

*Molekulare Subtypen des  
Urothelkarzinoms der Harnblase –  
Hintergründe und klinische Relevanz*

**Fachgruppe Molekulare Urologie der  
Arbeitsgruppe urologische Forschung  
(AuF) der Deutschen Gesellschaft für  
Urologie**

**Der Urologe**

Organ der Deutschen Gesellschaft für  
Urologie Organ des Berufsverbandes  
der Deutschen Urologen

ISSN 0340-2592

Urologe

DOI 10.1007/s00120-020-01396-2



**Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at [link.springer.com](http://link.springer.com)".**

Urologe

<https://doi.org/10.1007/s00120-020-01396-2>

© Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2020



Philipp Erben<sup>1,2</sup> für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · Christoph Becker<sup>2,3</sup> für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · Igor Tsauro<sup>2,4</sup> für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · Matthias B. Stope<sup>2,5</sup> für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · Tilman Todenhöfer<sup>2,6</sup> für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie

<sup>1</sup> Klinik für Urologie und Urochirurgie, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim, Deutschland

<sup>2</sup> Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie, Berlin, Deutschland

<sup>3</sup> Forschungskoordination, Deutsche Gesellschaft für Urologie (DGU) e. V., Düsseldorf, Deutschland

<sup>4</sup> Klinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsmedizin Mainz, Mainz, Deutschland

<sup>5</sup> Klinik für Gynäkologie und Gynäkologische Onkologie, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Deutschland

<sup>6</sup> Studienpraxis Urologie, Nürtingen, Deutschland

## Molekulare Subtypen des Urothelkarzinoms der Harnblase – Hintergründe und klinische Relevanz

### Einleitung

Das Urothelkarzinom stellt mit >430.000 Neuerkrankungen pro Jahr ein gravierendes soziales und ökonomisches Problem dar [1]. In den Industrieländern ist das Urothelkarzinom der häufigste histologische Typ des Harnblasenkrebs. Es wird in das nichtmuskelinvasive (NMIBC 70–75 % der Patienten) und das muskelinvasive BCA (MIBC, 25–30 %) mit spezifischer Prognose und Therapie unterteilt.

Die Diagnose, Risikoabschätzung und Therapieplanung des Urothelkarzinoms der Harnblase beruht wesentlich auf der histopathologischen Analyse. Neben dem klassischen Urothelkarzinom konnten in den letzten Jahrzehnten zahlreiche histopathologische Varianten des Tumors (z. B. mikropapilläres Urothelkarzinom, mikrozystisches Urothelkarzinom, kleinzelliges Karzinom) identifiziert und charakterisiert werden

[2]. Einige dieser Varianten zeigen im Vergleich zum klassischen Urothelkarzinom veränderte klinische Eigenschaften. So sprechen einige Daten für ein variables Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie bei Patienten mit einer histopathologischen Variante [3]. Insgesamt ist die Prognose aber divers und die idealen Therapiemodalitäten sind in Diskussion.

Aus dem klinischen Blickwinkel zeigt die klassische histopathologische Einteilung (TNM-Klassifikation und WHO-Grading) Ungenauigkeiten, was auch zu Schwierigkeiten in der Therapieplanung führen kann. Die klinischen Herausforderungen der nichtmuskelinvasiven Tumoren liegen in den häufigen Rezidiven, aber auch in einem signifikanten Anteil an Progressionen [4, 5]. Im muskelinvasiven Stadium kommt es häufig zu einer schnellen Progression mit Metastasen und resultierender hoher Mortalität [6]. Der Stellenwert der adjuvanten- und

neoadjuvanten Therapien ist weiterhin umstritten. Im Vergleich zu anderen Tumoren sind beim Urothelkarzinom bisher wenig zielgerichtete Therapien etabliert und erst in den letzten 10 Jahren hat es einige Neuentwicklungen wie die Einführung der Immuntherapie gegeben [7].

Daher spielt neben der Testung neuer Therapien die Untersuchung von prädiktiven Biomarkern eine zentrale Rolle in der Urothelkarzinomforschung. Hierbei konnte kein singulärer Marker etabliert werden, der für die Prädiktion bzw. Prognostik beim BCA im klinischen Alltag breite Anwendung findet. Durch die zunehmende genomische und transkriptomische Charakterisierung wurden typische molekulare Alterationen auf verschiedenen Ebenen sowohl im NMIBC als auch im MIBC identifiziert. So hat die Analyse der globalen Genexpression (Microarrays und RNA-Sequenzierung) im Urothelkarzinom molekulare

**Tab. 1** Schema zum Zusammenhang der verschiedenen publizierten molekularen Subtypen und Differenzierungsmarker mit der höchsten Hierarchiestufe [19]

Kohorte	Luminale Differenzierung			Nichtluminale Differenzierung			Referenz
	Marker: KRT20+, GATA3+, FOXA1+, UPK1A+, UPK2+, PPARG+			Marker: KRT5/6+, KRT14+, EGFR+, CD44+, GATA3-, FOXA1-, PPARG-			
UNC	Luminal			Basal (nichtluminal)			[8]
MDA	Luminal		TP53 like	Basal			[9]
UBC	Luminal	Luminal infiltrated		Claudin Low		Basal	[15]
LUND	Uro		GU	SC/NE	Mes	BA/SCC	[17]
TGCA 2017	Luminal papillary	Luminal	Luminal infiltrated	Neu	Basal Sq		[10]
Konsensus	Papillary like	Luminal like	Luminal unstable	Neural-like	Stroma-rich	SCC	[19]

UNC University of North Carolina, MDA MD Anderson Cancer Center, UBC University of British Columbia, LUND Lund University, TGCA The Cancer Genome Consortium, Uro Urothelial Like, GU Genomically unstable, Mes mesenchymal, Ba/SCC basal/„squamous-cell carcinoma-like“, Neu neuronal

Subtypen definiert, die eine Analogie zur Entwicklung von molekularen Subtypen beim Mammakarzinom haben [8–10]. Dort sind sie gut in der Klinik implementiert und spielen eine entscheidende Rolle in der aktuellen Systemtherapie dieser Erkrankung [11]. Die Definition von luminalen und basalen Tumoren hat hier einen Einfluss auf die Therapiewahl zwischen antiöstrogenen Medikamenten und Chemotherapeutika. Antiöstrogene Medikamente zeigen hierbei bei Patienten mit luminalen Tumoren eine verbesserte Wirkung [12].

