本文引用：张凯璇，樊杨开，王 媛. 溴结构域蛋白 4 在主动脉夹层患者循环炎症细胞中的表达差异及临床意义[J]. 中国动脉硬化杂志，2026，34(9)：879-886. DOI：10.20039/j.cnki.1007-3949.2026.09.008.

[文章编号] 1007-3949(2026)34-09-0879-08

·临床研究·

溴结构域蛋白 4 在主动脉夹层患者循环炎症细胞中的表达差异及临床意义

张凯璇[1,2]，樊杨开[1,2]，王 媛[1,2]

1. 首都医科大学附属北京安贞医院心血管基础与转化医学研究中心 心血管重塑相关疾病教育部重点实验室 心血管重大疾病防治协同创新中心，2. 北京心肺血管疾病研究所，北京市 100029

[摘 要] [目的] 探讨主动脉夹层患者外周血循环炎症细胞中溴结构域蛋白 4(BRD4)的表达水平，通过 ROC 曲线分析验证其临床应用价值。[方法] 选取 38 例主动脉夹层患者与 38 例健康体检者的全血标本，采用流式细胞术检测循环炎症细胞中 BRD4 高表达的细胞亚群，比较两组之间的表达差异，并构建多变量联合诊断模型评估其诊断效能。[结果] 与健康体检者相比，主动脉夹层患者中循环 BRD4 高表达白细胞比例显著升高($P<0.05$)，其中中间型单核细胞、中性粒细胞中高表达 BRD4 的比例显著升高($P<0.05$)。基于上述细胞亚群构建联合诊断模型，该模型最佳临界值为 0.644 4，灵敏度为 75.68%，特异度为 94.59%，*AUC* 为 0.919 6(95% *CI*：0.863 4～0.947 4)。[结论] 主动脉夹层患者循环中中性粒细胞与中间型单核细胞的 BRD4 高表达比例显著升高，基于多种免疫细胞亚群 BRD4 表达构建的联合模型对主动脉夹层与健康对照具有较好的区分能力，BRD4 高表达免疫细胞比例有望作为主动脉夹层辅助识别的潜在循环生物标志物。

[关键词] 主动脉夹层；溴结构域蛋白 4；中性粒细胞；中间型单核细胞；流式细胞术

[中图分类号] R5 [文献标识码] A

Differential expression and clinical significance of bromodomain-containing protein 4 in circulating inflammatory cells of patients with aortic dissection

Zhang Kaixuan[1,2], Fan Yangkai[1,2], Wang Yuan[1,2]

1. *Cardiovascular Basic and Translational Medicine Research Center, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University & Key Laboratory of Remodeling-related Cardiovascular Diseases, Ministry of Education & Beijing Collaborative Innovation Centre for Cardiovascular Disorders*; 2. *Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Disease, Beijing* 100029, *China*

[**ABSTRACT**] **Aim** To investigate the expression level of bromodomain-containing protein 4 (BRD4) in peripheral blood circulating inflammatory cells of patients with aortic dissection, and verify its clinical application value through ROC curve analysis. **Methods** Whole blood samples from 38 patients with aortic dissection and 38 healthy subjects were selected, and flow cytometry was used to detect the subsets of BRD4-highly expressing cells in circulating inflammatory cells. The expression differences between the two groups were compared, and a multivariate combined diagnostic model was constructed to evaluate its diagnostic efficacy. **Results** Compared with healthy subjects, the proportion of BRD4-highly expressing leukocytes was significantly increased in patients with aortic dissection ($P<0.05$). Among them, the percentages of BRD4-highly expressing intermediate monocytes and neutrophils were both markedly elevated ($P<0.05$). Based on the above cell subsets, the combined diagnostic model achieved an optimal cut-off value of 0.644 4, with a sensitivity of 75.68%, a specificity of 94.59%, and an *AUC* of 0.919 6 (95% *CI*: 0.863 4～0.947 4). **Conclusions** The proportion of BRD4-highly expressing neutrophils and intermediate monocytes was significantly increased in the circulation of patients with aortic dissection. The combined model based on BRD4 expression across multiple immune-cell

[收稿日期] 2026-04-30 [修回日期] 2026-08-24

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82270499)；北京市自然科学基金项目(7264239)

[作者简介] 张凯璇，硕士，研究方向为主动脉夹层，E-mail：kk459091523@163.com。樊杨开，博士，助理研究员，研究方向为心血管疾病中的血管损伤和代谢稳态，E-mail：Fanyangkai1994@163.com。通信作者王媛，博士，研究员，研究方向为心血管代谢稳态的调节机制和转化，E-mail：wangyuan980510@163.com。

subsets showed good discrimination between patients with aortic dissection and healthy controls, suggesting that the proportion of BRD4-highly expressing immune cells may serve as a potential circulating biomarker for auxiliary identification of aortic dissection.

