

# 茯苓水提物对幽门螺杆菌的抑制作用和 GES-1 细胞增殖作用研究

李良<sup>1</sup>, 袁尔东<sup>2</sup>, 苟娜<sup>2</sup>, 高立<sup>2</sup>, 杨宜婷<sup>3</sup>, 任娇艳<sup>2,3</sup>

(1. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510665) (2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510641)  
(3. 中新国际联合研究院, 广东广州 510000)

**摘要:** 本文从不同中药水提物[白术、茯苓、陈皮、山药、复合多糖(白术、茯苓、陈皮、山药的混合水提物)]中筛选具有良好抑制幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)活性以及能促进人胃粘膜上皮(Human gastric epithelial cell line, GES-1)细胞增殖的物质。对比不同水提物对Hp的抑菌活性, 体外抑制脲酶的活性。结果显示, 茯苓、复合多糖及白术水提物, 具有一定程度的抑制Hp作用, 在浓度为1000.00 μg/mL时对Hp的抑制率分别为93.29%、62.85%、47.14%。其中, 以茯苓水提物的抑菌效果最显著。各种中药水提物都具有不同程度的抑制脲酶活性, 茯苓水提物的效果最好(IC<sub>50</sub>=618.90 μg/mL)。茯苓水提物对Hp的抑制呈现一定程度剂量依赖效应。当其浓度达到15.62 μg/mL以上时, 对Hp的抑制率达80%以上。以125.00 μg/mL的茯苓水提物作用24 h后, 即可显著地提高胃粘膜上皮细胞(GES-1)的存活率至128.35%。因此, 茯苓水提物可能通过抑制幽门螺杆菌增殖及其毒力因子脲酶的活性, 同时促进GES-1细胞增殖来降低幽门螺杆菌感染胃部所引起的毒性作用。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 茯苓; 脲酶; 胃粘膜上皮细胞

文章编号: 1673-9078(2019)010-19-24

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.10.004

## Effects of Water Extract of *Poria* on *Helicobacter pylori* Inhibition and GES-1 Cells Proliferation

LI Liang<sup>1</sup>, YUAN Er-dong<sup>2</sup>, GOU Na<sup>2</sup>, GAO Li<sup>2</sup>, YANG Yi-ting<sup>3</sup>, REN Jiao-yan<sup>2,3</sup>

(1. Infinitus (China) Co. Ltd., Guangzhou 510665, China)

(2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

(3. Sino-Singapore International Joint Research Institute, Guangzhou 510000, China)

**Abstract:** Inhibitory activity on *Helicobacter pylori* (Hp) of different water extracts of Chinese herb (*Atractylodes rhizome*, *Poria*, dried orange peel, Yam and polysaccharide complex (mixed water extracts of *Atractylodes rhizome*, *Poria*, dried orange peel and yam) was studied. The antibacterial experiment results showed that the water extract of *Poria*, polysaccharide complex and *Atractylodes rhizome* demonstrated a certain inhibitory activity on Hp. The inhibition rates were 93.29%, 62.85% and 47.14% at the concentration of 1000.00 μg/mL, respectively. The water extract of *Poria* showed the most significant effect. The water extract of Herb had different inhibitory effects on urease activity, and the water extract of *Poria* had the best effect (IC<sub>50</sub>=618.90 μg/mL). The water extract of *Poria* showed a dose-dependent effect on the inhibition of Hp. The inhibition rate was over 80% when the concentration reached 15.62 μg/mL or more. The survival rate of human gastric epithelial cells (GES-1) was significantly increased to 128.35% after treatment with 125.00 μg/mL of the water extract from *Poria* for 24 h. Therefore, the water extract of *Poria* might repair the Hp-injured stomach by inhibiting Hp proliferation and urease activity and promoting the proliferation of GES-1 cells.

