

电子尼古丁传送系统安全评价及风险评估

田永峰, 杨柳, 段沅杏, 赵伟, 杨继, 巩效伟, 李寿波, 陈永宽

云南中烟工业有限责任公司技术中心, 昆明 650224

摘要 电子尼古丁传送系统(ENDS)具有成分简单、烟碱含量可控等优点,被认为是一种理想的卷烟有效替代品。由于电子尼古丁传送系统在尼古丁释放过程中不发生燃烧,可降低烟雾中的有害成分,被认为可降低对吸烟者造成的危害。为进一步认识ENDS,本文综述了其使用中可能面临的DNA损伤及典型有害成分亚硝胺和苯并[a]芘的致突变性等问题。从化学分析、毒理学、细胞暴露、动物实验和临床研究5个方面讨论了ENDS的风险性,并对ENDS的发展进行了展望。

关键词 电子尼古丁传送系统;风险评估;烟草特有亚硝胺;苯并[a]芘

吸烟对健康有潜在风险,因此以丙二醇、丙三醇、香精香料及一定含量尼古丁制成的电子尼古丁传送系统(electronic nicotine delivery system, ENDS)被认为是低危害的卷烟替代品。近期,ENDS中使用发烟液的安全性、烟碱来源及未成年人接触ENDS的途径等问题引起国内外专家学者的关注^[1]。随着ENDS消费市场的迅猛发展,大量制造企业涌入,市售ENDS的质量安全引起越来越多的争议。当前,立足中国国情并结合市场发展规律,对ENDS进行深入的了解,使之走上标准化、科学化的发展迫在眉睫^[2]。

ENDS是一种依靠电加热方式使含有尼古丁的液体雾化的设备。1963年,Herbert A Gilbert以“无烟气无烟草卷烟”(Smokeless Nontobacco Cigarette)申请了专利,但并未推出市场化产品;2003年,韩力在中国发明了市场化的ENDS产品,并在1年后以低危害、帮助戒烟为卖点,以吸烟人群为目标消费者推入市场^[3-4]。ENDS作为卷烟的替代品,其尼古丁等成分的科学添加量还缺乏充分的研究。已有文献报道,卷烟烟气中的尼古丁是致吸烟者成瘾的主要原因^[5]。ENDS的尼古丁释放量(0.025~0.77 mg/15口)明显低于卷烟(2 mg/15口)^[6],因此,ENDS相比于卷烟具有较低的致瘾性。

本文从ENDS使用中的潜在问题、风险评估等方面对现有的ENDS研究进行综述,主要对ENDS化学成分、毒理学评价、临床试验等科学研究结果进行总结分析,以期提供该领

域最新研究进展,为更好地开展下一步研究提供帮助。

1 ENDS暴露后DNA的损伤修复及致突变风险

ENDS由于使用雾化器产生烟雾,与传统卷烟相比没有燃烧过程,因此具有烟雾成分简单、含量可控的优势。但ENDS中典型致癌成分亚硝胺(TSNAs)和苯并[a]芘(B[a]P)均可与DNA发生作用,作用后生成的加合物不仅会干扰DNA复制,修复后的DNA还会产生无嘌呤位点,引发基因突变。McAuley对电子烟烟雾中羰基化合物、挥发性有机物、B[a]P、TSNAs进行研究,得出结论认为,ENDS烟雾中有害成分剂量对成年人或是未成年人均没有明显致突变性,但在室内环境下,以上物质含量会随着抽吸过程累积增加,会导致接触人群有潜在风险^[7]。

ENDS烟雾中痕量有害成分(外源物质)进入体内后会在内源物质(与代谢密切相关的细胞色素P450酶系)的作用下生成大量的自由基,自由基与DNA中的碱基可以形成一系列的加合物(DNA adducts),进而对DNA造成损伤。损伤后的DNA通过错配修复,碱基切除修复和核苷酸切除修复机制进行修复。一旦损伤后的DNA未被有效修复,进入复制阶段即有可能导致基因突变诱发癌症。另外,DNA修复过程中造成的无嘌呤位点也有可能导致复制过程中的基因缺失,造成基因缺陷(图1)^[8-14]。

收稿日期:2015-09-06;修回日期:2016-05-13

基金项目:中国烟草总公司科技重大专项(110201401017)

