

Kisspeptins/GPR54神经内分泌系统对哺乳动物生殖活动的调控

张 伟^{1,2,3} 王世银¹ 甘尚权² 石国庆^{2*}

¹新疆农业职业技术学院, 昌吉 831100; ²新疆农垦科学院畜牧兽医研究所, 石河子 832000;

³石河子大学动物科技学院, 石河子 832003)

摘要 哺乳动物的生殖活动受到神经内分泌系统的精确调控。近年来的研究表明, *KISS-I* 基因的表达产物Kisspeptins及其G蛋白偶联受体(G protein coupled receptor 54, GPR54)在这一调控网络中发挥着重要作用, 与哺乳动物青春启动、发情排卵及季节性繁殖等过程密切相关。该文就近年来Kisspeptins/GPR54系统对哺乳动物生殖活动调控的研究进展进行简述。

关键词 Kisspeptins; GPR54; *KISS-I*; 生殖调控

Kisspeptins/GPR54 System and Reproduction Regulation in Mammal

Zhang Wei^{1,2,3}, Wang Shiyin¹, Gan Shangquan², Shi Guoqing^{2*}

¹College of Animal Science and Technology, Xinjiang Agricultural Professional Technological College, Changji 831100, China;

²Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Shihezi 832000, China;

³College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract The reproduction of mammal is controlled by a network which composed of neuro-endocrine system. The recent research has demonstrated that Kisspeptins, the protein of *KISS-I* gene, and its receptor GPR54 play important roles in this neuro-endocrine network, and have intimate relationship with the onset of puberty, oestrus and ovulation, the switching of oestrus and anestrus of seasonal reproduction animal. Here, the recent research progress of Kisspeptins/GPR54 system in the mammal reproduction regulation is reviewed.

Key words Kisspeptins; GPR54; *KISS-I*; reproduction regulation

哺乳动物的生殖活动直接关系到物种的延续, 所以在进化的过程中逐渐形成了一个复杂的神经内分泌调控网络, 以便针对各种内外环境因素的变化对动物生殖活动进行精确调控。这个复杂调控网络最终直接或间接地汇集到下丘脑-垂体-性腺轴(hypothalamic pituitary gonadal axis, HPGA)而发挥作用^[1]。位于下丘脑正中隆起(median eminence, ME)的一些神经细胞可合成分泌促性腺激素释放激

素(gonadotrophin-releasing hormone, GnRH), 对HPGA下游的激素分泌水平进行调控, 同时也受下游激素的反馈调节, 从而在动物的生殖活动调控中发挥至关重要的作用^[2]。

那么, GnRH的合成和分泌又受哪些因素的影响? 上游的调控网络是如何精确调控GnRH的水平, 进而影响哺乳动物生殖活动的? 这是长期困扰人们的一个问题, 也是哺乳动物生殖相关研究中的热点。

收稿日期: 2014-03-13 接受日期: 2014-04-16

新疆农业职业技术学院科研项目(批准号: XJNZYKJ2013008, XJNZYKJ2013010)和国家自然科学基金(批准号: 31360540)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0993-6683362, E-mail: nkxyxms@163.com

Received: March 13, 2014 Accepted: April 16, 2014

This work was supported by the Scientific Research Projects of Xinjiang Agricultural Professional Technological College (Grant No.XJNZYKJ2013008, XJNZYKJ2013010) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31360540)

*Corresponding author. Tel: +86-993-6683362, E-mail: nkxyxms@163.com

网络出版时间: 2014-07-25 17:25

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.08.0074.html>

2003年, *KISS-1*基因及其产物Kisspeptins对动物生殖活动调控作用的发现, 使人们对动物生殖调控有了更为深入的认识, 同时也为动物生殖活动调控机理的研究开辟了新的方向。

1 *KISS-1*基因对动物生殖活动调控作用的发现

早在1996年, 人们就已经开始研究*KISS-1*基因, 并逐渐认识到其表达产物Kisspeptins是通过G蛋白偶联受体(G protein coupled receptor 54, GPR54)发挥作用的^[3]。1996年, *KISS-1*基因的mRNA被成功分离^[4], 但直到2001年, 三个独立的研究小组才详细地描述了其蛋白质结构^[5-7]。在随后的两年中, 对其研究主要集中在癌症领域, 发现*KISS-1*基因的表达产物有抑制肿瘤细胞扩散的作用, 因此Kisspeptins也被称为Metastin^[7]。

2003年, 两项独立的研究证实*KISS-1*基因对动物的生殖活动具有重要的调控作用^[8-9]。在人类中有一种家族性的先天性低促性腺素性功能减退症, 患者表现出生殖系统发育迟缓等症状, de Roux等^[8]的研究表明, 患该病的家族成员*GPR54*基因发生了碱基缺失突变而丧失活性, 从而使Kisspeptins携带的调控信息无法传递到细胞内。Seminara等^[9]将小鼠的*GPR54*基因敲除后发现, 其表现出的症状与人低

