

## 综 述

## 挥发性有机化合物在肿瘤早期筛查中的研究进展

董国璋综述, 许 林审校

**【摘要】** 肿瘤是危害人类健康的重要疾病,具有高发病率和高病死率的特点。早期肿瘤的准确筛查显得尤为重要。对于人体代谢产物中的挥发性部分(VOCs)的分析是目前癌症早期筛查的一个新兴研究领域。VOCs的变化像是“气体印记”一样,可在多种疾病中有所体现,间接反映身体健康状况。作为一种无创、便捷的肿瘤早期筛查方式,VOCs的分析已经成功的应用于多种肿瘤的早期诊断,并取得一定的成功。但是目前技术上的困难仍然限制了VOC分析在临床上的广泛应用。文章主要就当前挥发性有机物分析的研究现状及其优势以及当前面临的问题进行综述。

**【关键词】** 挥发性有机化合物;癌症;代谢组学

**【中图分类号】** R73

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1672-271X(2021)03-0302-05

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.03.017

## Research progress of volatile organic compounds in early tumor screening

DONG Guo-zhang reviewing, XU Lin checking

(Department of Thoracic Surgery, the Affiliated Cancer Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu Institute of Cancer Research, Jiangsu Cancer Hospital, Nanjing 210009, Jiangsu, China)

**【Abstract】** Tumor is an important disease endangering human health, and it has the characteristics of high morbidity and high mortality. The accurate screening of early tumors is particularly important. The analysis of volatile organic compounds (VOCs) in human metabolites is currently an emerging research field in early cancer screening. The change of VOCs is like a "gas mark", which can be reflected in a variety of diseases and indirectly reflect the health of the body. As a non-invasive and convenient way of early tumor screening, the analysis of VOCs has been successfully applied to the early diagnosis of a variety of tumors with certain success. However, the current technical difficulties still limit the wide application of VOC analysis in clinical practice. This review mainly describes the current research status of volatile organic compounds analysis, its advantages and current problems.

**【Key words】** volatile organic compounds; cancer; metabolomics

## 0 引 言

癌症是世界上第二大死亡原因,到2030年,估计死亡人数将增加1310万<sup>[1]</sup>,其特征是细胞不受控制的增殖,并且可在身体任何部位发育。我国目前已经成为肿瘤发病率和病死率第一的国家<sup>[2]</sup>,并且肿瘤的发病率和病死率仍在逐渐增长。尽管目前肿瘤的治疗方法在手术治疗、靶向治疗、免疫治疗等领域取得了诸多进展,但是肿瘤的生存率

改善仍然有限,5年生存率依旧不高。因为大部分的肿瘤患者在确诊时已经处于中晚期或已经发生了远处转移。因此,如果能较早发现肿瘤并进行治疗干预,将会提高患者的5年生存率。

挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs)是指常温下以蒸汽形式存在于空气中的一类有机物,美国环境保护委员会将蒸气压小于0.1 mmHg设定为VOCs的判定标准。人体内VOCs可根据来源分为内源性和外源性的VOCs<sup>[3]</sup>。内源性的VOCs主要由细胞的基础功能如维持细胞膜完整性、能量代谢、氧化应激等过程产生<sup>[4]</sup>。外源性的VOCs主要存在于呼气中,这些VOCs从外界吸入

作者单位:210009 南京,南京医科大学附属肿瘤医院 江苏省肿瘤防治研究所 江苏省肿瘤医院胸外科(董国璋、许 林)

通信作者:许 林,E-mail: xulin83@njmu.edu.cn

并且同内源性的 VOCs 一起呼出。挥发性有机化合物是细胞代谢的最终产物,可能是由于癌细胞的基因或蛋白质改变导致细胞膜氧化应激或过氧化而产生的。挥发性有机碳可反映任何因炎症、坏死、癌症退化、微生物区系改变而引起的代谢变化,也可与环境污染、药物和饮食<sup>[5]</sup>等外部因素有关。这些代谢物被释放到血液中,在体内的任何地方产生,均会到达肺泡、肾小管和消化道中。在过去的二十年里,VOCs 检测已经应用于各种临床场景。本文将对各种挥发性有机物分析在肿瘤中的研究现状作一综述。

