DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20221128.002
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20221128.2009.004

结核分枝杆菌药物作用机理及耐药机制研究进展

葛 赛[1],宋欣怡[2],姜惠跃[2],李昭阳[3],朱壮彦[2]✉,孙曼銮[2]✉
(1.山西大同大学学术期刊中心,山西 大同 037009;2.山西大同大学医学院医学生物学实验室,山西 大同 037009;3.美国国立卫生研究院糖尿病消化与肾病研究所分子生物学实验室,马里兰州 贝什斯达 20892)

[摘要] 结核病(Tuberculosis,TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*,MTB)引起的慢性、严重致死性传染病,也是当下仅次于新冠病毒肺炎的第二大单一传染源致死原因。伴随着抗生素滥用和抗结核药物的不规范使用,多耐药(multidrug-resistant,MDR)、泛耐药(extensively drug-resistant,XDR)和全耐药(totally drug-resistant,TDR)结核病的出现已成为全世界范围内结核病疫情消灭的障碍。据世界卫生组织统计,我国仍是全球结核病高负担国家之一,也是MDR结核病流行严重的国家之一。传统药物已无法满足现阶段结核病的控制,抗结核药物新靶点的发现和新型抗结核药物的研发已迫在眉睫。本文对传统和目前新研发的抗结核药物的作用机制进行了阐述,着重介绍了已知耐药机制的新进展,以期为开发新的抗结核药物提供新思路,降低结核病对社会的危害。

[关键词] 抗结核药物;结核分枝杆菌;耐药机制;多耐药结核
[中图分类号] R378.911 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2023)24-1904-10

Research progress on the drug action and resistance mechanism in *Mycobacterium tuberculosis*

GE Sai[1], SONG Xin-yi[2], JIANG Hui-yue[2], LI Zhao-yang[3], ZHU Zhuang-yan[2]✉, SUN Man-luan[2]✉
(1. *Academic Journal Center, Shanxi Datong University, Datong* 037009, *China*; 2. *Laboratory of Medical Biology, School of Medicine, Shanxi Datong University, Datong* 037009, *China*; 3. *Laboratory of Molecular Biology, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD* 20892, *USA*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by Fundamental Research Program of Shanxi province* (202103021223339; 20210302124435); *Shanxi Scholarship Council of China* (2022-175); *Fundamental Research Program of Shanxi Datong University* (2019*Q*2; 2019*Q*4); *Doctoral Scientific Research Foundation of Shanxi Datong University* (2018-*B*-13; 2018-*B*-28)

[*Author*]: *GE Sai, M.D., Associate Professor, E-mail: gs_sxdtdx*@163.*com.*
[*Correspondence to*]: *ZHU Zhuang-yan, M.D., Professor, Chief Physician, E-mail: zzyzljzj*@163.*com*; *SUN Man-luan, M.D., Assistant Professor, E-mail: manluansun*@126.*com.*

Received: 2023-08-09 *Revised*: 2023-11-20 *JHMU*, 2023;29(24):1904-1913

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). It is the second largest single cause of death besides novel coronavirus pneumonia. Along with the abuse of antibiotics and extensive use of anti-tuberculosis drugs, multidrug-resistant (MDR) TB, extensive drug-resistant (XDR) TB and totally drug-resistant (TDR) TB became obstacles to the tuberculosis eradication worldwide. According to the World Health Organization statistics, China is not only a high burden tuberculosis country in the world, but also a country with a serious epidemic of MDR. Traditional drugs fail to meet the needs of tuberculosis control. Therefore, it is urgent to find new targets of anti-tuberculosis drugs and develop new anti-tuberculosis drugs. Hence, this paper systematically summarizes the mechanism of traditional and newly developed anti-tuberculosis drugs, in which the research progress of drug resistance mechanisms are mainly focused. This work provides us with new in-

[基金项目] 山西省基础研究计划(202103021223339;20210302124435),山西省回国留学人员科研资助项目(2022-175);山西大同大学青年科研基金(2019Q2;2019Q4);山西大同大学博士科研启动金(2018-B-13;2018-B-28)
[作者简介] 葛赛,博士,副教授,E-mail:gs_sxdtdx@163.com。
[通讯作者] 朱壮彦,博士,教授,主任医师,E-mail:zzyzljzj@163.com;孙曼銮,博士,讲师,E-mail:manluansun@126.com。
[收稿日期] 2023-08-09 [修回日期] 2023-11-20 网络出版时间:2022-11-30 15:13:37

sights of new anti-tuberculosis drug developments, and may contribute to a reduction in the harm that tuberculosis brings to society.

[KEYWORDS] Anti-tuberculosis drugs; *Mycobacterium tuberculosis*; Resistance mechanism; Multidrug resistance tuberculosis

结核病(tuberculosis,TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*,MTB)感染引起的一种慢性的人兽共患传染病。世界卫生组织(WHO)在《2021年全球结核病报告》中指出,2020年全球71%的结核病患者接受了利福平耐药性检测,其中6.3%的患者为利福平耐药结核病(rifampicin-resistant tuberculosis,RR-TB)或多耐药结核病(multidrug-resistant tuberculosis,MDR-TB)的受害者,同时高达1.2%的患者为泛耐药结核病(extensively drug-resistant tuberculosis,XDR)或泛耐药结核病前期(pre-XDR)。2020年,我国新发结核病患者高达84.2万人,也是全球泛耐药/利福平耐药结核病高负担国家之一[1]。耐药结核菌的出现,加重了结核病的治疗难度。有研究对全球25个国家近万例MDR-TB患者进行统计学分析发现,全球MDR-TB患者治疗总体失败率高达8%,死亡率高达14%;而在我国,总体失败率更是高达19%[2]。同时,耐药结核患者往往会出现住院时间明显延长、预后情况差等问题,相较于药物敏感的结核病患者,耐药结核患者存在治愈率低、反复发作、死亡率显著增加等[3],同时,耐药结核病治疗费用较高、二线药物使用副作用大,对患者身体损伤严重等问题的出现,也使结核病的防治工作已经到了刻不容缓的地步。对抗结核药物的研发也一直是全球科研的热门话题。由于结核病的治疗周期较长,患者往往会出现用药依从性不佳等问题,导致结核病反复发作,而结核复治再一次增加了产生结核耐药的风险。有大量研究表明,治疗依从性不佳、结核复治等是导致MDR-TB发生最主要的危险因素之一,其比初治患者发生MDR-TB的风险高出11倍以上[4]。随着分子生物学技术和临床诊断技术的高速发展,已有越来越多的耐药结核分枝杆菌被报道出来,其药物作用机制及耐药机理也逐渐被探索。本文分别从药物作用机制、耐药机理等方面对临床常见一线、二线抗结核药物及最新研发药物进行总结,以期为探索结核分枝杆菌耐药的分子机制研究提供新思路。

