

综述

Kisspeptin在女性生殖内分泌和辅助生殖技术中的研究进展

章翊, 孙宁霞*

海军军医大学第二附属医院生殖医学中心, 上海 200003

摘要: 近年来研究显示, kisspeptin在大脑的性别分化、性激素正负反馈调节、青春期始动以及机体能量信号转导等生理过程中起到重要作用, 表明 kisspeptin可能是女性生殖功能成熟及调控的一个关键性信号因子。除下丘脑分泌的kisspeptin之外, 生殖器官局部表达的kisspeptin在机体正常生殖过程中的作用也不断得到证实。研究表明, 很多生殖内分泌疾病, 如单纯性促性腺激素分泌不足的性腺机能减退症 (isolated hypogonadotropic hypogonadism, IHH)、多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)、卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)、病理性高泌乳素血症等, 都与kisspeptin的异常表达有关。通过给予外源性 kisspeptin可解决辅助生殖技术应用中的一些问题。本文主要就 kisspeptin在女性生殖内分泌尤其是在辅助生殖领域研究中所取得的进展进行论述。

关键词: kisspeptin; 生殖生理; 女性不孕症; 辅助生殖技术

中图分类号: R399.2; R711.6; R363.2

Research progress of kisspeptin in female reproductive endocrine and assisted reproductive techniques

ZHANG Yi, SUN Ning-Xia*

Reproductive Medicine Center, the Second Affiliated Hospital of Naval Military Medical University, Shanghai 200003, China

Abstract: In recent years, it has been found that kisspeptin plays some key roles in the physiological processes of the brain, such as gender differentiation, positive and negative feedback of sex hormones, onset of puberty, and transduction of energy signals in the body, which suggests that kisspeptin may be a key molecule for the maturation and regulation of female reproductive function. In addition to the systemic roles of the kisspeptin, its local roles in reproductive organs are constantly being discovered. With the discovery that kisspeptin is involved in the pathological process of reproductive endocrine diseases such as isolated hypogonadotropic hypogonadism (IHH), polycystic ovary syndrome (PCOS), premature ovarian failure (POF) and pathological hyperprolactinemia, exogenous application of kisspeptin to solve reproductive problems has become a new hot topic. The review focuses on the research progress of kisspeptin in the female reproductive system, especially on its application in assisted reproduction.

Key words: kisspeptin; reproductive physiological phenomena; infertility, female; reproductive techniques, assisted

1996年, Lee等通过对比转移性和非转移性黑色素瘤细胞株中各类mRNA值差异, 发现某种只在非转移性黑色素瘤细胞中表达的mRNA, 将这种mRNA的cDNA命名为*KISS-1*基因^[1]。*KISS-1*基因位于人染色体1q32上, 其原始的翻译产物是一种含145个氨基酸残基的蛋白质, 经过裂解形成一

个含54个氨基酸残基的蛋白质和其他几种长度更小的多肽(包括14、13、10个氨基酸残基的多肽), 构成不同的亚型, 这些产物统称为kisspeptin, 每一种亚型由它们的后缀来代表它们的氨基酸数(如kisspeptin-54就表示由54个氨基酸残基构成), 它们的羧基端通常有高度保守的Arg-Phe-NH₂序列^[2]。

1999年, Lee等新发现一种G蛋白耦联受体视黄素家族蛋白, 命名为GPR54^[3]; 2001年, GPR54被证实是kisspeptin的受体^[4], 此后GPR54也被称为KISS1R。GPR54在大脑组织(脑桥、中脑、丘脑、下丘脑、皮质、杏仁核、海马回、额叶、纹状体)和外周组织(肝脏、胰腺、小肠)均有表达, 同时在胎盘、垂体、睾丸、卵巢和脊髓中也有发现GPR54的高度表达^[5, 6]。Kisspeptin作用于G_{q/11}蛋白耦联的GPR54, 引发G_{q/11}激活磷脂酶C(phospholipase C, PLC), 水解磷脂酰肌醇二磷酸(phosphatidylinositol biphosphate, PIP₂)产生第二信使三磷酸肌醇(inositol-triphosphate, IP₃)和二酰甘油(diaclyglycerol, DAG), 增加细胞内Ca²⁺浓度, 引起蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)活化, 促进丝裂原活化细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase, MEK)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)磷酸化, 产生一系列生理学效应^[6]。

2003年, de Roux等^[7]和Seminara等^[8]报道, 人体、小鼠的GPR54基因发生沉默突变, 影响kisspeptin信号通路转导, 临床表现为单纯性促性腺激素分泌不足的性腺机能减退症(isolated hypogonadotropic hypogonadism, IHH)。这些研究报道使得人们开始意识到kisspeptin和GPR54系统在下丘脑-垂体-性腺(hypothalamus-pituitary-gonad, HPG)轴中起到关键性作用, 促使kisspeptin的研究重心转向生殖领域。

