doi:10.11659/jjssx.11E025040

·基础研究·

溴结构域蛋白4抑制剂JQ1在血管钙化中的作用及机制研究

赵俊勇,王泽澜,罗稳健,罗小林,刘 曦,秦浙学 (陆军军医大学第二附属医院心血管内科,重庆 400037)

[摘 要] **目的** 研究溴结构域蛋白4(BRD4)在血管钙化中的表达情况及其抑制剂JQ1对血管钙化的作用并探讨其潜在的机制。**方法** 大鼠血管平滑肌细胞(VSMCs)采用高磷培养诱导钙化,同时添加JQ1处理。采用钙含量测定、Alizarin Red及von Kossa染色评估细胞的钙化情况;使用Western blot检测BRD4、RUNX2以及ACSL4蛋白表达水平。C57BL/6J小鼠采用皮下注射VD_3诱导主动脉急性钙化,而后腹腔注射JQ1。采用钙含量测定、Alizarin Red染色评估小鼠主动脉钙化情况;使用Western blot检测BRD4及RUNX2蛋白表达水平。使用NCBI数据库中已发表的ChIP-seq数据分析JQ1对BRD4在ACSL4启动子区域上的富集程度的影响。**结果** 钙化VSMCs中BRD4的表达明显上调;JQ1在体内外均明显减轻了血管钙化,下调了BRD4、RUNX2的表达;JQ1明显减少了BRD4在ACSL4启动子区域的富集,抑制了ACSL4的转录活性。**结论** JQ1抑制血管钙化,可能与下调BRD4的表达进而降低了ACSL4的转录活性,最终抑制VSMCs铁死亡有关。

[关键词] 溴结构域蛋白4;JQ1;血管平滑肌细胞;血管钙化;铁死亡
[中图分类号] R543.1 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-11-06

Role and mechanism of the bromodomain-containing protein 4 inhibitor JQ1 in vascular calcification

ZHAO Jun-yong, WANG Ze-lan, LUO Wen-jian, LUO Xiao-lin, LIU Xi, QIN Zhe-xue (Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of bromodomain-containing protein 4 (BRD4) in vascular calcification, to evaluate the effect of its inhibitor JQ1 on vascular calcification, and to explore the underlying mechanisms. **Methods** Vascular smooth muscle cells (VSMCs) isolated from rats were cultured under high-phosphate conditions to induce calcification and then treated with JQ1. Calcification of the VSMCs was assessed via calcium content determination, Alizarin Red staining, and von Kossa staining. Protein expression levels of BRD4, RUNX2, and ACSL4 were determined by Western blot. The acute aortic calcification was induced in C57BL/6J mice through subcutaneous injection of VD_3, followed by intraperitoneal injection of JQ1. Aortic calcification of mice was evaluated through calcium content determination and Alizarin Red staining, and protein expression levels of BRD4 and RUNX2 were detected by Western blot. The effect of JQ1 on BRD4 enrichment at the ACSL4 promoter region was analyzed using published ChIP-seq data from the NCBI database. **Results** BRD4 expression was significantly upregulated in calcified VSMCs. JQ1 significantly alleviated vascular calcification both in vivo and in vitro, and downregulated the expression of BRD4 and RUNX2. Moreover, JQ1 significantly reduced BRD4 enrichment at the promoter region of ACSL4, thereby inhibiting ACSL4 transcriptional activity. **Conclusion** JQ1 inhibits vascular calcification. This effect may be mediated by downregulation of BRD4 expression, which subsequently reduces ACSL4 transcriptional activity and ultimately inhibits ferroptosis in VSMCs.

Keywords: bromodomain-containing protein 4;JQ1;vascular smooth muscle cells;vascular calcification;ferroptosis

血管钙化是羟基磷灰石在血管壁中的异常沉积导致血管硬化、弹性下降及血流动力学改变的病理过程,最终导致组织器官灌注下降及缺血的发生[1]。其常见于高龄、动脉粥样硬化、糖尿病以及慢性肾功能不全患者,是心血管不良事件的关键危险因素之一[2]。血管钙化根据发生部位的不同主要分为两种类型:内膜钙化和中膜钙化。内膜钙化主要出现在动脉粥样硬化性病变中,是由于血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs)的增殖、巨噬细胞的侵袭、脂质积累以及细胞外基质蛋白功能障碍所致[3]。中膜钙化则与衰老、糖尿病、高血压、骨质疏松症以及慢性肾病有关,其特征是VSMCs由收缩表型向成骨样表型分化[4]。近年来的研究表明,血管钙化是一个活跃、复杂且受严格调控的病理生理过程[5]。尽管血管钙化研究领域已取得显著进展,但其发生发展机制的复杂性严重阻碍了研究成果向有效治疗策略的转化。因此,深入探究血管钙化的潜在分子机制并开发新型治疗策略至关重要。

