

间充质干细胞来源的凋亡微囊泡的抗炎与修复作用

周润润, 徐 皓, 刘紫妍, 曾 睿, 戴红卫*

重庆医科大学附属口腔医院正畸科, 重庆

收稿日期: 2024年11月27日; 录用日期: 2024年12月21日; 发布日期: 2024年12月31日

摘 要

间充质干细胞(MSCs)在免疫调节和组织修复方面发挥功效。然而, 大多数间充质干细胞在移植后不久发生凋亡并产生凋亡微囊泡(AposeVs), AposeVs既携带了与凋亡相关的标志物, 又携带了其供体细胞的蛋白、脂质、核酸以及细胞器, 它们是关键细胞间通讯介质, 可以对受体细胞产生不同的调节作用。在调控机体免疫应答、细胞迁移与分化、组织修复方面发挥作用。此文着重综述其在抗炎与组织修复方面发挥的重要作用。

关键词

凋亡囊泡, 间充质干细胞, 免疫调节, 组织修复

Anti-Inflammatory and Reparative Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Apoptotic Small Extracellular Vesicles

Runrun Zhou, Hao Xu, Ziyang Liu, Rui Zeng, Hongwei Dai*

Department of Orthodontics, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Nov. 27th, 2024; accepted: Dec. 21st, 2024; published: Dec. 31st, 2024

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) exert efficacy in anti-inflammatory and tissue regeneration. However, most mesenchymal stem cells undergo apoptosis shortly after transplantation and produce

*通讯作者。

文章引用: 周润润, 徐皓, 刘紫妍, 曾睿, 戴红卫. 间充质干细胞来源的凋亡微囊泡的抗炎与修复作用[J]. 临床个性化医学, 2024, 3(4): 2414-2419. DOI: 10.12677/jcpm.2024.34345

apoptotic small extracellular vesicles (AposEVs) that carry both apoptosis-related markers and proteins, lipids, nucleic acids, and organelles of their donor cells, which are key cell-to-cell communication mediators that can exert different regulatory effects on recipient cells. It plays a role in regulating the body's immune response, cell migration, cell differentiation, tissue regeneration. This article focuses on its important role in anti-inflammatory and reparative effects.

Keywords

Apoptotic Small Extracellular Vesicles, Mesenchymal Stem Cells, Immunomodulation, Tissue Repair

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 凋亡微囊泡的生物学特性

间充质干细胞移植治疗在炎症和组织缺损中发挥了良好的治疗效果,研究表明干细胞移植的治疗效果依赖于干细胞凋亡,因为移植后只有少数干细胞可以存活[1] [2]。凋亡是细胞的一种自我毁灭的过程,在不启动炎症反应的情况下引起一系列生物学事件,包括起泡、细胞收缩、核碎裂、染色质凝聚和染色体 DNA 片段化,人体内每天大约有 100~150 亿个凋亡细胞产生,以维持器官稳态,负责维持整个生物体的稳态平衡[3]。细胞凋亡是一种高度组织化和能量依赖性的过程,这种完全调节的分子机制是响应细胞内和细胞外环境刺激而触发的,其发生涉及多细胞生物体中的半胱天冬酶。它既在生理发育过程中发挥作用,也作为应对与细胞微环境破坏、DNA 损伤和肿瘤转化相关的病理现象的防御机制[4]。凋亡细胞表达或释放“find me”信号,如核苷酸、溶血磷脂酰胆碱和压裂菌碱,以吸引吞噬细胞,同时呈现“eat me”信号,如磷脂酰丝氨酸、钙网蛋白、膜联蛋白 A1 和血小板反应蛋白[5]。凋亡细胞经通过膜出芽或出泡形成膜包裹的囊泡被称作凋亡细胞外囊泡。这些细胞外囊泡含有其亲本细胞的成分,包括蛋白质、核酸和脂质等[6]。凋亡细胞外囊泡按照直径大小可以分为三类,包括 1 至 5 μm 的凋亡小体(ApoBDs)、0.1 至 1 μm 的凋亡囊泡(ApoMVs)和直径小于 150 nm 的凋亡外泌体(ApoExos) [7] [8]。其中, ApoBDs 由凋亡细胞的质膜起泡过程中形成, ApoMVs 通过质膜向外出芽和裂变产生, ApoExos 是通过多泡体与质膜融合并随后释放产生的。ApoMVs 和 ApoExos 具有相似的特性,通常合并称为微囊泡(AposEVs) [9]。作为凋亡细胞的产物, AposEVs 可以被免疫细胞(尤其是巨噬细胞)募集和吞噬,被吞噬和摄入后,它们可以抑制炎症。此外, AposEVs 可以从其亲本细胞继承信息和物质并将其递送给受体细胞[10],从而调控免疫调节和组织修复。与 MSCs 直接移植相比, MSCs-AposEVs 更能发挥干细胞的优势的同时可以避免干细胞移植的潜在风险,包括免疫排斥、干细胞再生能力减弱、致瘤性等[11]。

