

PERAN p53 SEBAGAI JALUR KRITIS PADA MEKANISME KONTROL SIKLUS SEL SEBAGAI PENCEGAH TERJADINYA KANKER MULUT

Herlia NI * dan Auerkari EI **

*Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Prof. Dr. Moestopo (B)

**Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

Herlia NI dan Auerkari EI : Peran p53 sebagai jalur kritis pada mekanisme kontrol siklus sel sebagai pencegah terjadinya kanker mulut. 2002; 9(2) : 30 - 34

Abstract

In cell cycle control, p53 acts as an emergency brake, where its important checkpoint function is to maintain the genome integrity by preventing the formation and proliferation of mutant cells. P53 activity is increased by DNA damage occurs caused by agents (such as radiation, UV light or drugs) or oncogenes. Mdm2 protein can inhibit the p53 activation, but oncogenes can inhibit Mdm2 or activate p53. If DNA damage occurs, then p53 prevents the cells from replicating their DNA by arresting the cell cycle, so that the cells can repair the damage. Alternatively, p53 instructs the cells to undergo apoptosis by inducing bax gene expression, so that irregular cell growth, and cancer can be avoided. Cancer, including oral cancer, oftentholved cells with altered p53. Exogenous factors, such as tobacco and alcohol, presumably plays a role in triggering p53 mutations. Several techniques, such as immunohistochemistry and PCR can be used to investigation ther etiology and development of oral cancer. The results hopefully be applied clinically in early detection, prevention and prediction of cancer. This paper discusses the role on p53 in preventing the occurrance and proliferation of mutated cells that lead to cancer, including oral cancer.

Pendahuluan

Gen p53 merupakan komponen genom yang berkaitan dengan perkembangan kanker manusia^{1,2}. Nama gen p53 ini sesuai dengan produk yang dikodenya, yaitu polipeptida yang memiliki berat molekul 53,000 dalton. Pada tahun 1990, p53 dikenal sebagai gen supresor tumor. Tidak adanya p53 dapat menyebabkan gangguan keturunan seperti sindrom Li-Fraumeni, penderita sindrom ini terjangkit kanker tertentu, seperti kanker payudara, otak & leukimia¹.

Protein p53 berperan sebagai penjaga integritas genom yang melindungi & mencegah sel-sel bertransformasi menjadi ganas. Pada siklus sel, p53 merupakan salah satu checkpoint penting untuk mengenali sesuatu telah menyimpang misalnya DNA telah dirusak atau sel sedang distimulasi oleh oncogen & segera menunda siklus sel untuk menghambat sel menjadi kanker. Jadi p53 merupakan gen penghambat yang umum dalam kanker. Mdm2 adalah gen yang mengatur aktifitas p53 dengan cara menghambatnya. Aktifitas Mdm2 sendiri dihambat oleh oncogen. Oncogen menghambat Mdm2 & meng-

aktifkan p53 dengan cara menginduksi ekspresi dari protein supresor tumor misalnya p19ARF¹⁻³.

p53 merupakan suatu DNA-binding protein yang berperan pada regulasi ekspresi gen yang terlibat dalam penghentian siklus sel & apoptosis. Jika p53 mengenali sesuatu pada sel telah menyimpang maka ia memberitahu sel untuk menunda siklusnya agar sel dapat memperbaiki kerusakan yang ada, atau memberitahu sel untuk apoptosis sehingga pertumbuhan sel yang tidak beraturan seperti kanker dapat dihindari^{1,2}.