溴结构域蛋白4(bromodomain - containing protein 4,BRD4)属于表观遗传调控基因BET家族成员,其作为“乙酰化位点识别器”能够与乙酰化赖氨酸结合,并促

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0716)
[通信作者] 秦浙学,E-mail:zhexueqin@126.com

使染色质重塑因子和转录因子等相关蛋白富集于特定的基因转录位点,改变RNA聚合酶Ⅱ的活性,调节基因的转录表达[6]。BRD4的高表达在驱动多种肿瘤、炎症性疾病中起到重要作用[7]。JQ1作为一种选择性溴结构域抑制剂,能够通过与BRD4的溴结构域特异性结合阻断其生物学功能,在癌症及炎症性疾病治疗中表现出积极作用[8]。近年来,JQ1在心血管疾病中的作用亦受到广泛关注,包括抑制动脉粥样硬化、血管生成、内膜增生、肺动脉高压及心脏肥大等病理过程[9]。既往研究证实,另一种BET抑制剂Apabetalone可有效抑制血管钙化相关通路及分子[10]。然而,JQ1在血管钙化中的作用及其分子机制尚未阐明。本研究旨在深入探究JQ1在血管钙化中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD雄性大鼠(8周龄,体质量200~250 g)及C57BL/6J雄性小鼠(8周龄,体质量20~25 g)由陆军军医大学动物实验中心提供[动物生产许可证号:SCXK(渝)2022-0011]。动物于屏障环境中分笼适应性饲养1周后进行造模处理。饲养条件:温度(20±1)℃,湿度40%~50%,12 h明暗交替,饮食与饮水不限。本研究经陆军军医大学实验动物福利伦理委员会批准(批准号:AMUWEC20245285),所有动物饲养过程均符合相应卫生管理要求。

1.2 实验材料

胶原酶(批号:1148089)、弹力酶(批号:E7885)、VD_3(批号:C9756-1g)购自美国Sigma-Aldrich公司;青霉素-链霉素溶液(100X)(批号:C0222)、钙含量显色检测试剂盒(批号:S1063S)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号:P0010)、DMSO(批号:ST038)购自上海碧云天生物技术有限公司;胎牛血清(批号:10099-141)购自美国Gibco公司;低糖培养基(批号:G4520-500ML)、PBS(批号:G4202-500ML)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;SDS-PAGE凝胶快速制备试剂盒(批号:PG112)购自上海雅酶生物医药科技有限公司;(+)-JQ1(批号:HY-13030)、PEG300(批号:HY-Y0873)、吐温80(批号:HY-Y1891)购自美国MCE公司;BRD4(批号:83375)购自美国Cell Signaling公司;RUNX2(批号:SC-390351)购自美国Santa Cruz公司;ACSL4(批号:22401-1-AP)、GAPDH(批号:60004-1-Ig)购自武汉三鹰生物技术有限公司;山羊抗鼠二抗(批号:AS003)、山羊抗兔二抗(批号:AS014)、山羊抗鼠荧光二抗(批号:BS10015,Dylight 488)、山羊抗兔荧光二抗(批号:BS10034,Dylight 649)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠动物模型构建 C57BL/6J雄性小鼠分为Control组、VD_3组及VD_3+JQ1组,每组6只。实验前称取并记录每只小鼠的体质量。VD_3组和VD_3+JQ1组小鼠每日皮下注射VD_3 6×10^5 IU/kg,Control组小鼠注射相同剂量的溶剂(10% DMSO+40% PEG300+10%吐温80+40%双蒸水),连续注射3 d。而后VD_3+JQ1组小鼠按照每日50 mg/kg的剂量继续腹腔注射JQ1,其余2组注射相同剂量的溶剂(10% DMSO+40% PEG300+10%吐温80+40%双蒸水),连续注射3 d。继续普通饮食饲养2 d后将小鼠过量麻醉致死并取主动脉进行后续实验。

1.3.2 原代细胞分离与培养 无菌条件下取SD大鼠主动脉弓至胸主动脉血管,使用PBS冲洗,将剥离的主动脉置于2 mg/mL胶原酶溶液中,然后于37 ℃培养箱孵育30 min。孵育结束后将血管外膜剥离,并将中膜组织剪碎,置于0.5 mg/mL弹力酶溶液,然后于37 ℃培养箱消化,每30 min重悬1次,直至组织完全消化。将组织消化液移至离心管后置于水平离心机,以1 000 r/min离心5 min。将沉淀的细胞重悬并种植于细胞培养瓶中,使用含0.5%青霉素-链霉素的10%胎牛血清低糖培养基静置培养3 d,细胞贴壁后每2 d换液1次。待细胞融合度为80%~90%,使用胰蛋白酶消化细胞进行传代处理。选取第6~8代VSMCs进行后续实验。

