

中華大學生物資訊學系系統開發專題報告  
Investigating mechanical sensory circuit from *C. elegans*  
neuronal network

從線蟲神經元網路結構探討觸覺神經迴路  
專題組員:栢升偉、陳立群、謝明宏、陳威志  
專題編號: PROJ-BIOINFO-103002  
指導老師:黃俊燕老師

## 摘要:

本專題運用網路全域結構來驗證線蟲神經元網路是否為模組化的階級式網路[1]，再使用統計軟體 R 中的 Linkccom 套件來計算網路模組結構，並找尋有生物意義之模組。我們挑出有關觸覺神經元的相關模組，再拼組出其拓撲模組來探討神經迴路，並從中得知神經元間的傳遞路徑，藉此發現觸覺的刺激如何會影響到線蟲生蛋行為的神經迴路。

## 簡介:

我們以線蟲的雌雄同體作為研究對象，因為其神經元相對雄性與幼體是比較完整的。線蟲在多細胞生物中，具有比較簡單神經結構的生物，牠生活在土壤中，通過攝食微生物（主要是細菌）而存活。現今，線蟲體內所有神經元間的連接已經由實驗證實且完善[2]，因此，我們先從 Wormatlas 資料庫取得線蟲神經元資料，並探討其網路全域結構來證明線蟲神經元網路是否為模組化的階級式網路(Hierarchical network)[1]，然後計算其模組結構。模組是演化上許多神經元形成彼此間較為緊密連接的神經元

單元，並具有特定生物功能的單元。在生物演化上，模組間的連線數傾向較為稀疏；模組內的連接數傾向稠密。早期模組的分類方法很難偵測出高密度神經元網路的重疊模組結構，現在我們利用 Cfinder 與 Linkcomm 兩個軟體來鑑定網路中重疊的模組[3,4]。知道模組結構後，便可以探討線蟲的神經生理功能，本專題主要探討線蟲的觸覺神經迴路。

## 2.研究方法:

### 2.1 資料來源:

我們從 Wormatlas 資料庫 (<http://www.wormatlas.org/>) 取得線蟲雌雄同體(Hermaphrodite)的神經元網路資料，共有 281 個神經元，6393 條化學突觸(Chemical synapse)，890 條電突觸(Electrical junction)和 1410 條神經肌肉連接(Neuromuscular junction)[2]。其中電連接為雙向、化學突觸為單向，之後，我們把所有的電連接、化學突觸視為無方向的連結。為了留下目標神經元，將重複部分作刪除，移除後剩下 2402 條連線。

### 2.2 網路全域結構(Global structure)探討:

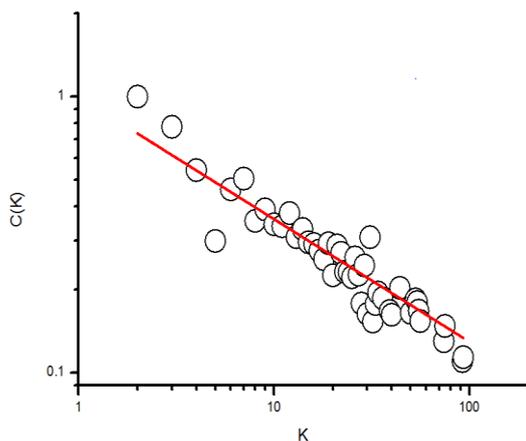
利用軟體 Pajek，計算節點連線數 (Degree)、群聚係數 (Clustering coefficient)，再利用節點連線數 (Degree)、群聚係數 (Clustering coefficient) 來計算  $P(k)$ (Degree distribution)、 $C(k)$ (Clustering coefficient distribution) 值。來觀察是否為冪次定律，而冪次定律是指數分布  $P(k) \sim k^{-\gamma}$ 、 $C(k) \sim k^{-\beta}$ ，可以觀察一個網路中，區塊間是否相關聯，以證實是否為階級式網路 (Hierarchical network)[1]。最後我們得證線蟲神經元網路是模組化的階級式網路，如圖一所示。(A)與(B)都呈現冪次定律分佈， $k$  代表 degree 的值，是指一個神

