中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856,CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目：　基于肠道菌群探讨脾虚促进 Lewis 肺癌进展的机制研究

作者：　史参参，陈星，李晨，吴耀松，雷梦莹，程亚楠，陈玉龙

网络首发日期：　2026-08-26

引用格式：　史参参，陈星，李晨，吴耀松，雷梦莹，程亚楠，陈玉龙．基于肠道菌群探讨脾虚促进 Lewis 肺癌进展的机制研究[J/OL]．中国比较医学杂志．https://link.cnki.net/urlid/11.4822.r.20260825.1708.004

网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于肠道菌群探讨脾虚促进 Lewis 肺癌进展的机制研究

史参参[1,2,3]，陈 星[1,2,3]，李 晨[1,2,3]，吴耀松[1,2,3]，雷梦莹[1,2,3]，

程亚楠[1,2,3]，陈玉龙[1,2,3]✉

（1.河南中医药大学，郑州 450046；2.河南省中医方证信号传导重点实验室，郑州 450046；3.河南省中医方证信号传导国际联合重点实验室，郑州 450046）

*通信作者 陈玉龙（1973—），男，博士，教授，博士生导师，研究方向：中医病因病机及中医方证信号传导。E-mail:cyl72621@163.com

摘要 目的 探讨脾虚是否通过调控肠道菌群促进 Lewis 肺癌进展。方法 采用水环境小平台法建立 C57BL/6 小鼠脾虚证模型，并皮下移植 Lewis 肺癌细胞，将小鼠分为空白（CK）组、模型（Model）组、空白植瘤（KZ）组及脾虚植瘤（MZ）组。采用肉眼观察、旷场实验及抓力实验评估小鼠一般体征及行为学状态；采用游标卡尺和电子天平检测移植瘤终末体积与质量；采用 HE 染色观察组织病理情况；ELISA 法检测血清生长分化因子-15（GDF-15）、白细胞介素-6（IL-6）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）水平；流式细胞术分析脾脏 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ T 淋巴细胞亚群比例；16S rDNA 测序解析肠道菌群结构。结果 与正常组比较，脾虚模型组小鼠出现体质量下降（$P<0.01$），抓力减弱（$P<0.01$），旷场实验指标 5 min 运动距离（$P<0.01$）、平均速度（$P<0.05$）、支撑性站立次数（$P<0.05$）及跨格次数（$P<0.05$）降低，尿 D-木糖排泄率减少（$P<0.01$）。与空白植瘤组比较，脾虚植瘤组小鼠移植瘤体积显著增加（$P<0.01$），血清 GDF-15（$P<0.05$）、IL-6（$P<0.05$）、TNF-α（$P<0.01$）水平升高，脾脏 $CD4^+/CD8^+$值有降低趋势（$P>0.05$），肠道菌群多样性下降（$P<0.05$），有益菌丰度减少。结论 脾虚可能通过影响肠道菌群、干预肿瘤免疫炎症反应，从而促进 Lewis 肺癌进展。

关键词 脾虚；肠道菌群；T 淋巴细胞亚群；Lewis 肺癌；肿瘤微环境

中图分类号 R273;R2-03;R37 文献标志码 A

Mechanisms of spleen deficiency state promoting Lewis lung carcinoma growth based on gut microbiota

SHI Cancan[1,2,3], CHEN Xing[1,2,3], LI Chen[1,2,3], WU Yaosong[1,2,3], LEI Mengying[1,2,3],

CHENG Yanan[1,2,3], CHEN Yulong[1,2,3]✉

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China. 2. Henan Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Syndrome Signal Transduction, Zhengzhou 450046. 3. Henan International Joint Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Syndrome Signal Transduction, Zhengzhou 450046)

Abstract Objective To investigate whether spleen deficiency promotes the progression of Lewis lung carcinoma by regulating the gut microbiota. Methods A spleen deficiency model was established in C57BL/6 mice using the water environment small platform method, followed by subcutaneous transplantation of Lewis lung carcinoma cells. The mice were divided into a blank control (CK) group, model (Model) group, a blank control with tumor transplantation (KZ) group, and a spleen deficiency with tumor transplantation (MZ) group. General signs and behavioral performance of the mice were evaluated through visual observation, open field test, and grip strength test. Tumor volume and weight were measured using vernier calipers and an electronic balance. Histopathology was observed via HE staining. Serum levels of growth

基金项目：国家自然科学基金(82474363)；2025 河南省省联合基金重点项目（252301420013）。
作者简介：史参参（1991—），女，在读硕士研究生，研究方向：中医病因病机及中医方证信号传导。E-mail:18236400739@163.com
网络首发时间：2026-08-26 13:55:29 网络首发地址：https://link.cnki.net/urlid/11.4822.r.20260825.1708.004

differentiation factor-15 (GDF-15), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-α(TNF-α) were detected by ELISA. The proportions of $CD3^+$, $CD4^+$, and $CD8^+$ T lymphocyte subsets in the spleen were analyzed by flow cytometry. The gut microbiota structure was profiled using 16S rDNA sequencing. Results Compared with the normal group, the spleen deficiency model group exhibited significant decreases in body weight (P<0.01), grip strength (P<0.01), and open field test parameters including 5-min movement distance (P<0.01), average speed (P<0.05), number of rearing (P<0.05), and number of crossings (P<0.05), as well as a reduction in urinary D-xylose excretion rate (P<0.01). Compared with the blank tumor-bearing group, the spleen deficiency tumor-bearing group showed a significant increase in transplanted tumor volume (P<0.01), and elevated serum levels of GDF-15 (P<0.05), IL-6 (P<0.05), and TNF-α (P<0.01), a decreasing trend in the splenic $CD4^+/CD8^+$ ratio（P>0.05）, reduced gut microbiota diversity, and a decline in the abundance of beneficial bacteria（P<0.05）. Conclusions Spleen deficiency may promote the growth of Lewis lung cancer by affecting the gut microbiota and modulating the tumor immune-inflammatory response.

Key words spleen deficiency; gut microbiota; T lymphocyte subsets; Lewis lung carcinoma; tumor microenvironment

肺癌是全球癌症相关死亡的最常见原因[1]，也是我国常见的呼吸系统恶性肿瘤，2022 年我国肺癌年新发病例数已达 106.06 万，约占全部恶性肿瘤的 22.0%，死亡病例数 73.33 万，发病率和死亡率均居各类恶性肿瘤首位[2]。中医认为，“脾为后天之本，气血生化之源”，脾虚则运化失司，气血生化乏源，导致正气亏虚，机体抗邪能力下降，从而为肿瘤发生发展提供内在条件。正如《医宗必读 积聚》[3]所言：“积之成者，正气不足，而后邪气踞之”，明确指出正气虚损是肿瘤类疾病形成的重要病机。

现代研究进一步揭示，脾主运化的功能与肠道菌群稳态密切相关[4,5]。脾虚常伴随肠道菌群多样性下降、有益菌丰度减少等微生态失衡[6]。肠道作为人体最大的免疫器官，其菌群结构变化可影响全身免疫系统功能，如 T 淋巴细胞亚群失衡（$CD4^+/CD8^+$比值降低）、自然杀伤细胞（natural killer cell，NK）活性减弱等[7]，进而形成有利于肿瘤免疫逃逸的微环境。同时，脾虚可致“水湿内停，郁而化热”，引发全身性慢性炎症，表现为血清白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）等促炎因子水平升高[8]。上述免疫与炎症改变共同构成了有利于肿瘤生长与进展的微环境。然而，脾虚是否以及如何通过影响肠道菌群促进肺癌进展，还需要进一步验证。

本研究旨在通过建立 C57BL/6 小鼠脾虚证模型，结合肠道菌群测序、免疫细胞亚群分析及炎症因子检测等技术，系统探讨脾虚影响肿瘤生长的潜在机制，以期为中医药健脾扶正法防治肺癌提供理论依据。

1.材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

4 周龄 SPF 级 C57BL/6 小鼠 40 只，雌雄各半，体质量 15～18 g，购于北京斯贝福生物技术有限公司[SCXK（京）2024-0010]。小鼠饲养于河南中医药大学动物实验中心[SYXK（豫）2021-0015]。本实验方案通过河南中医药大学实验动物伦理委员会审查批准（IACUC-202311043）。实验过程中严格遵循 3R 原则。

1.1.2 细胞

C57BL/6J Nifc 小鼠源性的 Lewis 肺癌细胞株（Lewis lung cancer cell line，LLC），由河南省方证信号传导重点实验室提供，DMEM 完全培养基(10%胎牛血清、60 μg/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素)，在 37℃、5%CO_2 的培养箱中培养，取对数生长期的细胞用于实验。

1.2 主要试剂与仪器

D-木糖（北京索莱宝科技有限公司，货号 SVX1005）；D-木糖试剂盒(南京建成生物工程研究所，货号 A035-1-1）；APC Anti-mouse CD3（美国 BioLegend 公司，货号 B375907）；FITC Anti-mouse CD4（美国 BioLegend 公司，货号 B373268）；PE Anti-mouse CD8a（美国 BioLegend 公司，

货号 B363582）；生长分化因子-15（growth differentiation factor-15,GDF-15）ELISA 检测试剂盒（上海酶免实业有限公司，货号 MM-44715M2）；白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）ELISA 检测试剂盒（上海酶免实业有限公司，货号 MM-1011M2）；肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）ELISA 检测试剂盒（上海酶免实业有限公司，货号 MM-0132M2）；二甲苯（国药集团化学试剂有限公司，货号 10023418）；正丁醇（国药集团化学试剂有限公司，货号 100052190）；环保型脱蜡液（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号 G1128）；通用型组织固定液（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号 G1101）；苏木素-伊红（hematoxylin-eosin, HE）高清恒染试剂盒（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号 G1076）；中性树胶（国药集团化学试剂有限公司，货号 10004160）。水环境小平台站立箱（自制，117 cm×57 cm×41 cm）；天平（德国 Sartorius 公司，型号 BSA124S-CW）；纯水仪（德国 MerckMillipore 公司，型号 D24UV）；超微量紫外分光光度计（美国 Thermo Fisher Scientific 公司，型号 NanoDrop 2000）；视频红外线摄像旷场实验视频分析系统(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司，型号 Smart V3.0)；大小鼠抓力测定仪（上海欣软信息科技有限公司，型号 YLS-13A）。