作者简介:田永峰,博士,研究方向为烟草化学、新型烟草制品质量评价,电子信箱:yongfengtian@126.com;陈永宽(通信作者),研究员,研究方向为烟草化学,电子信箱:chenyk@ynzy-tobacco.com

引用格式:田永峰,杨柳,段沅杏,等.电子尼古丁传送系统安全评价及风险评估[J].科技导报,2016,34(24):131-136;doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.24.020

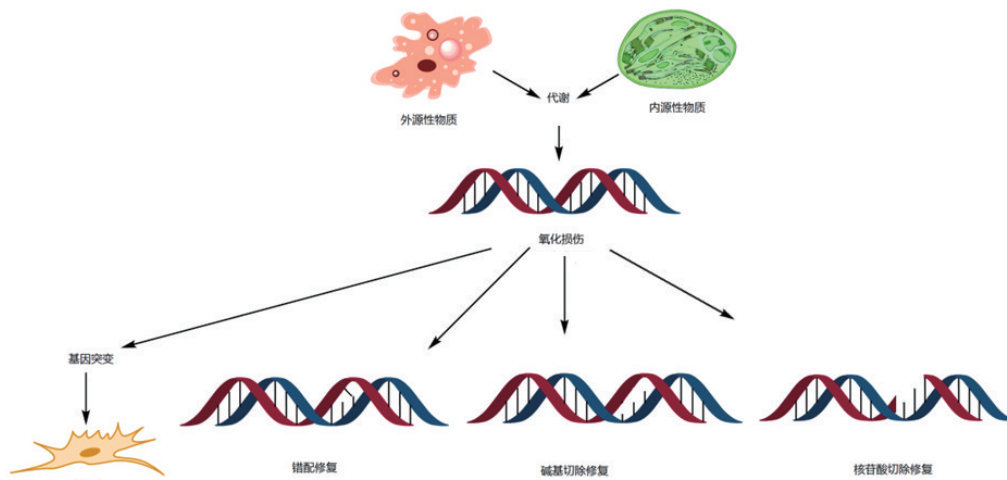


图1 DNA的损伤修复及患癌风险

Fig. 1 DNA damage-repair and cancer risk

2 ENDS 烟雾中典型致癌物 B[a]P 和 TSNA_s 的致癌机理

ENDS 烟雾中典型的致癌物为 TSNA_s 和多环芳烃, 其中

代表物质为 4-甲基亚硝基-1, 3 吡啶基-1-丁醇 (NNK) 和 B[a]P。他们的致突变机理如图 2 和图 3 所示。

ENDS 烟雾中特有的 TSNA_s 是环境中人类暴露的主要烷

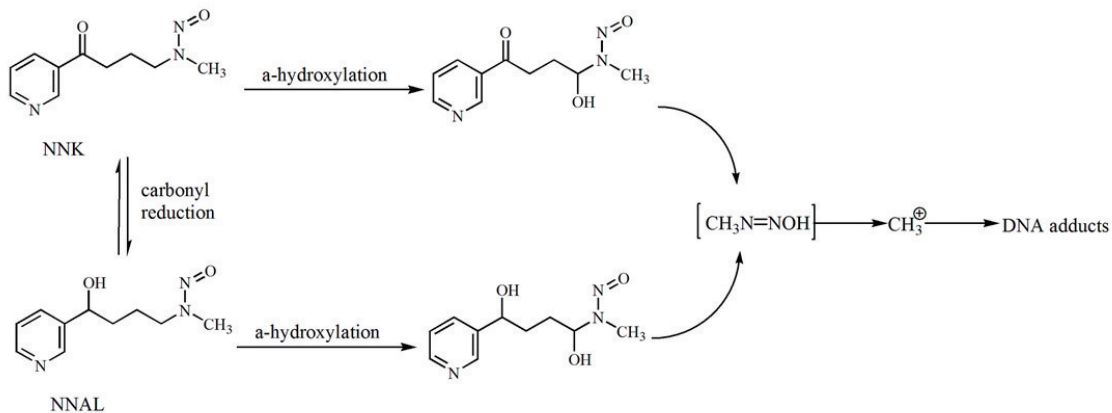


图2 NNK 导致的 DNA 损伤途径

Fig. 2 NNK caused DNA damage pathway

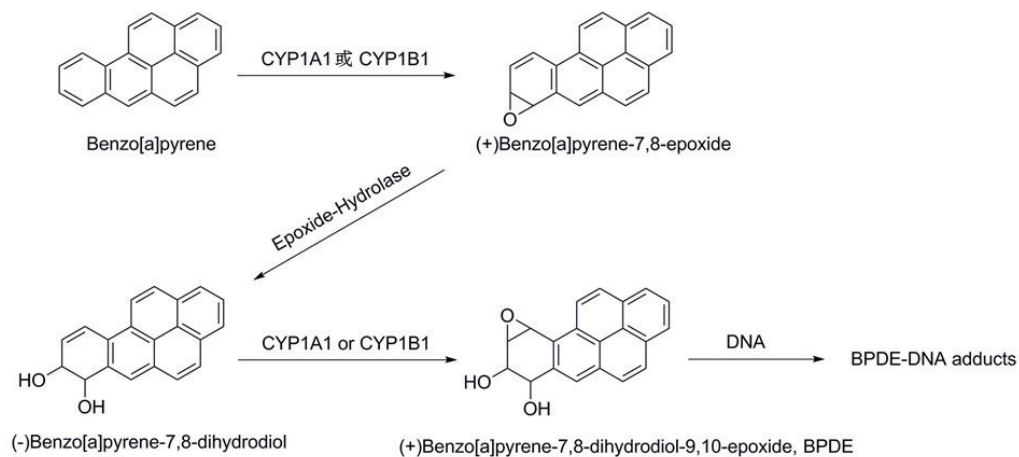


图3 B[a]P 导致的 DNA 损伤途径

Fig. 3 B[a]P caused DNA damage pathway

基化DNA诱变剂之一,其中NNK在细胞色素P450酶的参与下会发生 α 位羟基化,羟基化会导致NNK中的甲基亚硝基成为活性基团并释放出烷基自由基。自由基与DNA碱基发生反应生成烷化类DNA加合物(图2)^[15-17]。由于DNA的修复机制导致的基因错配、基因缺失,甚至基因突变最终诱发癌症。

