

## cGAS-STING 在肿瘤转移中的研究进展

屠书梅<sup>1,2</sup>, 刘玉萍<sup>1,2</sup>, 陈彦<sup>1,2\*</sup>

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028;  
2. 江苏省中医药研究院, 中药组分与微生态研究中心, 江苏 南京 210028)

**摘要:** 环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶 (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)-干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon gene, STING) 信号通路是细胞质内一条重要的免疫应答通路, 通过识别胞浆 DNA 调节起始免疫和适应性免疫应答。研究表明, 来自肿瘤自身的 DNA 和基因组不稳定性都能够激活 cGAS-STING 通路, 促进或抑制肿瘤的发展及转移。本文主要从 cGAS 和 STING 的结构功能特点、通路转导调节、抑制剂/激动剂研究现状及其在肿瘤发生发展及转移中的作用等方面进行系统阐述, 为临床开发靶向 cGAS-STING 的抗肿瘤新药提供理论依据, 为肿瘤临床及肿瘤研究工作者提供参考。

**关键词:** cGAS-STING; DNA; 肿瘤; 肿瘤转移; 免疫; 激动剂; 抑制剂

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)03-0398-09

## Research progress of cGAS-STING in tumor metastasis

TU Shu-mei<sup>1,2</sup>, LIU Yu-ping<sup>1,2</sup>, CHEN Yan<sup>1,2\*</sup>

(1. *Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;* 2. *Multi-component of Traditional Chinese Medicine and Microecology Research Center, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China*)

**Abstract:** Cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)-stimulator of interferon gene (STING) signaling pathway as an essential immune response pathway in cytoplasm, can find cytoplasmic DNA to regulate the innate immune and adaptive immune response. Studies have shown that the signaling pathway can be activated by both tumor self-DNA and genomic instability, thus to promote or inhibit the development and metastasis of tumors. Therefore, the role of cGAS-STING in tumor genesis, development and metastasis will be systematically expounded from the structures, physiological functions, inhibitors and agonists of cGAS and STING as well as its pathway transduction regulation in this paper. The paper aims to offer theoretical basis and reference for targeting cGAS-STING anti-tumor drugs in clinical practice and cancer clinical and cancer research workers.

**Key words:** cGAS-STING; DNA; tumor; metastasis; immune; agonist; inhibitor

环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激因子 (cGAS-STING) 通路在识别微生物 DNA 后诱导 I 型干扰素 (interferon, IFN) 和炎症细胞因子的产生, 介导

抗微生物先天免疫。最近的研究表明, cGAS-STING 通路也参与调控癌症形成的过程。肿瘤来源的 DNA, 如死亡肿瘤细胞的 DNA、微核、胞质染色质片段、游离端粒 DNA 等, 可以激活 cGAS-STING 通路, 诱导细胞衰老、炎症和抗肿瘤免疫, 对肿瘤的发生具有不同的作用<sup>[1-7]</sup>。

环鸟嘌呤腺嘌呤 (cyclic GMP-AMP, cGAMP) 由 cGAS 催化生成, 激活下游 STING, 是 cGAS-STING 通路的中间介导体。它属于环二核苷酸 (cyclic dinucleo-

收稿日期: 2019-09-06; 修回日期: 2019-10-18.

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (81903858); 江苏省卫生健康委医学科项目面上项目 (H2019097); 江苏省自然科学基金青年科学基金资助项目 (BK20171097).

\*通讯作者 Tel: 86-25-85608672, E-mail: ychen202@hotmail.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0721

tide, CDNs)。研究表明,小鼠结肠、乳腺、皮肤肿瘤内注射 cGAMP 后能够起到明显的抗肿瘤效应<sup>[8-10]</sup>。然而,亦有部分研究发现肿瘤细胞可以通过高表达 STING 促进其生长和转移,如在小鼠 LLC 肺腺癌模型中,过表达 STING 能够促进肿瘤生长<sup>[11]</sup>;舌鳞状细胞癌通过高表达 STING 招募 Treg 细胞介导免疫逃逸,促进病程发展,同时高表达 STING 患者预后往往较差<sup>[12]</sup>。因此,STING 可能是一个双向调节因子介导肿瘤的发生发展。本综述重点介绍了最近关于 cGAS-STING 通路在抑制和促进肿瘤发生发展及转移的发现。

## 1 cGAS 及 STING 的结构与生理功能

### 1.1 cGAS 的结构特点

cGAS 又称 C6ORF150 或 MB21D1,是一种分子质量在 60 kDa 的蛋白质,由大约 130~150 个残基组成的非结构、不保守的氨基末端延伸,随后是一个高度保守的属于核苷酸转移酶 (NTase) 超家族的 Mab21 结构域。N-末端 1~212 位残基是结合 dsDNA 必需的,这个区域可能包含两个不同的 DNA 结合域。C-末端 213~522 位残基含有部分核苷酸转移酶 (NTase) 基序和 Mab21 结构域,并在从斑马鱼到人类的不同生物中高度保守。这些区域对于形成结合 cGAS 底物 GTP 和 ATP 的催化口袋并进行必要的环化反应是必需的<sup>[13,14]</sup>。