[**KEY WORDS**] aortic dissection; bromodomain-containing protein 4; neutrophils; intermediate monocytes; flow cytometry

主动脉破裂是导致主动脉夹层患者死亡的首要原因,约80%的急性主动脉夹层患者死于主动脉破裂[1]。若不及时干预,主动脉夹层患者的死亡率可高达70% ~77%,一旦发生主动脉破裂,患者24 h生存率仅为50%[1-2]。主动脉CT血管成像(computed tomography angiography, CTA)是临床诊断主动脉夹层的重要影像学手段,但其应用仍受设备条件、检查时效及部分患者检查禁忌等因素限制[3]。同时,主动脉病变组织标本难以获取,导致差异表达蛋白难以作为生物标志物应用。因此,从外周血中筛选得到的差异表达蛋白,能够更方便地作为主动脉夹层生物标志物应用于临床。主动脉损伤早期,大量免疫细胞被激活并浸润至主动脉壁,这是驱动主动脉夹层发生发展的核心环节[4]。溴结构域与超末端结构域家族中的溴结构域蛋白4(bromodomain-containing protein 4, BRD4)是重要的表观遗传读取器,能够识别并结合乙酰化赖氨酸残基,募集转录调控复合物,参与炎症相关基因的表达调控[5]。已有研究证实,BRD4在多种免疫细胞与非免疫细胞中的表达均显著上调,是多种炎症性疾病的潜在治疗靶点[6]。本研究旨在检测主动脉夹层患者外周血炎症细胞BRD4表达水平,明确其作为主动脉夹层早期生物学标志物的潜在价值。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取2023年11月至2024年6月于首都医科大学附属北京安贞医院接受主动脉根部和升主动脉置换术患者的术前EDTA抗凝全血样本,对照组为同期该院体检中心的健康体检者。纳入的研究对象共76例,其中男性69例,女性7例,年龄范围为27 ~81岁,平均年龄为(52±12)岁。主动脉夹层组患者的纳入标准为:经病史资料、影像学检查(CTA、超声心动图或磁共振血管成像)或术中探查确诊为主动脉夹层。排除标准为:(1)妊娠妇女;(2)采血前10天内输注过血液制品(包括红细胞、全血或血小板);(3)创伤性主动脉损伤或假性动脉瘤患者;(4)存在活动性恶性肿瘤、心力衰竭史、肾功能不全、严重肺部疾病或其他终末期疾病者。健康对照组的纳入标准为:(1)生命体征正常;(2)血常规、肝肾功能、血糖等实验室检查均无异常;(3)经超声心动图检查排除主动脉疾病(夹层/瘤样扩张)以及心脏结构或功能异常。排除标准为:存在经明确诊断的重大全身性疾病(包括缺血性心脏病、恶性肿瘤、肺部疾病、传染性疾病及自身免疫性疾病)。本研究依托课题组前期建立的主动脉瘤与夹层诊断及预后临床注册研究(DPANDA、NCT03233087),从中纳入经确诊的主动脉夹层患者。本研究已通过首都医科大学附属北京安贞医院伦理委员会批准(批准号:2018002X),研究开展严格遵循《赫尔辛基宣言》的原则。本研究属于小样本探索性分析,目的是初步探究BRD4在主动脉夹层诊断中的潜在应用价值,研究回顾性纳入主动脉夹层患者38例、健康体检者38例,因本研究为预实验性质,未开展正式的样本量估算。

1.2 主要试剂与仪器

磷酸盐缓冲液(索莱宝P1003);Transcriptional Factor Buffer Set(BD 562574);10X红细胞裂解液(Roche 11814389001);CD45抗体(Invitrogen MHCD4529);CD11B抗体(eBioscience 406-0118-42);CD68抗体(eBioscience 12-0167-42);CD14(eBioscience 404-0149-42);BRD4(Abcam AB197608);羊抗兔Alexa Fluor 555荧光二抗(Invitrogen A-21428);流式细胞分析系统(BD LSRFortessa)。

1.3 方法

取100 μL EDTA抗凝全血,加入1 mL红细胞裂解液,吹打混匀后避光常温静置10 min,离心后弃去上清,加入500 μL PBS吹打混匀,以1 500 r/min离心5 min后弃去上清。用PBS按100∶1的比例稀释流式抗体,每个样本加入100 μL稀释后的抗体混合液,吹打混匀后避光孵育30 min。孵育完成后,加入400 μL PBS,离心后弃去上清;每个样本加入400 μL Fix/perm,避光常温静置30 min。每个样本加入400 μL perm/wash buffer,离心后弃去上清,按100∶1的比例稀释胞内流式抗体,每个样本加入100 μL稀释后的抗体,吹打混匀后避光孵育30 min。孵育完成后加入400 μL perm/wash buffer,离心后弃

去上清，加入 400 μL 4% 多聚甲醛，吹打混匀后完成固定。

1.4　配色方案与结果判定

1.4.1　配色方案　CD45 的荧光素为 Alexa Fluor 700，CD11b 的荧光素为 Brilliant Violet 605，CD66b 的荧光素为 Percpcy5.5（Biolegend，305107，激发光 488 nm，发射光 690 nm），CD16 的荧光素为 PE，CD14 的荧光素为 Brilliant Violet 421，BRD4 的荧光素为 Alexa Fluor 647。采用 BD LSRFortessa 流式细胞分析仪完成数据采集，并使用 FlowJo 10.8.1 软件进行流式数据分析：通过 Time/FSC-H 监测仪器稳定性，通过 FSC-A/FSC-H 去除粘连细胞；以 CD45/SSC-A 区分白细胞，通过 CD11b/CD66b 圈定中性粒细胞；依据 CD14 与 CD16 的表达水平，将单核细胞分为三类：经典型单核细胞（$CD14^{++}CD16^{-}$）、中间型单核细胞（$CD14^{+}CD16^{+}$）、非经典型单核细胞（$CD14^{+}CD16^{++}$）。