1 抗结核药物作用机制及耐药机理

目前临床使用的抗结核药物发现时间最早可追溯到20世纪40年代(图1),很多抗结核药物已经使用了几十年,这是结核分枝杆菌耐药性的产生重要原因之一。根据药物作用效果及不良反应,目前常用的治疗结核病的药物分为一线药物和二线药物。其中,常用的一线药物包括异烟肼(isoniazid,INH)、利福平(rifampicin,RIF)、乙胺丁醇(ethambutol,EMB)、链霉素(streptomycin,STR)和吡嗪酰胺(pyrazinamide,PZA)等。为预防和加强耐药结核病的治疗效果,临床上会使用一、二线抗结核药物进行联合化疗。目前,临床上较为常见的二线药物主要有卡那霉素(kanamycin,Km)、阿米卡星(amikacin,Am)、卷曲霉素(capreomycin,Cm)、利奈唑胺(linezolid,LZD)、乙硫异烟胺(ethionamide,ETH)、丙硫异烟胺(prothionamide,PTH)、氟喹诺酮类药物(fluoroquinolones,FQs)、对氨基水杨酸(para-amino salicylic acid,PAS)、D-环丝氨酸(D-Cycloserine,DCS)、氯法齐明(clofazimine,CFZ)等。人类对抗结核新药的研发从未停止过,自2012年以来,已经有包括贝达喹啉(Bedaquiline,BDQ)、德拉马尼(Delamanid,DLM,OPC-67683)、普托马尼(Pretomanid,PA-824)等3种新的抗结核化学药物上市,还有其它二十余种药物进入了临床试验阶段[5]。

按照药物作用机制,将常见抗结核药物分为5类(图2所示):(1)阻碍细胞壁的合成(乙胺丁醇、异烟肼等);(2)影响细胞膜的通透性(链霉素等);(3)阻碍蛋白质的合成(氨基糖苷类、多肽类、利奈唑胺等);(4)抑制核酸合成(氟喹诺酮类、利福霉素类等);(5)阻断叶酸代谢(对氨基水杨酸等)。同样,针对不同药物的作用机制,结核分枝杆菌也进化出了相应的耐药机制以抵抗药物“威胁”。通常,结核分枝杆菌耐药机制可分为固有耐药和获得性耐药;固有耐药又称天然耐药,例如,结核分枝杆菌由于其叶酸代谢途径不同而天然对低浓度甲氧苄啶(trimethoprim,TMP)不敏感[6]。而获得性耐药一般是指因发生突变等导致细菌内基因的改变,从而引起体内生化机制改变,导致耐药性产生。目前,针对结核分枝杆菌耐药分子机制的研究主要集中在药物的作用靶点和与之相关的突变基因上,例如:(1)基因突变导致药物代谢酶失活或钝化(吡嗪酰胺等);(2)作用靶点改变,降低了与抗结核药物的亲和力(乙胺丁醇等);(3)改变细胞壁、细胞膜的通透性,从而造成药物的渗透障碍(德拉马尼、氟喹诺酮类药物等);(4)改变主动外排机制,导致结核分枝杆菌直接将药物通过外排泵排出;(5)形成细菌生物被膜,阻碍药物进入体内[7]。