**Key words:** *Helicobacter pylori* (Hp); *Poria cocos*; urease; human gastric epithelial cells (GES-1)

收稿日期: 2019-04-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671804); 广东省科技计划项目(2017B090901063); 广州市产学研协同创新重大专项(201604020047); 中央高校基本科研业务费项目(2017ZD079); 高等学校学科创新引智计划资助(B17018)。

作者简介: 李良(1989-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 天然产物研究与健康食品开发

通讯作者: 袁尔东(1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物化学、食品营养与健康

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 是一种单极多鞭毛杆状的革兰氏阴性微需氧细菌,是唯一能在胃部生存的细菌<sup>[1]</sup>。它能分泌脲酶这一毒力因子,以水解尿素生成氨和二氧化碳,中和周围的胃酸和缓解炎性反应引起的杀菌作用,保护 Hp 定植于高酸性的人体胃部环境。Hp 是全球范围内最常见的传染性病原菌之一,据统计世界人群中 Hp 感染率已超过 50%<sup>[2]</sup>。Hp 感染是引起胃炎、消化性溃疡、胃癌和相关性淋巴瘤组织淋巴瘤的主要病因<sup>[3,4]</sup>。据报道全球 75% 的胃癌是由 Hp 感染所引发的<sup>[5]</sup>,世界卫生组织国际癌症研究机构 (IAEC) 已将 Hp 列为第 I 类致癌因子<sup>[6]</sup>。此外, Hp 感染还被认为与阿尔茨海默症<sup>[7]</sup>、帕金森病<sup>[8]</sup>、恶性贫血<sup>[9]</sup>和妊娠剧吐<sup>[10]</sup>等疾病相关。

根除 Hp 被认为防治 Hp 相关疾病最有效的方法。传统的治疗方法是 Hp 三联疗法,质子泵抑制剂辅加两种抗生素。但是,随着 Hp 对抗生素的耐药性增强,传统三联疗法的治愈率不断降低。因此,寻找更安全、有效的抑制 Hp 活性成分的研究势在必行。

我国传统中药是天然活性成分的宝贵资源,其中茯苓多糖<sup>[11,12]</sup>和陈皮黄酮<sup>[13]</sup>具有抑菌作用且其中的活性成分有利于保护胃肠功能;白术黄酮<sup>[14]</sup>和山药多糖<sup>[16]</sup>可有效抑菌,具有良好的上皮黏膜保护功能。故而所选的这些原料可能具有潜在的抑制幽门螺杆菌和促进胃粘膜上皮细胞增殖的活性。并且,相比于抗生素,中药活性成分的优势在于不易引起耐药性、不会产生严重的菌群失调以及副作用小等。因而,从中药原料中寻求更安全有效的抑制 Hp 活性成分,成为防治 Hp 感染的新途径。

目前,许多研究采用抑菌圈法<sup>[17]</sup>或二倍稀释法<sup>[18]</sup>来评价原料对幽门螺杆菌的抑菌活性;这些方法可以比较直观地展现出原料的抑菌性强弱,但是未能进一步探究其抑菌机制。本文以更为安全的药食同源中药原料为研究对象,对其直接抑制幽门螺杆菌的功效进行对比和分析并对其抑制脲酶的活性进行了研究,同时对比了单方与组方的抑菌效果,以及探究了其对胃粘膜上皮细胞增殖的影响,从而对其抑菌机制进行了一定探究,以为研究和开发更安全有效的防治 Hp 感染的活性成分及其在保健食品中的应用提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

幽门螺杆菌 (Hp SS1),由南方医科大学南方医

院消化科智发朝教授馈赠;复合多糖(白术、茯苓、陈皮、山药的混合水提物),由无限极(中国)有限公司提供;白术、茯苓、陈皮、山药,安国市一方药业有限公司;无菌脱纤维绵羊血,广州鸿泉生物科技有限公司(批号 180820);胎牛血清, Gibco (批号 730840);CM0331B 哥伦比亚血琼脂基础,广州翔博生物科技有限公司;革兰染色液试剂盒,青岛海博生物技术有限公司(批号 HB8278);脑心浸液 (BHI),广州翔博生物科技有限公司。

#### 1.1.2 主要仪器和设备

厌氧培养罐(细菌),上海安亭科学仪器有限公司;超净工作台,苏州净化设备有限公司;高压灭菌锅,上海安亭科学仪器有限公司;UV754N 紫外可见分光光度计,INESA 上海仪电分析仪器有限公司;倒置相差显微镜,日本 Olympus 公司;离心机, Thermo;万分之一电子天平,上海安亭科学仪器有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 Hp 固体培养及鉴定

将冻存的 Hp 菌株从 -80 °C 超低温冰箱取出,在室温下溶解后,复苏于哥伦比亚血琼脂培养基中,均匀涂布,在微需氧条件 (5% O<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>、85% N<sub>2</sub>) 下培养 48~72 h。

