

장기이식에서 허혈-재관류 손상의 면역학적 기전

이종수^{1,2}울산대학교 의과대학 울산대학교병원 신장내과¹, 생의과학연구소²

Immunologic Mechanism of Ischemia Reperfusion Injury in Transplantation

Jong Soo Lee, M.D.^{1,2}Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Ulsan University Hospital, University of Ulsan College of Medicine¹, Biomedical Research Center², Ulsan, Korea

Ischemia-reperfusion injury (IRI) is an inevitable consequence of organ transplantation that has major consequences for graft- and patient survival. During transplantation procedures, allografts are exposed to various periods of complete ischemia. Ischemic insult starts with brain death, and its associated hemodynamic disturbances continue during donor organ procurement, cold preservation, and implantation. Ischemia-reperfusion injury, which is a risk factor for acute graft injury, delayed graft function, and acute and chronic rejection, is triggered following reperfusion. Along the cascade of pathogenic events that accompany ischemic insults and cause IRI, there has been an appreciation for various immune mechanisms within the allograft itself. The pathophysiological events associated with IRI originate in signals derived from pattern recognition receptors (PRRs) expressed in the donor organ. Danger associated molecular patterns (DAMP) released from injured cells serve as ligands for PRRs expressed on many cells in the donor organ. Activation of PRR signaling in the donor organ leads to production of proinflammatory cytokines and activates the innate immune system, triggering adaptive immune responses as well as cell death signaling, ultimately worsening the initial ischemic injury. Accordingly, deciphering the inflammatory pathway of innate immunity in IRI may provide a good therapeutic target to block acute sterile inflammation caused by tissue damage.

Key Words: Transplantation, Innate immunity, Inflammation**중심 단어:** 장기이식, 선천 면역, 염증

서론

장기이식은 말기 장기부전증 환자의 가장 이상적인 치료방법이다. 허혈-재관류 손상(ischemia-reperfusion injury, IRI)은 장기이식에서 피할 수 없는 경과이다. 허혈은 공여자 뇌사상태에서의 혈액동학적 불안정성, 장기구득 과정, 한랭 보존, 수술과정에 따라 다양한 기간으로 일어난다. 허혈에 의해 손상된 조직에 재관류가 되면 선천면역계의 활성화에 의한 염증반응으로 손상은 증폭된다. 장기이식에서의 IRI는 이식편 생존율, 지연성 이식편 기능(delayed graft function, DGF), 거부반응과 같은 이식 후 경과에 영향을 미친다(1-3). IRI에 의한 이식편 손상의 정

Received September 5, 2017

Accepted September 6, 2017

Corresponding author: Jong Soo LeeDivision of Nephrology, Department of Internal Medicine, Ulsan University Hospital, University of Ulsan College of Medicine, 877 Bangeojinsunhwan-doro, Dong-gu, Ulsan 44033, Korea
Tel: 82-52-250-8843, Fax: 82-52-251-8235
E-mail: jslee@uuh.ulsan.kr

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government. (Ministry of Education) (NRF-2015R1D1A3A01020086).

도는 공여 장기상태와 매우 관련이 있다(4). 생체 장기이식은 뇌사자 공여 장기이식보다 뛰어난 이식 후 경과를 보인다(5). 생체 장기이식의 우월한 성적은 좀더 ‘건강한’ 공여 신장, 수혜자의 짧은 대기시간, 그리고 짧은 허혈시간과 관련이 있다(6). 허혈에 의한 초기 손상이 심할수록 뒤따르는 재관류에 의한 무균성 염증반응의 강도도 더 커지기 때문에 뇌사공여 장기이식은 더 심한 IRI를 초래한다. 더불어 뇌사상태에서의 뇌손상이 교감신경계의 항진, 염증성 사이토카인 분비의 증가, 보체계를 비롯한 선천면역반응계의 활성화를 유발하는 것도 뇌사자 공여 장기이식에서의 더 심한 IRI의 원인이 된다(7,8). 선천면역반응에 의한 염증반응이 IRI에 의한 이식편 손상의 주된 기전으로 밝혀져 있기 때문에 본 고에서는 이러한 면역학적 기전에 대해 살펴보고자 한다.

허혈-재관류 손상과 이식 후 경과

IRI는 두 단계에 거쳐서 이식 후 경과에 영향을 미칠 수 있다. 이식 직후의 IRI에 의한 이식편 손상으로 DGF를 야기할 수 있다. 이후에 IRI에 의해 활성화된 선천면역반응과 적응면역반응에 의해 급성 거부반응을 조장할 수 있다(9,10). 최근 미 식약청 워크숍(FDA workshop)과 이후의 진전된 연구에서 신이식 환자에서 이식편 생존율과 환자 생존율과 같은 임상성적과 IRI의 상관관계를 보고하였다(11). IRI는 DGF, 이식편 거부반응 그리고 간질 섬유화를 동반하는 만성 이식편 기능저하와 관련이 있었다(11). DGF는 심한 IRI에 의해 초래되고 이후의 이식편 성적에 영향을 미치는 것으로 나타났다(9,12). DGF에 대한 정의의 모호성으로 인해서 DGF와 장기간 성적의 상관관계에 대해서는 이견이 있었다(12). 그러나 퇴원 시점의 이식편 기능장애를 DGF로 정의 했을 때는 DGF의 발생은 장기간 이식성적과 관계가 있었다(13). IRI에서 나타나는 무균성 염증반응은 이식편의 면역성(immunogenicity)을 증가시

켜 급성 거부반응을 잘 유발할 수 있다(13). IRI에 의해 활성화 되는 수지상 세포(dendritic cell, DC)는 naïve T 림프구를 활성화 하여 급성 세포매개성 거부반응을 조장한다(14). 더불어 IRI는 항체에 대한 체액 면역성도 증가시켜 급성 항체매개성 거부반응도 조장한다(14). IRI는 신장이식 동물모델에서 진행성 간질 섬유화를 초래한다(15,16). 신이식 환자에서도 IRI에 의한 간질섬유화/세노관 위축의 소견을 관찰하였다(11).

허혈-재관류 손상에서의 무균성 염증반응

IRI는 감염에 대한 염증반응과 유사한 무균성 염증반응을 일으킨다(17). IRI에 의해 초래된 조직손상은 Toll-like 수용체(Toll-like receptor, TLR)와 같은 양식인지수용체(pattern recognition receptor, PRR)에 리간드를 결합하게 함으로써 nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell (NF-κB), mitogen-activated protein kinase (MAPK), 그리고 1형 인터페론 경로에 의해 염증반응을 단계적으로 활성화한다(17). 선천면역세포 중 특히 수지상 세포의 활성화는 T 림프구의 시동을 유도하여 적응면역반응이 활성화 되는 가교의 역할을 한다. IRI에 의한 세포손상은 ‘damage-associated molecular pattern (DAMP)’ 이라고 명명되는 PRR 리간드들을 출현시킨다. High-mobility group box 1 protein (HMGB1), heat shock protein (HSP), 세포 외 ATP와 같은 물질은 대표적인 DAMP이다. HMGB1은 정상적으로 세포의 핵내에 존재하는 DNA 결합 단백질로 뉴클레오솜을 안정화시킨다. HMGB1은 유전자의 전사, 복구, 재결합에 관여하는 생리적 기능이 있다. 세포손상에 의해 세포외로 방출되었을 때 DAMP로서 역할을 하며 TLR이나 RAGE와 같은 PRR과 결합하여 염증반응경로를 활성화한다(18,19).

Table 1. Type of pattern recognition receptor (PRR) and their ligand

	PRR	Ligand	Origin of ligand
Membrane-bound form	Toll like receptor	LPS, Flagellin, dsRNA, CpG-DNA	Bacteria, virus, parasite
	C-type lectin receptor (CLR)	β-glucan, SAP 130	Fungus
Cytoplasmic form	NOD-like receptor (NLR)	iE-DAP, MDP	Bacteria
	RLR	Short dsRNA, long dsRNA	RNA virus

Abbreviations: iE-DAP, D-gamma-Glu-mDAP; LPS, Lipopolysaccharides; MDP, muramyl dipeptide; NOD, nucleotide-binding oligomerization domain; RLR, RIG-I-like receptors SAP, serum amyloid P.

