

## 干扰素基因刺激因子 (STING) 及其激动剂的研究进展

常佳佳<sup>1</sup>, 侯石<sup>2</sup>, 闫心林<sup>2</sup>, 肖军海<sup>2\*</sup>

(1. 天津大学化工学院, 天津 300350; 2. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 北京 100850)

**摘要:** 干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING) 作为参与固有免疫反应的关键信号转导分子, 被来自病原体和宿主的胞质DNA触发, 在诱导I型干扰素和促炎性细胞因子分泌、防御病毒及胞内细菌感染、调节体内自发性抗肿瘤免疫反应产生过程中发挥重要功能。STING激动剂能够有效治疗病原体感染和癌症。近10年来, 对STING及其激动剂的研究发展迅速。本文从STING的结构和激活、cGAS-STING通路的机制等方面概述了STING的最新研究进展, 尤其对STING激动剂进行了概述, 重点分析了STING与其激动剂复合物的晶体结构以及STING激动剂的构效关系, 并总结了研发STING激动剂所面临的严峻挑战, 试图为设计和发现小分子STING激动剂提供思路。

**关键词:** 干扰素基因刺激因子; cGAS-STING通路; STING激动剂; 晶体结构; 构效关系

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)07-1880-13

## Research advances on stimulator of interferon genes (STING) and its agonists

CHANG Jia-jia<sup>1</sup>, HOU Shi<sup>2</sup>, YAN Xin-lin<sup>2</sup>, XIAO Jun-hai<sup>2\*</sup>

(1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China; 2. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China)

**Abstract:** As a key signal transduction molecule involved in the innate immune response, stimulator of interferon genes (STING) is triggered by cytosolic DNA from pathogen and host origins, and plays an important role in inducing the secretion of type I interferons and proinflammatory cytokines, thereby defending against viral and intracellular bacterial infections and regulating the production of spontaneous antitumor immune responses *in vivo*. Thus, STING agonists have shown useful therapeutic effects for pathogen infection and cancer. In the past decade research on STING and its agonists has progressed rapidly. Here, we summarize recent advances in the structure and activation of STING and the mechanism of the cGAS-STING pathway. In particular, we review research advances of STING agonists, analyze the crystal structure of STING in complex with its agonists and the structure-activity relationship of STING agonists, and summarize the strong challenges of developing STING agonists.

**Key words:** stimulator of interferon genes; cGAS-STING pathway; STING agonist; crystal structure; structure-activity relationship

固有免疫反应是人体内的第一道防线, 对宿主有效抵抗外来病原微生物的入侵至关重要。模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 通过检测病原

体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs), 启动下游对I型干扰素 (type I interferons, IFNs) 和促炎细胞因子的反应<sup>[1]</sup>。微生物DNA和来自细胞核或线粒体的自身DNA是主要的PAMPs/DAMPs, 可被胞质DNA感受器, 如环磷酸

收稿日期: 2021-02-08; 修回日期: 2021-03-02.

基金项目: 重大新药创制科技重大专项 (2018ZX09711003).

\*通讯作者 Tel: 86-10-66932624, E-mail: xiaojunhai@139.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0223

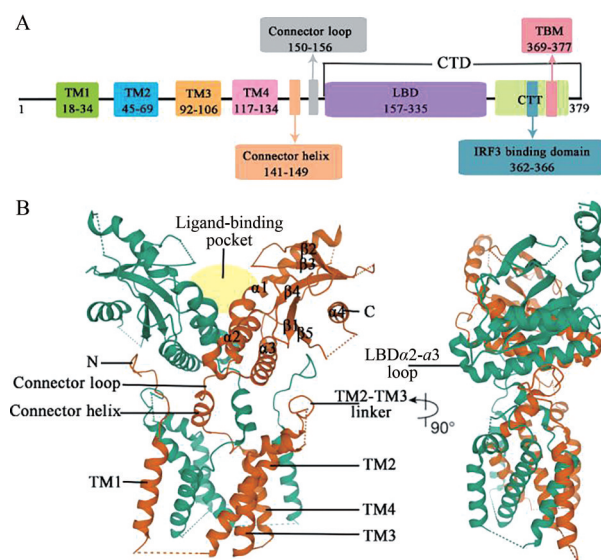
鸟苷-腺苷合成酶 (cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS) 识别<sup>[2-4]</sup>。由 cGAS 内源性产生或由细菌病原体合成的胞质环状二核苷酸 (cyclic dinucleotides, CDNs) 激活干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING), 引发免疫反应<sup>[5,6]</sup>。许多研究表明 STING 参与多种疾病的发生, STING 的激活能够诱导有效的免疫反应, 对抗病原体感染和癌症; 而 STING 的异常激活会引发自身免疫性疾病和炎症性疾病<sup>[7,8]</sup>。作为一个潜在的药物新靶点, STING 的结构和功能也已经被广泛研究, 为发现和确定 STING 激动剂提供了理论基础。

### 1 STING 的结构

STING 的胞质部分以二聚体形式存在<sup>[9-11]</sup>。全长 STING 的结构直到 2019 年, 才由 Shang 等<sup>[12]</sup>利用冷冻电镜技术解析完全。人源 STING (human STING, hSTING) 的结构如图 1, 包含一个跨膜的 N 末端结构域和一个球状的 C 末端结构域 (C-terminal domain, CTD)<sup>[13]</sup>。N 末端结构域分为 4 个跨膜的区域 (transmembrane region 1~4, TM1~4), 主要负责将 STING 锚定于内质网膜或其他细胞器膜上。在 STING 二聚体中, TM1~4 采用结构域交换结构, 其中一个亚基的 TM1 与另一个亚基的 TM2、TM3 和 TM4 组合在一起, 8 个跨膜区组成两层: 两个亚基的 TM2 和 TM4 形成了中央层, 被外围的 TM1 和 TM3 包围<sup>[12]</sup>。CTD 暴露在细胞质中, 包含配体与蛋白结合的区域 (ligand-binding domain, LBD) 和 C 尾端结构域 (C-terminal tail, CTT)。LBD 包括 4 个  $\alpha$  螺旋 (LBD $\alpha$ 1~ $\alpha$ 4) 和 5 个  $\beta$  折叠片层 (LBD $\beta$ 1~ $\beta$ 5)<sup>[13]</sup>。连接 TM4 和 LBD $\alpha$ 1 的连接子包括一个连接螺旋和一个连接环, 在二聚体中两个连接子形成右旋交叉, 使同一 STING 分子的 TM 和 LBD 分布在二聚体的对侧。TM2 和 TM3 之间的连接桥、连接螺旋和 LBD 共同形成胞质和跨膜结构域之间的表面沟槽, TM1 之前的 N 末端段位于这个沟槽中, 这种域间相互作用是一种保守的结构特征, 对蛋白质的稳定性和功能非常重要<sup>[12]</sup>。CTT 与 STING 的胞质部分结合, 包含结合 TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 的基序 (TBK1-binding motif, TBM) 和结合干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 的基序<sup>[14]</sup>。

### 2 STING 的激活

cGAS 合成的 2',3'-环磷酸鸟苷-腺苷 (2',3'-cyclic GMP-AMP, 2',3'-cGAMP) 结合 STING 后, 诱导 LBD 向配体结合口袋内旋, 由“V 形”变为“U 形”, 并且在结合口袋上方四个  $\beta$  折叠片层反向平行形成“盖子”结构, STING 由“开放”构象转变为“闭合”构象 (图 2A)<sup>[10]</sup>。然而, 这种构象变化如何导致 STING 的激活一直困扰



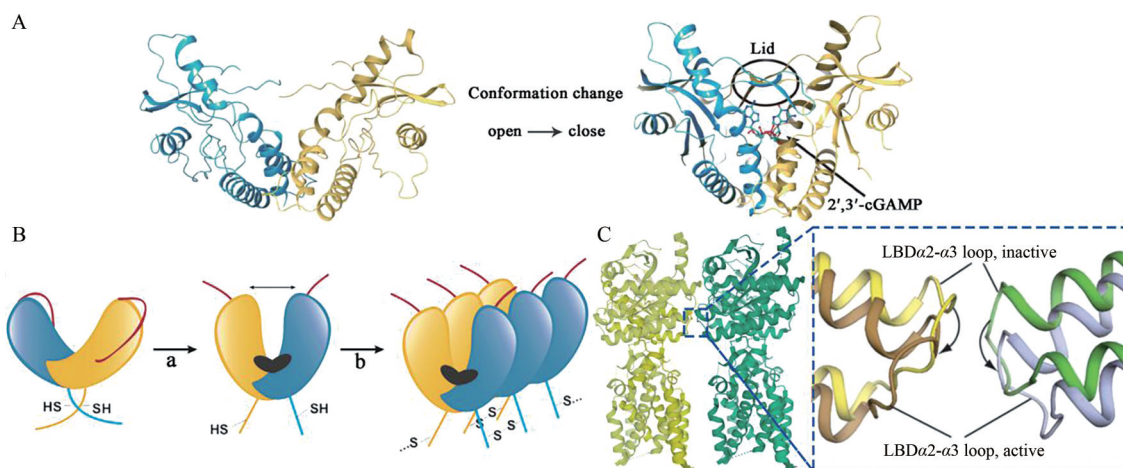
**Figure 1** The structure of hSTING. (A) A bridged view for structural and functional domains of hSTING. (B) Crystal structure of full-length hSTING by Cryo-Electron Microscopy (PDB: 6NT5)

