

國立台灣大學臨床醫學研究所

博士論文

Graduate Institute of Clinical Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Doctor Dissertation

癌末患者之症狀群集與惡病質：著重於脂締素之角色

Symptom Cluster and Cachexia in Advanced Cancer

Patients: Focusing on Adiponectin

研究生： 蔡兆勳 Jaw-Shiun Tsai

指導教授： 莊立民 教授 Prof. Lee-Ming Chuang

陳慶餘 教授 Prof. Ching-Yu Chen

中華民國 100 年 1 月

國立臺灣大學博士學位論文
口試委員會審定書

癌末患者之症狀群集與惡病質：著重於脂締素之角色

Symptom Cluster and Cachexia in Advanced Cancer
Patients: Focusing on Adiponectin

本論文係蔡兆勳君（學號 Q89421028）在國立臺灣大學
臨床醫學研究所完成之博士學位論文，於民國 100 年 1 月 13
日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

陳志偉 王淑芬 (簽名)

(指導教授)

林嘉華 _____

鄧哲明 _____

賴明允 _____

系主任、所長

高嘉宏 _____

(簽名)

致 謝

西元 2000 年在恩師陳慶餘教授的鼓勵下順利進入臨床醫學研究所第一屆碩士在職進修專班。承蒙另一位恩師莊立民教授的厚愛，在兩位老師的共同指導下開始學習臨床與基礎醫學的研究。畢業不是結束，而是另一階段的開始，我將繼續努力學習，盡力達成下一階段的目標。

永遠記得剛開始的時候，莊教授就要求我自己做實驗，我也決心把實驗研究當作是住院醫師訓練以外的另一項磨練，不僅下班時間待在實驗室，甚至有幾年是在實驗室過夜。我在實驗室從基礎學起，逐步學習常用的實驗方法，歷經無數的失敗，都是在莊教授溫馨的鼓勵下拾回信心。老師對學術研究的嚴謹與執著，無形中啟發我對研究的熱愛，這樣的精神是我日後持續研究的重要基礎，由衷感謝老師的恩賜。也特別要感謝陳美珠小姐帶我進入實驗室、張惠敏小姐適時伸出援手、張恬君醫師和李弘元醫師的鼓勵、張以承醫師的協助、冠靜、雅惠、曉薇、珊珊、俊名和韻如等同仁給我莫大的協助。

在臨床工作與研究方面，由衷感謝陳教授的指導與研究資源，特別是他如師如父般的照顧與關懷讓我無以回報。家庭醫學教育讓我成為親近病人的醫師，這是我一生重要的資產，都歸因於家庭醫學部主任邱泰源教授及所有師長的言教與身教，特別致上十二萬分的謝意，感謝他們在這段時間的包容。

還要感謝吳治勳博士、陳素秋教授在統計分析上給我的指導與協助，感謝鄧哲明教授、張智芬教授、陳玉伶教授在實驗技術上給我的指導與協助，感謝林明燦教授提供胃癌病人的檢體與指導，感謝鄧哲明教授、林幸榮教授、賴明亮教授、賴明陽教授在研究方向的指導與論文的匡正。這十年來要感謝的人不勝枚舉，僅在此對所有曾經幫助我的朋友，表達我由衷的謝意。

論文寫作期間感謝摯友婷婷的支持與鼓勵，他在百忙中抽空幫我校對英文稿，更讓我銘感五內。家庭教育對我影響至深且遠，最後僅以此論文獻給我摯愛的雙親，感謝他們的生育養育教育之恩。沒有他們辛苦的付出，就沒有今天的我。

中文摘要

癌症是目前醫學一項重要的挑戰，因為每年全世界有幾百萬人死於癌症。因此，安寧緩和醫療對癌症末期病人的照護非常重要。症狀控制是安寧緩和醫療非常重要的一部份。癌末病人的症狀包括多重性、同時發生、高嚴重度等特徵。症狀群集是目前癌末病人症狀評估、處置及研究的新領域。過去幾年，在這方面已有快速的進展。然而，產生症狀群集的機轉、身體症狀及心理困擾與症狀群集的關係、症狀群集跟病人預後的關係，目前參考資料匱乏，有待進一步研究。為改善症狀控制的效果，我們收集了 427 位癌症末期病人的資料進行研究，透過因素分析 (factor analysis) 確認五個症狀群集，分別命名為能量耗損(loss of energy, LE)，進食不佳(poor intake, PI)，自主神經失調(autonomic dysfunction, AD)，呼吸消化障礙(aerodigestive impairment, AI)，疼痛(pain complex, PC)。根據因素分析所得到的五個症狀群集的因素分數 (factor score)，我們進一步利用群集分析 (cluster analysis) 將病人分成六組，每組病人具有特別的症狀群集型態。更重要的是，病人的存活時間 (survival)、身體功能 (functional performance)、骨骼轉移 (bone metastasis)、體液堆積 (fluid accumulation) 跟這六組病人的症狀群集有顯著相關。了解症狀群集的相關因素，將為癌末病人的症狀控制提供更好的臨床照護策略。

惡病質 (cachexia) 是癌症病人經常發生的能量代謝異常狀態，是影響癌症病人預後的重要因素之一，惡病質相關症狀的發生具有重要的臨床意義。脂締素 (adiponectin) 在身體能量代謝方面扮演重要的角色，通常血漿中脂締素的濃度跟身體質量指數 (body mass index) 呈現負相關。為了探討脂締素在癌症病人能量代謝異常的角色，我們進一步研究 91 位癌症病人血清脂締素濃度跟身體質量指數的關係，特別重視病人的身體功能及存活期。我們發現只有在身體功能較好的病人(ECOG=1)，血清中脂締素濃度跟身體質量指數呈現負相關，但是在身體功能較差的病人 (ECOG \geq 2) 並沒有這樣的關係。我們也發現血清中脂締素濃度

合併身體功能及腫瘤遠處轉移，在身體功能較差的病人 (ECOG \geq 2) 是存活期的獨立預測因子。

肌肉和脂肪組織的同時消瘦是癌症惡病質重要的特徵。發炎反應在癌症惡病質過程扮演重要角色。在癌症惡病質動物的骨骼肌、脂肪組織及腫瘤組織，經常看到巨噬細胞的浸潤增加。脂締素除了在脂肪細胞表現，最近的研究也證實巨噬細胞 (macrophage) 會表現脂締素。為了解單核球 (monocyte) 所製造的脂締素在癌症惡病質的角色，我們建立了單核球的體外模式，探討單核球製造的脂締素對單核球功能的影響。我們第一個發現 rosiglitazone (RSG) 可以促進單核球 peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) 的表現和功能，同時促進脂締素在單核球及巨噬細胞的表現。RSG 促進單核球表現的脂締素，可以透過活化 AMP-activated protein kinase (AMPK) 的訊息傳遞路徑減少整合素 (integrin α_5) 的表現，進而抑制纖維結合素 (fibronectin) 所誘導的單核球黏著 (adhesion)。

為了進一步探討血漿脂締素濃度、單核細胞 (mononuclear cell) 脂締素表現程度及癌症病人存活期的關係，我們收集了 28 位胃癌病人和 57 位自願者當對照組。我們發現胃癌病人單核細胞表現脂締素的程度較對照組低，同時也發現胃癌病人單核細胞表現脂締素的程度是病人存活時間的獨立預測因子。

惡病質相關的症狀是末期癌症病人很重要的症狀群集內容。血清脂締素在癌症惡病質扮演重要角色，同時也是癌症病人存活期的獨立預測因子。單核球本身製造的脂締素不僅具有抑制單核球黏著的作用，同時也跟胃癌病人的存活期有關。透過這一系列研究，我們發現血清脂締素及單核細胞表現的脂締素都是癌症的生物指標，跟癌症病人的惡病質和存活期有關。

關鍵字：脂締素、單核球黏著、癌症惡病質、症狀群集、存活期

Abstract (英文摘要)

Cancer is a great challenge in medicine, because there are several million people died of cancer worldwide every year. Thus, hospice and palliative care is very important in advanced cancer patients. Symptom management is an essential component of hospice and palliative care. The symptoms of advanced cancer patients are multiple, concurrent and severe in intensity. Research on symptom clusters is now a frontier in the studies of the management of patients with advanced cancers. A rapid progress has been made in the studies on symptom clustering in past few years. However, investigation of the underlying mechanisms for the aggregation of symptoms, associations of physical signs and psychological distress with symptom clustering, and the relation of symptom clustering to prognosis in cancer patients are still lacking. For better quality of palliative care, we recruited 427 advanced cancer patients and identified five symptom clusters by exploratory factor analysis, namely, loss of energy (LE), poor intake (PI), autonomic dysfunction (AD), aerodigestive impairment (AI), and pain complex (PC). Based on the factor scores of five symptom clusters, we further used non-hierarchical cluster analysis to divide the patients into six groups. Each group was characterized by a particular pattern which composed of different symptom clusters. Survival, functional performance, bone metastasis, and fluid accumulation were significantly associated with symptom clustering in six groups of patients. The underlying mechanisms of symptom clustering provide a good clinical decision making for better symptom control in advanced cancer patients.

Cachexia is important clinical manifestation of cancer patients, which is a disorder of energy homeostasis. Adiponectin is an important regulator of energy homeostasis. Since plasma adiponectin levels are negatively correlated with body mass index, we investigated the relation of serum adiponectin levels with survival and

body mass index in 91 cancer patients, with more focus on functional status and the survival of patients. We found that the inverse relation between serum adiponectin levels and BMI was only observed in cancer patients with better functional performance (ECOG=1), but not in the ECOG \geq 2 group. We also found serum adiponectin level, in addition to functional performance and tumor metastasis, is an independent predictor for survival in cancer patients with poor functional status (ECOG \geq 2) .

Muscle and adipose tissue wasting is a prominent stigma of cancer cachexia. Inflammation is an important underlying mechanism in development of cancer cachexia. In histopathological examination, macrophage infiltration in skeletal muscle, adipose tissue and tumor microenvironment are frequently observed. Not only adipocytes but also macrophages express adiponectin. To understand the role of locally monocyte-produced adiponectin in development of cancer cachexia, we employed an in vitro monocyte culture system to study the effect of de novo synthesized adiponectin on monocyte functions. Our studies provided the first evidence to show that rosiglitazone (RSG) can upregulate the expression and function of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) and adiponectin in human monocytes/macrophages. The locally upregulated expression of adiponectin by the PPAR γ agonist RSG inhibits the fibronectin-induced monocyte adhesion via an AMP-activated protein kinase (AMPK)-dependent pathway to downregulate integrin.

To further investigate the association among plasma adiponectin levels, adiponectin mRNA expression levels in mononuclear cells and survival in cancer patients, we recruited a group of 28 gastric cancer patients and 57 volunteers. We found that compared with volunteers in the control group, adiponectin mRNA expression levels were significantly lower in mononuclear cells of gastric cancer patients. We also found that adiponectin mRNA expression level in mononuclear cells

is an independently predictive factor for their survival.

Cachexia-related symptoms are important components of symptom clustering in advanced cancer patients. Serum adiponectin levels play an important role in cancer cachexia and are an independent factor for patients' survival. Furthermore, monocyte-produced adiponectin can inhibit monocyte adhesion and associate with survival in gastric cancer patients. Through series of our studies, we have delineated a novel biomarker, both circulating and monocyte-derived adiponectin, in clinical correlation with cancer cachexia and outcome.

Keywords: adiponectin, monocyte adhesion, cancer cachexia, symptom cluster, survival



簡寫對照表 (Abbreviations)

AICAR: 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside

AMPK: AMP-activated protein kinase

ANOVA: Analysis of variance

BMI: Body mass index

cDNA: Complementary deoxyribonucleic acid

CRP: C-reactive protein

DNA: Deoxyribonucleic acid

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

ICAM-1: Intercellular adhesion molecule-1

IFN- γ : Interferon- γ

IL-1: Interleukin-1

IL-4: Interleukin-4

IL-6: Interleukin-6

IL-10: Interleukin-10

IL-11: Interleukin-11

IL-12: Interleukin-12

LMF: Lipid-mobilizing factor

mRNA: Messenger ribonucleic acid

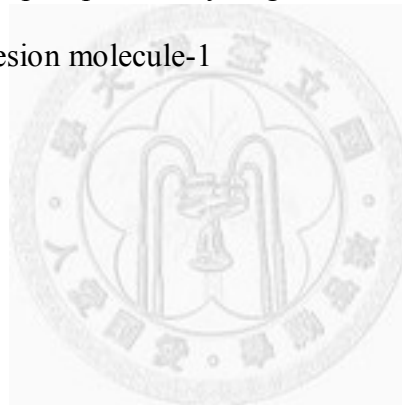
NF- κ B: Nuclear factor kappa-B

PBS: Phosphate-buffered saline

PGE2: Prostaglandin E2

PIF: Proteolysis-inducing factor

PMA: Phorbol 12-myristate 13-acetate



PPAR γ : Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma

RNA: Ribonucleic acid

RSG: Rosiglitazone

TNF- α : Tumor necrosis factor-alpha

VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule-1

ZAG: Zinc- α 2-glycoprotein



目 錄

口試委員會審定書.....	1
致謝.....	2
中文摘要 (Abstract).....	3
英文摘要 (Abstract).....	5
簡寫對照表 (Abbreviations)	8
博士論文內容	
第一章 緒論 (Introduction).....	11
第二章 研究材料與方法 (Materials and Methods)	36
第三章 結果 (Results).....	45
第四章 討論 (Discussion).....	51
第五章 展望 (Perspectives).....	59
第六章 論文英文簡述 (Summary)	61
參考文獻 (References).....	78
附表 (Tables).....	100
附圖 (Figures).....	116
附錄：博士班期間發表之相關論文.....	127

第一章 緒論 (Introduction)

癌症是現代醫學重要的課題

社會經濟形態改變，迫使現代人的生活形態發生變化；飲食內容改變、運動機會減少、身心壓力增加，癌症病人也逐年增加 (Weisburger, 2002)。雖然醫療科技進步一日千里，目前對癌症的治療仍有其極限。根據 2005 年的統計，每年全世界有幾百萬人死於癌症 (Desai *et al.*, 2007)。根據台灣衛生署的統計資料，歷年來癌症一直是台灣十大死亡原因之首位，目前台灣一年有將近四萬人因為癌症死亡。因此，有關癌症的預防、早期診斷、早期治療、復健及周全性的醫療照護都是當今醫學非常重要的課題。

癌末病人照護的重要性

癌末病人歷經長期的治療過程，由於疾病本身的折磨，治癌藥物引起的不適症狀，內心充滿對治療無效的憂鬱及對未來病情惡化的焦慮，引起對死亡有恐懼與不安 (Thompson and Chochinov, 2010)。癌末病人長期承受這種身、心、靈的痛苦煎熬，病人及家屬的生活品質都受到莫大的影響 (Lo *et al.*, 2002)。因此，癌症末期照護是現代醫療非常重要的一環，國內外都很重視 (Grant and Sun, 2010)。根據世界衛生組織的闡述，安寧緩和醫療是由多專業的醫療團隊針對病人疼痛等身體、心理、社會、靈性之問題作早期偵測、評估與治療，以改善面臨生命威脅的病人及家屬的生活品質 (Sepúlveda *et al.*, 2002)。安寧緩和醫療在台灣已經發展二十多年，但因民眾的誤解與疑慮、醫療人員的教育不足、醫療保險政策的不足等種種因素，仍然有很多癌症末期病患沒有獲得應有的照護 (Tang *et al.*, 2010)。因此，癌症末期照護還有很大的推展空間，設法解決癌末病人身、心、靈整體痛苦的地步實刻不容緩。

癌末症狀控制的重要性

癌末病人因為多器官功能衰竭，承受很多身體的症狀，他們希望在人生終點能夠沒有症狀，安詳舒適地過世 (Klinkenberg *et al.*, 2004)。根據研究顯示，身體症狀的控制不僅可以改善病人的身體功能 (functional performance)、情緒反應、生活品質，甚至有助於病人及家屬接受死亡 (Glover *et al.*, 1995; Burrows *et al.*, 1998; Dodd *et al.*, 2001; Prendergast and Puntillo, 2002)。因此，身體症狀的緩解就成為末期照護最基本的步驟。根據美國一項針對一千位癌末病人的研究，每一位癌末病人症狀數的中位數是 11，其中十個常見症狀包括疼痛 (pain)、容易疲倦 (easy fatigue)、虛弱 (weakness)、食慾不振 (anorexia)、體力不濟 (lack of energy)、口乾 (dry mouth)、便秘 (constipation)、飽脹感 (early satiety)、呼吸困難 (dyspnea) 和體重減輕 (weight loss)。其症狀盛行率會因年齡、性別、身體功能等因素而有差異 (Walsh *et al.*, 2000)。研究也顯示在緩和醫療的照護機構，癌末病人的症狀及生活品質都能獲得有效的改善 (Echteld *et al.*, 2004; Strömberg *et al.*, 2005)。在台灣某醫學中心緩和醫療病房的研究，大多數癌症末期病患有多處轉移，平均存活期約為三週 (Chiu *et al.*, 2002)，入住緩和醫療病房時，平均每一位病人有 9.1 個症狀，常見的症狀包括虛弱、疼痛、食慾不振、體重減輕等 (Chiu *et al.*, 2000)。其症狀可能是原來疾病所造成的，也可能導因於癌症末期的共同臨床表現。跟國外的情況差不多，其中有許多是癌症惡病質相關的症狀。但是癌末病患症狀盛行率與其原發部位無關，這可能與病患的存活期太短，身體多器官功能衰竭，已經進入末期共同路徑 (terminal common pathway) 有關 (Lichter and Hunt, 1990; Vainio and Auvinen, 1996)。入院一週後這些症狀幾乎都有改善，但是在過世前許多症狀又再惡化，這是值得重視的問題 (Chiu *et al.*, 2000)。我們曾經進一步分析癌末常見症狀的型態，發現癌末症狀嚴重度隨時間的變化有持續穩定 (continuous static)、穩定-惡化 (static-increase)、改善-穩定 (decrease-static)、改善-惡化 (decrease-increase)、穩定-改善 (static-decrease)、持續改善 (gradually decrease)

六種型態，其中屬於穩定-惡化及改善-惡化這兩個型態的症狀大多是數是癌症惡病質相關的症狀，包括疲倦 (fatigue)、衰弱 (weakness)、噁心 (nausea)、嘔吐 (vomiting)、食慾不振 (anorexia) 等。因此，癌症惡病質相關的症狀是癌末症狀中很重要的一部分，同時是屬於比較難控制的症狀 (Tsai *et al.*, 2006)。目前癌末病患的症狀控制仍有不足，其障礙包含醫療專業人員訓練不足、無法早期辨識末期病患、居家照顧難以延續有效的症狀控制等 (Patrick *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2005)。所以許多癌末病人受到很多症狀的困擾，影響他們的生活品質並增加他們恐懼死亡的程度，因此癌末症狀控制還有很大的改善空間 (Lo *et al.*, 2002)。

癌末症狀群集概念的起源與發展

根據過去國內外癌末症狀的研究，癌末症狀有幾個重要特徵，包括症狀多樣化 (multiple)、同發生 (concurrent)、慢性 (chronic)、程度嚴重 (severe in intensity) 等 (Walsh *et al.*, 2000; Chiu *et al.*, 2000)。但是，過去癌末症狀的研究通常是以單一癌症為出發點、針對單一症狀或其相關因素的研究 (Walsh and Rybicki, 2006)。這樣的趨勢所引導的症狀控制策略經常發生幾個重要的問題，包括用藥種類太多、藥物副作用太多、缺少整體評估而影響生活品質 (Koh and Koo, 2002; Miaskowski, 2004)。

因此，近年來關於癌末症狀的研究，足漸由單一症狀研究轉變為症狀群集 (symptom cluster) 研究。症狀群集這個概念在 19 世紀開始，就反覆出現在心理學、精神醫學及一般醫學領域當中 (Kirkova *et al.*, 2010; Aktas *et al.*, 2010)。例如心臟衰竭病人容易出現三個症狀群集，包括「acute volume overload cluster (包括呼吸困難、疲倦、睡眠問題)」、「emotional cluster (包括憂鬱、記憶障礙、擔憂)」及「chronic volume overload cluster (包括水腫、休息增加、用力時呼吸困難)」 (Jurgens *et al.*, 2009)。

症狀群集的定義是指兩個或三個以上同時發生的相關症狀 (Dodd *et al.*,

2001; Kim *et al.*, 2005)。雖然症狀群集的詳細機轉迄今未明，有幾種可能的原因。在同一症狀群集的症狀可能源自共同的原因(common etiology)，例如咳嗽和呼吸困難兩者可能導因於病患的肺臟疾病(Aktas *et al.*, 2010)；也可能是有同樣的生理機轉(biological mechanism)，例如食慾不振和噁心兩者可能導因於病患的惡病質；也可能是同時因為治療所引起的，例如疲倦和憂鬱可能與化學治療或放射治療有關(Capuron *et al.*, 2002)；或者是一個症狀加重另外一個症狀，例如因為使用嗎啡類止痛藥而加重了便秘的情況(Miaskowski and Aouizerat, 2007; Williams, 2007)。研究者一直不斷努力了解症狀群集的機轉，隨著分子醫學的發展，已發現 EGFR 受體(epidermal growth factor receptor)與食慾不振-疲倦-睡眠障礙群集(anorexia-fatigue-sleep disruption cluster)有關(Rich, 2007)。

目前癌末病人症狀群集的歸納方法可分為兩種，從臨床經驗歸納得到的症狀群集(clinically determined symptom cluster)與從統計分析得到的症狀群集(statistically determined symptom cluster)。由臨床經驗歸納得到的症狀群集，顧名思義就是透過臨床的觀察與經驗而來，將同時出現的症狀以及隨後的症狀群集先辨認出來，接著使用相關性係數及多元迴歸分析確立之間的關係(Kirkova *et al.*, 2010)，這樣產生的症狀群集通常症狀數目相對較少。相反地，統計分析得到的症狀群集並不事先推測症狀的相關性，而是使用因素分析(factor analysis)與階層式群聚分析(cluster analysis)來分析大型的資料，進而得到症狀群集。現今許多的症狀群集是使用統計方法產生的，但其間也有許多干擾因素需要考慮，如選擇評估的症狀數、評估工具、研究族群的症狀盛行率等。雖然統計方法可以協助找出從臨床評估被忽略的症狀，但其症狀群集的臨床重要性，如對生活品質及日常生活的影響，仍舊需要從臨床上仔細評估(Aktas *et al.*, 2010)。實際上，兩種歸納方式產生的症狀群集很難有明確的區分，有幾種從臨床經驗得到的症狀群集也經過統計方法的證實，如噁心嘔吐、焦慮憂鬱、咳嗽呼吸困難等群集(nausea-vomiting, anxiety- depression,

cough-dyspnea clusters) (Walsh and Rybicki, 2006)。還有疲倦疼痛 (fatigue-pain)、疲倦失眠疼痛 (fatigue-insomnia-pain) 等群集，其症狀間的相關性也是有統計學上的依據 (Dodd *et al.*, 2001)。然而，臨床上提出的憂鬱疲倦疼痛群集 (depression-fatigue-pain cluster)，雖然臨床上有相關性，卻缺乏足夠的實證基礎 (Gift *et al.*, 2003; Gift *et al.*, 2004)。因此，實際面對癌末病患時，或許兩種方法都不足以完美地解釋病患症狀的全貌，尤其是面對死亡的焦慮與恐懼，在生命末期是非常常見的現象 (Vachon, 1999)，醫療人員應該秉持生理、心理、社會、靈性的全人觀點來照護癌末病患的多重症狀 (Hsieh *et al.*, 2011)。

根據美國一千位癌末病人症狀群集的研究，利用群聚分析的方法，發現癌末症狀有七個群集，包括疲倦：食慾不振-惡病質 (fatigue: anorexia-cachexia)、神經心理症狀 (neuro-psychological)、上消化道症狀 (upper gastrointestinal)、噁心嘔吐 (nausea and vomiting)、呼吸及消化症狀 (aerodigestive)、衰弱 (debility) 及疼痛 (Walsh and Rybicki, 2006)。台灣一項癌症病人症狀群集的研究，是利用因素分析的方法，歸納癌症病人症狀有三個群集，包括病態 (sickness)、腸胃症狀 (gastrointestinal) 及情緒症狀 (emotional) 群集。同時發現疾病狀態、化學治療、心理困擾跟症狀群集有關 (Chen and Tseng, 2006)。除了以上不分腫瘤部位的研究外，過去也有針對罹患某特定癌症的病患，或針對轉移至特定部位的腫瘤病患進行症狀群集的探討。這些不同族群的病人特性不同，其症狀群集也會有差異。舉例來說，在接受過化學治療的乳癌患者常出現疲倦、體重增加、性生活改變 (fatigue-weight gain-altered sexuality) (Wilmoth *et al.*, 2004)；而早期卵巢癌病患則容易出現腹痛、腹脹、疲倦、消化不良、小便問題 (abdominal pain-bloating-fatigue-indigestion-urinary problems) (Koldjeski *et al.*, 2003)；一個台灣肺癌病患的研究呈現有一般症狀 (general symptoms) 與胃腸症狀 (gastrointestinal symptoms) 兩種症狀群集，都造成日常生活嚴重的干擾 (Wang *et al.*, 2008)。也有縱向追蹤研究顯示骨骼或腦部轉

移的病人，在不同時間點有不同症狀群集型態，而且跟放射線治療有關（Chow, 2007; Chow, 2008）。

某些症狀群集似乎與身體功能有密切的關係。疲倦(fatigue)、呼吸困難(difficulty breathing)、虛弱(weakness)、協調障礙(problems with coordination)、嘔吐(vomiting)與疼痛(pain)是影響日常生活的重要因素（Gift *et al.*, 2004）。在女性肺癌患者當中，呼吸困難（distress with breathing difficulty）、腸阻塞（bowel disruptions）、面容痛苦（distress with altered appearance）、疼痛（pain）、咳嗽（cough）、疲倦（fatigue）、噁心（nausea）與身體功能較差有關（Sarna and Brecht, 1997）。因為生活品質絕對受到身體功能狀態的影響，在一項以門診病患為對象的研究顯示疲倦、憂鬱、失眠、疼痛的嚴重度也是較差的身體功能狀態與較不滿意的生活品質之指標（Miaskowski *et al.*, 2006）。一項最近的研究也指出癌末症狀群集型態跟肺癌病人的生活品質有關（Wang *et al.*, 2008）。

為提供癌末病患適時的緩和醫療照護及適切的醫療處置，正確預測存活期是很重要的。一些研究都已經證實臨床症狀、徵候、身體功能狀況可以提升預測末期病患存活期的準確度（Knaus *et al.*, 1995; Maltoni *et al.*, 1995）。在臨床症狀當中，食慾不振、吞嚥困難、體重減輕、認知障礙與呼吸困難都是預測存活期很可靠的因子（Chuang *et al.*, 2004）。因此，某些症狀群集可能因為其中有許多具預測效力的症狀，對存活期預測的重要性大增（Kirkova *et al.*, 2010）。

隨著對症狀群集的了解越來越多，進一步周全地評估相關症狀對於癌末病患的症狀處置越是重要。理論上，假設症狀群集有同樣的生理病理機轉，當前驅症狀出現時，應該馬上針對其他相關症狀作評估（Walsh and Rybicki, 2006）；例如臨床上發現病患失眠應迅速評估其焦慮、憂鬱的可能性（Kirkova *et al.*, 2010）。臨床上評估癌末病患的困難和障礙包括警覺性不足、時間有限、癌症相關症狀的高主觀性以及照顧者主觀認為病患會自動報告並描述所

有的症狀 (Paice, 2004)。目前已經有許多經過信效度測試的症狀評估工具可供利用。但不管使用哪一種評估工具，對於癌末病患症狀的評估應該都要從生理、心理、社會、靈性的整體性切入，評估者也必須有全人照顧的理念，確實以病患為中心才能有完整的評估 (Hsieh *et al.*, 2011)。

不論是在症狀評估或症狀處置方面，症狀群集這樣的觀念都是非常實用的。過去針對單一症狀控制的做法可能造成多重藥物使用與增加藥物副作用 (Koh and Koo, 2002)，但是一併針對症狀群集可以減少藥物負擔、減低藥物副作用並且減低醫療花費。可以一併針對症狀群集處置的理由包括以下幾項：(1)症狀有共同的生理病理因素(如高血鈣造成便秘、意識不清、噁心)。(2)單一症狀引發其他症狀出現(如疼痛引起失眠、疲倦)。(3)多種症狀可用單一藥物治療(如失眠、焦慮可用 benzodiazepine 類藥物治療)。(4)單一症狀治療引起其他症狀(如鴉片類止痛藥導致便秘、意識不清)(Williams, 2007)。另外，使用症狀群集的概念，當治療某一項症狀群集時，除了評估原治療症狀的反應外，也應同時評估其他症狀是否產生改變 (Walsh and Rybicki, 2006)。除了藥物治療之外，近幾年來也有一些新興的研究證實了心理教育 (psychoeducational) 或運動介入 (exercise intervention) 對癌症多重症狀患者的療效，但目前多為小型的研究，缺乏真正針對症狀群集進行介入性治療的研究 (Williams, 2007)。美國紐約的 Cancer Services of New York 就是一個嶄新的計畫，包含對整個疾病進程中疼痛、憂鬱、疲倦的照護需求，他們使用周全性的評估、積極主動的症狀治療、營養諮詢、社工與宗教關懷等方式，接受此照護計畫的病患多半對其生活品質顯得較為滿意 (Fleishman, 2004)。由此整合性照護計畫的成果可知全人照護對於癌症病患的重要性。

惡病質是癌症病人預後的重要因素

存活期 (survival) 是癌症病人照顧一個重要指標。臨床醫療決策、照顧計畫及出院計畫也都需要存活期的評估 (Glare and Sinclair, 2008)。研究證實身體

功能 (functional performance) 是癌症末期病人存活期的獨立預測因子(Sanabria *et al.*, 2007)。癌症的程度 (disease status) 也是癌症預後的重要因子，有局部淋巴結轉移或遠處器官轉移的病人存活期較短 (Mochiki *et al.*, 2007)。除了癌症的病程階段 (tumor stage) 及身體功能狀況，惡病質(cachexia)的相關症狀也是癌症病人存活期的重要相關因素(Kwak *et al.*, 2004; Lam *et al.*, 2007)。惡病質是癌症病人最常見的問題之一，大概有一半以上的癌症病人會出現這樣的現象 (Tisdale, 1997)。特別是胃癌、胰臟癌、肺癌及大腸癌的病人更容易出現惡病質的情況 (Dewys *et al.*, 1980)。癌症病人有 20%是因為惡病質死亡(Tisdale, 2002)。因為癌症惡病質是嚴重的代謝異常狀態，臨床上重要的表現是不自主的體重減輕，癌症病人在三個月內不自主的體重減輕大於 5 Kg，就可以評估為癌症惡病質 (Rowland *et al.*, 1996)。其嚴重程度不但影響癌症的治療效果，也跟癌症預後及病人存活時間有關，更關係著病人的生活品質 (Argilés *et al.*, 1997)。從過去癌末病人症狀的研究，可以了解癌末症狀跟預後有關，癌症惡病質相關的症狀是臨床上比較棘手的問題 (Lasheen and Walsh, 2010)。因此，透過癌症惡病質的研究，對其相關症狀的控制應有較好的改善方法。

身體能量代謝平衡的機轉與脂肪組織的角色

身體能量和體重的調節包括三大因素：飲食攝取能量(energy intake)、身體消耗能量(energy expenditure)和身體脂肪組織能量的儲存(energy storage)。這三者間形成一個訊息鏈 (information flow)，即脂肪組織會釋出訊息將儲存脂肪量的多寡傳給大腦，以決定是否需要攝食補充能量；另一方面攝食增加時也會活化能量消耗系統。以此方式將體重和能量儲存控制在一恆定狀態-adipostat (Argilés *et al.*, 1997)。因此脂肪組織是維持體內能量代謝恆定的重要內分泌器官，目前已經發現脂肪組織會依脂肪儲量的多寡釋放脂肪細胞激素 (adipokine)；如腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α)、瘦素 (leptin)、脂締素 (adiponectin) 等都扮演重要的生理功能。當這些脂肪細胞激素的釋放不適當或功能無法正常發

