

miR-33s 在 NF- κ B 抑制 ABCA1 表达 及胆固醇流出中的作用*

陈 筠^{1)**} 江 婷^{2)**} 李孟奇¹⁾ 赵国军^{1)***}

⁽¹⁾ 桂林医学院组胚教研室, 桂林 541004; ⁽²⁾ 桂林医学院教务处, 桂林 541004)

摘要 为探讨 miR-33s 在核因子 κ B(NF- κ B)抑制三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)表达及胆固醇流出中的作用, THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞经不同浓度脂多糖(LPS)处理, 活化 NF- κ B, 或以 PDTC(NF- κ B 抑制剂)预处理细胞后再加入 LPS, 实时荧光定量 PCR 检测细胞 miR-33s 及其宿主基因胆固醇调节元件结合蛋白(SREBPs)的表达, 蛋白质印迹法检测 SREBPs 的蛋白质表达, 染色体免疫共沉淀检测 NF- κ B p65 与 SREBPs 启动子区结合情况; LPS 处理基础上, 转染 miR-33s 抑制物或 miR-33s 模拟物, RT-PCR 检测 ABCA1 mRNA 表达水平, 蛋白质印迹法检测 ABCA1 蛋白水平, 液体闪烁计数器检测细胞内的胆固醇流出. 结果显示, NF- κ B 活化促进 miR-33s 及 SREBPs 的表达, 使用 PDTC 抑制 NF- κ B, 细胞内 miR-33s 和 SREBPs 的表达下降; NF- κ B p65 可与 SREBPs 启动子区直接结合; 转染 miR-33s 抑制剂后, NF- κ B 活化对 ABCA1 的抑制作用减弱, 胆固醇流出增强; 相反, 转染 miR-33s 抑制物, NF- κ B 活化对 ABCA1 的抑制作用增强, 胆固醇流出减弱. 结果提示, NF- κ B 活化可促进 miR-33s 表达, 抑制 ABCA1 及胆固醇流出.

关键词 miR-33s, 核因子 κ B, 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1, 胆固醇流出

学科分类号 R363, R5

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0407

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)能导致多种致死性心脑血管疾病, 严重危害人类健康. 巨噬细胞来源的泡沫细胞是 As 斑块脂质条纹期的标志, 抑制巨噬细胞脂质蓄积(泡沫化)是防治此类疾病的重要途径. 巨噬细胞胆固醇代谢稳态的失衡贯穿于泡沫细胞形成的整个过程, 胆固醇流出是调节巨噬细胞胆固醇动态平衡的关键环节^[1]. 胆固醇流出主要由三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)等膜蛋白介导, 且 ABCA1 介导的胆固醇流出量占总流出量的 70%以上^[2].

核因子 κ B(NF- κ B)信号途径在巨噬细胞炎症反应中起重要作用. NF- κ B 可被细胞外多种刺激因素如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等激活, 活化的 NF- κ B 进入核内, 通过与靶基因上 NF- κ B 反应元件(κ BREs)结合, 调控下游靶基因的转录^[3]. As 斑块处可见到活化的 NF- κ B, 且主要定位于巨噬细胞

和泡沫细胞中, 许多学者认为 NF- κ B 激活可能是心血管炎症疾病的共同发病环节, 抑制其活化是一个有效的治疗 As 策略^[4]. 然而, NF- κ B 调节炎症与脂质代谢的机制尚未完全阐明.

miR-33s 位于固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBPs)基因的内含子中, 在哺乳动物体内高度保守. miR-33s 参与体内胆固醇平衡的调节, 并通过与其宿主基因 SREBPs 一起调节胆固醇/脂质平衡^[5]. miR-33s 的主要靶基因是 ABCA1. 生物信息学分析发现在

* 国家自然科学基金项目(81660082)和广西高校中青年教师基础能力提升项目(KY2016LX597)资助.

** 并列第一作者.

*** 通讯联系人.

Tel: 18807734547, E-mail: zzhsu@163.com

收稿日期: 2017-11-01, 接受日期: 2018-03-26

SREBPs 的启动子区域存在 κ BRE(表 1), 提示 NF- κ B 可能通过直接结合 SREBPs 的启动子. 因此本研究观察 NF- κ B 活化对 miR-33s 及其宿主基因

SREBPs 的作用及机制, 并探讨 miR-33s 在 NF- κ B 活化调控 ABCA1 及胆固醇流出中的作用.

