

La vía JAK-STAT de señalización intracelular y su repercusión en oncogénesis, inmunomodulación y desarrollo

Rafael F. Duarte^a y David A. Frank^b

^aMD, PhD. Research Fellow in Medicine at Harvard Medical School. ^bMD, PhD. Assistant Professor of Medicine at Harvard Medical School. Dana-Farber Cancer Institute. Department of Adult Oncology. Boston. Massachusetts. EE.UU.

Señalización intracelular; Oncogénesis; Inmunomodulación; Vía JAK-STAT

La interacción celular con la matriz extracelular, con otras células y con factores solubles, activa cascadas de señales intracelulares que finalmente inducen la transcripción de genes previamente en estado quiescente. Esta capacidad de las células de percibir y responder a las señales de su entorno es un aspecto esencial de los sistemas biológicos. Su análisis ha ido revelando que *in vivo*, cada función biológica determinada es mediada por varias de estas señales, las cuales actúan de forma simultánea, secuencial, o ambas. A su vez, cada señal concreta puede inducir respuestas diversas en diferentes tipos celulares, sistemas biológicos o situaciones fisiológicas. La complejidad de esta respuesta, su pleiotropismo, su redundancia funcional y su especificidad se sustentan sobre la distribución tisular y lineal, tanto de los receptores como de la compleja maquinaria intracelular que transmite las señales entre éstos y el núcleo. Esta maquinaria constituye una auténtica matriz que permite transmitir la activación de un mismo receptor por diferentes vías, dispersando la señal y posibilitando de este modo su interacción y modulación recíproca con otras vías y señales. Además, permite la agrupación de múltiples señales procedentes de receptores y vías diferentes en efectores comunes, generando todo ello una respuesta final integrada y adaptada al estímulo o estímulos, y consistente normalmente en proliferación, diferenciación, activación funcional, supervivencia o apoptosis¹.

Hace algo más de 5 años que, estudiando los mecanismos de inducción de expresión génica de la familia de los interferones, se definió una nueva vía de señales intracelulares que utiliza como mecanismo de transmisión de señal la fosforilización secuencial en residuos de tirosina de dos grupos de proteínas: las JAK y las STAT. Las JAK fueron clonadas en el rastreo mediante PCR de secuencias génicas que contuviesen dominios con actividad tirosincinasa²⁻⁴. Sin embargo, inicialmente este grupo de cinasas no se relacionó con ninguna vía conocida, recibiendo su denominación como acrónimo de *Just Another Kinase*. Más adelante se demostró su asociación con los receptores de las citocinas, y con la transmisión de la señal de activación de éstas a las STAT⁵. Estas últimas son proteínas intracelulares en estado latente, que se activan al ser fosforilizadas por las JAK, tras lo cual se trasladan al núcleo, donde se unen al ADN y activan la transcripción génica^{6,7}. Las STAT, por tanto, son proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción (*Signal Transducers and Activators of Transcription*). El

modo único de activación de la vía JAK-STAT (receptor-JAK-STAT-ADN) la hizo, desde un principio, foco de atención preferente de inmunólogos moleculares y biólogos celulares. En consecuencia, la enorme cantidad de información generada en estos pocos años nos ha permitido conocer mejor su estructura y regulación. Sabemos que es la vía más importante de transmisión de señal desde los receptores de las citocinas, y de hecho más de 40 polipéptidos inducen activación génica a través de ella, incluyendo, junto a los interferones, muchos otros de uso común en nuestros pacientes como la eritropoyetina, la hormona del crecimiento o el G-CSF (tabla 1). Sabemos que alteraciones de la vía se asocian a problemas clínicos como muerte fetal por anomalías del desarrollo linfocitario o formas de enanismo por anomalías del desarrollo del cartílago. Es más, sabemos que su activación constitutiva se asocia a transformación celular y oncogénesis, tanto en neoplasias hematológicas como epiteliales. La relevancia biológica de toda esta información ha convertido a la vía JAK-STAT en excelente diana de investigación terapéutica para la farmacología molecular y, simultáneamente, ha hecho trascender el interés por ella a ámbitos más amplios de la medicina⁸. El propósito de esta revisión es perfilar de forma esquemática el paradigma de transmisión de señales intracelulares a través de las proteínas JAK y STAT, para luego hacer hincapié en su actividad biológica y en las repercusiones clínicas de su papel en inmunomodulación y oncogénesis.

La vía JAK-STAT

Uno de los rasgos más característicos de la vía JAK-STAT es su rapidez. La activación máxima de la expresión génica tras su estimulación, por ejemplo con interferón (IFN), se produce en tan sólo 15 a 30 min, y es independiente de la síntesis de proteínas^{9,10}. De hecho *stat*, además del acróni-

TABLA 1

Principales estímulos que activan la vía JAK-STAT

Citocinas tipo I
Receptores sin actividad cinasa intrínseca
Comparten la cadena común γ
IL2, IL4, IL7, IL9, IL13, IL15
Comparten la cadena común β
IL3, IL5, GM-CSF
Comparten la cadena gp130 o cadenas asociadas
IL6, IL11, IL12, OSM, CNTF, LIF, leptina
Son homodímeros
G-CSF
Receptores con actividad cinasa intrínseca
SCF, PDGF, EGF, CSF-1, trombopoyetina, eritropoyetina
Citocinas tipo II
IFN α, IFNβ, IFNγ, IL10
Receptores hormonales
GH, prolactina
Miscelánea
Anti-CD3, anti-CD2, ligando del CD40, ligandos del CD28, angiotensina, inmunoglobulinas de superficie de los linfocitos B, CMH-I

Correspondencia: Dr. R.F. Duarte.
The Anthony Nolan Research Institute.
The Royal Free Hospital.
Pond Street, Hampstead, London NW3 2QG, UK.
Correo electrónico: duarte@rhsm.ac.uk

Recibido el 13-9-1999; aceptado para su publicación el 9-11-1999

Med Clin (Barc) 2000; 114: 227-234

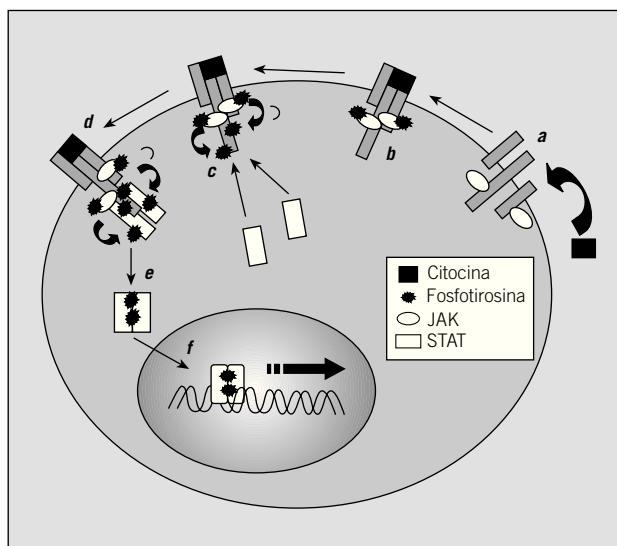


Fig. 1. Secuencia de activación de la vía JAK-STAT. La interacción de las citocinas con sus receptores induce oligomerización de los mismos y aproxima las JAK asociadas a ellos (a), que se fosforilan recíprocamente, aumentando así su actividad cinasa (b). A continuación, las JAK fosforilan residuos de tirosina en los dominios intracitoplasmáticos de los receptores, creando puntos de anclaje para las STAT (c), que se unen específicamente a los receptores, y son igualmente fosforiladas por las JAK (d). Al ser fosforiladas las STAT se activan, dimerizan, se liberan de los receptores (e) y pasan al núcleo, donde se unen a secuencias específicas de ADN, y activan la transcripción génica (f).