Da im Urothelkarzinom die molekulare Klassifikation und deren klinische Relevanz und praktische Anwendung noch nicht abschließend etabliert ist, werden in der vorliegenden Arbeit 1) die verschiedenen molekularen Klassifikationen der molekularen Subtypen sowie relevante Marker und therapeutische Targets diskutiert und 2) gibt die Arbeit einen Überblick über den potenziellen klinischen Wert von molekularen Subtypen des BCA.

### Molekulare Subtypen: Marker und Identifikation

Die Klassifikation molekularer Subtypen basiert auf Unterschieden der „globalen Genexpression“ auf mRNA-Ebene. Diese wurde durch Hochdurchsatztechniken wie Microarray oder RNA-Sequenzierung definiert.

Im NMIBC wurden durch Hedegaard et al. eine Gruppe von 3 molekularen Subtypen definiert [13]. Diese sind mit luminalen und basalen Charakteristika

assoziiert und können in Klasse 1, 2 und 3 eingeteilt werden. Auch eine Assoziation mit der Prognose ist beschrieben. Die Klasse 2 der Tumoren hat eher luminalen Eigenschaften und ist mit EMT (epitheliale-mesenchymale Transition) assoziiert. Auch eine Expression der Rezeptortyrosinkinase ERBB2 (HER2) ist beschrieben. Die Klasse 3 der Tumoren hat basale Eigenschaften und ist mit einem kürzeren Überleben vergesellschaftet. High-grade-Tumoren finden sich eher in den Klassen 2 und 3. Mit den beschriebenen Eigenschaften entspricht die Klasse 1 den urobasalen Tumoren der Lund-Gruppe [14]. Beim NMIBC ist die Anzahl der Studien, welche sich mit der molekularen Subtypisierung befasst weiterhin limitiert. Weitergehende Forschungsaktivitäten sind hier erforderlich.

Dagegen gibt es beim MIBC multiple Studien, die von verschiedenen Arbeitsgruppen durchgeführt wurden, welche vergleichbare molekulare Subtypen (Klassifikationen) vorschlagen [8–10, 14–17]. Diese Studien untersuchen sowohl die biologische Funktion der einzelnen Gruppen, teilweise das Therapieansprechen und auch eine Prognoseassoziation. Auch eine Konsensusklassifikation wurde bereits basierend auf öffentlich verfügbaren Transkriptom-Daten und basierend auf der Kombination von 6 molekularen Subgruppen etabliert [18, 19].

In den Studien variiert die Anzahl an molekularen Subtypen von 2 (3) bis zu 6. Die Einteilungen basieren auf den verschiedenen Kohortengrößen aber auch auf verschiedenen Techniken und der un-

terschiedlichen Sensitivität und Spezifität. Ein zusammenfassender Überblick ist in **Tab. 1** gezeigt. Dabei stellen die verschiedenen identifizierten Gruppen eine zunehmende Hierarchie dar, wobei die oberste Ebene entsprechend der urothelialen Differenzierung in luminalen und nichtluminalen (basalen) Tumoren eingeteilt werden kann [20]. Nichtluminalen Tumoren haben v. a. basale (platteneitheliale) und neuroendokrine Eigenschaften. Trotz der Unterschiede in der Klassifikation und Namensgebung gibt es eine sehr gute Übereinstimmung, welcher Marker zentrale molekulare Subtypen (nichtluminal [basal], luminal) definiert. Für basale Tumoren (nichtluminalen Tumoren), die etwa die Hälfte der Tumoren ausmachen, sind dies im Wesentlichen Keratin 5, Keratin 14 und CD44 und für die luminalen Tumoren Keratin 20, PPARG, FOXA1, GATA3 und UPK 1–3. Diese Tumoren zeigen einen hohen Anteil sowohl von stromalen als auch von immunassoziierten Transkripten und auch eine platteneitheliale Differenzierung. Dies kommt auch in der Namensgebung zum Ausdruck. Es wurde vorgeschlagen, diese Tumoren basal/„squamous“ zu nennen. Sie zeigen in einigen Studien molekular eine größere Ähnlichkeit mit platteneithelial differenzierten Tumoren aus dem Kopf-Hals-Bereich oder der Lunge als zu basalen Mammakarzinomen [21].

In Bezug auf bekannte molekulare Veränderungen wurden Assoziationen bestimmter Alterationen mit bestimmten molekularen Subtypen beschrieben. So finden sich FGFR3-Alterationen (Mutationen und das FGFR3-TACC3-

## Zusammenfassung · Abstract

Urologe <https://doi.org/10.1007/s00120-020-01396-2>  
© Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2020

P. Erben für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · C. Becker für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · I. Tsaur für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · M. B. Stope für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie · T. Todenhöfer für Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie

## Molekulare Subtypen des Urothelkarzinoms der Harnblase – Hintergründe und klinische Relevanz

### Zusammenfassung

Das Urothelkarzinom der Harnblase hat im fortgeschrittenen und metastasierten Stadium oft eine eingeschränkte Prognose. Chemotherapie und Immuntherapie bilden derzeit die Standardbehandlungsoptionen im systemischen Erkrankungsmanagement. Mit dem Ziel der Präzisionsmedizin und Prognoseverbesserung wurden in den vergangenen Jahren durch mehrere Gruppen intrinsische molekulare Subtypen des Urothelkarzinoms der Harnblase definiert. Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über die Hintergründe und die klinische Relevanz dieser molekularen Subtypen des Urothelkarzinoms der Harnblase und bildet den aktuellen Standard sowie jüngste Entwicklungen ab.

