



cGAS/STING 通路的生物学功能及其在细菌感染中的作用

陈松彪^{1,2}, 尚珂^{1,2}, 张春杰^{1,2}, 丁轲^{1,2*}, 程相朝^{1,2*}

1 洛阳市活载体生物材料与动物疫病防控重点实验室, 河南 洛阳 471003

2 河南科技大学动物科技学院 功能微生物与畜禽健康实验室, 河南 洛阳 471003

陈松彪, 尚珂, 张春杰, 丁轲, 程相朝. cGAS/STING 通路的生物学功能及其在细菌感染中的作用[J]. 微生物学报, 2023, 63(7): 2595-2608.

CHEN Songbiao, SHANG Ke, ZHANG Chunjie, DING Ke, CHENG Xiangchao. Biological function of cGAS/STING pathway and its role in bacterial infection[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(7): 2595-2608.

摘要: 先天免疫是宿主抵御外来病原体入侵的第一道防线, 而模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)是介导先天免疫应答关键分子。PRRs 通过识别病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)来激活宿主先天免疫反应。二十一世纪先天免疫领域里程碑式发现-环磷酸鸟苷腺苷合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS), cGAS 在宿主先天免疫过程中发挥重要作用, 通过识别外源 DNA 产生第二信使 2',3'-环化鸟苷酸腺苷酸(2',3'-cyclic guanosine monophosphate adenosine monophosphate, 2',3'-cGAMP)来介导干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)的活化, 从而促进下游干扰素(IFN)和其他细胞因子分泌来发挥宿主的抗病毒反应。近年研究发现, cGAS/STING 通路在宿主抗细菌感染过程中发挥着重要作用, 同时细菌也进化出不同机制来拮抗 cGAS/STING 通路。本文主要对 cGAS/STING 通路的生物学功能及其在细菌感染中的作用进行综述, 为进一步研发新型抗菌药物提供理论参考。

关键词: 先天免疫; cGAS/STING; 生物学功能; 细菌; 感染

资助项目: 河南省自然科学基金(232300421263); 河南科技大学博士启动基金(13480104); 国家自然科学基金(31572489)
This work was supported by the Natural Science Foundation of Henan Province (232300421263), the Earmarked Fund for Doctoral Research Start-up Fund of Henan University of Science and Technology (13480104), and the National Natural Science Foundation of China (31572489).

*Corresponding authors. E-mail: DING Ke, keding19@163.com; CHENG Xiangchao, chengxch@126.com

Received: 2022-11-15; Accepted: 2023-01-11; Published online: 2023-01-18

Biological function of cGAS/STING pathway and its role in bacterial infection

CHEN Songbiao^{1,2}, SHANG Ke^{1,2}, ZHANG Chunjie^{1,2}, DING Ke^{1,2*}, CHENG Xiangchao^{1,2*}

1 Luoyang Key Laboratory of Live Carrier Biomaterial and Animal Disease Prevention and Control, Luoyang 471003, Henan, China

2 Laboratory of Functional Microbiology and Animal Health, College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, Henan, China

Abstract: Innate immunity is the first line of the host against invasion of foreign pathogens, and pattern recognition receptors (PRRs) are key receptors mediating innate immune response. PRRs activate the innate immune response of the host by recognizing pathogen associated molecular patterns (PAMPs). Among them, there is a milestone discovery in the field of DNA recognition and innate immunity in the 21st century—cyclic GMP-AMP synthase (cGAS), which plays an important role in the host innate immune process. cGAS mediates the activation of stimulator of interferon genes (STING) by recognizing foreign DNA and producing a second messenger 2',3'-cyclic GMP-AMP (2',3'-cGAMP), thus promoting the secretion of downstream interferon and other cytokines to play an antiviral role in the host. Recent studies have found that the cGAS/STING pathway plays an important role in the host's resistance to bacterial infection. Meanwhile, bacteria have also evolved different mechanisms to antagonize the cGAS/STING pathway. This paper mainly reviewed the biological functions of the cGAS/STING pathway and its role in bacterial infection, providing theoretical references for the further development of new antibacterial drugs.

Keywords: innate immunity; cGAS/STING; biological functions; bacteria; infection

先天免疫又称之为天然免疫或固有免疫,是机体对抗病原微生物感染第一道宿主防线。它依赖于模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs),这些受体能够感知微生物所共有病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs),并触发宿主抗菌分子和细胞因子表达来对抗病原微生物感染^[1]。

PAMPs 是病原体进化过程中相对保守的分子,主要的 PAMPs 是病原体核酸,包括 DNA (未甲基化 CpG 序列)、双链 RNA、单链 RNA、5'末端含自由三磷酸基团 RNA (ppp-RNA),以及脂蛋白、细胞表面糖蛋白、膜组分和病毒衣壳^[2]。

DNA 是病原微生物重要遗传物质之一,一旦病原进入宿主细胞后就会将其 DNA 释放到细胞质中,环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS)可迅速识别 DNA^[3-4],cGAS 和 DNA 二者结合后会触发干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)介导的先天免疫反应应答。STING 由 Ishikawa 等^[5]于 2008 年首次在 *Nature* 杂志发文报道,是一种内质网适配器蛋白,对先天免疫信号传递过程至关重要。随后,STING 被发现通过干扰素调节因子 3 (IRF3)介导 I 型干扰素信号转导^[6],在此过程中

STING 二聚体化被发现是下游信号激活的关键步骤^[7]。

目前,已证实多种细菌可被宿主细胞 cGAS 识别并诱导宿主产生抗细菌感染先天免疫反应^[8-9]。在宿主进化过程中, cGAS 可采用多种策略来敏感地识别各种细菌 DNA, 催化三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)和三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)转化形成 2',3'-环化鸟苷酸腺苷酸(2',3'-cyclic guanosine monophosphate adenosine monophosphate, 2',3'-cGAMP), 2',3'-cGAMP 作为第二信使诱导宿主产生抗感染先天免疫反应^[8]。然而,许多细菌也进化出不同的免疫防御策略抑制或逃避宿主先天免疫反应, 限制宿主干扰素和促炎细胞因子生成, 从而逃避宿主细胞杀伤^[10]。为更好地了解 cGAS/STING 通路与细菌感染二者之间的互作关系, 本文主要对 cGAS/STING 通路中主要分子的生物学功能、cGAS/STING 通路在细菌感染以及细菌免疫中作用及分子机制进行综述, 为进一步开发针对 cGAS/STING 靶向特异性小分子抗菌药物奠定理论基础。

1 cGAS/STING 通路中主要分子的生物学功能

陈志坚团队于 2013 年首次在哺乳动物细胞中发现了 cGAS 存在, 且 cGAS 能合成 cGAMP 作为第二信使直接激活 STING^[11]。在病原微生物感染宿主细胞后: (1) cGAS 作为重要 DNA 感受器, 可迅速识别胞质中异源 DNA 分子, 二者结合形成 2:2 的二聚体, 催化 ATP 和 GTP 大量生成 2',3'-cGAMP; (2) 2',3'-cGAMP 作为第二信使结合定位于内质网(endoplasmic reticulum, ER)膜上的 STING, 诱导 STING 构象发生变化后活化; (3) STING 活化后从内质网转移到

高尔基体(Golgi)中间室; (4) 易位 STING 利用其羧基末端募集活化 TANK 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1), 在高尔基体膜上形成 STING-TBK1 复合物; (5) STING-TBK1 复合物进一步诱导干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3)发生磷酸化, 磷酸化的 IRF3 二聚体化后进入细胞核(图 1)。同时活化后 STING 也可以直接激活 I κ B 激酶(I κ BK), 使核转录因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)的抑制因子 I κ B 发生磷酸化, 磷酸化 I κ B 从 NF- κ B 三聚体(通常由 p65 和 p50 形成同源/异源二聚体, 在胞质中因与抑制蛋白 I κ B 结合形成了三聚体复合物而处于失活状态)释放出来被胞质中泛素化-蛋白酶体途径降解, NF- κ B 二聚体重新暴露出核定位序列(NLS), 进入细胞核后与磷酸化 IRF3 共同诱导 I 型干扰素和炎性细胞因子分泌来发挥宿主抗感染免疫^[12-13](图 1)。

