

DNA病毒诱导cGAS-STING信号通路的研究进展

牛志立,张平安

(武汉大学人民医院检验科,湖北 武汉 430060)

【摘要】 环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(cGAS)是核苷酸转移酶家族的成员,能够催化三磷酸腺苷(ATP)和三磷酸鸟苷(GTP)合成第二信使cGAMP,其可活化内质网(ER)上的膜蛋白干扰素基因刺激因子(STING)以调节固有免疫功能,但是其活性不仅受到宿主泛素化、磷酸化等蛋白修饰的调节,而且还受到病毒蛋白的抑制。目前cGAS-STING信号通路与DNA病毒感染关系的研究备受关注,本文将从cGAS-STING的活化、蛋白修饰和病毒逃逸等方面给予综述。

【关键词】 cGAS-STING信号通路;蛋白修饰;病毒逃逸;固有免疫

【中图分类号】 R373 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2018)02-0227-06

Advances in DNA virus-induced cGAS-STING signaling pathway. NIU Zhi-li, ZHANG Ping-an. Department of Laboratory Science, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, CHINA

【Abstract】 Cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase (cGAS) is a member of the family of nucleotide transferases that catalyzes the synthesis of the second messenger cGAMP from adenosine triphosphate (ATP) and guanosine triphosphate (GTP). cGAMP activates the stimulator of interferon genes (STING) of the endoplasmic reticulum (ER) to regulate innate immune function. Its activity is regulated not only by the host ubiquitination, phosphorylation and other protein modification, but also by the inhibition of viral protein. At present, the relationship between cGAS-STING signal pathway and DNA virus infection has become a hotspot. cGAS-STING activation, protein modification and virus escape were reviewed in this article.

【Key words】 CGAS-STING signal pathway; Protein modification; Virus escape; Innate immunity

通讯作者:张平安。E-mail:zhangpingan927@163.com

- quired in murine asthma in the absence of aluminum adjuvant [J]. *Allergy*, 2011, 66(8): 1047-1057.
- [21] Ather JL, Ckless K, Martin R, et al. Serum amuloid A activates the NLRP3 inflammasome and promotes TH17 allergic asthma in mice [J]. *J Immunol*, 2011, 187(1): 64-73.
- [22] Besnard AG, Togbe D, Couillin I, et al. Inflammasome-IL-1-TH17 response in allergic lung inflammation [J]. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4 (1): 3-10.
- [23] Kim RY, Pinkerton JW, Essilfie AT, et al. Role for NLRP3 inflammasome-mediated, IL-1 β -dependent responses in severe, steroid-resistant asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 196(3): 283-297.
- [24] Domej W, Eoldes-Papp Z, Fogel E, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and oxidative stress [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2006, 7 (2): 117-123.
- [25] Mortaz E, Folkerts G, Nijkamp FP, et al. ATP and the pathogenesis of COPD [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 638(1-3): 1-4.
- [26] Nadeem A, Masood A, Siddiqui N. Oxidant-antioxidant imbalance in asthma: scientific evidence, epidemiological data and possible therapeutic options [J]. *Ther Adv Respir Dis*, 2008, 2(4): 215-235.
- [27] Muller T, Vieira RP, Grimm M, et al. A potential role for P2X7R in allergic airway inflammation in mice and humans [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(4): 456-464.
- [28] Birrell MA, Eltom S. The role of the NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of airway disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 130(3): 346-370.
- [29] Luna-Gomes T, Santana PT, Coutinho-Silva R, et al. Silica-induced inflammasome activation in macrophages: role of ATP and P2X7 receptor [J]. *Immunobiology*, 2015, 220(9): 1101-1106.
- [30] Peeters PM, Eurlings IM, Perkins TN, et al. Silica-induced NLRP3 inflammasome activation *in vitro* and in rat lungs [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2014, 11: 58.
- [31] Weng S, Wang L, Rong Y, et al. Effects of the interactions between dust exposure and genetic polymorphisms in Nalp3, Caspase-1, and IL-1 β on the risk of silicosis: a case-control study [J]. *PLoS one*, 2015, 10(10): e0140952.
- [32] Kolliputi N, Galam L, Parthasarathy PT, et al. NALP-3 inflammasome silencing attenuates ceramide-induced transepithelial permeability [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(9): 3310-3316.
- [33] Xiang M, Shi X, Li Y, et al. Hemorrhagic shock activation of NLRP3 inflammasome in lung endothelial cell [J]. *J Immunol*, 2011, 187(9): 4809-4817.

