

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

- are useful tools for diagnosis of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2004;103:2427.
28. Gisslinger H, Heimpel H, Kees M et al. Neutrophil mRNA overexpression in chronic idiopathic myelofibrosis may be associated with poor prognosis. *Blood* 2004;104:4762 part 2.
 29. Andreasson B, Harrison C, Lindstedt G et al. Monoclonal myelopoiesis and subnormal erythropoietin concentration are independent risk factors for thromboembolic complications in essential thrombocythemia. *Blood* 2003;101:783-4.
 30. Johansson P, Andreasson B, Safai-Kutti S et al. The presence of a significant association between elevated PRV-1 mRNA expression and low plasma erythropoietin concentration in essential thrombocythemia. *Eur J Haematol* 2003;70:358-62.31. Shih LY, Lin TL, Lai CL et al. Predictive values of X-chromosome inactivation patterns and clinicohematologic parameters for vascular complications in essential thrombocythemia. *Blood* 2002;100:1596-601.
 31. Vannucchi A, Grossi A, Pancrazzi A et al. PRV-1, erythroid colonies and platelet Mpl are unrelated to thrombosis in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 2004;107:214-9.
 32. Fruehauf S, Topaly J, Villalobos M et al. Quantitative real-time polymerase chain reaction shows that treatment with interferon reduces the initially upregulated PRV-1 expression in polycythemia vera patients. *Haematologica* 2003;88:349-51.
 33. Johansson P, Ricksten A, Wasslavik C et al. The effects of hydroxyurea on PRV-1 expression in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Haematologica* 2004;89:1264-6.
 34. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O et al. A phase II trial of pegylated interferon-alfa-2b in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Clinical responses, effects on PRV-1 expression and impact on quality of life. ASH 2004 abstract no 1518.
 35. Klippel S, Goerttler PS, Pahl H. Quantification of PRV-1 mRNA in unfractured blood leukocytes can lead to false negative results. *Blood* 2004;103:2429.
 36. Jelinek J, Jedlickova K, Guan Y et al. Instability of PRV-1 mRNA: a factor to be considered in PRV-1 quantification for the diagnosis of polycythemia vera. *Haematologica* 2004;89:749-51.
 37. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995;332:1132-6.
 38. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G et al for the United Kingdom Medical Research Council. Primary Thrombocythemia 1 Study. *N Engl J Med* 2005;353:33-45.
 39. Goerttler PS, Steimle C, Marz E et al. The Jak2V617F mutation, PRV-1 overexpression and EEC formation define a similar cohort of MPD patients. *Blood* 2005;106:2862-4.

Nye molekulære markører ved de kroniske myeloproliferative sygdomme

II. Janus tyrosinkinase 2- mutationen

Læge Thomas Stauffer Larsen,
ledende molekylærbiolog Niels Pallisgaard,
læge Jacob Haaber Christensen, overlæge Paul Gram-Hansen,
overlæge Gitte B. Kerndrup, afdelingslæge Michael Boe Møller &
professor Hans Carl Hasselbalch

