

网络出版时间: 2023-09-19 17:16:38 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20230918.1410.005>

幽门螺杆菌感染对胃上皮细胞 m⁶A 甲基化水平及相关酶表达的影响

桂书琴^{1,2}, 何小凤^{1,2}, 吴丽霞^{1,2}, 赵 艳^{1,2}, 王琴容^{1,2}, 周建奖^{1,2}, 谢 渊^{1,2}

摘要 目的 研究幽门螺杆菌(Hp)感染胃上皮细胞中 N6-甲基腺苷(m⁶A)修饰水平及相关酶 FTO、METTL3 和 YTHDF2 的表达变化,并使用在线网站分析其在胃癌中的表达和临床意义。方法 Hp GZ7 菌株感染正常胃上皮细胞 GES-1 和胃癌细胞 AGS,感染复数为 30:1,24 h 后收集细胞总 RNA 和总蛋白,斑点杂交实验检测细胞总 RNA 的 m⁶A 修饰水平,q-PCR 和 Western blot 检测 FTO、METTL3 和 YTHDF2 的 mRNA 和蛋白表达。GEPIA 网站分析 FTO、METTL3 和 YTHDF2 在胃癌组织和正常组织中的表达差异及其在 Stage 分期中表达,Kaplan-Meier Plotter 分析 FTO、METTL3 和 YTHDF2 表达与预后的关系。结果 与未感染组比较,Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞中总 RNA m⁶A 修饰水平均明显降低,FTO 的 mRNA 和蛋白表达水平增加,METTL3 和 YTHDF2 的 mRNA 和蛋白水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。胃癌组织中 FTO 表达水平高于正常组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),YTHDF2 表达水平高于正常组织,METTL3 表达水平低于正常组织,差异无统计学意义。FTO 和 METTL3 表达较高的胃癌患者有较低的生存率,而 YTHDF2 高表达患者有较高的生存率。FTO 表达与患者的 Stage 分期显著相关($P < 0.05$),而 METTL3 与 YTHDF2 表达与 Stage 分期无显著相关性。结论 Hp 感染可引起细胞 m⁶A 水平及相关酶 FTO、METTL3 和 YTHDF2 表达改变,提示 m⁶A 甲基化可能在 Hp 诱导胃癌发生发展中发挥作用。

关键词 胃癌;幽门螺杆菌;m⁶A;FTO;METTL3;YTHDF2

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)10-1639-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.10.005

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,也是全球癌症死亡的第四大原因^[1]。幽门螺杆菌(*Helicobact-*

er pylori, Hp) 感染是胃癌发生发展中最重要危险因素之一,但目前 Hp 致癌的具体机制尚未明确^[2]。N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m⁶A) 修饰是指 RNA 分子腺嘌呤第 6 位 N 处发生甲基化,由甲基转移酶 3(methyltransferase-like 3, METTL3) 等甲基化转移酶催化,由脂肪与肥胖相关基因(fat mass and obesity-associated, FTO) 等去甲基化酶去除,由 YT521-B 同源结构域家族(YT521-B homology domain family 2, YTHDF2) 等甲基化结合蛋白识别,共同调节 m⁶A 修饰的动态过程^[3]。研究^[4]表明,m⁶A 甲基化在胃癌的发生发展中起重要作用,但 m⁶A 甲基化是否在 Hp 致癌过程中发挥作用的报道少见。因此,该研究建立 Hp 感染人胃上皮细胞和胃癌细胞模型,检测 m⁶A 甲基化水平及其相关酶 FTO、METTL3 和 YTHDF2 的表达变化,并利用生物信息学分析其在胃癌中的表达和临床意义,为 m⁶A 甲基化在 Hp 相关性胃癌发病机制中的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系、菌株 人正常胃上皮细胞 GES-1 和胃癌细胞 AGS 购于美国典型菌种保藏中心细胞库,由贵州医科大学分子生物学重点实验室保存。野生型 Hp GZ7 菌株(已完成全基因组测序并提交国家微生物科学数据中心,编号: NMDG60014578) 由贵州医科大学分子生物学重点实验室胃癌课题组分离培养。

1.1.2 主要试剂 DMEM 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司,青霉素、链霉素及胰蛋白酶购自美国 Hyclone 公司,兔抗 FTO、METTL3、YTHDF2 抗体和山羊抗兔二抗购自武汉三鹰生物技术有限公司,逆转录试剂盒购自北京康润诚业生物科技有限公司,PCR 引物序列由上海生物工程技术服务有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细菌、细胞培养与感染实验 Hp GZ7 菌株接种于含有 10% 绵羊血、0.4% Hp 选择剂的哥伦比亚