mo mencionado, es una voz inglesa que se utiliza en medicina clínica para denotar inmediatez. Ya hemos mencionado que el mecanismo principal de esta veloz transmisión de señal de la vía JAK-STAT es la fosforilación de residuos específicos de tirosina. Esto permite la interacción física entre la proteína fosforilada y proteínas que posean dominios SH-2. Los dominios SH-2 son secuencias de aminoácidos que reconocen específicamente residuos de fosfotirosina concretos¹¹. De esta forma, la asociación fosfotirosina/SH-2 posibilita la interacción entre múltiples proteínas transductoras de señal, y la transmisión de la información en sí¹². Paradójicamente, la mayoría de los receptores de las citocinas carecen de actividad cinasa intrínseca, por lo que son incapaces de iniciar directamente esta cadena de fosforilaciones¹³. En su lugar, se asocian a unas cinasas estructuralmente únicas: las JAK.

Las JAK son tirosincinasas intracelulares que se asocian estrechamente a las porciones citoplasmáticas de los receptores de las citocinas¹⁴. La interacción de las citocinas con sus receptores induce dimerización u oligomerización de los mismos, y en consecuencia, aproxima las JAK asociadas a receptores vecinos (fig. 1). Este acercamiento de las JAK permite su fosforilación recíproca, lo cual aumenta su actividad enzimática¹⁵. A continuación, las JAK fosforilan residuos de tirosina en las porciones intracelulares de los receptores, creando puntos de anclaje para la unión de las STAT, que poseen un dominio SH-2 (fosfotirosina del receptor con dominio SH-2 de la STAT) (figs. 1c y 2)^{16,17}. Una vez unidas al receptor, las STAT están al alcance de la actividad cinasa de las JAK, y son fosforiladas por éstas⁹. Esta dualidad estructural y funcional de las JAK les valió la denominación de *Janus kinases* en honor de Jano, el dios con dos rostros de las pueras romanas. Las JAK, como Jano, «miran» tanto hacia fuera, fosforilizando al receptor, como hacia dentro, fosforilizando a las STAT. Este nombre, además, permitía mantener el acrónimo JAK, y corresponde con su

estructura molecular, en la que destacan un dominio en el que verdaderamente reside la actividad cinasa –JH1–, y otro similar con actividad seudocinasa –JH2– (fig. 2). La fosforilación de las STAT se produce específicamente en un residuo de tirosina localizado, de forma conservada, a unos 700 aminoácidos del extremo N-terminal, justo al lado del dominio SH-2 por el que la STAT se une al receptor (fig. 2)⁶. Una vez fosforiladas, se produce una interacción recíproca entre la tirosina fosforilada de cada STAT con el dominio SH-2 de la STAT vecina. Esta doble interacción STAT/STAT predomina sobre la unión sencilla receptor/STAT, libera las STAT del receptor y las asocia en homodímeros o heterodímeros (fig. 1e)¹⁸. La dimerización capacita a las STAT para pasar del citoplasma al núcleo celular, sin que este claro aún el mecanismo, si este paso requiere la liberación de una proteína de anclaje citosólica, o cuál es la señal de localización nuclear. Una vez en el núcleo, los dímeros de STAT se unen directamente, mediante unos dominios centrales, a secuencias específicas de ADN denominadas GAS (*gamma-interferon activated sequences*) e ISRE (*interferon-stimulated response element*), desde donde activan la transcripción de los genes que poseen estas secuencias en sus promotores⁷. Más allá de la secuencia lineal de acontecimientos descrita hasta ahora, vamos conociendo progresivamente como JAK y STAT participan de redes de señalización más complejas. Por ejemplo, las STAT pueden ser activadas directamente, sin participación de las JAK, bien por receptores con actividad tirosincinasa intrínseca como el del EGF²⁰, o por otras tirosincinasas intracelulares como Src²¹. Por otro lado, las JAK, desde su unión íntima con los receptores parecen originar señales que se ramifican en varias direcciones, y no sólo hacia las STAT²². Asimismo, es relevante el hallazgo de que para inducir activación transcripcional máxima, al menos en el caso de STAT1 y STAT3, es necesaria, junto a la fosforilación en tirosina, la fosforilación adicional de un residuo de serina en posición 727^{23,24}, lo cual coloca a la vía JAK-STAT en un punto de convergencia con otras vías que, como la vía de MAPK, fosforilan residuos de serina incluidos en una secuencia de aminoácidos específica, similar a la de la mencionada serina 727. Además de las modificaciones de las STAT mediante fosforilación, la modulación de su actividad se ejerce también a otros niveles; por ejemplo, hay varios ejemplos de asociación de los dímeros de STAT, una vez en el núcleo, con otros elementos activadores de la transcripción, como p300/CBP con STAT1 y STAT2 en el caso de las señales inducidas por los interferones^{25,26}, el receptor de los glucocorticoides con STAT5²⁷, o el ATRA en células de leucemia promielocítica²⁸.

Junto a la rapidez de su instauración, otro hecho remarkable de esta vía es el carácter transitorio de su señal. El ciclo completo de señalización dura de 1 a 4 h, incluso en presencia continuada de IFN²⁹. Los mecanismos principales de regulación y finalización de la señal son defosforilación, degradación y bloqueo. La defosforilación ocurre en parte a nivel intracitoplasmático, afecta principalmente a las JAK y es ejercida por diferentes fosfatases, tales como SHP-1^{30,31}, o la familia SOCS-JAB-SSI, cuya expresión es inducida por las mismas citocinas que regulan su acción, constituyendo un ejemplo típico de circuito de autorregulación negativa³²⁻³⁴. No obstante, la mayor parte de la defosforilación parece deberse a una fosfatasa intranuclear que defosforila y separa los dímeros de STAT, que a continuación vuelven al citoplasma en su forma inactiva^{29,35}. Se ha demostrado degradación de STAT como mecanismo de control de la vía, al menos en el caso de STAT1³⁶. Además, hay al menos dos ejemplos de proteínas que compiten con la unión de las STAT al ADN, bloqueando su acción: BCL-6³⁷ y PIAS³⁸. To-

