

cGAS-STING 通路在肿瘤免疫治疗中的作用机制与研究进展

王适豪, 石万瑞, 刘 轶, 张 皓

(吉林大学化学学院, 长春 130012)

摘要 环磷酸鸟苷合成酶[Cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate(GMP-AMP) synthase, cGAS 蛋白]-干扰素刺激因子(Stimulator of interferon genes, STING 蛋白)(cGAS-STING)信号通路是识别细胞质中异常 DNA、激活先天免疫应答系统的重要通路. cGAS 蛋白在识别细胞质内异常 DNA 后, 可催化三磷酸腺苷(ATP)和三磷酸鸟苷(GTP)合成环状鸟苷二磷酸腺苷(Cyclic GMP-AMP, cGAMP). cGAMP 作为第二信使激活 STING 蛋白, 促进 I 型干扰素的释放, 从而引起一系列免疫反应. cGAS-STING 通路可以调控肿瘤的转移和增长, 参与抗肿瘤的先天免疫反应, 探究 cGAS-STING 通路的作用机制在肿瘤免疫治疗中具有重要意义. 本综合评述介绍了 cGAS-STING 通路的作用机制, 概述了目前在抗肿瘤免疫治疗中激活 cGAS-STING 通路的各类策略.

关键词 环磷酸鸟苷合成酶-干扰素刺激因子信号通路; 肿瘤; 免疫治疗; 纳米药物

中图分类号 O629.73 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20240241

Research Progress and Mechanism of cGAS-STING Pathway in Tumor Immunotherapy

WANG Shihao, SHI Wanrui, LIU Yi*, ZHANG Hao*

(College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract The cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate (GMP-AMP) synthase (cGAS protein)-stimulator of interferon genes (STING protein) (cGAS-STING) signaling pathway is a crucial pathway for recognizing abnormal DNA in the cytoplasm and activating the innate immune response system. After recognizing abnormal DNA in the cytoplasm, cGAS protein can catalyze the synthesis of cyclic guanosine diphosphate adenosine (cyclic GMP-AMP, cGAMP) from adenosine triphosphate (ATP) and guanosine triphosphate (GTP). cGAMP, as a second messenger, activates the stimulator of interferon gene (STING protein), promoting the release of type I interferons and thus initiating a series of immune responses. The cGAS-STING pathway can regulate tumor metastasis and growth, participate in anti-tumor innate immune responses, and exploring the mechanism of action of the cGAS-STING pathway is of great significance in tumor immunotherapy. This review introduces the mechanism of action of the cGAS-STING pathway and summarizes various strategies currently used to activate the cGAS-STING pathway in anti-tumor immunotherapy.

Keywords Cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase-stimulator of interferon genes signaling pathway; Tumor; Immunotherapy; Nanomedicine

收稿日期: 2024-05-17. 网络首发日期: 2024-06-14.

联系人简介: 刘 轶, 男, 博士, 教授, 主要从事有机/无机复合纳米药物方面的研究. E-mail: yiliu@chem.jlu.edu.cn

张 皓, 男, 博士, 教授, 主要从事生物医用材料方面的研究. E-mail: hao_zhang@jlu.edu.cn

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(批准号: ***202302001)和长春市科技发展计划项目(批准号: 23***13)资助.

Supported by the Science and Technology Development Program of Jilin Province, China (No. ***202302001) and the Science and Technology Development Program of Changchun City, China (No. 23***13).

环磷酸鸟苷酸合成酶 [cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate (GMP-AMP) synthase, cGAS 蛋白] 是一种在哺乳动物中发现的核酸转移酶, 分子量约为 6×10^4 。cGAS 蛋白结构中有一个高度无序的由 1~160 位氨基酸残基组成的 N 端区域, 可以灵活地与不同结构和序列的 DNA 结合, 显著提升了其识别 DNA 的灵敏度^[1]。cGAS 蛋白中还有一个高度保守的 C 端区域, 即 Mab-21 结构域。此结构域属于 MAB21 家族蛋白^[2]。作为 cGAS/DncV 样核苷酸转移酶 (CD-NTase) 家族的重要成员, 其可以与 cGAS 蛋白的 N 端区域结合, 促进 cGAS 蛋白的液相缩聚^[3]。此外, 在 cGAS 蛋白的中间位置还有一个负责催化的结构域, 包含一些具有关键作用的氨基酸残基。当 cGAS 蛋白与细胞质中的双链 DNA (dsDNA) 或细菌/病毒 DNA 结合后, 其结构中带正电荷的氨基酸残基会与带负电荷的 DNA 磷酸主链发生相互作用, 使 cGAS 蛋白二聚体化, 从而引起构象变化。在经历构象改变后, 其可催化腺苷酸 (AMP) 的 5'-磷酸与三磷酸鸟苷 (GTP) 的 2'-OH, 三磷酸腺苷 (ATP) 的 3'-OH 与鸟苷酸 (GMP) 的 5'-磷酸分别形成 2'-5' 和 3'-5' 磷酸二酯键, 最终生成 2'3'-环状鸟苷酸二磷酸腺苷 (cyclic GMP-AMP, cGAMP)。

2008 年, Barber^[4] 和 Zhong 等^[5] 首次在内质网中发现了干扰素刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING 蛋白)。随后, Shang 等^[6] 利用冷冻电子显微镜技术完全解析了 STING 蛋白的结构。STING 蛋白是一种跨膜二聚体蛋白, 其结构中含有一个跨膜的 N 端结构域, 由 4 个跨膜螺旋 TM1 ~ TM4 组成, 其作用是将 STING 蛋白固定在内质网膜上。同时, STING 蛋白也含有一个能与细胞质中配体结合的 C 端信号传导结构域, 可与肿瘤坏死因子受体相关因子家族成员相关的核因子 κ B 活化因子 (TANK) 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 及干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 结合, 引发下游免疫反应^[7]。在静息状态下, STING 蛋白呈现为蝴蝶状二聚体形式, 处于自抑制失活状态。2'3'-cGAMP 等环二核苷酸分子 (cyclic dinucleotide, CDN) 可以通过氢键和疏水相互作用结合至 STING 二聚体的中心缝隙处^[8], 诱导 STING 蛋白发生构象变化 (向内旋转约 20 nm), 从而激活 STING 蛋白。被激活的 STING 蛋白可以活化 TBK1, 使 IRF3 和转录激活因子 6 (signal transducer and activator of transcription 6, STAT-6) 等下游转录因子磷酸化, 诱导趋化因子配体 2 (chemokine ligand 2, CCL2) 和趋化因子配体 20 (chemokine ligand 20, CCL20) 等趋化因子。当磷酸化的 IRF3 进入细胞核后, 会诱导干扰素-I (Interferon-I, IFN-I) 和其它与免疫调节相关的细胞因子的产生, 从而促进细胞毒性 T 淋巴细胞的活化与浸润, 激活 cGAS-STING 通路的抗肿瘤免疫响应 (图 1)。

