creative commons

COMMONS DEED

저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

의학박사 학위논문

Macrophage polarization in obese diabetic patients and its potential role as a predictive marker of diabetic improvement after bariatric surgery

비만형 당뇨병 환자에서 대식세포 분극화 양상 및 이를 통한 비만수술 후 당뇨병 개선 예측 가능성 평가

2021년 1월

서울대학교 대학원
임상의과학과 임상의과학 전공
김 지 수

A Thesis of the Degree of Doctor of Philosophy

비만형 당뇨병 환자에서 대식세포 분극화 양상 및 이를 통한 비만수술 후 당뇨병 개선 예측 가능성 평가

Macrophage polarization in obese diabetic patients and its potential role as a predictive marker of diabetic improvement after bariatric surgery

January 2021

Department of Clinical Medical Sciences

Seoul National University

College of Medicine

Ji-Soo Kim

비만형 당뇨병 환자에서 대식세포 분극화 양상 및 이를 통한 비만수술 후 당뇨병 개선 예측 가능성 평가

지도교수 이혁준

이 논문을 의학박사 학위논문으로 제출함

2021 년 1 월

서울대학교 대학원

임상의과학과 임상의과학전공

김 지 수

김지수의 의학박사 학위논문을 인준함

2021 년 1 월

위 원 장 조비룡 (인)

부 위 원 장 이혁준 (인)

위 원 조영민 (인)

위 원 방도중 (인)

위 원 (인)

Macrophage polarization in obese diabetic patients and its potential role as a predictive marker of diabetic improvement after bariatric surgery

by

Ji-Soo Kim

A thesis submitted to the Department
of Clinical Medical Sciences
for the Degree of Doctor of Philosophy
at Seoul National University College of Medicine

January, 2021

Approved by Thesis Committee:

Professor Belong Cho Chairman
Professor Hyuk-Joon Lee Vice chairman
Professor YOUNG MIN CHO
Professor Do Joong PARK
Professor

국문초록

배경: 비만 환자의 지방조직에서는 흔히 대식세포의 침윤이 관찰되며, 그 중 전염증성 특징을 가진 M1 대식세포 분극화가 항염증성 M2 대식세포의 분극화보다 두드러짐이 최근 보고되고 있다. 이에 비만형 당뇨병 환자에서 비만수술 중 얻어진 내장지방을 통하여 M1 대식세포의 분극화 양상과 염증반응을 비만이면서 당뇨병을 동반하지 않은 환자와 비교해 분석해보고 수술 전 예측인자로서 M1 분극화의 가능성을 모색해 보고자 한다.

방법: 연구대상자는 실험군(체질량지수 30 kg/m^2 이상의 비만이면서 당뇨병을 동반한 환자), 대조군1 (체질량지수 30 kg/m^2 이상의 비만이면서 당뇨병을 동반하지 않은 환자), 대조군2 (정상 체중의 당뇨병을 동반한 조기위암 환자), 대조군3 (정상 체중의 당뇨병을 동반하지 않은 조기위암 환자)으로 정하였다. 비만대사수술 또는 위암수술 중 얻어지는 내장지방조직에서 stromal vascular fraction (SVF)세포를 분리하여 유세포분석을 통한 M1, M2 분극화 양상을 분석하고, 면역조직화학검사를 통한 대식세포 숫자 및 crown like structures (CLS)를 확인하였으며, 실시간 중합효소연쇄반응법을 통하여 M1 대식세포 연관 유전자(NOS2, PELI1)와 M2 대식세포 연관 유전자(ARG1)를 측정하였다. 각 군에서 혈액검사를 실시하여 염증지표(백혈구 수, 중성구 수, 림프구 수, C-반응성 단백)을 측정하고, 컴퓨터 단층촬영을 통하여 내장지방량, 피하지방량을 측정하였다. 실험군에서 기존의 수술임상지표 및 수술 전, 수술 3개월 후 당화혈색소를 측정하여 차이값을 구하고, 수술 전 내장지방의 M1 대식

세포와의 연관성을 확인하였다.

결과: 실험군 12명, 대조군1 8명, 대조군2 3명, 대조군3 11명이 등록되었다. 유세포분석 결과 대식세포는 실험군에서 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있었다(5.77±2.49, P=0.0032). 면역조직화학검사 결과, 대식세포 및 CLS 개수는 실험군에서 대조군들에 비해 유의하게 증가되어 있었다(2.71±1.7, P<0.0001). 실험군에서 실시간 중합효소연쇄반응에서 M2 gene (ARG1)이 유의하게 낮게 나타났고(P=0.0085), 혈액검사에서는 실험군에서 백혈구 수(9.51±1.82, P=0.0009), 중성구 수(603.21±154.52, P=0.0047), 림프구 수(258.14±69.13, P=0.0020)가 유의하게 높게 나타났다. 컴퓨터 단층촬영에서는 실험군에서 내장지방량(23.39±7.25, P<0.0001)이 유의하게 높게 나타났다. M1 분극화와 수술 후 3개월 당화혈색소의 감소 폭은 유의한 양의 상관 관계를 보였다(R=0.9048, P=0.0020).

결론: 비만형 당뇨병 환자의 내장지방에서 비만이면서 당뇨병을 동반하지 않은 환자에 비해서 염증반응 및 M1 대식세포 분극화 양상이 유의하게 높게 확인되었다. 비만 환자에서, 비만으로 인한 지방조직의 M1 분극화 및 염증반응이 당뇨병과의 관련이 있음을 확인하였고, 비만수술의 결과에 대한 예측인자로서 M1 분극화의 가능성을 제시하였다.

핵심어: 비만, 당뇨병, 비만수술, 대사수술, 당뇨병수술, 대식세포, M1분극화, 유세포분석, 염증, 내장지방, 내장지방 피하지방 비율

학번: 2012-30783

CONTENTS

ABSTRACT.....i

CONTENTS.....iii

LIST OF TABLES AND FIGURES.....iv

INTRODUCTION.....1

MATERIALS AND METHODS.....5

RESULTS.....11

DISCUSSION.....26

REFERENCES.....35

ABSTRACT IN ENGLISH.....44

LIST OF TABLES AND FIGURES

Table 1. Patients' characteristics.

Figure 1. Computed tomography images of subcutaneous and visceral fat areas.

Figure 2. Flow cytometry analysis.

Figure 3. Hematoxylin staining and immunohistochemistry.

Figure 4. Identification of M1 and M2 markers using qRT-PCR.

Figure 5. WBC, neutrophil, lymphocyte, monocyte, neutrophil lymphocyte ratio (NLR), and C-reactive protein (CRP) in the blood test.

Figure 6. Visceral and subcutaneous fat area, and visceral subcutaneous fat ratio (VSR).

Figure 7. Correlation between M1 proportion and clinical scores.

Figure 8. Correlation between M1 polarization and HbA1c 3 months postoperatively in the experimental group.

서론

당뇨병은 전 세계적으로 인류의 건강을 위협하는 중요한 질병이다 (1). 세계당뇨병연맹(International Diabetes Federation)의 발표를 보면 전 세계적으로 당뇨병은 급속하게 증가하고 있으며, 그로 인한 개인적, 사회적 부담도 증가하여 당뇨병을 예방하고 치료하기 위한 노력이 전 세계적으로 급속하게 이루어져야 한다고 보고하고 있다(2-3). 한편 서구와 달리 우리나라를 포함한 동양권의 제2형 당뇨병 환자는 고도비만이 동반된 경우가 많지 않고, 인슐린 분비능의 감소가 심하며, 조기에 발병하고, 합병증이 많이 나타나는 것이 특징이라고 할 수 있다(4-5). 국내에서 당뇨병은 2017년 사망원인 순위에서 악성 신생물, 심장 질환, 뇌혈관질환, 폐렴, 고의적 자해에 이어 6번째를 차지하고 있고(6), 대한당뇨병학회에 따르면 2018년 당뇨병 유병율은 30세 이상 성인 7명 중의 1명 꼴로(13.8%), 당뇨병 전단계인 공복혈당장애 유병률까지 합친다면 30세 이상 성인 4명중의 1명 꼴로(26.9%), 당뇨병으로 인한 사회적 의료비 역시 크게 증가하고 있다. 한편 당뇨병 유병자 중 절반(53.2%)의 환자에서 체질량지수가 25 kg/m^{2}이상이었고 그중 체질량지수 30 kg/m^{2}이상이 11.7%였다(7).

당뇨병의 치료로는 크게 내과적인 약물치료와 수술적인 치료로 나눌 수 있다. 최근 비만수술은 제2형 당뇨병이 있는 비만 환자에 치료 대안으로 관심을 끌고 있는데 당뇨병 관해를 동반하는 당개선 효과를 보여주고 있기 때문이다(8). 2019년 미국당뇨병협회(American diabetes association)에서는 체질량 지수 35 kg/m^{2}이상이면서 적절한 체중감소와 비수술적 치료에도 개선이 없는 경우 또는 체질량 지수가 30 kg/m^{2}이상

인 경우 수술적 치료가 제2형 당뇨병의 치료로 권고하고 있다(9). 국내에서도 2019년부터 건강보험적용이 확대되어 체질량 지수 35 kg/m^{2}이상이거나 30 kg/m^{2}이상이면서 당뇨병이 있는 경우에는 수술적 치료에 건강보험혜택을 받을 수 있게 되었다(10).

대부분의 환자에서 효과를 보여주는 비만수술과는 달리 당뇨병 개선을 위한 비만대사수술은 비만 환자에서도 그 효과가 일관적이지 않고 때로는 정상체중 환자에서도 당뇨병 조절 효과를 보는 경우가 있는데 그에 대한 기전은 아직 밝혀진 바가 없다. 기존 연구에 따르면 제2형 당뇨병의 25%에서 65%의 환자들이 비만대사수술 후에 당뇨병 관해를 경험하지 못했다고 보고하고 있다(11,12). 이에 임상적으로 비만대사수술 후 당뇨병 치료에 효과를 예측하기 위한 다양한 방법들이 시도되어 왔는데 대표적으로 ABCD 스코어, DiaRem 스코어, Ad-DiaRem 스코어, Indivisualized metabolic surgery (IMS) 스코어, 등의 임상지표를 이용해서 대사수술의 당뇨병관해 가능성을 예측하고 있다. ABCD score는 나이, 체질량지수, C-펩타이드(C-peptide), 당뇨병의 이환기간 4가지 요소의 전체 점수를 더하여 점수가 높을수록 수술 후 예후가 좋을 것으로 판단한다(13). DiaRem 스코어는 나이, 당화혈색소, 인슐린치료 여부, 경구 당뇨병치료제 복용에 따른 점수를 합산하며(14), Ad-DiaRem 스코어는 Dia-Rem 스코어에 경구 당뇨병 약제 복용 개수, 당뇨병의 이환기간등의 요소를 추가하여 계산하는데 점수의 체계가 DiaRem 스코어와는 차이가 있다(15). IMS 스코어는 수술 전 당뇨병약 개수, 수술 전 인슐린 사용, 수술 전 당뇨병의 이환기간으로 점수를 합산한다(16). ABCD 스코어와는 달리 IMS, DiaRem과 Ad-DiaRem 스코어는 점수가 높을수록 수술 예후가 나쁨을 나타낸다. 이러한 예측방법들은 당뇨병과 관련되어 알려진 몇 가지 임상지표의 점수를 합하여 보는 것으로 수술 후 당뇨병 관해와 어

느 정도 관련성은 있으나 정확도에 있어서는 아직 논의 중에 있다 (17-19). 최근에는 수술성공 여부에 대한 예측을 위해서 기존의 임상스코어 뿐 아니라 생체표지자들이 연구되고 있는데, Ceperuelo-Mallafre 등(20)은 비만대사수술 후 당뇨병 관해에 대한 생체표지자로서 혈액내 succinate 기저 수치의 가능성을 언급하였고, Ha 등(21)은 당뇨병과 관련된 amino acid metabolites (AAM)가 대사수술 후 제2형 당뇨병 관해의 예측에 기존의 임상예측모델보다 더 효과적임을 보여주었다.

