DOI:10.3724/zdxbyxb-2022-0454

终结结核病

·专题报道·

结核病药物治疗的过去、现状及未来

毕珂凡[1,2],曹　丹[1,2],丁　丞[1],卢水华[3],卢洪洲[3],张广宇[4],张文宏[5],李　亮[6],徐凯进[1],李兰娟[1,2],张　颖[1,2]

1. 浙江大学医学院附属第一医院 传染病诊治国家重点实验室 国家感染性疾病临床医学研究中心 国家传染病医学中心 感染性疾病诊治协同创新中心,浙江 杭州 310003
2. 济南微生态生物医学山东省实验室,山东 济南 250117
3. 深圳市第三人民医院 国家感染性疾病临床医学研究中心,广东 深圳 518000
4. 浙江树人学院树兰国际医学院附属树兰杭州医院,浙江 杭州 310015
5. 复旦大学附属华山医院感染科 国家传染病医学中心,上海 200040
6. 首都医科大学附属北京胸科医院,北京 101199

[**摘　要**] 结核病是一种古老的传染病,在有效药物发现之前结核病的发病率及病死率都非常高。近一百年来陆续发现链霉素、异烟肼、吡嗪酰胺、乙胺丁醇、利福平等一系列经典抗结核化学药物,加上采用不同药物联合使用的治疗方案,有效控制了结核病。随着有效抗结核病药物在临床广泛应用,结核菌基因突变导致的耐多药结核病和广泛耐药结核病在全球蔓延,同时结核菌持留导致的结核病疗程长及复发和潜伏感染也成为临床结核病治疗的瓶颈。异烟肼耐药相关*katG*突变、利福平耐药相关*rpoB*突变、吡嗪酰胺耐药相关*pncA*突变和喹诺酮耐药相关*gyrA*突变等通过阻滞抗结核前体药物活化、抗生素受酶影响失活、改变药物渗透和药物外排、改变药物靶点等影响抗结核病药物治疗效果;另外,结核菌代谢途径改变、DNA修复系统上调,转录及翻译系统抑制,毒素-抗毒素系统表达和反式翻译蛋白降解等自我修复和保护性机制使结核菌转向非复制性/休眠状态,从而在压力与抗生素治疗环境下存活形成结核菌持留状态。近年来,新型抗结核病药物与新的药物组合治疗方案不断推陈出新,改善了耐多药及广泛耐药结核病的治疗效果并缩短了疗程,但针对结核菌持留尚未有更好的对策。未来需要加强针对耐药及持留结核菌的化学新药和宿主为导向的治疗方法研发、发掘中医药用于结核病治疗的价值等。本文通过回顾结核药物治疗的历史发展和近期进展,特别讨论了结核菌的耐药性和持留性问题,以便为结核治疗未来的发展提供思路。

收稿日期:2022-08-02　　**接受日期**:2022-12-20

基金项目:国家传染病医学中心——张颖启动经费(B2022011-1);济南微生态生物医学山东省实验室课题(JNL-2022050B);国家重点研发计划(2021YFC2301800);国家感染性疾病(结核病)临床医学研究中心项目(2020B1111170014);广东省高水平临床重点专科项目(SZGSP010);上海市市级科技重大专项(HS2021SHZX001);上海市科学技术重大项目(21NL2600100,20dz2260100)

第一作者:毕珂凡,博士研究生,主要从事分枝杆菌宿主感染机制研究;E-mail:bdgxbkf@zju.edu.cn;https://orcid.org/0000-0002-8959-2932

通信作者:张　颖,教授,博士生导师,主要从事细菌耐药和持留机制研究;E-mail:yzhang207@zju.edu.cn;https://orcid.org/0000-0002-5908-307X

[关键词] 结核病;结核分枝杆菌;耐药结核病;诊断;治疗;综述
[中图分类号] R521 [文献标志码] A

The past, present and future of tuberculosis treatment

BI Kefan[1,2], CAO Dan[1,2], DING Cheng[1], LU Shuihua[3], LU Hongzhou[3], ZHANG Guangyu[4], ZHANG Wenhong[5], LI Liang[6], XU Kaijin[1], LI Lanjuan[1,2], ZHANG Ying[1,2] (*1. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, National Clinical Research Center for Infectious Diseases, National Medical Center for Infectious Diseases, Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Hangzhou 310003, China; 2. Jinan Microecological Biomedicine Shandong Laboratory, Jinan 250117, China; 3. Department for Infectious Diseases, Shenzhen Third People's Hospital, National Clinical Research Center for Infectious Diseases, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China; 4. Shulan (Hangzhou) Hospital Affiliated to Shulan International Medical College, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China; 5. Department of Infectious Diseases, Huashan Hospital, Fudan University, National Medical Center for Infectious Diseases, Shanghai 200040, China; 6. Beijing Chest Hospital, Capital Medical University, Beijing 101199, China*)
Corresponding author: ZHANG Ying, E-mail: yzhang207@zju.edu.cn, https://orcid.org/0000-0002-5908-307X

[**Abstract**] Tuberculosis (TB) is an ancient infectious disease. Before the availability of effective drug therapy, it had high morbidity and mortality. In the past 100 years, the discovery of revolutionary anti-TB drugs such as streptomycin, isoniazid, pyrazinamide, ethambutol and rifampicin, along with drug combination treatment, has greatly improved TB control globally. As anti-TB drugs were widely used, multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) strains of *Mycobacterium tuberculosis* emerged due to acquired genetic mutations, and this now presents a major problem for effective treatment. Genes associated with drug resistance have been identified, including *katG* mutations in isoniazid resistance, *rpoB* mutations in rifampin resistance, *pncA* mutations in pyrazinamide resistance, and *gyrA* mutations in quinolone resistance. The major mechanisms of drug resistance include loss of enzyme activity in prodrug activation, drug target alteration, overexpression of drug target, and overexpression of the efflux pump. During the disease process, *Mycobacterium tuberculosis* may reside in different microenvironments where it is expose to acidic pH, low oxygen, reactive oxygen species and anti-TB drugs, which can facilitate the development of non-replicating persisters and promote bacterial survival. The mechanisms of persister formation may include toxin-antitoxin (TA) modules, DNA protection and repair, protein degradation such as trans-translation, efflux, and altered metabolism. In recent years, the use of new anti-TB drugs, repurposed drugs, and their drug combinations has greatly improved treatment outcomes in patients with both drug-susceptible TB and MDR/XDR-TB. The importance of developing more effective drugs targeting persisters of *Mycobacterium tuberculosis* is emphasized. In addition, host-directed therapeutics using both conventional drugs and herbal medicines for more effective TB treatment should also be explored. In this article,

we review historical aspects of the research on anti-TB drugs and discuss the current understanding and treatments of drug resistant and persistent tuberculosis to inform future therapeutic development.

[**Key words**] Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Resistant tuberculosis; Diagnosis; Treatment; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2022, 51(6): 657-668.]

