Tepecik Eğit. ve Araşt. Hast. Dergisi 2016; 26(3):185-190
doi:10.5222/terh.2016.185

Derleme

Mesane kanseri ve kanser kök hücresinin rekürrens ile ilişkisi

Bladder cancer and relationship of cancer stem cell with recurrence

Yegane ÖZCAN, Fulya ÇAĞLAR, Zekiye ALTUN, Safiye AKTAŞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

ÖZ

Bu derleme ile mesane kanseri ve uygulanan BCG immunoterapisinin kanser kök hücrelerinin üzerinde etkin olup olmayacağı sorgulanarak sık rekürrenslerin altında hangi mekanizmaların olabileceğinin tartışılması hedeflenmiştir.

Anahtar kelimeler: Mesane kanseri, immunoterapi, kanser kök hücre

ABSTRACT

In this review, we aimed to inquire whether bladder cancer and BCG immunotherapy to be applied are effective on cancer stem cells, and discuss underlying mechanisms of frequent recurrences.

Key words: Bladder cancer, immunotherapy, cancer stem cell

Alındığı tarih: 22.03.2016
Kabul tarihi: 12.04.2016

Yazışma adresi: Prof. Dr. Safiye Aktaş, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Mithatpaşa Cad. İnciraltı 35390 İzmir
e-mail: safiyeaktas@yahoo.com

Mesane Kanseri

Mesane kanseri genitoüriner kanser türleri içerisinde en fazla karşılaşılan ikinci kanser türüdür. Dünya genelinde ilk tanıda ve tedavi sonrasında tüm kanser türleri içerisinde erkeklerde görülme sıklığı açısından dördüncü, kadınlarda ise onuncu sırada yer almaktadır [1,2]. Mesane kanserinin bu derece yüksek bir insidansa sahip olmasının başlıca nedeni, tedavi sonrasında hastaların büyük bir çoğunluğunda rekürrens gözlenmesidir [3].

Mesane kanseri, kasa invaziv ve kasa invaziv olmayan olmak üzere genel olarak iki gruba ayrılır. Kasa invaziv mesane kanserinin ilk tanıda görülme olasılığı daha düşüktür fakat daha agresif bir yayılıma sahiptir. Bu nedenle mortalite oranı daha yüksektir [4,5]. Kasa invaziv olmayan mesane kanselerinin ise ilk tanıda görülme olasılığı daha yüksektir. Mortalite oranı kasa invaziv tip mesane kanserine göre daha düşüktür ve hastalar tedaviye karşı iyi yanıt gösterirler. Kasa invaziv olmayan mesane kanseri iyi klinik özellik gösterse de, hastaların bir çoğunda tümör oluşumu yine meydana gelebilmektedir. Bununla birlikte, kasa invaziv olmayan mesane kanseri kullanılan standart tedaviye rağmen (endoskopik ve intravezikal tedaviler), kasa invasiv mesane kanserine dönüşebilmektedir [6,7]. Bu nedenle, mesane kanseri tipine bağlı olmaksızın hastalığın tedavisi güç bir hâl alabilmektedir.