1.4.2　阳性阈值设定依据　设置补偿条件时，首先以未孵育任何抗体的预处理外周血单细胞悬液作为空白对照，明确细胞的自发荧光水平，排除自发荧光与非特异性结合的干扰；随后为每个荧光通道分别设置单染对照（CD45、CD11b、CD66b、CD14、CD16、BRD4），完成光谱补偿并验证单通道信号的特异性。在 PE 通道中，未染色阴性对照细胞的荧光信号主要集中在 $10^2 \sim 10^3$ 区间，抗体孵育后的样本在 10^4 区间出现新的荧光峰，因此将阳性阈值设定于 $10^3 \sim 10^5$ 之间；在 PerCP-Cy5-5 通道中，未染色阴性对照细胞的荧光信号主要集中在 $10^2 \sim 10^3$ 区间，抗体孵育后的样本在 $10^3 \sim 10^4$ 区间出现特异性荧光峰，因此将阳性阈值设定在 $10^3 \sim 10^4$ 之间；在 Alexa Fluor 647 通道中，未染色阴性对照细胞的荧光信号主要集中在 $10^2 \sim 10^3$ 区间，抗体孵育后的样本在 $10^3 \sim 10^5$ 区间出现明显的特异性荧光峰，因此将阳性阈值设定在 $10^3 \sim 10^5$ 区间；在 Alexa Fluor 700 通道中，未染色阴性对照细胞的荧光信号主要集中在 $10^2 \sim 10^3$ 区间，抗体孵育后的样本在 $10^3 \sim 10^4$ 区间出现明显的特异性荧光峰，因此将阳性阈值设定在 $10^3 \sim 10^4$ 之间；在 Brilliant Violet 421 通道中，未染色阴性对照细胞的荧光信号主要集中在 $10^2 \sim 10^3$ 区间，抗体孵育后的样本在 $10^3 \sim 10^5$ 区间出现特异性阳性信号分布，因此将阳性阈值设定在 $10^3 \sim 10^5$ 区间；在 Brilliant Violet 605 通道中，未染色阴性对照细胞的荧光信号主要集中在 $10^2 \sim 10^3$ 区间，抗体孵育后的样本在 $10^3 \sim 10^5$ 区间出现特异性阳性信号分布，因此将阳性阈值设定在 $10^3 \sim 10^5$ 区间。荧光补偿参数见表 1。实验结果显示，各抗体的阳性信号与阴性对照存在显著区分，无明显非特异性染色，特异性可靠。

表 1. 荧光补偿参数汇总

Table 1. Summary of fluorescence compensation parameters

荧光色素	百分比荧光色素	荧光光谱重叠补偿
PerCP-Cy5-5	PE	28.31
Alexa Fluor 647	PE	0.00
Alexa Fluor 700	PE	0.09
Brilliant Violet 421	PE	0.00
Brilliant Violet 605	PE	11.22
PE	PerCP-Cy5-5	3.42
Alexa Fluor 647	PerCP-Cy5-5	6.40
Alexa Fluor 700	PerCP-Cy5-5	7.74
Brilliant Violet 421	PerCP-Cy5-5	3.00
Brilliant Violet 605	PerCP-Cy5-5	7.75
PE	Alexa Fluor 647	0.00
PerCP-Cy5-5	Alexa Fluor 647	3.57
Alexa Fluor 700	Alexa Fluor 647	60.40
Brilliant Violet 421	Alexa Fluor 647	0.67
Brilliant Violet 605	Alexa Fluor 647	0.23
PE	Alexa Fluor 700	0.00
PerCP-Cy5-5	Alexa Fluor 700	6.02
Alexa Fluor 647	Alexa Fluor 700	1.32
Brilliant Violet 421	Alexa Fluor 700	0.00
Brilliant Violet 605	Alexa Fluor 700	0.00
PE	Brilliant Violet 421	5.16
PerCP-Cy5-5	Brilliant Violet 421	11.43
Alexa Fluor 647	Brilliant Violet 421	0.00
Alexa Fluor 700	Brilliant Violet 421	1.23
Brilliant Violet 605	Brilliant Violet 421	11.56
PE	Brilliant Violet 605	1.2
PerCP-Cy5-5	Brilliant Violet 605	9.07
Alexa Fluor 647	Brilliant Violet 605	0.22
Alexa Fluor 700	Brilliant Violet 605	0.23
Brilliant Violet 421	Brilliant Violet 605	6.26

1.5　统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 LSD-t 检验；不符合正态分布的计量资料以中位数（四分位数）表示，组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用多因素 Logistic 回归构建联合诊断模型，通过约登指数确定模型的最佳临界值，绘制 ROC 曲线评估其诊断效能。随后采用 Bootstrap 有