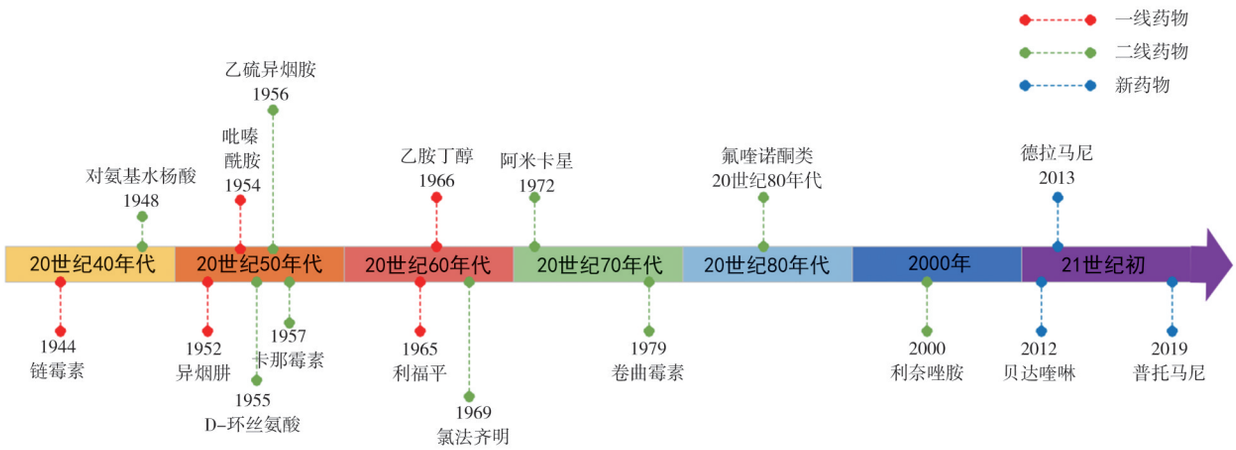


图1　抗结核药物上市时间

Fig 1　Timeline of the application of anti-tuberculosis drugs

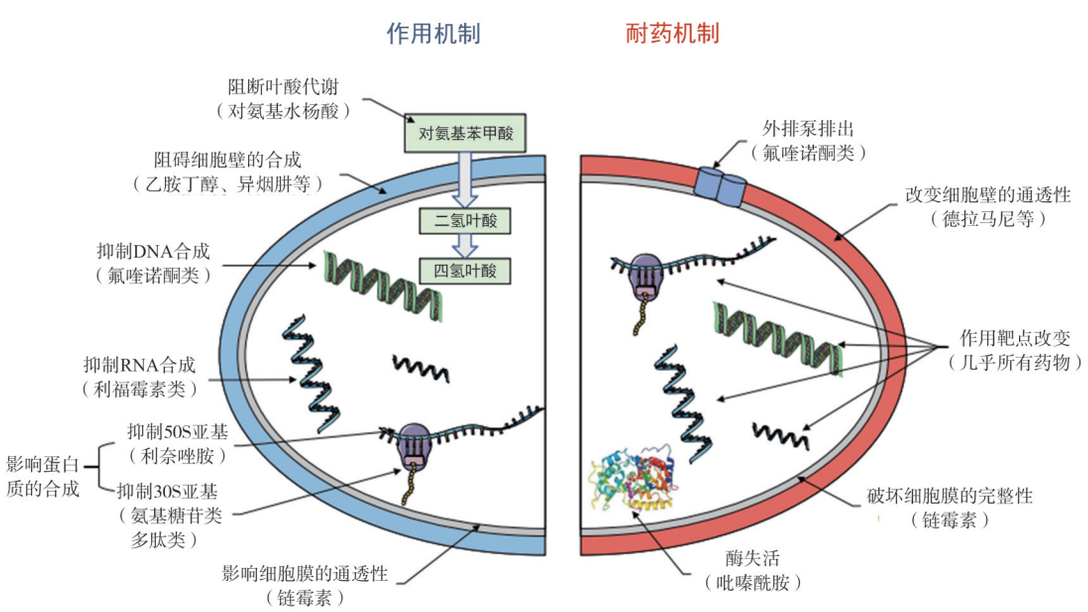


图2　抗结核药物作用机制及耐药机制（参考文献[8]修改）

Fig 2　Mechanisms of action and drug resistance of anti-tuberculosis drugs[8]

2　一线药物

2.1　异烟肼

异烟肼（INH）自1952年被应用于临床来，一直是结核病治疗的经典药物，因其具有便宜、有效、副反应少，且对繁殖期和静止期的结核分枝杆菌均具有杀菌作用等优点，也是目前临床使用中最常见的抗结核药物之一[9]。当INH进入MTB体内，其首先被过氧化氢酶KatG还原，并与NAD^+结合形成异烟酸-NAD复合物（isonicotinic-NAD），通过与NADH特异性烯酰基酰基载脂蛋白还原酶InhA相互作用，抑制MTB细胞壁中分枝菌酸的合成，破坏细胞壁完整性，加速细胞破裂并最终导致代谢旺盛或静止期的MTB死亡[10]。此外，INH还被证实能够通过减少氧化应激ROS诱导的机体免疫细胞死亡，从而能够进一步防止结核病的发生[11]。

针对INH耐药性的研究也主要集中在与InhA和KatG相关靶点的基因突变中。例如，*katG*基因突变，最常见的为KatG蛋白中第315位Ser残基突变为Thr，可解除INH对分枝菌酸合成的抑制作用，通过促进细胞壁中分枝菌酸的合成使MTB产生对INH的耐药作用[12]。同样，通过对临床INH耐药株的分析发现，耐药株中存在大量*inhA*基因启动子突

变,最常见的基因突变类型为C15T[13],因此推测*inhA*基因突变也可能会引起MTB对INH产生耐药[13]。此外,INH进入体内后,MTB可能会产生自由基并影响自身代谢,进而降低对INH的敏感性。此外,InhA蛋白Thr266能够发生磷酸化修饰,修饰后活性降低,改变细胞壁通透性,可能影响其对INH的耐药性[14]。

铁调节蛋白HupB发生乙酰化修饰也会影响MTB相应基因表达,使细胞产生对INH的耐药性[15]。近年来,也有报道认为与乙胺丁醇耐药性相关的*embB*基因发生突变也可能引起MTB对INH突变,具体机制有待进一步研究[9]。此外,PknG、SahH、KasB等多种蛋白也可能参与INH耐药性的产生[16]。

2.2 利福平

利福平(RIF)是由利福霉素类药物衍生而来的半合成抗生素,对代谢活跃或缓慢的MTB均有抑制作用。RIF主要作用于MTB的RNA聚合酶β亚单位,阻碍mRNA的延伸,抑制蛋白质的合成,影响转录发生进而起到杀灭MTB的作用[17]。临床上长期使用RIF注射液进行治疗易使患者出现对RIF一定程度耐药。但在实际情况中发现,对RIF单纯耐药的情况较为罕见。一般情况下,对RIF耐药的菌株也对其它药物具有耐药性(特别是与INH的联合耐药);因此,一般RIF耐药是MDR的标志性特征之一[1]。RIF主要作用于RNA聚合酶β亚单位,因此,RIF诱导的耐药性通常与其编码基因*rpoB*发生突变有关[17]。*rpoB*基因突变导致RNA聚合酶亚基蛋白构象发生改变,产生RIF耐药。目前较多研究认为与RIF耐药的突变主要集中于*rpoB*基因的利福平耐药决定区(rifampicin resistance determining regions,RRDR)[18]。据WHO统计,2020年我国新发病例中,经细菌学证实的TB病例中对RIF耐药百分比高达83%;而在治疗后又复发的病例中,经细菌学证实的TB病例对RIF耐药的百分比高达97%[1];因此,临床上常建议RIF与其它药物联用以防止耐药性的产生,起到更好的治疗效果。

2.3 乙胺丁醇

乙胺丁醇(EMB)于1961年发现并于1966年开始用于结核病的治疗。EMB主要作用于生长活跃的MTB,对处于休眠期的MTB菌株无明显杀菌作用。EMB的作用机制与MTB细胞壁合成有关,作为阿拉伯多糖的结构类似物,其通过抑制MTB细胞壁合成过程中的阿拉伯糖基转移酶阻断阿拉伯半乳糖的合成,降低细胞壁的通透性而起到杀菌作用[18]。有研究表明,EMB耐药性的产生机制主要与阿拉伯糖基转移酶相关基因*embC*、*embA*、*embB*突变有关。临床分离的EMB耐药株中,*embB*基因突变最为常见;此外,*embC*和*embC-embA*基因区域发生突变也会导致EMB产生耐药[19]。同样,蛋白质翻译后修饰也能间接调控*emb*ABC操纵子转录过程,进而调节EMB耐药性的变化[19]。在临床上,EMB主要用于对对氨基水杨酸类药物存在禁忌症的患者的治疗,并常与INH和RIF联合使用。

