

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Differential gene expression profile comparison between progressive and *de novo* muscle invasive bladder cancer: prognostic implications

Raquel Carrasco^{1*}, Laura Izquierdo^{1*}, Antoine G. van der Heijden², Juan José Lozano³, Marco Franco¹, Mercedes Ingelmo-Torres¹, Fiorella L. Roldan¹, Montserrat Llorens¹, María José Ribal¹, Lourdes Mengual¹, Antonio Alcaraz¹

¹ *Laboratory and Department of Urology, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain*

² *Department of Urology, Radboud University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands*

³ *CIBERehd, Plataforma de Bioinformàtica, Centro de Investigación Biomédica en red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Barcelona, Spain*

*These authors have contributed equally to this work

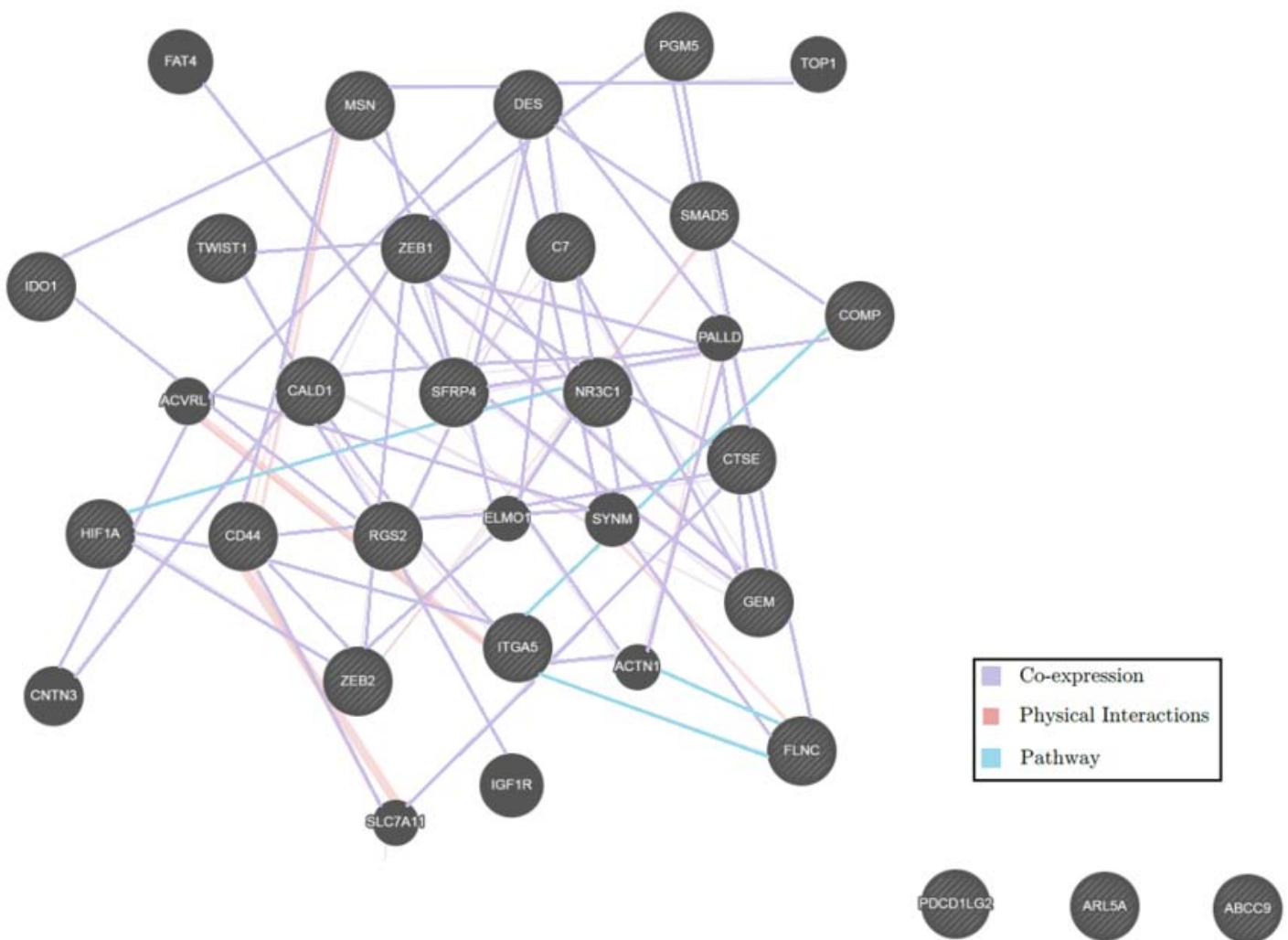
Contact information corresponding author

Lourdes Mengual, Ph.D.
Laboratory of Urology. Hospital Clínic de Barcelona.
Centre de Recerca Biomèdica CELLEX, office B22.
C/Casanova, 143
08036 Barcelona, Spain
Tel: [\(+34\) 93 227 54 00 Ext. 4820](tel:+34932275400)
e-mail: lmengual@clinic.cat

Keywords (MeSH): bladder cancer; gene expression profiling; prognosis; *de novo*; progressive

Supplementary Figure S1. Gene-gene interaction network for the genes that define the different gene expression profile of progressive and *de novo* MIBC groups (A) and functional gene enrichment analysis for the genes that define the different gene expression profile of both MIBC groups (B).

A)



The 23 DEGs between progressive and *de novo* MIBC are shown in striped circles.

