



Kisspeptin/GPR54 在哺乳动物繁殖上的研究进展

杜旭旭, 梅山, 史远刚, 淡新刚*

(宁夏大学农学院, 银川 750021)

摘要: Kisspeptin 是 *Kiss1* 基因的产物, 它能够与其 G 蛋白偶联受体 GPR54 结合, 激活 PLC/PKC/MAPK 信号通路, 从而在抑制肿瘤转移、调节动物机体繁殖及初情期的启动中发挥重要作用。Kisspeptin/GPR54 不但在动物的下丘脑中表达, 还在动物的垂体和性腺中广泛表达, 并参与动物繁殖的调控。本文就 kisspeptin/GPR54 在下丘脑-垂体-性腺轴上调控动物繁殖及动物初情期启动上的最新研究进行概括归纳, 重点强调了 kisspeptin/GPR54 在性腺上的定位与分布及其对配子发生可能的直接调控作用, 同时总结了 kisspeptin/GPR54 相关研究面临的问题及未来的研究方向, 这将为更好的开展 kisspeptin/GPR54 在动物繁殖上的研究及应用提供帮助。

关键词: kisspeptin; GPR54; 繁殖; 性腺; 初情期

中图分类号: S814.1

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2020)10-2341-08

Research Progress of Kisspeptin/GPR54 in Mammalian Reproduction

DU Xuxu, MEI Shan, SHI Yuangang, DAN Xingang*

(School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Kisspeptin is the coding product of the *Kiss1* gene, which can bind to its G protein-coupled receptor GPR54 and activate the PLC/PKC/MAPK signaling pathway, thereby playing an important role in inhibiting tumor metastasis, regulating animal reproduction and initiating the estrus. Kisspeptin/GPR54 is not only expressed in hypothalamus but also widely expressed in pituitary and gonads, which is involved in regulating reproduction of animals. We summarize the latest researches about kisspeptin/GPR54 regulating reproduction and puberty initiation of animals in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. More importantly, the location and distribution of kisspeptin/GPR54 and its possible direct regulation on gametogenesis were highlighted in the gonads in this article. Besides, some problems faced in kisspeptin/GPR54 related research and its future research directions were concluded, which will better help the research and application of kisspeptin/GPR54 in animal reproduction.

Key words: kisspeptin; GPR54; reproduction; gonad; puberty

* **Corresponding author:** DAN Xingang, E-mail: danxingang2013@163.com

Kisspeptin 是被 *Kiss1* 基因编码的含有 145 个氨基酸的前体肽, 在体内被剪切为含有不同氨基酸的成熟肽, 发挥抑制肿瘤转移、调节动物机体繁殖的

作用。自从发现至今, kisspeptin 一直是人类生殖内分泌领域的研究热点, 并在近年得到动物领域学者们的关注。Kisspeptin 与其受体 GPR54 结合不

收稿日期: 2020-04-28

基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金重点项目(NZ17003); 国家自然科学基金(31760665)

作者简介: 杜旭旭(1994-), 男, 宁夏隆德人, 硕士生, 主要从事动物繁殖调控及生物技术研究, E-mail: 1471128665@qq.com

* 通信作者: 淡新刚, 主要从事动物生殖生理与生物技术研究, E-mail: danxingang2013@163.com

但能够抑制肿瘤细胞的转移,调控神经内分泌,还可通过调控动物的下丘脑-垂体-性腺轴来调节动物的繁殖,并参与动物初情期的启动。Kisspeptin 能够在下丘脑-垂体调控促性腺激素释放,并与其受体 GPR54 在诸多动物性腺中表达,推测 kisspeptin/GPR54 可能在下丘脑-垂体-性腺 3 个层次调控动物的繁殖。另外,kisspeptin 调控动物的繁殖是否存在种属差异,是否与其剂型和剂量有关还存在争议。因此,本文就 kisspeptin/GPR54 系统在哺乳动物繁殖上的最新研究进展进行归纳、总结并分析面临的问题及后续研究方向,以期为将来开展 kisspeptin/GPR54 在动物繁殖上的研究及应用提供文献依据。

