

Expresión de GLI1 en tejido tumoral y estromal con diferentes grupos pronóstico de pacientes con cáncer de próstata

Expression of GLI1 in tumor and stromal tissue with different prognostic groups of patients with prostate cancer

Saúl Armando Beltrán-Ontiveros¹, Edgar Iván López-Pulido², Julio César Villegas-Pineda³, Ana Laura Pereira-Suárez^{3, 4}, Daniela Guadalupe Franco-Somera⁵, José Miguel Moreno-Ortiz⁶, Kimberly Estefanía Dorantes-Bernal⁷, Adrián Ramírez-de-Arellano⁴, Cecilia Rico-Fuentes^{2*}

1. Centro de Investigación y Docencia en ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán Rosales, Sinaloa, México.
2. Doctorado en Biociencias, Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara, Av. Rafael Casillas Aceves No. 1200, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.
3. Departamento de Microbiología y Patología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, 44340, México.
4. Instituto de Investigación en Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, 44340, México.
5. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán Sinaloa, México.
6. Instituto de Genética Humana "Dr. Enrique Corona Rivera" Departamento de Biología Molecular y Genómica. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, 44340, México.
7. Servicio de Medicina Familiar de la Unidad de Medicina Familiar No 46, Instituto Mexicano del Seguro Social OOAD Sinaloa

***Autor de correspondencia:** Cecilia Rico Fuentes
Av. Rafael Casillas Aceves No. 1200, C.P. 47620, Tepatitlán de Morelos, Jalisco.
Tel: (331) 271-73-70 E-mail: cilulkal@gmail.com

DOI <http://dx.doi.org/10.28960/revmeduas.3122-4342.v16.n1.005>

Recibido 18 de septiembre 2025, aceptado 26 de febrero 2025

RESUMEN

Objetivo: El presente proyecto consiste en evaluar la expresión de GLI1 en tejido tumoral y compartimento celular, con diferentes grupos pronóstico-provenientes de tejidos de cáncer de próstata. **Materiales y métodos:** En este estudio, se utilizó un diseño transversal comparativo, donde se investigó la expresión de GLI1 en tejido tumoral y estromal en tejidos incrustados en parafina con diferentes grupos pronóstico. Tras clasificar las muestras según el puntaje de Gleason (GS), se realizaron análisis de inmunohistoquímica para detectar GLI1 en secciones de tejido, utilizando un sistema automatizado de tinción. **Resultados:** La expresión de GLI1 demuestra un aumento significativo conforme avanza GS en el tejido tumoral de CaP, lo que sugiere un papel relevante de GLI1 en la progresión tumoral en CaP. Mientras en tejido estromal, la expresión GLI1 se conserva en núcleo y citoplasma conforme avanza GS. **Conclusión:** la expresión de GLI1 aumenta con el avance de los grados pronósticos en CaP el cual se observó en los citoplasma y núcleo en todos los GS.

Palabras clave: Cáncer de próstata, Vía de Hedgehog, GLI1, Puntaje de Gleason.

ABSTRACT

Objective: This project aims to evaluate the expression of GLI1 in tumor tissue and cellular compartments, with different prognostic groups derived from prostate cancer tissues. **Materials and methods:** In this study, a comparative cross-sectional design was used to investigate GLI1 expression in tumor and stromal tissue embedded in paraffin, across different prognostic groups. After classifying the samples based on the Gleason score (GS), immunohistochemical analyses were performed to detect GLI1 in tissue sections, using an automated staining system. **Results:** GLI1 expression shows a significant increase as GS progresses in PCa tumor tissue, suggesting a relevant role of GLI1 in tumor progression in PCa. In stromal tissue, GLI1 expression is maintained in both the nucleus and cytoplasm as GS advances. **Conclusion:** GLI1 expression increases with advancing prognostic grades in PCa, observed in both the cytoplasm and nucleus across all GS levels.