1.3.3 细胞钙化模型 将细胞种植在6孔板培养皿中,用10%胎牛血清低糖培养基培养,每2 d换液1次。待细胞融合度为70%~80%时,更换无血清培养基饥饿处理24 h,然后根据细胞处理条件分组。对照组细胞用2%胎牛血清低糖培养基培养;高磷组及高磷+JQ1组细胞额外添加2 mmol/L磷酸盐,每2 d换液1次,每次换液前高磷+JQ1组细胞用0.5 μmol/L的JQ1预处理2 h,而后更换为高磷培养基继续培养。10~12 d后收集细胞进行后续实验。

1.3.4 Alizarin Red染色 取出拟进行染色的细胞培养皿,弃原培养基,用PBS轻轻清洗3次,弃去PBS后每孔加入1 mL的4%多聚甲醛,室温下固定15 min。固定后弃去多聚甲醛,加入双蒸水轻柔冲洗3次,向培养皿中加入Alizarin Red染色液完全覆盖细胞,于室温下染色30 min,可见钙盐沉积被染成红色结节。染色后弃染色液,沿皿侧壁缓慢加入双蒸水冲洗,直到清洗液基本无色,对染色后的培养皿拍照。

1.3.5 von Kossa染色 取出拟进行染色的细胞培养皿,弃原培养基,用PBS轻轻清洗3次,弃PBS后每

孔加入1 mL的4%多聚甲醛,室温下固定15 min。固定后弃多聚甲醛,加入双蒸水轻柔冲洗3次,向培养皿中加入von Kossa染色液(5% $AgNO_3$)完全覆盖细胞,紫外灯照射下染色15 min,可见钙盐沉积被染成黑褐色结节。染色后弃染色液,沿皿侧壁缓慢加入双蒸水冲洗3次,随后加入5%硫代硫酸钠($Na_2S_2O_3$)溶液中和反应,对染色后的培养皿进行拍照。

1.3.6 Western blot检测 将收集的细胞或组织样品使用RIPA Lysis Buffer裂解液充分裂解后制备成蛋白样品,使用BCA法测定每个样品蛋白浓度,确保电泳时上样量相同。制备10% SDS-PAGE凝胶,取适量蛋白样品上样,90 V恒压电泳20 min后,继续以120 V恒压电泳,直至溴酚蓝跑至凝胶下缘时终止电泳。而后400 mA恒流冰浴下转膜1.5 h,将蛋白转至PVDF膜。转膜结束后,使用TBST洗膜3次,每次5 min。使用5%脱脂奶粉室温摇床封闭PVDF膜1 h,TBST洗膜3次,分别加入BRD4(1∶1 000)、RUNX2(1∶100)、ACSL4(1∶2 000)、GAPDH(1∶5 000)一抗稀释液,4 ℃孵育过夜。孵育结束后TBST洗膜3次,每次10 min,加入山羊抗兔(1∶5 000)、山羊抗鼠(1∶5 000)二抗稀释液室温孵育1 h。二抗结合后TBST洗膜3次,每次10 min,预冷凝胶显影仪至-25 ℃,滴加配制好的ECL显影液进行曝光。条带灰度值使用Image J软件定量分析。

1.3.7 细胞免疫荧光检测 取出拟进行染色的细胞共聚焦培养皿,弃去皿内培养基,使用PBS轻柔冲洗3次,加入4%多聚甲醛覆盖全部细胞,室温下固定20 min后使用PBS轻柔冲洗3次。加入0.5% Triton X-100覆盖全部细胞于室温下通透30 min,然后使用PBS轻柔冲洗3次。加入免疫荧光染色封闭液覆盖细胞于室温下封闭30 min。封闭结束后加入配制好的BRD4(1∶200)、RUNX2(1∶50)一抗,于4 ℃冰箱内孵育过夜。孵育完毕后取出共聚焦培养皿,室温下复温30 min,使用PBS轻柔冲洗3次。加入山羊抗兔(1∶500)、山羊抗鼠(1∶500)荧光二抗,室温下避光孵育1 h,使用PBS轻柔冲洗3次。加入DAPI染色液染核15 min,弃染色液,使用PBS轻柔冲洗3次。共聚焦显微镜拍照观察。