1 Kisspeptin/GPR54 的发现及结构

Kisspeptin 是由 *Kiss1* 基因编码的一种神经肽,被 Lee 等^[1]在通过扫描人基因组筛选抑制黑色素细胞瘤转移基因时首次发现。West 等^[2]发现,*Kiss1* 基因定位在人 1 号染色体上,包含 2 个编码区和 2 个非编码区及 4 个外显子,能够形成 145 个氨基酸的前体蛋白,并被进一步剪切为含有不同氨基酸的多肽(kisspeptin54、kisspeptin14、kisspeptin13、kisspeptin10),且 C-末端 10 个氨基酸是相同的。Kisspeptin 的结构在哺乳动物和非哺乳的脊椎动物中是高度保守的,表明它在各种脊椎动物机体中具有很重要的作用^[3-4]。Kisspeptin 是与其 G 蛋白偶联受体结合发挥作用的,这种受体被命名为 GPR54 (也被称为 Kiss1R、AXOR12、hOT7T175)^[5]。GPR54 在哺乳动物中具有很高的保守性,人与大鼠的 GPR54 有 85% 同源性,与小鼠有 80% 同源性^[6]。Kisspeptin 与 GPR54 结合激活 G 蛋白家族中 Gq/11,进而活化 PLC 后将细胞膜上 PIP2 水解为 IP3 和 DAG,IP3 动员内质网钙离子外流,增加细胞内钙离子的浓度,细胞内钙离子浓度的增加改变了离子通道的渗透性,引起去极化反应;同时,DAG 激活 PKC 诱发 MAPK 信号通路级联反应,引起 ERK1/2 和 p38 的磷酸化,引发相应的生物学效应^[7]。

2 Kisspeptin/GPR54 系统对动物下丘脑-垂体-性腺轴的调控

2.1 Kisspeptin/GPR54 在下丘脑的分布及作用

在下丘脑存在 3 个 kisspeptin 细胞群,一个是从前副室旁核到视前区的室周核,另外两个细胞群

分布在弓状核和背中神经核^[8-9]。*Kiss1* 基因在大鼠和小鼠的前腹侧脑室周围核团和下丘脑弓状核表达最高^[10]。在羊上,*Kiss1* 基因主要分布在弓状核,一部分存在于视前区^[11]。Mishra 等^[12]发现,*Kiss1* 和 GPR54 mRNA 主要在水牛的弓状核表达,而猕猴 kisspeptin 神经元胞体仅位于下丘脑内侧基底部,主要分布在弓状核的后三分之二处^[13]。不过目前的研究认为,kisspeptin 主要通过结合下丘脑中促性腺激素释放激素(GnRH)神经元上的 GPR54,从而刺激 GnRH 的分泌和释放来调控生殖功能^[14]。Clarkson 和 Herbison^[15] 研究表明,kisspeptin 神经元纤维与 GnRH 神经元紧密接触。Qiu 等^[16]也发现,位于弓状核上的 kisspeptin 神经元与脑啡肽和多巴胺等神经递质协同调控 GnRH 的脉冲释放。另外,大多数 GnRH 神经元表达 GPR54,kisspeptin 可以引起这些细胞的强烈电激活,kisspeptin/GPR54 信号在哺乳动物雌激素正反馈调节下丘脑诱发 LH 峰的产生机制中发挥关键作用^[17]。Kisspeptin 及其受体 GPR54 在前脑中表达,而缺乏功能性 GPR54 的小鼠和人则在初情期和青春期特征不明显且引起性腺功能低下综合征,这一发现表明,kisspeptin 在生殖过程中扮演重要角色^[18]。在青春期发育过程中,GnRH 神经元的 kisspeptin 纤维支配和下丘脑内的 kisspeptin 释放增加说明,在青春期发育过程中,kisspeptin 促进 GnRH 神经元的分泌活动,GnRH 神经元神经内分泌活动脉冲式的增多是青春期启动的关键,下丘脑 GnRH 分泌显著增加表明青春期启动^[19],而 *Kiss1* 神经元能够激活 GnRH 神经元,说明 *Kiss1* 基因是青春期启动的内分泌开关^[20]。

2.2 Kisspeptin/GPR54 在垂体的分布及作用

Kisspeptin/GPR54 也被发现在垂体促性腺细胞内表达,外源性 kisspeptin 处理体外培养的垂体组织切片时,能够促进促性腺激素的释放,这表明 kisspeptin 可能直接作用于垂体,刺激促性腺激素的分泌^[21]。Richard 等^[22]通过 RT-PCR 和细胞免疫化学发现,GPR54 在大鼠的垂体中表达,其蛋白主要集中在垂体前叶。Ramaswamy 等^[23]研究了恒河猴垂体中 kisspeptin 阳性免疫细胞的分布,并发现其定位在垂体中叶和前叶周围,这表明 kisspeptin 可能直接作用于垂体分泌细胞。Kisspeptin10 能够促进体外培养的大鼠垂体组织促卵泡素(FSH)和促黄体素(LH)的释放,且能引起

