

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.04.015

两种气阴两虚证小鼠模型制备方法比较

丁崧¹, 高长久¹, 卢芳², 柳长风², 轩秀秀¹, 刘树民²✉

1. 黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江省哈尔滨市香坊区和平路 24 号, 150040; 2. 黑龙江中医药大学中医药研究院

[摘要] **目的** 比较两种不同的复合造模方法, 寻找建立气阴两虚证模型的优势方法。**方法** 72 只 BALB/c 小鼠随机分为空白组、游泳复合组、睡眠剥夺复合组, 每组 24 只。每组再按造模 3 周、6 周、9 周随机分为 3 小组, 每小组 8 只。其中游泳复合组采用饮食不节+热性药灌胃+负重游泳的方法, 睡眠剥夺复合组采用饮食不节+热性药灌胃+睡眠剥夺的方法, 分别造模 3 周、6 周、9 周。造模第 0 周, 记录每只小鼠抓力与体质量。造模第 3、6、9 周比较各组小鼠体质量、抓力、力竭游泳时间、饮水量、唾液流率、粪便含水率、面温; 进行旷场实验, 记录 300 s 内小鼠活动的总路程、站立次数、角落时间和中心时间; 计算胸腺指数、脾脏指数; 检测外周血中 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞含量和血清中环磷酸腺苷 (cAMP)、环磷酸鸟苷 (cGMP) 含量。**结果** 试验期间, 游泳复合组小鼠死亡 3 只, 睡眠剥夺复合组死亡 1 只。造模第 3 周, 与空白组比较, 游泳复合组力竭游泳时间显著减少, 睡眠剥夺复合组体重、力竭游泳时间显著减少, 总路程、站立次数和中心时间显著增加 ($P<0.01$); 与游泳复合组同时时间相比, 睡眠剥夺复合组总路程、站立次数和中心时间均显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。造模第 6 周, 与空白组相比, 游泳复合组角落时间、血清 cAMP 含量、cAMP/cGMP 值显著增加, 睡眠剥夺复合组 cAMP/cGMP 值显著增加, 外周血 CD4⁺T 淋巴细胞含量、唾液流率、胸腺指数显著降低, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组抓力、力竭游泳时间、脾脏指数显著减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。造模第 9 周, 与空白组相比, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组饮水量、角落时间、血清 cAMP 含量、cAMP/cGMP 值显著增加, 唾液流率、抓力、力竭游泳时间、总路程、站立次数、中心时间、血清 cGMP 含量、胸腺指数、脾脏指数及外周血 CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 值显著减少, 游泳复合组粪便含水率出现显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与游泳复合组相比, 睡眠剥夺复合组饮水量、粪便含水率、抓力显著增加 ($P<0.05$)。造模第 3、6、9 周末各组小鼠面温差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 游泳复合组与睡眠剥夺复合组造模 9 周均能出现与临床气阴两虚相似的症状。若进行与便秘相关的实验, 使用游泳复合组造模方法建立气阴两虚模型; 若实验与便秘无关, 则更适合使用睡眠剥夺复合组造模方法建立气阴两虚模型, 以减少实验动物死亡率。

[关键词] 气阴两虚证; 证候模型; 负重游泳; 睡眠剥夺

气阴两虚证以神疲乏力、大便干结、口干咽燥、烦渴、消瘦、潮热为主要症状^[1-2], 是一种兼有气虚与阴虚表现的、反映精气损耗的复合型虚损证候, 临床常见于急性热病和慢性消耗性疾病^[3]。证候在中医诊疗过程中占有重要地位, 指导着临床用药。因此, 建立规范可重复的中医证候动物模型是中医药机制研究的关键环节。既往研究显示, 以

“力竭游泳+限制饮食+热药灌胃”可建立气阴两虚大鼠模型^[4], 而睡眠剥夺是一种比力竭游泳更好的造成气虚模型的方法^[5-6]。因此, 本次实验以力竭游泳+限制饮食+热药灌胃模拟疲劳过度、饮食不节的生活状态, 以部分睡眠剥夺+限制饮食+热药灌胃模拟不健康的饮食与睡眠习惯和劳作状态, 分别建立了两种气阴两虚证候模型, 并对此两种方法进行了规范化评价。本研究经黑龙江中医药大学实验动物福利与伦理委员会批准(批号:2021030605)。

基金项目:国家自然科学基金(81302898)

✉ 通讯作者:kejli-liu@163.com

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级健康 BALB/c 小鼠 72 只, 8 周龄, 体质量 18~20 g, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(辽) 2020-0001, 实验动物使用许可证号: SYXK(黑) 2018-007。动物饲养于黑龙江中医药大学中医药研究院动物房, 适应性喂养 7 天, 温度 22~24 °C, 湿度 40%~50%, 12 h 明暗交替。

1.2 药物与试剂

肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. (批号: 20210121)、干姜 *Zingiber officinale* Rosc. (批号: 20210913)、花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. (批号: 20201211)、辣椒 *Capsicum annuum* L. (批号: 20190129) 购自哈尔滨盛泽生物技术有限公司。热药制备: 取肉桂、干姜、花椒、辣椒各 125 g, 置于圆底烧瓶中, 加 10 倍蒸馏水浸泡 30 min, 煎煮 50 min, 滤出煎液, 再次加入 10 倍蒸馏水煎煮 40 min, 合并滤液, 浓缩至生药浓度 1 g/ml。小鼠 CD4⁺T 淋巴细胞亚群 (CD4, 货号: JM-11920M1)、小鼠 CD8⁺T 淋巴细胞亚群 (CD8, 货号: JM-11885M1) ELISA 试剂盒, 江苏晶美生物科技有限公司; 小鼠环磷酸腺苷 (cAMP, 货号 CK-E20937)、小鼠环磷酸鸟苷 (cGMP, 货号: CK-E20356) ELISA 试剂盒, 上海酶联生物科技有限公司。

