

网络出版时间: 2017-9-8 12:37 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170908.1237.031.html>

◇技术与方法◇

## Micro-CT 用于分析种植体 周围骨小梁情况及相应 ROI 选择的初探

张亨国<sup>1</sup>, 孙卫革<sup>2</sup>, 刘向辉<sup>2</sup>, 蒋勇<sup>1</sup>, 周维民<sup>1</sup>, 高文京<sup>1</sup>

**摘要** 初探微计算机断层扫描技术(Micro-CT)分析种植体周围骨小梁情况,介绍运用特定的感兴趣区域(ROI)选择办法,对比分析不同时期种植体-骨界面骨结合情况。实验动物为8只雄性Beagle犬,将每只犬双侧下颌第3、4前磨牙微创拔除,牙龈翻瓣后选择相应拔牙窝的合适位置即刻植入种植体(规格为长度10.0 mm,直径3.8 mm)各1颗。术后4周,随机处死4只实验犬,其余4只于种植术后8周时处死,术后4周及8周共有32枚种植体样本,运用Micro-CT扫描,使用特定ROI选择方法进行分析研究对比。结果显示术后4周与8周种植体周围骨密度及骨小梁数目、厚度、形态等方面差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。本实验运用的选择ROI方法客观、合理、有效,最终ROI分析结果符合传统骨愈合及种植体-骨结合理论,为临床种植学研究提供了指导。

**关键词** Micro-CT; 牙种植; 骨小梁; ROI

中图分类号 R 445.3; R 602

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)11-1721-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.11.031

微计算机断层扫描技术(microcomputed tomography, Micro-CT)应用广泛,涉及口腔内科中根管形态的观察、口腔外科中的颌骨骨板的测量以及口腔种植治疗前评估植入条件等方面。通过Micro-CT及相关的分析软件精确计算出感兴趣区域(region of interest, ROI)骨小梁厚度、数目、形态等参数,可在不同骨愈合期内分析骨再生及重建情况<sup>[1]</sup>。该研究初探Micro-CT在即刻种植后的应用以及ROI选择,为临床种植学提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验样本 8只健康成年雄性Beagle犬(南京

军区南京总医院比较医学中心),将每只犬双侧下颌第3、4前磨牙微创拔除,尽量保存牙槽骨完整,牙龈翻瓣后选择相应拔牙窝的合适位置即刻植入种植体(规格为长度10.0 mm,直径3.8 mm)1枚,严密减张缝合创口。术后给予流质饮食1周,半流质饮食2周。术后4周,随机处死4只实验犬,其余4只于种植术后8周时处死。处死后的实验犬,利用线锯完整取出下颌体后,放入10%甲醛溶液中浸泡,并置于4℃恒温环境备用。术后4周及8周共有32枚种植体样本,种植体存留率100%,初期稳定性均良好。

**1.2 实验设备** Micro-CT(SkyScan1176 *in-vivo*)、NRecon、DataViewer、CTAn软件(比利时SkyScan公司)。

**1.3 实验方法** 样本中32枚种植体分别编号为A、B, A组16枚种植体为植入后8周, B组16枚种植体为植入后4周。将离体下颌骨放入经Micro-CT机舱内扫描,工作电压为80 Kv,电流313 μA,相机像素(pixel)大小12.59 μm,分辨率为17.76 μm × 17.76 μm × 17.76 μm,共旋转180°,平均每个标本所需时间为15 min左右。

**1.3.1 三维重建** 整个离体动物下颌骨经Micro-CT扫描完成后,以NRecon软件三维重建标本中每颗种植体所在区段颌骨的完整影像,单个颌骨区段需时约50 min。

**1.3.2 调整图像** 重建后的影像可以看到带种植体的骨区段,以DataViewer软件将重建所得的影像进行必须的改变调整,调整的方向主要由矢状面、冠状面及横断面三个方面组成,将调整后的影像统称为向影像(transaxial images, TI)(图1),并进行保存待用。

**1.3.3 分析图像** 将调整后得到的TI以CTAn软件进行进一步研究,为了确定及区分不同的灰度阈值下种植体及种植体周围骨组织,投射极限强度并得到相应的预览图。最终根据TI的情况,得到标本中种植体,在对应的灰度阈值范围为120~200时,

