

원발성 폐암에서 LKB1 단백질 발현 소실에 따른 임상 양상 및 조직병리학적 특성

원광대학교 의과대학 ¹내과학교실, ²병리학교실, ³방사선종양학교실, ⁴영상의학교실, ⁵국립암센터

황기은¹, 조항정², 이강규³, 심 혁¹, 송정섭¹, 신정현¹, 신성남¹, 박성훈⁴, 홍경만⁵, 박정현¹, 정종훈¹, 김휘정¹, 김학렬¹, 양세훈¹, 정은택¹

The Clinical and Histopathologic Features according to Loss of LKB1 Protein Expression on Primary Lung Cancer

Ki Eun Hwang, M.D.¹, Hyang-Jeong Jo, M.D.², Kang Kyoo Lee, M.D., Ph.D.³, Hyeok Shim, M.D.¹, Jung Sub Song, M.D.¹, Jeong Hyun Shin, M.D.¹, Seong Nam Shin, M.D.¹, Seong-Hoon Park, M.D.⁴, Kyeong-Man Hong, M.D., Ph.D.⁵, Jung-Hyun Park, M.D.¹, Jong-Hoon Jeong, M.D.¹, Hui Jung Kim, M.D.¹, Hak-Ryul Kim, M.D., Ph.D.¹, Sei-Hoon Yang, M.D., Ph.D.¹, Eun-Taik Jeong, M.D., Ph.D.¹

Departments of ¹Internal Medicine, ²Pathology, ³Therapeutic Radiology and Oncology, ⁴Radiology, College of Medicine, Wonkwang University, Iksan, ⁵Research Institute, National Cancer Center, Goyang, Korea

Background: LKB1(STK11) is a serine/threonine kinase that functions as a tumor growth suppressor. The functions of LKB1 in lung cancer are not completely understood. This study evaluated the relationship between LKB1 protein expression and the clinicopathological features in lung cancer tissues.

Methods: The expression of LKB1 was studied in paraffin-embedded tumor blocks, which were obtained from 77 patients who had undergone surgery at Wonkwang University Hospital. The expression of the LKB1 protein was considered positive if the staining intensity in the tumor tissue adjacent to the normal airway epithelium was >30%.

Results: The LKB1 expression was positive in 31 (40%) of samples. Loss of LKB1 expression was significantly associated with being male, smoking history, and squamous cell carcinoma. In the peripheral sites, the loss of LKB1 expression was strongly associated with a smoking history. A loss of LKB1 expression was more frequently associated with progression according to TNM staging, particularly more than T2, N progression.

Conclusion: There was a significant relationship between the loss of the LKB1 protein and gender, smoking history, and histological type in primary lung cancer. Although LKB1 expression was not found to be a significant prognostic factor, further studies with a larger cohort of patient's lung cancer tissue samples will be needed to confirm this. (*Tuberc Respir Dis* 2008;64:362-368)

Key Words: LKB1, Gender, Smoking, Lung cancer

서 론

폐암은 매년 모든 암환자의 12.4%에 해당되는 13,500,000명이 새로 진단되며, 악성 종양 관련 사망원인의 17.8%로 주 사망원인이 된다¹. 원발성 폐암은 종양의

성장과 국소 림프절 및 타 장기로의 전이에서 다양한 차이를 보여, 치료적인 접근에 어려움이 있다. 그래서 폐암치료를 소세포암과 비소세포암으로만 구분하며², 비소세포암은 폐암의 75~88%를 차지하며 편평상피암, 선암, 대세포암, 세기관지폐포암으로 나뉘어진다. 비소세포암 치료는 TNM 병기에 따라 IA부터 IIIA까지는 수술적 치료를 시행하나, 생존율은 병기가 진행함에 따라 불량하므로 조기 진단 및 치료가 절실히 필요한 실정이다. 지금까지 치료방법 결정과 예후 평가에 주로 조직 병리학적 소견, TNM 병기, 생리학적 병기(performance status scale)가 주로 이용되어 왔으나, 최근에는 종양세포의 생물학적 특성을 반영하는 여러 인자들을 이용하여 예후를 추정하려는 많은 시도가 이루어지고 있다. 이러한 노력의 일환으

본 연구는 2006년도 원광대학교 교내 연구비 지원에 의해 이루어짐.

