

· 综述 ·

JAK2 抑制剂治疗骨髓增殖性肿瘤研究进展

胡 敏, 史高娜, 石建功*, 张天泰*

(中国医学科学院, 北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 骨髓增殖性肿瘤 (myeloproliferative neoplasms, MPNs) 是一类造血干细胞异常增生性疾病, 主要表现为骨髓中一系或多系细胞出现异常增殖。JAK2 磷酸化导致的 JAK-STAT 信号通路持续活化是诱发 MPNs 的重要原因, 而 JAK2 激酶的突变可以使其处于持续的磷酸化状态, JAK2 最典型的突变是假激酶区 V617F 的位点突变。95% 的红细胞增多症 (PV) 以及 50% 的原发性骨髓纤维化 (PMF)、血小板增多症 (ET) 患者中存在这种突变。现已明确 JAK2 是治疗 MPNs 的重要靶标, 通过抑制 JAK2-STAT 信号通路的异常激活来治疗 MPNs 已成为热门研究方向。本文拟从 JAK2 激酶的生物学功能、JAK2 与 MPNs 的关系以及 JAK2 小分子抑制剂的研发现状等角度, 综述近年来 JAK2 抑制剂在治疗 MPNs 疾病的研究进展。

关键词: JAK2 激酶; JAK2 抑制剂; 骨髓增殖性肿瘤; JAK-STAT 信号通路

中图分类号: R967 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)06-0971-07

Advances in JAK2 inhibitors for treatment of myeloproliferative neoplasms

HU Min, SHI Gao-na, SHI Jian-gong*, ZHANG Tian-tai*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Myeloproliferative neoplasms (MPNs) result from clonal expansion of haematopoietic stem cells and are characterized by abnormal proliferation of myeloid lineage cells in the bone marrow. Sustained activation of JAK-STAT signaling pathway due to JAK2 phosphorylation is an important cause of MPNs, and mutation of JAK2 kinase can keep it in a state of continuous phosphorylation. The most typical mutation in JAK2 is a site mutation of V617F in the pseudokinase domain. The JAK2V617F-activating mutation is highly prevalent in MPNs, with frequencies estimated at approximately 95% in polycythaemia vera (PV) and 50% in primary myelofibrosis (PMF) and essential thrombocytosis (ET) patients. It is now clear that JAK2 is an important target for treatment of MPNs. Inhibiting aberrant activation of the JAK2-STAT signaling pathway has become a popular trend in research for effective treatment of MPNs. This review summarizes the research progress in developing JAK2 inhibitors for treatment of MPNs in recent years, including the new discoveries of the biological functions of JAK2, the relationship between JAK2 and MPN, and the status of development of JAK2 small molecule inhibitors.

Key words: JAK2; JAK2 inhibitor; myeloproliferative neoplasm; JAK-STAT signaling pathway

收稿日期: 2019-02-22; 修回日期: 2019-03-11.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573445); 北京市自然科学基金资助项目 (7182115); 国家新药创制重大专项资助项目 (2018ZX09711001-003-001); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2017-I2M-3-011).

*通讯作者 Tel: 86-10-63025166, E-mail: shijg@imm.ac.cn;

Tel: 86-10-63035779, E-mail: ttzhang@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0133

JAK-STAT 是由多种细胞因子刺激激活, 参与细胞的增殖、分化、凋亡及免疫调节等众多生物学过程的信号通路, 同时也是调节造血/免疫细胞因子受体信号传导的必需参与者, 参与造血细胞的存活、增殖和分化^[1]。靶向该信号传导途径的遗传改变主要与血液系统恶性肿瘤相关, 较常见的是经典 BCR-ABL1 阴性的骨髓增殖性肿瘤 (myeloproliferative neoplasms, MPNs)。

目前,临床上MPNs的治疗主要是减轻症状和预防血栓等对症治疗为主,包括同种异体造血干细胞移植、骨髓放血和干扰素免疫疗法等,而JAK1/2非选择性小分子抑制剂ruxolitinib的上市为MPNs类疾病的治疗带来新的机会,ruxolitinib能够明显改善骨髓纤维化患者的临床症状,减小脾脏肿大和提高患者生存率,但由于其非选择性的特点而存在骨髓抑制等不良反应^[2]。JAK2在MPNs的发生发展中发挥了重要的作用,特别是大多数MPNs都存在JAK2的突变,最典型的是JAK2假激酶区V617F的位点突变,突变会诱发JAK-STAT信号通路异常激活,从而导致疾病的发生。现已确认JAK2是治疗MPNs的关键靶点,近年一些国际制药公司都致力于JAK2小分子抑制剂的研发。在此,本文聚焦于MPNs的治疗靶点JAK2,介绍JAK2激酶的功能特点与疾病的关系、以及靶向MPNs的JAK2小分子抑制剂研发现状和潜在的研发策略。