促性腺素性功能减退症非常相似。后续的研究进一步证实*KISS-1*基因敲除的小鼠也表现出相似的症状, 只不过比*GPR54*基因失活后造成的影响要小一些。

上述研究报道使人们认识到了Kisspeptins/GPR54系统在动物生殖活动调控中发挥的重要作用, 并就此开展了大量的研究, 对其功能也有了更为深入的认识, 揭示了其在青春期启动、发情排卵及季节性繁殖等方面的重要调控作用。同时, Kisspeptins作为一种人为调控动物生殖活动的药物在实际生产中得到了应用。

2 Kisspeptins及其受体GPR54

早在1996年, 研究人员就已从低侵袭力的肿瘤细胞中分离到*KISS-1*基因的mRNA, 但是该基因的克隆和染色体上的定位研究一直没有进展^[4,10]。直到2001年, 三个独立的研究才获得了*KISS-1*基因编码的蛋白质, 并命名为Kisspeptins。Kisspeptins的前体由145个氨基酸残基组成, 前19个氨基酸残基为信号序列, 第57和67个氨基酸残基处存在两个潜在的二盐基裂解位点(two potential dibasic cleavage sites), 121至124氨基酸残基之间有一个裂解和酰胺化位点^[5-7]。该蛋白质前体可被水解为由54、14、13或10个氨基酸残基组成的有生物活性的肽链^[5,11](图1),

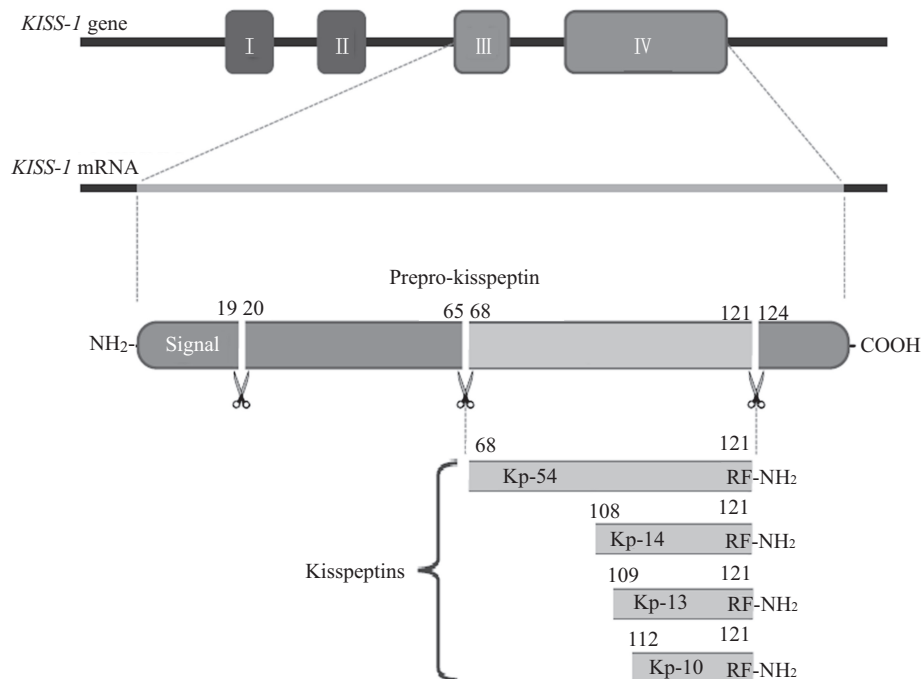


图1 *KISS-1*基因及其产物基本结构示意图(根据参考文献[3]做适当的修改)

Fig.1 The structure of *KISS-1* gene and its peptides (modified from reference [3])

统称为Kisspeptins, 它们具有相似的生物活性, C末端都具有-Arg-Phe-NH₂(精氨酸-苯丙氨酸酰胺基)结构, 这是RF-酰胺肽家族的共同特征, 该家族由多个具有神经活性的多肽组成, 在哺乳动物中包括神经肽FF和AF、促乳素释放肽(PrRP)、26/43RFa以及RF相关肽(RFRP-1和RFRP-3)。值得注意的是, 哺乳动物中Kisspeptins、RFRPs、26RFa以及PrRP均可调控促性腺激素的分泌^[12-15]。

Kisspeptins是通过其受体GPR54发挥作用的。小鼠和人的GPR54基因分别于1999年和2001年相继被克隆, 研究发现二者高度同源^[6-7,16]。人GPR54基因定位于19号染色体, 编码398个氨基酸残基, 包含7个疏水性的跨膜区和3个糖基化位点, 分子量75 kDa^[16], 与甘丙肽受体有40%的同源性, 在胎盘、下丘脑、脑垂体和胰腺中高表达^[6-7,17]。

