

三聚氰胺及其同系物三聚氰酸的生物学效应和毒理学研究进展

胡 虎, 盛宏强, 马晓琼, 来茂德

(浙江大学医学院 病理学与病理生理学系, 浙江 杭州 310058)

[摘要] 三聚氰胺因为最近的奶粉事件成为食品公共安全的焦点,所以针对三聚氰胺及其同系物三聚氰酸的生物学效应和毒理学研究作一综述,主要从理化性质、代谢、毒理机制,以及检测等方面进行总结。三聚氰胺和三聚氰酸本身的急性毒性作用很低,体内为惰性代谢,大部分以原型从尿液排出,大剂量应用时主要对肾脏产生毒性,产生结石,急性肾衰和结石相关的膀胱肿瘤,但同时可能对心脏等肾脏以外的器官产生毒性作用。它们的毒性具有对动物物种的选择性,相对于小鼠、猫和大鼠的肾脏毒性反应更大,而且在雄性动物更加明显。在检测上,HPLC/MS/MS正在成为主要的检测手段。尽管对这一类化合物的生物学效应和毒理学特性已有一定的理解,但仍然存在问题,比如,为何肾脏成为结晶产生的主要器官,对肾脏以外器官/系统的作用如何,体内同时存在的三聚氰胺及其同系物可能的累加和协同作用机制等等,亟待进一步从生理、病理、生化实验方面作出解答,为未来生物毒理研究和研制出解决措施提供科学依据。

[关键词] 氰胺/副作用; 氰胺/毒性; 三聚氰胺; 三聚氰酸; 毒理学; 肾毒性; 致肿瘤性; 生物学效应; 检测; 高效液相色谱-质谱

[中图分类号] R 155.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2008)06-0544-07

Biological effects and toxicology studies of melamine and its derivative cyanuric acid

HU Hu, SHENG Hong-qiang, MA Xiao-qiong, LAI Mao-de (Department of Pathology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

[Abstract] Melamine (Tripolycyanamide) and its derivatives have recently become a public concern on food safety. To better understand melamine and its major derivative cyanuric acid, literature on their chemical properties, metabolism, biological effects, relevant toxicology studies, and the detection methods is reviewed. Studies indicate that the acute toxicity of melamine and cyanuric acid is low. In mammalian, these compounds are hardly metabolized *in vivo* and are rapidly eliminated in the urine. When used in large dosage, these compounds demonstrate marked renal toxicity, as well as toxic effect towards heart. The renal toxicity is exemplified by the calculi formation, acute renal failure, and subsequently induced carcinomas of the urinary bladder. Among the tested species, male cats and rats are more prone to be affected by the compounds. The HPLC/

收稿日期: 2008-10-14 修回日期: 2008-10-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700267); 浙江省自然科学基金(Y202095)

作者简介: 胡 虎(1974-), 男, 博士, 副教授, 副博导, 从事血液病理学研究; E-mail: huhu@zju.edu.cn

MS/MS is becoming the mainstay of the detection methods. Despite of the achieved knowledge on melamine and cyanuric acid, further research is warranted to unveil the mechanism of underlying susceptibility of kidney, to develop better analytic methods, and to explore possible biomarkers for better clinical diagnosis.

[Key words] Cyanamide/adv eff; Cyanamide/tox; Melamine; Cyanuric acid; Toxicology; Renal toxicity; Oncogenicity; Biological effect; Detection; HPLC/MS/MS

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2008, 37(6):544-550.]

三聚氰胺和三聚氰酸是重要的有机化工中间产品,主要用来制作三聚氰胺-甲醛树脂,可用于装饰板的制作,也广泛应用于黏合剂、涂料、币纸增强剂、纺织助剂等的生产中。2007年,因发生在美国的为三聚氰胺混合于食物原料中所引起的宠物中毒事件^[1],使这一化合物引起了广泛关注;而最近发生在中国的奶粉事件,更使这个化合物成为食品公共安全的焦点。美国对污染的宠物食物分析结果提示,其中混有8.4%的三聚氰胺和5.3%三聚氰酸^[2]。科学深入地理解三聚氰胺及其同系物三聚氰酸的生物学和毒理学效应,不仅是研究需要,更是社会稳定的必要。但目前已知的针对三聚氰胺和三聚氰酸的研究因为目标不同,缺乏较为系统和详尽的报告,本文综合文献中对三聚氰胺及其同系物三聚氰酸的生物学效应和毒理学研究对其进行综述。

