

• 结核病耐药专题研究 •

## 结核分枝杆菌耐氯法齐明相关基因研究进展

刘柏杉, 贺仁忠

**【摘要】** 目前, 全球范围内结核病防控形势仍十分严峻, 且耐药结核病所占比例较高, 因此不断有新型抗结核病药物被研发出来并应用于临床。氯法齐明是目前世界卫生组织 (WHO) 推荐的二线核心抗结核药物之一, 主要用于治疗耐多药结核病 (MDR-TB) 且疗效肯定, 但近年来结核分枝杆菌对氯法齐明耐药现象增多。本文综述了结核分枝杆菌耐氯法齐明相关基因, 旨在为结核分枝杆菌对氯法齐明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; 氯法齐明; 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.1008-5971.2018.11.005

刘柏杉, 贺仁忠. 结核分枝杆菌耐氯法齐明相关基因研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2018, 26 (11): 21-24. [www.syxnf.net]

LIU B S, HE R Z. Progress on drug resistance related genes of Mycobacterium tuberculosis to clofazimine [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2018, 26 (11): 21-24.

**Progress on Drug Resistance Related Genes of Mycobacterium Tuberculosis to Clofazimine** LIU Bai-shan, HE Ren-zhong

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

Corresponding author: HE Ren-zhong, E-mail: renzhonghe914@163.com

**【Abstract】** Tuberculosis prevention and control situation is still serious all of the world at present, and proportion of drug resistant tuberculosis is relatively high, thus new anti-tuberculosis drugs are being continually developed and applied on clinic. Clofazimine is one of second-line core anti-tuberculosis drugs in treating MDR-TB recommended by WHO, but drug resistance to clofazimine gradually increased in recent years. This paper reviewed the drug resistance related genes of Mycobacterium tuberculosis to clofazimine, in order to provide a reference for the research on resistance mechanism to clofazimine.

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

世界卫生组织 (WHO) 发布的最新全球结核病报告显示, 2017 年全球范围内新发结核病患者数量约为 1 000 万, 其中因结核病死亡患者数量约为 160 万, 估计新发耐利福平结核病 (RR-TB) 患者数量约为 55.8 万, 新发耐多药结核病 (MDR-TB) 患者数量约为 45.756 万; 近一半新发耐药结核病患者集中于印度 (占 24%)、中国 (占 13%)、俄罗斯 (占 10%)。近年来, 随着一线抗结核药物耐药率逐渐升高, 二线抗结核药物及新研发的抗结核药物逐渐应用于临床; 目前, 共有 17 种抗结核药物处于 I ~ III 期临床试验阶段, 其中 8 种抗结核药物为新化合物<sup>[1]</sup>。

氯法齐明最初主要用于治疗麻风病, 目前, 含氯法齐明抗结核化疗方案治疗 MDR-TB 处于 III 期临床试验阶段<sup>[1]</sup>, 但已有多项研究证实, 多种含氯法齐明二线抗结核治疗方案可

能作为治疗 MDR-TB 的标准化组合, 并可缩短药物敏感结核病及 MDR-TB 疗程, 改善患者预后<sup>[2-6]</sup>。2010 年, VAN 等<sup>[7]</sup>进行的一项研究结果显示, 加替沙星、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、氯法齐明联用并于 4 个月强化期或痰涂片转阴后加用卡那霉素、丙硫异烟胺、异烟肼 (总疗程 9 个月) 可将 MDR-TB 治疗失败率降低至 1%, 将复发率控制在 12% 左右。据统计, 1993—2011 年全球范围内采用含氯法齐明抗结核化疗方案治疗 MDR-TB 的治愈率及有效率 >75%<sup>[8]</sup>。氯法齐明常见毒副作用以皮肤变黑、胃肠道反应为主, 严重毒副作用很少见, QT 间期延长亦较为罕见<sup>[9-10]</sup>。氯法齐明是目前 WHO 推荐的二线核心抗结核药物之一, 主要用于治疗 RR-TB、MDR-TB 等, 但近年来结核分枝杆菌对氯法齐明耐药现象增多。本文综述了结核分枝杆菌耐氯法齐明相关基因, 旨在为结核分枝杆菌对氯法齐明的耐药机制研究提供参考。