(收稿日期:2017-05-10)

哺乳动物细胞表达模式识别受体(pattern recognition receptors, PRR)具有识别外来微生物并激发固有免疫的作用^[1]。PRR 保守分子结构区域与病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMP)结合被激活,以诱导抗病毒蛋白和促炎因子的表达^[1]。微生物大多数 PAMP 的表达均可激活固有免疫反应。除了病原体特异性 PAMP, DNA 是激活宿主免疫反应的有效刺激物^[2-3]。而人识别 DNA 的 PRR 有很多种,如 Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9)是 DNA 传感器,其可通过与衔接蛋白 MyD88 结合激活下游转录因子干扰素调节因子 7 (interferon regulatory factor 7, IRF7)和核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)活化,最终促使 I 型干扰素(interferon, IFN)亚型和促炎细胞因子的表达^[4]。最近,cGAS-STING 通路 与 DNA 病毒感染关系的研究备受关注。

1 环磷酸鸟苷-腺苷合成酶生物学特点

环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS)是核苷酸转移酶家族的成员,直接在胞质溶胶中结合 dsDNA,并催化三磷酸腺苷(ATP)和三磷酸鸟苷(GTP)合成 cGAMP^[5-7]。cGAS 含有核苷酸转移酶结构域和两个主要的 DNA 结合结构域。在没有 DNA 的情况下,cGAS 处于自动抑制状态^[8-9]。当 cGAS 与 dsDNA 结合时,cGAS 和 dsDNA 之间形成 2:2 二聚体,并且诱导其活性位点发生构象变化,这是由于 cGAS 与 dsDNA 结合时,核苷酸结合环上带正电荷的残基与带负电荷的核苷酸残基结合,导致 cGAMP 催化构象发生变化^[5-9]。此外,Zn 指结构的 N389 至 E398 残基对于 cGAS 二聚体形成是必不可少的。同样,残基 A346 和 K347 通过与残基 E398 结合形成的两个氢键更利于二聚体形成。cGAS 二聚化物结构比较保守,这与促进二聚体形成的残基 K347、K394 和 E398 在不同物种中高度保守相关。

cGAS 活性受到宿主的严格调控以防止过度活化。蛋白质翻译后修饰(posttranslational modifications, PTM)如磷酸化、乙酰化、糖基化和泛素化,通过改变其化学性质或空间结构的方式调控靶蛋白活性。细胞质 DNA 受体 cGAS 的乙酰化和去乙酰化受到细胞质羧肽酶(cytosolic carboxypeptidases, CCPs)和微管蛋白酪氨酸样酶(tubulin tyrosine ligase-like enzymes, TTLs)的双重调节^[10]。巨噬细胞中 cGAS 分别通过 TTL4 和 TTL6 发生单谷氨酰化和多聚谷氨酰化,而羧肽酶 CCP5 和 CCP6 是去谷氨酰化。有研究表明在缺乏羧肽酶 CCP5 和 CCP6 的小鼠中抵抗 DNA 病毒感染的免疫力下降^[11]。cGAS 的 Glu272 被 TTL6 多聚谷氨酰化,其中多聚谷氨酰化谷氨酸链被 CCP6 除去。同时,cGAS 的 Glu302 被 TTL4 单谷氨酰化,其

中单谷氨酰化的谷氨酸被 CCP5 除去。多聚谷氨酰化谷氨酸链阻碍 cGAS 和 dsDNA 间相互作用,而单谷氨酰化抑制 cGAS 与 DNA 结合的活性。cGAS 活性也受磷酸化调节^[12]。此外,Akt 激酶可磷酸化 cGAS 的 Ser291 (小鼠)和 Ser305 (人)结构,磷酸化 cGAS 失去合成 cGAMP 的酶活性,导致抵抗 DNA 病毒感染的免疫应答降低^[12]。在 HSV-1 感染期间,活化的 Akt 激酶可使 cGAMP 和 IFN- β 表达降低,导致 HSV-1 复制增加。因此,Akt 对 HSV-1 和痘苗病毒感染的 cGAS 依赖性反应具有调控作用^[13]。

作为核苷酸转移酶,cGAS 催化 2'-5'和 3'-5'磷酸二酯键的 cGAMP 核苷酸合成^[14-15]。cGAS 催化 ATP 和 GTP 合成 cGAMP 只需两步^[14]。首先 ATP 与 GTP 通过 2'-5'磷酸二酯键连接形成 GpA (2'-5'),由于局部的分子极性发生排斥,这一中间体在催化中心发生"翻转",从而利于第二步中 3'-5'磷酸二酯键的连接并最终产生 cGAMP。在合成的第一步中,被催化的核苷酸决定了 ATP 和 GTP 产生的磷酸二酯键类型。如果催化 5'-GTP 核苷酸,则将形成 2'-5'磷酸二酯键,若催化 5'-ATP 核苷酸,则会产生 3'-5'磷酸二酯键。然而,cGAS 更倾向于催化 GTP,仅产生线性 2'-5'磷酸二酯键。由于 2'-5'核苷酸是 STING 最有效的激动剂,并且 cGAMP 与 STING 结合可导致 STING 构象变化和 IRF3 活化^[8]。