손상의 인지와 염증반응의 시작

선천면역계는 병원체에 대한 가장 신속한 방어기능을 하는 역할 외에도 조직손상 후 재생(20), 정상적인 발생과정(21), 자멸사된(apoptotic) 세포의 처리(22)와 같은 생리적인 기능을 한다. 이러한 생리적 기능을 수행하기 위해 대식세포, 수지상 세포, 중성구, 그리고 보체단백들과 같은 선천면역계는 병원체가 없는 상태에서도 손상된 조직에서 전달되는 신호를 인지할 수 있다. PRR은 병원체들 사이의 공통적인 구조들(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)을 인식할 뿐만 아니라 체내의 손상된 조직의 구조들인 DAMP를 인식하여 면역세포를 활성화 시킨다. 대표적인 PRR로는 TLR, C-type lectin receptors (CLRs)와 같은 세포막 관통 수용체와 Retinoic acid-inducible gene (RIG)-I-like receptors (RLRs)와 NOD-like receptors (NLRs)와 같은 세포질내의 수용체들을 들 수 있다(23,24) (Table 1). 이러한 PRR은 대식세포, 수지상세포와 같은 면역세포 외에도 상피세포, 혈관내피세포와 같은 비면역세포에서도 발견된다. TLR과 같은 PRR이 DAMP를 인지하게 되면 myeloid differentiation 88 (MyD88)와 같은 연결물질들을 세포질로 집결시켜서 여러 종류의 kinase

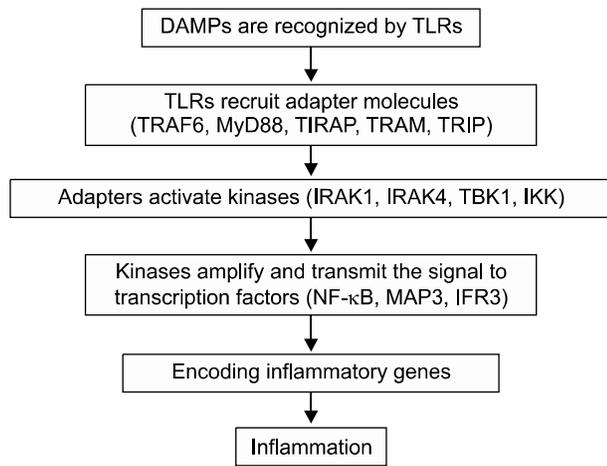


Fig. 1. Schematic vies of innate inflammatory response. Abbreviations: DAMPs, Danger associated molecular patterns; TLRs, Toll-like receptors; TRAF6, TNF receptor-associated factor 6; MyD88, Myeloid differentiation primary response 88; TIRAP, Toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein; TRAM, TRIF-related adaptor molecule; TRIF, TIR domain containing adaptor protein inducing interferon; IRAK1, Interleukin 1- receptor-associated kinase 1; TBK1, TANK binding kinase 1; IKK, Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase; NFκB, Nuclear factor kappa B; MAP3, MAP3 kinase; IFR3, Interferon regulatory factor 3.

(IL-1receptor associated kinase 1 [IRAK 1], IRAK4, TANK binding kinas [TBK1], inhibitor of NF-κB kinase [IKK])를 활성화 시킨다. 이러한 kinase들은 NF-κB, MAP3 kinase (MAP3)와 interferon regulatory factor 3 (IFR3) 전사를 촉진시키는 신호를 증폭하고 전달시켜서 염증세포들을 조정하는 유전자들을 활성화 한다(9) (Fig. 1).

염증성 사이토카인 중 IL-1β의 합성은 서로 다른 PRR들의 협동에 의해 2단계에 걸쳐서 일어난다. TLR 신호에 의해서 IL-1β의 전구물질인 pro-IL-1β의 합성이 먼저 일어난다. pro-IL-1β는 caspase-1에 의해서 분해되어 IL-1β로 전환된다. NLR과 apoptosis speck-like protein (ASC)는 inflammasome이라 불리는 결합체를 형성하는데, inflamma-some은 caspase-1을 활성화 시키는 기능을 한다(25). 이와 같이 PRR은 병원체나 조직의 손상을 감지하여 단독으로 혹은 다른 PRR과 협동에 의해 염증반응을 시작하게 하는 중요한 인지기능을 한다.

염증반응 유발인자

이식수술과정에서 일어나는 허혈-재관류(ischemia-reperfusion, IR)에 의해 초래되는 다양한 형태의 세포손상은 DAMP를 생산하고, PRR에 감지되어 염증반응을 일으킨다. 초기에 일어나는 산화성 이식편 손상은 스트레스 반응과 세포사망을 유도하여 DAMP를 생산한다(Fig. 2).

1. Reactive oxygen species (ROS)

허혈성 세포는 혈류가 복원되지 않으면 사멸한다. 재관류는 세포의 사멸을 피할 수 있게 하지만 세포손상을 개시

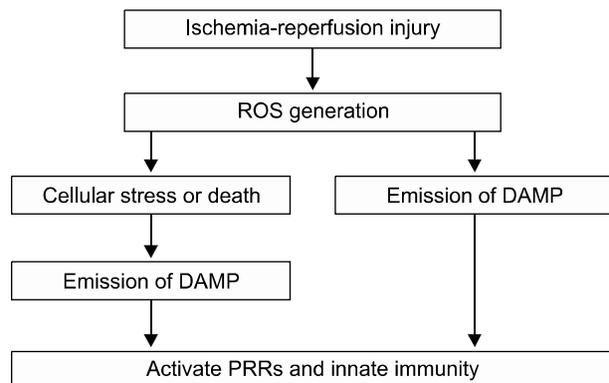


Fig. 2. ROS, cell stress/death, emission of DAMP axis initiating inflammation. Abbreviations: ROS, Reactive oxygen species; DAMP, Danger associated molecular pattern; PRR, pattern recognition receptor.

한다. 재관류에 의한 손상의 시작은 미토콘드리아에서 형성되는 ROS에 의해서 일어나고 수 분 내에 시작되어 수 주 동안 지속될 수 있다(26,27). ROS는 저산소 환경을 감지하는 미토콘드리아의 전자전달계 효소(electron transport chain associated enzyme), xanthine oxidase (XO)와 NADPH oxidase에 의해 형성된다. 이식수술과정에서의 저산소증 환경은 공여자 혈관내피세포내에 존재하는 이러한 3 종류의 효소계를 활성화시킨다. 재관류가 일어나서 세포내로 다시 공급되는 산소는 관류효소들의 작용으로 superoxide anion과 같은 ROS로 전환된다(28). 가장 외곽에 위치하는 짝지어 지지 않은 전자의 존재로 인해 ROS는 불안정하고 매우 반응성이 커서 모든 종류의 세포와 세포외 기질의 파괴를 유발할 수 있다. ROS는 세포단백, 지질, 핵산의 기능변화에 의한 DNA 손상뿐만 아니라 세포자멸사, 세포괴사와 같은 세포사망을 초래할 수 있다. 저산소 환경을 피할 수 없는 이식과정에서 초기의 ROS에 의한 이식편 손상은 세포 스트레스 반응(unfolded protein response, DNA damage response)과 세포사망(necrosis, apoptosis, necroptosis)을 유도하여 DAMP를 생산하는 시발점이 된다(29-31).

