



纳米材料在结核病诊疗中的应用*

戴桂琴^{1,2)**} 何卓俊^{1,2)**} 刘德亮²⁾ 赵鹏飞^{2,4)***} 廖明凤²⁾ 宋丽军^{1)***}杨倩婷²⁾ 赵文昌^{1)***} 郑明彬^{1,2,3)***}⁽¹⁾ 广东医科大学药学院, 东莞 523808;⁽²⁾ 深圳市第三人民医院(南方科技大学第二附属医院), 国家感染性疾病临床医学研究中心, 肝病研究所, 深圳 518112;⁽³⁾ 中国科学院深圳先进技术研究院, 中国科学院健康信息学重点实验室, 广东省纳米医药重点实验室, 深圳 518055;⁽⁴⁾ 深圳大学物理与光电工程学院, 深圳 518060)

摘要 结核病是由结核分枝杆菌引起的慢性感染性疾病, 经过呼吸道感染后侵犯机体器官, 严重威胁全球公共卫生。传统结核诊疗手段存在诊断效率低、易误诊漏诊、易产生耐药、治疗效果和患者依从性差等瓶颈问题, 亟需开发快速、准确的结核即时诊断(POC)方法和安全、高效的结核治疗方案, 切实解决结核防治难题。本文总结了纳米材料在结核病诊疗领域的研究进展及应用前景, 旨在为开发新一代安全、快速、有效的结核病诊疗方法提供参考。

关键词 结核分枝杆菌, 诊断, 治疗, 疫苗, 纳米防控

中图分类号 Q5, R3, R9

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0392

结核病是由结核分枝杆菌(Mtb)感染引起、经呼吸道传播并可累及全身器官的慢性传染病, 常合并艾滋病(AIDS)、糖尿病等并发症, 严重威胁患者的生存与健康。据2021年世界卫生组织(WHO)全球结核病报告显示, 全球约有20亿人处于潜伏性结核感染(LTBI)状态, 免疫功能受损的潜伏感染者易于转变为具有传染性的活动性结核, 造成肺功能受损, 严重影响生活质量, 结核感染晚期出现的持续咳嗽和咯血等症状甚至危及生命(图1)。据统计, 全世界每年有990万例新发活动性结核确诊(发病率为127/10万人, 死亡率高达15%), 其中非洲、亚太区域结核新发病例最多, 占全球新发病例的43%^[1-3], 给结核高负担国家带来了巨大的经济负担和医疗困境。

结核早期诊断和有效治疗是结核病防控的核心手段。临床结核病诊断方式主要包括医学影像学检查、涂片镜检、分子诊断、痰液培养、免疫学诊断等, 但是这些诊断手段存在特异性差、敏感性低、培养周期长、实验室装备要求高等局限性^[4-5], 缺乏及时、灵敏的诊断手段会延误结核病的确诊并增加结核传播风险。因此, 开发快速、准确的结核诊

断新策略, 是遏制结核病蔓延和早期治疗疾病的首要任务。

另一方面, 临床采用大剂量多联药物治疗来治疗结核病, 这一治疗方法面临药物治疗方案复杂、疗程周期长、生物利用度低、毒副作用高等挑战, 并面临患者依从性差、合并人类免疫缺陷病毒(HIV)治疗复杂性增加等问题, 严重影响疾病治疗效果^[6-8]。结核分枝杆菌通过在肺部形成生物膜、潜伏于巨噬细胞内和促进机体肉芽肿形成等机制抵抗药物治疗^[9], 也为结核治疗带来巨大挑战。此外, 全球范围内仍然缺乏预防性治疗药物, 无法有

* 国家自然科学基金(62005176, 81973548), 深圳市科技计划(JCYJ20210324115611032), 东莞市社会科技发展重点项目(20185071521658), 广东医科大学学科建设项目(4SG21009G)和广东省普通高校重点领域专项(2022ZDZX2022)资助。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

赵鹏飞 Tel: 0755-61222333, E-mail: richarder2007@163.com

宋丽军 Tel: 0769-22896561, E-mail: songlijun6981@126.com

赵文昌 Tel: 0769-22896561, E-mail: zhaowenchang@163.com

郑明彬 Tel: 0769-22896561, E-mail: mb.zheng@siat.ac.cn

收稿日期: 2022-08-19, 接受日期: 2022-10-25

效、全面地预防结核分枝杆菌感染。1908年即被研制成功的卡介苗(BCG)在AIDS患者、免疫抑制儿童和成年人中的免疫保护效果有限(保护效力最高为80%)^[10],而且产生的毒副作用会导致受试者死亡^[11]。因此,开发安全有效的新型抗结核药物对于预防、治疗结核病和阻止结核病传播尤为重要。

纳米技术的快速发展为结核病的诊断、治疗和预防带来新机遇。纳米材料具有可控的粒径大小和表面化学特性,表现出优异的光电传感、导电性、磁性、催化、抗菌活性等独特性能^[12-13]。联合荧光

标记技术的纳米探针已广泛用于结核分枝杆菌的快速、灵敏、准确诊断^[14-16]。基于纳米载体和抗结核药物构建的纳米药物,可通过破坏结核细胞膜完整性、促进活性氧释放、促进巨噬细胞凋亡等方式清除结核分枝杆菌,或作为药物载体靶向递送抗生素药物至病灶部位和巨噬细胞内,实现对结核病(尤其是耐多药结核病)的精准诊疗^[7, 17-20]。本综述旨在总结纳米材料在结核分枝杆菌诊断、治疗和预防等领域的研究进展,展望纳米诊疗体系在结核病诊疗的应用前景,为寻求更好的结核诊疗工具,控制结核病全球大流行提供新思路 and 策略。

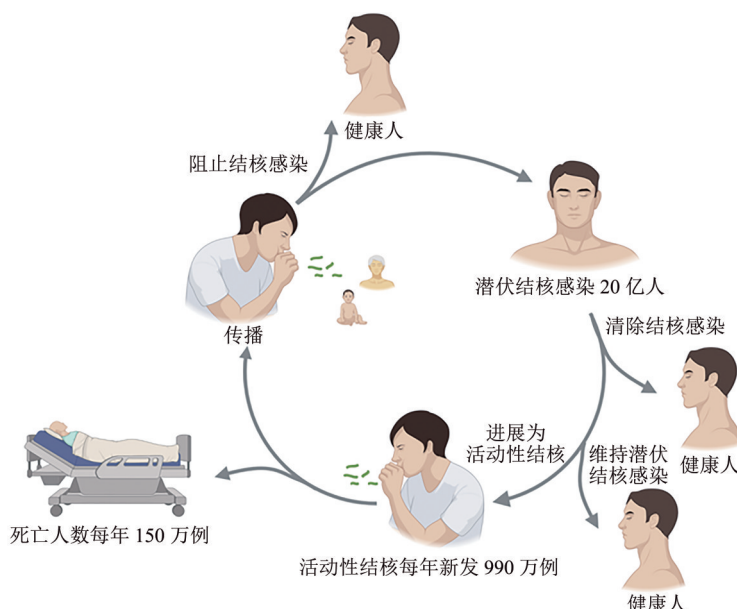


Fig. 1 The progression and harm of latent tuberculosis infection and active tuberculosis^[3]

图1 潜伏结核感染及活动性结核的进展与危害^[3]

1 结核病诊断面临的问题

目前临床结核病诊断方法可分为医学影像学诊断、细菌学诊断、免疫学诊断和分子诊断等。其中,胸部X线影像学检查适用于早期筛查结核感染,但其敏感性和特异性不高,无法与其他肺部感染性疾病区分开,需联合其他诊断方法^[21]。细菌学诊断主要依赖于抗酸涂片镜检和痰培养,该测试方法具有成本低廉、操作简单、特异性高等特点,但仅有约59%的肺结核患者能通过实验室病原学检测获得确诊^[3];抗酸涂片存在阳性率低、操作复杂、灵敏度差(20%~80%)以及检测限高(5 000~10 000个菌/ml)等局限性^[22];痰培养是临

床结核诊断的金标准,但诊断周期需耗时4~6周,且污染率高,无法满足临床快速诊断的需求^[23]。通过检测机体对结核免疫反应产生的标志物的免疫学诊断方法包括结核菌素(PPD)皮肤试验和 γ 干扰素(IFN- γ)释放试验(IGRA,如结核杆菌斑点试验T-SPOT),应用于结核大规模普查时可在72 h内得到检测结果,具有经济、操作简单的优点,但该法灵敏性差,且受疾病窗口期、机体免疫、实验操作的影响,容易出现假阴性反应^[24]。全自动医用核酸扩增(PCR)检测分析系统(GeneXpert®)是集痰标本处理、脱氧核糖核酸(DNA)提取、PCR和利福平(RIF)耐药基因检测于一体的分子诊断技术,只需2 h即可同时实现结核分枝杆菌定