Table 1 Bioinformatics analysis of NF- κ B binding sites in the promoter region of SREBPs

Animals	Genes	Positions	Sequences	Factor name
<i>Homo sapiens</i>	SREBP2	-15~-6	GGGGAATCCC	NF- κ B
<i>Mus musculus</i>	SREBP2	-1293~-1284	GGGTATTCCC	NF- κ B
<i>Mus musculus</i>	SREBP2	-47~-38	GGGGAATTCT	NF- κ B
<i>Rattus norvegicus</i>	SREBP2	-1866~-1857	GGGAGCCCCT	NF- κ B
<i>Homo sapiens</i>	SREBP1	-90~-81	GGGGTCCCCC	NF- κ B
<i>Mus musculus</i>	SREBP1	-45~-36	GGGAAACCCC	NF- κ B
<i>Gallus gallus</i>	SREBP1	-646~-637	GGGGAACCCC	NF- κ B
<i>Rattus norvegicus</i>	SREBP1	-1909~-1900	GGGGAGTCCT	NF- κ B

The databases of transcriptional factors came from TRANSFAC 7 public. The binding sites of transcription factors were predicted by P-Match 1 program.

1 材料与方法

1.1 材料

人单核细胞株(THP-1)购于中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库; LPS 购自美国 Sigma 公司; [3 H]胆固醇购自 Perkin Elmer 公司; miR-33s 模拟物和抑制剂购自 Dharmacon 公司; 染色质免疫共沉淀试剂盒购自 Hyclone-Pierce 公司; Trizol 试剂盒购自美国 Gibco 公司; Reverse Transcription System 购自 Promega 公司; TaqMan microRNA assay 试剂盒(hsa-miR-33a/b)购自美国 Applied Biosystems; 核蛋白提取试剂盒购自 Pierce 公司; ABCA1、SREBP-1、SREBP-2 和 NF- κ B 兔抗人一抗购自 Santa Cruze 公司; 辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗购自武汉博士德公司.

1.2 方法

1.2.1 THP-1 单核细胞培养及分组

THP-1 用含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养液, 在 37℃、5% CO₂ 培养箱中静置培养. 在每次实验前用 160 nmol/L 佛波酯(PMA)孵育细胞 12 h, 使其诱导分化成巨噬细胞, 再用含 50 mg/L 的氧化型低密度脂蛋白(oxLDL)无血清培养基培养 48 h, 使其吞噬脂质形成巨噬细胞源性泡沫细胞. 检测抑制 NF- κ B 对 miR-33s 和 SREBPs 影响时, 细胞分为 3 组: 对照组、LPS 组和 LPS+PDTC 组. LPS 组加

10 μ g/L LPS 处理细胞 24 h, LPS+PDTC 组同时加 LPS 和 50 μ mol/L PDTC 处理细胞 24 h. 检测抑制或过表达 miR-33s 对 ABCA1 表达和胆固醇流出影响时, 细胞分 5 组: 对照组、LPS+对照组、LPS+miR-33a 抑制剂或模拟物组、LPS+miR-33b 抑制剂或模拟物组、LPS+(miR-33a+b)抑制剂或模拟物组. 使用 Oligofectamine 转染试剂转染 60 nmol/L miR-33a/b 抑制剂(inhibitor miR-33a/b)或 40 nmol/L miR-33a/b 模拟物(mimic miR-33a/b), 对照组使用 miR-33s 抑制剂或模拟物的乱序对照(Con Inh 或 Con Mim). (LPS+)各组中, miR-33s 抑制剂或模拟物及其对照在转染 24 h 后, 更换含 10 μ g/L LPS 的培养基再处理 24 h.

1.2.2 实时荧光定量 PCR

按试剂盒说明操作. 人 SREBP-2 引物序列: 上游 5' GGA GAA CAT GGT GCTGA 3', 下游 5' TAA AGG AGA GGC ACA GGA 3'; 人 SREBP-1 引物序列: 上游 5' CAG CCC CAC TTC ATC AAG G 3', 下游 5' ACT GTT GCC AAG ATG GTT CCG 3'; 人 ABCA1 引物序列: 上游 5' GGT TTG GAG ATG GTT ATA CAA TAG TTG T 3', 下游 5' CCC GGA AAC GCA AGT CC 3'. 反应结束后进行扩增曲线、溶解曲线分析及结果统计. 目的基因的表达量采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT}方法计算, miR-33a/b 的表达用 U6 做内参照, 其余用 β -actin 做内参照.