1 理化性质

三聚氰胺^[3](英文名 Melamine),是一种三嗪类含氮杂环有机化合物,是重要的有机化工原料。三聚氰胺,又称三胺、2,4,6-三氨基-1,3,5-三嗪、蜜胺、氰尿酸胺、三聚氰酰胺,分子式 $C_3N_6H_6$ 、 $C_3N_3(NH_2)_3$,分子量 126.12。三聚氰胺外观为粉末状纯白色单斜棱晶体,白色无味,与蛋白粉外观相似。熔点 $345^\circ C$ (分解),密度 $1.573 g/cm^3$ ($16^\circ C$)。略溶于水及乙醇,不溶于醚、苯和四氯化碳。与盐酸、硫酸、硝酸、乙酸、草酸等都能形成盐。受

热或燃烧时,分解生成含氰化氢,氮氧化物和氨等有毒和刺激性烟雾。在中性或微碱性情况下,三聚氰胺与甲醛缩合而成各种羟甲基三聚氰胺,在微酸性中(pH值 5.5~6.5)与羟甲基的衍生物进行缩聚反应而生成树脂产物。三聚氰胺遇强酸或强碱水溶液水解,胺基逐步被羟基取代,先生成三聚氰酸二酰胺(Ammeline),进一步水解生成三聚氰酸一酰胺(Ammelide),最后生成三聚氰酸(Cyanuric acid)。见图1。

三聚氰酸^[4](图1),与三聚氰胺一样,属于三嗪类含氮杂环有机化合物,又名1,3,5-三嗪-2,4,6-(1H,3H,5H)三酮、S-三嗪-2,4,6-三醇、氰尿酸、异氰尿酸、2,4,6-三羟基-1,3,5-三嗪-5,分子式 $C_3H_3N_3O_3$,分子量:129.07。密度 $1.768 g/cm^3$ ($0^\circ C$),熔点 $360^\circ C$ (分解)。物理性状为略有苦味的无色无臭白色晶体。溶于热水、热乙醇、吡啶、浓盐酸及硫酸,也溶于氢氧

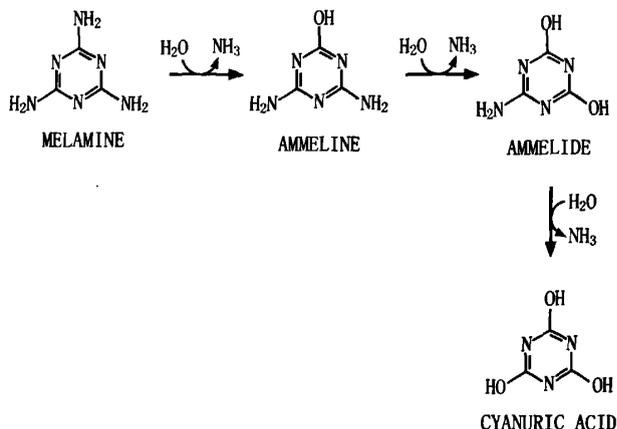


图1 三聚氰胺水解途径

Fig. 1 Pathway of melamine degradation

化钠和氢氧化钾水溶液,不溶于冷乙醇、醚、丙酮、苯和氯仿。1 g能溶于约200 ml水。用于有机合成氰尿酸-甲醛树脂、涂料、粘合剂、农药除草剂、金属氰化缓蚀剂、高分子材料改性剂和用于药物卤三羟嗪的生产。日常环境中,三聚氰酸通常与氯类消毒剂共用于游泳池消毒,以三聚氰酸和三聚氰酸钠盐形式存在,它可以减缓起消毒作用的氯气被阳光分解的速度^[4]。

三聚氰胺与三聚氰酸分子结构上的氢氧基与氨基之间可以形成水合键,从而将二者连接起来。这种连接可以快速反复进行,最终构成一个网格结构,形成不溶性的结晶^[5]。Smith等利用电镜展示了这种晶体的结构^[6]。

