

## ПАНКРЕАТИЧЕСКИЕ ЗВЕЗДЧАТЫЕ КЛЕТКИ: СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ. ЧАСТЬ II. АКТИВИРОВАННЫЕ ПАНКРЕАТИЧЕСКИЕ ЗВЕЗДЧАТЫЕ КЛЕТКИ

Л. А. Можейко (mozhejko-hist@yandex.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*В обзоре представлен анализ литературных сведений об активированных звездчатых клетках поджелудочной железы. Показаны факторы, способствующие их активации. Детализированы специфические структурно-функциональные признаки активированных панкреатических звездчатых клеток: отсутствие витамин А-содержащих липидных капель в цитоплазме; экспрессия  $\alpha$ -гладкомышечного актина; избыточный синтез и накопление белков внеклеточного матрикса; усиленная пролиферация и миграция; секреция цитокинов, хемокинов и ростовых факторов. Обсуждаются механизмы активации звездчатых клеток и возможность регуляции этого процесса.*

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, активирующие факторы, панкреатические звездчатые клетки.

## PANCREATIC STELLATE CELLS: STRUCTURE AND FUNCTION PART 2. ACTIVATED PANCREATIC STAR CELLS

L. A. Mozheiko

*Educational Institution "Gomel State Medical University", Gomel, Belarus*

*The review presents an analysis of the literature on activated stellate cells of the pancreas. Factors promoting their activation are shown. Specific structural and functional signs of activated pancreatic stellate cells are detailed: absence of vitamin A-containing lipid droplets in the cytoplasm; expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin; excessive synthesis and accumulation of extracellular matrix proteins; increased proliferation and migration; secretion of cytokines, chemokines and growth factors. The mechanisms of activation of stellate cells and the possibility of regulating this process are discussed.*

**Keywords:** pancreas, activating factors, pancreatic stellate cells.

Среди разных клеточных дифферонов поджелудочной железы панкреатические звездчатые клетки (ПЗК) наименее изучены. Значительному прогрессу в понимании биологии ПЗК способствовали исследования *in vitro* и *in vivo*, которые стали возможными после получения культуры ПЗК [1]. В здоровой поджелудочной железе ПЗК находятся во внеклеточном матриксе в покое, в состоянии и участвуют в синтезе его компонентов, поддерживая нормальную структуру и биохимический гомеостаз [2, 3]. При повреждении или воспалении поджелудочной железы ПЗК под влиянием ряда факторов активируются. Структурные и функциональные изменения активированного фенотипа ПЗК приводят к ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Избыточный синтез и накопление белков ЭЦМ усиливает фиброгенез и способствует прогрессированию заболеваний поджелудочной железы [4, 5]. Учитывая изложенное, ПЗК продолжают интенсивно изучаться.

В обзоре представлена характеристика морфофункциональных изменений ПЗК под влиянием активирующих факторов.

Активированные ПЗК изучены главным образом с помощью культивирования звездчатых клеток крыс и человека. Их активации способствуют как экзогенные, так и эндогенные факторы, хорошо известные в патогенезе заболеваний

поджелудочной железы: алкоголь и курение [6]; эндотоксины [7]; факторы роста и цитокины – трансформирующий фактор роста-  $\alpha$  и  $\beta$  (TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ ), тромбоцит-производный фактор роста (PDGF), туморонекротический фактор (TNF $\alpha$ ), фактор роста фибробластов (FGF), интерлейкин 1, 6, 18 (IL1, IL6, IL18) [8]; окислительный стресс [9]; увеличенное внутривнутрипанкреатическое давление [10,11]. К этому списку в настоящее время добавлены несколько других факторов, часто выявляемых при хронических панкреатитах. Это гипергликемия [12], эндотелин-1 [13], циклооксигеназа-2 [14], галектин-1, гемостатический белок – фибриноген, бактериальная инфекция [15].