1.2.3 染色体免疫共沉淀分析

THP-1 巨噬细胞在室温中用 PBS 漂洗后, 加入终浓度为 1% 的甲醛, 室温孵育 10 min. 冰上裂解细胞, 收集裂解液于 1.5 ml 的 Ep 管冰上超声震动 3 次, 将染色体剪切成长约 0.2~1 kb 的片段. 加入兔抗人 NF- κ B p65 抗体或兔 IgG, 加入 20 μ l 悬浮的 protein A 磁珠, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜. 用磁力架把磁珠-抗体-染色体复合体分离, 彻底移除上清. 加入裂解缓冲液解交联 DNA 和蛋白复合体, 62 $^{\circ}$ C 振荡孵育 2 h, 95 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, 冷却后用磁力架分离磁珠, 将上清转移到一个新 EP 管内. 分离纯化 DNA 后, 样品用 RT-PCR 分析.

1.2.4 蛋白质印迹检测

收集处理后的细胞, PBS 洗涤 3 次, 用悬浮缓冲液裂解 10 min. 4 $^{\circ}$ C, 10 000 r/min 离心 10 min, 小心吸出上清液, 用 BCA 法进行蛋白质定量. 上清液按 4:1 加入 5 $\times$ SDS 凝胶加样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 孵育 10 min. 10% SDS-PAGE 电泳后电转移至 PVDF 膜上. 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 分别加入 SREBP1、SREBP2、ABCA1 和 β -actin 一抗, 4 $^{\circ}$ C 过夜, TBST 洗涤 30 min, 每 10 min 换液 1 次. 加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗涤 30 min, 每 10 min 换液 1 次. 用蛋白质印迹法荧光检测试剂盒显示于 X 光片.

1.2.5 细胞胆固醇流出率检测

细胞在含 0.2 mCi/L [3 H]-胆固醇的培养液中孵育 24 h. 按各实验分组的要求处理细胞后, 置含 0.1%(w/v)BSA 的培养基中培养 12 h, PBS 洗涤细胞, 再置含 25 mg/L 人血浆 apo A-I 的流出培养基中孵育 6 h. PBS 液洗涤细胞, 裂解细胞后, 用液体闪烁计数法检测培养液和细胞中的 [3 H]胆固醇. 胆固醇流出率用如下公式计算: 流出率=[培养液 cpm/(细胞 cpm+培养液 cpm)] $\times$ 100%.

1.2.6 统计学分析

实验所得数据采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示. 用 SPSS 13.0 进行统计处理, 两样本均数的比较采用 *t* 检验, 多样本组间均数比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 判定差异的显著性.

2 实验结果

2.1 NF- κ B 活化对细胞 miR-33s 和 SREBPs 表达的影响

采用 LPS 活化 NF- κ B, 观察 miR-33a 及其宿主基因 SREBP-2 和 miR-33b 及其宿主基因 SREBP-1 的 mRNA 表达变化. 结果显示, 随 LPS 浓度的增加, miR-33s 及其宿主基因 SREBPs 的表达逐渐增加(图 1). 使用 PDTC 抑制 NF- κ B 活化后, miR-33s 及其宿主基因 SREBPs 的 mRNA 表达明显下降(图 2a), SREBPs 的蛋白质表达也受到抑制(图 2b, c).