ENDS烟雾中另一种主要潜在致癌物质为B[a]P。B[a]P进入人体后,在细胞色素P4501A1(CYP1A1)或P4501B1(CYP1B1)作用下氧化成7,8-环氧B[a]P,后者在水解酶的催化下,水解成7,8-二氢二醇B[a]P^[18]。7,8-二氢二醇环氧B[a]P被细胞色素P450酶代谢为二氢二醇环氧B[a]P(7,8-dihydrodiol-9,10-epoxidebenzo(a)pyrene, BPDE)。BPDE是B[a]P的终致癌物,BPDE可与鸟嘌呤亲核位点外环胺基端共价结合生成BPDE-DNA加合物^[19-27]。BPDE-DNA加合物可以诱导p53基因G到T的突变及活化ras原癌基因,最终诱发癌症。

3 ENDS与卷烟相比可能面临的风险

卷烟是人体接触尼古丁的主要方式。吸烟相关疾病的病理学研究表明,其致病方式为烟气中的自由基引起氧化损伤和炎症反应,以及烟气中少量致癌物作用于机体后引起的毒理学效应^[28],人们认为这些化合物是在烟丝燃烧过程中产生的。ENDS发烟机理与卷烟完全不同,因此被认为可有效降低上述风险。Stephen等^[29]对28名使用ENDS的志愿者尿液中1-羟基苊(1-OHP)、4-甲基-1,3-吡啶基-1-丁酮(NNAL)、巯基尿酸类化合物(3-HPMA、2-HPMA、HMPMA、SPMA)、尼古丁(Nicotine)、可替宁(Cotinine)等生物标志物研究表明,ENDS接触人群尿液中除尼古丁(896 ng/mL)和可替宁(1880 ng/mL)含量与吸烟者接近外(吸烟者的尼古丁:1270~1380 ng/mL;可替宁:1930~3930 ng/mL),其余生物标志物含量均明显低于卷烟吸烟者。据世界卫生组织(WHO)研究表明尼古丁虽然不具有致癌性^[30],但是它被认为对吸烟者具有潜在的至瘾性。ENDS烟雾中尼古丁释放量(0.01~0.35 mg/7口)低于传统卷烟(1 mg/7口)^[31],研究表明,ENDS使用人群(Vapors)血液中尼古丁含量在10~15 ng/mL^[32-33],这与吸烟者抽吸卷烟的血液尼古丁含量(15~30 ng/mL)基本一致^[34]。针对抽吸ENDS和传统卷烟后尼古丁的主要代谢物可替宁在唾液和血清中含量的研究也得到了含量相接近的结果^[35-37]。以上研究表明,Vapors与吸烟者相比,血液中尼古丁含量并未明显降低。Vapors尿液中的生物标志物含量明显低于抽吸卷烟的吸烟人群,但是尼古丁含量却与吸烟人群含量基本一致。因此,Vapors可能面临更高的烟碱成瘾风险。

