

[文章编号] 1000-1182(2009)03-0305-05

计算机辅助的牙槽骨密度定量测量系统 准确性和灵敏度的研究

郑旭¹ 林久祥²

(1.北京大学第三医院 口腔科, 北京 100191; 2.北京大学口腔医院 正畸科, 北京 100081)

[摘要] 目的 建立计算机辅助的牙槽骨密度定量测量系统, 并通过样本测试检验系统的测量准确性及灵敏度, 实现对牙槽骨中羟磷灰石(HP)含量的估测。方法 在X线骨密度测量法基础上利用定位投照的直接数字化牙片, 以铝梯为参照校正投照条件差异导致的影像灰度误差, 辅以计算机技术建立牙槽骨密度定量测量系统。用该系统测量HP含量不同的19个样本的平均灰度值, 根据已知的铝梯灰度和厚度推算这些灰度值对应的等效铝厚度和校正灰度。建立等效铝厚度、校正灰度与HP含量之间的一元线性回归方程, 将等效铝厚度、校正灰度代入方程计算出估测的HP含量; 与HP的实际含量相比, 计算估测的偏误率。随机选择2个样本重复测量10次, 计算牙槽骨密度定量测量系统的测量误差范围, 结合回归方程, 计算该系统检测HP含量变化的灵敏度。结果 等效铝厚度、校正灰度与HP含量之间有明显相关性; 当测得的等效铝厚度大于0.67 mm或校正灰度大于41个灰阶时, 对HP含量估测的偏误率在5%以下。用等效铝厚度进行估测时, HP含量的变化大于0.17 mg/mm²即可被有效检出; 用校正灰度进行估测时, HP含量的变化大于0.18 mg/mm²即可被有效检出。结论 本研究牙槽骨密度定量测量系统的准确性和灵敏度能够满足临床和科研的需要, 可用于对牙槽骨密度的横向比较和纵向观察, 有较广阔的应用空间。

[关键词] 牙槽骨; 骨密度; 数字化牙片; 准确性; 灵敏度

[中图分类号] R445 **[文献标识码]** A

Accuracy and sensibility of computer-aided alveolar bone density quantitative measuring system ZHENG Xu¹, LIN Jiu-xiang². (1. Dept. of Stomatology, The Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China; 2. Dept. of Orthodontics, School of Stomatology, Peking University, Beijing 100081, China)

[Abstract] **Objective** The alveolar bone density quantitative measuring system was established on the basis of grey level measuring on standardized-exposed direct digital periapical radiograph by referring to an aluminum step wedge with the aid of computer technique. We tested its accuracy and sensibility by measuring a series of specimens and made it possible to estimate the area density of hydroxyl-phosphorite(HP) in the alveolar bone with the system. **Methods** The average grey level intensity of 19 specimens containing different amount of HP within certain area was measured with the system. The equivalent aluminum thickness(EAT) and corrected grey level intensity(CGL) of each specimen were calculated according to known grey level intensity of the aluminum step wedge and its corresponding thickness. The liner regression equations between EAT, CGL and HP density(mg/mm²) were established. We put the values of EAT and CGL into the equations and calculated the corresponding values of estimated HP density. The bias ratios of estimation were then calculated. We measured two randomly chosen specimens 10 times respectively to calculate the system's measurement error range, then the sensibility of the system for measuring HP density was calculated according to the regression equations. **Results** EAT and CGL were significantly correlated with HP density. When EAT was larger than 0.67 mm or CGL larger than 41, the system's bias ratio of estimated HP density was lower than 5%. When we estimated the HP density with the use of EAT, the system could effectively check out a HP density change larger than 0.17 mg/mm², with the use of CGL, a HP density change larger than 0.18 mg/mm² could be effectively checked out. **Conclusion** The accuracy and sensibility of the quantitative alveolar bone density measuring system are acceptable, it can be widely used to compare alveolar bone density longitudinally and cross-sectionally.