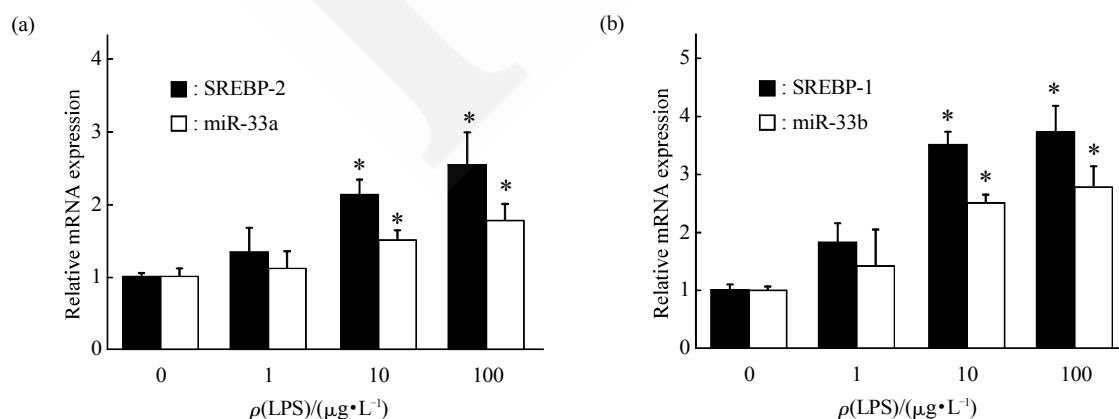


Fig. 1 The effects of NF- κ B activation on the expression of miR-33s and SREBPs mRNA in THP-1 macrophage derived foam cells

THP-1 macrophage-derived foam cells were treated with different concentrations of LPS (0, 1, 10, 100 μ g/L). The levels of miR-33a/SREBP-2 (a) and miR-33b/SREBP-1 (b) in THP-1 macrophage derived foam cells were measured by real-time PCR, respectively. The data are represented as the $\bar{x} \pm s$. $n=3$ in each group. * $P < 0.05$ vs the control group.

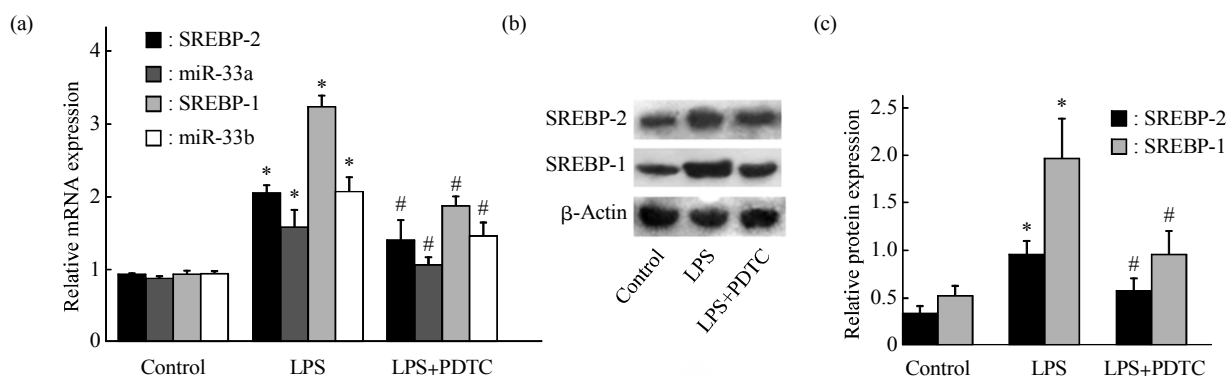


Fig. 2 The effects of NF- κ B inhibition on the expression of miR-33s and SREBPs in THP-1 macrophage derived foam cells
THP-1 macrophage-derived foam cells were treated with LPS or LPS+PDTC. (a) The levels of miR-33s and SREBPs mRNA in THP-1 macrophage derived foam cells were measured by RT-PCR. (b) The protein expression of SREBPs was detected by Western blot. (c) Histogram showed the SREBPs proteins expression determined by densitometric analysis respectively. The data were represented as the $\bar{x} \pm s$. $n=3$ in each group. $*P < 0.05$ vs the control group.

2.2 NF- κ B p65 与 SREBPs 启动子区直接结合

NF- κ B p65 可与 SREBPs 的启动子区直接结合, 加入 LPS 后, NF- κ B p65 与 SREBPs 启动子区

含 κ BRE 的结合更加显著(图 3), 提示 NF- κ B 在细胞内被激活后, 可直接结合至 SREBPs 的启动子区 κ BRE 部位, 进而促进 SREBPs 基因的转录。