1.3 仪器

ZH-YLS-13A 型大小鼠抓力测定仪, 安徽正华生物仪器设备有限公司; SY-5000 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; Alpha 1-4 LD plus 型冻干机, 德国 Christ 公司; Super Maze XR-XM101 型动物行为视频分析软件, 上海欣软信息科技有限公司; Anthos2010 型酶标仪, 奥地利安图斯公司; KQ-250DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; KDC-160HR 型高速冷冻离心机, 安徽科大创新股份有限公司中佳分公司; AB265-S 型电子分析天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司; Autotune 型高强度超声波细胞破碎仪, 美国 SONICS 公司; GT750 型红外测温仪, 深圳标智仪表有限公司。

1.4 分组及造模

运用 SPSS 25.0 生成随机数字, 将小鼠随机分为空白组、游泳复合组、睡眠剥夺复合组, 每组 24 只, 再将每组小鼠依据造模 3 周、6 周、9 周随机分为 3 小组, 每小组 8 只。空白组小鼠正常饲养,

不进行干预。游泳复合组小鼠参照文献[4-5, 7-8]进行改良, 采用饮食不节联合力竭游泳与热药灌胃的复合造模方法建立气阴两虚证模型: 小鼠每日尾部负重体重的 10% 进行游泳 (小鼠不动时用木棒驱赶), 水温 (23±1) °C, 水深 25 cm, 当小鼠力竭时 (小鼠鼻尖没入水中 5 s) 及时捞出, 用干燥毛巾擦干; 每日 8: 00—20: 00 禁食禁水, 20: 00 对小鼠用热药灌胃 1 次, 给药剂量为含生药量 10 g/(kg·d), 按照 0.1 ml/10 g 灌胃给药; 同时, 单日自由饮食, 双日禁食, 分别造模 3 周、6 周、9 周。睡眠剥夺复合组造模方法参照文献[4, 9]进行改良, 采用饮食不节联合睡眠剥夺与热药灌胃的复合造模方法建立气阴两虚证模型: 每日 8: 00—20: 00 将小鼠放入自制睡眠剥夺箱 (长: 62 cm, 宽: 49 cm, 高: 40 cm; 底部固定有 15 个小圆柱, 小圆柱直径 1.9 cm, 高 4 cm; 睡眠剥夺箱中水面高度 3 cm) 进行睡眠剥夺; 每日 8: 00—20: 00 禁食禁水, 20: 00 用热药灌胃 1 次, 给药剂量为含生药量 10 g/(kg·d), 按照 0.1 ml/10 g 灌胃给药; 同时, 单日自由饮食, 双日禁食, 分别造模 3 周、6 周、9 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 一般状态 在造模第 3、6、9 周末观察各组小鼠一般体征, 包括精神状态、活动情况、毛发光泽等。

1.5.2 饮水量 记录造模第 3、6、9 周末每日饮水量。每天测 1 次, 连续 7 天, 求平均值。饮水量=(饮水瓶与水的总重量-24 h 后饮水瓶与水的总重量)/每笼小鼠的数量。

1.5.3 唾液流率 记录造模第 3、6、9 周末唾液流率。用镊子持滤纸在小鼠舌面停留 5 s, 记录滤纸湿润前的干重与湿润后的湿重, 每 2 h 重复 1 次, 测量 3 次, 取平均值。唾液流率=(滤纸湿重-滤纸干重)/5 s。

1.5.4 体质量改变量 记录造模开始前以及造模第 3、6、9 周末小鼠的体质量。体质量改变量=第 3/6/9 周末的体质量-造模开始前体质量。

1.5.5 抓力改变量 运用大小鼠抓力测定仪测量造模开始前以及第 3、6、9 周末小鼠的抓力, 每只小鼠测量 3 次, 取平均值。抓力改变量=第 3/6/9 周末的抓力-造模开始前抓力。

1.5.6 粪便含水率测定 记录造模第 3、6、9 周末粪便含水率。第 3、6、9 周末末次灌胃, 自由饮食 1 h 后, 将小鼠单笼放置, 计时 1 h, 用冻存管及时收集每只小鼠的粪便防止水分流失, 称重, 记录

为粪便湿重，放入烘箱 105℃、5 h，拿出记录干重。粪便含水率=（粪便湿重-粪便干重）/粪便湿重×100%。

1.5.7 面温测定 用红外测温仪测量造模第 3、6、9 周末小鼠 7: 30、14: 00、20: 30 的面温。

1.5.8 旷场实验 造模第 3、6、9 周末将小鼠置于检测房间，适应 30 min 后，进行实验。实验时间 8: 00—11: 00。开启 Super Maze 分析软件 V2.0，将旷场均分为 9 个区域，记录 300 s 内小鼠的总路程、两前肢离开地面的站立次数、角落时间和中心时间。角落时间指小鼠在 4 个角落区域经过的时间。中心时间指小鼠在中心区域经过的时间。将小鼠取出，清理粪便和尿液，用 75% 乙醇祛除小鼠留下的气味，等待乙醇挥发，将下一只小鼠放入其中重复上述操作。

1.5.9 力竭游泳实验 造模第 3、6、9 周末，小鼠尾部负重 10%，放入水中进行力竭游泳实验。水温(23±1)℃，水深 25 cm，当小鼠力竭时（小鼠鼻尖没入水中 5 s）及时捞出，用干燥毛巾擦干，记录力竭游泳时间。