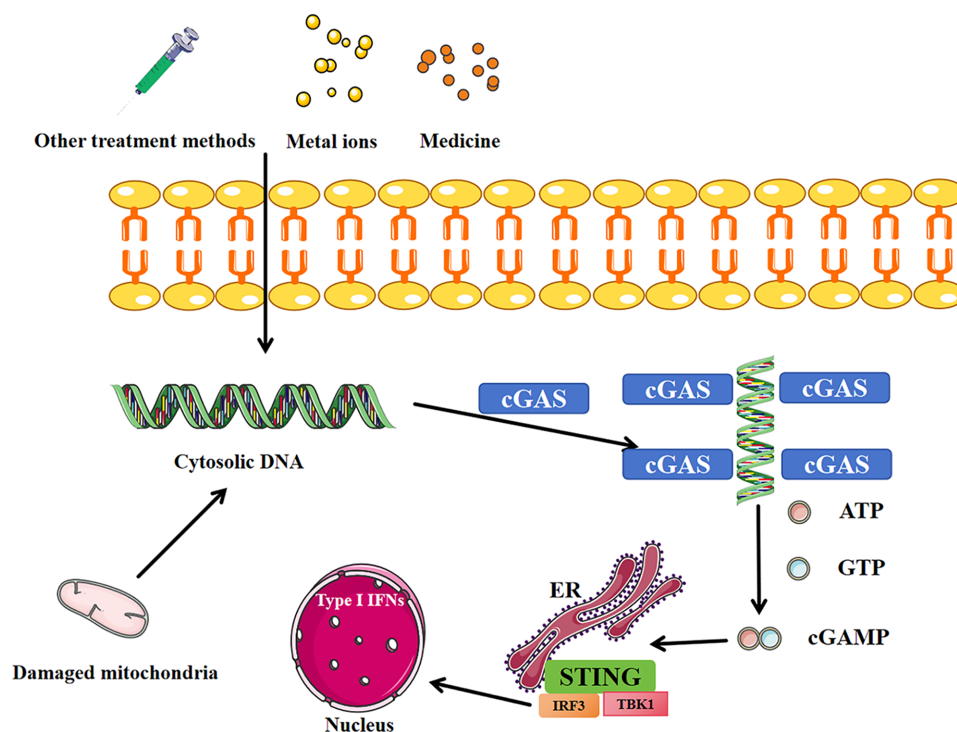


Fig. 1 dsDNA-mediated activation of the cGAS-STING pathway in tumor cells

cGAS-STING 通路不仅可以激活抗肿瘤免疫响应,也可能促进肿瘤的发展和转移. 研究人员发现,在慢性刺激下 cGAS-STING 通路可能引发由炎症驱动的癌变. 如,7,12-二甲基苯(a)蒽是一种致癌物,可导致核小体释放到细胞质中激活 cGAS-STING 通路,诱导小鼠皮肤肿瘤的发生^[9]. cGAS 蛋白的过表达可以损伤肺肿瘤细胞的 dsDNA,加速肺肿瘤细胞在体内的生长^[10]. STING 蛋白也可以通过调节吡咯胺 2,3-双加氧酶来加速肿瘤的生长,并通过催化 *L*-色氨酸转化为 *N*-甲酰犬尿氨酸促进肿瘤细胞的免疫逃逸^[11]. 另外,肿瘤细胞中大量存在的 DNA 碎片可以通过微核分泌到细胞质中,通过激活 cGAS-STING 通路来上调 p52 基因的表达,从而抑制 T 细胞的抗肿瘤活性^[12]. 可见,探索如何利用纳米技术和多种治疗方法来精确调控 cGAS-STING 通路,充分激活抗肿瘤免疫响应,同时抑制其对肿瘤生长和转移的促进作用已成为一个关键的研究方向.

本文聚焦于 STING 激动剂的开发及 cGAS-STING 通路的激活策略,综合评述了近年来相关领域的研究进展.

1 药物激活 cGAS-STING 通路

1.1 小分子药物

CDNs 是一种重要的天然激动剂,能够直接作用于 STING 蛋白^[13]. 但是其在体内降解的半衰期短、靶向性差以及对于细胞膜的渗透能力差等问题使其临床应用存在巨大的挑战^[14]. Xu 等^[15]利用天然内源性小分子油酸脱氧胞苷构建了环状双鸟苷酸(cyclic diguanosine monophosphate, CDG)的配体(cyclic di-guanosine monophosphate, c-di-GMP),并将其与 CDG 组装成稳定的球形纳米颗粒. 与游离的 CDG 相比,该球形纳米颗粒更有利于在肿瘤细胞中进行递送,促进了 CDG 在肿瘤部位的积聚,改善了肿瘤免疫微环境,在小鼠的黑色素瘤细胞中增强了 cGAS-STING 通路介导的抗肿瘤免疫反应[图 2(A)~(D)].

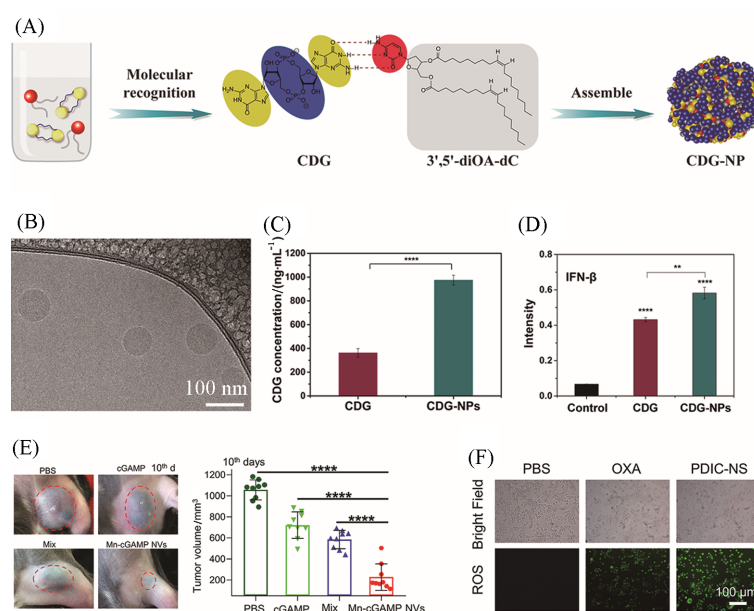


Fig. 2 Synthesis procedure of supramolecular cyclic dinucleotide nanoparticle delivery system CDG-NPs (A), cryo-EM image of CDG-NPs(B), CDG quantification in DC 2.4 cells at 4 h after coculture with CDG(423 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and CDG-NPs(423 $\mu\text{g}/\text{mL}$) measured by LC-MS(C), amount of IFN- β secreted by RAW 264.7 cocultured with CDG(146 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and CDP-NPs(146 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CDG) for 24 h(D)^[15], photographs and volume of tumors at 10th day after indicated treatments(E)^[16] and representative fluorescence images of ROS in LLC cells after incubation of PBS, PDIC-NS or OXA (2.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$) for 6 h(F)^[17]

(A—D) Copyright 2023, American Chemical Society; (E) Copyright 2021, Wiley Online Library; (F) Copyright 2024, Wiley Online Library.

