

• 结核病耐药专题研究 •

# 结核分枝杆菌耐对氨基水杨酸相关基因研究进展

郭艳, 陈玲

**【摘要】** 对氨基水杨酸 (PAS) 是 20 世纪 40 年代研发的有效抗结核药物之一, 其对结核分枝杆菌具有良好的抑制作用, 与其他抗结核药物联用有利于增强其他抗结核药物疗效并减少其他抗结核药物耐药性。目前, PAS 仍是世界卫生组织 (WHO) 推荐的有效抗结核药物之一, 主要用于治疗耐多药结核病 (MDR-TB)。近年来, 结核分枝杆菌对 PAS 耐药现象逐渐增多, 但具体耐药机制尚未完全清楚。本文综述了结核分枝杆菌耐 PAS 相关基因, 旨在为结核分枝杆菌对 PAS 的耐药机制研究提供参考。

**【关键词】** 结核分枝杆菌; 结核, 抗多种药物性; 广泛耐药结核; 对氨基水杨酸; 基因; 突变; 综述

**【中图分类号】** R 378.911 R 394.2 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2018.11.004

郭艳, 陈玲. 结核分枝杆菌耐对氨基水杨酸相关基因研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2018, 26 (11): 16-20. [www.syxnf.net]

GUO Y, CHEN L. Progress on drug resistance related genes of Mycobacterium tuberculosis to para-aminosalicylic acid [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2018, 26 (11): 16-20.

**Progress on Drug Resistance Related Genes of Mycobacterium Tuberculosis to Para-aminosalicylic Acid** GUO Yan, CHEN Ling

The Second Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China

Corresponding author: CHEN Ling, E-mail: Lingjuncd@163.com

**【Abstract】** Para-aminosalicylic acid (PAS) is one of effective anti-tuberculosis drugs discovered in the 1940s, it has good inhibiting effect on Mycobacterium tuberculosis, may enhance the curative effect of other anti-tuberculosis drugs and reduce the risk of drug resistance, so it is recommended in treating MDR-TB by WHO. In recent years, drug resistance of Mycobacterium tuberculosis to PAS gradually increased, but the specific resistance mechanism is not fully understood. This paper reviewed the drug resistance related genes of Mycobacterium tuberculosis to PAS, in order to provide a reference for the research on resistance mechanism of Mycobacterium tuberculosis to PAS.

**【Key words】** Mycobacterium tuberculosis; Tuberculosis, multidrug-resistant; Extensively drug-resistant tuberculosis; Para aminosalicylic acid; Gene; Mutation; Review

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的一种传染病, 耐多药结核病 (MDR-TB) 是指同时对利福平和异烟肼耐药的结核病, 而广泛耐药结核病 (XDR-TB) 指对异烟肼和利福平耐药同时还对氟喹诺酮类药物及氨基糖甙类注射液耐药的结核病。据统计, 2017 年全球范围内共有 160 684 例 MDR-TB 患者, 其中 XDR-TB 约占 8.5%, 而约 40% 的 MDR-TB 患者集中于印度和中国<sup>[1]</sup>。我国是结核病高负担国家之一, 耐药结核病发病率高于全球平均水平并呈现逐渐升高趋势<sup>[2]</sup>, 而耐药结核病的持续存在给结核病防控工作带来了严峻挑战<sup>[3]</sup>。与其他细菌感染治疗方案相比, 结核病化疗方案周期更长、用药方案更复杂, 但整体治疗失败率较高, 因此 MDR-TB、XDR-TB 及完全耐药结核病 (TDR-TB) 发病率、致死率均出现逐年升高趋势。

对氨基水杨酸 (PAS) 是 20 世纪 40 年代研发的有效抗

结核药物之一, 对结核分枝杆菌具有良好的抑制作用<sup>[4]</sup>, 曾在抗结核治疗方案中具有重要地位, 但随着之后其他更有效的抗结核药物出现, PAS 地位逐渐下降并远离人们视线, 但其仍是目前世界卫生组织 (WHO) 推荐的有效抗结核药物之一。研究表明, 初、复治结核病患者 PAS 耐药率分别为 4.69%、26.00%, 仅次于左氧氟沙星, 居常用抗结核药物第六位<sup>[5]</sup>, 因此 PAS 常与其他抗结核药物联用治疗 MDR-TB 及 XDR-TB<sup>[1, 6-17]</sup>。据调查, 2011—2015 年 PAS 的临床使用呈逐渐增多趋势<sup>[6]</sup>。