Address for correspondence: Sei-Hoon Yang, M.D., Ph.D.,
Department of Internal Medicine, Wonkwang University
Hospital, 344-2 Shinyong-dong, Iksan 570-711, Korea
Phone: 82-63-859-2582, Fax: 82-63-855-2025
E-mail: yshpul@wonkwang.ac.kr

Received: Dec. 24, 2007

Accepted: May. 13, 2008

로 LKB1이 일부 종양에서 예후인자로 알려져 있는데, LKB1 유전자는 종양성장을 억제하는 기능을 갖는 serine/threonine kinase로 Peutz-Jeghers syndrome (PJS)에서 처음 기술되었다. PJS은 위장관 양성 과오종성 폴립, 점막 색소침착을 보이며, LKB1 유전자의 생식세포 돌연변이가 발생하면 소화기암 발생 증가와³ 드물게는 폐, 유방, 자궁 경부, 정소, 자궁 등 비소화기암 발생 위험도도 증가한다⁴.

일부 보고에서는 LKB1 단백질 발현이 소실되면 전암상태가 악성으로 진행한다고 보고하였으나⁵, 현재까지 LKB1 유전자의 생물학적 기능이 폐암에서 명확하게 밝혀지지 않아, 본 연구에서는 원발성 폐암으로 진단받고 근치적 절제술을 시행 받은 환자조직에서 LKB1 단백질 발현 소실과 임상요소들 간의 상관관계를 확인하고 LKB1 단백질 발현 소실이 예후인자로의 의의가 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1998년 3월부터 2006년 3월까지 본원에 내원하여 조직학적으로 원발성 폐암으로 진단을 받은 후 근치목적으로 절제술을 시행 환자의 조직으로, 고정 및 보관상태가 양호한 77명 환자를 대상으로 임상기록을 재검토하였으며, 임상양상, 병기 및 생존기간 등을 조사하였다. 수술 전 항암화학요법을 받은 경우는 대상에서 제외하였고, 연구를 위

해 환자의 사전 동의 취득 및 원광대학교병원 임상시험위원회의 승인을 받았다. 평균 연령은 63세, 남녀 비는 63 : 14였고, 조직병리학적 분류(WHO classification, 1999)는 편평상피암 49예, 선암 19예, 세기관지세포암 3예, 대세포암 3예, 소세포암 3예였다. 소세포암은 시험적 개흉술을 통해 조직학적으로 확진된 경우였다. TNM 병기는 I 병기 40예, II 병기 21예, IIIA 병기 10예, IIIB 병기 4예, IV 병기 2예였다(Table 1).

2. 면역조직화학염색법

모든 조직 슬라이드를 관찰하여 암종이 가장 깊숙이 침윤된 파라핀에 포매된 조직을 택하여 4 μ m로 절편하여

Table 1. Clinical characteristics of patients

Age (mean, range)	63 (35~79)
Sex (male : female)	63 : 14
Histology	
Squamous cell carcinoma	49 (63.6%)
Adenocarcinoma	19 (24.7%)
Large cell carcinoma	3 (3.9%)
Bronchioloalveolar carcinoma	3 (3.9%)
Small cell carcinoma	3 (3.9%)
TNM stage	
I	40 (51.9%)
II	21 (27.3%)
IIIA	10 (13.0%)
IIIB	4 (5.2%)
IV	2 (2.6%)

