

# 缬沙坦通过Akt信号通路抑制宫颈癌Hela细胞增殖、迁移及侵袭的研究

宗军宁<sup>1</sup>, 张裕民<sup>2</sup>, 谭雪莹<sup>3</sup>, 李 稳<sup>1</sup>, 张 萍<sup>1</sup>

<sup>1</sup>青岛大学附属青岛市市立医院, 妇科, 山东 青岛

<sup>2</sup>菏泽市食品药品检验检测研究院药品所, 山东 菏泽

<sup>3</sup>青岛大学附属青岛市市立医院, 卫生部细胞移植重点实验室, 山东 青岛

Email: zjnsheo@163.com

收稿日期: 2020年12月16日; 录用日期: 2021年1月5日; 发布日期: 2021年1月20日

## 摘 要

目的: 观察血管紧张素II 1型受体拮抗剂缬沙坦(Valsartan)对宫颈癌Hela细胞的增殖、迁移及侵袭的影响及机制。方法: 体外培养宫颈癌Hela细胞。采用不同浓度(0.1、1、10和100  $\mu\text{mol/L}$ )的缬沙坦分别处理Hela细胞0、24、48 h, CCK-8法检测Hela细胞的增殖能力。缬沙坦(100  $\mu\text{mol/L}$ )处理Hela细胞24 h后, 采用划痕愈合实验和Transwell小室侵袭实验分别检测迁移及侵袭能力, 蛋白质印迹法检测缬沙坦(10和100  $\mu\text{mol/L}$ )处理Hela细胞24 h后, Hela细胞中Akt、p-Akt蛋白的表达情况。随后, 在Hela细胞中加入Akt激动剂预处理1 h后, 再加入缬沙坦(100  $\mu\text{mol/L}$ )培养Hela细胞, 采用cck-8法检测Hela细胞增殖能力, 采用划痕愈合实验和Transwell小室侵袭实验, 检测Hela细胞的迁移和侵袭能力。结果: 使用缬沙坦(10和100  $\mu\text{mol/L}$ )处理Hela细胞, 能够抑制Hela细胞的增殖作用( $p < 0.01$ ), 缬沙坦(100  $\mu\text{mol/L}$ )处理细胞后能够明显抑制Hela细胞的迁移及侵袭能力( $p < 0.01$ ); 缬沙坦(100  $\mu\text{mol/L}$ )处理过的Hela细胞中p-Akt蛋白的表达量降低( $p < 0.01$ )。Akt激动剂减弱了缬沙坦对Hela细胞的增殖、迁移及侵袭的抑制作用。结论: 缬沙坦对宫颈癌Hela细胞的增殖、迁移及侵袭能力有明显的抑制作用, 这种抑制作用可能是通过抑制Akt信号通路实现的。

## 关键词

宫颈癌, 血管紧张素受体拮抗剂, PI3K-Akt信号通路

# Valsartan Inhibits Proliferation, Migration and Invasion of Cervical Cancer Hela Cells through Akt Signaling Pathway

Junning Zong<sup>1</sup>, Yuming Zhang<sup>2</sup>, Xueying Tan<sup>3</sup>, Wen Li<sup>1</sup>, Ping Zhang<sup>1</sup>

文章引用: 宗军宁, 张裕民, 谭雪莹, 李稳, 张萍. 缬沙坦通过 Akt 信号通路抑制宫颈癌 Hela 细胞增殖、迁移及侵袭的研究[J]. 临床医学进展, 2021, 11(1): 165-173. DOI: 10.12677/acm.2021.111024

<sup>1</sup>Department of Gynecology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>2</sup>Shandong Heze Food and Drug Inspection and Research Institute, Heze Shandong

<sup>3</sup>Cell Laboratory of Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

Email: zjnshero@163.com

Received: Dec. 16<sup>th</sup>, 2020; accepted: Jan. 5<sup>th</sup>, 2021; published: Jan. 20<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

