PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
2019,46(3):266~275
www.pibb.ac.cn

神经元形态重建工具的研究进展*

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)

摘要 近年来，分子标记和显微光学成像技术的系列突破，使得单细胞分辨的全脑尺度神经群落成像成为现实. 然而，现有神经元形态重建工具的发展速度远远滞后于海量数据的产生速度，难以满足现阶段成像数据的分析需求. 在此背景下，我们首先分析了神经元形态重建工具发展滞后的原因，简述现有半自动和全自动神经元形态重建工具的特点和最新发展，并结合现有工具的特点分析其向高通量、高准确度重建工具发展时面临的挑战. 最后，我们对未来形态重建工具的发展趋势及应用前景做出展望.

关键词 神经元形态，高通量，神经群落，全脑尺度，神经元重建
中图分类号 Q189，Q1 **DOI**：10.16476/j.pibb.2018.0277

神经元形态重建是指从神经图像中提取表征神经元形态的量化数据[1]. 基于提取的数据，可以对神经元的形态进行量化和分析[2]. 神经元重建是连接神经图像到神经科学新知识的通道，在识别神经元类型、推断神经元间的通信连接、细胞分辨下绘制神经回路等神经科学研究中扮演着关键角色[3-5]. 神经元形态重建工具是指有图形用户界面，可依赖用户手工绘制神经纤维或利用自动算法追踪神经纤维的半自动化和全自动化软件[6]. 这些重建工具不仅能可视化已重建的神经元形态，还提供基本的编辑和量化分析功能，是神经科学领域的重要研究工具[1].

近年来，标记技术[7-8]和光学成像技术[9-13]取得了系列突破，能够产生TB量级的神经元形态数据，将神经元形态研究推向全脑尺度[14-15]. 特别地，显微光学切片层析成像技术（micro-optical sectioning tomography，MOST）及其后续发展[16-17]，实现了以亚微米量级全脑尺度对特定的神经结构进行成像. 更近一步，以MOST技术为核心的“脑成像工厂”[18]，将以工业级别产生神经元形态数据. 初步估计，脑成像工厂建成后，每天能产生数十TB的数据，这些数据中可包括数以万计的完整神经元形态[18].

然而，神经元形态重建工具的发展远远滞后于上述技术的进步. 目前为止，选择手工重建工具进行神经元形态重建仍然是业界的主流选择[19]，世界范围已公开的神经元形态数量不足10万个[20]. 目前，手工重建神经元的通量大约是每追踪1 cm长的神经纤维花费5~6 h. 依此推算，追踪一个长度13 cm且跨越多个脑区的小鼠第五层神经元大约需要人不间断工作65 h左右[15]. 因此，以手工重建工具处理工业量级的神经元形态数据，其低效是可以预见的. 基于这一现状，急需引入新型的高通量神经元重建分析工具，其重建通量比现有手动工具提升一个或多个数量级，只有达到这一要求的神经

* 国家自然科学基金委员会创新研究群体科学基金(61721092)，国家自然科学基金(81327802，81771913)，国家重点基础研究发展计划(973)(2015CB7556003)，湖北省中青年创新研究群体科学基金(T201520)和武汉光电国家研究中心主任基金(Wuhan National Laboratory for Optoelectronics，WNLO)资助项目.
** 通讯联系人.
Tel：027-87792033，E-mail：quantingwei@hust.edu.cn
收稿日期：2018-10-25，接受日期：2019-01-15

元重建工具，才有望填补目前数据分析速度与数据生成速度之间的落差.

神经元形态重建工具发展滞后的根源是神经元形态的极度复杂性，开发高通量、高准确度（与手工重建准确度接近或一致）的神经元形态重建工具存在系列挑战. 具体表现如下：a. 神经纤维密集分布是一种普遍现象，准确重建的关键是识别密集分布的神经纤维间的虚假连接——领域公开问题[21-22]；b. 神经元的树型结构决定了重建过程“失之毫厘谬以千里”，一次重建错误能够导致属于它本身的大量神经纤维漏掉，或连接大量其他的神经纤维，因此要求在重建过程中，尽量避免任何一次重建错误；c. 部分神经元形态跨越不同脑区甚至全脑，其总长度可达厘米量级，与之相比重建错误发生在亚微米量级，在此情况下发现重建错误犹如“大海捞针”，困难重重；d. 神经元形态特征极为复杂，存在大量信号强度较弱的纤细轴突纤维，纤维半径变化较大，并且纤维中存在较多扭曲结构[23]，手工重建上述神经元形态需要耗费大量的时间和精力.

为了推动神经元形态重建研究，众多国内外脑科学研究机构做出了系列努力，其研究重心是发展有效的全自动神经元形态重建算法. 霍华德休斯医学研究所、艾伦脑科学研究所等机构先后于2009年、2015年举办了DIADEM竞赛[24-25]和BigNeuron项目[26-27]. 这两项世界范围内的竞赛对于发展有效的全自动神经元形态重建算法起到了至关重要的推动作用. 特别的是，BigNeuron项目还将大量优秀的神经元形态重建算法整合至统一平台，旨在发展大尺度（分析数据量在TB量级及以上）、鲁棒性强的神经元形态重建算法，受到了《自然》（*Nature*）和《科学》（*Science*）杂志的关注[28]. 在国内，清华大学、浙江大学及华中科技大学的研究人员也参与了上述赛事，他们发展的NeuTube[29-30]、APP2[31]及NeuroGPS-Tree[32]等自动神经元形态重建工具为单神经元、神经群落的形态获取与研究提供了有益帮助. 但必须指出的是，上述竞赛催生出的系列方法仍不足以解决开发高通量、高准确度的神经元形态重建工具中存在的系列挑战. 这是因为，全自动化的重建工具难以保证复杂环境中的重建准确性，另外，神经元形态重建算法的适用性有限，不可能适用于所有复杂的神经元形态.