1 Kisspeptin的生理功能

Kisspeptin主要是通过影响下丘脑促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)的分泌, 调节HPG轴功能, 进而发挥调控机体生殖功能的关键性作用。人体内kisspeptin神经元主要分布在靠近GnRH神经元的下丘脑漏斗核(弓状核)和视前区(前侧腹室周核), kisspeptin神经轴突围绕着分泌GnRH的漏斗柄形成密集的毛细管周丛, kisspeptin作用于下丘脑GnRH神经元上的GPR54, 诱导内源性GnRH分泌增多, 引发卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和黄体生成素(luteinizing hormone, LH)的分泌增加^[9]。但仅凭kisspeptin的作用并不足以使机体获得充足的生育能力, 还有其他的中枢调节因子参与到GnRH分泌调控过程中, 如速激肽家族、神经激肽B(neurokin B,

NKB)、P物质和神经激肽A(neurokin A, NKA)等。动物的下丘脑弓状核和人类的漏斗核的kisspeptin神经元同时表达NKB、强啡肽(dynorphin, Dyn), 又被称为KNDy(kisspeptin/neurokin B/dynorphin)神经元, kisspeptin和NKB、Dyn则统称为KNDy神经肽, 共同调控GnRH释放^[10]。在母羊上的实验表明, Dyn和NKB负责协调KNDy神经元的同步活动, 而kisspeptin仅负责刺激GnRH神经元脉冲分泌GnRH^[11]。NKA可刺激正常雌性小鼠分泌LH, 但在*KISS-1*基因敲除的雌性小鼠中则没有观察到这一现象, NKA可能间接参与了kisspeptin的分泌调节^[12]。

Kisspeptin和GPR54系统通过产生恒定GnRH脉冲分泌, 激活下游通路, 启动青春期, 增加促性腺激素和性激素分泌, 促进配子形成、第二性征出现和身体快速生长, 以此获得充足的生育能力。青春期前小鼠卵巢中*KISS-1*基因表达是微乎其微的, 但是一旦出现排卵前促性腺激素高峰, *KISS-1*的表达会在短时间内大幅增加^[13]; 而灵长类动物在由幼稚期向青春期转变的过程中, *KISS-1* mRNA的表达同样增多^[14]。对幼稚期小鼠和灵长类动物应用外源性kisspeptin, 可诱导HPG轴过早激活和青春期早熟^[14, 15]。现有的证据表明, KNDy神经元是青春期启动的关键要素, γ -氨基丁酸(γ -amino butyric acid, GABA)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)、RF酰胺相关肽-3(RF-amid-related peptide-3, RFRP-3)在KNDy神经元的上游抑制GnRH分泌, 而谷氨酸在KNDy神经元的上游促进GnRH分泌, 从而影响青春期的启动^[16]。Manfredi-Lozano等报道神经肽 α -促黑素细胞激素(α -melanocytet stimulating hormone, α -MSH)通过瘦素 $\rightarrow\alpha$ -MSH \rightarrow kisspeptin \rightarrow GnRH通路调节青春期始动^[17, 18]。Roa等和Vazquez等分别发现当机体处于负能量平衡状态时, 磷酸腺苷活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)和Sirtuin 1(SIRT1)通过抑制下丘脑弓状核*KISS-1*基因表达, 延缓青春期启动^[19, 20]。

Kisspeptin在女性排卵前LH高峰形成和排卵过程起到关键性作用。GnRH神经元表面没有雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α)表达, 而大多数kisspeptin神经元表面均有ER α 的表达, 这表明kisspeptin在性激素的反馈调节中起到了关键性作用^[21]。下丘脑弓状核的kisspeptin神经元接受雌激素的负反馈调节, 抑制GnRH分泌; 而下丘脑前侧