1.3.8 钙含量检测 将需进行钙含量测定的细胞或组织用PBS清洗2次,加入等量提前配制好的0.6 mmol/L稀盐酸溶液,37 ℃恒温孵箱中孵育24 h,使钙结节和盐酸充分反应形成可溶性的氯化钙。24 h后将各组中的盐酸溶液全部吸至新的1.5 mL EP管中待用,使用钙含量试剂盒检测样品钙离子浓度,于575 nm波长处测量吸光度,根据结果制作标准曲线,计算每个样品的钙浓度。剩余的蛋白样品使用RIPA裂解液裂解后,采用BCA法于562 nm波长处测量样品的蛋白浓度。最后用钙离子浓度/蛋白浓度进行归一化处理,比较各组钙含量差异。

1.4 统计学分析

使用SPSS 26.0软件进行统计学分析,柱状图采用GraphPad Prism 9.5.1软件制作。采用*Shapiro-Wilk*检验评估数据的正态性,符合正态分布的计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用非配对双尾t检验;多组数据符合正态分布且方差齐,采用单因素方差分析。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 JQ1抑制VSMCs中BRD4的表达及钙化

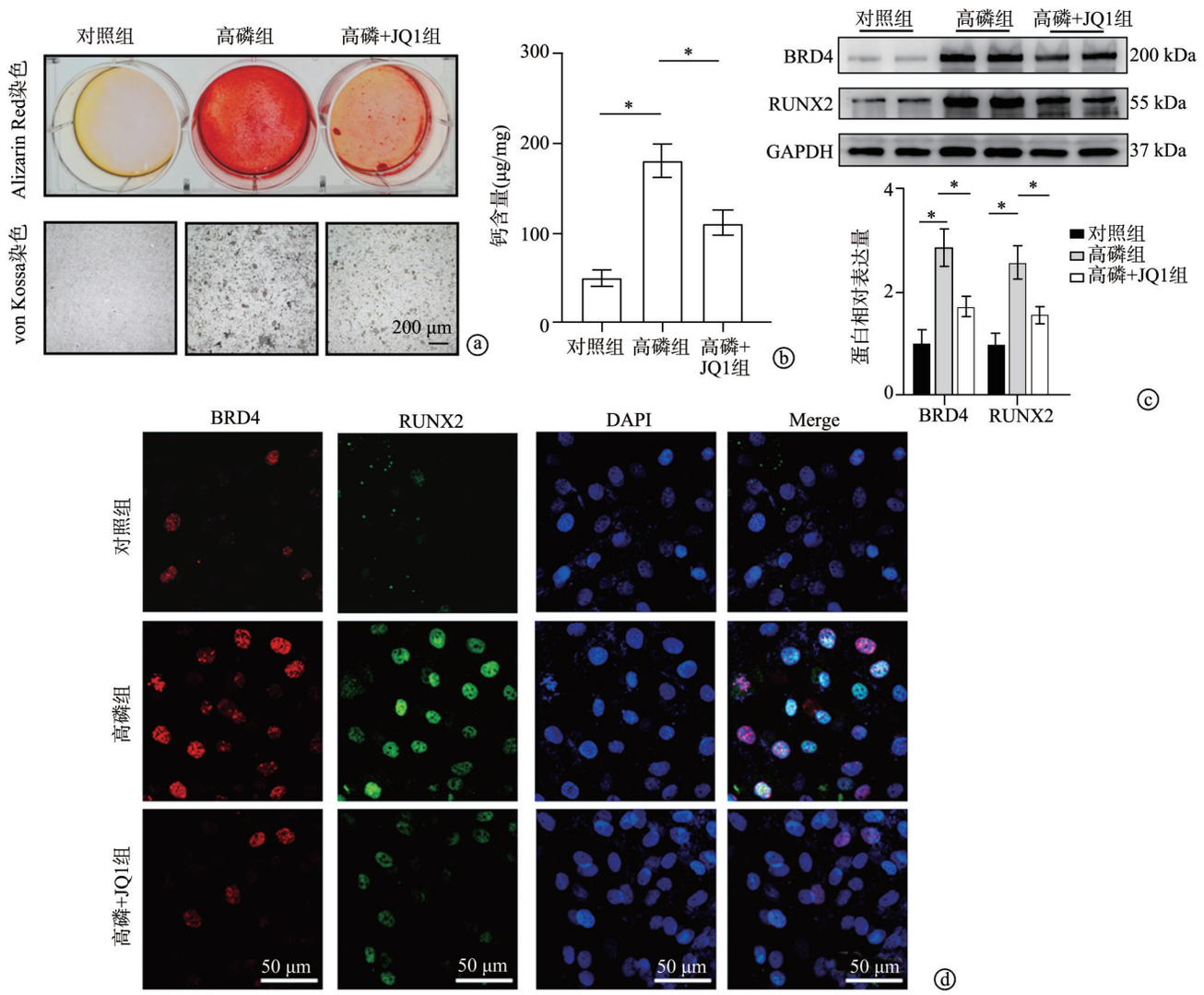
Alizarin Red染色及von Kossa染色结果显示,高磷组钙盐沉积明显增加,表明细胞钙化模型构建成功;使用JQ1处理高磷培养的VSMCs后,高磷+JQ1组相较于高磷组钙盐沉积明显减少(图1a)。对各组细胞钙含量进行测定,结果显示,高磷组细胞钙含量相较于对照组明显升高,高磷+JQ1组相较于高磷组细胞钙含量明显降低(图1b)。Western blot检测结果显示,高磷组细胞中BRD4以及钙化相关核心转录因子RUNX2表达明显高于对照组,而高磷+JQ1组相较于高磷组细胞中BRD4以及RUNX2表达均明显降低(图1c)。免疫荧光染色结果显示,高磷组细胞中BRD4以及RUNX2的荧光强度明显高于对照组,而高磷+JQ1组相较于高磷组细胞中BRD4以及RUNX2的荧光强度均明显降低(图1d)。以上结果说明,在高磷诱导的大鼠VSMCs离体钙化过程中BRD4的表达明显升高,而JQ1处理抑制了BRD4的表达及VSMCs钙化。