2. 凋亡微囊泡的免疫调节功能及组织修复功能

2.1. 凋亡微囊泡调节免疫细胞

2.1.1. T 细胞

T 细胞失调在器官特异性自身免疫性疾病中起重要作用,包括淋巴细胞过度增殖、促炎 CD4^+ 细胞亚群的不成比例扩增和不受控制的激活。Runci Wang 等建立小鼠关节炎模型后提取骨髓间充质干细胞(BMSC)来源的 AposEVs 进行小鼠腹膜内注射。结果显示 BMSC-AposEVs 以剂量依赖性方式抑制效应 T

细胞活化和抑制 IL-2 分泌来直接调节 T 细胞活性,减轻了狼疮和关节炎小鼠模型的疾病严重程度,具有调节 T 细胞免疫的能力[12]。系统性红斑狼疮表现为循环和组织中 Th17 细胞数量显著增加[13],硫化氢(H₂S)被认为是免疫系统的天然缓冲剂,对于维持 T 细胞平衡发挥重要作用,其缺乏会导致严重的免疫疾病[14]。研究发现凋亡缺陷的小鼠模型表现出 H₂S 水平的显著降低以及 Th17 细胞的异常分化,此外,小鼠 BMSC-AposEVs 表达关键的 H₂S 生成酶并产生大量的 H₂S,证明细胞凋亡是维持内源性 H₂S 稳态所必需的。H₂S 通过对硒蛋白 F 的 C38 位点的硫化作用,来抑制 Th17 细胞的异常激活,从而发挥了对系统性红斑狼疮(SLE)小鼠的治疗效果[15]。

2.1.2. 巨噬细胞

巨噬细胞是肝脏的重要细胞成分,巨噬细胞极化对于组织修复和体内平衡维持至关重要,其中 M2 型巨噬细胞在炎症的消退阶段和受损组织的修复发挥调节作用。研究发现对 T2D 小鼠模型输注 BMSC-AposEVs 后,钙网蛋白(CRT)作为介导 AposEVs 胞饮作用和巨噬细胞调节作用的关键“eat me”信号在 BMSC-AposEVs 表面暴露。CRT 通过在转录水平上诱导巨噬细胞重编程,从而抑制巨噬细胞的积累并使其在 II 型糖尿病(T2D)小鼠肝脏中向 M2 型转化,有效缓解了 T2D 小鼠的胰岛素抵抗和肝脂肪变性[16]。此外,在糖尿病患者中发现巨噬细胞在皮肤伤口周围积聚并产生 NLRP3 炎性小体,导致伤口愈合不良[17]。Yiming Wang 等人发现人脐带间充质干细胞(UCMSCs)来源的 AposEVs 显著加速了 T2D 小鼠皮肤病变的伤口愈合。UCMSCs-AposEVs 可能携带 CD39/CD73 两种外核苷酸酶、E3 泛素连接酶和 miRNA,显著降低了巨噬细胞的氧化应激状态,阻断炎性小体 NLRP3 的组装,并最终抑制焦亡过程,加速糖尿病小鼠伤口愈合[18]。此外,脂肪干细胞(ADSCs)来源的 AposEVs 被证明携带 miR-21-5p,通过靶向 Kruppel 样因子 6 的 mRNA 诱导巨噬细胞 M2 极化并促进皮肤伤口愈合。牙周炎是由抗菌免疫反应失衡和过度炎症引起的,巨噬细胞在其中起重要作用。BMMSCs-AposEVs 被巨噬细胞吞噬后降低了牙周炎组织中促炎巨噬细胞中 COX2 的表达。此外, BMMSCs-AposEVs 以剂量依赖的方式抑制 TNF- α 和 IL-6 的分泌,促进 IL-10 的分泌[19]。进一步研究发现, BMMSCs-AposEVs 通过 AMPK/SIRT1/NF- κ B 通路抑制巨噬细胞向促炎表型极化,抑制破骨细胞分化和 TRAP 染色测定的骨吸收、MMP-9 表达和凹坑吸收面积[20]。

