

肿瘤免疫微环境中 cGAS-STING 信号通路的细胞间信号传递

王梦秋¹, 徐平龙^{1,2,3,4}, 吴芑柔¹

1. 浙江大学生命科学研究院, 浙江 杭州 310058
2. 浙江大学生命系统稳态与保护教育部重点实验室 浙江省癌症分子细胞生物学重点实验室, 浙江 杭州 310058
3. 浙江大学杭州国际科创中心智能医药研究所, 浙江 杭州 311200
4. 浙江大学癌症研究院, 浙江 杭州 310058

[摘要] 环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cGAS)-干扰素基因刺激因子(STING)信号通路是肿瘤免疫治疗中备受关注的靶点。模式识别受体cGAS识别胞质双链DNA(dsDNA),生成第二信使2'3'-环鸟苷酸-腺苷酸(cGAMP),活化接头蛋白STING,介导干扰素和促炎性细胞因子的产生,从而促进肿瘤免疫。肿瘤免疫微环境中cGAS-STING通路的细胞间信号传递维持并增强天然免疫应答,推动适应性免疫的发展。基于膜系统的细胞外囊泡运输、吞噬作用和细胞膜融合传递dsDNA、cGAMP以及活化的STING蛋白,加强免疫监视和炎症应答。基于膜蛋白的缝隙连接、膜转运蛋白传递cGAMP和dsDNA对免疫调节至关重要。此外,配体-受体反应传递干扰素进一步放大抗肿瘤免疫反应。本文描述了肿瘤免疫微环境中cGAS-STING通路的细胞间信号传递及其调控,讨论这些机制如何影响和调节肿瘤免疫过程,以及针对这些信号传递机制的潜在干预和免疫治疗策略。



[关键词] 肿瘤微环境;环鸟苷酸-腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激因子;细胞间信号传递;双链DNA;肿瘤免疫;免疫应答;综述

[中图分类号] R392 **[文献标志码]** A

Cell-to-cell communications of cGAS-STING pathway in tumor immune microenvironment

WANG Mengqiu¹, XU Pinglong^{1,2,3,4}, WU Qirou¹ (1. Life Sciences Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Key Laboratory of Biosystems Homeostasis and

收稿日期(Received):2023-10-08 接受日期(Accepted):2023-12-14 网络预发表日期(Online):2024-01-12

基金项目(Funding):国家自然科学基金(31725017,31830052);国家重点研发计划(2021YFA1301401)

第一作者(First author):王梦秋,博士研究生,主要从事天然免疫信号调控研究;E-mail:wangmengqiu@zju.edu.cn;https://orcid.org/0009-0002-6923-7615

通信作者(Corresponding author):吴芑柔,助理研究员,主要从事天然免疫信号调控和细胞衰老研究;E-mail:wuqirou@zju.edu.cn;https://orcid.org/0009-0001-5659-2186. 徐平龙,教授,博士生导师,主要从事分子细胞生物学和肿瘤学基础研究;E-mail:xupl@zju.edu.cn;https://orcid.org/0000-0001-7726-5443

Protection, Ministry of Education, Zhejiang Provincial Key Laboratory for Cancer Molecular Cell Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. Institute of Intelligent Medicine, Hangzhou Global Scientific and Technological Innovation Center, Zhejiang University, Hangzhou 311200, China; 4. Cancer Center, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Corresponding authors: WU Qirou, E-mail: wuqirou@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0009-0001-5659-2186>; XU Pinglong, E-mail: xupl@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0001-7726-5443>

[**Abstract**] Targeting cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase (cGAS)-stimulator of interferon genes (STING) pathway is a promising strategy for tumor treatment. The pattern recognition receptor cGAS identifies dsDNA and catalyzes the formation of a second messenger 2'3'-cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate (cGAMP), activating the downstream interferons and pro-inflammatory cytokines through the adaptor protein STING. Notably, in tumor immune microenvironment, key components of cGAS-STING pathway are transferred among neighboring cells. The intercellular transmission under these contexts serves to sustain and amplify innate immune responses while facilitating the emergence of adaptive immunity. The membrane-based system, including extracellular vesicles transport, phagocytosis and membrane fusion transmit dsDNA, cGAMP and activated STING, enhances the immune surveillance and inflammatory responses. The membrane proteins, including a specific protein channel and intercellular gap junctions, transfer cGAMP and dsDNA, which are crucial to regulate immune responses. The ligand-receptor interactions for interferon transmission amplifies the anti-tumor response. This review elaborates on the regulatory mechanisms of cell-to-cell communications of cGAS-STING pathway in tumor immune microenvironment, explores how these mechanisms modulate immunological processes and discusses potential interventions and immunotherapeutic strategies targeting these signaling cascades.

[**Key words**] Tumor microenvironment; cGAS-STING; Cell-to-cell communication; Double stranded DNA; Tumor immunity; Immune responses; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2024, 53(1): 15-24.]

[**缩略语**] 双链 DNA(double stranded DNA, dsDNA); 病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP); 损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMP); 环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS); 干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING); 环鸟苷酸-腺苷酸(cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate, cGAMP); 细胞质外被蛋白复合体 II(coat protein II, COP-II); ADP 核糖化因子(ADP ribosylation factor, ARF); 鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP); TANK 结合激酶(TANK binding kinase, TBK); I κ B 激酶(inhibitor of κ B kinase, IKK); 干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF); 干扰素刺激基因(interferon-stimulated gene, ISG); 核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B); 程序性死亡受体配体(programmed death-ligand, PD-L); 磷脂酰肌醇-4-激酶 2 型 α (phosphatidylinositol 4-kinase type 2 alpha, PI4K2A); 磷脂酰肌醇-4-

磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PI4P);转运必需内体分选复合物(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT);信号转导接头分子(signal transducing adaptor molecule, STAM);人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV);外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶(ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase, ENPP);多药耐药蛋白(multidrug resistance protein, MRP);腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP);体积调节性阴离子通道(volume regulated anion channel, VRAC);富含亮氨酸重复序列的蛋白家族成员8A(leucine rich repeat containing 8 VRAC subunit A, LRRC8A);溶质载体(solute carrier, SLC);P2X7受体(P2X7 receptor, P2X7R)