研究表明, PAS 与其他抗结核药物联用有利于增强其他抗结核药物疗效并减少其他抗结核药物耐药的发生<sup>[10, 12]</sup>, 如增强异烟肼杀菌作用并减少肝功能异常、胃肠道反应等毒副作用的发生, 与链霉素联用减少链霉素耐药的发生, 与利奈唑胺联用具有协同增效作用等, 因此 PAS 可用于治疗难治性肺结核<sup>[7, 10, 18]</sup>。此外, PAS 颗粒制剂及其他改良制剂 (PAS 衍生物) 不仅可提高 PAS 抑菌活性, 还有利于提高患者耐受性, 且耐药率较低, 因此, 对于不能采用其他更有效的二线抗结

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760003)  
563003 贵州省遵义市, 遵义医学院附属医院呼吸二科  
通信作者: 陈玲, E-mail: Lingjuncd@163.com

核药物治疗的 MDR-TB 或 XDR-TB 患者, PAS 及其改良制剂不失为最好的选择<sup>[9, 12-15, 19]</sup>; 但有研究表明, PAS 使用频率为 1 次/d 较间歇性给药更有利于减少联用药物耐药的发生<sup>[12]</sup>, 但 PAS 的  $t_{1/2}$  较短、每日使用剂量较大, 因此其效率降低时并不是最佳联用药物<sup>[13-14, 17]</sup>。本文综述了结核分枝杆菌耐 PAS 相关基因, 旨在为结核分枝杆菌对 PAS 的耐药机制研究提供参考。

### 1 PAS 的作用机制

PAS 属抑菌剂, 作为叶酸前体对氨基苯甲酸酯 (PABA) 的紧密结构类似物, 其可与 PABA 竞争性结合二氢叶酸合酶 (DHFS), 进而抑制四氢叶酸 (THF) 的生物合成并导致脱氧尿苷 5'-磷酸 (dUMP) 合成脱氧胸苷 5'-磷酸 (dTMP) 途径受阻, 最终造成结核分枝杆菌 DNA 合成障碍并抑制结核分枝杆菌生长<sup>[4, 20-21]</sup>。此外, PAS 还可通过激活二氢蝶呤合酶 (DHPS) 及 DHFS 而产生有毒的羟基二氢叶酸, 继而抑制二氢叶酸还原酶抗代谢物并干扰二氢叶酸代谢途径、抑制叶酸的生物合成, 达到抑制结核分枝杆菌生长的目的<sup>[22]</sup>。

### 2 PAS 耐药相关基因

PAS 的应用虽经历了很长时间, 但其具体耐药机制尚未完全清楚。目前研究结果显示, PAS 耐药主要与药物靶基因突变有关, 已知的 PAS 耐药相关基因包括 *thyA* 基因 (Rv2764c)、*folC* 基因 (Rv2447c)、*ribD* 基因 (Rv2761)、*papA1* 基因 (RV3824c) 4 种。