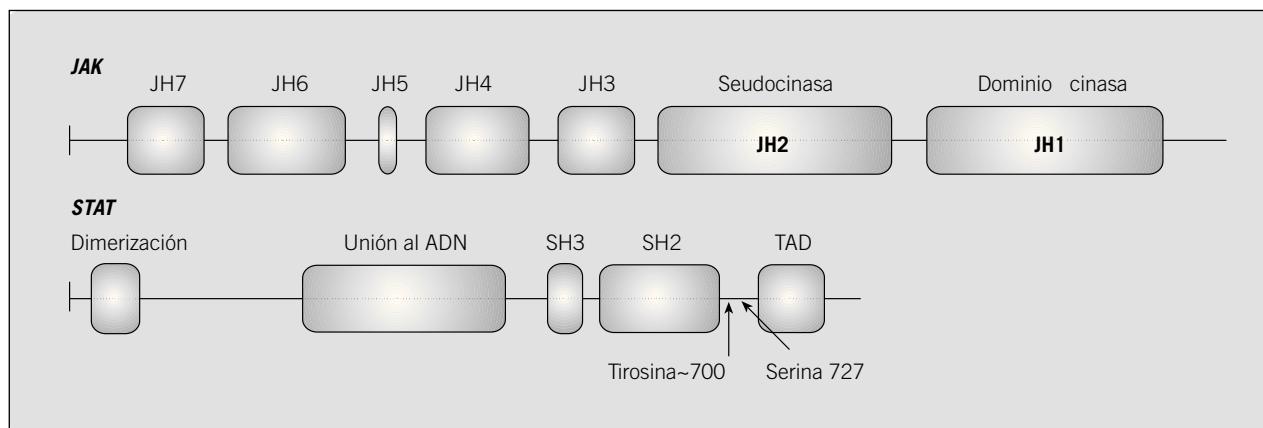


Fig. 2. Estructura de JAK y STAT. En los mamíferos se han identificado 4 JAK (JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2). Son cinasas relativamente grandes (~1.150 aas) y estructuralmente únicas por presentar un dominio con actividad cinasa en el extremo carboxiterminal (JH1) y un dominio seudocinasa adyacente (JH2). Hay 5 regiones homólogas más (JH3-JH7), pero sus funciones se desconocen. JH6 y JH7 parecen ser las zonas de unión a los receptores de las citocinas. En cuanto a las STAT, se han identificado 6 formas principales (STAT1 a STAT6), con un tamaño medio de 750 a 850 aas. Todas ellas poseen un residuo de tiroamina en posición ~700 que permite la activación de la molécula, un dominio SH2 que permite su unión a fosfotirosinas específicas del receptor o de otra STAT, una zona en el extremo aminoterminal que colabora en la dimerización, un dominio central de ~180 aas para su unión al ADN, y una región en el extremo carboxiterminal, distal al residuo de tiroamina, que media la activación transcripcional (dominio transactivador, TAD). Junto al TAD suele situarse un residuo de serina (S⁷²⁷) cuya fosforilación adicional es necesaria para inducir activación transcripcional máxima, al menos en STAT1 y STAT3. Para información más detallada sobre la estructura molecular o la organización génica de las JAK o STAT consultar las referencias 7, 24 y 89-91.

das estas interconexiones y modulaciones con otras vías y factores generan una respuesta final integrada y equilibrada, cuya relevancia *in vivo* está empezando a ser conocida con mayor amplitud.

La proliferación celular inducida por factores como IL3, EGF o PDGF depende, total o parcialmente según los modelos, de la activación de diferentes subtipos de STAT, y de hecho *c-fos*, un protooncogén implicado en la progresión del ciclo celular es inducido por STAT^{39,40}. Pero el papel de las JAK y STAT no se limita a la inducción de proliferación, sino que también median transcripción génica asociada con múltiples procesos de diferenciación celular. Así, STAT5 media la activación transcripcional de las proteínas de la leche en el epitelio mamario en respuesta a prolactina⁴¹, STAT3 desempeña un papel crítico en la diferenciación de astrocitos⁴², queratinocitos⁴³ y células mieloídes⁴⁴, y STAT4 y STAT6 tienen un papel clave en la modulación de la respuesta inmune adaptativa, pues intervienen en la diferenciación de los linfocitos T en sus subtipos Th1 y Th2, y de este modo en la generación de una respuesta de tipo celular o humoral^{45,46}. Junto a su papel en proliferación y diferenciación celular, las STAT intervienen en procesos de control de supervivencia celular y apoptosis, con efecto contrario según los sistemas. Así, por ejemplo, STAT1 es necesaria para el aumento de la expresión de Fas y su ligando en respuesta a IFN γ ⁴⁷, y para la expresión de varias caspasas en fibroblastos humanos⁴⁸, promoviendo apoptosis en ambos casos, mientras que se asocia a activación de Bcl-X, una proteína antiapoptótica, en células de cáncer de colon⁴⁹ y células musculares cardíacas⁵⁰. Si, como acabamos de ver, la vía JAK-STAT forma parte de los mecanismos de regulación fisiológica de procesos celulares, como supervivencia, proliferación y diferenciación, es de esperar que las alteraciones de esta vía puedan conducir a oncogénesis y a alteraciones de la inmunorregulación y el desarrollo.

Oncogénesis, inmunomodulación y desarrollo

¿Cuál es la importancia real para el organismo de la ausencia: el exceso o la disregulación de alguno de los componentes de la vía JAK-STAT? El esfuerzo investigador vertido

durante los últimos 5 años en este campo nos ha provisto con un cuerpo de evidencia suficiente para afirmar su relevancia biológica. Varias son las aproximaciones experimentales sobre las que se apoyan estas evidencias. Entre ellas destacan: a) el uso de formas mutadas de los receptores en los puntos de unión de las STAT que impiden la activación de la vía; b) el uso de formas mutadas de JAK y STAT con acción dominante pero afuncionales o «dominantes negativas»; c) la identificación de líneas celulares y el desarrollo de animales transgénicos deficientes en JAK o STAT; d) el estudio de la disregulación de la vía (p. ej., activación constitutiva de sus proteínas, en líneas tumorales o en muestras de pacientes oncológicos), y e) el estudio del efecto de diferentes agentes farmacológicos sobre estas acciones. De esta forma sabemos, como ya hemos mencionado, que alteraciones de la vía se asocian a trastornos del desarrollo embrionario, con fenotipos de gravedad variable: muerte fetal en diferentes estadios, inmunodeficiencia combinada grave por anomalía del desarrollo linfocitario, formas de enanismo por anomalías del desarrollo del cartílago, o alteraciones de la inmunidad innata por alteración específica de la respuesta a los interferones. Sabemos que su activación constitutiva se asocia a transformación maligna, tanto en neoplasias hematológicas como epiteliales. Y sabemos también que la acción de algunos fármacos antitumorales parece estar mediada, al menos parcialmente, por su efecto sobre esta vía. En este apartado haremos hincapié en los bloques de información mejor asentados y de mayor relevancia biológica, así como en los correspondientes a las líneas de investigación que desarrollamos en nuestro grupo.

Inmunodeficiencia combinada grave y JAK3

JAK3, a diferencia del resto de miembros de su familia, que son ubicuos, se expresa de forma casi restringida en células hematopoyéticas, asociada a la cadena común gamma de los receptores de la IL2, 4, 7, 9 y 15 (γ c), de la cual depende la transmisión de señal desde éstos⁵¹. De hecho, la mutación de la cadena γ c bloquea esta señal, y es la base molecular de la inmunodeficiencia combinada grave asociada al cromosoma X (SCID-X), que es consecuencia de una gra-

ve alteración del desarrollo linfocitario por ausencia de respuesta a estas citocinas⁵². Pues bien, la importancia biológica de JAK3 en la señalización desde la cadena γc , se demostró al desarrollar ratones transgénicos sin JAK3, que presentan el mismo trastorno linfocitario y el mismo fenotipo clínico de SCID⁵³, y al identificar en pacientes de SCID resultantes de alteraciones de JAK3, y no de γc ^{54,55}. Ésta fue la primera ocasión en que la alteración de un componente de la vía JAK-STAT demostró generar un problema clínico real en pacientes. Recientemente se ha demostrado que la ausencia de JAK3 no sólo afecta al desarrollo linfocitario sino también la mielopoyesis⁵⁶. La selectividad de los defecos dependientes de la disfunción de JAK3 por el sistema inmune apunta hacia JAK3 como una interesante diana para el desarrollo de un nuevo grupo de fármacos inmunodepresores.