4 ENDS的安全和风险性评估

对于ENDS的安全/风险性评估主要围绕3方面展开,即化学毒性评价、毒理学评价和临床实验。对于安全/风险性评估来说临床实验最有意义,对实验条件要求也最高。实验过程中需要面对一系列的问题,如实验方案设计、伦理学审核

和高昂的实验费用。因此,目前多数实验还是从体外毒理学入手,使用短期高剂量接触方法,或生理代谢机制方法限制性地研究ENDS接触后可能引起的相关疾病。

4.1 化学毒性评价

化学毒性评价法的优点是操作简单易行,并且可快速得到结果;缺点是研究只能从已知的化学成分入手(一般为已知的烟气中的有毒化学成分),但是一些烟雾中的未知和潜在的有毒化学成分却无法评估。Laugesen等^[38]首次使用化学方法对ENDS的气溶胶组分进行研究,结果表明,卷烟中的有害化学物质,如多环芳烃、酚类化合物都没有检测到,只检测到痕量的汞、甲醛和乙醛,另外烟雾中尼古丁含量仅为传统卷烟烟气的30%~50%,因此Laugesen认为ENDS对吸烟者的损害低于传统卷烟。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)采集了18种市售ENDS,检测发烟液中的烟草特有TSNAs(TSNAs),结果未检出TSNAs,只检测到微量的二甘醇^[39]。Kim等^[40]检测了市售的105个ENDS发烟液中的TSNAs含量,检测的105个样品中的TSNAs的平均值为12.99 μ g/mL。另外,Hecht分析了28个电子烟吸烟者尿液中B[a]P特异性标志物1-羟基苊(1-HOP),NNK特异性标志物Total NNAL。1-HOP和Total NNAL含量分别为0.38和0.02 pmol/mL^[41]。以上研究表明,虽然电子烟中TSNAs、B[a]P等化合物含量较低,但对吸烟者的潜在影响不容忽视,并且烟雾中的痕量重金属在体内会发生Fenton反应,释放自由基,导致DNA氧化损伤^[42]。

4.2 毒理学评价

目前,ENDS的毒理学研究还处于细胞水平。细胞毒理学实验存在的问题是无法完全模拟体内环境,因此细胞毒理学实验结果可能高估或低估ENDS的毒性作用。Bahl等^[43]研究了36种ENDS发烟液在人胚胎干细胞、大鼠神经干细胞和人肺纤维细胞体系中的细胞毒性,结果表明干细胞对发烟液更为敏感,15个样品表现出中等细胞毒性,12个样品表现出高级细胞毒性。但是Bahl未研究ENDS烟雾的细胞毒性,发烟液本身的细胞毒性与发烟液雾化后通过吸入方式与细胞接触的细胞毒性有较大差别。Romagna等^[44]首次使用ENDS的烟雾对肺纤维干细胞进行暴露。试验在ISO 10993-5标准指导下进行。他们采集了市售21个发烟液样品,尼古丁含量均为9 mg/mL,细胞暴露24 h,对照组为卷烟烟气萃取液。结果表明,仅有一个发烟液的烟雾表现出低细胞毒性,而卷烟烟气萃取液则表现出高细胞毒性。Behar等^[45]在细胞水平(人胚胎干细胞、肺纤维细胞)对ENDS发烟液和烟雾做了较为全面的毒理学评估,研究结果表明,发烟液对人胚胎干细胞和肺纤维细胞均表现出明显的细胞毒性,但是对烟雾进行毒理学评估时却未发现具有细胞毒性。

Robertson等在1947年就对丙二醇、丙三醇(构成发烟液的主要成分)进行了动物毒理学评估。对灵长类动物进行了数月的丙二醇、丙三醇吸入暴露后对动物进行解剖检验,在