除了天然内源性生物小分子, 研究人员也将金属基纳米颗粒应用于递送 CDNs. Chen 等^[16]将含有聚胍的二硫化物通过盐桥和静电相互作用与 cGAMP 的磷酸基团结合, 然后通过配位效应与 Mn^{2+} 配位得到纳米疫苗 (Mn-cGAMP 纳米疫苗). 该策略利用巯基交换介导的内化途径有效避免了细胞内容酶体直接降解 cGAMP 的过程, 使 cGAMP 和 Mn^{2+} 可以直接在胞质中进行共递送. 同时, Mn^{2+} 自身也是一种重要的 STING 激动剂, 可以激活 cGAS-STING 通路, 使 Mn^{2+} 与 cGAMP 的共递送具有累积效应. 他们在免疫原性较差的 B16F10 黑色素瘤细胞模型中评估了 Mn-cGAMP 纳米疫苗的免疫激活能力. 结果表明, Mn-cGAMP 纳米疫苗的免疫激活能力比游离的 cGAMP 和 Mn^{2+} /cGAMP 混合物分别高 2.25 倍和 1.34 倍 [图 2(E)].

为了进一步改善 CDNs 在递送过程中易分解、稳定性差及在病变组织中积累性差的现状, 应对直接递送 CDNs 可能引发的全身免疫毒性的问题, 研究人员进一步提出了使病变组织产生内源性 CDNs 的策略. Zhao 等^[17]利用芘酰亚胺衍生物 (perylene diimide, PDI) 促进了内源性 CDNs 的产生. PDI 由缺电子体系组成, 易捕获电子产生芘自由基阴离子. 当这些离域自由基阴离子发生氧化级联反应后, 可以产生大量内源性的活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS). ROS 水平与内源性 CDNs 的产生密切相关, 高水平的 ROS 可以显著促进内源性 CDNs 的产生. 同时, 利用 PDI 中丰富的化学位点, 将磷酸基团引入 PDI 制备了 PDIC-NS. 磷酸盐的引入也显著提高了药物的水溶性, 延长了血液循环时间, 不仅可以有效提高胞内 ROS 水平, 促进内源性 CDNs 的生成, 还可以有效抑制胞外核酸酶磷脂酸磷酸酶 1 (ectonucleotide pyrophosphatase 1, ENPP1) 的水解活性, 解决了 CDNs 生物稳定性差的问题 [图 2(F)].

1.2 DNA 类药物

随着基因技术的迅猛发展, 越来越多肿瘤细胞表面突变的 DNA 序列被发现. 研究人员基于肿瘤细胞表面特异性抗原制备了多种 DNA 类药物用于激活 cGAS 蛋白^[18]. 但是人工合成的 dsDNA 长度通常小于 20 bp, 其长度不足以激活 cGAS 蛋白, 难以引发 cGAS-STING 通路的下游免疫响应^[19-21]. 因此, 如何解决人工合成 dsDNA 长度不足和易被降解的问题成为提高 DNA 类药物治疗效果的关键. 2023 年, Xu 等^[22]首次利用滚环扩增技术 (rolling circle amplification, RCA) 人工合成了具有排列紧密的长链 dsDNA 的 DNA 纳米花 (DNA nanoflower, DNF) 结构, 并用磷脂质体 (liposomes, LIPO) 对该病毒样颗粒进行包裹, 制备了长链 dsDNA 病毒样颗粒 DNF@LIPO. 由于该 dsDNA 有较长的链结构, 可以有效诱导 cGAS 蛋白的液相缩聚, 激活 cGAS-STING 通路^[23]. 同时, 阳离子脂质的包裹使该病毒样颗粒更容易穿透细胞膜进入细胞质, 大幅提高了 DNF 的生物相容性. 此外, 这种病毒样颗粒还可以触发 AIM2 炎性小体 (absent in melanoma 2) 的形成, 引发 AIM2 炎性小体介导的肿瘤细胞凋亡, 显著提高了其抗肿瘤能力 [图 3(A)].

除了人工合成长链 dsDNA, He 等^[24]提出了递送全肿瘤细胞的策略. 肿瘤细胞包含全部特异性抗原, 其细胞裂解物富含丰富的天然长链 dsDNA, 可以有效激活 cGAS 蛋白^[25]. 将单宁酸 (tannic acid, TA) 和 Mn^{2+} 形成的 MnTA 配位网络包覆在 B16F10 细胞表面, 然后在其表面负载聚乙烯亚胺和脂多糖, 制成疫苗. 该疫苗被树突细胞摄取后, 全癌细胞的表面抗原会与 cGAS 蛋白结合从而激活 cGAS-STING 通路, 同时快速释放的 Mn^{2+} 会有效促进树突细胞的成熟 [图 3(B) 和 (C)].

单纯依赖 DNA 类药物进行治疗通常不足以达到理想的免疫效果^[26], 而在 DNA 类药物中加入免疫佐剂却能够有效激活免疫系统, 诱导树突状细胞成熟、抗原交叉呈递以及促炎细胞因子的分泌, 增强体内特异性 CD8⁺T 细胞的激活^[27]. 近期研究中, 开发了胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤寡聚脱氧核苷酸 (CpG oligodeoxynucleotides, CpG ODNs)、单磷脂酰脂质 A (monophosphoryl lipid A, MPLA) 以及咪喹莫特 (imiquimod) 等多种模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 激动剂作为免疫佐剂, 搭配 DNA 类药物进行共递送^[28, 29]. Zhang 等^[30]利用胍基材料中丰富的化学位点, 通过酰胺合成反应将胍基材料共轭到聚乙烯亚胺分子 (PEI) 上, 使 PEI 的细胞毒性得到显著降低, 最终制备了 DNA 类药物的递送载体 (PolyGu). 经此策略制备的递送载体不仅具备递送 DNA 类药物的作用, 同时由于搭载了修饰后的 PEI, 此载体也具有了免疫佐剂的功能, 从而将佐剂功能整合到 DNA 类药物的递送载体中, 显著降低