2.2 JQ1在体内抑制BRD4表达及血管钙化

使用JQ1处理VD_3诱导的小鼠主动脉急性钙化模型,Alizarin Red染色及von Kossa染色结果显示,VD_3+JQ1组相较于VD_3组小鼠主动脉钙盐沉积明显减少($P<0.05$),见图2a。钙含量测定结果显示,VD_3+JQ1组较VD3组小鼠主动脉钙含量明显降低($P<0.05$),见图2b。Western blot检测结果显示,VD_3+JQ1组RUNX2以及BRD4表达较VD_3组明显降低($P<0.05$),见图2c。以上结果说明,JQ1在VD_3诱导的小鼠主动脉急性钙化模型中抑制了BRD4的表达及血管钙化。

2.3 JQ1抑制铁死亡

Western blot检测结果显示,高磷组铁死亡相关核心分子ACSL4表达水平相较于对照组明显升高,高磷+JQ1组相较于高磷组ACSL4表达则明显降低(图3a)。本研究使用NCBI数据库中已发表的ChIP-seq数据(GSE219192)[11]进行分析,结果显示,JQ1处理明显减少



a:Alizarin Red染色及von Kossa染色检测VSMCs中钙盐沉积;b:VSMCs中钙含量检测;c:Western blot检测BRD4和RUNX2蛋白表达;d:免疫荧光染色检测BRD4和RUNX2表达 *:$P<0.05$

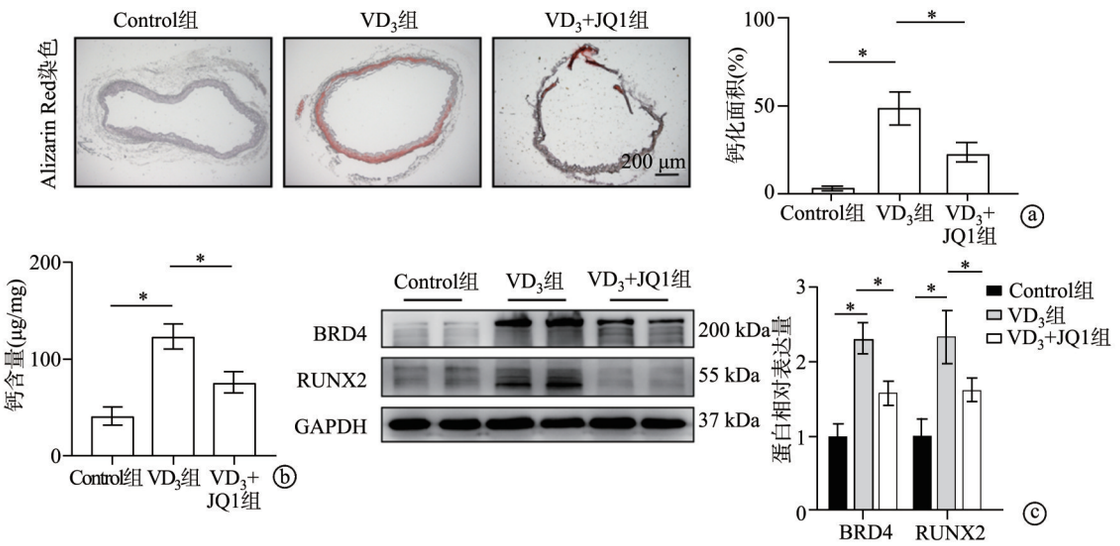
图1 JQ1抑制BRD4表达及VSMCs钙化

了BRD4在ACSL4启动子区域的富集(图3b)。以上结果说明,JQ1可能通过减少BRD4与ACSL4启动子的结合来抑制ACSL4的转录,从而抑制VSMCs铁死亡钙化。