В поджелудочной железе активирующие факторы секретируются макрофагами, моноцитами, тромбоцитами, эндотелиальными клетками, панкреатическими ацинарными клетками и другими [16]. Раковые клетки опухоли поджелудочной железы также являются источником агентов, триггирующих активацию ПЗК [17]. Все они действуют на ПЗК паракринным путем. Важно, что ПЗК могут и самостоятельно секретировать определенные активирующие факторы (ростовые факторы или цитокины), поддерживая активный фенотип аутокринным способом, что способствует прогрессированию фиброза даже при прекращении действия агентов, спровоцировавших заболевание [3, 4].

Этанол и его метаболиты, вызывающие развитие хронического алкогольного панкреатита, и сопровождающая его эндотоксинемия являются наиболее известными активирующими факторами ПЗК [6]. Отмечается, что уровень циркулирующих в крови эндотоксинов корректирует с тяжестью панкреатита [7]. Воздействие алкоголя и токсичных продуктов его обмена (ацетальдегида и других) на метаболизм ацинарных панкреатических клеток экзокринной паренхимы железы приводит к окислительному стрессу, воспалению и активации ПЗК [18]. Более того, этанол может непосредственно активировать ПЗК, которые способны превращать его в ацетальдегид и генерировать окислительный стресс, способствуя таким образом их собственной активации и перекисному окислению липидов [19]. После воздействия алкоголя продукты перекисного окисления липидов были продемонстрированы иммуногистохимическими методами в ПЗК соединительной ткани, окружающей ацинарные клетки [20]. В этанол-активированных ПЗК наблюдается усиление пролиферации и активация аденин динуклеотид фосфатной окислительной системы (NADPH), стимулируемой тромбоцит-производным фактором роста [21]. Это подтверждает мнение, что активные формы кислорода (АФК), генерируемые ПЗК, играют определенную роль в их активации. Выращивание ПЗК с этанолом или ацетальдегидом в присутствии  $\alpha$ -токоферола (витамина Е), обладающего антиоксидантными свойствами, предупреждает активацию этих клеток [22]. Кроме того, в этанол-стимулируемых ПЗК выявлена экспрессия соединительнотканного фактора роста (СТГФ), который связан с продукцией ацетальдегида и окислительным стрессом, и способствует функциям клеточной адгезии, миграции и синтеза коллагена в ПЗК [18]. В противоположность сообщениям об эффектах окисленного метаболита этанола – ацетальдегида – на ПЗК, о действии неокисленных метаболитов этанола на их активацию данных недостаточно. Хотя неоксидативный путь метаболизма этанола играет сравнительно небольшую роль, этиловые эфиры жирных кислот (FAEEs), образующиеся при этом, могут повреждать клетки поджелудочной железы. Показано, что этиловый эфир пальмитолеиновой кислоты (РАЕФ) стимулирует специфические сигнальные молекулы в ПЗК [23].

Недавно продемонстрировано, что ПЗК экспрессируют также никотиновые ацетилхолины АСbRs (изоформы  $\alpha 3$ ,  $\alpha 7$ ,  $\beta$ ). Более того, никотин и никотин-производные – нитрозамины – активируют ПЗК как в присутствии, так и в отсутствии алкоголя, что позволяет рассматривать курение как независимый фактор риска в инициации хронического панкреатита [24].

Повышение внутрипротокового давления, развивающегося при хроническом панкреатите в результате сужения протоков за счет фиброза

самой их стенки, сдавления извне перидуктальным фиброзом или обструкции камнями, является еще одним активирующим фактором ПЗК. В экспериментах *in vitro* M. Asaumi и соавт. [10] продемонстрировали, что в условиях повышенного давления, вызванного газом гелием, ПЗК активируются и генерируют АФК. Их генерация наблюдалась уже через 30 минут после повышения давления и достигала максимума через один час [11]. Активирующий эффект предотвращался антиоксидантами, такими как N-ацетил цистин (NAC), подтверждая, что был опосредован внутриклеточным окислительным стрессом.

