



石源, 陈秋璇, 滕燕, 等. 微塑料对大黄鱼巨噬细胞的免疫毒性效应及其机制研究 [J]. 水产学报, 2026, 50(5): 059420.
Shi Y, Chen Q X, Teng Y, et al. Microplastics induce immunotoxicity in macrophages of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2026, 50(5): 059420 (in Chinese).

微塑料对大黄鱼巨噬细胞的免疫毒性效应及其机制研究

石源, 陈秋璇, 滕燕, 王美艳, 陈俊伯, 赵熙涵, 陈新华*
(福建农林大学海洋学院, 海水养殖生物育种全国重点实验室,
福建省海洋生物技术重点实验室, 福建福州 350002)

摘要: 【目的】为了研究不同粒径微塑料对大黄鱼原代巨噬细胞的免疫毒性效应及其作用机制。【方法】分离培养大黄鱼头肾原代巨噬细胞, 分别添加 0.1、1.0、5.0 μm 粒径的聚苯乙烯微塑料处理。通过乳酸脱氢酶 (LDH) 法检测细胞毒性, DCFH-DA 荧光探针检测活性氧 (ROS) 水平, qRT-PCR 分析免疫与凋亡相关基因表达, 并利用 RNA-seq 技术分析转录组变化。【结果】微塑料处理可诱导大黄鱼巨噬细胞 LDH 释放和 ROS 生成, 并抑制脂多糖诱导的 Myd88、IL-1 β 和 IL-6 等免疫基因表达上调。RNA-seq 分析发现 541 个差异表达基因, GO 富集分析显示, 上调基因主要富集于“程序性细胞死亡”等条目, 下调基因显著富集于“免疫反应”、“细胞因子活性”等条目。qRT-PCR 分析发现, 微塑料处理可上调促凋亡基因 (*Caspase3*、*Caspase6* 和 *Caspase8*) 和氧化应激相关基因 (*SOD* 和 *TNF- α 1*) 的表达, 并下调抗凋亡基因 *Bcl2* 的表达。共聚焦显微镜观察发现, 微塑料可被巨噬细胞吞噬, 并主要分布于细胞质中。【结论】微塑料可通过诱导氧化应激与细胞凋亡, 直接损伤大黄鱼巨噬细胞, 并抑制其免疫应答。本研究阐明了微塑料对大黄鱼巨噬细胞的毒性效应及其作用机制, 为评估微塑料污染的养殖风险提供了重要依据, 对大黄鱼健康养殖与病害防控具有指导意义。

关键词: 大黄鱼; 微塑料; 巨噬细胞; 细胞凋亡; 转录组测序

中图分类号: S 949; X 171

文献标志码: A

微塑料 (Microplastics, MPs) 作为一种新兴且持续增长的环境污染物, 广泛分布于全球各类水产养殖环境中, 对养殖生物构成潜在威胁^[1]。自 2004 年微塑料概念被明确界定以来, 其在环境中的分布特征、对生物的影响及潜在的生态效应已成为环境科学的研究热点^[2-3]。环境中的微塑料可

被直接摄食, 或附着于生物膜、重金属和有机物表面, 以复合污染的形式进入生物体内, 引发物理损伤、免疫紊乱及代谢异常等^[4-5], 不仅可以直接威胁养殖生物, 更可能通过食物链传递与蓄积, 最终危害人类健康^[6]。评估其对水产养殖生物的毒性效应与作用机制, 是关乎水产业可持续发展

收稿日期: 2026-01-26 修回日期: 2026-03-07

资助项目: 国家重点研发计划 (2025YFD2400300); 国家自然科学基金 (U23A20253, 32102784, 32503242); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-47); 福建省自然科学基金 (2022J01211209, 2025J01606); 福建省中青年骨干教师教育科研项目 (JZ240020)

第一作者: 石源, 从事水产动物免疫学研究, E-mail: shiyuan@fafu.edu.cn;

陈秋璇, 从事水产动物免疫学研究, E-mail: chenqiuxuan@fafu.edu.cn

通信作者: 陈新华, 从事水产动物免疫学研究, E-mail: chenxinhua@tio.org.cn



和公共健康的重要科学问题。

巨噬细胞是先天性免疫的重要细胞类型，可直接吞噬和杀灭病原，并可分泌炎症因子、趋化因子等激活适应性免疫应答^[7]。前期研究发现多种环境胁迫(如重金属、有机污染物)均可导致巨噬细胞功能紊乱，如导致细胞毒性、吞噬能力降低、活性氧失衡以及免疫相关基因表达异常，从而损害宿主免疫系统^[8-9]。鱼类作为低等脊椎动物，也具有较为完善的先天性和适应性免疫系统。近年来，研究发现微塑料暴露可诱导鱼类产生氧化应激、引发组织炎症及细胞损伤^[10-11]。然而，现有研究多集中于个体或组织水平，关于微塑料对鱼类巨噬细胞的毒性效应与免疫调控机制的研究仍显不足。系统阐明微塑料对巨噬细胞的影响及其调控机制，对于准确评估微塑料的毒性效应及其生态风险至关重要。

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 是我国重要海水养殖鱼类，2024 年全国养殖产量达 29.3 万 t^[12-13]。然而，随着养殖规模的持续扩大与集约化程度的提高，大黄鱼主要养殖区微塑料浓度日渐升高，由此引发的环境污染和病害问题严重危害大黄鱼养殖业的可持续健康发展^[14-15]。前期研究发现，纳米塑料暴露可损害大黄鱼肠道健康和肝脏脂质代谢，降低大黄鱼生长速率和营养品质^[16-17]。然而，关于微塑料对大黄鱼的免疫毒性尚缺乏研究。因此，探究微塑料对大黄鱼重要免疫细胞的功能影响，对于认识微塑料对大黄鱼的免疫毒性及其机制具有重要意义。本实验以大黄鱼巨噬细胞为对象，开展微塑料对其功能的影响及相关机制研究，以期系统揭示微塑料对大黄鱼巨噬细胞的免疫毒性及其机制，为科学评估微塑料暴露的养殖风险及制定针对性防控策略提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用大黄鱼体重 (32.6 ± 5.8) g，购自宁德市富发水产有限公司，参照本实验室已有方法进行暂养^[18-19]。养殖于水温 (20 ± 2) °C 的循环水系统中，每日投喂商用饲料 2 次。暂养 7 d 天后，选取健康个体用于实验。本研究获福建农林大学实验动物伦理委员会批准(批准号: PZCASFAFU25069)，所有动物实验操作均严格遵守相关管理规定。

