

cGAS - STING 信号通路相关靶向药物研究进展

张虎城

福建师范大学 福建福州 350117

摘要：cGAS-STING 信号通路是介导 DNA 免疫的主要信号通路，该通路在抵御病原体的入侵以及抗肿瘤方面发挥重要作用，同时该通路的异常会导致各种免疫疾病的发生，因而开发针对该信号通路的靶向性药物至关重要，本文就 cGAS-STING 信号通路中最关键的两个蛋白 cGAS 以及 STING 的靶向性药物的研究进展进行讨论，以期临床药物的进一步研究提供参考和思路。

关键词：靶向药物；cGAS-STING 信号通路；激动剂；抑制剂

引言

自新冠疫情爆发以来，机体自身抵御病原体入侵的免疫机制愈发受到重视。固有免疫是机体在长期进化过程中形成的对一系列抗原物质的生理性排斥反应，也是机体在受到病毒等病原体入侵时的首道防线。根据引起固有免疫的抗原类型的不同可以分为由病原微生物感染宿主细胞释放的病原相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns, PAMPs）以及细胞损伤释放的损伤相关分子模式（damage-associated molecular patterns, DAMPs）^[1]。模式识别受体（pattern-recognition receptors, PRRs）是固有免疫的重要一环，PRRs 可以结合 PAMPs, DAMPs 从而引发固有免疫的激活，达到监测病毒入侵以及机体损伤的目的。

cGAS-STING 信号通路中鸟苷酸-腺苷酸合成酶（cyclic GMP-AMP synthase, cGAS）、干扰素基因刺激因子（stimulator of interferon genes, STING）均是细胞内的 PRRs，在固有免疫的发生和发展过程中发挥着重要作用，被广泛认为是介导 DNA 免疫的主要信号通路，cGAS-STING 信号通路与病原微生物感染、肿瘤、自身免疫性疾病的发生密切相关，该通路异常可能导致多种疾病的发生^[2-4]，因而开发 cGAS-STING 信号通路的靶向药物就显得尤为重要，本文针对 cGAS-STING 信号通路关键环节的靶向药物研究进展进行综述。

1. cGAS-STING 信号通路

目前，越来越多的研究表明，cGAS-STING 信号通路是机体介导 DNA 免疫应答的主要途径^[5]。cGAS 是胞质 DNA 的主要感受器，当来自细菌、病毒、肿瘤细胞的外源 DNA 或来自线粒体损伤、细胞凋亡的自身 DNA 在细胞质中积聚

时，都能被 cGAS 识别和结合^[6]，与胞质中 dsDNA 相结合后，cGAS 发生构象改变并被激活，活化的 cGAS 催化 GTP 和 ATP 转化为 2',3'-环化鸟苷酸-腺苷酸（cyclic GMP-AMP, cGAMP），cGAMP 在细胞中充当第二信使，随后与定位在内质网上的 STING 蛋白结合，使其发生二聚化并被激活，移位到高尔基体。随后 STING 募集并激活蛋白激酶 IKK 和 TBK1，分别导致转录因子 NF- κ B 和 IRF3 的激活。NF- κ B 和 IRF3 进入细胞核，它们一起发挥作用，诱导一系列免疫和炎症基因产物，包括 I 型 IFN 和 TNF- α 、IL-6）。

由此可见，在 cGAS-STING 信号通路中 cGAS、STING 起到至关重要的作用，同时这些位点的调控紊乱会引起机体强烈的免疫反应，导致疾病的发生，因而针对其设计靶向药物，以达到对信号通路的激活和抑制受到广泛关注。

2. cGAS 靶向药物的开发

cGAS 相关靶向药物主要分为抑制和激活两部分。cGAS 抑制剂截至目前，根据抑制原理的不同又可分为多种类型，一类是针对胞质内 dsDNA 设计的靶向药物，这类药物通过与细胞质中的 dsDNA 结合从而间接的抑制了其 cGAS 的结合，已有报道羟化氯喹、奎纳克林等抗疟疾药物通过与细胞质中的 dsDNA 结合以抑制 cGAMP 合成的作用^[7]；另一类是通过直接与 cGAS 的活性位点相结合，从而影响 cGAS 与 GTP 和 ATP 结合，进而影响下游 cGAMP 的合成，达到抑制信号通路的目的，如 Vincent 等利用高通量筛选发现的 cGAS 小分子抑制剂 RU.521^[8]，以及 Hall 等发现的一种具有生物活性的小分子 PF-06928215^[9]；此外，还有一类是通过直接抑制 cGAS 的活性来达到抑制信号通路的目的，如 Chu