Keywords: Prostate cancer, Hedgehog pathway, GLI1, Gleason score

Introducción

La próstata es una glándula masculina responsable de producir un líquido que constituye una parte esencial del semen. Cuando las células de esta glándula empiezan a crecer fuera de control, se presenta el cáncer de próstata (CaP). Según las estadísticas, CaP es la causa de muerte más prevalente en la población masculina a nivel mundial.¹ El CaP se clasifica según criterios histológicos, clínicos y de diseminación para determinar su gravedad, y asimismo establecer el pronóstico. El sistema o puntuación de Gleason evalúa la agresividad del tumor en un puntaje resultado de una sumatoria que va desde 6 a 10, siendo 6 de bajo grado, 7 intermedio y 8-10 alto. Estableciéndose de esta manera las puntuaciones que van desde 6 (3+3) que representa un tejido sano en composición uniforme hasta 10 (5+5), que representa el grado más avanzado con tumores totalmente indiferenciados y agresivos.² Es importante mencionar que cada uno de estos grados se asocia con un riesgo diferente de presentar resistencia al tratamiento o recaídas después de una prostatectomía radical que es la extirpación de una parte o la totalidad de la glándula.³

La vía de señalización Hedgehog (Hh) es una ruta que se ha conservado evolutivamente y juega un papel importante en la regulación de una variedad de procesos fisiológicos y de

desarrollo que implican la diferenciación y proliferación de células madre.⁴ Por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, la vía Hh tiene un papel importante en la regulación de los procesos morfológicos complejos, y sus acciones son necesarias para el desarrollo del sistema nervioso central, de las estructuras craneal-facial⁵, de los tejidos esteroidogénicos entre otras.⁶

La señalización Hh funciona para activar la transcripción celular de la familia GLI de los factores de transcripción (GLI1, GLI2, and GLI3).⁷ La señalización canónica clásica se inicia mediante la secreción de péptidos como Shh⁸, Ihh⁹ y Dhh¹⁰ los cuales reconocen una proteína receptora en la superficie celular (Patched) de las células objetivo.¹¹ La unión de un ligando inicia una inhibición del receptor Smoothened (Smo) el cual altera la fosforilación y los patrones de degradación proteolíticos de GLI2 y GLI3 de un estado represor a un estado activador transcripcional.¹² Una vez activados, inducen una expresión de GLI1 lo cual hace que aumente aún más la actividad del estado transcripcional.⁸ La vía de Hh es también un estímulo proliferativo y la hiperactividad de dicha vía en tejidos adultos puede causar transformaciones neoplásicas y tumores malignos.¹³

En el caso de pacientes con CaP, la hiperactivación de la vía Hh está asociada con la agresividad, la metástasis y la recaída del paciente.

La vía de Hh tiene varios componentes principales: tres homólogos de Hh, PTCH1, el receptor de membrana Smo y los factores de transcripción GLI1, GLI2 y GLI3.¹⁴ El factor GLI1 desempeña un papel de activador transcripcional de la vía de Hh uniéndose a la región promotora de genes involucrados en la formación y progresión tumoral.¹⁵

En el presente estudio se investigó el papel de la vía Hh en la formación de hiperplasia en células basales de próstata durante la progresión de la tumorigénesis. Para esto se determinó la expresión de GLI1 en tejido tumoral y estromal con diferentes grupos pronóstico de pacientes con cáncer de próstata. Los resultados demostraron que GLI1 aumenta la expresión conforme avanza el grado pronóstico de CaP en tejido tumoral, principalmente en el compartimento nuclear y citoplasmático, mientras que en tejido estromal GLI1 se mantiene en todos los grados pronóstico en el compartimento citoplasmático.

Materiales y métodos

Muestras de tejido

Se trabajó con tejidos incluidos en parafina provenientes de pacientes con diferentes grados pronósticos de CaP, los cuales habían sido examinados y archivados en el Centro de Diagnóstico e Investigación en Patología y Nefropatología. Tras la verificación del diagnóstico y de las categorías pronósticas en *Gleason score* (GS),

las muestras fueron transportadas a nuestro laboratorio y clasificadas en cuatro grupos de grado etiquetados como 2, 3, 4 y 5, de la siguiente manera: GS 7 (3 + 4) (N=9), GS 7 (4 + 3) (N=18), GS 8 (4 + 4) (N=11) y GS 9 (4 + 5) (N=15). La inmunohistoquímica se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología Diagnóstica e Inmunohistoquímica de la Universidad de Guadalajara, México. El diseño metodológico aplicado fue transversal comparativo, donde se consideró como criterios de inclusión bloques de parafina con tejido incrustado, excluyendo aquellos bloques que tuviera una poca cantidad de tejido.

