

神经元形态重建进展及趋势

李诗玮^{1,2}, 全廷伟^{1,2,3*}, 周航^{1,2}, 李安安^{1,2}, 付玲^{1,2}, 龚辉^{1,2}, 骆清铭^{1,2}, 曾绍群^{1,2}

1. 华中科技大学武汉光电国家研究中心, Britton Chance 生物医学光子学研究中心, 武汉 430074;
2. 华中科技大学工程科学学院, 生物医学光子学教育部重点实验室, 生物医学工程协同创新中心, 武汉 430074;
3. 湖北第二师范学院数学与经济学院, 武汉 430205

* 联系人, E-mail: quantingwei@hust.edu.cn

2018-10-08 收稿, 2018-11-30 修回, 2018-12-03 接受, 2019-01-22 网络版发表

国家自然科学基金创新研究群体项目(61721092)、国家自然科学基金(81327802, 81771913)、国家重点基础研究发展计划(2015CB7556003)、湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划(T201520)和武汉光电国家研究中心主任基金(WNLO)资助

摘要 神经元形态重建是指从图像中挖掘表征神经纤维特征的量化数据. 该技术在神经元类型识别、神经回路绘制、脑图谱构建等众多脑科学基础研究中发挥重要应用, 也会为人工智能领域的多项研究提供有益借鉴. 近年来, 分子标记和成像技术的系列进展将全脑尺度神经网络研究推向前所未有的尺度, 但也对现有神经元形态重建方法提出若干挑战. 在此背景下, 本文简述国内外神经元形态重建研究现状和经典方法, 论述单神经元重建到神经群落重建是领域发展的必然趋势, 并对神经元形态重建的未来发展方向做出展望. 上述内容有助于我国研究者迅速了解神经元形态重建领域的最新动向, 发展与现有数据特点相匹配的神经元形态重建方法.

关键词 神经元形态, 神经纤维追踪, 单细胞分辨下的神经网络, 神经群落重建, 虚假连接识别

理解大脑如何工作是现代神经科学领域最大挑战之一^[1-4]. 连接组学研究大脑的结构网络和功能网络间的连接信息是回答这一问题的关键^[5-8]. 脑网络连接信息的研究, 也称为脑连接组学(Connectome)^[9-11], 根据其研究对象, 可分为微观尺度(microscale, 单神经元)、介观尺度(mesoscale, 神经元群落)和宏观尺度(macroscale, 脑区). 宏观尺度的连接组学, 利用非介入式的手段在全脑尺度下绘制和注解连接组与感知、行为的关系^[7,11-13]. 介观尺度的连接组学, 利用解剖学追踪方法获得基于不同细胞类型的神经元连接结构, 同时利用基因手段在功能连接上定位同类细胞, 从而获得对应的结构与功能连接信息^[3,8,14,15]. 微观尺度的连接组学, 利用电子显微镜、长距离双光子显微镜等观察神经纤维突触的产生与消失, 主要研究局部神经回路的连接^[16,17].

神经科学研究表明, 神经元形态与神经元的表型、投射模型、连接模式、电生理活动等密切相关^[18-21]. 因此, 获取纤维尺度分辨的神经元形态, 将为介观和宏观脑连接组学的研究提供重要的基础信息和互补信息. 一方面, 通过神经元形态的精细重建, 有望在形态层面上系统的分类脑区细胞, 便于介观尺度下关键连接组信息的获取^[22,23]. 另一方面, 全脑尺度下的神经元形态信息, 能够在单细胞分辨水平下真实反映脑结构与功能的活动, 能与宏观脑连接信息相互印证, 构成更完备的脑连接组信息^[24,25]. 因此, 神经元形态的量化获取在神经活动和功能的研究中扮演重要角色^[26,27].

量化神经元形态, 是用矢量化的数据刻画图像中神经元的拓扑结构和几何特征. 在矢量化数据中, 一系列彼此有连接关系的矢量元能表示神经纤维的

引用格式: 李诗玮, 全廷伟, 周航, 等. 神经元形态重建进展及趋势. 科学通报, 2019, 64: 532-545

Li S W, Quan T W, Zhou H, et al. Review of advances and prospects in neuron reconstruction (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 532-545, doi: 10.1360/N972018-00998

本质信息,如纤维长度、直径、位置及纤维间的连接关系^[28]。同神经图像数据相比,量化的神经元形态削减大量冗余信息,信息量极大减小,更利于后续研究的保存、传输、分析和比较。更为重要的是,量化的神经元形态可直接用于与神经元形态相关的科学研究,已成为成像数据通往神经科学新知识的桥梁^[29,30]。

神经元形态的量化经历了漫长的发展历程。100多年前, Parekh和Ascoli^[27]率先通过绘制显微图像,得到神经元的数字形态;1977年, Capowski^[31]首次引入计算机辅助人工进行神经元形态的绘制;在此基础上,发展了许多算法帮助实现神经元形态的量化,减轻了人工绘制的负担,并缩短了神经元量化的时间。尽管如此,神经元量化工作仍然是神经元数据分析流程中最为耗时和最耗费人工的环节,极大地阻碍了对神经元数据的深入挖掘^[27,32]。2010年,艾伦脑科学研究所、霍华德休斯医学研究等研究机构联合举办DIADEM竞赛^[33,34],该竞赛关注的是神经元复杂结构(如树突)的形态重建,最终目标是将神经元形态重建速度较现有手工绘制提升20倍。然而, DIADEM发展的系列方法仍然滞后于成像数据的量化需求。在此背景下,发展高通量、大尺度完整神经元形态重建方法成为新的需求。2015~2016年,众多知名脑研究所联合开展BigNeuron项目^[29,35],其核心是寻找高通量产生大尺度甚至完整神经元形态信息的方法,为构建神经元百科全书奠定基础。

自动神经元形态重建方法历史悠久,但仍围绕着单神经元开展。典型地,最近开展的BigNeuron目标仍然集中在单神经元重建^[29]。近年来,世界范围内脑计划的相继出台^[4],生物标记^[36,37]与成像技术^[38~43]取得系列突破,神经群落研究已成为神经科学领域不可阻挡的趋势,相比单神经元重建,神经群落重建不仅提供单神经元形态信息,更提供多个神经元之间的连接信息,更能满足神经科学需求。然而目前,对神经群落重建方法的关注甚少。为此,本文将首先回顾单神经元重建经典方法,进一步论述单神经元重建向神经群落重建发展的必然趋势,最后对神经群落重建未来的发展方向进行展望。

1 单神经元重建经典方法回顾

单神经元形态重建的核心内容是追踪神经纤维(骨架提取)。学界围绕单神经元形态重建的研究已历

经30多年。在DIADEM和BigNeuron竞赛前已有一些经典方法如骨架化提取、体素增长等尝试自动提取神经元形态结构。在上述竞赛的推动下,更催生出如主曲线算法、管径检测及机器学习等多类方法。下面,本文将对上述经典方法进行简要回顾。

骨架化方法是早期单神经元形态重建的常用方法^[44~47]。它通常包含图像分割、分割区域骨架化、骨架化结果修正等步骤。图像分割指的是将神经纤维信号区域与背景分离,最简单也最常用的方法是阈值法^[48]。阈值法的操作步骤是:若像素的信号值大于设定的阈值,认为该像素属于纤维,否则属于背景。阈值法对噪声非常敏感:当纤维位于低信噪比图像中,阈值法只能识别部分属于神经纤维的像素。分割区域骨架化,即不断地将分割区域变小,提取区域的中心线,线性结构检测方法提取纤维的骨架^[49]是一种常用的方式。但是,传统骨架化方法^[46]进行的图像分割步骤实质上是对图像进行二值化,该操作丢失的灰度变化信息将降低方法的抗噪能力,重建结果将包含难以去除的毛刺和环路。改进的骨架化方法^[45]能直接从灰度图像中提取神经元骨架信息,并通过复杂的约束条件减少毛刺和环路的产生,但当图像中的纤维缺断时,方法无法在原本就不连续的体素点间寻找连接关系,将丢失许多纤维信息。因此,这类骨架化方法在依据前两步获得初步重建结果后,必须人工修订骨架化结果,删去冗余的重建错误或补齐缺断处的纤维形态。