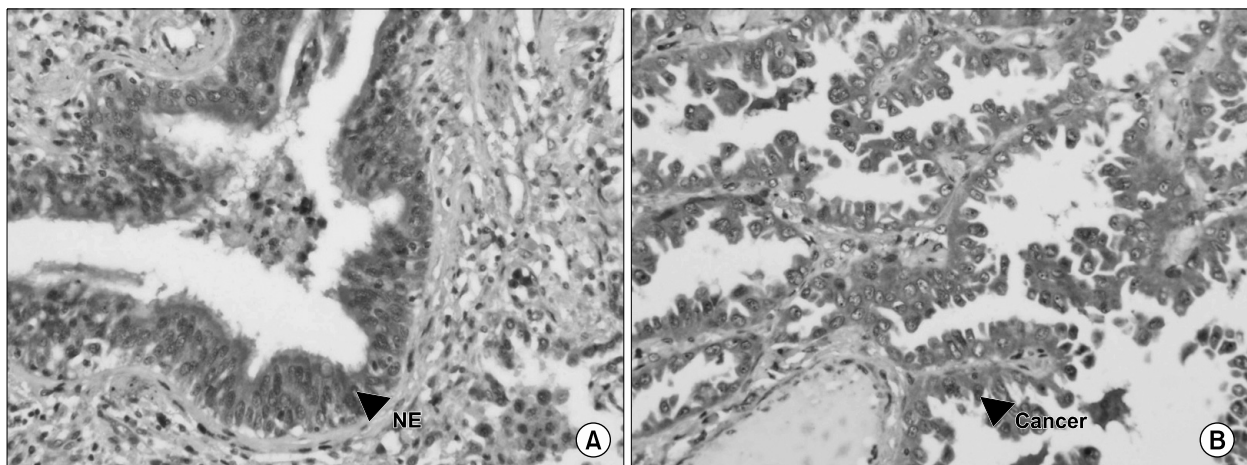


Figure 1. LKB1 protein expression. Positive reaction (arrow head) to LKB1 antigen stain in normal epithelium (A, Hematoxylin counterstain, x400). Strong positivity (arrow head) to LKB1 antigen in bronchioloalveolar cell carcinoma (BAC) (B, Hematoxylin counterstain, x400). NE: normal epithelium.

5개의 슬라이드를 만들고 histoclear 용액으로 파라핀을 제거한 다음, 100%, 95%, 75%, 50% 에탄올에 연속적으로 재수화시키고, 비특이적인 과산화효소 작용을 차단하기 위하여 3% H₂O₂로 처리한 후 증류수에 담근 다음 PBS (phosphate buffer saline)으로 세척하고, 비특이적 항체 결합을 막기 위하여 non-immune goat serum (5%, pH 7.6)으로 20분간 처리한 다음, 일차항체인 LKB1 (1 : 50, Santa Cruz Biotechnology, Inc, USA)을 이용하여 염색하였다.

면역조직화학염색판정은 2명의 숙련된 병리과 의사가 이중 맹검법(double blind method)으로 5개의 염색된 슬라이드를 광학현미경 200배 하에서 여러 필드를 관찰하여 판정하였다. LKB1 단백질 염색이 종양 주변 기관지 상피 세포 세포질에 적갈색으로 염색된 부위를 양성대조군으로 판단하였고, 암조직에서는 가장 암세포가 많고 염색이 잘된 부위를 찾아 전체 암세포 중 세포질에서 과립상으로 염색이 확인된 암세포의 비율이 30% 미만인 경우는 음성, 30% 이상인 경우는 양성으로 구분하였다(Figure 1).

3. 통계 방법

임상적 인자에 대한 LKB1 발현을 비교는 Chi-Square test로 하였으며, 환자들의 생존기간은 Kaplan-Meier로, 각 군 간의 비교는 Log Rank로 하였다.

Table 2. Expression of LKB1 on primary lung cancer

Postive (>30%)	40% (31/77)
Negative (<30%)	60% (46/77)

(): No. of cases.

Table 3. Expression of LKB1 according to histological cell types

	Squamous	Adeno	BAC	Large cell	Small
Negative	79.6%* (39/49)	26.3% (5/19)	0.0% (0/3)	33.3% (1/3)	33.3% (1/3)
Positive	20.4% (10/49)	73.7% (14/19)	100% (3/3)	66.7% (2/3)	66.7% (2/3)

Adeno: adenocarcinoma; BAC: bronchioloalveolar carcinoma.
*Significant the high rate of negative expression compared to other cell types (p<0.05).

결 과

1. 폐암조직에서 LKB1 단백질 발현과 조직 병리학적 분류에 따른 발현 정도

총 77예 중 LKB1의 발현 음성률은 60% (46/77)였고, 양성률은 40% (31/77)였다(Table 2). 조직 병리학적으로 발현 음성률은 편평상피암 79.6% (39/49), 선암 26.3% (5/19), 세기관지세포암 0% (0/3), 대세포암, 소세포폐암은 각각 33.3% (1/3)로, 편평상피암에서 LKB1 단백질 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았다(p<0.05) (Table 3).

2. 성별에 따른 LKB1 발현정도

성별에 따른 LKB1 발현 음성률은 남성 66.7% (42/63), 여성 28.6% (4/14)로 남성에서 통계적으로 유의하게 LKB1 발현 음성률이 높았다(p<0.01)(Table 4).