揮時，體內的能量代謝就會發生障礙，繼而產生一系列的病態生理現象。

瘦素 (Leptin)

瘦素是 Ob 基因 (gene) 的產物。Ob 基因位於人類染色體 7q31.3，由 3 個 exon 和 2 個 intron 組成，基因的表現有組織專一性，主要在白脂肪組織 (white adipose tissue) 表現，另外在胃、胎盤和乳腺也有表現。瘦素是由 167 個胺基酸組成的蛋白質，在血中可和 leptin-binding protein (一種 short form 的 leptin receptor) 結合成 bound form，或以 free form 存在 (Mantzoros and Moschos, 1998; Mantzoros, 1999)。實驗顯示給予 Ob/Ob 老鼠 (mice) (因 Ob 基因缺陷無法製造瘦素的老鼠) 瘦素之後，可明顯看到老鼠能量消耗增加、體重減輕，同時也改善了高血糖血症 (hyperglycemia)、胰島素阻抗 (insulin resistance)，高胰島素血症 (hyperinsulinemia) 的情況 (Pelleymounter *et al.*, 1995)。

瘦素受器 (leptin receptor) 不只一種，包括一種 long form 和四種 short forms，這是經由 alternative splicing 產生的，這些不同的受器 (receptor) 往往存在不同的組織執行不同的功能。一般而言，long form 位於中樞神經系統，而 short form 位於周邊組織；如肺、胃、肝、胰、腎上腺、卵巢、造血幹細胞和骨骼肌。由瘦素受器 (leptin receptor) 廣泛分布的情形來看，瘦素在神經、內分泌、免疫系統都扮演重要角色。特別值得一提的是，位於腦部靜脈叢內皮細胞有 short form 瘦素受器 (leptin receptor)，負責將瘦素送入腦組織和腦脊髓液 (cerebro-spinal fluid, CSF)，而運送的方式是飽和 (saturation) 的方式，如果瘦素濃度超過一定濃度 (threshold)，過多的瘦素將無法持續送入腦組織，這可能是瘦素阻抗 (leptin resistance) 的原因之一。另外在肺及腎的 short form 瘦素受器 (leptin receptor) 是負責清除瘦素的，而 shortest form 瘦素受器 (leptin receptor) 在血中和瘦素結合以提高瘦素的穩定性和運送效能。瘦素受器 (leptin receptor) 缺陷的老鼠 (db/db mice) 無法製正常的瘦素受器 (leptin receptor)，同樣有肥胖和代謝症候群 (metabolic syndrome) 的表現，但是無法藉由瘦素的補充而改善肥胖等現象

(Mantzoros and Moschos, 1998; Mantzoros, 1999)。

Ob 基因的表現受到很多因素的調節，諸如整個脂肪組織的體積 (total fat mass)、脂肪細胞的大小、脂肪組織分布的位置 (visceral 或 subcutaneous) 都跟 Ob 基因的表現有關。另外，性別、年齡、抽煙、飲食的熱量、食物的內容 (composition)、運動、荷爾蒙 (甲狀腺素、腎上腺素)、細胞激素 (cytokine) 都會影響 Ob 基因的表現 (Mantzoros and Moschos, 1998; Mantzoros, 1999)。

瘦素的正常生理作用是多方面的 (Mantzoros and Moschos, 1998; Mantzoros, 1999)。尤其是在代謝方面會調控醣類、蛋白質、脂肪的代謝。瘦素作用在胰島 β cell 的 ATP sensitive potassium channel 而抑制胰島素的釋放。瘦素作用在肝臟促進肝醣分解 (glycogenolysis) 和糖質新生 (gluconeogenesis) 及脂肪酸的 β -oxidation 作用；作用在肌肉細胞促進葡萄糖的吸收及肝醣的合成；作用在脂肪細胞，促進脂肪細胞進行脂肪分解 (lipolysis)，抑制脂肪合成 (lipogenesis) (Salvador, 2000)。瘦素作用在中樞神經系統，特別是下視丘，會產生抑制食慾及促進能量的消耗 (Meier and Gressner, 2004)。

脂締素 (Adiponectin)

1996 年 Maeda K 等人 clone 到 apM1 gene (adipose most abundant gene transcript 1) 後，使得整個代謝症候群的致病機轉有多一層的認識。apM1 基因 (16 Kb) 位於人類染色體 3q27，是由三個 exon 和兩個 intron 構成，同時分析 apM1 基因的基因體結構 (genomic structure) 還發現有兩個核苷酸 (nucleotide) 的改變，一個在 exon 2 的 G/T polymorphism 和脂締素的濃度及肥胖無關，而另外一個是 missense mutation (R112C) 才會造成脂締素濃度升高 (Takahashi *et al.*, 2000)。

apM1 基因的產物最初被稱為 GBP28 (gelatin-binding protein of 28 KD)，後來才被命名為脂締素 (adiponectin)。是 1996 年 Nakano Y 等人在人類血液中分離得到的，主要是由脂肪組織 (adipose tissue-specific) 製造的。人類血中脂締素

的濃度大約 2-20 $\mu\text{g/ml}$ ，比其他血中荷爾蒙或發炎細胞激素高很多；女性血中脂締素的濃度比男性高出 40% (Arita *et al.*, 1999)。人類血中脂締素的濃度受種族的影響，日本人血中脂締素的濃度大約是 5-10 $\mu\text{g/ml}$ (Matsuzawa *et al.*, 2004)。脂肪細胞脂締素的表現受到很多因素的影響，胰島素會抑制脂締素的表現 (Motoshima *et al.*, 2002)。Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) 致效劑 (agonist)，如 rosiglitazone (RSG) 會促進脂締素的表現 (Yang *et al.*, 2002)。其他還有許多因素會抑制脂締素的表現，譬如兒茶酚胺 (catecholamine)、糖性類皮質酮 (glucocorticoid)、IL-6、TNF- α 、泌乳素 (prolactin)、生長激素 (growth hormone)、雄激素 (androgen) (Koerner *et al.*, 2005)。

脂締素的受器有 Adipor1 和 Adipor2 兩種，Adipor1 主要分佈在骨骼肌，Adipor2 主要分佈在肝臟 (Yamauchi *et al.*, 2003)。脂締素跟受器結合後主要是活化 AMP-activated protein kinase (AMPK)，在肌肉細胞會促進葡萄糖的吸收和脂肪酸的氧化；在肝臟細胞會減少糖質新生 (gluconeogenesis)。除此，AMPK 的活化還會調控許多影響蛋白質、脂肪、醣類合成的酵素 (enzyme)、影響許多轉錄因子 (transcription factors) (Ziemke and Mantzoros, 2010)。因為脂締素會抑制 TNF- α 的作用，所以肥胖或糖尿病人血中脂締素的濃度減少也是造成胰島素阻抗 (insulin resistance) 的重要分子機轉。

脂締素的生理濃度還可以控制 TNF- α 誘發血管內皮細胞產生黏著分子 (adhesion molecule)，如 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)、E-selectin、intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) 等的作用，這可能是透過 cAMP-dependent 的路徑 (pathway) 來控制內皮細胞 NF- κ B 的訊息傳送。而且當血管內皮細胞受損時脂締素還會與血管內皮的 Collagen I、III、V 專一結合，因為 VCAM-1 等黏著分子 (adhesion molecule) 都是引起血管壁發炎造成血管硬化的因子，可見脂締素在防止血管硬化機轉上扮演重要角色 (Ouchi *et al.*, 1999)。研究也發現肥胖或糖尿病人血中脂締素的濃度比正常人低，這可能是這

些病人容易併發心血管疾病的原因。

脂締素除了影響體內代謝和動脈硬化外，還會調節體內的免疫反應。因為脂締素會透過細胞凋零 (apoptosis) 的方式抑制 myelomonocytic progenitor 的生長，同時抑制成熟的巨噬細胞 (macrophage) 的吞噬作用 (phagocytosis) 及 TNF- α 的釋放，這可能的機轉是透過補體 C_{1q} 受器 (receptor) 的作用，所以脂締素可以減弱發炎反應 (Yokota *et al.*, 2000)。

癌症惡病質的機轉

不自主的體重減輕是癌症惡病質病人在臨床上重要的表現，其可能的原因很多 (Barber *et al.*, 2000)。大部分癌症惡病質病人的食慾都不好，營養攝取較正常狀態時少。攝食減少的可能原因包括：(1) 身體的因素，如腸阻塞、吸收不良、噁心、便秘等；(2) 心理因素，如憂鬱、焦慮或疼痛造成情緒低落等；(3) 嗎啡、放射線治療、化學治療等引起的副作用。但是即使把這些因素控制好，病人仍然會表現食慾不好，或味覺改變的現象，這可能是腫瘤本身產生的因子或身體與腫瘤間交互作用產生的因子共同造成的 (Fearon, 1992)。因此，攝食量減少是病人體重減輕的重要原因之一。

癌症病人的靜態能量消耗量 (resting energy expenditure) 差異很大 (Bozetti *et al.*, 1980)。由惡病質的老鼠模式動物研究可發現動物經由正常代謝階段進到最末期低代謝階段前應有一段高代謝階段 (Zylicz *et al.*, 1990)。雖然在人類還沒有這樣的現象，肺癌或胰臟癌的病人經常發現靜態能量消耗量明顯提高現象 (Falconer *et al.*, 1994)，這也是體重下降的原因之一。

一般正常人在飢餓狀態，能量代謝會發生調適現象，會減少能量的消耗，保留重要的蛋白質，以脂肪分解後的脂肪酸和酮體作為主要能量的來源。但在癌症惡病質病人卻沒有這些調節現象，即使攝食減少，能量消耗仍然增加，脂肪及蛋白質會持續分解消耗 (Brennan, 1977)。

因此，癌症惡病質的能量代謝情形不同於飢餓狀態或神經性厭食症 (anorexia

nervosa)。癌症惡病質包括肌肉及脂肪組織同時退化 (Moley *et al.*, 1987)。癌症惡病質的產生也不能單純由噁心、嘔吐或飲食減少解釋，因為肌肉及脂肪組織的退化可能發生於飲食減少之前 (Costa, 1977)。而且外來營養的補充也不能阻斷或改善惡病質的情況 (Ovesen *et al.*, 1993)。過去的研究發現，全靜脈營養(total parenteral nutrition)無法延長病人的存活時間或長期的體重增加 (Heber *et al.*, 1986)。短期的體重增加也只是水分的滯留而已，而不是實質肌肉 (lean mass) 的增加 (Evans *et al.*, 1985)。

因此，惡病質的原因很複雜，是由腫瘤本身產生的因子及身體與腫瘤間交互作用產生的因子共同造成的代謝異常。即使病人原始的腫瘤(primary cancer)和病程 (disease stage)是一樣的，惡病質的表現程度可因腫瘤表現型(tumor phenotype)或病人本身對腫瘤的反應(host response)不同而不同。

目前有關惡病質的研究著重在急性期反應 (acute phase response) 及促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) 對體內物質能量代謝的影響；特別是腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白細胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、干擾素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 等所引起的生理及生化反應異常；諸如胰島素 (insulin)、胰高血糖素 (glucagon)、糖性類皮質酮 (glucocorticoid) 的濃度和作用效率發生改變，使得體內醣類、蛋白質、脂肪代謝發生異常，臨床表現出體重減輕、噁心、嘔吐、虛弱、肌肉及脂肪組織明顯退化的現象 (Argilés and López-Soriano, 1999)。至於惡病質的病人經常發生食慾減少的情況，是因為下視丘局部發生變化或是系統性的因素所引起並不清楚。有些促發炎細胞激素被認為會抑制食慾 (Smith and Kluger, 1993)，但是機轉還不清楚。

惡病質的代謝異常表現在葡萄糖方面包括葡萄糖不耐受性(glucose intolerance)，胰島素阻抗(insulin resistance)，葡萄糖生產率提高，Cori cycle 的活性提高 (Holroyde *et al.*, 1975)。在脂肪方面包括脂肪分解(lipolysis)速率增加，脂肪合成(lipogenesis)速率降低，lipoprotein lipase 活性減少 (Valassara *et al.*, 1986)。在蛋白質方面，隨著疾病的進展，蛋白質的轉換速率(turnover rate)增加，

骨骼肌內蛋白質的合成速率減少 (Dworzak *et al.*, 1998)，肝臟內蛋白質的代謝也發生明顯改變；雖然白蛋白(albumin)血中濃度降低 (Fearon *et al.*, 1998)，但它的合成可能維持沒有減少。但是正向急性期反應蛋白質(positive acute phase protein)卻明顯增加 (Preston *et al.*, 1998)。這些代謝異常的機轉是急性期反應中產生的促發炎細胞激素及腫瘤本身產生的因子，如 proteolysis-inducing factor (PIF)、lipid-mobilizing factor (LMF)所共同主導。而且急性期反應的發生與否跟病人的存活期長短有關 (Falconer *et al.*, 1995)。可見急性期反應在惡病質中扮演重要的角色。

這些反應包括腫瘤與體內免疫、內分泌及神經三系統間的交互作用 (Barber *et al.*, 2000)。因此，進一步研究這些系統在體內物質能量代謝平衡的相互關係，將對惡病質的機轉有更清楚的認識，繼而提升治療的效果。除了減輕病人的痛苦，改善生活品質外，甚至還有抗癌的效果，並可提高癌症化學治療及放射線治療的療效 (Tisdale, 1997; Argilés and López-Soriano, 1999)。

急性期反應與巨噬細胞在癌症惡病質的角色

有些研究認為惡性腫瘤就像體內新產生的、代謝活性很強的器官，它為了自己的持續生長需要養分而造成病人體重減輕 (Tisdale, 1997)。但是惡病質的嚴重程度和腫瘤的大小並沒有明顯正相關，而且可能發生在病程的早期 (Costa, 1977)，因此一般認為由腫瘤本身或人體對腫瘤反應所產生的系統性因素 (systemic factor) 才是造成惡病質的主因。

由過去的研究發現這些系統性的因素主要是來自急性期反應的啟動。一般當人體組織受到傷害時，會很快啟動發炎反應以阻止組織發生進一步傷害、去除外來有害物質、並活化修補系統以恢復組織的完整。而最早誘發的反應統稱為急性期反應(acute phase response)。急性期反應中主要的巨噬細胞 (macrophage) 在感染或發炎部位產生的促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) 主要是腫瘤壞死因子- α (TNF- α)、白細胞介素-1 (IL-1)及白細胞介素-6(interleukin-6, IL-6)，

它們會隨著血液循環運送到全身啟動兩種主要的系統性(systemic)的反應。一個是下視丘體溫調節發生變化，產生發燒現象。另一個是調節肝臟細胞與代謝有關的基因，迅速影響急性期蛋白 (acute phase protein, APP)的製造。調節肝臟急性期蛋白基因表現的因子 (mediators) 可大分為四類：(1) IL-6-type cytokines: IL-6、interleukin-11、leukemia inhibitory factor (LIF)、oncostatin M (OSM)、ciliary neurotrophic factor (CNTF)；(2) IL-1-type cytokines: IL-1、TNF- α ；(3) 糖性類皮質酮 (glucocorticoid)；(4) 生長因子 (growth factor): 胰島素 (insulin)、hepatocyte growth factor (HGF)、fibroblast growth factor (FGF)、TGF- β (Baumann and Gauldie, 1994)。促發炎細胞激素是急性期蛋白的主要刺激物(stimulator)，而糖性類皮質酮 (glucocorticoid) 和生長因子 (growth factors) 主要是調節物(modulator)。而由 IL-1-type cytokines 所調控的基因顯然和 IL-6-type cytokines 所調控者不同。IL-1 和 TNF- α 是加強所謂 type 1 急性期蛋白的表現如 C-reactive protein (CRP)、haptoglobin、serum amyloid acid (SAA)等；IL-6 是加強所謂 type 2 急性期蛋白的表現如 fibrinogen、 α 2-macroglobulin 等。此外 IL-6 還可經由訊息傳遞系統(signal transduction system)協同地(synergistically)表現 type 1 急性期蛋白。Type 1 及 type 2 的急性期蛋白被稱為正向 (positive) 急性期蛋白，在急性期反應會被迅速大量製造，另外如 prealbumin、albumin、transferin 等，在急性期反應時產量會減少。此外，另一重要的影響途徑是 IL-1 及 IL-6 也會作用在 hypothalamus-pituitary-adrenal axis 促使 adrenocorticotrophic hormone (ACTH)產生，繼而促進腎上腺皮質醇 (cortisol) 的製造。在急性期反應除了急性期蛋白的製造受到促發炎細胞激素的調控外，肝臟內參與重要生化反應的酵素也被促發炎細胞激素所調控，如 HMG-CoA 和 phosphoenopyruvate carboxykinase 的表現都會受到影響。同時促發炎細胞激素也會作用在週邊組織，如肌肉和脂肪組織，促使蛋白質及脂肪分解，結果會使整個體內的代謝平衡失調，表現出惡病質的現象，譬如血中脂肪酸的濃度升高，葡萄糖濃度降低的情況 (Ramadori and Christ, 1999)。

更重要的是，在胰臟癌惡病質的病人研究發現，從有急性期反應的病人分離出來的週邊單核細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)在體外培養所釋放的 TNF- α 及 IL-6 有升高的現象。由這些資料顯示單核細胞及其釋放的細胞激素在惡病質的重要性 (Falconer *et al.*, 1994)。

癌組織顯微環境中巨噬細胞的角色

隨著癌症生物學的進展，癌組織顯微環境 (microenvironment) 已經逐漸受到重視(Lorusso and Rüegg, 2008)。在癌組織顯微環境有很多種細胞，包括白血球、纖維母細胞 (fibroblast)、骨髓衍生的細胞 (bone marrow-derived cells)、血管及淋巴管的內皮細胞(Lorusso and Rüegg, 2008)。巨噬細胞佔腫瘤組織細胞的 20-30% (Wood and Gollahon, 1977)。許多研究證實腫瘤相關的巨噬細胞 (tumor-associated macrophages, TAMs)在腫瘤的細胞生長、血管新生、局部侵犯和遠處轉移都扮演重要角色(Coffelt *et al.*, 2009)。因此，腫瘤相關的巨噬細胞可能成為腫瘤治療的新標的。巨噬細胞的浸潤是一個複雜的過程，腫瘤細胞釋放的 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)被認為是巨噬細胞浸潤的重要化學引質 (chemoattractant) (Zhang *et al.*, 1997)。除此，許多黏著蛋白 (adhesion molecule)，如 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)和 CD11b/CD18 adhesion complex protein，也會影響單核球的黏著，伴隨黏著之後的是單核球的遷移 (migration) 和分化 (differentiation) (Guirgis *et al.*, 2010; Patarroyo *et al.*, 1990)。因此，單核球黏著到內皮細胞、遷移到癌組織的基質 (stroma)、分化成巨噬細胞是癌症生物學的重要議題。

癌症惡病質動物脂肪組織中巨噬細胞的角色

脂肪組織的消瘦是癌症惡病質重要的現象。癌症惡病質動物模式已經發現癌症惡病質老鼠的脂肪組織明顯出現纖維化(fibrosis)，同時許多 adipogenic transcription factors 都減少表現，包括 CCAAT/enhancer binding protein alpha

(C/EBP α)、CCAAT/enhancer binding protein beta、peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 和 sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) (Bing *et al.*, 2006)。另一動物研究也發現癌症惡病質動物血漿及脂肪組織的瘦素 (leptin) 濃度都有明顯下降的現象，同時癌症惡病質動物脂肪組織明顯出現巨噬細胞的浸潤 (macrophage infiltration)，而且 TNF- α 和前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 的表現增加，這可能是造成瘦素表現明顯下降的可能原因 (Machado *et al.*, 2004)。

癌症惡病質動物肌肉組織中巨噬細胞的角色

除了在癌症惡病質動物脂肪組織明顯出現巨噬細胞的浸潤，動物實驗也證實經 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 注射七天後的老鼠骨骼肌，中性球 (neutrophil) 及巨噬細胞 (macrophage) 各上升七倍和三倍 (Peterson *et al.*, 2006)。因此，這些發炎細胞在癌症惡病質動物骨骼肌的消瘦應該扮演重要角色，值得進一步研究。

促發炎細胞激素在癌症惡病質的角色

腫瘤壞死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)

由癌症惡病質和急性期反應的研究，可以知道促發炎細胞激素扮演其中重要的角色，又以 TNF- α 所牽涉的範圍最廣。人體製造 TNF- α 的基因大約 3.6 kb，位於第六對染色體 major histocompatibility complex (MHC) locus 內的 6p21.1 與 6p21.3 之間。成熟的 (matured) TNF- α 即是分泌的 (secreted) sTNF- α ，是由 157 個胺基酸組成，分子量約 17 kD。它是由細胞膜上 233 個胺基酸組成分子量 26 kD 的前身 (precursor) 分解而來，即 sTNF- α 是由 membrane-bounded TNF- α (mTNF- α) 經 metalloprotease 的作用分解而來 (Rink and Kirchner, 1996)。在人體內 TNF- α receptor 以兩種形式存在，分別為分子量 55 kD receptor (called TNFR55, p55, p60,

TNFR1, CD120a)和分子量 75 kD receptor (called TNFR75, p75, p80, TNFR1, CD120b)。TNF- α 與受器(receptor)結合後啟動訊息傳遞系統的作用。這一連串的訊息傳遞，包含很多 protein kinases 和 phosphatases 的活化，如 protein kinase A 和 C、mitogen-activated protein (MAP) kinase 等，繼而活化轉錄因子 (transcriptional factor)，如 nuclear factor kappa-B (NF- κ B), interferon regulatory factor (IRF) -1 和 IRF-2 等，就是因為 TNF- α 牽涉體內很多訊息傳遞途徑，所以在體內佔有重要的角色，包括很多基因的表現及細胞凋零(apoptosis)等 (Hotamisligil and Spiegelman, 1994)。

因為 TNF- α 會活化 NF- κ B，NF- κ B 是骨骼肌細胞分化的抑制物(inhibitor)，也是誘發蛋白質分解的調節物(mediator)。由惡病質模式動物實驗發現骨骼肌肉組織中 protein/DNA 的比率並沒有改變。分析去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)的碎片(fragmentation)發現有 laddering 的現象，這表示肌肉細胞有發生細胞凋零 (apoptosis)。而且 laddering 發生的程度隨著 tumor burden 的增加而越嚴重。因此 DNA 的 fragmentation 可能是惡病質發展過程中重要的事件。同時實驗證據也顯示 ubiquitin-dependent proteolytic pathway 的活化是促使肌肉蛋白質分解的重要步驟。蛋白質分解前藉由酵素 E1、E2、E3 的活化先跟 ubiquitin 接觸，然後在一個 26S 的複合體 proteasome 內被分解成含六到九個胺基酸的 oligopeptides，之後會被細胞質內的 peptidases 分解成胺基酸。被活化的 NF- κ B 雖然會抑制 proteasome 但是這個抑制作用會被糖性類皮質酮 (glucocorticoid) 破壞。NF- κ B 被活化後還會抑制 MyoD，減少蛋白質的合成。另外在不同的病態生理下，TNF- α 跟其他因子也有關，譬如腫瘤本身所產生的特殊因子 proteolysis-inducing factor (PIF) 可能會影響 TNF- α 的作用(Tisdale, 2000)。近來發現 apoptosome 和 proteasome 之間的連接也是跟惡病質很有相關。所以在惡病質的發展過程中，肌肉蛋白質的分解是否跟 DNA 的含量(content)和完整性(integrity)有關，是值得再進一步研究的 (van Royen *et al.*, 2000)。

不論是動物或人，施打 TNF- α 之後都會引起惡病質的症狀 (Tracey *et al.*, 1988)。但有人認為施打 TNF- α 所造成的體重減輕的型態跟惡病質不同 (Mahoney *et al.*, 1988)。雖然使用 TNF- α 的抗體在模式動物可增加食慾，但是不影響體重的減輕 (Smith and Kluger, 1993)。這表示癌症惡病質的產生，一定不是單獨 TNF- α 所造成的。雖然很少在惡病質病人體內測到顯著的 TNF- α 上升 (Socher *et al.*, 1988)，但是在惡病質的胰臟癌病人研究發現，從有急性期反應的病人分離的週邊單核細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)在體外培養所釋放的 TNF- α 有升高的現象，由這些資料顯示局部(local)產生的 TNF- α 可能較系統(systemic)產生的 TNF- α 更重要 (Falconer *et al.*, 1994)。

TNF- α 不僅可由急性期反應中的巨噬細胞製造。脂肪細胞也會製造 TNF- α (Peradi and Spiegelman, 1998)，而且隨著細胞體積的增加而增加 (Morin *et al.*, 1998)，同時 TNF- α 對培養的 (cultured) 脂肪細胞會減少葡萄糖運送載體的可用率 (glucose transporter availability)，同時減少胰島素受體 (insulin receptor) 自動磷酸化 (autophosphorylation) 和胰島素訊息傳遞 (insulin signaling) 的能力 (capacity)，並抑制胰島素促進葡萄糖攝取的功能，即發生胰島素阻抗 (insulin resistance) 的現象 (Sheehan and Jensen, 2000)。在體內脂肪細胞釋放的 TNF- α 透過 autocrine 的方式造成脂肪細胞代謝障礙，即 TNF- α 具有抑制脂肪細胞 lipoprotein lipase 的活性 (Fried and Zechner, 1989)、促進脂肪分解 (lipolysis) 的進行、導致胰島素阻抗 (insulin resistance) 的作用、抑制脂肪合成 (lipogenesis)，使得血中脂肪濃度升高。TNF- α 對肌肉細胞的作用主要是經由 paracrine 的方式，至於 TNF- α 對肝臟的作用方式還不清楚 (Hotamisligil and Spiegelman, 1994)。

白細胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)

在一些體重減輕的癌症病人體內發現 IL-6 有升高的現象 (Scott *et al.*, 1996)。對人體使用 IL-6 會有體重減輕的情形 (Stouthard *et al.*, 1996)。對惡病質模式動物使用對抗 IL-6 的抗體，會抑制惡病質的發展到某一程度 (Strassmann, *et*

al., 1992)。後天免疫不全症候群(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)引起的淋巴瘤在使用對抗 IL-6 的抗體後，可以看到體重增加及 C-反應蛋白(C-reactive protein, CRP)的濃度不再升高的現象 (Emilie *et al.*, 1994)。若使用白細胞介素-12 (interleukin-12, IL-12) 於惡病質的模式動物 (Mori *et al.*, 1996) 或將白細胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 的基因植入會產生 IL-6 的模式動物都可以看到惡病質的現象減緩，同時 IL-6 的濃度有降低的現象 (Fujiki *et al.*, 1997)。但是由實驗模式動物發現，即使有相同的 IL-6 濃度，不同種類的腫瘤確有不同體重減輕的現象，這可推論 IL-6 是跟其他的因素一起作用造成體重減輕的 (Soda *et al.*, 1995)。有一些腫瘤細胞會產生 IL-6 (Billingsley *et al.*, 1996)，它可能會直接誘導急性期反應 (Castell *et al.*, 1990)。IL-6 雖然不影響醣類的代謝，但是會增加肝臟合成急性期蛋白 (acute phase proteins)、脂肪溶解 (lipolysis) 與脂肪酸的合成 (fatty acid synthesis) (Yanagawa *et al.*, 1995; Yeh and Schuster, 1999)。同樣在惡病質的胰臟癌病人的研究發現，從有急性期反應病人分離的週邊血液單核細胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 在體外培養釋放的 IL-6 有升高的現象，所以局部(local)產生的 IL-6 可能較系統(systemic)產生的 IL-6 更重要 (Falconer *et al.*, 1994)。

白細胞介素-1 (Interleukin-1, IL-1)

IL-1 的濃度在惡病體質的情況會升高，造成跟 TNF- α 類似的效果，引起體重減輕，蛋白質分解的現象 (Hellerstein *et al.*, 1989; Yeh and Schuster, 1999)。使用對抗 IL-1 的抗體，在惡病質模式動物也會抑制惡病質的發展到某一程度。研究證實 IL-1 造成食慾不振的機轉跟色胺酸 (tryptophan) 有關；IL-1 會造成血中色胺酸 (tryptophan) 濃度上升，腦脊髓液中色胺酸 (tryptophan) 的濃度也跟著上升，繼而造成下視丘血清素 (serotonin) 濃度的上升，引起食慾不振 (Laviano *et al.*, 1996)

干擾素- γ (Interferon- γ , IFN- γ)

如果用基因工程的方法將 IFN- γ 基因植入 Chinese hamster ovary tumor cells，會比單獨的腫瘤細胞產生較嚴重的惡病質症狀，但是單純將 IFN- γ 打入沒有腫瘤的生物體卻不會產生惡病質 (Matthys *et al.*, 1991)。這表示癌症惡病質不是單獨由 IFN- γ 造成的。使用對抗 IFN- γ 的抗體，在惡病質模式動物也會抑制惡病質的發展 (Langstein *et al.*, 1991)。IL-12 減緩惡病質的表現並降低 IL-6 的濃度的作用需要靠 IFN- γ 的協助 (Mori *et al.*, 1996)。

前列腺素 (Prostaglandins)

一些前列腺素合成的抑制劑(inhibitors)在實驗動物可以去除 TNF- α (Kozak *et al.*, 1997) 及 IL-1 (Hellerstein *et al.*, 1989) 的作用。這可說明前列腺素也是造成惡病質的因子(mediators)中的一員。

由以上的證據可以知道促發炎細胞激素確實是造成惡病質的重要原因，但也可明顯瞭解單一種的促發炎細胞激素是沒有辦法導致惡病質的。必需要一些促發炎細胞激素構成複雜的網路(network of cytokines)再合併其他的因素(factors)才能導致惡病質，譬如荷爾蒙和腫瘤產生的一些特別物質。

荷爾蒙在癌症惡病質的角色

將氫化腎上腺皮質醇 (hydrocortisone) 或腎上腺皮質醇 (cortisol)、胰高血糖素 (glucagon) 和腎上腺素 (epinephrine) 注入人體會產生惡病質的特徵 (Bessey *et al.*, 1984)。不論在人體或動物實驗都發現促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) 會影響腎上腺皮質醇 (cortisol)、胰島素 (insulin) 和胰高血糖素 (glucagon) 等荷爾蒙的濃度。惡病質的人或動物體內荷爾蒙的濃度和標的器官的敏感度(target organ sensitivity)都有明顯的改變 (Besedovsky *et al.*, 1985)。譬如癌症病人體內腎上腺皮質醇(cortisol)和胰高血糖素(glucagon)的濃度都有升高的現象 (Knapp *et al.*, 1991)，這會擴大急性期反應 (Baumann and

Gauldie, 1994)。特別在胰臟癌病人，胰島素阻抗(insulin resistance)的現象特別明顯，這可能跟剩餘的正常胰島組織產生 islet amyloid polypeptide 有關 (Permert *et al.*, 1994)。整體來說，癌症惡病質體內相對的腎上腺皮質醇 (cortisol) 會增加，但是胰島素 (insulin) 會減少，因此 cortisol/insulin 的比率(ratio)明顯改變，這會促使週邊組織代謝往分解大分子(catabolism)的方向走 (Fearon *et al.*, 1998)。

另外下視丘血清素 (serotonin) 的活性跟食慾有關。色胺酸 (tryptophan) 是血清素 (serotonin) 的前身，在惡病質病人體內發現色胺酸 (tryptophan) 有升高的現象，而且跟食慾減少有關 (Cangiano *et al.*, 1994)。Neuropeptide Y 在下視丘可促進食慾，但是 neuropeptide Y 打入惡病質老鼠的下視丘卻沒有反應 (Chance *et al.*, 1996)，可見下視丘對 neuropeptide Y 的敏感度有改變。

