

Mutacje genów *JAK* i *STAT* a aktywacja szlaku *JAK–STAT* w nowotworach limfo- i mieloproliferacyjnych

JAK and *STAT* gene mutations and *JAK–STAT* pathway activation in lympho- and myeloproliferative neoplasms

Michał Łączak, Martyna Kuczyńska, Joanna Grygier, Dominika Andrzejewska, Wiktoria Grochowska, Hanna Gulaczyk, Krzysztof Lewandowski^{ID}

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Łączak M, Kuczyńska M, Grygier J, et al. *JAK* and *STAT* gene mutations and *JAK–STAT* pathway activation in lympho- and myeloproliferative neoplasms. *Hematol Clin Pract.* 2021, vol. 12, no. 3–4, 89–104. DOI: 10.5603/HCPa2021.0013. Należy cytować wersję pierwotną

Streszczenie

Nowotwory limfo- oraz mieloproliferacyjne są heterogenną grupą chorób komórki macierzystej szpiku (HSC). Wykazano, że w większości z nich transformacja nowotworowa jest wynikiem nabycia przez HSC defektów molekularnych, prowadzących do zaburzeń, dojrzewania i różnicowania HSC. W pracy przedstawiono najczęstsze zaburzenia w obrębie szlaku przekazywania sygnału komórkowego kinaza Janusowa–przewodnik sygnału i aktywator transkrypcji (*JAK–STAT*). Szczególną uwagę poświęcono mutacjom genowym prowadzącym do zaburzenia przekazywania sygnału szlakiem *JAK–STAT* u chorych na nowotwory limfo- i mieloproliferacyjne. Ich poznanie umożliwia opracowanie terapii celowanych molekularnie z uwzględnieniem leków hamujących ścieżkę sygnałową *JAK–STAT*.

Słowa kluczowe: nowotwory limfo- i mieloproliferacyjne, kinazy tyrozynowe Janus, białka pośredniczące w przekazywaniu sygnału i aktywacji transkrypcji, defekty molekularne, transformacja nowotworowa

Hematologia — Edukacja 2022; 2, 1: 19–35

Abstract

Lympho- and myeloproliferative neoplasms are a very heterogeneous group of haematological malignancies originating from a haematopoietic stem cell (HSC). In most of them, the neoplastic transformation is a result of the acquisition of molecular defects by HSC or progenitor cells, impairing their proliferation, differentiation and maturation. Herein, the role of the Janus kinase-signal transduction and transcription activation (*JAK–STAT*) signalling pathway in the normal and neoplastic lympho- and myelopoiesis is presented. Particular attention is paid to the molecular aberrations of the *JAK* and *STAT* genes and their impact on *JAK* and *STAT* signalling pathway function and the mutation-driven mechanism of the lymphoid and myeloid cells neoplastic

Adres do korespondencji: Krzysztof Lewandowski, Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Szamarzewskiego 84, 60–569 Poznań, e-mail: krzysztof.lewandowski@skpp.edu.pl

transformation. In the Authors' opinion, its early identification allows to incorporate the molecularly targeted drugs, including JAK–STAT pathway signalling inhibitors, to the therapeutic algorithm used and to improve the treatment results of lymphoid- and myeloid neoplasms.

Key words: lympho- and myeloproliferative neoplasms, Janus tyrosine kinases, signal transducer and activator of transcription proteins, molecular aberrations, malignant transformation

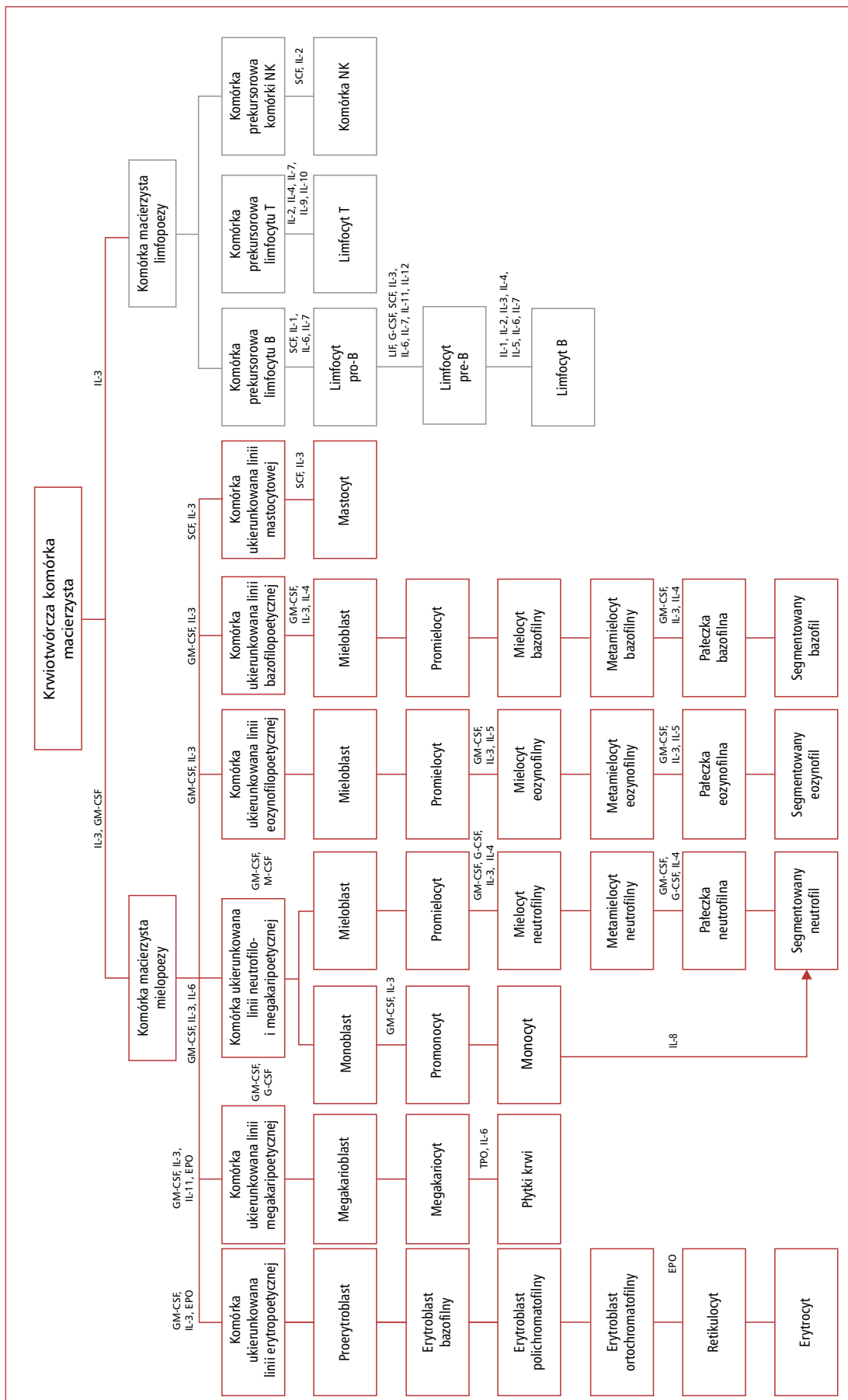
Hematologia — Edukacja 2022; 2, 1: 19–35

Wprowadzenie

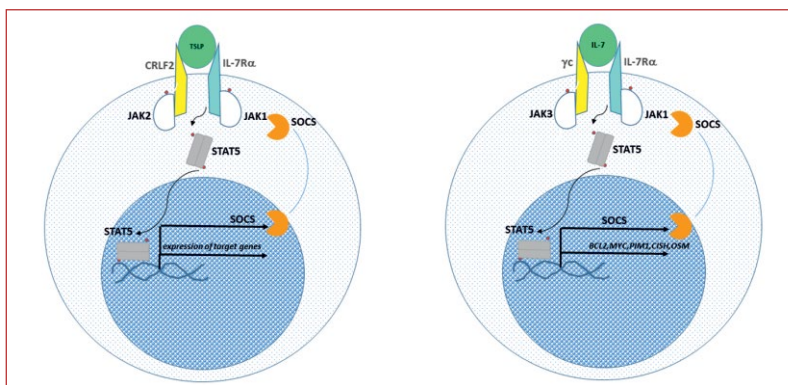
Hematopoeza jest procesem wieloetapowym i hierarchicznym, w którym z wielopotencjalnych komórek macierzystych szpiku powstają wszystkie rodzaje komórek krwi. Każda komórka macierzysta krwi wywodzi się z wielopotencjalnej hematopoetycznej komórki macierzystej (HSC, *hematopoietic stem cell*) [1]. Proces hematopoezy zapoczątkowany jest nierównomiernym podziałem HSC, wskutek czego jedna komórka potomna ulega dalszemu różnicowaniu, druga pozostaje w puli komórek macierzystych, zapewniając samoodnowę populacji HSC. Proces samoodnawiania i różnicowania HSC w komórki potomne wymaga odpowiedniego mikrośrodowiska szpiku, które stanowią adipocyty, komórki endotelialne, osteoblasty i fibroblasty. W procesie tym istotną rolę odgrywają także komórki powstałe w wyniku hematopoezy — osteoklasty oraz makrofagi szpiku [2–5]. Zdolność samoodnowy jest podstawową cechą odróżniającą komórki macierzyste od ich późniejszych stadiów rozwojowych. Podziały komórek potomnych prowadzą do powstawania form coraz bardziej dojrzałych, aż do postaci krańcowo zróżnicowanych bez zdolności podziałowej. Niezależnie od zdolności do samoodnowy macierzyste komórki krwiotwórcze mają zdolność do wielokierunkowego różnicowania. Według aktualnego stanu wiedzy proces krwiotworzenia toczy się w obrębie 11 głównych linii komórkowych (ryc. 1). Różnicowanie HSC jest procesem wielostopniowym. W pierwszym etapie HSC przekształca się w wielopotencjalną komórkę progenitorową (MPP, *multipotent progenitor*), następnie powstają komórki progenitorowe limfopoezy (CLP, *common lymphoid progenitor*) i mielopoezy (CMP, *common myeloid progenitor*). Intensywność krwiotworzenia w obrębie poszczególnych linii komórkowych jest kontrolowana przez skoordynowane działanie cytokin, czynników transkrypcyjnych i epigenetycznych oraz czynników wzrostu [6, 7]. Wspólnym prekursorem dla całej mielopoezy jest jednostka tworząca kolonię

granulocytów, erytrocytów, makrofagów, megakariocytów (CFU-GEMM, *colony-forming unit of granulocyte, erythrocyte, macrophage, megakaryocyte*). Komórki macierzyste mielopoezy stopniowo tracą zdolność samoodnawiania, zachowując funkcję wielokierunkowego różnicowania. Pod wpływem gry cytokinowej i oddziaływania czynników wzrostu CFU-GEMM przekształca się w ukierunkowane komórki progenitorowe, a następnie prekursorzy linii erytropoetycznej — jednostki tworzące duże, wczesne kolonie erytroidalne (BFU-E, *burst forming unit-erythrocyte cell*), jednostki tworzące kolonie erytroidalne (CFU-E, *colony forming unit erythroid*), eozynofilo-poetycznej — jednostki tworzące kolonie eozynofilowe (CFU-eos), bazofilopoe-tycznej — jednostki tworzące kolonie bazofilowe (CFU-baso), mastocytowej — jednostki tworzące kolonie mastocytarne (CFU-mast), monocytopoe-tycznej — jednostki tworzące kolonie monocytarne (CFU-M), megakariopoetyczna — jednostki tworzące kolonie mastocytarne (CFU-mast) oraz neutrofilopoe-tycznej — jednostki tworzące kolonie granulocytarne (CFU-G).