1.3 试验方法

1.3.1 脾虚证模型的造模方法 s

将 C57BL/6 小鼠普通饲料适应性喂养 7 d 后，随机分为正常组和脾虚模型组，每组 20 只，雌雄各半。正常饲养，记录饮食及饮水量，保持室温为 22~25 ℃，湿度为 40%~60%，12 h 明暗周期，保持良好通风。采用水环境小平台站立法，脾虚模型组每天放入水环境小平台（直径 8 cm、高 10 cm 圆柱状小平台 10 个，平台周边注水，水深约 8 cm,水温保持（20±2）℃）站立 4 h。造模 2 周，造模成功后随机抽取正常组和脾虚模型组小鼠各 10 只进行皮下植瘤，本实验共 4 组，即空白（CK）组、模型（Model）组、空白植瘤（KZ）组、脾虚植瘤（MZ）组，每组各 10 只，Model 组与 MZ 组隔天于水环境小平台站立 4 h 以维持脾虚状态。

1.3.2 脾虚证模型的评价

于造模前、后监测以下指标，以综合评价 C57BL/6 小鼠脾虚证模型。每天观察并记录小鼠毛色、精神状态、活动度、粪便性状等。参照“1.5.1”项方法检测尿 D-木糖排泄率，进行抓力实验与旷场实验。结合文献评价标准[9,10]，本研究以小鼠表现出明显的消瘦、肌力减弱、食欲下降、精神不振、毛色粗糙及蜷缩聚集等体征，同时伴有尿 D-木糖排泄率、粪便含水率异常和抓力、旷场测试行为学变化，提示脾虚证模型复制成功。

1.3.3 代谢与行为学指标

尿 D-木糖排泄量：各组小鼠禁食 12 h，按照 20 mL/kg 的量灌服 3% D-木糖溶液后放入代谢笼，5 h 后收集尿液，依据 D-木糖试剂盒说明书方法处理尿液，用分光光度计在 554 nm 波长处比色法测定各管吸光度，并计算其对应 D-木糖排泄量，即 5 h 尿中排出的 D-木糖(mg)=尿液 D-木糖含量（mg/L）×5 h 尿总量（L）。

抓力实验：将小鼠放在抓力测量装置上，通过捏住其尾根部并将其拖离抓力器时，小鼠会本能的抓握住设备，直至被拉脱。该方法可以检测到最大的力量值。重复 3 次，计算所得数据的平均值。

旷场实验：将小鼠放入长宽均为 50 cm、高 40 cm、周壁底面为白色的立方形敞口旷场箱内，确保环境安静和光线微弱，从而降低对小鼠产生的不必要干扰和刺激。将小鼠置于旷场中央，计时 5 min，记录其路程和平均速度，结束后用 75%乙醇清洁除去异味。旨在评估小鼠的体虚乏力程度。

1.3.4 肿瘤生长评价

移植瘤体积：完整剥离腋窝皮下肿瘤，去除血污、脂肪等非肿瘤组织，称重并拍照。根据公式：瘤体积=（长径×短径^2）/2，计算肿瘤体积。

1.3.5 脏器指数

计算各组小鼠脾脏、胸腺、肝脏、心脏、肺脏、肾脏指数。脏器指数＝脏器质量（g）/体质量（g）×100%。

1.3.6 免疫与炎症指标

脾脏 T 淋巴细胞亚群分析：制备单细胞悬液，分别加入荧光标记的 CD3、CD4、CD8 抗体，避光孵育、裂红、洗涤后，使用流式细胞仪检测，计算 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ T 细胞百分比及 $CD4^+/CD8^+$ 比值。

血清炎症因子检测：摘眼球取血，分离血清。严格按照 GDF-15、IL-6、TNF-α ELISA 试剂盒说明书操作，测定各因子浓度。

1.3.7 组织病理学评价

HE 染色：各组小鼠的脾组织、肿瘤组和脾虚肿瘤组的肿瘤组织经 4%多聚甲醛固定、石蜡包埋后切片,充分水化、HE 染色、脱水封片。并使用组织切片扫描仪进行扫描与观察。染色实验由武汉赛维尔生物科技有限公司完成。

1.3.8 肠道微生态评价

16S rDNA 测序：取小鼠盲肠内容物于冻存管中，采用 16S rDNA 高通量测序技术（委托杭州联川生物技术股份有限公司）检测各组小鼠盲肠内容物标本中的菌群，分析研究不同组小鼠盲肠内菌群多样性与丰度。

1.4 统计学方法

数据分析采用 IBM SPSS 23.0 软件进行，若满足正态分布，采用平均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间样本均数比较采用单因素方差分析，两组间样本均数比较采用 LSD-*t* 检验；若不符合正态分布假设，则实施非参数统计方法。使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行图表制作。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2．结果

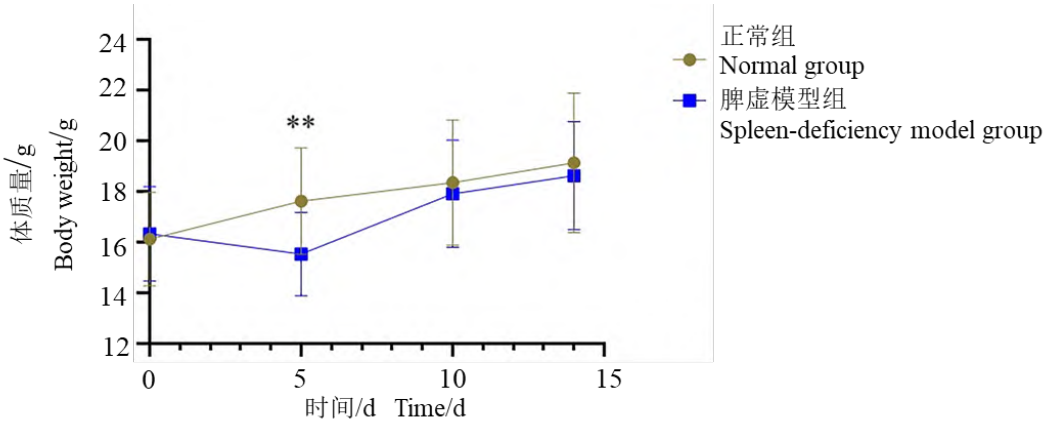
2.1 脾虚证模型评价

2.1.1 一般情况观察

正常组小鼠精神状态正常，活动灵敏，毛色光亮，大便干稀适中；脾虚模型组小鼠精神萎靡、蜷缩少动、反应迟钝、其被毛蓬松、粗糙无光泽，偶有大便溏薄、肛周污秽。

2.1.2 体质量的变化

如图 1 所示，两组小鼠的体质量在两周实验期内呈现相反的变化趋势。正常组体质量平稳增长，而脾虚模型组则经历了先下降后恢复的过程。在造模后第 5 天，脾虚模型组体质量显著低于正常组，差异具有统计学意义（$P<0.01$）。此后，脾虚模型组体质量开始逐步回升，至第 10 天及第 14 天时，两组间差异已无统计学意义（$P>0.05$）。这一体质量由显著降低到无统计学差异的动态变化过程，提示模型组小鼠可能对造模干预产生了适应性反应。



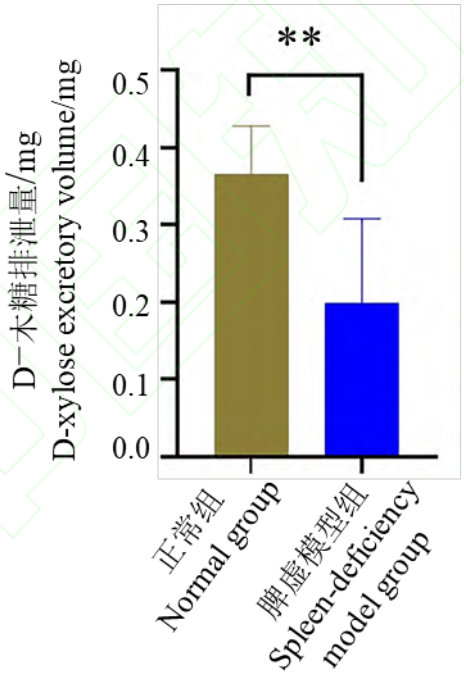
注：与正常组相比，$^{**}P<0.01$。

图 1 造模前后实验小鼠体质量变化折线图（$\bar{x}\pm s$，n=20）
Note. Compared with the Normal group, $^{**}P<0.01$.

Figure 1 Changes in body weight of mice pre- and post-modeling（$\bar{x}\pm s$，n=20）

2.1.3 尿 D-木糖排泄量的变化

结果显示，与正常组相比，脾虚模型组尿 D-木糖排泄量显著下降（$P<0.01$）。详见图 2。



注：与正常组相比，$^{**}P<0.01$。

图 2 造模前后实验小鼠尿 D-木糖排泄量的变化（$\bar{x}\pm s$，n=20）
Note. Compared with the Normal group, $^{**}P<0.01$.