腹室周核的 kisspeptin 神经元接受雌激素的正反馈调节, 促进 GnRH 分泌。从卵泡早期到排卵前期, kisspeptin 的表达水平不断升高, 促进 GnRH 分泌, 进而增加促性腺激素和性激素的分泌, 而卵泡末期增多的性激素通过刺激前侧腹室周核的 kisspeptin 神经元, 增加 GnRH 分泌的频率和幅度, 从而产生 LH 高峰和排卵^[22, 23]。Zhai 等通过不断测算血 kisspeptin 浓度及卵泡生长的关系, 发现 kisspeptin 峰值出现在月经期第 11 天, 此时优势卵泡接近 1.2 cm, 这表明可能可以通过检测血 kisspeptin 浓度来推测卵泡的生长及排卵情况^[23]。大鼠、仓鼠和灵长类动物(包括人类)的卵巢组织中都发现有 *KISS-1* 基因和(或)*GPR54* 基因的表达^[24]。向富含 FSH 的猪卵丘-卵母细胞复合体(cumulus-oocyte complexes, COCs)培养基中加入 kisspeptin, 可以促使卵母细胞成熟, 表明 kisspeptin 可能以自分泌-旁分泌方式直接作用于卵母细胞^[25]。Gaytan 等发现 *KISS1R* 基因杂合子敲除(*KISS1R*^{+/-})的小鼠排卵率下降, 同时伴有窦卵泡、卵母细胞和窦前卵泡进行性丢失, 但并不伴有促性腺激素的降低, 这表明卵巢局部的 kisspeptin 是机体发挥完全性排卵能力所必需的, 且可能在卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)的发病过程中起作用^[13]。西伯利亚仓鼠的卵巢 *KISS-1* 基因表达在长光照期较短光照期增多, 表明局部 *KISS-1/GPR54* 系统可能与卵巢功能恢复相关, 考虑到卵巢中许多基质金属蛋白酶是 LH 依赖性表达, 卵巢 kisspeptin 可能部分是通过调控基质金属蛋白酶来支撑生殖功能^[26]。Calder 等发现小鼠子宫的 kisspeptin 信号通路在胚胎宫腔种植的过程中发挥关键性作用^[27]。

2 Kisspeptin与生殖内分泌疾病

现已在多例 IHH 患者体内发现 *KISS-1* 和 *KISS1R* 基因沉默突变, 导致 GnRH 信号转导减弱, 促性腺激素分泌减少, 从而导致性发育障碍^[6-8]。*KISS-1/GPR54* 基因的沉默突变还可引发青春期发育缺失^[2]。*KISS-1/GPR54* 基因突变引发的女性不孕症, 通过激素替代治疗(通常是 GnRH)可以使生育功能得到恢复^[6]。而 *KISS-1* 和 *KISS1R* 基因激活突变可导致中枢性早熟, 表现为女孩在 8 岁以前出现第二性征^[28]。

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)影响 6%~10% 生育期女性, 临床多表现为雄激素增多、慢性排卵障碍和卵巢多囊性变化^[29]。PCOS 多

有血 LH 值升高, 而 kisspeptin 在 LH 分泌过程中起关键性作用。Kaya 等分别检测原因不明性、PCOS 和男性因素相关性不孕症三组患者的血 kisspeptin 浓度, 发现 PCOS 组患者的血 kisspeptin 浓度较其他两组明显升高^[30]; Emekci Ozay 等发现 PCOS 患者血 kisspeptin 浓度较对照组升高, 但没有统计学差异^[29]。Varikasuvu 等对 PCOS 与血 kisspeptin 浓度的关联性进行系统回顾和 meta 分析, 发现 PCOS 患者的血 kisspeptin 浓度较对照组明显升高, 且血 kisspeptin 浓度与血抗苗勒氏管激素(anti Müllerian hormone, AMH)浓度、血睾酮浓度以及血脱氢表雄甾酮(dehydroepiandrosterone, DDA)浓度呈正相关; 诊断试验准确性(diagnostic test accuracy, DTA)分析表明血 kisspeptin 浓度对于 PCOS 诊断具有良好的准确性^[31]。

病理性高泌乳素血症是一种常见的生殖功能障碍疾病, 主要是由泌乳素瘤或影响多巴胺能神经系统的药物引起 GnRH、LH 和 FSH 分泌障碍, 导致性腺功能减退和不孕, 女性患者主要表现为溢乳、闭经和不孕^[32]。高泌乳素血症可能通过影响 kisspeptin 系统从而影响生殖功能, 在全身或脑室内注射泌乳素, 会抑制下丘脑 *KISS-1* 基因表达, 导致血 LH 水平下降^[33]。但 kisspeptin 对泌乳素分泌的影响是存在争议的: 向 8 个月的去势雄性小牛垂体前叶细胞培养基中注射 kisspeptin-10, 泌乳素分泌增加^[34]; 但健康女性注射 kisspeptin-54 后血泌乳素无明显变化^[35]。小鼠实验表明 kisspeptin 可能通过抑制结节漏斗多巴胺(tuberoinfundibular dopamine, TIDA)神经元分泌多巴胺来增加泌乳素分泌, 但这个过程需要雌激素、酪氨酸羟化酶、神经肽 FF 受体(neuropeptide FF receptor, NFFR)的参与^[36, 37]。Sonigo 等的研究表明高泌乳素血症引起的 GnRH 分泌障碍, 可以通过外源性应用 kisspeptin 逆转^[38], 这为下一步治疗高泌乳素血症引发的不孕症提供了新的思路。