Предполагается, что гипергликемия и гиперинсулинемия при сахарном диабете 2-го типа могут служить дополнительными факторами для активации и пролиферации ПЗК и фиброза островков [12]. В ряде экспериментальных исследований показано, что экспозиция ПЗК в среде с высокой концентрацией глюкозы приводит к их активации, которая выражается в стимуляции и пролиферации клеток, экспрессии  $\alpha$ -SMA, белков внеклеточного матрикса, таких как коллаген, и клеточные трансформирующие факторы роста [25]. При этом в активацию ПЗК вовлекается белковая киназа С и Р38 митогенактивирующая киназа [12].

Активация ПЗК опосредуется цитокинами и ростовыми факторами. Одними из наиболее важных цитокинов являются TGFs. Исследования показали увеличение синтеза и секреции белков ЭЦМ – фибриллярного коллагена I и III типа, фибронектина, ламинина – ПЗК, которые стимулировались TGF- $\beta$  и его эффектором – CTGF. TGF- $\beta$  также индуцирует продукцию матриксной металлопротеиназы 2 (ММП-2), а TGF- $\alpha$  стимулирует пролиферацию и миграцию ПЗК, при этом повышая экспрессию мРНК матриксной металлопротеиназы 1 (ММП-1) [26]. Усиление экспрессии TGF- $\beta$  и секреции коллагена ПЗК продемонстрированы также при повышении давления в протоках и гипергликемии [11, 12, 25].

Установлено, что PDGF является пролиферативным и хемотаксическим фактором ПЗК [21], эндотелин-1 опосредует их миграцию [27], FGF повышает активность фибробластов, стимулирует синтез внеклеточного матрикса [27]. Провоспалительные цитокины – TNF $\alpha$ , моноцит-хемотаксический белок (MCP-1) и интерлейкины 1, 6, 13 (IL1, IL6, IL13) стимулируют пролиферацию, экспрессию  $\alpha$ -SMA и синтез коллагена в ПЗК, либо повышают экспрессию ростовых факторов (например TGF- $\beta$ ), которые уже в свою очередь активируют ПЗК [28].

Под влиянием активирующих факторов в ПЗК происходят структурно-функциональные изменения и появляются признаки, не характерные для покоящегося фенотипа: потеря запасов витамина А; усиленный синтез белков ЭЦМ; экспрессия цитоскелетного  $\alpha$ -SMA; увеличенная подвижность (миграция), пролиферация и диф-

ференцировка новых поколений ПЗК в звездчатые миофибробласты; секреция цитокинов, хемокинов, ростовых факторов [3, 17, 19].

В случае возникновения и развития заболевания поджелудочной железы ПЗК выходят из состояния покоя, теряя витамин А, содержащийся в липидных каплях цитоплазмы покоящегося фенотипа. Это один из морфологических признаков, отличающий активированный фенотип ПЗК. Механизмы накопления витамина А в покоящихся ПЗК и исчезновения в активированных ПЗК еще детально не выяснены. Считается, что в здоровой поджелудочной железе витамин А превращается в транс-ретиноевую кислоту, которая помогает регулировать множество функций, включая нормальный рост, дифференцировку и апоптоз [40]. Применение витамина А (ретинола) с целью предупреждения панкреатического фиброза способствовало снижению пролиферации активированных ПЗК крыс в культуре клеток, стимуляции их перехода в неактивное состояние, ингибированию синтеза  $\alpha$ -SMA, коллагена 1 типа, фибронектина и ламинина [41, 42]. Не исключается, что витамин А играет роль своеобразного защитного агента, поддерживающего стабильность клеток.

Усиление синтеза белков – наиболее важное изменение структуры и функции звездчатых клеток поджелудочной железы при их активации. Для установления отличий белков активированного фенотипа ПЗК от неактивированного фенотипа у мышей [29], крыс [30] и человека [31] были использованы техника анализа белков, основанная на спектрометрии, а также гистохимические, иммуногистохимические (с применением моноклональных антител) и другие методики. Следует отметить, что многочисленные белки, обнаружившие разную экспрессию в двух фенотипах ПЗК, относились к белкам цитоскелета, клеточного метаболизма, подвижности, роста и инвазии. До 90% активированного фенотипа ПЗК экспрессируют цитоскелетный  $\alpha$ -SMA, который не экспрессируется покоящимися ПЗК и поэтому используется в качестве главного маркера активированных ПЗК [39]. Присутствие  $\alpha$ -SMA вместе с эндотелином-1, синтезируемым эндотелиальными клетками, способствует эластичности, сократимости и миграции ПЗК [27]. В связи с перидуктальной и периваскулярной локализацией этих клеток предполагается, что активированные ПЗК могут участвовать в регуляции тонуса протоков и сосудов [16].

