

Activación alternativa del macrófago: La diversidad en las respuestas de una célula de la inmunidad innata ante la complejidad de los eventos de su ambiente

M.A. Duque Correa, M. Rojas López

Grupo de Immunología Celular e Immunogenética, Facultad de Medicina, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

ALTERNATIVE MACROPHAGE ACTIVATION: THE DIVERSITY OF ONE CELL INVOLVED IN INNATE IMMUNITY IN RESPONSE TO ITS ENVIRONMENTAL COMPLEXITY

Recibido: 13 Marzo 2007
Aceptado: 6 Mayo 2007

RESUMEN

Los macrófagos son una de las poblaciones celulares más pleiotrópicas del sistema inmune. Ellos son efectores de la respuesta innata y están involucrados en el inicio y la regulación de las respuestas adaptativas. Esta revisión describe cómo la definición seminal de la activación del macrófago (AM) evolucionó hasta el desarrollo de un modelo de dos clases de macrófagos activados. Los macrófagos activados clásicamente (M1) inducidos por IFN- γ y/o TNF- α muestran un fenotipo tipo Th1, son efectores proinflamatorios y tienen funciones bactericidas, mientras que los macrófagos activados alternativamente (M2), que incluye por lo menos tres fenotipos diferentes solapados (M2a, b, c), exhiben un fenotipo tipo Th2 y están involucrados en la resolución de la inflamación y la curación del tejido. Aunque este modelo clasifica los fenotipos de activación observados, es importante considerar que subestima la complejidad *in vivo*, donde existe una alta diversidad de estados de macrófagos activados que emergen en respuesta a diferentes estímulos y ambientes, son influenciados por su heterogeneidad y conforman un continuum de activación.

Profundizando acerca de los mecanismos que definen estos fenotipos, será posible entender mejor la influencia y el papel de los macrófagos activados alternativamente en las respuestas inmunes reguladas por ellos y en la patogénesis de diferentes enfermedades asociadas con el desarrollo de este grupo de macrófagos.

PALABRAS CLAVE: Activación del Macrófago/ Complejos Inmunes/ Factor Transformante del Crecimiento/ Glucocorticoides/ Interleucina-4/ Interleucina-10/ Interleucina-13/ Activación Clásica/ Activación Alternativa.

ABSTRACT

Macrophages are one of the most pleiotropic cell populations of the immune system. They are effectors of the innate response and are involved in the initiation and regulation of the adaptive responses. This review depicts how the seminal definition of macrophage activation evolved until the development of a model of two major classes of activated macrophages. Classically activated macrophages (M1) induced by IFN- γ and/or TNF- α show a Th1-like phenotype, are pro-inflammatory effectors and have bactericidal functions, while alternatively activated macrophages (M2), that include at least three different overlapping phenotypes, (M2a, b and c), are generated by different mediators, exhibit a Th2-like phenotype and are involved in the resolution of inflammation and wound healing. Although this model classifies the observed phenotypes of activation, it is important to keep in mind that it underestimates the complexity of the situation *in vivo*, where a high diversity of macrophage activated stages, emerging in response to different stimulus and environments, are influenced by this heterogeneity and conform an activation continuum.

Getting insights about the mechanisms that might define those phenotypes, it will be possible to better understand the influence and role of alternatively activated macrophages in the immune responses regulated by them and in the pathogenesis of different diseases associated with the development of this group of macrophages.

KEY WORDS: Macrophage Activation/ Glucocorticoids/ Immune Complexes/ Interleukin-13/ Interleukin-4/ Interleukin-10/ Transforming Growth Factor/ Alternative Activation/ Classical Activation.

INTRODUCCIÓN

Los macrófagos son una de las poblaciones celulares más pleiotrópicas del sistema inmune, presentes en todos los tejidos del cuerpo. Tienen funciones homeostáticas que incluyen reparación, modelación y angiogénesis de los tejidos y proveen protección al poner en marcha mecanismos inmunes innatos e iniciar el desarrollo de respuestas inmunes específicas a través del procesamiento y presentación antigénicos, la expresión de moléculas coestimuladoras y la producción de citocinas⁽¹⁾. Debido a su determinante influencia, el estudio de sus patrones de activación se ha convertido en un tópico de gran impacto. Aunque actualmente se habla de diferentes estados de activación, entre los que se encuentran el clásico y el alternativo, no está del todo claro cuáles son los inductores, las propiedades funcionales y el repertorio molecular de cada uno de estos grupos de macrófagos, ya que las definiciones de los diferentes fenómenos asociados a la activación varían entre los sistemas experimentales. Sólo hasta hace poco el papel de la heterogeneidad y la diferenciación del macrófago ha sido tomado en cuenta en la definición de los diferentes fenotipos de activación, con lo cual se ha comenzado a comprender que los macrófagos activados son un grupo de células mucho más amplio y versátil, que llevan a cabo distintas funciones, resultado de un continuum de diferenciación, maduración y activación.

En esta revisión se pretende examinar algunos aspectos relevantes acerca de la activación alternativa del macrófago: su origen como concepto, las moléculas inductoras y las características fenotípicas y funcionales que presentan estas formas de activación, a fin de describir un panorama actual de este fenómeno que permita abandonar la sobresimplificación conceptual que ha comenzado a erosionar su importancia.

DESARROLLO DEL CONCEPTO DE ACTIVACIÓN DEL MACRÓFAGO

Los fagocitos mononucleares son producto de un proceso denominado monocitopoyesis que comienza con la generación de precursores mieloides en la médula ósea, el bazo y el hígado fetal a partir de células pluripotenciales estimuladas con interleucina (IL) – 3. Los precursores mieloides comunes para el linaje granulocítico y monocítico, al ser estimulados con el factor estimulante de colonias de granulocito-macrófago (GM-CSF) y el factor estimulante de colonias de macrófago (M-CSF) e interactuar con el estroma de los órganos hematopoyéticos dan lugar a los promonoblastos y generan la progenie monocito-macrófago⁽²⁾. Los promonoblastos se diferencian a monoblastos y éstos a promonocitos que

ulteriormente se convierten en monocitos, que abandonan la médula ósea, entran al torrente sanguíneo y se dirigen a los diferentes tejidos por el influjo de quimiocinas y factores atrayentes. En los tejidos los monocitos se convierten en macrófagos residentes con un fenotipo determinado por el microambiente tisular, la matriz extracelular (MEC), y los productos de secreción y moléculas de superficie de las células vecinas. Esta especialización contribuye al desarrollo de su heterogeneidad, la cual se ha definido como la propiedad de los macrófagos de expresar amplios rangos de fenotipos morfológicos y funcionales⁽¹⁾.

La AM fue descrita inicialmente como un “estado alterado” en el cual se presentaba un incremento en la actividad bactericida de macrófagos esplénicos de ratones inmunizados e infectados con bacterias facultativas intracelulares como *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus* y *Mycobacterium tuberculosis* en comparación con los macrófagos de ratones no inmunizados^(3,4). Los macrófagos resistían la infección, y aunque este estado fue definido como no específico, dependía de la generación de una respuesta inmune adaptativa, en la cual linfocitos sensibilizados, y en presencia de antígenos determinados, producían factores solubles, “linfocinas”, capaces de modificar la función de los fagocitos mononucleares⁽⁵⁾.

Con el término “macrófago activado” se pretendía describir los cambios intrínsecos en la resistencia, pero además los macrófagos esplénicos y hepáticos recolectados de animales infectados tenían una apariencia particular, descrita como “perfeccionamiento de sus capacidades fagocíticas y digestivas”⁽⁶⁾. Los macrófagos activados, en contraste con los no activados, se caracterizaban por los cambios de la membrana plasmática que incluían un aumento en el contenido de colesterol⁽⁷⁾, de fosfodiesterasa alcalina 1⁽⁸⁾ y disminución de la ecto-5'-nucleotidasa⁽⁹⁾; un incremento en la capacidad de adherirse a sustratos de vidrio y plástico⁽⁸⁾, en la fagocitosis y la pinocitosis⁽⁸⁾, y, por ende, en el número de fagolisosomas y vesículas endocíticas⁽⁵⁾. Tenían la capacidad de reconocer y destruir células singénicas neoplásicas⁽¹⁰⁾. Además, en respuesta a la inflamación o a la infección microbiana *in vivo*, o a linfocinas *in vitro*, secretaban altas cantidades de proteinasas neutras⁽¹¹⁾, que incluían el activador de plasminógeno, elastasa y collagenasa, presentaban un incremento en las actividades de las hidrolasas ácidas^(12,13), y un alto consumo de oxígeno durante la fagocitosis⁽¹⁴⁾.

En un comienzo algunos asumieron que una manifestación de activación implícitamente indicaba la presencia de otras, razón por la cual sólo se limitaban a hacer la medición de una de ellas⁽⁵⁾. Con el tiempo, y debido al incremento de la evidencia que mostraba que la expresión de un rasgo no implicaba la presencia de otros, se pensó que la activación

ocurría en pasos definidos, y que éstos eran determinados por las funciones que los macrófagos debían cumplir⁽⁵⁾. Sin embargo, debido a que la modulación de las características monocíticas variaba con el sistema experimental usado para describir el fenómeno, se propuso referirse a los macrófagos describiendo los procesos que lo identificaban: activados bactericidamente, tumoricidamente, fagocíticamente, metabólicamente, haciendo énfasis en la manera como la activación era inducida, de acuerdo si ésta lo era por inflamación, mediada por células T, B o linfocinas *in vitro*⁽⁵⁾. Las ambigüedades que surgieron con el uso de esta estrategia, no permitieron la generación de un concepto generalizado del macrófago activado asociado a determinadas modificaciones morfológicas, funcionales, bioquímicas y moleculares, y por lo tanto, el fenómeno de activación sólo podía ser considerado como un cambio en el fenotipo del macrófago⁽¹⁾.