体外培养的大鼠、牛、羊、猪等垂体细胞中 Ca^{2+} 浓度的变化^[24]。Ezzat 等^[25] 研究证明, 外源性 kisspeptin10 能够促进体外培养的牛垂体细胞 FSH 和 LH 的释放, 体外注射 kisspeptin10 能够增加牛血浆中 LH 的浓度。另外, 研究表明, *kisspeptin/GPR54* 基因在大鼠、绵羊、狒狒的垂体中表达, kisspeptin 与其受体 GPR54 结合可直接刺激垂体相关激素分泌^[26]。Witham 等^[27] 研究表明, kisspeptin 能够刺激体外培养的原代小鼠垂体细胞中 *FSH β* 和 *LH β* 基因的表达, 而且这种诱导表达是通过与 GPR54 结合, 进而激活 PKC 途径实现的。Mijiddorj 等^[28] 研究认为, kisspeptin 作用于小鼠垂体细胞系 L β T2, 能够增加 *LH β* 和 *FSH β* 基因启动子的转录活性。然而, Smith 等^[29] 研究结果表明, 在绵羊的垂体门脉血中存在 kisspeptin, 但是它不能单独促进排卵前 LH 的释放, 进而认为 kisspeptin 不是体内促性腺细胞的直接靶标。Leonardi 等^[30] 用 kisspeptin10 对处于优势卵泡期的青年牛进行静脉注射后能够显著提高血浆中 LH 浓度, 并能诱导其排卵。体外肌肉注射 kisspeptin 类似物 C6 能够显著提高绵羊^[31] 和山羊^[32] 在非繁殖季节和繁殖季节血浆中 FSH 和 LH 的浓度, 促进其发情、排卵, 并且在工人输精(AI)后能够成功妊娠、分娩。以上这些体外试验进一步证实, 垂体是 kisspeptin 作用的靶标, 它可直接作用于垂体, 促进促性腺激素的分泌。Kisspeptin 除了对生殖激素有影响外, 还能够调控垂体生长激素(GH)、促乳素(PRL)、促甲状腺激素释放激素(TRH)等激素的合成和释放。Ezzat 等^[25] 研究表明, kisspeptin 能直接促进体外培养的牛垂体细胞 PRL 的释放。最近, Hara 等^[33] 对大鼠垂体细胞系 GH3 细胞过表达 GPR54 后发现, kisspeptin 能够直接刺激 PRL 启动子的活性, 这表明 kisspeptin 可能直接作用于垂体调控 PRL 的表达。然而, 其他研究却表明, kisspeptin 不能调控大鼠 PRL 的释放, 也不能在体内调控山羊 PRL 的释放^[34-35]。因此, 尽管 kisspeptin 对垂体功能的直接调控作用的研究结果还存在矛盾, 但以上这些研究表明, *kisspeptin/GPR54* 系统已成为一个新的、重要的垂体功能的调控因子, 需要做进一步深入研究。

2.3 Kisspeptin/GPR54 在性腺的表达及作用

2.3.1 Kisspeptin/GPR54 在性腺的分布及表达

2.3.1.1 Kisspeptin/GPR54 在卵巢的分布及表达: Kisspeptin/GPR54 除了在动物的脑中中枢系统表

达外, 还在诸多外周组织器官中表达, 其在性腺中的表达倍受关注。已有研究表明, 在许多哺乳动物卵巢中无论是在基因转录水平还是在蛋白水平都有 kisspeptin/GPR54 的表达^[36-37], 在啮齿类、家畜及灵长类动物的卵巢中都发现了 *kisspeptin/GPR54* mRNA 的表达^[38-39]。在大鼠卵巢中, kisspeptin 的表达呈现细胞特定和阶段特定的表达方式, 在发情前期卵巢颗粒细胞中表达最高, LH 能够刺激颗粒细胞中 kisspeptin 的合成, 而在整个发情中期, *GPR54* mRNA 的表达较低且波动不明显^[40]。Inoue 等^[41] 通过免疫荧光研究发现, kisspeptin 定位于猪及山羊卵巢的原始、初级、次级和成熟卵泡的颗粒细胞上, 并证实 *kisspeptin* 及 *GPR54* mRNA 在不同发育阶段的卵泡颗粒细胞中均表达。Mishra 等^[42] 通过免疫组化研究发现, *kisspeptin/GPR54* 在水牛早期黄体中表达较高, 在早期和中期黄体中, *kisspeptin/GPR54* mRNA 的表达与 *StAR* 和 *CYP11A1* 基因表达成正相关, 这表明 kisspeptin 可能与黄体细胞的增殖和分化及激素合成有关。Tanyapanyachon 等^[43] 研究了 *kisspeptin/GPR54* 在家猫卵巢中的表达, 结果表明, 卵巢组织都有 *kisspeptin/GPR54* 的表达, 包括不同类型的卵泡和黄体, *kisspeptin/GPR54* 在卵母细胞、颗粒细胞、卵泡膜细胞中均高表达; 在黄体上, *Kiss1* 基因在发育黄体 and 成熟黄体外周高表达, *GPR54* 无论是在黄体的中心还是外周均高表达, 表明 *kisspeptin/GPR54* 除了在下丘脑, 还可能在外周组织发挥局部调节功能。以上这些结果表明, *kisspeptin/GPR54* 的表达在啮齿类和灵长类动物之间是保守的, 且在卵巢中呈现时空表达, 推测 *kisspeptin/GPR54* 可能以旁分泌或自分泌的方式直接在卵巢中参与调控卵泡发育。