Odense Universitetshospital, Patologisk Institut og Hæmatologisk Afdeling X

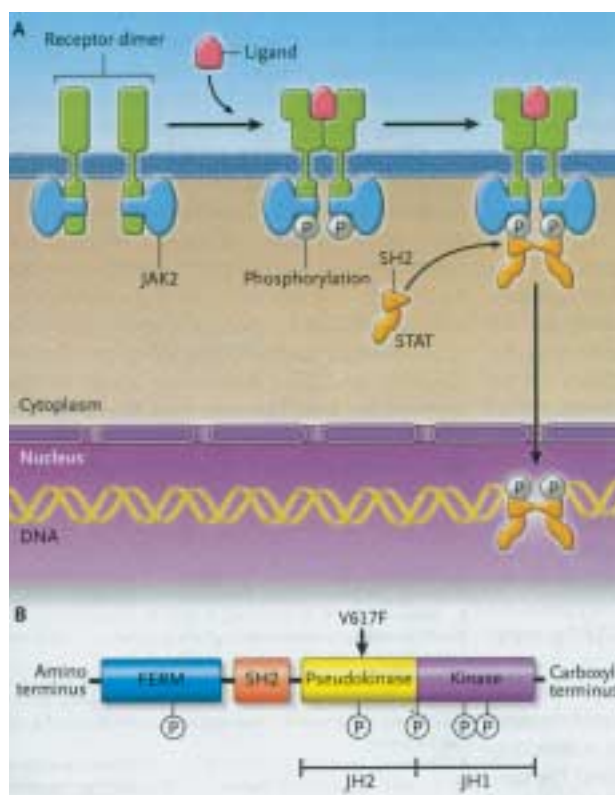
Resume

De Philadelphia-negative, kroniske, myeloproliferative sygdomme er karakteriseret ved autonom myeloid proliferation og abnorm følsomhed over for en række vækstfaktorer, som er betinget af en netop identificeret guanin til thymidin-mutation i *Janus tyrosinkinase 2 (JAK2)*-genet. *JAK2* aktiveres især af de hæmatopoietiske vækstfaktorer og har derfor særlig betydning for hæmatopoiesen. *JAK2*-mutationen medfører, at phenylalanin substitueres med valin i aminosyrepositionen 617 (V617F-mutation) og er til stede hos de fleste patienter med polycythæmia vera og hos ca. 50% af patienterne med essentiel trombocytose og idiopatisk myelofibrose. Med baggrund i en beskrivelse af *JAK2*-mutationen inden for denne sygdomsgruppe præsenteres nye perspektiver for klassifikation, diagnostik og behandling af disse sygdomme.

I 1951 publicerede *Dameshek* under overskriften: Some Speculations on The Myeloproliferative Syndromes konceptet, at polycythæmia vera (PV), essentiel trombocytose (ET), idiopatisk myelofibrose (IMF), kronisk myeloid leukæmi (CML) og erytroleukæmi var nært beslægtede, og foreslog således, at de blev samlet under betegnelsen de myeloproliferative syndromer [1]. Erytroleukæmi er siden blevet klassificeret som en subtype af akut myeloid leukæmi, og CML er cytogenetisk og molekylærbiologisk karakteriseret ved identifikationen af t(9;22)(q34;q11) (Philadelphia-kromosomet) og fusionsproteinet BCR-ABL, som med sin øgede tyrosinkinaseaktivitet sørger for den abnorme proliferation og akkumulation af myeloide celler i knoglemarv, milt og lever [2].

Ca. 50 år senere er *Damesheks* koncept blevet bekræftet molekylærbiologisk ved identifikationen af en mutation i *Janus kinase 2 (JAK2)*-genet, som i marts og april 2005 blev beskrevet inden for samme uge af en engelsk [3] og en fransk forskergruppe [4] og de følgende uger af andre [5-9].

Med baggrund i en beskrivelse af *JAK2*-mutationen inden for denne sygdomsgruppe præsenteres i denne artikel nye perspektiver for klassifikation, diagnostik og behandling af disse sygdomme.



Figur 1. A. Janus tyrosinkinaser i cytokinsignaltransduktionen. B. Janus tyrosinkinase 2's struktur [12].

JAK2 = Janus tyrosinkinase 2; STAT = *signal transducer and activator of transcription*; SH2 = SRC-homology 2-domæne; JH1 = JAK homology 1-domæne; JH2 = JAK-homology 2-domæne; FERM = 4.1(f)-ezrin-radixin-moesin-domæne; P = fosfatgruppe som udtryk for fosforylering.

© 2005 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.
Translated with permission 2006.

Janus kinase 2

JAK2 tilhører den såkaldte Janus kinase-familie, som også består af JAK1, JAK3 og tyrosinkinase 2 [10]. Disse JAK-proteiner fungerer som »broer« mellem cellemembranreceptorerne og de intracellulære signalproteiner. Overførsel af signaler fra cellemembranreceptorer, aktiveret ved binding til signalprotein i blodet (ligand), til cellekernen foregår via et komplekst samspil mellem forskellige signalmolekyler i cellens signaltransduktionsveje. Janus-kinaserne er intracellulære proteiner, som er koblet til den cytoplasmatiske region af cellens membranreceptorer. Når cytokiner eller vækstfaktorer bindes til receptorerne på cellens overflade bliver JAK-proteinerne fosforyleret og således aktiveret. Dette medfører, at andre signalproteiner (*signal transducer and activator of transcription* (STAT)) phosphoryleres og aktiveres i signaltransduktionsvejen (JAK-STAT) og ultimativt bringes ind i cellekernen, hvor de fungerer som såkaldte transkriptionsfaktorer [11] (Figur 1A). JAK-STAT-signaltransduktionsnetværket kan aktiveres af mange forskellige hæmatopoietiske vækstfaktorer [13, 14], herunder bl.a. stamcellefaktor (SCF), erythropoietin (EPO), granulocytmakrofagkolonistimulerende