着科学研究者。直到 2019 年, Shang 等<sup>[12]</sup>和 Ergun 等<sup>[15]</sup>阐明了 STING 的激活机制。

Shang 等<sup>[12]</sup>发现 2',3'-cGAMP 与 LBD 的结合诱导包括连接子、LBD 和 CTT 在内的 STING 胞质部分相对于 TM 旋转 180°, 使连接子的右旋交叉被解开, 同一 STING 亚基的 LBD 回到 TM 同侧, 形成肩并肩的 STING 二聚体 (图 2B: a)。2',3'-cGAMP 与 LBD 的结合还导致 LBD $\alpha$ 2 和 LBD $\alpha$ 3 向下倾斜, 从而使 STING 二聚体间连接 LBD $\alpha$ 2 和 LBD $\alpha$ 3 的环 (LBD $\alpha$ 2- $\alpha$ 3 loop) 相互远离, 不再冲突 (图 2C); 同时 Ergun 等<sup>[15]</sup>的研究补充证明 2',3'-cGAMP 的结合会触发 CTT 的释放, 暴露 STING 聚合界面, 这两种构象变化使 STING 以二聚体为单位平行排布式的组装成聚合物 (图 2B: b)。Ergun 等<sup>[15]</sup>还发现 STING 聚合使 Cys148 形成二硫键来连接、稳定 STING 聚合物 (图 2B: b)。STING 聚合物的形成对后续反应至关重要。

### 3 cGAS-STING 通路

STING 是固有免疫中重要的信号分子, 介导胞质 DNA 诱导的固有免疫反应<sup>[16]</sup>。当 DNA 感受器 cGAS 检测到死细胞、肿瘤细胞或病原体释放的胞质双链 DNA (double-stranded DNA, dsDNA), 以及泄漏于胞质的线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 时, cGAS 催化 ATP 和 GTP 合成第二信使 2',3'-cGAMP, 直接激活内质网上的 STING 蛋白<sup>[3-6]</sup>。此外, STING 还可以直接作为 DNA 感受器, 识别细菌携带的 CDNs, 引发对病原体的固有免疫反应<sup>[17]</sup>。STING 激活形成的聚合物招募下游的 TBK1 和 IRF3, TBK1 磷酸化 IRF3, 激活 IRF3



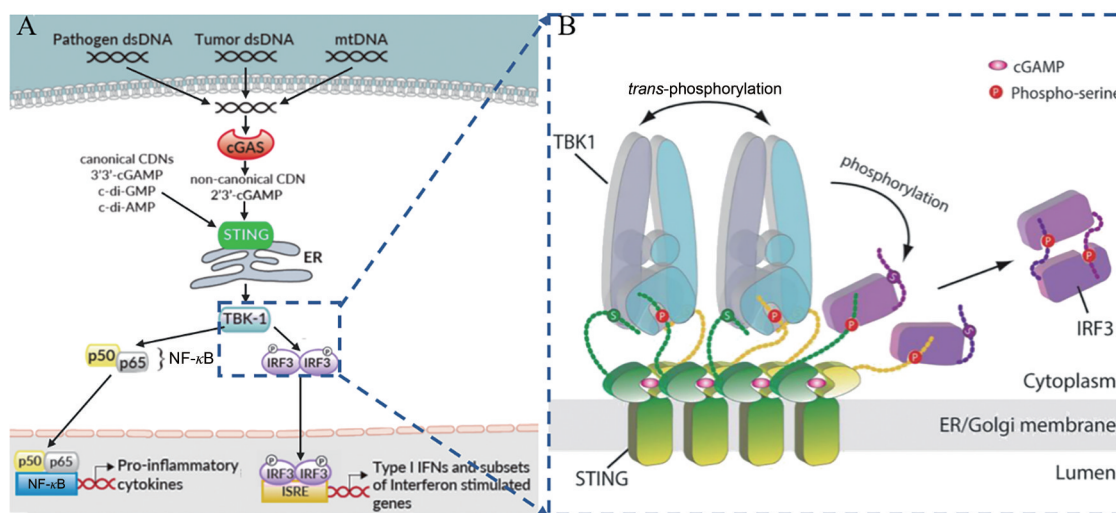
**Figure 2** Conformational changes in STING activation. (A) Conformational changes of hSTING when 2',3'-cGAMP bound to it (PDB: 4EMU (left) and 4KSY (right)). (B) Cartoon model of STING activation. (C) LBD $\alpha$ 2- $\alpha$ 3 loop at the inactive and active STING tetramer (PDB: 6NT6) interface

二聚体进入细胞核, 诱导 I 型 IFN 的表达 (如 IFN- $\beta$ ), 启动干扰素免疫应答<sup>[16]</sup>。另外, 转录因子核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 也可以被 STING 激活, 进入细胞核, 诱导促炎性细胞因子 (如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 的表达 (图 3A)<sup>[18]</sup>。STING 通路分泌最多的细胞因子 IFN- $\beta$  不仅可以直接杀伤癌细胞, 还可以通过促进树突细胞的成熟来实现抗原的呈递, 从而将先天免疫应答与适应性免疫应答联系起来<sup>[19]</sup>。除了诱导细胞因子外, 一些研究发现诱导自噬过程也是 cGAS-STING 通路的基本功能, 在抗病毒防御中发挥着重要的作用<sup>[20,21]</sup>。

2019 年, Zhang 等<sup>[14]</sup>用冷冻电镜方法阐明了活化的 STING 聚合物如何特异地招募 TBK1 和 IRF3, 实现

依赖 TBK1 的 IRF3 磷酸化。研究发现一个 STING 二聚体结合一个 TBK1 二聚体, 活化 STING 释放的 CTT 末端的 TBM 结合在 TBK1 二聚体界面的沟槽内, 从而实现 STING 对 TBK1 高亲和力的招募。在 STING 聚合物中, 多个 TBK1 二聚体聚集在一起, TBK1 二聚体间进行反式自磷酸化。同时 STING 聚合物中只有一些 STING 二聚体的 CTT 招募 TBK1, 邻近未结合 TBK1 的 CTT 的 Ser366 被 TBK1 磷酸化。STING 磷酸化后的 <sup>363</sup>LXIS<sup>366</sup> 基序构成 IRF3 结合基序, 招募 IRF3 被 TBK1 磷酸化, 激活 IRF3 二聚体进入细胞核(图 3B)。

STING 在抗病原体感染、抗肿瘤免疫反应和自身免疫性疾病中发挥重要作用<sup>[19]</sup>。因此 2008 年 STING 一经发现, 便成为免疫和肿瘤学的一个极具吸引力的靶标。研究者们大力开展了 STING 相关药物的研发,



**Figure 3** The mechanism of cGAS-STING pathway. (A) Cartoon model of cGAS-STING pathway. (B) Cartoon model of STING-mediated activation of TBK1 and the downstream signalling pathway<sup>[14]</sup>

通过激活或抑制 STING 信号通路达到不同的治疗目的。本文主要介绍 STING 激动剂的研究进展。

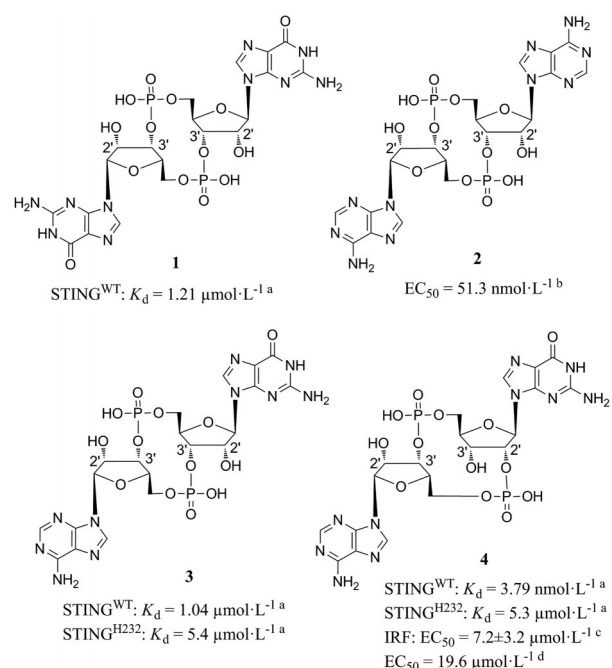
#### 4 STING 激动剂

随着 STING 及其通路机制的深入研究, STING 激动剂得到快速发展。研究者们不仅证明了具有抗病原微生物、抗肿瘤活性的天然 CDNs、5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸 (5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid, DMXAA) 和 10-羧甲基-9-吡啶酮 (10-carboxymethyl-9-acridanone, CMA) 为 STING 激动剂, 还通过高通量筛选得到了多种结构类型的 STING 激动剂。在进行激动剂作用机制研究时发现, 一些激动剂可以与 STING 结合, 称为直接 STING 激动剂; 而另一些激动剂不与 STING 结合, 称为间接 STING 激动剂, 其激活 STING 通路的机制不明, 可能与 STING 通路中任何阶段的蛋白发生作用, 甚至可能是激活其他通路发挥效应后, 再间接激活 STING 通路。

