

KiSS-1 : 포유동물 생식계에서의 새로운 신경펩타이드

이 성 호[†] · 최 돈 찬¹

상명대학교 자연과학대학 생물학과, ¹용인대학교 자연과학대학 환경생명학부

KiSS-1 : A Novel Neuropeptide in Mammalian Reproductive System

Sung-Ho Lee[†] and Donchan Choi¹

Department of Biology, College of Natural Sciences, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

¹Division of Environmental and Biological Sciences, College of Natural Sciences, Yongin University, Yongin 449-714, Korea

ABSTRACT : The hypothalamo-pituitary-gonadal hormone axis is centrally controlled by a complex regulatory network of excitatory and inhibitory signals, that is dormant during infantile and juvenile periods and activated at puberty. The kisspeptins are the peptide products of the KiSS-1 gene and the endogenous agonists for the G protein-coupled receptor 54(GPR54). Although KiSS-1 was initially discovered as a metastasis suppressor gene, a recent evidence suggests the KiSS-1/GPR54 system is a key regulator of the reproductive system. Yet the actual role of the KiSS-1/GPR54 system in the neuroendocrine control of gonadotropin secretion remains largely unexplored, the system could be the first missing link in the reproductive hormonal axis. Central or peripheral administration of kisspeptin stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, increasing circulating gonadotropin levels in rodents, sheep, monkey and human models. These effects appear likely to be mediated via the hypothalamic GnRH neuron system, although kisspeptins may have direct effects on the anterior pituitary gland. The loss of function mutations of the GPR54(GPR54^{-/-}) have been associated with lack of puberty onset and idiopathic hypogonadotropic hypogonadism(IHH). So kisspeptin infusion may provide a novel mechanism for HPG axis manipulation in disorders of the reproductive system.

Key words : KiSS-1, Kisspeptin, GPR54, Gonadotropin secretion, Puberty onset, Idiopathic hypogonadotropic hypogonadism(IHH).

요 약 : 시상하부-뇌하수체-생식소(HPG) 호르몬 축은 유아기와 아동기에는 작동하지 않다가 사춘기 개시 직전에 활성화되는 흥분성 및 억제성 신호들의 복잡한 중추성 조절 네트워크에 의해 조절된다. 최근 주목받고 있는 kisspeptin은 KiSS-1 유전자의 펩타이드 산물로, 최초 orphan receptor로 클로닝된 G protein-coupled receptor 54(GPR54)의 내인성 리간드이다. KiSS-1은 본래 종양전이억제 유전자로 알려졌으나, 최근의 연구들은 KiSS-1/GPR54 시스템이 생식계의 주요한 조절자임을 시사하고 있다. 비록 생식 관련 호르몬 분비의 신경내분비적 조절에서 KiSS-1/GPR54 시스템의 정확한 역할은 아직 자세히 모르지만, 이 시스템은 생식호르몬 축에서의 일차적인 연결 고리일 수 있다. 중추적(icv) 또는 말초적(sc 또는 ip)으로 kisspeptin을 주사할 경우 시상하부-뇌하수체-생식소 축이 자극되어 혈중 LH 수준이 증가함이 설치류, 양, 원숭이 그리고 인간을 대상으로 한 실험들에서 관찰되었다. 이러한 kisspeptin의 효과는 시상하부 GnRH 신경계를 경유하여 나타나는 것으로 보이지만, 뇌하수체 전엽에 직접 작용할 수도 있다. GPR54 녹아웃 생쥐에서는 사춘기 개시의 소실과 생식소자극호르몬 저항성 생식소 기능저하증(hypogonadotropic hypogonadism, HH)이 나타났다. 따라서 kisspeptin 주사는 인간의 생식계 이상을 치료하기 위한 HPG 축을 활성화시키는 치료에 응용할 수 있을 것이다.