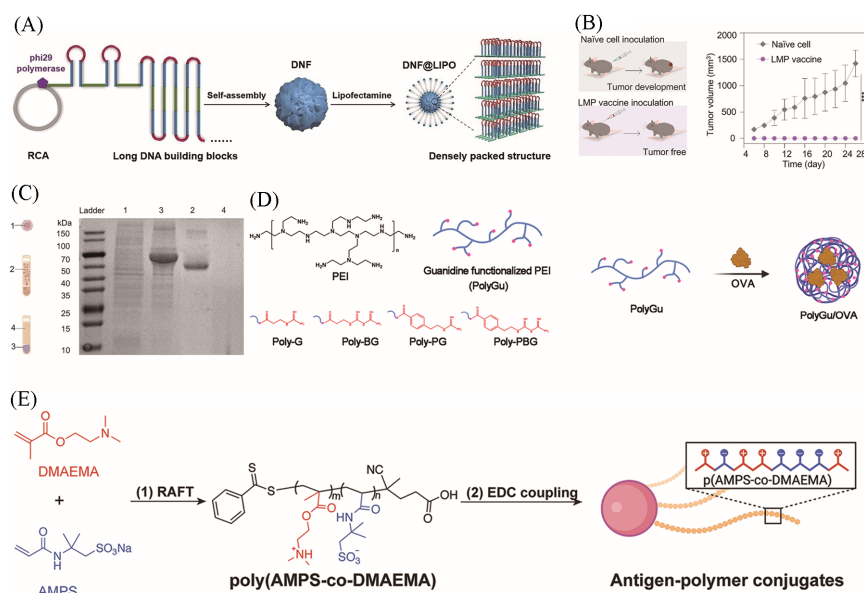


Fig. 3 Synthesis procedure of DNF@LIPO using RCA reaction and further modification (A)^[22], researchers injected C57BL/6 mice subcutaneously on day 0 with either naive cancer cells (cancer-challenged) or LMP vaccines and measured the tumor burden (B), researchers recorded SDS-PAGE results from the supernatant and the cell pellet of the LMP vaccines and naive cancer cells after hypotonic treatment (C)^[24], synthesis procedure of PolyGu design and preparation of PolyGu NVs with model antigen OVA (D)^[30] and synthesis procedure of for antigen-polymer conjugates (E)^[31]

(C) Mark 1. pellet of naive cancer cells; Mark 2. supernatant of naive cancer cells; Mark 3. pellet of LMP vaccine; Mark 4. supernatant of LMP vaccine. (A) Copyright 2023, Wiley Online Library; (B, C) Copyright 2024, Wiley Online Library; (D) Copyright 2024, American Chemical Society; (E) Copyright 2024, American Chemical Society.

了共递送系统设计的复杂程度[图3(D)]. Chen等^[31]利用活性自由基聚合技术(reversible addition-fragmentation chain transfer, RAFT),以4-氰基-4-(硫苯甲酰硫)戊酸为链转移剂,将2-丙烯酰胺-2-甲基-1-丙磺酸钠盐(AMPS)和2-(二甲氨基)甲基丙烯酸乙酯(DMAEMA)合成为聚合物p(AMPS-co-DMAEMA),即PAD. 此载体具有免疫佐剂的作用,可同时刺激TLR9-MyD88通路和cGAS-STING通路[图3(E)].

2 金属离子激活cGAS-STING通路

近年来,金属离子在临床试验中已被广泛应用于激活cGAS-STING通路^[32]. 顺铂和奥沙利铂等以铂基材料为主的金属基药物可破坏肿瘤细胞的核膜和线粒体膜,使dsDNA释放到肿瘤细胞的细胞质中^[33]. 释放出的dsDNA可与cGAS蛋白结合,激活cGAS-STING通路. 但铂类材料往往是通过促进肿瘤细胞释放出dsDNA的方式间接激活cGAS-STING通路. 2018年, Jiang等^[34]发现Mn²⁺具有直接激活cGAS-STING通路的重要作用. 当细胞感染病毒时,细胞中线粒体和高尔基体等细胞器会迅速释放Mn²⁺到细胞质中. 高浓度的Mn²⁺可以提高cGAS蛋白对细胞质中dsDNA的灵敏度,极大提升其对胞质DNA的响应能力,使原本不具备激活cGAS蛋白能力的DNA也能够激活cGAS蛋白. 此外,高浓度的Mn²⁺环境也可以促进cGAMP的生成,增强cGAMP与STING蛋白的结合能力. 因此,高浓度的Mn²⁺环境使得细胞的cGAS-STING通路处于超活化的状态. 而当小鼠缺乏锰元素时,其抵抗DNA病毒的能力则受到显著的抑制作用. 2020年, Jiang等^[35]进一步证明了Mn²⁺激活cGAS-STING通路的机制. 与铂类材料不同, Mn²⁺可以直接与cGAS蛋白结合从而激活cGAS-STING通路,且该过程并不依赖dsDNA的生成,具有更高的催化cGAMP生成的效率.

为了高效递送Mn²⁺至肿瘤细胞,研究人员设计了多种锰基纳米材料,将其靶向递送至肿瘤细胞用于激活cGAS-STING通路. 在锰基纳米材料中, MnO₂和MnO具有较好的pH响应性,可用于提高靶向

性^[36]. Sun等^[37]制备了MnO纳米颗粒,并利用双相分层的方法在MnO纳米颗粒表面包覆一层介孔二氧化硅(mSiO₂).在制得MnO@mSiO₂纳米颗粒后,又将肿瘤归巢肽(iRGD)修饰到MnO@mSiO₂纳米颗粒表面,制得MnO@mSiO₂-iRGD纳米颗粒.与Mn-Fe₂O₄纳米颗粒等其它锰基纳米颗粒相比,单分散的MnO纳米颗粒可以更好地响应pH值的变化.在pH=7.4的血浆中,MnO@mSiO₂-iRGD纳米颗粒不会被破坏.当这些纳米颗粒被浸泡在pH=5.4的缓冲溶液中将在72 h内被降解.这表明呈酸性的肿瘤微环境可以加快纳米颗粒的降解并促进Mn²⁺的释放,从而激活cGAS-STING通路.此外,经过iRGD修饰的纳米颗粒在体内的渗透能力和滞留时间均显著提升,其靶向性也得到增强.并且,mSiO₂的包覆使得纳米颗粒更容易进入肿瘤细胞,显著提高了纳米颗粒的生物相容性.同时,MnO@mSiO₂的磁性比MnO更弱,使其具有了MRI成像的性能[图4(A)和(B)].