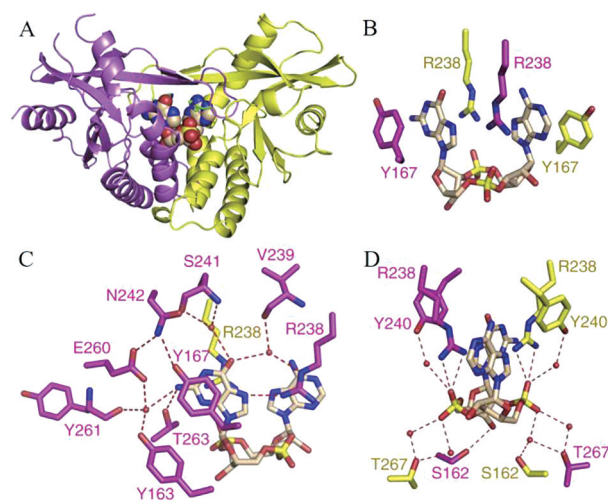
##### 4.1 直接 STING 激动剂

**4.1.1 环状二核苷酸类** 细菌产生的环二鸟嘌呤 (cyclic dimeric GMP, c-di-GMP) (1)、环二腺嘌呤 (cyclic dimeric AMP, c-di-AMP) (2)、3',3'-环磷酸鸟苷-腺苷 (3',3'-cyclic GMP-AMP, 3',3'-cGAMP) (3) 和哺乳动物由 cGAS 催化产生的 2',3'-cGAMP (4) (图 4) 是天然的 CDNs 类 STING 激动剂<sup>[22-24]</sup>。其中 2',3'-cGAMP 与 STING 具有更广泛的相互作用, 形成更稳定的“闭合”二聚体构象 (图 5A), 因此诱导更强的 I 型 IFNs 反应<sup>[25]</sup>。2',3'-cGAMP-hSTING<sup>H232</sup> 晶体结构中, 2',3'-cGAMP 位于 STING 二聚体的“U 形”裂缝中, 核糖-磷酸位于底部, 嘌呤环平行向上, 嘌呤碱基位于 Y167 和 R238 之间 (图 5B)<sup>[10]</sup>。R238 在平面上对齐, 与一个嘌呤的 N7 形成氢键, 其胍基则堆叠在另一个嘌呤上 (图 5C)。鸟苷 NH<sub>2</sub> 与 T263、核糖 3'-OH 与 S162、磷酸链与 R238 胍基形成直接氢键网络。N242、S241、V239、Y163、E260、Y261、T267 和 Y240 与鸟苷 O6、鸟苷 NH<sub>2</sub> 和磷酸链形成水介导的氢键网络 (图 5C, D)。核糖 2'-OH 不参与氢键网络的形成, 因此含有 3'-OH 的 2',3'-cGAMP 比其他天然 CDNs 与 STING 的结合亲和力更强。

然而, 天然 CDNs 相对较大的分子质量和强极性使其难以透过细胞膜, 细胞摄取不足, 且其磷酸二酯键易被酶水解, 代谢不稳定<sup>[26,27]</sup>, 这些因素一定程度上限制了其临床应用。因此研究者们对天然 CDNs 的磷酸二酯键、核糖和碱基三个部分进行了大量的结构改造 (图 6), 以期改善其较差的膜渗透性、细胞摄取和代谢不稳定性, 从而提高生物活性。优化后, CDNs 展现出更为有利的药代动力学特征, 其中的一些化合物已进



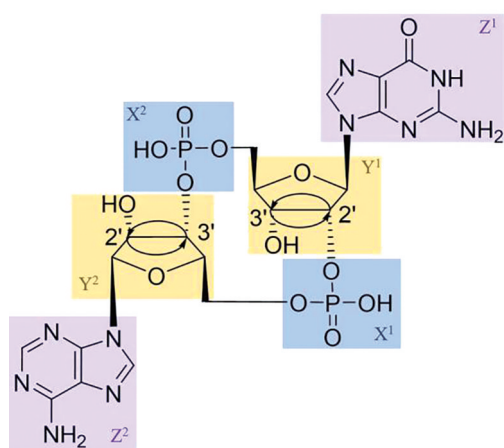
**Figure 4** Chemical structures of natural CDNs. <sup>a</sup>ITC (isothermal titration calorimetry) assay. <sup>b</sup>IFN reporter THP-1 cell-based assay. <sup>c</sup>THP1-Dual cell-based assay. <sup>d</sup>type I IFN induction activities of compounds in human blood samples



**Figure 5** Crystal structure of 2',3'-cGAMP-hSTING<sup>H232</sup> (PDB: 4LOH). (A) Crystal structure of 2',3'-cGAMP-hSTING<sup>H232</sup>. STING dimer is in yellow and purple. (B-D) The intermolecular interaction in 2',3'-cGAMP-hSTING<sup>H232</sup>. 2',3'-cGAMP is in wheat. The direct and water-mediated hydrogen bonds are in red

入临床试验中。

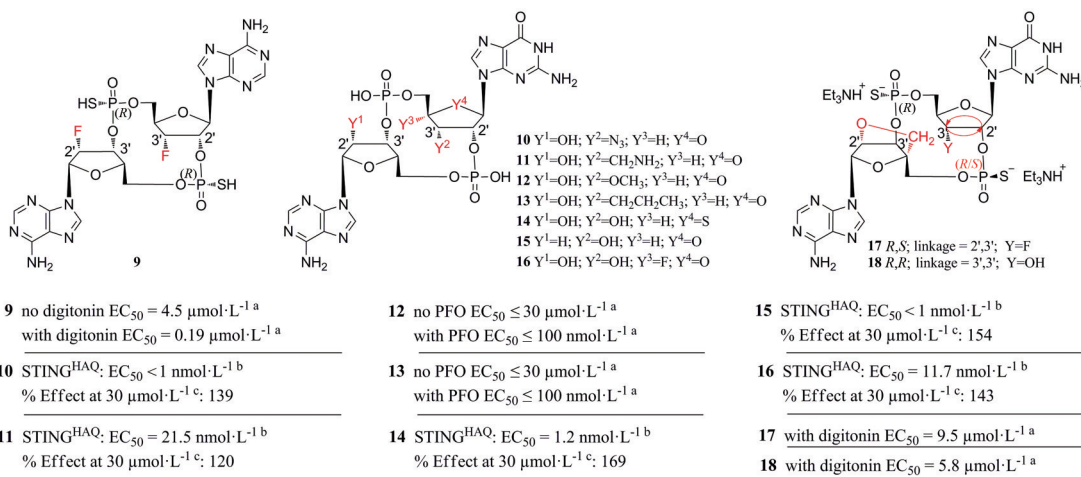
CDNs 易受体内酶的水解, 对磷酸二酯键进行硫代 (5, 6)、脲或硫脲 (7, 8) (图 7) 取代可以增强化合物对水解酶的抗性<sup>[28-30]</sup>。Aduro 与诺华公司合作开发的化合物 6, Rp,Rp-2',3'-c-diAMPSS (也称为 ML-RR-S2-CDA、MIW815 或 ADUS100), 诱导 IFN 的效力明显高



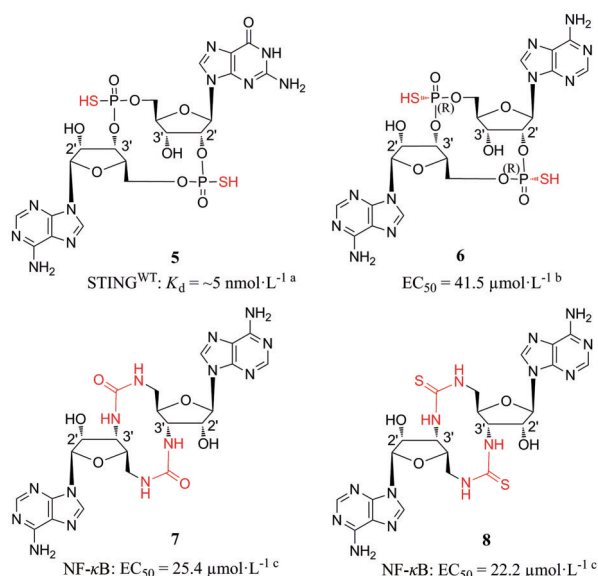
**Figure 6** Three structural modification sites of natural CDNs: phosphate (X), ribose (Y) and base (Z). The skeleton is 2',3'-cGAMP

于2',3'-cGAMP, 经瘤内注射, 可使小鼠肿瘤显著消退, 并提供长期免疫记忆<sup>[31]</sup>。**6**为第一个进入临床试验的非典型CDNs, 应用于晚期或转移性实体瘤或淋巴瘤(NCT02675439和NCT03172936)和头颈部鳞状细胞癌(NCT03937141)。

在化合物**6**的核糖环上引入氟原子(**9**, 图8), 其细胞通透性得到改善, 活性提高8倍<sup>[29]</sup>。默沙东(MERCK SHARP & DOHME, MSD)和Immune Sensor对2',3'-cGAMP的核糖进行了结构改造, 分别得到活性增强的化合物**10~14**和抗水解的化合物**15、16**<sup>[32,33]</sup>。其中化合物**10、14、15**与STING的结合亲和力比2',3'-cGAMP稍强或相当, 而化合物**11、16**丧失了部分结合亲和力。MSD研制的MK-1454正在进行I期临床试验, 初步数据显示, 单药治疗时无应答, 但与Keytruda联合治疗时产生部分应答(NCT03010176)。Aduro公



**Figure 8** Chemical structures of the substituted-ribose CDNs. <sup>a</sup>IFN reporter THP-1 cell-based assay. <sup>b</sup><sup>3</sup>H-cGAMP filtration binding assay. <sup>c</sup>The relative bioactivities to 2',3'-cGAMP were determined through detection of IFN-β from THP-1 cells