肿瘤免疫微环境包括肿瘤细胞、内皮细胞、多种类型的免疫细胞和复杂的细胞外基质等,是肿瘤与免疫相互作用的关键因素。与正常细胞比较,肿瘤细胞通常存在异常的细胞质DNA,其来源主要包括基因组不稳定性形成的包裹染色质片段的微核释放^[1]、DNA损伤修复和细胞周期失调引起的胞质内异常dsDNA的积累^[2]。此外,氧化应激和线粒体功能障碍也可能导致线粒体DNA泄露到细胞质中^[3]。DNA作为一种免疫刺激因子,具有PAMP和DAMP的双重特性,被模式识别受体识别,参与调控微生物感染、自身免疫、炎症、器官退化等多种病理过程^[4]。

cGAS-STING通路是识别胞质DNA的重要途径。cGAS可以识别细胞质中游离的dsDNA,其同源二聚体以高亲和力结合不同来源的dsDNA,形成四聚体复合物,并通过液-液相分离促进聚集^[5]。cGAS对dsDNA的识别是序列非依赖的,在静息状态下cGAS为自抑制状态,其在结合dsDNA后发生构象变化,激活并催化第二信使cGAMP的合成^[6]。cGAMP结合内质网跨膜蛋白STING的细胞质配体结合域,使STING发生构象变化后活化,在COP-II和ARF GTP酶等调节蛋白的协助下,从内质网转移到内质网-高尔基体中间体以及高尔基体^[7]。STING在转位过程中招募TBK1/IKK ϵ 激酶,后者经磷酸化活化后招募IRF3形成经典的STING信号体。随后,磷酸化并二聚化的IRF3进入细胞核,促进I型干扰素和大量ISG产生,并协同活化的NF- κ B诱导促炎性细胞因子产生。除了介导天然免疫应答之外,cGAS-STING信号的非经典功能也受到了广泛的关注,在细胞衰老、自噬、信使RNA翻译和能量代谢等多种生理过程中具有重要的调控功能^[4]。

cGAS-STING通路在肿瘤免疫调控中扮演着

重要的角色,是连接天然免疫和适应性免疫的关键桥梁,已成为肿瘤免疫治疗中备受关注的靶点^[8]。cGAS-STING通路的下游信号诱导细胞凋亡和细胞周期停滞,从而阻碍了早期肿瘤发展^[9-11],介导抗原提呈细胞激活以及促炎性细胞因子产生,促进肿瘤免疫循环并重塑肿瘤免疫微环境^[12-13],并促使树突状细胞、T淋巴细胞、NK细胞等免疫细胞招募和激活,增强了免疫监视以及免疫系统对肿瘤细胞的攻击能力^[14]。cGAS-STING通路的细胞间信号传递有多种方式,包括基于膜系统细胞外囊泡运输、膜融合和吞噬作用等,基于膜蛋白介导的转运和缝隙连接等^[12],深入研究肿瘤免疫中cGAS-STING通路的细胞间信号传递,有助于更深入地理解细胞之间的相互作用,肿瘤微环境的动态变化以及免疫细胞的协同作用,同时为癌症治疗和免疫疗法的发展提供潜在的靶点和策略。本文将深入探讨cGAS-STING通路在邻近细胞之间的细胞间信号传递,涵盖不同的介质和传递方式,从信号传递的角度探讨其在肿瘤免疫治疗中的生物学意义。

1 cGAS-STING信号通路对肿瘤微环境的调控

在肿瘤中,cGAS-STING通路的作用具有两面性。一方面,STING的激活上调了肿瘤细胞中的多种炎症基因,诱导细胞凋亡和细胞周期停滞,从而阻碍了早期的肿瘤发展^[9-11]。同时,肿瘤来源的dsDNA、cGAMP以及活化的STING蛋白可以通过细胞间转移激活树突状细胞、NK细胞等中的STING信号级联,促进肿瘤免疫循环并重塑肿瘤免疫微环境^[12-13]。此外,STING介导的自噬具有非免疫性抗肿瘤的功能^[15]。另一方面,cGAS-STING通路促进一些肿瘤的发生发展,如STING诱导的调节性B细胞限制肿瘤免疫中NK细胞功能^[16],

STING上调PD-L1促进宫颈癌进展^[17]等。

肿瘤免疫微环境中cGAS-STING通路的细胞间信号传递涉及多种复杂的介质和机制,具有深远的生物学意义。该信号的细胞间传递促进了信息共享,来自受损或癌变细胞的关键信息可以传递给免疫细胞,这有助于维持免疫监视的高度敏感性。同时,这一过程介导了肿瘤微环境的动态变化,cGAS-STING通路通过产生干扰素和促炎性细胞因子,形成炎症微环境,使肿瘤细胞更容易被免疫系统识别和攻击^[18]。此外,cGAS-STING通路在树突状细胞、T淋巴细胞、NK细胞等不同类型免疫细胞间的通信加强了免疫系统的协同作用,有助于有效识别、定位和清除肿瘤细胞^[12]。研究表明,宿主细胞可以将PAMP以及cGAS-STING通路的信号因子转移到旁观者细胞中,并促进旁观者细胞中该信号的激活^[19]。

随着cGAS-STING通路调控肿瘤免疫机制的深入研究,STING激动剂的研发受到了极大的关注。STING激动剂能有效促进肿瘤消退,在临床前试验中获得了不错的结果。但是,由于STING激动剂的临床应用存在稳定性差、跨膜性差以及肿瘤精确性不足等问题^[20],其临床试验结果不容乐观^[21-22](附表1)。