1.2 原代巨噬细胞分离培养

大黄鱼头肾原代巨噬细胞的分离培养参照文献^[20-21]的方法。简要而言，无菌取健康大黄鱼的头肾组织，经 70 μm 尼龙网筛轻轻研磨过滤，获得单细胞悬液。悬液用含 2% 胎牛血清 (FBS)、15 IU/mL 肝素钠及 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基冰上洗涤 2 次。将细胞悬液加于新配制的 34%/51% Percoll(GE) 密度梯度液上，4 °C、650 $\times g$ 离心 30 min。收集梯度界面的细胞，用 DMEM 洗涤 2 次，最终重悬于含 2% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中，于 28 °C 培养箱中静置过夜。24 孔板每孔接种 2×10^5 细胞。次日轻轻吹打并弃去未贴壁细胞，贴壁细胞即为原代巨噬细胞，用于后续实验。

1.3 微塑料暴露与细胞毒性检测

实验采用粒径分别为 0.1、1.0 和 5.0 μm 的荧光聚苯乙烯微塑料(天津市信思乐色谱技术开发中心)，巨噬细胞贴壁后添加终浓度为 10、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 的微塑料处理，以不添加微塑料的细胞为对照组，于 28 °C 下处理 24 h。处理结束后，利用乳酸脱氢酶 (LDH) 细胞毒性检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)分析细胞毒性^[22]。收集细胞培养上清液，在酶标仪 490 nm 波长下测定吸光度，计算 LDH 释放率以评估细胞毒性。

1.4 细胞内活性氧 (ROS) 水平测定

巨噬细胞经不同粒径微塑料 (50 $\mu\text{g/mL}$) 处理 24 h，弃去培养基，利用 ROS 检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)检测 ROS 生成水平^[23]。简要而言，加入用无血清培养基稀释好的 DCFH-DA 探针工作液，于 28 °C 孵育 30 min。孵育结束后，用无血清培养基轻柔洗涤细胞 3 次，以充分去除未进入细胞的探针。通过荧光显微镜观察细胞中荧光强度。

1.5 RNA 提取与实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)

巨噬细胞在静息过夜后，先添加 50 $\mu\text{g/mL}$ 的 1.0 μm 微塑料处理 24 h，再用 20 $\mu\text{g/mL}$ 脂多糖 (Sigma, 德国) 处理，以仅脂多糖处理为对照。使用 TRIzol 试剂(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)提取总 RNA，经纯度与浓度检测合格后，使用 All-In-One 5 \times RT MasterMix 试剂盒(abm, 加拿大)合成 cDNA。利用 SYBR qPCR Master Mix

(南京诺唯赞生物科技股份有限公司) 进行实时荧光定量 PCR。以 *Lcβ-actin* 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因 mRNA 相对表达量^[24]。每个样品包含 3 个生物学重复。基因特异性引物见表 1。

表 1 用于 qRT-PCR 的引物序列

基因ID gene ID	基因名 gene name	引物序列 (5'-3') primer sequence
XM_010729997.2	<i>Bcl2</i>	F: GAACTGGGGCCGGATTATCG R: TAAGGTATGCCCGATGGTG
NM_001303393.1	<i>Caspase 3</i>	F: CCTACATGGACGTGGATGCC R: TCGCCTCGAAACAGTGATGT
XM_027282970.1	<i>Caspase 6</i>	F: GCTACTCTGTGGCTGAAGTTAC R: CCGATGGCGTTATGGTCTTTACT
XM_010754584.3	<i>Caspase 8</i>	F: TCAGCGAAGACCACAACC R: CACCACAGTGAAGCCAAG
XM_027282093.1	<i>IL-1B</i>	F: CAGCTGTTCTCAAGTATGTGGC R: GTTGTAATAGTGGGTGTGTGC
XM_010734753.3	<i>IL-6</i>	F: CGACACACCCACTATTTACAAC R: TCCCATTTTCTGAAGTGCCTCT
XM_010753272.3	<i>Myd88</i>	F: CGAGACAGGGTTGGTCTCAC R: TGAAAGTCGCAGGCATCACT
XM_010745990.3	<i>TNF-α1</i>	F: AGACAGCCAGCAACAATCC R: GCAAACAGCCAAAGAAAGT
NM_001303360.1	<i>SOD</i>	F: GAGACAATACAAACGGGTGC R: CAATGATGGAAATGGGGC
XM_027284923.1	<i>β-actin</i>	F: GACCTCACAGACTACCTCATG R: TGTTGTAGGTGGTCTCGTGA

1.6 转录组测序及差异表达基因分析

分别收集对照组及微塑料处理的巨噬细胞, 使用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA。经 Qubit 2.0 定量及琼脂糖凝胶电泳检测完整性后, 合格样品送至广州基迪奥生物科技有限公司进行建库及 150 bp 双端测序 (Illumina)。利用 fastp 去除原始数据中接头序列及低质量碱基, 然后通过 HISAT2 软件比

对至大黄鱼参考基因组, 并利用 StringTie 进行转录本组装^[25-26]。基因表达量以每百万读数转录本数 (TPM) 进行标准化, 随后使用 DESeq2 进行差异表达分析^[27]。差异表达基因的筛选标准为: |差异倍数| > 1.5 且 $P < 0.05$ 。最后, 采用 DAVID 算法对差异表达基因进行 GO 富集分析^[28]。测序原始数据已上传至 NCBI 数据库, 登录号: PRJNA1404722。

1.7 数据分析

所有实验数据均以平均值±标准差表示。使用 GraphPad Prism 9 软件进行统计分析。组间比较采用非配对 Student's *t* 检验或单因素方差分析, 定义 $P < 0.05$ 为具有统计学显著性。