一类较易实现的单神经元重建方法是区域扩展法^[50~54]。该方法从一个给定的种子点出发,向外不断的扩展区域,获得神经纤维骨架。在区域扩展过程中,每扩展一次,标识扩展区域,并将标识的区域分解成若干连通的子区域,每个子区域的质心作为纤维骨架上的一个中心点;对当前标识的区域,筛选其邻域体素。一般的筛选条件是:(1)体素信号值大于给定阈值;(2)未被标识。满足筛选条件的体素所构成的区域认为是新的扩展区域。由新的扩展区域可继续获得纤维骨架的中心点。这种区域扩展方式获得的骨架中心点有天然的连接信息,进而很容易将这些中心点连接形成纤维的骨架。该方法仅在局部区域搜索体素点,因此计算效率高,适合大尺度数据分析。它的不足在于,其筛选邻域体素的规则多基于阈值法,对噪声较敏感,仅适合前景与背景有明显差异的神经图像。

变分法是单神经元形态重建中的一类重要方法^[55-57]。这类方法中代表性的方法有open snake方法^[56]。上述方法的一般性步骤是：先计算图像的梯度矢量场，让梯度方向指向神经纤维的中心线；然后，给定一段初始曲线，依据梯度矢量场信息让曲线两端不断地沿着纤维中心线延伸；延伸的曲线作为纤维的追踪结果。上述方法的优点是能够克服一定的纤维缺断，但是作为一种全局方法，它在处理较大尺度的图像时需要分析较多的体素点，速度很慢；并且，在背景较强的神经图像中寻找种子点时会错误地将噪声也识别为前景，因此造成后续追踪的错误。

图论方法也广泛应用于单神经元形态重建^[58-61]。该方法首先利用阈值法或机器学习法，确定神经纤维上若干关键点；建立关键点与其相邻的几个关键点的连接关系；然后根据连接关系，构造一个连通图；在连通图中获取最小生成树，将最小的生成树作为神经纤维的追踪结果。该方法最大的优点在于克服纤维缺断。但在神经图像噪声较强，纤维信号较弱的情况下，可能会将强噪声点误判为关键点，影响最终的追踪结果。

除上述列举的方法之外，还有一类重要的纤维追踪方法^[62-67]。这些方法均有相似流程：(1) 通过比较信号强度，在纤维上确定若干个种子点；(2) 从种子点出发，提取种子点的邻域信号，根据邻域信号强度及方向信息，调整种子点位置，并计算种子点下一步位置；(3) 将下一步位置点作为当前点，作与流程(2)相同的操作；获得新的位置及当前点下一步位置；重复操作流程(3)，可以获得一系列的位置点，这些位置点构成了纤维的骨架。上述流程的核心环节是：利用当前点的邻域信号，修正当前点的位置、并计算当前点的下一步走向。这一核心环节可由多种策略实现：例如，用管状模型来拟合当前点的邻域信号，管状的中心作为当前点的最终位置，管状方向为当前点的下一步走向^[63]。用主曲线法^[64,65]、海森矩阵法^[66]、雅克比矩阵法^[67]分析局部区域的走向，并将走向作为当前点的信号方向。上述方法的共同点是，只需对局部信号进行处理分析，计算效率高，所占内存少，适合大尺度数据分析；同时，这些方法还有一定的抗噪能力。该类方法的局限在于：种子点的选取很大程度上决定了神经纤维追踪的准确性。

从这些经典的神经元形态重建方法可以归纳出：正确识别神经纤维信号与背景是成功追踪神经纤维

的关键。因此，利用机器学习建立识别模型并应用于形态重建^[68,69]是很自然的选择。构建识别模型的一般流程是：(1) 确定信号点及背景点，并提取这两类点的邻域；(2) 从两类点的邻域提取区分信号点与背景点的向量特征，这两类特征作为训练集；(3) 选择合适的机器学习方法，对训练集进行学习，建立识别模型。目前，稀疏字典学习^[70]、监督学习^[71]等方法已用于识别模型的建立。上述方法的引入极大提升重建方法识别弱信号的能力，但是将其全面应用于神经元形态重建尚需时日。这是由于，机器学习方法建立识别模型的策略有以下普遍特征：(1) 深度神经网络等方法归纳识别信号与背景的特征时，完全基于图像数据特征。这意味着，需要大量的数据和较大计算代价才能获得识别向量特征。(2) 建立的识别模型需要在全局范围内尝试识别所有的信号点，从而获得由识别的信号点构成神经元形态区域。(3) 识别特征可人为归纳，但识别模型与神经纤维追踪相结合时，重建结果极度依赖纤维种子点的确定。具体而言，前一段重建结果建立的识别模型可用于指导下一步追踪。但该方法的重建结果受限于种子点的确定。综上所述，前两类策略，计算代价大，阻碍机器学习方法向大尺度神经元形态重建的应用；最后一类方法，可用于大尺度神经元形态重建，但重建准确度依赖于神经纤维都有种子点这一前提。

我们进一步在表1中详细列举了这些经典方法的发表单位，在单神经元形态重建方面的优势及所面临的问题。从表1中可以发现，上述经典方法大多围绕重建单神经元部分复杂形态(包含树突及少部分轴突数据)展开，是国内外科研工作者的共同努力的结晶。国际上霍华德德休斯医学研究所^[58,72]、洛桑联邦理工学院^[60]、休斯顿大学^[56]、东北大学(美国)^[68]、乔治梅森大学^[73]等多家科研机构基于最小生成树、图论、活动轮廓、机器学习等原理发表了大量单神经元重建方法并建立神经元形态数据库^[73]，为后续神经元形态重建提供了多样化的思路。在国内，清华大学^[66]、浙江大学^[63]、中国科学院^[61]的研究人员与国外知名研究院所合作，也相继提出了多种方法用于重建神经元形态，在多类光学成像数据上都有较好的重建效果。

2 神经群落重建是领域发展的必然趋势

神经元形态重建，即从神经图像中获取量化神

表 1 单神经元形态重建方法优缺点总结

Table 1 Summary of merit and demerit of single neuron reconstruction methods

核心思想	文献	发表单位 ^{a)}	优势	不足
骨架化	[48]	田纳西大学, 美国	易于实现, 适用于多类图像数据	抗噪声能力差
	[46]	伦斯勒理工学院, 美国		
	[45]	伦斯勒理工学院, 美国	能处理背景有噪声的图像, 去除重建结果中的毛刺和环路	计算复杂度与图像尺度呈正相关, 重建结果需人工修订
区域生长	[51,52]	西奈山医学院, 美国	计算效率高, 适合大尺度数据分析	抗噪声能力较差, 难以重建缺断的神经纤维
	[53]	哥伦比亚大学, 美国		
变分法	[55]	约翰斯·霍普金斯大学, 美国	能重建部分缺断的神经纤维	重建大尺度数据速度慢, 重建有噪声的图像可能出现过分割
	[56]	伦斯勒理工学院, 美国		
		休斯顿大学, 美国		
图论法	[58]	霍华德休斯医学研究所, 美国	能重建缺断的神经纤维	抗噪声能力较差, 可能将强噪声点误判为信号
	[61]	中国科学院, 中国		
		艾伦脑科学研究所, 美国		
依赖于种子点的局部追踪方法	[60]	洛桑联邦理工学院, 瑞士	利用神经纤维形态的先验信息, 将追踪过程抽象为优化问题求解	先验知识不够丰富, 多为局部形态, 算法鲁棒性可进一步提升
	[63]	浙江大学, 中国	用三维管状模型拟合纤维, 只处理局部信号, 计算效率高	难以重建半径较小的纤维分支及缺断的神经纤维
	[64]	霍华德休斯医学研究所, 美国	利用主曲线法实现数据降维, 计算效率高, 适合大尺度数据重建	种子点位置对重建结果准确性影响较大, 方法需设定较多的初始参数
		东北大学, 美国	利用海森矩阵多尺度地提取纤维管状结构, 能同时提取半径尺度较大和较小的纤维	
	[66]	清华大学, 中国		
机器学习	[68]	东北大学, 美国	能识别信号与背景值接近的神经纤维数据, 抗噪声能力较强	需要大量标注数据和计算资源来提升神经纤维信号识别模型的准确度, 模型训练初期人力成本较高
	[69]	台湾科技大学, 中国		
	[70]	休斯顿大学, 美国		
	[71]	洛桑联邦理工学院, 瑞士		

a) 本表内已分别列出论文第一作者和第一通讯作者的所在单位, 若发表单位一致则只列一次; 若为发表的著作, 则列出的是第一作者的所在单位

神经元形态数据. 根据需分析的神经图像特点, 可分为单神经元形态重建和神经群落重建(图1). 单神经元形态重建所分析的图像主要包括一个神经元形态信息, 在重建该神经元形态信息时, 不受其他信号干扰. 与之相对应的是, 群落重建所分析的是神经群落图像, 从群落中重建神经元时, 会受到群落中其他神经元形态信号干扰. 如前所述, 单神经元形态重建方法的核心内容是神经纤维追踪, 即纤维骨架提取. 神经群落重建方法除需要追踪神经纤维之外, 还需要将追踪的神经纤维分配到各自的神经元中去. 这一差异所导致的结果是, 单神经元及群落形态重建方法均能较好地完成单个神经元的形态重建(图1(b)), 而单神经元形态重建方法直接应用于群落数据的重建则会失效(图1(d)左列), 无法获得神经群落数据中每个神经元的形态信息(图1(d)右列).