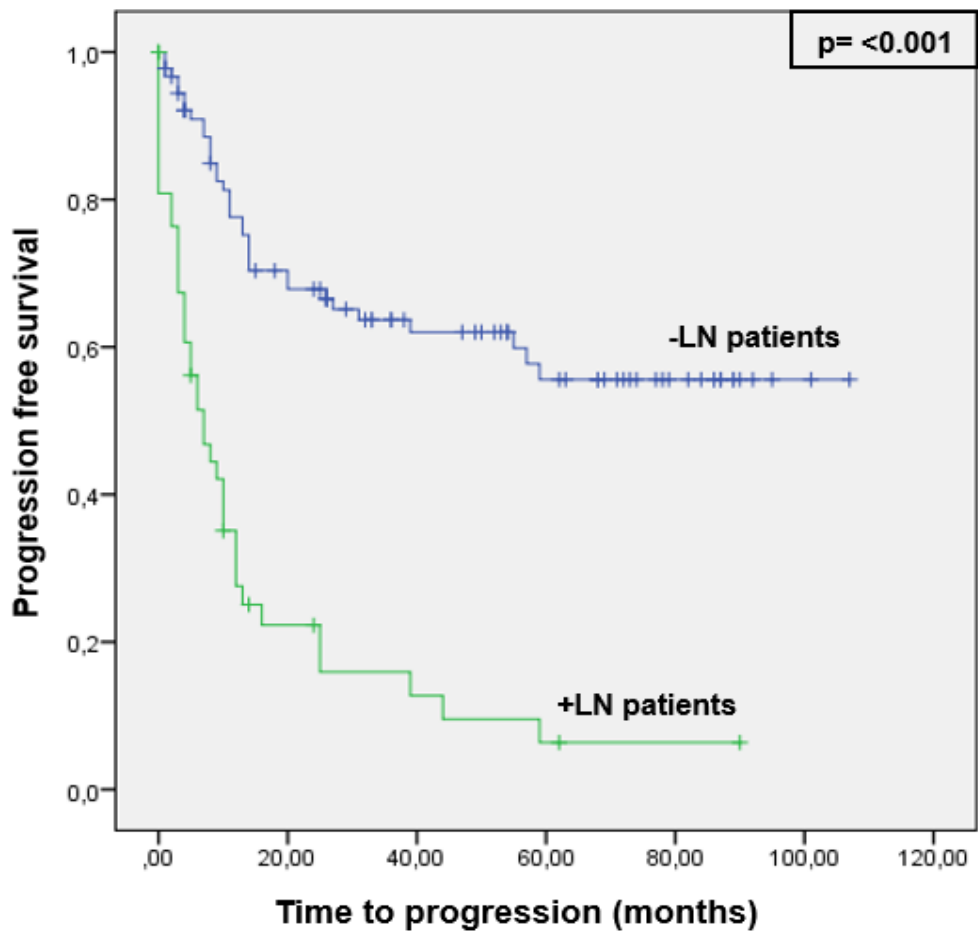
B)

ID	NAME PATHWAY	SOURCE	FDR	GENES
782000	*Proteoglycans in cancer	BioSystems: KEGG	<0.001	CD44, FLNC, HIF1A, TWIST1, ITGA5, MSN
1383026	*PTK6 Expression	BioSystems: REACTOME	<0.001	HIF1A, NR3C1
1270260	Integrin cell surface interactions	BioSystems: REACTOME	<0.001	CD44, ITGA5, COMP
83068	*ECM-receptor interaction	BioSystems: KEGG	<0.001	CD44, ITGA5, COMP
1470923	Interleukin-4 and 13 signaling	BioSystems: REACTOME	<0.001	HIF1A, ZEB1, TWIST1
852705	MicroRNAs in cancer	BioSystems: KEGG	<0.001	CD44, ZEB2, ZEB1, ITGA5
1269872	BMAL1: CLOCK, NPAS2 activates circadian gene expression	BioSystems: REACTOME	<0.001	HIF1A, NR3C1
169347	Notch-mediated HES/HEY network	BioSystems: Pathway Interaction Database	<0.001	HIF1A, TWIST1
83067	*Focal adhesion	BioSystems: KEGG	<0.001	FLNC, ITGA5, COMP
1269868	*Muscle contraction	BioSystems: REACTOME	<0.001	CALD1, DES, ABCC9
83104	Shigellosis	BioSystems: KEGG	<0.001	CD44, ITGA5
1270417	Oxygen-dependent asparagine hydroxylation of Hypoxia-inducible Factor Alpha	BioSystems: REACTOME	<0.001	HIF1A
1383025	Signaling by PTK6	BioSystems: REACTOME	<0.001	HIF1A, NR3C1
M167	AP-1 transcription factor network	MSigDB C2 BIOCARTEA (v7.1)	<0.001	HIF1A, NR3C1
1269871	Circadian Clock	BioSystems: REACTOME	<0.001	HIF1A, NR3C1
117293	Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	BioSystems: KEGG	<0.001	DES, ITGA5
1269828	ATP sensitive Potassium channels	BioSystems: REACTOME	<0.001	ABCC9
114229	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	BioSystems: KEGG	<0.001	DES, ITGA5
PW:0000330	Bone morphogenetic proteins signaling	Pathway Ontology	<0.001	SMAD5
M2642	TGF-beta signaling pathway	MSigDB C2 BIOCARTEA (v7.1)	<0.001	SMAD5, COMP
M6856	Hematopoietic cell lineage	MSigDB C2 BIOCARTEA (v7.1)	<0.001	CD44, ITGA5

Abbreviations: FDR: False Discovery Rate

Selected pathways involved in tumor progression are indicated with a *.

