

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2021.7.1.41>

Molecular imaging of polarized macrophages in tumors

Ran Ji Yoo¹, Yun-Sang Lee^{1,2*}

¹Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Republic of Korea

²Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Republic of Korea

ABSTRACT

Diversity and flexibility are two typical hallmarks of macrophages. Two types of macrophages, M1(classically activated macrophages) and M2(alternatively activated macrophages) exist at both ends of the commonly known macrophage polarization. M1 macrophages have inflammatory properties and are primarily responsible for defending against invading bacteria in our body. On the other hand, M2 macrophages are involved in anti-inflammatory responses and tissue remodeling. Polarized migration of macrophages is of increasing interest in regulating the initiation, generation, and resting phases of inflammatory diseases. In this review, it intend to discuss the properties and functions of tumor-associated macrophages based on polarized macrophages that affect inflammatory diseases. In addition, the purpose of this study is to investigate a molecular imaging approach that targets macrophages that affect tumor growth by controlling the polarization of macrophages that affect tumor diagnosis and treatment.

Key Word: Macrophage polarization, Tumor-associated macrophage(TAM), Polarized macrophage target imaging

Polarization of Macrophage

대식세포는 백혈구의 식세포 하위 집합으로, 세포 파편, 손상된 세포 및 이물질의 제거 등의 역할을 하며 여러 메커니즘에 의해 면역 기능에 중요한 역할을 한다[1]. 대식세포는 전구 조혈 줄기 세포의 골수에서 유래하는 단핵구에서 파생되어 골수에서 최대 24 시간 동안 성숙된 다음 혈류에서 순환하는데, 이 순환 단핵구는 손상이나 염증에 반응하여 대식세포로 성숙하거나 조직으로 이동하여 생체 내 대식세포로 존재하는 등 다방면의 분화 과정을 가지고 있다[2]. 그러나 최근의 연구들에 따르면 조직 내 존재하는 대식세포 집단이 단핵구에서만 유래하는 것이 아니라라는 것을 입증했으며, 단핵구에서 대식세포로의 분화는 특정 사이토카인 및 케모카인의 자극에 의한 세포 내 국소 미세 환경에 의존된다는 것이 밝혀졌다[3]. 대표적으로 대

식세포 콜로니 자극인자(M-CSF) 및 과립구 M-CSF(GM-CSF)는 단핵구에서 대식세포로의 분화를 유도하는데 기여하여 M-CSF 및 GM-CSF 자극 단핵구는 표현형적으로 다른 대식세포 subset를 생성한다. M-CSF는 항-염증성 면역 억제성 대식세포 표현형(M2)로 단핵구 분화를 자극하는 반면, GM-CSF는 전-염증성 대식세포 표현형(M1)을 자극하는 것으로 알려져있다[4]. M1 및 M2 대식세포는 일반적으로 각각 전-염증 및 항-염증 표현형으로 인식되지만, M2 대식세포는 여러 다른 표현형으로 더 분류되어 있다[5] (Table 1).

단핵구 분화에 영향을 미치는 세포미세환경에 존재하는 사이토카인들로는 인터루킨-4(IL-4: Th2 세포로의 분화, B세포의 증식 및 분화유도), 인터루킨-10(IL-10: Th1 세포의 억제, B세포의 증식유도), 인터루킨-13(IL-13: B세포의 증식 및 분화유도), 인터루킨-6(IL-6: B세포의 분화

Received: June 19, 2021 / Revised: June 25, 2021 / Accepted: June 28, 2021

Corresponding Author: Yun-Sang Lee, Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, 101, Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 03080, Republic of Korea, Tel: +82-2-3668-8906, Fax: +82-745-7690, E-mail: wonza43@snu.ac.kr

Copyright©2021 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

Table 1. Different phenotypes of M2 macrophages

M2 Phenotype	Stimulus	Secreted Cytokines	Function
M2a	IL-4, IL-13	TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, CXCL9, CXCL11, CXCL16, CCL5, TGF- β , IGF-1	Improving endocytic activity Involved in cell growth tissue recovery
M2b	TLR ligands, IL-1 β	IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10, CCL1	Regulate immune function by promoting Th2 differentiation
M2c	Glucocorticoids, IL-10, TGF- β	IL-10, TGF- β , CCL16, CCL18, CXCL13	Affects phagocytosis of apoptotic cells
M2d	TLR antagonists	IL-10, VEGF	Promote angiogenesis & tumor growth

Table 2. Characteristics of polarized M1, M2 macrophages

Division	M1 macrophage	M2 macrophage
Polarizing Material	IFN- γ , LPS, IFN- γ +LPS	IL-4, IL-13, IC, IL-10, GC, GC+TGF β
Characteristics	Pro-inflammatory	Anti-inflammatory
Morphology	Round and egg-shaped	Elongated and fibroblast-like in shape
Phagocytic activity	High	Low
Antigen phenotype	High	Low
Arginine metabolism	iNOS: Arginine \rightarrow NO	Arg1: Arginine \rightarrow Ornithine
Antibacterial action	High	low
Effect on tumors	Tumor attack	Promote tumor growth

및 항체생산을 증가), 종양괴사인자- α (TNF- α : 염증반응을 야기, 종양세포의 apoptosis 유도) 등이 있다. Mia S et al. 의 보고에 따르면 IL-4, IL-10, IL-13 및 TGF- β (IL-4 / IL-13, IL-4 / IL10, IL-4 / IL-10 / TGF- β)의 다른 비율별 조합을 사용하여 M2 대식세포 분극화를 자극하고 이러한 사이토카인 조합 각각이 조금씩 다른 대식세포 표현형을 산출했음을 입증했다. 그 중 IL-4 / IL-10 / TGF- β 의 조합이 활성화 된 M1 대식세포를 강력하게 비활성화 시키는 효과를 보이며 T 세포 증식을 억제하는 가장 면역 억제적인 표현형이라고 제안하였다[6].