[**缩略语**] 世界卫生组织(World Health Organization,WHO);2019冠状病毒病(coronavirus disease 2019,COVID-19);烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide,NAD);过氧化氢酶-过氧化物酶(catalase-peroxidase,KatG);烯酰酰基载体蛋白还原酶(enoyl acyl carrier protein reductase,InhA);成簇的、规律间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeat,CRISPR)

结核病是一个古老的疾病,是全球单一传染源引起的传染性疾病导致死亡的主要原因之一,全球长期面临结核病带来的公共卫生安全威胁[1]。据WHO估计,全球每年新增结核病患者约为1000万人,因结核感染导致的死亡人数约为150万人[1]。随着耐药性结核分枝杆菌的扩散、人类免疫缺陷病毒感染、COVID-19疫情等因素的共同影响,结核分枝杆菌对人类的威胁有加重趋势[2-3]。2014年,WHO提出了“2035年终结结核病流行”的目标。该目标要求至2020年结核病发病率每年下降4%~5%,到2025年加速至每年下降10%,然后2025—2035年平均每年下降17%,从而达到终结结核病流行的目的。与2015年比较,2020年全球结核病发病率累计下降11%,仅完成该阶段战略目标的55%,疾病发病率仍处在较高水平;结核病死亡人数减少仅9.2%,与2035年终结结核病流行目标相去甚远,只达到WHO提出至2020年目标的1/4(2020年目标为死亡人数减少35%)。2021年,COVID-19疫情进一步延缓了全球终结结核病流行的进程,2022年全球新增结核病患者相比2021年不降反增。COVID-19疫情给结核病高负担国家和地区完成终止结核病流行的目标带来更大的挑战[1,4-5]。目前,世界范围内结核病的治疗和控制仍存在诸多难点。全球约有25%的人口感染了结核分枝杆菌,大部分为结核潜伏感染者,其中进展为活动性结核的风险为5%~10%[1],而目前仍缺乏针对结核潜伏感染的诊断方法,这是公共卫生安全的重要隐患之一。耐药结核病的防控是另外一个难点。2019年,耐多药结核病或利福平耐药结核病患者人数为46.5万,而其治疗成功率为59%,约有18万人因利福平耐药或耐多药结核病死亡[6]。2020年,新增利福平耐药患者约132 222例,其中约25%为耐多药结核病[1]。

近三十年来,中国在控制结核病方面取得了长足的进步,1990—2010年经病原学检测诊断的结核病患病率和病死率分别下降了63%和80%[7]。1990—2017年,中国结核病患病率和结核相关病死率呈逐年下降趋势,耐多药结核病的发病率和病死率同样保持下降[8]。2020年,中国结核病新发病例84.2万例,发病率为59/10万人,新发感染率处在国际中下水平,但结核病患者数量仍位居世界第二,约占世界总数8.5%[1,5],WHO在2022全球结核病报告中将中国列为结核病、艾滋病相关结核病和耐多药或耐利福平结核病高负担国家[1]。因此,治疗结核病患者、控制结核病流行仍任重而道远。鉴古而知今,本文通过回顾结核药物治疗的历史发展和近期进展,特别讨论了结核分枝杆菌株的耐药性和持留性问题,以期为结核治疗未来的发展提供思路。

1 治疗结核病化学药物的发现及其临床应用

1.1 18世纪末至20世纪初有效治疗药物发现前的结核病治疗

人类与结核病的斗争从未停止过,早期由于疾病病因不明、缺乏有效治疗手段,主要通过疗养和手术等方式治疗结核病。在未发现结核分枝杆菌的年代,Hermann Brehmer首次采用为肺结核病

患者提供新鲜空气、充足的营养和日晒环境等方式以针对其呼吸道症状和体形消瘦进行治疗,并称这类方法成功“治愈”了结核病。18世纪末至19世纪初,科学家认为结核感染与肺解剖结构中的无效腔相关,因此开发了人工气胸、胸廓成形术、软胸成形术、肺切除术等手术方式以消除结核病灶和改变肺解剖结构。此外,鱼肝油和日晒疗法可以改善结核病患者的临床症状,当时的人们认为维生素D是改善症状的关键因素,因此将维生素D用于结核病的治疗,同时发现烟酰胺对缩小肺结核病灶具有一定效果。但这些方法的治愈率低且复发率和病死率高[9-10]。1882年,Robert Koch发现结核分枝杆菌是结核病的致病微生物,并认为去除活菌的结核分枝杆菌提取物可用于结核病的治疗和预防,然而事实证明并非如此[11]。1921年,Albert Calmette和Camille Guérin研发出第一株减毒牛结核病疫苗并在第二次世界大战后大规模推广,人群保护效果显著。尽管已经分离出结核分枝杆菌菌株,但针对结核病患者尚无有效的治疗药物,人们仍然只能通过疗养和手术治疗肺结核病患者。

1.2　20世纪中叶有效治疗结核病药物陆续发现

1938年,约翰斯·霍普金斯大学的Rich和Follis发现高剂量的磺胺能显著抑制豚鼠中实验性结核感染的相关病变,但耐受剂量治疗结核病患者无效果[12]。1944年,Schatz和Waksman发现了第一个有效的结核病治疗药物链霉素,其主要作用于细菌的核糖体,抑制细菌蛋白质合成,破坏细菌细胞膜的完整性从而杀灭结核分枝杆菌[13]。作为对结核分枝杆菌具有良好治疗效果的第一种化学药物,链霉素的发现标志着结核病现代治疗的开始[13]。1946年,瑞典Lehmann发现了对氨基水杨酸是一种有效的治疗结核病药物,然而其对结核病的治疗效率不高,这也驱使科学家们寻找更为有效的药物[14]。1952年,异烟肼的发明是结核病治疗史上一个重要的里程碑,其主要通过抑制细胞壁分枝菌酸的合成及其对DNA、脂质、碳水化合物和NAD代谢过程的作用,从而使结核分枝杆菌丧失抗酸性和增殖能力而死亡[15-16]。吡嗪酰胺是一种烟酰胺类似物,1952年发现其对结核分枝杆菌具有较高活性,与异烟肼联合使用在小鼠结核感染模型中获得较好的治疗效果[17-18],其作用机制在当时未明确。后期研究表明,由结核分枝杆菌*pncA*基因编码的烟酰胺酶/吡嗪酰胺酶将吡嗪酰胺转化为其活性形式吡嗪酸,能有效作用于结核分枝杆菌RpsA、PanD、ClpC1等多个靶点,其主要过程包括破坏结核分枝杆菌的能量代谢和抑制蛋白降解系统的反式翻译过程[19-20]。RpsA是吡嗪酰胺作用的重要靶标,其主要参与结核分枝杆菌反式翻译过程,但反式翻译在正常环境下并不活跃,而在压力环境下(如饥饿、低氧、氧化应激、抗生素)对维持结核分枝杆菌存活具有重要作用[21]。因此,吡嗪酰胺对生长活跃的结核分枝杆菌亚群效果不佳,而对生长缓慢或进入“休眠”状态的结核分枝杆菌(持留菌)具有良好的杀伤效果[22]。吡嗪酰胺与其他治疗结核病药物联用能够有效缩短治疗时间,是临床结核病治疗方案中不可替代的组成部分[17-18]。1961年,Lederle发现乙胺丁醇对结核分枝杆菌具有较强的抑制作用[23],其主要通过干扰RNA的合成抑制结核分枝杆菌生长[24-26]。随后,环丝氨酸、卡那霉素、利福霉素等药物被用于结核病的治疗。利福平是1966年发现的一种广谱半合成利福霉素衍生物,通过抑制细菌RNA聚合酶β亚基结合干扰RNA合成,对快速生长和缓慢生长状态的结核分枝杆菌都具有较好的杀菌活性,能显著缩短结核病的疗程[27]。其环戊基衍生物利福喷丁的半衰期比利福平更长,杀菌活性更强,在结核治疗领域具有广阔的应用前景[28]。