Supplementary Figure S2. Kaplan-Meier curve for tumor progression comparing patients having positive or negative lymph nodes (LN).



Supplementary Table S1. Differently expressed transcripts between progressive and *de novo* MIBC patients from the discovery phase analyzed by Illumina microarray.

Gene	Fold change	p-Value
<i>SPRR2E</i>	-19,10	<0,001
<i>CALML3</i>	-13,92	<0,001
<i>CEP250</i>	-8,95	<0,001
<i>IFI27</i>	-7,24	<0,001
<i>SFN</i>	-6,17	<0,001
<i>GJB3</i>	-5,69	<0,001
<i>KLHDC7B</i>	-5,60	<0,001
<i>USP42</i>	-5,30	<0,001
<i>TRIM7</i>	-4,87	<0,001
<i>CHMP4B</i>	-4,75	<0,001
<i>CD8A</i>	-3,48	<0,001
<i>EXD3</i>	-3,25	<0,001
<i>FOXF2</i>	1,37	0,003
<i>NARG1L</i>	1,50	0,002
<i>PFN2</i>	1,53	0,002
<i>MTUS1</i>	1,53	0,003
<i>SMAD7</i>	1,55	0,003
<i>ALLC</i>	1,56	0,003
<i>ARL6</i>	1,56	0,002
<i>THAP1</i>	1,56	0,001
<i>UCMA</i>	1,58	0,003
<i>CDC42EP1</i>	1,58	0,002
<i>LSM12</i>	1,59	0,003
<i>AP4S1</i>	1,59	0,003
<i>LOC727811</i>	1,60	0,002
<i>LOC284441</i>	1,61	0,001
<i>CUGBP1</i>	1,62	0,002
<i>FGF2</i>	1,63	0,003
<i>RYK</i>	1,64	0,003
<i>USP46</i>	1,65	0,002
<i>ARAP3</i>	1,67	<0,001
<i>ZNF302</i>	1,68	0,002
<i>CEP57</i>	1,69	0,002
<i>PIGK</i>	1,70	0,001
<i>DNAJC7</i>	1,71	0,003
<i>NEDD9</i>	1,71	0,003
<i>GTF3C6</i>	1,71	0,002
<i>DYNLRB1</i>	1,71	0,002
<i>FNTA</i>	1,72	0,001

<i>SSTR1</i>	1,72	p<0,001
<i>ISCA1L</i>	1,73	0,002
<i>ALK</i>	1,75	0,003
<i>ACCN3</i>	1,75	0,002
<i>FOXP2</i>	1,76	0,002
<i>AQP12B</i>	1,76	0,002
<i>LOC441666</i>	1,76	0,002
<i>NOP2</i>	1,76	0,001
<i>LOC200030</i>	1,77	0,003
<i>TNFSF18</i>	1,77	0,001
<i>MRPL30</i>	1,77	0,001
<i>C13orf33</i>	1,78	0,003
<i>PRKD3</i>	1,80	0,003
<i>MTERF</i>	1,80	0,002
<i>C4BPB</i>	1,81	p<0,001
<i>TMEM59L</i>	1,82	0,001
<i>MMP23B</i>	1,82	0,001
<i>IMPDH1</i>	1,83	0,002
<i>OTUB2</i>	1,84	0,002
<i>UQCRC2</i>	1,84	0,001
<i>STEAP1</i>	1,84	0,003
<i>ZNF32</i>	1,85	0,003
<i>LOC100216545</i>	1,86	0,002
<i>PPP1CB</i>	1,86	0,002
<i>OR7G1</i>	1,86	0,003
<i>ZDHHC9</i>	1,86	0,002
<i>CPOX</i>	1,87	0,003
<i>PHF14</i>	1,87	0,001
<i>RPE</i>	1,87	0,001
<i>TTYH2</i>	1,87	0,001
<i>CBY1</i>	1,87	0,002
<i>ZNF805</i>	1,88	0,001
<i>PIR</i>	1,88	0,001
<i>COPS2</i>	1,89	0,002
<i>C11orf58</i>	1,89	0,003
<i>STAR</i>	1,89	0,003
<i>KRT37</i>	1,89	0,001
<i>ABCA9</i>	1,89	p<0,001
<i>UBE2J2</i>	1,89	0,001
<i>LOC653994</i>	1,89	0,002
<i>KCNH2</i>	1,90	p<0,001
<i>FLJ23584</i>	1,90	0,001
<i>CTRB1</i>	1,91	0,002
<i>ATG4B</i>	1,91	0,002
<i>PPP4R1L</i>	1,91	0,003
<i>NIPSNAP3B</i>	1,91	0,001