2023-05-25 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号:31960028、32160166);贵州省科学技术基金(编号:黔科合基础(2020)1Z010、黔科合基础(2020)1Y333)

作者单位: 贵州医科大学¹ 地方病与少数民族性疾病教育部重点实验室、² 分子生物学重点实验室,贵阳 550004

作者简介: 桂书琴,女,硕士研究生;

谢 渊,女,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: 37408126@qq.com

亚血琼脂平板上,置于 37 ℃、5% O₂、10% CO₂ 的微需氧环境中培养,细菌接种 3 d 后,待生长旺盛时,使用接种环将菌收集至含 PBS 的无菌离心管中,3 000 r/min 离心 3 min 后重悬 3 次后,在分光光度计上确定菌液浓度。

将 GES-1 和 AGS 细胞以每孔 1×10^6 个细胞的密度接种至含 DMEM 培养液(10% 胎牛血清、1% 青-链霉素)的 6 孔板中,置于 37 ℃、5% CO₂ 的恒温培养箱内培养过夜。感染前 2 h 更换新鲜的无双抗的培养基中,以 Hp 感染复数为 30 : 1 感染细胞,24 h 后收集细胞。所有的细胞实验分组为未感染组(NC 组)和 Hp 感染组(Hp 组)。

1.2.2 qPCR 法检测胃上皮细胞 GES-1 和胃癌细胞 AGS 中 FTO、METTL3 和 YTHDF2 的 mRNA 表达水平 在 6 孔板中加入 1 ml TRIZOL,在冰上裂解 10 min 后收集于离心管提取 RNA 并逆转录为 cDNA,进行 qPCR 反应。PCR 反应条件:95 ℃ 2 min,95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,39 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行目的基因 mRNA 相对水平的计算。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列
FTO	F: 5'-AACACCAGGCTCTTTACGGTC-3' R: 5'-TGTCCGTTGTAGGATGAACCC-3'
METTL3	F: 5'-AAGCTGCACTTCAGACGAAT-3' R: 5'-GGAATCACCTCCGACACTC-3'
YTHDF2	F: 5'-TAGCCAACTGCGACACATTC-3' R: 5'-CACGACCTTGACGTTCTTT-3'
GAPDH	F: 5'-CAATGACCCCTTCATTGACCC-3' R: 5'-GACAAGCTTCCCGTTCTCAG-3'

1.2.3 斑点印迹实验检测细胞总 RNA m⁶A 修饰水平 加入 1 ml TRIzol 到 6 孔板中,置于在冰上裂解 10 min 后,收集溶液于离心管提取 RNA。取 500 ng 细胞总 RNA,在金属浴 55 ℃ 变性 5 min 后点样于 NC 膜上,紫外交联 15 min。用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后,m⁶A(1 : 5 000) 抗体在 4 ℃ 冰箱孵育过夜。1 × TBST(0.05% Tween 20) 溶液洗膜 3 次,每次 10 min,加入二抗(1 : 10 000) 室温孵育 2 h,1 × TBST 溶液洗膜 3 次,每次 10 min,化学发光法显色,经化学发光成像仪曝光成像,Image J 读取灰度值。

1.2.4 Western blot 检测蛋白的表达 用细胞刮朝着一个方向将 6 孔板的细胞刮下,按裂解液试剂盒说明书提取总蛋白,经 BCA 蛋白定量试剂盒定量后进行 SDS-PAGE 电泳 2 h,转膜 2 h,使用含脱脂奶粉

的 1 × TBST 溶液室温封闭 2 h,一抗(FTO,1 : 3 000; METTL3,1 : 6 000; YTHDF2,1 : 2 000) 4 ℃ 孵育过夜,使用 1 × TBST 溶液洗膜 3 次,每次 10 min,加入二抗(1 : 10 000) 室温孵育 2 h,使用 1 × TBST 溶液洗膜 3 次,每次 10 min。化学发光法显色,经化学发光成像仪曝光成像,Image J 读取灰度值。

