

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.039

· 技术与方法 ·

基于乒乓算法的复杂疾病标志物识别*

吕鹏举^{1,2} 沈继红^{1Δ} 郭爽² 蔡明霏² 陈宇格²

(1 哈尔滨工程大学自动化学院 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 哈尔滨医科大学大庆校区 黑龙江 大庆 163319)

摘要 目的:生物标志物是标识系统、器官、组织等改变或可能发生改变的生化指标,具有非常广泛的临床应用。本文希望从高通量数据出发,提出一种新的研究复杂疾病标志物的方法。**方法:**以“组学”数据为研究对象,利用乒乓算法构建 lncRNA-mRNA 交互网络,通过随机游走算法计算选出复杂疾病的生物标志物,并将其与 t 检验结果比较。**结果:**将本文方法运用于食管癌标志物的识别,得出与食管癌发生和发展过程相关的 14 个 lncRNA (CCAT1、MEG3、Snhg1、MALAT1、HOTAIR、UCA1、PVT1、CASC9、LOC100130476、TUG1、BC200、POU6F2-AS2、TP73-AS1 和 ZEB1-AS1) 和 12 个 mRNA (SPARC、CMTM7、SphK1、NANOG、LOXL2、HMGCS2、FZD7、PTOV1、CADM1、CTHRC1、MGMT 和 RECK)。对比显示,识别出 t 检验未识别出的 4 个 lncRNA (BC200、POU6F2-AS2、TP73-AS1 和 ZEB1-AS1) 和 3 个 mRNA (CADM1、SphK1 和 RECK)。**结论:**该方法能够更有效的预测复杂疾病相关的标志物。

关键词:乒乓算法;生物标志物;复杂疾病;lncRNA-mRNA 交互网络

中图分类号:R318.04;Q811.4;R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)09-1780-05

Identifying Biomarkers of Complex Diseases Based on Ping-Pong Algorithm*

LV Peng-ju^{1,2}, SHEN Ji-hong^{1Δ}, GUO Shuang², CAI Ming-fei², CHEN Yu-ge²

(1 Harbin Engineering University College of Automation, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Harbin Medical University Daqing Campus, Daqing, Heilongjiang, 163319, China)

ABSTRACT Objective: Biomarkers are the biochemical indexes that indicate the changes or possible changes of systems, organs and tissues, which have very extensive clinical application. Based on the high-throughput data, it is very important to study the biomarkers of complex diseases using the computer aided method. In this study, we proposed a novel approach to identify biomarkers of complex diseases. **Methods:** The biomarkers of complex diseases were identified referring to 'omics' data through constructing the lncRNA-mRNA interaction network based on Ping-Pong Algorithm. Then, a random walk algorithm was used to calculate the biomarkers of complex diseases and compare them with t-test results. **Results:** Using this method, lncRNAs (CCAT1, MEG3, Snhg1, MALAT1, HOTAIR, UCA1, PVT1, CASC9, LOC100130476, TUG1, BC200, POU6F2-AS2, TP73-AS1 and ZEB1-AS1) and mRNAs (SPARC, CMTM7, SphK1, NANOG, LOXL2, HMGCS2, FZD7, PTOV1, CADM1, CTHRC1, MGMT and RECK) were identified as biomarkers of esophageal cancer, which were related to the occurrence and development of esophageal cancer. Compared with the other identification method (t-test), four new lncRNAs (BC200, POU6F2-AS2, TP73-AS1 and ZEB1-AS1) and three new mRNAs (CADM1, SphK1 and RECK) were identified. **Conclusions:** This method was verified to be more effective to predict biomarkers related to the complex disease.