腫瘤本身產物在癌症惡病質的角色

除了促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) 和荷爾蒙外，其他由腫瘤本身產生的惡病質因子也陸續被發現。譬如 proteolysis-inducing factor (PIF) 是一個分子量 24 KD 的糖蛋白(glycoprotein)，只會發現在癌症惡病質病人的尿液中 (Todoro *et al.*, 1996)。它在實驗動物會造成蛋白質的分解 (Cariuk *et al.*, 1997)。另一個由腫瘤產生的蛋白質 lipid-mobilizing factor (LMF)也在惡病質病人的尿液中發現 (Hirai *et al.*, 1997)，它似乎跟 zinc- α 2-glycoprotein (ZAG)連在一起 (Hirai *et al.*, 1998)。ZAG 可以透過脂肪細胞上 beta-adrenergic receptor 的作用造成癌症惡病質病人脂肪溶解 (lipolysis) (Russell *et al.*, 2004)。有一實驗證實惡病質動物的脂肪組織 ZAG 表現會增加(Bing *et al.*, 2004)。糖性類皮質酮 (glucocorticoid) 可以藉由增加 ZAG 的表現，促進脂肪溶解 (lipolysis) (Russell and Tisdale, 2005)。二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid, EPA)在惡病質老鼠可以經由干擾糖性類皮質酮 (glucocorticoid) 的訊息傳遞，繼而抑制 ZAG 的表現，達成保留脂肪組織的效果(Russell and Tisdale, 2005)。

單獨的促發炎細胞激素，如 IL-6 在實驗動物不能產生完全的惡病質現象，

可能是因為腫瘤產生的因子在惡病質的形成過程中扮演必要的 cofactors 角色 (Fujiki *et al.*, 1997)。沒有它們的協助，惡病質可能就無法發生。

脂肪細胞激素在癌症惡病質的角色

過去研究內臟脂肪 (visceral fat) 和惡病質的關係，發現惡病質病人的內臟脂肪隨著疾病的進行而減少，可見惡病質病人脂肪組織的功能亦受到嚴重的影響(Ogiwara *et al.*, 1994)。

瘦素 (Leptin)

瘦素是脂肪組織所產生的激素，具有調節食慾的功能，瘦素作用在中樞神經系統，特別是下視丘，會產生抑制食慾及促進能量的消耗，以維持體重的恆定，也被認為跟惡病質有關 (Meier and Gressner, 2004)。特別值得一提的是瘦素和急性期反應有關，這可能是和腎上腺皮質醇 (cortisol) 會抑制瘦素在中樞神經的作用有關或細胞激素直接促進瘦素的製造。但是初步的研究發現惡病質病人體內瘦素的濃度是較低的 (Simons *et al.*, 1997)。後續在胃腸癌 (Wallace *et al.*, 2002) 及胰臟癌 (Brown *et al.*, 2001) 的研究，瘦素的濃度也是低的。但是在乳癌及婦癌的研究，瘦素的濃度是高的 (Bolukbas *et al.*, 2004)。另外在乳癌及大腸癌的研究，也發現脂締素、瘦素有不正常反應的現象 (Wolf *et al.*, 2006)。因此，關於瘦素在惡病質中所扮演的角色還需要進一步研究。

脂締素 (Adiponectin)

最近研究已經顯示肥胖是許多癌症的危險因子(Wolk *et al.*, 2001)。許多研究也證實血中脂締素濃度低跟乳癌、子宮內膜癌、攝護腺癌及胃癌有關(Kelesidis *et al.*, 2006)。因此，脂肪細胞所製造的脂締素是肥胖及癌症間重要的連接。因為脂締素扮演能量平衡的重要角色，譬如增加胰島素敏感性、誘導脂肪酸的代謝、作用在下視丘調節能量平衡(Guerre-Millo, 2008; Kadowaki *et al.*, 2008)，血中脂締

素濃度在末期癌症病人可能會失去平衡。過去研究發現，厭食症（*anorexia nervosa*）或是減重的人，血中脂締素濃度會上升(Pannacciulli *et al.*, 2003, Yang *et al.*, 2001)。雖然在一般人血中脂締素的濃度會隨這體重減輕而上升，但是在體重減輕的嚴重肺癌病人卻發現血中脂締素的濃度較低(Jamieson *et al.*, 2004)。研究已經證實在癌症惡病質病人，血中脂締素濃度跟體重減輕並無相關(Wolf *et al.*, 2006)。其原因有需要進一步研究。最近一項研究也證實肥胖是預測急性淋巴瘤的青少年復發或治癒的獨立因子(Butturini *et al.*, 2007)。除此，血中脂締素濃度較低，攝護腺癌的組織切片嚴重度較重(Goktas *et al.*, 2005)，胃癌的進行較快(Ishikawa *et al.*, 2005)。更多的實驗室研究顯示脂締素具有抗癌及抗血管新生的作用，這可能跟病人的存活期有關(Barb *et al.*, 2007)。

巨噬細胞表現脂締素

除了脂肪細胞外，脂締素已被發現在病態動物的許多細胞表現，如肝竇內皮細胞（*hepatic sinusoidal endothelial cells*）、肝臟星狀細胞（*stellate cells*）和巨噬細胞。(Wolf *et al.*, 2006)。目前關於巨噬細胞表現脂締素的功能，透過轉植老鼠模型（*transgenic mice model*）的研究發現脂締素在巨噬細胞的過度表現會增加系統性的胰島素敏感性，同時降低動脈管壁泡沫細胞（*foam cells*）形成(Luo *et al.*, 2010)。

研究背景與研究主題

基於以上文獻回顧，可以知道症狀控制是癌症末期照護最基本的工作。癌末症狀具有多樣化、同時發生的特徵，癌末症狀群集的研究是目前的主流，但是癌末症狀群集的臨床意義尚待釐清。癌症惡病質相關症狀的控制是目前臨床上較棘手的問題。單核球、巨噬細胞、脂肪細胞激素、腫瘤本身的特殊產物在癌症惡病質扮演重要角色，探討其相關機轉可能有助於癌症惡病質相關症狀的處理。脂締素是一種重要的脂肪細胞激素，同時具有抗癌作用，但其對癌症病

人預後的影響有待進一步研究。除了脂肪細胞，巨噬細胞也會表現脂締素，但其功能及對癌症病人預後的影響，值得進一步探討。因此，本論文之研究主題包括四個部分：

第一部份：癌末症狀群集與其臨床意義

第二部份：血清脂締素與癌症病人預後的關係

第三部份：單核球表現脂締素的功能及其臨床意義

第四部份：單核細胞脂締素 mRNA 表現與胃癌病人預後的關係



第二章 研究材料與方法 (Materials and Methods)

第一部份：癌末症狀群集與其臨床意義

病人及緩和醫療照護場所

此部分前瞻性研究是收集 2002 年 9 月至 2003 年 12 月期間住進台大醫院緩和醫療病房的癌症末期病人。收案標準是年紀大於二十歲、意識足夠清楚表達症狀。所有病人是由醫師、護理師、心理師、社工師、臨床佛教宗教師及志工所組成的安寧緩和醫療團隊提供積極性的整體照顧。此部分研究已向台大醫院研究倫理委員會申請通過，每個病人參與研究前均簽署同意書。

評估工具

本研究評估工具是過去由各相關領域專家所設計完成的症狀評估表 (Symptom Reporting Form) (Tsai *et al.*, 2006)。採用不同的評分系統評估病人身體及心理的症狀。身體症狀包括疲倦 (fatigue)、虛弱 (weakness)、疼痛 (pain) 是以 0-10 分評估 (0 分是表示沒有，10 分是最嚴重)。食慾不振 (anorexia)、噁心嘔吐 (nausea/vomiting)、味覺改變 (taste alteration)、吞嚥困難 (dysphagia)、焦躁不安/躁熱 (restless/heat)、腹脹 (abdominal fullness)、便秘 (constipation)、腹瀉 (diarrhea)、口乾 (dry mouth)、頭暈 (dizziness)、呼吸困難 (dyspnea)、失眠 (insomnia)、盜汗 (night sweating) 是以 0-3 分評估 (0, 沒有; 1, 輕度; 2, 中度; 3, 重度)。在身體理學檢查方面，身體功能 (functional performance) 是以 ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) 評估表評估，其他項目是以 0-3 分評估 (0, 沒有; 1, 輕度; 2, 中度; 3, 重度)。心理評估方面包括憂鬱、焦慮、憤怒是以 0-5 分評估 (0, 沒有; 1, 幾乎沒有; 2, 輕微; 3, 中度; 4, 嚴重; 5, 非常嚴重)。

症狀評估與資料收集

病人住院時，由固定的團隊成員根據病人的主觀感受評估症狀及其嚴重度。心理情緒症狀包括憂鬱、焦慮、憤怒是由醫師及臨床心理師共同負責評估，同時透過研究團隊會議討論達成共識。研究團隊會議每週舉行一次，同時由例行性的病歷記錄收集本研究所需要的基本資料，包括年齡、性別、癌症原發部位、存活時間等。

統計分析

此部分之研究資料使用 SPSS 11.0 統計軟體執行統計分析。為了讓所有症狀可以互相比較，疲倦、虛弱、疼痛先透過線性轉換，由 0-10 分轉成 0-3 分。人口統計資料以及住院時主觀症狀以頻率、百分比、平均數和標準差等統計值描述。為了進一步了解 15 項「住院時主觀症狀」背後可能存在的「潛在結構(latent construct)」，採用主成份分析法(principal component analysis)和 Promax 轉軸法進行因素分析。接著由因素分析所得到的因素分數(factor score)為基礎，使用 K-means Nonhierarchical 方式對病人進行群聚分析(cluster analysis)，將參與研究的病人分成幾個群組。利用變異數分析 (analysis of variance, ANOVA) 檢定群聚分析所得的各組是否確實在「住院時主觀症狀」的因素上有顯著差異，以驗證群聚分析的效果。進一步利用 ANOVA 檢定群聚分析所得的各組是否在存活日數、身體功能、心理情緒上是否有差異。統計上的顯著定義為 p value 小於 0.05。

第二部份：血清脂締素與癌症病人預後的關係

病人

此部分研究對象是 2002 年 1 月至 12 月在大醫院病理切片證實為癌症的 91 位病人。排除標準包括收案前一個月內有接受過化學治療、放射線治療或手術治療；有急性或慢性感染症；有其他慢性疾病會造成惡病質者，如心臟衰竭、慢性阻塞性肺疾病；有厭食症者。這些病人的存活狀態追蹤到 2008 年 3 月。此

部分研究已向台大醫院研究倫理委員會申請通過，每個病人參與研究前均簽署同意書。

收案時，除了年齡、性別、身高、體重等基本資料外，病理切片報告及組織型態都經過仔細確認。身體質量指數 (body mass index, BMI) 按定義：體重(kg) 除以身高平方(m²)計算。身體脂肪百分比(body fat percentage, %)是由公式 $1.2 \times (\text{身體質量指數}) + 0.23 \times (\text{年齡}) - 10.8 \times (\text{性別}) - 5.4$ ，男性=1；女性=0 (Deurenberg *et al.*, 1991)。身體功能 (functional performance) 評估是用 Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 評估表進行。

生化檢驗

血液是病人空腹 8 小時後，由週邊靜脈採集。用來測定脂締素 (adiponectin) 及其他血球及生化項目。在血液採集後，離心取的血清先收存在 -70°C 冰箱，等到所有檢體收集完成，再一起測定脂締素。測定方法是選用放射免疫分析法 (radioimmunoassay, RIA) 方法 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO) (Tsou *et al.*, 2004)。

統計分析

人口統計資料以頻率、百分比、平均數和標準差等統計值描述。比較不同身體功能的兩組病人 (ECOG=1 vs ECOG≥2)，連續變項用 *t* 檢定平均值 (mean)，用 Wilcoxon rank sum test 檢定連續變項的中位數 (median)，用 Fisher's exact test 檢定類別變項。皮爾森相關係數 (Pearson correlation coefficient) 與斯皮曼等級相關係數 (Spearman rank correlation coefficient) 用來表示變項間的相關強度。存活分析是用 Kaplan-Meier methods and cumulative survival curves 經由 log-rank test 進行檢定。進一步利用 Cox 比例風險多元迴歸分析 (Cox proportional hazards multiple regression analysis) 來調整跟死亡危險

相關的變項。病人在最後一次追蹤時如果還是活著的就定義為 censor。統計上的顯著定義為 p value 小於 0.05。此部分研究之資料是使用 Windows statistical software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC)和 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL)統計軟體進行統計分析。

第三部份：單核球表現脂締素的功能及其臨床意義

細胞製備及培養

人類週邊血液單核細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)是由靜脈抽出的全血加入Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare)後於600 g 18-20°C下離心20分鐘，取出單核細胞的部分，使用3倍體積的phosphate-buffered saline (PBS)清洗3次後於300 g 18-20°C下離心10分鐘，最後去除上清液，得到的細胞於培養基中培養2小時。再去除沒有貼附的(non-adherent)細胞後，得到人類週邊血液單核球 (Mantuano *et al.*, 2007)。在interleukin (IL-4, 10 ng/mL) (Peprotech EC LTD)作用下三天會分化成巨噬細胞(Huang *et al.*, 1999)。此部分研究已向台大醫院研究倫理委員會申請通過，每個人參與研究前均簽署同意書。

人類單核球細胞株 (human monocytic cell line, THP-1) (ATCC, TIB-202)，培養在RPMI 1640培養液(Gibco)中，並加入2 mM L-glutamine，100 U/ml penicilin，100 µg/ml streptomycin以及10% heat-inactivated胎牛血清(Biological Industries)。THP-1細胞株利用phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) (Sigma, St Louis, MS) 100 nM作用72小時以誘導分化為巨噬細胞(Ramprasad *et al.*, 1996)。

半定量逆轉錄聚合酶鍊式反應分析 (Semiquantitative Reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis)

利用REzol (PROtech Technology, Sparks, Nevada)抽取細胞的核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA)，之後加入SuperScript II reverse transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, CA)，合成互補去氧核糖核酸 (complementary deoxyribonucleic acid,

cDNA)。引子 (primer) 的序列為：脂締素 (sense, 5'- GCG GCC GCG CCT ATG TAT ACC GCT CAG CA-3'; antisense, 5'- GGA TCC TCA GTT GGT GTC ATG GTA GAG A -3') 和 PPAR γ (sense, 5'- TTC TAC TTT GAT CGC ACT TTG GT -3'; antisense, 5'- TCT GGG AGA TTC TCC TGT TGA C -3')。半定量逆轉錄聚合酶鍊式反應的相關參數為：initial denaturation at 94°C 處理 5 分鐘，各循環中 denaturation at 94°C 處理 30 秒，annealing at 62°C 處理 30 秒，polymerization at 72°C 處理 20 秒，總共 35 個循環 (cycles)，之後進行 final extension at 72°C 處理 10 分鐘。訊息 RNA (messenger RNA, mRNA) 的表現量以甘油醛-3-磷酸脫氫酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 為對照，並以洋菜凝膠電泳 (agarose gel electrophoresis) 分析。

定量實時聚合酶鍊反應分析 (Quantitative real time polymerase chain reaction analysis)

利用 REzol (PROtech Technology, Sparks, Nevada) 抽取細胞的核糖核酸 (RNA)，用 high capacity RNA-to-cDNA Kit (Applied Biosystem, Carlsbad, CA) 將核糖核酸 (RNA) 轉成 cDNA。利用 TaqMan gene expression master mix (Applied Biosystem, Carlsbad, CA) quantitative real-time PCR (7000 sequence detection system, Applied Biosystems)，測定細胞中脂締素、整合素 (integrin) 與 GAPDH 表現的相對量。操作的儀器是 ABI 7000 Real-Time PCR system。使用引子 (primer) 的序列，脂締素 (forward: 5'-AGA AAG GAG ATC CAG GTC TTA TTG GT-3', reverse: 5'-AAC GTA AGT CTC CAA TCC CAC ACT-3')，整合素 (integrin) (Hs00164957_m1, NM_000211.2 from ABI Biosystems)，GAPDH (Hs99999905_m1, NM_002046.3 from ABI Biosystems)。

西方點墨法 (Western blot analysis)

細胞在每個實驗適當的時間收集，以NP40-containing lysis buffer (Sharma *et al.*, 2007)溶解。測定脂締素時，使用80 µg蛋白質先用SDS-polyacrylamide膠體電泳分離，再轉拓到Hybond-P membrane (Amersham Biosciences, Arlington Heights, IL)。Membrane以5% nonfat dry milk與0.1% Tween-20 in Tris buffer saline在室溫下作用1小時。接著加入抗體在4°C下與membrane作用整晚。最後成像是用ECL Western blotting reagents kit (Amersham Biosciences, Arlington Heights, IL)。脂締素抗體是R&D systems (Minneapolis)、PPAR γ 抗體是Santa Cruz (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)、AMPK和pAMPK抗體是Cell Signaling (Cell Signaling Technology, Danvers, MA)。使用 β -actin當作internal control。

單核球黏著測定 (monocyte adhesion assay)

THP-1 細胞事先在不含血清的培養液內培養 12 小時，包括有加 rosiglitazone (RSG, 13.5 µM)及沒有加 RSG 作用的兩種細胞。選用 96 孔盤加入纖維結合素 (fibronectin, 10µg/mL) (Roche, Penzberg, Germany)作用隔夜，讓纖維結合素附著在盤底(Richter *et al.*, 2005)。每個孔加入 4×10^5 的細胞作用 2 小時後，吸除上層液，利用 0.1% 結晶紫 (crystal violet) 將細胞染色(Chana *et al.*, 2003)，之後用 phosphate-buffered saline (PBS) 小心沖洗三次以去除沒有附著的細胞，再用 ethanol and sodium citrate (0.1 M) (1:1 volume ratio)溶解被結晶紫染色的附著細胞。最後利用光譜儀 (spectrophotometer) 測定各孔溶液在波長 550 nm 的吸光度，作為評估細胞黏著的定量。

為了評估脂締素對 THP-1 細胞黏著的影響，事先以脂締素(BioVision, Mountain View, CA)跟 THP-1 細胞作用 30 min，包括同時有加 compound C (AMP-dependent protein kinase (AMPK) inhibitor)及沒有加 compound C (Merck) 兩種情況，再將細胞轉置到已用纖維結合素 (fibronectin, 10µg/mL) 處理過的 96 孔盤作用 2 小時後，再用上述方法定量。AMPK activator,

5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside (AICAR) (Cell Signaling Technology, Danvers, MA) 及 AMPK inhibitor compound C (Zhou *et al.*, 2001) 分別當作為對照。

免疫細胞染色法 (Immunocytochemistry)

細胞黏著在 fibronectin-coated 的玻璃片，加 4% paraformaldehyde 於 4 °C 固定 15 分鐘，加 0.1% Triton X-100 室溫作用 1 分鐘後，加入 bovine serum albumin (5 mg/mL in PBS) 室溫下作用 1 小時後，加入脂締素 (adiponectin) 抗體 (1:50 dilution, R&D system)、HAM56 (1:50 dilution, DAKO, Carpinteria, CA)、整合素 (integrin α_5) (1:200 dilution, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) 在 37°C 作用 1 h 後，洗掉後加入 Fluorescein Isothiocyanate (FITC)-conjugated or rhodamine-conjugated 第二抗體 (1:100 dilutions, Sigma, Saint Louis, MO)，室溫作用 1 h 後，再用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) (1:3000 dilutions) 染色 15 分鐘後，以 Crystal Mount Aqueous (Sigma, St Louis, MS) 封片，之後於共軛顯微鏡 (confocal microscope) (EZ-C1, Nikon, Tokyo, Japan) 下觀察照相。

統計分析 (Statistical analysis)

實驗數據以 means \pm SE 表示。組間的差異用 one-way ANOVA 和 Bonferroni's posttest 進行分析。組間的變化趨勢用 non-parametric trend test 進行分析。以雙尾檢定，統計上的顯著定義為 *p* value 小於 0.05。此部分資料以 STATA 9.0 統計軟體進行分析 (StataCorp, TX)。

第四部份：單核細胞脂締素 mRNA 表現與胃癌病人預後的關係

病人

此部分研究對象是 28 位病理組織證實為胃癌的病人，他們在 2007 年 4 月至 8 月期間在台大醫院接受外科手術。排除在收案前一個月有接受化學治療、放射線治療或重要手術，或有急慢性感染的病人。病人的存活狀態追蹤到 2009 年 10

月。另外有 57 位沒有癌症或急慢性感染症的自願受試者作為對照組。此部分研究已向台大醫院研究倫理委員會申請通過，每個參與研究者均先簽署同意書。

病人的基本資料在收案時紀錄。根據每個病人的手術前評估資料、手術記錄、病理報告，紀錄腫瘤大小、淋巴結及遠處器官是否轉移等相關資料。身體質量指數 (body mass index, BMI) 是按照定義：體重(kg)除以身高平方(m²)計算。身體功能是以 Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)評估表進行評估。

生化檢驗

病人空腹八小時後，從手臂靜脈抽取週邊血液，作為測定脂締素、血球數目及相關生化指標。抽取的血液馬上進行離心，保存血漿在-80°C 冰箱，等檢體收集完，一起進行脂締素的測定。血漿中脂締素是採用放射免疫分析法

(radioimmunoassay, RIA) 測定(Linco Research, Inc., St. Charles, MO) (Tsou *et al.*, 2004).



分離人類週邊血液單核細胞

人類週邊血液單核細胞，是由週邊抽取全血加入 Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare)後於 600 g 18-20°C 下離心 20 分鐘，取出單核細胞(mononuclear cells)的部分，進行下一步驟。

定量實時聚合酶鏈反應分析 (Quantitative real time polymerase chain reaction analysis)

利用 REzol (PROtech Technology, Sparks, Nevada)抽取細胞的核糖核酸 (RNA)，用 high capacity RNA-to-cDNA Kit (Applied Biosystem, Carlsbad, CA)將核糖核酸 (RNA) 轉成互補去氧核糖核酸 (complementary deoxyribonucleic acid,

cDNA)。利用 TaqMan gene expression master mix (Applied Biosystem, Carlsbad, CA) quantitative real-time PCR (7000 sequence detection system, Applied Biosystems), 測定細胞中脂締素與甘油醛-3-磷酸脫氫酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 表現的相對量。操作的儀器是 ABI 7000 Real-Time PCR system。使用的引子 (primer) 序列, 脂締素(forward: 5'-AGA AAG GAG ATC CAG GTC TTA TTG GT-3', reverse: 5'-AAC GTA AGT CTC CAA TCC CAC ACT-3'), GAPDH (Hs99999905_m1, NM_002046.3 from ABI Biosystems)。

統計分析

在描述性統計方面, 用頻率、百分比、平均值、標準差、中位數、範圍等描述相關變項。胃癌病人和對照組之間的比較, 用 2-sample *t*-test 檢定連續變項的平均值、用 Wilcoxon rank sum test 檢定連續變項的中位數、用 Fisher's exact test 檢定類別變項。存活分析是用 Kaplan-Meier methods and cumulative survival curves 經由 log-rank test 進行檢定。進一步利用 Cox 比例風險多元迴歸分析 (Cox proportional hazards multiple regression analysis) 來調整跟死亡危險相關的變項。病人在最後一次追蹤時, 如果還是活著的就定義為 censor。統計上的顯著定義為 *p* value 小於 0.05。此部分研究之資料使用 Windows statistical software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC) 和 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) 統計軟體執行統計分析。

第三章 結果 (Results)

第一部份：癌末症狀群集與其臨床意義

本研究之對象包含 427 位癌症末期病人，其中 222 (52.0%) 位為男性，205 (48.0%) 位為女性。年齡中位數為 66 歲(範圍為 27 至 93 歲)。存活期的中位數為 13 天(範圍在 1 至 418 天之間)。在這些病患中，超過四分之三的身體功能狀態(ECOG performance status)為 3 或 4 分。在癌症原發部位上，肺癌佔最大宗(19.9%)，其次為肝癌(18.0%)及大腸直腸癌(11.0%)(表 1)。

在主觀症狀上，較常被抱怨的分別是疲倦(94.15%)、衰弱(93.91%)、食慾不振(87.12%)、疼痛(83.84%)以及便秘(64.17%)。在症狀嚴重程度方面，較嚴重的為食慾不振(1.75 ± 0.89)、疲倦(1.73 ± 0.70)、衰弱(1.72 ± 0.69)、疼痛(1.35 ± 0.81)、便秘(1.19 ± 1.06)以及腹脹(1.13 ± 1.13) (表 2)。

為進一步了解 15 項「住院時主觀症狀」背後可能存在的「潛在結構(latent construct)」，本研究採用主成份分析法(principal component analysis)和 Promax 轉軸法進行因素分析。分析過程中發現到「疼痛」此一症狀應單獨屬於一個因素，而將疼痛獨立於其他因素之外，在概念上亦是合理的，故先將疼痛獨立為一個因素稱為 pain complex (PC)，代表各種不同部位的疼痛。其他 14 項主觀狀態再進行因素分析，得到四個因素。分別命名為能量耗損(loss of energy, LE)：包含疲倦、衰弱；進食不佳(poor intake, PI)：包含食慾不振、味覺改變、吞嚥困難、便秘、口乾口渴；自主神經失調(autonomic dysfunction, AD)：包含躁熱、頭暈、失眠、盜汗；以及呼吸消化障礙(aerodigestive impairment, AI)：包含嘔心嘔吐、腹脹、呼吸困難(表 3)。

利用從因素分析所得到的 PC, LE, PI, AD 以及 AI 五個因素的因素分數，將所有 427 位病人中，有足夠資料可以得到所有五個因素分數的 394 人，以群聚分析進行分組。首先以階層群聚分析(hierarchical cluster analysis)方式來選取適合的組數，本研究決定將 394 位病人分為 6 組。決定分為 6 組後，再以非階層群聚分析(nonhierarchical cluster analysis)的方式，將 394 位病人分入這 6 組之中，有 93 人分入第一組、49 人分入第二組、75 人分入第三組、52 人分入第四組、67 人分入第五組、57 人分入第六組。為驗證此次群聚分析有確實把主觀症狀上有不同

抱怨的病人區分出來，再以 ANOVA 檢定群聚分析所得的 6 組是否確實在「住院時主觀症狀」的 5 個因素分數上有顯著差異，結果如表 4 所示，此 6 組在「住院時主觀症狀」的 5 個因素分數上確有顯著差異。第一組病人的特徵是以能量耗損 (LE) 和疼痛 (PC) 較明顯，第二組病人的特徵是除了疼痛 (PC) 外，其他症狀群都明顯，第三組病人的特徵是所有症狀群都較輕微，第四組病人的特徵是以疼痛 (PC) 較明顯，第五組病人的特徵是以能量耗損 (LE) 較明顯，第六組病人的特徵是所有症狀群都明顯。第六組病人的症狀群嚴重度，能量耗損 (LE) 是最嚴重的，其次是疼痛 (PC)，自主神經失調 (AD) 是最輕微的。一般來說，第二組及第六組病人有較多較嚴重的症狀群，第四組及第五組病人的症狀群嚴重度較輕。

為了探討這六組病人的生物 (biological) 及心理 (psychological) 的參數 (parameters)，我們進行 ANOVA 分析，將有顯著的參數整理在表 5。第四組病人有最長的存活期與最好的身體功能。第六組病人的存活期最短，身體功能也最差。第一、四、六組病人有 40% 的人有骨骼轉移。腹水及肋膜積水是主要有顯著差異的理學檢查項目，第二及六組病人有較嚴重的肋膜積水和腹水。在心理評估方面，第二及六組病人有較嚴重的焦慮，第一及六組病人有較嚴重的憂鬱。

第二部份：血清脂締素與癌症病人預後的關係

這此部分研究中，我們收集了 91 個癌症病人，包含 53 (58.2%) 位男性和 38 (41.8%) 位女性，平均年齡為 61.26 ± 12.98 歲。當中有 53.8% 為肝癌，其次依序為大腸直腸癌 (7.7%)，胰臟癌 (7.7%)，肺癌 (6.6%)，胃癌 (5.5%)。大多數病人 (58.4%) 腫瘤的大小介於 3 至 10 公分，52 (57.1%) 位病人有遠處轉移，有 40 (44.0%) 位患者在納入研究前曾接受過腫瘤治療 (表 6)。

這 91 位病人中，87 (95.6%) 位意識是清楚的。只有 26 (28.6%) 位病人的日常生活可自理 (ECOG=1)，其他人的日常生活都有受到影響 (ECOG \geq 2)。平均身體質量指數為 22.24 ± 3.84 kg/m²。平均體脂肪百分比為 $28.76 \pm 7.44\%$ 。在收案前六個月內，有 5 (6.1%) 個病人體重增加，21 (25.6%) 個病人體重沒有明顯的變化，56 (68.3%) 個病人出現體重減輕，平均體重減輕的百分比為 $6.81 \pm 7.94\%$ (表 7)。

表 8 呈現血球分析、生化值及血清脂締素的數據。平均血清脂締素為 $15.51 \pm 10.40 \mu\text{g/ml}$ 。根據病人身體功能狀態，可分為日常生活可自理($\text{ECOG}=1$)，另一組為日常生活受影響者($\text{ECOG} \geq 2$)。兩組比較， $\text{ECOG} \geq 2$ 這一組有顯著的體重減輕($5.70 \pm 5.11 \text{ kg vs. } 0.90 \pm 2.12 \text{ kg}$, $p < 0.001$)、顯著的遠處轉移($p < 0.001$)，較高的血清總膽紅素及血中尿素氮($p < 0.05$)以及較低的血清鈉、血清白蛋白和血紅素($p < 0.05$) (表 9)。

這兩組癌症病患中，為了說明身體質量指數以及血清脂締素間的關係，我們進行了皮爾森 (Pearson) 相關和斯皮曼 (Spearman) 等級相關分析。在 $\text{ECOG}=1$ 這一組，血清脂締素與身體質量指數呈現顯著負相關($p < 0.05$)，但在 $\text{ECOG} \geq 2$ 這一組卻沒有看到此種關聯性 (圖 1)。即使在調整年齡及性別後，這種現象仍然存在。

在存活分析中，我們發現在 $\text{ECOG}=1$ 這一組，如果血清脂締素等於或高於 $6 \mu\text{g/ml}$ (在這樣本中最低三分位的平均)、沒有遠處轉移及身體質量指數介於 18.5 至 30 kg/m^2 ，存活期明顯較長($p < 0.005$) (圖 2)。在 $\text{ECOG} \geq 2$ 這一組，如果患者血清脂締素等於或高於 $6 \mu\text{g/ml}$ 且沒有遠處轉移，存活期也明顯較長($p = 0.011$) (圖 2)。在 $\text{ECOG} \geq 2$ 這一組，使用 Cox 比例風險多元迴歸分析，在調整過身體質量指數、其他系統疾病、收案前任何的癌症治療、性別及年齡，我們發現遠處轉移 ($p < 0.001$) 和血清脂締素 ($p = 0.03$) 是獨立預測死亡的因素 (表 10)。

第三部份：單核球表現脂締素的功能及其臨床意義

為探討 rosiglitazone (RSG) 的效果，先了解單核球及巨噬細胞 $\text{PPAR}\gamma$ 與脂締素的表現。如圖 3A 所示， $\text{PPAR}\gamma$ 與脂締素 mRNAs 在人類單核球及巨噬細胞都有表現。表現量在被 IL-4 (10 ng/mL) 刺激三天後的巨噬細胞較高。為了確認正確性，我們還進行人類單核球、巨噬細胞及 THP-1 細胞 cDNA 的定序。定序結果跟預期的脂締素序列是 100% 一致的，確認是有脂締素的表現。為進一步瞭解單核球及巨噬細胞脂締素的表現及其在細胞中的位置，我們用免疫細胞染色法 (immunocytochemistry, ICC) 方法。如圖 3B 所示，HAM 56 是單核球及巨噬細胞的標誌 (marker)，在巨噬細胞的細胞質表現較高。脂締素的表現跟 HAM 56 類