利用细胞外囊泡或病毒包被等可对STING激动剂进行包装,这在肿瘤治疗中具有巨大的潜力。细胞外囊泡是天然的载体,具有较高的生物相容性,不易引起免疫反应或毒副作用,因此在药物递送中安全性更高^[23]。在稳定性上,细胞外囊泡以及病毒的膜结构在很大程度上保护了其负载物质,使药物能够在血液中较长时间内保持稳定,提供了更长的治疗窗口。在跨膜性能上,细胞外囊泡能够穿越细胞膜、组织屏障和血脑屏障等生物屏障,将药物传递到肿瘤组织等目标部位^[24]。在精确性上,细胞

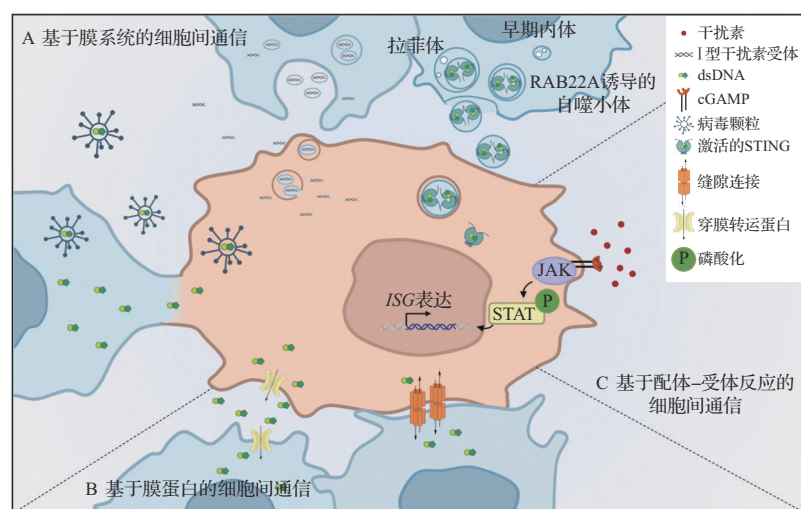
外囊泡作为药物递送领域的一种前沿技术,可以通过特定的表面分子与目标细胞选择性相互作用实现药物的精确递送^[25]。cGAS-STING通路的细胞间信号传递为STING激动剂等药物的递送提供了潜在的机制,可用于精确递送药物以及扩大药物影响范围等,能克服STING激动剂在临床应用中的不足。

2 cGAS-STING基于膜系统的细胞间通信

在肿瘤免疫微环境中,膜介导的细胞间通信是cGAS-STING通路信号在不同类型细胞间传递的重要机制之一,包括细胞外囊泡运输、吞噬作用和细胞膜融合等(图1)。这些基于膜系统的细胞间通信能传递dsDNA、cGAMP和活化的STING蛋白等重要的免疫分子,从而加强免疫监视和炎症应答。

2.1 细胞外囊泡运输

细胞外囊泡是从细胞膜突起产生的脂质双层结构的囊泡小体,可以被细胞释放和捕获,广泛存在于各种体液中,通过自分泌和旁分泌方式参与抗原提呈、细胞迁移和细胞分化等^[26]。细胞外囊泡中包裹的功能分子包括蛋白质、脂质、遗传物质、氨基酸和代谢产物等。在肿瘤免疫中,细胞外



A: 基于膜系统的cGAS-STING信号细胞间通信,包括STING的细胞外囊泡运输、通过早期内体与RAB22A诱导的自噬小体结合、形成拉菲体(rafeosomes)、dsDNA的囊泡运输及吞噬作用、cGAMP的细胞膜融合和病毒颗粒转运等方式;B: 基于膜蛋白的细胞间通信,通过多种膜转运蛋白进行细胞间信号传递;C: 基于配体-受体反应的细胞间通信,干扰素在细胞间的传递主要通过与受体蛋白结合,并以旁分泌的方式激活JAK-STAT信号通路,介导ISG的转录表达。dsDNA: 双链DNA; cGAMP: 环鸟苷酸-腺苷酸; STING: 干扰素基因刺激因子; ISG: 干扰素刺激基因; STAT: 信号转导及转录活化因子。

图1 cGAS-STING通路的细胞间信号传递

Figure 1 The cell-to-cell communications of cGAS-STING pathway

囊泡对受体细胞的影响主要由其内容物决定,cGAS-STING通路的dsDNA和活化的STING蛋白能通过细胞外囊泡转运至旁观者细胞。

在感染、炎症和恶性肿瘤等情况下,dsDNA存在于直径小于200 nm的小型细胞外囊泡中,包含有外源dsDNA的细胞外囊泡是PAMP在细胞间传递的重要方式^[27]。在克罗恩病中,携带dsDNA的细胞外囊泡从炎症部位释放,随后激活cGAS-STING通路,增强巨噬细胞的先天免疫反应,从而加重疾病^[28]。在肿瘤中,细胞向外分泌包含有dsDNA的细胞外囊泡,调节肿瘤免疫微环境,细胞外囊泡到达受体细胞后引起多种响应,如线粒体DNA结合蛋白Lon的上调能够诱导携带线粒体DNA和PD-L1的细胞外囊泡的分泌,进一步诱导干扰素和IL-6的产生并减弱T淋巴细胞的免疫能力^[29],从而调控肿瘤的进展和转移。

细胞外囊泡也能够携带cGAMP,但其是否具有功能还有待进一步研究。与细胞外囊泡类似,病毒感染的细胞中包含cGAMP的病毒颗粒将胞质DNA识别信号传递到下一个被感染的细胞中^[30]。研究显示,cGAMP是能包被进病毒颗粒内的一种小分子,且包裹进病毒颗粒内cGAMP的量足以激活细胞质中的STING,从而引发抗病毒免疫应答^[31]。基于cGAMP结构的STING激动剂是肿瘤免疫中极具发展前景的药物靶点,以病毒颗粒或细胞外囊泡的方式递送STING激动剂为肿瘤免疫治疗提供了实验基础和研发方向。