性和利福平耐药检测,但由于价格昂贵、检测要求高, GeneXpert®技术在偏远和欠发达地区很难实施和推广^[25]。因此,临床结核诊断策略面临着诊断延误和漏诊误诊等难题,导致非必要或无效治疗,最终加速结核病传播,亟需开发新的快速诊断技术。

结核即时(POC)诊断技术是遏制结核病流行的关键策略。但是,POC诊断需要满足成本低、灵敏度高、特异性好、快速稳定、操作简便等特殊要求^[5]。同时,与POC诊断匹配的即时诊断设备必须具备体积小、操作简便、结果及时等优势,以满足临床治疗或家用监护的诊断需求,获取可信诊断结果^[26]。引入新技术、新设备用于临床样本检测,对于提高结核诊断的灵敏度和特异性具有重要的临床意义和社会价值。结核诊断面临的另一巨大挑战是如何对结核分枝杆菌的耐药性能进行评估。据报道,2020年全球大约新增13.2万例利福平耐药结核病例及2.6万例广泛耐药结核病例,大量的耐多药结核病例影响了结核病治疗预后,阻碍了疾病防控^[3]。一方面,检测结核耐药性能可以为耐药患者制定个体化治疗方案;另一方面,通过监测耐药结核病的流行情况,为耐药结核临床控制策略提供依据。因此,开发可大规模和快速筛查结核耐药基因的诊断工具与诊断技术,对于提高结核治疗效果、加强患者护理和减少结核病传播至关重要。

2 纳米探针在结核分枝杆菌诊断中的应用

基于纳米材料强吸附性、高催化率、强导电性、光稳定性等特性,纳米诊断技术有助于解决结核病延误、漏诊、误诊以及耐药检测技术匮乏等问题,为高效和精准的诊断提供了新机遇,有望广泛应用于结核分枝杆菌快速检测和抗结核药物敏感性检测。按照组成成分的不同,用于结核诊断的纳米材料可分为无机纳米探针(金、磁性、碳、量子点纳米探针等)和有机纳米探针(脂质体、聚合物纳米探针)两大类(表1)。

2.1 无机纳米探针

金纳米探针具有良好的生物相容性和光学特性,可通过调节自身形貌、尺寸与元素分布等精确控制其力学行为、表面吸附、催化活性和光学性能等,且在最适激发波长下材料表面可产生局域表面等离子体共振效应,用于比色测定^[27],是实现结核分枝杆菌灵敏和准确诊断的最佳替代方案之一。结核分枝杆菌相关抗原培养滤液蛋白10(CFP-10)

是结核优势标志物,偶联寡核苷酸的金纳米颗粒(GNP)基于抗原抗体特异性识别作用可快速捕获结核分枝杆菌CFP-10,通过实时免疫荧光定量聚合酶链式反应(RT-Im-PCR)技术,检测GNP中结合的CFP-10抗体水平,以此来反映结核分枝杆菌的增殖情况和病程进展,相比于传统的免疫PCR(Im-PCR)检测方法,基于GNP发展的RT-Im-PCR技术对肺结核患者的检测灵敏度从55%提高至84%,对肺外结核的检测灵敏度从26%提高到76%^[28]。利用金钯(Au@Pd)双金属纳米颗粒和纳米磁珠构建的酶联免疫吸附比色平台,其纳米磁珠可快速捕获血清样本中的结核相关抗原CFP-10,Au@Pd纳米酶则通过催化显色底物实现浓度依赖的信号指示和结核超敏诊断,对结核相关抗原CFP-10的检测限可达3.3 fmol/L,比标准酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒灵敏40倍,且在3 h内即可获取检测结果,大幅度减少诊断工作量,缩短检测时间^[29]。

磁性纳米探针(MNPs)一般是由铁、镍、钴等金属及其氧化物组成的磁性复合材料,比表面积大、催化效率高,可以作为过氧化氢酶,催化促进底物显色^[30],达到快速、准确诊断结核的目的。核酸适配体联合四氧化三铁磁纳米颗粒构建的比色生物传感系统,可以应用于检测结核分枝杆菌64蛋白(MPT64)。吸附在四氧化三铁磁纳米颗粒表面的核酸适配体,能够掩蔽磁纳米颗粒的过氧化氢酶活性,与样品中的MPT64结合后,适配体从纳米颗粒表面释放出来,恢复磁纳米颗粒的催化活性,通过检测酶底物的荧光光谱变化,70 min内实现对结核病的快速诊断^[31]。氧化铁-金纳米酶可利用磁富集和三明治夹心法特异性识别尿液中的结核特异性抗原CFP-10和抗原85复合体(Ag85),其自身的过氧化氢酶活性联合过氧化氢和显色底物进行酶促反应,可进一步放大荧光信号,对结核相关抗原CFP-10和Ag85的检测限分别为2.5和1.6 fmol/L,且结核诊断特异性高达96%(图2)^[32]。

碳纳米材料是分散相至少有一维尺度小于100 nm的碳材料,具有比表面积大、电导率良好和吸附能力强等优势^[33]。掺杂聚苯胺(PAN)的碳纳米管(CNTs)具有比表面积大、活性基团丰富和氧化还原活性高等特点,以人型结核分枝杆菌强毒株(H37Rv)的IS6110基因为靶标,通过分子杂交技术,可快速实时地对碳纳米管表面结合的

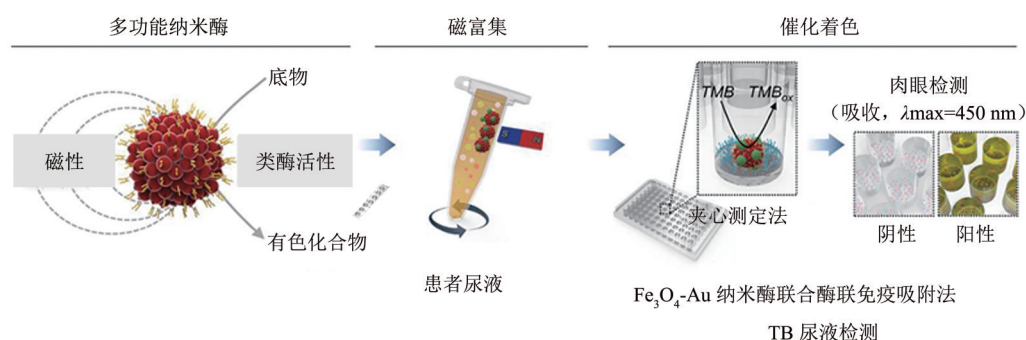


Fig. 2 Using the magnetic plasma nanoenzyme for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* antigen (CFP-10) in urine via magnetic enrichment and catalyzed amplification of fluorescent signals^[32]

图2 氧化铁-金磁性纳米酶基于磁富集和催化放大荧光信号检测尿液中的结核分枝杆菌相关抗原CFP-10及Ag85^[32]

H37Rv IS6110 基因产生的电信号变化产生响应, 从而实现临床痰液结核特异性抗原 H37Rv IS6110 的灵敏检测, 对 H37Rv IS6110 的检测限低至 0.33 fmol/L^[34]。二维碳纳米石墨炔 (GDY NSs) 具有丰富的碳化学键、共轭体系、半导体性能和化学稳定性^[35]。通过锂嵌入法制备的石墨炔纳米薄片 (GDY NSs) 作为实时多重 DNA 检测的荧光传感平台, 具有高效的荧光猝灭效应和极大的比表面积, 其搭载的 DNA 探针分子可强力吸附和互补目标单链 DNA 分子, 可用于结核分枝杆菌及其耐药突变株 DNA 的超灵敏检测, 对结核分枝杆菌的单链 DNA 检测限达到 2.5×10^4 fmol/L。其中, 石墨炔作为荧光猝灭剂可高效猝灭吸附在其表面单链 DNA 的荧光, 一旦其搭载的单链 DNA 与目标 DNA 互补杂交即可从石墨炔纳米薄片表面释放并恢复 DNA 探针荧光, 为开发敏感、准确的结核分子诊断技术提供了重要应用基础^[36]。