1.2.5 生物信息分析 使用 GEPIA2 网站(<http://gepia2.cancer-pku.cn/>) 对 FTO、METTL3 和 YTHDF2 在胃癌中的表达进行分析。GEPIA 的过滤条件设置为:选择基因表达 DIY,点击“Box Plot”,“分别输入 FTO 等 3 个基因”,设置“|log₂FC| Cutoff 为 1”,“P 值 Cutoff 为 0.05”,“疾病为 STAD”,“对数尺度为 log₂(TPM + 1)”,“Jitter Size 为 0.4”,“Matched Normal data 为 Match TCGA normal and GTEx data”,点击“Plot”即得出基因表达箱型图。使用 Kaplan-Meier Plotter 网站(<http://kmplot.com/analysis/index.php?p=background>) 对 FTO 等基因进行生存分析,首先选择 mRNA,再选择胃癌,分别输入 FTO 等目标基因,最后点击“Draw Kaplan-Meier plot”绘制生存曲线,即可得到生存曲线图。使用 GEPIA 分析 FTO 等基因表达与 Stage 分期的关系,选择基因表达 DIY,点击“Stage Plot”,“Use major Stage 为 No”,“Cancer name 为 STAD”,点击“Plot”即可得出 Stage 分期中的 FTO 等基因表达的箱型图。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行数据分析,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用非配对 *t* 检验比较 Hp 感染组和未感染组之间 FTO 等目标基因的表达差异;采用非配对 *t* 检验比较数据库中胃癌组织和正常组织中相关基因的表达差异;生存曲线分析采用 Kaplan-Meier 法,两组之间生存率的比较采用 Log-Rank 检验;不同 Stage 分期之间 FTO 等基因的表达采用单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

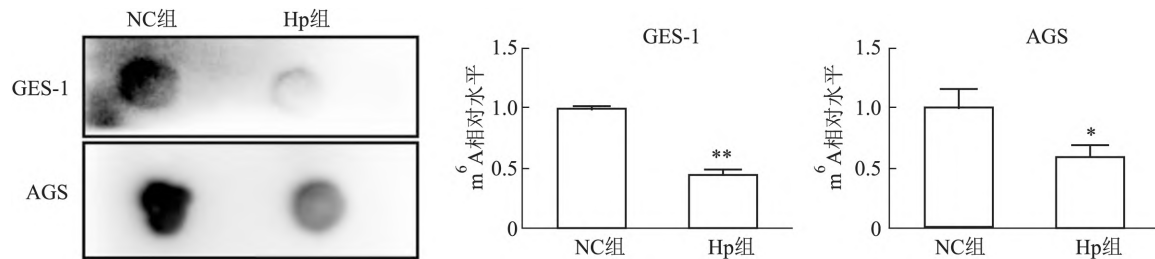
2.1 Hp 的培养与鉴定 Hp GZ7 菌株在血琼脂平板上的菌落形态呈针尖样或露水珠样形态(图 1A),尿素酶实验呈红色强阳性反应(图 1B),革兰氏染色后镜下为紫红色阴性短杆菌,形态多样(图 1C)。

2.2 Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞后 m⁶A 修饰水平变化 与 NC 组比较,Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞 m⁶A 修饰水平降低(图 2),差异有统计学意义(GES-1: *t* = 17.88, *P* < 0.01; AGS: *t* = 6.949, *P* < 0.05)。



图1 Hp 的培养与鉴定

A: 哥伦比亚血平板上 Hp 菌落形态; B: 尿素酶实验; C: 革兰氏染色 SP × 400

图2 细胞总 RNA m⁶A 修饰水平与 NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3 Hp 感染细胞 FTO、YTHDF2 和 METTL3 mRNA 表达情况 与 NC 组比较, Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞 FTO mRNA 表达水平增高 (GES-1: $t = 3.121, P < 0.05$; AGS: $t = 5.316, P < 0.01$; 图 3A), 而 METTL3 mRNA (GES-1: $t = 3.159, P < 0.05$; AGS: $t = 2.956, P < 0.05$; 图 3B) 和 YTHDF2 mRNA (GES-1: $t = 5.029, P < 0.01$; AGS: $t = 7.115, P < 0.01$; 图 3C) 表达水平降低, 差异有统计学意义。

2.4 Hp 感染细胞中 FTO、YTHDF2 和 METTL3 蛋白水平 与 NC 组比较, Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞后, FTO 蛋白表达水平增高 (GES-1: $t = 5.240, P < 0.01$; AGS: $t = 3.465, P < 0.05$; 图 4A), 而 METTL3 (GES-1: $t = 5.240, P < 0.01$; AGS: $t = 6.506, P < 0.01$; 图 4B) 和 YTHDF2 (GES-1: $t = 6.055, P < 0.01$; AGS: $t = 5.571, P < 0.01$; 图 4C) 蛋白表达水平降低, 差异有统计学意义。