2 代谢途径

三聚氰胺的三嗪环结构能抵抗人和动物体内的代谢,因此,三聚氰胺在体内属于惰性代谢,摄入后绝大部分以原体或同系物形式,而非代谢产物形式排出。Melnick等^[7]用1%的三聚氰胺溶液以250 mg/kg的剂量饲喂经过18 h禁食禁水的大鼠,发现6 h以内,50%的三聚氰胺以原型,而20%以二聚体单磷酸盐结晶的形式从尿液排出。Mast等^[8]用¹⁴C标记的三聚氰胺单剂量(0.38 mg)插管灌胃Fisher 344雄性大鼠,然后研究96 h内同位素在体内的分布以及排泄。他们发现灌胃30 min后血浆、肝脏、肾脏中三聚氰胺浓度达到高峰,此后持续下降,而在膀胱中三聚氰胺浓度持续上升。三聚氰胺在循环中的半衰期约为2.7 h,主要从尿液中排出,24 h内75%以上的三聚氰胺从尿液中排出,96 h内93%的三聚氰胺从尿液排出。另有小部分三聚氰胺从呼吸(0.2%)和粪便(0.64%)排出。尿液中的同位素信号和三聚氰胺重合达到97%以上,但在粪便中约有0.14%的同位素信号不与三聚氰胺重合,提示体内有极少量三聚氰胺被降解,而大部分以原体形式排出。2008年Baynes等^[9]在以猪作为模型研究三聚氰胺的药代动力学也证实,绝大部分静脉途径注入的三聚氰胺(6.13 mg/kg)从肾脏清除,体内半衰期为4.04 h,体内的分布容积为0.61 L/kg,没有显著的组织内结合。然而上述研究都是针对三聚氰胺的急性摄入研究,对慢性摄入的体内

代谢、蓄积等情况目前尚没有全面研究。

与哺乳动物体内的惰性代谢不同,三聚氰胺可以被细菌进行生物降解。Jutzi等^[10]发现,三聚氰胺可被A组假单胞菌(*Pseudomonas* sp. strain A)和肺炎克雷伯菌完全降解,降解遵循三聚氰胺-三聚氰酸二酰胺-三聚氰酸一酰胺-三聚氰酸-氨的水解途径。而且,他们还发现,三聚氰胺降解产物三聚氰酸二酰胺的降解速度较慢。Shelton等^[11]在土生克雷伯菌(*Klebsiella terrigena*)上也证实了上述的三聚氰胺水解途径,但与Jutzi的发现不同的是,Shelton发现在水解过程中降解速度较慢的是三聚氰酸一酰胺,而非三聚氰酸二酰胺,有大约3 h的滞后时间。他们还发现三聚氰胺至三聚氰酸一酰胺的起始水解过程并非在细菌胞内,而是在胞外进行。

三聚氰酸在哺乳动物体内也属于惰性代谢。通过口服或静脉注射途径给予大鼠5 mg/kg ¹⁴C标记的三聚氰酸盐可被完全吸收,体内的半衰期为30~60 min,绝大部分从尿液排出。而给予500 mg/kg剂量发现不能完全吸收,大部分从粪便排出,体内的半衰期约为2.5 h。7天后,组织中基本检测不到放射性存在。重复给药14天没有发现有明显体内蓄积现象,也没有发现体内对其的代谢^[4]。皮下注射发现三聚氰酸吸收度很低。对较大动物犬类进行的研究也有类似发现,即低剂量(5 mg/kg)可以被完全吸收,绝大部分以原型从尿液排出。但同时发现,给予5 mg/kg ¹⁴C标记的三聚氰酸盐后体内的分布容积为0.7 L/kg,大于体液容积,提示可能有组织内蓄积^[4]。在人类志愿者中进行的研究也证实了上述观察^[12]。

3 三聚氰胺及三聚氰酸的生物学效应

3.1 三聚氰胺及三聚氰酸的毒性剂量

三聚氰胺对果蝇和沙门氏菌族(带或不带s-9代谢激活系统)未发现有致突变效应。而且,在CHO细胞中,三聚氰胺也没有被发现导致姐妹染色单体异位或染色体异常。大鼠连续2 h吸入三聚氰胺粉尘200 mg/m³,未见中毒症状,提示没有急性毒性作用^[13]。大鼠吸入三聚氰胺粉尘80~100 mg/m³,每天2次,每周6次,连续4个月

以上,出现体重增加迟滞,中枢神经系统及肾功能紊乱,肺的炎症性改变等,提示有慢性毒性作用^[13]。口服半数致死剂量在大鼠为3.16 g/kg,小鼠为4.55 g/kg。拌料口服13周,无不良反应剂量在大鼠为每天63 mg/kg bw,小鼠为每天1 600 mg/kg bw。对生殖发育毒性为每天400 mg/kg bw,1 060 mg/kg bw^[14]。