### 1 作用机制

目前, 氯法齐明的具体作用机制尚不完全清楚, 多数研究认为其作用机制主要包括以下 3 个方面: (1) 烟酰胺腺嘌呤

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: 贺仁忠, E-mail: renzhonghe914@163.com

呤二核苷酸 (NADH) 贡献电子是结核分枝杆菌呼吸链的初始事件, 氯法齐明通过与重组 II 型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶 (NDH-2) 底物甲基萘醌竞争 NADH 贡献的电子而产生还原型氯法齐明, 随后被分子氧化并形成超氧化物、过氧化氢 ( $H_2O_2$ ), 最终通过释放活性氧而产生抗结核分枝杆菌作用<sup>[3, 11-13]</sup>; (2) 氯法齐明通过溶血磷脂介导的膜功能障碍而几乎完全地抑制  $K^+$  的吸收, 并可能通过干扰革兰阳性菌、结核分枝杆菌膜电位而导致其三磷酸腺苷 (ATP) 含量降低, 因此氯法齐明介导的磷脂酶增强作用可导致抗增殖溶血磷脂分泌增多, 进而造成  $K^+$  转运蛋白功能障碍并发挥抗结核分枝杆菌作用<sup>[3, 12, 14]</sup>。(3) 氯法齐明能逆转结核分枝杆菌衍生因子对吞噬细胞细胞内杀伤机制的抑制作用, 有助于增强吞噬细胞对结核分枝杆菌的吞噬作用, 且氯法齐明的  $t_{1/2}$  较长、药代动力学较好<sup>[10]</sup>。

## 2 耐药基因

目前已知的结核分枝杆菌对氯法齐明耐药相关基因包括 3 种, 分别为 Rv0678、Rv2535c、Rv1979c。

**2.1 Rv0678 基因** Rv0678 基因 ID 为 888235, 全长 498 bp, 编码产物为调控蛋白。Rv0678 属 MarR 调控基因之一, 广泛存在于细菌中, 具有多种生物学效应, 如对抗菌药物的耐药性、对氧化应激的敏感性及毒力因子的调控等<sup>[15]</sup>。Rv0678 突变是结核分枝杆菌对氯法齐明耐药的重要机制。2015 年, ZHANG 等<sup>[16]</sup>通过对 96 株耐氯法齐明结核分枝杆菌进行全基因组测序、Sanger 测序发现, 97% (93/96) 的耐氯法齐明结核分枝杆菌突变体存在 Rv0678 突变, 其中 70% (65/93) 的耐氯法齐明 Rv0678 突变结核分枝杆菌 Rv0678 功能失活; 该研究同时发现两个突变热点, 分别为 G193 和 C466T, 其中 G193 突变频率为 43.8% (42/96), 主要为删除/插入突变, 而 C466T 突变频率为 11.5% (11/96); 此外, 该研究还发现 C364 插入、A202G [ 丝氨酸 (Ser) 68 甘氨酸 (Gly) ] 突变频率均为 5.2% (5/96), 其余 34 个基因突变散布、无明显重叠。2017 年, ISLAM 等<sup>[3]</sup>研究证实, Rv0678 突变以 G193 和 C466T 突变最为常见 (见表 1)。

2017 年, PANG 等<sup>[17]</sup>以氯法齐明对结核分枝杆菌最低抑菌浓度 (MIC)  $>1 \mu\text{g/ml}$  为耐氯法齐明结核分枝杆菌判定标准, 结果发现结核分枝杆菌对氯法齐明耐药率为 5.6% (5/90), 其中 3 株耐氯法齐明结核分枝杆菌由于 53 位密码子突变、1 株耐氯法齐明结核分枝杆菌由于 157 位密码子突变而导致氨基酸替换, 另 1 株耐氯法齐明结核分枝杆菌未发现基因突变; 该研究同时发现, 贝达喹啉对这 5 株耐氯法齐明结核分枝杆菌的 MIC 均升高  $\geq 4$  倍, 以贝达喹啉对结核分枝杆菌 MIC  $>0.25 \mu\text{g/ml}$  为耐贝达喹啉结核分枝杆菌判定标准, 则其中 4 株对贝达喹啉耐药。此外, 该研究还发现两株结核分枝杆菌 Rv0678 基因 53 位密码子突变导致 Ser53 脯氨酸 (Pro), 氯法齐明对其 MIC 为 2~4  $\mu\text{g/ml}$ , 贝达喹啉对其 MIC 为 0.50  $\mu\text{g/ml}$ ; 1 株结核分枝杆菌 Rv0678 基因 53 位密码子突变导致 Ser53 亮氨酸 (Leu), 氯法齐明对其 MIC 为 2  $\mu\text{g/ml}$ , 贝达喹啉对其 MIC 为 0.25  $\mu\text{g/ml}$ ; 1 株结核分枝杆菌 Rv0678 基因 157 位密码子突变导致酪氨酸 (Tyr) 157 天冬氨