除了生殖内分泌疾病, kisspeptin 同样参与生活环境因素对于机体生殖功能的影响过程。Lee 等通过给大鼠静脉注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)来诱发应激反应, 发现下丘脑弓状核 *KISS-1* 基因和视前区 *GnRH* 基因表达均下降, 而 LH 分泌频率减缓^[39]; 而小鼠实验表明, 社会心理因素促使机体出现应激反应时, 血糖皮质激素浓度持续升高, 会抑制 *KISS-1* 神经元活性, 减少 LH 分泌^[40, 41]。Zhou

等研究发现孕期高脂饮食大鼠的新生鼠次级卵泡数量较孕期正常饮食大鼠的新生鼠减少；青春期前时期，孕期高脂饮食大鼠的子代窦卵泡和排卵前卵泡数量较孕期正常饮食大鼠的子代增多，III级卵泡数量减少，卵巢内 *KISS-1* 基因 mRNA 和 kisspeptin 明显升高，而 *KISS1R* 基因 mRNA 和 GPR54 表达无明显变化；这表明孕期母体高脂饮食对子代卵泡的发育有长远的不利影响，子代卵巢中的 kisspeptin/GPR54 系统可能参与其中^[42]。

3 Kisspeptin在辅助生殖技术治疗中的应用

2004年，Gottsch等在小鼠的侧脑室直接注射 kisspeptin-10 或 kisspeptin-54，两者均可以刺激 LH 分泌^[43]。而 d'Anglemont de Tassigny 等分别将 kisspeptin-10 和 kisspeptin-54 注射入雄性小鼠腹腔内，发现 kisspeptin-54 对于 LH 分泌的维持时间长于 kisspeptin-10，这可能是由于 kisspeptin-54 更易通过血脑屏障^[44]。而 Kinoshita 等直接在母鼠下丘脑视前区使用特异性 kisspeptin 单克隆抗体，发现母鼠动情前期 LH 高峰和动情周期的发生被抑制^[45]。Matsui 等使用怀孕母马血清促性腺激素诱导青春期前时期母鼠卵泡成熟，而后在母鼠皮下使用 kisspeptin，成功诱发母鼠排卵，可以达到与使用人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG) 相同的效果^[46]。Leonardi 等在母牛身上静脉注射人或鼠 kisspeptin-10，在低血孕酮状态下成功诱发母牛排卵，同时证明人 kisspeptin 对于 LH 分泌刺激作用强于鼠 kisspeptin^[47]。这些动物实验的成功使人们开始试验在人体直接应用 kisspeptin。

2005年，Dhillon 等首次进行人体 kisspeptin 试验，持续静脉注射 kisspeptin-54 90 min，可以使正常男性血 LH 值产生稳定的剂量依赖性升高 (0.25~12 pmol · kg⁻¹ · min⁻¹)^[48]。皮下注射 kisspeptin-54 可以刺激正常女性促性腺激素分泌，且在月经周期的不同阶段，机体对外源性 kisspeptin 的反应是有差异的：在卵泡期，小剂量的 kisspeptin-54 (0.4 nmol/kg) 只能使血清 LH 轻微升高 [(0.12 ± 0.17) IU/L]；但相同的剂量 kisspeptin-54 在排卵前期却可以使血清 LH 升高到 (20.64 ± 2.91) IU/L^[49]。这些结果表明，在人体外源性应用 kisspeptin 可以诱导排卵前期 LH 高峰，这促使人们进一步去探究在体外受精 - 胚胎移植 (*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET) 周期中是否可以应用 kisspeptin 来诱导排卵。