인슐린 저항성은 제2형 당뇨병 환자의 대부분에서 특징적이고 공통적으로 관찰되며(22-24), 전향적 연구에서 인슐린 저항성이 제2형 당뇨병 발생의 가장 강력한 예측인자이다(25). 제2형 당뇨병 및 대사증후군은 비만인구의 증가와 밀접한 상관관계를 보이며 인슐린 저항성을 나타낸다. 비만은 인슐린 저항성을 악화시키며 당뇨병의 위험을 증가시킨다 (26).

비만환자에서 지방조직 내에 염증세포 특히 대식세포의 침윤이 두드러지며 만성적으로 낮은 수준의 염증상태를 보이며 이는 전신적인 인슐린 저항성을 촉진한다(27-29). 지방조직 대식세포(adipose tissue macrophages, ATMs)는 M1 (classically, inflammatory)과 M2 (alternative, anti-inflammatory) 분극화(polarization)가 이루어지는데 (30-31) 비만인의 지방조직의 경우 M1 분극화, 마른 사람의 지방조직에서는 M2 분극화의 특징을 보인다(32). M1 대식세포는 TNF-α, IL-6, iNOS 등의 염증성 사이토카인을 분비하며 전염증성 특징을 보이는 반면 M2 대식세포는 IL-10등을 분비하며 항염증성 특징을 보인다(33). 기존 연구에서 M1 대식세포의 분극화는 PELI1이 IRF5와의 상호작용을 통하여 핵 속으로 이동함으로 염증반응과 함께 유도된다는 것은 확인한 바 있다. 이 연구에서 비만한 사람의 지방조직의 대식세포에서 PELI1의 발

현이 증가되어 있음을 확인할 수 있었고 PELI1은 M1 분극화를 유발하는 염증유발인자로 확인되었다(34).

비만 환자에서 대식세포의 침윤 및 M1 분극화가 보고되고 있지만, 동물실험이 아닌 사람 연구에서 비만형 당뇨병 환자의 M1 분극화가 밝혀진 적은 없다. 당뇨병 발생의 주요기전이 췌장의 베타세포 파괴로 인한 인슐린 분비능 저하와 근육 및 지방조직 등 말초조직에서 인슐린 저항성이 높아진 점을 감안하면, 비만에서 인슐린 저항성을 유발하는 염증반응과 M1 분극화 양상은 당뇨병이 없는 비만 환자와 비교하여 비만형 당뇨병 환자에서 다르게 나타날 것이라고 예측해 볼 수 있다. 또한 이와 같은 M1 분극화가 비만형 당뇨병 환자의 인슐린 저항성을 높이는데 관여를 한다면, 비만대사수술 후 당뇨병 호전을 예측하는 인자로서 작용할 가능성이 있다고 생각된다.

연구 목적

비만 환자에서 나타나는 지방조직의 만성 염증과 M1 대식세포의 분극화 양상이 비만형 당뇨병 환자에서 당뇨병의 발생 및 악화와 관련이 있을 것으로 생각된다. 따라서 비만형 당뇨병 환자에서 염증반응과 M1 대식세포의 분극화 양상을 비만이면서 당뇨병이 없는 환자와 비교하여 분석하고, 당뇨병 개선의 예측인자로서의 M1 분극화의 가능성을 살펴보고자 하였다.

연구 방법

환자수집 및 분석

서울대학교병원에서 2019년 11월부터 2020년 8월까지 체질량지수 30 kg/m^2 이상인 병적 비만으로 비만대사수술을 받거나, 조기위암으로 진단되어 위절제술을 받을 정상 체중 환자를 대상으로 하였다. 조기위암 환자의 경우 위점막 절제술과 같이 염증을 유발할 수 있는 처치가 시행되지 않은 환자를 대상으로 하였다. 또한, 위암이 T2 이상이거나 림프절 전이 또는 선행화학요법이 이루어진 환자는 연구 대상에서 제외시켰다. 환자의 신장과 체중은 입원 시에 측정하였으며, 제2형 당뇨병의 이환기간, 당뇨병 약 투약 여부는 전자의무기록에서 확인하였다.

본 연구는 총 네 개의 군으로 진행되었다(실험군, 대조군1-3). 실험군은 비만형(체질량지수 >30 kg/m^2) 당뇨병 환자, 대조군1은 비만형(체질량지수 >30 kg/m^2) 비당뇨병 환자로, 실험군과 대조군1은 비만대사수술을 받을 예정인 환자로 구성되었다. 대조군2은 정상체중(체질량지수 18.5-24.9 kg/m^2)의 당뇨병 환자, 대조군3은 정상체중(체질량지수 18.5-24.9 kg/m^2)의 비당뇨병 환자로, 조기위암을 진단받고, 선행치료가 시행되지 않았으며, 근치적 위절제술을 받을 예정인 환자로 구성되었다. 내장지방 조직은 비만대사수술 또는 위암수술 중 제거되는 대망(greater omentum)에서 얻었다.

이 연구는 세계 의사회의 권고와 헬싱키 선언을 준수하였으며, 모든 연구대상자로부터 동의서를 받아 진행되었다. 이 연구는 서울대학교병원

연구윤리 심의위원회(the Institutional Review Board)의 승인을 받았다 (1909-061-1064).

혈액검사

모든 참여 환자는 12시간 이상 공복 상태에서 채혈하여 측정하였다. 당뇨병 관련인자로 공복혈당, 혈청 인슐린 농도, 당화혈색소, C-펩타이드를 측정하였다. 이외에 염증관련 인자로, 백혈구 수, 중성구 수, 림프구 수, 단구 수를 측정하고 백혈구 관련 지표인 중성구 림프구 비율(Neutorphil lymphocyte ratio, NLR)값을 구하였다. 중성구 림프구 비율은 중성구 수를 림프구 수로 나누어 산출하였고 C-반응성단백(C-reactive protein, CRP)도 함께 측정하였다.

Stromal vascular fraction (SVF)세포 분리

연구대상자로부터 적출된 지방 조직을 멸균된 가위를 이용하여 작은 절편으로 자른 후 collagenase 0.1% w/v (Worthington Industries, USA)가 첨가된 RPMI 1640을 넣어 37°C 진탕 배양기에서 60분간 반응시켰다. 150 μm strainer (pluriSelect, Leipzig, Germany)을 이용하여 걸러준 후 4°C, 2000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버리고 stromal vascular fraction (SVF) 세포를 얻었다. 멸균된 DPBS를 이용하여 재부유시킨 후 70 μm cell strainer (SPL Life Sciences, South Korea)을 이용하여 거른 다음 4°C, 2000 rpm에서 5분 간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액은 버리고 남은 SVF 세포에 RBC lysis solution (QIAZEN, Germany)을 첨가 후 10분간 상온에서 incubation 시켰으며 그 후 4°C, 2000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 멸균된 DPBS로 재부유시킨 후 FACS tube (Falcon, Glendale, AZ, USA)의 cell strainer cap

에 거른 SVF 세포는 -80°C에 보관하였다.

유세포분석

지방에서 유래된 SVF 세포에 각각 Alexa Fluor 700이 접합된 anti-human CD45 (면역세포 표지자, BD, USA), FITC이 접합된 anti-human CD14 (대식세포 표지자, BD, USA), PE-Cy7이 접합된 mouse anti-human CD11c (M1 표지자, BD, USA), PE가 접합된 anti-human CD163 (M2 표지자, BD, USA)를 4°C에서 30분간 반응시켰다 (35). 1% FBS가 첨가된 DPBS로 1회 수세 후에 BD FACS Canto™ Flow Cytometer (BD Biosciences, Bergen County, NJ, USA)로 측정하였으며 FACS 데이터는 BD FACS Diva software (BD Biosciences)를 이용하여 분석하였다.

면역조직화학검사

지방 조직을 10% formalin에 고정한 후 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀포매를 이용하여 파라핀 블록을 4 μm 두께의 절편으로 잘라 각각 hematoxylin과 anti-human CD68 항체를 염색하여 병리학적 분석 및 면역조직화학검사법을 시행하였다. 슬라이드 내의 지방조직에서 무작위하게 최소 2군데 이상을 선정하여 고배율(400X)에서 CLS의 개수를 산출하였다.

대식세포의 정확한 식별을 위해 CD68 양성 세포는 CLS 분석과 동일한 방법으로 진행되었으며, 1차 항체는 anti-human CD68 항체(DAKO, mouse mAb, cat no:M0876)에 염색하였고 항체 diluent로 GBI Labs diluent (#E09-500)이 사용되었다.

RNA분리, cDNA 합성, 및 실시간 중합효소연쇄반응 (qRT-PCR)

지방으로부터 유래된 SVF 세포에 TRIzol 시약을 처리하여 RNA를 추출하였으며 complementary DNA는 TOPscript™ cDNA Synthesis kit (Enzynomics, South Korea)을 이용하여 합성하였다. RNA 정량은 NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, USA)을 이용하였다. Real-time PCR은 TaqMan™ Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems)와 TaqMan™ Gene Expression Assay (Applied Biosystems: human NOS2 (Hs01075529_m1), ARG1 (Hs00163660_m1), PELI1 (Hs00900505_m1), GAPDH (Hs99999905_m1))를 이용하여 StepOnePlusTM Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 진행하였다. 유전자 발현 정도는 세포유지 유전자 (housekeeping gene)인 GAPDH의 발현 값으로 정규화하였다.

내장지방량과 피하지방량 측정 및 내장지방 피하지방 비율

지방량은 환자의 복부 및 골반의 컴퓨터 단층촬영 중 portal phase를 가공하여 Medip software (Medicalipceo, Seoul, Korea)로 측정하였다. 컴퓨터 단층촬영의 두 개의 층을 선택하였고, 선택한 지점은 L3와 L4의 중간이다. Hounsfield units (HU)값을 -250에서 -50으로 설정하여 지방 분획을 진행한 후, 요추 근육과 장 안쪽까지 잡힌 부분은 매뉴얼로 수정하여 총 지방량 값을 구하였다. 총지방량에서 내장지방량을 제외하여 피하지방량을 구했다. 각각의 값을 [2(층수) X a (컴퓨터단층촬영 컷 mm)]

로 나누어 면적 값을 구하였다(36). 내장지방 피하지방 비율 (visceral subcutaneous fat ratio, VSR)은 내장지방량을 피하지방량으로 나누어 산출하였다(**Figure 1**).

인슐린 저항성평가

인슐린 저항성(HOMA-IR)에 대한 항상성 모델 평가는 다음과 같이 계산했다. HOMA-IR = (공복 인슐린 [μU/mL] x 공복 혈당 [mg/dL])/405 (37).

통계분석

결과 값은 Kruskal-Wallis test로 평가되었으며 유의 수준 $P<0.05$에서 연구 그룹 간의 차이를 발견했다. 또한 Kruskal-Wallis test 결과 유의한 변수에 대해 어떤 군에서 차이가 있었는지 확인하기 위해 사후분석을 수행하였다. 사후분석은 Wilcoxon Rank sum test로 진행하였으며 다중 검정으로 인한 1종 오류 증가를 보정 해 주기 위해 0.05가 아닌 0.05/6=0.008과 비교하였다. 상관관계분석에서는 스피어만 상관분석기법 (Spearman correlation)을 사용하였다. 모든 계산은 Prism 7.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA)을 이용하였다.