值得注意的是,活化的STING蛋白被封装到由RAB22A介导的细胞外囊泡中,通过非经典自噬机制在细胞间传递^[32]。STING是一种位于内质网的跨膜蛋白,当与cGAMP结合时,其与cGAMP的连接区域结构会重组,进而导致STING的活化,进一步被定向运输到高尔基体,并通过自噬和溶酶体降解^[4]。RAB22A与PI4K2A结合产生PI4P,PI4P招募形成Atg12-Atg5-Atg16L1复合体,从而诱导内质网中RAB22A介导的非经典自噬体形成,该自噬体包裹了活化的STING蛋白。随后,活化的STING蛋白被包装进拉菲体(raftosomes),这是由内质网来源RAB22A介导的非经典自噬小体与RAB22A阳性的早期内体融合形成的细胞器。在此过程中,RAB22A使RAB7失活,从而抑制了拉菲体与溶酶体的融合,并使这些内含活化STING的小囊泡以细胞外囊泡的形式分泌出来。

内吞体转运复合体ESCRT的元件STAM同样参与结合活化的STING寡聚体,并将其转运至细胞外囊泡中^[33]。旁观者细胞接受含有STING的细胞外囊泡,促使其释放 β 干扰素到肿瘤微环境中,从而促进抗肿瘤免疫^[32]。在受体细胞中,STAM还通过协助STING降解负向调控STING信号,以达到精准调控的目的^[33]。尽管在STING蛋白中尚未发现分泌信号肽,但在I型单纯疱疹病毒感染产生的细胞外囊泡中检测到了宿主来源的STING蛋白^[34],从侧面证明STING通过细胞外囊泡进行细胞间传递,为理解功能膜蛋白的细胞间迁移提供了新的视角。通过拉菲体将活化STING分泌到细胞外能够重塑肿瘤微环境,增强抗肿瘤免疫的疗效,可能成为以STING为靶点的免疫治疗策略。

2.2 吞噬作用和细胞膜融合

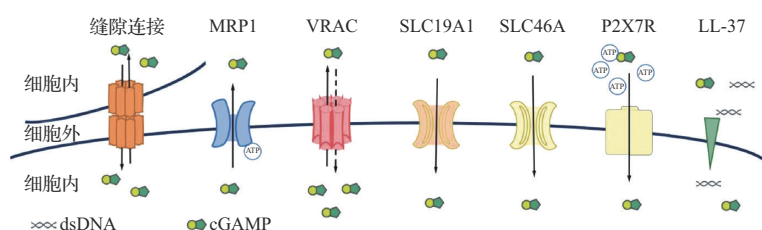
巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞等免疫细胞通过吞噬作用摄取DAMP,包括凋亡细胞、损伤相关碎片和代谢产物等。肿瘤细胞与免疫细胞之间的dsDNA转移通常通过吞噬作用发生在肿瘤微环境中。免疫细胞感知肿瘤细胞来源的dsDNA,触发cGAS-STING信号的激活,促进抗原提呈以及获得性免疫反应^[35]。此外,在HIV-1感染中,病毒融合蛋白HIV-1 Env在供体T淋巴细胞中表达介导了其与内源性表达HIV受体CD4的未感染巨噬细胞发生膜融合反应,cGAMP通过融合位点的细胞间转移增强了巨噬细胞干扰素反应^[36],这表明细胞与细胞间接触依赖的膜融合事件是抵御病毒感染的一部分。吞噬作用和膜融合发生均能介导cGAS-STING信号通路在不同类型细胞间传递,这对于免疫系统的协同至关重要。

3 cGAS-STING基于膜蛋白的细胞间通信

基于膜蛋白的细胞间通信是细胞间实现物质和信号传递的另一种重要机制。这些膜蛋白允许离子、小分子、蛋白质等通过细胞膜或亚细胞膜结构进行传递,从而影响细胞的功能。cGAMP能通过缝隙连接、膜转运蛋白等方式在邻近细胞间传递,而dsDNA能通过膜转运蛋白在邻近细胞间传递,这对免疫调节和炎症反应至关重要(图1、2)。

3.1 缝隙连接

缝隙连接是一种细胞间通道,允许相邻细胞



cGAMP能通过缝隙连接在细胞间传递且不涉及细胞外基质,且可通过多种膜转运蛋白向细胞外输送或向细胞内摄取;dsDNA能通过LL-37在旁观者细胞间传递。cGAMP:环鸟苷酸-腺苷酸;dsDNA:双链DNA;MRP:多药耐药蛋白;VRAC:体积调节性阴离子通道;SLC:溶质载体;P2X7R:P2X7受体;cGAS:环鸟苷酸-腺苷酸合成酶;STING:干扰素基因刺激因子。

图2 cGAS-STING基于膜蛋白的细胞间通信

Figure 2 The cell-to-cell communications of cGAS-STING pathway based on membrane protein

进行离子和小分子的直接交换。cGAMP不能直接穿过细胞膜,其在细胞间的传递需要转运蛋白协助,cGAMP可以通过缝隙连接在两个相邻细胞间自由传递。最先在病毒感染的细胞中发现cGAMP通过缝隙连接在细胞间传递^[37],连接蛋白connexin 43和45介导了病毒感染的内皮细胞和巨噬细胞之间的cGAMP传递,这种跨细胞类型激活的cGAS-STING通路加强了抗病毒免疫应答^[38]。体内实验证实,将cGAMP包被在脂质体中,并涂布在肺表面活性物质上,其可以被肺泡巨噬细胞吸收,并通过缝隙连接转移到肺泡上皮细胞^[39]。此外,在脑转移肿瘤中,肿瘤细胞通过protocadherin 7和connexin 43介导的缝隙连接将cGAMP传递给星形胶质细胞,加强干扰素和肿瘤坏死因子等细胞因子的分泌,从而促进肿瘤转移^[40]。因此,破坏这种旁分泌环路的缝隙连接调节因子可能成为治疗该类脑转移肿瘤的靶点。