3 下丘脑 Kisspeptins神经元的定位

下丘脑是控制哺乳动物生殖活动的高级中枢, 负责对影响生殖的各种内外信号进行整合, 从而对下游的垂体、性腺等的内分泌状态进行及时、准确的调控。下丘脑中Kisspeptins神经元的定位及其与其他神经元的突触连接一直是人们关注的研究内容。目前, 主要采用原位杂交(*in situ hybridization*, ISH)和免疫细胞化学技术(immunocytochemistry, ICC)分别从mRNA和蛋白质水平检测Kisspeptins神经元。随着Kisspeptins特异性抗体和可作为阴性对照的KISS-1基因敲除小鼠的出现, ICC技术被广泛采用, 在Kisspeptins神经元定位研究中发挥了积极的作用^[18]。

利用上述检测技术, 在小鼠^[18]、大鼠^[18]、人^[19]、猴^[20]、绵羊^[21]、山羊^[22]、仓鼠^[23]和马^[24]等哺乳动物的下丘脑弓状核(arcuate nucleus, ARC)均发现存在Kisspeptins神经元, 但在分布上有所不同, 啮齿类动物主要集中在ARC的喙部和尾部^[18,24], 绵羊、灵长类动物、山羊和马则主要分布在ARC的中部和尾部^[18,20-22]。已有的研究结果显示, 哺乳动物ARC均有Kisspeptins神经元分布, 但在下丘脑的其他区域Kisspeptins神经元的分布却存在明显的物种差异。啮齿类动物在前腹侧室旁核(anteroventral periventricular nucleus, AVPV)和邻近视叶前脑室周围(adjacent periventricular preoptic nucleus, PeN)有Kisspeptins神经元的分布^[18,23], 在其他哺乳动物, 则分布在视叶前区(preoptic area, POA), 而且与AVPV区的Kisspeptins神经元相比, POA的Kiss-

peptins神经元分布更为分散^[19,25]。至于上述两个区域的Kisspeptins神经元在功能上是否相同仍有待进一步研究。

除了上述部位以外, 在发情前大鼠的正中隆起(median eminence, ME)内层、外层及下丘脑背内侧均发现大量Kisspeptins神经纤维^[26], 在下丘脑的其他区域也有零星Kisspeptins神经纤维被检测到。下丘脑不同部位的Kisspeptins神经元可能存在不同的功能, 从而构成一个复杂的神经调控网络, 对哺乳动物的生殖活动进行精确的调控。

4 Kisspeptins对GnRH的调控

下丘脑的GnRH神经元合成分泌的促性腺激素释放激素(GnRH), 是引起动物发情排卵的关键激素。在非繁殖季节或者间情期, GnRH的水平很低, 进入繁殖季节或发情期后下丘脑合成GnRH的量逐渐增加, 并释放进入垂体门脉, 被血液运送到腺垂体后使垂体细胞合成释放促卵泡素(follicle-stimulating hormone, FSH)和促黄体素(luteinizing hormone, LH), FSH和LH到达卵巢后促进卵泡发育、排卵, 同时刺激类固醇激素的合成释放, 进而引起动物发情症状逐渐明显。性腺分泌的类固醇激素又对GnRH产生反馈调节, 从而使相关激素保持在适当的水平。

对母绵羊的研究表明, 在发情周期的大部分时间GnRH和LH持续受到孕酮和雌二醇的负反馈调节。孕酮主要调控GnRH和LH峰的频率, 而雌二醇主要调控其振幅^[27]。到卵泡期的后期, 雌二醇的负反馈调节转变为正反馈调节, 进而引起排卵前的GnRH和LH峰^[28]。但是, 研究表明, GnRH神经元上没有孕酮和雌二醇的受体(ER α)^[29-30]。所以, 性腺类固醇激素对GnRH的反馈调节应该由其他神经元介导。

早期的研究表明, 在摘除卵巢母羊的下丘脑内侧基部(mediobasal hypothalamus, MBH)显微埋植雌二醇, 可引起类似排卵前的GnRH峰^[31], 提示该处的神经元可能介导性腺类固醇激素对GnRH的调节。分布于下丘脑弓状核(ARC)、视前区(POA)和前腹侧室旁核(AVPV, 啮齿类动物)的Kisspeptins神经元似乎可以很好地完成这一功能。因为大部分Kisspeptins神经元表达雌二醇受体ER α ^[32], 同时Kisspeptins神经元与GnRH神经元有突触连接, 而很大一部分GnRH神经元表达Kisspeptins受体GPR54^[33-34]。对大鼠、小鼠及猴的研究结果表明, 注射Kisspeptins