## 1 挥发性有机物检测方法

**1.1 GC-MS** GC-MS 是目前应用最为广泛的挥发性有机物检测方法。1971 年,Pauling 等<sup>[6]</sup>率先对代谢物的挥发性部分进行了分析,使用气相色谱-质谱仪 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 描述了人类呼吸和尿液中约 250 种挥发性有机化合物的存在。1985 年 Gordon 等<sup>[7]</sup>首次使用 GC-MS 测定了肺癌患者呼气中 VOCs。自此,VOCs 分析在癌症检测的临床潜力引起了人们的兴趣,最近 30 年来发表的论文数量迅速增加也有力证明了这一点。同时,不仅是肺癌,在很多其他癌种中 GC-MS 测定 VOCs 都表现出了不错的效果。GC-MS 可对样品中的挥发性分子进行物理分离,并随后对其性质和数量进行鉴定,以确定被分析样品的确切组成。通过提供有关样本成分的定性和定量信息,这种分析技术可识别与健康对照组相比的肿瘤患者的代谢特征。目前,关于 GC-MS 测定 VOCs 的临床研究已经在陆续开展,这些研究大多采用病例对照的方法。选择肿瘤患者为病例组,非临床诊断为肿瘤的健康患者为对照组,比较 2 组患者收集的 VOC 谱。如果一种已鉴定的挥发性有机化合物的浓度在这 2 组之间有统计学上的不同,该化合物就被认为是一个生物标志物。这些研究确定的肿瘤生物标志物在很大程度上是不一致的,且在各个癌种中的生物标志物也是各不相同。

尽管 GC-MS 具有效率高的优点,但其成本高、可管理性差等,限制了其在大规模筛查中的常规应用。此外其在分析过程中尚未形成标准化的检测方法,导致 VOCs 检测受气体收集方法、设备、方法的敏感性 & 检测环境等多个方面影响,其重复性和

稳定性有待进一步验证。

## 1.2 选择离子流动管质谱法 (selected Ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS)

SIFT-MS 是一种定量质谱仪技术,可实时测量潮湿空气样品中微量气体分子的浓度。1999 年 Spanel 等<sup>[8]</sup>首次利用该方法对膀胱癌和前列腺癌患者尿液中的甲醛进行测定。之后也有很多文献报道使用该方法对于胃食管癌<sup>[9]</sup>、结直肠癌<sup>[10]</sup>、肺癌<sup>[11]</sup>等样品的 VOCs 进行检测,其结果同样具有统计学意义。SIFT-MS 在高通量和实时分析气体样本中的 VOCs 显示出了巨大的潜力,不过由于其工作原理及零件构成使得其成本较高,仪器体积较大,且在呼气样本以外的应用较罕见。

**1.3 电子鼻技术及其他检测方法** 电子鼻技术是一系列化学传感器以及特定的识别方法组合而成的仪器,该传感器能够在化学类别的 VOC 存在的情况下产生电响应,给出定性的响应,而非特定响应。因此电子鼻不能识别单一挥发性有机化合物,但就像人类嗅觉一样,其可检测不同化学类别的组合,如烷烃、酒精和芳香化合物<sup>[12]</sup>。电子鼻技术比 GC-MS 更快、更易操作,可通过模式识别来识别特定的状态。该方法简便,易携,在早期肿瘤的筛查中具有很大潜力。其他检测方法如质子转移反应质谱法<sup>[13]</sup>、离子迁移质谱法<sup>[14]</sup>等报道较少,其灵敏度及特异性需要进一步进行临床研究验证。

