis at 11.7T in a chronic mouse model of multiple sclerosis[J]. Front Neurosci, 2016, 10: 491. DOI:10.3389/fnins.2016.00491.

[15] GUGLIELMETTI C, BOUCNEAU T, CAO P, *et al*. Longitudinal evaluation of demyelinated lesions in a multiple sclerosis model using ultrashort echo time magnetization transfer (UTE-MT) imaging[J]. Neuroimage, 2020, 208: 116415. DOI:10.1016/j.neuroimage.2019.116415.

[16] ACS P, SELAK M A, KOMOLY S, *et al*. Distribution of oligodendrocyte loss and mitochondrial toxicity in the cuprizone-induced experimental demyelination model[J]. J Neuroimmunol, 2013, 262(1/2): 128-131. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2013.06.012.

[17] WERGELAND S, TORKILDSEN Ø, MYHR K M, *et al*. The cuprizone model: regional heterogeneity of pathology [J]. APMIS, 2012, 120(8): 648-657. DOI:10.1111/j.1600-0463.2012.02882.x.

[18] WOOD T C, SIMMONS C, HURLEY S A, *et al*. Whole-brain *ex-vivo* quantitative MRI of the cuprizone mouse model [J]. PeerJ, 2016, 4: e2632. DOI:10.7717/peerj.2632.

[19] MILLER D H, GROSSMAN R I, REINGOLD S C, *et al*. The role of magnetic resonance techniques in understanding and managing multiple sclerosis[J]. Brain, 1998, 121(Pt 1): 3-24. DOI:10.1093/brain/121.1.3.

[20] GLASSER M F, COALSON T S, ROBINSON E C, *et al*. A multi-modal parcellation of human cerebral cortex[J]. Nature, 2016, 536(7615): 171-178. DOI: 10.1038/nature18933.

[21] RIGHART R, BIBERACHER V, JONKMAN L E, *et al*. Cortical pathology in multiple sclerosis detected by the T1/T2-weighted ratio from routine magnetic resonance imaging [J]. Ann Neurol, 2017, 82(4): 519-529. DOI: 10.1002/ana.25020.

[22] UDDIN M N, FIGLEY T D, SOLAR K G, *et al*. Comparisons between multi-component myelin water fraction, T1w/T2w ratio, and diffusion tensor imaging measures in healthy human brain structures[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 2500. DOI:10.1038/s41598-019-39199-x.

[23] CACCIAGUERRA L, ROCCA M A, STORELLI L, *et al*. Mapping white matter damage distribution in neuromyelitis optica spectrum disorders with a multimodal MRI approach [J]. Mult Scler, 2021, 27(6): 841-854. DOI:10.1177/1352458520941493.

[24] ARM J, RIBBONS K, LECHNER-SCOTT J, *et al*. Evaluation of MS related central fatigue using MR neuroimaging methods: scoping review[J]. J Neurol Sci, 2019, 400: 52-71. DOI:10.1016/j.jns.2019.03.007.

[25] ALLNOCH L, BAUMGÄRTNER W, HANSMANN F. Impact of astrocyte depletion upon inflammation and demyelination in a murine animal model of multiple sclerosis [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(16):3922. DOI: 10.3390/ijms20163922.

[26] MCGAVIN M D. Factors affecting visibility of a target tissue in histologic sections[J]. Vet Pathol, 2014, 51(1): 9-27. DOI:10.1177/0300985813506916.

(收稿:2021-01-13;修回:2021-03-23)

(编辑 汪勤俭)