目前,临床上针对敏感结核分歧杆菌广泛采用的标准治疗方案由利福平、异烟肼、吡嗪酰胺和乙胺丁醇组成,取得了良好的治疗效果,扭转了人类对结核病这一“白色瘟疫”束手无策的境况。

2　结核分枝杆菌的耐药和持留现象成为21世纪以来结核病治疗的主要问题

细菌耐药性已成为全球关注的健康安全问题。目前,耐多药和广泛耐药结核分枝杆菌感染在世界范围内广泛流行,WHO估计2019年全球3.3%的新发结核病病例和18%先前接受过治疗的结核病病例为耐多药或耐利福平结核病,约有50万人。约四分之一的结核病患者死亡是由利福平耐药的结核分枝杆菌引起的[29]。持留菌是在抗生素的杀灭作用下存活下来的细菌亚群,其基因与敏感菌株相同,常处于非复制状态且对抗生素具有不可遗传的抗性表型或药物耐受性,在一定条件下可恢复为对药物敏感的表型。结核分枝杆

菌在体内持留不仅可以导致结核病治疗疗程延长,也与结核病治疗后的复发和潜伏性感染状态有关[30-31]。结核分枝杆菌的耐药(遗传性耐药)和持留(表型耐药)是结核分枝杆菌在治疗过程中两个不同方向的菌株异质性的表现,这两种现象是全球结核病控制面临的重要挑战[32]。

2.1 结核分枝杆菌的耐药现象及机制研究

早期链霉素治疗结核病患者时,发现结核分枝杆菌对抗生素出现耐药性现象:治疗三个月后其治疗效果大幅下滑,且分离出的菌株可以在较高浓度的链霉素中存活并生长[33]。结核分枝杆菌的耐药性来源于染色体基因的突变而并非由质粒介导。结核分枝杆菌耐药机制主要包括前体药物活化酶突变导致的药物不能被激活从而发挥相关作用。异烟肼作为前体药物被结核分枝杆菌的KatG激活从而产生异烟肼-NAD活性复合体,进而抑制与细胞壁合成相关的靶点InhA,但当*katG*发生突变时会产生耐药。异烟肼耐药菌株在导入*katG*后可恢复对异烟肼的敏感性,可见*katG*突变是异烟肼耐药的主要原因[34-35]。异烟肼是第一个被发现具有此类耐药机制的结核病治疗药物,其他抗结核药物如吡嗪酰胺、乙(丙)硫异烟胺、对氨基水杨酸、德拉玛尼、普托玛尼也有类似耐药机制。

药物靶点(如*inhA*、*rpoB*等)突变或过表达也是结核分枝杆菌耐药的重要原因。利福平耐药结核分枝杆菌通常是由*rpoB*突变引起。研究表明,利福平耐药中*rpoB*突变占96%以上[28]。吡嗪酰胺的耐药主要是由激活相关功能的*pncA*突变引起(85%),因其在前体药物吡嗪酰胺转化为活性成分吡嗪酸这一过程中发挥了重要作用[36]。另外,吡嗪酰胺的治疗靶点*rpsA*、*panD*、*clpC1*的突变也会引起耐药,但较*pncA*突变少见,检测*pncA*突变是快速诊断吡嗪酰胺耐药的分子生物学方法。因结核分枝杆菌生长缓慢,表型药物药敏试验需一定时间,通过检测耐药基因相关突变及早诊断结核耐药对提高治疗成功率至关重要。由*embB*编码的阿拉伯糖基转移酶是一种参与阿拉伯半乳聚糖合成的酶,是结核分枝杆菌中乙胺丁醇的靶点,其突变可导致耐药性。*gyrA*突变与喹诺酮类药物耐药相关;*rpsL*和*rrs*突变是氨基糖苷类药物耐药的主要原因;抗结核新药德拉马尼和普托马尼耐药均由*ddn*、*fgd1*、*fbiABCD*突变引起;贝达喹啉耐药由*atpE*、*rv0678/mmpR*、*rv2535c/pepQ*、*glpK*突变引起,氯法齐明耐药主要由*rv0678/mmpR*、*rv1979c*、*rv2535c/pepQ*突变引起,*rv0678/mmpR*、*rv2535c/pepQ*突变可以引起贝达喹啉与氯法齐明的交叉耐药;利奈唑胺耐药由*rrl*(23S rRNA)及*rplC*突变引起;异烟肼耐药的结核分枝杆菌临床株中*katG*突变占80%~90%,而剩下10%~20%系*inhA*突变[37]。

另外,药物被细菌的酶(如β-内酰胺酶)降解或灭活、药物渗透性降低、药物外排增强等均可引起耐药[38-40]。

2.2 结核分枝杆菌的持留现象及机制研究

细菌持留现象最早于1942年由Hobby等[41]在对青霉素杀菌活性进行研究时发现,即青霉素只能杀死99%的葡萄球菌,剩下1%的菌则保持完好。1944年,Bigger对这一现象进行了进一步的研究,并最早提出持留菌(persister)这一概念来定义这一部分细菌[42]。持留菌不同于耐药菌,这是一种表型耐药而非遗传性耐药。持留菌是细菌群体中一定比例表型异化的小亚群,特征表现为生长停滞和生长缓慢,可耐受致死浓度的抗生素,但不具有遗传性;当持留菌处于正常培养环境时,则恢复正常生长表型并对治疗药物敏感[43]。持留菌的存在是结核病、尿路感染、生物膜感染等细菌感染复发及疗程延长、难以治愈的主要原因,且与遗传耐药的产生密切相关[31,44]。细菌持留的机制涉及毒素-抗毒素系统、细胞能量代谢及蛋白质核酸合成等生理代谢状态、DNA保护/修复系统、蛋白质酶系统、反式翻译、外排泵系统等相关信号通路[43]。结核分枝杆菌持留的产生机制包括与毒素-抗毒素系统相关的*relBE*,严紧反应(stringent response)相关的*relA*(ppGpp),与反式翻译及蛋白降解相关的*rpsA*、*clpC1*[43,45]。此外,细菌还具有DNA保护修复系统相关的*uvrABC*以及与能量代谢相关的*panD*、*icl*、*glpK*等基因[46-48]。其中*panD*编码的天冬氨酸脱羧酶能够将*L*-天冬氨酸脱羧生成β-丙氨酸,在辅酶A的形成中起到至关重要的作用,从而影响细菌的能量代谢[47]。

吡嗪酰胺通过抑制多个与持留相关的靶点从而缩短结核疗程(从9~12个月缩短至6个月)[40]。持留机制的阐明有助于杀灭持留菌相关药物的研发,因此发现新的针对持留菌且缩短疗程的药物是新药研发中的重点[43,49-50]。值得注意的是,结核分枝杆菌的持留现象可能与结核潜伏感染密切