## 2 不同样本中的挥发性有机物

**2.1 呼出气** 呼出气样本由于其收集方便,易于存储等优势,成为了最早应用于 VOCs 检测的样本。其在肺癌、胃食管癌、结直肠癌、乳腺癌等中均有应用。

呼出气 VOCs 用于肺癌诊断及筛查的研究进行的最多也最早。有研究分析了 12 例肺癌患者及健康对照者之间不同的质谱峰值分析图,从而提出呼出气体中的 28 种有机化合物可作为候选的肺癌标志气体成分<sup>[7,15]</sup>,这一发现提示了 VOCs 在肺癌筛查中的巨大潜力。此后在肺癌患者的呼吸中也发现了邻甲苯胺,苯胺和脂质过氧化活性的改变<sup>[16-17]</sup>。Michael Phillips 是呼吸研究领域的先驱之一,利用 GC-MS 进行了三项独立的肺癌生物标志物发现研究<sup>[18-20]</sup>,鉴于这些研究得出的生物标志物各不相同,但主要的生物标志物主要是烷烃衍生物,这在

其所有三项研究中都是一致的。与健康对照组相比,肺癌参与者中大多数 VOCs 的相对丰度降低;这种差异可能归因于肺癌中 CYP450 基因激活导致脂质过氧化产物分解增加<sup>[21]</sup>。然而,还有许多其他研究表明烷烃与肺癌无关<sup>[21-23]</sup>。这些研究均未评估检测到的 VOCs 的来源。事实上,大多数挥发性有机物在呼气中的作用机制仍不清楚。Hakim 等<sup>[24]</sup>总结了肺癌相关挥发性有机化合物可能的生化途径。目前尚无一致且有效的肺癌 VOCs 生物标志物的报道。造成这些不一致的原因是多方面的,不同的研究在呼吸采样程序、研究设计(对照组的选取、患者的选取等)和数据分析方法方面有很大的差异。

近些年,其他肿瘤患者的呼出气研究也相继出现。Peng 等<sup>[5]</sup>发表了首次使用定制的纳米传感器阵列对肿瘤患者进行代谢性呼气分析,该阵列基于有机功能化的金纳米颗粒(gold nanoparticles, GNPs)和 SPME-GC-MS 分析,以确定合适的代表性 VOCs 来区分这些类型的癌症。呼吸样本来自 26 例结肠癌患者、30 例肺癌患者、22 例乳腺癌患者、18 例前列腺癌患者和 22 例健康对照。GNP 阵列在区分结肠癌患者和健康对照方面显示出很高的鉴别能力。2013 年,Altomare 等<sup>[25]</sup>利用 TD-GC-MS 分析了 37 例结肠癌患者和 41 例健康对照的呼吸样本,识别出 15 种 VOC 模式,其灵敏度为 86%,特异度为 83%,准确率为 85%,ROC 曲线下面积(AUC)为 0.85%。呼出的 VOC 模式的辨别能力随后在另一系列 25 名受试者的盲目阶段进行了验证,准确率为 76%<sup>[26]</sup>。2015 年 Kumar 等<sup>[27]</sup>分析了 81 例食管( $n=48$ )或胃腺癌( $n=33$ )和 129 例包括 Barrett 上皮化生( $n=16$ ),良性上消化道疾病( $n=62$ )或正常的患者的呼气样本( $n=51$ )。筛选出了十二种 VOCs(戊酸,己酸,苯酚,甲基苯酚,乙基苯酚,丁醛,戊醛,己醛,庚醛,辛酸,壬醛和癸醛)的浓度显著高于癌旁组( $P<0.05$ )。Chen 等<sup>[28]</sup>更进一步发现了可通过呼出气 VOCs 检测来不仅能将胃癌病人与正常人区分开来,同时也可区分出早期胃癌和晚期胃癌,使 VOCs 检测肿瘤更为精确,为临床病情评估提供了更为精确的依据。

