

cGAS-STING通路在神经退行性疾病中的作用

覃梅珍, 孙振亮*

(南方医科大学附属奉贤医院, 上海 201409)

摘要: 外来或自身错位的核酸通过激活胞质DNA传感器环GMP-AMP合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)并结合其下游信号效应干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)触发先天免疫反应。许多神经退行性疾病都显示出激活的炎症表型, 靶向cGAS-STING通路的小分子调节剂成为治疗大多数涉及型干扰素水平升高和促炎细胞因子增加的神经退行性疾病的关键。本文总结了cGAS-STING通路在多种神经退行性脑部疾病, 如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)以及肌萎缩侧索硬化症(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等中发挥的重要功能机制的最新研究进展, 并讨论cGAS-STING小分子调节剂如cGAS抑制剂和STING抑制剂在这些疾病中可能的治疗作用, 为大多数神经退行性疾病的药物治疗提供新策略。

关键词: 环GMP-AMP合成酶; 干扰素基因刺激因子; 神经炎症; 肌萎缩侧索硬化症; 阿尔茨海默病; 亨廷顿病; 帕金森病

Roles of cGAS-STING pathway in neurodegenerative diseases

QIN Meizhen, SUN Zhenliang*

(Fengxian Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shanghai 201409, China)

Abstract: Foreign or self-mislocated nucleic acids trigger innate immune responses by activating the cytosolic DNA sensor cyclic GMP-AMP synthase (cGAS) and binding to its downstream signaling effector stimulator of interferon genes (STING). Since neurodegenerative diseases show an activated inflammatory phenotype, small molecule modulators targeting the cGAS-STING pathway hold the key to the treatment of most neurodegenerative diseases involving elevated levels of type I interferons and increased proinflammatory cytokines. In this review, we will summarize the fundamental roles of cGAS-STING pathway in various neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease (AD), Huntington's disease (HD), Parkinson's disease (PD) and amyotrophic lateral sclerosis (ALS), and discuss the possible therapeutic effects of small molecule modulators targeting cGAS-STING pathway such as cGAS inhibitors and STING inhibitors in these diseases, providing new strategies for the medical treatment of most neurodegenerative diseases.

Key Words: cyclic GMP-AMP synthase; stimulator of interferon genes; neuroinflammation; amyotrophic lateral sclerosis; Alzheimer's disease; Huntington's disease; Parkinson's disease

在固有细胞免疫过程中, 模式识别受体识别微生物上表达的分子特征(病原相关分子模式), 以

及在受损宿主细胞上表达的分子基序(损伤相关分子模式)、激活 I 型干扰素(type I interferons,

收稿日期: 2022-05-31

第一作者: E-mail: 3475787609@qq.com

*通信作者: E-mail: zhenliang6@126.com

IFN- I)和其他促炎细胞因子,这些对宿主的有效防御起至关重要的作用^[1]。这些模式识别受体主要还包含有Toll样受体、RIG- I 样受体、环GMP-AMP合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)和其他细胞内DNA传感器等。cGAS通过感知外来病原体或自身的双链DNA(double-stranded DNA, dsDNA),引起干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)介导下游细胞的IFN- I 诱导反应以及其他的多种促炎性细胞因子的产生^[2]。该通路的异常调节会导致不良影响,如神经炎症和神经退行性病变,从而加速相关疾病进展。许多神经退行性疾病都显示出激活的炎症表型,包括干扰素刺激基因(stimulator of interferon genes, ISGs)和促炎因子的水平升高。此外,线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)损伤也参与cGAS-STING通路信号转导,损害的mtDNA通过某种未知的方式释放到细胞质中进而激活cGAS-STING介导的IFN- I 反应,增加某些ISGs的表达^[3]。mtDNA损伤和线粒体功能障碍也是多种神经退行性疾病的病因之一。本文主要介绍cGAS-STING通路对神经退行性脑病的影响。

1 cGAS-STING信号通路

cGAS属于核苷酸转移酶家族的成员,是一种dsDNA传感器,在STING上游发挥作用。cGAS所拥有独特的Mab-21(male abnormal-21)结构域是用来鉴定dsDNA的一个必需的结构域^[4],该结构域中的锌结构嵌入DNA的大沟,cGAS通过DNA中带正电的氨基酸残基和锌指结构,与整体带负电的dsDNA结合,因此cGAS对DNA的识别作用没特异性^[5],既能准确鉴定病原微生物中的dsDNA,又能准确鉴定引起机体核酸异常或泄露的自身DNA,包括细胞核DNA和mtDNA等。cGAS通常以非活性蛋白的形式存在于细胞中,当与dsDNA以2:2的比例结合时,发生构象变化转变为活性状态^[6],进一步导致三磷酸鸟苷(GTP)和三磷酸腺苷(ATP)形成第二信使2',3'环GMP-AMP(cyclic GMP-AMP, cGAMP)^[7,8],随后该cGAMP又被内质网层上的二聚体跨层接头蛋白STING监测到。与cGAMP蛋白的融合作用活化了STING蛋白,促进了STING蛋白由内质网转化到高尔基体上^[9]。在完成这个转化过

程的整个过程中,STING蛋白从内质网和高尔基体的中间体处开始招募和激活TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)。TBK1磷酸化自身和STING,随后磷酸化干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)、核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和信号转导及转录激活蛋白6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6),并引起这些因子的核转位^[10,11]。转移到细胞核中的磷酸化IRF3进一步诱导IFN- I 基因和干扰素刺激基因的表达,启动固有免疫应答^[12]。该研究还发现,STING能够抑制诱发的肿瘤细胞坏死抑制因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)等细胞因子的表达。一方面,cGAS-STING信号通路异常的活化能够在遭受病原微生物的侵袭感染时起到抗先天性免疫反应的治疗效果;另一方面,cGAS-STING信号通路异常的活化同时也可能会导致的IFN- I 免疫反应以及其他的一系列炎性细胞因子的异常过度表达,参与神经退行性疾病的发生发展过程。