### 1.2 cGAS 生理学功能

cGAS 是一种 DNA 感受器,存在于胞浆中,能够通过带正电荷的氨基酸残基与带负电荷的 DNA 磷酸主链相互作用。cGAS 与异常出现在胞质的 DNA 直接结合后,cGAS 二聚体化,并经历构象变化,打开催化核苷酸结合口袋,允许 GTP 和 ATP 进入,催化 ATP 和 GTP,催化 GMP 的 2'OH 和 AMP 的 5'磷酸,AMP 的 3'OH 和 GMP 的 5'磷酸盐之间分别形成 2'-5'和 3'-5'磷酸二酯键,最终产生 2'3'-cGAMP。

2'3'-cGAMP 是由陈志坚和他的同事<sup>[15]</sup>通过收集不同类型 DNA 转染细胞的胞浆提取物时发现的。通过基因沉默技术沉默小鼠纤维肉瘤细胞系 L929 的 STING 基因,然后将不同种类的双链 DNA 转染该细胞系,收集细胞提取物,采用亲和层析法分离,并通过液相色谱分析法鉴别出这种 STING 激活剂,即环 GMP-AMP (cGAMP)。cGAMP 作为第二信使,与 STING 结合,触发干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF-3) 的激活,IRF-3 导致 I 型干扰素- $\beta$  的转录。另外,RNA 不能激活 cGAS 产生 2'3'-cGAMP。

### 1.3 STING 的结构特点

STING 又称 ERIS/MYPS/MITA,是一个由 TMEM173 基因编码的多功能接头蛋白<sup>[16,17]</sup>,由 378 个

氨基酸构成,其 N 端区域 (1~154 位残基) 包含 4 个跨膜结构域,将 STING 锚定在内质网上;C 端包括二聚化结构域、环二核苷酸相互作用域,以及与 TANK 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 相互作用和激活的结构域。结构生物学研究提出了 STING 的激活模型,在静息状态下,STING 呈现蝴蝶状二聚体的形式,其处于自抑制失活状态。一个环二核苷酸分子可以通过广泛的疏水相互作用以及氢键结合至 STING 二聚体的中心缝隙处<sup>[18]</sup>,在与 2'3'-cGAMP 结合后,STING 经历了一个重要的构象变化 (向内旋转约 20 Å),并包围 cGAMP<sup>[19]</sup>。

### 1.4 STING 的生理学功能

STING 与 2'3'-cGAMP 或其他 CDNs (来自细菌的 c-di-GMP、c-di-AMP 和 3'3'-cGAMP) 结合后,STING 发生二聚反应,构象改变,通过高尔基体从内质网转运至核周微粒体。STING 可激活 TBK1 并磷酸化下游转录因子 IRF-3 (诱导 I 型 IFN 反应)、信号传导和转录激活因子 6 (signal transduction and activator of transcription 6, STAT-6),诱导 CCL2 和 CCL20 等趋化因子。STING 还可通过 I $\kappa$ B 激酶 (IKK) 的活性激活核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 转录因子。新的研究表明,除了通过结合 cGAMP 而被激活,STING 还可以被其他细胞浆 DNA 感受器蛋白所激活,这些蛋白包括 DDX41、DAI 和 IFI16 等<sup>[20-22]</sup>。STING 也可刺激自噬体形成相关标志 LC3 斑点的形成<sup>[23,24]</sup>。此外,cGAS 和 STING 受到翻译后修饰,并与其他蛋白相互作用的广泛调控<sup>[21]</sup>,如磷酸化、泛素化、棕榈酰化等,这可能说明该通路紧密调控的重要性。

## 2 cGAS-STING 信号通路转导

cGAS-STING 信号通路是一种免疫应答通路,参与胞质 DNA 介导的固有免疫反应。cGAS 作为 DNA 感受器,可识别细菌、病毒和肿瘤细胞产生的双链 DNA,进而产生 2'3'-cGAMP。cGAMP 结合并激活 STING,改变其构象,招募 TBK1,然后磷酸化 IRF3。磷酸化的 IRF3 进入细胞核,诱导 I 型 IFN 和其他与免疫调节相关的细胞因子产生。I 型 IFN 是连接先天免疫和适应性免疫发挥抗肿瘤免疫的重要桥梁,因为肿瘤微环境中抗原提呈树突状细胞产生 I 型 IFN,不仅可以激活固有免疫,同时促进 T 细胞的交叉浸润渗透,而且 cGAMP 并不受限于固有的细胞信号转导方式,可以通过缝隙连接介导的信号转导产生更广泛的区域免疫应答。

## 3 cGAS-STING 通路在肿瘤中的作用

### 3.1 促进肿瘤的发展

cGAS-STING 通路的激活促进了肿瘤的发展。慢

性刺激 cGAS-STING 通路可能导致炎症驱动的癌变。例如, 7,12 二甲基苯 (a) 蒽 (7,12-dimethylbenz[a]anthracene, DMBA) 是一种致癌物质, 可导致核小体释放到细胞质中, 从而触发 STING 的激活, 促进小鼠皮肤肿瘤的发生, 而 STING 缺陷的小鼠对 DMBA 诱导的皮肤癌具有抵抗性<sup>[25]</sup>。

最近的一项研究报道, cGAS 过表达增强了肺癌模型的双链 DNA 损伤, 导致其基因组不稳定, 诱导恶性转化, 刺激体外增殖, 加速肺癌细胞在体内的生长<sup>[26]</sup>。Ye<sup>[27]</sup>通过对 STING 在肺腺癌发生发展中的作用及初步机制的研究, 同样发现 STING 异常高表达能够显著促进肺腺癌细胞的生长增殖能力。宿主 cGAS-STING 通路在 Lewis 肺癌 (LLC) 诱导肿瘤生长过程中也有类似的作用<sup>[28]</sup>。