2.4 吡嗪酰胺

吡嗪酰胺(PZA)结核分枝杆菌NAD代谢重要产物喹啉酸(quinolinic acid,QA)的结构类似物[20]。PZA可以杀死宿主巨噬细胞中休眠和半休眠状态的MTB。一般认为,PZA通过膜转运系统进入细菌,在由*pncA*基因编码的吡嗪酰胺酶(Pyrazinamidase,PZase)作用下转化为其活性形式吡嗪酸(pyrazinoic acid,POA),POA经外排机制进入膜外酸性环境形成质子化的吡嗪酸,通过影响膜电位导致细胞损伤,进而杀死MTB[20]。此外,PZA也可以通过影响脱氢酶脱氢而影响MTB的正常代谢,产生抗菌作用[21]。2011年,Shi等人发现PZA的体内活性形式POA可直接以核糖体30S亚基中的S1蛋白为靶标,影响蛋白质翻译过程,从而增强PZA活性[21]。目前,对于PZA耐药机制尚无定论,研究也主要集中在*pncA*基因突变上[25]。此外,rspA、panD、fadD2及与FAS-Ⅰ代谢中有关的基因也可能与PZA的耐药性有关[22]。

2.5 链霉素

链霉素(STR)是最早用于结核病治疗的、氨基糖苷类的一线注射类药物,进对处于对数生长期的MTB有杀菌作用。STR可直接结合MTB核糖体30S亚基中的16S rRNA(*rrs*基因编码)和S12核糖体蛋白(*rspL*基因编码),阻碍tRNA与核糖体的结合进而抑制细菌蛋白质合成,导致细菌死亡。因此,*rspL*和*rrs*基因突变是MTB产生STR抗性的主要原因之一[23]。在对临床分离的137株MTB菌株检测中发现,86.13%的STR耐药株携有*rpsL*或*rrs*基因突变,其中*rpsL*基因突变占大多数(67.15%);此外,也有研究报道低水平的STR耐药性与编码16S rRNA甲基转移酶的*gidB*基因的突变有关[24]。

3 二线药物

3.1 氟喹诺酮类药物

氟喹诺酮类(FQs)药物是临床上使用较为广泛的广谱类抗生素,也是治疗XDR结核病的首选药物,常用于抗结核治疗的FQs主要包括传统的氧氟

沙星(ofloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)、环丙沙星(ciprofloxacin)及较新的司帕沙星(sparfloxacin)等。在临床上,因具有不易于其它抗结核药物产生交叉耐药反应这一优点,FQs主要用于耐药结核病的联合治疗,例如其对一线药物INH、RIF耐药的MDR感染患者有良好的治疗效果。FQs作用于MTB的DNA旋转酶(Ⅱ型DNASA拓扑异构酶),通过抑制MTB的转录和翻译来抑制其生长[25]。因此,目前认为FQs耐药位点集中在喹诺酮类药物耐药决定区(quinolone resistance-determining regions,QRDRs)的基因中[26]。DNA旋转酶亚基编码基因*gyrA*和*gyrB*突变会导致FQs的MIC增加。此外,药物外排泵的增加也会影响FQs的耐药性;MTB细胞壁增厚和通透性降低也是FQs耐药的原因,但细胞壁增厚引起的FQs耐药性水平较低,分子机制有待进一步明确[27]。

3.2 对氨基水杨酸

对氨基水杨酸(PAS)属于叶酸前体对氨基苯甲酸(P-aminobrnzoic acid,PABA)的结构类似物,是叶酸拮抗剂类药物中最常用的抗结核药物。其它叶酸拮抗剂类药物还包括氨苯砜、WR99210和复方新诺明(磺胺甲恶唑与甲氧苄啶的复方制剂)等,作用靶点研究集中在四氢叶酸从头合成途径中的几个必需的酶:二氢叶酸合成酶(dihydropteroate synthase,DHFS,FolP1)、二氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductase,DHFR)及黄素依赖性胸苷酸合成酶(flavin-dependent thymidylate synthase)等[28]。在MTB体内,PAS可竞争性结合DHFS并抑制DHFR的活性,导致四氢叶酸(tetrahydrofolic acid,THF)合成显著减少,明显抑制脱氧尿苷5-磷酸(dUMP)转化为脱氧胸苷5-磷酸酯(dTMP),造成DNA合成紊乱而使MTB死亡[29]。目前针对PAS耐药研究较多的是Folc蛋白编码基因*folC*,其突变会提高MTB对PAS的代谢速率,从而产生PAS耐药[30]。核黄素生物合成酶(riboflavin biosynthesis enzyme,RibD)可催化二氢叶酸(dihydrofolic acid,DHF)转变为THF,其编码基因*ribD*突变导致RibD表达上调代替DHFR行使相应功能,导致PAS耐药产生[31]。此外,酰基转移酶PapA1、SigB和MmpL11等蛋白编码基因的突变也可能与PAS的耐药性有关,具体机制有待进一步研究[32,33]。

3.3 氨基糖苷类抗生素和多肽类药物

在结核病治疗中常见的二线注射类药物包括氨基糖苷类的卡那霉素(kanamycin,Km)、阿米卡星(amikacin,Am)和紫霉素(viomycin)和多肽类的卷曲霉素(capreomycin)等。这些药物都是通过与MTB核糖体30S亚基中的16S rRNA结合从而抑制蛋白翻译过程,引发MTB死亡[34]。因其药物作用机制相似,这些药物的耐药机制常被放在一起讨论;不仅如此,越来越多的研究开始关注这些药物之间的交叉耐药性。研究表明,*tlyA*基因可能编码一种预测的rRNA甲基转移酶,其突变能够使MTB产生对卷曲霉素和紫霉素的耐药性[35]。编码16S rRNA的*rrs*基因突变与四种药物的耐药性均有关。最新研究表明,编码氨基糖苷乙酰基转移酶的*eis*基因启动子区突变会影响MTB对低水平阿米卡星和卡那霉素的耐药性[36],而*eis*或*whiB7*突变能够导致MTB对卡那霉素产生耐药性[37]。在临床治疗中,卷曲霉素对静止期TB效果良好,且相较于其它二线药物毒副作用较小;但单独使用极易产生耐药性,因此在临床中常和INH、EMB等一线药物联用。