相关。结核分枝杆菌在感染宿主的过程中有不同的微环境条件,包括高氧(结核空洞中)或低氧(在宿主巨噬细胞或肉芽肿病灶中)环境、营养缺乏、氧化应激和酸性环境。所有这些都会影响其代谢状态,产生异质细菌群包括生长停滞的持留菌,从而维持结核分枝杆菌的存活。而当恢复一定条件时,持留菌又可重新恢复快速复制的能力从而导致活动性结核病的发生,这一此消彼长“阴阳模型”可以用来描述持留菌/生长菌与持续感染和潜伏感染/活动性结核病的转化过程[31],见图1。此外,结核分枝杆菌形成的持留菌可在生物膜环境中存活,从而逃避宿主防御和药物的杀伤清除。潜伏性结核感染表现为宿主具有对结核分枝杆菌抗原的免疫反应而临床症状不明显的感染。目前,全球四分之一的人口有潜伏性结核感染,其中5%~10%存在进一步发展为活动性肺结核的风险[51],因此进一步探明结核分枝杆菌的体内持留机制和对药物的耐受机制,开发以宿主为导向的抗结核治疗新方法,杀灭处于非复制及休眠状态的结核分枝杆菌,恢复结核持留菌对药物治疗的敏感性,无疑对控制结核病达到2035年终止结核病流行这一目标具有重要意义。

2.3　治疗结核病药物的联合使用及治疗方案

1948年,英国医学研究理事会首次建立随机对照试验作为评估并验证链霉素治疗结核病疗效的方法。目前,随机对照试验已经成为现代循证医学的基石,通过此方法评估药物有效性成为美国食品药品监督管理局做出结论的主要依据。研究结果表明,与链霉素单药治疗(120 d后70%患者产生链霉素耐药性)比较,联合治疗只有约9%的患者出现耐药性。单药使用易产生高耐药性的异烟肼与链霉素和对氨基水杨酸合用治疗24个月可以治愈结核病,耐药率只有4%。因此,人们开始尝试联合用药治疗结核病,以防止或减少单一抗结核药物产生的耐药性,同时增强疗效、减少复发。20世纪60—70年代,利福平、异烟肼、乙胺丁醇与链霉素的联合使用成功将结核分枝杆菌治疗疗程缩短为9~12个月,且复发率较低[27,52-55]。20世纪80年代,吡嗪酰胺的加入成功使得结核病治疗周期进一步缩短为6个月,即2HRZE/4HR方案。从1995年起,此方案成为WHO推荐的药物敏感性结核病标准治疗方案(表1)[55]。2021年,一项多中心、开放、随机对照非劣效Ⅲ期临床试验表明,利福喷丁联合莫西沙星等药物治疗4个月的新抗结核治疗方案(2HPMZ/2HPM)在治疗效果、安全性及耐受性等方面均不劣于2HRZE/4HR方案[56]。因此,2022年WHO将2HPMZ/2HPM方案列为新推荐方案,其优势在于能显著缩短疗程,预防耐药并增强疗效(表1)[57]。但其潜在的问题是该方案中采用高剂量利福喷丁(1.2 g/d)可能会产生较大的副作用,因此还需要更多的证据来评估该方案实施的安全性和可行性。针对药物治疗敏感的结核病,目前一线结核病治疗药物仍能发挥较好的治疗作用,然而由于治疗时间长,患者依从性差和耐药性结核分枝杆菌广泛传播等原因,结核病治疗的耐药问题依然没能较好解决。

2.4　应对耐多药结核病的分子生物学诊断及个体化给药

耐多药结核病是由至少对异烟肼和利福平均耐药的结核分枝杆菌引起的结核病[5]。广泛耐药

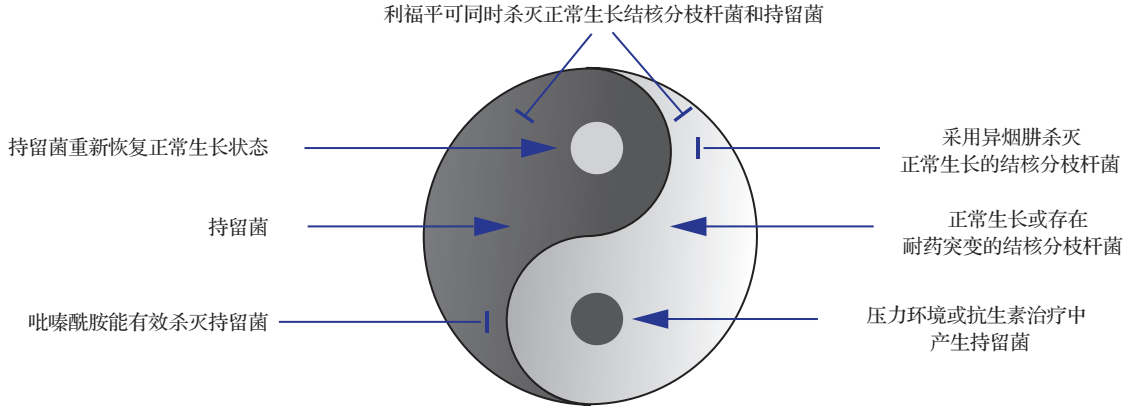

图1　在体内不同环境下持留菌与正常生长结核分枝杆菌此消彼长模型[31]

Figure 1　The Yin-Yang model to show mycobacterial persisters and latent infection versus growing bacteria and active disease and their inter-conversion

表 1 WHO指南有关结核分枝杆菌感染的推荐治疗方案
Table 1 WHO guidelines on tuberculosis treatment

治疗方案	治疗时间(月)	治疗药物	来源文献
药物敏感结核病			
标准治疗方案(2HRZE/4HR)	6	利福平、异烟肼、吡嗪酰胺、乙胺丁醇	[55]
利福喷汀–莫西沙星方案(2HPMZ/2HPM)	4	利福喷丁、异烟肼、吡嗪酰胺、莫西沙星	[57]
耐药和耐多药结核病			
6个月全口服方案(BPaLM)	6	贝达喹啉、普瑞玛尼、利奈唑胺/莫西沙星	[58]
9个月全口服方案*	9	贝达喹啉、氟喹诺酮类、利奈唑胺、乙硫酰胺、吡嗪酰胺、乙胺丁醇、异烟肼、氯法齐明	[58]
长程口服方案	18~24	A组:贝达喹啉、利奈唑胺、左氧氟沙星/莫西沙星 B组:氯法齐明、环丝氨酸/特立齐酮 C组#:乙胺丁醇、德拉马尼、吡嗪酰胺、亚胺培南、阿米卡星、乙(丙)硫异烟胺、对氨基水杨酸	[5]

*4–6Bdq[6]-Lfx[Mfx]-Eto-E-Z-Hh-Cfz/5Lfx[Mfx]-Cfz-Z-E和4–6Bdq[6]-Lfx[Mfx]-Lzd[2]-E-Z-Hh-Cfz/5Lfx[Mfx]-Cfz-Z-E,Bdq:贝达奎林;Lfx:左氧氟沙星;Mfx:莫西沙星;Eto:乙硫异烟胺;E:乙胺丁醇;Z:吡嗪酰胺;Hh:高剂量异烟肼;Cfz:氯法齐明;Lzd:利奈唑胺;数字代表用药时间. #当A组与B组药物均不能使用时采用.