Fallo de la inmunidad natural asociada a los interferones

La relevancia biológica de la vía JAK-STAT en la respuesta celular frente a IFN α , β o γ se demostró tras la identificación de líneas celulares carentes de las JAK o de las STAT involucradas en dicha respuesta (JAK1, JAK2, Tyk2, STAT1 y STAT2). En estas líneas no sólo se perdía la activación génica que ya hemos revisado⁷, sino que además este hecho demostraba tener consecuencias funcionales reales. El tratamiento con IFN fracasa en su habitual inhibición del crecimiento celular o en el establecimiento de un estado antiviral^{57,58}. Y de forma aún más concluyente, el desarrollo de ratones transgénicos demostró que, *in vivo*, la pérdida de STAT1 produce un fenotipo caracterizado por fallo de la inmunidad antiviral mediada por los interferones de la inmunidad antibacteriana dependiente de los macrófagos activados por IFN γ , y que en consecuencia, estos ratones sucumben a exposiciones mínimas a agentes infecciosos^{59,60}.

STAT1 y leucemia linfática crónica

Los linfocitos de los pacientes con leucemia linfática crónica (LLC) presentan fosforilación constitutiva del residuo Ser⁷²⁷ de STAT1 y STAT3⁶¹. Ya hemos comentado anteriormente que esta fosforilación adicional en serina es necesaria para inducir activación transcripcional máxima²⁴, y en condiciones normales se produce sólo en respuesta al estímulo. Su activación constitutiva, al conferir este estado de preactivación en ausencia de estímulo, colabora al aumento de proliferación y supervivencia característicos de las células de esta neoplasia. El hallazgo de la cinasa que produce esta fosforilación constitutiva es uno de los proyectos actualmente en marcha en nuestro laboratorio, y probablemente proveerá importante información sobre la génesis de la LLC.

Leucemia mieloide crónica, cromosoma Philadelphia y BCR-ABL

El cromosoma Philadelphia es el resultado de una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. Su producto es una proteína de fusión denominada Bcr-Abl, que tiene dos formas predominantes, una de 210 kDa característica de la leucemia mieloide crónica (LMC), y otra de 190 kDa característica de algunos casos de leucemia aguda linfoblástica⁶². Bcr-Abl es una tirosincinasa muy activa que puede transformar células hematopoyéticas *in vitro* e *in vivo*, haciéndolas independientes de las citocinas que normalmente precisan para sobrevivir^{63,64}. Dado que estas citocinas ejercen su acción, al menos en parte, activando determinadas JAK y STAT, resulta una hipótesis atractiva analizar si la acción transformadora de Bcr-Abl, se debe a un efecto directo

de activación de STAT sin necesidad de citocinas. En concordancia con esta hipótesis, se ha demostrado que tanto en modelos de transformación celular *in vitro* como en muestras de pacientes con LMC, Bcr-Abl, fosforila y activa STAT1 y STAT5 sin mediación de ninguna JAK^{65,66}. Más recientemente, han surgido las primeras evidencias de que esta activación específica de, al menos STAT5, es condición necesaria para la transformación celular inducida por Bcr-Abl, pues la sobreexpresión de formas mutantes dominantes negativas que inhiben la función de STAT5 es capaz de inhibir la capacidad de Bcr-Abl, para inducir transformación celular⁶⁷.

STAT3 y cáncer de mama

Ya hemos mencionado que las STAT, en concreto STAT5, desempeñan un papel en el desarrollo y diferenciación del epitelio mamario inducida por prolactina⁴¹. Este hecho planteó la posibilidad de que alteraciones de STAT pudieran formar parte de la patogenia del cáncer de mama. El hallazgo más constante en este sentido es la fosforilación constitutiva de STAT3 en líneas celulares de cáncer de mama, que no se produce en el epitelio mamario sano⁶⁸. Esta activación constitutiva de STAT3 es un hecho común a diferentes modelos de carcinogénesis mamaria, como son los carcinomas de mama asociados a sobreexpresión del receptor del EGF⁶⁹, o a la sobreexpresión de ornitindescarboxilasa⁷⁰. Por tanto, parece que la activación de STAT3 es un acontecimiento central en el proceso de transformación del epitelio mamario inducida por diferentes estímulos.

Otras neoplasias hematológicas y no hematológicas

La activación inadecuada de JAK y STAT induce crecimiento, diferenciación y supervivencia celular anormales. La primera evidencia de que este fenómeno lleva a cabo un papel en la oncogénesis en humanos se derivó de la constatación de la activación constitutiva de algunas de estas proteínas (STAT1, STAT3 y STAT5) en muestras de pacientes con leucemias agudas de estirpe linfoides y mieloide^{71,72}. Junto a las entidades que ya hemos comentado, el espectro de tumores hematológicos y no hematológicos con el que estas alteraciones se han visto relacionadas es cada día más amplio. En linfomas T (p. ej., en micosis fungoide), en leucemia linfoma T del adulto y en modelos *in vitro* de transformación celular por HTLV-1 se detecta fosforilación constitutiva de STAT3, y según los casos también de STAT1 y STAT5. A diferencia de la transformación por Bcr-Abl, en estos casos las JAK (JAK1 y JAK3) están activadas también, y de hecho, la fosforilación de JAK y STAT y el crecimiento irregular de las células linfomatosas se pueden bloquear mediante el tratamiento con inhibidores de las JAK. Los mecanismos de transformación en este caso parecen relacionarse con activación autocrina o paracrina anómala del receptor de la IL6⁷³⁻⁷⁵. En el caso de las neoplasias de estirpe B la estimulación anómala de la vía JAK-STAT es inducida por IL6⁷⁶. Esto es particularmente importante en el mieloma múltiple. Las células plasmáticas tumorales expresan tanto IL6 como su receptor, generando un circuito autocrino y paracrino de activación que promueve el crecimiento y la supervivencia de las células mielomatosas^{77,78}. IL6 activa normalmente STAT1 y STAT3. Pues bien, este circuito de activación de IL6 se refleja en la médula ósea mediante activación de STAT3 que está fosforilizada en pacientes con mieloma múltiple, pero no en sujetos sanos⁷⁸. Además, en neoplasias B que no dependen de IL6 para su crecimiento, la fosforilación de STAT3 es constitutiva, es decir, no precisa de IL6⁷⁹. Pero la activación de circuitos autocrinos no

es un mecanismo oncogénico limitado a los tumores hematológicos. Por ejemplo, y continuando con la IL6, su expresión y la de su receptor están incrementadas también en células de carcinoma de colon, en las cuales IL6 fosforiliza y activa preferentemente STAT1, promoviendo un incremento en su supervivencia, aunque sin afectar su crecimiento ni diferenciación^{49,80}. Aunque las consecuencias *in vivo* de la posible manipulación en diferentes partes del circuito autocrino de IL6 en estos distintos modelos aún debe ser dilucidada, parece claro que IL6, activando diferentes STAT, desempeña un papel importante en el desarrollo de una amplia variedad de tumores en humanos.

Desarrollo osteosquelético, factor de crecimiento de fibroblastos y STAT1

Los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) realizan un papel crucial en el desarrollo del cartílago, y de hecho mutaciones concretas de su dominio tirosincinasa alteran la proliferación y organización de los cartílagos de crecimiento de los huesos largos, produciendo el fenotipo que caracteriza la displasia tanatofórica (DT), una forma de acondroplasia⁸¹. En el caso concreto de la DT tipo II, la mutación produce un aumento de la actividad cinasa de dicho dominio, que activa constitutiva y específicamente STAT1. La activación de STAT1 induce expresión de p21, un inhibidor del ciclo celular, tanto *in vitro* como en muestras de fetos afectados por la enfermedad⁸². El aumento de expresión de p21 descompensa el balance de señales mediadas desde los FGFR a través de otras vías, como MAPK, y bloquea el crecimiento de los condrocitos, produciendo la enfermedad. Éste es además un interesante ejemplo en el que la activación de STAT no solamente resulta en activación de la proliferación celular, sino que en ocasiones la bloquea.