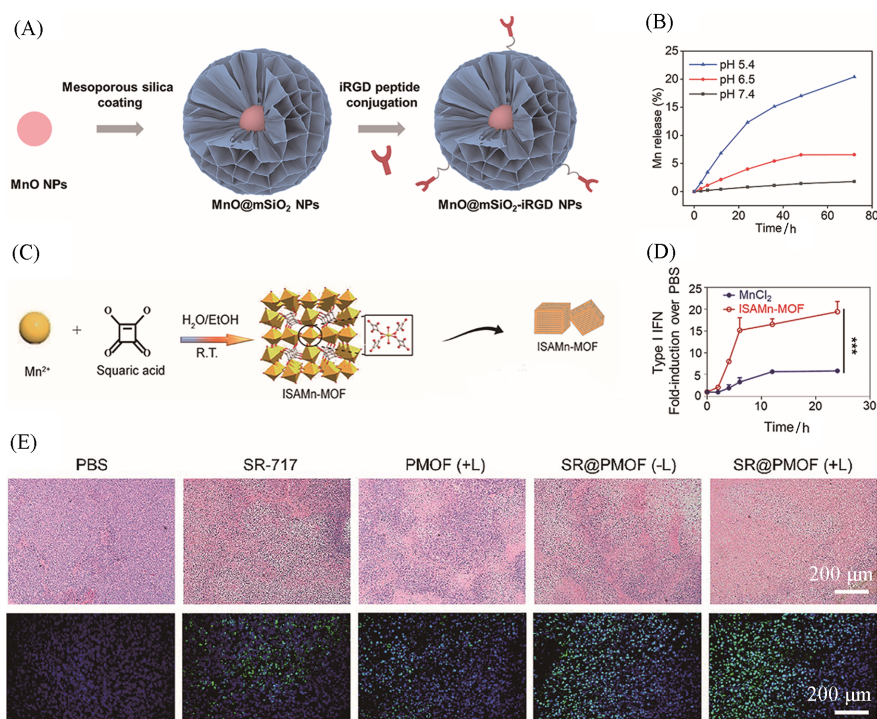


Fig. 4 Synthesis procedure of MnO@mSiO₂-iRGD NPs(A), accumulative Mn release of MnO@mSiO₂-iRGD NPs in PBS solution with different pH values(7. 4, 6. 5, and 5. 4) at 37 °C(B)^[37], synthesis of ISAMn-MOF(C), type I interferon activity in culture supernatant from BMDCs treated with 40 μg/mL ISAMn-MOF or 200 μmol/L MnCl₂ for 2, 4, 6, 12, and 24 h, respectively(D)^[39] and H&E and TUNEL staining images of primary tumors at day 7 after intravenous injection of various groups(E)^[41]

(A, B) Copyright 2022, American Chemical Society; (C, D) Copyright 2023, American Chemical Society; (E) Copyright 2023, American Chemical Society.

除了MnO₂, 研究人员也尝试将金属-有机框架(MOFs)引入到锰基材料的构建和递送中^[38]. 然而, 大多数MOFs仅被用作惰性药物的递送载体, 缺乏免疫调节能力. 2023年, Zheng等^[39]利用MnCl₂和方酸(SA)合成了基于Mn²⁺的MOFs(ISAMn-MOF). ISAMn-MOF具有较强的pH响应能力, 经树突细胞内吞后, 可在酸性微环境下释放Mn²⁺, 实现胞内Mn²⁺浓度的激增, 从而激活cGAS-STING通路. 与同等剂量的MnCl₂相比, ISAMn-MOF可以使I型干扰素分泌量提高4倍, 促炎细胞因子分泌量提高2~16倍, 增强了Mn²⁺激活cGAS-STING通路的能力, 显著抑制了肿瘤的转移和增长. 由于其具有pH响应能力, 在测试剂量下只会对小鼠产生极小的副作用[图4(C)和(D)].

除了发挥特定MOFs材料激活cGAS-STING通路的能力, 更多的研究集中在MOFs材料搭载各类免疫佐剂后的优良性能上. Chen等^[40]将金属有机框架-801(MOF-801)与CpG ODNs结合, 搭载STING激动剂6-二甲基黄酮-4-乙酸(DMXAA), 自组装成MOF-CpG-DMXAA纳米颗粒. Zhou等^[41]将由1,4-苯二

甲酸修饰的聚丙烯酰胺(PABDA)、中四(羧基苯基)卟啉(TCPP)、硫缩二乙酸和氯化锆组成的嵌段共聚物作为配体,制备了具有聚乙二醇(PEG)壳层的PMOF纳米颗粒.随后,将STING激动剂SR-717加载到PMOF的多孔结构中,得到了SR@PMOF纳米颗粒.该纳米颗粒联合光动力疗法进行治疗时,可同时抑制原发性和转移性肿瘤[图4(E)].

3 其它手段激活cGAS-STING通路

在放疗(radiation therapy, RT)介导的免疫调节策略中,cGAS-STING通路通常具有很强的应用前景^[42].放疗会导致免疫原性细胞死亡,促进细胞膜和线粒体膜的破裂,在细胞质中产生大量的dsDNA.同时,初级辐射将能量直接沉积到细胞质中的DNA或与DNA结合的物种中,使DNA发生电离,释放出电子,形成DNA自由基阳离子,在DNA中形成初始空穴^[43].随后,初始空穴沿着DNA双螺旋链进行链转移,发生不可逆氧化并导致双链断裂^[44].在此过程中产生的电子使DNA生成DNA自由基阴离子而对DNA造成直接损害,诱发DNA的直接损伤机制和DNA的间接损伤机制^[45],从而激活cGAS-STING通路.然而,在安全剂量的X射线照射下,仅通过放疗激活cGAS-STING通路的能力严重不足.研究发现,随着X射线剂量的不断提高,三磷酸腺苷依赖性核酸外切酶1(three prime repair exonuclease 1, Trex1)的表达会不断上升^[46].Trex1可以降解胞质中的dsDNA,使产生的dsDNA低于激活cGAS蛋白的阈值,从而抑制cGAS-STING通路.因此,使用放疗增敏剂提高肿瘤细胞对于辐射的敏感性,在降低辐射剂量的同时激活cGAS-STING通路,可以达到更好的放射治疗效果.