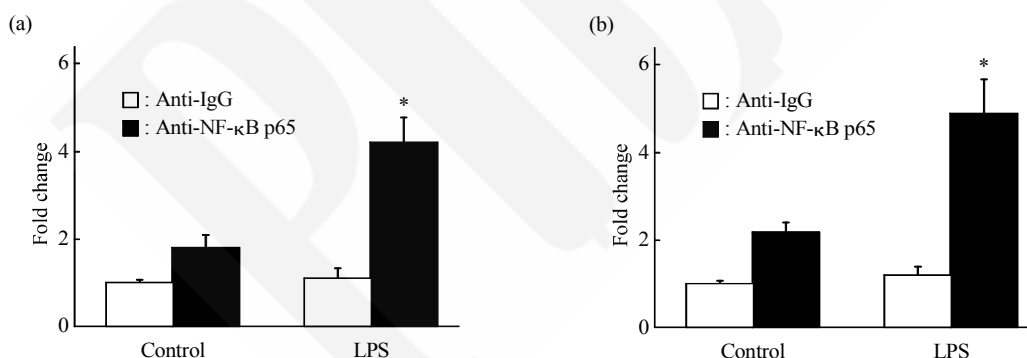


Fig. 3 Recruitment of NF- κ B to the κ BRE region of SREBPs promoter

Chromatin from THP-1 cells were analyzed for the recruitment of NF- κ B to the κ BRE region of SREBP-2 promoter (a) and SREBP-1 promoter (b) by ChIP as described in the Experimental Procedures. $*P < 0.05$ vs. control group

2.3 miR-33s 在 NF- κ B 活化诱导 ABCA1 表达抑制中的作用

加入 LPS 后, ABCA1 的 mRNA 和蛋白表达均明显下降, 使用 miR-33a/b 的抑制剂处理细胞后, NF- κ B 活化抑制 ABCA1 的作用减轻(图 4a~c), 转染 miR-33a/b 模拟物的细胞组, NF- κ B 对 ABCA1 的抑制作用进一步加重(图 4d~f)。

2.4 miR-33s 在 NF- κ B 活化诱导胆固醇流出抑制中的作用

液闪计数法检测显示, 与对照组比较, NF- κ B 活化可明显抑制巨噬细胞胆固醇流出, 加入 miR-33a/b 的抑制剂处理细胞后, apoA-I 介导的胆固醇流出得以部分恢复(图 5a), 转染 miR-33a/b 模拟物的细胞组, apoA-I 介导的胆固醇流出进一步受到抑制(图 5b)。