**2.2 尿液** 尿液中含有高浓度的挥发性代谢物,且收集和存储较为方便,使其成为挥发性有机化合物分析的另一个极具吸引力的目标。Silva 等<sup>[29]</sup>用

动态固相微萃取(DHS-SPME)结合 GC-MS 评价了肿瘤患者和健康对照组中尿 VOCs 谱的差异。肿瘤组包括 14 例白血病患者、12 例结直肠癌患者和 7 例淋巴瘤患者,并与 21 例健康对照组进行比较。在对照组和肿瘤学组中共鉴定出 82 种不同化学类别的挥发性代谢物。其中苯类衍生物,萜类化合物和苯酚在肿瘤患者组中最常见,而酮和硫化物在健康受试者尿液中含量更多。结果表明在尿液中,肿瘤患者和健康志愿者之间的 VOCs 浓度有着显著差异。

另外,在英国考文垂和沃里克郡的大学医院进行过两项研究。第一项研究使用 FAIMS 仪器和 Combi-PAL ITEx 自动预浓缩系统,结合从 83 例结肠癌患者和 50 例健康对照获得的 GC-MS 来评估尿样<sup>[30]</sup>。该研究结肠癌组于健康对照组两组之间的敏感性为 88%,特异性为 60%。在第二项研究中,作者开发了一种专用电子鼻系统,该系统由 13 个传感器组成,测试了该系统对 92 份尿样(包括 39 例结肠癌患者、35 例肠易激综合征患者和 18 例健康对照)尿液中的 VOCs。与其他两组相比,该研究检测结直肠癌的灵敏度为 78%,特异度为 79%<sup>[31]</sup>。近些年来,尿液也被应用于胰腺癌和前列腺癌的无创诊断<sup>[32-33]</sup>。各种研究均证实了肿瘤患者尿样中可识别的代谢紊乱的存在,以及尿液作为一种潜在的易于获得的生物样本进行筛查的有效性。

**2.3 其他** 对于 VOCs 的研究不仅只局限于呼出气和尿液。很多学者在其他样本,如粪便、胆汁等中同样做出了尝试。2014 年 De 等<sup>[34]</sup>首次报道了粪便样本分析经验,监测了 40 例结肠癌患者、60 例晚期结肠腺瘤患者和 57 例健康对照。对 35 例结肠癌、46 例晚期腺瘤和 52 例对照组的粪便标本进行检测。在结直肠癌患者和对照组的比较中显示出 85%和 87%的灵敏度和特异度。将晚期腺瘤患者与对照组进行比较,其敏感度为 62%,特异度为 86%。对结直肠癌和晚期腺瘤患者进行比较,敏感性为 75%,特异性为 73%。Batty 等<sup>[10]</sup>通过 SIFT-MS 分析筛选出了粪便中 3 种可能的结肠癌生物标志物硫化氢、二甲基硫化物和二甲基二硫化物。有研究首次使用胆汁作为样本,分别筛选出了胰腺癌和胆管癌可能的生物标志物(乙醇,丙烯腈,乙腈,乙醛,苯,二硫化碳,二甲基硫,2-普萘洛尔),并且采用机器学习等方法建立筛选模型,使检测结果敏感性



和特异性显著增高(敏感性为 93.5%, 特异性为 100%)<sup>[35-37]</sup>。

### 3 结语与展望

VOCs 检测用于癌症的早期筛查和诊断是一个迅速发展的领域。各项证据表明,肿瘤的发生发展中存在代谢组学的紊乱,并且可通过呼气、尿液、粪便等多种方法检测出来。VOCs 作为肿瘤的“气味印记”,表现出了相当不错的潜力。这种“气味印记”可通过不同分析平台和基质来进行评估,并且可以无创而有效的实现肿瘤的早期筛查和早期诊断。但是由于缺乏标准化的实验流程,至今无统一评估标准。尽管已经基本确定最常见的代谢化学物为烷烃和芳香族化合物,但各个研究之间差异仍然较大,较难形成统一的结果。