Key words: Ping-Pong Algorithm; Biomarker; Complex diseases; mRNA-lncRNA interaction network

Chinese Library Classification (CLC): R318.04; Q811.4; R735.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1780-05

前言

复杂疾病^[1]是由多种因素共同作用所产生的疾病,疾病的发生往往涉及到多个基因、蛋白质或相关分子之间相互作用的失调,从而产生各种疾病症状。复杂疾病的早期诊断非常困难,

复发率、死亡率也很高,因此,研究复杂疾病具有重要的现实意义。高通量技术^[2]的出现为在功能基因组水平上研究复杂疾病发生发展提供了强有力的工具,凭借基因表达谱等高通量数据,采用数据挖掘技术寻找复杂疾病的生物标记可以了解疾病机制并预测疾病风险,辅助疾病的诊断和治疗。

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(21371042)

作者简介:吕鹏举(1984-),博士研究生,讲师,主要研究方向:系统分析与建模,E-mail: 1900lpj@163.com

Δ 通讯作者:沈继红(1966-),博士生导师,教授,主要研究方向:系统分析与建模,E-mail: shenjihong@hrbeu.edu.cn

(收稿日期:2017-11-06 接受日期:2017-12-08)

传统对复杂疾病标志物的研究主要建立在差异表达基因的基础上,通过 t 检验等统计学方法,检验某个基因或蛋白是否在不同的样本或表型之间(如癌症和健康组织)存在显著差异表达,进而找出疾病或不同疾病阶段中上调或者下调的基因作为癌症的标志物^[3]。这个方法通常假设各个基因之间是相互独立的,研究结果显示,不同的实验室对于同一种疾病进行分析,得到的差异基因表达集合只有少数是相同的,在一次实验中得出的结果很难在另一次实验中得到重复。这种情况产生的原因可能是忽略了生物体内各种分子之间的相互作用,得到的结果既不完整也很难重复。因此寻找复杂疾病标志物一直是生物医学研究的难题^[4]。

本文提出了一种新的基于乒乓算法^[5]的复杂疾病标志物识别方法。本方法对基因表达数据进行双重聚类分析,利用乒乓算法构建 lncRNA-mRNA 交互网络,通过随机游走算法得到复杂疾病标志物,弥补了传统方法的缺陷。将该方法运用到食管癌标志物识别中,与传统方法相比,有效地识别出与该疾病有显著关系的 lncRNA 和 mRNA,对于今后研究疾病的发生发展机制有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 数据来源与处理

1.1.1 差异表达基因数据 利用 GEO 中的表达谱数据: GSE53624。数据中检测了 119 个食管癌患者的肿瘤组织和癌旁组织,其中,男性 98 人,女性 21 人;吸烟者 80 人,非吸烟者 39 人;饮酒者 74 人,非饮酒者 45 人;肿瘤分级为 poorly32 人, moderately 64 人, well23 人; T stage (T1:8 人, T2:20 人, T3:62 人, T4:29 人); N stage (N0:54 人, N1:42 人, N2:13 人, N3:10 人); Tnm stage(I:6 人, II:47 人, III:66 人)。

1.1.2 基因重注释与差异基因筛选 对食管癌表达谱数据(GSE53624)进行基因重注释,得到相应的表达谱数据。具体流程如下:首先,使用 BLAST 工具将平台的探针序列与 gencode 提供的 lncRNA、mRNA 标准序列进行比对,提取比对到 lncRNA 及 mRNA 的对应关系;去除对应多个 lncRNA 和 mRNA、同时对应 lncRNA 和 mRNA 及对应 lncRNA 或 mRNA 少于三个的对应关系;去除探针坐标,得到相应的表达谱数据。用倍数分析方法识别差异表达,通过设置倍数分析方法的阈值($FC > 2$ 或 $FC < -2$),即在表达谱数据中识别出差异(lncRNA:6252 个, mRNA:17434 个)。

1.2 方法

首先应用乒乓算法对通过基因重注释得到的 lncRNA 和 mRNA 进行双重聚类,构建 lncRNA-mRNA 交互网络,然后把感兴趣的差异基因作为种子节点注释到网络中,利用随机游走算法对其中节点分配权重,并通过网络扰动来评价候选 lncRNA 和 mRNA 的显著性,最终通过显著性阈值识别出疾病标志物。方法流程如图 1 所示。

