



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0027334
(43) 공개일자 2025년02월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61B 5/00 (2021.01) A61B 5/055 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61B 5/4872 (2013.01)
A61B 5/055 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2023-0107206
(22) 출원일자 2023년08월16일
심사청구일자 2023년08월16일

(71) 출원인
국립창원대학교 산학협력단
경상남도 창원시 의창구 창원대학로 20(퇴촌동)
(72) 발명자
임정은
경상남도 창원시 성산구 대암로 126 성원남산3차
311-1102
김영철
서울특별시 마포구 마포대로246
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에스알비

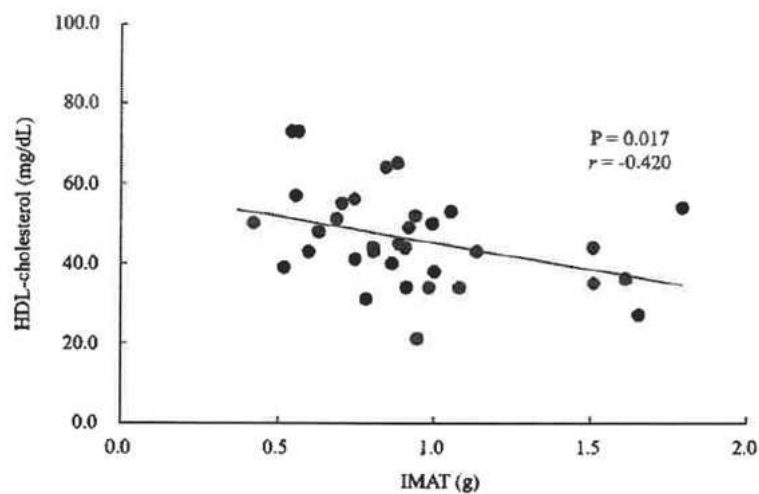
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 자기공명영상 기법을 이용한 비만 표현형에 따른 지방 분포 측정과 그에 따른 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법

(57) 요약

본 발명은 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 기법을 이용한 비만 표현형에 따른 지방 분포 측정과 그에 따른 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로서, 상기 정보 제공 방법은 효과적으로 비만 유병률 및 비만과 관련된 대사적 위험도를 개선하는데 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61B 5/7275 (2013.01)

(72) 발명자

임현정

서울특별시 강남구 선릉로69길 19 102동 1501호

이상열

서울특별시 강남구 역삼로 309 105동 302호

최하늘

경상남도 창원시 의창구 사림로99번길 4-17

명세서

청구범위

청구항 1

자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 기법을 이용하여 대상체로부터 부위별 지방 분포를 측정하는 측정 단계를 포함하는, 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 대상체는 체질량지수(body mass index; BMI)가 25 kg/m^2 이상인 것인, 정보 제공 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 대상체는 인종이 아시아인인 것인, 정보 제공 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 대상체는 성별이 여성인 것인, 정보 제공 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 대상체는 다음 기준을 3개 이상 충족하는 대사이상비만(metabolically abnormal obesity; MAO)을 비만 표현형으로 하는 것인, 정보 제공 방법:

- 1) 허리둘레가 남성은 90cm 이상, 여성은 85cm 이상인 복부비만;
- 2) 남성은 40 mg/dL 미만, 여성은 50 mg/dL 미만인 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C);
- 3) 중성지방(triglycerides; TG) 수치가 150 mg/dL 이상인 고중성지방혈증;
- 4) 수축기 혈압(systolic blood pressure; SBP)은 130 mmHg 이상, 확장기 혈압(diastolic blood pressure; DBP)은 85 mmHg 이상인 고혈압; 및
- 5) 100 mg/dL 이상인 높은 공복 혈당 수치 또는 제2형 당뇨병(type 2 diabetes mellitus; T2DM)인 환자.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 정보 제공 방법은 측정 단계에서 측정된 근육간 지방 조직(Intermuscular Adipose Tissue; IMAT) 및 IMAT/지방제외체중(Lean Body Mass; LBM)의 측정값이 증가하면 대사성 질환과 연관된 위험도가 증가한 것으로 판단하는 위험도 판단 단계를 추가적으로 포함하는 것인, 정보 제공 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 대사성 질환은 이상지질혈증, 내당능 장애, 인슐린저항성, 당뇨병, 고혈당증, 고혈압 및 심혈관질환(cardiovascular disease; CVD)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 정보 제공 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 자기공명영상 기법을 이용한 비만 표현형에 따른 지방 분포 측정과 그에 따른 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 한국인을 대상으로 비만 표현형에 따른 부위별 지방 분포 측정하여 그에 따른 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0001]

