



环鸟苷酸-腺苷酸合酶 (cGAS) 的经典和非经典功能*

郑雯仙 熊梦婕 贾舒婷** 周若宇**

(昆明理工大学基础医学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500)

摘要 环鸟苷酸-腺苷酸合酶 (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS) 作为天然免疫领域的关键分子, 近年来已成为基础免疫学与肿瘤生物学交叉研究的热点。作为一种胞质核酸感受器, cGAS 最主要的特征在于能够识别细胞质中出现的双链 DNA (double-stranded DNA, dsDNA)。并且这种识别机制不区分 DNA 的来源, 既能识别外源入侵的病原微生物 DNA, 在机体抵御病原体感染中发挥着核心作用, 也能识别因各种应激事件从细胞核或线粒体泄漏至胞质的自体 DNA。但 cGAS 对自体 dsDNA 的识别会导致细胞稳态破坏, 引发异常炎症反应, 进而诱发或加重系统性红斑狼疮、Aicardi-Goutières 综合征等自身免疫性疾病。值得注意的是, cGAS 的亚细胞定位并非一成不变。近年来, 越来越多的研究发现, cGAS 同样大量存在于细胞核内, 颠覆了其仅作为胞质核酸感受器的传统认知。并且, 在核内, cGAS 展现出与经典免疫功能迥异的“非经典”作用。首先, cGAS 在核内处于一种严格的免疫沉默状态。组蛋白对 cGAS 的竞争性结合及 cGAS 的蛋白质修饰等均阻断了其酶活性的激活, 从而有效防止其对基因组 DNA 产生自身免疫攻击。其次, cGAS 在维持基因组稳定性方面扮演了重要角色。当 DNA 发生损伤时, cGAS 能够被迅速招募至损伤位点, 参与 DNA 损伤修复过程。此外, 在 DNA 复制压力下, cGAS 还参与稳定复制叉的结构, 防止细胞进入不稳定的超复制状态。因此, 鉴于 cGAS 在免疫调节和肿瘤发生发展中的双重作用, 靶向 cGAS 的小分子药物开发正展现出广阔的应用前景。本文综述了 cGAS 结构, 以及其在细胞质中作为模式识别受体的经典功能: 所识别的病原体种类、对自体 DNA 误触导致的自身免疫应答。同时聚焦其核内非经典功能: 核质穿梭、核内免疫静默机制、介导 DNA 损伤修复与复制叉稳定的作用机理。并总结了 cGAS 作为自身免疫性疾病和肿瘤治疗靶点的小分子药物和应用前景。

关键词 环鸟苷酸-腺苷酸合酶, 天然免疫, 亚细胞定位, DNA 损伤修复, 衰老

中图分类号 Q71

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0567

CSTR: 32369.14.pibb.20250567

人体依靠免疫系统对抗外界各种病原体的感染。1989 年免疫学界提出了“模式识别受体” (pattern recognition receptors, PRRs) 的概念, 奠定了天然免疫识别的基础^[1]。PRRs 可以识别外源病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和内源损伤相关分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMPs), 进而启动免疫应答以对抗感染。其中 PAMPs 主要包括病原体中特有的保守成分, 如细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、细菌细胞壁蛋白等。在哺乳动物中, Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 是识别 LPS 的经典模式识别受体。LPS 激活 TLR4 之前, 需要 LPS 结合蛋白与 CD 即分化簇 14 (cluster of differentiation 14, CD14) 协同, 将 LPS 转移到 TLR4/髓样分化因子 2 (myeloid differentiation factor 2, MD-2) 复合体上, 诱导

TLR4 的二聚化, 进而激活下游髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response 88, MyD88) 依赖性和含 TIR 结构域的诱导 IFN- β 的接头蛋白 (TIR domain-containing adaptor inducing IFN- β , TRIF) 依赖性信号通路^[2-4]。DAMPs 则通常为细胞内源性免疫刺激分子, 如核酸、蛋白质、代谢产物等。长期以来, 由于核酸在不同物种中组成的相似性, 其一度被视为“免疫惰性”物质。然而, 随着研究进展, 核酸的免疫原性逐渐被揭示, 一系列特异性识别核酸的 PRRs 也相继被发现, 如 TLR3 能够识别病毒中的双链 RNA (double

* 云南省科技厅基础研究专项 (202401AT070312) 资助。

** 通讯联系人。

贾舒婷 Tel: 0871-65920753, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

周若宇 Tel: 0871-65920753, E-mail: ruoyuzhou@kust.edu.cn

收稿日期: 2025-12-25, 接受日期: 2026-03-23

stranded RNA, dsRNA)^[5], TLR7 偏好性识别富含鸟苷和尿苷的单链 RNA (single stranded RNA, ssRNA)^[6], TLR8 主要识别富含腺苷和尿苷的 ssRNA, 而 TLR9 能够识别微生物中含有未甲基化胞嘧啶磷酸鸟苷 (CpG) 基序的 DNA 等^[7]。在识别到相应的配体后, TLR7、TLR8 和 TLR9 可以通过募集 MyD88 接头分子激活下游核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路^[8]。

2013 年陈志坚团队^[9]发现环鸟苷酸-腺苷酸合酶 (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)。该酶在胞质中与 dsDNA 结合后活化, 催化生成第二信使环状 GMP-AMP (cyclic GMP-AMP, cGAMP), 激活干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING), 后者使 TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 磷酸化激活, 磷酸化 TBK1 进一步诱导干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 二聚化并驱动 I 型干扰素 (interferon, IFN) 的产生^[9]。这是一种新的识别核酸的 PRR, 其识别机制与上述 TLR 家族成员存在显著差异: cGAS 对于核酸的识别并不依赖于 DNA 的序列和种属, 而是一种识别范围非常广泛的胞质核酸感受器^[9-10]。此后, 针对 cGAS 介导天然免疫应答的研究如雨后春笋般涌现, 学者们相继发现 cGAS 在行使其胞质核酸侦察职能时, 对胞质中的病原体核酸和“误入细胞质”的自身核酸都会进行识别, 这种无差别的识别能力使其在自身免疫性疾病和无菌性炎症中扮演关键角色, 成为了这些疾病潜在治疗靶点^[11-12]。

此外, 越来越多的研究还揭示了 cGAS 具有独立于 STING 的非经典功能。如, 当细胞核内基因组发生损伤时, 作为胞质核酸感受器的 cGAS 可从胞质中位移至细胞核, 定位至 DNA 双链断裂 (DNA double-strand break, DSB) 处, 提示其功能并不局限于天然免疫应答^[13]; 进一步研究表明, 入核的 cGAS 能在损伤位点与染色质结合并促进其凝聚, 阻止修复蛋白向损伤位点募集, 阻碍 DNA 修复^[14]。本文将系统性地梳理 cGAS 的结构, cGAS 的经典与非经典功能, 并对其“对自体的失误应答”的预防措施和核内免疫静默机制进行总结, 旨在为相关研究提供参考。

1 cGAS 的结构

蛋白质的结构决定其功能。cGAS 蛋白由 522 个氨基酸构成, 分为 3 个结构域: N 端、核苷酸转

移酶 (nucleotidyltransferase, NTase) 核心结构域、Mab21 结构域, 后两者共同构成了高度保守的 C 端^[15] (图 1a)。

cGAS N 端 (1~160 氨基酸序列) 的保守性较差, 带有正电荷, 提供了与 dsDNA 结合的结构基础。值得注意的是, N 端并不是与 dsDNA 结合后激活天然免疫应答的核心位点, 但该区域与 dsDNA 结合后, 能够从多方面影响 cGAS 与 dsDNA 的相互作用, 从而提高 cGAS 的酶活性及其下游由 STING/IRF3 介导的信号转导效率^[16], 因此 N 端对调控 cGAS 的酶活性具有重要功能。如, 带正电荷的 N 端可以通过增加与 DNA 结合的位点, 促进 cGAS-DNA 的液-液相分离 (liquid-liquid phase separation, LLPS)^[17-19], 为二者的相互作用提供了更有利的微环境。N 端还含有多个可被磷酸化的氨基酸位点, 这些位点在有丝分裂期间被磷酸化, 可导致 cGAS 在有丝分裂期入核后的酶活性降低^[20], 这一机制有助于防止核内 cGAS 引发自身免疫反应, 进一步体现了 N 端结构域在调节 cGAS 酶活性中的重要性 (图 1b)。

cGAS 的 C 端 (160~513 氨基酸序列) 在不同物种中高度保守, 序列通过折叠形成类似于贝壳的双叶结构, 包含 NTase 核心结构域 (160~330) 和 Mab21 结构域 (213~513)^[21]。cGAS 与 dsDNA 结合的 3 个核心位点 (A、B、C) 均在结构保守的 C 端中^[18, 22]。双叶之间由一个深裂隙分隔开。叶 1 由位于外侧的两个长 α 螺旋 (α A 和 α B) 以及面向内部裂隙的两个 β 片层 (β 1~ β 9) 构成, 叶 2 主要由 4 个 α 螺旋构成, 两叶通过 α A 螺旋、两个接头的 α 螺旋 (α C、 α D) 和 1 个连接 α A 和 β 1 的活性环 (210~220 氨基酸残基) 连接在一起^[23]。cGAS 催化形成 cGAMP 的经典酶活性与此结构密切相关。cGAS 与 dsDNA 结合主要依靠由 α A、 α C、 α D 和活性环形成的表面, 在平台的一端 (位于叶 2 处) 有一个突起的锌带结构域 (zinc ribbon), 能够促进 cGAS 与 dsDNA 之间的相互作用^[21]。当 cGAS 与 dsDNA 结合后, cGAS 三维构象发生改变——结合 dsDNA 的平台略微突起, 导致两叶之间的裂隙发生闭合, 使活性环重新定位, 暴露第 384 位赖氨酸, 促进 cGAS 与 dsDNA 进一步结合^[24]。重新定位的活性环可在裂隙中催化 cGAMP 的产生, 该过程分为两步: 第一步发生在 GMP 的 2'-羟基与 AMP 的 5'-磷酸之间, 形成 2',5'-磷酸二酯键, 第二步发生在 GMP 的 5'-磷酸与 AMP 的 3'-羟基之间, 形成

3',5'-磷酸二酯键, 最终生成 2',3'-cGAMP 异构体, 2',3'-cGAMP 作为第二信使进一步结合并激活位于内质网上的接头蛋白 STING, 继而启动下游天然免疫应答^[22, 25]。不同于其他核酸感受器对所识别的核酸有严苛的要求^[26], cGAS 对 dsDNA 的识别和结合并不依赖于其序列的特异性, 而主要取决于 dsDNA 的长度^[27], 与短 DNA 相比, 长 DNA (>45 bp) 更能触发人源 cGAS 的酶活性^[27]。

另外, C 端中的 Mab21 结构域 (213~513 氨基

酸序列) 亦具有重要功能。缺乏 382~513 氨基酸片段, 会导致 cGAS 无法激活 IRF3, 丧失诱导 IFN- β 的能力^[9]。Mab21 结构域中包含一个锌带结构域 (390~404), 能够结合 Zn^{2+} ^[21]。体外实验发现, 锌离子能显著增强 cGAS 的催化活性及 dsDNA-cGAS 的 LLPS^[17]。若缺失该锌带结构域, 会使 cGAS 与 dsDNA 的结合水平降低, 进而抑制 cGAMP 合成^[15], 表明 Mab21 结构域对 cGAS 酶活性的维持同样至关重要 (图 1c)。

