

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2022051704

谢东丽, 陈海波, 杨岳, 等. 微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性效应及机制研究进展[J]. 环境化学, 2023, 42(12): 4067-4078.

XIE Dongli, CHEN Haibo, YANG Yue, et al. Research progress on toxic effects and mechanisms of microplastics in *Caenorhabditis elegans*[J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (12): 4067-4078.

微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性效应及机制研究进展*

谢东丽^{1,2} 陈海波^{2,3} 杨岳^{2,4} 谭诗慧^{2,4} 向明灯² 李廷真^{1**} 于云江^{2**}

(1. 重庆三峡学院, 环境与化学工程学院, 万州, 404100; 2. 生态环境部华南环境科学研究所, 国家环境保护环境污染健康风险评估重点实验室, 广州, 510655; 3. 上海大学, 环境与化学工程学院, 环境污染与健康研究所, 上海, 200444; 4. 中国医科大学, 公共卫生学院, 沈阳, 110122)

摘要 微塑料是指粒径小于5 mm的塑料碎片或颗粒, 广泛分布在海洋、土壤、大气等环境中, 并对生态环境和人类健康造成一定的危害. 秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)作为一种优秀的模式生物, 被广泛应用于环境毒理学研究. 本文从肠道损伤、致死率和神经毒性等多方面总结微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性效应, 探索氧化应激、非编码RNAs以及MAPK等信号通路的作用机制, 归纳微塑料对秀丽隐杆线虫毒性的影响因素, 并对未来的研究方向进行展望. 本综述可为微塑料的生物毒性与健康风险提供一定的理论依据.

关键词 微塑料, 秀丽隐杆线虫, 毒性效应, 作用机制, 影响因素.

Research progress on toxic effects and mechanisms of microplastics in *Caenorhabditis elegans*

XIE Dongli^{1,2} CHEN Haibo^{2,3} YANG Yue^{2,4} TAN Shihui^{2,4} XIANG Mingdeng²
LI Tingzhen^{1**} YU Yunjiang^{2**}

(1. College of Environmental and Chemical Engineering, Chongqing Three Gorges University, Wanzhou, 404100, China; 2. State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Pollution Health Risk Assessment, South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Guangzhou, 510655, China; 3. Institute for Environmental Pollution and Health, School of Environmental and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai, 200444, China; 4. School of Public Health, China Medical University, Shenyang, 110122, China)

Abstract Microplastics (MPs), plastic debris or particles smaller than 5 mm, have been ubiquitously detected in marine, soil, and air, etc. MPs may cause harm to the ecological environment and human health. As an excellent model organism, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) has been widely used in environmental toxicology studies. In this paper, the toxic effects of MPs on *C. elegans* are summarized from the aspects of mortality, intestinal injury, and neurotoxicity. The underlying mechanisms of these effects are explored, including oxidative stress, microRNAs, and changes in various signal pathways. In addition, we analyse the factors affecting their toxic effects and raise the future research directions. This review provides scientific references for further exploring the toxicity and health risk assessment of MPs.

2022年5月17日收稿(Received: May 17, 2022).

* 国家自然科学基金(21876059)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (21876059).

** 通信联系人 Corresponding author, Tel: 023-58102063, E-mail: litingzhen@163.com; Tel: 020-29119807, E-mail: yyunjiang@scies.org

Keywords microplastic, *Caenorhabditis elegans*, toxicity, mechanism, influencing factor.

随着对塑料制品依赖性的提高以及不正确的处理方式和低回收率,塑料垃圾在环境中不断积累。目前,全球塑料产量约为 3.2 亿 t,并呈指数级增长,预计到 2050 年将达到 330 亿 t^[1]。这些进入环境的塑料垃圾又在物理、化学与生物等作用下破碎降解,从而形成微塑料(< 5 mm)^[2-3]。由于微塑料具有粒径小、数量大、密度小、疏水性强、易漂移等特性,可以迁移到任何的环境介质中^[4]。研究表明,微塑料在水体、土壤、大气以及饮用水和食品中广泛存在^[5],甚至在人的粪便与胎盘中也检测到了微塑料的存在^[1]。已有许多研究者做出了微塑料对生物体的毒理学评估,包括秀丽隐杆线虫、斑马鱼、贻贝和微藻等^[6-9]。

秀丽隐杆线虫是最丰富的土壤生物群之一,并且由于其体透明、遗传可操作、易于培养、生命周期短、基因组特征明确以及对毒物的敏感性等特点,已成为一种良好的模式生物^[2, 10-11]。另外,线虫的基因组信息已确定,其高达 80% 的基因与人类基因同源^[12],因此它已被用作微塑料检测和研究其长期生物效应的指示生物^[13]。目前,微塑料对秀丽线虫的研究内容主要包括神经、生殖和发育等毒性效应以及引起毒性的相关作用机制^[2]。

本文对相关研究进行了综述,评估了微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性效应,并讨论其毒性表达的潜在机制以及影响毒性作用大小的因素。其中毒性效应主要包括微塑料的致死率与寿命、神经毒性、生殖毒性、发育毒性和遗传毒性,从氧化应激、肠道损伤和信号通路等方面总结毒性机制,最后从微塑料的物化性质和暴露时间等方面探讨影响毒性的因素。本文将有助于进一步了解微塑料对生态和人类健康的潜在风险及其机制。

1 微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性效应(Toxicity of MPs on *C.elegans*)

1.1 摄入与体内分布

摄食是线虫接触微塑料最简单的方式,并且也符合它们的取食偏好,又由于线虫通体透明,从而观察微塑料在其体内分布是非常方便的。研究表明,聚苯乙烯(PS)微珠会干扰秀丽线虫的进食,进而影响其繁殖^[14-15]。另有报道指出,PS 微塑料会被线虫摄食并在肠道中累积^[8, 16]。例如, Nigamatzyanova 等^[13]在秀丽线虫肠道中发现了粒径为 100 nm 的 PS 颗粒,并在邻近组织和角质层上广泛分布,这说明 PS 颗粒在线虫体内发生了累积、迁移。此外,该研究者还发现粒径较大的 2 μm 的颗粒会阻碍线虫咽部泵送进而导致死亡。Chu 等^[17]也发现,线虫会将纳米 PS 与食物一起摄入并在咽部以及肠道中累积,并逐渐扩散至全身,进而导致存活率、生长发育和运动能力的下降。除了对微塑料摄入的研究,也有学者对线虫排泄微塑料进行了探索。Fueser 等^[18]在实验室条件下量化了秀丽线虫对粒径为 0.5 μm 和 1 μm 的 PS 微球的摄入与排泄,结果表示短时间内 PS 微球会随食物一起被大量摄食与排泄。而环境中的微塑料是长期存在的,即使被线虫摄入之后短时间内会被排泄出去,但长期以往微塑料便会在体内累积从而产生毒性。Zhao 等^[19]发现,微塑料在线虫体内的累积与其排便时间有关,当浓度超过 10 μg·L⁻¹ 时,纳米 PS 颗粒会延长线虫的平均排便周期长度,这将导致纳米 PS 颗粒在线虫体内严重积累。因此,微塑料对秀丽线虫产生毒性的原因之一是粒径小的微塑料易被摄食并在肠道中累积,进而引发其他的毒性效应。