量子点 (QDs) 是由 II-VI 族, III-V 族或 IV 族元素构成的小尺寸 (1~10 nm)、零维半导体纳米晶, 通过控制量子点尺寸和金属掺杂比例, 可产生极强的光致发光现象, 具有光稳定性好、光谱范围窄、信噪比高等特点, 广泛应用于荧光成像、传感等领域^[37-38]。工程化重组抗体分别结合到硅涂层量子点和金纳米棒表面, 利用双抗体夹心法检测结核分枝杆菌特异性抗原 85B (Ag85B), 在 1 h 内即可快速检测到尿液中的 Ag85B, 检测限为 0.43 fmol/L^[39]。联合钴-卟啉纳米颗粒 (nanoCoTPyP) 和碲化镉双色量子点构建的 DNA 荧光传感平台, 可用于检测结核分枝杆菌的耐药基因 (利福平耐药基因 *rpoB531* 和异烟肼耐药基因 *katG315*), 由于 nanoCoTPyP 对单链 DNA 和双链 DNA (ds-DNA)

具有亲和力差异, 对于吸附在其表面的量子点-单链 DNA (QDs-ssDNA) 表现出良好的荧光猝灭效果, 附着在量子点上的单链 DNA 与结核耐药基因的单链 DNA 分子特异性互补杂交后, 量子点从 nanoCoTPyP 上脱落并恢复荧光, 通过观察量子点荧光信号的变化, 高灵敏检测结核耐药基因^[40]。

2.2 有机纳米探针

脂质体纳米探针是由两亲性脂质分子构成的双层脂质球形囊泡, 常作为小分子药物、蛋白质/多肽药物和基因的递送载体^[41], 在结核分枝杆菌诊断中应用前景广阔。经抗菌肽激活的靶响应脂质体可用于高灵敏的结核分枝杆菌诊断, 基于催化发夹自组装 (CHA) 策略, IFN- γ 配体序列特异性识别靶点 IFN- γ 后自组装成 DNA, 利用点击化学偶联能破坏脂质体膜上的抗菌肽 Temporin L, 从而释放脂质体内装载的荧光信号分子, 通过追踪响应的荧光信号, 从而灵敏地检测结核病相关细胞因子 IFN- γ , 检测限为 47 fmol/L^[42]。多克隆抗体 (IgG) 修饰的脂质体诊断试纸可利用免疫凝集反应, 特异性结合结核分枝杆菌抗原 CFP 后出现肉眼可见的凝集小块, 可以快速 (4~5 min)、灵敏 (97.48%) 检测 1 473 名受试者血清样本中的结核分枝杆菌抗原 CFP-10, 达到早期结核大规模筛查的目的^[43]。

简单、重复的结构单元以共价键连接形成的高分子化合物, 通过自组装可构建尺寸和比表面积可调的聚合物纳米探针, 具有高比表面积、高导电率、易于修饰等特点^[44]。单链 DNA 通过氧化还原共价结合到聚吡咯纳米线上构建而成的电化学传感器, 可用于检测结核病患者的利福平耐药突变基因 *ropB*。该体系比表面积高, 允许表面结合大量 DNA, 具有良好的亲水性, 可避免非特异性结合,

与样本中的目标 *ropB* DNA 杂交后, 可以通过检测电流微弱变化检测到低至 3.6×10^{-4} fmol/L 的 *ropB* [45]。树枝状分子修饰的聚吡咯/四氧化三铁复合纳米颗粒与氧化还原剂萘醌作为DNA探针的支架, 可用于结核利福平耐药基因 *ropB* 选择性检测, 利用分子杂交技术结合目标基因 *ropB*, 通过氧化还原反应引起电流极大下降, 无需核酸扩增即可检测到4 fmol/L *ropB*, 有效鉴定野生型和利福平耐药

突变基因 [46]。

综上所述, 与现有的临床结核诊断技术相比较, 纳米诊断技术具有灵敏度高、特异性强、检测快速等特点。而且, 纳米诊断设备具有体积小、操作简便和结果及时等优势。因此, 纳米诊断体系能够满足临床治疗或家用监护的诊断需求, 在结核的早期筛查、快速诊断和及时检测等方面均具有巨大的应用潜力。

Table 1 Nano-probes for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*
表1 用于结核分枝杆菌诊断的纳米探针

纳米探针分类	探针成分	检测平台/ 方法	靶点	样本 类型	检测 时间	检测限/ (fmol·L ⁻¹)	参考 文献
金纳米探针	金纳米颗粒	核酸扩增	CFP-10	唾液	—	0.017	[28]
	金-钯纳米颗粒	酶联免疫吸附	CFP-10	尿液、痰液	<3 h	3.3	[29]
磁性纳米探针	四氧化三铁磁纳米颗粒	比色法	MPT64	—	70 min	—	[31]
	氧化铁-金纳米酶	酶联免疫吸附	CFP-10、Ag85	尿液	<3 h	2.5、1.6	[32]
碳纳米材料	碳纳米管	电化学传感器	H37Rv IS6110	—	—	0.33	[34]
	石墨炔	DNA荧光标记	H37Rv IS1081	—	—	2.5×10^4	[36]
量子点探针	硅涂层量子点	酶联免疫吸附	Ag85B	尿液	1 h	0.43	[39]
	纳米钴卟啉与碲化镉双色量子点	DNA荧光标记	耐药基因 <i>rpoB531</i> 、 <i>katG315</i>	—	—	24×10^4 、 20×10^4	[40]
脂质体纳米探针	脂质体	DNA荧光标记	IFN-γ	血清	—	47	[42]
	脂质体	免疫凝集法	CFP-10	血清	4~5 min	—	[43]
聚合物纳米探针	聚吡咯	电化学传感器	利福平耐药基因 <i>ropB</i>	—	30 min	3.6×10^{-4}	[45]
	树枝状大分子与聚吡咯	电化学传感器	利福平耐药基因 <i>ropB</i>	—	—	4	[46]

3 结核病治疗与预防面临的挑战

结核病临床治疗多采用异烟肼 (INH)、利福平及其衍生物、吡嗪酰胺 (PZA) 和乙胺丁醇 (ETB) 4种一线药物联合用药, 周期至少6个月以上, 然而, 由于药物供应不规律、患者治疗依从性差、用药方案不当等因素, 往往导致耐药菌株的出现 [47-48]。而且, 耐药结核病的治疗时间长达18个月以上, 二线抗耐药结核药物价格昂贵 (如贝达喹啉, 单一疗程需2.4万), 且毒副作用更大导致死亡风险增加 [49-50]。因此, 开发经济有效、安全无毒且可缩短疗程的治疗方案, 对于耐药结核病临床治疗尤为重要。

另一方面, 药物本身递送效率低和结核生物膜、肺部肉芽肿组织和巨噬细胞等生理屏障对结核分枝杆菌的保护作用, 也是导致抗结核药物疗效差的重要原因。临床抗结核药物多采用口服给药方式进行抗结核治疗, 但口服给药生物利用度较低, 而患者体内生理屏障的保护进一步屏蔽抗结核药物,

导致抗结核药物的生物利用度极低 [51-52]。此外, 在宿主抵抗力下降时, 潜伏结核感染可进展为活动性结核病的现象也需重点关注 [53]。因此, 提高抗结核药物的靶向递送效率和开发结核预防性治疗策略, 对于终止结核病流行至关重要。

4 纳米药物在结核治疗与预防中的应用

纳米药物基于环境响应、生物靶向、循环稳定等可控设计, 通过口服、静脉注射、局部给药等不同给药途径, 提高药物生物利用度和避免药物失活, 同时, 减少给药剂量、降低毒副作用, 为克服当前结核病治疗的局限性提供有效策略 [54] (图3a)。

4.1 克服结核耐药

纳米药物基于材料的天然抗菌活性, 通过诱导活性氧 (ROS) 基团释放、破坏结核分枝杆菌细胞壁、促进巨噬细胞凋亡等策略抵抗结核耐药, 通过联合二线抗耐药结核药物, 改善其毒副作用, 是安全高效的耐药结核病治疗策略。金属及其氧化物具

有广谱抗菌活性, 并且几乎不产生耐药。微量银纳米颗粒和氧化锌纳米颗粒构成的纳米体系通过释放大量活性氧诱导细菌膜脂质过氧化作用, 破坏细菌壁的完整性, 同时, 释放的银离子 (Ag^+) 和锌离子 (Zn^{2+}) 可导致细菌蛋白质变性, 对耐多药结核分枝杆菌的最低抑菌浓度 (MIC) 仅为 1 mg/L, 与抗耐药结核药物贝达喹啉一致^[55]。海藻酸盐修饰

的聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米颗粒作为纳米递送系统包封两种抗耐药结核药物阿米卡星和莫西沙星, 通过抑制结核分枝杆菌蛋白质的合成, 靶向杀伤巨噬细胞内的耐药结核分枝杆菌。对比阿米卡星 6.49% 或莫西沙星 3.27% 的抑菌率, 纳米递送体系能够更彻底地抑制胞内寄生结核菌 (抑菌率为 99.4%)^[56]。

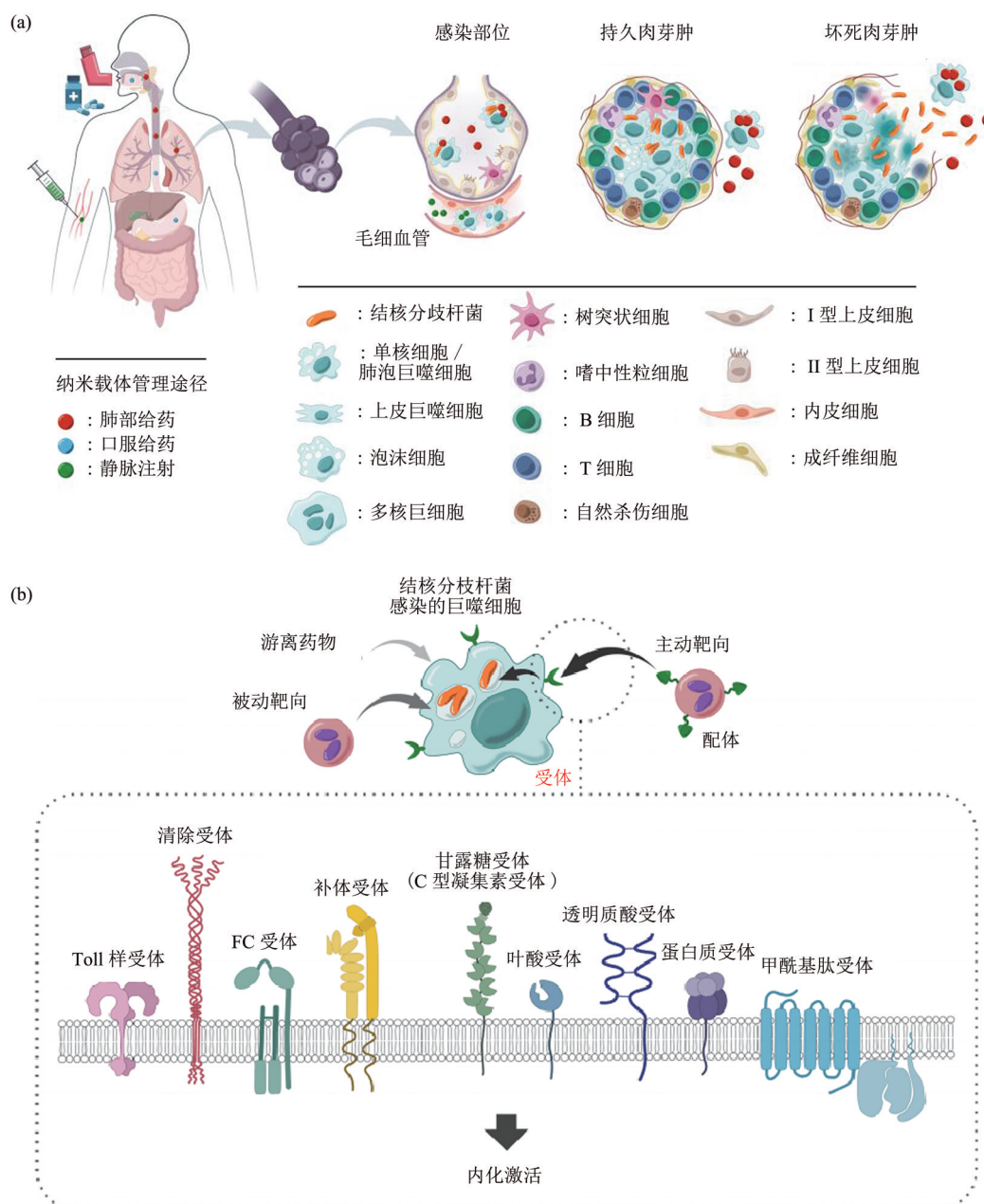


Fig. 3 Body and intracellular delivery route of nanomedicines for tuberculosis therapy

图3 结核治疗纳米药物的机体递送途径及其胞内输送路径

(a) 纳米药物通过不同给药途径突破肉芽肿与巨噬细胞等生理屏障靶向清除结核分枝杆菌; (b) 纳米药物通过不同受体靶向识别感染结核分枝杆菌的巨噬细胞^[54]。

4.2 靶向递送药物

抗结核纳米药物采用被动积累或主动靶向的方式递送到宿主细胞内,改善用药时间长、药物生物利用度低、生理屏障渗透性差等不足,可以达到缓释药物,减少用药周期、根除结核分枝杆菌的目的。常见的抗结核纳米载药体系主要包括聚合物纳米颗粒、氧化石墨烯、纳米胶束、β环糊精、凝胶多糖纳米颗粒、硒纳米颗粒和脂质纳米颗粒等。治疗药物可通过物理包封、吸附或化学偶联等方式被装载到纳米载体中。

4.2.1 被动靶向治疗药物

被动靶向治疗策略可通过改变纳米材料自身特性(尺寸、电荷、刚度、形状等)来增强巨噬细胞内吞作用,或利用增强渗透与驻留效应,促进纳米药物在肉芽肿等炎症部位的积累,改善药物渗透性差、生物利用度低、组织毒副作用高等瓶颈难题。以聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米颗粒为载体负载利福喷丁(RPT),可以有效延长药物释放时间(药物缓释时间从3 d延长至10 d),大幅度减少用药次数,纳米颗粒被巨噬细胞吞噬后,释放利福喷丁到胞内,以发挥抑制结核分枝杆菌核糖核酸(RNA)合成的作用,杀伤胞内结核分枝杆菌^[57]。基于良

好的肺部靶向性能,氧化石墨烯通过静脉注射给药能够将利奈唑胺高效递送到肺部病灶部位,从而抑制结核分枝杆菌23S核糖体亚单位的合成,同时能够诱捕结核分枝杆菌并释放大量活性氧,有效杀伤胞内和胞外结核分枝杆菌。单用利奈唑胺通常无法抑制结核菌复制和增殖,联合用药能够显著改善利奈唑胺的抗结核疗效,减少治疗周期和不良反应^[58]。利用两亲性的纳米胶束(DSPE-PEG₂₀₀₀)负载新型聚集发光(aggregation-induced emission, AIE)材料和利福平构建的纳米药物,能够通过增强渗透与滞留(enhanced permeability and retention, EPR)效应聚集到肉芽肿内,传递到病灶部位的AIE分子通过光动力治疗联合利福平协同杀菌,最终实现对结核病的精准诊疗(图4)^[59]。以透明质酸为载体负载利福平和显影剂花青素5.5(Cy5.5)开发谷胱甘肽响应的纳米诊疗系统,通过EPR效应实现纳米药物在结核肉芽肿部位的富集,并在肉芽肿组织高浓度谷胱甘肽的触发下释放出利福平,改善药物半衰期短和机体代谢清除速率高的问题,能够可视化肉芽肿治疗效果,实现结核肉芽肿的诊疗一体化^[60]。