faktor (GM-CSF), *insulin-like growth factor* 1 (IGF-1) og interleukin 3 (IL-3). Bortset fra IGF-1-receptoren er der ikke til receptorerne for disse cytokiner knyttet tyrosinkinaseaktivitet, men i stedet bindes deres cytoplasmatiske domæne som anført til Janus-tyrosinaserne. JAK2 har særlig betydning for hæmatopoiesen, idet JAK2-proteinerne især aktiveres af de hæmatopoietiske vækstfaktorer [13]. Således vil mangel på JAK2 også medføre defekt udvikling af hæmatopoiesen. Selvom intakt erythropoiese primært afhænger af vækstfaktorstimulation via erythropoietin (EPO)-receptoren med efterfølgende JAK2-aktivering har andre vækstfaktorer formentlig også betydning, herunder SCF og trombopoietin [16].

JAK-STAT-signaltransduktion og abnorm vækstfaktorfølsomhed og celleproliferation

For ca. 30 år siden blev det påvist, at knoglemarvsceller fra PV-patienter danner erytroide kolonier uden tilførsel af EPO (endogene erytroide kolonier, EEC) [17] og efterfølgende, at den autonome cellevækst var resultatet af en markant hypersensitivitet over for IGF-1 [18] og en række andre vækstfaktorer, bl.a. SCF trombopoietin (TPO), GM-CSF og IL-3 [19, 20]. Disse fund tydede på, at der måtte være en abnormitet i signaltransduktionsvejene, og at denne abnormitet var fælles for de forskellige vækstfaktorer og ikke alene kunne forklares ved en øget IGF-1-receptor-fosforylering [21] eller en nedsat ekspression af TPO-receptoren, c-Mpl [22].

Som beskrevet ovenfor er et intakt JAK-STAT-signaltransduktionssystem helt afgørende for korrekt signaloverførsel fra cellens overfladereceptorer til cellekernen, efter at cellen er blevet stimuleret af vækstfaktorer. En ændret vækstfaktorfølsomhed kunne således være relateret til en konstitutiv aktivering af en eller flere STAT-proteiner, som det er beskrevet ved andre hæmatologiske neoplasier, bl.a. ved akut myeloid leukæmi [23-25] og CML [26, 27]. Spontan JAK2-afhængig STAT5-aktivering er påvist i cirkulerende CD34⁺-celler fra patienter med IMF [28]. Konstitutiv STAT3-aktivering i granulocytter er tilsvarende påvist hos en subgruppe af patienter med PV (fire ud af 14) [29]. Med henvisning til STAT3's potentielle rolle som onkogen [30] er fundet af konstitutiv aktivering af STAT3 ved PV tolket at have patogenetisk og patofysiologisk betydning for den autonome proliferation og akkumulation af myeloide celler [29] via en kontinuerlig aktivering af gener, der er involveret i cellecyckluskontrol [29, 31] og en øget ekspression af de antiapoptotiske proteiner bcl-2, bcl-X_L og mcl-1, som alle er styret af STAT3 [32-34]. En konstitutiv STAT3-aktivering sekundært til mutation i STAT3-proteinet kunne således bidrage til en forklaring af den abnorme proliferation og akkumulation af myeloide celler, sidstnævnte sekundært til en defekt apoptose. Da konstitutiv STAT3-aktivering kun er påvist hos op til ca. 30% af de undersøgte PV-patienter (fire ud af 14), må mutationer i andre intracellulære signalproteiner også være involverede. En mulig kandidat kunne bl.a. være JAK2-proteinet, der som anført ovenfor har

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

særlig betydning for overførsel af signaler efter stimulation med hæmatopoietiske vækstfaktorer [13], hvorfor blokering af proteinet også medfører hæmning af in vitro-vækst af EEC [35]. Da JAK2-genet er lokaliseret til en region af kromosom 9, hvor der hos en gruppe PV-patienter er påvist såkaldt uniparental disomi, har bl.a. dette fund ansporet til at undersøge for mutationer i JAK2 hos patienter med PV [36].