结核病是指由满足耐多药结核病定义且对任何一种氟喹诺酮类药物和至少一种A组药物(贝达喹啉或利奈唑胺)耐药的结核分枝杆菌引起的结核病[59]。耐药结核病诊断的金标准是基于细菌培养的表型药物敏感试验,但因为结核分枝杆菌生长缓慢,表型药物敏感试验需要2~6周,导致及时诊断和制订有效治疗方案困难。而分子生物学技术可通过检测耐药相关的靶基因突变来诊断结核分枝杆菌的耐药性,检测时间可以缩短到2~6 h。目前,WHO推荐的分子耐药检测包括Xpert MTB/RIF、Truenat MTB-RIF Dx、MTB RIF/INH (Abbott)、BD MAX MDR-TB、MTBDRplus、Hain Fluoro Type MTBDR、Roche cobas MTB 和 MTB-RIF/INH、GenoScholar PZA-TB Ⅱ等[59],可以快速、准确鉴定痰菌阳性患者的耐药性,但其局限性是仅检测利福平或异烟肼耐药而不适用其他药物的耐药性检测,对临床个体化治疗指导作用有限。而全基因组测序技术能够全面获得耐药结核分枝杆菌对现有所有抗结核药物的耐药信息,具有很好的应用前景,但目前该检测需时较长而且费用较高[60]。耐药基因靶向高通量测序作为一种更可行的方法值得探索。

近十年来,WHO对于耐多药结核病治疗的推荐用药方案变化非常大,不断推陈出新[61]。2019年,注射类药物(氨基糖苷类和卷曲霉素)已经退出优先选择药物,目前治疗耐多药结核病的药物为全口服药物,分别是A组的左氧氟沙星或莫西沙星、贝达喹啉、利奈唑胺,B组的氯法齐明和环丝氨酸或特立齐酮,以及C组的补充药物(在A组和B组药物无法采用的情况下使用)乙胺丁醇、德拉马尼、吡嗪酰胺、亚胺培南、阿米卡星、乙(丙)硫异烟胺、对氨基水杨酸[5]。但是,全口服方案是一种标准化方案,并未考虑个体化差异,如推荐方案并未考虑细菌是否对吡嗪酰胺耐药或敏感,把吡嗪酰胺归为C组药物也有一定争议。2012年的一项研究结果表明,将耐多药结核病分为吡嗪酰胺敏感和吡嗪酰胺耐药两种情况考虑,相比吡嗪酰胺耐药者,吡嗪酰胺敏感的结核病患者在使用包含吡嗪酰胺的治疗方案时,治疗时长可由18~24个月缩短到9~12个月[62]。吡嗪酰胺敏感的耐多药结核病患者使用包含吡嗪酰胺的治疗方案相比一般的长程治疗方案,治疗成功率从62%提升到82%[63],因此将吡嗪酰胺分类到C组导致不能充分利用其对吡嗪酰胺敏感耐多药结核病的治疗,这是否合适值得进一步探讨。最新WHO推荐的耐多药结核病治疗方案为短程口服6个月的贝达喹啉、普瑞玛尼、利奈唑胺和莫西沙星(BPaLM)或9个月的贝达喹啉、氟喹诺酮类、利奈唑胺以及方案内推荐的其他结核治疗药物(表1)。

综上,从WHO推荐用药变化史可见,短程口服治疗方案已经逐步占据主导地位。细菌产生耐药性的主要原因是药物的疗程太长,其主要的原因是持留菌存在,因此要缩短疗程,未来的治疗必须瞄准持留菌才能更加高效。采取精准的个体化

药物治疗,即根据痰菌的多少、病变情况(如肺部有无空洞、单侧病变还是双侧病变等)以及更精准的生物标志物(如抗原、抗体、代谢产物以及细胞因子等)等,结合分子快速药敏技术,精准判断结核分枝杆菌对药物耐药或敏感,制订个体化给药方案,以提高治疗效率和缩短疗程。

3　结核病药物治疗的展望

3.1　针对耐药结核杆菌的化学新药研发

目前,治疗结核病新药研发取得很大的进展。结核病新药贝达喹啉、普瑞玛尼、德拉马尼等已进入临床使用,对于耐药结核病治疗及缩短疗程具有良好的效果;TBA-7371、GSK-656、OPC-167832、Telacebec、Delpazolid、Sutezolid、SQ-109等候选药物已经进入Ⅱ期临床试验[64]。喹诺酮类药物在当前治疗结核病方案中发挥了重要的作用,新型喹诺酮类杀菌剂西他沙星可能可以作为潜在结核病治疗药物,目前已开展相关临床研究(NCT05454345)。虽然这些药物在耐多药结核病的治疗中取得了良好的效果,但其杀死持留菌的作用往往有限,对其是否可以替代吡嗪酰胺或与吡嗪酰胺联合使用进一步缩短结核病治疗疗程有待进一步研究。由于细菌的多耐药性是动态增加的,因此人们必须时刻保持新药开发的步伐。贝达喹啉、普托马尼、德拉马尼等新药与以往结核病治疗药物的联合使用已经广泛应用于耐多药结核病的临床试验及治疗。机器学习的蓬勃发展也为结核治疗方案的突破作出了贡献,利用INDIGO和DiaMOND工具能够评估多药组合间的药物-药物协同作用[54,64-65],描述其在抗结核功能中协同/拮抗剂量区间及量化相互作用程度,并进一步在动物实验和临床试验中加以验证,以期开发出针对结核病更有效的药物组合及治疗方案。

3.2　以宿主为导向的结核治疗方法

结核分枝杆菌感染后激活宿主先天免疫反应,触发一系列促进杀伤结核分枝杆菌的细胞内过程,然而结核分枝杆菌可以通过影响自噬途径、细胞吞噬功能、抗原提呈和细胞代谢规避杀伤作用从而实现在细胞内的长期存活[66]。宿主导向疗法通过干扰结核分枝杆菌-宿主相互作用,靶向结核分枝杆菌对宿主细胞相关功能和信号通路修饰机制,主要通过利用酪氨酸激酶抑制剂靶向巨噬细胞、细胞因子调节剂(如γ干扰素)、抗细胞因子抗体、抗氧化剂等药物增强宿主免疫力,干预细胞内结核分枝杆菌生长并抑制组织损伤和炎症反应过程,协同宿主免疫细胞杀伤结核分枝杆菌,对抗耐多药以及潜伏的结核分枝杆菌[67-68]。相比传统疗法,宿主导向疗法能较好地规避细菌的耐药性并缩短传统结核病药物治疗时间。目前已经开展临床试验的以宿主为导向的结核治疗方法包括磷酸二酯酶抑制剂CC-11050(Horizon 2020: project 847465)、抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸(NCT03702738)、AMPK激动剂二甲双胍(NCT04930744)、他汀类药物(NCT03882177)、酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼(NCT03891901)、环氧合酶抑制剂(NCT04575519)、阿奇霉素(NCT03160638)、调节T细胞活性的rIL-2(NCT03069534)、诱导抗菌肽的Colecalciferol(NCT03011580)。此外,利用CRISPR-Cas9敲除和CRISPRi敲减鉴定全基因组中宿主细胞-结核分枝杆菌互作关键基因,筛选得到宿主抑制细胞内结核分枝杆菌感染机制的药物作用靶点,有望作为宿主导向疗法的治疗靶点[69]。然而由于结核感染过程中不同阶段免疫反应中的抗炎和促炎机制并不相同,针对不同免疫靶点的宿主导向治疗方式时间点的选择仍有待研究,宿主导向疗法的有效性和安全性仍需进一步评估。