2.3.1.2 Kisspeptin/GPR54 在睾丸的分布及表达: *Kisspeptin/GPR54* 在睾丸中的分布在哺乳动物甚至在相同种属之间差异明显。Mei 等^[44] 研究发现, *kisspeptin/GPR54* 在性成熟前小鼠睾丸圆形精子细胞中表达, 而 Anjum 等^[45] 却认为, *kisspeptin* 在小鼠不同发育时期的睾丸间质细胞和精细胞中表达, 而非圆形精子细胞。在山羊上, *kisspeptin* 主要定位在睾丸间质细胞中, 而且初情期后 *Kiss1* mRNA 的表达高于初情期前^[46]。在灵长类动物上, *GPR54* 定位在成年恒河猴曲细精管外周的支持细胞, 而 *Kiss1* 不仅定位在生精上皮细胞还在间质细胞中有表达^[47]。在无尾两栖类动物上,

kisspeptin/GPR54 也主要定位在睾丸间质细胞^[48]。

2.3.2 Kisspeptin/GPR54 在性腺中的作用

2.3.2.1 Kisspeptin/GPR54 在卵巢中的作用:

Kisspeptin 能够促进卵母细胞成熟,并且在体外受精(IVF)中可以代替人绒毛膜促性腺激素(hCG)或 GnRH 激动剂,从而降低病人卵巢过度刺激综合征的并发率^[49]。有研究表明,kisspeptin/GPR54 在假孕兔的黄体中表达,且它可通过旁分泌或自分泌方式促进孕酮的分泌,并通过下调 *PTGS2* 基因表达促进 PGE2 的合成,同时减少 PGF2 α 合成^[50]。Kisspeptin 能够抑制体外培养的猪卵巢颗粒细胞凋亡,降低颗粒细胞 G0/G1 细胞周期的比率,增加颗粒细胞上 *Star*、*CYP17*、 3β -HSD、 17β -HSD mRNA 的表达,促进雌激素(E2)的合成^[51]。而另一研究却发现,kisspeptin10 能够明显促进牛卵泡颗粒细胞孕酮分泌,但却抑制其卵泡颗粒细胞的活性,增加颗粒细胞 *caspase-3* mRNA 的表达,降低 *Bcl-2* mRNA 的表达,促进颗粒细胞凋亡^[52]。Ruohonen 等^[53]为了研究 kisspeptin/GPR54 对卵巢功能调控的直接作用,构建了卵巢特定的 GPR54 缺失小鼠,这种小鼠初情期的启动时间与野生型小鼠无明显差异,但 GPR54 缺失的雌鼠约在 2 月龄时有 45% 出现排卵障碍,发育到 10 月龄时,100% 的小鼠出现早发性卵巢功能不全,并伴随着血中 E2 和孕酮水平的下降。Owens 等^[54]在不育妇女 IVF 中使用 kisspeptin54 成功诱导卵母细胞成熟,且颗粒细胞中 FSHR、LHCGR、*CYP19A1*、*STAR*、*HSD3B2* 显著高于 hCG 或 GnRH 激动剂处理组,然而,kisspeptin54 单独处理却不能改变体外培养的黄体化颗粒细胞中以上基因的表达,hCG 单独处理能够明显增加以上基因的表达。Kisspeptin10 处理体外培养的猪卵泡颗粒细胞后能够促进孕酮分泌,抑制 E2 合成,虽然不能改变类固醇激素合成酶关键基因的表达,但能促进卵泡毛细血管的生成,从而推测它在卵巢中通过一种非激素调控途径影响卵泡的发育^[37]。以上这些研究表明,kisspeptin 既可能直接作用于卵巢颗粒细胞,通过调节颗粒细胞活性和类固醇合成关键酶基因表达来调控卵泡发育,又可能通过非类固醇调控途径间接调控卵泡发育。然而,kisspeptin 在性腺上影响卵泡发育的具体作用机制尚不清楚,这仍需要在分子水平做进一步深入研究。