Possibilidades de intervención terapéutica y perspectivas de futuro

La importancia del amplio grupo de enfermedades, fundamentalmente tumores, en que encontramos una activación inadecuada de la vía JAK-STAT, la ha convertido en una atractiva diana de investigación terapéutica para la farmacología molecular. A pesar del atractivo inicial, este tipo de aproximación debe enfrentar varias cuestiones. Entre ellas, resulta crucial la selectividad de la acción terapéutica, que se manifiesta de forma práctica en dos vertientes, la eficacia y la toxicidad. Es una clara ventaja en materia de eficacia terapéutica la posibilidad de utilizar como diana moléculas que se encuentran en los puntos de convergencia de múltiples señales que finalmente generan un fenotipo patológico. Pero esta misma localización estratégica supone una desventaja potencial en materia de toxicidad cuando dichas moléculas regulan procesos fisiológicos decisivos tales como proliferación, diferenciación o supervivencia celular. En este sentido, es importante subrayar que la activación inapropiada de la vía JAK-STAT que hemos descrito en tumores es de una magnitud muchas veces superior al nivel de activación que se encuentra en condiciones fisiológicas. Por tanto, desde un punto de vista cuantitativo, una inhibición de la vía, incluso parcial, podría ser suficiente para bloquear su efecto transformador sobre células tumorales sin causar toxicidad en células sanas. Por otro lado, en términos cualitativos, hay datos de que existe suficiente redundancia funcional como para compensar, al menos en algunos casos, el efecto de la inhibición completa de una de estas moléculas. Por ejemplo, como ya hemos dicho ante-

riormente, los ratones transgénicos carentes de STAT1 presentan defectos de inmunidad celular pero, por lo demás, se desarrollan normalmente^{59,60}; la pérdida de STAT4 o STAT6 altera determinadas funciones inmunorreguladoras sin conducir a anormalidades más amplias⁴⁵, y la de STAT5, provoca defectos en la respuesta a prolactina o a la hormona del crecimiento pero permite el desarrollo de ratones con un fenotipo relativamente sano⁸³. Estos datos sugieren que se puede bloquear la vía JAK-STAT con fines terapéuticos sin generar una toxicidad intolerable. Es cierto que el desarrollo final de un fenotipo tumoral es el resultado de la acción patogénica combinada de múltiples alteraciones, y que las STAT no son los únicos factores de transcripción implicados en la oncogénesis. No obstante, este mismo concepto implica que el bloqueo de la acción anormal de una de estas causas patogénicas contribuyentes, como por ejemplo las STAT, puede ser suficiente para restringir el crecimiento o la supervivencia celular y de esta forma bloquear el fenotipo tumoral.

Desde los receptores a la activación de la expresión génica son muchos los ámbitos en que, al menos en teoría, podemos actuar. En casos como el del mieloma múltiple⁷⁶⁻⁷⁸ o el cáncer de colon^{49,80}, en que la naturaleza tumoral de las células parece relacionarse, al menos parcialmente con un circuito autocrino anómalo, la diana óptima sería el propio receptor. En este sentido, hay evidencias en líneas celulares de mieloma múltiple de que antagonistas de la IL6 inhiben el crecimiento celular y aumentan su susceptibilidad a apoptosis⁷⁸. Es importante resaltar que anticuerpos frente al receptor de IL6 han sido utilizados previamente en pacientes, demostrando que este tipo de abordaje terapéutico es posible⁸⁴. En cuanto al cáncer de colon, hay datos de que el butirato, un ácido graso de cadena corta que producen las bacterias intestinales a partir de la fibra de la dieta, media al menos en parte el papel protector de ésta. El tratamiento *in vitro* con butirato disminuye la expresión del receptor de IL6 en las células de cáncer de colon, rompiendo el circuito autocrino y anulando, por tanto, la activación inapropiada de STAT1 y la resistencia a apoptosis que ya habíamos mencionado⁴⁹. Significativamente, la aspirina y otros antiinflamatorios no esteroides que disminuyen el riesgo de cáncer de colon alteran la transmisión de señales de la IL6 de modo similar al butirato, disminuyendo la expresión del receptor y la fosforilización de STAT1 (observaciones propias no publicadas). Parece pues, que la capacidad de inhibir la fosforilización de STAT1 inducida por IL6 es una propiedad común a múltiples sustancias que previenen el cáncer de colon.

Muchas veces la activación de las JAK o STAT se produce constitutivamente, es decir, con independencia del estado de activación del receptor, bien por proteínas de fusión anómalas con actividad cinasa, como Bcr-Abl, o por otras cinasas, conocidas o no, como en los casos de leucemias agudas o LLC. En esta situación, conociendo la estructura de las moléculas y el funcionamiento de la vía, es posible diseñar múltiples estrategias. En este sentido, podemos inhibir las cinasas, como hace AG490, un inhibidor de JAK2 que bloquea el crecimiento de células de leucemia linfática aguda⁸⁵ o micosis fungoideas⁷³. Asimismo, se puede disminuir la cantidad de STAT bloqueando su síntesis en el ARN mensajero con oligonucleótidos antisentido⁸⁶, o introducir formas dominantes negativas de STAT, que carecen del dominio de unión al ADN o del dominio transactivador, con lo cual dimerizan con las STAT endógenas y bloquean su acción⁸⁷. Éstas y otras posibilidades, procedentes de los modelos *in vitro* y de los laboratorios de investigación, están cada vez más próximas a la aplicación clínica. El STI 571, un inhibi-

dor de la actividad tirosincinasa de Bcr/Abl, y subsecuentemente, de la fosforilación de STAT y otras proteínas que éste induce, está siendo analizado en ensayos clínicos⁹². Los resultados inciales muestran un alto índice de respuestas hematológicas y citogenéticas en pacientes con leucemia mieloide crónica de alto riesgo en ausencia de toxicidad relevante. Además, vamos acumulando evidencias de que fármacos antitumorales actualmente en uso actúan, al menos en parte, a través de estos mecanismos. Resaltaremos el caso de la fludarabina, un fármaco importante en el tratamiento de la LLC y otras neoplasias linfoideas. Su acción preferente sobre neoplasias de bajo índice mitótico apunta, a pesar de ser un análogo de nucleótidos, a un mecanismo de acción diferente de su incorporación al ADN. Además, la fludarabina produce un estado de inmunodepresión comparable al inducido en animales transgénicos por la ausencia de STAT1^{59,60}. Partiendo del hallazgo de la fosforilación constitutiva de STAT en el residuo de Ser⁷²⁷, se analizaron los efectos de la fludarabina sobre este estado de fosforilación constitutiva como un posible mecanismo de acción de la droga. Los resultados demuestran que el tratamiento con fludarabina induce una disminución importante de la cantidad total de STAT1, tanto de la proteína como en el ARN mensajero, y una inhibición importante de su fosforilación, de su paso al núcleo y de su unión al ADN en respuesta a IFN α . Estos hallazgos se producen tras el tratamiento *in vitro* con fludarabina de PBL de sujetos sanos o pacientes con LLC, e *in vivo* en muestras de pacientes con LLC en tratamiento con este fármaco⁶⁸. Todo esto demuestra no sólo que STAT1 es una diana de la acción de la fludarabina, sino que otros inhibidores de STAT1 pueden poseer actividad antitumoral e inmunomoduladora.