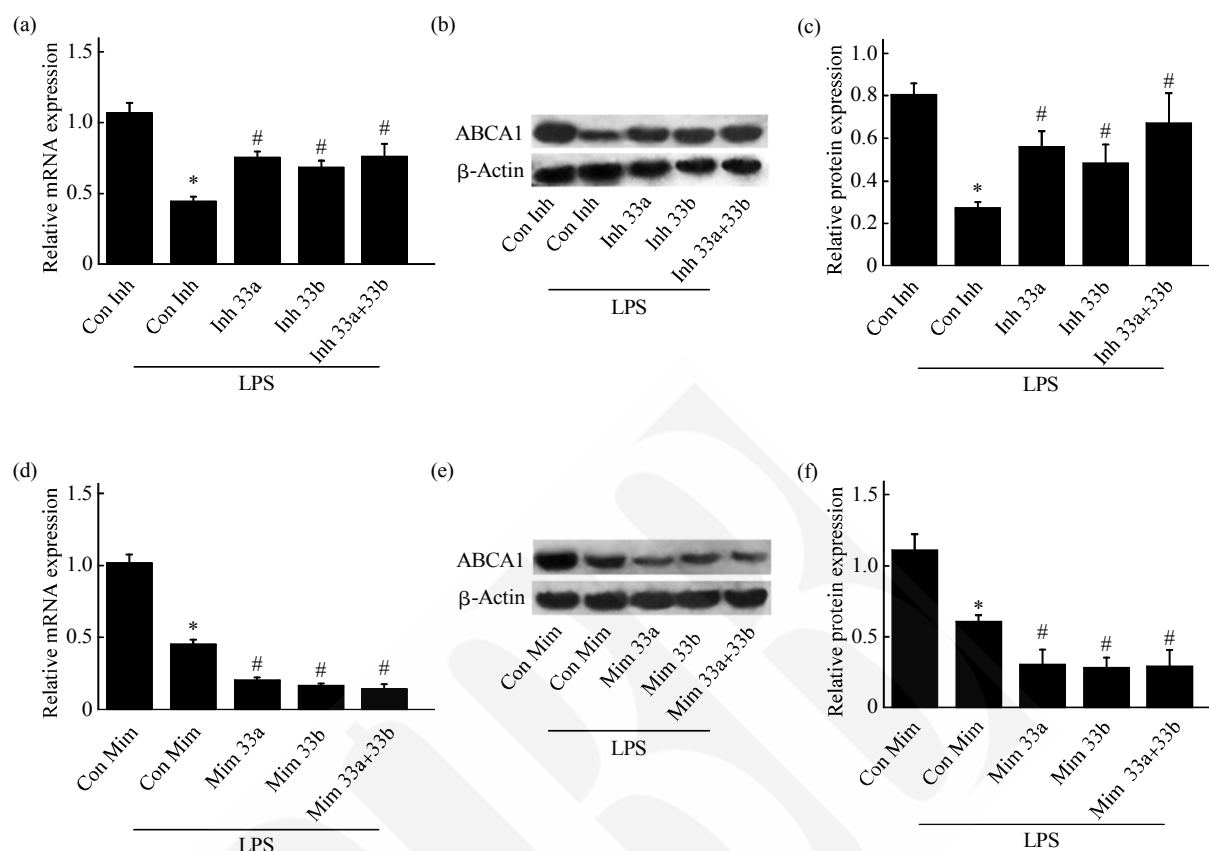


Fig. 4 The effects of miR-33s inhibition or overexpressing on ABCA1 suppression induced by NF- κ B activation

THP-1 macrophage-derived foam cells were treated with LPS, followed by treated with miR-33s inhibitor and miR-33s mimic, respectively. The levels of ABCA1 mRNA (a, d) were measured by RT-PCR and protein (b, e) by Western blotting assays. (c, f) Histogram showed the ABCA1 proteins expression determined by densitometric analysis respectively. The data were represented as the $\bar{x} \pm s$. Inh: Inhibitor; Mim: Mimic. $n=3$ in each group. * $P < 0.05$ vs the control group (Con Inh or Con Mim). # $P < 0.05$ vs. LPS group (LPS + Con Inh or LPS + Con Mim).

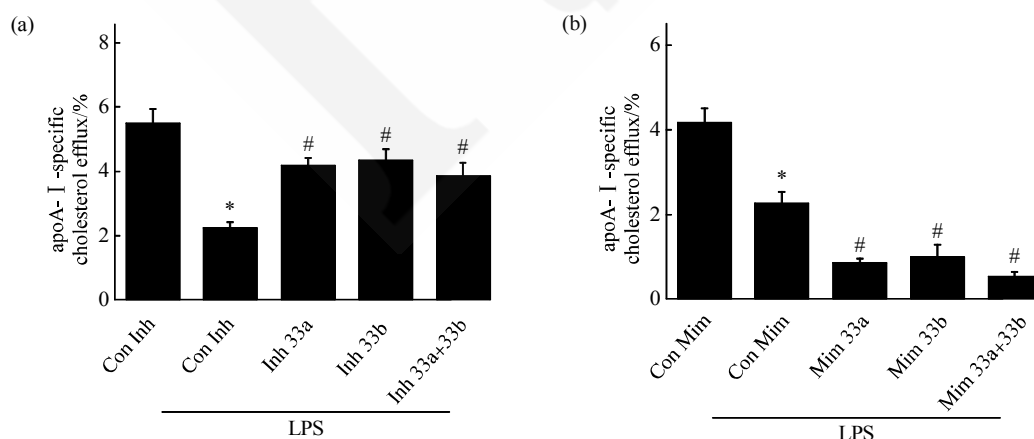


Fig. 5 The effects of miR-33s inhibition or overexpressing on the cholesterol efflux suppression induced by NF- κ B activation

THP-1 macrophage-derived foam cells were treated with LPS, followed by treated with miR-33s inhibitor (a) and miR-33s mimic (b), respectively. Cellular cholesterol efflux was analyzed by liquid scintillation counting assays as described in Methods. The data were represented as the $\bar{x} \pm s$. $n=3$ in each group. * $P < 0.05$ vs the control group (Con Inh or Con Mim). # $P < 0.05$ vs. LPS group (LPS + Con Inh or LPS + Con Mim).