似，主要是在細胞質，在巨噬細胞表現較單核球高。

為了進一步探討 RSG 對單核球功能的分子機轉，我們先瞭解 PPAR γ 及脂締素在 THP-1 細胞的表現。PPAR γ 及脂締素的表現在單核球經由 PMA (10^{-7} M) 刺激分化成巨噬細胞的過程，在第三天達到最大量(圖 4A)。我們比較 PPAR γ 及脂締素在單核球、巨噬細胞及脂肪細胞的相對表現，我們發現 PPAR γ 的表現量相差不多，但是脂締素在單核球及巨噬細胞的表現，相對於脂肪細胞是少很多(圖 4B)。

單核球經由 RSG 作用 24 小時，PPAR γ 與脂締素的表現隨著 RSG 的濃度增加而增加(圖 4C 上圖)，脂締素的表現大概增加 2 倍(圖 4C 下圖)。同樣的現象也發現在巨噬細胞。RSG 增加單核球脂締素表現的效果會被 PPAR γ 的拮抗劑(GW 9662) 作用 24 小時所阻斷(圖 4D)。進一步用西方點墨法 (Western blot analysis) 測定沒有血清的培養液中 RSG 作用單核球 12 小時所釋放出來的脂締素量，發現隨 RSG 濃度增加而增加(圖 4E)。

為了進一步探討單核球表現脂締素的功能，我們利用單核球黏著纖維結合素 (fibronectin) 方法，在使用沒有血清的培養液的情況下進行。在沒有 RSG 事先作用的情況下，單核球的黏著不受脂締素抗體(圖 5A)或無免疫力之 IgG (圖 5B) 的影響。但是先經 RSG 作用的單核球，脂締素表現增加，單核球黏著纖維結合素 (fibronectin) 的現象會減少(圖 5C)。為了進一步確認脂締素在 RSG 所主導的抑制黏著的角色，我們探討在脂締素抗體及無免疫力之 IgG 的情況下，對單核球黏著的影響。如圖 5C 所示，RSG 抑制單核球黏著的效果會受到脂締素專一抗體的影響，但是不受沒有免疫力的 IgG 影響(圖 5D)。這樣的結果顯示，RSG 抑制單核球黏著減少的原因，至少有一部份是透過單核球本身所表現的脂締素。

因為之前的研究顯示脂締素在肌肉細胞及肝細胞有活化 AMP-activated protein kinase (AMPK) 的作用(Yamauchi *et al.*, 2002)，我們進一步探討 AMPK 在單核球黏著的影響。在 THP-1 細胞，我們發現隨著脂締素及 AICAR (AMPK activator) 作用濃度及作用時間的增加，都會增加 AMPK Thr¹⁷² residue 的磷酸化 (phosphorylation) (圖 6A-6D)，這樣效果會被 AMPK 的抑制劑 compound C 所

阻斷。

我們接著探討 AMPK 磷酸化對單核球黏著纖維結合素 (fibronectin) 的影響。結果顯示隨著脂締素及 AICAR 的濃度增加會減少單核球黏著纖維結合素 (fibronectin) (圖 7A 和 7B)。AMPK 訊息傳遞路徑的活化可能減少單核球的黏著。而且這樣的抑制效果會被 AMPK 的抑制劑 compound C 所阻斷(圖 7C 和 7D)。這些實驗結果說明了脂締素抑制單核球黏著的機轉是透過 AMPK 訊息傳遞路徑的活化。

因為細胞外的基質蛋白 (extracellular matrix proteins) 和黏著分子 (adhesion molecule)，包括纖維結合素 (fibronectin) 和整合素 (integrin $\alpha_5\beta_1$)，在細胞黏著扮演重要角色(Dougherty *et al.*, 1988; Schmidt and Kao, 2007)。因此我們研究 AMPK 活化對整合素 (integrin α_5) 的影響。利用免疫細胞染色

(immunocytochemistry, ICC) 方法，發現整合素 (integrin α_5) 是表現在細胞質，特別是在黏著細胞的細胞膜邊緣(圖 8A)。如果用脂締素(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)及 AICAR (500 μM)作用單核球 2 小時，整合素 (integrin α_5) 的染色跟對照組比較會減少(圖 8A)。我們也用西方點墨法驗證這個結果。脂締素(圖 8B)及 AICAR(圖 8C)都會抑制纖維結合素 (fibronectin) 所引起的整合素 (integrin α_5) 的表現，而且隨濃度的增加抑制效果越強。為了更確認 AMPK 的角色，我們發現隨著 AMPK 抑制劑 compound C 濃度的增加會阻斷 AICAR 抑制整合素 (integrin α_5) 表現的效果(圖 8D)。

第四部份：單核細胞脂締素 mRNA 表現與胃癌病人預後的關係

我們收集了 28 位胃癌病人，包括 18 (64.3%)位男性，10 (35.7%)位女性。他們的平均年齡是 65.18 ± 17.14 歲。其中有 3 位是之前有接受過治療又復發的。大部分病人(42.9%)的主要腫瘤大小是在 5 到 9 公分。關於他們的疾病嚴重度，10 (35.7%)位病人的解剖期別 (anatomical stage) 是 IIIb，有 5 (17.9%)位病人有遠處轉移的情況(表 11)。

28 位病人中，21 (75.0%) 位病人的日常生活是自由的(ECOG=1)。平均身體質量指數是 $21.92 \pm 2.85 \text{ kg/m}^2$ 。收案前六個月平均體重減輕百分率是 7.24 ± 6.35 (表 12)。血球、生化及血漿中脂締素濃度及單核球表現脂締素的程度呈現在表 13。平均血漿中脂締素的濃度是 $11.47 \pm 8.64 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 。C-反應蛋白 (C-reactive protein, CRP) 的平均濃度是 $0.83 \pm 0.99 \text{ mg/dl}$ 。單核細胞表現脂締素程度相對於對照者的平均值是 0.36 ± 0.17 。跟對照組比較，胃癌病人平均年紀較大 (43.00 ± 13.61 vs. 65.18 ± 17.14 , $p < 0.0001$)、有較高的高血壓(8.8% vs. 33.3%, $p < 0.0098$)及糖尿病(1.8% vs. 18.5%, $p < 0.0120$)的盛行率、有較低的身體質量指數(21.92 ± 2.85 vs. $23.85 \pm 2.98 \text{ kg/m}^2$, $p < 0.0061$)。血漿中脂締素濃度在兩組沒有差異。但是，血漿中 CRP 濃度在胃癌病人較高(0.19 ± 0.35 vs $0.83 \pm 0.99 \text{ mg/dl}$, $p < 0.0001$)，單核細胞表現脂締素程度在胃癌病人較低 (1.10 ± 0.34 vs 0.36 ± 0.17 , $p < 0.0001$) (表 14)。

在多變項回歸分析，調整年齡、性別、身體質量指數、C-反應蛋白、高血壓及糖尿病，胃癌是影響單核細胞表現脂締素的唯一因素($p < 0.0001$)。相對的，身體質量指數是唯一跟血漿中脂締素濃度有負相關的變項(表 15)。在 Cox 比例風險多元迴歸分析，調整年紀、性別、身體質量指數、解剖期別，除年齡外，單核細胞脂締素表現程度是唯一預測死亡危險的獨立因素($p = 0.0035$) (表 16)。存活分析發現單核細胞脂締素表現較高的病人有較長的存活期($p < 0.0107$) (圖 10)。

第四章 討論 (Discussion)

第一部份：癌末症狀群集與其臨床意義

為了探討癌症末期病患的症狀群集現象，我們將這些病患的症狀分為五大症狀群集，即能量耗損(loss of energy, LE)、進食不佳(poor intake, PI)、自律神經失調(autonomic dysfunction, AD)、呼吸消化障礙(aerodigestive impairment, AI)和疼痛(pain complex, PC)。並且利用群聚分析將病患分為六組，每一組病患有特殊的症狀群集型態 (pattern)。這是第一個從末期癌症病患的病態生理機轉檢視症狀群集的研究。我們發現存活時間、身體功能狀態、骨骼轉移、肋膜積水和腹水與癌症末期病患的症狀群集型態有關。

第一症狀群 (能量耗損) 包括了疲倦及虛弱。這兩個症狀的一致性在過去的研究中持續被發現(Walsh and Rybicki, 2006)。這兩者在台灣癌症末期病人，代表了相近的意義(Tsai *et al.*, 2006)。第二症狀群 (進食不佳) 包括了食慾不振及惡病質症狀，一般被認為是由促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine)，如 IL-1、IL-6 及 TNF- α 調控(Kayacan *et al.*, 2006)。第三症狀群 (自律神經失調) 包括了在癌末患者因為自律神經失調造成的症狀(Walsh and Nelson, 2002)。Paraneoplastic processes 可能是造成自律神經失調的原因之一(Esper and Heidrich, 2005)。第四症狀群 (呼吸消化障礙) 包括噁心、嘔吐、腹脹及呼吸困難等症狀。在過去的研究當中，也發現腸胃相關的症狀經常一起出現(Komurcu *et al.*, 2002)。呼吸困難的症狀常與噁心嘔吐一起發生，而腹水可能是一個重要的原因(Mercadante *et al.*, 1998)。第五症狀群是各個部位的疼痛，這對於癌症末期患者而言是一個特殊的症狀。我們過去的研究發現癌症末期病患的疼痛有一些特徵，它是一個較可控制的症狀，常與憂鬱情緒有關(Chiu *et al.*, 2000; Tsai *et al.*, 2006)。因此，在分析過程我們將各個部位的疼痛視為一個獨立的症狀群集。根據群聚分析的結果，在癌症末期病患，能量耗損 (LE) 和疼痛 (PC) 是較嚴

重的症狀群集，這與其他研究的結果相符合(Donnelly *et al.*, 2000)。在預後較差的第 2 及第 6 組病患，似乎與進食不佳 (PI) 及呼吸消化障礙 (AI) 這兩個症狀群集有相關，這兩個症狀群集的同時出現可能會導致自律神經失調 (AD) 的表現惡化，伴隨而來的是疼痛 (PC) 及能量耗損 (LE) 的表現。若所有症狀群都有出現時，如第 6 組病患，進食不佳 (PI)、自律神經失調 (AD)、及疼痛 (PC) 是最顯著的。

根據我們的分析，存活時間、身體功能狀態、骨骼轉移與症狀群集型態有關。「symptom burden」是一個概念，包含了症狀的嚴重程度以及病患對於症狀影響的主觀感受。第 2 及第 6 組的病患的存活時間較短，更進一步證實 symptom burden 與存活時間有關(Hwang *et al.*, 2004)。除了 symptom burden 外，能量耗損包括疲倦和虛弱，也與存活時間有關(Tammemagi *et al.*, 2004)。symptom burden 和能量耗損與身體功能狀態有關(Cella *et al.*, 2008; Mallinson *et al.*, 2006)。因此，我們可以看到第 1、2、5、6 組的病患身體功能狀態比較差。所以在臨床上，積極處理能量耗損的症狀是合理的。至於第 3 組病患的存活時間明顯較第 4 組病患短的原因可能跟呼吸消化障礙的嚴重度有關。骨骼轉移與疼痛症狀有相關(Bercovitch, *et al.*, 1999)，因此可以看到第 1、4、6 組病患在疼痛症狀上特別明顯。第 4 組病患有最長的存活時間以及最佳的身體功能狀態，代表疼痛症狀是可以獨立存在並且是可控制的(Bercovitch *et al.*, 1999; Chiu *et al.*, 2000; Tsai *et al.*, 2006)。在理學檢查上，肋膜積水及腹水在第 2 組和第 6 組病患是最嚴重的，也與 symptom burden、身體功能狀態及存活時間有關(Chiu *et al.*, 2004; Chuang *et al.*, 2004)。因此，體液的堆積，包括腹水和肋膜積水，也與症狀群集有相關。至於癌症原發部位、年齡、性別在症狀群集上並非主要的決定因素，因為這些末期癌症病患經常發生多重器官衰竭，進入末期共同路徑(terminal common pathway)(Chiu *et al.*, 2000; Morita *et al.*, 1998)。

在心理層面上，第 6 組病患的焦慮及憂鬱程度比其他組的病患高，代表身體症狀與心理情緒反應有關(Cathcart, 2006)。雖然能量耗損與憂鬱有相關(Paice,

2004)，但是在能量耗損表現顯著的第 5 組病患，其憂鬱程度是比第 1 組和第 6 組來得低的，這代表與憂鬱相關的因素是多重的(Breitbart et al., 2000)，而且更積極的疼痛控制對於有憂鬱情緒的病患是有其必要的(Butler et al., 2003)。身體症狀與器官衰竭是有相關的，癌症末期患者的症狀主要是來自於生理的惡化，其次才是心理情緒反應 (Vigano et al., 2004)。因此，對於癌症末期的病患，積極的症狀控制是非常重要的。

此部分研究的限制在於症狀的評估項目相對而言較少，僅有 15 個症狀被納入。在探討症狀群集時，使用更完整的工具來評估症狀是有其必要的。另外，本研究設計是橫斷的，但是病患的症狀是動態的，會隨者疾病的進展而變化。縱向時間追蹤的症狀群集研究將是未來研究設計應該要考慮的方向。

總結來說，症狀群集在癌末病患是存在的。存活時間、身體功能狀態、骨骼轉移及體液堆積均與特殊的症狀群集型態有相關。心理情緒方面的問題常是次發於生理的惡化。掌握癌症末期病患複雜的症狀表現，是建立良好的安寧緩和醫療臨床準則之基礎。

第二部份：血清脂締素與癌症病人預後的關係

在這部分研究中，我們探討癌症病人的血清脂締素、身體質量指數、身體功能狀態，疾病狀況和存活期之間的關聯性。研究發現，血清脂締素與身體質量指數呈負相關僅見於 ECOG=1 這一組癌症病人。除此之外，血清脂締素、身體功能狀態和遠處轉移是預測癌症病患存活期的因素。

在我們的研究中，各種臨床參數的變化與身體功能狀態的交互影響，對於癌症患者是一個重要的臨床指標 (Kelly, 2004)。舉例來說，嚴重的體重減輕、遠處轉移、肝或腎功能惡化、低鈉血症、低白蛋白血症及貧血都是影響癌症患者身體功能的重要因素。在這些因素中，營養狀態更是扮演著舉足輕重的角色 (Fearon, et al., 2006)。因此，改善營養狀態在腫瘤醫學與緩和醫療都是一個核心議題 (Bozzetti, 2009; Fearon, 2008)。

能量攝取、能量消耗及能量儲存是能量平衡的三大因素 (Gale et al., 2004)。

中樞神經系統藉由週邊的器官傳來的訊息來調節能量攝取和能量消耗，譬如脂肪組織、腸胃道及胰臟所釋放的訊息 (Druce and Bloom, 2006)。目前已經了解脂肪組織不僅可用於儲存脂肪，也可作為內分泌器官，因為它會分泌多種脂肪激素 (adipokine)，包括瘦素(leptin)，脂締素(adiponectin)和抗素(resistin)。這些脂肪激素在能量平衡中發揮重要的角色 (Antuna-Puente *et al.*, 2008)。舉例來說，瘦素(leptin)透過 β -細胞上的 ATP-sensitive 鉀離子通道 (potassium channel) 抑制胰島素分泌；脂締素(adiponectin)藉由加強游離脂肪酸氧化來改善胰島素阻抗 (insulin resistance)，抗素(resistin)誘導胰島素阻抗 (Ahima *et al.*, 2008)。胃腸道也是內分泌器官，藉由分泌胜肽(peptide)來調節能量的平衡，例如飢餓激素(ghrelin)可作用於中樞神經系統引起食慾 (Camiña, 2006)。

在這些相關因素中，脂締素是調節能量平衡的關鍵，可以加強胰島素的敏感性，誘導脂肪酸 β -氧化，並作用於下視丘調節能量平衡 (Guerre-Millo, 2008; Kadowaki *et al.*, 2008)。脂締素在血清中的濃度與體重呈負相關 (Antuna-Puente *et al.*, 2008)，因此體重減輕及神經性厭食症會伴隨著血中脂締素濃度提升 (Pannacciulli *et al.*, 2003)。然而，最近的一項研究顯示在惡病質的癌症患者，血清脂締素濃度與身體質量指數降低沒有相關性 (Wolf *et al.*, 2006)。在這部分研究中，我們發現具有較好的身體功能狀態 (ECOG=1) 的癌症患者，血清脂締素濃度與身體質量指數呈負相關；但是這種關係不存在於身體功能較差 (ECOG ≥ 2) 的患者。因此，能量平衡與脂締素的調控機制在癌症惡病質病人是異常的。在末期癌症惡病質的患者，許多促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) 如 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 是升高的 (Tisdale, 1997)，其中有些是會抑制脂肪組織表現脂締素，如 TNF- α 和 IL-1 (Maeda *et al.*, 2001; Lagathu *et al.*, 2006)。這方面的證據支持我們的研究結果，末期癌症患者血中脂締素濃度與身體質量指數沒有相關性。

在存活分析中，我們發現結合身體質量指數、身體功能及遠處轉移時，脂締素可以作為一個預測存活期的重要因素。病人血清脂締素濃度較高存活期較長。我們的研究結果加強之前的觀察，脂締素可以抑制胃癌的生長及腹膜轉移 (Ishikawa *et al.*, 2007)。此外，病人血漿脂締素濃度較低，前列腺癌 (Goktas *et al.*, 2005) 和胃癌 (Ishikawa *et al.*, 2005) 的進程較快，這意味著脂締素具有抗腫瘤的作用 (Barb *et al.*, 2007)。同時，脂締素已被證明可抑制體外髓系單核球細

胞株的生長、誘導骨髓原始細胞進行細胞凋零 (apoptosis)、調節 M1 細胞凋零相關基因的表現及抑制 Bcl-2 基因的表現 (Yokota *et al.*, 2000)。此外，脂締素可透過與數種生長因子的交互作用，如血小板衍生生長因子 BB (platelet-derived growth factor BB, PDGF-BB)，鹼性纖維母細胞生長因子 (basic fibroblast growth factor, FGF) 和肝素結合表皮生長因子樣生長因子 (heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor, HB EGF) 去抑制細胞增殖 (cell proliferation) (Wang *et al.*, 2005)。因此，目前的研究證據指出，脂締素潛在是預測癌症患者存活時間的生物指標。

總之，在末期癌症患者同時合併較差的身體功能狀態，其血清脂締素濃度與身體質量指數並不呈現負相關。血清脂締素濃度合併身體功能及與腫瘤遠處轉移是獨立預測癌症患者存活期的重要因素。

第三部份：單核球表現脂締素的功能及其臨床意義

在這部分研究，我們是第一個闡述 rosiglitazone (RSG) 可以促進人類單核球表現 PPAR γ 和脂締素的表現。我們進一步闡述單核球及巨噬細胞本身製造的脂締素經由 AMPK 訊息傳遞路徑抑制整合素 (integrin α_5) 的表現，繼而抑制單核球黏著纖維結合素 (fibronectin)。

人類單核球脂締素的表現隨著分化成巨噬細胞的過程而增加。在單核球分化過程，脂締素的表現跟 PPAR γ 有密切相關。除此，RSG 促進單核球脂締素的作用會被 PPAR γ 拮抗劑 (GW 9662) 所阻斷，顯示單核球脂締素的表現是受 PPAR γ 的調控。最近研究證實，在某些病態情況下，脂締素可以在非脂肪組織表現，譬如肝臟及肌肉組織 (Wolf *et al.*, 2006; Delaigle *et al.*, 2004)。這些局部製造的脂締素被認為是有抗發炎的作用。雖然單核球及巨噬細胞表現脂締素，但是表現的程度相對於脂肪組織相當低。但是，局部單核球製造的脂締素具有明顯的抑制單核球黏著纖維結合素 (fibronectin)。顯示單核球所製造的脂締素可能是透過 autocrine 或 paracrine 的方式發揮作用。這樣的發現不僅擴充我們對動脈硬化最初步驟的瞭解，而且提供動脈硬化治療一項有潛力的策略。

單核球黏著上皮細胞外基質蛋白已經被認為是動脈硬化初步過程的重要步驟(Huo *et al.*, 2000; Vogl-Willis and Edwards, 2004)。譬如可溶的血漿纖維結合素(plasma fibronectin)及不可溶的細胞纖維結合素(cellular fibronectin)是單核球整合素(integrin $\alpha_5\beta_1$)受器(receptor)的ligand(Schmidt and Kao, 2007)，可以活化整合素(integrin)的訊息傳遞路徑，導致細胞黏著(cell adhesion)、細胞移動(cell migration)、形態發育(morphogenesis)(Miyamoto *et al.*, 1998)。活體實驗發現，在沒有其他動脈硬化的跡象出現前，纖維結合素(fibronectin)會沈積在容易發生動脈硬化位置，大部分是來自血漿(Moretti *et al.*, 2007; Orr *et al.*, 2005)。除此，單核球細胞膜上的整合素(integrin)受器跟內皮細胞上纖維結合素(fibronectin)的connecting segment-1(CS-1)結合，在單核球進入動脈硬化病灶過程扮演重要角色(Srinivasan *et al.*, 2003; Cole *et al.*, 2003)。早期研究證實脂締素可以透過抑制內皮細胞表現黏著分子(adhesion molecule)，進而抑制單核球跟內皮細胞的黏著，這些黏著分子包括vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)、endothelial-leukocyte adhesion molecule-1(E-selectin)、ICAM-1(Ouchi *et al.*, 1999)。另一方面，我們發現RSG經由促進PPAR γ 和脂締素的表現，產生對單核球及巨噬細胞明顯的影響，進而透過AMPK訊息傳遞路徑的活化，減少整合素(integrin)的表現。因此，我們的發現說明了RSG如何阻斷纖維結合素(fibronectin)與整合素(integrin)的作用，進而抑制細胞黏著。根據這些結果，我們提出一個模型來說明單核球及巨噬細胞本身所表現的脂締素角色。這個模型說明局部單核球產生的脂締素可以透過autocrine或paracrine的方式，抑制整合素(integrin)的表現，進而減少單核球的黏著(圖9)。

整體來說，我們提出一個新的證據說明RSG可以促進人類單核球/巨噬細胞PPAR γ 和脂締素的表現和功能，而局部所釋放的脂締素經由AMPK訊息傳遞路徑的活化，抑制整合素(integrin)的表現，進而抑制單核球黏著到纖維結合素(fibronectin)。

第四部份：單核細胞脂締素 mRNA 表現與胃癌病人預後的關係

我們發現胃癌病人的單核細胞表現脂締素的程度明顯較非癌症對照組低。同時也發現單核細胞表現脂締素的程度是預測胃癌病人存活期的獨立因子。相對來說，我們的結果也顯示血漿脂締素的濃度跟身體質量指數成負相關，但是跟胃癌病人的存活期沒有顯著關係。

整體上，這個研究的對象是由身體功能較好(ECOG=1)的胃癌病人所組成。但是在收案前六個月，他們已經發生不自身體重減輕($7.24 \pm 6.35\%$)的現象。表示能量代謝異常通常發生在癌症病人，即使是在疾病的早期(Costa, 1997)。

能量的攝取 (energy intake)、能量的消耗 (energy expenditure) 和能量的儲存 (energy storage) 是身體能量平衡 (energy homeostasis) 的三個重要因素(Gale *et al.*, 2004)。中樞神經系統會根據周邊組織器官，如脂肪組織、腸胃道和胰臟所釋放出來的訊息，調節能量的攝取和能量的消耗的平衡(Druce and Bloom, 2006)。脂肪組織不僅是脂肪堆積的器官也是活躍的內分泌器官，因為它會釋放很多脂肪細胞激素 (adipokines)，包括瘦素 (leptin)、脂締素 (adiponectin) 和抗素 (resistin) 等。這些脂肪細胞激素在能量平衡扮演重要角色(Antuna-Puente *et al.*, 2008; Ahima and Lazar, 2008)。

這些相關因素中，脂締素是能量平衡的重要調節者，它可以增加胰島素的敏感性，誘導脂肪酸的代謝、作用在下視丘調節能量平衡(Guerre-Millo, 2008; Kadowaki *et al.*, 2008)。在一般人，血清脂締素的濃度跟體重成負相關(Antuna-Puente *et al.*, 2008)。因此，有計畫的減輕體重，如神經性厭食症，會伴隨脂締素的上升(Pannacciulli *et al.*, 2003)。但是，最近的研究顯示在癌症惡病質的病人，血清脂締素濃度跟身體質量指數的減少無關(Wolf *et al.*, 2006)。在我們的研究，血漿脂締素濃度在胃癌病人及對照組沒有明顯差異，即使胃癌病人的身體質量指數較低。因此，能量平衡的機制在癌症病人可能失調，特別是脂締素的回饋機制可能發生異常。在有惡病質的癌末病人，很多促發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) 是上升的，如 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 (Tisdale, 1997)。

當中有些在脂肪組織是具有抑制脂締素表現的作用，如 TNF- α 和 IL-1 (Maeda *et al.*, 2001; Lagathu *et al.*, 2006)。這些證據可以支持我們的發現。

在急性肝衰竭的老鼠肝臟組織中的巨噬細胞，已偵測到脂締素的表現(Wolf *et al.*, 2006)。我們最近也發現單核球本身製造的脂締素，可以透過活化 AMPK 訊息傳遞路徑，抑制整合素(integrin α_5)的表現，進而減少單核球的黏著(Tsai *et al.*, 2010)。我們已經證實，胃癌病人的單核細胞表現脂締素的程度較低。多變項回歸分析及存活分析顯示單核細胞表現脂締素的程度是預測死亡危險的獨立因素，單核細胞表現較高脂締素程度者，存活期較長。因此，我們的結果顯示單核細胞表現脂締素程度是比血漿脂締素更有潛力成為預測胃癌病人存活期的生物指標。

脂締素會抑制單核球跟內皮細胞的黏著(Ouchi *et al.*, 1999)。一項研究顯示脂締素可以抑制胃癌的成長及腹膜的轉移(Ishikawa *et al.*, 2007)。再者，低血漿脂締素濃度跟胃癌的進行有關(Ishikawa *et al.*, 2005)，這說明了脂締素具有抗癌的作用(Barb *et al.*, 2007)。因此，進一步研究單核細胞表現脂締素較低時，是否會導致較多巨噬細胞浸潤在癌組織或身體其他組織器官。

總而言之，胃癌病人的單核細胞表現脂締素的程度較低，而且是預測胃癌病人存活期的重要危險因素。

第五章 展望 (Perspectives)

本研究發現癌症惡病質相關的症狀是癌末病人症狀群集中很重要的一部分。血清脂締素 (adiponectin) 在癌症惡病質扮演重要角色，同時跟病人的存活時間有關。不僅脂肪細胞會表現脂締素，單核球 (monocyte) 本身製造的脂締素具有抑制單核球黏著的作用，同時也跟胃癌病人的存活時間有關。因此，單核球表現的脂締素是預測癌症病人存活期的一個新穎生物指標。在這樣的基礎上，未來可以進行的相關研究包括下列幾個方向。

單核球本身製造的脂締素既然具有抑制單核球黏著的作用，可能進一步影響單核球的遷移 (migration)，更進一步影響巨噬細胞 (macrophage) 在組織的浸潤。因為浸潤在組織內的巨噬細胞通常扮演很重要的病態生理

(pathophysiological) 角色，在基礎研究方面繼續探討單核球本身製造的脂締素對單核球遷移 (migration)、分化 (differentiation)、細胞激素製造 (cytokine production)、泡沫細胞形成 (foam cell formation) 的影響和相關機轉是非常重要的方向，這樣可以增加對動脈硬化和許多發炎性疾病 (inflammatory disease) 的瞭解，以提高疾病預防、診斷及治療的效果。

在癌症方面的研究，可利用癌症動物模式或病人手術取下的組織進行相關驗證。譬如，利用不同疾病階段的癌組織切片進行免疫組織染色，分析癌組織中巨噬細胞的數量及脂締素的表現量，跟臨床相關資料進行分析，可以進一步驗證實驗室的研究結果。或者利用病人或動物的脂肪組織，分析脂肪組織中巨噬細胞的數量及脂締素的表現量，配合脂肪細胞的代謝異常現象，同樣可以進一步驗證實驗室的研究結果，這樣可以更全面瞭解脂締素在癌生物學及代謝異常的角色。

因為單核球黏著內皮細胞是動脈硬化過程很重的步驟。動脈硬化又跟代謝症候群的併發症很有關係。因此，針對代謝症候群的相關危險因素，如肥胖、

高血壓、糖尿病、高血脂症、抽煙等，設計相關的實驗及臨床研究，探討這些危險因素對單核球表現脂締素的影響及其分子機轉，可提供臨床上預防、診斷、治療疾病的新策略。

老化過程包含代謝異常及動脈硬化。因此，探討老年人單核球脂締素表現跟年輕人的差異及其與老化相關因素的關係，也是瞭解老化機轉相當重要的方向。

因為脂締素在代謝異常、發炎反應、動脈硬化、老化及癌症等方面扮演重要角色，單核球和巨噬細胞在這些疾病也相當重要，所以探討單核球與巨噬細胞表現脂締素的功能和機轉就成為瞭解這些疾病很重要的方向。



第六章 論文英文簡述 (Summary)

Cancer is a big challenge in medicine, because there are several million people died of cancer worldwide every year. Thus, hospice and palliative care for advanced cancer patients is very important. Multiple organ failure with many physical and psychological symptoms is the main manifestation of advanced cancer patients. Patients' main wish is to get rid of their sufferings at the end stage of their lives. Consequently, the essential component of palliative cancer care is to provide them with symptom relief and better quality of life in lieu of disease treatment. However, health care providers have difficulties developing symptom management strategies that can be applied across acute and home-care settings. For example, a lack of sufficient knowledge regarding effective therapeutic strategy is one of numerous factors that could interfere with adequate management of pain, depression and fatigue. Thus, as disease progresses through various stages, how to alleviate patients' symptoms is still a core issue in palliative care.

Based on previous reports from our and other groups, one of the most important characteristics of the symptoms of advanced cancer patients is multiple, concurrent and tend to be moderate or severe in intensity. These studies used to focus on individual symptoms in various patients with malignancy. This kind of individual symptom-oriented therapeutic strategy raises some important concerns, such as polypharmacy and drug side effects. Emphasizing management of a single symptom at the expense of others may compromise individual quality of life, which caused palliative care goal unable to achieve.

In recent years, a few researches on symptom management of advanced cancer patients have shifted from individual symptoms to symptom clusters. Symptom

clusters have been defined as three or more concurrent symptoms that are related to each other, or two or more related symptoms that occur together. Using cluster analysis, a retrospective study on 1000 advanced cancer patients conducted in the USA described seven symptom clusters as fatigue (anorexia-cachexia), neuropsychological, upper gastrointestinal, nausea and vomiting, aerodigestive, debility, and pain, which highlighted symptom clustering in advanced cancer. Another study on 151 cancer patients with various stages conducted in Taiwan highlighted three symptom clusters by factor analysis, including sickness, gastrointestinal, and emotional symptoms. The investigators also demonstrated disease status, chemotherapy, and psychological distress were related to symptom clusters. Two longitudinal studies on cancer patients with bone or brain metastasis reinforced the concept of different patterns of symptom clustering at various time points, which may be associated with radiotherapy. A more recent study demonstrated the relation of symptom cluster to symptom interference with daily life in Taiwanese lung cancer patients. However, it is still lack of references to investigate the underlying mechanisms for the aggregation of symptoms and the relation of symptom clustering to prognosis in cancer patients.