2.2. 凋亡微囊泡介导组织修复

2.2.1. 伤口愈合

皮肤作为机体与外界环境之间的主要屏障,极易受到各种损伤。研究证明 MSCs 移植可以加速皮肤伤口的愈合,恢复更完整和有组织的皮肤结构。Liu 等在兔皮肤创伤愈合模型中观察到移植后短时间内 MSCs 大量凋亡,并通过释放 AposEVs 促进皮肤伤口愈合[21]。另外 Qu 等人对不同干细胞来源的 AposEVs 在皮肤伤口愈合中的作用进行了比较。这项研究表明,多能干细胞(PSC)来源的 AposEVs 比人脐带 MSCs (huMSCs)产生的 AposEVs 多 100 倍。此外, PSC-AposEVs 继承了 PSCs 的 SOX2,并通过 YAP1 激活 Hippo 信号通路,将其转移到皮肤 MSCs 中,以增强其增殖和迁移能力。AposEVs 可以继承 PSCs 的多能性分子,为成体干细胞提供能量[22]。

2.2.2. DNA 损伤

DNA 损伤在人体内经常发生,DNA 损伤的积累可导致衰老和癌症[23]。Huang Z 等人的研究证明了凋亡缺陷小鼠出现了系统性多器官过早衰老和 DNA 损伤,且对照射诱导的 DNA 损伤更敏感。静脉输注小鼠 BMSC-AposEVs 可以改善细胞凋亡缺陷小鼠表现出的显著升高的 DNA 损伤和细胞过早衰老, BMSC-AposEVs 可能加速 53BP1、PARP1、BRCA1 和 KU70 等有助于 DNA 损伤修复的蛋白质的募集,当细胞经历严重的 DNA 损伤时,它们会激活自我保护机制并阻止细胞周期的更新,以防止具有显著 DNA

错误的细胞进入有丝分裂期。蛋白质组学结果显示发现 BMSC-AposEVs 包含与 DNA 修复途径相关的, 包括 DNA 复制、DSB 修复途径(HR 和 NHEJ)、错配修复和核苷酸切除修复中的多种蛋白质, 其中 PARP1 在 BMSC-AposEVs 介导的 DNA 修复中起关键作用[24]。

2.2.3. 骨质疏松

由外伤、肿瘤、先天缺陷引起的骨缺损是导致残疾和身体受限的主要原因, 研究表明 BMSC-AposEVs 的局部移植促进了颅骨缺损大鼠模型的骨再生。BMSC-AposEVs 的摄取提高了内源性 BMSCs 的增殖、迁移和成骨分化能力, 从而增强了归巢效应。此外, BMSC-AposEVs 作为 c-Jun 氨基末端激酶信号激动剂, 通过增加细胞内活性氧水平使得新骨形成和骨组织再生[25]。类似地, 全身输注外源性 BMSCs-AposEVs 通过转移 E3 连接酶 RNF146 和 miR-328-3p 靶向受体 BMSCs 中的 Axin1, 并通过 Wnt/ β -Catenin 通路激活来挽救受损的干细胞特性, 从而改善 MRL/lpr、Caspase3 小鼠和去卵巢小鼠的骨量减少表型[26]。

2.2.4. 血管再生

血管化在促进营养输送、维持氧气水平、支持细胞增殖和促进组织再生方面起着关键作用。然而, 在成年期, 内源性内皮细胞很少增殖, 在心肌梗死大鼠模型中, BMSC-AposEVs 通过调节受体 ECs 中的巨噬/自噬增强血管生成并改善心功能恢复[27]。BMSC-AposEVs 被 ECs 吞噬后, 通过增加溶酶体相关膜蛋白 1 的蛋白表达来激活其溶酶体功能。BMSC-AposEVs 还介导转录因子 EB (TFEB)转位入核, 增强自噬相关基因的表达, 促进内皮细胞的血管生成能力。另一项研究使用牙髓拔除模型作为强有力的模型来研究 AposEVs 在血管新生中的作用[28], 研究发现, 人乳牙牙髓干细胞来源的 AposEVs (hDPSC-AposEVs)在传递线粒体翻译延伸因子 Tu (TUFM)后, 通过 TFEB 在溶酶体中的核转位激活 TFEB 介导的 ECs 自噬。J Liu 等人发现从人脐带间充质干细胞(HUVECs)中分离的 AposEVs 被 HUVECs 摄取后, 通过促进内皮细胞增殖和血管生成来促进全层伤口愈合[29]。