放回重抽样法对该联合诊断模型开展内部验证，设置重抽样次数为 1 000 次。通过重复抽样重新构建模型，计算每次抽样后的 *AUC*、灵敏度、特异度及最佳临界值，再依据抽样结果得到校正后的模型效能指标，以此评价模型的稳定性与区分能力，降低小样本研究中模型过拟合的风险。双侧 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床资料比较

两组受试者的年龄与性别构成差异无统计学意义（$P>0.05$）。与健康对照组相比，主动脉夹层组患者的高血压患病率显著升高、吸烟人数增多，左心室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）、高密度脂蛋白胆固醇（high density lipoprotein cholesterol，HDLC）及估算的肾小球滤过率（estimated glomerular filtration rate，eGFR）显著降低，主动脉直径、肌酸激酶同工酶、高敏 C 反应蛋白（high-sensitivity C-reactive protein，hs-CRP）、外周血白细胞计数、D-二聚体、高敏心肌肌钙蛋白 I（high-sensitivity cardiac troponin I，hs-cTnI）、肌酐及血糖水平均显著增高（均 $P<0.05$）。其余临床基线指标组间比较未见统计学差异（$P>0.05$；表 2）。两组受试者上述基线特征的差异符合研究预期，排除了基础指标偏差对实验结果的干扰。

表 2. 主动脉夹层患者与健康体检者一般资料比较

Table 2. Comparison of general information between patients with aortic dissection and healthy subjects

项目	总体（$n=76$）	健康对照组（$n=38$）	主动脉夹层组（$n=38$）	P
男性/[例(%)]	69(90.79)	34(89.47)	35(92.11)	1
年龄/岁	51.78±11.58	51.47±11.34	52.08±11.96	0.822
高血压/[例(%)]	44(57.89)	12(31.58)	32(84.21)	<0.001
高脂血症/[例(%)]	9(11.84)	7(18.42)	2(5.26)	0.196
糖尿病/[例(%)]	6(7.89)	2(5.26)	4(10.53)	0.677
现在吸烟/[例(%)]	14(18.42)	1(2.63)	13(34.21)	0.003
LVEF/%	61.50(60.00,65.00)	65.00(62.00,66.00)	60.00(58.00,64.50)	0.006
主动脉直径/mm	40.00(38.00,45.00)	36.00(31.00,38.00)	41.50(40.00,45.250)	<0.001
谷丙转氨酶/(U/L)	22.00(15.00,33.25)	19.00(15.25,25.00)	24.00(15.25,35.25)	0.383
谷草转氨酶/(U/L)	20.00(17.00,27.25)	19.50(17.00,25.75)	22.00(17.25,37.75)	0.115
肌酸激酶/(U/L)	99.00(65.00,155.75)	91.50(65.00,143.75)	116.50(65.25,216.25)	0.160
肌酸激酶同工酶/(μg/L)	1.70(1.30,2.40)	1.50(1.30,2.00)	2.15(1.25,6.65)	0.026
甘油三酯/(mmol/L)	1.35(1.01,1.94)	1.30(0.98,1.87)	1.48(1.37,2.11)	0.313
总胆固醇/(mmol/L)	5.05(4.11,5.68)	5.09(4.09,5.97)	4.88(4.36,5.13)	0.516
HDLC/(mmol/L)	1.25(1.08,1.42)	1.30(1.15,1.46)	0.96(0.94,1.05)	0.008
LDLC/(mmol/L)	2.96±0.93	2.95±0.99	3.04±0.54	0.694
hs-CRP/(mg/L)	0.88(0.51,2.74)	0.73(0.47,1.67)	3.33(1.71,5.00)	0.018
白细胞/($\times10^9$ L^{-1})	6.89(5.50,10.38)	5.55(4.65,6.55)	10.43(7.23,13.81)	<0.001
D-二聚体/(μg/L)	1 005.00(102.75,4 058.50)	50.00(25.50,80.75)	2 579.00(520.50,4 390.75)	<0.001
hs-cTnI/(μg/L)	9.00(3.65,77.80)	2.10(1.70,2.25)	11.55(4.35,107.30)	0.011
肌酐/(μmol/L)	89.15(78.65,107.40)	82.50(70.98,89.60)	99.45(86.63,119.05)	<0.001
eGFR/(mL/min)	85.85(67.17,101.50)	95.82(84.23,104.32)	72.61(53.97,89.76)	<0.001
血糖/(mmol/L)	5.93(5.15,7.72)	5.28(4.90,5.82)	7.43(6.04,8.16)	<0.001

2.2 流式细胞术细胞分群方法及检测结果

与健康对照组相比，主动脉夹层组患者循环 $CD45^+BRD4^+$ 白细胞比例显著升高，其中高表达 BRD4 的中性粒细胞（$CD45^+CD11b^+CD66b^+BRD4^+$）与高表达 BRD4 的中间型单核细胞（$CD45^+CD14^+CD16^+BRD4^+$）比例也明显上升（均 $P<0.05$）。值得关注的是，主动脉夹层组患者的循环单核细胞中，经典型单核细胞比例及高表达 BRD4 的经典型单核

细胞比例同样显著降低(均 $P<0.05$),这一现象可能与经典型单核细胞主要发挥吞噬功能、不具备明显促炎特征,而 BRD4 的核心作用为激活促炎通路有关(图 1)。