2014年，Dhillon 等^[50]报道首次进行了人体试验以评估 kisspeptin 作为 IVF-ET 周期中“扳机”药物的可行性。取卵前 36 h 分别给试验女性单次皮下注射 1.6、3.2、6.4、12.8 nmol/kg kisspeptin-54，注射 12~14 h 后各组血清 LH 水平均高于基线水平。53 名患者中，51 人 (96%) 取得至少一个成熟卵母细胞，49 人 (92%) 获得至少一个可用于移植的胚胎。成熟卵母细胞的数量与注射 kisspeptin-54 剂量呈正相关，但卵母细胞成熟率是相近的；而成熟卵母细胞生成率 (成熟卵母细胞数量 / 注射当日直径 > 14 mm 卵泡数量) 与注射 kisspeptin-54 剂量呈正相关。总的 IVF-ET 周期活产率是 19% (10/53)，总的移植活产率是 20.4% (10/49)^[50]。该研究证实了 kisspeptin 可以作为 IVF-ET 周期“扳机”药物后，Dhillon 等^[51]进一步探索了 kisspeptin 在高危卵巢过度刺激症 (ovarian hyper-stimulation syndrome, OHSS) 女性中应用的有效性和安全性。OHSS 高风险的女性随机接受 3.2~12.8 nmol/kg kisspeptin-54 单次皮下注射，分别在取卵后 3~5 天评估早期 OHSS 发病率及在胚胎移植后 11 天评估晚期 OHSS 发病率。成熟卵母细胞数量同样与 kisspeptin-54 注射剂量呈正相关，总的移植活产率是 45%，是 2014 年 kisspeptin 试验报道^[50]的两倍；尽管有 3 名女性被诊断为轻度早期 OHSS，但没有女性被诊断为中、重度 OHSS^[51]。第二次试验的成熟卵母细胞生成率是 95% ± 85%，且没有出现重症 OHSS 患者，说明 kisspeptin 在辅助生殖中应用是具有可行性和安全性的。Kisspeptin-54 引发的 LH 峰值持续时间较生理性 LH 峰值时间短，Dhillon 等^[52]的第三次试验探索了二次注射 kisspeptin 延长 LH 高峰时长是否可以获得更高的成熟卵母细胞生成率。62 名 OHSS 高风险的女性在取卵前 36 h 皮下注射 9.6 nmol/L kisspeptin-54，而后随机分为两组 (各 31 人)，试验组在 10 h 后再次皮下注射 9.6 nmol/L kisspeptin-54，对照组不接受二次注射。试验组中成熟卵母细胞生成率 ≥ 60% 的女性占比 71%，而对照组只有 45%，试验组的取卵数量均不少于 4 个，且 OHSS 的发病率并没有升高。试验组的 IVF-ET 周期活产率是 39% (12/31)，对照组则是 19% (6/31)，这表明二次应用 kisspeptin 延长 LH 峰值是有临床意义的^[52]。

Dhillon 等分别应用 hCG、促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin releasing hormone agonist, GnRHa) 和 kisspeptin “扳机”，发现 kisspeptin 更易诱导较

小卵泡成熟^[53]。一个单中心的回顾性队列研究对比了高危 OHSS 女性应用 hCG、GnRHa 和 kisspeptin “扳机”的临床参数,发现 kisspeptin 组女性取卵后 3~5 天卵巢体积中位数、平均腹水量以及 OHSS 症状发生率均低于其他两组;与 kisspeptin 组相比, hCG 组的 OHSS 优势比 (odds ratio, OR) 为 33.6 [置信区间 (confidence interval, CI), 12.6~89.5], GnRHa 组 OR 为 3.6 (CI, 1.8~7.1)^[54]。已有小鼠实验证明外源性应用 kisspeptin-10 直接作用于 OHSS 小鼠卵巢和肺组织 kisspeptin 受体,降低血管渗透性及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 水平,从而减少 OHSS 风险^[55]。Kisspeptin 半衰期短,皮下注射 1 h 后血 kisspeptin 浓度即达峰值^[50],为了克服这一缺点,Decourt 等在母羊上应用半衰期延长的 kisspeptin 类似物 compound 6 (C6),成功地诱发了排卵^[56]。

Hu 等通过分析 133 名冻胚移植患者的早期妊娠结局与移植后 14 天、21 天血 kisspeptin 浓度的关系,发现移植后 14 天血 kisspeptin 浓度与胚胎种植率呈负相关,而移植后 21 天血 kisspeptin 浓度对流产的预测价值不高^[57]。

4 结论

Kisspeptin 参与女性青春期启动、卵母细胞成熟、排卵前 LH 高峰形成以及排卵等一系列生殖生理过程,是调控 GnRH 分泌的关键性因子,同时在如 PCOS 等生殖内分泌疾病以及环境生活因素导致的不孕症发病过程中发挥着重要作用。近年来 kisspeptin 在不孕症治疗应用方面取得了很大进展,在 IVF-ET 周期中作为“扳机”药物的有效性试验已经取得了成功,且安全性也得到了初步证实,但尚需更多的临床试验进行验证。随着对 kisspeptin 生理功能的愈发深入了解, kisspeptin 在生殖医学领域将有着更广阔的应用。