1.5.10 免疫指标及环磷酸苷水平 造模第 3、6、9 周末，小鼠力竭游泳时间实验后，禁食 12 h，次日对小鼠进行摘眼球取血，将血液分为两部分，一部分放入 EDTA 抗凝管，运用细胞破碎仪进行超声破碎（冰浴，40 000 Hz，每破碎 2 s 间隔 3 s，反复破碎 3 次），4℃、12 000 r/min 离心 15 min（离心半径 8 cm，下同），分离上清液，检测 CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞分子含量；另一部分放入非抗凝的离心管，4℃、3500 r/min 离心 15 min，分离血清，检测 cAMP、cGMP 含量。

1.5.11 脾脏指数与胸腺指数 造模第 3、6、9 周末，取脱颈处死小鼠的新鲜脾脏与胸腺，准确称量。脾脏指数=脾脏重量/小鼠体重×1000。胸腺指数=胸腺重量/小鼠体重×1000。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件。计量资料满足正态分布且方差齐时以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，以 LSD 法检验。不满足正态分布或方差差不齐时以中位数和四分位间距 [M (Q_1 , Q_3)] 表示，采用非参数检验中 Kruskal-Wallis 检验并进行 Bonferroni 校正， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠不同时间一般状态比较

空白组小鼠精神状态正常，毛发光亮柔顺。游泳复合组小鼠在造模第 3 周出现精神状态不佳，毛发暗淡无光；第 6 周开始精神不振、毛发干枯竖起，直到造模结束，且日渐严重；第 9 周部分小鼠出现游泳不协调的症状。睡眠剥夺复合组造模第 3 周呈现精神亢奋、易激怒、毛发竖起暗淡；第 6 周部分小鼠出现精神不佳、毛发干枯；第 9 周小鼠均出现精神不振，毛发干枯，部分小鼠毛发易脱落。游泳复合组于造模第 6、7、8 周各有 1 只小鼠死于溺水，睡眠剥夺复合组于第 8 周有 1 只小鼠死于溺水。

2.2 各组小鼠不同时间饮水量、唾液流率、粪便含水率比较

表 1 示，造模第 6 周，与空白组相比，睡眠剥夺复合组唾液流率显著降低 ($P < 0.05$)。造模第 9 周，与空白组相比，游泳复合组和睡眠剥夺复合组均出现饮水量显著增加、唾液流率显著降低，游泳复合组粪便含水率出现显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；与游泳复合组相比，睡眠剥夺复合组饮水量、粪便含水率显著性增加 ($P < 0.05$)。与本组造模第 3 周和第 6 周比较，游泳复合组造模第 9 周的饮水量显著增加，粪便含水率显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。睡眠剥夺复合组第 9 周唾液流率较第 3 周显著降低 ($P < 0.05$)。

2.3 各组不同时间小鼠体质量、抓力改变量、力竭游泳时间比较

表 2 示，与本组造模第 3 周比较，造模第 6 周空白组、游泳复合组及睡眠剥夺复合组，造模第 9 周空白组及睡眠剥夺复合组抓力均显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；与本组造模第 6 周比较，造模第 9 周空白组体质量显著增加，游泳复合组体质量显著减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。造模第 3 周，与空白组比较，游泳复合组力竭游泳时间显著减少，睡眠剥夺复合组体质量、力竭游泳时间显著减少 ($P < 0.01$)。造模第 6 周，与空白组比较，游泳复合组和睡眠剥夺复合组抓力、力竭游泳时间显著减少 ($P < 0.05$)。造模第 9 周，与空白组比较，游泳复合组和睡眠剥夺复合组体质量、抓力、力竭游泳时间显著减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；与游泳复合组比较，睡眠剥夺复合组抓力增加 ($P < 0.05$)。

2.4 各组小鼠不同时间旷场实验结果比较

表 3 示，与本组造模第 3 周比较，造模第 6、9

表1 各组小鼠不同时间饮水量、唾液流率、粪便含水率比较

[$M(Q_1, Q_3)$]

组别	时间	鼠数	饮水量/g	唾液流率/mg·s ⁻¹	粪便含水率/%
空白组	第3周	8	2.99 (2.91, 3.08)	0.24 (0.20, 0.28)	59.47 (56.82, 62.11)
	第6周	8	2.84 (2.57, 3.10)	0.25 (0.21, 0.29)	60.13 (57.16, 63.11)
	第9周	8	3.02 (2.84, 3.19)	0.25 (0.15, 0.34)	59.84 (56.85, 62.83)
游泳复合组	第3周	8	3.02 (2.76, 3.29)	0.22 (0.19, 0.25)	59.52 (53.96, 65.09)
	第6周	7	3.03 (0.73, 5.33)	0.19 (0.09, 0.29)	57.66 (51.97, 63.36)
	第9周	8	3.78 (3.55, 4.02) ^{a) d) f)}	0.17 (0.07, 0.27) ^{b)}	39.49 (24.52, 54.46) ^{b) d) f)}
睡眠剥夺复合组	第3周	8	2.99 (2.79, 3.19)	0.23 (0.07, 0.38)	58.38 (51.28, 65.48)
	第6周	6	3.49 (2.79, 4.19)	0.17 (0.09, 0.27) ^{b)}	55.06 (33.80, 76.31)
	第9周	7	4.01 (3.70, 4.32) ^{a) c)}	0.16 (0.10, 0.22) ^{a) e)}	56.32 (23.60, 89.03) ^{c)}

注: a) 与同时期空白组比较, $P<0.01$; b) 与同时期空白组比较, $P<0.05$; c) 与同时期游泳复合组比较, $P<0.05$; d) 与本组3周比较, $P<0.01$; e) 与本组3周比较, $P<0.05$; f) 与本组6周比较, $P<0.05$ 。