Mesane Kanserinde Tedavi Yaklaşımları

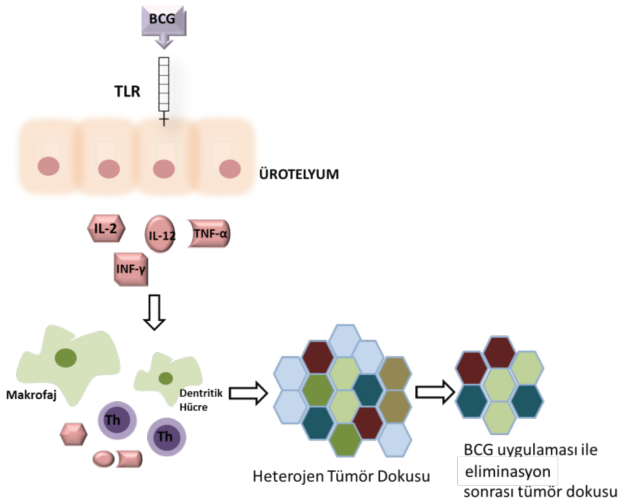
Kasa invaziv olmayan mesane kanseri hastalarında öncelikle başvurulan tedavi yöntemi transüretral rezeksiyon (TUR)'dur [8,9]. Tedavi edici etkinliği düşük evredeki tümörlerde daha fazladır. Fakat TUR yapılan hastalarda tümör dokusunun tamamının çıkarılması oldukça büyük bir önem taşımaktadır. Çünkü düşük evredeki tümörlerde progresyon eğilimi oldukça fazladır. Buna bağlı olarak rekürrens olasılığı artabilmektedir [8-10]. TUR sonrasında rekürrensi azaltmak veya bu süreyi kısaltmak önemlidir.

Hastalığın ilerlemesini engellemek amacıyla intravezikal immünostimulan ve/veya sitotoksik ilaçlar kullanılmaktadır [11]. Bu yaklaşımda, tümör rekürrensini önlemek, ilerlemeye giden süreci uzatmak (proflaktik amaç) ve TUR sonrası kalan rezidüel tümörün yok edilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçlar doğrultusunda özellikle TUR sonrasında intravezikal Bacillus Calmette Guarin (BCG) ve interferon gibi immünoterapotikler daha etkin olarak kullanılmaktadır [9,12].

Mesane Kanseri ve BCG Tedavisi

Mesane kanser tedavisinde kullanılan BCG'nin antitümör etkinliği lokal immün aktivasyonuna bağlıdır [13]. Özellikle mesane bu gibi immün uygulamalar için oldukça uygun bir hedef halindedir. Çünkü mesane kendi içerisinde sınırlı bir kompartmana sahiptir. Mesane yapısına bağlı olarak, immün terapi ajanının yüksek lokal konsantrasyonlara ulaşması ve immün hücrelerin hedef bölgeye ulaşabilmesi olasıdır. Bu nedenle mesane kanseri tedavisinde BCG sıklıkla kullanılmaktadır. Mesane içerisine verilen BCG antijeni üretelyal hücrelere, fibronektin bağlanma proteini (FAP) ile bağlanmaktadır [14]. BCG antijeni, yalnızca üretelyal hücrelere değil aynı zamanda nötrofil hücrelerine de bağlanarak inflamatuvar kaskadını tetiklemektedir. Kaskad mekanizması sonucunda sitokin salınımı ile beraber immün sistem aktivasyonu sağlanmaktadır [15]. BCG'nin antijen 85 kompleksi (30-32 kDa major protein antijeni) fibronektinin kollajen bağlanma bölgesine spesifik olarak bağlanır. Bu antijen immünodominant bir protein olduğu için aynı zamanda da güçlü bir interlökin-2 (IL-2) ve interferon uyaranıdır. Ayrıca BCG antijeni, immün sistemde "toll-benzeri" reseptörleri (TLR) uyararak, tümör nekroz faktör (TNF-α), interlökin-2(IL-2), interferon gama (IFN-γ) gibi sitokinlerin salgılanmasında da önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 1). Bu mekanizma ile tümöre karşı oluşturulan immün tedavi standart tedaviyi destekleyebilir [16,17].