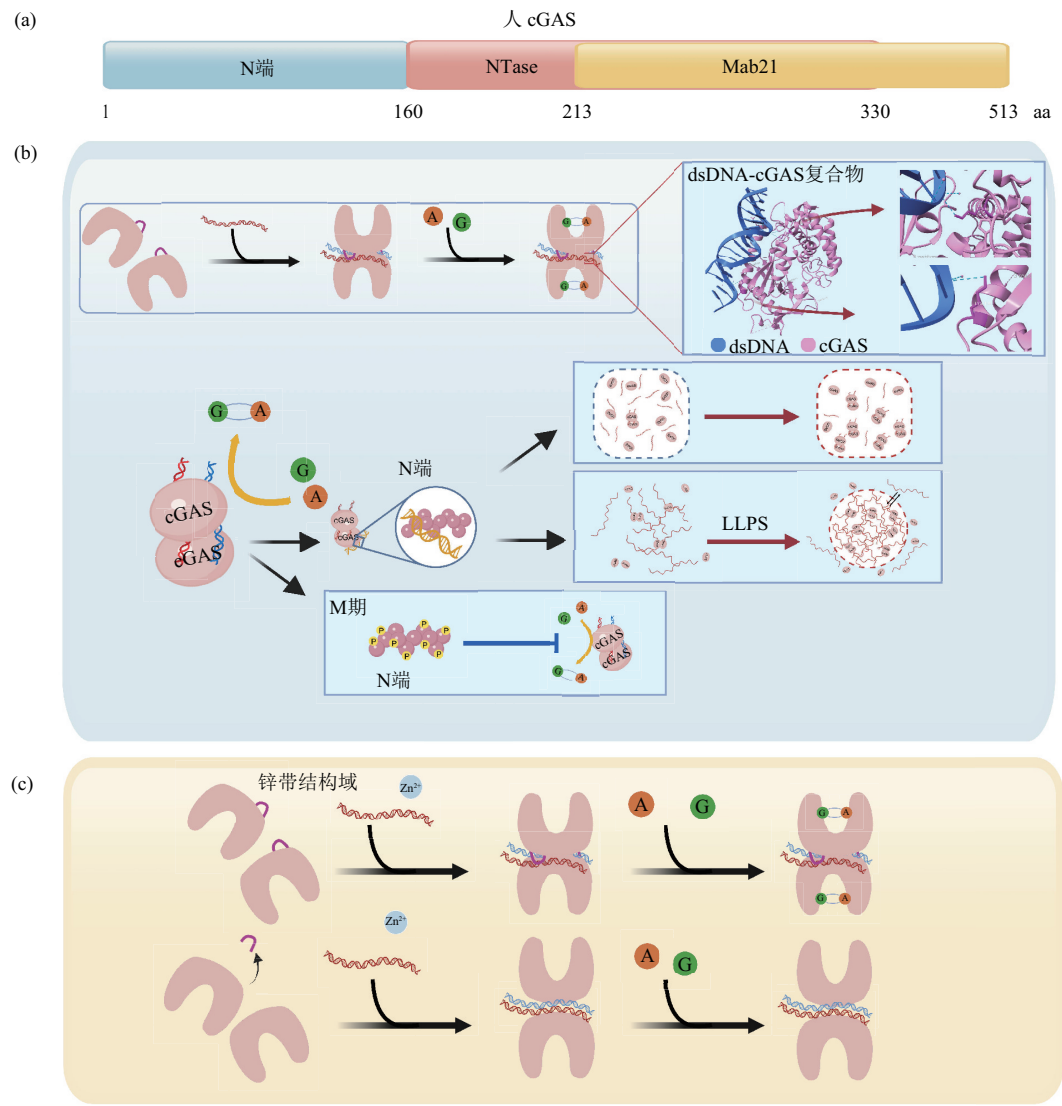


Fig. 1 The catalytic function of cGAS

图1 cGAS的催化功能

(a) cGAS的线性结构, 由N端、NTase核心结构域、Mab21结构域构成。(b) N端对cGAS酶活性的调节。N端与dsDNA结合后促进cGAS与dsDNA的亲和力, 增强cGAS-dsDNA之间的LLPS; 在M期, N端被磷酸化, 抑制cGAS的催化活性。图中右上方为cGAS-dsDNA复合物的晶体结构, 展示了双链DNA (蓝色) 与人cGAS蛋白 (粉色) 的结合模式。图像基于PDB数据库中的6CT9号结构^[28]并使用ChimeraX软件渲染生成^[29]。(c) 锌带结构域 (zinc ribbon) 缺失, 降低cGAS与dsDNA的结合和cGAMP的产生。NTase: 核苷酸转移酶 (nucleotidyltransferase); Mab21结构域: 雄性异常蛋白21结构域 (male abnormal 21 domain); dsDNA: 双链DNA (double stranded DNA); cGAS: 环GMP-AMP合酶 (cyclic GMP-AMP synthase); A (ATP): 腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate); G (GTP): 鸟苷三磷酸 (guanosine triphosphate); A-G (cGAMP): 环状GMP-AMP (cyclic GMP-AMP); LLPS: 液-液相分离 (liquid-liquid phase separation); Zn^{2+} : 二价锌离子; P: 磷酸化 (phosphorylation); M期: 有丝分裂期 (mitotic phase)。

2 cGAS在细胞质中介导天然免疫应答

2.1 cGAS对不同病原体的免疫应答

胞质核酸通常被视为危险信号。当cGAS识别胞质中的dsDNA后,会催化生成cGAMP,第二信使cGAMP与STING结合促使STING由内质网转移到高尔基体,进而激活TBK1, TBK1使下游IRF3磷酸化并形成二聚体入核,最终启动I型干扰素的转录和分泌。此外,活化的STING还能通过TBK1或I κ B激酶 ϵ (IKK ϵ)促进NF- κ B的磷酸化和激活^[30-32],诱导一系列细胞因子的产生。

不同病毒激活cGAS-STING通路的方式各异。如,疱疹病毒、痘病毒等包膜病毒,可以通过膜融合或细胞内吞作用将dsDNA释放到宿主的细胞质当中,从而被cGAS识别并诱导I型干扰素表达^[33]。同时,在病毒感染期间,USP1相关因子1(UAF1)-泛素特异性肽酶1(USP1)(USP1-associated factor 1(UAF1)-ubiquitin specific peptidase 1(USP1), UAF1-USP1)去泛素酶复合体与cGAS相互作用,通过抑制cGAS K48位点的泛素化,稳定cGAS蛋白,进而增强抗病毒反应^[34]。此外,某些病毒也会绕过cGAS,直接作用于STING来激活下游天然免疫应答。如甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)通过膜融合的方式进入细胞时,膜融合的过程会直接激活STING来激活下游I型干扰素^[35-36]。部分RNA病毒的衍生物也同样能够激活cGAS-STING途径^[37],如严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染会诱导宿主细胞产生微核,cGAS能识别微核并被募集到其中,最终激活天然免疫应答^[38-41],逆转录病毒人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染宿主后,通过逆转录合成的cDNA同样能够激活cGAS-STING通路^[42]。但随着研究的进展,病毒针对cGAS-STING通路的逃逸机制也越来越多地被发现。如结节性皮肤病病毒(lumpy skin disease virus, LSDV)在感染宿主细胞后,其编码的ORF142蛋白通过与STING相互作用,促进STING的自噬降解,达到逃逸免疫监控的目的^[43],HIV进入宿主细胞后,逆转录形成的cDNA与组蛋白组装,将病毒DNA整合进宿主基因组中进而伪装成与宿主染色质相似的结构,导致cGAS被栓系(或局限)在染色质上,抑制cGAS二聚化进而阻碍天然免疫的

发生^[44-45](图S1左)。伪狂犬病病毒(pseudorabies virus, PRV)所编码的包膜蛋白VP22能够诱导DDX21由细胞核转移到细胞质并与cGAS相互作用,抑制cGAS的二聚化从而实现天然免疫逃逸^[46]。SARS-CoV-2通过NSP6触发的内质网应激诱导自噬来降解STING,逃避天然免疫的监视和杀伤^[47]。有趣的是,不仅病毒会针对cGAS-STING通路发生逃逸,甚至被病毒感染的宿主也会帮助病毒逃逸这条通路的监视,近期研究发现,小鼠锌指蛋白593(zinc finger protein 593, ZNF593)能够负向调控cGAS-STING的抗病毒应答,其通过阻碍cGAS与dsDNA的结合从而抑制下游天然免疫响应,因此,ZNF593的缺失反而能够提高小鼠对单纯疱疹病毒1型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)感染的存活率^[48]。以上研究为促进cGAS-STING通路抗病毒免疫提供了新的研究视角。

细菌感染同样能导致cGAS-STING通路激活。胞外细菌入侵宿主细胞的机制与吞噬作用极为相似,主要分为两种:一种是依赖于III型分泌系统的触发机制;另一种则是依赖于细菌表面蛋白与宿主细胞表面受体直接相互作用的拉链机制^[49-51]。当细胞受到细菌感染时,IFN- β 调节的天然免疫至关重要。铜绿假单胞菌在入侵细胞后,其基因组DNA能够直接被cGAS识别,激活天然免疫应答^[52];分枝杆菌感染细胞后,其基因组编码的CpsA蛋白能够诱导宿主细胞吞噬小体膜破裂,导致宿主自身DNA及细菌DNA的释放,间接促进cGAS-STING通路激活^[53]。此外,部分细菌也被发现能直接调控STING,实现天然免疫逃逸。例如,结核分枝杆菌的编码蛋白MmsA通过与STING相互作用,诱导STING的自噬依赖性降解,从而阻断天然免疫信号的传导^[54](图S1右)。虽然病原体在长期的进化过程中,发展出了逃逸cGAS-STING通路的机制,但cGAS仍然是监视病原体核酸进而激活天然免疫应答的重要分子。

2.2 cGAS对自体核酸的误导性应答

在正常生理状态下,细胞质中几乎不含自体核酸。然而,在特定生理或病理状态下,内源性核酸可能会泄漏到细胞质中变成DAMPs。这些DAMPs若被cGAS识别,则可能诱发自身免疫性疾病或无菌性炎症反应。此外,由cGAS-STING通路激活引发的炎症反应也成为细胞衰老的关键驱动力^[55-57]。

在哺乳动物细胞中,除了细胞核中存在DNA

之外, 线粒体中也同样具有 DNA。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 通常以每个细胞数千个拷贝存在, 并被包装成数百个类核结构, 类核结构由线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 调控^[58]。TFAM 广泛结合在 mtDNA 上, 对维持 mtDNA 完整性以及细胞功能至关重要。TFAM 的缺乏会引起 mtDNA 包装异常, 导致 mtDNA 泄露至细胞质中, 进而被 cGAS 识别并诱导 I 型干扰素产生^[59]。此外, 环境

因素如紫外线、电离辐射及烷化剂等也会损害 mtDNA 的完整性, 引起 mtDNA 泄漏, 进而通过 cGAS 感应触发强烈的炎症应答, 造成无菌性炎症的发生。其次, 由线粒体功能障碍导致 mtDNA 泄露引发的 cGAS-STING 通路的激活, 也会引起衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 表达上调, 最终导致细胞的衰老^[56, 60-62] (图 2)。