Janus tyrosinkinase2-mutationen ved de Philadelphia-negative kroniske myeloproliferative sygdomme

I marts 2005 publiceredes i Nature, at de fleste patienter med PV (> 80%; 40 ud af 45) har en guanin til thymidin-mutation i JAK2-genet, hvilket medfører, at fenylyalanin substitueres med valin i aminosyrepositionen 617 (V617F.-mutation) [4]. Ca. 30% af PV-patienterne har JAK2-mutationen i en homozygot form (begge alleler), sandsynligvis opstået ved såkaldt mitotisk rekombination eller uniparental disomi (*loss of heterozygosity*) [6] med duplikation af den del af kromosomet, som bærer det muterede JAK2, mens der hos de resterende JAK2-positive PV-patienter kun blev påvist én mutant allel [4, 8]. JAK2-genet findes på kromosom 9 (9p24.1). Mutationen er lokaliseret i JAK2's JH2-pseudokinasedomæne, som har tre regioner med en hæmmende indflydelse på tyrosinkinaseaktiviteten i JAK2 (Figur 1B). Mutationen medfører således, at denne autoinhibition i JAK2 blokeres. Mutationen er erhvervet, idet den kun findes i hæmatopoietiske celler [4].

Det blev vist, at mutationen i JAK2-genet - tyrosinkinase, som normalt aktiveres via en række hæmatopoietiske vækstfaktorer [16] - og den dermed forbundne konstitutive aktivering af JAK2 - kunne forklare såvel den autonome myeloide proliferation som den øgede vækstfaktorfølsomhed ved PV [4]. Overførsel af V617F JAK2-mutanten vha. retroviralt transficerede knoglemarvsceller til mus medførte udvikling af erythrocytose efter få uger, hvilket ikke var tilfældet hos mus, som var knoglemarvstransplanteret med vildtype JAK2 [4]. Ligeledes blev det vist, at JAK2-mutationen medførte en konstitutiv aktivering af STAT-signal-molekyler (STAT5), men denne aktivering udeblev, når vildtype JAK2 var til stede. Tab af vildtype JAK2-allelen ledsagedes derfor af en forstærket signaloverførsel, som udtryk for, at vildtype JAK2-allelen er dominerende i forhold til JAK2-mutant-allelen [4].

Inden for få uger blev ovenstående fund bekræftet af andre forskergrupper i Europa [3, 6, 8, 9] og USA [5] med næsten identiske resultater (Tabel 1). Baggrunden for, at der blev sat fokus på netop JAK2, var forskellig for forskergrupperne og omfattede: 1) JAK2's særlige rolle for signaloverførsel efter stimulation med hæmatopoietiske vækstfaktorer [3], 2) observationen, at blokering af JAK2-aktiviteten medfører en markant hæmning af væksten af EEC [36] som udtryk for, at dette protein har en særlig betydning for erythropoiesen [4], 3) JAK2-genets lokalisation til kromosom 9, som hos nogle patienter med PV er sæde for forandringer [6], og 4) en bred

Forkortelser

CML = kronisk myeloid leukæmi
EEC = endogene erytroide kolonier
EPO = erythropoietin
ET = essentiel trombocytose
GM-CSF = granulocytmakrofagkolonistimulerende faktor
IGF = <i>insulin-like growth factor</i>
IL = interleukin 3
IMF = idiopatisk myelofibrose
JAK = Janus tyrosinkinase
PV = polycythaemia vera
PRV = polycythaemia rubra vera
STAT = <i>signal transducer and activator of transcription</i>
SCF = stamcellefaktor

søgning efter mutationer i tyrosinkinasen ved de Philadelphia-negative, kroniske, myeloide sygdomme [5] analogt med en tilsvarende strategi ved CML, det hypereosinofile syndrom og kronisk myelomonocytær leukæmi, hvor målrettet terapi med imatinib over for konstitutivt aktiverede tyrosinkinasen har været særdeles vellykket.

Diskussion

Påvisning af JAK2-mutationen ved PV og de beslægtede sygdomme IMF og ET er det største molekylærbiologiske gennembrud inden for denne sygdomsgruppe, og det vil uden tvivl være skelsættende for klassifikation, diagnostik, prognosevurdering og behandling i fremtiden.

