

结核分枝杆菌的耐药机制研究进展

郑伟¹,田甜¹,王琦¹,刁乃超¹,李健明²,时坤²,杜锐^{2,3,4}

摘要:结核病是由结核分枝杆菌引起的一种人兽共患慢性传染病,随着结核分枝杆菌自身演变和抗结核病药物的使用,导致结核分枝杆菌产生耐药性。目前根据结核病患者是否接受过抗结核病药物的治疗,将结核分枝杆菌的耐药性分为两种,一种是原发性耐药,另一种是获得性耐药。为了探索结核分枝杆菌的耐药机制,本文对原发性与获得性耐药机制进行阐述,为后续新型抗结核病药物的研发奠定理论基础。

关键词:结核分枝杆菌;原发性耐药;获得性耐药

中图分类号:R378.91

文献标志码:A

文章编号:1002-2694(2021)11-1044-09

Research progress on the drug resistance mechanism of *Mycobacterium tuberculosis*

ZHENG Wei¹, TIAN Tian¹, WANG Qi¹, DIAO Nai-chao¹, LI Jian-ming², SHI Kun², DU Rui^{2,3,4}

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

3. Key Laboratory of Animal Production and Product Quality and Safety of the Ministry of Education, Changchun 130118, China;

4. Jilin Province Sika Deer High-efficiency Breeding and Product Development Technology Engineering Research Center, Changchun 130118, China)

Abstract: Tuberculosis is a serious zoonotic disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. With the evolution of *M. tuberculosis* and the use of anti-tuberculosis drugs, *Mycobacterium tuberculosis* has developed drug resistance. Depending on whether patients with TB have received anti-tuberculosis drug treatment, the drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* is mainly divided into two types, one is primary drug resistance and the other is acquired drug resistance. In order to explore the drug resistance mechanism of *Mycobacterium tuberculosis*, this article describes mechanisms of the primary and acquired drug resistance mechanisms in order to lay a theoretical foundation for the subsequent research and development of new anti-tuberculosis drugs.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; primary drug resistance; acquired drug resistance

Supported by the National Key R&D Program Funded Projects of China (No.2018YFC1706604-03)

Corresponding authors: Du Rui, Email: durui71@126.com; Shi Kun, Email: sk1981521@126.com

国家重点研发计划资助项目(No.2018YFC1706604-03)

通讯作者:杜锐,Email: durui71@126.com;

ORCID: 0000-0003-2922-2574

时坤,Email: sk1981521@126.com;

ORCID: 0000-0002-8183-6197

作者单位:1. 吉林农业大学动物科学技术学院,长春 130118;

2. 吉林农业大学中药材学院,长春 130118;

3. 动物生产及产品质量安全教育部重点实验室,长春 130118;

4. 吉林省梅花鹿高效养殖和产品开发技术工程研究中心,长春 130118

结核病(Tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, *M.tb*)通过气溶胶或飞沫进行传播引起的^[1],是威胁人类健康的世界三大传染病之一。*M.tb* 主要侵袭宿主的肺部,形成肺结核,同时在脑膜、肠和腹膜等部位也会引起继发感染^[2]。研究表明艾滋病(AIDS)和结核病同时感染免疫力低下的群体,会带来更严重的危害如高死亡率^[3]。世界卫生组织公布的 2020 年结核病报告中指出,2019 年全球新发结核病患者约有 996 万,中

国新发结核病患者约有 83.3 万,中国与印度和俄罗斯联邦同为三大结核病高发国家^[4]。为解决结核病给世界带来的健康危害,20世纪七八十年代许多科学家进行了抗结核药物的临床研究。目前常用的一线抗结核药物有异烟肼、利福平和乙胺丁醇等,二线抗结核药物有氟诺喹酮类、阿米卡星和卡那霉素等,研发的新药有利奈唑胺、贝达喹啉和德拉马尼等。但因抗结核药物的不规范使用和结核分枝杆菌自身细胞壁结构等特点,导致结核分枝杆菌对抗结核药物产生耐药性^[5],给结核病的防治带来了严峻的挑战。

结核分枝杆菌对药物产生耐药性是自身生存的一种本能。其对抗结核病药物的抗性主要是由染色体上的基因或单核苷酸多态性(SNP)突变介导的^[6]。抗结核病药物的不规范使用,提高了结核分枝杆菌对正在使用的抗结核病药物发生耐药性的概率。如分枝菌酸中某些基因(如 *rpoB* 或 *gyrA*)发生突变,降低了抗结核病药物与靶基因的结合能力,削弱药物治疗效果^[7]。结核病的治疗要把握黄金时期,在确诊后的前 2 个月,服用一线药物(异烟肼、利福平、乙胺丁醇和吡嗪酰胺),之后再服用 4 个月的异烟肼和利福平^[8],提高结核病治疗效果的同时降低了耐药发生的概率。由于目前多药耐药和耐多药结核病的发生概率逐年增加,因此通过分析结核分枝杆菌自身组成成分及其对抗结核病药物产生抗性的分子机制,有利于开发新的药物靶点,提高结核病治愈率。

1 原发性耐药(primary drug resistance)