Se consideró que el estado de activación era producto tanto de la historia celular del macrófago, en términos de su origen, diferenciación, maduración y ambiente en el cual se desarrollaba⁽⁹⁾, como de factores inmunológicos producidos por los linfocitos T estimulados con antígenos o mitógenos, entre ellos los factores activadores del macrófago (MAF) que incluían la interleucina-2 (IL-2) y el interferón gamma (IFN- γ). Esta última "linfocina" estimulaba la actividad tumoricida inespecífica de los macrófagos^(15,16), inducía o incrementaba las reacciones citocidas contra microorganismos intracelulares^(17,18) y generaba un aumento en la expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC II) en la superficie celular⁽¹⁹⁻²¹⁾. El descubrimiento de que las células T contribuían a la AM, elaboraban citocinas, y la identificación del IFN- γ como la citocina capaz de activar al macrófago⁽²²⁾ contribuyó al establecimiento posterior del concepto de que la calidad e intensidad de la AM dependía de la naturaleza de las señales generadas por el inductor y de la citocina moduladora⁽²³⁾. Se definieron entonces dos estados de activación, en el primero de ellos, iniciador, los macrófagos exhibían un aumento en la expresión del MHC II, la presentación antigénica y el consumo de oxígeno en respuesta al IFN- γ . Sin embargo, se contaba con la evidencia de que otros factores como los interferones tipo I⁽²⁴⁾ y el Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α)^(25,26) podrían ser considerados como inductores de este estado, pues podían estimular también a los macrófagos para controlar el crecimiento bacteriano y presentar funciones tumoricidas. Los macrófagos en un estado iniciador respondían a un estímulo secundario para alcanzar un segundo estado de activación denominado completo, definido por un alto consumo de oxígeno, la inhibición de parásitos intracelulares facultativos, la lisis de células tumorales y una máxima

secreción de mediadores de la inflamación, que incluían el TNF- α , la prostaglandina 2 (PGE₂), IL-1 α e IL-6, productos reactivos del oxígeno (ROIs) y el óxido nítrico (ON). Los agentes capaces de producir la segunda señal incluían lipopolisacárido (LPS), bacterias gram positivas inactivadas por calor, ésteres de forbol, GM-CSF y di- y tri-péptidos de muramilo⁽²⁷⁻²⁹⁾. En conclusión, aunque directamente incrementaban una o varias funciones, ambas señales sinergizaban para dar una ejecución máxima de las mismas⁽²⁾.

El descubrimiento de diferentes subpoblaciones de células T y la aparición del paradigma Th1/Th2 sugirió que el predominio de células Th1 (productoras de IFN- γ e IL-2) o Th2 (productoras de IL-4, IL-5 e IL-10), podría favorecer un tipo de activación y la generación de subpoblaciones de macrófagos definidas^(2,23,30,31). Sin embargo, el énfasis sobre las funciones inflamatorias y citotóxicas de los macrófagos activados mantuvieron la percepción de que sólo citocinas Th1, como IFN- γ y TNF- α , promovían la AM, mientras que las Th2, como IL-4 e IL-10, bloqueaban o revertían su inducción, un fenómeno denominado desactivación, requerido para limitar las respuestas inflamatorias durante la reparación del tejido^(23,32,33). La desactivación promovida por IL-4 se evidenció en monocitos humanos estimulados con LPS por la supresión de la producción de TNF- α , IL-1 β y PGE₂⁽³⁴⁾. IL-10 también inhibía la producción de TNF- α , IL-1 α e IL-1 β en monocitos estimulados con LPS^(33,35). Además, en macrófagos peritoneales inducidos con periodato y tioglicolato, IL-10 inhibía la producción de IL-6⁽³⁶⁾ y la liberación de ROIS e intermediarios reactivos del nitrógeno (RNIS)⁽³²⁾. Debido a que el TNF- α , los ROIS y los RNIS eran antagonizados por IL-4, IL-10, el Factor Transformante del Crecimiento (TGF- β) y el Factor Desactivante del Macrófago (MDF)⁽³⁷⁻³⁹⁾, estas citocinas fueron denominadas desactivadoras del macrófago.

Otras observaciones que mostraban que IL-4 inducía la expresión de algunas moléculas MHC II en monocitos humanos^(40,41) y de la en macrófagos peritoneales murinos^(42,43), incrementaba la presentación antigénica en macrófagos murinos derivados de médula ósea⁽⁴⁴⁾ y aumentaba la actividad tumoricida macrófagos murinos peritoneales inducidos con tioglicolato⁽⁴³⁾, sugerían que IL-4 no era propiamente desactivadora. Ulteriormente, se reportó la inducción de expresión y actividad del receptor de manosa (MMR) en macrófagos peritoneales con IL-4, regulada negativamente por el IFN- γ , lo que llevó a proponer, según estos hallazgos, que IL-4 estimulaba la expresión de "un fenotipo alternativo" al de los macrófagos activados con IFN- γ y LPS⁽⁴⁵⁾, pero no su desactivación. Se evidenció que el pretratamiento con IL-4 incrementaba la producción de IL-12 y TNF- α en células mononucleares de sangre periférica

en respuesta a LPS o *Staphylococcus aureus*⁽⁴⁶⁾, y que podía regular positivamente quimiocinas como CCL17, 18 y 22 y enzimas intracelulares como la arginasa (Arg), estableciendo un patrón funcional diferente al inducido por el IFN- γ ⁽⁴⁷⁾. Lo anterior erosionó el concepto de macrófagos inflamatorios *versus* suprimidos generados por citocinas Th1 y Th2, respectivamente⁽²³⁾, y conllevó al surgimiento de los términos activación clásica y alternativa, enfatizando el contraste entre las características morfológicas y funcionales de los macrófagos que presentan un determinado tipo de activación.

ACTIVACIÓN CLÁSICA Y ALTERNATIVA, UN ESFUERZO POR DEFINIRLAS

Actualmente se denomina activación clásica del macrófago a la inducida por exposición al IFN- γ , el TNF- α , o a inductores de éste tales como ligandos de receptores tipo Toll (TLR) (CpG DNA, poli (I:C), LPS, peptidoglicano y señales endógenas de HSP de 60 y 70 Kda)⁽⁴⁸⁻⁵²⁾. Los macrófagos activados clásicamente, denominados M1, tienen la capacidad de detonar mecanismos efectores: muerte de parásitos intracelulares, lisis de células tumorales, producción y secreción de IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , CCL3, CXL9 y CXCL10, producción de ROIS, generación de ON en murinos, cambios fagolisosomales y aumento en la expresión de MHC II, CD86 y de la presentación antigénica asociada con células Th1^(2,53-56). Hasta el momento no se ha consolidado una definición clara de activación alternativa debido a que se ha observado que los efectos de IL-4 en la generación de un fenotipo de macrófago activado alternativamente se solapan de manera parcial con los inducidos por IL-13, IL-10, glucocorticoides y TGF- β , por lo que algunos autores los consideran como activadores alternativos^(53,57). *In vitro*, sus efectos, tanto en términos de extensión y dirección (activantes o desactivantes), están fuertemente influenciados por las condiciones de estimulación (señal, concentración en el momento del tratamiento), la especie, el tejido, y el estado de diferenciación⁽⁵⁸⁾. Aunque algunos atribuyen la desactivación a IL-10 y TGF- β , otros consideran que estas citocinas no son sólo inhibitoras, pues análisis de expresión génica han evidenciado que inducen genes compatibles con el perfil alternativo^(59,60). Sin embargo, es importante notar que IFN- γ e IL-4 son los agentes más conocidos como ejecutores de un rango de efectos antagonistas sobre los macrófagos⁽⁶¹⁾: la expresión de CD16, CD32 y CD64 es inducida por IFN- γ , pero inhibida por IL-4⁽⁴⁰⁻⁶²⁾; la expresión del MMR⁽⁴⁵⁾ y la 15-lipooxigenasa⁽⁶³⁾ es inducida por IL-4, pero inhibida por IFN- γ . Además, la expresión y síntesis de citocinas proinflamatorias como IL-1^(34,64), IL-6⁽⁶⁵⁾, y TNF- α ^(34,64), son inhibidos por IL-4 pero inducidos por IFN- γ .

Tratando de generar una nomenclatura que defina grupos denominados como "activados alternativamente", *sensu stricto*, M2, MØ2, tipo II, se propuso el uso de M2 como nombre genérico para las formas alternativas de activación que, además, comparten propiedades funcionales generalmente involucradas en respuestas tipo II, como inmunoregulación y remodelación del tejido⁽⁵⁶⁾. Para referirse a cada forma en particular, se propone denominar como M2a a la activación inducida por IL-4 e IL-13, M2b a la promovida por la exposición a complejos inmunes y agonistas de los TLRs y M2c a la estimulada por IL-10 y glucocorticoides⁽⁵⁶⁾. Aunque esta clasificación no incluye el TGF- β como activador alternativo, otros autores consideran que esta citocina induce el fenotipo M2c^(53,66-68).

Actualmente no está claro si un macrófago al ser estimulado adquiere un fenotipo que conserva durante su vida funcional, caso en el cual existirían *in vivo* subpoblaciones de macrófagos con estados de activación definidos, o si el patrón de activación de los macrófagos cambia de manera constante de acuerdo a los estímulos que encuentren, lo que generaría un amplio rango de fenotipos no estables representantes de un *continuum* de activación. Es importante considerar que cualquier nomenclatura o clasificación subestima la complejidad de la situación *in vivo*, en la cual la diversidad de los estados de AM está influenciada por la complejidad de los estímulos, la secuencia de exposición a los mismos y el estado de diferenciación del macrófago al momento de la estimulación^(67,69).

CLASIFICACIÓN, PROPIEDADES FUNCIONALES Y REPERTORIO MOLECULAR EN LA ACTIVACIÓN ALTERNATIVA

Los macrófagos M2 tienen propiedades anti-inflamatorias, inhiben la producción de IFN- γ , antagonizan las respuestas a ésta -incluida la activación M1- y son inducidos por diferentes mediadores⁽⁶⁶⁾. Deben adaptarse a diferentes necesidades en un continuo de situaciones *in vivo* que van desde la inducción de tolerancia hasta la regulación de la inflamación, la remoción de debris y regeneración del tejido⁽⁷⁰⁾. Algunas de las propiedades bioquímicas y funcionales de estos macrófagos se describen a continuación, y son similares en células humanas y murinas, a menos de que se especifique.

M2a

Es promovida por IL-4 e IL-13, las cuales inducen fenotipos ampliamente solapados probablemente porque poseen una estructura tridimensional similar y sus receptores comparten la cadena IL-4R α ⁽⁷¹⁾. Ambas señalizan a través de componentes comunes; la unión de IL-4 e IL-13 causa la activación de

JAK1 y Tyk2, la fosforilación de tirosinas citoplasmáticas en la cadena IL-4R α , el reclutamiento del STAT-6, su fosforilación, dimerización, translocación al núcleo y activación transcripcional^(72,73). STAT-6 actúa además secuestrando moléculas coactivadoras de STAT-1 y NF- κ B, suprimiendo la activación de genes inducidos por LPS e IFN- γ ^(74,75). Se han encontrado diferencias en la respuesta a IL-4 e IL-13 dependiendo del grado de diferenciación de los fagocitos mononucleares, ya que la configuración de sus receptores varía en los heterodímeros que forma la cadena IL-4R α con las cadenas γ_c e IL-13R α 1, afectando la capacidad de activación de STAT6⁽⁷⁶⁾. IL-4 e IL-13 pueden activar la vía de señalización del sustrato del receptor de insulina 2 (IRS2)⁽⁴⁷⁾. IL-13 regula positivamente la expresión de los supresores de la señalización de citocinas SOCS-1 y CISH, moléculas que bloquean los STAT⁽⁷⁷⁾.