經元與其他神經元的連線個數， $CC$  為群聚係數是指一個神經元所連接的神經元與其他神經元的機率(見公式一)。

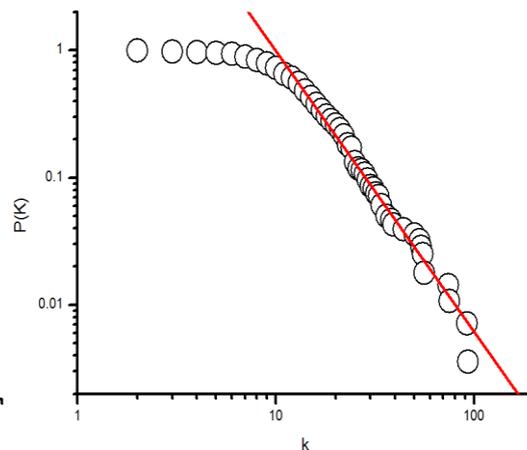
$$C_i = \frac{E_i}{\frac{k_i(k_i-1)}{2}}$$

公式一：為  $CC$  的計算公式。 $E_i$ 是指與節點  $i$  相連的鄰近節點之間的連線數。

$C(k)$ 是指 degree 為  $k$  的所有群聚係數平均值， $P(k)$ 是指 degree 是所有  $k$  個數的機率。



(A) Clustering Coefficient



(B) Degree Distribution

圖一：(A)  $C(k)=k^{-0.44}$  與(B)  $P(k)=159.34 \times k^{-2.21}$  都呈現冪次定律的分佈，(B)是以累積分佈呈現。兩者迴歸曲線斜率皆為負值，都滿足階級式網路的條件。

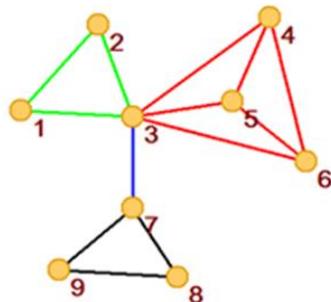
### 2.3 模組結構計算

模組的形成是許多神經元彼此間形成的緊密連接神經元集團，並具有特定生物功能的單元。我們利用 Cfinder 與 Linkcomm 這兩個軟體，它們是用來計算網路模組結構。Cfinder 是 Palla 等人利用集群過濾方法(Clique Percolation Method)提出，來定位解釋網路模組的  $k$ -clique 群組。 $k$ -clique 是

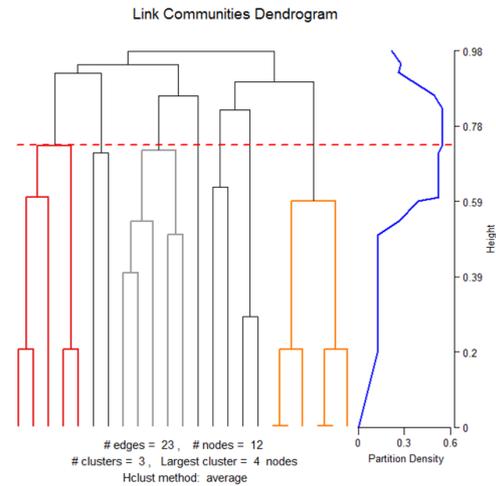
$k$  個節點 ( $k = 3, 4, \dots$ ) 的網路連接圖，如果對應的兩個  $k$ -clique 共享  $k-1$  個節點，則兩個  $k$ -clique 互相為鄰。節點可以同時成為幾個不同模組的成員，模組通過共享節點彼此重疊[3]。Linkcomm 是統計軟體 R 的一個套件，它是 Y.Y Ahn 等人利用階級式分類演算法分類網路中的連線，再依據連線分類結果來決定節點其隸屬的群組