W procesie limfopoezy zdolność do różnicowania komórek prekursorowych zachowana jest do końca. Mechanizm proliferacji i różnicowania limfocytów B, T i NK z komórek prekursorowych limfopoezy (CLP, *lymphopoietic precursor cells*) zależy także od wielu czynników środowiskowych, w tym czynników wzrostu, cytokin, kinaz (JAK, Kit-L) oraz molekuł powierzchniowych, takich jak Notch-1. W procesie tym niezwykle istotną rolę odgrywa Notch-1, który we współpracy z GATA-3 jest zaangażowany w proces różnicowania limfocytów T za pośrednictwem receptora alfa/beta. Szczególną rolę na wczesnych etapach proliferacji i różnicowania limfocytów B i T odgrywa podjednostka alfa receptora [dla interleukiny 7 (CD127, IL-7R α [*interleukin-7 receptor subunit alpha*])] [8, 9]. Jego aktywacja przez interleukinę 7 (IL-7) prowadzi do fosforylacji kinazy JAK1 lub JAK3 i aktywacji ścieżki przekazywania sygnału JAK1–STAT5 lub JAK3–STAT5. Należy nadmienić,



Rycina 1. Ideowy schemat hematopojezy; GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów; G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów; M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów; SCF (*stem cell factor*) — czynnik wzrostu komórek macierzystych; EPO (*erythropoietin*) — erytropoetyna; TPO (*thrombopoietin*) — trombopoetyna; LIF (*leukemia inhibitory factor*) — czynnik hamujący białaczkę; IL-1 — interleukina 1; IL-2 — interleukina 2; IL-3 — interleukina 3; IL-4 — interleukina 4; IL-5 — interleukina 5; IL-6 — interleukina 6; IL-7 — interleukina 7; IL-8 — interleukina 8; IL-9 — interleukina 9; IL-10 — interleukina 10; IL-11 — interleukina 11



Rycina 2. Mechanizm przekazywania sygnału komórkowego indukowanego przez limfopoetynę produkowaną przez komórki zrębu grasicy (TSL, *thymic stromal lymphopoietin*) (A) i interleukinę 7 (IL-7, *interleukin-7*) za pośrednictwem receptora dla IL-7; IL-7R α (*interleukin-7 receptor subunit alpha*, CD127) — podjednostka alfa receptora dla interleukiny 7; CRLF2 (*cytokine receptor like factor 2*) — receptor dla limfopoetyny; JAK — kinaza tyrozynowa Janus; STAT5 — białko przekazujące sygnał i uczestniczące w transkrypcji; SOCS (*suppressor of cytokine signalling*) — supresor przekazywania sygnału przez cytokiny; BCL2 (*B-cell lymphoma 2 protein*) — białko BCL2; MYC (*MYC proto-oncogene*) — czynnik transkrypcyjny MYC; PIM1 (*PIM-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase*) — gen kinazy serynowo-treoninowej PIM1; CISH (*cytokine-inducible SH2-containing protein*) — gen białka rodziny SOCS regulującego przekazywanie sygnału przez cytokiny; OSM — gen onkostatyny *M* kodujący sekwencję plejotropowej cytokiny z rodziny interleukiny 6

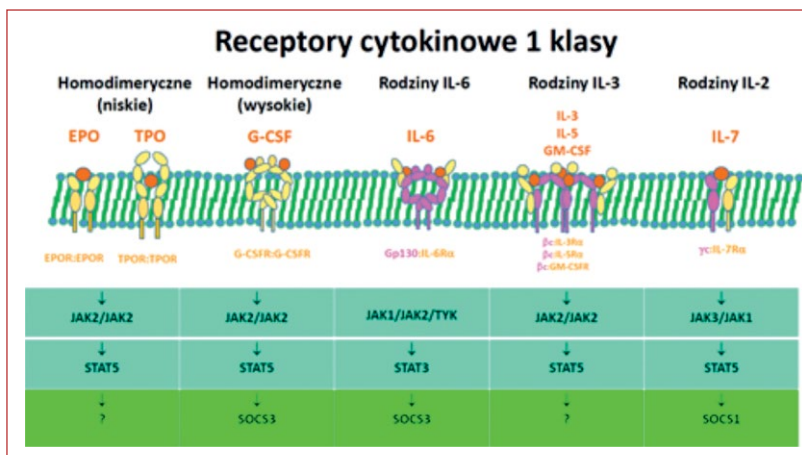
że aktywacja IL-7R równocześnie prowadzi do przekazywania sygnału ścieżką PI3K–AKT oraz Ras–MAPK [10, 11]. W przypadku receptora dla IL-7 kinaza JAK1 powiązana jest strukturalnie i czynnościowo z podjednostką IL-7R α , a kinaza JAK3 — z podjednostką γ c receptora [12]. Mechanizm przekazywania sygnału komórkowego indukowanego przez limfopoetynę produkowaną przez komórki zrębu grasicy (TSL, *thymic stromal lymphopoietin*) za pośrednictwem receptora dla IL-7 przedstawiono na rycinie 2.

Cytokiny uczestniczące w procesach limfo- i mielopozy

Cytokiny i czynniki wzrostu są glikoproteinami regulującymi proliferację i różnicowanie komórek progenitorowych. Kontrolują one także niektóre funkcje dojrzałych komórek krwi [13]. Cytokiny są przede wszystkim czynnikami przeżycia, a w większych stężeniach wykazują działanie czynników wzrostu. Należy pamiętać, że proces przeżycia jest regulowany przez tak zwane cytokiny śmierci, do których należy czynnik martwicy nowotworów typu alfa (TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*). Do najważniejszych czynników działających na krwiotwórcze komórki macierzyste należą: Kit ligand (KL) — czynnik Steel, ligand fms-podobnej kinazy tyrozynowej 3 (FLT-3, *fms-like tyrosine kinase 3 li-*

gand), a także oddziałujące na wielopotencjalne komórki progenitorowe: czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*); czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*), interleukina 3 (IL-3, *interleukin 3*) i interleukina 6 (IL-6, *interleukin 6*). Do czynników zaangażowanych w dojrzewanie i różnicowanie ukierunkowanych komórek prekursorowych należą: czynnik wzrostu granulocytów (G-CSF, *granulocytic growth factor*), czynnik wzrostu makrofagów (M-CSF, *macrophage growth factor*), interleukina 5 (IL-5, *interleukin 5*), erytropoetyna (EPO, *erythropoietin*) i trombopoetyna (TPO, *thrombopoietin*) (ryc. 3) [14].

Kluczową rolę w procesie funkcjonowania hematopozy pełni receptor FLT3 (*fms-like tyrosine kinase 3*) i FLT3 ligand. Receptor FLT3 odgrywa ważną rolę w procesie inicjowania ekspansji wczesnych komórek progenitorowych, a jego prawidłowa funkcja jest niezbędna nie tylko dla procesu podtrzymania populacji HSC, ale także wzrostu ukierunkowanych wspólnych mieloidalnych komórek prekursorowych (CMP, *common myeloid progenitor cells*), komórek progenitorowych granulocytów i makrofagów (GMP, *granulocyte-monocyte progenitor*) oraz komórek progenitorowych megakariocytów i erytrocytów (MEP, *megariocyte-erythroid progenitor*) [15–17].



Rycina 3. Przekazywanie sygnału komórkowego inicjowanego przez cytokiny w uczestniczące w hematopojezie ścieżką *JAK*–*STAT*; *IL* (*interleukin*) — interleukina; *IL-xR* (*the receptor for a specific (x) type of interleukin*) — receptor dla określonego (*x*) typu interleukiny; *GM-CSF* (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie granulocytów i makrofagów; *GM-CSFR* (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor*) — receptor dla czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów; *G-CSF* (*granulocytic growth factor*) — czynnik wzrostu granulocytów; *G-CSFR* (*granulocytic growth factor receptor*) — receptor dla czynnika wzrostu dla granulocytów; *EPO* (*erythropoietin*) — erytropoetyna; *EPOR* (*erythropoietin receptor*) — receptor dla erytropoetyny; *TPO* (*thrombopoietin*) — trombopoetyna; *TPOR* (*thrombopoietin receptor*) — receptor dla trombopoetyny; *Gp130* (*glycoprotein 130*) — glikoproteina 130; βc (*common beta chain*) — wspólny łańcuch beta; *JAK* (*Janus tyrosine kinase*) — kinaza tyrozynowa Janus; *TYK* — kinaza tyrozynowa Tyk; *STAT* — białko przekazujące sygnał i uczestniczące w transkrypcji; *SOCS* (*suppressor of cytokine signalling*) — supresor przekazywania sygnału przez cytokiny

Rola ścieżki sygnałowej *JAK*–*STAT* w limfo- i mielopojezie

Przebieg zarówno limfo-, jak i mielopojezy zależy od niezakłóconej interakcji między cytokinami a receptorami cytokinowymi na powierzchni komórek macierzystych hematopojezy, a także poprawnego przebiegu kolejnych oddziaływań receptor–kinaza tyrozynowa Janus, kinaza tyrozynowa Janus–białka *STAT* oraz dimery/monomery *STAT*–sekwencje promotorowe genów docelowych.

W pierwszym etapie związanie cytokiny/czynnika wzrostu z receptorem docelowym prowadzi do jego dimeryzacji/oligomeryzacji i rekrutacji cząsteczek *JAK*. Rekrutacja *JAK* skutkuje ich fosforylacją na drodze autofosforylacji i/lub transfosforylacji przy udziale innej cząsteczki *JAK* lub innej kinazy z rodziny kinaz tyrozynowych. Aktywowana kinaza Janus pośredniczy w fosforylacji docelowej cząsteczki tyrozyny w obrębie receptora. W ten sposób dochodzi do utworzenia miejsca dokowania dla cząsteczek *STAT* [18]. Po związaniu cząsteczki *STAT* z receptorem dochodzi do fosforylacji tyrozyny, co inicjuje reorientację białek *STAT* i ich homo- lub heterodimeryzację. Dimeryzacja *STAT* jest rezultatem interakcji między domeną *SH2* na jednej z cząsteczek *STAT* a fosforylowaną tyro-

zyną na drugiej cząsteczce *STAT*. Po fosforylacji dimery *STAT* przemieszczają się do jądra, wiążą się poprzez domenę wiążącą DNA z sekwencją genu docelowego i inicjują proces transkrypcji genów docelowych. Aktywność *STAT* (z wyjątkiem *STAT2*) jest kontrolowana przez kinazy serynowo-treoninowe (np. *ERK*, *p38*, *mTOR*). Regulacja aktywności *STAT* jest możliwa na drodze fosforylacji seryny w domenie transaktywacyjnej (w obrębie konserwatywnego motywu *PSMP*) [19–21]. Ideową strukturę cząsteczek *STAT3* i *STAT5B* przedstawiono na rycinie 3 [14].

Białka uczestniczące w transdukcji sygnału ścieżką *JAK*–*STAT*

Kinazy tyrozynowe *JAK*

Przekazywanie sygnału komórkowego w obrębie komórki ma charakter złożony i dotyczy podstawowych czynności życiowych, w tym koordynacji cyklu komórkowego. W procesach tych biorą udział kinazy białkowe uczestniczące w procesach fosforylacji szeregu aminokwasów, w tym seryn, treonin, histydyln i tyrozyn. Jak dotąd, wyodrębniono dwa rodzaje kinaz białkowych — kinazy serynowo-treoninowe oraz kinazy tyrozynowe. Sieć kinaz białkowych tworzą kinazy białkowe

aktywowane mitogenami (MAPK, *mitogen-activated protein kinases*), kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym (ERK, *extracellular signal-regulated kinases*), receptor naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, *epidermal growth factor receptor*), kinazy Src (*Src kinase proto-oncogene*), kinazy ABL (ABL, *Abelson tyrosine-protein kinase*), kinaza ogniskowo-adhezyjna (FAK, *focal adhesion kinase*) oraz kinazy JAK (*Janus family kinase*) [22]. Rodzinę JAK tworzą kinazy JAK1, JAK2, JAK3 oraz TYK2. Część NH2 kinaz JAK zawiera dwa zasadnicze motywy: domenę Src homologiczną (SH2, *Src homology domain*) oraz domenę FERM (*four-point-one, ezrin, radixin, moesin*). Pierwsza z nich jest złożona z regionu JH3 oraz domeny JH4. Domena FERM uczestniczy w wiązaniu kinazy z receptorem, a także z innymi białkami. Uczestniczy również w procesie regulacji aktywności katalitycznej kinazy JAK [23]. Charakterystyczną cechą kinaz z rodziny Janus jest obecność domen o znacznym stopniu homologii — JH1 i JH2 [24]. Domeną funkcjonalną jest domena JH1 zawierająca w obrębie pętli aktywacyjnej motyw YY. Domena JH2 (domena kinazopodobna), strukturalnie podobna do funkcjonalnych kinaz, nie wykazuje mierzalnej aktywności biologicznej, prawdopodobnie wskutek utraty ugrupowań odpowiedzialnych za aktywność katalityczną kinazy i jej wiązanie z nukleotydami [25–27]. Domena JH2 pełni jednak funkcję regulatorową w odniesieniu do aktywności kinazy JAK2 i JAK3 [28–31]. Szczegółowy mechanizm tej interakcji poznano dzięki badaniom zmutowanej formy kinazy JAK2 V617F u chorych na nowotwory mieloproliferacyjne Filadelfia-ujemne (MPNPh–, *myeloproliferative neoplasms Philadelphia-negative*). Wykazano w nich, że obecność mutacji V617F znosi hamujący wpływ domeny JH2 na JH1, czego skutkiem jest stała konstytutywna aktywność kinazy JAK2 V617F w komórkach nowotworowych [32].

Białka STAT

Białka rodziny STAT (*signal transducer and activator of transcription*) są wewnątrzkomórkowymi czynnikami transkrypcyjnymi pośredniczącymi w wielu procesach komórkowych, w tym proliferacji, różnicowaniu, a także programowanej ich śmierci (apoptozie). Białka STAT są jednym z głównych przekaźników sygnału komórkowego w odpowiedzi na działanie na receptory komórkowe różnego rodzaju agonistów, w tym czynników wzrostu, cytokin i innych ligandów białkowych [33].

Wykazano, że niektóre z nich, w tym STAT5, odgrywają kluczową rolę w indukowanej przez

swoiste cytokiny proliferacji, samoodnowie oraz przeżyciu HSC [34, 35]. Okazało się także, że prawidłowa funkcja zarówno JAK1, jak i JAK2 odgrywa kluczową rolę w procesie utrzymania homeostazy komórek HSC. Na modelu eksperymentalnym w warunkach *in vivo* wykazano bowiem, że delecja JAK1 prowadzi do zmian w zakresie samoodnowy HSC oraz zakłóca proces różnicowania komórek zarówno w linii limfo-, jak i mieloidalnej [36]. Do jeszcze większych konsekwencji prowadzi *knock-out* genu JAK2. Jego delecja prowadzi nie tylko do nieefektywnej hematopoezy, ale także do śmierci embrionu [37, 38].