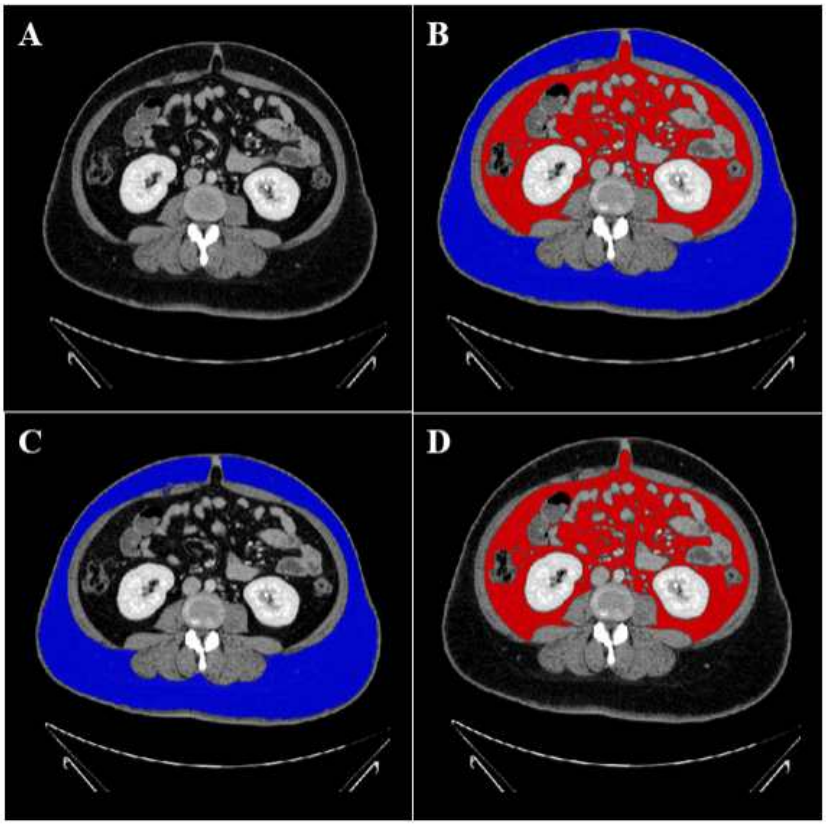


Figure 1. Computed tomography images of subcutaneous and visceral fat areas. (A) Native image (B) Total fat volume (C) Subcutaneous fat area (D) Visceral fat area.

결과

환자군 특성

총 34명의 환자가 등록되었다. 실험군(비만형 당뇨병 환자) 12명, 대조군1 (비만형 비당뇨병 환자) 8명, 대조군2 (정상 체중의 당뇨병 환자) 3명, 대조군3 (정상 체중의 비당뇨병 환자) 11명이 등록되었다. 환자군의 특성은 Table 1과 같다.

유세포분석

수술 중 얻어진 지방 조직을 이용하여 유세포분석을 통하여 각각의 군에서 SVF 세포 중의 대식세포가 차지하는 비율을 보고, 그 중 전염증성 특징을 보이는 M1 대식세포와 항염증성 특징을 가지는 M2 대식세포의 분극화와, 그리고 M1 M2 비율(M1/M2)를 조사하였다. SVF 세포 중의 대식세포의 %는 실험군이 5.8±2.5%으로 가장 높았고 다음으로 대조군1, 대조군2, 대조군3에서 5.3±1.2%, 2.8±1.2%, 3.0±1.0%를 보였으며, 실험군의 대식세포 상승은 다른 군과 비교하여 통계적으로 유의하였다 (P-value=0.0032). 대식세포(% of SVF 세포)는 비만 환자군인 실험군에서 정상 체중인 대조군2, 대조군3 (P-value=0.0056)에 비해서 높은 수치를 보였고, 역시 비만을 동반한 대조군1에서도 대조군2 (P-value=0.0408), 대조군3 (P-value=0.0025)보다 높았다.

대식세포 중의 M1 값은 각각 36.8±16.7%, 28.5±18.5%, 28.5±18.5%, 37.1±17.8% (P-value=0.0563)를, M2 값은 각각 17.3±11.4%, 34.2±14.2%,

21.6±2.3%, 26.5±14.5% (*P*-value=0.0258)를 보였다. 전염증성의 특징을 보이는 M1 대식세포는 실험군에서 대조군1보다 높았고, 또한 대조군2, 대조군3에 비해 가장 높은 수치를 나타냈다. 한편 항염증성을 나타내는 M2 대식세포는 실험군에서 대조군1보다 낮았다. M2 대식세포는 대조군1에서 대조군2 (*P*-value=0.0321), 대조군3 (*P*-value=0.0044)보다 유의하게 높은 수치를 보였다. 항염증성 대비 전염증의 정도를 비교해 보고자 M1 M2 비율(M1/M2) 값을 조사하였고 이는 각각 5.4±10.0, 1.0±0.6, 1.3±0.8, 2.3±2.2를 보였다. M1/M2값은 실험군에서 비만인 대조군1보다 높았고, 정상체중인 대조군2, 대조군3과 비교하여 높은 수치를 나타내었다(**Figure 2A, B**).

면역조직화학검사

각 군의 염증반응 정도를 보고자 면역조직화학검사로 대식세포의 숫자 및 CLS의 개수를 확인하였다. 확인한 대식세포의 평균 숫자는 실험군, 대조군1, 대조군2, 대조군3에서 각각 13.83, 8.58, 2.50, 1.38개로 환자군에서 유의하게 증가되어 있었다(*P*-value=0.0016). 대식세포의 숫자는 비만이 있는 실험군과 대조군1에서 정상체중인 대조군2와 대조군3보다 높았다. 실험군에서 대조군1 (*P*-value=0.0372), 대조군3 (*P*-value=0.0014) 대비 유의미하게 높았다.

CLS의 평균 숫자는 각각 2.92, 1.10, 0.00, 0.00개(*P*-value<0.0001)를 보였다. 실험군과 대조군1에서만 CLS가 보였고 정상체중인 대조군2, 대조군3에서는 나타나지 않았다. 비만이 있는 실험군에 비해 정상체중인 대조군2 (*P*-value=0.0196), 대조군3 (*P*-value=0.0001)와 유의한 차이를 보였고, 비만이 있는 대조군1과 대조군2 (*P*-value=0.0362), 대조군3 (*P*-value=0.0008)도 유의한 차이를 보였다. 비만이 있는 실험군과 대조

군1을 비교해 볼 때, 비만과 당뇨병이 있는 실험군에서 비만은 있지만 당뇨병은 없는 대조군1보다 유의하게 높았다(*P*-value=0.0249), (**Figure 3A, B**).

실시간 중합효소연쇄반응

실시간 중합효소연쇄반응을 이용하여 각 군에서 염증성 유전자(PELI1, NOS2)과 항염증성유전자(ARG1)을 살펴보았다. PELI1은 각 군 간에 유의한 차이를 보였다(*P*-value=0.0199). 대조군1에서 실험군보다 높은 값을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다(*P*-value=0.5357). NOS2에서는 군별 유의한 차이를 보여주지 않았다(*P*-value=0.5093). 항염증성 유전자인 ARG1은 각 군 간의 유의한 차이를 보여주었고(*P*-value=0.0085), 대조군1에서 환자군보다 높았으나 그 차이는 유의하지 않았다(*P*-value=0.0905) (**Figure 4**).

혈액검사: 백혈구, 중성구, 임파구, 단구, C-반응성단백

염증반응의 정도를 보고자 혈액에서 백혈구 수(10^9/L), 중성구 수(10^9/L), 림프구 수(10^9/L), 단구 수(10^9/L), C-반응성단백(mg/dL)을 검사하였다. 이중 백혈구 수(*P*-value=0.0009), 중성구 수(*P*-value=0.0047), 림프구 수(*P*-value=0.0020), 단구 수(*P*-value=0.0432), C-반응성단백(*P*-value=0.0018)에서 유의한 차이를 보였다. 백혈구 수(10^9/L)는 실험군, 대조군1, 대조군2, 대조군3에서 각각 9.51±1.83, 8.32±1.50, 6.76±1.25, 5.75±1.61을 나타내었고, 중성구 수(10^9/L)는 각각 603.21±154, 529.23±121.67, 451.13±83.30, 301.94±187.44, 림프구 수(10^9/L)는 각각

258.14±69.13, 222.82±26.55, 180.40±71.91, 158.56±35.90, C-반응성단백(mg/dL)은 각각 0.76±0.79, 0.56±0.30, 0.19±0.26, 0.07±0.05을 나타내었다. 백혈구 수(10^9/L), 중성구 수(10^9/L), 림프구 수(10^9/L), C-반응성단백(mg/dL)에서 실험군이 가장 높은 수치를 보였으며, 다음으로 대조군1, 대조군2, 대조군3의 순서를 보였다. NLR은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(*P*-value=0.3146) (**Figure 5**).

내장지방량과 피하지방량 및 내장지방 피하지방 비율

각 군에서 내장지방 및 피하지방과의 상관성을 보기 위하여 내장지방량, 피하지방량 및 내장지방 피하지방 비율을 조사하였다. 각 군 간의 차이는 내장지방(*P*-value<0.0001), 피하지방(*P*-value<0.0001)에서 유의한 차이를 보였다. 내장지방량은 실험군, 대조군1, 대조군2, 대조군3에서 각각 23.39±7.25, 20.35±7.69, 9.67±6.95, 6.43±5.43, 피하지방은 각각 44.09+13.05, 51.13±14.97, 7.94±1.70, 12.80±3.98, 내장지방 피하지방 비율은 0.59±0.3, 0.42±0.18, 1.13±0.62, 0.55±0.48을 보였다. 내장지방은 비만인 실험군에서 정상 체중인 대조군2 (*P*-value=0.0172), 대조군3 (*P*-value=0.0001)에 유의한 차이를 보였고, 비만인 대조군1 에서는 대조군3 (*P*-value=0.3146) 과 유의한 차이를 보였다. 피하지방은 비만인 실험군에서 정상 체중인 대조군2 (*P*-value=0.0115), 대조군3 (*P*-value<0.0001)에 유의한 차이를 보였고, 비만인 대조군1에서는 대조군2 (*P*-value=0.0189), 대조군3 (*P*-value=0.0003)과 유의한 차이를 보였다. 그러나 실험군과 대조군1 사이에서는 내장지방(*P*-value=0.3749) 및 피하지방(*P*-value=0.2633) 둘 다 유의한 차이를 보여주지 않았다.

비만 환자군에서 볼 때, 당뇨병이 있는 실험군에서 당뇨병이 없는 대조군1보다 내장지방 피하지방 비율이 높음을 보였다. 또한 비만인 당뇨

병 환자와 정상 체중인 당뇨병 환자에서 정상 체중인 당뇨병 환자의 내장지방 피하지방 비율이 더 높았다. 그러나 내장지방 피하지방 비율은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(*P*-value = 0.1860) (**Figure 6**).

대사수술 임상예측지표와 M1 분극화

실험군에서 전염증성 지표인 M1 분극화와 비만대사수술의 예측인자로 사용되고 있는 ABCD, DiaRem, Ad-diaRem, IMS 스코어를 비교하여 스피어만 상관분석기법으로 상관관계를 보고자 하였다. M1은 ABCD 스코어와 음의 상관관계 (R= - 0.2057, *P*-value=0.5440), DiaRem (R=0.1827, *P*-value=0.5909), Ad-DiaRem score (R=0.2603, *P*-value=0.3295), IMS (R=0.4727, *P*-value=0.1420)와 음의 상관관계를 보여주었으나 관련성은 통계적으로 유의하지 않았다(**Figure 7**).

수술 3개월 후 당화혈색소와 M1 분극화

실험군으로 등록된 12명의 환자 중에서 수술 후 3개월 당화혈색소(%) 수치를 확보한 8명을 대상으로, 수술 전과 3개월 후의 당화혈색소 감소 폭과 M1 분극화 사이의 상관관계를 보고자 하였다. 분석에 포함된 대상수가 8명으로 작아 정규분포 결과와 상관없이 스피어만 상관계수를 이용하여 관련성을 평가하였다. 8명의 환자 중 7명은 당화혈색소가 감소하였으나 1명은 증가하였다. 수술 전 값과 수술 후 3개월 값은 한 사람에게서 짝지어진 자료이므로 두 값이 차이가 있는지 Wilcoxon's signed rank test (비모수 paired t-test)를 사용하여 분석하였고 그 값은 유의하였다 (*P*-value=0.0078). 당화혈색소 감소 폭과 M1 분극화는 스피어만 상관관

계에서 양의 상관관계를 나타내었고(R=0.9048), 통계적으로 유의하였다(*P*-value=0.0020). 당화혈색소 감소 폭과 M1/M2에서도 유의미한 양의 상관 관계를 나타내었다(R=0.8333, *P*-value=0.0102) (**Figure 8**).

