

2012 年度 公益財団法人 ミズノスポーツ振興財団 スポーツ学等研究助成金

研究助成報告書

研究課題：MR スペクトロスコピーを用いた筋肉と周辺組織の
定量解析手法の開発研究

研究代表者 中井隆介

(京都大学 再生医科学研究所・研究員)

共同研究者

1. 東 高志 (独立行政法人 情報通信研究機構・研究員)
2. 都賀谷紀宏 (京都大学 再生医科学研究所・助教)

Abstract:

Health consciousness and concerns regarding prevention of metabolic syndrome have increased the recognition of the importance of exercise. Establishment of an effective exercise that is applicable for rehabilitation is also needed to prevent growth of medical costs with the aging of society. However, the effects of exercise cannot be evaluated without development of robust methods for measurement and evaluation. In this study, we developed a method for this purpose using MR spectroscopy (MRS). We developed software to analyze MRS data and confirmed the parameter using phantoms and subjects to determine imaging parameters in MRS. The MRS measurement results were compared with a T_1 , T_2 , FA and MD. As a result, the strong correlation that we expected was obtained about T_1 and T_2 . It is thought to be necessary to study the Diffusion Tensor Imaging (DTI) in greater detail in future. From these results, MRS technique was found to be useful to determine quantity of intramuscular fat. The software which we created can measure quantity of fat of MRS more easily.

1. 緒言

筋力が低下すると、歩行能力が低下してつまずきやすくなり、転倒しやすくなる。さらに、日常生活における活動能力が低下し、様々な動作を行うことが困難になってくる。加齢に伴う筋力の低下を原因とした転倒などに寄って、寝たきりにつながるという状況も増加している。このような背景から、高齢者においても、運動と身体トレーニングに関する需要が高まっており、若い体を維持し続けたいためや生活習慣病の予防改善のため、運動や身体トレーニングに励む高齢者が増えている(1,2)。他方、若い世代でもメタボリックシンドロームの周知、検診の義務化などによりトレーニングへの関心はますます大きくなっている(3)。このようなトレーニングを行っていく上で、より効果的なトレーニング方法の開発が望まれているが、効果を確かめる客観的な計測手法および評価手法が存在しなければ、有効性を判断することはできない。よって、現在トレーニングや運動による筋肉及びその周辺組織の変化を評価するための、*in vivo* で組織の状態変化を定量的に計測する手法が必要とされている。

申請者らは、非侵襲で体の内部組織の様々な状態を画像化することが可能な MRI (Magnetic Resonance Imaging) 装置を用いて、トレーニング等による筋肉およびその周辺組織の変化を評価することを目的とした手法の開発を行ってきた。これまで MRI を用いた筋肉内脂肪の定量解析手法、筋肉や周辺組織の構造や形状の変化の解析、拡散テンソルイメージング (Diffusion Tensor Imaging, DTI) 法を用いた筋肉組織をより微細に解析する手法(4)や MRI を用いた内臓脂肪の定量計測手法等の研究(3)を行ってきた。今回は、今までの MR 信号の合成量的な画像による評価に加えて、MR 信号をスペクトルレベルで解析する MR スペクトロスコピー (Magnetic Resonance Spectroscopy: MRS) を用いて、筋肉および脂肪についての計測手法の開発を試みる。

MRS は、NMR(Nuclear Magnetic Resonance)現象が発見されてからすぐに 1950 年代には観測されていた(5-7)が、応用においては MRI 装置や周辺技術の開発が進む 1980 年後半から行われるようになった。そこで MRS の様々な基礎計測技術が開発され(8-12)、計測技術の基盤が整ったが、計測手法やデータ解析が複雑で、臨床装置での実用化はなされていなかった。

2000年代に入って臨床装置にも導入され、比較的使用されやすい環境となってきてはいるが、データ解析の複雑さ等から、あまり臨床応用されていないのが実際である。そこで本研究では、MRS 撮像を行った後 MRI 装置から出力された元データを、直接入力することが可能なスペクトル解析・計測ソフトウェアの構築を行った。そして、最初にファントムを用いて、MRS の測定パラメータの分析を行い適切なパラメータを求め、その後、被験者を使用して MRS 計測結果と、これまでの評価解析手法との比較を行いながら、MRS による計測結果の検討を行う。

2. 方法

2-1. MRI 装置

使用した MRI 装置は Siemens 社製 MAGNETOM Sonata 1.5T (maximum amplitude 40mT/m, slew rate 200 T/m/second)、使用したコイルは、ファントム計測においては Head Coil、被験者の計測においては Phased Array Coil および Spine Coil を用いて腹臥位において大腿部を中心に撮像した。

2-2. 計測対象

ファントムおよび被験者を計測対象として用いた。ファントムは油層および水層、界面活性剤を用いて、水の重量比を 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% に調整したものを使用した。被験者は成人健常ボランティア 5 人を用いた。被験者には研究内容を十分に説明し、研究への同意を得た。

2-3. MRS 解析ソフトウェアの開発

ソフトウェアの構築に使用したプログラム言語は Visual C++ 2010。使用 OS 環境は Windows XP より上のバージョンとした。入力画像フォーマットはシーメンス社オリジナルのデータフォーマット(*.ima) を直接入力できるように開発した。処理手順は、まず始めに MRS データファイルを読み込み、FID (Free Induction Decay) 信号を取得する。その後 zero-fill interpolation を行った後、hamming filter でフィルタ処理を行い、フーリエ変換をして amplitude スペクトルを得る。次にスプライン関数を使用したベースライン補正を行い、ローレンツ関数を用いてピークフィッティングを行う。最後にピークの積分値を計測して出力するというものである。ローレンツ関数によるピークのフィッティングは、downhill simplex method(13,14)を用いてフィッティングを行った。

2-4. 筋肉内の特性値解析

MRI における画像のコントラストは、 T_1 値そして T_2 値によって変化する。MRI における信号強度(SI)は、[1]式で表される ($N(H)$: プロトン密度、 TR : repetition time、 TE : echo time)。

$$SI \propto N(H) \left[1 - \exp\left(\frac{-TR}{T_1}\right) \right] \exp\left(\frac{-TE}{T_2}\right) \quad [1]$$