1.1 cGAS 分子结构及活化分子机制

1.1.1 cGAS 分子结构特征

cGAS 又称为 C6ORF150 或 MB21D1, 属于 cGAS/DncV 样核苷酸转移酶(CD-NTase)超家族成员。cGAS 在人、小鼠、猪和鸡等物种间结构高度保守, 包含一个 N 端结构域和一个 C 端催化结构域, 催化结构域是由重叠的核苷酸转移酶核心域(NTase)和 Mab21 结构域构成的双叶结构, 包括一个中心催化结构域和两个不同带正电荷表面^[14-15]。催化结构域 N 端有一个长长的螺旋“脊”, 连接 N 端叶和 C 端叶, N 端叶有一个双叶呈现高度扭曲的 β 折叠 NTase 褶皱, C 端叶包含一个紧密螺旋束(图 2)^[16-17]。催化位点位于 cGAS 两叶之间的深槽边缘, 一旦 cGAS 表面正电荷与 DNA 相互作用就会诱导 cGAS 发生构象变化, 促使 cGAS 催化“口袋”重新排列, 从而诱导 GTP 和 ATP 发生环化。

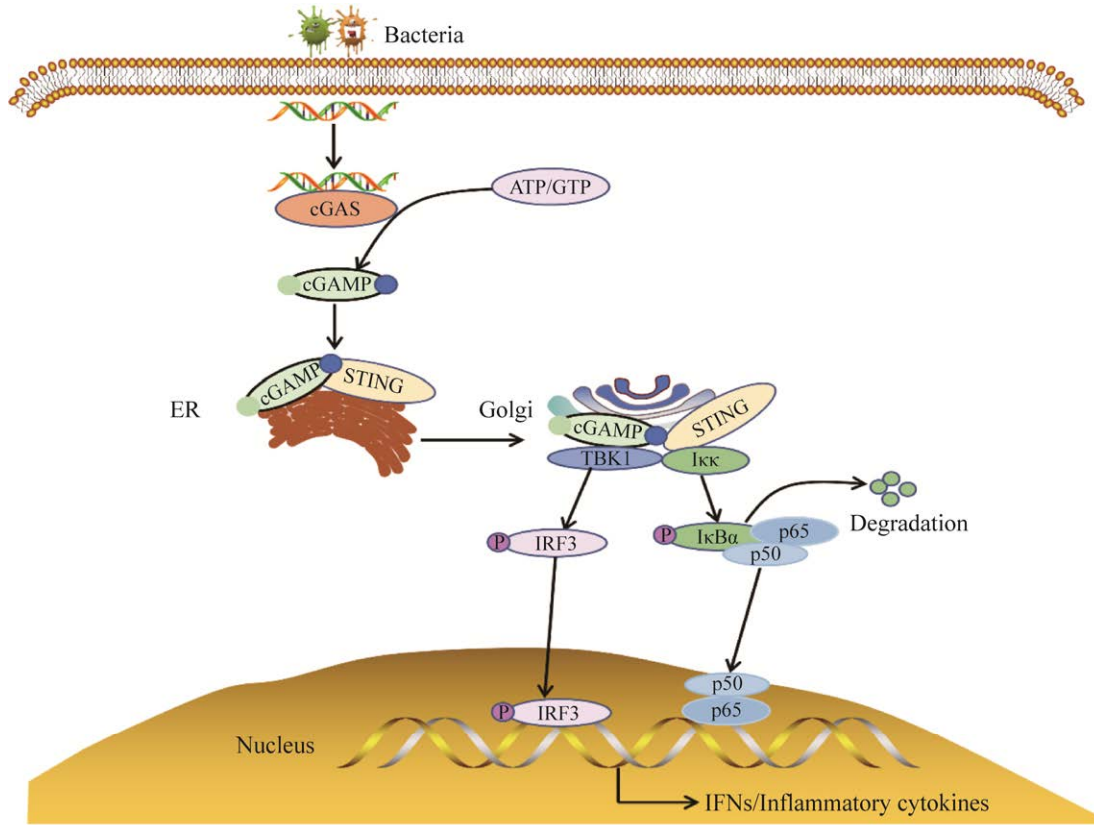


图 1 cGAS/STING 信号通路示意图

Figure 1 Schematic diagram of cGAS/STING signal pathway.

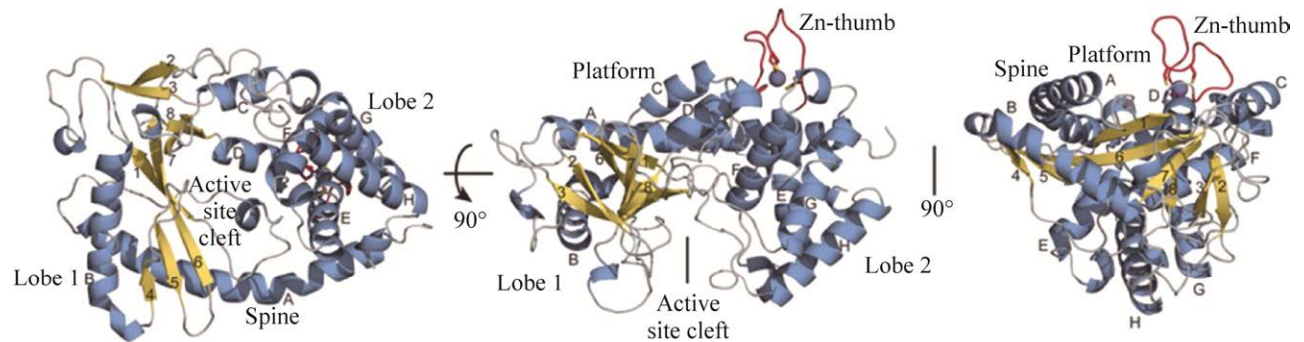


图 2 cGAS^{Mab21} 三级结构侧视图和俯视图(蓝色表示 α -螺旋, 黄色表示 β -折叠)^[18]

Figure 2 Side and top views of cGAS^{Mab21} (blue means α -helices, yellow means β -strands)^[18]. The Mab21 domain of cGAS comprises two lobes, separated by a deep cleft, lobe 1 possesses the NTase fold with a two-leaved highly twisted β -sheet (β 1– β 8) that is flanked on the outside by two long α -helices (α A and α B). At the inner side, lining the cleft, β 1 and β 6 harbor the signature catalytic site residues (E200, D202, D296) of the NTase superfamily that coordinate the catalytic Mg^{2+} ions and nucleotides. Lobe 2 is a bundle of four α -helices (α E– α H), connected to lobe 1 by a long “spine” (α A), two linker helices (α C, α D) and by a long active site loop connecting α A and β 1.

