

〔原著〕

## 歯原性上皮細胞のマイグレーションにおける成長因子とケモカインの相互作用

村田 佳織<sup>1)</sup>, 石田 成美<sup>1)</sup>, 齊藤 正人<sup>2)</sup>, 谷村 明彦<sup>1)</sup>

1) 北海道医療大学口腔生物学系薬理学分野

2) 北海道医療大学口腔構造機能発育学系小児歯科学分野

## Effects of growth factor and chemokine on the migration of the dental epithelial cell

Kaori MURATA<sup>1)</sup>, Narumi ISHIDA<sup>1)</sup>, Masato SAITOH<sup>2)</sup>, Akihiko TANIMURA<sup>1)</sup>

1) Division of Pharmacology, Department of Oral Biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

2) Division of Pediatric Dentistry, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

**Key words** : Dental epithelial cell, Migration, Epidermal Growth Factor (EGF), C-X-C motif chemokine Ligand 12 (CXCL12)

## Abstract

Cell migration is a crucial cell function, and involved in many biological processes including embryo genesis, wound healing, and cancer metastasis. In tooth morphogenesis, the interactions between the dental epithelium and mesenchyme are important for the proliferation and differentiation of the cells involved, and contribute to form the right number and shape of teeth. In these processes, cell migration plays an important role.

The SF2 cell is a preameloblast cell line originating from dental epithelium, and this study examined the factors controlling migration of SF2 cells. And, we identify factors controlling the migration of SF2 cells.

Observation of DIOC6-stained SF2 cells using confocal laser scanning microscopy suggested that the migration of SF2 cells are controlled by factors present in the serum. For a more quantitative analysis, we examined the effect of serum on the cell migration using the Oris™ cell migration assay kit, and confirmed that the cell migration of SF2 cells

increased in the presence of serum. This serum-dependent cell migration was inhibited by gefitinib, an epidermal growth factor (EGF) inhibitor, indicating some role of EGF in the migration. Next we examined the effects of EGF and the C-X-C motif chemokine ligand 12 (CXCL12) on the migration in serum-free conditions. Neither EGF nor CXCL12 promoted cell migration. However, addition of EGF and CXCL12 promoted the cell migration to an extent comparable to that with serum present. It has been known that EGF and CXCL12 respectively activate a tyrosine kinase receptor EGF receptor and the G<sub>i</sub> protein-coupled receptor CXCR4. The results here suggest that simultaneous activation of these two pathways is necessary for the migration of SF2 cells. Addition of EGF and CXCL12 in the presence of serum did not increase cell migration further, suggesting that the factors, including the cytokine and chemokines in serum are sufficient for cell migration.

## 緒 言

細胞のマイグレーションは細胞の形態形成や、発生において重要な細胞運動である。胎生期では原腸形成の際に胚盤胞の細胞が集団で移動して、胚の外胚葉、中胚

葉、内胚葉を構成する。さらにこれらの細胞が目標とする場所に移動し、分化をすることが報告されている (Horwitz & Webb, 2003)。発生段階では、様々な臓器や器官が形成されるときに正しいマイグレーションが必要となってくると考えられ、歯の形成においても同様であ

ると考えられる。

歯の原基である歯胚は、口腔上皮由来の歯原性上皮細胞と神経堤由来の間葉細胞から形成される (Thesleff, 2003; Nakamura et al., 2008)。歯はこれらの細胞の上皮-間葉相互作用により生じ、肺や腎臓など他の多くの器官の発生と多くの類似性を持っている。歯胚から歯が形成されていく過程では、細胞増殖、細胞分化、細胞移動、細胞死が制御され、形態形成が行われる。この過程において、マイグレーションは重要な役割を担っていると考えられる。

歯の発生過程は開始期、増殖期、組織分化期、形態分化期、添加期、石灰化期、萌出期を経て、口腔内に歯が萌出する。この過程では、歯原性上皮細胞は、アメロゲンやアメロプラスチン (AMBN) といったエナメルタンパクを分泌するエナメル芽細胞へと分化し、エナメル質の形成をする (He et al., 2010; Nakamura et al., 2017)。間葉細胞は象牙芽細胞や、歯髄幹細胞などに分化し、象牙質や歯髄などを形成する (Nakamura et al., 2017; Liu et al., 2018)。エナメル質や象牙質を形成し、歯の形態を形成していく過程では、細胞の正しい整列や遺伝子発現が重要であると考えられ、異常を生じると歯の形成不全が生じる。