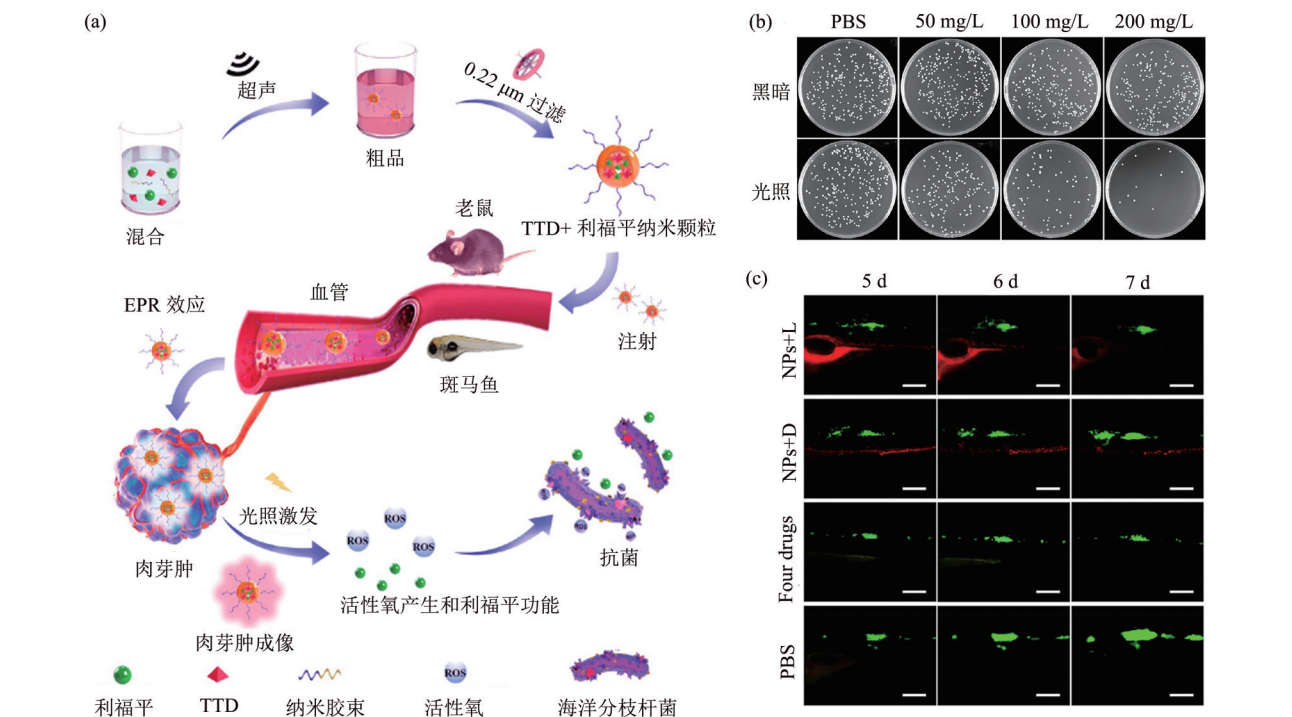


Fig. 4 Micelles co-encapsulating Rifampicin and TTD for targeted photodynamic ablation of tuberculosis granuloma^[59]
图4 负载利福平和AIE材料(TTD)的纳米胶束通过抗生素-光动力协同清除结核肉芽肿^[59]
(a) 共负载利福平和AIE纳米胶束的制备和靶向清除肉芽肿的机制;(b) 抑制耐药结核分枝杆菌生长;(c) 靶向清除小鼠体内肉芽肿(红色荧光: AIE探针(TTD)标记的肉芽肿;绿色荧光: 表达绿色荧光蛋白的海洋分枝杆菌;组别: 纳米胶束(NPs)+光照组(L), 纳米胶束(NPs)+不光照组(D), 抗结核药物联合用药组(Four drugs), 空白组(PBS))。

4.2.2 主动靶向治疗药物

采用可识别吞噬细胞表面的模式识别受体的特定配体(凝胶多糖、甘露糖、促吞噬素等)修饰纳米药物,显著提高其对胞内结核分枝杆菌的主动靶向性,提升巨噬细胞内的抗结核药物浓度,促进药物的抗结核效果(图3b)。 β 环糊精偶联的凝胶多糖纳米颗粒搭载利福平和左氧氟沙星,能够应用于胞内结核分枝杆菌的靶向清除,一方面凝胶多糖可主动靶向巨噬细胞表面的树突状细胞相关性C型植物凝集素1(dectin-1)受体激活机体免疫,另一方面利福平、左氧氟沙星在70 h内缓慢释放,通过分别抑制结核分枝杆菌RNA和DNA的合成,对胞内结核分枝杆菌进行持续有效的治疗^[61]。甘露糖可作为配体靶向巨噬细胞和结核分枝杆菌细胞壁的甘露糖受体,甘露糖基化的硒纳米颗粒搭载异烟肼构建的肺部给药体系,主动递送异烟肼至巨噬细胞内后,通过诱导巨噬细胞自噬,协同抗结核药物治疗胞内结核分枝杆菌^[62]。促吞噬素修饰的脂质纳米载体可特异性识别感染结核的肺泡巨噬细胞表面受体,促进包裹的药物利福平内吞入巨噬细胞,增强胞内药物浓度,靶向清除胞内结核分枝杆菌^[63]。

4.3 预防性治疗药物

BCG是采用无毒牛型结核杆菌悬浮液制成的减毒活疫苗,自1929年应用于临床接种以来,BCG仍然是目前全球临床唯一获批的结核疫苗。BCG主要通过调动机体的适应性免疫应答(包括细胞免疫和体液免疫)来发挥抗结核保护作用,然而由于调节性T细胞的抑制作用和记忆性T细胞产生不足,导致接种卡介苗不能长期抵抗结核感染。因此,BCG在人群中的保护效率仅为0~80%,甚至在免疫缺陷的人群中无法发挥效力。增强疫苗的免疫原性和免疫记忆的持久性将是开发新型疫苗的关键问题^[10]。

疫苗载体和纳米佐剂利用其在淋巴结蓄积、抗原组装、抗原提呈、免疫调节等方面的显著优势^[64-65],相比于传统疫苗、佐剂具有更强的免疫激活效率,将成为安全稳定、长效广谱的结核防护策略。采用结核分枝杆菌抗原Ag85B和6kD早期分泌靶抗原(ESAT-6)为靶向抗原,以脂质体为载体构建的DNA纳米疫苗,用于结核分枝杆菌预防性治疗。脂质体不仅是有潜力的DNA疫苗输送载体,同时能够将抗原提呈给抗原提呈细胞,联合聚肌苷酸胞苷酸(Poly I:C)佐剂诱导机体对

Ag85B产生辅助性T淋巴细胞(Th1/Th17-Th2)免疫反应,有效增强BCG的免疫应答和保护效力,促进记忆T细胞在肺部的积累,相比于单用卡介苗,显著减少了肺部结核分枝杆菌的载量^[66]。葛兰素史克公司研发的新型抗结核疫苗M72/AS01_E,其脂质体佐剂系统AS01_E包含皂树皂苷(QS-21)和-O-去酰基-4'-单磷酸脂A(MPL)两种免疫刺激佐剂,与两种结核分枝杆菌抗原(MTB32A和MTB39A)协同治疗后的IIb期临床试验表明,M72/AS01_E能够诱导快速的天然免疫响应,可在至少3年内预防肺结核病的发展^[67]。美国传染病研究中心(IDRI)联合4种结核分枝杆菌抗原(Rv2608、Rv3619、Rv3620、Rv1831)和微乳佐剂系统GLA-SE设计了新型抗结核疫苗ID93/GLA-SE,该佐剂系统由Toll样受体4(TLR4)激动剂吡喃葡萄糖基脂质通过水包油纳米乳剂配制而成,该体系增强了特异性CD4⁺T细胞的数量和多功能性,I期临床研究表明ID93/GLA-SE纳米乳剂在56名受试者中的安全性高,并且能够诱导强大的体液免疫反应和Th1细胞反应^[68](图5)。单磷酸酰脂质A(MPLA)佐剂是沙门氏菌脂多糖的改性衍生物,作为TLR激动剂可有效刺激细胞免疫反应。聚乙交酯丙交酯(PLGA)-双十八烷基二甲基溴化铵(DDA)杂合纳米颗粒包裹HspX/EsxS融合蛋白和MPLA佐剂后,采用皮下注射方式递送结核疫苗,在PLGA-DDA杂合纳米颗粒和MPLA佐剂协同作用下,可诱导机体产生大量的IFN- γ 和免疫球蛋白G2a(IgG2a),提高机体白介素-4(IL-4)和IgG1水平,显著增强疫苗免疫原性^[69]。ISCOMATRIX佐剂是由皂角苷、胆固醇、磷脂分子通过疏水相互作用形成的笼型结构,能够有效诱导抗体应答以及CD4⁺和CD8⁺T细胞应答;PLUSCOM佐剂和ISCOMATRIX佐剂相似,区别在于由阳离子衍生物替代胆固醇,能更好地与带负电的抗原相互作用。皮下分别注射ISCOMATRIX/MPLA、PLUSCOM/MPLA纳米复合佐剂,协助Mtb融合蛋白(HspX/EsxS)诱导小鼠产生更高水平的Th1和IgG2a免疫反应,显著增强重组疫苗免疫原性^[70]。因此,纳米佐剂通过诱发机体产生高效的特异性免疫反应和长期免疫记忆,对于成人、老年人或者免疫受损者的免疫抗结核能力具有重要的临床应用价值。