Pada beberapa penelitian diketahui bahwa p53 adalah senjata anti-tumor

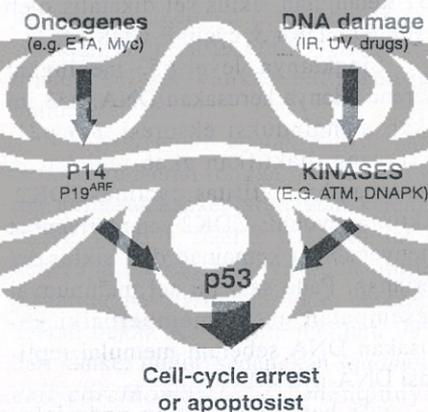
yang penting. Hal ini berdasarkan fakta bahwa 50% dari semua kanker manusia mengandung sel-sel dengan mutasi poin atau hilangnya kedua alel dari gen p53. Kanker rongga mulut merupakan kanker yang menempati posisi ke 6 pada populasi umum & pada negara berkembang menempati posisi ke 3. Pada pasien yang terjangkit kanker ini, sekitar 50%-nya meninggal dalam waktu 5 tahun setelah diagnosa, sementara pasien yang bertahan akan menderita kerusakan estetika & gangguan fungsional. Walaupun jumlah kematian akibat kanker ini telah berkurang pada 2 dekade terakhir, namun laju survival kanker selama 5 th ialah yang terendah, jauh dibawah kanker lainnya, seperti testis, payudara, kolon, rektum & ginjal³. Resiko terjadinya kanker mulut dapat dikurangi dengan mengetahui etiologi & perkembangan kanker mulut yang dapat dideteksi melalui sel-sel yang bertransformasi akibat gen yang mutan & hasil ini secara klinis dapat diaplikasikan sebagai indeks penting yang berguna untuk deteksi awal, pencegahan & prediksi dari munculnya kanker^{2,3}. Dengan dasar itu, pada makalah ini dibahas mengenai peran p53 sebagai jalur kritis yang dapat mencegah terjadinya sel - sel mutasi yang mengarah pada terjadinya kanker, termasuk kanker rongga mulut.

Peran p53 dalam menjaga integritas genom

Terjaganya integritas genom suatu organisme sepanjang hidupnya sangat penting untuk kelanjutan generasi penerus suatu organisme yang stabil. Gen yang terlibat dalam menjaga stabilitas genom akan mengenali respons seluler yang dapat merusak integritas genom dan mengarahkan siklus sel menuju ke perbaikan atau mengeliminasi sel yang rusak^{1,3}. p53 merupakan gen yang menjaga stabilitas genom secara aktif dengan meregulasi duplikasi sentrosomnya².

Regulasi p53 melalui level proteinnya. Jika p53 distimulasi maka level proteinnya akan bertambah. Negatif regulator yang penting pada level protein p53 ialah Mdm2, yaitu suatu gen yang responsif terhadap p53. Dalam hal ini dapat terjadi negative feedback loop yaitu p53 yang aktif akan menambah level Mdm2, sementara level Mdm2 yang tinggi akan menghambat aktifitas p53. Jadi supaya p53 teraktifasi maka level Mdm2 harus diturunkan atau dihambat.

Sel menghambat Mdm2 tergantung dari situasi, misal adanya agen perusak DNA, seperti radiasi & sinar UV, akan menginduksi pengaktifan dari enzim kinase (seperti ATM & DNA-PK) yang dapat memfosforilasi residu serine pada domain pelekat Mdm2 di p53. Jika difosforilasi, p53 tidak lagi melekat ke Mdm2. p53 yang bebas dapat teraktifasi oleh agen perusak DNA. Mekanisme lain untuk menghambat Mdm2 ialah oncogenes, suatu protein mutan aktif yang terus menerus memberitahu sel agar tumbuh (seperti ras, E1A & myc). Oncogen menghambat Mdm2 dengan cara menginduksi ekspresi protein supresor tumor yaitu p19^{ARF}. p19 ini yang akan mengaktifkan p53, agar sel tumbuh terkendali. Jadi p53 mengenali saat kritis ini¹⁻³. Gambar 1