Based on previous researches on symptoms of advanced cancer patients, cancer cachexia-related symptoms are important components of symptom cluster. Cancer cachexia, an involuntary weight loss, is one of the most common complications of malignancy. It is associated with poor prognosis and may account for up to 20% of cancer deaths. Several mechanisms are involved in cancer cachexia, a situation of disturbances in energy homeostasis. In general, clinical manifestation of cancer cachexia includes anorexia, hypermetabolism, and substrate metabolism. Proinflammatory cytokines which are released from both cancer cells and macrophages might affect patients' appetite. High resting

energy expenditure also develops in advanced cancer patients. In normal energy regulation, free fatty acids and ketone bodies are major energy recourses and proteins are conserved in starvation status. However, both lipids and proteins are continuously wasting in cancer cachexia. Glucose intolerance, insulin resistance, high gluconeogenesis, and high activity of Cori cycle are disturbances in glucose metabolism in cancer cachexia. High lipolysis, low lipogenesis, and decreased activity of lipoprotein lipase are disturbances in lipid metabolism. High protein turnover rate, increased proteolysis and decreased protein synthesis, is a significant disturbance in protein metabolism. Cancer has been known as an active organ in patients, which secretes a variety of mediators to give rise to many systemic effects. In addition, inflammatory cells, such as macrophages, interact with cancer cells and secrete proinflammatory cytokines, resulting in metabolic disturbances. A variety of proinflammatory cytokines, such as TNF- α , IL-1, and IL-6, have been studied in metabolic abnormalities of cancer cachexia. For example, TNF- α induces acute phase response in hepatocytes, proteolysis in skeletal muscle, and lipolysis in adipose tissue. TNF- α also activates NF- κ B, which is an inhibitor of skeletal muscle differentiation and a modulator of proteolysis. The activated NF- κ B also inhibits Myo-D, decreasing protein synthesis. Tumor-specific products, proteolysis-inducing factor (PIF) and lipid-mobilizing factor (LMF), also play important roles in metabolic disturbances in cancer cachexia. To sum up, abnormal production and effect of cytokines, peptides, prostaglandins, hormones, and tumor-specific products are possible factors resulting in cancer cachexia.

Adipose tissue wasting is a hallmark of cancer cachexia. Adipose tissue is an active endocrine organ, secreting a variety of adipokines. Among them,

adiponectin plays a very important role in energy homeostasis. Adiponectin was independently characterized by several groups using different approaches. Adiponectin, also known as apM1 (adipose most abundant gene transcript 1), Acrp30 (adipocyte complement-related protein of 30 kD), adipoQ, and GBP28 (gelatin binding protein of 28 kD), has been considered to be expressed and secreted strictly from adipose tissue for many years. The synthesis and secretion of adiponectin is regulated by different mechanisms. For example, small adipocytes secrete more adiponectin than larger ones. Body weight reduction also results in a rise in circulating adiponectin levels independent of different treatment modalities, including bariatric surgery in morbidly obese individuals. In addition, insulin/IGF-1, TNF- α , and leptin play regulatory roles in adiponectin expression. However, the most prominent effect on adiponectin expression is observed in treatment with PPAR γ agonists, which stimulate adiponectin gene expression in adipose tissues and increase circulating adiponectin concentrations.

Recent studies have revealed that obesity is a risk factor for many cancers. In addition, several reports have demonstrated an association between low adiponectin levels and elevated risk of various cancers, such as breast, endometrial, prostate, colon and gastric cancers. Thus, adiponectin, an adipocyte-derived protein, serves as a candidate in linking obesity to cancer. Since adiponectin plays important roles in energy homeostasis, including enhancing insulin sensitivity, inducing β -oxidation of fatty acids, and acting on the hypothalamus to regulate energy homeostasis, the levels of adiponectin might be dysregulated in patients with advanced cancers. Previous studies have demonstrated that circulating levels of adiponectin are higher in patients with anorexia nervosa and weight reduction. However, a low adiponectin level has

been reported among weight-losing patients with advanced lung cancer. It has also been reported that serum adiponectin levels are not correlated with BMI loss in cancer patients with cachexia. The underlying mechanisms for this discrepancy remain to be further investigated. Recently, obesity at diagnosis independently predicts likelihood of relapse and cure in adolescents with acute lymphoblastic leukemia. In addition, lower plasma levels of adiponectin are associated with higher histological grade and more advanced stages of prostate cancer and progression of gastric cancer. More direct evidence from *in vitro* studies also suggests that adiponectin has anti-tumor and anti-angiogenesis activities that may contribute to patient survival.

With advance in cancer biology, the role of tumor microenvironment has been emphasized in the field. There are a variety of cells in the microenvironment, such as leukocytes, fibroblasts, bone marrow-derived cells, blood and lymphatic vascular endothelial cells. Macrophages frequently constitute 20-30% of the cellular mass of the tumor. Several lines of evidence have demonstrated that tumor-associated macrophages (TAMs) play important roles in cancer growth, angiogenesis, local invasion, and distal metastasis. Therefore, TAMs may be potential targets of cancer therapy. Macrophage infiltration in tumors is a complex process. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) secreted from cancer cells has been known to exert an important chemoattractant for macrophage infiltration. In addition, several adhesion molecules, such as intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), and CD11b/CD18 adhesion complex protein, mediate monocyte adhesion, followed by monocyte migration and differentiation. Thus, monocyte adhesion to endothelium, migration into cancer stroma, and differentiation to

macrophages are important issues in cancer biology.

In addition to the role of adiponectin in energy homeostasis, previous studies demonstrated that the effects of adipose-derived adiponectin on monocyte/macrophage cells are produced primarily through inhibition of the expression of endothelial cell adhesion molecules. For example, adiponectin dose-dependently inhibited expression of VCAM-1, E-selectin, and ICAM-1 in THP-1 as well as TNF-alpha-induced THP-1 adhesion on human aortic endothelial cells (HAECs). In addition to adipocytes, adiponectin has been shown to be up-regulated in human and rodent myotubes in response to inflammatory stimuli as well as in human osteoblasts upon differentiation in the *in vitro* culture systems. Adiponectin mRNA expression has been also detected in several other cell types, including primary hepatic sinusoidal endothelial cells, stellate cells, and macrophages in acute liver failure in mice. However, the processes involved in regulation of ectopic expression and function of adiponectin in monocytes and macrophages warrant further investigation. The association of adiponectin expression in monocytes with clinical outcome should be investigated in patients with cancers.

In summary, symptom management is the basic care for advanced cancer patients. Their symptoms are multiple and concurrent. The concept of symptom cluster is the leading direction of clinical patient care and study. However, the clinical significance of symptom cluster should be investigated. Cancer cachexia-related symptoms are important components of symptom clustering. Monocytes, macrophages, adipokines, and tumor-specific products play important roles in cancer cachexia. Adiponectin is an important adipokine with anti-tumor activity. The association of adiponectin with prognosis of cancer patients should

be studied. In addition to adipocytes, monocytes/macrophages also express adiponectin. However, the function of monocyte-produced adiponectin and its relation to prognosis of cancer patients should be studied. Therefore, the following four studies were conducted.

Part 1: Significance of symptom clustering in palliative care of advanced cancer patients

A rapid progress has been made in the study on symptom cluster in past few years. However, it is still lack of references to investigate the underlying mechanisms for the aggregation of symptoms, associations of physical signs and psychological distress with symptom clustering, and the relation of symptom clustering to prognosis in cancer patients. For better symptom control, it is warranted to study symptom clustering in advanced cancer patients.

We enrolled 427 participants from consecutive advanced cancer patients admitted to the Palliative Care Unit. The data for this study were collected on their admission. 222 of them were male, and 205 of them were female. The median age was 66 years (range 27-93). With regards to the primary cancer origins, lung cancer was the largest group (19.9%), followed by liver (18.0%), and colon / rectum (11.0%). The median survival was 13 days (ranging from 1 to 418 days). More than three fourths of these patients had an ECOG performance status of 3 or 4 (Table 1).

Fatigue (94.15%) was the most common symptom, followed by weakness (93.91%) , anorexia (87.12%), pain (83.84%), and constipation (64.17%). With regards to the severity of symptom, anorexia (1.75 ± 0.89) is the most serious symptom, followed by fatigue (1.73 ± 0.70), weakness (1.72 ± 0.69), pain (1.35 ± 0.81), constipation (1.19 ± 1.06), and abdominal fullness (1.13 ± 1.13) (Table 2).

In order to understand the latent constructs of the fifteen symptoms on admission, we conducted an exploratory factor analysis using the principal component method with promax rotation. In the process of analysis, pain complex (PC) on various sites was separated as an independent symptom. We further conducted factor analysis for other fourteen symptoms, and obtained four clusters, named as loss of energy (LE), poor intake (PI), autonomic dysfunction (AD), and aerodigestive impairment (AI). Loss of energy included fatigue and weakness. Poor intake included anorexia, taste alteration, dysphagia, constipation, and dry mouth/thirst. Autonomic dysfunction included restless/heat, dizziness, insomnia, and night sweats. Aerodigestive impairment included nausea/vomiting, abdominal fullness, and dyspnea (Table 3).

Based on the factor scores of five symptom factors, we further conducted cluster analysis on 394 patients with complete data selected from 427 participants. We decided to divide the 394 patients into six groups after considering the results of the hierarchical cluster analysis and clinical phenomena. We then used the K-means nonhierarchical clustering method to divide the 394 patients into six groups. The first group included 93 patients, the second 49, the third 75, the fourth 52, the fifth 67, and the sixth 57. We used ANOVA to illustrate the five factor scores of the six patient groups were different statistically ($p < 0.05$) (Table 4). The pattern of symptom clustering in group 1 was characterized by LE and PC, group 2 characterized by all symptom clusters except PC, group 3 characterized by all relatively mild symptom clusters, group 4 characterized by PC, group 5 characterized by LE, and group 6 characterized by all symptom clusters. According to the severity of symptom clusters presented in six groups of patients, LE was the most, PC next and AD the last. In general, the patients in group 2 and 6 had more symptom clusters with higher severity. The severity of symptom clusters in the group 4 and 5 was relatively lower.

To examine the biological and psychological parameters in the six patient groups, we conducted ANOVA and summarized the significant parameters in the table 5. Patients in the group 4 had longest survival and best functional performance. Patients in the group 6 had shortest survival and worst functional performance. There were about 40% of patients with bone metastasis in group 1, 4, and 6. Both ascites and pleural effusion were key physical parameters. Patients in the group 2 and 6 had more severe pleural effusion and ascites. In the aspect of psychological assessment, patients in the group 2 and 6 had more severe anxiety, and the group 1 and 6 had more severe depression.

We identified five major symptom clusters in these patients, which were loss of energy (LE), poor intake (PI), autonomic dysfunction (AD), aerodigestive impairment (AI) and pain complex (PC), and classified these patients into six groups by cluster analysis. In addition, we are the first to test symptom clusters in advanced cancer patients for their underlying pathophysiological mechanisms. We demonstrated survival, functional performance, bone metastasis, pleural effusion, and ascites were associated with the symptom clustering pattern in advanced cancer patients.

Part 2: The association of serum adiponectin levels with prognosis in cancer patients

To investigate the relation of serum adiponectin levels to patient survival, We recruited 91 cancer patients in this study, including 53 (58.2%) men and 38 (41.8%) women. Their mean age was 61.26 ± 12.98 years. The origin of their primary cancer was mainly liver (53.8%), followed by colorectal (7.7%), pancreas (7.7%), lung (6.6%), stomach (5.5%), and others. The tumor size of most patients (58.4%) ranged between 3 and 10 cm. Among them, 52 (57.1%) patients had distant metastasis. There

were 40 (44.0%) patients who had received cancer treatment before recruitment (Table 6).

Of the 91 patients, 87 (95.6%) were alert. Only 26 (28.6%) patients' daily activity were free (ECOG=1) while others' were limited (ECOG \geq 2). The mean body mass index was 22.24 ± 3.84 kg/m². The mean body fat percentage was 28.76 ± 7.44 . There were 5 patients (6.1%) with weight gain, 21 (25.6%) without noticeable weight change, and 56 (68.3%) with weight loss in six months prior to recruitment. The mean of body weight loss percentage in six months prior to recruitment was 6.81 ± 7.94 kg (Table 7).

Hemogram, biochemistry data and serum adiponectin levels are presented in Table 8. The mean adiponectin level was 15.51 ± 10.40 μ g/ml. Based on patients' functional performance, we divided them into two groups: ECOG=1 for those with better functional performance and ECOG \geq 2 for those with poorer functional performance. Compared to those in ECOG=1, there was more weight loss in the ECOG \geq 2 group (5.70 ± 5.11 kg vs. 0.90 ± 2.12 kg, $p<0.001$), more patients with distant metastasis ($p<0.001$), higher serum levels of total bilirubin and BUN ($p<0.05$), and lower serum levels of sodium, albumin, and hemoglobin ($p<0.05$) (Table 9).

To elucidate the relationship between BMI and serum adiponectin in cancer patients, we performed the Pearson correlation and the Spearman rank correlation in these two groups according to functional status. Serum adiponectin levels were significantly negatively correlated with BMI in the ECOG=1 group ($p<0.05$), however, this relationship disappeared in the ECOG \geq 2 group (Figure 1). This relationship was still present after adjusting for age and gender.

In survival analysis, we found that the patients in the ECOG=1 group had significantly longest overall survival ($p<0.005$), if their serum adiponectin levels were equal to or higher than 6 μ g/ml (the mean of the lowest tertile in this sample), they

had no distant metastasis, and their BMI ranged between 18.5 and 30 kg/m² (Figure 2). For the patients in the ECOG \geq 2 group, significantly longer survival overall ($p=0.011$) if patients' serum adiponectin levels were ≥ 6 $\mu\text{g/ml}$ without distant metastasis (Figure 2). With Cox proportional hazards multiple regression analysis, we also found that distant metastasis and serum adiponectin levels were significantly independent predictors for hazard of death in the ECOG \geq 2 group after adjusting for BMI, other systematic diseases, any cancer treatment before recruitment, gender, and age at recruitment (Table 10).

In this study, we investigated the association among serum adiponectin levels, BMI, functional performance, disease status and survival in cancer patients. We found that the inverse relation between serum adiponectin levels and BMI was only observed in cancer patients with better functional performance (ECOG=1), but not in the ECOG \geq 2 group. We also found that serum adiponectin, functional performance, and distant metastasis are predictive factors for survival in cancer patients.

Part 3: The regulation and function of monocyte-produced adiponectin

Nothing is known about the expression, regulation and function of *de novo* synthesized adiponectin in monocytes/macrophages prior to interaction with endothelial cell targets. Therefore, in this study, we explored the regulation of adiponectin expression in monocytes/macrophages and studied whether and how the monocyte/macrophage-derived adiponectin affects monocyte adhesion to fibronectin.

To study the effect of rosiglitazone (RSG), expressions of the PPAR γ and adiponectin were studied in monocyte/macrophage cells. As shown in Fig. 3A, both PPAR γ and adiponectin mRNAs were found in monocytes isolated from human PBMCs. The expression levels were highly increased when monocytes were induced to macrophages by treatment of IL-4 (10 ng/ml) for three days. To verify the species of

mRNA for adiponectin, the cloned cDNA fragments obtained from the circulating monocytes/macrophages or the cultured THP-1 cells were directly-sequenced and the results revealed a 100% homology with the mRNA sequence of adiponectin, thus confirming the expression of adiponectin. To illustrate the expression and cellular localization of the *de novo* synthesized adiponectin protein in monocytes/macrophages, an immunocytochemistry (ICC) study was undertaken. As shown in Fig. 3B, we used HAM 56 staining for monocyte/macrophage cell lineage which indicated higher cytoplasmic expression of HAM 56 in macrophages. The staining pattern of adiponectin was similar to that of HAM 56, showing adiponectin expression was mainly present in the cytoplasm of monocytes and, with a greater intensity, in macrophages.

To further study the molecular mechanisms and function of RSG on monocyte functions, we studied the expression of PPAR γ and adiponectin in the THP-1 cells. The protein expression of adiponectin and PPAR γ increased during differentiation of macrophages, reaching a maximum at the 3rd day following PMA (10^{-7} M) treatment (Fig. 4A). We compared the relative expression levels of PPAR γ and adiponectin, and found that though PPAR γ levels were comparable, the expression levels of adiponectin in monocytes and macrophages were far less than that expressed in adipocytes (Fig. 4B).

Following treatment of RSG for 24 h in the monocytes, the expressions of PPAR γ and adiponectin were upregulated in a dose-dependent manner (upper panel, Fig. 4C), reaching a near two-fold increase in the adiponectin protein levels (lower panel, Fig. 4C). Similarly, adiponectin was also upregulated by RSG in macrophages (data not shown). The RSG-mediated increase of adiponectin expression was blocked dose-dependently by a PPAR γ antagonist treatment for 24 h, GW 9662 in monocytes (Fig. 4D). Further experiments by Western blot analysis to detect secreted adiponectin

in the serum-free supernatant also showed adiponectin levels increased in a dose-dependent manner following treatment of RSG for 12 h (Fig. 4E).

To study the biological function of the adiponectin expressed in monocytes, we employed an assay of monocyte adhesion to fibronectin-coated wells in a serum-free condition. In the absence of RSG, the monocyte adhesion was not affected by incubation with either anti-adiponectin antibody (Fig. 5A) or non-immune IgG (Fig. 5B). However, when the monocytes were treated with RSG to enhance adiponectin expression, their adhesion to fibronectin-coated wells was significantly reduced (Fig. 5C). To confirm the role of adiponectin in RSG-mediated monocyte adhesion inhibition, we analyzed monocyte adhesion in the presence of either specific anti-adiponectin antibody or non-specific IgG. As shown in Fig. 5C, the inhibitory effect of monocyte adhesion was abolished by the specific anti-adiponectin antibodies in a concentration-dependent manner, but not affected by the non-immune IgG (Fig. 5D). Together, these data indicate that the RSG-mediated inhibition on monocyte adhesion to fibronectin-coated wells is, at least in part, mediated by the *de novo* synthesized adiponectin in these monocytes.

Since the previous study had shown the ability of adiponectin to activate AMP-activated protein kinase (AMPK) in myocytes and hepatocytes, we explored the effect of AMPK on monocyte adhesion. In the monocyte/macrophage lineage THP-1 cells, we found that both adiponectin and AICAR, an AMPK activator, enhanced the phosphorylation of the Thr¹⁷² residue of AMPK in a time- and dose-dependent manner (Figs. 6A-6D). The effects were blocked by a synthetic AMPK inhibitor, compound C.

We then examined the role of AMPK phosphorylation on monocyte adhesion to fibronectin-coated wells. The results showed that the monocyte adhesion was reduced dose-dependently by adiponectin or AICAR treatment (Figs. 7A and 7B), suggesting

that activation of AMPK signaling pathway might be involved in the inhibition of monocyte adhesion. Indeed, these inhibitory effects were abolished with the presence of an AMPK inhibitor, compound C (Figs. 7C and 7D). These data demonstrate that the adiponectin-induced suppression on monocyte adhesion was mediated via activation of AMPK signaling pathway.

As extracellular matrix proteins and adhesion molecules, including fibronectin, and integrin ($\alpha_5\beta_1$), play important roles in cell adhesion, we studied the effect of AMPK activation on regulation of integrin. The expression of integrin (α_5) was presented in the cytoplasm, with stronger staining located near the plasma membranes of adhered cells on fibronectin-coated cover glasses as shown by the immunocytochemistry study (Fig. 8A). Upon treatment with either adiponectin (10 $\mu\text{g/ml}$) or AICAR (500 μM) for 2 h, the fluorescence staining of integrin decreased when compared with that of non-treated control cells (Fig. 8A). We also confirmed the results with Western blot analysis. Both adiponectin (Fig. 8B) and AICAR treatment (Fig. 8C) inhibited the fibronectin-induced integrin expression in a dose-dependent manner. To ascertain the role of AMPK, we found that the AMPK inhibitor, compound C, abolished the inhibitory action of AICAR on fibronectin expression in a dose-dependent manner (Fig. 8D).

In this study, we demonstrated for the first time that RSG upregulates PPAR γ and adiponectin in human monocytes. We further demonstrated that *de novo* synthesized adiponectin in monocytes/macrophages plays a role in preventing monocyte adhesion to fibronectin-coated wells via the AMPK-dependent inhibition on integrin expression.

Part 4: The association of adiponectin expression in mononuclear cells with prognosis of gastric cancer patients

We recently reported that *de novo* synthesized adiponectin in monocytes inhibits their adhesion through AMP-activated protein kinase (AMPK) activation and downregulation of integrin (α_5) for fibronectin. However, adiponectin mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) has not been studied in cancer patients. This study was aimed to investigate adiponectin expression in PBMCs and the circulating adiponectin concentrations in their association with clinical characteristics and prognosis of patients with gastric cancer.

We recruited 28 gastric cancer patients in this study, including 18 (64.3%) men and 10 (35.7%) women. Their mean age was 65.18 ± 17.14 years. Three patients (10.7%) were recurrent, who had received cancer treatment before recruitment. The main tumor size of most patients (42.9%) ranged between 5 and 9 cm. About their disease status, 10 (35.7%) patients' anatomical stage was IIIb, and 5 patients (17.9%) had distant metastasis (Table 11).

Of the 28 patients, 21 (75.0%) patients' daily activity were free (ECOG=1). The mean of body mass index was 21.92 ± 2.85 kg/m². The mean of body weight loss percentage in six months prior to recruitment was 7.24 ± 6.35 (Table 12). Hemogram, biochemistry data, plasma adiponectin levels and adiponectin mRNA expression levels in mononuclear cells are presented in Table 13. The mean of plasma adiponectin levels was 11.47 ± 8.64 μ g/ml. The mean of C-reactive protein levels was 0.83 ± 0.99 mg/dl. The mean of adiponectin mRNA relative expression ratio to the control in mononuclear cells was 0.36 ± 0.17 . Compared with those in the control group, gastric cancer patients were older (43.00 ± 13.61 vs. 65.18 ± 17.14 , $p < 0.0001$), had higher prevalence of hypertension (8.8% vs. 33.3%,

$p < 0.001$) and diabetes mellitus (1.8% vs. 18.5%, $p < 0.012$), and had lower BMI (21.92 ± 2.85 vs. 23.85 ± 2.98 kg/m², $p < 0.0061$). Plasma adiponectin levels were not different between two groups, however, plasma CRP levels were higher (0.19 ± 0.35 vs. 0.83 ± 0.99 mg/dl, $p < 0.0001$) and adiponectin mRNA expression levels lower in gastric cancer patients (1.10 ± 0.34 vs. 0.36 ± 0.17 , $p < 0.0001$).

In multiple regression analysis, we found that gastric cancer was the only factor ($p < 0.0001$) affecting adiponectin mRNA expression in mononuclear cells after adjusting for age, sex, BMI, CRP, hypertension and diabetes mellitus, while BMI was the only factor which was inversely correlated plasma adiponectin concentrations (Table 15). Cox proportional hazards multiple regression analysis was performed and showed in addition to age, adiponectin mRNA expression in mononuclear cells was the only significant independent predictor for hazard of death ($p = 0.0035$) after adjusting for age, sex, BMI, and anatomical stage (Table 16). Patients with higher adiponectin mRNA expression levels in mononuclear cells had significantly longer overall survival ($p < 0.0107$) (Figure 10).

In this study, we found that adiponectin mRNA expression was significantly reduced in mononuclear cells of gastric cancer patients as compared to the control group. We also found that adiponectin mRNA relative expression level in mononuclear cells is an independently significant risk factor for survival in gastric cancer patients. In contrast, our data confirmed that plasma adiponectin levels are inversely correlated with BMI, but it was not correlated with survival of the patients with gastric cancers.

In summary, cachexia-related symptoms are important components of symptom clustering in advanced cancer patients. Serum adiponectin levels play an important role in cancer cachexia and are an independent factor for patients'

survival. Furthermore, monocyte-produced adiponectin can inhibit monocyte adhesion and associate with survival in gastric cancer patients. Through series of our studies, we have delineated a novel biomarker, both circulating and monocyte-derived adiponectin, in clinical correlation with cancer cachexia and outcome.



參考文獻 (References)

1. Ahima RS, Lazar MA. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. *Mol Endocrinol*. 2008;22:1023-1031.
2. Aktas A, Walsh D, Rybicki L. Review: symptom clusters: myth or reality? *Palliat Med*. 2010;24:373-385.
3. Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab*. 2008;34:2-11.
4. Argilés JM, Alvarez B, López-Soriano FJ. The metabolic basis of cancer cachexia. *Med Res Rev*. 1997;17:477-498.
5. Argilés JM, López-Soriano FJ. The role of cytokines in cancer cachexia. *Med Res Rev*. 1999;19:223-248.
6. Argilés JM, López-Soriano J, Busquets S, López-Soriano FJ. Journey from cachexia to obesity by TNF. *FASEB J*. 1997;11:743-751.
7. Arita Y, Kihara S, Ouchi N. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79-83.
8. Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS. Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(suppl):S858-866.
9. Barber MD, Ross JA, Fearon KC. Disordered metabolic response with cancer and its management. *World J Surg*. 2000;24:681-689.
10. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today*. 1994;15:74-80.
11. Bercovitch M, Waller A, Adunsky A. High dose morphine use in the hospice setting. A database survey of patient characteristics and effect on life expectancy. *Cancer*. 1999;86:871-877.

12. Besedovsky HO, del Rey A, Schardt M, et al. Changes in plasma hormone profiles after tumor transplantation into syngeneic and allogeneic rats. *Int J Cancer*. 1985;36:209-216.
13. Bessey PQ, Watters JM, Aoki TT, Wilmore DW. Combined hormonal infusion simulates the metabolic response to injury. *Ann Surg*. 1984;200:264-281.
14. Billingsley KG, Fraker DL, Strassmann G, Loeser C, Flitot HM, Alexander HR. Macrophage-derived tumor necrosis factor and tumor-derived leukemia inhibitory factor and interleukin-6: possible cellular mechanisms of cancer cachexia. *Ann Surg Oncol*. 1996;3:29-35.
15. Bing C, Bao Y, Jenkins J, et al. Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:2500-2505.
16. Bing C, Russell S, Beckett E, et al. Adipose atrophy in cancer cachexia: morphologic and molecular analysis of adipose tissue in tumour-bearing mice. *Br J Cancer*. 2006;95:1028-37.
17. Bolukbas FF, Kilic H, Bolukbas C, et al. Serum leptin concentration and advanced gastrointestinal cancers: a case controlled study. *BMC Cancer*. 2004;4:29-32.
18. Bozzetti F; on behalf of the SCRINIO Working Group. Screening the nutritional status in oncology: a preliminary report on 1,000 outpatients. *Support Care Cancer*. 2009;17:279-284.
19. Bozzetti F, Pagnoni AM, Del Vecchio M. Excessive caloric expenditure as a cause of malnutrition in patients with cancer. *Surg Gynecol Obstet*. 1980;150:229-234.
20. Breitbart W, Rosenfeld B, Pessin H, et al. Depression, hopelessness, and desire for hastened death in terminally ill patients with cancer. *JAMA*.

- 2000;284:2907-2911.
21. Brennan, MF. Uncomplicated starvation versus cancer cachexia. *Cancer Res.* 1977;37(7 Pt 2):2359-2364.
 22. Brown DR, Berkowitz DE, Breslow MJ. Weight loss is not associated with hyperleptinemia in humans with pancreatic cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:162-166.
 23. Burrows M, Dibble SL, Miaskowski C. Differences in outcomes among patients experiencing different types of cancer-related pain. *Oncol Nurs Forum.* 1998;25:735-741.
 24. Butler LD, Koopman C, Cordova MJ, et al. Psychological distress and pain significantly increase before death in metastatic breast cancer patients. *Psychosom Med.* 2003;65:416-426.
 25. Butturini AM, Dorey FJ, Lange BJ, et al. Obesity and outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 2007;25:2063-2069.
 26. Camiña JP. Cell biology of the ghrelin receptor. *J Neuroendocrinol.* 2006;18:65-76.
 27. Cangiano C, Testa U, Muscaritoli M, et al. Cytokines, tryptophan, and anorexia, in cancer patients before and after surgical tumor ablation. *Anticancer Res.* 1994;14(3B):1451-1455.
 28. Capuron L, Gummnick JF, Musselman DL, et al. Neurobehavioral effects of interferon-alpha in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology.* 2002; 26:643-652.
 29. Cariuk P, Lorite MJ, Todorov PT, Field WN, Wigmore SJ, Tisdale MJ. Induction of cachexia in mice by a product isolated from the urine of cachectic cancer patients. *Br J Cancer.* 1997;76:606-613.

30. Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology*. 1990;12:1179-1186.
31. Cathcart F. Psychological distress in patients with advanced cancer. *Clin Med*. 2006;6:148-150.
32. Cella D, Eton D, Hensing TA, Masters GA, Parasuraman B. Relationship between symptom change, objective tumor measurements, and performance status during chemotherapy for advanced lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2008;9:51-58.
33. Chana RS, Martin J, Rahman EU, Wheeler DC. Monocyte adhesion to mesangial matrix modulates cytokine and metalloproteinase production. *Kidney Int*. 2003;63:889-898.
34. Chance WT, Balasubramaniam A, Thompson H, Mohapatra B, Ramo J, Fischer JE. Assessment of feeding response of tumor-bearing rats to hypothalamic injection and infusion of neuropeptide Y. *Peptides*. 1996;17:797-801.
35. Chen ML, Tseng HC. Symptom clusters in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2006;14:825-830.
36. Chiu TY, Hu WY, Chen CY. Prevalence and severity of symptoms in terminal cancer patients: a study in Taiwan. *Supportive Care Cancer*. 2000;8:311-313.
37. Chiu TY, Hu WY, Chuang RB, et al. Nutrition and hydration for terminal cancer patients in Taiwan. *Support Care Cancer*. 2002;10:630-636.
38. Chiu TY, Hu WY, Lue BH, et al. Dyspnea and its correlates in Taiwanese patients with terminal cancer. *J Pain Symptom Manage*. 2004;28:123-132.
39. Chow E, Fan G, Hadi S, Filipczak L. Symptom clusters in cancer patients with bone metastases. *Support Care Cancer*. 2007;15:1035-1043.
40. Chow E, Fan G, Hadi S, et al. Symptom clusters in cancer patients with brain

- metastases. *Clin Oncol.* 2008;20:76-82.
41. Chuang RB, Hu WY, Chiu TY, Chen CY. Prediction of survival in terminal cancer patients in Taiwan: constructing a prognostic scale. *J Pain Symptom Manage.* 2004;28:115-122.
 42. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE. Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1796:11-18.
 43. Cole AL, Subbanagounder G, Mukhopadhyay S, Berliner JA, Vora DK. Oxidized phospholipid-induced endothelial cell/monocyte interaction is mediated by a cAMP-dependent R-Ras/PI3-kinase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Bio.* 2003;23:1384-1390.
 44. Costa G. Cachexia, the metabolic component of neoplastic diseases. *Cancer Res.* 1977;37:2327-2335.
 45. Delaigle AM, Jonas JC, Bauche IB, Cornu O, Brichard SM. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology.* 2004;145:5589-5597.
 46. Desai MJ, Kim A, Fall PC, Wang D. Optimizing quality of life through palliative care. *J Am Osteopath Assoc.* 2007;107(12 Suppl 7):ES9-14.
 47. Deurenberg P, Weststrate JA, Seidell JC. Body mass index as a measure of body fatness: age- and sex-specific prediction formulas. *Br J Nutr.* 1991;65:105-114.
 48. Dewys WD, Begg C, Lavin PT, et al. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Med. Am J Med.* 1980;69:491-497.
 49. Dodd MJ, Miaskowski C, Paul SM. Symptom clusters and their effect on the functional status of patients with cancer. *Oncol Nurs Forum.* 2001;28:465-470.
 50. Donnelly S, Walsh TD, Rybicki L. The symptoms of advanced cancer: relationship to age, gender, and performance status in 1,000 patients. *Support*

- Care Cancer. 2000;8:175-179.
51. Dougherty GJ, Murdoch S, Hogg N. The function of human intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the generation of an immune response. *Eur J Immunol.* 1988;18:35-39.
 52. Druce M, Bloom SR. The regulation of appetite. *Arch Dis Child.* 2006;91:183-187.
 53. Dworzak F, Ferrari P, Gavazzi C, Maiorana C, Bozzetti F. Effects of cachexia due to cancer on whole body and skeletal muscle protein turnover. *Cancer.* 1998;82:42-48.
 54. Echteld MA, Deliens L, Van Der Wal G, et al. Palliative care units in The Netherlands: changes in patients' functional status and symptoms. *J Pain Symptom Manage.* 2004;28:233-243.
 55. Emilie D, Wijdenes J, Gisselbrecht C, et al. Administration of an anti-interleukin-6 monoclonal antibody to patients with acquired immunodeficiency syndrome and lymphoma: effect on lymphoma growth and on B clinical symptoms. *Blood.* 1994;84:2472-2479.
 56. Esper P, Heidrich D. Symptom clusters in advanced illness. *Semin Oncol Nurs.* 2005;21:20-28.
 57. Evans WK, Makuch R, Clamon GH, et al. Limited impact of total parenteral nutrition on nutritional status during treatment for small cell lung cancer. *Cancer Res.* 1985;45:3347-3353.
 58. Falconer JS, Fearon KC, Plester CE, Ross JA, Carter DC. Cytokines, the acute phase response, and resting energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer. *Ann Surg.* 1994;219:325-331.
 59. Falconer JS, Fearon KC, Ross JA, et al. Acute phase protein response and survival duration of patients with pancreatic cancer. *Cancer.* 1995;75:2077-2082.