2.5 胃癌组织中 FTO、YTHDF2 和 METTL3 mRNA 表达情况 使用 GEPIA 数据库对来自 TCGA 数据库中 408 例胃癌病例及 211 例正常组织进行 FTO、METTL3 和 YTHDF2 mRNA 表达分析。生物信息学数据显示, 408 例胃癌组织中 FTO 和 YTHDF2 mRNA 表达水平高于正常组织, 而 METTL3 mRNA 表达水平低于正常组织, 除了 FTO 的表达呈显著性差异外, METTL3 和 YTHDF2 表达差异无统计学意义。见图 5。

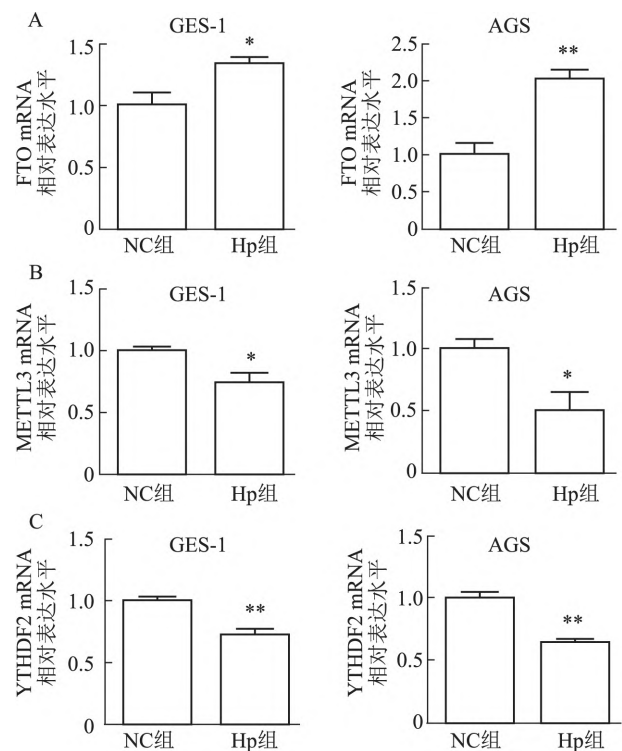


图3 Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞对 FTO、METTL3 和 YTHDF2 mRNA 表达的影响

A: FTO mRNA 相对表达水平; B: METTL3 mRNA 相对表达水平;

C: YTHDF2 mRNA 相对表达水平; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.6 TCGA 数据库中 FTO、METTL3 和 YTHDF2

mRNA 表达与胃癌患者预后的关系 为了进一步评估 m^6A 相关基因的预后价值,对 FTO、METTL3 和 YTHDF2 的预后进行 Kaplan-Meier 分析。结果显示,FTO 和 METTL3 mRNA 高表达患者的生存率显著低于低表达患者,而 YTHDF2 mRNA 表达越高的患者有较高的生存率。见图 6。

2.7 FTO、METTL3 和 YTHDF2 在 Stage 分期中

的表达 GEPIA 网站分析 FTO 等 3 个基因在 Stage 分期中的表达情况,见图 7。FTO 表达与胃癌 Stage 分期显著相关,而 METTL3 和 YTHDF2 表达与 Stage 分期无显著关系。

