

疼痛相关基因在烧伤中的潜在作用研究

唐雪娴, 梁 冰, 曹 阳*

暨南大学附属广州市红十字会医院麻醉科, 广东 广州

收稿日期: 2025年4月18日; 录用日期: 2025年5月20日; 发布日期: 2025年5月30日

摘 要

烧伤疼痛是影响烧伤患者康复及生活质量的关键因素, 其机制复杂, 涉及多种炎症与免疫信号通路。本研究整合生物信息学和实验验证, 旨在筛选鉴定与烧伤疼痛密切相关的基因, 探索其作为潜在治疗靶点的临床价值。通过GEO数据库获取烧伤患者与健康对照的表达谱数据(GSE19743作训练集, GSE37069作验证集), 结合GeneCaRNA数据库筛选疼痛相关基因。运用差异分析、GO与KEGG富集分析、构建可视化PPI网络, 以及LASSO回归、SVM和RF三种机器学习方法识别关键基因, 构建诊断模型, 利用ROC曲线与DCA评估诊断效能。最终经RT-qPCR对外周血样本中候选基因表达水平进行实验验证。本研究筛选出117个烧伤疼痛相关差异表达基因, 富集于PI3K-Akt、MAPK等炎症信号通路, IFNG、IL10和TLR4被三种机器学习方法共同识别为关键特征基因。基于此三基因构建的诊断模型在GSE37069验证集中表现优异, AUC达0.959。RT-qPCR验证表明, 烧伤患者中IL10显著上调, IFNG表达下降, TLR4表达无显著差异, 部分结果与生物信息学分析一致。IFNG、IL10和TLR4或通过调控免疫与炎症反应参与烧伤疼痛的发生维持, 有望成为诊断生物标志物及治疗靶点, 未来研究需进一步探讨其信号通路机制及临床干预价值。

关键词

烧伤疼痛, 差异表达基因, IFNG, IL10, TLR4, 生物信息学, RT-qPCR

A Study on the Potential Roles of Pain-Related Genes in Burns

Xuexian Tang, Bing Liang, Yang Cao*

Department of Anesthesia, Guangzhou Red Cross Hospital Affiliated to Jinan University, Guangzhou Guangdong

Received: Apr. 18th, 2025; accepted: May 20th, 2025; published: May 30th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 唐雪娴, 梁冰, 曹阳. 疼痛相关基因在烧伤中的潜在作用研究[J]. 生物医学, 2025, 15(3): 527-538.
DOI: 10.12677/hjbm.2025.153061

Abstract

Burn pain is a critical factor affecting the recovery and quality of life of burn patients. Its underlying mechanisms are complex, involving multiple inflammatory and immune signaling pathways. This study integrates bioinformatics and experimental validation to identify key genes closely associated with burn pain and to explore their potential clinical value as therapeutic targets. Gene expression profiles (GSE19743 as the training set and GSE37069 as the validation set) were retrieved from the GEO database, and pain-related genes were screened via the GeneCaRNA database. Subsequent analyses included differential analysis, GO and KEGG enrichment analyses, and PPI network construction and visualization. Three machine learning algorithms—LASSO regression, SVM, and RF—were employed to identify key genes, following which a diagnostic model was established and evaluated using ROC curves and DCA. RT-qPCR validated candidate gene expression in peripheral blood samples. A total of 117 differentially expressed burn pain-related genes were identified, primarily enriched in inflammatory signaling pathways such as PI3K-Akt and MAPK. IFNG, IL10, and TLR4 were consistently identified as key feature genes across all three machine-learning methods. The diagnostic model based on these genes demonstrated excellent performance in the GSE37069 validation set, achieving an AUC of 0.959. RT-qPCR validation indicated that IL10 was significantly up-regulated in burn patients, IFNG expression was decreased, while TLR4 expression showed no significant difference, partially in line with bioinformatics predictions. These findings suggest that IFNG, IL10, and TLR4 may be involved in burn pain occurrence and maintenance by modulating immune and inflammatory responses, thus showing promise as diagnostic biomarkers and therapeutic targets. Further research into their signaling pathway mechanisms and clinical intervention value is warranted.

Keywords

Burn Pain, Differentially Expressed Genes, IFNG, IL10, TLR4, Bioinformatics, RT-qPCR

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 介绍

烧伤疼痛是烧伤患者最常见的症状之一，对患者的康复和生活质量有深远影响[1]。烧伤疼痛的复杂性和多样性使其管理成为临床实践中的重大挑战。根据疼痛的发生时间、原因及程度，烧伤疼痛可分为急性疼痛和慢性疼痛[2]。急性疼痛常出现在烧伤早期，表现为灼热、刺痛或胀痛，并伴随红肿、水疱和疼痛性感觉过敏等症状[3]。慢性疼痛则在烧伤后持续较长时间，可能是由于伤口不愈合、神经病理学改变、瘢痕形成或神经纤维再生异常导致，表现为持续性疼痛、针刺样疼痛、烧灼感或神经痛样症状[3]。

目前烧伤疼痛的管理主要依赖药物干预和非药物干预[4]。药物治疗涵盖阿片类药物、非甾体抗炎药等，阿片类药物如吗啡是常用的强效镇痛药，但存在耐受性和副作用问题[5][6]。非药物治疗包括心理干预、物理疗法等，例如放松训练、音乐疗法可在一定程度上缓解患者疼痛与焦虑[7][8]。不过，烧伤疼痛管理仍面临诸多困境，如阿片类药物受耐受性和副作用限制，不同患者对疼痛的敏感性和药物反应差异显著，使得个体化镇痛方案制定困难。

近年来，基因组学技术进步推动了疼痛相关基因的系统性鉴定。例如，COMT 基因的单核苷酸多态

性与个体疼痛敏感性显著相关,其 Val158Met 功能位点的酶活性改变可调控疼痛感知阈值[9]。OPRM1 基因作为 μ 阿片受体的主要编码序列,其 A118G 位点多态性与阿片类药物的镇痛效应及耐受性呈剂量-效应关系。这些基因通过编码特定蛋白质或酶类,参与疼痛传导、调制及感知的分子网络[10]。

本研究整合生信分析与实验验证,聚焦烧伤疼痛相关基因的筛选与验证。通过差异表达分析、共表达网络构建及功能富集分析,多维度挖掘关键基因,并运用 qt-PCR 验证其功能。本研究具理论和临床意义,可深化烧伤疼痛分子机制认知,为疼痛研究拓展新视野。