Dabei wurden die relevante Literatur und aktuelle Studiendaten ausgewertet, eine Kongruenz der verschiedenen publizierten Klassifikationsansätze diskutiert und die möglichen therapeutischen Implikationen der molekularen Subtypen zusammengestellt. Obwohl große und vielversprechende Fortschritte auf dem Gebiet der molekularen Charakterisierung des Urothelkarzinoms der Harnblase in den vergangenen Jahren erreicht wurden, scheint die „prime time“ für den klinischen Einsatz der bislang definierten Subtypen noch nicht gekommen. Hierzu fehlen bis dato immer noch prospektive und multizentrische Studien mit einheitlichen molekularen Definitionen, sowie Standar-

disierungen bei der Probenaufarbeitung, einfache Analyseprotokolle mit reduzierten Genpanels und die Entwicklung einer Leitlinie für zielgerichtete Therapieregime. Grundsätzlich ist die Generalisierbarkeit der Methodik gefragt, um personalisierte Therapiekonzepte nicht nur an wenigen ausgewählten Expertenzentren, sondern auch in der breiteren Anwendung durchführen zu können.

### Schlüsselwörter

Urothelkarzinom · Molekulare Subtypen · Genomik · Personalisierte Therapie · Blasenkarzinom · Liquid Biopsy · Klinische Relevanz

## Molecular subtypes of urothelial carcinoma of the bladder—background and clinical relevance

### Abstract

Advanced and metastatic stages of bladder cancer are associated with a poor prognosis. Therapy options are currently limited to systemic therapy with chemo- and immunotherapeutics. In order to improve individual therapy and especially to achieve a more favorable prognosis for these patients, intrinsic molecular subtypes have recently been identified in urothelial carcinoma of the bladder. This review article presents the latest developments, background, and clinical relevance of molecular subtypes in urothelial carcinoma of the bladder. The existing literature and current study data were

analyzed to present and evaluate the different molecular classification systems. A focus was placed on the possible therapeutic implications of these molecular subtypes. Although promising progress has been made in the molecular subtyping of urothelial carcinoma, this classification has not yet found its way into clinical application. Multicenter prospective studies with standardized study protocols are still lacking. Previous studies differ in molecular markers, sample collection and preparation procedures, and analytical protocols. Standardization is urgently needed before guidelines can be

established and targeted treatment regimens implemented. In principle, the aim should be to develop a stable and as simple as possible methodology, enabling personalized treatment based on molecular subtypes to be broadly applied, and not just in specialized expert centers.

### Keywords

Bladder cancer · Molecular subtypes · Genomics · Individualized treatment · Urothelial carcinoma · Liquid biopsy · Therapeutic implications

Fusionsgen) eher in luminalen Tumoren. TP53-Mutationen sind häufiger in den nichtluminalen (basal/squamösen) und HER2-Alterationen in luminalen Tumoren zu finden. Luminale Tumoren, sowohl papilläre als auch luminal-papilläre, haben eher 9q-Deletionen. Dies zeigt eine Ähnlichkeit zu NMIBC-low-grade-Tumoren [10].

Eine weitere Unterteilung der luminalen Tumoren wurde durch die Gruppen aus Lund und TGCA vorgenommen. Die schwedische Gruppe nennt diese Subtypen „urothelial like“ (Uro) und

„genomically unstable“ (GU). Sie sind gekennzeichnet durch den Verlust von CDKN2A v. RB1- und FGFR3-Alterationen vs. ERBB2-Alterationen [17, 20]. Das TGCA-Consortium hat 2017 luminale Tumoren weiter in 3 Gruppen subklassifiziert (luminal papillary [Lum Pap], luminal [Lum] und luminal infiltrated [Lum inf]; [10]).

Außerdem wurden von verschiedenen Gruppen Tumoren beschrieben, die weder luminal noch basale/plattenepitheliale Eigenschaften haben. Dazu gehört die Beschreibung von Clau-

din niedrig exprimierender Tumoren [22] und einer „doppelt negativen“ Gruppe von Dadhania et al. [23]. Daneben zeigen auch Daten aus TGCA und der LUND-Gruppe einen kleinen Subtyp, der eine hohe Expression neuroendokriner Marker zeigt und nicht basale oder luminalen Marker exprimiert [10, 14]. Die Markerexpression besteht im Gewebe aus Synaptophysin, Chromogranin A (CGA) und neuronenspezifischer Enolase (NSE). Hier finden sich häufig histologisch neuroendokrine Tumoren. Die beobachtete Häufigkeit dieser klei-

neren Subtypen ist u. a. abhängig davon, wie viele Patienten mit einer variablen Histologie in den Studien sind und sequenziert werden.

In dem vorliegenden Manuskript wird daher zur besseren Verständlichkeit neben der jeweiligen autoren-spezifischen Nomenklatur auch immer wieder die Zuordnung zu den höherhierarchischen Subtypen (luminal und nichtluminal) angegeben.

## Diagnostik der molekularen Subtypen

Zur Identifizierung der intrinsischen molekularen Subtypen in klinischen Proben können verschiedene Techniken eingesetzt werden, wobei Transkriptprofiling auf mRNA-Ebene und immunhistochemische Analyse auf Proteinebene am weitesten verbreitet sind. Analysen der Genexpression mittels Multigenpanels sind sicher am nächsten an der ursprünglichen Klassifikation. Für diese Multigenpanels können Techniken wie Arrays, RNAseq oder Nanostring verwendet werden [15, 24].

