
폐암 진단방법으로서 객담검사의 유용성

성균관대학교 강북삼성병원 병리과

조 은 윤 · 박 희 대 · 김 선 희 · 박 운 선 · 채 승 완 · 김 어 진 · 손 진 희

= Abstract =

Usefulness of Sputum Cytology as a Diagnostic Tool of Lung Cancer

Eun Yoon Cho, M.D., Hee Dae Park, C.T. (IAC), Sun Hee Kim, C.T. (IAC), Woon Sun Park, C.T. (IAC),
Seoung Wan Chae, M.D., Eo-Jin Kim, M.D., and Jin Hee Sohn, M.D.

Department of Pathology, Kangbuk Samsung Hospital,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

To analyze the accuracy and usefulness of sputum cytology as a screening method, 103 cases of histologically proven lung cancer registered from 1998 to 2000 at Kangbuk Samsung Hospital were retrospectively examined. We reviewed the original cytologic and surgical diagnoses for the cases, and the cytology slides of all cytologically negative cases. The overall sensitivity of sputum cytology was 0.83; the sensitivity of prebronchoscopy sputum cytology for bronchogenic carcinoma was 0.87. Central tumor location ($P=0.002$), tumor size (>2.4 cm), ($P=0.027$) and the number of sputum samples (≥ 3) ($P=0.001$) were associated with a positive cytologic diagnosis. Of the 18 cytologically negative cases, 9 cases (38% of smears) were determined to be insufficient for diagnosis, due strictly to low cellularity and saliva. After a review of the cytology slides of cytologically negative cases, we identified several atypical clusters in one case of bronchioloalveolar carcinoma. This negativity was thus attributed to an interpretation error (1/18, 5.6%). Our results suggest that its sensitivity is more strongly related to the specimen adequacy and the times of sampling than to interpretation error. In terms of sensitivity, specificity, accessibility, cost, and morbidity associated with the screening tests, sputum cytology was found to be an accurate effective screening method for lung cancer.

Key words: Sputum, Cytology, Lung neoplasm, Screening, Sensitivity

책임저자 : 손 진 희

주 소 : (110-746) 서울시 종로구 평동 108번지, 강북삼성병원 병리과

전 화 : 02-2001-2391

팩 스 : 02-2001-2398

E-mail address : jhspath@samsung.co.kr

서 론

폐암은 세계적으로 주요한 사망원인 중의 하나이며 흡연인구의 증가, 대기오염, 평균 수명의 증가 등으로 우리나라에서도 서양에서와 마찬가지로 빈도가 매년 증가하는 추세에 있다. 폐암은 1995년 이후 위암 다음으로 많은 암종으로 보고하고 있으며 2000년 이후 가장 높은 암 관련 사망률을 가지는 암종으로 보고하였다.¹ 폐암의 예후는 매우 나빠서 초기에 진단하지 않는다면 장기생존율이 아주 낮다. 하지만 사망률을 감소시킬 만큼 초기에 폐암을 발견하는 조기검진방법은 없는 것으로 알려져 있고, 여러 가지 새로운 진단기법의 발달에도 불구하고 대부분의 환자들이 진행된 병기에 진단을 받으므로 폐암의 5년 생존율은 14%정도 밖에 되지 않는다.² 1970년대 여러 임상실험에서 폐암 조기검진이 폐암을 빠른 병기에 발견하거나 생존기간을 약간 증가시키는 데는 효과가 있지만 폐암환자의 사망률에는 영향을 미치지 못한다고 보고하였다.³⁻⁵ 최근에 저 용량 전산화 단층촬영 등의 새로운 검진방법이 개발되었으며 일본에서는 이러한 방사선학적 방법과 객담검사를 이용한 조기 검진방법으로 5년 생존율이 1963-1977년 33.7%에서 1987-1992년 58.4%까지 높아졌다고 보고하였으나⁶ 조기발견기간편차(lead-time bias) 및 기간차이편차(length-time bias)를 고려하지 않은 역학조사이므로 지금 진행 중인 미국의 National Cancer Institute의 무작위 임상실험이 끝나야 폐암의 조기검진검사가 사망률에 영향을 미치는지 알 수 있을 것이다. 조기 검진방법으로 특정 진단 방법을 선택하는데 있어서 고려해야 할 중요한 사항은 진단을 최대한 정확히 할 수 있어야 하고 또한 비침습적이어야 하며 비용효율적이어야 한다는데 있다. 단순 흉부 방사선 검사 등 여러 가지 영상검사들 및 객담검사, 기관지 내시경 검사, 경흉부 세침흡인 세포검사, 조직생검, 양전자방출단층촬영술 등이 폐암을 진단하고 병기를 결정하는데 사용되는 주요한 진단방법이다. 그러나 대부분이 폐암 발견율이 낮거나, 비용이 너무 비싸거나, 환자에게 고통을 주는 등의 이유로 검진검사로서는 사용하기 어렵다. 객담 검사는 저비용의 비침습적인 진단방법이지만 일반적으로 민감도가 낮은 것이 검진 검사로서 사용하는데 있어서의 한계점이다. 저자들은 폐암의 조기발견을 위한 검진수단으로