2. 方法

2.1. 数据收集

本研究使用的训练组数据集(GSE19743)和验证组数据集(GSE37069)均来自 GEO 数据库(The Gene Expression Omnibus database, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。其中, GSE19743 数据集包含 114 份烧伤样本和 63 份健康对照样本,基于 GPL570 平台,用于初步鉴定疼痛相关差异表达基因; GSE37069 数据集包含 553 份烧伤样本和 37 份健康对照样本,用于验证 NRDEGs 的表达水平。研究中采用“sva”软件包消除批量效应,确保结果可靠性。此外,从 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/genecardna>)检索并下载了相关性评分 > 5 分的疼痛相关基因,最终纳入 787 个基因进行后续分析。

2.2. 识别烧伤中的疼痛相关差异表达基因

在训练集数据中,首先应用 Wilcoxon 检验分析烧伤组与正常组样本中疼痛相关基因的表达差异,随后使用 limma 包提取表达矩阵并鉴定差异表达基因(DEGs)。将 GeneCards 数据库下载的疼痛相关基因与 DEGs 取交集,筛选出烧伤相关差异表达基因(DEPRGs),设定筛选标准为 $\text{adj.P.value} < 0.05$,并通过火山图和热图展示 DEPRGs 的表达差异。

2.3. GO 和 KEGG 富集分析

为了进一步研究 DEPRGs 的生物学作用。我们使用“cluster Profiler”R 包对上述差异基因进行了基因本体(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并以 FDR 值 < 0.05 作为通路富集筛选标准,将所富集的功能通路以“ggplot2”R 包进行通路的可视化。

2.4. 蛋白互作网络构建

我们将上述所得的 DEPRGs 导入 STRING 数据库(<https://www.string-db.org/>),选择物种为人类(Homo sapiens),将最低交互可信度阈值设定为 0.4,并去除离群节点,构建蛋白质互作(PPI)网络并下载基因相互作用数据文件。随后,基于下载的 DEPRGs 相互作用文件,使用 Cytoscape 软件进行网络可视化,为后续关键基因筛选提供支持。此外,本研究结合 Cytoscape 软件中的 cytoHubba 插件,进行蛋白质模块分析,以识别关键功能模块。

2.5. 机器学习筛选关键基因

本研究为筛选烧伤疼痛评估中的关键基因,采用 LASSO、SVM 和 RF 三种机器学习方法对 cytoHuaab 筛选出的评分前十基因进行综合分析。最小绝对收缩与选择算子(LASSO)是一种基于 L1 正则化,通过引入惩罚系数减少过拟合,提升预测精度。支持向量机(SVM) [11]是一种监督学习算法,通过在高维空间中构建最优分类超平面,结合核函数处理非线性分类问题,适用于小样本数据。随机森林(RF) [12]是一种基于集成学习的预测模型,通过集成多棵决策树并采用投票或平均机制,具备出色的稳定性与对复杂数据结构的适应性,能有效处理高维数据,评估特征重要性,且在生物信息学和医学诊断领域广泛应用。所

有分析在 R 语言环境中完成, 分别使用 “glmnet”、“kernlab” 和 “randomForest” 包实现。最终, 取三种方法共同识别的基因为关键基因, 并从 GSE37069 数据集中提取其表达矩阵, 利用 “ggpubr” 包进行烧伤与正常样本间差异分析, 通过 “ggplot2” 包可视化。差异分析中, p 值 < 0.05 判定为具有统计学意义。

2.6. 使用 DCA 进行基因表达评分和模型评价

基因表达数据经 rms R 包分析, 该包适用于医学回归建模与生存分析。所得基因列表以条形图可视化呈现。各基因表达量评分后计算总分以预测疾病风险。决策曲线分析(DCA)用于评估模型准确性, 通过权衡不同阈值下的真阳性与假阳性, 量化模型在各风险水平的临床效益, 为临床应用提供决策依据。

2.7. 特征基因的 ROC

我们从 3 个特征基因的组合中构建了一个诊断模型, 并在 GSE37069 数据集中进行了验证。使用 pROCR 软件包构建了 ROC 曲线, 以测试特征基因的诊断效能。

2.8. 实时(RT)-qPCR

为测相对基因表达, 取健康志愿者($n = 6$)正常外周血样本, 烧伤患者($n = 7$)外周血样本。用 TRIzolR 试剂(Invitrogen, USA)从外周血样本提取 RNA, 依说明书用 AMV 逆转录酶(Invitrogen, USA)将 RNA 逆转录为 cDNA。在 ABI ViiA 7 荧光定量 PCR 系统(Applied Biosystems, USA)上以 $2 \times$ Master MIX (QIAGEN, Germany)结合 ROX 参考染料行 RT-qPCR, 测 IFNG、IL10 和 TLR4 mRNA 水平。所有实时 PCR 用剂、缓冲液和耗材均无 RNase, 以除 RNA 污染。各目标基因 mRNA 水平相对 GAPDH 表达标准化。各目标基因序列参考基因库数据库, 引物用 ABI 的 Primer Express 软件 v2.0 设计, GAPDH 引物序列见表 1。

Table 1. Primer list for QRT-PCR
表 1. 荧光定量 PCR 引物序列

Primer 名称	序列(5' to 3')
13-1.hBCL-2-F	TGAGTACCTGAACCGGCACC
13-1.hBCL-2-R	AATCAAACAGAGGCCGCATG
13-2.CCAR1-F	TCACCTCGGAGAGTTCGACG
13-2.CCAR1-R	AACGGCGCCTTAGTTCCATC
13-3.CERK-F	GTTTCTGGCCATCAATGCCA
13-3.CERK-R	TCCGGATGAGGATGAGGTCA
13-4.SNHG1-F	GCCTTTAGGTCTCCATTTGC
13-4.SNHG1-R	CACAAATTGACAGCCAGTCC
13-5.TRIAP1-F	CCTCTTCAAGCGCTACCAGC
13-5.TRIAP1-R	CAGGCTTTTCTTTGCCATGG
13-6.S100A8-F	ATGTTGACCGAGCTGGAGAA
13-6.S100A8-R	CAGGTCATCCCTGTAGACGG
13-7.IL-10-R	TCAGACAAGGCTTGGCAACC
13-8.IFN- γ -F	GAATGTCCAACGCAAAGCAA
13-8.IFN- γ -R	CGACCTCGAAACAGCATCTG
13-9.TLR4-F	CGAATGGAATGTGCAACACC
13-9.TLR4-R	GAGGACCGACACACCAATGA
hGAPDH-F (66bp)	agccacatcgctcagacac
hGAPDH-R (66bp)	Gcccaatacgaccaaatcc

3. 结果

3.1. 烧伤疼痛相关差异基因的初步筛选和鉴定

在 GSE19743 中, 通过差异分析确定了烧伤和对照之间总共 5225 个 DEGs, 图 1(B)通过热图的可视化示出了 DEGs 的表达。疼痛相关基因与 GSE19743 中的 DEGs 交集, 进一步分析了 117 个重叠的烧伤疼痛相关的差异表达基因(图 1(A))。DEPRGs 表达通过热图和火山图可视化, 如图 1(C)、图 1(D)所示。