Mehrere Publikationen sprechen dafür, dass die wesentlichen molekularen Subtypen – luminal und nichtluminal Tumoren – relativ gut mit der Expression der mRNA-Marker korrelieren. Für die luminalen Tumoren sind dies die Expression von KRT20 und GATA3, für die nichtluminalen und für basale Tumoren die starke Positivität von KRT5/6 und die geringe von GATA3 [23, 25–27], so dass mit den genannten Markern für basale und nichtbasale (luminal) Tumoren auch als Einzelmarker, ähnlich wie im Mammakarzinom, eine erste Klassifikation möglich scheint.

Trotzdem sollen verbleibende Herausforderungen nicht unerwähnt bleiben. Hierzu gehört eine Variation des Immun- und Stromazellanteils in der Probe, die klar Einfluss auf die Höhe der Markerexpression hat [28, 29]. So zeigen eher basale Tumoren einen höheren Anteil an Immunzellinfiltration. Sehr verständlich ist auch der Einfluss der Probengewinnung und Aufarbeitung der Frage, wieviel und welcher Tumoranteil (Invasionsfront, basale Anteile) untersucht wird. Daher sind die Ergebnisse einer TUR-Probe oder ei-

nes TMA („tissue micro arrays“) möglicherweise unterschiedlich [30]. Auch die Anreicherung von Tumoranteilen, was oft vor der Analyse der RNA-Expression durchgeführt wird (in TGCA >80%), ist hier zu nennen [23]. Durch eine hohe Anreicherung von reinen Tumoranteilen kann die Rolle der Immunzellinfiltration („infiltrated subtype“) sicher unterschätzt werden.

Wie von verschiedenen Gruppen gezeigt, können wahrscheinlich auch kleinere Genpanels und/oder einzelne Immunhistochemiemarker für eine zutreffende Subtypisierung verwendet werden. Viele Studien zur Subtypisierung beruhen allerdings auf der Messung von mehreren tausend Genen [9, 13, 17, 31], wobei die Daten sowohl aus dem Mammakarzinom und anderen Entitäten als auch aus dem Urothelkarzinom zeigen, dass eine verlässliche Subtypisierung sicher auch mit weniger als 100 Genen möglich scheint. Die aufwändige Implementierung durch komplexes Assay-Design, schwierige Standardisierung, hoher Aufwand in der Informatik und fehlende Expertise in kleineren Krankenhäusern sprechen dabei klar für ein kleineres Analysepanel. Für ein kleineres Genpanel sprechen zudem multiple Beispiele aus anderen Entitäten, wie dem Mammakarzinom, die kommerzielle Plattform Oncotype Dx und auch einige Daten aus dem Urothelkarzinom [32–34]. Basierend auf diesen Herausforderungen sind Schritte nötig, die Techniken zu validieren, Sensitivitäten und Grenzwerte zu testen und durch Ringversuche, wie in anderen Fachbereichen üblich, vergleichbar zu machen [35].

## Prognoserelevanz, Prädiktion und Studien zu molekularen Targets

Ein entscheidender Faktor für eine mögliche Implementierung der molekularen Subtypen in der täglichen klinischen Praxis ist deren potenzielle klinische Anwendbarkeit. Zentral dabei ist die Frage, inwieweit molekulare Subtypen verwendet werden können, um den Erfolg einer klassischen systemischen Therapie (z. B. neoadjuvante/adjuvante Chemotherapie oder Immuntherapie)

vorauszusagen. Hierzu liegen verschiedene Daten vor, wobei eine prospektive Studie weiterhin aussteht.

Die Gruppe vom MD Anderson Cancer Centre untersuchte einen potenziellen Zusammenhang zwischen den von ihnen definierten Subtypen und dem Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie bei 73 Patienten mit muskelinvasivem BCA. Die als p53-like klassifizierten Tumoren demonstrierten eine Resistenz gegenüber der neoadjuvanten Chemotherapie mit Methotrexat, Vinblastin, Doxorubicin und Cisplatin. Zudem wiesen alle chemoresistenten Tumoren einen p53-like-Phänotyp nach der Behandlung auf [36].

Die nachfolgende Studie dieser Arbeitsgruppe befasste sich mit dem neoadjuvanten Kombinationsregime Methotrexat, Vinblastin, Doxorubicin und Cisplatin ergänzt um Bevacizumab in 60 Patienten [37]. Basale Tumoren demonstrierten hierbei ein im Vergleich zu luminalen und p53-like-Karzinomen ein verbessertes Gesamtüberleben. Zugleich waren p53-like-Tumoren durch frühe Knochenmetastasierung und Chemoresistenz gekennzeichnet.

Im Rahmen einer weiteren multizentrischen retrospektiven Analyse wurden die Präparate von 343 Patienten mit muskelinvasivem BCA per Microarray-Genexpressionsanalyse untersucht. Alle Patienten erhielten eine neoadjuvante Chemotherapie. Mit dem Ziel, Konsensustypen mit der größten klinischen Relevanz in Bezug auf den Einsatz einer neoadjuvanten Chemotherapie vorherzusagen, wurde neben der Klassifizierung mittels vier standardisierter Subtypisierungsmethoden ein „single-sample genomic subtyping classifier“ (GSC) entwickelt. Die Überlebensraten der jeweiligen Gruppen wurden dann mit denen von 476 Patienten verglichen, die keine neoadjuvante Chemotherapie erhielten und deren Datensätze öffentlich verfügbar waren. In der Gesamtpopulation hatten Patienten mit luminalen Tumoren die beste Prognose. Eine Subgruppe der basalen Tumoren, die als Claudin-niedrige Tumoren definiert wurden, hatte das schlechteste Gesamtüberleben mit oder ohne Anwendung einer neoadjuvanten Chemotherapie. Auffällig war, dass lediglich in