2017-07-17 接收

基金项目: 2013年度南京军区医学科技创新课题(编号:MS054)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学第四附属医院口腔科,合肥 230032

<sup>2</sup>南京中医药大学附属八一医院口腔科,南京 210002

作者简介: 张亨国,男,硕士研究生,主治医师;

孙卫革,女,主任医师,责任作者, E-mail: sunweige9581@

163.com

完全显影。而种植体周围骨组织,在对应的灰度阈值范围为 35 ~ 80 时,完全显影。以此将种植体、种植体周围骨组织选择在对应的阈值范围内,同时将软组织及空腔选择在目标区段外,这对后期的 ROI 的选择及研究至关重要。根据植入物相应的灰度阈值和骨组织相应的灰度阈值之间的差异,将植入物横截面图像沿其原始形状均匀扩展 6 个像素,得到的图像标记为 ROI I (图 2C)。植入物横截面的图像沿着原始形状均匀扩展到 26 个像素,将得到的图像标记为 ROI II (图 2D)。最后将 ROI II 扩展图像的 26 个像素剪切 ROI I 扩展的 6 像素图像,余下的 20 像素图像作为目标 ROI (图 2E、F),这将不仅避免在接近金属的骨组织图像中的存在的伪像干扰,而且还使在 ROI 区域中的植入物周围的新生骨覆盖最大化。选择具有更好的 CT 图像曝光条件的相邻 10 个图像区段作为对应每个植入物的目标区域,由相邻 10 个图像中的 10 个 ROI 区域组成近似中空圆柱形形状,为感兴趣集 (volume of interest, VOI)。最后,通过三维分析计算 VOI 区域的骨微结构参数,代表相应的植入骨周围的骨形成情况。最终分析计算主要得到的参数有骨体积 (tissue volume, TV),单位为  $\text{mm}^3$ ,代表骨组织以及相邻骨小梁之间的尺寸。骨小梁体积 (trabecular bone volume, BV),单位为  $\text{mm}^3$ ,代表 BV 的大小。TV 分数 (percent bone volume, BV/TV),代表 BV 占骨组织总体积的百分比,通常计算在有更多的骨小梁区域的松质骨范围内是有意义的,皮质骨范围则相反。骨组织表面积 (bone surface, BS) 为 3D 分析后计算得出的骨表面积大小,单位为  $\text{mm}^2$ 。VOI 交界面面积 (intersection surface, IS) 代表 VOI 区域范围内骨小梁的面积大小,单位为  $\text{mm}^{-1}$ 。骨组织复杂交错指数 (BS/BV) 表示的是区域范围内骨组织的交错厚薄复杂程

度,单位为  $\text{mm}^{-1}$ 。骨小梁模式因素 (trabecular bone pattern factor, Tb. Pf) 为范围影像中骨小梁对于骨组织的一个凹凸程度的关系,单位为  $\text{mm}^{-1}$ 。结构模型指数 (structure model index, SMI) 代表了评价骨质疏松程度的一个重要参数,直接反映了骨小梁形状是棒状结构趋势或板状结构趋势,而理想的板状、柱状和球状结构,相应的 SMI 指数为 0、3、4,当骨小梁形态从板状到棒状转变时候,SMI 值相应增加,而当松质骨结构变性时,板状结构穿孔消失,则柱状结构相应比例增加。骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb. Th) 单位为  $\text{mm}$ 。骨小梁数目 (trabecular number, Tb. N) 单位为  $\text{mm}^{-1}$ 。骨小梁间隙 (trabecular separation/spacing, Tb. Sp) 单位为  $\text{mm}$ 。骨孔隙体积 (volume of Pores, Po. V) 单位为  $\text{mm}^3$ 。骨孔隙体积百分比 (percent porosity, Po)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,4、8 周植入周期各项骨微结构参数之间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

如表 1 所示,经过本实验选择 ROI 的办法分析,得出 4 周与 8 周生长期,种植体周围骨在 BV/TV、IS、Tb. Th、Tb. N、BS/BV、Tb. Pf、SMI、Po 等方面差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),说明种植体植入后 8 周较 4 周在种植体周围骨生长方面更丰富、稳定、成熟,即种植体骨结合情况 8 周较 4 周更佳。