1.2.1 应用乒乓算法构建 mRNA-lncRNA 交互网络 乒乓算法能够显著的预测出两组大规模数据集间的交互关系,具体方法是在数据集中随机分配种子节点,并以类似乒乓球运行轨迹的方式在两组数据集间进行双重聚类,两组数据间乒乓得分高者相关性强,算法流程如下。

$$\begin{aligned}
 n &= 0; g^{(0)} = \text{random}(N_G) \in [0,1]^{N_G} (\text{initial random seed}) \\
 c &= E_G^T \bullet \hat{g}^{(n)}; c_j^{(n+1)} = \begin{cases} c_j : \text{if } |c_j - \mu(c)| > t_c \sigma(c) \\ 0 : \text{otherwise } (j = 1, \dots, N_C) \end{cases} \\
 d &= R_C \bullet \hat{c}^{(n)}; d_k^{(n+1)} = \begin{cases} d_k : \text{if } |d_k - \mu(d)| > t_D \sigma(d) \\ 0 : \text{otherwise } (k = 1, \dots, N_D) \end{cases} \\
 \tilde{c} &= R_D^T \bullet \tilde{d}^{(n)}; \tilde{c}_l^{(n+1)} = \begin{cases} \tilde{c}_l : \text{if } |\tilde{c}_l - \mu(\tilde{c})| > t_c \sigma(\tilde{c}) \\ 0 : \text{otherwise } (l = 1, \dots, N_C) \end{cases} \\
 g &= E_C \bullet \tilde{c}^{(n)}; g_m^{(n+1)} = \begin{cases} g_m : \text{if } |g_m - \mu(g)| > t_G \sigma(g) \\ 0 : \text{otherwise } (m = 1, \dots, N_G) \end{cases} \quad n = n + 1 \\
 g^* &= g^{(n)}; \hat{c}^* = \hat{c}^{(n)}; \hat{d}^* = \hat{d}^{(n)}
 \end{aligned}$$

其中, t_c 为条件阈值; t_G 为基因阈值; t_D 为 lncRNA 阈值; σ (*) 为均值; $\bar{x}$ 为标准处理; E_G, E_C 为标准化后的基因表达谱及其条件矩阵; R_D, R_C 为标准化后的 lncRNA 表达谱及其条件矩阵。

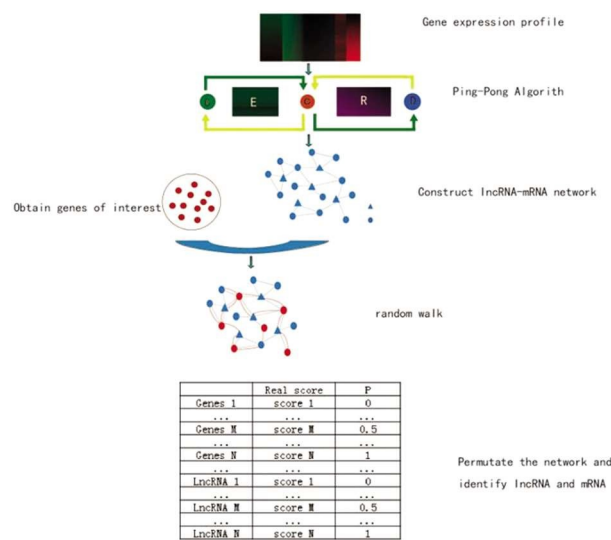


图 1 流程图

Fig. 1 Flow diagram of the methodology

本文把经过基因重注释得到的 lncRNA 和 mRNA 作为构建整合网络的基础,应用乒乓算法计算各基因对得分,构建出一个整合 lncRNA 和 mRNA 的交互网络(图 2)。

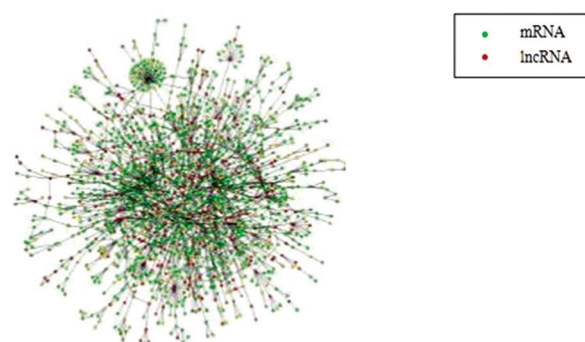


图 2 由乒乓算法构建的 mRNA-lncRNA 子网

Fig.2 Subgraph composed of the mRNA and lncRNA identified by Ping-Pong Algorithm

1.2.2 利用 RW 方法对网络进行优化 随机游走^[4]为进行网络优化的一种经典算法,即对网络中感兴趣的节点赋予权值作为种子节点,从种子节点开始沿网络结构向其他邻居节点分配权值,最终使得与种子节点联系紧密的节点倾向于有更高的权