酸 (Asp), 氯法齐明对其 MIC 为 2  $\mu\text{g/ml}$  (见表 1)。

综上所述, Rv0678 常见突变类型以 G193 删除/插入、C466T [ 精氨酸 (Arg) 156 终止密码子 ]、A202G (Ser68Gly)、Ser53Pro、Ser53Leu 为主, 结核分枝杆菌对氯法齐明耐药率为 5.6%, 同时 Rv0678 突变可导致贝达喹啉与氯法齐明交叉耐药。**2.2 Rv2535c 基因 (PepQ 基因)** Rv2535c 基因 ID 为 888409, 全长 1 119 bp, 编码产物可能是细胞质肽酶。Rv2535c 编码具有两个结构域蛋白, 即 a100-aa N- 末端  $\alpha/\beta$  结构域和 250 kDa C- 末端肽酶结构域, 推测 Rv2535c 编码 Pro 特异性氨肽酶并可能优先水解氨基酸中位于较大的寡肽末端的 Xaa-Pro 键。2016 年, ALMEIDA 等<sup>[18]</sup>研究发现 3 株耐氯法齐明结核分枝杆菌均存在 Rv2535c 突变, 分别为 14 位密码子 [ 丙氨酸 (Ala) ] 中插入 C 碱基导致移码突变、催化结构域中 271 位密码子 (Arg) 中 C 碱基删除导致移码突变、N- 末端结构域中非同义单核苷酸突变 (Leu44Pro), 且贝达喹啉、氯法齐明对这 3 株耐氯法齐明结核分枝杆菌的 MIC 升高 4~8 倍, 分别为 0.12~0.25  $\mu\text{g/ml}$ 、0.5~1.0  $\mu\text{g/ml}$  (见表 1), 证实 Rv2535c 突变与结核分枝杆菌对氯法齐明、贝达喹啉耐药有关; 该研究还指出, 广泛耐药结核分离株 (X16 和 X23; 北京株系) Rv2535c 存在 Ser66Pro。2015 年, ZHANG 等<sup>[16]</sup>研究发现, 对氯法齐明耐药结核分枝杆菌突变体 CT1-5 中存在 G265T 突变, 并于 Rv2535c 基因 E89 形成终止密码子 (见表 1)。

综上所述, 目前研究发现的结核分枝杆菌 Rv2535c 突变较少, 但可以明确的是 Rv2535c 突变与氯法齐明耐药有关, 且 Rv2535c 突变可导致结核分枝杆菌对氯法齐明与贝达喹啉交叉耐药。

**2.3 Rv1979c 基因** Rv1979c 基因 ID 为 885819, 全长 1 446 bp, 编码产物可能为通透酶。研究发现, 对氯法齐明耐药的结核分枝杆菌突变体 CT3-5 存在 T1052C 突变并导致 Rv1979c 缬氨酸 (Val) 351Ala, 对氯法齐明耐药的结核分枝杆菌突变体存在 Rv0678 G193 插入、G193 删除同时出现 Rv1979c T1052C (Val351Ala) 并可能会导致结核分枝杆菌对氯法齐明的耐药性升高 (MIC  $>1 \mu\text{g/ml}$ )<sup>[3, 10, 16-17]</sup> (见表 1)。目前, 关于 Rv1979c 突变的研究报道较少, 虽可通过有限的研究资料发现 Rv1979c 突变与结核分枝杆菌对氯法齐明耐药有关, 但其具体机制尚不完全清楚, 可能与该基因编码参与氨基酸转运的通透酶而直接或间接影响氯法齐明的转运或摄取有关<sup>[16]</sup>。