3 讨 论

miRNAs 是一类高度保守的非编码小 RNA,

主要通过靶基因的 3' 非翻译区靶向结合, 在转录后水平降解靶基因 mRNA 或抑制蛋白质翻译。多项研究表明 miRNAs 参与调控脂质代谢及炎症因

子的表达,介导As的形成^[6]. miR-33s等miRNAs可调控机体脂代谢能力.抑制miR-33s的表达,低密度脂蛋白受体(LDLR)基因敲除小鼠As斑块面积减少^[7].深入探讨miRNAs在调控脂质代谢和As形成中的作用和机制,对于心脑血管疾病的防治具有重要的意义.miR-33s包含2个内含子miRNA亚型,miR-33a和miR-33b,分别由SREBP-2和1内含子编码.SREBPs是调节脂质代谢的重要转录因子.研究发现,当SREBPs被激活后,miR-33a和miR-33b被共转录,并参与到细胞胆固醇外流、高密度脂蛋白(HDL)合成、脂肪酸降解及胆汁酸盐合成的过程中^[8-9].本实验发现,NF- κ B活化可促进巨噬细胞miR-33s及其宿主SREBPs的表达升高,而抑制NF- κ B后,miR-33s和SREBPs的表达明显下降,说明炎症因素参与调控脂质代谢,影响As的发生发展.

SREBPs在心血管疾病发生发展中起重要作用,然而SREBPs在体内的调控机制还未完全阐明.生物信息学研究发现,在SREBPs的启动子中存在NF- κ B的潜在结合序列,本实验通过染色体免疫共沉淀显示NF- κ B可结合在SREBPs的启动子上,证实了生物信息学的推测,说明SREBPs是NF- κ B活化后的靶基因,其启动子上的 κ BRE是导致SREBPs表达的功能性顺式作用元件.NF- κ B是炎症调节中的重要转录因子,SREBPs是脂质代谢中的重要转录因子,二者之间的联系体现了炎症和脂质代谢之间的密切关系,炎症有可能通过调节体内脂质变化,从而影响As的发生发展.

miR-33s的主要靶基因是ABCA1.ABCA1是介导胆固醇流出最重要的膜转运体,研究表明,miR-33s可抑制ABCA1表达,减少细胞内胆固醇流出,导致泡沫细胞的形成,反之,下调miR-33s,细胞ABCA1表达升高,胆固醇流出增加,泡沫细胞的形成减少^[10-12].我们之前的研究发现,NF- κ B活化抑制ABCA1的表达以及胆固醇流出,但其机制不明^[13].本实验中,我们发现NF- κ B活化促进miR-33s及其宿主SREBPs的表达,进而调控ABCA1表达.进一步探讨miR-33s在NF- κ B活化抑制ABCA1及胆固醇流出中的作用,发现miR-33s抑制后,NF- κ B活化抑制ABCA1及胆固醇流出的作用减轻.相反,转染miR-33s模拟物后,NF- κ B对ABCA1和胆固醇流出的抑制作用进一步加重,这些都说明NF- κ B可通过改变miR-33s水平调控巨噬细胞ABCA1表达和胆固醇流出.

本研究揭示了NF- κ B活化后调节巨噬细胞功能的一种新的作用模式,在调控巨噬细胞炎症以外,NF- κ B活化还能抑制ABCA1表达和胆固醇流出,促进巨噬细胞脂质蓄积,其机制与NF- κ B活化调控miR-33s的表达有关.除了miR-33s外,miR-19b^[14]、miR-20s^[15]和miR-758^[16]等,都可以调节ABCA1的表达.NF- κ B能否通过激活这些miRNAs,并调控ABCA1,还需要具体的实验验证.总之,本实验深入研究了NF- κ B促巨噬细胞脂质蓄积的机制,有助于深入理解炎症在促As的重要作用,也为以NF- κ B-miR-33s途径为靶点抑制炎症和防治As提供了新的实验依据.