2. 세포 스트레스 반응과 세포사망(cell stress response and cell death)

세포상해가 가해지면 세포사망이 초래되거나 세포의 항상성을 복원을 위한 세포스트레스 반응에 의해 세포가 생존할 수 있다(32). 세포사망은 우발적 세포사망(accidental cell death, ACD)과 조절된 세포사망(regulated cell death, RCD)으로 나타날 수 있다. 세포괴사(necrosis)와 같은 ACD는 세포막의 비가역적 손상으로 많은 양의 DAMP가 세포핵, 미토콘드리아, 세포질로부터 방출되어 강력한 염증반응을 일으킨다(33). 조직 상해의 강도에 따라 세포의 운명은 ACD 혹은 RCD로 결정된다. 대표적인 RCD인 apoptosis는 세포와 핵의 위축과 함께 세포막의 손상되지 않은 채로 비교적 유지되어 염증반응을 일으키지 않는 세포사로 여겨져 왔다(17). 그러나 최근의 연구들에서 자멸사된 세포들에서 유리되는 ATP, 미량의 HSP, S100 단백, 그리고 histone이 DAMP 기능을 함으로써 염증반응을 일으킬 수 있는 것으로 관찰되었다(34,35). 다른 종류의 RCD로 necroptosis, ferroptosis, pyroptosis 등이 있는데, apoptosis보다 더 강력한 염증반응을 야기한다(36).

세포손상을 일으키는 스트레스를 극복하기 위한 방편으로 unfolded protein response (UPR)와 DNA 손상반응(DNA damage response, DDR)과 같은 세포 스트레스 반응

이 일어난다. 세포 스트레스 반응은 손상에 대한 세포복구를 위한 것으로 성공적인 스트레스반응은 세포의 항상성을 복원할 수 있게 한다. 성공적이지 못할 경우에는 세포사망의 과정으로 들어간다. 세포 스트레스에 의해 unfolded protein이 생성되면 endoplasmic reticulum (ER)에 축적되어 ER stress가 일어나는데 이를 해소하기 위해 UPR이 일어난다(37). UPR은 특정 전사인자들을 활성화 시켜 ER과 관계된 chaperone들이 합성되어 unfolded protein을 교정하거나 혹은 다른 경로로 이러한 독성 물질을 분해하거나 autophagy에 의해 제거하여 세포 본래의 모습을 복원한다(38,39). UPR 과정에서 HSP와 Calreticulin (CALR)과 같은 chaperon은 세포외로 방출될 수 있는데 이러한 물질들은 DAMP로서 기능을 한다. ER stress의 정도가 심하여 세포의 항상성이 복원될 수 없는 경우 UPR은 항-세포자멸사(pro-apoptotic) 반응을 유도하여 RCD를 일으킨다(40). DDR은 세포상해에 의해 야기된 손상을 복구하기 위한 세포스트레스 반응이다. UPR과 마찬가지로 상해의 강도에 따라 세포의 운명이 결정되는데, DNA 복구에 의한 세포의 항상성 복원, 세포주기 진행의 정지(cell cycle arrest) 혹은 세포자멸사(apoptosis)가 일어나게 된다(41,42).

3. DAMP (Damage-associated molecular pattern)

DAMP는 세포 스트레스나 조직 손상과 같은 상태에서 출현하는 체내 물질이다. DAMP는 조직의 염증반응을 증폭시키고 또한 조직의 복구를 촉진한다. DAMP는 adjuvant로서 역할을 하여 DC의 성숙을 촉진시켜 적응면역 반응을 유도한다. DAMP의 출현은 1) 스트레스가 가해진 세포의 세포막에 노출되는 경우, 2) 스트레스성 세포나 apoptosis 초기상태에 있는 세포에서 능동적으로 분비되는 경우, 3) 세포사로 인해 세포막의 파괴가 일어나 세포로부터 세포외 환경으로 수동적으로 유리되는 경우, 4) 세포외 기질의 손상으로 유리되는 경우에서 일어날 수 있다(43,44). 세포내 이온농도나 pH의 변화와 같이 물리적 손상 없이 항상성 장애만 있는 경우도 염증반응을 유발하는 DAMP로서 역할을 할 수 있다(45). 최근에 다양한 종류의 DAMP와 이를 감지하는 PRR들이 확인되었다(Table 2). HMGB1과 HSPs는 재관류 손상을 받은 이식편에서 생성되는 대표적인 DAMP이다(46-49). 이러한 물질들은 TLR, RAGE와 같은 PRR과 결합하여 무균성 염증반응을 일으킬 뿐 아니라 DC의 성숙을 조장하여 T 림프구의 면역반응을 유도할 수 있다(50-52). ATP, 요산, calreticulin을 비롯한 다양한 물질들이 DAMP로서의 역할을 하는 것이 규명되었고, 이들 DAMP는 각각 고유의 경로를 통하여 조직내로 유리되

Table 2. A list of prominent damage-associated molecular patterns (DAMPs) associated with cell stress/cell death and/or tissue injury

DAMP	Mode of emission	Cognate receptor
Adenosine triphosphate (ATP)	Mostly passively released; sometimes actively secreted	P2Y2; P2X7; (indirectly: NLRP3)
Biglycan (BGN)	Extracellular matrix	TLR2, TLR4, P2X4, P2X7
Calreticulin (CALR)	Mostly surface exposed; sometimes passively released	CD91
Fibrinogen	Extracellular matrix	TLR4
Fibronectin extra domain A	Extracellular matrix	TLR4?
Heat shock proteins HSP70/72, HSP90, HSP60	Surface exposed; actively secreted; passively released	TLR2, TLR4, CD91, SREC-1, FEEL-1
Heparan sulfate fragments	Extracellular matrix	TLR4
High-mobility group box 1 (HMGB1)	Mostly passively released; sometimes actively secreted	TLR2, TLR4, RAGE, TIM3
Hyaluronan fragments (fHA)	Extracellular matrix	TLR2, TLR4, NLRP3?
MHC class I chain-related proteins (MICs)	Surface exposed	NKG2D
Monosodium urate (MSU) or uric acid	Passively released	Purinergic receptors (indirect: NLRP3)
Nonmuscle myosin II-A heavy chain (NMHC-II)	Surface exposed	Pre-existing natural IgM antibodies
Oxidation-specific molecules/epitopes	Passively released	CD36, SR-A, TLR2/4, CD14, natural IgM antibodies
S100 proteins (e.g. S100 A1/8/9/12)	Passively released	RAGE, TLR4

Abbreviations: AIM2, absent in melanoma 2; CD, cluster of differentiation; cGAS, cyclic GMP-AMP synthase; cytDNA, cytosolic DNA; FEEL-1, fasciclin epidermal growth factor-like/common lymphatic endothelial and vascular endothelial receptor-1; mtDNA, mitochondrial DNA; NKG2D, natural-killer group 2, member D; NLRP3, NLR family, pyrin domain-containing protein 3; P2X7, purinergic P2X7 receptor; P2Y2, purinergic P2Y2 receptor; RAGE, receptor for advanced glycation end products; RIG-I, retinoic acid inducible gene I; SREC-1, scavenger receptor class f member 1; TIM, transmembrane immunoglobulin and mucin domain; TLR, toll-like receptor.

고, 퓨린 수용체(purinergic receptor), NLR, RLR과 같은 다양한 PRR과 반응한다(53,54).

공여자의 뇌사상태는 ROS에 의한 산화성 스트레스를 유발하여 ER 스트레스와 세포자멸사를 유도함으로써 다양한 종류의 DAMP의 출현을 유도하여 이식편내의 면역 세포와 실질세포의 PRR을 활성화 시킴으로써 염증반응을 일으킨다(30,55-57). 실제로 뇌사 공여자에서 DAMP, PRR, 보체계와 IL-1β와 같은 사이토카인과 키모카인 수용체 발현의 증가 소견을 관찰할 수 있다(7,58-61).

