



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Glucose and Lipid Metabolism—Review

糖尿病发作后心脏脂蛋白脂肪酶的变化

Chae Syng Lee, Yajie Zhai, Brian Rodrigues*

Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of British Columbia, Vancouver, BC V944523, Canada

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 January 2022

Revised 23 June 2022

Accepted 30 June 2022

Available online 26 July 2022

关键词

心脏代谢
脂蛋白脂肪酶
乙酰肝素酶
血管内皮生长因子
糖尿病性心肌病

摘要

由于心脏持续地收缩和舒张,需要大量的能量,其中脂肪酸(FA)是其三磷酸腺苷(ATP)的主要来源。但是,心脏无法制造这种底物,而是从多种来源获得脂肪酸,包括通过脂蛋白脂肪酶(LPL)的作用。脂蛋白脂肪酶在心肌细胞中产生,随后分泌到质膜上的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(HSPG)结合位点。然后为了将脂蛋白脂肪酶转移到内皮细胞管腔,糖基磷脂酰肌醇锚定的高密度脂蛋白结合蛋白1(GPIHBP1)与间质性脂蛋白脂肪酶结合,并将其转移到血管管腔,在那里脂蛋白脂肪酶可将循环中的甘油三酯分解为脂肪酸。内源性- β -葡萄糖醛酸酶乙酰肝素酶(Hpa)的独特之处在于,它是唯一已知的哺乳动物酶,可以裂解硫酸乙酰肝素,从而促进上述脂蛋白脂肪酶从心肌细胞HSPG中释放。在糖尿病中,一直认为心脏产生能量方式的改变是导致糖尿病性心肌病(DCM)的原因。糖尿病发展到中度后,随着葡萄糖利用率的降低,由于Hpa作用的增强,心脏血管腔内的脂蛋白脂肪酶活性得到增强。虽然这种适应可能有助于补偿心脏对葡萄糖的利用不足,但从长期来看,它是具有毒性的,因为有害的脂质代谢物积聚,以及脂肪酸氧化增强和因此造成的氧化应激,最终导致细胞死亡。这与一种心脏保护生长因子——血管内皮生长因子B(VEGFB)的丧失同时发生。本文探讨了乙酰肝素酶、脂蛋白脂肪酶和血管内皮生长因子B之间的相互联系及其在糖尿病性心肌病中的潜在影响。鉴于缺乏基于机制的DCM治疗,了解这种心肌病的病理,以及脂蛋白脂肪酶的作用,将有助于我们推进其临床治疗。

© 2022 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 背景

在糖尿病患者中[包括1型糖尿病(T1D)和2型糖尿病(T2D)],心脏病是造成其死亡的一个主要原因[1–2]。动脉粥样硬化被认为是造成这种心血管疾病的一个重要原因,但是心肌缺损也可能导致心脏衰竭,称为糖尿病性心肌病[3–7]。糖尿病性心肌病是指在无冠状动脉异常、瓣膜缺损、高血压、高脂血症的情况下出现的心肌功能障碍,表现为心脏结构异常、左室舒张功能障碍、左室射血

分数降低[7]。造成糖尿病性心肌病的机制复杂,但心脏代谢的早期改变是其主要诱因之一[4,8]。在糖尿病患者中,心脏对葡萄糖的利用减少,但脂肪酸的消耗增加,以产生三磷酸腺苷[8–9]。心脏中的脂肪酸有很多来源,但这种底物大部分来源于血浆脂蛋白中的甘油三酯水解[10]。这是由脂蛋白脂肪酶(一种位于冠状动脉腔内的酶)促成的。在以低胰岛素、高葡萄糖为特征的轻度糖尿病大鼠中,当循环中的脂肪酸或甘油三酯的血浆浓度在正常范围内时,冠状动脉腔内脂蛋白脂肪酶的活性增强[11–

* Corresponding author.

E-mail address: rodrigue@mail.ubc.ca (B. Rodrigues).

2095-8099/© 2022 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

英文原文: *Engineering* 2023, 20(1): 19–25

引用本文: Chae Syng Lee, Yajie Zhai, Brian Rodrigues. Changes in Lipoprotein Lipase in the Heart Following Diabetes Onset. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2022.06.013>

13]。虽然这种早期适应可能有助于补偿心脏对葡萄糖的利用不足[14]，但从长期来看，它是具有毒性的，因为脂肪酸氧化会导致氧化应激，这是造成细胞死亡的一种主要刺激因素[15–16]。另外还有一个问题，在产生等量的三磷酸腺苷时，利用脂肪酸所需的氧气要比利用葡萄糖所需的氧气更多[17]。这可能会造成问题，因为糖尿病发作后心脏会出现小血管疾病（微血管疾病）。在这些情况下，脂肪酸的供应增加与氧气供应不匹配，导致脂肪酸氧化不完全、脂质代谢物堆积、甘油三酯堆积、神经酰胺合成，最终造成细胞死亡[18–22]。有趣的是，在脂蛋白脂肪酶仅在心脏过表达的小鼠模型中，所研究的动物也出现心脏病，与糖尿病性心肌病类似[23–24]。重度糖尿病发病后，伴随胰岛素的极度缺失，当血浆脂肪酸（以及葡萄糖）增加时，冠状动脉中脂蛋白脂肪酶活性降低，以防止脂质过载[11,25]。这一过程同样有害，因为至少在心脏特异性脂蛋白脂肪酶缺失的情况下，射血分数会降低[26–27]。由于1型糖尿病的长期治疗与导致高血糖管理不充分的多种原因相关，因此本综述将讨论导致心脏中脂蛋白脂肪酶变化的潜在机制。鉴于缺乏基于机制的糖尿病性心肌病的治疗[28]，了解这种心肌病的病理，以及脂蛋白脂肪酶的作用，将有助于我们推进其临床治疗。

2. 糖尿病性心肌病

据报道，在1型糖尿病和2型糖尿病患者中存在心脏功能障碍（即糖尿病性心肌病），即使这些患者并未出现动脉硬化[7,29–31]。同样，在诱发糖尿病的动物中也有报道存在糖尿病性心肌病[6,32]。已经提出了许多有关糖尿病性心肌病的病因机制，包括致密结缔组织的堆积、对不同激素的反应改变（比如儿茶酚胺）、线粒体功能缺陷（即线粒体结构和呼吸能力缺陷）、内质网应激、肾素-血管紧张素-醛固酮系统（RAAS）的激活、微血管病以及调节细胞内钙质的蛋白质的改变[7,31,33–36]。本实验室和其他研究者也认为心脏代谢的改变是导致糖尿病性心肌病的关键因素[3,37–40]。

3. 心脏代谢

由于心脏不断地进行泵血和收缩，需要大量的能量。为此，心肌可以从多种底物获得三磷酸腺苷，包括葡萄糖、脂肪酸、酮、丙酮酸和氨基酸[41]。其中，脂肪酸似乎是心脏偏好的用来产生能量的主要底物[42]。尽管心脏