3.2 穿膜转运蛋白

与缝隙连接不同,基于膜转运蛋白的信号传递涉及出现在细胞外基质中的信号分子,参与调控肿瘤免疫微环境中的细胞外基质,并能将信号分子传递到更远处的受体细胞中。肿瘤细胞死亡会释放大量dsDNA到细胞外基质中,通常这些dsDNA会被DNA酶快速降解,因此失去免疫原性。内源性抗菌肽LL-37是中性粒细胞的重要效应分子,具有广谱杀菌及抗肿瘤活性,能与细胞外基质中的dsDNA形成复合体,介导dsDNA转运到单核细胞中,以Toll样受体非依赖的方式介导I型干扰素的产生,调节肿瘤免疫微环境,从而调控NK细胞等免疫细胞的功能^[41]。

细胞外基质中的cGAMP受到其唯一水解酶ENPP1的调控^[42-43],并且能在多种膜转运蛋白的协助下穿过细胞膜进入受体细胞的胞质中,激活并传递cGAS-STING信号通路。转运cGAMP的膜转运蛋白可以分为向细胞外输出和向细胞内摄取两种类型。MRP1,也称为ABCC1,其结构包含17个跨膜结构域形成的孔洞,是依赖ATP的直接输出cGAMP的转运蛋白^[44]。MRP1通过向外输出

cGAMP阻止细胞质中的cGAMP与STING的结合,从而负向调控cGAS-STING通路介导的干扰素的产生^[45]。VRAC是响应细胞外渗透压变化的离子通道,能根据cGAMP化学浓度梯度介导cGAMP的输出和输入,其组成蛋白LRRC8A的遗传学敲除可以抑制VRAC通道活性并抑制各种原代和培养细胞中50%~70%的cGAMP摄取^[19, 46]。SLC家族中的SLC19A1是介导包括cGAMP在内的多种相似环状二核苷酸摄取的蛋白,结构分析显示cGAMP的摄取需要反向的阴离子浓度梯度提供驱动力^[47-48]。SLC19A1在THP-1和U937人单核细胞系中发挥作用,其同家族的SLC46A作为阳离子交换剂在CD14⁺单核细胞中被鉴定为调控cGAMP摄取的主要蛋白^[49]。ATP门控蛋白P2X7R是传递cGAMP的另一种蛋白质,作为非选择性阳离子通道在免疫细胞中高表达,开放其通道需要细胞外高浓度的ATP。在细胞损伤或死亡时,细胞外存在高浓度ATP,允许cGAMP等纳米级分子通过^[50]。LL-37除了能介导dsDNA的细胞间传递,也可介导cGAMP的传递从而增强cGAS-STING通路的激活^[51],但其机制还有待进一步研究。综上,基于膜转运蛋白的cGAMP细胞间传递需要结合细胞外基质以及离子浓度发挥作用,并受到ENPP1的调控。

4 cGAS-STING基于配体-受体反应的细胞间通信

在肿瘤免疫微环境的调控中,cGAS-STING通路下游的效应因子如干扰素发挥着关键而复杂的作用(图1)。干扰素是一类高活性、多功能

的分泌型糖蛋白,具有广泛的生物学活性,通过配体-受体反应调节适应性免疫、病原体感染、抗肿瘤免疫应答和炎症反应等。I型和Ⅲ型干扰素是Toll样受体、RIG-I样受体和cGAS下游的重要分泌蛋白,其在细胞间的传递主要通过受体蛋白(如 α 干扰素受体1和 α 干扰素受体2)结合,并以旁分泌的方式激活JAK-STAT信号通路^[52]。这个基于配体-受体的干扰素信号传递过程促使多个ISG的产生,从而调节和影响免疫应答。干扰素在肿瘤免疫中的作用是多方面的。首先,干扰素能够激活树突状细胞,后者在免疫系统中充当信息传递的枢纽。激活的树突状细胞能够捕获和提呈肿瘤相关抗原,随后激活适应性免疫细胞,干扰素通过增加CD8⁺T细胞数和活性来加强免疫系统对于肿瘤的攻击力^[53]。值得注意的是,干扰素也可以通过PD-L1调控免疫监视。PD-L1与T淋巴细胞表面上的PD-1受体相互作用,抑制T淋巴细胞的活性^[54],从而允许肿瘤细胞逃脱免疫攻击。而干扰素通过减少PD-L1的表达,恢复T淋巴细胞的杀伤功能,进一步增强抗肿瘤免疫反应^[55]。干扰素在肿瘤免疫中发挥着复杂而关键的作用,其激活了免疫细胞,提高了抗肿瘤免疫反应,同时也有助于克服肿瘤细胞的免疫逃逸策略。因此,研究cGAS-STING通路下游的效应因子如干扰素的细胞间传递对于更好地理解利用免疫系统来对抗肿瘤具有重要意义。

5 结 语

cGAS-STING通路在增强先天免疫和激活适应性免疫方面具有重要功能,其信号的激活通常有助于提高抗肿瘤免疫,且STING激动剂是极具潜力的肿瘤免疫治疗药物^[56]。值得注意的是,cGAS-STING通路不仅在细胞内发挥作用,还可以通过基于膜系统的细胞外囊泡运输、吞噬作用和细胞膜融合,基于蛋白质通道的缝隙连接、膜转运蛋白,以及配体-受体反应等多种途径,作为一种可传递的信号传播到旁观者细胞中(图1)。cGAS-STING通路在细胞间的传递扩大了感知PAMP和DAMP的影响范围,增强了天然免疫。

然而,cGAS-STING通路信号在细胞间传递的精确机制及其在多种疾病特别是肿瘤中的免疫治疗方案仍须进一步研究。调节cGAS-STING

信号的细胞间传递是一种有前景的可治疗肿瘤的新策略。细胞外基质中的cGAMP被认为是肿瘤的免疫刺激因子,注射cGAMP在多种肿瘤临床前研究中显示有效,这表明高水平的细胞外cGAMP可以促进免疫反应。而细胞外基质中的cGAMP生理浓度受到cGAMP水解酶ENPP1的控制,这使得ENPP1成为干预cGAS-STING信号传递的潜在靶点^[57]。不透膜的ENPP1抑制剂可以显著增加血浆中的cGAMP浓度增强免疫反应,从而减轻肿瘤的负担,目前已有相关药物进行临床试验^[58]。此外,在抗肿瘤药物治疗的过程中,dsDNA的细胞间传递有助于肿瘤的治疗,肿瘤细胞释放的细胞外囊泡中包含有dsDNA,能够激活树突状细胞,并且细胞外囊泡通过传递活化的STING诱导 β 干扰素的产生,促进抗肿瘤免疫^[28, 32]。进一步开发和研究cGAMP转运蛋白如LRRC8A的激活剂和抑制剂也将为调控肿瘤免疫提供新的靶标。反之,抑制缝隙连接阻碍cGAMP从肿瘤细胞传递到星形胶质细胞,这也是限制肿瘤脑转移的策略之一^[40]。值得注意的是,由于cGAS-STING信号能够引起细胞因子风暴^[59],期望相关药物增强效应的同时,还要避免cGAS-STING通路长期激活导致的慢性炎症。