염증반응에 관련된 세포

1. 중성구(neutrophil)

중성구는 IRI에서 초기에 손상조직으로 침윤된다. 중성구가 재관류 30분 후에 활성화된 혈관내피세포에 부착되고 신장간질에 축적되는 것이 실험동물모델과 급성 신손상 환자에서 관찰되었다(62). 중성구의 LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1)과 혈관내피세포의 ICAM-1 간의 작용에 의해서 중성구의 혈관부착이 일어난다. 중성구는 ROS, myeloperoxidase와 IL-17과 같은 사이토카인을

합성하여 조직손상을 일으킨다(63). IRI에서 중성구의 유효한 효과는 실험동물에서는 규명되었으나(64), 임상에서는 그 역할이 입증되지 않았다(65). 중성구의 혈관부착을 억제하는 항-ICAM-1은 18명의 뇌사 신장이식환자들을 대상으로 한 1상 임상시험에서 DGF 발생을 감소시키는 효과를 보였으나(66) 3상 연구에서는 ICAM-1 차단효과가 DGF 발생 감소효과를 나타내지 못했다(67).

2. 대식세포(macrophage)

대식세포는 중성구 이동에 바로 이어서 손상된 조직에 침윤된다. 대식세포는 조직손상뿐만 아니라 손상 후 복구와 섬유화에도 관여한다. 순환하는 단핵구가 손상된 조직으로 침윤되어 대식세포로 분화된다. 대식세포는 손상된 조직의 주위 환경과 시간의 경과에 따라 항염증성 M1 대식세포와 항염증성 M2 대식세포로 분화된다(68). M1 표현형은 탐식작용의 활성화를 보이고 유도성 산화질소합성효소 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)를 상향조절하여 ROS합성을 증가시킨다(68). M2 대식세포는 3종류의 아형으로 구성된다. M2a형은 IL-4혹은 IL-13에 의해 유도된다. M2b형 면역복합체와 함께 LPS에 의해 유도되며,

M2c 형은 IL-10, TGF-β와 당류코르티코이드와 같은 항염 증성 물질들에 의해 유도 된다(68). M2대식세포는 조직복 구와 염증반응의 조절에 관여한다. M2 대식세포는 IL-10 을 합성하고, 탐식능력의 감소를 보이고, iNOS보다 arginase를 상향 조절한다. Arginase의 활성화는 arginine과 대 사산물로부터 콜라겐의 합성을 촉진시킨다(68).

TLR4의 활성화는 IRI에 대한 염증성 면역반응의 중요 한 시작 단계이다(69,70). 신장 IRI에서 HMGB1와 같은 DAMP와 대식세포 TLR4의 결합은 대식세포의 활성화를 유도한다(58,71). TLR4신호는 연결물질인 MyD88을 통하 여 궁극적으로 NF-κB를 활성화 시킨다. NF-κB는 IL-1, IL-6, IL-18, TNF-α와 같은 염증성 사이토카인의 전사를 일으킨다(72-74). 이러한 사이토카인들은 키모카인과 부 착물질들을 통해서 다른 실행세포들의 침윤을 촉진시키 고, 대식세포를 M1 표현형으로 유도하는 환경을 조성한 다. 조직손상과 더불어 IRI는 적응면역반응을 활성화 한

다. TLR에 의한 대식세포의 활성화는 phagosome을 성숙 시켜 항원처리 과정을 촉진시키고, MHC II의 발현과 CD40, CD80과 CD86과 같은 공통자극물질의 발현을 증가 시켜 CD4 T 림프구를 활성화 시킴으로써 적응면역반응을 촉진시킨다(51). 활성화된 T 림프구는 IFN-γ를 합성하여 M1 대식세포를 활성화하여 염증반응을 증폭시킨다.

IRI에서 대식세포는 조직의 치유와 복구에 관여한다. 실험동물 IRI 모델에서 M-CSF를 주사하면 세뇨관상피세포 의 증식이 촉진되는 것이 관찰 되었으며 이것은 M2대식세 포의 축적과 관계가 있다(75). M2 대식세포는 상처치유 대식세포와 면역조절 대식세포로 구성된다. M2 대식세포 를 유도하는 요인들은 확실히 규명되지 않았지만, 세포상 해 염증반응으로 자멸사된 세포의 탐식이나 염증반응 장 소의 환경적 변화가 대식세포의 전사인자 변화를 유도하 여 M2 표현형으로 유도될 것으로 생각되고 있다(76). 상 처치유 대식세포는 세포의 기질을 합성하는데, 조절의 장

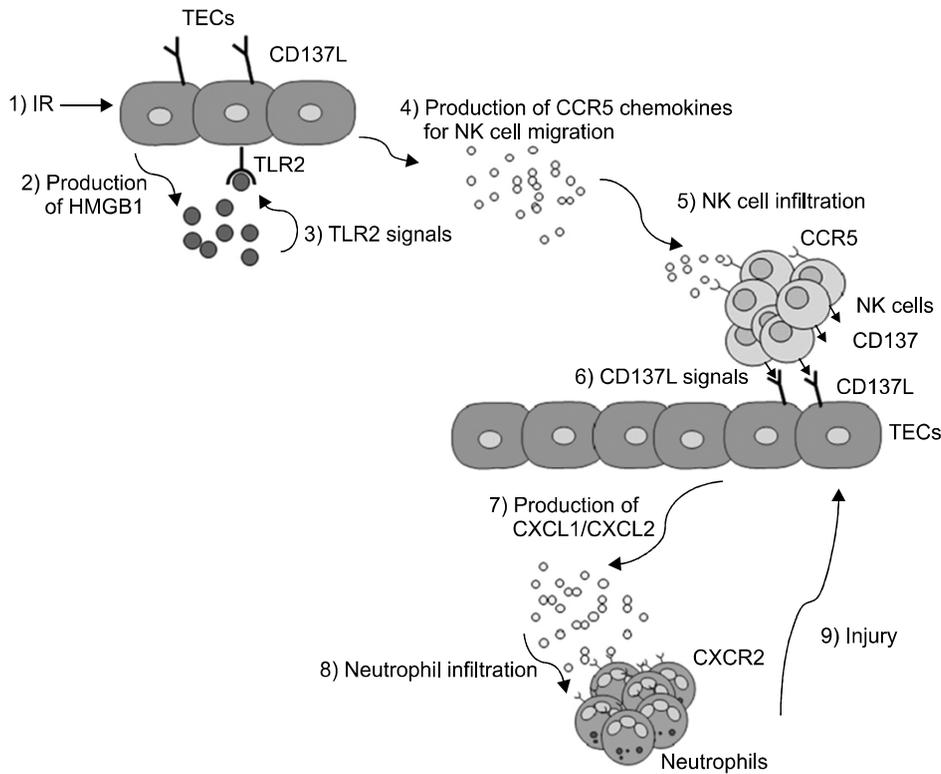


Fig. 3. An example of model summarizing the role of the tubular epithelial cell/NK cell/neutrophil axis in kidney IRI. Injury to TECs following IRI (step 1) promotes release of HMGB1 (step 2). This molecule stimulates TECs to produce CCR5 chemokines through TLR2 activation (step 3) in an autocrine fashion. CCR5 chemokines in turn induce NK cell recruitment (step 5). Infiltrated NK cells use their cell surface molecule CD137 to stimulate CD137L on the surface of TECs (step 6). CD137L signaling results in the production of additional signaling molecules, CXCL1 and CXCL2, in TECs (step 7). Once infiltrated (step 8), neutrophils participate in active tissue destruction (step 9). Abbreviations: CCR5, chemokine receptors 5; CD137L, CD137 ligand; CXCL1, CXC chemokine ligand 1; CXCR2, C-X-C chemokine receptor type 2; HMGB1, High mobility group box-1 protein; IR, ischemia-reperfusion; NK cells, Natural killer cells; TECs, tubular epithelial cells; TLR2, toll like receptor 2. Reprinted from Fig. 6 of reference [80].