2 结果

2.1 微塑料对大黄鱼巨噬细胞的毒性分析

为探究微塑料对巨噬细胞的直接毒性作用, 本研究采用不同粒径 (0.1、1.0、5.0 μm) 与浓度 (10、25、50 μg/mL) 的微塑料处理细胞 24 h, 并通过 LDH 释放率评估细胞毒性。结果显示, 与对照组相比, 3 种粒径的微塑料处理均能显著诱导巨噬细胞死亡, 其中 0.1 和 1.0 μm 粒径的微塑料毒性效应较强 (图 1)。此外, 微塑料的毒性效应呈现浓度依赖性, 在 50 μg/mL 的处理浓度下, 各粒径组均表现出最高的细胞死亡率, 表明该浓度微塑料对巨噬细胞具有显著毒性效应。

2.2 微塑料促进大黄鱼巨噬细胞内 ROS 生成

基于细胞毒性结果, 本研究选取 50 μg/mL 作为处理浓度, 进一步检测了不同粒径微塑料对巨

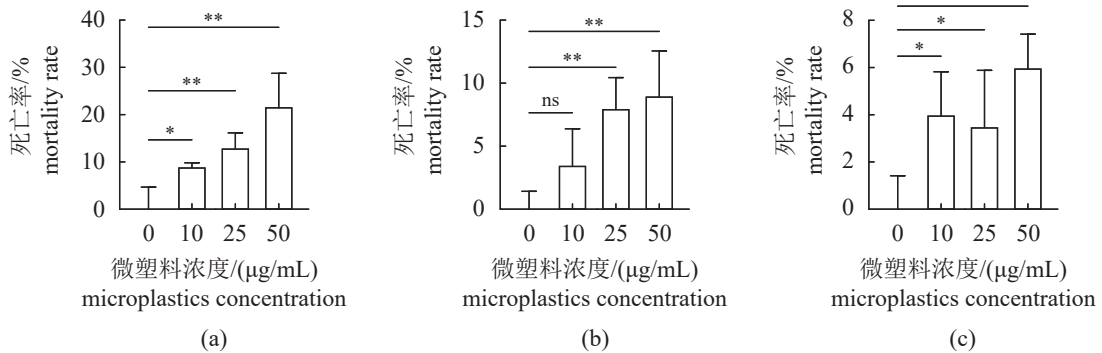


图 1 微塑料对大黄鱼巨噬细胞的毒性作用

*. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$, ns. 无显著性差异, 下同。

Fig. 1 Cytotoxicity of microplastics on *L. crocea* macrophages

(a) 0.1 μm, (b) 1.0 μm, (c) 5.0 μm. *. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$, ns. not significant, the same below.

噬细胞氧化应激水平的影响。通过 DCFH-DA 荧光探针检测发现，经 0.1、1.0、5.0 μm 微塑料处理 24 h，巨噬细胞内 ROS 荧光强度均较对照组显著增强 (图 2)。表明微塑料暴露可导致大黄鱼巨噬细胞的 ROS 水平升高，引发氧化应激。

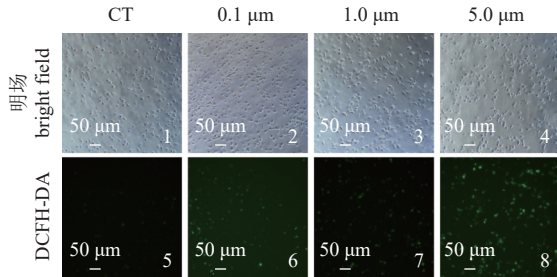


图 2 微塑料促进大黄鱼巨噬细胞 ROS 生成

Fig. 2 Microplastics promote reactive oxygen species generation in macrophages

2.3 微塑料抑制巨噬细胞免疫应答

为明确微塑料对巨噬细胞功能的影响，本研究选取粒径 1.0 μm、浓度 50 μg/mL 的微塑料进行预处理，再以脂多糖 (LPS) 刺激巨噬细胞。通过 qRT-PCR 检测免疫相关基因的表达水平，发现 LPS 单独处理可显著上调巨噬细胞中髓样分化因子 88 (*Myd88*)、白细胞介素-1β (*IL-1β*) 及白细胞介素-6 (*IL-6*) 的表达水平 (图 3)。然而，经微塑料预处理后，上述基因在 LPS 刺激下的表达上调均受到显著抑制 (图 3)。这表明微塑料暴露能够抑制大黄鱼巨噬细胞在 LPS 诱导下的免疫应答。

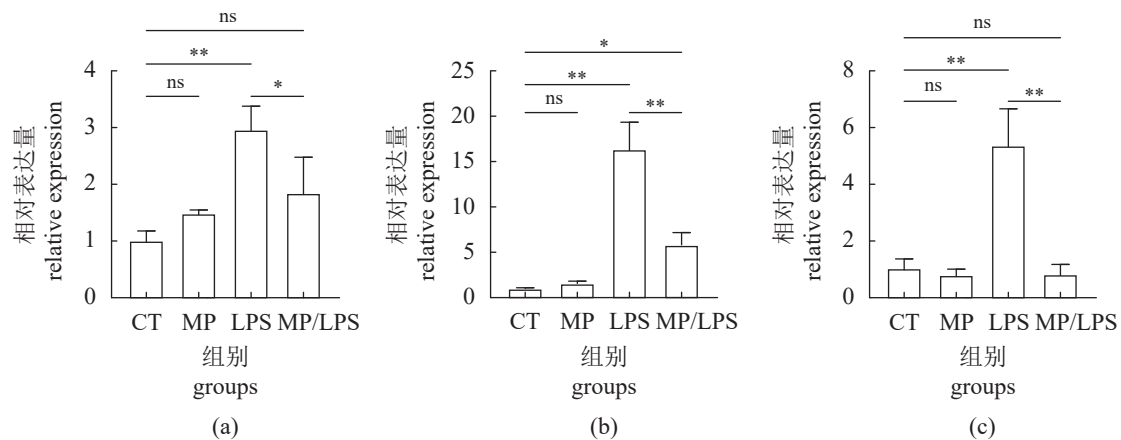


图 3 微塑料抑制巨噬细胞免疫应答

CT.对照组, MP.微塑料处理组, LPS.脂多糖处理组; MP/LPS.微塑料/脂多糖联合处理组, 下同。

Fig. 3 Microplastics inhibit macrophage activation

(a) *Myd88*, (b) *IL-1β*, (c) *IL-6*. CT. control group, MP. microplastics treated group, LPS. LPS treated group, MP/LPS. microplastics and LPS treated group, the same below.