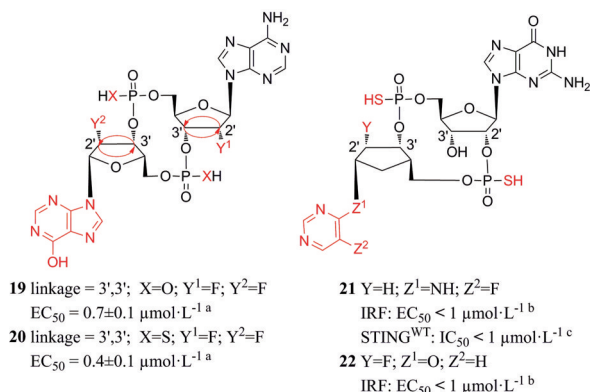


**Figure 7** Chemical structures of the substituted-phosphate CDNs. <sup>a</sup>SPA (scintillating proximity assay). <sup>b</sup>IFN reporter THP-1 cell-based assay. <sup>c</sup>THP1-Dual cell-based assay

司在CDNs核糖环上引入了锁核酸结构, 活性较好的化合物**17、18**的细胞渗透性比ADU-S100和2',3'-cGAMP更好, 细胞吸收增强<sup>[34]</sup>。

Lioux等<sup>[35]</sup>设计并合成了由腺苷核苷和肌苷核苷组成的环磷酸腺苷-肌苷(cyclic adenosine-inosine monophosphate, cAIMP), 并且进行了核糖取代、核苷酸间连接位置和磷酸修饰。其中化合物**19**和**20**(图9)活性最优, 均能较好地促进I型IFN和促炎细胞因子的分泌和抵抗水解酶的水解。四种连接异构体中3',3'连接对I型IFNs的诱导作用最强, 这与cGAMP不同(3',3'-cGAMP活性最弱<sup>[23]</sup>)。硫代磷酸类似物比其对应的磷酸二酯类似物更能抵抗酶解, 这与Li等<sup>[28]</sup>的研

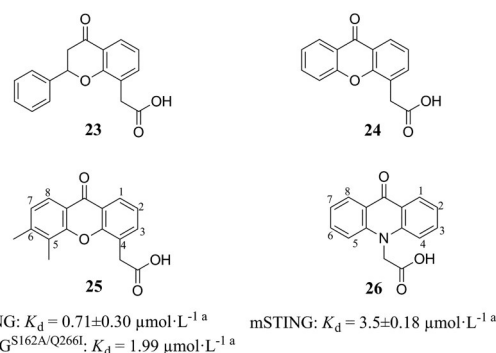
究结果一致。施贵宝制药和武田公司则将 2',3'-cGAMP 的嘌呤碱基替换为非碱基部分,同时也进行了核糖和磷酸修饰,其中化合物 **21**、**22** 激活 THP1-Dual 细胞的 IRF 通路活性较强<sup>[36,37]</sup>。



**Figure 9** Chemical structures of the substituted-base CDNs. <sup>a</sup>Type I IFN induction activities of compounds in human blood samples. <sup>b</sup>THP1-Dual cell-based assay. <sup>c</sup>HTRF (homogeneous time resolved fluorescence) binding assay

**4.1.2 蒽酮类** 黄酮-8-乙酸 (flavone-8-acetic acid, FAA) (**23**, 图 10) 最初为一种非甾体抗炎药被发现, 20 世纪 80 年代发现其抗肿瘤特性, 但在 II 期临床试验中失败<sup>[38,39]</sup>。咕吨酮-4-乙酸 (xanthenone-4-acetic acid, XAA) (**24**) 是一种具有类似 FAA 结构的活性药物。2005 年发现具有咕吨酮 (又称氧杂蒽酮) 结构的 XAA 的 5,6 位二甲基取代产物 DMXAA (也称为 ASA404 或 vadimezan) (**25**) 可以激活 NF-κB 信号通路, 破坏肿瘤血管的发生, 2007 年发现它还可以激活 TBK1-IRF3 信号通路<sup>[40,41]</sup>。DMXAA 和化疗药物紫杉醇、卡铂组成的联合疗法, 通过了治疗非小细胞肺癌的 II 期临床试验, 但人体 III 期临床试验宣告失败。20 世纪 80 年代发现吡啶酮 (又称氮蒽酮) 类化合物 CMA (**26**) 是一种非常有效的 I 型 IFN 诱导剂, 在防范啮齿动物病毒感染方面表现良好, 但同样在临床试验中失败<sup>[42,43]</sup>。2013 年研究发现 DMXAA 和 CMA 只能结合并激活鼠源 STING (mouse STING, mSTING), 不与 hSTING 结合, 解释了临床失败的原因<sup>[44-46]</sup>。

DMXAA、CMA 均诱导 mSTING 形成“闭合”构象, 且与 mSTING 的分子间作用十分相似 (图 11)<sup>[47,48]</sup>。两个化合物分子位于 mSTING 二聚体结合口袋, 芳香环平行排列, 酮基与 T266 直接形成氢键, C10 位 O/N 与 T262 结合, 羧基与 T262、R237 形成直接氢键、与 Y239 通过水分子形成氢键, DMXAA 的 5、6 位甲基与 L169 和 I234 侧链形成疏水性区域 (图 11A, B)。Gao 等<sup>[47]</sup>还发现 hSTING 结合口袋的 Q266I 和 S162A 突变,

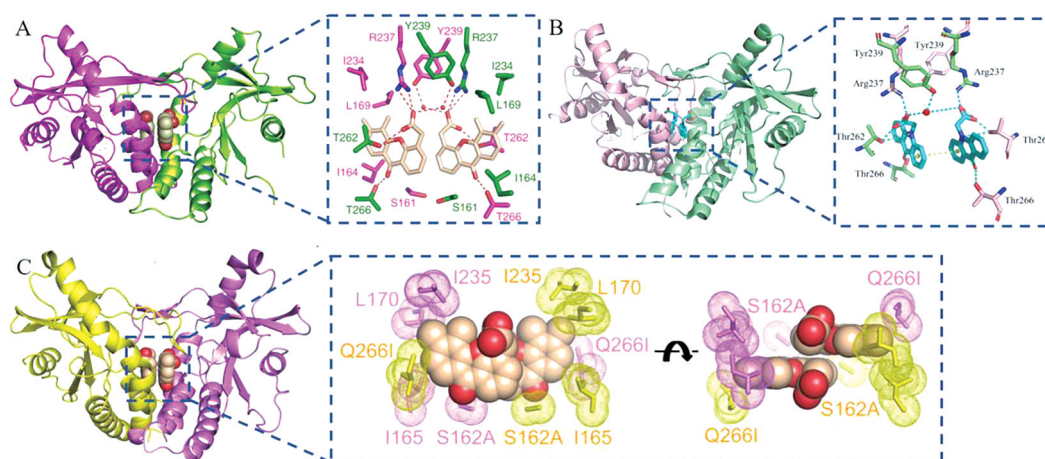


**Figure 10** Chemical structures of FAA (flavone-8-acetic acid), XAA (xanthenone-4-acetic acid), DMXAA (5, 6-dimethylxanthenone-4-acetic acid) and CMA (10-carboxymethyl-9-acridanone). <sup>a</sup>ITC assay

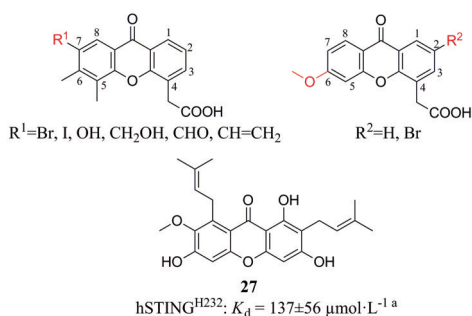
“盖子”上 G230I 的突变, 均可增强 DMXAA 对 hSTING 的敏感性, 三者之间是互助促进的关系。DMXAA-hSTING<sup>S162A/Q266I</sup> 晶体结构中, I266 侧链与侧链 I165、L170 和 I235 一起形成疏水性区域, 将 DMXAA 的 5、6 位甲基和未取代的 7 位牢牢包裹起来, A162 侧链与 DMXAA 另一侧芳香环边缘也发生了疏水性相互作用 (图 11C)。因此 DMXAA 的双甲基和羧酸可能为活性必须, 且对 C1/C2 (对应 Q266I 突变) 和 C7 位 (对应 S162A 突变) 进行结构改造, 可能会恢复 DMXAA 对 hSTING 的敏感性。由于 CMA 与 DMXAA 的相似性, 推测 CMA 也可进行类似结构改造。

根据晶体复合物结构, 人们对 DMXAA 进行了结构改造 (图 12)。Hwang 等<sup>[49]</sup>设计了 C7 位具有极性基团的 DMXAA 衍生物, 遗憾的是没有得到与不同的 hSTING 突变体特异性结合的化合物。本课题组在 DMXAA 的 C2 位修饰疏水性的基团, 保留 5,6 位双甲基的结构或者仅在 C6 位修饰甲氧基, 但也没有获得能与 hSTING 结合的 DMXAA 衍生物<sup>[50]</sup>。从山竹子果壳中分离出的咕吨酮类 α-倒捻子素 (**27**) 能结合、激活 hSTING<sup>H232</sup> 和 hSTING<sup>R232</sup>, 但只能小程度的激活 mSTING, 其诱导 IFN-β 水平高于 2',3'-cGAMP, 且能够将人单核细胞来源的 M2 巨噬细胞重新极化为 M1 表型, 可能具有抗肿瘤、抗病毒作用<sup>[51,52]</sup>。