1 JAK2的生物学作用

1.1 JAK2激酶

Janus激酶(Janus kinase, JAK)是一种非受体型酪氨酸蛋白激酶,JAKs家族包括4个亚型,JAK1、JAK2、JAK3和TYK2。JAK2作为JAKs家族的一员,其结构与JAKs家族其他成员具有高度同源性。JAK2广泛分布于体细胞的胞质中,它参与造血和免疫系统等的信号转导,对红细胞的生成及免疫细胞的活化也有重要作用^[1,3-5]。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、集落刺激因子(colony stimulating factor, CSF)等都利用与JAK2相关的信号转导途径诱导细胞的增殖、分化和凋亡。每个JAKs分子包括7个同源结构域(JH1~7),羧基端的JH1是酶的催化部位,氨基端的JH7负责激酶与受体的结合,JH2与JH1具有较大同源性但是缺乏酶活性,被称为假激酶区^[6,7]。正常情况下,JH2通过ATP结合位点和自身磷酸化位点来负调节激酶结构域(JH1)维持细胞正常的生长发育^[8]。近年来发现该激酶存在多种形式的突变,比较典型的JAK2假激酶区V617F突变就是一种功能获得性突变,位于JAK2的假激酶结构域(JH2,图1),JH2段的第617位氨基酸由V突变成F后,促进JH1段的磷酸化并激活JAK2激酶,可以在没有细胞因子刺激的情况下诱导细胞因子与受体的经典途径,活化JAK-STAT通路导致细胞的过度增殖,形成MPNs^[9,10]。

1.2 JAK/STAT信号通路及其调节机制

JAK-STAT(signal transducers and activators of transcription, STAT)通路在细胞因子和生长因子参与的胞内信号转导中扮演着重要的角色,参与调节造血、免疫、生育力、泌乳、生

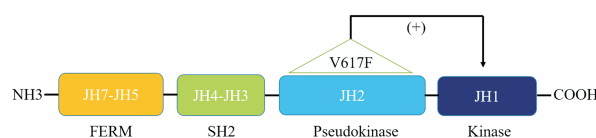


Figure 1 Representation of the primary domain structure of Janus kinase (JAK2)

长和胚胎发生。目前发现在人类细胞STAT有7个亚型,包括STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b和STAT6。细胞因子或生长因子参与JAK-STAT信号传导通路的激活,胞外的细胞因子与其对应的受体结合,激活的受体诱发了JAK构象发生改变,发挥激酶作用,将ATP上的磷酸基团转移到受体以及自身的酪氨酸残基上,使受体发生磷酸化,自身也发生磷酸化,酪氨酸磷酸化会触发激酶的活性,使受体显示出STAT的结合位点,募集STAT与受体结合,与受体结合的STAT发生磷酸化,并形成二聚体,二聚体的STAT转位入细胞核内与DNA结合,发挥基因调控作用,调控细胞的增殖、分化和存活^[11]。JAK的磷酸化或位点突变会诱发下游STATs的磷酸化和二聚化,导致JAK-STAT信号通路的异常活化,进而影响疾病的发生发展,这种病理过程尤其在一些恶性肿瘤表现得较为普遍^[12,13]。

JAK-STAT通路有3类主要的负调控因子,包括蛋白酪氨酸磷酸酶(PTPs)、激活STATs蛋白抑制因子(PIAS)和细胞因子信号传导抑制因子(SOCS)。已发现JAK-STAT信号通路的失调是各种血液类恶性肿瘤发病的重要机制,尤其是骨髓增殖性肿瘤^[14,15]。

2 JAK2与MPNs

MPNs是一系或多系分化相对成熟的骨髓细胞克隆性增殖所致的恶性肿瘤,经典的BCR-ABL阴性骨髓增殖性肿瘤包括真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)、血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)和原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)等多种疾病,各疾病之间可相互转化^[16]。这类疾病的患者都存在一定程度的脾肿大和血细胞分型异常,易转化成急性白血病,严重者甚至会威胁生命^[17]。

2005年,为了寻找MPNs患者体内的致病基因,4个研究小组相继发现JAK2激酶中JH2区(假激酶区)的V617F位点突变可以导致JAK2的组成性激活,从而使JAK-STAT信号通路持续活化^[18-21]。在MPNs患者中PV患者JAK2V617F突变率达到了95%,ET和PMF患者达到了50%,JAK2V617F突变在JAK2所有突变中最为普遍。后来又发现新的导致JAK-STAT信号通路持续活化的突变,如JAK2 JH2区域的exon 12位点突变^[22,23]、血小板生成素受体(MPL)突变^[24]和钙网蛋白