更喜欢脂肪酸，但其不能通过脂肪生成来合成这种底物，而依赖于从多个过程获得它：①脂肪组织对储存的甘油三酯进行脂解，最终将释放的脂肪酸运输到心脏；②对储存的甘油三酯进行脂解；以及③通过血管腔中的脂蛋白脂肪酶对循环中的脂蛋白甘油三酯进行脂解[3,9]。其中，脂蛋白脂肪酶产生的脂肪酸被认为是心脏中能量产生的关键脂肪酸来源[42]。

4. 脂蛋白脂肪酶

4.1. 概述

在表达脂蛋白脂肪酶的各种组织（包括脂肪组织、肺组织和骨骼肌）中，心脏是对这种酶表达量最高的器官。此外，血浆中大部分脂肪酸存在于循环中的脂蛋白中。这些观察结果表明，由于脂蛋白脂肪酶在分解脂蛋白中的作用，其可在心脏中为三磷酸腺苷的生成提供大量脂肪酸[3]。值得注意的是，在脂肪组织中，脂蛋白脂肪酶控制着脂肪酸进入并存储为甘油三酯的过程；关于这个主题有不少相关的高质量综述[43–44]，有兴趣的读者可进一步探讨。脂蛋白甘油三酯脂解发生在内皮细胞的冠状动脉腔表面。尽管位于这个位置，但内皮细胞无法合成脂蛋白脂肪酶。相反，它在心肌细胞中产生，随后分泌到其细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖（HSPG）结合位点[45–46]。对于脂蛋白脂肪酶转移到内皮细胞管腔，从心肌细胞表面HSPG分离脂蛋白脂肪酶是先决条件，并由乙酰肝素酶促成。在这里，脂蛋白脂肪酶附着在内皮细胞基底外侧的糖基磷脂酰肌醇锚定的高密度脂蛋白结合蛋白1（GPIHBP1）上[47]，并转移到顶端管腔，准备发挥其生成脂肪酸的作用（图1）[47–48]。

4.2. GPIHBP1

研究者提出了多种假说，以阐明脂蛋白脂肪酶如何从心肌细胞移动，穿过内皮细胞，到达血管腔。其中包括通过内皮细胞HSPG [49–50]和极低密度脂蛋白（VLDL）受体[51]来转移酶。最近提出了一个通路，GPIHBP1介导脂蛋白脂肪酶穿过内皮细胞到达顶端[47,52]。GPIHBP1只在内皮细胞中表达。它通过其酸性域与酶的静电相互作用来协同脂蛋白脂肪酶，因为酸性域中的GPIHBP1突变不能结合脂蛋白脂肪酶[53]。最近的研究表明脂蛋白脂肪酶作为单体时具有活性，并与GPIHBP1以1:1的比例结合[54–56]。除了在脂蛋白脂肪酶中穿梭的作用外，顶端侧的高密度脂蛋白结合蛋白1牢固结合脂蛋白（乳糜微粒或极低密度脂蛋白），这是一种由脂蛋白脂肪酶介导的作用

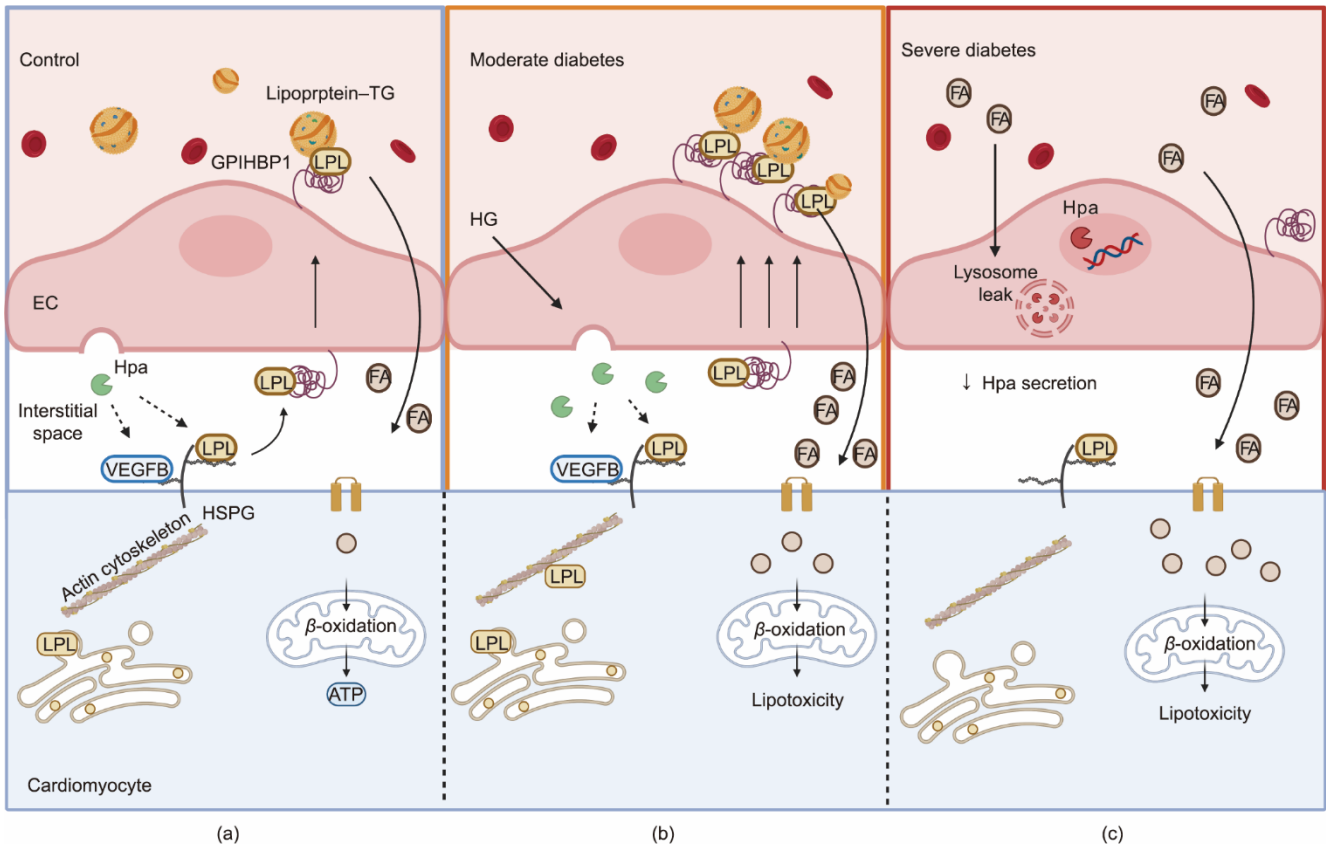


图1. 心脏中脂蛋白脂肪酶的运输。(a) 脂蛋白脂肪酶在心肌细胞中合成, 并使用肌动蛋白骨架移动到细胞表面的HSPG。HSPG中含有多种蛋白, 包括血管内皮生长因子B等生长因子。为将脂蛋白脂肪酶进一步转移, HSPG侧链需要裂解, 这一功能由内皮细胞释放的乙酰肝素酶促成。位于内皮细胞基底外侧的GPIHBP1捕获脂蛋白脂肪酶, 并将其转移到冠状动脉腔的顶端侧。在这个位置, 脂蛋白脂肪酶促进脂蛋白甘油三酯分解, 释放脂肪酸。这些脂肪酸转而被心肌细胞吸收, 在线粒体内生成三磷酸腺苷。(b) 针对中度糖尿病, 高血糖引起内皮乙酰肝素酶的分泌, 它从心肌细胞上释放HSPG结合的脂蛋白脂肪酶, 并促进这种HSPG释放的脂蛋白脂肪酶的补充, 以便继续转运到血管腔内。在这个位置, 脂蛋白脂肪酶促进脂蛋白甘油三酯分解, 释放的脂肪酸进入心肌细胞, 生成三磷酸腺苷。除了释放脂蛋白脂肪酶外, 乙酰肝素酶还导致血管内皮生长因子B的释放, 其作用是防止细胞死亡及促进供血血管生成。而在糖尿病发作后, 会丧失这种血管内皮生长因子B介导的保护。(c) 而对于严重糖尿病和存在高血糖、高血脂的情况下, 乙酰肝素酶被引导进入内皮细胞核, 阻止其向心肌细胞所在的基底外侧分泌。因此, 脂蛋白脂肪酶不能向血管腔移动; 在这种情况下, 大部分心脏能量由脂肪组织脂肪酸提供。