等报道的紫苏醛^[10]，虽然目前其作用机制尚不清晰，但由于其具有良好的靶向性，利用此种原理设计新的靶向抑制剂将会具有广阔的研究和应用场景。

目前有关 cGAS 的激动剂鲜有报道，近日陈昶等^[11]利用高通量技术筛选可与 cGAS 结合的化合物，最终发现 Brivanib 为 cGAS 的新型增效剂，该研究创新性地表明了小分子化合物可能通过类似“分子胶水”方式促进 DNA 和 cGAS 结合，进而增强 cGAS 活性的全新路径，并为铂类药物化疗增敏提供候选药物^[11]。

3. STING 靶向药物的开发

STING 是定位于内质网上的跨膜蛋白，N 末端区域为跨膜区域，将 STING 蛋白锚定在膜上；C 末端区域由三部分组成，即二聚化结构域，定位于内质网上的 STING 蛋白以二聚化的形式存在；配体结合结构域，当 STING 未结合 cGAMP 时，两分子 STING 的配体结合结构域相互分开呈“Y”形，以便接受来自细胞质中的 cGAMP，结合 cGAMP 后，配体结合结构域闭合，从而促使自身向高尔基体转位；C 末端结构域，主要与后续 IRF3 的募集有关。针对 STING 设计的靶向药物，主要是针对 C 末端区域的三部分，以实现对其二聚化、转位、以及激活产生影响，以达到对下游的激动和抑制的作用^[12,13]。

3.1 STING 的抑制剂

针对 STING 的抑制剂近年来被广泛报道。STING 的二聚化与 N 端序列 88/91 半胱氨酸残基的棕榈酰化密切相关^[14]，已有报道发现两种硝基咪唑衍生物 (C-176、C-178) 能够有效抑制 N 端 91 位半胱氨酸残基的棕榈酰化以抑制人源 STING 的活性，根据其设计的另外两种衍生物 C-170、C-171 以及相关衍生物 H-151 对人源和鼠源 STING 均能起到抑制作用^[15]，也有报道发现 3 种硝基脂肪酸能够通过抑制 N 端 88/91 位半胱氨酸残基的棕榈酰化来抑制人源和鼠源 STING 的活性^[16]。

STING 与胞质中 cGAMP 的结合主要是通过 C 末端的配体结合结构域，Siu 等^[17]发现化合物 C18 以及 Hong 等^[18]通过虚拟筛选发现的四种化合物，能够通过 cGAMP 竞争性结合 STING 的配体结合结构域，以实现 STING 的竞争性抑制，抑制其转位作用，达到对下游的抑制作用。被激活的 STING 需要通过 C 末端结构域募集 IRF3，才能将信号成功传递给下游，Li 等^[19]分离出的 astin C，能够有效的阻断这

一过程，抑制 STING 的下游信号。

3.2 STING 的激动剂

与抑制剂不同，STING 的激动剂集中在开发类似物方面，以实现 STING 的直接激活，而促进其二聚化，或 IRF3 的募集方面相关研究未见报道。

细胞中 STING 的直接激动剂是 cGAMP，其所属的环化二核苷酸 (cyclic dinucleotides, CDNs) 均能有效激活 STING，如 2',2'-cGAMP、3',3'-cGAMP、c-diAMP 以及 c-diGMP，虽然 CDNs 的种类众多，但是与 STING 的结合能力 cGAMP 要明显优于其他 CDNs，cGAMP 中又属 2',3'-cGAMP 的结合能力最强^[20]。虽然 CDNs 有诸多优点，但是实际应用起来面临诸多问题，首先机体内存在天然的 CDNs 降解酶——核苷酸外焦磷酸酶 / 磷酸二酯酶^[21]，在细胞内广泛存在，极大的限制了 CDNs 的应用，同时 CDNs 还面临着稳定性和透膜性差的问题^[22]。因而目前有许多研究 CDNs 的修饰改造方面，例如 Wang 等^[23]对 CDNs 进行核苷酸替换，以改善其与 STING 的结合能力，然而对 CDNs 的修饰改造也会影响对 STING 的激活作用。

为改善上述缺点，许多团队致力于开发 CDNs 的非核苷酸类似物，Ramanjulu 等^[24]发现 5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸 (5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid, DMXAA) 能够有效结合并激活鼠源 STING，然而虽然据报道人源与鼠源 STING 只存在细微差别^[25]，但是 DMXAA 仅对鼠源 STING 存在激活作用；Ramanjulu^[24]等发现的二聚氨基苯并咪唑 (dimeric amidobenzimidazole, diABZI)，其与 STING 的亲合力是 cGAMP 的 18 倍，且诱导产生 IFN 的能力也明显优于 cGAMP^[24]。尽管上述非核苷酸类似物相较 CDNs 具有更强的稳定性，但是仍然存在透膜性差的问题，改善药物的透膜性，或通过脂质体、纳米颗粒等包裹方式增强其透膜性，或成为 STING 激动剂今后研究的热点。