[Key words] alveolar bone; bone density; digital periapical radiograph; accuracy; sensibility

[收稿日期] 2008-10-08; [修回日期] 2009-01-29

[作者简介] 郑旭(1973-), 女, 河北人, 副主任医师, 博士

[通讯作者] 郑旭, Tel: 010-82266338

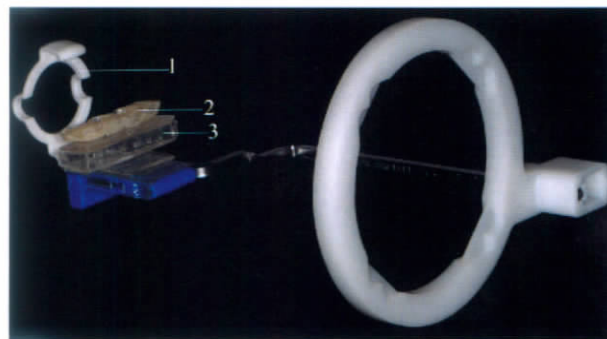
近几年关于颌骨骨密度的研究较多，研究方法有双能X线吸收法、定量计算机体层摄影法、数字化X线片法等；研究部位涉及包括牙槽骨在内的颌骨的各个部位^[1-3]。牙槽骨形态不规则，所处解剖位置特殊，采用双能X线吸收法等方法进行研究时有其局限性。目前最好的研究方法是利用根尖片，根据骨矿物质含量不同对X线吸收的差异，在根尖片上形成不同灰度来测量牙槽骨密度。为了校正投照条件差异导致的灰度变化，将标准化的金属梯级与骨组织同时曝光，根据金属梯级已知的密度和厚度来推算骨密度。对牙槽骨密度的纵向变化，多采用系列标准化根尖片的数字减影(digital subtraction radiography, DSR)技术进行定性分析，结合计算机辅助的影像密度分析技术，可以将骨密度的变化用平均灰度值来定量表示。本研究在X线骨密度测量法的基础上进行改进，引入高分辨率的直接数字化牙片，通过计算机技术辅助测量，提高测量的准确性和灵敏性；并通过测试羟磷灰石(hydroxyl-phosphorite, HP)样本来估测牙槽骨中HP的含量。

1 材料和方法

1.1 牙槽骨密度定量测量系统的组成

数码X线牙片机(Sirona公司, 德国; 型号为D3334, 电压100~240 V, 频率50/60 Hz, 最大电流0.5 A), 可以拍摄有256个灰阶、分辨率为651 dpi的tif格式的直接数字化牙片。改良式X线平行投照(X-ray cone paralleling, XCP)支架: 参考Southard等^[4]设计的支架并进行改良, 在XCP支架的殆垫上安装硬性个别殆垫, 投照时固定X线光源、目标牙位和X线传感器的相对位置(图1)。图1中3所示的是标准化铝梯, X线垂直于铝梯长轴投照。标准化铝梯由Lc9型铝合金制成, 经过线切割工艺加工成7阶铝梯; 用电子游标卡尺(0~150 mm, 分辨率为0.01 mm)测量每一梯的厚度, 测量5次取平均值; 测出每一梯的实际厚度为0.40、1.40、2.40、3.92、4.92、5.92、6.92 mm。

测量软件: 采用自行设计的软件, 功能包括: 1) 测量任选多边形、圆形、矩形范围内的平均灰度(所选范围内每一像素的灰度之和/像素总数); 2) 根据铝梯厚度及相对应的灰度进行6次多项式拟合, 得出每一张数字牙片上铝厚度(因变量)相对于灰度(自变量)的函数关系; 3) 基于所得函数关系计算该牙片上任选多边形、圆形、矩形范围内的平均灰度对应的等效铝厚度; 4) 以某次投照灰度(因变量)相对于铝厚度(自变量)的函数关系为基准, 计算出等效铝厚度对应的校正灰度。