[53]。通过这种方式, 它充当冠状动脉腔内脂蛋白分解的平台[57]。GPIHBP1的第三个功能是, 通过结合脂蛋白脂肪酶, 它能够稳定酶, 从而防止其被血管生成素样蛋白3/4 (ANGPTL3/4) 抑制[58]。由于这些重要功能, 缺乏GPIHBP1的小鼠表现出血浆甘油三酯的显著增加。此外, 缺乏GPIHBP1的人体会出现高甘油三酯血症(图1)[59–60]。目前, 我们还不清楚糖尿病患者心脏中血管生成素样蛋白3/4 (ANGPTL3/4) 和GPIHBP1的具体变化。但是, 在动物实验中, 在单次注射中等剂量 ($55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; D55) 链脲佐菌素 (STZ) 后, 可引起低胰岛素血症和高血糖症。剂量增加到 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 还会造成高脂血症的环境[61]。在前一种情况下, 冠状动脉中脂蛋白脂肪酶活性增强; 而在后一种情况中, 存在较高水平的循环脂肪酸, 脂蛋白脂肪酶活性被关闭[11] (图1)。在D55型糖尿病患者心脏中, 在蛋白质合成没有任何变化的情况下, 脂蛋白脂肪酶活性的增加(主要发生在血管腔内)在很大程度上

可以通过脂蛋白脂肪酶分泌和信号通路的改变来解释, 这些通路增加了肌细胞酶向内皮细胞的转移[62]。为确定发生D55型糖尿病后脂蛋白脂肪酶在血管中含量的增加是否与GPIHBP1有关, 我们检测了GPIHBP1蛋白和信使RNA (mRNA) 的表达, 确定其均得到增强[63]。关于血管生成素样蛋白4 (ANGPTL4), 我们发现在中度和重度糖尿病中, 心脏基因表达分别增加了10倍和20倍[14]。值得注意的是, 尽管ANGPTL4在中度糖尿病动物中增加了10倍, 但这与脂蛋白脂肪酶活性的降低无关; 事实上, 脂蛋白脂肪酶活性增加了3倍[14]。我们认为, 即使ANGPTL4增加了10倍, 链脲佐菌素诱导的糖尿病也增加了GPIHBP1基因和蛋白的表达[63]。因此, 当脂蛋白脂肪酶转移到内皮细胞并与GPIHBP1复合时, 这种结构似乎可以保护脂蛋白脂肪酶不被ANGPTL4失活。对于严重糖尿病患者, ANGPTL4前所未有的20倍增长可能足以抑制脂蛋白脂肪酶的活性。

4.3. 调节

不同的生理状态可以使脂蛋白脂肪酶活性变得敏感，并且在不同的组织中可能有所差异。比如，在热量匮乏的情况下，脂肪组织中脂蛋白脂肪酶的活性降低。这可以防止基质的不必要存储，使其可用于心脏等其他组织的能量生成[64]。因此，由脂蛋白甘油三酯产生的脂肪酸被用于满足心脏对三磷酸腺苷的需求。通过这种方式，脂蛋白脂肪酶充当了调节组织特异性对脂肪酸需求的“门”。

4.4. 在心肌病中的作用

脂肪酸过量时，其会从脂肪细胞转移到其他器官（包括心脏）。这种效应的一个不幸后果是，脂肪酸可引发心脏效率降低、葡萄糖氧化率低、结构损伤和细胞死亡[9, 18–20, 65]。在这方面，当脂蛋白脂肪酶在心脏中特异性过表达时，会提供更多的脂肪酸，而根据相关研究的报道，这会导致严重的肌肉缺陷，包括心肌细胞凋亡，以及在无血管变化的情况下功能下降，与糖尿病性心肌病的情况类似[23–24]。相反，根据实验结果，仅从心脏去除脂蛋白脂肪酶也会导致心肌病[26–27]。尽管这些心脏仍然能够使用白蛋白结合的游离脂肪酸，并增加对葡萄糖的利用，但这些作用不能替代脂蛋白脂肪酶的功能；因此，也造成了心脏功能降低[27]。综上所述，这些结果表明，仅仅是心脏中脂蛋白脂肪酶的改变即可造成心力衰竭。

4.5. 糖尿病患者心脏中的脂蛋白脂肪酶

在人体中，高负电荷的糖胺聚糖（肝素）被用来取代HSPG结合的脂蛋白脂肪酶进入血浆。这使得后续可对其等离子体活性进行量化[45, 66]。这种方法并不理想，因为除了从心脏释放脂蛋白脂肪酶外，它还从其他几种组织（比如骨骼肌和脂肪组织）释放脂蛋白脂肪酶。因此，该方法不能用于确定糖尿病对心脏脂蛋白脂肪酶的特异性影响。在评估糖尿病如何影响不同组织（比如脂肪组织和骨骼肌）中的脂蛋白脂肪酶时，观察到这些器官的脂蛋白脂肪酶明显较低[67]。遗憾的是，关于脂蛋白脂肪酶在心脏中的分布的数据有限。即使能进行测量，心脏组织中总的脂蛋白脂肪酶的测量也会有缺陷，因为这样的测量将无法识别冠状动脉腔的相关脂蛋白脂肪酶储备。由于对人体分析的这些限制，大量与糖尿病患者心脏脂蛋白脂肪酶相关的数据都是从动物研究中获得的。