MRI で画像診断が可能になるのは、体内の各組織において T_1 値と T_2 値が大きく異なるためである。これらは組織の状態を区別するとき非常に重要となる。組織の T_1 値は、プロトンがエネルギーを周囲の格子との間で授受できる程度によって変化する。つまり結合原子や近傍にある原子によって影響を受ける。組織の T_2 値は、組織中のプロトンのスピンの位相分散する速さによって特徴付けられる。速く位相分散すれば短く、ゆっくり位相分散すれば長くなる。MRI の T_1 値・ T_2 値計測は生体組織・病理組織の判定を行う手法であり、信号を数値化することで比較検討が可能となる。 T_1 値・ T_2 値は組織物性の指標となる(15,16)。

ファントムを計測するための T_1 値測定のための撮像シーケンス・撮像条件は、spin echo シーケンス (TR:50ms 70ms・・・3000ms, TE:11ms, flip angle:90°, bandwidth:130Hz/pixel, slice thickness:10mm, matrix size:192×144, FOV:256mm×192mm, pixel size:0.67mm×0.67mm, averages:1, 1 slice, zero-fill interpolation) で、 T_2 値測定のための撮像シーケンス・撮像条件は、turbo spin echo シーケンス (TR:5000ms, TE:9.9ms 19.8ms・・・316.8ms, flip angle:90°, bandwidth: 225Hz/pixel, slice thickness:10mm, matrix size:192×144, FOV: 256mm×192mm, pixel size:0.67mm×0.67mm, averages:1, 1 slice, zero-fill interpolation) を使用し、大腿部を中心に Axial 面で撮像した。

筋肉を計測するための T_1 値測定のための撮像シーケンス・撮像条件は、spin echo シーケンス (TR:100ms・500ms・1000ms・2000ms, TE:15ms, flip angle:90°, bandwidth: 100Hz/pixel, slice thickness:8mm, matrix size:256×160, FOV:400mm×250mm, pixel size: 0.78mm×0.78mm, averages:1, 5 slices, zero-fill interpolation) で、 T_2 値測定のための撮像シーケンス・撮像条件は、turbo spin echo シーケンス (TR:4000ms, TE:13ms 26ms・・・416ms, flip angle:90°, bandwidth:130Hz/pixel, slice thickness:8mm, matrix size:256×160, FOV:400mm×250mm, pixel size:0.78mm×0.78mm, averages:1, 5 slices, zero-fill interpolation) を使用し、大腿部を中心に Axial 面で撮像した。これらの画像を自作したデータ処理・計測ソフトウェアを用いて、MRS 計測と同一箇所筋肉の T_1 値、 T_2 値を計測し、MRS データ処理結果と比較した。

2-5. 筋肉内の水拡散評価

拡散強調撮像(DWI)およびDTI法は従来のMR画像 (T_1 強調画像・ T_2 強調画像) と異なり、物理学的現象である水分子のブラウン運動を測定することが可能な技術である。この水の拡散状態を測定することによって、微視的な細胞や組織の状態・構造を推定することができる。

撮像シーケンスは、DWIのMPGにより生じる渦電流による画像歪みを低減させるために、twice refocused spin echo EPI diffusionシーケンスを使用した。撮像条件は、TR: 2700 ms, TE: 72 ms, flip angle:90°, band width: 1345 Hz/pixel, slice thickness: 5.0 mm, matrix size: 128×72, FOV: 400×225 mm, pixel size: 1.56×1.56 mm, average: 5, 5 slices, b value: 600 s/mm², MGP: 6 directions, zero-fill interpolationとした。大腿部を中心にAxial面で撮像した。撮像した画像に対してDiffusion Tensor解析処理を行うための画像処理ソフトウェアを作成し、処理を行った。Diffusion Tensor解析手法(17,18)を以下に示す。

まず、 $b=0\text{sec/mm}^2$ での画像(b0画像)および拡散強調画像(6軸)から、6方向のADC (Apparent Diffusion Constant, Diffusivity)を求め、このADCを使用し、拡散テンソル(6)を求めた。

$$\mathbf{D} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad [2]$$

次に、拡散テンソル[2]に対して、Householder変換によって3重対角化を行い、直行行列(Q: Orthogonal Matrix)と下三角行列(L: Lower Triangular Matrix)を用い固有値を求める方法であるQL法によって固有値($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$)[3]を求め、さらにそれぞれの固有ベクトル($\mathbf{e}_1, \mathbf{e}_2, \mathbf{e}_3$)[4]も求めた。

$$\mathbf{PDP}^T = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{pmatrix} \quad \lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3 \quad [3]$$

$$\mathbf{P} = \begin{pmatrix} \mathbf{e}_1^T \\ \mathbf{e}_2^T \\ \mathbf{e}_3^T \end{pmatrix} \quad [4]$$

固有値($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$)は、拡散の強度に対応しており、固有値 λ_1 に対応する固有ベクトル \mathbf{e}_1 は拡散係数が最大の方向へのベクトルを表す。つまり、この \mathbf{e}_1 ベクトルは計算したピクセルにおいて最も拡散しやすい方向を表す。 $(\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3)$ の方向はそれぞれ直交する)

これらの固有値を用い、Mean Diffusivity(MD)[5]を求め画像化した。

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} \quad [5]$$

最後に、この固有値を用いて水の拡散の異方性の度合いを表すFA(Fractional Anisotropy)を求めた。FAを求める計算式を[6]に表す。

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2} \cdot \frac{\sum_{i=1}^3 (\lambda_i - (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3)^2}{\sum_{i=1}^3 \lambda_i^2}} \quad [6]$$

[6]式で表されるFAは、ピクセルごとの水の拡散の異方性度を表し、等方性であれば0.0、1方向のみしか拡散しなければ1.0となる。

これらの手法を用い、撮像した画像からFMapおよびMDmapを作成した(19-21)。そしてFMap、MDmapにおいてMRSの計測箇所と同一の場所にROIを設定し、MD値およびFA値を計測し、MRS計測結果と比較した。