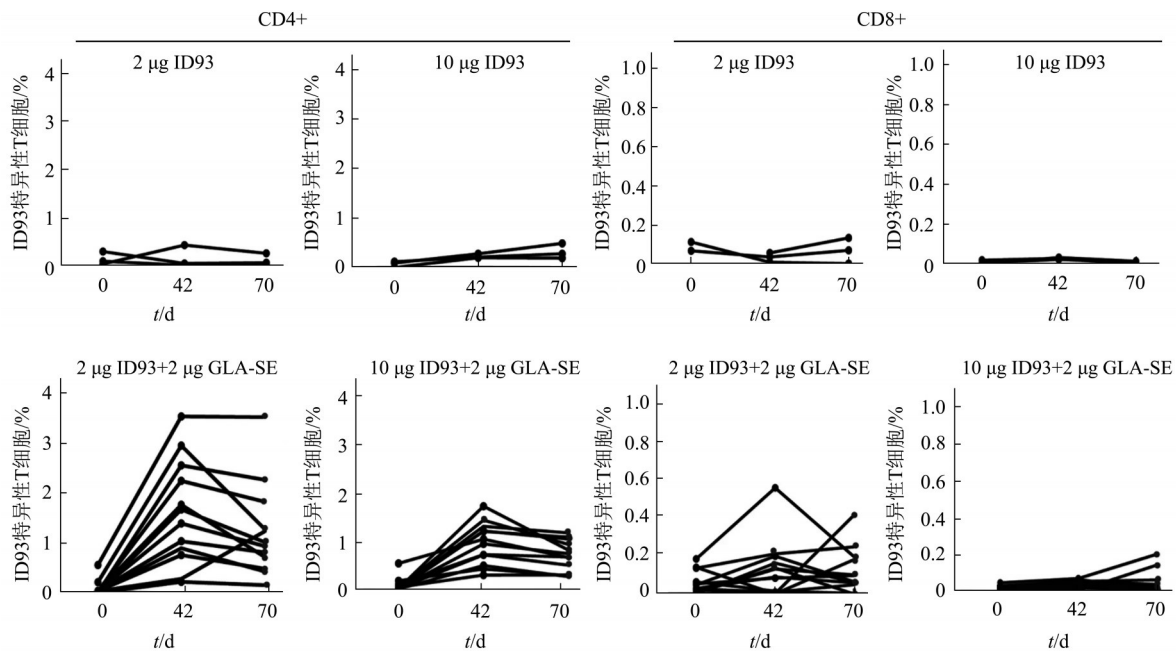


Fig. 5 Specific T cell response of the anti-tuberculosis vaccine (ID93/GLA-SE) combining *Mycobacterium tuberculosis* antigens and the nano adjuvant system [68]

图5 结核分枝杆菌抗原和纳米佐剂系统构建的抗结核疫苗 (ID93/GLA-SE) 诱导特异性T细胞反应 [68]

5 总结与展望

结核病是威胁人类生存的一种严重传染性疾病，位列人类全球十大死因之一。对结核病及时准确的诊断，是消除传染源、控制结核病流行的重要环节。潜伏结核感染无明显的活动性结核病表现，常规检测方法难以检出，缺乏诊断“金标准”，仍需深入研究和开发更多适合大规模筛查的检测方法。同时，能否提供高质量、可信赖的诊断结果，也是解决 POC 诊断临床应用受限的关键问题，因此，亟需筛选验证特异性好、敏感性高的结核诊断标记物，结合纳米技术的发展联合应用多种检测方法，达到既能对涂片检测阴性的结核病实现有效诊断，又能快速筛查结核病耐药基因的目的。纳米诊断面临着规模放大、质量标准、专业人才等瓶颈难题，需要开发建立成熟的可重复流程，确保检测的准确性、灵敏度、特异性。随着医学检验学和纳米技术的发展以及配套产业的兴起，未来纳米诊断产品将不断进入临床应用，满足不同临床诊断场景和诊断需求，服务于临床医学。

结核分枝杆菌易受到生物膜、巨噬细胞、肉芽肿等生理屏障的保护、传统诊断方法存在广泛的局限性、耐多药和广泛耐药结核病的快速传播，为结

核病的早期治疗带来巨大挑战。此外，针对结核预防性治疗的方案不统一，适用群体和安全性还需要临床研究进一步验证。然而，实现纳米药物的临床耐药结核治疗应用仍存在诸多阻碍亟待克服。一方面，亟需开展充分的临床前和临床研究，严格评估生产质量控制及系统参数，如开展系统性的灵长类动物实验及临床试验，验证纳米递送系统的药物毒理学、药物代谢动力学、诊疗效果验证、体内组织生物分布、生物安全性和适用场景等，快速促进其临床耐药结核病治疗应用。另一方面，纳米药物在大规模生产、生物相容性、效益成本、可重复性等方面的局限性使其在短期内难以广泛应用于临床。总之，为了实现突破性的发展，确保纳米材料安全、有效，需要多学科交叉融合，完善纳米技术与医学、工程等领域的密切合作是未来结核病诊疗的重点发展方向。

参 考 文 献

[1] Kaufmann S H, Memichael A J. Annulling a dangerous liaison: vaccination strategies against AIDS and tuberculosis. Nat Med, 2005, 11(5): 578

[2] Pai M, Behr M, Dowdy D, et al. Tuberculosis. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2: 16076

[3] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2021 [EB/

- OL]. Geneva: World Health Organization, 2021[2022-7-31]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>
- [4] Maclean E, Kohli M, Weber S F, *et al.* Advances in molecular diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 2020, **58**(10): e01582-19
 - [5] Hong J M, Lee H, Menon N V, *et al.* Point-of-care diagnostic tests for tuberculosis disease. *Sci Transl Med*, 2022, **14**(639): eabj4124
 - [6] Knight G M, Mcquaid C F, Dodd P J, *et al.* Global burden of latent multidrug-resistant tuberculosis: trends and estimates based on mathematical modelling. *Lancet Infect Dis*, 2019, **19**(8): 903-912
 - [7] Sharma D, Sharma S, Sharma J. Potential strategies for the management of drug-resistant tuberculosis. *J Glob Antimicrob Resist*, 2020, **22**: 210-214
 - [8] Alipanah N, Jarlsberg L, Miller C, *et al.* Adherence interventions and outcomes of tuberculosis treatment: a systematic review and meta-analysis of trials and observational studies. *PLoS Med*, 2018, **15**(7): e1002595
 - [9] Pisu D, Huang L, Grenier J K, *et al.* Dual RNA-Seq of mtb-infected macrophages *in vivo* reveals ontologically distinct host-pathogen interactions. *Cell Rep*, 2020, **30**(2): 335-350. e334
 - [10] Dasgupta Y, Golovine K, Nieborowska-Skorska M, *et al.* Drugging DNA repair to target T-ALL cells. *Leuk Lymphoma*, 2018, **59**(7): 1746-1749
 - [11] Dowling D J, Scott E A, Scheid A, *et al.* Toll-like receptor 8 agonist nanoparticles mimic immunomodulating effects of the live BCG vaccine and enhance neonatal innate and adaptive immune responses. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, **140**(5): 1339-1350
 - [12] Baig N, Kammakam I, Falath W. Nanomaterials: a review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Mater Adv*, 2021, **2**(6): 1821-1871
 - [13] Barad H N, Kwon H, Alarcon-Correa M, *et al.* Large area patterning of nanoparticles and nanostructures: current status and future prospects. *ACS Nano*, 2021, **15**(4): 5861-5875
 - [14] Perumal V, Saheed M S M, Mohamed N M, *et al.* Gold nanorod embedded novel 3D graphene nanocomposite for selective bio-capture in rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biosens Bioelectron*, 2018, **116**: 116-122
 - [15] Golichenari B, Nosrati R, Farokhi-Fard A, *et al.* Electrochemical-based biosensors for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and tuberculosis biomarkers. *Crit Rev Biotechnol*, 2019, **39**(8): 1056-1077
 - [16] Kim J, Lee K-S, Kim E B, *et al.* Early detection of the growth of *Mycobacterium tuberculosis* using magnetophoretic immunoassay in liquid culture. *Biosens Bioelectron*, 2017, **96**: 68-76
 - [17] Jafari A, Nagheli A, Foumani A A, *et al.* The role of metallic nanoparticles in inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* and enhances phagosome maturation into the infected macrophage. *Oman Med J*, 2020, **35**(6): e194
 - [18] Montalvo-Quiros S, Gomez-Grana S, Vallet-Regí M, *et al.* Mesoporous silica nanoparticles containing silver as novel antimycobacterial agents against *Mycobacterium tuberculosis*. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, **197**: 111405
 - [19] Behzad F, Sefidgar E, Samadi A, *et al.* An overview of zinc oxide nanoparticles produced by plant extracts for anti-tuberculosis treatments. *Curr Med Chem*, 2022, **29**(1): 86-98
 - [20] Minakshi P, Ghosh M, Brar B, *et al.* Nano-antimicrobials: a new paradigm for combating mycobacterial resistance. *Curr Pharm Des*, 2019, **25**(13): 1554-1579
 - [21] Reed J L, Walker Z J, Basu D, *et al.* Highly sensitive sequence specific qPCR detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *Tuberculosis (Edinb)*, 2016, **101**: 114-124
 - [22] Breuninger M, Van Ginneken B, Philipsen R H, *et al.* Diagnostic accuracy of computer-aided detection of pulmonary tuberculosis in chest radiographs: a validation study from sub-Saharan Africa. *PLoS One*, 2014, **9**(9): e106381
 - [23] Liu C, Zhao Z, Fan J, *et al.* Quantification of circulating *Mycobacterium tuberculosis* antigen peptides allows rapid diagnosis of active disease and treatment monitoring. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(15): 3969-3974
 - [24] Ciftci I H, Karakece E. Comparative evaluation of TK SLC-L, a rapid liquid mycobacterial culture medium, with the MGIT system. *BMC Infect Dis*, 2014, **14**: 130
 - [25] MacLean E, Kohli M, Weber S F, *et al.* Advances in molecular diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 2020, **58**(10): e01582-19
 - [26] Chen H, Liu K, Li Z, *et al.* Point of care testing for infectious diseases. *Clin Chim Acta*, 2019, **493**: 138-147
 - [27] Wang J, Sun J, Wang Y, *et al.* Gold nanoframeworks with mesopores for raman-photoacoustic imaging and photo-chemo tumor therapy in the second near-infrared biowindow. *Adv Funct Mater*, 2020, **30**(9): 1908825
 - [28] Dahiya B, Sharma S, Khan A, *et al.* Detection of mycobacterial CFP-10 (Rv3874) protein in tuberculosis patients by gold nanoparticle-based real-time immuno-PCR. *Future Microbiol*, 2020, **15**: 601-612
 - [29] Gurmesa S K, Tufa L T, Kim J, *et al.* Colorimetric detection of mycobacterium tuberculosis ESX-1 substrate protein in clinical samples using Au@Pd nanoparticle-based magnetic enzyme-linked immunosorbent assay. *ACS Appl Nano Mater*, 2020, **4**(1): 539-549
 - [30] Neamtu M, Nadejde C, Hodoroaba V D, *et al.* Functionalized magnetic nanoparticles: synthesis, characterization, catalytic application and assessment of toxicity. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 6278
 - [31] Cheon H J, Lee S M, Kim S R, *et al.* Colorimetric detection of MPT64 antibody based on an aptamer adsorbed magnetic nanoparticles for diagnosis of tuberculosis. *J Nanosci Nanotechnol*, 2019, **19**(2): 622-626
 - [32] Kim J, Tran V T, Oh S, *et al.* Clinical trial: magnetoplasmonic ELISA for urine-based active tuberculosis detection and anti-tuberculosis therapy monitoring. *ACS Cent Sci*, 2021, **7**(11): 1898-1907
 - [33] Zhang L, Li X, Antonietti M. General, Metal-free synthesis of