如上所述，神经元重建因其重要的科学需求，是众多脑科学研究机构的关注点. 但因神经元重建极具挑战性，高通量神经元重建工具的发展远远滞后成像数据的发展. 在此背景下，本文介绍了现有的神经元形态重建工具的特点、常用的神经元形态重建工具及所涉及的核心算法的相关原理，并给出重建工具开发的最新进展. 进一步，本文结合神经图像数据和信息技术发展现状，对神经元形态重建工具研究趋势进行展望.

1　神经元形态重建工具发展现状及最新进展

1.1　神经元形态重建工具的发展现状

依据用户在神经元形态重建过程中的参与程度，神经元形态重建工具可主要分为半自动和全自动两类. 这里，我们将概述这两类重建工具的特色，并介绍典型的神经元形态重建工具.

半自动神经元形态重建工具主要依赖用户提供基本的形态信息，并以计算机程序辅助，实现神经元形态重建[6]. 用户主要确定神经元形态的基本结构，例如给定胞体点、神经纤维起始点和末端点位置等，纤维的追踪则靠计算机自动完整. 这一自动追踪过程中常用的算法有A* search算法[33]和基于海森矩阵的追踪算法[34]. 这些自动算法能在一定程度上减少用户追踪神经元形态耗费的时间. 同时，半自动神经元形态重建工具也提供了用户反馈和修订重建结果的通道，能保证重建结果的准确性. 目前，半自动神经元形态重建工具可分为商业化软件和免费软件两类[1]. 业内常用的商业化神经元形态重建工具的特点可概括为：a. 重视重建结果和过程可视化；b. 丰富的重建结果修订功能；c. 提供大数据格式接口，能够实现大尺度神经元重建. 其中，某些商业软件[35]因独有的功能模块，已成为受众面很广的专业神经元形态重建工具之一，具体模块有：a. 树型结构保存神经元重建形态，能够显示神经元从细胞到最远端神经纤维的层级结构；b. 除保存神经纤维的空间位置外，还记录神经纤维的走向、角度等信息；c. 支持神经元重建数据的复杂编辑操作，比如切断、重连接、反向等. 商业化软件能提供良好的人机交互界面和丰富的重建结果编辑、处理功能，特别能保障神经元形态重建结果的准确性，这些特色使得它们成为神经元重建的主流工具. 免费的半自动神经元形态重建工具主要由国内外知名的脑科学研究机构开发，这类工具主要针对某些特定成像或标记方法获取的图像的数据特

点开发，在数据适用性上有一定的局限性，并且可视化、编辑功能稍弱于商业化软件. 这类免费工具的优势是易于获取并容易推广，降低了神经元形态重建量化分析的门槛，有助于推动整个神经元形态重建领域的研究. 我们在表1中列出了系列常用的半自动神经元形态重建工具，提供了运行平台、获取链接等用户关心的关键信息. 进一步，我们还比较了上述工具是否提供大数据接口，是否支持群落追踪，用以展示上述软件工具进一步开发为高通量、大尺度神经元形态重建工具的潜力.

Table 1 Key resources of frequently used semi-automatic neuronal reconstruction tools

表1 常用的半自动神经元形态重建工具关键信息列表

名称	获取链接	运行平台	关键功能	
			大数据接口	群落追踪
Neurolucida [35] *	mbfbioscience.com/neurolucida	Win	Y	Y
Amira [36] *	www.vsg3d.com/amira/skeletonization	Win/Mac/Lin	Y	Y
Filament Tracer [37] *	bitplane.com/go/products/filamenttracer	Win/Mac	N	N
Neuron J [38] ***	imagescience.org/meijering/software/neuronj	ImageJ	N	N
Neuron_Morpho [39] **	www.personal.soton.ac.uk/dales/morpho	ImageJ	N	N
Simple Neurite Tracer [40] **	pacific.mpi-cbg.de/wiki/index.php/Simple_Neurite_Tracer	ImageJ	N	N
Neuromantic [6] **	www.reading.ac.uk/neuromantic	Win	N	N
ManSegTool [41] **	https://mansegtool.wordpress.com/	Win/Mac/Lin	N	Y

Win：Windows操作系统；ImageJ：作为插件在ImageJ中运行；Mac：Mac操作系统；Lin：Linux操作系统；*表示商业软件；**表示免费开源软件；***表示免费不开源软件；Y表示支持；N表示不支持；群落追踪是指从多个神经元中重建每个单独的神经元形态.

半自动重建工具因其准确性和良好的人机交互性成为神经元形态重建中的首选工具. 但需要指出的是，上述半自动重建工具在实现高通量神经元形态重建中存在不足：神经元重建的核心算法简单，对重建过程中一些普适性问题，如弱信号的处理、神经元纤维扭曲结构处理等，关注度不够. 这些待改进的地方使得半自动重建工具的自动化水平普遍偏低，神经元重建极度耗时.