BCG antijeni standart tedaviyi destekleyici bir unsur olarak görülmektedir. Fakat mesane kanserinde uygulanan BCG immunoterapisinden veya bu antijenin farklı immün sistem elemanlar ile kombinasyo-



Şekil 1. BCG ilaç uygulamasının mesane kanseri üzerine etkinliğinin şematik gösterimi.

nundan etkin bir sonuç alınamamaktadır. Uygulanan ek tedavi yöntemlerine rağmen, hastalığın sık rekürens göstermesi, kanser kök hücreleri (KKH) ve ilaç direnç mekanizmaları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [18]. Tedaviye karşı zamanla kanser hücrelerinde direnç mekanizması oluşabilmektedir. Ayrıca tümör dokusu içerisinde düşük bir oranda bulunan ve kök hücre benzeri özelliklere sahip hücre popülasyonları tedaviye karşı direnç göstermektedir. Mesane kanserinde, intravezikül immünoterapötikler ile bunların sitokin ve kemokinlerle olan kombinasyonlarının etkinlik değeri tümör içerisinde bulunan KKH'lerinin oranı ile de ilişkilendirilmektedir [19].

Kanser Kök Hücre Kavramı

Kanser kök hücrelerinin (KKH) sergiledikleri direnç mekanizmalarının araştırılması giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Kanser tedavisinde kemoterapi ve radyoterapi gibi uygulunan yöntemlerin yetersiz kalması kanser başlatıcı veya KKH'lerinin direnç mekanizmalarıyla ilişkilendirilmektedir [19,20]. Kanserde ilaç direnci mekanizmalarında ilaç hücreye alındıktan sonra hücre plazma membranında bulunan bazı taşıyıcı proteinler tarafından enerji harcanarak hücre dışarısına pompolanmaktadır. Bunun gibi direnç mekanizmasının açıklanabilmesi için KKH'lerinin fonksiyonel, fenotipik ve genotipik özelliklerine göre tanımlanmaları ve izolasyonları

oldukça önemlidir. Hematopoetik kök hücrelerde hoescht 33342 boyası kullanılarak uygulanan yan populasyon [(side population (SP)] yöntemi ile ABC transport sistemini göstermek olasıdır [21-23]. Bu yöntemdeki temel mantık kök hücrelerin bu boyayı dışlamasına dayanmaktadır. ABC transporter proteinleri normal hücrelerde hücre plasma mebranında bulunmakta ve hücreyi tehlikeli toksinlerden ve ksenobiyotiklerden korumaktadır. ABC transport proteinleri enerji bağımlı olarak çalışan oldukça geniş bir ailedir. Bu ailenin içerisinde böbrek, adrenal bezler, beynin kapiler kan damarları ve plesantada bulunan P-glycoprotein olarak bilinen MDR1 ve özellikle hematopoetik kök hücrelerde bulunan ABCG2 en önemlilerindendir [24-26]. Örneğin, meme bezlerinin süt kanallarında, hemapoetik kök hücrelerde ve beyin-kan bariyerinde yüksek seviyede ifadesi olan ABCG1 ve ABCG2 transporter proteinleri doxorubicinin hücre dışına pompalanmasından sorumludur. Çoklu ilaç direnci proteini olan MDR1(P-gp) ise paklitaksel, vinblastin ve vincristin gibi organik, katyonik, hidrofobik ve nötral bileşiklerin hücre dışına transferinde etkilidir. Ancak hücresel direnç mekanizmasında yalnızca ABC transport proteinleri rol almamaktadır. Aldehid de hidrogenaz (ALDH)'da direnç mekanizmasında özellikle ilaç detoksifikasyon mekanizmasında rol oynayan önemli bir enzim ailesidir [27-29]. ALDH1A1 ve ALDH3A1 siklofosfamidin detoksifikasyonunu katalize edebilmektedir [20]. Manabu ve ark.'nın [27] mesane kanseri ve sisplatin dirençliliği üzerine yaptıkları araştırmalarında, Hsp 90 proteininin inhibitörü üzerine yaptıkları çalışmada şaperon protein ailesinin de direnç mekanizmasında yeni bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu gibi direnç mekanizmaları tedavi uygulanan kanser hücrelerinin rekürrens etmesinde önemli bir kanıt olarak gösterilmektedir.