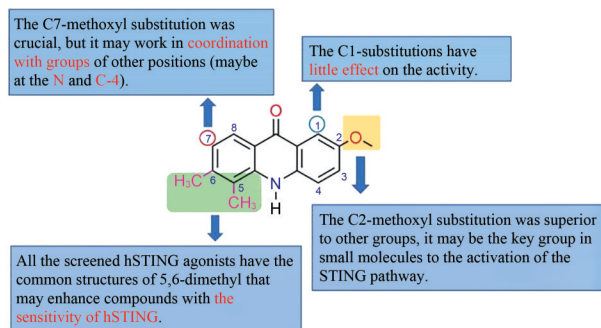
本课题组参照 DMXAA 的结构在 CMA 的 5,6 位引入了双甲基、将 N 原子上的羧基转移至 C4 位, 在 C1、C2 和 C7 的一处或多处取代卤素原子或甲氧基, 并分析了构效关系 (图 13)<sup>[50]</sup>。其中化合物 **28**、**29** 和 **30** (图 14) 对 hSTING 和 mSTING 均能有效激活。最优化合物 **30** 可以有效激活 STING-IRF3 和 STING-NF-κB 两个通路, 且对 NF-κB 途径的激活效应比 2',3'-cGAMP 更强。Silicon Swa 公司也合成了数百种带有 CMA 衍



**Figure 11** Crystal structure of DMXAA, CMA bound to STING. (A) Crystal structure and intermolecular interaction of DMXAA-mSTING (PDB: 4LOL). STING dimer is in magenta and green, DMXAA is in wheat. (B) Crystal structure and intermolecular interaction of CMA-mSTING (PDB: 4JC5). STING dimer is in pink and light green, CMA is in turquoise. (C) Crystal structure and hydrophobic interactions of DMXAA-hSTING<sup>S162A/Q266I</sup> (PDB: 4QXQ). STING dimer is in yellow and purple, DMXAA is in wheat



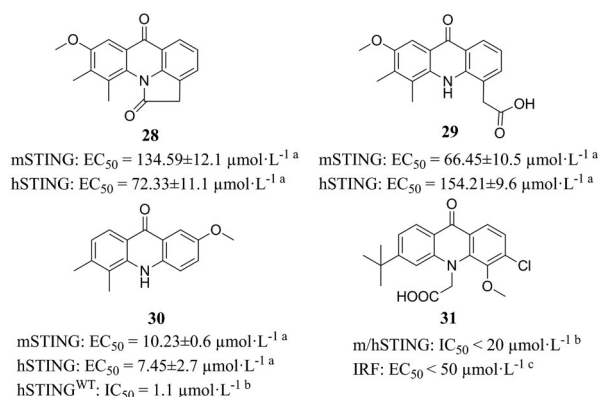
**Figure 12** Chemical structures of DMXAA derivatives. <sup>a</sup>DSF (differential scanning fluorimetry) assay



**Figure 13** The structure-activity relationship of **30**<sup>[50]</sup>

生物<sup>[53]</sup>。通过亲和力结合试验和细胞实验,得到最优化合物**31**。对CMA的成功改造说明吡啶酮类在治疗肿瘤或病毒感染方面有巨大潜力。未来对于吡啶酮类激动剂的改造,可以在化合物**30**的N、C4和C7的位置修饰适宜的基团,增强活性;也可以将两个活性小分子通过共价连接,形成CDNs模拟物,以增强与STING的结合亲和力,提高活性。

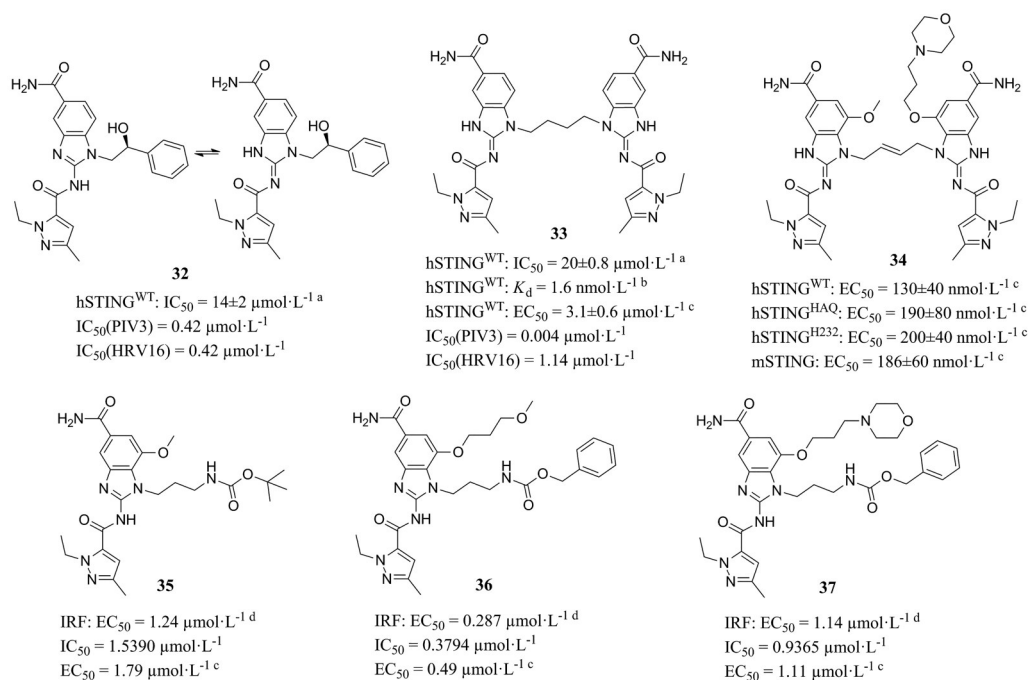
**4.1.3 氨基苯并咪唑类** 2018年,葛兰素史克 (Glaxo-



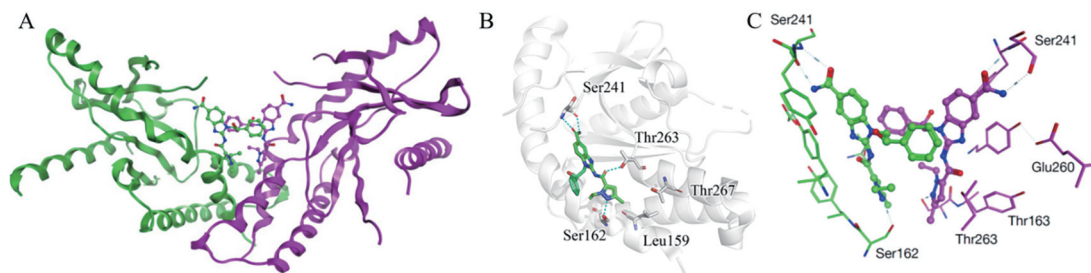
**Figure 14** Chemical structures of CMA derivatives. <sup>a</sup>293-Dual cell assay. <sup>b</sup>HTRF binding assay. <sup>c</sup>THP1-Dual cell-based assay

SmithKline, GSK) 通过筛选与<sup>3</sup>H-cGAMP竞争结合STING CTD的小分子,发现氨基苯并咪唑类化合物**32**(图15),是第一种有效的、非核苷酸类、同时激活mSTING和hSTING的STING激动剂<sup>[54]</sup>。不同于2',3'-cGAMP,化合物**32**激活STING的同时保持“开放”的STING构象(图16A),对“闭合”构象使STING蛋白激活的观点提出了质疑。晶体复合物结构表明两分子化合物**32**与一个STING蛋白二聚体结合,甲基与L159和T267残基形成疏水性区域(图16B),吡啶N与S162的羟基形成氢键,中间酰胺与T263形成氢键,末端酰胺与S241形成氢键网络(位于STING开放的“盖子”区)(图16C)。

化合物**32**的N1位羟苯乙基与STING蛋白没有相互作用,且两分子的N1在空间上很接近,因此,在N1位通过连接桥合成二聚化合物**33**,其结合能力提升了近1000倍。通过进一步的优化,化合物**34**的结合亲



**Figure 15** Chemical structures of amidobenzimidazole compounds. <sup>a</sup> <sup>3</sup>H-cGAMP filtration binding assay. <sup>b</sup> Chemoproteomic analysis of THP-1 cell lysates with LC-MS/MS. <sup>c</sup> Type I IFN induction activities of compounds in PBMC. <sup>d</sup> THP1-Dual cell-based assay



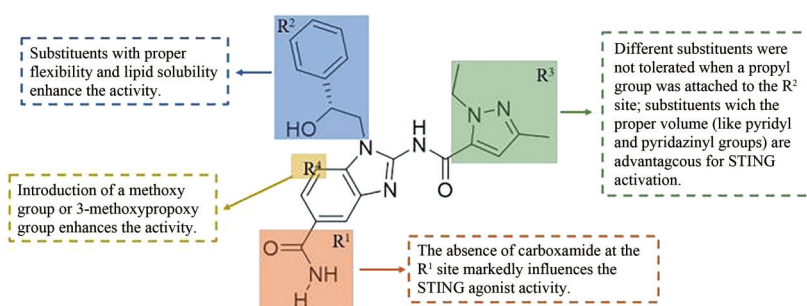
**Figure 16** Crystal structure of **32**-STING (PDB: 6DXG). (A) Crystal structure of **32**-STING. STING dimer is in green and purple<sup>[54]</sup>. (B-C) The intermolecular interaction in **32**-STING. **32** is in green and purple. STING in (B) is shown in monomer and in white