서 객담검사의 유용성을 알아보기 위해 폐암으로 진단받은 환자 객담검사의 민감도를 조사하였으며 향후 민감도를 높이기 위하여 객담검사의 민감도와 관련된 인자들을 알아보았다.

재료 및 방법

1998년 1월부터 2000년 12월까지 성균관대학교 의과대학 강북삼성병원에서 조직학적으로 폐암으로 진단된 환자 121명 가운데 객담세포검사를 시행했었던 103명의 환자를 대상으로 하였다. 연령, 성별분포, 흡연력, 객담검사 횟수, 종양의 크기, 객혈 및 흉막액 유무, 조직학적 분류, 기관지 내시경 소견 및 흉부전산화 단층촬영 소견 등 임상소견은 의무기록을 검토하여 조사하였다. 객담은 이른 아침 첫 객담을 받아 2장의 슬라이드에 도말하여 즉시 95% 에탄올에 고정시킨 후 Papanicolaou 염색을 시행하였다. 객담의 세포블록표본은 제작하지 않았다. 조직학적 분류는 WHO에서 제시한 편평상피암종, 샘암종, 소세포암종, 대세포암종 및 기타의 5가지로 분류하였다. 총 103명중 편평상피암종 44예, 샘암종 29예, 소세포암종 14예, 대세포암종 6예 등이었으며 기타 암종이 10예였다. 병소의 위치는 중심형과 말초형으로 구분하였으며 말초형은 종양이 기관지 세분절 이하에서 발생하였을 경우로 하였다. 객담세포검사 결과와 조직학적 진단을 비교하여 분석하였고 세포검사에서의 음성으로 진단되었던 증례들의 세포검사 슬라이드를 두 명의 병리의사와 3명의 병리사가 다시 재검토하였다. 민감도를 결정하는 양성세포진단의 기준은 객담세포검사 결과 중 악성을 의심할 만한 이형성을 가진 세포가 있다고 보고된 것 이상을 일치하는 것으로 하였다. 이러한 기준의 근거는 본 연구의 목적이 조기검진방법으로서의 객담검사의 유용성을 알아보는 것이기 때문이었다. 세포검사 슬라이드 중 불충분한 검체도 제외시키지 않고 분석하였다. 전체 객담세포검사의 민감도 및 내시경 전 객담세포검사의 민감도, 그리고 여러 가지 임상소견과 객담세포검사 민감도의 관련성을 조사하였고 이를 IBM PC용 통계프로그램인 SPSS 11.0을 이용하여 Chi-square법으로 분석하였다. P값이 0.05이하일 때 통계적으로 의미 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 객담세포검사의 민감도