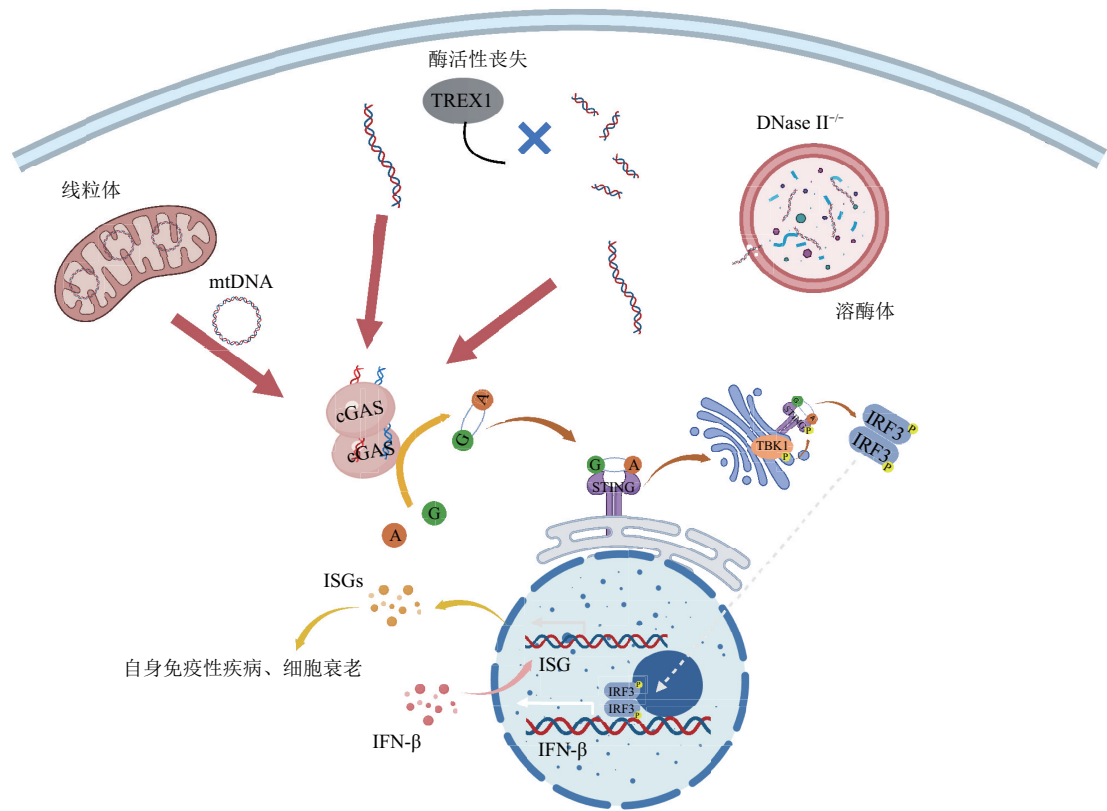


Fig. 2 Erroneous recognition of self-DNA by cGAS
图2 cGAS对自身DNA的失误性识别

当线粒体DNA (mtDNA) 泄漏时, 会被胞质cGAS识别; 当降解胞质DNA的核酸外切酶TREX1失活时, 会导致胞质中dsDNA异常积累被cGAS识别; 当溶酶体中降解dsDNA的DNase II缺失时, 会导致溶酶体中dsDNA的过度积累, 诱发溶酶体应激, 使其中的dsDNA泄露到胞质中被cGAS识别。cGAS-STING介导的天然免疫通路激活: cGAS识别到胞质中dsDNA进行二聚化, 通过NTase结构域将ATP、GTP环化形成cGAMP, cGAMP作为第二信使激活位于内质网上的STING, 使其转移到高尔基体诱导下游TBK1磷酸化激活, 磷酸化的TBK1进一步诱导IRF3激活, 二聚体形式的IRF3入核介导IFN-β的产生, IFN-β进一步诱导下游ISGs的表达。mtDNA: 线粒体脱氧核糖核酸 (mitochondrial deoxyribonucleic acid); TREX1: 3'-引物修复核酸外切酶 1 (three-prime repair exonuclease 1); DNase II: 脱氧核糖核酸酶 II (deoxyribonuclease II); STING: 干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes); TBK1: TANK结合激酶 1 (TANK binding kinase 1); IRF3: 干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3); IFN-β: 干扰素β (interferon beta); ISG: 干扰素刺激基因 (interferon-stimulated gene)。

3'-引物修复核酸外切酶 1 (three-prime repair exonuclease 1, TREX1), 是对免疫稳态至关重要的 3',5'核酸外切酶, 其通过降解胞质 DNA 防止 cGAS-STING 信号通路的异常激活。TREX1 功能

缺失性突变会导致 cGAS-STING 信号通路不受控制地激活, 驱动 IFN 反应并促进自身免疫^[63]。艾卡迪 - 古蒂埃综合征 (Aicardi-Goutières syndrome, AGS) 综合征是一种严重的儿科神经炎症性疾病,

发病机制与 TREX1 功能丧失密切相关^[58]。TREX1 R114H 是 AGS 中最常见的突变之一, 该突变会破坏 TREX1 的二聚体稳定性, 削弱 TREX1 的酶活性, 使其对 dsDNA 的降解效率下降至原来的 1/300, 导致未降解的胞质 dsDNA 积累, 从而引发强烈的 cGAS-STING 通路激活^[64]。有研究报道, 系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 的发生也与 TREX1 突变相关, 携带 TREX1 突变的个体罹患 SLE 的相对风险显著增加^[65-66]。进一步发现, 在 SLE 患者的外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMCs) 中过表达 ZNF593 可抑制该细胞中干扰素 β 1 (interferon Beta 1, *IFNB1*)、干扰素 α 4 (interferon alpha 4, *IFNA4*) 和 C-X-C 基序趋化因子配体 10 (C-X-C motif chemokine ligand 10, *CXCL10*) 的 mRNA 表达, 降低患者体内的炎症水平, 该发现可为 SLE 患者提供新的治疗策略^[48]。除了 TREX1 能降解胞质核酸, 胞质 dsDNA 也能通过溶酶体降解途径进行清除。转运至溶酶体的 dsDNA 被 DNase II 降解为核苷, 并通过核苷转运蛋白重新进入胞质, 作为合成 dsDNA 的原料^[67]。然而, 当溶酶体中的 DNase II 缺乏时, 会诱导溶酶体 DNA 应激, 使溶酶体中还未降解的 DNA 异位至细胞质, 进而激活传感器 cGAS 并启动天然免疫应答。另外, 溶酶体可对 cGAS-STING 信号进行负向调控: STING 蛋白可以通过多种途径转运到溶酶体降解, 以防止过度炎症的发生^[68-70] (图2)。因此, 溶酶体功能障碍容易引起 cGAS-STING 通路过度活化, 造成自身免疫病的发生。另外, 在衰老的细胞中, TREX1 与 DNase II 的表达均被下调, 胞质中过度积累的 dsDNA 激活 cGAS-STING 通路, 产生更多的干扰素刺激基因 (interferon-stimulated gene, ISGs), 从而加速衰老^[71-72]。已有研究报道, cGAS KO 的小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblasts, MEFs) 在连续传代至第 11~12 代时即可提前突破衰老限制形成自发永生化细胞, 而 cGAS WT 的 MEFs 则需传代至第 15~16 代才能实现衰老逃逸并获得永生化表型^[57]。此外, cGAS 在 DNA 损伤及电离辐射引发的细胞衰老进程中扮演关键角色, 可显著抑制损伤细胞内 SASP 的表达^[57], 导致 DNA 损伤引起的衰老信号无法充分建立, 使带有 DNA 损伤的细胞能够逃逸衰老。近期研究发现, 裸鼹鼠的长寿也得益于其 cGAS 中 4 个独特的氨基酸突变^[73]。以上研究将 cGAS 与自身免

疫性疾病和细胞衰老相联系, 为炎症性衰老提供了证据, 也进一步体现 cGAS 酶活性的严格调控对自体稳态的重要性。

细胞质 cGAS 酶活性受到多种机制的调节。最新的研究表明, RNA 可以通过相分离来调节 cGAS 的活性。RNA 能与 cGAS 结合形成复合物, 但并不激活 cGAS, 而是促进 cGAS 的相分离, 并在胞质 dsDNA 水平非常低时仍增强 cGAS 识别胞质 dsDNA 的能力^[74]。此外 cGAS 会与 G3BP1 相结合, G3BP1 是双链核酸解旋酶, 它参与一种与 RNA 定位、翻译和降解相关的亚细胞结构, 外源 DNA 刺激促进了 cGAS 定位于含有 G3BP1 的细胞质沉积物中, 因此, G3BP1 作为枢纽, 使 cGAS 在胞质当中能更加精确地定位到 dsDNA 处^[75]。这些众多的调节机制限制了 cGAS 对 DNA 的识别, 避免对宿主造成不良后果。

除了 cGAS 自身结构及亚细胞定位可以影响其酶活性外, 翻译后修饰也能影响其催化功能。半胱氨酸蛋白酶 DUB 亚家族成员 USP15 可以与 cGAS 相互作用, 使 cGAS 去泛素化并促进其激活。同时 USP15 能够驱动 cGAS 二聚化和 LLPS, 使得 cGAS 能够快速响应 DNA 刺激^[76]。这些发现提供了新的 cGAS 调节机制, 也为治疗 cGAS 异常激活导致疾病发生提供了潜在的治疗策略^[77]。

3 亚细胞定位——cGAS 的入核与出核

cGAS 作为胞质核酸感受器被发现, 在天然免疫应答中起核心作用。后续的研究发现, cGAS 也能定位于细胞核内^[78]。这种反常的现象引发了很多思考: cGAS 是如何发生核转位的? 入核的目的是什么? 尤为重要, 在核中存有大量基因组 DNA 的情况下, cGAS 是如何避免自身被异常激活的呢? 陈志坚团队^[20]研究发现, 细胞处于有丝分裂中期时, cGAS 会在细胞核周围聚集, 当核膜破裂后遂进入细胞核并向染色体聚集, 当细胞分裂结束后, 与染色体结合的 cGAS 被保留在子细胞核内, 并会在后续周期中持续存在于细胞核中。进一步研究揭示, cGAS 的 K173-I220 和 H390-C405 区域缺失会破坏其与 dsDNA 的结合能力, 致使 cGAS 不能在核膜破裂时有效地向染色体聚集, 从而阻碍其向核内转移^[79] (图3)。

近期研究表明, cGAS 自身携带两个核定位信号 (nuclear localization signal, NLS), 位于 21~51 的 NLS1 和位于 295~305 的 NLS2^[80], 当细胞基因

组受到损伤并启动DNA损伤修复时, cGAS可以通过自身的NLS1与输入蛋白 α (importin- α) 家族蛋白相互作用, 实现由细胞质向细胞核的转位^[13]。值得注意的是, cGAS的Y215位点经B淋巴酪氨酸激酶 (B lymphoid tyrosine kinase, BLK) 磷酸化修饰后, 其入核功能会被抑制^[13] (图3)。

也有研究提出不同视角, 认为cGAS本质上属于一种核蛋白^[81], 是在ISGs的诱导下才从细胞核中转移到细胞质中行使免疫监视功能, 该过程由cGAS 169~174位点携带的核输出信号 (nuclear export signal, NES) 与CRM1相互作用介导^[78] (图3)。

蛋白质翻译应激也被报道可调控cGAS的亚细胞定位^[82]。当细胞中出现蛋白质翻译应激时, 核糖体会停滞或移动速度大幅减慢, 核糖体之间会发生碰撞并被细胞视作异常翻译信号, 出核后的cGAS与核糖体发生相互作用, 显著增强cGAS的酶催化活性, 导致下游ISGs的表达增加 (图3)。这一发现表明, cGAS的定位与催化活性能被翻译应激所调节, 提示细胞可能会通过诱导ISGs表达传递翻译应激的信号, 然而, 翻译应激驱动cGAS从核中转移到胞质中的具体分子机制仍有待进一步阐明。

4 核中的cGAS失去激活天然免疫的功能

cGAS作为胞质核酸感受器, 在进入细胞核后, 尽管面临大量基因组DNA, 却并未错误引发显著的天然免疫应答, 提示cGAS的酶活性在核内受到严格抑制。研究表明, 核小体可以有效抑制cGAS酶活性。相比于裸露的dsDNA, cGAS对核小体有更高的亲和力, 这源于cGAS与二者结合机制的差异: cGAS依靠3个DNA结合位点 (A、B、C) 及自身的二聚化与dsDNA结合; 而与核小体的结合则依靠自身两个精氨酸残基 (R222、R241) 与核小体上H2A-H2B异二聚体的酸性残基 (E61、E64、D90和E64) 之间的相互作用实现^[83]。若将这些位点突变为丙氨酸或赖氨酸后, cGAS与核小体的结合即被破坏。进一步研究发现, 核小体与cGAS的B位点结合后^[45, 84], 在空间上阻碍了cGAS的寡聚化 (cGAS激活的条件之一), 从而导致其酶活性被抑制^[85-86]。体外实验证实, 过量核小体可竞争性抑制cGAS的酶活性^[87-88]。另外, 新的研究还发现, 核内cGAS绝大部分与染色质紧密结合, 这会抑制cGAS的寡聚化, 导致cGAS的催

化活性无法被激活^[20, 81], 并且该机制依赖于染色质的完整性及cGAS的NTase核心结构域。此外, cGAS甲基化修饰也被发现可促进其与染色质结合的能力, 抑制cGAS的催化活性^[89]。以上研究共同揭示了核小体竞争性结合对cGAS酶活性的抑制作用, 但其中具体的分子机制仍需进一步研究阐明, 如, 染色质的包装程度是否也会影响cGAS在核内静默? 转录过程中偶联的DNA解旋是否也会影响cGAS的酶催化活性?