革兰氏染色鉴定:将生理盐水滴一滴至洁净载玻片上,用接种环刮取适量菌落,均匀涂在生理盐水中,在室温下晾干后进行革兰氏染色。先用龙胆紫染液对固定好的样本染色 10 s,水洗并晾干;碘液媒染 10 s,再水洗并晾干;然后,酒精脱色,沙黄溶液复染 10 s,水洗后用滤纸吸干。镜检。

触酶试验:在 EP 管中加入 3% 过氧化氢酶试剂以及少量待测细菌菌落,产生连续气泡即为阳性结果。

快速尿素酶试验:刮取适量菌落于尿素酶试纸上涂开,接触处产生变红现象即为阳性结果。

氧化酶试验:刮取适量菌落于氧化酶试纸上涂开,接触处产生变蓝或黑现象即为阳性结果。

### 1.2.2 Hp 的活化

从 -80 °C 超低温冰箱取出冻存的 Hp 菌株,在以哥伦比亚培养基为基础、含 7.5% 无菌脱纤维绵羊血的血平板上复苏菌株。倒置平板置于微需氧 (5% O<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>、85% N<sub>2</sub>)、饱和湿度环境中培养 72 h,用于实验或传代。

### 1.2.3 Hp 菌悬液的制备及菌落浓度的检测

将 Hp 刮取收集于含 10% FBS 的 BHI 培养液中,在 600 nm 波长下检测 Hp 活菌悬液的光密度 (Optical

Density, OD) 值, 以  $OD_{600}=1$  值为  $1.0 \times 10^9$  cfu/mL 细菌为标准<sup>[19]</sup>, 确定 Hp 活菌悬液细菌浓度。

### 1.2.4 Hp 生长曲线的测定

Hp 培养于哥伦比亚血平板中, 置于 37 °C 含 5% O<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>、85% N<sub>2</sub> 的饱和湿度环境, 每隔 12 h 取样固体培养 48 h 后计数菌落数。

### 1.2.5 抗生素阳性模型的建立

参照临床中用于治疗 Hp 阳性的三联疗法 (艾普拉唑 10 mg、阿莫西林 1000 mg、克拉霉素 500 mg), 选择阿莫西林和克拉霉素作为阳性药物, 以 2:1 的比例配成 0.195~100 μg/mL 的不同浓度, 加入菌悬液中液体培养 24 h 后, 接种于哥伦比亚血平板上培养 48 h, 计数菌落。

### 1.2.6 中药水提物的制备

称取中药原料 15 g, 粉碎过 60 目筛, 按料液 1:20 的比例加水, 在 80 °C 下回流提取 2 h。过滤、弃去滤渣, 在 5000 r/min 条件下离心 10 min, 减压浓缩, 冷冻干燥, 得到中药水提物, 干燥保存, 备用。

### 1.2.7 抑菌试验

用 0.1% 的 DMSO 充分溶解中药水提物后, 再溶于含 10% FBS 的 BHI 培养液中配成一定浓度的药液, 过 0.22 μm 滤膜, 备用。在 24 孔板中加入 10 μL Hp 菌悬液 ( $10^9$  cfu/mL) 以及 990 μL 不同浓度的药液、空白对照组加入不含药物的培养液 (含 0.1% DMSO、10% FBS 的 BHI 培养液) 和菌悬液, 阳性对照组则加入含 100 μg/mL 阿莫西林和 50 μg/mL 克拉霉素混合抗生素<sup>[20]</sup>的 BHI 培养液和 Hp 菌悬液。37 °C 微需氧条件下培养 24 h 后, 适当稀释, 取 50 μL 转至哥伦比亚血琼脂培养基上, 培养 48 h 后计数菌落<sup>[21]</sup>。对比空白对照组菌落数, 计算抑制率。

### 1.2.8 脲酶抑制活性的检测

分别将脲酶溶液 (10 U/mL) 与不同浓度的药物溶液 (125、250、500、1000、2000、4000 μg/mL) 各 100 μL 混匀至 1.5 mL 离心管中, 于 37 °C 避光反应 20 min。加入 50 mM 尿素 100 μL, 在室温下避光反应 20 min。加入贝特洛显色液并摇匀, 在室温下避光反应 10 min。吸取 150 μL 至 96 孔板中, 在酶标仪上测定 595 nm 处的 OD 值。每个浓度的药物平行操作 3 次。空白对照组加入相应溶液的溶剂<sup>[22]</sup>。根据公式计算出 RA, 运用 SPSS 统计软件求得药物的 IC<sub>50</sub>。

$$RA(\%) = \left( \frac{OD_{sample} - OD_{blank}}{OD_{control} - OD_{blank}} \right) \times 100\%$$

