

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.012

· 综述 ·

cGAS-STING 信号通路调控抗肿瘤免疫应答的研究进展

Research progress of cGAS-STING signaling pathway in regulating anti-tumor immune response

笪艳艳^a综述; 张彩^a, 陆楠^b审阅(山东大学药学院 a. 免疫药物学研究所; b. 诊断学教研室, 山东 济南 250012)

[摘要] 作为胞质中的DNA感受器, 环腺苷酸鸟苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)能够识别细胞质内的异常DNA, 激活干扰素刺激基因(stimulator of interferon genes, STING)信号通路, 介导下游的干扰素相关基因、炎性相关因子和趋化因子的产生, 从而启动机体的免疫应答。STING蛋白作为DNA感受通路下游关键的接头分子, 广泛表达于免疫细胞、肿瘤细胞和基质细胞等多种类型的细胞中, 发挥感受胞质DNA和免疫防御的信号转导作用。STING蛋白激动剂作为新型激动剂已用于多种肿瘤的临床前研究和临床试验治疗, 展示出诱人的应用前景。但是, 也有文献报道该信号通路的过度激活在某些情况下对肿瘤的生长有一定的促进作用。本文对近年来cGAS-STING信号通路调控免疫应答以及STING激动剂在肿瘤免疫治疗中应用的相关研究进展作一综述, 为靶向该通路的抗肿瘤免疫治疗的临床应用提供依据。

[关键词] cGAS-STING信号通路; 抗肿瘤作用; 促肿瘤作用; 免疫治疗

[中图分类号] R730.54; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-1036-07

氧化应激、代谢改变和基因不稳定性导致肿瘤细胞核内DNA和线粒体DNA发生损伤并释放至细胞质中。一般认为, 肿瘤来源的DNA或其环化后形成的环腺苷酸鸟苷酸(cyclic GMP-AMP, cGAMP)主要是通过缝隙连接或者胞吞方式进入树突状细胞(dendritic cell, DC)中, 激活胞质内的干扰素刺激基因(stimulator of interferon genes, STING)信号通路, 诱导其表面共刺激分子的表达, 促进DC成熟, 增强其提呈抗原的能力。但是研究^[1]表明, 除DC外, 巨噬细胞、T细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞等免疫细胞及肿瘤细胞和基质细胞也表达STING蛋白。这意味着来源于肿瘤细胞的cGAMP, 不仅可以激活DC的STING通路, 还可以激活肿瘤微环境中其他细胞的STING信号通路, 产生不同的免疫调控作用。因此, 研究肿瘤微环境中STING信号通路活化所产生的免疫调控作用以及STING激动剂在免疫治疗中的应用对于肿瘤治疗具有十分重要的意义。

1 cGAS-STING 信号通路概况

固有免疫系统是机体抵御病原体侵入的第一道防线。机体通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别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)信号, 启动不同的免疫应答^[2]。其中, DNA识别感受器环腺苷酸鸟苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)与磷酸肌醇4,5-二磷酸[PI(4,5)P₂]通过静电相互作用后定位于细胞质膜, 避免微量

DNA的异常激活。当外源性的DNA病毒、细菌以及自身损伤细胞的DNA进入细胞质时, cGAS识别并结合胞质DNA, 催化GTP和ATP环化形成cGAMP^[3]。

锚定于内质网的STING蛋白是由4个穿膜结构域(TM1~4)和胞质C端结构域(C-terminal domain, CTD)组成的穿膜蛋白, 通常在152~173位区域交接组成形似“V形口袋”的二聚化结构(dimerization domain, DD), 处于自我抑制状态。作为第二信使的cGAMP, 能够结合STING蛋白的“V形口袋”, 使STING蛋白发生构象变化并被激活, 随后从内质网转位至高尔基体^[4]。在此STING蛋白发生棕榈酰化, 通过C-末端结构域特异地招募并磷酸化TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)和I κ B激酶(inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase, IKK), 磷酸化干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)和I κ B α 。磷酸化的IRF3入核, 诱导I型干扰素(interferon, IFN-I)产生; 磷酸化的I κ B α 从核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)复合物上解离下来, 使NF- κ B入核, 诱导炎症因子和趋化因子的转录和分

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No.81771686; No.91142114), 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(No.2019JZZY021013)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81771686; No.91142114), and the Shandong Province Key R&D Plan (Major Science and Technology Innovation Project)(No.2019JZZY021013)

[作者简介] 笪艳艳(DA Yanyan, 1994-), 汉族, 女, 硕士, 主要从事肿瘤免疫治疗的相关研究, E-mail: dayanyan204@163.com。

[通信作者] 张彩(ZHANG Cai, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学和肝脏免疫学研究, E-mail: cai-zhangsd@sdu.edu.cn