De Philadelphia-negative, kroniske, myeloproliferative sygdomme er en meget heterogen sygdomsgruppe, som bl.a. er karakteriseret ved trombohæmoragiske komplikationer, overgangsformer, f.eks. ET til PV og PV til postpolycytæmisk myelofibrose samt risikoen for, at der udvikles akut myeloid leukæmi. Endvidere er vist, at ca. 50% af de patienter, som tid-

Tabel 1. Myeloproliferative sygdomme med dysreguleret Janus kinase 2 (JAK2).

Sygdom	Hypighed i %
Polycythaemia vera	74-97
Essentiel trombocytose	33-57
Idiopatisk myelofibrose	35-50
Philadelphia-negativ, kronisk, myeloid leukæmi	25
Systemisk mastocytose	25
Atypisk/uklassificerbar kronisk myeloproliferativ sygdom	20
Akut megakaryoblast leukæmi	18
Kronisk neutrofil leukæmi	17
Myelodysplastisk syndrom	5
Kronisk myelomonocytær leukæmi	3
Idiopatisk hypereosinofilt syndrom	2

ligere er blevet diagnosticeret som havende ET, i stedet har en tidlig præfibrotisk fase af IMF. Med henvisning til fordelingen af de JAK2-positive og JAK2-negative patienter inden for det kroniske Philadelphia-negative, myeloproliferative sygdomsspektrum kunne det overvejes, om patienter med JAK2-mutationen alle har varianter af PV, men med forskellig klinisk fænotype. Det er blevet foreslået, at udviklingen af en klonal, kronisk myeloproliferativ sygdom forudsætter mere end en mutation [37]. Det er nærliggende at antage, at JAK2-mutationen er en af de tidlige molekylære læsioner ved PV, og andre endnu ikke karakteriserede mutationer efterfølgende er bestemmende for den kliniske fænotype og dermed det kliniske forløb, herunder også progressionen af den myeloide ekspansion ekstramedullært i milt og lever, samt den ultimative transformation til postpolycytæmisk myelofibrose og akut myeloid leukæmi. Tilsvarende kunne de JAK2-positive ET-patienter (ca. 50%) være de patienter, som har præfibrotisk idiopatisk myelofibrose og senere får klassisk idiopatisk myelofibrose. Alternativt kunne de JAK2-positive ET-patienter have tidlig PV og på diagnosetidspunktet kun have trombocytose, men senere få PV med pancytose, måske i en subklinisk form, som først efter yderligere nogle år medfører anæmisymptomer og splenomegali, hvorefter patienterne får stillet diagnosen IMF. Det er således sandsynligt, at sygdomsgruppen IMF – ud over tidlig præfibrotisk IMF (»ET«) – også omfatter langt flere patienter med tidligere PV, patienter, som har haft et mangeårigt subklinisk forløb, og hvis sygdom først erkendes i senstadiet, hvor der optår anæmi, myelofibrose og ekstramedullær hæmatopoiese i form af splenomegali og måske også hepatomegali. Senest er der fundet en meget stærk korrelation mellem tilstedeværelse af JAK2-mutationen, *Polycythaemia rubra vera* (PRV)1-positivitet, og evnen til at danne EEC ved PV, ET og IMF [38], hvilket yderligere styrker PRV1-genekspressionsanalysen og JAK2-mutationstesten som nye molekylærbiologiske markører, der er anvendelige i den diagnostiske udredning af patienter, som man formoder har kronisk myeloproliferativ sygdom. Ligeledes vil man med et nyt klassifikationssystem baseret på molekylærbiologiske markører måske bedre kunne prædiktere risikoen for trombohæmoragiske komplikationer, samt udvikling af myelofibrose og akut leukæmi [38, 39].

JAK2-mutationen ses ikke kun ved PV og beslægtede sygdomme, men er også påvist hos få procent af patienterne med MDS (5 ud af 101) og få patienter med kronisk myelomonocytær leukæmi og kronisk neutrofil leukæmi [7]. Senest er JAK2-mutationen påvist hos ca. 25% af patienterne med Philadelphia-negativ CML og hos ca. en femtedel af patienterne med akut megakaryoblast leukæmi.