3 讨论

胃癌的发生发展是一个复杂的过程,包括大量

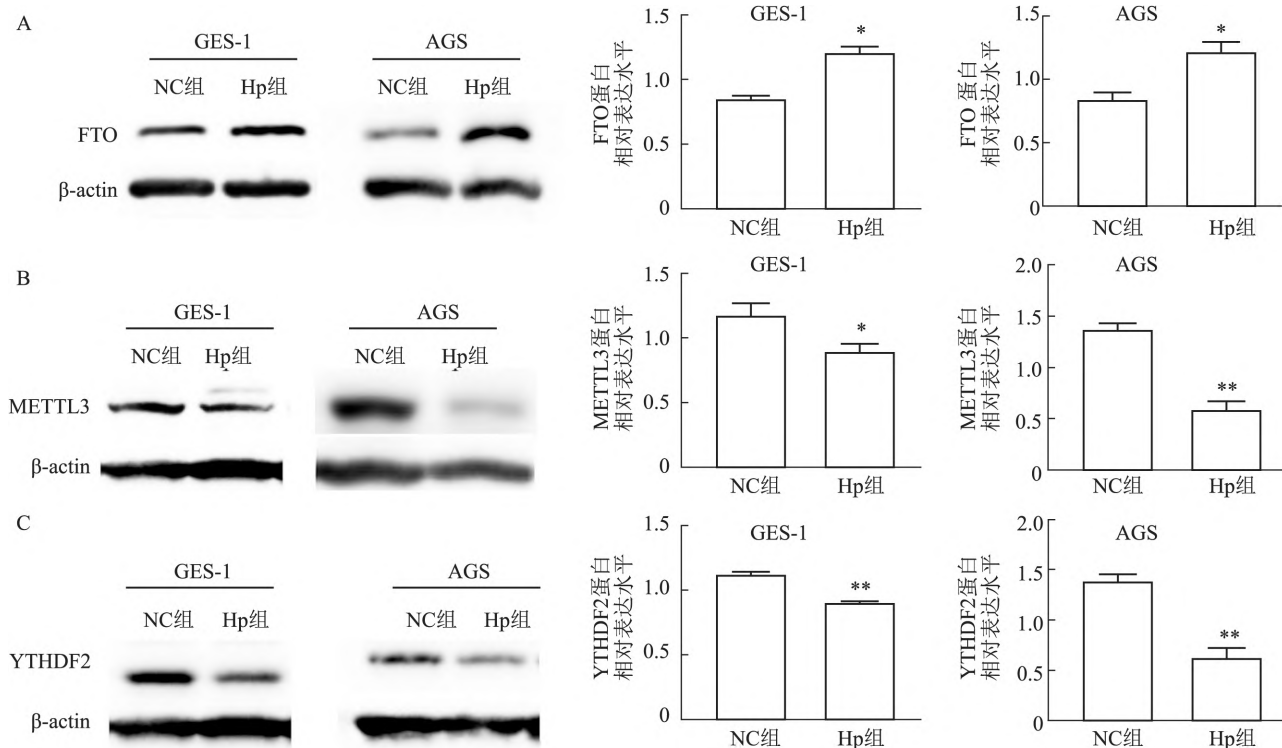


图4 Hp 感染 GES-1 和 AGS 细胞后对 FTO、METTL3 和 YTHDF2 蛋白水平的影响

A: FTO 蛋白相对表达水平; B: METTL3 蛋白相对表达水平; C: YTHDF2 蛋白相对表达水平; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