### 3.2 抑制肿瘤作用

肿瘤细胞中激活的 cGAS-STING 通路促进了抗肿瘤作用。Woo 等<sup>[1]</sup>发现抗原提呈细胞中的 cGAS-STING 通路负责肿瘤应答, 产生 I 型干扰素和引起 T 细胞激活, 从而引起肿瘤消退。Li 等<sup>[29]</sup>同样在结肠腺癌模型中, 发现使用 STING 激活剂激活树突细胞 (dendritic cell, DC), 促进提呈抗原对 CD8<sup>+</sup> T 细胞发挥抗肿瘤作用, 而 STING 缺陷的小鼠显著抑制 cGAMP 的抗肿瘤效果。在抗原性肿瘤中, 辐照导致的 DNA 损伤会激活 STING 信号调控的起始免疫应答<sup>[30]</sup>, 而 STING 敲除会极大影响辐照的肿瘤治疗效果; 在辐照治疗时加入 cGAMP 表现出更好的辐照效果<sup>[31]</sup>。5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸 [2-(5,6-dimethyl-9-oxoxanthene-4-yl) acetic acid, DMXAA] 是小鼠 STING 的直接配基。体内实验结果表明, DMXAA 能显著减少肿瘤体积, 且能抵抗同种肿瘤细胞的再次入侵, 还可抑制腹侧未给药部位的肿瘤生长, 这些作用都依赖于 STING 的存在<sup>[32]</sup>。

此外, 由偶氮甲烷/葡聚糖硫酸钠 (azomethane/dextran sodium sulfate, AOM/DSS)<sup>[33]</sup>诱导的大肠杆菌相关肿瘤小鼠模型中, 也观察到 STING 的抗肿瘤作用。AOM 触发 DNA 损伤, 并通过 STING 信号通路诱导炎症细胞因子基因的表达。STING 敲除的小鼠经 AOM/DSS 处理后, 结肠表现出明显的炎症细胞的浸润及腺癌的发展。这些发现表明, 缺乏 cGAS 或 STING 的宿主骨髓源性树突状细胞中肿瘤 DNA 先天免疫传感缺陷会破坏肿瘤浸润性 CD8<sup>+</sup> T 细胞的生成。因此, DC 中宿主 cGAS-STING 通路的激活和 I 型 IFN 诱导可促进肿瘤抗原交叉表达, 激活 T 细胞以控制肿瘤。

胞质 DNA 激活 cGAS-STING 通路在细胞衰老中发挥一定作用, 这是一种显著的肿瘤抑制机制。各种应激状态导致细胞进入衰老状态, 细胞周期处于不可

逆的停滞状态<sup>[34,35]</sup>。在大气 O<sub>2</sub> 水平培养小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblast, MEFs) 可诱导细胞衰老。有趣的是, 在 cGAS 和 STING 缺乏的 MEFs 中<sup>[5]</sup>, 细胞增殖加速, 衰老表型减弱<sup>[4,5]</sup>。此外, cGAS-STING 通路还可促进 MEFs 和原代人成纤维细胞对氧化应激、基因毒性应激、辐照和癌基因表达的衰老反应<sup>[4,5]</sup>。衰老细胞中 cGAS-STING 通路的激活与核层蛋白 lamin B1 的丢失及 cGAS 识别异常的胞质染色质片段有关<sup>[5,6]</sup>。因此, cGAS-STING 通路介导 I 型 IFNs 和衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 因子的产生, 促进衰老。值得注意的是, cGAS-STING 通路还促进 SASP 因子的体内生产, 以及辐射和致癌 Ras 蛋白诱导的衰老。这些研究表明, cGAS-STING 通路的激活可能通过诱导细胞衰老抑制癌症的发展。

STING 激动剂的作用可能不局限于促进免疫检测和诱导细胞衰老抑制癌症的发展, 也可以促进癌细胞的直接凋亡。Tang 等<sup>[36]</sup>在慢性淋巴细胞血管病的 Eμ-TCL1 小鼠中注射 STING 激动剂 3'3'-cGAMP, 发现可诱导细胞凋亡。Liang 等<sup>[12]</sup>发现 STING 的激活促进宫颈癌细胞株的凋亡。STING 的激动剂通过激活 STING 则可有效释放 T 细胞并摧毁癌细胞, 显示出在肿瘤免疫治疗中的巨大潜力。

### 3.3 在肿瘤转移中的作用

虽然 STING 参与肿瘤的发生发展, 但是 STING 在肿瘤迁移和转移中的作用少有研究报道。早期研究发现, 单核细胞被李斯特菌单细胞基因感染后, 可通过 STING 诱导 MCP-1 和 MCP-3 的产生, 使单核细胞向肝脏迁移, 而 MCP-1 和 MCP-3 的产生与 I 型 IFNs 无关<sup>[37]</sup>。这说明 STING 可能在诱导免疫细胞迁移中起重要作用。然而, STING 对肿瘤细胞迁移和转移的影响似乎不同。