IL-4 e IL-13 ejercen un gran número de acciones en los macrófagos. Disminuyen la expresión de CD14, CD64, CD32 y CD16, aumentan el CD23^(62,78-80), incrementan la expresión de superficie de las subunidades de integrinas y receptores de complemento CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD49e (VLA-5), de la aminopeptidasa N (CD13) y del MHC II, favoreciendo la presentación antigénica^(40,41,79,81). IL-13 regula positivamente la expresión de los genes que codifican CD1-b, -c, -e y una lectina tipo C (CLECSF6), lo que puede favorecer la presentación antigénica de lípidos y glicolípidos⁽⁷⁷⁾.

IL-4 e IL-13 estimulan también la expresión en membrana y la actividad de receptores no opsónicos como el MMR^(45,82) y el receptor de β -glucano, dectina-1⁽⁸³⁾, pero regulan negativamente la expresión de CD163 en monocitos humanos^(77,84), favoreciendo el reconocimiento de carbohidratos de microorganismos y disminuyendo el de cuerpos apoptóticos.

Ambas citocinas aumentan la expresión *in vitro* de las lectinas 1 y 2 tipo C de galactosa (mMGL1 y mMGL2) en macrófagos peritoneales inducidos con tioglicolato⁽⁸⁵⁾. En murinos, durante la infección con *Trypanosoma brucei brucei*, *Taenia crassipiens* y en asma alérgica se ha observado que la expresión de mMGL1 y mMGL2 depende de la señalización y expresión de IL-4⁽⁸⁵⁾. En monocitos humanos, IL-4 regula positivamente la expresión de lectinas hMGL⁽⁸⁵⁾. Esto favorece el reconocimiento de glicoproteínas galactosiladas en células cancerosas^(86,87) y de compuestos glicosilados presentes en la superficie de helmintos^(85,88).

En macrófagos M2a hay una fuerte regulación sobre diferentes componentes del sistema IL-1, lo cual permite contrarrestar sus acciones proinflamatorias. IL-4 e IL-13 incrementan la expresión del receptor IL-1RI y del pseudoreceptor, IL-1RII⁽⁸⁹⁻⁹²⁾; inducen la producción del receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra) e inhiben la producción de IL-1^(89,90,93-95), posiblemente como efecto de la regulación

negativa sobre la caspasa 1 y la metaloproteína 9 (MMP9), enzimas que procesan independientemente la pro-IL-1 β ^(77,96).

La producción de citocinas como IL-1 α/β , IL-6, IL-8 (CXCL8), IL-10, IL-12p35, IL-12p40, MIP-1 α , GM-CSF, G-CSF, PGE₂, IFN- α y TNF- α promovidas por la estimulación con LPS es inhibida por IL-4 e IL-13^(34,64,65,79,97). Sin embargo, el pretratamiento de mononucleares de sangre periférica con IL-4 e IL-13 incrementa la producción de IL-12p35, IL-12p40 y TNF- α en respuesta a la estimulación con LPS o *S. aureus*^(46,98). Lo anterior evidencia la complejidad en la regulación debida a IL-4 e IL-13, ambas pueden promover o inhibir respuestas tipo I de acuerdo a las condiciones de estimulación y, por lo tanto, tener diferentes implicaciones en distintas patologías.

Una nueva clase de citocinas son las proteínas tipo quitinasa, quitotriosidasa, AMCase, HC-gp39, YLK-40 y "stabilin-1 interacting chitinase-like protein" (SI-CLP) humanas, y las ECF-L y Ym1/2 murinas. Son producidas por macrófagos M2, se encuentran involucradas en respuestas contra organismos que contienen quitina como levaduras, hongos y nemátodos y están asociadas a asma, la progresión de tumores, desórdenes en el sistema vascular o remodelación de la MEC⁽⁹⁹⁻¹⁰¹⁾. El factor quimiotáctico de eosinófilos, Ym1/2, es uno de los genes más fuerte y positivamente regulados en macrófagos M2a comparados con M1 durante la infección con *T. brucei brucei*⁽¹⁰⁰⁾ y en reacciones pulmonares alérgicas⁽¹⁰²⁾. Se ha observado la regulación positiva de Ym1/2 en macrófagos murinos peritoneales estimulados con IL-4, aislados de ratones con peritonitis alérgica⁽¹⁰³⁾, y en macrófagos murinos infectados con *Brugia malayi*^(104,105). Sin embargo en murinos, se ha observado que la inducción de Ym1/2 durante la infección con *Trypanosoma congolense* es parcialmente independiente de IL-4/IL-13⁽¹⁰⁶⁾ y otros estudios en monocitos humanos estimulados con IL-13 sugieren que ésta no se encuentra involucrada la regulación positiva de Ym1⁽⁷⁷⁾. Aunque su función no es clara, su expresión puede estar relacionada con el encapsulamiento de microorganismos quitinados⁽¹⁰⁵⁾, y es posible que interactúe con componentes de la MEC, lo que es consistente con el papel de los M2a en la reparación del tejido^(107,108).

Otros estudios han mostrado que IL-4, junto con dexametasona, aumentan la expresión y secreción de SI-CLP y la estabilina-1, su ligando, en macrófagos derivados de monocitos (MDM) humanos^(99,109). La estabilina-1 funciona como un receptor "scavenger" (SR), media la endocitosis de acLDL, está involucrada en las respuestas contra patógenos y asociada a la progresión del asma⁽¹⁰¹⁾.

IL-4 e IL-13 también incrementan en humanos la producción de CCL17, CCL22⁽¹¹⁰⁻¹¹²⁾, CCL18⁽⁶¹⁾ y los receptores de IL-8, CXCR1 y CXCR2 en monocitos⁽¹¹³⁾, e inducen la

producción de CCL24 en macrófagos pero la inhiben en monocitos⁽¹¹⁴⁾. IL-4, mas no IL-13, regula positivamente la expresión de CCL2 en murinos⁽¹¹⁵⁾ y la de CCL13 en monocitos y macrófagos humanos⁽⁶⁶⁾ e inhibe la expresión de quimiocinas inducidas en los macrófagos M1, como CXCL10, CCL5, CXCL9⁽⁵⁵⁾, CCL3 y CCL4⁽¹⁰⁴⁾. La producción de este subgrupo de quimiocinas específico se asocia con respuestas Th2 y con reclutamiento de leucocitos involucrados en la remodelación y reparación del tejido, alergia, resistencia a helmintos y progresión de tumores⁽⁵⁶⁾.

IL-4 desactiva el estallido respiratorio^(116,117); estimula la producción del activador tisular del plasminógeno⁽¹¹⁸⁾ y suprime la función procoagulante de los monocitos⁽¹¹⁹⁾, resultando en un ambiente que limita la formación de la red de fibrina⁽⁷⁶⁾.

En el metabolismo de lípidos, tanto IL-4 como IL-13 tienen diversos efectos. Ambas son moduladoras positivas de la 15-lipoxigenasa (EC 1.13.11.33)^(63,77,120), que media la producción de ligandos para el "Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ " (PPAR γ), receptor involucrado en la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias, la expresión de la Óxido Nítrico Sintasa (NOS2)^(121,122) y la transcripción de IL-2, lo que sugiere este mecanismo como vía indirecta de inhibición de la proliferación de células T por IL-4^(123,125).

"Found in inflammatory zone" (FIZZ1), miembro de la familia de moléculas tipo resistina, es inducido por IL-4 e/o IL-13 y está relacionado con el metabolismo lipídico^(77,100) y la fibrogénesis^(1216,127). FIZZ1, al igual que Ym1, es regulado positivamente en macrófagos murinos durante infecciones con *B. malayi*, *T. brucei brucei* y *T. crassipiens* y en asma alérgica experimental^(85,100,105). En estos modelos la expresión de FIZZ1 es dependiente de señalización y expresión de IL-4^(85,100).

IL-4 e IL-13 estimulan la expresión Arg1 *in vitro*, extinguiendo el sustrato de NOS2 e inhibiendo la liberación de ON^(128,130). Los macrófagos productores de Arg1 participan en procesos de reparación tisular, fibrogénicos, en síntesis de colágeno y pueden tener acciones anti-inflamatorias mediante la producción de poliaminas (putrescina, espermidina y espermina) que inhiben la expresión de NOS2 y la síntesis de citocinas proinflamatorias en mononucleares humanos^(128,129,131-134). La regulación cruzada del balance de los niveles NOS2-Arg1, sugiere que las mediciones de los niveles de ON y de la actividad Arg1 en distintas poblaciones de macrófagos podría reflejar su estado de activación⁽¹³⁵⁾; y aunque esta dicotomía puede servir como patrón de diferenciación en macrófagos murinos, en humanos IL-4 e IL-13 no inducen la expresión de Arg1, ni de la del homólogo humano de Ym1, razón por la cual estos marcadores no han sido utilizados para la diferenciación entre macrófagos M1

y M2a^(77,85,136). Además es importante considerar que el LPS, activador M1 puede inducir Arg1 y NOS2⁽¹³⁷⁾.

Los macrófagos M2a implicados en la remodelación del tejido, inicialmente expresan enzimas involucradas en la degradación de la MEC como collagenasa (MMP1) y metaloelastasa (MMP12), y los inhibidores de metaloproteinasas 1 y 2 (TIMP1 y TIMP2)^(66,96,138). Posteriormente los M2a contribuyen a la deposición de MEC, mediante la producción de: fibronectina, tenascina-C y β -IG-H3, y el entrecruzamiento de los mismos, proceso realizado por la transglutaminasa del tejido y el factor de coagulación XIIIa, moléculas reguladas positivamente por IL-4^(66-68,70,139). Además, los macrófagos M2a modulan la proliferación y la síntesis de colágeno de los fibroblastos a través de la expresión de altos niveles de TGF- β 1, PDGF-AA, PDGF-BB⁽¹⁴⁰⁻¹⁴³⁾. Estas acciones se llevan a cabo durante la resolución de reacciones inflamatorias agudas y crónicas^(66,70).

Los macrófagos M2a pueden ser inducidos por la activación del receptor STK/ RON "Stem Cell-Derived Tyrosine Kinase/ RON Receptor Tyrosine Kinase" a través de la proteína estimulante del macrófago (MSP). En macrófagos peritoneales murinos, esta unión regula negativamente la expresión de la NOS2 en respuesta al IFN- γ y LPS⁽¹⁴⁴⁾, regula positivamente de la expresión de Arg1⁽¹⁴⁵⁾ e induce la expresión del receptor SR-A y la endocitosis mediada por el mismo, además regula positivamente la expresión del receptor IL-1Ra⁽¹⁴⁵⁾.

Trabajos recientes describen a IL-21 y su receptor (IL-21R) como amplificadores de macrófagos M2a. IL-21R posee una alta homología con IL-4R, y animales deficientes en IL-21R e infectados con *Schistosoma mansoni* y *Nippostrongylus brasiliensis* presentan una reducción en la inflamación granulomatosa y en la fibrosis hepática, tienen niveles bajos de IL-4, IL-13 y de los mRNA de AMCasa, Ym1 y FIZZ1. IL-21 incrementa la expresión de IL-4R e IL-13R, la actividad Arg1 y la expresión de mRNA para FIZZ1 luego de la estimulación con IL-4 e IL-13 de macrófagos murinos derivados de médula ósea⁽¹⁴⁶⁾. Lo anterior indica que IL-21 y su receptor modulan la respuesta efectora tipo Th2 y por lo tanto, regulan el desarrollo de macrófagos activados alternativamente.