(CALR) 突变^[25]等。JAK2V617F 突变在功能上已经得到了验证, 基因表达谱的研究明确显示在很多 MPN 患者中存在该突变和持续激活的 JAK2 信号^[10], 这种持续性的活化导致细胞恶性增殖并抑制细胞的正常凋亡, 最终引起 PV、ET、MF 等的发生^[26], 目前 JAK2 抑制剂在临床中治疗 MPNs 疾病的疗效已经得到了验证和肯定, JAK2V617F 突变是 MPNs 发生的重要因素, 同时也将是潜在的药物作用靶点, 它们的发现将小分子 JAK2 抑制剂带上了新的舞台。

3 JAK2 抑制剂的类型及其治疗 MPNs 研究现状

根据抑制剂与 JAK2 结合位点及结合的活性构象的差异, 将 JAK2 小分子抑制剂归类为 I 型、II 型和变构抑制剂。

3.1 I 型 JAK2 抑制剂 I 型 JAK2 抑制剂是指靶向 JAK2 的活化构象状态并结合于 ATP 口袋的一类化合物^[27]。I 型 JAK2 抑制剂具有 ATP 竞争性特性, 是一种可逆性的抑制作用。此类抑制剂与活化的 JAK2 结合时, 活化环 (activation loop) 上的 DFG (Asp-Phe-Gly) 模序位于活性口袋内, 即所谓的 DFG-in 构象。已上市 ruxolitinib 即属于 I 型 JAK2 抑制剂, 目前在研的 JAK2 选择性抑制剂 pacritinib、NS-018 和 fedratinib 等也均属于 I 型 JAK2 抑制剂, 见表 1^[2,28-40]。

3.2 II 型 JAK2 抑制剂 II 型 JAK2 抑制剂是指能够识别非活化构象的 JAK2 并结合于 ATP 结合口袋的一类化合物, II 型 JAK2 抑制剂也是具有 ATP 竞争性特性, 是一种可逆性的抑制作用。此类抑制剂与非活化的 JAK2 结合时, 活化环 (activation loop) 上的 DFG (Asp-Phe-Gly) 模序位于活性口袋外, 处于 DFG-out 构

象。已上市药伊马替尼即属于此类型抑制剂^[41], 目前在研的此类 JAK2 抑制剂有 NVP-BBT594 和 NVP-CHZ868^[37], 见表 1。

3.3 变构型 JAK2 抑制剂 变构型 JAK2 抑制剂是指结合于激酶活性构象的 ATP 口袋之外某个活性位点而发生别构现象的一类小分子化合物^[27]。此类化合物与激酶的结合是可逆的, 结合的化合物对激酶的作用既可以是阳性调控, 也可以是阴性调控, 由于每种激酶都具有特异性的调控机制, 因此此类化合物可能具有更高的选择性。变构型 JAK2 抑制剂的另一个优点是鉴于化合物可以与 ATP 活性口袋之外的不同位点结合, 因此可设计同时靶向结合 2 个不同位点的化合物, 从而解决耐药的问题。目前还没有此类型的 JAK2 抑制剂被批准上市, 有报道显示在研的化合物 LS-104 和 ON044580 属于 JAK2 变构抑制剂, 它们可以同时抑制天然 JAK2 和 V617F 突变的 JAK2 的活性^[39,42], 见表 1。

3.4 JAK2 小分子抑制剂研究现状 JAK2 是近年来较新颖的治疗 MPNs 疾病的有效靶点, 目前只有 ruxolitinib 被 FDA 批准上市, ruxolitinib 属于第一代的选择性的 JAK1/JAK2 抑制剂。基于 JAKs 为靶点的药物研究仍然是各大制药公司新药开发的热点, 而选择性的第二代 JAK2 抑制剂则是未来研发的方向, 目前已有多个选择性的小分子 JAK2 抑制剂相继进入了临床 I~III 期研究阶段。本课题组的研究从传统中药板蓝根有效成分的衍生物中发现了 1 个选择性的 JAK2 小分子抑制剂, 其抑制 JAK2 的 IC₅₀ 为 31 nmol·L⁻¹, 选择性强度是 JAK1、JAK3 的 300 倍以上, 该化合物不仅具有较高的 JAK2 选择性, 同时对 V617F 突变的 JAK2