일반적으로 분극화된 M1, M2 대식세포의 특징은 Table 2에 나타냈다. 활성화된 대식세포는 지질 다당류(LPS)와 같은 염증 분자 또는 인터페론 감마(IFN- γ), GM-CSF 및 TNF- α 와 같은 T helper cell 1 (Th1) 사이토카인에 노출되거나 IL-4 및 IL-13에 노출된 국소미세환

경에서 T helper cell 2 (Th2) 사이토카인에 반응하여 분극화 된다고 알려져 있다[7].

M1 대식세포는 병변이 생긴 직후 상처부위로 모여 면역 반응으로 염증에 대한 초기 대응에 관여하는 반면 병변에서 병원균이나 기타 이물질을 제거하기 위해 활성 산소종(ROS)뿐만 아니라 전-염증성 사이토카인을 다량 생산함으로써 국소 염증을 확대하기도 한다. 이 과정에 관여하는 M1 대식세포의 사이토카인 프로파일에는 높은 수준의 IL-12, IL-23, IL-6, TNF- α , IL-1 α , 유도 성 산화 질소 합성 효소(iNOS) 및 IL-1 β 이 작용한다는 연구 결과가 있고, 장기간의 M1 대식세포 활동은 조직 손상 및 만성 염증 상태로 이어질 수 있다[8-10].

반면, 만성염증과 달리 급성염증은 부분적으로 M1에서 M2 대식세포 분극화로 표현형 전환을 유도하여 손상된 부위의 조직복구, 혈관 내 상처치유 등 염증을 제한하

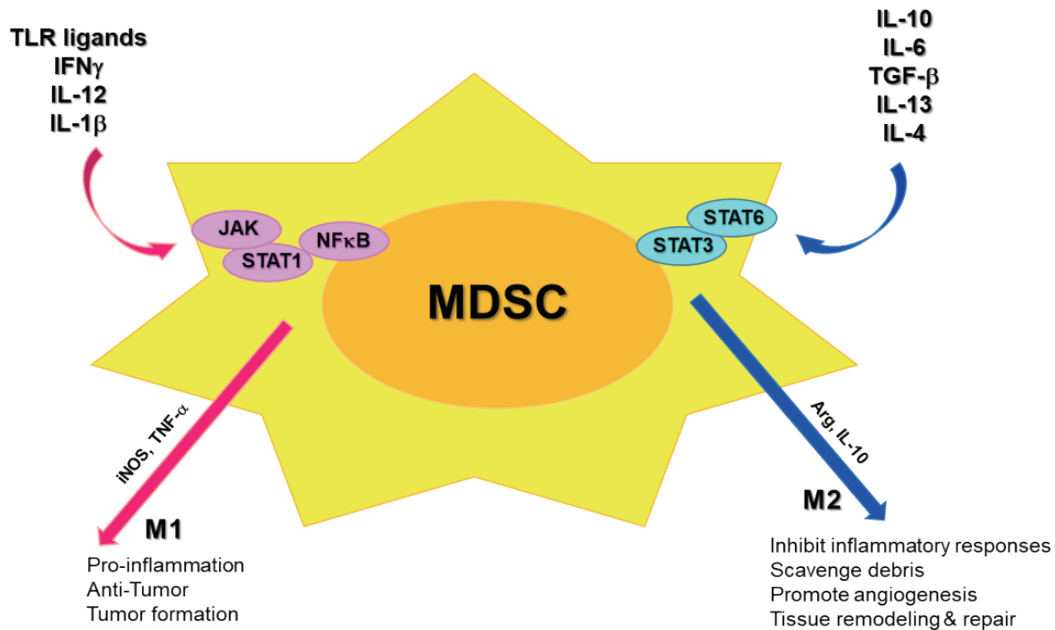


그림 1. Polarization of MDSCs. Depending on environmental growth factors and inflammatory mediators, MDSCs differentiate into M1- or M2-like cells.