从上述两类形态重建特点及重建结果的差异(图1), 可以得出: 神经群落重建相比单神经元形态重建, 有独特优势. 具体表现在: (1) 群落重建能提供单神经元重建不能提供的信息, 如神经元的位置耦合、相关性、连接性, 更能满足神经科学的需求; (2) 获取相同数量重建的神经元形态, 神经群落重建要求的成像数据比单神经元重建少百倍甚至千倍, 这极大减轻了数据获取的压力. 综合上述两点, 可以发现群落重建是神经元形态重建的必然趋势. 这一趋势不仅有重大的科学需求牵引, 同时也由目前单神经元形态重建的现状决定.

2.1 发展群落重建面向重大科学需求

群落重建是必然趋势由重大的科学需求牵引. 一方面, 荧光分子标识^[36,37]与成像技术的系列突

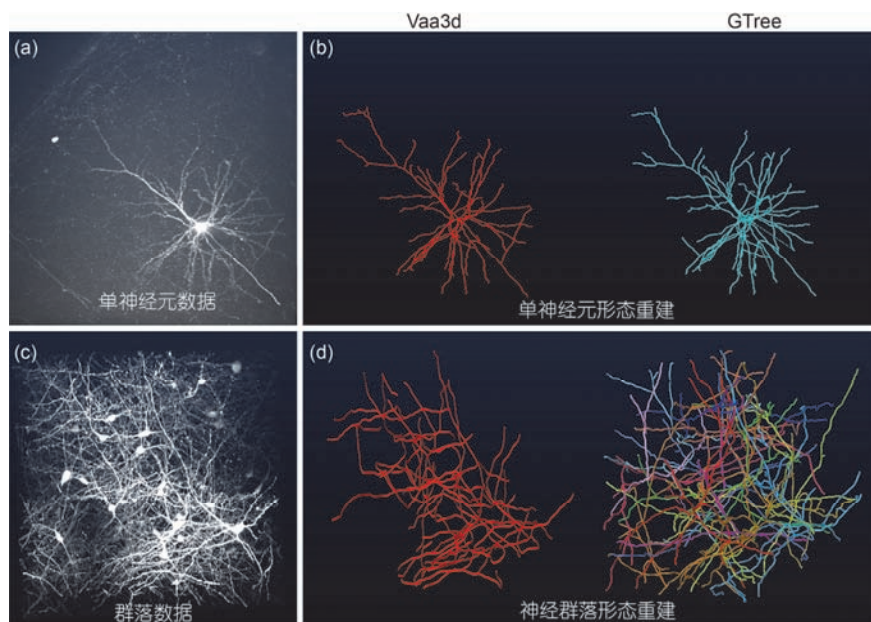


图1 采用单神经元形态重建方法和群落重建方法分别重建单神经元和神经群落数据。(a) BigNeuron项目^[29]中一个单神经元数据;(b) 单神经元经典方法Vaa3d^[72]左列和群落重建方法GTree(右列)重建(a)中数据的结果;(c) 荧光显微切片断层成像系统(fMOST)^[74]获取的局部密集神经群落数据;(d) Vaa3d^[72](左列)和GTree(右列)重建(c)中数据的结果, GTree能识别群落中每个神经元形态, 不同神经元由不同颜色的线条标识

Figure 1 Reconstruction results on different datasets by using single neuron reconstruction and neuronal population methods. (a) A single neuron from BigNeuron project^[29]; (b) reconstructed result of the dataset in (a) by using Vaa3d^[72] (left panel) and GTree (right panel), respectively; (c) neuronal population acquired by fluorescence micro-optical sectioning tomography system (fMOST)^[74]; (d) reconstruction results of neuronal population in (c) derived from Vaa3d and GTree, respectively. GTree can identify individual neuron in this dataset, each neuron is depicted with different colors

破^[38-43], 使得单细胞分辨、全脑尺度的神经群落成像成为现实. 这些突破将神经群落结构研究推向前所未有的尺度. 同时, 也迫切需要群落重建工具, 建立起成像数据到神经科学新知识的快速通道. 另外一方面, 神经元分类、神经元普查、神经回路、神经计算模型等作为世界范围内脑计划重要组成部分^[27,29], 离不开丰富的神经群落形态量化数据支撑. 神经群落重建是高通量产生这种量化数据的唯一手段.

2.2 发展群落重建需具有夯实研究基础

群落重建是必然趋势由神经元形态重建的研究现状决定. 单神经元形态重建的核心内容是纤维追踪, 相关方法经过30多年的发展已经日趋完善. 特别的, 两次世界范围内的神经元形态重建项目催生出众多优秀的单神经元重建方法. 近年来, 国内外科研工作者将这些重建方法与深度学习、机器学习、大数据分析等技术结合, 进一步充实和丰富了单神经元形态重建的成果.

国际上, 艾伦脑科学研究所的科研人员开发的Ultra Tracer软件^[75], 将大尺度数据分析方法^[76]

(Terafly)与多种传统单神经元重建算法结合, 可在较大尺度内(2111×3403×291 voxels)快速重建单神经元的树突形态; 华盛顿州立大学和艾伦脑科学研究所和艾伦研究所的科研人员基于三维卷积神经网络开发的神经元重建方法, 能有效地重建缺失、噪声较大区域内的神经纤维, 该方法对于重建这类挑战性图像效果很好^[77]; 京都大学发展了probabilistic axon tracking(PAT)算法^[78], 它基于蒙特卡洛优化模型追踪TB量级下交叉、缠绕和扭曲的轴突纤维, 改善了现有重建方法对于密集轴突追踪不准确的现状; 悉尼大学开发的Rivulet系列算法^[79,80]基于多模式快速行进方法(multi-stencils fast-marching)和迭代回溯的原理, 能有效重建噪声图像中形状不规则和缺断的神经纤维, 其在大量公开数据集(BigNeuron, DIADeM)的重建准确度上优于前述的经典方法; 鹿特丹伊拉姆斯大学针对现有重建方法基于简单模型泛化能力差的普遍问题, 发展了基于贝叶斯理论的追踪方法^[81], 已应用于多类光学成像数据中纤维的重建. 近期, 该大学的研究团队基于模糊逻辑理论(fuzzy logic)重点解决了神经纤维重建中关键点(纤维分叉

点,端点)位置的定位问题,关键点位置的确定将有利于后续纤维的准确追踪^[82];新加坡A*STAR研究所与北京理工大学的科研人员合作发展了二维及三维空间上的图像分割算法,算法基于图像数据的结构与上下文信息进行特征分类,准确地重建了视网膜血管及神经纤维^[83];休斯顿大学的科研人员的研究重点是提升神经纤维追踪的关键环节——前景信号识别的准确率,他们首先通过多尺度分析三维神经图像获取背景特征点的训练集,并依据训练集建立单分类判别函数将未被识别的前景点和背景点分开,对于分割纤细及低对比度的树突纤维效果很好^[84]。