泌, 参与免疫应答^[5]。

2 cGAS-STING 信号通路激活的抗癌作用

2.1 通路激活可促进免疫细胞的活化及其抗肿瘤作用

肿瘤来源的DNA可以被DC、巨噬细胞和其他免疫细胞中的DNA受体cGAS识别, 激活STING信号通路, 诱导I型IFN的表达。DC作为最重要的APC, 其胞质内的STING信号通路的活化可以促进自身的成熟, 促进其提呈抗原, 从而增强T细胞的抗肿瘤作用。体内清除CD8 α^+ DC可明显降低荷瘤小鼠体内I型IFN的产生水平, 明显减弱STING激动剂的抗肿瘤效果^[6]。由DC产生的I型IFN能够以旁分泌或自分泌的方式, 结合自身或邻近DC或其他免疫细胞表面的干扰素受体, 激活相关信号通路, 促进DC及其他免疫细胞的活化与生物学功能。首先, I型IFN能够通过降低内体-溶酶体酸化速率促进外源性抗原在DC中的储存。IFN- α 处理DC能够促进MHC-I分子在DC的抗原储存区中的定位, 增强DC的抗原提呈能力^[7]。其次, I型IFN还可以增加MHC-I和MHC-II类分子在DC的整体表达水平及共刺激分子CD40、CD80和CD86的表达^[8]。此外, I型IFN还可以促进多种趋化因子(如CXCL9和CXCL10)的产生, 进而促进抗原提呈细胞的归巢及效应细胞CD8 $^+$ T细胞和NK细胞的运动和迁移^[9]。

瘤内注射cGAMP同样能够激活巨噬细胞的STING信号通路, 诱导CD11b^{mid} Ly6C $^+$ F4/80 $^+$ MHC-II $^+$ 成熟巨噬细胞迁移到肿瘤部位, 而这些巨噬细胞更倾向于M1表型, 主要产生TNF- α 而不产生负性调节因子IL-10, 并显示出较强的吞噬活性^[10-11]。与未成熟骨髓来源的抑制细胞(myeloid derived suppressor cell, MDSC)相比, STING信号通路活化的巨噬细胞表达更高水平的CXCL10、CXCL11、一氧化氮合酶(NOS2)和I型IFN等基因^[10]。

除通过活化APC的STING信号通路诱导I型IFN和炎性细胞因子的产生间接活化T细胞和NK细胞之外, STING激动剂也可以直接激活T细胞和NK细胞。研究^[12]发现, STING缺失的小鼠体内无法产生有效的抗肿瘤T细胞应答而抑制黑色素肿瘤的生长, 这提示STING信号转导可能是T细胞活化并发挥效应功能所必需的。STING信号通路在肿瘤组织中的活化也能够促进趋化因子CCL5、CXC9及CXCL10的产生, 以促进CD8 $^+$ T和CD4 $^+$ T细胞的浸润及活化^[13], STING激动剂也能够直接刺激T细胞激活相应的信号通路, 促进I型干扰素的产生^[14]。这些研究均证实了STING激动剂可以促进T细胞的活化, 并促

进其向肿瘤组织浸润。MARCUS等^[15]发现STING对NK敏感型肿瘤RMA-S淋巴瘤和B16BL6黑色素瘤的抗肿瘤作用主要是依赖于NK细胞而不是T细胞或B细胞。最近WATKINS-SCHULZ等^[16]的研究通过NK细胞清除实验也证实了该结论, 表明NK细胞在STING信号通路介导的抗肿瘤免疫应答的初始阶段发挥重要作用。此外, 肿瘤细胞中DNA损伤反应能够诱导cGAS-STING信号通路的激活, 从而上调NKG2D(natural killer cell group 2D)配体的表达, 敲除小鼠肿瘤细胞的STING和IRF3, 可明显降低NKG2D配体维甲酸早期转录因子1(retinoic acid early transcript, RAE-1)的表达^[17]。肿瘤细胞表面上调的NKG2D配体可与NK细胞表面的NKG2D受体结合, 进而增强NK细胞对肿瘤细胞的杀伤能力。这些研究均表明, NK细胞在STING介导的抗肿瘤免疫应答的过程中发挥重要作用, 这为STING通路活化介导的抗肿瘤免疫应答机制提供了新的见解。

2.2 肿瘤细胞中该通路激活可促进肿瘤细胞凋亡

STING信号通路在肿瘤细胞中的激活可能促进肿瘤细胞发生凋亡。在CCL4诱导的肝纤维化和酒精性脂肪肝中, STING激动剂2'-3'-cGAMP能够通过增强内质网应激反应而促进病变肝细胞的凋亡^[18]。另一种STING激动剂环二鸟苷酸(cyclic diguanylate, c-di-GMP)刺激乳腺癌细胞4T1, 或者在乳腺癌细胞MCF-7或T47D中过表达STING, 均能够增强肿瘤细胞凋亡相关基因caspase-3活性, 导致细胞凋亡率升高^[19]。究其机制, 一方面是由于STING信号通路活化后诱导产生的干扰素促进细胞的凋亡; 另一方面STING活化后还可以干扰素非依赖的方式, 促进下游的IRF3和位于线粒体中的Bcl2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)发生相互作用, 从而诱导caspase-9及caspase-3的活化, 激活线粒体凋亡通路, 使细胞发生凋亡^[20]。除凋亡之外, STING激动剂也可能促进癌细胞的发生焦亡、坏死和自噬^[21]。