包括肺在内的器官中并未发现丙二醇、丙三醇具有毒性^[46]。近年来也有大量的动物毒理学试验证明了丙二醇、丙三醇无毒性^[47]。对于丙二醇、丙三醇的长期接触职业暴露人群研究表明,丙二醇、丙三醇长期接触并未发现对肺部有永久性的损伤,其他器官也未发现产生永久性损伤^[48]。在动物模型试验中卷烟烟气接触后可引起肺、肝和肾的损伤^[49],但是尚未见到有关 ENDS 烟雾与卷烟烟气接触的毒理学对比研究报告。

综上所述,细胞、动物毒理学相关研究结果表明,ENDS 烟雾与卷烟烟气相比具有明显的低危害性。因此,从细胞、动物毒理学实验结果可以初步认为 ENDS 与卷烟相比具有低危害性。

4.3 临床实验

对于 ENDS 的风险性评估,最有意义的就是临床实验。但临床实验的开展需要对大量的志愿者进行多年的跟踪研究,最终才能获得有说服力的数据来证明 ENDS 的使用风险。开展的吸烟者的调查研究可以快速、廉价地得到所需要的信息,实验过程中,使用自我报告、高密度自我采集或者这两种方法交叉使用是这类实验通常采用的方法。目前使用上述方法得到的实验结果证明 ENDS 的使用是相对安全的。Polosa 等^[50]对志愿者进行了长达 24 个月的跟踪研究,其中有 6 个月的时间提供 ENDS,结果只观察到个别的志愿者口腔、喉部出现不适或咳嗽等症状。大量针对 ENDS 使用者的采用自我报告方法的跟踪调查研究表明,ENDS 的使用者报告最多的症状为喉部不适和咳嗽^[51-53]。

临床上还有针对 ENDS 抽吸人群短期监测的报道。Var-davas 等^[54]研究了临床上抽吸 5 min 后,对呼吸系统造成的急性症状,结果发现志愿者呼出气体中氮氧化物含量水平升高,表明抽吸 ENDS 可能对志愿者健康产生影响。但是以上研究均未涉及与卷烟的对比研究。Farsalinos 等^[55]对 ENDS 接触人群心脑血管系统产生的急性影响进行了研究,结果发现,ENDS 接触人群(尼古丁含量 11 mg/mL)的心脏输出血压有微弱的升高,吸烟者心脏收缩,心脏输出和心率均表现出明显升高。目前为止,临床上关于 ENDS 的研究局限在短期接触后的心脑血管系统和呼吸系统影响,研究结果表明,与吸烟者相比,仅有个别 ENDS 接触人群心脑血管和呼吸系统出现应激反应。针对 ENDS 接触的临床实验目前还缺乏长期接触的实验数据。

5 展望

ENDS 由于具有成分简单、含量可控的优势,具备了针对烟雾中特定组分进行深入研究的条件。因此对于 ENDS 的研究应该采用更为全面的测试指标进行研究。目前,国际上针对 ENDS 的风险评估程序和评价方法还没有标准。随着 ENDS 制品的不断涌现,发展多种评估 ENDS 毒性的体外实验方法,建立合适的动物吸入模型。采用不同的生物标志物检测手段,如基因探针、高分辨质谱等,对 ENDS 开展科学、客

观、特异性的评估,将是针对 ENDS 风险评估研究的发展方向。将上述检测方法,应用于基因组学、蛋白组学以及代谢组学方向,开展 ENDS 暴露下体外细胞培养,动物模型体内的生理生化反应,志愿者代谢物中生物标志物的剂量效应关系等方面的研究,并结合传统分析化学、毒理学表征指标和评价方法,综合评估 ENDS 的使用风险。这将为 ENDS 走上标准化、科学化发展,降低其潜在危害提供科学依据和理论支撑。

参考文献(References)