### 1.2.9 对 GES-1 细胞增殖的测定

用胰酶消化对数生长期的 GES-1 细胞制成单细胞悬液, 计数, 以每孔  $1 \times 10^4$  的量接种至 96 孔板中, 每

组设置 6 个复孔, 置于 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内孵育 16 h。加入不同浓度中药水提物, 继续孵育 24 h。为防止药物与噻唑蓝 (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, MTT) 反应影响显色, 则需弃去原培养液, 用 PBS 轻轻冲洗 2~3 遍后, 再加入 5 g/L MTT 溶液 20 μL, 再孵育 4 h。弃去上清液, 每孔加入 150 μL 二甲亚砜, 振荡溶解结晶, 在 570 nm 下测定 OD 值<sup>[23]</sup>。计算 GES-1 细胞存活率。

$$\text{细胞存活率}(\%) = \left( \frac{OD_{sample} - OD_{blank}}{OD_{control} - OD_{blank}} \right) \times 100\%$$

## 1.3 数据分析

所有数据均独立平行测定 3 次, 数据结果以平均值±标准差 (mean±SD) 的形式表示, 采用 SPSS 24.0 软件对试验数据进行统计学分析, 通过独立样本 t 检验做显著性分析,  $p < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 Hp 的鉴定结果

将 Hp 涂片后进行革兰氏染色处理, 在油镜下观察到幽门螺杆菌被染成红色, 即为革兰氏阴性。细菌形态呈弯曲螺旋、长短不一的杆状、S 状 (图 1a)。取固体培养 48 h 后的菌落进行氧化酶试验产生蓝色反应 (图 1b); 触酶试验产生连续气泡 (图 1c); 快速尿素酶试验显示红色反应 (图 1d)。四种实验的鉴定结果均呈阳性, 表明此菌株即为幽门螺杆菌。

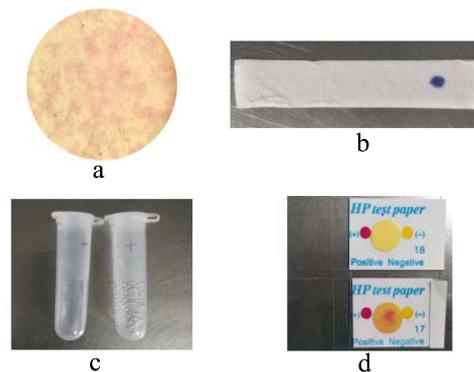


图 1 Hp 鉴定结果

Fig.1 Identification of *Helicobacter pylori*

注: a: 油镜下观察到的 Hp 细胞形态; b: 氧化酶试验, 接触部位出现深蓝或黑色反应者即为阳性结果; c: 触酶试验, 左边无气泡为空白对照, 出现连续气泡即为阳性结果; d: 快速尿素酶试验, 黄色为空白对照, 试纸变为红色或紫红色者即为阳性结果。

### 2.2 Hp 生长曲线

如图2所示, Hp 在 12~48 h 内处于对数生长期, 48~84 h 为稳定生长期, 84 h 后则为衰退期。故选取培养 48 h 的处于对数生长期的 Hp 进行后续抑菌实验。