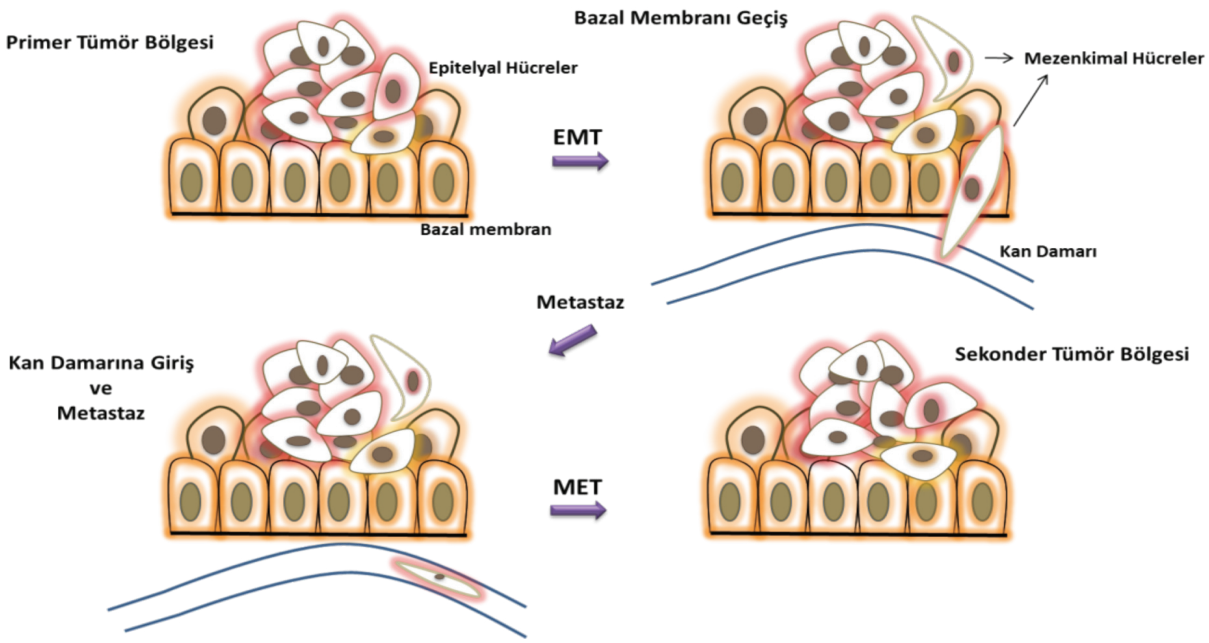
Kanser Kök Hücre ve Rekürrens İlişkisi

Kanser kök hücreleri ayrıca farklı kanser tipleri için rekürrens ile ilişkilendirilmiştir. Kanserin rekürrens etmesi genel söylemle tedavi süreci bittikten belli bir zaman sonra kanserin hastada yine gözlenmesi olarak tanımlanabilir. Standart tedavi ve destekleyici tedavilere rağmen, gözlenen rekürrens ve kötü klinik tabloda kanser kök hücreleri etkili olabilmektedirler [30-39]. Kanser kök hücresi olarak tanımladığımız kanser oluşumundan sorumlu bu hücrelerde meydana gelen mutasyonlar her bölünmede artarak birikmektedir. Bu mutasyonlar sonucunda tümörler heterojen bir yapı kazanmaktadırlar. Ayrıca daha fazla metastatik potansiyele sahiptirler. Bu süreç içerisinde rekürrens primer tümör ile aynı bölgede veya tamamen farklı bir bölgede oluşabilir. Burada etkili olan faktör öncelikle tümörün oluştuğu primer organ bölgesi, kanserin evresi hatta hastanın yaşam standartlarıdır.

Son yapılan çalışmalarda, kanser rekürrensinde KKH'lar sorumlu tutulmaktadır. Özellikle bu çalışmalarda, kök hücreler ve Epitalyal Mezankimal Transisyon (EMT) arasındaki bağlantı üzerinde durulmaktadır (Şekil 2). Sonuç olarak, EMT'nin hücre hareketi ve embriyogenez sırasında organ formasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu da Epitelyal kanserlerin metastaz oluşturmasında güçlü bir kanıt oluşturabilir. Ayrıca EMT ilişkili genlerinin ifadesinin oksijen miktarından etkilendiği bilinmektedir [33].