1.2 肠道损伤

由于肠道是微塑料积聚的主要区域之一,微塑料摄入会导致肠道组织损伤和消化道阻塞^[20-21]。Lei 等^[22]分析了 5 种不同类型的微塑料的影响后,发现聚酰胺(PA)、聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚氯乙烯(PVC)可引起肠绒毛破裂和肠上皮细胞损伤,并且导致肠道钙水平的显著降低。在 Chu 等^[17]的研究中,纳米 PS 微塑料被线虫摄食并在肠道中累积,改变了肠道的通透性并造成肠道损伤,使得微塑料扩散至全身进而影响线虫的运动行为、存活率和生长发育。另外一些研究报道了微塑料暴露会增加线虫肠道活性氧(ROS)的产生,而过多的肠道中 ROS 会引起炎症、组织损伤和干扰信号通路^[19, 23-25]。例如, Qiu 等^[25]的研究显示微塑料暴露后,线虫肠道内的食物大肠杆菌严重积累,而这很有可能导致线虫先天免疫应答的改变,肠内免疫应答基因 *lys-1*、*lys-7*、*lys-8* 和 *spp-1* 的显著下降证实了这一点。在另一

项研究中, 缺失 *elt-2* 和 *erm-1* 基因的两种线虫, 经微塑料暴露后, 线虫的肠道屏障功能受到了更严重的影响, 说明该基因在肠道受损过程中对于调控微塑料毒性的重要性^[20].

1.3 致死率与寿命

存活率和寿命指标常用于评估秀丽隐杆线虫的死亡率, 可在一定程度反映环境污染物对生物体的影响, 并且该指标足够敏感, 可用于评估低剂量污染物的影响. 在 Chu 等^[17]的研究中, 与对照组相比, $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的纳米 PS 长期暴露会导致线虫存活率显著下降, 并且呈现出明显的剂量效应关系. Shang 等^[26] 也发现粒径为 $1 \mu\text{m}$ 和 $5 \mu\text{m}$ 的微塑料均会降低线虫的寿命, 并且在同浓度下 $1 \mu\text{m}$ 对寿命的影响更大. Lei 等^[22] 发现, PA、PE、PP、PVC 和 PS 等常见类型的微塑料颗粒也都在一定浓度下会影响线虫的存活率. 此外, Lei 等^[27] 也研究了 PS 微塑料在 5 种不同粒径 (0.1 、 0.5 、 1 、 2 、 $5 \mu\text{m}$) 暴露下秀丽线虫的寿命, 结果发现暴露于 $1 \mu\text{m}$ 的微塑料下的线虫寿命最短, 存活率最低. Acosta-Coley 等^[28] 将 PE 和 PP 微塑料的暴毒液经离心过滤后收集的提取液用于线虫实验中, 结果发现该提取液会导致线虫的死亡. 由此可见, 微塑料不仅会因被线虫吞食而产生毒性, 它们的提取液也会对线虫的存活造成影响. 总的来说, 这些研究都表明微塑料对秀丽线虫的寿命有着负面影响.

1.4 神经毒性

成年期的秀丽线虫有 302 个神经元和 7000 个突触, 它们分别属于两个独立的神经系统, 一个是大的躯体系统, 一个是小的咽部系统. 因此, 秀丽线虫头部摆动、身体弯曲、基本移动与咽泵等运动能力的降低都与其神经系统的损伤有关^[10]. 暴露于微塑料纳米颗粒可引起秀丽线虫的神经递质改变和神经元行为障碍等神经毒性. 头部摆动和身体弯曲所反映的运动行为是运动神经元功能状态的指示终点^[24]. Chen 等^[6] 将秀丽线虫暴露于 PS 微塑料溶液中, 并以运动行为、神经元发育、神经递质含量和与神经传递相关的基因表达为指示终点. 结果发现, 长期暴露于低浓度的 PS 微塑料改变了线虫体内谷氨酸、血清素和多巴胺神经递质的含量, 进而导致线虫头部摆动和身体弯曲的频率的降低. Liu 等^[29] 的研究发现, PS 纳米颗粒导致头部摆动、身体弯曲频率与多巴胺含量的降低, 表明微塑料诱导线虫的神经毒性. Qu 等^[30] 研究了高浓度 PS 微塑料暴露后的线虫对双乙酰和氯化钠的趋向性, 结果显示线虫的运动行为和感觉行为发生了一定程度的改变, 这可能是与多巴胺能神经系统的损伤有关. 此外, 长期暴露于低剂量的 PS 纳米微塑料会改变神经元 G 蛋白偶联受体 (GPCRs) 基因的表达, 进而对线虫的运动行为产生影响^[31]. 综上所述, 这些研究结果表明神经毒性是微塑料对秀丽线虫造成的主要毒性效应之一, 并导致其运动功能障碍.

1.5 生殖毒性

产卵数、孵卵量和生殖细胞凋亡等指标广泛应用于微塑料对秀丽线虫的生殖毒性研究中. Qu 等^[32] 将秀丽线虫暴露于浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米 PS 微塑料后, 受精卵数目和子代数量都有所下降并且性腺中生殖细胞总数显著减少. 此外, 在 Sun 等^[33] 的研究中 $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米 PS 微塑料还可进一步显著减少性腺臂长度和相对面积. Kim 等^[34] 研究发现, 高密度聚乙烯 (high-density polyethylene, HDPE) 微塑料暴露也会降低线虫的繁殖率. 在 Yang 等^[35] 的研究中, 纳米 PS 微塑料暴露会降低线虫的产卵数, 这说明对其造成了生殖毒性. Lei 等^[22] 也发现, 微塑料颗粒显著降低了胚胎数量和孵化数目, 进而对线虫的繁殖产生抑制作用. Yu 等^[36] 发现线虫生殖细胞凋亡和卵母细胞染色体畸变可能是亲代纳米级 PS 暴露导致代际生殖毒性的主要因素. Muller 等^[37] 观察了长时间低剂量的 PS 暴露对线虫后代繁殖的影响, 结果表明长时间的多代暴露于低剂量的 PS 与短期高浓度的暴露都会降低线虫的繁殖率. Schoepfer 等^[38] 的研究也显示微塑料降低了线虫的后代数, 线虫的死亡率为 4.5% — 22.9% , 且在更高的浓度下, 后代的死亡率有更大的下降趋势. 此外, 有研究表明 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米 PS 诱导线虫体内的生殖细胞凋亡, 从而对产卵产生不良影响^[39]. 因此不难发现, 微塑料对秀丽线虫的亲代和子代都会造成生殖毒性.

1.6 发育毒性和跨代毒性

研究表明, 微塑料对秀丽隐杆线虫的生长速率有负面影响^[40]. Youssef 等^[16] 研究了 $1 \mu\text{m}$ 的 PS 微颗粒在 $100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1000 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对线虫的产卵和身体大小的影响, 结果表明, 暴露于 $1000 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的线虫的产卵数量严重下降并且身体发育也受到了抑制. Lei 等^[22] 采用不同种类和粒径的微塑料对秀丽线虫暴毒, 结果也显示线虫体长较对照组平均减少了 4.89% — 11.44% , 说明微塑料会抑制线虫的生