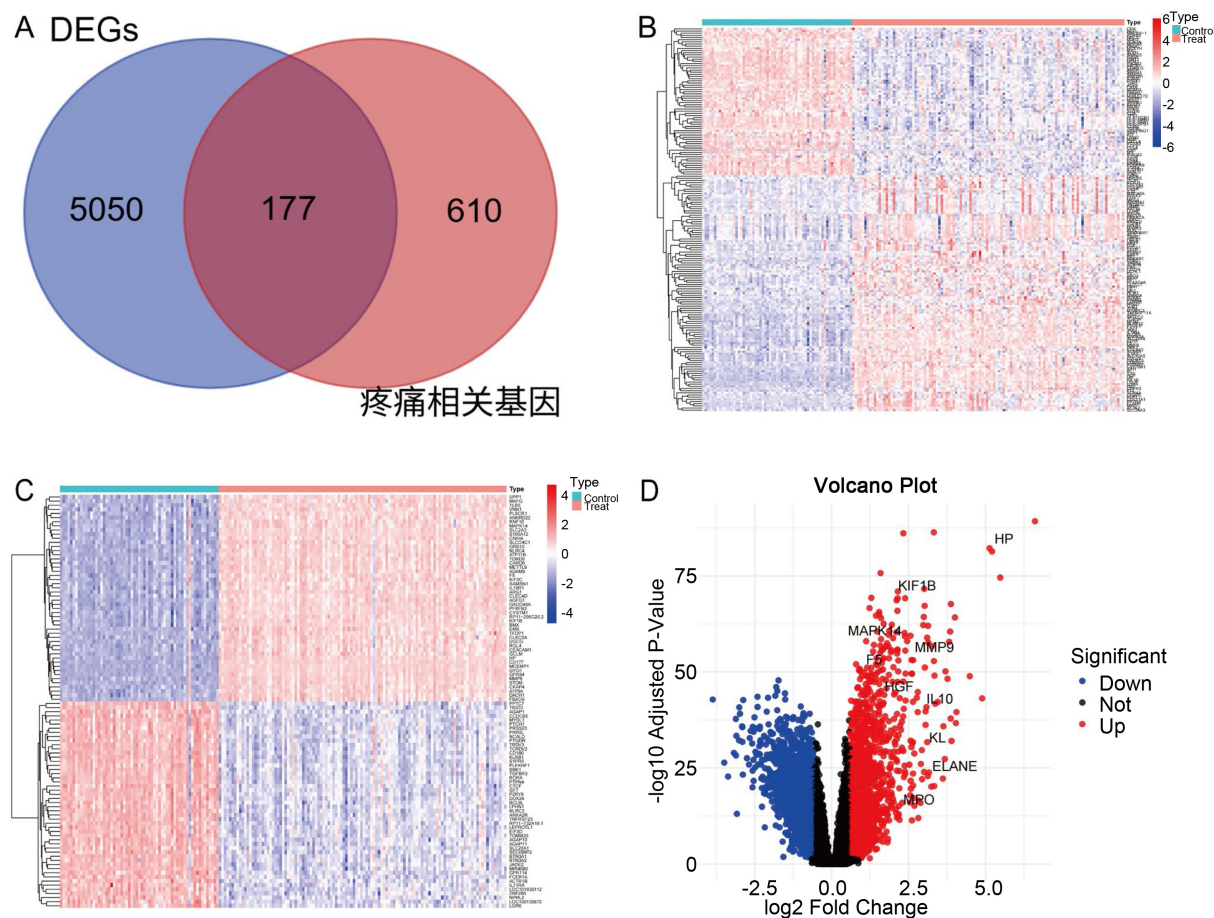


Figure 1. (A) The intersection of differentially expressed genes (DEGs) from the GSE19743 dataset and pain-related genes from the GeneCards database; (B) Heatmap of DEGs from the differential analysis of the GSE19743 dataset; (C) Heatmap of differentially expressed burn pain-related genes; (D) Volcano plot of differentially expressed pain-related genes

图 1. (A) GSE19743 数据集中差异表达基因 (DEGs)与 GeneCards 数据库中疼痛相关基因的交集; (B) 来自 GSE19743 数据集差异分析的 DEGs 热图; (C) 来自差异表达的烧伤疼痛相关基因的热图; (D) 差异表达的疼痛相关基因的火山图

3.2. PPI 网络和功能途径分析

NRDEGs 的 PPI 网络基于 STRING 数据库构建(图 2(A))。通过 CytoHubba 算法筛选, 确定了前 10 个中枢基因, 包括 IFNG、IL10、TP53、CD4、CXCL8、CD8A、TLR4、NFKB1、MAPK3 和 JAK2 (图 2(B))。为探究 DEPRGs 的生物学功能及信号通路, 进行了 GO 和 KEGG 富集分析, 共鉴定出 2264 个生物过程和 137 条 KEGG 通路。GO 分析显示, 相关基因主要富集于炎症反应调控、脂多糖应答等生物过程, 质膜外侧区域及含胶原蛋白的细胞外基质等细胞组分, 以及细胞因子受体结合等分子功能(图 3(A))。KEGG 分析揭示, 相关基因显著富集于 PI3K-Akt 信号通路和 MAPK 信号级联反应等通路(图 3(B))。