2.3.2.2 Kisspeptin/GPR54 在睾丸中的作用:

Aytürk 等^[55]在大鼠上的研究表明,kisspeptin10 处理能够降低睾酮水平,促进精细胞的凋亡。然而,有研究揭示了 kisspeptin/GPR54 在山羊睾丸中的局部表达及功能,通过 RT-PCR 检测青春期山羊睾丸间质细胞中 *kisspeptin/GPR54* mRNA 的表达,并使用免疫组化和 Western blot 检测其蛋白在睾丸间质细胞或睾丸中的表达,结果表明,kisspeptin 直接影响睾酮的分泌,并能显著刺激睾丸激素在睾丸间质细胞的分泌^[56]。这些数据提示了 kisspeptin/GPR54 在山羊睾丸中的局部表达及其在 Leydig 细胞中的自分泌作用,有助于了解 kisspeptin/GPR54 系统在其它外周组织中的调控作用。而且 Samir 等^[46]以体外分离、纯化的山羊睾丸间质细胞为研究对象,发现 hCG 处理能够增加 *kisspeptin/GPR54* mRNA 的表达,而 kisspeptin 受体的拮抗剂能够显著降低基础睾酮的分泌及 hCG 诱导的睾酮分泌。总之,kisspeptin/GPR54 在雄性性腺上的表达存在种属差异,但是,它对睾丸类固醇激素的调控机制还不明确,还需要进一步深入研究。

3 Kisspeptin/GPR54 对哺乳动物初情期启动的调控

Kisspeptin 是刺激 GnRH 释放的多肽,它将动物机体内部和外部环境信号与 GnRH 释放结合,从而对动物初情期的启动起关键作用^[57]。Wyatt 等^[58]发现,在 GnRH 神经元表面,kisspeptin 通过 GPR54 配体刺激 GnRH 释放,促进哺乳动物初情期的开始。GnRH 神经网络产生促性腺激素分泌的脉冲和波动模式,对初情期和生育能力至关重要,弓状核 kisspeptin 神经元支配 GnRH 神经元在其神经分泌区及周围的投射,是所有哺乳动物脉冲发生器的关键组成部分。在初情期开始时,可能是受神经胶质和神经递质信号对 GnRH 神经元的渐进刺激影响,及刺激弓形核 kisspeptin 输入的重新出现,脉冲发生器重新被激活。在雌性动物中,脉动性促性腺激素的分泌促进了高潮发生器的成熟,最终触发第一次排卵^[59]。有研究表明,kisspeptin 在哺乳动物的初情期启动中是不可或缺的^[60]。进一步研究发现,kisspeptin/GPR54 系统的激活可以触发神经内分泌事件,导致初情期的启动^[61]。而 kisspeptin 或 GPR54 突变会导致与初情期发育相关的疾病,如中枢性早熟(CPP)和特发性促性腺功能低下(IHH)^[62]。因此,kisspeptin/GPR54 对哺乳

动物初情期的调控发挥着无可替代的作用,甚至在很大程度上决定着初情期的启动时间。

除此之外,研究表明初情期受表观遗传机制调控,对代谢和营养信号高度敏感。然而,调节营养和肥胖对初情期启动影响的表观遗传途径尚不清楚。研究结果证实,SIRT1(一种乙酰化酶)介导的 *Kiss1* 抑制是关键的表现遗传机制,kisspeptin/GPR54 在脑中枢与其他因子互作能够调控动物机体与能量代谢相关的生理事件,从而通过调控营养和肥胖信号通路影响哺乳动物的初情期^[63]。

4 展 望

近些年来,kisspeptin/GPR54 系统已成为生命科学领域的研究热点。它不但具有抑制肿瘤细胞转移、滋养细胞浸润、调控能量平衡和生物节律的作用,而且在动物的下丘脑-垂体-性腺 3 个水平参与繁殖的调控。除此之外,kisspeptin/GPR54 在动物初情期的启动方面也具有重要的作用。然而,kisspeptin/GPR54 在动物的繁殖中还存在着诸多不清楚或相互矛盾的问题。Kisspeptin/GPR54 在雄性动物中的研究报道还不多,尤其是对睾丸精子发生和类固醇激素合成的作用;另外,kisspeptin/GPR54 调控动物繁殖的机制,特别是对性腺功能调控的分子机制尚不清楚;对于外周代谢激素通过与 kisspeptin/GPR54 互作,以调节营养和机体能量代谢的方式间接参与动物繁殖的调控尚处于研究的起始阶段。Kisspeptin/GPR54 在低等脊椎动物和两栖动物繁殖的研究上还处于空白。因此,在将来,需要从以上方面着手,运用分子生物学手段深入研究和阐明 kisspeptin/GPR54 对动物繁殖的作用及其分子机制,为 kisspeptin/GPR54 在动物繁殖上的应用和治疗初情期发育相关疾病提供支持。