KiSS-1과 GPR54 유전자

1990년대 이후 다양한 PCR(polymerase chain reaction) 방법 개발, 유전자 클로닝 기법의 발전 그리고 게놈 프로젝트 완결 덕분에 새로운 생리 조절 단백질/펩타이드들이 속속 발견되고 있다. 이중 GPR54(G-protein coupled receptor 54)은 지

난 세기말 흰쥐 뇌 cDNA library 검색에서 발견된 396개 아미노산으로 된 orphan 수용체이며 galanin 수용체와 막 관통 부위(transmembrane region)가 유사하고 pons, 중뇌, 해마, 시상, 시상하부 등 뇌의 여러 지역과 간, 장 등의 말초 부위에서 발현됨이 보고되었다(Lee *et al.*, 1999). GPR54 유전자는 염색체 19p13.3에 3.5Mb에 걸쳐 위치하고 있다. 인간의 뇌 cDNA library에서 추출된 AXOR12는 GPR54와 81%의 상동성을 보이며, KiSS-1 유전자 산물이 리간드임이 밝혀졌다(Kotani *et al.*, 2001; Muir *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001). 정량적 RT(reverse transcriptase)-PCR 결과 이들 두 유전자의 발현 정도는 각각 뇌, 뇌하수체, 자궁과 태반, 뇌 순으로 나타났으며, 중추신경

[†] 교신저자: 서울시 중로구 홍지동 7, 상명대학교 자연과학대학 생물학과. (우) 110-743, (전) 02-2287-5139, (팩) 02-394-9585, E-mail: shlee@smu.ac.kr

계에서는 AXOR12 단백질이 소뇌, 대뇌피질, 뇌간의 뉴런들에서 발견되었다(Muir *et al.*, 2001).

KiSS-1 유전자는 subtractive hybridization cloning 방법을 사용하여 인간 흑색종 세포주인 C8161에서 발견한 종양 전이 억제 유전자이다(Lee *et al.*, 1996). 그 단백질 산물은 시그널 펩타이드를 포함하여 161개의 아미노산으로 구성되어 있을 것으로 추정되며, 이중 metastin 또는 kisspeptin으로 불리우는 각각 54개, 14개, 13개 아미노산으로 구성된 최종 펩타이드 산물들이 생물학적 내지 생화학적으로 활성을 갖고 있다(Kotani *et al.*, 2001).

GPR54를 발현하는 HEK293 세포를 KiSS-1으로 활성화시키면 pertussis toxin에 비의존적으로 Ca^{2+} mobilization을 야기하는 것으로 보아 GPR54는 G 단백질의 Caq 와 연관된 것으로 보인다(Muir *et al.*, 2001). 또한 PIP_2 가수분해, arachidonic acid 분비, ERK1/2와 p38 MAP kinase 인산화 등의 세포 내 신호전달 기작들이 보고되었고, 궁극적으로 KiSS-1의 기능으로 가장 먼저 알려진 세포분열 억제제가 나타났다(Kotani *et al.*, 2001). 인간의 GPR54가 태반, 뇌하수체, 췌장, 척수 등에서 발견된다는 사실에서 KiSS-1과 GPR54 활성화에 의한 내분비 기능 조절이 예상되었는데, 실제로 kisspeptin 주사 30분 후 뇌하수체에서의 oxytocin 분비 증가가 관찰되었다(Kotani *et al.*, 2001).

GPR54를 녹아웃한 생쥐(GPR54^{-/-}) 모델은 이 유전자의 기능을 파악하는데 매우 유용하다. 이 생쥐의 암수 모두 비정상적인 생식기 발달과 조직병리학적 이상들이 발견되었고 불임으로 나타났다(Funes *et al.*, 2003). 구체적으로, 생후 7주인 수컷에서 정소의 발달이 극도로 저해되었다. 세정관, 부정소 및 간질 Leydig 세포 형성 저하(hypoplasia)와 저정낭, 전립선, 포피선(preputial gland)은 거의 관찰할 수 없었으며, 음경 등 외부 생식기관도 정상에 비해 매우 작았다. 암컷의 경우 난소, 질, 자궁경부 등이 매우 작거나 발견되지 않았다. 반면, 갑상선, 척추, 뇌, 뇌하수체, 임파선, 췌장 등은 정상 크기였으며, 비장과 흉선은 정상보다 다소 비대하였다. 본래 kisspeptin, 즉 metastin의 기능은 종양세포의 운동성 감소와 세포증식 억제로 알려져 있는데, 특히 focal adhesion 형성 등 세포골격의 변화를 유도하고 paxillin 인산화를 일으킴이 보고되었다(Hori *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001; Yan *et al.*, 2001). Kisspeptin의 종양세포 전이 억제 능력으로 미루어 보아 아마도 태아기의 생식소 분화과정에서 세포들의 예정된 이동을 억제할 가능성을 시사하며, 이 때문에 GPR54^{-/-} 생쥐의 생식기관 발달이 저해되는 것으로 보인다(Funes *et al.*, 2003).