**2.1 *thyA* 基因** *thyA* 基因全长 792 bp, 编码胸苷酸合酶 *thyA* 并参与脱氧核糖核苷酸的生物合成, 而脱氧核糖核苷酸是 DNA 生物合成所需 dTMP 的唯一来源。2004 年, RENGARAJAN 首次将 *thyA* 基因与叶酸途径联系起来, 并认为 *thyA* 基因突变与 PAS 耐药相关, 后经多项研究证实<sup>[20-21, 23-30]</sup>。*thyA* 基因突变可干扰胸苷酸合酶的合成并导致胸苷酸合酶活性降低, 继而影响胸腺嘧啶生物合成所需叶酸途径, 而 PAS 属叶酸拮抗剂, 因此推测 PAS 的耐药机制与叶酸途径受阻有关<sup>[21, 23-28]</sup>。研究表明, 对 PAS 耐药的结核分枝杆菌 *thyA* 基因突变频率约为 33%<sup>[23, 25]</sup> (见表 1), 可以是单基因突变, 也可以是双基因突变, 主要突变类型包括置换、颠换、插入、缺失等<sup>[23]</sup>, 以单个碱基缺失和插入突变为主, 其中第 19 位密码子缺失 C、第 168 位密码子缺失 C 最为常见<sup>[29]</sup>。T202A 是 *thyA* 基因突变的主要位点, 约占 66%<sup>[24-25]</sup>, 也是 *thyA* 基因突变的特异性位点<sup>[28]</sup>; 体外实验表明, *thyA* 基因敲除后结核分枝杆菌对 PAS 高度耐药, 证实 *thyA* 基因突变可导致 PAS 耐药, 但由于 *thyA* 基因与 *thyX* 基因具有相同功能并可以互补, 因此单纯敲除 *thyA* 基因并不影响体内结核分枝杆菌生长<sup>[26]</sup>。

**2.2 *folC* 基因** *folC* 基因全长 1 464 bp, 编码参与叶酸途径的 DHFS 并将叶酸转化为聚谷氨酸衍生物。DHFS 的主要作用是催化 7, 8-二氢蝶呤到二氢叶酸的谷氨酰胺化, 后经二氢叶酸还原酶进一步处理形成 THF, 而 THF 是甲酰甲硫氨酰-tRNA 生物合成所必需的, 也是启动原核生物蛋白质合成的关键成分<sup>[31]</sup>。*folC* 基因突变可导致 DHFS 活性降低并使 PAS 无法被活化, 从而导致 PAS 耐药; 通过对结核分枝杆菌 *folC* 基因进行测序发现, 结核分枝杆菌 *folC* 基因突变频率约为 8%, 通过回补实验证实 *folC* 基因突变与 PAS 耐药有关。点突变是 *folC*

基因突变的主要类型, 而突变位点多种多样<sup>[19, 22, 31-34]</sup>, 已知突变位点见表 1。

**2.3 *ribD* 基因** *ribD* 基因又称 *ribG* 基因, 全长 777 bp, 主要催化双功能酶核黄素生物合成的第二、第三反应途径, 即 2, 5-二氨基-6-核糖氨基-4(3H)-嘧啶酮 5'-磷酸 (DAROPP) 转化为 5-氨基-6-(1H, 3H)-嘧啶二酮 5'-磷酸酯 (ARIPP)。*ribD* 基因能够催化二氢叶酸还原为 THF, 因此 *ribD* 基因过表达可结合二氢蝶啶类似物并使其减少, 继而导致 PAS 耐药<sup>[35]</sup>。通常情况下, *ribD* 基因表达水平较低, 因此不能完全取代 *dfrA* 的功能, 而 *ribD* 基因过表达可替代二氢叶酸还原酶, 进而导致 PAS 耐药<sup>[36]</sup>。

**2.4 *papA1* 基因** *papA1* 基因全长 1 546 bp, 是聚酮合酶相关基因之一, 存在于编码结核分枝杆菌的同一基因组内, 参与合成和运输聚酮合酶相关蛋白 A1, 是结核分枝杆菌生长及其毒力的必需成分, 也是结核分枝杆菌 SL-1 生物合成所必需的<sup>[37-38]</sup>。*papA1* 基因测序结果仅发现 1 个无义突变, 为 *papA1* 基因 339 位 C → T 点突变 (见表 1), 因此推测 *papA1* 基因可能作为酰基转移酶基因而参与 PAS 耐药, 但由于实验样本较少而暂不能明确 *papA1* 基因突变是否与 PAS 耐药相关<sup>[39]</sup>。有研究通过对结核分枝杆菌 H37Rv *papA1* 基因进行扩增、定点突变、突变修补等证实敲除噬菌体 *papA1* 基因可导致无效突变且未找到中间突变体, 提示 *papA1* 基因是结核分枝杆菌生物合成所必需的基因之一<sup>[33]</sup>。