<i>PPP2R5C</i>	1,92	0,002
<i>GJC1</i>	1,93	0,001
<i>SNORD58B</i>	1,93	0,002
<i>ZNF557</i>	1,93	0,003
<i>LOC440926</i>	1,93	0,003
<i>PDCD10</i>	1,94	0,002
<i>ALDH1B1</i>	1,94	0,003
<i>ZNF518A</i>	1,94	0,002
<i>NIPBL</i>	1,94	0,002
<i>MOCS1</i>	1,94	0,002
<i>NAP1L1</i>	1,95	0,002
<i>COQ10B</i>	1,95	0,002
<i>G3BP2</i>	1,95	0,002
<i>GRK4</i>	1,97	0,002
<i>CDK10</i>	1,98	0,003
<i>SNORD113 3</i>	1,98	0,002
<i>ACPL2</i>	1,98	0,001
<i>GCOM1</i>	1,98	0,002
<i>RIF1</i>	1,98	0,002
<i>C15orf44</i>	1,99	0,001
<i>SNX9</i>	1,99	0,002
<i>MGC21881</i>	1,99	0,001
<i>RAB20</i>	2,00	0,001
<i>RERE</i>	2,01	0,002
<i>C1CK0721Q.1</i>	2,01	p<0,001
<i>CNIH</i>	2,01	0,002
<i>C10orf32</i>	2,02	0,001
<i>TBC1D19</i>	2,02	p<0,001
<i>SCAND2</i>	2,02	0,001
<i>TADA2A</i>	2,02	0,001
<i>C14orf11</i>	2,03	0,001
<i>ECHDC1</i>	2,04	0,001
<i>MAP3K10</i>	2,04	0,002
<i>MYO18A</i>	2,04	0,003
<i>SEC23A</i>	2,05	0,002
<i>DIABLO</i>	2,06	0,002
<i>PHLDA2</i>	2,06	0,003
<i>SLC39A7</i>	2,06	0,002
<i>PLEKHB2</i>	2,06	0,001
<i>ZBTB8A</i>	2,06	0,002
<i>PLAA</i>	2,06	0,002
<i>SERPINA1</i>	2,07	0,003
<i>NCRNA00153</i>	2,07	0,002
<i>TFB2M</i>	2,07	0,001
<i>ACN9</i>	2,09	0,001
<i>TERF1</i>	2,09	0,001

<i>PUS3</i>	2,09	0,002
<i>N4BP2</i>	2,09	0,001
<i>TNPO2</i>	2,09	0,001
<i>NCRNA00095</i>	2,11	0,003
<i>RPSA</i>	2,11	0,001
<i>C7orf70</i>	2,11	0,001
<i>FLJ20125</i>	2,12	0,001
<i>ATAD1</i>	2,12	0,002
<i>ZNF451</i>	2,12	0,001
<i>ZNF321</i>	2,12	0,002
<i>HADHA</i>	2,12	0,001
<i>ZNF706</i>	2,13	0,001
<i>SNORD113 2</i>	2,13	0,001
<i>SLC25A27</i>	2,13	0,002
<i>UBE2MP1</i>	2,13	0,001
<i>CALD1</i>	2,13	0,001
<i>ASB7</i>	2,14	p<0,001
<i>JMJD8</i>	2,15	0,002
<i>CROP</i>	2,15	0,003
<i>ERGIC3</i>	2,15	p<0,001
<i>ZNF703</i>	2,15	0,002
<i>ZFP42</i>	2,16	0,001
<i>ARPP19</i>	2,16	0,001
<i>SLC8A3</i>	2,16	0,001
<i>SLC30A5</i>	2,16	0,001
<i>ANK2</i>	2,16	0,002
<i>NCOA3</i>	2,16	0,001
<i>ZNF493</i>	2,17	0,003
<i>ACSS2</i>	2,17	0,003
<i>SYF2</i>	2,17	0,002
<i>NUP62</i>	2,17	0,002
<i>GADD45A</i>	2,18	0,003
<i>DPP7</i>	2,18	0,002
<i>PPP1R15B</i>	2,18	0,001
<i>BOP1</i>	2,18	0,003
<i>CAMK1</i>	2,18	0,003
<i>FAM63A</i>	2,18	0,002
<i>THEX1</i>	2,19	0,001
<i>LCAT</i>	2,19	0,001
<i>NDFIP1</i>	2,19	0,002
<i>SFXN4</i>	2,20	0,001
<i>MARCH5</i>	2,20	0,001
<i>MBNL3</i>	2,20	0,002
<i>FXVD1</i>	2,21	0,002
<i>MMP16</i>	2,21	p<0,001
<i>MXRA7</i>	2,21	p<0,001

<i>SCOC</i>	2,22	0,003
<i>NKAPL</i>	2,22	0,001
<i>HOXC6</i>	2,22	0,001
<i>EDNRA</i>	2,22	0,003
<i>ESF1</i>	2,22	0,001
<i>MAGOHB</i>	2,22	0,001
<i>RPS26L</i>	2,23	0,001
<i>LONP2</i>	2,23	0,002
<i>HOXA10</i>	2,23	0,002
<i>PTH1R</i>	2,23	0,001
<i>ZCCHC10</i>	2,24	0,002
<i>HSP90B3P</i>	2,24	0,002
<i>FAM108B1</i>	2,24	0,001
<i>EFCAB2</i>	2,25	0,001
<i>PLN</i>	2,25	0,001
<i>LYSMD3</i>	2,26	0,001
<i>COX19</i>	2,27	0,001
<i>MYADM</i>	2,27	p<0,001
<i>CCDC104</i>	2,27	0,001
<i>C18orf32</i>	2,27	0,002
<i>ALDH4A1</i>	2,28	0,003
<i>C1GALT1C1</i>	2,28	0,000
<i>BMP8B</i>	2,28	0,002
<i>PTX3</i>	2,29	p<0,001
<i>RFX4</i>	2,29	0,001
<i>KIAA1683</i>	2,29	p<0,001
<i>ZNF777</i>	2,29	p<0,001
<i>CDC37L1</i>	2,29	0,003
<i>COX18</i>	2,30	0,002
<i>HPS1</i>	2,30	0,003
<i>BCL6B</i>	2,30	0,001
<i>NOC3L</i>	2,30	0,002
<i>PREPL</i>	2,30	0,001
<i>NLRP12</i>	2,31	p<0,001
<i>MOCS1</i>	2,31	p<0,001
<i>GPBP1L1</i>	2,31	0,002
<i>CHRDL1</i>	2,31	0,002
<i>SLC36A4</i>	2,31	0,002
<i>KLHL8</i>	2,32	p<0,001
<i>PDLIM3</i>	2,32	0,003
<i>TMEM44</i>	2,32	0,003
<i>C21orf130</i>	2,33	0,003
<i>ACTR1A</i>	2,33	0,001
<i>BGN</i>	2,33	p<0,001
<i>GPR116</i>	2,34	0,002
<i>RBM41</i>	2,34	0,002