는 항-염증작용을 촉진하기도 한다[11]. 모든 M2 대식세포 아형(M2a-d)은 염증 반응의 일부로 참여하며 활성화 자극 및 사이토카인 프로파일을 기반으로 특성화 되었다 (Table 1). 그러나 생체 내에서 이러한 대식세포의 각 하위 유형의 정확한 역할은 명확히 알려지지 않았고, 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

Tumor Associated Macrophage (TAM)

모든 종양은 다양한 세포들 중에서도 면역반응을 담당하는 골수 내 대식세포의 작용에 밀접한 영향을 받는다. 종양 세포와 종양 관련 섬유 아세포는 용해성 인자를 분비하여 골수에서 골수 세포를 모집하고 확장함으로써 암 관련 골수 형성을 유도한다. 이러한 신호는 골수에서 나오는 골수 양을 증가시킬뿐만 아니라 조절작용을 리모델링하여 골수 형성 메커니즘을 변화시킨다[12]. 그 중에는 CCL2와 같은 케모카인, 콜로니 자극 인자(G-CSF, M-CSF), 줄기 세포 인자, VEGF, IL-3 및 IL-6와 같은 사이토카인, S100A8 및 S100A9와 같은 조절 단백질의 자극은 미성숙 골수 세포가 단핵구로 분화하여 M-MDSC(myeloid-

derived suppressor cells)를 형성하는 것을 방지한다 [13-15]. M-MDSC의 병리학적 활성화는 골수에서 주로 염증성 사이토카인에 의해 시작되며, 이는 또한 M-MDSC를 종양 부위로 유인한다. 여기에서 M-MDSC는 종양 관련 대식세포(TAM)로 분화하거나 종양 내 미세환경에서 M-MDSC 집단으로 남아 다른 면역 세포의 기능에 직접 작용하기 때문에 종양 진행에 중요한 역할을 한다. 정의에 따르면 M-MDSC는 병리학적 조건에서 발생하고 면역 억제 기능을 나타내는데 환경의 성장 인자와 염증 매개체에 따라 MDSC는 M1- 또는 M2- 유사 세포로 분화 (Figure 1)하며, 이는 특정 분자 마커로 식별(Table 3)할 수 있고, M1-유사 M-MDSC는 free radical(NO), TNF- α , IL-12의 양을 증가시켜 종양 성장을 억제한다는 연구 결과가 있다[16].

종양 조직에서 주로 pro-tumorigenic 역할을 하는 M2- 유사 M-MDSC는 주로 IL-10, TGF- β 및 Arg 1을 통해 세포 독성 T-림프구에 의해 매개되는 종양 세포 사멸을 억제하는 우세한 유형이다[17]. 또한 여러 연구에서 M1- 유사 M-MDSC에 대한 toll-like receptors(TLR) 및 IFN- γ , M2-유사 유형에 대한 IL-4 및 IL-13의 중요성을

Table 3. Representative macrophage markers

M1		M2
CD80, CD86	CD surface receptor	CD163, CD206, CD200R
CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL2, CCL3, CCL5	Chemokine	CXCL12, CCL2,3,4,5,18,20
IL-1b	Cytokine	IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, TGF-b
MHC class II	Biomarker	S100A8, S100A9, MMP2 MMP9, STAB1
	Vasculature marker	VEGF
STAT1, IRF3, IRF5, HIF1a	Transcription Factor	STAT3, IRF4, FIZZ1, YM1
	Checkpoint proteins	PD-L1
iNOS, NO, ROS, IDO, PFKFB3, PKM2, ACOD1	Metabolites	ARG1, IDO, CARKL, GS
miR-9, miR-18, miR-19a/b, miR-21, miR-26, miR-27a/b, miR-127, miR-130a, miR-143, miR-145, miR-147, miR-155, miR-216a, miR-330	miRNA	miR-21, miR-23a/b, miR-24, miR-27a, miR-29, miR-34a, miR-124, miR-125a, miR-132, miR-146a, miR-155, miR-181, miR-188, miR-223, miR511

보여주었고, 현재까지 M2- M-MDSC를 M1- M-MDSC로 전환 할 수 있는 몇 가지 화합물이 확인되어 암 치료를 위한 새로운 분야를 열었다[18]. M1 또는 M2 M-MDSC의 자체 기능을 이용한 연구에 따르면 종양 조직 내에서 이들이 TAM으로 발전 할 가능성이 높다는 것이 밝혀졌다. 따라서, 이들은 기존에 연구된 대식세포의 분극화 및 분극화된 대식세포들의 기능에 추가하여 종양 조직 내에서 대식세포를 생성 및 분극화, 분극화된 종양대식세포의 기능에 따라 새로운 단핵구 부류로 정의 될 수 있다[19].

앞 단락에서 설명한 내용을 토대로 살펴보면 대식세포는 모든 조직에서 발견 될 수 있는 말기 분화 골수 세포로 이들 중 일부는 순환하는 단핵구에서, 일부는 조직 내 분포하는 단핵구에서, 일부는 조직 내 상주하는 대식세포에서 파생된다[2,20]. TAM의 개체 발생은 아직 조사 중이지만 다른 면역 세포와 유사하게 TAM의 두 가지 아형인 M1(항-종양 유발), M2(전-종양 유발) 표현형으로 알려져 있다[21,22] (Figure 2). 기존의 여러 연구에서 순환하는 단핵구가 조직 내 존재하는 대 식세포를 생성 할 수 있음을 보여 주었지만 각 조직에서 기인한 대식세포가 어떠한 대식세포로의 분화 가능성을 갖는지는 아직 완전히 밝혀지지 않았다. 하지만, 추가적인 연구들로 조직 내 대식세포에 대한 더 많은 세부 정보들이 일부 확인되며 마침