Table 1 JAK2 inhibitors in MPNs. MPNs: Myeloproliferative neoplasms; MF: Myelofibrosis; PMF: Primary myelofibrosis; PV: Polycythemia vera; ET: Essential thrombocythemia

Type	Inhibitor	Selectivity	Company	Disease	Status
Type I	Ruxolitinib (INCB018424)	JAK2>JAK1>JAK3	Novartis	MF PV	FDA approved in 2011 ^[2] FDA approved in 2015 ^[28]
	Pacritinib (SB11518)	JAK2	CTI biopharma	MPN	Pre-Registered, ongoing ^[29]
	Momelotinib (CYT-387, GS-0387)	JAK2>JAK1>JAK3	Gilead	PMF, post PV MF, post ET MF	Phase III, ongoing ^[30,31]
	Fedratinib (TG101348)	JAK2	Celgene	MF	Phase III, ongoing ^[32]
	AZD1480	JAK2>JAK1	AstraZeneca	Primary MF, post PV MF, post ET MF	Phase I ^[33]
	Gandotinib (LY-2784544)	JAK2V617F>JAK2	Lilly	JAK2V617F-positive MF, ET and PV	Phase I/II ^[34,35]
	NS-018	JAK2V617F>JAK2	Nippon Shinyaku	JAK2V617F-positive PMF, ET and PV	Phase II ^[36]
Type II	NVP-CHZ868	JAK2	Novartis	MPN	Preclinical mouse models ^[37]
	NVP-BBT594	JAK2	Novartis	-	Cellular models ^[38]
Allosteric inhibitors	ON044580	JAK2	Onconova	MPN	JAK2V617F cell lines ^[39]
	LS104	JAK2	AEgera Hospital for Sick Children	MPN	JAK2V617F cell lines ^[40]

具有一定的抑制作用,对MPNs的治疗具有良好前景,目前正处于临床前研究阶段^[43]。虽然多个选择性的JAK2抑制剂在MPNs上的疗效得到了证实,但迄今还没有第2个JAK2抑制剂被批准。目前临床进展较快而处于III期临床试验的JAK2抑制剂有pacritinib、momelotinib、fedratinib等。

Ruxolitinib是JAK1/2的非选择性小分子抑制剂,在非细胞分子水平ruxolitinib对JAK1/JAK2的抑制作用是JAK3的130倍。Ruxolitinib是最早上市用于临床治疗MPNs的JAKs小分子抑制剂,于2011年11月由美国FDA批准上市,适应症为中等或高风险骨髓纤维化(MF)患者,包括原发性骨髓纤维化、真性红细胞增多症和原发性血小板增多症导致的MF。2012年8月获得欧洲EMA批准上市,用于治疗与真性红细胞增多症或原发性血小板增多症相关的疾病,缓解相关脾肿大或原发性骨髓纤维化或骨髓纤维化症状。2014年7月日本PMDA批准上市用于治疗骨髓纤维化,2015年用于治疗真性红细胞增多症。我国CFDA于2017年3月批准该药在中国用于治疗中危或高危的原发性骨髓纤维化(PMF)、真性红细胞增多症继发的骨髓纤维化(PPV-MF)或原发性血小板增多症继发的骨髓纤维化(PET-MF)的成年患者。

在临床上,ruxolitinib能明显提高患者总的生存率,但是却不能减少JAK2突变细胞的V617F突变负荷^[44],无法完全治愈疾病。Ruxolitinib的不良反应主要表现为正常骨髓的生长抑制、贫血、血小板减少以及腹泻等,这些不良反应都与药物直接作用于JAK1/JAK2相关,所以新一代的JAK2抑制剂研发定位于更高的选择性,期望克服对其他亚型的抑制带来的不良反应^[45]。

Pacritinib是由CTI BioPharma公司研发的一种选择性JAK2/FLT3双抑制剂,临床适应症为骨髓纤维化^[46]。Pacritinib对野生型和V617F突变JAK2均有抑制作用,激酶水平的 IC_{50} 分别为23和19 $nmol \cdot L^{-1}$ 。JAK2对于正常的造血功能是必不可少的^[47],而ruxolitinib带来的骨髓抑制限制了其在MF中扩大使用^[48],选择性的JAK2/FIT3抑制剂pacritinib则为MPNs的治疗带来了新的曙光。作为一个非骨髓抑制的JAK2选择性抑制剂,其对于MF或任何血球减少患者的疗效已经在临床II期试验中得到了验证^[49,50]。Pacritinib在III期临床试验期间表现出的不良反应主要有贫血、血小板减少和腹泻等^[29]。目前,pacritinib已在美国完成了骨髓纤维化(包括ruxolitinib治疗失败的骨髓纤维化患者)、红细胞增多症以及原发性骨髓纤维化等的临床试验,已进入预备上市前的申请阶段^[51]。同时该药在欧盟也