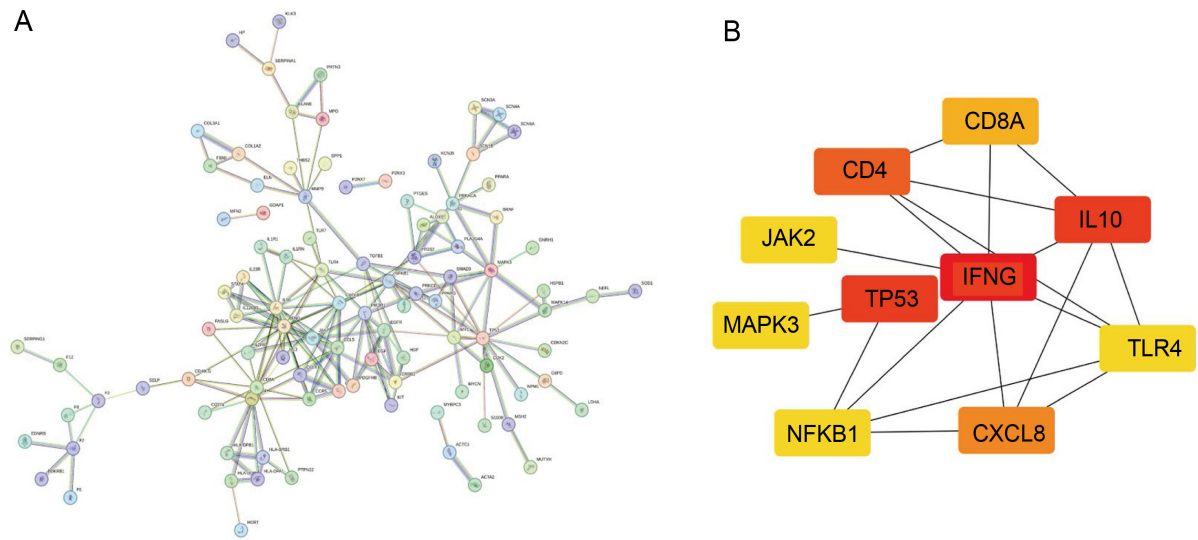


Figure 2. (A) Protein-Protein Interaction (PPI) network of differentially expressed pain-related genes; (B) The top 10 hub genes identified by CytoHubba

图 2. (A) 差异表达的疼痛相关基因的蛋白质互作(PPI)网络; (B) CytoHubba 探索的前 10 个枢纽基因

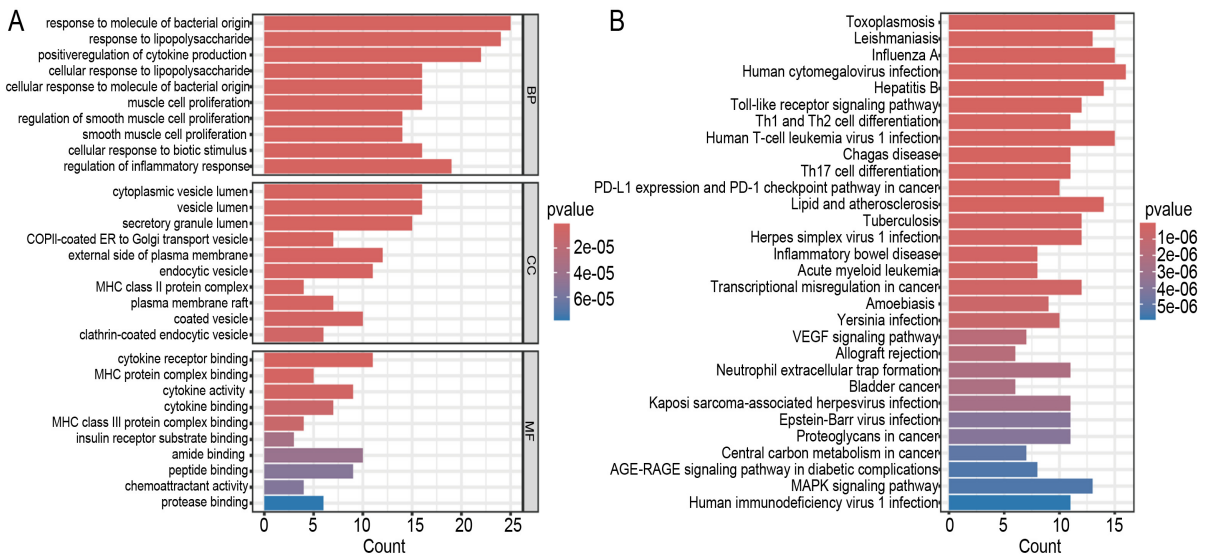


Figure 3. (A) GO (Gene Ontology) enrichment analysis of differentially expressed pain-related genes; (B) KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) enrichment analysis of differentially expressed pain-related genes

图 3. (A) 差异表达的疼痛相关基因的 GO 富集分析; (B) 差异表达的疼痛相关基因的 KEGG 富集分析

3.3. 机器学习识别关键基因

本研究采用 LASSO 回归、支持向量机(SVM)和随机森林(RF)算法筛选潜在的诊断关键基因(图 4(A)~(C)), 筛选结果见表 2。三种方法共同筛选出 IFNG、IL10 和 TLR4 三个基因(图 4(D))。从 GSE19743 数据集中提取上述基因的表达矩阵, 比较烧伤组与正常组, 结果显示 IL10 显著下调, IFNG 和 TLR4 显著上调($p < 0.05$)。箱线图(图 4(E)~(G))直观展示了这些基因在烧伤组和正常对照组之间的表达差异。