全自动神经元形态重建工具主要依赖计算机程序对神经元形态重建，人对重建过程的干预极小，同时也难以对重建结果进行修订和反馈. 因此，全自动神经元形态重建工具的重建性能主要依赖其核心追踪算法. 这些算法依据纤维的形态特征信息（纤维的管状结构、信号及半径尺度差异等）辅助实现神经纤维的追踪. 它们提取形态特征的技术手段多为利用圆柱模型拟合神经纤维三维形态[42]、使用变分法[23]、海森矩阵法[34]提取神经纤维管径的方向信息等. 目前，已发展的常用算法有基于图论模型算法[31，43-44]、基于主动轮廓模型算法[23，45]、基于最短路径算法[46]和体素生长算法[47]等. 上述核心算法的有效性决定了全自动神经元形态重建工具的重建效果，同时令其具有以下特点：a. 软件工具的核心算法涉及的数学模型差异很大，包括图论模型[31，43-44]、变分模型[23，45]、统计模型[48-49]、深度学习[50-51]等，表明神经元形态重建可以从不同的切入点去实现. b. 软件工具对重建结果和过程可视化程度差异大，有些软件可视化水平接近商业软件水平，有些软件只提供基本的可视化功能. 事实上，软件的可视化水平与软件自动化重建性能没有相关性，但是它与用户对软件接受度有直接相关性. c. 机器学习与软件工具的结合程度不够、鲁棒性不强，意味着重建结果取决于算法与图像特征的匹配度. 匹配程度高时，重建结果可靠，否则重建结果不可信. d. 聚焦单神经元重建[27，52]，仅有极少数工具能实现神经群落的自动重建. 在表2中，我们列出了几组常用的全自动神经元形态重建工具，并提供了其运用的核心算法模型和运行平台，进一步比较了这些工具用于大尺度神经元形态重建所需的关键功能.

从上述工具的特点和表2提供的信息中我们发现，现有应用较广的几种全自动重建工具[23，54-55]仍以重建单神经元形态为主，但无法对包含多个神经元图像的神经群落重建，即难以从群落中识别每个独立的神经元形态（图1）.目前，仅有华中科技大学研究人员发展的NueroGPS-Tree工具[32]和新加坡大学IMCB研究所发展的NeuronCyto Ⅱ工具[53]初步实现局部尺度的神经元群落自动重建.从文献报道来看，NeuronCyto Ⅱ工具重建的神经元群落中神经元数量仅有十几个.NeuroGPS-Tree目前能以80%左右的准确度重建局部尺度下较为密集的神经群落形态.但是，当神经群落形态极为复杂、密集时，NeuroGPS-Tree的重建准确度已经难以保证（图2）.

正如我们之前指出的，使用半自动化重建工具进行神经元重建，虽然也使用了部分自动算法辅助追踪，但最终的重建性能仍依赖于人对重建结果的修订.全自动化重建工具因极少的人工干预，其重建性能主要依赖于核心追踪算法，为此我们详细介绍了若干类全自动重建工具中常用的核心追踪算法的原理，并给出了这些算法各自的发展历程，总结其优缺点及发展前景（表3）.期望以此信息，评估现有的核心算法直接应用于复杂、大尺度的神经元形态重建的潜力.

基于上述内容我们发现，大部分核心追踪算法处理纤维缺断、高信噪比的数据优势明显，这也使得全自动化重建神经元形态工具的形态重建通量远高于半自动工具.但是，这些核心算法的重建准确性和通量一定程度上受制于神经元形态结构的复杂程度和图像的尺度.因此，直接将全自动化重建工具应用于复杂、大尺度的神经元形态重建将会遭遇困难.

Table 2　Key resources of frequently used automatic neuronal reconstruction tools

表2　常用的全自动神经元形态重建工具关键信息列表

名称	核心算法模型	运行平台	关键功能		
			大数据接口	群落追踪	可视化
Farsight[23] **	主动轮廓模型	Win/Mac/Lin	N	N	2D/3D
NCTracer[46] ***	最短路径算法	Win	N	N	2D/3D
NeuronCyto II[53] ***	图论法	Win	N	Y	2D
Tubular Geodesics[44] ***	图论法	ImageJ	N	N	2D
NeuroGPS-Tree[32] **	图论法	Win	Y	Y	2D/3D
Vaa3D[54] **	图论法	Win/Mac/Lin	Y	N	2D/3D
NeuronStudio[55] ***	体素生长算法	Win	N	N	2D

Win：Windows操作系统；ImageJ：作为插件在ImageJ中运行；Mac：Mac操作系统；Lin：Linux操作系统；*表示商业软件；**表示免费开源软件；***表示免费不开源软件；Y表示支持；N表示不支持；群落追踪是指从多个神经元中重建每个单独的神经元形态.

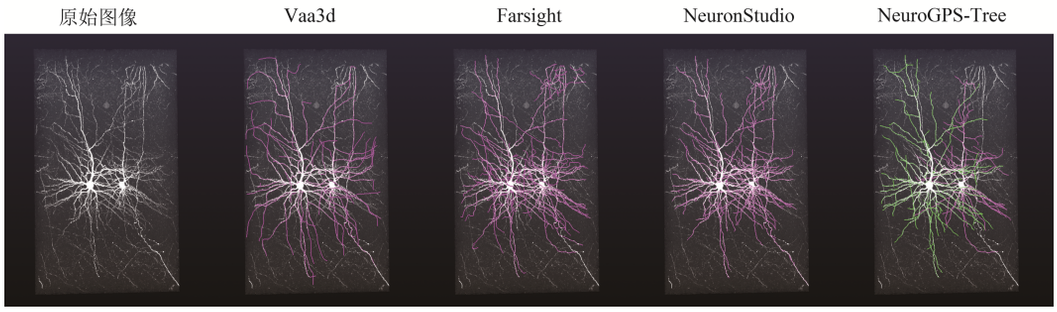

Fig. 1　Reconstruction results of a neuronal population derived by several automatic reconstruction tools

图1　多类全自动神经元形态重建工具重建神经群落的结果

第1列：图像中包含两个神经元的神经群落数据；第2~5列：Vaa3d、Frasight、NeuronStudio和NeuroGPS-Tree重建神经群落的结果.前3个软件无法从群落中区分每个神经元，重建结果用紫色曲线表示，NeuroGPS-Tree分别重建群落中两个神经元的形态（绿色和紫色）.