3.3　发掘中医药用于结核病治疗的价值

长期以来,中医药在结核病治疗方面发挥了一定的作用,如用于耐多药结核病的治疗[70-71]。目前一些研究表明,中西医结合治疗方案如不同的中药复方联合抗结核药物治疗在痰菌阴转率、病灶吸收率、空洞闭合率以及临床综合疗效优于单纯西药化学治疗,且中西医结合治疗组不良事件发生率低于对照方案[72-75]。中医药发挥相关作用可能与中草药中生物碱类、肉桂酸衍生物、醌类和萜类化合物等直接抑菌作用,或通过调节宿主免疫功能改善患者的症状相关。然而天然产物粗提取物是数百种不同化合物组成的复杂混合物,潜在治疗药物的发现和开发需要从复杂粗提取物中分离、纯化和鉴定目标化合物,其作为抗结核制剂的有效活性成分的稳定性和对疗效和安全性的验证还远没有达到化学药物的标准。因此,未来需要进一步确认和鉴定抗菌或促进免疫的活性成分,开展更高水平的基础研究和随机对照临床试

验,提供更多循证医学证据,提升中医药在结核病有效治疗中的价值。

4 结 语

WHO在2022全球结核病报告中表明,未进行治疗肺结核患者的病死率约为50%[1]。随着各类药物的发现及应用,结核病在世界范围内的传播得到了较好的控制,特别是目前规范应用以2HRZE/4HR方案为代表的4~6个月标准治疗方案针对治疗敏感患者的治愈率约为85%。同时,贝达喹啉、德拉马尼、普托马尼等治疗耐药结核新药的运用极大提高了结核病患者的治愈率。然而,由于结核分枝杆菌持留机制仍有许多不明之处,针对持留菌的药物治疗方案目前仍无突破性进展,除贝达喹啉对持留菌有较好的杀灭效果外,其他新药效果有限。因此,新药的研发不只是发现针对耐药结核分枝杆菌有效的药物,研发针对持留机制的药物、发展基于持留菌模型的模拟体内环境的药物筛选技术、发现新的更有效地杀灭持留菌的药物是未来缩短结核病治疗疗程的重要手段。值得关注的是,结核分枝杆菌(不同菌株及同一菌株)的异质性、宿主反应的异质性及疾病发展不同阶段的异质性决定了疾病的复杂性及治疗难易程度,因此,如何将患者合理分层、实施个性化精准的治疗及超短程治疗方案的研发是将来结核病治疗发展的方向。另外,持留菌接种在结核感染发病中的作用及其与感染的结局、疾病严重程度、复发和预后的关系值得研究[31],呼吸道微生态菌群对结核的发生发展、复发与治疗失败的关系也值得探讨。同时,为减少潜在的活动性结核病发病人数,开发针对高危结核潜伏感染及痰涂片检查阴性结核病新的诊断技术(包括分子、代谢及细胞因子等生物标志物)及有效的短程预防性治疗、研发新型药物和开展新药物新方案的临床研究至关重要。探索以宿主为导向的结核治疗方法可能有助于更短和更有效地治疗,且能规避治疗中可能产生的耐药性、患者依从性和不良反应等问题。除了化学药物类的新药研发外,中草药与抗结核药物的联用具有较好的前景。中草药具有抑制细菌活性及宿主免疫调节作用,其相应活性成分的鉴定和衍生产物可作为辅助治疗手段,提高现有疗法的疗效,减少副作用并降低结核分枝杆菌耐药性发生,可以用作开发新药物的来源和模板。同时结合基因测序、药物治疗监测、人工智能等技术开展结核病患者的个性化治疗,有效针对不同疾病阶段和病变程度的患者,在缩短疗程的同时减少耐药的发生,以更好实现WHO提出的“2035年终结结核病流行”的目标。

众所周知,目前临床上尚无能完全清除生物膜感染的治疗方案,但根据结核病治疗经验,吡嗪酰胺对持留菌具有良好的杀灭效果[36],在治疗结核持续感染与缩短疗程减少复发中具有突出作用。基于吡嗪酰胺杀死持留菌的机制,有学者提出阴阳模型[31]并应用于治疗不同的细菌如伯氏疏螺旋体、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌引起的持续感染和生物膜感染的动物实验取得了令人振奋的效果[75-77]。这些优于现有临床治疗方案、可杀死持留菌的药物组合需通过临床试验进一步验证。将来有望运用杀死持留菌的方法,有效地治疗其他复发、难治持续感染如复发性尿路感染、非结核分枝杆菌感染、慢性阻塞性肺病并发的持续感染及不同的生物膜感染,以应对临床难题。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] World Health Organization. **Global tuberculosis report** 2022[EB/OL]. (2022-10-28)[2022-12-20]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240061729.

[2] CHANG K C, YEW W W. Management of difficult multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis: update 2012[J]. **Respirology**, 2013, 18(1): 8-21.

[3] KOELLE K, MARTIN M A, ANTIA R, et al. The changing epidemiology of SARS-CoV-2[J]. **Science**, 2022, 375(6585): 1116-1121.

[4] DING C, HU M, SHANGGUAN Y, et al. Epidemic trends in high tuberculosis burden countries during the last three decades and feasibility of achieving the global targets at the country level[J]. **Front Med**, 2022, 9: 798465.

[5] World Health Organization. WHO operational handbook on tuberculosis: module 4: treatment: drug-resistant tuberculosis treatment[EB/OL]. (2022-06-15)[2022-12-20]. https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240006997.

[6] DEAN A S, TOSAS AUGUET O, GLAZIOU P, et al. 25 years of surveillance of drug-resistant tuberculosis: achievements, challenges, and way forward[J/OL]. **Lancet Infect Dis**, 2022, 22(7): e191-e196.

[7] WANG L, ZHANG H, RUAN Y, et al. Tuberculosis

prevalence in China, 1990—2010; a longitudinal analysis of national survey data[J]. **Lancet**, 2014, 383(9934): 2057-2064.

[8] DING C, WANG S, SHANGGUAN Y, et al. Epidemic trends of tuberculosis in China from 1990 to 2017: evidence from the global burden of disease study[J]. **Infect Drug Resist**, 2020, 13: 1663-1672.

[9] HART P D. Chemotherapy of tuberculosis; research during the past 100 years[J]. **Br Med J**, 1946, 2(4482): 805.

[10] MITCHISON D A. The diagnosis and therapy of tuberculosis during the past 100 years[J]. **Am J Respir Crit Care Med**, 2005, 171(7): 699-706.

[11] KAUFMANN S H E, WINAU F. From bacteriology to immunology: the dualism of specificity[J]. **Nat Immunol**, 2005, 6(11): 1063-1066.