JAK2-mutationen forventes ikke alene at ændre ved det nuværende WHO-klassifikationssystem for de Philadelphia-negative, kroniske, myeloproliferative sygdomme, men vil måske også kunne anvendes som en molekylærbiologisk markør for behandlingseffekt, såvel under konventionel

behandling (busulphan, hydroxyurea, alpha-interferon, anagrelid), som ny målrettet behandling med f.eks tyrosinkinasehæmmeren imatinib. Hvis overekspression af PRV1-genet ved de Philadelphia-negative, kroniske, myeloproliferative sygdomme optræder sekundært til JAK2-mutationen må det forventes, at behandling med alpha-interferon ud over nedregulering af PRV-1-genekspressionen [40] også vil reducere »JAK2-mutationsniveauet«, som kan bestemmes kvantitativt [8] og opfattes som et mål for størrelsen af den maligne klon. De fleste patienter med PV responderer på imatinib med markant reduktion i venesektionsbehovet, mens effekten på leukocyt- og trombocytallet er uforudsigeligt og meget heterogent. Ved såvel IMF som PV kan der under behandling med imatinib ses stigende leucocyt- og trombocytaltal. Måske kan såvel PRV1-genekspressions- og JAK2-mutationsniveauet bidrage til at karakterisere dette behandlingsrespons nærmere.

Tilsvarende må fremtidige undersøgelser vise, om JAK2-mutationen kan anvendes i vurderingen af prognosen for patienter med Philadelphia-negative, kroniske, myeloproliferative sygdomme, og om ny målrettet behandling med signaltransduktionshæmmere (STI) rettet mod JAK2-kinasen vil blive endnu et terapeutisk gennembrud på linje med imatinib mod konstitutivt aktiverede tyrosinkinaser ved CML (BCR-ABL), det hypereosinofile syndrom (PDGFR alpha og beta), systemisk mastocytose (c-kit) og kronisk myelomonocytær leukæmi (PDGFR beta). Identifikationen af den molekylærbiologiske baggrund hos den resterende gruppe patienter med PV (op til 20%), ET (ca. 50%) og IMF (ca. 50%) vil være en af mange udfordringer i de kommende år, hvad denne sygdomsgruppe angår.

Korrespondance: *Thomas Stauffer Larsen*, Hæmatologisk Afdeling X, Odense Universitetshospital, DK-Odense C. E-mail: thomas.stauffer.larsen@ouh.fyns-amt.dk

Antaget: 15. august 2005

Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

- Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-5.
- Goldman JM, Melo JV. Chronic myeloid leukaemia – advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med* 2003;349:1451-64.
- Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-61.
- James C, Ugo V, Le Couedic JP et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-8.
- 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;7:387-97.
- Kralovics R, Passamonti F, Buser AS et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-90.
- Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL et al. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and the myelodysplastic syndrome. *Blood* 2005;106:1207-9.
- Jones AV, Kreil S, Zoi K et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005;106:2162-8.
- Zhao R, Xing S, Li Z et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem* 2005;280:22788-92.
- Yamaoka K, Saharinen P, Pesu M et al. The Janus kinases (Jaks). *Genome Biol* 2004;5:253.
- Silvennoinen O, Saharinen P, Paukka K et al. Cytokine receptor signal trans-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