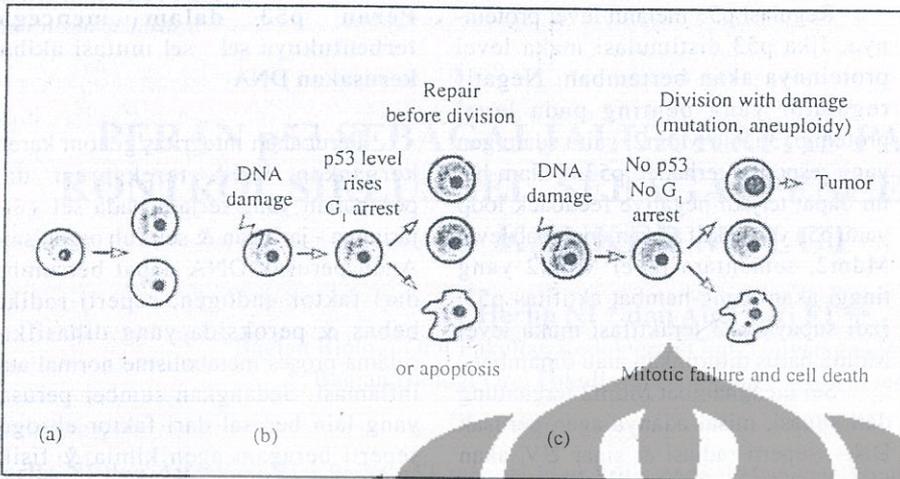


Gambar 1. p53 diaktifasi oleh oncogene atau adanya agen perusak DNA yang menghambat aktivasi Mdm2. Jika terjadi kerusakan DNA, p53 akan menginduksi penundaan siklus sel atau apoptosis.⁴

Peran p53 dalam mencegah terbentuknya sel sel mutasi akibat kerusakan DNA

Perubahan integritas genom karena kerusakan DNA tereksresi dari perubahan yang terjadi pada sel - sel, jaringan - jaringan & seluruh organisme. Agen perusak DNA dapat bersumber dari faktor endogen, seperti radikal bebas & peroksida yang dihasilkan selama proses metabolisme normal atau inflamasi. Sedangkan sumber perusak yang lain berasal dari faktor eksogen seperti beragam agen kimia & fisika pada lingkungan yaitu nikotin, alkohol, sinar UV & radiasi, atau efek samping dari pengobatan kanker seperti kemo-terapi. Agen perusak DNA ini merupakan sinyal ekstra seluler (ligand) yang akan mengaktifkan p53¹⁻³.

Pada siklus sel, p53 yang teraktifasi ini adalah salah satu checkpoint penting yang akan mengetahui jika sesuatu dalam sel telah menyimpang. Checkpoint ini penting untuk menunda siklus sel dari G1 ke S & dari G2 ke M. Siklus sel yang tertunda ini memberikan kesempatan bagi sel untuk mencegah replikasi dari DNA yang rusak atau memisahkan kromosom yang rusak sehingga kehidupan sel yang normal tetap terjaga & membatasi laju dari kesalahan genetik yang dapat diturunkan. Jika replikasi terjadi, maka akan diproduksi sel-sel mutasi yang dapat menjadi kanker. Jadi p53 mengenali kapan sel telah mengalami kerusakan DNA & menunda siklus sel sehingga sel tersebut dapat memperbaiki kerusakannya, atau pada kasus-kasus tertentu, memberitahu sel untuk apoptosis (gambar 2)¹⁻³.



Gambar 2. Peran p53 sebagai jalur kritis pada kerusakan DNA. (a) Pembelahan sel biasanya tidak memerlukan p53. (b) Namun jika DNA suatu sel rusak akibat mutagen, maka level p53 meningkat & beraksi dengan menunda laju sel meninggalkan G1 atau mengarahkan sel menuju apoptosis. (c) Jika gen p53 tidak berfungsi, sel tidak mampu menunda siklus sel atau melakukan apoptosis setelah kerusakan DNA. Hasilnya, sel mati dari kegagalan mitosis atau terus berproliferasi dengan mengandung abnormalitas genetik yang dapat menyebabkan pembentukan dari pertumbuhan ganas.¹

p53 menginduksi ekspresi p21 untuk menunda siklus sel.