2 干扰素基因刺激因子生物学特点

干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)是存在于内质网(endoplasmic reticulum, ER)上的膜蛋白,并且通过其 N 末端跨膜结构域,部分地定位于线粒体和线粒体相关膜上^[16]。其通过识别细胞质 DNA 后 STING 发生二聚化并转移到核周区域,这是激活下游信号通路的关键。随着 STING 重新定位, TBK-1 被招募到与 STING 结合,导致 IRF-3 磷酸化,最终使 I 型 IFN 表达。

STING 不同生物学修饰可影响其活性,包括泛素化和磷酸化。E3 连接酶 TRIM56 和 TRIM32 促进 STING 的 Lys63 (K63)发生多聚泛素化,这具有增强下游信号通路活化的作用^[17-18]。泛素连接酶 TRIM56 结合 STING 并介导其赖氨酸 K63 泛素化,这可促进 STING 二聚化以及与 TBK1 结合。此外, TRIM32 是 STING 的 E3 连接酶,其能够将 K63 泛素与 STING 结合。ER 定位的 E3 连接酶复合物由 AMFR-GP78 和 INSIG1 组成,能够促进 STING 发生 K27 多聚泛素化,招募 TBK1 和诱导干扰素表达。相比之下,E3 连接酶 RNF5 和 TRIM30a 促进 STING 发生 K48 多聚泛素化,最终通过蛋白酶体降解,导致 DNA 识别途径受到抑制^[19-20]。TRIM32 与 STING 相互作用,对于仙台病毒(sendai virus, SeV)或单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus

type 1, HSV-1)刺激 STING-TBK1 信号通路诱导固有免疫反应非常重要^[17]。RNF26 为 STING 的 K11 多聚泛素化 E3 连接酶,其修饰位置为 STING 的 K150 残基。RNF26 在 K150 处降低 RNF5 诱导的 K48 泛素化,而不影响 K63 泛素化。然而,RNF26 以时间方式负性调节固有免疫信号。除泛素化外,STING 也可以被磷酸化。在 DNA 或 cGAMP 刺激下,ULK1 激酶磷酸化 STING 上的丝氨酸 366(S366),导致 IRF3 活性降低^[18]。另一方面,TBK1 在同一残基处磷酸化 STING,起到正向调节 STING 信号通路^[19]。因此,STING 信号通路受到多重修饰的调节,其具体机制还需要进一步研究。

3 cGAS-STING 信号通路

cGAS 对几乎所有 dsDNA 均可识别和并发挥免疫反应。几种 DNA 病毒包括单纯疱疹病毒、痘苗病毒、腺病毒、巨细胞病毒和卡波西肉瘤相关疱疹病毒(KSHV),均能够通过 cGAS 和 STING 依赖方式诱导干扰素表达。研究表明,cGAS 合成酶活性需要活性位点残基(人 G212、S213、E225 和 D227)^[18]。核苷酸环(K173、R176、K407 和 K411)上的氨基酸对 DNA 结合是必需的。人 cGAS 的 K173A 和 R176A 突变降低 cGAS 活性以及小鼠 cGAS 的 R158E 突变无法诱导 cGAMP 合成^[7,20]。cGAS 过表达促进 IRF3 活化和 I 型 IFN 表达,敲除 cGAS 可抑制依赖 STING 信号通路 IRF3 的激活和 I 型 IFN 生成。此外,cGAS 缺陷的固有免疫细胞如巨噬细胞、DC 或成纤维细胞对外来 DNAs 无免疫应答反应。故此,与野生型小鼠相比,cGAS 缺陷型小鼠细胞不能对 DNA 病毒感染产生强烈反应,cGAS 缺陷小鼠显示较高的病毒滴度和对 HSV-1、痘苗病毒、MHV68 较高的易感性^[21-22]。cGAS-和 STING 缺陷型小鼠对 RNA 病毒的感染也更为敏感,尽管缺乏 cGAS 或 STING 的细胞感染 RNA 病毒后同样可产生干扰素。这可能是 cGAS 途径在稳定状态下产生低浓度的干扰素,其对体内控制 DNA 或 RNA 病毒感染发挥重要作用。或者,体内 RNA 病毒的感染导致细胞损伤和细胞死亡,导致细胞 DNA 的释放,这反过来激活 cGAS 途径导致干扰素表达增加以防御 RNA 病毒感染。

此外,据 cGAS-DNA 复合物晶体结构研究发现,cGAS 仅与 dsDNA 的糖-磷酸骨架结合,而不与任何碱基结合,这说明 cGAS 的激活与 DNA 序列无关^[5-8]。DNA 碱基的氧化,例如由紫外线照射引起的 DNA 碱基损害不会降低和增强 DNA 活化 cGAS 的能力,但是氧化的 DNA 却能抵抗细胞核酸酶降解,导致宿主干扰素的表达增加。除此之外,细胞内 cGAMP 含量不仅受合成速率的调节,而且还受细胞衰变速率的影响。尽管目前尚未发现细胞内 cGAMP 磷酸二酯酶,而细胞外酶 ENPP1 具有高特异性降解 2'3'-cGAMP 的作用^[23]。cGAS 催化合成的 cGAMP 含有两个磷酸二酯