60. Fearon KC. Cancer cachexia: developing multimodal therapy for a multidimensional problem. *Eur J Cancer*. 2008;44:1124-1132.
61. Fearon KC, Falconer JS, Slater C, McMillan DC, Ross JA, Preston T. Albumin synthesis rates are not decreased in hypoalbuminemic cachectic cancer patients with ongoing acute phase protein response. *Ann Surg*. 1998;227:249-254.
62. Fearon KC, Voss AC, Hustead DS; Cancer Cachexia Study Group. Definition of cancer cachexia: effect of weight loss, reduced food intake, and systemic inflammation on functional status and prognosis. *Am J Clin Nutr*. 2006;83:1345-1350.
63. Fearon KC. The Sir David Cuthbertson Medal Lecture 1991. The mechanisms and treatment of weight loss in cancer. *Proc Nutr Soc*. 1992;51:251-265.
64. Fleishman SB. Treatment of symptom clusters: Pain, Depression, and Fatigue. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2004;32:119-123.
65. Fried SK, Zechner R. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. *J Lipid Res*. 1989;30:1917-1923.
66. Fujiki F, Mukaida N, Hirose K, et al. Prevention of adenocarcinoma colon 26-induced cachexia by interleukin 10 gene transfer. *Cancer Res*. 1997;57:94-99.
67. Gale SM, Castracane VD, Mantzoros CS. Energy homeostasis, obesity and eating disorders: recent advances in endocrinology. *J Nutr*. 2004;134:295-298.
68. Gift AG, Jablonski A, Stommel M, et al. Symptom clusters in elderly patients with lung cancer. *Oncol Nurs Forum*. 2004;31:202-212.
69. Gift AG, Stommel M, Jablonski A, et al. A cluster of symptoms over time in patients with lung cancer. *Nurs Res*. 2003;52:393-400.
70. Glare PA, Sinclair CT. Palliative medicine review: prognostication. *J Palliat Med*. 2008;11:84-103.

71. Glover J, Dibble SL, Dodd MJ, Miaskowski C. Mood states of oncology outpatients: does pain make a difference? *J Pain Symptom Manage.* 1995;10:120-128.
72. Goktas S, Yilmaz MI, Caglar K, et al. Prostate cancer and adiponectin. *Urology.* 2005;65:1168-1172.
73. Grant M, Sun V. Advances in quality of life at the end of life. *Semin Oncol Nurs.* 2010;26:26-35.
74. Guerre-Millo M. Adiponectin: an update. *Diabetes Metab.* 2008;34:12-18.
75. Guirgis AA, Zahran MA, Mohamed AS, Talaat RM, Abdou BY, Agwa HS. Effect of thalidomide dithiocarbamate analogs on the intercellular adhesion molecule-1 expression. *Int Immunopharmacol.* 2010;10:806-811.
76. Heber D, Byerley LO, Chi J, et al. Pathophysiology of malnutrition in the adult cancer patient. *Cancer.* 1986;58(8 Suppl):1867-1873.
77. Hellerstein MK, Meydani SN, Meydani M, Wu K, Dinarello CA. Interleukin-1-induced anorexia in the rat. Influence of prostaglandins. *J Clin Invest.* 1989;84:228-235.
78. Hirai K, Hussey HJ, Barber MD, Price SA, Tisdale MJ. Biological evaluation of a lipid mobilizing factor (LMF) from the urine of cancer patients. *Cancer Res.* 1998;58:2359-2365.
79. Hirai K, Ishiko O, Tisdale M. Mechanism of depletion of liver glycogen in cancer cachexia. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;241:49-52.
80. Holroyde CP, Gabuzda TG, Putnam RC, Paul P, Reichard GA. Altered glucose metabolism in metastatic carcinoma. *Cancer Res.* 1975;35:3710-3714.
81. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes.* 1994;43:1271-1278.
82. Hsieh MY, Tsai JS, Chen CY, Chiu TY. Therapeutic update on symptom

- clusters in advanced cancer patients. *Formosan Journal of Medicine*. 2011;15:62-69. (in Chinese)
83. Huang JT, Welch JS, Ricote M, et al. Interleukin-4-dependent production of PPAR-gamma ligands in macrophages by 12/15-lipoxygenase. *Nature*. 1999;400:378-382.
84. Huo Y, Hafezi-Moghadam A, Ley K. Role of vascular cell adhesion molecule-1 and fibronectin connecting segment-1 in monocyte rolling and adhesion on early atherosclerotic lesions. *Circ Res*. 2000;87:153-159.
85. Hwang SS, Scott CB, Chang VT, et al. Prediction of survival for advanced cancer patients by recursive partitioning analysis: role of Karnofsky performance status, quality of life, and symptom distress. *Cancer Invest*. 2004;22:678-687.
86. Ishikawa M, Kitayama J, Kazama S, et al. Plasma adiponectin and gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11:466-472.
87. Ishikawa M, Kitayama J, Yamauchi T, et al. Adiponectin inhibits the growth and peritoneal metastasis of gastric cancer through its specific membrane receptors AdipoR1 and AdipoR2. *Cancer Sci*. 2007;98:1120-1127.
88. Jamieson NB, Brown DJ, Michael Wallace A, McMillan DC. Adiponectin and the systemic inflammatory response in weight-losing patients with non-small cell lung cancer. *Cytokine*. 2004;27:90-92.
89. Johnson DC, Kassner CT, Houser J, et al. Barriers to effective symptom management in hospice. *J Pain Symptom Manage*. 2005;29:69-79.
90. Jurgens CY, Moser DK, Armola R, Carlson B, Sethares K, Riegel B. Symptom clusters of heart failure. *Res Nurs Health*. 2009;32:551-560.
91. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N. The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett*. 2008;582:74-80.

92. Kayacan O, Karnak D, Beder S, et al. Impact of TNF-alpha and IL-6 levels on development of cachexia in newly diagnosed NSCLC patients. *Am J Clin Oncol*. 2006;29:328-335.
93. Kelesidis I, Kelesidis T, Mantzoros CS. Adiponectin and cancer: a systematic review. *Br J Cancer*. 2006;94:1221-1225.
94. Kelly K. Challenges in defining and identifying patients with non-small cell lung cancer and poor performance status. *Semin Oncol* 2004;31(Suppl 11):3-7.
95. Kim HJ, McGuire DB, Tulman L, Barsevick AM. Symptom clusters: concept analysis and clinical implications for cancer nursing. *Cancer Nurs*. 2005;28:270-282.
96. Kirkova J, Walsh D, Aktas A, et al. Cancer symptom clusters: old concept but new data. *Am J Hosp Palliat Care*. 2010;27:282-288.
97. Klinkenberg M, Willems DL, van der Wal G, Deeg DJ. Symptom burden in the last week of life. *J Pain Symptom Manage*. 2004;27:5-13.
98. Knapp ML, al-Sheibani S, Riches PG, Hanham IW, Phillips RH. Hormonal factors associated with weight loss in patients with advanced breast cancer. *Ann Clin Biochem*. 1991;28(Pt 5):480-486.
99. Knaus WA, Harrell FE Jr, Lynn J, et al. The SUPPORT prognostic model. Objective estimates of survival for seriously ill hospitalized adults. Study to understand prognoses and preferences for outcomes and risks of treatments. *Ann Intern Med*. 1995;122:191-203.
100. Koerner A, Kratzsch J, Kiess W. Adipocytokines: leptin-the classical, resistin-the controversial, adiponectin-the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2005;19:525-546.
101. Koh NY, Koo WH. Polypharmacy in palliative care: can it be reduced? *Singapore Med J*. 2002;43:279-283.

102. Koldjeski D, Kirkpatrick MK, Swanson M, et al. Ovarian cancer: early symptom patterns. *Oncol Nurs Forum*. 2003;30:927-933.
103. Komurcu S, Nelson KA, Walsh D, Ford RB, Rybicki LA. Gastrointestinal symptoms among inpatients with advanced cancer. *Am J Hosp Palliat Care*. 2002;19:351-355.
104. Kozak W, Soszynski D, Rudolph K, Conn CA, Kluger MJ. Dietary n-3 fatty acids differentially affect sickness behavior in mice during local and systemic inflammation. *Am J Physiol*. 1997;272:R1298-1307.
105. Kwak C, Ku JH, Park JY, et al. Initial tumor stage and grade as a predictive factor for recurrence in patients with stage T1 grade 3 bladder cancer. *J Urol*. 2004;171:149-152.
106. Lagathu C, Yvan-Charvet L, Bastard JP, et al. Long-term treatment with interleukin-1beta induces insulin resistance in murine and human adipocytes. *Diabetologia*. 2006;49:2162-2173.
107. Lam PT, Leung MW, Tse CY. Identifying prognostic factors for survival in advanced cancer patients: a prospective study. *Hong Kong Med J*. 2007;13:453-459.
108. Langstein HN, Doherty GM, Fraker DL, Buresh CM, Norton JA. The roles of gamma-interferon and tumor necrosis factor alpha in an experimental rat model of cancer cachexia. *Cancer Res*. 1991;51:2302-2306.
109. Lasheen W, Walsh D. The cancer anorexia-cachexia syndrome: myth or reality? *Support Care Cancer*. 2010;18:265-272.
110. Laviano A, Meguid MM, Yang ZJ, Gleason JR, Cangiano C, Rossi Fanelli F. Cracking the riddle of cancer anorexia. *Nutrition*. 1996;12:706-710.
111. Lichter I, Hunt E. The last 48 hours of life. *J Palliat Care*. 1990;6:7-15.
112. Lo RS, Woo J, Zhoc KC, et al. Quality of life of palliative care patients in the last

- two weeks of life. *J Pain Symptom Manage.* 2002;24:388-397.
113. Lorusso G, Rüegg C. The tumor microenvironment and its contribution to tumor evolution toward metastasis. *Histochem Cell Biol.* 2008;130:1091-1103.
114. Luo N., Liu J., Chung BH, et al. Macrophage adiponectin expression improves insulin sensitivity and protects against inflammation and atherosclerosis. *Diabetes.* 2010;59:791-799.
115. Machado AP, Costa Rosa LF, Seelaender MC. Adipose tissue in Walker 256 tumour-induced cachexia: possible association between decreased leptin concentration and mononuclear cell infiltration. *Cell Tissue Res.* 2004;318:503-514.
116. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, et al. PPAR gamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes.* 2001;50:2094-2099.
117. Mahony SM, Beck SA, Tisdale MJ. Comparison of weight loss induced by recombinant tumor necrosis factor with that produced by a cachexia inducing tumor. *Br J Cancer.* 1988;57:385-389.
118. Mallinson T, Cella D, Cashy J, Holzner B. Giving meaning to measure: linking self-reported fatigue and function to performance of everyday activities. *J Pain Symptom Manage.* 2006;31:229-241.
119. Maltoni M, Pirovano M, Scarpi E, et al. Prediction of survival of patients terminally ill with cancer. Results of an Italian prospective multicentric study. *Cancer.* 1995;75:2613-2622.
120. Mantuano E, Santi S, Filippi C, et al. Simvastatin and fluvastatin reduce interleukin-6 and interleukin-8 lipopolysaccharide (LPS) stimulated production by isolated human monocytes from chronic kidney disease patients. *Biomed Pharmacother.* 2007;61:360-365.

121. Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med.* 1999;130:671-680.
122. Mantzoros CS, Moschos SJ. Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;49:551-567.
123. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:29-33.
124. Matthys P, Dijkmans R, Proost P, et al. Severe cachexia in mice inoculated with interferon- γ -producing tumor cells. *Int J Cancer.* 1991;49:77-82.
125. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem.* 2004;50:1511-1525.
126. Mercadante S, La Rosa S, Nicolosi G, Garofalo SL. Temporary drainage of symptomatic malignant ascites by a catheter inserted under computerized tomography. *J Pain Symptom Manage.* 1998;15:374-378.
127. Miaskowski C, Aouizerat BE. Is there a biological basis for the clustering of symptoms? *Semin Oncol Nurs.* 2007;23:99-105.
128. Miaskowski C, Cooper BA, Paul SM, et al. Subgroups of patients with cancer with different symptom experiences and quality-of-life outcomes: a cluster analysis. *Oncol Nurs Forum* 2006;33:E79-E89.
129. Miaskowski C, Dodd M, Lee C. Symptom clusters: the new frontier in symptom management research. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2004;32:17-21.
130. Miyamoto S, Katz BZ, Lafrenie RM, Yamada KM. Fibronectin and integrins in cell adhesion, signaling, and morphogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;857:119-129.
131. Mochiki M, Sugasawa M, Nibu K, et al. Prognostic factors for hypopharyngeal cancer: a univariate and multivariate study of 142 cases. *Acta Otolaryngol Suppl.*

- 2007;559:136-144.
132. Moley JF, Aamodt R, Rumble W, Kaye W, Norton JA. Body cell mass in cancer bearing and anorexia patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1987;11:219-222.
133. Moretti FA, Chauhan AK, Iaconcig A, Porro F, Baralle FE, Muro AF. A major fraction of fibronectin present in the extracellular matrix of tissues is plasma-derived. *J Biol Chem.* 2007;282:28057-28062.
134. Mori K, Fujimoto-Ouchi K, Ishikawa T, Sekiguchi F, Ishitsuka H, Tanaka Y. Murine IL-12 prevents the development of cancer cachexia in a murine model. *Int J Cancer.* 1996;67:849-855.
135. Morin CL, Gayles EC, Podolin DA, Wei Y, Xu M, Pagliassotti MJ. Adipose tissue-derived tumor necrosis factor activity correlates with fat cell size but not insulin action in aging rats. *Endocrinology.* 1998;139:4998-5005.
136. Morita T, Ichiki T, Tsunoda J, Inoue S, Chihara S. A prospective study on the dying process in terminally ill cancer patients. *Am J Hosp Palliat Care.* 1998;15:217-222.
137. Motoshima H, Wu X, Sinha MK, et al. Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:5662-5667.
138. Ogiwara H, Takahashi S, Kato Y, et al. Diminished visceral adipose tissue in cancer cachexia. *J Surg Oncol.* 1994;57:129-133.
139. Orr AW, Sanders JM, Bevard M, Coleman E, Sarembock IJ, Schwartz MA. The subendothelial extracellular matrix modulates NF-kappaB activation by flow: a potential role in atherosclerosis. *J Cell Biol.* 2005;169:191-202.
140. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Novel Modulator for Endothelial Adhesion Molecules : Adipocyte-Derived Plasma Protein Adiponectin. *Circulation.* 1999;100:2473-2476.

141. Ovesen L, Allingstrup L, Hannibal J, Mortensen EL, Hansen OP. Effect of dietary counseling on food intake, body weight, response rate, survival and quality of life in cancer patients undergoing chemotherapy: a prospective, randomized study. *J Clin Oncol*. 1993;11:2043-2049.
142. Paice JA. Assessment of symptom clusters in people with cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2004;32:98-102.
143. Pannacciulli N, Vettor R, Milan G, et al. Anorexia nervosa is characterized by increased adiponectin plasma levels and reduced nonoxidative glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1748-1752.
144. Patarroyo M, Prieto J, Rincon J, et al. Leukocyte-cell adhesion: a molecular process fundamental in leukocyte physiology. *Immunol Rev*. 1990;114:67-108.
145. Patrick DL, Ferketich SL, Frame PS, et al. National Institutes of Health State-of-the- Science Conference Statement: symptom management in cancer: pain, depression, and fatigue, July 15-17, 2002. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2004;32:9-16.
146. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 1995;269:540-543.
147. Peraldi P, Spiegelman B. TNF- α and insulin resistance: summary and future prospects. *Mol Cell Biochem*. 1998;182:169-175.
148. Permert J, Larsson J, Westermark GT, et al. Islet amyloid polypeptide in patients with pancreatic cancer and diabetes. *N Engl J Med*. 1994;330:313-318.
149. Peterson JM, Feedback KD, Baas JH, Pizza FX. Tumor necrosis factor-alpha promotes the accumulation of neutrophils and macrophages in skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2006;101:1394-1399.
150. Prendergast TJ, Puntillo KA. Withdrawal of life support: intensive caring at the end of life. *JAMA*. 2002;288:2732-2740.

151. Preston T, Slater C, McMillan DC, Falconer JS, Shenkin A, Fearon KC. Fibrinogen synthesis is elevated in fasting cancer patients with an acute phase response. *J Nutr.* 1998;128:1355-1360.
152. Ramadori G, Christ B. Cytokines and the hepatic acute phase response. *Semin Liver Dis.* 1999;19:141-155.
153. Ramprasad MP, Terpstra V, Kondratenko N, Quehenberger O, Steinberg D. Cell surface expression of mouse macrosialin and human CD68 and their role as macrophage receptors for oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93:14833-14838.
154. Rich TA. Symptom clusters in cancer patients and their relation to EGFR ligand modulation of the circadian axis. *J Support Oncol.* 2007;5:167-174.
155. Richter R, Bistran R, Escher S, et al. Quantum proteolytic activation of chemokine CCL15 by neutrophil granulocytes modulates mononuclear cell adhesiveness. *J Immunol.* 2005;175:1599-1608.
156. Rink L, Kirchner H. Recent progress in the tumor necrosis factor-alpha field. *Int. Arch Allergy Immunol.* 1996;111:199-209.
157. Rowland KM Jr, Loprinzi CL, Shaw EG, et al. Randomized double-blind placebo-controlled trial of cisplatin and etoposide plus megestrol acetate/placebo in extensive-stage small-cell lung cancer: a North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol.* 1996;14:135-141.
158. Russell ST, Tisdale MJ. Effect of eicosapentaenoic acid (EPA) on expression of a lipid mobilizing factor in adipose tissue in cancer cachexia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2005;72:409-414.
159. Russell ST, Tisdale MJ. The role of glucocorticoids in the induction of zinc-alpha2-glycoprotein expression in adipose tissue in cancer cachexia. *Br J Cancer.* 2005;92:876-881.

160. Russell ST, Zimmerman TP, Domin BA, Tisdale MJ. Induction of lipolysis in vitro and loss of body fat in vivo by zinc-alpha2-glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1636:59-68.
161. Salvador J. Relation between leptin and the regulation of glucose metabolism. *Diabetologia*. 2000;43:3-12.
162. Sanabria A, Carvalho AL, Vartanian JG, et al. Comorbidity is a prognostic factor in elderly patients with head and neck cancer. *Ann Surg Oncol*. 2007;14:1449-1457.
163. Sarna L, Brecht ML. Dimensions of symptom distress in women with advanced lung cancer: a factor analysis. *Heart Lung*. 1997;26:23-30.
164. Schmidt DR, Kao WJ. The interrelated role of fibronectin and interleukin-1 in biomaterial-modulated macrophage function. *Biomaterials*. 2007;28:371-382.
165. Scott HR, McMillan DC, Crilly A, McArdle CS, Milroy R. The relationship between weight loss and interleukine-6 in non-small lung cancer. *Br J Cancer*. 1996;73:1560-1562.
166. Sepúlveda C, Marlin A, Yoshida T, Ullrich A. Palliative Care: The World Health Organization's Global Perspective. *J Pain Symptom Manage*. 2002;24:91-96.
167. Sharma S, Tammela J, Wang X, et al. Characterization of a putative ovarian oncogene, elongation factor 1alpha, isolated by panning a synthetic phage display single-chain variable fragment library with cultured human ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2007;13:5889-5896.
168. Sheehan MT, Jensen MD. Metabolic complications of obesity. Pathophysiologic considerations. *Med Clin North Am*. 2000;84:363-385.
169. Simons JP, Schols AM, Campfield LA, Wouters EF, Saris WH. Plasma concentration of total leptin and human lung –cancer associated cachexia. *Clin Sci (Lond)*. 1997;93:273-277.

170. Smith BK, Kluger MJ. Anti-TNF-alpha antibodies normalized body temperature and enhanced food intake in tumor-bearing rats. *Am J Physiol.* 1993;265:R615-619.
171. Socher SH, Martinez D, Craig JB, Kuhn JG, Oliff A. Tumor necrosis factor not detectable in patients with clinical cancer cachexia. *J Natl Cancer Inst.* 1988;80:595-598.
172. Soda K, Kawakami M, Kashii A, Miyata M. Manifestations of cancer cachexia induced by colon 26 adenocarcinoma are not fully ascribable to interleukine-6. *Int J Cancer.* 1995;62:332-336.
173. Srinivasan S, Yeh M, Danziger EC. Glucose regulates monocyte adhesion through endothelial production of interleukin-8. *Circ Res.* 2003;92:371-377.
174. Stouthard JM, Goey H, de Vries EG, et al. Recombinant human interleukin 6 in metastatic renal cell cancer: a phase II trial. *Br J Cancer.* 1996;73:789-793.
175. Strassmann G, Fong M, Kenney JS, Jacob CO. Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *J Clin Invest.* 1992;89:1681-1684.
176. Strömngren AS, Sjogren P, Goldschmidt D, et al. A longitudinal study of palliative care: patient-evaluated outcome and impact of attrition. *Cancer.* 2005;103:1747-1755.
177. Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, et al. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24:861-868.
178. Tammemagi CM, Neslund-Dudas C, Simoff M, Kvale P. Lung carcinoma symptoms--an independent predictor of survival and an important mediator of African-American disparity in survival. *Cancer.* 2004;101:1655-1663.
179. Tang ST, Huang EW, Liu TW, Wang HM, Chen JS. A population-based study on the determinants of hospice utilization in the last year of life for Taiwanese

- cancer decedents, 2001-2006. *Psychooncology*. 2010;19:1213-1220.
180. Thompson GN, Chochinov HM. Reducing the potential for suffering in older adults with advanced cancer. *Palliat Support Care*. 2010;8:83-93.
181. Tisdale MJ. Biology of cachexia. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89:1763-1773.
182. Tisdale MJ. Biomedicine: protein loss in cancer cachexia. *Science*. 2000;289:2293-2294.
183. Tisdale MJ. Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:862-871.
184. Todorov P, Cariuk P, McDevitt T, Coles B, Fearon K, Tisdale M. Characterization of a cancer cachectic factor. *Nature*. 1996;379:739-742.
185. Tracey KJ, Wei H, Manogue KR, et al. Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia, and inflammation. *J Exp Med*. 1988;167:1211-1227.
186. Tsai JS, Chen CY, Chen YL, Chuang LM. Rosiglitazone inhibits monocyte/macrophage adhesion through de novo adiponectin production in human monocytes. *J. Cell. Biochem*. 2010;110:1410-1419.
187. Tsai JS, Wu CH, Chiu TY, Hu WY, Chen CY. Symptom patterns of advanced cancer patients in a palliative care unit. *Palliat Med*. 2006;20:617-622.
188. Tsou PL, Jiang YD, Chang CC, et al. Gender-related differences between adiponectin and insulin resistance in schoolchildren. *Diabetes Care*. 2004;27:308-313.
189. Vachon LS: The emotional problems of the patient. *Oxford Textbook of Palliative Medicine*, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1999: 883-907.
190. Vainio A, Auvinen A. Prevalence of symptoms among patients with advanced cancer: an international collaborative study. *J Pain Symptom Manage*. 1996;12:3-10.
191. Vlassara H, Spiegel RJ, San Doval D, Cerami A. Reduced plasma lipoprotein

- lipase activity in patients with malignancy-associated weight loss. *Horm Metab Res.* 1986;18:698-703.
192. van Royen M, Carbó N, Busquets S, et al. DNA fragmentation occurs in skeletal muscle during tumor growth: a link with cancer cachexia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;270:533-537.
193. Viganò A, Donaldson N, Higginson IJ, et al. Quality of life and survival prediction in terminal cancer patients: a multicenter study. *Cancer.* 2004;101:1090-1098.
194. Vogl-Willis CA, Edwards IJ. High glucose-induced alterations in subendothelial matrix perlecan leads to increased monocyte binding. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:858-863.
195. Wallace AM, Kelly A, Sattar N, McArdle CS, McMillan DC. Circulating concentrations of "free" leptin in relation to fat mass and appetite in gastrointestinal cancer patients. *Nutr Cancer.* 2002;44:157-160.
196. Walsh D, Donnelly S, Rybicki L. The symptoms of advanced cancer: relationship to age, gender, and performance status in 1,000 patients. *Supportive Care Cancer.* 2000;8:175-179.
197. Walsh D, Nelson KA. Autonomic nervous system dysfunction in advanced cancer. *Support Care Cancer.* 2002;10:523-528.
198. Walsh D, Rybicki L. Symptom clustering in advanced cancer. *Support Care Cancer.* 2006;14:831-836.
199. Wang SY, Tsai CM, Chen BC, Lin CH, Lin CC. Symptom clusters and relationships to symptom interference with daily life in Taiwanese lung cancer patients. *J Pain Symptom Manage.* 2008;35:258-266.
200. Wang Y, Lam KS, Xu JY, et al. Adiponectin inhibits cell proliferation by interacting with several growth factors in an oligomerization-dependent manner.

- J Biol Chem. 2005;280:18341-18347.
201. Weisburger JH. Lifestyle, health and disease prevention: the underlying mechanisms. *Eur J Cancer Prev.* 2002;11 Suppl 2:S1-7.
 202. Williams RA. Clinical management of symptom clusters. *Semin Oncol Nurs.* 2007;23:113-120.
 203. Wilmoth MC, Coleman EA, Smith SC, et al. Fatigue, weight gain, and altered sexuality in patients with breast cancer: exploration of a symptom cluster. *Oncol Nurs Forum.* 2004;31:1069-1075.
 204. Wolf AM, Wolf D, Avila MA, et al. Up-regulation of the anti-inflammatory adipokine adiponectin in acute liver failure in mice. *J Hepatol.* 2006;44:537-543.
 205. Wolf I, Sadetzki S, Kanety H, et al. Adiponectin, ghrelin, and leptin in cancer cachexia in breast and colon cancer patients. *Cancer.* 2006;106:966-973.
 206. Wolk A, Gridley G, Svensson M, et al. A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control.* 2001;12:13-21.
 207. Wood GW, Gollahon KA. Detection and quantitation of macrophage infiltration into primary human tumors with the use of cell-surface markers. *J Natl Cancer Inst.* 1977;59:1081-1087.
 208. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423:762-769.
 209. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002;8:1288-1295.
 210. Yanagawa H, Sone S, Takahashi Y, et al. Serum levels of interleukin-6 in patients with lung cancer. *Br J Cancer.* 1995;71:1095-1098.
 211. Yang WS, Jeng CY, Wu TJ, et al. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in

- type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2002;25:376-380.
212. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:3815-3819.
213. Yeh S-S, Schuster MW. Geriatric cachexia: The role of cytokines. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:183-197.
214. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000;96:1723-1732.
215. Zhang L, Khayat A, Cheng H, Graves DT. The pattern of monocyte recruitment in tumors is modulated by MCP-1 expression and influences the rate of tumor growth. *Lab Invest*. 1997;76:579-590.
216. Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*. 2001;108:1167-1174.
217. Ziemke F, Mantzoros CS. Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr*. 2010;91:258S-261S.
218. Zyllicz Z, Schwantje O, Wagener DJ, Folgering HT. Metabolic response to enteral food in different phases of cancer cachexia in rats. *Oncology*. 1990;47:87-91.