## 3 讨论

与常规 CT 相比, Micro-CT 具有一些优点,比如对目标区域的相应骨组织状况的清晰性、准确性和真实性的反映。同时在目前口腔诊疗中,尤其在植

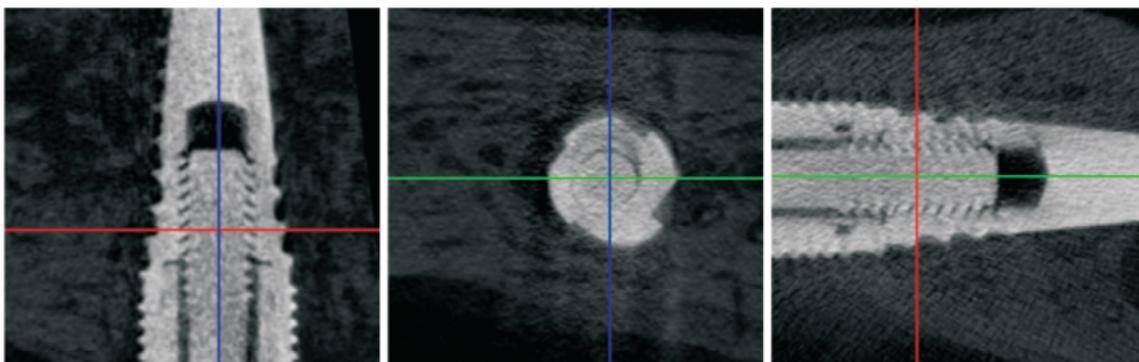


图 1 TI 的选取

注: 蓝线代表矢状面, 绿线代表冠状面, 红线代表横断面

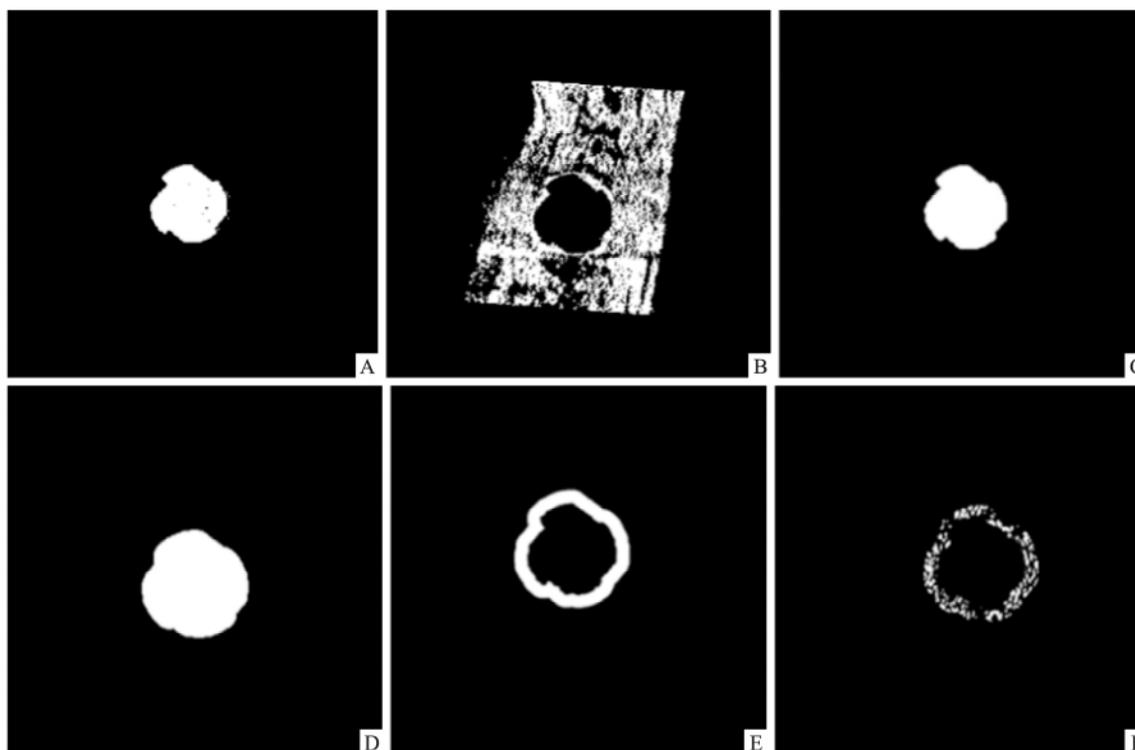


图2 目标 ROI 选择过程

A: 种植体横断面影像(灰度阈值区间为 120 ~ 200); B: 骨组织影像(灰度阈值区间为 35 ~ 80); C: 种植体横断面影像扩张 6 pixels 后; D: 种植体横断面影像扩张 26 pixels 后; E、F: 目标 ROI