2 cGAS-STING小分子调节剂

cGAS-STING先天免疫信号通路的异常过度激活在许多神经退行性脑部疾病的病理发展中有着十分重要作用,直接或间接靶向cGAS和STING的小分子调节剂成为治疗相关神经退行性疾病的关键。目前,关于体外cGAS抑制剂活性的国内外研究也不少,在一个采用高通量筛选方法建立的体外cGAS活力的测定方法的研究项目中,Vincent等^[13]筛选出了一种具有特异性且能明显地控制体外cGAS活力水平的活性化合物RU.521。但RU.521对小鼠人源cGAS酶活性的直接抑制作用要明显小于对鼠源cGAS酶活性的直接抑制。为此,该研究团队同时也成功筛选出2种可用于明显地控制人源cGAS酶活性水平的先导物质G150和抑制剂G140,其中抑制剂G150已在细胞体外实验模型研究中首次显示出了较好的体外生物活性(IC₅₀为600 nmol/L)。Rosaura等^[14]也报道了2种人源cGAS抑制剂CU-76和CU-32。这2种人源cGAS抑制剂可高度特异性地直接控制在人类细胞组织中的DNA通道,而且对RIG-I-MAVS或Toll样受体的通路则无任何其他影响。除了全新筛选出的cGAS小分子抑制剂,一些

已经上市的药物也被发现具有相似抑制cGAS的功能。Dai等^[15]发现, 阿司匹林可以直接对cGAS进行乙酰化修饰, 在AGS患者来源的成核纤维细胞和*Trex1*^{-/-}小鼠的体内组织中均有效抑制IFN- β 的产生。此外, 基于抗疟原药衍生物而挑选出来的活性物质X6, 与cGAS/dsDNA复合物相互作用, 有效抑制IFN- β ^[16]。

STING抑制剂可分为2大类: 共价抑制剂和非共价抑制剂。共价抑制剂主要由硝基脂肪酸(nitro fatty acids, NO₂-FAs)和硝基咪唑2类, Hansen等^[17]通过抑制棕榈酰化确定了NO₂-FAs作为有效的STING抑制剂, NO₂-FAs共价结合在第88位和91位半胱氨酸的棕榈酰化靶点以及N-端第16位组氨酸残基处进行翻译后修饰, 并抑制棕榈酰化和TBK1的磷酸化, 可高效抑制人源STING的活性。Haag等^[18]通过基于细胞的化学筛选方法报道了硝基咪唑衍生物C-178和C-176。这2种化合物通过共价修饰第91位半胱氨酸的硫醇干扰STING的棕榈酰化, 进一步影响TBK1的招募。C-178和C-176是鼠源STING的不可逆抑制剂, 对人源STING活性较差。因此, Haag等^[18]进一步筛选出能有效抑制人源STING棕榈酰化的咪唑衍生物H-151。此外, 非共价抑制剂Astin C是从药用植物紫菀中纯化出来的一种环肽化合物, 也是人源STING的拮抗剂, 在降低小鼠和人成纤维细胞中的IFNB的mRNA表达方面表现出良好的效力, 半抑制浓度分别为3.4 μ mol/L和10.8 μ mol/L。而且Astin C大大降低了cGAMP与STING的结合力^[19]。同时, Siu等^[20]确定了羧酸盐的衍生物化合物18作为人源STING的弱拮抗剂, 化合物18通过与2',3'-cGAMP竞争, 阻断2',3'-cGAMP与STING的结合, 起到抑制STING的效果。

3 cGAS-STING介导的炎症反应与神经退行性疾病

神经退行性病变主要是指机体神经元及脊髓鞘膜的正常结构改变及神经功能损害, 导致机体逐渐出现认知或行为上的功能障碍的一类渐进性和进行性的神经功能衰退的中枢神经系统疾病。在临床上, 神经退行性疾病可分为急性和慢性, 急性神经退行性疾病包括有脑缺血、脑损伤等。最常见的慢性的神经系统退行性病变有阿尔茨海

默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、脑肌萎缩性脑侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等。中枢神经炎症反应是指中枢神经系统炎症过程中的由小胶质细胞与星状胶质细胞被激活引起的神经免疫应答, 涉及干扰素刺激基因的诱导机制。在脑中, 诱发干扰素反应产生的STING主要是在小胶质细胞中进行表达, 星状胶质细胞也可诱导形成干扰素^[21]。小胶质细胞作为人体中枢神经系统最重要组成部分的一种先天的免疫功能细胞, 识别免疫细胞因子受体和产生干扰素抗体等的各种免疫信息, 与其他神经元细胞进行相互沟通, 发挥了多种功能。在急性单纯疱疹病毒性脑炎中, 小胶质细胞通过cGAS-STING途径被激活, 诱导IFN- β 的产生, 启动抗病毒防御途径^[22]。在慢性神经退行性病变下, STING诱导IFN- β 产生, 形成小胶质细胞表型并加速疾病进展^[23]。cGAS和STING在人类神经系统中的小胶质细胞和星形胶质细胞中的表达相对稳定, 但当受到泄露到细胞质中的dsDNA的刺激时, cGAS-STING信号通路会激活并启动保护性免疫反应。泄露到胞质中的dsDNA很可能是由于神经系统的损伤或者病毒感染引起的。小胶质细胞的显著反应性可导致脑老化和神经变性。cGAS-STING通路的异常反应导致神经炎症和神经变性。在一项研究中, IFN- β 可以直接改变神经元的结构和功能完整性, IFN- α 处理大鼠原代神经元后, 树突分支明显减少^[24]。此外, 小胶质细胞激活释放的TNF- α 和IL-1 β 激活星形胶质细胞的一氧化氮合酶2, 导致一氧化碳和其他超氧化物过氧亚硝酸盐产物增加, 进一步导致氮化应激和神经退行性途径的激活^[25]。此外, 神经胶质细胞激活引起细胞因子的产生通过激活p53和NF- κ B介导神经退行性变^[26]。过度的炎症通过多种机制促进神经退行性病变, 如图1所示。下面, 将讨论cGAS-STING通路在几种常见神经退行性疾病中过度激活并导致干扰素反应和其他促炎细胞因子增加的例子。