两个叶状体由一个被称为“锌指”的独特突起连接,促进 cGAS 和 DNA 双链(dsDNA)核糖磷酸主链的相互作用(图 2)^[19]。与 dsDNA 结合后使 cGAS 两个叶互相靠近形成二聚体进而激活 cGAS^[20-21]。小鼠模型研究中发现,4 个 cGAS 分子通过静电相互作用和氢键与 dsDNA 结合后,组装成 2:2 小鼠 cGAS-dsDNA 复合体,在这些复合物中,两个 dsDNA 分子与一个 cGAS 二聚体交联,两个 cGAS 二聚体不对称地结合到 dsDNA 上,以避免两条 dsDNA 双链空间结构位阻^[19]。与 cGAS-dsDNA 复合体的小鼠模型相似,人源 cGAS (hcGAS)同样可以组装成具有功能活性 cGAS-dsDNA 复合体^[15],然而尚不清楚它是否与 cGAS 激活相关。

1.1.2 cGAS 活化的分子机制

cGAS 利用锌指结构域内 DNA 结合位点(称为 A 点和 B 点)与 dsDNA 结合,同时单链 DNA (ssDNA)和双链 RNA (dsRNA)也可以与 cGAS 结合,但不能激活 cGAS,因为二者结合不能诱导 cGAS 活化所需的构象变化^[14-18]。相比之下,dsDNA 与 cGAS 结合会催化“口袋”重排,结合 ATP 和 GTP 并合成 2',3'-cGAMP^[22]。2',3'-cGAMP 合成过程分为两步:(1) 生成线性二核苷酸中间体 pppGpA;(2) 生成的 pppGpA 在活性位点上翻转,cGAS 的环化酶活性使其生成 cGAS 最终产物 2',3'-cGAMP,由于 cGAS 具有较低水平环化酶活性,该反应速率限制步骤是线性中间产物环化^[23]。

哺乳动物 cGAS 产生的 2',3'-cGAMP 在化学上与细菌或其他后生动物中 cGAS 同源物产生 3',3'-cGAMP 不同,这种形式的 cGAMP 包含两个典型的 3',5'-磷酸二酯键^[24]。尽管如此,2',3'-cGAMP 和 3',3'-cGAMP 以及其他细菌产生环二核苷酸(cyclic dinucleotides, CDNs)都是 STING 激动剂。更为重要的是 cGAS 产生的

2',3'-cGAMP 常常与人源 STING 结合,其亲和力显著高于 3',3'-cGAMP 和其他细菌 CDNs,并引起下游更强的信号级联反应^[14-25]。虽然人源 cGAS 和小鼠 cGAS 都需要形成二聚体形式才能激活,但二者激活所需 DNA 片段大小不同,人源 cGAS 至少需要 45 bp 长度 dsDNA 来激活,而小鼠 cGAS 可以被更短的 dsDNA 激活^[26-28]。

cGAS 活化重要分子机制之一是其与胞质中 dsDNA 结合。近年来研究还发现存在其他调控机制来影响 cGAS 活化,宿主先天免疫为了迅速识别“异己”和“自己”,cGAS 通过自身翻译后修饰改变来调控其酶活性^[29]。小鼠 cGAS 可以被磷酸化蛋白激酶 Akt 磷酸化后抑制活性,表明 cGAS 通路和其他信号通路之间可能存在目前未知的互相交叉调控^[30]。微管蛋白聚谷酶 TTLL4 和 TTLL6 可以使 cGAS 发生谷氨酰胺化修饰从而抑制其活性,羧肽酶 CCP5 和 CCP6 的存在又能够抑制谷氨酰胺化修饰从而恢复 cGAS 活性^[31]。然而,Akt 磷酸化和微管蛋白聚谷酶 TTLL4 和 TTLL6 可以使 cGAS 发生谷氨酰胺化翻译后修饰是如何影响 cGAS 活性的作用机制仍不清楚。

1.2 STING 分子结构及活化分子机制

1.2.1 STING 分子结构特征

STING 又称之为 MITA、MPYS、TMEM173 或者 ERIS,是定位于内质网或高尔基体大小为 40 kDa 的接头蛋白^[32]。STING 包含多重跨膜 N 末端结构域以及与环二鸟苷酸(cyclic diguanylate monophosphate, c-di-GMP)结合相关 C 末端结构域(C-terminal domain, CTD),N 末端含有 4 个跨膜螺旋结构(transmembrane region 1-4, TM1-4)将其锚定于内质网膜或其他细胞器膜上,其 C 末端 CTD 结构域包括一个配体结合结构域(ligand-binding domain, LBD)和末端尾部结构域(C-terminal tail, CTT) (图 3A)^[33]。

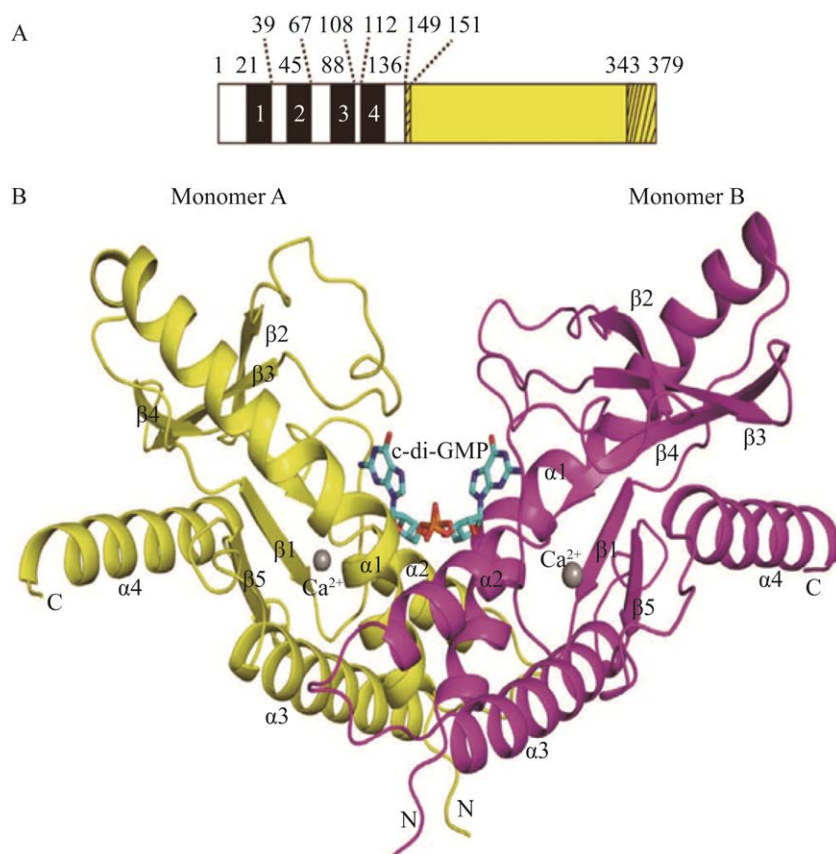


图3 人源 STING^{CTD} 与 c-di-GMP 复合物的三维结构^[33]

Figure 3 Structure of human STING^{CTD} in complex with c-di-GMP^[33]. A: Schematic representations of human STING. Black and yellow boxes denote the predicted transmembrane domain and the cytoplasmic C-terminal domain (CTD) studied here, respectively. Hatched lines indicate sequences disordered in the structure. B: Ribbon diagram of STING^{CTD} in complex with c-di-GMP (in 2:1 ratio). Monomer A is in yellow and monomer B in magenta; Secondary structure elements and the N and C termini are indicated; Ca²⁺ and c-di-GMP are shown as a gray sphere and in stick representation (with carbon atoms in cyan), respectively.