내 대식세포가 어떻게 파생되는지에 대한 오늘날의 견해로 이어졌다. 예를 들어, 뇌의 대식세포는 난황낭에서 파생되고 장, 심장, 폐(폐포 대식세포), 비장, 뼈(골세포), 피부(랑게르한스 세포) 및 간(쿠퍼세포)과 같은 다른 기관의 조직 내 상주 대식세포는 여러 발달 기원의 세포로 구성되며, 모두 출생 전에 확립되어 성인기 동안 혈액 단핵구와 독립적으로 유지 될 수 있다[23,24]. 조직에 상주하는 대 식세포의 수는 중요한 생리적 역할을 하는 것으로 보이며 생체 내에서의 대식세포 수의 변화는 조기 노화와 관련이 있고[25], 특정 비율의 조직 내 상주하는 대식세포는 혈액 유래 골수 세포에서 지속적으로 업데이트되지만 조직마다 다르며 질병에 따라 변화한다고 알려져 있다[26].

따라서, 종양 조직의 대식세포 또한 조직 상주 대식세포 뿐만 아니라 골수, 비장 및 혈액의 단핵구에서 파생 된 이질적인 세포 집단이라 추정할 수 있다[27-30]. TAM(M1 또는 M2 아형)의 운명은 세포의 기원과 혈액 및 종양 미세 환경에 존재하는 종양 유래 매개체에 의해 미리 결정될 수 있다[31].

Molecular imaging of Polarized macrophage

종양 내 분극화된 대식세포를 영상화 하기 위한 노력은

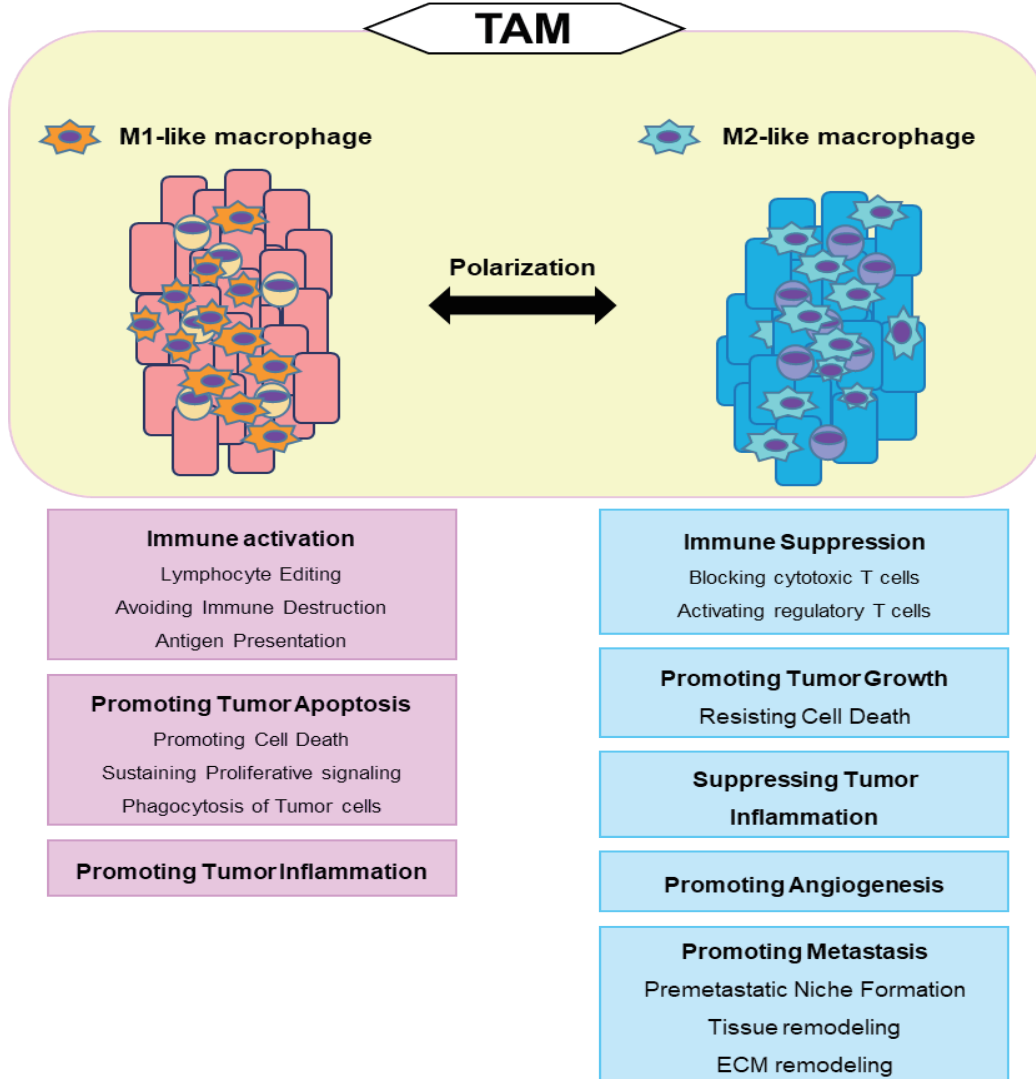


그림 2. Two subtypes of TAM. TAM exhibits two phenotypes: the M1 subtype with an anti-tumorigenic role and the M2 subtype with a pro-tumorigenic role.