Do rodziny STAT należy siedem białek — STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6. Każde z białek zawiera region N-końcowy (*N-terminal region*), domenę *coiled-coil*, domenę wiążącą DNA (*DNA-binding domain*), linker region, domenę SH2 (*Src homology 2 domain*) oraz C-końcową domenę transaktywującą (*C-terminal transactivation domain*) [39, 40]. Wszystkie białka STAT cechuje wspólna, wysoce konserwatywna sekwencja regionu N-końcowego. W jej obrębie znajduje się hydrofobowy rdzeń, uczestniczący w przyłączaniu dimerów STAT do DNA [41]. Domena *coiled-coil* składa się z około 180 aminokwasów, tworzących cztery α -helisy. Tworzą one hydrofobową powierzchnię umożliwiającą wchodzenie białek STAT w interakcję z innymi białkami [42]. Domena SH2 jest odpowiedzialna za proces łączenia białka STAT z fosfotyrozyną aktywowanej kinazy tyrozynowej JAK [21]. Struktura domeny wiążącej DNA umożliwia łączenie się białek STAT z określonymi sekwencjami DNA, a poprzez to pełnienie przez nie roli czynników transkrypcyjnych. Każde z białek STAT uczestniczy w odmiennych procesach komórkowych. I tak, STAT1 bierze udział w ekspresji genów warunkujących żywotność i przetrwanie komórek, a także w odwiedzi komórek na patogeny, w tym grzyby *Candida sp.* [43, 44]. Z kolei STAT2 uczestniczy w przekazywaniu sygnału przez receptor dla interferonu alfa/beta (IFN- α/β). W odpowiedzi na połączenie się kinazy tyrozynowej JAK z interferonem powstaje heterodimer STAT1–STAT2, z którym łączy się również białko p48 (IRF9, *interferon regulatory factor 9*). Powstały kompleks znany jako ISGF3 (*interferon stimulated gene factor 3*) funkcjonuje jako transaktywator, ponieważ sam nie ma zdolności wiązania się do struktury DNA [45, 46]. Odgrywa kluczową rolę w procesach wzrostu różnicowania komórkowego, apoptozy i migracji komórek, a także procesie metylacji DNA i modyfikacji chromatyny jądrowej [47–49]. Nieco inną rolę pełnią białka STAT4

i *STAT5A* i *B*. Białko *STAT4* uczestniczy w procesie dojrzewania i rozwoju komórek Th1. Odgrywa też ważną rolę w inicjacji syntezy interferonu gamma, a także kontroli ekspresji niektórych czynników transkrypcyjnych [50, 51]. Odmianą funkcję pełnią białka *STAT5A* i *B*, wykazujące 90% homologii w zakresie sekwencji aminokwasowej. Uczestniczą one w kontroli wzrostu i podziału komórek, ich specjalizacji, a w końcowym okresie życia — ich apoptozy [52]. Białko *STAT6* pośredniczy w przekazywaniu sygnału z udziałem interleukiny 4 (*IL-4*, *interleukin 4*) i interleukiny 13 (*IL-13*, *interleukin 13*). Odgrywa istotną rolę w procesie odpowiedzi immunologicznej ze strony limfocytów T i powstawaniu limfocytów T typu 2 (Th2) [53].

Do aktywacji białek *STAT* dochodzi w wyniku fosforylacji pojedynczej tyrozyny w pozycji 701 przez aktywowaną kinazę *JAK* [54]. W wyniku fosforylacji tyrozyny poszczególne cząsteczki białka *STAT* tworzą dimery w wyniku interakcji między domeną SH2 i C-końcową domeną transaktywującą [55]. W przypadku białek *STAT1*, *STAT3*, *STAT4*, *STAT5A*, *STAT5B* są to homodimery. W niektórych przypadkach dochodzi jednak do tworzenia heterodimerów (np. *STAT1* i *STAT2* oraz *STAT1* i *STAT3*) [56].

Fosforylowane homodimery *STAT1* lub heterodimery *STAT1/STAT2* są przemieszczane do jądra przy udziale importyny- $\alpha 5$. Zjawiska tego nie potwierdzono w przypadku monomerów *STAT1*. Dimery *STAT1* wiążą się z dwoma cząsteczkami importyny 5α dzięki obecności bogatych w lizynę fragmentów lokalizujących sygnały jądrowe (NLS, *nuclear localization signals*) w domenie wiążącej DNA. Kluczowa dla transportu białka *STAT1* do jądra komórkowego jest obecność leucyny w pozycji 407 domeny wiążącej DNA. Potwierdzeniem jej roli jest wykazanie braku wiązania *STAT1* z importyną- $\alpha 5$ w przypadkach obecności mutacji Leu407Ala *STAT1* [57, 58]. Transport *STAT3* do jądra jest niezależny od fosforylacji tyrozyn. Postuluje się, że *STAT3* jest transportowany do jądra przy udziale importyny- $\alpha 3$ [59]. Według niektórych badaczy *STAT1* i *STAT3* są przemieszczane do jądra przy udziale importyny $\alpha 5$ i importyny $\alpha 7$, a nie importyny- $\alpha 3$ [60]. Wykazano, że białka *STAT* mogą podlegać recykulacji, powracając do cytoplazmy po ich wcześniejszej defosforylacji przy udziale fosfatazy [61].

W badaniach na modelu *Drosophila* wykazano istnienie nieklasycznej drogi sygnałowej *JAK*–*STAT*. Potwierdzono w nich obecność niefosforylowanych białek *STAT* związanych z białkiem heterochromatyny 1 (HP1, *heterochromatin protein 1*)

w jądrze komórkowym. Aktywacja *STAT* w wyniku fosforylacji skutkuje odłączeniem się *STAT* od HP1, w wyniku czego HP1 odłącza się od heterochromatyny, powodując zaburzenie jej budowy [62]. Niefosforylowane białka *STAT1*, *STAT3*, *STAT5* mogą się także przemieszczać między cytoplazmą a jądrem komórkowym bez udziału białek transportowych i komórkowych procesów przekazywania energii [63]. Niefosforylowane białka *STAT* wpływają na proces transkrypcji genów w sposób odmienny niż ma to miejsce w przypadku fosforylowanych białek *STAT*. Łączą się one ze specyficznymi sekwencjami DNA w postaci monomerów [64]. Postuluje się, że odgrywają one istotną rolę w przekazywaniu sygnału komórkowego inicjującego przez interferon typu 1, transkrypcji i translacji mRNA genów docelowych dla interferonu [65].

Mutacje genu *JAK2*

Mutacja *JAK2* V617F jest najczęściej spotykaną mutacją w MPNPh-. Jej obecność prowadzi do zahamowania procesu autoinhibicji kinazy Janusowej 2 i konstytutywnej aktywacji szlaku sygnałowego *JAK*–*STAT*. Mutacja ta jest obecna w ponad 90% przypadków czerwienicy prawdziwej (PV, *polycythemia vera*), 35–45% przypadków nadpłytkowoci samoistnej (ET, *essential thrombocytosis*) i 35–45% przypadków z pierwotną mielofibrozą (PMF, *primary myelofibrosis*). Ze względu na odmienny obraz i przebieg kliniczny różnych MPN *JAK2* V617F-dodatnich jej rola i znaczenie w patogenezie tej grupy chorób pozostaje od wielu lat przedmiotem badań [66]. Próbą odpowiedzi na to pytanie jest teoria o występowaniu związku między zawartością zmutowanego allelu a przebiegiem procesu chorobowego. Obciążenie nieprawidłowym allelem (VAF, *variant allele fraction*) wyraża średnią zawartość patologicznego wariantu w populacji komórek hematopoetycznych. U większości pacjentów z ET obciążenie nieprawidłowym allelem jest niskie, tj. 25% lub niższe. U chorych na PV zawartość nieprawidłowego allelu najczęściej jest wysoka (50% lub wyższa). Najczęstszym defektem genu kinazy Janusowej 2 jest mutacja *JAK2* V617F będąca wynikiem zmiany sekwencji w pozycji nt1849 G→T w obrębie egzonu 14 genu *JAK2*. Jej obecność prowadzi do zamiany waliny na fenyloalaninę w obrębie sekwencji domeny pseudokinazowej kinazy *JAK2*. Jej wystąpienie prowadzi do zahamowania procesu autoinhibicji kinazy, co skutkuje konstytutywną aktywacją kinazy *JAK2* niezależnie od zmian konformacji receptora w wyniku interakcji z agonistą. Konstytutywna aktywacja *JAK2* skutkuje nadmiernym przekazy-

waniem sygnału szlakiem JAK–STAT z inicjacją procesu transkrypcji genów docelowych uczestniczących w procesie proliferacji i różnicowania prekursorowych komórek mieloidalnych. Obecność *JAK2* V617F potwierdzono w HSC i mieloidalnych komórkach progenitorowych [31, 67–69]. Pojedyncze doniesienia potwierdzają obecność mutacji także w komórkach linii limfoidalnej [70, 71]. Obecność mutacji zakłócających proces autoinhibicji kinazy *JAK2* prowadzi do nadmiernej aktywacji szlaku sygnałowego JAK2–STAT za pośrednictwem licznych receptorów komórkowych, w tym receptora dla erytropoetyny (EPOR, *erythropoietin receptor*), receptora dla czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (G-CSFR, *granulocyte colony-stimulating factor receptor*) i receptora dla trombo-poetyny (MPL, *myeloproliferative leukemia protein*). Wiele danych wskazuje na to, że heterogenność nowotworów mieloproliferacyjnych (MPN, *myeloproliferative neoplasms*), zarówno pod względem manifestacji klinicznej, jak i laboratoryjnej, a także odmienny przebieg kliniczny jest wynikiem współwystępowania innych defektów modyfikujących przebieg choroby w indywidualnych przypadkach. Na manifestację kliniczną choroby wydają się także wpływać kolejność „nabywania” określonych defektów genetycznych przez proliferujące komórki macierzyste szpiku, a także obecność poprzedzających transformację defektów typu *germline* [72, 73].

Istotną rolę w patogenezie MPNPh– odgrywają również mutacje egzonu 12 genu *JAK2*. Ich obecność także prowadzi do zakłócenia procesu autoinhibicji kinazy *JAK2*. Większość defektów powoduje substytucje aminokwasowe w obrębie pozycji 536–547. W odróżnieniu od mutacji *JAK2* V617F ich występowanie opisano tylko u pacjentów z PV (ok. 3%). Z tego powodu badanie w kierunku ich występowania powinno być ograniczone do chorych spełniających kryteria PV, którzy są *JAK2* V617F-ujemni [74] i sporadycznie u chorych na pierwotne zwłóknienie szpiku [75]. U pacjentów z obecną mutacją w obrębie egzonu 12 genu *JAK2* liczba leukocytów i płytek krwi jest niższa niż u pacjentów z obecną mutacją *JAK2* V617F. Sugeruje to, że u chorych na PV obecność mutacji w obrębie egzonu 12 prowadzi do nasilenia proliferacji jedynie prekursorów erytroidalnych. Mechanizm tego zjawiska nie jest znany [76].

Defekty genetyczne z udziałem *JAK2* a nowotwory limfoproliferacyjne

Jednym z przejawów transformacji nowotworowej komórek limfocytów u chorych na chłoniaki

nie-Hodgkina jest obecność mutacji genów białek ścieżki sygnałowej JAK–STAT. Co ciekawe, ich występowanie jest typowe dla chłoniaków wywodzących się z limfocytów T. I tak, u chorych na chłoniaki skórne T-komórkowe opisano wiele aberracji genetycznych z udziałem genów *JAK1*, *JAK3*, *STAT3* i *STAT5B* istotnie zmieniających przekazywanie sygnału komórkowego ścieżką JAK–STAT. Należą do nich zarówno autoaktywujące mutacje punktowe, jak i geny fuzji z udziałem kinaz Janus. Jak dotąd, potwierdzono występowanie mutacji *JAK1*, *JAK2* oraz *JAK3* u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*). U dorosłych chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną z komórek T (T-ALL, *T-cell acute lymphoblastic leukemia*) ich częstość określono na 16% [77].