研究表明,cGAS-STING通路不仅在诱导干扰素响应中发挥作用,还介导非经典信号调控蛋白质翻译^[60]、细胞代谢^[61]、细胞衰老^[2]和细胞死亡^[62]等多种生理过程。最近有研究报道STING蛋白的新功能——作为氢离子通道介导高尔基体内氢离子的外流导致细胞内酸碱度值上升,从而参与非经典自噬和NLRP3炎症小体的激活^[63],这加深了我们对DNA识别信号调控和传递的理解。DNA识别信号在不同的生理过程和治疗策略中激活不同的下游通路,其信号传递的复杂性及其对肿瘤免疫的调控作用需要进一步的研究。cGAS-STING通路中STING的激动剂是一种极具治疗潜力的肿瘤免疫疗法,而cGAMP以及基于环状二核苷酸结构研发的STING激动剂在肿瘤中的应用具有局限性。利用cGAS-STING通路在细胞间传递的不同方式可以将STING激动剂或者活化的STING以细胞外囊泡或病毒颗粒包被的方式,通过特定的表面分子选择性地与目标细胞相互作用递送至特定的细胞中,从而达到精准

治疗的目的^[25]。同时,细胞外囊泡等包被结构有利于生物屏障的穿透,并提高了药物递送的稳定性和安全性^[24]。综上,DNA识别信号在细胞间传递的机制探索将为肿瘤等各种疾病的治疗提供新的策略。

本文附表见电子版。



志谢 研究得到国家自然科学基金(31725017,31830052)、国家重点研发计划(2021YFA1301401)支持

Acknowledgements This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31725017, 31830052) and National Key R&D Program of China (2021YFA 1301401)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2024. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(References)

- [1] MACKENZIE K J, CARROLL P, MARTIN C A, et al. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity[J]. **Nature**, 2017, 548(7668): 461-465.
- [2] LI T, CHEN Z J. The cGAS-cGAMP-STING pathway connects DNA damage to inflammation, senescence, and cancer[J]. **J Exp Med**, 2018, 215(5): 1287-1299.
- [3] WEST A P, KHOURY-HANOLD W, STARON M, et al. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response[J]. **Nature**, 2015, 520(7548): 553-557.
- [4] CHEN C, XU P. Cellular functions of cGAS-STING signaling[J]. **Trends Cell Biol**, 2023, 33(8): 630-648.
- [5] DU M, CHEN Z J. DNA-induced liquid phase condensation of cGAS activates innate immune signaling[J]. **Science**, 2018, 361(6403): 704-709.
- [6] 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[J]. **Cell**, 2013, 153(5): 1094-1107.
- [7] 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(7747): 262-266.
- [8] SAMSON N, ABLASSER A. The cGAS-STING pathway and cancer[J]. **Nat Cancer**, 2022, 3(12): 1452-1463.
- [9] DOU Z, GHOSH K, VIZIOLI M G, et al. Cytoplasmic chromatin triggers inflammation in senescence and cancer[J]. **Nature**, 2017, 550(7676): 402-406.
- [10] GLÜCK S, GUEY B, GULEN M F, et al. Innate immune sensing of cytosolic chromatin fragments through cGAS promotes senescence[J]. **Nat Cell Biol**, 2017, 19(9): 1061-1070.
- [11] YANG H, WANG H, REN J, et al. cGAS is essential for cellular senescence[J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2017, 114(23): E4612-E4620.
- [12] WU Q, LENG X, XU P. Intercellular transmission of cGAS-STING signaling in cancer[J]. **Cancer Biol Med**, 2023, 20(2): 93-97.
- [13] MENG F, YU Z, ZHANG D, et al. Induced phase separation of mutant NF2 imprisons the cGAS-STING machinery to abrogate antitumor immunity[J]. **Mol Cell**, 2021, 81(20): 4147-4164.e7.
- [14] CHIN E N, SULPIZIO A, LAIRSON L L. Targeting STING to promote antitumor immunity[J]. **Trends Cell Biol**, 2023, 33(3): 189-203.
- [15] NASSOUR J, RADFORD R, CORREIA A, et al. Autophagic cell death restricts chromosomal instability during replicative crisis[J]. **Nature**, 2019, 565(7741): 659-663.
- [16] LI S, MIRLEKAR B, JOHNSON B M, et al. STING-induced regulatory B cells compromise NK function in cancer immunity[J]. **Nature**, 2022, 610(7931): 373-380.
- [17] CAI H, YAN L, LIU N, et al. IFI16 promotes cervical cancer progression by upregulating PD-L1 in immunomicroenvironment through STING-TBK1-NF-κB pathway[J]. **Biomed Pharmacother**, 2020, 123: 109790.
- [18] 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.
- [19] ZHOU C, CHEN X, PLANELLAS-CASES R, et al. Transfer of cGAMP into bystander cells via LRRC8 volume-regulated anion channels augments STING-mediated interferon responses and anti-viral immunity[J]. **Immunity**, 2020, 52(5): 767-781.e6.
- [20] GARLAND K M, SHEEHY T L, WILSON J T. Chemical and biomolecular strategies for STING pathway activation in cancer immunotherapy[J]. **Chem Rev**, 2022, 122(6): 5977-6039.
- [21] LE NAOUR J, ZITVOGEL L, GALLUZZI L, et al. Trial watch: STING agonists in cancer therapy[J]. **Oncoimmunology**, 2020, 9(1): 1777624.
- [22] HINES J B, KACEW A J, SWEIS R F. The development of STING agonists and emerging results as a cancer immunotherapy[J]. **Curr Oncol Rep**, 2023, 25(3): 189-199.
- [23] MENG W, HE C, HAO Y, et al. Prospects and challenges of extracellular vesicle-based drug delivery system: considering cell source[J]. **Drug Deliv**, 2020, 27(1): 585-598.
- [24] RUFINO-RAMOS D, ALBUQUERQUE P R, CARMONA V, et al. Extracellular vesicles: novel promising delivery systems for therapy of brain diseases[J]. **J Control**