KiSS-1의 생식호르몬 분비 조절 기능

Kisspeptin-10이나 Kisspeptin-54를 생쥐의 제3뇌실로 주입한 주사(intracerebroventricular injection, icv) 결과 혈중 LH 수준의 급격한 증가가 관찰되었는데, 1fmole 정도의 낮은 농도에 의해서도 효과적으로 LH 수준을 증가시켰으며, 이 촉진효과는 GnRH 길항제인 acyline에 의해 소멸되었다(Gottsch *et al.*, 2004). 유사한 실험에서 kisspeptin을 icv로 주사한 후 시상하부를 체외배양했을 때 GnRH 분비능이 증가하였고, 이때 혈중 LH와 FSH 그리고 테스토스테론의 수준이 증가하였다(Thompson *et al.*, 2004). 또한 시상하부에서 생식소 자극호르몬의 분비 조절 부위로 알려진 anteroventral periventricular nucleus(AVPV), periventricular nucleus(PeV), arcuate nucleus(ARC)에서 KiSS-1 mRNA가 발현됨이 보고되었다(Gottsch *et al.*, 2004). 이는 kisspeptin-GPR54 신호 체계가 시상하부에서의 GnRH 분비를 조절하는 회로의 일부를 구성함을 시사한다. Kisspeptin(1nM in 10 μ L)을 icv 주사한 결과 15분 만에 혈중 LH 수준의 증가가 관찰되었고, 이 효과는 3시간 이상 지속되었다. 한편 혈중 prolactin의 경우는 감소하는 경향을 보였다(Navarro *et al.*, 2005a). 또한 이 연구자들은 kisspeptin 주사에 의해 혈중 FSH 수준이 증가함도 보고하였다(Navarro *et al.*, 2005b). 이어진 연구에서 흰쥐에 kisspeptin을 icv 주사한 결과 10nM 농도에서도 효과적으로 LH 분비를 촉진시켰는데, 이는 GnRH 유사체 주사와 유사한 결과로 GnRH 길항제에 의해 상쇄되었다. 그러나 kisspeptin 주사는 시상하부 preoptic area(POA) 부위의 GnRH mRNA 수준에는 영향을 끼치지 못했다. Kisspeptin은 정맥주사(iv)로도 15~30분 내에 혈중 LH 수준의 상승을 야기하였으나, 60분 후에는 icv 주사에 비해 훨씬 촉진효과가 미약한 것으로 보아 뇌하수체에 직접 작용할 가능성을 시사하였다(Navarro *et al.*, 2004b). 이는 배양 중인 뇌하수체에 직접 kisspeptin을 처리할 경우 LH 분비가 증가되는 것으로 확인되었다.

흰쥐를 사용한 연구에서는 KiSS-1과 GPR54 발현에 관한 보다 구체적인 생리적인 결과들이 제공되었다. 시상하부의 KiSS-1과 GPR54 유전자 발현은 암수 공히 수유기 중반에서 이유 직후까지 기간에는 감소하였다가 사춘기 직전에 유의하게 증가하였으며, KiSS-1의 경우 출생 직후의 에스트로겐 노출에 민감하여 성체가 된 후 정상의 30% 수준으로 감소하였다(Navarro *et al.*, 2004a). 또한 암컷의 생식주기 중 KiSS-1 발현은 diestrus 1 오전에 최고치를 보인 후 estrus 오전에 최소치를 보였으며, GPR54 발현도 diestrus 1 오전에 최고치를 보였다. 정소절제 동물에서 KiSS-1과 GPR54 발현이 증가하