为了使 VOCs 能够进一步转化为临床广泛使用的生物标志物,需要再以下三个关键领域取得进展:①开发标准化和灵活的气体样本采集方案;②经过仔细的研究设计和外部验证的纵向多中心临床试验;③对于肿瘤发生发展过程中所涉及的生化途径进一步探究,直接证明 VOCs 的生化来源。我们相信,这些发现最终将有助于 VOCs 检测成为一种肿瘤早期筛查和早期诊断技术的发展,使 VOCs 检测能够实现其发展潜力,并成为个性化医学诊疗中的关键工具。

### 【参考文献】

- [1] Schmidt K, Podmore I. Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer[J]. *J Biomarkers*, 2015, 2015(3): 981458.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] Horváth I, Lázár Z, Gyulai N, et al. Exhaled biomarkers in lung cancer[J]. *Eur Respir J*, 2009, 34(1): 261-275.
- [4] Phillips M, Cataneo RN, Greenberg J, et al. Effect of oxygen on breath markers of oxidative stress[J]. *Eur Respir J*, 2003, 21(1): 48-51.
- [5] Peng G, Hakim M, Broza YY, et al. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors[J]. *Brit J Cancer*, 2010, 103(4): 542-551.
- [6] Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, et al. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography[J]. *Pnatl Acad Sci USA*, 1971, 68(10): 2374-2376.
- [7] Gordon SM, Szidon JP, Krotoszynski BK, et al. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer[J]. *Clin Chem*, 1985, 31(8): 1278-1282.
- [8] Spanel P, Smith D, Holland TA, et al. Analysis of formaldehyde in the headspace of urine from bladder and prostate cancer patients using selected ion flow tube mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass*, 1999, 13(14): 1354-1359.
- [9] Huang J, Kumar S, Abbassi-Ghadi N, et al. Selected ion flow tube mass spectrometry analysis of volatile metabolites in urine headspace for the profiling of gastro-esophageal cancer[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(6): 3409-3416.
- [10] Batty CA, Cauchi M, Lourenço C, et al. Use of the Analysis of the Volatile Faecal Metabolome in Screening for Colorectal Cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130301.
- [11] Smith D, Wang T, Sulé-Suso J, et al. Quantification of acetaldehyde released by lung cancer cells in vitro using selected ion flow tube mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass*, 2003, 17(8): 845-850.
- [12] Van De Goor R, Van Hooren M, Dingemans AM, et al. Training and Validating a Portable Electronic Nose for Lung Cancer Screening[J]. *J Thorac Oncol*, 2018, 13(5): 676-681.
- [13] Feinberg T, Alkoby-Meshulam L, Herbig J, et al. Cancerous glucose metabolism in lung cancer-evidence from exhaled breath analysis[J]. *J Breathres*, 2016, 10(2): 026012.
- [14] Handa H, Usuba A, Maddula S, et al. Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114555.
- [15] O'neill HJ, Gordon SM, O'neill MH, et al. A computerized classification technique for screening for the presence of breath biomarkers in lung cancer[J]. *Clin Chem*, 1988, 34(8): 1613-1618.
- [16] Preti G, Labows JN, Kostele JG, et al. Analysis of lung air from patients with bronchogenic carcinoma and controls using gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr*, 1988, 432: 1-11.
- [17] Khyshiktyev BS, Khyshiktueva NA, Ivanov VN, et al. Diagnostic value of investigating exhaled air condensate in lung cancer[J]. *Vop Onk*, 1994, 40(4-6): 161-164.
- [18] Phillips M, Gleeson K, Hughes JM, et al. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study[J]. *Lancet*, 1999, 353(9168): 1930-1933.
- [19] Phillips M, Cataneo RN, Cummin AR, et al. Detection of lung cancer with volatile markers in the breath[J]. *Chest*, 2003, 123(6): 2115-2123.
- [20] Phillips M, Bauer TL, Pass HI. A volatile biomarker in breath predicts lung cancer and pulmonary nodules[J]. *J Breath Res*, 2019, 13(3): 036013.
- [21] Fuchs P, Loeseken C, Schubert JK, et al. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(11): 2674-2679.