Активированный фенотип ПЗК секретирует множество протеинов внеклеточного матрикса, включая тубулин, фибронектин, ламинин, коллагены 1, III и IV типов, протеогликаны, а также протеины промежуточных филаментов, такие как десмин, глиофибриллярный кислый протеин, виментин и нестин [32]. Кроме того, ПЗК экспрессируют ММП-1 и ММП-2, участвующие в деградации ЭЦМ, и тканевые ингибиторы, которые

ингибируют активность этих металлопротеиназ (ТИМП-1 и ТИМП-2) [33]. Считается, что с помощью этих ферментов в здоровой поджелудочной железе поддерживается баланс между синтезом и разрушением ЭЦМ [34, 35]. При воздействии активирующих факторов этот баланс нарушается. Синтез ТИМП преобладает над уровнем ММП. Избыток синтезируемых компонентов волокнуто-молекулярного матрикса при недостаточном количестве расщепляющих его ферментов депонируется в железе. Причем отмечается накопление преимущественно фибриллярных белков – коллагена I, III типов и фибронектина, в отличие от нормальной поджелудочной железы, которая содержит небольшое количество коллагена III типа в междольковых септах и стенках протоков, и IV типа – в составе периацинарных базальных мембран [36]. Усиленный синтез и накопление белков внеклеточного матрикса активированными ПЗК рассматривается в качестве основных факторов в патогенезе панкреатического фиброза [37]. Считается, что именно депонирование фибриллярного коллагена 1 типа, который не определяется в здоровой поджелудочной железе и относится к фибриллообразующим коллагенам, обнаруживаемым преимущественно в склеротически измененной и рубцовой ткани, играет значительную роль в развитии цирротических изменений [36].

Под влиянием активирующих факторов происходит усиление миграции и пролиферации ПЗК, а также дифференцировки их новых поколений в звездчатые миофибробласты [37]. Отмечается, что тромбоцит-производный фактор роста и определенные цитокины (интерлейкины 1, 6, 13) стимулируют пролиферацию и миграцию ПЗК с помощью специфических сигнальных молекул [38]. Выявлена способность активированных ПЗК к фагоцитозу.

Установлено, что в активированных ПЗК увеличивается продукция собственных медиаторов воспаления, которые в покоящихся ПЗК ограничены. Цитокины, хемокины, ростовые факторы, такие как PDGF, TGF- $\beta$ , CTGF, MCP-1, IL1, IL6, IL8, IL15, RANTES (Regulated on Action Normal T-Cell Expressed and Secreted), содействуют активации клеток аутокринным способом [43]. Активин А и ангиотензин II также идентифицированы как аутокринные активаторы ПЗК. Они способствуют экспрессии TGF- $\beta$  и пролиферации ПЗК [44]. Продукция этих эндогенных цитокинов может стимулироваться экзогенными факторами, такими как этанол, ацетальдегид, а также аутокринными связями между определенными цитокинами в ПЗК [45]. Способность ПЗК активироваться аутокринным путем позволяет однажды паракринно активированным клеткам быть постоянно в этом состоянии, даже при отсутствии первоначальных триггерных факторов. Она может представлять один из механизмов, ответственных за прогрес-

сирование хронического панкреатита, например алкогольного, несмотря на прекращение употребления исходного активатора – алкоголя [3].