1: 传感器固定夹; 2: 个别殆垫; 3: 标准化铝梯

图 1 改良式XCP支架

Fig 1 Modified XCP system

1.2 试验材料

1.2.1 试验样本的制备 用订制的模具制作圆柱体自凝树脂块, 树脂块上有一个直径为9.84 mm的圆孔, 孔的纵轴与树脂块的底面垂直。在树脂块的底面用自凝树脂单体粘接1.2 mm的塑料片, 从而形成一个正圆柱形容器。一共制作19个同样的树脂块, 编号为1~19号; 在圆柱形空腔中分别填塞不同质量的HP粉末(中国科学院上海生物化学研究所制造, 产品编号为6402)。加上1.2 mm塑料片制成的盖, 压实HP粉末, 边缘用蜡封闭, 以防泄漏。使用电子天平(Sartorius公司, 德国; 型号为CP225D, 测量范围0~220 g, 测量精度0.01 mg)称量HP质量。

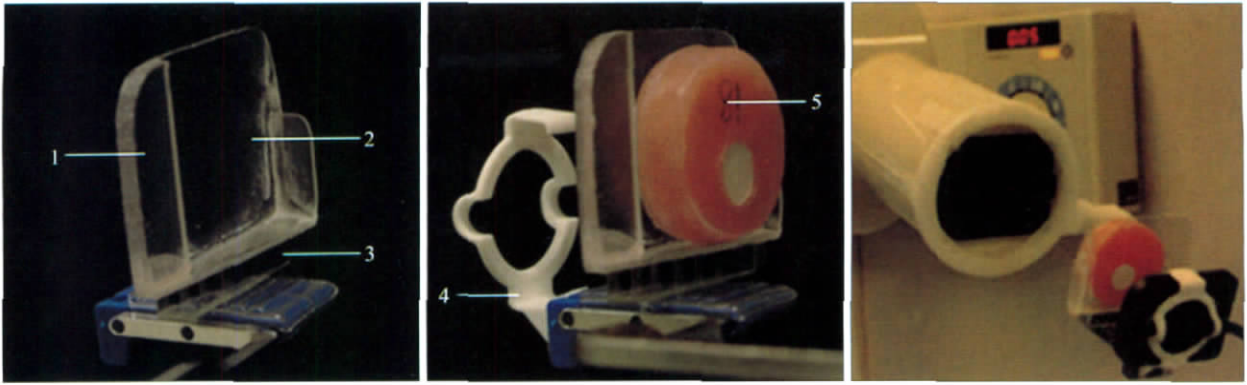
1.2.2 样本投照支架的制作 投照支架固定在XCP支架的殆垫上, 由1.2 mm的塑料片制成, 包括容纳标准化铝梯的窗口、样本托架和对照区。对照区由3层塑料片组成, 对应HP底面、顶盖和样本托架背板; 该支架确保X线垂直于铝梯长轴和样本块底面投照(图2)。

1.3 试验方法

将19个样本逐一放在投照支架上拍摄数码X线片(投照参数为7 mA、60 kV、0.05 ms)。随机选择9号和19号样本(HP质量分别为249.00、483.15 mg)在同样条件下连续拍摄10张X线片, 间隔2 min, 得到39张X线片。测量并计算出HP所在的圆形感兴趣区(region of interest, ROI)的等效铝厚度和校正灰度。

1.4 统计分析

用HP质量(mg)/ROI面积(直径9.84 mm, 面积76.05 mm²)表示ROI区HP含量(即HP的面密度, 单位为mg/mm²), 用SPSS 10.0统计软件包进行统计分析。1) 在等效铝厚度与HP含量、校正灰度与HP含量之间进行一元线性回归分析; 2) 将等效铝厚度、校正灰度分别回代入所得的回归方程中, 计算出估测的HP含量, 与实际HP含量相比, 计算估测偏误率; 3) 计算9号、19号样本连续拍摄10张X线片等效铝厚度和校正灰度的均值、标准差、平均误差。



1: 对照区; 2: 样本托架; 3: 标准化铝梯; 4: 传感器固定夹; 5: 试验样本; 左: 投照支架; 中: 样本就位后; 右: 拍摄X线片
图2 样本投照支架