Bununla birlikte, farklı solid tümör tiplerinde EMT ve KKH dönüşüm oranları da değişmektedir. Örneğin en fazla değişim oranı %90 ile glioblastomda gözlenirken, luminal meme kanserinde bu oran %16, üçlü negatif meme kanserinde %53, prostat kanserinde %75, osteosarkomda %30-50, mesane kanserinde %40-50, melanomda %2,8-12, baş ve boyun ve metastatik melanomda %80 oranında gözlenmektedir. Bu birbirinden farklı oranlar kök hücrelerin farklı özellikteki hücre soylarını oluşturabilmeleri, organ ve dokulara dönüşebilmelerinden kaynaklanmaktadır [33-37].

Mesane kanseri ürotelyal adipose kökenli, kemik iliği kökenli, mezenkimal stromal ve mezenkimal kök hücresinin bir arada bulunduğu heterojen bir hücre topluğudur. Bu yüzden mesane kanserinde izole edilen kök hücre topluğu içerisinde CD44+, CD133+, CD47, CD49, ALDH ve keratin 14 gibi



Şekil 2. Epitelyal Mezenkimal Transisyon (EMT), metastaz ve MezenkimaEpitelyal Transisyon (MET).

farklı belirteçleri gösteren hücreler bulunmaktadır. Fakat bu belirteçler aynı zamanda meme, beyin, kolorektal, baş ve boyun, pankreas, prostat ve melanom gibi kanser türlerinde de bulunmaktadır. Bu da mesane kanserinde tedaviye yönelik spesifik bir belirtecin bulunmasını güçleştirmektedir. Mesane kanserinde uygulanan BCG aşısının tek başına yetersiz kalmasının önemli nedenlerinden birisi de bu heterojen tümör topluluğudur.

Keith ve ark. [38] mesane KKH ve normal mesane bazal hücre yüzey belirteci olan CD44+/-'e ek olarak, umbrella hücrelerinde ifade olan sitokeratin 20 (CK20+/-) ve normal bazal hücrelerde ifade olan sitokeratin 5(CK5+/-) yüzey belirteçlerini araştırmalarında belirleyici olarak kullandılar [38]. Araştırmalarında, CD44+ mesane kanser kök hücrelerinde CD44- mesane kanser kök hücrelerine kıyasla CD47'nin hematopoetik kök hücrelerdekine benzer bir şekilde gen ifadesinin yüksek seviyede olduğunu gözlemlediler. CD47 proteini makrofaj gibi fagositik hücrelerde ifade olan sinyal düzenleyici protein alfa (SIRPα) için bir ligandtır. Buradan esinlenerek, anti-CD47 monoklonal antikoru ile bu hücre yüzey belirtecini bloke ettiler. Sonuç olarak, CD47-SIRPα bir kompleks oluşturursa fagositozun engellendiğini gözlemlediler. Keith ve ark. [38] anti-CD47-SIRPα kompleksini oluşturduklarında gerçektende bu yapının in vitroda tümör başlatıcı hücrelerin fagositik hücreler tarafından ortadan kaldırıldıklarını gözlemlediler. Başka bir grubun yapmış olduğu araştırmada da, farklı kanser hücrelerinin yüzeyinde makrofajları çağıran protein kalretikülin (CRT) bulunduğu fakat CD 47'nin taşıdığı "beni yok etme" sinyali nedeniyle fagositozun engellediği ortaya çıkarılmıştır. CD 47 engellendiğinde ise yalnızca bu proteine sahip olan kanser hücreleri fagositoz araclığıyla ortadan kaldırılmıştır. Bu da CD47 hücre yüzey proteininin mesane kanseri için umut veren yeni bir yüzey belirteci olabileceğini göstermektedir [38-40]. Buna ek olarak, CD47 ve CD44 kanser kök hücrelerinin mesane kanserindeki varlığının saptanmış olması bu kanserin biyolojisinin anlaşılması ve tedavisinin geliştirilmesinde katkı sağlayabileceği öngörülebilir.