### 3 小结与展望

综上所述, 目前已知的 PAS 耐药相关基因包括 *thyA* 基因、*folC* 基因、*ribD* 基因、*papA1* 基因 4 种, 其中 *thyA* 基因通过与 PABA 竞争 DHFS 而干扰叶酸代谢, 导致 PAS 耐药; *folC* 基因参与形成二氢叶酸类似物, *folC* 基因突变通过影响二氢叶酸酯结合及羟基二异戊酸而导致 H2PtePAS 谷氨酰胺效率降低, 继而导致 PAS 耐药; *ribD* 基因过表达可影响叶酸代谢, 进而导致 PAS 耐药<sup>[30]</sup>; *papA1* 基因突变是否与 PAS 耐药直接相关还需进一步研究证实。

目前研究表明, PAS 作用机制及耐药机制除与叶酸代谢途径、酰基转移酶途径有关外, 还可能存在其他未知途径, 仍需不断深入研究及探索; 基因突变是结核分枝杆菌对 PAS 耐药的主要分子作用机制, 其中 *thyA*、*folC* 基因突变导致 PAS 耐药已经证实并已寻找到多个突变位点, 但具体耐药机制仍需进一步研究, 而虽有研究表明 *ribD*、*papA1* 基因突变与 PAS 耐药有关, 但尚未找到确切突变位点, 仍需进一步研究证实。积极寻找新的抗结核药物或探寻现有抗结核药物的耐药机制并进行相应干预有利于减少结核分枝杆菌耐药的发生, 也是有效防控结核病、快速诊断及治疗耐药结核病的重要研究方向, 而关于 PAS 耐药基因及耐药机制的深入研究将有利于保证 PAS 在 MDR-TB/XDR-TB 的治疗中发挥应有作用<sup>[39]</sup>。

### 参考文献

- [1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018 [R]. Geneva: WHO, 2018.
- [2] 马爱静, 段新福, 侯萍, 等. 2014—2015 年中国西南地区结核分枝杆菌临床分离株耐药情况 [J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(4): 384-391. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2018.04.008.

表 1 已知的 PAS 耐药相关基因突变位点及药敏试验结果

Table 1 Known drug resistance related gene mutation sites to PAS and drug sensitivity test results

基因突变位点 (碱基)	氨基酸改变	耐药菌株突变频率 ( $n/N$ )	敏感菌株突变频率 ( $n/N$ )	耐药菌株 MIC 值	敏感菌株 MIC 值	参考文献
thyA 基因						
G5T	谷氨酸 - 终止	1/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
G15C	甘氨酸 - 精氨酸	1/55	0/22	8~32 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G38C	半胱氨酸 - 丝氨酸	1/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
T52C	丝氨酸 - 脯氨酸	1/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
G83A	色氨酸 - 终止	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G91A	甘氨酸 - 精氨酸	3/55	0/22	NA	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G91A	甘氨酸 - 精氨酸	1/55	0/22	NA	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
A97G	谷氨酰胺 - 精氨酸	2/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
C111T	谷氨酰胺 - 终止	2/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
A117G	天冬氨酸 - 甘氨酸	5/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
T118A	亮氨酸 - 终止	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G127T	精氨酸 - 亮氨酸	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T143C	亮氨酸 - 脯氨酸	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T146C	半胱氨酸 - 精氨酸	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T152G	苯丙氨酸 - 缬氨酸	1/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
C153A	酪氨酸 - 终止	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
C164A	酪氨酸 - 终止	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T172C	亮氨酸 - 脯氨酸	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G182C	丙氨酸 - 脯氨酸	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T183G	亮氨酸 - 缬氨酸	1/55	0/22	<64 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G188A	甲硫氨酸 - 异亮氨酸	NA	1/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
A191G	谷氨酰胺 - 精氨酸	1/55	0/22	<64 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T202A	苏氨酸 - 丙氨酸	22/55	0/22	<128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
A202G	苏氨酸 - 丙氨酸	32/50	5/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
A207G	组氨酸 - 精氨酸	2/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
G212A	色氨酸 - 终止	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
C223A	组氨酸 - 天冬酰胺	6/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
T230G	亮氨酸 - 精氨酸	1/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>
C251G	酪氨酸 - 终止	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
G259C	丙氨酸 - 脯氨酸	1/55	0/22	<64 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
T261G	缬氨酸 - 甘氨酸	1/55	0/22	>128 $\mu$ g/ml	NA	MATHYS 等 <sup>[24]</sup>
C262T	丙氨酸 - 缬氨酸	1/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5~1.0 mg/ml	LEUNG 等 <sup>[25]</sup>

