

DISS. ETH NO. 22125

Automatic Neuron Reconstruction from Anisotropic
Electron Microscopy Volumes

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES OF ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by
JAN FUNKE
Dipl.-inf. TU Dresden
born on 18.03.1985
citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Richard Hahnloser
Prof. Fred Hamprecht
Dr. Matthew Cook
Dr. Albert Cardona

2014

Abstract

The work presented in this thesis addresses the problem of the automatic extraction of the wiring diagram of a nervous system from anisotropic electron microscopy volumes with high x- and y-resolution but low z-resolution, as obtained by serial section electron microscopy imaging procedures. A necessary step towards this goal is the segmentation of neural tissue to separate neuron cell interior from membrane and extracellular space, and thus reveal the 3D shape of each neuron, a process called *neuron reconstruction*.

The core of this thesis is a novel method for the reconstruction of neurons from serial section electron microscopy images. Due to the anisotropy of serial section imaging methods, we treat the data as a stack of 2D images, rather than a continuous 3D volume. However, the detection of neuron slices (*i.e.*, cross-sections of neural processes) in 2D images is difficult due to ambiguities in the data. Therefore, we propose to enumerate several diverse and possibly contradictory candidate neuron slices by identifying separating membranes with varying thresholds for each image individually. Between candidates of adjacent images in the stack, we enumerate assignments that reflect possible ways to follow a neural process from one image to another. We assign costs to each candidate and assignment and formulate constraints that ensure consistency between the assignments. We show how a globally cost-minimal segmentation of neuron slices and assignments between images can be found jointly and efficiently. Furthermore, we derive a structured learning formulation to learn the assignment costs from annotated ground truth and show its effectiveness compared to other methods.

Since the candidate selection is a crucial step in our model, we also introduce an alternative candidate generation method that samples candidates from a conditional random field (CRF) based on convolutional neural network predictions. The CRF is designed and trained to capture the statistics of 2D electron microscopy images of neural tissue. We show that sampling from this model produces plausible neuron slice candidates that are well suited for our reconstruction method, while additionally providing labels for synapse, glia cells, and mitochondria.

For the application to very large datasets, inference has to be distributed. However, since our model performs a global optimization, this is not trivial. We tackle this problem by presenting a distribution scheme for our model that is based on dual decomposition and guarantees global optimality. For that, the original problem is decomposed into several regions that communicate with each other to find an agreement. If such an agreement can be found, the collected answers from all regions is provably optimal. We introduce a messaging strategy that ensures that such an agreement can always be found under suitable assumptions.

Finally, we review error measures used for neuron reconstruction algorithms and discuss their properties. We introduce a new measure that reflects the edit distance between a reconstruction and a ground truth within certain tolerated variations and compare it to existing measures.

Given the extremely high accuracy requirements for biological use cases and the challenging ambiguities encountered in EM images, the complete automatic reconstruction of neurons is still out of reach. Nevertheless, we believe that the methods introduced in this thesis made a significant contribution towards this goal and can already be used to assist the tedious manual reconstruction.

Zusammenfassung

Die Arbeit, die in dieser Dissertation vorgestellt wird, befasst sich mit dem Problem der automatischen Extraktion neuronaler Schaltkreise aus anisotropen Elektron-Mikroskopie-Volumina. Diese Volumina, die aus Elektron-Mikroskopie-Bildern von seriellen Schnitten neuronalen Gewebes zusammengesetzt sind, haben eine hohe x- und y-Auflösung, jedoch eine niedrige z-Auflösung. Ein notwendiger Schritt, um diese Schaltkreise zu erhalten, ist die Segmentierung von neuronalem Gewebe, so dass das Zellinnere der Neuronen von Membranen und extrazellulärem Raum getrennt wird. Somit wird das 3D Profil eines jeden Neurons offen gelegt – ein Prozess der als *Neuronenrekonstruktion* bezeichnet wird.