3.4 利奈唑胺

利奈唑胺(LZD)于2000年4月作为第一个全合成的恶唑烷酮类抗菌药在美国经FDA批准上市,能有效治疗各类革兰氏阳性菌感染。LZD作用于核糖体50S亚基的23S rRNA上,通过与50S亚基结合而抑制70S翻译起始复合物的形成,阻止蛋白质翻译而发挥抗MTB作用[38]。目前,大多数已知与LZD耐药性相关的基因研究主要集中在*rplC*基因和*rrl*基因。*rplC*基因编码MTB核糖体50S亚基中核糖体蛋白L3。*rplC*突变往往与不同程度的LZD耐药性相关,最常见的突变是第460位Thr突变为Cys[39]。基因*rrl*主要编码23S rRNA,其突变也会使MTB产生LZD耐药性;其中G2061T是最常见的突变,且此突变会使MTB菌株产生较高的LZD耐药性[40]。临床治疗中,LZD有较强的血液和骨髓毒性等毒副作用,约40%~90%的患者遭受不良反应,6%~8%的患者因强烈的神经性病变及骨髓抑制等副作用而停药[41]。在MTB的治疗中,较大的毒副作用让LZD的临床使用受严格限制。但作为首个全合成的恶唑烷酮类抗菌药,它在结核病治疗中的应用为探索新型的恶唑烷酮类抗MTB药物提供了思路。

3.5 乙硫异烟胺和丙硫异烟胺

乙硫异烟胺(ETH)和丙硫异烟胺(PTH)均属于硫代酰胺类药物,它们在作用上类似于INH,但抗菌活性远低于INH,且与INH存在部分交叉耐药[42]。和INH作用机制类似,ETH和PTH在胞内

发挥作用需要单氧化酶EthA蛋白激活后，生成与异烟酸结构相似的代谢产物，抑制靶蛋白InhA酶的活性，破坏MTB细胞壁中分枝菌酸的合成，导致细胞壁完整性被破坏，加速细胞破裂并最终导致代谢旺盛或静止期的MTB死亡[10]。因此，与ETH和PTH耐药性相关的突变主要是药物活化*ethA*和药物靶点*inhA*基因的改变[43]。此外，转录抑制因子EthR通过结合在*ethA-ethR*基因间隔区来抑制*ethA*的表达，降低EthA蛋白的活性，导致结核分枝杆菌对ETH耐药性增加[44]。有研究发现，在临床针对MDR-TB患者的治疗中，ETH和PTH的耐药性较为严重；因此，也有学者建议存在ETH和PTH既往用药史的患者再次使用两种药物前应接受药敏试验，避免耐药性产生导致的治疗效果不足[37]。

3.6 D-环丝氨酸

D-环丝氨酸（DCS）与RIF一样，属于广谱抗生素[45]。DCS是D-丙氨酸的结构类似物，主要影响MTB细胞壁中D-丙氨酸合成肽聚糖。它通过抑制丙氨酸消旋酶（*pncA*基因编码）和丙氨酸连接酶（*ddlA*基因编码）活性，使细胞壁合成受损，细菌耐酸能力减弱从而起到杀菌或抑菌作用[46]。对目前已知的DCS耐药株进行分析发现，与DCS耐药可能相关的突变基因主要集中在*ald*，*pncA*和*ddlA*基因上。基因*ald*编码L-丙氨酸脱氢酶，并参与丙氨酸代谢。*ald*缺失导致MTB胞内发生L-丙氨酸补偿现象，大量L-丙氨酸积累会降低DCS的竞争性抑制效应，从而使MTB产生耐药性[47]。基因*pncA*编码丙氨酸消旋酶，基因*ddlA*编码丙氨酸连接酶，二者基因突变导致丙氨酸消旋酶和连接酶的过表达可导致卡介苗菌株产生DCS耐药性。最新的研究发现，在分离的513株XDR菌株中，153株DCS耐药株中存在*pykA*、*cycA*、*ald*和*alr*基因突变，但具体机制有待进一步研究[48]。

3.7 氯法齐明

氯法齐明（CFZ）亦称氯苯吩嗪或克风敏，是一种亚氨基苯嗪类药物，其关键结构特征是吩嗪核，使其具有高亲脂性的高效跨膜渗透特性。早期CFZ主要用于麻风病的治疗，近年来已被用于治疗结核病[49]。CFZ的详细作用机制仍不明确，可能通过抑制MTB衍生因子对吞噬细胞的杀伤作用而抑制菌体的生长繁殖；也可能与过氧化氢、超氧化物或ROS等胞内氧化应激有关[50]。有研究发现，MTB的转录调节因子*rv0678*基因发生突变可上调外排泵MmpL5的表达，导致CFZ与贝达喹啉（BDQ）之间发生交叉耐药[51]。

4 新药物

4.1 贝达喹啉

贝达喹啉（BDQ）于2012年12月经FDA批准在美国上市，属二芳基喹啉类化合物，它可以与MTB中的ATP合酶寡聚体C结合，影响ATP合酶质子泵的活性，特异性抑制ATP合成酶活性，使ADP不能转化为ATP，阻断MTB的ATP能量供应而发挥抗结核作用[52]。目前，BDQ在MTB治疗中的应用已超过50个国家和地区，且已有BDQ耐药病例及其与CFZ交叉耐药的报道[53]。目前研究发现MTB存在较为复杂的BDQ耐药机制，包括通过过表达一些转录因子来进行转录调节、减少TCA循环数以改变ATP的产生和消耗、改变代谢途径以维持ATP水平等[29]。针对BDQ耐药基因的研究还包括*atpE*、*rv0678*和*pepQ*等基因的突变[54]。此外，Guo等[55]发现了一个与BDQ抗性有关的新基因*glpK*，但具体耐药机制有待进一步阐明。