表2 各组小鼠不同时间体质量、抓力、力竭游泳时间比较

组别	时间	鼠数	体质量/g, $\bar{x}\pm s$	抓力/g, $\bar{x}\pm s$	力竭游泳时间/ [s, $M(Q_1, Q_3)$]
空白组	第3周	8	20.70±0.94	138.55±14.58	342.20 (257.97, 426.44)
	第6周	8	20.66±0.74	196.47±25.58 ^{a)}	287.54 (289.12, 485.96)
	第9周	8	21.84±0.70 ^{a) c)}	216.22±20.15 ^{a)}	352.22 (284.17, 420.28)
游泳复合组	第3周	8	19.49±0.87 ^{e)}	140.68±19.51	260.93 (140.38, 381.48) ^{e)}
	第6周	7	19.99±0.89	164.74±12.64 ^{b) f)}	224.88 (191.89, 257.87) ^{e)}
	第9周	8	18.70±1.21 ^{d) e)}	143.07±32.14 ^{e)}	195.51 (69.46, 321.57) ^{e)}
睡眠剥夺复合组	第3周	8	19.71±1.16	125.78±23.16	265.42 (196.20, 334.64) ^{e)}
	第6周	6	19.91±1.08	167.78±26.86 ^{a) f)}	257.54 (159.12, 355.96) ^{e)}
	第9周	7	19.90±1.13 ^{e)}	172.32±18.72 ^{a) e) g)}	214.00 (96.27, 331.73) ^{f)}

注: a) 与本组第3周比较 $P<0.01$; b) 与本组第3周比较, $P<0.05$; c) 与本组第6周比较, $P<0.01$; d) 与本组第6周比较, $P<0.05$; e) 与同时期空白组比较, $P<0.01$; f) 与同时期空白组比较, $P<0.05$; g) 与同时期游泳复合组比较, $P<0.05$ 。

表3 各组小鼠不同时间旷场实验结果比较

组别	时间	鼠数	总路程/m, [$M(Q_1, Q_3)$]	站立次数/次, $\bar{x}\pm s$	角落时间/s, $\bar{x}\pm s$	中心时间/s, $\bar{x}\pm s$
空白组	第3周	8	30.32 (26.50, 34.15)	24.50±11.72	149.31±45.14	28.95±14.15
	第6周	8	29.42 (19.74, 39.1)	24.00±12.12	154.69±47.48	26.63±13.29
	第9周	8	31.46 (21.00, 41.91)	27.50±13.04	154.09±33.66	29.66±18.10
游泳复合组	第3周	8	34.76 (24.24, 45.28)	19.38±9.21	160.09±35.72	26.99±6.23
	第6周	7	25.01 (5.21, 44.82) ^{a)}	19.00±15.17	204.41±50.77 ^{a) d)}	13.72±10.34 ^{b)}
	第9周	6	17.61 (5.44, 29.78) ^{b) d)}	10.33±8.66 ^{e)}	234.21±25.19 ^{b) e)}	8.16±4.44 ^{b) e)}
睡眠剥夺复合组	第3周	8	41.58 (33.90, 49.25) ^{e) f)}	39.38±8.21 ^{e) g)}	127.79±17.19	44.41±8.76 ^{e) g)}
	第6周	8	30.63 (17.55, 43.71)	26.63±13.48	161.64±36.98 ^{a)}	26.63±12.95 ^{b)}
	第9周	7	21.29 (19.25, 23.33) ^{d)}	16.29±7.02 ^{d) b)}	209.37±26.34 ^{b) c) e)}	11.54±5.88 ^{b) c) e)}

注: a) 与本组第3周比较, $P<0.05$; b) 与本组第3周比较, $P<0.01$; c) 与本组第6周比较, $P<0.01$; d) 与同时期空白组比较, $P<0.05$; e) 与同时期空白组比较, $P<0.01$; f) 与同时期游泳复合组比较, $P<0.05$; g) 与同时期游泳复合组比较, $P<0.01$ 。

周游泳复合组和睡眠剥夺复合组中心时间显著减少, 角落时间显著增加, 游泳复合组小鼠的总路程减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 睡眠剥夺复合组造模第9周小鼠的总路程和站立次数显著减少 ($P<0.01$); 与本组造模6周比较, 睡眠剥夺复合组造模第9周中心时间显著减少, 角落时间显著增加 ($P<0.01$)。造模第3周, 与空白组比较, 睡眠剥

夺复合组总路程、站立次数和中心时间显著增加 ($P<0.01$); 与游泳复合组同时间相比, 睡眠剥夺复合组总路程、站立次数和中心时间均显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。造模第6周, 与空白组比较, 游泳复合组角落时间显著增加 ($P<0.05$)。造模第9周, 与空白组比较, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组角落时间显著增加, 总路程、站立次数、

中心时间显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.5 各组小鼠不同时间面温比较

表 4 示, 造模第 3、6、9 周末各时间点, 各组小鼠面温差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 4 各组小鼠不同时间面温比较 [$^{\circ}\text{C}$, $M(Q_1, Q_3)$]