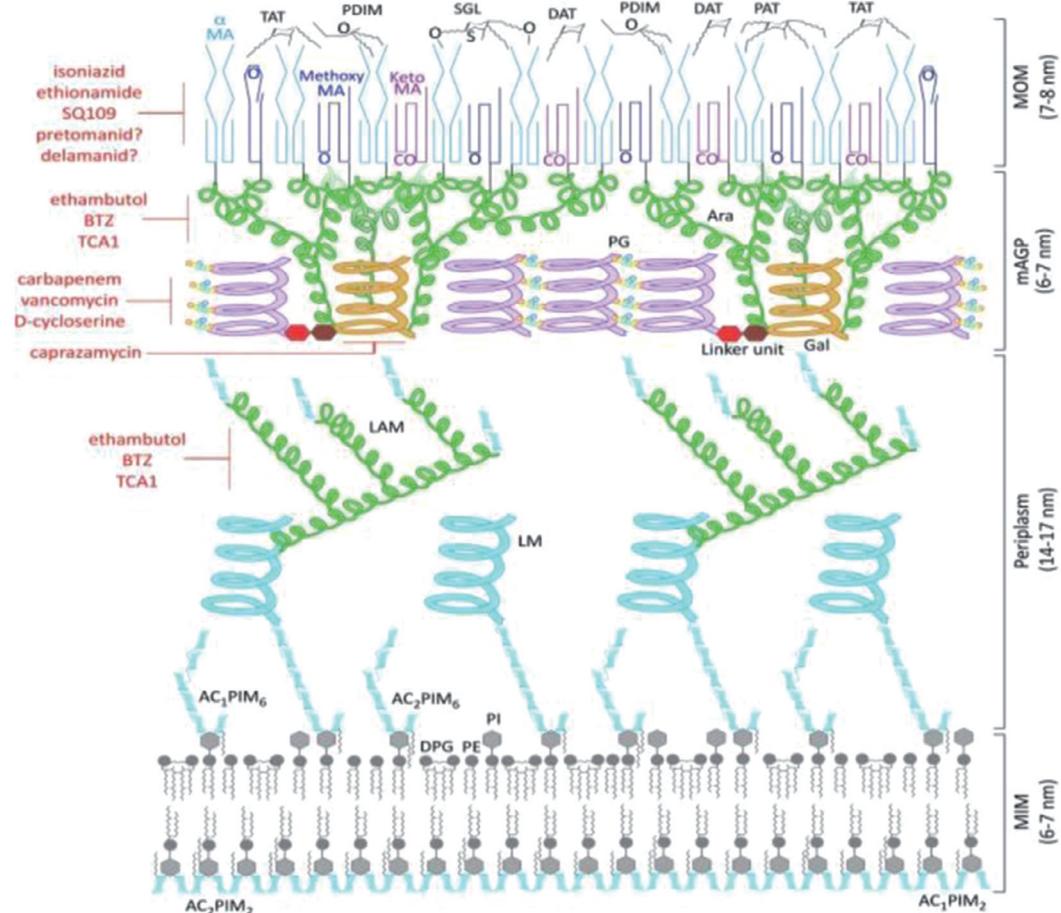
若宿主未接受过抗结核病药物的治疗,结核分枝杆菌产生耐药性的现象称为原发性耐药。da Silva 等^[9]发现原发性耐药的出现与结核分枝杆菌组成结构密切相关,当结核分枝杆菌组成结构发生变化,降低其对抗菌药物的敏感性从而引发原发性耐药。与革兰氏阴性菌的细胞壁相比,原发性耐药降低了结核分枝杆菌细胞壁的渗透性,从而干扰营养物质或药物的运输^[10],同时低渗透性对宿主体内的分枝杆菌起到保护作用,使结核分枝杆菌逃避宿主的免疫监视^[10]。

近年来随着结核分枝杆菌结构不断被解析,Batt 等人对其结构进行了深层次的阐述(图 1),结核分枝杆菌细胞壁主要由脂质和碳水化合物构成,其中脂质大约占 40%^[10]。其细胞壁分为内外两层,内层由肽聚糖、阿拉伯半乳糖和霉菌酸共价连接在一起,形成肽聚糖-阿拉伯半乳糖-霉菌酸 MA-AG-

PG 复合物(mAGP),构成其渗透性屏障^[11]。外层由脂质和蛋白质组成,其中脂质可与细胞壁自由结合。细胞壁中的肽聚糖是菌体所特有的,是由 N-乙酰基胞壁酸和 N-乙酰葡萄糖胺通过-1,4 糖苷键连接成的糖聚骨架,肽聚糖网状排列方式有利于维持菌体形态,可为菌体的生长繁殖提供足够空间^[12]。阿拉伯半乳糖由半乳糖和阿拉伯糖残基组成,是肽聚糖与霉菌酸连接的桥梁。Birch 等^[13]研究发现 *Rv2673* 是 *M.tb* 的阿拉伯呋喃糖基转移酶 C,可将 Araf 残基从 DPA 转移到阿拉伯多糖结构域形成 α (1→3)Araf 残基导致分枝杆菌 AG 非还原性末端 Ara6 基序远端的分支阿拉伯多糖结构域。*Rv2673* 缺失会影响结核分枝杆菌细胞壁中阿拉伯糖结构的形成。*Rv2673* 的过表达促进脂多糖合成,降低宿主细胞对结核分枝杆菌的免疫应答能力。由 *M.tb* 的多聚磷酸激酶(PPK)和胞外多聚磷酸酶(PPX)分别参与无机多聚磷酸盐(poly(P))的合成和水解的反应,该反应在 *M.tb* 持久性中具有重要的调节作用。多聚(P)的积累与 *M.tb* 生长受限有关。*Rv1026* 是一种具有长链多聚磷酸酶水解活性的新型胞外多聚磷酸酶。Shi 等^[14]发现,*M.tb* 在巨噬细胞感染期间,结核多聚(P)的累积导致生长减慢和对异烟肼的敏感性降低,对热和酸性 pH 的抵抗力增强,并增强细胞内存活,同时低渗透性对宿主体内的结核分枝杆菌的生长起到保护作用,引起机体发病。细胞壁的渗透性主要由霉菌酸决定,霉菌酸主要由长链 α -烷基- β -羟基脂肪酸构成^[15],其脂肪酸长度的增加会抑制菌体对亲脂分子的吸收^[16]。它以海藻糖单菌酸或海藻糖二菌酸的形式存在于菌体细胞壁,形成不对称的外脂双层内小叶结构^[15],此结构提高了结核分枝杆菌发生原发性耐药的概率。

2 获得性耐药(acquired drug resistance)

当宿主的免疫防御机制无法清除入侵的结核分枝杆菌时,就会引发活动性结核病,此时会采用药物进行抗结核病治疗。但当结核分枝杆菌发生基因突变或获得外源性耐药基因时,就会降低结核分枝杆菌对药物的敏感性,发生获得性耐药^[17],其中一线药物获得性耐药机制图改编自 Khawbung 的一线药物作用方式图(图 2)^[18],二线药物获得性耐药机制改编自 Hamdde 的与抗结核药物有关的蛋白质/RNA/基因图(图 3)^[19]。耐药结核病可分为单耐药(monoresistance-tuberculosis, MR-TB)、多耐药(poly-drug resistant tuberculosis, PDR-TB)、耐多药(multidrug-resistance tuberculosis, MDR-TB)