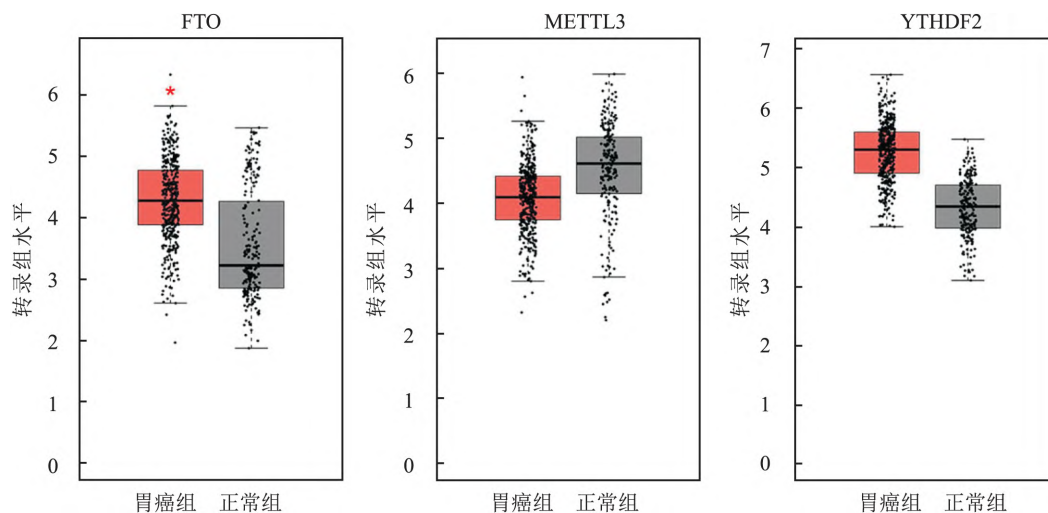


图5 胃癌组织中 FTO、METTL3 和 YTHDF2 mRNA 表达

与正常组比较: * $P < 0.05$

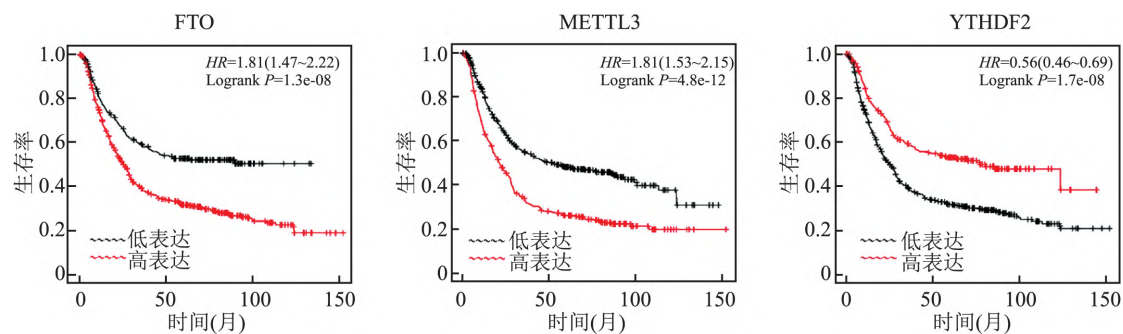


图6 FTO、METTL3 和 YTHDF2 mRNA 表达与胃癌患者预后的 Kaplan-Meier 分析

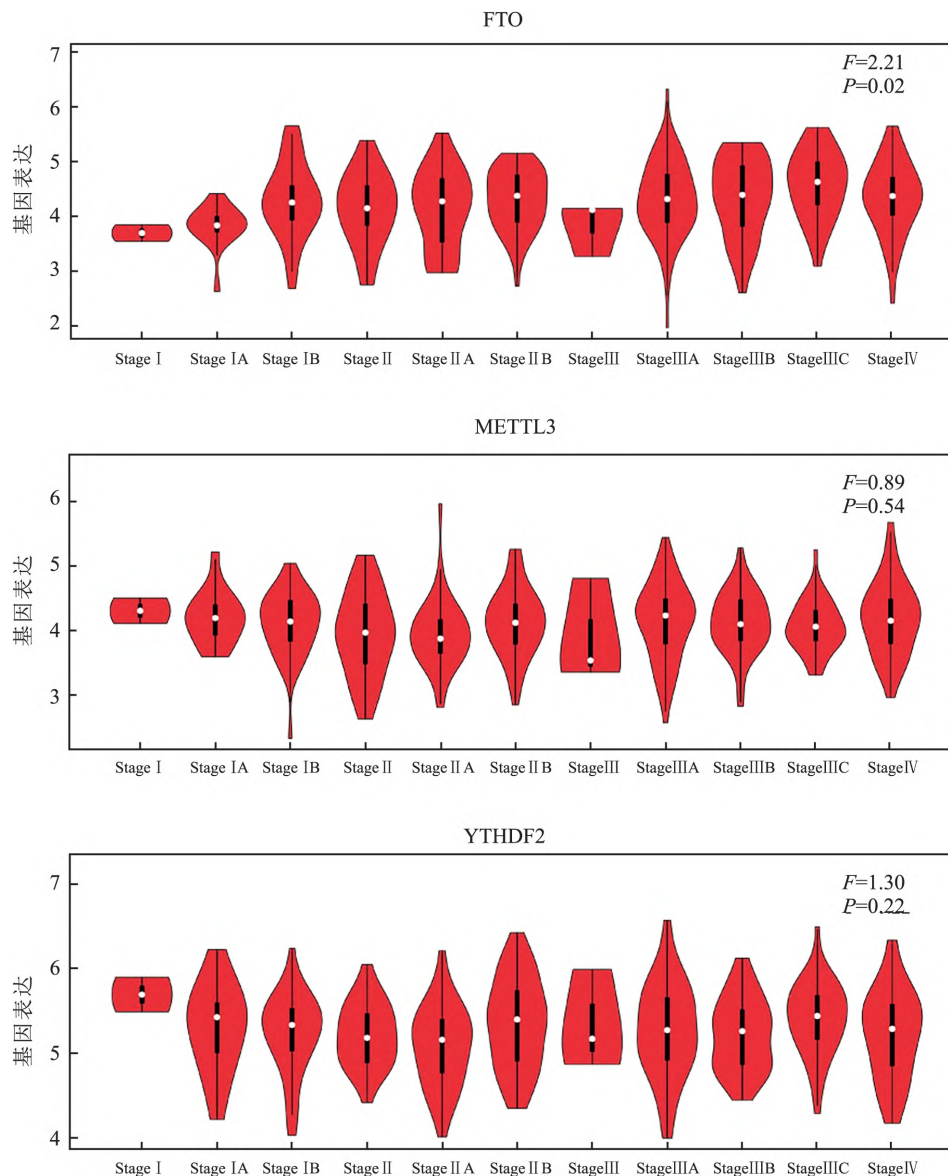


图7 FTO、METTL3 和 YTHDF2 在 Stage 分期中的表达

的遗传和表观遗传变化。据报道, m^6A 修饰及相关酶表达失调在胃癌的发生发展及预后中发挥重要作用^[9],但在 H_p 诱发胃癌过程中的相关研究报道少见。

Liu et al^[9] 的研究表明,胃癌中 m^6A 修饰水平下调,且与 m^6A 相关酶表达改变相关。本研究通过斑点印迹实验检测出 H_p 感染可明显下调细胞总 RNA 的 m^6A 修饰水平;进一步通过 q-PCR 和 West-