[0002] 비만은 이상지질혈증, 고혈압, 인슐린 저항성 및 고혈당증을 포함한 광범위한 대사 합병증을 유발할 수 있는 복부 지방 축적으로 정의된다. 최근 수십 년 동안 전 세계적으로 과체중 및 비만의 유병률이 증가하고 있으며, 세계보건기구 보고서에 따르면 2016년 전세계 성인(18세 이상)의 39% 이상(19억)이 과체중, 13%(6억 5천만)가 비만으로 나타났다. 마찬가지로 지난 10년 동안, 우리나라의 비만 유병률은 35.7%로 급격히 증가하였으며, 병적인 비만은 2008년 3.5%에서 2018년 6.0%로 지속적으로 증가하였다.

[0003] 비만은 일반적으로 대사 장애의 높은 위험과 관련이 있다. 그러나 체질량지수(body mass index; BMI)가 높은 모든 사람이 복부 비만이나 비만 관련 합병증을 겪는 것은 아니며, 동일한 높은 BMI를 가진 사람이라도 지방 분포에 따라 다양한 위험을 가질 수 있다. 또한 다양한 역학 연구에 따르면, 모든 유형의 비만이 동일한 건강의 위험성을 갖는 것은 아니며, 비만 관련 대사 이상은 일부 특정 비만 표현형, 지방 분포 및 체질량지수의 영향을 받는다고 보고되었다.

[0004] 지방 조직(Adipose Tissue; AT)의 부위별 차이는 비만 표현형만큼 중요하다. 내분비 기관으로서 AT는 과도한 에너지 저장 장소일 뿐만 아니라 면역 체계와 염증에도 영향을 미친다. 또한, AT는 간, 골격근, 신장 및 면역 체계에 영향을 미치는 내분비 신호를 통해 세포 기능 조절에 관여한다. 근육 및 간과 같은 피하 조직 외부의 이소성 위치에 AT가 축적되는 것은 만성 염증, 포도당 불내성, 총 콜레스테롤의 혈중 농도 증가 및 노인의 근육 약화도 밀접한 관련이 있다.

[0005] 근육간 지방 조직(Intermuscular Adipose Tissue; IMAT)은 심부 근육 아래 및 근육 내에 위치하는 지방으로 전체 허벅지 지방의 5% 미만을 차지하며, 이는 인슐린 저항성, 염증, 무증상의 죽상 동맥 경화증 및 근육 약화를 포함한 대사 장애와 직접적으로 관련이 있다. 따라서 IMAT 축적은 부위별 지방 분포보다 대사 위험 증가와 더 관련이 있을 수 있다. 현재 부위별 지방분포에 대한 관심은 높은 추세이지만, 한국인을 대상으로 IMAT와 대사장애 사이의 연관성을 조사한 연구는 거의 없다. 따라서 한국인을 대상으로 비만 표현형, 부위별 지방 분포 및 건강의 위험성 증가 사이의 관계를 조사하는 연구가 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에 본 발명자들은 한국인을 대상으로 비만과 대사 장애 사이의 연관성을 규명하고자 노력하였다. 그 결과, 자기공명영상 기법을 이용하여 부위별 지방 분포를 측정하고, 한국인 여성에서의 지방 분포와 대사 장애 사이의 연관성을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0007] 이에, 본 발명의 목적은 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 기법을 이용하여 대상체로부터 부위별 지방 분포를 측정하는 측정 단계를 포함하는, 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 기법을 이용한 비만 표현형에 따른 지방 분포 측정과 그에 따른 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 정보 제공 방법은 비만 유병률 및 비만과 관련된 대사적 위험도를 개선하는데 도움이 될 수 있다.