Inmunohistoquímica

Los bloques de tejido fijados en formalina e incluidos en parafina se cortaron en secciones de 5 µm, las cuales se tiñeron automáticamente usando el sistema BOND de Leica Biosystems. Se utilizó un anticuerpo primario policlonal contra GLI1 de Santa Cruz (Cat. sc515781) a una dilución de 1:100, seguida de una etapa de incubación con buffer de EDTA durante 15 minutos. Posteriormente se utilizó un buffer diluyente de anticuerpos Diamond de Cell Marque™ Tissue Diagnostics (Cat. 938B-05) y se detectó con Tetrahydrocloruro de diaminobenzidina, DAB mediante Ventana Medical Systems, Roche (Cat. 11718096001).

Realizamos el análisis inmunohistoquímico con un microscopio de luz Axioskop 2 plus (Carl Zeiss, Alemania) acoplado a una cámara digital

Coolsnap (Photometrics, Tucson, EE. UU.). Las imágenes fueron documentadas con Aperio de Leica Biosystems, y el análisis densitométrico se realizó usando el software Qupath versión 0.2.3 con un tipo de imagen de campo claro (H-DAB). Los análisis se dirigieron a la tinción nuclear y citoplasmática, y se realizaron utilizando análisis celular y detección de células positivas con un aumento de 40x. Las mediciones se realizaron en tejido tumoral y estromal.

Análisis Estadístico

Las diferencias se consideraron significativas con un valor $p \leq 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando R versión 4.1.2 (R Core Team 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. URL <http://www.R-project.org/>, consultado el 13 de enero de 2022). Se utilizaron variables discretas +1, +2, +3, siendo una expresión de menor a mayor respectivamente para la localización nuclear y citoplasmática de las células. Posteriormente, como variables continuas tenemos el porcentaje de células positivas para los tejidos tumorales y estromales, el cual se realizaron a través del programa QuPath versión 3.2.1, finalmente se compararon utilizando un ANOVA de dos colas y una cola con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Declaración de ética

Los estudios que involucraron a humanos fueron aprobados por el Comité de Ética del Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Se llevaron a cabo de acuerdo con la legislación local y los requisitos institucionales. La presente investigación fue aprobada por el Comité de Ética del Centro Universitario de Ciencias de la Salud (Opinión No. CI-01719), donde se consideró la exención del consentimiento informado, basada en las directrices estipuladas en la Guía 10 del CIOMS. Se tomaron en cuenta los siguientes puntos: la investigación no podría haberse realizado sin la exención del consentimiento informado, considerando que nuestro estudio retrospectivo se basó en la recolección de muestras sobrantes de diagnósticos patológicos; no existe riesgo alguno para los participantes, ya que la información personal fue disociada y no es posible identificar a los pacientes. Además, esta investigación tiene un valor social y científico significativo para la población mexicana estudiada.

Resultados

Expresión de GLI1 en el compartimento celular del tejido tumoral y estromal de CaP

Para evaluar la expresión de GLI1, se analizó por inmunohistoquímica el tejido tumoral, se encontró que la expresión se observa en el núcleo y citoplasma en todos los grupos pronósticos

(Fig. 1A). Además, mediante la medición por intensidad, se observó una mayor expresión en citoplasma comparado con la expresión nuclear

sin presentar diferencias significativas en todos los grados Gleason (Fig. 1B).

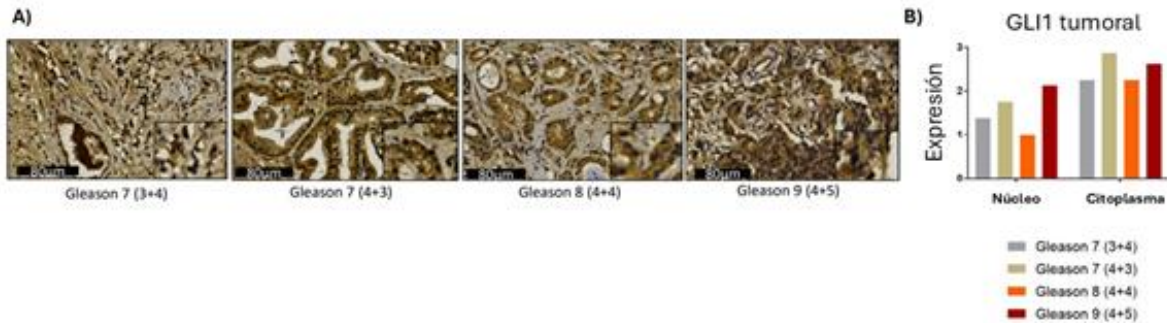


Figura 1. Expresión nuclear y citoplasmático de GLI1 en tejido prostático tumoral