2-6. MRS を用いた筋肉計測

MRS 計測(1H MRS)においては、全て single voxel PRESS (Point Resolved Spectroscopy) 法を用いて計測を行った(22,23)。各計測におけるパラメータは、ファントム計測では TR: 1100ms~6000ms, TE: 30ms~270ms, bandwidth: 1000Hz, data points: 1024, voxel size: $15 \times 15 \times 15 \text{ mm}^3$, averages: 32, no water suppression を用いて、各ファントムを撮像し、2-3 で示したソフトウェアで処理を行い、油層の MRS 積分値の割合を求め、TR および TE のパラメータによる変化を検討した。また組成を変えたことによる変化と油層の MRS 積分値の変化を比較検討した。またファントムに対し 2-4 で記述される撮像で T_1 値および T_2 値を求め、組成の状態の確認を行った。次に被験者を使用したパラメータ設定計測では、TR: 1100ms~3000ms, TE: 30ms~500ms, bandwidth: 1000Hz, data points: 1024, voxel size: $20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$, averages: 8~128, no water suppression を用いて、各パラメータと信号との関係を検討し、実際に被験者に適用するために有効なパラメータを検討した。最後に TR: 3000ms, TE: 30ms, bandwidth: 1000Hz, data points: 1024, voxel size: $20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$, averages: 32, no water suppression を用いて、被験者の筋肉部の MRS データを計測し、2-3 で示したソフトウェアで処理を行い、脂肪の MRS 積分値の割合を求め、またそれと同じ位置の各画像から、 T_1 値、 T_2 値および FA 値、MD 値を求め、MRS データと比較検討を行った。

3. 結果

3-1. ファントム計測

TR を変化させて同サンプルを計測した MRS 解析結果を図 1 に、また TE を変化させて 6 種類のファントムを計測した解析結果を図 2 に示す。

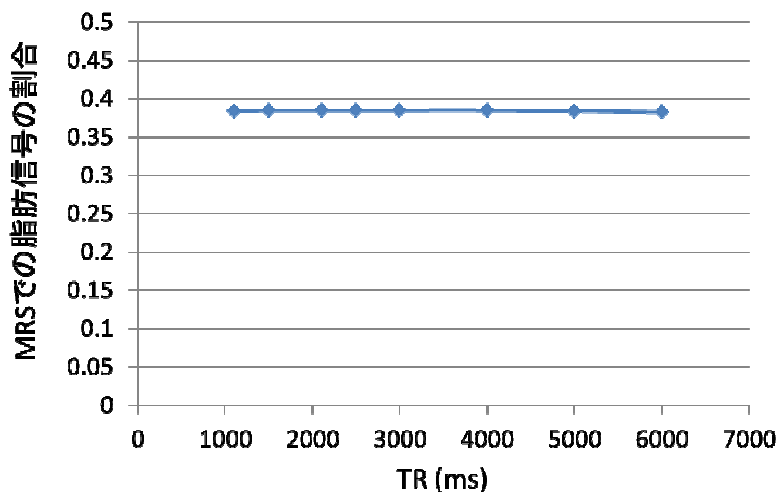


図 1. TR と MRS 計測結果との関係

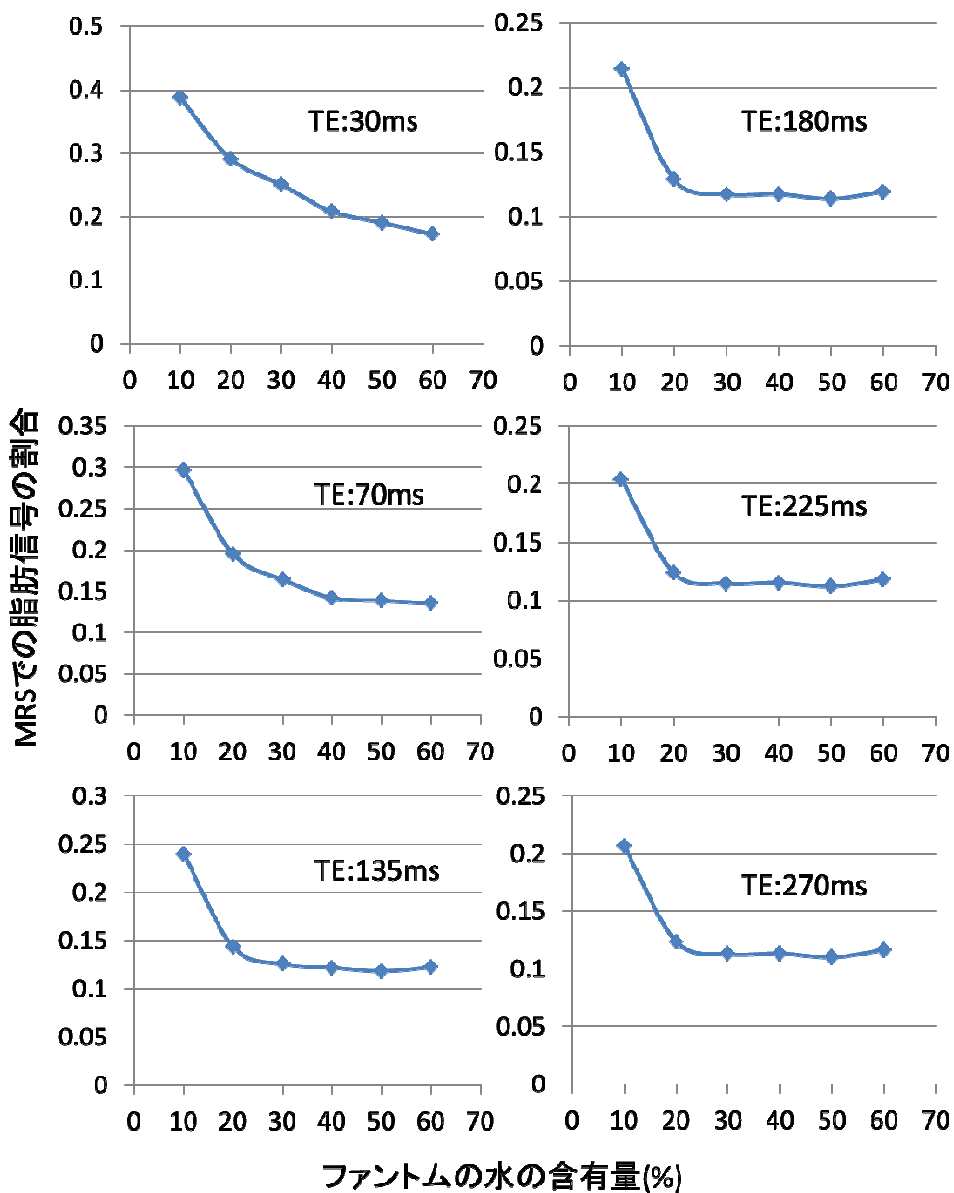


図 2. 各 TE での水の含有量と MRS 計測結果との関係

図1のようにTRを変化させても、ほぼ脂肪信号の割合に変化がなかった。また、図2ではTEごとの組成による変化を示したが、MRSによって量的計測を行おうとするに際し、組成が異なるところで、同じ計測結果となってしまえば計測ができないこととなるので、それぞれの組成で変化がある必要がある。よってこの中では、TE:30msが撮像のパラメータとして適していることがわかった。