ern blot 检测发现, Hp 能够上调 FTO mRNA 和蛋白表达水平; 通过网站在线分析发现, 胃癌组织中 FTO 表达水平显著高于正常组织, 且高水平的 FTO 患者具有较差的预后; 同样地, 研究^[7-8]报道 FTO 在胃癌中高表达, 且与预后不良相关, FTO 促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭等生物学行为, 是胃癌独立的预后标志物。METTL3 在乳腺癌、肝癌等大多数肿瘤中通过稳定靶基因翻译调控细胞增殖、凋亡等生物学行为, 表现出肿瘤促进作用, 而在肾细胞瘤、子宫内膜癌等癌症中表现出肿瘤抑制作用^[9-10]; 研究^[11]报道, METTL3 在大多数胃癌患者中高表达, 且与预后不良相关, Yang et al^[12]的研究表明 METTL3 介导的 m⁶A 修饰通过靶向 MYC 通路促进胃癌的进展。但是, 在本研究中 Hp 下调 METTL3 mRNA 和蛋白水平。文献^[13]报道, Hp 可以降低转录因子如 USF1 等的表达, 且促进蛋白如 P53 等通过蛋白酶体途径降解。因此, Hp 可能通过影响 METTL3 mRNA 的表达和蛋白的稳定性导致其水平降低, 但是具体机制需要进一步研究。YTHDF2 已被认为在许多肿瘤中发挥致癌作用, 但在胃癌中的作用尚未得到广泛讨论。Shen et al^[14]的研究表明了 YTHDF2 在胃癌组织和胃癌细胞中的表达较低, 并且通过负调控 FOXC2 抑制了胃癌细胞的生长, 表现出肿瘤抑制作用, 可作为胃癌的预后标志物。本研究表明 Hp 下调 YTHDF2 mRNA 和蛋白表达水平, 与预后相关。提示 Hp 可能通过调控 m⁶A 相关酶 FTO、METTL3 和 YTHDF2 的表达, 引起总 RNA 的 m⁶A 修饰水平下降, 改变肿瘤相关基因 mRNA 的甲基化水平, 进而影响下游致癌基因或抑癌基因的表达及促进胃癌的发生。

目前, 评价肿瘤生物学行为和诊断的最重要的三项指标是肿瘤的分型、分级和 Stage 分期, 其中分级和分期主要用于恶性肿瘤生物学行为和预后的评估。在线网站分析 FTO 在较差的 Stage 分期中表达较高, 高水平的 FTO 患者预后较差; METTL3 和 YTHDF2 表达与 Stage 分期无显著关系, 但高水平的 METTL3 患者有较差的预后价值, 而 YTHDF2 mRNA 表达越高的患者有较高的生存率。由于本研究只分析了 FTO、METTL3 和 YTHDF2 基因在 Stage 分期中的表达, 因此, METTL3 和 YTHDF2 在胃癌的其他参数如各分型和分级中的表达差异可能影响了胃癌患者的预后。以上提示 m⁶A 相关基因 FTO、METTL3 和 YTHDF2 可能是胃癌发生发展及预后潜在的重要标志物。