Fig 2 The illustration of imaging device

2 结果

等效铝厚度与HP含量之间有明显相关性($r^2=0.998, P=0.000$), 得到回归方程为: $Y=3.36X-52.79$, 其中Y为HP含量, X为等效铝厚度; 校正灰度与HP含量之间有明显相关性($r^2=0.996, P=0.000$), 得到回归方程为: $Y=9.01 \times 10^{-2}X-108.90$, 其中Y为HP含量, X为校正灰度。将测量所得的等效铝厚度、校正灰度代入回归方程, 得到估测的ROI区HP含量。与实际HP含量相比, 计算偏误率; 结果见表1、2。

表1 等效铝厚度估测HP含量的偏误率

Tab 1 The bias ratio of estimated HP density with the use of equivalent aluminum thickness

样本号	等效铝厚度 (mm)	HP含量 (mg/mm ²)	预测HP含量 (mg/mm ²)	预测值 标准误	预测偏 误率(%)
1	0.54	1.052	1.125	2.72	6.97
2	0.66	1.373	1.516	2.42	10.41
3	0.67	1.586	1.558	2.39	1.76
4	0.74	1.849	1.793	2.22	3.03
5	0.87	2.204	2.216	1.94	0.51
6	0.92	2.406	2.412	1.83	0.22
7	1.01	2.677	2.715	1.68	1.41
8	1.08	2.971	2.950	1.58	0.71
9	1.15	3.274	3.167	1.52	3.26
10	1.22	3.536	3.412	1.48	3.51
11	1.34	3.792	3.811	1.48	0.50
12	1.43	4.107	4.114	1.55	0.16
13	1.49	4.367	4.313	1.62	1.24
14	1.61	4.659	4.718	1.81	1.28
15	1.64	4.933	4.834	1.87	2.02
16	1.79	5.323	5.320	2.18	0.05
17	1.86	5.623	5.579	2.36	0.79
18	2.06	6.022	6.228	2.86	3.42
19	2.09	6.353	6.328	2.94	0.40

表2 校正灰度估测HP含量的偏误率

Tab 2 The bias ratio of estimated HP density with the use of corrected grey level intensity

样本号	校正灰度	HP含量 (mg/mm ²)	预测HP含量 (mg/mm ²)	预测值 标准误	预测偏 误率(%)
1	26	1.052	0.910	3.75	13.46
2	32	1.373	1.451	3.21	5.67
3	32	1.586	1.451	3.21	8.54
4	35	1.849	1.721	2.95	6.91
5	41	2.204	2.262	2.49	2.61
6	43	2.406	2.442	2.35	1.48
7	47	2.677	2.802	2.13	4.68
8	50	2.971	3.073	2.01	3.41
9	52	3.274	3.253	1.95	0.66
10	55	3.536	3.523	1.91	0.37
11	59	3.792	3.883	1.94	2.40
12	63	4.107	4.244	2.07	3.33
13	65	4.367	4.424	2.16	1.30
14	69	4.659	4.784	2.40	2.70
15	70	4.933	4.874	2.46	1.20
16	75	5.323	5.325	2.84	0.04
17	77	5.623	5.505	3.00	2.10
18	83	6.022	6.045	3.53	0.39
19	84	6.353	6.136	3.62	3.42

由表1可见, 用等效铝厚度估测ROI区HP含量的偏误率最小为0.05%, 最大为10.41%。当等效铝厚度达到0.67 mm(表1中3号样本)以上时, 估测偏误率在5%以内。由表2可见, 用校正灰度估测ROI区HP含量的偏误率最小为0.04%, 最大为13.46%。当校正灰度达到41个灰阶(表2中5号样本)以上时, 估测偏误率在5%以内。

9号样本重复投照10次, ROI区等效铝厚度为 $1.18 \text{ mm} \pm 0.025 \text{ mm}$, 平均误差1.56%; 校正灰度为

54.3±1.06个灰阶，平均误差1.40%。19号样本重复投照10次，ROI区等效铝厚度为2.07 mm±0.021 mm，平均误差0.82%；校正灰度85.5±0.71个灰阶，平均误差0.70%。