3. 흡연력에 따른 LKB1 발현정도

폐암의 주요 원인인 흡연에 따른 LKB1 발현은 흡연력이 있는 경우 발현 음성률이 70.4% (38/54), 흡연력이 없는 경우 31.8% (7/22)였다. 흡연력이 있는 군에서 LKB1 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았다(p<0.01). 흡연량에 따른 LKB1 발현은 40갑년 이하에서 발현 음성률은 77.4% (24/31)였으며, 40갑년 이상에서는 66.7% (14/ 21)

Table 4. Expression of LKB1 according to sex

	Male	Female
Negative	66.7%* (42/63)	28.6% (4/14)
Positive	33.3% (21/63)	71.4% (10/14)

*Significant the high rate of negative expression compared to female (p<0.01).

Table 5. Expression of LKB1 according to smoking history

	Smoker	Non-smoker	<40 PY	>40 PY
Negative	70.4%* (38/54)	31.8% (7/22)	77.4% [†] (24/31)	66.7% (14/21)
Positive	29.6% (16/54)	68.2% (15/22)	22.6% (7/31)	33.3% (7/21)

*Significant the high rate of negative expression compared to Non-smoker (p<0.01). [†]Non significant the rate of negative expression compared to more than 40 PY (p=0.391).

로 흡연량과 LKB1 발현정도와의 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Table 5).

4. 종양위치에 따른 LKB1 발현정도

종양위치에 따른 LKB1 발현 음성률은 중앙부위 71.4% (20/28), 말초부위 52.1% (25/48)로 중앙부위에 위치할수록 LKB1 발현 음성률이 높았으나, 통계적 유의성에는 도달하지 못했다(Table 6). 말초부위에서 발생한 종양에서 흡연력에 따른 LKB1 발현 음성률은 흡연력이 있는 군에서 64.5% (20/31), 없는 군에서 35.5% (11/31)로, 말초부위에 위치한 종양에서 흡연력에 따라 LKB1 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았다($p=0.02$)(Table 7).

5. TNM 병기에 따른 LKB1 발현 정도

종양의 진행정도를 반영하는 병리학적 TNM 병기에 따른 LKB1 발현 음성률은 I 병기 52.5% (21/40), II 병기

71.4% (15/21), IIIA 병기 70.0% (7/10)로, 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 증가하는 경향이 있었으나 통계적 유의성은 보이지 않았다(Table 8). T 병기에 따른 LKB1 발현 음성률은 T1 38.5% (5/13), T2 66.7% (34/51), T3 54.5% (6/11), T4 50% (1/2)로 T3, T4 병기는 환자수가 적어 T 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 증가되는지 여부를 확인할 수는 없었으나 T2 이상에서는 LKB1 발현 음성률이 증가되는 경향이 있었다(Table 9). 또한 N 병기에 따른 LKB1 발현 음성률은 N0 53.1% (26/49), N1 63.2% (12/19), N2 87.5% (7/8), N3 100% (1/1)로 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 높아지는 경향이 있었으나, 통계적 유의성은 보이지 않았다(Table 10).

Table 6. Expression of LKB1 according to tumor site

	Central	Peripheral
Negative	71.4%* (20/28)	52.1% (25/48)
Positive	28.6% (8/28)	47.9% (23/48)

*Non significant the rate of negative expression compared to peripheral site ($p=0.098$).

Table 7. Expression of LKB1 according to smoking history in periphery

	Smoker	Non-smoker
Negative	64.5%* (20/31)	35.5% (11/31)
Positive	29.4% (5/17)	70.6% (12/17)

*Significant the rate of negative expression compared to non-smoker in periphery ($p=0.02$).

Table 8. Expression of LKB1 according to TNM stage

	I	II	IIIA
Negative	52.5%* (21/40)	71.4%* (15/21)	70.0%* (7/10)
Positive	47.5% (19/40)	28.6% (6/21)	30.0% (3/10)

*Non significant the rate of negative expression compared to each other on three groups ($p=0.602$).

Table 9. Expression of LKB1 according to T stage

	T1	> T2
Negative	38.5%* (5/13)	64.1% (41/64)
Positive	61.5% (8/13)	35.9% (23/64)

*Non significant the rate of negative expression compared to more than T2 stage ($p=0.086$).

Table 10. Expression of LKB1 according to N stage

	N0	N1	N2	N3
Negative	53.1%* (26/49)	63.2%* (12/19)	87.5%* (7/8)	100%* (1/1)
Positive	46.9% (23/49)	36.8% (7/19)	12.5% (1/8)	0% (0/1)

*Non significant the rate of negative expression compared to each other on four groups ($p=0.237$).