M2b

Denominados tipo II, se generan por la exposición a complejos inmunes, agonistas de CD64 opsonizados con IgG como eritrocitos, OVA y *Haemophilus influenzae* muerta por calor, como primera señal, y a ligandos de los TLRs como el LPS o el ácido lipoteicoico (LTA), y de CD40 (α CD40) ó CD44 (como el ácido hialurónico de bajo peso molecular), como segunda señal estimuladora que influencia la producción de citocinas^(57,147-152).

Los macrófagos M2b se caracterizan por un fenotipo muy diferente a los M2a y M2c, pues tienen alta expresión de IL-10 y baja de IL-12^(151,152), producen altos niveles de citocinas pro-inflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-6⁽¹⁴⁷⁻¹⁵⁰⁾; no expresan Arg1⁽¹⁵⁰⁾ y, hasta el momento, sólo se tiene reporte de la expresión de una única quimiocina, CCL1, que participa en el reclutamiento selectivo de células T reguladoras y eosinófilos⁽⁵⁶⁾.

Estos macrófagos expresan niveles similares de CD11a, CD40, CD54, CD58, CD80 y CD86 a los de los macrófagos M2a y M1, y altos niveles de MHC de clase II⁽⁶⁸⁾. Se caracterizan por promover la diferenciación Th2, la exacerbación de patologías relacionadas con citocinas de este tipo como asma, infecciones con helmintos, muerte y encapsulación de parásitos, producción de anticuerpos y cambio de isotipo de IgG hacia IgG1^(147-148,153). La transferencia de macrófagos M2b rescata ratones de la endoxitemia inducida por LPS, lo que ha sido asociado a su capacidad de producir IL-10⁽¹⁴⁹⁾.

Estudios en murinos para la caracterización de esta población de macrófagos han mostrado que existe mayor similitud entre los M2b y M1 que entre M2a y M2b, aunque los patrones de producción de citocinas (IL-12 e IL-10) entre estas dos poblaciones difieren⁽¹⁵⁴⁾. Tanto los M2b como los M2a producen altos niveles de ON y presentan baja actividad Arg1, regulan positivamente CD86, son células presentadoras de antígeno eficientes y no expresan FIZZ1⁽¹⁵⁴⁾. Este fenotipo es opuesto al presentado por los M2a. Este estudio también caracterizó dos marcadores bioquímicos que pueden ser usados para identificar los macrófagos M2b en el tejido: la esfingosina quinasa 1 (SPHK1), que cataliza la producción de esfingosina-1 fosfato y que regula flujos de calcio, y la molécula coestimuladora LIGHT, llamada TNFSF14, que participa en la activación y proliferación de células T a través de receptores TR2 y TR6⁽¹⁵⁴⁾.

M2c

Aunque IL-10, TGF- β y glucocorticoides son considerados moléculas inductoras del fenotipo M2c, no comparten mecanismos de señalización intracelular y regulación génica que expliquen el solapamiento de sus efectos. IL-10 inhibe la producción de citocinas proinflamatorias, la liberación del ON y ROIS y las actividades antimicrobiales de los macrófagos^(32,35). Los glucocorticoides antagonizan la producción de IL-6⁽⁶⁵⁾, IL-1 β , TNF- α y PGE-2, y sinergizan con IL-4 en esta inhibición⁽⁶⁴⁾. TGF- β presenta un papel dual en la modulación de la función del macrófago, debido a que en algunas ocasiones actúa como activador proinflamatorio estimulando la transcripción de PDGF, β FGF, IL-6, TNF- α e IL-1 β ⁽¹⁵⁵⁻¹⁶⁰⁾, mientras que en otras inhibe la producción de TNF- α , IL-1 α , IL-1 β y GM-CSF^(33,161), y también antagoniza

la producción de ROIS⁽³⁹⁾ y RNIS^(37,38,162). Esto depende del estado de diferenciación del fagocito mononuclear; en estados tempranos de inflamación, TGF- β actúa localmente como un agente proinflamatorio a través del reclutamiento y activación de monocitos no activados; en la resolución de la inflamación predominan sus acciones anti-inflamatorias debido a que los monocitos activados y diferenciados a macrófagos regulan negativamente la expresión del TGF- β R y disminuyen parcialmente su sensibilidad al TGF- β ^(155,163).

IL-10 induce la expresión de quimiocinas como CCL2⁽¹⁶⁴⁾, CCL12⁽¹⁶⁵⁾, CCL18⁽¹⁶⁶⁾, CCL16⁽¹⁶⁷⁾ en monocitos y macrófagos humanos, y en conjunto con LPS la de CXCL13 en monocitos⁽⁵⁶⁾. IL-10 y los glucocorticoides regulan positivamente la producción de los receptores de quimiocinas CCR1, CCR2 y CCR5^(165,168-170). IL-10 inhibe la expresión de CCL22⁽¹¹⁰⁾, CXCL8, y, como IL-4, la de CXCL10, CCL5, CXCL9, CCL3 y CCL4, que es inducida a través de TLRs e IFN- γ ^(55,171). Los glucocorticoides suprimen la producción de CXCL10 en macrófagos tratados con IFN- γ a través de la inhibición de STAT1⁽¹⁷²⁾, modulan negativamente la expresión de CCL13, CCL17 y CCL18, aunque sinergizan con IL-4 en la inducción de la expresión de la última citocina⁽⁶⁶⁾. IL-10, TGF- β y los glucocorticoides inhiben la expresión de CCL2 inducida por LPS e IL-1 β ^(173,174). TGF- β inhibe además en los macrófagos la liberación de CCL3, posiblemente vía regulación negativa de "c-Jun/AP-1"^(155,175), pero induce la respuesta quimioatrayente más potente observada en monocitos circulantes, promoviendo su reclutamiento a los sitios de inflamación^(157,176).

IL-10 y los glucocorticoides regulan negativamente la expresión de MHC de clase II, CD80 y CD86, atenuando la presentación antigénica de los monocitos y macrófagos^(35,177-179). Contrario a IL-4 e IL-13, IL-10 no regula la expresión ni de CD32 ni de CD16, incrementa CD64 en membrana y previene la regulación negativa de los tres receptores Fc γ promovida por IL-4^(62,180). TGF- β induce la expresión de CD16 en la membrana de monocitos humanos, lo que permite el reconocimiento de IgG unida, favoreciendo la fagocitosis y remoción de debris celular^(159,181). Los glucocorticoides, al contrario de IL-4, inhiben la expresión de CD23 y la producción del activador tisular del plasminógeno, factor que controla la deposición de la fibrina en los sitios de inflamación⁽¹¹⁸⁾; también sinergizan con esta citocina en la regulación positiva de estabilina-1 y de su receptor SI-CLP humanas^(109,182,183). TGF- β incrementa la expresión de integrinas como LFA-1, el ligando endotelial de ICAM-1, receptores $\alpha_3\beta_1$ que median la unión del monocito a la fibronectina, colágeno y laminina, y del receptor de fibronectina $\alpha_5\beta_1$ ^(184,185). TGF- β e IL-10 regulan negativamente la expresión del receptor para IL-3 en monocitos humanos⁽¹⁸⁶⁾.

Se ha observado que la dexametasona incrementa la expresión y actividad del MMR, mientras que IL-10 tiene efectos variables sobre éste receptor^(47,187) y reduce la endocitosis mediada por el mismo⁽⁸²⁾. Por otro lado, tanto la dexametasona como IL-10 regulan positivamente la expresión de CD163^(84,188,189), más en macrófagos que en monocitos⁽¹⁹⁰⁾, y la del receptor hMARCO^(66,191), pero disminuyen la expresión y actividad de la dectina-1⁽⁸³⁾. TGF- β inhibe la expresión de CD163⁽¹⁹²⁾ mientras que induce la de la dectina-1⁽⁸³⁾. Gracias al aumento de la expresión de los receptores no opsonicos mencionados, los glucocorticoides y IL-10 incrementan la actividad endocítica y fagocítica de los monocitos y macrófagos^(66,109,189,191).

En la regulación de los componentes del sistema de IL-1, IL-10 y los glucocorticoides presentan algunas acciones contrarias, aunque ambas moléculas regulan negativamente la expresión de IL-1 β ^(32,35,193). Mientras que IL-10 inhibe la expresión de los receptores IL-1RI y IL-1RII en monocitos estimulados con IL-4 e IL-13 e induce la expresión de IL-1ra⁽⁹²⁾, la dexametasona antagoniza sus acciones⁽¹⁹³⁻¹⁹⁶⁾. TGF induce la síntesis y expresión de IL-1 β y posteriormente de manera secuencial la de IL-1ra en monocitos humanos^(197,198). Además de la liberación del IL-1ra, la actividad anti-inflamatoria de IL-10 se aumenta por el incremento de la liberación de receptores solubles de TNF- α como TNF-R2⁽¹⁹⁹⁾.

IL-10 incrementa los niveles totales de Arg1 y 2 en fagocitos mononucleares⁽⁵⁹⁾. Esta citocina, al igual que el TGF- β , induce Arg1^(128,130,131), y regula positivamente la expresión del IL-4R α ⁽⁵⁹⁾. IL-10 sinergiza con el LPS para incrementar la expresión de Arg2^(47,59). IL-10 y TGF- β también se encuentran involucrados en la remodelación de la MEC y del tejido. Inducen la expresión de pentraxina larga PTX3, versicán (proteoglicano 2)^(56,200), TIMP-1⁽²⁰¹⁾ y la producción de poliaminas^(128,202). Los glucocorticoides no modulan estas propiedades y tienen efectos supresores en la expresión de proteínas de MEC inducidas por IL-4^(66,70), pero inducen la expresión de TGF- β en macrófagos; en cocultivos con fibroblastos promueven la síntesis de colágeno y su proliferación⁽¹⁴³⁾. El TGF- β induce en monocitos humanos la síntesis y secreción de las gelatinasas MMP2 y MMP9, metaloproteinasas que median la disolución de la membrana vascular basal, que consiste en colágeno tipo IV, fibronectina y laminina⁽¹⁸⁵⁾.

La fagocitosis de células apoptóticas puede generar macrófagos M2c⁽²⁰³⁾. La unión y/o ingestión de neutrófilos apoptóticos inhibe la producción de IL-1 α , IL-8, IL-10, GM-CSF y TNF- β , e incrementa los niveles de TGF- β 1, PGE2 y el factor activador de plaquetas (PAF) en MDM humanos estimulados con LPS, estos últimos involucrados en la inhibición de la producción de citocinas inflamatorias⁽¹⁶¹⁾.