3.4. 烧伤患者 3 个特征基因的表达模式

本研究基于 IFNG、IL10 和 TLR4 三特征基因构建诊断模型, 并在 GSE37069 数据集上验证其效能

Table 2. Three machine learning methods filter results
表 2. 三种机器学习方法筛选结果

方法	筛选结果
LASSO	IFNG, IL10, CD4, CXCL8, TLR4, NFKB1, JAK2
SVW	IFNG, IL10, TLR4
RF	IFNG, IL10, CD4, CXCL8, CD8A, TLR4, JAK2

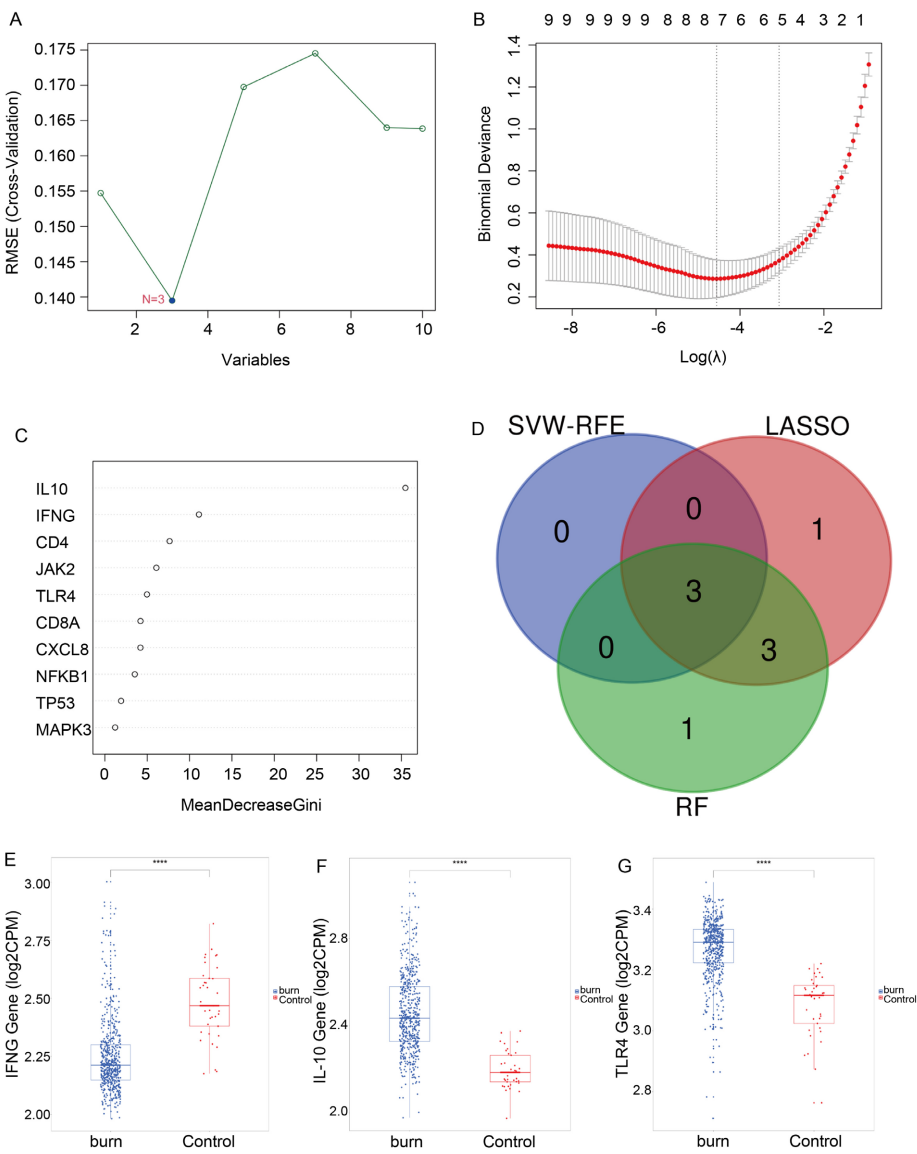


Figure 4. (A) Three potential key genes were selected by the SVM-RFE algorithm; (B) The cross-validation curve of LASSO regression shows that the model fits best when $\lambda = 7$; (C) The Random Forest algorithm was used to evaluate the importance of genes, with genes having an importance score (MeanDecreaseGini) greater than 5 considered as key genes; (D) Venn diagram of the three algorithms; (E)~(G) show that the genes IFNG, TLR4, and IL10 have significant expression differences between the burn group and the control group (****p < 0.0001)
图 4. (A) SVM-RFE 算法筛选出 3 个潜在关键基因; (B) LASSO 回归的交叉验证曲线显示, $\lambda = 7$ 时模型拟合效果最佳; (C) 随机森林算法评估基因的重要性, 重要性评分 (MeanDecreaseGini) 大于 5 的基因被认为是关键基因; (D) 三种算法的 Venn 图; (E)~(G) 分别显示基因 IFNG、TLR4、IL10 在烧伤组与对照组间存在显著表达差异(****p < 0.0001)

(图 5(A))。风险评分与特征基因表达水平呈负相关,表达下降伴随风险评分升高,提示烧伤疼痛预测风险增加。诺莫图模型经校准曲线与 DCA 评估,显示在多数阈值概率下净获益高于基准策略(图 5(B)、图 5(C))。ROC 曲线比较结果显示,综合模型 AUC 为 0.959, IFNG、IL10、TLR4 分别为 0.859、0.924 和 0.914,预测效能优异(图 5(D)~(F))。GSE37069 数据集中,IL10、IFNG 和 TLR4 在烧伤患者与正常样本间表达差异显著,具有统计学意义(图 6)。

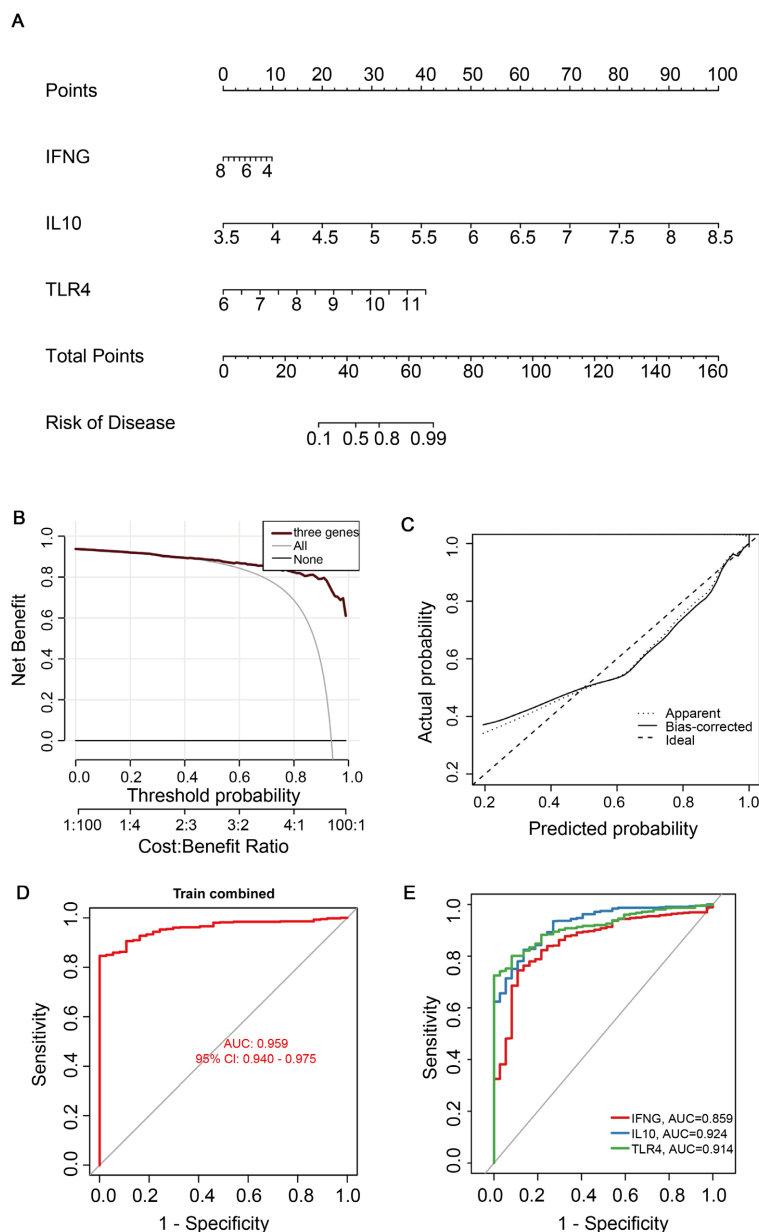


Figure 5. (A) Nomogram constructed based on three feature genes for predicting burn risk; (B) DCA was performed to assess the predictive efficiency and clinical net benefit of the nomogram model based on three feature genes; (C) Calibration curve was constructed to evaluate the prediction accuracy of the nomogram; (D) ROC curves for the three feature genes and the combined model; (E) ROC curves for each individual feature gene