长发育。

已有研究证实暴露于纳米 PS 微塑料会对线虫产生代际生殖毒性^[33]。Chen 等^[41]研究了 PS 微塑料对秀丽隐杆线虫 5 代的跨代神经毒性和氧化应激。结果显示,暴露于浓度为 10—100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PS 微塑料显著降低了亲代线虫的头部摆动频率和身体弯曲次数,并且在后两代中也能观察到这种现象,暗示了 PS 微塑料引起的神经毒性可以从亲代转移到后代。此外,亲代暴露于 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PS 微塑料显著提高了后两代 ROS 的产生、脂褐素的积累以及氧化应激相关基因的表达(*clk-1*、*ctl-1*、*sod-3*、*sod-4* 和 *sod-5*),表明氧化应激的诱导在线虫的代际神经毒性中发挥重要作用。另一项研究也显示跨代氧化应激的激活是造成微塑料对线虫的跨代毒性的主要机制^[42]。Li 等^[19]的研究结果表明,纳米 PS 颗粒的跨代毒性可能主要是由于纳米 PS 颗粒通过肠道屏障进入了线虫的性腺等生殖器官,进而影响了后代的正常发育和生长。Kim 等^[40]对秀丽线虫暴露 PS 微塑料后进行了代谢组学研究,发现了 12 种受影响较为显著的代谢物,主要是属于三羧酸循环中间体、能量代谢、氨基酸和神经递质前体,而这些与线虫的运动功能和繁殖发育密切相关。

本文关于微塑料对秀丽隐杆线虫的毒理学研究的主要信息如表 1 所示。

表 1 微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性效应毒性
Table 1 Studies on microplastics toxicity using *C.elegans*

线虫品系 <i>C. elegans</i> strains	微塑料的粒径 Size of MPs	暴露浓度 Exposure concentration	微塑料类型 Type of MPs	暴露时期和时长 Exposure period and duration	主要发现 Major findings	参考文献 Reference
N2	1.0、6.0 μm	1 μm 5×10^7 粒· mL^{-1} 6 μm 5×10^8 粒· mL^{-1}	PS	成虫 7 h	摄食受阻,影响繁殖	[14]
N2	1.0 μm	10^7 — 10^9 粒· mL^{-1}	PS	成虫 5—10 min	泵咽微塑料速率随浓度增加,影响繁殖	[15]
N2	0.5、1.0、3.0、6.0 μm	3×10^6 粒· mL^{-1} 3×10^7 粒· mL^{-1}	PS	成虫 4、24、72 h	摄入微塑料速率与浓度和时间有关,并在肠道中累积	[8]
N2、NW1229	1 μm	100、1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至妊娠期(约 64 h)	微塑料在肠道中累积,产卵障碍、生长迟缓和神经退行性变	[16]
N2	100、200、500 nm、2 μm	—	PS	L1期幼虫 24 h	100 nm 的微塑料在肠道、邻近组织和角质层上,2 μm 影响摄食	[13]
N2	—70 nm	100、200、400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期(5 d)	存活率、生长和运动能力下降	[17]
N2	0.5、1 μm	10^7 粒· mL^{-1}	PS	成虫 5、10、20 和 30 min, 1、2、4、8、16、24 h	微塑料在肠道中累积,但也被排泄	[18]
N2	100 nm	1、10、100、1000、10000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第 1 天(约 4.5 d)	增加肠道通透性,排泄周期延长	[19]
N2、EG1285	1、5 μm	10^7 — 10^{10} 粒· m^{-2}	PS	96 h	随浓度和时间增加,肠道中积累也增加	[26]
EG1285、LX929、N2、KWN190、CL2166	2、5、100 nm、1、5 μm	0.5、1.0、5.0、10.0 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$	PA、PE、PP、PVC、PS	48 h	存活率、肠道钙离子水平、体长和繁殖率下降,并增加了氧化应激	[22]
N2	(4.05 \pm 0.04) mm (5.09 \pm 0.21) mm	—	PE、PP	L4期幼虫(年轻成虫) 24 h	环境中的微塑料提取液有毒性	[28]
N2	100 nm	0.1、10、1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第 3 天(约 6.5 d)	导致神经毒性	[24]
N2、BZ555、PD4251、AR171、LA62	25、50、100 nm	10—100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫 72 h	头部摆动和身体弯曲频率下降,多巴胺神经元损伤	[29]
N2、BZ555	35 nm	1、10、100、1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	磺酸盐修饰的 PS	L1期幼虫至成虫期第 3 天(约 6.5 d)	运动行为和感官知觉受损,磺化的 PS 毒性更大	[30]
N2、TU3401	(103.64 \pm 4.7) nm	1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第 3 天(约 6.5 d)	G 蛋白偶联受体基因改变,运动行为下降	[31]
N2、WS1433	100 nm	1、10、100、1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	PS-NH ₂	L1期幼虫至成虫期第 1 天(约 4.5 d)	氨基修饰的微塑料毒性增强	[32]
N2	35 nm	1、10、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	PS PS-NH ₂	L1期幼虫至成虫期第 1 天(约 4 d)	氨基修饰的微塑料生殖毒性更大	[33]

续表 1

线虫品系 <i>C. elegans</i> strains	微塑料的粒径 Size of MPs	暴露浓度 Exposure concentration	微塑料类型 Type of MPs	暴露时期和时长 Exposure period and duration	主要发现 Major findings	参考文献 Reference
N2	0—68 μm	-2.21×10^5 -3.96×10^5 -8.91×10^5 -16.9×10^5 粒· mL^{-1}	HDPE	72 h	繁殖率下降	[34]
N2、VP303	100 nm	0.1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	产卵数下降	[35]
N2	100 nm	1、10、50、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫 72 h	降低多代的繁殖能力	[36]
N2	1 μm	5.49 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	21 d	生殖毒性呈剂量依赖	[37]
N2	LDPE(5.7 \pm 4.0) μm PLA/PBAT (4.0 \pm 3.1) μm	1、10、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	低密度聚乙烯(LDPE)、聚乳酸/聚己二酸丁酯对苯二甲酸酯(PLA/PBAT)	6 d	咽部和肠道中积累, 子代减少	[38]
N2、CF1553	30 nm	0.1、1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第1天(约4.5 d)	孵卵数和运动行为下降, 诱导细胞凋亡和氧化应激	[39]
N2	50、200 nm	17.3、86.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 1、10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L4期幼虫(年轻成虫) 24 h	运动行为和繁殖率下降, 影响代谢, 诱导氧化应激	[40]
N2	(1.002 \pm 0.005) μm	0.1—100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L4期幼虫(年轻成虫) 48 h	脂褐素积累, 跨代神经毒性	[41]
N2	100 nm	0.1、1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	脂质积累并增加了 <i>mdt-15</i> 和 <i>sbp-1</i> 的表达	[23]
N2	100 nm	0.1—100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第1天(约4.5 d)	肠通透性增加, <i>elt-2</i> 突变体更敏感	[20]
N2	1 μm	1、10、100、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	72 h	微塑料在肠道中累积, 活性氧和脂褐素累积增加并且肠道损伤	[21]
N2	(101.6 \pm 3.7) nm	1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第1天	微塑料加重了微囊藻毒素-LR的毒性	[43]
N2、CD1553	100 nm	1、10、100、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	降低寿命和运动行为, 增加氧化应激, 改变锰依赖性超氧化物歧化酶	[25]
N2、TU3401、MAH23	100 nm	0.1、1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	增加基因表达水平(<i>lin-45</i> , <i>mek-2</i> 和 <i>mpk-1</i>), 下调基因(<i>ins4</i> , <i>ins-39</i> 和 <i>daf-28</i>)	[44]
N2	100 nm	0.1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	诱导神经元Jun-N末端激酶/丝裂活化蛋白激酶(MAPK/JNK)信号通路, 增加 <i>jkk-1</i> 、 <i>mek-1</i> 和 <i>jnk-1</i> 的表达	[45]
N2	100 nm	1—1000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	酪胺和谷氨酸相关信号在调节纳米塑料毒性中起重要作用	[46]
N2	(102.35 \pm 3.8) nm	1—100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	产生ROS, HSP-6::GFP荧光信号增强	[47]
N2	100 nm	1—1000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	G-蛋白偶联受体(GPCRs)调控线粒体展开蛋白反应	[48]
N2	100 nm	1—1000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	DBL-1/转化生长因子介导的神经毒性	[49]
N2、VP303	100 nm	1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	增加了 <i>mir-38</i> 表达; TGF- β 通路介导反应	[50]
N2	50、200 nm	1、10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	24 h	能量代谢被扰乱, 降低运动行为和繁殖率	[51]
N2、RB1071	100、500 nm 1、3、6、10 μm	—	PS	96 h	毒性与表面积有关, 食物摄入受影响	[52]
N2、CF1553	30 nm	0.1、1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第3天(约6.5 d)	增强了真菌感染的不良反应	[53]
N2	200、500 nm	100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	PS-COOH	成虫 24 h	吸附了环丙沙星的羧基化微塑料毒性高于这两者本身对线虫存活率的影响	[54]
N2、CF1553	(108.2 \pm 4.5) nm	0.01、0.1、1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PS	L1期幼虫至成虫期第1天(约4.5 d)	增强了二氧化钛纳米粒子毒性	[55]
N2	50、60 nm	0、1、2.8、7.1、18.8、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	PS、PS-COOH、PS-NH ₂	72 h	表面电荷影响毒性, 正电荷的微塑料毒性最大, 负电荷的毒性最小	[56]