[4]，如圖二所示。網路的連線被分為四類，相同顏色連線之節點分為同一個模組，模組一(1、2、3)，模組二(3、4、5、6)，模組三(3、7)，模組四(7、8、9)，而點3與點7分別為模組一、二、三與模組三、四的節點，如圖二所示。所以 Cfinder、Linkcomm 都能用來鑑定網路中的重疊模組。

最後我們選用 Linkcomm 來計算網路的模組結構，因為 Cfinder 會將線蟲神經元網路全部歸類為一個模組，較不方便探討。Linkcomm 利用階級式分類演算法計算模組結構時需決定一個門檻值，此門檻值決定分類結果，並切割在最高分割密度(Partition density)，如圖三所示。



圖二:模組分群方法示意圖。點3與點7被藍色線相連接，所以分為同一個模組，點7又與點8、9被黑色線相連接，所以點7、8、9被分為同一個模組，因此點7同時被分類到兩個模組。



圖三:結合了階級式分類演算法，門檻值(紅色虛線)決定分類結果，切割在最高分割密度。

## 2.4 模組結構生物功能註解

線蟲神經元網路模組結構，其每一個神經元具有多種潛在的生物功能，所以一個神經元可能隸屬於多個模組。然而模組結構是階層式的，在一個大的模組內可能由多個小的模組組成，其小的模組內又有更小的模組組成，因此我們從一個模組內知道其中特定幾個神經元功能後，便可以猜測此模組負責什麼樣的生物功能。

## 3 結果與討論

我們選用 Linkcomm 來計算線蟲神經元網路模組結構，模組內節點數小於3視為無意義的模組，其原因為過小的模組看不出功能及生物意義。Linkcomm 階級式分類有 single link、complete link、average link，它們是依照模組間的距離來計算分類模組。

選擇分類的方式依線蟲神經元網路的模組大小分布圖與模組神經元分

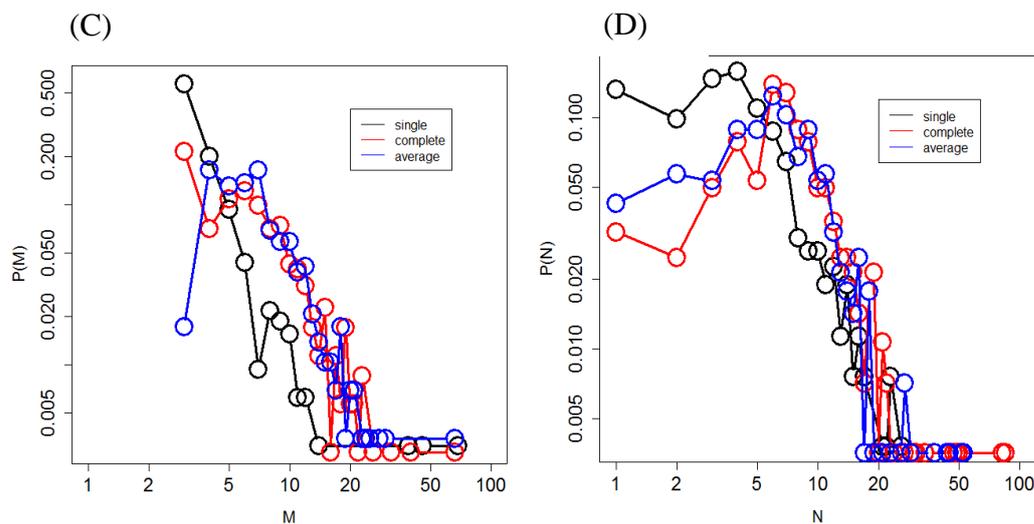
配圖，如圖四所示。黑色線為 single、紅色線為 complete、藍色線 average。