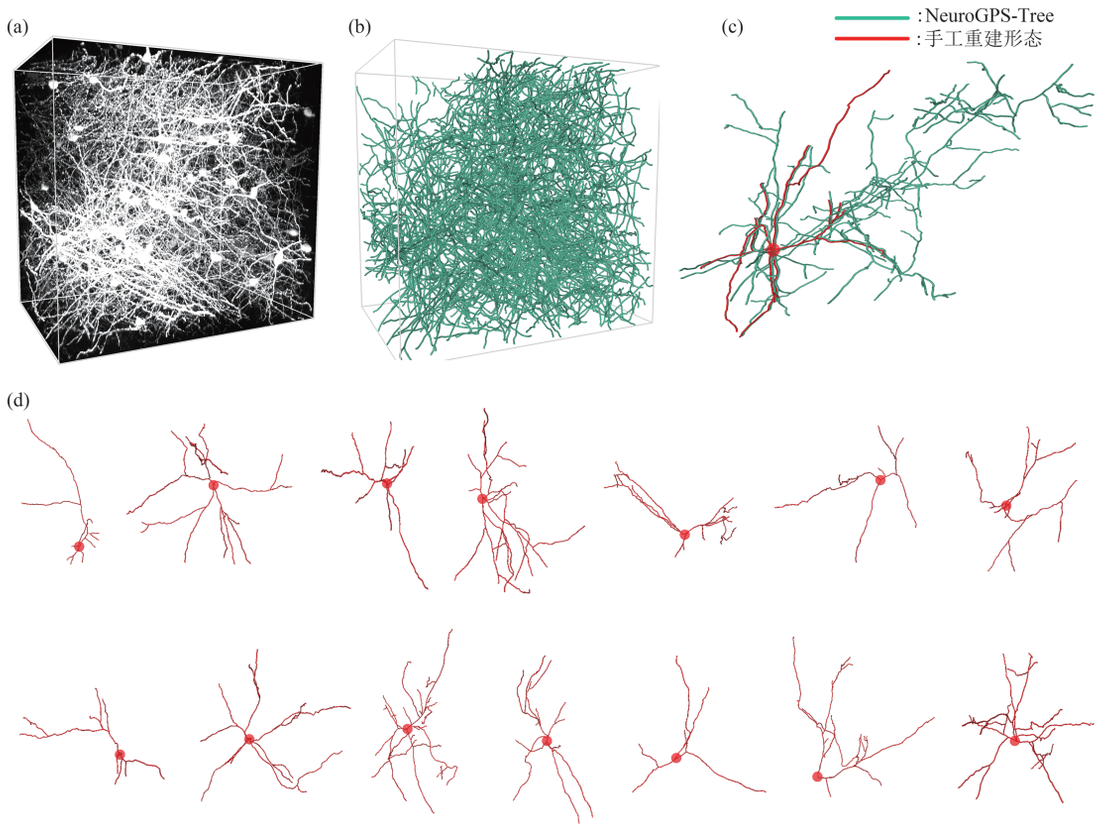

Fig. 2　Reconstruction of a neuronal population with densely packed neurites derived from NeuroGPS−Tree and manual

图2　NeuroGPS−Tree和手工重建超密神经群落结果的对比

（a）一块包含超密集神经纤维的群落数据；（b）NeuroGPS-Tree重建（a）中数据的结果（绿色曲线）；（c）NeuroGPS-Tree重建的单个神经元形态与手工重建形态（红色曲线）的对比. 红色点为胞体位置；（d）手工重建群落数据（a）中每个神经元形态，由红色曲线表示.

1.2　神经元形态重建工具的最新进展

简而言之，神经元形态重建工具的现状是：半自动重建工具能提供准确结果，但重建耗时；全自动工具能快速重建，重建结果可靠性取决于图像特点与核心追踪算法的匹配度. 上述两类重建工具之间的鸿沟在于：半自动化重建工具太依赖手工重建，认为算法不可靠，而自动化重建工具更关注算法的新颖性，忽视人对重建结果的反馈与修订. 目前我们可从两方面入手，弥补这一鸿沟：一方面，尽可能发展重建算法，提升软件自动化水平；另一方面，有针对性发展相应功能模块，提升手工干预效率. 在此原则的指导下，华中科技大学的研究人员发展了系列自动算法并整合到 global tree reconstruction system （GTree）工具中，相关工作见https：//www.biorxiv.org/content/early/2018/01/02/223834. 这些算法包括胞体定位、胞体形状分割、神经纤维追踪、神经纤维虚假连接识别、神经纤维弱信号识别、神经纤维骨架的二次校正等. GTree还拥有较为强大的重建结果编辑与反馈功能. 除囊括与商业化软件类似的基本编辑功能外，GTree还拥有如下功能模块，用于提升手工编辑效率：a. 全脑尺度神经元重建结果导航模块，能在大尺度数据下，快速浏览和检查结果；b. 神经元重建结果选择性显示模块，能在神经纤维密集分布的图像中，过滤其他纤维的干扰，从而更容易发现重建错误；c. 同一神经元不同重建结果差异量化模块，能快速定位重建结果的差异位置，为定位重建错误提供位置信息. 在这种策略设计下，GTree能够高准确率重建有密集纤维分布的神经群落，一定程度地解决领域公开问题——密集重建. GTree适用于大数据格式，能够实现高准确度全脑尺度神经群落重建，在保证重建准确度基础上，重建速度比商业软件快5倍以上，并率先展示了全脑尺度、有密集神经纤维分布的群落形态重建. 艾伦脑科学研究所、东南