三聚氰酸对沙门氏菌族未发现致突变效应。在CHO细胞中,也没有发现三聚氰酸导致姐妹染色单体异位或染色体异常。三聚氰酸单剂量口服或皮下摄入基本无毒^[4,15]。口服半数致死剂量在大鼠为10 g/kg,在兔为7.9 g/kg。连续6个月饲喂大鼠或豚鼠30 mg/kg三聚氰酸导致肾的营养不良性改变,但3 mg/kg未见不良反应^[15]。

3.2 三聚氰胺及三聚氰酸的泌尿系统效应

目前认为三聚氰胺的生物学效应的主要靶器官是泌尿系统。1984年Melnick等^[7]的三聚氰胺对泌尿系统的致癌性研究显示,三聚氰胺引起的主要病变为膀胱上皮增生和膀胱结石,在饲喂13周就可发生,发生率在雄性大鼠显著高于雌性大鼠。在雌性大鼠,则可见肾脏的慢性炎症性改变。对小鼠的研究结果^[7]和大鼠却不尽相同,雌雄小鼠都可见膀胱上皮溃疡,但溃疡和结石形成不相关。雌小鼠膀胱多见结石形成,并有急慢性炎症和上皮增生现象。2007年对美国死于三聚氰胺污染的宠物食物的猫的临床和解剖结果也证实^[16],三聚氰胺的毒性主要在泌尿系统。造成的症状有,食欲不振,呕吐,尿频,多尿,昏睡,氮质血症等;病理解剖发现肾远曲小管和集合管内条纹状结晶形成,肾远曲小管坏死和再生,肾包膜下的血管周围炎症,纤维化和血管内纤维蛋白性血栓形成。

在为期2年的慢性毒性研究^[7]中发现,高剂量(4 500 ppm)三聚氰胺引起雄性大鼠膀胱移行细胞癌的发病率显著升高,而且和膀胱结石的发生密切相关。但慢性毒性研究未提示三聚氰胺的致癌性。1992年Okumura等的研究^[17]和1995年Ogasawara^[18]等的研究提示,三聚氰胺能引起大鼠输尿管和膀胱结石的形成。结石的主要成分是三聚氰胺和尿酸。而且发现在1%和3%三聚氰胺喂养的F334大鼠膀胱癌

的发病率分别为5%和79%,主要的肿瘤类型是移行细胞癌和乳头状瘤。结石的发生率和肿瘤发病率高度相关,提示癌症的主要原因是结石的刺激。

Hodge等^[19]通过给予高剂量三聚氰酸钠(CD大鼠500~700 mg/kg,B6C3F1小鼠2 000~2 200 mg/kg)14周,发现三聚氰酸钠的亚急性作用主要是导致雄性大鼠和小鼠的膀胱结石和膀胱上皮增生。三聚氰酸钠的慢性作用集中在泌尿系统和心脏。通过给予CD大鼠和B6C3F1小鼠高剂量三聚氰酸钠并观察2年^[19],发现12个月内即有13%雄性大鼠死亡,死亡的主要原因是输尿管结石形成和继发的尿毒症,主要的病理学发现是膀胱上皮增生、出血、炎症,输尿管扩张、炎症,肾小管肾病。但部分雌鼠表现出轻度的肾小管肾病,而没有输尿管结石形成。另有部分大鼠有明显的心脏炎症表现,早期死亡。24个月的观察中未发现三聚氰酸钠对大鼠有致癌性。对小鼠的长期观察结果未发现明显致癌性和其他病理性异常。Hodge等^[19]对狗饲喂8%三聚氰酸钠,并持续观察2年,发现导致肾纤维化,远曲小管和集合管上皮增生、扩张。同时还发现甲状腺萎缩,淋巴细胞浸润。

尽管三聚氰胺与三聚氰酸的急性毒性作用很低,但它们的同时摄入可能是引起2007年美国宠物死亡事件的重要原因。在受污染的宠物食物和死亡动物的肾组织中都检测出了三聚氰胺与三聚氰酸。2007年Puschner等的研究^[20]和2008年Dobson等的研究^[2]都分别证明了,单独给予三聚氰胺或三聚氰酸不影响猫和SD大鼠的肾功能,而联合给予三聚氰胺与三聚氰酸在48 h内造成急性肾衰。Dobson的研究还应用红外色谱显微镜,从猫和鼠的肾组织的结石中证明了三聚氰胺与三聚氰酸共同形成的结晶。目前仍然缺乏三聚氰胺与三聚氰酸引起的结石导致肾衰的直接证据。而且三聚氰胺与三聚氰酸等比分布于全身体液,但为何没有在其他部位,而仅仅在肾脏形成结晶的机理不明。