También ha sido observada la inhibición de la secreción de TNF- α y el aumento en la producción de IL-10 y TGF- β en monocitos estimulados con LPS y células apoptóticas⁽²⁰⁴⁾. Se ha visto que la interacción de linfocitos apoptóticos con macrófagos peritoneales murinos infectados con *Trypanosoma cruzi*, aumenta los niveles de prostanglandinas, TGF- β y la biosíntesis de poliaminas⁽²⁰⁵⁾. Además, existen evidencias *in vivo* que muestran que el TGF- β 1 liberado por macrófagos que han fagocitado células apoptóticas tienen efectos anti-inflamatorios en peritoneo y pulmones⁽²⁰⁶⁾.

Aunque los patrones de expresión génica inducidos por cada uno de los inductores alternativos son substancialmente diferentes, los efectos supresores comunes de los glucocorticoides, IL-10, IL-4 y IL-13 en la expresión de citocinas Th1, la inflamación y la activación inmune pueden ser explicados en parte por la regulación negativa de las acciones del NF- κ B y STAT1^(56,177). La inhibición del NF- κ B parcialmente se explica por la activación común de la cremallera de leucina inducida por glucocorticoides (GILZ), que suprime funciones de AP-1 e inhibe la expresión de TLRs⁽¹⁷⁷⁾.

CONCLUSIÓN

El vasto repertorio de funciones exhibidas por los macrófagos M2 y su compleja regulación, detentan una avasalladora diversidad. Aunados estos eventos a la heterogeneidad implícita de los fagocitos mononucleares y su diferenciación, se torna el panorama en todo un universo inexplorado. Entender las bases moleculares que regulan e inducen los distintos fenotipos M2 y que determinan el momento en que estas células deben aparecer y ejercer su papel es apenas un primordio que abre nuevas posibilidades en la comprensión de la patogénesis de diferentes enfermedades y despliega una pléyade de posibilidades en la modulación de las alteraciones en la regulación de la respuesta inflamatoria.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

CORRESPONDENCE TO:

Dr. Mauricio Rojas López
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética
Facultad de Medicina, Sede de Investigación Universitaria
Universidad de Antioquia, Cra 53 No. 61-30
Medellín, Colombia
Tel: +57 4 210 6461, Fax: +57 4 210 64 51
E-mail: mrojasl@une.net.co

REFERENCES

1. Turpin JA, López-Berestein G. Differentiation, maturation, and activation of monocytes and macrophages: functional activity is controlled by a continuum of maturation. 1993;71-99.
2. Rutherford MS, Witsell A, Schook LB. Mechanisms generating functionally heterogeneous macrophages: Chaos revisited. *J Leukoc Biol* 1993; 53:602-618.
3. Mackaness GB. Cellular resistance to infection. *J Exp Med* 1962; 116:381-406.
4. Mackaness GB. The immunological basis of acquired cellular resistance. *J Exp Med* 1964; 120:105-120.
5. North RJ. The concept of the activated macrophage. *J Immunol* 1978; 121:806-809.
6. Metchnikoff E. *Lectures in the Comparative Pathology of Inflammation*. London: 1893.
7. Kondo E, Kanai K. Phospholipid distribution pattern in uninduced (resident) and casein-induced mouse peritoneal cells. *Jpn J Med Sci Biol* 1977; 30:269-273.
8. Cohn ZA. Activation of mononuclear phagocytes: fact, fancy, and future. *J Immunol* 1978; 121:813-816.
9. Karnovsky ML, Lazdins JK. Biochemical criteria for activated macrophages. *J Immunol* 1978; 121:809-813.
10. Fink MA. *The Macrophage in Neoplasia*. New York: Academic Press, 1977.
11. Gordon S. Macrophage neutral proteinases and chronic inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 1976; 278:176-189.
12. Hard GC. Some biochemical aspects of the immune macrophage. *Br J Exp Pathol* 1970; 51:97-105.
13. Saito K, Suter E. Lysosomal acid hydrolases in mice infected with BCG. *J Exp Med* 1965; 121:727-738.
14. Karnovsky ML, Lazdins J, Simons SR. Metabolism of activated mononuclear phagocytes of rest and during phagocytosis. In: Van Furth R ed. *Oxford, Edinburgh and Melbourne: Blackwell Scientific Publications*, 1975:423.
15. Pace JL, Russell SW, Torres BA, Johnson HM, Gray PW. Recombinant mouse gamma interferon induces the priming step in macrophage activation for tumor cell killing. *J Immunol* 1983; 130:2011-2013.
16. Svedersky LP, Benton CV, Berger WH, Rinderknecht E, Harkins RN, Palladino MA. Biological and antigenic similarities of murine interferon-gamma and macrophage-activating factor. *J Exp Med* 1984; 159:812-827.
17. Nacy CA, James SL, Benjamin WR, Farrar JJ, Hockmeyer WT, Meltzer MS. Activation of macrophages for microbicidal and tumoricidal effector functions by soluble factors from EL-4, a continuous T cell line. *Infect Immun* 1983; 40:820-824.
18. Nathan CF, Murray HW, Wiebe ME, Rubin BY. Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med* 1983; 158:670-689.
19. Basham TY, Merigan TC. Recombinant interferon-gamma increases HLA-DR synthesis and expression. *J Immunol* 1983; 130:1492-1494.
20. King DP, Jones PP. Induction of Ia and H-2 antigens on a macrophage cell line by immune interferon. *J Immunol* 1983; 131:315-318.
21. Steeg PS, Moore RN, Johnson HM, Oppenheim JJ. Regulation of murine macrophage Ia antigen expression by a lymphokine with immune interferon activity. *J Exp Med* 1982; 156:1780-1793.
22. Schreiber RD. Identification of gamma-interferon as a murine macrophage-activating factor for tumor cytotoxicity. *Contemp Top Immunobiol* 1984; 13:171-198.
23. Stout RD, Suttles J. Functional plasticity of macrophages: reversible adaptation to changing microenvironments. *J Leukoc Biol* 2004; 76:509-513.
24. Peck R. Gamma interferon induces monocyte killing of *Listeria monocytogenes* by an oxygen-dependent pathway; alpha- or beta-interferons by oxygen-independent pathways. *J Leukoc Biol* 1989; 46:434-440.
25. Hori K, Ehrke MJ, Mace K, Mihich E. Effect of recombinant tumor necrosis factor on tumoricidal activation of murine macrophages: synergism between tumor necrosis factor and gamma-interferon. *Cancer Res* 1987; 47:5868-5874.
26. Mace KF, Ehrke MJ, Hori K, Maccubbin DL, Mihich E. Role of tumor necrosis factor in macrophage activation and tumoricidal activity. *Cancer Res* 1988; 48:5427-5432.
27. Adams DO, Hamilton TA. Molecular transductional mechanisms by which IFN gamma and other signals regulate macrophage development. *Immunol Rev* 1987; 97:5-27.
28. Belosevic M, Davis CE, Meltzer MS, Nacy CA. Regulation of activated macrophage antimicrobial activities. Identification of lymphokines that cooperate with IFN-gamma for induction of resistance to infection. *J Immunol* 1988; 141:890-896.
29. Shaw JM, Futch WS, Jr., Schook LB. Induction of macrophage antitumor activity by acetylated low density lipoprotein containing lipophilic muramyl tripeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85:6112-6116.
30. Stout RD. Macrophage activation by T cells: cognate and non-cognate signals. *Curr Opin Immunol* 1993; 5:398-403.
31. Stout RD, Suttles J. T cell signaling of macrophage function in inflammatory disease. *Front Biosci* 1997; 2:d197-d206.
32. Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C. Macrophage deactivation by interleukin 10. *J Exp Med* 1991; 174:1549-1555.
33. Bogdan C, Paik J, Vodovotz Y, Nathan C. Contrasting mechanisms for suppression of macrophage cytokine release by transforming growth factor-beta and interleukin-10. *J Biol Chem* 1992; 267:23301-23308.
34. Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, Whitty GA, Piccoli DS, Hamilton JA. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: Suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:3803-3807.
35. de Waal MR, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, and de Vries JE. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 174:1209-1220.
36. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991; 147:3815-3822.
37. Ding A, Nathan CF, Graycar J, Derynck R, Stuehr DJ, Srinivasan S. Macrophage deactivating factor and transforming growth factors-beta 1 -beta 2 and -beta 3 inhibit induction of macrophage nitrogen oxide synthesis by IFN-gamma. *J Immunol* 1990; 145:940-944.
38. Nelson BJ, Ralph P, Green SJ, Nacy CA. Differential susceptibility of activated macrophage cytotoxic effector reactions to the suppressive effects of transforming growth factor-beta 1. *J Immunol* 1991; 146:1849-1857.
39. Tsunawaki S, Sporn M, Ding A, Nathan C. Deactivation of macrophages by transforming growth factor-beta. *Nature* 1988; 334:260-262.
40. Becker S, Daniel EG. Antagonistic and additive effects of IL-4 and interferon-gamma on human monocytes and macrophages: effects on Fc receptors, HLA-D antigens, and superoxide production. *Cell Immunol* 1990; 129:351-362.