在国内,东南大学、北京工业大学、安徽大学、中国科学院、东北大学、哈尔滨工业大学、湖南大学、华中科技大学等单位纷纷开发出系列算法用于重建,分析并整合多类神经图像中的神经元形态信息。国内在这方面的最新进展包括但不限于:东南大学与艾伦脑科学研究所合作开发的DeepNeuron工具包^[85]利用深度学习网络从海量数据中学习用于三维神经形态追踪的特征和规则,可应用于纤维信号检测,纤维连接关系建立,重建错误筛查,重建结果评估等多个神经元形态重建的关键环节,是神经生物学家探索神经元形态的“智能助手”;北京工业大学研发团队开发快速最小生成树算法(fast marching spanning tree, FMST)重建神经元形态^[86],进一步,科研人员还整合了从多类自动算法的重建结果中整合得到神经元形态“原型”用于建立金标准(相关工作详见:<https://www.biorxiv.org/content/early/2018/01/26/254425>)。上述工作为丰富神经元形态数据库提供了有力工具;安徽大学研究团队开发的Basic Local Alignment Search Tool for Neurons (BlastNeuron)系统能在海量数据库内检索形态和功能相似的神元结构^[87],并能初步提供有生物学意义的神元形态分类,这对于进一步进行神元分类和神经网络研究有重要意义;中国科学院研究团队开发的SmartTracing工具^[88]利用机器学习算法自动识别初始重建结果中置信度高的区域,在无需任何人工干预情况下自动进行二次追踪,有效提升初始重建结果的准确程度。该方法可用于多类神经形态数据特征的学习,并能提升多种自动重建结果的准确度,将有助于消弭不同重建方法之间的差异而获得偏差较小的神经元形态重建结果;东北大学团队开发的Distance Field(DF)神经元追踪算法能有效重建强噪声图像中的神经元形

态^[89],对于重建极为复杂的果蝇神经元形态十分有效;哈尔滨工业大学研究团队发展的Sliding Volume Filter方法^[90]同时获取神经纤维形态及其三维形状,为形态学研究提供了更丰富准确的信息;湖南大学研究团队基于卷积神经网络提供神经元形态重建的初始种子点^[91],能有效提升现有方法形态重建准确度;本实验室所属的华中科技大学团队在神经元形状重建领域发展了系列方法,包括基于L1极小化模型定位神经元胞体^[92]、基于球坐标变分模型重建胞体形状^[93]和基于约束主曲线模型追踪神经纤维^[54],这些方法从神经元胞体定位,胞体形状分割和神经纤维追踪等多方面提升神经元形态重建的准确度,为开展后续量化研究提供了基础性工具。

上述国内外的最新方法结合计算机图形学、统计学、高性能计算等多学科知识,从多个角度拓展和丰富了单神经元形态重建及量化方法。这些方法探索了神经元形态重建的多个关键环节,包括纤维信号识别、纤维骨架形态及纤维间连接关系判定等。这些关键环节中应用到的核心技术对于发展神经群落重建方法必不可少,是发展群落方法的坚实基础。

2.3 群落重建方法的研究现状及最新进展

现有单神经元形态重建方法为神经元重建研究提供了夯实的基础和丰富的思路。但是,对神经群落重建的研究尚处于萌芽期。本实验室团队发展的NeruoGPS-Tree方法初步建立了神经群落重建的机制^[65]。NeruoGPS-Tree将图论的知识、图像分割技术、神经图像本源特征融合在一起,实现神经群落重建。NeruoGPS-Tree方法展示了一个复杂的局部尺度神经群落重建,该神经群落包括数万根神经纤维。除此之外,新加坡A*STAR研究所,新加坡南洋理工大学及北京工业大学的科研人员基于图论方法共同发展的神经元群落重建算法,致力于解决纤维交叉时连接关系的判定这一难点问题^[94],可重建较为稀疏的神经群落。

神经群落重建的关键问题是识别密集纤维间的虚假连接。在神经纤维追踪过程中,因其他纤维信号的干扰,会产生大量的纤维间的虚假连接。这些虚假连接将不同的神经元纤维连接在一起,从而无法将追踪的神经纤维分配到各自神经元中去。识别纤维间虚假连接极具挑战性^[1,53,95,96],是领域公认的一大难题。虚假连接的挑战性表现在:在成像系统点扩展

函数的影响下,群落中的神经纤维存在大量的看似相互交织情形. 交织的模式多样性、交织的神经纤维尺度差异性、交织神经纤维难以准确追踪等3个因素共同决定了虚假连接模式的复杂性. 例如,一种最简单的情形——两根神经纤维相互交织,可产生的连接模式达数十种,但正确的连接模式只有一种(图2). 普通的模式识别方法依据局部信号或纤维方向难以排除所有模式,因此失效. 其次,在成像系统点扩展函数的影响下,一定量的神经纤维两端看似均与其他神经纤维有连接,而实际只有一端有连接. 这样的虚假连接需要人眼仔细观察才能判别,而现有算法很难达到人眼识别的准确度.

正确识别群落纤维间的虚假连接是实现高准确度群落重建的首要步骤. 目前,使用商用的半自动神经元形态追踪工具^[97,98]获取群落数据的神经元形态是一种通行的做法^[99,100]. 研究人员通过上述工具内提供的手动或半自动追踪模块重建神经群落形态,

再通过人眼识别虚假连接进一步修订自动重建结果,以此保证神经群落重建的正确性. 近期,华中科技大学的研究人员利用这一手段获取了次级运动皮质区域的神经群落形态并研究其长程投射模式(图3),这些群落数据将为探究次级运动皮质区与认知功能间的关系提供重要素材^[101]. 除此之外,国外一些知名研究机构也通过不同的策略尝试重建密集神经群落. 霍华德·休斯医学研究所提出MouseLight项目(<https://www.janelia.org/project-team/mouselight>),通过高通量、高分辨率获取全脑尺度神经群落形态,研究全脑尺度下的神经网络. 在该项目中,研究人员开发了大尺度可视化追踪工具Large Volume Viewer (LVV),通过手动或半自动的追踪手段,可实现多人在线追踪神经群落,神经元间的连接关系主要依赖人工获取;密歇根医学研究所开发nTracer工具(相关工作见<https://www.biorxiv.org/content/early/2018/04/12/230458>)在脑虹数据上实现密集神经群落重建,其主要策

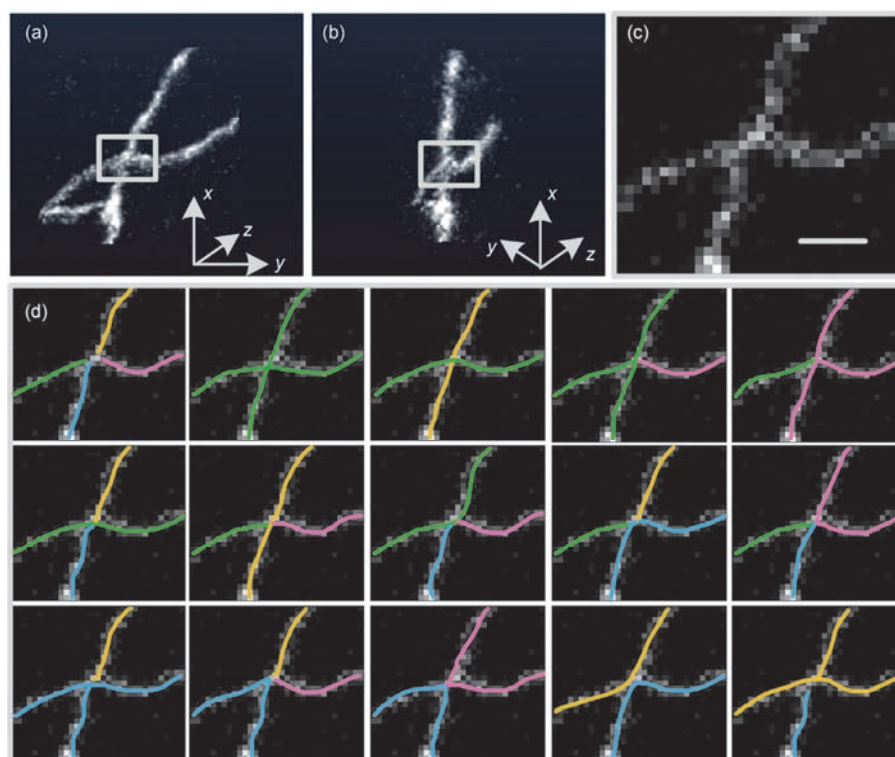


图2 两根相交的神经纤维存在多种可能的连接模式. (a) DIADEM竞赛^[34]中一块包含两根交织纤维的3D数据块; (b) 在三维空间中变化观察角度, 依然很难判定两根纤维的连接模式; (c) 为(a)和(b)纤维连接位置(白色框标识)的放大图, 投影深度为1 μm , 比例尺: 2 μm ; (d) 展示了(c)中两根纤维的不同连接模式, 其中不同颜色的曲线表示不同的神经纤维