次にファントム試料の T_1 値および T_2 値を計測し、図3にまとめた。脂肪は水よりもかなり小さい T_1 値、 T_2 値を持つため、水の量が増えるに従い T_1 値、 T_2 値は増加していくはずであり、この試料もきれいに増加しているので、ファントムは正常に作成できていると考えられる。

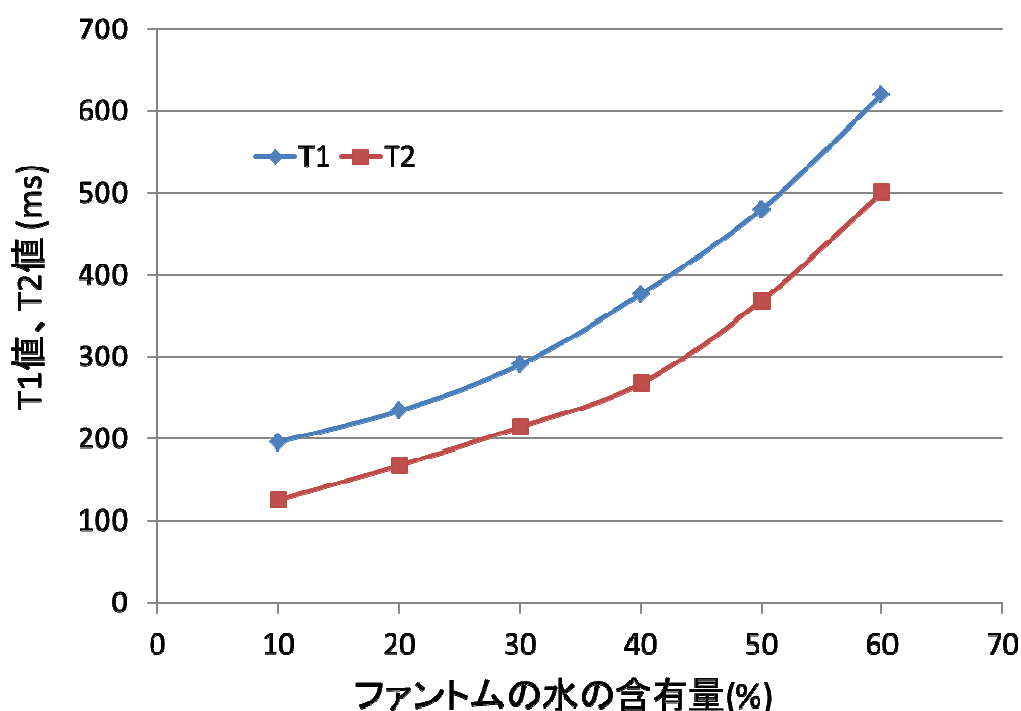


図3. ファントムの水含有量に対する T_1 値および T_2 値

3-2. 被験者計測 (パラメータ設定)

次に、より詳細に撮像パラメータを検討するために、被験者を用いて複数の条件において撮像を行った結果を示す。最初に、averages (加算回数)を変化させ、同じ被験者の同一部位を計測した水のMRS積分値を図4に、脂肪のMRS積分値を図5に、SNR(Signal Noise Ratio)を図6にそれぞれ示す。図4および図5を見てわかるように積分値は加算回数を変化させても、ほぼ一定であるということがわかった。また同様にこれらから求められる脂肪の割合および水の割合も変化は無い。図6は加算回数とMRS信号中のSNRとの比較であるが、ここから加算回数が増加するにつれ、SNRが増加していることがわかる。しかし、加算回数が増加すると撮像時間が増え、被験者への負担が大きくなることが考えられるため、ここでは増加量が落ち着く、加算回数:32を採用することとした。