**Objective:** To observe the effect and mechanism of angiotensin II type 1 receptor antagonist Valsartan on the proliferation, migration and invasion of cervical cancer HeLa cells. **Methods:** HeLa cells were cultured *in vitro*. Different concentrations (0.1, 1, 10, and 100  $\mu\text{mol/L}$ ) of valsartan were used to treat HeLa cells for 0, 24, and 48 hours, respectively. The proliferation ability of HeLa cells was detected by CCK-8 method. After treatment of HeLa cells with valsartan (100  $\mu\text{mol/L}$ ) for 24 h, the migration and invasion ability were detected by scratch healing test and transwell cell invasion test respectively. Western blotting was used to detect the expression of Akt and p-Akt proteins in HeLa cells after 24 h treatment with Valsartan (10 and 100  $\mu\text{mol/L}$ ). Then, HeLa cells were pretreated with Akt agonist for 1 h, and then cultured with Valsartan (100  $\mu\text{mol/L}$ ). The proliferation ability of HeLa cells was detected by CCK-8 assay. The migration and invasion ability of HeLa cells were detected by wound-healing assay and Transwell assay. **Results:** Treatment of HeLa cells with 10 and 100  $\mu\text{mol/L}$  valsartan can inhibit the proliferation of HeLa cells ( $p < 0.01$ ). After treatment with valsartan (100  $\mu\text{mol/L}$ ), cells can significantly inhibit the migration and invasion ability of HeLa cells ( $p < 0.01$ ); the expression of p-Akt protein in HeLa cells treated with 100  $\mu\text{mol/L}$  valsartan was reduced ( $p < 0.01$ ). Akt agonist eliminates the inhibitory effect of valsartan on the proliferation, migration and invasion of HeLa cells. **Conclusion:** Valsartan has a significant inhibitory effect on the proliferation, migration and invasion of cervical cancer HeLa cells. This inhibitory effect may be achieved by inhibiting the Akt signaling pathway.

## Keywords

Cervical Cancer, Angiotensin Receptor Antagonist, PI3K-Akt Signaling Pathway

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

宫颈癌是危害女性身体健康的重要疾病之一，在全球妇女癌症中发病率位于第四位[1]。据统计，晚期宫颈癌 5 年生生存率不足 40% [2]。因此，寻找抑制宫颈癌增殖及早期转移的方法及可能机制，具有重要的临床意义。血管紧张素 II (angiotensin II, AngII) 通过与血管紧张素 II 1 型受体 (AngII type 1 receptor AT1R) 结合，上调血管内皮生长因子 (VEGF)，增加 MMP-2、MMP-9 的表达量，激活 MAPK、PI3K/Akt 等信号通路影响肿瘤的发生与发展[3]。缬沙坦 (Valsartan) 是一种血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂 (ARBs) [4]，有学者研究发现，缬沙坦可以抑制宫颈癌细胞的增殖[5]。既往研究发现，宫颈癌患者的疾病进展和预后与

PI3K-Akt 信号通路的异常激活相关, 发生 Akt 高水平的磷酸化宫颈癌患者化疗后预后较差, 生存期也较短[6]。因此, 本文旨在探讨缬沙坦(Valsartan)是否可以通过影响 Akt、p-Akt 的表达, 继而影响宫颈癌 Hela 细胞的增殖、转移及侵袭等生物学作用。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 细胞、试剂及器材

人宫颈癌 Hela 细胞株由青岛市市立医院肝胆胰细胞实验室馈赠; 缬沙坦购自大连美仑生物技术有限公司; 胎牛血清(FBS), DMEM 培养液, PBS 缓冲液, 0.25%胰酶-EDTA 购自美国 ThermoFisher 公司; SDS-凝胶配制试剂盒、Akt 激动剂、RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂和 PVDF 膜购自上海碧云天生物技术有限公司; 单克隆抗体鼠抗人 Akt、p-Akt 及单克隆山羊抗鼠抗体(辣根过氧化物酶)购自美国 CST 公司; 单克隆抗体鼠抗人肌动蛋白( $\beta$ -action)购自美国 Abcam 公司, 6 孔板, 24 孔板, 96 孔板, 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶, Transwell 细胞培养插件, Matrigel 胶购自美国 Corning 公司; CCK-8 试剂盒购自日本同仁化学研究所; 倒置显微镜购自日本 Nikon 公司; 微孔板检测系统 VersaMax (酶标仪)购自美国 MolecularDevices 公司。

### 2.2. 实验方法

#### 2.2.1. 细胞培养及药物配置

宫颈癌 Hela 细胞株在含 10% FBS、1%双抗(青霉素 + 链霉素)的 DMEM 培养液中, 置于 5% CO<sub>2</sub>、37°C 和 95%空气培养箱中孵育。每隔 1~2 d 传代一次, 取对数生长期细胞进行实验。使用 DMSO 配置缬沙坦储存液, 置于-80°C 冰箱中保存备用, 使用时用 DMEM 培养液稀释至合适浓度。

#### 2.2.2. CCK-8 增殖实验

取对数生长期的 Hela 细胞, 调整每孔细胞数为  $5 \times 10^3$  个, 接种于 96 孔板中, 待细胞贴壁。稀释缬沙坦, 终浓度分别为 0.1、1、10 和 100  $\mu\text{mol/L}$ , 设置对照组(仅加入等体积 DMEM 培养液)。每组设置 6 个复孔, 分别培养 0、24、48 h 后, 每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 试剂, 继续孵育 2 h。使用酶标仪测定 450 nm 处每孔的吸光度(OD)值。