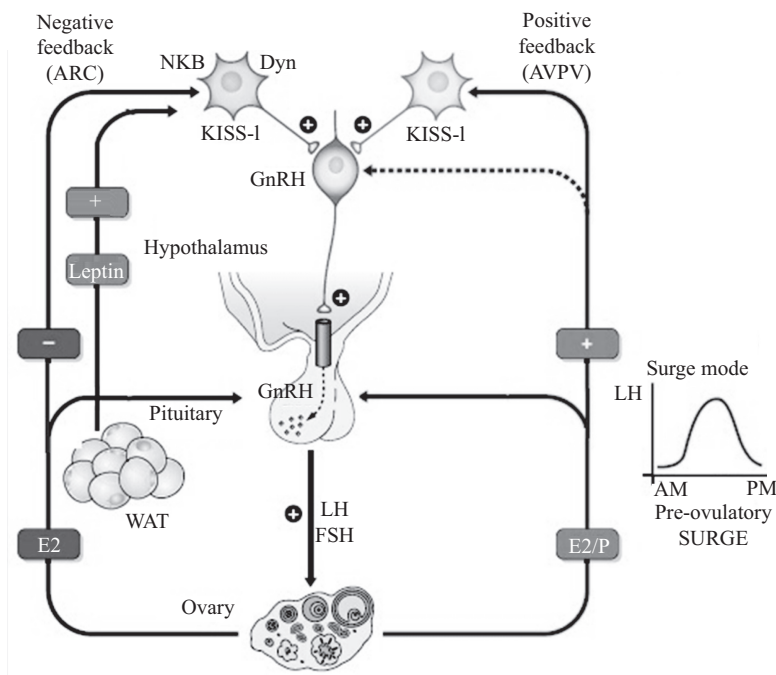


图2 小鼠下丘脑AVPV和ARC的Kisspeptins神经元与HPG轴的关系模式图(根据参考文献[41]做适当的修改)

Fig.2 The relationship of mouse Kisspeptins neurone and HPG axis in hypothalamus AVPV and ARC (modified from reference [41])

可引起FSH和LH的释放,但是如果事先用GnRH的拮抗剂处理动物,然后再注射Kisspeptins,那么其对促性腺激素的刺激作用亦被阻断^[35-37]。五指山猪在30、60、90和120日龄下丘脑中*KISS-1* mRNA的表达量逐渐上升,至初情期时(90日龄)达到最高,且与血清中FSH和LH浓度的变化趋势一致^[38]。在体外,GnRH神经元与Kisspeptins共孵育,可使其合成释放GnRH,但在*GPR54*敲除的小鼠不能观察到这一现象^[39]。对小鼠的研究表明,ARC约有20%的*KISS-1*神经元与POA喙部有突触联系,从而支配该处的GnRH神经元^[40]。

基于大量的研究结果,可以肯定Kisspeptins神经元可直接调控GnRH神经元的活动,进而对垂体和性腺活动产生影响,从而控制动物的生殖活动(图2)。

然而,Kisspeptins神经元对GnRH神经元的调控远比人们预想的复杂。下丘脑不同区域的Kisspeptins神经元对GnRH神经元的调控作用存在多样性和种属差异。这一方面在啮齿类动物中研究的比较清楚,AVPV区域的Kisspeptins神经元可刺激GnRH神经元产生排卵前的GnRH峰^[42],且该区域的Kisspeptins神经元存在性别差异,不论是*KISS-1* mRNA还是Kisspeptins,均是雌性高于雄性^[43],而进一步的研究结果表明,这种差异在胚胎阶段就已经出现,但是在胚胎阶段Kisspeptins神经元及*KISS-1*基因表达的性

别差异主要是由于E₂的分泌水平不同所致^[44],而初情期前后和成年阶段则主要受GnRH水平的调控^[45]。相比较而言,绵羊等动物的情况相对比较复杂,有研究表明,绵羊ARC区域的Kisspeptins神经元对GnRH神经元产生正调控,从而引起排卵前GnRH和LH峰,而POA区域的Kisspeptins神经元无此作用^[46]。但是,近期的研究结果显示,绵羊POA区域的Kisspeptins神经元同样介导了雌二醇对GnRH神经元的正反馈调节^[47],这可能与不同研究中绵羊所处的生殖状态存在差异有关。在很多动物中,如果摘除卵巢,会使ARC区域的Kisspeptins上升。如果给摘除卵巢的动物持续注射雌二醇,又可抑制ARC区域Kisspeptins的上升,而对青春期前后大鼠的研究表明,Kisspeptins和雌激素受体α表达量均极显著地高于幼年期^[48],提示ARC区域的Kisspeptins神经元可能介导雌激素对GnRH神经元的负反馈调节^[49-50]。但是另一项研究表明,绵羊在排卵前,外周血液中雌二醇浓度升高的同时,ARC尾部区域*KISS-1* mRNA水平同时上升^[51]。对摘除卵巢绵羊的研究结果也表明,给绵羊注射雌二醇诱导排卵前LH峰的同时,ARC中部和尾部区域的Kisspeptins神经元大量表达Fos^[52],但不足之处是,上述相同时期促性腺激素的水平一直很低,所以无法判断Kisspeptins神经元的上述变化介导了性腺类固