图 1 结核分枝杆菌细胞壁组成示意图^[16]Fig.1 Schematic diagram of the cell wall composition of *Mycobacterium tuberculosis*^[16]

和广泛耐药结核病(extensive drug resistance-tuberculosis, XDR-TB)。对利福平和异烟肼都耐药的称耐多药结核病；除对一线药物异烟肼和利福平耐药外，还对氟喹诺酮类药物及二线的3种注射类药物(阿米卡星、卡那霉素和卷曲霉素)中至少一种耐药的称为广泛耐药结核病。基因突变是一线药物(如乙胺丁醇)、二线药物(如乙硫异酰胺)和新药(如SQ-109)发生获得性耐药的主要原因。

2.1 一线抗结核病药物

2.1.1 利福平 利福平是对代谢活跃或缓慢的结核分枝杆菌均有活性的药物，它通过与RNA聚合酶β亚基的结合，抑制蛋白质的合成^[20]，因此结核分枝杆菌中 $rpoB$ 基因突变是结核分枝杆菌对利福平产生耐药的重要原因。此外，Miotto^[21]团队发现利福布汀与利福平存在交叉耐药，当Asp516Ala和Arg529Gln发生双突变，会促进菌体对二者的耐药^[22]。Sinha^[23]发现了新的耐利福平突变位点：包括528密码子Arg-Cys突变、518密码子Asn-Asp突变、506密码子Phe-Leu突变、511密码子Leu-

Pro突变、513密码子Gln-Val/Glu/Pro/Leu突变和510密码子Gln-His突变，新的突变位点的出现是*M.tb*适应药物暴露的结果。

2.1.2 异烟肼 异烟肼是在1952年引入的抗结核病关键药物，是联合治疗活动性肺结核最有效的药物之一，也是治疗潜伏性肺结核的单一药物。它由过氧化氢酶-过氧化物酶激活，最终形成异烟酰乙酸-NADH复合物^[24]，可抑制结核分枝杆菌的增殖。*katG*是编码过氧化氢酶-过氧化物酶的主要基因，当*katG*基因突变可促进分枝菌酸细胞壁的合成使菌体对异烟肼的耐药^[25]。KatG表达与INH-MIC变化呈负相关，当KatG表达减少2倍导致MIC增加略大于2倍。当结核分枝杆菌*inhA*基因位点发生碱基插入、缺失或突变，是结核分枝杆菌对异烟肼耐药的另一个原因。当结核分枝杆菌对异烟肼和利福平都产生抗性，会引起耐多药结核病。DanA与*M.tb Rv0010c-Rv0011c*基因间区域特异性结合，二者的突变均可介导INH耐药性。DanA突变与高水平耐药有关，*danA/Rv0010c-Rv0011c*

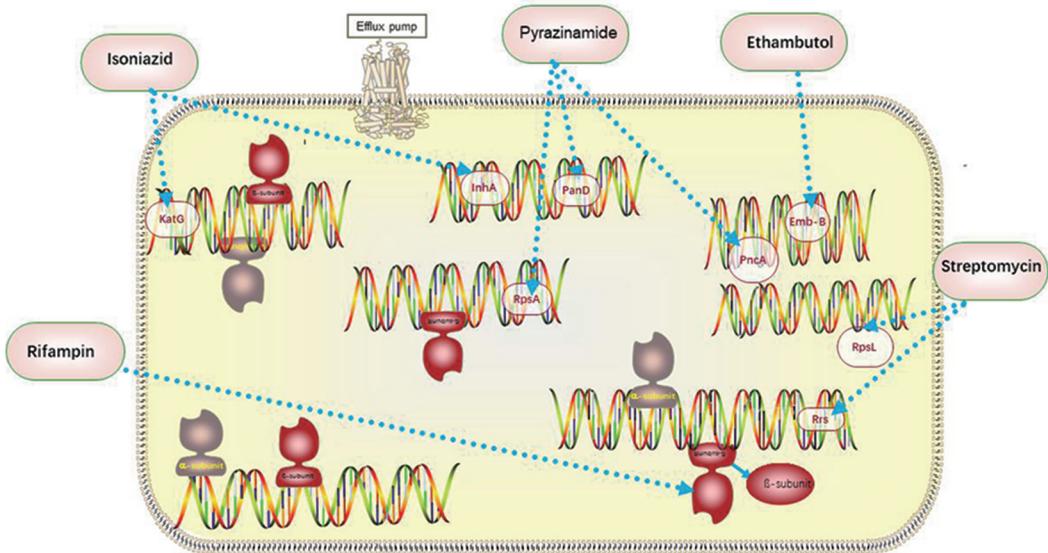
突变产生了对 INH 中水平耐药^[26]。M. tb 的 Rv2170 具有 N-乙酰转移酶结构域,能乙酰化 INH,是 M. tb 抗异烟肼的另一新机制^[27]。

2.1.3 乙胺丁醇 乙胺丁醇它是一种抗菌药物。它通过抑制阿拉伯糖基转移酶(主要由 embCAB 操纵子编码)阻断阿拉伯半乳糖的合成,降低细胞壁通透性杀死结核分枝杆菌^[28]。研究发现结核分枝杆菌中 ubiA 和 embB 基因突变会提高结核杆菌对乙胺丁醇的耐药性,但具体机理还需加以验证^[29]。EmbR 转录因子调控 embCAB 操纵子,embR 的磷酸化可调控其活性,促进其与 DNA 结合,导致 embCAB 基因转录增加,抗性改变^[30]。

2.1.4 吡嗪酰胺 吡嗪酰胺与乙胺丁醇都是治疗耐多药结核病的抗菌药物,吡嗪酰胺由 pncA 编码的吡嗪酰胺酶水解为吡嗪酸。当 pncA 基因发生突变,吡嗪酸会抑制菌体细胞膜的功能,干扰细菌膜与胞内胞外的物质转运,使菌体对吡嗪酰胺产生耐药