重。随机游走算法公式可定义为

$$p_i+1=(1-r)Wp_i+rp_0 \tag{1}$$

其中,r表示某一节点在每一次游走中将其权值分配给邻居节点的概率,使用默认值 0.7,W表示网络的标准化邻接矩阵,p₀表示节点的初始权重向量,p_i表示网络 t 次游走后节点新权重。

在本文中网络图中度数排名前 1/3 的节点作为种子节点,把度数值标准化后作为种子节点的初始权值,网络中其他节点的权值设为 0。当|p_{i+1}-p_i|<10⁻¹⁰终止迭代,把 p[∞]作为最终的节点得分。节点得分越高,认为与疾病联系越紧密,则越倾向于作为疾病标志物。

1.2.3 扰动网络评估疾病标志物显著性 为了消除随机游走算法进行网络游走时产生的偏性,对数据做随机化扰动处理。

从 lncRNA-mRNA 交互网络中随机选取与种子节点个数相等的节点作为扰动种子节点,把种子节点标化值随机分配给扰动种子节点作为权重,进行随机游走,计算各节点的得分。对 lncRNA-mRNA 交互网络进行 1000 次扰动,统计每一个节点的随机得分中高于真实得分的次数 N,计算候选节点的显著性 P=N/1000,通过阈值 P<0.01 的节点。

2 结果

将本文提出的基于乒乓算法的复杂疾病标志物识别方法应用到食管癌表达谱数据(GEO:GSE53624)中,利用乒乓算法构网并应用随机游走对其进行优化,扰动网络获得 P 值。表 1 表示 P<0.01 的与食管癌相关的 12 个 mRNA 和 14 个 lncRNA (表 1)。

表 1 本文方法鉴别出的 mRNA 和 LncRNA
Table 1 The mRNA and LncRNA identified by our method

mRNA	P	lncRNA	P
SPARC	0	MEG3	0
CMTM7	0	Snhg1	0
SphK1	0	CCAT1	0
NANOG	0.001	MALAT1	0
LOXL2	0.001	HOTAIR	0
HMGCS2	0.001	UCA1	0.001
FZD7	0.001	PVT1	0.001
PTOV1	0.002	CASC9	0.001
CADM1	0.002	LOC100130476	0.001
CTHRC1	0.004	TUG1	0.002
MGMT	0.008	BC200	0.004
RECK	0.008	POU6F2-AS2	0.004
		TP73-AS1	0.007
		ZEB1-AS1	0.009

*P<0.01.

为了检验本文方法的有效性,我们与经典的标志物识别方法 t 检验相比较。结果显示,t 检验识别出了与食管癌相关的 15 个 mRNA 和 11 个 lncRNA。通过两种方法对比分析,发现本文的方法识别出一些新的 lncRNA 和 mRNA(表 2)。两种方法对

比结果如表 1 所示,表中共包含与食管癌相关的 18 个 mRNA 和 15 个 lncRNA,这些基因为本方法与 t 检验识别出的显著性基因的并集。

表 2 本文方法与 t 检验鉴别出的 mRNA 和 LncRNA 对比
Table 2 The comparison of the mRNA and LncRNA identified by our method and the t test

mRNA	Rank 1	Rank 2	lncRNA	Rank 1	Rank 2
SPARC	1	6	MEG3	1	1
CMTM7	2	10	Snhg1	2	11
SphK1	3	3	CCAT1	3	10
NANOG	4	7	MALAT1	4	8
LOXL2	5	1	HOTAIR	5	2
HMGCS2	6	2	UCA1	6	6
FZD7	7	13	PVT1	7	3
PTOV1	8	14	CASC9	8	9
CADM1	9		LOC100130476	9	5

CTHRC1	10	15	TUG1	10	7
MGMT	11	3	BC200	11	
RECK	12		POU6F2-AS2	12	
			TP73-AS1	13	
			ZEB1-AS1	14	

Note: Rank1: The significant order of the mRNA and lncRNA identified by our method. Rank2: The significant order of mRNA and lncRNA identified by the t test.