임상적 활용을 위해 M1 분극화와 혈액검사 중의 염증지표(백혈구 수, 중성구 수, 림프구 수, 단구 수, 중성구 림프구 비율, C-반응성단백) 및 C-펩타이드와 스피어만 상관관계분석을 하였다. 이 중 중성구 수(R=0.7381, *P*-vaule=0.0366)와 중성구 림프구 비율(R=0.7785, *P*-vaule=0.0229)에서 양의 상관 관계를 보였고 통계적으로 유의하였다. 그러나 M1과 C-펩타이드 사이에서는 유의미한 상관관계를 보이지 않았다(R=0.0000, *P*-vaule=1.0000).

Table 1. Patients' Characteristics

		Patient (n = 12)	range	Control 1 (n = 8)	Range	Control 2 (n = 3)	range	Control 3 (n = 11)	range
Age (year)		39.41	23 – 70	32.38	19 – 51	67.67	60 – 74	58.45	45 – 75
Sex	Male (%)	5	41.7 %	4	50.0 %	3	100.0 %	4	36.4 %
	Female (%)	7	58.3 %	4	50.0 %	0	0.0 %	7	63.6 %
BMI (kg/m²)		41.51	30.80 – 49.60	41.45	36.95 – 54.11	22.49	20.31 – 25.0	22.24	17.4 – 24.93
Metabolic surgery	* SG (%)	11	91.6 %	6	75 %				
	RY (%)	1	8.4 %	2	25 %				
	DG (%)					2	66.7 %	3	27.3 %
	TG (%)					0	0.0 %	4	36.3 %
	PG (%)					1	33.3 %	1	9.1 %
	PPG (%)					0	0.0 %	3	27.3 %
Fasting glucose (mg/dL)		149.17	64 – 327	93.29 (n = 7)	71 – 110	134 (n = 2)	113 – 151	97.64	51 – 119
Fasting insulin (uIU/ml)		18.16 (n = 11)	9.0 – 28.7	17.98	9.3 – 28.2	8.85 (n = 2)	8.5 – 9.2	8.95 (n = 10)	5.3 – 15.6
C-peptide (ng/mL)		4.60 (n = 11)	1.5 – 12.9	2.69	1.7 – 4.5	2.25 (n = 2)	1.7 – 2.8	1.29 (n = 10)	0.4 – 2.6
Hb1Ac (%)		8.07	6.3 – 10.4	5.40	5.0 – 5.8	6.9 (n = 2)	6.8 – 7.0	5.62 (n = 10)	4.9 – 6.0
HOMA-IR		5.04 (n = 11)	2.12 – 9.01	3.51 (n =7)	1.21 – 5.62	3.17 (n = 2)	2.90 – 3.43	1.92 (n = 10)	0.67 – 3.34
V/S ratio		0.59	0.23 – 1.27	0.42	0.18 – 0.63	1.13	0.54 – 1.79	0.55	0.03 – 1.47

* SG: Sleeve gastrectomy, RY: Roux-en Y gastric bypass, V/S: visceral fat/ subcutaneous fat ratio, DG: distal gastrectomy, TG: total Gastrectomy, PG: Partial gasterctomy, PPG: pylorus-preserving gastrectomy

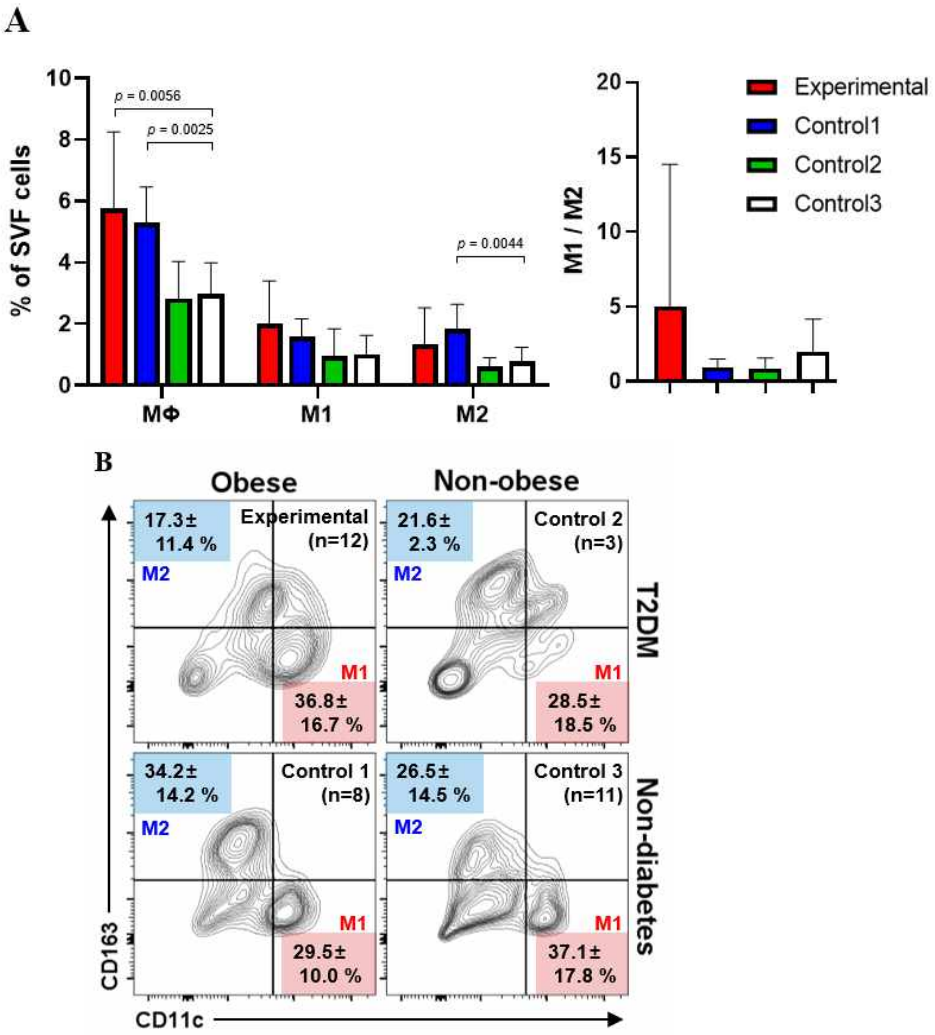
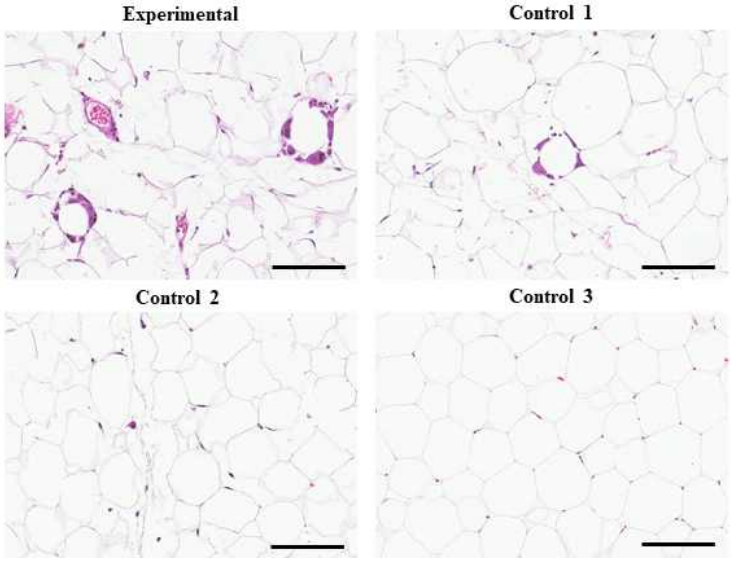


Figure 2. Flow cytometry analysis. (A) The percentage of CD11c+ M1 macrophages and CD163+ M2 macrophages in stromal vascular fraction (SVF) cells was determined in the visceral adipose tissues from each group. (B) The percentage of M1 macrophages and M2 macrophages among CD14+ cells from each group. $P<0.05$ as per the Kruskal-Wallis test for macrophage, M1 and M2.

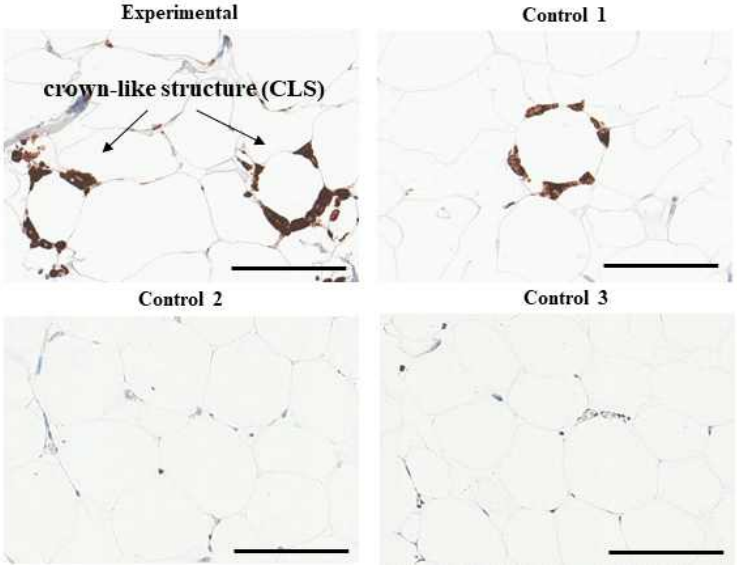
A

H staining (LPF)



B

CD 68+ (HPF)



C

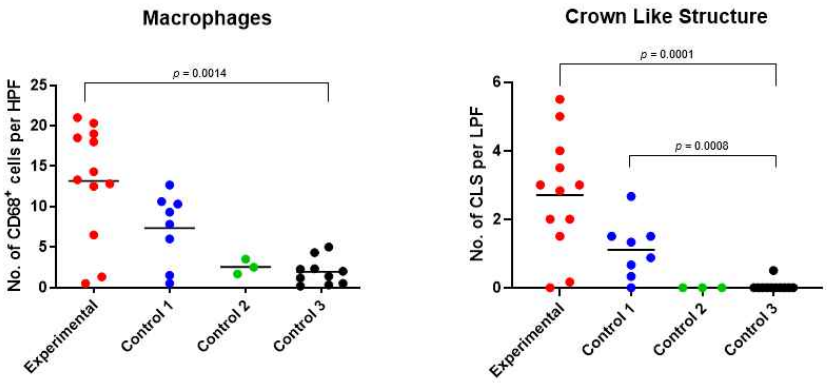


Figure 3. Hematoxylin staining and immunohistochemistry. Microscopic examination was performed using visceral adipose tissues from humans. Scale bars represent 100 μm. (A) Hematoxylin staining in LPF (200X) (B) immunohistochemistry in HPF (400X). Immunohistochemistry was performed for CD68 using the visceral adipose tissues obtained from each group. CD68+ macrophages (brown color) are organized into crown like structures (CLS) (indicated by arrows) (C) The number of CD68+ macrophage and CLS was calculated for each group. $P<0.05$ as per the Kruskal-Wallis test.

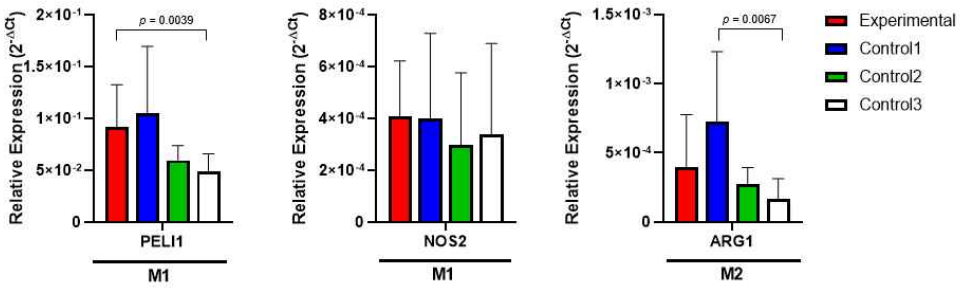


Figure 4. Identification of M1 and M2 markers using qRT-PCR. The expression levels of M1 and M2 markers were estimated in the stromal vascular fraction (SVF) cells from the visceral adipose tissues in each group. $P<0.05$ as per the Kruskal-Wallis test for PELI1 and ARG1. Each graph is normalized to GAPDH.