3.3 三聚氰胺及三聚氰酸的其他效应 三聚氰胺的其他生物学作用还有皮肤过敏^[21],以及三聚氰胺高聚物引起的肝脏坏死^[22]等。Pliss和

Zabehzhiskii^[23,15]通过口服,皮肤涂抹,皮下注射方式给予小鼠和大鼠高剂量(150~600 mg/kg)三聚氰酸,发现三聚氰酸有轻度致肿瘤性,在给药 18 个月以后,在小鼠和大鼠中出现肺淋巴瘤、肝血管瘤、乳腺纤维腺瘤等肿瘤。但未发现三聚氰酸有胚胎毒性和致畸性^[15]。Cascieri 等^[24]通过对处在胎儿器官发育关键期的孕兔或孕鼠给予低、中、高剂量的三聚氰酸钠,发现给予高、中剂量的三聚氰酸钠能造孕兔体重减轻,而出生的胎兔体重和冠-尾长度小于正常对照。而给予高剂量的三聚氰酸钠造成孕鼠(11/25)死亡,出生的胎鼠有明显毒性反应和肋骨弯曲。但作者把高剂量三聚氰酸钠的作用主要归于继发于对母体的影响,而非影响胎儿本身的发育。高剂量三聚氰酸钠对大鼠生殖功能没有造成影响。

4 三聚氰胺与三聚氰酸的检测

以往三聚氰胺的工业检测多采用苦味酸法、升华法和电位滴定法^[25]。苦味酸法和升华法原理为沉淀或升华三聚氰胺,然后称重沉淀的三聚氰胺质量或升华后的残渣量,以检测三聚氰胺纯度。电位滴定法则用硫酸滴定三聚氰胺溶液致固定 pH 值,然后依据所用的硫酸量根据换算系数算出三聚氰胺含量。但上述方法操作复杂,误差大,检测的敏感度低,并不适合检测在生物体内的小剂量三聚氰胺含量。目前多采用高效液相色谱法检测^[26],该法样品的处理简单,干扰小,准确,灵敏度高。大米蛋白中的三聚氰胺检测^[27],动物模型的三聚氰胺药代动力学研究^[9]都成功应用了高效液相色谱联合紫外检测的方法,此法不仅可以检测三聚氰胺,还可以同时检测三聚氰胺同系物,包括三聚氰酸^[26]。而最近的质谱的方法学和仪器的飞速发展,更使高效液相色谱-质谱联用(HPLC/MS/MS)成为检测三聚氰胺及其同系物的热门手段。这个方法不仅具有 HPLC 的优点,而且灵敏度更高,检测结果更加准确,是目前唯一可以使用高度选择反应监测模式的方法。这种监测模式使动物组织等复杂样品的快速和有效分析更容易,已成功用于检测污染的原料饲料的鱼的可食用部分中的三聚氰胺残余^[28]。其方法学本

身具有很大的拓展空间,未来的方法学发展将可以检测这些物质在体内可能结合的大分子物质。其他的检测方法还有毛细管电泳,气相色谱,气相色谱-质谱联用等。最近,Garber^[29]还报道了 ELISA 法,可以快速的检测三聚氰胺, Kim 等^[30]的研究证明了 ELISA 法和 HPLC 以及 HPLC/MS 达到的检测水平相当。