[0009] 본 발명자들은 한국인을 대상으로 자기공명영상 기법을 이용하여 부위별 지방 분포를 측정하고, 한국인 여성에서의 지방 분포와 대사 장애 사이에 연관성이 있음을 확인하였다.

[0010] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0011] 본 발명의 일 양태는 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 기법을 이용하여 대상체로부터 부위별 지방 분포를 측정하는 측정 단계를 포함하는, 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법이다.

[0012] 본 발명에 있어서 상기 대상체는 체질량지수(body mass index; BMI)가 25 kg/m^2 이상인 것일 수 있다.

[0013] 본 발명에 있어서 상기 대상체는 인종이 아시아인인 것일 수 있고, 바람직하게는 한국인인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0014] 본 발명에 있어서 상기 대상체는 성별이 여성인 것일 수 있다.

- [0015] 본 발명에 있어서 상기 대상체는 다음 기준을 3개 이상 충족하는 대사이상비만(metabolically abnormal obesity; MAO)을 비만 표현형으로 하는 것일 수 있다:
- [0016] 1) 허리둘레가 남성은 90cm 이상, 여성은 85cm 이상인 복부비만;
- [0017] 2) 남성은 40 mg/dL 미만, 여성은 50 mg/dL 미만인 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C);
- [0018] 3) 중성지방(triglycerides; TG) 수치가 150 mg/dL 이상인 고중성지방혈증;
- [0019] 4) 수축기 혈압(systolic blood pressure; SBP)은 130 mmHg 이상, 확장기 혈압(diastolic blood pressure; DBP)은 85 mmHg 이상인 고혈압; 및
- [0020] 5) 100 mg/dL 이상인 높은 공복 혈당 수치 또는 제2형 당뇨병(type 2 diabetes mellitus; T2DM)인 환자.
- [0021] 본 발명에 있어서 상기 정보 제공 방법은 측정 단계에서 측정된 근육간 지방 조직(Intermuscular Adipose Tissue; IMAT) 및 IMAT/지방제외체중(Lean Body Mass; LBM)의 측정값이 증가하면 대사성 질환과 연관된 위험도가 증가한 것으로 판단하는 위험도 판단 단계를 추가적으로 포함하는 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명에 있어서 상기 대사성 질환은 이상지질혈증, 내당능 장애, 인슐린저항성, 당뇨병, 고혈당증, 고혈압 및 심혈관질환(cardiovascular disease; CVD)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명은 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 기법을 이용한 비만 표현형에 따른 지방 분포 측정과 그에 따른 대사성 질환과 연관된 위험도 판단을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로서, 상기 정보 제공 방법은 효과적으로 비만 유병률 및 비만과 관련된 대사적 위험도를 개선하는데 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 근육간 지방 조직(Intermuscular Adipose Tissue; IMAT)과 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C)의 상관관계를 보여주는 그래프이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 IMAT와 렙틴(leptin)의 상관관계를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0027] 실시예 1: 연구 참여자의 기본 특성

[0028] 1-1. 피험자 모집

- [0029] 연구의 목적을 충분히 이해하고 사전동의서에 서명한 총 35명의 비만(체질량지수(body mass index; BMI) ≥ 25 kg/m²) 피험자를 모집하였다. 아시아에서는, 아시아인이 백인보다 심혈관 질환(cardiovascular disease; CVD)의 위험이 높기 때문에, 세계 보건 기구(World Health Organization; WHO)의 아시아 태평양 가이드라인에 따라 BMI ≥ 25 kg/m²를 비만으로 정의하였다. 따라서 한국을 포함한 아시아에서 수행된 연구에서는 더 낮은 BMI 컷오프 포인트가 사용되었다. 이 연구는 2013년 4월부터 2013년 12월까지 그리고 2015년 4월부터 2015년 12월까지 수집된 데이터를 포함하였다. 본 연구에 사용된 모든 인간 피험자와 실험 시퀀스는 경희의료원 기관심의위원회(KMC IRB 1304-03 및 KMC IRB 1509-01)의 승인을 받았다.

- [0030] 또한, 다음 기준 중 하나라도 충족하는 피험자는 연구에서 제외되었다.