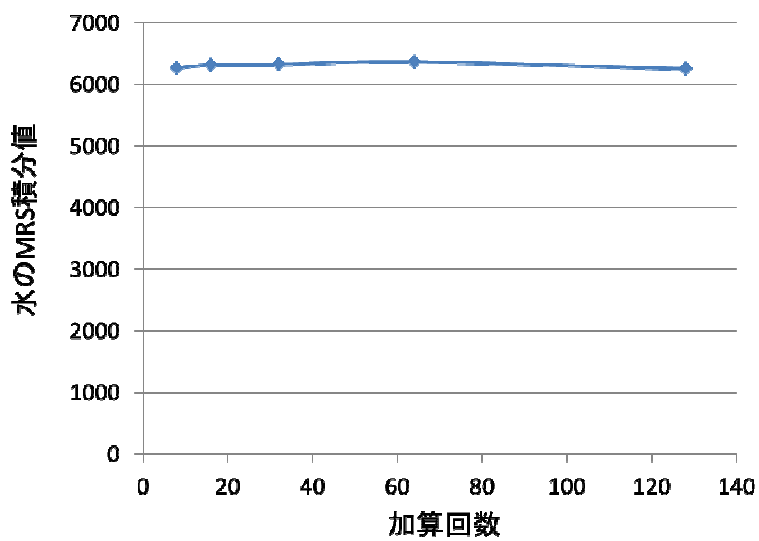


図 4. 加算回数と水の MRS 積分値との関係

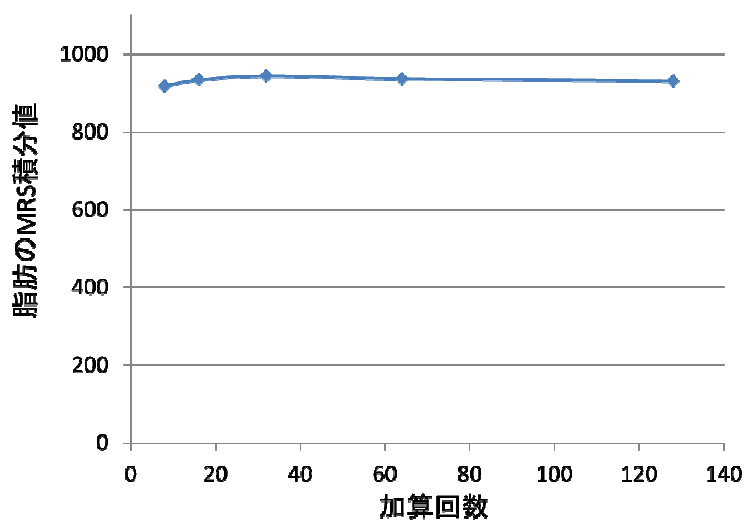


図 5. 加算回数と脂肪の MRS 積分値との関係

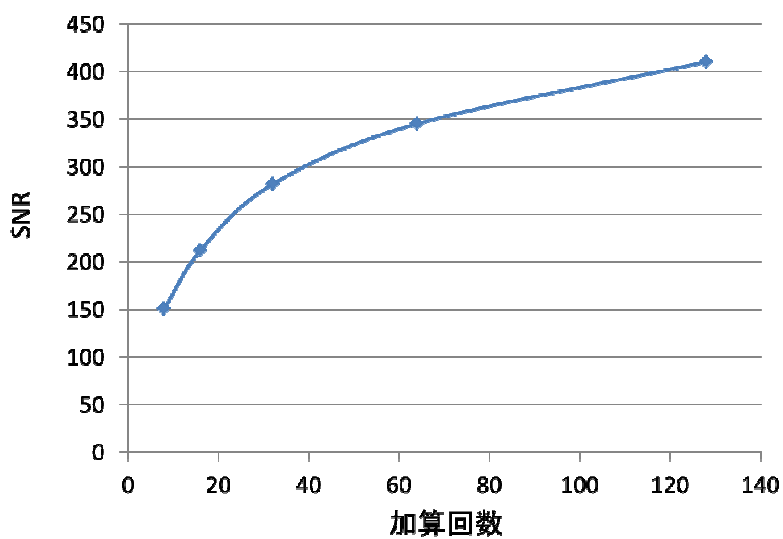


図 6. 加算回数と SNR との関係

次に TR および TE を変化させた場合において、同じ被験者の同一部位を計測した水および脂肪の MRS 積分値を計算した。TR を変化させたものを図 7 に TE を変化させたものを図 8 にそれぞれ示す。

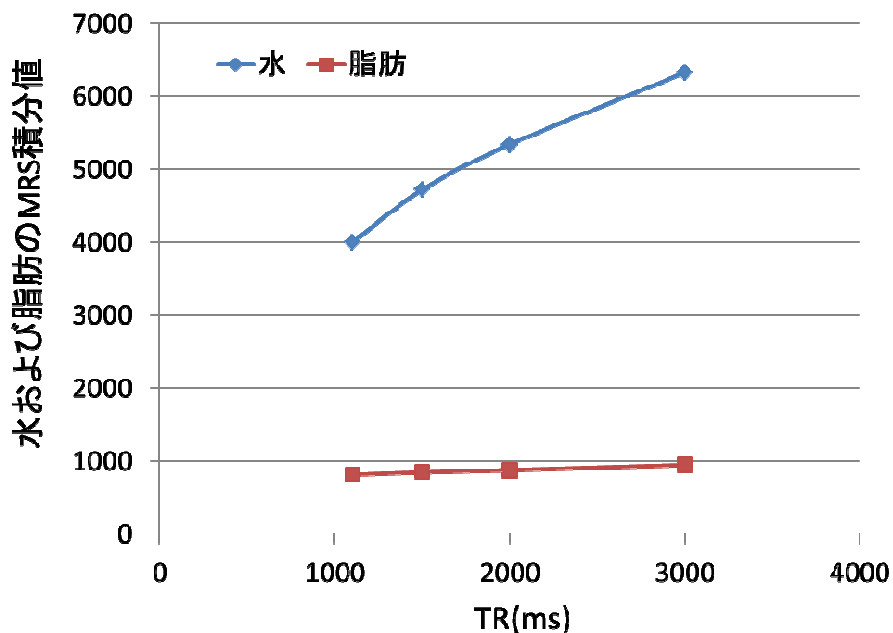


図 7. TR と水および脂肪の MRS 積分値との関係

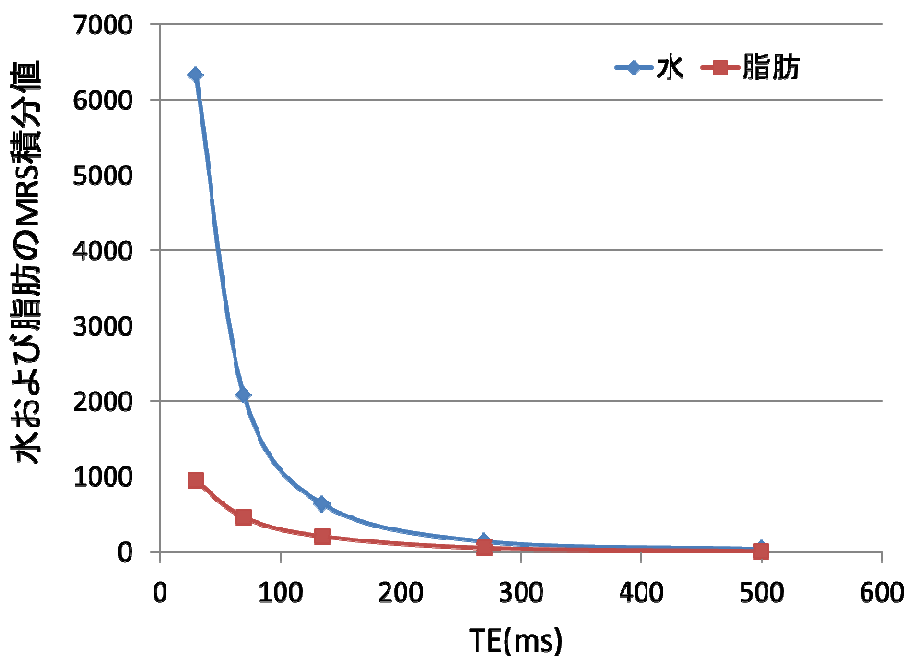


図 8. TE と水および脂肪の MRS 積分値との関係

図 7 および図 8 から、TR が大きくなるにつれて、脂肪および水の MRS 積分値は増加し、TE が大きくなるにつれて、脂肪および水の MRS 積分値は減少していた。これは、MRI 信号の原理通りの結果である。MRS の計測という点で考えた場合、今回のように大きな信号