**Tab. 2** Molekulare Subtypen und die möglichen therapeutischen Anwendungen basierend auf der Markerexpression und bekannten Alterationen

Therapie	Klinisches Setting	Anzahl Patienten	Subtypisierung	Klinische Korrelation	Referenz
Platin-Chemotherapie	Neoadjuvant	73	MDA	P53-like-Tumoren mit niedriger Ansprechrate	[15]
Platin-Chemotherapie + Bevacizumab	Neoadjuvant	60	MDA	P53-like-Tumoren mit niedriger Ansprechrate, basale Tumoren mit verbessertem Gesamtüberleben	[37]
Platin-Chemotherapie	Neoadjuvant	343 (vs. 476 ohne neoadjuvante Chemotherapie)	GSC, UNC MDA, TCGA, Lund	Patienten mit basalen Tumoren mit signifikant besserem Gesamtüberleben in NAC Kohorte im Vergleich zur Kohorte ohne NAC	[15]
Platin-Chemotherapie	Neoadjuvant	161	Konsensus TCGA (2017) MDA	Kein signifikanter Einfluss der Subtypen auf pathologisches Ansprechen der NAC	[38]
Checkpoint-Inhibition (Pembrolizumab)	Neoadjuvant	84	GSC, Konsensus, TCGA (2017)	Keine signifikante Korrelation Subtyp mit Ansprechen. Numerisch bestes Ansprechen bei luminal instabilen Tumoren	[46]
Checkpoint-Inhibition (Atezolizumab)	Neoadjuvant	92	Lund	Keine signifikante Korrelation Subtyp mit Ansprechen. Nach Behandlung Tumoren von Patienten mit Ansprechen vorwiegend infiltrierter Subtypen	[45]
Checkpoint-Inhibition (Atezolizumab)	Metastasiert/ fortgeschritten	298	TCGA (2014), Lund	Signifikant besseres Ansprechen bei Patienten mit genomisch instabilen (GU-unstable) Tumoren	[41]
Checkpoint-Inhibition (Nivolumab)	Metastasiert/ fortgeschritten, Platin-vorbehandelt	177	TCGA (2014)	Bestes Ansprechen bei Patienten mit basalen Tumoren (TCGA-Cluster I)	[44]

NAC neoadjuvant chemotherapy, GU genomically unstable, MDA MD Anderson Cancer Center, UNC University of North Carolina, TCGA The Cancer Genome Consortium, Lund Lund University, GSC single-sample genomic subtyping classifier

der Gruppe der basalen Tumoren Patienten, die eine neoadjuvante Chemotherapie erhielten, ein deutlich besseres Gesamtüberleben aufwiesen als Patienten, die keine neoadjuvante Chemotherapie erhielten [15].

Die Analyse von 161 Tumorproben aus der COXEN-Studie, in der Patienten entweder mit Gemcitabin, Cisplatin oder einem MVAC-Schema neoadjuvant vorbehandelt wurden, zeigte keine signifikante Assoziation zwischen molekularem Subtyp (bestimmt sowohl nach TCGA-Klassifikation als auch nach Konsensus- und MDA-Klassifikation) und pathologischem Ansprechen [38, 39].

Auch im Rahmen des Einsatzes von Checkpoint-Inhibitoren (CPI) wird die Verwendung von molekularen Subtypen als prädiktive Biomarker diskutiert. Die Subtypen des BCA scheinen sich stark in der Aktivität des Immunsystems und damit der Expression von immunzellassoziierten Genen zu unterscheiden. Im TCGA-Datensatz zeigen Tumoren des Clusters II (luminal-infiltriert) eine Überexpression von immunassoziierten Genen auf.

Aufschlussreiche Daten liegen hier aus der Phase-II-Studie ImVigor 210 vor, bei der Atezolizumab bei Patienten mit platinrefraktärem oder platinnaiven (Cisplatin-ungeeignet) Patienten eingesetzt wurde. Im Rahmen dieser Studie wurden u. a. molekulare Subtypen mithilfe des 4-Subtypen-Clusters der TCGA bestimmt [40]. Das Ansprechen auf die Immuntherapie wurde dann mit den Subtypen verglichen. Die basalen Tumoren (Cluster 3 und 4) zeigten eine starke Expression von PD-L1 in Immun- und Tumorzellen. Die luminalen Tumoren (Cluster 2) wiesen jedoch mit 34 % die höchste Ansprechrate auf (vs. 10 %, 16 % und 20 % in Cluster 1, 3 und 4).

In einem Update der Studie mit einer höheren Zahl an Patienten wurde u. a. der Classifier der Lund-Gruppe angewandt. Hierbei zeigte sich, dass unabhängig der Tumormutationslast, die Subgruppe der genomisch instabilen Tumoren das beste Ansprechen auf die CPI zeigte [41].