Figure 2 The possible connection patterns of two crossing neurites. (a) A dataset with two crossing neurites in DIADEM challenge^[34]; (b) it is difficult to find the correct connected pattern though we changed the observation angle in 3D dataset; (c) an enlarged view of the connected part of two neurites in (a) and (b), which is depicted with white square. The projection depth is 1 μm and the scale bar is 2 μm ; (d) all the possible connection patterns of the two neurites in (c), the different colors depict different neurites

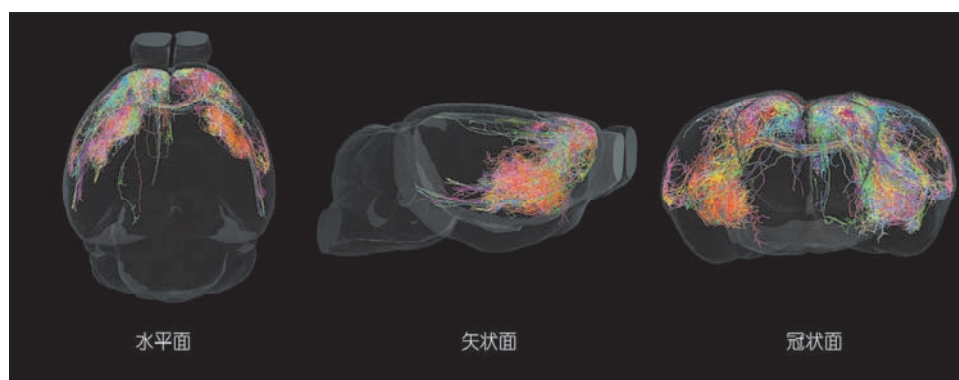


图 3 商业软件Amira^[98]重建小鼠次级运动皮质区神经群落投射形态。该群落数据共包含 36 个跨越全脑的神经元。每个重建的神经元形态由不同的颜色表示，本图从左至右依次为水平面、矢状面和冠状面展示的群落重建结果。本图所展示的群落形态和脑轮廓数据来源于Lin等人^[101]，使用上述数据已获得通讯作者的授权

Figure 3 The reconstruction of neuronal population in the mouse secondary motor cortex by using commercial software Amira^[98]. The neuronal population includes 36 reconstructed neurons, which span across the whole brain. Each reconstructed neuron is identified using different colors. In this figure, from left, are the reconstruction results shown in horizontal, sagittal and coronal view view, respectively. The reconstruction results and brain contour are generated in Lin et al^[101], the use of these data is authorized by the corresponding author

略是依据新一代的脑虹技术将密集神经群落中的神经元标记为不同颜色，再使用nTracer在不同颜色通道下追踪神经元。实质上，该方案能进行密集群落重建的关键是脑虹技术将神经群落天然地分化为单神经元，这极大降低群落间虚假连接的识别难度。上述神经群落追踪方法多针对特定领域数据有效，追踪神经纤维，并识别纤维虚假连接主要依靠人工进行，人力成本过高。本实验室团队在这一重大问题的驱动下，围绕全脑尺度神经群落重建工具开发这一核心目标，发展系列实现群落重建的关键方法，并整合为高精度、高自动化群落重建工具Global tree reconstruction system (GTree)。一方面，GTree通过引入群落树分割机制，辅助人工监督，率先突破神经元形态重建领域公认的瓶颈问题——识别密集群落中的虚假连接^[1,53,95,96]，避免了全脑尺度下全自动方法识别密集纤维造成的重建错误累加，保证群落重建的精度。另一方面，GTree在胞体定位、纤维信号识别、纤维追踪等多个不可或缺神经元形态重建环节实现高度自动化，同依赖手工追踪的半自动化方法相比提速在5倍以上，保证群落重建的速度。GTree在保证重建精度和重建时间的基础上，在国际上率先展示了全脑尺度、有密集分布的神经纤维的群落重建——一个注射位点附近包含35个神经元的密集神经群落，现有半自动重建工具重建上述结果需要数千小时，GTree将其缩短为数百小时(<https://www.biorxiv.org/content/early/2018/01/02/223834>)。

3 神经群落形态重建方法展望

3.1 确立密集纤维的分配方法是重建群落的关键

如前所述，神经群落重建有重大科学需求牵引，但其研究尚处于起步阶段。神经群落重建不仅需要追踪神经纤维，还需要将追踪的纤维分配到相应的神经元中去。有效的分配方法目前非常缺乏。因此，群落重建后续研究必然会涌现众多优秀的纤维分配方法，这些方法将有如下特点。

(i) 融合多种机器学习技术。密集神经纤维分配的本质是识别纤维间的虚假连接。虚假连接是指不同属于一个神经元的纤维被错误地连接在一起。这将导致多个神经元纤维归属为同一神经元，群落重建失败。虚假连接造成的原因是：群落数据中众多神经纤维彼此交织，成像中的点扩散函数给纤维带来伪影，判断交织纤维间的连接关系出现错误。虚假连接的纤维连接模式非常复杂^[68]，有些特征仅依赖于数据特点即可有效提取，有些特征必须依赖于人的经验提取，这种复杂性使得单一的机器学习技术无法适应。同时，虚假连接处的纤维尺度，信号强度具有多样性，解析这种丰富的信息量需要多种机器学习方法的共同参与。

(ii) 人工监督式的纤维分配模式。群落数据中纤维密集分布，形态多样且复杂，不可能存在完全准确的自动化纤维分配方法。纤维分配的过程必须在人工监督的条件下进行，经过人工确认的结果才可

信. 为此, 在自动化纤维分配模式中, 需要引入人工监督——通过人的经验判断纤维分配结果. 在人工监督环境下, 将判断分配结果正确的依据融入自动纤维分配的流程中, 不断修正并提高纤维分配的准确程度.

3.2 建立高通量全脑尺度群落重建方法面临挑战

发展准确、高效的追踪纤维分配方法是高通量神经网络形态重建的前提. 进一步的, 神经网络重建方法的发展与成像数据密切相关. 未来, 随着标记和成像技术的进一步发展, 必然出现数据量更大、分辨率更高的全脑神经网络成像数据. 这类数据的数据量可达TB, 甚至PB量级, 将包含比神经纤维更为精细的结构如突触前, 突触后(50~100 nm). 这将向高通量全脑尺度神经网络重建方法提出新的挑战.

(i) 如何在海量数据中提升群落重建通量. 现阶段, 对于TB量级的全脑群落数据, 我们发展的GTree方法重建一个神经元平均时间大概需要10 h, 相比手工重建, 速度提升5倍. 但是, 对于PB量级全

脑数据, GTree要付出更大的时间成本, 重建通量受到数据量的极大限制.

(ii) 如何完整获取全脑尺度神经群落的精细结构. 全脑尺度下神经纤维, 及精细结构(树突棘、轴突扣、突触前等)的获取, 保证群落重建形态的完整性, 从而建立起神经元间连接, 实现神经回路的绘制. 但是, 现阶段发展的群落重建方法在重建全脑尺度下群落数据内的精细结构, 如树突附近的树突棘尚存在困难. 这一困难根源于精细结构在尺度和形态特征上与纤维的差异. 图4(a)展示了GTree对图3中两个长程神经元的形态重建结果, 部分树突结构的重建结果如图4(a1), (a2)所示. 进一步观察树突及其精细结构(图4(b), (c)), 可以发现树突棘是位于树突神经纤维边缘, 末端膨大且呈蘑菇型的结构(图4(d), (e)), 它们的形态与管状的纤维形态存在明显差异. 现有的群落重建方法如GTree主要围绕神经纤维特征(管状结构)建立, 在图像尺度和特征变化后, 无法直接应用于精细结构的重建. 因此, 这些方法目前只能重建(b)和(c)数据块内纤维形态, 无法提供树突棘的位置和形态信息.