在细胞间期, 上述机制可以有效抑制核内cGAS激活, 但在有丝分裂期则面临独特挑战, 因为核膜破裂后细胞质cGAS会大量涌入, 这一情况使各研究团队不约而同地提出了cGAS的酶活性如何在细胞周期中被调控这一重要问题。研究表明, 在有丝分裂期, 除了染色质与cGAS紧密结合抑制cGAS激活之外, cGAS N端的过度磷酸化也会抑制cGAS酶催化活性^[20]。另一方面, 核内cGAS的丰度会受到细胞周期的动态调控^[79], 其稳定性受泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin proteasomal system, UPS) 调节。研究表明, 泛素-蛋白酶体系统会在细胞周期中降解核内cGAS, 其中SPSB3 (含有SPRY结构域和SOCS盒的蛋白3) 通过识别并结合cGAS C端高度保守的Asn-Asn (NN) 序列而募集至cGAS, SPSB3随后与cullin-RING泛素连接酶5 (ubiquitin ligase 5) 复合物结合, 介导核cGAS的泛素化降解^[90] (图3), 可见cGAS的翻译后修饰对其核内免疫功能静默发挥着重要作用。这一机制在细胞周期进程中精确调控核内cGAS蛋白水平, 从而确保cGAS在核内环境中的功能性沉默。此外, 在正常生理过程中, 核膜完整性可能出现暂时缺失, 此时屏障自整合因子 (barrier-to-autointegration factor, BAF) 能通过自身与dsDNA的高亲和力, 将cGAS从cGAS-dsDNA复合物中置换出来, 从而阻碍cGAS与dsDNA的结合^[91], 避免cGAS因物理屏障暂时性缺陷而错误激活。

以上多项研究证实, cGAS可位于细胞核内, 且其经典酶催化活性在细胞核中受到显著抑制, 其中的抑制机理涉及核小体竞争性结合、cGAS蛋白翻译后修饰以及泛素化调节, 这些机制协同防范核内cGAS错误激活天然免疫而导致的自身免疫应答风险, 体现了多种机制共同精准调控cGAS酶活性的策略 (图3)。这一现象提示, 核cGAS可能具备独立于其天然免疫应答之外的非经典功能。

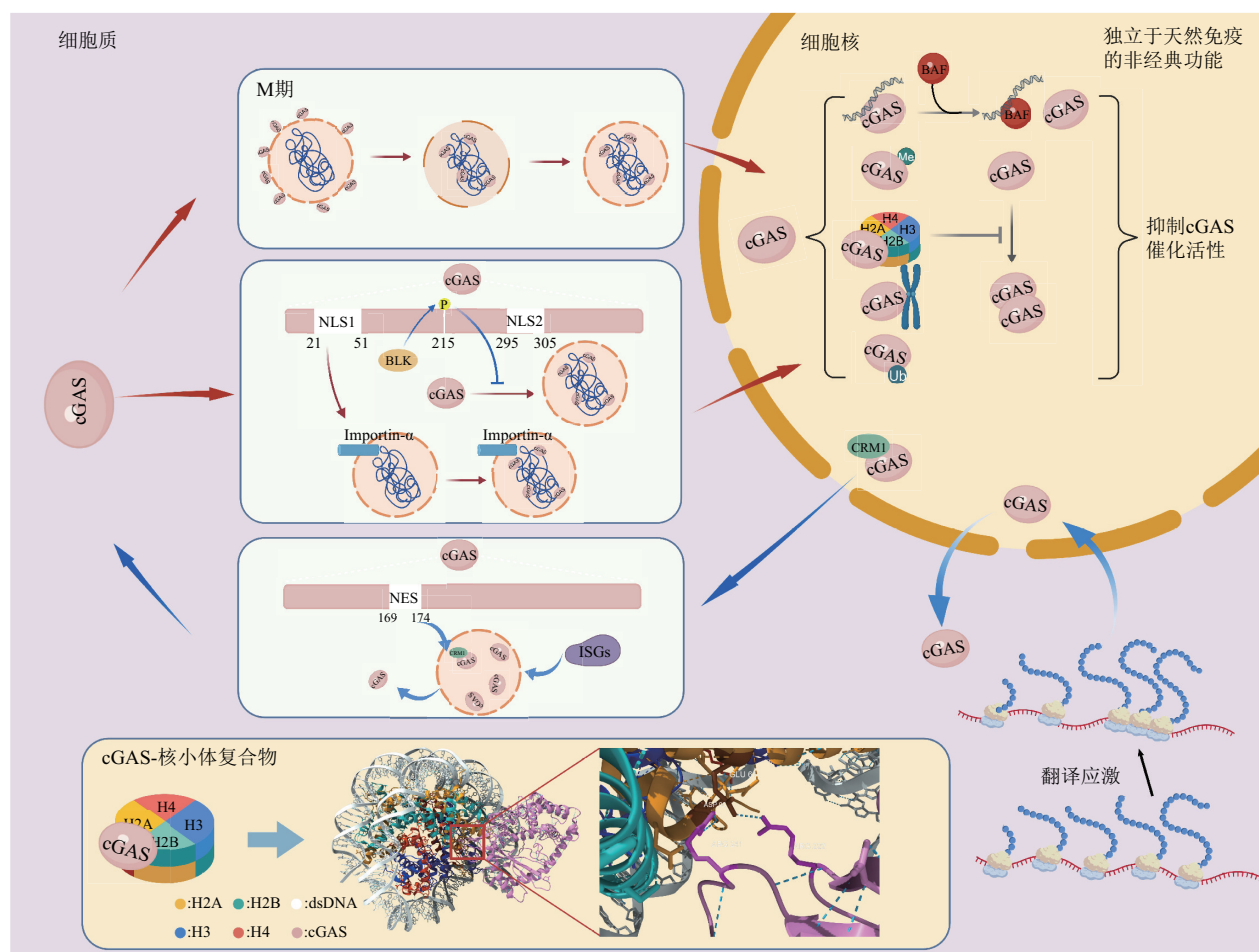


Fig. 3 Mechanism of cGAS nuclear-cytoplasmic transport and inhibition of nuclear cGAS innate immune function

图3 GAS核-质转运机制及抑制核内cGAS天然免疫功能的机制

在有丝分裂期, cGAS聚集在核膜, 核膜破裂后, 与染色质结合导致cGAS的核内积累; 通过cGAS自身携带的NLS1, 与importin- α 相互作用进入细胞核; Y251位点磷酸化会抑制cGAS入核; 胞质中的ISG信号能促使cGAS通过NES与CRM1相互作用出核; 翻译应激导致cGAS通过与CRM1相互作用出核。在核中的cGAS被抑制催化活性。图下方是cGAS与核小体复合物的冷冻电镜结构。该图展示了小鼠cGAS蛋白(粉色)与核小体(组蛋白H2A(黄色)/H2B(绿色)/H3(蓝色)/H4(红色), DNA为白色)的结合模式。图像基于PDB数据库中的7A08号结构^[85]并使用ChimeraX软件渲染生成^[29]。NLS: 核定位信号(nuclear localization signal); NES: 核输出信号(nuclear export signal); H2A: 组蛋白H2A(histone H2A); H2B: 组蛋白H2B(histone H2B); H3: 组蛋白H3(histone H3); H4: 组蛋白H4(histone H4); BAF: 屏障自整合因子1(barrier-to-autointegration factor 1); Me: 甲基化(methylation); Ub: 泛素化(ubiquitination); CRM1: 染色体区域维持蛋白1(chromosome region maintenance 1); BLK: B淋巴细胞激酶(B lymphocyte kinase); importin- α : 核输入蛋白 α (importin α)。

5 细胞核中cGAS的非经典功能

5.1 cGAS在DNA损伤修复中的功能

在日常的生活中, 各种各样体内/体外的因素会导致身体内细胞的基因组受到损伤, 其中DSB是最为严重的DNA损伤。若未能及时、准确地对DSB进行修复, 则可能导致基因组不稳定并引起疾病的发生, 如肿瘤, 细胞衰老等。对DSB进行修复最主要的两种方式是同源重组(homologous

recombination, HR) 和非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)^[92-94]。HR的开始依赖于对同源链的搜索与入侵^[95-97], 随后以同源链为模板进行修复, 这种修复过程具有更高的保真性。而NHEJ则是通过直接将两个断裂的DNA末端连接起来, 具有更高修复效率的同时也更容易引入染色体变异^[98]。在NHEJ中包括经典途径(canonical NHEJ, c-NHEJ), 旁路途径(alternative NHEJ, alt-NHEJ), 也被称为微同源末

端介导连接 (microhomology-mediated end joining, MMEJ), 这两种途径的区别主要在于 alt-NHEJ 的开始需要核酸酶处理形成 2~10 bp 的微同源序列, 才能开始下游修复过程^[99-100]。目前, 大多数研究表明核内 cGAS 能够从多方面抑制 HR, 调控 DNA 损伤修复。在基因组受损的间期细胞中, cGAS 可转位入核并被募集至损伤位点, 通过聚 ADP 核糖 (poly(ADP-ribose), PAR) 与聚 ADP 核糖聚合酶 1 (poly(ADP-ribose) polymerase 1, PARP1) 结合, 阻碍 PARP1-Timeless 复合物的形成, 抑制 HR 修复通路^[13]; 电离辐射诱导 DNA 损伤时, 去甲基酶核糖体加氧酶 1 (ribosomal oxygenase 1, RIOX1) 介导人 cGAS K506 (小鼠 cGAS K491) 位点的去甲基化, 阻碍 cGAS 与 SGF29 互作, 使 cGAS 能够定位在损伤位点阻碍 PARP1-Timeless 介导的 HR^[101]; cGAS K254 位点的巴豆酰化修饰会影响 cGAS 与 DNA 结合能力, 导致 cGAS 与 PARP1 的相互作用减弱, 恢复 HR 活性, 提示 cGAS 介导 HR 的功能与其翻译后修饰密切相关^[102]。另有研究报道, cGAS 通过自身寡聚化使其结合的染色体 DNA 发生压缩, 阻碍 HR 修复通路中关键蛋白 RAD51 介导的链侵入, 最终抑制 HR 修复^[14, 103]。除了对 HR 通路的调控, 还有研究报道 cGAS 参与其他的 DSB 修复途径, 如 NHEJ: cGAS 与 Ku 80 结合形成复合物, 可增强 DNA-PKcs 和去泛素化酶 USP 7 之间的相互作用, 进而提高 DNA-PKcs 蛋白稳定性, 最终促进 c-NHEJ 途径修复 DNA 损伤^[104]。相反, cGAS-Ku80 复合物通过直接结合 Polθ 的启动子来抑制 alt-NHEJ^[104-105] (图 4a)。最新的研究发现, 在裸鼹鼠中, cGAS 四个位点 (463、511、527、530) 的突变, 使 cGAS 成为 HR 的加速器, 维持了裸鼹鼠基因组稳定性, 为裸鼹鼠的长寿贡献了关键力量^[73]; 另外, 转录活跃的位点更容易产生 DNA 损伤^[106], 为维持基因组的稳定性, 细胞发展出转录偶联 HR 修复 (transcription-coupled homologous recombination, TC-HR)^[107-108]。研究表明, cGAS K394 与 PAR 相互作用抑制了 PARP1 介导的聚 ADP 核糖基化 (Poly(ADP-ribosyl)ation, PARylation), 阻碍 PARP1 在 R 环上激活^[109], 进而抑制了 PARP1 介导的 MMEJ 在转录活跃区域的激活, 使得细胞倾向于利用保真度更高的 HR 来进行修复, 揭示了 cGAS 在细胞选择 DNA 修复路径上发挥了向导作用^[110] (图 4d)。这些发现共同揭示了 cGAS 在 DNA 损伤修复网络中的多重调控作用。

但是目前对于 cGAS 在 DNA 修复中的作用是否完全独立于天然免疫应答尚无报道, 如当 cGAS 酶活性正常时, 它在天然免疫应答和 DNA 修复两种功能中更优先哪一个? 两者之间是相互排斥还是相互协同, 这可能是 cGAS 功能研究的一个新方向。