#### 2.2.3. 细胞划痕实验

取对数生长期 Hela 细胞, 在 6 孔板中每孔接种  $5 \times 10^5$  个 Hela 细胞, 然后置于培养箱中过夜, 使用 10  $\mu\text{L}$  枪头在细胞中进行划痕, PBS 冲洗细胞 3 次。实验组每孔加入含 100  $\mu\text{mol/L}$  缬沙坦的 DEME 培养液, 对照组加入等体积的 DMEM 培养液, 每组设置 3 个复孔, 过夜。取划痕后 0 h 及 24 h 为时间点, 置于倒置光学显微镜下拍照, 实验重复 3 次。计算划痕愈合率。划痕愈合率(%) = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度  $\times 100\%$ 。

#### 2.2.4. transwell 小室侵袭实验

将 matrigel 胶与无血清 DMEM 培养液以 1:8 的比例稀释并混匀, 然后在 transwell 小室上室均匀平铺稀释的 matrigel 胶 60  $\mu\text{L}$ , 置于培养箱中待其聚合成凝胶。取 Hela 细胞, 实验组使用加入 100  $\mu\text{mol/L}$  缬沙坦的 DMEM 培养液培养 24 h, 对照组加入 DMEM 培养液, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^5$  个/mL, 各取 100  $\mu\text{L}$  加入 transwell 小室上室中, 下室各加入含 20% FBS 的 DMEM 培养液 600  $\mu\text{L}$ 。每组设置 3 个复孔, 置于培养箱中培养 24 h。取出小室, 使用 4%多聚甲醛固定 30 分钟。PBS 清洗 2 次, 使用 0.1%结晶紫染色 30 分钟, PBS 清洗 3 次。风干后, 置于倒置光学显微镜下, 随机选取 5 个视野拍照并计数穿过小室的细胞数。每组设置 3 个复孔, 实验重复 3 次, 取平均值。

### 2.2.5. 蛋白质印迹法

分别用 0、10、100  $\mu\text{mol/L}$  的缬沙坦处理宫颈癌 HeLa 细胞 24 h 后, 收集各组细胞。使用 RIPA 裂解液冰上裂解细胞 1 h, 每 10 min 震荡混匀 1 次; 在 4 $^{\circ}\text{C}$  条件下 15,000 r/min 离心 20 min, 收集上清液, 获得总蛋白。采用 BCA 试剂盒测定总蛋白浓度。100 $^{\circ}\text{C}$  沸水煮沸蛋白 5 min, 使其变性。待冷却后, 上样, 使用 10%SDS-PAGE 分离蛋白后进行转膜, 将蛋白转移至 PVDF 膜上, 用含 5%脱脂奶粉室温下封闭 1 h, TBST 洗膜 10 min  $\times$  3 次。分别使用 Akt、p-Akt 及  $\beta$ -action 一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$  条件下摇床孵育过夜。TBST 清洗 3 次, 每次 10 min。室温下孵育二抗 2 h, 充分洗涤后, 滴入 ECL 发光液后置入暗盒中压片, 并依次显影、定影。

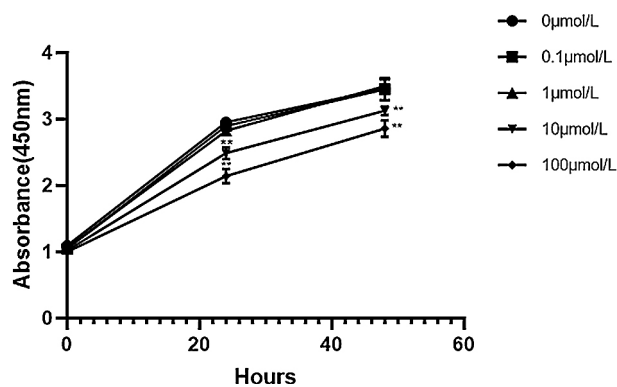
### 2.3. 统计学方法

应用 SPSS 22.0 对实验数据进行统计学分析, 结果以(均数  $\pm$  标准差)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两对比采用 LSD-t 检验, 以  $p < 0.05$  认为有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 缬沙坦对宫颈癌细胞增殖能力的抑制作用

CCK-8 检测结果显示, 缬沙坦对 HeLa 细胞增殖的有抑制作用, 且呈浓度依赖性, 结果如图 1 所示, 当处理 24 h 时, 细胞 OD 值分别为(2.489  $\pm$  0.082)、(2.143  $\pm$  0.097), 48 h 时分别为(3.128  $\pm$  0.059)、(2.858  $\pm$  0.113), 与对照组相比  $p$  值均  $< 0.01$ 。