- carbon nanofiber assemblies from plant oils. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, **60**(45): 24257-24265
- [34] Chen Y, Guo S, Zhao M, *et al.* Amperometric DNA biosensor for *Mycobacterium tuberculosis* detection using flower-like carbon nanotubes-polyaniline nanohybrid and enzyme-assisted signal amplification strategy. *Biosens Bioelectron*, 2018, **119**: 215-220
- [35] Xue Y, Huang B, Yi Y, *et al.* Anchoring zero valence single atoms of nickel and iron on graphdiyne for hydrogen evolution. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1460
- [36] Chang F, Huang L, Guo C, *et al.* Graphdiyne-based one-Step DNA fluorescent sensing platform for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and its drug-resistant genes. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(39): 35622-35629
- [37] Antolinez F V, Winkler J M, Rohner P, *et al.* Defect-tolerant plasmonic elliptical resonators for long-range energy transfer. *ACS Nano*, 2019, **13**(8): 9048-9056
- [38] Farzin M A, Abdoos H. A critical review on quantum dots: from synthesis toward applications in electrochemical biosensors for determination of disease-related biomolecules. *Talanta*, 2021, **1**(224): 121828
- [39] Kim E J, Kim E B, Lee S W, *et al.* An easy and sensitive sandwich assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* Ag85B antigen using quantum dots and gold nanorods. *Biosens Bioelectron*, 2017, **87**: 150-156
- [40] Hu O, Li Z, He Q, *et al.* Fluorescence biosensor for one-step simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* multidrug-resistant genes using nanoCoTPyP and Double Quantum Dots. *Anal Chem*, 2022, **94**(22): 7918-7927
- [41] Pornpattananangkul D, Zhang L, Olson S, *et al.* Bacterial toxin-triggered drug release from gold nanoparticle-stabilized liposomes for the treatment of bacterial infection. *J Am Chem Soc*, 2011, **133**(11): 4132-4139
- [42] Cui H, Bo B, Ma J, *et al.* A target-responsive liposome activated by catalytic hairpin assembly enables highly sensitive detection of tuberculosis-related cytokine. *Chem Commun*, 2018, **54**(38): 4870-4873
- [43] Tiwari D, Haque S, Tiwari RP, *et al.* Fast and efficient detection of tuberculosis antigens using liposome encapsulated secretory proteins of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Immunol Infect*, 2017, **50**(2): 189-198
- [44] Wu T, Liu C, Kong B, *et al.* Amidoxime-functionalized macroporous carbon self-refreshed electrode materials for rapid and high-capacity removal of heavy metal from water. *ACS Cent Sci*, 2019, **5**(4): 719-726
- [45] Khoder R, Korri-Yousseffi H. E-DNA biosensors of *M. tuberculosis* based on nanostructured polypyrrole. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, **108**: 110371
- [46] Haddaoui M, Sola C, Raouafi N, *et al.* E-DNA detection of rpoB gene resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in real samples using Fe₃O₄/polypyrrole nanocomposite. *Biosens Bioelectron*, 2019, **128**: 76-82
- [47] Zurcher K, Ballif M, Fenner L, *et al.* Drug susceptibility testing and mortality in patients treated for tuberculosis in high-burden countries: a multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis*, 2019, **19**(3): 298-307
- [48] Verma M, Vishwanath K, Eweje F, *et al.* A gastric resident drug delivery system for prolonged gram-level dosing of tuberculosis treatment. *Sci Transl Med*, 2019, **11**(483): eaau6267
- [49] Lan Z, Ahmad N, Baghaei P, *et al.* Drug-associated adverse events in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. *Lancet Respir Med*, 2020, **8**(4): 383-394
- [50] Wilson D J, Consortium C R. GenomeMap: within-species genome-wide dN/dS estimation from over 10,000 Genomes. *Mol Biol Evol*, 2020, **37**(8): 2450-2460
- [51] Chakraborty P, Bajeli S, Kaushal D, *et al.* Biofilm formation in the lung contributes to virulence and drug tolerance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 1606
- [52] Zhang L, Jiang X, Pfau D, *et al.* Type I interferon signaling mediates *Mycobacterium tuberculosis*-induced macrophage death. *J Exp Med*, 2021, **218**(2): e20200887
- [53] Flynn A G, Aiona K, Haas M K, *et al.* Clinical characteristics of active tuberculosis diagnosed after starting treatment for latent tuberculosis infection. *Clin Infect Dis*, 2020, **71**(5): 1320-1323
- [54] Baranyai Z, Soria-Carrera H, Alleve M, *et al.* Nanotechnology-based targeted drug delivery: an emerging tool to overcome tuberculosis. *Adv Ther*, 2021, **4**(1): 2000113
- [55] Heidary M, Zaker Bostanabad S, Amini S M, *et al.* The anti-mycobacterial activity of Ag, ZnO, and Ag-ZnO nanoparticles against MDR- and XDR-*Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Drug Resist*, 2019, **12**: 3425-3435
- [56] Abdelghany S, Parumasivam T, Pang A, *et al.* Alginate modified-PLGA nanoparticles entrapping amikacin and moxifloxacin as a novel host-directed therapy for multidrug-resistant tuberculosis. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2019, **52**: 642-651
- [57] Liang Q, Xiang H, Li X, *et al.* Development of rifapentine-loaded PLGA-based nanoparticles: *in vitro* characterization and *in vivo* study in mice. *Int J Nanomedicine*, 2020, **15**: 7491-7507
- [58] De Maio F, Palmieri V, Santarelli G, *et al.* Graphene oxide-linezolid combination as potential new anti-tuberculosis treatment. *Nanomaterials*, 2020, **10**(8): 1431
- [59] Liao Y, Li B, Zhao Z, *et al.* Targeted theranostics for tuberculosis: a rifampicin-loaded aggregation-induced emission carrier for granulomas tracking and anti-infection. *ACS Nano*, 2020, **14**(7): 8046-8058
- [60] Zheng J, Long X, Chen H, *et al.* Photoclick reaction constructs glutathione-responsive theranostic system for anti-tuberculosis. *Front Mol Biosci*, 2022, **9**: 845179
- [61] Yunus Basha R, T S S, Doble M. Dual delivery of tuberculosis drugs *via* cyclodextrin conjugated curdlan nanoparticles to infected macrophages. *Carbohydr Polym*, 2019, **218**: 53-62
- [62] Pi J, Shen L, Yang E, *et al.* Macrophage-targeted isoniazid-selenium nanoparticles promote antimicrobial immunity and synergize bactericidal destruction of tuberculosis bacilli. *Angew*