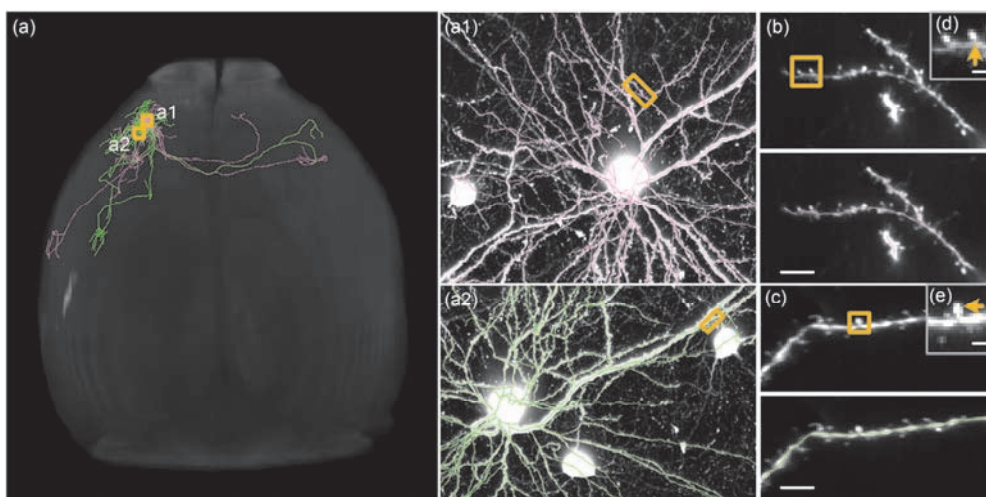


图4 基于神经纤维特征重建全脑尺度神经元纤维形态及树突棘的结果示例. (a) GTree重建的图3全脑尺度神经网络数据^[101]中2个相邻的神经元, 其形态分别由粉色和绿色曲线表示; (a1)和(a2)为2个神经元中包含树突棘的子数据块, 它们的位置在(a)中用黄色框标出; (b), (c)子数据块(a1), (a2)中部分数据的放大图, 它们的位置已用黄色框标识. 其中, 第一行为对应的最大值投影图(投影深度: 10 μm), 第二行为基于神经纤维特征的方法GTree给出的重建结果, 比例尺: 15 μm ; (d), (e)为(b), (c)中包含树突棘形态的数据放大图, 树突棘的位置由黄色箭头指示, 比例尺: 5 μm

Figure 4 Reconstructions of brain-wide neuronal morphology and dendritic spines based on morphological characteristic of neurites. (a) Two adjacent neurons from the neuronal population^[101] in Fig. 3. Their reconstructions are derived from GTree, and depicted with pink and green, respectively. (a1) and (a2) are two sub-blocks containing dendritic spines, their locations are shown in yellow squares. (b) and (c) are enlarged views of partial data from sub-blocks (a1) and (a2), respectively, their locations are marked with yellow squares. The first row illustrates the corresponding maximum intensity projections (depth: 10 μm), the second row shows the corresponding reconstruction results (pink and green) derived from GTree, scale bar: 15 μm . (d), (e) the enlarged views of the yellow squares in (b) and (c), the location of the dendritic spine is highlighted by yellow arrow, scale bar: 5 μm

总之, 神经元形态重建的未来, 必然向更精细程度和更大尺度重建更密集分布的神经群落发展. 神经元形态重建也一定会取得若干突破, 为绘制精细的神经回路结构提供基础性的方法与工具.

致谢 感谢华中科技大学光电研究中心(HUST-WNLO)生物医学光子学核心实验室提供数据采集支持.

参考文献

- 1 Lichtman J W, Denk W. The big and the small: Challenges of imaging the brain's circuits. *Science*, 2011, 334: 618–623
- 2 Lichtman J W, Livet J, Sanes J R. A technicolour approach to the connectome. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9: 417–422
- 3 Oh S W, Harris J A, Ng L, et al. A mesoscale connectome of the mouse brain. *Nature*, 2014, 508: 207–214
- 4 Huang Z J, Luo L. It takes the world to understand the brain. *Science*, 2015, 350: 42–44
- 5 Betzel R F, Bassett D S. Multi-scale brain networks. *Neuroimage*, 2017, 160: 73–83
- 6 Sporns O, Tononi G, Kötter R. The human connectome: A structural description of the human brain. *PLoS Comput Biol*, 2005, 1: e42
- 7 Van Essen D C. Cartography and connectomes. *Neuron*, 2013, 80: 775–790
- 8 Swanson L W, Lichtman J W. From Cajal to connectome and beyond. *Annu Rev Neurosci*, 2016, 39: 197–216
- 9 Frégnac Y. Big data and the industrialization of neuroscience: A safe roadmap for understanding the brain? *Science*, 2017, 358: 470–477
- 10 Luo Q M. Brain imaging and brain networks (in Chinese). *Prog Biochem Biophys*, 2012, 39: 497 [骆清铭. 脑成像与脑网络. 生物化学与生物物理进展, 2012, 39: 497]
- 11 Pu M M, Xu B, Tan T N. Brain science and brain-inspired intelligence technology—An overview (in Chinese). *Bull Chin Acad Sci*, 2016, 31: 725–736 [蒲慕明, 徐波, 谭铁牛. 脑科学与类脑研究概述. 中国科学院院刊, 2016, 31: 725–736]
- 12 Craddock R C, Jbabdi S, Yan C G, et al. Imaging human connectomes at the macroscale. *Nat Methods*, 2013, 10: 524–539
- 13 Jiang T Z, Liu Y, Li Y H. Brain networks: From anatomy to dynamics (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2009, 21: 181–188 [蒋田仔, 刘勇, 李永辉. 脑网络: 从脑结构到脑功能. 生命科学, 2009, 21: 181–188]
- 14 Zeng H. Mesoscale connectomics. *Curr Opin Neurobiol*, 2018, 50: 154–162
- 15 Okano H, Mitra P. Brain-mapping projects using the common marmoset. *Neurosci Res*, 2015, 93: 3–7
- 16 Schmidt H, Gour A, Straehle J, et al. Axonal synapse sorting in medial entorhinal cortex. *Nature*, 2017, 549: 469–475
- 17 Lee W C A, Bonin V, Reed M, et al. Anatomy and function of an excitatory network in the visual cortex. *Nature*, 2016, 532: 370–374
- 18 Wickersham I R, Lyon D C, Barnard R J, et al. Monosynaptic restriction of transsynaptic tracing from single, genetically targeted neurons. *Neuron*, 2007, 53: 639–647
- 19 Hall D H, Treinin M. How does morphology relate to function in sensory arbors? *Trends Neurosci*, 2011, 34: 443–451
- 20 Sasaki T, Matsuki N, Ikegaya Y. Effects of axonal topology on the somatic modulation of synaptic outputs. *J Neurosci*, 2012, 32: 2868–2876
- 21 Parekh R, Ascoli G A. Quantitative investigations of axonal and dendritic arbors: Development, structure, function, and pathology. *Neuroscientist*, 2015, 21: 241–254
- 22 Wang X, Kennedy H. Brain structure and dynamics across scales: In search of rules. *Curr Opin Neurobiol*, 2016, 37: 92–98
- 23 Ecker J R, Geschwind D H, Kriegstein A R, et al. The brain initiative cell census consortium: Lessons learned toward generating a comprehensive brain cell atlas. *Neuron*, 2017, 96: 542–557
- 24 Crick F, Jones E. Backwardness of human neuroanatomy. *Nature*, 1993, 361: 109–110
- 25 Luo Q M. Brainsmatics—Bridging the brain science and brain-inspired artificial intelligence (in Chinese). *Sci China Life Sci*, 2017, 47: 1015–1024 [骆清铭. 脑空间信息学——连接脑科学与类脑人工智能的桥梁. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1015–1024]
- 26 Svoboda K. The past, present, and future of single neuron reconstruction. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 97–98
- 27 Parekh R, Ascoli G A. Neuronal morphology goes digital: A research hub for cellular and system neuroscience. *Neuron*, 2013, 77: 1017–1038
- 28 Donohue D E, Ascoli G A. Automated reconstruction of neuronal morphology: An overview. *Brain Res Rev*, 2011, 67: 94–102
- 29 Peng H, Hawrylycz M, Roskams J, et al. BigNeuron: Large-scale 3D neuron reconstruction from optical microscopy images. *Neuron*, 2015, 87: 252–256
- 30 Lu J. Neuronal tracing for connectomic studies. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 159–166
- 31 Capowski J J. Computer-aided reconstruction of neuron trees from several serial sections. *Comput Biomed Res*, 1977, 10: 617–629
- 32 Halavi M, Hamilton K A, Parekh R, et al. Digital reconstructions of neuronal morphology: Three decades of research trends. *Front Neurosci*, 2012, 6: 49