已完成临床试验并向欧盟EMA提交了上市申请,适应症为患有血小板减少症的骨髓纤维化患者。

Momelotinib是由Sierra Oncology公司从吉利德公司收购的治疗骨髓纤维化的JAK1/2小分子抑制剂^[52,53],作为ATP竞争性抑制剂,其抑制JAK1和JAK2的 IC_{50} 分别为11和18 $nmol \cdot L^{-1}$,是JAK3($IC_{50} = 155 \mu mol \cdot L^{-1}$)的近10倍,同时对激活素A受体1(activin A receptor type 1, ACVR1)也有很强的抑制作用。临床II期和III期试验表明,该药物在治疗骨髓纤维化时,具有与众不同的治疗特征,如对贫血症状有明显的改善,可以减少频繁输血的需求,能够实质性控制脾脏肿大和全身症状。Momelotinib对晚期骨髓纤维化患者贫血改善的机制可能是与抑制ACVR1活性有关,ACVR1是调节铁代谢的TGF- β 超家族受体的成员之一,它能激活铁调素(hepcidin)的转录,导致红细胞生成减少^[54]。Momelotinib还对ruxolitinib治疗无效的贫血或血小板减少伴有原发性或继发性骨髓纤维化患者有很好的疗效,相较于ruxolitinib,它在改善贫血方面具有显著优势,因此,具有较好临床应用前景。目前III期临床试验表现出的主要不良反应有贫血、血小板减少、腹痛和周围神经病等^[55]。

Fedratinib最初是由赛诺菲公司研发的一款小分子选择性JAK2抑制剂,激酶水平对JAK2的 IC_{50} 为3 $nmol \cdot L^{-1}$,选择性比JAK1和JAK3分别高35和334倍。2018年初Celgene公司获得该候选药物的开发权,fedratinib的特点是对野生型和V617F突变的JAK2均有很强的抑制作用,在骨髓增殖性肿瘤的临床前研究中,fedratinib表现出剂量依赖性地降低表达V617F的细胞群数目而对正常造血系统未见不利影响。由于表达V617F细胞群的减少能够提高存活率,因此该药物治疗JAK2V617F突变的骨髓纤维化患者具有一定优势。该药目前已经完成了骨髓纤维化的III期临床试验,并向FDA递交了新药申请,处于等待审批阶段^[32,56]。Fedratinib在III期临床试验表现出的不良反应有贫血、胃肠道症状及肝脏转氨酶、血清肌酐、胰酶等的升高^[57]。

4 JAK2抑制剂联合用药治疗MPNs的应用

JAK2小分子抑制剂联合其他药物治疗MPNs是一种积极的策略,已上市JAK2抑制剂ruxolitinib与其他药物的联合使用已在临床得到了应用和肯定。联合用药可以降低ruxolitinib的给药剂量,从而降低ruxolitinib的不良反应并达到更好的治疗效果。Ruxolitinib与达那唑^[58]联合使用可以使血小板计数保持正常,与泊马度胺^[59]联合使用能保护血红蛋白从而获得更好的治疗效果。更多的研究表明,JAK2抑制剂与干扰素^[60]或PI3K信号通路抑制剂^[61]等联合使用能够降低不良

反应及控制病情。

免疫调节剂干扰素- α -2a 联合 ruxolitinib 能够彻底缓解大部分骨髓纤维化或真性红细胞增多症患者的临床症状,同时降低 JAK2V617F 阳性的真性红细胞增多症患者的突变负荷^[62]。PI3K/Akt/mTOR 抑制剂具有明显调控细胞生长、增殖和分化的作用, mTOR 抑制剂联合 JAK2 抑制剂治疗 MPNs 具有明显的协同作用^[63], mTOR 别构抑制剂 (RAD001) 联合 ruxolitinib 作用比单独用药的给药剂量明显降低。RAD001 联合 JAK2 抑制剂 ruxolitinib 或 AZD1480 均可显著抑制真性红细胞增多症患者外周血单核细胞的集落形成,未见 mTOR 抑制剂联合 JAK2 抑制剂临床应用治疗 MPNs 的报道。目前 JAK2 小分子抑制剂联合其他药物治疗 MPNs 的临床研究还比较少,有待进一步探索与 JAK2 抑制剂联合使用具有协同作用的药物。