注: vs 对照组, \*\* $p < 0.01$

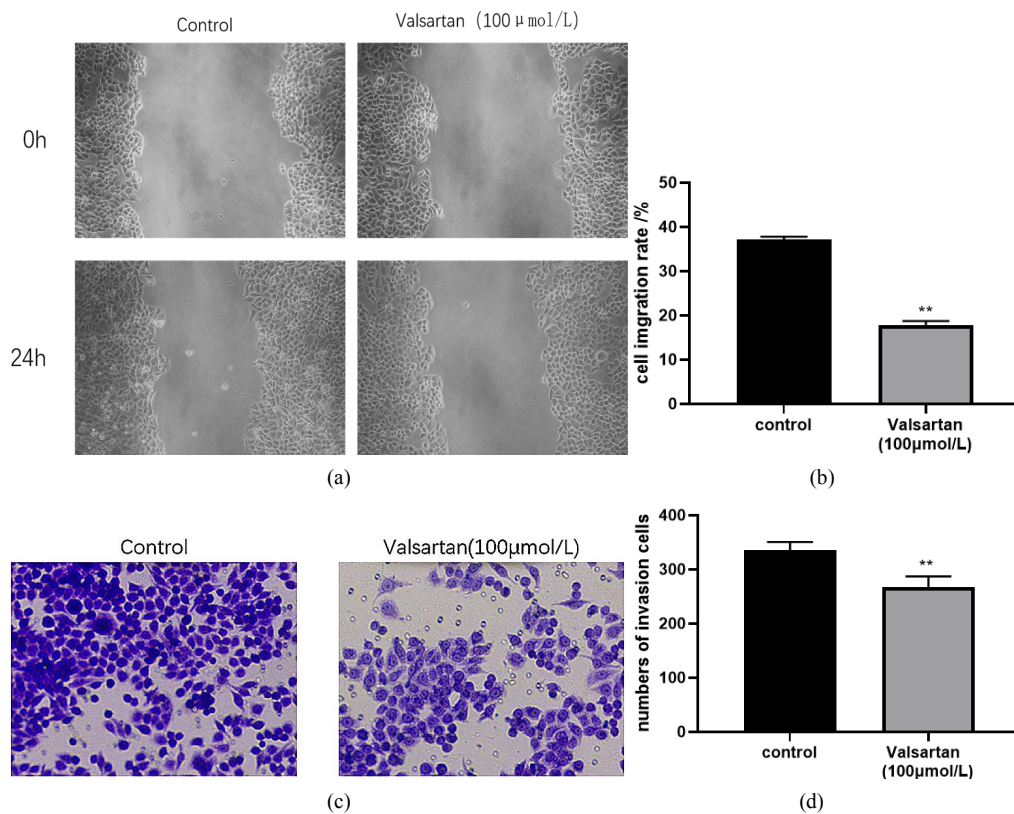
**Figure 1.** CCK-8 method to detect the effect of different concentrations of valsartan on proliferation of HeLa cells

**图 1.** CCK-8 法检测不同浓度缬沙坦对 HeLa 细胞增殖作用的影响

### 3.2. 缬沙坦对 HeLa 细胞迁移、侵袭能力的抑制作用

在划痕愈合实验中, 结果如图 2(a)、图 2(b)所示, 实验组 HeLa 细胞迁移率为(18.13  $\pm$  1.12)%, 与对照组迁移率(36.14  $\pm$  1.67)%相比, 差别有统计学意义( $p < 0.01$ ), 表明缬沙坦具有抑制 HeLa 细胞迁移的能力。

进一步采用 Transwell 侵袭实验检测缬沙坦对 HeLa 细胞侵袭能力的影响, 结果如图 2(c)、图 2(d)所示, 100  $\mu\text{L}$  缬沙坦处理 HeLa 细胞 24 h 后, 对照组穿过小室膜的细胞数为(335  $\pm$  20)个, 缬沙坦处理组穿过小室膜的细胞数(267  $\pm$  15)个。与对照组相比, 缬沙坦处理组穿过小室膜的细胞数明显减少, 差别有统计学意义( $p < 0.01$ )。上述结果表明, 缬沙坦对宫颈癌细胞的迁移及侵袭有明显的抑制作用。