2.2.5. 卵巢衰老

卵巢衰老是常见的生殖和内分泌疾病, 影响了全球 6%~20%的育龄妇女[30]。以往的研究发现凋亡缺陷会导致小鼠出现卵巢功能障碍并损害生育能力。Yu Fu 等人发现凋亡缺陷导致卵泡膜和壁颗粒细胞中 WNT/ β -catenin 激活异常, 通过 NPPC/cGMP/PDE3A/cAMP 级联反应损害卵巢卵泡发生。将外源性 MSC-AposEVs 注入凋亡缺陷的小鼠中后发现 MSC-AposEVs 全身给药改善了 *Fas^{mut}* 和 *FasL^{mut}* 小鼠卵巢卵泡生成受损、PCOS 表型和出生率降低。转录组结果和蛋白质分子实验证明 AposEVs 补充可以改善卵巢老化小鼠体内的 WNT/ β -catenin 的异常, 从而改善了衰老小鼠的卵巢功能和生育能力, 此外, 输注 MSC-AposEVs 有效改善了卵巢卵泡数量和卵母细胞质量, 最终促进了 15 月龄老年小鼠的生育能力[31]。

3. 结论

凋亡微囊泡存在并在人类的各种病理和生理状况中有着关键作用, 在上述研究中, 来自 MSCs 的 AposEVs 主要用于骨骼、血管、皮肤、卵巢等组织的修复与 T 细胞及巨噬细胞的免疫调节。其他疾病是否也能受益于 MSCs 衍生的 AposEVs 以及这些组织的共同特征, 需要更多探索。另外, 大多数关于 AposEVs 的研究都集中在外源性 AposEVs 的功能上。然而, 外源性 AposEVs 的应用面临免疫原性、安全性、异质性和来源受限等问题, 因此, 有必要研究内源性 AposEVs 的来源和分布, 然而内源性 AposEVs 的研究难度较大。总的来说, 尽管 AposEVs 的研究道阻且长, 但其具有应用潜力, 值得进一步研究。

参考文献

- [1] Liu, J., Qiu, X., Lv, Y., Zheng, C., Dong, Y., Dou, G., et al. (2020) Apoptotic Bodies Derived from Mesenchymal Stem