- [1] 谢建平. 电子烟相关技术与法律监管[C]//中国烟草学会 2014 年学术年会. 北京, 2014-12-23.
Xie Jianping. E-cigarette technology and legal supervision[C]//The Chinese Society of Tobacco in 2014 Academic Conference. Beijing, Dec 23, 2014.
- [2] 李保江. 全球电子烟市场发展、主要争议及政府管制[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(4): 101-107.
Li Baojiang. Electronic cigarette development, the main issues and government regulation in global market[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2014, 20(4): 101-107.
- [3] Henningfield J E, Zaatari G S. Electronic nicotine delivery systems: emerging science foundation for policy[J]. Tobacco Control, 2010, 19(19): 89-90.
- [4] Dawkins L, Concoran O. Acute electronic cigarette use: nicotine delivery and subjective effects in regular users[J]. Psychopharmacology, 2014, 231(2): 401-407.
- [5] Jasinska A J, Zorick T, Brody A L, et al. Dual role of nicotine in addiction and cognition: A review of neuroimaging studies in humans[J]. Neuropharmacology, 2014, 84(1): 111-122.
- [6] Goniewicz M L, Kuma T, Gawron M, et al. Nicotine levels in electronic cigarettes[J]. Nicotine Tobacco Research, 2012, 15(1): 158-166.
- [7] McAuley T R, Hopke P K, Zhao J, et al. Comparison of the effects of ecigarette vapor and cigarette smoke on indoor air quality Inhalation Toxicology[J]. Inhalation Toxicology, 2012, 24(12): 850-857.
- [8] Phillips D H. DNA adducts as markers of exposure and risk[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2005, 577(1/2): 284-292.
- [9] Hang B, Chenna A, Rao S, et al. 1, N⁶-ethenoadenine and 3, N⁴-ethenocytosine are excised by separate human DNA glycosylases[J]. Carcinogenesis, 1996, 17(1): 155-157.
- [10] Petronzelli F, Riccio A, Markham G D, et al. Biphasic kinetics of the human DNA repair protein MED1 (MBD4), a mismatch-specific DNA N-Glycosylase[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(42): 32422-32429.
- [11] Shen M, Bin P, Li H-B, et al. Increased levels of etheno-DNA adducts and genotoxicity biomarkers of long-term exposure to pure diesel engine exhaust[J]. Science of the Total Environment, 2016, 543: 267-273.
- [12] Ghissassi F, Barbin A, Nair J, et al. Formation of 1, N⁶-ethenoadenine and 3, N⁴-ethenocytosine by lipid peroxidation products and nucleic acid bases[J]. Chemical Research in Toxicology, 1995, 8(2): 278-283.