3 讨论

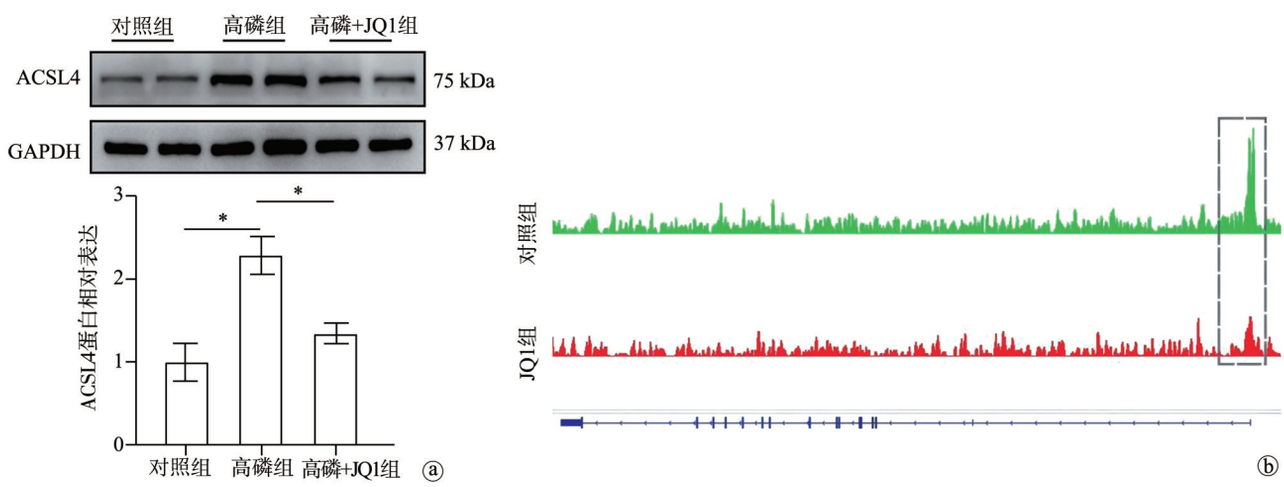
目前,血管钙化的发生率呈逐年增高趋势,其导致心血管疾病、慢性肾病、脑卒中等疾病的发生风险也在增加[11-12]。随着对血管钙化发生机制的深入认识及影像学技术的发展,血管钙化的检出率显著增加,但针对血管钙化的有效治疗方式仍然缺乏[13-14]。因此,深入探索血管钙化的发病机制、增加对血管钙化的认识以及寻找新的治疗靶点尤为重要。JQ1作为BRD4的选择性抑制剂可以有效阻止其与乙酰化的组蛋白或非组蛋白结合,进而干扰相关基因的表达。本研究通过高磷刺激模拟钙磷调节失衡诱导VSMCs钙化,证实了BRD4在VSMCs钙化过程中高表达,表明其可能参与了血管钙化这一病理过程。而使用JQ1处理后可以显著下调BRD4的表达水平并减轻VSMCs钙化。同时本研究构建了VD_3诱导小鼠主动脉急性钙化模型,并通过体内注射JQ1进一步探究其对血管钙化的作用,结果显示,JQ1同样可以在体内下调BRD4的表达并减轻血管钙化,表明JQ1很可能通过调控BRD4的表达水平来减轻血管钙化。

血管钙化的病理机制复杂,钙磷代谢紊乱、氧化应激和炎症等参与其中。既往研究表明,BRD4作为重要的表观遗传调控分子可以驱动NF-κB、IRF3、MAPK等炎症相关分子的高表达,而JQ1通过对BRD4的抑制作用在骨关节炎、结肠炎、氧化应激诱导的视网膜炎症等多种炎性疾病中起到治疗作用[15-17]。在心血管疾病中,BRD4是决定内皮细胞增殖、平滑肌细胞



a:Alizarin Red 染色检测小鼠主动脉组织中钙盐沉积;b:小鼠主动脉组织中钙含量检测;c:Western blot 检测小鼠主动脉组织中 BRD4 和 RUNX2 表达 *:$P<0.05$