但是, STING激动剂并非对所有类型的癌细胞均有促凋亡作用。目前的研究表明, STING激动剂对B16F10黑色素瘤、SCCFVII上消化道鳞状细胞癌^[22]和CT26结肠癌^[23], 以及Hepa1-6肝细胞瘤、LL/2Lewis肺癌^[20]与人HSC-3、Scc-4舌鳞状细胞癌^[24]等肿瘤细胞系均无促凋亡的作用。鉴于STING激动剂常被用于抗肿瘤的治疗佐剂, 有必要研究STING信号转导和细胞凋亡之间的精确分子机制。

2.3 基质细胞中该通路活化可促进肿瘤血管重塑

除肿瘤细胞和免疫细胞外, 肿瘤微环境内的另一个重要成员基质细胞(如内皮细胞和成纤维细胞)中, 同样表达STING基因。肿瘤DNA可以通过活细胞对

凋亡小体的吞噬作用在细胞之间传递。当凋亡的肿瘤细胞与成纤维细胞及内皮细胞共培养时,成纤维细胞和内皮细胞能够摄取肿瘤DNA,激活胞质内的cGAS-STING信号通路,诱导I型IFN的产生^[25]。

基质细胞中STING信号通路的活化能够诱导血管重塑。早期应用于I期临床研究的STING激动剂5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸(5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid, DMXAA)在被确定为靶向STING信号通路激动剂之前,一直作为抗血管药物应用^[26]。该药具有快速而强大的抗肿瘤血管生成的活性,可以通过调节肿瘤微环境中的脉管系统有效控制肿瘤的生长,但并不影响正常组织中的血管^[27]。最近的一项研究^[28]发现,除DMAXX外,肿瘤内注射其他STING激动剂cGAMP或ML RR-S2-CDA (mixed-linkage Rp, Rp dithio diastereomer c-di-AMP, ML RR-S2-CDA)也可以使原发性或移植性肿瘤的血管系统正常化,而当小鼠缺失STING基因后,这种现象消失,这表明STING激活对于肿瘤脉管系统的正常化是必不可少的;探究其机制发现,肿瘤内STING活化后产生的IFN- β 在其中发挥重要作用。IFN- β 作为抗血管生成的细胞因子,可抑制内皮细胞增殖、存活和毛细血管网络形成,同时诱导血管正常化基因发生上调,最终诱导肿瘤血管正常化,促进效应CD8⁺T细胞的浸润,最终增强抗肿瘤免疫^[28]。而当使用干扰素受体抑制剂阻断I型干扰素信号时,STING诱导的血管表型改变几乎完全消除,这提示肿瘤脉管系统通过STING依赖性方式诱导I型IFN的产生,在治疗肿瘤的早期阶段发挥关键作用。

虽然目前对于肿瘤基质中cGAS-STING信号通路活化所产生的抗肿瘤机制研究并不十分透彻,但可以肯定的是,基质细胞中的STING信号通路活化和免疫细胞中一样,对于清除肿瘤同样发挥重要作用,因为基质细胞不仅是I型干扰素的主要来源,而且它们在肿瘤微环境中的数量远远高于DC。

3 cGAS-STING信号通路激活的促瘤作用

尽管cGAS-STING信号通路的激活可有效激活机体的抗肿瘤免疫应答,展示出诱人的应用前景,但是近期亦有研究发现,在某些肿瘤或肿瘤发生的某些阶段,cGAS-STING信号通路的过度激活会发挥促进肿瘤发生或发展的作用。

3.1 诱导慢性炎症的发生

炎症是机体抵御外来病原体、促使伤口愈合的重要反应,但是,炎症反应持续不愈会诱导包括癌症在内的多种疾病的发生^[29]。NF- κ B作为炎症反应关键的活化因子,参与调控细胞的生存、生长和凋亡过

程,促进炎症、免疫性疾病及肿瘤的发生与发展^[30]。cGAS-STING信号通路的持续活化,可诱导NF- κ B信号通路的过度活化,导致慢性炎症的发生^[31]。STING信号通路持续活化会诱发炎症所驱动的癌变。当小鼠缺失STING基因时,经氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导结肠相关炎症发生的比例明显降低^[32]。7,12-二甲基苯丙蒽(7,12-dimethylbenzanthracene, DMBA)为皮肤癌的致瘤剂,能够诱导核DNA向胞质的泄漏,激活STING信号通路,诱导炎性细胞因子和皮肤炎症的产生,诱发炎症驱动的上皮癌的发生。而STING缺失小鼠对DMBA诱导的皮肤癌具有抗性^[33]。接受STING缺失小鼠骨髓移植的正常小鼠经DMBA诱导发生癌变的比例明显降低,说明STING信号通路的持续活化可以促进DNA损伤诱导的炎性的致癌作用^[33-34]。在这些肿瘤模型中,致癌物对细胞的损伤导致其胞质内大量DNA释放,肿瘤细胞STING信号通路持续激活,产生的趋化因子募集大量炎性细胞,包括MDSC和M2型肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)等免疫抑制性细胞,促进肿瘤的发展。因此在这类肿瘤中使用STING激动剂有可能会过度激活STING信号通路而促进肿瘤的发展。