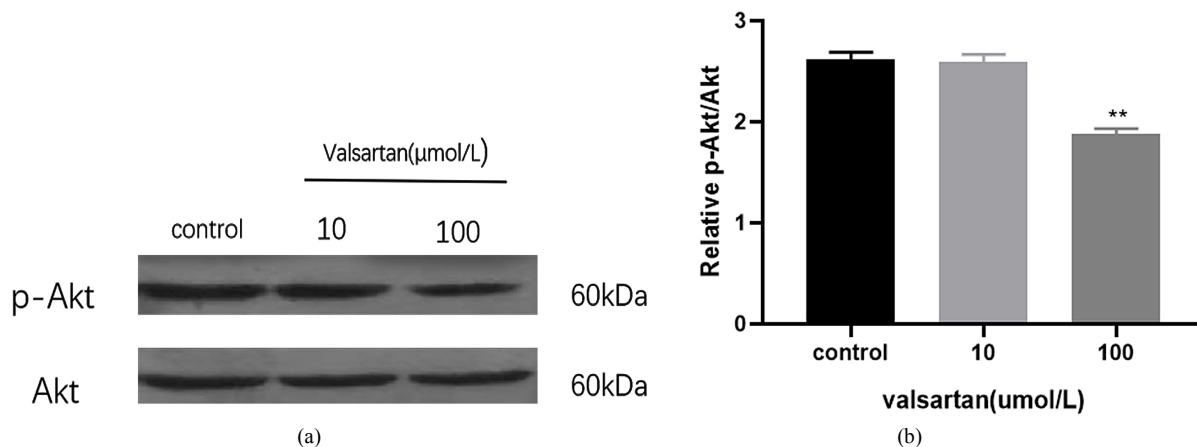


注: vs 对照组, \*\* $p < 0.01$

**Figure 2.** Effect of Valsartan (100 μmol/L) treatment on Hela cell migration and invasion after 24 h  
**图 2.** 缬沙坦(100 μmol/L)处理 24 h 后对 Hela 细胞迁移、侵袭能力的影响( $\times 100$ )

### 3.3. 缬沙坦抑制 Akt 信号通路的表达

采用 Western blot 检测不同浓度缬沙坦(10 和 100 μmol/L)处理 Hela 细胞 24 h 后, 细胞中 p-Akt 的表达情况, 结果如图 3 所示, 与对照组蛋白相对表达量( $2.62 \pm 0.07$ )相比, 实验组呈下降趋势, 分别为  $2.58 \pm 0.08$ 、 $1.88 \pm 0.05$ , 但仅 100 μmol/L 缬沙坦处理组与对照组相比, 结果具有统计学意义( $p < 0.05$ )。

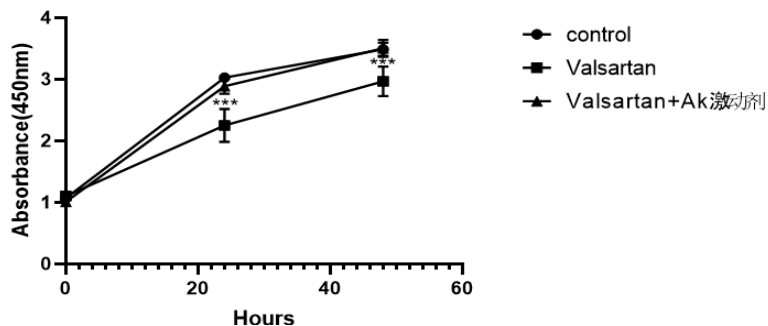


注: vs 对照组, \*\* $p < 0.01$

**Figure 3.** Expression of related proteins after treatment of Hela cells with different concentrations of valsartan  
**图 3.** 不同浓度缬沙坦处理 Hela 细胞后相关蛋白的表达

### 3.4. Akt 激动剂减弱缬沙坦的作用

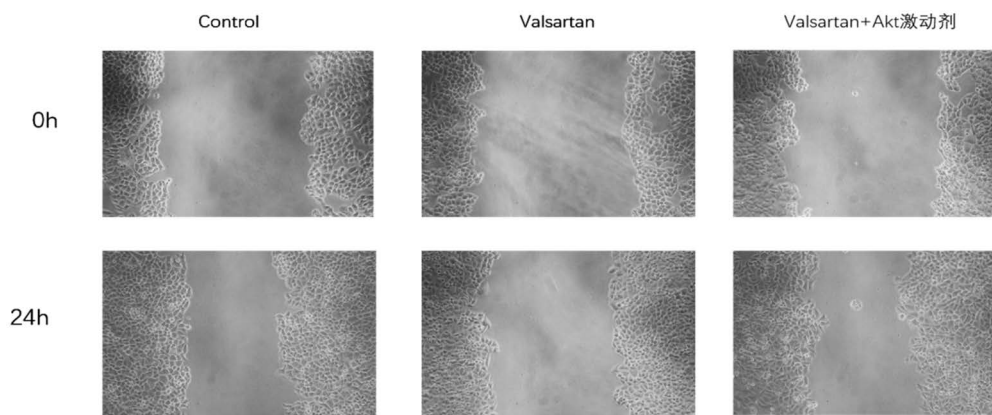
为进一步探讨缬沙坦是否通过 Akt 信号通路抑制 Hela 细胞的增殖, 对照组(仅加入等体积 DMEM 培养液), 实验组 1 中仅加入缬沙坦(100  $\mu\text{mol/L}$ ), 实验组 2 中先加入 Akt 激动剂培养 1 h 后, 再加入缬沙坦(100  $\mu\text{mol/L}$ ), 分别检测 0、24、48 h 时的吸光度(OD)值, 每组设 6 个复孔, 实验重复 3 次, 取平均值。结果如图 4 所示, 加入 Akt 激动剂明显消除了缬沙坦的作用。