图2 JQ1在体内抑制BRD4表达及血管钙化



a:Western blot 检测 VSMCs 中 ACSL4 表达;b:ChIP-seq 数据分析 BRD4 对 ACSL4 转录活性的影响 *:$P<0.05$

图3 JQ1抑制铁死亡相关基因ACSL4表达

表型和病理状态的关键因子。BET蛋白通过协调内皮细胞、平滑肌细胞、炎症细胞及心肌组织的转录程序以应对心脏、肺部和血管系统中常见的生理刺激[9]。有研究表明,肺动脉高压患者肺动脉平滑肌细胞中BRD4水平升高,并证实BET抑制剂能通过BRD4依赖性机制抑制肺动脉平滑肌细胞增殖并促进细胞凋亡,从而减缓肺动脉高压的进展[18]。另有研究发现,BRD4介导平滑肌细胞对血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ,Ang Ⅱ)的应答变化。这种由Ang Ⅱ激活的协调性转录程序,可通过腹腔注射JQ1进行阻断,从而缓解Ang Ⅱ诱导的高血压、动脉壁中层增厚及炎症反应[19]。既往研究发现,在原代冠状动脉血管平滑肌细胞的转分化与基质矿化过程中,BRD4蛋白在多种促钙化基因的染色质上的分布发生改变,且其抑制剂Apabetalone可以改变染色质结合状态[10]。这进一步佐证了本研究结果,即JQ1是通过下调BRD4的表达水平来调控血管钙化,JQ1可能作为血管钙化潜在的治疗药物。

铁死亡是一种铁依赖性的,区别于细胞凋亡、细胞坏死、细胞自噬的新型细胞程序性死亡方式。其特征为细胞内不受限制的脂质过氧化作用,这一过程主要依赖于活性氧、含多不饱和脂肪酸链的磷脂及铁积累的增加[20]。铁死亡已被证实在老年退行性疾病、肿瘤、脑卒中、脑出血、局部缺血-再灌注损伤等疾病中发挥重要作用[21]。ACSL4被认为是铁死亡过程中的关键促死基因,其调节细胞膜的磷脂组成,影响细胞对铁死亡的敏感性。ACSL4在铁死亡过程中的作用主要体现为通过催化花生四烯酰辅酶A的合成,触发磷脂过氧化反应,进而推动铁死亡进程[22]。本研究发现,

钙化条件刺激的VSMCs中ACSL4蛋白表达水平明显增高,而JQ1处理可以显著下调ACSL4蛋白表达水平。进一步通过对已发表的ChIP-seq数据分析BRD4对ACSL4的转录活性的影响,结果显示JQ1处理显著减少了BRD4在ACSL4转录启动子区域的结合,表明JQ1很可能是通过下调BRD4表达来抑制ACSL4的转录活性。已有研究表明,SLC7A11/谷胱甘肽/谷胱甘肽过氧化物酶4轴的抑制可以驱动VSMCs铁死亡,从而加重血管钙化[23],JQ1也可以通过NAMPT/SIRT1通路抑制铁死亡,减轻心肌梗死造成的心脏损伤[24]。我们有理由推测,JQ1可能通过抑制ACSL4这一铁死亡关键驱动分子来降低VSMCs对铁死亡的敏感性,从而减轻血管钙化。

综上,JQ1通过靶向BRD4抑制ACSL4的转录活性,从而抑制VSMCs铁死亡,进而减轻血管钙化。本研究首次提出JQ1能改善血管钙化,为临床血管钙化患者的治疗提供了潜在的靶点。本研究尚存在一些不足:JQ1对血管钙化的影响未在慢性肾病等慢性病模型中证实;JQ1对ACSL4的转录活性抑制未在钙化条件下进行实验证实,以及未对VSMCs钙化过程中的铁死亡机制进行深入阐述。我们将在后续研究中深入探究JQ1通过铁死亡途径抑制血管钙化的作用机制。

[参考文献]

[1] Leopold JA. Vascular calcification: mechanisms of vascular smooth muscle cell calcification[J]. Trends Cardiovasc Med, 2015,25(4):267-274. doi: 10.1016/j.tcm.2014.10.021.

[2] Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives[J]. Eur Heart J, 2014,35(23):1515-1525. doi: 10.1093/eurheartj/ehu163.

[3] Durham AL, Speer MY, Scatena M, et al. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness[J]. Cardiovasc Res, 2018,114(4):590-600. doi: 10.1093/cvr/cvy010.

[4] Lanzer P, Hannan FM, Lanzer JD, et al. Medial arterial calcification: JACC state-of-the-art review[J]. J Am Coll Cardiol, 2021,78(11):1145-1165. doi: 10.1016/j.jacc.2021.06.049.