Shang 等 2019 年利用冷冻电镜解析出 STING 完整三维结构^[34], STING 胞质部分以二聚体形式存在, 在 STING 二聚体中 TM1-4 采用结构域交换结构, 其中一个 STING 单体的 TM1 与另一个单体 TM2、TM3 和 TM4 组合一起(图 4A、4B), 8 个跨膜区分成两层: 2 个单体 TM2 和 TM4 构成二聚体中间层, 外层被 TM1 和 TM3 包裹(图 4C), 其中 TM2 是 STING 中最长的跨膜螺旋(图 4D), 和 c-di-GMP 结合的 STING^{CTD} 形成二聚体, 每个不对称单元包含一个蛋白质分子, 它与一个对称相关的分子形

成相同的同型二聚体^[33]。STING^{CTD} 的结构模型都包括该蛋白的 151-343 位氨基酸残基, LBD 结构域由 4 个 α 螺旋(α1-α4)和 5 个 β 折叠(β1-β5)构成, 连接 TM4 和 LBDα1 的连接子包括一个连接螺旋和一个连接环, 在二聚体中两个连接子形成右旋交叉, 使同一 STING 分子的 TM 和 LBD 分布在二聚体的对侧(图 3B)。TM2 和 TM3 之间的连接桥、连接螺旋和 LBD 共同形成胞质和跨膜结构域之间的表面沟槽, TM1 之前的 N 末端段位于这个沟槽中, 这种域间相互作用是一种保守的结构特征, 对蛋白质的稳定性和功

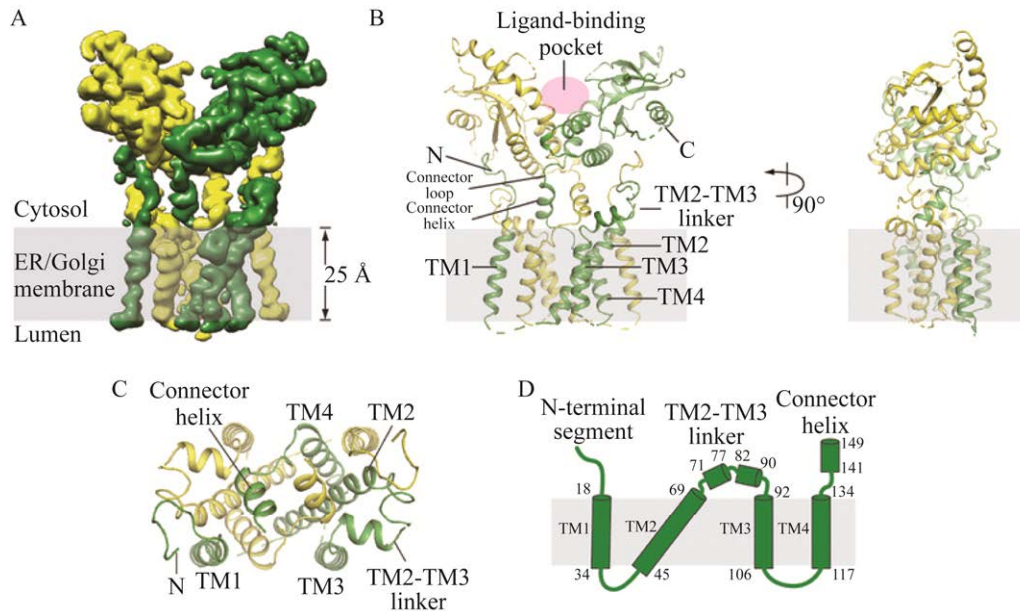


图 4 人源 STING 完整的三维结构^[34]

Figure 4 Structure of full-length human STING in the apo state^[34]. A: Side view of the cryo-EM 3D reconstruction. The two subunits in the dimer are marked in yellow and green. B: Cartoon representation of the structure in two orthogonal side views. C: Cartoon representation of the transmembrane domain dimer in the top view, from the cytosolic side. D: Topological diagram of the transmembrane domain.

能非常重要^[33]。CTT 与 STING 的胞质部分结合,包含结合 TBK1 的基序(TBK1-binding motif, TBM)和结合 IRF3 基序。cGAS 合成的 2',3'-cGAMP 结合 STING 后,诱导 LBD 向配体结合口袋内旋,由“V 形”变为“U 形”,并且在结合口袋上方 4 个 β 折叠片层反向平行形成“盖子”结构,STING 由“开放”构象转变为“闭合”构象^[35]。但是这种构象的变化如何向下游传递信号仍不十分清楚。

1.2.2 STING 活化的分子机制

STING 是一种内质网驻留膜蛋白,通过其 N 端跨膜结构域部分定位于线粒体和线粒体相关的内质网膜(mitochondria-associated ER membrane, MAM)^[36]。与细胞质中合成 2',3'-cGAMP 结合后,STING 二聚体转位至核周区域,这是激活下游信号通路关键步骤^[36-37]。STING 重新定位后,募集 TBK1 使 STING 和

IRF-3 被 TBK1 磷酸化^[38],从而诱导 I 型干扰素激活。值得注意的是,STING 已经被证明可以直接结合 DNA,这表明 STING 也可以作为一个直接的细胞质 DNA 感受器。STING 感知 DNA 生理条件及其与其他 DNA 感受器协同作用还有待进一步研究^[39]。

STING 与 2',3'-cGAMP 二者结合是诱导其活化的重要分子机制。与 cGAS 相似,有研究发现 STING 的翻译后修饰与其活性相关,包括泛素化和磷酸化。泛素连接酶 TRIM56 被证明作为一种 E3 泛素化连接酶与 STING 结合,并在赖氨酸 K63 位对 STING 泛素化修饰,从而促进 STING 二聚体化以及与 TBK1 结合^[40]。还有研究发现 TRIM32 也能够结合 STING,同样在 K63 位泛素化修饰 STING,STING 的 K150R 突变只减少部分 TRIM32 介导 STING 泛素化,需要另外 3 个位点突变来减少 STING 泛素化。

RNF26 在 STING 的 K150 氨基酸残基对利用赖氨酸 K11 位对其泛素化修饰^[41], 这表明 RNF26 对 STING 活化正向调控。另一方面, TBK1 已被证明在相同氨基酸残基磷酸化 STING, 进而调控 STING 下游信号传导^[38]。这表明 STING 活化受不同机制严格调控, 具体调控的分子机制仍需要进一步研究阐明。

2 cGAS/STING 通路抗细菌感染的功能及分子机制

先天免疫系统是机体抵抗病原微生物感染的重要“军警系统”, cGAS/STING 通路在宿主先天免疫过程中扮演重要角色, 传统意义上认为 cGAS/STING 与宿主抗病毒感染密切相关^[42-44]。近年来研究发现, 细菌 DNA、细菌脂多糖(LPS)和环二核苷酸(CDNs, 包括 c-di-AMP、c-di-GMP、2',2'-cGAMP 和 3',3'-cGAMP)也可以激活 cGAS/STING 通路^[45-47]。此外, 细胞外 CDN (eCDNs) 和细胞内 CDN (iCDNs) 也能激活 STING, 启动宿主先天免疫应答反应^[48]。然而, 不同细菌通过不同类型来活化 STING 介导的先天免疫反应。下面将从必需依赖 cGAS 型 STING 活化、非必需依赖 cGAS 型 STING 活化以及其他类型 STING 活化来阐述 cGAS/STING 通路 与细菌感染二者相互作用关系。

2.1 必需依赖 cGAS 型的 STING 通路活化

新凶手弗朗西斯菌(*Francisella novicida*)感染过程中 cGAS 和 IFN- γ 诱导蛋白 16 (IFI16) 协同识别细菌 DNA, 二者结合后激活 STING 通路依赖的 I 型干扰素反应来诱导细胞凋亡, 从而抑制细菌在胞内增殖^[49]; 对铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的研究发现, 铜绿假单胞菌在侵入宿主细胞后, 其基因组 DNA 可迅速被 cGAS 识别, 通过激活 STING 介导 I 型干扰素反应, 同时 STING 还能够增强 NO 合成酶

表达, 从而清除胞内入侵细菌^[50]; 此外, 最近的研究还发现, 鼠伤寒沙门菌(*Salmonella enterica* serovar Typhimurium)感染小鼠巨噬细胞中诱导强烈的 I 型干扰素反应, 进一步研究发现是细菌感染过程中通过触发线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 释放, 进而诱导小鼠巨噬细胞 cGAS-STING 通路活化^[9]。然而, 在这些细菌感染过程中是否还存在其他非必需依赖 cGAS 型 STING 通路活化尚不清楚。