Figure 2 Changes in urinary D-xylose excretion in mice pre- and post-modeling（$\bar{x}\pm s$，n=20）

2.1.4 旷场实验及抓力的变化

结果显示，与正常组相比，脾虚模型组的 5 min 运动距离（$P<0.01$）、平均速度（$P<0.05$）、支撑性站立次数（$P<0.05$）及跨格次数（$P<0.05$）均显著降低，抓力显著减弱（$P<0.01$）。详见表 1。

表1 造模前后实验小鼠旷场实验及抓力结果（ $\bar{x}\pm s$，n=20）

Table 1 Changes in open field and grip strength test performance in mice pre- and post-modeling（ $\bar{x}\pm s$，n=20）

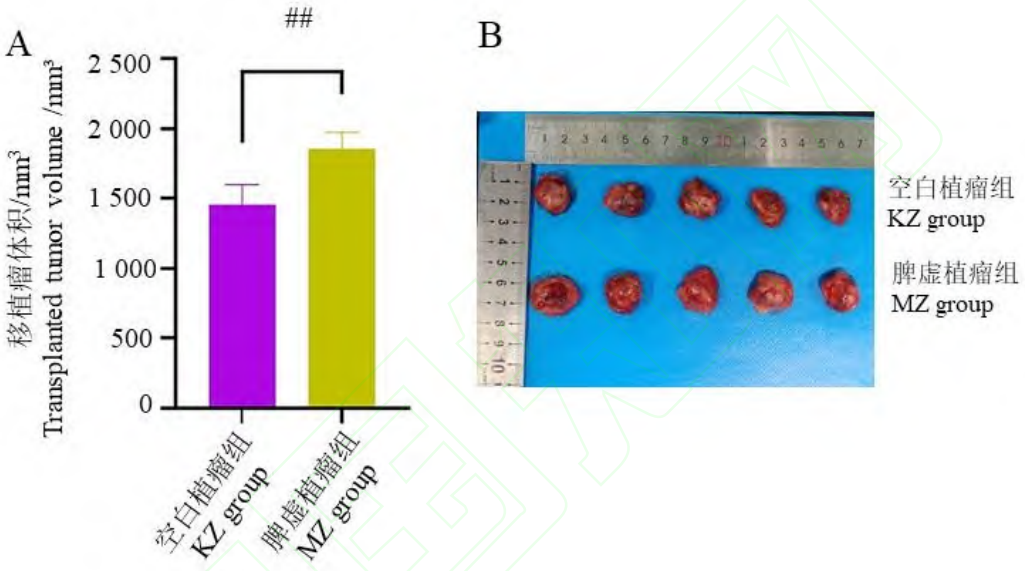
组别 Groups	n	运动距离/cm Iocomotor activity/cm	平均速度/（cm/s） Average velocity/(cm/s)	站立/次 Rearing frequency/times	跨格/次 Crossing frequency/times	抓力/g Grip strength/g
正常组 Normal group	20	1165.56±255.67	39.51±11.66	41.54±4.06	100.75±13.13	153.4±26.27
脾虚模型组 Spleen-deficiency model group	20	890.67±257.77**	30.48±11.59*	38.05±3.35*	90.30±14.71*	78.11±12.22**

注：与正常组相比，*P<0.05，**P<0.01。

Note. Compared with the Normal group, *P<0.05, **P<0.01.

2.2 移植瘤终点体积

与空白植瘤组相比，脾虚植瘤组小鼠的移植瘤终末体积显著增大（P<0.01）。详见图 3。



注：A：移植瘤终点体积；B：移植瘤大体形态。与空白植瘤组相比，##P<0.01。

图 3 移植瘤终点体积的比较（ $\bar{x}\pm s$，n=10）

Note. A, Terminal tumor volume. B, Gross morphology of subcutaneous transplanted tumor. Compared with the KZ group, ##P<0.01.

Figure 3 Comparison in xenograft tumor volume at the endpoint（ $\bar{x}\pm s$，n=10）

2.3 脾虚对各组小鼠脏器指数的影响

与空白组相比，模型组小鼠脾脏指数（P<0.01）、胸腺指数（P<0.05）及肝脏指数（P<0.01）均降低,空白植瘤组小鼠脾脏指数亦见降低（P<0.01）；与空白植瘤组相比，脾虚植瘤组小鼠脾脏指数（P<0.01）、胸腺指数（P<0.05）及心脏指数（P<0.05）均降低。详见表 2。

表2 实验小鼠脏器指数结果（ $\bar{x}\pm s$，n=10）

Table 2 Results of organ indices in experimental mice（ $\bar{x}\pm s$，n=10）

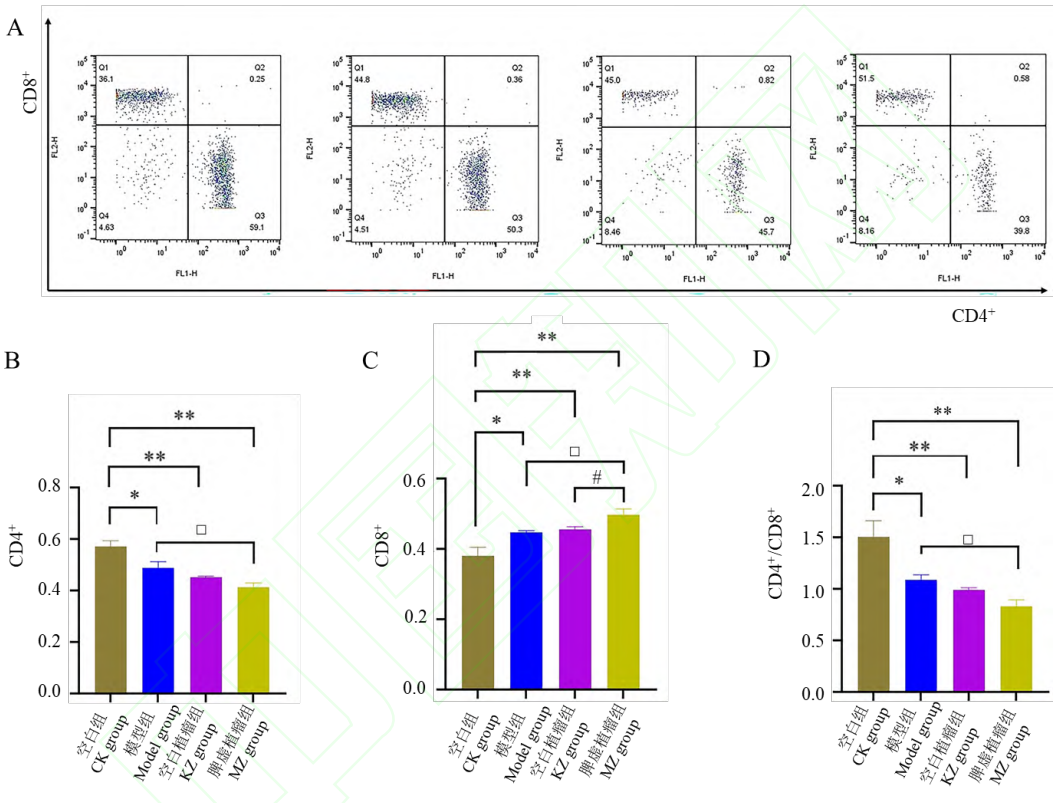
组别 Groups	n	脾脏指数/% Spleen index/%	胸腺指数/% Thymus index/%	肝脏指数/% Liver index/%	心脏指数/% Heart index/%	肺脏指数/% Lung index/%	肾脏指数/% Kidney index/%
空白组 CK group	10	0.39±0.03	0.26±0.04	3.90±0.24	0.50±0.10	0.60±0.15	1.12±0.30
模型组 Model group	10	0.32±0.02**	0.21±0.02*	3.20±0.20**	0.49±0.05	0.56±0.06	1.38±0.14
空白植瘤组 KZ group	10	0.34±0.03**	0.23±0.02	4.10±0.35	0.46±0.03	0.59±0.08	1.05±0.05
脾虚植瘤组 MZ group	10	0.27±0.02** ##	0.15±0.06**#	3.77±0.47	0.53±0.07#	0.60±0.05	1.08±0.14

注：与空白组相比，*P<0.05,**P<0.01；与空白植瘤组相比，#P<0.05, ##P<0.01。

Note. Compared with the CK group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$. Compared with the KZ group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$.

2.4 脾脏 T 淋巴细胞亚群分型

与空白组相比，模型组小鼠脾脏中 $CD4^{+}$ T 细胞比例（$P<0.05$）及 $CD4^{+}/CD8^{+}$比值（$P<0.05$）均显著降低、$CD8^{+}$ T 细胞比例（$P<0.05$）均显著升高，空白植瘤组小鼠脾脏中 $CD4^{+}$ T 细胞比例（$P<0.01$）及 $CD4^{+}/CD8^{+}$比值（$P<0.01$）均显著降低、$CD8^{+}$ T 细胞比例（$P<0.01$）均显著升高，脾虚植瘤组小鼠脾脏中 $CD4^{+}$ T 细胞比例（$P<0.01$）及 $CD4^{+}/CD8^{+}$比值（$P<0.01$）均显著降低、$CD8^{+}$ T 细胞比例均显著升高（$P<0.01$），且变化均以脾虚植瘤组最为显著，空白植瘤组及模型组次之。此外，与模型组相比，脾虚植瘤组 $CD4^{+}$T 细胞比例及 $CD4^{+}/CD8^{+}$比值均显著降低（$P<0.05$），$CD8^{+}$T 细胞水平均显著升高（$P<0.05$）；与空白植瘤组相比，脾虚植瘤组 $CD4^{+}/CD8^{+}$比值有降低趋势（$P>0.05$）。详见图 4。



注：A：流式画门中，$CD4^{+}$及 $CD8^{+}$ T 细胞的阳性群位置；B：各组 $CD4^{+}$ T 细胞的占比；C：各组 $CD8^{+}$ T 细胞的占比；D：各组 $CD4^{+}/CD8^{+}$比值；与空白组相比，$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$；与模型组相比，$^{\square}P<0.05$；与空白植瘤组相比，$^{\#}P<0.05$。

图 4 实验小鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群结果（$\bar{x}\pm s$，n=4）

Note. A, Gating strategy for $CD4^{+}$ and $CD8^{+}$ T-cell positive populations. B, Percentage of $CD4^{+}$ T cells. C, Percentage of $CD8^{+}$ T cells. D, $CD4^{+}/CD8^{+}$ ratio. Compared with the CK group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$. Compared with the Model group, $^{\square}P<0.05$. Compared with the KZ group, $^{\#}P<0.05$.