[12] RICH A, FOLLIS R H. The inhibitory effect of sulfanilamide on the development of experimental tuberculosis in the guinea pig[J]. **Bulletin of the Johns Hopkins Hospital**, 1938, 62: 77-84.

[13] SCHATZ A, BUGIE E, WAKSMAN S A. The classic: streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria[J]. **Clin Orthop Relat Res**, 2005, (437): 3-6.

[14] MARTIN D D, SPRING F S, DEMPSEY T G, et al. p-Aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis[J]. **Nature**, 1948, 161(4090): 435.

[15] CHORINE V. Action of nicotinamide on bacilli of the type *Mycobacterium*[J]. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, 1945, 220: 150-151.

[16] OFFE H A, SIEFKEN W, DOMAGK G. Hydrazinderivate und ihre Wirksamkeit gegenüber *Mycobacterium tuberculosis*[J]. **Z für Naturforschung B**, 1952, 7(8): 446-462.

[17] YEAGER R L, MUNROE W, DESSAU F I. Pyrazinamide (aldinamide) in the treatment of pulmonary tuberculosis[J]. **Am Rev Tuberc**, 1952, 65(5): 523-546.

[18] MCCUNE JR. R M, TOMPSETT R. Fate of *Mycobacterium tuberculosis* in mouse tissues as determined by the microbial enumeration technique[J]. **J Exp Med**, 1956, 104(5): 737-762.

[19] ZHANG Y, Wade M M, Scorpio A, et al. Mode of action of pyrazinamide: disruption of *Mycobacterium tuberculosis* membrane transport and energetics by pyrazinoic acid[J]. **J Antimicrob Chemother**, 2003, 52(5): 790-795.

[20] ZHANG Y, SCORPIO A, NIKAIDO H, et al. Role of acid pH and deficient efflux of pyrazinoic acid in unique susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide[J]. **J Bacteriol**, 1999, 181(7): 2044-2049.

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

[22] ZHANG S, CHEN J, SHI W, et al. Mutations in *panD* encoding aspartate decarboxylase are associated with pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J/OL]. **Emerg Microbes Infect**, 2013, 2(6): e34.

[23] THOMAS J P, BAUGHN C O, WILKINSON R G, et al. A new synthetic compound with antituberculous activity in mice: ethambutol (dextro-2,2′-(ethylenediimino)-di-l-butanol)[J]. **Am Rev Respir Dis**, 1961, 83: 891-893.

[24] KUROSAWA H. Studies on the antibiotic substances from actinomyces. XXIII. The isolation of an antibiotic produced by a strain of streptomyces "K 30" [J]. **J Antibiot Series B**, 1952, 5: 682-688.

[25] UMEZAWA H, UEDA M, MAEDA K, et al. Production and isolation of a new antibiotic, kanamycin[J]. **J Antibiot**, 1957, 10(5): 181-188.

[26] MARTINEZ M, PORVEN G. Rifomycin. (A new antibiotic)[J]. **Archivos Argentinos de Tisiología Y Neumonología**, 1963, 39: 45-53.

[27] MITCHISON D A. The action of antituberculosis drugs in short-course chemotherapy[J]. **Tubercle**, 1985, 66(3): 219-225.

[28] TELENTI A, IMBODEN P, MARCHESI F, et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in mycobacterium tuberculosis[J]. **Lancet**, 1993, 341(8846): 647-651.

[29] O'NEILL J. Review on antimicrobial resistance: tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations[EB/OL]. (2016-05-01)[2022-12-20]. https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20163354200.

[30] ZHANG Y. Persistent and dormant tubercle bacilli and latent tuberculosis[J]. **Front Biosci**, 2004, 9(1-3): 1136.

[31] ZHANG Y. Persisters, persistent infections and the Yin-Yang model[J/OL]. **Emerg Microbes Infect**, 2014, 3(1): e3.

[32] CHIANG C Y, VAN WEEZENBEEK C, MORI T, et al. Challenges to the global control of tuberculosis[J]. **Respirology**, 2013, 18(4): 596-604.

[33] MITCHISON D A. Development of streptomycin resistant strains of tubercle bacilli in pulmonary tuberculosis: results of simultaneous sensitivity tests in liquid and on solid media[J]. **Thorax**, 1950, 5(2): 144-161.

[34] ZHANG Y, HEYM B, ALLEN B, et al. The catalase—peroxidase gene and isoniazid resistance of mycobacterium tuberculosis[J]. **Nature**, 1992, 358(6387): 591-593.

[35] SCORPIO A, ZHANG Y. Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resis-

tance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus[J]. **Nat Med**, 1996, 2(6): 662-667.

[36] ZHANG Y, SHI W, ZHANG W, et al. Mechanisms of pyrazinamide action and resistance[J]. **Microbiol Spectr**, 2014, 2(4): MGM2-0023-2013.

[37] ZHANG Y, YEW W W. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: update 2015[J]. **Int J Tuberc Lung Dis**, 2015, 19(11): 1276-1289.

[38] ZHANG Y, GARBE T, YOUNG D. Transformation with katG restores isoniazid-sensitivity in *Mycobacterium tuberculosis* isolates resistant to a range of drug concentrations[J]. **Mol Microbiol**, 1993, 8(3): 521-524.

[39] SCHÖN T, MIOTTO P, KÖSER C U, et al. *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives[J]. **Clin Microbiol Infect**, 2017, 23(3): 154-160.

[40] KOCH A, COX H, MIZRAHI V. Drug-resistant tuberculosis: challenges and opportunities for diagnosis and treatment[J]. **Curr Opin Pharmacol**, 2018, 42: 7-15.

[41] HOBBY G L, MEYER K, CHAFFEE E. Observations on the mechanism of action of penicillin.[J]. **Exp Biol Med**, 1942, 50(2): 281-285.

[42] BIGGER J W. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilisation[J]. **Lancet**, 1944, 244(6320): 497-500.

[43] ZHANG Y, YEW W W, BARER M R. Targeting persisters for tuberculosis control[J]. **Antimicrob Agents Chemother**, 2012, 56(5): 2223-2230.

[44] LEWIS K. Persister cells[J]. **Annu Rev Microbiol**, 2010, 64(1): 357-372.

[45] KORCH S B, MALHOTRA V, CONTRERAS H, et al. The *Mycobacterium tuberculosis* relBE toxin: antitoxin genes are stress-responsive modules that regulate growth through translation inhibition[J]. **J Microbiol**, 2015, 53(12): 875.

[46] CUI P, NIU H, SHI W, et al. Identification of genes involved in bacteriostatic antibiotic-induced persister formation[J]. **Front Microbiol**, 2018, 9: 413.

[47] SUN Q, LI X, PEREZ L M, et al. The molecular basis of pyrazinamide activity on *Mycobacterium tuberculosis* PanD[J]. **Nat Commun**, 2020, 11(1): 339.

[48] SAFI H, GOPAL P, LINGARAJU S, et al. Phase variation in *Mycobacterium tuberculosis glpK* produces transiently heritable drug tolerance[J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2019, 116(39): 19665-19674.

[49] ZHANG Y. The magic bullets and tuberculosis drug targets[J]. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 2005, 45(1): 529-564.