A) Imágenes representativas de GLI en tejido tumoral donde se observa una expresión en la localización nuclear y citoplasmático en todos los grados Gleason. Barra de escala 80 μ m. B) Gráfica de localización nuclear y citoplasmático de GLI1 en tejido tumoral con base a la intensidad de expresión, se observa una expresión nuclear de +2 en GS 7 (4 + 3) y GS 9 (4+5) y una expresión sostenida en localización citoplasmático de +2 y +3 en todos los grados Gleason sin diferencia significativa entre cada grado pronóstico.

Posteriormente, se tiene la expresión de GLI1 en tejido estromal, donde se observó la expresión principalmente en el compartimento citoplasmático en todos los grupos pronósticos

(Fig. 2A). Asimismo, en la (Fig. 2B). se presenta la expresión citoplasmática con una intensidad entre +2 y +3 en todos los grupos pronóstico sin presentar diferencias significativas.

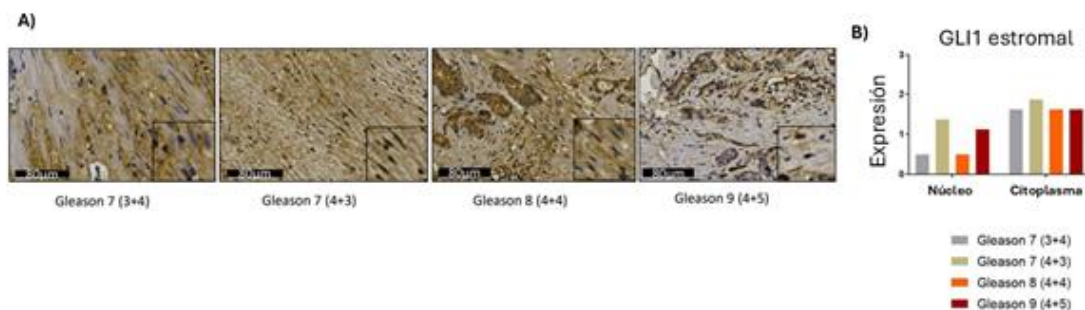


Figura 2. Expresión nuclear y citoplasmático de GLI1 en tejido prostático estromal

A) Imágenes representativas de GLI en tejido estromal en donde se observa una expresión en la localización nuclear y citoplasmático en todos los grados Gleason. Barra de escala 80 μ m. B) Gráfica de localización nuclear y citoplasmático de GLI1 en tejido estromal con base a la intensidad de expresión, se observa una expresión nuclear oscila entre 0 y +1 en todos los grados pronóstico, por otro lado, la expresión citoplasmática se sostiene en una intensidad de +2 en todos los grados Gleason sin diferencia significativa entre cada grado pronóstico.

Expresión de GLI1 en tejido tumoral y estromal de CaP

Para obtener una mejor visualización en la expresión de GLI1 en tejido tumoral y estromal, se tomó como referencia el porcentaje de células positivas conforme avanza el grado pronóstico de Cap. En el tejido tumoral podemos encontrar un aumento de expresión entre GS 7 (3 + 4) y

GS 9 (4+5) con diferencia significativa de $p < 0.0001$, seguido la expresión entre GS 7 (4 + 3) y GS 9 (4+5) con diferencia significativa de $p < 0.01$ y finalmente la expresión entre GS 7 (3 + 4) y GS 8 (4+4) con diferencia significativa de $p < 0.05$ (Fig.3A). En contraste con tejido estromal, se encontró una expresión sostenida en todos los grados Gleason en el tejido estromal sin diferencia significativa (Fig.3B).