附表 (Tables)

表 1、癌末病人入院時基本資料 (N=427)

變項		統計 ^a
性別	男	222 (52.0%)
	女	205 (48.0%)
年齡 (年)		66 (27-93)
存活期 (天)		13 (1-418)
身體功能 (ECOG)	0	2 (0.5%)
	1	35 (8.2%)
	2	61 (14.4%)
	3	145 (34.3%)
	4	182 (42.6%)
腫瘤原發部位	肺臟	85 (19.9%)
	肝臟	77 (18.0%)
	大腸直腸	47 (11.0%)
	胃	35 (8.2%)
	頭頸部	29 (6.8%)
	乳房	23 (5.4%)
	胰臟	17 (4.0%)
	子宮頸/子宮	16 (3.7%)
	其他	98 (23.0%)

^a n (%) for categorical variables and Median (range) for continuous variables

表 2、住院時症狀盛行率及嚴重度 (N=427)

症狀(嚴重度範圍)	有症狀 <i>n</i>	(%)	Mean±SD
疲倦 (0-3)	402	(94.15%)	1.73±0.70
衰弱無力 (0-3)	401	(93.91%)	1.72±0.69
食慾不振 (0-3)	372	(87.12%)	1.75±0.89
疼痛 (0-3)	358	(83.84%)	1.35±0.81
便秘 (0-3)	274	(64.17%)	1.19±1.06
腹脹 (0-3)	243	(56.91%)	1.13±1.13
失眠 (0-3)	226	(52.93%)	0.83±0.87
呼吸困難 (0-3)	216	(50.59%)	0.90±1.03
口乾/口渴 (0-3)	207	(48.48%)	0.70±0.81
吞厭困難 (0-3)	201	(47.07%)	0.81±0.98
頭暈 (0-3)	148	(34.66%)	0.48±0.71
噁心/嘔吐 (0-3)	187	(43.79%)	0.75±0.97
味覺改變 (0-3)	135	(31.62%)	0.47±0.75
躁熱/不安 (0-3)	90	(21.08%)	0.29±0.61
盜汗 (0-3)	79	(18.50%)	0.26±0.58



表 3、住院時症狀之因數分析 (N=427)

症狀群集	症狀	Factor Loading			
		因素 1	因素 2	因素 3	因素 4
能量耗損	疲倦	0.949			
	衰弱無力	0.964			
進食不佳	食慾不振		0.377		
	味覺改變		0.655		
	吞厭困難		0.799		
	便秘		0.394		
	口乾/口渴		0.533		
自主神經失調	躁熱/不安			0.790	
	頭暈			0.371	
	失眠			0.460	
	盜汗			0.832	
呼吸消化障礙	噁心/嘔吐				0.553
	腹脹				0.734
	呼吸困難				0.539



表 4、根據住院時症狀群集因素分數的病人族群分析

	第 1 組 (n=93)	第 2 組 (n=49)	第 3 組 (n=75)	第 4 組 (n=52)	第 5 組 (n=67)	第 6 組 (n=57)	<i>F</i>	<i>post-hoc</i>
能量耗損	2.00 ± 0.34	2.15 ± 0.50	1.06 ± 0.43	0.88 ± 0.44	2.13 ± 0.36	2.11 ± 0.45	124.91***	1,2,5,6>3,4
進食不佳	0.85 ± 0.38	1.23 ± 0.43	0.70 ± 0.41	0.68 ± 0.54	0.86 ± 0.46	1.73 ± 0.49	48.83***	6>2>1,3,4,5
自主神經失調	0.35 ± 0.32	0.79 ± 0.55	0.34 ± 0.35	0.28 ± 0.43	0.25 ± 0.25	0.90 ± 0.50	29.45***	2,6,>1,3,4,5
呼吸消化障礙	0.74 ± 0.41	1.72 ± 0.38	0.94 ± 0.47	0.32 ± 0.36	0.60 ± 0.40	1.44 ± 0.62	74.73***	2,6,>1,3,5>4 3>5
疼痛	1.98 ± 0.39	0.91 ± 0.51	0.63 ± 0.47	1.69 ± 0.44	0.57 ± 0.48	2.21 ± 0.37	176.73***	1,6,>4>2>3,5

*** $p < .001$



表 5、與症狀群集相關的臨床參數

臨床參數	第 1 組	第 2 組	第 3 組	第 4 組	第 5 組	第 6 組	F / χ^2	post-hoc
存活期 (天)	25.48 ±37.36	21.66 ±32.54	21.05 ±24.02	40.35 ±39.54	29.63 ±37.43	19.02 ±27.73	2.69*	4>3,6
身體功能 (ECOG 0-4)	3.22±0.88	3.16±0.92	2.78±1.00	2.42±1.16	3.31±0.82	3.38±0.80	9.10***	1,2,5,6>4 5,6>3
有骨骼轉移 n (%)	37 (39.8%)	14 (28.6%)	21 (28.0%)	22 (40.4%)	12 (17.9%)	23 (40.4%)	12.85*	
理學檢查								
肋膜積水	0.28 ±0.63	0.65 ±0.81	0.39 ±0.73	0.12 ±0.43	0.25 ±0.53	0.47 ±0.71	4.45**	2,6 > 4 2>5
腹水	0.43 ±0.77	1.20 ±1.15	0.49 ±0.86	0.31 ±0.76	0.30 ±0.60	0.65 ±0.94	8.50***	2> 1,3,4,5
心理情緒反應								
焦慮	2.35 ±1.02	2.60 ±1.01	2.27 ±1.00	2.00 ±0.87	2.07 ±0.88	2.50 ±0.76	3.08**	2,6>4
憂鬱	2.43 ±1.05	2.43 ±0.94	2.12 ±1.05	1.94 ±0.93	1.95 ±0.78	2.50 ±0.89	4.03**	1,6 >4,5

* $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$

表 6、收案時病人基本資料 (N=91)

變項		n ^c (%)	Mean ± SD
性別	1=男	53 (58.2)	
	0=女	38 (41.8)	
年齡 (年) ^a		91	61.26 ± 12.98
	Median (min~max)		62.00 (28~87)
腫瘤原發部位	肝臟	49 (53.8)	
	大腸直腸	7 (7.7)	
	胰臟	7 (7.7)	
	肺臟	6 (6.6)	
	胃	5 (5.5)	
	乳房	2 (2.2)	
	子宮頸/子宮	2 (2.2)	
	攝護腺	2 (2.2)	
	其他	8 (8.8)	
	不明原發部位	3 (3.3)	
主要腫瘤大小分組	1 (<3cm)	16 (19.0)	
	2 (3~<5cm)	24 (28.6)	
	3 (5~<10cm)	25 (29.8)	
	4 (10~<15cm)	9 (10.7)	
	5 (15~<20cm)	10 (11.9)	
遠處轉移	1=Yes	52 (57.1)	
	0=No	39 (42.9)	
診斷到收案的時間 (年) ^b		91	1.18 ± 2.11
	Median (min~max)		0.23 (0~14.32)
其他系統性疾病	1=Yes	31 (34.1)	
	0=No	60 (65.9)	
收案前是否接受癌症治療	1=Yes	40 (44.0)	
	0=No	51 (56.0)	

^a Variable was approximately normal distribution based on the observed data ($p>0.05$).

^b For 24 patients whom still alive at last follow-up: mean±SD (median (min~max)) of survival years since diagnosis of primary cancer ^a were 4.66±2.43 (5.23 (0.04~9.38)) years, those of survival years since recruitment were 3.49±2.01 (3.82 (0.02~5.90)) years.

^c Some variables were not based on all 91 patients due to missing values.

表 7、收案時病人的臨床參數 (N=91)

變項		n ^b (%)	Mean ± SD
意識狀態	1=Alertness	87 (95.6)	
	2=Lethargy	4 (4.4)	
	3=Obtundation	0	
	4=Delirium	0	
	5=Stupor	0	
	6=Coma	0	
身體功能 (ECOG)	0	0	
	1	26 (28.6)	
	2	41 (45.0)	
	3	21 (23.1)	
	4	3 (3.3)	
身高 (cm) ^a		88	161.32 ± 8.22
	Median (min~max)		161.50 (140~181)
體重 (kg) ^a		90	57.98 ± 11.24
	Median (min~max)		59.45 (30.0~90.1)
身體質量指數 (kg/m ²) ^a		88	22.24 ± 3.84
	Median (min~max)		22.00 (12.2~33.9)
體脂肪百分比 (%)		88	28.76 ± 7.44
	Median (min~max)		27.46 (13.57~45.92)
六個月內體重減輕 (kg)		82	4.30 ± 4.95
	Median (min~max)		4.00 (-10~15)
六個月內體重減輕 (%)	-17%~<0%	5 (6.1)	
	0%	21 (25.6)	
	>0~5%	10 (12.2)	
	>5~10%	18 (22.0)	
	>10~15%	16 (19.5)	
	>15~33%	12 (14.6)	6.81±7.94
	Median (min~max)		6.19 (-16.67~33.33)

^a Variable was approximately normal distribution based on the observed data ($p>0.05$).

^b Some variables were not based on all 91 patients due to missing values.

表 8、收案時病人實驗室檢查資料 (N=91)

變項	n	Mean ±	SD	Median (min~max)
肝功能				
總膽紅素 (mg/dl)	82	2.33 ±	4.19	0.90 (0.26~23.40)
天門冬氨酸轉氨酶 (U/L)	91	66.60 ±	53.75	47.00 (12~291)
丙氨酸轉氨酶 (U/L)	91	57.33 ±	97.07	35.00 (6~899)
凝血酶原時間 (second)	66	14.49 ±	5.30	13.15 (10.6~51.1)
International normalised ratio (INR)	66	1.36 ±	1.28	1.10 (0.9~11.0)
腎功能				
尿素氮 (mg/dl)	90	16.40 ±	9.62	13.45 (5.8~49.1)
肌酸肝 (mg/dl)	91	0.93 ±	0.34	0.80 (0.37~2.40)
電解質				
鈉 (mmol/l)	82	138.47 ±	4.72	139.00 (126~153)
鉀 (mmol/l)	82	4.26 ±	0.57	4.23 (3.28~7.00)
鈣 (mmol/l)	72	3.59 ±	11.40	2.24 (1.64~99.00)
營養與代謝				
白蛋白 (g/dl) ^a	72	3.62 ±	0.58	3.67 (1.65~4.60)
空腹血糖 (mg/dl)	90	112.73 ±	59.28	100.50 (51~578)
三酸甘油酯 (mg/dl)	52	116.38 ±	88.09	85.00 (44~472)
總膽固醇 (mg/dl) ^a	53	181.15 ±	47.29	177.00 (97~305)
胰島素 (μU/mL)	54	17.43 ±	25.33	8.30 (0.8~142.0)
穩態β細胞功能 (Steady state beta cell function, %)	42	92.60 ±	63.76	76.20 (25.2~403.9)
胰島素敏感性 (Insulin sensitivity, %)	42	91.65 ±	57.77	89.70 (17.4~230.6)
胰島素阻抗的穩態模型評估(HOMA-IR)	42	1.77 ±	1.42	1.10 (0.4~5.7)
血球分析				
血紅素 (g/dl) ^a	91	11.54 ±	2.34	11.60 (5.6~17.2)
白血球 (/μL)	91	7019.12 ±	6380.79	6040.00 (1990~60800)
帶狀和節狀中性球 (%)	73	66.93 ±	15.47	69.00 (0.0~89.4)
淋巴球 (%) ^a	73	21.76 ±	10.56	21.30 (5.5~58.8)
細胞激素				
脂締素 (μg/ml)	91	15.51 ±	10.40	13.00 (2.8~57.2)

^a Only albumin, total-cholesterol, hemoglobin, and lymphocytes were approximately normal distribution based on the observed data ($p>0.05$).

表 9、收案時跟身體功能有關的臨床參數 (N=91)

變項	ECOG=1		ECOG≥2		t	p
	n	Mean±SD	n	Mean±SD		
性別	26	n _{male} =19	65	n _{male} =34		0.099
年齡 (年)	26	57.65±13.04	65	62.71±12.77	-1.70	0.094
身體質量指數 (kg/m ²)	26	23.11±4.19	62	21.87±3.66	1.39	0.169
體脂肪百分比 (%)	26	27.70±7.13	62	29.21±7.58	-0.87	0.389
體重減輕 (kg) ^{ac}	24	0.90±2.12	58	5.70±5.11	-6.01	<0.001
體重減輕百分比 (%) ^{ac}	24	1.48±3.29	58	9.02±8.27	-5.91	<0.001
主要腫瘤大小	26		58			0.061
<3cm	8		8			
3~<5cm	10		14			
5~<10cm	5		20			
≥10cm	3		16			
原發肝癌	26	n _{yes} =21	65	n _{yes} =28		0.001
遠處轉移	26	n _{yes} =6	65	n _{yes} =46		<0.001
其他系統性疾病	26	n _{yes} =7	65	n _{yes} =24		0.465
收案前腫瘤治療	26	n _{yes} =11	65	n _{yes} =29		1.000
癌症診斷到收案時間(年) ^a	26	0.83±1.40	65	1.32±2.33	-1.23	0.224
總膽紅素 (mg/dl) ^a	26	1.04±0.80	56	2.93±4.94	-2.78	0.007
天門冬氨酸轉氨酶 (U/L)	26	72.19±63.50	65	64.37±49.70	0.63	0.534
丙氨酸轉氨酶 (U/L) ^a	26	90.42±171.61	65	44.09±33.52	1.37	0.184
凝血酶原時間 (sec) ^a	25	13.32±2.15	41	15.21±6.45	-1.73	0.090
International normalised ratio (INR) ^a	25	1.50±1.99	41	1.28±0.52	0.53	0.600
尿素氮 (mg/dl) ^{ab}	26	12.64±4.29	64	17.93±10.74	-3.34	0.001
肌肝酸 (mg/dl) ^a	26	0.88±0.22	65	0.95±0.38	-1.12	0.268
鈉 (mmol/l) ^c	25	140.45±4.23	57	137.60±4.69	2.60	0.011
鉀 (mmol/l) ^b	25	4.13±0.69	57	4.32±0.50	-1.34	0.183
鈣 (mmol/l) ^a	22	6.64±20.63	50	2.24±0.24	1.00	0.329
白蛋白 (g/dl) ^{ab}	25	3.86±0.37	47	3.49±0.64	3.09	0.003
空腹血糖 (mg/dl) ^a	26	106.69±28.34	64	115.19±68.01	-0.84	0.405
三酸甘油酯 (mg/dl) ^a	21	91.71±48.52	31	133.10±104.43	-1.92	0.061
總膽固醇 (mg/dl)	20	186.55±45.37	33	177.88±48.81	0.64	0.523
胰島素 (μU/mL) ^a	22	23.96±33.78	32	12.94±16.52	1.42	0.167
穩態β細胞功能 (%) ^a	18	107.77±81.99	24	81.21±44.30	1.24	0.225
胰島素敏感性(%)	18	78.74±56.49	24	101.33±57.98	-1.26	0.214
胰島素阻抗的穩態模型評估 (HOMA-IR)	18	2.07±1.53	24	1.55±1.32	1.19	0.240
血紅素(g/dl) ^c	26	12.70±2.08	65	11.08±2.30	3.11	0.003
白血球 (/μL) ^{ab}	26	5550.0±3024.1	65	7606.8±7242.6	-1.91	0.059
脂締素 (μg/ml)	26	14.64±8.17	65	15.86±11.21	-0.50	0.618

^a Statistically significantly unequal variance between groups of ECOG=1 and ECOG≥2 ($p<0.05$), so t and p values were adjusted by the Satterthwaite methods.

^{bc} Statistically significantly unequal median between groups of ECOG=1 and ECOG≥2 ($0.01<p<0.05^b$, $p<0.003^c$) by the Wilcoxon rank sum test.

表 10、Cox 比例風險多元迴歸分析癌症診斷到死亡時間 (年)

變項	ECOG=1 (11 deaths, n=26)		ECOG≥2 (53 deaths, n=62) ^c	
	Hazard ratio (95% confidence interval)	<i>p</i>	Hazard ratio (95% confidence interval)	<i>p</i>
脂締素≥6 µg/ml ^a (1=yes, 0=no)	2.084 (0.110~39.378)	0.624	0.349 (0.135~0.903)	0.030
遠處轉移 (1=yes, 0=no)	3.927 (0.613~25.155)	0.149	4.445 (2.095~9.432)	<0.001
身體質量指數 ^b (kg/m ²)	1.107 (0.779~1.573)	0.570	0.990 (0.912~1.076)	0.819
其他系統性疾病 (1=yes, 0=no)	1.681 (0.156~18.136)	0.669	0.561 (0.246~1.282)	0.171
收案前腫瘤治療 (1=yes, 0=no)	0.620 (0.123~3.129)	0.563	0.321 (0.167~0.616)	0.001
年齡 (years)	0.952 (0.898~1.009)	0.097	1.014 (0.985~1.043)	0.351
性別 (1=male,0=female)	0.344 (0.078~1.520)	0.159	1.992 (1.086~3.653)	0.026

^a 6 µg/ml was mean of the lowest tertile of plasma adiponectin (µg/ml) at recruitment for all 91 patients.

^b BMI: body mass index (kg/m²) at recruitment.

^c Excluding three patients with missing BMI.

表 11、胃癌病人臨床基本資料 (N=28)

變項		n (%) ^a	Mean±SD ^b
性別	Male	18 (64.3)	
	Female	10 (35.7)	
年齡(年)	26~87 (median 68)	28	65.18±17.14
復發	0: No	25 (89.3)	
	1: Yes	3 (10.7)	
存活狀態	0: Alive	16 (57.1)	
	1: Dead	12 (42.9)	
主要腫瘤大小	1: <3cm	7 (25.0)	2.25± 0.89
	2: 3cm ~4cm	8 (28.6)	
	3: 5cm ~9cm	12 (42.9)	
	4: 10cm ~14cm	1 (3.6)	
解剖期別	1: Ia	4 (14.3)	3.89± 1.77
	2: Ib	4 (14.3)	
	3: II	3 (10.7)	
	4: IIIa	2 (7.1)	
	5: IIIb	10 (35.7)	
	6: IV	5 (17.9)	
TNM 分類 腫瘤	1	5 (17.9)	
	2	6 (21.4)	
	3	7 (25.0)	
	4	10 (35.7)	
淋巴結	0	7 (25.0)	
	1	19 (67.9)	
	2	2 (7.1)	
轉移	0: No	23 (82.1)	
	1: Yes	5 (17.9)	

^a Some variables were not based on all 28 patients due to missing values.

^b SD: standard deviation.

表 12、胃癌病人身體理學檢查 (N=28)

變項	Value [median]	n (%) ^a	Mean±SD
身體功能 (ECOG)	0	0	
	1	21 (75.0)	
	2	2 (7.1)	
	3	2 (7.1)	
	4	3 (10.7)	
身高 (cm) ^b	146.8~175.2 [162.3]	27	161.65±7.21
體重 (kg) ^b	42.2~85.4 [54.4]	28	57.00±10.50
身體質量指數 (kg/m ²) ^b	17.85~29.97 [21.51]	27	21.92±2.85
六個月內體重下降速率 (Kg/month)	0~15 [1.4]	25	2.47±3.37
六個月內體重下降 (%) ^b	0~18.7 [6.3]	25	7.24±6.35
體重下降 (%) 分組	0	6 (24.0)	
	1: 1%~4%	5 (20.0)	
	2: 5%~9%	5 (20.0)	
	3: 10%~14%	5 (20.0)	
	4: 15%~18.7%	4 (16.0)	

^a Some variables were not based on all 28 patients due to missing values.

^b Variable was approximately normal distribution based on the observed data.

表 13、胃癌病人實驗室檢查資料 (N=28)

變項	n ^a	Mean ± SD	Median (min~max)
收縮壓(mmHg) ^b	28	125.96 ± 21.08	126.50 (95~188)
舒張壓(mmHg) ^b	28	79.07 ± 10.64	80.00 (57~100)
脈搏(bpm) ^b	28	78.36 ± 14.05	80.00 (60~110)
肝功能			
總膽紅素(mg/dl) ^b	27	0.65 ± 0.33	0.55 (0.25~1.45)
直接膽紅素(mg/dl) ^b	5	0.13 ± 0.05	0.13 (0.06~0.21)
天門冬氨酸轉氨酶(U/L)	27	26.74 ± 13.24	22.00 (12~66)
丙氨酸轉氨酶(U/L)	24	22.04 ± 13.74	16.00 (8~57)
凝血酶原時間(second)	27	10.66 ± 0.96	10.60 (9.2~14.5)
部分凝血酶原時間(second) ^b	27	28.43 ± 2.49	27.80 (24.0~33.8)
International normalised ratio (INR)	27	1.03 ± 0.40	0.95 (0.82~2.96)
腎功能			
尿素氮(mg/dl)	26	16.23 ± 9.92	15.05 (7.4~58.1)
肌肝酸(mg/dl)	28	1.13 ± 0.70	1.00 (0.7~4.5)
電解質			
鈉(mmol/l) ^b	27	136.70 ± 4.13	137.00 (126~143)
鉀(mmol/l) ^b	27	4.12 ± 0.38	4.00 (3.5~4.8)
鈣(mmol/l) ^b	21	2.22 ± 0.16	2.26 (1.90~2.49)
營養與代謝			
白蛋白(g/dl) ^b	26	3.99 ± 0.54	3.99 (3.05~5.00)
空腹血糖(mg/dl)	16	111.50 ± 48.38	96.50 (80~279)
血球分析			
血紅素(g/dl) ^b	28	12.04 ± 1.54	12.05 (8.9~15.1)
白血球(/μL) ^b	28	7.28 ± 2.31	6.96 (3.93~15.33)
帶狀和節狀中性球(%) ^b	11	62.36 ± 23.93	69.00 (0.0~89.5)
淋巴球(%) ^b	12	22.58 ± 13.14	19.50 (5.5~50.6)
血小板(K/μL) ^b	28	261.64 ± 82.48	242.00 (137~488)
癌胚抗原(CEA, ng/ml) ^b	12	1.98 ± 0.99	2.12 (0.70~4.25)
血漿脂締素(μg/ml)	28	11.47 ± 8.64	7.82 (2.76~39.57)
C-反應蛋白(mg/dl)	28	0.83 ± 0.99	0.42 (0.11~3.47)
單核細胞脂締素 mRNA ^b	28	0.36 ± 0.17	0.35 (0.11~0.86)

^a Some variables were not based on all 28 patients due to missing values.

^b Variable was approximately normal distribution based on the observed data.

表 14、胃癌病人與非癌症對照組比較

變項	組別				<i>t</i>	<i>p</i> value
	對照組 ^a		胃癌病人			
	n	Mean±SD	n	Mean±SD		
年齡 (年)	57	43.00±13.61	28	65.18±17.14	-6.19	< 0.0001
性別: (男)	57	49.1%	28	64.3%		0.2481 ^c
高血壓	57	8.8%	27	33.3%		0.0098 ^c
糖尿病	57	1.8%	27	18.5%		0.0120 ^c
高血脂症	57	12.3%	27	3.7%		0.4269 ^c
心血管疾病	57	1.8%	27	7.4%		0.2407 ^c
腦中風	57	0.0%	27	3.7%		0.3214 ^c
腎臟病	57	0.0%	27	3.7%		0.3214 ^c
肥胖	57	12.3%	28	3.6%		0.2619 ^c
身高 (cm) ^b	57	163.52±10.60	27	161.65±7.21	0.95	0.3470
體重 (kg)	57	64.31± 12.83	28	57.00±10.50	2.61	0.0107
身體質量指數(kg/m ²)	57	23.85±2.98	27	21.92±2.85	2.82	0.0061
收縮壓(mmHg) ^b	57	118.82±13.84	28	125.96±21.08	-1.63	0.1116
舒張壓(mmHg)	57	80.21±8.84	28	79.07±10.64	0.52	0.6034
脈搏(bpm)	57	79.39±11.44	28	78.36±14.05	0.36	0.7190
尿素氮 (mg/dl) ^b	47	12.41±3.33	26	16.23±9.92	-1.91	0.0670
空腹血糖(mg/dl)	57	92.21±43.80	16	111.50±48.38		0.0003 ^d
血漿脂締素(μg/ml)	57	11.21±8.91	28	11.47±8.64	-0.13	0.8971
C-反應蛋白(mg/dl) ^b	57	0.19±0.35	28	0.83±0.99		< 0.0001 ^d
單核細胞脂締素 mRNA ^{be}	57	1.10±0.34	28	0.36±0.17	13.32	< 0.0001

^a All listed continuous variables for non-cancer controls were approximately normal distribution except for pulse rate, AC blood sugar, CRP, plasma adiponectin, mononuclear adiponectin (their groups comparisons were consistence with *p* values of the Wilcoxon rank sum test unless otherwise specified).

^b Statistically significantly unequal variance between two groups, so *t* and *p* values were adjusted by the Satterthwaite methods.

^c Based on Fisher's exact test.

^d the Wilcoxon rank sum test.

^e Still *p*<0.05 after adjusting sex, age, body mass index, hypertension, and DM.

附表 15、主要依變項的多元迴歸分析(n=85)

獨立變項	Estimate of standardized regression coefficient (<i>p</i> value) for dependent variable	
	血漿脂締素 ^b	單核細胞脂締素 mRNA ^b
Model 1: 調整年紀		
Group		
0: 非癌對照組	0	0
1: 胃癌	0.0002 (0.9990)	-0.84 (<0.0001)
Model 1: 調整年紀齡、性別		
Group		
0: 非癌對照組	0	0
1: 胃癌	0.05 (0.7020)	-0.82 (<0.0001)
Model 3 ^a		
Group		
0: 非癌對照組	0	0
1: 胃癌	-0.11 (0.4174)	-0.84 (<0.0001)
年齡 (年)	-0.002 (0.9877)	-0.05 (0.4864)
性別		
0: 女	0	0
1: 男	0.01 (0.9102)	-0.11 (0.1040)
身體質量指數 (kg/m ²)	-0.53 (<0.0001)	0.04 (0.5756)
高血壓		
0: 無	0	0
1: 有	0.13 (0.2078)	0.04 (0.5079)
糖尿病		
0: 無	0	0
1: 有	0.11 (0.2859)	-0.01 (0.8943)
C-反應蛋白 (mg/dl)	-0.17 (0.1398)	0.07 (0.3119)

^a One patient with missing body mass index and one other with missing hypertension were excluded from stomach cancer group.

^b The transformation of natural logarithm on dependent variable was done to meet assumptions of multiple regression model.

表 16、Cox 比例風險多元迴歸分析癌症病人收案到死亡時間（年）(n=24)^a

獨立變項 [n]	Death hazard ratio (95% confidence interval), <i>p</i> value for comparing indicator			
	血漿脂締素		單核細胞脂締素 mRNA	
血漿脂締素 < 6 (µg/ml) ^b				
1: 是	1.37 (0.34~5.59)	0.6619		
0: 不是	1			
單核細胞脂締素 mRNA < 0.24 ^b				
1: 是			19.85 (2.67~147.87)	0.0035
0: 不是			1	
年齡 (年)	1.06 (1.01~1.12)	0.0312	1.12 (1.03~1.20)	0.0047
性別				
0: 女	1		1	
1: 男 [15]	1.32 (0.25~7.07)	0.7469	1.81 (0.35~9.82)	0.4656
身體質量指數 (kg/m ²)	1.04 (0.81~1.33)	0.7601	1.07 (0.85~1.34)	0.5735
解剖期別 Ia+Ib				
0: 是	1		1	
1: 不是 [16]	1.24 (0.22~6.98)	0.8104	0.28 (0.03~2.412)	0.2465

^a Three recurrent patients and one dead patient with missing body mass index was excluded.

^b The first quartile.

附圖 (Figures)

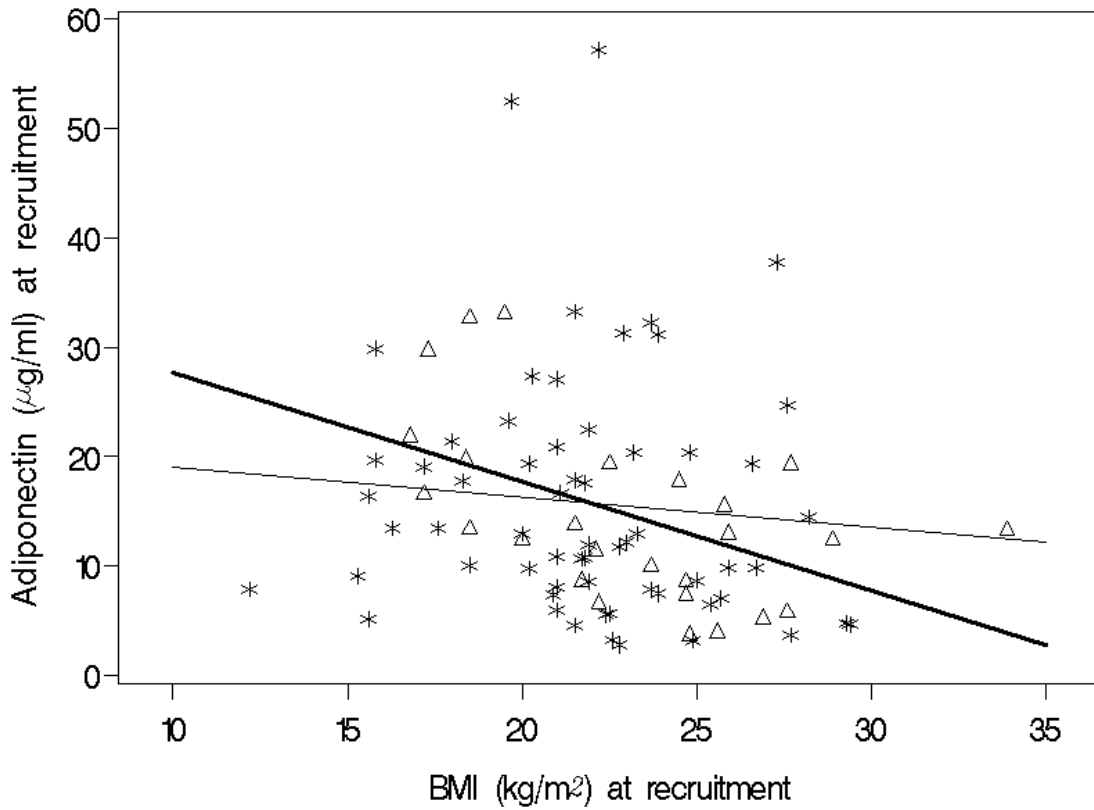


圖 1、收案時血清脂締素濃度($\mu\text{g/ml}$)跟身體質量指數(BMI)的關係。ECOG=1 (三角形和粗迴歸線) : $n=26$, $r = -0.5104$ ($p=0.008$) , $r_{\text{Spearman}} = -0.5298$ ($p=0.005$) ; ECOG ≥ 2 (星號和細迴歸線, 排除三位沒有 BMI 數據) : $n=62$, $r = -0.0894$ ($p=0.490$) , $r_{\text{Spearman}} = -0.1866$ ($p=0.146$)。

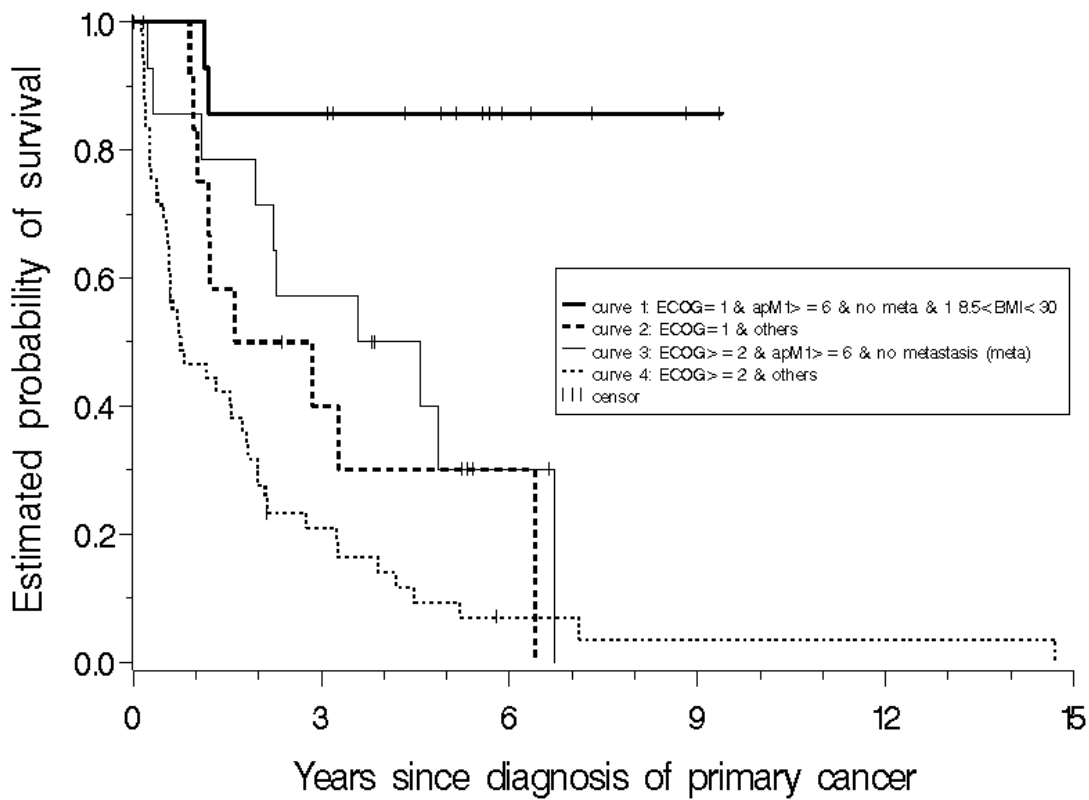


圖 2、根據 91 位病人收案時的血清脂締素濃度($\mu\text{g/ml}$)、身體功能狀態(ECOG)、腫瘤轉移，進行 Kaplan-Meier 存活分析。曲線 1 vs. 2 ($p=0.002$)，曲線 1 vs. 3 ($p=0.004$)，曲線 1 vs. 4 ($p<0.001$)，曲線 3 vs. 4 ($p=0.011$)，曲線 2 vs. 4 ($p=0.064$)。曲線 1 (2 deaths, $n=14$)，曲線 2 (9 deaths, $n=12$)，曲線 3 (10 deaths, $n=15$)，曲線 4 (46 deaths, $n=50$)。