- Cells Promote Cutaneous Wound Healing via Regulating the Functions of Macrophages. *Stem Cell Research & Therapy*, **11**, 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-02014-w>
- [2] Liu, H., Liu, S., Qiu, X., Yang, X., Bao, L., Pu, F., *et al.* (2020) Donor MSCs Release Apoptotic Bodies to Improve Myocardial Infarction via Autophagy Regulation in Recipient Cells. *Autophagy*, **16**, 2140-2155. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1717128>
- [3] Mao, Y. (2021) Apoptotic Cell-Derived Metabolites in Efferocytosis-Mediated Resolution of Inflammation. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, **62**, 42-53. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2021.10.002>
- [4] Rezaie, J., Etemadi, T. and Feghhi, M. (2022) The Distinct Roles of Exosomes in Innate Immune Responses and Therapeutic Applications in Cancer. *European Journal of Pharmacology*, **933**, Article 175292. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175292>
- [5] Zou, X., Lei, Q., Luo, X., Yin, J., chen, S., Hao, C., *et al.* (2023) Advances in Biological Functions and Applications of Apoptotic Vesicles. *Cell Communication and Signaling*, **21**, Article No. 260. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01251-9>
- [6] Wang, J., Cao, Z., Wang, P., Zhang, X., Tang, J., He, Y., *et al.* (2021) Apoptotic Extracellular Vesicles Ameliorate Multiple Myeloma by Restoring FAS-Mediated Apoptosis. *ACS Nano*, **15**, 14360-14372. <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c03517>
- [7] Gielecińska, A., Kciuk, M., Yahya, E.-B., Ainane, T., Mujwar, S. and Kontek, R. (2023) Apoptosis, Necroptosis, and Pyroptosis as Alternative Cell Death Pathways Induced by Chemotherapeutic Agents? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Reviews on Cancer*, **1878**, Article 189024. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2023.189024>
- [8] Zhang, X., Tang, J., Kou, X., Huang, W., Zhu, Y., Jiang, Y., *et al.* (2022) Proteomic Analysis of MSC-Derived Apoptotic Vesicles Identifies FAS Inheritance to Ameliorate Haemophilia a via Activating Platelet Functions. *Journal of Extracellular Vesicles*, **11**, e12240. <https://doi.org/10.1002/jev2.12240>
- [9] Wen, J., Creaven, D., Luan, X. and Wang, J. (2023) Comparison of Immunotherapy Mediated by Apoptotic Bodies, Microvesicles and Exosomes: Apoptotic Bodies' Unique Anti-Inflammatory Potential. *Journal of Translational Medicine*, **21**, Article 478. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04342-w>
- [10] Liu, J., Dong, J. and Pei, X. (2024) Apoptotic Extracellular Vesicles Derived from Human Umbilical Vein Endothelial Cells Promote Skin Repair by Enhancing Angiogenesis: From Death to Regeneration. *International Journal of Nanomedicine*, **19**, 415-428. <https://doi.org/10.2147/ijn.s441453>
- [11] Zhu, Y., Chen, X. and Liao, Y. (2023) Mesenchymal Stem Cells-Derived Apoptotic Extracellular Vesicles (ApoEVs): Mechanism and Application in Tissue Regeneration. *Stem Cells*, **41**, 837-849. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxad046>
- [12] Wang, R., Hao, M., Kou, X., Sui, B., Sanmillan, M.L., Zhang, X., *et al.* (2023) Apoptotic Vesicles Ameliorate Lupus and Arthritis via Phosphatidylserine-Mediated Modulation of T Cell Receptor Signaling. *Bioactive Materials*, **25**, 472-484. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.07.026>
- [13] Voss, K., Sewell, A.E., Krystofiak, E.S., Gibson-Corley, K.N., Young, A.C., Basham, J.H., *et al.* (2023) Elevated Transferrin Receptor Impairs T Cell Metabolism and Function in Systemic Lupus Erythematosus. *Science Immunology*, **8**, eabq0178. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abq0178>
- [14] Cirino, G., Szabo, C. and Papapetropoulos, A. (2023) Physiological Roles of Hydrogen Sulfide in Mammalian Cells, Tissues, and Organs. *Physiological Reviews*, **103**, 31-276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2021>
- [15] Ou, Q., Qiao, X., Li, Z., Niu, L., Lei, F., Cheng, R., *et al.* (2024) Apoptosis Releases Hydrogen Sulfide to Inhibit Th17 Cell Differentiation. *Cell Metabolism*, **36**, 78-89.E5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.11.012>
- [16] Zheng, C., Sui, B., Zhang, X., Hu, J., Chen, J., Liu, J., *et al.* (2021) Apoptotic Vesicles Restore Liver Macrophage Homeostasis to Counteract Type 2 Diabetes. *Journal of Extracellular Vesicles*, **10**, e12109. <https://doi.org/10.1002/jev2.12109>
- [17] Mirza, R.E., Fang, M.M., Weinheimer-Haus, E.M., Ennis, W.J. and Koh, T.J. (2014) Sustained Inflammasome Activity in Macrophages Impairs Wound Healing in Type 2 Diabetic Humans and Mice. *Diabetes*, **63**, 1103-1114. <https://doi.org/10.2337/db13-0927>
- [18] Wang, Y., Jing, L., Lei, X., Ma, Z., Li, B., Shi, Y., *et al.* (2023) Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell-Derived Apoptotic Extracellular Vesicles Ameliorate Cutaneous Wound Healing in Type 2 Diabetic Mice via Macrophage Pyroptosis Inhibition. *Stem Cell Research & Therapy*, **14**, Article 257. <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03490-6>
- [19] Zhang, X., Yang, J., Ma, S., Gao, X., Wang, G., Sun, Y., *et al.* (2024) Functional Diversity of Apoptotic Vesicle Subpopulations from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration. *Journal of Extracellular Vesicles*, **13**, e12434. <https://doi.org/10.1002/jev2.12434>
- [20] Ye, Q., Xu, H., Liu, S., Li, Z., Zhou, J., Ding, F., *et al.* (2022) Apoptotic Extracellular Vesicles Alleviate Pg-LPS Induced Inflammatory Responses of Macrophages via AMPK/SIRT1/NF- κ B Pathway and Inhibit Osteoclast Formation. *Journal of Periodontology*, **93**, 1738-1751. <https://doi.org/10.1002/jper.21-0657>