2.4 微塑料显著改变巨噬细胞转录组

为探究微塑料影响巨噬细胞的作用机制，本研究对 1.0 μm、50 μg/mL 微塑料处理组与对照组的巨噬细胞进行了转录组测序。主成分分析 (PCA) 与层次聚类分析均显示，微塑料处理组与对照组的转录组呈现明显分离 (图 4-a, b)。差异表达分析共鉴定出 541 个差异表达基因，有 464 个基因表达下调，77 个基因表达上调 (图 4-c, d)，表明微塑料处理显著影响巨噬细胞的基因表达。

2.5 差异表达基因的功能富集 (GO) 分析

为进一步解析差异表达基因的生物学功能，本研究利用 DAVID 算法分别对上调与下调的基因集进行了 GO 功能富集分析。结果显示，上调基因显著富集于“对刺激的反应”“程序性细胞死亡的调控”等条目 (图 5-a)。而下调基因则显著富集于“免疫反应”“细胞因子活性”及“钙离子介导的信号传导”等与免疫和信号传导相关的条目 (图 5-b)。

2.6 微塑料处理诱导巨噬细胞凋亡

通过 qRT-PCR 检测了凋亡相关基因的表达，结果显示，经 1.0 μm、50 μg/mL 微塑料处理后，促凋亡基因 (*Caspase3*、*Caspase6* 和 *Caspase8*) 和氧化应激相关基因 (*SOD* 和 *TNF-α1*) 的表达水平显著上调，而抗凋亡基因 *Bcl2* 的表达则被显著抑制 (图 6)。通过共聚焦显微镜观察发现，微塑料可被巨噬细胞吞噬，且主要分布于细胞质内 (图 7)。以上结果表明，微塑料可进入巨噬细胞，诱导巨

噬细胞凋亡及氧化应激, 并抑制其免疫应答。

3 讨论

微塑料是水体环境中广泛存在且备受关注的新型污染物, 可在水生生物体内积累, 并引发氧化应激、炎症反应等毒性效应^[29]。对鲫 (*Carassius auratus*) 的研究发现, 微塑料暴露会引发肠道菌群紊乱, 并通过脑-肠轴导致大脑的感染性炎症和肠道的溶解和坏死^[30]。对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的研究发现, 肝脏中的微塑料累积会导致氧化应激并阻遏细胞复制^[31]。此外, 微塑料可以与重金属

离子协同作用, 造成氧化应激和神经结构损伤^[32]。类似地, 本研究发现不同粒径的微塑料均可导致大黄鱼巨噬细胞发生氧化应激, 从而造成细胞死亡。

已有研究表明, 微塑料不仅通过物理损伤影响生物体, 还可干扰机体的免疫系统和代谢功能。对鲤 (*Cyprinus carpio*) 的研究发现, 微塑料可通过激活 NF- κ B 信号通路引发炎症反应, 并导致细胞凋亡和组织损伤^[33]。此外, 微塑料还可以通过抑制抗氧化酶和溶菌酶基因的表达, 进而损害鱼类的免疫系统^[34]。这些研究表明微塑料暴露可能通过多种途径抑制鱼类的免疫系统。巨噬细胞是先天性免疫的重要细胞类型, 其正常的活化与功能