4.6. 糖尿病动物模型心脏中的脂蛋白脂肪酶

在药物诱导的胰岛素抵抗模型[68–69]或链脲佐菌素诱导的伴中度低胰岛素血症和高血糖症的糖尿病大鼠模型

中[11, 13, 61, 70]，冠状动脉管腔的脂蛋白脂肪酶活性增加，而外源性胰岛素治疗可逆转这一效应[13]。在链脲佐菌素诱导模型中，脂蛋白脂肪酶活性的增加并不是由于HSPG结合位点的增加而发生的。事实上，我们确定，在正常心脏中，血管腔内的内皮细胞结合位点仅被脂蛋白脂肪酶部分占据。在糖尿病患者中，空置的位点立即被脂蛋白脂肪酶占据[13, 62, 71]，但这并不涉及基因和蛋白质表达的改变[13, 72]。相反，分泌和信号通路被改变，这促使心肌细胞中脂蛋白脂肪酶向内皮细胞顶端侧的矢量运动[39, 61]。这包括激活单磷酸腺苷活化蛋白激酶（AMPK）[73–74]、p38丝裂原活化蛋白激酶（p38MAPK）和蛋白激酶D（PKD）[12, 25, 75]，导致脂蛋白脂肪酶分泌到心肌细胞表面HSPG上，从而形成含有脂蛋白脂肪酶的囊泡，并重组肌动蛋白骨架[75–76]。脂蛋白脂肪酶要从这个位置向前移动，就需要从心肌细胞表面分离，这一效应是通过乙酰肝素酶作用下的HSPG裂解介导的[77–78]（图1）。在这方面，我们发现在高糖状态下，内皮细胞释放乙酰肝素酶[77, 79]，主要发生在基底外侧[80]。这转而会促进从心肌细胞释放脂蛋白脂肪酶[81]。有趣的是，我们还证明了乙酰肝素酶除释放脂蛋白脂肪酶外，还能释放心肌细胞表面生长因子，包括血管内皮生长因子A（VEGFA）[82–83]和血管内皮生长因子B（VEGFB）[84]。通过调节氧气输送和防止细胞死亡，这两种生长因子都可以防止脂肪酸的过度使用。需要注意的是，在重度糖尿病模型中[11, 761]，由于脂肪组织脂解不受控制，血浆脂肪酸水平升高。在这方面，糖尿病动物体内的各种饱和脂肪酸（棕榈酸[16:0]、硬脂酸[18:0]）、单不饱和脂肪酸（油酸[18:1]）和多不饱和脂肪酸（亚油酸[18:2]、花生四烯酸[20:4]）的含量增加了近2–3倍。这些脂肪酸约占血浆总量的80% [14]。我们认为脂蛋白脂肪酶介导的脂肪酸输送在这些情况下过多，会出现减少。

5. 乙酰肝素酶

5.1. 概述

在组织中，HSPG分布在多个位点，尤其是细胞外基质和细胞核[85]。它们由一个中心蛋白组成，有许多硫酸乙酰肝素侧链与之结合。因此，这些分子不仅通过硫酸乙酰肝素中的高负电荷基团来锚定多个分子，还保证了细胞膜的结构完整性[86]。带负电荷的硫酸乙酰肝素侧链被用来连接几个带正电荷的蛋白质，包括C-X-C基序趋化因子配体2（CXCL2）、凝血酶、脂蛋白脂肪酶、VEGFA和VEGFB。由于这种离子附着，这些蛋白质可以在需要时

立即释放。内源性- β -葡萄糖醛酸酶乙酰肝素酶的独特之处在于，它是唯一已知的能裂解硫酸乙酰肝素的哺乳动物酶，因而可促进上述蛋白质的释放（图1）[87]。

5.2. 分泌和对高血糖的反应

乙酰肝素酶是一种能够切断硫酸乙酰肝素侧链的酶，导致结合蛋白的释放[88]。它在内皮细胞内质网（ER）中被制造为一个68 kDa的蛋白质，然后被加工成65 kDa的非活性潜在乙酰肝素酶（Hpa^L）。然后潜在乙酰肝素酶被分泌，并通过HSPG和甘露糖-6-磷酸受体、低密度脂蛋白受体相关蛋白1等受体[91]迅速内吞回内皮细胞[89-90]。潜在乙酰肝素酶在酸性条件下由组织蛋白酶L在早期内体和溶酶体中加工成活性乙酰肝素酶（Hpa^A）。组织蛋白酶L去除一个6 kDa连接子，产生非共价异二聚化的8 kDa和50 kDa亚基，从而产生活性乙酰肝素酶[92]。活性乙酰肝素酶已被证明其活性比潜在乙酰肝素酶高100倍，其储存在溶酶体中，直到被刺激释放[93-94]。本实验室的研究表明，高葡萄糖是内皮细胞中活性乙酰肝素酶释放到介质的一个强有力的刺激。这种分泌是通过高糖刺激三磷酸腺苷释放，导致嘌呤能受体（P2Y）刺激、肌动蛋白重组和活性乙酰肝素酶囊泡释放[77]。相反，与高糖条件不同的是，高脂肪酸条件通过将乙酰肝素酶重定向到细胞核来阻止乙酰肝素酶的分泌[95]。

5.3. 功能

在生理上，活性乙酰肝素酶参与胚胎植入、伤口修复和毛囊成熟[96]。在心脏代谢方面，我们首先发现了高糖在释放内皮细胞中的乙酰肝素酶方面的独特功能，随后释放了心肌细胞脂蛋白脂肪酶。这使得脂蛋白脂肪酶向前运动到血管腔，在那里它促进脂蛋白甘油三酯分解，为糖尿病心脏提供脂肪酸作为能量来源[78]。除活性乙酰肝素酶外，高糖还能刺激潜在乙酰肝素酶的分泌[82]。我们确定潜在乙酰肝素酶能够在心肌细胞中产生细胞内信号，使得脂蛋白脂肪酶重新装载。这使得先前被脂蛋白脂肪酶占据的HSPG结合位点得以重新填充。值得注意的是，尽管两种形式的乙酰肝素酶都能促进多种细胞信号通路，包括蛋白激酶B（Akt）、细胞外信号调节激酶（Erk）、原癌基因酪氨酸蛋白激酶（Src）、转录蛋白信号转换器和激活物（STAT）、肝细胞生长因子（HGF）、胰岛素样生长因子（IGF）和表皮生长因子（EGF）[97]，但潜在乙酰肝素酶作为一种血管内皮生长因子释放刺激更为有效（图1）[82,84]。

6. 血管内皮生长因子

6.1. 概述

血管内皮生长因子蛋白组中包含6种生长因子：VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD、VEGFE和PGF[98]。其中研究最广泛的是VEGFA，它被认为对控制血管生成特别重要[99]。有趣的是，VEGFB并不直接引发血管生成[100-102]。研究者对这一范式进行了重新审视，目前更多的研究表明VEGFB通过间接地使组织对VEGFA敏感而在血管生成中发挥作用[103-104]。VEGFB的其他重要作用包括其防止细胞死亡的能力[102]，这可能与糖尿病等疾病尤其相关[103]，因此将详细地进行讨论。

6.2. 血管内皮生长因子B

在氧化能力较高的组织中（包括心脏和骨骼肌），VEGFB的表达量最高[105]。VEGFB通过其与血管内皮生长因子受体-1（VEGFR1）的结合而产生作用。由于VEGFB与VEGFA的同源性有47%相同[105]，研究者花了大量精力来研究其对血管生成的贡献，但实验结果并不明确。最近的一种观点是，VEGFB实际上是通过支持VEGFA的血管生成功能而导致新血管的形成。已知VEGFA可以结合VEGFR1和VEGFR2；但是，前一个受体对VEGFA的结合能力是后者的10倍[106]，尽管其下游效应很少。这表明VEGFA与VEGFR1的结合限制了其血管生成作用[107]。因此，VEGFR1敲除[108]或VEGFA过表达[109]在胚胎期是致命的，因为在这些条件下，只有VEGFR2被VEGFA占据，导致严重的不受调控的血管生成。在另一个例子中，以腺相关病毒（AAV）-VEGFB转导的小鼠在脂肪组织中表现出血管扩张和血管数量增加[104]。研究者认为，VEGFB的这种作用是其占据VEGFR1的结果，这降低了VEGFA与VEGFR1相互作用的能力，导致VEGFA与VEGFR2排他性结合，对血管系统有明显影响。在这些特定条件下，AAV-VEGFB小鼠的血管系统是正常的，与AAV-VEGFA小鼠的血管系统不同，后者显示出血管异常，这表明VEGFB对血管的正常作用没有产生任何有害后果。