<i>MOBKL1A</i>	2,34	0,001
<i>PTPLB</i>	2,34	0,001
<i>TMEM44</i>	2,34	0,002
<i>C15orf58</i>	2,35	0,001
<i>DDX52</i>	2,35	p<0,001
<i>ANKS6</i>	2,35	0,002
<i>FBLN1</i>	2,35	0,002
<i>ISYNA1</i>	2,36	p<0,001
<i>DENND4C</i>	2,36	0,001
<i>NCLN</i>	2,36	0,002
<i>NR1H3</i>	2,36	0,002
<i>TMEM183A</i>	2,36	p<0,001
<i>PPIE</i>	2,37	0,001
<i>ST7</i>	2,37	0,001
<i>ZNF358</i>	2,38	p<0,001
<i>KLHDC10</i>	2,38	p<0,001
<i>PSIP1</i>	2,38	0,001
<i>WASF1</i>	2,39	0,002
<i>ATG3</i>	2,39	p<0,001
<i>RAB27B</i>	2,39	0,002
<i>TEAD3</i>	2,40	0,001
<i>CHD9</i>	2,40	0,001
<i>PSMC3IP</i>	2,40	0,001
<i>RSRC2</i>	2,40	0,002
<i>RPS7</i>	2,41	p<0,001
<i>PXDN</i>	2,41	0,001
<i>PPP1R12B</i>	2,41	0,001
<i>UGP2</i>	2,41	0,002
<i>FBXO38</i>	2,42	0,002
<i>IDS</i>	2,42	0,001
<i>SCARA3</i>	2,42	0,001
<i>NUCKS1</i>	2,42	0,001
<i>CNBP</i>	2,42	0,001
<i>NR4A3</i>	2,44	0,003
<i>SFXN3</i>	2,44	0,002
<i>GPX8</i>	2,44	0,002
<i>ADRB3</i>	2,44	0,001
<i>FGFR1</i>	2,44	0,002
<i>SLC30A5</i>	2,44	p<0,001
<i>PCDHGA9</i>	2,45	0,001
<i>CXCL6</i>	2,45	p<0,001
<i>NR4A3</i>	2,45	0,002
<i>RFWD2</i>	2,45	p<0,001
<i>FAM26E</i>	2,45	p<0,001
<i>TRAPPC6B</i>	2,46	0,002
<i>TLN1</i>	2,46	0,003

<i>TLK1</i>	2,46	0,003
<i>NAMPT</i>	2,46	0,001
<i>ARL5A</i>	2,47	0,001
<i>RDH14</i>	2,48	0,001
<i>TMEM183B</i>	2,49	p<0,001
<i>GPR162</i>	2,49	0,003
<i>KIAA0090</i>	2,50	0,002
<i>NBLA00301</i>	2,51	0,003
<i>ZBTB1</i>	2,51	0,002
<i>RBM9</i>	2,51	p<0,001
<i>AP1S2</i>	2,51	0,002
<i>SLMO1</i>	2,51	p<0,001
<i>SERPINE1</i>	2,51	0,001
<i>NFE2L2</i>	2,51	0,001
<i>C7orf41</i>	2,52	0,002
<i>DUSP6</i>	2,53	0,002
<i>C21orf2</i>	2,53	0,001
<i>KCTD1</i>	2,54	0,001
<i>DDX20</i>	2,55	p<0,001
<i>MYLK</i>	2,55	0,002
<i>INO80B</i>	2,55	0,001
<i>METTL2B</i>	2,57	p<0,001
<i>TM9SF3</i>	2,57	0,001
<i>BHMT2</i>	2,57	0,002
<i>NELF</i>	2,57	0,002
<i>C1orf123</i>	2,57	p<0,001
<i>SON</i>	2,57	0,001
<i>PBLD</i>	2,57	p<0,001
<i>LPAR4</i>	2,58	0,001
<i>LMO3</i>	2,58	p<0,001
<i>ITM2A</i>	2,58	p<0,001
<i>EIF4E</i>	2,58	p<0,001
<i>COL4A2</i>	2,58	0,001
<i>DLC1</i>	2,59	0,002
<i>SLC35B4</i>	2,59	p<0,001
<i>SLC30A7</i>	2,59	0,001
<i>HCFC1R1</i>	2,59	p<0,001
<i>SKAP2</i>	2,60	0,001
<i>GIYD2</i>	2,60	0,002
<i>PRND</i>	2,60	0,001
<i>C10orf119</i>	2,60	0,002
<i>TSC22D3</i>	2,61	0,001
<i>GAB2</i>	2,61	p<0,001
<i>C4orf27</i>	2,61	p<0,001
<i>ARHGAP21</i>	2,62	0,003
<i>ASB1</i>	2,62	p<0,001