- [13] Wang Y, Millonig G, Nair J, et al. Ethanol-induced cytochrome P450 2E1 causes carcinogenic etheno-DNA lesions in alcoholic liver disease[J]. *Hepatology*, 2009, 50(2): 453-461.
- [14] Seitz H K, Stickel F. Risk factors and mechanisms of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress[J]. *Biological Chemistry*, 2006, 387(4): 349-360.
- [15] You S J, Wang J S, Dai X X, et al. Transcriptional inhibition and mutagenesis induced by N-nitroso compound-derived carboxymethylated thymidine adducts in DNA[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(2): 1012-1018.
- [16] Kim H, Shin H. Determination of tobacco-specific nitrosamines in replacement liquids of electronic cigarettes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1291(2): 48-55.
- [17] Chen H J, Lee C R. Detection and simultaneous quantification of three smoking-related ethylthymidine adducts in human salivary DNA by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Toxicology Letters*, 2014, 224(1): 101-107.
- [18] Conney A H, Chang I L, Jerina D M, et al. Studies on the metabolism of benzo[a]pyrene and dose-dependent differences in the profile of its ultimate carcinogenic metabolite[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 1994, 26(1/2): 125-163.
- [19] Shimada T, Gillam E M, Oda Y, et al. Metabolism of Benzo[a]pyrene to trans-7, 8-Dihydroxy-7, 8-dihydrobenzo[a]pyrene by Recombinant Human Cytochrome P450 1B1 and Purified Liver Epoxide Hydrolase [J]. *Chemical Research Toxicology*, 1999, 12(7): 623-629.
- [20] Nesnow S, Davis C, Nelson G B, et al. Comparison of the genotoxic activities of the K-region dihydrodiol of benzo[a]pyrene with benzo[a]pyrene in mammalian cells: morphological cell transformation; DNA damage; and stable covalent DNA adducts[J]. *Mutation Research*, 2002, 521(1-2): 91-102.
- [21] Dipple A. Formation, metabolism, and mechanism of action of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Cancer Research*, 1983, 43(Suppl 5): 2422-2425.
- [22] Jeffrey A M, Jennette K W, Blohstein S H, et al. Benzo[a]pyrene-nucleic acid derivative found in vivo: structure of a benzo[a]pyrenetetrahydrodiol epoxide-guanosine adduct[J]. *ChemInform*, 1976, 98(48): 5714-5715.
- [23] Denissenko M F, Pan A, Tang M, et al. Preferential formation of benzo[a]pyrene Adducts at lung cancer mutational hotspots in P53[J]. *Science*, 1996, 274(5286): 430-432.
- [24] Rugged B, Dirado M, Zhang S Y, et al. Benzo[a]pyrene-induced murine skin tumors exhibit frequent and characteristic G to T mutations in the p53 gene[J]. *PNAS*, 1993, 90(3): 1013-1017.
- [25] Hhsgafvel-pttriainen K, Ridanpaa M, Anttila S, et al. p53 and ras gene mutations in lung cancer: implications for smoking and occupational exposures[J]. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 1995, 37(1): 69-76.
- [26] Ross J A, Nesnow S. Polycyclic aromatic hydrocarbons between DNA adducts and ras oncogene mutations[J]. *Mutation Research*, 1999, 424(1/2): 155-166.
- [27] Marshall C J, Vousden K H, Phillips D H. Activation of c-Ha-ras-1 proto-oncogene by in vitro modification with a chemical carcinogen, benzo(a)pyrene diolepoxide[J]. *Nature*, 1984, 310(5978): 586-589.
- [28] Pfeifer G P, Denissenko M F, Olivier M, et al. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers [J]. *Oncogene*, 2002, 21(48): 7435-7451.
- [29] Hecht S S, Carmella B S, Kotandeniya D, et al. Evaluation of toxicant and carcinogen metabolites in the urine of E-Cigarette users versus cigarette smokers[J]. *Nicotine & Tobacco Research*, 2015, 17(6): 704-709.
- [30] Ambrose J Z, Barua R S. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: An update[J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 43(10): 1731-1737.
- [31] Dawkins L, Turnern J, Roberys A, et al. 'Vaping' profiles and preferences: an online survey of electronic cigarette users[J]. *Addiction*, 2013, 108(6): 1115-1125.
- [32] Dawkins L, Concoran O. Acute electronic cigarette use: nicotine delivery and subjective effects in regular users[J]. *Psychopharmacology*, 2014, 231(2): 401-407.
- [33] Vansickel A R, Eissenberg T. Electronic cigarettes: Effective nicotine delivery after acute administration[J]. *Nicotine Tobacco Research*, 2013, 15(1): 267-270.
- [34] Hukkanen J, Jacob P, Benowitz N L. metabolism and disposition kinetics of nicotine[J]. *Pharmacological Reviews*, 2005, 57(1): 79-115.
- [35] Etter J F, Bullen C. Salvia cotinine levels in users of electronic cigarettes[J]. *European Respiratory Journal*, 2011, 38(5): 1219-1220.
- [36] Etter J, Bullen C. Electronic cigarette: users profile, utilization, satisfaction and perceived efficacy[J]. *Addiction*, 2011, 106(11): 2017-2028.
- [37] Flouris A D, Chorti M S, Poulaniiti K P, et al. Acute impact of active and passive electronic cigarette smoking on serum cotinine and lung function[J]. *Inhalation Toxicology*, 2013, 25(2): 91-101.
- [38] Laugesen M. Safety report on the Ruyan® e-cigarette cartridge and inhaled Aerosol[R]. 2015-09-06. <http://www.healthnz.co.nz/RuyanCartridgeReport30-Oct-08.pdf>. 2008.
- [39] Westenberer B. Evaluation of e-Cigarettes. St. Louis, MO: Department of health and human services, food and drug administration, center for drug evaluation and research[R]. Division of Pharmaceutical Analysis. 2015- 09- 06. <http://www.fda.gov/downloads/drugs/Scienceresearch/UCM173250.pdf>. 2013.
- [40] Kim H, Shin H. Determination of tobacco-specific nitrosamines in replacement liquids of electronic cigarettes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1291(2): 48-55.
- [41] Bahl V, Lin S, Xu N, et al. Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models[J]. *Reproductive Toxicology*, 2012, 34(4): 529-537.
- [42] Hecht S S, Carmella B S, Kotandeniya D, et al. Evaluation of toxicant and carcinogen metabolites in the urine of E-Cigarette users versus cigarette smokers[J]. *Nicotine & Tobacco Research*, 2015, 17(6): 704-709.
- [43] Toyokuni S. Iron and carcinogenesis: from Fenton reaction to target genes[J]. *Redox Report*, 2002, 7(4): 189-196.