ラット歯原性上皮細胞株 (SF2細胞) は前エナメル芽細胞株として歯の発生メカニズムの研究に用いられており、AMBN高発現型のSF2細胞がマウス由来iPS細胞をエナメル芽細胞へ分化誘導させることや、歯髄幹細胞を象牙質シアロリントタンパク質発現細胞へ分化誘導させることが報告されている (Arakaki et al., 2012)。一方、このSF2細胞のマイグレーションに関する知見はほとんど得られていない。

マイグレーションには増殖因子やケモカインが関与することが知られている (Qiang et al., 2004; Agle et al., 2011; Maretzky et al., 2011; Sokol & Luster, 2015)。増殖因子の1つである上皮成長因子 (EGF) は、扁平上皮癌細胞であるSAS細胞のマイグレーションを促進することが報告されている (Ohnishi et al., 2017)。ケモカインはサイトカインの一種であり、ケモカインの1つであるCXC chemokine ligand 12 (CXCL12) はCXC chemokine receptor 4 (CXCR4) に結合することが知られている (Busillo & Benovic, 2007)。マウス前エナメル芽細胞であるmHAT9細胞はCXCL12の存在下で細胞の運動性を示すことが報告されており (Yokohama-Tamaki et al., 2015)、CXCR4/CXCL12シグナルが歯の幹細胞が維持されているニッチからの歯原性上皮細胞のマイグレーションを制御していることが示唆されている。そこで本

研究では、EGFとCXCL12に着目してSF2細胞のマイグレーションを制御する因子について検討した。

## 材料および方法

### 1. 材料

SF2細胞は東北大学福本教授より供与された。培養液には56°Cで30分間非動化した10% fetal bovine serum (FBS, HyClone, Buckinghamshire, England) 含有 Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 Ham (DMEM/F12, Gibco, MA, U.S.A.) を使用した。

### 2. 試薬

試薬にはEpidermal growth factor (EGF, R&D SYSTEMS, MN, U.S.A.), Stromal Cell-Derived Factor-1  $\alpha$ , Human, recombinant (CXCL12, Wako, Osaka, Japan), EGF受容体の選択的阻害剤 (Gefitinib, AOBIOUS, MA, U.S.A.) を使用した。また細胞膜の染色には3,3'-Dihexyloxycarbocyanine Iodide (DIOC6, Enzo Life Sciences, NY, U.S.A.) を使用した。

### 3. 共焦点レーザー顕微鏡解析

共焦点レーザー顕微鏡観察には、 $\times 40$ 油浸対物レンズ (NA=1.30, Nikon, Tokyo, Japan) を取り付けた共焦点レーザー顕微鏡システム (Nikon, C1) を用い、488nmの励起光で発生する蛍光を515nmのバンドパスフィルター (半値幅30nm) で選択し、DIOC6蛍光を取得した。

ライブイメージング観察では、35mmのGlass base dish (Iwaki, Shizuoka, Japan) に播種したSF2細胞を血清 (FBS) を加えたメディウム (DMEM/F12) で2~5日間培養し、この培地に2  $\mu$ M DIOC6を加えて10分間染色した後、培地を交換して共焦点レーザー顕微鏡観察を行った。この観察では、共焦点レーザー顕微鏡システムに装着した顕微鏡用培養装置 (TOKAI HIT, Shizuoka, Japan) を用い、37°C 5% CO<sub>2</sub>の培養条件下で30秒から2分間隔でDIOC6染色したSF2細胞の蛍光を取得した。

また一部の実験では、細胞をメディウムあるいは血清を加えたメディウムで6時間培養した後、2  $\mu$ M DIOC6を加えて10分間染色した。これらの細胞を4%パラホルムアルデヒドで10分間固定し、リン酸緩衝液で洗浄後にAqua-Poly/Mount (Polyscience, PA, U.S.A.) で封入して共焦点レーザー顕微鏡を行った。これらの画像は、画像解析ソフトウェアNIS-Elements (Nikon) を用いて解析した。

#### 4. 増殖能の測定

SF2細胞を96 well plate (FALCON, NY, U.S.A) に  $3 \times 10^5$  cells/mL で播種し、血清を含むメEDIUMで2日間培養した後に、メEDIUMのみ、血清を添加したメEDIUM、血清とGefitinib (1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M) を添加したメEDIUMに交換し、0時間と15時間後の増殖能の計測を行った。増殖能の計測にはCyQUANT<sup>®</sup> Cell Proliferation Assay Kit (invitrogen) を用いた。