Figure 4 Results of T lymphocyte subsets in experimental mice（$\bar{x}\pm s$，n=4）

2.5 血清炎症因子检测结果

与空白组相比，模型组小鼠血清中 GDF-15（$P<0.05$）和 IL-6（$P<0.01$）水平显著升高（空白植瘤组与脾虚植瘤组 GDF-15、IL-6 及 TNF-α 水平均显著高于空白组（$P<0.01$）。此外，与空白植瘤组相比，脾虚植瘤组小鼠血清中 GDF-15（$P<0.05$）、IL-6（$P<0.05$）及 TNF-α（$P<0.01$）水平均显著升高。详见表 3。

表3 实验小鼠血清炎症因子结果（$\bar{x}\pm s$，n=10）

Table 3 Measurement of serum inflammatory factors in experimental mice（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别 Groups	n	GDF-15（ng/L）	IL-6/(pg/L)	TNF-α（ng/L）
空白组 CK group	10	81.43±4.75	192.11±12.42	1320.70±114.39
模型组 Model group	10	88.71±5.26*	237.85±25.40**	1517.02±244.78
空白植瘤组 KZ group	10	92.15±5.39**	262.22±50.08**	1664.21±299.53**
脾虚植瘤组 MZ group	10	106.55±12.59**#	317.63±23.22**#	1981.39±243.16**##

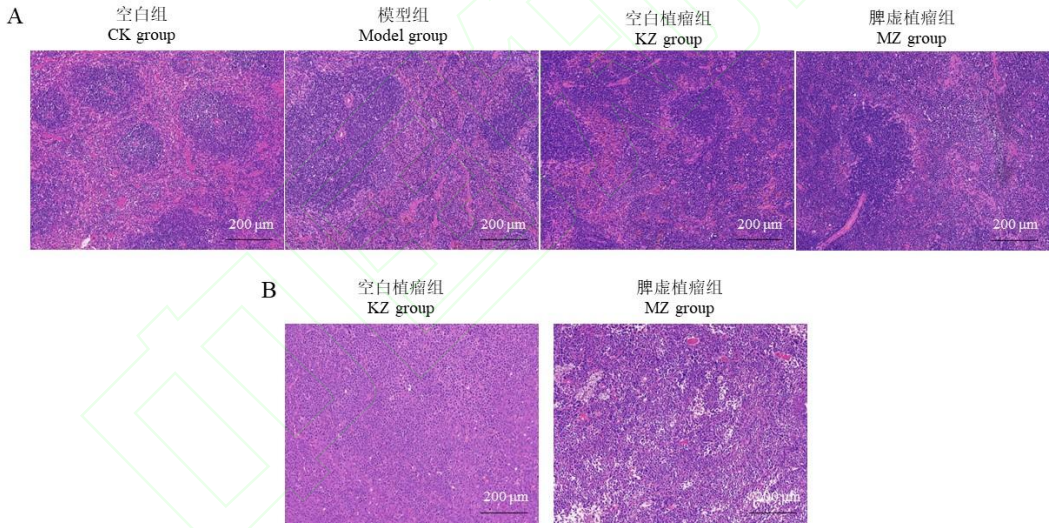
注：与空白组相比，*P<0.05，**P<0.01；与空白植瘤组相比，#P<0.05，##P<0.01。

Note. Compared with the CK group, *P<0.05, **P<0.01. Compared with the KZ group, #P<0.05, ##P<0.01.

2.6 脾脏和肿瘤组织的病理学改变

脾组织 HE 染色显示，空白组白髓与红髓界限分明，比例正常，白髓区淋巴细胞致密，红髓区血窦充盈。模型组白髓面积缩小，淋巴细胞密度降低，红髓区相对扩大。空白植瘤组白髓萎缩，红髓内可见大量炎性细胞浸润，结构紊乱。脾虚植瘤组白髓极度萎缩，淋巴细胞稀疏，红髓区充血。见图5。

肿瘤组织 HE 染色显示，空白植瘤组细胞核轻度增大、核质比稍增高，核染色质呈粗颗粒状，核仁可见，可见核分裂象。脾虚植瘤组细胞异型性显著，出现大量巨核、怪核、多核瘤巨细胞，核质比严重失调，核染色质浓集，核仁大而明显，核分裂象显著增多且可见病理性核分裂象。见图5。



注：A：实验小鼠脾脏组织的病理学改变；B：实验小鼠肿瘤组织的病理学改变。

图5 实验小鼠脾脏和肿瘤组织的病理学改变（HE，400×）

Note. A, Results of histopathological changes in spleen tissues in experimental mice. B, Results of histopathological changes in tumor tissues in experimental mice.

Figure 5 Results of histopathological changes in spleen and tumor tissues in experimental mice（HE，×400）

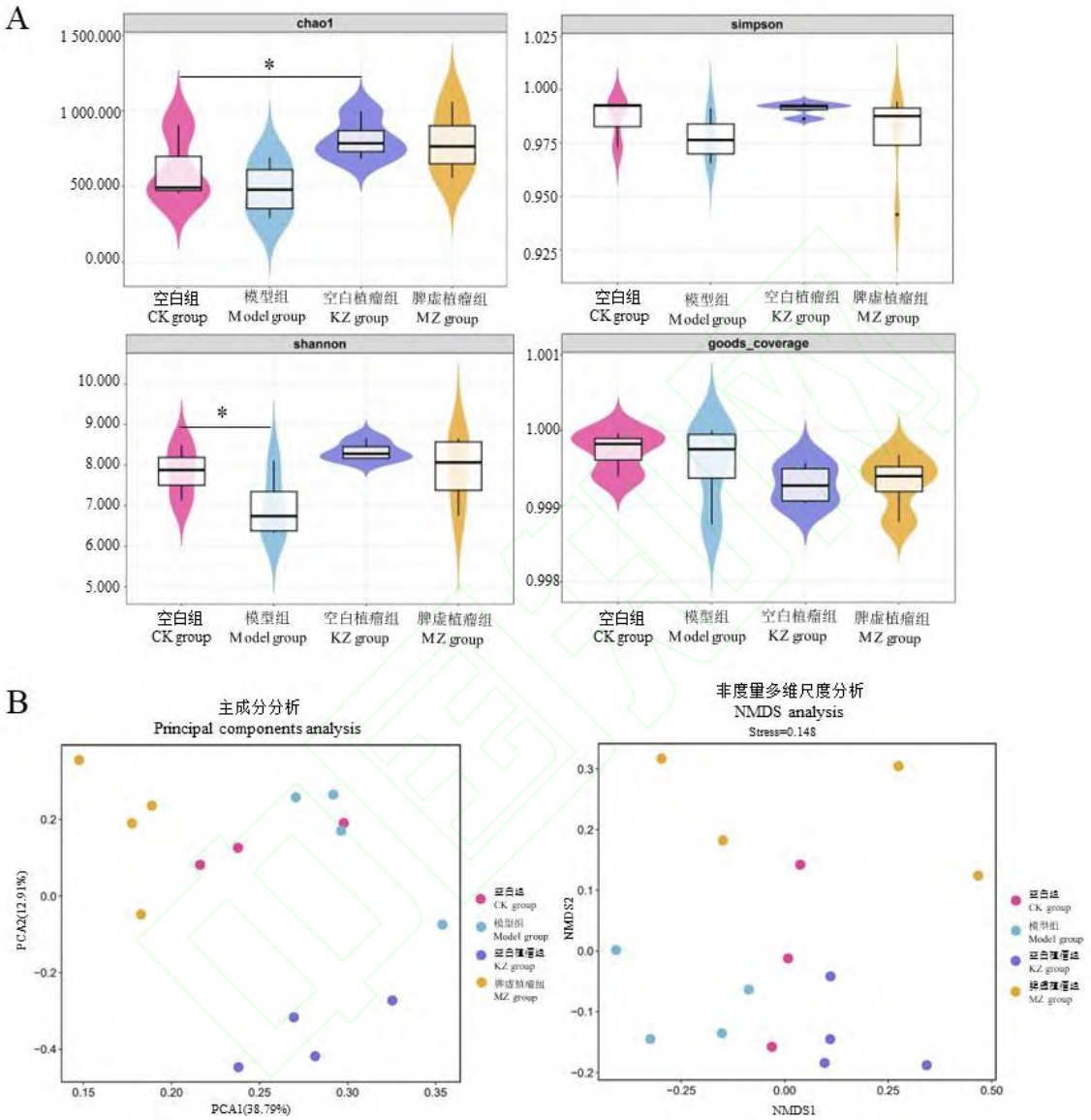
2.7 肠道菌群数据验证分析

2.7.1 菌群多样性分析

由肠道细菌群落 Alpha 多样性分析可知,与空白组相比，模型组的 Shannon 指数降低（P<0.05），Chao1 指数及 Simpson 指数均有降低趋势；空白植瘤组的 Chao1 指数升高（P<0.05），Shannon 指数和 Simpson 指数均有升高趋势。与空白植瘤组相比，脾虚植瘤组的 Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均有降低趋势。

采用主成分分析（principalcomponent analysis, PCA）及非度量多维尺度分析（non-metric

multidimensional scaling，NMDS）考察小鼠肠道细菌群落 Beta 多样性的差异。在数据预处理阶段，基于属水平的物种组成丰度进行主成分分析（PCA），发现空白组中 1 个样本在第一主成分方向上显著偏离其他样本，确认其为显著离群值后予以剔除，以保证分析结果的稳健性。结果显示，各组样本肠道菌群结构呈现显著分离趋势。详见图 6。



注：A：实验小鼠 Alpha 多样性分析；B：实验小鼠 Beta 多样性分析。与空白组相比，$^{*}P<0.05$。

图 6 实验小鼠菌群多样性分析（$x\pm s$，空白组 n=3，模型组 n=4，空白植瘤组 n=4，脾虚植瘤组 n=4）

Note. A, Alpha diversity analysis of gut microbiota in experimental mice. B, Beta diversity analysis of gut microbiota in experimental mice. Compared with the CK group, $^{*}P<0.05$.