Conclusiones

La enorme cantidad de información generada en los últimos años sobre la vía JAK-STAT ha subrayado su importancia mediadora de la acción de muchas citocinas y factores de crecimiento sobre procesos celulares primordiales como proliferación, diferenciación y control de la supervivencia o muerte celular. En concordancia con su relevancia fisiológica, tenemos evidencias de que sus alteraciones desempeñan un papel en el desarrollo de fenotipos anormales de desarrollo embrionario y posnatal y en la aparición de una amplia variedad de tumores. El siguiente objetivo es traducir nuestro conocimiento progresivo de la patogenia molecular de estas enfermedades en estrategias eficaces que nos permitan tratarlas con mayor especificidad y menor toxicidad. En este sentido, moléculas que como las STAT están en los puntos de convergencia de múltiples estímulos patogénicos resultan especialmente atractivas. Son muchas las áreas en que la farmacología molecular puede actuar. El desarrollo de sustancias que actúen en estas diferentes áreas no sólo tiene importancia por su aplicabilidad práctica en pacientes a medio plazo, sino que de forma inmediata permite un mejor conocimiento de los mecanismos de enfermedad, particularmente de la oncogénesis. Sólo a través de un flujo de información bidireccional y constante entre este conocimiento básico y los resultados de su aplicación clínica podremos producir un verdadero impacto en beneficio de nuestros pacientes.

Agradecimiento

Los autores desean agradecer a los doctores I. Luque, J. Odriozola, R. Ramírez y A. Torres su revisión crítica del manuscrito, y a la entidad CAJASUR su apoyo financiero inicial a R.F.D.

Abreviaturas utilizadas en el texto, tabla y figuras

- ATRA: ácido transretinoico
- BCL-6: gen asociado a linfomas de células B número 6
- CMH-I: complejo mayor de histocompatibilidad de clase I
- CNTF: factor neurotrófico ciliar
- CRE: elemento de respuesta al AMP cíclico
- CREB: proteína de unión a CRE
- CSF-1: factor estimulador de colonias tipo 1
- DT: displasia tanatofórica
- EGF: factor de crecimiento epidérmico
- FGFR: receptor del factor de crecimiento de fibroblastos
- GAS: secuencias activadas por interferón gamma
- G-CSF: factor estimulador de colonias granulocíticas
- GH: hormona del crecimiento
- GM-CSF: factor estimulador de colonias granulomonocíticas
- HTLV1: virus de la leucemia humana T tipo 1
- ICAM1: molécula de adhesión intercelular tipo 1
- IFN: interferón
- IL: interleucina
- JAB: proteína que se une a JAK
- JAK: cinasa Jano, o "sólo una cinasa más" (*just another kinase*)
- JH: dominios de homología de las JAK
- LIF: factor inhibidor de leucemia
- MAPK: proteincinasa activada por mitógenos
- OSM: oncostatina M
- PCR: reacción en cadena de la polimerasa
- PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas
- PIAS: proteínas inhibidoras de las STAT activadas
- p300/CBP: proteína de unión a CREB
- SCID-X: inmunodeficiencia combinada grave asociada al cromosoma X
- SH-2: dominio de homología con el Src tipo 2
- SHP-1: tiroinfosfatasa con un dominio SH-2, tipo 1
- SOCS: depresores de las señales de las citocinas
- Src: tirosincinasa producida por *v-src*
- SSI: inhibidor de STAT inducido por STAT
- STAT: transductores de señal y activadores de la transcripción
- v-src*: gen viral causante del sarcoma. Primer oncogén conocido

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Taniguchi T. Cytokine signaling through nonreceptor protein tyrosine kinases. *Science* 1995; 268: 251-255.
2. Wilks AF. Two putative protein-tyrosine kinases identified by application of the polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1.603-1.707.
3. Firmbach-Kraft I, Byers M, Shows T, Dalla-Favera R, Krolewski JJ. Tyk2, prototype of a novel class of non-receptor tyrosine kinase genes. *Oncogene* 1990; 5: 1.329-1.336.
4. Wilks AF, Harpur AG, Kurban RR, Ralph SJ, Zurcher G, Ziemiczki A. 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: 2.057-2.065.
5. Muller M, Briscoe J, Laxton C, Guschin, Ziemiczki A, Silvennoinen O et al. The protein tyrosine kinase JAK 1 complements defects in interferon- α / β and - γ signal transduction. *Nature (Lond)* 1993; 366: 129-136.
6. Shuai K, Stark GR, Kerr IM, Darnell JE. A single phosphotyrosine residue of Stat91 required for gene activation by interferon- γ . *Science* 1993; 261: 1.744-1.746.
7. Darnell JE, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994; 264: 1.415-1.421.
8. Ransohoff RM. Cellular responses to interferons and other cytokines: the JAK-STAT paradigm. *N Engl J Med* 1998; 338: 616-618.
9. Shuai K, Stark GR, Kerr IM, Darnell JE. Polypeptide signaling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins. *Nature* 1993; 366: 580-583.
10. Silvennoinen O, Ihle JN, Schlessinger J, Levy DE. Interferon-induced nuclear signalling by Jak protein tyrosine kinases. *Nature (Lond)* 1993; 366: 583-585.
11. Schlessinger J. SH2/SH3 signaling proteins. *Curr Opin Genet Dev* 1994; 4: 25-30.
12. Belka C, Brach MA, Herrmann F. The role of tyrosine kinases and their substrates in signal transmission of hematopoietic growth factors: a short review. *Leukemia* 1995; 9: 754-761.
13. Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW, Yamamoto K, Silvennoinen O. Signalling through the hematopoietic cytokine receptors. *Ann Rev Immunol* 1995; 13: 369-398.