종양 내 미세환경에서 대식세포의 생체 내 분포를 이해하는 것 뿐만 아니라 TAM을 구체적으로 표적으로 삼는 영상법을 개발하기 위해 필수적이다. TAM은 종양미세환경 내에서 가장 풍부한 세포이기 때문에 상대적으로 덜 풍부한 면역 세포에 대비하여 더 높은 신호 대 잡음을 이미징하여 비교함으로써 접근 할 수 있다(Figure 3). Table 4에서 TAM 이미징에 이용되는 실제 타겟과 프로브를 정리하였다.

분극화된 대식세포를 영상화한 몇가지 연구들을 소개하자면, 상이한 TAM에 의해 발현되는 subset-specific

receptors를 표적으로 영상화한 연구로 Folate-conjugated fluorescein isothiocyanate(folate-FITC)를 두경부편평암의 마우스 모델에서 종양 침윤 면역 세포를 표적화한 연구를 시작으로[32] 최근 연구에서 엽산-나노 버블의 TAM 표적화와 치료효과에 대해 평가되었고[33], 나노 바디 기반 표적화 CD206은 종양미세환경의 저산소 영역에 있는 혈관 형성 촉진 TAM을 선택적으로 포착하는 것으로 나타났다[34]. 낙타과 증쇄 항체에서 파생된 단일 도메인 항원 결합 단편인 나노 바디를 사용하면 종양 내 전달 및 축적이 개선되는 이점이 있다[34,35].

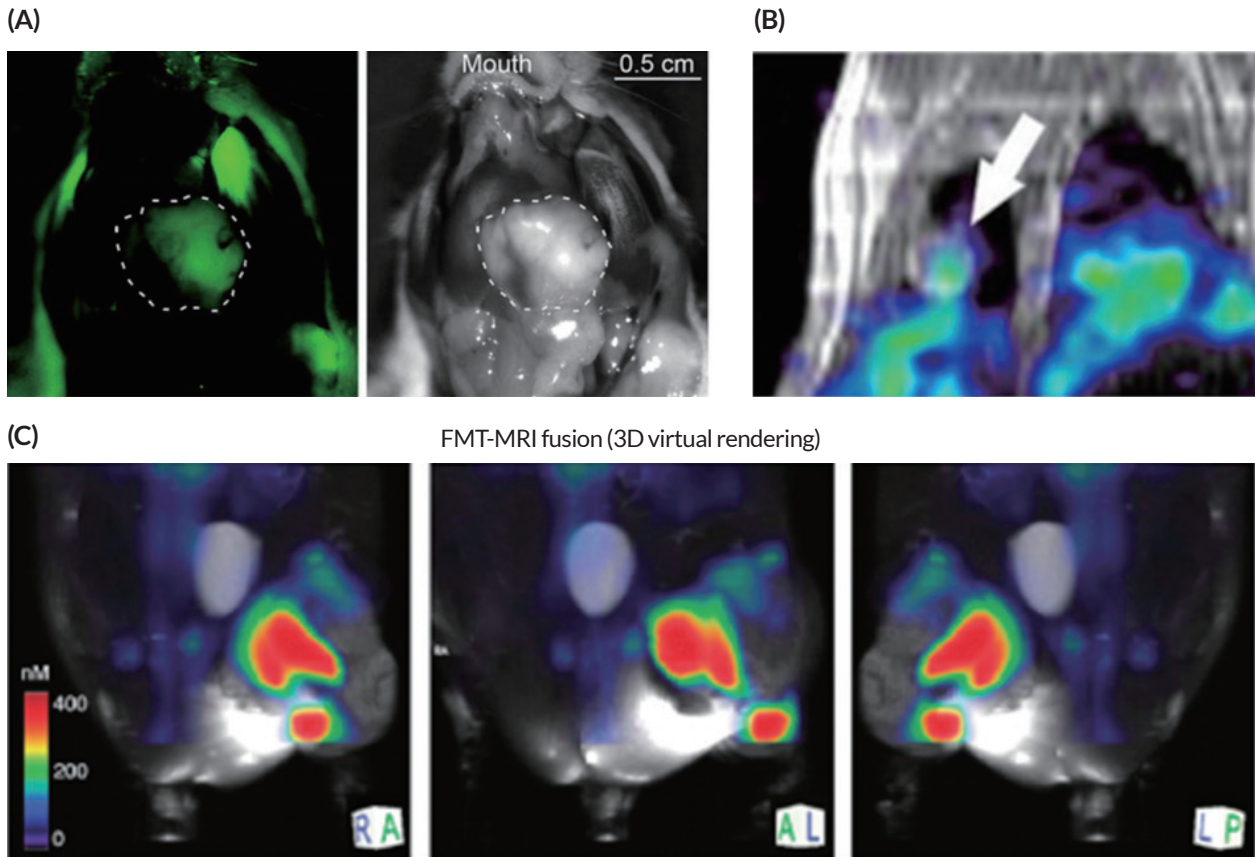


그림 3. TAM image using image probe. Imaging using reported TAM-targeted imaging probes. (A) Folate-FITC image in head and neck cancer model [32]. (B) PET/MR image using ^{64}Cu -labeled mannose-liposome [36]. (C) FMT-MR image using magneto-fluorescent-nanoparticles [40].