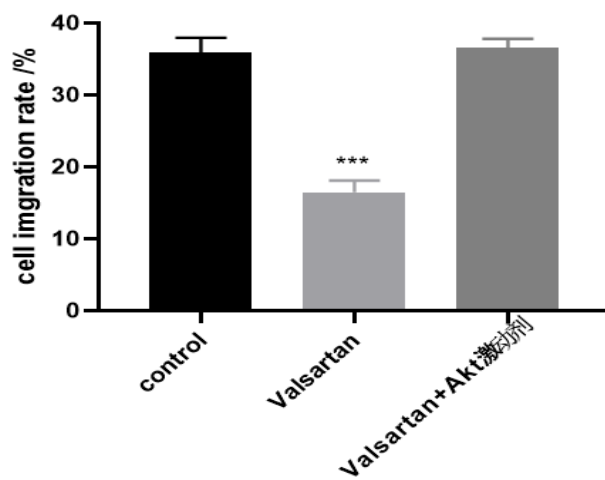
注: vs 对照组, \*\*\* $p < 0.001$

**Figure 4.** CCK-8 method was used to detect the effect of adding valsartan and Akt agonist on proliferation of Hela cells

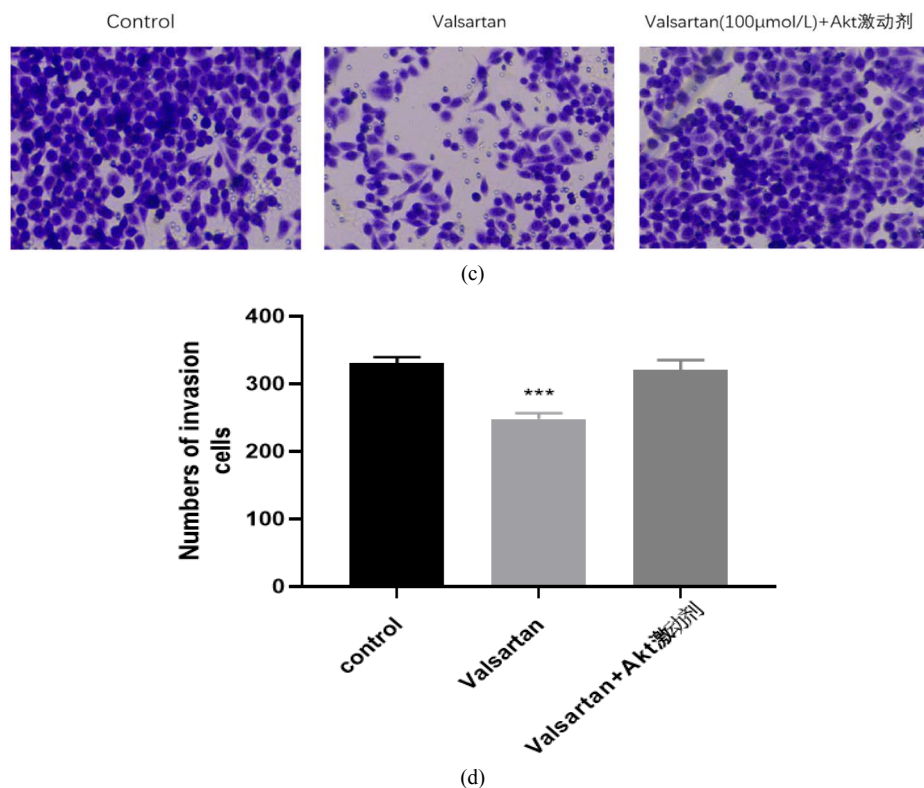
**图 4.** CCK-8 法检测加入缬沙坦、Akt 激动剂对 Hela 细胞增殖作用的影响



(a)



(b)



注: vs 对照组, \*\*\* $p < 0.001$

**Figure 5.** Effects of Akt agonist and valsartan on Hela cell migration and invasion after 24 h  
**图 5.** Akt 激动剂及缬沙坦处理 24 h 后对 Hela 细胞迁移、侵袭能力的影响( $\times 100$ )