3.1 cGAS-STING对ALS的影响

ALS又名脊髓渐化冻人症, 为临床上一类主要损害于脊髓运动神经元、脑干皮层与周围大脑皮质系统的慢性中枢神经系统疾病。ALS综合征患

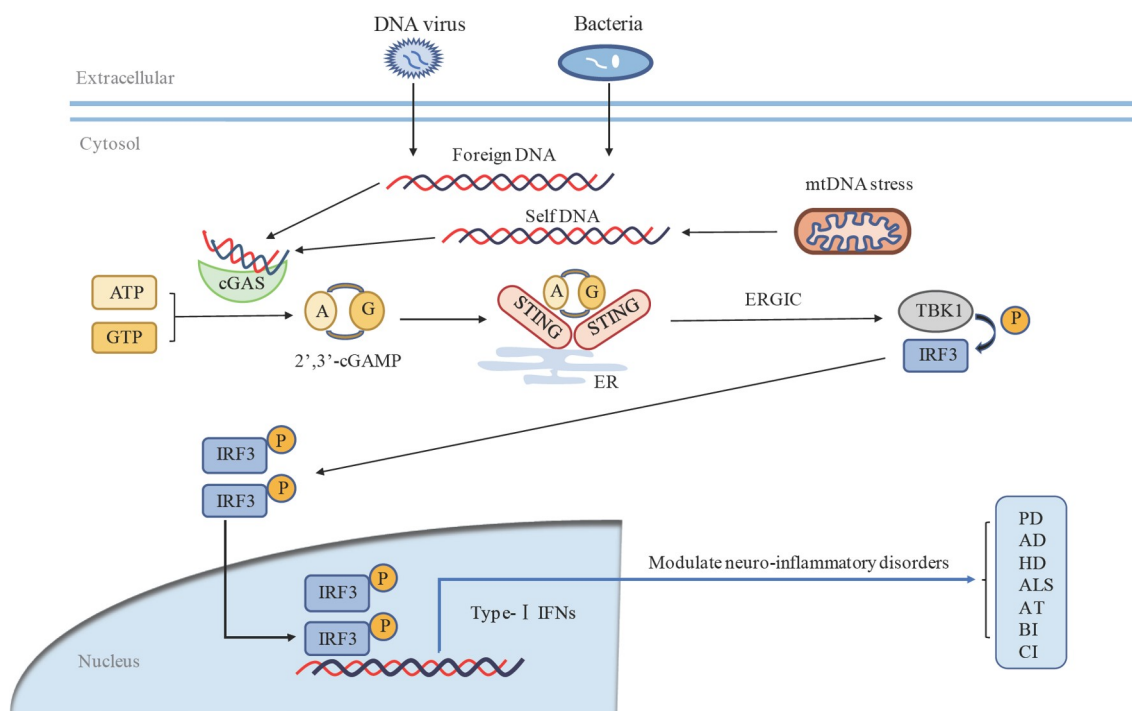


图1 cGAS-STING介导的IFN-I反应在神经退行性疾病中的作用

者常以进行性不断地增多的小骨骼肌的萎缩、延髓麻痹、无力、锥体外束征和肌束性颤动等为主临床表现。大约90%的ALS发病机制目前尚不明确。TDP-43(核DNA/RNA结合蛋白)在胞质中异常聚集和超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, *SOD1*)基因突变是许多ALS疾病的病理标志性特征。另外, *C9orf72*基因的重复序列扩增也是肌萎缩性侧索硬化症的最常见遗传原因。近年来, 有研究表明, 神经炎症参与了ALS的发病机制。TDP-43的相关突变激活小胶质细胞并触发了NF- κ B介导的致病通路, NF- κ B抑制剂的治疗减少了TDP-43转基因小鼠模型神经肌肉接头的去神经支配和ALS疾病症状^[27,28]。此外, 在*SOD1*转基因小鼠实验中发现, 在运动神经元附近的星状胶质细胞中的IFN- I 信号通路已被活化, 减少或删除IFN- α 受体1抑制IFN信号传导, 延长小鼠寿命^[29]。在95名ALS患者中, 多种炎症细胞因子, 如IL-6、TNF- α 和IFN- γ 显著升高^[30]。神经炎症是肌萎缩侧索硬化症神经元损伤和疾病进展的重要机制, 抑制炎症反应有助于ALS患者中炎症相关损伤的减轻。但是, 引发肌萎缩侧索硬化症炎症反应的免疫传感器并不清楚。