Level p53 pada tahap G1 dari siklus sel sangat rendah, tapi jika pada tahap ini sel mengalami kerusakan genetik, maka konsentrasi p53 meningkat drastis. Peningkatan level p53 ini disebabkan karena peningkatan level translasi dari mRNA p53 yang sudah ada & penurunan degradasi sel¹. Protein p53 merupakan faktor transkripsi yang dapat mengaktifkan ekspresi dari gen lain, seperti p21^{1,5}. p21 (p21^{Waf/Cip1}) merupakan bagian dari CKI (CIP/KIP family-cyclin dependent kinase inhibitor) yang dapat melekat & menghambat kompleks cyclin-CDK (cyclin-dependent kinase). CKI merupakan regulator negatif yang berfungsi pada proliferasi, kontrol checkpoint & supresor tumor. Berbagai kompleks cyclin-CDK diperlukan untuk memfosforilasi beberapa protein substrat yang penting untuk mendorong siklus sel, inisiasi replikasi DNA, atau terjadi-

nya mitosis. Selain untuk menentukan dimulainya tahap S atau mitosis, kompleks ini juga berperan penting untuk menghalangi inisiasi siklus sel pada saat yang salah. Setiap tahap pada siklus sel diregulasi oleh kompleks cyclin-CDK yang berbeda-beda, misalnya pada tahap G1 kelanjutan siklus sel dikatalis oleh cyclinD-CDK4 & cyclinE-CDK2⁵⁻⁸.

Singkatnya, level p53 meningkat karena adanya kerusakan DNA. p53 ini akan menginduksi ekspresi gen p21. p21 yang diaktifkan akan melekat & menghambat aktifitas cyclinE-CDK2. Aktifitas cyclinE-CDK2 yang terhambat menyebabkan kemajuan dari siklus sel tertahan. Pada saat ini sel mempunyai kesempatan untuk memperbaiki kerusakan DNA sebelum memulai replikasi DNA-nya^{1,5-8}.

p21 berperan penting pada jalur respon kerusakan DNA & merupakan target transkripsi dari protein supresor tumor, p53. Fungsi p53 yang hilang akan menyebabkan checkpoint tidak berfungsi sehingga tidak ada respon

terhadap kerusakan DNA. Posisi penting dari p21 terhadap kerusakan DNA & kontrol siklus sel, mengindikasikan bahwa p21 diperlukan untuk beberapa atau semua efek dari p53⁸.

Jika kerusakan DNA telah diperbaiki & sel telah melalui R (restriction point), maka p53 harus dihambat agar siklus sel dapat berlanjut ketahap S dengan mengaktifkan CDK. Dua CDK diaktifkan pada akhir G1 & pada tahap S yaitu : CDK2 & cdc2 (CDK1). Aktifitas CDK2, yang melekat ke cyclin E atau cyclin A, akan bertambah pada akhir G1. Peningkatan aktifitas ini yang kemudian akan memfosforilasi p53 & mengeluarkannya dari nukleus supaya tidak mencampuri sintesa DNA. Jadi, CDK2 & cdc2 diduga menahan p53 didalam sitoplasma saat sel tersebut tidak pada tahap G1⁵.

p53 menginduksi ekspresi gen bax untuk apoptosis.

Penundaan siklus sel bukan satu-satunya cara dari p53 untuk melindungi organisme dari kanker. Sebagai pilihan lain, p53 dapat mengarahkan sel yang rusak secara genetik mengambil jalur apoptosis, sehingga sel-sel dengan potensi menjadi ganas akan mati^{1,2,9,10}. Jalur ini umumnya digunakan oleh sel yang mempunyai laju proliferasi tinggi, seperti sel turunan hematopoietik & limfoid, sedangkan sel-sel epitel & fibroblas cenderung untuk melakukan penundaan pertumbuhan². Pada kondisi normal homeostasis jaringan dijaga oleh keseimbangan antara proliferasi seluler & apoptosis. Apoptosis merupakan mekanisme kematian sel terprogram yang dapat dipicu oleh berbagai sinyal intraseluler & ekstraseluler, seperti infeksi virus, faktor pertumbuhan, ligan Fas & TNF-a serta kerusakan DNA setelah iradiasi maupun obat kemo-terapi¹⁰. Sel-sel yang apoptosis ditandai dengan beberapa perubahan morfologi. Tanda awal apoptosis ialah eksposisi fosfatidilserin pada permukaan sel.