组别	时间	鼠数	面温
空白组	第 3 周 7: 30	8	35.53 (35.22, 35.83)
	第 3 周 14: 00	8	35.47 (35.28, 35.67)
	第 3 周 20: 30	8	35.63 (35.32, 35.93)
	第 6 周 7: 30	8	35.53 (35.33, 35.73)
	第 6 周 14: 00	8	35.35 (35.00, 35.69)
	第 6 周 20: 30	8	35.73 (35.53, 35.93)
	第 9 周 7: 30	8	35.44 (35.15, 35.73)
	第 9 周 14: 00	8	35.37 (35.02, 35.72)
	第 9 周 20: 30	8	35.79 (35.50, 36.08)
游泳复合组	第 3 周 7: 30	8	35.66 (35.31, 36.01)
	第 3 周 14: 00	8	35.30 (35.03, 35.58)
	第 3 周 20: 30	8	35.68 (35.39, 35.97)
	第 6 周 7: 30	7	35.67 (35.37, 35.97)
	第 6 周 14: 00	7	35.18 (34.75, 35.61)
	第 6 周 20: 30	7	35.72 (35.32, 36.12)
	第 9 周 7: 30	6	35.51 (35.36, 35.66)
	第 9 周 14: 00	6	35.33 (35.05, 35.60)
	第 9 周 20: 30	6	35.91 (35.76, 36.06)
睡眠剥夺复合组	第 3 周 7: 30	8	35.68 (35.35, 36.02)
	第 3 周 14: 00	8	35.38 (35.03, 35.73)
	第 3 周 20: 30	8	35.73 (35.57, 35.88)
	第 6 周 7: 30	8	35.68 (35.33, 36.03)
	第 6 周 14: 00	8	35.17 (34.82, 35.52)
	第 6 周 20: 30	8	35.79 (35.55, 36.27)
	第 9 周 7: 30	7	35.53 (35.20, 35.86)
	第 9 周 14: 00	7	35.23 (35.00, 35.46)
	第 9 周 20: 30	7	35.93 (35.60, 36.26)

2.6 各组小鼠不同时间免疫指标及环磷酸苷水平比较

表 5 示, 造模第 6 周, 与空白组相比, 游泳复合组小鼠血清 cAMP 含量、cAMP/cGMP 值显著增加; 睡眠剥夺复合组血清 cAMP/cGMP 值显著增加, 外周血 CD4⁺T 淋巴细胞含量显著减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。造模第 9 周, 与空白组相比, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组的血清 cAMP 含量、cAMP/cGMP 值均显著增加, 血清 cGMP 含量及外周血 CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 值均出现显著减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。游泳复合组与睡眠剥夺复合组各指标各时间比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。与本组造模第 3 周相比, 第 6

周时游泳复合组小鼠 cGMP 含量显著下降, cAMP/cGMP 值显著增加 ($P<0.05$), 睡眠剥夺复合组小鼠 cAMP/cGMP 值显著增加 ($P<0.05$); 造模第 9 周时, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组的 cAMP 含量、cAMP/cGMP 均显著增加, CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 值、cGMP 含量均显著下降 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与本组造模第 6 周相比, 游泳复合组第 9 周 CD4⁺T 淋巴细胞含量、CD4⁺/CD8⁺ 值显著下降 ($P<0.05$)。

2.7 各组小鼠不同时间脏器指数比较

表 6 示, 与空白组同时时间相比, 造模第 6 周, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组小鼠的脾脏指数均显著降低, 睡眠剥夺复合组胸腺指数显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 造模第 9 周, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组小鼠的胸腺指数、脾脏指数均显著降低 ($P<0.01$)。与本组第 3 周比较, 空白组小鼠造模第 9 周胸腺指数显著下降 ($P<0.01$); 游泳复合组小鼠造模第 6、9 周的胸腺指数和脾脏指数显著下降 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 睡眠剥夺复合组第 6、9 周的胸腺指数显著下降 ($P<0.01$)。与本组第 6 周比较, 游泳复合组和睡眠剥夺复合组第 9 周的胸腺指数均显著下降 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

中医证候动物模型是在中医思维指导下, 运用中医病因、病机理论构建的与人类有着相似疾病症状或病理改变的动物模型^[10]。《素问·举痛论篇》言: “劳则气耗”; 《灵枢·五味》言: “谷不入, 半日则气衰, 一日则气少矣”; 《本草经解》言: “食伤、忧伤、饮伤、房室伤、饥伤、劳伤、经络营卫气伤之七伤也, 七伤皆伤真阴”。因此, 长期的疲劳与饥饿可以耗气伤阴, 吴柳花等^[11] 以此为依据建立了长期超负荷游泳的阴虚内热大鼠模型。《医宗金鉴·删补名医方论》记载: “大热则伤阴”, 提示大热之物能伤及阴液。实验室以温燥药物耗伤动物津液, 建立阴虚模型较为常见^[12]。本次实验选用肉桂、干姜、花椒、辣椒作为热药进行灌胃, 取其辛温燥热之性, 耗伤阴液, 致使机体失去濡养, 导致阴虚。总之, 实验以长期饥饿疲劳耗气伤阴、灌服辛燥类药物耗伤津液为原理, 尝试分别使用游泳复合与睡眠剥夺复合两种不同的方法建立气阴两虚模型, 并从小鼠的体质量、体温、运动能力、精神状态、大便状态、环核苷酸水平、免疫功能进行评价。气阴两虚临床表现有乏力、消瘦、潮热、神

表5 各组小鼠各时间免疫指标及环磷酸苷水平比较

[$\bar{x} \pm s/M(Q_1, Q_3)$]