애가 있으면 조직의 섬유화를 초래 할 수 있다(77). 면역조절 대식세포는 IL-10과 TGF- β 를 합성하여 항염증반응을 유도하고 조직상해를 일으키는 면역반응을 감소시킨다(76,78). IRI를 완화하기 위해 M2 대식세포 중 면역조절 대식세포의 기능을 선택적으로 증가 시켜 조직손상을 감소시키고, 재생을 촉진시킬 수 있는 방법들을 치료 수단으로 모색하고 있다.

3. 자연살해세포(natural killer cell, NK cell)

자연살해세포는 B 세포 수용체나 T 세포 수용체가 없는 세포독성 림프구다. 바이러스에 감염된 세포와 같은 비정상적인 세포를 직접 살해하거나 IFN- γ 와 TNF- α 를 합성하여 간접적으로 제거한다. IRI에서 자연살해세포는 손상 받은 세뇨관 상피세포를 직접 용해 시킬 수 있다(79). 저자의 그룹에서는 IRI초기 자연살해 세포가 세뇨관 상피세포와의 상호작용으로 중성구를 침윤시켜 손상을 유발하고 염증을 증폭시키는 새로운 염증반응 경로를 확인하였다(80,81) (Fig. 3).

4. 수지상 세포(dendritic cells, DC)

DC는 정상적으로 조직에 상주 하는 세포이다. 신장의 DC는 간질조직에 상주하면서 병원에 대해서 초기 면역반응을 일으키는 중요한 역할을 한다. IRI에서 DC는 초기 염증반응을 일으킨다(82). DC는 수지상 돌기를 통하여 주위조직을 탐색하는 감시계를 형성한다. IRI에 의해 조직손상이 초래되면 DC의 기능적 변화가 초래된다(83). DC의 주된 역할은 T 림프구에 항원을 제시하는 것인데 DC의 다른 중요한 역할은 TNF- α 의 분비를 통하여 IRI의 염증신호를 형성하는 것이다(84). TNF- α 는 혈관내피세포에 결합하여 세포자멸사를 유도하고 동종항원의 생성을 증가시킨다. 또한 부착물질을 상호조절 시키고 염증세포의 혈관외 일출(extravasation)을 촉진시킨다(84). IRI는 이식편에 DC의 침윤을 증가시키고 DGF와 급성거부반응을 조장할 수 있다(85).

5. 자연살해 T 세포(natural killer T cell, NKT cell)와 T 림프구의 선천면역반응 참여

NKT 세포는 선천면역 림프구로서 전통적인 T 림프구와 NK 세포의 특징을 공유하고 있다. NKT세포는 항원제시세포(antigen presenting cell, APC) 표면에서 MHC I과 유사한 단백질 CD1d에 의해서 제시된 당지질 항원을 인지한다. I형 NKT 세포는 불변의 T세포 수용체(T cell receptor, TCR)- α 사슬을 발현하는 반면 II형 NKT 세포는

다양한 레퍼토리의 TCR을 발현한다. CD1d 제한을 받는 I형 NKT 세포는 α -galactosylceramide를 인지한다(86). NKT 세포는 TCR 자극에 의해 IL-2와 IFN- γ 와 같은 Th1형 사이토카인과 Th2 (IL-4, IL-10) 사이토카인을 신속하게 합성하여 IRI에서 염증반응을 개시한다(87,88). 초기의 NKT 세포 반응 이후에 DC를 비롯한 다른 면역세포들의 단계적인 활성화가 진행된다(89).

CD4 T 림프구는 다른 선천면역세포와 함께 IRI의 초기에 출현한다. IRI의 초기 염증반응에서 T림프구 화학적 주성인자인 IL-16을 차단하였을 때 CD4 림프구의 침윤 감소와 함께 조직손상이 일어나지 않는 소견을 관찰함으로써 IRI 염증반응에서의 CD4 림프구의 역할을 확인하였다(90). 세포의 침윤의 시기를 관찰한 연구에 의하면 CD4 림프구는 IRI 유도 1시간 내에 염증부위로 나타나기 시작한다(91). 허혈에 의해 혈관내피세포의 B7.1의 발현이 증가하게 되는데, CD28-B7.1의 상호작용에 의해 T 림프구가 염증부위로 이동한다(92). CTLA4 면역글로불린으로 CD28-B7.1경로를 차단하였을 때 IRI에 의한 조직 손상이 현저히 감소하였다(93). IRI에서 T 림프구가 조직손상을 일으키는 기전은 확실하게 규명되지 않았지만, 항원 특이적 혹은 비특이적으로 활성화 되어 무균성 염증반응을 일으키는 것으로 생각되고 있다(94,95). IRI 유도 24시간 후에 조직에 침윤된 T림프구는 IFN- γ 와 TNF- α 를 분비해 염증반응을 증폭시킬 수 있다(96).

조절 T 림프구(regulatory T cell, Treg)은 IRI에서 조직손상을 감소시키고, 조직복구에 관여한다. Treg 세포를 입양 전달하면 IRI에 의한 손상이 감소되며 이는 Treg에서 합성된 IL-10이 TNF- α 와 IFN- γ 의 염증부위 축적을 감소시키는 기전에 의한 것으로 생각되고 있다(97). Treg 세포 치료와 약제로 체내에서의 Treg 세포를 확장하는 방법이 IRI의 치료 전략으로 고안되고 있다(98,99).

6. 보체(Complement)

보체는 선천면역반응에 중요한 역할을 하며 IRI에서도 염증반응에 관여한다. DAMP는 C1q, C3 혹은 mannose-lectin과 결합하여 보체계의 3가지 경로 모두를 활성화 시킬 수 있다(12). 보체계가 활성화 되면 C3a, C5a와 같은 anaphylatoxin들과 막공격복합체(membrane attack complex, MAC, D5b-C9)가 형성된다. 그 결과로 면역세포들의 침윤과 활성화가 일어나 세포괴사와 세포자멸사가 일어난다(100). 공여자 뇌사상태에서는 보체계가 활성화 되어 C5a 합성이 증가한다. C5a 수용체를 발현하는 DC는 뇌사 공여자에서 활성화 되어 T림프구를 활성화 시킬 수 있다(101).

세노관상피세포는 Crry, Decay accelerating factor (DAF, CD55), CD59와 같은 보체조절 단백을 발현하지만 IRI에서는 이러한 조절단백의 기능변화에 의해 보체 활성이 용이하게 일어날 수 있다(102).

IRI에서는 “선천성 자가염증반응”을 야기할 수 있다. IRI에 의한 조직손상은 새로운 항원결정기(neo-epitope)의 노출을 야기하여, 소위 “자연항체”로 불리는 B1 림프구에서 생성되는 자가반응 IgM 혹은 일부 IgG의 면역반응을 유도한다. 자연항원/항체 면역복합체는 보체계를 활성화하여 염증반응을 증폭시킬 수 있다(103,104). 최근 보체의 활성화의 억제를 표적으로 하는 치료가 임상적으로 중요한 전략으로 제안되고 있다.

7. 혈관내피세포와 세노관 상피세포의 역할

신장조직의 허혈은 신세노관 상피세포의 세포자멸사와 세포괴사를 초래하여 간질의 염증반응을 증폭시키고 재관류는 미세혈관 병변을 야기하여 손상을 악화시킨다. 재관류는 혈관내피세포의 팽창, 내피세포에서 ICAM-1, E-selectin, P-selectin의 발현증가와 혈관투과성을 증가시켜 백혈구의 삼출을 일으킨다(105,106). 혈관내피세포의 기능장애로 산화질소와 같은 혈관확장물질 합성이 감소되어 혈관수축이 일어난다(107). ICAM-1의 발현 증가는 중성구의 부착과 삼출을 유도한다(108). 혈관내피세포는 CX3CL1과 같은 키모카인의 발현도 증가시켜 대식세포의 부착과 간질로 이동을 촉진시킨다(109).