同士の比較を考える場合は、より信号値が大きい方がノイズ等の影響を受けにくく、より正確となると考えられるので、TR:3000ms、TE:30ms と決定した。

3-3. 被験者計測

これまでの実験において、撮像パラメータが確定したので、この MRS の撮像パラメータを用いて撮像を行い、脂肪量の割合をソフトウェアによって測定した。また MRS と同じ位置で撮像し作成した T_1 値画像、 T_2 値画像および FAm_{ap}、MD_{map} から、それぞれの値を計測した。そして、これらの値と MRS による計測値との関係性を計算した。MRS 積分値での脂肪の割合と T_1 値を比較したものを図 9 に、 T_2 値と比較したものを図 10 に、FA 値と比較したものを図 11 に、MD 値と比較したものを図 12 に示す。

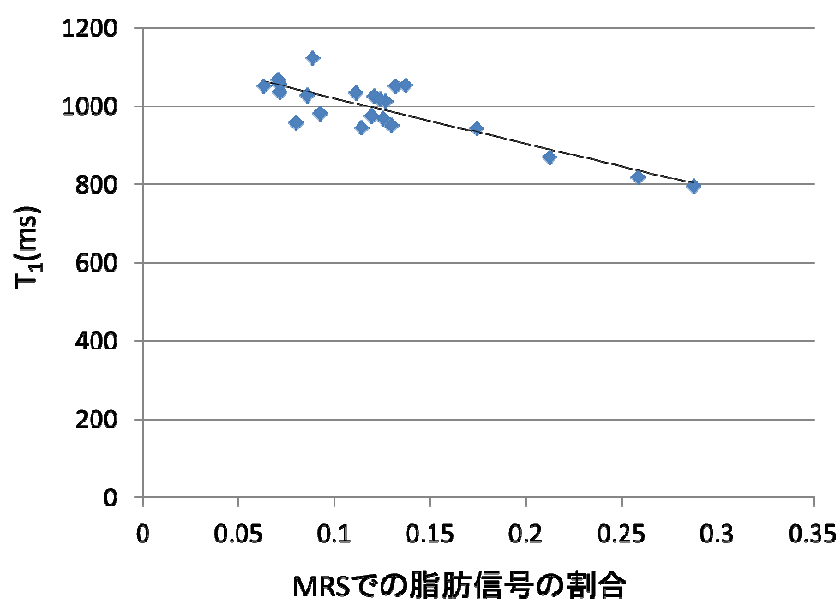


図 9. MRS 積分値での脂肪の割合と T_1 値との関係

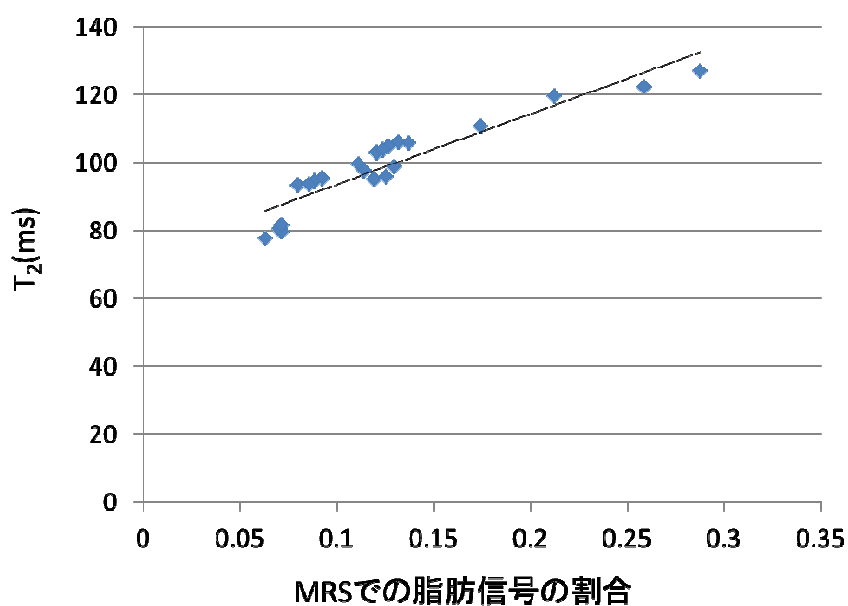


図 10. MRS 積分値での脂肪の割合と T_2 値との関係

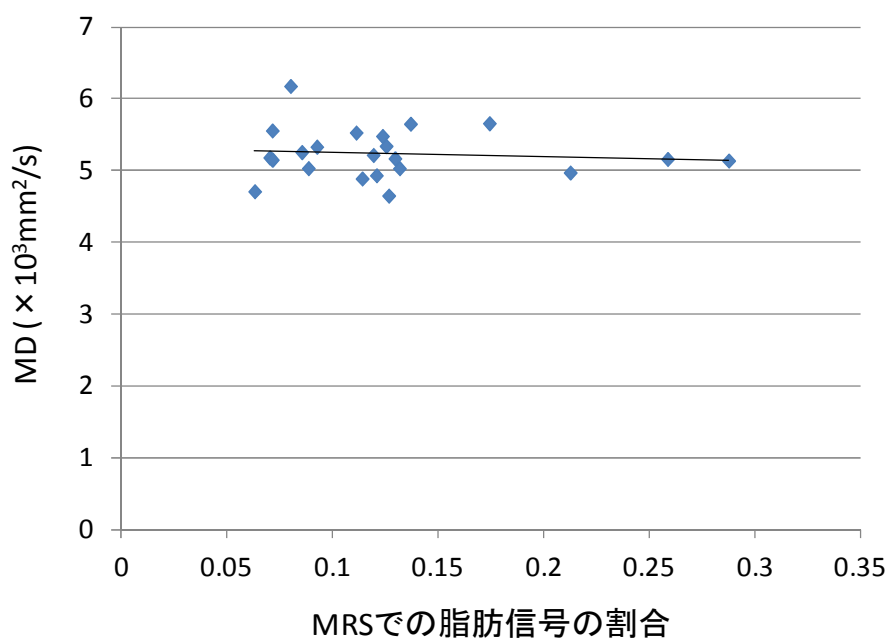


図 11. MRS 積分値での脂肪の割合と MD 値との関係

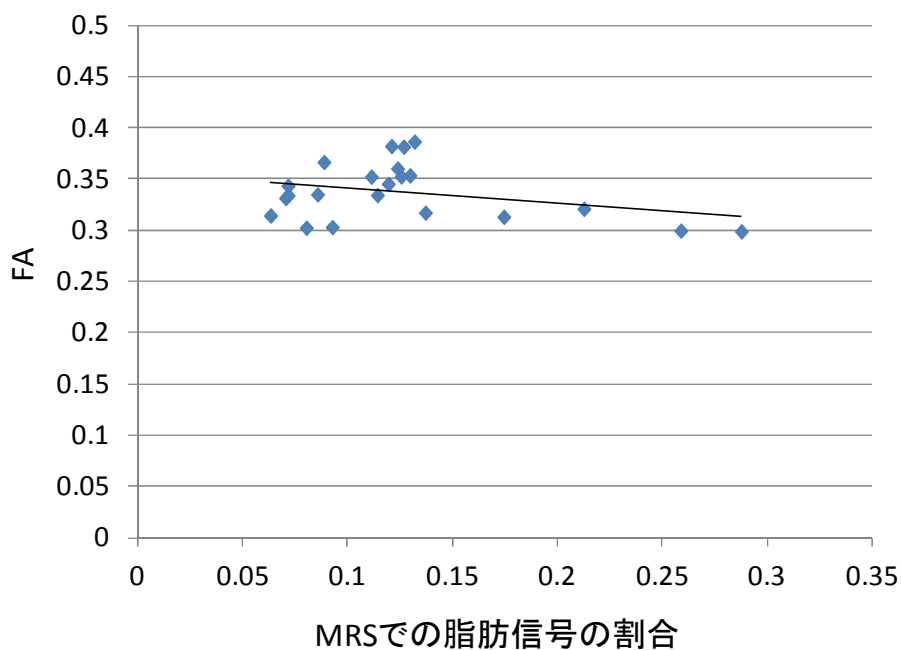


図 12. MRS 積分値での脂肪の割合と FA 値との関係

それぞれの相関係数を計算したところ、MRS 積分値での脂肪の割合と T_1 値では-0.850、 T_2 値では 0.930、MD 値では-0.096、FA 値では-0.319 であった。これらの結果から、特に T_2 値においては他のパラメータ値よりも極めて強い相関があることがわかった。また、 T_1 値に関しても強い負の相関が見られた。DTI の特徴値については、FA 値は弱い負の相関があったが、MD 値には相関が認められなかった。

4. 考察

近年、日本の高齢化が進み、年長者・高齢者の割合は飛躍的に増えている。そのような中で、高齢者の寝たきり生活を防止することにおいてもリハビリやトレーニングの重要性を増している。またそれを行うことにより医療費の削減に繋がると考えられる。そこで、このような運動を行っていく上で、より効果的なトレーニングが重要となっており、それを評価する計測手法および評価手法は重要な技術と考えられる。そこで筆者らは、現在まで筋肉および脂肪に関する評価手法の開発を行ってきた。今回は、水素原子核を含むさまざまな分子の密度を反映したスペクトルが得られる MRS を用いて、基礎的検討を行い、筋肉の状態の評価を行った。