Yu等^[31]在一项研究中发现, 在ALS模型小鼠中, TDP-43蛋白以线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial membrane permeability transition pore, mPTP)介导的方式触发线粒体DNA释放到细胞质中。异常积聚的mtDNA进一步激活cGAS-STING先天免疫信号通路, 引起ALS的神经炎症反应。cGAS抑制剂RU.521以及STING蛋白缺失或STING抑制剂H-151的使用减缓了疾病进展。而且值得注意的是, 从一个由ALS患者来源的诱导多能骨髓间质干细胞中分离纯化而成的运动性神经元中, cGAS和STING的小分子抑制剂能够完全阻断IFN- I 信号通路。在ALS疾病开始时使用STING抑制剂显著延迟神经退行性变, 为患者的早期干预治疗提供了希望。此外, 要注意的是, STING的缺失并不会阻止疾病的发作。在另一研究中, *C9orf72*的缺失通过STING诱导IFN- I 介导的炎症反应, 阻断STING能明显地抑制在*C9orf72*^{-/-}免疫细胞中的过度或亢进性的IFN- I 反应。此外, 在散发性ALS患者样本中, 升高的IFN- I 特征被STING抑制剂抑制^[32]。总的来说, 这些研究揭示了cGAS-STING信号通路介导的炎症反应参与了ALS的进展, 靶向该通路的小分子调节剂为TDP-43驱动的

神经退行性变的神经元退化症状也提供了治疗可能。

3.2 cGAS-STING对PD的影响

PD是一个目前较为普遍存在的一种与大脑老化程度有关的神经退行性脑部病变。其最主要突出的临床病理特点表现为丘脑黑质层致密和核部丰富的纹状体多巴胺神经元的退化变性和功能进行性丧失及路易小体的大量沉积,引起机体的运动功能障碍变性和神经变性。其中,路易小体的一个主要结构为 α -突触核蛋白。目前,PD的确切运作机制尚未完全明确,但神经炎症被认为是该病进展的关键因素。神经炎症反应在PD患者和动物模型中增加,包括小胶质细胞活化和多种促炎细胞因子升高,导致多巴胺神经元细胞死亡。此外,在 α -突触核蛋白转基因小鼠的黑质致密化核部中也观察到Iba1+反应性小胶质细胞数量和TNF- α 水平升高^[33]。这些研究进一步证实了小胶质细胞激活和神经炎症介入了帕金森的疾病进展。抑制小胶质细胞的活化和神经炎症反应也有效挽救了MPTP诱导的PD小鼠模型的异常^[34]。与本研究一致的另一项研究中,Main等^[35]报道,在PD患者死后大脑中观察到升高的IFN- I 信号,并参与MPTP小鼠模型的神经炎症反应和疾病进展。通过基因消融IFN- I 受体1(interferon alpha/beta receptor 1, IFNAR1)或使用阻断IFNAR1单克隆抗体1治疗去除IFN- I 信号,可以降低MPTP诱导的神经炎症反应和多巴胺神经元细胞死亡。然而,这些升高的神经炎症反应是如何在PD中被触发的尚不清楚。

既往研究表明cGAS-STING-IFN信号通路介导PD病理中的神经炎症。编码富含亮氨酸重复转录激酶因子2型(Leucine-rich repeat kinase 2, *LRRK2*)基因的突变可能是导致遗传性PD的最为常见的一个遗传原因。近年来研究表明,*LRRK2*也参与免疫反应,调节炎症因子的释放以及线粒体的功能等^[36]。在*LRRK2*缺失的巨噬细胞中,IFN- I 和ISGs的基础水平增高,低水平嘌呤代谢物和动力蛋白相关蛋白引起线粒体裂变,促进了mtDNA释放到胞质中,激活cGAS-STING信号通路,增加ISGs的表达。在这些*LRRK2*缺失的巨噬细胞中抑制动力蛋白相关蛋白并用抗氧化剂治疗减轻感染。此外,泛素连接酶Parkin和磷酸酶及张力蛋白同源物诱导

的激酶1(phosphatase and tensin homolog induced putative kinase 1, *PINK1*)等的基因突变致使原发性PD中多巴胺能神经元退化^[37]。正常情况下, Parkin/*PINK1*途径能够有效去除在哺乳动物细胞体内受到损伤后的线粒体,启动线粒体的自噬,具有显著阻止mtDNA反常释放到细胞质的作用,维持线粒体功能^[38]。但是Parkin/*PINK1*通路的缺陷如何致使神经元损伤或死亡的机制还不清楚。Sliter等^[38]的研究提示, Parkin和*PINK1*可减轻STING诱导的炎症反应。*Parkin/PINK1*敲除小鼠的PD模型上在线粒体自噬能力方面都具有较严重问题,受损mtDNA进入细胞质激活cGAS-STING介导的IFN- I 信号通路,导致*Parkin*^{-/-}小鼠出现运动缺陷和多巴胺能神经元丢失的炎症表型。通过基因敲除STING蛋白或者使用干扰素阻断剂可有效挽救这些表型。然而,与此相反的是,在*Parkin/PINK1*果蝇突变体中, STING的缺失不足以有效抑制果蝇模型中的行为缺陷或线粒体破坏^[39]。STING的缺失能阻止Parkin/*PINK1*突变小鼠的病理发展,而不能抑制果蝇中的Parkin/*PINK1*表型,这可能是因为在Parkin和*PINK1*突变果蝇中观察到的异常先天免疫激活不是由细胞质DNA的存在或STING途径的激活介导的。Parkin/*PINK1*表型不是由于异常的免疫信号转导,这可能是一种附带现象。将线粒体破坏和跨物种免疫激活联系起来的机制,还需要进一步研究。总之,线粒体自噬在PD中发挥至关重要的作用, cGAS-STING介导的IFN- I 信号通路是PD疾病进展中早期神经炎症反应和多巴胺细胞死亡的关键调节因子。此外, mtDNA泄露到细胞质的机制以及通过mtDNA-cGAS-STING干预该病的潜力还有待进一步研究。