Cao等^[47]利用水热法制备了HfO₂-PVP纳米颗粒,并以其为基体,通过多环芳烃(PAH)还原KMnO₄生成MnO₂壳,最终得到一种核-壳纳米复合材料HfMn-PAH.其中,HfO₂核是一种放疗增敏剂,受到X射线照射后会增强肿瘤细胞对X射线能量的局部吸收能力,诱导免疫原性细胞死亡,提供足够的肿瘤抗原和dsDNA以激活cGAS-STING通路.而MnO₂受到肿瘤细胞中高表达的GSH刺激时会被降解,在降低GSH水平的同时释放出Mn²⁺,提高cGAS蛋白对于dsDNA的敏感性.但在正常细胞中,由于GSH水平较低,MnO₂壳层并不会破裂.此策略显著提高了放疗的治疗效果[图5(A)~(C)].

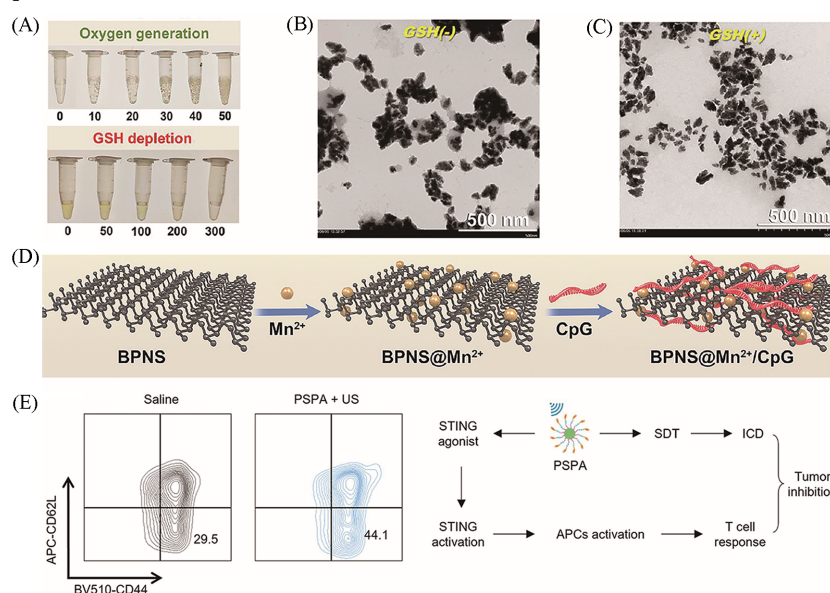


Fig. 5 Photos of different concentrations of HfMn-PAH reacting with H₂O₂(upper) and GSH(lower) (A), TEM image of HfMn-PAH without (-)GSH treatment(B), TEM image of HfMn-PAH with (+)GSH treatment(C)^[47], amount of IFN- β secreted by RAW 264.7 cocultured with CDG (146 μ g/mL) and CDP-NPs (146 μ g/mL CDG) for 24 h(D)^[51] and flow cytometry plots of effector memory T cells(T_{EM}) (CD44^{high} CD62L^{low}) gated in CD3⁺ CD8⁺ T cells(E)^[54]

(A—C) Copyright 2024, American Chemical Society; (D) Copyright 2024, American Chemical Society; (E) Copyright 2023, Wiley Online Library.

除了开发各类放疗增敏剂,光疗增敏材料也受到了关注.在癌症治疗中,基于光化学反应的光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)结合了光、氧气和光敏剂3种要素.当光敏剂被特定波长的光激活时,会从基态跃迁到激发态,然后通过一系列复杂的化学反应,将细胞周围的氧气转化为有细胞毒性的ROS(如单线态氧 1O_2)来损伤和杀死肿瘤细胞^[48].Ding等^[49]开发了一种纳米治疗平台,该平台由两部分纳米颗粒组成.第一种纳米颗粒(NP1)负载光敏剂甲苯胺蓝(TBE),可通过PDT途径有效提高胞内ROS的水平,降低胞内GSH水平,促进胞内dsDNA的损伤,激活cGAS-STING通路.第二种纳米颗粒(NP2)由负载地西他滨的脂质体组成,可有效逆转启动子的甲基化过程,防止STING蛋白被降解.该纳米治疗平台利用PDT策略激活了cGAS-STING通路,并有效抑制了STING蛋白的降解.

光热疗法(photothermal therapy, PTT)也是一种重要的肿瘤治疗光疗策略^[50].PTT是一种非侵入性的肿瘤治疗方法,将光能转换为热能,通过升高局部温度来杀死肿瘤细胞或破坏病变组织.PTT的不断发展激发了人们开发光热转换剂(光热剂)材料的巨大兴趣,具有高光热转换效率(photothermal conversion efficiency, PCE)的光热剂越来越受到关注^[51].Liang等^[52]发现黑磷纳米片(black phosphorus nanosheets, BPNS)具有较高的PCE值,并可通过 π - π 堆叠和范德华力等分子间相互作用力有效吸附药物.通过将BPNS与 Mn^{2+} 进行简单混合制备了BPNS@ Mn^{2+} 骨架,并通过负载胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(cytosine-phosphate-Guanine, CpG)制得BPNS@ Mn^{2+} /CpG.BPNS@ Mn^{2+} /CpG的使用激活了STING通路和TLR9(toll-like receptor 9)通路,同时联合了PTT策略,可有效将M2型巨噬细胞转化为M1型,触发树突细胞的成熟,促进了 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T淋巴细胞的浸润[图5(D)].

声动力疗法(sonodynamic therapy, SDT)是利用声敏剂在超声波刺激下产生大量ROS以杀灭肿瘤细胞的方法.该方法可以有效克服光在组织中穿透深度不足的缺点^[53].研究人员将各类声敏剂递送至肿瘤细胞,以促进细胞内ROS的生成.ROS可以使线粒体或细胞核受到损伤,从而产生破碎的线粒体DNA(mtDNA)和核DNA(nDNA).这些异常的DNA片段会释放到细胞质中,与cGAS蛋白进行结合,从而达到激活cGAS-STING通路的目的^[54].最近,Yu等^[55]将可控半导体聚合物纳米颗粒(control semiconducting polymer nano-particles, CSPN)与STING激动剂甲基水杨酸2(methyl salicylate 2, MSA-2)联合,同时搭载GSH活化剂.在超声刺激下,细胞内产生了大量的ROS,同时GSH的表达也呈现出上升状态.GSH的高表达会激活GSH活化剂,从而促进与其相连的MSA-2的释放.然而,在未受到超声刺激的正常组织中,由于GSH的含量较低,并不会激活GSH活化剂,MSA-2也就难以释放,从而实现了良好的靶向性[图5(E)].