**3.3.1 抑制肿瘤转移** 肿瘤细胞中 STING 的激活, 至少在乳腺癌环境中可通过 NF-κB 信号诱导细胞死亡, 有效地限制了它们的迁移和转移。STING 在乳腺癌细胞株 MCF-7 中表达下调, 而在表达上调细胞系导致细胞迁移减少<sup>[38]</sup>, 说明 STING 可能抑制乳腺癌细胞<sup>[39]</sup>的迁移和转移。但是, 基本机制仍有待确定, 可能与 NF-κB 有关<sup>[39]</sup>。同样, STING 沉默导致胃癌细胞<sup>[40]</sup>的迁移和侵袭增多, 并且 STING 敲除抑制了胃癌中胞质 DNA 的感受和 cGAMP 的活性。此外, 与野生型小鼠相比, 接种的小鼠黑色素瘤细胞在 STING 敲除的小鼠体内<sup>[41]</sup>更容易发生肺转移。这可能与交叉传递树突状细胞中 STING 激活而产生 I 型 IFN, 导致肿瘤特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞的自发诱导和肿瘤排斥有关。

**3.3.2 促进肿瘤转移** STING 可通过免疫性调节引

咪胺 2,3-双加氧酶 (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) 促进肿瘤生长, IDO 可被 STING 激活<sup>[28]</sup>。IDO 能催化 L-色氨酸转化为 N-甲酰犬尿氨酸, 促进肿瘤细胞免疫逃逸并限制 T 细胞增殖<sup>[42]</sup>。值得关注的是, IDO 的表达在肿瘤引流淋巴结中升高, 并且 STING 和 IDO 同时缺陷的小鼠更能抵抗 LLC 的远处转移。cGAS-STING 信号的激活也会刺激 PD-L1 在癌细胞中表达, 从而介导癌细胞的免疫逃逸<sup>[38]</sup>。Chen 等<sup>[43]</sup>发现, 人类和小鼠的乳腺癌和肺癌细胞可以表达原钙黏蛋白 7 (procadherin 7, PCDH7), 促进由连接蛋白 43 组成的癌-星形胶质细胞间隙连接的形成。一旦与星形胶质细胞间隙连接, 癌细胞传输第二信使 cGAMP 到星形胶质细胞中, 激活 STING 通路并产生炎症细胞因子干扰素- $\alpha$  (interferon- $\alpha$ , IFN $\alpha$ ) 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )。作为旁分泌信号, 这些因素激活信号传导与转录激活因子 1 (signal transduction and activator of transcription 1, STAT1) 和 NF- $\kappa$ B 通路, 从而促进脑转移。同时, 敲低星形胶质细胞中 STING 的表达, 可抑制 IFN $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  的产生。Bakhom 等<sup>[44]</sup>发现染色体不稳定性通过维持肿瘤细胞对胞质 DNA 的自主反应来促进转移。染色体不稳定的癌细胞会产生大量 DNA 碎片通过微核分泌到细胞质中, 一旦细胞质内

出现 DNA 碎片, 就会激活 cGAS-STING 通路, 但随后不会激活经典的 NF- $\kappa$ B 通路。相反, cGAS-STING 通路会激活非经典的 NF- $\kappa$ B 通路, 促使 p52 基因的表达, 使癌细胞的基因表达特征与骨髓先天性免疫细胞具有某些相似性, 并且可逃避 T 细胞的杀伤, 抑制 cGAS-STING 通路可显著抑制癌细胞转移。

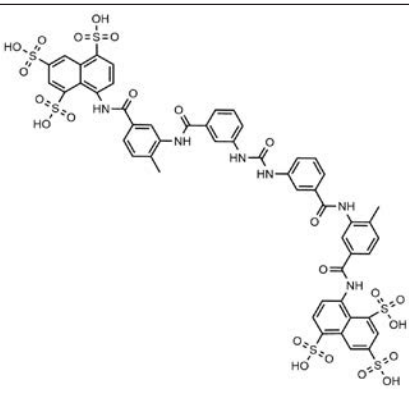
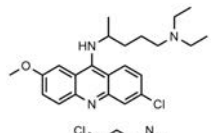
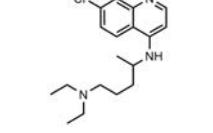
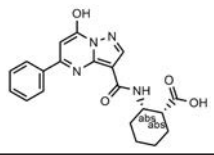
#### 4 cGAS 和 STING 激动剂及抑制剂

虽然 cGAS-STING 信号通路在固有免疫和适应性免疫至关重要, 但异常的自我 DNA 对该通路的不恰当激活已经在自身免疫性或自身炎症性疾病中被发现, 如 Aicardi-Goutieres 综合征、系统性红斑狼疮<sup>[45]</sup>。因此, 研究者发现一些 cGAS 的高亲和力抑制剂见表 1, STING 的抑制剂见表 2。

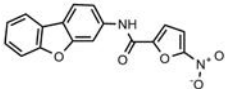
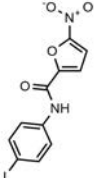
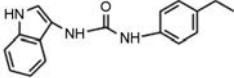
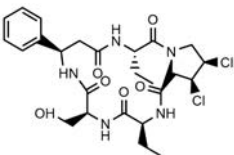
##### 4.1 cGAS 抑制剂