(续表1)

基因突变位点(碱基)	氨基酸改变	耐药菌株突变频率( $n/N$ )	敏感菌株突变频率( $n/N$ )	耐药菌株MIC值	敏感菌株MIC值	参考文献
G263A	缬氨酸-异亮氨酸	1/55	0/22	NA	NA	MATHYS等 <sup>[24]</sup>
G265T	甘氨酸-半胱氨酸	2/50	0/6	0.125 mg/ml	0.5-1.0 mg/ml	LEUNG等 <sup>[25]</sup>
C327T	异亮氨酸-异亮氨酸	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
332 插入 A	谷氨酰胺-精氨酸	3/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
C339G	丝氨酸-精氨酸	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
355 缺失 C	亮氨酸-缬氨酸	4/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
C439T	组氨酸-酪氨酸	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
T454G	苯丙氨酸-缬氨酸	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
T490G	酪氨酸-天冬氨酸	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
550 插入 C	亮氨酸-脯氨酸	1/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
C615G	天冬氨酸-谷氨酰胺	2/22	0/20	NA	NA	张宗德等 <sup>[23]</sup>
folC 基因						
A40G	谷氨酸-甘氨酸	2/8	0/87	>0.125 $\mu$ g/ml	<0.125 $\mu$ g/ml	赵斐 <sup>[31]</sup>
T43C	异亮氨酸-酪氨酸	2/8	0/87	>0.125 $\mu$ g/ml	<0.125 $\mu$ g/ml	赵斐 <sup>[31]</sup>
A43G	异亮氨酸-丙氨酸	1/8	0/87	>0.125 $\mu$ g/ml	<0.125 $\mu$ g/ml	赵斐 <sup>[31]</sup>
G111A	甘氨酸-丝氨酸	1/8	0/87	>0.125 $\mu$ g/ml	<0.125 $\mu$ g/ml	赵斐 <sup>[31]</sup>
A112C	天冬氨酸-丙氨酸	1/8	0/87	>0.125 $\mu$ g/ml	<0.125 $\mu$ g/ml	赵斐 <sup>[31]</sup>
C410T	精氨酸-色氨酸	1/8	0/87	>0.125 $\mu$ g/ml	<0.125 $\mu$ g/ml	赵斐 <sup>[31]</sup>
papA1 基因						
C339T	NA	无义突变	NA	NA	NA	郑晓静等 <sup>[39]</sup>