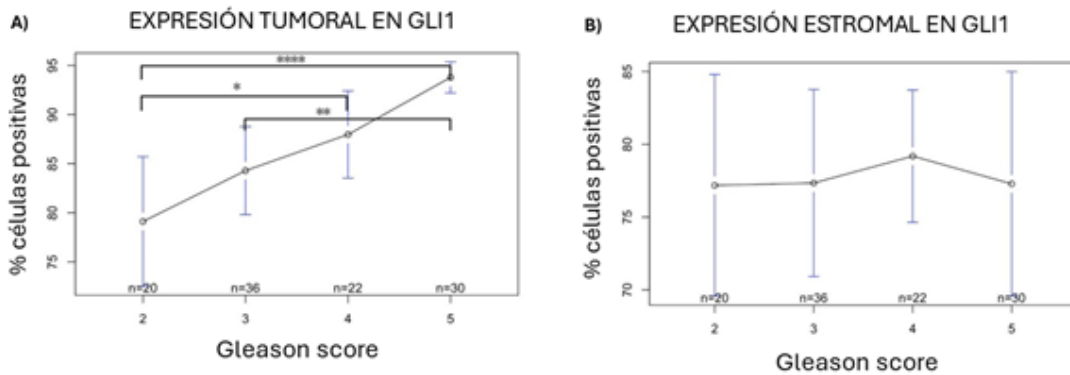


Figura 3. Expresión de GLI1 en tejido prostático tumoral y estromal

A) Gráfica de GLI1 en tejido tumoral donde se muestra el porcentaje de células positivas un incremento de expresión con diferencia significativa en la localización nuclear y citoplasmático conforme avanza los grados Gleason, realizado con ANOVA de una vía. B) Gráfica de GLI1 en tejido estromal donde se muestra el porcentaje de células positivas una expresión sostenida en todos los grados Gleason, realizados con ANOVA de una vía. $*=0.05$, $**=0.01$, $****=0.0001$

Interacción en la expresión de GLI1 en tejido tumoral y estromal con el compartimento celular en CaP

Para alcanzar un panorama en la participación de GLI1 en todos los grados pronósticos, se tomó como referencia el porcentaje de células positivas conforme avanza el grado pronóstico de CaP, el cual se registró la intensidad como grado 2, 3, 4, 5 como GS 7 (3+4), GS 7 (4+3),

GS 8 (4+4) y GS 9 (4+5) respectivamente. Asimismo, se incluyó la expresión nuclear y citoplasmático. Para el tejido tumoral se observó que aumenta la intensidad en la expresión de GLI1 en el compartimento citoplasmático y nuclear (Fig.4A). Posteriormente para el tejido estromal, se observó que no existe una interacción entre la expresión nuclear y citoplasmático conforme avanza los grados de intensidad (Fig. 4B).

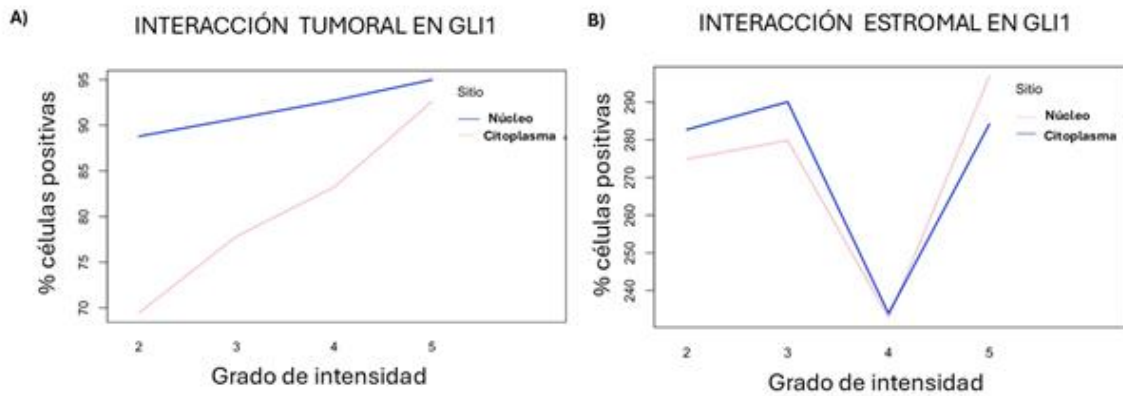


Figura 4. Interacción de GLI1 en tejido prostático tumoral y estromal en el compartimento celular