“—”表示文章中没有相关数据。“—”indicates that there is no relevant data in the article.

2 微塑料对秀丽隐杆线虫的毒性作用机制(Toxic mechanism of MPs on *C.elegans*)

2.1 氧化应激

研究表明,氧化应激是微塑料引起秀丽隐杆线虫毒性作用的主要机制之一^[10].秀丽线虫体内脂褐素的积累和 ROS 的增加通常是氧化应激诱导的细胞损伤的关键生物标志物.大量研究表明微塑料暴露会引起线虫体内产生大量的 ROS,从而导致秀丽线虫运动行为的降低、体长的减小、寿命的缩短以及肠道通透性的改变^[20-21,23,26,36].例如,Liu 等^[29]对秀丽线虫线粒体内细胞的 ROS、脂褐素、脂质过氧化水平以及细胞凋亡率进行检测,发现微塑料暴露组的 ROS 提高了 14.9%—28.9%,脂褐素增加了 9.3%—10.3%,细胞凋亡率为 12.4%—20.7%,这些数据表明线粒体功能障碍引起了线虫的氧化应激反应.同样,在 Yang 等^[35]的研究中也有类似的发现,微塑料暴露显著提高了线虫体内 ROS 的水平.此外,Chen 等^[41]的另一项研究显示,线虫的神经毒性与微塑料诱导线虫的氧化应激相关,表明氧化应激是引起神经毒性重要的因素之一.

在秀丽线虫中,氧化应激受一系列相关基因的调控,如 *sod-2*、*sod-3* 和 *gst-4* 等基因.*sod-2* 和 *sod-3* 编码超氧化物歧化酶(SOD),*gst-4* 编码谷胱甘肽 S-转移酶(GST),这两种酶是帮助维持细胞内 ROS 的重要解毒酶.SOD-3 是一种线粒体锰依赖性超氧化物歧化酶,它代表了抵抗氧化应激的第一道防线^[57].Li 等^[39]使用转基因线虫 CF1553 来检测线粒体中 SOD-3 的表达,结果显示暴露于 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的纳米 PS 线虫体内 ROS 的相对荧光信号增强.Qu 等^[43]发现微塑料暴露后,线虫体内 *sod-3* 等基因的表达量明显改变,表明微塑料诱导线虫产生了氧化应激反应.另有研究也发现,微塑料暴露后,线虫的 *sod-2* 和 *gst-4* 基因的表达显著上升^[25,27,41].此外,有研究者指出 50 nm 的 PS 导致线虫体内甘氨酸(一种 ROS 清除剂)的显著下降^[40],而 ROS 的增加可能是抗氧化剂或清除剂的活性降低,破坏了氧化平衡导致的.有研究显示,对线虫进行微塑料暴露的同时使用天然花青素—犬素-3-葡萄糖苷(C3G)进行干预,结果发现 C3G 能够减轻微塑料对线虫诱导的氧化损伤等影响^[58].综上所述,氧化应激是微塑料对线虫产生毒性的主要机制之一.

2.2 信号通路

2.2.1 MAPK 信号通路

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是真核生物信号传递网络中的重要物质之一,MAPKs 广泛参与细胞增殖、分化、生存、死亡和转化等关键过程,在基因表达调控和细胞质功能活动中发挥重要作用^[12].MAPK 有 3 个主要家族:细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和 p38 MAPK^[59].Yang 等^[23]的一项研究发现微塑料诱导的线虫肠道的脂质积累与基因 *mdt-15* 和 *sbp-1* 表达的增加有关,而转录因子 MDT-15 和 SBP-1 受 p38 MAPK 的控制.Qu 等^[44]研究了 ERK MAPK 信号通路在神经元中调控对纳米 PS 反应的作用,结果显示,纳米 PS 在 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内可显著增加编码 ERK MAPK 信号通路的基因(*lin-45*、*mek-2*、*mpk-1*)的表达,这说明了 ERK MAPK 信号在调节对纳米 PS 反应中的重要作用.此外,他们的另一项研究显示,纳米 PS 暴露影响秀丽线虫神经元 JNK MAPK 信号通路并激活了章鱼胺和多巴胺介导的神经元-肠道的信号传递,进而调节线虫对纳米 PS 的反应^[45].Wang 等^[46]研究发现,酪胺在神经元中的受体 TYRA-2 作用于 ERK MAPK 的上游,谷氨酸在神经元中的受体 GLR-4 作用于 JNK MAPK 的上游,共同调节纳米 PS 的毒性.这表明尽管酪胺和谷氨酸及其受体在纳米塑料暴露反应控制过程中不能介导神经元-肠道信号传递,但是酪胺受体和谷氨酸受体都可以通过其下游神经元信号的功能影响肠道分子信号的状态,从而调节对纳米塑料暴露的反应.因此,MAPK 信号通路在调节微塑料对秀丽线虫的毒性中有着重要作用.

2.2.2 mt UPR

线粒体展开蛋白反应(mt UPR)是线虫对抗环境毒物毒性的另一种重要保护方式.在 Qiu 等^[25]的研究中,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 100 nm 的 PS 微塑料导致基因 *hsp-6* 在秀丽线虫体内呈现先增加再下降的趋势,而 HSP-6 是 mt UPR 的标记物.这说明微塑料对线虫造成的不良反应与 mt UPR 受到抑制有关.同样,Liu 等^[47]检测了微塑料暴露 6.5 d 后线虫肠道的 HSP-6::GFP 荧光信号的变化,结果显示 1—100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 导致肠道 HSP-6::GFP 表达增加,表明线虫肠道 mt UPR 被激活以此来应对微塑料的毒性.微塑料暴露

可能通过激活或抑制某些肠道 G-蛋白偶联受体(GPCRs)而对生物体造成不利影响. 一项研究指出 mt UPR 信号通路的活性受细胞质膜上的 G-蛋白偶联受体 PAQR-2 和 FSHR-1 的影响, 这对线虫调节肠道内纳米微塑料的毒性有重要作用^[48]. 综上所述, 线粒体展开蛋白反应是线虫应对微塑料毒性的一种重要的机制.