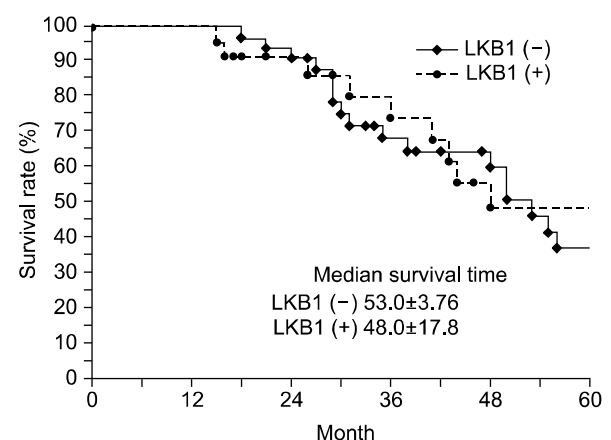


Figure 2. Kaplan-Meier survival curves for overall survival.

6. LKB1 발현여부에 따른 생존율

LKB1 발현 음성군에서 2년 생존율은 91.3%, 3년 생존율은 68.5%이며 발현 양성군에서 2년 생존율은 91.7%, 3년 생존율은 74.2%이었다. 중간 생존기간은 LKB1 발현 음성군에서 53개월, LKB1 발현 양성군에서 48개월로 LKB1 음성군이 양성군에 비해 중간생존기간이 길었으나 유의한 차이는 보이지 않았다(Figure 2).

고 찰

분자 생물학의 눈부신 발전과 많은 유전적 정보를 한번에 얻어 해석할 수 있는 기술의 개발이 암 연구에 새로운 장을 열어가고 있다. 이런 연구를 통해 여러 가지 고형암에서 종양세포의 생물학적 특성을 찾아내고 임상에서는 치료에 대한 반응과 생존율을 예측할 수 있는 유전자나 단백질을 찾아 가고 있다. 이러한 유전자로는 p53, Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog (K-ras), C-myc, Nuclear factor-kappa B (NF-kB), Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), C-erbB-2, Vascular endothelial growth factor (VEGF), Insulin-like growth factor (IGF), Platelet-derived growth factor (PDGF), Akt, phosphatase and tensin homolog (PTEN), Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9), Hypoxia-inducible factor (HIF) 등이 알려져 있다. 일부 연구결과에 의하면 폐암에서 EGFR과 MMP-9이 모두 발현되면 예후가 불량하다고 보고하였고⁶, C-erbB-2도 특히 선암에서 예후가 불량함을 보고하였다⁷. 이와 같이 폐암 발암과정에 관여하는 많은 유전자나 염색체 변이가 밝혀져 폐암 치료에 많은 발전을 가져왔지만, 아직까지도 정확한 발암기전이 밝혀지지 않아, 지속적인 연구가 필요한 실정이다. 폐암의 발암과정에 관여하는 여러 유전자 중에 최근에 LKB1 유전자가 발암과정에 관여할 것으로 알려지고 있으나, 아직 미약한 수준의 연구가 진행되고 있다.

LKB1 유전자는 serine/threonine kinase를 부호화하는 종양성장 억제 유전자로 PJS에서 처음 기술되었으며⁸, 19번 염색체 단완에 위치하며 sucrose non-fermenting (SNF)/adenosine monophosphate (AMP) activated protein kinase family와 유사하다⁹. LKB1 과다발현은 G1 세포주기 정지를 야기하여 세포 성장을 억제하며¹⁰ Brahma protein homolog 1과 cellular tumor antigen, p53과 관련이 있다^{11,12}. LKB1 유전자 변이는 폐 선암을 제외한 단발

성 종양에서는 드물게 나타난다¹³. Ji 등은 LKB1 유전자결함이 있는 종양에서 잠재기가 더 짧고, 조직학적 범위가 넓으며 전이가 잘되어 LKB1이 폐암 분화, 전이를 조절하는 역할을 하는 것으로 보고하였다¹⁴.