参考文献

- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88(23): 1731-1737.
- Ke R, Ma X, Lee LTO. Understanding the functions of kisspeptin and kisspeptin receptor (Kiss1R) from clinical case studies. *Peptides* 2019; 120: 170019.
- Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, Coulombe N, Tan CP, Tang-Nguyen AT, George SR, O'Dowd BF. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett* 1999; 446(1): 103-107.
- Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 2001; 411(6837): 613-617.
- Cao Y, Li Z, Jiang W, Ling Y, Kuang H. Reproductive functions of Kisspeptin/KISS1R systems in the periphery. *Reprod Biol Endocrinol* 2019; 17(1): 65.
- Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, Christofolini DM, Barbosa CP, Crandall KA, Bianco B. Kisspeptin/GPR54 system: What do we know about its role in human reproduction? *Cell Physiol Biochem* 2018; 49(4): 1259-1276.
- 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 U S A* 2003; 100(19): 10972-10976.
- Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Jr., Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley WF Jr, Aparicio SA, Colledge WH. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003; 349(17): 1614-1627.
- Kasum M, Franulic D, Cehic E, Oreskovic S, Lila A, Ejubovic E. Kisspeptin as a promising oocyte maturation trigger for *in vitro* fertilisation in humans. *Gynecol Endocrinol* 2017; 33(8): 583-587.
- Leon S, Barroso A, Vazquez MJ, Garcia-Galiano D, Manfredi-Lozano M, Ruiz-Pino F, Heras V, Romero-Ruiz A, Roa J, Schutz G, Kirilov M, Gaytan F, Pinilla L, Tena-Sempere M. Direct actions of kisspeptins on GnRH neurons permit attainment of fertility but are insufficient to fully preserve gonadotropic axis activity. *Sci Rep* 2016; 6: 19206.
- Goodman RL, Coolen LM, Lehman MN. A role for neurokinin B in pulsatile GnRH secretion in the ewe. *Neuroendocrinology* 2014; 99(1): 18-32.
- Leon S, Fergani C, Talbi R, Simavli S, Maguire CA, Gerutshang A, Navarro VM. Characterization of the role of NKA in the control of puberty onset and gonadotropin release in the female mouse. *Endocrinology* 2019; 160(10): 2453-2463.
- Gaytan F, Garcia-Galiano D, Dorfman MD, Manfredi-Lozano M, Castellano JM, Dissen GA, Ojeda SR, Tena-Sempere M. Kisspeptin receptor haplo-insufficiency causes premature

- ovarian failure despite preserved gonadotropin secretion. *Endocrinology* 2014; 155(8): 3088–3097.
- 14 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 U S A* 2005; 102(6): 2129–2134.
 - 15 Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Castellano JM, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, Gaytan F, Aguilar E, Pinilla L, Dieguez C, Tena-Sempere M. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol* 2004; 561(Pt 2): 379–386.
 - 16 Livadas S, Chrousos GP. Control of the onset of puberty. *Curr Opin Pediatr* 2016; 28(4): 551–558.
 - 17 Manfredi-Lozano M, Roa J, Ruiz-Pino F, Piet R, Garcia-Galiano D, Pineda R, Zamora A, Leon S, Sanchez-Garrido MA, Romero-Ruiz A, Dieguez C, Vazquez MJ, Herbison AE, Pinilla L, Tena-Sempere M. Defining a novel leptin-melanocortin-kisspeptin pathway involved in the metabolic control of puberty. *Mol Metab* 2016; 5(10): 844–857.
 - 18 Manfredi-Lozano M, Roa J, Tena-Sempere M. Connecting metabolism and gonadal function: Novel central neuropeptide pathways involved in the metabolic control of puberty and fertility. *Front Neuroendocrinol* 2018; 48: 37–49.
 - 19 Roa J, Barroso A, Ruiz-Pino F, Vazquez MJ, Seoane-Collazo P, Martinez-Sanchez N, Garcia-Galiano D, Ilhan T, Pineda R, Leon S, Manfredi-Lozano M, Heras V, Poutanen M, Castellano JM, Gaytan F, Dieguez C, Pinilla L, Lopez M, Tena-Sempere M. Metabolic regulation of female puberty via hypothalamic AMPK-kisspeptin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018; 115(45): E10758–E10767.