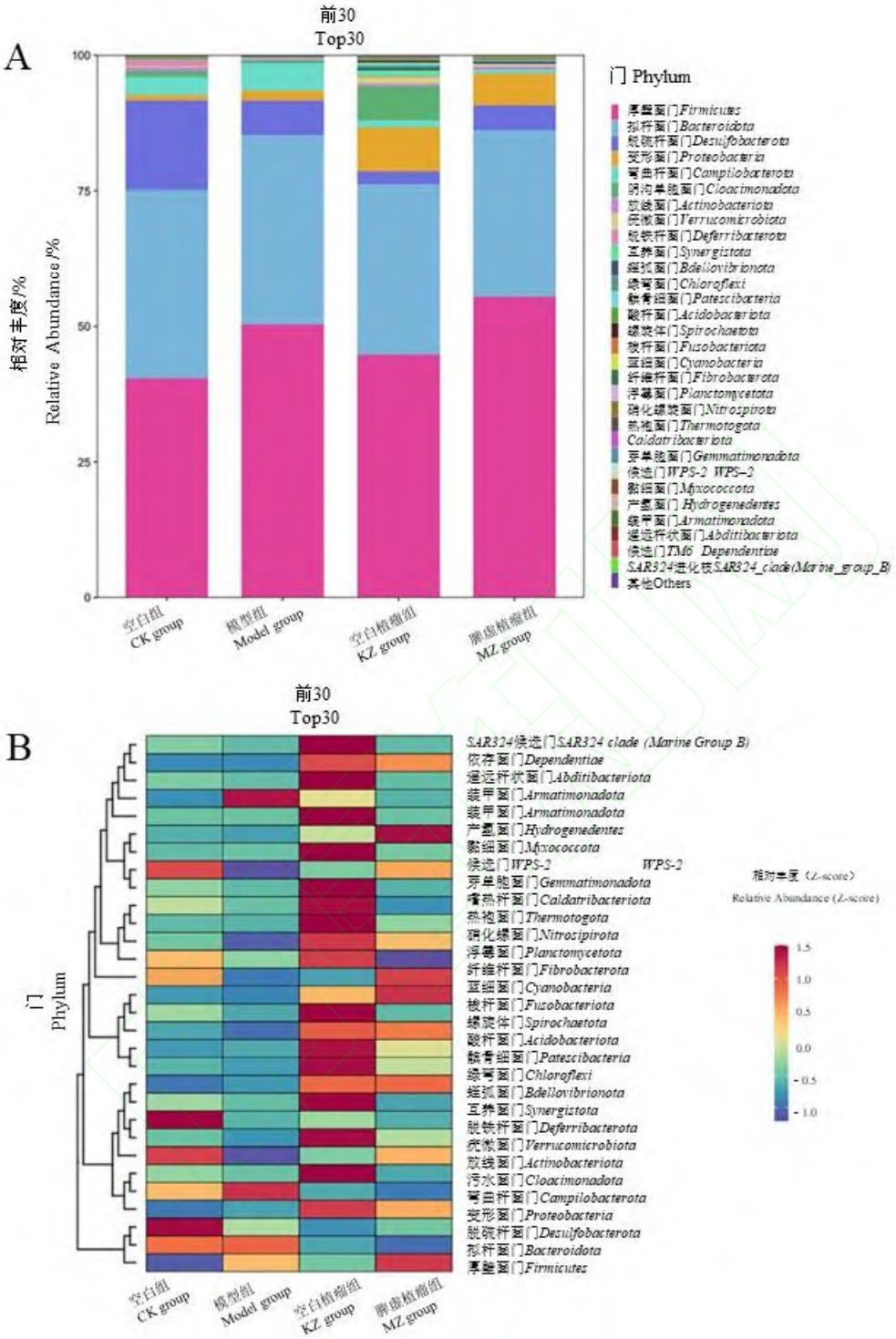
Figure 6 Results of microbial diversity analysis in experimental mice（ $\bar{x}\pm s$, CK group n=3, Model group n=4, KZ group n=4, 空白植瘤组n=4）

2.7.2 菌群结构组成分析

门水平上，对丰度排名前 30 个微生物分析结果显示厚壁菌门（*Firmicutes*）、拟杆菌门（*Bacteroidetes*）、脱硫杆菌门（*Desulfobacterota*）、变形菌门（*Proteobacteria*）和弯曲菌门（*Campilobacterota*）为 4 组中检测到的主要菌门，其中厚壁菌门、拟杆菌门丰度最高。空白组、模型组、空白植瘤组、脾虚植瘤组中厚壁菌门（相对丰度分别为 40.565%、50.495%、44.925%、

55.585%）、拟杆菌门（相对丰度分别为 34.765%、34.965%、31.455%、30.715%）、脱硫杆菌门（相对丰度分别为 5.595%、16.475%、4.605%、2.335%）、变形菌门（相对丰度分别为 2.115%、1.015%、5.865%、8.135%）和弯曲菌门（相对丰度分别为 5.235%、3.365%、0.745%、1.295%）。详见图 7。

属水平上，对丰度排名前 30 个微生物分析结果显示鼠杆菌科（*Muribaculaceae*）、脱硫弧菌属（*Desulfovibrio*）、乳杆菌属（*Lactobacillus*）、毛螺菌属（*Lachnospiraceae_NK4A136_group*）、丹毒丝菌属（*Erysipelatoclostridium*）为 4 组中检测到的主要菌属，空白组、模型组、空白植瘤组、脾虚植瘤组中鼠杆菌科（相对丰度分别为 25.005%、27.215%、19.22％、13.875%）、脱硫弧菌属（相对丰度分别为 5.215%、16.115%、4.005%、1.485%）、乳杆菌属（相对丰度分别为 1.775%、6.485%、11.555%、3.495%）、毛螺菌属（相对丰度分别为 7.315%、4.985%、6.735%、2.685%）和丹毒丝菌属（相对丰度分别为 1.95%、4.005%、0.855%、6.775%）。详见图 8。

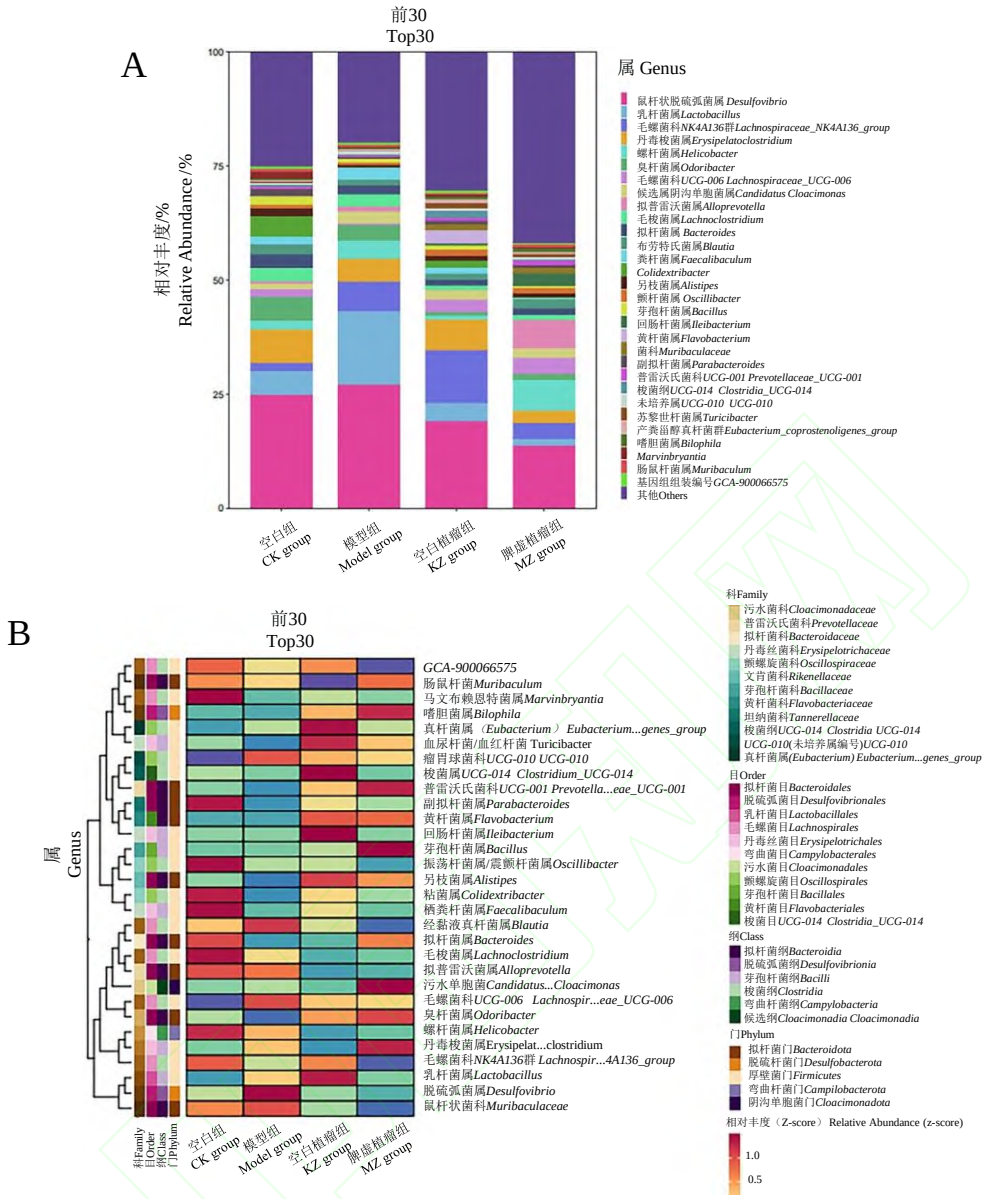


注：A：实验小鼠门水平上柱状堆积图；B：实验小鼠门水平上聚类热图。

图 7 实验小鼠菌门水平上群结构组成分析

Note. A, Stacked bar chart of experimental mice at the phylum level. B, Cluster heatmap of experimental mice at the phylum level.