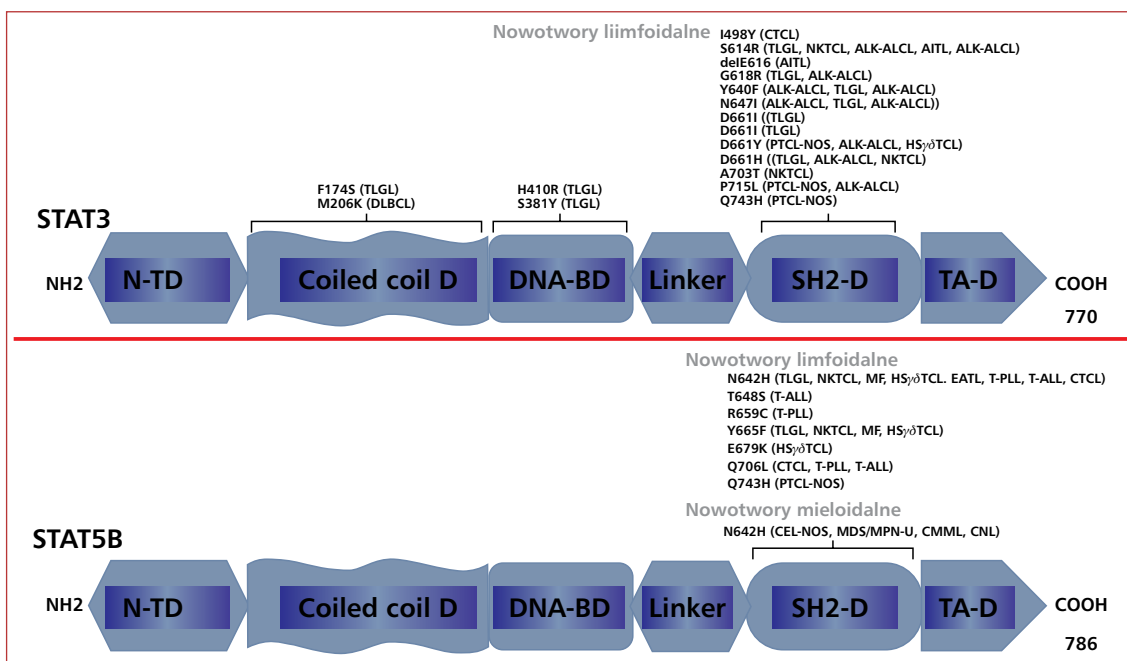
Obecność mutacji genu *JAK1* potwierdzono w sporadycznych przypadkach, najczęściej u osób z obecnymi defektami *JAK3* lub *IL-7R*. Co ciekawe, mutacje te miały charakter heterozygotyczny i dotyczyły obszarów kodujących domeny FERM, SH2, pseudokinazową i domenę kinazową [77].

Innym typowym przykładem pierwszej grupy zaburzeń są mutacje genu kinazy Janus 2 prowadzące do zmian aminokwasowych w pozycji R683 (R683S, R683G oraz R683E). Ich obecność prowadzi do zmniejszenia stabilności białka *JAK2* przy jednoczesnym znacznym wzroście aktywności kinazowej [78].

Typowym przykładem defektu fuzyjnego jest opisana w przypadku CD4-pozytywnego chłoniaka T-komórkowego t(9;13;16)(p24;q34;p11) prowadząca do powstania genu fuzji *ATXN2L-JAK2* i chimerycznego białka ATXN2L-JAK2 odpowiedzialnego za konstytutywne przekazywanie sygnału *downstream* ścieżką JAK–STAT [79]. Innym przykładem zmian wpływających na przekazywanie sygnału komórkowego ścieżką JAK–STAT jest potwierdzenie obecności genu fuzji *STAT3-JAK2* będącej wynikiem t(9;17)(p24.1;q21.2) u 4 z 5 chorych z CD4-pozytywną chorobą limfoproliferacyjną przewodu pokarmowego (GI TLPD, *indolent T-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract*) [80].

Mutacje genów *STAT*

Obecność mutacji genów kodujących białka z rodziny *STAT* może prowadzić do utraty ich funkcji (*loss of function*) lub też jej trwania niezależnie od wpływu mechanizmów regulujących (*gain of function*). Jak dotąd, obecność mutacji *STAT* potwierdzono głównie u chorych na schorzenia limfoproliferacyjne. Najczęściej dotyczą sekwencji



Rycina 4. Najczęstsza lokalizacja mutacji genów *STAT3* i *STAT5B* u chorych na nowotwory limfoidalne i mieloidalne (na podstawie [81–84]); N-TD (NH2 terminal domain) — domena terminalna NH2; coiled-coil D (domain) — domena *coiled-coil*; DNA-BD (DNA binding domain) — domena wiążąca DNA; SH2-D (*Scr* homology domain 2) — domena 2 homologii *Scr*; TAD (*transactivation domain*) — domena transaktywacyjna; TLGL (*T-cell large granular lymphocytic leukemia*) — białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T; CTCL (*cutaneous T-cell lymphoma*) — chłoniak skórny T-komórkowy; NKTCCL (*natural killer/T-cell lymphoma*) — chłoniak z komórek NK/T; ALK-ALCL (*ALK-negative anaplastic large cell lymphoma*) — chłoniak z dużych komórek anaplastycznych ALK-; HS γ TCL (*hepatosplenic T-cell lymphoma γ*) — chłoniak wątrobowo-śledzionowy z komórek T γ ; PTCL-NOS (*peripheral T-cell lymphoma, not otherwise classified*) — chłoniak z obwodowych komórek T, gdzie indziej niesklasyfikowany; MF (*mycosis fungoides*) — ziarniak grzybiasty; EATL (*enteropathy-associated T-cell lymphoma*) — enteropatyczny chłoniak z komórek T; T-PLL (*T-cell prolymphocytic leukaemia*) — białaczka prolifocytowa T-komórkowa; T-ALL (*T-cell acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna z komórek T; DLBCL (*diffuse large B-cell lymphoma*) — chłoniak rozlany z dużych limfocytów B; CEL-NOS (*chronic eosinophilic leukaemia not otherwise specified*) — przewlekła białaczka eozynofilowa, bliżej nieokreślona; MDS/MPN-U (*myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms unclassified*) — nowotwory mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne niesklasyfikowane; CMML (*chronic myelomonocytic leukemia*) — przewlekła białaczka mielomonocytowa; CNL (*chronic neutrophilic leukemia*) — przewlekła białaczka neutrofilowa

kodujących domeny SH2 genów *STAT3* i *STAT5* i mają charakter *gain of function*. W pojedynczych przypadkach potwierdzono obecność mutacji wymienionych genów w obrębie domeny wiążącej DNA oraz domeny *coiled-coil*. Ich szczegółowe zestawienie przedstawiono na rycinie 4 [81–84]. Najczęstszym z wymienionych defektów jest mutacja *STAT5B* N642H. Jej obecność potwierdzono w chłoniaku z obwodowych limfocytów T (PTCL, *peripheral T-cell lymphoma*) [82, 83–85]. Obecność defektu stabilizuje utworzony dimer STAT, co prowadzi do wzrostu liczby ufosforylowanych tyrozyn i hiperaktywacji *STAT5B* [86]. Powodem rozpoczęciem badań nad rolą defektów białek STAT

w onkogenezie było wykazanie konstytutywnej aktywności *STAT1*, *STAT3* oraz *STAT5* w komórkach ostrych białaczek szpikowych [87, 88]. Okazało się także, że konstytutywna aktywacja *STAT1* odgrywa kluczową rolę w promowaniu wzrostu komórek białaczkowych, a *STAT5* w różnicowaniu mieloidnym i limfoidalnym komórek białaczkowych [89]. W tym ostatnim przypadku obecności mutacji *STAT5A* prowadzi do powstawania i komórkowej akumulacji stabilnego tetramery w konsekwencji rozwoju białaczki wieloliniowej [90]. Kluczową rolę w tym procesie wydają się odgrywać Ser725 oraz Ser 779, będące miejscami fosforylacji białka *STAT5A* [91]. Podobną rolę w procesie transformacji limfocy-

tów B wydaje się odgrywać N-końcowy fragment STAT5A/B [92]. Według aktualnych poglądów STAT5A i STAT5B działają jako protoonkogeny, uczestnicząc w procesach regulacji proliferacji i przeżycia HSC [93, 94]. Białka STAT5A i STAT5B promują transkrypcję wielu genów antyapoptotycznych (*MCL-1*, *BCL-2*, *BCL-XL*), cyklin typu D (D1, D2 i D3), łańcuchów białek receptorowych oraz cytokin [93, 95–97].

Należy pamiętać jednak, że aktywacja STAT5A/B może być także wynikiem nadmiernej aktywności zmutowanych kinaz tyrozynowych *upstream*, w tym: JAK2 V617F, BCR-ABL, FLT3-ITD, KIT D816V [98].

Mutacje genów *STAT* w nowotworach limfoproliferacyjnych

W przypadku genu *STAT3* opisane defekty prowadzą do zwiększenia aktywności białka (*gain of function*). Obecność mutacji *STAT3* potwierdzono w białaczce z dużych ziarnistych limfocytów T (T-LGL, *T-cell large granular lymphocytic leukemia*), przewlekłej chorobie limfoproliferacyjnej z komórek NK (CLPD-NK, *chronic NK lymphoproliferative disorder*) oraz chłoniaku anaplastycznym ALK(-) (ALK- ALCL, *anaplastic lymphoma kinase negative anaplastic large cell lymphoma*) [99, 100]. Białka STAT5A i B uczestniczą w aktywacji transkrypcji genów antyapoptotycznych. Nadekspresja STAT5A/B może się przyczynić do zakłócenia naturalnych mechanizmów programowanej śmierci komórki [81]. Postuluje się, że mutacje *STAT5* mogą być samodzielnie odpowiedzialne za transformację nowotworową komórek dotkniętych defektem [93, 100, 101]. Defekty molekularne o charakterze autoaktywującym dotyczą zdecydowanie częściej genu *STAT5B* niż *STAT5A*. Przyczyna tego zjawiska pozostaje nieznana. Większość z nich jest zlokalizowana w obrębie sekwencji kodującej domenę SH2 STAT5B. Ich obecność prowadzi do stabilizacji formy dimerowej białek STAT [102]. Obecność defektów STAT5B potwierdzono w nowotworach z komórek NK/limfocytów T [86], a także w różnych postaciach chłoniaków z obwodowych komórek T [103]. W jednej z ostatnich opublikowanych prac dotyczących mutacji typu *driver* potwierdzono kluczowe znaczenie mutacji *STAT6* także u chorych na chłoniaki B-komórkowe. Ich występowanie potwierdzono, stosując zintegrowaną analizę całogenomową [104]. Udokumentowano także występowanie mutacji genów *STAT3*, *STAT5B*, *JAK1*, *JAK2*

i *PTPN1* u chorych na klasyczną postać ziarnicy złośliwej wpływających na przekazywanie sygnału komórkowego ścieżką JAK-STAT. Szczególne znaczenie w tym zakresie wydają się mieć mutacje genu kodującego białko STAT6 obecne u około 1/3 chorych, powiązanego czynnościowo z supresorem przekazywania sygnału przez cytokiny 1 (SOCS1, *suppressor of cytokine signalling 1*) — głównym inhibitorem przekazywania sygnału ścieżką JAK-STAT [105].

Defekty z udziałem genów *STAT* w nowotworach mieloproliferacyjnych

W ostatnich latach przedstawiono dane potwierdzające potencjalne znaczenie obecności mutacji genów *STAT* także w patogenezie MPN. Wydaje się to mieć istotne znaczenie w lepszym zrozumieniu przyczyn aktywacji szlaku JAK-STAT u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (CML, *chronic myelogenous leukemia*) oraz MPNPh-. W pierwszym przypadku nadmierna aktywacja ścieżki JAK-STAT jest rezultatem głównie konstytutywnej aktywacji kinazy tyrozynowej BCR-ABL. W przypadku MPNPh- nadekspresja STAT wynika z obecności mutacji genów *JAK2* znoszących proces autoinhibicji kinazy, mutacji genu *MPN* odpowiedzialnych za autoaktywację receptora dla trombopoetyny czy też mutacji genu *CALR* prowadzących do zmiany lokalizacji białka kalretikuliny (*CALR*, *calreticulin*) i tworzeniem autoaktywującego receptoru MPL kompleksu białkowego. Ostatnio opisano jednak występowanie mutacji *STAT5B* N642H w MPN przebiegających z eozynofilią (przewlekła białaczka eozynofilowa, inaczej nieokreślona [CEL-NOS, *chronic eosinophilic leukemia not otherwise specified*]), zespół hipereozynofilowy). Obecność wymienionej mutacji potwierdzono także u pacjentów z nowotworem mielodysplastycznym/mieloproliferacyjnym niesklasyfikowanym (MDS/MPN-U, *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms unclassified*), atypową postacią przewlekłej białaczki szpikowej (aCML, *atypic chronic myelogenous leukemia*) oraz przewlekłą białaczką mielomonocytową (CMML, *chronic myelomonocytic leukemia*) [82]. W żadnym z opisanych przypadków defekt ten nie był obecny w linii limfocytów T, co potwierdza somatyczny, nabyty charakter anomalii. Występowanie mutacji *STAT5B* N642H potwierdzono także u chorego na przewlekłą białaczkę neutrofilową przebiegającą z progresywnie narastającą leukocytozą oraz ciężkimi powikłaniami infekcyjnymi. W opisanym przypadku jej występowaniu towarzyszyła obecność defektów *CSF3R* T618I, *ASXL1* G942 fs [85].