Выяснение точных механизмов, контролирующей трансформацию фенотипа ПЗК, – один из наиболее важных вопросов, разрабатываемых относительно звездчатых клеток в последние годы. Идентификация внутриклеточных сигнальных путей, опосредующих эффекты ПЗК, позволит найти способы воздействия на них, чтобы предупредить или прервать активацию ПЗК и усиленный фиброгенез. Установлено, что пролиферация и миграция ПЗК, активированных этанолом, ацетальдегидом и окислительным стрессом, опосредуется через митоген-активирующий белково-киназный (MAPK) путь и ядерный транскрипционный фактор – активатор белка (AP-1). Причем все три семейства MAP киназ вовлечены в активацию ПЗК: внеклеточные сигнально-регулируемые киназы (ERK1/2), P38 киназа и c-jun N – терминальная киназа (JNK) [46]. Этанол и ацетальдегид активируют еще две сигнальные молекулы: фосфадитилинозитол 3 киназу (PG3K) и белковую киназу C (PKC) [47]. TGF- $\beta$ 1, стимулирующий пролиферацию и секрецию коллагена ПЗК, осуществляет свои эффекты через внутриклеточные сигнальные медиаторы Smad 2 и 3 [48]. Более подробно сигнальные пути, связанные с фенотипической трансформацией ПЗК, изложены в

работах А. Masamune и других авторов [16].

Относительно дальнейшей судьбы активированных ПЗК обсуждается несколько возможных вариантов. Согласно одному из них, поддерживаемое воспаление может способствовать постоянному активированию ПЗК с помощью паракринных триггеров или же аутокринным путем даже при их отсутствии, приводя к фиброзу органа. В других случаях при восстановлении нормальной структуры поджелудочной железы предполагается апоптоз ПЗК, трансформация в неактивный фенотип или же старение с последующим уничтожением лимфоцитами [49].

Для уточнения механизмов активации ПЗК и обратной трансформации их в покоящееся состояние необходимы дальнейшие исследования. Возможность регуляции этого процесса позволит разрабатывать новые методы лечения заболеваний поджелудочной железы.

Таким образом, под влиянием активирующих факторов ПЗК приобретают следующие морфофункциональные признаки, отличающие их от покоящегося фенотипа: отсутствие витамин А-содержащих липидных капель в цитоплазме; экспрессия  $\alpha$ -гладкомышечного актина; секреция цитокинов, хемокинов и ростовых факторов; увеличенная пролиферация и миграция; избыточный синтез и накопление белков внеклеточного матрикса.