Figure 7 Analysis of gut microbiota community structure at the phylum level in experimental mice



注：A：实验小鼠属水平上柱状堆积图；B：实验小鼠属水平上聚类热图。

图 8 实验小鼠属水平上菌群结构组成分析

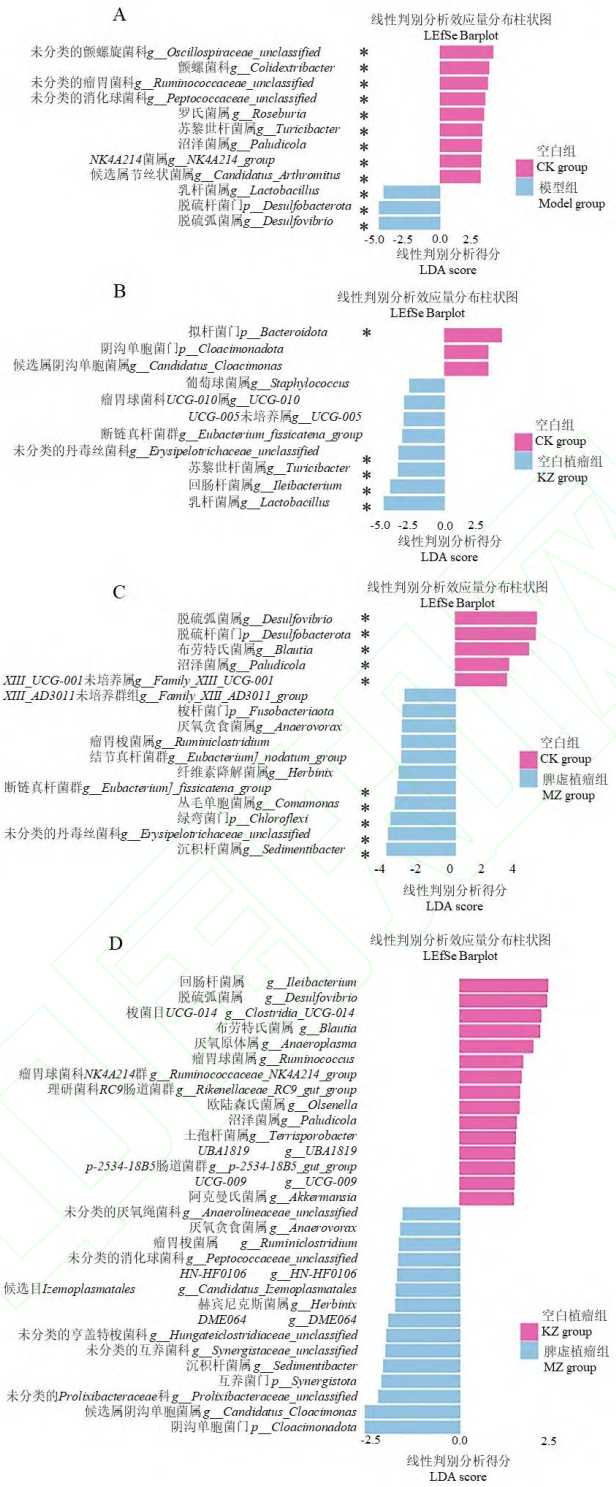
Note. A, Stacked bar chart of experimental mice at the genus level. B, Cluster heatmap of experimental mice at the genus level.

Figure 8 Analysis of gut microbiota community structure at the genus level in experimental mice

2.7.3 菌群结构差异分析

对 4 组菌群进行线性判别分析效应量（linear discriminant analysis Effect Size，LEfSe）分析，线性判别分析（linear Discriminant Analysis，LDA）得分>3.0 具有显著性差异。门、属水平上 LEfSe 分析结果表明，与空白组相比模型组脱硫杆菌门（*Desulfobacterota*）、厚壁菌门（*Lactobacillus*）、脱硫弧菌属（*Desulfovibrio*）的丰度增加（$P<0.05$），拟杆菌门（*Colidextribacter*）、*Candidatus_Arthromitus* 属、*NK4A214_group* 属、普雷沃氏菌属（*Paludicola*）、苏黎世杆菌属（*Turicibacter*）、罗氏菌属（*Roseburia*）、消化球菌属（*Peptococcaceae*）、瘤胃球菌属（*Ruminococcaceae*）、颤螺菌属（*Oscillospiraceae*）的丰度降低（$P<0.05$）；空白植瘤组厚壁菌门、*lleibacterium* 属、丹毒丝菌属（*Erysipelotrichaceae*）、真杆菌属（*Eubacteriumj_fissicatena*）、葡萄球

菌属（*Staphylococcus*）的丰度增加（$P<0.05$），拟杆菌门（*Bacteroidota*）、*Cloacimonadota* 属、*Candidatus_Cloacimonas* 属的丰度降低（$P<0.05$）；脾虚植瘤组绿弯菌门（*Chloroflexi*）、*Sedimentibacter* 属、丹毒丝菌属、丛毛单胞菌属（*Comamonas*）、真杆菌属、核心菌属（*Eubacteriumj_nodatum*）、梭状芽孢杆菌属（*Ruminiclostridium*）、*Anaerovorax* 属、梭杆菌属（*Fusobacteriota*）的丰度增加（$P<0.05$），脱硫杆菌门（*Desulfobacterota*）、脱硫弧菌属（*Desulfovibrio*）、*Blautia* 属、普雷沃氏菌属丰度降低（$P<0.05$）。详见图 9。



注：A：空白组与模型组实验小鼠菌群结构差异分析；B：空白组与空白植瘤组实验小鼠菌群结构差异分析；C：空白组与脾虚植瘤组实验小鼠菌群结构差异分析；D：空白植瘤组与脾虚植瘤组实验小鼠菌群结构差异分析。与空白组相比，$^{*}P<0.05$。

图 9 实验小鼠菌群结构差异分析

Note. A, Differences in gut microbiota structure between CK and Model groups. B, Differences in gut microbiota structure between CK and KZ groups. C, Differences in gut microbiota structure between CK and MZ groups. D, Differences in gut microbiota structure between KZ and MZ groups, Compared with the CK group, $^{*}P<0.05$.

Figure 9 Results of differential microbial composition analysis in experimental mice

3．讨论

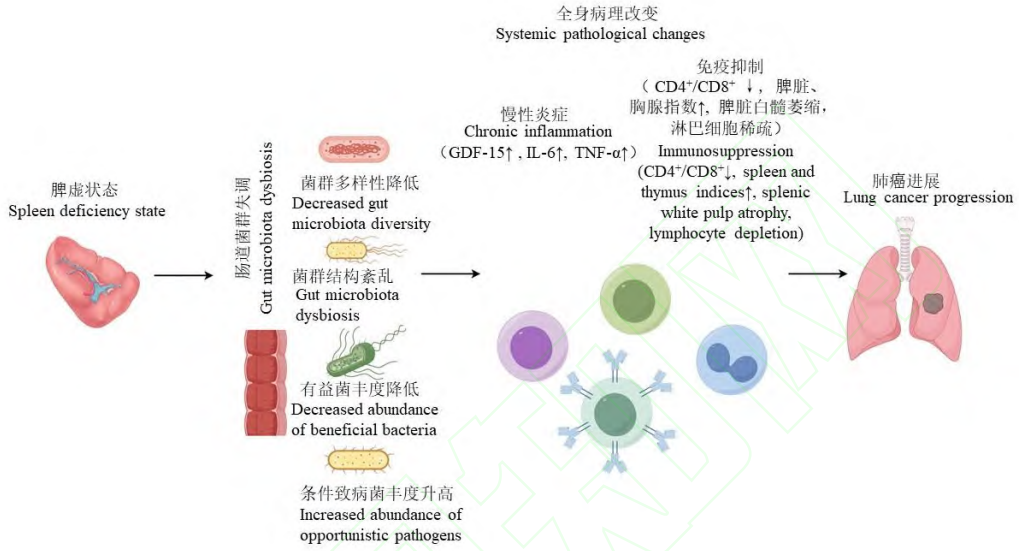
《内经》[11]有云：“正气存内，邪不可干”。脾胃为后天之本，气血生化之源，脾虚则运化失司，正气衰惫，为肿瘤发生发展的内在病理基础。现代研究进一步揭示，“脾主运化”的功能不仅体现于宏观的营养物质代谢，更深层地与肠道微生态稳态、全身免疫平衡及炎症网络调控密切相关[12-15]。基于此，本研究通过建立 C57BL/6 小鼠脾虚证模型，探讨脾虚是否通过影响肠道菌群，进而影响免疫稳态、激发慢性炎症，最终为肿瘤进展创造适宜微环境。