5 总结与展望

综合上述研究,我们可以总结为:三聚氰胺和三聚氰酸本身的急性毒性作用很低,体内为惰性代谢,大部分以原型从尿液排出,大剂量应用时主要对肾脏产生毒性,但同时可能对心脏等肾脏以外的器官产生毒性作用。它们的毒性具有对动物物种的选择性,相对于小鼠,猫和大鼠的肾脏毒性反应更大,而且在雄性动物更加明显。在检测上,现以 HPLC 为主,但生物体内的检测中 HPLC/MS/MS 正成为未来的主要检测手段。同时,上述的研究遗留了大量的重要问题有待回答。比如,对三聚氰胺和三聚氰酸体内分布状况和确切的分布形式未知,对长时间应用的慢性代谢过程未明;体内同时存在的三聚氰胺同系物的来源是代谢产生还是原本混有并不清楚;三聚氰胺及其同系物的可能累加和协同作用机制不明;为何肾脏成为结晶产生的主要器官,对肾脏以外器官/系统的作用还待进一步研究,等等。未来迫切需要进行的研究应该集中在①分析方法的改进,以利于检测组织内的低浓度存在,界定检测标准。②对实验动物和临床发现的结晶物的分析。③物种的毒理分析,肾以及肾外毒性研究。④对三聚氰胺及其同系物的可能累加和协同作用进行进一步分析。⑤对三聚氰胺及其同系物造成肾衰的可能生物标志物进行寻找和分析。研究这些问题,不仅将为迫在眉睫的三聚氰胺问题提供解决方案和科学参考,更为将来的食品/环境公共安全提供生物评价体系 and 预警系统。

References:

- [1] LANG L. FDA issues statement on diethylene glycol and melamine food contamination [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(1):5-6.

- [2] DOBSON R L, MOTLAGH S, QUIJANO M, et al. Identification and Characterization of Toxicity of Contaminants in Pet Food Leading to an Outbreak of Renal Toxicity in Cats and Dogs [J]. *Toxicol Sci*, 2008, IN PRESS.
- [3] WANG Yan-ji (王延吉). *Organic Chemical Materials* (有机化工原料) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004, 727-728. (in Chinese)
- [4] CANELLI E. Chemical, bacteriological, and toxicological properties of cyanuric acid and chlorinated isocyanurates as applied to swimming pool disinfection; a review [J]. *Am J Public Health*, 1974, 64(2): 155-162.
- [5] THOMAS R, KULKARNI G U. A hydrogen-bonded channel structure formed by a complex of uracil and melamine [J]. *Beilstein J Org Chem*, 2007, 3: 17.
- [6] RAMANUJAN K. Cornell's Dean Smith confirms presence of pet food contaminant, melamine, at Washington, D. C., press briefing [J]. *Cornell University chronicle online*, 2007. <http://www.news.cornell.edu/stories/April07/melamine.PetFood.kr.html>
- [7] MELNICK R L, BOORMAN G A, HASEMAN J K, et al. Urolithiasis and bladder carcinogenicity of melamine in rodents [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1984, 72(2): 292-303.
- [8] MAST R W, JEFFCOAT A R, SADLER B M, et al. Metabolism, disposition and excretion of [¹⁴C] melamine in male Fischer 344 rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 1983, 21(6): 807-810.
- [9] BAYNES R E, SMITH G, MASON S E, et al. Pharmacokinetics of melamine in pigs following intravenous administration [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(3): 1196-1200.
- [10] JUTZI K, COOK A M, HUTTER R. The degradative pathway of the s-triazine melamine. The steps to ring cleavage [J]. *Biochem J*, 1982, 208(3): 679-684.
- [11] SHELTON D R, KARNS J S, MCCARTY G W, et al. Metabolism of Melamine by *Klebsiella terrigena* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(7): 2832-2835.
- [12] ALLEN L M, BRIGGLE T V, PFAFFENBERGER C D. Absorption and excretion of cyanuric acid in long-distance swimmers [J]. *Drug Metab Rev*, 1982, 13(3): 499-516.
- [13] SHAO Jing-jun, WEN Jia-qi, XU Shi-wen (邵静君, 温家琪, 徐世文). Progress of melamine toxicology research [J]. *Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine* (现代畜牧兽医), 2007, 12: 52-54. (in Chinese)
- [14] Interim Melamine and Analogues Safety/Risk Assessment [J/OL]. U S Food and Drug Administration-Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2007. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html>
- [15] HAMMOND B G, BARBEE S J, INOUE T, et al. A review of toxicology studies on cyanurate and its chlorinated derivatives [J]. *Environ Health Perspect*, 1986, 69: 287-292.
- [16] CIANCIOLO R E, BISCHOFF K, EBEL J G, et al. Clinicopathologic, histologic, and toxicologic findings in 70 cats inadvertently exposed to pet food contaminated with melamine and cyanuric acid [J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2008, 233(5): 729-737.
- [17] OKUMURA M, HASEGAWA R, SHIRAI T, et al. Relationship between calculus formation and carcinogenesis in the urinary bladder of rats administered the non-genotoxic agents thymine or melamine [J]. *Carcinogenesis*, 1992, 13(6): 1043-1045.
- [18] OGASAWARA H, IMAIDA K, ISHIWATA H, et al. Urinary bladder carcinogenesis induced by melamine in F344 male rats: correlation between carcinogenicity and urolith formation [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16(11): 2773-2777.
- [19] HODGE H C, PANNER B J, DOWNS W L, et al. Toxicity of sodium cyanurate [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1965, 7(5): 667-674.
- [20] PUSCHNER B, POPPENG R H, LOWENSTINE L J, et al. Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2007, 19(6): 616-624.
- [21] SOUBRIER R, BURLET P. Dermatoses caused by melamine [J]. *Arch Mal Prof*, 1972, 33(4): 202-204.
- [22] NEERMAN M F, ZHANG W, PARRISH A R, et al. In vitro and in vivo evaluation of a melamine dendrimer as a vehicle for drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2004, 281(1-2): 129-