性。研究表明除 pncA 外,rpsA 和 panD 突变也会使菌体产生耐药性^[31]。rpsA 突变后与吡嗪酸相互作用,促进 tmRNA 的传递,加速结核分枝杆菌“反式翻译”(trans-translation)过程^[17]。panD 发生突变有助于吡嗪酸加速辅酶 A 与泛酸盐的反应,促进结核分枝杆菌新陈代谢,减弱药物抗菌作用使菌体产生耐药性。Zhang 等^[32]对吡嗪酰胺进行了药效与毒力学分析,发现吡嗪酰胺的药效与其浓度成正比,但吡嗪酰胺必须联合利福平同时使用才能缩短结核病的治疗时间。

2.1.5 链霉素 链霉素是从灰链霉菌培养液中提取的。它通过与结核分枝杆菌核糖体 30S 亚基 16S rRNA 和 S12 核糖体蛋白作用,阻碍 tRNA 与 30S 亚基的结合,干扰蛋白质的生物合成^[33],造成菌体裂解死亡。因此编码核糖体 30S 亚基 16S rRNA 的 rrs 基因和编码 S12 核糖体蛋白的 rpsL 基因突变是结核分枝杆菌对链霉素耐药的主要原因。



注:利福平靶点位于 RNA 聚合酶 β 亚基;异烟肼靶点为 InhA 和 KatG 基因;乙胺丁醇靶点为 Emb-B 基因;吡嗪酰胺靶点为 PncA, RpsA 和 PanD 基因;链霉素靶点在 Rrs 和 RpsL 基因中,当药物作用的靶点基因发生突变会引发结核分枝杆菌对一线药物的耐药性。

图 2 一线药物获得性耐药机制图

Fig.2 Diagram of the mechanism of first-line drug-acquired resistance

2.2 二线抗结核病药物

2.2.1 阿米卡星、卡那霉素、卷曲霉素 当结核病患者对一线抗结核病药物产生耐药性,临幊上会聯合二线抗结核病药物继续进行治疗。其中二线抗结核病注射类药物阿米卡星和卡那霉素通过与菌体 16S 核糖体 RNA 结合,抑制菌体蛋白的合成^[34]。编码 16S 核糖体 RNA 的 rrs 基因突变,会削弱阿米

卡星与卡那霉素对结核分枝杆菌的抑制作用。Islam 团队^[35]发现,编码氨基糖苷乙酰基转移酶的 eis 基因突变,结核分枝杆菌会对阿米卡星和卡那霉素产生低水平的抗性。卷曲霉素是 1979 年首次用于治疗结核病的多肽类抗生素,研究发现,临幊上单用卷曲霉素治疗结核病极易产生耐药性^[36],必须聯合其它抗结核病药物(如异烟肼和乙胺丁醇)一起

使用。

2.2.2 乙硫异酰胺 临幊上治疗抗结核病的二线药物除注射剂外还有乙硫异酰胺。乙硫异酰胺是一种治疗结核病的前药,其抗菌活性远低于异烟肼。编码黄素单加氧酶的 *ethA* 或 NADH 特异性烯酰基载体蛋白还原酶的 *inhA* 基因发生突变^[37],有助于细胞壁中霉菌酸的合成,降低其通透性。Mugumbate^[38]团队发现 *ethR* 基因过表达,降低 *ethA* 蛋白活性,延缓转录,进而减弱了乙硫异酰胺对结核分枝杆菌的抑制作用。通过溶解曲线评估 *inhA* 突变是否可作为预测乙硫异酰胺耐药性的分子标志,因突变的 *inhA* 可能不对乙硫异酰胺产生抗性,所以一般不用 *inhA* 基因检测该药的耐药性^[39]。

2.2.3 氟喹诺酮类 氟喹诺酮类是治疗广泛耐药结核病的首选药物。研究发现,DNA 促旋酶是氟喹诺酮类药物作用的靶标,编码 DNA 促旋酶的 *gyrA* 和 *gyrB* 基因发生突变,有利于菌体 DNA 的合成,加速结核分枝杆菌的分裂,使菌体产生耐药性^[40]。Chawla^[41]团队在印度南部某三级医疗中心进行结核分枝杆菌对氟喹诺酮耐药基因的检测,发现 *gyrA* 在第 90、91 和 94 位密码子和 *gyrB* 基因 G1498A 的突变较为常见。

2.2.4 对氨基水杨酸 对氨基水杨酸虽属于对氨基苯甲酸同似物,但其在治疗疾病时与对氨基苯甲酸起拮抗作用,是治疗结核病的抑菌剂。其通过调节叶酸的合成^[42],控制菌体代谢。当结核分枝杆菌 *Folc* 基因发生突变,会加速菌体内叶酸的合成速度,提高菌体对该药代谢速率产生耐药性^[43]。异烟肼或乙胺丁醇等一线抗结核病药物与对氨基水杨酸联合使用可延缓结核分枝杆菌耐药性的发生。Wang^[42]团队发现丙烯胺 N-乙酰基转移酶过表达,对氨基水杨酸的最小抑菌浓度将提高 2 倍,减弱宿主内对氨基水杨酸对分枝菌酸的抗菌作用。

2.2.5 D-环丝氨酸 D-环丝氨酸是抑制结核分枝杆菌活性弱于链霉素的二线抗结核病药物,该药是治疗耐多药与广泛耐药结核病的常用药物。它可抑制菌体细胞壁肽聚糖合成关键酶:D-丙氨酸消旋酶和 D-丙氨酸连接酶,阻止肽聚糖的生物合成,降低细胞壁渗透性^[44],促进菌体与药物结合,消灭宿主体内的结核分枝杆菌。因细菌对其产生耐药性的几率较小,所以此药常用于受结核分枝杆菌侵染人群的治疗。研究表明,结核分枝杆菌 *alr*、*ald*、*ddIA* 和 *cycA* 基因发生突变会对 D-环丝氨酸产生耐药性^[45]。这些基因发生突变,增加菌体细胞壁的厚度,使药物难以渗透过细胞壁,令菌体对 D-环丝氨