세노관 상피세포는 안정상태에서도 TLR2와 TLR4를 발현하며, 자극에 의해 키모카인을 분비한다. IRI는 상피세포에서 PRR의 발현을 증가시킨다(110-112). IRI로 인한 신세노관 상피 손상은 DAMP를 생성하여 상피세포의 PRR을 자가분비형태로 자극하여 손상과 염증반응을 매개한다(113). 실험동물 모델에서 신실질세포의 TLR4를 결핍시키면 신세노관 상피세포에서 키모카인과 염증성 사이토카인 합성을 증가시키는 것을 차단하여 중성구와 대식세포의 침윤을 감소시켰다(110). 이러한 소견들은 신세노관 상피세포는 IRI에서 손상의 표적이 될 뿐 아니라 염증반응과 복구에 직접 역할을 할 수 있다는 것을 시사하는 것이다. IRI에서 TLR 신호의 차단은 무균성 염증반응을 완화시킬 수 있는 표적이 될 수 있다.

8. 세포간 작용에 의한 순차적인 염증반응과 반응의 증폭

여러 종류의 면역세포들은 IRI에서 고유의 기능을 한다. 손상된 조직의 제거와 복구를 위해 상피세포와 같은 실질세포도 염증반응에 직접 참여한다. 각각 세포들은 협동에

의해 순차적인 염증반응경로를 형성할 수 있고 염증반응을 증폭시킬 수 있다. IRI에서 일어나는 염증반응에서는 많은 여분의(redundant) 염증경로들이 존재할 것으로 생각되고 있다. 저자의 그룹은 세노관 상피세포, NK 세포와 중성구가 형성하는 염증반응 경로를 확인하였다(80,81) (Fig. 3).

결론

이식과정에서 동반되는 IRI는 이식편의 초기 임상경과뿐만 아니라, 장기간 이식편 성적에도 영향을 미친다. IR에 의한 ROS의 생성, 세포 스트레스/사망의 초래로 DAMP와 같은 염증유발인자들의 형성과 실체를 확인하고, 염증반응에서 각 면역세포들의 역할을 규명하는 성과들이 최근의 연구들에서 있었다. IRI에 의한 무균성 염증반응은 조직 복구에도 역할을 하기 때문에 염증반응은 손상과 복구의 연속되는 과정에서 필수적인 것으로 생각되고 있다. 손상과 복구의 상호관계, 염증에 의한 조직손상과 복구반응이 일어나는 시기별 변화, 복구반응을 시작하게 하는 신호와 미세환경, 각 환경에서의 면역세포의 기능변화 그리고 면역세포 각각의 역할과 상호작용으로 인한 상승적 효과들과 같은 것들이 규명되면 IRI의 면역학적 기전을 좀더 완성할 수 있을 것이다. 향후의 이러한 성과는 새로운 진단적 그리고 치료적 표적을 제공하여 장기이식 성적 향상에 기여할 것으로 기대된다.

REFERENCES

- 1) Johnson KJ, Weinberg JM. Postischemic renal injury due to oxygen radicals. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993;2: 625-35.
- 2) Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004;364: 1814-27.
- 3) Kosieradzki M, Rowinski W. Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. *Transplant Proc* 2008;40:3279-88.
- 4) Ali S, Sheerin NS. Biomarkers of acute injury: predicting the long-term outcome after transplantation. *Kidney Int* 2013;84:1072-4.
- 5) Gjertson DW, Cecka JM. Living unrelated donor kidney transplantation. *Kidney Int* 2000;58:491-9.
- 6) Sapir-Pichhadze R, Young A, Joseph Kim S. Living donor age and kidney transplant outcomes: an assessment of risk across the age continuum. *Transpl Int* 2013;26:

- 493-501.
- 7) Damman J, Daha MR, van Son WJ, Leuvenink HG, Ploeg RJ, Seelen MA. Crosstalk between complement and Toll-like receptor activation in relation to donor brain death and renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Transplant* 2011;11:660-9.
 - 8) Westendorp WH, Leuvenink HG, Ploeg RJ. Brain death induced renal injury. *Curr Opin Organ Transplant* 2011;16:151-6.
 - 9) Fuquay R, Renner B, Kulik L, McCullough JW, Amura C, Strassheim D, et al. Renal ischemia-reperfusion injury amplifies the humoral immune response. *J Am Soc Nephrol* 2013;24:1063-72.
 - 10) Pratt JR, Basheer SA, Sacks SH. Local synthesis of complement component C3 regulates acute renal transplant rejection. *Nat Med* 2002;8:582-7.
 - 11) Menke J, Sollinger D, Schamberger B, Heemann U, Lutz J. The effect of ischemia/reperfusion on the kidney graft. *Curr Opin Organ Transplant* 2014;19:395-400.
 - 12) Ponticelli C. Ischaemia-reperfusion injury: a major protagonist in kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29:1134-40.
 - 13) Ortiz F, Paavonen T, Tornroth T, Koskinen P, Finne P, Salmela K, et al. Predictors of renal allograft histologic damage progression. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:817-24.
 - 14) Denecke C, Tullius SG. Innate and adaptive immune responses subsequent to ischemia-reperfusion injury in the kidney. *Prog Urol* 2014;24 Suppl 1:S13-9.
 - 15) Cavaille-Coll M, Bala S, Velidedeoglu E, Hernandez A, Archdeacon P, Gonzalez G, et al. Summary of FDA workshop on ischemia reperfusion injury in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2013;13:1134-48.
 - 16) Gueler F, Gwinner W, Schwarz A, Haller H. Long-term effects of acute ischemia and reperfusion injury. *Kidney Int* 2004;66:523-7.
 - 17) Chen GY, Nunez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol* 2010;10:826-37.
 - 18) Iyer SS, Pulsikens WP, Sadler JJ, Butter LM, Teske GJ, Ulland TK, et al. Necrotic cells trigger a sterile inflammatory response through the Nlrp3 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:20388-93.
 - 19) McDonald B, Pittman K, Menezes GB, Hirota SA, Slaba I, Waterhouse CC, et al. Intravascular danger signals guide neutrophils to sites of sterile inflammation. *Science* 2010;330:362-6. Erratum in *Science*. 2011 Mar 25;331(6024):1517.
 - 20) Wahl LM, Shankavaram U, Zhang Y. Role of macrophages in vascular tissue remodelling. *Transpl Immunol* 1997;5:173-6.
 - 21) Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003;21:335-76.
 - 22) Callahan MK, Halleck MS, Kraehling S, Henderson AJ, Williamson P, Schlegel RA. Phosphatidylserine expression and phagocytosis of apoptotic thymocytes during differentiation of monocytic cells. *J Leukoc Biol* 2003;74:846-56.
 - 23) Lavelle EC, Murphy C, O'Neill LA, Creagh EM. The role of TLRs, NLRs, and RLRs in mucosal innate immunity and homeostasis. *Mucosal Immunol* 2010;3:17-28.
 - 24) Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010;140:805-20.
 - 25) Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010;140:821-32.
 - 26) Chouchani ET, Pell VR, James AM, Work LM, Saeb-Parsy K, Frezza C, et al. A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury. *Cell Metab* 2016;23:254-63.
 - 27) Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:1404-7.
 - 28) Montezano AC, Touyz RM. Reactive oxygen species and endothelial function: role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012;110:87-94.
 - 29) Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012;298:229-317.
 - 30) Linkermann A, Hackl MJ, Kunzendorf U, Walczak H, Krautwald S, Jevnikar AM. Necroptosis in immunity and ischemia-reperfusion injury. *Am J Transplant* 2013;13:2797-804.
 - 31) Silke J, Rickard JA, Gerlic M. Erratum: the diverse role of RIP kinases in necroptosis and inflammation. *Nat Immunol* 2015;16:889.
 - 32) Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, et al. Essential versus accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death Differ* 2015;22:58-73.
 - 33) Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE. Cell death. *N Engl J Med* 2009;361:1570-83.
 - 34) Chekeni FB, Elliott MR, Sandilos JK, Walk SF, Kinchen JM, Lazarowski ER, et al. Pannexin 1 channels mediate 'find-me' signal release and membrane permeability during apoptosis. *Nature* 2010;467:863-7.
 - 35) Wickman GR, Julian L, Mardilovich K, Schumacher S, Munro J, Rath N, et al. Blebs produced by actin-myosin contraction during apoptosis release damage-associated molecular pattern proteins before secondary necrosis