参 考 文 献

- [1] 路倩,陈五军,尹凯,等.动脉粥样硬化中胆固醇外流的研究进展.生物化学与生物物理进展,2012,39(4): 319-326
Lu Q, Chen W J, Yin K, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2012, 39(4): 319-326
- [2] Adorni M P, Zimetti F, Billheimer J T, *et al.* The roles of different pathways in the release of cholesterol from macrophages. J Lipid Res, 2007, 48(11): 2453-2462
- [3] Kim E J, Lewis D J, Duvic M. Novel mutations involving NF- κ B and B-cell signaling pathways in primary cutaneous large B-cell lymphoma, Leg-type and comparison with Sézary syndrome. J Invest Dermatol, 2017, 137(9): 1831-1833
- [4] Li H, Jiao Y, Xie M. Paeoniflorin ameliorates atherosclerosis by suppressing TLR4-mediated NF-kappaB activation. Inflammation, 2017, 40(6): 2042-2051
- [5] 陈五军,尹凯,赵国军,等. microRNAs——脂质代谢调控新机制.生物化学与生物物理进展,2011,38(09): 781-790
Chen W J, Yin K, Zhao G J, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2011, 38(09): 781-790
- [6] Laffont B, Rayner K J. microRNAs in the pathobiology and therapy of atherosclerosis. Can J Cardiol, 2017, 33(3): 313-324
- [7] Rayner K J, Sheedy F J, Esau C C, *et al.* Antagonism of miR-33 in mice promotes reverse cholesterol transport and regression of atherosclerosis. J Clin Invest, 2011, 121(7): 2921-2931
- [8] Davalos A, Goedeke L, Smibert P, *et al.* miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(22): 9232-9237
- [9] Zhang X, Fernandez-Hernando C. miR-33 regulation of adaptive fibrotic response in cardiac remodeling. Circ Res, 2017, 120(5): 753-755
- [10] Rayner K J, Esau C C, Hussain F N, *et al.* Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides. Nature, 2011, 478(7369): 404-407
- [11] Najafi-Shoushtari S H, Kristo F, Li Y, *et al.* microRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis. Science, 2010, 328(5985): 1566-1569
- [12] Rayner K J, Suarez Y, Davalos A, *et al.* MiR-33 contributes to the

- regulation of cholesterol homeostasis. *Science*, 2010, **328** (5985): 1570-1573
- [13] 曹冬黎, 尹凯, 莫中成, 等. 脂多糖通过核因子 κ B 途径下调泡沫细胞 ATP 结合盒转运体 A1 的表达. *生物化学与生物物理进展*, 2010, **37**(5): 540-548
- Cao D L, Yin K, Mo Z C, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(5): 540-548
- [14] Lv Y C, Tang Y Y, Peng J, *et al.* microRNA-19b promotes macrophage cholesterol accumulation and aortic atherosclerosis by targeting ATP-binding cassette transporter A1. *Atherosclerosis*, 2014, **236**(1): 215-226
- [15] Liang B, Wang X, Song X, *et al.* microRNA-20a/b regulates cholesterol efflux through post-transcriptional repression of ATP-binding cassette transporter A1. *Biochim Biophys Acta*, 2017, **1862**(9): 929-938
- [16] Mandolini C, Santovito D, Marcantonio P, *et al.* Identification of microRNAs 758 and 33b as potential modulators of ABCA1 expression in human atherosclerotic plaques. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2015, **25**(2): 202-209

The Role of miR-33s in ABCA1 Expression and Cholesterol Efflux Suppression Induced by Nuclear Factor-kappaB*

CHEN Jun^{1)**}, JIANG Ting^{2)**}, LI Meng-Qi¹⁾, ZHAO Guo-Jun^{1)***}

⁽¹⁾ Department of Histology and Embryology, Guilin Medical University, Guilin 541004, China;

⁽²⁾ Dean's Office, Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

Abstract To investigate the role of miR-33s in the inhibition of ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression and cholesterol efflux induced by NF- κ B, THP-1 macrophage-derived foam cells were treated with different concentrations of LPS to activate NF- κ B with or without PDTC (NF- κ B inhibitors), the mRNA expression of miR-33s and its host gene SREBPs were detected by RT-PCR, the proteins expression of SREBPs were detected by Western blot, the binding capacities of NF- κ B p65 to SREBPs promoters were detected by chromatin immunoprecipitation. After cells were treated with LPS, miR-33s inhibitor or mimic were transfected, ABCA1 mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western blot, respectively. The cholesterol efflux was detected by liquid scintillation counter. The results showed that expression of miR-33s and SREBPs were increased by NF- κ B activation and decreased by adding PDTC. NF- κ B p65 could directly combine with the SREBPs promoter. After transfected with miR-33s inhibitor, the inhibitory effect of NF- κ B activation on ABCA1 expression was weakened, and cholesterol efflux was increased. On the contrary, the inhibitory effect on ABCA1 strengthened and cholesterol efflux decreased after transfected by miR-33s mimic. These results suggested that NF- κ B activation could promote miR-33s expression, inhibit ABCA1 expression and cholesterol efflux.

Key words miR-33s, nuclear factor-kappa B, ATP-binding cassette transporters A1, cholesterol efflux

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0407

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81660082) and Project of Improving Basic Skills of Young Teachers in Guangxi Colleges and Universities (KY2016LX597).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-18807734547, E-mail: zzhsu@163.com

Received: November 1, 2017 Accepted: March 26, 2018