端粒是位于真核染色体末端的 DNA-蛋白质复合体, 包含重复端粒 DNA 序列 (TTAGGG) 和端粒保护蛋白 (Shelterin 复合体), 这种结构能够保护染色体, 避免染色体末端被错误地识别为断裂的 DNA, 保护基因组稳定性^[111], 因此, 端粒的稳定性对于细胞正常的生命进程至关重要。在正常细胞中, 端粒会随着分裂次数的逐渐缩短, 当达到 Hayflick 界限时, 细胞会进入衰老或凋亡的程序^[112]。有研究发现, 人皮肤成纤维细胞 BJ 的复制性衰老与 cGAS 相关^[113]。这篇文章中还发现, 在骨肉瘤细胞 U2OS 进入有丝分裂期时, 其端粒上的 Shelterin 复合体会离开端粒, 导致端粒暴露并被视为 DNA 损伤信号, 而该细胞中的 cGAS 此时可与端粒/亚端粒结合, 充当 Shelterin 的替补角色, 通过与 CDK1 相互作用, 阻断 RNF8 向损伤位点招募, 抑制 U2OS 细胞中短端粒处异常的 NHEJ 修复, 保护了肿瘤细胞基因组的稳定性^[113] (图 4b), 这可能是部分肿瘤细胞通过精细调控 cGAS 与端粒末端的相互作用, 从而维持基因组稳定性的适应性进化策略。该机制有助于肿瘤细胞在复制压力及 DNA 损伤环境下减少染色体端粒异常激活的免疫反应, 进而维持其增殖优势与生理适应性。这一研究也为如何避免短端粒处发生错误的 DNA 损伤修复提供研究基础。

5.2 cGAS 与细胞复制

细胞复制稳定有序地进行对于细胞增殖至关重要。由复制错误引起的异常复制影响着基因组稳定性, 也是肿瘤发生的因素之一^[114]。有研究报道, 在 STING 缺陷的 U2OS 细胞中, cGAS 可与 DNA 复制叉蛋白结合从而减缓复制叉的延伸速度, 当细胞中 cGAS 缺失后, 复制叉的形成和延长加快, 细胞快速增殖, 进入超复制状态, 但复制叉的稳定性下降导致细胞对放疗和化疗更加地敏感^[115] (图 4c)。在胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 细胞中, cGAS 能够介导吉西他滨与 ATRi 联合处理导致的细胞复制应激水平上调, 为吉西他滨耐药的 PDAC 提供了新的疗法^[116]。这些发现提示 cGAS 具有成为肿瘤治疗靶点的潜力。

细胞质中介导天然免疫应答的cGAS-STING通路在肿瘤抑制中发挥着重要的作用,该通路最终导致I型干扰素的产生和大量促炎因子的表达,不仅能够促进免疫细胞的激活来增强免疫系统对肿瘤的杀伤作用,还能损害肿瘤生长的环境^[117-118],将“冷肿瘤”激活为“热肿瘤”,使免疫检查点抑制剂治疗效率提高,令放疗、溶瘤病毒、STING激动剂等与免疫检查点抑制剂序贯或同步联合呈现协同

效应,进一步提高完全缓解率并延长患者无进展生存期。核内cGAS虽然酶活性被抑制,却参与DNA损伤修复与DNA复制调控,因此,无论cGAS在胞质发挥经典天然免疫监视功能,还是入核参与DNA损伤修复和维持基因组稳定性,其时空双重角色均为增敏免疫治疗、克服耐药提供了可干预的分子节点,使其成为兼具免疫调控与基因组稳定性维持价值的潜在治疗靶点。

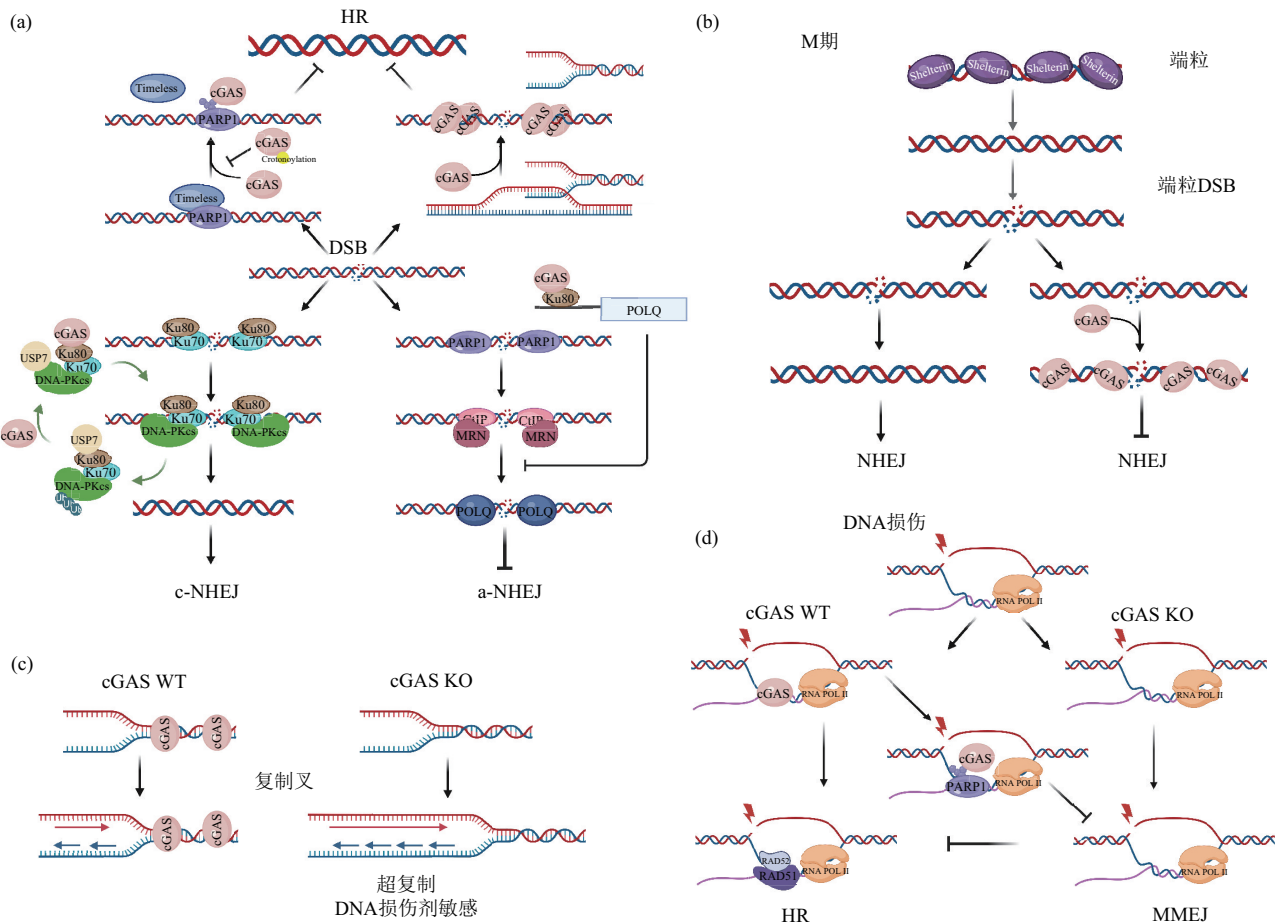


Fig. 4 cGAS mediates DNA damage repair and stabilizes replication forks in the cell nucleus

图4 cGAS在细胞核中介导DNA损伤修复和稳定复制叉

(a) cGAS能够通过压缩染色质阻碍链入侵抑制HR的修复; cGAS阻碍PARP1-Timeless复合物的形成来抑制HR, 这个过程被cGAS自身的Crotonylation修饰抑制; cGAS与Ku80相互作用抑制POLQ的表达, 抑制a-NHEJ; cGAS促进DNA-PKcs的去泛素化, 促进c-NHEJ。(b) 在M期, cGAS结合在亚端粒区, 抑制端粒处的端对端融合。(c) cGAS能够结合在复制叉上, 稳定复制叉的进程。(d) 在转录偶联HR修复中, cGAS抑制PARP1介导的MMEJ, 选择HR对转录活跃区域进行修复。Timeless: timeless昼夜节律调节蛋白 (timeless circadian regulator); PARP1: 聚ADP-核糖聚合酶1 (poly (ADP-ribose) polymerase 1); Ku70 (XRCC6): X射线修复交叉互补蛋白6 (X-ray repair cross complementing 6); Ku80 (XRCC5): X射线修复交叉互补蛋白5 (X-ray repair cross complementing 5); DNA-PKcs: DNA依赖蛋白激酶催化亚基 (protein kinase, DNA-activated, catalytic polypeptide); USP7: 泛素特异性肽酶7 (ubiquitin specific peptidase 7); CtIP: CtBP相互作用蛋白 (CtBP-interacting protein); MRN: MRE11-RAD50-NBS1复合物 (MRE11-RAD50-NBS1 complex); POLQ: DNA聚合酶θ (DNA polymerase theta); HR: 同源重组 (homologous recombination); c-NHEJ: 经典非同源末端连接 (classical non-homologous end joining); a-NHEJ: 替代性非同源末端连接 (alternative non-homologous end joining); DSB: DNA双链断裂 (double-strand break); cGAS WT: cGAS野生型 (cGAS wild-type); cGAS KO: cGAS敲除 (cGAS knockout); RAD51: RAD51重组酶 (RAD51 recombinase); RAD52: RAD52同源物 (RAD52 homolog); RNA POL II: RNA聚合酶II (RNA polymerase II); MMEJ: 微同源末端连接 (microhomology-mediated end joining); Crotonylation: 巴豆酰化。

6 总结与展望

在过去的10年里, cGAS的功能得到了广泛的关注和研究。大量的研究已经将cGAS作为细胞质核酸感受器激活天然免疫应答的经典功能与许多人类免疫疾病联系起来, 包括AGS、系统性红斑狼疮^[58, 65]。由于炎症性衰老的研究进展, cGAS也被发现在衰老中起着关键作用^[57], 包括早老症 (Hutchinson-Gilford syndrome) 和沃纳综合征 (Werner syndrome, WS) 等衰老疾病^[119-120]; cGAS还在裸鼹鼠的长寿中贡献了关键力量, 这一发现支持高效DNA修复减缓衰老过程的观点, 使cGAS有望成为促进长寿的潜在靶点^[73]。基于在肿瘤发生发展的关键过程中会发生内源性DNA损伤、

染色体不稳定、微核形成等现象, 以及临床治疗中由放化疗产生的DNA损伤, 这些因素都可以作为PAMPs激活cGAS, 因此对cGAS的调控也成为了抗肿瘤免疫治疗中的新方向。最近的研究发现, cGAS的催化产物cGAMP是一种从肿瘤细胞到癌旁细胞的有效免疫递质^[121], 因此在肿瘤细胞中激活cGAS, 提高肿瘤内cGAMP的水平成为探索抗肿瘤免疫的新路径^[122], 目前已有许多针对cGAS-STING通路的新药研发, 旨在为自身免疫性疾病和抗肿瘤治疗开发临床药物。本文已将cGAS相关的小分子药物绘制成表格, 较为系统地总结了这些化合物在cGAS通路中的作用机理和目前的研究结果 (表1)。

Table 1 Small-molecule modulators of cGAS/STING
表1 cGAS/STING的小分子调节剂

化合物/药物类型	化合物名称	作用靶点	研究现状	参考文献
cGAS抑制剂	X6	与cGAS上DNA结合位点相互作用, 阻碍cGAS对dsDNA的识别	X6处理 <i>Trex1</i> ^{-/-} 小鼠能够显著降低小鼠心脏组织中INF-β及ISGs的水平	[123]
	Hydroxychloroquine	阻断cGAS与dsDNA的相互作用	Hydroxychloroquine处理THP-1细胞, 能够抑制细胞中IFN-β产生	[124]
	Suramin	将cGAS-dsDNA复合物中的dsDNA置换出来	Suramin抑制dsDNA诱导的THP1-Dual细胞中IFN-β产生	[125]
	A151	与dsDNA竞争性结合cGAS	A151抑制 <i>Trex1</i> ^{-/-} THP-1细胞中IFN-β及下游IFN刺激基因 (IFIT1和ISG15) 的上调	[126]
	Quinacrine	插入DNA中, 阻碍cGAS-dsDNA复合物形成	Quinacrine抑制dsDNA诱导的THP1细胞中IFN-β产生	[124, 127]
	RU.332/RU.521/RU.365	结合cGAS的酶催化活性位点, 抑制	<i>Trex1</i> ^{-/-} 小鼠BMDMs细胞中IFN-β1的表达	[128]
	PF-06928215	抑制产物cGAMP的产生	抑制HT DNA诱导的THP-1 Dual细胞中IFN-β产生	[129]
	G150		抑制dsDNA诱导的原代巨噬细胞 (人类血液来源) 中IFN-β的产生	[130]
	Compound S3		利用焦磷酸酶 (PPiase) 偶联检测系统进行体外检测, S3显著抑制cGAS活性	[131]
	Compounds 25		LPS诱导的急性肺损伤小鼠模型中Compounds 25能够降低小鼠血清中促炎细胞因子的水平	[132]
	Aspirin	强化cGAS (Lys384、Lys394、Lys414) 位点的乙酰化, 来抑制cGAS的激活	对 <i>Trex1</i> ^{-/-} 小鼠进行腹腔注射Aspirin, 能够提高脾脏组织中cGAS的乙酰化水平; 降低心脏组织中ISGs的表达	[133]
	MK-1454	激活STING	治疗实体肿瘤Phase I (NCT03010176)	
	GSK3745417		治疗实体肿瘤Phase I (NCT03843359)	
	SB-11285		治疗实体肿瘤Phase I (NCT04096638)	