#### 5. マイグレーションアッセイ

SF2細胞を  $3 \times 10^5$  cells/mL で96well plate (Oris<sup>™</sup> Cell Migration Assay kit, PLATYPUS TECHNOLOGIES, WI, U.S.A) に播種し、血清を添加したメEDIUM (DMEM/F12) 中で細胞がストッパーの周りを取り囲むまで培養した。培地をメEDIUMあるいは血清、Gefitinib, EGF, CXCL12を添加したメEDIUMに交換してストッパーを除去してから15時間培養した。ストッパーを除去した直後と培養15時間後の細胞不在領域の面積を計測し、減少した面積の割合を比較した (図1)。

#### 6. 統計処理

一元配置分散分析を行なったのち、Sceheffe法およびFisher法にて有意差検定を行なった。また、Kruskal Wallis検定を行なった。なお、有意水準  $p < 0.05$  で有意差ありとした。統計ソフトとしてエクセル統計を用いた。

## 結 果

#### 1. SF2細胞のマイグレーション

DIOC6で染色したSF2細胞のマイグレーションの様子を共焦点レーザー顕微鏡で観察した (図2)。SF2細胞

がガラス面に大きく広げた突起を変形させて動き回る様子が観察された (図2A)。この大きく広がった細胞突起は、固定した細胞でも観察された (図2B)。一方、培地から血清を除去すると辺縁が棘状に変化した細胞が多数観察された (図2C)。

そこでOris<sup>™</sup> Cell Migration Assay kitを使って、血清のマイグレーションへの影響を定量的に解析した。このシステムでは、シリコン製のストッパーの周囲に細胞を定着させた96 well plateを使用する方法である。ストッパーを除去すると円形の細胞不在領域に細胞が移動して面積が縮小するので、ストッパーを除去した直後 (図3A) と培養15時間後 (図3B-D) の細胞の浸潤が無い部分の面積を計測することによって、定量的にマイグレーションを計測することが出来る。

定量的解析により (図4)、血清非存在下ではアッセイ後15時間で、細胞不在領域が約50%閉鎖したのに対し (図3B, 図4)、血清存在下では約75%閉鎖した (図3C, 図4)。このことから血清存在下では、コントロール (血清非存在下) に比べてマイグレーションが促進することが示唆された。ただしこのアッセイには細胞増殖が影響する可能性があるため、血清存在下および非存在下で細胞数の変化を測定した。その結果、15時間の培養では血清存在下及び非存在下での細胞数に有意差は認められなかった (図5)。このことから血清存在下での細胞不在領域の閉鎖は、主にマイグレーションの促進によるものであることが明らかになった。

#### 2. マイグレーション促進機構の解析

血清によってマイグレーションが促進されることが明らかになったため、血清中に含まれるマイグレーション

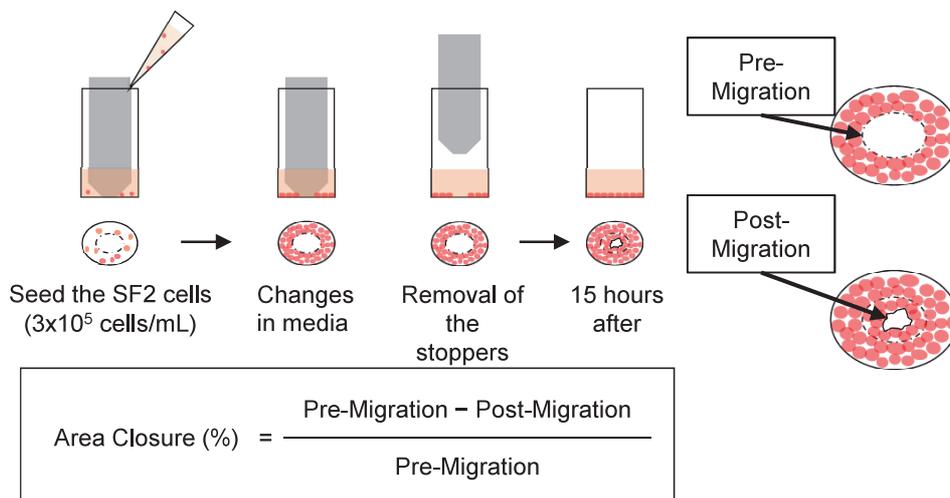


図1 Migration assayの模式図  
Oris<sup>™</sup> Cell Migration Assay Kitを用いた定量的マイグレーションアッセイの模式図。