为了直观对比分析两种方法的结果,我们绘制条形图(图3)。图3a为mRNA比较图,图3b为lncRNA比较图。在该图中红色条形图表示本文方法识别出的lncRNA或mRNA,蓝色条形图表示t检验识别出的lncRNA或mRNA,条形图的长度 $L=-\lg(p)$,p代表两种方法计算得到的显著性概率值。本文在筛选lncRNA和mRNA时统一阈值为 $P<0.01$ (即 $L>2$)。同时在图3的纵轴上,用红色标示的mRNA或lncRNA名称代表只被本文方法识别出来,蓝色的表示只被t检验识别出来。从表2和图3中可以看出,新识别出来的mRNA有CADM1、SphK1和RECK,新识别出来的lncRNA有BC200、POU6F2-AS2、TP73-AS1和ZEB1-AS1。

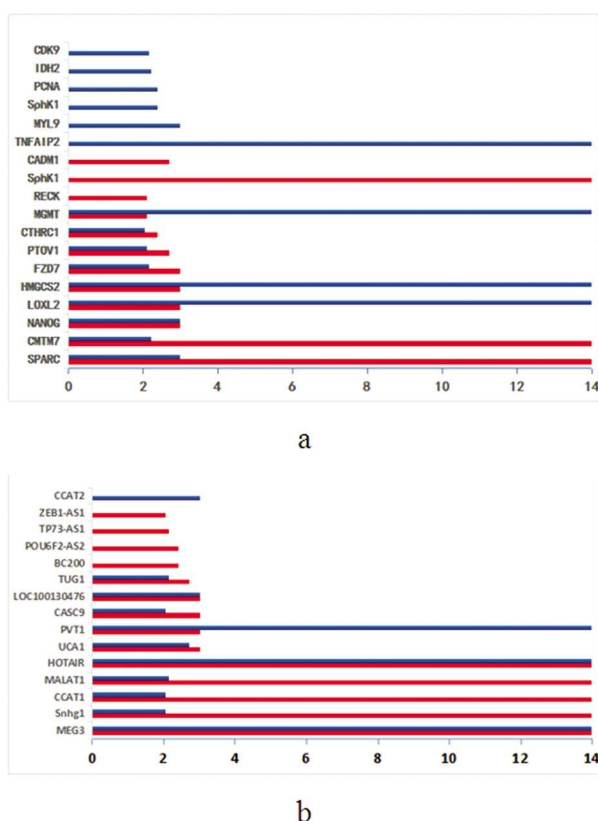


图3 本文方法与t检验鉴别结果对比

Fig. 3 The comparison of identified results from our method and the t test
Note: (a)The comparison of identified mRNA from our method and the t test. (b)The comparison of identified lncRNA from our method and the t test.

3 讨论

大量研究证实由乒乓算法计算得出的lncRNA和mRNA

与食管癌的发生机制有一定的联系。在mRNA中,SphK1排名第3位,SphK1高表达不仅能刺激细胞生长,而且本身具有癌基因的特性,可导致细胞恶性转化^[6];CADM1排名第9位,在人体大多数上皮组织内广泛存在,CADM1在食管鳞癌中低表达,且与淋巴结转移呈负相关,CADM1的失活与食管癌发生、发展相关^[7];RECK排名第12位,有研究表明RECK不仅可以作为食管癌发生发展的一个较可靠的重要标志物,而且也可以作为判断食管癌恶性程度、浸润能力及淋巴结转移能力的一个具有较大价值的参考指标^[8]。lncRNA中BC200排名第11位,在食管癌组织中,BC200表达要明显高于癌旁组织,BC200的高表达反应食管癌患者的不良预后,可以作为食管癌的一类新型预测标志物^[9];POU6F2-AS2排名第12位,POU6F2-AS2在食管鳞状细胞癌表达,并在放射治疗后,在DNA损失反应、调控细胞存活方面具体参与^[10];TP73-AS1排名第13位,与食管癌肿瘤大小、TNM分期密切相关,TP73-AS1可以作为治疗食管癌的潜在靶点^[11];ZEB1-AS1排名第14位,在食管癌组织上调且与肿瘤分级、浸润深度、淋巴结转移相关,可以被认为是食管癌患者的独立预后因素^[12]。