6.3. 对全身及心脏代谢的影响

喂食高脂肪饮食并注射AAV-VEGFB的小鼠表现出胰岛素作用的改善[104]。这可以用两种方式解释：一种是通过VEGFB对骨骼肌肉、脂肪组织和肝脏等器官的直接作用；而另一种是间接地通过VEGFB促进血管发育，导致胰岛素更大程度地分布到上述器官。在心脏代谢方

面,专门过量产生 VEGFB 的大鼠心脏表现出细胞内葡萄糖转运增加和糖酵解能力提高,表明更多的碳水化合物用于能量生产[103]。相反,这些大鼠表现出与脂肪酸运输和氧化相关的基因表达降低[103],这表明 VEGFB 使心脏从主要使用脂肪酸转变为依赖葡萄糖。

6.4. 对细胞存活的影响

人类和实验动物研究均证明了 VEGFB 对延长细胞寿命的有益影响。因此,在接受移植手术的心力衰竭患者中,不健康的的心脏中出现 VEGFB 基因表达降低[103]。在细胞培养实验中,从缺乏 VEGFB 的动物中获得内皮细胞或平滑肌细胞,通过 H_2O_2 诱导氧化应激,可加速受调控的细胞死亡(凋亡),而在外源性 VEGFB 处理下,这一效应被最小化[110–111]。最后,当通过纯化蛋白或病毒转导增加内源性 VEGFB 时,心脏可免受氧化应激[84]、主动脉缩窄[112]、心律失常[113]、阿霉素[114]和缺血[115]诱导的损伤。

6.5. 糖尿病中的血管内皮生长因子 B

VEGFB 的功能已经得到证实,尤其是与心脏底物利用、血管形成和细胞死亡预防有关。与释放脂蛋白脂肪酶类似,也有研究发现乙酰肝素酶释放 VEGFB,特别是在急性糖尿病发作后[82]。这种作用与 VEGFB 防止细胞死亡和增加冠状动脉血管的功能结合,提供了一种抵御脂毒性的机制。随着严重或慢性糖尿病患者 VEGFB 的丢失[84],VEGFB 的保护作用丧失,脂蛋白脂肪酶造成的脂肪酸供应不再受约束。的确,尽管糖尿病表现出代谢不灵活性的改变[116]、微血管稀疏[36,117–118]和心肌细胞死亡[30,119–120],但所有这些都可能是继发于 VEGFB 的丢失。这一数据提供了令人信服的初步证据,即 VEGFB 水平的降低可能促成糖尿病性心力衰竭的发生[84]。

7. 结论

在本研究中,我们发现针对高糖状态,内皮细胞中乙酰肝素酶的释放及其随后对心肌细胞中脂蛋白脂肪酶释放的作用,使底物转换为脂肪酸的利用。与此作用相平衡的是,乙酰肝素酶还能释放心肌细胞 VEGFB,从而:①影响血管生成;②促进葡萄糖利用;③防止细胞死亡。

在脂蛋白脂肪酶活性增强和 VEGFB 丢失的情况下,脂毒性和细胞死亡导致糖尿病性心肌病。因此,了解连接血管内皮乙酰肝素酶与心肌细胞脂蛋白脂肪酶和 VEGFB 的网络,对于确定如何维持心脏功能非常重要,特别是在

糖尿病等疾病情况下。

Acknowledgements

This work was supported by operating grants from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR PJT-178134 and PJT-169212). The figure in this manuscript was created with Biorender.com.

Compliance with ethics guidelines

Chae Syng Lee, Yajie Zhai, and Brian Rodrigues declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013;93(1):137–88.
- [2] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414(6865):813–20.
- [3] An D, Rodrigues B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291(4): H1489–506.
- [4] Rodrigues B, McNeill JH. The diabetic heart: metabolic causes for the development of a cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 1992;26(10):913–22.
- [5] Seferovic PM, Paulus WJ. Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *Eur Heart J* 2015;36(27):1718–27.
- [6] Bugger H, Abel ED. Rodent models of diabetic cardiomyopathy. *Dis Model Mech* 2009;2(9–10):454–66.
- [7] Jia G, Hill MA, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circ Res* 2018;122(4):624–38.
- [8] Stanley WC, Lopaschuk GD, McCormack JG. Regulation of energy substrate metabolism in the diabetic heart. *Cardiovasc Res* 1997;34(1):25–33.
- [9] Kim MS, Wang Y, Rodrigues B. Lipoprotein lipase mediated fatty acid delivery and its impact in diabetic cardiomyopathy. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821(5):800–8.
- [10] Voshol PJ, Jong MC, Dahlmans VE, Kratky D, Levak-Frank S, Zechner R, et al. In muscle-specific lipoprotein lipase-overexpressing mice, muscle triglyceride content is increased without inhibition of insulin-stimulated whole-body and muscle-specific glucose uptake. *Diabetes* 2001;50(11):2585–90.
- [11] Rodrigues B, Cam MC, Jian K, Lim F, Sambandam N, Shepherd G. Differential effects of streptozotocin-induced diabetes on cardiac lipoprotein lipase activity. *Diabetes* 1997;46(8):1346–53.
- [12] Kim MS, Wang F, Puthanveetil P, Kewalramani G, Hosseini-Beheshti E, Ng N, et al. Protein kinase D is a key regulator of cardiomyocyte lipoprotein lipase secretion after diabetes. *Circ Res* 2008;103(3):252–60.
- [13] Sambandam N, Abrahani MA, St Pierre E, Al-Atar O, Cam MC, Rodrigues B. Localization of lipoprotein lipase in the diabetic heart: regulation by acute changes in insulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(6):1526–34.
- [14] Puri K, Lal N, Shang R, Ghosh S, Flibotte S, Dyer R, et al. Diabetes mellitus severity and a switch from using lipoprotein lipase to adipose-derived fatty acid results in a cardiac metabolic signature that embraces cell death. *J Am Heart Assoc* 2019;8(21):e014022.
- [15] Wilson AJ, Gill EK, Abudalo RA, Edgar KS, Watson CJ, Grieve DJ. Reactive oxygen species signalling in the diabetic heart: emerging prospect for therapeutic targeting. *Heart* 2018;104(4):293–9.
- [16] Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, Nogueira-Machado JA. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death Dis* 2018;9(2):119.