A) Interacción de intensidad en la expresión de GLI1 en tejido tumoral en el compartimento celular, donde se afirma la asociación que existe entre la localización nuclear, citoplasma y grados Gleason, realizado con una ANOVA de dos colas. B) Interacción de intensidad en la expresión de GLI1 en tejido tumoral en el compartimento celular, donde no existe la asociación entre la localización nuclear, citoplasma y grados Gleason, realizado con una ANOVA de dos colas. El grado de intensidad se representa como 2, 3, 4, 5 el cual se asocia con GS 7 (3+4), GS 7 (4+3), GS 8 (4+4) y GS 9 (4+5) respectivamente.

Discusión

Los resultados indican que conforme avanzan el grado de agresividad del CaP, la expresión de GLI1 en el tejido tumoral también aumenta, principalmente en el citoplasma y en menor medida en el núcleo celular, Este aumento en la expresión de GLI1 quizá se asocia con la expresión de HIF-1 α , ciclina D1, p27 y p21, que son reguladores positivos del ciclo celular involucrados en un estadio avanzado con metástasis en ganglios linfáticos en CaP.¹⁶ Además, en este mismo reporte se encontró que GLI1 regula la EMT a través de la señalización de PI3K/AKT/NF- κ B¹⁷, esta expresión se ha visto principalmente en la región citoplasmática en

CaP, por lo que, de igual manera, coincide con los resultados obtenidos.

Aunque GLI1 desempeña un papel clave en la activación de cánceres de manera canónica por la vía Hh¹⁸, también es crucial abordar la activación oncogénica no canónica (CMYC, RAS/RAF, TGF β , etc.).¹⁹ Por ejemplo, en los cánceres gastrointestinales, la sobre activación de GLI1 está impulsada por mutaciones en KRAS/BRAF.²⁰ Recientemente se ha sugerido que el GLI1 oncogénico progresa durante la carcinogénesis del colon^{21,22} y en la enfermedad metastásica mientras que, en el tejido colónico normal, la vía Hh-GLI está estrictamente involucrada en la diferenciación.²³

Otro ejemplo, se ha encontrado en cáncer de pulmón de células no pequeñas, en donde GLI1 contribuye a la angiogénesis mediante la vía de señalización Shh/GLI1 en tejido tumoral.²⁴ Dicho estudio identificó a GLI1 como un regulador crítico de la interacción entre las células de cáncer de pulmón de células no pequeñas y las células vasculares.²⁵ GLI1 en las células de cáncer de pulmón de células no pequeñas promueve la motilidad de células endoteliales necesaria para la angiogénesis mediante la promoción de la expresión del factor transformador de crecimiento β (TGF β).²⁶

Respecto al tejido estromal, la expresión de GLI1 en el citoplasma y en el núcleo celular se mantiene sin tendencia en todos los grados pronósticos, lo que sugiere la influencia del microambiente tumoral en la progresión del CaP. Se ha demostrado que en vías de señalización Shh-GLI1 es esencial para determinar los niveles de expresión de los marcadores de células madre de CaP, ya que aumenta el número y tamaño de los esferoides prostáticos *in vitro*.²⁷ Por el contrario, la inhibición de la señalización de GLI1 en el estroma suprime la diferenciación de las células basales hacia células lumbinales, asimismo limita la capacidad secretora de los túbulos prostáticos por lo que bloquea la regeneración del tejido prostático *in vivo*.²⁸

A nivel molecular, la supresión de la señalización GLI1 aumenta el factor de señalización en

TGF β en las células estromales de CaP. La elevación de los niveles de TGF β inhibe la formación de esferoides prostáticos, lo que sugiere que un eje de señalización GLI1-TGF β en el estroma regula la actividad de las células progenitoras epiteliales, por lo que es tiene potencial de renovación en ambos compartimentos, epitelial y estroma en CaP.²⁹