和力和诱导 IFN- $\beta$  分泌的活性进一步提高, 小鼠静脉给药后产生持久的抗肿瘤作用。另外, Xi 等<sup>[55]</sup>选择了四个修饰位点 (R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>) 对化合物 **32** 进行优化, 其构效关系如图 17。其中化合物 **35**、**36** 和 **37** 在 THP1-Dual 细胞荧光实验显示出微摩尔激动剂活性。结肠肿瘤小鼠静脉注射化合物 **37**, 有显著的抗肿瘤作用。

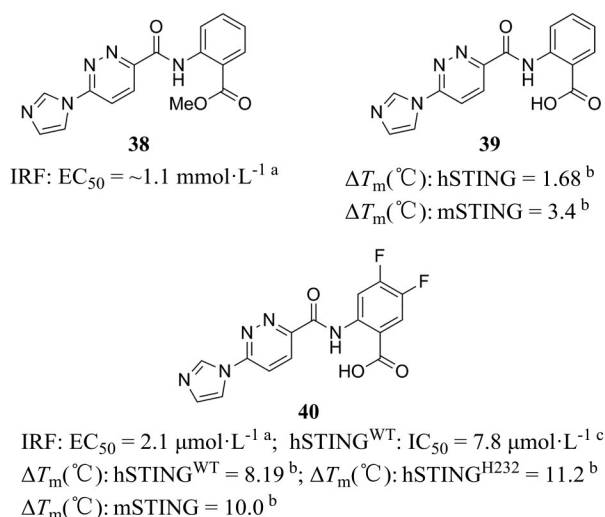
Zhu 等<sup>[56]</sup>研究了化合物 **32** 和 **33** 的抗病毒活性, 发现其对呼吸道 RNA 病毒: 副流感病毒 3 型 (parainfluenza virus 3, PIV3) 和人鼻病毒 16 (human rhinovirus, HRV16) 表现强大的抗病毒活性, 而且有两种不同的抗病毒机制。抗 PIV3 依赖于 I 型 IFN 应答, 而抗 HRV16 则需要依赖自噬相关基因 5 (autophagy-related gene 5, ATG5) 的自噬, 抗 PIV3 病毒的效应强于抗 HRV16 病毒效应, 延迟治疗起始时间点, 会显著降低抗 HRV16 病毒的活性。

#### 4.1.4 3-咪唑-哒嗪类 Chin 等<sup>[57]</sup>以含有 IRF 荧光素酶

报告基因的 THP-1 细胞为研究对象, 筛选了大约 100 万个小分子, 并在敲除 STING 或 cGAS 的 ISG-THP1 细胞系进行二次试验, 以确定通路特异性和潜在的靶标。其中 3-咪唑-哒嗪类化合物 **38** (图 18) 依赖 STING 作用于 cGAS 的下游。进一步研究表明 **38** 为一种前药, 在体外不与 STING 直接结合, 在进入细胞后迅速转化为化合物 **39**, 从而发挥作用。 **39** 在体外可以结合 STING, 但在细胞检测中无活性, 可能的原因是酯取代赋予化合物细胞通透性, 而羧酸使化合物可以结合 STING。结构优化得到含二氟取代的化合物 **40** (SR-717), 与 **38** 具有同等的细胞活性, 而且在体外与常见 hSTING 突变型和 mSTING 结合。小鼠皮下注射 SR-717 后具有抗肿瘤活性 (疗效优于抗 PD-1 或抗 PD-L1 治疗)、促进相关组织中 CD8<sup>+</sup>T、自然杀伤细胞和树突状细胞的活化、促进抗原的交叉免疫。



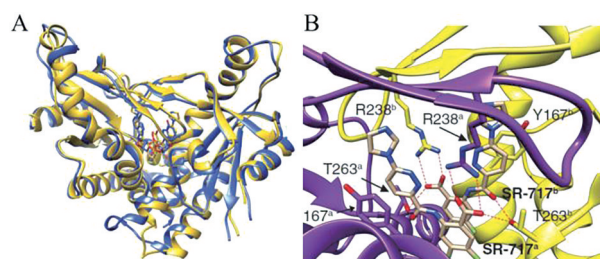
**Figure 17** The structure-activity relationship of **32**



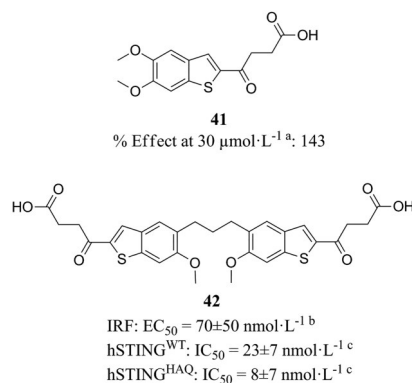
**Figure 18** Chemical structures of 3-imidazole-pyridazine compounds. <sup>a</sup>THP1-Dual cell-based assay. <sup>b</sup>TSA (Thermal Shift Assay). <sup>c</sup>HTRF assay

晶体复合物结构表明两分子SR-717结合在STING二聚体裂缝中,形成“闭合”构象。对比SR-717-hSTING<sup>WT</sup>和2',3'-cGAMP-hSTING的晶体结构,发现SR-717的结合模式与2',3'-cGAMP相似(图19A)。两个SR-717的吡嗪环位于结合2',3'-cGAMP的两个嘌呤位置,位于Y167和R238之间,羧酸位于结合2',3'-cGAMP的磷酸链位置。T263侧链羟基与一个SR-717分子的羧酸和另一个分子的酰胺羰基形成氢键作用,R238的胍基侧链与羧酸形成直接氢键。另外SR-717与V239、S241、N242和Y240形成水介导的氢键网络(图19B)。因此SR-717是一种稳定的2',3'-cGAMP模拟物,可能具有相似的抗肿瘤免疫活性。

**4.1.5 苯并噻吩类** IFN- $\beta$ 的分泌是STING激活的一个重要作用,因此MSD选择表达hSTING<sup>HAQ</sup>的THP-1细胞,筛选能诱导IFN- $\beta$ 分泌的化合物,最终从大约240万个化合物中筛出了少量分子<sup>[58]</sup>。化合物**41**(MSA-2,图20)在溶液中以单体和非共价二聚体两种形式存在,处于平衡状态,其非共价二聚体结合、激活STING。MSA-2共价二聚体(如化合物**42**)也能与2',3'-cGAMP



**Figure 19** Crystal structure of SR-717-hSTING<sup>WT</sup> (PDB: 6XNP)<sup>[57]</sup>. (A) Superposition of the structure of SR-717-hSTING<sup>WT</sup> and 2',3'-cGAMP-hSTING (PDB: 4KSY), shown as yellow or blue ribbon representations, respectively. (B) The intermolecular interaction in SR-717-hSTING<sup>WT</sup>. STING dimer is in yellow and purple, the key residues are in sticks. SR-717 is in wheat



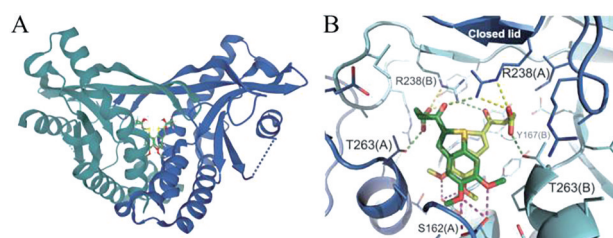
**Figure 20** Chemical structures of benzothiophene compounds. <sup>a</sup>The relative bioactivities to 2', 3'-cGAMP were determined through detection of IFN- $\beta$  from THP-1 cells. <sup>b</sup>THP1-Dual cell-based assay. <sup>c</sup><sup>3</sup>H-cGAMP filtration binding assay

竞争结合STING、诱导IFN- $\beta$ 分泌。MSA-2诱导80%至100%的结肠癌小鼠肿瘤完全消退,并且诱导长期的抗肿瘤免疫,和抗PD-1抗体联合治疗在抑制肿瘤生长和延长生存方面优于单药治疗,并且是第一种能够口服给药的STING激动剂。

MSA-2是一种弱酸,在酸性肿瘤微环境中MSA-2的细胞进入和保留增加。皮下或口服给药后,肿瘤中MSA-2浓度高于血浆或其他非肿瘤组织,细胞因子水

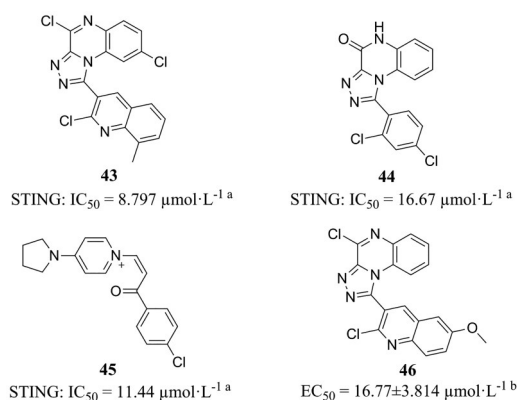
平的增加在肿瘤中有更高的趋势。这种优先靶向肿瘤的特性对于系统性给药的 STING 激动剂的抗肿瘤活性和耐受性非常关键。

MSA-2-hSTING<sup>HAQ</sup> 晶体结构显示, 两分子 MSA-2 与 hSTING<sup>HAQ</sup> 结合, 形成“闭合”构象 (图 21A)。MSA-2 除与周围的几条侧链形成水分子介导的相互作用外, 酮基与邻近 STING 亚基的 R238 胍基形成氢键, 羧酸基团与邻近 STING 亚基的 T263 和另一 STING 亚基的 R238 侧链形成氢键 (图 21B)。羧酸基团与 STING 的这种相互作用是 MSA-2 特有的, 能使复合物二聚体产生非共价交联并稳定构象。