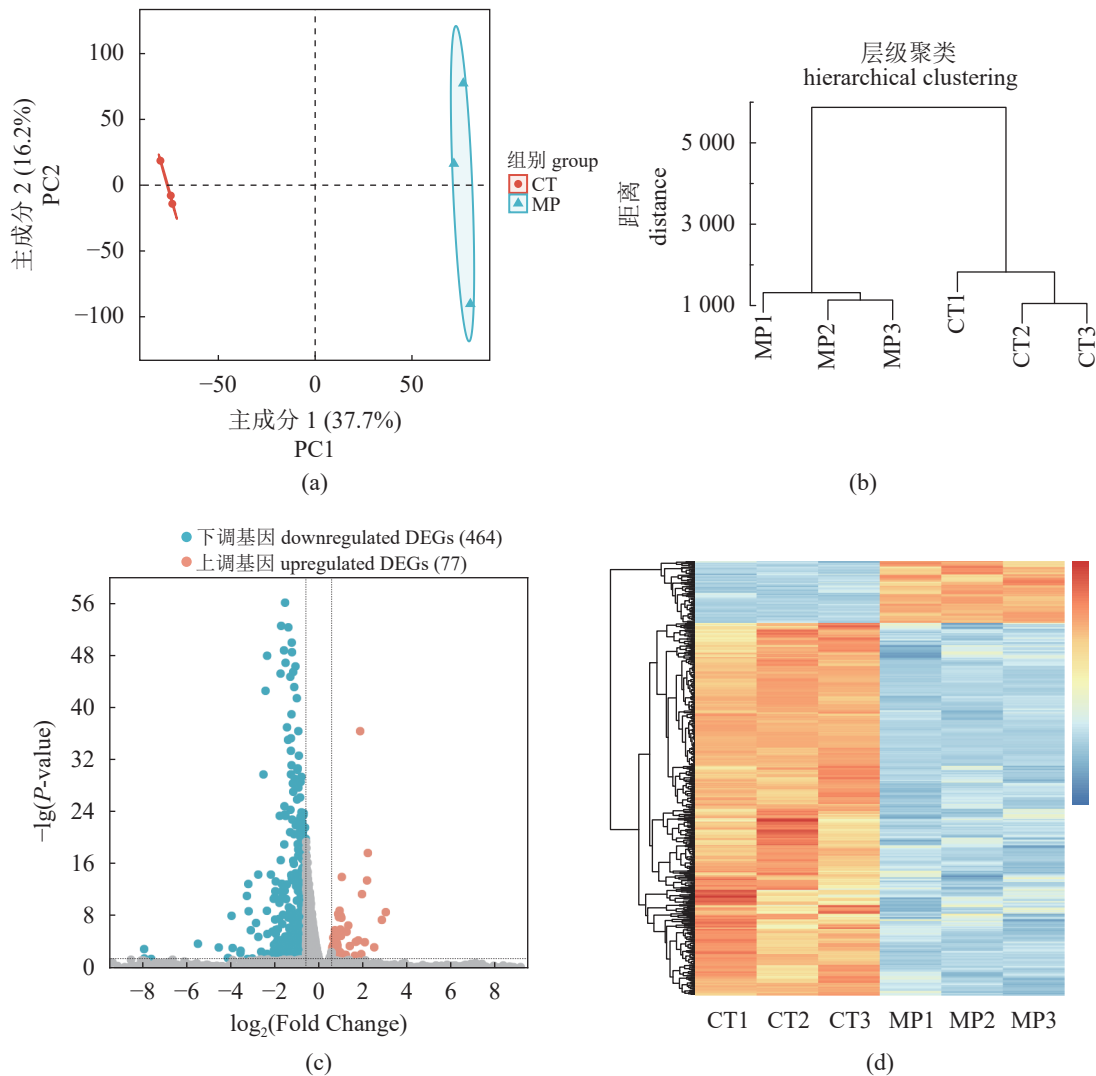


图 4 转录组测序分析微塑料处理后巨噬细胞表达水平

(a) (b) 主成分分析和层级聚类分析显示微塑料处理显著改变巨噬细胞转录组。(c) (d) 火山图和热图显示微塑料处理后差异表达基因。

Fig. 4 Transcriptomic analysis of macrophages treated with microplastics

(a) (b) principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering analysis showed distinct transcriptomic profiles between microplastics-treated and control macrophages. (c) (d) volcano plot and heatmap showed differentially expressed genes after microplastics treatment.

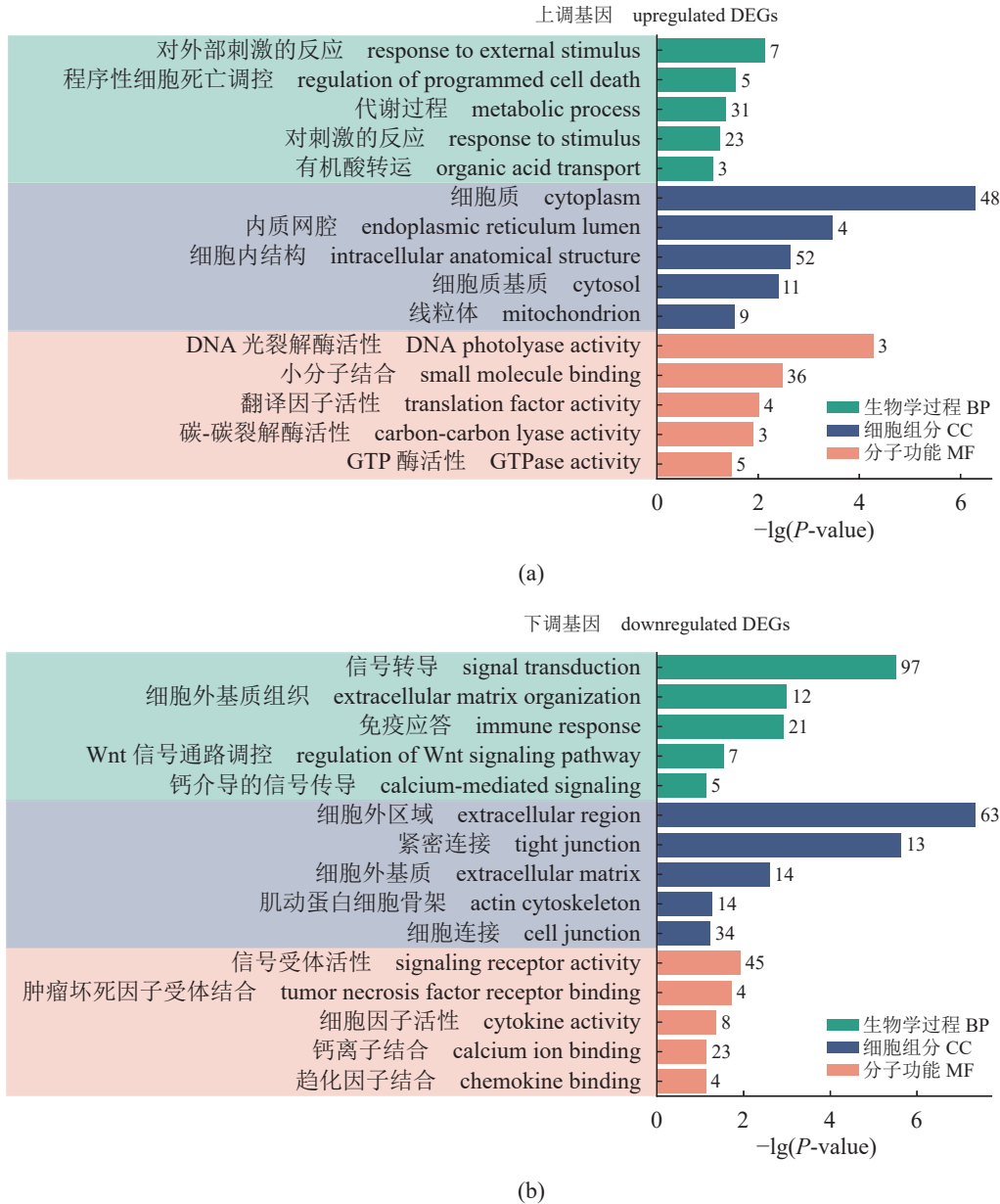


图 5 差异表达基因 GO 富集分析

(a) 上调基因, (b) 下调基因。BP.生物学过程, CC.细胞组分, MF.分子功能。

Fig. 5 GO enrichment analysis of differentially expressed genes

(a) upregulated genes, (b) downregulated genes. BP. biological process, CC. cellular component, MF. molecular function.