4 总结与展望

cGAS-STING通路是细胞内一条重要的免疫应答途径,在抵御病原体感染、维持免疫监视和调控自身免疫疾病中发挥了重要的作用.本文主要总结了肿瘤免疫治疗过程中,激活cGAS-STING通路的不同策略.递送DNA类药物(激活cGAS蛋白)和CDNs等小分子药物(激活STING蛋白)是激活cGAS-STING通路的重要策略.由于 Mn^{2+} 可以直接与cGAS蛋白结合从而激活cGAS-STING通路,锰基纳米材料也被广泛用于抗肿瘤的免疫治疗中.另外,肿瘤细胞内ROS的累积会损伤线粒体和细胞核,产生大量的DNA碎片激活cGAS蛋白.因此,RT,SDT和PDT等治疗方法也是激活cGAS-STING通路的重要手段.

在过去的10年中,激活cGAS-STING通路的各种策略不断涌现.然而,依然存在诸多挑战.部分药物材料的生物相容性不足,难以被递送至细胞内;部分药物材料的稳定性较差,容易在体内被降解;还有部分药物材料的靶向性不佳,对正常组织具有较大的毒性,这些问题仍然有待解决.高分子纳米材料因其优异的生物相容性,作为一种递送STING激动剂的手段,越来越受到研究人员的青睐.因此,深入探究cGAS-STING通路,探索药物递送的新策略和新途径,在肿瘤治疗的临床应用中将有更广阔的发展前景.

参 考 文 献

- [1] Lee A., Park E., Lee J., Choi B., Kang S., *FEBS Lett.*, **2017**, 591(6), 954—961
- [2] Li S. A., Yang F. F., Wang F. X., Lv X. J., Li F. H., *Dev. Comp. Immunol.*, **2021**, 121, 104101
- [3] Liu H. S., Yan Z. Z., Zhu D. Y., Xu H. Y., Liu F., Chen T., Zhang H. H., Zheng Y., Liu B. Y., Zhang L., Zhao W., Gao C. J., *Cell Death Differ.*, **2023**, 30(4), 992—1004
- [4] Ishikawa H., Barber G. N., *Nature*, **2008**, 455(7213), 674—678
- [5] Zhong B., Yang Y., Li S., Wang Y. Y., Li Y., Diao F. C., Lei C. Q., He X., Zhang L., Tien P., Shu H. B., *Immunity*, **2008**, 29(4), 538—550
- [6] Shang G. J., Zhang C. G., Chen Z. J., Bai X. C., Zhang X. W., *Nature*, **2019**, 567(7748), 389—393
- [7] Lu D. F., Shang G. J., Li J., Lu Y., Bai X. C., Zhang X. W., *Nature*, **2022**, 604(7906), 557—562
- [8] Zhang X., Shi H. P., Wu J. X., Zhang X. W., Sun L. J., Chen C., Chen Z. J., *Mol. Cell*, **2013**, 51(2), 226—235
- [9] Ahn J., Xia T. L., Konno H., Konno K., Ruiz P., Barber G. N., *Nat. Commun.*, **2014**, 5, 5166
- [10] Liu H. P., Zhang H. P., Wu X. Y., Ma D. P., Wu J. H., Wang L., Jiang Y., Fei Y. Y., Zhu C. G., Tan R., Jungblut P., Pei G., Dorhoi A., Yan Q. L., Zhang F., Zheng R. J., Liu S. Y., Liang H. J., Liu Z. H., Yang H., Chen J. X., Wang P., Tang T. Q., Peng W. X., Hu Z. S., Xu Z., Huang X. C., Wang J., Li H. H., Zhou Y. L., Liu F., Yan D. P., Kaufmann S. H. E., Chen C., Mao Z. Y., Ge B. X., *Nature*, **2018**, 563(7729), 131—136
- [11] Munn D. H., Mellor A. L., *Trends Immunol.*, **2016**, 37(3), 193—207
- [12] Bakhoun S. F., Ngo B., Laughney A. M., Cavallo J. A., Murphy C. J., Ly P., Shah P., Sriram R. K., Watkins T. B. K., Taunk N. K., Duran M., Pauli C., Shaw C., Chadalavada K., Rajasekhar V. K., Genovese G., Venkatesan S., Birkbak N. J., McGranahan N., Lundquist M., LaPlant Q., Healey J. H., Elemento O., Chung C. H., Lee N. Y., Imielenski M., Nanjangud G., Pe'er D., Cleveland D. W., Powell S. N., Lammerding J., Swanton C., Cantley L. C., *Nature*, **2018**, 553 (7689), 467—472
- [13] Wang Z. H., Xi Z., *Tetrahedron*, **2021**, 87, 132096
- [14] Motedayen A. L., Pease J. E., Sharma R., Pinato D. J., *J. Clin. Med.*, **2020**, 9(10), 3323
- [15] Xu L., Deng H. P., Wu L., Wang D. L., Shi L. L., Qian Q. H., Huang X. A., Zhu L. J., Gao X. H., Yang J. P., Su Y., Feng J., Zhu X. Y., *ACS Nano*, **2023**, 17(11), 10090—10103
- [16] Chen C. Y., Tong Y. H., Zheng Y. S., Shi Y. J., Chen Z. W., Li J., Liu X. L., Zhang D., Yang H. H., *Small*, **2021**, 17(17), 2006970
- [17] Zhao X. J., Zheng R. J., Zhang B. B., Zhao Y., Xue W. L., Fang Y. F., Huang Y. W., Yin M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2024**, 63(11), e202318799
- [18] Liu N., Xiao X. Y., Zhang Z. Q., Mao C., Wan M. M., Shen J., *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2023**, 9(11), 5999—6023
- [19] Luecke S., Holleufer A., Christensen M. H., Jonsson K. L., Boni G. A., Sorensen L. K., Johannsen M., Jakobsen M. R., Hartmann R., Paludan S. R., *EMBO Rep.*, **2017**, 18(10), 1707—1715
- [20] Civril F., Deimling T., de Oliveira Mann C. C., Ablasser A., Moldt M., Witte G., Hornung V., Hopfner K. P., *Nature*, **2013**, 498(7454), 332—337
- [21] Zhao Y., Cao W. Q., Liu Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2020**, 41(5), 909—923 (赵宇, 曹琬晴, 刘阳. 高等学校化学学报, **2020**, 41(5), 909—923)
- [22] Xu X. Y., Fan H. H., Yang Y., Yao S. K., Yu W. H., Guo Z. J., Tan W. H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, 62(24), e202303010
- [23] Du M. J., Chen Z. J., *Science*, **2018**, 361(6403), 704—709
- [24] He X. L., Gong G. D., Chen M., Zhang H. J., Zhang Y. J., Richardson J. J., Chan W. Y., He Y. X., Guo J. L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2024**, 63(12), e202314501
- [25] Mao W. H., Jia S., Chen P., *J. Nanopart. Res.*, **2023**, 25, 135
- [26] Khong H., Overwijk W. W., *J. Immunotherap. Cancer*, **2016**, 4(1), 56
- [27] Temizoz B., Kuroda E., Ishii K. J., *Int. Immunol.*, **2016**, 28(7), 329—338
- [28] Kaur A., Baldwin J., Brar D., Salunke D. B., Petrovsky N., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2022**, 70, 102172
- [29] Kruit W. H. J., Suci S., Dreno B., Mortier L., Robert C., Chiarion-Sileni V., Maio M., Testori A., Dorval T., Grob J. J., Becker J. C., Spatz A., Eggermont A. M. M., Louahed J., Lehmann F. F., Bricard V. G., Keilholz U., *J. Clin. Oncol.*, **2013**, 31(19), 2413—2420
- [30] Zhang X. B., Wang K. Y., Zhao Z. Q., Shan X. Z., Wang Y. Q., Feng Z. Y., Li B. Y., Luo C., Chen X. Y., Sun J., *ACS Nano*, **2024**, 18(9), 7136—7147
- [31] Chen H., Wang L. Y., Zhao X. F., Jiang H. L., Wu M. L., Ding Y. C., Jia X. Q., Zhang Y. N., Li T. T., Zhang Y., Zhou W., Zheng P. Y., Yang Y. L., Du J. J., *ACS Nano*, **2024**, 18(12), 9160—9175
- [32] Lei H. L., Hou G. H., Chen M. J., Ji J. S., Cheng L., *Nano Today*, **2023**, 53, 102033
- [33] Rottenberg S., Disler C., Perego P., *Nat. Rev. Cancer*, **2021**, 21(1), 37—50
- [34] Wang C. G., Guan Y. K., Lv M., Zhang R., Guo Z. Y., Wei X. M., Du X. X., Yang J., Li T., Wan Y., Su X. D., Huang X. J., Jiang Z. F., *Immunity*, **2018**, 48(4), 675—687.E7
- [35] Zhao Z., Ma Z. X., Wang B., Guan Y. K., Su X. D., Jiang Z. F., *Cell Rep.*, **2020**, 32(7), 108053
- [36] Zhang T. X., Hu C. M., Zhang W. T., Ruan Y. D., Ma Y. H., Chen D. S., Huang Y. H., Fan S. H., Lin W. S., Huang Y. F., Liao K.