### 3.5. 加入 Akt 激动剂对 Hela 细胞迁移及侵袭能力的影响

同 3.4 处理 Hela 细胞, 采用划痕愈合实验检测 Hela 迁移、侵袭能力, 实验结果如图 5 所示, Akt 激动剂消除了缬沙坦对 Hela 细胞迁移及侵袭能力的抑制作用。

## 4. 讨论

宫颈癌的发病率在全世界范围内仍处于较高水平, 目前治疗方式仍以手术治疗为主, 中晚期可行放疗, 辅以化疗及其它靶向治疗手段, 但是对于有远处转移及复发患者的预后依然很不乐观[7]。近年来研究发现, 血管紧张素 II 与肿瘤细胞的发生发展有着重要的联系, 血管紧张素 II 与肿瘤细胞中的 AT1R 结合发挥生物学作用, 促进肿瘤细胞的血管生成、生长及转移[3]。研究表明, 血管紧张素 II 受体拮抗剂(ARBs) 在减缓肿瘤进展、血管生成和转移方面发挥着一定作用。在 小鼠肺癌模型中, 坎地沙坦可降低肿瘤血管的生成和肺转移[8], 厄贝沙坦能显著降低大肠癌的生长、血管生成及肝转移率[9]。早在 2003 年就有学者研究发现宫颈癌中表达 AT1R, 并且血管紧张素 II 可通过与 AT1R 结合增加血管内皮生长因子(VEGF) 的分泌促进子宫颈癌的增殖与侵袭能力, 加入坎地沙坦则可以抑制这种作用[10]。本研究通过 CCK-8 增殖实验证实, 当缬沙坦浓度为 10、100  $\mu\text{mol/L}$  时能够抑制 Hela 细胞的增殖作用。在既往研究中, Wu 等人发现, 使用 ARBs 可以抑制膀胱癌细胞的增殖作用[11]。此外, 还有研究证明血管紧张素 II 可以促进乳腺癌细胞的粘附和迁移能力[12]。并且在卵巢癌中研究发现, 血管紧张素 II 可以促进肿瘤细胞的上皮间质转化(EMT), 从而增强卵巢癌细胞的转移性[13]。在本实验中, 使用 100  $\mu\text{mol/L}$  缬沙坦处理 Hela 细胞 24 h 后, 通过划痕愈合实验和 Transwell 侵袭实验发现缬沙坦对 Hela 细胞迁移及侵袭能力有一定的抑

制作用。

PI3K-Akt 信号通路在许多不同的细胞和组织中及生长发育的各个阶段都发挥着重要作用,并且在多种肿瘤细胞中均呈现过度激活状态[14], Akt 可被广泛的生长信号激活而发生磷酸化,生物学作用涉及细胞生存、增殖、迁移、代谢和血管生成等方面[15]。临床研究表明,在宫颈癌患者中,高水平表达 p-Akt 的患者经过治疗后转移率升高,生存率降低[16]。有研究表明,通过降低 Akt 的磷酸化水平,可以促进宫颈癌细胞的凋亡,抑制其增殖[17]。本实验中,我们发现在 100  $\mu\text{mol/L}$  缬沙坦处理 HeLa 细胞后,可以下调细胞中 p-Akt 的表达,而对 Akt 的表达无明显影响。这表明缬沙坦对 HeLa 细胞的生物学作用可能是通过抑制了 Akt 信号通路实现的。因此,我们进一步在缬沙坦处理组中加入 Akt 激动剂来印证这一推测。最终结果表明,加入 Akt 激动剂中的缬沙坦的生物学作用被抑制,结果与对照组相比无统计学意义( $p > 0.05$ )。以上结果表明,缬沙坦可以通过抑制 Akt 信号通路,从而对宫颈癌 HeLa 细胞的增殖、迁移及侵袭产生抑制作用。

综上所述,本研究从细胞层面表明,抑制宫颈癌 HeLa 细胞中的 AT1R 的作用可以影响 PI3K-Akt 信号通路的表达,从而抑制宫颈癌的增殖及侵袭能力。这提示我们 AT1R 可能成为治疗宫颈癌新的靶点, ARBs 有望成为预防宫颈癌早期扩散及转移的辅助药物,但是肿瘤细胞的增殖及侵袭是多因素参与的结果, ARBs 是否可以通过其它方式对宫颈癌产生影响,在个体层面是否也会产生同样的生物学作用还有待我们进一步研究。