Wang 等<sup>[46]</sup>基于 HPLC 的介质吞吐率筛选确定苏拉明 (suramin) 是一种有效的抑制剂, 发现苏拉明取代与 cGAS 结合的 DNA, 从而抑制了 cGAS 酶的活性, 并且苏拉明处理的 THP1 细胞降低了 IFN- $\beta$  信使 RNA 和蛋白质的水平。喹那克林 (quinacrine) 和氯喹 (chloroquine) 属于抗疟药物, 可减弱 cGAS 活性, 并已被用于改善 I 型干扰素病的治疗<sup>[47,48]</sup>。An 等<sup>[47]</sup>通过对药物库进行硅筛选, 计算分析证实了喹那克林和氯喹

**Table 1** Small-molecule inhibitors of cyclic GMP - AMP synthase (cGAS)

Compound	CAS No.	Structure	Function
Suramin	145-63-1		Binding to cGAS in replace of dsDNA
Quinacrine	83-89-6		Inhibiting the activity of cGAS
Chloroquine	54-05-7		Inhibiting the activity of cGAS
PF-06928215			Binging to cGAMP

**Table 2** Small-molecule inhibitors of stimulator of interferon gene (STING). IFN: Interferon; IRF3: Interferon regulatory factor 3

Compound	CAS No.	Structure	Function
C-178	329198-87-0		Inhibiting the palmitoylation of STING
C-176	314054-00-7		Inhibiting the palmitoylation of STING
H-151	941987-60-6		Inhibiting the palmitoylation of STING, response of type I IFN and the phosphorylation
Astin C			Blocking IRF3 recruitment into STING

是 IFN- $\beta$  合成的有效抑制剂, 并且通过抑制 cGAS 的 dsDNA 刺激而发挥作用。

Hall 等<sup>[49]</sup>发现一种新的高通量 cGAS 荧光偏振 (fluorescence polarization, FP) 检测方法, 可快速识别和优化 cGAS 抑制剂。FP 检测使用 cy5 标记的 cGAMP 结合一种新的高亲和力单克隆抗体 PF-06928215, 该抗体特异性识别 cGAMP, 不与 cAMP、cGMP、ATP 或 GTP 交叉反应。鉴于其在先天免疫反应中的作用, cGAS 是一种有希望的治疗自身炎症疾病的靶点。

#### 4.2 STING 抑制剂

两个硝基咪唑衍生物 C-178 和 C-176 化合物共价作用于预测的跨膜半胱氨酸残基 Cys91, 从而阻断活化诱导的 STING 的棕榈酰化。C-178 和 C-176 的物种特异性表明, 该化合物直接针对小鼠 STING (mmSTING), 而不针对人 STING (hsSTING)。H-151 对 hsSTING 有明显的抑制作用, 可以通过抑制 I 型 IFN 反应、降低 TBK1 磷酸化和抑制 hsSTING 棕榈酰化来证明<sup>[50]</sup>。小分子环肽 astin C 可特异性抑制 cGAS-STING 信号通路及胞质 DNA 所诱发的炎症应答。在 HSV-1 感染 Trex1 缺失的小鼠中, astin C 可显著降低其自身免疫炎症反应, 阻断 IRF3 被招募到 STING 信号小体<sup>[51]</sup>。

#### 4.3 STING 激动剂

cGAS-STING 通路的激活能够增强抗肿瘤免疫, STING 的激动剂见表 3。CDNs 是一种非常有效的 STING 激活剂, 是原核生物<sup>[52]</sup>和真核生物<sup>[53]</sup>免疫系统中普遍存在的第二信使。CDNs 的来源有两种: 一种是 cGAS 途径在检测到胞质 DNA<sup>[15]</sup>后产生非典型的二核

苷酸 2',3'-cGAMP; 另一种是由于病原体<sup>[18]</sup>的存在而直接在胞质中发现。研究发现, CDNs 对体内黑色素瘤<sup>[54-56]</sup>、结肠癌<sup>[54]</sup>和口腔癌<sup>[57]</sup>的治疗中, 显示出了强大的抗肿瘤作用和应用前景。

然而, CDNs 作为候选药物面临着明显的实际问题和局限性。CDNs 的分子量大, 净电荷和极性分布强烈限制了其膜通道和细胞吸收, 且磷酸二酯键易于酶解。磷酸二酯基团的修饰一直是候选药物 ADU-S100 的核心策略, 该药物目前正处于 I 期临床试验<sup>[58]</sup>阶段, 用于晚期/转移性实体肿瘤或淋巴瘤患者。