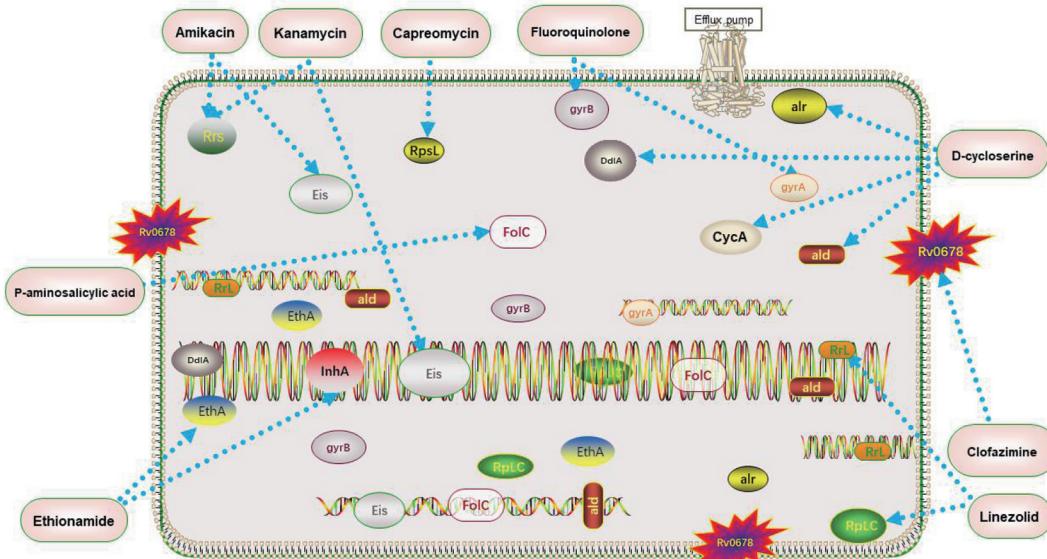
酸产生耐药性。

2.2.6 利奈唑胺 利奈唑胺是人工合成的恶唑烷酮类抗生素,它通过与 50S 核糖体亚基上肽基转移酶中心的 tRNA 的结合与抑制,阻碍结核分枝杆菌生长,其在临幊上与其他抗菌药较少发生交叉耐药现象,且在体外也不易诱导细菌发生耐药^[46]。Bolhuis 等^[47]研究发现,利奈唑胺可破坏结核分枝杆菌细胞壁完整性,令其它药物(如异烟肼)更易于通过,达到杀死结核分枝杆菌的目的。当结核分枝杆菌 *rrl* 和 *rplc* 基因发生突变时,有助于促进菌体蛋白的合成,为结核分枝杆菌的繁殖提供足够的营养,降低利奈唑胺对结核分枝杆菌活性的抑制作用。Fermeli^[48]团队发现长期服用该药会导致严重的不良反应,如血小板减少、乳酸中毒和眼部神经病变等。

2.2.7 氯法齐明 氯法齐明是治疗麻风病和结核病的抗真菌药物,Gopa^[49]团队发现当巨噬细胞中含有高浓度的氯法齐明,其会抑制结核分枝杆菌衍生因子对吞噬细胞的杀伤作用,抑制菌体生长繁殖。氯法齐明通过干扰菌体蛋白的合成,抑制结核分枝杆菌的活性。Mothiba 等人通过肉汤和平板稀释法发现,当氯法齐明的 MIC 为 0.06 mg/L 可抑制结核分枝杆菌的生长,当 MIC 为 2.5 mg/L 时可抑制耻垢分枝杆菌的生长^[50]。研究发现,结核分枝杆菌 *Rv0678* 基因的非靶向突变会使外排泵发生上调,进而加快菌体生长速度,使分枝菌酸对氯法齐明发生耐药^[22]。氯法齐明可促进中央记忆 T 细胞免疫应答,通过阻断 Kv1.3 的 T 细胞表面上钾离子通道降低效应记忆 T 细胞群功能,缩短耐多药结核病的治疗时间^[51]。

2.3 新 药

2.3.1 贝达喹啉 贝达喹啉多用于耐多药结核病的治疗,其可消灭宿主体内潜伏的结核分枝杆菌。它通过与 ATP 合酶的 α 和 c 亚基紧密结合(由 *atpE* 基因编码)调节结核分枝杆菌活性,当 *atpE* 基因发生突变,削弱了贝达喹啉抑菌或杀菌作用,令结核分枝杆菌对该药产生抗性。因贝达喹啉消除半衰期需 5~6 个月,明显长于其他抗结核病药物,所以在临床用药时应考虑其药代动力学特征^[52]。Ismail 等^[53]发现结核分枝杆菌中编码 *MmpR5* 阻遏蛋白的 *Rv0678* 发生突变,将会促进 *MmpL5-MmpS5* 外排泵的过表达,减弱药物与靶点的结合能力。Ismail^[54]在另一项研究中发现 *atpE* 突变出现的频率与 *Rv0678* 突变频率成正比,且在低 MIC 条件下有利于 *Rv0678* 基因发生突变,反之则利于



注：阿米卡星和卡那霉素都作用于 *Rrs* 和 *Eis* 基因；卷曲霉素作用于 *RpsL* 基因；乙硫异酰胺作用于 *EthA* 和 *InhA* 基因；氟喹诺酮类药物作用于 *gyrA* 和 *gyrB* 基因；对氨基水杨酸作用于 *FolC* 基因；D-环丝氨酸作用于 *alr*, *DdlA* 和 *CycA* 基因；利奈唑胺作用于 *RrL* 和 *RplC* 基因；氯法齐明作用于 *Rv0678*，调控细胞壁渗透性，当药物作用的靶点基因发生突变会引发结核分枝杆菌对二线药物的耐药性。