Inne defekty genowe odpowiedzialne za zakłócenie procesów przekazywania sygnału ścieżką *JAK*–*STAT* u chorych na nowotwory limfo- i mieloproliferacyjne

Mutacje receptora *IL-7 α*

Większość z opisanych defektów genu kodującego podjednostkę *IL-7 α* dla *IL-7* ma charakter mutacji autoaktywujących. Ich występowanie potwierdzono u około 19% chorych z T-ALL i 2–3% pacjentów z prekursorową postacią ostrej białaczki limfoblastycznej z komórek B (B-ALL, *B-cell acute lymphoblastic leukemia*) [106–111].

Mutacje receptora *CRLF2*

Jednym z opisanych defektów genu *CRLF2* jest mutacja Phe232Cys typu *gain-of-function*. Jej obecność prowadzi do dimeryzacji receptora i niezależnej od cytokin proliferacji komórek obarczonych defektem [112, 113].

Mutacje genu kalretikuliny

Po raz pierwszy występowanie mutacji w obrębie *CALR* niezależnie potwierdzili Nangalia i wsp. [114] oraz Klampf i wsp. [115] w 2013 roku. Kalretikulina to białko o funkcji plejotropowej, o wielkości 46 kDa. Komórkową lokalizacją *CALR* jest retikulum endoplazmatyczne (ER, *endoplasmic reticulum*). Jego obecność potwierdzono także w cytozolu i w jądrze komórkowym. Główna funkcja biologiczna *CALR* to wiązanie jonów wapnia w siateczce endoplazmatycznej komórek mięśniowych, w której pełni również rolę regulatorową w procesie skurczu mięśni [116]. Do innych funkcji *CALR* należą regulacja procesów zależnej od jonów wapnia sygnalizacji komórkowej, przewodnictwa elektrycznego, różnicowania i podziału komórek, a także procesów adhezji i apoptozy. Na strukturę *CALR* składają się trzy domeny: N-końcowa domena globularna, domena bogata w prolinę (domena P) oraz silnie naładowana ujemnie domena C-końcowa. W procesie wiązania się białka z jonami wapnia biorą głównie udział domena wiążąca prolinę oraz domena C-końcowa. Natomiast domena N-końcowa razem z domeną bogatą w prolinę pełni funkcje chaperonowe dzięki bliskiemu położeniu umożliwiającemu interakcję z glikozylowanymi i nieglikozylowanymi białkami [117]. Odpowiadają one za kontrolę jakości fałdowania większości produkowanych białek w świetle ER. Zakłócenie tego procesu może mieć istotne znaczenie w patogenezie MPNPh-. Specyficzna sekwencja aminokwasowa KDEL, obecna w obrębie domeny C-końcowej,

odpowiada za prawidłową lokalizację białka *CALR* w świetle ER (retencję białka dzięki prawidłowej sekwencji domeny lokalizacyjnej) [118, 119].

Częstość występowania defektów genu *CALR* u pacjentów z ET wynosi 25%, a u chorych na PMF — 35% [115]. Mutacje genu *CALR* u chorych na MPNPh- mają charakter insercji lub delecji zlokalizowanych w obrębie egzonu 9 genu *CALR*, pod koniec sekwencji kodującej od strony 3'. Ich wystąpienie prowadzi do zmiany ramki odczytu w obrębie 3'-końcowej kodonów o –1 lub +2. Skutkiem zmian genetycznych jest zastąpienie znajdującego się na C-końcowym fragmencie białka motywu KDEL (sygnału retencji ER) inną, zmutowaną sekwencją aminokwasową [114, 115]. Dwa najczęstsze typy defektów molekularnych genu *CALR* to 52-nukleotydowa delecja (del52, mutacja typu I) oraz 5-nukleotydowa insercja (ins5, mutacja typu II) [66]. Obecność mutacji genu *CALR*, podobnie jak defektów genów *JAK2* i *MPL*, prowadzi do transformacji nowotworowej komórki macierzystej szpiku i jej nadmiernej proliferacji w wyniku aktywacji szlaku *JAK*–*STAT*. Do tej pory nie przedstawiono precyzyjnego mechanizmu nieprawidłowej aktywacji szlaku *JAK*–*STAT* w tych przypadkach. Zgodnie z jedną z hipotez zakłada się tworzenie kompleksu białko *CALRmut*–*MPL* już w obrębie ER z następowym umieszczeniem kompleksu w błonie komórkowej komórek prekursorowych już w formie z pierwotnie aktywowanym receptorem *MPL* [120]. Proponowany mechanizm aktywacji szlaku *JAK*–*STAT* znalazł potwierdzenie laboratoryjne. W badaniach tych wykazano aktywujące właściwości zmutowanego białka *CALR* w odniesieniu do *MPL* przypominające działanie naturalnego agonisty. Udowodniono, że aktywność białka *CALRmut* zależy od *MPL*, jako że zarówno aktywacja *STAT5* indukowana przez oba mutanty *CALR*, jak i cytokinozależny wzrost komórek Ba/F3 wymagają obecności *MPL* [121]. Przedstawione mechanizmy interakcji *MPL*–*CALR* tłumaczą, dlaczego mutacje genu *CALR* prowadzą do wystąpienia objawów chorobowych jedynie u pacjentów z ET oraz PMF. Fenomen ten jest wynikiem możliwości wystąpienia opisanych interakcji jedynie w komórkach progenitorowych linii megakariocytarnej z ekspresją *MPL*.

Mutacje genu receptora dla trombopoetyny (*MPL*)

W warunkach fizjologicznych *MPL* odgrywa kluczową rolę w regulacji procesu megakariopoezy pośredniczonego poprzez trombopoetynę. Zależna

od TPO aktywność *MPL*, w mechanizmie sprzężenia zwrotnego umożliwia utrzymanie stałej puli komórek progenitorowych megakariopoezy [122, 123]. Znaczenie prawidłowego funkcjonowania interakcji *MPL*–*TPO* potwierdzają obserwacje kliniczne poczynione u chorych z małopłytkowością lub/i niewydolnością szpiku kostnego w wyniku obecności defektów *TPO* lub *MPL* [124, 125]. W hematopoetycznych komórkach macierzystych i komórkach linii płytkotwórczej *MPL* ulega ekspresji. Nie jest on niezbędny do rozwoju innych linii komórkowych [126].

Białko *MPL* należy do klasy I rodziny receptorów integrynowych. Jego ligandem jest trombopoetyna [127, 128]. Białko to jest zbudowane z trzech domen. Domena zewnątrzkomórkowa składa się z dwóch receptorów cytokinowych. Każdy z nich posiada dwie domeny podobne do fibronektyny III [129]. Domena zewnątrzkomórkowa odpowiada za wiązanie trombopoetyny. Domena transbłonowa jest niezbędna do zakotwiczenia receptora w błonie. Z kolei rolą domeny wewnątrzkomórkowej jest przekazywanie sygnałów przez kinazy *JAK2*. Domena ta zawiera dwa motywy (*box motifs*), odpowiadające za wiązanie kinaz tyrozynowych *JAK*. Białko *MPL* występuje na powierzchni komórki jako monomer lub niestabilny dimer [128, 129].

Obecność mutacji genu *MPL*, kodującego receptor dla trombopoetyny, potwierdzono w 5% przypadków pierwotnego zwiłknienia szpiku i w 1% przypadków ET. Ich obecność, podobnie jak w przypadku mutacji *JAK2* V617F, prowadzi do niezależnej od cytokin aktywacji ścieżki *JAK*–*STAT*. Najczęściej występującymi mutacjami genu *MPL* u chorych na *MPNPh*– są te zlokalizowane w obrębie hotspota W515L/R. W pojedynczych przypadkach opisano także obecność innych mutacji, w tym W515A/G [130]. Większość z opisanych defektów genu *MPL* zidentyfikowano w obrębie egzonu 10 kodującego domenę przezbłonową receptora [131]. Ich obecność prowadzi do konstytutywnej aktywacji receptora bez udziału agonisty, a tym samym ścieżki sygnałowej receptor dla trombopoetyny–*JAK*–*STAT* [132, 133]. Znaczenie obecności defektów zlokalizowanych w pozycji 505 u chorych na *MPNPh*– jest obecnie przedmiotem oceny. Ich występowanie opisano w przypadkach zarówno rodzinnej, jak i nowotworowej nadpłytkowości [132].

Terapia celowana molekularnie a mutacje genów *JAK* oraz *STAT*

Zastosowanie inhibitorów kinazy Janus 2 (ruksolitynib, fedratynib) w terapii *MPNPh*– jest

standardem leczenia chorób z tej grupy. Co ciekawe, efekt terapeutyczny w postaci zmniejszenia nasilenia objawów cytokinowych i splenomegalii jest uzyskiwany niezależnie od obecności mutacji kinazy Janusowej 2. Fenomen ten tłumaczy się hamowaniem niezależnie od obecności defektu kinazy Janus 2 nadmiernej aktywacji ścieżki sygnałowej *JAK*–*STAT* u chorych na *MPNPh*–.

Doświadczenia w zakresie stosowania inhibitorów *JAK* są na wczesnym etapie badań klinicznych. W trwającym badaniu klinicznym 2 fazy (*CELTIC-1*, NCT0402108) u chorych z nawrotowym opornym chłoniakiem z obwodowych komórek T (*PTCL*, *peripheral T-cell lymphoma*) całkowity odsetek odpowiedzi oceniono na 38% [134]. Na podobnym etapie 2A badań jest cerdulatynib — kompetytywny inhibitor kinaz z rodzin *SYK* i *JAK*. W ocenie 38 chorych z opornym *PTCL* i 22 pacjentów z chłoniakiem skórnym T-komórkowym (*CTCL*, *cutaneous T-cell lymphoma*) odsetek odpowiedzi na leczenie oceniono na 35% [135]. Innym lekiem ocenianym także w ramach badań klinicznych 2 fazy (NCT 03598959) u chorych na chłoniaki pozawęzłowe z komórek *NK/T* (*ENKTCL*, *extranodal natural killer/T-cell lymphoma*) jest tofacytynib (inhibitor *JAK3*) [136]. Częstoczką o potencjalnym zastosowaniu w terapii chłoniaków z komórek *NK/T* jest selektywny inhibitor *JAK3* określony akronimem *PRN371*. Wykazuje on silną aktywność inhibitorową wobec *JAK3* poprzez związanie z Cys909 w obrębie miejsca wiążącego trifosforan adenyzy (*ATP*, *adenosine triphosphate*) [137]. Na wstępnym etapie są także badania eksperymentalne służące ocenie wpływu inhibitorów *JAK*–*STAT* na komórki linii chłoniaków T-komórkowych γ/δ [138].

Podsumowanie

Obecność defektów genetycznych w obrębie genów kodujących składowe szlaku sygnałowego *JAK*–*STAT* jest jednym z podstawowych mechanizmów prowadzących do transformacji nowotworowych komórek prekursorowych limfocyty i mielopoezy. Obecnie ocena obecności mutacji genu *JAK2* jest standardem diagnostyki *MPN*. Być może ocena występowania mutacji innych genów *JAK* oraz *STAT* stanie się najbliższym czasie także standardem oceny nowotworów limfocyty i mieloproliferacyjnych, a potwierdzenie ich obecności wymogiem (kryterium) rozpoznania określonej ich postaci. Wykazanie obecności mutacji w obrębie genów *JAK* lub *STAT* prawdopodobnie w najbliższej przyszłości zmieni także podejście terapeutyczne w nowotworowych limfocyty i mieloproliferacyjnych,

z coraz szerszym zastosowaniem inhibitorów kinaz z rodziny Janus oraz białek STAT.

Podziękowania

Pracę zrealizowano w ramach przedmiotu „Wprowadzenie do badań naukowych” w trakcie studiów stacjonarnych na II roku Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w roku akademickim 2019/2020.

Konflikt interesów

Brak.

Finansowanie

Brak.