- Chem Int Ed Engl, 2020, **59**(8): 3226-3234
- [63] Carneiro S P, Carvalho K V, De Oliveira Aguiar Soares R D, *et al.* Functionalized rifampicin-loaded nanostructured lipid carriers enhance macrophages uptake and antimycobacterial activity. Colloids Surf B Biointerfaces, 2019, **175**: 306-313
- [64] Feng C, Li Y, Ferdows B E, *et al.* Emerging vaccine nanotechnology: from defense against infection to sniping cancer. Acta Pharm Sin B, 2022, **12**(5): 2206-2223
- [65] Liu C, Liu X, Xiang X, *et al.* A nanovaccine for antigen self-presentation and immunosuppression reversal as a personalized cancer immunotherapy strategy. Nat Nanotechnol, 2022, **17**(5): 531-540
- [66] Diogo G R, Hart P, Copland A, *et al.* Immunization with *Mycobacterium tuberculosis* antigens encapsulated in phosphatidylserine liposomes improves protection afforded by BCG. Front Immunol, 2019, **10**: 1349
- [67] Tait D R, Hatherill M, Van Der Meeren O, *et al.* Final analysis of a trial of M72/AS01_E vaccine to prevent tuberculosis. N Engl J Med, 2019, **381**(25): 2429-2439
- [68] Coler R N, Day T A, Ellis R, *et al.* The TLR-4 agonist adjuvant, GLA-SE, improves magnitude and quality of immune responses elicited by the ID93 tuberculosis vaccine: first-in-human trial. NPJ Vaccines, 2018, **3**: 34
- [69] Khademi F, Yousefi A, Derakhshan M, *et al.* Enhancing immunogenicity of novel multistage subunit vaccine of *Mycobacterium tuberculosis* using PLGA: DDA hybrid nanoparticles and MPLA: subcutaneous administration. Iran J Basic Med Sci, 2019, **22**(8): 893-900
- [70] Yousefi Avarvand A, Meshkat Z, Khademi F, *et al.* Immunogenicity of HspX/EsxS fusion protein of *Mycobacterium tuberculosis* along with ISCOMATRIX and PLUSCOM nano-adjuvants after subcutaneous administration in animal model. Microb Pathog, 2021, **154**: 104842

Application of Nanomaterials for Tuberculosis Diagnosis and Therapy*

DAI Gui-Qin^{1,2)**}, HE Zhuo-Jun^{1,2)**}, LIU De-Liang²⁾, ZHAO Peng-Fei^{2,4)***}, LIAO Ming-Feng²⁾,
SONG Li-Jun^{1)***}, YANG Qian-Ting²⁾, ZHAO Wen-Chang^{1)***}, Zheng Ming-Bin^{1,2,3)***}

⁽¹⁾School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China;

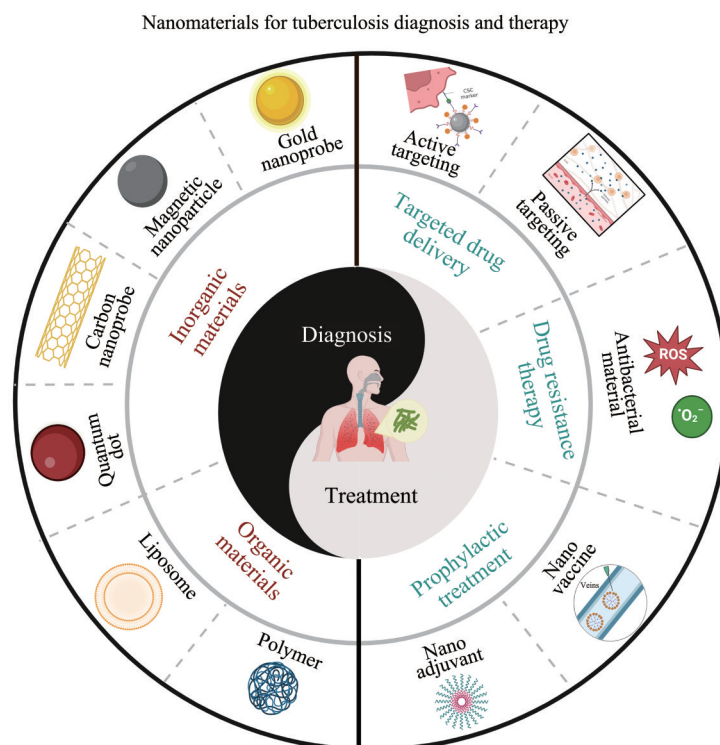
²⁾Institute for Hepatology, National Clinical Research Center for Infectious Disease, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518112, China;

³⁾CAS Key Laboratory of Health Informatics, Guangdong Key Laboratory of Nanomedicine, Shenzhen Institutes of Advanced Technology,

Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China;

⁴⁾College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen, 518060, China)

Graphical abstract



* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (62005176, 81973548), Shenzhen Science and Technology Program (JCYJ20210324115611032), Key Project of Social Science and Technology Development of Dongguan (20185071521658), Discipline Construction Project of Guangdong Medical University (4SG21009G), and Special Project in Key Field for Guangdong (2022ZDZX2022).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

ZHAO Peng-Fei. Tel: 86-755-61222333, E-mail: richarder2007@163.com

SONG Li-Jun. Tel: 86-769-22896561, E-mail: songlijun6981@126.com

ZHAO Wen-Chang. Tel: 86-769-22896561, E-mail: zhaowenchang@163.com

ZHENG Ming-Bin. Tel: 86-769-22896561, E-mail: mb.zheng@siat.ac.cn

Received: August 19, 2022 Accepted: October 25, 2022

Abstract Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), which can enter the body and invade body organs *via* respiratory infection, and is a major threat to global public health. Early-time diagnosis and effective treatment are indispensable for TB control. However, limited by poor specificity, low sensitivity, long culture cycle and high requirements for laboratory equipment, current clinical TB diagnostics usually result in low diagnostic efficiency, misdiagnosis and missed diagnosis. On the other hand, poor therapeutic effect of clinical TB treatments is induced by the appearance of Mtb drug resistance (induced by irregular drug supply, poor patient treatment compliance, and improper medication regimens) and low-efficiency anti-TB drug bioavailability (caused by physiological barriers including host cell shielding, granuloma block and biofilm construction). Drug resistance, poor therapeutic effect and poor patient compliance characterize traditional TB treatment strategies, which accelerate the global spread of TB. Hence, rapid, accurate TB point-of-care (POC) diagnosis, and safe, efficient TB treatment methods are urgently needed to control the global TB pandemic. In this review, we summaries that compared with the current diagnostic technologies, nano-diagnostic technologies show great advantages in high sensitivity, specificity and rapid detection, which can superiorly meet with diagnostic needs such as clinical treatment or home monitoring. We also highlight that nanoparticle systems can significantly enhance the bioavailability and targeting of anti-TB drugs. The nanoparticles can help reduce drug administration frequency and toxic side effects, overcoming the limitations of conventional TB therapies. Nanotechnology-based TB diagnosis and anti-TB treatments are still limited by large-scale production, biocompatibility, cost-effectiveness, reproducibility, *etc.*, making it difficult for comprehensive clinical use shortly. Finally, we outline the potential future directions to achieve breakthrough developments. Multidisciplinary interdisciplinary convergence and intensified combination of nanotechnology, medicine, and engineering is the key solution for future TB care development.

Key words *Mycobacterium tuberculosis*, diagnosis, treatment, vaccine, nanotechnology of prevention and control

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0392