STING激动剂信息来源: <https://clinicaltrials.gov/>。Hydroxychloroquine: 羟氯喹; Suramin: 苏拉明; Quinacrine: 奎纳克林; Aspirin: 阿司匹林; INF-β: β干扰素 (interferon-beta); ISG: 干扰素刺激基因 (interferon-stimulated gene); Trex1: 3'-引物修复核酸外切酶1 (three-prime repair exonuclease 1); THP-1: 人急性单核细胞白血病细胞; BMDMs: 骨髓源性巨噬细胞 (bone marrow-derived macrophages); LPS: 脂多糖 (lipopolysaccharide); Lys: 赖氨酸 (lysine)。

本文梳理总结了cGAS的结构、亚细胞定位、细胞质中的经典功能及细胞核中的非经典功能,表明了cGAS受多种通路的精确协调调控,其不同的功能和细胞结构与健康和疾病密切相关。作为胞质DNA感受器,cGAS是宿主防御的中心角色,是许多免疫疾病的原因,是衰老、DNA损伤修复过程的贡献者,也是引发肿瘤炎症以提高抗癌免疫功能的新靶点,本文在此较全面地解析了cGAS的多种功能,旨在为临床诊疗提供新思路。

然而,在对cGAS的研究中仍有诸多未解之谜:核内cGAS是否担负新的未知功能?其亚细胞定位如何被精确调控?为何不同物种在进化中获得功能不同的cGAS?除cGAS外,其他PRRs是否同样驱动炎症性衰老?对这些问题的深入研究,将完善对疾病发病机制的认知,拓展cGAS作为治疗靶点的应用边界,为感染、肿瘤、炎症、衰老及相关疾病提供新的研究思路和干预策略。

附件 见本文网络版 (<http://www.pibb.ac.cn>, <http://www.cnki.net>):

PIBB_20250567_Figure_S1.pdf

参 考 文 献

- [1] Janeway C A. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1989, **54**: 1-13
- [2] Janssens S, Beyaert R. Role of toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev*, 2003, **16**(4): 637-646
- [3] Ciesielska A, Matyjek M, Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cell Mol Life Sci*, 2021, **78**(4): 1233-1261
- [4] Zhang Y, Liang X, Bao X, *et al.* Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: current research and prospective. *Eur J Med Chem*, 2022, **235**: 114291
- [5] Zhang S Y, Jouanguy E, Ugolini S, *et al.* TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis. *Science*, 2007, **317**(5844): 1522-1527
- [6] Lund J M, Alexopoulou L, Sato A, *et al.* Recognition of single-stranded RNA viruses by toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(15): 5598-5603
- [7] Majer O, Liu B, Barton G M. Nucleic acid-sensing TLRs: trafficking and regulation. *Curr Opin Immunol*, 2017, **44**: 26-33
- [8] Kano N, Ong G H, Ori D, *et al.* Pathophysiological role of nucleic acid-sensing pattern recognition receptors in inflammatory diseases. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, **12**: 910654
- [9] Sun L, Wu J, Du F, *et al.* Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science*, 2013, **339**(6121): 786-791
- [10] Wu J, Sun L, Chen X, *et al.* Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science*, 2013, **339**(6121): 826-830
- [11] Ding L, Dong G, Zhang D, *et al.* The regional function of cGAS/STING signal in multiple organs: one of culprit behind systemic lupus erythematosus. *Med Hypotheses*, 2015, **85**(6): 846-849
- [12] Crowl J T, Gray E E, Pestal K, *et al.* Intracellular nucleic acid detection in autoimmunity. *Annu Rev Immunol*, 2017, **35**: 313-336
- [13] Liu H, Zhang H, Wu X, *et al.* Nuclear cGAS suppresses DNA repair and promotes tumorigenesis. *Nature*, 2018, **563**(7729): 131-136
- [14] Jiang H, Xue X, Panda S, *et al.* Chromatin-bound cGAS is an inhibitor of DNA repair and hence accelerates genome destabilization and cell death. *EMBO J*, 2019, **38**(21): e102718
- [15] Kranzusch P J, Lee A S, Berger J M, *et al.* Structure of human cGAS reveals a conserved family of second-messenger enzymes in innate immunity. *Cell Rep*, 2013, **3**(5): 1362-1368
- [16] Tao J, Zhang X W, Jin J, *et al.* Nonspecific DNA binding of cGAS N terminus promotes cGAS activation. *J Immunol*, 2017, **198**(9): 3627-3636
- [17] Du M, Chen Z J. DNA-induced liquid phase condensation of cGAS activates innate immune signaling. *Science*, 2018, **361**(6403): 704-709
- [18] Xie W, Lama L, Adura C, *et al.* Human cGAS catalytic domain has an additional DNA-binding interface that enhances enzymatic activity and liquid-phase condensation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(24): 11946-11955
- [19] Jiang Z, Shi F, Li J, *et al.* Crucial role of the cGAS N terminus in mediating flowable and functional cGAS-DNA condensate formation via DNA interactions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, **122**(3): e2411659122
- [20] Li T, Huang T, Du M, *et al.* Phosphorylation and chromatin tethering prevent cGAS activation during mitosis. *Science*, 2021, **371**(6535): eabc5386
- [21] Wu X, Wu F H, Wang X, *et al.* Molecular evolutionary and structural analysis of the cytosolic DNA sensor cGAS and STING. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(13): 8243-8257
- [22] Li X, Shu C, Yi G, *et al.* Cyclic GMP-AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization. *Immunity*, 2013, **39**(6): 1019-1031
- [23] Civril F, Deimling T, de Oliveira Mann C C, *et al.* Structural mechanism of cytosolic DNA sensing by cGAS. *Nature*, 2013, **498**(7454): 332-337
- [24] 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. *Cell Rep*, 2014, **6**(3): 421-430
- [25] 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. *Cell*, 2013, **153**(5): 1094-1107
- [26] Ohto U, Shibata T, Tanji H, *et al.* Structural basis of CpG and inhibitory DNA recognition by Toll-like receptor 9. *Nature*, 2015,

- 520(7549): 702-705
- [27] Andreeva L, Hiller B, Kostrewa D, *et al.* cGAS senses long and HMGB/TFAM-bound U-turn DNA by forming protein-DNA ladders. *Nature*, 2017, **549**(7672): 394-398
- [28] Zhou W, Whiteley A T, de Oliveira Mann C C, *et al.* Structure of the human cGAS-DNA complex reveals enhanced control of immune surveillance. *Cell*, 2018, **174**(2): 300-311.e11
- [29] Pettersen E F, Goddard T D, Huang C C, *et al.* UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*, 2004, **25**(13): 1605-1612
- [30] Abe T, Barber G N. Cytosolic-DNA-mediated, STING-dependent proinflammatory gene induction necessitates canonical NF- κ B activation through TBK1. *J Virol*, 2014, **88**(10): 5328-5341
- [31] Fang R, Wang C, Jiang Q, *et al.* NEMO-IKK β are essential for IRF3 and NF- κ B activation in the cGAS-STING pathway. *J Immunol*, 2017, **199**(9): 3222-3233
- [32] Balka K R, Louis C, Saunders T L, *et al.* TBK1 and IKK ϵ act redundantly to mediate STING-induced NF- κ B responses in myeloid cells. *Cell Rep*, 2020, **31**(1): 107492
- [33] Wu Y, Song K, Hao W, *et al.* Nuclear soluble cGAS senses double-stranded DNA virus infection. *Commun Biol*, 2022, **5**(1): 433
- [34] Yu Z, Tong L, Ma C, *et al.* The UAF1-USP1 deubiquitinase complex stabilizes cGAS and facilitates antiviral responses. *J Immunol*, 2024, **212**(2): 295-301
- [35] Holm C K, Rahbek S H, Gad H H, *et al.* Influenza A virus targets a cGAS-independent STING pathway that controls enveloped RNA viruses. *Nat Commun*, 2016, **7**: 10680
- [36] Holm C K, Jensen S B, Jakobsen M R, *et al.* Virus-cell fusion as a trigger of innate immunity dependent on the adaptor STING. *Nat Immunol*, 2012, **13**(8): 737-743
- [37] Xie F, Zhu Q. The regulation of cGAS-STING signaling by RNA virus-derived components. *Virology*, 2024, **21**(1): 101
- [38] Zhou Z, Zhang X, Lei X, *et al.* Sensing of cytoplasmic chromatin by cGAS activates innate immune response in SARS-CoV-2 infection. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, **6**(1): 382
- [39] Liu X, Wei L, Xu F, *et al.* SARS-CoV-2 spike protein-induced cell fusion activates the cGAS-STING pathway and the interferon response. *Sci Signal*, 2022, **15**(729): eabg8744
- [40] MacKenzie K J, Carroll P, Martin C A, *et al.* cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity. *Nature*, 2017, **548**(7668): 461-465
- [41] Shen Q, Xu P, Mei C. Role of micronucleus-activated cGAS-STING signaling in antitumor immunity. *J Zhejiang Univ Med Sci*, 2024, **53**(1): 25-34
- [42] Gao D, Wu J, Wu Y T, *et al.* Cyclic GMP-AMP synthase is an innate immune sensor of HIV and other retroviruses. *Science*, 2013, **341**(6148): 903-906
- [43] Wang J, Wang Z, Wan S, *et al.* Lumpy skin disease virus ORF142 suppresses the cGAS/STING-mediated IFN-I pathway through NBR1-mediated STING autophagic degradation. *Microb Pathog*, 2025, **208**: 107959
- [44] Jahan C, Bonnet-Madin L, Machida S, *et al.* Unintegrated HIV-1 DNA recruits cGAS *via* its histone-binding domain to escape innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, **122**(11): e2424465122
- [45] Pathare G R, Decout A, Glück S, *et al.* Structural mechanism of cGAS inhibition by the nucleosome. *Nature*, 2020, **587**(7835): 668-672
- [46] Liu K, Cao W, Zhang H, *et al.* The tegument protein VP22 of pseudorabies virus inhibits cGAS condensation by inducing nuclear-to-cytoplasmic translocation of DDX21. *PLoS Pathog*, 2025, **21**(9): e1013549
- [47] Jiao P, Fan W, Ma X, *et al.* SARS-CoV-2 nonstructural protein 6 triggers endoplasmic reticulum stress-induced autophagy to degrade STING1. *Autophagy*, 2023, **19**(12): 3113-3131
- [48] Bai X, Dong N, Cao N, *et al.* ZNF₅₉₃ regulates the cGAS-mediated innate immune response by attenuating cGAS-DNA binding. *Cell Death Differ*, 2025, **32**(10): 1845-1858
- [49] Cornelis G R. Type III secretion: a bacterial device for close combat with cells of their eukaryotic host. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2000, **355**(1397): 681-693
- [50] Bonazzi M, Cossart P. Bacterial entry into cells: a role for the endocytic machinery. *FEBS Lett*, 2006, **580**(12): 2962-2967
- [51] Cossart P, Sansonetti P J. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science*, 2004, **304**(5668): 242-248
- [52] Zhou C M, Wang B, Wu Q, *et al.* Identification of cGAS as an innate immune sensor of extracellular bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *iScience*, 2021, **24**(1): 101928
- [53] Ding Y, Tong J, Luo G, *et al.* Mycobacterial CpsA activates type I IFN signaling in macrophages *via* cGAS-mediated pathway. *iScience*, 2024, **27**(5): 109807
- [54] Sun Y, Zhang W, Dong C, *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* MmsA (Rv0753c) interacts with STING and blunts the type I interferon response. *mBio*, 2020, **11**(6): e03254-e03219
- [55] Glück S, Guey B, Gulen M F, *et al.* Innate immune sensing of cytosolic chromatin fragments through cGAS promotes senescence. *Nat Cell Biol*, 2017, **19**(9): 1061-1070
- [56] Gulen M F, Samson N, Keller A, *et al.* cGAS-STING drives ageing-related inflammation and neurodegeneration. *Nature*, 2023, **620**(7973): 374-380
- [57] Yang H, Wang H, Ren J, *et al.* cGAS is essential for cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(23): E4612-E4620
- [58] Rice G I, Rodero M P, Crow Y J. Human disease phenotypes associated with mutations in TREX1. *J Clin Immunol*, 2015, **35**(3): 235-243
- [59] West A P, Khoury-Hanold W, Staron M, *et al.* Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature*, 2015, **520**(7548): 553-557
- [60] Victorelli S, Salmonowicz H, Chapman J, *et al.* Apoptotic stress causes mtDNA release during senescence and drives the SASP. *Nature*, 2023, **622**(7983): 627-636
- [61] Jiménez-Loygorri J I, Villarejo-Zori B, Viedma-Poyatos Á, *et al.* Mitophagy curtails cytosolic mtDNA-dependent activation of