参考文献(References):

- [1] LEE J H, MIELE M E, HICKS D J, et al. Kiss-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1996, 88 (23):1731-1737.
- [2] WEST A, VOJTA P J, WELCH D R, et al. Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KISS1) [J]. *Genomics*, 1998, 54(1):145-148.
- [3] CLEMENTS M K, MCDONALD T P, WANG R, et al. FMR1-related neuropeptides are agonists of the orphan G-protein-coupled receptor GPR54 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284 (5): 1189-1193.
- [4] KANDA S, AKAZOME Y, MATSUNAGA T, et al. Identification of KiSS-1 product kisspeptin and steroid-sensitive sexually dimorphic kisspeptin neurons in medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Endocrinology*, 2008, 149 (5): 2467-2476.
- [5] LEE D K, NGUYEN T, O' NEILL G P, et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors [J]. *FEBS Lett*, 1999, 446(1):103-107.
- [6] COLLEDGE W H. Transgenic mouse models to study GPR54/kisspeptin physiology [J]. *Peptides*, 2009, 30 (1):34-41.
- [7] FRANSSSEN D, TENA-SEMPERE M. The kisspeptin receptor: A key G-protein-coupled receptor in the control of the reproductive axis [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2018, 32(2):107-123.
- [8] ROA J, AGUILAR E, DIEGUEZ C, et al. New frontiers in kisspeptin/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2008, 29(1):48-69.
- [9] CLARKSON J, HERBISON A E. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(12):5817-5825.
- [10] SMITH J T, DUNGAN H M, STOLL E A, et al. Differential regulation of Kiss-1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(7):2976-2984.
- [11] SMITH J T, CLAY C M, CARATY A, et al. Kiss-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(3):1150-1157.
- [12] MISHRA G K, PATRA M K, KIPJEN S L, et al. Expression and functional role of kisspeptin and its receptor in the cyclic corpus luteum of buffalo (*Bubalus bubalis*) [J]. *Theriogenology*, 2019, 130: 71-78.
- [13] RAMASWAMY S, GUERRIERO K A, GIBBS R B, et al. Structural interactions between kisspeptin and GnRH neurons in the mediobasal hypothalamus of the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as revealed by double immunofluorescence and confocal microscopy [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(9):4387-4395.
- [14] PARHAR I S, OGAWA S, SAKUMA Y, et al. Laser-