4.2 德拉马尼和普托马尼

德拉马尼（OPC-67683）和普托马尼（PA-824）分别于2014年和2019年被批准上市，二者均为前体药物，同属硝基咪唑类，体内外实验均显示对MDR菌株有很强的抗菌活性，对休眠期和宿主胞内的MTB均具有杀菌作用[56]。作为前药，二者均需要依赖于F420辅因子的硝基还原酶Ddn激活，通过阻碍MTB细胞壁分枝菌酸合成而改变细胞壁的渗透性，从而起杀菌作用。前药活化所需Ddn的活性取决于辅酶F420的正常态与还原态，这一形态转变是由F420依赖型葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（*fdg1*基因编码）介导的，而*fdg1*基因与*fbiA*、*fbiB*、*fbiC*基因的合成与激活息息相关[56]；同时，*fibD*基因编码的鸟苷单磷酸转移酶也是合成F420所必需的[57]，因此*ddn*、*fgd1*、*fbiA*、*fbiB*、*fbiC*和*fbiD*基因突变可能与二者耐药性有关[58]。其中，*fbiD*基因突变与PA-824的高水平耐药有关，但与OPC-67683抗性之间的关系还需要进一步研究[59]。另外也有研究表明，PA-824被Ddn活化时会产生NO等活性自由基，抑制MTB呼吸链电子传递，导致细菌生长受到抑制[60]。在临床治疗中，OPC-67683的总体耐受性良好，但在与其它抗结核药物如FQs联用时，可能会提高晕厥、心律不齐等不良反应发生的概率[61]。

4.3 研发中的新药物

自2021年至今，除上述已经上市的3个新药外，目前仍有23个新化学实体药物进入临床试验阶段。其中，我国研发的新药有4种，分别为：TBI-223（恶唑烷酮类，I期临床试验阶段）、澳利莫迪（Auli-

manid，I期临床试验）、吡法齐明（TBI-166，II期临床试验阶段）、和舒达吡啶（WX-081，II期临床试验阶段）[5]。

5 展望

本文对目前临床中常见的一、二线抗结核药物的作用机理及耐药机制进行了系统阐述，并对已上市和处于临床试验阶段的新药物进行了总结（见表1）。

表1 常见抗结核药物的作用靶点及耐药基因

Tab 1 Targets and drug resistance genes of anti-tuberculosis drugs

药物类别	药物名称	英文缩写	药物类别	可能作用靶点	相关耐药基因
一线药物	利福平	RIF	利福霉素类	RNA聚合酶的β亚单位	*rpoB*
	异烟肼	INH		霉菌酸	*katG*、*inhA*、*embB*
	乙胺丁醇	EMB		RNA	*embC*、*embA*、*embB*
	链霉素	STR	氨基糖苷类	核糖体蛋白	*rspL*、*rrs*、*gidB*
	吡嗪酰胺	PZA	烟酰胺类似物	多个作用靶点	*pncA*、*rpsA*、*panD*
二线药物	卡那霉素	Km	氨基糖苷类	核糖体蛋白	*rrs*、*eis*
	阿米卡星	Am	多肽类		*rrs* 、*eis*
	卷曲霉素	Cm		核糖体蛋白	*rrs*、*tlyA*
	利奈唑胺	LZD	恶唑烷酮类		*rplC*
	乙硫异烟胺	ETH	硫代酰胺类	InhA酶	*inhA*、*ethA*
	丙硫异烟胺	PTH			
	氟喹诺酮类	FQs	氟喹诺酮类	DNA旋转酶（Ⅱ型DNASA拓扑异构酶）	*gyrA*、*gyrB*
	对氨基水杨酸	PAS	对氨基苯甲酸同似物	调节叶酸合成	*folC*、*ribD*
	D-环丝氨酸	DCS	D-环丙酸的结构类似物	细胞壁	*ald*、*pncA*`*ddlA*
	氯法齐明	CFZ	亚氨基苯嗪类	蛋白质的合成	*MmpL5*
新上市药物	贝达喹啉	BDQ	二芳基喹啉类	ATP合成	*atpE*、*Rv0678* 、*pepQ*
	德拉马尼	OPC-67683	硝基咪唑类	阻碍细胞壁霉菌酸的合成	*ddn*、*fgd1*、*fbiA* 、*fbiB*、*fbiC*
	普托马尼	PA-824			*ddn*、*fgd1*、*fbiA* 、*fbiB*、*fbiC*、*fbiD*

人类已和结核病斗争了数个世纪，治疗结核病的药物在现阶段已经取得了不错的进展，但仍存在许多问题亟待解决。从目前的研究来看，我们对MTB耐药机制了解方面仍然有限，为新的临床抗结核药物研发增加了难度。新药物的上市无疑会为结核病患者带来的更多的治愈机会，但是新药物的价格依然非常昂贵。且根据WHO的最新报告统计[1]，在成功治愈的患者中，有94%的患者治疗时间长达2年，4%的患者治疗时间长达3年。治疗周期长导致患者服药依从性差，进一步加重了结核耐药性的产生。因此，研发新药物和新制剂类型以缩短治疗时间也迫在眉睫。了解MTB的耐药机制对于新型抗结核药物的研发至关重要。分子诊断和组学分析的快速发展也为耐药基因的确定提供了诸多帮助，但仍然存在许多问题，例如，不同耐药机制之间是否存在相互作用、交叉耐药是导致耐药突变的积累还是拮抗、同一耐药机制下药物之间的竞争等仍是值得研究的话题。本综述阐述了抗结核药物的抗菌机制和结核分枝杆菌的耐药机制，以期为研发更多新药提供参考。

作者贡献度说明：

葛赛：相关文献收集、整理与撰写；宋欣怡、姜惠跃：文章撰写和绘图；朱壮彦、孙曼銮：文章构思设计、审核，写作指导。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 World Health Organization. Global tuberculosis report 2021[R]. Geneva: WHO, 2021.

2 Ahmad N, Ahuja SD, Akkerman OW, et al. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: An individual patient data analysis [J]. Lancet, 2018, 392: 821-834.

3 Dean AS, Auguet OT, Glaziou P, et al. 25 years of surveillance of drug-resistant tuberculosis: Achievements, challenges, and way forward [J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22(7): e191-e196.