3.3 cGAS-STING对AD的影响

AD是目前临床最普遍的一种神经系统的退行性脑部性疾病,患者意识功能、工作学习能力等的功能逐渐出现减退,精神症状表现与行为活动等均会有出现不同程度障碍。其最主要的临床和病变的特点表现为脑神经细胞内的淀粉样 β 蛋白(amyloid β -protein, A β)在脑神经细胞的外表面积累并形成色素沉积引起的老年斑形成和过度磷酸化tau蛋白引起的神经元纤维缠结变性的产生以及神经元数量下降^[40]。除了这2个病理特征外,越

来越多的研究也描述了AD患者和转基因小鼠模型大脑中的神经炎症与AD病理相关^[41,42]。小胶质细胞作为神经中枢中特殊进化的巨噬细胞,激活免疫系统,并聚集在A β 斑块周围建立其保护屏障,在AD的发病中发挥至关重要的作用。AD患者的小胶质细胞活化和IL-1的升高也有报道^[43]。衰老是AD最大的危险因素,也有研究发现,IFN- α 反应在衰老时海马神经发生和脑功能中具有有害作用^[44]。此外,与未服用的患者相比,服用非甾体抗炎药的患者表现出较低的AD患病率,脉络膜丛转录组显示,在AD小鼠模型中IFN- α 反应基因整体过表达^[45]。这些研究都表明了AD患者中升高的IFN- α 相关的神经炎症反应,减轻这些神经炎症可能会减缓AD的进展,起到治疗的作用,但这些加重神经炎症的因素以及神经炎症影响AD进展的确切机制还有待进一步研究。

Minter等^[46]的研究发现,在APP/PS1小鼠中敲除*IFNAR*改善了记忆缺陷,增强了星形胶质细胞的反应性,但同时也减弱了A β 沉积周围的小胶质细胞。与此相一致的另一项研究发现,IRF3或IRF7敲低的细胞对A β 诱导的神经毒性有保护作用。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)作为人类细胞中的重要代谢物,在DNA修复和线粒体自噬等过程中发挥至关重要的作用^[47]。随着年龄的增长,NAD⁺会整体下降^[48]。线粒体自噬和神经炎症在AD患者神经元中都有不同程度的受损,但是其相互作用尚不清楚。先前的研究就发现了在AD小鼠模型中脑的NAD⁺/NADH比率降低,通过NAD⁺补充剂烟酰胺核糖(nicotinamide riboside, NR)治疗使得DNA损伤和神经炎症减少,减缓疾病进程^[49]。但是NR的有益作用部分是如何实现的在先前的研究中尚未清楚。有研究发现,NAD⁺补充剂则是依赖cGAS-STING通路实现AD病转基因小鼠模型中的神经炎症和细胞衰老的降低的^[50]。在AD小鼠中cGAS-STING水平升高,通过NR治疗后,其水平正常化。NR间接调控cGAS-STING通路,降低小胶质细胞的神经炎症。综上所述,缺失IFN- α 受体可预防A β 诱导的神经毒性,阻断cGAS-STING依赖的IFN- α 反应可能有助于缓解A β 诱导的AD神经元细胞死亡和认知能力下降。但是STING蛋白是否在

AD病理中发挥作用不得而知。尽管如此,cGAS-STING通路在其他AD药物治疗靶点中也起到了重要的作用,cGAS-STING小分子抑制剂或许会和其他AD药物起到联合疗效。

3.4 cGAS-STING对亨廷顿病(Huntington's disease, HD)的影响

HD是一种由4号染色体上的亨廷顿基因中编码多聚谷氨酰胺蛋白(polyglutamine, polyQ)的CAG重复序列的大量反常扩大引发的神经退行性脑部疾病。polyQ在细胞内积聚,形成难溶的蛋白质沉淀,致使基底核内和纹状体的神经元细胞死亡。该病严重影响大脑的纹状体,导致肌肉萎缩、运动和认知缺陷、精神障碍和神经变性。近年来,研究发现,炎症反应可能诱发HD^[51,52]。在HD患者大脑中的研究发现了几种炎性细胞因子IL-6、IL-8和TNF- α 的升高以及NF- κ B通路的失调^[51,52]。此外,在对HD患者的RNA测序分析也发现与炎症反应通路激活相关的转录失调。以上研究结果显示,炎症参与了HD的疾病病理生理过程,但是炎症参与HD的分子机制仍不清楚。

Jauhari等^[53]的研究显示,在HD小鼠中触发了cGAS-STING信号通路,而且该通路同样受到褪黑素的控制。体内褪黑素的缺乏损坏线粒体稳态,致使线粒体氧化应激,mtDNA异常释放到细胞质中并启动了cGAS-STING先天免疫通路,产生IFN- α 反应^[54]。cGAS的阻断显著抑制了INF- α 和IFN- β 的表达。这也提示了HD细胞胞质中mtDNA诱导的炎症反应是由cGAS-STING通路介导的。给予褪黑素治疗后,炎症表型被明显抑制。褪黑素和cGAS抑制剂为治疗HD提供了可能。此外,在另一项研究中,cGAS在HD中上调并促进cGAS依赖性炎症基因的表达,cGAS的消耗降低了cGAS活性并降低了炎症基因的表达,同时抑制了HD细胞中自噬的上调^[55]。综上所述,cGAS-STING通路介导的炎症反应参与了HD的病理过程,但是这些炎症反应究竟如何参与HD的发生发展仍不是很清楚,cGAS-STING小分子调节剂在HD体内体外模型中的作用还有待进一步研究。