醇激素的正反馈调节还是负反馈调节。POA和ARC的Kisspeptins神经元之间是否有联系,以及它们如何协同调控GnRH神经元,还有待进一步研究。有人推测,雌二醇对ARC区域Kisspeptins神经元的早期影响可以改变POA区域Kisspeptins神经元的敏感性,进而引起随后的GnRH峰^[47]。

Kisspeptins神经元除了介导性腺类固醇激素对GnRH神经元的反馈调控之外,还可能介导其他神经元及神经递质对GnRH神经元的作用。研究表明,母羊A15多巴胺能神经元与下丘脑ARC区域Kisspeptins神经元有突触联系,并通过抑制Kisspeptins神经元的活动而抑制GnRH和LH的分泌,从而使母羊处于乏情期^[53]。小鼠Kisspeptins神经元表达神经递质 γ -氨基丁酸的受体,如果敲除成年小鼠的 γ -氨基丁酸受体,则其生殖活动受到明显影响,但对初情期前后的小鼠影响不大^[54]。上述研究结果提示, Kisspeptins/GPR54神经内分泌系统处于哺乳动物生殖活动调控网络的重要位置,可能起到信号中转的作用,将上游各种神经、体液调控信号传递给GnRH神经元,从而发挥对生殖活动的调控作用。

5 Kisspeptins与褪黑素的关系

在季节性繁殖的动物中,随着日照时间的变化,松果体合成分泌的褪黑素水平也发生相应的变化,从而把光照信号转变成为激素信号,进而引起下游一系列激素水平的变化,使动物在繁殖季节出现发情排卵而在非繁殖季节处于乏情状态^[55]。有趣的是,对季节性繁殖的绵羊品种的研究表明, *KISS-1* 基因的表达量也随着绵羊的繁殖季节和非繁殖季节而发生变化。在非繁殖季节,绵羊下丘脑ARC和OPA区Kisspeptins神经元的数量及Kisspeptins的表达量均较发情季节明显下降^[56],而对于其他季节性繁殖的动物的研究也到得了相似的结果。由此可以推断,光照时间的季节性变化引起松果体合成分泌的褪黑素水平发生变化,进而引起Kisspeptins表达量的季节性变化,并最终影响下丘脑-垂体-性腺轴相关激素的合成和分泌,从而决定季节性繁殖动物的生殖状态。如果这条信号通路成立,那么动物季节性繁殖的机理就可以得到较好的解释。但相关研究结果表明,绵羊下丘脑ARC Kisspeptins神经元并不表达褪黑素受体,所以可以初步确定褪黑素不直接调控Kisspeptins神经元,而是通过影响其他神经内分泌激素达到

对Kisspeptins神经元的间接调控^[57]。对叙利亚仓鼠的研究结果显示,在短日照刺激下,其下丘脑Kisspeptins表达水平的下降受到不同机制的调控。在其ARC,褪黑素通过影响相关区域而抑制Kisspeptins的表达,而且这种抑制作用可能依赖于性腺类固醇激素。相反,在AVPV区则是由性腺类固醇激素的单一作用引起的^[58]。但是,褪黑素调控Kisspeptins的信号通路还有待深入研究。

另外, Kisspeptins神经元上还有Leptin的受体,并与促皮质素原和神经肽Y细胞存在相互联系,体况差的绵羊Kisspeptins的表达水平明显较体况好的绵羊低,但是如果向脑室内显微注射Leptin则可使体况差的绵羊Kisspeptins的表达水平恢复到正常水平^[59]。梅山猪血液中Leptin的水平与下丘脑Kisspeptins和GPR54的表达水平呈显著正相关^[60]。对小鼠的研究表明, Leptin主要是通过影响成年小鼠Kisspeptins的表达水平而影响其生殖活动,而对其初情期的启动没有直接的关系^[61]。另一项研究表明,如果敲除小鼠Kisspeptins神经元的胰岛素受体,会使其Kisspeptins表达水平下降,生殖系统发育受阻,进而导致初情期延迟。上述研究结果提示,动物通过代谢通路中的相关物质直接或者间接地调控Kisspeptins的水平,进而影响下游的生殖激素的合成分泌^[62],使动物的生殖活动与物质代谢水平相适应^[41]。

近几年来, Kisspeptins/GPR54系统对HPGA的调控越来越受到人们的关注,并在各个物种中开展了大量的研究,使人们对哺乳动物生殖活动的调控有了更为深入的认识。但是,随着相关研究的不断深入,人们也逐渐认识到Kisspeptins调控作用的多样性和复杂性,其中的一些环节至今仍不明晰。另外, Kisspeptins/GPR54系统与其他生殖相关信号通路之间的关系也有待进一步深入研究。但可以肯定的是,随着分子遗传学理论的不断发展和表观遗传学、高通量测序及全基因组研究等在动物生殖调控中的逐渐开展,人们对于控制哺乳动物生殖活动的信号通路及其相互之间的关系将会有一个更为清晰的认识,从而使人为调控动物的生殖活动成为可能,这将对提高动物的繁殖效率以及野生动物的保护等方面产生积极而深远的影响。