yang normalnya berada pada lapisan luminal dari membran sitoplasma. Kemudian diikuti pembelahan DNA & kondensasi kromatin. Akhirnya sel hancur menjadi fragmen-fragmen membran & badan-badan apoptosis, yang dengan cepat difagositosis & dicerna oleh makrofak⁹.

Inisiasi apoptosis merupakan proses yang sangat terkoordinir & teratur. p53 adalah salah satu faktor yang dapat menginduksi terjadinya apoptosis. Protein p53 menginduksi apoptosis dengan mengaktifkan ekspresi gen bax untuk memulai apoptosis^{1,2,9,10}. Bax menginduksi apoptosis pada sel-sel mamalia dengan mengaktifasi *ICE protease (IL-1B converting enzyme)* yang memperantarai pembelahan beberapa protein termasuk matrik nuklear & nuclear envelope, yang akhirnya menuju ke fragmentasi DNA⁸. Respon apoptosis sendiri dapat diblok oleh berbagai faktor seperti *bcl-2 pro survival*².

Pada beberapa penelitian, apoptosis yang diinduksi oleh p53 memusnahkan sel-sel displasia yang muncul setelah terpapar sinar UV pada kulit & setelah kerusakan DNA pada epitel intestin kecil. Apoptosis yang diinduksi p53 ini menjadi jalur kritis untuk menghancurkan sel-sel tumor dengan terapi genotoksik seperti radiasi & agen-agen kemoterapi. Agen-agen sitotoksik tidak membunuh sel-sel tumor secara langsung namun ia menginduksi jalur apoptosis. Jadi, efektifitas agen kemoterapi berkorelasi dengan kemampuannya untuk memicu apoptosis yang diinduksi p53².

p53 dapat dianggap sebagai rem darurat, karena didasari pada rendahnya level p53 pada jaringan sehat & pentingnya p53 dalam menjaga homeostasis jaringan normal. Jadi p53 adalah salah satu checkpoint yang mengenali jika sesuatu dalam sel telah menyimpang & memberitahu sel untuk berhenti tumbuh agar sel dapat memperbaiki kerusakan yang ada atau memberitahu sel untuk apoptosis yang mencegah pertumbuhan sel-sel mutasi. Jadi p53

relevan terhadap kanker & gen penghambat yang umum dalam kanker^{1,2,9,11}.

Profil p53 mutan pada kanker rongga mulut

Hilangnya fungsi p53, melalui mekanisme mutasi ataupun non mutasi, akan mengganggu stabilitas genom & hilangnya faktor utama yang menghambat tumbuhnya tumor¹⁻³. Pentingnya p53 sebagai senjata anti-tumor dibuktikan pada beberapa penelitian, bahwa 50% dari semua kanker manusia mengandung sel-sel dengan point mutation atau hilangnya kedua alel gen p53. Pada sel dengan p53 mutan, produknya tidak lagi fungsional, sel tersebut tidak dapat menghasilkan p21 inhibitor atau melakukan kontrol umpan balik yang menunda siklus sel masuk ke tahap S jika ia tidak siap¹. Suatu tumor yang mengandung sel-sel dengan p53 yang mutasi ini cenderung lebih agresif & lebih mudah bermetastase dibandingkan p53 normal. Jadi, hilangnya fungsi p53 menyebabkan sel-sel dengan kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki atau dimusnahkan namun berlanjut ke replikasi DNA yang rusak. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya mutasi acak, *chromosomal rearrangements*, & *aneuploidy* yang memicu pertumbuhan sel-sel kanker menuju status ganas termasuk sel-sel kanker pada rongga mulut².