였다가 테스토스테론 보충 후 감소하였는데, 이때 시상하부 GnRH mRNA 수준은 변하지 않았으나 혈중 LH 수준은 KiSS-1/GPR54 발현 양상과 유사하였다. 난소 절제 동물에서도 KiSS-1/GPR54 발현이 증가하였고, 에스트로겐 보충이나 에스트로겐 수용체 α (ER α) 길항제(PPT)에 의해 감소하였으나 에스트로겐 수용체 β (ER β) 길항제(DPN)는 효과가 없었다. 난소 절제 후 에스트로겐 보충 생쥐 모델에서도 KiSS-1 발현은 전뇌 각 지역에서 ER α 를 매개로 특이적으로 나타나는 것으로 보인다(Smith *et al.*, 2005). 즉, ARC에서는 난소절제 후 KiSS-1 발현 세포 수와 발현 정도가 증가하였다가 에스트로겐 보충에 의해 감소한데 비해, AVPV와 PeN 지역에서는 반대로 난소절제 후 발현이 감소하였다가 에스트로겐 보충에 의해 정상 수준을 회복하였다. 이때 ER α 녹아웃 생쥐(ER α KO)에서는 세 지역 모두 에스트로겐 보충에 따른 KiSS-1 발현 변화가 없었으나, ER β KO 생쥐에서는 정상 쥐와 유사한 에스트로겐 민감성을 보였다.

KiSS-1의 사춘기 개시 및 배란 유도 기능

포유동물에서 뇌하수체 문맥계로 GnRH가 맥동적으로 분비되는 시기는 태아기-신생아기에 국한되며, 그 후 사춘기까지 정지된다. 따라서 사춘기 개시는 GnRH 분비 뉴런의 활성화가 중요한 시발점이 된다(Parent *et al.*, 2003). GPR54 $-/-$ 생쥐에서 사춘기 개시에 KiSS-1/GPR54 시스템이 필수적임이 밝혀졌다(Seminara *et al.*, 2003). GPR54 전사체가 생쥐 시상하부의 GnRH 뉴런에 존재한다는 보고는 kisspeptin에 의한 직접적인 GnRH 조절기작을 시사한다(Gottsch *et al.*, 2004). 그런데 GPR54 $-/-$ 생쥐의 GnRH 뉴런이 해부학적으로 정상이며, 특히 median eminence로의 신경섬유 투사가 관찰되므로 이 생쥐에서 나타나는 생식소 기능 저하 현상이 Kallmann syndrome의 KAL-1 돌연변이에 의해 태아기 GnRH 뉴런의 비정상적인 이동에 기인하는 것이 아니라, GnRH 분비 결핍이나 GnRH 뉴런을 자극하는 신호의 부재에 기인하는 것으로 보인다(Muir *et al.*, 2001). Kisspeptin을 복강주사(ip)한 정상 쥐에서는 혈중 FSH와 LH의 급격한 상승이 일어나지만 GPR54 $-/-$ 쥐에서는 효과가 없었으므로, kisspeptin이 시상하부 GPR54에 직접 작용함을 시사한다. 유사하게, kisspeptin을 양에게 icv 주사할 경우 혈중 LH 증가와 동시에 뇌척수액으로의 GnRH 분비 증가가 관찰되므로 kisspeptin의 작용이 시상하부-뇌하수체-생식소 호르몬 축 상에서 GnRH 수준에 직접 작용하는 신경호르몬임을 지지한다(Messenger *et al.*, 2005).

한편 kisspeptin 주사(icv)는 암컷 사춘기 개시의 주요 지표

인 질구개방(vaginal opening)을 정상인 경우 생후 35일에 일어나는 것을 생후 30일로 앞당겼는데, 체중의 변화는 관찰되지 않았으나 혈중 LH와 에스트로겐의 상승, 자궁 무게의 급격한 증가가 나타났다(Navarro *et al.*, 2004b). 식이제한이나 leptin 항체 처리로 leptin 작용을 억제한 실험동물 모델에서도 kisspeptin 주사에 의해 혈중 LH 상승이 관찰되었다(Castellano *et al.*, 2005). 다른 연구자에 의한 실험에서 kisspeptin을 피하주사(sc)한 후 혈중 FSH와 LH가 1시간부터 증가하였으며 2시간경에 최고치에 도달하였으며, 수컷도 유사한 경향을 보였다(Matsui *et al.*, 2004). 암컷의 경우 kisspeptin 주사는 hCG 주사에 의한 것과 유사한 과배란을 유도하였고, 이때 OVLT와 POA 지역의 GnRH 뉴런에서의 c-FOS 활성화 증가가 관찰되었다.