Table 3　Key resources of frequently used tracing methods in automatic neuronal reconstruction tools

表3　全自动重建工具中若干类常用核心追踪算法关键信息列表

方法名称	追踪的基本原理	发展历程	优缺点及发展前景
体素生长法	人为给定一个种子点，从该点出发，依据预先设定的阈值筛选邻域的体素点，若体素点未被标记则记入当前区域. 当设定区域范围内的所有体素点都被筛选并标记后，将当前区域划分为若干互不连通的子区域，子区域的质心对应神经纤维骨架的一个中心点.	Adams和Bishcof[56]在1994年提出基于种子点的体素生长方法，并将该分割方法应用于二维医学图像的分割；2005年Fiala等[57]基于该方法，开发半自动工具Reconstruct描绘神经元的三维形态. Rodriguez等[58]于2008使用该方法自动检测并重建神经元树突附近的树突棘形状；于2009年自动检测树突上的分叉结构并重建树突的骨架[55]；Li等[59]于2016年使用该方法在噪声图像的局部区域进行神经元骨架点的搜索，重建较大尺度（40GB）神经图像中的神经元树突结构.	优点：基于局部图像搜索体素点，计算效率高 缺点：易受图像中的噪声点影响，可能将噪声点识别为信号点；如果纤维缺断，将无法继续追踪 发展前景：可用于追踪大尺度、高信噪比图像中的神经纤维
主动轮廓模型	首先，计算待分割图像的梯度矢量，神经纤维的中心线方向与图像的梯度方向一致. 其次，给定一段已追踪的初始线段，通过在梯度矢量场中极小化构造的能量函数，进而控制初始线段的两端沿纤维中心线伸展或收缩，达到纤维追踪的效果.	1988年Kass等[60]首次提出活动轮廓模型用于二维图像的边界检测；1997年Caselles等[61]提出测地线动态轮廓法，结合水平集法，减轻了原有模型对参数的依赖；2001年Chan等[62]提出基于区域的主动轮廓模型，该模型利用图像的灰度信息构造能量函数，实现目标分割；2004年Schmitt等[63]基于Kass提出的基本模型，成功在二维图像上重建神经元的骨架和纤维轮廓；2009年，Vasilkoski和Stepanyants[64]利用活动轮廓模型优化初始的神经纤维追踪骨架；2011年Wang等[23]将活动轮廓模型直接扩展至三维图像，实现三维图像中神经元的骨架追踪.	优点：能追踪部分缺断的纤维 缺点：抗噪声能力较差，可能会将噪声点识别为信号，造成过分割的结果 发展前景：可用于高信噪比、局部图像中有部分缺断的纤维追踪
图论法	首先，通过预设的阈值或特征提取等方法确定位于神经纤维上的若干种子点；其次，计算上述种子点的连接关系，构成一个连通图；最后，利用几类常用的最短路径算法（如迪杰斯特拉算法、快速行进算法等）或最小生成树算法，依据图的局部特征构造能量函数，筛选出能量最小的路径或所有边代价和最小的生成树作为纤维的追踪结果.	1959年，Dijkstra[65]提出了迪杰斯特拉算法计算一个连通图上的单个节点到其他所有节点的欧氏距离，并获得最短路径；1997年Cohen等[66]提出了快速行进算法，与Dijkstra算法不同，它需要用户提前指定一段纤维的起始点和终止点，通过计算从起始点向终止点方向的波动方程，获取最优路径. Peng等[43]和Xiao等[31]分别在2010年和2013年利用图论方法获得三维图像中神经元的纤维骨架；2016年Ong等[53]通过构造有向图，并结合标签传播算法，能够识别纤维间的交叉区域，从而初步分割神经群落数据；2016年Quan等[32]结合神经元的多类形态统计信息，将追踪得到的神经纤维抽象为彼此有连接关系的子图，同时在多尺度上运用统计信息对图进行分割，能够获得较大尺度神经群落的重建结果.	优点：能够预先识别较弱的信号点从而连接缺断的神经纤维 缺点：需要后处理方法筛除噪点，追踪大尺度数据计算效率较低 发展前景：适用于尺度较小、信噪比较高的缺断纤维追踪，获得可靠重建结果的关键是准确的种子点筛选方法

大学的研究人员则将BigNeruon竞赛中多类优势算法整合至Vaa3d软件中，并匹配Terafly等大数据格式用以重建大尺度神经数据[67]. 最近，他们还利用深度学习网络等知识[50]，进一步提升Vaa3d软件重建神经元形态的能力. 目前Vaa3d已经能在较大尺度（2 111×3 403×291 voxels）下自动重建稀疏的单神经元形态. 霍华德休斯医学研究所提出的MouseLight项目（https：//www.janelia.org/project-team/mouselight）中，研究人员开发了大尺度可视化追踪工具large volume viewer（LVV），首先依靠算法半自动或全自动追踪神经群落内的神经纤维，再通过多人同时在线修订追踪结果，并手动判别纤

维间的连接关系，以保证神经群落重建的准确性.