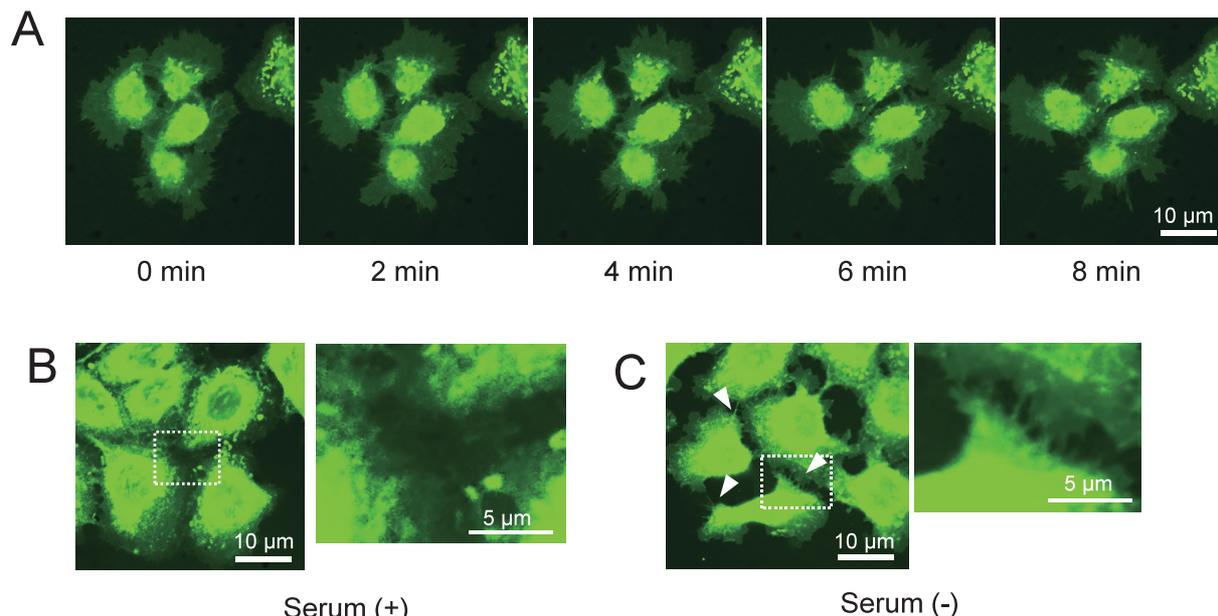


図2 血清存在下と非存在下でのSF2細胞形態変化

A: SF2細胞を2 $\mu$ M DIOC6で染色し, 血清存在下におけるマイグレーションを30秒毎に共焦点レーザー顕微鏡にて観察した. 図は2分毎の細胞の変化を表す. B, C: 血清存在下 (B) および血清非存在下 (C) で培養後, DIOC6で染色したのちに固定したSF2細胞の蛍光像. 左側の画像の点線部の拡大図を右側に示す. 血清非存在下 (C) では辺縁が棘状に変化した細胞が観察された (矢頭).

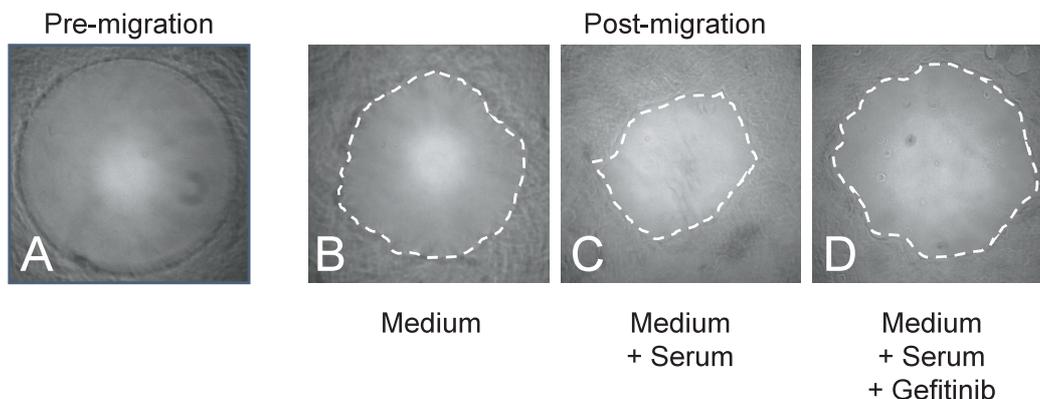


図3 SF2細胞の定量的マイグレーション計測

SF2細胞のマイグレーションをOris™ cell migration assay kitを使用した測定におけるアッセイ開始時 (pre-migration) と15時間後 (post-migration) の顕微鏡像. アッセイ開始時の顕微鏡像 (A) と, 血清を含まないメEDIUM (B), 血清を添加したメEDIUM (C), 血清とGefitinib (1  $\mu$ M) を添加したメEDIUM (D) で15時間培養後の顕微鏡像と細胞の境界 (点線) を示す.