영장류를 사용한 실험에서도 KiSS-1과 GPR54 유전자가 시상하부 ARC 지역에 존재하고 KiSS-1 유전자 발현이 사춘기에 증가됨이 보고되었다(Shahab *et al.*, 2005). Kisspeptin 뉴런은 ARC에서 ER과 함께 발견되며, GnRH 뉴런의 세포체가 밀집한 POA로 일부 신경섬유가 투사되어 있다. 또한 kisspeptin에 대한 단중 항체를 처리하여 POA에서의 작용을 차단하면 proestrous LH surge를 완전히 차단할 수 있다(Kinoshita *et al.*, 2005).

한편 영양과 관련된 측면에서 사춘기 개시와 이후 성체에서의 생식 기능은 충분한 체내 에너지 저장 여부에 크게 의존한다(Parent *et al.*, 2003). 특히 에너지 대사와 관련된 ghrelin이나 leptin 유전자 발현과 사춘기 개시 간에 밀접한 관련이 있음이 잘 알려져 있다(Chanoine, 2005; Federico *et al.*, 2003). 식이제한은 사춘기 이전 시상하부 KiSS-1 발현의 감소와 GPR54 발현 증가를 동시에 초래한다(Castellano *et al.*, 2005). 또한 단식기간 중 kisspeptin을 체내에 투여했을 때 LH 분비가 증가되었으며, 체외배양에서는 GnRH 분비능이 증가하였다. Kisspeptin을 icv 주사했을 때 섭식행동에 영향을 주지는 못했으나, 지속 투여할 경우 영양부족 상태에서도 질구 개방과 생식소 자극호르몬과 에스트로겐 반응을 일으켰다.

생식소자극호르몬 저하성 생식소 기능저하증 (Hypogonadotropic Hypogonadism, HH)과 GPR54

생식소 자극호르몬 저하성 생식소 기능 저하증(hypogonadotropic hypogonadism, HH)의 생물학적, 생화학적 특징은 FSH 및 LH 분비 감소와 이에 따른 성 스테로이드 호르몬의 분비 감소이며, 그 결과로 사춘기 성 성숙과 성 기능의 손상이 초래된다(Seminara *et al.*, 1998). 즉, 시상하부의 GnRH 합성 부

족, 뇌하수체의 GnRH 수용체 기능 결핍, 그리고 뇌하수체의 FSH와 LH 합성 부족 등의 이유로 설명될 수 있으며, 시상하부나 뇌하수체의 종양, 외과적 적출, 물리적 삽입에 의해 일어날 수 있으며, 이 경우 대개 여타 뇌하수체 호르몬들의 결핍이 수반된다(Iovane *et al.*, 2004). HH는 유전적인 이상에 의해서도 초래될 수 있는데, 전사 조절 물질인 PROP1, HESX1, LHX1, LHX4 유전자의 이상이나 pituitary stalk interruption syndrome과 같은 발생 과정의 이상에 기인할 수도 있다(Karges & de Roux, 2005). 또 HH는 anosmia가 수반되는 Kallmann syndrome에 의하거나 anosmia와 무관한 idiopathic HH(IHH)로 구분되는데, Kallmann syndrome은 X 염색체에 위치하여 anosmin을 암호화하는 Kal1 유전자 상의 돌연변이에 의해 일어난다. IHH의 경우, GnRH 수용체 돌연변이에 의한 IHH가 보고되었으나 이는 전체 IHH의 50% 이하에 해당된다(Seminara *et al.*, 1998). 최근 GPR54 유전자의 intron 4의 acceptor 부위와 exon 5 부분의 155개 염기의 결손이 있는 돌연변이가 IHH를 초래할 수 있음이 밝혀졌다(de Roux *et al.*, 2003).

최근 인간에게 kisspeptin-54를 정맥주사한 결과 효과적으로 혈중 LH, FSH 그리고 테스토스테론 수준을 증가시킴이 보고되었는데(Dhillon *et al.*, 2005), 이는 KiSS-1/GPR54 시스템이 생식소 기능 저하증의 진단과 치료 외에도 남성 갱년기(andropause)와 같이 생식 기능 이상의 치료에 응용될 가능성을 제시하는 것이다.