## 3 耐药机制

**3.1 Rv0678 基因** 目前研究认为, Rv0678 基因突变与药物外排是结核分枝杆菌对氯法齐明耐药的主要机制, 其中 MMPS5-MMPL5 转运体是具有重要作用的外排泵。MMPS5 与跨膜 MMPL5 组合形成的通道及 MMPS5-MMPL5 外排泵复合体属耐药结缔化细胞分化家族 (RND), 小结核分枝杆菌膜蛋白 (MMPS) 常作为辅助性蛋白协同质子依赖型多药耐药泵 (MMPL) 转运蛋白及相关毒力因子。研究表明, MMPS5-MMPL5 转运体的表达主要受 MARR 调节剂 Rv0678 调控, 其开放阅读框位于 MPS5-MMPL5 操纵子下游<sup>[11, 15, 19]</sup>。Rv0678 编码 MMPS5-MMPL5 外排泵基因的转录阻遏物, 是 MMPS5、MMPL5 的负调控因子; 在基因组中, 共识框启动子蛋白回文

**表 1** 已知的氯法齐明耐药相关基因突变位点(类型)、氨基酸改变及 MIC**Table 1** Known drug resistance related gene mutation site (types) to cycloserine, changes of amino acids and the MIC

基因突变位点(类型)	氨基酸改变	突变频率 (n/N)	MIC ( $\mu$ g/ml)	参考文献
<b>Rv0678 基因</b>				
G193 (删除/插入)	NA	44/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C466T	Arg156 终止密码子	11/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C364 (插入)	NA	5/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
A202G	Ala68Gly	5/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G137A	Cys46Tyr	2/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
T2C	起始密码子突变	2/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C305T	Ala102Thr	2/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
T29 (插入)	NA	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G58T	Val20Phe	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C98A	Thr33Asn	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
T128G	Thr128Gly	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C107T	Ala36Val	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G125A	Trp42 终止密码子	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
A152G	51Arg	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C158T	Ser53Leu	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C176T	Ala59Val	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G188A	Ser63Asn	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G194A	Gly65Glu	2/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G197T	Gly66Val	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C226T	Arg89Leu	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
C251A	Ala84Glu	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G266T	Arg89Leu	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G269C	Arg90Pro	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
A292 (删除)	NA	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
G304A	Ala102Thr	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
T341C	Leu114Pro	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
T365C	Leu114Pro	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
371-378 (删除)	NA	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
444-445 (删除)	NA	1/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
A157G	Ser53Pro	2/5	2-4	PANG 等 <sup>[17]</sup>
C158T	Ser53Leu	1/5	2	PANG 等 <sup>[17]</sup>
A470C	Tyr157Asp	1/5	2	PANG 等 <sup>[17]</sup>
<b>Rv2535c 基因</b>				
14 位密码子 (Ala) (插入 C 碱基)	NA	1/3	0.5-1.0	ALMEIDA 等 <sup>[18]</sup>
271 位密码子 (Arg) (C 碱基删除)	NA	1/3	0.5-1.0	ALMEIDA 等 <sup>[18]</sup>
A131G	Leu44Pro	1/3	0.5-1.0	ALMEIDA 等 <sup>[18]</sup>
G265T	Glu89 终止密码子	1/96	NA	ZHANG 等 <sup>[16]</sup>
<b>Rv1979c 基因</b>				
T1052C	Val351Ala	3/96	>1	ZHANG 等 <sup>[16]</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; Arg= 精氨酸, Ala= 丙氨酸, Gly= 甘氨酸, Tyr= 酪氨酸, Cys= 半胱氨酸, Thr= 苏氨酸, Val= 缬氨酸, Phe= 苯丙氨酸, Asn= 天冬酰胺, Trp= 色氨酸, Ser= 丝氨酸, Leu= 亮氨酸, Glu= 谷氨酸, Pro= 脯氨酸, Asp= 天冬氨酸