En otros cánceres, en un estudio previo de Rebekka y col. destacan el papel crucial de la activación de GLI1 las células estromales en la patogénesis de la fibrosis de médula ósea.³⁰ Se encontró que puede ser activada por plaquetas o megacariocitos atípicos a través de Cxcl4, lo que desencadena procesos de diferenciación miofibroblástica, reprogramación metabólica y disminución de CXCL12.³¹ Además, se propone que las proteínas GLI1 en estas células pueden activarse de manera independiente de la señalización canónica de Hh, posiblemente mediante la vía PI3K/AKT, lo que explicaría la variabilidad en las respuestas de los pacientes con fibrosis de médula ósea.³⁰

En conclusión, estos hallazgos subrayan el papel de GLI1 en el tumor y en estroma consolidándolo como un regulador clave en la progresión tumoral y un posible blanco terapéutico en el manejo de CaP. Asimismo, las interacciones que existe en el compartimento celular como las interacciones en el tejido tumoral y estromal, lo cual nos abre un amplio panorama interesante por explorar.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflicto de interés

Agradecimientos

CONAHCYT, Ciencia Básica y de Frontera 2023-2024 (CBF2023-2024-2702)

Referencias

1. Bray Bsc F, Laversanne | Mathieu, Hyuna |, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229-263. doi:10.3322/CAAC.21834
2. Morera PB, Araya. CC. Escala patológica de Gleason para el cáncer de prostata y sus modificaciones. Accessed September 28, 2019. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152003000100009#6
3. Soria AM, Soria AM, Cardá CL, López AB, Hernández JG. El cáncer de próstata resistente a castración. Mecanismos de progresión y nuevos tratamientos. *Revista Cubana de Urología.* 2012;1(1):106-122. Accessed October 5, 2019. <http://www.revurologia.sld.cu/index.php/rcu/article/view/15>
4. Wilson CW. Mechanism and evolution of cytosolic Hedgehog signal transduction. *Development.* 2010;137(13):2079-2094. doi:10.1242/dev.045021
5. Xavier GM, Seppala M, Barrell W, Birjandi AA, Geoghegan F, Cobourne MT. Hedgehog receptor function during craniofacial development. *Dev Biol.* 2016;415(2):198-215. doi:10.1016/J.YDBIO.2016.02.009
6. Finco I, LaPensee CR, Krill KT, Hammer GD. Hedgehog signaling and steroidogenesis. *Annu Rev Physiol.* 2015;77:105-129. doi:10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-061214-111754
7. Koebernick K, Pieler T. Gli-type zinc finger proteins as bipotential transducers of Hedgehog signaling. *Differentiation.* 2002;70(2-3):69-76. doi:10.1046/J.1432-0436.2002.700201.X
8. Dai P, Akimaru H, Tanaka Y, Maekawa T, Nakafuku M, Ishii S. Sonic Hedgehog-induced activation of the Gli1 promoter is mediated by GLI3. *J Biol Chem.* 1999;274(12):8143-8152. doi:10.1074/JBC.274.12.8143
9. Pietrobono S, Gagliardi S, Stecca B. Non-canonical Hedgehog Signaling Pathway in Cancer: Activation of GLI Transcription Factors Beyond Smoothed. *Front Genet.* 2019;10(JUN). doi:10.3389/FGENE.2019.00556
10. Yao HHC, Whoriskey W, Capel B. Desert Hedgehog/Patched 1 signaling specifies fetal Leydig cell fate in testis organogenesis. *Genes Dev.* 2002;16(11):1433-1440. doi:10.1101/gad.981202
11. Rohatgi R, Milenkovic L, Scott MP. Patched1 regulates hedgehog signaling at the primary cilium. *Science (1979).* 2007;317(5836):372-376. doi:10.1126/science.1139740