Sanchez-Cespedes 등은 백인 폐 선암 1/3에서 LKB1 유전자가 비활성화 되어있고, 단백질 발현이 안 되거나 불완전 단백질이 합성되어 암이 생기는 유전자임을 보고하였다¹⁵. Hassan 등은 35명의 원발성 선암 환자 중 26% (9/35), 96명의 비정형 선양 증식증 환자 중 10% (10/96)에서 LKB1 발현이 음성임을 증명하였으며, LKB1 음성률은 저등급 비정형 선양 증식증에서 고등급, 선암으로 진행할수록 통계적으로 유의하게 증가하여 LKB1 발현 음성이 전암상태에서 악성으로 진행하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다⁵. 역시 본 연구결과에서도 TNM 병기가 진행할수록, LKB1 발현음성률이 증가되는 경향이 있음을 알 수 있었다.

폐암의 조직학적 분류에 따라 살펴보면 백인에서는 LKB1 체세포 돌연변이가 폐 선암 1/3에서 보고되고 있으나, 100명 일본인 폐암환자(선암 81명, 편평상피암 14명, 그 외 5명)을 대상으로 한 연구에서는 단지 3%에서만 발견되었으며, 돌연변이 모두 흡연력있는 남성이며 선암이었다¹⁶. 그러나 본 연구에서는 편평상피세포암이 선암에 비해 LKB1 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았으며, 선암은 LKB1 양성률이 음성률에 비해 높은 경향을 보여 기존결과와 다름을 보여주었으나, 이는 환자수가 적어(n=77) 통계적인 의의에 도달하지 못한 것으로 사료되며, 향후 더 많은 환자를 대상으로 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 T 병기가 증가할수록 LKB1 발현 음성률이 증가하여 LKB1이 종양성장 억제 기능이 있고, 또한 N 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 높아지는 경향이 있어 국소전이와 밀접한 관계가 있을 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 유방암에서도 종양크기가 3 cm 이상이거나, 림프조직 전이가 있을수록 LKB1 발현도 감소하는 결과와 일치된다고 할 수 있겠다. 결과적으로 T 병기, N 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 증가되는 경향을 보여, LKB1이 폐암의 성장과 전이에 관여함을 추론할 수 있었다.

폐암의 주요 원인으로 알려진 흡연이^{17,18} LKB1 유전자 변이와 밀접한 상관관계가 있는 보고들이 있으며, 특히 Sanchez 등은 흡연력이 있는 폐 선암 환자(n=27)에서 비흡연자(n=18)에 비해 19번 염색체 단완의 이상이(58% vs

16%)있음을 보고하였다¹⁹. 본 결과에서도 흡연력이 있는 경우 LKB1 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았으며, 40갑년을 기준으로 할 경우에는 LKB1 발현과 흡연량의 관계는 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

LKB1이 예후 인자로서 의의를 알아보기 위해 생존분석을 한 결과 LKB1 발현 양성군과 음성군 사이에 중간생존 기간은 각각 48개월, 53개월로 음성군에서 중간생존기간이 길었으나, 통계적 유의성은 보이지 않았다. 이 결과는 LKB1 유전자가 다른 고형암에서 종양억제 유전자로 알려져 있어 LKB1의 단백질 발현 음성군에서 생존율이 낮을 것으로 예측할 수 있으나, 반대의 결과가 나와 예후인자로서의 의의를 찾을 수 없었지만 이는 이번 연구에 참여한 환자수가 적으며, 수술 후 폐암 환자의 사망률이 높아서 생존율의 차이가 없을 가능성이 있어 향후 많은 환자수의 분석, 수술환자의 치료에 대한 보완이 필요하리라 사료된다.

요 약

연구배경: LKB1 (STK11)유전자는 Peutz-Jeghers syndrome에서 생식세포 돌연변이가 있으면 소화기와 폐를 포함한 타 장기의 암 발생 위험도가 증가한다고 알려져 있으며, 또한 종양 억제 기능이 있다고도 알려지고 있다. 하지만 현재까지 폐암에서 LKB1 유전자의 생물학적 기능이 명확하게 밝혀져 있지 않아, 저자들은 폐암조직에서 LKB1 단백질 발현소실과 임상양상 및 조직병리와의 연관 관계를 알아보고자 하였다.

방 법: 1998년 3월부터 2006년 3월까지 본원에 내원하여 원발성 폐암으로 진단받고 근치적 절제술을 시행 받은 77명의 환자를 대상으로 하였다. 파라핀에 포매된 조직을 택하여 면역조직화학염색법으로 LKB1 단백질 발현을 확인하였고, 정상 기관지 상피세포 세포질에서의 단백질 발현과 비슷한 정도의 발색을 갖는 종양세포가 전체 종양에서 30% 이상인 경우를 양성으로 판정하였다.