Piśmiennictwo

- Ceredig R, Rolink AG, Brown G. Models of haematopoiesis: seeing the wood for the trees. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9(4): 293–300, doi: [10.1038/nri2525](https://doi.org/10.1038/nri2525), indexed in Pubmed: [19282853](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19282853/).
- Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature.* 2003; 425(6960): 841–846, doi: [10.1038/nature02040](https://doi.org/10.1038/nature02040), indexed in Pubmed: [14574413](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14574413/).
- Méndez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature.* 2010; 466(7308): 829–834, doi: [10.1038/nature09262](https://doi.org/10.1038/nature09262), indexed in Pubmed: [20703299](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20703299/).
- Sugiyama T, Kohara H, Noda M, et al. Maintenance of the haematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity.* 2006; 25(6): 977–988, doi: [10.1016/j.immuni.2006.10.016](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.10.016), indexed in Pubmed: [17174120](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17174120/).
- Wang LD, Wagers AJ. Dynamic niches in the origination and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011; 12(10): 643–655, doi: [10.1038/nrm3184](https://doi.org/10.1038/nrm3184), indexed in Pubmed: [21886187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21886187/).
- Cedar H, Bergman Y. Epigenetics of haematopoietic cell development. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11(7): 478–488, doi: [10.1038/nri2991](https://doi.org/10.1038/nri2991), indexed in Pubmed: [21660052](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21660052/).
- Rosenbauer F, Tenen DG. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(2): 105–117, doi: [10.1038/nri2024](https://doi.org/10.1038/nri2024), indexed in Pubmed: [17259967](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17259967/).
- Ramírez J, Lukin K, Hagman J. From haematopoietic progenitors to B cells: mechanisms of lineage restriction and commitment. *Curr Opin Immunol.* 2010; 22(2): 177–184, doi: [10.1016/j.coi.2010.02.003](https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.02.003), indexed in Pubmed: [20207529](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20207529/).
- Mazzucchelli R, Durum SK. Interleukin-7 receptor expression: intelligent design. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(2): 144–154, doi: [10.1038/nri2023](https://doi.org/10.1038/nri2023), indexed in Pubmed: [17259970](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17259970/).
- Barata JT, Silva A, Brandao JG, et al. Activation of PI3K is indispensable for interleukin 7-mediated viability, proliferation, glucose use, and growth of T cell acute lymphoblastic leukemia cells. *J Exp Med.* 2004; 200(5): 659–669, doi: [10.1084/jem.20040789](https://doi.org/10.1084/jem.20040789), indexed in Pubmed: [15353558](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15353558/).
- Canté-Barrett K, Spijkers-Hagelstein JAP, Buijs-Gladdines JG, et al. MEK and PI3K-AKT inhibitors synergistically block activated IL7 receptor signaling in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2016; 30(9): 1832–1843, doi: [10.1038/leu.2016.83](https://doi.org/10.1038/leu.2016.83), indexed in Pubmed: [27174491](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27174491/).
- Lodewijckx I, Cools J. Deregulation of the interleukin-7 signaling pathway in lymphoid malignancies. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021; 14(5), doi: [10.3390/ph14050443](https://doi.org/10.3390/ph14050443), indexed in Pubmed: [34066732](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34066732/).
- Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood.* 2008; 111(2): 485–491, doi: [10.1182/blood-2007-03-079681](https://doi.org/10.1182/blood-2007-03-079681), indexed in Pubmed: [18182579](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18182579/).
- Morris R, Kershaw NJ, Babon JJ. The molecular details of cytokine signaling via the JAK/STAT pathway. *Protein Sci.* 2018; 27(12): 1984–2009, doi: [10.1002/pro.3519](https://doi.org/10.1002/pro.3519), indexed in Pubmed: [30267440](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30267440/).
- Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood.* 2002; 100(5): 1532–1542, doi: [10.1182/blood-2002-02-0492](https://doi.org/10.1182/blood-2002-02-0492), indexed in Pubmed: [12176867](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12176867/).
- Broudy VC, Lin NL, Kaminski WE, et al. Isolation and characterization of a monoclonal antibody that recognizes the human c-kit receptor. *Blood.* 1992; 79(2): 338–346, indexed in Pubmed: [1370384](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1370384/).
- Rönstrand L. Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. *Cell Mol Life Sci.* 2004; 61(19–20): 2535–2548, doi: [10.1007/s00018-004-4189-6](https://doi.org/10.1007/s00018-004-4189-6), indexed in Pubmed: [15526160](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15526160/).
- Baker SJ, Rane SG, Reddy EP. Hematopoietic cytokine receptor signaling. *Oncogene.* 2007; 26(47): 6724–6737, doi: [10.1038/sj.onc.1210757](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210757), indexed in Pubmed: [17934481](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17934481/).
- Jatiani SS, Baker SJ, Silverman LR, et al. Jak/STAT pathways in cytokine signaling and myeloproliferative disorders: approaches for targeted therapies. *Genes Cancer.* 2010; 1(10): 979–993, doi: [10.1177/1947601910397187](https://doi.org/10.1177/1947601910397187), indexed in Pubmed: [21442038](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21442038/).
- Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem.* 2007; 282(28): 20059–20063, doi: [10.1074/jbc.R700016200](https://doi.org/10.1074/jbc.R700016200), indexed in Pubmed: [17502367](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17502367/).
- Khawaja A. The role of Janus kinases in haemopoiesis and haematological malignancy. *Br J Haematol.* 2006; 134(4): 366–384, doi: [10.1111/j.1365-2141.2006.06206.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06206.x), indexed in Pubmed: [16822289](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16822289/).
- Okay M, Haznedaroglu IC. Protein kinases in hematological disorders. *Adv Exp Med Biol.* 2021; 1275: 383–393, doi: [10.1007/978-3-030-49844-3_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-49844-3_15), indexed in Pubmed: [33539024](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33539024/).
- Funakoshi-Tago M, Tago K, Kasahara T, et al. Negative regulation of Jak2 by its auto-phosphorylation at tyrosine 913 via the Epo signaling pathway. *Cell Signal.* 2008; 20(11): 1995–2001, doi: [10.1016/j.cellsig.2008.07.008](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2008.07.008), indexed in Pubmed: [18682290](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18682290/).
- Wilks AF, Harpur AG, Kurban RR, et al. Two novel protein-tyrosine kinases, each with a second phosphotransferase-related catalytic domain, define a new class of protein kinase. *Mol Cell Biol.* 1991; 11(4): 2057–2065, doi: [10.1128/mcb.11.4.2057-2065.1991](https://doi.org/10.1128/mcb.11.4.2057-2065.1991), indexed in Pubmed: [1848670](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1848670/).
- Feng J, Witthuhn BA, Matsuda T, et al. Activation of Jak2 catalytic activity requires phosphorylation of Y1007 in the kinase activation loop. *Mol Cell Biol.* 1997; 17(5): 2497–2501, doi: [10.1128/MCB.17.5.2497](https://doi.org/10.1128/MCB.17.5.2497), indexed in Pubmed: [9111318](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9111318/).
- Liu KD, Gaffen SL, Goldsmith MA, et al. Janus kinases in interleukin-2-mediated signaling: JAK1 and JAK3 are differentially regulated by tyrosine phosphorylation. *Curr Biol.* 1997; 7(11): 817–826, doi: [10.1016/s0960-9822\(06\)00369-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(06)00369-1), indexed in Pubmed: [9382798](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9382798/).
- Saharinen P, Takaluoma K, Silvennoinen O. Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudokinase domain. *Mol Cell Biol.* 2000;

- 20(10): 3387–3395, doi: [10.1128/MCB.20.10.3387-3395.2000](https://doi.org/10.1128/MCB.20.10.3387-3395.2000), indexed in Pubmed: [10779328](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10779328/).
28. Lindauer K, Loerting T, Liedl KR, et al. Prediction of the structure of human Janus kinase 2 (JAK2) comprising the two carboxy-terminal domains reveals a mechanism for autoregulation. *Protein Eng.* 2001; 14(1): 27–37, doi: [10.1093/protein/14.1.27](https://doi.org/10.1093/protein/14.1.27), indexed in Pubmed: [11287676](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11287676/).
 29. Saharinen P, Silvennoinen O. The pseudokinase domain is required for suppression of basal activity of Jak2 and Jak3 tyrosine kinases and for cytokine-inducible activation of signal transduction. *J Biol Chem.* 2002; 277(49): 47954–47963, doi: [10.1074/jbc.M205156200](https://doi.org/10.1074/jbc.M205156200), indexed in Pubmed: [12351625](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12351625/).
 30. Saharinen P, Vihinen M, Silvennoinen O. Autoinhibition of Jak2 tyrosine kinase is dependent on specific regions in its pseudokinase domain. *Mol Biol Cell.* 2003; 14(4): 1448–1459, doi: [10.1091/mbc.e02-06-0342](https://doi.org/10.1091/mbc.e02-06-0342), indexed in Pubmed: [12686600](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12686600/).
 31. Xu P, Shen P, Yu B, et al. Janus kinases (JAKs): the efficient therapeutic targets for autoimmune diseases and myeloproliferative disorders. *Eur J Med Chem.* 2020; 192: 112155, doi: [10.1016/j.ejmech.2020.112155](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112155), indexed in Pubmed: [32120325](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32120325/).
 32. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med.* 2005; 352(17): 1779–1790, doi: [10.1056/NEJMoa051113](https://doi.org/10.1056/NEJMoa051113), indexed in Pubmed: [15858187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15858187/).
 33. Fasouli ES, Katsantoni E. JAK-STAT in early hematopoiesis and leukemia. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 669363, doi: [10.3389/fcell.2021.669363](https://doi.org/10.3389/fcell.2021.669363), indexed in Pubmed: [34055801](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34055801/).
 34. Bousoik E, Montazeri Aliabadi H. “Do we know Jack” About JAK? A closer look at JAK/STAT signaling pathway. *Front Oncol.* 2018; 8: 287, doi: [10.3389/fonc.2018.00287](https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00287), indexed in Pubmed: [30109213](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30109213/).
 35. Wang Z, Bunting KD. STAT5 in hematopoietic stem cell biology and transplantation. *JAKSTAT.* 2013; 2(4): e27159, doi: [10.4161/jkst.27159](https://doi.org/10.4161/jkst.27159), indexed in Pubmed: [24498540](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24498540/).
 36. Kleppe M, Spitzer MH, Li S, et al. Jak1 integrates cytokine sensing to regulate hematopoietic stem cell function and stress hematopoiesis. *Cell Stem Cell.* 2017; 21(4): 489–501.e7, doi: [10.1016/j.stem.2017.08.011](https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.08.011), indexed in Pubmed: [28965767](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28965767/).
 37. Neubauer H, Cumano A, Müller M, et al. Jak2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. *Cell.* 1998; 93(3): 397–409, doi: [10.1016/S0092-8674\(00\)81168-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81168-X), indexed in Pubmed: [9590174](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9590174/).
 38. Parganas E, Wang D, Stravopodis D, et al. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. *Cell.* 1998; 93(3): 385–395, doi: [10.1016/S0092-8674\(00\)81167-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81167-8), indexed in Pubmed: [9590173](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9590173/).
 39. Aaronson DS, Horvath CM. A road map for those who don't know JAK-STAT. *Science.* 2002; 296(5573): 1653–1655, doi: [10.1126/science.1071545](https://doi.org/10.1126/science.1071545), indexed in Pubmed: [12040185](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12040185/).
 40. Copeland NG, Gilbert DJ, Schindler C, et al. Distribution of the mammalian Stat gene family in mouse chromosomes. *Genomics.* 1995; 29(1): 225–228, doi: [10.1006/geno.1995.1235](https://doi.org/10.1006/geno.1995.1235), indexed in Pubmed: [8530075](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8530075/).
 41. Vinkemeier U, Moarefi I, Darnell JE, et al. Structure of the amino-terminal protein interaction domain of STAT-4. *Science.* 1998; 279(5353): 1048–1052, doi: [10.1126/science.279.5353.1048](https://doi.org/10.1126/science.279.5353.1048), indexed in Pubmed: [9461439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9461439/).
 42. Chen X, Vinkemeier U, Zhao Y, et al. Crystal structure of a tyrosine phosphorylated STAT-1 dimer bound to DNA. *Cell.* 1998; 93(5): 827–839, doi: [10.1016/S0092-8674\(00\)81443-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81443-9), indexed in Pubmed: [9630226](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9630226/).
 43. Lee CK, Smith E, Gimeno R, et al. STAT1 affects lymphocyte survival and proliferation partially independent of its role downstream of IFN-gamma. *J Immunol.* 2000; 164(3): 1286–1292, doi: [10.4049/jimmunol.164.3.1286](https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.3.1286), indexed in Pubmed: [10640742](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10640742/).
 44. Boisson-Dupuis S, Kong XF, Okada S, et al. Inborn errors of human STAT1: allelic heterogeneity governs the diversity of immunological and infectious phenotypes. *Curr Opin Immunol.* 2012; 24(4): 364–378, doi: [10.1016/j.coi.2012.04.011](https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.04.011), indexed in Pubmed: [22651901](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22651901/).
 45. Bhattacharya S, Eckner R, Grossman S, et al. Cooperation of Stat2 and p300/CBP in signalling induced by interferon-alpha. *Nature.* 1996; 383(6598): 344–347, doi: [10.1038/383344a0](https://doi.org/10.1038/383344a0), indexed in Pubmed: [8848048](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8848048/).
 46. Dasgupta M, Dermawan JK, Willard B, et al. STAT3-driven transcription depends upon the dimethylation of K49 by EZH2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015; 112(13): 3985–3990, doi: [10.1073/pnas.1503152112](https://doi.org/10.1073/pnas.1503152112), indexed in Pubmed: [25767098](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25767098/).
 47. Ma X, Nakayamada S, Kubo S, et al. Expansion of T follicular helper-T helper 1 like cells through epigenetic regulation by signal transducer and activator of transcription factors. *Ann Rheum Dis.* 2018; 77(9): 1354–1361, doi: [10.1136/annrheumdis-2017-212652](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-212652), indexed in Pubmed: [29853448](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29853448/).
 48. Kane A, Deenick EK, Ma CS, et al. STAT3 is a central regulator of lymphocyte differentiation and function. *Curr Opin Immunol.* 2014; 28: 49–57, doi: [10.1016/j.coi.2014.01.015](https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.015), indexed in Pubmed: [24594518](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24594518/).
 49. Teng TS, Lin B, Manser Ed, et al. Stat3 promotes directional cell migration by regulating Rac1 activity via its activator betaPIX. *J Cell Sci.* 2009; 122(Pt 22): 4150–4159, doi: [10.1242/jcs.057109](https://doi.org/10.1242/jcs.057109), indexed in Pubmed: [19861492](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19861492/).
 50. Agnello D, Lankford CSR, Bream J, et al. Cytokines and transcription factors that regulate T helper cell differentiation: new players and new insights. *J Clin Immunol.* 2003; 23(3): 147–161, doi: [10.1023/a:1023381027062](https://doi.org/10.1023/a:1023381027062), indexed in Pubmed: [12797537](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12797537/).
 51. Kaplan MH. STAT4: a critical regulator of inflammation in vivo. *Immunol Res.* 2005; 31(3): 231–242, doi: [10.1385/IR.31:3:231](https://doi.org/10.1385/IR.31:3:231), indexed in Pubmed: [15888914](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15888914/).
 52. Nosaka T, Kawashima T, Misawa K, et al. STAT5 as a molecular regulator of proliferation, differentiation and apoptosis in hematopoietic cells. *EMBO J.* 1999; 18(17): 4754–4765, doi: [10.1093/emboj/18.17.4754](https://doi.org/10.1093/emboj/18.17.4754), indexed in Pubmed: [10469654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10469654/).
 53. Karpathiou G, Papoudou-Bai A, Ferrand E, et al. STAT6: a review of a signaling pathway implicated in various diseases with a special emphasis in its usefulness in pathology. *Pathol Res Pract.* 2021; 223: 153477, doi: [10.1016/j.prp.2021.153477](https://doi.org/10.1016/j.prp.2021.153477), indexed in Pubmed: [33991851](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33991851/).
 54. Shuai K, Stark GR, Kerr IM, et al. A single phosphotyrosine residue of Stat91 required for gene activation by interferon-gamma. *Science.* 1993; 261(5129): 1744–1746, doi: [10.1126/science.7690989](https://doi.org/10.1126/science.7690989), indexed in Pubmed: [7690989](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7690989/).
 55. Ihle JN, Ihle JN, Nosaka T, et al. The Janus protein tyrosine kinase family and its role in cytokine signaling. *Adv Immunol.* 1995; 60(2): 1–35, doi: [10.1016/S0065-2776\(08\)60582-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60582-9), indexed in Pubmed: [8607368](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8607368/).
 56. Levy DE, Darnell JE. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3(9): 651–662, doi: [10.1038/nrm909](https://doi.org/10.1038/nrm909), indexed in Pubmed: [12209125](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12209125/).
 57. Fagerlund R, Mélen K, Kinnunen L, et al. Arginine/lysine-rich nuclear localization signals mediate interactions between dimeric STATs and importin alpha 5. *J Biol Chem.* 2002; 277(33): 30072–30078, doi: [10.1074/jbc.M202943200](https://doi.org/10.1074/jbc.M202943200), indexed in Pubmed: [12048190](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12048190/).