表1 不同植入时间的种植体周围骨微结构参数( $\bar{x} \pm s, n=32$ )

参数	A 组(8周)	B 组(4周)
BV/TV(%)	26.338 35 ± 0.423 79	23.951 74 ± 0.585 12
IS(mm <sup>2</sup> )	3.238 96 ± 0.012 58	2.686 73 ± 0.064 56
BS/BV(mm <sup>-1</sup> )	58.603 49 ± 0.755 75	57.208 05 ± 0.681 48
Tb.Pf(mm <sup>-1</sup> )	17.850 12 ± 0.863 59	19.329 89 ± 0.744 76
SMI	2.252 88 ± 0.041 39	2.482 27 ± 0.084 76
Tb.Th(mm)	0.071 27 ± 0.002 47	0.074 94 ± 0.003 28
Tb.N(mm <sup>-1</sup> )	3.695 35 ± 0.057 59	3.196 30 ± 0.076 15
Tb.Sp(mm)	0.117 72 ± 0.007 49	0.123 28 ± 0.006 34
Po.V(mm <sup>3</sup> )	0.768 54 ± 0.014 76	0.783 95 ± 0.031 46
Po(%)	73.661 65 ± 0.371 29	76.048 26 ± 0.344 16

入物诊断和治疗过程中, Micro-CT 及锥形束 CT 的应用属于趋势, 其可以有效探查和评价植入区域骨质情况。

本实验所使用方法是基于 CT 的成像原理, 而种植体-骨结合理论也提示有生命的骨组织和种植体之间直接的结合, 无纤维组织围绕种植体, 这种结合必须而且能够承受负重。从植入物植入开始到最终植入物-骨结合的形成, 通过 Micro-CT 的研究探查, 分析比较骨小梁的情况, 进而评判植入物周围骨再生和骨重建情况, 与传统的组织病理学相比, 本实验方法更有效、更宏观、更显而易见。同时在脊柱手

术领域, 在脊柱植入物的研究中, Micro-CT 甚至被作为手术探查的完美替代方法, 作为脊柱植入物骨融合评判的黄金标准<sup>[2]</sup>。

本研究中, Micro-CT 对骨组织和骨小梁组织分析研究得出的相关参数有: ① 骨结构参数: 包括 TV 分数, 骨小梁平均厚度和密度, 以及骨小梁间距; ② 骨形态参数, 包括骨小梁结构模式因子、骨小梁表面长度和骨小梁面积指数参数、骨小梁复杂指数; ③ 骨转换参数: 平均类骨质宽度指数, 类骨质体积。通过这些数据分析和比较研究, 清楚地了解每个骨愈合阶段的骨再生和骨重塑相关的情况。骨小梁组织形态学的研究目前仍处于初始阶段, 在此同时许多国内外学者对骨小梁形状的相关指导参数进行了大量的研究<sup>[3-5]</sup>, 但却始终没有引入明确和严格的执行标准。本实验基于 SkyScan1176 及其分析软件, 目的是建立植入物周围的骨组织的 ROI 并进行数据分析。

理想和客观的 ROI 可以准确反映骨组织在最小干扰条件区域的图像, Moon et al<sup>[6]</sup> 的研究已经表明, 高密度材料特别是金属, 其周围的骨组织 CT 伪像, 除了对三维重建的影响, 其对正常松质骨分析的准确性及骨密度等参数的测量和分析判断有较大的