在统计学上，当测量误差为1%时，若用95%双限制性可信区间，则2次测量之间可有2.8%的变化^[5]，那么9号样本ROI区等效铝厚度的误差范围是0.052 mm (均值×2.8%×平均误差×100)，19号样本ROI区等效铝厚度的误差范围是0.048 mm；9号样本ROI区校正灰度的误差范围是2.1个灰阶，19号样本ROI区校正灰度的误差范围是1.7个灰阶。由此，有95%的把握说，如果ROI区等效铝厚度的变化大于0.05 mm，或校正灰度的变化大于2个灰阶，就说明该区域HP的质量发生了变化。根据回归方程，此时对应的HP含量的变化是0.17 mg/mm²(等效铝厚度 3.36×0.05)和0.18 mg/mm²(校正灰度，9.01×10⁻²×2)。

3 讨论

3.1 牙槽骨密度定量测量系统的工作原理

该系统建立在X线骨密度测量法基础之上，依据骨矿物质含量不同在X线片上形成的灰度不同来测量骨密度。灰度同时受投照条件的影响，因此不能在不同的X线片间直接比较，需要引入一个参照系统校正投照条件造成的差异，通常选用铝合金或磷酸氢钾溶液^[5]。本研究选用Lc9型铝合金梯级作为参照系统。铝梯与牙槽骨同时投照，当ROI区的平均灰度与铝梯某处的平均灰度一致时，就可将ROI区的平均灰度转换成铝的厚度；在不同的X线片间，铝厚度是有可比性的。

为提高测量精度，需要建立铝厚度(因变量)相对于灰度(自变量)连续变化的函数关系。物体对X线的吸收遵循的不是线性关系，所以物体的厚度与灰度之间也不是线性关系。Southard等^[4]检验了铝厚度与灰度之间直线、C形曲线、多项式曲线等的拟合准确性，发现3次以上多项式拟合误差最小。本研究选用了6次多项式拟合。因为每次投照的条件不可能完全相同，所以每张X线片铝厚度与灰度的函数关系都是唯一的。计算机计算并储存这一函数关系，以此为依据就可以计算这张片子上任一灰度对应的等效铝厚度。

该测量系统还可以拟合灰度(因变量)相对于铝厚度(自变量)的函数关系。以某次投照的这一函数关系为标准，将每张X线片ROI区的等效铝厚度代入，即可得到ROI区的校正灰度，这相当于固定了X线片的投照条件，所以校正灰度可在不同X线片间进行比较。

3.2 牙槽骨密度定量测量系统的准确性与灵敏度

本研究采用的牙槽骨密度定量测量系统，在X线骨密度测量法基础之上进行了改进，引入了高分辨率的直接数字化影像，并辅以计算机技术，实现了对牙槽骨密度的准确测量。测量骨密度实际上就是要测量骨中HP的含量。一般在确定各种骨密度测量方法的精确性与准确性时，采用骨骼烧灰法或使用HP制成的模型^[5]，考虑到骨中HP的含量和分布不均匀，以骨骼为研究对象检验测量系统的精确性必然导致误差增大，本研究的主要目的是确定测量系统的性能，故选用HP粉末制作的样本进行测试。

本研究中，ROI区的等效铝厚度大于0.67 mm，或校正灰度大于41个灰阶时，估测偏误率在5%以内。笔者用该系统在患者的根尖片上测量牙槽骨密度时，测得的等效铝厚度和校正灰度远远大于以上阈值，说明用该系统测量牙槽骨密度的偏误率在5%以内，这种测量准确性能满足临床和科研的需要。

本研究还发现，当等效铝厚度增加0.05 mm以上，或校正灰度增加2个灰阶以上时，就有95%的把握说ROI区骨钙含量发生了变化，此时对应的骨钙含量的变化是0.17 mg/mm²(等效铝厚度)，或者是0.18 mg/mm²(校正灰度)。这说明该系统可以灵敏地检测出HP含量的细微变化。