3.2 促进肿瘤发生免疫逃逸

有学者^[35]基于TCGA数据库评估了17种人类恶性肿瘤中STING的表达与28种肿瘤浸润免疫细胞的相关性,结果显示,STING在肿瘤的表达水平与几乎所有类型的免疫细胞的浸润呈正相关,不仅促进抗肿瘤免疫效应细胞(如DC和CD8⁺T细胞)的浸润,同时也促进免疫抑制性细胞(包括MDSC和Treg)浸润至肿瘤部位。小鼠黑色素瘤的微环境中也存在类似现象,研究使用纳米粒递送cGAMP至肿瘤部位,不仅促进了肿瘤微环境内免疫细胞的活化,同时发现MDSC的比例亦明显增加^[36]。值得注意的是,在这些研究中,尽管STING激动剂促进了免疫抑制性细胞向肿瘤的浸润,但肿瘤组织浸润的抗肿瘤免疫细胞依然占据主导地位,因此,依然能够有效抑制肿瘤的生长。

吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3 dioxygenase, IDO)是L-色氨酸沿犬尿氨酸途径代谢的关键酶,色氨酸是T细胞发挥免疫作用的必需氨基酸,色氨酸耗竭会抑制T细胞的增殖,其代谢产物犬尿氨酸也可以直接抑制T细胞的功能,促进肿瘤免疫逃逸。在Lewis小鼠肺癌(LLC)模型中,STING信号能够通过诱导肿瘤微环境内IDO的产生来促进肿瘤生长。但是这种作用仅限于抗原性弱的LLC肿瘤模型,在

表达新抗原的 LLC 肿瘤以及抗原性强的 B16 黑色素瘤中, STING 信号通路的活化能够抑制肿瘤的生长^[34]。由此可见, 肿瘤抗原性可能是影响肿瘤中 STING 介导 IDO 产生的重要因素。

3.3 促进肿瘤转移

癌细胞可以表达原钙黏蛋白 7 (protocadherin 7, PCDH7) 和缝隙连接蛋白 (connexin 43, Cx43) 组成癌细胞-星形胶质细胞间隙连接通道, 癌细胞利用这些通道间隙将第二信使 cGAMP 转移至星形胶质细胞所在部位, 激活星形胶质细胞内 STING 信号途径, 使之分泌炎症细胞因子 IFN- α 和 TNF- α , 这些因子作为旁分泌信号, 进一步激活转移的癌细胞内的 STAT1 和 NF- κ B 信号通路, 从而促进肿瘤的生长和脑转移^[37]。另有研究^[38]表明, 在转移性乳腺癌中, EMT 和其导致的转移主要取决于 cGAS-STING 信号触发的非经典的 NF- κ B 通路的激活, 而 STING 敲除的细胞可以降低 EMT 相关基因的表达, 从而抑制乳腺癌的转移。究其原因, 主要是肿瘤中染色体不稳定 (chromosomal instability, CIN) 会产生大量的微核, 其破裂会将基因组 DNA 转移至细胞质中, 导致胞质 DNA 传感途径 cGAS-STING 信号通路的激活和下游非经典 NF- κ B 通路的活化, 进而促进细胞的侵袭和转移。因此对于具有 CIN 表型的肿瘤, 抑制 cGAS 或 STING 可能是更好的治疗选择。

4 STING 蛋白激动剂在肿瘤免疫治疗中的应用

4.1 单独应用

目前 STING 蛋白激动剂在多种肿瘤的临床前研究和临床试验治疗中均展示出理想的治疗效果。虽然 STING 激动剂 DMXAA 在动物模型中被证实可以有效抑制多种实体瘤的生长, 但在人体非小细胞肺癌 III 期临床试验中, 发现其并不能激活人 STING 蛋白信号通路, 从而宣告实验失败。作为既能激活鼠又能激活人 STING 蛋白的环二核苷酸 (cyclic dinucleotide, CDN), 不仅能够抑制小鼠 B16 黑色素瘤、4T1 乳腺癌、CT26 结肠癌、胰腺癌、皮肤癌以及 B 细胞淋巴瘤等多种类型肿瘤的增长, 还能够抑制远端未治疗部位肿瘤的生长^[20,22,39]。其中 ML RR-S2 CDA (也被称作 ADU-S100 或 MIW815) 可以引起多种实体肿瘤微环境的改变, 激活 CD8⁺T 细胞, 产生持久的抗肿瘤效果。该药的临床试验涉及 20 多个癌症类型, 其中包括三阴性乳腺癌、食管癌、卵巢癌、结直肠癌、子宫内膜癌、淋巴瘤、肾癌、腮腺癌、皮肤癌等, 都取得了初步的成效; 临床结果显示, 经 ADU-S100 治疗后, 40 名患者中 2 名患者肿瘤明显缩小, 11 名患者疾病稳定, 其中 1 名尿路上皮癌患者疾病稳定已经超过 1 年, 总的客观有效率为 5%, 疾病控制率为 32.5%^[40]。

与单独使用产生的治疗效果相比, STING 激动剂与其他疗法联合能产生更好的抑瘤效果。合适的联合治疗策略不仅可以降低 STING 激动剂的用量, 使药物副作用最小化, 还可以同时靶向不同信号通路而产生最大化的抗肿瘤效果。