2.2.3 TGF- β 信号通路

TGF- β 信号通路在机体应激反应调控中起重要作用^[49]. Wang 等^[50] 发现神经元受体 DAF-7 的增加激活了 TGF- β 信号通路中 DAF-1-DAF-8-DAF-3/DAF-5 的肠道信号级联对纳米 PS 暴露的线虫的保护反应. 此外在 Kim 的研究中, 高密度聚乙烯微塑料暴露引起 TGF- β 通路中相关基因的表达增加, 进而起到调控毒性的作用^[34]. 在 TGF- β 信号通路中, TGF 信号从一个组织释放到另一个组织, 激活相应的 TGF 受体. Liu 等^[49] 研究发现 TGF- β 配体 DBL-1 在神经元中发挥作用, 而 TGF- β 受体 SMA-6 在肠道中作用, 揭示了 TGF- β 信号通路在纳米 PS 暴露的线虫中介导了重要的神经元-肠道信号传递.

2.3 非编码 RNAs

microRNAs(miRNAs)是一种短的非编码 RNAs, 存在于各种生物体内, 通常在转录后抑制靶基因的表达和功能. miRNAs 控制是基因表达的一种典型的表观遗传调控机制, 已有多项研究证实了 miRNA 在调控 100nm 的 PS 微塑料毒性中的重要作用. 例如, 神经元 miRNA(*mir-76*)的激活在调控 100nmPS 微塑料对线虫造成的如 ROS 增多与运动行为下降等毒性中起着重要作用. 在该过程中, 球蛋白 GLB-10 作为 *mir-76* 的靶点控制毒性, 并通过调节血红素稳态相关分子信号的活性来调节毒性^[60]. 在另一项研究中, Wang 等^[50] 发现 *mir-354* 通过抑制其靶基因 *daf-3* 的功能来调节微塑料毒性, 这表明 *mir-354* 可能通过激活作为 TGF- β 信号通路的配体 DAF-7 来保护线虫免受微塑料的毒性. 此前, Qu 等^[24] 也指出 *mir-794* 基因的过表达可显著降低胰岛素信号通路中编码 FOXO 转录因子的 *daf-16* 的表达, 表明 *mir-794* 和胰岛素信号通路在调节线虫对纳米 PS 的响应中可能存在分子关联. 除了以上的 miRNAs 在调控微塑料对线虫毒性有重要作用, 还有长非编码 RNA(lncRNAs)调控微塑料毒性. Zhao 等^[61] 研究发现了四种肠道 lncRNAs, 具有参与线虫调节微塑料毒性的功能, 包括 *linc-61*、*linc-50*、*linc-9* 和 *linc-2*, 其中除 *linc-9* 以外的 3 种 lncRNAs 通过共同影响转录因子 DAF-16 来调控毒性.

2.4 其他

最近有两项研究从不同的角度提出了微塑料对线虫的毒性作用机制. 其中一项研究指出微塑料会干扰线虫的昼夜节律, 而导致该危害的原因可能与应激抵抗力下降有关, 并且该反应由 DAF-16/FOXO 信号调节^[62]. 另一项研究表明, 甲基化调节在微塑料导致的负面影响中有重要作用, 在该过程中, 甲基转移酶 MET-2 在肠道和生殖细胞中起主导作用, 控制组蛋白 H3K9 甲基化从而调控毒性^[63]. Shao 等^[51] 的研究显示与发育相关的 Wnt 信号通路通过影响细胞核与过氧化物酶体之间的信号传递, 在肠道中调节线虫对纳米 PS 微塑料的应激反应. 细胞凋亡是一种响应环境变化的积极的基因调控过程, 而过早的细胞凋亡会引起生理上的不良影响^[11]. 有研究发现, 纳米 PS 诱导了线虫生殖细胞的凋亡, 对线虫产生了性腺发育不足和产卵数下降等生殖毒性^[32].

3 影响微塑料毒性的因素(Factors affecting the toxicity of MPs)

3.1 粒径大小

研究表明, 微塑料的粒径大小与毒性效应之间存在着较高的相关性. 在 PS 微珠和细菌的混合物中, 1 μm 和 6 μm PS 微珠会减少线虫摄食大肠杆菌, 但是造成食物摄取减少的机制是不同的, 1 μm 的可被线虫摄食并在肠道中累积, 而 6 μm 的虽无法被摄食但会干扰线虫的觅食, 这两者都会对线虫正常的生命活动产生影响^[14]. 在一项对比了 0.1、1.0、5.0 μm 的 PS 毒性研究中, 1.0 μm 的 PS 颗粒对线虫造成的致死率最高, 积累量最大, 肠道钙离子水平最低, 并且抗氧化酶谷胱甘肽转移酶的表达量最高^[22]. Liu 等^[42] 以跨代毒性为重点, 研究了 20 nm 和 100 nm 的 PS 微塑料对线虫的影响, 以运动行为、孵卵规模和 ROS 等为指示终点, 结果表明 20 nm 的毒性更大. Muller 等^[52] 在研究比较了粒径在 0.1—10.0 μm 的 PS 微塑料对线虫的生殖功能的影响之后发现, 0.1 μm 的 PS 对秀丽线虫造成的生殖毒性最大, 这可能是由于 0.1 μm 的 PS 具有最大的总表面积. Kim 等^[40] 也得出了类似的结论, 与 100 nm 的 PS 微塑料

相比, 50 nm 对秀丽线虫造成的毒性更严重, 这种效应可能是由于较小的纳米颗粒具有更大的表面积和穿透能力造成的. Schoepfer 等的^[38]研究证实了线虫可摄入微塑料的粒径受口腔大小的影响, 在线虫的咽部和肠道中分别检测到大小为 2.3—5.1 μm 和 1.3—2.5 μm 的微塑料粒子. Liu 等^[29]以头部摆动和身体弯曲频率作为毒性评估的终点, 发现在 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 50 nm 的 PS 组中, 线虫的头部摆动和身体弯曲频率与对照相比分别降低了 17.2% 和 28.8%, 29.0% 和 37.0%. 而 100 nm 组(10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的 PS 对头部摆动和身体弯曲频率的抑制率为 17.4% 和 29.2%, 30.3% 和 36.3%. 这表明了在该实验中直径在 100 nm 范围内的塑料颗粒的毒性程度与颗粒大小成反比. 然而, 一项以土壤为暴露介质的研究却得出了与以上研究相反的结论, 该研究指出, 粒径为 530 nm 的毒性要高于 42 nm 的微塑料^[64]. 这说明未来研究应考虑不同暴露介质对微塑料毒性的影响.