同樣為階級式分類演算法，圖形分布應相似，single 左移原因為，模組內神經元小於 3 個，使部分神經元未被分配到模組，故不選擇 single。

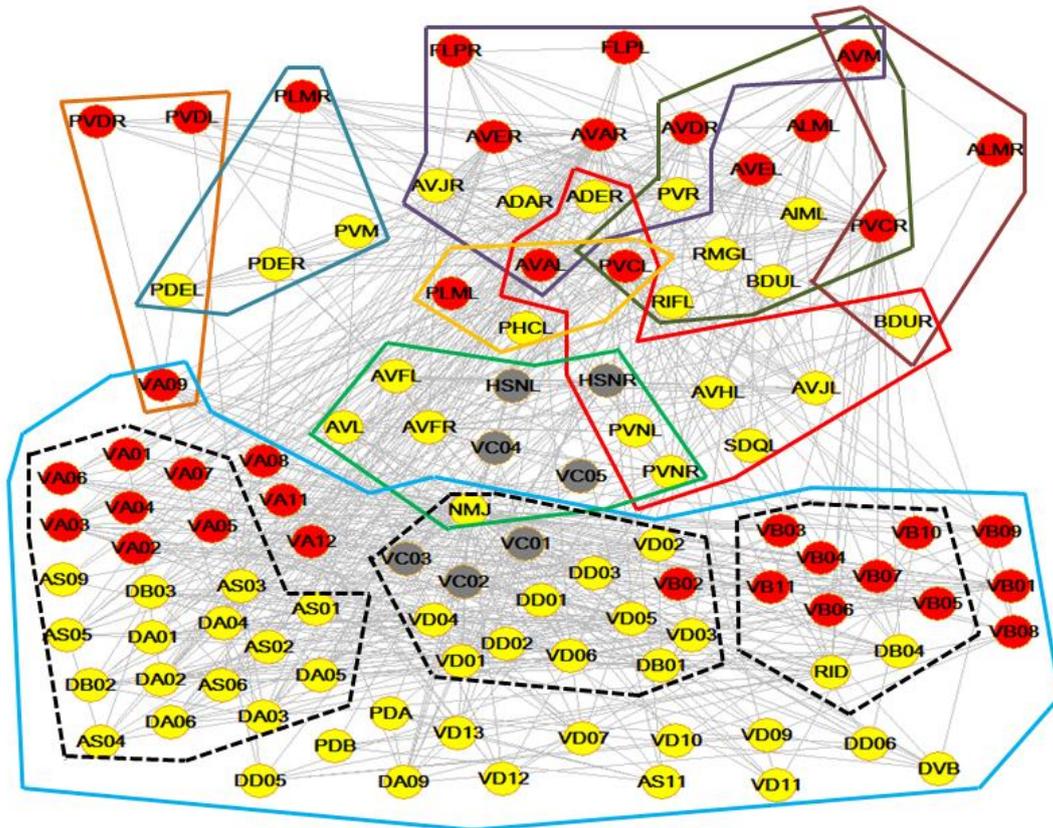
single 分割密度約 0.090，average 分割密度約 0.087，complete 分割密度僅約 0.054，complete 分割密度太低故不選擇，因此，我們選擇 average 作為分類結果。分類出來的總模組數為 290 個，在從中挑出有關線蟲觸覺運動神經元模組(見圖五)。根據神經細胞消融實驗[5]，知道 ALM、AVM、PLM、FLP、PVD 為線蟲主要的觸覺感覺神經元，VA(1~12)、VB(1~11)為線蟲腹部運動神經元。ALM 與 AVM 有著向後避的反應，PLM 有向前的逃避反應，FLP 與 PVD 則是感應熱與物理上有害的刺激，VA 向後運動、VB