Nachdem die Sequenzierungsdaten der Studie öffentlich zugänglich wurden, führte eine Gruppe um Seth Lerner eine erneute Analyse der Studie durch

[42]. Hierbei wurde ein „single patient classifier“ entwickelt, um den Patienten Subtypen zuzuweisen. Angewandt wurden verschiedene Klassifikationen, u. a. die Lund-Klassifikation [43], sowie die alten (4 Cluster) und neuen (5 Cluster) TCGA-Cluster [10, 31]. Überraschenderweise wiesen Patienten, die einen neuronalen Subtyp aufwiesen, in der 210-Studie die beste Prognose auf, obwohl diese Patienten im TCGA-Datensatz die schlechteste Prognose hatten. Dies deutet auf einen starken Effekt der CPI bei diesen Patienten hin. In der Analyse wiesen 100 % der Patienten mit neuronalem Subtyp, von denen Ansprechdaten der Therapie vorlagen, ein objektives Ansprechen auf (75 % „partial response“, 25 % „complete response“). Die neuronalen Tumoren wiesen keine erhöhte Rate an T-Zell-Infiltration auf und zeigten eine durchschnittliche Tumormutationslast. Dies deutet darauf hin, dass diese Faktoren keinen Einfluss auf die erhöhte Ansprechrate dieser Tumoren auf die Therapie mit CPI zu haben scheinen. Die neuronalen Tumoren wiesen aber eine niedrige Expression

der in früheren Studien identifizierten Resistenzfaktoren auf CPI TGFB1 und TGFBR1 auf. Patienten mit einem luminalen Tumor hatten eine Ansprechrate von 38 %. Sowohl die basalen als auch die luminal infiltrierten Tumoren wiesen eine niedrige Ansprechrate und schlechte Prognose auf.

Gegensätzliche Ergebnisse liegen aus der Checkmate-275-Studie vor. In dieser Studie wurde Nivolumab bei Patienten mit Cisplatin-refraktärem Urothelkarzinom eingesetzt. Bei 177 Patienten wurde mithilfe der initialen TCGA-Klassifikation (4 Cluster; [31]) eine Korrelation der Subtypen und des Ansprechens auf die Immuntherapie durchgeführt. Im Gegensatz zur Analyse der ImVigor-210-Studie wiesen in der Checkmate-275-Studie Patienten mit einem basalen Subtyp die höchste Rate an Respondern auf [44].

In den Studien zur neoadjuvanten CPI beim Urothelkarzinom (PURE-01, Abacus) zeigten sich keine Assoziationen zwischen molekularem Subtyp und pathologischem Ansprechen [45]. In der PURE-01-Studie hatten weder die Konsenssubtypen noch die TCGA-Cluster eine prädiktive Rolle für das Ansprechen von Atezolizumab [46].

In Bezug auf eine weitere Zielgerichtete Therapie wird von verschiedenen Autoren diskutiert, dass bestimmte Subgruppen von Patienten auf zielgerichtete Therapien ansprechen könnten [47]. Die Rezeptortyrosinkinase EGFR wird in einer Subgruppe von basalen Tumoren stark exprimiert, was für eine Selektion dieser Tumoren sprechen würde. Auch wenn in vielen Tumoren gut etabliert, sind die Daten zur Anti-EGFR-Therapie im Urothelkarzinom sehr variabel. Auch Afatinib, ein Tyrosinkinaseinhibitor, wurde in einer klinischen Phase II bei metastasierten, chemotherapieresistenten Patienten getestet [48, 49]. In Bezug auf eine potenzielle Immuntherapie sind Tumoren der luminalen Gruppe eher wenig infiltriert und zeigen eine geringere Expression von PD-1 und PD-L1. Auf der anderen Seite der Skala stehen die basalen (nichtluminalen) Tumoren. Hier beschreibt die Literatur eine eher hohe Expression von PD-1 und PD-L1. Außerdem gibt es eine Literaturbasis für die Expression von FGFR1 und EGFR bei

diesen Patienten [10, 34]. Für den luminalen Subtyp sind v. a. Rezeptortyrosinkinasen wie FGFR3, HER2 und Hormonrezeptoren zu nennen, die hier vermehrt exprimiert werden. Daher könnten, wie auch bereits von einigen Autoren vorgeschlagen, die molekularen Subtypen hilfreich für eine potenzielle zielgerichtete Therapie im UBC sein (■ Tab. 2; [10, 20]).

Rückblickend waren klinische Studien zu einer gegen HER2 gerichteten Therapie im Urothelkarzinom wenig erfolgreich [49–51], auch wenn es erfolgreiche Einzelfallberichte dazu gibt [52]. Ein wesentlich zentraler Punkt dabei ist sicher die Art der Testung auf eine Aktivierung von ERBB2. Diese wird aktuell mit Immunhistochemie und FISH durchgeführt, wobei möglicherweise andere Ansätze wie RNAseq erfolgreicher sind [53]. Wie oben erwähnt finden sich HER2-Alterationen in luminalen Tumoren oder auch verstärkt in mikropapillären Tumoren, die luminalen Marker exprimieren [54].

Eine Überexpression von FGFR3 ist ebenso in luminalen Tumoren beschrieben und basiert auf FGFR3-Mutationen, dem FGFR3-TACC3-Fusionsgen und Amplifikationen. Für Patienten mit FGFR3-alterierten Tumoren (Mutationen und Fusionsgenen) wurde kürzlich die erste Therapie mit dem Tyrosinkinaseinhibitor Erdafitinib zugelassen. Die Phase-III-Studie dazu ist aktuell laufend [55].

Basierend auf den angesprochenen Daten könnten zusammenfassend die in ■ Tab. 2 aufgeführten Therapien in den einzelnen molekularen Subtypen im muskelinvasiven oder metastasierten Krankheitsstadium diskutiert werden.