- [0031] 1. 심장, 신장, 간, 갑상선 또는 뇌혈관 질환;
- [0032] 2. 담낭 질환, 위장관 질환, 통풍 또는 포르피린증;

- [0033] 3. 우울증, 정신분열증, 알코올 중독 또는 약물 중독;
- [0034] 4. 임신 또는 수유;
- [0035] 5. 항비만 약물 사용; 및
- [0036] 6. 등록 후 30일 이내에 비만 또는 다이어트 프로그램에 참여.

[0038] **1-2. 피험자 분류**

[0039] 피험자는 성별에 따라 두 그룹으로 분류하였으며, 국립 콜레스테롤 교육 프로그램 성인 치료 패널(National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III; NCEP-ATP III) 지침에 따라 대사이상비만 (metabolically abnormal obesity; MAO) 및 대사정상비만(metabolically healthy obesity; MHO)의 두 개의 비만 표현형 그룹으로 추가 분류하였다. BMI ≥ 25 kg/m²이고 NCEP-ATP III 기준 중 3개 이상을 충족하는 사람은 MAO 그룹으로 분류한 반면, NCEP-ATP III 기준 중 2개 이하를 충족하는 사람은 MHO 그룹으로 분류하였다.

[0040] NCEP-ATP III 기준은 다음과 같다:

- [0041] 1) 허리둘레가 남성은 90cm 이상, 여성은 85cm 이상인 복부비만;
- [0042] 2) 남성은 40 mg/dL 미만, 여성은 50 mg/dL 미만인 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C);
- [0043] 3) 중성지방(triglycerides; TG) 수치가 150 mg/dL 이상인 고중성지방혈증;
- [0044] 4) 수축기 혈압(systolic blood pressure; SBP)은 130 mmHg 이상, 확장기 혈압(diastolic blood pressure; DBP)은 85 mmHg 이상인 고혈압; 및
- [0045] 5) 100 mg/dL 이상인 높은 공복 혈당 수치 또는 제2형 당뇨병(type 2 diabetes mellitus; T2DM)인 환자.

[0047] **실시예 2: 연구 참여자의 측정 및 분석**

[0048] **2-1. 인체 측정**

[0049] 국민건강영양조사에 따라, 피험자별로 인체 측정 데이터를 측정하였다. 체중과 키는 가벼운 옷을 입은 피험자를 소수점 이하 자릿수(각각 0.1 kg과 0.1 cm)까지 전자 체중계와 신장계를 사용하여 측정하였다. BMI는 체중을 키의 제곱(kg/m²)으로 나누어 계산하였다. 유연한 측정 테이프를 사용하여, 가장 낮은 늑골과 장골능(엉덩뼈능선) 사이의 중간 지점에서 허리 둘레(Waist Circumference; WC)를 측정하고, 엉덩이 둘레(Hip circumference; HC)는 엉덩이의 가장 넓은 부분을 중심으로 측정하였다. SBP와 DBP는 자동혈압계를 이용하여 측정하였다.

표 1

	여성		남성	
	MAO(n=10)	MHO(n=10)	MAO(n=8)	MHO(n=7)
Age(years)	44.3±13.0	14.1±8.7	42.5±7.1	48.6±9.5
Height(cm)	156.8±4.4	160.3±8.8	173.9±2.9	172.4±3.4
Weight(kg)	70.6±11.6	62.6±8.8	88.4±13.4	76.7±11.9
BMI(kg/m ²)	29.8±6.1*	24.1±3.8	29.1±3.8	25.7±3.4
WC(cm)	92.4±9.5	85.3±8.1	98.1±10.0	93.2±6.6
HC(cm)	102.2±8.7	99.5±9.1	104.4±7.1	101.6±6.0
SBP(mmHg)	120.6±15.4	109.8±11.0	139.8±17.1	124.4±7.3
DBP(mmHg)	79.2±10.6	74.4±8.9	90.3±14.7	82.3±6.7

[0053] 표 1에서 확인할 수 있듯이, MAO 그룹의 여성은 MHO 그룹의 여성보다 BMI가 유의하게 더 높았다($P=0.043$). MAO 그룹의 여성은 MHO 그룹의 여성보다 체중, WC, HC, SBP 및 DBP가 더 높은 경향이 있었지만, 그룹 간의 차이는 유의하지 않았다. 두 그룹의 남성 사이에 일반적인 특성이나 인체 측정학적 매개 변수에는 유의미한 차이가 없었다.