3.3 用等效铝厚度和校正灰度估测HP含量的区别

本研究发现，等效铝厚度、校正灰度与ROI区HP含量之间均有明显相关性，r²分别是0.998和0.996，似乎表明用等效铝厚度和校正灰度都可以有效估测HP含量。但灰度反映的是穿透物体的X线剂量，而X线穿过物体遵循的是指数关系^[5]，理论上影像灰度与物体的厚度、密度、质量等之间不可能呈直线关系。但是不少学者^[6-8]的研究表明，在一定范围内，灰度与物体的厚度、质量、密度之间能够达到可以接受的线性关系；超出一定范围，线性关系可能就不再适合^[9]。本研究中，样本HP含量跨度较小，在这一狭窄范围内达到了良好的线性关系，与以往研究一致；但如果超出这一范围，研究所得的回归方程是否还适于估测并不确定。根据物理学原理，等效铝厚度与HP含量之间是线性关系，即便超出本研究样本的HP含量范围，线性回归方程的有效性依然值得信赖。所以笔者认为，该测量系统在实际应用时最好使用等效铝厚度进行比较和估测。

3.4 牙槽骨密度定量测量系统与定量DSR技术比较

本研究的牙槽骨密度定量测量系统可用于骨密度的横向比较和纵向观察，但测量的骨密度是X线透射路径上HP的面密度，没有考虑射线穿透的骨厚度，用于横向比较时会存在一定的偏差。

目前对牙槽骨密度的纵向变化多采用DSR技术进行检测。DSR的基本原理是将同一位置不同时期的牙片在计算机辅助下进行重叠,然后将不同牙片的灰度相减获得减影图像,解剖结构无改变的部位影像可以相互抵消显示为中性灰度,牙槽骨密度发生改变的部位则表现为灰度的增减,通过DSR可以灵敏地检测骨密度的变化;结合计算机辅助图像密度分析,用像素数 \times 灰度变化的平均值可以对骨密度进行定量^[10],即定量DSR技术。

Christgau等^[11]用干燥的猪下颌骨和厚度递增的骨切片检验了定量DSR的测量效果,发现骨矿含量变化与灰度变化之间呈线性相关,密质骨 r^2 为0.76,松质骨 r^2 为0.77,该方法最小可以检测每个像素0.10~0.15 mg的骨矿含量变化(结合该研究影像的分辨率,相当于19.6~29.4 mg/mm²)。由于物体对X线吸收的特性,灰度变化与骨密度变化理论上不呈线性关系,它们只能在相对狭窄的范围内达到线性关系^[12],这就意味着在不同的投照部位、不同的投照条件下,即便灰度变化相同也可能反映不同的骨密度变化,使得这种方法的应用具有一定的局限性。要想对减影片上的灰度变化进行准确的定量,也必须引入一个标准参照系统^[10],如铝梯。这就需要在基线牙片上加上铝梯拍摄,后续牙片不使用铝梯,减影之后铝梯的影像就会留在减影片上,用来对灰度变化进行校正和定量^[7,13]。这和本系统使用的测量原理是一样的,只不过本系统先确定每张牙片上的骨密度,再对骨密度进行比较,而在定量DSR中是先确定灰度变化,再确定灰度变化对应的骨密度变化。Allen等^[14]比较了这2种方法估算骨缺损量时的效果,发现分别估测骨量再相减的方法估测效果明显优于定量DSR。这可能是因为DSR要求减影牙片具有高度的可重复性,而投照角度的细微差异和影像重叠减影过程增大了误差。本研究引入了高分辨率的直接数码影像和铝梯标准参照系统,辅以相应的计算机技术,对HP含量变化检测的灵敏度明显提高,可以达到0.17~0.18 mg/mm²。