图 3 二线药物获得性耐药机制图

Fig.3 Diagram of acquired resistance mechanism of second-line drugs

atpE 基因发生突变。

2.3.2 德拉马尼和 Pretomanid 德拉马尼与 Pre-

tomanid 都是治疗结核病的新药,它们的出现给结核病患者带来新的福音。德拉马尼是一种新型分枝杆菌细胞壁合成抑制剂,它通过阻碍细胞壁霉菌酸的合成,提高细胞壁的渗透性,达到杀死结核分枝杆菌的目的^[55],反之当结核分枝杆菌中 *ddn*、*fgd1* 和 *fbiA/B/C* 基因发生突变则会令菌体对德拉马尼产生耐药性。Mallikaarjun^[56] 发现当德拉马尼与利福平和乙胺丁醇同时用于结核病患者治疗时,宿主会减少对德拉马尼的吸收。Liu^[57] 的团队根据临床数据推测因德拉马尼有良好的耐受性,所以可能不易产生致癌性。Pretomanid 属于硝基咪唑类抗生素,是抗结核病的前药,它对潜在或耐多药结核分枝杆菌均有抑菌效果。当结核分枝杆菌进行繁殖时,Pretomanid 抑制细胞壁霉菌酸的合成,进而抑制结核分枝杆菌的增殖,在非复制条件下,Pretomanid 被脱氮黄素依赖的硝基还原酶降解,产生具有较强抗真菌活性的氮,阻止结核分枝杆菌的繁殖^[58]。研究发现当结核分枝杆菌中 *Rv3547* 和 *Rv0407* 基因发生突变时,破坏细胞壁的完整性,降低 Pretomanid 抑菌作用,令结核分枝杆菌对 Pretomanid 产生抗性^[22]。

2.3.3 SQ-109 SQ-109 对广泛耐药结核病有较好

的治疗效果,是一种不对称二胺,其对结核分枝杆菌的抑制作用与 *MmpL3* 基因密切相关^[59]。*MmpL3* 是将霉菌酸运输到结核分枝杆菌外膜所必须的基因,当 *MmpL3* 基因发生突变,将加速霉菌酸的合成,降低细胞壁通透性,减弱 SQ-109 对结核分枝杆菌的杀伤作用,令菌体产生耐药性^[60]。当 SQ-109 与利福平、贝达喹啉和异烟肼共同使用时,SQ-109 与利福平的协同作用更显著。Jia 采用 SQ-109、异烟肼与乙胺丁醇共同治疗已被结核分枝杆菌感染的小鼠,检测 SQ-109 的抗菌活性,得出结论:SQ-109 抑菌活性与异烟肼相似,且更优于乙胺丁醇^[61]。

3 展望

由于抗结核病药物的不规范使用,结核分枝杆菌的不断进化,使其可以逃避宿主的免疫监控,降低了抗结核病药物对结核分枝杆菌的抑制作用。研究结核分枝杆菌的耐药机制,寻找新的药物靶点,开发最新型抗结核病药物已迫在眉睫。通过分析结核分枝杆菌发生耐药性的原因,其一可避免在治疗结核病时使用已发生耐药性的药物,提高结核病治愈的几率;其二有助于发现新型药物靶点,促进对新型抗结核病药物研发。新型抗结核病药物的研发将大大提高结核病患者的康复率,所以我们必须重视结核分枝杆菌的耐药机制。

利益冲突:无

引用本文格式: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. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2021.00.148

参考文献:

- [1] Herfst S, Böhringer M, Karo B, et al. Drivers of airborne human-to-human pathogen transmission [J]. Curr Opin Virol, 2017, 22: 22-29. DOI: 10.1016/j.coviro.2016.11.006
- [2] Chin JH. Neurotuberculosis: a clinical review [J]. Semin Neurol, 2019, 39(4): 456-461. DOI: 10.1055/s-0039-1687840
- [3] Agudelo CA, álvarez MF, Hidrón A, et al. Outcomes and complications of hospitalised patients with HIV-TB co-infection [J]. Trop Med Int Health, 2021, 26(1): 82-88. DOI: 10.1111/tmi.13509
- [4] 宋禹昊,李东,孙江洋,等.CRISPR/Cas系统及其在结核分枝杆菌研究中的应用[J].畜牧兽医学报,2020,51(11):2613-2621.DOI:10.11843/j.issn.0366-6964.2020.11.001
- [5] Bhat ZS, Rather MA, Maqbool M, et al. Cell wall: A versatile fountain of drug targets in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95: 1520-1534. DOI: 10.1016/j.biophys.2017.09.036
- [6] Stucki D, Gagneux S. Single nucleotide polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* and the need for a curated database[J]. Tuberculosis, 2013, 93(1):30-39. DOI: 10.1016/j.tube.2012.11.002
- [7] Caminero Luna JA, Pérez Mendoza G, Rodríguez de Castro F. Multi-drug resistant tuberculosis, ten years later [J]. Med Clin (Barc), 2021, 156(8): 393-401. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.08.018
- [8] Allué-Guardia A, García JI, Torrelles JB. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and their adaptation to the human lung environment [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 137. DOI: 10.3389/fmicb.2021.612675
- [9] da Silva PE, Von Groll A, Martin A, et al. Efflux as a mechanism for drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2011, 63(1): 1-9. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00831.x
- [10] Batt SM, Burke CE, Moorey AR, et al. Antibiotics and resistance: the two-sided coin of the mycobacterial cell wall [J]. Cell Surf, 2020, 6: 100044. DOI: 10.1016/j.tcs.2020.100044
- [11] Brennan PJ. Structure, function, and biogenesis of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Tuberculosis (Edinb), 2003, 83(1/3): 91-97. DOI: 10.1016/s1472-9792(02)00089-6
- [12] Alderwick LJ, Harrison J, Lloyd GS, et al. The mycobacterial cell wall—peptidoglycan and arabinogalactan [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 5(8): a021113. DOI: 10.1101/cshperspect.a021113
- [13] Birch HL, Alderwick LJ, Bhatt A, et al. Biosynthesis of mycobacterial arabinogalactan: identification of a novel alpha(1->3) arabinofuranosyltransferase [J]. Mol Microbiol, 2008, 69(5): 1191-1206. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06354.x
- [14] Shi T, Fu T, Xie J. Polyphosphate deficiency affects the sliding motility and biofilm formation of *Mycobacterium smegmatis* [J]. Curr Microbiol, 2011, 63(5): 470-476. DOI: 10.1007/s00284-011-0004-4
- [15] Goude R, Parish T. The genetics of cell wall biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Future Microbiol, 2008, 3(3): 299-313. DOI: 10.2217/17460913.3.3.299
- [16] Bhatt A, Fujiwara N, Bhatt K, et al. Deletion of kasB in *Mycobacterium tuberculosis* causes loss of acid-fastness and sub-clinical latent tuberculosis in immunocompetent mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(12): 5157-5162. DOI: 10.1073/pnas.0608654104
- [17] Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, et al. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Appl Microbiol, 2020, 128(6): 1547-1567. DOI: 10.1111/jam.14478
- [18] Khawbung JL, Nath D, Chakraborty S. Drug resistant Tuberculosis: a review [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2021, 74:101574. DOI:10.1016/j.cimid.2020.101574
- [19] Hameed HMA, Islam MM, Chhotaray C, et al. Molecular targets related drug resistance mechanisms in MDR-, XDR-, and TDR-*Mycobacterium tuberculosis* strains [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8: 114. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00114
- [20] Farhat MR, Sultana R, Iartchouk O, et al. Genetic determinants of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and their diagnostic value [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 194(5): 621-630. DOI: 10.1164/rccm.201510-2091OC
- [21] Miotto P, Zhang Y, Cirillo DM, et al. Drug resistance mechanisms and drug susceptibility testing for tuberculosis [J]. Respirology, 2018, 23 (12): 1098-1113. DOI: 10.1111/resp.13393
- [22] Islam MM, Hameed HMA, Mugweru J, et al. Drug resistance mechanisms and novel drug targets for tuberculosis therapy [J]. J Genet Genomics, 2017, 44(1): 21-37. DOI: 10.1016/j.jgg.2016.10.002
- [23] Sinha P, Srivastava GN, Tripathi R, et al. Detection of mutations in the rpoB gene of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains inhibiting wild type probe hybridization in the MTBDR plus assay by DNA sequencing directly from clinical specimens [J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1):284. DOI: 10.1186/s12866-020-01967-5
- [24] Arun KB, Madhavan A, Abraham B, et al. Acetylation of isoniazid is a novel mechanism of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 65(1): e00456-20. DOI: 10.1128/AAC.00456-20
- [25] Hsu LY, Lai LY, Hsieh PF, et al. Two novel katG mutations conferring isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Front Microbiol, 2020, 11: 1644. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01644
- [26] Cook GW, Benton MG, Akerley W, et al. Structural variation and its potential impact on genome instability: Novel discoveries in the EGFR landscape by long-read sequencing [J]. PLoS One, 2020, 15 (1): e0226340. DOI: 10.1371/journal.pone.