[0055] 2-2. 체성분 및 부위별 지방 분포 분석

[0056] 체지방률(Percentage Body Fat; PBF)과 체지방량(Fat Free Mass; FFM)은 생체 전기 임피던스 분석기(InBody 3.0; Biospace, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 기술된 바와 같이 MRI를 사용하여 부위별 지방 분포를 평가하였다. 총 피하 지방 조직(Subcutaneous Adipose Tissue; SAT), 내장 지방 조직(Visceral Adipose Tissue; VAT), 근육간 지방 조직(Intermuscular Adipose Tissue; IMAT) 및 지방제외체중(Lean Body Mass; LBM) 측정을 위한 모든 이미지는 1.5T 전신 스캐너(63 Horizon; General Electric, Milwaukee, WI)를 사용하여 10mm 두께와 40mm 간격으로 촬영되었다. MRI 부피의 추정치는 지방 조직(Adipose Tissue; AT)의 경우 0.92kg/L, 근육의 경우 1.04kg/L의 추정된 밀도를 사용하여 질량으로 변환하였다. MRI 이미지는 sliceomatic 소프트웨어(TomoVision, Magog, QC, Canada)를 사용하여 분석하였다.

표 2

[0058]

	여성		남성	
	MAO(n=10)	MHO(n=10)	MAO(n=8)	MHO(n=7)
PBFM(%)	37.9±7.0	32.9±4.5	27.7±6.7	24.4±5.8
FFM(%)	66.9±24.5	50.5±14.6	78.0±20.7	68.4±15.1
TAT(g)	29.2±9.3	22.5±7.7	23.9±6.6	21.4±8.9
SAT(g)	25.5±8.4	19.6±6.7	19.0±6.0	16.8±6.9
VAT(g)	2.6±1.0	2.2±1.1	3.9±1.5	3.7±2.8
IMAT(g)	1.1±0.3**	0.7±0.2	1.0±0.3	0.9±0.4
LBM(g)	29.1±3.3	28.2±4.3	43.0±4.8	41.5±5.7
IMAT/LBM ratio	0.037±0.011**	0.024±0.007	0.024±0.009	0.022±0.010

[0060] 표 2에서 확인할 수 있듯이, 여성의 경우, IMAT 및 IMAT/LBM 비율은 MAO 그룹에서 MHO 그룹보다 유의하게 높았다(각각 $P=0.009$ 및 $P=0.007$). 그러나 이러한 매개 변수는 남성의 MAO 그룹과 MHO 그룹 간에 크게 다르지 않았다. 또한 PBFM, FFM, 총 AT 질량(TAT), SAT, VAT 및 LBM에서 성별에 관계없이 두 그룹 간에 유의한 차이가 없었다.

[0062] 2-3. 생화학 분석

[0063] 12시간 동안 밤새 금식한 피험자로부터 10mL의 정맥혈 샘플을 수집한 후, 추가 분석을 위해 혈청 샘플을 -80°C 에 보관하였다. 혈청 포도당, 중성지방(triglycerides; TG), 총콜레스테롤, 저밀도 지질단백질 콜레스테롤(low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C), 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C) 수치는 시판되는 assay kit(아산제약, 서울, 한국)를 이용하여 효소비색법으로 측정하였다. 아디포넥틴(adiponectin) 및 렙틴(leptin)(ALPCO, Salem, NH) 및 비스파틴(visfatin)(BioVendor, Asheville, NC)은 인간 특이적 효소 연결 면역흡착 분석 키트를 사용하여 측정하였다.

표 3

[0065]

	여성		남성	
	MAO(n=10)	MHO(n=10)	MAO(n=8)	MHO(n=7)

Glucose(mg/dL)	146.8±95.1 [*]	124.7±85.8	110.9±31.4	98.6±4.2
TGs(mg/dL) ^a	2.4±0.4 ^{**}	2.0±0.1	2.3±3.2	2.0±0.1
Total-C(mg/dL)	208.8±53.9	209.1±33.8	194.8±46.4	201.4±41.1
LDL-C(mg/dL)	95.4±63.0	118.6±52.4	89.6±34.5	117.4±53.1
HDL-C(mg/dL)	39.4±8.0 ^{**}	57.9±11.6	39.4±10.2	48.0±6.7
Visfatin(ng/mL)	0.9±1.0	0.8±0.5	0.8±0.6	1.5±2.4
Adiponectin(μ g/mL)	3.5±2.1	3.8±1.2	2.4±0.8	6.5±7.2
Leptin(ng/mL)	20.5±14.1	10.9±10.5	11.3±3.7	12.4±15.2