58. McBride KM, Banninger G, McDonald C, et al. Regulated nuclear import of the STAT1 transcription factor by direct binding of importin-alpha. *EMBO J.* 2002; 21(7): 1754–1763, doi: [10.1093/emboj/21.7.1754](https://doi.org/10.1093/emboj/21.7.1754), indexed in Pubmed: [11927559](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11927559/).
59. Liu L, McBride KM, Reich NC. STAT3 nuclear import is independent of tyrosine phosphorylation and mediated by importin-alpha3. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102(23): 8150–8155, doi: [10.1073/pnas.0501643102](https://doi.org/10.1073/pnas.0501643102), indexed in Pubmed: [15919823](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15919823/).
60. Ma J, Cao X. Regulation of Stat3 nuclear import by importin alpha5 and importin alpha7 via two different functional sequence elements. *Cell Signal.* 2006; 18(8): 1117–1126, doi: [10.1016/j.cellsig.2005.06.016](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2005.06.016), indexed in Pubmed: [16298512](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16298512/).
61. Haspel RL, Darnell JE. A nuclear protein tyrosine phosphatase is required for the inactivation of Stat1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96(18): 10188–10193, doi: [10.1073/pnas.96.18.10188](https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10188), indexed in Pubmed: [10468584](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10468584/).
62. Shi S, Larson K, Guo D, et al. Drosophila STAT is required for directly maintaining HP1 localization and heterochromatin stability. *Nat Cell Biol.* 2008; 10(4): 489–496, doi: [10.1038/ncb1713](https://doi.org/10.1038/ncb1713), indexed in Pubmed: [18344984](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18344984/).
63. Vinkemeier U. Getting the message across, STAT! Design principles of a molecular signaling circuit. *J Cell Biol.* 2004; 167(2): 197–201, doi: [10.1083/jcb.200407163](https://doi.org/10.1083/jcb.200407163), indexed in Pubmed: [15504906](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15504906/).
64. Yang J, Stark GR. Roles of unphosphorylated STATs in signaling. *Cell Res.* 2008; 18(4): 443–451, doi: [10.1038/cr.2008.41](https://doi.org/10.1038/cr.2008.41), indexed in Pubmed: [18364677](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18364677/).
65. Mazewski C, Perez RE, Fish EN, et al. Type I interferon (IFN)-regulated activation of canonical and non-canonical signaling pathways. *Front Immunol.* 2020; 11: 606456, doi: [10.3389/fimmu.2020.606456](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.606456), indexed in Pubmed: [33329603](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33329603/).
66. Jia R, Kralovics R. Progress in elucidation of molecular pathophysiology of myeloproliferative neoplasms and its application to therapeutic decisions. *Int J Hematol.* 2020; 111(2): 182–191, doi: [10.1007/s12185-019-02778-9](https://doi.org/10.1007/s12185-019-02778-9), indexed in Pubmed: [31741139](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31741139/).
67. James C, Ugo V, Couédic JPL, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature.* 2005; 434(7037): 1144–1148, doi: [10.1038/nature03546](https://doi.org/10.1038/nature03546).
68. Baxter E, Scott L, Campbell P, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet.* 2005; 365(9464): 1054–1061, doi: [10.1016/s0140-6736\(05\)71142-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)71142-9).
69. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell.* 2005; 7(4): 387–397, doi: [10.1016/j.ccr.2005.03.023](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.03.023), indexed in Pubmed: [15837627](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15837627/).
70. Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C, et al. Evidence that the JAK2 G1849T (V617F) mutation occurs in a lymphomyeloid progenitor in polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Blood.* 2007; 109(1): 71–77, doi: [10.1182/blood-2006-03-007146](https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-007146), indexed in Pubmed: [16954506](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16954506/).
71. Ishii T, Bruno E, Hoffman R, et al. Involvement of various hematopoietic-cell lineages by the JAK2V617F mutation in polycythemia vera. *Blood.* 2006; 108(9): 3128–3134, doi: [10.1182/blood-2006-04-017392](https://doi.org/10.1182/blood-2006-04-017392), indexed in Pubmed: [16757685](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16757685/).
72. O'Sullivan J, Mead AJ. Heterogeneity in myeloproliferative neoplasms: causes and consequences. *Adv Biol Regul.* 2019; 71: 55–68, doi: [10.1016/j.jbior.2018.11.007](https://doi.org/10.1016/j.jbior.2018.11.007), indexed in Pubmed: [30528537](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30528537/).
73. Ortmann CA, Kent D, Nangalia J, et al. Effect of mutation order on myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2015; 372(7): 601–612, doi: [10.1056/nejmoa1412098](https://doi.org/10.1056/nejmoa1412098).
74. Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med.* 2007; 356(5): 459–468, doi: [10.1056/NEJMoa065202](https://doi.org/10.1056/NEJMoa065202), indexed in Pubmed: [17267906](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17267906/).
75. Maddali M, Kulkarni UP, Ravindra N, et al. JAK2 exon 12 mutations in cases with JAK2V617F-negative polycythemia vera and primary myelofibrosis. *Ann Hematol.* 2020; 99(5): 983–989, doi: [10.1007/s00277-020-04004-7](https://doi.org/10.1007/s00277-020-04004-7), indexed in Pubmed: [32277273](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32277273/).
76. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood.* 2011; 117(10): 2813–2816, doi: [10.1182/blood-2010-11-316810](https://doi.org/10.1182/blood-2010-11-316810), indexed in Pubmed: [21224469](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21224469/).
77. Flex E, Petrangeli V, Stella L, et al. Somatic acquired JAK1 mutations in adult acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Med.* 2008; 205(4): 751–758, doi: [10.1084/jem.20072182](https://doi.org/10.1084/jem.20072182), indexed in Pubmed: [18362173](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18362173/).
78. Li F, Guo HY, Wang M, et al. The effects of R683S (G) genetic mutations on the JAK2 activity, structure and stability. *Int J Biol Macromol.* 2013; 60: 186–195, doi: [10.1016/j.jbiomac.2013.05.029](https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2013.05.029), indexed in Pubmed: [23748007](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23748007/).
79. Panagopoulos I, Gorunova L, Spetalen S, et al. FFusion of the genes ataxin 2 like, ATXN2L, and Janus kinase 2, JAK2, in cutaneous CD4 positive T-cell lymphoma. *Oncotarget.* 2017; 8(61): 103775–103784, doi: [10.18632/oncotarget.21790](https://doi.org/10.18632/oncotarget.21790), indexed in Pubmed: [29262599](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29262599/).
80. Sharma A, Oishi N, Boddicker RL, et al. Recurrent fusions in indolent T-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract. *Blood.* 2018; 131(20): 2262–2266, doi: [10.1182/blood-2018-01-830968](https://doi.org/10.1182/blood-2018-01-830968), indexed in Pubmed: [29592893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29592893/).
81. Ariyoshi K, Nosaka T, Yamada K, et al. Constitutive activation of STAT5 by a point mutation in the SH2 domain. *J Biol Chem.* 2000; 275(32): 24407–24413, doi: [10.1074/jbc.M909771199](https://doi.org/10.1074/jbc.M909771199), indexed in Pubmed: [10823841](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10823841/).
82. Cross NCP, Hoade Y, Tapper WJ, et al. Recurrent activating STAT5B N642H mutation in myeloid neoplasms with eosinophilia. *Leukemia.* 2019; 33(2): 415–425, doi: [10.1038/s41375-018-0342-3](https://doi.org/10.1038/s41375-018-0342-3), indexed in Pubmed: [30573779](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30573779/).
83. McKinney M, Moffitt AB, Gaulard P, et al. The genetic basis of hepatosplenic T-cell lymphoma. *Cancer Discov.* 2017; 7(4): 369–379, doi: [10.1158/2159-8290.CD-16-0330](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0330), indexed in Pubmed: [28122867](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28122867/).
84. Pham HaT, Hengstschläger M, Morigg R. A haunted beast: targeting STAT5B in T-cell neoplasia. *Mol Cell Oncol.* 2018; 5(3): e1435181, doi: [10.1080/23723556.2018.1435181](https://doi.org/10.1080/23723556.2018.1435181), indexed in Pubmed: [29876519](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29876519/).
85. Luo Q, Shen J, Yang Y, et al. CSF3R T618I, ASXL1 G942 fs and STAT5B N642H trimutation co-contribute to a rare chronic neutrophilic leukaemia manifested by rapidly progressive leucocytosis, severe infections, persistent fever and deep venous thrombosis. *Br J Haematol.* 2018; 180(6): 892–894, doi: [10.1111/bjh.14456](https://doi.org/10.1111/bjh.14456), indexed in Pubmed: [27984641](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27984641/).
86. de Araujo ED, Erdogan F, Neubauer HA, et al. Structural and functional consequences of the STAT5B driver mutation. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2517, doi: [10.1038/s41467-019-10422-7](https://doi.org/10.1038/s41467-019-10422-7), indexed in Pubmed: [31175292](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31175292/).
87. Gouilleux-Gruart V, Debierre-Grockiego F, Gouilleux F, et al. Activated Stat related transcription factors in acute leukemia. *Leuk Lymphoma.* 1997; 28(1-2): 83–88, doi: [10.3109/10428199709058334](https://doi.org/10.3109/10428199709058334), indexed in Pubmed: [9498707](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9498707/).
88. Gouilleux-Gruart V, Gouilleux F, Desaint C, et al. STAT-related transcription factors are constitutively activated in peripheral