## References

- Bachem MG, Schneider E, Gross H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, Siech M, Beger H, Grunert A, Adler G. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology*. 1998;115(2):421-432.
- Mozheiko LA. Pankreaticheskie zvezdchatyie kletki: struktura i funktsiya. Chast 1, Morfofunktsionalnaya harakteristika pankreaticheskikh zvezdchatyih kletok v fiziologicheskikh usloviyakh [Pancreatic stellate cells: structure and function. Part 1, Morphofunctional characteristics of pancreatic stellate cells under physiological conditions]. *Gepatologiya i Gastroenterologiya* [Hematology and Gastroenterology]. 2018;1:21-25. (Russian).
- Bynigeri RR, Jakkampudi A, Jangala R, Subramanyam C, Sasikala M, Rao GV, Reddy DN, Talukdar R. Pancreatic stellate cell: Pandora's box for pancreatic disease biology. *World J. Gastroenterol*. 2017;23(3):382-405. doi: 10.3748/wjg.v23.i3.382.
- Ferdek PE, Jakubowska MA. Biology of pancreatic stellate cells - more than just pancreatic cancer. *Pflugers Arch*. 2017;469(9):1039-1050. doi: 10.1007/s00424-017-1968-0.
- Mozheiko LA. Rol pankreaticheskikh zvezdchatyih kletok v progressirovani raka podzheludochnoy zhelezy [Role of pancreatic stellate cells in progression of pancreatic cancer]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2018;16(2):125-131. doi: 10.25298/2221-8785-2018-16-2-125-131. (Russian).
- Nichitaylo ME, Kravchenko DA, Medveckij EB, Shponka IS, Savickaja IM. Ingibirovanie aktivirovannyh pankreaticheskikh zvezdchatyih kletok (vitaminami A i E) dlja preduprezhdenija fibroza podzheludochnoy zhelezy v modeli hronicheskogo alkoholnogo pankreatita [Inhibition of pancreatic stellate cell activation by the vitamin A and vitamin E as a therapy for prevention fibrogenesis in experimental chronic alcoholic pancreatic]. *Morfologiya* [Morphologia]. 2012;6(2):34-41. (Russian).
- Parlesak A. Alcohol, altered gut permeability and endotoxins. In: Preedy VR, Watson RR, editors. *Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology*. Vol. 2. London: Elsevier Academic Press; 2005. p. 965-975.
- Vonlaufen A, Apte MV, Imhof BA, Frossard JL. The role of inflammatory and parenchymal cells in acute pancreatitis. *J. Pathol*. 2007;213(3):239-248. doi: 10.1002/path.2231.
- Casini A, Galli A, Pignalosa P, Frulloni L, Grappone C, Milani S, Pederzoli P, Cavallini G, Surrenti C. Collagen type I synthesized by pancreatic periacinar stellate cells (PSC) co-localizes with lipid peroxidation-derived aldehydes in chronic alcoholic pancreatitis. *J. Pathol*. 2000;192(1):81-89.
- Asaumi H, Watanabe S, Taguchi M, Tashiro M, Otsuki M. Externally applied pressure activates pancreatic stellate cells through the generation of intracellular reactive oxygen species. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2007;293(5):972-978. doi: 10.1152/ajpgi.00018.2007.
- Watanabe S, Nagashio Y, Asaumi H, Nomiya Y, Taguchi M, Tashiro M, Kihara Y, Nakamura H, Otsuki M. Pressure activates rat pancreatic stellate cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2004;287(6):1175-1181. doi: 10.1152/ajpgi.00339.2004.
- Nomiya Y, Tashiro M, Yamaguchi T, Watanabe S, Taguchi M, Asaumi H, Nakamura H, Otsuki M. High glucose activates rat pancreatic stellate cells through protein kinase C and p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Pancreas*. 2007;34(3):364-372. doi: 10.1097/MPA.0b013e31802f0531.
- Jonitz A, Fitzner B, Jaster R. Molecular determinants of the profibrogenic effects of endothelin-1 in pancreatic stellate cells. *World J. Gastroenterol*. 2009;15(33):4143-4149.
- Aoki H, Ohnishi H, Hama K, Shinozaki S, Kita H, Osawa H, Yamamoto H, Sato K, Tamada K, Sugano K. Cyclooxygenase-2 is required for activated pancreatic stellate cells to respond to proinflammatory cytokines. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2007;292(1):259-268. doi: 10.1152/ajpcell.00030.2006.
- Masamune A, Satoh M, Hirabayashi J, Kasai K, Satoh K, Shimosegawa T. Galectin-1 induces chemokine production and proliferation in pancreatic stellate cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2006;290(4):729-736. doi: 10.1152/ajpgi.00511.2005.
- Masamune A, Shimosegawa T. Signal transduction in