14. Colamonti OR, Uyttendaele H, Domanski P, Yan H, Krolewski JJ. p135^{Y62}, an interferon α (IFN- α)-activated tyrosine kinase, associates with the IFN- α receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 3.518-3.522.
15. Kotenko SV, Izotova LS, Pollack BP, Mariano TM, Donnelly RJ, Muthukumar G et al. Interaction between the components of the interferon gamma receptor complex. *J Biol Chem* 1995; 270: 20.915-20.921.
16. Witthuhn BA, Quelle FW, Silvennoinen O, Yi T, Tang B, Miura O, Ihle JN. JAK2 associates with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following stimulation with erythropoietin. *Cell* 1993; 74: 227-236.
17. Silvennoinen O, Witthuhn BA, Quelle FW, Cleveland JL, Yi T, Ihle JN. Structure of the murine Jak2 protein-tyrosine kinase and its role in interleukin 3 signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 8.429-8.433.
18. Shuai K, Horvath CM, Tsai Huang LH, Quereshi SA. Interferon activation of the transcription factor STAT91 involves dimerization of SH-2 phosphotyrosyl peptide interactions. *Cell* 1994; 76: 821-828.
19. Johnson HM, Torres BA, Green MM, Szentle BE, Siler KI, Larkin J 3rd, Subramanian PS. Hypothesis: ligand/receptor-assisted nuclear translocation of STAT. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 218: 149-155.
20. Park OK, Schaffer TS, Nathans D. *In vitro* activation of Stat3 by epidermal growth factor receptor kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13.704-13.708.
21. Chaturvedi P, Ramana Reddy MV, Premkumar Reddy E. Src kinases and not JAK activate STAT during IL-3 induced myeloid cell proliferation. *Oncogene* 1998; 16: 1.749-1.758.
22. Briscoe J, Kohlhuber F, Muller M. JAK and STAT branch out. *Trends Cell Biol* 1996; 6: 336-340.
23. Zhan X, Blenis J, Li HC, Schindler C, Kiang C. Requirement of serine phosphorylation for formation of STAT-promoter complexes. *Science* 1995; 267: 1.990-1.994.
24. Wen Z, Zhong Z, Darnell JE. Maximal activation of transcription by STAT1 and STAT3 requires both tyrosine and serine phosphorylation. *Cell* 1995; 82: 241-250.
25. Bhattacharya S, Eckner SR, Grossman E, Oldread Z, Arany Z, D'Andrea A et al. Cooperation of STAT2 and p300/CBP in signalling induced by interferon-alpha. *Nature (Lond)* 1996; 383: 344-347.
26. Zhang JJ, Vinkemeyer U, Gu W, Chakravarti D, Horvath CM, Darnell JE. Two contact regions between STAT1 and CBP/p300 in interferon γ signalling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15.092-15.096.
27. Stocklin E, Wissler M, Gouilleux F, Groner B. Functional interactions between STAT5 and the glucocorticoid receptor. *Nature (Lond)* 1996; 383: 726-728.
28. Garattini E, Mologni L, Ponzanelli I, Terao M. Cross-talk between retinoic acid and interferons: molecular mechanisms of interaction in acute promyelocytic leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 1998; 30: 467-475.
29. Haspel RL, Salditt-Georgieff M, Darnell JE. The rapid inactivation of nuclear tyrosine phosphorylated STAT1 depends upon a protein tyrosine phosphatase. *EMBO J* 1996; 15: 6.262-6.268.
30. David M, Chen HE, Goelz S, Larner AC, Neel BG. Differential regulation of the alpha/beta interferon-stimulated Jak/Stat pathway by the SH2 domain-containing tyrosine phosphatase SHPTP1. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 7.050-7.058.
31. Klingmuller U, Lorenz U, Cantley LC, Neel BG, Lodish HF. Specific recruitment of SH-PTP1 to the erythropoietin receptor causes inactivation of JAK2 and termination of proliferative signals. *Cell* 1995; 80: 729-738.
32. Starr R, Willson TA, Viney EM, Murray L, Rayner RR, Jenkins BJ et al. A family of cytokine-inducible inhibitors of signaling. *Nature (Lond)* 1997; 387: 917-921.
33. Endo TA, Masahura M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K et al. A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature (Lond)* 1997; 387: 921-924.
34. Naka T, Narazaki M, Hirata M, Matsumoto T, Minamoto S, Aono A et al. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature (Lond)* 1997; 387: 924-928.
35. Haspel RL, Darnell JE. A nuclear protein tyrosine phosphatase is required for the inactivation of STAT1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10.188-10.193.
36. Kim TK, Maniatis T. Regulation of interferon-gamma-activated STAT1 by the ubiquitin-proteasome pathway. *Science* 1996; 273: 1.717-1.719.
37. Dent AL, Shaffer AL, Yu X, Allman D, Staudt LM. Control of inflammation, cytokine expression and germinal center formation by BCL-6. *Science* 1997; 276: 589-592.
38. Chung CD, Liao J, Liu B, Rao X, Jay P, Berta P et al. Specific inhibition of Stat3 signal transduction by PIAS3. *Science* 1997; 278: 1.803-1.805.
39. Fu X, Zhang J. Transcription factor p91 interacts with the epidermal growth factor receptor and mediates activation of the *c-fos* gene promoter. *Cell* 1993; 74: 1.135-1.145.
40. Rajotte D, Sadowski HB, Haman A, Gopalbhai K, Meloche S, Liu L et al. Contribution of both STAT and SRF/TCF to *c-fos* promoter activation by granulocyte-macrophage colony stimulation factor. *Blood* 1996; 88: 2.906-2.916.
41. Wakao H, Gouilleux F, Groner B. Mammary gland factor (MGF) is a novel member of the cytokine regulated transcription factor gene family and confers the prolactin response. *EMBO J* 1994; 13: 2.182-2.191.
42. Boni A, Sun Y, Nadal-Vicens M, Bhatt A, Frank DA, Rozovski I et al. Regulation of gliogenesis in the central nervous system by the JAK-STAT signalling pathway. *Science* 1997; 278: 477-483.
43. Hauser PJ, Agrawal D, Hackney J, Pledger WJ. STAT3 activation accompanies keratinocyte differentiation. *Cell Growth Diff* 1998; 9: 847-855.
44. Shimozaki K, Nakajima K, Hirano T, Nagata S. Involvement of STAT3 in the granulocyte colony-stimulating factor-induced differentiation of myeloid cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 25.184-25.189.
45. Kaplan MH, Grusby MJ. Regulation of T helper cell differentiation by STAT molecules. *J Leukoc Biol* 1998; 64: 2-5.
46. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphocyte secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7: 145-173.
47. Xu F, Fu X-Y, Plate J, Chong AS-F. IFN- γ induces growth inhibition by fas-mediated apoptosis: requirement of STAT1 protein for up-regulation of Fas and FasL expression. *Cancer Res* 1998; 58: 2.832-2.837.
48. Kumar A, Commande M, Flickinger TW, Horvath CM, Stark GR. Defective TNF- α -induced apoptosis in STAT1-null cells due to low constitutive levels of caspases. *Science* 1997; 278: 1.630-1.632.
49. Yuan H, Mahajan S, Frank DA. IL-6 induced cell survival is prevented by burrata in colorectal carcinoma cells, 1999 (en prensa).
50. Fujio Y, Kunisada K, Hirota H, Yamauchi-Takahara K, Kishimoto T. Signals through gp130 upregulate *bcl-x* gene expression via STAT1-binding *cis*-element in cardiac myocytes. *J Clin Invest* 1997; 99: 2.898-2.905.
51. Gurniak CB, Berg LJ. Murine JAK3 is preferentially expressed in hematopoietic tissues and lymphocyte precursor cells. *Blood* 1996; 87: 3.151-3.160.
52. Noguchi M, Yi H, Rosenblatt HM, Filipovich AH, Adelstein S, Modi WS et al. Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell* 1993; 73: 147-157.
53. Nosaka T, Van Deursen JM, Tripp RA, Thierfelder WE, Witthuhn BA, McMickle AP et al. Defective lymphoid development in mice lacking Jak3. *Science* 1995; 270: 800-802.
54. Macchi P, Villa A, Gillani S, Sacco MG, Frattini A, Porta E et al. Mutations of Jak-3 gene in patients with autosomal severe combined immune deficiency (SCID). *Nature (Lond)* 1995; 376: 65-68.
55. Russel SM, Tayebi N, Nakajima H, Riedy MC, Roberts JL, Aman MJ et al. Mutation of Jak3 in a patient with SCID: essential role of Jak3 in lymphoid development. *Science* 1995; 270: 797-800.
56. Grossman WJ, Verbsky JW, Yang L, Berg LJ, Fields LE, Chaplin DD et al. Dysregulated myeloproliferation in mice lacking JAK3. *Blood* 1999; 94: 932-939.
57. Bromberg JF, Horvath CM, Wen Z, Scheriber AC, Darnell JE. Transcriptionally active STAT1 is required for the antiproliferative effects of both interferon alpha and interferon gamma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7.673-7.678.
58. Horvath CM, Darnell JE. The antiviral state induced by alpha interferon and gamma interferon requires transcriptionally active STAT1 protein. *J Virol* 1996; 70: 647-650.
59. Meraz MA, White JM, Sheehan KC, Bach EA, Rodig SJ, Dighes AS et al. Targeted disruption of the STAT1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK-STAT signalling pathway. *Cell* 1996; 84: 431-442.
60. Durbin JE, Hackenmiller R, Simon MC, Levy DE. Targeted disruption of the mouse STAT1 gene results in compromised innate immunity to viral disease. *Cell* 1996; 84: 443-450.
61. Frank DA, Mahajan S, Ritz J. B Lymphocytes from patients with chronic lymphocytic leukemia contain signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 and STAT3 constitutively phosphorylated on serine residues. *J Clin Invest* 1997; 100: 3.140-3.148.
62. Kurzrock R, Guterman J, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med* 1988; 319: 990-998.
63. Konopka JB, Watanabe SM, Witte ON. An alteration of the human c-abl protein in K562 unmasks associated tyrosine kinase activity. *Cell* 1984; 37: 1.035-1.042.
64. Daley GQ, Baltimore D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myelogenous leukemia-specific P210bcr/abl protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9.312-9.316.
65. Carlesso N, Frank DA, Griffin JD. Tyrosyl phosphorylation and DNA-binding activity of STAT proteins in hematopoietic cell lines transformed by Bcr/Abl. *J Exp Med* 1996; 183: 811-820.
66. Frank DA, Varticovski L. Bcr/Abl leads to the constitutive activation of Stat proteins, and shares an epitope with tyrosine phosphorylated Stats. *Leukemia* 1996; 10: 1.724-1.730.
67. Nieborowska-Skorska M, Wasik MA, Salomoni P, Kitamura T, Calabretta B, Skorski T. STAT5 activation by Bcr/Abl is dependent on its intact SH3 and SH2 domains and is required for leukemogenesis. *J Exp Med* 1999; 189: 1.229-1.242.
68. Garcia R, Yu C-L, Hudnall A, Catlett R, Nelson KL, Smithgall T et al. Constitutive activation of STAT3 in fibroblasts transformed by diverse oncoproteins and in breast carcinoma cells. *Cell Growth Diff* 1997; 8: 1.267-1.276.
69. Sartor CI, Dziubinski ML, Yu CL, Jove R, Ethier SP. Role of epidermal growth factor receptor and STAT3 activation in autonomous proliferation of SUM-102PT human breast cancer cells. *Cancer Res* 1997; 57: 978-987.
70. Manni A, Trout D, Verderame MF, Beaston-Wimmer PR. Ornithine decarboxylase (ODC) overexpression activates Src and STAT signalling in MCF-10A human breast epithelial cells. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1999; 40: 99.