4. 总结讨论

cGAS-STING 信号通路是介导 DNA 免疫的主要信号通路，该通路在抵御病原体的入侵以及抗肿瘤方面发挥重要作用，同时该通路的异常会导致各种免疫疾病的发生。目前随着越来越多非经典 cGAS-STING 经典信号通路的发现，以及研究的不断深入，将会有更多的靶向药物被发现，而人源和鼠源 STING 的激活机制不同的问题，以及不同针对不同环节的激动剂和抑制剂之间的效力和副作用的比较如何量化

的问题，针对上游蛋白的调控如何避免下游蛋白的过量表达引起免疫因子风暴等问题仍是急需解决的问题。

参考文献：

- [1] 唐庭轩, 郭凯文. SARS-CoV-2 病毒逃避固有免疫应答的机制研究进展 [J]. 生命的化学, 2022, 42(02): 338–342.
- [2] Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald K A. DNA sensing by the cGAS–STING pathway in health and disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 657–674.
- [3] Yu L, Liu P. Cytosolic DNA sensing by cGAS: regulation, function, and human diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1) [2021–08–30].
- [4] Cheng Z, Dai T, He X, et al. The interactions between cGAS–STING pathway and pathogens [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1) [2021–08–30].
- [5] Chen Q, Sun L, Chen Z J. Regulation and function of the cGAS–STING pathway of cytosolic DNA sensing [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(10): 1142–1149.
- [6] Wan D, Jiang W, Hao J. Research advances in how the cGAS–STING pathway controls the cellular inflammatory response [J]. *Front Immunol*, 2020, 11 [2021–08–30].
- [7] An J, Minie M, Sasaki T, et al. Antimalarial Drugs as Immune Modulators: New Mechanisms for Old Drugs [J]. *Annu Rev Med*, 2017, 68: 317–330.
- [8] Vincent J, Adura C, Gao P, et al. Small molecule inhibition of cGAS reduces interferon expression in primary macrophages from autoimmune mice [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1–13.
- [9] 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(9): e0184843.
- [10] Chu L, Li C, Li Y, et al. Perillaldehyde inhibition of cGAS reduces dsDNA–induced interferon response [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 1201.
- [11] Haipeng Liu, Hang Su, Fei Wang, et al. Pharmacological boosting of cGAS activation sensitizes chemotherapy by enhancing antitumor immunity [J]. *Cell Reports*, 2023, 42(3): 112275.
- [12] Shang G, Zhang C, Chen Z J, et al. Cryo–EM structures of STING reveal its mechanism of activation by cyclic GMP–AMP [J]. *Nature*, 2019, 567(7748) 389–393.
- [13] Kato K, Omura H, Ishitani R, et al. Cyclic GMP–AMP as an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 541–566.
- [14] Mukai K, Konno H, Akiba T, et al. Activation of STING requires palmitoylation at the Golgi [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11932.
- [15] Haag SM, Gulen MF, Reymond L, et al. Targeting STING with covalent small–molecule inhibitors [J]. *Nature*, 2018, 559(7713): 269–273.
- [16] Hansen AL, Buchan GJ, Ruhl M, et al. Nitro–fatty acids are formed in response to virus infection and are potent inhibitors of STING palmitoylation and signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(33): E7768–E7775.
- [17] Siu T, Altman M D, Baltus G A, et al. Discovery of a novel cGAMP competitive ligand of the inactive form of STING [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 10(1): 92–97.
- [18] Hong Z, Mei J, Li C, et al. STING inhibitors target the cyclic dinucleotide binding pocket [J]. *PNAS*, 2021, 118(24): e2105465118.
- [19] Li S, Hong Z, Wang Z, et al. The cyclopeptide astin C specifically inhibits the innate immune CDN sensor STING [J]. *Cell reports*, 2018, 25(12): 3405–3421.
- [20] Liu H, Moura–Alves P, Pei G, et al. cGAS facilitates sensing of extracellular cyclic dinucleotides to activate innate immunity [J]. *EMBO Rep*, 2019, 20(4): e46293.
- [21] Amouzegar A, Chelvanambi M, Filderman J N, et al. STING agonists as cancer therapeutics [J]. *Cancers*, 2021, 13(11): 2695.
- [22] Berger G, Lawler S E. Novel non–nucleotidic STING agonists for cancer immunotherapy [J]. *Future Med Chem*, 2018, 10(24): 2767–2769.
- [23] Wang C, Sinn M, Stifel J, et al. Synthesis of All Possible Canonical (3′ –5′ –Linked) Cyclic Dinucleotides and Evaluation of Riboswitch Interactions and Immune–Stimulatory Effects [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(45): 16154–16160.
- [24] Ramanjulu J M, Pesiridis G S, Yang J, et al. Design

of amidobenzimidazole STING receptor agonists with systemic activity[J]. Nature, 2018, 564(7736): 439-443.

[25] 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(6): 1668-

1676.

作者简介:

张虎城 (1998) 男 - 汉族 - 山东日照 - 硕士 - 无职称 - 天然免疫