- occurs. *Cell Death Differ* 2013;20:1293-305.
- 36) Mulay SR, Linkermann A, Anders HJ. Necroinflammation in Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:27-39.
 - 37) Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nat Cell Biol* 2011;13:184-90.
 - 38) Finka A, Sharma SK, Goloubinoff P. Multi-layered molecular mechanisms of polypeptide holding, unfolding and disaggregation by HSP70/HSP110 chaperones. *Front Mol Biosci* 2015;2:29.
 - 39) Hetz C, Chevet E, Oakes SA. Proteostasis control by the unfolded protein response. *Nat Cell Biol* 2015;17:829-38.
 - 40) Dixon SJ, Patel DN, Welsch M, Skouta R, Lee ED, Hayano M, et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis. *Elife* 2014;3:e02523.
 - 41) Ciccica A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell* 2010;40:179-204.
 - 42) Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 2009;461:1071-8.
 - 43) Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol* 2007;81:1-5.
 - 44) Rubartelli A, Lotze MT. Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends Immunol* 2007;28:429-36.
 - 45) Gallo PM, Gallucci S. The dendritic cell response to classic, emerging, and homeostatic danger signals. Implications for autoimmunity. *Front Immunol* 2013;4:138.
 - 46) Zhou JQ, Qiu T, Zhang L, Chen ZB, Wang ZS, Ma XX, et al. Allopurinol preconditioning attenuates renal ischemia/reperfusion injury by inhibiting HMGB1 expression in a rat model. *Acta Cir Bras* 2016;31:176-82.
 - 47) Sugihara M, Sadamori H, Nishibori M, Sato Y, Tazawa H, Shinoura S, et al. Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody improves ischemia/reperfusion injury and mode of liver regeneration after partial hepatectomy. *Am J Surg* 2016;211:179-88.
 - 48) Venereau E, Ceriotti C, Bianchi ME. DAMPs from cell death to new life. *Front Immunol* 2015;6:422.
 - 49) Tsung A, Tohme S, Billiar TR. High-mobility group box-1 in sterile inflammation. *J Intern Med* 2014;276:425-43.
 - 50) Manfredi AA, Capobianco A, Bianchi ME, Rovere-Querini P. Regulation of dendritic- and T-cell fate by injury-associated endogenous signals. *Crit Rev Immunol* 2009;29:69-86.
 - 51) Chalasani G, Li Q, Konieczny BT, Smith-Diggs L, Wrobel B, Dai Z, et al. The allograft defines the type of rejection (acute versus chronic) in the face of an established effector immune response. *J Immunol* 2004;172:7813-20.
 - 52) Nace G, Evankovich J, Eid R, Tsung A. Dendritic cells and damage-associated molecular patterns: endogenous danger signals linking innate and adaptive immunity. *J Innate Immun* 2012;4:6-15.
 - 53) Garg AD, Krysko DV, Verfaillie T, Kaczmarek A, Ferreira GB, Marysael T, et al. A novel pathway combining calreticulin exposure and ATP secretion in immunogenic cancer cell death. *EMBO J* 2012;31:1062-79.
 - 54) Colombaro V, Jadot I, Declèves AE, Voisin V, Giordano L, Habsch I, et al. Lack of hyaluronidases exacerbates renal post-ischemic injury, inflammation, and fibrosis. *Kidney Int* 2015;88:61-71.
 - 55) Venner JM, Famulski KS, Badr D, Hidalgo LG, Chang J, Halloran PF. Molecular landscape of T cell-mediated rejection in human kidney transplants: prominence of CTLA4 and PD ligands. *Am J Transplant* 2014;14:2565-76.
 - 56) Otterbein LE, Fan Z, Koulmanda M, Thronley T, Strom TB. Innate immunity for better or worse govern the allograft response. *Curr Opin Organ Transplant* 2015;20:8-12.
 - 57) Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation: from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:79-89.
 - 58) Kruger B, Krick S, Dhillon N, Lemer SM, Ames S, Bromberg JS, et al. Donor Toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:3390-5.
 - 59) Velasquez-Lopera MM, Correa LA, Garcia LF. Human spleen contains different subsets of dendritic cells and regulatory T lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 2008;154:107-14.
 - 60) Chen L, Xu D, Gao Y, Cui X, Du Z, Ding Q, et al. Effect of donor JNK signal transduction inhibition on transplant outcome in brain dead rat model. *Inflammation* 2012;35:122-9.
 - 61) Rostron AJ, Cork DM, Avlonitis VS, Fisher AJ, Dark JH, Kirby JA. Contribution of Toll-like receptor activation to lung damage after donor brain death. *Transplantation* 2010;90:732-9.
 - 62) Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1503-20.
 - 63) Thurman JM, Royer PA, Ljubanovic D, Dursun B, Lenderink AM, Edelstein CL, et al. Treatment with an inhibitory monoclonal antibody to mouse factor B protects mice from induction of apoptosis and renal ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:707-15.
 - 64) Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Meehan SM, Springer TA, Gutierrez-Ramos JC, et al. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal

- injury. *J Clin Invest* 1996;97:1056-63.
- 65) Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Bonventre JV. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:812-6.
 - 66) Haug CE, Colvin RB, Delmonico FL, Auchincloss H Jr, Tolckoff-Rubin N, Preffer FI, et al. A phase I trial of immunosuppression with anti-ICAM-1 (CD54) mAb in renal allograft recipients. *Transplantation* 1993;55:766-72; discussion 772-3.
 - 67) Salmela K, Wramner L, Ekberg H, Hauser I, Bentsdal O, Lins LE, et al. A randomized multicenter trial of the anti-ICAM-1 monoclonal antibody (enlimomab) for the prevention of acute rejection and delayed onset of graft function in cadaveric renal transplantation: a report of the European Anti-ICAM-1 Renal Transplant Study Group. *Transplantation* 1999;67:729-36.
 - 68) Kwan T, Wu H, Chadban SJ. Macrophages in renal transplantation: roles and therapeutic implications. *Cell Immunol* 2014;291:58-64.
 - 69) Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005;201:1135-43.
 - 70) Messmer D, Yang H, Telusma G, Knoll F, Li J, Messmer B, et al. High mobility group box protein 1: an endogenous signal for dendritic cell maturation and Th1 polarization. *J Immunol* 2004;173:307-13.
 - 71) Kielar ML, John R, Bennett M, Richardson JA, Shelton JM, Chen L, et al. Maladaptive role of IL-6 in ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3315-25.
 - 72) Donnahoo KK, Meng X, Ayala A, Cain MP, Harken AH, Meldrum DR. Early kidney TNF-alpha expression mediates neutrophil infiltration and injury after renal ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1999;277:R922-9.
 - 73) Wu H, Craft ML, Wang P, Wyburn KR, Chen G, Ma J, et al. IL-18 contributes to renal damage after ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:2331-41.
 - 74) Dong X, Swaminathan S, Bachman LA, Croatt AJ, Nath KA, Griffin MD. Resident dendritic cells are the predominant TNF-secreting cell in early renal ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 2007;71:619-28.
 - 75) Alikhan MA, Jones CV, Williams TM, Beckhouse AG, Fletcher AL, Kett MM, et al. Colony-stimulating factor-1 promotes kidney growth and repair via alteration of macrophage responses. *Am J Pathol* 2011;179:1243-56.
 - 76) 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;101:890-8.
 - 77) Huen SC, Cantley LG. Macrophage-mediated injury and repair after ischemic kidney injury. *Pediatr Nephrol* 2015;30:199-209.
 - 78) Filardy AA, Pires DR, Nunes MP, Takiya CM, Freire-de-Lima CG, Ribeiro-Gomes FL, et al. Proinflammatory clearance of apoptotic neutrophils induces an IL-12(low) IL-10(high) regulatory phenotype in macrophages. *J Immunol* 2010;185:2044-50.
 - 79) Zhang ZX, Shek K, Wang S, Huang X, Lau A, Yin Z, et al. Osteopontin expressed in tubular epithelial cells regulates NK cell-mediated kidney ischemia reperfusion injury. *J Immunol* 2010;185:967-73.
 - 80) Kim HJ, Lee JS, Kim A, Koo S, Cha HJ, Han JA, et al. TLR2 signaling in tubular epithelial cells regulates NK cell recruitment in kidney ischemia-reperfusion injury. *J Immunol* 2013;191:2657-64.
 - 81) Kim HJ, Lee JS, Kim JD, Cha HJ, Kim A, Lee SK, et al. Reverse signaling through the costimulatory ligand CD137L in epithelial cells is essential for natural killer cell-mediated acute tissue inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:E13-22.
 - 82) Lemley KV, Kriz W. Anatomy of the renal interstitium. *Kidney Int* 1991;39:370-81.
 - 83) Soos TJ, Sims TN, Barisoni L, Lin K, Littman DR, Dustin ML, et al. CX3CR1+ interstitial dendritic cells form a contiguous network throughout the entire kidney. *Kidney Int* 2006;70:591-6.
 - 84) Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2003;3:745-56.
 - 85) Loverre A, Capobianco C, Stallone G, Infante B, Schena A, Ditonno P, et al. Ischemia-reperfusion injury-induced abnormal dendritic cell traffic in the transplanted kidney with delayed graft function. *Kidney Int* 2007;72:994-1003.
 - 86) Diao H, Kon S, Iwabuchi K, Kimura C, Morimoto J, Ito D, et al. Osteopontin as a mediator of NKT cell function in T cell-mediated liver diseases. *Immunity* 2004;21:539-50.
 - 87) Sharma AK, LaPar DJ, Zhao Y, Li L, Lau CL, Kron IL, et al. Natural killer T cell-derived IL-17 mediates lung ischemia-reperfusion injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:1539-49.
 - 88) Lappas CM, Day YJ, Marshall MA, Engelhard VH, Linden J. Adenosine A2A receptor activation reduces hepatic ischemia reperfusion injury by inhibiting CD1d-dependent NKT cell activation. *J Exp Med* 2006;203:2639-48.
 - 89) Li L, Huang L, Sung SS, Lobo PI, Brown MG, Gregg RK, et al. NKT cell activation mediates neutrophil IFN-gamma production and renal ischemia-reperfusion injury. *J*