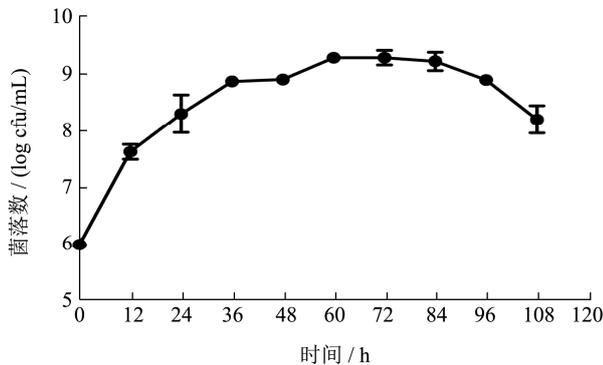


图2 幽门螺杆菌生长曲线

Fig.2 The growth curve of *Helicobacter pylori*

### 2.3 抗生素阳性模型

一系列浓度梯度的抗生素对 Hp 生长的抑制情况如图3所示, Hp 菌落数随着抗生素浓度升高而不断减少, 呈现明显的剂量-效应关系, 当抗生素浓度达 100  $\mu\text{g/mL}$  时, Hp 的生长几乎已完全被抑制, 表明抗生素阳性对照模型建立成功, 故在此后实验中选择 100  $\mu\text{g/mL}$  抗生素作为阳性对照。

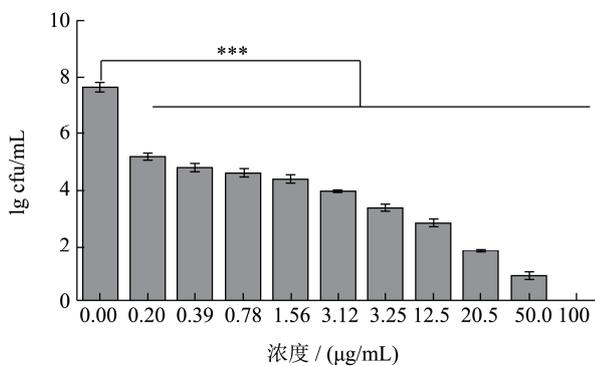


图3 抗生素阳性模型

Fig.3 Antibiotic positive model

注: \*\*\* $p < 0.001$ 。

### 2.4 不同中药水提物对 Hp 增殖的影响

目前临床上主要使用三联疗法(艾普拉唑、阿莫西林、克拉霉素)来治疗 Hp 感染, 本实验以其中 100  $\mu\text{g/mL}$  阿莫西林和 50  $\mu\text{g/mL}$  克拉霉素混合抗生素作为阳性对照药物。在 10  $\mu\text{L}$  Hp 菌悬液 ( $10^9$  cfu/mL) 中加入复合多糖或各种中药水提物各 1 mg/mL, 培养 24 h 后, Hp 细胞生长情况发生了不同的变化(图3)。其中, 阳性对照组 Hp 已被混合抗生素完全抑制。中药水提物中, 茯苓、复合多糖以及白术水提物对 Hp 都呈现出一定的抑制作用。其中, 茯苓水提物的效果

最为显著 ( $p < 0.001$ ), Hp 菌落数由空白对照组的  $3.50 \times 10^7$  cfu/mL 下降到  $2.35 \times 10^6$  cfu/mL, 抑制率达到 93.29%。复合多糖和白术水提物的作用次之, 其抑菌率分别达到 62.85%、47.14%。而山药水提物和陈皮水提物则完全未表现出抑菌效果, 甚至还对 Hp 生长起到了明显的促进作用。