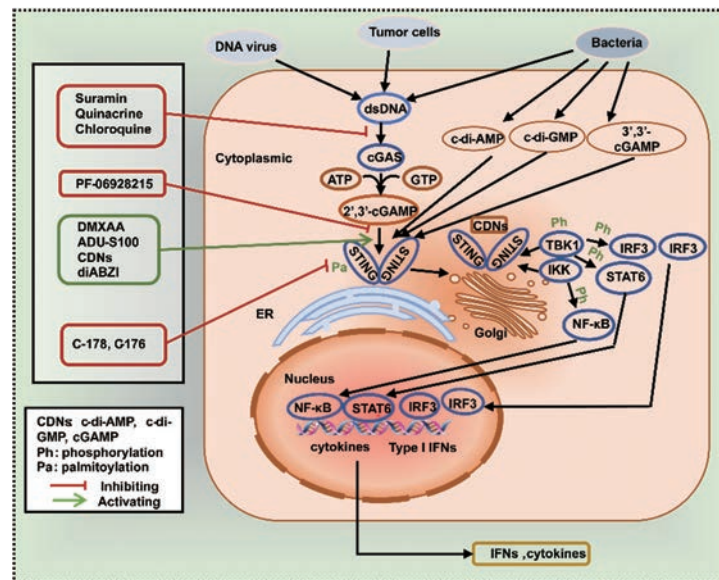
DMXAA 是一种能有效激活小鼠 STING 蛋白的非核苷激动剂。在小鼠体内, DMXAA 不仅诱导 I 型 IFN 的产生, 而且具有极强的抗癌作用。DMXAA 激活 STING 可以刺激白血病模型中 CD8<sup>+</sup> T 细胞的反应, 并通过适应性免疫提高体内生存。接种 B16 黑色素瘤的野生型小鼠, 经瘤内剂量为 500  $\mu\text{g}$  的 DMXAA 治疗, 大多数小鼠出现肿瘤消退和肿瘤排斥, 而 STING 敲除的小鼠没有治疗效果。DMXAA 可引起小鼠非小细胞肺癌肿瘤部位特异性血管破坏, 与内源性非典型环二核苷酸 STING 激动剂 2'3'-cGAMP 类似, 可诱导 M2 巨噬细胞复极化<sup>[59]</sup>。但是 DMXAA 对 STING 的激活存在种属差异, 不能诱导人 STING 的激活。目前研究表明, 利用稳定表达 cGAS-STING 通路的人源性 THP-1-Dual 细胞和稳定敲除 STING 的 THP-1 KO-STING 细胞, 建立荧光素酶检测的 STING 激动剂筛选模型, 可排除种属差异<sup>[60]</sup>。

## 5 总结与展望

cGAS-STING 介导的胞质 DNA 识别模式、激动剂

**Table 3** Small-molecule agonists of STING

Compound	CAS No.	Structure	Function
diABZI STING agonists-1 trihydrochloride	2138299-34-8		
ADU-S100	1638241-89-0		Binding to STING
Cyclic GMP-AMP	849214-04-6		
c-di-AMP	54447-84-6		
DMXAA	117570-53-3		



**Figure 1** Schematic diagram of cGAS-STING mediated cytoplasmic DNA recognition and its agonists and inhibitors. cGAS recognizes cytoplasmic DNA produced by DNA virus, tumor cells and bacteria, thereby mediating ATP and GTP synthesis of 2',3'-cGAMP. 2',3'-cGAMP binds to STING on the downstream endoplasmic reticulum, allowing STING to be acylated and activated, and transferred to the perinuclear microparticles *via* the Golgi apparatus. STING recruits and phosphorylates TBK1, which then phosphorylates IRF3 and STAT6, while STING also activates NF- $\kappa$ B transcription factors by activating IKK kinase. These factors nuclear translocation, promote the expression of type I interferons and other immune-related factors, thereby participating in the initiation of the immune response and, if necessary, activation of the adaptive immune response by antigen presentation. cGAS: Cyclic GMP - AMP synthase; STING: Stimulator of interferon gene; CDNs: Cyclic dinucleotide; TBK1: TANK-binding kinase 1; IRF-3: Interferon regulatory factor 3; STAT-6: Signal transduction and activator of transcription 6; IKK: I $\kappa$ B kinase; NF- $\kappa$ B: Nuclear factor kappa-B; IFN: Interferon

和抑制剂如图1所示。综上所述, cGAS-STING 在肿瘤的发生发展及转移中起着双重作用。cGAS-STING 通路在抑制肿瘤的作用可能是通过增强抗肿瘤免疫、

诱导细胞衰老和促进细胞凋亡这三种途径。在免疫细胞和肿瘤细胞中, cGAS-STING 的激活, 促进 I 型干扰素的表达, 激活 CD8<sup>+</sup>T 细胞, 促进抗肿瘤免疫。同时,

STING 激活可促进宫颈癌的凋亡。基于此, STING 激动剂的开发与使用具有广大的前景。在小鼠结肠、脑、皮肤、胰腺、乳腺和 B 细胞恶性肿瘤小鼠模型中, 瘤内注射 STING 激动剂 cGAMP 和其他环二核苷酸, 可见肿瘤体积减小和生长减缓。机体能够通过调节 cGAS-STING 信号通路的激活, 增强天然抗肿瘤免疫, 因此, 了解其机制可能为抗肿瘤疫苗和治疗的研发提供新的理论依据。

然而, 还有很多问题需要进一步明确, cGAS-STING 的过度激活导致 STING 高表达, 可招募免疫抑制细胞如 Treg 细胞, 帮助肿瘤细胞逃避免疫。STING 也可以激活 IDO, 从而促进肿瘤的增长转移, 这种对肿瘤发生、转移的双向调节机制尚不明确; 基于该信号研发的抑制剂和激动剂的作用机制和使用条件还需要进一步深入研究。另外, 由于该信号对肿瘤的双向调控可能与其表达于不同细胞有关, 在治疗过程中相关抑制剂/激动剂的靶向递送也是值得关注的问题。因此, 加强对通路的深入研究, 有助于对 STING 激活剂临床治疗的把控, 并且研发抑制或促进 STING 相关信号通路的药物将在未来抗肿瘤、抗病原体以及自身免疫疾病等领域具有广阔的前景, 使其在基础免疫学、肿瘤生物学及肿瘤临床治疗中发挥更大的作用。