- Immunol 2007;178:5899-911.
- 90) Wang S, Diao H, Guan Q, Cruikshank WW, Delovitch TL, Jevnikar AM, et al. Decreased renal ischemia-reperfusion injury by IL-16 inactivation. *Kidney Int* 2008; 73:318-26.
 - 91) Burne MJ, Daniels F, El Ghandour A, Mauyyedi S, Colvin RB, O'Donnell MP, et al. Identification of the CD4(+) T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 2001;108:1283-90.
 - 92) De Greef KE, Ysebaert DK, Dauwe S, Persy V, Vercauteren SR, Mey D, et al. Anti-B7-1 blocks mononuclear cell adherence in vasa recta after ischemia. *Kidney Int* 2001;60: 1415-27.
 - 93) Takada M, Chandraker A, Nadeau KC, Sayegh MH, Tilney NL. The role of the B7 costimulatory pathway in experimental cold ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 1997;100:1199-203.
 - 94) Shen X, Wang Y, Gao F, Ren F, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW, et al. CD4 T cells promote tissue inflammation via CD40 signaling without de novo activation in a murine model of liver ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2009;50:1537-46.
 - 95) Satpute SR, Park JM, Jang HR, Agreda P, Liu M, Gandolfo MT, et al. The role for T cell repertoire/antigen-specific interactions in experimental kidney ischemia reperfusion injury. *J Immunol* 2009;183:984-92.
 - 96) Ascon DB, Lopez-Briones S, Liu M, Ascon M, Savransky V, Colvin RB, et al. Phenotypic and functional characterization of kidney-infiltrating lymphocytes in renal ischemia reperfusion injury. *J Immunol* 2006;177:3380-7.
 - 97) Liesz A, Suri-Payer E, Veltkamp C, Doerr H, Sommer C, Rivest S, et al. Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke. *Nat Med* 2009;15:192-9.
 - 98) Nadig SN, Wieckiewicz J, Wu DC, Warnecke G, Zhang W, Luo S, et al. In vivo prevention of transplant arteriosclerosis by ex vivo-expanded human regulatory T cells. *Nat Med* 2010;16:809-13.
 - 99) Tao R, de Zoeten EF, Ozkaynak E, Chen C, Wang L, Porrett PM, et al. Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nat Med* 2007;13: 1299-307.
 - 100) Chen G, Chen S, Chen X. Role of complement and perspectives for intervention in transplantation. *Immunobiology* 2013;218:817-27.
 - 101) van der Touw W, Cravedi P, Kwan WH, Paz-Artal E, Merad M, Heeger PS. Cutting edge: receptors for C3a and C5a modulate stability of alloantigen-reactive induced regulatory T cells. *J Immunol* 2013;190:5921-5.
 - 102) Thurman JM, Ljubanovic D, Royer PA, Kraus DM, Molina H, Barry NP, et al. Altered renal tubular expression of the complement inhibitor Crry permits complement activation after ischemia/reperfusion. *J Clin Invest* 2006;116: 357-68.
 - 103) Zhang M, Alicot EM, Chiu I, Li J, Verna N, Vorup-Jensen T, et al. Identification of the target self-antigens in reperfusion injury. *J Exp Med* 2006;203:141-52.
 - 104) Kulik L, Fleming SD, Moratz C, Reuter JW, Novikov A, Chen K, et al. Pathogenic natural antibodies recognizing annexin IV are required to develop intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Immunol* 2009;182:5363-73.
 - 105) Singbartl K, Ley K. Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin. *Crit Care Med* 2000;28:2507-14.
 - 106) Takada M, Nadeau KC, Shaw GD, Marquette KA, Tilney NL. The cytokine-adhesion molecule cascade in ischemia/reperfusion injury of the rat kidney. Inhibition by a soluble P-selectin ligand. *J Clin Invest* 1997;99:2682-90.
 - 107) Sutton TA, Fisher CJ, Molitoris BA. Microvascular endothelial injury and dysfunction during ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2002;62:1539-49.
 - 108) Garcia JG. Concepts in microvascular endothelial barrier regulation in health and disease. *Microvasc Res* 2009; 77:1-3.
 - 109) Oh DJ, Dursun B, He Z, Lu L, Hoke TS, Ljubanovic D, et al. Fractalkine receptor (CX3CR1) inhibition is protective against ischemic acute renal failure in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;294:F264-71.
 - 110) Wu H, Chen G, Wyburn KR, Yin J, Bertolino P, Eris JM, et al. TLR4 activation mediates kidney ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 2007;117:2847-59.
 - 111) Wolfs TG, Buurman WA, van Schadewijk A, de Vries B, Daemen MA, Hiemstra PS, et al. In vivo expression of Toll-like receptor 2 and 4 by renal epithelial cells: IFN-gamma and TNF-alpha mediated up-regulation during inflammation. *J Immunol* 2002;168:1286-93.
 - 112) Kim BS, Lim SW, Li C, Kim JS, Sun BK, Ahn KO, et al. Ischemia-reperfusion injury activates innate immunity in rat kidneys. *Transplantation* 2005;79:1370-7.
 - 113) Leemans JC, Stokman G, Claessen N, Rouschop KM, Teske GJ, Kirschning CJ, et al. Renal-associated TLR2 mediates ischemia/reperfusion injury in the kidney. *J Clin Invest* 2005;115:2894-903.