대상 환자는 전체 103명으로 34세에서 89세의 연령 분포를 보였고 평균연령은 60세였다. 89명은 남자였고, 14명은 여자였다. 잘룩창자 암종이 폐로 전이한 2명의 환자를 제외하고는 101명의 환자가 폐의 원발 암종을 가지고 있었다. 각 환자는 1회에서 10회까지 평균 3.3회의 객담검사를 시행하였다. 총 103예의 폐암환자 중 85명이 적어도 한번 이상 세포검사에서 암종-양성으로 진단을 받아서 0.83의 민감도를 보였으며 18명은 세포검사상 음성이었다. 이를 기관지 내시경 시행 전에 객담검사를 시행했던 예들만 모아 보았을 때도 기관지 내시경 시행 전에 객담검사를 시행했던 64명의 환자 중 51명이 적어도 한번의 세포검사에서 암종-양성으로 진단을 받아서 기관지 내시경 전 객담검사 민감도는 0.80이었다.

중심형 폐암의 민감도는 0.90으로 말초형의 0.63보다 월등히 높았다 ($P=0.002$) (Table 1). 종양의 크기는 0.8~12 cm이었고 평균은 4.5 cm이었다. 종괴의 크기는 1 cm이하인 경우는 2예 뿐이었고 2 cm이하인 경우는 9예였다. 종괴의 크기에 따른 민감도의 차이가 있었는데 2.4 cm이상의 큰 종괴에서는 크기가 작은 종괴보다 민감도가 높았다 ($P=0.027$). 임상병기에서 제1 T병기는 정의상 크기가 3cm미만일 경우로 정의 되어 있다. 그러므로 그보다 크기가 작은 2.4cm를 기준으로 하였는데 1cm보다 작은 경우는 증례수가 너무 적어 분석이 어려웠다. 한 환자에서 객담검사를 시행한 횟수가 많을수록 민감도가 높았는데 특히 3회 이상 시행한 경우가 그 미만으로 시행한 경우보다 훨씬 민감도가 높았다 ($P=0.001$) (Table 2, Fig. 1). 그리고 임상병기가 높아질수록 민감도가 높았다 ($P=0.021$). 그 외에 객혈, 흡연 여부 ($P=0.14$), 흉막액 유무 ($P=0.80$), 조직

Table 1. Rate of positivity of sputum cytology according to the site of origin

Site	No. of cases	No. of positive cases(%)
Central lesions	76	68 (90)
Peripheral lesions	27	17 (63)
Total	103	85 (83)

Table 2. Positivity and number of cytologic specimens examined in patients with known cancer

No of specimen examined	Total cases		Positive cases	
	No.	%	No.	%
1	12	11.7	7	58.3
2	21	20.4	14	66.7
3	37	35.9	34	91.9
4	13	12.6	12	92.3
5	7	6.8	5	71.4
6	6	5.8	6	100
7	2	1.9	2	100
8	3	2.9	3	100
9	1	1	1	100
10	1	1	1	100

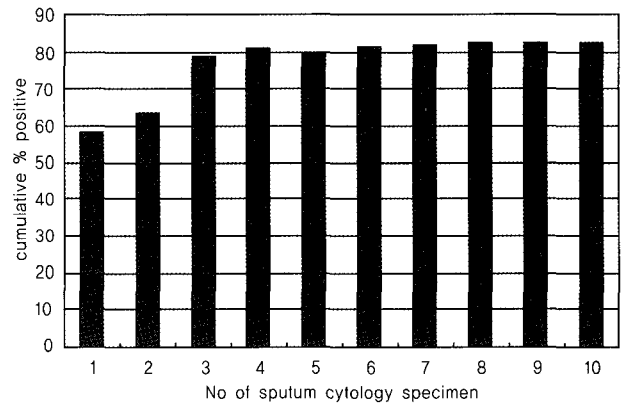


Fig. 1. Cumulative rate of positivity of sputum cytology and number of cytologic specimens examined. The cumulative detection rate up to the fourth sample increases according to the increased number of sputum samples analyzed. Further increment of the sample number shows an asymptomatic effect.