- cGAS/STING inflammation during aging. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 830
- [62] Wei P, Zhang X, Yan C, *et al.* Mitochondrial dysfunction and aging: multidimensional mechanisms and therapeutic strategies. *Biogerontology*, 2025, **26**(4): 142
- [63] Luo W, Song Z, Xu G, *et al.* LicochalconeB inhibits cGAS-STING signaling pathway and prevents autoimmunity diseases. *Int Immunopharmacol*, 2024, **128**: 111550
- [64] Orebaugh C D, Fye J M, Harvey S, *et al.* The TREX1 exonuclease R114H mutation in Aicardi-Goutières syndrome and lupus reveals dimeric structure requirements for DNA degradation activity. *J Biol Chem*, 2011, **286**(46): 40246-40254
- [65] Lee-Kirsch M A, Gong M, Chowdhury D, *et al.* Mutations in the gene encoding the 3'-5' DNA exonuclease TREX1 are associated with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*, 2007, **39**(9): 1065-1067
- [66] Vejvisithsakul P P, Thumarat C, Leelahavanichkul A, *et al.* Elucidating the function of STING in systemic lupus erythematosus through the STING Goldenticket mouse mutant. *Sci Rep*, 2024, **14**(1): 13968
- [67] Miyake K, Shibata T, Sato R, *et al.* Innate immune responses to lysosomal nucleic acid stress. *J Biochem*, 2025, **178**(2): 89-96
- [68] Liu Y, Xu P, Rivara S, *et al.* Clathrin-associated AP-1 controls termination of STING signalling. *Nature*, 2022, **610**(7933): 761-767
- [69] Zhao Y, Zhou C, Tian W, *et al.* A specific module of ESCRT regulates STING activity termination by controlling STING degradation. *Sci Bull*, 2024, **69**(8): 1000-1005
- [70] Kuchitsu Y, Mukai K, Uematsu R, *et al.* STING signalling is terminated through ESCRT-dependent microautophagy of vesicles originating from recycling endosomes. *Nat Cell Biol*, 2023, **25**(3): 453-466
- [71] Takahashi A, Loo T M, Okada R, *et al.* Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1249
- [72] Lan Y Y, Heather J M, Eisenhaure T, *et al.* Extranuclear DNA accumulates in aged cells and contributes to senescence and inflammation. *Aging Cell*, 2019, **18**(2): e12901
- [73] Chen Y, Chen Z, Wang H, *et al.* A cGAS-mediated mechanism in naked mole-rats potentiates DNA repair and delays aging. *Science*, 2025, **390**(6769): eadp5056
- [74] Chen S, Rong M, Lv Y, *et al.* Regulation of cGAS activity by RNA-modulated phase separation. *EMBO Rep*, 2023, **24**(2): e51800
- [75] Hu S, Sun H, Yin L, *et al.* PKR-dependent cytosolic cGAS foci are necessary for intracellular DNA sensing. *Sci Signal*, 2019, **12**(609): eaav7934
- [76] Shi C, Yang X, Hou Y, *et al.* USP15 promotes cGAS activation through deubiquitylation and liquid condensation. *Nucleic Acids Res*, 2022, **50**(19): 11093-11108
- [77] McWhirter S M, Jefferies C A. Nucleic acid sensors as therapeutic targets for human disease. *Immunity*, 2020, **53**(1): 78-97
- [78] Sun H, Huang Y, Mei S, *et al.* A nuclear export signal is required for cGAS to sense cytosolic DNA. *Cell Rep*, 2021, **34**(1): 108586
- [79] Gentili M, Lahaye X, Nadalin F, *et al.* The N-terminal domain of cGAS determines preferential association with centromeric DNA and innate immune activation in the nucleus. *Cell Rep*, 2019, **26**(9): 2377-2393.e13
- [80] Kim E Y, Basit A, Kim W J, *et al.* Multi-functional regulation of cGAS by the nuclear localization signal2 (NLS2) motif: nuclear localization, enzyme activity and protein degradation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, **673**: 1-8
- [81] Volkman H E, Cambier S, Gray E E, *et al.* Tight nuclear tethering of cGAS is essential for preventing autoreactivity. *Elife*, 2019, **8**: e47491
- [82] Wan L, Juskiewicz S, Blears D, *et al.* Translation stress and collided ribosomes are co-activators of cGAS. *Mol Cell*, 2021, **81**(13): 2808-2822.e10
- [83] Boyer J A, Spangler C J, Strauss J D, *et al.* Structural basis of nucleosome-dependent cGAS inhibition. *Science*, 2020, **370**(6515): 450-454
- [84] Cao D, Han X, Fan X, *et al.* Structural basis for nucleosome-mediated inhibition of cGAS activity. *Cell Res*, 2020, **30**(12): 1088-1097
- [85] Michalski S, de Oliveira Mann C C, Stafford C A, *et al.* Structural basis for sequestration and autoinhibition of cGAS by chromatin. *Nature*, 2020, **587**(7835): 678-682
- [86] Zhao B, Xu P, Rowlett C M, *et al.* The molecular basis of tight nuclear tethering and inactivation of cGAS. *Nature*, 2020, **587**(7835): 673-677
- [87] Zierhut C, Yamaguchi N, Paredes M, *et al.* The cytoplasmic DNA sensor cGAS promotes mitotic cell death. *Cell*, 2019, **178**(2): 302-315.e23
- [88] Kujirai T, Zierhut C, Takizawa Y, *et al.* Structural basis for the inhibition of cGAS by nucleosomes. *Science*, 2020, **370**(6515): 455-458
- [89] Fang L, Hao Y, Yu H, *et al.* Methionine restriction promotes cGAS activation and chromatin untethering through demethylation to enhance antitumor immunity. *Cancer Cell*, 2023, **41**(6): 1118-1133.e12
- [90] Xu P, Liu Y, Liu C, *et al.* The CRL5-SPSB3 ubiquitin ligase targets nuclear cGAS for degradation. *Nature*, 2024, **627**(8005): 873-879
- [91] Guey B, Wischniewski M, Decout A, *et al.* BAF restricts cGAS on nuclear DNA to prevent innate immune activation. *Science*, 2020, **369**(6505): 823-828
- [92] Tian J, Li J, Liu F, *et al.* DSCC1 restrains 53BP1/RIF1 signaling at DNA double-strand breaks to promote homologous recombination repair. *Cell Rep*, 2025, **44**(4): 115452
- [93] Tan J, Sun X, Zhao H, *et al.* Double-strand DNA break repair: molecular mechanisms and therapeutic targets. *MedComm*, 2023, **4**(5): e388
- [94] Kumari N, Kaur E, Raghavan S C, *et al.* Regulation of pathway choice in DNA repair after double-strand breaks. *Curr Opin Pharmacol*, 2025, **80**: 102496

- [95] Wang X, Zhao X, Yu Z, *et al.* Rtt105 stimulates Rad51-ssDNA assembly and orchestrates Rad51 and RPA actions to promote homologous recombination repair. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, **121**(34): e2402262121
- [96] Marin-Gonzalez A, Rybczynski A T, Nilavar N M, *et al.* Cohesin drives chromatin scanning during the RAD51-mediated homology search. *Science*, 2025, **390**(6777): eadw1928
- [97] Luo S C, Yang C H, Yeh H Y, *et al.* RAD51 D-loop structures reveal the mechanism of eukaryotic RAD51-mediated strand exchange. *Nat Commun*, 2025, **17**(1): 243
- [98] Lomov N A, Nikolaev N A, Viushkov V S, *et al.* The role of non-homologous end joining and microhomology-mediated end joining in chromosomal rearrangements. *Biochemistry*, 2025, **90**(11): 1468-1483
- [99] Azam N, Liu X, Li X, *et al.* Emerging insights into alternative end-joining: mechanisms, genome instability and therapeutic opportunities in cancer (Review). *Int J Oncol*, 2025, **67**(6): 103
- [100] Ramsden D A, Carvajal-Garcia J, Gupta G P. Mechanism, cellular functions and cancer roles of polymerase-theta-mediated DNA end joining. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, **23**(2): 125-140
- [101] Xiao Y, Li J, Liao X, *et al.* RIOX1-demethylated cGAS regulates ionizing radiation-elicited DNA repair. *Bone Res*, 2022, **10**(1): 19
- [102] Guo H, Han Y, Yao S, *et al.* Decrotonylation of cGAS K254 prompts homologous recombination repair by blocking its DNA binding and releasing PARP1. *J Biol Chem*, 2024, **300**(8): 107554
- [103] Qin Y, Yuan X, Cui Z, *et al.* Low dose PFDA induces DNA damage and DNA repair inhibition by promoting nuclear cGAS accumulation in ovarian epithelial cells. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, **265**: 115503
- [104] Zhang H, Jiang L, Du X, *et al.* The cGAS-Ku80 complex regulates the balance between two end joining subpathways. *Cell Death Differ*, 2024, **31**(6): 792-803
- [105] Zhu G, Asada S, Nguyen H, *et al.* Defective microhomology-mediated end-joining in SMARCB1-deficient tumors. *bioRxiv*, **2025**: 2025.11.20.689563
- [106] Ouyang J. Transcription as a double-edged sword in genome maintenance. *FEBS Lett*, 2025, **599**(2): 147-156
- [107] Yang H, Lan L. Transcription-coupled DNA repair protects genome stability upon oxidative stress-derived DNA strand breaks. *FEBS Lett*, 2025, **599**(2): 168-176
- [108] Yang H, Lachtara E M, Ran X, *et al.* The RNA m5C modification in R-loops as an off switch of Alt-NHEJ. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 6114
- [109] Laspata N, Kaur P, Mersaoui S Y, *et al.* PARP1 associates with R-loops to promote their resolution and genome stability. *Nucleic Acids Res*, 2023, **51**(5): 2215-2237
- [110] Yang H, Gao B, Wu B, *et al.* cGAS restricts PARP1-mediated microhomology-mediated end joining by suppressing poly-ADP-ribosylation. *Cell Death Differ*, 2025. DOI: 10.1038/s41418-025-01637-x
- [111] Albadrani H M, Zakariyah A F. Telomeres, telomerase, and curcumin: a new frontier in cancer therapy: a narrative review. *Biomedicine*, 2025, **13**(11): 2721
- [112] Rembiałkowska N, Sędzik M, Kisiełowska M, *et al.* Telomere maintenance and DNA repair: a bidirectional relationship in cancer biology and therapy. *Cancers*, 2025, **17**(14): 2284
- [113] Li X, Li X, Xie C, *et al.* cGAS guards against chromosome end-to-end fusions during mitosis and facilitates replicative senescence. *Protein Cell*, 2022, **13**(1): 47-64
- [114] Gaillard H, García-Muse T, Aguilera A. Replication stress and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2015, **15**(5): 276-289
- [115] Chen H, Chen H, Zhang J, *et al.* cGAS suppresses genomic instability as a decelerator of replication Forks. *Sci Adv*, 2020, **6**(42): eabb8941
- [116] Park S Y, Jeong K J, Poire A, *et al.* Nuclear cGAS mediated replication stress and mitotic catastrophe can overcome gemcitabine resistance. *Cancer Lett*, 2025, **633**: 218009
- [117] Ren M, Ai Z E, Zhang Y, *et al.* cGAS-STING signaling in the tumor microenvironment induces myeloid cell activation and favors T cell-mediated antitumor immunity. *Cancer Biol Ther*, 2025, **26**(1): 2585562
- [118] Chandramoorthy H C, Saleh R O, Altalbawy F M A, *et al.* Deciphering cGAS-STING signaling: implications for tumor immunity and hepatocellular carcinoma. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2025, **398**(10): 13481-13497
- [119] Liu X, Liu Z, Wu Z, *et al.* Resurrection of endogenous retroviruses during aging reinforces senescence. *Cell*, 2023, **186**(2): 287-304. e26
- [120] Dvorkin S, Cambier S, Volkman H E, *et al.* New frontiers in the cGAS-STING intracellular DNA-sensing pathway. *Immunity*, 2024, **57**(4): 718-730
- [121] 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. *Immunity*, 2018, **49**(4): 754-763.e4
- [122] Dowling Q M, Volkman H E, Gray E E, *et al.* Computational design of constitutively active cGAS. *Nat Struct Mol Biol*, 2023, **30**(1): 72-80
- [123] An J, Woodward J J, Lai W, *et al.* Inhibition of cyclic GMP-AMP synthase using a novel antimalarial drug derivative in Tbx1-deficient mice. *Arthritis Rheumatol*, 2018, **70**(11): 1807-1819
- [124] An J, Woodward J J, Sasaki T, *et al.* Cutting edge: antimalarial drugs inhibit IFN- β production through blockade of cyclic GMP-AMP synthase-DNA interaction. *J Immunol*, 2015, **194**(9): 4089-4093
- [125] Wang M, Soorshjani M A, Mikek C, *et al.* Suramin potently inhibits cGAMP synthase, cGAS, in THP1 cells to modulate IFN- β levels. *Future Med Chem*, 2018, **10**(11): 1301-1317
- [126] Steinhagen F, Zillinger T, Peukert K, *et al.* Suppressive oligodeoxynucleotides containing TTAGGG motifs inhibit cGAS activation in human monocytes. *Eur J Immunol*, 2018, **48**(4): 605-611
- [127] Ehsanian R, van Waas C, Feller S M. Beyond DNA binding - a review of the potential mechanisms mediating quinacrine's