- 2663-2670.
- [22] Wang C, Dong R, Wang X, *et al.* Exhaled volatile organic compounds as lung cancer biomarkers during one-lung ventilation [J]. *Sci Rep*, 2014, 2014(4):7312.
- [23] Peralbo-Molina A, Calderón-Santiago M, Priego-Capote F, *et al.* Identification of metabolomics panels for potential lung cancer screening by analysis of exhaled breath condensate[J]. *J Breath Res*, 2016, 10(2): 026002.
- [24] Hakim M, Broza YY, Barash O, *et al.* Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways[J]. *Chem Rev*, 2012, 112(11): 5949-5966.
- [25] Altomare DF, Di Lena M, Porcelli F, *et al.* Exhaled volatile organic compounds identify patients with colorectal cancer[J]. *Brit J Surg*, 2013, 100(1): 144-150.
- [26] Altomare DF, Di Lena M, Porcelli F, *et al.* Effects of Curative Colorectal Cancer Surgery on Exhaled Volatile Organic Compounds and Potential Implications in Clinical Follow-up[J]. *Ann Surg*, 2015, 262(5): 862-866.
- [27] Kumar S, Huang J, Abbassi-Ghadi N, *et al.* Mass Spectrometric Analysis of Exhaled Breath for the Identification of Volatile Organic Compound Biomarkers in Esophageal and Gastric Adenocarcinoma[J]. *Ann Surg*, 2015, 262(6): 981-990.
- [28] Chen Y, Zhang Y, Pan F, *et al.* Breath Analysis Based on Surface-Enhanced Raman Scattering Sensors Distinguishes Early and Advanced Gastric Cancer Patients from Healthy Persons[J]. *Acs Nano*, 2016, 10(9): 8169-8179.
- [29] Silva CL, Passos M, Câmara JS. Investigation of urinary volatile organic metabolites as potential cancer biomarkers by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Brit J Cancer*, 2011, 105(12): 1894-1904.
- [30] Arasaradnam RP, Mcfarlane MJ, Ryan-Fisher C, *et al.* Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108750.
- [31] Westenbrink E, Arasaradnam RP, O'connell N, *et al.* Development and application of a new electronic nose instrument for the detection of colorectal cancer [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 2015(67):733-738.
- [32] Arasaradnam RP, Wicaksono A, O'brien H, *et al.* Noninvasive Diagnosis of Pancreatic Cancer Through Detection of Volatile Organic Compounds in Urine [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(3): 485-487.
- [33] Lima AR, Pinto J, Azevedo AI, *et al.* Identification of a biomarker panel for improvement of prostate cancer diagnosis by volatile metabolic profiling of urine[J]. *Brit J Cancer*, 2019, 121(10): 857-868.
- [34] De Meij TG, Larbi IB, Van Der Schee MP, *et al.* Electronic nose can discriminate colorectal carcinoma and advanced adenomas by fecal volatile biomarker analysis: proof of principle study[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(5): 1132-1138.
- [35] Navaneethan U, Parsi MA, Gutierrez NG, *et al.* Volatile organic compounds in bile can diagnose malignant biliary strictures in the setting of pancreatic cancer: a preliminary observation[J]. *Gastrointest Endosc*, 2014, 80(6): 1038-1045.
- [36] Navaneethan U, Parsi MA, Lourdasamy V, *et al.* Volatile organic compounds in bile for early diagnosis of cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis: a pilot study [J]. *Gastrointest Endosc*, 2015, 81(4): 943-949.
- [37] Navaneethan U, Spencer C, Zhu X, *et al.* Volatile organic compounds in bile can distinguish pancreatic cancer from chronic pancreatitis: a prospective observational study[J]. *Endoscopy*, 2020. doi:10.1055/a-1255-9169.

(收稿日期:2020-12-11; 修回日期:2021-01-05)

(责任编辑:刘玉巧; 英文编辑:朱一超)