2.2 非必需依赖 cGAS 型的 STING 通路活化

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)^[51]、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)^[52]感染过程中, 细菌本身的 DNA 能够首先被 cGAS 识别, 二者结合后识别外源 DNA 产生第二信使 2',3'-cGAMP 来介导 STING 活化; 另外, 这两种细菌还能够通过自身释放 c-di-AMP 来活化 STING 从而诱导下游干扰素通路激活^[53-54]。肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)基因组编码的肺溶菌素孔隙形成蛋白(Ply)在其诱导 β 干扰素(IFN- β)过程中发挥重要作用, Ply 通过引起巨噬细胞线粒体氧化损伤导致 mtDNA 胞质易位, 并能够以 cGAS/STING 依赖的方式触发 IFN- β 的表达^[55], 并且其细菌本身释放的 c-di-AMP 也能够活化 STING 从而诱导下游干扰素通路激活^[55]。流产布鲁菌(*Brucella abortus*)进入胞质后产生的 c-di-GMP 与 STING 结合, 触发下游信号级联反应^[56], 同时其自身的 DNA 也能够被 cGAS 识别, 二者结合后激活下游 STING 介导的抗菌反应^[57]。

2.3 其他类型的 STING 通路活化

STING 通路激活所介导 I 型干扰素上调被认为是化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*) 在巨噬细胞和树突状细胞中由 cGAS 感知胞质核酸后诱导的^[58], 链球菌可能利用 M 蛋白(一种毒力因子)通过激活 STING 介导的信号通路,

促进抗炎因子 IL-10 产生, 抑制炎症反应^[59], 目前对于其活化 STING 的确切机制仍不明晰。综上所述, 虽然对于化脓性链球菌感染过程中细菌 DNA 进入细胞质的具体机制及其激活 cGAS/STING 通路确切机制仍不明确, 但 cGAS/STING 通路在细菌感染后宿主对其识别和抑制感染过程中的关键作用已被证实。

3 细菌拮抗 cGAS/STING 通路的可能机制

对于病原微生物, 避免触发 cGAS/STING 途径的最常见和最有效的方法是将它们 DNA 从细胞质中隐藏起来或者通过某些特殊途径来阻断 cGAS/STING 通路激活。目前关于病原微生物拮抗 cGAS/STING 通路主要集中在病毒学领域研究, 病毒利用各种策略来抑制 cGAS/STING 通路活化来促进自身生存, 包括作用于 cGAMP^[60]、cGAS^[61]、STING^[62-63]、TBK1^[64-65]、IRF3^[64]等分子。近年来研究发现细菌也能够通过不同的可能机制来阻断或抑制 cGAS/STING 通路激活。

3.1 泛素-蛋白酶体途径

在干扰素诱导的众多具有抗菌功能的效应蛋白中, 鸟苷酸结合蛋白家族(GBPs)成员具有强大抗菌功能^[66-67]。GBP1/GBP2b 被认为可以破坏细菌的结构完整性, 释放配体刺激炎症小泡^[68-69], 并激活抗菌效应机制, 如释放吞噬氧化酶、抗菌肽和自噬效应因子, 介导细胞内细菌杀伤。

一些细菌感染可将 GBPs 家族蛋白作为靶点来抑制先天免疫应答反应。在对弗氏志贺菌(*Shigella flexnerii*)研究中发现, 效应蛋白 IpaH9.8 依赖于赖氨酸 48 位泛素链诱导 hGBP1 泛素化降解, 同时发现 IpaH9.8 还可以靶向细胞质中多个 GBPs 降解来促进细菌复制^[70-72]; 鼠疫耶尔森菌(*Yersinia pestis pneumoniae*)编码

E3 连接酶 YspE1 和 YspE2, YspE1 和 YspE2 通过 III 型分泌系统分泌到宿主细胞质中, 在胞质中同样通过泛素化-蛋白酶体途径降解 GBPs 从而逃避宿主免疫反应来促进细菌复制^[73], 而在 cGAS/STING 信号通路级联反应之前, GBPs 对细菌 DNA 的释放必不可少^[74], 因此弗氏志贺菌和鼠疫耶尔森菌均可以利用自身编码蛋白抑制 cGAS/STING 激活来促进自身复制。在对布鲁菌(*Brucella spp.*)的研究中也发现, 细菌外膜蛋白 Omp25 能够与 cGAS 发生互作, 利用泛素-蛋白酶体途径降解 cGAS 来抑制 IFN- β 的产生^[75]。

3.2 其他途径

B 型链球菌(group B streptococcus)可以表达二核苷酸磷酸二酯酶(CdnP), 它可以水解胞外细菌第二信使 c-di-AMP, CdnP 失活导致 c-di-AMP 在细菌外积累, 诱导机体产生 IFN- β , 而体内 IFN- β 水平升高会增强宿主对 GBS 杀伤。在 CdnP 缺失情况下观察到 IFN- β 过量产生是由于 cGAS 识别细菌的 c-di-AMP 从而引发下游信号级联反应^[76]。布鲁菌 IV 型分泌系统效应蛋白 RicA 与 STING 互作, 利用自噬溶酶体途径来降解 STING 来抑制 IFN- β 的产生^[77], 另外一种效应蛋白 BspB 与 TBK1 竞争性结合 IRF3, 减少 TBK1 和 IRF3 的结合来降低 IRF3 的磷酸化水平从而抑制 IFN- β 的产生^[77]。相信未来将会有越来越多针对细菌拮抗 cGAS/STING 通路的机制被发现。

4 小结与展望

从 2013 年发现 cGAS 以来, 宿主细胞免疫监视系统研究取得一系列重要进展, 证明了 cGAS-STING 信号通路在细菌感染中的重要作用。胞外和胞内细菌均可通过 PAMP 激活宿主细胞 cGAS/STING 信号通路, 包括细菌 DNA、CDNs 和 LPS, 如宿主线粒体和细胞核释放的胞

质 DNA。cGAS/STING 通路中主要分子结构信息揭示了它们调控机制、配体结合位点、三维构象变化、胞内定位以及在信号级联反应过程中的作用。

与之对应的是病原体也随着时间推移而进化,以调节或逃离宿主的先天免疫。目前虽然关于病原微生物感染宿主细胞后有关 cGAS 和 STING 功能研究较多,然而还有很多问题有待发现、探索和解决。例如,STING 能否介导先天免疫反应之外抗感染免疫过程,如不依赖 cGAS 或 TBK1 的外细胞代谢和细胞防御是如何精确协调来维持细胞内稳态的? cGAS/STING 在同一种细菌(病毒)引起的不同类型疾病中功能有无差异?笔者前期研究也发现,在猪细小病毒(PPV)感染过程中利用病毒自身表达的非结构蛋白 1(NS1)和宿主囊泡逆向运输(COP-I)关键分子 Cope 发生互作,调控 Cope 由胞质向胞核定位,而 Cope 参与调控 cGAS/STING 通路中 STING 分子的内质网-高尔基体运输, Cope 的易位导致 STING 的活化受阻,影响下游的 I 型干扰素的激活从而促进病毒自身复制^[78]。在类似病原微生物感染过程中 NS1 或者其他细菌(病毒)某种效应蛋白是影响 2',3'-cGAMP 和 STING 结合? 还是直接掠夺 STING 将其“雪藏”从而避免 cGAS/STING 活化及其相应机制还不清楚。

相信随着 CRISPR-Cas9 基因编辑技术、活细胞实时成像、冷冻电镜以及分子对接等技术不断发展和成熟,对于 STING 究竟是如何从内质网转移到高尔基体以及在此过程中 cGAS/STING 通路中发生某些微小变化的意义可能被揭示,在此基础上可能会有更多新型靶向 cGAS/STING 信号通路的广谱或者特异性小分子抑制剂问世。总之,更好地了解病原微生物和宿主之间的相互作用将更有利于人类更好、更有效对这些病原采取针对性防控。