[0067] 표 3에서 확인할 수 있듯이, 혈청 포도당과 중성지방(TG) 수치는 MAO 그룹에서 MHO 그룹 보다 유의하게 높았으며(각각 P=0.043, P=0.009), 반면 MAO 그룹에서 혈청 HDL-C 수치는 MHO 그룹 보다 유의하게 낮았다(P=0.001). 여성의 경우, MAO 그룹의 총 콜레스테롤, LDL-C, 비스파틴 및 아디포넥틴의 혈청 수치는 MHO 그룹과 크게 다르지 않았으며, 두 남성 그룹 사이의 혈액 매개변수에는 유의한 차이가 없었다.

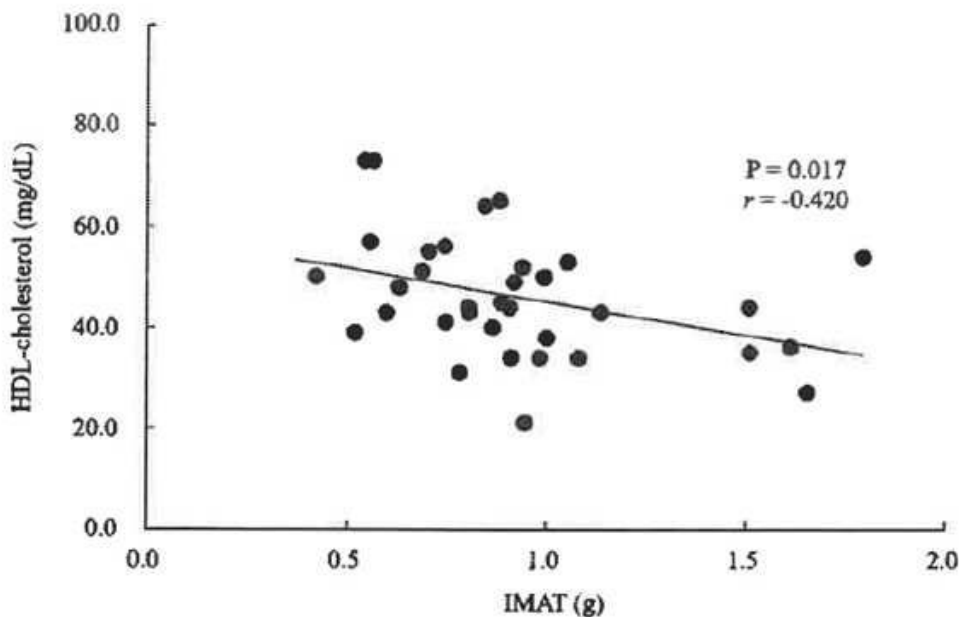
[0068] 또한, 도 1 및 도 2에서 확인할 수 있듯이, IMAT와 HDL-C 또는 렙틴 사이의 상관관계를 보면, HDL-C 수치는 IMAT와 음의 상관관계(P=0.017, r=-0.420)인 반면, 렙틴은 모든 피험자들에게서 IMAT와 양의 상관관계를 보였다(P=0.030, r=0.384).

[0069] 이를 통해 MAO 그룹은 MHO 그룹에 비해 TG가 증가하고 HDL-C 수치가 감소한 결과로 보아, 지방 분포는 심혈관질환(CVD) 위험에 대한 판단을 제공할 수 있다.

[0070] 또한, 비만 표현형에 따른 CVD의 대사 위험도와 IMAT/LBM 비율이 남성보다 여성에서 유의하게 높게 나타난 결과로 보아, 비만과 대사성 질환과 위험도 사이의 연관성에 대하여, 성별의 차이를 이해하는 것이 비만을 개선하는 데 도움이 된다는 것을 확인할 수 있었다.

도면

도면1



도면2