3.5 cGAS-STING对共济失调性毛细血管扩张症的影响

共济失调性毛细血管扩张症(ataxia

telangiectasia, AT)是一种由A-T突变(A-T mutation, *ATM*)引起的,以小脑浦肯野细胞退化为主要特征的神经退行性疾病,患者表现出全身获得性免疫缺陷、癌变倾向、全身炎症等。*ATM*是一种在DNA损伤修复中起到重要作用的激酶,cGAS-STING通路的过度激活可导致神经炎症和自身免疫反应,DNA损伤修复缺陷可激活cGAS-STING先天免疫信号通路^[56,57]。有研究分析表明,*ATM*基因是AT的疾病基因,*ATM*基因缺陷细胞显示出较高水平的干扰素水平,AT患者的血清中也显示了这一特征。*ATM*基因和STING蛋白的双敲除降低了这些炎症表型的表达^[58]。cGAS蛋白敲除后,自身炎症表型进一步降低。此外,在*ATM*基因敲除大鼠模型中,神经元和胶质细胞中*ATM*的缺失导致细胞质DNA的积累,细胞因子IL- β 产生增加和小胶质细胞激活,与神经炎症表型一致。但是在该模型中没有出现小脑萎缩,而是发生了脊髓退变和瘫痪^[59]。

最近的研究将DNA修复缺陷和神经变性与共济失调性毛细血管扩张症的cGAS-STING信号通路联系起来。在一个AT小鼠模型中,细胞质DNA通过DNA传感器STING引发抗病毒反应,在脑小胶质细胞中,涉及传感器STING和黑色素瘤2的炎症体的缺失导致神经毒性细胞因子和神经毒性的分泌,STING特异性抑制剂CCCP阻断STING活性,降低了促炎性细胞因子的分泌,进一步缓解疾病的发展^[60]。

3.6 cGAS-STING对其他急性神经退行性疾病的影响

cGAS-STING介导的炎症反应除了以上所描述的常见的慢性神经退行性脑部疾病密切相关外,在一些急性脑缺血(cerebral ischemia, CI)和脑损伤(brain injury, BI)中也有报道。Abdullah等^[61]研究发现,cGAS-STING通路在创伤性BI后被激活,STING介导的炎症参与了创伤性BI的神经炎症和自噬功能障碍中的有害作用。此外,另一项研究则证明了抑制IFN- β 可减少创伤性BI后的神经炎症和神经退行性变,从而改善神经功能恢复^[62]。慢性神经变性通过STING诱导IFN反应增加,特别是在小胶质细胞中,影响小胶质细胞表型并影响神经退行性进展。在STING完全敲除小鼠中,IFN β 和

IRF7的表达显著降低,在IFNAR1完全敲除小鼠中,疾病进展缓慢,突触和神经元损失减少,神经系统症状和死亡延迟出现。STING和IFNAR1在BI中的阻断发挥了脑保护作用,STING抑制剂或许是急性脑损伤的治疗药物。此外,CI也促进dsDNA异常释放到细胞质中,激活cGAS-STING介导的IFN反应,导致神经炎症的增加。cGAS抑制剂A151的使用减弱了中风小鼠对中风免疫反应,降低了IL-6和TNF- α 等促炎性细胞因子的数量,进一步缩小中风小鼠的脑梗死体积并挽救了神经变性^[63]。这表明了cGAS抑制剂A151在脑中风中的神经保护作用,抑制cGAS可以减轻大脑炎症负担。综上所述,cGAS-STING介导的IFN- β 反应在急性神经退行性疾病,如BI和CI中发挥有害作用,cGAS和STING的抑制以及干扰素的抑制都一定程度上减缓了急性神经退行性疾病的炎症性损伤。

4 总结与展望

近年来,免疫疗法在多种神经疾病中具有对抗神经炎症和神经退行性病变的保护能力。cGAS-STING信号通路的发现为神经退行性疾病的天然免疫反应能力提供了新的认识。在本文中,我们总结了cGAS-STING通路在启动宿主防御入侵病原体的基本作用,以及靶向该通路的小分子调节剂,并讨论了在几种神经退行性疾病中的抑制作用。cGAS-STING信号通路是中枢神经系统感知异常DNA,如mtDNA,泄露到细胞质中的关键机制之一。在神经退行性疾病中,该通路的过度激活会引起神经元细胞的损伤、丢失和死亡等,进一步加重病情。未来的工作将需要进一步剖析参与cGAS-STING驱动的炎症的细胞类型,并评估干扰cGAS-STING信号轴是否可能仅仅停止和减慢,甚至可能逆转与神经功能恶化相关的分子变化。总之,这些研究表明,尽管继发于大脑的初始退行性变化,cGAS-STING通路的异常激活与不同类型的神经退行性变相关,抑制cGAS或STING可能会积极改善某些疾病病理或延缓疾病进展。因此,靶向cGAS-STING信号通路的小分子抑制剂可能会对大多数涉及神经炎症水平增加和其他促炎细胞因子增加的神经退行性疾病提供了治疗的可能性。