区域与 Rv0678 编码的 MMPS5-MMPL5 外排泵基因转录阻遏物结合可阻止转录, Rv0678 突变导致 MMPS5-MMPL5 外排泵基因过表达及药物过度外排, 继而导致结核分枝杆菌对氯法齐明耐药。外排泵抑制剂如维拉帕米、利血平等可能使氯法齐明、贝达喹啉对结核分枝杆菌的 MIC 下降, 但当 MIC 较高时外排泵抑制剂敏感性降低, 反而对野生型结核分枝杆菌的抑制作用更强, 其原因可能与体内流出物水平与体外不同、不同作用的抗结核药物相互作用导致组合体内作用丧失等有关<sup>[11, 20-23]</sup>。

**3.2 Rv2535c 基因** Rv2535c 基因突变导致结核分枝杆菌对氯法齐明耐药的机制与 Rv0678 较为相似, 但确切机制尚未完全明确。2016 年, ALMEIDA 等<sup>[18]</sup> 研究表明, 细菌中延长因子 P (EF-P) 支持 Rv2535c 调节过程中以某种方式成熟和/或特定蛋白的更新并维持结核分枝杆菌的代谢状态敏感性, 而与 Rv0678 突变不同的是, Rv2535c 突变与 MMPL5 或 MMPS5 过表达无关, Rv2535c 突变介导的结核分枝杆菌对氯法齐明耐药可能与药物外流增加、MMPS5-MMPL5 转运体增加或其他外排调节机制(如防止 MMPL5 降解)等有关。

**3.3 氯法齐明与贝达喹啉交叉耐药** 值得关注的是, 多项研究提及氯法齐明与贝达喹啉具有相同的外排泵底物及耐药基因(如 Rv0678、Rv2535c), 因此氯法齐明与贝达喹啉存在交叉耐药性, 且贝达喹啉、氯法齐明不会减少彼此的耐药性<sup>[17-18, 20]</sup>。有研究表明, 基于外排泵的基因突变通常导致较低水平的耐药性, 一般基于外排泵的基因突变导致氯法齐明对结核分枝杆菌的 MIC 是敏感菌株的 2~16 倍, 而基于目标基因突变导致氯法齐明对结核分枝杆菌的 MIC 是敏感菌株的 16~1 000 倍, 因此 Rv0678、Rv2535c 突变所致结核分枝杆菌对氯法齐明或氯法齐明与贝达喹啉交叉耐药是低水平耐药<sup>[3, 18, 20]</sup>。

**3.4 Rv1979c 基因** Rv1979c 基因突变频率较低, 而 Rv1979c 突变导致结核分枝杆菌对氯法齐明耐药的具体机制尚不完全清楚, Rv1979c 可能编码参与氨基酸转运的通透酶, 因此 Rv1979c 突变可能通过直接或间接影响氯法齐明的转运或摄取而导致结核分枝杆菌对氯法齐明耐药<sup>[16]</sup>; 此外, Rv1979c 突变可与 Rv0678 突变同时存在并导致结核分枝杆菌对氯法齐明耐药风险升高。

#### 4 小结与展望

综上所述, 目前已知的结核分枝杆菌耐氯法齐明相关基因包括 Rv0678、Rv2535c、Rv1979c 3 种, 其中 Rv0678 突变频率较高, 是结核分枝杆菌对氯法齐明耐药的主要机制之一。氯法齐明作为 WHO 推荐的二线核心抗结核药物之一, 具有独特的作用机制且耐药率较低、毒副作用较轻, 治疗 MDR-TB 的前景广阔, 但其耐药性不容忽视、耐药机制仍有未明确之处, 仍需通过全基因组测序、大样本量研究等进一步探索新的耐药基因及确切耐药机制, 为有效防控耐药结核病提供参考。

#### 参考文献

- [1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018 [R]. Geneva: WHO, 2018.
- [2] WILLIAMS K, MINKOWSKI A, AMOABENG O, et al. Sterilizing