Kanker mulut adalah kanker yang terdapat didaerah rongga mulut & faring, termasuk kanker bibir, lidah, kelenjar saliva, gingiva, daerah dasar mulut & beberapa daerah lainnya pada mulut, orofaring, nasofaring, faring & beberapa daerah bukal. Karsinoma meliputi 99% dari kanker mulut, sedangkan *squamous cell carcinomas (SCC)* mempunyai presentasi 91% dari kanker mulut³. Tembakau & alkohol merupakan faktor resiko terpenting memicu SCC pada rongga mulut. Virus, terutama *human papillomavirus (HPV)* telah lama dihubungkan dengan oral carcinogenesis.

Selain beberapa faktor eksogen yang telah disebutkan, faktor endogen yaitu keadaan genetik diasumsikan membawa kontribusi yang sangat penting untuk memicu terjadinya kanker mulut. Ini terbukti dari beberapa penelitian bahwa sebagian besar populasi yang terpapar faktor eksogen tidak terkena kanker mulut, sementara itu ada fakta bahwa remaja & non-perokok / non-peminum justru terkena kanker ini. Hal ini diduga kuat karena adanya keadaan genetik yang diproduksi oleh perubahan kromosom yang diinduksi faktor-faktor resiko. Keadaan ini dideteksi pada pemeriksaan perubahan histopatologi yang terjadi pada SCC rongga mulut^{2,3}.

Perokok & pengguna tembakau berkaitan dengan mutasi gen p53 pada SCC di kepala & leher. Dengan teknik imunohistokimia, ekspresi p53 terlihat pada tumor mulut dari pasien yang perokok & peminum berat. Teknik PCR (*Polymerase Chain-Reaction*) telah banyak digunakan untuk mendeteksi kaitan antara riwayat penggunaan tembakau & alkohol terhadap tingginya frekwensi mutasi p53 pada pasien-pasien dengan SCC di kepala & leher. Mutasi p53 yang umum ialah perubahan GC ke TA & GC ke AT. Tranversi ini ditemukan juga pada kanker paru-paru, diduga karena adanya komponen mutagenik dari asap rokok, seperti *polycyclic aromatic hydrocarbon benzo (a)pyrene*³.

Pada HVP, p53 yang berinteraksi dengan protein oncogenik E6 HPV mempercepat degradasi protein p53 oleh sistem proteolisis yang diperantarai ubiquitin. Interaksi serupa terlihat untuk protein E7 HPV dengan pRB, yang menghambat regulasi dari aktifitas faktor transkripsi famili E2F, sehingga berpengaruh terhadap pola proliferasi dari sel-sel yang terkena. Berdasarkan bukti, laboratorium & epidemi yang berkaitan antara infeksi HPV & kanker servik, HPV dianggap sebagai salah satu etiologi dari kanker servik. Diduga mekanisme yang serupa

juga terlibat pada pertumbuhan kanker mulut 3. Namun interaksi HPV & p53 dalam kanker mulut yang berkaitan dengan betel, urutan HPV 11 & atau HPV 16 dideteksi hanya ada 2 dari 30 tumor yang diteliti, hal ini menunjukkan bahwa infeksi HPV tidak berkorelasi langsung terhadap laju mutasi p53.²

Teknik imunohistokimia dalam digunakan untuk mendeteksi adanya kelainan ekspresi protein p53 pada lesi pra kanker mulut dan SCC, sehingga dapat diperkirakan kemungkinan terjadinya proses karsinogenesis pada sel epitel mukosa mulut. Dinamika proliferasi sel yang diteliti melalui teknik ini meliputi *hyperkeratosis (HK)*, *epithelial dysplasia (ED)* & *SCC*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa sel-sel positif PCNA pada HK & ED sebagian besar terisolir dalam lapisan sel parabasal & suprabasal. Pada SCC, distribusi dari sel-sel ini sebagian besar ditemukan di sekeliling kantong sel kanker dalam berbagai bentuk, & jumlah sel-sel ini berkurang kearah pusat kantong tadi. Distribusi sel-sel ini berhubungan dengan aktifitas proliferasi SCC yang tidak rata & cenderung meningkat sesuai dengan laju keganasan lesi. Indeks dari PCNA berguna untuk mengetahui tingkat kelajuan dari proses kanker dalam sel epitel.