 - 20 Vazquez MJ, Toro CA, Castellano JM, Ruiz-Pino F, Roa J, Beiroa D, Heras V, Velasco I, Dieguez C, Pinilla L, Gaytan F, Nogueiras R, Bosch MA, Ronnekleiv OK, Lomniczi A, Ojeda SR, Tena-Sempere M. SIRT1 mediates obesity- and nutrient-dependent perturbation of pubertal timing by epigenetically controlling Kiss1 expression. *Nat Commun* 2018; 9(1): 4194.
 - 21 Moore AM, Coolen LM, Porter DT, Goodman RL, Lehman MN. KNDy cells revisited. *Endocrinology* 2018; 159(9): 3219–3234.
 - 22 Latif R, Rafique N. Serum kisspeptin levels across different phases of the menstrual cycle and their correlation with serum oestradiol. *Neth J Med* 2015; 73(4): 175–178.
 - 23 Zhai J, Ding L, Zhao S, Li W, Sun Y, Su S, Zhang J, Zhao H, Chen ZJ. Kisspeptin: a new marker for human pre-ovulation. *Gynecol Endocrinol* 2017; 33(7): 560–563.
 - 24 Zeydabadi Nejad S, Ramezani Tehrani F, Zadeh-Vakili A. The role of Kisspeptin in female reproduction. *Int J Endocrinol Metab* 2017; 15(3): e44337.
 - 25 Saadeldin IM, Koo OJ, Kang JT, Kwon DK, Park SJ, Kim SJ, Moon JH, Oh HJ, Jang G, Lee BC. Paradoxical effects of kisspeptin: it enhances oocyte *in vitro* maturation but has an adverse impact on hatched blastocysts during *in vitro* culture. *Reprod Fertil Dev* 2012; 24(5): 656–668.
 - 26 Shahed A, Young KA. Differential ovarian expression of KiSS-1 and GPR-54 during the estrous cycle and photoperiod induced recrudescence in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Mol Reprod Dev* 2009; 76(5): 444–452.
 - 27 Calder M, Chan YM, Raj R, Pampillo M, Elbert A, Noonan M, Gillio-Meina C, Caligioni C, Berube NG, Bhattacharya M, Watson AJ, Seminara SB, Babwah AV. Implantation failure in female Kiss1^{-/-} mice is independent of their hypogonadic state and can be partially rescued by leukemia inhibitory factor. *Endocrinology* 2014; 155(8): 3065–3078.
 - 28 Canton APM, Seraphim CE, Brito VN, Latronico AC. Pioneering studies on monogenic central precocious puberty. *Arch Endocrinol Metab* 2019; 63(4): 438–444.
 - 29 Emekci Ozay O, Ozay AC, Acar B, Cagliyan E, Secil M, Kume T. Role of kisspeptin in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecol Endocrinol* 2016; 32(9): 718–722.
 - 30 Kaya C, Alay I, Babayeva G, Gedikbasi A, Ertas Kaya S, Ekin M, Yasar L. Serum Kisspeptin levels in unexplained infertility, polycystic ovary syndrome, and male factor infertility. *Gynecol Endocrinol* 2019; 35(3): 228–232.
 - 31 Varikasuvu SR, Prasad VS, Vamshika VC, Satyanarayana MV, Panga JR. Circulatory metastin/kisspeptin-1 in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis with diagnostic test accuracy. *Reprod Biomed Online* 2019; 39(4): 685–697.
 - 32 Donato J Jr, Frazao R. Interactions between prolactin and kisspeptin to control reproduction. *Arch Endocrinol Metab* 2016; 60(6): 587–595.
 - 33 Araujo-Lopes R, Crampton JR, Aquino NS, Miranda RM, Kokay IC, Reis AM, Franci CR, Grattan DR, Szawka RE. Prolactin regulates kisspeptin neurons in the arcuate nucleus to suppress LH secretion in female rats. *Endocrinology* 2014; 155(3): 1010–1020.
 - 34 Kadokawa H, Suzuki S, Hashizume T. Kisspeptin-10 stimulates the secretion of growth hormone and prolactin directly from cultured bovine anterior pituitary cells. *Anim Reprod Sci* 2008; 105(3–4): 404–408.
 - 35 Jayasena CN, Comninos AN, Narayanaswamy S, Bhalla S, Abbara A, Ganiyu-Dada Z, Busbridge M, Ghatei MA, Bloom SR, Dhillo WS. Acute and chronic effects of kisspeptin-54 administration on GH, prolactin and TSH secretion in healthy women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 81(6): 891–898.