に影響を及ぼす因子の解析を試みた. 血清に含まれるEGFは, 様々な細胞の増殖やマイグレーションに関与することが知られており, 無血清培地にも必須因子として添加される. そこで, SF2細胞のマイグレーションにおけるEGFの関与を調べるために, EGF受容体の阻害剤であるGefitinibの作用を検討した. Gefitinib (1  $\mu$ M) の添加により, 血清存在下における細胞不在領域の閉鎖が顕著に抑制された (図3D, 図4). また, 5  $\mu$ M Gefitinibでも同様の抑制作用が認められた (data not shown).

一方, 15時間培養後の細胞数はGefitinibの添加による有意な変化は認められなかった (図5). これらのこと

からGefitinib存在下での細胞不在領域の閉鎖の抑制はマイグレーションの抑制によるものであることが明らかとなった.

### 3. EGFによるマイグレーション促進機構の解析

Gefitinibが血清存在下のSF2細胞のマイグレーションを抑制したことから, EGFがマイグレーションの促進に関与することが示唆された. そこでまず, マイグレーションに対するEGF単独の作用を検討した. 図6に示すように血清を含まないメEDIUMにEGFを添加したがマイグレーションは促進されなかった. そこで次に, ケモ

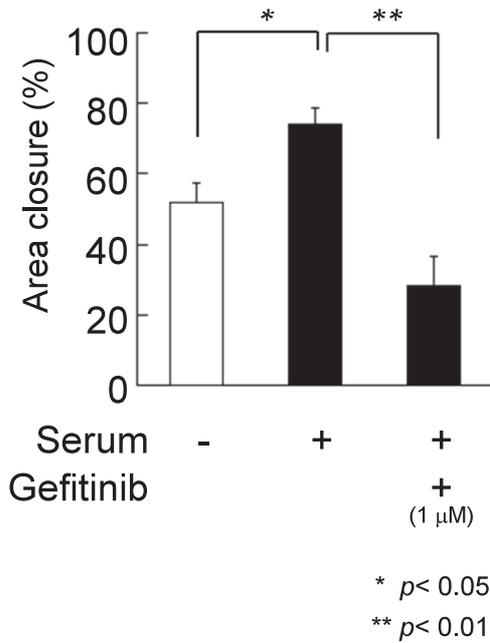


図4 SF2細胞のマイグレーションに対する血清とGefitinibの作用

血清非存在下（白）、血清存在下および血清存在下にGefitinib添加時（黒）におけるSF2細胞のマイグレーションを円の閉鎖率（%：Area closure）として定量的に示す。値は4～18回の実験の平均値±標準誤差を示す。\* $p < 0.05$ 、\*\* $p < 0.01$

カインであるCXCL12がマイグレーションに関与すると考えられたため、CXCL12の添加でマイグレーションが促進されるか検討した。血清を含まないメディウムへのCXCL12の添加ではマイグレーションは促進されなかつ

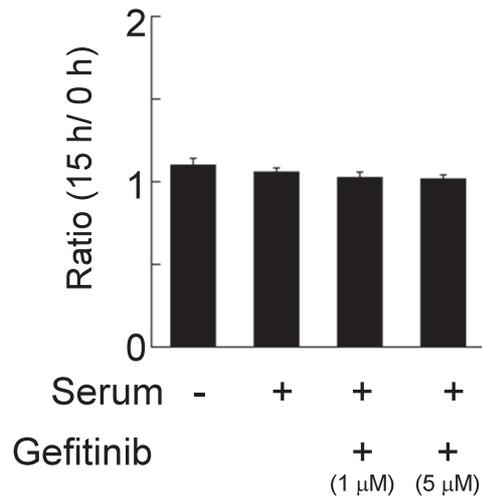


図5 SF2細胞の増殖能に対する血清とGefitinibの作用  
測定開始時の細胞数に対する培養15時間培養後の細胞数の変化の割合を血清非存在下、血清存在下、および血清と1 μMあるいは5 μMのGefitinib存在下で計測した。値は3～12回の実験の平均値±標準誤差を示す。血清存在・非存在やGefitinibの存在・非存在における増殖能に有意差はなかった。