注:  $n/N$ = 基因突变菌株/检测菌株, MIC=最低抑菌浓度, NA表示未提及或无相关数据

- [3] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.
- [4] LEHMANN J. Para-aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis [J]. Lancet, 1946, 1(6384): 15.
- [5] 黄庆红, 黄麦玲, 王淑琦, 等. 265例结核性胸膜炎患者耐药情况分析[J]. 中国防痨杂志, 2017, 39(11): 1179-1184. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2017.11.006.
- [6] AN J, BAI X, GAO M, et al. Antituberculosis drug prescribing for inpatients in a national tuberculosis hospital in China, 2011-2015 [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2018, 14: 17-22. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.02.008.
- [7] LI K, WANG X D, YANG S S, et al. Anti-folates potentiate bactericidal effects of other antimicrobial agents [J]. J Antibiot (Tokyo), 2017, 70(3): 285-291. DOI: 10.1038/ja.2016.159.
- [8] SHAH S S, GOREGAONKAR A A, GOREGAONKAR A B. Extensively Drug-resistant Tuberculosis of the Lumbar Spine in a Six-year-old Child: A Case Report [J]. J Orthop Case Rep, 2017, 7(2): 40-43. DOI: 10.13107/jocr.2250-0685.742.
- [9] KIBLÉUR Y, VEZIRIS N. French Nationwide Cohort Temporary Utilization Authorization Survey of GranuPAS® in MDR-TB Patients [J]. Chemotherapy, 2014, 60(3): 174-179. DOI: 10.1159/000371869.
- [10] ZHAO W, ZHENG M, WANG B, et al. Interactions of linezolid and second-line anti-tuberculosis agents against multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in vitro and in vivo [J]. Int J Infect Dis, 2016, 52: 23-28. DOI: 10.1016/j.ijid.2016.08.027.
- [11] WANG X, YANG S, JING G, et al. Mycobacterium tuberculosis Arylamine N-Acetyltransferase Acetylates and Thus Inactivates para-Aminosalicylic Acid [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(12): 7505.
- [12] SY S K, DE KOCK L, DIACON A H, et al. N-acetyltransferase genotypes and the pharmacokinetics and tolerability of para-aminosalicylic acid in patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(7): 4129-4138. DOI: 10.1128/AAC.04049-14.
- [13] DONALD P R, DIACON A H. Para-aminosalicylic acid: the return