<i>ABTB1</i>	2,62	p<0,001
<i>DUSP3</i>	2,63	p<0,001
<i>CLIP3</i>	2,63	0,001
<i>ACOT2</i>	2,64	p<0,001
<i>RERG</i>	2,64	0,001
<i>SERAC1</i>	2,64	p<0,001
<i>AXUD1</i>	2,65	0,002
<i>CCNG1</i>	2,65	0,001
<i>FASTK</i>	2,65	p<0,001
<i>SPAG16</i>	2,66	0,001
<i>FAS</i>	2,66	p<0,001
<i>VPS24</i>	2,66	0,003
<i>ECM2</i>	2,66	0,000
<i>C10orf10</i>	2,66	0,001
<i>C9orf82</i>	2,67	p<0,001
<i>RAP1B</i>	2,67	0,001
<i>DCAF10</i>	2,67	0,001
<i>PGAM4</i>	2,68	0,002
<i>LAMB1</i>	2,68	p<0,001
<i>ZNF542</i>	2,69	p<0,001
<i>ASB3</i>	2,69	p<0,001
<i>MID1</i>	2,69	0,001
<i>KTELC1</i>	2,69	p<0,001
<i>SUZ12</i>	2,70	p<0,001
<i>CDH2</i>	2,70	0,001
<i>C4orf18</i>	2,71	0,001
<i>ARL4A</i>	2,71	p<0,001
<i>PPAP2B</i>	2,71	0,001
<i>THBS3</i>	2,73	0,001
<i>ANXA11</i>	2,73	0,001
<i>C21orf33</i>	2,74	0,002
<i>FLJ21986</i>	2,74	0,002
<i>INVS</i>	2,74	p<0,001
<i>C1D</i>	2,74	0,001
<i>GPER</i>	2,74	0,003
<i>EEF1E1</i>	2,75	p<0,001
<i>CXCL2</i>	2,76	0,001
<i>AGL</i>	2,76	0,003
<i>FAM103A1</i>	2,76	0,001
<i>SERINC3</i>	2,77	0,002
<i>SLC12A2</i>	2,77	0,002
<i>KCNT2</i>	2,78	p<0,001
<i>SR140</i>	2,78	p<0,001
<i>PPP2R3A</i>	2,79	p<0,001
<i>NNT</i>	2,79	p<0,001
<i>NME1</i>	2,79	p<0,001

<i>ACACB</i>	2,81	0,001
<i>BAG2</i>	2,82	p<0,001
<i>SMAD5</i>	2,82	0,001
<i>FLJ22795</i>	2,83	p<0,001
<i>PANX2</i>	2,83	0,001
<i>PTGIS</i>	2,83	0,003
<i>SLC35C2</i>	2,84	p<0,001
<i>NUPL1</i>	2,85	0,001
<i>ELANE</i>	2,86	0,002
<i>CSNK1G2</i>	2,87	0,001
<i>SORBS1</i>	2,87	0,002
<i>SFRS5</i>	2,87	0,001
<i>TSPAN4</i>	2,88	0,002
<i>FANCL</i>	2,88	0,001
<i>NME2</i>	2,88	0,003
<i>C9orf37</i>	2,90	0,002
<i>BOLA2</i>	2,90	0,001
<i>SMAD9</i>	2,92	p<0,001
<i>ARL6IP5</i>	2,92	0,002
<i>C15orf5</i>	2,92	p<0,001
<i>ADAM22</i>	2,93	p<0,001
<i>LIMS1</i>	2,94	0,001
<i>CFLAR</i>	2,96	0,001
<i>DEGS1</i>	2,99	0,001
<i>DNAJB14</i>	3,00	p<0,001
<i>LEPR</i>	3,01	0,001
<i>CSPG4</i>	3,01	0,001
<i>C1orf215</i>	3,03	0,003
<i>RPS6KA3</i>	3,03	p<0,001
<i>METTL1</i>	3,03	0,002
<i>CBX3</i>	3,03	p<0,001
<i>SYNPO2</i>	3,06	0,001
<i>ICK</i>	3,06	p<0,001
<i>GEM</i>	3,06	0,003
<i>NLF2</i>	3,06	0,002
<i>KCNMA1</i>	3,06	p<0,001
<i>FAM43A</i>	3,10	0,002
<i>PDF</i>	3,11	p<0,001
<i>ZNF644</i>	3,11	0,001
<i>BBS5</i>	3,12	p<0,001
<i>DSTN</i>	3,12	p<0,001
<i>STXBP6</i>	3,13	p<0,001
<i>PEAR1</i>	3,13	p<0,001
<i>SMTN</i>	3,14	0,001
<i>LAMA4</i>	3,15	p<0,001
<i>RANGRF</i>	3,15	p<0,001

<i>DNAJC25</i>		
<i>GNG10</i>	3,16	p<0,001
<i>XLKD1</i>	3,16	0,002
<i>RDH11</i>	3,17	p<0,001
<i>TAF9B</i>	3,17	p<0,001
<i>SPRY2</i>	3,20	0,001
<i>TCEA2</i>	3,22	0,003
<i>TAGLN</i>	3,23	0,001
<i>NR4A2</i>	3,23	0,001
<i>GCNT1</i>	3,25	0,002
<i>ZYG11B</i>	3,25	p<0,001
<i>ZNF521</i>	3,25	0,001
<i>FERMT2</i>	3,26	0,001
<i>GHR</i>	3,29	p<0,001
<i>HIF1A</i>	3,30	p<0,001
<i>C21orf34</i>	3,32	0,002
<i>SEPT11</i>	3,35	0,001
<i>FABP4</i>	3,37	0,003
<i>DACT3</i>	3,38	p<0,001
<i>RNF150</i>	3,39	p<0,001
<i>ALDH5A1</i>	3,39	p<0,001
<i>DIO3OS</i>	3,40	0,003
<i>SYNE1</i>	3,40	p<0,001
<i>LOC200030</i>	3,42	p<0,001
<i>CD55</i>	3,43	p<0,001
<i>GABBR1</i>	3,43	p<0,001
<i>CILP</i>	3,45	0,001
<i>ADAMTSL4</i>	3,48	0,003
<i>C6orf62</i>	3,49	p<0,001
<i>TAF1B</i>	3,50	p<0,001
<i>CILP</i>	3,54	0,001
<i>FAM108A1</i>	3,54	p<0,001
<i>NNMT</i>	3,57	p<0,001
<i>GSTM1</i>	3,58	p<0,001
<i>LOC401720</i>	3,59	p<0,001
<i>RRM2B</i>	3,61	p<0,001
<i>CSDC2</i>	3,61	0,002
<i>RASD2</i>	3,62	0,002
<i>LCOR</i>	3,63	p<0,001
<i>NDUFA5</i>	3,67	p<0,001
<i>IL6</i>	3,67	0,002
<i>FAM133B</i>	3,68	p<0,001
<i>FHL2</i>	3,69	p<0,001
<i>PLCD4</i>	3,69	0,001
<i>SKP1A</i>	3,73	p<0,001
<i>CA3</i>	3,76	p<0,001