기존 개발된 대형 분자 조영제 및 화합물은 항체는 크기로 인해 고형 종양으로의 침투가 어렵고 항체의 Fc region과 종양세포 표면의 Fc receptor의 비 특이적 결합 확률이 높은 경우가 많으며, 이로 인해 생체 내 이미징에서 종양 미세환경의 신호 대 잡음의 변별력이 낮은 단점이 있었는데 이에 반해 나노 바디는 화학적으로 안정하고 가용성이 높으며 높은 친화력과 증가된 조직침투력을 발휘하여 종양미세환경을 표적으로 하는데 유리하다[35]. 따라서 나노 바디를 이용하면 현재 개발된 항체 기반 분자 이미징의 한계 극복이 가능 할 전망이다.

생체 내에서 대식세포를 이미지화하는 가장 간단한 방법은 높은 대식세포 활성을 사용하여 나노 입자를 흡수하는 것이다. 전신 이미징을 위한 다양한 PET 프로브로 나노 입자를 라벨링하는 것은 적합한 동위 원소를 결합하거나 킬레이트화를 통해 달성 할 수 있다. Locke L W et

al. 의 보고에 따르면 폐암 마우스 모델에서 TAM에 축적된 ^{64}Cu -mammosylated 리포솜을 개발, PET 영상으로 종양 내 TAM를 정량화 하는데 성공하였다. 주목할 점은 이러한 나노 입자 전달 시스템은 TAM 함량 및 활성을 띤 분자 영상화에 사용될 수 있을 뿐만 아니라 치료학적 접근 방식으로 종양미세환경 내로 치료제를 전달하는 효과 또한 기대할 수 있다는 것이다[36].

대식세포를 영상으로 추적하는 가장 확립된 방법으로 산화철 나노 입자(SPIO / USPIO)로 라벨링하는 방법이 있다. 이 입자는 식균 작용을 통해 단핵구 / 대식세포에 우선적으로 흡수되고 T2 자기공명영상에서 강력한 신호 감쇠를 유도한다[37,38]. 이러한 산화철 나노입자를 이용한 연구로 종양이 성장하는 동안 종양미세환경 내에서 TAM 축적을 추적한 연구[39], magneto-fluorescent-나노입자가 특정한 분극화 된 대식세포에 대해 특이적

Table 4. Target molecules for TAM-specific imaging

Target Process / Molecule	Modality	Tracer
Phagocytosis	MRI, PET, optical, multi	Iron oxide nanoparticle ⁶⁴ Cu-labeled polyglucose nanoparticle Cy5.5-VEGF Perfluorocarbon(PFC)
Endocytosis	PET	⁸⁹ Zr-PL-HDL ⁸⁹ Zr-AI-HDL
F4/80	Flow cytometry, fluorescence microscopy	¹¹¹ In- α F4/80-A3-1 mAb
CD11b	PET	¹⁸ F-VHHDC13
MHC-II	PET	¹⁸ F-VHH7
CD206	PET	$\gamma\gamma$ -Tilmanocept ¹⁸ F-FB-anti-MMR 3.49 sd Ab
CD163	PET	⁶⁸ Ga- α CD163-mAb
TSPO	PET	¹⁸ F-GE-180 ¹⁸ F-DPA-714 ¹¹ C-PBR28
FR- β	SPECT, PET	3'-Aza-2' [¹⁸ F]fluorofolic acid

으로 결합되어 형광과 MR로 영상화된 연구가 있다[40]. TAM 이미징을 위한 SPIO를 이용한 접근법의 장점은 매우 낮은 독성으로 MR 이미징에 대해 임상적으로 승인된 입자가 있다는 것으로 ferumoxytol의 첫 임상 시험에서 MR 신호 양상에서 CD68 +, CD163 +, TAM의 신호가 각각 차이가 있음을 보여주었다[41]. 흥미로운 것은 임상적으로 승인된 SPIO가 생체 내에서 비침습적으로 TAM 이미징을 가능하게 할 뿐만 아니라 종양미세환경에서 전염증성 TAM의 분극을 유발하여 종양 성장을 억제한다는 연구가 보고 되었고, 이 연구에 따라 ferumoxytol이 전이성 종양으로부터 정상 장기로의 전이를 방지하거나 대식세포 조절 압 면역치료요법의 가능성을 제시하였다 [42,43].

전임상 단계의 연구로 제한되는 리포터 유전자 이미징 또한 생체 내에서 TAM 존재 및 활성을 평가하는 데 유용하다. Cre-Lox 시스템을 사용하여 활성화된 luciferase 발현 대식세포를 마우스 흑색종 및 유방암 모델에서 추적하여 영상화한 연구가 있었고[44], 마우스 결장암 모델에서 종양 내TAM의 병변으로의 대식세포 이동을 시각화하고 종양미세환경 내에서 항-염증 효과를 평가한 연구가 진행되었다[45]. Arg1 프로모터로 조절되는 luciferase 리

포터 유전자를 이용하여 M2로 분극화된 대식세포가 종양 미세환경 내로의 이동을 모니터링하여 추적 관찰하는 것을 확인함에 따라 리포터 유전자 이미징을 이용한 분극화된 TAM 의 연구의 가능성을 확인할 수 있다[46].