本研究采用的水环境小平台站立法在脾虚证研究中应用广泛[16-18]，其理论依据在于模拟“劳倦伤脾，水湿困脾”的中医病因。且在乔波等[19]的研究中，对比基于饮食劳倦伤脾理论的五种脾虚证造模方法，发现利用水环境小平台建立的小鼠模型更符合脾虚证诊断标准。以上足以证明水环境小平台构建脾虚证模型的可行性及稳定性，故本研究采取此法进行脾虚证模型的构建。本研究结果显示，与空白组比较，脾虚植瘤组组小鼠出现体质量下降，表明脾虚模型组小鼠的生长发育受到了影响。在运动与探索行为方面，与空白组比较，脾虚模型组小鼠 5 min 运动距离、平均速度、支撑性站立次数及跨格次数均显著降低，抓力明显减弱，表明脾虚模型组小鼠出现了虚损症状。D-木糖排泄降低是临床脾虚证诊断指标之一[20]。与空白组比较，脾虚模型组小鼠尿 D-木糖排泄量降低，表明脾虚模型组小鼠小肠吸收功能受损[21]；以上充分印证了中医脾虚“运化失司、气血生化无源”的核心病机。在肿瘤评价方面，本研究主要以移植瘤终点体积为核心指标，该指标作为实验终点处的客观量化参数，可直接反映脾虚状态下肿瘤生长的终末负荷水平[22,23]。与空白植瘤组相比，空白植瘤组小鼠的移植瘤终末体积显著增大，体现了脾虚状态的促瘤效应，也为中医“正气不足，邪气踞之”的理论提供了实验依据。

研究表明，肠道菌群与肿瘤患者的菌群失衡、肠道免疫屏障、炎症因子等有关[24]。当机体出现病变时会导致肠道菌群多样性和丰富度降低，原有的菌群结构紊乱[25]。本研究通过 16S rDNA 测序发现，与空白组相比，脾虚组小鼠肠道菌群的 Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均显著降低，表明菌群多样性和丰富度下降。由肠道细菌群落 Beta 多样性分析可知,各组样本肠道菌群结构呈现显著分离趋势，说明各组菌群结构具有明显差异。厚壁菌门/拟杆菌门常被用作评价肠道菌群失衡的标志[26,27]。在门水平上，脾虚组表现为厚壁菌门相对丰度升高、拟杆菌门相对丰度降低，厚壁菌门与拟杆菌门的比值亦显著上升，提示肠道菌群结构发生紊乱。该结果与肖艳等[28]报道的脾虚中厚壁菌门与拟杆菌门变化趋势一致。在属水平上，与空白组相比，脾虚组小鼠有益菌毛螺菌属丰度减少，条件致病菌脱硫弧菌属、丹毒丝菌属丰度增加；与空白植瘤组相比，空白植瘤组有益菌鼠杆菌科、乳酸杆菌、毛螺菌属丰度明显减少，条件致病菌丹毒丝菌属丰度明显增加。鼠杆菌科属于拟杆菌门，是肠道中重要的多糖降解菌，参与膳食纤维发酵并产生短链脂肪酸（short-chain fatty acids,SCFAs）等代谢物，其减少可能削弱 SCFAs 的合成，而 SCFAs（如丁酸）已知能促进调节性 T 细胞（regulatory T cell,Treg）分化、抑制过度炎症，对维持肠道屏障及全身免疫稳态具有关键作用[29]。毛螺菌属和乳酸杆菌的减少也可导致 SCFAs 减少合成不足，影响 Treg 的分化和功能，削弱机体免疫调节功能[30]。文献报道，脱硫弧菌属能够分泌外膜囊泡（outer membrane vesicles,OMVs），OMVs 可能影响肠道上皮细胞的紧密连接，并导致肠道上皮屏障功能障碍[31]。条件致病菌（如脱硫弧菌属）增多可导致脂多糖（lipopolysaccharide,LPS）等内毒素入血，刺激 IL-6、TNF-α 等促炎因子的分泌，进而诱导炎症反应[32]。可见，菌群紊乱可能通过破坏肠道屏障、削弱机体免疫调节功能，进而激活全身免疫炎症反应，成为脾虚促瘤的“始动环节”。

有研究表明，$CD4^+/CD8^+$比值与肺癌、非霍奇金淋巴瘤、卡波西肉瘤和结直肠癌等多种类型癌症呈反相关[33,34]。本研究通过流式细胞术检测脾脏 T 淋巴细胞亚群分型，结果显示与空白组相比，脾虚组、空白植瘤组、脾虚植瘤组 $CD4^+/CD8^+$比值均显著降低，以脾虚植瘤组降低最为显著；与空白组相比，脾虚组小鼠脾脏指数、胸腺指数均降低，表明脾虚组小鼠出现了免疫系统功能衰退。脾脏组织 HE 染色显示，脾虚植瘤组小鼠白髓极度萎缩，淋巴细胞稀疏，红髓区充血，从形态学上直观揭示了

脾虚状态可能促进了免疫器官受损。以上提示脾虚促进肿瘤的进展可能与机体免疫失衡相关。脾虚组、空白植瘤组、脾虚植瘤组血清炎症因子 GDF-15、IL-6 及 TNF-α 水平较空白组显著升高，以脾虚植瘤组升高最为显著，提示机体全身性炎症状态，表明脾虚促进了肿瘤的进展可能与机体炎症反应相关。上述免疫炎症改变共同构建了促进肿瘤生长环境，GDF-15 作为新型炎症指标，可促进肿瘤细胞免疫逃逸[35]；IL-6 和 TNF-α 则通过激活 STAT3 通路增强肿瘤细胞增殖与侵袭能力[36-38]。肿瘤组织 HE 染色中脾虚植瘤组异型细胞增多、病理性核分裂象增加，进一步印证了免疫炎症失衡对肿瘤恶性进展的推动作用。



注：↓表示下调；↑表示上调。

图 10 脾虚状态基于肠道菌群促进 Lewis 肺癌进展的机制整合图
Note. ↓ indicates downregulation; ↑ indicates upregulation.

Figure 10 Integrated mechanism diagram of spleen deficiency promoting Lewis lung cancer growth via the gut microbiota

综上，脾虚状态可能通过影响肠道菌群、干预肿瘤免疫炎症反应，从而促进 Lewis 肺癌进展。本研究主要属于验证性研究，创新点主要体现在模型整合，尚未开展深入机制性干预实验，对脾虚调控肿瘤微生态的具体路径尚缺乏直接的因果验证。后续研究将进一步开展肿瘤生长动态监测，结合 Ki-67 增殖抗原等增殖标志物及肿瘤免疫细胞浸润分析，深入探讨脾虚影响肿瘤进展的分子机制；构建多种证型模型，采用粪菌移植、抗生素干预及益生菌回补等手段开展因果验证；联合代谢组学分析及基因敲除模型，鉴定核心功能菌群及其效应分子，深入解析菌群代谢产物调控的关键信号通路，为健脾扶正法干预肺癌的微生态机制提供更充分的实验依据。

参考文献

[1] Smolarz B, Łukasiewicz H, Samulak D, et al. Lung cancer-epidemiology, pathogenesis, treatment and molecular aspect (review of literature) [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(5): 2049.

[2] Han B, Zheng R, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. J Natl Cancer Cent, 2024, 4(1): 47-53.

[3] 李中梓. 医宗必读 [M]. 北京：人民卫生出版社，2006： 464.
Li ZZ. Essential Readings for Medical Practitioners [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 464.

[4] 刘旭， 刘雷蕾， 吴瑜. 中医脾藏象与肠道菌群的相关性研究进展 [J]. 中国中西医结合外科杂志， 2024， 30（6）： 933-937.
Liu X, Liu L L, Wu Y. Research progress on the correlation between spleen viscera-state and intestinal flora in traditional Chinese medicine [J]. Chin J Surg Integr Tradit West Med, 2024, 30(6): 933-937.

[5] 闵冬雨， 谢思梦， 刘勇明， 等. 基于"脾主运化"探讨痴呆与肠道菌群的相关性 [J]. 中华中医药学刊， 2021， 39（2）： 9-12.