- activities of novel combinations lacking first- and second-line drugs in a murine model of tuberculosis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56 (6): 3114-3120. DOI: 10.1128/AAC.00384-12.
- [3] ISLAM M M, HAMEED H M A, 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.
- [4] MOTHIBA M T, ANDERSON R, FOURIE B, et al. Effects of clofazimine 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.
- [5] TYAGI S, AMMERMAN N C, LI S Y, et al. Clofazimine shortens the duration of the first-line treatment regimen for experimental chemotherapy of tuberculosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112 (3): 869-874. DOI: 10.1073/pnas.1416951112.
- [6] TASNEEN R, LI S Y, PELOQUIN C A, et al. Sterilizing activity of novel TMC207- and PA-824-containing regimens in a murine model of tuberculosis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55 (12): 5485-5492. DOI: 10.1128/AAC.05293-11.
- [7] VAN D A, MAUG A K, SALIM M A, et al. Short, highly effective, and inexpensive standardized treatment of multidrug-resistant tuberculosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182 (5): 684-692. DOI: 10.1164/rccm.201001-0077OC.
- [8] MOORE V J. A review of side-effects experienced by patients taking clofazimine [J]. *Lepr Rev*, 1983, 54 (4): 327-335.
- [9] SILVA D R, DALCOLMO M, TIBERI S, et al. New and repurposed drugs to treat multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis [J]. *J Bras Pneumol*, 2018, 44 (2): 153-160. DOI: 10.1590/s1806-37562017000000436.
- [10] GOPAL M, PADAYATCHI N, METCALFE J Z, 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.
- [11] HARTKOORN R C, UPLEKAR S, COLE S T. Cross-resistance between clofazimine and bedaquiline through upregulation of MmpL5 in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58 (5): 2979-2981. DOI: 10.1128/AAC.00037-14.
- [12] CHOLO M C, STEEL H C, FOURIE P B, et al. Clofazimine: current status and future prospects [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67 (2): 290-298. DOI: 10.1093/jac/dkr444.
- [13] YANO T, KASSOVSKA-BRATINOVA S, TEH J S, et al. Reduction of clofazimine by mycobacterial type 2 NADH: quinone oxidoreductase a pathway for the generation of bactericidal levels of reactive oxygen species [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (12): 10276-10287. DOI: 10.1074/jbc.M110.200501.
- [14] CHOLO M C, BOSHOFF H I, STEEL H C, et al. Effects of clofazimine on potassium uptake by a Trk-deletion mutant of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 57 (1): 79-84.
- [15] RADHAKRISHNAN A, KUMAR N, WRIGHT C C, et al. Crystal Structure of the Transcriptional Regulator Rv0678 of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (23): 16526-16540. DOI: 10.1074/jbc.M113.538959.
- [16] ZHANG S, CHEN J, CUI P, et al. Identification of novel mutations associated with clofazimine resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70 (9): 2507-2510. DOI: 10.1093/jac/dkv150.
- [17] PANG Y, ZONG Z, HUO F, et al. In vitro Drug Susceptibility of Bedaquiline, Delamanid, Linezolid, Clofazimine, Moxifloxacin, and Gatifloxacin against Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in Beijing, China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61 (10): pii: e00900-17. DOI: 10.1128/AAC.00900-17.
- [18] ALMEIDA D, IOERGER T, TYAGI S, et al. Mutations in pepQ Confer Low-Level Resistance to Bedaquiline and Clofazimine in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60 (8): 4590-4599. DOI: 10.1128/AAC.00753-16.
- [19] DOMENECH P, REED M B, BARRY C E 3rd. Contribution of the *Mycobacterium tuberculosis* MmpL protein family to virulence and drug resistance [J]. *Infect Immun*, 2005, 73 (6): 3492-3501.
- [20] ANDRIES K, VILLELLAS C, COECK N, et al. Acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to bedaquiline [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (7): e102135. DOI: 10.1371/journal.pone.0102135.
- [21] GUPTA S, COHEN K A, WINGLEE K, et al. Efflux inhibition with verapamil potentiates bedaquiline in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58 (1): 574-576. DOI: 10.1128/AAC.01462-13.
- [22] SOMOSKOVI A, BRUDERER V, HÖMKE R, et al. A mutation associated with clofazimine and bedaquiline cross-resistance in MDR-TB following bedaquiline treatment [J]. *Eur Respir J*, 2015, 45 (2): 554-557. DOI: 10.1183/09031936.00142914.
- [23] MILANO A, PASCA M R, PROVVEDI R, et al. Azole resistance in *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by the MmpS5-MmpL5 efflux system [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2009, 89 (1): 84-90. DOI: 10.1016/j.tube.2008.08.003.

(收稿日期: 2018-10-15; 修回日期: 2018-11-18)

(本文编辑: 鹿飞飞)