-
- [21] Pourjafar, M., Saidijam, M., Mansouri, K., Ghasemibasir, H., Karimi dermani, F. and Najafi, R. (2016) All-Trans Retinoic Acid Preconditioning Enhances Proliferation, Angiogenesis and Migration of Mesenchymal Stem Cell *in Vitro* and Enhances Wound Repair *in Vivo*. *Cell Proliferation*, **50**, e12315. <https://doi.org/10.1111/cpr.12315>
- [22] Qu, Y., He, Y., Meng, B., Zhang, X., Ding, J., Kou, X., *et al.* (2022) Apoptotic Vesicles Inherit SOX2 from Pluripotent Stem Cells to Accelerate Wound Healing by Energizing Mesenchymal Stem Cells. *Acta Biomaterialia*, **149**, 258-272. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.07.009>
- [23] Liao, S., Chen, L., Song, Z. and He, H. (2022) The Fate of Damaged Mitochondrial DNA in the Cell. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research*, **1869**, Article 119233. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2022.119233>
- [24] Huang, Z., Zhuang, Y., Li, W., Ma, M., Lei, F., Qu, Y., *et al.* (2024) Apoptotic Vesicles Are Required to Repair DNA Damage and Suppress Premature Cellular Senescence. *Journal of Extracellular Vesicles*, **13**, e12428. <https://doi.org/10.1002/jev2.12428>
- [25] Li, M., Xing, X., Huang, H., Liang, C., Gao, X., Tang, Q., *et al.* (2022) BMSC-Derived ApoEVs Promote Craniofacial Bone Repair via ROS/JNK Signaling. *Journal of Dental Research*, **101**, 714-723. <https://doi.org/10.1177/00220345211068338>
- [26] Liu, D., Kou, X., Chen, C., Liu, S., Liu, Y., Yu, W., *et al.* (2018) Circulating Apoptotic Bodies Maintain Mesenchymal Stem Cell Homeostasis and Ameliorate Osteopenia via Transferring Multiple Cellular Factors. *Cell Research*, **28**, 918-933. <https://doi.org/10.1038/s41422-018-0070-2>
- [27] Carmeliet, P. and Jain, R.K. (2011) Molecular Mechanisms and Clinical Applications of Angiogenesis. *Nature*, **473**, 298-307. <https://doi.org/10.1038/nature10144>
- [28] Li, Z., Wu, M., Liu, S., Liu, X., Huan, Y., Ye, Q., *et al.* (2022) Apoptotic Vesicles Activate Autophagy in Recipient Cells to Induce Angiogenesis and Dental Pulp Regeneration. *Molecular Therapy*, **30**, 3193-3208. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.05.006>
- [29] Zhang, R., Mu, X., Liu, D., *et al.* (2024) Apoptotic Vesicles Rescue Impaired Mesenchymal Stem Cells and Their Therapeutic Capacity for Osteoporosis by Restoring miR-145a-5p Deficiency. *Journal of Nanobiotechnology*, **22**, 580. <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02829-2>
- [30] Stoop, D., Cobo, A. and Silber, S. (2014) Fertility Preservation for Age-Related Fertility Decline. *The Lancet*, **384**, 1311-1319. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)61261-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)61261-7)
- [31] Fu, Y., Zhang, M., Sui, B., Yuan, F., Zhang, W., Weng, Y., *et al.* (2024) Mesenchymal Stem Cell-Derived Apoptotic Vesicles Ameliorate Impaired Ovarian Folliculogenesis in Polycystic Ovary Syndrome and Ovarian Aging by Targeting WNT Signaling. *Theranostics*, **14**, 3385-3403. <https://doi.org/10.7150/thno.94943>