<i>RBPMS2</i>	3,82	p<0,001
<i>GEM</i>	3,84	p<0,001
<i>HTR2A</i>	3,86	p<0,001
<i>PHF20L1</i>	3,89	p<0,001
<i>PTGS2</i>	3,89	0,001
<i>CALD1</i>	3,90	p<0,001
<i>PCP4</i>	3,98	p<0,001
<i>ABCC9</i>	4,10	p<0,001
<i>SELT</i>	4,12	p<0,001
<i>RGS11</i>	4,21	p<0,001
<i>PDE1A</i>	4,22	p<0,001
<i>RAB33B</i>	4,23	p<0,001
<i>RGS2</i>	4,25	0,001
<i>ITGA5</i>	4,26	p<0,001
<i>GTF2A1L</i>	4,27	p<0,001
<i>CYB5R1</i>	4,37	p<0,001
<i>INHBA</i>	4,37	p<0,001
<i>CYP19A1</i>	4,46	p<0,001
<i>ADAMTS4</i>	4,77	p<0,001
<i>FLNC</i>	4,83	0,001
<i>RPESP</i>	5,05	p<0,001
<i>DSEL</i>	5,27	p<0,001
<i>AKR1C1</i>	5,30	p<0,001
<i>KGFLP1</i>	5,44	p<0,001
<i>INS IGF2</i>	5,50	p<0,001
<i>GSTM1</i>	9,28	p<0,001
<i>GSTM2</i>	9,75	p<0,001
<i>FOSB</i>	10,18	p<0,001

Supplementary Table S3. Clinical annotations for the cohort of discovery phase (corresponding to GEO GSE149582 dataset).

	LAB CODE	SEX	AGE (years)	Type of surgery	pT	Grade	Node	NAC	CIS	PROGRESSION	TIME TO PROGRESSION (months)	OVERALL SURVIVAL	TIME TO DEAD (months)	CANCER SPECIFIC SURVIVAL
DE NOVO MIBC	B778	M	56	TURB	T2	HG	NO	1	1	1	35	1	58	1
	B1202	M	48	TURB	T2	HG	NO	1	0	0	98	0	-	0
	B1192	M	58	TURB	T2	HG	NO	1	1	NA	NA	NA	NA	NA
	B897	M	73	TURB	T2	HG	NO	1	1	0	73	1	73	0
	B643	M	63	TURB	T2	HG	NO	1	0	0	89	0	-	0
	B1216	M	70	TURB	T2	HG	NO	1	1	0	73	0	-	0
	B1218	M	68	TURB	T2	HG	NO	1	1	0	73	0	-	0
	B1197	M	53	TURB	T2	HG	NO	1	1	0	115	0	-	0
	B1193	M	70	TURB	T2	HG	N1	1	1	1	5	1	8	1
	B1196	M	70	TURB	T2	HG	N2	1	0	1	5	1	7	1
	B1776	M	84	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	0	91	1	91	0
B1830	M	79	Cystectomy	T4	HG	N1	0	0	1	5	1	6	1	
PROGRESSIVE MIBC	B155	F	82	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	1	11	1	12	1
	B336	M	77	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	0	92	0	-	0
	B1681b	M	70	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	1	4	1	4	1
	B1682b	M	87	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	0	0	1	0	0
	B1683b	M	72	Cystectomy	T1	HG	NO	0	0	1	69	1	76	1
	B1684b	M	68	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	0	1	1	1	0
	B1691	M	79	TURB	T2	HG	NA			1	24	1	24	1
	B1846	M	69	Cystectomy	T2	HG	NO	0	1	1	15	1	37	1
	B1848	M	54	Cystectomy	T3	HG	NO	0	0	0	2	1	2	0
	B1850	M	79	Cystectomy	T3	HG	NO	0	1	1	19	1	21	1
	B1852	M	74	Cystectomy	T4	HG	NO	0	0	1	1	1	11	1
	B1866	M	79	Cystectomy	T2	HG	NO	0	0	0	0	1	0	0
	B1868	M	71	Cystectomy	T2	HG	NO	0	1	0	73	1	73	0
	B688	M	78	Cystectomy	T3	HG	NO	0	0	0	9	1	9	0

LEGEND

0/1 NO/YES
 HG High grade
 TURB Transurethral resection of the bladder
 SEX M/F Male/Female
 NAC Neoadjuvant chemotherapy
 NA Non available

Supplementary Table S3. Genes analyzed in Biomark 96.96 Dynamic Arrays (Fluidigm).