Mesane kanserinin tanısının geliştirilmesindeki diğer önemli çalışmalar ise, tanıda serum karbonhidrat antijenlerinin belirlenmesine yönelmiştir. Kıkuma ve ark. [41] urakusun adenokarsinomlar ve serumda bulunan CA 19-9 düzeyi arasında anlamlı bir ilişki-

nin olduğunu gösterdiler. Abel ve ark. [42] ise benzer bir ilişki saptamalarına rağmen, birlikteliğin mesane kanseri derecesi ile ilişkilendirilemeyeceğini savunmaktadır. CA 19-9'a ek olarak, CA 125 belirtecininde urakus tümörlerinin takibinde kullanılabileceği saptanmıştır [43]. Artan CA 125 seviyesinin ürotelyal metastatik karakteri indüklediği fakat mesane kanseri tanısında kullanılamayacağı rapor etmiştir [44]. Günümüzde mesane kanserinin tanısında ACCU-DX, BTA Stat, NMP 22, BTA Trak, Immunosit, telomeraz gibi tümör belirteçleri idrarda çalışılabilmektedir [45]. Ancak, yapılan çalışmalar bu belirteçlerin mesane kanseri biyolojisi ve rekürrensin üzerine olan etkilerinin anlaşılmasında henüz yetersiz kalmaktadır.