### Fazit für die Praxis

- **Trotz großer und vielversprechender Fortschritte auf dem Gebiet der molekularen Charakterisierung der BCA der vergangenen Jahre ist die „prime time“ für den klinischen Einsatz der bislang definierten Subtypen noch nicht gekommen. Hierzu fehlen prospektive und multizentrische Studien mit einheitlichen molekularen Definitionen, sowie eine standardi-**

**sierte molekulare Diagnostik und systemische Therapieprotokolle.**

- **Zusätzlich ist die Generalisierbarkeit der Methodik gefragt, um personalisierte Therapiekonzepte nicht nur an wenigen ausgewählten Expertenzentren, sondern auch in der breiteren Anwendung durchführen zu können.**

### Korrespondenzadresse

#### Dr. Christoph Becker

Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) der Deutschen Gesellschaft für Urologie Berlin, Deutschland  
cbecker@dgu.de

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** P. Erben, C. Becker, I. Tsaur, M.B. Stope und T. Todenhöfer geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

### Literatur

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
2. Mori K, Janisch F, Parizi MK et al (2020) Prognostic value of variant histology in upper tract urothelial carcinoma treated with nephroureterectomy: a systematic review and meta-analysis. *J Urol* 203(6):1075–1084. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000000523>
3. Daneshmand S, Nazemi A (2020) Neoadjuvant chemotherapy in variant histology bladder cancer: current evidence. *Eur Urol Focus* 6(4):639–641. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2020.04.011>
4. van den Bosch S, Alfred Witjes J (2011) Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: a systematic review. *Eur Urol* 60(3):493–500. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.05.045>
5. van Rhijn BW, Burger M, Lotan Y et al (2009) Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy. *Eur Urol* 56(3):430–442. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.06.028>
6. Hautmann RE, Gschwend JE, de Petriconi RC et al (2006) Cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder: results of a surgery only series in the neobladder era. *J Urol* 176(2):486–492. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2006.03.038>
7. Patel VG, Oh WK, Galsky MD (2020) Treatment of muscle-invasive and advanced bladder cancer in

2020. CA Cancer J Clin 70:404–423. <https://doi.org/10.3322/caac.21631>
8. Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD et al (2014) Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111(8):3110–3115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318376111>
  9. Choi W, Porten S, Kim S et al (2014) Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell* 25(2):152–165. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.009>
  10. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H et al (2017) Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell* 171(3):540–556.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.007>
  11. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB et al (2000) Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406(6797):747–752. <https://doi.org/10.1038/35021093>
  12. Le Du F, Eckhardt BL, Lim B et al (2015) Is the future of personalized therapy in triple-negative breast cancer based on molecular subtype? *Oncotarget* 6(15):12890–12908. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3849>
  13. Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I et al (2016) Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma. *Cancer Cell* 30(1):27–42. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.05.004>
  14. Sjödhahl G, Eriksson P, Liedberg F, Höglund M (2017) Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification. *J Pathol* 242(1):113–125. <https://doi.org/10.1002/path.4886>
  15. Seiler R, Ashab HAD, Erho N et al (2017) Impact of molecular subtypes in muscle-invasive bladder cancer on predicting response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 72(4):544–554. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.03.030>
  16. Marzouka NA, Eriksson P, Rovira C et al (2018) A validation and extended description of the Lund taxonomy for urothelial carcinoma using the TCGA cohort. *Sci Rep* 8(1):3737. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22126-x>
  17. Sjödhahl G, Lauss M, Lövgren K et al (2012) A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res* 18(12):3377–3386. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T>
  18. Tan TZ, Rouanne M, Tan KT et al (2019) Molecular subtypes of urothelial bladder cancer: results from a meta-cohort analysis of 2411 tumors. *Eur Urol* 75(3):423–432. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.08.027>
  19. Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y et al (2020) A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 77(4):420–433. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.09.006>
  20. Sjödhahl G, Jackson CL, Bartlett JM et al (2019) Molecular profiling in muscle-invasive bladder cancer: more than the sum of its parts. *J Pathol* 247(5):563–573. <https://doi.org/10.1002/path.5230>
  21. Hoadley KA, Yau C, Wolf DM et al (2014) Multiplatform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues of origin. *Cell* 158(4):929–944. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.049>
  22. Kardos J, Chai S, Mose LE et al (2016) Claudin-low bladder tumors are immune infiltrated and actively immune suppressed. *JCI Insight* 1(3):e85902. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.85902>
  23. Dadhania V, Zhang M, Zhang L et al (2016) Meta-analysis of the luminal and basal subtypes of bladder cancer and the identification of signature immunohistochemical markers for clinical use. *EBioMedicine* 12(10):105–117. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.08.036>
  24. Rinaldetti S, Rempel E, Worst TS et al (2018) Subclassification, survival prediction and drug target analyses of chemotherapy-naïve muscle-invasive bladder cancer with a molecular screening. *Oncotarget* 9(40):25935–25945. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25407>
  25. Sjödhahl G, Lövgren K, Lauss M et al (2013) Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. *Am J Pathol* 183(3):681–691. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.05.013>
  26. Rebouissou S, Bernard-Pierrot I, de Reyniès A et al (2014) EGFR as a potential therapeutic target for a subset of muscle-invasive bladder cancers presenting a basal-like phenotype. *Sci Transl Med* 6(244):244ra91. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008970>
  27. Eckstein M, Wirtz RM, Gross-Weege M et al (2018) mRNA-expression of KRT5 and KRT20 defines distinct prognostic subgroups of muscle-invasive urothelial bladder cancer correlating with histological variants. *Int J Mol Sci* 19(11):3396. <https://doi.org/10.3390/ijms19113396>
  28. Hodgson A, Liu SK, Vesprini D et al (2018) Basal-subtype bladder tumours show a 'hot' immunophenotype. *Histopathology* 73(5):748–757. <https://doi.org/10.1111/his.13696>
  29. Pfannstiel C, Strissel PL, Chiappinelli KB et al (2019) The tumor immune microenvironment drives a prognostic relevance that correlates with bladder cancer subtypes. *Cancer Immunol Res* 7(6):923–938. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0758>
  30. Wang L, Saci A, Szabo PM et al (2018) EMT- and stroma-related gene expression and resistance to PD-1 blockade in urothelial cancer. *Nat Commun* 9(1):3503. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05992-x>
  31. Cancer Genome Atlas Research Network (2014) Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 507(7492):315–322. <https://doi.org/10.1038/nature12965>
  32. Buysse M, Loi S, van't Veer L et al (2006) Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 98(17):1183–1192. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj329>
  33. Cronin M, Sangli C, Liu ML et al (2007) Analytical validation of the Oncotype DX genomic diagnostic test for recurrence prognosis and therapeutic response prediction in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Chem* 53(6):1084–1091. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.076497>
  34. Rinaldetti S, Rempel E, Worst TS et al (2018) Subclassification, survival prediction and drug target analyses of chemotherapy-naïve muscle-invasive bladder cancer with a molecular screening. *Oncotarget* 9(40):25935–25945. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25407>
  35. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG et al (2014) Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Arch Pathol Lab Med* 138(2):241–256. <https://doi.org/10.5858/arpa.2013-0953-SA>
  36. Dadhania V, Zhang M, Zhang L et al (2016) Meta-analysis of the luminal and basal subtypes of bladder cancer and the identification of signature immunohistochemical markers for clinical use. *EBioMedicine* 12:105–117. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.08.036>
  37. McConkey DJ, Choi W, Shen Y et al (2016) A prognostic gene expression signature in the molecular classification of chemotherapy-naïve urothelial cancer is predictive of clinical outcomes from Neoadjuvant chemotherapy: a phase 2 trial of dose-dense methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin with bevacizumab in urothelial cancer. *Eur Urol* 69(5):855–862. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.08.034>
  38. Lerner SP, McConkey DJ, Tangen C et al (2020) Association of molecular subtypes with pathologic response in a phase II study of co-expression extrapolation (COXEN) with neoadjuvant chemotherapy (NAC) for localized, muscle-invasive bladder cancer (SWOG S1314; NCT02177695). *J Clin Oncol* 38(15\_suppl):5028–5028. [https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15\\_suppl.5028](https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.5028)
  39. Boxley P, Plets M, Flaig TW (2020) Review of SWOG S1314: lessons from a randomized phase II study of co-expression extrapolation (COXEN) with neoadjuvant chemotherapy for localized, muscle-invasive bladder cancer. *Bladder Cancer* 6(2):123–129. <https://doi.org/10.3233/BLC-190266>
  40. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T et al (2016) Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 387(10031):1909–1920. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00561-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00561-4)
  41. Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D et al (2018) TGFβ attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature* 554(7693):544–548. <https://doi.org/10.1038/nature25501>
  42. Kim J, Kwiatkowski D, McConkey DJ et al (2019) The cancer genome atlas expression subtypes stratify response to checkpoint inhibition in advanced urothelial cancer and identify a subset of patients with high survival probability. *Eur Urol* 75(6):961–964. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.02.017>
  43. Aine M, Eriksson P, Liedberg F et al (2015) On molecular classification of bladder cancer: out of one, many. *Eur Urol* 68(6):921–923. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.07.021>
  44. Sharma P, Retz M, Siefker-Radtke A et al (2017) Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 18(3):312–322. [https://doi.org/10.1016/S1473-2045\(17\)30065-7](https://doi.org/10.1016/S1473-2045(17)30065-7)
  45. Powles T, Kocx M, Rodriguez-Vida A et al (2019) Clinical efficacy and biomarker analysis of neoadjuvant atezolizumab in operable urothelial carcinoma in the ABACUS trial. *Nat Med* 25(11):1706–1714. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0628-7>
  46. Necchi A, Raggi D, Gallina A et al (2020) Impact of molecular subtyping and immune infiltration on pathological response and outcome following neoadjuvant pembrolizumab in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 77(6):701–710. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.02.028>