- 36 Ribeiro AB, Leite CM, Kalil B, Franci CR, Anselmo-Franci JA, Szawka RE. Kisspeptin regulates tuberoinfundibular dopaminergic neurones and prolactin secretion in an oestradiol-dependent manner in male and female rats. *J Neuroendocrinol* 2015; 27(2): 88–99.
- 37 Aquino NSS, Kokay IC, Perez CT, Ladyman SR, Henriques PC, Silva JF, Broberger C, Grattan DR, Szawka RE. Kisspeptin stimulation of prolactin secretion requires kiss1 receptor but not in tuberoinfundibular dopaminergic neurones. *Endocrinology* 2019; 160(3): 522–533.
- 38 Sonigo C, Bouilly J, Carre N, Tolle V, Caraty A, Tello J, Simony-Conesa FJ, Millar R, Young J, Binart N. Hyperprolactinemia-induced ovarian acyclicity is reversed by kisspeptin administration. *J Clin Invest* 2012; 122(10): 3791–3795.
- 39 Lee CY, Li S, Li XF, Stalker DAE, Cooke C, Shao B, Kelestimur H, Henry BA, Conductier G, O’Byrne KT, Clarke IJ. Lipopolysaccharide reduces gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) gene expression: role of RFamide-related peptide-3 and kisspeptin. *Reprod Fertil Dev* 2019. doi: 10.1071/RD18277
- 40 Yang JA, Song CI, Hughes JK, Kreisman MJ, Parra RA, Haisenleder DJ, Kauffman AS, Breen KM. Acute psychosocial stress inhibits lh pulsatility and kiss1 neuronal activation in female mice. *Endocrinology* 2017; 158(11): 3716–3723.
- 41 Kreisman M, McCosh R, Tian K, Song C, Breen K. Estradiol enables chronic corticosterone to inhibit pulsatile LH secretion and suppress Kiss1 neuronal activation in female mice. *Neuroendocrinology* 2019. doi: 10.1159/000502978.
- 42 Zhou Z, Lin Q, Xu X, Illahi GS, Dong C, Wu X. Maternal high-fat diet impairs follicular development of offspring through intraovarian kisspeptin/GPR54 system. *Reprod Biol Endocrinol* 2019; 17(1): 13.
- 43 Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, Seminara S, Clifton DK, Steiner RA. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2004; 145(9): 4073–4077.
- 44 d’Anglemont de Tassigny X, Jayasena CN, Murphy KG, Dhillon WS, Colledge WH. Mechanistic insights into the more potent effect of KP-54 compared to KP-10 *in vivo*. *PLoS One* 2017; 12(5): e0176821.
- 45 Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, Yamada S, Inoue K, Ohtaki T, Matsumoto H, Maeda K. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology* 2005; 146(10): 4431–4436.
- 46 Matsui H, Takatsu Y, Kumano S, Matsumoto H, Ohtaki T. Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320(2): 383–388.
- 47 Leonardi CEP, Dias FCF, Adams GP, Araujo ER, Singh J. Kisspeptin induces ovulation in heifers under low plasma progesterone concentrations. *Theriogenology* 2019; 141: 26–34.
- 48 Dhillon WS, Chaudhri OB, Patterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK, McGowan BM, Amber V, Patel S, Ghatgei MA, Bloom SR. Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(12): 6609–6615.
- 49 Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, Nijher GK, Amber V, Kokkinos A, Donaldson M, Ghatgei MA, Bloom SR. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(10): 3958–3966.
- 50 Jayasena CN, Abbara A, Comninou AN, Nijher GM, Christopoulos G, Narayanaswamy S, Izzi-Engbeaya C, Sridharan M, Mason AJ, Warwick J, Ashby D, Ghatgei MA, Bloom SR, Carby A, Trew GH, Dhillon WS. Kisspeptin-54 triggers egg maturation in women undergoing *in vitro* fertilization. *J Clin Invest* 2014; 124(8): 3667–3677.
- 51 Abbara A, Jayasena CN, Christopoulos G, Narayanaswamy S, Izzi-Engbeaya C, Nijher GM, Comninou AN, Peters D, Buckley A, Ratnasabapathy R, Prague JK, Salim R, Lavery SA, Bloom SR, Szigeti M, Ashby DA, Trew GH, Dhillon WS. Efficacy of Kisspeptin-54 to trigger oocyte maturation in women at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) during *in vitro* fertilization (IVF) therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(9): 3322–3331.
- 52 Abbara A, Clarke S, Islam R, Prague JK, Comninou AN, Narayanaswamy S, Papadopoulou D, Roberts R, Izzi-Engbeaya C, Ratnasabapathy R, Nesbitt A, Vimalasvaran S, Salim R, Lavery SA, Bloom SR, Huson L, Trew GH, Dhillon WS. A second dose of kisspeptin-54 improves oocyte maturation in women at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a phase 2 randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2017; 32(9): 1915–1924.
- 53 Abbara A, Vuong LN, Ho VNA, Clarke SA, Jeffers L, Comninou AN, Salim R, Ho TM, Kelsey TW, Trew GH, Humaidan P, Dhillon WS. Follicle size on day of trigger most likely to yield a mature oocyte. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9: 193.
- 54 Abbara A, Islam R, Clarke SA, Jeffers L, Christopoulos G, Comninou AN, Salim R, Lavery SA, Vuong TNL, Humaidan P, Kelsey TW, Trew GH, Dhillon WS. Clinical parameters of ovarian hyperstimulation syndrome following different hormonal triggers of oocyte maturation in IVF treatment.

- Clin Endocrinol (Oxf) 2018; 88(6): 920–927.
- 55 Zhai J, Liu J, Zhao S, Zhao H, Chen ZJ, Du Y, Li W. Kisspeptin-10 inhibits OHSS by suppressing VEGF secretion. *Reproduction* 2017; 154(4): 355–362.
- 56 Decourt C, Robert V, Anger K, Galibert M, Madinier JB, Liu X, Dardente H, Lomet D, Delmas AF, Caraty A, Herbison AE, Anderson GM, Aucagne V, Beltramo M. A synthetic kisspeptin analog that triggers ovulation and advances puberty. *Sci Rep* 2016; 6: 26908.
- 57 Hu KL, Zhang Y, Yang Z, Zhao H, Xu H, Yu Y, Li R. Predictive value of serum kisspeptin concentration at 14 and 21 days after frozen-thawed embryo transfer. *Reprod Biomed Online* 2019; 39(1): 161–167.