SONUÇ

Mesane kanseri gibi rekürrens oranı yüksek olan kanser türlerinde rekürrensi önleyebilmek ve daha etkin tedavi stratejileri planlayabilmek için altta yatan mekanizmaların moleküler düzeyde araştırılması gerekmektedir. Rekürrens ile kanser kök hücresinin ilişkisinin in vitro, ex vivo ve in vivo araştırmalarla sorgulanması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Volanis D, Kadiyska T, Galanis A, Delakas D, Logotheti S, Zoumpourlis V. Environmental factors and genetic susceptibility promote urinary bladder cancer. Toxicology Let 2010;193:131-137. http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.12.018
2. Hodges KB, Beltran AL, Davidson DD, Montironi R, Cheng L. Urothelial dysplasia and other flat lesions of the urinary bladder: clinicopathologic and molecular features. *Human Path* 2010;41:155-162. http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2009.07.002
3. **Malats N.** Genetic epidemiology of bladder cancer: scaling up in the identification of low-penetrance genetic markers of bladder cancer risk and progression. *Scand J Urol Neph Rol* 2008;42:131-140. http://dx.doi.org/10.1080/03008880802285172
4. Dillioğlugil Ö, Çevik İ. Mesane kanserlerinde etiyoloji, epidemiyoloji ve risk faktörleri. Özen H, Türkeri L (eds). Üroonkoloji. 1. baskı, Ertem Basım, Ankara, 2007. s.151-257.
5. Kamat AM, Karam JA, Grossman HB, Kader AK, Munsell M, Dinney CP. Prospective trial to identify optimal bladder cancer surveillance protocol: reducing costs while maximizing sensitivity. *BJU Int* 2011;22:15. http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-410x.2010.10026.x
6. Stenzl A, Witjes JA, Cowan NC, Santis MD, Kuczyk M, Lebret T, et al. Bladder cancer muscle invasive and metastatic: European Association of Urology Guidelines 2011; 59:1009-1018. http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2011.03.023
7. Messing EM. Üriner traktın ürotelyal tümörleri. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds). Campbell Urology. 8. Baskı. 4. Cilt, Güneş Kitabevi, Ankara, 2005. s.2732-2765.
8. Skinner DG. Cancer of the bladder. Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Mitchell ME (Eds.). Adult and pediatric urology. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkıns, Philadelphia; 2002. p.1297-1363
9. Atakan İH, Kaya E, Kaplan M, Alagöl B, İnci O. Yüzeyel mesane tümörlerinde intrakaviter BCG uygulaması. *Türk Üroloji Dergisi* 1999;25:123-126.
10. Soloway MS, Sofer M, Vaidya A. Contemporary management of stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2002;167:1573-83. http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(05)65157-9
11. İnci O. Ürogenital tümörler, 3. baskı, Nobel Tıp, İstanbul, 1995. s.51-105.
12. Bohle A, Brandau S. Immune mechanisms in bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for superficial bladder cancer. *J Urol* 2003;170:964-969. http://dx.doi.org/10.1097/01.ju.0000073852.24341.4a
13. Kurth K, Tunn U, Ay R, Schröder FH, Pavone-Macaluso M, Debruyne F, et al. Adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: long-term results of a european organization for research and treatment of cancer randomized trial comparing doxorubicin, ethoglucid and transurethral resection alone. *J Urol* 1997;158:378-384. http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(01)64484-7
14. De Boer EC, De Jong WH, Van der Meijden AP, et al. Leukocytes in the urine after intravesical BCG treatment for superficial bladder cancer: A flow cytofluorometric analysis. *Urol Res* 1991;19:45-50. http://dx.doi.org/10.1007/BF00294021
15. Huygen K, Van Vooren JP, Turneer M, Bosmans R, Dierckx P, De Bruyn J. Specific lymphoproliferation, gamma interteron production and serum immunnoglobulin G directed against a purified 32 kDa mycobacterial protein antigen (P32) in patients with active tuberculosis. *Scan J Immunol* 1988; 27:187-194. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.1988.tb02338.x
16. Kresowik TP, Griffith TS. Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for urothelial carcinoma of the bladder. *Immunotherapy* 2009;1:281-288. http://dx.doi.org/10.2217/1750743X.1.2.281
17. Margarida F, Belmiro P, Paulo R, Vera A, José S., Francisco C, et al. Functional and molecular characterization of cancer stem-like cells in bladder cancer: a potential signature for muscle-invasive tumors. *Oncotarget* 2015;6:34.
18. Zhu Y, Pang S, Lei C, Luo Y, Chu Q, Tan W. Development of a therapy against metastatic bladder cancer using an interleukin-2 surface-modified MB49 bladder cancer stem cells vaccine. *Stem Cell Research & Therapy* 2015;6:224. http://dx.doi.org/10.1186/s13287-015-0211-1
19. Lissa NA, Edward KH. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin Transl Med* 2013; 2:3. http://dx.doi.org/10.1186/2001-1326-2-3
20. Ho MM, Ng AV, Lam S, Hung JY. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res* 2007;67:4827-4833. http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3557