## References

- [1] Woo SR, Fuertes MB, Corrales L, et al. STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors [J]. *Immunity*, 2014, 41: 830-842.
- [2] Mackenzie KJ, Carroll P, Martin CA, et al. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity [J]. *Nature*, 2017, 548: 461-465.
- [3] Harding SM, Benci JL, Irianto J, et al. Mitotic progression following DNA damage enables pattern recognition within micronuclei [J]. *Nature*, 2017, 548: 466-470.
- [4] Yang H, Wang H, Ren J, et al. cGAS is essential for cellular senescence [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: E4612-E4620.
- [5] Gluck S, Guey B, Gulen MF, et al. Innate immune sensing of cytosolic chromatin fragments through cGAS promotes senescence [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 1061-1070.
- [6] Dou Z, Ghosh K, Vizioli MG, et al. Cytoplasmic chromatin triggers inflammation in senescence and cancer [J]. *Nature*, 2017, 550: 402-406.
- [7] Chen YA, Shen YL, Hsia HY, et al. Extrachromosomal telomere repeat DNA is linked to ALT development *via* cGAS-STING DNA sensing pathway [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24: 1124-1131.
- [8] Xia T, Konno H, Ahn J, et al. Deregulation of STING signaling in colorectal carcinoma constrains DNA damage responses and correlates with tumorigenesis [J]. *Cell Rep*, 2016, 14: 282-297.
- [9] Gaston J, Cheradame L, Yvonnet V, et al. Intracellular STING inactivation sensitizes breast cancer cells to genotoxic agents [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 77205-77224.
- [10] Baird JR, Friedman D, Cottam B, et al. Radiotherapy combined with novel STING-targeting oligonucleotides results in regression of established tumors [J]. *Cancer Res*, 2016, 76: 50-61.
- [11] Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 162-174.
- [12] Liang D, Xiao-Feng H, Guan-Jun D, et al. Activated STING enhances Tregs infiltration in the HPV-related carcinogenesis of tongue squamous cells *via* the c-jun/CCL22 signal [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852: 2494-2503.
- [13] Civril F, Deimling T, de Oliveira Mann CC, et al. Structural mechanism of cytosolic DNA sensing by cGAS [J]. *Nature*, 2013, 498: 332-337.
- [14] Li Y, Lu J, Han Y, et al. RNA interference functions as an antiviral immunity mechanism in mammals [J]. *Science*, 2013, 342: 231-234.
- [15] Wu J, Sun L, Chen X, et al. Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA [J]. *Science*, 2013, 339: 826-830.
- [16] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling [J]. *Nature*, 2008, 455: 674-678.
- [17] Zhong B, Yang Y, Li S, et al. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation [J]. *Immunity*, 2008, 29: 538-550.
- [18] Zhang X, Shi H, Wu J, et al. Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING [J]. *Mol Cell*, 2013, 51: 226-235.
- [19] Burdette DL, Monroe KM, Sotelo-Troha K, et al. STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP [J]. *Nature*, 2011, 478: 515-518.
- [20] Zhang Z, Yuan B, Bao M, et al. The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12: 959-965.
- [21] Unterholzner L, Keating SE, Baran M, et al. IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11: 997-1004.
- [22] Rathinam VA, Fitzgerald KA. Innate immune sensing of DNA viruses [J]. *Virology*, 2011, 411: 153-162.
- [23] Saitoh T, Fujita N, Hayashi T, et al. Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 20842-20846.
- [24] Rasmussen SB, Horan KA, Holm CK, et al. Activation of autophagy by alpha-herpesviruses in myeloid cells is mediated by cytoplasmic viral DNA through a mechanism dependent on