- [17] Kessler G, Friedman J. Metabolism of fatty acids and glucose. *Circulation* 1998; 98(13):1351.
- [18] Borradaile NM, Schaffer JE. Lipotoxicity in the heart. *Curr Hypertens Rep* 2005;7(6):412–7.
- [19] Van de Weijer T, Schrauwen-Hinderling VB, Schrauwen P. Lipotoxicity in type 2 diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2011;92(1):10–8.
- [20] Wende AR, Symons JD, Abel ED. Mechanisms of lipotoxicity in the cardiovascular system. *Curr Hypertens Rep* 2012;14(6):517–31.
- [21] Schulze PC, Drosatos K, Goldberg IJ. Lipid use and misuse by the heart. *Circ Res* 2016;118(11):1736–51.
- [22] Park TS, Hu Y, Noh HL, Drosatos K, Okajima K, Buchanan J, et al. Ceramide is a cardiotoxin in lipotoxic cardiomyopathy. *J Lipid Res* 2008;49(10):2101–12.
- [23] Levak-Frank S, Radner H, Walsh A, Stollberger R, Knipping G, Hoefler G, et al. Muscle-specific overexpression of lipoprotein lipase causes a severe myopathy characterized by proliferation of mitochondria and peroxisomes in transgenic mice. *J Clin Invest* 1995;96(2):976–86.
- [24] Yagyu H, Chen G, Yokoyama M, Hirata K, Augustus A, Kako Y, et al. Lipoprotein lipase (LpL) on the surface of cardiomyocytes increases lipid uptake and produces a cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2003;111(3):419–26.
- [25] Kim MS, Wang F, Puthanveetil P, Kewalramani G, Innis S, Marzban L, et al. Cleavage of protein kinase D after acute hypoinsulinemia prevents excessive lipoprotein lipase-mediated cardiac triglyceride accumulation. *Diabetes* 2009; 58(11):2464–75.
- [26] Noh HL, Okajima K, Molkentin JD, Homma S, Goldberg IJ. Acute lipoprotein lipase deletion in adult mice leads to dyslipidemia and cardiac dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291(4):E755–60.
- [27] Augustus AS, Buchanan J, Park TS, Hirata K, Noh HL, Sun J, et al. Loss of lipoprotein lipase-derived fatty acids leads to increased cardiac glucose metabolism and heart dysfunction. *J Biol Chem* 2006;281(13):8716–23.
- [28] Ritchie RH, Abel ED. Basic mechanisms of diabetic heart disease. *Circ Res* 2020;126(11):1501–25.
- [29] Regan TJ, Ahmed S, Haider B, Moschos C, Weisse A. Diabetic cardiomyopathy: experimental and clinical observations. *N J Med* 1994;91(11): 776–8.
- [30] Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects. *Rev Endocr Metab Disord* 2010;11(1):31–9.
- [31] Fang ZY, Prins JB, Marwick TH. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2004;25(4):543–67.
- [32] Severson DL. Diabetic cardiomyopathy: recent evidence from mouse models of type 1 and type 2 diabetes. *Can J Physiol Pharmacol* 2004;82(10):813–23.
- [33] Shehadeh A, Regan TJ. Cardiac consequences of diabetes mellitus. *Clin Cardiol* 1995;18(6):301–5.
- [34] Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; 27(4):255–70.
- [35] Dhalla NS, Liu X, Panagia V, Takeda N. Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. *Cardiovasc Res* 1998;40(2):239–47.
- [36] Laakso M. Heart in diabetes: a microvascular disease. *Diabetes Care* 2011; 34(Suppl 2):S145–9.
- [37] Taha M, Lopaschuk GD. Alterations in energy metabolism in cardiomyopathies. *Ann Med* 2007;39(8):594–607.
- [38] Sung MM, Hamza SM, Dyck JR. Myocardial metabolism in diabetic cardiomyopathy: potential therapeutic targets. *Antioxid Redox Signal* 2015; 22(17):1606–30.
- [39] Wan A, Rodrigues B. Endothelial cell–cardiomyocyte crosstalk in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2016;111(3):172–83.
- [40] Chong CR, Clarke K, Levelt E. Metabolic remodeling in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2017;113(4):422–30.
- [41] Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev* 2010;90(1):207–58.
- [42] Murashige D, Jang C, Neinast M, Edwards JJ, Cowan A, Hyman MC, et al. Comprehensive quantification of fuel use by the failing and nonfailing human heart. *Science* 2020;370(6514):364–8.
- [43] Kersten S. Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta* 2014;1841(7):919–33.
- [44] Olivecrona G. Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2016;27(3):233–41.
- [45] Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med* 1989;320(16):1060–8.
- [46] Enerbäck S, Gimble JM. Lipoprotein lipase gene expression: physiological regulators at the transcriptional and post-transcriptional level. *Biochim Biophys Acta* 1993;1169(2):107–25.
- [47] Young SG, Davies BS, Voss CV, Gin P, Weinstein MM, Tontonoz P, et al. GPIHBP1, an endothelial cell transporter for lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 2011;52(11):1869–84.
- [48] Young SG, Fong LG, Beigneux AP, Allan CM, He C, Jiang H, et al. GPIHBP1 and lipoprotein lipase, partners in plasma triglyceride metabolism. *Cell Metab* 2019;30(1):51–65.
- [49] Cryer A. The role of the endothelium in myocardial lipoprotein dynamics. *Mol Cell Biochem* 1989;88(1–2):7–15.
- [50] Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J Lipid Res* 2002;43(12):1997–2006.
- [51] Obunike JC, Lutz EP, Li Z, Paka L, Katopodis T, Strickland DK, et al. Transcytosis of lipoprotein lipase across cultured endothelial cells requires both heparan sulfate proteoglycans and the very low density lipoprotein receptor. *J Biol Chem* 2001;276(12):8934–41.
- [52] Davies BS, Beigneux AP, Barnes RH, Tu Y, Gin P, Weinstein MM, et al. GPIHBP1 is responsible for the entry of lipoprotein lipase into capillaries. *Cell Metab* 2010;12(1):42–52.
- [53] Gin P, Yin L, Davies BS, Weinstein MM, Ryan RO, Bensadoun A, et al. The acidic domain of GPIHBP1 is important for the binding of lipoprotein lipase and chylomicrons. *J Biol Chem* 2008;283(43):29554–62.
- [54] Basu D, Goldberg IJ. Regulation of lipoprotein lipase-mediated lipolysis of triglycerides. *Curr Opin Lipidol* 2020;31(3):154–60.
- [55] Beigneux AP, Allan CM, Sandoval NP, Cho GW, Heizer PJ, Jung RS, et al. Lipoprotein lipase is active as a monomer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019; 116(13):6319–28.
- [56] Arora R, Nimonkar AV, Baird D, Wang C, Chiu CH, Horton PA, et al. Structure of lipoprotein lipase in complex with GPIHBP1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019; 116(21):10360–5.
- [57] Beigneux AP, Davies BS, Gin P, Weinstein MM, Farber E, Qiao X, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1 plays a critical role in the lipolytic processing of chylomicrons. *Cell Metab* 2007;5(4):279–91.
- [58] Sonnenburg WK, Yu D, Lee EC, Xiong W, Gololobov G, Key B, et al. GPIHBP1 stabilizes lipoprotein lipase and prevents its inhibition by angiopoietin-like 3 and angiopoietin-like 4. *J Lipid Res* 2009;50(12):2421–9.
- [59] Rios JJ, Shastry S, Jasso J, Hauser N, Garg A, Bensadoun A, et al. Deletion of GPIHBP1 causing severe chylomicronemia. *J Inherit Metab Dis* 2012; 35(3): 531–40.
- [60] Miyashita K, Lutz J, Hudgins LC, Toib D, Ashraf AP, Song W, et al. Chylomicronemia from GPIHBP1 autoantibodies. *J Lipid Res* 2020; 61(11): 1365–76.
- [61] Wang Y, Puthanveetil P, Wang F, Kim MS, Abrahami A, Rodrigues B. Severity of diabetes governs vascular lipoprotein lipase by affecting enzyme dimerization and disassembly. *Diabetes* 2011;60(8):2041–50.
- [62] Pulinilkunnill T, Qi D, Ghosh S, Cheung C, Yip P, Varghese J, et al. Circulating triglyceride lipolysis facilitates lipoprotein lipase translocation from cardiomyocyte to myocardial endothelial lining. *Cardiovasc Res* 2003; 59(3): 788–97.
- [63] Chiu PLA, Wang F, Lal N, Wang Y, Zhang D, Hussein B, et al. Endothelial cells respond to hyperglycemia by increasing the LPL transporter GPIHBP1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014;306(11):E1274–83.
- [64] Doolittle MH, Ben-Zeev O, Elovson J, Martin D, Kirchgessner TG. The response of lipoprotein lipase to feeding and fasting. Evidence for posttranslational regulation. *J Biol Chem* 1990;265(8):4570–7.
- [65] Karwi QG, Sun Q, Lopaschuk GD. The contribution of cardiac fatty acid oxidation to diabetic cardiomyopathy severity. *Cells* 2021;10(11):3259.
- [66] Kashiwazaki K, Hirano T, Yoshino G, Kurokawa M, Tajima H, Adachi M. Decreased release of lipoprotein lipase is associated with vascular endothelial damage in NIDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 1998;21(11): 2016–20.
- [67] Taskinen MR, Nikkila EA. Lipoprotein lipase activity of adipose tissue and skeletal muscle in insulin-deficient human diabetes. Relation to high-density and very-low-density lipoproteins and response to treatment. *Diabetologia* 1979; 17(6):351–6.
- [68] Qi D, Pulinilkunnill T, An D, Ghosh S, Abrahami A, Andrew A, et al. Single-dose dexamethasone induces whole-body insulin resistance and alters both cardiac fatty acid and carbohydrate metabolism. *Diabetes* 2004;53(7):1790–7.
- [69] Kewalramani G, Puthanveetil P, Kim MS, Wang F, Lee V, Hau N, et al. Acute dexamethasone-induced increase in cardiac lipoprotein lipase requires activation of both Akt and stress kinases. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295(1):E137–47.
- [70] Sambandam N, Abrahami MA, Craig S, Al-Atar O, Jeon E, Rodrigues B. Metabolism of VLDL is increased in streptozotocin-induced diabetic rat hearts.

- Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000;278(6):H1874–82.
- [71] Pulnilkunnil T, Abrahami A, Varghese J, Chan N, Tang I, Ghosh S, et al. Evidence for rapid “metabolic switching” through lipoprotein lipase occupation of endothelial-binding sites. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35(9):1093–103.
- [72] Pulnilkunnil T, An D, Yip P, Chan N, Qi D, Ghosh S, et al. Palmitoyl lysophosphatidylcholine mediated mobilization of LPL to the coronary luminal surface requires PKC activation. *J Mol Cell Cardiol* 2004;37(5):931–8.
- [73] An D, Pulnilkunnil T, Qi D, Ghosh S, Abrahami A, Rodrigues B. The metabolic “switch” AMPK regulates cardiac heparin-releasable lipoprotein lipase. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288(1):E246–53.
- [74] Kewalramani G, An D, Kim MS, Ghosh S, Qi D, Abrahami A, et al. AMPK control of myocardial fatty acid metabolism fluctuates with the intensity of insulindeficient diabetes. *J Mol Cell Cardiol* 2007;42(2):333–42.
- [75] Kim MS, Kewalramani G, Puthanveetil P, Lee V, Kumar U, An D, et al. Acute diabetes moderates trafficking of cardiac lipoprotein lipase through p38 mitogen-activated protein kinase-dependent actin cytoskeleton organization. *Diabetes* 2008;57(1):64–76.
- [76] Pulnilkunnil T, An D, Ghosh S, Qi D, Kewalramani G, Yuen G, et al. Lysophosphatidic acid-mediated augmentation of cardiomyocyte lipoprotein lipase involves actin cytoskeleton reorganization. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288(6):H2802–10.
- [77] Wang F, Kim MS, Puthanveetil P, Kewalramani G, Deppe S, Ghosh S, et al. Endothelial heparanase secretion after acute hypoinsulinemia is regulated by glucose and fatty acid. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296(4):H1108–16.
- [78] Wang Y, Zhang D, Chiu AP, Wan A, Neumaier K, Vlodavsky I, et al. Endothelial heparanase regulates heart metabolism by stimulating lipoprotein lipase secretion from cardiomyocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33(5):894–902.
- [79] Wang F, Wang Y, Kim MS, Puthanveetil P, Ghosh S, Luciani DS, et al. Glucose-induced endothelial heparanase secretion requires cortical and stress actin reorganization. *Cardiovasc Res* 2010;87(1):127–36.
- [80] Pillarisetti S, Paka L, Sasaki A, Vanni-Reyes T, Yin B, Parthasarathy N, et al. Endothelial cell heparanase modulation of lipoprotein lipase activity. Evidence that heparan sulfate oligosaccharide is an extracellular chaperone. *J Biol Chem* 1997;272(25):15753–9.
- [81] Wang Y, Chiu AP, Neumaier K, Wang F, Zhang D, Hussein B, et al. Endothelial cell heparanase taken up by cardiomyocytes regulates lipoprotein lipase transfer to the coronary lumen after diabetes. *Diabetes* 2014;63(8):2643–55.
- [82] Zhang D, Wan A, Chiu AP, Wang Y, Wang F, Neumaier K, et al. Hyperglycemia-induced secretion of endothelial heparanase stimulates a vascular endothelial growth factor autocrine network in cardiomyocytes that promotes recruitment of lipoprotein lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33(12):2830–8.
- [83] Chiu AP, Wan A, Lal N, Zhang D, Wang F, Vlodavsky I, et al. Cardiomyocyte VEGF regulates endothelial cell GPIHBP1 to relocate lipoprotein lipase to the coronary lumen during diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36(1):145–55.
- [84] Lal N, Chiu AP, Wang F, Zhang D, Jia J, Wan A, et al. Loss of VEGFB and its signaling in the diabetic heart is associated with increased cell death signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2017;312(6):H1163–75.
- [85] Iozzo RV, San Antonio JD. Heparan sulfate proteoglycans: heavy hitters in the angiogenesis arena. *J Clin Invest* 2001;108(3):349–55.
- [86] Iozzo RV. Heparan sulfate proteoglycans: intricate molecules with intriguing functions. *J Clin Invest* 2001;108(2):165–7.
- [87] Bame KJ. Heparanases: endoglycosidases that degrade heparan sulfate proteoglycans. *Glycobiology* 2001;11(6):91R–8R.
- [88] Vlodavsky I, Friedmann Y, Elkin M, Aingorn H, Atzmon R, Ishai-Michaeli R, et al. Mammalian heparanase: gene cloning, expression and function in tumor progression and metastasis. *Nat Med* 1999;5(7):793–802.
- [89] Fairbanks MB, Mildner AM, Leone JW, Cavey GS, Mathews WR, Drong RF, et al. Processing of the human heparanase precursor and evidence that the active enzyme is a heterodimer. *J Biol Chem* 1999;274(42):29587–90.
- [90] Gingis-Velitski S, Zetser A, Kaplan V, Ben-Zaken O, Cohen E, Levy-Adam F, et al. Heparanase uptake is mediated by cell membrane heparan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem* 2004;279(42):44084–92.
- [91] Ben-Zaken O, Shafat I, Gingis-Velitski S, Bangio H, Kelson IK, Alergand T, et al. Low and high affinity receptors mediate cellular uptake of heparanase. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40(3):530–42.
- [92] Vlodavsky I, Singh P, Boyango I, Gutter-Kapon L, Elkin M, Sanderson RD, et al. Heparanase: from basic research to therapeutic applications in cancer and inflammation. *Drug Resist Updat* 2016;29:54–75.
- [93] Pikas DS, Li JP, Vlodavsky I, Lindahl U. Substrate specificity of heparanases from human hepatoma and platelets. *J Biol Chem* 1998;273(30):18770–7.