## 参考文献

- [1] Balasubramaniam, S.D., Balakrishnan, V., Oon, C.E. and Kaur, G. (2019) Key Molecular Events in Cervical Cancer Development. *Medicina*, **55**, 384. <https://doi.org/10.3390/medicina55070384>
- [2] 申利, 魏军成. miRNA-409-3p 表达水平对宫颈癌细胞增殖及顺铂化疗敏感性的影响[J]. 实用肿瘤学杂志, 2019, 33(4): 300-304. <http://dx.chinadoi.cn/10.%2011904/j.%20issn.%201002-3070.%202019.%2004.%20003>
- [3] Ishikane, S. and Takahashi-Yanaga, F. (2018) The Role of Angiotensin II in Cancer Metastasis: Potential of Renin-Angiotensin System Blockade as a Treatment for Cancer Metastasis. *Biochemical Pharmacology*, **151**, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.03.008>
- [4] Abraham, H.M.A., White, C.M. and White, W.B. (2015) The Comparative Efficacy and Safety of the Angiotensin Receptor Blockers in the Management of Hypertension and Other Cardiovascular Diseases. *Drug Safety*, **38**, 33-54. <https://doi.org/10.1007/s40264-014-0239-7>
- [5] 欧靖华, 杨永秀, 刘梅毅. 血管紧张素抑制剂对宫颈癌 HeLa 细胞的 AT1R, MMP2 和 MMP9 表达的影响[J]. 国际妇产科学杂志, 2011, 38(5): 452-454+464.
- [6] Bossler, F., Hoppe-Seyler, K. and Hoppe-Seyler, F. (2019) PI3K/Akt/mTOR Signaling Regulates the Virus/Host Cell Crosstalk in HPV-Positive Cervical Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 2188. <https://doi.org/10.3390/ijms20092188>
- [7] Mackay, H.J., Wenzel, L. and Mileskin, L. (2015) Nonsurgical Management of Cervical Cancer: Locally Advanced, Recurrent, and Metastatic Disease, Survivorship, and Beyond. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, **35**, e299-e309. [https://doi.org/10.14694/EdBook\\_AM.2015.35.e299](https://doi.org/10.14694/EdBook_AM.2015.35.e299)
- [8] Fujita, M., Hayashi, I., Yamashina, S., Itoman, M. and Majima, M. (2002) Blockade of Angiotensin AT1a Receptor Signaling Reduces Tumor Growth, Angiogenesis, and Metastasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **294**, 441-447. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00496-5](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00496-5)
- [9] Neo Jaelyn, H., Malcontenti-Wilson, C., Muralidharan, V. and Christophi, C. (2007) Effect of ACE Inhibitors and Angiotensin II Receptor Antagonists in a Mouse Model of Colorectal Cancer Liver Metastases. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **22**, 577-584. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2006.04797.x>
- [10] Kikkawa, F., Mizuno, M., Shibata, K., Kajiyama, H., Morita, T., Ino, K., et al. (2004) Activation of Invasiveness of Cervical Carcinoma Cells by Angiotensin II. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **190**, 1258-1263. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2003.12.013>
- [11] Woo, Y. and Jung, Y.-J. (2017) Angiotensin II Receptor Blockers Induce Autophagy in Prostate Cancer Cells. *Oncology Letters*, **13**, 3579-3585. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5872>



- 
- [12] Rodrigues-Ferreira, S., Abdelkarim, M., Dillenburg-Pilla, P., Luissint, A.-C., Di-Tommaso, A., Deshayes, F., *et al.* (2012) Angiotensin II Facilitates Breast Cancer Cell Migration and Metastasis. *PLoS ONE*, **7**, e35667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035667>
- [13] Zhang, Q.Y., Yu, S., Lam, M.M.T., Poon, T.C.W., Sun, L.T., Jiao, Y.F., *et al.* (2019) Angiotensin II Promotes Ovarian Cancer Spheroid Formation and Metastasis by Upregulation of Lipid Desaturation and Suppression of Endoplasmic Reticulum Stress. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **38**, Article No. 116. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1127-x>
- [14] Sugiyama Michael, G., Fairn Gregory, D. and Antonescu Costin, N. (2019) Akt-ing Up Just about Everywhere: Compartment-Specific Akt Activation and Function in Receptor Tyrosine Kinase Signaling. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **7**, 70. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00070>
- [15] Revathidevi, S. and Kannan Munirajan, A. (2019) Akt in Cancer: Mediator and More. *Seminars in Cancer Biology*, **59**, 80-91. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.06.002>
- [16] Rashmi, R., De Selm, C., Helms, C., Bowcock, A., Rogers, B.E., Rader, J., *et al.* (2014) Akt Inhibitors Promote Cell Death in Cervical Cancer through Disruption of mTOR Signaling and Glucose Uptake. *PLoS ONE*, **9**, e92948. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092948>
- [17] Li, C.M., Zheng, X.J., Li, W., Bai, F.M., Lyu, J.X. and Meng, Q.H. (2018) Serum miR-486-5p as a Diagnostic Marker in Cervical Cancer: With Investigation of Potential Mechanisms. *BMC Cancer*, **18**, Article No. 61. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3753-z>