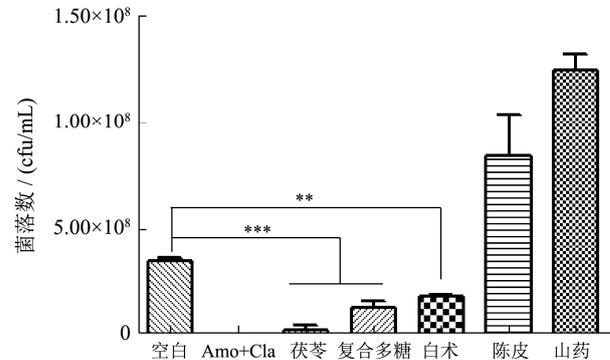


图4 不同中药水提物对 Hp 增殖的影响

Fig.4 Effects of different water extracts of herb on Hp

proliferation

注: \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ 。

### 2.5 不同中药水提物对脲酶的抑制作用

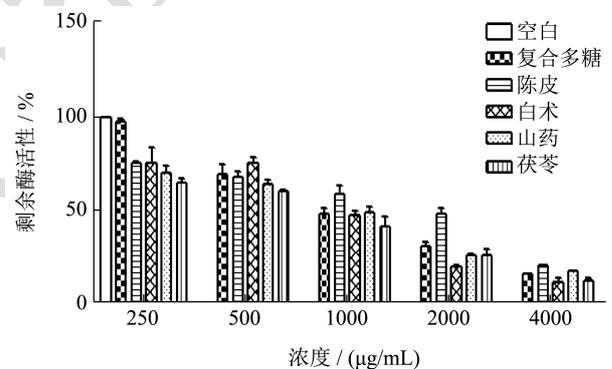


图5 不同中药水提物对脲酶活性的抑制作用

Fig.5 Inhibition of water extracts of herb on urease activity

Hp 的发病机制是一个复杂的过程, 主要是通过其产生的多种毒因子、环境和宿主之间的相互作用来引发疾病。其中, 脲酶是 Hp 致病的一种重要的毒力因子。研究表明, 脲酶产生的氨, 可诱导细胞凋亡、抑制细胞的增殖和吞噬细胞的吞噬作用, 并能使组织溃疡面积增大<sup>[24]</sup>。如图4所示, 复合多糖及各种中药水提物对脲酶活性均可产生不同程度的抑制作用, 并呈现一定的剂量-效应关系。复合多糖以及陈皮、白术、山药、茯苓水提物抑制脲酶活性的  $\text{IC}_{50}$  分别为: 1097.10、1258.79、790.18、771.23、618.90  $\mu\text{g/mL}$ 。其中, 以茯苓水提物抑制脲酶的效果最为显著, 这与其抑制 Hp 生长的作用是一致的。说明茯苓水提物可通过同时抑制 Hp 生长和脲酶活性的途径, 来减弱 Hp

对胃黏膜的损害。类似的,复合多糖和白术水提取物对 Hp 生长和脲酶活性都有一定程度的抑制作用,可以推测其也可在一定程度上减弱 Hp 对胃黏膜的损伤,但其效果明显较茯苓水提取物更弱。山药水提取物和陈皮水提取物虽对脲酶有一定的抑制作用,但它们对 Hp 生长却有明显促进作用,推测其对 Hp 以及对胃黏膜的损伤并无明显作用。

## 2.6 不同浓度茯苓水提取物对 Hp 的抑制作用

茯苓性甘、淡、平,益脾和胃,具有抑菌、增强机体免疫力、降血糖等诸多功效,现已用于肝炎、结肠炎和脑血管等多种疾病的辅助治疗<sup>[25]</sup>,金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和等多种细菌也都有明显的抑制作用<sup>[26]</sup>。在所试验的各种中药水提取物中,以茯苓水提取物对 Hp 增殖和脲酶活性的抑制作用最为显著。因此,本研究针对其抑制 Hp 活性的剂量-效应关系做进一步分析,以期为其实际应用提供一定的参考。

如图 6 所示,当茯苓水提取物浓度达到 15.62  $\mu\text{g/mL}$  以上时,其对 Hp 开始呈现出显著的抑制作用 ( $p < 0.001$ ),可将抑菌率维持在 80% 以上。但若浓度继续增加,其 Hp 菌落数却不再有更明显的降低。

研究显示,茯苓的主要活性成分主要为多糖和三萜类化合物,其中三萜类化合物对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 及绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 等各种细菌均具有较强的抑制作用<sup>[27]</sup>,推测茯苓水提取物中对 Hp 起抑制作用的可能也是其中的三萜类化合物。