71. Gouilleaux-Gruart V, Gouilleaux F, Desaint C, Chaisse JF, Capiod JC, Delobel J et al. STAT-related transcription factors are constitutively activated in peripheral blood cells from acute leukemia patients. *Blood* 1996; 87: 1.692-1.697.
72. Xia Z, Baer MR, Block AW, Baumann H, Wetzler M. Expression of signal transducers and activators of transcription proteins in acute myeloid leukemia blasts. *Cancer Res.* 1998; 58: 3.173-3.180.
73. Nielsen M, Kaltoft, Nordahl M, Ropke C, Geisler C, Mustelin T et al. Constitutive activation of a slowly migrating isoform of Stat3 in mycosis fungoïdes: tyrophostin AG490 inhibits activation and growth of mycosis fungoïdes tumor cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6.764-6.769.
74. Migone T-S, Lin J-X, Cereseto A, Mulloy JC, O'Shea JJ, Franchini G et al. Constitutively activated Jak-STAT pathway in T cells transformed with HTLV-1. *Science* 1995; 269: 79-81.
75. Takemoto S, Mulloy JC, Cereseto A, Migone T-S, Patel BKR, Matsuda M et al. Proliferation of adult T cell leukemia/lymphoma cells is associated with the constitutive activation of JAK/STAT proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13.879-13.902.
76. Hilbert DM, Kopf M, Mock BA, Kohler G, Rudikoff S. Interleukin 6 is essential for in vivo development of B lineage neoplasms. *J Exp Med* 1995; 182: 243-248.
77. Kawano M, Hirano T, Matsuda T, Taga T, Horii Y, Iwato K et al. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature (Lond)* 1988; 332: 83-85.
78. Cattlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, Turkson J, Levitzki A, Savino R et al. Constitutive activation of STAT3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999; 10: 105-115.
79. Hilbert DM, Migone T-S, Kopf M, Leonard WJ, Rudikoff S. Distinct tumorigenic potential of *abl* and *raf* in B cell neoplasia: *abl* activates the IL-6 signaling pathway. *Immunity* 1996; 5: 81-89.
80. Shirota K, LeDuy L, Yuan SY, Jothy S. Interleukin-6 and its receptor are expressed in human intestinal epithelial cells. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1990; 58: 303-308.
81. Tavormina PL, Shiang R, Thompson LM, Zhu Y-Z, Wilkin DJ, Lachman RS. Thanatophoric dysplasia (types I and II) caused by distinct mutations in fibroblast growth factor receptor 3. *Nature Gen* 1995; 9: 321-328.
82. Su W-CS, Kitagawa M, Xue N, Xie B, Garofalo S, Cho J et al. Activation of Stat1 mutant fibroblast growth-factor receptor in thanatophoric dysplasia type II dwarfism. *Nature (Lond)* 1997; 386: 288-292.
83. Teglund S, McKay C, Schuetz E, Van Deursen JM, Stravopoudis D, Wang D et al. STAT5a and STAT5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokine responses. *Cell* 1998; 93: 841-850.
84. Klein B, Wijdenes J, Zhang XG, Jourdan M, Boiron JM, Brodier J et al. Murine antiinterleukin-6 monoclonal antibody therapy for a patient with plasma cell leukemia. *Blood* 1991; 78: 1.198-1.204.
85. Meydan N, Grunberger T, Dadi H, Shahar M, Aspasia E, Lapidot Z et al. Inhibition of acute lymphoblastic leukemia by a Jak-2 inhibitor. *Nature (Lond)* 1996; 379: 645-648.
86. Marra F, Choudhury GG, Abboud HE. Interferon- γ -mediated activation of STAT1 α regulates growth factor-induced mitogenesis. *J Clin Invest* 1996; 98: 1.218-1.230.
87. Mui AL, Wakao H, Kinoshita T, Kitamura T, Miyajima A. Suppression of interleukin-3-induced gene expression by a C-terminal truncated STAT5: role of Stat5 in proliferation. *EMBO J* 1996; 15: 2.425-2.433.
88. Frank DA, Mahajan S, Ritz J. Fludarabine-induced immunosuppression is associated with inhibition of STAT1 signaling. *Nature Med* 1999; 5: 444-447.
89. Darnell JE. STAT and gene regulation. *Science* 1997; 277: 1.630-1.635.
90. Ihle JN. STAT: signal transducers and activators of transcription. *Cell* 1996; 84: 331-334.
91. Leonard WJ, O'Shea JJ. JAKs and STATs: biological implications. *Ann Rev Immunol* 1998; 16: 293-322.
92. Druker BJ, Talpaz M, Resta D, Peng B, Buchdunger E, Ford J et al. Clinical efficacy and safety of an Abl specific tyrosine kinase inhibitor as targeted therapy for chronic myelogenous leukemia. Nueva Orleans: 41st Annual Meeting of the American Society of Hematology, 3-7 de diciembre de 1999.