**Figure 21** Crystal structure of MSA-2-hSTING<sup>HAQ</sup> (PDB: 6UKM). (A) Crystal structure of MSA-2-hSTING<sup>HAQ</sup>. STING dimer is in grayish green and blue-purple. (B) The intermolecular interaction in MSA-2-hSTING<sup>HAQ</sup>. MAS-2 is in green<sup>[58]</sup>

**4.1.6 三唑喹啉类** Hou 等<sup>[59]</sup>通过基于结构的虚拟筛选和荧光偏振 (fluorescence polarization, FP) 实验筛选得到 STING 激动剂: 化合物 **43**、**44** 和 **45** (图 22)。结构改造得到的化合物 **46** 依赖 STING 诱导 THP-1 细胞和小鼠 BMDMs 细胞中 IFN- $\beta$ 、CXCL-10 和 IL-6 的 mRNA 表达, 以及 STING、TBK1 和 IRF3 的磷酸化。化合物 **46** 溶解度和膜通透性有待进一步优化。

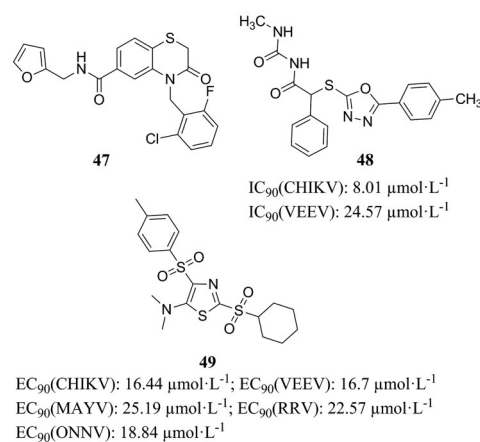


**Figure 22** Chemical structures of triazoloquinoxaline compounds. <sup>a</sup>FP assay. <sup>b</sup>THP-1 blue ISG cell assay

## 4.2 间接 STING 激动剂

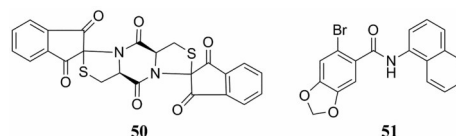
**4.2.1 G10、C11 和 M04** DeFilippis 课题组通过体外 THF-ISRE 细胞 (荧光信号反应依赖 IRF3 的 I 型 IFN 的

转录) 高通量筛选从 51 632 个化合物中得到化合物 **47** (G10)、**48** (C11)、**49** (M04) (图 23)<sup>[60-62]</sup>。三种化合物具有相似的活性和作用机制, 激活 THFs 细胞和原代细胞 PBMCs 中 IRF3 的磷酸化、依赖 IRF3 的 IFN 应答, 同时小鼠 RAW264.7 细胞中无法检测到相关活性, 且都不与 STING CTD 结合, 因此可能为间接 hSTING 激动剂。另外, C11、M04、G10 都对表达 hSTING<sup>HAQ</sup> 的 THP-1 细胞没有活性, 因此人们还研究了不同 hSTING 突变型对化合物活性的影响。结果表明 G10 对 R232 和 H232 突变型更有效, 对 HAQ 突变型的活性较低, 对 AQ 和 Q 突变型几乎没有活性<sup>[63]</sup>; M04 能激活 R232、H232 突变型, 对 HAQ 仅能微弱地激活<sup>[61]</sup>。G10 和 C11 对多种病毒有抑制作用<sup>[60,62,64]</sup>。



**Figure 23** Chemical structures of 47-49

**4.2.2 DSDP 和 BNBC** Chang 课题组建立了一种高通量筛选方法, 化合物刺激 HepAD38/cGAS-STING/ISG54Luc 和 HepAD38/cGAS-STING $\Delta$ C/ISG54Luc (不表达 STING 的 C 末端区域) 细胞系后, 只诱导前者荧光素酶表达, 可以反映化合物对 cGAS 和/或 STING 的激活。该团队分别在 2017 年和 2019 年筛选得到的化合物 **50** (DSDP) 和 **51** (BNBC) (图 24) 在缺乏 cGAS 和表达 mSTING 的细胞中没有活性, 为 hSTING 激动剂<sup>[65,66]</sup>。DSDP 和 BNBC 可以有效抑制黄热病病毒 (yellow fever virus, YFV)、登革病毒 (Dengue virus, DENV) 和寨卡病毒 (Zika virus, ZIKV) 的复制。此外, BNBC 可有效诱导树突状细胞的成熟, 因此可能调节 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的激活, 有利于慢性病毒感染和肿瘤治疗。



**Figure 24** Chemical structures of 50 and 51

## 5 展望

近年来,对STING激动剂的研究取得了突破性进展,但是开发结构更多样、更具有成药性的STING激动剂仍面临着严峻的挑战。首先,STING激动剂主要作为抗菌、抗病毒和抗肿瘤药物,然而研究发现一些病毒可以通过抑制STING通路的反应,保护其免受宿主免疫防御,因此该类病毒可能对STING激动剂有严重的耐药性<sup>[67,68]</sup>。另外,Lemos等<sup>[69]</sup>研究发现STING激活可诱导吲哚胺-2,3-双加氧酶(indoleamine-2,3-dioxygenase,IDO)的产生,促进低抗原性肿瘤的生长,因此对STING激动剂耐受。Tu等<sup>[70,71]</sup>总结了cGAS-STING通路对肿瘤的促进和抑制作用,并发现淫羊藿素能够抑制黑色素瘤的转移。其次,STING具有单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),目前已发现5种hSTING突变型:R232(58%)、HAQ(20%)、H232(13%)、AQ(7%)和Q(2%)<sup>[72]</sup>。不同突变型对同一STING激动剂的敏感性不同,例如,hSTING<sup>R232</sup>对c-di-GMP产生强烈响应,而hSTING<sup>H232</sup>对c-di-GMP不响应<sup>[73]</sup>。因此人们期待发现能激活hSTING大部分突变型的小分子。第三,STING的过度激活会引起细胞因子的持续产生,导致无法控制的炎症和细胞因子风暴、组织毒性、自身免疫和促进肿瘤生长的炎症性肿瘤微环境<sup>[74]</sup>。因此需要准确控制STING激动剂的剂量,在发挥药效的同时,最大限度地降低免疫毒性。第四,由于STING在免疫细胞和非免疫细胞中广泛表达,所以STING激动剂系统性给药时也会诱导正常组织产生炎症细胞因子,因此目前进行临床试验的STING激动剂采用瘤内注射给药,这限制了它们的应用<sup>[54]</sup>。需要开发可系统性给药且具有靶向性的稳定型STING激动剂(如化合物41)。第五,STING从“开放”到“闭合”的构象变化是否为STING激活仍需进一步的研究,以期STING激动剂研发提供新思路。总的来说,STING已经成为一个突出的药物靶点,其激动剂的研发、以及在治疗感染和癌症方面的应用有广阔的前景。

**作者贡献:** 常佳佳负责文献查阅,论文撰写和图片处理;侯石和闫心林负责论文格式和内容合理性的初步检查;肖军海提供撰写思路和论文最终审核。

**利益冲突:** 所有作者均无相关利益冲突。

## References

- Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation [J]. *Cell*, 2010, 140: 805-820.
- Roers A, Hiller B, Hornung V. Recognition of endogenous nucleic acids by the innate immune system [J]. *Immunity*, 2016, 44: 739-754.
- Sun L, Wu J, Du F, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway [J]. *Science*, 2013, 339: 786-791.
- 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.
- Ablasser A, Goldeck M, Cavlar T, et al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING [J]. *Nature*, 2013, 498: 380-384.
- Cai X, Chiu YH, Chen ZJ. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling [J]. *Mol Cell*, 2014, 54: 289-296.
- 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.
- Gao D, Li T, Li XD, et al. Activation of cyclic GMP-AMP synthase by self-DNA causes autoimmune diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: E5699-E5705.
- Ouyang S, Song X, Wang Y, et al. Structural analysis of the STING adaptor protein reveals a hydrophobic dimer interface and mode of cyclic di-GMP binding [J]. *Immunity*, 2012, 36: 1073-1086.
- Gao P, Ascano M, Zillinger T, et al. Structure-function analysis of STING activation by c[G(2',5')pA(3',5')p] and targeting by antiviral DMXAA [J]. *Cell*, 2013, 154: 748-762.
- Chin KH, Tu ZL, Su YC, et al. Novel c-di-GMP recognition modes of the mouse innate immune adaptor protein STING [J]. *Acta Crystallogr, Sect D: Struct Biol*, 2013, 69: 352-366.
- Shang G, Zhang C, Chen ZJ, et al. Cryo-EM structures of STING reveal its mechanism of activation by cyclic GMP-AMP [J]. *Nature*, 2019, 567: 389-393.
- Shang G, Zhu D, Li N, et al. Crystal structures of STING protein reveal basis for recognition of cyclic di-GMP [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19: 725-727.
- Zhang C, Shang G, Gui X, et al. Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK1 [J]. *Nature*, 2019, 567: 394-398.
- Ergun SL, Fernandez D, Weiss TM, et al. STING polymer structure reveals mechanisms for activation, hyperactivation, and inhibition [J]. *Cell*, 2019, 178: 290-301.
- Abe T, Harashima A, Xia T, et al. STING recognition of cytoplasmic DNA instigates cellular defense [J]. *Mol Cell*, 2013, 50: 5-15.
- Yin Q, Tian Y, Kabaleeswaran V, et al. Cyclic di-GMP sensing via the innate immune signaling protein STING [J]. *Mol Cell*, 2012, 46: 735-745.
- Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling [J]. *Nature*, 2008, 455: 674-678.
- Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald KA. DNA sensing by the