4.2 与放疗和化疗联合应用

传统疗法如化疗和放射疗法是治疗实体肿瘤的主要手段。有研究表明, 辐射和传统化学药物的毒性作用能够诱导微核和细胞质染色质片段的形成, 激活 cGAS-STING 信号通路^[41-42]。例如, 已知目前的化疗药物顺铂和依托泊苷通过 DNA 损伤和细胞溶质渗漏诱导 cGAS-STING 信号通路的活化^[33]。最近也有研究发现抗病毒药物多柔比星和柔红霉素能够通过抑制拓扑异构酶 II 和 dsDNA 断裂来有效激活 cGAS-STING 通路^[43]。由此可见, 尽管化学疗法和放射疗法并非靶向 cGAS-STING 信号通路, 但这些疗法会激活 cGAS-STING 信号通路并增强抗肿瘤免疫应答。而 STING 激动剂与放射疗法或化学药物相结合不仅可协同增强抗肿瘤效果, 还可降低放化疗引起的毒副作用。

与 STING 激动剂单独治疗肿瘤相比, 当联合放射治疗时能够明显降低放射疗法产生的抗性并增强抗肿瘤免疫应答, 更加有效地抑制胰腺癌模型小鼠局部和远端肿瘤的生长^[44]; 当与 5-FU 时联用, 不仅能够增强结肠癌模型小鼠的抗肿瘤效应, 还能够减轻 5-FU 的毒性反应^[23]。

4.3 与肿瘤疫苗联合应用

由于中枢和外周耐受性, 肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA) 的免疫原性较弱, 因此, 合适的佐剂对于克服耐受性和增强肿瘤特异性免疫应答至关重要。STING 激动剂也可以作为能克服中枢和外周耐受的疫苗佐剂与肿瘤抗原肽共同递送, 能够增强机体的抗肿瘤免疫应答。

STING 激动剂 c-di-GMP 与表达肿瘤相关抗原 MAGE-b 的李斯特菌疫苗联用能够更加有效地消除转移性乳腺癌模型小鼠的肿瘤^[45]。由 STING 激动剂和能分泌 GM-CSF 的肿瘤疫苗组合形成的 STING-VAX, 对 B16 黑色素瘤、结肠癌、消化道鳞状细胞癌和胰腺癌等多种癌症模型均有明显的抑瘤效果; 与不含 STING 激动剂的 GM-CSF-肿瘤疫苗 (GM-VAX) 相比, STINGVAX 处理的小鼠肿瘤组织中浸润的 CD8⁺IFN- γ ⁺T 细胞的数量明显增多^[22]。将新抗原靶向疫苗 PancVAX 与 STING 佐剂 ML RR-S2 cGAMP (mixed-linkage Rp, Rp dithio diastereomer cGAMP, ML RR-S2 cGAMP) 联用时, 能够激活 Panc02 胰腺癌细胞荷瘤小鼠新抗原特异性 T 细胞库, 引起肿瘤的短

暂消退^[46]。

4.4 与免疫检查点阻断剂联合应用

细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)和程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1, PD-1)作为调节T淋巴细胞活化的共抑制分子,可导致T细胞功能障碍,使肿瘤细胞逃避宿主免疫应答^[47]。因此靶向CTLA-4和PD-1/PD-L1的拮抗剂可减弱肿瘤诱导的抑制信号,增强宿主的抗肿瘤免疫。然而,由于肿瘤微环境内浸润的CD8⁺T细胞数量较少,免疫检查点抑制剂的治疗效果依然有待提高。而瘤内注射STING激动剂后能够产生可以促进T细胞向肿瘤部位浸润的趋化因子CCL5和CXCL10^[13],因此,STING激动剂是抗PD-1/PD-L1疗法较理想的增敏剂。据文献^[22]报道,STING激动剂STINGVAX可上调肿瘤细胞表达PD-L1的水平,增强抗PD-1/PD-L1抗体治疗的效果和应答率,而使用抗PD-1/PD-L1抗体能够中和STING激动剂所产生的免疫抑制作用。

STING激动剂与抗PD-1和CTLA-4抗体联合能够明显增强对B16F10黑色素瘤的抗癌效果^[48]。在鳞状细胞癌模型中,STING激动剂与抗PD-1抗体联合治疗同样比单药治疗具有更强的抗肿瘤作用^[49-50]。此外,基于生物材料的纳米制剂能够通过缓控释方式促进STING激动剂在肿瘤部位的富集,增强STING激动剂的免疫激活效果并降低其毒副作用,联合纳米粒子递送的STING激动剂和抗PD-1抗体能明显减缓肿瘤的生长^[36,51]。基于以上的研究,目前STING激动剂MK-1454与抗PD-1疗法的I期临床研究已经结束,结果证实瘤内注射STING激动剂MK-1454能够导致肿瘤消退,并增强抗PD-1疗法的功效^[52]。而STING激动剂ML RR-S2 CDA联合抗PD-1抗体治疗晚期实体瘤或淋巴瘤的I期临床试验也正在进行中^[52]。