학적 분류 ($P=0.83$) 등과 민감도는 통계학적으로 관련성이 없었다.

2. 세포검사-조직검사 상관관계

전체 세포검사-조직검사의 진단일치율은 82%이었고, 편평세포암종이 94%의 일치율을 보여 통계학적으로 의미는 없었으나 조직학적으로 다른 암종에 비해 진단일치율이 높은 경향을 보였다. 그 외에 소세포암

중은 89%, 샘암종은 88%, 대세포암종은 25%의 세포 검사-조직검사의 진단일치율을 보였다.

3. 객담세포검사 음성 증례 분석

여러 번 시행한 객담세포검사서 모두 음성 진단을 받았던 18명의 세포검사 슬라이드를 모두 검토해 본 결과 이들 환자들의 도말검체들 중 38% (16/42)이 세포 밀도가 너무 낮거나 침만 도말되어 부적절한 검체로 생각하였다.

또한 세기관지폐포암종 (bronchioloalveolar carcinoma)으로 진단된 한 환자의 세포 검사 슬라이드를 재검토할 때 몇 개의 경도의 이행성을 보이는 이상세포 군집을 발견하여 객담검사의 선별검사과정에서 발견하지 못한 것으로 생각하였다 (1/18, 5.6%).

고 찰

객담세포검사는 환자에게 고통을 주지 않으며 특별한 기구 없이 시행할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 그밖의 폐암종의 진단방법으로는 기관지 내시경을 통해 병변부위를 솔로 긁거나 씻어낸다든지, 경피 흡인 세포검사를 통해 종괴의 악성 세포를 얻는 방법이 있다. 그러나 이러한 방법들은 객담세포검사만큼 간단하지 않을 뿐 아니라 현실적으로 다수 환자를 대상으로 검사를 할 수 없는 제약이 있고 침습적이며 더 많은 비용이 든다.

객담검사로 폐암을 조기발견하려는 노력은 1960년대 후반에 고위험군 남자 31,360명을 폐암 조기진단 무작위 임상실험을 하면서 시도되었다.^{3,5} 이 실험에서 객담검사와 흉부방사선검사의 폐암진단 일치율은 불과 20%에 불과하였고, 객담검사와 흉부방사선검사 모두에서 폐암이 의심되는 경우 폐암일 가능성이 50%였으며, 객담검사서 암세포가 존재하는 경우 반드시 최종진단에서 폐암이 진단되었다. 그리고 조기 폐암 중 42%만이 객담검사만으로 발견된 것이고 객담검사와 흉부방사선검사를 같이 시행하여 진단한 경우가 77%였다. 상부 기도를 침범한 초기병변은 객담검사가 매우 유용하였으며 말기에는 객담검사 결과와 상관없이 흉부방사선검사에서도 쉽게 진단되었다. 그러나 민감도만 높다면 경제적이고 편리하며 비침습적인 객담검사가 폐암의 조기 검진법으로는 가장 좋은

방법일 것으로 생각된다.

폐암의 조기 발견을 위한 수단으로 객담검사가 쓰여 왔는데 이제까지 보고된 객담검사의 민감도는 0.42에서 0.97정도로 다양하다.⁷⁻¹² 국내문헌 조사에 의하면 객담검사의 민감도는 김 등¹³의 연구에서는 0.52였고, 이 등¹⁴의 연구에서는 0.59, 박 등¹⁵의 연구에서는 0.504였다. 본 연구에서는 103명의 환자를 대상으로 하였을 때 83%의 폐암 발견율을 보여 비교적 민감도가 높았다. 본 연구에 의하면 객담검사 시행횟수 ($P=0.001$), 종괴의 위치 ($P=0.002$) 및 크기 ($P=0.027$), 병기 ($P=0.021$) 등이 민감도와 밀접한 관련이 있었다. Oswald 등¹²의 보고에 의하면 1회 시행시 폐암 발견율이 41%인데 비해 2회 시행시 56%, 3회 시행시 69% 그리고 4회 시행시 85%로 발견율이 높아진다고 하였고 Ng 등⁸은 3회 이상 시행하였을 때 90%의 발견율을 보인다고 하였다. 본 연구에서는 각각 58.3%, 63.3%, 78.6%, 80.7%로 1회에서 4회 객담검사 시행시 누적 발견율이 증가하는 것을 보여 앞의 보고들과 일치하였다. 그러나 그 보다 횟수가 증가해도 발견율의 큰 증가가 없었다 (Fig. 1).