3.2 官能团

虽然原始微塑料具有较大的毒性效应, 但表面改性的微塑料可能会改变它们的毒性效应^[10]. Qu 等^[32]以性腺发育和生殖能力为指示终点, 研究了氨基修饰的纳米 PS(PS-NH₂)对秀丽线虫的影响, 结果发现相比于原始纳米 PS, PS-NH₂ 对线虫性腺发育和生殖能力造成更加显著的毒性. 不仅如此, Sun 等^[33]的一项研究发现 PS-NH₂ 通过诱导生殖细胞凋亡增强了其跨代生殖毒性. 以上研究均显示氨基化能增加微塑料对线虫的毒性大小, 这是因为其表面带正电荷, 由此更容易通过静电相互作用进入带负电荷的生物膜^[65]. 此外, 关于带负电荷的微塑料的毒性研究并不多, 主要是以羧基化为主. 例如, Yilimulati 等^[54]研究发现羧基修饰的 PS 微塑料(PS-COOH)对秀丽线虫的致死率有负面影响. 然而, 在另一篇研究中却表明氨基化的微塑料对线虫的繁殖与生长的负面影响最大, 原始微塑料次之, 而 PS-COOH 基本上没有负面影响^[56]. 仔细对比这两个研究方式不难发现, 这两个研究对于微塑料粒径的选择以及暴露时所选的介质均是不同的, 从而就有可能造成结果的差异. 除了表面电荷对微塑料毒性的影响研究以外, 也有对别的形式改性微塑料的毒性研究. 例如, Qu 等^[30]选择线虫的运动行为、感觉知觉和神经元发育为指标, 研究比较了磺酸盐修饰的纳米 PS 的毒性. 结果显示暴露于磺化改性纳米 PS 较原始纳米 PS 更加显著降低运动行为与多巴胺能神经元的荧光强度, 表明磺酸盐官能团增强了纳米 PS 的神经毒性. 综上所述, 氨基表面改性后的微塑料会对秀丽线虫可能产生更严重的影响, 而羧基改性的微塑料的毒性尚存争议, 未来亟需加强对改性微塑料毒性的研究.

3.3 联合毒性/吸附其他污染物

由于微塑料粒径小, 有着较大的比表面积, 它们很容易吸附其他的有害物质, 尤其是有机污染物, 从而可能对生物体造成更严重的毒性^[66-67]. Qu 等^[43]研究了环境浓度的纳米 PS 和微囊藻毒素-LR(MC-LR)之间的组合毒性效应, 结果显示长期暴露于纳米 PS(1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)可增加 MC-LR(0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的毒性, 导致更严重的生殖与神经毒性. Li 等^[53]将感染了白色念珠菌的秀丽线虫暴露于浓度为 10—100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PS 纳米微塑料中 24 小时. 结果表明, 纳米 PS 对感染真菌线虫的寿命、运动行为以及 ROS 都产生了更严重的负面影响. Yilimulati 等^[54]研究发现吸附了环丙沙星(CIP)的 PS-COOH 对秀丽隐杆线虫存活率的毒性影响明显高于 CIP 或 PS-COOH 本身. 同样, Dong 等^[55]的研究表明浓度为 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米 PS 能够增强二氧化钛纳米粒子对线虫的毒性. 但是, 也有研究显示 PE 微塑料与布洛芬和西马嗪两种污染物复合暴露对秀丽线虫的并无负面影响, 这可能与微塑料材质的选择与暴露方式有关^[67]. 总的来说, 在以上研究中, PS 微塑料与其他污染物联合暴露的毒性可能高于微塑料或污染物单独暴露的毒性, 但是当微塑料的材质以及实验条件发生变化后, 可能会有不一样的结果.

3.4 其他

一项以土壤为暴露介质的最新研究显示, 聚对苯二甲酸乙二醇酯碎片和聚丙烯腈纤维在较低浓度下就会影响线虫的繁殖, 而 HDPE、PP 和 PS 碎片的毒性相对较低. 此外, 在该研究的试验条件下, LDPE 薄膜不会产生急性毒性, 这表明微塑料的种类及材质对其毒性有影响^[68]. 在 Fueser 等^[8]的研究中, PS 对秀丽线虫的毒性效应与暴露时间和暴露浓度等因素有关. Shang 等^[26]研究也发现随着暴露浓度和暴露时间的增加, 低浓度暴露组(2.4×10^7 粒 $\cdot\text{m}^{-2}$ 和 2.4×10^8 粒 $\cdot\text{m}^{-2}$)线虫寿命明显低于高浓度暴露组(2.4×10^9 粒 $\cdot\text{m}^{-2}$ 和 2.4×10^{10} 粒 $\cdot\text{m}^{-2}$). 另外, 微塑料在老化过程中也会增加毒性, 例如长期接触低浓度的经紫外照射老化的 PS 微塑料会对线虫造成比原始微塑料更严重的神经毒性和生殖毒性^[6, 69]. 此

外, 不仅微塑料颗粒本身会影响秀丽线虫的毒性, 它们的提取液也会对秀丽线虫造成一定的损伤. Ficociello 等^[57]研究了意大利中部拉蒂姆海岸的沉积物中微塑料的提取液对秀丽线虫的影响, 结果表明微塑料的提取液对秀丽隐杆线虫产生了显著的遗传毒性效应, 导致其 DNA 的片段化和生殖细胞的凋亡. Acosta-Coley 等^[28]通过致死率、发育、运动行为与转基因等指标分析对比环境微塑料与原生微塑料的提取液对秀丽线虫的毒性, 结果显示环境中的微塑料的提取液具有更大的毒性, 这可能是因为微塑料在风化和在降解过程中吸附了其他的环境污染物. Kim 等^[68]也发现微塑料中的可提取添加剂会对线虫的繁殖能力造成影响. 因此, 暴露时间、暴露浓度以及微塑料的材质类型、老化过程以及提取液等因素都会影响微塑料对秀丽线虫的毒性.

4 研究展望(Research prospect)

由于秀丽线虫具有易于培养、虫体透明、繁殖能力强与良好的遗传背景等独特优势, 目前已经成为毒理学研究的重要模式生物. 基于秀丽线虫的各类指标综合评价微塑料对线虫的毒性效应, 同时从分子层面揭示出微塑料对秀丽线虫的潜在毒性机制. 本文旨在总结以秀丽线虫为模式生物, 从致死率、神经毒性及生殖毒性等多个方面, 对微塑料的毒性效应及机制进行研究. 预计未来将有大量微塑料释放到环境中, 微塑料对生态和人类健康的危害应得到更多的关注. 尽管目前关于微塑料对秀丽线虫在毒理学方面的研究较多, 但仍有以下几方面的不足:

(1) 目前极少数研究使用模拟土壤孔隙水介质对线虫进行暴露, 而是采用常见的 K 液体. K 液中含有较多的离子, 这可能会对微塑料的毒性产生影响. 例如前文提到的在不同介质中, 羧基化聚苯乙烯微塑料的毒性截然不同. 因此未来的研究有必要对暴毒介质作用进行更集中的研究.

(2) 环境中的微塑料并不像模拟实验中一样单独存在, 它的表面可能吸附了其他污染物, 这也有可能产生毒性. 然而, 目前关于微塑料与其他污染物的复合毒性研究较少, 而且缺少对真实环境中微塑料的检测和研究. 因此, 环境中各类污染物与微塑料相互作用的影响应得到更多的关注.

(3) 从本文涉及的研究可以发现, 绝大多数研究中使用的微塑料为标准品, 且形状为球珠型, 粒径以 100 nm 居多, 材质也以聚苯乙烯为主, 然而生产生活中的塑料类型是多样的, 而且环境中微塑料也不止是球状, 因此未来研究有必要加强环境中的微塑料毒性效应研究.

(4) 目前对于微塑料毒性机理的研究还不够深入, 我们认为可采用系统基因组学、代谢组学和蛋白组学等多组学相结合的方法研究其潜在机制, 有助于分析微塑料的毒性作用通路.