- cGAS-STING pathway in health and disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20: 657-674.
- [20] Gui X, Yang H, Li T, et al. Autophagy induction *via* STING trafficking is a primordial function of the cGAS pathway [J]. *Nature*, 2019, 567: 262-266.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] Li XD, Wu J, Gao D, et al. Pivotal roles of cGAS-cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects [J]. *Science*, 2013, 341: 1390-1394.
- [25] Diner EJ, Burdette DL, Wilson SC, et al. The innate immune DNA sensor cGAS produces a noncanonical cyclic dinucleotide that activates human STING [J]. *Cell Rep*, 2013, 3: 1355-1361.
- [26] Gao J, Tao J, Liang W, et al. Identification and characterization of phosphodiesterases that specifically degrade 3'3'-cyclic GMP-AMP [J]. *Cell Res*, 2015, 25: 539-550.
- [27] Corrales L, McWhirter SM, Dubensky TW, et al. The host STING pathway at the interface of cancer and immunity [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126: 2404-2411.
- [28] Li L, Yin Q, Kuss P, et al. Hydrolysis of 2'3'-cGAMP by ENPP1 and design of nonhydrolyzable analogs [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 1043-1048.
- [29] Katibah GE, Kanne D, Sung L, et al. Compositions and methods for activating stimulator of interferon gene-dependent signalling: WO 2017075477 [P]. 2017-05-04.
- [30] Glick G, Ghosh S, Roush WR, et al. Cyclic dinucleotide analogs for treating conditions associated with STING (stimulator of interferon genes) activity: WO 2018045204 [P]. 2018-03-08.
- [31] 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.
- [32] Altman MD, Andresen BM, Chang W, et al. Cyclic di-nucleotide compounds as STING agonists: WO 2017027645 [P]. 2017-02-16.
- [33] Chen C, Chen Z, Dai Y, et al. Cyclic di-nucleotide compounds and methods of use: WO 2017161349 [P]. 2017-09-21.
- [34] Kanne DB, Ndubaku CO, Bruml JR, et al. Locked nucleic acid cyclic dinucleotide compounds and uses thereof: WO 2018009466 [P]. 2018-01-11.
- [35] Lioux T, Mauny MA, Lamoureux A, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel cyclic adenosine-inosine monophosphate (cAIMP) analogs that activate stimulator of interferon genes (STING) [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 10253-10267.
- [36] Fink BE, Zhao Y, Chen L, et al. Cyclic dinucleotides as anticancer agents: WO 2019079261 [P]. 2019-04-25.
- [37] Vyskocil S, Ciavarri J, Cullis C, et al. STING modulator compounds, and methods of making and using: WO 2019092660 [P]. 2019-05-16.
- [38] Corbett TH, Bissery MC, Wozniak A, et al. Activity of flavone acetic acid (NSC-347512) against solid tumors of mice [J]. *Invest New Drugs*, 1986, 4: 207-220.
- [39] Kerr DJ, Kaye SB. Flavone acetic acid-preclinical and clinical activity [J]. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1989, 25: 1271-1272.
- [40] Woon ST, Reddy CB, Drummond CJ, et al. A comparison of the ability of DMXAA and xanthenone analogues to activate NF- $\kappa$ B in murine and human cell lines [J]. *Oncol Res*, 2005, 15: 351-364.
- [41] Roberts ZJ, Goutagny N, Perera PY, et al. The chemotherapeutic agent DMXAA potently and specifically activates the TBK1-IRF-3 signaling axis [J]. *J Exp Med*, 2007, 204: 1559-1569.
- [42] Taylor JL, Schoenherr CK, Grossberg SE. High-yield interferon induction by 10-carboxymethyl-9-acridanone in mice and hamsters [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1980, 18: 20-26.
- [43] Taylor JL, Schoenherr C, Grossberg SE. Protection against Japanese encephalitis virus in mice and hamsters by treatment with carboxymethylacridanone, a potent interferon inducer [J]. *J Infect Dis*, 1980, 142: 394-399.
- [44] Kim S, Li L, Maliga Z, et al. Anticancer flavonoids are mouse-selective STING agonists [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, 8: 1396-1401.
- [45] Conlon J, Burdette DL, Sharma S, et al. Mouse, but not human STING, binds and signals in response to the vascular disrupting agent 5, 6-dimethylxanthenone-4-acetic acid [J]. *J Immunol*, 2013, 190: 5216-5225.
- [46] Cavlar T, Deimling T, Ablasser A, et al. Species-specific detection of the antiviral small-molecule compound CMA by STING [J]. *EMBO J*, 2013, 32: 1440-1450.
- [47] Gao P, Zillinger T, Wang W, et al. Binding-pocket and lid-region substitutions render human STING sensitive to the species-specific drug DMXAA [J]. *Cell Rep*, 2014, 8: 1668-1676.
- [48] Zhang H, Han MJ, Tao J, et al. Rat and human STINGs profile similarly towards anticancer/antiviral compounds [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 786-791.
- [49] Hwang J, Kang T, Lee J, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of C7-functionalized DMXAA derivatives as potential human-STING agonists [J]. *Org Biomol Chem*, 2019, 17: 1869-1874.
- [50] Hou S, Lan XJ, Li W, et al. Design, synthesis and biological evaluation of acridone analogues as novel STING receptor agonists [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 95: 103556.
- [51] Zhang Y, Sun Z, Pei J, et al. Identification of  $\alpha$ -mangostin as an agonist of human STING [J]. *ChemMedChem*, 2018, 13: 2057-

- 2064.
- [52] 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.
- [53] Chamberlain BT, Rice JM, Jernigan FE, et al. Oxoacridinyl acetic acid derivatives and methods of use: WO 2019100061 [P]. 2019-05-23.
- [54] Ramanjulu JM, Pesiridis GS, Yang J, et al. Design of amidobenzimidazole STING receptor agonists with systemic activity [J]. Nature, 2018, 564: 439-443.
- [55] Xi Q, Wang M, Jia W, et al. Design, Synthesis, and biological evaluation of amidobenzimidazole derivatives as stimulator of interferon genes (STING) receptor agonists [J]. J Med Chem, 2020, 63: 260-282.
- [56] Zhu Q, Hu H, Liu H, et al. A synthetic STING agonist inhibits the replication of human parainfluenza virus 3 and rhinovirus 16 through distinct mechanisms [J]. Antiviral Res, 2020, 183: 104933.
- [57] Chin EN, Yu C, Vartabedian VF, et al. Antitumor activity of a systemic STING-activating non-nucleotide cGAMP mimetic [J]. Science, 2020, 369: 993-999.
- [58] Pan BS, Perera SA, Piesvaux JA, et al. An orally available non-nucleotide STING agonist with antitumor activity [J]. Science, 2020, 369: 935.
- [59] Hou H, Yang R, Liu X, et al. Discovery of triazoloquinoxaline as novel STING agonists via structure-based virtual screening [J]. Bioorg Chem, 2020, 100: 103958.
- [60] Sali TM, Pryke KM, Abraham J, et al. Characterization of a novel human-specific STING agonist that elicits antiviral activity against emerging alphaviruses [J]. PLoS Pathog, 2015, 11: e1005324.
- [61] Abraham J, Botto S, Mizuno N, et al. Characterization of a novel compound that stimulates STING-mediated innate immune activity in an allele-specific manner [J]. Front Immunol, 2020, 11: 1430.
- [62] Gall B, Pryke K, Abraham J, et al. Emerging alphaviruses are sensitive to cellular states induced by a novel small-molecule agonist of the STING pathway [J]. J Virol, 2018, 92: e01913-e01917.
- [63] Banerjee M, Midya S, Shrivastava R, et al. G10 is a direct activator of human STING [J]. PLoS One, 2020, 15: e0237743.
- [64] Ming SL, Zeng L, Guo YK, et al. The human-specific STING agonist G10 activates type I interferon and the NLRP3 inflammasome in porcine cells [J]. Front Immunol, 2020, 11: 575818.
- [65] Liu B, Tang L, Zhang X, et al. A cell-based high throughput screening assay for the discovery of cGAS-STING pathway agonists [J]. Antiviral Res, 2017, 147: 37-46.
- [66] Zhang X, Liu B, Tang L, et al. Discovery and mechanistic study of a novel human-stimulator-of-interferon-genes agonist [J]. ACS Infect Dis, 2019, 5: 1139-1149.
- [67] Wu J, Chen ZJ. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids [J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32: 461-488.
- [68] Huang J, You H, Su C, et al. Herpes simplex virus 1 tegument protein VP22 abrogates cGAS/STING-mediated antiviral innate immunity [J]. J Virol, 2018, 92: e00841-18.
- [69] 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.
- [70] Tu SM, Liu YP, Chen Y. Research progress of cGAS-STING in tumor metastasis [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2020, 55: 398-406.
- [71] Tu SM, Liu YP, Chen Y. Inhibition of exosomes-mediated melanoma metastasis by icaritin [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2021, 56: 778-785.
- [72] Yi G, Brendel VP, Shu C, et al. Single nucleotide polymorphisms of human STING can affect innate immune response to cyclic dinucleotides [J]. PLoS One, 2013, 8: e77846.
- [73] Wu X, Wu FH, Wang X, et al. Molecular evolutionary and structural analysis of the cytosolic DNA sensor cGAS and STING [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42: 8243-8257.
- [74] Barber GN. STING: infection, inflammation and cancer [J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15: 760-770.