- duction through Jak tyrosine kinases and Stat transcription factors. *APMIS* 1997;105:497-509.
12. JM Goldman. A unifying mutation in chronic myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1744-6.
 13. Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW et al. Signaling through the hematopoietic cytokine receptors. *Ann Rev Immunol* 1995;13:369-98.
 14. Ward AC, Touw I, Yoshimura A. The Jak-Stat pathway in normal and perturbed hematopoiesis. *Blood* 2000;95:19-29.
 15. Parganas E, Wang D, Stravopodis D et al. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. *Cell* 1998;93:385-95.
 16. Radosevic N, Winterstein D, Keller JR et al. JAK2 contributes to the intrinsic capacity of primary hematopoietic cells to respond to stem cell factor. *Experimental Hematology* 2004;32:149-56.
 17. Prchal JF, Axelrad AA. Bone-marrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med* 1974;290:1382.
 18. Correa PN, Eskinazi D, Axelrad AA. Circulating erythroid progenitors in polycythemia vera are hypersensitive to insulin-like growth factor-1 in vitro: studies in an improved serum-free medium. *Blood* 1994;83:99-112.
 19. Dai CH, Krantz SB, Green WF et al. Polycythemia vera III: Burst-forming units-erythroid (BFU-E) response to stem cell factor and c-kit receptor expression. *Br J Haematol* 1994;86:12-21.
 20. Dai CH, Krantz SB, Dessypris EN et al. Polycythemia vera II: hypersensitivity of bone marrow erythroid, granulocyte-macrophage, and megakaryocyte progenitor cells to interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1992;80:891-9.
 21. Mirza AM, Correa PN, Axelrad AA. Increased basal and induced tyrosine phosphorylation of the insulin-like growth factor -1 receptor beta subunit in circulating mononuclear cells of patients with polycythemia vera. *Blood* 1995;86:877-82.
 22. Moliterno AR, Hankins D, Spivak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998;338:572-80.
 23. Hayakawa F, Towatari M, Iida H et al. Differential constitutive activation between STAT-related proteins and MAP kinase in primary acute myelogenous leukaemia. *Br J Haematol* 1998;101:521-8.
 24. Xia Z, Baer MR, Block AW et al. Expression of signal transducers and activator of transcription proteins in acute myeloid leukaemia blasts. *Cancer Res* 1998;58:3173-80.
 25. Gouilleaux-Gruart V, Gouilleaux F, Desaint C et al. STAT-related transcription factors are constitutively activated in peripheral blood cells from acute leukemia patients. *Blood* 1996;87:1692-7.
 26. Carlesso N, Frank DA, Griffin JD. Tyrosyl phosphorylation and DNA binding activity of signal transducers and activators of transcription (STAT) proteins in hematopoietic cell lines transformed by Bcr/Abl. *J Exp Med* 1996;183:811-20.
 27. Ilaria RL Jr., van Etten RA. P210 and P190 (BCR/ABL) induce the tyrosine phosphorylation and DNA binding activity of multiple specific STAT family members. *J Biol Chem* 1996;271:31704-10.
 28. Komura E, Chagraoui H, Mansat de Mas V et al. Spontaneous STAT5 activation induces growth factor independence in idiopathic myelofibrosis: possible relationship with FKBP51 overexpression. *Exp Hematol* 2003;31:622-30.
 29. Roder S, Steimle C, Meinhardt G et al. STAT3 is constitutively active in some patients with Polycythemia rubra vera. *Exp Hematol* 2001;29:694-702.
 30. Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G et al. Stat3 as an oncogene. *Cell* 1999;98:295-303.
 31. Shirogane T, Fukada T, Muller JM et al. Synergistic roles for Pim-1 and c-Myc in STAT3-mediated cell cycle progression and antiapoptosis. *Immunity* 1999;11:709-19.
 32. Fukada T, Hibi M, Yamanaka Y et al. Two signals are necessary for cell proliferation induced by a cytokine receptor gp130: involvement of STAT3 in anti-apoptosis. *Immunity* 1996;5:449-60.
 33. Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM et al. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999;10:105-115.
 34. Puthier D, Bataille R, Amiot M. IL-6 up-regulates mcl-1 in human myeloma cells through JAK/STAT rather than ras/MAP kinase pathway. *Eur J Immunol* 1999;29:3945.
 35. Ugo V, Marzac C, Theyssandier I et al. Multiple signaling pathways are involved in erythropoietin-independent differentiation of erythroid progenitors in polycythemia vera. *Exp Hematol* 2004;32:179-87.
 36. Kralovics R, Guan Y, Prchal JT. Acquired uniparental disomy of chromosome 9p is a frequent stem cell defect in polycythemia vera. *Exp Hematol* 2002;30:229-36.
 37. Kralovics R, Stockton DW, Prchal JT. Clonal hematopoiesis in familial polycythemia vera suggest the involvement of multiple mutational events in the early pathogenesis of the disease. *Blood* 2002;102:3793-6.
 38. Goertler PS, Steimle C, Marz E et al. The Jak2V617F mutation, PRV-1 overexpression and EEC formation define a similar cohort of MPD patients. *Blood* 2005;106:2862-4.
 39. Pahl HP. Molecular markers in myeloproliferative disorders: from classification to prognosis? *Hematology* 2003;8:199-209.
 40. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O et al. A phase II trial of pegylated interferon alpha-2b in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2004;104:1518.