对于机体抵抗病原入侵至关重要。本研究发现微塑料暴露可抑制 LPS 诱导的巨噬细胞中关键免疫基因的上调。这些结果表明, 微塑料的免疫抑制效应可能在多个物种中广泛存在, 其机制可能与微塑料引起的氧化应激有关。活性氧过度累积也可干扰多种免疫相关信号通路的正常传导^[35]。

RNA-seq 技术可从转录组层面揭示生物体在特定条件下的表达水平变化, 被广泛应用于解析胚胎发育、免疫应答以及肿瘤发生等复杂生物学

过程^[36]。有研究表明, 微塑料暴露能够改变斑马鱼等模式动物的整体转录组, 调控氧化应激、炎症反应等相关基因的表达^[37-38]。然而, 关于微塑料对大黄鱼重要免疫细胞的转录调控机制尚缺乏深入研究。巨噬细胞是重要的先天性免疫细胞, 在免疫稳态维持、组织修复和病原清除中发挥重要功能, 且通过抗原呈递调控适应性免疫应答^[7]。本研究通过对大黄鱼原代巨噬细胞进行 RNA-seq 分析, 发现微塑料处理可改变大黄鱼巨噬细胞整

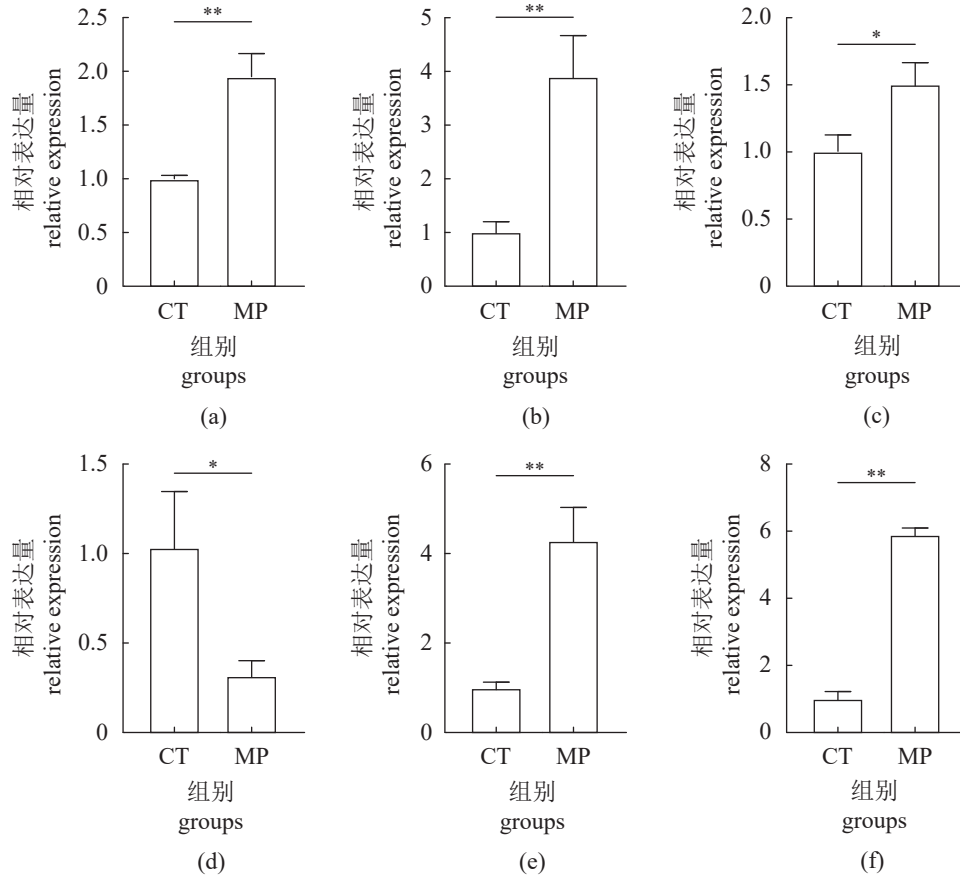


图 6 微塑料诱导巨噬细胞凋亡

Fig. 6 Microplastics induce apoptosis in macrophages

(a) Caspase3, (b) Caspase6, (c) Caspase8, (d) Bcl2, (e) SOD, (f) TNF-α1.

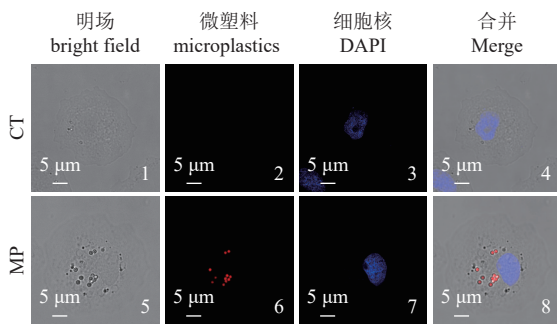


图 7 共聚焦显微镜观察巨噬细胞中微塑料定位

红色为微塑料, 蓝色为 DAPI 染色的细胞核。

Fig. 7 Localization of microplastics in macrophages was observed by confocal microscopy

The red represents microplastics, and the blue represents the DAPI stained cell nucleus.

体转录组。有意思的是, 下调基因中富集到的钙离子信号相关通路, 是许多免疫细胞激活的关键早期信号^[39], 这为进一步揭示微塑料免疫抑制的作用机制提供了线索。

此外, 本研究发现微塑料可诱导大黄鱼巨噬细胞凋亡, 表明微塑料可能通过双重途径抑制免疫系统: 一方面直接诱导免疫细胞死亡, 减少免疫细胞数量; 另一方面抑制存活细胞的免疫应答能力, 降低免疫应答效能。综上所述, 本研究发现微塑料可对大黄鱼巨噬细胞产生细胞毒性, 并通过诱发氧化应激、细胞凋亡及抑制免疫基因表达等多重途径抑制其免疫应答, 为理解养殖环境中微塑料暴露的养殖风险及导致鱼类免疫力降低的作用机制提供了重要依据。

(作者声明本文无利益冲突)

参考文献 (References):

[1] 陆化杰, 孙天姿, 刘凯, 等. 太平洋褶柔鱼胃组织微塑料的积聚特性 [J]. 水产学报, 2023, 47(7): 079116.