たが、血清を含まないメディウムへのEGFとCXCL12の共添加をした場合は、血清と同等のマイグレーションの促進作用が認められた。一方、血清存在下でEGF、CXCL12、EGFとCXCL12を添加した場合は、血清のみと比較してマイグレーションは促進されなかつた。

### 考 察

本研究では共焦点レーザー顕微鏡観察による細胞形態

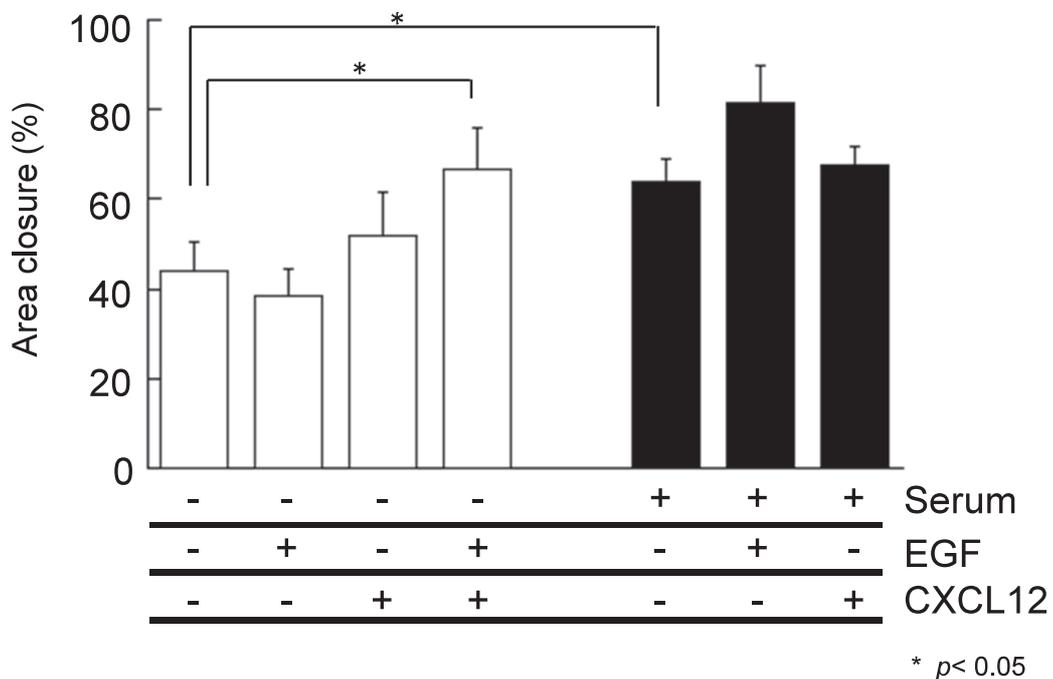


図6 SF2細胞のマイグレーションに対するEGFとCXCL12の作用

血清を含まないメディウムにEGF単独、CXCL12単独、EGFとCXCL12の共添加を行なった（白）、血清を含むメディウムへはEGF単独、CXCL12単独添加を行なった（黒）。値は4～10回の実験の平均値±標準誤差を示す。\* $p < 0.05$

の違いから、血清中のマイグレーションに必要な因子の存在が示唆された。そこでOris™ Cell Migration Assay kitを使った定量的マイグレーションアッセイによって、SF2細胞のマイグレーションに必要な因子を明らかにした。

マイグレーションアッセイでは、血清存在下において促進されるSF2細胞のマイグレーションがEGF受容体の阻害剤であるGefitinibによって抑制されたことからEGFの重要性が示された。そこでEGFの作用を明らかにするために、血清を含まない培養液へEGFを添加したが、マイグレーションの促進は起こらなかった。しかし、ケモカインのCXCL12をEGFと共添加することによって、血清存在下と同様にマイグレーションが促進された。CXCL12の単独添加ではマイグレーションが促進されなかったことから、EGFはケモカインなど血清中に含まれる因子との相互作用によってマイグレーションを促進すると考えられた。また血清を含む培養液にEGFやCXCL12をそれぞれ加えてもさらにマイグレーションが促進されるということはなかったことから、血清中のEGF、ケモカイン、その他の成分で十分マイグレーションが起ると考えられた。