GENES FROM TCGA ¹ (N= 52)		GENES IDENTIFIED BY MICROARRAY EXPERIMENT (N= 33)	GENES INVOLVED IN IMMUNE AND PROGRESSION MECHANISMS ²⁻¹⁰ (N=9)	ENDOGENOUS GENES (N= 2)
Luminal markers	<i>KRT20</i>	<i>ABCC9</i>	<i>PDCD1</i>	<i>BGUS</i>
	<i>PPARG</i>	<i>ARL5A</i>	<i>CTLA4</i>	<i>PPIA</i>
	<i>FOXA1</i>	<i>CALD1</i>	<i>CD80</i>	
	<i>GATA3</i>	<i>CHMP4B</i>	<i>AR</i>	
	<i>SNX31</i>	<i>CYB5R1</i>	<i>FOXM1</i>	
	<i>UPK1A</i>	<i>DSEL</i>	<i>ERBB2</i>	
	<i>UPK2</i>	<i>DUSP3</i>	<i>EGFR</i>	
	<i>FGFR3</i>	<i>DUSP6</i>	<i>IGF2</i>	
ECM and smooth muscle	<i>PGM5</i>	<i>FANCL</i>	<i>STAT3</i>	
	<i>DES</i>	<i>FLNC</i>		
	<i>C7</i>	<i>FOSB</i>		
	<i>SFRP4</i>	<i>GEM</i>		
	<i>COMP</i>	<i>GSTM2</i>		
	<i>SGCD</i>	<i>HIF1A</i>		
EMT and Claudin markers	<i>ZEB1</i>	<i>HTR2A</i>		
	<i>ZEB2</i>	<i>IFI27</i>		
	<i>SNAI1</i>	<i>INS-IGF2</i>		
	<i>TWIST1</i>	<i>LAMB1</i>		
	<i>CDH2</i>	<i>METTL1</i>		
	<i>CLDN7</i>	<i>PLCD4</i>		
	<i>CLDN4</i>	<i>PTGS2</i>		
Basal markers	<i>CD44</i>	<i>RAB33B</i>		
	<i>KRT6A</i>	<i>RGS2</i>		
	<i>KRT5</i>	<i>FGFR1</i>		
	<i>KRT14</i>	<i>RSRC2</i>		
	<i>COL17A1</i>	<i>SELT</i>		
Squamous markers	<i>DSC3</i>	<i>SEPT11</i>		
	<i>GSDMC</i>	<i>RBPMS2</i>		
	<i>TGM1</i>	<i>LCOR</i>		
	<i>PI3</i>	<i>SMAD5</i>		
	<i>TP63</i>	<i>SPRY2</i>		
Neuronal- differentiation	<i>MSI1</i>	<i>USP42</i>		
	<i>PLEKHG4B</i>	<i>ITGA5</i>		
	<i>GNG4</i>			
	<i>PEG10</i>			
	<i>RND2</i>			
	<i>APLP1</i>			
	<i>SOX2</i>			
	<i>TUBB2B</i>			
Immune markers	<i>CD274</i>			
	<i>PDCD1LG2</i>			
	<i>IDO1</i>			
	<i>CXCL11</i>			
	<i>L1CAM</i>			
	<i>SAA1</i>			
Down-regulated in CIS	<i>CRTAC1</i>			
	<i>CTSE</i>			
	<i>PADI3</i>			
Up-regulated in CIS	<i>MSN</i>			

	<i>NR3C1</i>
Sonic Hedgehog	<i>SHH</i>
	<i>BMP5</i>

Thirty-three of 94 genes were selected because of their differential expression (FDR<0.05) in microarray experiments, 52 genes were selected from The Cancer Genome Atlas (TCGA)¹ and 9 genes were selected from the literature²⁻¹⁰ because of their involvement in immune and progression mechanisms in MIBC.

1. Robertson, A. G. *et al.* Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell*. **174**, 1033 (2018).
2. Zichi, C. *et al.* Immunotherapy for Patients with Advanced Urothelial Cancer: Current Evidence and Future Perspectives. *Biomed Res. Int.* **2017**, 5618174 (2017).
3. Ali, A. *et al.* Prognostic significance of epidermal growth factor receptor (EGFR) over expression in urothelial carcinoma of urinary bladder. *BMC Urol.* **18**, 59 (2018).
4. Jitao, W. *et al.* Androgen receptor inducing bladder cancer progression by promoting an epithelial – mesenchymal transition. *Andrología.* **46**, 1128-1133 (2014).
5. The Cancer Genome Atlas *et al.* Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature.* **507**, 315-322 (2014).
6. Koga, F., Takemura, K. & Fukushima, H. Biomarkers for Predicting Clinical Outcomes of Chemoradiation-Based Bladder Preservation Therapy for Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2777 (2018).
7. Rinaldetti, S. *et al.* FOXM1 predicts disease progression in non-muscle invasive bladder cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **144**, 1701–1709 (2018).
8. Tomlinson, D. C., Baxter, E. W., Loadman, P. M., Hull, M. A. & Knowles, M. A.

FGFR1-Induced Epithelial to Mesenchymal Transition through MAPK / PLC c / COX-2-Mediated Mechanisms. *PLoS One*. **7**, e38972 (2012).

9. Kamoun, A. *et al.* The consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur. Urol.* **77**, 420-433 (2020).
10. Roudnicky, F. *et al.* High expression of insulin receptor on tumour-associated blood vessels in invasive bladder cancer predicts poor overall and progression-free survival. *J. Pathol.* **242**, 193–205 (2017).