参考文献 (References)

- [1] BHATTACHARYA A, KHARE S K. Ecological and toxicological manifestations of microplastics: current scenario, research gaps, and possible alleviation measures [J]. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Toxicology and Carcinogenesis*, 2020, 38(1): 1-20.
- [2] BHAGAT J, NISHIMURA N, SHIMADA Y. Worming into a robust model to unravel the micro/nanoplastic toxicity in soil: A review on *Caenorhabditis elegans* [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 138: 116235.
- [3] ISSAC M N, KANDASUBRAMANIAN B. Effect of microplastics in water and aquatic systems [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(16): 19544-19562.
- [4] 丁平, 张丽娟, 黄道建, 等. 微塑料对海洋生物的毒性效应及机理研究进展 [J]. *海洋湖沼通报*, 2021, 43(2): 144-153.
DING P, ZHANG L J, HUANG D J, et al. Toxic effect and mechanism of microplastics on marine organisms [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2021, 43(2): 144-153 (in Chinese).
- [5] 张瑾, 李丹. 环境中微/纳米塑料的污染现状、分析方法、毒性评价及健康效应研究进展 [J]. *环境化学*, 2021, 40(1): 28-40.
ZHANG J, LI D. Review on the occurrence, analysis methods, toxicity and health effects of micro-and nano-plastics in the environment [J]. *Environmental Chemistry*, 2021, 40(1): 28-40 (in Chinese).
- [6] CHEN H B, HUA X, YANG Y, et al. Chronic exposure to UV-aged microplastics induces neurotoxicity by affecting dopamine, glutamate, and serotonin neurotransmission in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 419: 126482.
- [7] 赵佳, 饶本强, 郭秀梅, 等. 微塑料对斑马鱼胚胎孵化影响及其在幼鱼肠道中的积累 [J]. *环境科学*, 2021, 42(1): 485-491.
ZHAO J, RAO B Q, GUO X M, et al. Effects of microplastics on embryo hatching and intestinal accumulation in larval zebrafish *Danio rerio* [J]. *Environmental Science*, 2021, 42(1): 485-491 (in Chinese).

- [8] FUESER H, MUELLER M T, WEISS L, et al. Ingestion of microplastics by nematodes depends on feeding strategy and buccal cavity size [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 255: 113227.
- [9] MAO Y F, AI H N, CHEN Y, et al. Phytoplankton response to polystyrene microplastics: Perspective from an entire growth period [J]. *Chemosphere*, 2018, 208: 59-68.
- [10] WU T S, XU H S, LIANG X, et al. *Caenorhabditis elegans* as a complete model organism for biosafety assessments of nanoparticles [J]. *Chemosphere*, 2019, 221: 708-726.
- [11] CHEN H B, WANG C, LI H, et al. A review of toxicity induced by persistent organic pollutants (POPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 237: 519-525.
- [12] KANG H M, JEONG C B, LEE Y H, et al. Cross-reactivities of mammalian MAPKs antibodies in rotifer and copepod: Application in mechanistic studies in aquatic ecotoxicology [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 124(2): 614-623.
- [13] NIGAMATZYANOVA L, FAKHRULLIN R. Dark-field hyperspectral microscopy for label-free microplastics and nanoplastics detection and identification in vivo: A *Caenorhabditis elegans* study [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 271: 116337.
- [14] RAUCHSCHWALBE M T, FUESER H, TRAUNSPURGER W, et al. Bacterial consumption by nematodes is disturbed by the presence of polystyrene beads: The roles of food dilution and pharyngeal pumping [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 273: 116471.
- [15] FUESER H, RAUCHSCHWALBE M T, HÖSS S, et al. Food bacteria and synthetic microparticles of similar size influence pharyngeal pumping of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021, 235: 105827.
- [16] YOUSSEF K, ARCHONTA D, KUBISESKI T J, et al. Microfluidic electric parallel egg-laying assay and application to *in-vivo* toxicity screening of microplastics using *C. elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 783: 147055.
- [17] CHU Q, ZHANG S, YU X, et al. Fecal microbiota transplantation attenuates nano-plastics induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 779: 146454.
- [18] FUESER H, MUELLER M T, TRAUNSPURGER W. Rapid ingestion and egestion of spherical microplastics by bacteria-feeding nematodes [J]. *Chemosphere*, 2020, 261: 128162.
- [19] ZHAO L, QU M, WONG G, et al. Transgenerational toxicity of nanopolystyrene particles in the range of $\mu\text{g L}^{-1}$ in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Science:Nano*, 2017, 4(12): 2356-2366.
- [20] SHAO H M, WANG D Y. Long-term and low-dose exposure to nanopolystyrene induces a protective strategy to maintain functional state of intestine barrier in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 258: 113649.
- [21] YU Y J, CHEN H B, HUA X, et al. Polystyrene microplastics (PS-MPs) toxicity induced oxidative stress and intestinal injury in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 726: 138679.
- [22] LEI L L, WU S Y, LU S B, et al. Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 619/620: 1-8.
- [23] YANG Y H, SHAO H M, WU Q L, et al. Lipid metabolic response to polystyrene particles in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 256: 113439.
- [24] QU M, LUO L B, YANG Y H, et al. Nanopolystyrene-induced microRNAs response in *Caenorhabditis elegans* after long-term and lose-dose exposure [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 697: 134131.
- [25] QIU Y X, LUO L B, YANG Y H, et al. Potential toxicity of nanopolystyrene on lifespan and aging process of nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 705: 135918.
- [26] SHANG X, LU J W, FENG C, et al. Microplastic (1 and 5 μm) exposure disturbs lifespan and intestine function in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 705: 135837.
- [27] LEI L L, LIU M T, SONG Y, et al. Polystyrene (nano)microplastics cause size-dependent neurotoxicity, oxidative damage and other adverse effects in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Science:Nano*, 2018, 5(8): 2009-2020.
- [28] ACOSTA-COLEY I, DURAN-IZQUIERDO M, RODRIGUEZ-CAVALLO E, et al. Quantification of microplastics along the Caribbean Coastline of Colombia: Pollution profile and biological effects on *Caenorhabditis elegans* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 146: 574-583.
- [29] LIU Q Y, CHEN C X, LI M T, et al. Neurodevelopmental toxicity of polystyrene nanoplastics in *Caenorhabditis elegans* and the regulating effect of presenilin [J]. *ACS Omega*, 2020, 5(51): 33170-33177.
- [30] QU M, WANG D Y. Toxicity comparison between pristine and sulfonate modified nanopolystyrene particles in affecting locomotion behavior, sensory perception, and neuronal development in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 703: 134817.
- [31] YANG Y H, DONG W T, WU Q L, et al. Induction of protective response associated with expressional alterations in neuronal G protein-coupled receptors in polystyrene nanoparticle exposed *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2021, 34(5): 1308-1318.
- [32] QU M, QIU Y X, KONG Y, et al. Amino modification enhances reproductive toxicity of nanopolystyrene on gonad development and reproductive capacity in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254: 112978.