参考文献 (References)

- 1 Apfelbaum ME. Basal and GnRH-induced release and synthesis

- of LH and FSH from incubated pituitary glands throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Horm Res* 1981; 15(2): 109-21.
- 2 Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Knobil E. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypophthalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science* 1978; 202(4368): 631-3.
- 3 Roa J, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. New frontiers in Kisspeptins/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29(1): 48-69.
- 4 Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, *et al.* *KISS-1*, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88(23): 1731-7.
- 5 Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, *et al.* The metastasis suppressor gene *KISS-1* encodes Kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001; 276(37): 34631-6.
- 6 Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, *et al.* AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide *KISS-1*. *J Biol Chem* 2001; 276(31): 28969-75.
- 7 Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, *et al.* Metastasis suppressor gene *KISS-1* encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 2001; 411(6837): 613-7.
- 8 de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the *KISS1*-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(19): 10972-6.
- 9 Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno Jr JS, Shagoury JK, *et al.* The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003; 349(17): 1614-27.
- 10 Lee JH, Welch DR. Identification of highly expressed genes in metastasis-suppressed chromosome 6/human malignant melanoma hybrid cells using subtractive hybridization and differential display. *Int J Cancer* 1997; 71(6): 1035-44.
- 11 Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, *et al.* Kisspeptins-10, a *KISS-1*/metastatin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci* 2004; 117(8): 1319-28.
- 12 Botia B, Jolivel V, Burel D, Le Joncour V, Roy V, Naassila M, *et al.* Neuroprotective effects of PACAP against ethanol-induced toxicity in the developing rat cerebellum. *Neurotoxicol Res* 2011; 19(3): 423-34.
- 13 Clarke IJ, Qi Y, Puspita Sari I, Smith JT. Evidence that RF-amide related peptides are inhibitors of reproduction in mammals. *Front Neuroendocrinol* 2009; 30(3): 371-8.
- 14 Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Nogueiras R, Vigo E, Tovar S, Chartrel N, *et al.* Novel role of 26RFa, a hypothalamic RFamide orexigenic peptide, as putative regulator of the gonadotropic axis. *J Physiol* 2006; 573(1): 237-49.
- 15 Sun B, Fujiwara K, Adachi S, Inoue K. Physiological roles of prolactin-releasing peptide. *Regul Pept* 2005; 126(1): 27-33.
- 16 Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, *et al.* Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett* 1999; 446(1): 103-7.
- 17 Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, vanderwinden JM, Le Poul E, *et al.* The metastasis suppressor gene *KISS-1* encodes Kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001; 276(37): 34631-6.
- 18 Clarkson J, Tassigny X, Colledge WH, Caraty A, Herbison AE. Distribution of Kisspeptins neurones in the adult female mouse brain. *J Neuroendocrinol* 2009; 21(8): 673-82.
- 19 Hrabovszky E, Ciofi P, Vida B, Horvath MC, Keller E, Caraty A, *et al.* The Kisspeptins system of the human hypothalamus: Sexual dimorphism relationship with gonadotropin-releasing hormone and neurokinin B neurons. *Eur J Neurosci* 2010; 31(11): 1984-98.
- 20 Ramaswamy S, Seminara SB, Ali B, Ali B, Ciofi P, Amin NA, *et al.* Neurokinin B stimulates GnRH release in the male monkey (*Macaca mulatta*) and is colocalized with Kisspeptins in the arcuate nucleus. *Endocrinology* 2010; 151(9): 4494-503.
- 21 Cheng G, Coolen LM, Padmanabhan V, Goodman RL, Lehman MN. The Kisspeptins/Neurokinin B/Dynorphin (KNDy) cell population of the arcuate nucleus: Sex differences and effects of prenatal testosterone in sheep. *Endocrinology* 2010; 151(1): 301-11.
- 22 Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, Ohkura S, Mogi K, Navarro VM, *et al.* Neurokinin B and dynorphin A in Kisspeptins neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J Neurosci* 2010; 30(8): 3124-32.
- 23 Smith JT. Kisspeptins signalling in the brain: Steroid regulation in the rodent and ewe. *Brain Res Rev* 2008; 57(2): 288-98.
- 24 Magee C, Foradori CD, Bruemmer JE, Arreguin-Arevalo JA, McCue PM, Handa RJ, *et al.* Biological and anatomical evidence for Kisspeptins regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of estrous horsemares. *Endocrinol* 2009; 150(6): 2813-21.
- 25 Smith JT, Shahab M, Pereira A, Pau KY, Clarke IJ. Hypothalamic expression of *KISS-1* and gonadotropin inhibitory hormone genes during the menstrual cycle of a non-human primate. *Biol Reprod* 2010; 83(4): 568-77.
- 26 Desroziers E, Mikkelsen J, Simonneaux V, Keller M, Tillet Y, Caraty A, *et al.* Mapping of Kisspeptins fibres in the brain of the pro-oestrous rat. *J Neuroendocrinol* 2010; 22(10): 1101-12.
- 27 Goodman RL, Karsch FJ. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: Differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinol* 1980; 107(5): 1286-90.
- 28 Clarke IJ. GnRH and ovarian hormone feedback. *Oxf Rev Reprod Biol* 1987; 9(4): 54-95.
- 29 Skinner DC, Caraty A, Allingham R. Unmasking the progesterone receptor in the preoptic area and hypothalamus of the ewe: No colocalization with gonadotropin-releasing neurons. *Endocrinol* 2001; 142(10): 573-79.
- 30 Lehman MN, Ebling FJ, Moenter SM, Karsch FJ. Distribution of estrogen receptor immunoreactive cells in the sheep brain. *Endocrinol* 1993; 133(2): 876-86.
- 31 Caraty A, Fabre-Nys C, Delaleu B, Locatelli A, Bruneau G, Karsch FJ, *et al.* Evidence that the mediobasal hypothalamus is the primary site of action of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinol* 1998; 139(4): 1752-60.
- 32 Franceschini I, Lomet D, Cateau M, Delsol G, Tillet Y, Caraty A. Kisspeptins immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha. *Neurosci Lett* 2006; 401(3): 225-30.
- 33 Irwig MS, Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Popa SM, Cunningham MJ, *et al.* Kisspeptins activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of *KISS-1* mRNA in the male rat. *Neuroendocrinol* 2004; 80(4): 264-72.