键,即一个在 GMP 的 2'-OH 和 AMP 的 5'-磷酸间,另一个在 AMP 的 3'-OH 和 GMP 的 5'-磷酸间^[21,24]。cGAMP 异构体是与内质网(endoplasmic-reticulum, ER)膜适配器 STING 结合的第二个信使,并导致 STING 构象变化^[15,8]。活化的 STING 从 ER 到高尔基体中间隔室和高尔基体间进行运输。在此过程中,STING 羧基末端募集并激活 TBK1 激酶并使转录因子 IRF3 磷酸化^[25]。磷酸化的 IRF3 发生二聚化然后进入细胞核。STING 还激活 IKK 激酶并使 NF- κ B 的抑制剂 I κ B 转录因子发生磷酸化^[16]。磷酸化的 I κ B 蛋白质被泛素-蛋白酶体降解,而进入细胞核的 NF- κ B 与 IRF3 和其他转录因子相互作用以诱导干扰素和炎症细胞因子如 TNF、IL-1 β 和 IL-6 的表达。更重要的是,cGAMP 除了能够激活 STING 信号通路外,还可通过间隙连接从一个细胞转移到其邻居细胞,导致相邻细胞中 STING 激活和 I 型 IFN 产生^[26]。此外,cGAMP 也可以通过病毒包装在细胞之间转移^[27-28]。在病毒感染的细胞中,将 cGAMP 包装到病毒颗粒中,甚至包装在细胞外囊泡中。一旦宿主细胞释放含有 cGAMP 的病毒就会激活 STING 通路,为入侵病毒提供快速识别反应。

4 cGAS-STING 信号通路与病毒免疫逃逸

cGAS 对外源性 DNA (如 DNA 病毒,逆转录病毒)的免疫识别至关重要^[15,29-30]。对于所有微生物,为了避免激活 cGAS 途径的最常见和最有效的方法是将其 DNA “隐藏”起来。逆转录病毒和许多 DNA 病毒在病毒衣壳穿过细胞质时将其 DNA 保持在病毒衣壳中,然后将其 DNA 转入细胞核。而有的病毒可通过分泌病毒蛋白抑制宿主的抗感染酶的活性,最终成功地逃避易感宿主的免疫系统攻击。因此,以 DNA 病毒和逆转录病毒为例阐述病毒拮抗 cGAS-STING 途径的机制。

4.1 DNA 病毒 疱疹病毒逃避 TLR 和 NLR 信号的机制已经很清楚^[31-33],但是 cGAS-STING 途径疱疹病毒逃避的机制尚不清楚。HSV-1 是参与 STING 信号通路的 DNA 病毒,并被广泛用于实验中作为 cGAS-STING 途径的激活剂。缺乏 STING 的小鼠对 HSV-1 的感染敏感性和致死率较高,这与缺乏 I 型干扰素应答有关。Kalamvoki 等^[34]报道认为,虽然 STING 对宿主抵抗 HSV-1 感染的固有免疫力调节至关重要,但对 HSV-1 在某些细胞内复制也是必需的。HSV-1 WT 病毒(HSV-1 的 ICP0 或 ICP4 缺失的突变体)在 HEP-2 或 HeLa 细胞不能降解 STING。与此一致,在 STING 敲除的细胞中,ICP0 缺失的 HSV-1 复制减弱,表明 STING 对病毒复制非常重要。然而,在人胚胎肺细胞中,STING 在用 WT 或 ICP0 缺失的病毒感染期间没有被降解,并且细胞中的 STING 降低反而增加了 WT 和 ICP0 缺失病毒的复制^[34]。这表明 HSV-1

对 STING 的影响是具有细胞类型和环境依赖性。此外,疱疹病毒家族可宿主 DNA 感受器识别 DNA 和 STING-TBK1 依赖途径两方面进行逃逸。Orzalli 等^[35]研究发现 ICP0 可引起蛋白酶体对 IFI16 蛋白降解,导致 HSV-1 感染和 IFN 刺激基因的表达降低。然而,ICP0 还具有独立于 E3 连接酶活性的功能。例如,ICP0 能够抑制 HSV-1 和仙台病毒共感染的上皮细胞核中的 IRF3 基因表达。这是由于 IRF-3 被细胞内 ICP0 蛋白螯合,从而导致转录因子脱离启动子靶标元件^[22]。此外,I 型单纯疱疹病毒编码病毒蛋白 27 (infected cell protein, ICP27),其与 STING 和 TBK1 相互作用,防止 IRF3 磷酸化^[36]。