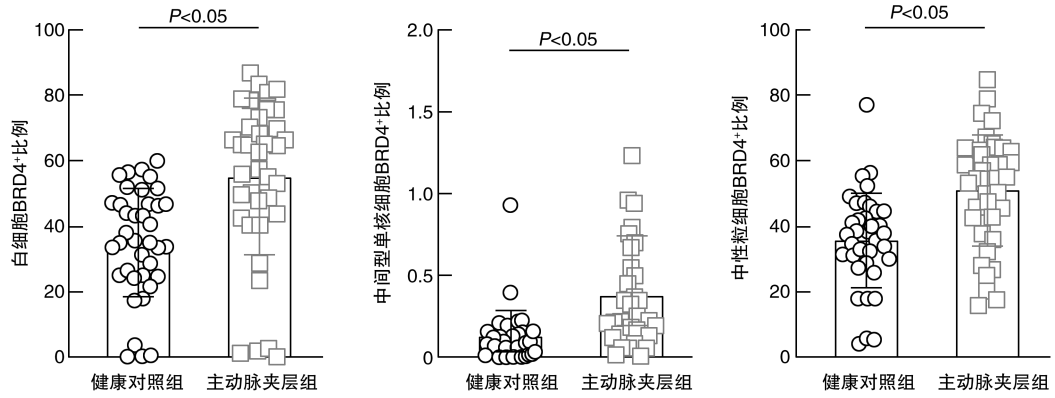


图 1. 主动脉夹层患者外周血中 BRD4 激活的免疫细胞比例升高

Figure 1. Increased proportion of immune cells activated by BRD4 in peripheral blood of patients with aortic dissection

2.3　基于 BRD4 表达构建的联合诊断模型分析

2.3.1　*自变量相关性分析*　首先对纳入联合诊断模型的 4 个核心变量(经典型单核细胞、中间型单核细胞、非经典型单核细胞、中性粒细胞的 $BRD4^+$ 比例)进行 Pearson 相关性分析,结果显示,所有变量的两两相关系数均<0.8,不存在严重多重共线性问题,满足多因素 Logistic 回归模型的建模条件(表 3)。

2.3.2　*多因素 Logistic 回归模型构建*　基于外周血各免疫细胞亚群 BRD4 高表达比例,采用多因素 Logistic 回归构建主动脉夹层联合判别模型,得到联合评分计算公式为:$Score=\sum[\beta_\kappa \times Cell(BRD4^+)_\kappa]+b$。其中 β_κ 为各细胞亚群 BRD4 高表达比例的回归系数,$Cell(BRD4^+)_\kappa$ 为对应亚群中 BRD4 高表达细胞所占百分比,b 为常数项;$\beta_\kappa>0$ 提示该亚群比例升高会增加主动脉夹层的判别概率,$\beta_\kappa<0$ 则相反(表 4)。

表 3. 自变量相关性分析结果

Table 3. Results of independent variable correlation analysis

变量 1	变量 2	*r*	*P*	结论
$BRD4^+$中间型单核细胞	$BRD4^+$非经典型单核细胞	0.751	<0.001	显著强正相关
$BRD4^+$中间型单核细胞	$BRD4^+$经典型单核细胞	0.468	<0.001	显著中等正相关
$BRD4^+$经典型单核细胞	$BRD4^+$非经典型单核细胞	0.377	<0.001	显著弱正相关
$BRD4^+$中性粒细胞	$BRD4^+$经典型单核细胞	−0.028	>0.05	无显著性关联
$BRD4^+$中性粒细胞	$BRD4^+$非经典型单核细胞	−0.090	>0.05	无显著性关联
$BRD4^+$中性粒细胞	$BRD4^+$中间型单核细胞	0.013	>0.05	无显著性关联

表 4. 基于 4 个免疫细胞亚群的 $BRD4^+$ 比例构建多因素 Logistic 回归联合诊断模型

Table 4. Multivariate Logistic regression combined diagnostic model based on the proportion of $BRD4^+$ among four immune cell subsets

变量	β	*P*	*OR*	95% *CI*
截距项	−0.9778			
经典型单核细胞 $BRD4^+$	−1.6019	<0.001	0.2015	0.0955 ~ 0.4251
中间型单核细胞 $BRD4^+$	2.2114	<0.001	9.1288	4.8648 ~ 17.1302
非经典型单核细胞 $BRD4^+$	0.2987	0.2773	1.3481	0.7865 ~ 2.3107
中性粒细胞 $BRD4^+$	0.0515	0.0113	1.0528	1.0117 ~ 1.0956

最终构建的联合评分公式为：Score = 0.0515×中性粒细胞（$CD45^+CD11b^+CD66b^+BRD4^+$）−1.6019×经典型单核细胞（$CD45^+CD14^{++}CD16^-BRD4^+$）+2.2114×中间型单核细胞（$CD45^+CD14^+CD16^+BRD4^+$）+0.2987×非经典型单核细胞（$CD45^+CD14^+CD16^{++}BRD4^+$）−0.9778。