- 34 Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, *et al.* Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by Kisspeptins as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci* 2005; 25(49): 11349-56.
- 35 Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, *et al.* A role for Kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinol* 2004; 145(9): 4073-7.
- 36 Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, Tovar S, Roa J, Mayen A, *et al.* Effects of KISS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinol* 2005; 146(4): 1689-97.
- 37 Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: A potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(6): 2129-34.
- 38 荀文娟, 侯冠斌, 周汉林, 施力光, 曹婷. KISS-1/GPR54系统在不同发育阶段五指山猪下丘脑中的表达. *家畜生态学报(Xun Wenjuan, Hou Guanyu, Zhou Hanlin, Shi Liguang, Cao Ting. Expression of KISS-1/GPR54 system different developmental stages of Wuzhishan pig hypothalamus. Acta Ecologiae Animalis Domastici)* 2014; 35(2): 11-4.
- 39 d'Anglemont de Tassigny X, Fagg LA, Carlton MB, Carlton MB, Colledge WH. Kisspeptins can stimulate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release by a direct action at GnRH nerve terminals. *Endocrinology* 2008; 149(8): 3926-32.
- 40 Yeo SH, Herbison AE. Projections of arcuate nucleus and rostral periventricular Kisspeptins neurons in the adult female mouse brain. *Endocrinology* 2011; 152(8): 2387-99.
- 41 Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: Physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 2012; 92(3): 1235-316.
- 42 Smith JT, Popa SM, Clifton DK, Hoffman GE, Steiner RA. *KISS-1* neurons in the forebrain as central processors for generating the preovulatory luteinizing hormone surge. *J Neurosci* 2006; 26(25): 6687-94.
- 43 Kauffman AS, Gottsch ML, Roa J, Byquist AC, Crown A, Clifton DK, *et al.* Sexual differentiation of *KISS-1* gene expression in the brain of the rat. *Endocrinol* 2007; 148(6): 1774-83.
- 44 Knoll JG, Clay CM, Bouma GJ, Henion TR, Schwarting GA, Millar RP, *et al.* Developmental profile and sexually dimorphic expression of *KISS-1* and *KISS-1r* in the fetal mouse brain. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2013; 4(11): 140-51.
- 45 Kim J, Tolson KP, Dhamija S, Kauffman AS. Developmental GnRH signaling is not required for sexual differentiation of Kisspeptin neurons but is needed for maximal *KISS-1* gene expression in adult females. *Endocrinology* 2013; 154(9): 4073-7.
- 46 Blache D, Fabre-Nys CJ, Venier G. Ventromedial hypothalamus as a target for oestradiol action on proceptivity, receptivity and luteinizing hormone surge of the ewe. *Brain Res* 1991; 546(2): 241-9.
- 47 Caraty A, Franceschini I, Hoffman GE. Kisspeptins and the preovulatory Gonadotrophin-Releasing Hormone/ Luteinising Hormone surge in the ewe: Basic aspects and potential applications in the control of ovulation. *J Neuroendocrinol* 2010; 22(7): 710-5.
- 48 张潇潇, 单晔, 于宝生, 高兰英, 王安茹. 雌性Sprague-Dawley大鼠下丘脑KISS-1基因和雌激素受体 α 基因表达的发育学变化. *中华实用儿科杂志(Zhang Xiaoxiao, Shan Ye, Yu Baosheng, Gao Lanying, Wang Anru. Developmental changes in the expression of *KISS-1* gene and estrogen receptor α gene in hypothalamus of female Sprague-Dawley rats, Chin J Appl Clin Pediatr)* 2013; 28(8): 589-92.