4 He X, Zhang X, Zhao J, et al. Epidemiological trends of drug-resistant tuberculosis in China from 2007 to 2014:

A retrospective study[J]. Medicine, 2016, 95(15): e3336.

5 朱子豪, 张文轩, 李天磊, 等. 抗结核药物研究进展[J]. 药学学报, 2022, 57(4): 892-902.

6 Vilchèze C, Jacobs Jr WR. The combination of sulfamethoxazole, trimethoprim, and isoniazid or rifampin is bactericidal and prevents the emergence of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(10): 5142-5148.

7 吴云. 结核分枝杆菌的耐药机制研究[J]. 中外医疗, 2011, 30(9): 126.

8 Wright, GD. Q&A: Antibiotic resistance: Where does it come from and what can we do about it[J]. BMC Biology, 2010, 8(1): 1-6.

9 李艳丽, 杨若鹏, 刘伟, 等. 脊柱结核易感性与相关基因多态性研究进展[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(9): 715-720.

10 Zhao X, Hersleth HP, Zhu J, et al. Access channel residues Ser315 and Asp137 in *Mycobacterium tuberculosis* catalase-peroxidase(KatG) control peroxidatic activation of the pro-drug isoniazid[J]. Chem Communic, 2013, 49(99): 11650-11652.

11 Chen Y, Yang F, Sun Z, et al. Proteomic analysis of drug-resistant Mycobacteria: Co-evolution of copper and INH resistance[J]. PloS One, 2015, 10(6): e0127788.

12 Unissa AN, Subbian S, Hanna LE, et al. Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2016, 45: 474-492.

13 Seifert M, Catanzaro D, Catanzaro A, et al. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A systematic review[J]. PloS One, 2015, 10(3): e0119628.

14 Walker TM, Kohl TA, Omar SV, et al. Whole-genome sequencing for prediction of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility and resistance: A retrospective cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(10): 1193-1202.

15 Sakatos A, Babunovic GH, Chase MR, et al. Posttranslational modification of a histone-like protein regulates phenotypic resistance to isoniazid in mycobacteria[J]. Sci Adv, 2018, 4(5): eaao1478.

16 Arora G, Bothra A, Prosser G, et al. Role of post-translational modifications in the acquisition of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. FEBS J, 2021, 288(11): 3375-3393.

17 Xu G, Liu H, Jia X, et al. Mechanisms and detection methods of *Mycobacterium tuberculosis* rifampicin resistance: The phenomenon of drug resistance is complex[J]. Tuberculosis, 2021, 128: 102083.

18 Lingaraju S, Rigouts L, Gupta A, et al. Geographic differences in the contribution of ubiA mutations to high-level ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(7): 4101-4105.

19 Brossier F, Sougakoff W, Bernard C, et al. Molecular analysis of the embCAB locus and embR gene involved in ethambutol resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in France[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(8): 4800-4808.

20 Cole MS, Howe MD, Buonomo JA, et al. Cephem-pyrazinoic acid conjugates: Circumventing resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Chem A Eur J, 2022, 28(51): e202200995.

21 Shi W, Zhang X, Jiang X, et al. Pyrazinamide inhibits trans-translation in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Science, 2011, 333(6049): 1630-1632.

22 周婷婷, 郑小曼, 欧阳净, 等. 结核分枝杆菌对吡嗪酰胺耐药的相关基因及耐药机制研究进展[J]. 中国防痨杂志, 2022, 44(1): 102-105.

23 郑伟, 田甜, 王琦, 等. 结核分枝杆菌的耐药机制研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2021, 37(11): 1044-1052.

24 Shafipour M, Shirzad-Aski H, Mohammadzadeh A, et al. Evaluation of mutations related to streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates[J]. Curr Microbiol, 2022, 79(11): 1-7.

25 Zhang X, Chen X, Wang B, et al. Molecular characteristic of both levofloxacin and moxifloxacin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* from individuals diagnosed with preextensive drug-resistant tuberculosis[J]. Microb Drug Resist, 2022, 28(3): 280-287.

26 Kawaguchiya M, Urushibara N, Aung MS, et al. Molecular characterization and antimicrobial resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women in Japan, 2017-2021[J]. IJID Reg, 2022, 4: 143-145.

27 Reddy DS, Sinha A, Kumar A, et al. Drug re-engineering and repurposing: A significant and rapid approach to tuberculosis drug discovery[J]. Arch Pharm, 2022, 355(11):2200214.

28 Hajian B, Scocchera E, Shoen C, et al. Drugging the folate pathway in *Mycobacterium tuberculosis*: The role of multi-targeting agents[J]. Cell Chem Biol, 2019, 26(6): 781-791. e6.

29 Goossens SN, Sampson SL, Van Rie A. Mechanisms of drug-induced tolerance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 34(1): e00141-20.

30 Wei W, Yan H, Zhao J, et al. Multi-omics comparisons

of p-aminosalicylic acid(PAS) resistance in folC mutated and un-mutated *Mycobacterium tuberculosis* strains[J]. Emerging Microbes Infect, 2019, 8(1): 248-261.

31 Zhao F, Wang XD, Erber LN, et al. Binding pocket alterations in dihydrofolate synthase confer resistance to para-aminosalicylic acid in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(3): 1479-1487.

32 Melly G, Purdy GE. MmpL proteins in physiology and pathogenesis of *M. tuberculosis*[J]. Microorganisms, 2019, 7(3): 70.

33 Liu J, Shi W, Zhang S, et al. Mutations in efflux pump Rv1258c(Tap) cause resistance to pyrazinamide, isoniazid, and streptomycin in *M. tuberculosis*[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 216.

34 Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(8): 3192-3197.

35 Liu Y, Shi J, Chu P, et al. Exploratory study on detection of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens by next-generation sequencing[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2022, 45(6): 552-559.

36 Gikalo MB, Nosova EY, Krylova LY, et al. The role of eis mutations in the development of kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the Moscow region[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(9): 2107-2109.

37 Islam MM, Tan Y, Hameed HA, et al. Prevalence and molecular characterization of amikacin resistance among *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from southern China[J]. J Global Antimicrob Resist, 2020, 22: 290-295.

38 Brenciani A, Morroni G, Schwarz S, et al. Oxazolidinones: Mechanisms of resistance and mobile genetic elements involved[J]. J Antimicrob Chemother, 2022, 77(10): 2596-2621.