인용문헌

- Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Nogueiras R, Tovar S, Roa J, Vazquez MJ, Vigo E, Casanueva FF, Aguilar E, Pinilla L, Dieguez C, Tena-Sempere M (2005) Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology* 146:3817-3825.
- Chanoine JP (2005) Ghrelin in growth and development. *Horm Res* 63:129-138.
- de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E (2003) Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:10972-10976.
- Dhillon WS, Chaudhri OB, Patterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK, McGowan BM, Amber V, Patel S, Ghatei MA, Bloom SR (2005) Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *J Clin Endocrinol Metab* [Epub ahead of print].
- Federico G, Baroncelli GI, Vanacore T, Fiore L, Saggese G (2003) Pubertal changes in biochemical markers of growth. *Horm Res* 60(Suppl 1):46-51.
- Funes S, Hedrick JA, Vassileva G, Markowitz L, Abbondanzo S, Golovko A, Yang S, Monsma FJ, Gustafson EL (2003) The KiSS-1 receptor GPR54 is essential for the development of the murine reproductive system. *Biochem Biophys Res Commun* 312:1357-1363.
- Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, Seminara S, Clifton DK, Steiner RA (2004) A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology* 145:4073-4077.
- Hori A, Honda S, Asada M, Ohtaki T, Oda K, Watanabe T, Shintani Y, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Onda H, Kurokawa T, Nishimura O, Fujino M (2001) Metastin suppresses the motility and growth of CHO cells transfected with its receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 286:958-963.
- Ikeguchi M, Yamaguchi K, Kaibara N (2004) Clinical significance of the loss of KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 10:1379-1383.
- Iovane A, Aumas C, de Roux A (2004) New insights in the genetics of isolated hypogonadotropic hypogonadism. *Eur J Endocrinol* 151(Suppl 3):U83-U88.
- Karges B, de Roux N (2005) Molecular genetics of isolated hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. *Endocr Dev* 8:67-80.
- Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, Yamada S, Inoue K, Matsumoto H, Maeda K (2005) Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology* 146:4431-4436.
- Kotani M, Dethoux M, Vandenberghe A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, Brezillon S, Tyldesley R, Suarez-Huerta N, Vandeput F, Blanpain C, Schiffmann SN, Vassart G, Parmentier M (2001) The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 276:34631-34636.
- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR (1996) KiSS-1, a novel human malignant

- melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 88:1731-1737.
- 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 (1999) Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett* 446:103-107.
- Matsui H, Takatsu Y, Kumano S, Matsumoto H, Ohtaki T (2004) Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 320:383-388.
- Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Thresher RR, Malinge I, Lomet D, Carlton MB, Colledge WH, Caraty A, Aparicio SA (2005) Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:1761-1766.
- Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P, Steplewski K, Shabon U, Miller JE, Middleton SE, Darker JG, Larmine CG, Wilson S, Bergsma DJ, Emson P, Faull R, Philpott KL, Harrison DC (2001) AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem* 276:28969-28977.
- Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, Tovar S, Roa J, Mayen A, Nogueiras R, Vazquez MJ, Barreiro ML, Magni P, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M (2004a) Characterization of the potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54. *Endocrinology* 146:156-163.
- Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Castellano JM, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, Gaytan F, Aguilar E, Pinilla L, Dieguez C, Tena-Sempere M (2004b) Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol* 561(pt 2):379-386.
- Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, Barreiro ML, Roa J, Sanchez-Criado JE, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M (2005a) Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology* 145:4565-4574.
- Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, Tovar S, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M (2005b) Effects of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 146:1689-1697.
- 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 D, Fujino M (2001) Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 411:613-617.
- Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP (2003) The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev* 24:668-693.
- Seminara SB, Hayes FJ, Crowley WF (1998) Gonadotropin-releasing hormone deficiency in the human (idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann's syndrome): pathophysiological and genetic considerations. *Endocr Rev* 19:521-539.
- Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS Jr, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinf 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 (2003) The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 349:1614-1627.
- Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM (2005) Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:2129-2134.
- Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA (2005) Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* 146:3686-3692.
- Thompson EL, Patterson M, Murphy KG, Smith KL, Dhillon WS, Todd JF, Ghatei MA, Bloom SR (2004) Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol* 16:850-858.
- Yan C, Wang H, Boyd DD (2001) KiSS-1 represses 92-kDa type IV collagenase expression by down-regulating NF-kappa B binding to the promoter as a consequence of Ikappa Balpha-induced block of p65/p50 nuclear translocation. *J Biol Chem* 276:1164-1172.