综上所述,本研究所采用的牙槽骨密度定量测量系统可用于对牙槽骨密度的横向比较和纵向观察,其准确性和灵敏度较高,能满足临床和科研的需要。但本研究仅采用体外模型检验该系统的性能,所得数据能否直接用于临床还需进一步研究。

[参考文献]

[1] 陆怀秀,温宁,王忠义,等. 牙周炎患者拔牙创骨密度变化的测量分析[J]. 临床口腔医学杂志, 2003, 19(2): 95-96.
LU Huai-xiu, WEN Ning, WANG Zhong-yi, et al. Measurement

and analysis of bone mineral density of alveolar bone in patients with periodontitis[J]. J Clin Stomatol, 2003, 19(2): 95-96.

[2] 林梓桐,王铁梅,林华,等. 标准化数字式曲面体层片检测牙周炎患者颌骨密度的应用评价[J]. 华西口腔医学杂志, 2008, 26(1): 60-63.
LIN Zi-tong, WANG Tie-mei, LIN Hua, et al. Evaluation of mandible bone loss of periodontitis with standard digital panoramic tomogram[J]. West China J Stomatol, 2008, 26(1): 60-63.

[3] 栗震亚,黄刚,王军,等. 儿童下颌骨骨密度的定量CT测量研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2008, 26(4): 355-357.
LI Zhen-ya, HUANG Gang, WANG Jun, et al. Measurement on bone density of children's mandible by quantitative computed tomography[J]. West China J Stomatol, 2008, 26(4): 355-357.

[4] Southard TE, Wunderle DM, Southard KA, et al. Geometric and densitometric standardization of intraoral radiography through use of a modified XCP system[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1999, 87(2): 253-257.

[5] 刘忠厚. 骨质疏松学[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 361-426.
LIU Zhong-hou. Osteoporosis[M]. Beijing: Science Press, 1998: 361-426.

[6] 周爽英,张刚,曹采方. 牙片中骨量与灰度的关系及灰阶的改进[J]. 现代口腔医学杂志, 1997, 11(1): 34-36.
ZHOU Shuang-ying, ZHANG Gang, CAO Cai-fang. A study of relation between bone volume and gray level in periapical radiographs and improvement of gray stepwedge[J]. J Modern Stomatol, 1997, 11(1): 34-36.

[7] Ruttimann UE, Webber RL. Volumetry of localized bone lesions by subtraction radiography[J]. J Periodontol Res, 1987, 22(3): 215-216.

[8] Christgau M, Hiller KA, Schmalz G, et al. Quantitative digital subtraction radiography for the determination of small changes in bone thickness: An *in vitro* study[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1998, 85(4): 462-472.

[9] Yang J, Chiou R, Ruprecht A, et al. A new device for measuring density of jaw bones[J]. Dentomaxillofac Radiol, 2002, 31(5): 313-316.

[10] Hausmann E. Radiographic and digital imaging in periodontal practice[J]. J Periodontol, 2000, 71(3): 497-503.

[11] Christgau M, Hiller KA, Schmalz G, et al. Accuracy of quantitative digital subtraction radiography for determining changes in calcium mass in mandibular bone: An *in vitro* study[J]. J Periodontol Res, 1998, 33(3): 138-149.

[12] Fourmousis I, Bragger U, Burgin W, et al. Digital image processing. . In *in vitro* quantitative evaluation of soft and hard peri-implant tissue changes[J]. Clin Oral Implants Res, 1994, 5(2): 105-114.

[13] 周爽英,马绪臣,张刚,等. 根尖片数字减影对牙槽骨微小病损检测能力的评价[J]. 中华口腔医学杂志, 1998, 33(2): 70-72.
ZHOU Shuang-ying, MA Xu-chen, ZHANG Gang, et al. Detection of small alveolar bone lesions by digital subtraction radiography[J]. Chin J Stomatol, 1998, 33(2): 70-72.

[14] Allen KM, Hausmann E. Analytical methodology in quantitative digital subtraction radiography: Analyses of the aluminum reference wedge[J]. J Periodontol, 1996, 67(12): 1317-1321.