参考文献

- [1] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 2010, 140(6): 805-820
- [2] Sun L, Wu J, Du F, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science*, 2012, 339(6121): 786-791
- [3] Andreeva L, Hiller B, Kostrewa D, et al. cGAS senses long and HMGB/TFAM-bound U-turn DNA by forming protein-DNA ladders. *Nature*, 2017, 549(7672): 394-398
- [4] Zhou W, Whiteley AT, de Oliveira Mann CC, et al. Structure of the human cgas-DNA complex reveals enhanced control of immune surveillance. *Cell*, 2018, 174(2): 300-311.e11
- [5] Li X, Shu C, Yi G, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization. *Immunity*, 2013, 39(6): 1019-1031
- [6] Chen Q, Sun L, Chen ZJ. Regulation and function of the cGAS-STING pathway of cytosolic DNA sensing. *Nat Immunol*, 2016, 17(10): 1142-1149
- [7] Ablasser A, Goldeck M, Cavlar T, et al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING. *Nature*, 2013, 498(7454): 380-384
- [8] Gao P, Ascano M, Wu Y, et al. Cyclic [G(2',5')pA(3',5')p] is the metazoan second messenger produced by DNA-activated cyclic GMP-AMP synthase. *Cell*, 2013, 153(5): 1094-1107
- [9] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678
- [10] Zhang C, Shang G, Gui X, et al. Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK1. *Nature*, 2019, 567(7748): 394-398
- [11] Zhao B, Du F, Xu P, et al. A conserved PLPLRT/SD motif of STING mediates the recruitment and activation of TBK1. *Nature*, 2019, 569(7758): 718-722
- [12] Tanaka Y, Chen ZJ. STING specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the cytosolic DNA signaling pathway. *Sci Signal*, 2012, 5(214): ra20
- [13] Vincent J, Adura C, Gao P, et al. Small molecule inhibition of cGAS reduces interferon expression in primary macrophages from autoimmune mice. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 750
- [14] Padilla-Salinas R, Sun L, Anderson R, et al. Discovery of small-molecule cyclic GMP-AMP synthase inhibitors. *J Org Chem*, 2020, 85(3): 1579-1600
- [15] Dai J, Huang YJ, He X, et al. Acetylation blocks cGAS activity and inhibits self-DNA-induced autoimmunity. *Cell*, 2019, 176(6): 1447-1460.e14
- [16] An J, Woodward JJ, Sasaki T, et al. Cutting edge: antimalarial drugs inhibit ifn- β production through blockade of cyclic gmp-amp synthase-dna interaction. *J Immunol*, 2015, 194(9): 4089-4093
- [17] Hansen AL, Buchan GJ, Rühl M, et al. Nitro-fatty acids are formed in response to virus infection and are potent inhibitors of STING palmitoylation and signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(33): 17111-17116
- [18] Haag SM, Gulen MF, Reymond L, et al. Targeting STING with covalent small-molecule inhibitors. *Nature*, 2018, 559(7713): 269-273
- [19] Li S, Hong Z, Wang Z, et al. The cyclopeptide Astin C specifically inhibits the innate immune CDN sensor STING. *Cell Rep*, 2018, 25(12): 3405-3421
- [20] Siu T, Altman MD, Baltus GA, et al. Discovery of a novel cGAMP competitive ligand of the inactive form of STING. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 10(1): 92-97
- [21] Owens T, Khorrooshi R, Wlodarczyk A, et al. Interferons in the central nervous system: a few instruments play many tunes. *Glia*, 2014, 62(3): 339-355
- [22] Reinert LS, Lopuná K, Winther H, et al. Sensing of HSV-1 by the cGAS-STING pathway in microglia orchestrates antiviral defence in the CNS. *Nat Commun*, 2016, 7(1): 13348
- [23] Nazmi A, Field RH, Griffin EW, et al. Chronic neurodegeneration induces type I interferon synthesis via STING, shaping microglial phenotype and accelerating disease progression. *Glia*, 2019, 67(7): 1254-1276
- [24] Sas AR, Bimonte-Nelson H, Smothers CT, et al. Interferon-causes neuronal dysfunction in encephalitis. *J Neurosci*, 2009, 29(12): 3948-3955
- [25] Chiarini A, Dal Pra I, Whitfield JF, et al. The killing of neurons by beta-amyloid peptides, prions, and pro-inflammatory cytokines. *Ital J Anat Embryol*, 2006, 111(4): 221-246
- [26] Hui CW, Zhang Y, Herrup K. Non-neuronal cells are required to mediate the effects of neuroinflammation: results from a neuron-enriched culture system. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147134
- [27] Zhao W, Beers DR, Bell S, et al. TDP-43 activates microglia through NF- κ B and NLRP3 inflammasome. *Exp Neurol*, 2015, 273: 24-35
- [28] Swarup V, Phaneuf D, Dupré N, et al. Deregulation of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis triggers nuclear factor κ B-mediated pathogenic pathways. *J Exp Med*, 2011, 208(12): 2429-2447
- [29] Wang R, Yang B, Zhang D. Activation of interferon signaling pathways in spinal cord astrocytes from an ALS mouse model. *Glia*, 2011, 59(6): 946-958
- [30] Lu CH, Allen K, Oei F, et al. Systemic inflammatory response and neuromuscular involvement in amyotrophic