Min D Y, Xie S M, Liu Y M, et al. Study on correlation between dementia and gut microbiota based on “spleen governing movement and transformation” [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(2): 9-12.
[6] Zeyue Y U, Hao L, Zongyuan L I, et al. Correlation between slow transit constipation and spleen deficiency, and gut microbiota: a pilot study [J]. J Tradit Chin Med, 2022, 42(3): 353-363.
[7] Yang W, Cong Y. Gut microbiota-derived metabolites in the regulation of host immune responses and immune-related inflammatory diseases [J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(4): 866-877.
[8] 韩钦芮， 符秀琼， 禹志领， 等． 肿瘤微环境的脾虚本质探讨 [J]． 中医杂志， 2014， 55（4）： 292-294， 298．
Han Q R, Fu X Q, Yu Z L, et al. The spleen-deficiency nature of tumor microenvironment [J]. J Tradit Chin Med, 2014, 55(4): 292-294, 298.
[9] 张声生， 胡玲， 李茹柳． 脾虚证中医诊疗专家共识意见（2017） [J]． 中医杂志， 2017， 58（17）： 1525-1530．
Zhang S S, Hu L, Li R L. Consensus opinion of TCM diagnosis and treatment experts on spleen deficiency syndrome (2017) [J]. J Tradit Chin Med, 2017, 58(17): 1525-1530.
[10] 方肇勤， 潘志强， 卢文丽， 等． 大鼠、小鼠辨证的思路与方法 [J]． 中国比较医学杂志， 2009， 19（10）： 53-59．
Fang Z Q, Pan Z Q, Lu W L, et al. Thoughts and methods of syndrome differentiation on rats and mice [J]. Chin J Comp Med, 2009, 19(10): 53-59.
[11] 傅景华， 陈心智． 黄帝内经素问 [M]． 北京： 中医古籍出版社， 1997： 164．
Fu JH, Chen XZ. The Yellow Emperor's Inner Canon: Plain Conversation [M]. Beijing: Traditional Chinese Medicine Classics Press, 1997: 164.
[12] 包一珺， 吕文良， 强睿， 等． 基于肠道菌群与抑木扶土理论探讨自身免疫性肝病的病机与治疗 [J]． 辽宁中医杂志， 2023， 50（3）： 55-58．
Bao Y J, Lyu W L, Qiang R, et al. Discussion on pathogenesis and treatment of autoimmune liver disease based on intestinal microecology and theory of supporting spleen and restricting liver [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2023, 50(3): 55-58.
[13] 李文诗， 孙家乐， 王琳． 中医“扶正祛邪”治则及其在免疫性疾病治疗中的应用 [J]． 世界中医药， 2024， 19（17）： 2676-2680．
Li W S, Sun J L, Wang L. Treatment principle of“strengthening healthy qi to eliminate pathogens”and its application in treatment of immunological diseases [J]. World Chin Med, 2024, 19(17): 2676-2680.
[14] 向琴， 蒋宛瑾， 喻嵘， 等． 基于 “脾为本虚” 理论探讨左归复方对 2 型糖尿病小鼠肠道炎症及黏膜屏障的影响 [J]． 中国免疫学杂志， 2020， 36（6）： 667-671， 676．
Xiang Q, Jiang W J, Yu R, et al. Study on effect of Zuogui compound on intestinal inflammation and mucosal barrier in type 2 diabetic mice based on theory of “spleen-based virtual” [J]. Chin J Immunol, 2020, 36(6): 667-671, 676.
[15] 李玉梅， 徐鹏， 王晓婉， 等． 免疫炎症视角下脾虚-痰湿在肥胖中的致病机制及中医药防治策略 [J]． 中医杂志， 2026， 67（1）： 31-37．
Li Y M, Xu P, Wang X W, et al. Pathogenic mechanisms of spleen deficiency-phlegm dampness in obesity and traditional Chinese medicine prevention and treatment strategies: from the perspective of immune inflammation [J]. J Tradit Chin Med, 2026, 67(1): 31-37.
[16] 杨茜， 李峰， 马捷， 等． 水环境小平台建立脾虚证大鼠模型及其评价 [J]． 山东中医杂志， 2016， 35（5）： 452-457．
Yang X, Li F, Ma J, et al. Establishment and evaluation of a spleen-deficiency rat model by small platform with water beneath [J]. Shandong J Tradit Chin Med, 2016, 35(5): 452-457.
[17] 张翼飞， 于清茜， 张泽涵， 等． 中枢疲劳肝郁脾虚证病证结合动物模型的构建与评价 [J]． 中华中医药杂志， 2024， 39（5）： 2174-2180．
Zhang Y F, Yu Q X, Zhang Z H, et al. Construction and evaluation of animal model of central fatigue with syndrome of liver depression and spleen deficiency [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(5): 2174-2180.
[18] 康楠， 王凤云， 陈婷， 等． 脾虚四号方干预对功能性腹泻脾虚证模型大鼠肠上皮细胞微绒毛形态的影响 [J]． 中国实验方剂学杂志， 2015， 21（17）： 79-83．
Kang N, Wang F Y, Chen T, et al. Effect of pixu IV recipe on morphology of intestinal epithelial microvillus in functional diarrhea spleen deficiency syndrome model rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2015, 21(17): 79-83.
[19] 乔波， 刘婧， 李丹丹， 等． 基于饮食劳倦伤脾理论的五种脾气虚证造模方法的比较 [J]． 中医杂志， 2023， 64（11）： 1149-1156．
Qiao B, Liu J, Li D D, et al. Comparative study on five modeling methods of spleen qi deficiency syndrome based on the theory that “diet and fatigue damage the spleen” [J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(11): 1149-1156.
[20] 张越， 孙明杰， 段雨婷， 等． 茯苓多糖对脾虚大鼠免疫功能和肠道菌群调节作用的研究 [J]． 中华中医药杂志， 2024， 39（10）： 5474-5480．
Zhang Y, Sun M J, Duan Y T, et al. Study of *Poria cocos* polysaccharide on immune function and intestinal flora regulating of spleen deficiency rats [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(10): 5474-5480.
[21] 朱佳源， 谭周进， 刘又嘉， 等． 养胃四君子茶对脾虚便秘小鼠肠道微生物、酶活性及胃动力的影响 [J]． 中国微生态学杂志， 2022， 34（1）： 18-22， 28．
Zhu J Y, Tan Z J, Liu Y J, et al. Effect of Yangwei Sijunzi Tea on intestinal microorganisms, enzyme activity, and gastric motility in mice with spleen deficiency-type constipation [J]. Chin J Microecol, 2022, 34(1): 18-22, 28.
[22] Meric-Bernstam F, Lloyd M W, Koc S, et al. Assessment of patient-derived xenograft growth and antitumor activity: the NCI PDXNet consensus recommendations [J]. Mol Cancer Ther, 2024, 23(7): 924-938.
[23] Bonato V, Tang S Y, Hsieh M, et al. Experimental design considerations and statistical analyses in preclinical tumor growth inhibition studies [J]. Pharm Stat, 2025, 24(1): e2399.
[24] 王潇， 陈华春， 严家栋， 等． 肠道菌群与肿瘤临床治疗相关性研究概述 [J]． 中外医学研究， 2024， 22（2）： 158-162．
Wang X, Chen H C, Yan J D, et al. Summary of the correlation between intestinal flora and clinical treatment of tumor [J]. Chin Foreign Med Res, 2024, 22(2): 158-162.
[25] 金钗， 徐明智． 肠道菌群与高尿酸血症及痛风的相关性研究 [J]． 中国微生态学杂志， 2019， 31（8）： 980-984．
Jin C, Xu M Z. Association between gut microbiota and hyperuricemia and gout [J]. Chin J Microecol, 2019, 31(8): 980-984.
[26] 杨澜， 刘明飞， 孙成宏， 等． 基于肠道菌群与肠道代谢探究脉络舒通丸对大鼠股骨骨折引起的后肢肿胀的治疗作用及机制 [J]． 中国中药杂志， 2023， 48（17）： 4711-4721．

Yang L, Liu M F, Sun C H, et al. Therapeutic effect and mechanism of Mailuo Shutong Pills on posterior limb swelling caused by femur fracture in rats based on intestinal flora and intestinal metabolism [J]. China J Chin Materia Med, 2023, 48(17): 4711-4721.

[27] 冷雪， 王琦， 李阳， 等． 基于肠道菌群测序和粪便代谢组学探讨脾虚对高脂血症模型大鼠血脂代谢的影响 [J]． 中医杂志，2025， 66（10）： 1046-1056．
Leng X, Wang Q, Li Y, et al. Effects of spleen deficiency on lipid metabolism in hyperlipidemia model rats based on gut microbiota sequencing and fecal metabolomics [J]. J Tradit Chin Med, 2025, 66(10): 1046-1056.

[28] 肖艳， 陈鹏， 郭洁梅， 等． 高尿酸血症脾虚湿盛证病证结合小鼠模型的建立及其肠道菌群特征分析 [J]． 中华中医药杂志，2023， 38（8）： 3815-3820．
Xiao Y, Chen P, Guo J M, et al. Establishment of hyperuricemia mouse model with spleen deficiency and dampness abundance syndrome and analysis of its intestinal flora characteristics [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(8): 3815-3820.

[29] Zhu Y, Chen B, Zhang X, et al. Exploration of the *Muribaculaceae* family in the gut microbiota: diversity, metabolism, and function [J]. Nutrients, 2024, 16(16): 2660.

[30] Dicks L M T. How important are fatty acids in human health and can they be used in treating diseases [J]. Gut Microbes, 2024, 16(1): 2420765.

[31] Nie Y, Xie X Q, Zhou L, et al. *Desulfovibrio fairfieldensis*-derived outer membrane vesicles damage epithelial barrier and induce inflammation and pyroptosis in macrophages [J]. Cells, 2022, 12(1): 89.

[32] Zhou H, Huang D, Sun Z, et al. Effects of intestinal *Desulfovibrio* bacteria on host health and its potential regulatory strategies: a review [J]. Microbiol Res, 2024, 284: 127725.

[33] Castilho J L, Bian A, Jenkins C A, et al. CD4/CD8 ratio and cancer risk among adults with HIV [J]. J Natl Cancer Inst, 2022, 114(6): 854-862.

[34] Alam M R, Akinyemi A O, Wang J, et al. $CD4^+$ $CD8^+$ double-positive T cells in immune disorders and cancer: Prospects and hurdles in immunotherapy [J]. Autoimmun Rev, 2025, 24(3): 103757.

[35] Hüllwegen M, Kleinert M, von Haehling S, et al. GDF15: from biomarker to target in cancer *Cachexia* [J]. Trends Cancer, 2025, 11(11): 1093-1105.

[36] De Simone V, Franzè E, Ronchetti G, et al. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF-α synergistically activate STAT3 and NF-κB to promote colorectal cancer cell growth [J]. Oncogene, 2015, 34(27): 3493-3503.

[37] Jeong H, Koh J, Kim S, et al. Cell-intrinsic PD-L1 signaling drives immunosuppression by myeloid-derived suppressor cells through IL-6/Jak/Stat3 in PD-L1-high lung cancer [J]. J Immunother Cancer, 2025, 13(3): e010612.

[38] You Y, Chen X, Chen X, et al. Jiawei Yanghe Decoction suppresses breast cancer by regulating immune responses via JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 316: 116358.