- stimulator of IFN genes [J]. *J Immunol*, 2011, 187: 5268-5276.
- [25] Ahn J, Xia T, Konno H, et al. Inflammation-driven carcinogenesis is mediated through STING [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5166.
- [26] Liu H, Zhang H, Wu X, et al. Nuclear cGAS suppresses DNA repair and promotes tumorigenesis [J]. *Nature*, 2018, 563: 131-136.
- [27] Ye L. The Role of STING on the Progression of Lung Adenocarcinoma and Its Underlying Mechanism (STING 在肺腺癌发生发展中的作用及初步机制研究) [D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2018.
- [28] Lemos H, Mohamed E, Huang L, et al. STING promotes the growth of tumors characterized by low antigenicity *via* IDO activation [J]. *Cancer Res*, 2016, 76: 2076-2081.
- [29] Li T, Cheng H, Yuan H, et al. Antitumor activity of cGAMP *via* stimulation of cGAS-cGAMP-STING-IRF3 mediated innate immune response [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19049.
- [30] Durante M, Formenti SC. Radiation-induced chromosomal aberrations and immunotherapy: micronuclei, cytosolic DNA, and interferon-production pathway [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 192.
- [31] Deng L, Liang H, Xu M, et al. STING-dependent cytosolic DNA sensing promotes radiation-induced type I interferon-dependent antitumor immunity in immunogenic tumors [J]. *Immunity*, 2014, 41: 843-852.
- [32] Corrales L, Glickman LH, McWhirter SM, et al. Direct activation of STING in the tumor microenvironment leads to potent and systemic tumor regression and immunity [J]. *Cell Rep*, 2015, 11: 1018-1030.
- [33] Ahn J, Konno H, Barber GN. Diverse roles of STING-dependent signaling on the development of cancer [J]. *Oncogene*, 2015, 34: 5302-5308.
- [34] Campisi J, d'Adda di Fagnano F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 729-740.
- [35] Childs BG, Durik M, Baker DJ, et al. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy [J]. *Nat Med*, 2015, 21: 1424-1435.
- [36] Tang CH, Zundell JA, Ranatunga S, et al. Agonist-mediated activation of STING induces apoptosis in malignant B cells [J]. *Cancer Res*, 2016, 76: 2137-2152.
- [37] Jin L, Getahun A, Knowles HM, et al. STING/MPYS mediates host defense against *Listeria monocytogenes* infection by regulating Ly6C(hi) monocyte migration [J]. *J Immunol*, 2013, 190: 2835-2843.
- [38] He L, Xiao X, Yang X, et al. STING signaling in tumorigenesis and cancer therapy: a friend or foe? [J]. *Cancer Lett*, 2017, 402: 203-212.
- [39] Bhatelia K, Singh A, Tomar D, et al. Antiviral signaling protein MITA acts as a tumor suppressor in breast cancer by regulating NF-kappa B induced cell death [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842: 144-153.
- [40] Song S, Peng P, Tang Z, et al. Decreased expression of STING predicts poor prognosis in patients with gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39858.
- [41] Klarquist J, Hennies CM, Lehn MA, et al. STING-mediated DNA sensing promotes antitumor and autoimmune responses to dying cells [J]. *J Immunol*, 2014, 193: 6124-6134.
- [42] Munn DH, Mellor AL. IDO in the tumor microenvironment: inflammation, counter-regulation, and tolerance [J]. *Trends Immunol*, 2016, 37: 193-207.
- [43] Chen Q, Boire A, Jin X, et al. Carcinoma-astrocyte gap junctions promote brain metastasis by cGAMP transfer [J]. *Nature*, 2016, 533: 493-498.
- [44] Bakhroum SF, Ngo B, Laughney AM, et al. Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response [J]. *Nature*, 2018, 553: 467-472.
- [45] Smith S, Jefferies C. Role of DNA/RNA sensors and contribution to autoimmunity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25: 745-757.
- [46] Wang M, Soreshjani MA, Mikek C, et al. Suramin potently inhibits cGAMP synthase, cGAS, in THP1 cells to modulate IFN-beta levels [J]. *Future Med Chem*, 2018, 10: 1301-1317.
- [47] An J, Woodward JJ, Sasaki T, et al. Cutting edge: antimalarial drugs inhibit IFN-beta production through blockade of cyclic GMP-AMP synthase-DNA interaction [J]. *J Immunol*, 2015, 194: 4089-4093.
- [48] Piscianz E, Cuzzoni E, Sharma R, et al. Reappraisal of antimalarials in interferonopathies: new perspectives for old drugs [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25: 2797-2810.
- [49] Hall J, Brault A, Vincent F, et al. Discovery of PF-06928215 as a high affinity inhibitor of cGAS enabled by a novel fluorescence polarization assay [J]. *PLoS One*, 2017, 12: e0184843.
- [50] Haag SM, Gulen MF, Reymond L, et al. Targeting STING with covalent small-molecule inhibitors [J]. *Nature*, 2018, 559: 269-273.
- [51] Li S, Hong Z, Wang Z, et al. The cyclopeptide astin C specifically inhibits the innate immune CDN sensor STING [J]. *Cell Rep*, 2018, 25: 3405-3421.
- [52] Gomelsky M. cAMP, c-di-GMP, c-di-AMP and now cGMP: bacteria use them all! [J]. *Mol Microbiol*, 2011, 79: 562-565.
- [53] Krasteva PV, Sondermann H. Versatile modes of cellular regulation *via* cyclic dinucleotides [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 350-359.
- [54] Demaria O, De Gassart A, Coso S, et al. STING activation of tumor endothelial cells initiates spontaneous and therapeutic antitumor immunity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: 15408-15413.
- [55] Fu J, Kanne DB, Leong M, et al. STING agonist formulated cancer vaccines can cure established tumors resistant to PD-1 blockade [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7: 283ra252.
- [56] Wang Z, Celis E. STING activator c-di-GMP enhances the anti-

- tumor effects of peptide vaccines in melanoma-bearing mice [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64: 1057-1066.
- [57] Leach DG, Dharmaraj N, Piotrowski SL, et al. STINGel: controlled release of a cyclic dinucleotide for enhanced cancer immunotherapy [J]. *Biomaterials*, 2018, 163: 67-75.
- [58] Berger G, Lawler SE. Novel non-nucleotidic STING agonists for cancer immunotherapy [J]. *Fut Med Chem*, 2018, 10: 2767-2769.
- [59] Downey CM, Aghaei M, Schwendener RA, et al. DMXAA causes tumor site-specific vascular disruption in murine non-small cell lung cancer, and like the endogenous non-canonical cyclic dinucleotide STING agonist, 2'3'-cGAMP, induces M2 macrophage repolarization [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e99988.
- [60] Wang MJ, Fu R, Jiang HM, et al. Establishment and application of STING agonist in-vitro screening model [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 1875-1880.