5 小结与展望

以 JAK2 为靶点治疗骨髓增殖性肿瘤的分子机制已基本明确,第一代非选择性的 JAK2 抑制剂 ruxolitinib 的成功上市,促进了针对 JAK2 的第二代选择性抑制剂的研发。基于当前结构生物学的发展,研究者们正设计多种策略试图获得低毒、高效、特异性更强的 JAK2 抑制剂,并逐渐克服 JAK2 抑制剂面临的主要挑战,包括:① 有效实现催化抑制效应而不具有脱靶效应;② 在 JAKs 抑制效应中提升对 JAK2 的选择性;③ 在 MPNs 的治疗中特异性靶向 JAK2V617F 突变型而不是野生型 JAK2。变构抑制剂的开发有助于克服上述难题, JAK2 的结构域特性也为小分子抑制剂的设计提供了可能的药物作用靶点。总之,随着对 JAK2 激酶结构特点和性质的不断认识,以及 MPNs 疾病发生过程中 JAK2 调控机制的进一步揭示,将为更具特色 JAK2 抑制剂的研发提供准确的信息,而来源于天然产物的小分子化合物所具备的结构多样性也为发现特色 JAK2 抑制剂提供更多机会。新型 JAK2 抑制剂的涌现将为骨髓增殖性肿瘤及自身免疫性疾病的治疗提供理想的策略。

References

- [1] Ihle JN. The Janus protein tyrosine kinases in hematopoietic cytokine signaling [J]. *Semin Immunol*, 1995, 7: 247-254.
- [2] Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, et al. JAK inhibition with ruxolitinib *versus* best available therapy for myelofibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366: 787-798.
- [3] Waldmann TA, Chen J. Disorders of the JAK/STAT pathway in T cell lymphoma pathogenesis: implications for immunotherapy [J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 533-550.
- [4] Leonard WJ, O'Shea JJ. JAKs and STATs: biological implications [J]. *Annu Rev Immunol*, 1998, 16: 293-322.
- [5] Gadina M. Janus kinases: an ideal target for the treatment of autoimmune diseases [J]. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 2013, 16: S70-S72.
- [6] Ferrao R, Lupardus PJ. The Janus kinase (JAK) FERM and SH2 domains: bringing specificity to JAK-receptor interactions [J]. *Front Endocrinol*, 2017, 8: 71.
- [7] Toms AV, Deshpande A, McNally R, et al. Structure of a pseudo-kinase-domain switch that controls oncogenic activation of JAK kinases [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 1221-1223.
- [8] Ungureanu D, Wu JH, Pekkala T, et al. The pseudokinase domain of JAK2 is a dual-specificity protein kinase that negatively regulates cytokine signaling [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18: 971-976.
- [9] Zimran E, Hoffman R, Kremianskaya M. Current approaches to challenging scenarios in myeloproliferative neoplasms [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18: 567-578.
- [10] Mullally A, Lane SW, Ball B, et al. Physiological JAK2V617F expression causes a lethal myeloproliferative neoplasm with differential effects on hematopoietic stem and progenitor cells [J]. *Cancer Cell*, 2010, 17: 584-596.
- [11] Harrison DA. The JAK/STAT pathway [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012. DOI: 10.1101/cshperspect.a011205.
- [12] Yu H, Jove R. The STATs of cancer--new molecular targets come of age [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 97-105.
- [13] Yuliantie E, Dai XC, Yang DH, et al. High-throughput screening for small molecule inhibitors of the type-I interferon signaling pathway [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 889-899.
- [14] Vera J, Rateitschak K, Lange F, et al. Systems biology of JAK-STAT signalling in human malignancies [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2011, 106: 426-434.
- [15] Hubbard SR. Mechanistic insights into regulation of JAK2 tyrosine kinase [J]. *Front Endocrinol*, 2017, 8: 361.
- [16] Passamonti F, Maffioli M. Update from the latest WHO classification of MPNs: a user's manual [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2016, 2016: 534-542.
- [17] Passamonti F, Mora B, Giorgino T, et al. Driver mutations' effect in secondary myelofibrosis: an international multicenter study based on 781 patients [J]. *Leukemia*, 2017, 31: 970-973.
- [18] Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocytopenia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis [J]. *Cancer Cell*, 2005, 7: 387-397.
- [19] Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders [J]. *Lancet*, 2005, 365: 1054-1061.
- [20] Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352: 1779-1790.