Teknik imunohistokimia pada protein p53 mendeteksi sel-sel positif p53 memperlihatkan over ekspresi dari protein p53 mutan & memiliki paruh hidup lebih panjang dibandingkan normalnya. Pada SCC, distribusi sel

positif p53 agak tersebar, sementara pada HK & ED, sel positif agak terlokalisir dalam lapisan parabasal & atau suprabasal. Level protein p53 bertambah seiring dengan lajunya lesi & ekspresi lebih tinggi pada lesi yang menunjukkan atypia. Hasil-hasil ini menunjukkan bahwa ekspresi protein p53 berkorelasi dengan kecenderungan proliferasi dari sel-sel tersebut. Diduga bahwa over-ekspresi dari protein p53 mutan mengindikasikan kemungkinan sel-sel berproliferasi & hasil ini secara klinis dapat diaplikasikan sebagai indeks penting yang berguna untuk deteksi awal, pencegahan & prediksi dari munculnya kanker yang berulang kali¹⁰.

p53 mencegah proliferasi sel-sel yang mutasi dengan meregulasi ekspresi gen yang terlibat dalam penghentian siklus sel & apoptosis. Jika terjadi kerusakan DNA, maka p53 akan menunda siklus sel agar sel dapat memperbaiki kerusakan yang ada dengan menginduksi ekspresi gen p21, atau jika semuanya gagal, p53 memberitahu sel untuk apoptosis dengan menginduksi ekspresi gen bax sehingga pertumbuhan sel yang tidak beraturan seperti kanker dapat dihindari.

Daftar Pustaka

1. Karp G. *Cell and Molecular biology*. 2nd ed. New York : John Wiley & son Inc 1999 : 609-16, 710-13.
2. Moll U.M & Schramm L.M. p53-an acrobat in tumorigenesis. *Critical Review in Oral Biology & Medicine* 1998; 9(1):23-37
3. Wong D.T.W. et. al. Molecular Biology of Human Oral Cancer. *Critical Review in Oral Biology & Medicine* 1996; 7(4):319-328
4. De Stanchine et al. *Genes and Develop* 1998; 12:2434042
5. Brugarolas J, Bronson RT & Jacks T. p21 is a critical CDK2 regulator essential for proliferation control in RB-deficient cells. *The journal of cell biology* 1998; 141(4):503-513
6. Meijer L. Chemical inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Trends in cell biology* 1996; 6(10):393-397
7. Castellanos CM & Moreno S. Recent advances on cyclins, CDKs and CDK inhibitors. *Trends in cell biology* 1997; 7(3):95-98
8. Elledge SJ, Winston J & Harper JW. A question of balance : the role of cyclin-kinase inhibitors in development and tumorigenesis. *Trends in cell biology* 1996; 6(10):388-391
9. Madeo F. et al. A Yeast Mutant Showing Diagnostic Markers of Early and Late Apoptosis. *The Journal of Cell Biology* 1997; 139(3):729-734
10. Lavoie J.N. E4orf4, a Novel Adenovirus Death Factor That Induces p53-independent Apoptosis by a Pathway That Is Not Inhibited by zV AD-fmk. *The Journal of Cell Biology* 1998; 140(3):637-645
11. Fujii Y. & Satoh M. Immunohistochemical Study of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) & p53 Protein in Oral Precancerous Lesions and Squamous Cell Carcinomas. *Dentistry in Japan* 1998; 34:17-20