- 0226340
- [27] Arun KB, Madhavan A, Abraham B, et al. Acetylation of isoniazid is a novel mechanism of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 65(1):e00456-20. DOI: 10.1128/AAC.00456-20
- [28] Xiang X, Gong Z, Deng W, et al. Mycobacterial ethambutol responsive genes and implications in antibiotics resistance [J]. *J Drug Target*, 2021, 29 (3): 284-293. DOI: 10.1080/1061186X.2020.1853733
- [29] 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. DOI: 10.1128/AAC.03002-15
- [30] Sharma K, Gupta M, Krupa A, et al. EmbR, a regulatory protein with ATPase activity, is a substrate of multiple serine/threonine kinases and phosphatase in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *FEBS J*, 2006, 273(12):2711-2721. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2006.05289.x
- [31] den Hertog AL, Sengstake S, Anthony RM. Pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis* fails to bite? [J]. *Pathog Dis*, 2015, 73 (6): ftv037. DOI: 10.1093/femspd/ftv037
- [32] Zhang N, Savic RM, Boeree MJ, et al. Tuberculosis Trials Consortium (TBTC) and Pan African Consortium for the Evaluation of Antituberculosis Antibiotics (PanACEA) Networks. Optimising pyrazinamide for the treatment of tuberculosis [J]. *Eur Respir J*, 2021, 4: 2002013. DOI: 10.1183/13993003.02013-2020
- [33] Wang Y, Li Q, Gao H, et al. The roles of rpsL, rrs, and gidB mutations in predicting streptomycin-resistant drugs used on clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Hebei Province, China [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(7): 2713-2721.
- [34] Krüüner A, Jureen P, Levina K, et al. Discordant resistance to kanamycin and amikacin in drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(9): 2971-2973. DOI: 10.1128/AAC.47.9.2971-2973.2003
- [35] Islam MM, Tan Y, Hameed HMA, et al. Prevalence and molecular characterization of amikacin resistance among *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from southern China [J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2020, 22: 290-295. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.02.019
- [36] 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. DOI: 10.1128/AAC.49.8.3192-3197.2005
- [37] Prieri M, Frita R, Probst N, et al. Efficient analoging around ethionamide to explore thioamides bioactivation pathways triggered by boosters in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 159: 35-46. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.09.038
- [38] 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. DOI: 10.3389/fphar.2017.00681
- [39] Song Y, Wang G, Li Q, et al. The value of the inhA mutation detection in predicting ethionamide resistance using melting curve technology [J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 329-334. DOI: 10.2147/IDR.S268799
- [40] Von Groll A, Martin A, Jureen P, et al. Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and mutations in gyrA and gyrB [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(10): 4498-4500. DOI: 10.1128/AAC.00287-09
- [41] Chawla K, Kumar A, Shenoy VP, et al. Genotypic detection of fluoroquinolone resistance in drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* at a tertiary care centre in south Coastal Karnataka, India [J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2018, 13:250-253. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.01.023
- [42] Wang X, Yang S, Gu J, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Arylamine N-Acetyltransferase acetylates and thus inactivates para-aminosalicylic acid [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(12): 7505-7508. DOI: 10.1128/AAC.01312-16
- [43] Wei W, Yan H, Zhao J, et al. Multi-omics comparisons of p-aminosalicylic acid (PAS) resistance in folC mutated and unmutated *Mycobacterium tuberculosis* strains [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8(1): 248-261. DOI: 10.1080/22221751.2019.1568179
- [44] Prosser GA, Rodenburg A, Khouri H, et al. Glutamate racemase is the primary target of β-Chloro-d-Alanine in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60 (10):6091-6099. DOI: 10.1128/AAC.01249-16
- [45] Evangelopoulos D, Prosser GA, Rodgers A, et al. Comparative fitness analysis of D-cycloserine resistant mutants reveals both fitness-neutral and high-fitness cost genotypes [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 4177. DOI: 10.1038/s41467-019-12074-z
- [46] Wasserman S, Meintjes G, Maartens G. Linezolid in the treatment of drug-resistant tuberculosis: the challenge of its narrow therapeutic index [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016, 14 (10):901-915. DOI: 10.1080/14787210.2016.1225498
- [47] Bolhuis MS, van der Laan T, Kosterink JG, et al. *In vitro* synergy between linezolid and clarithromycin against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(3): 808-811. DOI: 10.1183/09031936.00041314
- [48] Fermeli DD, Marantos TD, Liarakos AD, et al. Linezolid: a promising agent for the treatment of multiple and extensively Drug-Resistant Tuberculosis [J]. *Folia Med (Plovdiv)*, 2020, 62 (3):444-452. DOI: 10.3897/folmed.62.e48742
- [49] Gopal M, Padayatchi N, Metcalfe JZ, et al. Systematic review of clofazimine for the treatment of drug-resistant tuberculosis [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2013, 17(8): 1001-1007. DOI: 10.5588/ijtld.12.0144
- [50] Mothiba MT, Anderson R, Fourie B, et al. Effects of clofazi-