图 5. (A) 基于 3 个特征基因构建的用于预测烧伤风险的诺模图; (B) 构建 DCA 以评估基于 3 个特征基因的诺模图模型的预测效率和临床净收益; (C) 用于评估列线图预测准确性的校准曲线构建; (D) 3 个特征基因和组合模型的 ROC 曲线; (E) 每个特征基因 ROC 曲线

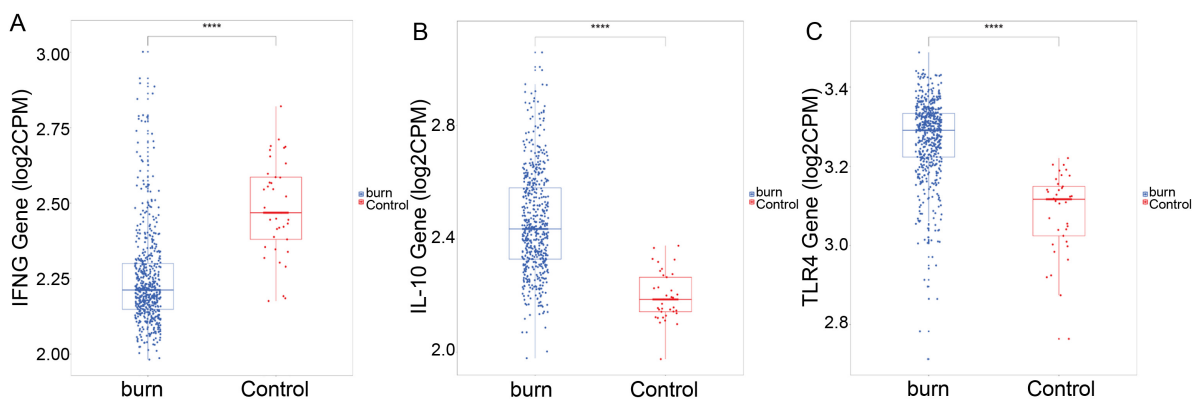


Figure 6. Differences in the expression levels of IL10, IFNG, and TLR4 in the external validation expression profiles (**** $p < 0.0001$)

图 6. IL10、IFNG 和 TLR4 表达水平的外部验证表达谱的差异(**** $p < 0.0001$)

3.5. IFNG、IL10 和 TLR4 表达的验证

RT-qPCR 分析显示，与正常组织相比，烧伤组织中 IFNG 显著下调、IL10 显著上调，TLR4 无显著变化(图 7)，除 TLR4 外，结果与公共数据集生物信息学分析基本一致。

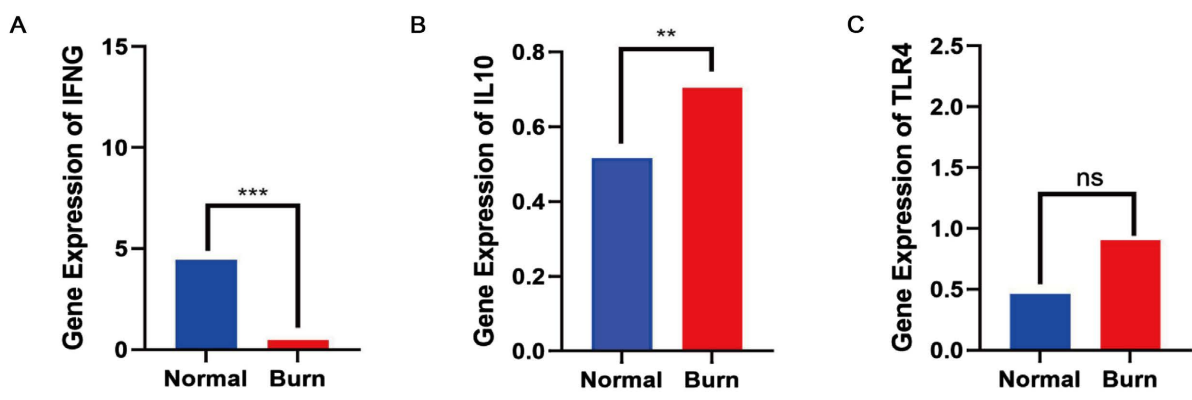


Figure 7. Expression levels of IL10, IFNG, and TLR4 in the burn group compared to the control group (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

图 7. IL10、IFNG 和 TLR4 在烧伤组与对照组中的表达情况(** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

4. 讨论

烧伤后严重急性疼痛显著降低患者生活质量，且可能触发持续性炎症反应，最终发展为慢性疼痛。研究显示炎症与免疫因子在烧伤疼痛的发生及持续中起关键作用，但其分子机制尚未完全明确，尤其在基因层面，识别疼痛严重程度的分子标志物仍面临方法学和验证挑战。本研究经生物信息学分析，鉴定出烧伤相关特征基因 IFNG、IL10 和 TLR4，发现其表达变化与烧伤疼痛激活密切相关。生物信息学结果显示烧伤组 IFNG、IL10 和 TLR4 表达与对照组差异显著，RT-qPCR 实验验证除 TLR4 表达不显著外，IFNG、IL10 表达具统计学意义。这些生物标志物可能通过调控炎症与免疫反应在烧伤疼痛中发挥关键作用，作为潜在治疗靶点，IFNG、IL10 和 TLR4 在烧伤疼痛管理中具有重要临床价值。

干扰素 γ (Interferon-gamma, IFNG) 是一种关键促炎性细胞因子，通过激活 JAK-STAT1 信号通路调控众多炎症相关基因的表达[13] [14]。在炎症反应和疼痛调控中，IFNG 被认为是一种典型的致敏因子，能

够通过激活中枢神经系统的胶质细胞,促进炎症因子的二次释放,并增强脊髓背角神经元的兴奋性,从而诱导中枢致敏[15]。动物实验表明,鞘内注射 IFNG 可直接引发痛觉过敏,表现为机械刺激阈值降低和持续性痛觉行为[16]。在本研究中,我们发现 IFNG 在烧伤组的表达显著下调,这一结果与炎症性肠病 (IBD)研究中 IFNG-AS1 在活动性炎症 IBD 患者肠道黏膜中升高的现象形成鲜明对比,表明 IFNG 在不同炎症微环境中的表达可能受到精细调控[17]。此外,IFNG 通过 JAK-STAT1 信号通路促进 Th1 细胞极化,增强抗原递呈细胞功能,并上调炎症因子的表达,从而放大炎症反应[18] [19]。IFNG 的这种促炎作用可能通过增强神经胶质细胞的激活和神经元的炎性兴奋性,加剧疼痛的发生和维持过程。在烧伤条件下,IFNG 表达的减少可能削弱其在炎症调控中的放大作用,导致炎症反应的失控,从而加剧疼痛敏感。因此,IFNG 在烧伤疼痛的免疫调控网络中具有核心作用,其表达变化可能通过调控炎症信号通路来影响疼痛的敏感性,强调其在烧伤相关疼痛机制中的关键作用。