4.5 与其他疗法联合应用

CAR-T细胞治疗在血液系统恶性肿瘤患者中取得了明显的治疗效果,但是在实体瘤中效果较差。通过生物活性载体递送表达NKG2D的CAR-T细胞能够将CAR-T细胞直接递送到肿瘤微环境,产生明显的抑瘤效果,但是抗原阴性的肿瘤出现免疫逃逸。而同时递送CAR-T细胞和STING激动剂,能够通过激活STING通路协同激活APC,促进肿瘤抗原提呈,增强CAR-T细胞对肿瘤抗原识别能力,触发足以清除局部肿瘤和远端转移的宿主抗肿瘤免疫应答^[53]。

STING激动剂也常与其他免疫刺激剂联合治疗肿瘤,如使用纳米粒子递送STING激动剂c-di-GMP与TLR4激动剂单磷酸脂质A(monophosphoryl lipid

A, MPLA),能协同产生更高水平的I型IFN,广泛提高血液和肿瘤中APC和NK细胞的比例,产生明显治疗效果^[54]。STING激动剂cGAMP协同TLR9激动剂CpG ODN(CpG-containing oligodeoxynucleotides)能够诱导强烈的Th1型免疫应答,如促进抗原特异性IgG2c和IFN- γ 的产生,增强细胞毒性CD8⁺T细胞免疫应答,有效抑制淋巴瘤和黑色素瘤的生长^[55]。此外,STING激动剂ML RR-S2 CDA与VEGFR2阻断及免疫检查点阻断三种免疫疗法联合治疗肿瘤时,可重塑肿瘤血管系统,使肿瘤微环境趋向正常化,导致对免疫检查点阻断疗法抵抗的肿瘤的完全消退^[56]。

5 结 语

STING信号通路的激活是先天免疫传感机制之一,其导致肿瘤微环境中I型IFN的产生,活化肿瘤微环境内的免疫细胞,启动抗肿瘤免疫应答,因此STING激动剂有望成为非常有应用前景的肿瘤免疫治疗药物。在小鼠模型中,STING激动剂已被证实对多种类型的小鼠肿瘤有明显的抑制作用,初步的临床试验结果也同样证实了STING激动剂治疗肿瘤的巨大潜力。

然而,STING激动剂并非对所有类型的肿瘤都有抑制效果。从目前研究来看,STING信号通路在弱抗原性肿瘤、由强致癌物等损伤造成胞质释放大DNA的肿瘤、以及具有CIN表型的肿瘤部位存在过度激活,可能促进肿瘤的生长和转移,这提醒在临床应用STING激动剂治疗时应该考虑到肿瘤的类型、抗原性和炎性微环境,需要了解肿瘤的CIN状态及STING基础活化水平。阐明STING激动剂发挥治疗作用的分子机制,寻找、筛选出适于STING激动剂治疗的肿瘤预测标志物,选择合适的肿瘤类型和治疗剂量,以提高STING激动剂治疗肿瘤的效果,并减少其不良反应,对于开发STING激动剂的临床应用至关重要。另外,与放疗、化疗、肿瘤疫苗、免疫检查点抑制剂、CAR-T细胞治疗或者其他新型的治疗方式联合应用,不仅可以减少STING激动剂的用量和毒副作用,还可以通过不同机制协同增强抗肿瘤效果、克服肿瘤治疗的耐受性,取得最佳的治疗效果。

[参 考 文 献]

- [1] 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. DOI: 10.1038/nature12640.
- [2] BARBALAT R, EWALD S E, MOUCHESS M L, et al. Nucleic acid recognition by the innate immune system[J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 185-214. DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101340.