- blood cells from acute leukemia patients. *Blood*. 1996; 87(5): 1692–1697, indexed in Pubmed: [8634413](#).
89. Kovacic B, Stoiber D, Moriggl R, et al. STAT1 acts as a tumor promoter for leukemia development. *Cancer Cell*. 2006; 10(1): 77–87, doi: [10.1016/j.ccr.2006.05.025](#), indexed in Pubmed: [16843267](#).
 90. Moriggl R, Sexl V, Kenner L, et al. Stat5 tetramer formation is associated with leukemogenesis. *Cancer Cell*. 2005; 7(1): 87–99, doi: [10.1016/j.ccr.2004.12.010](#), indexed in Pubmed: [15652752](#).
 91. Friedbichler K, Kerenyi MA, Kovacic B, et al. Stat5a serine 725 and 779 phosphorylation is a prerequisite for hematopoietic transformation. *Blood*. 2010; 116(9): 1548–1558, doi: [10.1182/blood-2009-12-258913](#), indexed in Pubmed: [20508164](#).
 92. Hoelbl A, Kovacic B, Kerenyi MA, et al. Clarifying the role of Stat5 in lymphoid development and Abelson-induced transformation. *Blood*. 2006; 107(12): 4898–4906, doi: [10.1182/blood-2005-09-3596](#), indexed in Pubmed: [16493008](#).
 93. Ferbeyre G, Moriggl R. The role of Stat5 transcription factors as tumor suppressors or oncogenes. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1815(1): 104–114, doi: [10.1016/j.bbcan.2010.10.004](#), indexed in Pubmed: [20969928](#).
 94. Yu H, Jove R. The STATs of cancer — new molecular targets come of age. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4(2): 97–105, doi: [10.1038/nrc1275](#), indexed in Pubmed: [14964307](#).
 95. Li G, Miskimen KL, Wang Z, et al. STAT5 requires the N-domain for suppression of miR15/16, induction of bcl-2, and survival signaling in myeloproliferative disease. *Blood*. 2010; 115(7): 1416–1424, doi: [10.1182/blood-2009-07-234963](#), indexed in Pubmed: [20008792](#).
 96. Sonkin D, Palmer M, Rong X, et al. The identification and characterization of a STAT5 gene signature in hematologic malignancies. *Cancer Biomark*. 2015; 15(1): 79–87, doi: [10.3233/CBM-140434](#), indexed in Pubmed: [25524945](#).
 97. Dagvadorj A, Kirken RA, Leiby B, et al. Transcription factor signal transducer and activator of transcription 5 promotes growth of human prostate cancer cells in vivo. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(5): 1317–1324, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-07-2024](#), indexed in Pubmed: [18316550](#).
 98. Brachet-Botineau M, Polomski M, Neubauer HA, et al. Pharmacological Inhibition of Oncogenic STAT3 and STAT5 Signaling in Hematopoietic Cancers. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(1), doi: [10.3390/cancers12010240](#), indexed in Pubmed: [31963765](#).
 99. Shahmarvand N, Nagy A, Shahryari J, et al. Mutations in the signal transducer and activator of transcription family of genes in cancer. *Cancer Sci*. 2018; 109(4): 926–933, doi: [10.1111/cas.13525](#), indexed in Pubmed: [29417693](#).
 100. Heppler LN, Frank DA. Rare mutations provide unique insight into oncogenic potential of STAT transcription factors. *J Clin Invest*. 2018; 128(1): 113–115, doi: [10.1172/JCI98619](#), indexed in Pubmed: [29199995](#).
 101. Tran VT, Phan TT, Mac HP, et al. The diagnostic power of CD117, CD13, CD56, CD64, and MPO in rapid screening acute promyelocytic leukemia. *BMC Res Notes*. 2020; 13(1): 394, doi: [10.1186/s13104-020-05235-7](#), indexed in Pubmed: [32847610](#).
 102. Maurer B, Kollmann S, Pickem J, et al. STAT5A and STAT5B-twins with different personalities in hematopoiesis and leukemia. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(11), doi: [10.3390/cancers11111726](#), indexed in Pubmed: [31690038](#).
 103. Pham HaT, Maurer B, Prchal-Murphy M, et al. STAT5BN642H is a driver mutation for T cell neoplasia. *J Clin Invest*. 2018; 128(1): 387–401, doi: [10.1172/JCI94509](#), indexed in Pubmed: [29200404](#).
 104. Mosquera Orgueira A, Ferreira Ferro R, Díaz Arias JÁ, et al. Detection of new drivers of frequent B-cell lymphoid neoplasms using an integrated analysis of whole genomes. *PLoS One*. 2021; 16(5): e0248886, doi: [10.1371/journal.pone.0248886](#), indexed in Pubmed: [33945543](#).
 105. Tiacci E, Ladewig E, Schiavoni G, et al. Pervasive mutations of JAK-STAT pathway genes in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2018; 131(22): 2454–2465, doi: [10.1182/blood-2017-11-814913](#), indexed in Pubmed: [29650799](#).
 106. Zenatti PP, Ribeiro D, Li W, et al. Oncogenic IL7R gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2011; 43(10): 932–939, doi: [10.1038/ng.924](#), indexed in Pubmed: [21892159](#).
 107. Shochat C, Tal N, Bandapalli OR, et al. Gain-of-function mutations in interleukin-7 receptor- α (IL7R) in childhood acute lymphoblastic leukemias. *J Exp Med*. 2011; 208(5): 901–908, doi: [10.1084/jem.20110580](#), indexed in Pubmed: [21536738](#).
 108. Zhang J, Ding Li, Holmfeldt L, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2012; 481(7380): 157–163, doi: [10.1038/nature10725](#), indexed in Pubmed: [22237106](#).
 109. Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2014; 371(11): 1005–1015, doi: [10.1056/NEJMoa1403088](#), indexed in Pubmed: [25207766](#).
 110. Roberts KG, Morin RD, Zhang J, et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2012; 22(2): 153–166, doi: [10.1016/j.ccr.2012.06.005](#), indexed in Pubmed: [22897847](#).
 111. Roberts KG, Yang YL, Payne-Turner D, et al. Oncogenic role and therapeutic targeting of ABL-class and JAK-STAT activating kinase alterations in Ph-like ALL. *Blood Adv*. 2017; 1(20): 1657–1671, doi: [10.1182/bloodadvances.2017011296](#), indexed in Pubmed: [29296813](#).
 112. Yoda A, Yoda Y, Chiaretti S, et al. Functional screening identifies CRLF2 in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(1): 252–257, doi: [10.1073/pnas.0911726107](#), indexed in Pubmed: [20018760](#).
 113. Lu X, Gross AW, Lodish HF. Active conformation of the erythropoietin receptor: random and cysteine-scanning mutagenesis of the extracellular juxtamembrane and transmembrane domains. *J Biol Chem*. 2006; 281(11): 7002–7011, doi: [10.1074/jbc.M512638200](#), indexed in Pubmed: [16414957](#).
 114. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013; 369(25): 2391–2405, doi: [10.1056/NEJMoa1312542](#), indexed in Pubmed: [24325359](#).
 115. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013; 369(25): 2379–2390, doi: [10.1056/NEJMoa1311347](#), indexed in Pubmed: [24325356](#).
 116. Michalak M, Corbett EF, Mesaeli N, et al. Calreticulin: one protein, one gene, many functions. *Biochem J*. 1999; 344 Pt 2: 281–292, indexed in Pubmed: [10567207](#).
 117. Wijeyesakere SJ, Rizvi SM, Raghavan M. Glycan-dependent and -independent interactions contribute to cellular substrate recruitment by calreticulin. *J Biol Chem*. 2013; 288(49): 35104–35116, doi: [10.1074/jbc.M113.507921](#), indexed in Pubmed: [24100026](#).
 118. Araki M, Yang Y, Masubuchi N, et al. Activation of the thrombopoietin receptor by mutant calreticulin in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2016; 127(10): 1307–1316, doi: [10.1182/blood-2015-09-671172](#), indexed in Pubmed: [26817954](#).
 119. Elf S, Abdelfattah NS, Chen E, et al. Mutant calreticulin requires both its mutant C-terminus and the thrombopoietin receptor for

- oncogenic transformation. *Cancer Discov.* 2016; 6(4): 368–381, doi: [10.1158/2159-8290.CD-15-1434](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1434), indexed in Pubmed: [26951227](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26951227/).
120. Edahiro Y, Araki M, Komatsu N. Mechanism underlying the development of myeloproliferative neoplasms through mutant calreticulin. *Cancer Sci.* 2020; 111(8): 2682–2688, doi: [10.1111/cas.14503](https://doi.org/10.1111/cas.14503), indexed in Pubmed: [32462673](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32462673/).
 121. Chachoua I, Pecquet C, El-Khoury M, et al. Calreticulin mutants in mice induce an MPL-dependent thrombocytosis with frequent progression to myelofibrosis. *Blood.* 2016; 127(10): 1317–1324, doi: [10.1182/blood-2015-11-679571](https://doi.org/10.1182/blood-2015-11-679571), indexed in Pubmed: [26608331](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26608331/).
 122. de Graaf CA, Metcalf D. Thrombopoietin and hematopoietic stem cells. *Cell Cycle.* 2011; 10(10): 1582–1589, doi: [10.4161/cc.10.10.15619](https://doi.org/10.4161/cc.10.10.15619), indexed in Pubmed: [21478671](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21478671/).
 123. Qian H, Buza-Vidas N, Hyland CD, et al. Critical role of thrombopoietin in maintaining adult quiescent hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell.* 2007; 1(6): 671–684, doi: [10.1016/j.stem.2007.10.008](https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.10.008), indexed in Pubmed: [18371408](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18371408/).
 124. Ballmaier M, Germeshausen M. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Semin Thromb Hemost.* 2011; 37(6): 673–681, doi: [10.1055/s-0031-1291377](https://doi.org/10.1055/s-0031-1291377), indexed in Pubmed: [22102270](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22102270/).
 125. Seo A, Ben-Harosh M, Sirin M, et al. Bone marrow failure unresponsive to bone marrow transplant is caused by mutations in thrombopoietin. *Blood.* 2017; 130(7): 875–880, doi: [10.1182/blood-2017-02-768036](https://doi.org/10.1182/blood-2017-02-768036), indexed in Pubmed: [28559357](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28559357/).
 126. Gurney AL, Carver-Moore K, de Sauvage FJ, et al. Thrombocytopenia in c-mpl-deficient mice. *Science.* 1994; 265(5177): 1445–1447, doi: [10.1126/science.8073287](https://doi.org/10.1126/science.8073287), indexed in Pubmed: [8073287](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8073287/).
 127. Hitchcock IS, Kaushansky K. Thrombopoietin from beginning to end. *Br J Haematol.* 2014; 165(2): 259–268, doi: [10.1111/bjh.12772](https://doi.org/10.1111/bjh.12772), indexed in Pubmed: [24499199](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24499199/).
 128. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest.* 2005; 115(12): 3339–3347, doi: [10.1172/JCI26674](https://doi.org/10.1172/JCI26674), indexed in Pubmed: [16322778](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16322778/).
 129. Varghese LN, Defour JP, Pecquet C, et al. The thrombopoietin receptor: structural basis of traffic and activation by ligand, mutations, agonists, and mutated calreticulin. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017; 8: 59, doi: [10.3389/fendo.2017.00059](https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00059), indexed in Pubmed: [28408900](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28408900/).
 130. Pecquet C, Staerk J, Chaligné R, et al. Induction of myeloproliferative disorder and myelofibrosis by thrombopoietin receptor W515 mutants is mediated by cytosolic tyrosine 112 of the receptor. *Blood.* 2010; 115(5): 1037–1048, doi: [10.1182/blood-2008-10-183558](https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-183558), indexed in Pubmed: [19996410](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19996410/).
 131. Vainchenker W, Plo I, Marty C, et al. The role of the thrombopoietin receptor MPL in myeloproliferative neoplasms: recent findings and potential therapeutic applications. *Expert Rev Hematol.* 2019; 12(6): 437–448, doi: [10.1080/17474086.2019.1617129](https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1617129), indexed in Pubmed: [31092065](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31092065/).
 132. Ding J, Komatsu H, Wakita A, et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood.* 2004; 103(11): 4198–4200, doi: [10.1182/blood-2003-10-3471](https://doi.org/10.1182/blood-2003-10-3471), indexed in Pubmed: [14764528](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14764528/).
 133. Abe M, Suzuki K, Inagaki O, et al. A novel MPL point mutation resulting in thrombopoietin-independent activation. *Leukemia.* 2002; 16(8): 1500–1506, doi: [10.1038/sj.leu.2402554](https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402554), indexed in Pubmed: [12145691](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12145691/).
 134. Moskowitz AJ, Jacobsen E, Ruan J, et al. Durable responses observed with JAK inhibition in T-cell lymphomas. *Blood.* 2018; 132(Suppl 1): 2922–2922, doi: [10.1182/blood-2018-99-112123](https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-112123).
 135. Horwitz SM, Feldman T, Hess B, et al. The novel SYK/JAK inhibitor cerdulatinib demonstrates good tolerability and clinical response in a phase 2a study in relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma and cutaneous T-cell lymphoma. *Blood.* 2018; 132(Supplement 1): 1001–1001, doi: [10.1182/blood-2018-99-119944](https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-119944).
 136. Lv K, Li X, Yu H, et al. Selection of new immunotherapy targets for NK/T cell lymphoma. *Am J Transl Res.* 2020; 12(11): 7034–7047, indexed in Pubmed: [33312349](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33312349/).
 137. Nairismägi M-L, Gerritsen ME, Li ZM, et al. Oncogenic activation of JAK3-STAT signaling confers clinical sensitivity to PRN371, a novel selective and potent JAK3 inhibitor, in natural killer/T-cell lymphoma. *Leukemia.* 2018; 32(5): 1147–1156, doi: [10.1038/s41375-017-0004-x](https://doi.org/10.1038/s41375-017-0004-x), indexed in Pubmed: [29434279](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29434279/).
 138. Iqbal J, Amador C, McKeithan TW, et al. Molecular and genomic landscape of peripheral T-cell lymphoma. *Cancer Treat Res.* 2019; 176: 31–68, doi: [10.1007/978-3-319-99716-2_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-99716-2_2), indexed in Pubmed: [30596212](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30596212/).