白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL10)是一种由多种免疫细胞(如调节性 T 细胞、单核细胞、巨噬细胞)分泌的经典抗炎细胞因子,在烧伤疼痛中发挥着重要作用[19]。通过与其受体结合,IL10 激活 JAK1-TYK2-STAT3 信号通路,从而抑制促炎性细胞因子(如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等)的表达,并抑制 NF- κ B 信号活性,最终下调炎症反应[20]-[22]。动物实验表明,外源性 IL10 给药或 IL10 基因治疗能够显著减轻由神经损伤、化疗或组织创伤引起的痛觉过敏行为[23] [24]。此外,IL10 还能促进抗伤害性通路的激活,并上调内源性阿片肽的释放,从而实现多靶点镇痛效应[25]。在本研究中,烧伤组 IL10 基因表达显著高于健康对照组,这表明 IL10 在烧伤后可能作为抗炎和抗痛觉敏化的关键因子发挥作用。因此,IL10 在烧伤疼痛的免疫调控网络中具有核心作用,可作为潜在的生物标志物或治疗靶点。未来研究可进一步探讨 IL10 在不同疼痛阶段的动态表达及其调控机制,为针对 IL10 通路的疼痛管理策略提供更坚实的理论基础。

TLR4 作为一种模式识别受体,在烧伤疼痛中扮演着重要角色。本研究通过生物信息学分析发现,TLR4 在烧伤组中的表达呈现上调趋势,这与它在炎症反应中的促炎作用相吻合。然而,在临床样本的 qPCR 验证中,TLR4 的表达却未显示出统计学上的显著差异,表现为阴性结果。这种不一致可能源于样本量较小,限制了统计学效力,使得潜在的表达差异未能被检测到。此外,TLR4 的表达可能受到烧伤面积、感染状态等多种临床因素的影响,这些因素在不同研究中可能存在较大差异。而且,TLR4 在烧伤后的炎症反应中可能相对稳定,导致其表达变化幅度较小,难以通过短期观察检测到显著差异。未来研究应扩大样本量,并结合更多临床指标进一步探讨 TLR4 在烧伤中的作用。从功能角度来看,TLR4 能够识别病原体相关分子模式(PAMPs)和损伤相关分子模式(DAMPs),激活 NF- κ B 和 MAPK 等信号通路,从而引发炎症反应[26] [27]。在烧伤疼痛中,TLR4 的激活可能通过促进促炎细胞因子的释放,加剧炎症反应,进而影响疼痛感知。尽管 qPCR 验证未能显示 TLR4 表达的显著差异,但其在生物信息学分析中的上调趋势提示其可能在烧伤疼痛的炎症反应中发挥作用。因此,TLR4 仍可被视为烧伤疼痛管理中的一个潜在治疗靶点,未来研究可以进一步探讨 TLR4 在烧伤疼痛中的作用机制,以及如何通过干预 TLR4 信号通路来改善烧伤患者的疼痛管理。

作为潜在的治疗靶点,这些生物标志物不仅应与烧伤的病理特征密切相关,还应与关键临床指标有显著的相关性。本研究中,ROC 分析显示这些特征基因的 AUC 值均超过 0.8,并且它们之间存在正相关,表明与烧伤疼痛有紧密关联。基于这些发现,我们提出调节这些基因的表达或功能可能减轻烧伤后的免疫和炎症反应,从而为烧伤疼痛治疗提供新的干预策略。

5. 结论与展望

本研究综合生物信息学分析与实验验证,成功鉴定 117 个烧伤疼痛相关差异表达基因,主要富集于 PI3K-Akt、MAPK 等炎症信号通路。IFNG、IL10 和 TLR4 三个基因经三种机器学习方法共同识别为关键

特征基因,并构建了诊断效能优异的模型(验证集 AUC = 0.959)。实验验证表明,烧伤患者外周血中 IL10 显著上调,IFNG 表达下降,部分支持生物信息学分析结果。这些发现提示,IFNG、IL10 和 TLR4 可能通过调控炎症与免疫反应影响烧伤疼痛的发生和维持,有望作为潜在诊断生物标志物及治疗靶点。当前研究存在以下局限:基于血液样本的分析难以完全区分烧伤特异性炎症反应与其他系统性应激特征;虽识别出关键基因,但其调控炎症和免疫级联反应的具体分子机制尚未明确;临床元数据不足限制了对基因表达与患者长期预后关系的深入分析。未来研究方向包括:采用纵向队列设计结合疼痛量化评分,深入探讨关键基因在烧伤疼痛动态变化中的作用;纳入非烧伤应激源对照组,明确烧伤疼痛的特异性分子特征;在不同种族和年龄的独立队列中验证关键基因的诊断效能;通过体外细胞实验和动物模型,解析 IFNG/IL10/TLR4 在烧伤疼痛中的分子机制;开展基于这些基因的干预性研究,探索其作为治疗靶点的临床应用潜力。这些研究有望进一步阐明烧伤疼痛的分子机制,为精准诊断和靶向治疗提供理论依据。

道德声明

本研究设计已获得广州市红十字医院伦理委员会的批准[伦理编号:2025-129-01],在开展临床试验时遵循了伦理委员会的规则和规定。

基金项目

该研究得到了广州市科技计划项目 2023 (市属高校和事业单位)和广州市科技局企业联合资助主题(2023A03J0596 和 2023A03J0564)以及广州市科技局农业与社会发展优先项目(202103000022)的支持。