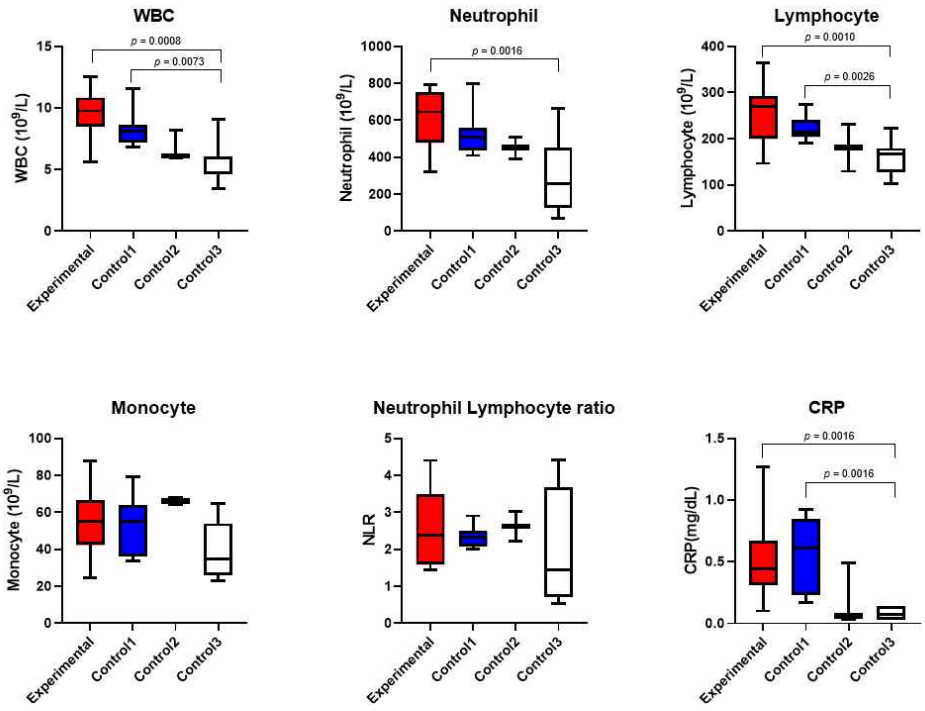


Figure 5. WBC, neutrophil, lymphocyte, monocyte, neutrophil lymphocyte Ratio (NLR), and C-reactive protein (CRP) in blood test. Serum WBC, neutrophil, lymphocyte, monocyte, and CRP test was performed to examine inflammation levels in each group. Results are shown in a box plot graph. $P<0.05$ as pet the Kruskal-Wallis test for WBC, neutrophil, lymphocyte, monocyte, and CRP. All error bars represent maximum and minimum data.

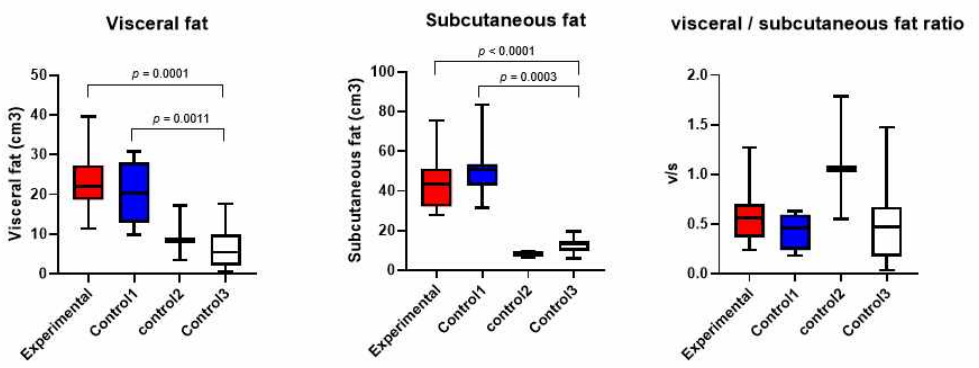


Figure 6. Visceral and subcutaneous fat areas, and visceral subcutaneous fat ratio (VSR). Visceral and subcutaneous fat areas were measured using computed tomography scanning, and visceral subcutaneous ratio was calculated in each group. $P<0.05$ as per the Kruskal-Wallis test for visceral and subcutaneous fat area. $P=0.1860$ (statistically insignificant) for VSR. All error bars represent maximum and minimum data.

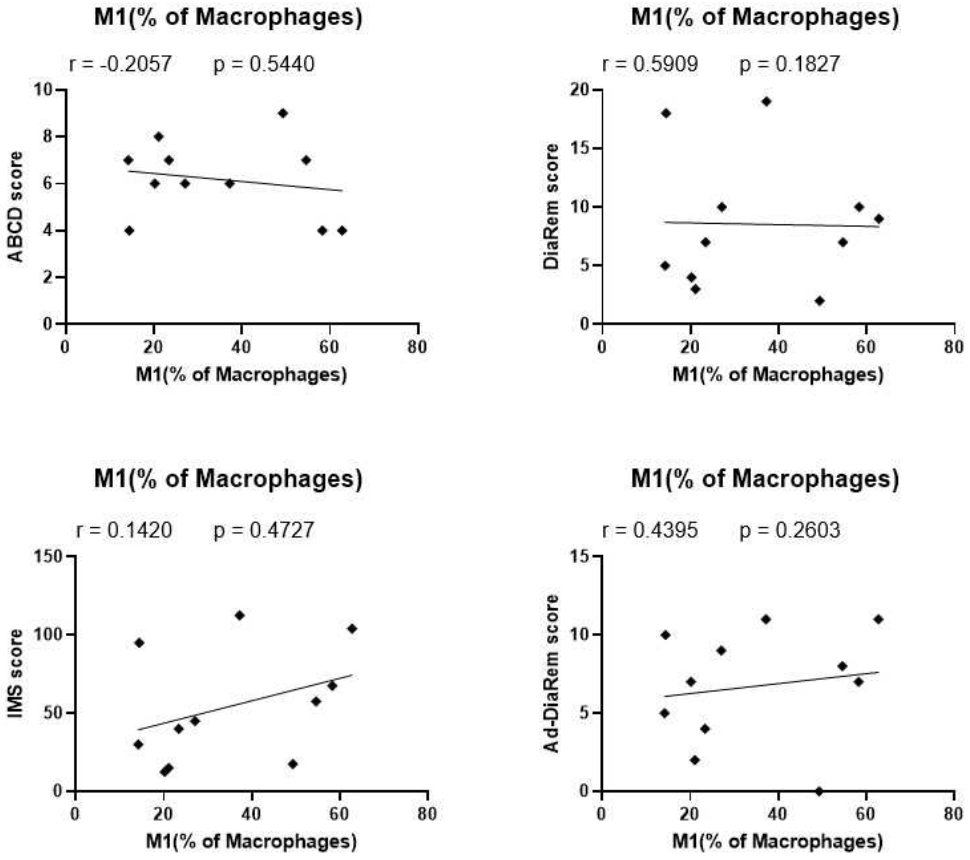


Figure 7. Correlation between M1 proportion and clinical scores. ABCD, indivisualized metabolic surgery (IMS), DiaRem, and Ad-DiaRem score were calculated in obese diabetes experimental group. Correlation between each clinical score and percentage of M1 macrophages among CD14+ cells in the experimental group was analysed. All data are statistically insignificant.

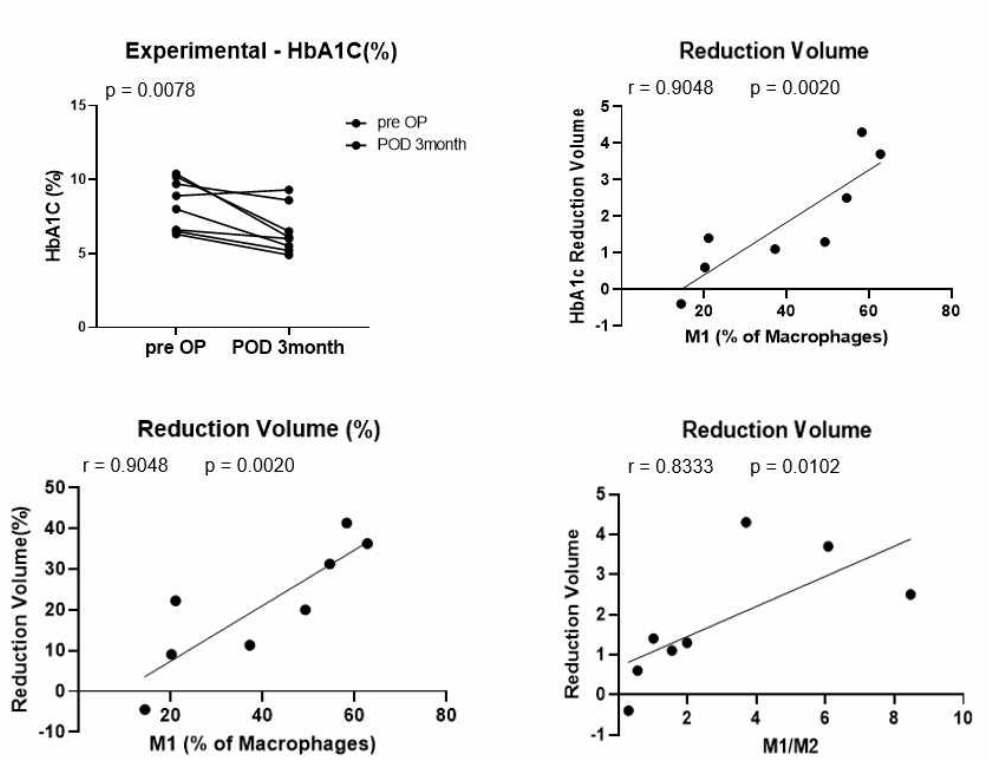


Fig 8. Correlation between M1 polarization and postop HbA1c 3 months postoperatively in the experimental group. Changes in HbA1c between preoperative levels at 3 months postoperative, and correlation between HbA1c reduction volume and percentage of M1 macrophage among CD14+ cells, correlation between HbA1c reduction volume percent and percentage of M1 macrophage among CD14+ cells, and correlation between HbA1c reduction volume and M1 M2 ratio in the experimental group was analysed using Spearman correlation.

고찰

이 연구에서는 비만형 당뇨병 환자에서 비만으로 인한 염증과 M1 대식세포 분극화 양상이 당뇨병에 미치는 영향을 알아보고자 하였고, 비만형 비당뇨병 환자와 비교하여 염증 수준과 M1 대식세포 분극화에서 차이를 확인하고자 하였다. 기존에 사람 대상 연구에서 당뇨병이 있는 비만환자에서 유세포분석으로 M1 대식세포 분극화 양상을 분석한 연구는 없었고, 이를 당뇨병이 없는 비만 환자와 비교하여 분석한 것은 M1 대식세포 분극화와 당뇨병과의 관련성을 밝힐 뿐 아니라 M1 분극화의 비만대사수술의 예측인자로서 활용 가능성을 제시하는 연구이다.

비만은 지속적인 염증을 유발하는 병적 상태이며, 과도한 당 섭취로 인해 몸에 산화적 스트레스를 유발하고 이렇게 증가한 산화적 스트레스는 염증 상태를 촉발시키며, 비만으로 인한 만성 염증은 대사적 부하를 증가시키고 인슐린 신호 전달을 억제하며 인슐린 저항성을 유발시켜 당뇨병 발병의 위험을 증가시킨다 (38-39). 인슐린 저항성이 유발되는 기전으로 Shoelson (40) 등은 염증을 제시하였으며 여러 연구에서 당뇨병군이 대조군에 비해 전염증성 사이토카인 및 C-반응성단백의 농도가 높으며 백혈구 수 및 적혈구 침강속도가 인슐린 감수성과 역의 상관성을 나타냄을 밝혀 만성적인 저수준의 염증이 인슐린 저항성과 관련됨을 뒷받침하였다 (41-42).