41. Gerrard TL, Dyer DR, Mostowski HS. IL-4 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor selectively increase HLA-DR and HLA-DP antigens but not HLA-DQ antigens on human monocytes. *J Immunol* 1990; 144:4670-4674.
42. Cao H, Wolff RG, Meltzer MS, Crawford RM. Differential regulation of class II MHC determinants on macrophages by IFN-gamma and IL-4. *J Immunol* 1989; 143:3524-3531.
43. Crawford RM, Finbloom DS, Ohara J, Paul WE, Meltzer MS. B cell stimulatory factor-1 (interleukin 4) activates macrophages for increased tumoricidal activity and expression of Ia antigens. *J Immunol* 1987; 139:135-141.
44. Zlotnik A, Fischer M, Roehm N, Zipori D. Evidence for effects of interleukin 4 (B cell stimulatory factor 1) on macrophages: enhancement of antigen presenting ability of bone marrow-derived macrophages. *J Immunol* 1987; 138:4275-4279.
45. Stein M, Keshav S, Harris N, Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med* 1992; 176:287-292.
46. D'Andrea A, Ma X, Aste-Amezaga M, Paganin C, Trinchieri G. Stimulatory and inhibitory effects of interleukin (IL)-4 and IL-13 on the production of cytokines by human peripheral blood mononuclear cells: priming for IL-12 and tumor necrosis factor alpha production. *J Exp Med* 1995; 181:537-546.
47. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:23-35.
48. Cella M, Salio M, Sakakibara Y, Langen H, Julkunen I, Lanzavecchia A. Maturation, activation, and protection of dendritic cells induced by double-stranded RNA. *J Exp Med* 1999; 189:821-829.
49. Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:709-760.
50. Chen W, Syldath U, Bellmann K, Burkart V, Kolb H. Human 60-kDa heat-shock protein: a danger signal to the innate immune system. *J Immunol* 1999; 162:3212-3219.
51. Kol A, Lichtman AH, Finberg RW, Libby P, Kurt-Jones EA. Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. *J Immunol* 2000; 164:13-17.
52. Svensson PA, Asea A, Englund MC, Bausero MA, Jernas M, Wiklund O et al. Major role of HSP70 as a paracrine inducer of cytokine production in human oxidized LDL treated macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 185:32-38.
53. Goerdts S and Orfanos CE. Other functions, other genes: alternative activation of antigen-presenting cells. *Immunity* 1999; 10:137-142.
54. Katakura T, Miyazaki M, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F. CCL17 and IL-10 as effectors that enable alternatively activated macrophages to inhibit the generation of classically activated macrophages. *J Immunol* 2004; 172:1407-1413.
55. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23:549-555.
56. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 2004; 25:677-686.
57. Mosser DM. The many faces of macrophage activation. *J Leukoc Biol* 2003; 73:209-212.
58. Bogdan C, Nathan C. Modulation of macrophage function by transforming growth factor beta, interleukin-4, and interleukin-10. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 685:713-739.
59. Lang R, Patel D, Morris JJ, Rutschman RL, Murray PJ. Shaping gene expression in activated and resting primary macrophages by IL-10. *J Immunol* 2002; 169:2253-2263.
60. Williams L, Jarai G, Smith A, Finan P. IL-10 expression profiling in human monocytes. *J Leukoc Biol* 2002; 72:800-809.
61. Kodolija V, Muller C, Politz O, Hakij N, Orfanos CE, Goerdts S. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern. *J Immunol* 1998; 160:1411-1418.
62. te Velde AA, Huijbens RJ, de Vries JE, Figdor CG. IL-4 decreases Fc gamma R membrane expression and Fc gamma R-mediated cytotoxic activity of human monocytes. *J Immunol* 1990; 144:3046-3051.
63. Conrad DJ, Kuhn H, Mulkins M, Highland E, Sigal E. Specific inflammatory cytokines regulate the expression of human monocyte 15-lipoxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:217-221.
64. Hart PH, Whitty GA, Burgess DR, Croatto M, Hamilton JA. Augmentation of glucocorticoid action on human monocytes by interleukin-4. *Lymphokine Res* 1990; 9:147-153.
65. Cheung DL, Hart PH, Vitti GF, Whitty GA, Hamilton JA. Contrasting effects of interferon-gamma and interleukin-4 on the interleukin-6 activity of stimulated human monocytes. *Immunology* 1990; 71:70-75.
66. Gratchev A, Kzhyshkowska J, Utikal J, Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counterregulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand J Immunol* 2005; 61:10-17.
67. Gratchev A, Kzhyshkowska J, Kothe K, Muller-Moliniet I, Kannokadan S, Utikal J et al. Mphi1 and Mphi2 can be re-polarized by Th2 or Th1 cytokines, respectively, and respond to exogenous danger signals. *Immunobiology* 2006; 211:473-486.
68. Van Ginderachter JA, Movahedi K, Hassanzadeh GG, Meerschaut S, Beschin A, Raes G et al. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: picking the best of both worlds for tumor promotion. *Immunobiology* 2006; 211:487-501.
69. Noel W, Raes G, Hassanzadeh GG, De Baetselier P, and Beschin A. Alternatively activated macrophages during parasite infections. *Trends Parasitol* 2004; 20:126-133.
70. Gratchev A, Guillot P, Hakij N, Politz O, Orfanos CE, Schledzewski K et al. Alternatively activated macrophages differentially express fibronectin and its splice variants and the extracellular matrix protein betaIG-H3. *Scand J Immunol* 2001; 53:386-392.
71. Mueller TD, Zhang JL, Sebald W, and Duschl A. Structure, binding, and antagonists in the IL-4/IL-13 receptor system. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1592:237-250.
72. Hershey GK. IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:677-690.
73. Hebenstreit D, Wirsberger G, Horejs-Hoeck J, Duschl A. Signaling mechanisms, interaction partners, and target genes of STAT6. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17:173-188.
74. Hamilton TA, Ohmori Y, Tebo J. Regulation of chemokine expression by antiinflammatory cytokines. *Immunol Res* 2002; 25:229-245.
75. Hebenstreit D, Wirsberger G, Horejs-Hoeck J, and Duschl A. Signaling mechanisms, interaction partners, and target genes of STAT6. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17:173-188.
76. Hart PH, Bonder CS, Balogh J, Dickensheets HL, Donnelly RP, Finlay-Jones JJ. Differential responses of human monocytes and macrophages to IL-4 and IL-13. *J Leukoc Biol* 1999; 66:575-578.
77. Scotton CJ, Martinez FO, Smelt MJ, Sironi M, Locati M, Mantovani A et al. Transcriptional profiling reveals complex regulation of the monocyte IL-1 beta system by IL-13. *J Immunol* 2005; 174:834-845.

78. Cosentino G, Soprana E, Thienes CP, Siccardi AG, Viale G, Vercelli D. IL-13 down-regulates CD14 expression and TNF-alpha secretion in normal human monocytes. *J Immunol* 1995; 155:3145-3151.
79. de Waal MR, Figdor CG, Huijbens R, Mohan-Peterson S, Bennett B, Culpepper J et al. Effects of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes. Comparison with IL-4 and modulation by IFN-gamma or IL-10. *J Immunol* 1993; 151:6370-6381.
80. te Velde AA, Rousset F, Peronne C, de Vries JE, Figdor CG. IFN-alpha and IFN-gamma have different regulatory effects on IL-4-induced membrane expression of Fc epsilon RIIb and release of soluble Fc epsilon RIIb by human monocytes. *J Immunol* 1990; 144:3052-3059.
81. Cao H, Wolff RG, Meltzer MS, Crawford RM. Differential regulation of class II MHC determinants on macrophages by IFN-gamma and IL-4. *J Immunol* 1989; 143:3524-3531.
82. Montaner LJ, da Silva RP, Sun J, Sutterwala S, Hollinshead M, Vaux D et al. Type 1 and type 2 cytokine regulation of macrophage endocytosis: differential activation by IL-4/IL-13 as opposed to IFN-gamma or IL-10. *J Immunol* 1999; 162:4606-4613.
83. Willment JA, Lin HH, Reid DM, Taylor PR, Williams DL, Wong SY et al. Dectin-1 expression and function are enhanced on alternatively activated and GM-CSF-treated macrophages and are negatively regulated by IL-10, dexamethasone, and lipopolysaccharide. *J Immunol* 2003; 171:4569-4573.
84. Buechler C, Ritter M, Orso E, Langmann T, Klucken J, Schmitz G. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli. *J Leukoc Biol* 2000; 67:97-103.
85. Raes G, Brys L, Dahal BK, Brandt J, Grooten J, Brombacher F et al. Macrophage galactose-type C-type lectins as novel markers for alternatively activated macrophages elicited by parasitic infections and allergic airway inflammation. *J Leukoc Biol* 2005; 77:321-327.
86. Ichii S, Imai Y, Irimura T. Initial steps in lymph node metastasis formation in an experimental system: possible involvement of recognition by macrophage C-type lectins. *Cancer Immunol Immunother* 2000; 49:1-9.
87. Kawakami K, Yamamoto K, Toyoshima S, Osawa T, Irimura T. Dual function of macrophage galactose/N-acetylgalactosamine-specific lectins: glycoprotein uptake and tumoricidal cellular recognition. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85:744-749.
88. Okano M, Satoskar AR, Nishizaki K, Harn DA, Jr. Lacto-N-fucopentaose III found on *Schistosoma mansoni* egg antigens functions as adjuvant for proteins by inducing Th2-type response. *J Immunol* 2001; 167:442-450.
89. Colotta F, Re F, Muzio M, Bertini R, Polentarutti N, Sironi M et al. Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science* 1993; 261:472-475.
90. Colotta F, Re F, Muzio M, Polentarutti N, Minty A, Caput D et al. Interleukin-13 induces expression and release of interleukin-1 decoy receptor in human polymorphonuclear cells. *J Biol Chem* 1994; 269:12403-12406.
91. Colotta F, Saccani S, Giri JG, Dower SK, Sims JE, Introna M et al. Regulated expression and release of the IL-1 decoy receptor in human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1996; 156:2534-2541.
92. Dickensheets HL, Donnelly RP. IFN-gamma and IL-10 inhibit induction of IL-1 receptor type I and type II gene expression by IL-4 and IL-13 in human monocytes. *J Immunol* 1997; 159:6226-6233.
93. Mantovani A, Locati M, Vecchi A, Sozzani S, Allavena P. Decoy receptors: a strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines. *Trends Immunol* 2001; 22:328-336.
94. Vannier E, Miller LC, Dinarello CA. Coordinated antiinflammatory effects of interleukin 4: interleukin 4 suppresses interleukin 1 production but up-regulates gene expression and synthesis of interleukin 1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:4076-4080.
95. Vannier E, de Waal MR, Salazar-Montes A, de Vries JE, Dinarello CA. Interleukin-13 (IL-13) induces IL-1 receptor antagonist gene expression and protein synthesis in peripheral blood mononuclear cells: inhibition by an IL-4 mutant protein. *Blood* 1996; 87:3307-3315.
96. Chizzolini C, Rezzonico R, De Luca C, Burger D, Dayer JM. Th2 cell membrane factors in association with IL-4 enhance matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) while decreasing MMP-9 production by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-differentiated human monocytes. *J Immunol* 2000; 164:5952-5960.
97. Standiford TJ, Strieter RM, Chensue SW, Westwick J, Kasahara K, Kunkel SL. IL-4 inhibits the expression of IL-8 from stimulated human monocytes. *J Immunol* 1990; 145:1435-1439.
98. Major J, Fletcher JE, Hamilton TA. IL-4 pretreatment selectively enhances cytokine and chemokine production in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages. *J Immunol* 2002; 168:2456-2463.
99. Kzhyshkowska J, Mamidi S, Gratchev A, Kremmer E, Schmutzmaier C, Krusell L et al. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway. *Blood* 2006; 107:3221-3228.
100. Raes G, De Baetselier P, Noel W, Beschin A, Brombacher F, Hassanzadeh GG. Differential expression of FIZZ1 and Ym1 in alternatively versus classically activated macrophages. *J Leukoc Biol* 2002; 71:597-602.
101. Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerdt S. Stabilin-1, a homeostatic scavenger receptor with multiple functions. *J Cell Mol Med* 2006; 10:635-649.
102. Webb DC, McKenzie AN, Foster PS. Expression of the Ym2 lectin-binding protein is dependent on interleukin (IL)-4 and IL-13 signal transduction: identification of a novel allergy-associated protein. *J Biol Chem* 2001; 276:41969-41976.
103. Welch JS, Escoubet-Lozach L, Sykes DB, Liddiard K, Greaves DR, Glass CK. TH2 cytokines and allergic challenge induce Ym1 expression in macrophages by a STAT6-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2002; 277:42821-42829.
104. Loke P, Nair MG, Parkinson J, Guiliano D, Blaxter M, Allen JE. IL-4 dependent alternatively-activated macrophages have a distinctive in vivo gene expression phenotype. *BMC Immunol* 2002; 3:7.
105. Nair MG, Cochrane DW, Allen JE. Macrophages in chronic type 2 inflammation have a novel phenotype characterized by the abundant expression of Ym1 and Fizz1 that can be partly replicated in vitro. *Immunol Lett* 2003; 85:173-180.
106. Noel W, Hassanzadeh G, Raes G, Namangala B, Daems I, Brys L et al. Infection stage-dependent modulation of macrophage activation in *Trypanosoma congolense*-resistant and -susceptible mice. *Infect Immun* 2002; 70:6180-6187.
107. Chang NC, Hung SI, Hwa KY, Kato I, Chen JE, Liu CH et al. A macrophage protein, Ym1, transiently expressed during inflammation is a novel mammalian lectin. *J Biol Chem* 2001; 276:17497-17506.
108. Sun YJ, Chang NC, Hung SI, Chang AC, Chou CC, Hsiao CD. The crystal structure of a novel mammalian lectin, Ym1, suggests a saccharide binding site. *J Biol Chem* 2001; 276:17507-17514.
109. Kzhyshkowska J, Gratchev A, Martens JH, Pervushina O, Mamidi S, Johansson S et al. Stabilin-1 localizes to endosomes and the trans-Golgi network in human macrophages and interacts with GGA adaptors. *J Leukoc Biol* 2004; 76:1151-1161.