2.3.3 ROC 曲线分析及 Bootstrap 内部验证 通过约登指数确定模型的最佳临界值为 0.644 4，以此阈值诊断主动脉夹层的灵敏度为 75.68%，特异度为 94.59%，*AUC* 为 0.919 6（95% *CI*：0.863 4～0.947 4），提示基于多免疫细胞亚群 BRD4 表达构建的联合评分模型可高效区分主动脉夹层患者与健康对照者。经 1 000 次 Bootstrap 有放回重抽样进行内部验证后，模型校正 *AUC* 为 0.92（95% *CI*：0.84～0.98），校正后灵敏度为 84.21%，特异度为 94.74%，最佳临界值为 0.589 7。多次重抽样的结果波动较小，提示该联合诊断模型区分能力良好、稳定性可靠，未出现明显过拟合现象（图 2）。

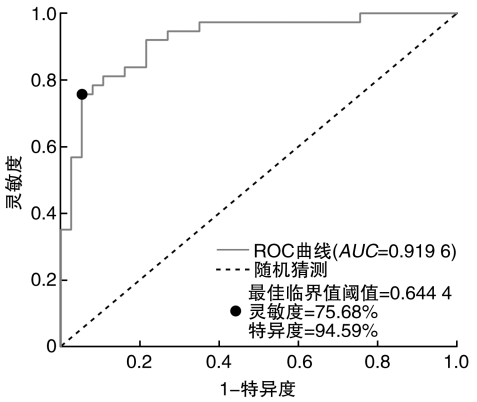


图 2. 基于 BRD4 表达构建的联合评分模型诊断主动脉夹层的 ROC 曲线

Figure 2. ROC curve of the combined scoring model based on BRD4 expression for diagnosing aortic dissection

3 讨 论

主动脉夹层起病隐匿且发病急促，多数破裂事件发生于起病 48 h 内，一旦发生破裂，患者 24 h 内生存率仅为 50%，因此早期诊断与分层管理是改善该疾病预后的关键[1]。近年来，越来越多研究通过高通量测序筛选出与主动脉夹层相关的基因，但这类研究大多围绕主动脉组织中的生物标志物展开；由于获取主动脉组织对机体创伤较大，相关检测难以应用于临床，因此将主动脉组织中差异表达的 RNA 或蛋白作为主动脉夹层的诊断生物标志物并不合适。现有的血清标志物在主动脉夹层诊断中也存在一定局限性：主动脉夹层的病理生理过程复杂，单一指标难以全面反映疾病的不同层面，例如 D-二聚体、C 反应蛋白等虽显著升高，但二者的灵敏度和特异度无法同时满足临床要求，不能作为独立的诊断金标准。为克服单一标志物的应用局限，研究者已探索多项标志物联合检测的方案，这类策略展现出更好的临床应用潜力。例如将转化生长因子 β、C 反应蛋白、N 末端脑钠肽前体和 D-二聚体联合检测后，平行联合检测的灵敏度可达 95.45%，序列联合检测的特异度可达 95.74%，提示联合检测可实现指标间的互补，有效提升诊断的灵敏度与准确度[7]。但即便如此，该联合方案仍无法达到 100% 的诊断精准度，且实际应用还需结合具体临床情境与患者状态调整。因此，寻找简便快速的血液检查，即可敏感且特异地诊断主动脉夹层或预测其发生的新型标志物尤为重要。本研究结果显示，主动脉夹层患者外周血白细胞中 BRD4 高表达细胞比例升高，其中中性粒细胞和中间型单核细胞的 BRD4 高表达比例提升尤其显著，提示 BRD4 可作为微创、稳定的循环生物学标志物，用于主动脉夹层的早期识别与炎症活动度评估；若与其他标志物联合检测，可进一步提高诊断的灵敏度与准确度。

炎症反应是主动脉夹层进展的核心驱动因素，多种免疫细胞参与其中并形成复杂炎症网络[8]，单核细胞与中性粒细胞可通过该炎症网络的相互作用，协同促进主动脉夹层发展。中性粒细胞是人体非特异性免疫的主要效应细胞，可募集其他免疫细胞至炎症部位[9]，通过中性粒细胞胞外陷阱（neutrophil extracellular trap，NET）形成，以及 CXCL5 等趋化因子介导的炎症放大效应参与主动脉夹层的病理过程[10-11]。单核细胞作为主要效应细胞，可通过分泌 MMP-9、IL-1β 等介质破坏血管结构。单核细胞可分为经典型、中间型及非经典型三个亚群：经典型单核细胞以 $CD14^{++}CD16^-$ 表型为特征，占循环单核细胞的绝大部分，核心特征是具备强大的吞噬能力，研究显示其吞噬功能显著，但在炎症刺激下并未表现出明显促炎特征[12]，在健康个体及各类感染状态下，其占比均占据主导地位；中间型单核细胞以 $CD14^{++}CD16^+$ 为表型特征，同时兼具吞噬功能与促炎特性，生理条件下这类细胞数量极少，但在受到脂多糖等刺激后，可展现出促炎特征并具备抗原呈递能力[12]；非经典型单核细胞以 $CD14^+CD16^{++}$ 表型为特征，在血管巡逻中发挥关键作用，粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子主要由非经典型单核细胞产生，提示它是促进巨噬细胞在主动脉组织大量浸