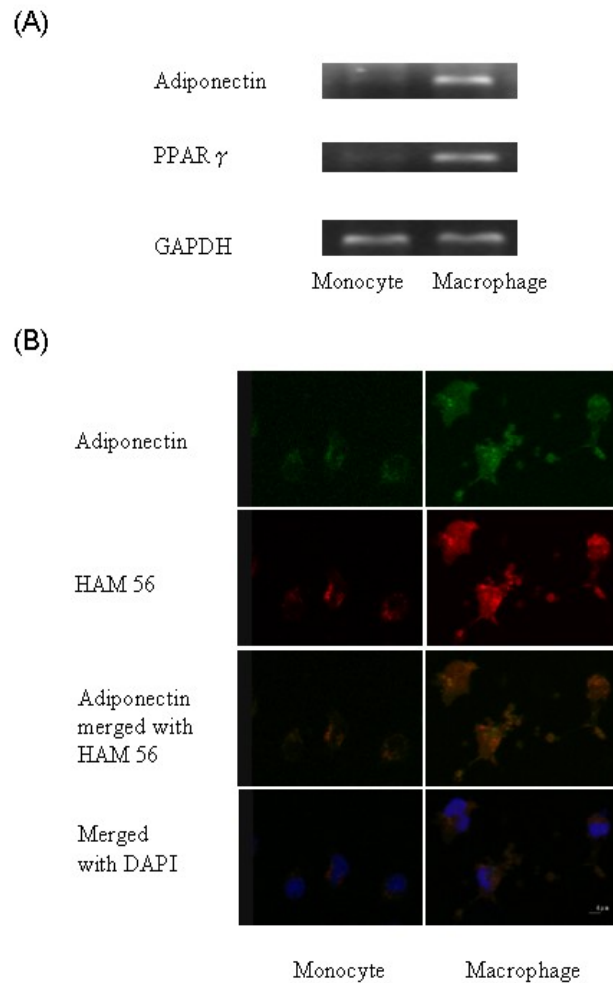


圖 3、人類單核球及巨噬細胞表現脂締素

(A)：用 Reverse transcriptase-PCR 測定人類單核球及經 IL4 (10 ng/ml)作用三天的巨噬細胞的脂締素 mRNA 及 PPAR γ mRNA，以 GAPDH 當作 internal control。(B)：用免疫細胞染色方法，偵測脂締素（綠色）在人類單核球及巨噬細胞的細胞質。HAM56（紅色）和 DAPI（藍色）分別當作是單核球及巨噬細胞及細胞核的指標。由脂締素、HAM56 和 DAPI 合成像，可以瞭解脂締素大部分是在細胞質，而且巨噬細胞表現量較單核球高。Scale bar = 4 μ m。

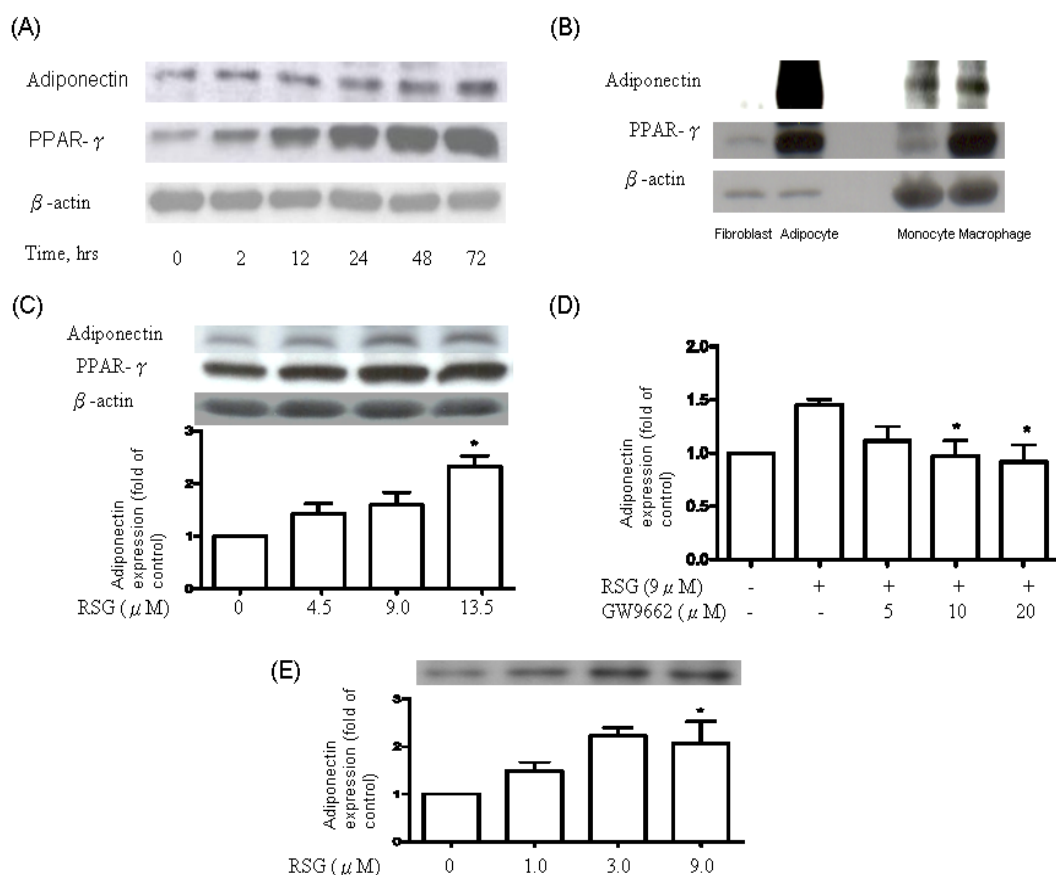


圖 4、THP-1 單核球及巨噬細胞脂締素基因的調控

(A)：THP-1 細胞受到 PMA (10^{-7} M) 的作用，脂締素的表現會隨作用時間增加。(B)：脂締素在單核球及巨噬細胞的表現量遠少於脂肪細胞。(C)：RSG (PPAR γ 致效劑) 會促進單核球脂締素的表現，其效果隨著 RSG 的濃度增加而增加 ($n=3$, p for trend <0.01)。(D)：PPAR γ 拮抗劑 GW 9662 會阻斷 RSG 促進脂締素表現的效果，隨著 GW 9662 濃度增加越明顯 ($n=4$, p for trend = 0.01)。(E)：為確認培養液內有脂締素的存在，THP-1 細胞在沒有血清的培養液內培養 12hrs，上層培養液，用 Vivaspin 2 concentrators (Sartorius Stedim Biotech, Goettingen Germany) 從 600 μ L 濃縮到 30 μ L，再以西方點墨法測定脂締素，發現培養液內脂締素的量隨著 RSG 的濃度增加而增加 ($n=3$, p for trend = 0.01)。

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

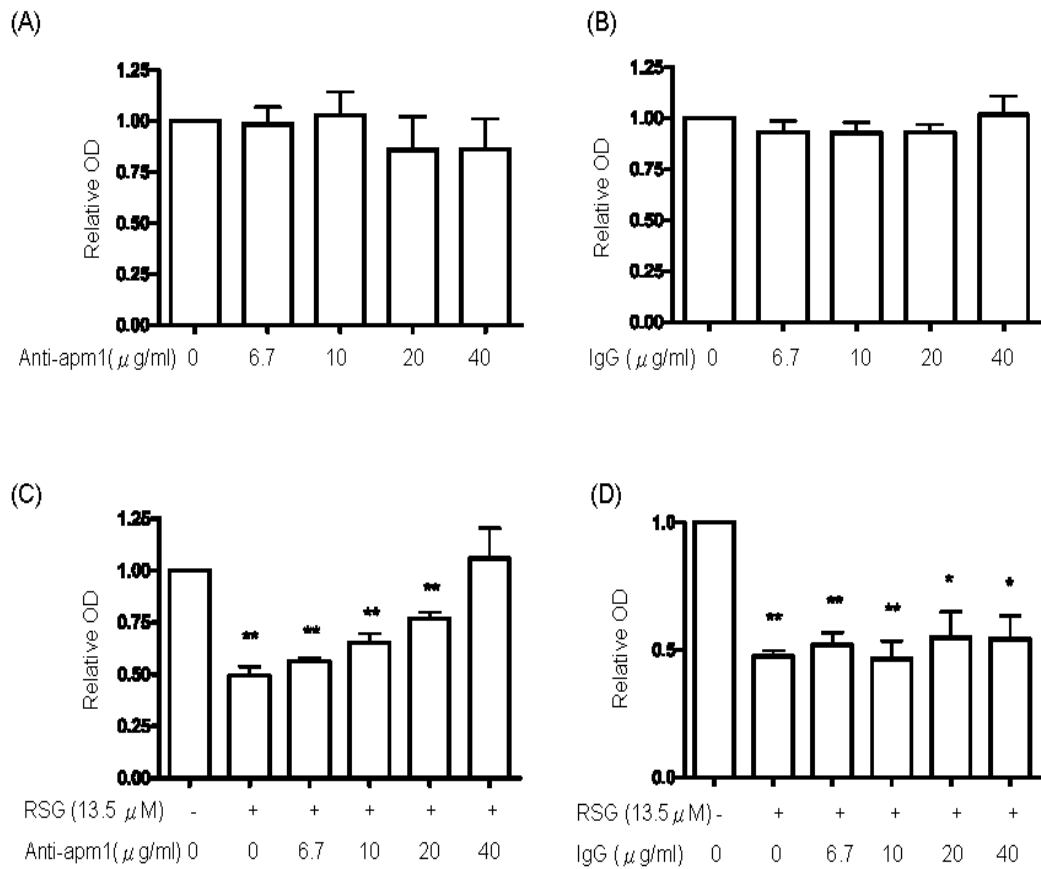


圖 5、單核球本身合成的脂締素會抑制單核球黏著纖維結合素 (fibronectin)

以 Fibronectin-coated (10 μg/ml) 的 96 孔盤作為測定單核球黏著的工具。包括事先沒有加 RSG (A & B) 及事先有加 RSG (13.5 μM) (C & D) 作用 12 hrs 的兩種情況。沒有加 RSG 作用的細胞，不論是加脂締素的專一抗體或加沒有免疫力的 IgG 都不會影響單核球黏著纖維結合素 (fibronectin) (A & B)。但是，經 RSG 作用過的細胞跟纖維結合素 (fibronectin) 的黏著會減少 (C & D)。因為 RSG 所造成的黏著減少，會因為加脂締素的專一抗體而回復 (C, n=5, p for trend < 0.05)，但是卻不受沒有免疫力的 IgG 影響 (D, n=4)。

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

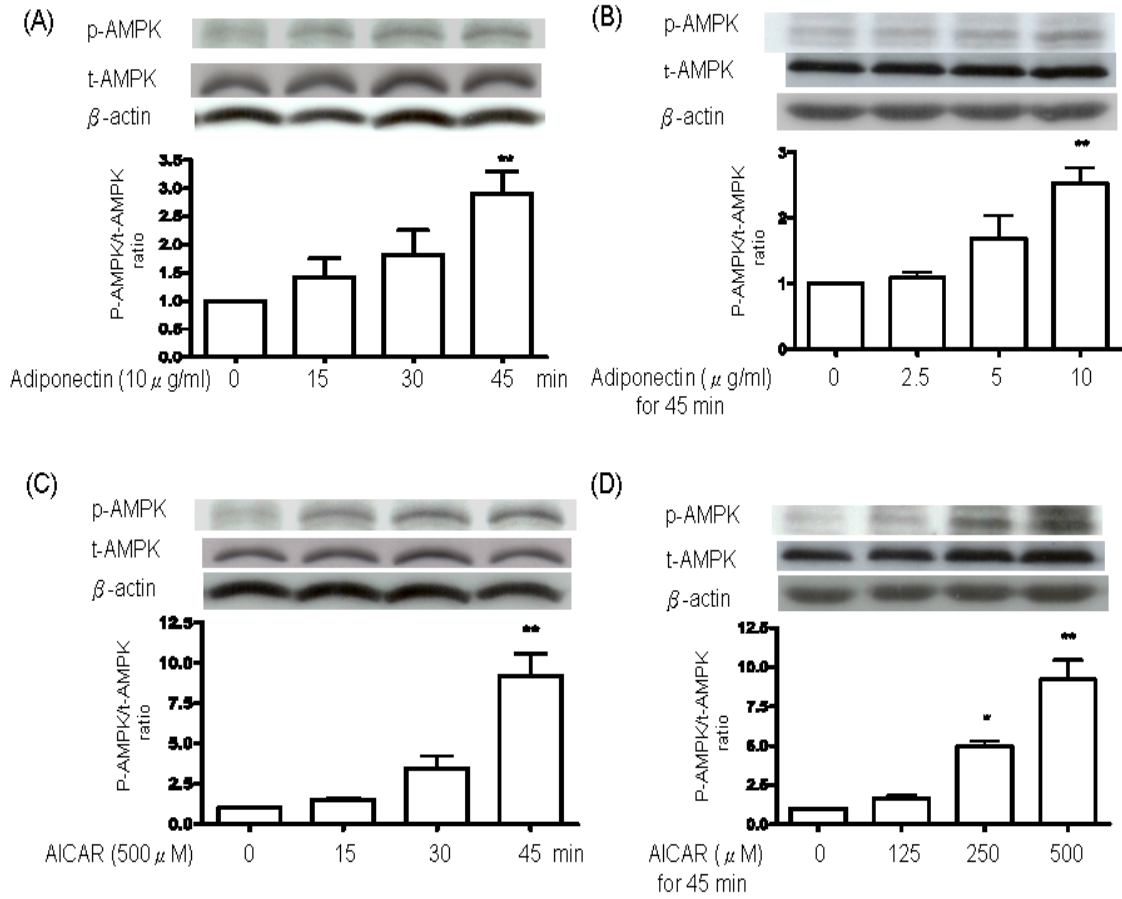


圖 6、脂締素及 AICAR 都會促進 AMPK 的磷酸化

脂締素會增加 THP-1 細胞 AMPK 的磷酸化，隨著作用的時間(A, $n=5$, p for trend <0.01)及作用的濃度(B, $n=3$, p for trend <0.05)增加而增加。AICAR 是 AMPK activator 也是有同樣的效果($n=3$, p for trend <0.05) (C & D)。* $p<0.05$; ** $p<0.01$

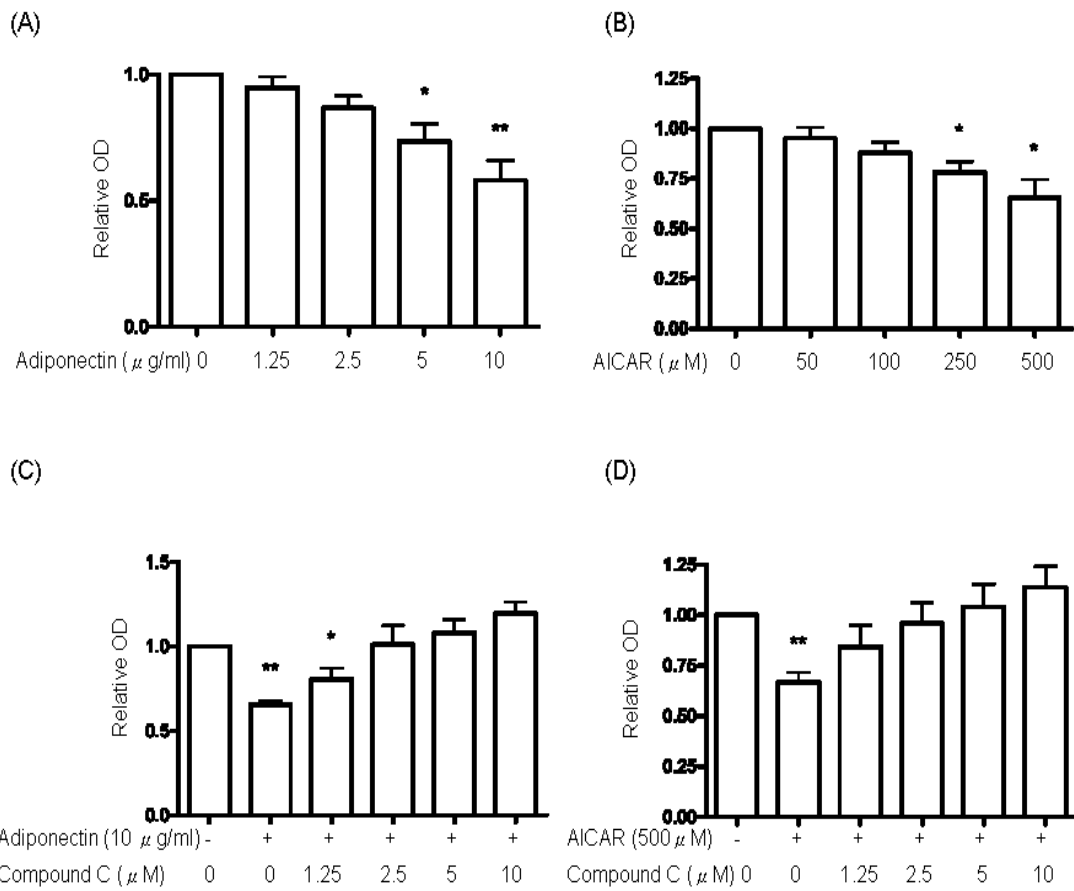


圖 7、AMPK 調控脂締素抑制單核球黏著纖維結合素 (fibronectin)

脂締素(A, $n=5$, p for trend <0.05)和 AMPK activator AICAR (B, $n=5$, p for trend <0.05)都會抑制單核球黏著纖維結合素 (fibronectin)，抑制作用隨濃度增加而增加。這種抑制作用會被 AMPK inhibitor compound C 所阻斷，這種現象不論是對脂締素(C, $n=5$, p for trend <0.05)或 AMPK activator AICAR (D, $n=5$, p for trend <0.05)都是隨 compound C 的濃度增加而明顯。 $*$ $p<0.05$; $**$ $p<0.01$

(A)

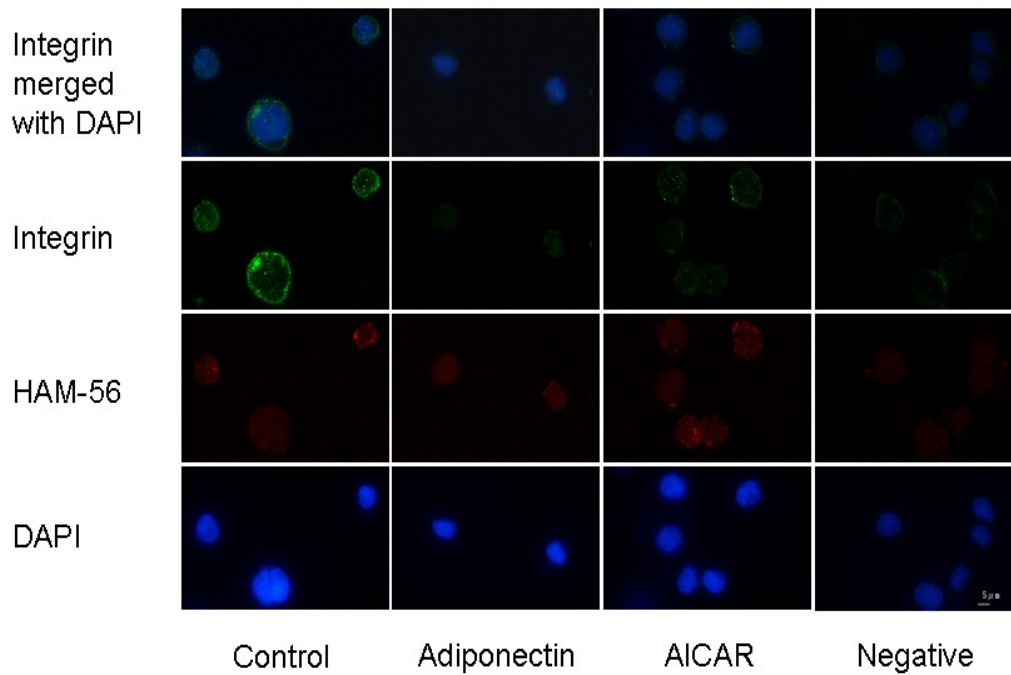


圖 8 (A)、脂締素與 AICAR 都會抑制纖維結合素 (fibronectin) 促進單核球表現整合素 (integrin α_5) 的作用

整合素 (integrin α_5) 的表現(綠色)在對照組細胞主要是在細胞質。受到脂締素(10 $\mu\text{g/ml}$) 或 AICAR (500 μM)作用 2 小時後，整合素 (integrin α_5) 表現會減少，但是 HAM-56 (紅色)卻沒有變化。細胞核被 DAPI 染成藍色。最右邊 Negative panel 是沒有加 primary antibodies 的對照組。Scale bars = 5 μm 。

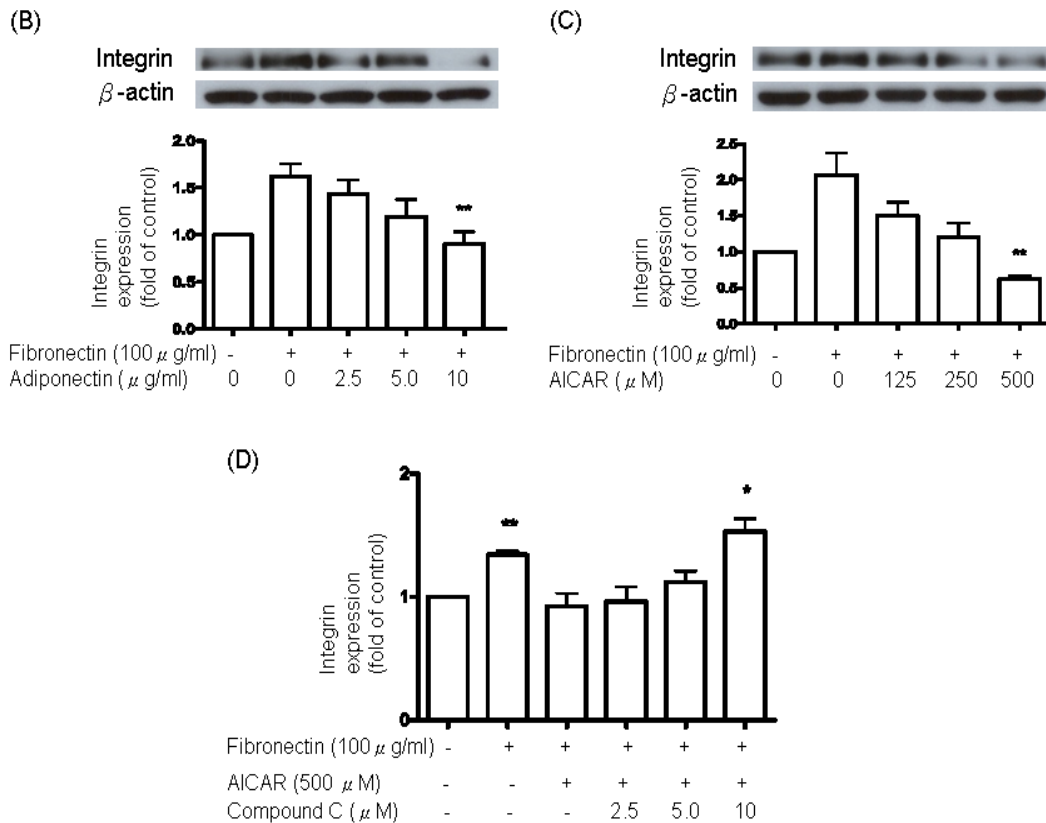


圖 8、脂締素與 AICAR 都會抑制纖維結合素 (fibronectin) 促進單核球表現整合素 (integrin α_5) 的作用

為了進一步用西方點墨法確認這個結果，單核球先用不同濃度的脂締素或 AICAR 作用 30 分鐘，然後跟纖維結合素 (fibronectin, 100 μ g/mL) 作用 9 小時。脂締素 (B, $n=5$, p for trend <0.05) 和 AICAR (C, $n=3$, p for trend <0.05) 都會抑制纖維結合素 (fibronectin) 促進整合素 (integrin α_5) 表現的作用，而且隨濃度的增加而增加。AMPK inhibitor compound C 可以阻斷 AICAR 的作用，隨濃度增加而增加 ($n=3$, p for trend = 0.01) (D)。

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

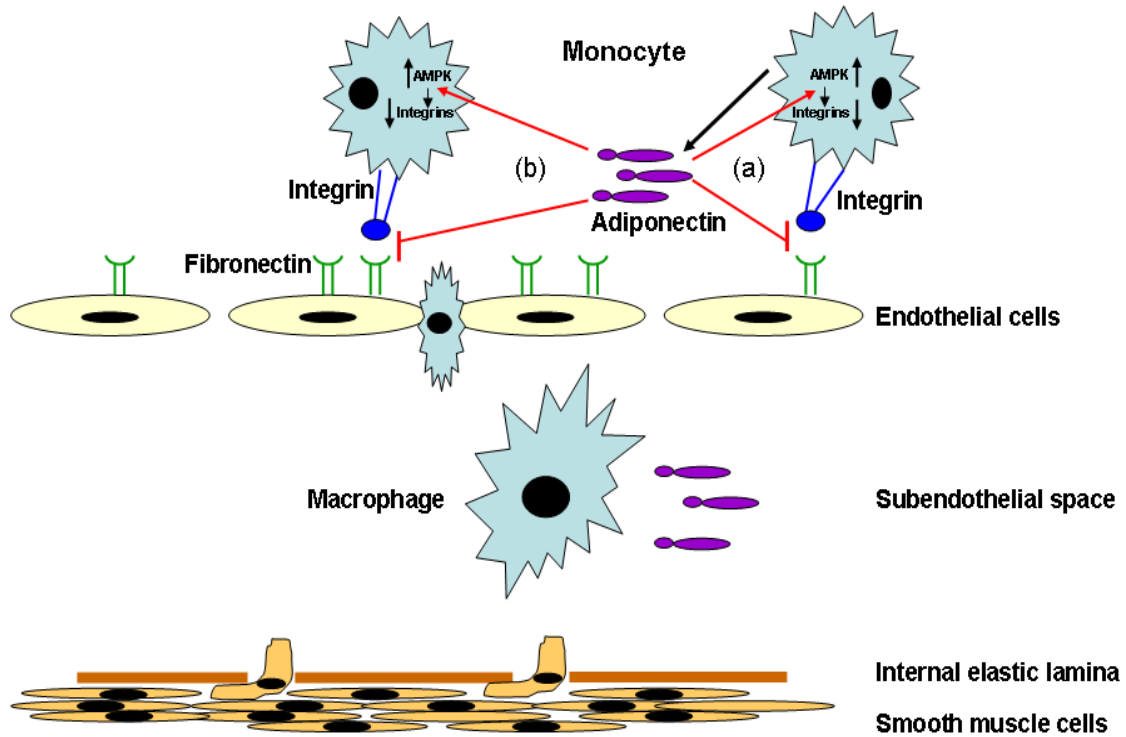


圖 9、自合成的 (*de novo synthesized*) 脂締素對單核球/巨噬細胞的作用模式

自合成 (*de novo synthesized*) 的脂締素會透過 autocrine (a) 或 paracrine (b) 的方式活化 AMPK 的訊息傳遞路徑，抑制整合素 (integrin) 的表現，繼而抑制單核球黏著纖維結合素 (fibronectin)。

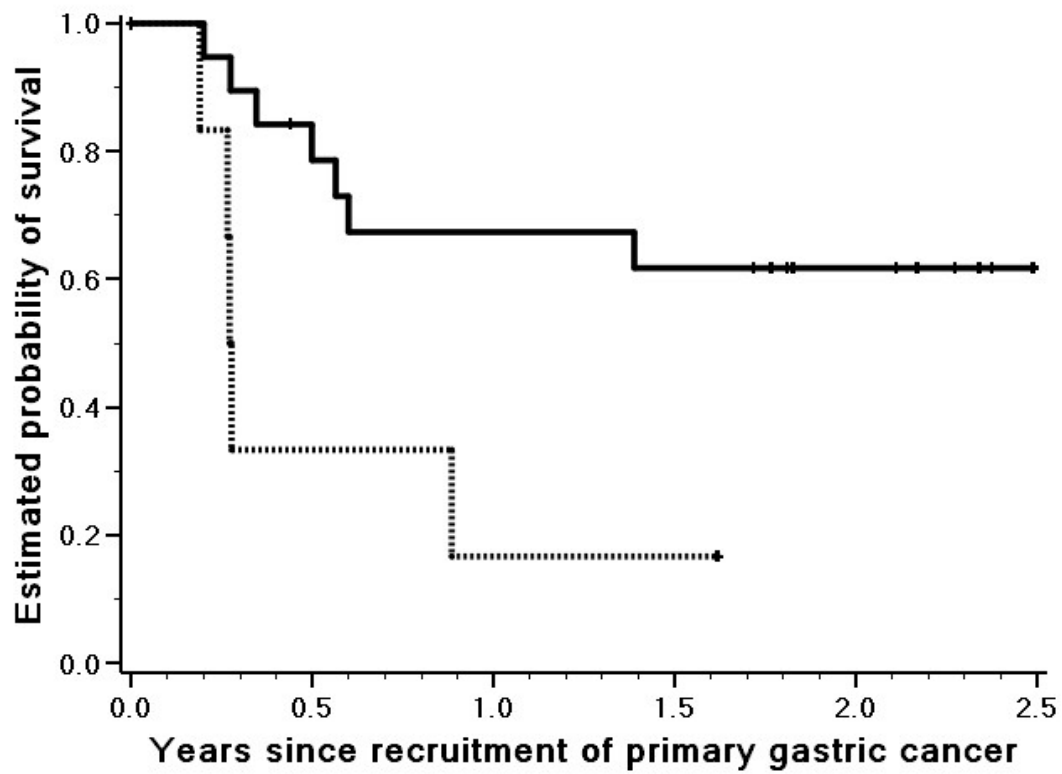


圖 10、Kaplan-Meier 存活分析。虛線(脂締素表現<0.24, 1st quartile, 5 deaths, n=6) vs. 實線(脂締素表現≥0.24, 7 deaths, n=19): $p=0.0107$ (Wilcoxon $p=0.0076$ for early difference)

附錄：博士班期間發表之相關論文

1. Jaw-Shiun Tsai, Chih-Hsun Wu, Tai-Yuan Chiu, Wen-Yu Hu and Ching-Yu Chen. Fear of death and good death among the young and elderly with terminal cancers in Taiwan. *J Pain Symptom Manage*. 2005 Apr;29(4):344-51. (SCI)
2. Jaw-Shiun Tsai, Chih-Hsun Wu, Tai-Yuan Chiu, and Ching-Yu Chen. Symptom Patterns of Advanced Cancer Patients in a Palliative Care Unit. *Palliat Med*. 2006 Sep;20(6):617-22. (SCI)
3. Tsung-Hsiu Wu, Tai-Yuan Chiu, Jaw-Shiun Tsai, Ching-Yu Chen, Lih-Chi Chen, Ling-Ling Yang. Effectiveness of Taiwanese traditional herbal diet for pain management in terminal cancer patients. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17(1):17-22. (SCI)
4. Jaw-Shiun Tsai, Chih-Hsun Wu, Tai-Yuan Chiu, and Ching-Yu Chen. Significance of Symptom Clustering in Palliative Care of Advanced Cancer Patients. *J Pain Symptom Manage*. 2010 Apr;39(4):655-62. (SCI)
5. Jaw-Shiun Tsai, Ching-Yu Chen, Yuh-Lien Chen, Lee-Ming Chuang. Rosiglitazone inhibits monocyte/macrophage adhesion through de novo adiponectin production in human monocytes. *J Cell Biochem*. 2010 Aug 15;110(6):1410-9. (SCI)
6. Kai-Kuen Leung, Jaw-Shiun Tsai, Shao-Yi Cheng, Wen-Jing Liu, Tai-Yuan Chiu, Chih-Hsun Wu, Ching-Yu Chen. Can a good death and quality of life be achieved for terminal cancer patients in palliative care unit? *J Palliat Med*. 2010 Dec;13:1433-8. (SCI)
7. Jaw-Shiun Tsai, Su-Chiu Chen, Tai-Yuan Chiu, Jin-Chuan Sheu, Ming-Yang Lai, Ching-Yu Chen, Lee-Ming Chuang. Functional performance, tumor metastasis and serum adiponectin level are independent predictors of survival in cancer patients (in preparation)
8. Jaw-Shiun Tsai, Ming-Tsan Lin, Su-Chiu Chen, Bee-Horng Lue, Tai-Yuan Chiu, Shou-Hung Hung, Lee-Ming Chuang, Ching-Yu Chen. Adiponectin mRNA Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Survival of Gastric Cancer Patients (in preparation)