参考文献

- [1] 蔡静,周珏. 烧伤性疼痛的危险因素分析及其对患者功能康复的影响[J]. 中国美容医学, 2024, 33(9): 179-181.
- [2] Wu, P.Y., Menta, B., Visk, A., Ryals, J.M., Christianson, J.A., Wright, D.E., *et al.* (2021) The Impact of Foot Shock-Induced Stress on Pain-Related Behavior Associated with Burn Injury. *Burns*, **47**, 1896-1907. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2021.04.010>
- [3] 刘丽波, 钟月欢. 烧伤后慢性疼痛影响因素的研究进展[J]. 护士进修杂志, 2021, 36(21): 1958-1961.
- [4] Retrouvey, H. and Shahrokhi, S. (2015) Pain and the Thermally Injured Patient—A Review of Current Therapies. *Journal of Burn Care & Research*, **36**, 315-323. <https://doi.org/10.1097/bcr.0000000000000073>
- [5] James, D.L. and Jowza, M. (2017) Principles of Burn Pain Management. *Clinics in Plastic Surgery*, **44**, 737-747. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2017.05.005>
- [6] Liechty, K.L., Shields, K., Ogden, E., Eshraghi, N., Dedeo, M. and Bishop, P. (2023) A Multimodal Pain Management Strategy for Burn Patients. *Pain Management Nursing*, **24**, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.pmn.2022.09.006>
- [7] Cordoba-Silva, J., Maya, R., Valderrama, M., Giraldo, L.F., Betancourt-Zapata, W., Salgado-Vasco, A., *et al.* (2024) Music Therapy with Adult Burn Patients in the Intensive Care Unit: Short-Term Analysis of Electrophysiological Signals during Music-Assisted Relaxation. *Scientific Reports*, **14**, Article No. 23592. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-73211-3>
- [8] Zhang, W., Sui, X., Zhang, L., Zhang, L., Yan, H. and Song, S. (2024) Effects of Two Non-Drug Interventions on Pain and Anxiety in the Nursing Process of Burn Patients: A Literature Review with Meta-Analysis. *Frontiers in Rehabilitation Sciences*, **5**, Article 1479833. <https://doi.org/10.3389/fresc.2024.1479833>
- [9] Poletti, S., Radaelli, D., Cavallaro, R., Bosia, M., Lorenzi, C., Pirovano, A., *et al.* (2013) Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Genotype Biases Neural Correlates of Empathy and Perceived Personal Distress in Schizophrenia. *Comprehensive Psychiatry*, **54**, 181-186. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2012.06.008>
- [10] 周晨. 术后阿片类药物代谢和 μ -阿片受体基因(OPRM1)A118G 位点多态性之间关系的 meta 分析[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [11] Burges, C.J.C. (1998) A Tutorial on Support Vector Machines for Pattern Recognition. *Data Mining and Knowledge Discovery*, **2**, 121-167. <https://doi.org/10.1023/a:1009715923555>
- [12] Kursu, M.B. (2014) Robustness of Random Forest-Based Gene Selection Methods. *BMC Bioinformatics*, **15**, Article No. 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-15-8>

-
- [13] Ivashkiv, L.B. (2018) IFN γ : Signalling, Epigenetics and Roles in Immunity, Metabolism, Disease and Cancer Immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, **18**, 545-558. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0029-z>
- [14] Omrani, O., Krepelova, A., Rasa, S.M.M., Sirvinskis, D., Lu, J., Annunziata, F., *et al.* (2023) IFN γ -Stat1 Axis Drives Aging-Associated Loss of Intestinal Tissue Homeostasis and Regeneration. *Nature Communications*, **14**, Article No. 6109. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41683-y>
- [15] Ji, R., Nackley, A., Huh, Y., Terrando, N. and Maixner, W. (2018) Neuroinflammation and Central Sensitization in Chronic and Widespread Pain. *Anesthesiology*, **129**, 343-366. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002130>
- [16] Tsuda, M., Masuda, T., Tozaki-Saitoh, H. and Inoue, K. (2013) Microglial Regulation of Neuropathic Pain. *Journal of Pharmacological Sciences*, **121**, 89-94. <https://doi.org/10.1254/jphs.12r14cp>
- [17] Rankin, C.R., Shao, L., Elliott, J., Rowe, L., Patel, A., Videlock, E., *et al.* (2020) The IBD-Associated Long Noncoding RNA *IFNG-AS1* Regulates the Balance between Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokine Production after T-Cell Stimulation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **318**, G34-G40. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00232.2019>
- [18] Han, Y., Zhang, Y., Tian, Y., Zhang, M., Xiang, C., Zhen, Q., *et al.* (2022) The Interaction of the IFN γ /JAK/STAT1 and JAK/STAT3 Signalling Pathways in EGFR-Mutated Lung Adenocarcinoma Cells. *Journal of Oncology*, **2022**, Article ID: 9016296. <https://doi.org/10.1155/2022/9016296>
- [19] Shi, L.Z. and Bonner, J.A. (2021) Bridging Radiotherapy to Immunotherapy: The IFN-JAK-STAT Axis. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 12295. <https://doi.org/10.3390/ijms222212295>
- [20] Hutchins, A.P., Diez, D. and Miranda-Saavedra, D. (2013) The IL-10/STAT3-Mediated Anti-Inflammatory Response: Recent Developments and Future Challenges. *Briefings in Functional Genomics*, **12**, 489-498. <https://doi.org/10.1093/bfgp/elt028>
- [21] Wilbers, R.H.P., van Raaij, D.R., Westerhof, L.B., Bakker, J., Smant, G. and Schots, A. (2017) Re-Evaluation of IL-10 Signaling Reveals Novel Insights on the Contribution of the Intracellular Domain of the IL-10R2 Chain. *PLOS ONE*, **12**, e0186317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186317>
- [22] Carlini, V., Noonan, D.M., Abdalalem, E., Goletti, D., Sansone, C., Calabrone, L., *et al.* (2023) The Multifaceted Nature of IL-10: Regulation, Role in Immunological Homeostasis and Its Relevance to Cancer, COVID-19 and Post-Covid Conditions. *Frontiers in Immunology*, **14**, Article 1161067. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1161067>
- [23] Tinsley, J.H., South, S., Chiasson, V.L. and Mitchell, B.M. (2010) Interleukin-10 Reduces Inflammation, Endothelial Dysfunction, and Blood Pressure in Hypertensive Pregnant Rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **298**, R713-R719. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00712.2009>
- [24] Hos, D., Bucher, F., Regenfuss, B., Dreisow, M., Bock, F., Heindl, L.M., *et al.* (2016) IL-10 Indirectly Regulates Corneal Lymphangiogenesis and Resolution of Inflammation via Macrophages. *The American Journal of Pathology*, **186**, 159-171. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.09.012>
- [25] Watkins, L.R., Hutchinson, M.R., Ledebor, A., Wieseler-Frank, J., Milligan, E.D. and Maier, S.F. (2007) Glia as the "Bad Guys": Implications for Improving Clinical Pain Control and the Clinical Utility of Opioids. *Brain, Behavior, and Immunity*, **21**, 131-146. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2006.10.011>
- [26] Ciesielska, A., Matyjek, M. and Kwiatkowska, K. (2020) TLR4 and CD14 Trafficking and Its Influence on LPS-Induced Pro-Inflammatory Signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **78**, 1233-1261. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y>
- [27] Molteni, M., Gemma, S. and Rossetti, C. (2016) The Role of Toll-Like Receptor 4 in Infectious and Noninfectious Inflammation. *Mediators of Inflammation*, **2016**, Article ID: 6978936. <https://doi.org/10.1155/2016/6978936>