最近的报道中,HSV 感染人成纤维细胞中,II 型 IFN 诱导都需要 cGAS 和 IFI16 两种蛋白的参与^[37]。但是 cGAS 在 HSV 感染后可催化生产 cGAMP,但 cGAMP 的量相当低。在细胞核中,IFI16 可直接与病毒 DNA 结合,其次是在细胞质易位和激活 STING 信号通路。然而,IFI16 如何识别核中宿主基因组 DNA 和病毒 DNA 的机制尚不清楚。cGAS 可在感染后识别 HSV 基因组 DNA,诱导 I 型 IFN 的表达。此外,cGAS 还能够识别 KSHV 和 HPV 病毒的 DNA^[38]。

卡波西氏肉瘤相关的疱疹病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)感染也会激活 cGAS-STING 途径。敲除内皮细胞中的 cGAS 或 STING 可以抑制 KSHV 初次感染或复发后宿主 IFN β 表达,这导致 KSHV 病毒基因转录和病毒基因组拷贝数更高^[39]。对 KSHV 开放阅读框(open reading frames, ORFs)筛选发现多个 KSHV 病毒蛋白抑制 cGAS-STING 依赖性 IFN β 启动子活化和 IFN β 蛋白的产生。KSHV 病毒干扰素调节因子 1 (viral interferon regulatory factor 1, vIRF1)抑制 cGAS-STING 依赖性 IFN β 的表达,这与 vIRF1 与 STING 相互作用抑制 STING 与 TBK1 结合,最后抑制 STING 磷酸化,最后导致 DNA 不被识别^[39]。同样地,若敲除 vIRF1 可使 KSHV 感染宿主诱导较高水平的 IFN β 产生^[39]。另一项对 cGAS 抑制剂的研究发现 ORF52 (也称为 KicGAS、cGAS 的 KSHV 抑制剂)是一种疱疹病毒特异性凝胶蛋白,可通过与 cGAS 和 DNA 结合直接抑制 cGAS 酶活性,从而抑制细胞溶质 DNA 感染^[40]。与 WT KSHV 相比, γ -疱疹病毒 KSHV 编码 ORF52 蛋白质,可通过与 cGAS 直接结合或通过 DNA 结合抑制 cGAS 活性导致更高水平的 IRF3 磷酸化^[40],这表明 ORF52 的缺失不能保护病毒逃逸宿主固有免疫应答。此外,KSHV 潜伏相关核抗原(latency associated nuclear antigen, LANA)的 N-末端可与 cGAS 相互作用并拮抗 cGAS-STING 依赖性信号传导,从而有利于 KSHV 再激活^[41]。

最后,在小鼠疱疹病毒 68 (murine gammaherpesvirus 68, MHV68)研究中发现另一基因 ORF64 可以抑制 STING 活化 I 型干扰素产生。MHV68 ORF64 缺失的病毒表现出较高的 STING 依赖性固有免疫应答,说明 ORF64 在 STING 信号通路中具有负性调节作用^[42]。总而言之,疱疹病毒使用不同的机制编码多个 cGAS-STING 拮抗剂,以成功逃避宿主先天性免疫。

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)聚合酶是 HBV 唯一的编码蛋白,抑制 STING 激活 IFN β 启动子^[43]。进一步研究发现 HBV 聚合酶蛋白的逆转录酶(reverse transcriptase, RT)或 RNA 酶 H (RNase H, RH)结构域能够抑制 STING 信号。HBV 聚合酶结合 STING 并减弱 K63 标记的聚泛素化和功能,但并不影响 STING 蛋白水平^[43]。

除了 cGAS 的宿主蛋白修饰外,微生物具有抑制 cGAS 活性的各种分子。人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)衍生蛋白质 E7 和腺病毒 E1A 具有保守的 LXCXE 基序,可与 STING 结合并抑制其活性^[44-45]。HPV 是普遍存在的 DNA 肿瘤病毒。最近研究证实了 HPV 癌蛋白 E7 和 cGAS-STING 途径存在一定联系。HPV E7 为 DNA 病毒激活宿主固有免疫反应的有效抑制剂。E7 蛋白及其 LXCXE 基序是 cGAS-STING 信号通路活化的拮抗剂。缺乏 E7 可导致 I 型干扰素表达增强^[45]。在此研究中发现腺病毒 E1A 也是 STING 的拮抗剂。E1A 同样含有一个 LXCXE 基序,这是拮抗 DNA 被识别所必需的^[45]。另一项腺病毒研究表明,cGAS/STING 途径对诱导 I 型干扰素表达至关重要^[46]。然而,在腺病毒感染 6 h 后没有发现抑制 cGAS/STING 依赖性 TBK1/IRF3 激活的证据。此外,Hela 或 THP1 细胞缺乏 cGAS 或 STING 并不影响病毒复制^[46]。这可能与 E1A 阻断 IFN β 诱导 STAT1 活化相关。然而,E1A 作为 STING 拮抗剂的发现可能是腺病毒通过干扰固有免疫应答途径逃避宿主抗病毒反应。因此,乳头瘤病毒和腺病毒是通过直接或间接方式阻止 STING 活性抑制 cGAS 活性。