组别	时间	鼠数	cAMP/nmol·L ⁻¹	cGMP/nmol·L ⁻¹	cAMP/cGMP
空白组	第3周	8	12.54±1.90	12.34±1.61	1.03±0.18
	第6周	8	12.32±2.14	11.00±1.61	1.15±0.29
	第9周	8	12.60±2.24	12.66±1.46	1.01±0.24
游泳复合组	第3周	8	13.38±2.65	11.61±1.55	1.17±0.28
	第6周	7	15.30±1.38 ^{a)}	10.03±1.41 ^{d)}	1.56±0.31 ^{b) d)}
	第9周	6	17.16±1.02 ^{a) c)}	9.98±1.13 ^{a) d)}	1.74±0.26 ^{a) c)}
睡眠剥夺复合组	第3周	8	12.88±1.42	10.77±1.76	1.22±0.18
	第6周	8	13.93±1.25	9.28±1.86	1.57±0.42 ^{b) d)}
	第9周	7	16.74±2.88 ^{a) c)}	8.99±0.83 ^{a) d)}	1.88±0.35 ^{a) c)}
组别	时间	鼠数	CD4 ⁺ /μg·L ⁻¹	CD8 ⁺ /μg·L ⁻¹	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
空白组	第3周	8	18.99±1.94	12.82±2.36	1.52 (1.05, 1.99)
	第6周	8	19.47±2.06	12.94±2.17	1.54 (1.01, 2.07)
	第9周	8	18.84±2.10	11.93±1.11	1.59 (1.22, 1.97)
游泳复合组	第3周	8	18.72±2.81	12.14±2.43	1.60 (0.88, 2.33)
	第6周	7	17.74±2.91	11.30±1.75	1.58 (1.03, 2.13)
	第9周	6	10.57±0.93 ^{a) c) f)}	9.25±1.39 ^{a) d)}	1.15 (1.01, 1.29) ^{b) d) e)}
睡眠剥夺复合组	第3周	8	17.45±2.87	11.73±2.65	1.53 (1.04, 2.02)
	第6周	8	15.57±2.41 ^{a)}	11.27±1.51	1.39 (1.08, 1.71)
	第9周	7	10.02±3.18 ^{a) c)}	9.11±1.39 ^{a) d)}	1.14 (0.64, 1.65) ^{b) d)}

注: cAMP, 环磷酸腺苷; cGMP, 环磷酸鸟苷。

a) 与同时期空白组比较, $P<0.01$; b) 与同时期空白组比较, $P<0.05$; c) 与本组3周比较, $P<0.01$; d) 与本组3周比较, $P<0.05$; e) 与本组6周比较, $P<0.05$; f) 与本组6周比较, $P<0.01$ 。表6 各组小鼠不同时间脏器指数比较 (mg/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	脾脏指数	胸腺指数
空白组	第3周	8	3.42±0.52	2.17±0.53
	第6周	8	3.61±0.43	1.81±0.28
	第9周	8	3.47±0.44	1.39±0.19
游泳复合组	第3周	8	3.54±0.66	2.44±0.60
	第6周	7	2.96±0.33 ^{a) d)}	1.58±0.27 ^{c)}
	第9周	6	2.54±0.45 ^{a) c)}	1.01±0.12 ^{a) c) e)}
睡眠剥夺复合组	第3周	8	3.08±0.39	2.04±0.48
	第6周	8	2.74±0.33 ^{a)}	1.48±0.37 ^{b) c)}
	第9周	7	2.64±0.34 ^{a)}	0.90±0.18 ^{a) c) f)}

注: a) 与同时期空白组比较, $P<0.01$; b) 与同时期空白组比较, $P<0.05$; c) 与本组第3周比较, $P<0.01$; d) 与本组第3周比较, $P<0.05$; e) 与本组第6周比较, $P<0.01$; f) 与本组第6周比较, $P<0.05$ 。

疲、烦渴、口干舌燥、大便干结、舌质嫩红或者干绛、脉细弱无力、免疫功能紊乱^[2,13]等。本次实验以抓力改变量和力竭游泳时间反映其瞬时力量和运动耐力评价乏力,以面温评价潮热,以旷场实验反映小鼠精神状态评价神疲、烦躁,以饮水量和唾液流率评价口干程度,以粪便含水率评价大便干燥程度,以免疫器官指数和外周血中T细胞数量与比例评价免疫功能,以环核苷酸水平作为阴虚的血液指标^[11]。

本研究结果显示,与空白组比较,游泳复合组与睡眠剥夺复合组小鼠均出现了显著的体质量下降、唾液流率的减少和饮水量的增加,符合临床消瘦、烦渴和口干舌燥的症状,且睡眠剥夺复合组唾液流率降低的时间更早。粪便含水率则只有第9周的游泳复合组与空白组比较出现了显著降低。

抓力测试和力竭游泳实验结果显示,与空白组相比,游泳复合组和睡眠剥夺复合组自第3周开始,出现力竭游泳时间的减少,到第6周开始,出现抓力的减少,这代表着乏力症状的出现。所不同的是,游泳复合组小鼠的抓力呈现先增加后减少的趋势,而睡眠剥夺复合组小鼠的抓力变化趋势则与空白组类似,其抓力的增加随时间的延长而减缓。同时,力竭游泳时间减少相比于抓力下降出现更早。

旷场实验结果显示,随造模时间延长,与空白组相比游泳复合组小鼠的总路程、站立次数、中心时间减少,角落时间增加,活动状态逐渐低迷,而睡眠剥夺复合组小鼠在造模第3周,总路程、站立次数和中心时间较空白组增加,状态较为亢奋,而后随造模时间延长角落时间增加,总路程、站立次数和中心时间减少,活动状态逐渐消沉,这提示两种造模方法使小鼠出现了不同的精神状态的改变。

旷场实验是依据啮齿动物同时具有对新环境的恐惧与对新事物的探索两种矛盾的特性而设计的,其本质依据由新环境带来的压力所引发的行为判断其精神与心理状态^[13]。通常前 5 min 小鼠更多的是表现出对新环境的恐惧,因此作为小鼠的探索时间,反映其探索能力^[14]。一般而言,在周边环境探索的增加和垂直站立于墙边次数的增加都被认为是焦虑样行为,但这种焦虑行为更多的是反映外界未知危险带来的压力导致的反应,并不能和医学上所说的焦虑完全匹配^[14-15]。本实验结果显示,第 3 周睡眠剥夺复合组活动总距离增加,中心区域活动增加,与过往阴虚证造模结果^[16]一致,但是这种状态可能并非旷场实验所展示的焦虑状态,而是更倾向于一种躁狂状态^[17],或者可以理解为烦躁的一种表现。而其靠墙次数的显著增加,可能是小鼠在面对新环境时的趋避性行为的一种体现^[15]。第 9 周时,两个造模组均出现活动距离减少,中心区域活动减少,而角落活动时间增加的状态,与抑郁模型^[18]相类似,推测此时的小鼠处于一种中枢的抑制状态,与气阴两虚的神疲乏力相对应。