润的关键免疫细胞[13]。本研究结果发现,在主动脉夹层的病理状态下,非经典型单核细胞和中间型单核细胞的比例显著升高,这与主动脉夹层发病初期存在剧烈炎症反应与免疫激活的病理特征一致;而经典型单核细胞比例下降,可能是由于该亚群不参与急性促炎反应,或是在炎症刺激下向其他亚群转化被消耗所致。

表观遗传调控指 DNA 序列不发生改变的情况下,基因表达出现可遗传性改变的调控过程。大量研究证实,表观遗传调控因子在肿瘤、心血管疾病、自身免疫性疾病和神经系统疾病等多种疾病的发生发展中发挥着重要作用[14]。溴结构域和末端结构域蛋白家族(bromodomain and extra-terminal protein family,BET)属于乙酰化组蛋白阅读器,可将组蛋白乙酰化模式转化为特定基因表达程序,参与转录协同调控、介导染色质重塑,并维持基因组稳定性[15-17]。BET 蛋白家族在多种心血管疾病的炎症发生机制中发挥核心作用,已有大量实验证据证实其参与免疫激活与炎症信号传导过程[18]。本研究发现,主动脉夹层的显著特征为中间型单核细胞、非经典型单核细胞与中性粒细胞中 BRD4 高表达,这与该病病理进程中免疫激活、炎症浸润的核心机制高度吻合。已有研究表明,BRD4 可特异性识别 NF-κB 家族蛋白 RelA 并使其发生乙酰化,提升细胞核内促炎基因的转录活性与稳定性,进而促进炎症反应[19];同时 BRD4 能够通过识别组蛋白乙酰化标记 H3K27ac 激活炎症基因转录,MCP-1/CCL2 就是其重要靶基因之一[20]。

本研究结果表明,在主动脉夹层的病理条件下,BRD4 作为该病早期炎症激活的关键分子,可能通过特异性激活非经典型单核细胞、中间型单核细胞及中性粒细胞的炎症通路,促进这些细胞分泌大量炎症因子,同时推动巨噬细胞等免疫细胞向主动脉大量募集,最终参与主动脉壁的破坏过程。但本研究仅证实了主动脉夹层发生时,BRD4 在免疫细胞内激活的现象,并未对 BRD4 激活的具体机制开展深入探索。

近年来,BET 抑制剂(BET inhibitor,BETi)已成为一类极具前景的表观遗传治疗药物,在心血管疾病干预领域展现出巨大潜力。这类药物可通过选择性阻断 BET 蛋白与组蛋白乙酰化赖氨酸残基的结合,破坏由 BET 蛋白介导、驱动病理性基因表达的转录调控程序。除经典 BRD4 抑制剂 JQ1 外,MS417、ZL051、Dyb-41、Apabetalone 已被证实可干预炎症浸润通路,其中 Apabetalone 对心血管疾病的疗效验证已进入临床Ⅱ-Ⅲ期[21-24],充分体现了 BRD4 作为潜在治疗靶点的研究价值。未来研究可通过研发具有组织及细胞靶向性、溴结构域模块选择性的抑制剂,探索更高效的联合用药策略与更安全的靶向递送载体,实现对 BRD4 高表达免疫细胞亚群的特异性 BRD4 抑制,进而延缓疾病进展[25-26]。

本研究属于小样本探索性分析,未开展事前样本量估算,仅纳入 76 例研究对象,存在一定局限性。第一,本研究仅证实 BRD4 高表达与主动脉夹层存在显著相关性,但无法明确二者的因果关系:目前尚不能区分 BRD4 异常活化是主动脉夹层炎症损伤的诱因,还是疾病进展继发的炎症标志物。第二,本研究仅完成模型内部 Bootstrap 验证,未开展独立外部队列验证,模型的外推能力仍需更大样本量的多中心队列进一步验证。第三,本研究仅探讨了 BRD4 作为诊断标志物的价值,未结合不同炎症细胞亚群的 BRD4 表达水平开展患者预后分层分析,后续可基于本研究结果,进一步探究不同细胞亚群 BRD4 表达特征对患者术后破裂、死亡等不良事件的预测价值。

综上所述,本研究证实 BRD4 是介导主动脉夹层早期炎症激活的关键分子,其在外周血炎症细胞中的异常高表达可作为潜在干预靶点,为主动脉夹层的表观遗传靶向治疗提供了新的思路与实验基础。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] Lu H, Tan Z, Liu Z, et al. Spatiotemporal trends in stroke burden and mortality attributable to household air pollution from solid fuels in 204 countries and territories from 1990 to 2019[J]. Sci Total Environ, 2021, 775: 11.

[2] Carrel T, Sundt T M 3rd, von Kodolitsch Y, et al. Acute aortic dissection[J]. Lancet, 2023, 401(10378): 773-788.

[3] Hu Y, Xiang Y, Zhou Y J, et al. AI-based diagnosis of acute aortic syndrome from noncontrast CT[J]. Nat Med, 2025, 31(11): 3832-3844.

[4] Mao Y, Liu X, Song Y, et al. VEGF-A/VEGFR-2 and FGF-2/FGFR-1 but not PDGF-BB/PDGFR-β play important roles in promoting immature and inflammatory intraplaque angiogenesis[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0201395.