최근 고도비만을 동반한 제2형 당뇨병에서 수술적 치료가 효과적임을 보고한 이래 제2형 당뇨병에 대한 수술적 치료의 관심이 높아지고 있다. (11-12), 그러나 고도비만을 동반하지 않는 환자에서는 인슐린 분비능이 손상된 경우가 많고, 체중감소를 유도하기 어렵기 때문에 어느 정도 인

슐린 분비능이 남아 있거나 수술 후 뛰어난 인슐린 분비능 향상이 있어야 제2형 당뇨병의 호전을 기대할 수 있는데, 여러 연구에서 비만을 동반하지 않은 환자는 비만대사수술 후 완치율이 낮음을 보고하고 있고, 이는 손상된 인슐린 분비능이 원인일 수 있다(43).

비만대사수술과 제2형 당뇨병 관해와의 연관성이 잘 확립되어 있지만 정확한 기전은 아직 밝혀져 있지 않고 주요 기전에 대해서는 아직 협의가 부족하다(39). 수술 후 장내 환경과 호르몬 개선 뿐 아니라, 염증반응이 줄어듬이 보고된 바 있는데 2011년 Zhang 등은 동물실험에서 당뇨병 쥐에서 비만대사수술 후 내장지방의 대식세포 침윤이 줄고, 대식세포에서 분비하는 염증성 사이토카인인 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)의 발현이 줄어드는 것으로 비만대사수술이 내장지방의 염증을 줄임을 증명하였다(44). 따라서 비만으로 인한 염증반응이 당뇨병의 발생 및 비만대사 수술의 결과에 영향을 미치리라고 가정해볼 수 있다. 비만형 당뇨병 환자에서, 비만으로 인한 염증 상태가 당뇨병 및 비만대사수술의 결과에 관련성을 밝혀낼 수 있다면 대사 수술의 당뇨병 치료에 대한 새로운 기작을 밝혀냄과 동시에 수술의 성공 가능성을 미리 예측해 볼 수 있는 표지자가 될 수 있을 것이다.

비만형 당뇨병 환자에서 비만으로 인한 염증 상태에 대한 평가를 위해 지방조직 내의 염증반응과 M1 대식세포 분극화를 살펴보고자 하였다. 이의 의미를 조금 더 객관적인 평가를 위해서 비만이면서 당뇨병이 없는 환자와 정상체중의 당뇨병 환자와 비교하여 차이점을 비교하여 밝혀보려고 하였다.

비만형 당뇨병 환자의 염증 상태를 전체적으로 평가하기 위해서, 비만대사수술 중 얻어지는 비만 조직에서 얻어진 SVF 세포를 이용한 유세포분석으로 M1 대식세포와 M2 대식세포의 분극화 정도를 확인하였고,

면역조직화학검사를 통한 대식세포와 CLS의 확인, M1, M2 대식세포의 유전자, 혈액검사를 통한 백혈구 수, 중성구 수, 림프구 수, C-반응성단백 등과 부가적으로 내장지방, 피하지방, 내장지방 피하지방 비율을 통하여 지방량과의 관련성 또한 확인하였다.

본 연구에서 유세포분석 결과 비만 환자(실험군, 대조군1)에서 정상체중 환자(대조군2, 대조군3)에 비해서 대식세포의 숫자가 유의하게 증가되었음이 확인되었고 이는 기존의 연구와 일치하는 것으로 비만 환자에서 지방 조직의 염증이 증가해 있음을 의미한다. 비만환자 중에서 당뇨병이 있는 실험군에서 당뇨병이 없는 실험군1에 비해서 대식세포의 수가 더 높은 %로 나타나는데 차이를 보이고 있다. 이는 비만 환자에서 당뇨병이 있는 경우 지방 조직의 염증의 수준이 더 높다고 볼 수 있는 것으로 지방 조직의 염증이 당뇨병의 발병과 관련이 있음을 시사한다. 대식세포에서 아형을 보면 실험군에서 M1 대식세포가 대조군1에 비해서 증가되어 있는 양상을 보이고, 항염증성인 M2를 보았을 때 대조군1에 비해서 오히려 감소되어 있음을 알 수 있다. 이는 M1/M2 비로 보았을 때 차이는 더욱 극명히 드러난다. 따라서 당뇨병이 있는 비만환자의 경우 염증의 정도가 당뇨가 없는 비만 환자에 비해 높다. 이는 체질량지수를 고려하더라도 비만형 당뇨병 환자(평균 체질량지수 41.51 kg/m^2)와 당뇨병이 없는 비만 환자(평균 체질량지수 41.45 kg/m^2)의 차이가 거의 없음을 볼 때, 체질량지수와는 상관없이 당뇨병이 있는 비만환자의 지방조직의 염증 수준이 높음을 시사하며 비만형 당뇨병 환자의 당뇨병 발병에 염증이 미치는 영향을 증명한 것이다.

지방조직의 면역조직화학검사에서도 유세포분석과 일치하는 소견을 보여주고 있다. 비만으로 인한 염증의 표지자로, 지방조직에서 대식세포가 증가되어 있고 그 아형중 특히 전염증성 특징을 지니는 M1 대식세포 분

극화의 증가가 두드러지는 것 뿐 아니라, 지방조직에서 대식세포의 축적으로 인해 특징적으로 CLS를 형성하며 이는 지방조직 단백 발현의 변화, 사이토카인 과생성, 전신적 인슐린 저항성 및 혈관 벽의 기능 이상과 관련됨이 잘 알려져 있다(45-47). 따라서 CLS는 지방 조직의 염증을 판단하는 중요한 기준이 된다. Chylikova 등(48)은 제2형 당뇨병 환자의 내장지방조직에서 대식세포의 수가 현저히 증가되어 있음이 밝혔다. 본 연구에서 대식세포의 숫자는 비만환자군(실험군, 대조군1)에서 정상체중 환자군(대조군2, 대조군3)에서 유의하게 높게 나타났으며, 지방조직의 염증의 정도를 보여주는 CLS는 정상 체중인 대조군2와 대조군3에서는 나타나지 않았고, 비만 환자군에서 나타났는데 특히 당뇨병이 있는 실험군에서 대조군1에 비해서 훨씬 많은 수치를 보였다.

실시간 중합효소연쇄반응 상 M1 대식세포를 나타내는 유전자인 PELI1과 NOS2에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나, 당뇨병이 없는 대조군1에서 항염증을 나타내는 M2 대식세포가 실험군보다 훨씬 높아져 있어 염증의 수준은 실험군에서 높음을 짐작할 수 있었다.

말초혈액 내 백혈구 수치와 대사증후군 및 당뇨병과는 밀접한 관련을 보이는데, Targher 등(49)은 말초혈액 백혈구와 인슐린 저항성이 유의한 상관관계가 있음을 보고하였고, Nakanishi 등(50)은 중년의 일본 남성들을 대상으로 말초혈액 백혈구 수와 대사증후군 항목과의 연관성 및 상대위험도를 보고하였다. 또한 제2형 당뇨병을 가진 중국인을 대상으로 한 대규모 연구(51)에서 백혈구 수의 증가가 당뇨병에 동반되는 혈관 합병증의 발생증가와 연관된다고 보고하였다. 본 연구에서도 전체적인 염증 수치를 나타내는 혈액검사에서 비만 환자군은 정상체중 환자군에 비해 높은 백혈구, 중성구, 림프구, C-반응성단백 수치를 보여주었다. 이는 비만 환자군에서 정상체중 환자군보다 염증 상태에 있음을 반영한다. 또한

비만환자 중에서도 당뇨병이 있는 실험군에서 당뇨병이 없는 대조군1에 비해서 백혈구 수, 중성구 수, 림프구 수, C-반응성단백에서 모두 유의하게 증가되어 있어서 지방조직의 염증 뿐 아니라, 전신적인 염증 상태가 높음을 의미한다. 이는 지방조직의 염증이 전신적인 염증상태에 영향을 미칠 수 있다고 볼 수 있을 것이다. 한편 Imtiaz 등(52)은 높은 중성구 임파구 비율을 나타내는 인구 표본군에서 당뇨병 이환의 상대적 위험도가 1.65로 유의하게 높았다고 하였다. 최근 중성구 림프구 비율이 비만대사수술의 예후와 관련성이 보고되고 있는데, Mari 등(53)은 중성구 림프구 비율이 비만대사수술 후 조기 합병증을 예측할 수 있다고 하였고, Bonaventura 등(54)은 낮은 중성구 림프구 비율 기저수치가 비만환자에서 대사수술 후에 5년 경과에서 제2형 당뇨병 관해와 관련이 있다고 하였다. 또한 혈중 호중구 같은 염증세포는 제2형 당뇨병 관해에 부정적인 영향을 미칠 수 있다고 하였다. 본 연구에서 중성구 림프구 비율은 비만형 당뇨병 환자와 다른 그룹에서 유의한 차이는 발견되지 않았다(P = 0.3146).

내장지방은 당뇨병과 밀접한 관련성이 있음이 잘 알려져 있는데, 내장지방의 축적은 대사성 질환과 밀접하게 연관되어 있다(55-56). Jung 등(57)은 한국의 성인에서 비만관련 인자 중에서 내장지방이 당뇨병 및 당뇨병 전상태와 가장 관련이 있다고 하였다. 본 연구에서 내장지방 및 피하지방량은 비만인 환자군에서 높게 나타났다. 체질량지수가 거의 같은 두 비만 환자군에서 보면 당뇨병이 있는 실험군에서는 당뇨병이 없는 대조군1보다 내장지방량이 많고, 반면 피하지방량은 적었다. 내장지방 피하지방 비율은 피하지방 대비 내장지방량을 평가하는 지표로 많이 사용되고 있고, 실제로 내장지방 피하지방 비율은 대사질환에 있어서 내장지방보다 더욱 연관성이 높다고 보고하고 있다 (58-60). 본 연구에서 내장지

방 피하지방 비율에서 실험군이 대조군1에 비해서 높게 나타났다. 이는 같은 비만 환자라 하더라도 대사질환인 당뇨병이 있는 경우에 내장지방 피하지방 비율이 높음을 할 수 있다. 흥미롭게도 정상체중의 당뇨병이 있는 대조군2에서 내장지방 피하지방 비율은 비만이 있는 당뇨병 환자인 실험군보다도 훨씬 높게 나타났다. 따라서 비만형 당뇨병 환자와 비교하여, 정상체중의 당뇨병 환자는 지방조직 자체의 염증보다는 내장지방 피하지방 비율이 정상체중 당뇨병의 발병과 더욱 관련이 있음을 보여준 것이라 할 수 있다.

결과적으로 당뇨병이 없는 비만군에 비해서 당뇨병이 있는 비만환자는 체질량지수가 차이가 없음에도 전신적인 염증 수치가 높을 뿐 아니라, 내장지방량이 많고, 내장지방 내에 염증 및 전염증성 성질을 가진 대식세포 및 M1 대식세포 분극화가 더 높게 나타났다. 이는 비만환자 중에서도 당뇨병이 발생한 환자는 지방조직의 염증 정도가 높다는 것을 보여준 것으로, 지방조직의 염증이 비만형 당뇨병의 발생기전에 관여하고 있다는 것을 나타낸다. 이는 비만대사수술 후 당뇨병의 개선이 염증의 정도와 관련성이 있음을 시사한다.

이 같은 사실을 바탕으로 M1 분극화와 수술 후 당뇨병 개선과의 관계를 보고자 하였으며 이를 위해서 기존의 수술예측인자와 수술 중 얻어진 지방조직에서 M1 대식세포 분극화와의 비교에서 ABCD 스코어와는 음의 상관관계를, DiaRem, Ad-DiaRem, IMS 스코어는 양의 상관관계를 보여서 이는 M1 대식세포 분극화가 증가해 있을수록 수술 예후가 좋지 않음을 나타내고 있으나 통계적인 유의성은 보이지 않았다.