潮热是如同潮汐一般定时发热的现象,一般发于午后或者夜间^[19]。本次实验以 7:30, 14:00, 20:30 为检测时间,测量小鼠面温以评价潮热现象^[20]。结果发现,各组小鼠面温无显著差异,这可能是由于潮热发生时间不规律或者发生时间较短,检测不及时导致,可能需要仪器对小鼠体温进行全天实时测量。

cAMP 和 cGMP 是生物体内重要的第二信使,阴虚时常常表现为 cAMP 升高或者 cAMP/cGMP 升高^[21-22]。本研究结果显示,自第 6 周开始,游泳复合组就表现出 cAMP 和 cAMP/cGMP 值的显著升高,睡眠剥夺复合组出现 cAMP/cGMP 值的显著升高,一定程度上印证了阴虚的出现。另外,气阴两虚会导致免疫功能的紊乱^[23]。本研究结果显示,与空白组相比,游泳复合组和睡眠剥夺复合组的外周血中 CD4⁺T 淋巴细胞含量、CD8⁺T 淋巴细胞含量以及 CD4⁺/CD8⁺比值均减少,脾脏指数和胸腺指数均出现显著性降低,提示这两种造模方法均能降低小鼠机体的免疫功能,而睡眠剥夺复合组的胸腺指数在造模第 6 周即表现出显著的减少。结合组内不同时间点之间的比较,我们推测,两种造模方式可能会带来不同方向的免疫力降低,睡眠剥夺复合造模方法更偏向于影响胸腺。

综上,游泳复合组与睡眠剥夺复合组均在造模

9 周时表现出神疲乏力、口干咽燥、消瘦、免疫功能紊乱的特点,可以在一定程度上作为气阴两虚模型以供实验研究。不同的是,游泳复合组在造模初期较空白组出现精神变差,力竭游泳时间减少的状态,更贴近神疲乏力的表现,偏向于气虚状态;造模后期则陆续出现饮水量增加、唾液流率减少、粪便含水率降低、免疫功能降低和环核苷酸水平紊乱的特点,表现出类似气阴两虚的状态。睡眠剥夺复合组在造模之初,较空白组出现了力竭游泳时间的减少,以及旷场实验中总路程、站立次数和中心时间的增加,兼有阴虚躁狂和气虚乏力的表现,但更偏向阴虚;造模后期则出现抓力、体质量、免疫功能下降,旷场实验中总路程、站立次数和中心时间减少,角落时间增加,以及环核苷酸水平的紊乱,免疫器官指数尤其是胸腺显著减少,但粪便含水率并无显著差异。因此,两种方法均可成功构建气阴两虚模型。若进行便秘相关实验,更适合使用游泳复合组造模方法建立气阴两虚模型;若与便秘无关或进行躁狂与乏力并存的实验,则更适合使用睡眠剥夺复合组造模方法建立模型。本次实验动物模型检测到与临床气阴两虚患者较为一致的证候,但由于技术的限制以及小鼠与人的差异,未能很好地检测小鼠的体温、脉象和舌象。因此,气阴两虚证小鼠模型还需进一步探索和评价。

参考文献

- [1] 邓铁涛. 中医证候规范[M]. 广州: 广东科技出版社, 1990: 57-59.
- [2] 国家卫生健康委员会, 国家中医药管理局. 中医临床诊疗术语第 2 部分: 证候[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021: 140-141.
- [3] 肖相如, 时振声. 论气阴两虚证[J]. 陕西中医, 1990, 11(5): 215-216.
- [4] 马慕耘, 董英杰, 雷珊珊, 等. 黄精不同炮制品对气阴两虚模型大鼠的药效研究[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(10): 83-89.
- [5] 陈进成, 刘建勋, 林成仁, 等. 基于“劳则气耗”理论研究气虚证动物模型的建立方法[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2177-2183.
- [6] 甘加宽, 樊憬懿, 王冬芝, 等. 睡眠剥夺诱导小鼠气虚证模型的方法研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2016, 18(10): 1801-1806.
- [7] 陈进成, 刘建勋, 马博, 等. 气虚血瘀证大鼠模型的建立与评价[J]. 中医杂志, 2020, 61(3): 229-234.
- [8] 李艳彦, 白赟, 郭海龙, 等. 大鼠气虚冻伤模型的建立及黄芪桂枝五物汤和桂枝汤作用研究[J]. 中华中医药