- 132.
- [23] PLISS G, ZABEZHINSKI M. Carcinogenic properties of S-triazine derivatives [J]. *Vop Onkol*, 1970, 16: 82-85.
- [24] CASCIERI T, BARBEE S J, HAMMOND B G, et al. Absence of a teratogenic response in rats with monosodium cyanurate [J]. *Toxicologist*, 1983, 3: 65.
- [25] YU Jian-jun, WU Fang-zhen (俞建君, 吴芳珍). Detection of melamine via ion-pair reversed phase liquid chromatography [J]. *Guangdong Chemical Industry* (广东化工), 2007, 34 (7): 126-127.
- [26] EHLING S, TEFERA S, HO I P. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous detection of the adulteration of cereal flours with melamine and related triazine by-products ammeline, ammelide, and cyanuric acid [J]. *Food Addit Contam*, 2007, 24 (12): 1319-1325.
- [27] MUNIZ-VALENCIA R, CEBALLOS-MAGANA S G, ROSALES-MARTINEZ D, et al. Method development and validation for melamine and its derivatives in rice concentrates by liquid chromatography. Application to animal feed samples [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 392(3): 523-531.
- [28] ANDERSEN W C, TURNIPSEED S B, KARBIWNYK C M, et al. Determination and confirmation of melamine residues in catfish, trout, tilapia, salmon, and shrimp by liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56 (12): 4340-4347.
- [29] GARBER E A. Detection of melamine using commercial enzyme-linked immunosorbent assay technology [J]. *J Food Prot*, 2008, 71(3): 590-594.
- [30] KIM B, PERKINS L B, BUSHWAY R J, et al. Determination of melamine in pet food by enzyme immunoassay, high-performance liquid chromatography with diode array detection, and ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J AOAC Int*, 2008, 91(2): 408-413.

[责任编辑 张荣连]

欢迎订阅《实用肿瘤杂志》

《实用肿瘤杂志》是由中华人民共和国教育部主管,浙江大学主办的肿瘤专业学术性期刊。本刊为中国抗癌协会系列期刊,中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,中国科学引文数据库来源期刊,并被《中国期刊全文数据库》、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中文生物医学期刊文献数据库-CMCC》、《中国生物医学期刊引文数据库-CMCI》、《中文科技期刊数据库》等多家数据库收录;并被国际著名检索系统:俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI)列为来源期刊;美国《化学文摘》(Chemical Abstracts)和美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich International Periodicals Directory)收录。2005~2006年度本刊被评为浙江省优秀科技期刊一等奖,并入选2006年首届浙江期刊方阵工程期刊。本刊突出实用性,主要栏目有专家论坛,专题讨论,基础与临床研究,技术与经验,药物与临床,流行病学调查,综述与讲座,误诊分析,短篇报道与个案。适合于广大中、高级医务人员及从事肿瘤科研与教学工作阅读、参考。

《实用肿瘤杂志》为双月刊,大16开,92页,每逢双月10日出版。每期定价8.00元,全年48.00元。本刊刊号ISSN 1001-1692, CN 33-1074/R, 邮发代号32-87, 国外发行代号4816BM, 全国各地邮局均可订阅。如邮局订阅延误,可汇款至浙江省杭州市解放路88号,浙江大学医学院附属第二医院《实用肿瘤杂志》编辑部补订。

电话(传真):(0571)87783654 邮编:310009 E-mail:shyzh1@zju.edu.cn