47. Necchi A, Raggi D, Gallina A et al (2020) Impact of molecular subtyping and immune infiltration on pathological response and outcome following neoadjuvant pembrolizumab in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 77(6):701–710. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.02.028>
48. Choudhury NJ, Campanile A, Antic T et al (2016) Afatinib activity in platinum-refractory metastatic urothelial carcinoma in patients with ERBB alterations. *J Clin Oncol* 34(18):2165–2171. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.66.3047>
49. Powles T, Huddart RA, Elliott T et al (2017) Phase III, double-blind, randomized trial that compared maintenance lapatinib versus placebo after first-line chemotherapy in patients with human epidermal growth factor receptor 1/2-positive metastatic bladder cancer. *J Clin Oncol* 35(1):48–55. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.66.3468>
50. Hussain M, Daignault S, Agarwal N et al (2014) A randomized phase 2 trial of gemcitabine/cisplatin with or without cetuximab in patients with advanced urothelial carcinoma. *Cancer* 120(17):2684–2693. <https://doi.org/10.1002/cncr.28767>
51. Oudard S, Culine S, Vano Y et al (2015) Multicentre randomised phase II trial of gemcitabine+platinum, with or without trastuzumab, in advanced or metastatic urothelial carcinoma overexpressing HER2. *Eur J Cancer* 51(1):45–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.10.009>
52. Wezel F, Erben P, Gaiser T et al (2018) Complete and durable remission of human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic urothelial carcinoma following third-line treatment with trastuzumab and gemcitabine. *Urol Int* 100(1):122–125. <https://doi.org/10.1159/000443280>
53. Kiss B, Wyatt AW, Douglas J et al (2017) HER2 alterations in muscle-invasive bladder cancer: patient selection beyond protein expression for targeted therapy. *Sci Rep* 7:42713. <https://doi.org/10.1038/srep42713>
54. Ross JS, Wang K, Gay LM et al (2014) A high frequency of activating extracellular domain ERBB2 (HER2) mutation in micropapillary urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res* 20(1):68–75. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1992>
55. Montazeri K, Bellmunt J (2020) Erdafitinib for the treatment of metastatic bladder cancer. *Expert Rev Clin Pharmacol* 13(1):1–6. <https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1702025>