- 杂志, 2010, 25(12): 2313-2316.
- [9]郝婷婷. 气虚血瘀证模型大鼠微循环状态评价研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2018.
- [10]李磊, 刘建勋, 任钧国, 等. 中医药动物模型研究现状及展望[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 104-110.
- [11]吴柳花, 吕圭源, 李波, 等. 黄精对长期超负荷游泳致阴虚内热模型大鼠的作用研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(10): 1886-1891.
- [12]潘瑾, 潘文超, 迟显苏, 等. 百合地黄汤治疗阴虚内热型抑郁症的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(12): 31-38.
- [13]王维刚, 刘震泽, 吴文婷, 等. 小鼠动物实验方法系列专题(七)旷场实验在小鼠行为分析中的应用[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(11): 1191-1196.
- [14]PRUT L, BELZUNG C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 463(1-3): 3-33. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01272-x.
- [15]KUNIISHI H, ICHISAKA S, YAMAMOTO M, et al. Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats [J]. Neurosci Res, 2017, 123: 27-35. doi: 10.1016/j.neures. 2017. 04. 012.
- [16]孙晓霞, 任威铭, 崔荣兴, 等. 阴虚证动物模型的建立与评价[J]. 中医杂志, 2021, 62(13): 1156-1163.
- [17]DAL-PONT GC, RESENDE WR, BIANCHINI G, et al. Tamoxifen has an anti-manic effect but not protect the brain against oxidative stress in an animal model of mania induced by ouabain [J]. J Psychiatr Res, 2019, 113: 181-189. doi: 10.1016/j.jpsychires. 2019. 03. 020.
- [18]ZHENG QL, ZHU HY, XU X, et al. Korean red ginseng alleviate depressive disorder by improving astrocyte gap junction function [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 281: 114466. doi: 10.1016/j.jep. 2021. 114466.
- [19]陈逸菲, 孙美灵. 午后潮热辨证分析与论治[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 689-690.
- [20]王楠楠, 戴明珠, 徐俞悦, 等. 铁皮石斛花对肾上腺皮质激素致肾阴虚模型小鼠的影响[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(1): 116-119.
- [21]张译心, 王鑫, 刘博, 等. 2型糖尿病气阴两虚病证结合动物模型的制备及评价指标的建立[J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(2): 219-229.
- [22]毕莹, 尚坤. 女贞子不同炮制品对肾阴虚大鼠内分泌系统的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(9): 2140-2142.
- [23]乐娜, 吐尔逊·热依拉, 赵凡, 等. 芝斛方对气阴两虚证小鼠环核苷酸、免疫及代谢水平的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2021, 44(10): 899-907.

Two Preparation Methods of *Qi* and *Yin* Deficiency Syndrome Mice Models

DING Song¹, GAO Changjiu¹, LU Fang², LIU Changfeng², XUAN Xiuxiu¹, LIU Shumin²

1. Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, 150040; 2. Institute of Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To compare two different composite modeling methods and find the superior one to establish *qi-yin* deficiency syndrome model. **Methods** A total of 72 BALB/c mice were randomly divided into normal group, swimming composite model group and sleep deprivation composite model group, with 24 mice in each group. Each group was further randomly divided into 3 groups according to 3 weeks, 6 weeks and 9 weeks of modeling, with 8 mice in each group. Swimming composite model group was given uncontrolled diet and drugs of heat nature by gavage plus weight-bearing swimming, while the sleep deprivation composite model group was given uncontrolled diet and drugs of heat nature by gavage plus sleep deprivation, which were modeled for 3 weeks, 6 weeks and 9 weeks, respectively. At week 0 of the modelling, the grip strength and body weight of each mouse were recorded. At week 3, 6, and 9, the weight, grip strength, exhaustion swimming time, water intake quantity, saliva flow rate, fecal moisture content, and surface temperature were recorded and compared between groups; open field test was used to record the total distance traveled within 300s, the standing frequency, and time spent in the center and in the corner; the thymus index and spleen index were calculated; the peripheral blood CD4⁺, CD8⁺T lymphocytes, as well as the contents of cyclic adenosine phosphate (cAMP) and cyclic guanosine phosphate (cGMP) in serum were detected. **Results** During the experiment, 3 mice in the swimming composite model group, and 1 mouse in the sleep deprivation composite group died. At week 3, compared to those in the normal group, the exhaustive swimming time in the swimming composite model group, as well as the weight and exhaustive swimming time in the sleep deprivation

composite model group significantly decreased, while the total distance traveled, the standing frequency and the time spent in the center significantly increased in the sleep deprivation composite model group ($P < 0.01$); the sleep deprivation composite model group had increased total distance traveled, the standing frequency and the time spent in the center than the swimming composite model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). At week 6, compared to those in the normal group, the time spent in the corner, serum cAMP content, and cAMP/cGMP value in the swimming composite model group, as well as cAMP/cGMP value in the sleep deprivation composite model group significantly decreased, while the peripheral blood CD4⁺T lymphocytes, salivary flow rate and thymus index in the sleep deprivation composite model group, and the grip strength, exhaustion swimming time, spleen index in both model groups significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). At week 9, compared to those in the normal group, the water intake quantity, time spent in the corner, serum cAMP content, cAMP/cGMP value in both model groups increased significantly, while the saliva flow rate, grip strength, exhaustive swimming time, total distance traveled, standing frequency, time spent in the center, serum cGMP, thymus index, spleen index, and peripheral blood CD4⁺T lymphocytes, CD8⁺T lymphocytes, and CD4⁺/CD8⁺ value decreased significantly, as well as the fecal moisture content in the swimming composite model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); the sleep deprivation composite model group had significantly increased water intake quantity, fecal moisture content, and grip strength than the swimming composite model group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the surface temperature of the mice in each group measured at week 3, 6 and 9 ($P > 0.05$). **Conclusion** Both the swimming composite model group and the sleep deprivation composite model group could have the similar symptoms with *qi-yin* deficiency after 9 weeks of modeling. For experiments related to constipation, the modeling method used in the swimming composite group is recommended to establish the *qi-yin* deficiency model; if there is nothing to do with constipation, the method used in the sleep deprivation composite model group is suitable modeling in order to reduce the mortality rate of the experiment animals.

Keywords *qi-yin* deficiency syndrome; syndrome model; weight-bearing swimming; sleep deprivation

(收稿日期: 2022-05-05; 修回日期: 2022-09-29)

[编辑: 王利芬]

广告

《中医杂志(英文版)》欢迎投稿

Journal of Traditional Chinese Medicine [《中医杂志(英文版)》] (ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊) 由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志(英文版)》自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、《化学文摘》(CA)、《医学文摘》(EM) 等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中的中国传统医学综合性学术期刊之一。

《中医杂志(英文版)》主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究, 思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltcm.com> 投稿。

联系邮箱: jtcmen@126.com。电话: 010-64089190。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。