- 33 Gillette T A, Brown K M, Svoboda K, et al. DIADEMchallenge.org: A compendium of resources fostering the continuous development of automated neuronal reconstruction. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 303–304
- 34 Brown K M, Barrionuevo G, Canty A J, et al. The DIADEM data sets: Representative light microscopy images of neuronal morphology to advance automation of digital reconstructions. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 143–157
- 35 Peng H, Meijering E, Ascoli G A. From DIADEM to BigNeuron. *Neuroinformatics*, 2015, 13: 259–260
- 36 Jefferis G S, Livet J. Sparse and combinatorial neuron labelling. *Curr Opin Neurobiol*, 2012, 22: 101–110
- 37 Weitzman M D, Linden R M. Adeno-associated virus biology. *Methods Mol Biol*, 2012, 807: 1–23
- 38 Li A, Gong H, Zhang B, et al. Micro-optical sectioning tomography to obtain a high-resolution atlas of the mouse brain. *Science*, 2010, 330: 1404–1408
- 39 Ragan T, Kadiri L R, Venkataraju K U, et al. Serial two-photon tomography for automated *ex vivo* mouse brain imaging. *Nat Methods*, 2012, 9: 255–258
- 40 Silvestri L, Bria A, Sacconi L, et al. Confocal light sheet microscopy: Micron-scale neuroanatomy of the entire mouse brain. *Opt Express*, 2012, 20: 20582–20598
- 41 Osten P, Margrie T W. Mapping brain circuitry with a light microscope. *Nat Methods*, 2013, 10: 515–523
- 42 Liu S, Nie J, Li Y, et al. Three-dimensional, isotropic imaging of mouse brain using multi-view deconvolution light sheet microscopy. *J Innov Opt Heal Sci*, 2017, 10: 1743006
- 43 Du J L, Bi G Q, Luo Q M, et al. Developing novel techniques for brain science research (in Chinese). *Bull Chin Acad Sci*, 2016, 31: 783–792 [杜久林, 毕国强, 骆清铭, 等. 脑科学研究新技术. 中国科学院院刊, 2016, 31: 783–792]
- 44 Lobregt S, Verbeek P W, Groen F C. Three-dimensional skeletonization: Principle and algorithm. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 1980, PAMI-2: 75–77
- 45 Yuan X, Trachtenberg J T, Potter S M, et al. MDL constrained 3-D grayscale skeletonization algorithm for automated extraction of dendrites and spines from fluorescence confocal images. *Neuroinformatics*, 2009, 7: 213–232
- 46 Cohen A R, Roysam B, Turner J N. Automated tracing and volume measurements of neurons from 3-D confocal fluorescence microscopy data. *J Microsc*, 1994, 173: 103–114
- 47 He W, Hamilton T A, Cohen A R, et al. Automated three-dimensional tracing of neurons in confocal and brightfield images. *Microsc Microanal*, 2003, 9: 296–310
- 48 Gonzalez R, Woods R. *Digital Image Processing*. 2nd ed. New York: Prentice Hall, 2002
- 49 Sun C, Vallotton P. Fast linear feature detection using multiple directional non-maximum suppression. *J Microsc*, 2009, 234: 147–157
- 50 Rodriguez A, Ehlenberger D, Kelliher K, et al. Automated reconstruction of three-dimensional neuronal morphology from laser scanning microscopy images. *Methods*, 2003, 30: 94–105
- 51 Rodriguez A, Ehlenberger D B, Dickstein D L, et al. Automated three-dimensional detection and shape classification of dendritic spines from fluorescence microscopy images. *PLoS One*, 2008, 3: e1997
- 52 Rodriguez A, Ehlenberger D B, Hof P R, et al. Three-dimensional neuron tracing by voxel scooping. *J Neurosci Methods*, 2009, 184: 169–175
- 53 Choromanska A, Chang S F, Yuste R. Automatic reconstruction of neural morphologies with multi-scale tracking. *Front Neural Circuits*, 2012, 6: 25
- 54 Li S, Zhou H, Quan T, et al. SparseTracer: The reconstruction of discontinuous neuronal morphology in noisy images. *Neuroinformatics*, 2017, 15: 133–149
- 55 Xu C, Prince J L. Snakes, shapes, and gradient vector flow. *IEEE Trans Image Process*, 1998, 7: 359–369
- 56 Wang Y, Narayanaswamy A, Tsai C L, et al. A broadly applicable 3-D neuron tracing method based on open-curve snake. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 193–217
- 57 Cohen L D, Kimmel R. Global minimum for active contour models: A minimal path approach. *Int J Comput Vis*, 1997, 24: 57–78
- 58 Peng H, Long F, Myers G. Automatic 3D neuron tracing using all-path pruning. *Bioinformatics*, 2011, 27: i239–i247
- 59 Peng H, Ruan Z, Atasoy D, et al. Automatic reconstruction of 3D neuron structures using a graph-augmented deformable model. *Bioinformatics*, 2010, 26: i38–i46
- 60 Türetken E, González G, Blum C, et al. Automated reconstruction of dendritic and axonal trees by global optimization with geometric priors. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 279–302
- 61 Xiao H, Peng H. APP2: Automatic tracing of 3D neuron morphology based on hierarchical pruning of a gray-weighted image distance-tree. *Bioinformatics*, 2013, 29: 1448–1454
- 62 Basu S, Condrón B, Aksel A, et al. Segmentation and tracing of single neurons from 3D confocal microscope images. *IEEE J Biomed Health Informat*, 2013, 17: 319–335