실험군 12명 중에서 3개월 추척 관찰한 8명을 대상으로 비만대사수술 전과 후의 당화혈색소를 비교하였다. 실험군 8명 중 1명을 제외하고 수술 후 당화혈색소는 7명에서 감소하였다. 수술 전과 수술 3개월 후 당화

혈색소 감소 폭을 M1 분극화와 스피어스만 상관관계 분석을 하였을 때 양의 상관관계를 보였다. 이는 비만으로 인한 M1 분극화가 높을수록 수술 후의 당화혈색소 감소 폭이 증가함을 나타내는 것으로 비만대사수술 후 당뇨병의 개선 정도가 높음을 의미한다. 비만형 당뇨병 환자에서 비만형 비당뇨병 환자보다 M1 분극화가 높게 나타나 M1 분극화가 당뇨병의 발병 및 악화와 관련이 있다고 볼 수 있으나, 반면 M1 분극화가 높을수록 수술 후 당뇨병 개선 결과가 좋을 것으로 예측해 볼 수 있다. 이는 비만형 당뇨병 환자에서 M1 분극화의 증가로 인한 당뇨병 환자의 경우 비만대사수술의 성공 가능성이 높음을 의미하는데, 이는 비만으로 인해 염증이 과다하여 인슐린저항성 및 당뇨병이 악화된 경우에 수술적 치료로 염증이 감소하게 되면 당뇨병의 호전가능성이 높아진다고 볼 수 있는 것으로 M1 분극화가 대사 수술의 당뇨병 개선에 대한 예측인자로서의 가능성을 제시한 것이다. 이를 바탕으로 추후 장기간의 추적 관찰과 좀 더 많은 수의 환자를 통해서 M1 분극화와 비만대사수술의 당뇨병 개선 및 관해와 좀 더 명확한 연관성을 밝혀낼 수 있을 것이다.

M1 분극화의 임상적인 활용을 위해서 혈액검사 상의 염증 수치(백혈구 수, 중성구 수, 림프구 수, 단구 수, 중성구 림프구 비율, C-반응성단백) 및 C-펩타이드와 상관관계분석을 하였다. 이중 중성구 수와 중성구 림프구 비율은 유의미하게 양의 상관관계를 보이고 있어 임상적으로 M1 분극화의 증가를 혈액검사에서 중성구 수를 통해서 예측해 볼 수 있을 것이다. 수술예측지표인자로 사용되는 C-펩타이드는 M1 분극화와 유의미한 상관관계를 보이지 않았다.

본 연구는 다음과 같은 제한점이 있다. 첫 번째로 연구 대상자 수가 작다는 것이다. 두 번째는 실험 중 실시간 중합효소연쇄반응에 있어서

세포 수의 제한으로 대식세포를 분리해서 유전자 검사를 하지 못하고 SVF 세포에서 M1, M2 유전자를 보았다는 점, M1과 M2를 나타내는 다양한 유전자를 확인하지 못했다는 점, PELI1은 지방조직이 아닌 다른 염증 세포에서도 발현을 보일 수 있다는 점이 제한점이라고 할 수 있다. 그러나 기존 연구에서 PELI1은 M1 분극화를 유발하는 인자임이 확인되었고(34), M1 분극화를 나타내는 NOS2와 M2 분극화를 나타내는 ARG1 유전자를 함께 확인하였다. 세 번째는 정상체중의 대조군2와 대조군3에서는 조기위암이라는 기저질환이 있어 M1 분극화에 영향을 미칠 수 있다는 점이다. 그러나 기존 연구에서도 조기위암 환자군을 대상으로 내장지방을 연구한 사례가 있고(34), 대조군2 와 대조군3의 모든 환자는 수술 후 확인 결과 원발암의 침범깊이가 위벽의 점막층 혹은 점막하층까지 침범한 경우(T1)였고 림프절 전이와 원격전이는 없었으며(N0M0), 수술 중 내장지방의 절제는 위암병변의 영향을 최소화하기 위해서 위에서 4-5cm 떨어진 곳에서 이루어졌다. 네 번째는 비만대사수술 후 3개월 후 당화혈색소 수치만을 분석하였다는 점이다. 당뇨병 관해와의 관련성을 보기 위해서는 12개월 이상의 장기간 경과 관찰이 필요할 것이다. 다섯 번째로 M1 대식세포 분극화는 수술 중 지방조직에서 얻어서 분석하는 것으로 수술의 예측인자로서 직접 임상적으로 활용하기에는 무리가 있다. 이를 보완하기 위해서 혈액검사 중의 염증 인자와 상관관계분석을 하였지만, 혈액에서 M1 분극화를 직접 확인할 수 있는 방법이 개발된다면 임상적인 활용도가 높아질 수 있을 것이다.

그러나 본 연구에서는 사람 대상으로 비만형 당뇨병 환자의 지방조직에서 M1 분극화가 증가되어 있음을 처음으로 확인하였고 또한 수술 예측인자로서의 가능성을 확인하였다는 데 의미가 있고 임상적 활용에 대해서는 후속 연구에서 밝혀낼 수 있을 것으로 기대한다.

결론

이 연구에서는 비만 환자에서 보이는 지방조직의 만성 염증과 M1 분극화가 비만형 당뇨병 환자에서 더 높았고, M1 분극화가 높을수록 수술 후 3개월 째 당화혈색소 감소 폭의 증가를 보여주었다. 이는 M1 분극화의 증가가 비만 환자에서 당뇨병의 발병 및 악화와 관련성을 가지며, 더 나아가 비만 대사 수술의 결과 예측지표로서 M1 대식세포 분극화의 활용 가능성을 시사한다.

참고문헌

1. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care. 1998;21:1414-31.
2. International Diabetes Federation. IDF DIABETES ATLAS. 2015. 7th ed. https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html.
3. International Diabetes Federation. IDF DIABETES ATLAS. 2017. 8th ed. https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html.
4. Yoon KH, Lee JH, Kim JW, Cho JH, Choi YH, Ko SH et al. Epidemic obesity and type 2 diabetes in Asia. Lancet. 2006;368:11-17.
5. Mu YM, Misra A, Adam JM, Chan SP, Chow FCC, Cunanan C, et al. Managing diabetes in Asia: overcoming obstacles and the role of DPP-IV inhibitors. Diabetes Res Clin Pract. 2012;95:179-188.
6. 통계청 2017년 사망원인통계. 2018. http://kostat.go.kr/
7. 대한당뇨병학회. Diabetes fact sheet in Korea. 2020. https://www.diabetes.or.kr/pro/news/admin.php?mode=list&category=A.
8. Buchwald H, Buchwald J N. Metabolic (Bariatric and Nonbariatric)

Surgery for Type 2 diabetes: A personal perspective review. Diabetes Care. 2019;42(2):331-340.

9. American Diabetes association. 8. Obesity Management for the treatment of type 2 diabetes: Standards of medical care in diabetes-2019. Diabetes Care. 2019;42:S81-S89.
10. 보건복지부 고시 제 2018-259호. https://nhis.or.kr
11. Mingrone G, Panunzi S, Gaetano A D, Cuidone C, Iaconelli A, Leccesi L, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. N Engl J Med. 2012;366:1577-1585.
12. Schauer P R, Kashyap SR, Wolski K, Brethauer S A, Kirwan J P, Pothier C E, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. N Engl J Med. 2012;366:1567-1576.
13. Lee WJ, Hur KY, Lakadawala M, Kasama K, Wong SKH, Chen SC, et al. Predicting success of metabolic surgery: age, body mass index, C-peptide, and duration score. Surg Obes Relat Dis. 2013;9(3):379-384.
14. Still CD, Wood GC, Benotti P, Petrick AT, Garielsen J, Strodel WE, et al. A probability score for preoperative predication of type 2 diabetes remission following RYGB surgery. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2(1):38-45.
15. Dicker D, Golan R, Aron-Wisnewsky J, Zucker JD, Sokolowska N, Comaneshter DS, et al. Prediction of Long-Term Diabetes Remission after RYGB, Sleeve gastrectomy, and adjustable gastric banding using DiaRem and Advanced-DiaRem scores. Obes Surg.

2019;29:796-804.

16. Aminian A, Brethauer A, Andalib A, Nowacki AS, Jimenez A, Corcelles R, et al. Individualized metabolic surgery score: procedure selection based on diabetes severity. Ann Surg. 2017;266(4):650-657.
17. Chen JC, Hsu NY, Lee WJ, Chen SC, Ser KH, Lee YC. Prediction of type 2 diabetes remission after metabolic surgery: a comparison of the individualized metabolic surgery score and the ABCD score. Surg Obes Relat Dis. 2018;14:640-645.
18. Pucci A, Tymoszuk U, Cheung WH, Makaronidis JM, Scholes S, Tharakan G, et al. Type 2 diabetes remission 2 years post Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: the role of the weight loss and comparison of DiaRem and DiaBetter scores. Diabet Med. 2018;35:360-367.
19. Ahuja A, Tantia O, Chaudhuri T, Khanna S, Seetharamaiah S, Majumdar K, et al. Predicting remission of diabetes post metabolic surgery: a comparison of ABCD, diarem, and DRS scores. Obes Surg. 2018;28:2025-2031.
20. Ceperuelo-Mallafre V, Llaurado G, Keiran N, Benaiges E, Astiarraga B, Martinez L et al. Preoperative circulating succinate levels as a biomarker for diabetes remisson after bariatric surgery. Diabetes Care. 2019;42:1956-1965.
21. Ha J, Jang M, Kwon YK, Park WS, Park DJ, Lee JH et al. Metabolomic profiles predict diabetes remission after bariatric surgery. J Clin Med. 2020;9:3897.

22. DeFronzo RA. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver: a collusion responsible for NIDDM. Diabetes. 1988;37(6):667-687.
23. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM: a bbalanced overview. Diabetes Care. 1992;15:318-368.
24. Shulman GI. Cellular mechanism of insulin resistance. J Clin Invest. 2000;106:171-176.
25. Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, et al. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus: prospective studies of Pima Indians. N Engl J Med. 1993;329:1988-1992.
26. Jianping Ye. Mechanisms of insulin resistance in obesity. Front Med. 2018;7(1):14-24.
27. Bigornia SJ, Farb MG, Mott MM, Hess DT, Carmine B, Fiscale A, et al. Relation of depot-specific adipose inflammation to insulin resistance in human obesity. Nutr Diabetes. 2012;2:e30.
28. Lumeng CN Deyoung SM, Bodzin JL, Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. Diabetes. 2007;56:16-23.
29. Wentworth JM, Naselli G, Brown WA, doyle lisa, Phipson B, Smyth GK, et al. Pro-inflammatory CD11c+CD206+ adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance in human obesity. Diabetes. 2010;59(7):1648-1656.
30. Gordon S. Alternative activation of macrophages. Nat Rev Immuol. 2003;3:23-35.

31. 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.
32. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. J Clin Invest. 2007;117:175-184.
33. Appari M, Channon KM, McNeill E. Metabolic regulation of adipose tissue macrophage function in obesity and diabetes. Antioxid Redox Signal. 2018;29(3):297-312.
34. Kim DH, Lee H, Koh J, Ko JS, Yoon BR, Jeon YK, et al. Cytosolic Pellino-1-Mediated K63-Linked Ubiquitination of IRF5 in M1 Macrophages Regulates Glucose Intolerance in Obesity. Cell Rep. 2017;20(4):832-845.
35. Jayasingam SD, Citartan M, Thang TH, Zin AAM, Ang KC, Ch'ng ES. Evaluating the polarization of tumor-associated macrophages into M1 and M2 phenotypes in human cancer tissue:Techinicalities and challenges in routine clinical practice. Front Oncol. 2020;9:1512.
36. Sottier D, Petit J.-M., Guiu S, Hamza S, Benhamiche H, Hillon P et al. Quantification of the visceral and subcutaneous fat by computed tomography: interobserver correlation of a single slice technique. Diagn Interv Imaging. 2013;94:879-884.
37. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment:insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin

concentrations in man. Diabetologia. 1985;28(7):412-419.