通过整合多种技术手段，神经元形态重建工具已有了长足的发展，在较为稀疏的、大尺度单神经元形态重建、局部神经元群落重建、全脑尺度群落重建上均取得了突破. 但现有的重建工具远不能满足数据发展需求. 这一现状是由以下几方面决定的. 首先，重建工具的通量有待提升. 典型地，一个研究机构初步估计每天可以产生数万个全脑尺度的神经元形态数据，但是最新的研究工具GTree重建群落中的一个单神经元需要10 h. 其次，机器学习新技术与重建工具结合不紧密. 虽然，最近报道的几篇论文已实现利用机器学习（如支持向量机、稀疏典型学习、深度神经网络）系列方法识别神经元纤维信号[68-71]. 但是，这些方法仅用于重建过程中的某个环节，没有从本质上替代神经元重建中的核心算法. 再次，神经群落重建工具研究关注度不够. 多个世界知名的神经元形态重建竞赛[24, 27]均着眼于单神经元形态重建. 神经群落重建研究因其问题独有的复杂性[21-22]受到的关注不多，目前仅有少数文献报道了密集神经纤维的重建方案[32, 48, 53]，而能够被用户直接使用的软件工具则更少. 最后，人与重建工具的交互性有待改善. 所有软件拥有的对重建结果编辑功能的设计概念一直没有改变. 即发现一处错误、修订一次错误，修订的错误对其他重建错误没有任何积极反馈. GTree虽然能快速定位重建错误，但并没有突破这一设计概念.

2 神经元形态重建工具的发展趋势

神经元形态重建工具研究任重而道远，后续发展会围绕怎样构建大尺度、高准确性、高通量神经元形态重建工具展开，其发展将有如下特征.

机器学习方法将全方位融入神经元形态重建工具. 一般而言，神经元形态重建过程包括追踪神经纤维、建立纤维间的连接关系. 若对上述过程分解，将涉及到众多模式识别的内容. 如在追踪神经纤维时，需要识别像素点是属于纤维的信号点还是背景点，需要识别像素点是表征当前纤维的信号点还是其他纤维的信号点，在建立纤维间的连接关系时，怎样识别错误的纤维连接关系. 随着机器学习技术不断发展，神经元形态重建中的识别问题能够得到解决，从而很大程度提升神经元形态重建工具的准确性和自动化程度.

群落重建工具将成为发展趋势. 这种发展趋势决定于三个因素. 首先，群落重建比单神经元重建更有意义. 群落重建因能提供重建神经元间的潜在连接性、耦合性、相关性，更能满足神经科学需求. 其次，成像数据驱动. 分子标记和显微成像技术的发展，产生的成像数据信噪比高，能够包含神经群落的精细结构. 最后，单神经元形状重建工具中的核心算法是发展群落重建工具的基础. 单神经元形态重建方法经过30年的发展，已日趋成熟，特别是BigNeuron项目催生出的工具，能高准确度实现单神经元重建. 这些工具中的核心思想和软件构架将为发展群落重建工具提供有益借鉴.

群落重建工具的编辑功能将突破已有的设计概念，实现修订错误对重建结果的正反馈. 神经群落重建的关键是识别错误重建骨架间的虚假连接. 若对潜在的虚假连接关系进行概率标识，依据概率大小依次对潜在错误进行检测并修订. 当确定某处连接错误并修订后，基于任何一处的连接关系都会影响到整体连接关系的这一事实，使得其余潜在连接错误的概率会发生改变. 若编辑功能中能引入此概念，将大大提升重建工具的编辑效率. 其次是，若依次对群落中每个神经元进行重建，且保证每次重建结果准确性的情况下，将前面重建结果作为先验知识融入到当前重建过程中去，会降低重建困难. 依这种想法去设计重建工具，其编辑功能也需要与之相应的匹配.

虽然神经元形态重建工具的发展程度与神经数据的分析需求、神经元重建算法的突破息息相关，但是重建工具必将向高通量、高准确度、用户友好的方向发展，为大尺度、高通量绘制神经回路提供有利的研究工具.

参 考 文 献

[1] Parekh R, Ascoli G A. Neuronal morphology goes digital: a research hub for cellular and system neuroscience. Neuron, 2013, **77**(6): 1017-1038

[2] Donohue D E, Ascoli G A. Automated reconstruction of neuronal morphology: an overview. Brain Res Rev, 2011, **67**(1-2): 94-102

[3] Svoboda K. The past, present, and future of single neuron reconstruction. Neuroinformatics, 2011, **9**(2-3): 97-98

[4] Lu J. Neuronal tracing for connectomic studies. Neuroinformatics, 2011, **9**(2-3): 159-166

[5] 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
Luo Q M. Sci China Life Sci, 2017, **47**:1015 – 1024

[6] Myatt D R, Hadlington T, Ascoli G A, *et al*. Neuromantic – from semi-manual to semi-automatic reconstruction of neuron

morphology. Front Neuroinform, 2012, **6**: 4

[7] Jefferis G S, Livet J. Sparse and combinatorial neuron labelling. Curr Opin Neurobiol, 2012, **22**(1): 101-110