- [3] BARNETT K C, CORONAS-SERNA J M, ZHOU W, et al. Phosphoinositide interactions position cGAS at the plasma membrane to ensure efficient distinction between self- and viral DNA[J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1432-1446 e1411. DOI: 10.1016/j.cell.2019.01.049.
- [4] ZHANG C, SHANG G, GUI X, et al. Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK1[J]. *Nature*, 2019, 567(7748): 394-398. DOI: 10.1038/s41586-019-1000-2.
- [5] KWON J, BAKHOUM S F. The cytosolic DNA-sensing cGAS-STING pathway in cancer[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(1): 26-39. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0761.
- [6] KLARQUIST J, HENNIES C M, LEHN M A, et al. STING-mediated DNA sensing promotes antitumor and autoimmune responses to dying cells[J]. *J Immunol*, 2014, 193(12): 6124-6134. DOI: 10.4049/jimmunol.1401869.
- [7] SPADARO F, LAPENTA C, DONATI S, et al. IFN- α enhances cross-presentation in human dendritic cells by modulating antigen survival, endocytic routing, and processing[J]. *Blood*, 2012, 119(6): 1407-1417. DOI: 10.1182/blood-2011-06363564.
- [8] PARLATO S, SANTINI S M, LAPENTA C, et al. Expression of CCR-7, MIP-3 β , and Th-1 chemokines in type I IFN-induced monocyte-derived dendritic cells: importance for the rapid acquisition of potent migratory and functional activities[J]. *Blood*, 2001, 98(10): 3022-3029. DOI: 10.1182/blood.v98.10.3022.
- [9] PENG D, KRYCZEK I, NAGARSHETH N, et al. Epigenetic silencing of TH1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy[J]. *Nature*, 2015, 527(7577): 249-253. DOI: 10.1038/nature15520.
- [10] OHKURI T, KOSAKA A, NAGATO T, et al. Effects of STING stimulation on macrophages: STING agonists polarize into “classically” or “alternatively” activated macrophages? [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2018, 14(2): 285-287. DOI: 10.1080/21645515.2017.1395995.
- [11] OHKURI T, KOSAKA A, ISHIBASHI K, et al. Intratumoral administration of cGAMP transiently accumulates potent macrophages for anti-tumor immunity at a mouse tumor site[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(6): 705-716. DOI: 10.1007/s00262-017-1975-1.
- [12] SEN T, RODRIGUEZ B L, CHEN L, et al. Targeting DNA damage response promotes antitumor immunity through STING-mediated T-cell activation in small cell lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(5): 646-661. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1020.
- [13] PARKES E E, WALKER S M, TAGGART L E, et al. Activation of STING-dependent innate immune signaling by S-phase-specific DNA damage in breast cancer[J]. *JNCI* 2017, 109(1): djw199. DOI: ARTN djw19910.1093/jnci/djw199.
- [14] WARNER J D, IRIZARRY-CARO R A, BENNION B G, et al. STING-associated vasculopathy develops independently of IRF3 in mice[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(11): 3279-3292. DOI: 10.1084/jem.20171351.
- [15] MARCUS A, MAO A J, LENSINK-VASAN M, et al. Tumor-derived cGAMP triggers a STING-mediated interferon response in non-tumor cells to activate the NK cell response[J]. *Immunity*, 2018, 49(4): 754-763. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.09.016.
- [16] WATKINS-SCHULZ R, TIET P, GALLOVIC MD, et al. A microparticle platform for STING-targeted immunotherapy enhances natural killer cell- and CD8(+) T cell-mediated anti-tumor immunity [J]. *Biomaterials*, 2019, 205: 94-105. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.011.
- [17] LAM AR, BERT NL, HO SS, et al. RAE1 ligands for the NKG2D receptor are regulated by STING-dependent DNA sensor pathways in lymphoma[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(8): 2193-2203. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1703.
- [18] PETRASEK J, IRACHETA-VELLVE A, CSAK T, et al. STING-IRF3 pathway links endoplasmic reticulum stress with hepatocyte apoptosis in early alcoholic liver disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(41): 16544-16549. DOI: 10.1073/pnas.1308331110.
- [19] BHATELIA K, SINGH A, TOMAR D, et al. Antiviral signaling protein MITA acts as a tumor suppressor in breast cancer by regulating NF- κ B induced cell death[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(2): 144-153. DOI: 10.1016/j.bbdis.2013.11.006.
- [20] TANG C H, ZUNDELL J A, RANATUNGA S, et al. Agonist-mediated activation of STING induces apoptosis in malignant B cells[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2137-2152. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1885.
- [21] SUN F, LIU Z, YANG Z, et al. The emerging role of STING-dependent signaling on cell death[J]. *Immunol Res*, 2019, 67(2/3): 290-296. DOI: 10.1007/s12026-019-09073-z.
- [22] FU J, KANNE DB, LEONG M, et al. STING agonist formulated cancer vaccines can cure established tumors resistant to PD-1 blockade[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(283): 283ra252. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa4306.
- [23] 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. DOI: 10.1038/srep19049.
- [24] LIANG D, XIAO-FENG H, GUAN-JUN D, et al. Activated STING enhances Tregs infiltration in the HPV-related carcinogenesis of tongue squamous cells via the c-jun/CCL22 signal[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(11): 2494-2503. DOI: 10.1016/j.bbdis.2015.08.011.
- [25] EHNFORSS J, KOST-ALIMOVA M, PERSSON NL, et al. Horizontal transfer of tumor DNA to endothelial cells in vivo[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(5): 749-757. DOI: 10.1038/cdd.2009.7.
- [26] CHING LM, CAO Z, KIEDA C, et al. Induction of endothelial cell apoptosis by the antivascular agent 5,6-dimethylxanthone-4-acetic acid[J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(12): 1937-1942. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600368.
- [27] DAEI FARSHCHI ADLI A, JAHANBAN-ESFAHLAN R, SEIDI K, et al. An overview on vadimezan (DMXAA): the vascular disrupting agent[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2018, 91(5): 996-1006. DOI: 10.1111/cbdd.13166.
- [28] YANG H, LEE WS, KONG SJ, et al. STING activation reprograms tumor vasculatures and synergizes with VEGFR2 blockade[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(10): 4350-4364. DOI: 10.1172/JCI125413.
- [29] WANG K, KARIN M. Tumor-elicited inflammation and colorectal cancer[J]. *Adv Cancer Res*, 2015, 128: 173-196. DOI: 10.1016/bbs.acr.2015.04.014.
- [30] ABE T, BARBER, G.N. Cytosolic-DNA-mediated, STING dependent proinflammatory gene induction necessitates canonical NFB activation through TBK1[J]. *J Virol*, 2014, 88(10): 5328-5341. DOI: 10.1128/JVI.0037-14.
- [31] ZHAO Q, WEI Y, PANDOL S J, et al. STING signaling promotes