影响。目前人体植入材料中,钛植入物的密度为相对适中范围,是对CT影像造成最小干扰伪影的材料之一。王军等<sup>[7]</sup>对比陶瓷植入物和钛植入物CT图像伪影的结果表明,钛植入物外轮廓和周围骨骼重建情况较陶瓷植入物更佳,尽管如此,植入物周围的伪影产生的幅度是正常骨组织周围伪影幅度的10倍,内含植入物的骨组织CT图像中存在着不可抗拒的金属伪影,其直接影响重组成像及数据提取分析。在相关学者<sup>[4-5,8]</sup>关于Micro CT骨小梁研究中,目标ROI一般为扫描图像中随机选择的某一固定大小的区域,通过目标ROI分析研究骨小梁的相关参数,然后对于此区域的选择均没有明确客观的阐述。动物实验环境以及标本制作方法相同的情况下,设定Micro CT工作环境,在相同图像重建软件下,设定同样规格的灰度阈值,以保证研究方法的一致性。因种植体大多为钛金属质地,种植体周围的骨组织成像,因受到高密度金属干扰,造成难以避免的伪影,最终影响到实验结果的客观性。CT伪影干扰实验结果是目前影像学实验方法中最为突出的问题,而最终的ROI影像尽量剔除离金属最近的一层骨组织影像,可以有效降低金属造成的CT伪影干扰。在本实验中,基于植入物的轮廓,均匀地剔除金属外围的6像素图像,只保留植入物周围均匀的20像素图像,真正的客观还原和分析出植入物周围骨再生和骨重塑情况。

在本实验中,同一健康成年实验犬中的两个植入物的愈合周期分别是立即植入后4周和8周。而骨愈合的经典理论表明,在骨愈合过程中存在炎症反应、血管生成、软骨形成和骨重建的4个阶段。随着骨化过程的不断深入,骨骼越来越成熟,最终形成成熟稳定的松质骨,骨愈合一般在4周后骨小梁逐渐形成和稳定。在骨重塑的关键阶段,分布在新生骨中的骨小梁倾向于规则和稳定,未成熟的交织骨逐渐被成熟的板状骨替代,最终在大约8周内完成全部过程。Mai et al<sup>[9]</sup>在进行相关植入物研究中发

现28d及56d时分别处死实验动物并行硬组织切片对比,结果显示28d时种植体周围血管再生及骨再生较显著,而56d时骨重塑良好,骨小梁形态更趋于稳定。本实验基于关键的4周、8周骨愈合时间节点进行CT数据采集分析,得出在相同条件下,对比4周与8周不同生长期,种植体周围骨在BV/TV、IS、Tb.Th、Tb.N、BS/BV、Tb.Pf、SMI、Po等方面差异均有统计学意义,最终得出的骨微参数结果完全符合传统骨愈合进程理论。

### 参考文献

- [1] Neldam C A, Lauridsen T, Rack A, et al. Application of high resolution synchrotron micro-CT radiation in dental implant osseointegration[J]. *J Craniomaxillofac Surg* 2015, 43(5): 682-7.
- [2] Lu S S, Zhang X, Soo C, et al. The osteoinductive properties of Nell-1 in a rat spinal fusion model[J]. *Spine J*, 2007, 7(1): 50-60.
- [3] Scarano A, Valbonetti L, Degidi M, et al. Implant-abutment contact surfaces and microgap measurements of different implant connections under 3-dimensional X-ray microtomography[J]. *Implant Dent* 2016, 25(5): 656-62.
- [4] Wang J, Zheng Y, Zhao J, et al. Low-dose rhBMP2/7 heterodimer to reconstruct peri-implant bone defects: a micro-CT evaluation[J]. *J Clin Periodontol* 2012, 39(1): 98-105.
- [5] 刘媛媛,李果,任家银,等. 纳米钛膜种植体-骨界面的骨整合研究[J]. *国际口腔医学杂志* 2012, 39(3): 312-6.
- [6] Moon S G, Hong S H, Choi J Y, et al. Metal artifact reduction by the alteration of technical factors in multidetector computed tomography: a 3-dimensional quantitative assessment[J]. *J Comput Assist Tomogr* 2008, 32(4): 630-3.
- [7] 王军,毕龙,白建萍,等. 显微CT骨标本扫描的伪影评估与消减控制[J]. *中国体视学与图像分析* 2009, 14(1): 85-92.
- [8] 张亨国,刘向辉,孙卫革,等. Micro CT应用于犬即刻种植即刻加载后种植体-骨界面骨结合的研究[J]. *安徽医科大学学报* 2014, 49(4): 455-9.
- [9] Mai R, Kunert-Keil C, Grafe A, et al. Histological behaviour of zirconia implants: an experiment in rats[J]. *Ann Anat*, 2012, 194(6): 561-6.