[50] MANDAL S, NJIKAN S, KUMAR A, et al. The relevance of persisters in tuberculosis drug discovery[J]. **Microbiology**, 2019, 165(5): 492-499.

[51] GETAHUN H, MATTEELLI A, CHAISSON R E, et al. Latent mycobacterium tuberculosis infection[J]. **N Engl J Med**, 2015, 372(22): 2127-2135.

[52] DHEDA K, GUMBO T, MAARTENS G, et al. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis[J]. **Lancet Respir Med**, 2017, 5(4): 291-360.

[53] VERNON A, FIELDING K, SAVIC R, et al. The importance of adherence in tuberculosis treatment clinical trials and its relevance in explanatory and pragmatic trials[J/OL]. **PLoS Med**, 2019, 16(12): e1002884.

[54] PRADIPTA I S, HOUTSMA D, VAN BOVEN J F M, et al. Interventions to improve medication adherence in tuberculosis patients: a systematic review of randomized controlled studies[J]. **NPJ Prim Care Respir Med**, 2020, 30(1): 21.

[55] World Health Organization. Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care[EB/OL]. (2017-05)[2022-12-20]. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255052/9789241550000-eng.pdf.

[56] DORMAN S E, NAHID P, KURBATOVA E V, et al. Four-month rifapentine regimens with or without moxifloxacin for tuberculosis[J]. **N Engl J Med**, 2021, 384(18): 1705-1718.

[57] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: module 4: treatment: drug-susceptible tuberculosis treatment[EB/OL]. (2022-05-24)[2022-12-20]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240048126.

[58] World Health Organization. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: treatment-drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update[EB/OL]. (2022-12-15)[2022-12-20]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240065116.

[59] World Health Organization. WHO announces updated definitions of extensively drug-resistant tuberculosis [EB/OL]. (2021-01-27)[2022-12-20]. https://www.who.int/news/item/27-01-2021-who-announces-updated-definitions-of-extensively-drug-resistant-tuberculosis.

[60] WALKER T M, MERKER M, KOHL T A, et al. Whole genome sequencing for M/XDR tuberculosis surveillance and for resistance testing[J]. **Clin Microbiol Infect**, 2017, 23(3): 161-166.

[61] RENDON A, TIBERI S, SCARDIGLI A, et al. Classification of drugs to treat multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): evidence and perspectives[J]. **J Thorac Dis**, 2016, 8(10): 2666-2671.

[62] ZHANG Y, CHIU CHANG K, LEUNG C C, et al. 'Z(S)-MDR-TB' versus 'Z(R)-MDR-TB': improving treatment

of MDR-TB by identifying pyrazinamide susceptibility [J/OL]. **Emerg Microbes Infects**, 2012, 1(7): e5.

[63] SUN F, LI Y, CHEN Y, et al. Introducing molecular testing of pyrazinamide susceptibility improves multi-drug-resistant tuberculosis treatment outcomes: a prospective cohort study[J]. **Eur Respir J**, 2019, 53(3): 1801770.

[64] COKOL M, KURU N, BICAK E, et al. Efficient measurement and factorization of high-order drug interactions in *Mycobacterium tuberculosis*[J/OL]. **Sci Adv**, 2017, 3(10): e1701881.

[65] MA S, JAIPALLI S, LARKINS-FORD J, et al. Transcriptomic signatures predict regulators of drug synergy and clinical regimen efficacy against tuberculosis[J/OL]. **mBio**, 2019, 10(6): e02627-19.

[66] CAMPOS P C, CUNHA D T, SOUZA-COSTA L P, et al. Bag it, tag it: ubiquitin ligases and host resistance to mycobacterium tuberculosis[J]. **Trends Microbiol**, 2022, 30(10): 973-985.

[67] CHAI Q, WANG L, LIU C H, et al. New insights into the evasion of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*[J]. **Cell Mol Immunol**, 2020, 17(9): 901-913.

[68] WALLIS R S, O'GARRA A, SHER A, et al. Host-directed immunotherapy of viral and bacterial infections: past, present and future[J]. **Nat Rev Immunol**, 2022, DOI: 10.1038/s41577-022-00734-z.

[69] LAI Y, BABUNOVIC G H, CUI L, et al. Illuminating host-mycobacterial interactions with genome-wide CRISPR knockout and CRISPRi screens[J]. **Cell Syst**, 2020, 11(3): 239-251.e7.

[70] WANG M, GUAN X, CHI Y, et al. Chinese herbal medicine as adjuvant treatment to chemotherapy for multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): a systematic review of randomised clinical trials[J]. **Tuberculosis**, 2015, 95(4): 364-372.

[71] 鹿振辉, 张惠勇, 耿佩华, 等. 中医辨证联合化疗治疗耐多药肺结核388例临床观察——多中心随机对照试验[J]. **中医杂志**, 2014, 55(17): 1469-1474.
LU Zhenhui, ZHANG Huiyong, GENG Peihua, et al. Clinical study on TCM syndrome identification and chemotherapy for 388 cases of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis[J]. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, 2014, 55(17): 1469-1474. (in Chinese)

[72] 韩志娟, 郑玉兰. 参苓白术散加减联合抗结核药物治疗肺结核疗效观察[J]. **现代中西医结合杂志**, 2017, 26(21): 2351-2353.
HAN Zhijuan, ZHENG Yulan. Observation on the therapeutic effect of Shenling Baizhu Powder combined with antituberculosis drugs on pulmonary tuberculosis [J]. **Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine**, 2017, 26(21): 2351-2353. (in Chinese)

[73] 金　昕, 谢和宾, 曾　鸿, 等. 中西医结合治疗耐多药肺结核随机对照试验的Meta分析[J]. **中医药导报**, 2018, 24(1): 84-88.
JIN Xin, XIE Hebin, ZENG Hong, et al. Combined traditional Chinese and western medicine treatment for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. **Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy**, 2018, 24(1): 84-88. (in Chinese)

[74] 周光闹, 郭　净, 陈钟杰, 等. 60例耐多药肺结核患者中医证候与胸部CT影像相关性分析[J]. **浙江中医杂志**, 2019, 54(7): 485-487.
ZHOU Guangnao, GUO Jing, CHEN Zhongjie, et al. Correlation analysis between TCM syndrome and chest CT image in 60 patients with multidrug resistant pulmonary tuberculosis[J]. **Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine**, 2019, 54(7): 485-487. (in Chinese)

[75] FENG J, LI T, YEE R, et al. Stationary phase persister/biofilm microcolony of borrelia burgdorferi causes more severe disease in a mouse model of lyme arthritis: implications for understanding persistence, post-treatment lyme disease syndrome (PTLDS), and treatment failure[J]. **Discov Med**, 2019, 27(148): 125-138.

[76] YEE R, YUAN Y, TARFF A, et al. Eradication of staphylococcus aureus biofilm infection by persister drug combination[J]. **Antibiotics**, 2022, 11(10): 1278.

[77] YUAN Y, YEE R, GOUR N, et al. Identification of persister drug combination clinafloxacin + cefuroxime + gentamicin that eradicates persistent pseudomonas aeruginosa infection in a murine cystic fibrosis model[J]. **Infect Microb Dis**, 2022, DOI:10.1097/IM9.0000000000000106.

[本文编辑　沈　敏　刘丽娜]