Lu H J, Sun T Z, Liu K, et al. Accumulation of microplastics in stomach tissues of Japanese common squid (*Todarodes pacificus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(7): 079116 (in

- Chinese).
- [2] Hirt N, Body-Malapel M. Immunotoxicity and intestinal effects of nano- and microplastics: a review of the literature[J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2020, 17(1): 57.
- [3] Dimitriadi A, Papaefthimiou C, Genizegkini E, *et al.* Adverse effects polystyrene microplastics exert on zebrafish heart-molecular to individual level[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125969.
- [4] 冯晓飒, 温彬, 刘君恒, 等. 微塑料与多环芳烃菲复合胁迫对七彩神仙鱼稳定同位素和生态化学计量学特征的影响 [J]. *水产学报*, 2020, 44(10): 1742-1751.
- Feng X S, Wen B, Liu J H, *et al.* Effects of microplastics and phenanthrene on the stable isotope and ecological stoichiometry of juvenile discus fish (*Symphysodon haraldi*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(10): 1742-1751 (in Chinese).
- [5] 陆化杰, 刘凯, 欧玉哲, 等. 微塑料染污及其对不同栖息地、不同食性海洋鱼类影响的研究进展 [J]. *水产学报*, 2021, 45(12): 2099-2111.
- Lu H J, Liu K, Ou Y Z, *et al.* Research progress in the microplastics pollution and its effects on marine fishes with different feeding habits and habitats[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(12): 2099-2111 (in Chinese).
- [6] Elizalde-Velázquez G A, Gómez-Oliván L M. Microplastics in aquatic environments: a review on occurrence, distribution, toxic effects, and implications for human health[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 780: 146551.
- [7] 王钰, 张飞. 海洋微塑料污染的生物危害及防治研究进展 [J]. *海洋渔业*, 2025, 47(3): 450-460.
- Wang Y, Zhang F. Overview of biological hazards and control measures of marine microplastic pollution[J]. *Marine Fisheries*, 2025, 47(3): 450-460 (in Chinese).
- [8] Choudhury C, Mazumder R, Biswas R, *et al.* Cadmium exposure induces inflammation through the canonical NF- κ B pathway in monocytes/macrophages of *Channa punctatus* Bloch[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 110: 116-126.
- [9] Tao X Q, Wan X L, Wu D, *et al.* A tandem activation of NLRP3 inflammasome induced by copper oxide nanoparticles and dissolved copper ion in J774A. 1 macrophage[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 411: 125134.
- [10] Hawke A M, Trujillo J E, Oey I, *et al.* Exposure to petroleum-derived and biopolymer microplastics affect fast start escape performance and aerobic metabolism in a marine fish[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 906: 167423.
- [11] Cao Y C, Zhou Y Q, Wu J Y, *et al.* Arachidonic acid reverses microplastic-induced macrophage dysfunction in teleost fish[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2026, 501: 140909.
- [12] Chen Q X, Zhu Z, Li X R, *et al.* Functional characterization and epigenetic regulation of Tcf3a and Tcf3b during IgM⁺ B cell activation in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2025, 166: 110602.
- [13] Shi Y, Zhu Z, Chen Q X, *et al.* DNA methylation regulates B cell activation via repressing Pax5 expression in teleost[J]. *Frontiers in Immunology*, 2024, 15: 1363426.
- [14] 张鑫洛, 王永阳, 吴子良, 等. 大黄鱼 C 型凝集素受体 Clec4e 的分子鉴定及凝集特性 [J]. *水产学报*, 2024, 48(2): 029403.
- Zhang X L, Wang Y Y, Wu Z L, *et al.* Molecular identification and agglutination characteristics of C-type lectin receptor Clec4e in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2024, 48(2): 029403 (in Chinese).
- [15] Teng J, Wang Q, Ran W, *et al.* Microplastic in cultured oysters from different coastal areas of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 653: 1282-1292.
- [16] Gu H X, Wang S X, Wang X H, *et al.* Nanoplastics impair the intestinal health of the juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 397: 122773.
- [17] Lai W C, Xu D, Li J M, *et al.* Dietary polystyrene nanoplastics exposure alters liver lipid metabolism and muscle nutritional quality in carnivorous marine fish large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 419: 126454.
- [18] 魏祖运, 王珊, 李婉茹, 等. 大黄鱼 ATG5 基因的分子特征及促进病毒增殖的作用 [J]. *水产学报*, 2024, 48(2): 029413.
- Wei Z Y, Wang S, Li W R, *et al.* Molecular characterization of ATG5 in *Larimichthys crocea* and its role in promoting virus proliferation[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2024, 48(2): 029413 (in Chinese).
- [19] Ding Y Y, Zhang Y M, Shen Y B, *et al.* Aggregation and proliferation of B cells and T cells in MALTs upon *Cryptocaryon irritans* infection in large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024, 149: 109535.
- [20] Zhang X Y, Zhuo X Y, Cheng J, *et al.* PU. 1 regulates cathepsin s expression in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) macrophages[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 12: 819029.
- [21] Shi Y, Zhu Z, Chen Q X, *et al.* Identification and annotation of