- of an old friend [J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15 (9): 1091–1099. DOI: 10.1016/S1473-3099 (15) 00263-7.
- [14] KUO C Y, WANG W H, HUANG C H, et al. Resistance to first- and second-line antituberculosis drugs in Southern Taiwan: Implications for empirical treatment [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2018, 51 (1): 88–93. DOI: 10.1016/j.jmii.2017.05.008.
- [15] RAMACHANDRAN G, SWAMINATHAN S. Safety and tolerability profile of second-line anti-tuberculosis medications [J]. *Drug Saf*, 2015, 38 (3): 253–269. DOI: 10.1007/s40264-015-0267-y.
- [16] ABDU-ALLAH H H, YOUSSEF B G, ABDELRAHMAN M H, et al. Synthesis and anti-mycobacterial activity of 4-(4-phenyl-1H-1, 2, 3-triazol-1-yl) salicylhydrazones: revitalizing an old drug [J]. *Arch Pharm Res*, 2017, 40 (2): 168–179. DOI: 10.1007/s12272-016-0882-x.
- [17] 刘文, 张金坤, 范莉, 等. 对氨基水杨酸衍生物的合成及其抗结核活性的研究进展 [J]. *华西药学杂志*, 2016, 31 (6): 663–667.
- [18] 任红, 胡凤玲. 观察联合应用利福喷丁、对氨基水杨酸异烟肼在难治性肺结核治疗中的临床效果 [J]. *中国保健营养*, 2018, 28 (18): 214.
- [19] 王晓存, 聂理会, 初乃惠. 对氨基水杨酸在结核病治疗中的作用 [J]. *北京医学*, 2012, 34 (9): 843–845.
- [20] CHAKRABORTY S, GRUBER T, BARRY C E 3rd, et al. Para-aminosalicylic acid acts as an alternative substrate of folate metabolism in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Science*, 2013, 339 (6115): 88–91. DOI: 10.1126/science.1228980.
- [21] RENGARAJAN J, SASSETTI C M, NARODITSKAYA V, et al. The folate pathway is a target for resistance to the drug para-aminosalicylic acid (PAS) in mycobacteria [J]. *Mol Microbiol*, 2004, 53 (1): 275–282.
- [22] HEYM B, PHILIPP W, COLE S T. Mechanisms of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1996, 215: 49–69.
- [23] 张宗德, 赵雁林, 李自慧, 等. 对氨基水杨酸 (PAS) 耐药与结核分枝杆菌 *thyA* 基因突变的研究 [J]. *结核病与胸部肿瘤*, 2008 (1): 6–9.
- [24] MATHYS V, WINTJENS R, LEFEVRE P, et al. Molecular Genetics of para-Aminosalicylic Acid Resistance in Clinical Isolates and Spontaneous Mutants of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53 (5): 2100–2109. DOI: 10.1128/AAC.01197-08.
- [25] LEUNG K L, YIP C W, YEUNG Y L, et al. Usefulness of resistant gene markers for predicting treatment outcome on second-line anti-tuberculosis drugs [J]. *J Appl Microbiol*, 2010, 109 (6): 2087–2094. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04840.x.
- [26] FIVIANHUGHES A S, HOUGHTON J, DAVIS E O. *Mycobacterium tuberculosis* thymidylate synthase gene *thyX* is essential and potentially bifunctional, while *thyA* deletion confers resistance to p-aminosalicylic acid [J]. *Microbiology*, 2012, 158 (Pt 2): 308–318. DOI: 10.1099/mic.0.053983-0.
- [27] 韦珍, 赵亚楠, 武晓琳, 等. 结核分枝杆菌临床分离株耐药性与耐药基因突变关系的研究 [J]. *临床肺科杂志*, 2015, 20 (7): 1209–1212. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2015.07.015.
- [28] FEUERRIEGEL S, KÖSER C, TRÜBE L, et al. *Thr202Ala* in *thyA* is a marker for the Latin American Mediterranean lineage of the *Mycobacterium tuberculosis* complex rather than para-aminosalicylic acid resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 2010, 54 (11): 4794–4798. DOI: 10.1128/AAC.00738-10.
- [29] 孙勇, 洪峰, 许绍发, 等. 结核分枝杆菌 *thyA* 基因突变与对氨基水杨酸钠耐药关系的研究 [J]. *中国防痨杂志*, 2012, 34 (6): 350–353.
- [30] ZHANG X, ZHAO B, LIU L, et al. Subpopulation analysis of heteroresistance to fluoroquinolone in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Beijing, China [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50 (4): 1471–1474. DOI: 10.1128/JCM.05793-11.
- [31] 赵斐. 结核分枝杆菌对氨基水杨酸耐药性新机理研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014. DOI: 10.7666/d.Y2565972.
- [32] ZHAO F, WANG X D, ERBER L N, 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. DOI: 10.1128/AAC.01775-13.
- [33] BHATT K, GURCHA S S, BHATT A, et al. Two polyketide-synthase-associated acyltransferases are required for sulfolipid biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Microbiology*, 2007, 153 (Pt 2): 513–520.
- [34] CHENG V W, LEUNG K S, KWOK J S, et al. Phylogenetic and Structural Significance of Dihydrofolate Synthase (*folC*) Mutations in Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Microb Drug Resist*, 2016, 22 (7): 545–551.
- [35] CHENG Y S, SACCHETTINI J C. Structural Insights into *Mycobacterium tuberculosis* Rv2671 Protein as a Dihydrofolate Reductase Functional Analogue Contributing to para-Aminosalicylic Acid Resistance [J]. *Biochemistry*, 2016, 55 (7): 1107–1119. DOI: 10.1021/acs.biochem.5b00993.
- [36] ZHENG J, RUBIN E J, BIFANI P, et al. para-Aminosalicylic acid is a prodrug targeting dihydrofolate reductase in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (32): 23447–23456. DOI: 10.1074/jbc.M113.475798.
- [37] TAHIR R A, SEHGAL S A, IJAZ A. In silico Comparative Modeling of *papA1* and *papA2* Proteins Involved in *Mycobacterium Tuberculosis* Sulfolipid-1 Biosynthesis Pathway [J]. *International Journal Bioautomation*, 2012, 16 (3): 155–164.
- [38] KUMAR P, SCHELLE M W, JAIN M, et al. *PapA1* and *papA2* are acyltransferases essential for the biosynthesis of the *Mycobacterium tuberculosis* virulence factor Sulfolipid-1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104 (27): 11221–11226.
- [39] 郑晓静, 杜博平, 贾红彦, 等. 结核分枝杆菌对氨基水杨酸耐药相关基因的筛选及鉴定 [J]. *北京医学*, 2012, 34 (9): 783–786.

(收稿日期: 2018-10-13; 修回日期: 2018-11-17)

(本文编辑: 鹿飞飞)