폐암을 진단하는데 있어서 세포학적 검사의 정확도는 객담을 잘 모으는 것과 그것을 보관하는 기술에 달려있다. 객담은 자발적으로나 아니면 유도하여서 모을 수 있는데 가장 이상적인 것은 자발적인 깊은 기침에서 받아들인 객담이다. 객담검사는 이른 아침 입속을 깨끗이 씻고 난 다음 깊은 기침을 하여 받아야 하고 여러 날에 걸쳐서 따로따로 여러 번 검사하여야 한다. 객담검사를 여러 번 하여야 하는 이유는 객담검사 도말이 고르지 못하고 각각의 객담검사 도말에 나오는 진단적인 세포가 많지 않으며 또한 병변부위에서 떨어져 나오는 세포들이 간헐적으로 나오기 때문으로 생각된다.

Risse 등¹⁶에 의하면 객담에 피가 섞여 나오는 것과 폐암의 객담검사 양성율이 관련이 있어서 네 번의 연속객담검사 민감도가 피가 섞여 나오는 객담에 있어서 1인데 비해 피가 섞여 나오지 않는 객담은 0.71로 차이가 있었다고 하였는데, 본 연구에서는 객혈 증상과 폐암 진단율은 P 값이 0.092로 통계학적 관련성이 없었다.

객담세포검사의 문제점은 위음성뿐 아니라 더욱 문제가 되는 것은 위양성 진단이어서 이로 인해 불필요한 수술이나 방사선검사를 시행할 수 있다는 것이다. 또한 조기 검진에 있어서 민감도를 높으려 할 때 확

실성이나 특이도가 나빠질 수 있어, 그것에 대한 주의가 필요하다. Windall 등¹⁷이 보고한 바에 의하면 민감도를 높이기 하였을 때 9%의 위양성율이 생겼다고 하였으며, 반대로 Spjut 등¹⁸은 문턱값을 높였을 때 위양성은 없었지만 41%라는 매우 높은 위음성율을 보였다고 보고하였다. Koss 등¹⁹은 위양성율이 전체의 0.25%를 넘지 않아야 한다고 권고하였다. 본 연구에서는 조직학적으로 폐암으로 진단받은 증례만을 포함하였으므로 위양성율을 산출할 수 없었다.

폐암의 세포검사-조직검사의 진단 간 일치율에 대해 Ng와 Horak 등⁸은 소세포암종은 96.5%, 편평세포암종 95.3%, 샘암종 87.8%, 대세포암종 81.4%의 일치율을 보였다고 했으며, Truong 등²⁰은 편평세포암종 93%, 소세포암종 89%, 샘암종 54%, 대세포암종 25%로 보고하였는데, 이는 본원의 편평세포암종 94%, 소세포암종 89%, 샘암종 88%, 대세포암종 25%의 일치율과 유사한 결과를 보였다. 대체적으로 편평세포암종 및 소세포암종은 중심성 폐암이 많고 샘암종이나 대세포암종은 말초성 폐암이 많으므로 위치에 따른 민감도 차이가 영향을 미쳤을 것으로 생각한다.

객담검사 음성 진단을 받았던 18명의 폐암환자 도말검사 중 38% (16/42)가 세포 밀도가 너무 낮거나 침만 도말되어 부적절한 검체였다. 판독 오류가 있었던 경우는 1예였으므로 진단 잘못보다는 검체의 적절성이 객담검사의 폐암진단을 저하에 크게 영향을 미치는 것으로 생각하였다. 따라서 객담검사를 검진에 이용하기 위해서는 객담을 수집하는 방법에 대한 교육과 적절한 검체 고정 및 전달방법의 확립이 중요할 것으로 생각하였다.