## Analysis of trabecular bone around the implant by Micro-CT and the corresponding choice of ROI

Zhang Hengguo<sup>1</sup>, Sun Weige<sup>2</sup>, Liu Xianghui<sup>2</sup>, et al

<sup>1</sup>Dept of Stomatology, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032;

<sup>2</sup>Dept of Stomatology, The Affiliated 81 Hospital of PLA, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210002)

**Abstract** Microcomputed tomography (Micro-CT) was used to analyze the situation of trabecular bone around the

implant, and the specific region of interest (ROI) selection method was used to analyze the osseointegration of implant-bone interface in different periods. Eight male Beagle dogs were used in this experiment. The bilateral mandibular third and fourth premolars were removed by minimally invasive operation, After the gingival flap. The implant (10.0 mm in length and 3.8 mm in diameter) was implanted in appropriate location immediately. Four experimental dogs were randomly assigned at 4 and 8 weeks postoperatively. A total of 32 implant samples were obtained. Micro CT scans were performed using the specific ROI selection method of this experiment, and the final results were compared. Compared 4 weeks with 8 weeks, BV/TV, IS, Tb. Th, Tb. N, BS/BV, Tb. Pf, SMI, Po were all displayed significantly difference ( $P < 0.05$ ). The ROI method in this experiment was objective, reasonable and effective. The results of the final ROI analysis consistent with the traditional bone healing and implant-bone-binding theory, which provided guidance for clinical implant research.

**Key words** micro-CT; dental implant; bone trabecula; region of interest

### (上接第 1720 页)

- IL-17 levels in patients with systemic sclerosis and healthy subjects [J]. *J Clin Anal Med*, 2015, 6(1): 83-7.
- [11] Horie I, Abiru N, Saitoh O, et al. Distinct role of T helper Type 17 immune response for Graves' hyperthyroidism in mice with different genetic backgrounds [J]. *Autoimmunity*, 2011, 44(2): 159-65.
- [12] Nanba T, Watanabe M, Inoue N, et al. Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease [J]. *Thyroid*, 2009, 19(5): 495-501.
- [13] Zheng L, Ye P, Liu C. The role of the IL-23/IL-17 axis in the pathogenesis of Graves' disease [J]. *Endocr J*, 2013, 60(5): 591-7.
- [14] 马学芹,于世鹏. 初诊 Graves 病患者<sup>131</sup>I 治疗前后 IL-23/Th17 轴相关因子水平的变化及意义 [J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(7): 733-5.
- [15] 郭泽华,于世鹏,班博,等. Graves 病患者<sup>131</sup>I、甲巯咪唑治疗前后外周血 Th17 细胞及 IL-17 水平的变化 [J]. *中国免疫学杂志* 2015, 31(1): 117-21
- [16] Figueroa-Vega N, Alfonso-Pérez M, Benedicto I, et al. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and Th17 lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(2): 953-62.
- [17] Klatka M, Grywalska E, Partyka M, et al. Th17 and Treg cells in adolescents with Graves disease. Impact of treatment with methimazole on these cell subsets [J]. *Autoimmunity* 2014, 47(3): 201-11.

## Change of IL-23/IL-17 axis in peripheral blood of patients with Graves disease treated by <sup>131</sup>I or antithyroid drugs therapy

Yang Ming Pan Tianrong Zhong Xing

(Dept of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

**Abstract Objective** To detect the expression level of interleukin-17 (IL-17) /interleukin-23 (IL-23) axis in peripheral blood of patients with Graves disease (GD) before and after <sup>131</sup>I or antithyroid drugs (ATD) treatment.

**Methods** The study groups included 40 patients with incipient GD (GD group), 20 of whom were treated by <sup>131</sup>I, others were treated by ATD. Forty sex and age matched healthy subjects were recruited as control group. ELISA was used to detect interleukin-17 (IL-17), interleukin-23 (IL-23) level before and after the treatment of the GD group and control group. **Results** ① The expression of IL-23, IL-17 in GD group was significantly higher than the control group ( $P < 0.05$ ); ② 6 months after <sup>131</sup>I treatment, the level of serum IL-23, IL-17 were significantly lower than before ( $P < 0.05$ ), but still higher than the control group ( $P < 0.05$ ), which was not found in ATD treatment group. **Conclusion** IL-23/IL-17 axis may play a role in GD which may also be relevant to <sup>131</sup>I treatment.

**Key words** Graves disease; Iodine 131; antithyroid drugs; IL-23/IL-17 axis