- 63 Zhao T, Xie J, Amat F, et al. Automated reconstruction of neuronal morphology based on local geometrical and global structural models. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 247–261
- 64 Bas E, Erdogmus D. Principal curves as skeletons of tubular objects: Locally characterizing the structures of axons. *Neuroinformatics*, 2011, 9: 181–191
- 65 Quan T, Zhou H, Li J, et al. NeuroGPS-Tree: Automatic reconstruction of large-scale neuronal populations with dense neurites. *Nat Methods*, 2016, 13: 51–54
- 66 Xiong G, Zhou X, Degterev A, et al. Automated neurite labeling and analysis in fluorescence microscopy images. *Cytometry A*, 2006, 69A: 494–505
- 67 Wang Y, Narayanaswamy A, Roysam B. Novel 4-D open-curve active contour and curve completion approach for automated tree structure extraction. *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2011. 1105–1112
- 68 Gala R, Chapeton J, Jitesh J, et al. Active learning of neuron morphology for accurate automated tracing of neurites. *Front Neuroanat*, 2014, 8: 37
- 69 Wang C W, Lee Y C, Pradana H, et al. Ensemble neuron tracer for 3D neuron reconstruction. *Neuroinformatics*, 2017, 15: 185–198
- 70 Megjhani M, Rey-Villamizar N, Merouane A, et al. Population-scale three-dimensional reconstruction and quantitative profiling of microglia arbors. *Bioinformatics*, 2015, 31: 2190–2198
- 71 Becker C, Rigamonti R, Lepetit V, et al. Supervised feature learning for curvilinear structure segmentation. In *MICCAI*, 2013, 16: 526–533
- 72 Peng H, Ruan Z, Long F, et al. V3D enables real-time 3D visualization and quantitative analysis of large-scale biological image data sets. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 348–353
- 73 Ascoli G A, Donohue D E, Halavi M. NeuroMorpho.Org: A central resource for neuronal morphologies. *J Neurosci*, 2007, 27: 9247–9251
- 74 Gong H, Zeng S, Yan C, et al. Continuously tracing brain-wide long-distance axonal projections in mice at a one-micron voxel resolution. *Neuroimage*, 2013, 74: 87–98
- 75 Peng H, Zhou Z, Meijering E, et al. Automatic tracing of ultra-volumes of neuronal images. *Nat Methods*, 2017, 14: 332–333
- 76 Bria A, Iannello G, Onofri L, et al. TeraFly: Real-time three-dimensional visualization and annotation of terabytes of multidimensional volumetric images. *Nat Methods*, 2016, 13: 192–194
- 77 Li R, Zeng T, Peng H, et al. Deep learning segmentation of optical microscopy images improves 3D neuron reconstruction. *IEEE Trans Med Img*, 2017, 36, 1533–1541
- 78 Skibbe H, Reisert M, Nakae K, et al. PAT-probabilistic axon tracking for densely labeled neurons in large 3D micrographs. *IEEE Trans Med Img*, 2018, doi: 10.1109/TMI.2018.2855736
- 79 Liu S, Zhang D, Liu S, et al. Rivulet: 3D neuron morphology tracing with iterative back-tracking. *Neuroinformatics*, 2016, 14: 387–401
- 80 Liu S, Zhang D, Song Y, et al. Automated 3D neuron tracing with precise branch erasing and confidence controlled back-tracking. *IEEE Trans Med Img*, 2018, 37: 2441–2452
- 81 Radojevic M, Meijering E. Automated neuron tracing using probability hypothesis density filtering. *Bioinformatics*, 2017, 33: 1073–1080
- 82 Radojević M, Smal I, Meijering E. Fuzzy-logic based detection and characterization of junctions and terminations in fluorescence microscopy images of neurons. *Neuroinformatics*, 2016, 14: 201–219
- 83 Gu L, Zhang X, Zhao H, et al. Segment 2D and 3D filaments by learning structured and contextual features. *IEEE Trans Med Img*, 2017, 36: 596–606
- 84 Hernandez-Herrera P, Papadakis M, Kakadiaris I A. Multi-scale segmentation of neurons based on one-class classification. *J Neurosci Methods*, 2016, 266: 94–106
- 85 Zhou Z, Kuo H C, Peng H, et al. DeepNeuron: An open deep learning toolbox for neuron tracing. *Brain Informatics*, 2018, 5: 3
- 86 Yang J, Hao M, Liu X, et al. FMST: An automatic neuron tracing method based on fast marching and minimum spanning tree. *Neuroinformatics*, 2018: 1–12
- 87 Wan Y, Long F, Qu L, et al. BlastNeuron for automated comparison, retrieval and clustering of 3D neuron morphologies. *Neuroinformatics*, 2015, 13: 487–499
- 88 Chen H, Xiao H, Liu T, et al. SmartTracing: Self-learning-based neuron reconstruction. *Brain Informatics*, 2015, 2: 135–144
- 89 Yang J, Gonzalez-Bellido P T, Peng H. A distance-field based automatic neuron tracing method. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 93
- 90 Luo G, Sui D, Wang K, et al. Neuron anatomy structure reconstruction based on a sliding filter. *BMC Bioinformatics*, 2015, 16: 342
- 91 Tan Y, Luo H, Wang X, et al. Convolutional neural network cascade based neuron termination detection in 3D image stacks. *ICIP*, 2018: 4048–4052

- 92 Quan T, Zheng T, Yang Z, et al. NeuroGPS: Automated localization of neurons for brain circuits using L1 minimization model. *Sci Rep*, 2013, 3: 1414
- 93 Quan T, Li J, Zhou H, et al. Digital reconstruction of the cell body in dense neural circuits using a spherical-coordinated variational model. *Sci Rep*, 2014, 4: 4970
- 94 De J, Cheng L, Zhang X, et al. A graph-theoretical approach for tracing filamentary structures in neuronal and retinal images. *IEEE Trans Med Img*, 2016, 35: 257–272
- 95 Economo M N, Clack N G, Lavis L D, et al. A platform for brain-wide imaging and reconstruction of individual neurons. *Elife*, 2016, 5: e10566
- 96 Helmstaedter M. Cellular-resolution connectomics: Challenges of dense neural circuit reconstruction. *Nat Methods*, 2013, 10: 501–507
- 97 Glaser J R, Glaser E M. Neuron imaging with NeuroLucida—A PC-based system for image combining microscopy. *Comput Med Imaging Graph*, 1990, 14: 307–317
- 98 Stalling D, Westerhoff M, Hege H C. Amira: A highly interactive system for visual data analysis. *Visualization Handbook*, 2005, 27: 749–767
- 99 Li X, Yu B, Sun Q, et al. Generation of a whole-brain atlas for the cholinergic system and mesoscopic projectome analysis of basal forebrain cholinergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 415–420
- 100 Lin R, Wang R, Yuan J, et al. Cell-type-specific and projection-specific brain-wide reconstruction of single neurons. *Nat Methods*, 2018, doi: 10.1038/s41592-018-0184-y
- 101 Lin H, Kuang J, Sun P, et al. Reconstruction of intratelencephalic neurons in mouse secondary motor cortex reveals the diverse projection patterns of single neurons. *Front Neuroanat*, 2018, 12: 86

Summary for “神经元形态重建进展及趋势”

Review of advances and prospects in neuron reconstruction

Shiwei Li^{1,2}, Tingwei Quan^{1,2,3*}, Hang Zhou^{1,2}, Anan Li^{1,2}, Ling Fu^{1,2}, Hui Gong^{1,2},
Qingming Luo^{1,2} & Shaoqun Zeng^{1,2}

¹ Britton Chance Center for Biomedical Photonics, Wuhan National Laboratory for Optoelectronics-Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;

² MoE Key Laboratory for Biomedical Photonics, Collaborative Innovation Center for Biomedical Engineering, School of Engineering Sciences, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;

³ School of Mathematics and Economics, Hubei University of Education, Wuhan 430205, China

* Corresponding author, E-mail: quantingwei@hust.edu.cn

Neuronal reconstruction, which involves generating the quantitative datasets that can measure neuronal morphologies, is a key step towards identifying cell types, building neuronal connectivity pattern, mapping neuronal circuits, modeling neurons, and realizing other such activities. Neuronal reconstruction can also provide valuable datasets for some studies focused on artificial intelligence. Recent advances in light microscopic techniques have enabled the whole-brain imaging of a mouse at cellular resolution and allowed us to observe nearly the complete morphology of a population of neurons including dendrites, soma, and axons. These imaging techniques have promoted the study of neuronal networks to an unprecedented scale and have been initiated to obtain the organization of the entire brain at a single-cell level. However, the neuronal datasets collected with these imaging techniques are complicated and pose many challenges to the current neuronal reconstruction methods. In this circumstance, we elaborated upon the research status of neuronal reconstruction, reviewed typical methods, and predicted the research trends. The research status indicates that many current methods focus on single neuron reconstruction, which involves analyzing the images in which a single neuron is included. These single neuron reconstruction methods are classified into groups including skeleton methods, region growing methods, graph-based methods, snake models, and local structure-based methods. We summarized the advantages and disadvantages of each of these methods, and regarded that the reconstruction performance depends on the match between the data set characteristics and the reconstruction methods. A reconstruction method may be suitable for most datasets but fail for some specific cases. In comparison to single neuron reconstruction, neuronal population reconstruction should be paid more attention to: Unlike single neuron reconstruction, neuronal population reconstruction focuses on images including a population of neurons and requires assigning the traced neurites into their own neurons. Neuronal population reconstruction can provide the information necessary for researching the correlation, coupling, and connectivity between neurons, and has several advantages over single neuron reconstruction. We presented compelling evidence to suggest that it is inevitable for the trend of development to move from single-neuron to neuronal population reconstruction. The evidences can be summarized as follows: The existing imaging techniques produce a large amount of neuronal population datasets. However, at present, single neuron reconstruction methods cannot cope with these datasets; population reconstruction method is in its infant stage and is thus urgently required. In addition, many existing methods for single neuron reconstruction have become fully mature and can vastly inspire population reconstruction methods. Furthermore, we highlighted the bottleneck problem of population reconstruction at the brain-wide scale. The current automatic methods fail to cope with this case while semi-automatic reconstruction is too slow. Using the conventional methods, such as a combination of big data organization techniques and the Amira tracing module, thousands of hours are required for the reconstructions of several tens of brain-wide neurons. We proposed a strategy for this bottleneck problem as designing automatic algorithms for the laborious steps in this reconstruction. Finally, we expressed our views on the future development of the neuronal population reconstruction. This sort of reconstruction has a complicated pipeline that involves many steps. Aiming at some key steps, machine learning methods will be designed. The above contents will help researchers evaluate the latest developments in the field at a glance and develop new reconstruction methods that match with the characteristics of the current datasets.

neuronal morphology, neurite tracing, neuronal network at single cell resolution, neuronal population reconstruction, spurious link identification

doi: 10.1360/N972018-00998