[8] Weitzman M D, Linden R M. Adeno-associated virus biology. Methods Mol Biol, 2011, **807**: 1-23

[9] 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**(6009): 1404-1408

[10] 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**(3): 255-258

[11] Silvestri L, Bria A, Sacconi L, *et al*. Confocal light sheet microscopy: micron-scale neuroanatomy of the entire mouse brain. Opt Express, 2012, **20**(18): 20582-20598

[12] 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**(05): 1743006

[13] 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**(7): 783 – 792
Du J L, Bi G Q, Luo Q M, *et al*. Bulletin of the Chinese Academy of Sciences,2016, **31**(7): 783-792

[14] Osten P, Margrie T W. Mapping brain circuitry with a light microscope. Nat Methods, 2013, **10**(6): 515-523

[15] Economon M N, Clack N G, Levis L D, *et al*. A platform for brain-wide imaging and reconstruction of individual neurons. Elife, 2016, **5**

[16] 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

[17] Gong H, Xu D, Yuan J, *et al*. High-throughput dual-colour precision imaging for brain-wide connectome with cytoarchitectonic landmarks at the cellular level. Nat. Commu., 2016, **7**: 12142

[18] Cyranoski D. China launches brain-imaging factory. Nat News, 2017, **548**(7667): 268-269

[19] Meijering E. Neuron tracing in perspective. Cytometry A, 2010, **77**(7): 693-704

[20] Ascoli G A. Sharing neuron data: carrots, sticks, and digital records. Plos Biol., 2015, **13**(10): e1002275

[21] Lichtman J W, Denk W. The big and the small: challenges of imaging the brain's circuits. Science, 2011, **334**(6056): 618-623

[22] Helmstaedter M. Cellular-resolution connectomics: challenges of dense neural circuit reconstruction. Nat Methods, 2013, **10**(6): 501-507

[23] 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**(2-3): 193-217

[24] 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**(2-3): 303-304

[25] Liu Y. The DIADEM and beyond. Neuroinformatics, 2011, **9**(2): 99-102

[26] Peng H, Meijering E, Ascoli G A. From DIADEM to BigNeuron. Neuroinformatics, 2015, **13**(3): 259-260

[27] Peng H, Hawrylycz M, Roskams J, *et al*. BigNeuron: Large-scale 3D neuron reconstruction from optical microscopy images. Neuron, 2015, **87**(2): 252-256

[28] Shen H. Neuron encyclopaedia fires up to reveal brain secrets: but effort to catalogue brain's building blocks may stoke disagreements over classification. Nature, 2015, **520**(7545): 13-15

[29] Kim J, Zhao T, Petralia R S, *et al*. mGRASP enables mapping mammalian synaptic connectivity with light microscopy. Nat Methods, 2011, **9**(1): 96-102

[30] Feng L, Zhao T, Kim J. neuTube 1.0: a new design for efficient neuron reconstruction software based on the SWC format. Eneuro, 2015, **2**(1): 0049-14

[31] 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**(11): 1448-1454

[32] Quan T, Zhou H, Li J, *et al*. NeuroGPS-Tree: automatic reconstruction of large-scale neuronal populations with dense neurites. Nat Methods, 2016, **13**(1): 51-54

[33] Hart P E, Nilsson N J, Raphael B. A formal basis for the heuristic determination of minimum cost paths. IEEE Trans Syst Sci Cybern, 1968, **4**(2): 100-107

[34] Sato Y, Nakajima S, Shiraga N, *et al*. Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. Med Image Anal, 1998, **2**(2): 143-168

[35] Glaser J R, Glaser E M. Neuron imaging with Neurolucida—a PC-based system for image combining microscopy. Comput Med Imag Grap, 1990, **14**(5): 307-317

[36] Stalling D, Westerhoff M, Hege H C. Amira: a highly interactive system for visual data analysis. The Visualization Handbook, 2005, **38**:749-767

[37] http://www.bitplane.com/imaris/filamenttracer

[38] Meijering E, Jacob M, Sarria J C, *et al*. Design and validation of a tool for neurite tracing and analysis in fluorescence microscopy images. Cytometry A, 2004, **58**(2): 167-176

[39] Brown K M, Donohue D E, D'alessandro G, *et al*. A cross-platform freeware tool for digital reconstruction of neuronal arborizations from image stacks. Neuroinformatics, 2005, **3**(4): 343-359

[40] Longair M H, Baker D A, Armstrong J D. Simple neurite tracer: open source software for reconstruction, visualization and analysis of neuronal processes. Bioinformatics, 2011, **27**(17): 2453-2454

[41] Magliaro C, Callara A L, Vanello N, *et al*. A manual segmentation tool for three-dimensional neuron datasets. Front. Neuroinform., 2017, **11**:36

[42] Zhao T, Xie J, Amat F, *et al*. Automated reconstruction of neuronal morphology based on local geometrical and global structural models. Neuroinformatics, 2011, **9**(2-3): 247-261

[43] Peng H, Long F, Myers G. Automatic 3D neuron tracing using all-path pruning. Bioinformatics, 2011, **27**(13): i239-247

[44] Turetken E, Gonzalez G, Blum C, *et al*. Automated reconstruction of dendritic and axonal trees by global optimization with geometric priors. Neuroinformatics, 2011, **9**(2-3): 279-302

[45] Xu C, Prince J L. Snakes, shapes, and gradient vector flow. IEEE Trans Image Processing, 1998, **7**(3): 359-369