参考文献

- [1] CARTY M, GUY C, BOWIE AG. Detection of viral infections by innate immunity[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2021, 183: 1143-16.
- [2] 张艳,董娇娇,李怡,窦永喜,翟军军. DNA 病毒与 cGAS-STING 通路相互作用的新进展[J]. *中国兽医学*, 2021, 51(10): 1316-1322.
ZHANG Y, DONG JJ, LI Y, DOU YX, ZHAI JJ. Research progress in the interaction between DNA virus and cGAS-STING signaling pathway[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2021, 51(10): 1316-1322 (in Chinese).
- [3] SUN LJ, WU JX, DU FH, CHEN X, CHEN ZJ. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 786-791.
- [4] WU JX, SUN LJ, CHEN X, DU FH, SHI HP, CHEN C, CHEN ZJ. Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 826-830.
- [5] ISHIKAWA H, BARBER GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling[J]. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678.
- [6] ZHONG B, YANG Y, LI S, WANG YY, LI Y, DIAO FC, LEI CQ, HE X, ZHANG L, PO TE, SHU HB. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation[J]. *Immunity*, 2008, 29(4): 538-550.
- [7] SUN WX, LI Y, CHEN L, CHEN HH, YOU FP, ZHOU X, ZHOU Y, ZHAI ZH, CHEN DY, JIANG ZF. ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(21): 8653-8658.
- [8] LIU NX, PANG XX, ZHANG H, JI P. The cGAS-STING pathway in bacterial infection and bacterial immunity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 814709.
- [9] XU L, LI MY, YANG YD, ZHANG C, XIE Z, TANG JJ, SHI ZK, CHEN SK, LI GZ, GU YC, WANG X, ZHANG FH, WANG Y, SHEN XH. *Salmonella* induces the cGAS-STING-dependent type I interferon response in murine macrophages by triggering mtDNA release[J]. *mBio*, 2022, 13(3): e0363221.
- [10] 陈柠,朱俊萍,何秋水. cGAS-STING 通路在细菌感染中的作用[J]. *微生物学免疫学进展*, 2018, 46(1): 49-55.
CHEN N, ZHU JP, HE QS. Progress on the role of cGAS-STING pathway in bacterial infections[J]. *Progress in Microbiology and Immunology*, 2018, 46(1): 49-55 (in Chinese).

- [11] GAO DX, WU JX, WU YT, DU FH, AROH C, YAN N, SUN LJ, CHEN ZJ. Cyclic GMP-AMP synthase is an innate immune sensor of HIV and other retroviruses[J]. *Science*, 2013, 341(6148): 903-906.
- [12] SHANG MD, LU K, GUAN WL, CAO SJ, REN MT, ZHOU CZ. 2',3'-cyclic GMP-AMP dinucleotides for STING-mediated immune modulation: principles, immunotherapeutic potential, and synthesis[J]. *ChemMedChem*, 2022, 17(2): e202100671.
- [13] ZHANG Q, CHEN C, XIA B, XU PL. Chemical regulation of the cGAS-STING pathway[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2022, 69: 102170.
- [14] GAO P, ASCANO M, WU Y, BARCHET W, GAFFNEY BL, ZILLINGER T, SERGANOV AA, LIU YZ, JONES RA, HARTMANN G, TUSCHL T, PATEL DJ. 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.
- [15] ZHANG XW, BAI XC, CHEN ZJ. Structures and mechanisms in the cGAS-STING innate immunity pathway[J]. *Immunity*, 2020, 53(1): 43-53.
- [16] DING CY, SONG ZL, SHEN AC, CHEN TT, ZHANG A. Small molecules targeting the innate immune cGAS-STING-TBK1 signaling pathway[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10(12): 2272-2298.
- [17] KRANZUSCH PJ. cGAS and CD-NTase enzymes: structure, mechanism, and evolution[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2019, 59: 178-187.
- [18] CIVRIL F, DEIMLING T, de OLIVEIRA MANN CC, ABLASSER A, MOLDT M, WITTE G, HORNUNG V, HOPFNER KP. Structural mechanism of cytosolic DNA sensing by cGAS[J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 332-337.
- [19] LI X, SHU C, YI GH, CHATON CT, SHELTON CL, DIAO JS, ZUO XB, KAO CC, HERR AB, LI PW. Cyclic GMP-AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization[J]. *Immunity*, 2013, 39(6): 1019-1031.
- [20] KATO K, ISHII R, GOTO E, ISHITANI R, TOKUNAGA F, NUREKI O. Structural and functional analyses of DNA-sensing and immune activation by human cGAS[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76983.
- [21] ZHANG X, WU JX, DU FH, XU H, SUN LJ, CHEN Z, BRAUTIGAM CA, ZHANG XW, CHEN ZJ. The cytosolic DNA sensor cGAS forms an oligomeric complex with DNA and undergoes switch-like conformational changes in the activation loop[J]. *Cell Reports*, 2014, 6(3): 421-430.
- [22] MANKAN AK, SCHMIDT T, CHAUHAN D, GOLDECK M, HÖNING K, GAIDT M, KUBARENKO AV, ANDREEVA L, HOPFNER KP, HORNUNG V. Cytosolic RNA: DNA hybrids activate the cGAS-STING axis[J]. *The EMBO Journal*, 2014, 33(24): 2937-2946.
- [23] HALL J, RALPH EC, SHANKER S, WANG H, BYRNES LJ, HORST R, WONG J, BRAULT A, DUMLAO D, SMITH JF, DAKIN LA, SCHMITT DC, TRUJILLO J, VINCENT F, GRIFFOR M, AULABAUGH AE. The catalytic mechanism of cyclic GMP-AMP synthase (cGAS) and implications for innate immunity and inhibition[J]. *Protein Science: a Publication of the Protein Society*, 2017, 26(12): 2367-2380.
- [24] HERTZOG J, REHWINKEL J. Regulation and inhibition of the DNA sensor cGAS[J]. *EMBO Reports*, 2020, 21(12): e51345.
- [25] SHI HP, WU JX, CHEN ZJ, CHEN C. Molecular basis for the specific recognition of the metazoan cyclic GMP-AMP by the innate immune adaptor protein STING[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(29): 8947-8952.
- [26] ANDREEVA L, HILLER B, KOSTREWA D, LÄSSIG C, de OLIVEIRA MANN CC, JAN DREXLER D, MAISER A, GAIDT M, LEONHARDT H, HORNUNG V, HOPFNER KP. cGAS senses long and HMGB/TFAM-bound U-turn DNA by forming protein-DNA ladders[J]. *Nature*, 2017, 549(7672): 394-398.
- [27] HERZNER AM, HAGMANN CA, GOLDECK M, WOLTER S, KÜBLER K, WITTMANN S, GRAMBERG T, ANDREEVA L, HOPFNER KP, MERTENS C, ZILLINGER T, JIN TC, XIAO TS, BARTOK E, COCH C, ACKERMANN D, HORNUNG V, LUDWIG J, BARCHET W, HARTMANN G, et al. Sequence-specific activation of the DNA sensor cGAS by Y-form DNA structures as found in primary HIV-1 cDNA[J]. *Nature Immunology*, 2015, 16(10): 1025-1033.
- [28] ZHOU W, WHITELEY AT, de OLIVEIRA MANN CC, MOREHOUSE BR, NOWAK RP, FISCHER ES, GRAY NS, MEKALANOS JJ, KRANZUSCH PJ. Structure of the human cGAS-DNA complex reveals enhanced control of immune surveillance[J]. *Cell*, 2018, 174(2): 300-311.e11.
- [29] 周萍萍, 王涛, 孙元, 仇华吉. cGAS-STING 信号通路: 免疫监视的重要机制[J]. *微生物学报*, 2021, 61(7): 1882-1895.
- ZHOU PP, WANG T, SUN Y, QIU HJ. cGAS-STING signaling pathway: important mechanisms of immune surveillance[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(7): 1882-1895 (in Chinese).