- [21] James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal *JAK2* mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera [J]. *Nature*, 2005, 434: 1144-1148.
- [22] Pietra D, Li S, Brisci A, et al. Somatic mutations of *JAK2* exon 12 in patients with *JAK2* (V617F)-negative myeloproliferative disorders [J]. *Blood*, 2008, 111: 1686-1689.
- [23] Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. *JAK2* exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356: 459-468.
- [24] Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al. *MPLW515L* is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia [J]. *PLoS Med*, 2006, 3: e270.
- [25] Cabagnols X, Cayuela JM, Vainchenker W. A *CALR* mutation preceding BCR-ABL1 in an atypical myeloproliferative neoplasm [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372: 688-690.
- [26] Rampal R, Al-Shahrouf F, Abdel-Wahab O, et al. Integrated genomic analysis illustrates the central role of JAK-STAT pathway activation in myeloproliferative neoplasm pathogenesis [J]. *Blood*, 2014, 123: e123-e133.
- [27] Leroy E, Constantinescu SN. Rethinking *JAK2* inhibition: towards novel strategies of more specific and versatile Janus kinase inhibition [J]. *Leukemia*, 2017, 31: 1023-1038.
- [28] Vannucchi AM, Kiladjan JJ, Griesshammer M, et al. Ruxolitinib *versus* standard therapy for the treatment of polycythemia vera [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372: 426-435.
- [29] Mesa RA, Vannucchi AM, Mead A, et al. Pacritinib *versus* best available therapy for the treatment of myelofibrosis irrespective of baseline cytopenias (PERSIST-1): an international, randomised, phase 3 trial [J]. *Lancet Haematol*, 2017, 4: e225-e236.
- [30] Verstovsek S, Courby S, Griesshammer M, et al. A phase 2 study of momelotinib, a potent *JAK1* and *JAK2* inhibitor, in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia [J]. *Leuk Res*, 2017, 60: 11-17.
- [31] Mesa RA, Kiladjan JJ, Catalano JV, et al. SIMPLIFY-1: a phase III randomized trial of momelotinib *versus* ruxolitinib in Janus kinase inhibitor-naïve patients with myelofibrosis [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 3844-3850.
- [32] Pardanani A, Harrison C, Cortes JE, et al. Safety and efficacy of fedratinib in patients with primary or secondary myelofibrosis: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2015, 1: 643-651.
- [33] Verstovsek S, Hoffman R, Mascarenhas J, et al. A phase I, open-label, multi-center study of the *JAK2* inhibitor AZD1480 in patients with myelofibrosis [J]. *Leuk Res*, 2015, 39: 157-163.
- [34] Verstovsek S, Mesa RA, Salama ME, et al. A phase 1 study of the Janus kinase 2 (*JAK2*)^{V617F} inhibitor, gandotinib (LY2784544), in patients with primary myelofibrosis, polycythemia vera, and essential thrombocythemia [J]. *Leuk Res*, 2017, 61: 89-95.
- [35] Berdeja J, Palandri F, Baer MR, et al. Phase 2 study of gandotinib (LY2784544) in patients with myeloproliferative neoplasms [J]. *Leuk Res*, 2018, 71: 82-88.
- [36] Verstovsek S, Talpaz M, Ritchie E, et al. A phase I, open-label, dose-escalation, multicenter study of the *JAK2* inhibitor NS-018 in patients with myelofibrosis [J]. *Leukemia*, 2017, 31: 393-402.
- [37] Meyer SC, Keller MD, Chiu S, et al. CHZ868, a type II *JAK2* inhibitor, reverses type I *JAK* inhibitor persistence and demonstrates efficacy in myeloproliferative neoplasms [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28: 15-28.
- [38] Andraos R, Qian ZY, Bonenfant D, et al. Modulation of activation-loop phosphorylation by *JAK* inhibitors is binding mode dependent [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2: 512-523.
- [39] Lipka DB, Hoffmann LS, Heidel F, et al. LS104, a non-ATP-competitive small-molecule inhibitor of *JAK2*, is potently inducing apoptosis in *JAK2*V617F-positive cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7: 1176-1184.
- [40] Jatiani SS, Cosenza SC, Reddy MV, et al. A non-ATP-competitive dual inhibitor of *JAK2*^{V617F} and BCR-ABL^{T315I} kinases: elucidation of a novel therapeutic spectrum based on substrate competitive inhibition [J]. *Genes Cancer*, 2010, 1: 331-345.
- [41] Blanc J, Geney R, Menet C. Type II kinase inhibitors: an opportunity in cancer for rational design [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2013, 13: 731-747.
- [42] Samanta AK, Chakraborty SN, Wang Y, et al. Destabilization of Bcr-Abl/*JAK2* network by a *JAK2*/*Abl* kinase inhibitor ON044580 overcomes drug resistance in blast crisis chronic myelogenous leukemia (CML) [J]. *Genes Cancer*, 2010, 1: 346-359.
- [43] Hu M, Xu CB, Yang C, et al. Discovery and evaluation of ZT55, a novel highly-selective tyrosine kinase inhibitor of *JAK2*^{V617F} against myeloproliferative neoplasms [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38: 49.
- [44] Cervantes F, Pereira A. Does ruxolitinib prolong the survival of patients with myelofibrosis? [J]. *Blood*, 2017, 129: 832-837.
- [45] Verstovsek S, Gotlib J, Mesa RA, et al. Long-term survival in patients treated with ruxolitinib for myelofibrosis: COMFORT-I and -II pooled analyses [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 156.
- [46] Mascarenhas J, Hoffman R, Talpaz M, et al. Pacritinib *vs* best available therapy, including ruxolitinib, in patients with myelofibrosis: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4: 652-659.
- [47] Neubauer H, Cumano A, Müller M, et al. *JAK2* deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis [J]. *Cell*, 1998, 93: 397-409.
- [48] Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, et al. Safety and efficacy of INCB018424, a *JAK1* and *JAK2* inhibitor, in myelofibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363: 1117-1127.
- [49] Komrokji RS, Seymour JF, Roberts AW, et al. Results of a phase 2 study of pacritinib (SB1518), a *JAK2*/*JAK2* (V617F) inhibitor, in patients with myelofibrosis [J]. *Blood*, 2015, 125: 2649-2655.
- [50] Verstovsek S, Odenike O, Singer JW, et al. Phase 1/2 study of pacritinib, a next generation *JAK2*/*FLT3* inhibitor, in myelofi-