- S., Lu H., Xu J. F., Pi J., Guo X. R., *Front. Immunol.*, **2023**, *14*, 1156239
- [37] Sun Z. L., Wang Z. Y., Wang T., Wang J. J., Zhang H. T., Li Z. Y., Wang S. R., Sheng F. G., Yu J., Hou Y. L., *ACS Nano*, **2022**, *16*(8), 11862—11875
- [38] Mallakpour S., Nikkhoo E., Hussain C. M., *Coord. Chem. Rev.*, **2022**, *451*, 214262
- [39] Zheng S. J., Yang M. F., Luo J. Q., Liu R., Song J., Chen Y., Du J. Z., *ACS Nano*, **2023**, *17*(16), 15905—15917
- [40] Chen X. J., Tang Q. Y., Wang J. Q., Zhou Y., Li F. Q., Xie Y. X., Wang X. A., Du L., Li J. R., Pu J., Hu Q. Y., Gu Z., Liu P. F., *Adv. Mater.*, **2023**, *35*(15), 2210440
- [41] Zhou Q. H., Dutta D., Cao Y. F., Ge Z. S., *ACS Nano*, **2023**, *17*(10), 9374—9387
- [42] Zhang X. Y., Zhang H., Zhang J. J., Yang M. D., Zhu M. Q., Yin Y. Z., Fan X., Yu F., *Immunology*, **2023**, *168*(3), 375—388
- [43] Baskar R., Lee K. A., Yeo R., Yeoh K. W., *Int. J. Med. Sci.*, **2012**, *9*(3), 193—199
- [44] Peluso A., Caruso T., Landi A., Capobianco A., *Molecules*, **2019**, *24*(22), 4044
- [45] Narayanan S J J., Tripathi D., Verma P., Adhikary A., Dutta A. K., *ACS Omega*, **2023**, *8*(12), 10669—10689
- [46] Vanpouille-Box C., Alard A., Aryankalayil M. J., Sarfraz Y., Diamond J. M., Schneider R. J., Inghirami G., Coleman C. N., Formenti S. C., Demaria S., *Nat. Commun.*, **2017**, *8*(1), 15618
- [47] Cao Y. H., Ding S. S., Hu Y. P., Zeng L. J., Zhou J. R., Lin L. L., Zhang X., Ma Q. H., Cai R. L., Zhang Y., Duan G. J., Bian X. W., Tian G., *ACS Nano*, **2024**, *18*(5), 4189—4204
- [48] Lu X. X., Xue C., Dong J. H., Zhang Y. Z., Gao F., *J. Mater. Chem. B*, **2024**, *12*(13), 3209—3225
- [49] Ding F. X., Liu J. Y., Ai K. L., Xu C., Mao X. Y., Liu Z. Q., Xiao H. H., *Adv. Mater.*, **2024**, *36*(7), 2306419
- [50] Zhang M., Wang L., Liu H., Wang Z., Feng W., Jin H., Liu S., Lan S., Liu Y., Zhang H., *ACS Appl. Bio Mater.*, **2022**, *5*(5), 2365—2376
- [51] Huang X. Y., Lu Y., Guo M. X., Du S. Y., Han N., *Theranostics*, **2021**, *11*(15), 7546—7569
- [52] Ling K., Zheng J. T., Jiang X. H., Huang W. J., Mai Y. Q., Liao C. H., Fan S. T., Bu J. L., Li R., Zeng B. C., Zheng Q. N., Huang R. B., Li Z. Y., Wong N. K., Jiang H. Y., *ACS Nano*, **2024**, *18*(4), 2841—2860
- [53] Pan X. T., Wang H. Y., Wang S. H., Sun X., Wang L. J., Wang W. W., Shen H. Y., Liu H. Y., *Sci. China Life Sci.*, **2018**, *61*(4), 415—426
- [54] Pan X. T., Bai L. X., Wang H., Wu Q. Y., Wang H. Y., Liu S., Xu B. L., Shi X. H., Liu H. Y., *Adv. Mater.*, **2018**, *30*(23), 1800180
- [55] Yu J., He S., Zhang C., Xu C., Huang J., Xu M., Pu K., *Angew Chem. Int. Ed.*, **2023**, *62*(32), e202307272

(Ed.: L, W, K)