폐암 환자의 증가와 더불어 진단과 치료 예후 예측 인자에 대한 연구로 많은 고위험군과 위험인자가 밝혀졌음에도 불구하고 고위험군의 10~20%는 결국 폐암으로 사망하게 되며 이제까지의 고위험군에 대한 조기검진은 폐암 사망률을 줄이는데 성공하지 못했다. 하지만 폐암에 대해 특이적인 분자병리적 표지자 이용은 조기진단에 대한 새로운 가능성을 제시할 수 있을 것이다. 즉 p53, K-ras 돌연변이를 본드든지²¹⁻²⁵ p16 등의 과메틸화,^{22,23,26,27} heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 (hnRNP-A2/B1)의 발현을 Northern blot으로 확인하는 것,²⁸ 여러 가지 microsatellite marker의 이형접합 소실 (LOH)을 관찰하는 등²³의 방법으로 폐암을 조기진단하는 방법들이 보고 되고 있다.

또한 최근에 저용량 전산화 단층촬영을 이용한 임

상실험이 보고 되고 있는데 이것이 무작위적 임상실험이 아니어서 조기발견기간편차 (lead-time bias) 및 기간차이편차 (length-time bias)가 있을 수 있음에도 불구하고 효과적인 비침습성 영상검진방법 중의 하나일 것으로 생각되어지고 있다.² 그러나 이들을 조기검진 사업에 이용하기에는 높은 비용, 제한적 이용, 기술적 문제 등 많은 문제가 있어 특정 고위험군에 대해서만 2차적인 검사로 적용해 볼 필요는 있으리라 생각한다.

결 론

결론적으로 객담세포검사는 폐암 조기검진사업을 하는데 있어 현재로서는 가장 비침습적인 방법인 동시에 가장 높은 비용 효과를 가지는 검사로서 적절한 조직관리를 하고 전문가가 진단한다면 높은 민감도와 특이도를 보일 수 있다. 또한 위음성이나 위양성에 대해서는 여러 번 검사하고 객담검사의 방법을 자세히 환자에게 교육함으로써 검체의 적정성을 높이는 등의 노력으로 최소화할 수 있을 것으로 생각한다. 그러나 앞으로 객담검사에서 볼 수 있는 특이적인 분자병리적 표지자가 있다면 세포검사와 더불어 시행함으로써 폐암의 조기 검진과 정확한 진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대한다.

참 고 문 헌

1. 2001 한국 중앙 암등록 사업 연례 보고서. 보건복지부
2. Patz EF Jr, Goodman PC, Bepler G. Screening for lung cancer. *N Engl J Med* 2000;343:1627-33.
3. Frost JK, Ball WC Jr, Levin ML, et al. Early lung cancer detection: results of the initial (prevalence) radiologic and cytologic screening in the Johns Hopkins study. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:549-54.
4. Flehinger BJ, Melamed MR, Zaman MB, Heelan RT, Perchick WB, Martini N. Early lung cancer detection: results of the initial (prevalence) radiologic and cytologic screening in the Memorial Sloan-Kettering study. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:555-60.
5. Fontana RS, Sanderson DR, Taylor WF, et al. Early lung cancer detection: results of the initial (prevalence) radiologic and cytologic screening in the Mayo Clinic study. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:561-5.
6. Petty TL. Screening strategies for early detection of lung