12. Li N, Truong S, Nouri M, et al. Non-canonical activation of hedgehog in prostate cancer cells mediated by the interaction of transcriptionally active androgen receptor proteins with Gli3. *Oncogene*. 2018;37:2313-2325. doi:10.1038/s41388-017-0098-7
13. Rubin LL, de Sauvage FJ. Targeting the Hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(12):1026-1033. doi:10.1038/NRD2086
14. Varjosalo M, Taipale J. Hedgehog: Functions and mechanisms. *Genes Dev*. 2008;22(18):2454-2472. doi:10.1101/gad.1693608
15. Wijgerde M, McMahon JA, Rule M, McMahon AP. A direct requirement for Hedgehog signaling for normal specification of all ventral progenitor domains in the presumptive mammalian spinal cord. *Genes Dev*. 2002;16(22):2849-2864. doi:10.1101/GAD.1025702
16. Po A, Silvano M, Miele E, et al. Noncanonical GLI1 signaling promotes stemness features and in vivo growth in lung adenocarcinoma. *Oncogene* 2017 36:32. 2017;36(32):4641-4652. doi:10.1038/onc.2017.91
17. Hui CC, Angers S. Gli proteins in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2011;27:513-537. doi:10.1146/ANNUREV-CELLBIO-092910-154048
18. Kasper M, Regl G, Frischauf AM, Aberger F. GLI transcription factors: mediators of oncogenic Hedgehog signalling. *Eur J Cancer*. 2006;42(4):437-445. doi:10.1016/J.EJCA.2005.08.039
19. Kasper M, Schnidar H, Neill GW, et al. Selective modulation of Hedgehog/GLI target gene expression by epidermal growth factor signaling in human keratinocytes. *Mol Cell Biol*. 2006;26(16):6283-6298. doi:10.1128/MCB.02317-05
20. Katoh Y, Katoh M. Hedgehog target genes: mechanisms of carcinogenesis induced by aberrant hedgehog signaling activation. *Curr Mol Med*. 2009;9(7):873-886. doi:10.2174/156652409789105570
21. Yoshikawa K, Shimada M, Miyamoto H, et al. Sonic hedgehog relates to colorectal carcinogenesis. *J Gastroenterol*. 2009;44(11):1113-1117. doi:10.1007/S00535-009-0110-2
22. Mazumdar T, DeVecchio J, Shi T, Jones J, Agyeman A, Houghton JA. Hedgehog signaling drives cellular survival in human colon carcinoma cells. *Cancer Res*. 2011;71(3):1092-1102. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2315
23. Varnat F, Duquet A, Malerba M, et al. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-GLI signalling that is essential for tumour growth, recurrence, metastasis and stem cell survival and expansion. *EMBO Mol Med*. 2009;1(6-7):338-351. doi:10.1002/EMMM.200900039
24. Lei X, Li Z, Huang M, et al. Gli1-mediated tumor cell-derived bFGF promotes tumor angiogenesis and pericyte coverage in non-small cell lung cancer. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2024;43(1):1-18. doi:10.1186/S13046-024-03003-0/FIGURES/9

25. Chen J, Li M, Liu AQ, et al. Gli1+ Cells Couple with Type H Vessels and Are Required for Type H Vessel Formation. *Stem Cell Reports*. 2020;15(1):110-124. doi:10.1016/J.STEMCR.2020.06.007
26. Lei X, Zhong Y, Huang L, et al. Identification of a novel tumor angiogenesis inhibitor targeting Shh/Gli1 signaling pathway in Non-small cell lung cancer. *Cell Death Dis*. 2020;11(4). doi:10.1038/S41419-020-2425-0
27. Li Q, Alsaidan OA, Rai S, et al. Stromal Gli signaling regulates the activity and differentiation of prostate stem and progenitor cells. *J Biol Chem*. 2018;293(27):10547. doi:10.1074/JBC.RA118.003255
28. Risbridger GP, Taylor RA. Minireview: Regulation of prostatic stem cells by stromal niche in health and disease. *Endocrinology*. 2008;149(9):4303-4306. doi:10.1210/EN.2008-0465
29. Barron DA, Rowley DR. The reactive stroma microenvironment and prostate cancer progression. *Endocr Relat Cancer*. 2012;19(6). doi:10.1530/ERC-12-0085
30. Schneider RK, Mullally A, Dugourd A, et al. Gli1+ Mesenchymal Stromal Cells Are a Key Driver of Bone Marrow Fibrosis and an Important Cellular Therapeutic Target. *Cell Stem Cell*. 2017;20(6):785-800.e8. doi:10.1016/j.stem.2017.03.008
31. Schneider RK, Ziegler S, Leisten I, et al. Activated fibronectin-secretory phenotype of mesenchymal stromal cells in pre-fibrotic myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol*. 2014;7(1). doi:10.1186/S13045-014-0092-2