- pancreatic stellate cells. *J. Gastroenterol.* 2009;44(2):249-260.
17. Erkan M, Adler G, Apte MV, Bachem MG, Buchholz M, Detlefsen S, Esposito I, Friess H, Gress TM, Habisch HJ, Hwang RF, Jaster R, Kleeff J, Kloppel G, Kordes C, Logsdon CD, Masamune A, Michalski CW, Oh J, Phillips PA, Pinzani M, Reiser-Erkan C, Tsukamoto H, Wilson J. StellaTUM: current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research. *Gut.* 2012;61(2):172-178. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301220.
  18. Wilson JS, Apte MV. Role of alcohol metabolism in alcoholic pancreatitis. *Pancreas.* 2003;27(4):311-315.
  19. Apte MV, Phillips PA, Fahmy RG, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Naidoo D, Wilson JS. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology.* 2000;118(4):780-794.
  20. Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Battle-scarred pancreas: role of alcohol and pancreatic stellate cells in pancreatic fibrosis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2006;21(Suppl 3):97-101. doi: 10.1111/j.1440-1746.2006.04587.x.
  21. Hu R, Wang YL, Edderkaoui M, Lugea A, Apte MV, Pandol SJ. Ethanol augments PDGF-induced NADPH oxidase activity and proliferation in rat pancreatic stellate cells. *Pancreatology.* 2007;7(4):332-340. doi: 10.1159/000105499.
  22. Kikuta K, Masamune A, Satoh M, Suzuki N, Satoh K, Shimosegawa T. Hydrogen peroxide activates activator protein-1 and mitogen-activated protein kinases in pancreatic stellate cells. *Mol. Cell. Biochem.* 2006;291(1-2):11-20. doi: 10.1007/s11010-006-9189-4.
  23. Masamune A, Kikuta K, Satoh M, Suzuki N, Shimosegawa T. Fatty acid ethyl esters activate activator protein-1 and mitogen-activated protein kinases in rat pancreatic stellate cells. *Pancreatology.* 2004;4:311.
  24. Tolstrup JS, Kristiansen L, Becker U, Grønbaek M. Smoking and risk of acute and chronic pancreatitis among women and men: a population-based cohort study. *Arch. Intern. Med.* 2009;169(6):603-609. doi: 10.1001/archinternmed.2008.601.
  25. Ko SH, Hong OK, Kim JW, Ahn YB, Song KH, Cha BY, Son HY, Kim MJ, Jeong IK, Yoon KH. High glucose increases extracellular matrix production in pancreatic stellate cells by activating the renin-angiotensin system. *J. Cell Biochem.* 2006;98(2):343-355. doi: 10.1002/jcb.20797.
  26. Tahara H, Sato K, Yamazaki Y, Ohyama T, Horiguchi N, Hashizume H, Kakizaki S, Takagi H, Ozaki I, Arai H, Hirato J, Jesenofsky R, Masamune A, Mori M. Transforming growth factor- $\alpha$  activates pancreatic stellate cells and may be involved in matrix metalloproteinase-1 upregulation. *Lab. Invest.* 2013;93(6):720-732. doi: 10.1038/labinvest.2013.59.
  27. Masamune A, Satoh M, Kikuta K, Suzuki N, Shimosegawa T. Endothelin-1 stimulates contraction and migration of rat pancreatic stellate cells. *World J. Gastroenterol.* 2005;11(39):6144-6151.
  28. Michalski CW, Gorbachevski A, Erkan M, Reiser C, Deucker S, Bergmann F, Giese T, Weigand M, Giese NA, Friess H, Kleeff J. Mononuclear cells modulate the activity of pancreatic stellate cells which in turn promote fibrosis and inflammation in chronic pancreatitis. *J. Transl. Med.* 2007;5:63. doi: 10.1186/1479-5876-5-63.
  29. Paulo JA, Urrutia R, Banks PA, Conwell DL, Steen H. Proteomic analysis of an immortalized mouse pancreatic stellate cell line identifies differentially-expressed proteins in activated vs nonproliferating cell states. *J. Proteome Res.* 2011;10(10):4835-4844. doi: 10.1021/pr2006318.
  30. Paulo JA, Urrutia R, Banks PA, Conwell DL, Steen H. Proteomic analysis of a rat pancreatic stellate cell line using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *J. Proteomics.* 2011;75(2):708-717. doi: 10.1016/j.jprot.2011.09.009.
  31. Wehr AY, Furth EE, Sangar V, Blair IA, Yu KH. Analysis of the human pancreatic stellate cell secreted proteome. *Pancreas.* 2011;40(4):557-566. doi: 10.1097/MPA.0b013e318214efaf.
  32. Jaster R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Mol. Cancer.* 2004;3:26. doi: 10.1186/1476-4598-3-26.