- cancer: the time is now. *JAMA* 2000;284:1977-80.
7. Kern WH. The diagnostic accuracy of sputum and urine cytology. *Acta Cytol* 1988;32:651-4.
 8. Ng AB, Horak GC. Factors significant in the diagnostic accuracy of lung cytology in bronchial washing and sputum samples. II. Sputum samples. *Acta Cytol* 1983;27:397-402.
 9. Tanaka T, Yamamoto M, Tamura T, et al. Cytologic and histologic correlation in primary lung cancer. A study of 154 cases with resectable tumors. *Acta Cytol* 1985;29:49-56.
 10. Gupta RK. Value of sputum cytology in the diagnosis and typing of bronchogenic carcinomas, excluding adenocarcinomas. *Acta Cytol* 1982;26:645-8.
 11. Pilotti S, Rilke F, Gribaudo G, Ravasi GL. Sputum cytology for the diagnosis of carcinoma of the lung. *Acta Cytol* 1982;26:649-54.
 12. Oswald NC, Hinson KF, Canti G, Miller AB. The diagnosis of primary lung cancer with special reference to sputum cytology. *Thorax* 1971;26:623-7.
 13. 김준미, 민수기, 주영채, 조철호. 기관지암중 진단에 있어서 객담과 기관지 세척액 검사의 유용성. 대한세포병리학회지 2001;12:17-23.
 14. 이해경, 이광민, 정동규, 강대송, 김기완. 폐암진단을 위한 객담세포검사 결과-16개월간의 전주예수병원 객담세포검사 결과를 바탕으로. 대한세포병리학회지 1994;5:148-53.
 15. 박인애, 함의근. 폐암의 세포병리학적 진단에 관한 검토. 대한세포병리학회지 1991;2:20-7.
 16. Risse EK, Vooijs GP, van't Hof MA. Relationship between the cellular composition of sputum and the cytologic diagnosis of lung cancer. *Acta Cytol* 1987;31:170-6.
 17. Wandall HH. A study on neoplastic cells in sputum as a contribution to the diagnosis of pulmonary lung cancer. *Acta Chir Scand* 1944;91:485-9.
 18. Spjut HJ, Fier DJ, Ackerman LV. Exfoliative cytology and pulmonary cancer. *J Thorac Surg* 1955;30:90-99.
 19. Koss LG. Progress in cytologic diagnosis of lung cancer. *Proc Natl Cancer Conf* 1970;6:817-9.
 20. Truong LD, Underwood RD, Greenberg SD, McLarty JW. Diagnosis and typing of lung carcinomas by cytopathologic methods. A review of 108 cases. *Acta Cytol* 1985;29:379-84.
 21. Wang L, Wang G, Xia X. Detection of oncogenic mutations in sputum and its diagnostic value of lung cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 1998;1:236-9.
 22. Kersting M, Friedl C, Kraus A, Behn M, Pankow W, Schuermann M. Differential frequencies of p16 (INK4a) promoter hypermethylation, p53 mutation, and K-ras mutation in exfoliative material mark the development of lung cancer in symptomatic chronic smokers. *J Clin Oncol* 2000;8:3221-9.
 23. Bunn PA Jr. Molecular biology and early diagnosis in lung cancer. *Lung Cancer* 2002;38:S5-8.
 24. Dai Y, Morishita Y, Mase K, et al. Application of the p53 and K-ras gene mutation patterns for cytologic diagnosis of recurrent lung carcinomas. *Cancer* 2000;90:258-63.
 25. Shiono S, Omoe K, Endo A. K-ras gene mutation in sputum samples containing atypical cells and adenocarcinoma cells in the lung. *Carcinogenesis* 1996;17:1683-6.
 26. Tsou JA, Hagen JA, Carpenter CL, Laird-Offringa IA. DNA methylation analysis: a powerful new tool for lung cancer diagnosis. *Oncogene* 2002;21:5450-61.
 27. Chen JT, Chen YC, Wang YC, Tseng RC, Chen CY, Wang YC. Alterations of the p16 (ink4a) gene in resected non-small cell lung tumors and exfoliated cells within sputum. *Int J Cancer* 2002;98:724-31.
 28. Zhou J, Nong L, Wloch M, Cantor A, Mulshine JL, Tockman MS. Expression of early lung cancer detection marker: hnRNP-A2/B1 and its relation to microsatellite alteration in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001;34:341-50.