EGFはチロシンリン酸化酵素内蔵型受容体の一種であるEGF受容体を介して作用する成長因子である。EGF受容体にはErbB1, ErbB2, ErbB3, ErbB4の4種類が知られている (Wang, 2017)。これらはErbBファミリーと呼ばれており、EGFの結合によって二量体化し、活性化された受容体チロシンキナーゼが受容体のチロシン残基をリン酸化する (Dawson et al., 2005; Zeng & Harris, 2014)。このチロシンリン酸化部位にSH2ドメインやPTBドメインなどのチロシンリン酸化結合ドメインを持つタンパク質が結合し、下流にシグナルを伝える。

下流の情報伝達経路にはRas-MAPキナーゼ経路、PI3キナーゼ-Akt経路、ホスホリパーゼC (PLC) -Ca<sup>2+</sup>-プロテインキナーゼC (PKC) 経路がある (Wells, 1999; Zeng & Harris, 2014)。扁平上皮癌細胞であるSAS細胞では、無血清培地へのEGFの添加によって、Aktのリン酸化を介してマイグレーションを促進することが報告されている (Ohnishi et al., 2017)。しかし、マイグレーションにおけるEGFの作用は細胞によって異なり、同じ扁平上皮癌の細胞であるHSC4細胞では無血清培地へのEGF添加はマイグレーションに影響しないことが報告されている (Ohnishi et al., 2017)。

CXCL12はStromal cell-derived factor1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ )とも呼ばれるケモカインであり、Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) であるCXCR4に結合する。CXCR4は分化、血管新生、器官形成、血液生成において必要な受容

体である (Busillo & Benovic, 2007)。マウス切歯では上皮系幹細胞が切歯の形成端部に球状に存在し (apical bud)、エナメル質を形成する細胞を恒常的に供給している。走化性因子の受容体としてよく知られるCXCR4はapical budに発現し、胚形成においてマイグレーションに関与していることや (Yokohama-Tamaki et al., 2015)、白血球や造血前駆細胞マイグレーションを制御していることが報告されている (Zou et al., 1998)。またがん細胞ではCXCR4が高発現し、細胞のマイグレーションに深く関与していることから、がん転移との関係が注目されている (Lu et al., 2001)。CXCR4はG<sub>i</sub>型のGPCRであり、Gタンパク質の $\alpha$ サブユニットがアデニル酸シクラーゼの活性を低下させてcAMPの濃度を低下させる。 $\alpha$ サブユニットは他にもSrc, Rasなどを介してERK1/2を活性化するなど様々なシグナル経路を活性化する (Busillo et al., 2010)。またGタンパク質の $\beta\gamma$ サブユニットはPLCやPI3キナーゼを活性化すると報告もある (Busillo & Benovic, 2007)。

このようにEGFおよびCXCL12はどちらもRas-MAPキナーゼ経路、PI3キナーゼ経路、PLC-Ca<sup>2+</sup>-PKC経路の活性化することが知られているが、細胞の種類によって主要な経路が異なると考えられる。

SF2細胞のマイグレーションはEGFとCXCL12のどちらか片方では促進されなかったため、マイグレーションにはCXCL12がGタンパク質共役型受容体に結合し伝達する経路と、EGFがチロシンリン酸化酵素内蔵型受容体に結合し伝達する経路の2つの異なった経路が必要であると考えられる。今後の課題として、SF2細胞のEGF受容体に関連するシグナル経路と、CXCR4に関連するシグナル経路を詳細に検討し、マイグレーションの調節機構を明らかにする必要がある。

## 結 論

EGFとCXCL12は、各々の単独作用では歯原性上皮細胞のマイグレーションを促進しなかった。しかし、それら両方が存在すると血清と同等のマイグレーション促進作用を示した。生体内では様々な成長因子やケモカインが協調してマイグレーションを制御していることが示唆された。