本研究存在一定局限性, 虽然发现了细胞 m⁶A 甲基化修饰水平与 Hp 感染相关, 但具体的机制尚不明确; 其次, 本研究表明 Hp 感染能够引起 m⁶A 相关酶的表达水平改变, 但是尚不明确 Hp 通过何种途径影响相关酶的表达。此外, 已有研究证实 m⁶A 甲基化相关酶 FTO、METTL3 和 YTHDF2 在细胞炎症反应、DNA 损伤修复和细胞凋亡细胞中发挥作用, 但 FTO、METTL3 和 YTHDF2 是否通过上述途径或其他途径在 Hp 相关性胃癌中发挥作用还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-49.
- [2] Park Y H, Kim N. Review of atrophic gastritis and intestinal metaplasia as a premalignant lesion of gastric cancer [J]. *J Cancer Prev*, 2015, 20(1): 25-40.
- [3] Roundtree I A, Evans M E, Pan T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-200.
- [4] 谢生茂, 张志龙, 李春卉, 等. m⁶A 修饰在胃癌中的研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2022, 19(10): 42-5.
- [5] Sang L, Sun L, Wang A, et al. The N6-methyladenosine features of mRNA and aberrant expression of m⁶A modified genes in gastric cancer and their potential impact on the risk and prognosis [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 561566.
- [6] Liu X, Xiao M, Zhang L, et al. The m⁶A methyltransferase METTL14 inhibits the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer by regulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(3): e23655.
- [7] Zhang C, Zhang M, Ge S, et al. Reduced m⁶A modification predicts malignant phenotypes and augmented Wnt/PI3K-Akt signaling in gastric cancer [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(10): 4766-81.
- [8] Guan K, Liu X, Li J, et al. Expression status and prognostic value of m⁶A-associated genes in gastric cancer [J]. *J Cancer*, 2020, 11(10): 3027-40.
- [9] Li X, Tang J, Huang W, et al. The m⁶A methyltransferase METTL3: acting as a tumor suppressor in renal cell carcinoma [J]. *Onco-target*, 2017, 8(56): 96103-16.
- [10] Liu J, Eckert M A, Harada B T, et al. m⁶A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(9): 1074-83.
- [11] Liu T, Yang S, Sui J, et al. Dysregulated N6-methyladenosine methylation writer METTL3 contributes to the proliferation and migration of gastric cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(1): 548-62.
- [12] Yang D D, Chen Z H, Yu K, et al. METTL3 promotes the progression of gastric cancer via targeting the MYC pathway [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 115.

- [3] Costa L, Corre S, Michel V, et al. USF1 defect drives p53 degradation during *Helicobacter pylori* infection and accelerates gastric carcinogenesis [J]. *Gut*, 2020, 69(9): 1582–91.
- [4] Shen X, Zhao K, Xu L, et al. YTHDF2 inhibits gastric cancer cell growth by regulating FOXC2 signaling pathway [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 592042.

Effects of *Helicobacter pylori* infection on m⁶A methylation level and related enzymes expression in gastric epithelial cells

Gui Shuqin^{1,2}, He Xiaofeng^{1,2}, Wu Lixia^{1,2}, Zhao Yan^{1,2}, Wang Qinrong^{1,2}, Zhou Jianjiang^{1,2}, Xie Yuan^{1,2}

(¹Key Laboratory of Endemic and Ethnic Minority Diseases, Ministry of Education,

²Key Laboratory of Molecular Biology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

Abstract Objective To investigate the expression of N6-methyladenosine modification (m⁶A) and related enzymes FTO, METTL3 and YTHDF2 in gastric epithelial cells infected with *Helicobacter pylori* (Hp), and to analyze its expression and clinical significance in gastric cancer by using online websites. **Methods** Gastric epithelial cells GES-1 and AGS were infected with Hp GZ7 strain, and the multiplicity of infection was 30 : 1. Total RNA and total protein were collected after infecting 24 h, and the m⁶A modification level of total RNA was detected by RNA dot hybridization. The mRNA and protein expressions of FTO, METTL3 and YTHDF2 were detected by q-PCR and Western blot. The expression difference of FTO, METTL3 and YTHDF2 in gastric cancer tissues and normal tissues and their expression in Stage classification were analyzed by GEPIA, and the relationship between the expression of FTO, METTL3 and YTHDF2 and prognosis was analyzed by Kaplan-Meier Plotter. **Results** Compared with the uninfected group, the m⁶A modification level of total RNA in both Hp-infected GES-1 and AGS cells significantly decreased, the mRNA and protein expression levels of FTO increased, and the mRNA and protein levels of METTL3 and YTHDF2 decreased, with statistical significance ($P < 0.05$). The expression level of FTO in gastric cancer tissues was higher than that in normal tissues, with statistical significance ($P < 0.05$), YTHDF2 was higher than that in normal tissues, with no statistical significance, and the expression level of METTL3 was lower than that in normal tissues, with no statistical significance. Patients with high expression of FTO and METTL3 had a lower survival rate, while patients with high expression of YTHDF2 had a higher survival rate. The expression of FTO was significantly correlated with Stage classification ($P < 0.05$), while the expression of METTL3 and YTHDF2 was not significantly correlated with Stage classification. **Conclusion** Hp infection can change the level of m⁶A and the expression of related enzymes FTO, YTHDF2 and METTL3, suggesting that m⁶A methylation may play a role in the occurrence and development of Hp-induced gastric cancer.

Key words gastric cancer; *Helicobacter pylori*; m⁶A; FTO; METTL3; YTHDF2