38. Rodrigues MR da S, Santo MA, Favero GM, Vieira EC, Artoni RF, Nogaroto V, et al. Metabolic surgery and intestinal gene expression:digestive tract and diabetes evolution considerations. World J Gastroenterol. 2015;21:6990-6998.
39. Russel S.M., Valle V., Spagni G., Hamilton S., Patel T., Abdukadyrov N, et al. Physiologic mechanisms of Type II diabetes mellitus remission following bariatric surgery: a Meta-analysis and clinical implications. J Gastrointest Surg. 2020;(24):728-741.
40. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest. 2006;116:1793-1801.
41. Pitsvaos C, Tampourlou M, Panagiotakos DB, Skoumas Y, Chrysohoou C, Nomikos T, et al. Association between low-grade systemic Inflammation and type 2 diabetes mellitus among men and women from the ATTICA study. Rev Diabet Stud. 2007;4:98-104.
42. de Rooij SR, Nijpels G, Nilsson PM, Nolan JJ, Gabriel R, Bobbioni-Harsch E, et al. Low-grade chronic inflammation in the relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease (RISC) population: associations with insulin resistance and cardiometabolic risk profile. Diabetes Care. 2009;32:1295-1301.
43. Li Q, Chen L, Yang Z, Ye Z, Huang Y, He M, et al. Metabolic effects of bariatric surgery in type 2 diabetic patients with body mass index<35 kg/m2. Diabetes Obes Metab. 2012;14:262-270.

44. H. Zhang, Y Wang, J. Zhang, B. J. Potter, J.R. Sowers, C. Zhang. Bariatric surgery reduces visceral adipose inflammation and improves endothelial function in type 2 Diabetic mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011;31(9):2063-2069.
45. Brener AA, Devaraj S, Afify A, Jialal I. Adipose tissue dysregulation in patients with metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:E1782-E1788.
46. Apovian CM, Bigornia S, Mott M, Meyers MR, Ulloor J, Gagua M et al. Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28:1654-1659.
47. Wenthworth JM, Naselli G, Brown WA, Doyle L, Phipson B, Smyth GK et al. Proinflammatory CD11c+CD206+ adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance in human obesity. Diabetes. 2010;59:1648-1656.
48. Chylikova J, Chylikova J, Dvorackova J, Cizkova K, Lacey H, Kamarad V. Macrophages of the subcutaneous and omental fatty tissue in obese patients: Immunohistochemical phenotyping of M2 subtypes in relation to type 2 diabetes. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2020;164(2):133-137.
49. Targher G, Seidell JC, Tonoli M, Muggeo M, de Sandre G, Cigolini M. The white blood cell count: its relationship to plasma insulin and other cardiovascular risk factors in healthy male individuals. J Intern Med. 1996;239:435-441.
50. Nakanishi N, Suzuki K, Tatara K. White blood cell count and

clustered features of metabolic syndrome in Japanese male office workers. Occup Med. 2002;52:213-218.

51. Tong PC, Lee KF, So WY, Ng MH, Chan WB, Lo MK, et al. White blood cell count is associated with macro- and microvascular complications in chinese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2004;27:216-22.
52. Imtiaz F, Shafique K, Mirza S S, Ayoob Z, Vart P, Rao S. Neutrophil lymphocyte ratio as a measure of systemic inflammation in prevalent chronic diseases in Asian population. Int Arch Med. 2012;5:2.
53. Mari A, Mahamid M, Ahmad H S, Lubany A, Hija S A, Shorbaji N et al. The role of pre operative neutrophil to lymphocyte ratio in predicitng post bariatric surgery related complications. Isr Med Assoc J. 2020;22:294-298.
54. Bonaventura A, Liberale L, Carone R, Vecchie A, Bonomi A, Scopinaro N et al. Baseline neutrophil to lymphocyte ratio is associated with long-term T2D remission after metabolic surgery. Acta Diabetologica. 2019;56:741-748.
55. Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely M J, Newell-Morris L, Kanh S E et al. Visceral adiposity and the prevalence of hypertension in Japanese Americans. Circulation. 2003;108: 1718-1723.
56. Chiba Y, Saitoh S, Takagi S, Ohnishi H, Katoh N, Ohata J et al. Relationship between visceral fat and cardiovascular disease risk factors: the Tanno and Sobetsu study. Hypertens Res.

2007;30:229-236.

57. Jung S H, Ha K H, Kim D J. Visceral fat mass has stronger association with diabetes and prediabetes than other anthropometir obesity indicatior among Korea adults. Yonsei Med J. 2016;57(3):674-680.
58. Kim S, Cho B, Lee H, Choi K, Hwang SS, Kim D et al. Distribution of abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue and metabolic syndrome in a Korean population. Diabetes Care. 2011;34:504-506.
59. Kaess BM, Pedley A, Massaro JM, Murabito J, Hoffmann U, Fox CS. The ratio of visceral to subcutaneous fat, a metric of body fat distribution, is a unique correlate of cardiometabolic risk. Diabetologia. 2012;55:2622-2630.
60. Katsuyama H, Kawaguchi A, Yanai H. Not visceral fat area but the ratio of visceral to subcutaneous fat area is significantly correlated with the marker for atherosclerosis in obese subjects. Int J Cardiol. 2015;179:112-113.

ABSTRACT

Ji-Soo Kim

Department of Clinical Medical Sciences

The Graduate School

Seoul National University

Background: In the adipose tissue of obese patients, infiltration of macrophages is commonly observed, and among them, polarization of M1 macrophages, which have proinflammatory characteristics, is more prominent than that of anti-inflammatory M2 macrophages. Therefore, the purpose of this study was to analyze the polarization pattern of M1 macrophages and inflammation in visceral fat obtained during bariatric surgery in obese patients with diabetes in comparison to that of obese patients without diabetes, and to explore the possibility of M1 polarization as a preoperative predictor.

Methods: The study subjects were the experimental group (obese type patients with diabetes with a body mass index of 30 kg/m^2 or higher), control group 1 (obese type patients without diabetes with a body mass index of 30 kg/m^2 or higher), control group 2 (normal

body weight early gastric cancer patients with diabetes), and control group 3 (normal body weight early gastric cancer patients without diabetes). Stromal vascular fraction cells were isolated from visceral adipose tissue obtained during bariatric surgery (in control groups 2 and 3, during gastric cancer surgery), and M1 and M2 polarization was analyzed using flow cytometry. The number of macrophages and crown like structures (CLS) was confirmed by immunohistochemistry. Expression levels of M1 macrophage-related genes (NOS2, PELI1), and M2 macrophage-related genes (ARG1) were measured. Blood tests were performed in each group to measure inflammation indices (white blood cell count, neutrophil count, lymphocyte count, and C-reactive protein), and visceral fat area and subcutaneous fat area were measured usingl computed tomography. In the experimental group, the difference was determined by measuring glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels before and 3 months after surgery, and the existing predictive clinical scores of surgical results, and the association of visceral fat with M1 polarization before surgery was confirmed.

Results: In total, 12 experimental groups, 8 control groups 1, 3 control groups 2, and 11 control groups 3 were enrolled. Flow cytometry results indicated that macrophages were the highest in the experimental group (5.77±2.49, P=0.0032). Immunohistochemistry analysis showed that the number of CLS was the significantly high in the experimental group (2.71±1.7, P<0.0001). In the experimental

group, a significant low expression level of the M2 gene (ARG1) was observed in the qRT-PCR (P=0.0085), and in the blood test, the leukocyte (9.51±1.82, P=0.0009), neutrophil (603.21±154.52, P=0.0047), lymphocyte (258.14±69.13, P=0.0020 counts were significantly the highest in the experimental group in comparing to the other groups. Computed tomography showed that the visceral fat mass (23.39±7.25, P<0.0001) was significantly the highest in the experimental group. There was a positive correlation between M1 polarization and HbA1c reduction at 3 months postoperatively (R=0.9048, P=0.0020).

Conclusion: In the visceral fat of obese type patients with diabetes, inflammatory response and M1 macrophage polarization were significantly higher than those observed in obese type patients without diabetes. Thus, it was confirmed that M1 polarization and inflammatory response of adipose tissue owing to obesity were related to diabetes in obese patients, and the possibility of M1 polarization is suggested as a predictor of the outcome of bariatric surgery.

Keywords: Obesity, Diabetes, Bariatric surgery, Metabolic surgery, Macrophage, M1 polarization, Flow cytometry, inflammation, visceral fat, visceral subcutaneous fat ratio

Student number: 2012-30783

감사의 글

2014년 박사 과정을 수료한 후 많은 시간이 흘렀습니다. 개원을 하면서 시간이 여의치 않아 학업을 잠시 중단하기도 했었고, 진료를 하면서도 학업을 위해 밤을 지새우기도 했던 많은 날들이 있었고, 2020년에는 인생의 가장 큰 전환점으로 베트남으로 이주를 하게 되는 등 많은 일이 있었지만, 이제 정규 교육의 마지막 단계인 박사학위를 받는 시간이 왔습니다. 지금의 저가 있기까지 감사해야 할 분들이 너무 많습니다.

우선 지도교수님인 이혁준 교수님께서는 박사학위 과정에 저를 받아주셨을 뿐 아니라, 논문이 완성될 때까지 묵묵히 저를 격려해주시고 지원해주셨습니다. 2012년 서울대학교 임상의과학과에서 박사과정을 처음 시작할 때가 기억납니다. 당시 연고도 없던 외과 이혁준교수님께 비만연구를 하고 싶다고 말씀드렸을 때 흔쾌히 받아주셨고, 2014년 박사과정 수료 후 잦은 야간 업무 등으로 잠시 학업을 중단을 했을 때도 묵묵히 기다려주셨습니다. 2018년 다시 비만 연구를 시작하면서 연구주제 설정부터 틀을 잡기까지 많은 가르침을 주셨을 뿐 아니라, 연구가 한창 진행되고 고지를 향해가던 2020년 어느 날 베트남으로 이주라는 인생의 큰 변화가 있었음에도 이혁준교수님께서는 연구를 마칠 수 있도록 꾸준히 지지 해주셨고, 최종심사에서 종심에 이르기까지 논문을 마칠 수 있도록 많은 조언과 도움을 아끼지 않으셨습니다. 이같은 지도교수님의 헌신이 없었다면 결코 저의 박사논문은 세상의 빛을 볼 수 없었을 것입니다.

또한 외과에서 저를 받아주시고 개원의로서 학업을 병행함에 있어서 격려와 칭찬을 아끼지 않으셨던 양한광 교수님, 비만 연구에 있어서 많은 도움을 주시고 심사를 맡아 주셨던 박도중 교수님, 실험 계획단계부터 많은 조언을 아끼지 않으셨던 공성호 교수님께도 감사 인사드리고 싶습니다. 실험의 핵심인 유세포분석과 면역조직화학검사, 유전자검사까지 하나하나 도움주신 병리과 고재문교수님께도 감사 인사를 빠뜨릴 수 없습니다. 기꺼이 심사위원장을 맡아주신 조비룡교수님, 연구를 시작하던 10년전부터 애정을 가지고 조언해주시고 심사를 맡아주신 조영민교수님, 단시간에 더 나은 논문이 되도록 많은 조언해 주신 허훈교수님께도 감사드립니다. 임상 연구를 위해 도움을 주신 이선주간호사님을 비롯 외과 전임의 선생님들께도 감사드립니다. 무엇보다 실험실에서 실험의 초기 셋업부터 진행될 수 있도록 초기

부터 도와주셨던 배성우선생님, 정경윤선생님, 구은희선생님, 김현명선생님, 특히 유자은선생님께 감사드립니다. 또한 실험실에서 실험진행에 도움주셨던 고현수연구원님, 최영주연구원님께도 감사 인사 드립니다. 이분들의 도움이 아니었다면 결코 논문은 완성되지 못했을 것입니다.

무엇보다 이 논문이 나오기를 가장 기다리고 계셨던 부모님께도 감사의 말씀을 빼놓을 수 없습니다. 부모님의 헌신적인 지원과 지지로 박사학위를 받을 수 있었습니다. 늘 저에게 격려와 응원을 아끼지 않은, 1년 먼저 서울의대 박사과정을 졸업한 형 김유수박사에게도 감사의 말씀을 드리고 싶습니다. 또한 저를 늘 믿고 지지해주는 평생의 벗인 와인성형외과 김우람원장에게도 꼭 감사의 인사를 전하고 싶습니다. Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn vô hạn đến Hương, người bạn đời đã mang tôi đến Việt Nam và ủng hộ tôi trong suốt thời gian qua. Cô ấy là động lực để tôi hoàn thành chương trình Tiến sĩ.

일일이 언급은 못했지만 많이 부족한 저에게 도움을 주신 모든 분들께 진심으로 감사의 인사를 드립니다.