[5] Wang Z, Gui Z, Zhang L, et al. Advances in the mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease[J]. J Cell Physiol, 2025,240(1):e31464. doi: 10.1002/jcp.31464.

[6] Guo J, Zheng Q, Peng Y. BET proteins: biological functions and therapeutic interventions[J]. Pharmacol Ther, 2023,243:108354. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108354.

[7] Zhang W, Li Y, Zhou MM, et al. Targeting BRD4 bromodomains and beyond: exploring new therapeutic frontiers[J]. Trends Pharmacol Sci,2026,47(1):15-39. doi: 10.1016/j.tips.2025.09.006.

[8] Schwalm MP, Knapp S. BET bromodomain inhibitors[J]. Curr Opin Chem Biol, 2022,68:102148. doi: 10.1016/j.cbpa.2022.102148.

[9] Borck PC, Guo LW, Plutzky J. BET epigenetic reader proteins in cardiovascular transcriptional programs[J]. Circ Res, 2020,126(9):1190-1208. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.315929.

[10] Gilham D, Tsujikawa LM, Sarsons CD, et al. Apabetalone down-regulates factors and pathways associated with vascular calcification[J]. Atherosclerosis,2019,280:75-84. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.11.002.

[11] Lu X, Peng L, Ding J, et al. A deregulated m^6A writer complex axis driven by BRD4 confers an epitranscriptomic vulnerability in combined DNA repair-targeted therapy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023,120(41):e2304534120. doi: 10.1073/pnas.2304534120.

[12] 黄 辉, 张爱华, 陈 靖, 等. 血管钙化研究进展和临床实践的共识与争议[J]. 生理学报, 2022,74:859-884. doi: 10.13294/j.aps.2022.0102.

[13] Nakahara T, Dweck MR, Narula N, et al. Coronary artery calcification: from mechanism to molecular imaging[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2017,10(5):582-593. doi:10.1016/j.jcmg.2017.03.005.

[14] 戴高月, 赵 衡, 唐德秋, 等. 糖尿病相关主动脉钙化斑块影像学研究进展[J]. 现代医药卫生, 2024,40(17):2995-3000. doi:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.17.026.

[15] Hao K, Jiang W, Zhou M, et al. Targeting BRD4 prevents acute gouty arthritis by regulating pyroptosis[J]. Int J Biol Sci, 2020,16(16):3163-3173. doi: 10.7150/ijbs.46153.

[16] Zou M, Ke Q, Nie Q, et al. Inhibition of cGAS-STING by JQ1 alleviates oxidative stress-induced retina inflammation and degeneration[J]. Cell Death Differ, 2022,29(9):1816-1833. doi: 10.1038/s41418-022-00967-4.

[17] Chen L, Zhong X, Cao W, et al. JQ1 as a BRD4 inhibitor blocks inflammatory pyroptosis-related acute colon injury induced by LPS[J]. Front Immunol, 2021,12:609319. doi: 10.3389/fimmu.2021.609319.

[18] Meloche J, Lampron MC, Nadeau V, et al. Implication of inflammation and epigenetic readers in coronary artery remodeling in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2017,37(8):1513-1523. doi:10.1161/ATVBAHA.117.309156.

[19] Das S, Senapati P, Chen Z, et al. Regulation of angiotensin Ⅱ actions by enhancers and super-enhancers in vascular smooth muscle cells[J]. Nat Commun, 2017,8(1):1467. doi: 10.1038/s41467-017-01629-7.

[20] Dixon SJ, Olzmann JA. The cell biology of ferroptosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024,25(6):424-442. doi: 10.1038/s41580-024-00703-5.

[21] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021,22(4):266-282. doi: 10.1038/s41580-020-00324-8.

[22] Ding K, Liu C, Li L, et al. Acyl-CoA synthase ACSL4: an essential target in ferroptosis and fatty acid metabolism[J]. Chin Med J (Engl),2023,136(21):2521-2537. doi:10.1097/CM9.0000000000002533.

[23] Ye Y, Chen A, Li L, et al. Repression of the antiporter SLC7A11/glutathione/glutathione peroxidase 4 axis drives ferroptosis of vascular smooth muscle cells to facilitate vascular calcification[J]. Kidney Int, 2022,102(6):1259-1275. doi: 10.1016/j.kint.2022.07.034.

[24] Yang M, Wang T, Shao J, et al. (+)-JQ-1 alleviates cardiac injury in myocardial infarction by inhibiting ferroptosis through the NAMPT/SIRT1 pathway[J]. Cell Death Dis, 2025,16(1):548. doi: 10.1038/s41419-025-07880-x.

(编辑:刘 艺)