[46] Gala R, Chapeton J, Jitesh J, *et al*. Active learning of neuron morphology for accurate automated tracing of neurites. Front. Neuroanat., 2014, **8**:37

[47] Wearne S, Rodriguez A, Ehlenberger D, *et al*. New techniques for imaging, digitization and analysis of three-dimensional neural morphology on multiple scales. Neuroscience, 2005, **136**(3): 661-680

[48] 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, **38**(1): 69-78

[49] Radojevic M, Meijering E. Automated neuron tracing using probability hypothesis density filtering. Bioinformatics, 2017, **33**(7): 1073-1080

[50] Zhou Z, Kuo H-C, Peng H, *et al*. DeepNeuron: an open deep learning toolbox for neuron tracing. Brain informatics, 2018, **5**(2): 3-12

[51] Li R, Zeng T, Peng H, *et al*. Deep learning segmentation of optical microscopy images improves 3-D neuron reconstruction. IEEE Trans Med Imag, 2017, **36**(7): 1533-1541

[52] Acciai L, Soda P, Iannello G. Automated neuron tracing methods: an updated account. Neuroinformatics, 2016, **14**(4): 353-367

[53] Ong K H, De J, Cheng L, *et al*. NeuronCyto II: an automatic and quantitative solution for crossover neural cells in high throughput screening. Cytometry A, 2016, **89**(8): 747-754

[54] 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**(4): 348-353

[55] Rodriguez A, Ehlenberger D B, Hof P R, *et al*. Three-dimensional neuron tracing by voxel scooping. J. Neurosci. Methods, 2009, **184**(1): 169-175

[56] Adams R, Bischof L. Seeded region growing. IEEE Trans Pattern Analy. Machine Intell, 1994, **16**(6): 641-647

[57] Fiala J C. Reconstruct: a free editor for serial section microscopy. J Microsc, 2005, **218**(1): 52-61

[58] 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**(4): e1997

[59] Li S, Zhou H, Quan T, *et al*. SparseTracer: the reconstruction of discontinuous neuronal morphology in noisy images. Neuroinformatics, 2016, **15**(2): 133-149

[60] Kass M, Witkin A, Terzopoulos D. Snakes: active contour models. Int J Comput Vision, 1988, **1**(4): 321-331

[61] Caselles V, Kimmel R, Sapiro G. Geodesic active contours. Int J Comput Vision, 1997, **22**(1): 61-79

[62] Chan T F, Vese L A. Active contours without edges. IEEE Trans Image Processing, 2001, **10**(2): 266-277

[63] Schmitt S, Evers J F, Duch C, *et al*. New methods for the computer-assisted 3D reconstruction of neurons from confocal image stacks. NeuroImage, 2004, **23**(4): 1283-1298

[64] Vasilkoski Z, Stepanyants A. Detection of the optimal neuron traces in confocal microscopy images. J Neurosci Methods, 2009, **178**(1): 197-204

[65] Dijkstra E W. A note on two problems in connexion with graphs. Numer Math, 1959, **1**(1): 269-271

[66] Cohen L D, Kimmel R. Global minimum for active contour models: a minimal path approach. Int J Comput Vision, 1997, **24**(1): 57-78

[67] 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**(3): 192-194

[68] Wang C W, Lee Y C, Pradana H, *et al*. Ensemble neuron tracer for 3D neuron reconstruction. Neuroinformatics, 2017, **15**(2): 1-14

[69] Chen H, Xiao H, Liu T, *et al*. SmartTracing: self-learning-based neuron reconstruction. Brain Informatics, 2015, **2**(3): 135-144

[70] Megjhani M, Rey-Villamizar N, Merouane A, *et al*. Population-scale three-dimensional reconstruction and quantitative profiling of microglia arbors. Bioinformatics, 2015, **31**(13): 2190-2198

[71] Becker C, Rigamonti R, Lepetit V, *et al*. Supervised feature learning for curvilinear structure segmentation. In MICCAI, 2013, **16**: 526-533

An Overview of Advances of Tools in Neuron Reconstruction*

LI Shi-Wei[1,2], QUAN Ting-Wei[1,2,3]**, ZHOU Hang[1,2], LI An-An[1,2], FU Ling[1,2], GONG Hui[1,2], LUO Qing-Ming[1,2], ZENG Shao-Qun[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)

Abstract Recent breakthroughs in molecular labeling and light microscopy enable the imaging of brain-wide neuronal population at cellular level. However, the development of neuronal reconstruction tools lags far behind massive datasets generation, which fails to meet the data analysis requirement at the current stage. In this sense, we first sought reasons for backwardness in current reconstruction tools and we summarized the features and introduced latest developments in these semi-automatic and fully automatic tools. Based on the summarized features, we further listed the challenges in developing reconstruction tools with high throughput and accuracy. In the end, we aired our views on the future development and application prospect of tools in neuron reconstruction.

Key words neuronal morphology, high throughput, neuronal population, brain-wide scale, neuron reconstruction

DOI：10.16476/j.pibb.2018.0277

---

* This work was supported by grants from the Science Fund for Creative Research Group of China（61721092）, The National Natural Science Foundation of China（81771913，81327802）, National Program on Key Basic Research Project of China（2015CB7556003）, Science Fund for Young and Middle-aged Creative Research Group of the Universities in Hubei Province（T201520）and The Direct Fund from Wuhan National Laboratory for Optoelectronics（WNLO）.

** Corresponding author.

Tel：86-27-87792033，E-mail：quantingwei@hust.edu.cn

Received：October 25，2018 Accepted：January 15，2019