- [44] Romagna G, Alliffranchini E, Bocchietto E, et al. Cytotoxicity evaluation of electronic cigarette vapor extract on cultured mammalian fibroblasts (ClearStream-LIFE): Comparison with tobacco cigarette smoke extract[J]. *Inhalation Toxicology*, 2013, 25(6): 354-361.
- [45] Behar R, Davis B, Wang Y, et al. Identification of toxicants in cinnamon-flavored electronic cigarette refill fluids[J]. *Toxicology In Vitro*, 2014, 28: 198-208.
- [46] Robertson O, Loosli C, Puck T, et al. Tests for the chronic toxicity of propylene glycol and triethylene glycol on monkeys and rats by vapor inhalation and oral administration[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1947, 131(91): 52-76.
- [47] Werley M, McDonald P, Lilly P, et al. Non-clinical safety and pharmacokinetic evaluations of propylene glycol aerosol in Sprague-Dawley rats and Beagle dogs[J]. *Toxicology*, 2011, 287(1-3): 76-90.
- [48] Wieslander G, Norback D, Lindgren T. Experimental exposure to propylene glycol mist in aviation emergency training: Acute ocular and respiratory effects[J]. *Occupational and Environmental Medicine*, 2001, 58(10): 649-655.
- [49] Czekaj P, Palasz A, Lebda-wyborny T, et al. Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke[J]. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 2002, 75(1): S27-S35.
- [50] Polosa R, Morjaria J, Caponnetto P, et al. Effectiveness and tolerability of electronic cigarette in real-life: A 24-month prospective observational study[J]. *Internal and Emergency Medicine*, 2014, 9(5): 537-546.
- [51] Farsalinos K, Romagna G, Tsiapras D, et al. Evaluating nicotine levels selection and patterns of electronic cigarette use in a group of "vapers" who had achieved complete substitution of smoking[J]. *Subst Abuse*, 2013, 7(7): 139-146.
- [52] Dawkins L. Electronic cigarettes: what are they and are they effective? E-Cigarette Summit, London, UK[R]. [2015-09-01]. <http://e-cigarette-summit.com/wp-content/uploads/2013/12/Summit-Presentations.pdf>. 2013.
- [53] Etter J, Bullen C. Electronic cigarette: Users profile, utilization, satisfaction and perceived efficacy[J]. *Addiction*, 2011, 106(11): 2017-2028.
- [54] Vardavas C, Anagnostopoulos N, Kougias M, et al. Short-term pulmonary effects of using an electronic cigarette: Impact on respiratory flow resistance, impedance, and exhaled nitric oxide[J]. *Chest*, 2012, 141(6): 1400-1406.
- [55] Farsalinos K, Tsiapras D, Kyrzopoulos S, et al. Acute effects of using an electronic nicotine-delivery device (e-cigarette) on myocardial function: comparison with the effects of regular cigarettes[J]. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2014, 14(1): 1-10.

Safety assessment methods and risk evaluation for electronic nicotine delivery system

TIAN Yongfeng, YANG Liu, DUAN Yuanxing, ZHAO Wei, YANG Ji, GONG Xiaowei, LI Shoubo, CHEN Yongkuan

Technology Center of China Tobacco Yunnan Industry Co., Ltd., Kunming 650224, China

Abstract Electronic nicotine delivery system (ENDS) has the advantage of chemically simple and nicotine contents controllable, and is considered to be the ideal substitute for cigarette. Meanwhile, ENDS is marketed as less harmful alternatives to cigarette because of not burning in the nicotine delivery process and less harmful chemical components in vapor. To deeply study ENDS, DNA damage and mutation caused by tobacco specific nitrosamines (TSNAs) and benzo(a)pyrene in ENDS vapor are reviewed in this paper. Risk evaluation of ENDS in chemical analysis, toxicology, cell exposure, animals experiments and clinical research are also discussed. Finally, the future development of ENDS is prospected.

Keywords electronic nicotine delivery system; risk evaluation; tobacco specific nitrosamines; benzo(a)pyrene

(责任编辑 王媛媛)