21. Matsui W, Wang Q, Barber JP, Brennan S, Smith BD, Borrello I, et al. Clonogenic multiple myeloma progenitors, stem cell properties, and drug resistance. *Cancer Res* 2008;6:190-197. http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-3096
22. Deeley RG, Westlake C, Cole SPC. Transmembrane transport of Endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins. *Physiol Rev* 2006;86: 849-899. http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00035.2005
23. Jones PM, George AM. The ABC transporter structure and mechanism: perspective on recent research. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:682-699. http://dx.doi.org/10.1007/s00018-003-3336-9
24. Hollenstein K, Dawson RJ, Locher KP. Structure and mechanism of ABC transporter proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2007;17:412-418. http://dx.doi.org/10.1016/j.sbi.2007.07.003
25. Davidson AL, Dassa E, Orelle C, Chen J. Structure,function, and evolution of bacterial ATP-binding casette systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008;72:317-364. http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.00031-07
26. Longley DB, Johnston PG. Molecular mechanisms of drug resistance. *J Pathol* 2005;205:275-292. http://dx.doi.org/10.1002/path.1706
27. Manabu T, Fumitaka K, Soichiro Y, Satoru K, Yasuhisa F, Len N, et al. Potential role of Hsp90 inhibitors in overcoming cisplatin resistance of bladder cancer-initiating cells, *International Journal of Cancer* 2012;131:987-996. http://dx.doi.org/10.1002/ijc.26475
28. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M,et al. ALDH is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007;1:555-567. http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2007.08.014
29. Su Y, Qiu Q, Zhang X, Jiang Z, Leng Q, Liu Z, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 A1-positive cell population is enriched in tumor-initiating cells and associated with progression of bladder cancer. *Cancer Epidemiology* 2010; 19:327–337.
30. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674. http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013
31. Brandt WD, Matsui W, Rosenberg JE, He X, Ling S, Schaeffer EM, et al. Urothelial carcinoma: stem cells on the edge. *Cancer Metastasis Rev* 2009;28:291-304. http://dx.doi.org/10.1007/s10555-009-9187-6
32. Hochberg FH, Pruitt A. Assumptions in the radiotherapy of glioblastoma. *Neurology* 1980;30:907-911. http://dx.doi.org/10.1212/WNL.30.9.907
33. Yu Y, Ramena G, Elble RC. The role of cancer stem cells in relapse of solid tumors. *Bioscience* 2012;4:1528-1541.
34. Sullivan SR, Liu DZ, Mathes DW, Isik FF. Head and neck malignant melanoma: Local recurrence rate following wide local excision and immediate reconstruction. *Ann Plast Surg* 2011;68:33-36. http://dx.doi.org/10.1097/SAP.0b013e318212683a
35. Lee DS, White DE, Hurst R, Rosenberg SA, Yang JC. Patterns of relapse and response to retreatment in patients with metastatic melanoma or renal cell carcinoma who responded to interleukin-2-based immunotherapy. *Cancer J Sci Am* 1998;4:86-93.
36. Singh A, Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene* 2010;29:4741-4751. http://dx.doi.org/10.1038/onc.2010.215
37. Chen C, Wei Y, Hummel M, Hoffmann TK, Gross M, Kaufmann AM, et al. Evidence for epithelial-mesenchymal transition in cancer stem cells of head and neck squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2011;6:e16466 http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016466
38. Keith SC, Inigo E, Mark C, David W, Laurie A, Max D, et al. Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor-initiating cells. *PNAS* 2009;106:14016-14021. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0906549106
39. Sethi S, Macoska J, Chen W, Sarkar FH. Molecular signature of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in human prostate cancer bone metastasis. *Am J Transl Res* 2010;3:90-99.
40. Mark PC, Siddhartha J, Rachel WT, Ash AA, Andrew JG, Volkmer J, et al. Calreticulin is the dominant pro-phagocytic signal on multiple human cancers and is counterbalanced by CD47. *Sci Transl Med* 2010;2:63-94.
41. Kıkuno N, Urakami S, Shigeno K, Shiina H, Igawa M. Urachal carcinoma associated with increased carbonhydrate antigen 19-9 and carcinoembryonic antigen. *J Urol* 2001; 166:604. http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(05)65995-2
42. Abel PD, Cornell C, Buamah PK, Williams G. Assessment of serum CA 19.9 as a tumour marker in patients with carcinoma of the bladder and prostate. *Br J Urol* 1987;59:427. http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-410X.1987.tb04840.x
43. Guarnaccia S, Pais V, Grous J, Spirito N. Adenocarcinoma of the urachus associated with elevated levels of CA 125. *J Urol* 1991;145:140.
44. Izes JK, Dyer MW, Callum MG, Bankes P, Libertino JA, McCaffrey JA. CA 125 as a marker of tumor activity in advanced urothelial malignancy. *J Urol* 2001;165:1908. http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(05)66240-4
45. Landis SH, Murray T, Bolden S. and Wingo PA. Cancer Statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 1998;48:6-9. http://dx.doi.org/10.3322/canjclin.48.1.6