- Release**, 2017, 262: 247-258.
- [25] WENG Z, ZHANG B, WU C, et al. Therapeutic roles of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in cancer[J]. **J Hematol Oncol**, 2021, 14(1): 136.
 - [26] CHENG L, HILL A F. Therapeutically harnessing extracellular vesicles[J]. **Nat Rev Drug Discov**, 2022, 21(5): 379-399.
 - [27] NANDAKUMAR R, TSCHISMAROV R, MEISSNER F, et al. Intracellular bacteria engage a STING-TBK1-MVB12b pathway to enable paracrine cGAS-STING signalling[J]. **Nat Microbiol**, 2019, 4(4): 701-713.
 - [28] ZHAO F, ZHENG T, GONG W, et al. Extracellular vesicles package dsDNA to aggravate Crohn's disease by activating the STING pathway[J]. **Cell Death Dis**, 2021, 12(9): 815.
 - [29] CHENG A N, CHENG L C, KUO C L, et al. Mitochondrial Lon-induced mtDNA leakage contributes to PD-L1-mediated immunoescape via STING-IFN signaling and extracellular vesicles[J/OL]. **J Immunother Cancer**, 2020, 8(2): e001372.
 - [30] MAXWELL K L, FRAPPIER L. Viral proteomics[J]. **Microbiol Mol Biol Rev**, 2007, 71(2): 398-411.
 - [31] BRIDGEMAN A, MAELFAIT J, DAVENNE T, et al. Viruses transfer the antiviral second messenger cGAMP between cells[J]. **Science**, 2015, 349(6253): 1228-1232.
 - [32] GAO Y, ZHENG X, CHANG B, et al. Intercellular transfer of activated STING triggered by RAB22A-mediated non-canonical autophagy promotes antitumor immunity[J]. **Cell Res**, 2022, 32(12): 1086-1104.
 - [33] LIANG J, YIN H. STAM transports STING oligomers into extracellular vesicles, down-regulating the innate immune response[J/OL]. **J Extracell Vesicles**, 2023, 12(3): e12316.
 - [34] DOGRAMMATZIS C, SALEH S, DEIGHAN C, et al. Diverse populations of extracellular vesicles with opposite functions during herpes simplex virus 1 infection[J/OL]. **J Virol**, 2021, 95(6): e02357-20.
 - [35] LIU X, PU Y, CRON K, et al. CD47 blockade triggers T cell-mediated destruction of immunogenic tumors [J]. **Nat Med**, 2015, 21(10): 1209-1215.
 - [36] XU S, DUCROUX A, PONNURANGAM A, et al. cGAS-mediated innate immunity spreads intercellularly through HIV-1 Env-induced membrane fusion sites[J]. **Cell Host Microbe**, 2016, 20(4): 443-457.
 - [37] PÉPIN G, DE NARDO D, ROOTES C L, et al. Connexin-dependent transfer of cGAMP to phagocytes modulates antiviral responses[J/OL]. **mBio**, 2020, 11(1): e03187-19.
 - [38] ABLASSER A, SCHMID-BURCK J L, HEMMERLING I, et al. Cell intrinsic immunity spreads to bystander cells via the intercellular transfer of cGAMP[J]. **Nature**, 2013, 503(7477): 530-534.
 - [39] WANG J, LI P, YU Y, et al. Pulmonary surfactant-biomimetic nanoparticles potentiate heterosubtypic influenza immunity[J]. **Science**, 2020, 367(6480): eaau0810.
 - [40] CHEN Q, BOIRE A, JIN X, et al. Carcinoma-astrocyte gap junctions promote brain metastasis by cGAMP transfer[J]. **Nature**, 2016, 533(7604): 493-498.
 - [41] CHAMILOS G, GREGORIO J, MELLER S, et al. Cytosolic sensing of extracellular self-DNA transported into monocytes by the antimicrobial peptide LL37[J]. **Blood**, 2012, 120(18): 3699-3707.
 - [42] CAROZZA J A, BROWN J A, BÖHNERT V, et al. Structure-aided development of small-molecule inhibitors of ENPP1, the extracellular phosphodiesterase of the immunotransmitter cGAMP[J]. **Cell Chem Biol**, 2020, 27(11): 1347-1358.e5.
 - [43] CAROZZA J A, CORDOVA A F, BROWN J A, et al. ENPP1's regulation of extracellular cGAMP is a ubiquitous mechanism of attenuating STING signaling [J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2022, 119(21): e2119189119.
 - [44] COLE S P. Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1), a "multitasking" ATP-binding cassette (ABC) transporter[J]. **J Biol Chem**, 2014, 289(45): 30880-30888.
 - [45] MALTBAEK J H, CAMBIER S, SNYDER J M, et al. ABCC1 transporter exports the immunostimulatory cyclic dinucleotide cGAMP[J]. **Immunity**, 2022, 55(10): 1799-1812.e4.
 - [46] LAHEY L J, MARDJUKI R E, WEN X, et al. LRRC8A: C/E heteromeric channels are ubiquitous transporters of cGAMP [J]. **Mol Cell**, 2020, 80(4): 578-591.e5.
 - [47] RITCHIE C, CORDOVA A F, HESS G T, et al. SLC19A1 is an importer of the immunotransmitter cGAMP[J]. **Mol Cell**, 2019, 75(2): 372-381.e5.
 - [48] LUTEIJN R D, ZAVER S A, GOWEN B G, et al. SLC19A1 transports immunoreactive cyclic dinucleotides [J]. **Nature**, 2019, 573(7774): 434-438.
 - [49] CORDOVA A F, RITCHIE C, BÖHNERT V, et al. Human SLC46A2 is the dominant cGAMP importer in extracellular cGAMP-sensing macrophages and monocytes [J]. **ACS Cent Sci**, 2021, 7(6): 1073-1088.
 - [50] ZHOU Y, FEI M, ZHANG G, et al. Blockade of the phagocytic receptor MerTK on tumor-associated macrophages enhances P2X7R-dependent STING activation by tumor-derived cGAMP[J]. **Immunity**, 2020, 52(2): 357-373.e9.
 - [51] WEI X, ZHANG L, YANG Y, et al. LL-37 transports immunoreactive cGAMP to activate STING signaling and enhance interferon-mediated host antiviral immunity [J]. **Cell Rep**, 2022, 39(9): 110880.
 - [52] LAZEAR H M, SCHOGGINS J W, DIAMOND M S. Shared and distinct functions of type I and type III interferons[J]. **Immunity**, 2019, 50(4): 907-923.
 - [53] DUONG E, FESSENDEN T B, LUTZ E, et al. Type I interferon activates MHC class I-dressed CD11b(+) conventional dendritic cells to promote protective anti-