110. Andrew DP, Chang MS, McNinch J, Wathen ST, Rihaneck M, Tseng J et al. STCP-1 (MDC) CC chemokine acts specifically on chronically activated Th2 lymphocytes and is produced by monocytes on stimulation with Th2 cytokines IL-4 and IL-13. *J Immunol* 1998; 161:5027-5038.
111. Bonecchi R, Sozzani S, Stine JT, Luini W, D'Amico G, Allavena P et al. Divergent effects of interleukin-4 and interferon-gamma on macrophage-derived chemokine production: an amplification circuit of polarized T helper 2 responses. *Blood* 1998; 92:2668-2671.
112. Imai T, Nagira M, Takagi S, Kakizaki M, Nishimura M, Wang J et al. Selective recruitment of CCR4-bearing Th2 cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokines thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine. *Int Immunol* 1999; 11:81-88.
113. Bonecchi R, Facchetti F, Dusi S, Luini W, Lissandrini D, Simmelink M et al. Induction of functional IL-8 receptors by IL-4 and IL-13 in human monocytes. *J Immunol* 2000; 164:3862-3869.
114. Watanabe K, Jose PJ, Rankin SM. Eotaxin-2 generation is differentially regulated by lipopolysaccharide and IL-4 in monocytes and macrophages. *J Immunol* 2002; 168:1911-1918.
115. Gu L, Tseng S, Horner RM, Tam C, Loda M, Rollins BJ. Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature* 2000; 404:407-411.
116. Abramson SL and Gallin JI. IL-4 inhibits superoxide production by human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1990; 144:625-630.
117. Lehn M, Weiser WY, Engelhorn S, Gillis S, Remold HG. IL-4 inhibits H₂O₂ production and antileishmanial capacity of human cultured monocytes mediated by IFN-gamma. *J Immunol* 1989; 143:3020-3024.
118. Hart PH, Burgess DR, Vitti GF, Hamilton JA. Interleukin-4 stimulates human monocytes to produce tissue-type plasminogen activator. *Blood* 1989; 74:1222-1225.
119. Szabo G, Miller-Graziano CL. Induction and regulation of monocyte procoagulant activity. *Transplantation* 1990; 50:301-309.
120. Huang JT, Welch JS, Ricote M, Binder CJ, Willson TM, Kelly C et al. Interleukin-4-dependent production of PPAR-gamma ligands in macrophages by 12/15-lipoxygenase. *Nature* 1999; 400:378-382.
121. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998; 391:82-86.
122. Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998; 391:79-82.
123. Brys L, Beschin A, Raes G, Ghassabeh GH, Noel W, Brandt J et al. Reactive oxygen species and 12/15-lipoxygenase contribute to the antiproliferative capacity of alternatively activated myeloid cells elicited during helminth infection. *J Immunol* 2005; 174:6095-6104.
124. Yang XY, Wang LH, Mihalik K, Xiao W, Chen T, Li P et al. Interleukin (IL)-4 indirectly suppresses IL-2 production by human T lymphocytes via peroxisome proliferator-activated receptor gamma activated by macrophage-derived 12/15-lipoxygenase ligands. *J Biol Chem* 2002; 277:3973-3978.
125. Ricote M, Welch JS, Glass CK. Regulation of macrophage gene expression by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Horm Res* 2000; 54:275-280.
126. Liu T, Jin H, Ullenbruch M, Hu B, Hashimoto N, Moore B et al. Regulation of found in inflammatory zone 1 expression in bleomycin-induced lung fibrosis: role of IL-4/IL-13 and mediation via STAT-6. *J Immunol* 2004; 173:3425-3431.
127. Mentink-Kane MM, Cheever AW, Thompson RW, Hari DM, Kabatereine NB, Vennervald BJ et al. IL-13 receptor alpha 2 downmodulates granulomatous inflammation and prolongs host survival in schistosomiasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:586-590.
128. Bronte V, Serafini P, Mazzoni A, Segal DM, Zanovello P. L-arginine metabolism in myeloid cells controls T-lymphocyte functions. *Trends Immunol* 2003; 24:302-306.
129. Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:641-654.
130. Corraliza IM, Soler G, Eichmann K, Modolell M. Arginase induction by suppressors of nitric oxide synthesis (IL-4, IL-10 and PGE2) in murine bone-marrow-derived macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206:667-673.
131. Munder M, Eichmann K, Moran JM, Centeno F, Soler G, Modolell M. Th1/Th2-regulated expression of arginase isoforms in murine macrophages and dendritic cells. *J Immunol* 1999; 163:3771-3777.
132. Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1996; 114:107-132.
133. Southan GJ, Szabo C, Thiemermann C. Inhibition of the induction of nitric oxide synthase by spermine is modulated by aldehyde dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 203:1638-1644.
134. Zhang M, Caragine T, Wang H, Cohen PS, Botchkina G, Soda K et al. Spermine inhibits proinflammatory cytokine synthesis in human mononuclear cells: a counterregulatory mechanism that restrains the immune response. *J Exp Med* 1997; 185:1759-1768.
135. Munder M, Eichmann K, Modolell M. Alternative metabolic states in murine macrophages reflected by the nitric oxide synthase/arginase balance: competitive regulation by CD4⁺ T cells correlates with Th1/Th2 phenotype. *J Immunol* 1998; 160:5347-5354.
136. Raes G, Van den BR, De Baetselier P, Ghassabeh GH, Scotton C, Locati M et al. Arginase-1 and Ym1 are markers for murine, but not human, alternatively activated myeloid cells. *J Immunol* 2005; 174:6561-6562.
137. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol* 2000; 164:6166-6173.
138. Corcoran ML, Stetler-Stevenson WG, Brown PD, Wahl LM. Interleukin 4 inhibition of prostaglandin E2 synthesis blocks interstitial collagenase and 92-kDa type IV collagenase/gelatinase production by human monocytes. *J Biol Chem* 1992; 267:515-519.
139. Torocsik D, Bardos H, Nagy L, Adany R. Identification of factor XIII-A as a marker of alternative macrophage activation. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:2132-2139.
140. Fichtner-Feigl S, Strober W, Kawakami K, Puri RK, Kitani A. IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-beta1 production and fibrosis. *Nat Med* 2006; 12:99-106.
141. Kaviratne M, Hesse M, Leusink M, Cheever AW, Davies SJ, McKerrow JH et al. IL-13 activates a mechanism of tissue fibrosis that is completely TGF-beta independent. *J Immunol* 2004; 173:4020-4029.
142. Lee CG, Homer RJ, Zhu Z, Lanone S, Wang X, Koteliansky V et al. Interleukin-13 induces tissue fibrosis by selectively stimulating and activating transforming growth factor beta(1). *J Exp Med* 2001; 194:809-821.
143. Song E, Ouyang N, Horbelt M, Antus B, Wang M, Exton MS. Influence of alternatively and classically activated macrophages on fibrogenic activities of human fibroblasts. *Cell Immunol* 2000; 204:19-28.
144. Wang MH, Cox GW, Yoshimura T, Sheffler LA, Skeel A, Leonard EJ. Macrophage-stimulating protein inhibits induction of nitric