本研究では MRS データを処理、計測するためのソフトウェアの構築を行った。本研究を通して、データの解析が問題なく行うことができたことから、ソフトウェアは正常に動作していることが確認できた。しかし、今回作成した MRS データ処理・計測ソフトウェアは、水および脂肪のような大きなピークを対象としているため、より小さい先鋭なピークの導出は考慮しておらず、波形分離プログラム等を用いていない。今後は代謝物等の影響等(24,25)を計測することも考慮し、改良を行っていく予定である。

ファントムの計測では、油層および水層、界面活性剤を用いて、水の組成を変えたファントムを作成し、これを用いて検証を行った。この結果から、図 2 のように TE:30ms においてはファントムの水の含有量が増えていくに従い、MRS 積分値での脂肪の信号割合が低下（水の信号の割合が増加）していった。しかし、TE が大きくなるにつれ、組成を変えても信号の割合が変化しないという現象が起こった。またデータを確認すると、脂肪自体の信号が TE が増加するとかなり減少しているため、この影響を受けていることが推察される。

次に被験者の計測(パラメータ設定)においては、筋肉において MRS の各種パラメータを変化させ、処理・計測を行い、各パラメータとの関係を検討した。まず加算回数については、図 4, 図 5 からわかるように、MRS の信号自体には大きな変化を与えないことがわかった。そして図 6 のように、加算回数を増やすことにより SNR が増加することがわかった。しかし加算回数が増えればそれだけ撮像時間も増えることになり、被験者の負担となるため、ある程度 SNR の増加の割合が落ち着く 32 回を今回は採用した。次に TR および TE を検討したが、これは、予想していたように TR が大きくなるほど信号は大きくなり、TE が大きくなるほど信号が小さくなっていった(図 7, 図 8)。TE は 270ms よりも大きいところではノイズレベルに近づいていた。また TR が 3000ms でも飽和していないことがわかった。今回は信号量の多い TR:3000ms、TE:30ms を選択した。

最後に MRS および DTI、 T_1 値 T_2 値撮像を用いて、被験者の計測および特徴値間の関連性の検討を行った。図 9 および図 10 から、MRS 積分値での脂肪の割合と T_1 値、 T_2 値に関しては強い相関があった。特に T_2 値に関しては極めて強い正の相関(0.930)があった。 T_2 値は筋肉よりも脂肪の方が高く、脂肪の割合が増えていくと T_2 値が上がるということは納得できる。 T_1 値は、負の相関(-0.850)であったが、 T_1 値は筋肉よりも脂肪の方がかなり低く、その傾向の通りになっていた。相関が T_2 値よりも悪かった理由は、撮像時間が長く撮像枚数が少ないことが考えられる。 T_2 値は五分半程で 32 枚の計測データを撮像するのに対し、 T_1 値は 10 分程度で 4 枚の計測データを取得している。一般的には 2 枚のデータだけで T_1 値画像が作成さ