- 49 Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ. *KISS-1* messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology* 2007; 148(3): 1150-7.
- 50 毕文凯, 李连涛, 温俊平, 黄惠彬, 梁继兴, 林丽香, 等. 雌激素抑制SD雌性大鼠下丘脑弓状核Kisspeptin表达. *实用医学杂志(Bi Wenkai, Li Liantao, Wen Junping, Huang Huishan, Liang Jixing, Lin Lixiang, et al. Estrogen inhibits the expression of Kisspeptin in arcuate nucleus of hypothalamus in female Sprague-Dawley rat. J Practic Medicine)* 2012; 28(11): 1774-7.
- 51 Estrada KM, Clay CM, Pompolo S, Smith JT, Clarke IJ. Elevated *KISS-1* expression in the arcuate nucleus prior to the cyclic preovulatory gonadotropin-releasing hormone/luteinising hormone surge in the ewe suggests a stimulatory role for Kisspeptins in oestrogen-positive feedback. *J Neuroendocrinol* 2006; 18(10): 139-49.
- 52 Smith JT, Li Q, Pereira A, Clarke IJ. Kisspeptins neurons in the ovine arcuate nucleus and preoptic area are involved in the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology* 2009; 150(12): 5530-8.
- 53 Goodman RL, Maltby MJ, Millar RP, Hileman SM, Nestor CC, Whited B, *et al.* Evidence that dopamine acts via Kisspeptins to hold GnRH pulse frequency in check in anestrus ewes. *Endocrinology* 2012; 153(12): 5918-27.
- 54 Di Giorgio NP, Semaan SJ, Kim J, López PV, Bettler B, Libertun C, *et al.* Impaired GABA_B receptor signaling dramatically up-regulates *KISS-1* expression selectively in nonhypothalamic brain regions of adult but not prepubertal mice. *Endocrinology* 2014; 155(3): 1033-44.
- 55 Malpaux B, Tricoire H, Mailliet F, Daveau A, Migaud M, Skinner DC, *et al.* Melatonin and seasonal reproduction: Understanding the neuroendocrine mechanisms using the sheep as a model. *Reprod Suppl* 2002; 59(8): 167-79.
- 56 Li Q, Roa A, Clarke IJ, Smith JT. Seasonal variation in the gonadotropin-releasing hormone response to Kisspeptin in sheep: Possible Kisspeptin regulation of the Kisspeptin receptor. *Neuroendocrinology* 2012; 96(3): 212-21.
- 57 Q Li, Rao A, Pereira A, Clarke IJ, Smith JT. Kisspeptins cells in the Ovine arcuate nucleus express prolactin receptor but not melatonin receptor. *J Neuroendocrinol* 2011; 23(10): 871-82.
- 58 Ansel L, Bolborea M, Bentsen AH. Differential regulation of kiss1 expression by melatonin and gonadal hormones in male and female Syrian hamsters. *J Biol Rhythms* 2010; 25(2): 81-91.
- 59 Backholer K, Smith JT, Rao A, Pereira A, Iqbal J, Ogawa S, *et al.* Kisspeptins cells in the ewe brain respond to Leptin and communicate with neuropeptide Y and proopiomelanocortin cells. *Endocrinology* 2010; 151(5): 2233-43.
- 60 朱碧泉, 李卓昭, 吴德, 方正锋, 林燕, 车炼强. 梅山与长大母猪下丘脑-垂体-卵巢轴KISS-1和GPR54基因的表达差异. *中国畜牧杂志(Zhu Biquan, Li Zhuozhao, Wu De, Fang Zhengfeng, Lin Yan, Che Lianqiang. The difference of *KISS-1* and *GPR54* gene expressions in Hypothalamus-Pituitary-Ovary axis of Meishan and LY breed gilts. Chin J Anim Sci)* 2011; 47(13): 21-7.
- 61 Cravo RM, Frazao R, Perello M, Osborne-Lawrence S, Williams KW, Zigman JM, *et al.* Leptin signaling in *KISS-1* neurons arises after pubertal development. *PLoS One* 2013; 8(3): 1-7.
- 62 Qiu XL, Dowling AR, Marino JS, Faulkner LD, Bryant B, Brünning JC, *et al.* Delayed puberty but normal fertility in mice with selective deletion of insulin receptors from *KISS-1* cells. *Endocrinology* 2013; 154(3): 1337-48.