39 Zong Z, Jing W, Shi J, et al. Comparison of *in vitro* activity and MIC distributions between the novel oxazolidinone delpazolid and linezolid against multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(8): e00165-18.

40 Zhang Z, Pang Y, Wang Y, et al. Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* is significantly associated with linezolid resistance in multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in China[J]. Int J Antimicrob Agents, 2014, 43(3): 231-235.

41 胡宇华, 赵欣彤, 李天磊, 等. 噁唑烷酮类抗菌药物研究进展[J]. 药学学报, 2022: 1-36.

42 Vilchèze C, Jacobs Jr WR. Resistance to isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*: Genes, mutations, and causalities[J]. Microbiol Spectrum, 2014, 2(4):MGM2-0014-2013.

43 Rueda J, Realpe T, Mejia GI, et al. Genotypic analysis of genes associated with independent resistance and cross-resistance to isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(12): 7805-7810.

44 Mugumbate G, Mendes V, Blaszczyk M, et al. Target identification of *Mycobacterium tuberculosis* phenotypic hits using a concerted chemogenomic, biophysical, and structural approach[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 681.

45 De Chiara C, Homšak M, Prosser GA, et al. D-Cycloserine destruction by alanine racemase and the limit of irreversible inhibition[J]. Nat Chem Biol, 2020, 16(6): 686-694.

46 Kumar R, Singh N, Chauhan A, et al. *Mycobacterium tuberculosis* survival and biofilm formation studies: Effect of d-amino acids, d-cycloserine and its components[J]. J Antibiot, 2022. 75, 472-479.

47 Desjardins CA, Cohen KA, Munsamy V, et al. Genomic and functional analyses of *Mycobacterium tuberculosis* strains implicate ald in D-cycloserine resistance[J]. Nat Genet, 2016, 48(5): 544-551.

48 Trisakul K, Nonghanphithak D, Chaiyachat P, et al. High clustering rate and genotypic drug-susceptibility screening for the newly recommended anti-tuberculosis drugs among global extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates[J]. Emerging Microbes Infect, 2022, 11(1): 1857-1866.

49 Riccardi N, Giacomelli A, Canetti D, et al. Clofazimine: An old drug for never-ending diseases[J]. Fut Microbiol, 2020, 15(7): 557-566.

50 Schildkraut JA, Coolen JP, Burbaud S, et al. RNA sequencing elucidates drug-specific mechanisms of antibiotic tolerance and resistance in mycobacterium abscessus[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2022, 66(1): e01509-21.

51 Wang G, Jiang G, Jing W, et al. Prevalence and molecular characterizations of seven additional drug resistance among multidrug-resistant tuberculosis in China: A subsequent study of a national survey[J]. J Infect, 2021, 82(3): 371-377.

52 Divita K, Khatik GL. Current perspective of ATP synthase inhibitors in the management of the tuberculosis[J]. Curr Topics Med Chem, 2021, 21(18): 1623-

1643.

53 Hartkoorn RC, Uplekar S, Cole ST. Cross-resistance between clofazimine and bedaquiline through upregulation of MmpL5 in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(5): 2979-2981.

54 Nguyen TVA, Anthony RM, Bañuls AL, et al. Bedaquiline resistance: Its emergence, mechanism, and prevention[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(10): 1625-1630.

55 Guo Q, Bi J, Lin Q, et al. Whole genome sequencing identifies novel mutations associated with Bedaquiline resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12:807095.

56 Fujiwara M, Kawasaki M, Hariguchi N, et al. Mechanisms of resistance to delamanid, a drug for *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Tuberculosis, 2018, 108: 186-194.

57 Bashiri G, Antoney J, Jirgis EN, et al. A revised biosynthetic pathway for the cofactor F420 in prokaryotes[J]. Nat Communic, 2019, 10(1): 1-12.

58 Gómez-González PJ, Perdigao J, Gomes P, et al. Genetic diversity of candidate loci linked to *Mycobacterium tuberculosis* resistance to bedaquiline, delamanid and pretomanid[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 1-13.

59 Rifat D, Li SY, Ioerger T, et al. Mutations in fbiD (Rv2983) as a novel determinant of resistance to pretomanid and delamanid in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 65(1): e01948-20.

60 Liu Y, Matsumoto M, Ishida H, et al. Delamanid: From discovery to its use for pulmonary multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB)[J]. Tuberculosis, 2018, 111: 20-30.

61 Szumowski JD, Lynch JB. Profile of delamanid for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 677.

[**本文编辑**] 雷 燕 宋睿璞 朱金月

(上接第 1903 页)

35 Liang S, Chen Z, Li H, et al. Neuroprotective effect of umbelliferone against cerebral ischemia/reperfusion induced neurological deficits: *In-vivo* and *in-silico* studies[J]. J Biomol Struct Dyn, 2021, 39(13): 4715-4725.

36 陈峰,王洁,甘解华,等. MR三维动脉自旋标记、双指数模型弥散加权成像评估急性前循环大血管闭塞患者再通后再灌注损伤风险[J]. 介入放射学杂志, 2021, 30(12): 1210-1214.

37 王蒙恩,刘基,张童童,等. Solitaire支架取栓再通后经解脱治疗医源性颈动脉夹层1例[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(6): 367-368.

38 Masoud H, Nguyen TN, Martin CO, et al. Inadvertent stent retriever detachment: A multicenter case series and review of device experience FDA reports[J]. Int Neurol, 2016, 4(3-4): 75-82.

39 Piasecki P, Wierzbicki M, Tulik P, et al. Inadvertent detachment of stent retrievers during mechanical thrombectomy—a clinical and biomechanical perspective[J]. Life, 2021, 11(7): 658.

40 Akpinar S, Yilmaz G. Spontaneous solitaire AB thrombectomy stent detachment during stroke treatment[J]. Cardiovasc Int Radiol, 2015, 38(2): 475-478.

41 Eriksson H, Löwhagen Hendén P, Rentzos A, et al. Acute symptomatic seizures and epilepsy after mechanical thrombectomy[J]. Epilepsy Behav, 2020, 104(3): 106520.

[**本文编辑**] 雷 燕 宋睿璞 朱 昊