- inflammation in experimental acute pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(6): 1822-1835 e1822. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.065.
- [32] AHN J, KONNO H, BARBER G N. Diverse roles of STING-dependent signaling on the development of cancer[J]. *Oncogene*, 2015, 34(41): 5302-5308. DOI: 10.1038/ncr.2014.457.
- [33] AHN J, XIA T, KONNO H, et al. Inflammation-driven carcinogenesis is mediated through STING[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5166. DOI: 10.1038/ncomms6166.
- [34] 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(8): 2076-2081. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1456.
- [35] AN X, ZHU Y, ZHENG T, et al. An Analysis of the expression and association with immune cell infiltration of the cGAS/STING pathway in pan-cancer[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 14: 80-89. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.11.003.
- [36] SHAE D, BECKER KW, CHRISTOV P, et al. Endosomolytic polymersomes increase the activity of cyclic dinucleotide STING agonists to enhance cancer immunotherapy[J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14(3): 269-278. DOI: 10.1038/s41565-018-0342-5.
- [37] 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. DOI: 10.1038/nature18268.
- [38] BAKHOUM S F, NGO B, LAUGHNEY A M, et al. Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response[J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 467-472. DOI: 10.1038/nature25432.
- [39] 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(7): 1018-1030. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.04.031.
- [40] FLOOD B A, HIGGS E F, LI S, et al. STING pathway agonism as a cancer therapeutic[J]. *Immunol Rev*, 2019, 290(1): 24-38. DOI: 10.1111/imr.12765.
- [41] 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. DOI: 10.1038/nature23449.
- [42] HARDING S M, BENCI J L, IRIANTO J, et al. Mitotic progression following DNA damage enables pattern recognition within micronuclei [J]. *Nature*, 2017, 548(7668): 466-470. DOI: 10.1038/nature23470.
- [43] LUTHRA P, AGUIRRE S, YEN B C, et al. Topoisomerase II inhibitors induce DNA damage-dependent interferon responses circumventing ebola virus immune evasion[J]. *mBio*, 2017, 8(2): e00368-17. DOI: 10.1128/mBio.00368-17.
- [44] BAIRD J R, FRIEDMAN D, COTTAM B, et al. Radiotherapy combined with novel STING-targeting oligonucleotides results in regression of established tumors[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(1): 50-61. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3619.
- [45] CHANDRA D, QUISPE-TINTAYA W, JAHANGIR A, et al. STING ligand c-di-GMP improves cancer vaccination against metastatic breast cancer[J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(9): 901-910. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0123.
- [46] KINKEAD H L, HOPKINS A, LUTZ E, et al. Combining STING-based neoantigen-targeted vaccine with checkpoint modulators enhances antitumor immunity in murine pancreatic cancer[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(20): e122857. DOI: 10.1172/jci.insight.122857.
- [47] TOPALIAN S L, DRAKE C G, PARDOLL D M. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(4): 450-461. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.03.001.
- [48] DEMARIA O, DE GASSART A, COSO S, et al. STING activation of tumor endothelial cells initiates spontaneous and therapeutic antitumor immunity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(50): 15408-15413. DOI: 10.1073/pnas.1512832112.
- [49] GADKAREE S K, FU J, SEN R, et al. Induction of tumor regression by intratumoral STING agonists combined with anti-programmed death-L1 blocking antibody in a preclinical squamous cell carcinoma model[J]. *Head Neck*, 2017, 39(6): 1086-1094. DOI: 10.1002/hed.24704.
- [50] WANG H, HU S, CHEN X, et al. cGAS is essential for the antitumor effect of immune checkpoint blockade[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(7): 1637-1642. DOI: 10.1073/pnas.1621363114.
- [51] WILSON D R, SEN R, SUNSHINE J C, et al. Biodegradable STING agonist nanoparticles for enhanced cancer immunotherapy [J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(2): 237-246. DOI: 10.1016/j.nano.2017.10.013.
- [52] FLOOD B A, HIGGS E F, LI S, et al. STING pathway agonism as a cancer therapeutic[J]. *Immunol Rev*, 2019, 290(1): 24-38. DOI: 10.1111/imr.12765.
- [53] SMITH T T, MOFFETT H F, STEPHAN S B, et al. Biopolymers codelivering engineered T cells and STING agonists can eliminate heterogeneous tumors[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(6): 2176-2191. DOI: 10.1172/JCI87624.
- [54] ATUKORALE P U, RAGHUNATHAN SP, RAGUVEER V, et al. Nanoparticle encapsulation of synergistic immune agonists enables systemic co-delivery to tumor sites and interferon beta-driven antitumor immunity[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(20): 5394-5406. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0381.
- [55] TEMIZOZ B, KURODA E, OHATA K, et al. TLR9 and STING agonists synergistically induce innate and adaptive type-II IFN[J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(4): 1159-1169. DOI: 10.1002/eji.201445132.
- [56] YANG H, LEE W S, KONG S J, et al. STING activation reprograms tumor vasculatures and synergizes with VEGFR2 blockade[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(10): 4350-4364. DOI: 10.1172/JCI125413.

[收稿日期] 2020-04-02

[修回日期] 2020-07-20

[本文编辑] 韩丹