Conclusion

대식세포는 종양에서 가장 큰 면역세포 pool을 나타내며 지금까지 다양한 기능을 가진 다양한 유형의 대식세포가 확인되었고, 프로필과 기능에 따라 종양 촉진 또는 종양 억제 유형으로 분류된다. 여러 연구 결과에서 초기 종양 발현 및 성장동안 M1 유형 대식세포가 더 우세한 유형임을 시사하지만 말기 종양 단계, 특히 전이가 이미 발생한 경우 M2 유형 대식세포가 대부분의 병변을 차지한다.

분자 이미징을 통해 종양 관련 대식세포를 표적으로 하기 위한 여러 노력이 이루어지고 있고, 종양 관련 대식세포를 비침습적으로 추적 할 수 있는 다양한 방법이 기존 연구들을 통해 다양하게 밝혀졌다. M1/M2 표적에 대한 분자 프로브의 특이성과 이미징을 위한 신생 화합물, 고도화된 영상장비의 높은 감도는 생체 내에서 TAM 역학

을 추적 가능할 뿐만 아니라 성공적인 이미징을 위해 결정적이다. 따라서 분자 이미징은 종양성장 중에 TAM작용의 중요한 timepoint를 보다 잘 이해하는 데 도움이 될 수 있고 TAM 표적 영상기법을 위한 연구는 정밀 의학의 난제에서 중요한 역할을 할 수 있다.

Acknowledgments

This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government(MSIT) (No. 2021R1C1C2004706 and 2021R1A2C3009427)

References

- Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol.* 2008;8:958-69.
- Duque GA, Descoteaux A. Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol.* 2014;5:1-12.
- Yang J, Zhang L, Yu C, Yang XF, Wang H. Monocyte and macrophage differentiation: Circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res.* 2014;2.
- Lukic A, Larssen P, Fauland A, Samuelsson B, Wheelock CE, Gabrielsson S, et al. GM-CSF- and M-CSF-primed macrophages present similar resolving but distinct inflammatory lipid mediator signatures. *FASEB J.* 2017;31:4370-81.
- Yao Y, Xu XH, Jin L. Macrophage polarization in physiological and pathological pregnancy. *Front Immunol.* 2019;10:1-13.
- Mia S, Warnecke A, Zhang XM, Malmström V, Harris RA. An optimized protocol for human M2 macrophages using M-CSF and IL-4/IL-10/TGF- β yields a dominant immunosuppressive phenotype. *Scand J Immunol.* 2014;79:305-14.
- Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol.* 2018;233:6425-40.
- Espinoza-Jiménez A, Peón AN, Terrazas LI. Alternatively activated macrophages in types 1 and 2 diabetes. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:815953.
- Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, et al. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? *J Immunol Res.* Hindawi; 2018;2018:8917804.
- Meshkani R, Vakili S. Tissue resident macrophages: Key players in the pathogenesis of type 2 diabetes and its complications. *Clin Chim Acta.* 2016;462:77-89.
- Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity.* 2016;44:450-62.
- Sica A, Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *J Clin Invest.* 2007;117:1155-66.
- Lee WC, Hsu PY, Hsu HY. Stem cell factor produced by tumor cells expands myeloid-derived suppressor cells in mice. *Sci Rep.* 2020;10:1-11.
- Johnson BS, Mueller L, Si J, Collins SJ. The cytokines IL-3 and GM-CSF regulate the transcriptional activity of retinoic acid receptors in different in vitro models of myeloid differentiation. *Blood.* 2002;99:746-53.
- Lim SY, Yuzhalin AE, Gordon-Weeks AN, Muschel RJ. Tumor-infiltrating monocytes/macrophages promote tumor invasion and migration by upregulating S100A8 and S100A9 expression in cancer cells. *Oncogene.* 2016;35:5735-45.
- He W, Liang P, Guo G, Huang Z, Niu Y, Dong L, et al. Repolarizing Myeloid-derived Suppressor Cells (MDSCs) with Cationic Polymers for Cancer Immunotherapy. *Sci Rep.* 2016;6:1-13.
- Ochando JC, Chen SH. Myeloid-derived suppressor cells in transplantation and cancer. *Immunol Res.* 2012;54:275-85.
- Yang WC, Ma G, Chen SH, Pan PY. Polarization and reprogramming of myeloid-derived suppressor cells. *J Mol Cell Biol.* 2013;5:207-209.
- Elliott LA, Doherty GA, Sheahan K, Ryan EJ. Human tumor-infiltrating myeloid cells: Phenotypic and functional diversity. *Front Immunol.* 2017;8.
- Laviron M, Boissonnas A. Ontogeny of Tumor-Associated Macrophages. *Front Immunol.* 2019;10:1799.
- Zhang B, Wang Z, Wu L, Zhang M, Li W, Ding J, et al. Circulating and Tumor-Infiltrating Myeloid-Derived Suppressor Cells in Patients with Colorectal Carcinoma. *PLoS One.* 2013;8.
- Mahmoud SMA, Lee AHS, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Green AR. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer. *J Clin Pathol.* 2012;65:159-63.
- Ginhoux F, Guillemins M. Tissue-Resident Macrophage