[5] Liu Z, Wang P, Chen H, et al. Drug discovery targeting bromodomain-containing protein 4[J]. J Med Chem, 2017, 60(11): 4533-4558.

[6] Wang N, Wu R, Tang D, et al. The BET family in immunity and disease[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021,

6(1): 23.

[7] 于海滨, 马 翔, 曹 雯, 等. 血清标志物对主动脉夹层的早期诊断及预后评估[J]. 中国心血管病研究, 2019, 17(3): 211-217.
Yu H B, Ma X, Cao W, et al. Serum biomarkers in diagnostic and prognostic evaluation of acute aortic dissection [J]. Chin J Cardiovasc Dis, 2019, 17(3): 211-217

[8] Li X, Liu D, Zhao L, et al. Targeted depletion of monocyte/macrophage suppresses aortic dissection with the spatial regulation of MMP-9 in the aorta[J]. Life Sci, 2020, 254: 116927.

[9] 李妍洁, 向紫萍, 刘 欣, 等. 血管炎症在主动脉夹层发病机制中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(2): 163-168.
Li Y J, Xiang Z P, Liu X, et al. Research progress on vascular inflammation in the pathogenesis of aortic dissection [J]. Chin J Arterioscler, 2025, 33(2): 163-168.

[10] Xu C, Chen W, Nie X, et al. The innate immune axis drives aortic dissection pathogenesis through inflammation and presents novel therapeutic targets[J]. Front Immunol, 2025, 16: 1654622.

[11] Xue C, Jiang L, Zhang B, et al. Integrative analysis reveals chemokines CCL2 and CXCL5 mediated shear stress-induced aortic dissection formation[J]. Heliyon, 2024, 10(1): e23312.

[12] Mukherjee R, Kanti Barman P, Kumar Thatoi P, et al. Non-classical monocytes display inflammatory features: validation in sepsis and systemic lupus erythematous[J]. Sci Rep, 2015, 5(1): 13886.

[13] Kaur K, Bachus H, Lewis C, et al. GM-CSF production by non-classical monocytes controls antagonistic LPS-driven functions in allergic inflammation[J]. Cell Rep, 2021, 37(13): 37(13): 110178.

[14] 钟 慧, 王苏樱, 李带瑛, 等. 血管钙化的表观遗传调控[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(10): 838-844.
Zhong H, Wang S Y, Li D Y, et al. Epigenetic regulation of vascular calcification[J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29 (10): 838-844.

[15] Modukuri R K, Yu Z, Tan Z, et al. Discovery of potent BET bromodomain 1 stereoselective inhibitors using DNA-encoded chemical library selections[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(22): e2122506119.

[16] Miller T C, Simon B, Rybin V, et al. A bromodomain-DNA interaction facilitates acetylation-dependent bivalent nucleosome recognition by the BET protein BRDT[J]. Nat Commun, 2016, 7: 13855.

[17] Zhang W, Li Y, Zhou M M, et al. Targeting BRD4 bromodomains and beyond: exploring new therapeutic frontiers [J]. Trends Pharmacol Sci, 2026, 47(1): 15-39.

[18] Schuetze K B, Stratton M S, Bagchi R A, et al. BRD4 inhibition rewires cardiac macrophages toward a protective phenotype marked by low MHC class Ⅱ expression[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2025, 328(2): H294-309.

[19] 何 磊, 董泉彬, 李菊香. 含溴结构域蛋白 4 在心血管疾病发病机制中的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2024, 40(6): 1141-1146.
He L, Dong Q B, Li J X. Progress in bromodomain-containing protein 4 in pathogenesis of cardiovascular diseases [J]. Chin J Pathophysiol, 2024, 40(6): 1141-1146.

[20] Wang Q, Ozer H G, Wang B, et al. A hierarchical and collaborative BRD4/CEBPD partnership governs vascular smooth muscle cell inflammation[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2021, 21: 54-66.

[21] Reid S, Fine N, Bhosle V K, et al. Inhibition of BRD4 reduces neutrophil activation and adhesion to the vascular endothelium following ischemia reperfusion injury[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9620.

[22] Ma Z, Mcaninch S, Liu Z, et al. Orally bioavailable BRD4 BD1 inhibitor ZL0516 effectively suppresses colonic inflammation in animal models of inflammatory bowel disease[J]. ACS Pharmacol Transl Sci, 2025, 8(4): 1152-1167.

[23] Iten M, Gschwend C, Ostini A, et al. BET-inhibitor DYB-41 reduces pulmonary inflammation and local and systemic cytokine levels in LPS-induced acute respiratory distress syndrome: an experimental rodent study[J]. Intensive Care Med Exp, 2024, 12(1): 19.

[24] Van der Feen D E, Kurakula K, Tremblay E, et al. Multicenter preclinical validation of BET inhibition for the treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 200(7): 910-920.

[25] Lindner M, Lisińska D, Kędzierzyńska A, et al. Targeting BRD4-A promising therapeutic option for glioblastoma? [J]. Int J Mol Sci, 2026, 27(5): 2268.

[26] Hong Y, Liu X, Li Y, et al. Targeted degradation of BRD4 by PROTACs: advances in cancer therapy[J]. Chem Commun (Camb), 2026, 62(17): 4869-4888.

(此文编辑 文玉珊)