4.2 逆转录病毒 除了转染的 dsDNA 和病毒 DNA 之外,cGAS 在人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染中发挥重要作用^[15]。研究表明,敲除 HIV 逆转录酶可使 cGAMP 和 I 型 IFN 表达降低,这表明转录酶对 cGAS 介导的免疫应答至关重要。以前研究认为只有 dsDNA 可以与 cGAS 结合并激活下游信号通路^[47]。在 HIV 病毒 RNA 逆转录过程中,仅产生单链 DNA,那么 cGAS 如何识别 HIV 衍生的 DNA? HIV 病毒衣壳进入巨噬细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)后,病毒衣壳内的病毒 RNA 逆转录成 cDNA,将其直接注入细胞核并整合到宿主基因组中。因此,逆转录病毒通常不会触发强烈的固有

免疫反应。然而,如果病毒衣壳的完整性受到损害,或者阻止细胞质DNA积累的某些宿主因子(如SAMHD1、TREX1和CPSF6)丧失其功能,那么cGAS可通过识别短碱基配对的DNA片段发挥免疫调节,从而诱导干扰素和其他细胞因子表达^[48]。这些短dsDNA(也称为Y型DNA)是宿主细胞早期感染期间细胞质中主要的病毒DNA形式。除了形成Y型DNA之外,HIV病毒DNA也被细胞多聚谷氨酰胺结合蛋白(polyglutamine binding protein, PQBP1)识别^[30]。PQBP1通过其C末端结构域结合病毒DNA,并通过其N-末端WW结构域与cGAS相互作用。逆转录病毒DNA直接与PQBP1结合,然后与cGAS相互作用激活STING-IRF3信号通路。敲除PQBP1可大大降低HIV诱导树突细胞(dendritic cells, DCs)免疫反应。此外,具有PQBP1突变的DC对HIV的免疫应答能力降低。

感染人的HIV有两种类型:HIV-1和HIV-2,与HIV-2相比,HIV-1更常见且具有致病性。对于HIV-1,细胞质中的病毒衣壳募集的宿主因子CPSF6和亲环蛋白有助于协调逆转录,病毒衣壳开放和病毒复合物进入细胞核,使病毒DNA不暴露于细胞质^[49]。CPSF6消耗导致巨噬细胞感染野生型HIV-1并诱导干扰素表达。类似地, DNase Trex1消耗导致HIV-1 DNA在细胞质中积累,其通过cGAS通路诱导干扰素表达。除了HIV-1受感染的T细胞外,HIV-2也在DC中复制并伴随固有免疫应答的激活。进一步分析表明,细胞因子SAMHD1通过负调控干扰素表达,以限制DCs和巨噬细胞中的HIV-1感染^[50-51]。然而,HIV-2编码Vpx通过E3泛素连接酶(CRL4-DCAF1复合物)介导SAMHD1降解,导致DC和巨噬细胞中的HIV-2复制^[50-51]。DCs通过cGAS识别HIV-2逆转录病毒的cDNA,导致I型IFN表达和T细胞活化。HIV-1编码的衣壳保护其病毒cDNA免受DC中cGAS识别。此外,与HIV-1型感染相比,HIV-1和HIV-2共感染导致艾滋病的进展延迟,这表明HIV-2在DCs中控制HIV感染中发挥积极作用^[52]。

5 结 语

遗传和微生物研究均已证明cGAS-STING途径在针对各种DNA病毒、逆转录病毒和细菌的免疫防御中的重要作用。预期该途径涉及到的病原体的范围将继续扩大,并且可能也包括含丰富DNA的真菌和寄生虫。由于cGAMP具有强效的佐剂活性,这有助于开发用于预防和治疗DNA病毒感染、艾滋病、结核病和疟疾等传染病的新疫苗。但是DNA病毒与cGAS-STING信号通路之间的机制目前尚不是很清楚,这需要细胞学和动物学实验等进一步阐明其具体机制,为临床通过固有免疫预防和治疗病毒感染提供新的思路和方法。