- oxide production by endotoxin- or cytokine-stimulated mouse macrophages. *J Biol Chem* 1994; 269:14027-14031.
145. Morrison AC, Correll PH. Activation of the stem cell-derived tyrosine kinase/RON receptor tyrosine kinase by macrophage-stimulating protein results in the induction of arginase activity in murine peritoneal macrophages. *J Immunol* 2002; 168:853-860.
146. Pesce J, Kaviratne M, Ramalingam TR, Thompson RW, Urban JF Jr., Cheever AW et al. The IL-21 receptor augments Th2 effector function and alternative macrophage activation. *J Clin Invest* 2006; 116:2044-2055.
147. Anderson CF, Mosser DM. Cutting edge: biasing immune responses by directing antigen to macrophage Fc gamma receptors. *J Immunol* 2002; 168:3697-3701.
148. Anderson CF, Mosser DM. A novel phenotype for an activated macrophage: the type 2 activated macrophage. *J Leukoc Biol* 2002; 72:101-106.
149. Gerber JS, Mosser DM. Reversing lipopolysaccharide toxicity by ligating the macrophage Fc gamma receptors. *J Immunol* 2001; 166:6861-6868.
150. Gerber JS, Mosser DM. Stimulatory and inhibitory signals originating from the macrophage Fc gamma receptors. *Microbes Infect* 2001; 3:131-139.
151. Sutterwala FS, Noel GJ, Clynes R, Mosser DM. Selective suppression of interleukin-12 induction after macrophage receptor ligation. *J Exp Med* 1997; 185:1977-1985.
152. Sutterwala FS, Noel GJ, Salgame P, Mosser DM. Reversal of proinflammatory responses by ligating the macrophage Fc gamma receptor type I. *J Exp Med* 1998; 188:217-222.
153. Ramalingam TR, Reiman RM, Wynn TA. Exploiting worm and allergy models to understand Th2 cytokine biology. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5:392-398.
154. Edwards JP, Zhang X, Frauwirth KA, Mosser DM. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *J Leukoc Biol* 2006; 80:1298-1307.
155. Ashcroft GS. Bidirectional regulation of macrophage function by TGF-beta. *Microbes Infect* 1999; 1:1275-1282.
156. McCartney-Francis N, Mizel D, Wong H, Wahl L, Wahl S. TGF-beta regulates production of growth factors and TGF-beta by human peripheral blood monocytes. *Growth Factors* 1990; 4:27-35.
157. Wahl SM, Hunt DA, Wakefield LM, McCartney-Francis N, Wahl LM, Roberts AB et al. Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84:5788-5792.
158. Wahl SM, McCartney-Francis N, Allen JB, Dougherty EB, Dougherty SF. Macrophage production of TGF-beta and regulation by TGF-beta. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 593:188-196.
159. Welch GR, Wong HL, Wahl SM. Selective induction of Fc gamma RIII on human monocytes by transforming growth factor-beta. *J Immunol* 1990; 144:3444-3448.
160. Turner M, Chantry D, Feldmann M. Transforming growth factor beta induces the production of interleukin 6 by human peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine* 1990; 2:211-216.
161. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998; 101:890-898.
162. Warwick-Davies J, Lowrie DB, Cole PJ. Selective deactivation of human monocyte functions by TGF-beta. *J Immunol* 1995; 155:3186-3193.
163. Wahl SM. Transforming growth factor beta: the good, the bad, and the ugly. *J Exp Med* 1994; 180:1587-1590.
164. Yano S, Yanagawa H, Nishioka Y, Mukaida N, Matsushima K, Sone S. T helper 2 cytokines differently regulate monocyte chemoattractant protein-1 production by human peripheral blood monocytes and alveolar macrophages. *J Immunol* 1996; 157:2660-2665.
165. Williams LM, Ricchetti G, Sarma U, Smallie T, Foxwell BM. Interleukin-10 suppression of myeloid cell activation—a continuing puzzle. *Immunology* 2004; 113:281-292.
166. Kodolija V, Muller C, Politz O, Hakij N, Orfanos CE, Goerdt S. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern. *J Immunol* 1998; 160:1411-1418.
167. Hedrick JA, Helms A, Vicari A, Zlotnik A. Characterization of a novel CC chemokine, HCC-4, whose expression is increased by interleukin-10. *Blood* 1998; 91:4242-4247.
168. Moser B and Loetscher P. Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nat Immunol* 2001; 2:123-128.
169. Penton-Rol G, Cota M, Polentarutti N, Luini W, Bernasconi S, Borsatti A et al. Up-regulation of CCR2 chemokine receptor expression and increased susceptibility to the multitropic HIV strain 89.6 in monocytes exposed to glucocorticoid hormones. *J Immunol* 1999; 163:3524-3529.
170. Sozzani S, Ghezzi S, Iannolo G, Luini W, Borsatti A, Polentarutti N et al. Interleukin 10 increases CCR5 expression and HIV infection in human monocytes. *J Exp Med* 1998; 187:439-444.
171. Moore KW, de Waal MR, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:683-765.
172. Hu X, Li WP, Meng C, Ivashkiv LB. Inhibition of IFN-gamma signaling by glucocorticoids. *J Immunol* 2003; 170:4833-4839.
173. Berkman N, John M, Roesems G, Jose PJ, Barnes PJ, Chung KF. Inhibition of macrophage inflammatory protein-1 alpha expression by IL-10. Differential sensitivities in human blood monocytes and alveolar macrophages. *J Immunol* 1995; 155:4412-4418.
174. Sherry B, Espinoza M, Manogue KR, Cerami A. Induction of the chemokine beta peptides, MIP-1 alpha and MIP-1 beta, by lipopolysaccharide is differentially regulated by immunomodulatory cytokines gamma-IFN, IL-10, IL-4, and TGF-beta. *Mol Med* 1998; 4:648-657.
175. Kitamura M. Identification of an inhibitor targeting macrophage production of monocyte chemoattractant protein-1 as TGF-beta 1. *J Immunol* 1997; 159:1404-1411.
176. Wiseman DM, Polverini PJ, Kamp DW, Leibovich SJ. Transforming growth factor-beta (TGF beta) is chemotactic for human monocytes and induces their expression of angiogenic activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157:793-800.
177. Berrebi D, Bruscoli S, Cohen N, Foussat A, Migliorati G, Bouchet-Delbos L et al. Synthesis of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) by macrophages: an anti-inflammatory and immunosuppressive mechanism shared by glucocorticoids and IL-10. *Blood* 2003; 101:729-738.
178. Buelens C, Willems F, Delvaux A, Pierard G, Delville JP, Velu T et al. Interleukin-10 differentially regulates B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) expression on human peripheral blood dendritic cells. *Eur J Immunol* 1995; 25:2668-2672.
179. Chang CH, Furue M, Tamaki K. B7-1 expression of Langerhans cells is up-regulated by proinflammatory cytokines, and is down-regulated by interferon-gamma or by interleukin-10. *Eur J Immunol* 1995; 25:394-398.

180. te Velde AA, de Waal MR, Huijbens RJ, de Vries JE, Figdor CG. IL-10 stimulates monocyte Fc gamma R surface expression and cytotoxic activity. Distinct regulation of antibody-dependent cellular cytotoxicity by IFN-gamma, IL-4, and IL-10. *J Immunol* 1992; 149:4048-4052.
181. Kruger M, Coorevits L, De Wit TP, Casteels-Van Daele M, Van De Winkel JG, Ceuppens JL. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor antagonizes the transforming growth factor-beta-induced expression of Fc gamma RIII (CD16) on human monocytes. *Immunology* 1996; 87:162-167.
182. Politz O, Gratchev A, McCourt PA, Schledzewski K, Guillot P, Johansson S et al. Stabilin-1 and -2 constitute a novel family of fasciclin-like hyaluronan receptor homologues. *Biochem J* 2002; 362:155-164.
183. Schledzewski K, Falkowski M, Moldenhauer G, Metharom P, Kzhyskowska J, Ganss R et al. Lymphatic endothelium-specific hyaluronan receptor LYVE-1 is expressed by stabilin-1+, F4/80+, CD11b+ macrophages in malignant tumours and wound healing tissue in vivo and in bone marrow cultures in vitro: implications for the assessment of lymphangiogenesis. *J Pathol* 2006; 209:67-77.
184. Bauvois B, Rouillard D, Sanceau J, Wietzerbin J. IFN-gamma and transforming growth factor-beta 1 differently regulate fibronectin and laminin receptors of human differentiating monocytic cells. *J Immunol* 1992; 148:3912-3919.
185. Wahl SM, Allen JB, Weeks BS, Wong HL, Klotman PE. Transforming growth factor beta enhances integrin expression and type IV collagenase secretion in human monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:4577-45781.
186. Leveque C, Grafté S, Paysant J, Soutif A, Lenormand B, Vasse M et al. Regulation of interleukin 3 receptor alpha chain (IL-3R alpha) on human monocytes by interleukin (IL)-4, IL-10, IL-13, and transforming growth factor beta (TGF-beta). *Cytokine* 1998; 10:487-494.
187. Martinez-Pomares L, Reid DM, Brown GD, Taylor PR, Stillion RJ, Linehan SA et al. Analysis of mannose receptor regulation by IL-4, IL-10, and proteolytic processing using novel monoclonal antibodies. *J Leukoc Biol* 2003; 73:604-613.
188. Hogger P, Dreier J, Droste A, Buck F, Sorg C. Identification of the integral membrane protein RM3/1 on human monocytes as a glucocorticoid-inducible member of the scavenger receptor cysteine-rich family (CD163). *J Immunol* 1998; 161:1883-1890.
189. Schaer DJ, Boretti FS, Schoedon G, Schaffner A. Induction of the CD163-dependent haemoglobin uptake by macrophages as a novel anti-inflammatory action of glucocorticoids. *Br J Haematol* 2002; 119:239-243.
190. Philippidis P, Mason JC, Evans BJ, Nadra I, Taylor KM, Haskard DO et al. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circ Res* 2004; 94:119-126.
191. Grutz G. New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *J Leukoc Biol* 2005; 77:3-15.
192. Pioli PA, Goonan KE, Wardwell K, Guyre PM. TGF-beta regulation of human macrophage scavenger receptor CD163 is Smad3-dependent. *J Leukoc Biol* 2004; 76:500-508.
193. Brown EA, Dare HA, Marsh CB, Wewers MD. The combination of endotoxin and dexamethasone induces type II interleukin 1 receptor (IL-1r II) in monocytes: a comparison to interleukin 1 beta (IL-1 beta) and interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra). *Cytokine* 1996; 8:828-836.
194. Colotta F, Saccani S, Giri JG, Dower SK, Sims JE, Introna M et al. Regulated expression and release of the IL-1 decoy receptor in human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1996; 156:2534-2541.
195. Joyce DA, Steer JH, Kloda A. Dexamethasone antagonizes IL-4 and IL-10-induced release of IL-1RA by monocytes but augments IL-4-, IL-10-, and TGF-beta-induced suppression of TNF-alpha release. *J Interferon Cytokine Res* 1996; 16:511-517.
196. Yu PW, Schuler LA, Kehrli M, Mattocks L, Nonnecke BJ, Czuprynski CJ. Effects of dexamethasone treatment on IL-1 receptor mRNA levels in vivo. *J Leukoc Biol* 1997; 62:401-404.
197. Turner M, Chantry D, Katsikis P, Berger A, Brennan FM, Feldmann M. Induction of the interleukin 1 receptor antagonist protein by transforming growth factor-beta. *Eur J Immunol* 1991; 21:1635-1639.
198. Wahl SM, Costa GL, Corcoran M, Wahl LM, Berger AE. Transforming growth factor-beta mediates IL-1-dependent induction of IL-1 receptor antagonist. *J Immunol* 1993; 150:3553-3560.
199. Joyce DA, Gibbons DP, Green P, Steer JH, Feldmann M, Brennan FM. Two inhibitors of pro-inflammatory cytokine release, interleukin-10 and interleukin-4, have contrasting effects on release of soluble p75 tumor necrosis factor receptor by cultured monocytes. *Eur J Immunol* 1994; 24:2699-2705.
200. Perrier P, Martinez FO, Locati M, Bianchi G, Nebuloni M, Vago G et al. Distinct transcriptional programs activated by interleukin-10 with or without lipopolysaccharide in dendritic cells: induction of the B cell-activating chemokine, CXC chemokine ligand 13. *J Immunol* 2004; 172:7031-7042.
201. Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R, Welgus HG, Dayer JM. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest* 1995; 96:2304-2310.
202. Wu G and Morris SM, Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998; 336:1-17.
203. Savill J, Dransfield I, Gregory C, Haslett C. A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:965-975.
204. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997; 390:350-351.
205. Freire-de-Lima CG, Nascimento DO, Soares MB, Bozza PT, Castro-Faria-Neto HC, de Mello FG et al. Uptake of apoptotic cells drives the growth of a pathogenic trypanosome in macrophages. *Nature* 2000; 403:199-203.
206. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109:41-50.