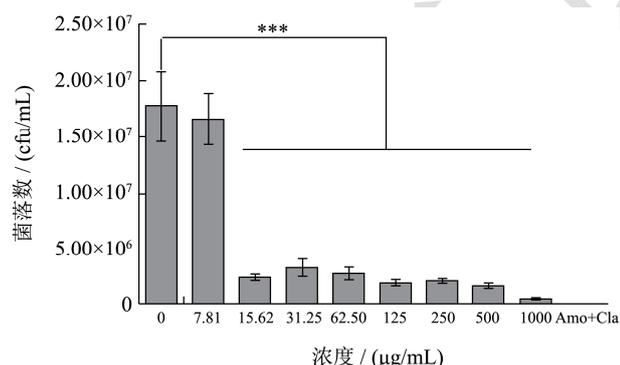


图 6 不同浓度茯苓水提取物对 Hp 的抑制作用

Fig.6 Inhibition of different concentrations of water extract of Poria on Hp

注: \*\*\*  $p < 0.001$ 。

## 2.7 不同浓度茯苓水提取物对 GES-1 细胞增殖的影响

为探究茯苓水提取物抑制 Hp 活性的同时对胃黏膜

细胞增殖情况的作用,故探究了不同浓度的茯苓水提取物对 GES-1 细胞存活率的影响。MTT 实验结果显示,茯苓水提取物对 GES-1 细胞具有促进增殖作用,且呈剂量依赖效应。在浓度为 15.62  $\mu\text{g/mL}$  的茯苓水提取物作用下,GES-1 细胞的存活率达到 117.25%,促进细胞增殖效果显著。在浓度达 125.00  $\mu\text{g/mL}$  时,GES-1 细胞存活率可进一步提高至 128.35%。这表明茯苓水提取物能在有效抑制 Hp 的同时促进 GES-1 细胞增殖,从而对受 Hp 侵染的胃粘膜具有一定保护作用。

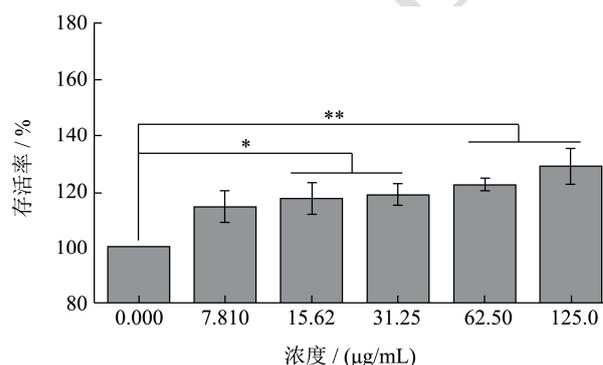


图 7 茯苓水提取物对 GES-1 细胞增殖的影响

Fig.7 Effect of water extract of Poria on the GES-1 viability

注: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ 。

## 3 结论

本文对几种中药水提取物抑制幽门螺杆菌作用进行了初步的筛选与研究。茯苓物、复合多糖以及白术水提取物对 Hp 都呈现出一定的抑制作用。其中,茯苓水提取物的效果最为显著,并呈现一定程度剂量依赖效应,当其浓度达到 15.625  $\mu\text{g/mL}$  以上时,对 Hp 的抑制率达 80% 以上。同时,茯苓水提取物的抑制脲酶活性的作用也最为明显,其半数抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  值为 618.90  $\mu\text{g/mL}$ 。茯苓水提取物在浓度为 125.00  $\mu\text{g/mL}$  下作用 24 h 后,即可将 GES-1 细胞存活率提高至 128.35%,具有显著的促进胃粘膜上皮细胞增殖作用。因此,茯苓水提取物可能通过同时抑制 Hp 生长以及抑制脲酶活性,来降低 Hp 感染引起的毒性作用,同时有效地促进 GES-1 细胞增殖,可望用于预防和缓解 Hp 感染引起的胃部不适,在功能性食品和医药领域得到更广泛的应用。本文针对茯苓水提取物抑制幽门螺杆菌的作用及机制以及对胃粘膜细胞的增殖作用做了初步的研究,后续将对其作用机制(如相关基因及蛋白表达的具体影响等)做更进一步的探讨。

## 参考文献

- [1] Kosikowska P, Berlicki L. Urease inhibitors as potential drugs for gastric and urinary tract infections: A patent review