결 과: LKB1 발현 양성은 40% (31/77)였고, 남성, 흡연, 편평상피암인 경우에 LKB1 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았다. 종양위치가 중앙부위일수록 LKB1 발현 음성률이 증가하는 경향이 있으며, 종양 위치가 말초부위인 경우 흡연력이 있는 군에서 LKB1 발현 음성률이 통계적으로 유의하게 높았다. TNM 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 증가하는 경향이 있었으며, T2 병기 이상, N 병기가 진행할수록 LKB1 발현 음성률이 높아지

는 경향이 있었으나, 통계적 유의성은 보이지 않았다.

결 론: 원발성 폐암환자에서 LKB1 발현소실은 성별, 흡연력, 조직병리 형태와 의미있는 상관관계를 보였으나, 예후인자로서의 의의는 찾지 못했다. 하지만 환자의 숫자가 적어 추후의 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
2. Minna JD, Ginsberg RJ, Ihde DC. Chapter 30. Cancer of lung. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer: principles and practice of oncology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Pub.; 1997. p. 849.
3. Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, Avizienyte E, Roth S, Loukola A, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature* 1998;391:184-7.
4. Boardman LA, Thibodeau SN, Schaid DJ, Lindor NM, McDonnell SK, Burgart LJ, et al. Increased risk for cancer in patients with the Peutz-Jeghers syndrome. *Ann Intern Med* 1998;128:896-9.
5. Ghaffar H, Sahin F, Sanchez-Cepedes M, Su GH, Zahurak M, Sidransky D, et al. LKB1 protein expression in the evolution of glandular neoplasia of the lung. *Clin Cancer Res* 2003;9:2998-3003.
6. Cox G, Jones JL, Andi A, Waller DA, O'Byrne KJ. A biological staging model for operable non-small cell lung cancer. *Thorax* 2001;56:561-6.
7. Diez M, Pollán M, Maestro M, Torres A, Ortega D, Gómez A, et al. Prediction of recurrence by quantification of p185neu protein in non-small cell lung cancer tissue. *Br J Cancer* 1997;75:684-9.
8. Hemminki A, Tomlinson I, Markie D, Järvinen H, Sistonen P, Björkqvist AM, et al. Localization of a susceptibility locus for Peutz-Jeghers syndrome to 19p using comparative genomic hybridization and targeted linkage analysis. *Nat Genet* 1997;15:87-90.
9. Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff S, Jeschke R, et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat Genet* 1998;18:38-43.
10. Tiainen M, Ylikorkala A, Makela TP. Growth suppression by Lkb1 is mediated by a G1 cell cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:9248-51.
11. Shen Z, Wen XF, Lan F, Shen ZZ, Shao ZM. The tumor suppressor gene LKB1 is associated with prognosis in

- human breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002;8:2085-90.
12. Karuman P, Gozani O, Odze RD, Zhou XC, Zhu H, Shaw R, et al. The Peutz-Jegher gene product LKB1 is a mediator of p53-dependent cell death. *Mol Cell* 2001;7:1307-19.
13. Avizienyte E, Loukola A, Roth S, Hemminki A, Tarkkanen M, Salovaara R, et al. LKB1 somatic mutations in sporadic tumors. *Am J Pathol* 1999;154:677-81.
14. Ji H, Ramsey MR, Hayes DN, Fan C, McNamara K, Kozlowski P, et al. LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. *Nature* 2007;448:807-10.
15. Sanchez-Cespedes M, Parrella P, Esteller M, Nomoto S, Trink B, Engles JM, et al. Inactivation of LKB1/STK11 is a common event in adenocarcinomas of the lung. *Cancer Res* 2002;62:3659-62.
16. Onozato R, Kosaka T, Achiwa H, Kuwano H, Takahashi T, Yatabe Y, et al. LKB1 gene mutations in Japanese lung cancer patients. *Cancer Sci* 2007;98:1747-51.
17. Parkin DM, Pisani P, Lopez AD, Masuyer E. At least one in seven cases of cancer is caused by smoking. *Int J Cancer* 1994;59:494-504.
18. Fraumeni JF JR, Schottenfeld D, Searle JG. *Cancer epidemiology and prevention*. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 1996.
19. Sanchez-Cespedes M, Ahrendt SA, Piantadosi S, Rosell R, Monzo M, Wu L, et al. Chromosomal alterations in lung adenocarcinoma from smokers and nonsmokers. *Cancer Res* 2001;61:1309-13.