参 考 文 献

- [1] Jaeger M, Stappers MH, Joosten LA, et al. Genetic variation in pattern recognition receptors: functional consequences and susceptibility to infectious disease [J]. *Future Microbiol*, 2015, 10(6): 989-1008.
- [2] Paludan SR. Activation and regulation of DNA-driven immune responses [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2015, 79(2): 225-241.
- [3] Paludan SR, Bowie AG. Immune sensing of DNA [J]. *Immunity*, 2013, 38(5): 870-880.
- [4] Pandey S, Kawai T, Akira S. Microbial sensing by toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 7(1): a016246.
- [5] Zhang X, Wu J, Du F, et al. The cytosolic DNA sensor cGAS forms an oligomeric complex with DNA and undergoes switch-like conformational changes in the activation loop [J]. *Cell Rep*, 2014, 6(3): 421-430.
- [6] Li X, Shu C, Yi G, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization [J]. *Immunity*, 2013, 39(6): 1019-1031.
- [7] Civril F, Deimling T, de Oliveira Mann CC, et al. Structural mechanism of cytosolic DNA sensing by cGAS [J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 332-337.
- [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 [J]. *Cell*, 2013, 153(5): 1094-1107.
- [9] Kranzusch PJ, Lee AS, Berger JM, et al. Structure of human cGAS reveals a conserved family of second-messenger enzymes in innate immunity [J]. *Cell Rep*, 2013, 3(5): 1362-1368.
- [10] Xia P, Wang S, Gao P, et al. DNA sensor cGAS-mediated immune recognition [J]. *Protein Cell*, 2016, 7(11): 777-791.
- [11] Xia P, Ye B, Wang S, et al. Glutamylation of the DNA sensor cGAS regulates its binding and synthase activity in antiviral immunity [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(4): 369-378.
- [12] Seo GJ, Yang A, Tan B, et al. Akt kinase-mediated checkpoint of cGAS DNA sensing pathway [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(2): 440-449.
- [13] Liang Q, Seo GJ, Choi YJ, et al. Crosstalk between the cGAS DNA sensor and Beclin-1 autophagy protein shapes innate antimicrobial immune responses [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(2): 228-238.
- [14] Ablasser A, Goldeck M, Cavlar T, et al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING [J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 380-384.
- [15] Gao D, Wu J, Wu YT, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is an innate immune sensor of HIV and other retroviruses [J]. *Science*, 2013, 341(6148): 903-906.
- [16] Ishikawa H, Ma Z, Barber GN. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity [J]. *Nature*, 2009, 461(7265): 788-792.
- [17] Zhang J, Hu MM, Wang YY, et al. TRIM32 protein modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting MITA/STING protein for K63-linked ubiquitination [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(34): 28646-28655.
- [18] Tsuchida T, Zou J, Saitoh T, et al. The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA [J]. *Immunity*, 2010, 33(5): 765-776.
- [19] Zhong B, Zhang L, Lei C, et al. The ubiquitin ligase RNF5 regulates antiviral responses by mediating degradation of the adaptor protein MITA [J]. *Immunity*, 2009, 30(3): 397-407.
- [20] Wang Y, Lian Q, Yang B, et al. TRIM30a is a negative-feedback regulator of the intracellular DNA and DNA virus-triggered response by targeting STING [J]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(6): e1005012.