此外,本文方法同样也得到了传统方法所识别出来的疾病标识^[13-20],如mRNA有CMTM7、NANOG、FZD7、PTOV1和CTHRC1,lncRNA有CCAT1、MALAT1和CASC9。与t检验相比,这些mRNA排序位置从第10、7、13、14、15位上升到了第2、4、7、8、10位;lncRNA排序位置从第10、8、9位上升到了第3、4、8位。传统的复杂疾病标志物识别方法主要为单一地分析每个lncRNA或mRNA,侧重考虑某一方面的重要性,总有一些lncRNA和mRNA被这些方法忽略掉,而它们通常也被证明与疾病的产生机制有密切联系。利用乒乓算法构建lncRNA-mRNA交互网络后进行随机游走,把lncRNA和mRNA间的相互联系考虑到了优化过程中,弥补了传统算法的缺陷。本文提出的基于乒乓算法构网的观点在筛选疾病标识时具有较高的准确性和有效性,为识别和分析疾病标志物提供了一种新思路。

参考文献(References)

- [1] JJ Hornberg, FJ Bruggeman, HV Westerhoff, et al. Cancer:a Systems Biology disease[J]. Biosystems, 2006, 83(2-3): 81-90
- [2] D Wlodkowic, JM Cooper. Tumors on chips: oncology meets microfluidics[J]. Curr Opin Chem Biol, 2010, 14(5): 556-567
- [3] Fox R, Dimmic M. A two-sample Bayesian T-test for m:126.icroarray data[J]. BMC Bioinformatics, 2006, 7: 126
- [4] 邓莉莉,许艳军,张春龙,等.基于全局角度网络策略的负责疾病风险通路识别[J].生物化学与生物物理进展, 2015, 42(3): 286-296
Deng Li-li, Xu Yan-jun, Zhang Chun-long, et al. A Network-based

- Strategy From The Global Perspective for Identification of Risk Pathways in Complex Diseases [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2015, 42(3): 286-296
- [5] Zoltan Kutalik, Jacques S Beckmann, Sven Bergmann. A modular approach for integrative analysis of large scale gene-expression and drug-response data[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 5(26): 531-539
- [6] Yuta Kawakita, Satoru Motoyama. Sphingosine-1-phosphate/sphingosine kinase 1-dependent lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Surgery today*, 2017[Epub ahead of print]
- [7] Qian JB, Liu HB, Zhu Y. CADM1 mRNA expression and clinicopathological significance in esophageal squamous cell carcinoma tissue[J]. *Genet Mol Res*, 2017, 16(2)[Epub ahead of print]
- [8] Zhu J, Ling Y, Xu Y, et al. Promoter hypermethylation of the RECK gene is associated with its low expression and poor survival of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(3): 1911-1918
- [9] Zhao RH, Zhu CH. BC200 lncRNA a potential predictive marker of poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma patients [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 2221-2226
- [10] Liu J, Sun X, Zhu H. Long noncoding RNA POU6F2-AS2 is associated with oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Biochem*, 2016, 160(4): 195-204
- [11] Zang W, Wang T, Wang Y. Knockdown of long noncoding RNA TP73-AS1 inhibits cell proliferation and induces apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 19960-19974
- [12] Wang YL, Bai Y, Yao WJ. Expression of long non-coding RNA ZEB1-AS1 in esophageal squamous cell carcinoma and its correlation with tumor progression and patient survival[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 11871-11876
- [13] Han T, Shu T, Dong S, et al. Chemokine-like factor-like MARVEL transmembrane domain-containing 3 expression is associated with a favorable prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(5): 2982-2988
- [14] Deng L, Xiang X, Yang F. Functional evidence that the self-renewal gene NANOG regulates esophageal squamous cancer development[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2): 161-168
- [15] Liu X, Yan Y, Ma W, et al. Knockdown of frizzled-7 inhibits cell growth and metastasis and promotes chemosensitivity of esophageal squamous cell carcinoma cells by inhibiting Wnt signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(3): 1112-1118
- [16] Li R, Leng AM, Liu XM. Overexpressed PTOV1 associates with tumorigenesis and progression of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6): 194-201
- [17] Wang C, Li Z, Shao F. High expression of Collagen Triple Helix Repeat Containing 1 (CTHRC1) facilitates progression of oesophageal squamous cell carcinoma through MAPK/MEK/ERK/FRA-1 activation[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 84
- [18] Zhang E, Han L, Yin D. H3K27 acetylation activated-long non-coding RNA CCAT1 affects cell proliferation and migration by regulating SPRY4 and HOXB13 expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(6): 3086-3101
- [19] Li Z, Zhou Y, Tu B, et al. Long noncoding RNA MALAT1 affects the efficacy of radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma by regulating Cks1 expression[J]. *J Oral Pathol Med*, 2016[Epub ahead of print]
- [20] Pan Z, Mao W, Bao Y, et al. The long noncoding RNA CASC9 regulates migration and invasion in esophageal cancer [J]. *Cancer Med*, 2016, 5(9): 2442-2447