マイグレーションの調節には、チロシンリン酸化酵素内蔵型受容体やGタンパク質共役型受容体など異なる細胞内情報伝達系の協調が関与することが示された。

## 謝 辞

本研究には、北海道医療大学歯学会研究奨励金および

北海道医療大学健康科学研究所より交付された研究費(2016–2017)が利用された。

## 文 献

- Agle, K.A., Vongsa, R.A., & Dwinell, M.B. Chemokine stimulation promotes enterocyte migration through laminin-specific integrins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 301 : R968–R980, 2011.
- Arakaki, M., Ishikawa, M., Nakamura, T., Iwamoto, T., Yamada, A., Fukumoto, E., Saito, M., Otsu, K., Harada, H., Yamada, Y., & Fukumoto, S. Role of epithelial-stem cell interactions during dental cell differentiation. *J Biol Chem* 287 : R10590–R10601, 2012.
- Busillo, J.M., Armando, S., Sengupta, R., Meucci, O., Bouvier, M., & Benovic, J.L. Site-specific Phosphorylation of CXCR4 Is Dynamically Regulated by Multiple Kinases and Results in Differential Modulation of CXCR4 Signaling. *J Biol Chem* 285 : R7805–R7817, 2010.
- Busillo, J.M., & Benovic, J.L. Regulation of CXCR4 signaling. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 1768 : R952–R963, 2007.
- Dawson, J.P., Berger, M.B., Lin, C.-C., Schlessinger, J., Lemmon, M.A., & Ferguson, K.M. Epidermal Growth Factor Receptor Dimerization and Activation Require Ligand-Induced Conformational Changes in the Dimer Interface. *Mol Cell Biol* 25 : R7734–R7742, 2005.
- He, P., Zhang, Y., Kim, S.O., Radlanski, R.J., Butcher, K., Schneider, R.A., & DenBesten, P.K. Ameloblast differentiation in the human developing tooth : effects of extracellular matrices. *Matrix Biol* 29 : R411–R419, 2010.
- Horwitz, R., & Webb, D. Cell migration. *Curr Biol* 13 : R756–R759, 2003.
- Liu, Z., Chen, T., Han, Q., Chen, M., You, J., Fang, F., Peng, L., & Wu, B. HDAC inhibitor LMK-235 promotes the odontoblast differentiation of dental pulp cells. *Mol Med Rep* 17 : R1445–R1452, 2018.
- Lu, Z., Jiang, G., Blume-Jensen, P., & Hunter, T. Epidermal growth factor-induced tumor cell invasion and metastasis initiated by dephosphorylation and downregulation of focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol* 21 : R4016–R4031, 2001.
- Maretzky, T., Evers, A., Zhou, W., Swendeman, S.L., Wong, P.-M., Rafii, S., Reiss, K., & Blobel, C.P. Migration of growth factor-stimulated epithelial and endothelial cells depends on EGFR transactivation by ADAM17. *Nat Commun* 2 : R229, 2011.
- Nakamura, T., de Vega, S., Fukumoto, S., Jimenez, L., Unda, F., & Yamada, Y. Transcription factor epiprofin is essential for tooth morphogenesis by regulating epithelial cell fate and tooth number. *J Biol Chem* 283 : R4825–R4833, 2008.
- Nakamura, T., Jimenez-Rojo, L., Koyama, E., Pacifici, M., de Vega, S., Iwamoto, M., Fukumoto, S., Unda, F., & Yamada, Y. Epiprofin Regulates Enamel Formation and Tooth Morphogenesis by Controlling Epithelial-Mesenchymal Interactions During Tooth Development. *J Bone Miner Res* 32 : R601–R610, 2017.
- Ohnishi, Y., Yasui, H., Kakudo, K., & Nozaki, M. Regulation of cell migration via the EGFR signaling pathway in oral squamous cell carcinoma cells. *Oncol Lett* 13 : R930–R936, 2017.
- Qiang, Y.-W., Yao, L., Tosato, G., & Rudikoff, S. Insulin-like growth factor I induces migration and invasion of human multiple myeloma cells. *Blood* 103 : R301–R308, 2004.
- Sokol, C.L., & Luster, A.D. The chemokine system in innate immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7 : R1–R19, 2015.
- Thesleff, I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Sci* 116 : R1647–R1648, 2003.
- Wang, Z. ErbB Receptors and Cancer. *Methods Mol Biol* 1652 : R3–R35, 2017.
- Wells, A. EGF receptor. *Int J Biochem Cell Biol* 31 : R637–R643, 1999.
- Yokohama-Tamaki, T., Otsu, K., Harada, H., Shibata, S., Obara, N., Irie, K., Taniguchi, A., Nagasawa, T., Aoki, K., Caliari, S.R., Weisgerber, D.W., & Harley, B.A.C. CXCR4/CXCL12 signaling impacts enamel progenitor cell proliferation and motility in the dental stem cell niche. *Cell Tissue Res* 362 : R633–R642, 2015.
- Zeng, F., & Harris, R.C. Epidermal growth factor, from gene organization to bedside. *Semin Cell Dev Biol* 28 : R2–R11, 2014.
- Zou, Y.R., Kottmann, A.H., Kuroda, M., Taniuchi, I., & Littman, D.R. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 393 : R595–R599, 1998.