- [30] SEO GJ, YANG A, TAN B, KIM S, LIANG QM, CHOI Y, YUAN WM, FENG PH, PARK HS, JUNG JU. Akt kinase-mediated checkpoint of cGAS DNA sensing pathway[J]. *Cell Reports*, 2015, 13(2): 440-449.
- [31] XIA PY, YE BQ, WANG S, ZHU XX, DU Y, XIONG Z, TIAN Y, FAN ZS. Glutamylation of the DNA sensor cGAS regulates its binding and synthase activity in antiviral immunity[J]. *Nature Immunology*, 2016, 17(4): 369-378.
- [32] 马瑞仙, 李向茸, 冯若飞. STING 的免疫调控作用研究进展[J]. *中国预防兽医学报*, 2019, 41(12): 1285-1288. MA RX, LI XR, FENG RF. Progress in research on immune regulation of STING[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2019, 41(12): 1285-1288 (in Chinese).
- [33] SHANG GJ, ZHU DY, LI N, ZHANG JB, ZHU CY, LU DF, LIU CL, YU Q, ZHAO YY, XU SJ, GU LC. Crystal structures of STING protein reveal basis for recognition of cyclic di-GMP[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, 19(7): 725-727.
- [34] SHANG GJ, ZHANG CG, CHEN ZJ, BAI XC, ZHANG XW. Cryo-EM structures of STING reveal its mechanism of activation by cyclic GMP-AMP[J]. *Nature*, 2019, 567(7748): 389-393.
- [35] GAO P, ASCANO M, ZILLINGER T, WANG WY, DAI PH, SERGANOV AA, GAFFNEY BL, SHUMAN S, JONES RA, DENG L, HARTMANN G, BARCHET W, TUSCHL T, PATEL DJ. Structure-function analysis of STING activation by c[G(2',5')pA(3',5')p] and targeting by antiviral DMXAA[J]. *Cell*, 2013, 154(4): 748-762.
- [36] ISHIKAWA H, MA Z, BARBER GN. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity[J]. *Nature*, 2009, 461(7265): 788-792.
- [37] SAITOH T, FUJITA N, HAYASHI T, TAKAHARA K, SATOH T, LEE HN, MATSUNAGA K, KAGEYAMA S, OMORI H, NODA T, YAMAMOTO N, KAWAI T, ISHII K, TAKEUCHI O, YOSHIMORI T, AKIRA S. Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(49): 20842-20846.
- [38] LIU SQ, CAI X, WU JX, CONG Q, CHEN X, LI T, DU FH, REN JY, WU YT, GRISHIN NV, CHEN ZJ. Phosphorylation of innate immune adaptor proteins MAVS, STING, and TRIF induces IRF3 activation[J]. *Science*, 2015, 347(6227): aaa2630.
- [39] ABE T, HARASHIMA A, XIA TL, KONNO H, KONNO K, MORALES A, AHN J, GUTMAN D, BARBER GN. STING recognition of cytoplasmic DNA instigates cellular defense[J]. *Molecular Cell*, 2013, 50(1): 5-15.
- [40] TSUCHIDA T, ZOU J, SAITOH T, KUMAR H, ABE T, MATSUURA Y, KAWAI T, AKIRA S. The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA[J]. *Immunity*, 2010, 33(5): 765-776.
- [41] ZHONG B, ZHANG L, LEI CQ, LI Y, MAO AP, YANG Y, WANG YY, ZHANG XL, SHU HB. The ubiquitin ligase RNF5 regulates antiviral responses by mediating degradation of the adaptor protein MITA[J]. *Immunity*, 2009, 30(3): 397-407.
- [42] MA Z, DAMANIA B. The cGAS-STING defense pathway and its counteraction by viruses[J]. *Cell Host & Microbe*, 2016, 19(2): 150-158.
- [43] XIAO TS, FITZGERALD KA. The cGAS-STING pathway for DNA sensing[J]. *Molecular Cell*, 2013, 51(2): 135-139.
- [44] ZEVINI A, OLAGNIER D, HISCOTT J. Crosstalk between cytoplasmic RIG-I and STING sensing pathways[J]. *Trends in Immunology*, 2017, 38(3): 194-205.
- [45] ELMANFI S, YILMAZ M, ONG WWS, YEBOAH KS, SINTIM HO, GÜRISOY M, KÖNÖNEN E, GÜRISOY UK. Bacterial cyclic dinucleotides and the cGAS-cGAMP-STING pathway: a role in periodontitis?[J]. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 2021, 10(6): 675.
- [46] JENAL U, REINDERS A, LORI C. Cyclic di-GMP: second messenger extraordinaire[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(5): 271-284.
- [47] WOODWARD JJ, IAVARONE AT, PORTNOY DA. C-di-AMP secreted by intracellular *Listeria monocytogenes* activates a host type I interferon response[J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1703-1705.
- [48] LIU HP, MOURA-ALVES P, PEI G, MOLLENKOPF HJ, HURWITZ R, WU XY, WANG F, LIU SY, MA MT, FEI YY, ZHU CG, KOEHLER AB, OBERBECK- MUELLER D, HAHNKE K, KLEMM M, GUHLICH-BORNHOF U, GE BX, TUUKKANEN A, KOLBE M, DORHOI A, et al. cGAS facilitates sensing of extracellular cyclic dinucleotides to activate innate immunity[J]. *EMBO Reports*, 2019, 20(4): e46293.
- [49] ALMINE JF, O'HARE CAJ, DUNPHY G, HAGA IR, NAIK RJ, ATRIH A, CONNOLLY DJ, TAYLOR J, KELSALL IR, BOWIE AG, BEARD PM, UNTERHOLZNER L. IFI16 and cGAS cooperate in the activation of STING during DNA sensing in human keratinocytes[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14392.