れることが多いので、それよりは改善されていると考えているが、 T_2 値よりは少なく、また時間が長いので動きの影響も受けるため、 T_2 値との差が出ていると考えられる。また今回は MD 値とは相関は無く、FA 値とは弱い負の相関(-0.319)であった。今回非常に筋肉内の脂肪量が多い被験者が 1 人おり、その影響を受けたことが考えられる。また個人個人のデータにおいては全体よりは相関が高くなっており、MD 値、FA 値は脂肪量、筋肉量以外の要素の影響が大きく、被験者間の比較には使用が難しい可能性があるかと推察される。これらの DTI からの特徴量については、今後より詳細に検討を行っていく必要がある。

5. 結言

近年、MRI を使った筋肉の解析や計測手法の開発は盛んに行われるようになってきている。今回は MRS を用いて計測、解析手法を構築し比較を行った。結果として、MRS と開発したソフトウェアを用いて、筋肉内の脂肪を定量的に計測することが可能となった。筋肉の定量計測手法は非常に重要であり、そのような中で MRS は、今後筋肉を計測するため有用なツールとなると考えられる。また、信号処理がこの技術の重大な問題となっているが、今回作成した MRS データ処理・計測ソフトウェアは今後 MRS 計測を進めていく上で、非常に有益なものであると考えられる。今後より一層 MRS データの処理手法の開発および MRS による計測、解析を進めていきたいと考えている。

謝辞

本研究に際して多大なご協力をいただきました被験者および研究協力者の皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

1. Merriman H, Jackson K. The effects of whole-body vibration training in aging adults: a systematic review. *J Geriatr Phys Ther* 2009;32(3):134-145.
2. Stetts DM, Freund JE, Allison SC, Carpenter G. A rehabilitative ultrasound imaging investigation of lateral abdominal muscle thickness in healthy aging adults. *J Geriatr Phys Ther* 2009;32(2):16-22.
3. Nakai R, Azuma T, Kishimoto T, Hirata T, Takizawa O, Hyon SH, Tsutsumi S. Development of a high-precision image-processing automatic measurement system for MRI visceral fat images acquired using a binomial RF-excitation pulse. *Magn Reson Imaging*.
4. Nakai R, Azuma T, Sudo M, Urayama S, Takizawa O, Tsutsumi S. MRI analysis of structural changes in skeletal muscles and surrounding tissues following long-term walking exercise with training equipment. *J Appl Physiol* 2008;105(3):958-963.
5. Bloch F, Hansen WW, Packard ME. Nuclear induction. *Phys Rev* 1946;69:127.
6. Odehald E, Lindstrom G. Some preliminary observations on the proton magnetic resonance in

- biological samples. *Acta radiol* 1955;43:469-476.
7. Purcell HM, Torrey HC, Pound RV. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys Rev* 1946;69:37-38.
 8. Bottomley PA, Foster TB, Darrow RD. Depth-resolved surface coil spectroscopy (DRESS) for in vivo ¹H, ³¹P and ¹³C NMR. *J Magn Reson Imaging* 1984;59:338-342.
 9. Brown TR, Kincaid BM, Ugurbil K. NMR chemical shift imaging in three dimensions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1982;79(11):3523-3526.
 10. Luyten PR, Marien AJH, B. S, Den Hollander JA. Solvent suppressed spatially resolved spectroscopy; An approach to high-resolution NMR on a whole-body MR system. *J Magn Reson* 1986;66:148-155.
 11. Ordidge RJ, A. C, J.A.B. L. Image-selected in vivo spectroscopy (ISIS). *J Magn Reson* 1986;66:283-294.
 12. Segebarth CM, Baleriaux DF, Luyten PR, den Hollander JA. Detection of metabolic heterogeneity of human intracranial tumors in vivo by ¹H NMR spectroscopic imaging. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 1990;13(1):62-76.
 13. Nelder JA, Mead R. A simplex method for function minimization. *Computer Journal* 1965;7:308-313.
 14. Press WH. *Numerical recipes : the art of scientific computing*. Cambridge, UK ; New York: Cambridge University Press; 2007. xxi, 1235 p. p.
 15. Winter JD, Estrada M, Cheng HL. Normal tissue quantitative T1 and T2* MRI relaxation time responses to hypercapnic and hyperoxic gases. *Academic radiology* 2011;18(9):1159-1167.
 16. Werz K, Braun H, Vitha D, Bruno G, Martirosian P, Steidle G, Schick F. [Relaxation times T1, T2, and T2* of apples, pears, citrus fruits, and potatoes with a comparison to human tissues]. *Zeitschrift fur medizinische Physik* 2011;21(3):206-215.
 17. Finsterbusch J, Frahm J. Diffusion tensor mapping of the human brain using single-shot line scan imaging. *J Magn Reson Imaging* 2000;12(3):388-394.
 18. Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, Molko N, Chabriat H. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging* 2001;13(4):534-546.
 19. Clark CA, Werring DJ, Miller DH. Diffusion imaging of the spinal cord in vivo: estimation of the principal diffusivities and application to multiple sclerosis. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 2000;43(1):133-138.
 20. Ino T, Nakai R, Azuma T, Yamamoto T, Tsutsumi S, Fukuyama H. Somatotopy of corticospinal tract in the internal capsule shown by functional MRI and diffusion tensor images. *Neuroreport* 2007;18(7):665-668.
 21. Azuma T, Nakai R, Takizawa O, Tsutsumi S. In vivo structural analysis of articular cartilage using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging*

- 2009;27(9):1242-1248.
22. Tzika AA, Vigneron DB, Dunn RS, Nelson SJ, Ball WS, Jr. Intracranial tumors in children: small single-voxel proton MR spectroscopy using short- and long-echo sequences. *Neuroradiology* 1996;38(3):254-263.
 23. Star-Lack J, Nelson SJ, Kurhanewicz J, Huang LR, Vigneron DB. Improved water and lipid suppression for 3D PRESS CSI using RF band selective inversion with gradient dephasing (BASING). *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 1997;38(2):311-321.
 24. Ozdemir MS, Reyngoudt H, De Deene Y, Sazak HS, Fieremans E, Delputte S, D'Asseler Y, Derave W, Lemahieu I, Achten E. Absolute quantification of carnosine in human calf muscle by proton magnetic resonance spectroscopy. *Physics in medicine and biology* 2007;52(23):6781-6794.
 25. Meyerspeer M, Kemp GJ, Mlynarik V, Krssak M, Szendroedi J, Nowotny P, Roden M, Moser E. Direct noninvasive quantification of lactate and high energy phosphates simultaneously in exercising human skeletal muscle by localized magnetic resonance spectroscopy. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 2007;57(4):654-660.