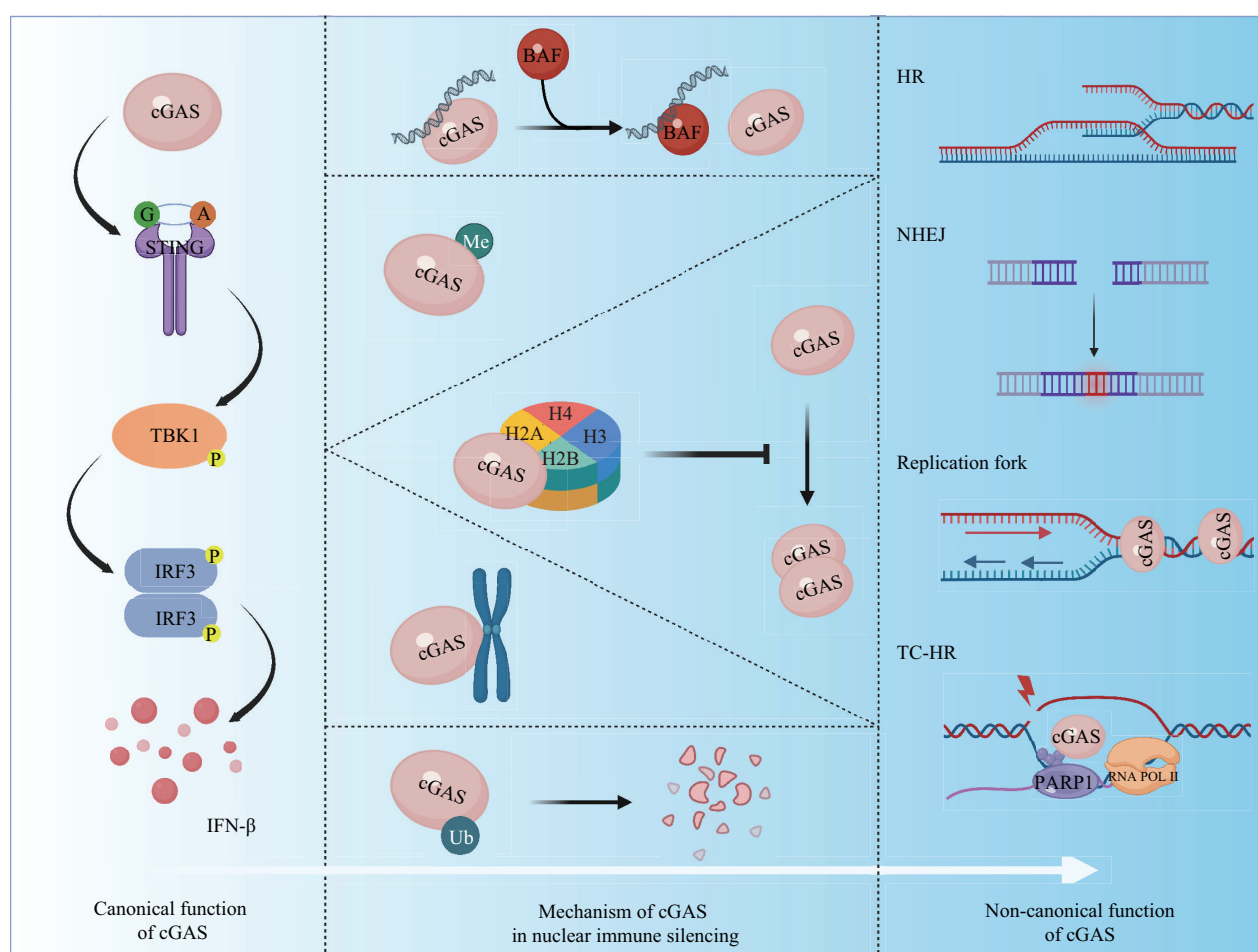
- therapeutic activities in parasitic infections, inflammation, and cancers. *Cell Commun Signal*, 2011, **9**: 13
- [128] Vincent J, Adura C, Gao P, *et al.* Small molecule inhibition of cGAS reduces interferon expression in primary macrophages from autoimmune mice. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 750
- [129] Hall J, Brault A, Vincent F, *et al.* Discovery of PF-06928215 as a high affinity inhibitor of cGAS enabled by a novel fluorescence polarization assay. *PLoS One*, 2017, **12**(9): e0184843
- [130] Lama L, Adura C, Xie W, *et al.* Development of human cGAS-specific small-molecule inhibitors for repression of dsDNA-triggered interferon expression. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2261
- [131] Zhao W, Xiong M, Yuan X, *et al.* In silico screening-based discovery of novel inhibitors of human cyclic GMP-AMP synthase: a cross-validation study of molecular docking and experimental testing. *J Chem Inf Model*, 2020, **60**(6): 3265-3276
- [132] Tan J, Wu B, Chen T, *et al.* Synthesis and pharmacological evaluation of tetrahydro- γ -carboline derivatives as potent anti-inflammatory agents targeting cyclic GMP-AMP synthase. *J Med Chem*, 2021, **64**(11): 7667-7690
- [133] Dai J, Huang Y J, He X, *et al.* Acetylation blocks cGAS activity and inhibits self-DNA-induced autoimmunity. *Cell*, 2019, **176**(6): 1447-1460.e14

cGAS: Its Canonical and Non-canonical Functions*

ZHENG Wen-Xian, XIONG Meng-Jie, JIA Shu-Ting**, ZHOU Ruo-Yu**

(Laboratory of Molecular Genetics of Aging & Tumor, School of Basic Medical Sciences, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Graphical abstract



Abstract Cyclic GMP-AMP synthase (cGAS), a pivotal molecule in innate immunity, has emerged as a keypoint in interdisciplinary research at the intersection of basic immunology and tumor biology. As a cytosolic

* This work was supported by a grant from Yunnan Basic Research Program of Department of Science and Technology of Yunnan Province (202401AT070312).

** Corresponding author.

JIA Shu-Ting. Tel: 86-871-65920753, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

ZHOU Ruo-Yu. Tel: 86-871-65920753, E-mail: ruoyuzhou@kust.edu.cn

Received: December 25, 2025 Accepted: March 23, 2026

nucleic acid sensor, cGAS is primarily characterized by its capacity to recognize double-stranded DNA (dsDNA) in the cytosol. Upon binding to dsDNA, cGAS undergoes a conformational change that promotes its dimerization and subsequent enzymatic activation. Once activated, it catalyzes the synthesis of the second messenger 2',3'-cGAMP from ATP and GTP. cGAMP then binds to the adaptor protein STING, which resides on the endoplasmic reticulum (ER) membrane. The binding process triggers STING to traffic from the ER to the Golgi apparatus, where it is phosphorylated by the kinase TBK1. Phosphorylated STING serves as a docking site for the transcription factor IRF3, facilitating its phosphorylation by TBK1. Once phosphorylated, IRF3 forms dimers and translocates to the nucleus, where it drives the expression of type I interferons and pro-inflammatory cytokines, initiating a potent antimicrobial state. The DNA-sensing mechanism of cGAS is inherently non-selective regarding the origin of its ligand. It readily detects exogenous DNA from invading pathogens, thereby playing an indispensable role in host defense against microbial infections. However, this same mechanism also enables cGAS to recognize self-DNA that leaks from the nucleus or mitochondria into the cytosol under various cellular stress conditions. While critical for immunity, the recognition of self-dsDNA by cGAS can disrupt cellular homeostasis and trigger aberrant inflammatory responses. The loss of self-tolerance can precipitate or exacerbate the pathogenesis of autoimmune disorders such as systemic lupus erythematosus (SLE) and Aicardi-Goutières syndrome (AGS), highlighting the dual role of cGAS as both a sentinel for infection and a potential driver of autoimmune pathology. Notably, the subcellular localization of cGAS is not still. Increasing recent researches have revealed that cGAS is also abundant within the nucleus, challenging the traditional view of it solely as a cytosolic nucleic acid sensor. Within the nucleus, cGAS exhibits non-canonical functions that are distinct from its canonical immunological role. First, cGAS exists in a state of stringent immunological silence in the nucleus, with mechanisms involving its competitive binding to histones and its post-translational modifications which block the activation of cGAS enzymatic activity, thus, effectively preventing it from mounting an autoimmune attack on genomic DNA. Second, cGAS plays a critical role in maintaining genomic stability. Upon DNA damage, cGAS is rapidly recruited to the lesion site and participates in the DNA damage repair process. Moreover, under conditions of DNA replication stress, cGAS contributes to the stabilization of replication forks, preventing the cell from entering a state of uncontrolled hyper-replication. Consequently, in light of the dual role of cGAS in both immune regulation and tumor development, the development of small-molecule drugs targeting cGAS holds significant therapeutic promise. This review summarizes the structural characteristics of cGAS and its canonical function as a pattern recognition receptor in the cytosol, including the types of pathogens it recognizes and the autoimmune responses resulting from erroneous recognition of self-DNA. It then focuses on its emerging non-canonical functions within the nucleus, detailing its nucleocytoplasmic shuttling, the mechanisms underlying its nuclear immune quiescence, and its role in mediating DNA damage repair and replication fork stabilization. Finally, the review discusses the progress and application prospects of small-molecule drugs targeting cGAS for the treatment of autoimmune diseases and cancer.

Key words cGAS, innate immunity, subcellular localization, DNA damage repair, cell senescence

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0567

CSTR: 32369.14.pibb.20250567