(上接第 1800 页)

- [19] Hauber JA, Davis PJ, Bendel LP, et al. Dexmedetomidine as a Rapid Bolus for Treatment and Prophylactic Prevention of Emergence Agitation in Anesthetized Children [J]. *Anesthesia and analgesia*, 2015, 121(5): 1308-1315
- [20] Jiang L, Ding S, Yan H, et al. A Retrospective Comparison of Dexmedetomidine Versus Midazolam for Pediatric Patients with Congenital Heart Disease Requiring Postoperative Sedation [J]. *Pediatric cardiology*, 2015, 36(5): 993-999
- [21] Hadi SM, Saleh AJ, Tang YZ, et al. The effect of KETODEX on the incidence and severity of emergence agitation in children undergoing adenotonsillectomy using sevoflurane based-anesthesia [J]. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 2015, 79(5): 671-676
- [22] Sinha A, Sood J. Caudal block and emergence delirium in pediatric patients: Is it analgesia or sedation? [J]. *Saudi Journal of Anaesthesia*, 2012, 6(4): 403
- [23] Bortone L, Bertolizio G, Engelhardt T, et al. The effect of fentanyl and clonidine on early postoperative negative behavior in children: a double-blind placebo controlled trial [J]. *Pediatric Anesthesia*, 2014, 24(6): 614-619
- [24] Wang H, Liu G, Fu W, et al. The effect of infraorbital nerve block on emergence agitation in children undergoing cleft lip surgery under general anesthesia with sevoflurane[J]. *Pediatric Anesthesia*, 2015, 25(9): 906-910
- [25] Acar HV, Yilmaz A, Demir G, et al. Capsicum plasters on acupoints decrease the incidence of emergence agitation in pediatric patients [J]. *Paediatric anaesthesia*, 2012, 22(11): 1105-1109
- [26] Kim H, Jung SM, Yu H, et al. Video Distraction and Parental Presence for the Management of Preoperative Anxiety and Postoperative Behavioral Disturbance in Children[J]. *Anesthesia & Analgesia*, 2015, 121(3): 778-784
- [27] Seiden SC, McMullan S, Sequera-Ramos L, et al. Tablet-based Interactive Distraction (TBID) vs oral midazolam to minimize perioperative anxiety in pediatric patients: a noninferiority randomized trial [J]. *Pediatric Anesthesia*, 2014, 24(12): 1217-1223
- [28] Hijikata T, Mihara T, Nakamura N, et al. Electrical stimulation of the heart 7 acupuncture site for preventing emergence agitation in children[J]. *European Journal of Anaesthesiology*, 2016, 33(7): 535-542
- [29] Abdulatif M, Ahmed A, Mukhtar A, et al. The effect of magnesium sulphate infusion on the incidence and severity of emergence agitation in children undergoing adenotonsillectomy using sevoflurane anaesthesia [J]. *Anaesthesia*, 2013, 68(10): 1045-1052