- the T cell receptor beta (TCR β) locus in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2025, 164: 105333.
- [22] 陈帅钰, 高涛, 刘志飞, 等. 低氧胁迫对斑石鲷能量代谢、肝脏抗氧化能力和组织形态变化的影响 [J]. *水产学报*, 2025, 49(12): 129604.
- Chen S Y, Gao T, Liu Z F, *et al.* Effects of hypoxic stress on the energy metabolism, hepatic antioxidant capacity and histomorphology in *Oplegnathus punctatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2025, 49(12): 129604 (in Chinese).
- [23] Wang Y Y, Wu Z L, Chen H, *et al.* *Astragalus polysaccharides* protect against inactivated *Vibrio alginolyticus*-induced inflammatory injury in macrophages of large yellow croaker[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 131: 95-104.
- [24] Zhu Z, Chen Q X, Li Q H, *et al.* Transcriptomic analysis reveals the role of MAPK signaling pathway in IgM⁺ B cells against *Pseudomonas plecoglossicida* infection in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2025, 165: 110526.
- [25] Kim D, Paggi J M, Park C, *et al.* Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8): 907-915.
- [26] Pertea M, Pertea G M, Antonescu C M, *et al.* StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(3): 290-295.
- [27] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biology*, 2014, 15(12): 550.
- [28] Sherman B T, Hao M, Qiu J, *et al.* DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update)[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(W1): W216-W221.
- [29] Lee Y J, Kim W R, Park E G, *et al.* Phenotypic and gene expression alterations in aquatic organisms exposed to microplastics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(3): 1080.
- [30] Zhang P, Lu G H, Zhang L B, *et al.* Unraveling the mechanism of brain damage in *Carassius auratus* by polypropylene microplastics and oxytetracycline via the brain-gut-microbiota axis[J]. *Journal of Environmental Management*, 2025, 392: 126711.
- [31] Ma F, Liu Z, Quan J Q, *et al.* N⁶-methyladenosine RNA methylation regulates microplastics-induced cell senescence in the rainbow trout liver[J]. *Science of the Total Environment*, 2025, 961: 178363.
- [32] Bakhsha J, Saxena V, Arya N, *et al.* Neurotoxic synergy of copper and PVC microplastics triggers apoptosis via the BDNF/miR132/FOXO3a pathway for the first time in fish brain[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2025, 297: 110265.
- [33] Xu T C, Cui J, Xu R, *et al.* Microplastics induced inflammation and apoptosis via ferroptosis and the NF- κ B pathway in carp[J]. *Aquatic Toxicology*, 2023, 262: 106659.
- [34] Niemcharoen S, Haetrakul T, Palić D, *et al.* Microplastic-contaminated feed interferes with antioxidant enzyme and lysozyme gene expression of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) leading to hepatopancreas damage and increased mortality[J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12(23): 3308.
- [35] Gülöw K, Tümen D, Heumann P, *et al.* Unraveling the role of reactive oxygen species in T lymphocyte signaling[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(11): 6114.
- [36] Stark R, Grzelak M, Hadfield J. RNA sequencing: the teenage years[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2019, 20(11): 631-656.
- [37] Sendra M, Pereiro P, Yeste M P, *et al.* Surgical face masks as a source of emergent pollutants in aquatic systems: analysis of their degradation product effects in *Danio rerio* through RNA-Seq[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 428: 128186.
- [38] LeMoine C M R, Kelleher B M, Lagarde R, *et al.* Transcriptional effects of polyethylene microplastics ingestion in developing zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 243(Pt A): 591-600.
- [39] Trebak M, Kinet J P. Calcium signalling in T cells[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2019, 19(3): 154-169.

Microplastics induce immunotoxicity in macrophages of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

SHI Yuan, CHEN Qiuxuan, TENG Yan, WANG Meiyuan,
CHEN Junbo, ZHAO Xihan, CHEN Xinhua*

(State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province,
College of Marine Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Microplastics are emerging environmental pollutants that widely distributed in aquaculture ecosystems, posing significant threats to aquaculture species. The large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) is one of the most economically important mariculture teleosts in China. However, the influence of microplastics on the immune function of *L. crocea*, particularly on its macrophages, remains poorly understood. This study aimed to investigate the cytotoxic effects of polystyrene microplastics on *L. crocea* macrophages. Macrophages were exposed to different sizes of microplastics (0.1, 1.0 and 5.0 μm) at a concentration of 10, 25 or 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 24 hours. Cell viability was assessed by lactate dehydrogenase (LDH) release assay, and intracellular reactive oxygen species (ROS) level was measured using the fluorescent probe DCFH-DA. Furthermore, RNA sequencing (RNA-seq) was performed to analyze the transcriptomic changes. The results showed that microplastics exposure induced significant cytotoxicity at a concentration-dependent manner and increased intracellular ROS levels. Pre-treatment with microplastics suppressed the lipopolysaccharide (LPS)-induced upregulation of key immune-related genes, including Myd88 (Myeloid Differentiation Primary Response 88), IL-1 β (Interleukin-1 beta), and IL-6 (Interleukin-6). RNA-seq analysis identified 541 differentially expressed genes (DEGs) in microplastic-treated macrophages compared to the control group. Gene ontology (GO) enrichment analysis revealed that the upregulated DEGs were associated with biological processes such as “response to stimulus” and “regulation of programmed cell death”, whereas the downregulated DEGs were enriched in immune-related terms, including “immune response”, “cytokine activity”, and “calcium-mediated signaling”. Consistent with the transcriptomic data, qRT-PCR results showed that microplastics exposure promoted the expression of pro-apoptotic genes (Caspase6 and Caspase8) and oxidative related genes (SOD and TNF- α 1) and inhibited the expression of the anti-apoptotic gene Bcl2 (B-cell lymphoma-2). Confocal microscopy showed the macrophages could phagocytize microplastics, which were mainly located in the cytoplasm. In conclusion, this study provides clear evidence that microplastics can directly impair the viability of large yellow croaker macrophages by inducing oxidative stress and activating apoptotic pathways. More importantly, microplastics can suppress the immune response of macrophages, as evidenced by the inhibition of LPS-induced immune activation and the down-regulation of immune-related pathways at the transcriptomic level. These findings suggest that microplastics exposure may impair the innate immune response of *L. crocea*, thereby increasing its susceptibility to pathogens. This study offers novel insights into the immune-toxic mechanisms of microplastics in a commercially important teleosts, and reveals the potential risks of microplastics pollution in aquaculture environments, highlighting the necessity for further risk assessment and the development of mitigation strategies to ensure the sustainable aquaculture of *L. crocea* and the safety of aquatic products.

Key words: *Larimichthys crocea*; microplastics; macrophages; apoptosis; RNA-seq

Corresponding author: CHEN Xinhua. E-mail: chenxinhua@tio.org.cn

Funding projects: National Key Research and Development Program of China (2025YFD2400300); National Natural Science Foundation of China (U23A20253, 32102784, 32503242); China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-47); Natural Science Foundation of Fujian Province (2022J01211209, 2025J01606); Fujian Provincial Education Research Projects for Young and Middle-aged Teachers (JZ240020)