- Ontogeny and Homeostasis. *Immunity*. 2016;44:439-49.
24. Theret M, Mounier R, Rossi F. The origins and non-canonical functions of macrophages in development and regeneration. *Dev*. 2019;146:1-14.
 25. Linehan E, Fitzgerald D. Ageing and the immune system: focus on macrophages. *Eur J Microbiol Immunol*. 2015;5:14-24.
 26. Ajami B, Bennett JL, Krieger C, Tetzlaff W, Rossi FMV. Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat Neurosci*. 2007;10:1538-43.
 27. Huang Y, Xu Z, Xiong S, Sun F, Qin G, Hu G, et al. Repopulated microglia are solely derived from the proliferation of residual microglia after acute depletion. *Nat Neurosci*. 2018;21:530-40.
 28. Mass E, Ballesteros I, Farlik M, Halbritter F, Günther P, Crozet L, et al. Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science* (80-). 2016;353:1-32.
 29. Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, Figueiredo JL, Kohler RH, Chudnovskiy A, Waterman P, Aikawa E, Mempel TR, Libby P, Weissleder R PM. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science* (80-). 2010;325:612-6.
 30. Cortez-Retamozo V, Etzrodt M, Newton A, Ryan R, Pucci F, Sio SW, et al. Angiotensin II Drives the Production of Tumor-Promoting Macrophages. *Immunity*. 2013;38:296-308.
 31. Wu C, Hua Q, Zheng L. Generation of Myeloid Cells in Cancer: The Spleen Matters. *Front Immunol*. 2020;11:1-13.
 32. Sun JY, Shen J, Thibodeaux J, Huang G, Wang Y, Gao J, et al. In vivo optical imaging of folate receptor- β in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2014;124:312-9.
 33. Sun X, Guo L, Shang M, Shi D, Liang P, Jing X, et al. Ultrasound mediated destruction of lmw-ha-loaded and folate-conjugated nanobubble for tam targeting and reeducation. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:1967-81.
 34. Movahedi K, Schoonoooghe S, Laoui D, Houbracken I, Waelput W, Breckpot K, et al. Nanobody-based targeting of the macrophage mannose receptor for effective in vivo imaging of tumor-associated macrophages. *Cancer Res*. 2012;72:4165-77.
 35. Bathula N V., Bommadevara H, Hayes JM. Nanobodies: The Future of Antibody-Based Immune Therapeutics. *Cancer Biother Radiopharm*. 2021;36:109-22.
 36. Locke LW, Mayo MW, Yoo AD, Williams MB, Berr SS. PET imaging of tumor associated macrophages using mannose coated ^{64}Cu liposomes. *Biomaterials*. 2012;33:7785-93.
 37. Ng TSC, Garlin MA, Weissleder R, Miller MA. Improving nanotherapy delivery and action through image-guided systems pharmacology. *Theranostics*. 2020;10:968-97.
 38. Wildgruber M, Lee H, Chudnovskiy A, Yoon TJ, Etzrodt M, Pittet MJ, et al. Monocyte subset dynamics in human atherosclerosis can be profiled with magnetic nanosensors. *PLoS One*. 2009;4.
 39. Settles M, Etzrodt M, Kosanke K, Schiemann M, Zimmermann A, Meier R, et al. Different capacity of monocyte subsets to phagocytose Iron-Oxide nanoparticles. *PLoS One*. 2011;6.
 40. Shih YYI, Hsu YH, Duong TQ, Lin SS, Chow KPN, Chang C. Longitudinal study of tumor-associated macrophages during tumor expansion using MRI. *NMR Biomed*. 2011;24:1353-60.
 41. Leimgruber A, Berger C, Cortez-Retamozo V, Etzrodt M, Newton AP, Waterman P, et al. Behavior of endogenous Tumor-associated macrophages assessed in vivo using a functionalized nanoparticle. *Neoplasia*. 2009;11:459-68.
 42. Aghighi M, Theruvath AJ, Pareek A, Pisani LL, Alford R, Muehe AM, et al. Magnetic resonance imaging of tumor-associated macrophages: Clinical translation. *Clin Cancer Res*. 2018;24:4110-8.
 43. Zanganeh S, Hutter G, Spitler R, Lenkov O, Mahmoudi M, Shaw A, et al. Polarization in Tumour Tissues. *Nat Nanotechnol*. 2016;11:986-94.
 44. He H, Chiu AC, Kanada M, Schaar BT, Krishnan V, Contag CH, et al. Imaging of Tumor-Associated Macrophages in a Transgenic Mouse Model of Orthotopic Ovarian Cancer. *Mol Imaging Biol*. 2017;19:694-702.
 45. Choi YJ, Oh SG, Singh TD, Ha JH, Kim DW, Lee SW, et al. Visualization of the Biological Behavior of Tumor-Associated Macrophages in Living Mice with Colon Cancer Using Multimodal Optical Reporter Gene Imaging. *Neoplasia*. 2016;18:133-41.
 46. Aalipour A, Chuang HY, Murty S, D'Souza AL, Park S min, Gulati GS, et al. Engineered immune cells as highly sensitive cancer diagnostics. *Nat Biotechnol*. 2019;37:531-9.