- [33] SUN L M, LIAO K, WANG D Y. Comparison of transgenerational reproductive toxicity induced by pristine and amino modified nanoplastics in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 768: 144362.
- [34] KIM Y, JEONG J, LEE S, et al. Identification of adverse outcome pathway related to high-density polyethylene microplastics exposure: *Caenorhabditis elegans* transcription factor RNAi screening and zebrafish study [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 388: 121725.
- [35] YANG Y H, DU H H, XIAO G S, et al. Response of intestinal $G\alpha$ subunits to nanopolystyrene in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Science:Nano*, 2020, 7(8): 2351-2359.
- [36] YU C W, LUK T C, LIAO V H C. Long-term nanoplastics exposure results in multi and trans-generational reproduction decline associated with germline toxicity and epigenetic regulation in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 412: 125173.
- [37] MUELLER M T, FUESER H, HÖSS S, et al. Species-specific effects of long-term microplastic exposure on the population growth of nematodes, with a focus on microplastic ingestion [J]. *Ecological Indicators*, 2020, 118: 106698.
- [38] SCHÖPFER L, MENZEL R, SCHNEPF U, et al. Microplastics effects on reproduction and body length of the soil-dwelling nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2020, 8: 41.
- [39] LI D, JI J, YUAN Y J, et al. Toxicity comparison of nanopolystyrene with three metal oxide nanoparticles in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemosphere*, 2020, 245: 125625.
- [40] KIM H M, LEE D K, LONG N P, et al. Uptake of nanopolystyrene particles induces distinct metabolic profiles and toxic effects in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 246: 578-586.
- [41] CHEN H B, HUA X, LI H, et al. Transgenerational neurotoxicity of polystyrene microplastics induced by oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemosphere*, 2021, 272: 129642.
- [42] LIU H L, TIAN L J, WANG S T, et al. Size-dependent transgenerational toxicity induced by nanoplastics in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 790: 148217.
- [43] QU M, NIDA A, KONG Y, et al. Nanopolystyrene at predicted environmental concentration enhances microcystin-LR toxicity by inducing intestinal damage in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 183: 109568.
- [44] QU M, LI D, QIU Y X, et al. Neuronal ERK MAPK signaling in response to low-dose nanopolystyrene exposure by suppressing insulin peptide expression in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 724: 138378.
- [45] QU M, LI D, ZHAO Y L, et al. Exposure to low-dose nanopolystyrene induces the response of neuronal JNK MAPK signaling pathway in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Sciences Europe*, 2020, 32: 58.
- [46] WANG S T, LIU H L, QU M, et al. Response of tyramine and glutamate related signals to nanoplastic exposure in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 217: 112239.
- [47] LIU H L, WANG D Y. Intestinal mitochondrial unfolded protein response induced by nanoplastic particles in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemosphere*, 2021, 267: 128917.
- [48] YANG Y H, WU Q L, WANG D Y. Dysregulation of G protein-coupled receptors in the intestine by nanoplastic exposure in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Science:Nano*, 2021, 8(4): 1019-1028.
- [49] LIU H L, ZHANG R J, WANG D Y. Response of DBL-1/TGF- β signaling-mediated neuron-intestine communication to nanopolystyrene in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 745: 141047.
- [50] WANG S T, LIU H L, ZHAO Y Y, et al. Dysregulated *mir-354* enhanced the protective response to nanopolystyrene by affecting the activity of TGF- β signaling pathway in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *NanoImpact*, 2020, 20: 100256.
- [51] SHAO H M, KONG Y, WANG D Y. Response of intestinal signaling communication between the nucleus and peroxisome to nanopolystyrene at a predicted environmental concentration [J]. *Environmental Science:Nano*, 2020, 7(1): 250-261.
- [52] MUELLER M T, FUESER H, TRAC L N, et al. Surface-related toxicity of polystyrene beads to nematodes and the role of food availability [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(3): 1790-1798.
- [53] LI D, DENG Y J, WANG S T, et al. Assessment of nanopolystyrene toxicity under fungal infection condition in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 197: 110625.
- [54] YILIMULATI M, WANG L F, MA X L, et al. Adsorption of ciprofloxacin to functionalized nano-sized polystyrene plastic: Kinetics, thermochemistry and toxicity [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 750: 142370.
- [55] DONG S S, QU M, RUI Q, et al. Combinational effect of titanium dioxide nanoparticles and nanopolystyrene particles at environmentally relevant concentrations on nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 161: 444-450.
- [56] SCHULTZ C L, BART S, LAHIVE E, et al. What is on the outside matters-surface charge and dissolve organic matter association affect the toxicity and physiological mode of action of polystyrene nanoplastics to *C. elegans* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(9): 6065-6075.
- [57] FICOCIELLO G, GERARDI V, UCCELLETTI D, et al. Molecular and cellular responses to short exposure to bisphenols A, F, and S

- and eluates of microplastics in *C. elegans* [J]. [Environmental Science and Pollution Research](#), 2021, 28(1): 805-818.
- [58] CHEN W, CHU Q, YE X, et al. Canidin-3-glucoside prevents nano-plastics induced toxicity via activating autophagy and promoting discharge [J]. [Environmental Pollution \(Barking, Essex:1987\)](#), 2021, 274: 116524.
- [59] 余雪锋, 耿文敬, 郭肖颖, 等. 两种常用氯氰菊酯对秀丽隐杆线虫生殖发育影响的信号转导通路 [J]. [农业环境科学学报](#), 2019, 38(9): 2066-2073.
- YU X F, GENG W J, GUO X Y, et al. The reproductive signal pathways induced by two cypermethrins in *Caenorhabditis elegans* [J]. [Journal of Agro-Environment Science](#), 2019, 38(9): 2066-2073 (in Chinese).
- [60] LIU H L, ZHAO Y Y, BI K, et al. Dysregulated *mir-76* mediated a protective response to nanopolystyrene by modulating heme homeostasis related molecular signaling in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. [Ecotoxicology and Environmental Safety](#), 2021, 212: 112018.
- [61] ZHAO Y Y, XU R R, CHEN X, et al. Induction of protective response to polystyrene nanoparticles associated with dysregulation of intestinal long non-coding RNAs in *Caenorhabditis elegans* [J]. [Ecotoxicology and Environmental Safety](#), 2021, 212: 111976.
- [62] YU C W, WU Y C, LIAO V H C. Early developmental nanoplastics exposure disturbs circadian rhythms associated with stress resistance decline and modulated by DAF-16 and PRDX-2 in *C. elegans* [J]. [Journal of Hazardous Materials](#), 2022, 423: 127091.
- [63] WANG S T, ZHANG R J, WANG D Y. Induction of protective response to polystyrene nanoparticles associated with methylation regulation in *Caenorhabditis elegans* [J]. [Chemosphere](#), 2021, 271: 129589.
- [64] KIM S W, KIM D, JEONG S W, et al. Size-dependent effects of polystyrene plastic particles on the nematode *Caenorhabditis elegans* as related to soil physicochemical properties [J]. [Environmental Pollution](#), 2020, 258: 113740.
- [65] ZHANG H H, CHENG H D, WANG Y D, et al. Influence of functional group modification on the toxicity of nanoplastics [J]. [Frontiers in Marine Science](#), 2022, 8: 800782.
- [66] 张蕾. 海洋微塑料的生态环境风险的研究进度及展望 [J]. [资源节约与环保](#), 2021(6): 27-28.
- ZHANG L. Research progress and prospect on ecological environmental risks of marine microplastics [J]. [Resources Economization & Environmental Protection](#), 2021(6): 27-28 (in Chinese).
- [67] MARTÍN C, FAJARDO C, COSTA G, et al. Bioassays to assess the ecotoxicological impact of polyethylene microplastics and two organic pollutants, simazine and ibuprofen [J]. [Chemosphere](#), 2021, 274: 129704.
- [68] KIM S W, WALDMAN W R, KIM T Y, et al. Effects of different microplastics on nematodes in the soil environment: Tracking the extractable additives using an ecotoxicological approach [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2020, 54(21): 13868-13878.
- [69] CHEN H B, YANG Y, WANG C, et al. Reproductive toxicity of UV-photodegraded polystyrene microplastics induced by DNA damage-dependent cell apoptosis in *Caenorhabditis elegans* [J]. [Science of the Total Environment](#), 2022, 811: 152350.