- captured single Digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (GPR54) during maturation in cichlid fish [J]. *Endocrinology*, 2004, 145 (8): 3613-3618.
- [15] CLARKSON J, HERBISON A E. Oestrogen, Kisspeptin, GPR54 and the pre-ovulatory luteinising hormone surge [J]. *J Neuroendocrinol*, 2009, 21(4): 305-311.
- [16] QIU J, NESTOR C C, ZHANG C G, et al. High frequency stimulation-induced peptide release synchronizes arcuate kisspeptin neurons and excites GnRH neurons [J]. *eLife*, 2016, 5: 16246.
- [17] CARBONE S, SZWARCFARB B, LOSADA M E O, et al. Effects of ovarian steroids on the gonadotropin response to N-methyl-D-aspartate and on hypothalamic excitatory amino acid levels during sexual maturation in female rats [J]. *Endocrinology*, 1992, 130(3): 1365-1370.
- [18] HUMA T, HU X T, MA Y Y, et al. Kisspeptin-10 treatment generated specific GnRH expression in cells differentiated from rhesus monkey derived neurosphere-forming NSCs [J]. *Neuroscience*, 2017, 349: 318-329.
- [19] CLARKE I J, LI Q, HENRY B A, et al. Continuous kisspeptin restores luteinizing hormone pulsatility following cessation by a neurokinin B antagonist in female sheep [J]. *Endocrinology*, 2018, 159 (2): 639-646.
- [20] CLARKSON J. Effects of estradiol on kisspeptin neurons during puberty [J]. *Frontiers Neuroendocrinol*, 2013, 34(2): 120-131.
- [21] GUTIÉRREZ-PASCUAL E, MARTÍNEZ-FUENTES A J, PINILLA L, et al. Direct pituitary effects of kisspeptin: activation of gonadotrophs and somatotrophs and stimulation of luteinising hormone and growth hormone secretion [J]. *J Neuroendocrinol*, 2007, 19(7): 521-530.
- [22] RICHARD N, GALMICHE G, CORVAISIER S, et al. Kiss1 and GPR54 genes are co-expressed in rat gonadotrophs and differentially regulated *in vivo* by oestradiol and gonadotrophin-releasing hormone [J]. *J Neuroendocrinol*, 2008, 20(3): 381-393.
- [23] RAMASWAMY S, GIBBS R B, PLANT T M. Studies of the localisation of kisspeptin within the pituitary of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*) and the effect of kisspeptin on the release of non-gonadotropic pituitary hormones [J]. *J Neuroendocrinol*, 2009, 21 (10): 795-804.
- [24] PINILLA L, AGUILAR E, DIEGUEZ C, et al. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms [J]. *Physiol Rev*, 2012, 92 (3): 1235-1316.
- [25] EZZAT A A, SAITO H, SAWADA T, et al. The role of sexual steroid hormones in the direct stimulation by Kisspeptin-10 of the secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin from bovine anterior pituitary cells [J]. *Anim Reprod Sci*, 2010, 121(3-4): 267-272.
- [26] GAHETE M D, VÁZQUEZ-BORREGO M C, MARTÍNEZ-FUENTES A J, et al. Role of the Kiss1/Kiss1r system in the regulation of pituitary cell function [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 438: 100-106.
- [27] WITHAM E A, MEADOWS J D, HOFFMANN H M, et al. Kisspeptin regulates gonadotropin genes via immediate early gene induction in pituitary gonadotrophs [J]. *Mol Endocrinol*, 2013, 27 (8): 1283-1294.
- [28] MIJIDDORJ T, KANASAKI H, SUKHBAATAR U, et al. Mutual regulation by GnRH and kisspeptin of their receptor expression and its impact on the gene expression of gonadotropin subunits [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2017, 246: 382-389.
- [29] SMITH J T, RAO A, PEREIRA A, et al. Kisspeptin is present in ovine hypophysial portal blood but does not increase during the preovulatory luteinizing hormone surge: evidence that gonadotrophs are not direct targets of kisspeptin *in vivo* [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(4): 1951-1959.
- [30] LEONARDI C E P, DIAS F C F, ADAMS G P, et al. Kisspeptin induces ovulation in heifers under low plasma progesterone concentrations [J]. *Theriogenology*, 2020, 141: 26-34.
- [31] DECOURT C, ROBERT V, ANGER K, et al. A synthetic kisspeptin analog that triggers ovulation and advances puberty [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 26908.
- [32] DECOURT C, ROBERT V, LOMET D, et al. The kisspeptin analog C6 is a possible alternative to PMSG (pregnant mare serum gonadotropin) for triggering synchronized and fertile ovulations in the Alpine goat [J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0214424.
- [33] HARA T, KANASAKI H, TUMURBAATAR T, et al. Role of kisspeptin and Kiss1R in the regulation of prolactin gene expression in rat somatolactotroph GH3 cells [J]. *Endocrine*, 2019, 63(1): 101-111.