Der Kern dieser Arbeit ist ein neues Verfahren für die Neuronenrekonstruktion aus Elektron-Mikroskopie-Bildern von seriellen Schnitten neuronalen Gewebes. Auf Grund der Anisotropie dieses bildgebenden Verfahrens betrachten wir das resultierende 3D Bild als einen Block aus 2D Bildern, statt eines kontinuierlichen 3D Volumens. Die Erkennung von Neuronenscheiben (d.h., Querschnitte von neuronalen Fortsätzen) in 2D Bildern ist jedoch aufgrund der Mehrdeutigkeiten in den Daten schwierig. Daher schlagen wir vor, verschiedene und möglicherweise widersprüchliche Neuronenscheiben-Kandidaten zu enumerieren, indem separierende Membranen mit unterschiedlichen Schwellwerten identifiziert werden. Zwischen den Kandidaten aufeinanderfolgender Bilder enumerieren wir Verbindungen, welche verschiedene Möglichkeiten repräsentieren einem Neuron von einem Bild zum Nächsten zu folgen. Wir weisen jedem Kandidaten und jeder Verbindung Kosten zu und formulieren Bedingungen, die Konsistenz zwischen den Verbindungen sicherstellen. Wir zeigen, wie eine global kostenminimale Segmentierung von Neuronenscheiben und Verbindungen zwischen den Bildern gemeinsam und effizient gefunden werden kann. Des Weiteren leiten wir eine strukturelle Lernformulierung für das Lernen der Verbindungskosten anhand annotierter Beispiele her und zeigen dessen Effektivität im Vergleich mit anderen Methoden.

Da die Kandidatenauswahl in unserer Methode ein entscheidender Schritt ist, führen wir zusätzlich ein alternatives Verfahren ein, welches Kandidaten als Stichproben eines *conditional random fields* (CRF) generiert. Dieses CRF wurde entworfen und trainiert um die Statistiken von 2D Elektron-Mikroskopie-Bildern von neuronalem Gewebe zu reproduzieren. Wir zeigen, dass die Stichproben von diesem Modell plausible Kandidaten produzieren, welche gut geeignet für unser Neuronenrekonstruktions-Verfahren sind und zusätzlich Annotationen für Synapsen, Glia-Zellen und Mitochondrien liefern.

Für die Anwendung auf sehr großen Datensätzen muss die Inferenz verteilt werden. Da unser Verfahren jedoch eine globale Optimierung durchführt, ist diese Verteilung nicht trivial. Wir begegnen diesem Problem indem wir ein Verteilschema präsentieren, welches auf der dualen Dekomposition basiert und globale Optimalität garantiert. Dafür wird das originale Problem in mehrere Regionen aufgeteilt, welche miteinander kommunizieren um eine Übereinstimmung zu finden. Falls eine solche Übereinstimmung gefunden wird, ist die gemeinsame Lösung aller Regionen bewiesenermaßen optimal. Wir führen eine Kommunikationsstrategie zwischen den Regionen ein, die sicher stellt, dass eine solche Übereinstimmung unter geeigneten Annahmen gefunden wird.

Wir schließen diese Arbeit mit einer Studie über Fehlermaße, die für die Neuronenrekonstruktion benutzt werden und diskutieren deren Eigenschaften. Wir führen ein neues Maß ein, welches die Entfernung zwischen einer Rekonstruktion und einem manuell annotierten Beispiel anhand Veränderungsschritte misst, dabei aber gewisse Variationen toleriert, und verglichen diesen Maß mit Existierenden.

Unter Berücksichtigung der extrem hohen Anforderungen an die Fehlerfreiheit für biologische Anwendungsfälle und der Mehrdeutigkeiten in EM-Bildern ist die komplett automatische Neuronenrekonstruktion noch nicht in Greifweite. Nichtsdestotrotz glauben wir, dass die Verfahren, die wir in dieser Arbeit vorstellen, einen signifikanten Beitrag zum Erreichen dieses Ziels leisten und bereits jetzt genutzt werden können um die ermüdende manuelle Rekonstruktion zu erleichtern.