- [J]. Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2011, 21(6): 945-957
- [2] Grad Y H, Lipsitch M, Aiello A E. Secular trends in *Helicobacter pylori* seroprevalence in adults in the united states: evidence for sustained race/ethnic disparities [J]. American Journal of Epidemiology, 2011, 175(1): 54-59
- [3] Kusters J G, Van Vliet A H M, Kuipers E J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2006, 19(3): 449-490
- [4] 刘舒,任茜,王玉平,等.幽门螺杆菌与胃肠黏膜病变的相关性研究进展[J].医学综述,2018,24(16):3200-3204  
LIU Shu, REN Xi, WANG Yu-ping, et al. Research progress in correlation between *Helicobacter pylori* and gastrointestinal mucosal lesions [J]. Medical Recapitulate, 2018, 24(16): 3200-3204
- [5] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2011, 61(2): 69-90
- [6] Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori* [M]. Lyon: IARC, 1994: 2-4
- [7] Douberis M, Kotronis G, Thomann R, et al. Impact of *Helicobacter pylori* on Alzheimer's disease: What do we know so far? [J]. Helicobacter, 2018, 23(1): 1-12
- [8] Huang H K, Wang J H, Lei W Y, et al. *Helicobacter pylori* infection is associated with an increased risk of parkinson's disease: A population-based retrospective cohort study [J]. Parkinsonism & Related Disorders, 2018, 47: 26-31
- [9] Sjomina O, Heluwaert F, Moussata D, et al. *Helicobacter pylori* infection and nonmalignant diseases [J]. Helicobacter, 2017, 22: 24-30
- [10] Ng Q X, Venkatanarayanan N, De Deyn M L Z Q, et al. A meta-analysis of the association between *Helicobacter pylori* infection and hyperemesis gravidarum [J]. Helicobacter, 2018, 23(1): 50-55
- [11] 李世杰,李勇,曾海英.茯苓多糖的酶解工艺及抑菌性研究[J].中国酿造,2018,37(5):177-180  
LI Shi-jie, LI-Yong, ZENG Hai-ying. Hydrolysis technology and bacteriostatic activity of polysaccharide from *Poria cocos* [J] China Brewing. 2018, 37(5): 177-180
- [12] 冉小库,孙云超,刘霞,等.茯苓对正常小鼠胃肠功能的影响[J].中国现代中药,2015,17(7):686-689  
RAN Xiao-ku, SUN Yun-chao, LIU Xia, et al. Effect of *Poria* on gastrointestinal function [J]. Modern Chinese Medicine, 2015, 17(7): 686-689
- [13] 王慧芳,苏淑云,邵圣娟,等.大孔树脂分离纯化陈皮黄酮工艺及其抑菌活性[J].中成药,2018,40(12):2667-2672  
WANG Hui-fang, SU Shu-yun, SHAO Sheng-juan, et al. Flavonoids from citri reticulatae pericarpium, their isolation, purification with macroporous resin and antibacterial activity [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2018, 40(12): 2667-2672
- [14] 武宇芳,刘小宝,赵二劳.白术中黄酮的提取及其抑菌和抗氧化活性的研究[J].黑龙江畜牧兽医,2017,12:148-150  
WU Yu-fang, LIU Xiao-bao, ZHAO Er-lao. Study on the extraction of flavonoids from atractylodes atractylodes and their antibacterial and antioxidant activities [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2017, 12: 148-150
- [15] 尚秋辰.白术多糖对大肠杆菌腹泻模型小鼠肠道黏膜修复机理研究[D].扬州:扬州大学,2017  
SHANG Qiu-chen. Study on the repair mechanism of polysaccharide from *Atractylodes atractylodes* on Intestinal mucosa in *E. Coli* diarrhea model mice [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2017
- [16] 罗鼎天,陆其明,杨志宏,等.怀山药多糖对大鼠胃溃疡的疗效及胃组织碱性成纤维因子及其受体水平的影响[J].中华中医药学刊,2015,33(3):712-714  
LUO Ding-tian, LU Qi-ming, YANG Zhi-hong, et al. Effect of *Dioscorea opposita* polysaccharide in treatment of rats with gastric ulcer and its influence in levels of bFGF and bFGFR in gastric ulcer tissue [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2015, 33(3): 712-714
- [17] 陈佳妮,彭琦,何玉林.芦荟提取物抑菌活性及相关性研究[J].华夏医学,2015,28(4):98-100  
CHEN Jia-ni, PENG Qi, HE Yu-lin. Antibacterial activity of aloe extract and its relevant research [J]. Acta Medicinæ Sinica, 2015, 28(4): 98-100
- [18] 董凤.中药成分对多重耐药性幽门螺杆菌的体外抑菌作用[J].中西医结合心血管病电子杂志,2017,5(15):78  
DONG Feng. Inhibitory Effect of Chinese herbal medicine components on multi-drug resistant *Helicobacter pylori* *in vitro* [J]. Cardiovascular Disease Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2017, 5(15): 78
- [19] Yong X, Tang B, Xiao Y F, et al. *Helicobacter pylori* upregulates Nanog and Oct4 via Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling pathway to promote cancer stem cell-like properties in human gastric cancer [J]. Cancer Letters, 2016, 374(2): 292-303
- [20] Auesomwang C, Maneerattanaporn M, Chey W D, et al. Ten-day high-dose proton pump inhibitor triple therapy versus sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication [J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2018, 33(11): 1822-1828