- tumor CD8(+) T cell immunity[J]. **Immunity**, 2022, 55(2): 308-323.e9.
- [54] YI M, ZHENG X, NIU M, et al. Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions[J]. **Mol Cancer**, 2022, 21(1): 28.
- [55] ABIKO K, HAMANISHI J, MATSUMURA N, et al. Dynamic host immunity and PD-L1/PD-1 blockade efficacy: developments after “IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer” [J]. **Br J Cancer**, 2023, 128(3): 461-467.
- [56] WU Y T, FANG Y, WEI Q, et al. Tumor-targeted delivery of a STING agonist improves cancer immunotherapy[J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2022, 119(49): e2214278119.
- [57] LI J, DURAN M A, DHANOTA N, et al. Metastasis and immune evasion from extracellular cGAMP hydrolysis [J]. **Cancer Discov**, 2021, 11(5): 1212-1227.
- [58] RUIZ-FERNÁNDEZ DE CÓRDOBA B, MARTÍNEZ-MONGE R, LECANDA F. ENPP1 immunobiology as a therapeutic target[J]. **Clin Cancer Res**, 2023, 29(12): 2184-2193.
- [59] DECOUT A, KATZ J D, VENKATRAMAN S, et al. The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. **Nat Rev Immunol**, 2021, 21(9): 548-569.
- [60] ZHANG D, LIU Y, ZHU Y, et al. A non-canonical cGAS-STING-PERK pathway facilitates the translational program critical for senescence and organ fibrosis[J]. **Nat Cell Biol**, 2022, 24(5): 766-782.
- [61] ZHANG Q, LIU S, ZHANG C S, et al. AMPK directly phosphorylates TBK1 to integrate glucose sensing into innate immunity[J]. **Mol Cell**, 2022, 82(23): 4519-4536.e7.
- [62] XU Y, CHEN C, LIAO Z, et al. cGAS-STING signaling in cell death: mechanisms of action and implications in pathologies[J/OL]. **Eur J Immunol**, 2023, 53(9): e2350386.
- [63] LIU B, CARLSON R J, PIRES I S, et al. Human STING is a proton channel[J]. **Science**, 2023, 381(6657): 508-514.

[本文编辑 沈 敏 刘丽娜]

· 学术动态 ·

徐平龙教授团队合作成果揭示神经元 cGAS-STING 天然免疫及其感知溶酶体功能障碍的机制

2024年1月22日,《自然·细胞生物学》(*Nature Cell Biology*)在线刊登了浙江大学生命科学研究院徐平龙教授、转化医学研究院沈承勇教授、科创中心李欣然研究员的合作成果“*Innate immune sensing of lysosomal dysfunction drives multiple lysosomal storage disorders*”(DOI:10.1038/s41556-023-01339-x)。研究聚焦环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cGAS)-干扰素基因刺激因子(STING)天然免疫机制在识别和应答溶酶体损伤中的核心功能,鉴定了神经元中存在显著激活的cGAS-STING机制及其驱动体内神经元死亡和神经疾病发生的关键功能,揭示其驱动多种溶酶体贮积症(LSD)发病的机制,并提出了一种通用的治疗LSD新策略。

研究人员在由 *HEXB*、*GLA*、*CTSD*、*NPCI* 和 *GBA* 等基因异常驱动的多重LSD神经元中意外发现cGAS-STING信号通路能够显著并持续激活。他们发现LSD模型小鼠的神经元细胞质中积累了大量双链DNA,并伴随着DNA感受器cGAS的出核以及高水平第二信使环鸟苷酸-腺苷酸(cGAMP)的产生,从而显著激活STING通路。遗传和体外模型证明神经元STING通路可导致神经元大规模丢失。值得注意的是,多种干预神经元cGAS-STING通路的策略如全身性或神经细胞谱系特异性的基因敲除cGAS或STING能显著抑制LSD模型小鼠神经元死亡和神经炎症发生,有效改善模型小鼠的运动功能障碍。此外,研究人员利用腺相关病毒载体在LSD模型小鼠中枢神经系统中引入细胞质定位的DNA外切酶,用以清除神经元细胞质中的双链DNA。这一基因治疗手段能显著缓解多种LSD小鼠的疾病表现。

这些工作建立了溶酶体缺陷与天然免疫之间的关键联系,并提出了由cGAS-STING信号通路介导的损伤识别机制是多种LSD发病的共性机制。

论文第一作者为浙江大学王爱莲博士、陈琛博士研究生。研究获得了国家自然科学基金、国家重点研发计划等支持。