- [50] ZHOU CM, WANG B, WU Q, LIN P, QIN SG, PU QQ, YU XJ, WU M. Identification of cGAS as an innate immune sensor of extracellular bacterium *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *iScience*, 2021, 24(1): 101928.
- [51] HANSEN K, PRABAKARAN T, LAUSTSEN A, JØRGENSEN SE, RAHBÆK SH, JENSEN SB, NIELSEN R, LEBER JH, DECKER T, HORAN KA, JAKOBSEN MR, PALUDAN SR. *Listeria monocytogenes* induces IFN β expression through an IFI16-, cGAS- and STING-dependent pathway[J]. *The EMBO Journal*, 2014, 33(15): 1654-1666.
- [52] SCUMPIA PO, BOTTEN GA, NORMAN JS, KELLY-SCUMPIA KM, SPREAFICO R, RUCCIA AR, PURBEY PK, THOMAS BJ, MODLIN RL, SMALE ST. Opposing roles of Toll-like receptor and cytosolic DNA-STING signaling pathways for *Staphylococcus aureus* cutaneous host defense[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(7): e1006496.
- [53] GRIES CM, BRUGER EL, MOORMEIER DE, SCHERR TD, WATERS CM, KIELIAN T. Cyclic di-AMP released from *Staphylococcus aureus* biofilm induces a macrophage type I interferon response[J]. *Infection and Immunity*, 2016, 84(12): 3564-3574.
- [54] LOUIE A, BHANDULA V, PORTNOY DA. Secretion of c-di-AMP by *Listeria monocytogenes* leads to a STING-dependent antibacterial response during enterocolitis[J]. *Infection and Immunity*, 2020, 88(12): e00407-e00420.
- [55] HU XX, PENG XQ, LU C, ZHANG XM, GAN LL, GAO Y, YANG SH, XU WC, WANG J, YIN YB, WANG H. Type I IFN expression is stimulated by cytosolic MtDNA released from pneumolysin-damaged mitochondria via the STING signaling pathway in macrophages[J]. *The FEBS Journal*, 2019, 286(23): 4754-4768.
- [56] COSTA FRANCO MM, MARIM F, GUIMARÃES ES, ASSIS NRG, CERQUEIRA DM, ALVES-SILVA J, HARMS J, SPLITTER G, SMITH J, KANNEGANTI TD, de QUEIROZ NMGP, GUTMAN D, BARBER GN, OLIVEIRA SC. *Brucella abortus* triggers a cGAS-independent STING pathway to induce host protection that involves guanylate-binding proteins and inflammasome activation[J]. *Journal of Immunology (Baltimore, Md: 1950)*, 2018, 200(2): 607-622.
- [57] de FIGUEIREDO P, FICHT TA, RICE-FICHT A, ROSSETTI CA, ADAMS LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*-host interactions[J]. *The American Journal of Pathology*, 2015, 185(6): 1505-1517.
- [58] GRATZ N, HARTWEGER H, MATT U, KRATOCHVILL F, JANOS M, SIGEL S, DROBITS B, LI XD, KNAPP S, KOVARIK P. Type I interferon production induced by *Streptococcus pyogenes*-derived nucleic acids is required for host protection[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(5): e1001345.
- [59] MOVERT E, LIENARD J, VALFRIDSSON C, NORDSTRÖM T, JOHANSSON-LINDBOM B, CARLSSON F. Streptococcal M protein promotes IL-10 production by cGAS-independent activation of the STING signaling pathway[J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(3): e1006969.
- [60] DODANTENNA N, RANATHUNGA L, CHATHURANGA WAG, WEERAWARDHANA A, CHA JW, SUBASINGHE A, GAMAGE N, HALUWANA DK, KIM Y, JHEONG W, POO H, LEE JS. African swine fever virus EP364R and C129R target cyclic GMP-AMP to inhibit the cGAS-STING signaling pathway[J]. *Journal of Virology*, 2022, 96(15): e0102222.
- [61] WANG ZY, CHEN J, WU XC, MA D, ZHANG XH, LI RZ, HAN C, LIU HX, YIN XR, DU Q, TONG DW, HUANG Y. PCV2 targets cGAS to inhibit type I interferon induction to promote other DNA virus infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(9): e1009940.
- [62] KONG ZJ, YIN HY, WANG F, LIU Z, LUAN XH, SUN L, LIU WJ, SHANG YL. Pseudorabies virus tegument protein UL13 recruits RNF5 to inhibit STING-mediated antiviral immunity[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(5): e1010544.
- [63] ZHENG WL, XIA NW, ZHANG JJ, CAO Q, JIANG S, LUO J, WANG H, CHEN NH, ZHANG Q, MEURENS F, ZHU JZ. African swine fever virus structural protein p17 inhibits cGAS-STING signaling pathway through interacting with STING[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 941579.
- [64] CUI S, WANG Y, GAO XT, XIN T, WANG XX, YU HN, CHEN SY, JIANG YJ, CHEN Q, JIANG F, WANG DY, GUO XY, JIA H, ZHU HF. African swine fever virus M1249L protein antagonizes type I interferon production via suppressing phosphorylation of TBK1 and degrading IRF3[J]. *Virus Research*, 2022, 319: 198872.
- [65] SUN MW, YU SX, GE HL, WANG T, LI YF, ZHOU PP, PAN L, HAN Y, YANG YY, SUN Y, LI S, LI LF, QIU HJ. The A137R protein of African swine fever virus inhibits type I interferon production via the autophagy-mediated lysosomal degradation of TBK1[J]. *Journal of Virology*, 2022, 96(9): e0195721.
- [66] KIM BH, SHENOY AR, KUMAR P, BRADFIELD CJ,

- MacMICKING JD. IFN-inducible GTPases in host cell defense[J]. *Cell Host & Microbe*, 2012, 12(4): 432-444.
- [67] MAN SM, PLACE DE, KURIAKOSE T, KANNEGANTI TD. Interferon-inducible guanylate-binding proteins at the interface of cell-autonomous immunity and inflammasome activation[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2017, 101(1): 143-150.
- [68] FENG SY, MAN SM. Captain GBP1: inflammasomes assemble, pyroptotic endgame[J]. *Nature Immunology*, 2020, 21(8): 829-830.
- [69] WANDEL MP, KIM BH, PARK ES, BOYLE KB, NAYAK K, LAGRANGE B, HEROD A, HENRY T, ZILBAUER M, ROHDE J, MacMICKING JD, RANDOW F. Guanylate-binding proteins convert cytosolic bacteria into caspase-4 signaling platforms[J]. *Nature Immunology*, 2020, 21(8): 880-891.
- [70] JI CG, DU S, LI P, ZHU QY, YANG XK, LONG CH, YU J, SHAO F, XIAO JY. Structural mechanism for guanylate-binding proteins (GBPs) targeting by the *Shigella* E3 ligase IpaH9.8[J]. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(6): e1007876.
- [71] LI P, JIANG W, YU Q, LIU W, ZHOU P, LI J, XU JJ, XU B, WANG FC, SHAO F. Ubiquitination and degradation of GBPs by a *Shigella* effector to suppress host defence[J]. *Nature*, 2017, 551(7680): 378-383.
- [72] WANDEL MP, PATHE C, WERNER EI, ELLISON CJ, BOYLE KB, von der MALSBERG A, ROHDE J, RANDOW F. GBPs inhibit motility of *Shigella flexneri* but are targeted for degradation by the bacterial ubiquitin ligase IpaH9.8[J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 22(4): 507-518.e5.
- [73] CAO SY, JIAO Y, JIANG W, WU YR, QIN S, REN YF, YOU Y, TAN YF, GUO X, CHEN HY, ZHANG Y, WU GS, WANG T, ZHOU YZ, SONG YJ, CUI YJ, SHAO F, YANG RF, DU ZM. Subversion of GBP-mediated host defense by E3 ligases acquired during *Yersinia pestis* evolution[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 4526.
- [74] LIU BC, SARHAN J, PANDA A, MUENDLEIN HI, ILYUKHA V, COERS J, YAMAMOTO M, ISBERG RR, POLTORAK A. Constitutive interferon maintains GBP expression required for release of bacterial components upstream of pyroptosis and anti-DNA responses[J]. *Cell Reports*, 2018, 24(1): 155-168.e5.
- [75] LI RZ, LIU WL, YIN XR, ZHENG FF, WANG ZY, WU XC, ZHANG XH, DU Q, HUANG Y, TONG DW. *Brucella* spp. Omp25 promotes proteasome-mediated cGAS degradation to attenuate IFN- β production[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 702881.
- [76] ANDRADE WA, FIRON A, SCHMIDT T, HORNUNG V, FITZGERALD KA, KURT-JONES EA, TRIEU-CUOT P, GOLENBOCK DT, KAMINSKI PA. Group B *Streptococcus* degrades cyclic-di-AMP to modulate STING-dependent type I interferon production[J]. *Cell Host & Microbe*, 2016, 20(1): 49-59.
- [77] 李瑞珍. 布鲁氏菌 Omp25、RicA 和 BspB 抑制 cGAS-STING 通路活化的分子机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2022.
- LI RZ. Molecular mechanism inhibited the activation of cGas-STING pathway by *Brucella* Omp25, RicA and BspB[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2022 (in Chinese).
- [78] CHEN SB, CHEN NN, MIAO BC, PENG J, ZHANG XZ, CHEN CY, ZHANG XJ, CHANG LL, DU Q, HUANG Y, TONG DW. Coatomer protein COPE, a novel NS1-interacting protein, promotes the replication of porcine parvovirus via attenuation of the production of type I interferon[J]. *Veterinary Microbiology*, 2021, 261: 109188.