- mine on planktonic and biofilm growth of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis* [J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2015, 3(1): 13-18. DOI: 10.1016/j.jgar.2014.12.001
- [51] Fatima S, Bhaskar A, Dwivedi VP. Repurposing immunomodulatory drugs to combat tuberculosis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:645485. DOI: 10.3389/fimmu.2021.645485
- [52] Li Y, Sun F, Zhang W. Bedaquiline and delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Promising but challenging [J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(1): 98-105. DOI: 10.1002/ddr.21498
- [53] Ismail N, Peters RPH, Ismail NA, et al. Clofazimine Exposure *in vitro* selects efflux pump mutants and bedaquiline resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(3): e02141-18. DOI: 10.1128/AAC.02141-18
- [54] Ismail N, Ismail NA, Omar SV, et al. *In Vitro* study of step-wise Acquisition of rv0678 and atpE mutations conferring bedaquiline resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(8): 248-261. DOI: 10.1128/AAC.00292-19
- [55] Van den Bossche A, Varet H, Sury A, et al. Transcriptional profiling of a laboratory and clinical *Mycobacterium tuberculosis* strain suggests respiratory poisoning upon exposure to delamanid [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2019, 117:18-23. DOI: 10.1016/j.tube.2019.05.002
- [56] Mallikaarjun S, Wells C, Petersen C, et al. Delamanid coadministered with antiretroviral drugs or antituberculosis drugs shows no clinically relevant drug-drug interactions in healthy subjects [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(10): 5976-5985. DOI: 10.1128/AAC.00509-16
- [57] Liu Y, Matsumoto M, Ishida H, et al. Delamanid: From discovery to its use for pulmonary multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2018, 111: 20-30. DOI: 10.1016/j.tube.2018.04.008
- [58] Thakare R, Dasgupta A, Chopra S. Pretomanid for the treatment of pulmonary tuberculosis [J]. *Drugs Today (Barc)*, 2020, 56(10):655-668. DOI: 10.1358/dot.2020.56.10.3161237
- [59] Sacksteder KA, Protopopova M, Barry CE 3rd, et al. Discovery and development of SQ109: a new antitubercular drug with a novel mechanism of action [J]. *Future Microbiol*, 2012, 7(7): 823-837. DOI: 10.2217/fmb.12.56
- [60] Zhang B, Li J, Yang X, et al. Crystal structures of membrane transporter MmpL3, an anti-TB drug target [J]. *Cell*, 2019, 176(3): 636-648. DOI: 10.1016/j.cell.2019.01.003
- [61] Jia L, Tomaszewski JE, Hanrahan C, et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of SQ109, a new diamine-based anti-tubercular drug [J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 144 (1): 80-87. DOI: 10.1038/sj.bjp.0705984

收稿日期:2021-06-08 编辑:张智芳

· 消息 ·

中国人兽共患病学报

第八届编辑委员会组成人员名单

顾 问:徐建国 高 福 李立明 唐崇惕 俞永新 赵 锐

荣誉主编:徐建国

主 编:严延生

副 主 编:万康林 夏宁邵 许文波 张建中 杨瑞馥 邓艳琴 朱凤才 段招军

编 委:(按姓氏笔画为序)共 100 人

万康林	王 鑫	王大燕	王环宇	王海龙	王培刚	王瑞白	文心田	邓艳琴	卢金星
叶长芸	吕新军	朱凤才	朱泳璋	朱勇喆	乔文涛	任志鸿	刘海灿	安 静	许文波
孙红妹	孙 洋	严延生	严 杰	苏 斌	李 伟	李振军	杨宏亮	杨瑞馥	吴忠道
吴移谋	余菲菲	余方友	余 莉	辛德莉	汪世平	汪 宁	汪 伟	沈玉娟	沈继龙
宋立华	张万江	张山鹰	张 仪	张 军	张芳琳	张 宏	张拥军	张茂俊	张建中
张晓明	张智芳	张翠彩	陈 伟	陈利玉	陈泽良	陈家旭	陈 祥	邵一鸣	林 旭
罗会明	周永华	周向梅	周海健	郑建华	郑 翰	郝 琴	柏银兰	段招军	姜 海
秦 天	袁正宏	夏宁邵	徐志凯	翁育伟	郭晓奎	郭霄峰	黄玉政	曹务春	曹建平
戚中田	崔步云	梁未丽	梁米芳	葛胜祥	董小平	蒋秀高	蒋 毅	景怀琦	焦新安
舒跃龙	曾焱华	温博海	鲍倡俊	蔡玉春	端 青	阚 飚	黎志东	潘 阳	潘秀珍