- [17] Zhang J, Hu MM, Wang YY, et al. TRIM32 protein modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting MITA/STING protein for K63-linked ubiquitination [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(34): 28646-28655.
- [18] Konno H, Konno K, Barber GN. Cyclic dinucleotides trigger ULK1 (ATG1) phosphorylation of STING to prevent sustained innate immune signaling [J]. *Cell*, 2013, 155(3): 688-698.
- [19] Liu S, Cai X, Wu J, et al. Phosphorylation of innate immune adaptor proteins MAVS, STING, and TRIF induces IRF3 activation [J]. *Science*, 2015, 347(6227): aaa2630.
- [20] Li X, Shu C, Yi G, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization [J]. *Immunity*, 2013, 39(6): 1019-1031.
- [21] Ablasser A, Goldeck M, Cavlar T, et al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING [J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 380-384.
- [22] Schoggins JW, MacDuff DA, Imanaka N, et al. Pan-viral specificity of IFN-induced genes reveals new roles for cGAS in innate immunity [J]. *Nature*, 2014, 505(7485): 691-695.
- [23] Li L, Yin Q, Kuss P, et al. Hydrolysis of 2'3'-cGAMP by ENPP1 and design of nonhydrolyzable analogs [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(12): 1043-1048.
- [24] Zhang X, Shi H, Wu J, et al. Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING [J]. *Mol Cell*, 2013, 51(2): 226-235.
- [25] Dobbs N, Burnaevskiy N, Chen D, et al. STING activation by translocation from the ER is associated with infection and autoinflammatory disease [J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(2): 157-168.
- [26] Ablasser A, Schmid-Burgk JL, Hemmerling I, et al. Cell intrinsic immunity spreads to bystander cells via the intercellular transfer of cGAMP [J]. *Nature*, 2013, 503(7477): 530-534.
- [27] Bridgeman A, Maelfait J, Davenne T, et al. Viruses transfer the antiviral second messenger cGAMP between cells [J]. *Science*, 2015, 349(6253): 1228-1232.
- [28] Gentili M, Kowal J, Tkach M, et al. Transmission of innate immune signaling by packaging of cGAMP in viral particles [J]. *Science*, 2015, 349(6253): 1232-1236.
- [29] Watson RO, Bell SL, MacDuff DA, et al. The cytosolic sensor cGAS detects mycobacterium tuberculosis DNA to induce type I interferons and activate autophagy [J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(6): 811-819.
- [30] Yoh SM, Schneider M, Seifried J, et al. PQBP1 is a proximal sensor of the cgas-dependent innate response to HIV-1 [J]. *Cell*, 2015, 161(6): 1293-1305.
- [31] Gregory SM, Davis BK, West JA, et al. Discovery of a viral NLR homolog that inhibits the inflammasome [J]. *Science*, 2011, 331(6015): 330.
- [32] Jacobs SR, Damania B. NLRs, inflammasomes, and viral infection. *Journal of leukocyte biology* [J]. *J Leukoc Biol*, 2012, 92(3): 469-477.
- [33] West JA, Gregory SM, Damania B. Toll-like receptor sensing of human herpesvirus infection [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2012, 2(2): 122.
- [34] Kalamvoki M, Du T, Roizman B. Cells infected with herpes simplex virus 1 export to uninfected cells exosomes containing STING, viral mRNAs, and microRNAs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(46): E4991.
- [35] Orzalli MH, DeLuca NA, Knipe DM. Nuclear IFI16 induction of IRF-3 signaling during herpesviral infection and degradation of IFI16 by the viral ICP0 protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: E3008-E3017.
- [36] Christensen MH, Jensen SB, Miettinen JJ, et al. HSV-1 ICP27 targets the TBK1-activated STING signalsome to inhibit virus-induced type I IFN expression [J]. *EMBO J*, 2016, 35(13): 1385-1399.
- [37] Orzalli MH, Broekema NM, Diner BA, et al. cGAS-mediated stabilization of IFI16 promotes innate signaling during herpes simplex virus infection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(14): 1773-1781.
- [38] Ma Z, Damania B. The cGAS-STING defense pathway and its counteraction by viruses [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(2): 150-158.
- [39] Ansari MA, Dutta S, Veettil MV, et al. Herpesvirus genome recognition induced acetylation of nuclear IFI16 is essential for its cytoplasmic translocation, inflammasome and IFN-beta responses [J]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(7): e1005019.
- [40] Wu JJ, Li W, Shao Y, et al. Inhibition of cGAS DNA sensing by a herpesvirus virion protein [J]. *Cell host & microbe*, 2015, 18(3): 333-344.
- [41] Zhang G, Chan B, Samarina N, et al. Cytoplasmic isoforms of Kaposi sarcoma herpesvirus LANA recruit and antagonize the innate immune DNA sensor cGAS [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(8): E1034-E1043.
- [42] Sun C, Schattgen SA, Pisitkun P, et al. Evasion of innate cytosolic DNA sensing by a gammaherpesvirus facilitates establishment of latent infection [J]. *J Immunol*, 2015, 194(4): 1819-1831.
- [43] Liu Y, Li J, Chen J, et al. Hepatitis B virus polymerase disrupts K63-linked ubiquitination of STING to block innate cytosolic DNA-sensing pathways [J]. *J VIROL*, 2015, 89(4): 2287-2300.
- [44] McLaughlin-Drubin ME, Munger K. The human papillomavirus E7 oncoprotein [J]. *Virology*, 2009, 384(2): 335-344.
- [45] Lau L, Gray EE, Brunette RL, et al. DNA tumor virus oncogenes antagonize the cGAS-STING DNA-sensing pathway [J]. *Science*, 2015, 350(6260): 568-571.
- [46] Lam E, Falck-Pedersen E. Unabated adenovirus replication following activation of the cGAS/STING-dependent antiviral response in human cells [J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(24): 14426-14439.
- [47] Wu J, Chen ZJ. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids [J]. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32(1): 461-488.
- [48] Herzner AM, Hagmann CA, Goldeck M, et al. Sequence-specific activation of the DNA sensor cGAS by Y-form DNA structures as found in primary HIV-1 cDNA [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(10): 1025-1033.
- [49] Rasaiyaah J, Tan CP, Fletcher AJ, et al. HIV-1 evades innate immune recognition through specific cofactor recruitment [J]. *Nature*, 2013, 503(7476): 402-405.
- [50] Hrecka K, Hao C, Gierszewska M, et al. Vpx relieves inhibition of HIV-1 infection of macrophages mediated by the SAMHD1 protein [J]. *Nature*, 2011, 474(7353): 658-661.
- [51] Laguette N, Sobhian B, Casartelli N, et al. SAMHD1 is the dendritic- and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx [J]. *Nature*, 2011, 474(7353): 654-657.
- [52] Esbjornsson J, Mansson F, Kvist A, et al. Inhibition of HIV-1 disease progression by contemporaneous HIV-2 infection [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(3): 224-232.

(收稿日期:2017-04-27)