- [34] SZAWKA R E, RIBEIRO A B, LEITE C M, et al. Kisspeptin regulates prolactin release through hypothalamic dopaminergic neurons[J]. *Endocrinology*, 2010, 151(7):3247-3257.
- [35] HASHIZUME T, SAITO H, SAWADA T, et al. Characteristics of stimulation of gonadotropin secretion by kisspeptin-10 in female goats[J]. *Anim Reprod Sci*, 2010, 118(1):37-41.
- [36] WAHAB F, ATIKA B, SHAHAB M, et al. Kisspeptin signalling in the physiology and pathophysiology of the urogenital system[J]. *Nat Rev Urol*, 2016, 13(1):21-32.
- [37] BASINI G, GRASSELLI F, BUSSOLATI S, et al. Presence and function of kisspeptin/KISS1R system in swine ovarian follicles[J]. *Theriogenology*, 2018, 115:1-8.
- [38] TERAO Y, KUMANO S, TAKATSU Y, et al. Expression of *KISS-1*, a metastasis suppressor gene, in trophoblast giant cells of the rat placenta[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1678(2-3):102-110.
- [39] CAO Y B, LI Z P, JIANG W Y, et al. Reproductive functions of Kisspeptin/KISS1R systems in the periphery[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2019, 17(1):65.
- [40] RICU M A, RAMIREZ V D, PAREDES A H, et al. Evidence for a celiac ganglion-ovarian kisspeptin neural network in the rat; intraovarian anti-kisspeptin delays vaginal opening and alters estrous cyclicity[J]. *Endocrinology*, 2012, 153(10):4966-4977.
- [41] INOUE N, HIRANO T, UENOYAMA Y, et al. Localization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in developing ovarian follicles of pigs and goats[J]. *Biol Reprod*, 2009, 81(S1):551-559.
- [42] MISHRA G K, PATRA M K, SINGH L K, et al. Expression of Kisspeptin and its receptor in the hypothalamus of cyclic and acyclic buffalo (*Bubalus bubalis*) [J]. *Theriogenology*, 2019, 139:167-177.
- [43] TANYAPANYACHON P, AMELKINA O, CHATDARONG K. The expression of kisspeptin and its receptor in the domestic cat ovary and uterus in different stages of the ovarian cycle[J]. *Theriogenology*, 2018, 117:40-48.
- [44] MEI H, DORAN J, KYLE V, et al. Does Kisspeptin signaling have a role in the testes? [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013, 4:198.
- [45] ANJUM S, KRISHNA A, SRIDARAN R, et al. Localization of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH), kisspeptin and GnRH receptor and their possible roles in testicular activities from birth to senescence in mice [J]. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol*, 2012, 317(10):630-644.
- [46] SAMIR H, NAGAOKA K, KAREN A, et al. Investigation the mRNA expression of *KISS1* and localization of kisspeptin in the testes of Shiba goats and its relationship with the puberty and steroidogenic enzymes[J]. *Small Ruminant Res*, 2015, 133:1-6.
- [47] IRFAN S, EHMCKE J, SHAHAB M, et al. Immunocytochemical localization of kisspeptin and kisspeptin receptor in the primate testis[J]. *J Med Primatol*, 2016, 45(3):105-111.
- [48] CHIANESE R, CIARAMELLA V, FASANO S, et al. Kisspeptin regulates steroidogenesis and spermiation in anuran amphibian [J]. *Reproduction*, 2017, 154(4):403-414.
- [49] KASUM M, FRANULI D, EHI E, et al. Kisspeptin as a promising oocyte maturation trigger for *in vitro* fertilisation in humans[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2017, 33(8):583-587.
- [50] HU K L, ZHANG Y L, YANG Z, et al. Predictive value of serum kisspeptin concentration at 14 and 21 days after frozen-thawed embryo transfer[J]. *Reprod Biomed Online*, 2019, 39(1):161-167.
- [51] XIN X P, LI Z H, ZHONG Y Y, et al. *KISS1* suppresses apoptosis and stimulates the synthesis of E2 in porcine ovarian granulosa cells [J]. *Animals (Basel)*, 2019, 9(2):54.
- [52] LIU H Y, XU G Q, YUAN Z Y, et al. Effect of kisspeptin on the proliferation and apoptosis of bovine granulosa cells[J]. *Anim Reprod Sci*, 2017, 185:1-7.
- [53] RUOHONEN S T, GAYTAN F, GAUDI A U, et al. Kisspeptin signaling in oocytes is compulsory for ovulation in adult mice [J]. *The FASEB Journal*, 2019, 4(5):580.
- [54] OWENS L A, ABBARA A, LERNER A, et al. The direct and indirect effects of kisspeptin-54 on granulosa lutein cell function[J]. *Hum Reprod*, 2017, 33(2):292-302.
- [55] AYTÜRK N, FIRAT T, KÜKNER A, et al. The effect of kisspeptin on spermatogenesis and apoptosis in rats[J]. *Turk J Med Sci*, 2017, 47(1):334-342.
- [56] HAN Y G, PENG X L, SI W J, et al. Local expressions and function of *Kiss1/GPR54* in goats' testes[J]. *Gene*, 2020, 738:144488.
- [57] QUINTON N D, SMITH R F, CLAYTON P E, et al.

- Leptin binding activity changes with age: the link between leptin and puberty[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84(7):2336-2341.
- [58] WYATT A K, ZAVODNA M, VILJOEN J L, et al. Changes in methylation patterns of *Kiss1* and *Kisslr* gene promoters across puberty[J]. *Genet Epigenet*, 2013, 5:51-62.
- [59] HERBISON A E. Control of puberty onset and fertility by gonadotropin-releasing hormone neurons [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(8):452-466.
- [60] UENOYAMA Y, INOUE N, NAKAMURA S, et al. Central mechanism controlling pubertal onset in mammals: A triggering role of kisspeptin [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10:312.
- [61] KE R, MA X, LEE L T O. Understanding the functions of kisspeptin and kisspeptin receptor (*Kiss1R*) from clinical case studies [J]. *Peptides*, 2019, 120:170019.
- [62] WANG L H, VANACKER C, BURGER L L, et al. Genetic dissection of the different roles of hypothalamic kisspeptin neurons in regulating female reproduction [J]. *eLife*, 2019, 8:e43999.
- [63] VAZQUEZ M J, TORO C A, CASTELLANO J M, et al. SIRT1 mediates obesity- and nutrient-dependent perturbation of pubertal timing by epigenetically controlling *Kiss1* expression [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):4194.

(编辑 郭云雁)