  33. Phillips PA, McCarroll JA, Park S, Wu MJ, Pirola R, Korsten M, Wilson JS, Apte MV. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover. *Gut.* 2003;52(2):275-282.
  34. Xu Z, Pothula SP, Wilson JS, Apte MV. Pancreatic cancer and its stroma: A conspiracy theory. *World J. Gastroenterol.* 2014;20(32):11216-11229. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11216.
  35. Buscail L, Bournet B, Dufresne M, Torrisani J, Cordelier P. Advance in the biology of pancreatic of cancer. *Bull. Cancer.* 2015;102(6 Suppl 1):53-61. doi: 10.1016/S0007-4551(15)31218-2.
  36. Ricard-Blum S. The Collagen Family. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011;3(1):a004978. doi: 10.1101/cshperspect.a004978.
  37. Bachem MG, Schmid-Kotsas A, Siech M, Beger HG, Gress TM, Adler G. Pancreatic stellate cells and their role in fibrogenesis. In: Johnson CD, Imrie CW, editors. *Pancreatic disease, basic science and clinical management.* London: Springer-Verlag; 2004. p. 226-239.
  38. Masamune A, Kikuta K, Watanabe T, Satoh K, Hirota M, Hamada S, Shimosegawa T. Fibrinogen induces cytokine and collagen production in pancreatic stellate cells. *Gut.* 2009;58(4):550-559. doi: 10.1136/gut.2008.154401.
  39. Suda K, editor. *Pancreas – Pathological Practice and Research.* Basel: Karger; 2007. 318 p.
  40. Tulachan SS, Doi R, Kawaguchi Y, Tsuji S, Nakajima S, Masui T, Koizumi M, Toyoda E, Mori T, Ito D, Rami K, Fujimoto K, Imamura M. All-trans retinoic acid induces differentiation of ducts and endocrine cells by mesenchymal/epithelial interactions in embryonic pancreas. *Diabetes.* 2003;52(1):76-84.
  41. Talukdar R, Tandon RK. Pancreatic stellate cells: new target in the treatment of chronic pancreatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008;23(1):34-41. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.05206.x.
  42. McCarroll JA, Phillips PA, Santucci N, Pirola RC, Wilson JS, Apte MV. Vitamin A inhibits pancreatic stellate cell activation: implications for treatment of pancreatic fibrosis. *Gut.* 2006;55(1):79-89. doi: 10.1136/gut.2005.064543.
  43. Andoh A, Takaya H, Saotome T, Shimada M, Hata K, Araki Y, Nakamura F, Shintani Y, Fujiyama Y, Bamba T. Cytokine regulation of chemokine (IL-8, MCP-1, and RANTES) gene expression in human pancreatic periacinar myofibroblasts. *Gastroenterology.* 2000;119(1):211-219.
  44. Hama K, Ohnishi H, Aoki H, Kita H, Yamamoto H, Osawa H, Sato K, Tamada K, Mashima H, Yasuda H, Sugano K. Angiotensin II promotes the proliferation of activated pancreatic stellate cells by Smad7 induction through a protein kinase C pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006;340(3):742-750. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.12.069.
  45. Karger A, Fitzner B, Brock P, Sparmann G, Emmrich J, Liebe S, Jaster R. Molecular insights into connective tissue growth factor action in rat pancreatic stellate cells. *Cell. Signal.* 2008;20(10):1865-1872. doi: 10.1016/j.cellsig.2008.06.016.
  46. Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr. Rev.* 2001;22(2):153-183. doi: 10.1210/edrv.22.2.0428.
  47. McCarroll JA, Phillips PA, Park S, Doherty E, Pirola RC, Wilson JS, Apte MV. Pancreatic stellate cell activation by ethanol and acetaldehyde: is it mediated by the mitogen-activated protein kinase signaling pathway? *Pancreas.* 2003;27(2):150-160.
  48. Ohnishi H, Miyata T, Yasuda H, Satoh Y, Hanatsuka K, Kita H, Ohashi A, Tamada K, Makita N, Iiri T, Ueda N, Mashima H, Sugano K. Distinct roles of Smad2-, Smad3-, and ERK-dependent pathways in transforming growth factor-beta1 regulation of pancreatic stellate cellular functions. *J. Biol. Chem.* 2004;279(10):8873-8878. doi: 10.1074/jbc.M309698200.
  49. Fitzner B, Muller S, Walther M, Fischer M, Engelmann R, Muller-Hilke B, Putzer BM, Kreutzer M, Nizze H, Jaster R. Senescence determines the fate of activated rat pancreatic stellate cells. *J. Cell. Mol. Med.* 2012;16(11):2620-2630. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01573.x.