- [94] Abboud-Jarrou G, Rangini-Guetta Z, Aingorn H, Atzmon R, Elgavish S, Peretz T, et al. Site-directed mutagenesis, proteolytic cleavage, and activation of human proheparanase. *J Biol Chem* 2005;280(14):13568–75.
- [95] Wang F, Wang Y, Zhang D, Puthanveetil P, Johnson JD, Rodrigues B. Fatty acid-induced nuclear translocation of heparanase uncouples glucose metabolism in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(2):406–14.
- [96] Zcharia E, Metzger S, Chajek-Shaul T, Aingorn H, Elkin M, Friedmann Y, et al. Transgenic expression of mammalian heparanase uncovers physiological functions of heparan sulfate in tissue morphogenesis, vascularization, and feeding behavior. *FASEB J* 2004;18(2):252–63.
- [97] Ilan N, Elkin M, Vlodavsky I. Regulation, function and clinical significance of heparanase in cancer metastasis and angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38(12):2018–39.
- [98] Holmes DI, Zachary I. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. *Genome Biol* 2005;6(2):209.
- [99] Shibuya M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (VEGFR) signaling in angiogenesis: a crucial target for anti- and proangiogenic therapies. *Genes Cancer* 2011;2(12):1097–105.
- [100] Karpanen T, Bry M, Ollila HM, Seppänen-Laakso T, Liimatta E, Leskinen H, et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor-B in mouse heart alters cardiac lipid metabolism and induces myocardial hypertrophy. *Circ Res* 2008;103(9):1018–26.
- [101] Mould AW, Greco SA, Cahill MM, Tonks ID, Bellomo D, Patterson C, et al. Transgenic overexpression of vascular endothelial growth factor-B isoforms by endothelial cells potentiates postnatal vessel growth *in vivo* and *in vitro*. *Circ Res* 2005;97(6):e60–70.
- [102] Zhang F, Tang Z, Hou X, Lennartsson J, Li Y, Koch AW, et al. VEGF-B is dispensable for blood vessel growth but critical for their survival, and VEGF-B targeting inhibits pathological angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(15):6152–7.
- [103] Kivelä R, Bry M, Robciuc MR, Räsänen M, Taavitsainen M, Silvola JM, et al. VEGF-B-induced vascular growth leads to metabolic reprogramming and ischemia resistance in the heart. *EMBO Mol Med* 2014;6(3):307–21.
- [104] Robciuc MR, Kivelä R, Williams IM, de Boer JF, van Dijk TH, Elamaa H, et al. VEGFB/VEGFR1-induced expansion of adipose vasculature counteracts obesity and related metabolic complications. *Cell Metab* 2016;23(4):712–24.
- [105] Olofsson B, Pajusola K, Kaipainen A, von Euler G, Joukov V, Saksela O, et al. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(6):2576–81.
- [106] Shibuya M. Structure and dual function of vascular endothelial growth factor receptor-1 (Flt-1). *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33(4):409–20.
- [107] Boucher JM, Clark RP, Chong DC, Citrin KM, Wylie LA, Bautsch VL. Dynamic alterations in decoy VEGF receptor-1 stability regulate angiogenesis. *Nat Commun* 2017;8(1):15699.
- [108] Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380(6573):435–9.
- [109] Miquelot L, Langille BL, Nagy A. Embryonic development is disrupted by modest increases in vascular endothelial growth factor gene expression. *Development* 2000;127(18):3941–6.
- [110] Arjunan P, Lin X, Tang Z, Du Y, Kumar A, Liu L, et al. VEGF-B is a potent antioxidant. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115(41):10351–6.
- [111] Sun Y, Jin K, Childs JT, Xie L, Mao XO, Greenberg DA. Increased severity of cerebral ischemic injury in vascular endothelial growth factor-B-deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004;24(10):1146–52.
- [112] Huusko J, Lottonen L, Merentie M, Gurzeler E, Anisimov A, Miyahara A, et al. AAV9-mediated *VEGF-B* gene transfer improves systolic function in progressive left ventricular hypertrophy. *Mol Ther* 2012;20(12):2212–21.
- [113] Pepe M, Mamdani M, Zentilin L, Csizsar A, Qanud K, Zacchigna S, et al. Intramyocardial *VEGF-B167* gene delivery delays the progression towards congestive failure in dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 2010;106(12):1893–903.
- [114] Räsänen M, Degerman J, Nissinen TA, Minalainen I, Kerkelä R, Siltanen A, et al. *VEGF-B* gene therapy inhibits doxorubicin-induced cardiotoxicity by endothelial protection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(46):13144–9.
- [115] Zentilin L, Puliggada U, Lionetti V, Zacchigna S, Collesi C, Pattarini L, et al. Cardiomyocyte VEGFR-1 activation by VEGF-B induces compensatory hypertrophy and preserves cardiac function after myocardial infarction. *FASEB J* 2010;24(5):1467–78.
- [116] Larsen TS, Aasum E. Metabolic (in)flexibility of the diabetic heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 2008;22(2):91–5.

- [117] Hinkel R, Howe A, Renner S, Ng J, Lee S, Klett K, et al. Diabetes mellitus-induced microvascular destabilization in the myocardium. *J Am Coll Cardiol* 2017;69(2):131–43.
- [118] Adameova A, Dhalla NS. Role of microangiopathy in diabetic cardiomyopathy. *Heart Fail Rev* 2014;19(1):25–33.
- [119] Cai L, Li W, Wang G, Guo L, Jiang Y, Kang YJ. Hyperglycemia-induced apoptosis in mouse myocardium: mitochondrial cytochrome C-mediated caspase-3 activation pathway. *Diabetes* 2002;51(6):1938–48.
- [120] Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. *Circ Res* 2000;87(12):1123–32.