向前運動[5]。另外線蟲的生蛋行為會受到觸覺刺激，導致停止生蛋或降低了生蛋速率。HSN 為線蟲調控陰道收縮的神經元，VC04 與 VC05 則會刺激陰道肌肉的收縮[6]。

依據圖五，是我們挑出線蟲觸覺神經元相關的模組所拼出的拓撲模組。紅色圓點為線蟲觸覺相關的神經元，有著逃避反應的生理行為，灰色圓點為線蟲生蛋相關神經元，黃色圓點為其他神經元。圖五中的感覺神經元(PVD、PLM、FLP、AVM、ALM)會透過中間神經元(AVD、PVC、AVA、AVE)的傳遞到運動神經元(VA、VB)。而 AVM 與 ALM 還會透過中間神經元 BDU 的傳遞到運動神經元 HSN，最後 HSN 再傳遞至 VC05 與 VC04。如圖六所示，為線蟲觸覺神經元傳遞路徑示意圖。



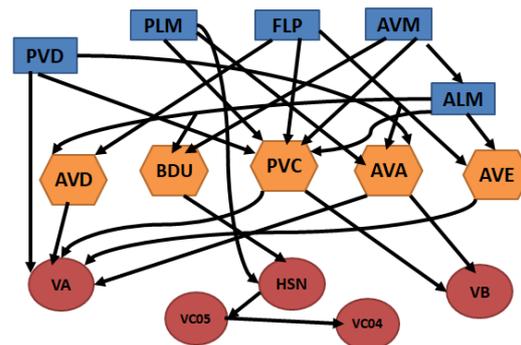
圖四(C)模組大小分布圖。M 為模組內神經元個數， $P(M)$  為總模組數量裡有 M 個神經元的機率。(D)模組神經元分配圖。N 為神經元被分配的模組數量， $P(N)$  為 281 個神經元有 N 個模組的機率。



圖五:線蟲觸覺神經元拓撲模組圖。紅色圓點為線蟲觸覺相關的神經元，有著逃避反應的生理行為，灰色圓點為線蟲生蛋相關神經元，黃色圓點為其他神經元。黑色虛線框為大模組(門檻值:0.92)裡的小模組(門檻值:0.86)。

#### 4. 結論

我們利用網路全域結構得證線蟲神經元網路是階級式網路，再使用統計軟體 R 中的 Linkccom 套件來計算網路模組結構，分類出 290 個模組中挑出與觸覺相關神經元的模組，發現觸覺的刺激確實會影響到生蛋。如圖六所示，AVM 與 ALM 透過 BDU 影響到 HSN，PLM 則是直接傳遞到 HSN。



圖六:線蟲觸覺神經元傳遞路徑示意圖。長方形表示感覺神經元，六角形表示中間神經元，圓形表示運動神經元。

## 銘謝

非常感謝黃俊燕老師在這個一年中的帶領，過程中放任式的訓練，在我們快要放棄時又提點我們，讓我們學習很多，回首這一年，真是不容易，但現在看起也是甘甜的。

## 參考文獻：

[1] Ravasz, E. and Barabasi, A. L. Hierarchical organization in complex networks, *Phys. Rev. E* 67, 026112, (2003).

[2] White, J. G., Southgate E, Thomson JN, Brenner S. The structure of the nervous system of the nematode *C. elegans*. *Phil Trans R Soc B* , 314:1–340, (1986).

[3] Gergely Palla, Imre Derényi, Illés Farkas, Tamás Vicsek, Uncovering the overlapping community structure of complex networks in nature and society, *Nature* 435, 814-818, (2005).

[4] Y.Y Ahn, J.P. Bagrow and S. Lehmann, Link communities reveal multiscale complexity in networks, *Nature* 466, 761-765, (2010).

[5] William R.Schafer, Mechanosensory molecules and circuits in *C.elegans*, Springer, 10.1007/s00424-014-1574-3, (2014).

[6] William R. Schafer, Egg-laying, *WormBook*, ed. Published December 14, (2005).