- lateral sclerosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2016, 3(4): e244
- [31] Yu CH, Davidson S, Harapas CR, et al. TDP-43 triggers mitochondrial DNA release via mPTP to activate cGAS/STING in ALS. *Cell*, 2020, 183(3): 636-649
- [32] McCauley ME, O'Rourke JG, Yáñez A, et al. C9orf72 in myeloid cells suppresses STING-induced inflammation. *Nature*, 2020, 585(7823): 96-101
- [33] Watson MB, Richter F, Lee SK, et al. Regionally-specific microglial activation in young mice over-expressing human wildtype alpha-synuclein. *Exp Neurol*, 2012, 237(2): 318-334
- [34] Sun Q, Wang S, Chen J, et al. MicroRNA-190 alleviates neuronal damage and inhibits neuroinflammation via Nlrp3 in MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 23379-23387
- [35] Main BS, Zhang M, Brody KM, et al. Type-I interferons contribute to the neuroinflammatory response and disease progression of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Glia*, 2016, 64(9): 1590-1604
- [36] Wallings RL, Tansey MG. LRRK2 regulation of immune-pathways and inflammatory disease. *Biochem Soc Trans*, 2019, 47(6): 1581-1595
- [37] Weindel CG, Bell SL, Vail KJ, et al. LRRK2 maintains mitochondrial homeostasis and regulates innate immune responses to *Mycobacterium tuberculosis*. *Elife*, 2020, 9: e51071
- [38] Sliter DA, Martinez J, Hao L, et al. Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation. *Nature*, 2018, 561(7722): 258-262
- [39] Hertz NT, Berthet A, Sos ML, et al. A neo-substrate that amplifies catalytic activity of Parkinson's-disease-related kinase PINK1. *Cell*, 2013, 154(4): 737-747
- [40] Jack Jr CR, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol*, 2013, 12(2): 207-216
- [41] Zimmer ER, Leuzy A, Benedet AL, et al. Tracking neuroinflammation in Alzheimer's disease: the role of positron emission tomography imaging. *J Neuroinflamm*, 2014, 11(1): 120
- [42] Minter MR, Taylor JM, Crack PJ. The contribution of neuroinflammation to amyloid toxicity in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2016, 136(3): 457-474
- [43] Eikelenboom P, van Gool WA. Neuroinflammatory perspectives on the two faces of Alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 2004, 111(3): 281-294
- [44] Taylor JM, Moore Z, Minter MR, et al. Type-I interferon pathway in neuroinflammation and neurodegeneration: focus on Alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 2018, 125(5): 797-807
- [45] Mesquita SD, Ferreira AC, Gao F, et al. The choroid plexus transcriptome reveals changes in type I and II interferon responses in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Behav Immun*, 2015, 49: 280-292
- [46] Minter MR, Moore Z, Zhang M, et al. Deletion of the type-I interferon receptor in APPSWE/PS1ΔE9 mice preserves cognitive function and alters glial phenotype. *Acta Neuropathol Commun*, 2016, 4(1): 72
- [47] Minter MR, Main BS, Brody KM, et al. Soluble amyloid triggers a myeloid differentiation factor 88 and interferon regulatory factor 7 dependent neuronal type-I interferon response *in vitro*. *J Neuroinflammation*, 2015, 12(1): 71
- [48] Lautrup S, Sinclair DA, Mattson MP, et al. NAD⁺ in brain aging and neurodegenerative disorders. *Cell Metab*, 2019, 30(4): 630-655
- [49] Hou Y, Lautrup S, Cordonnier S, et al. NAD⁺ supplementation normalizes key Alzheimer's features and DNA damage responses in a new AD mouse model with introduced DNA repair deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(8): 2011226118
- [50] Hou Y, Wei Y, Lautrup S, et al. NAD⁺ supplementation reduces neuroinflammation and cell senescence in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via cGAS-STING. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(37): e2011226118
- [51] Träger U, Andre R, Lahiri N, et al. HTT-lowering reverses Huntington's disease immune dysfunction caused by NF-κB pathway dysregulation. *Brain*, 2014, 137(3): 819-833
- [52] Björkqvist M, Wild EJ, Thiele J, et al. A novel pathogenic pathway of immune activation detectable before clinical onset in Huntington's disease. *J Exp Med*, 2008, 205(8): 1869-1877
- [53] Miller JRC, Lo KK, Andre R, et al. RNA-Seq of Huntington's disease patient myeloid cells reveals innate transcriptional dysregulation associated with proinflammatory pathway activation. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(14): 2893-2904
- [54] Jauhari A, Baranov SV, Suofu Y, et al. Melatonin inhibits cytosolic mitochondrial DNA-induced neuroinflammatory signaling in accelerated aging and neurodegeneration. *J Clin Invest*, 2020, 130(6): 3124-3136
- [55] Sharma M, Rajendrarao S, Shahani N, et al. Cyclic GMP-AMP synthase promotes the inflammatory and autophagy responses in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(27): 15989-15999
- [56] MacKenzie KJ, Carroll P, Martin CA, et al. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity. *Nature*, 2017, 548(7668): 461-465
- [57] Harding SM, Benci JL, Irianto J, et al. Mitotic progression

- following DNA damage enables pattern recognition within micronuclei. *Nature*, 2017, 548(7668): 466-470
- [58] Härtlova A, Erttmann SF, Raffi FA, et al. DNA damage primes the type I interferon system via the cytosolic DNA sensor STING to promote anti-microbial innate immunity. *Immunity*, 2015, 42(2): 332-343
- [59] Quek H, Luff J, Cheung KG, et al. A rat model of ataxia-telangiectasia: evidence for a neurodegenerative phenotype. *Hum Mol Genet*, 2016, 26(1): 109-123
- [60] Song X, Ma F, Herrup K. Accumulation of cytoplasmic DNA due to ATM deficiency activates the microglial viral response system with neurotoxic consequences. *J Neurosci*, 2019, 39(32): 6378-6394
- [61] Abdullah A, Zhang M, Frugier T, et al. STING-mediated type-I interferons contribute to the neuroinflammatory process and detrimental effects following traumatic brain injury. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 323
- [62] Barrett JP, Henry RJ, Shirey KA, et al. Interferon- β plays a detrimental role in experimental traumatic brain injury by enhancing neuroinflammation that drives chronic neurodegeneration. *J Neurosci*, 2020, 40(11): 2357-2370
- [63] Li Q, Cao Y, Dang C, et al. Inhibition of double-strand DNA-sensing cGAS ameliorates brain injury after ischemic stroke. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(4): e11002