- brosis or other myeloid malignancies [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9: 137.
- [51] Tremblay D, Mascarenhas J. Pacritinib to treat myelofibrosis patients with thrombocytopenia [J]. *Expert Rev Hematol*, 2018, 11: 707-714.
- [52] Moran N. Incyte comes of age with JAK inhibitor approval [J]. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 3-5.
- [53] Zheng J, Xin Y, Zhang JY, et al. Pharmacokinetics and disposition of momelotinib revealed a disproportionate human metabolite-resolution for clinical development [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 237-247.
- [54] Asshoff M, Petzer V, Warr MR, et al. Momelotinib inhibits ACVR1/ALK2, decreases hepcidin production, and ameliorates anemia of chronic disease in rodents [J]. *Blood*, 2017, 129: 1823-1830.
- [55] Saeed I, McLornan D, Harrison CN. Managing side effects of JAK inhibitors for myelofibrosis in clinical practice [J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, 10: 617-625.
- [56] Harrison CN, Schaap N, Vannucchi AM, et al. Janus kinase-2 inhibitor fedratinib in patients with myelofibrosis previously treated with ruxolitinib (JAKARTA-2): a single-arm, open-label, non-randomised, phase 2, multicentre study [J]. *Lancet Haematol*, 2017, 4: e317-e324.
- [57] Pardanani A, Gotlib JR, Jamieson C, et al. Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 789-796.
- [58] Gowin K, Kosiorek H, Dueck A, et al. Multicenter phase 2 study of combination therapy with ruxolitinib and danazol in patients with myelofibrosis [J]. *Leuk Res*, 2017, 60: 31-35.
- [59] Andrei M, Sindhu H, Wang JC. Two cases of myelofibrosis with severe thrombocytopenia and symptomatology successfully treated with combination of pomalidomide and ruxolitinib [J]. *Leuk Lymphoma*, 2015, 56: 524-526.
- [60] Bjørn ME, De Stricker K, Kjær L, et al. Combination therapy with interferon and JAK1-2 inhibitor is feasible: proof of concept with rapid reduction in JAK2V617F-allele burden in polycythemia vera [J]. *Leuk Res Rep*, 2014, 3: 73-75.
- [61] Durrant ST, Nagler A, Vannucchi AM, et al. An open-label, multicenter, 2-Arm, dose-finding, phase 1b study of the combination of ruxolitinib and buparlisib (BKM120) in patients with myelofibrosis: results from HARMONY study [J]. *Blood*, 2015, 126: 827.
- [62] Bjørn ME, Hasselbalch HC. Minimal residual disease or cure in MPNs? Rationales and perspectives on combination therapy with interferon-alpha2 and ruxolitinib [J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, 10: 393-404.
- [63] Bartalucci N, Tozzi L, Bogani C, et al. Co-targeting the PI3K/mTOR and JAK2 signalling pathways produces synergistic activity against myeloproliferative neoplasms [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17: 1385-1396.