

# 神经激肽 B 对哺乳动物 GnRH 脉冲发生器的调节

向伟<sup>①</sup> 谢伟伟<sup>②</sup> 张宝云<sup>①</sup> 康岳华<sup>①</sup> 朱圣琳<sup>①</sup> 蒋嘉靖<sup>①</sup>  
吕亚慧<sup>①</sup> 储明星<sup>③</sup> 王凭青<sup>①\*</sup>

① 重庆大学生物工程学院 重庆 400030; ② 重庆市公安局 重庆 400039;

③ 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 农业部畜禽遗传资源与种质创新重点实验室 北京 100193

**摘要:** 哺乳动物的生殖功能受体内状态和外部环境综合作用的影响,这种综合作用通过错综复杂的神经内分泌系统最终汇集于促性腺激素释放激素(GnRH)系统从而影响下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴的状态。神经激肽 B(NKB)目前被认为是除 kisspeptin 外,调控 GnRH 脉冲分泌的又一关键因子。大量研究证实,NKB 能够影响 GnRH 和促黄体激素(LH)的分泌,进而影响青春期的启动和生殖功能。然而,NKB 对 LH 分泌的影响是刺激作用还是抑制作用尚存在争论。此外,NKB 如何作用于 GnRH 神经元的信号通路尚不清楚,性激素是否参与这一生理过程,是目前的研究热点问题之一。本文就 NKB 及其受体的分布、神经网络结构、NKB 对 GnRH 脉冲发生器的作用进行了系统的阐述,并针对目前尚待解决的一些问题进行了探讨。

**关键词:** 神经激肽 B; 生殖功能; 促性腺激素释放激素脉冲发生器; 性激素; 性别二态性

**中图分类号:** Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2014)04-621-09

## Effects of Neurokinin B on GnRH Pulse Generator in Mammals

XIANG Wei<sup>①</sup> XIE Wei-Wei<sup>②</sup> ZHANG Bao-Yun<sup>①</sup> KANG Yue-Hua<sup>①</sup> ZHU Sheng-Lin<sup>①</sup>  
JIANG Jia-Jing<sup>①</sup> LÜ Ya-Hui<sup>①</sup> CHU Ming-Xing<sup>③</sup> WANG Ping-Qing<sup>①\*</sup>

① *Bioengineering Institute of Chongqing University, Chongqing 400030*; ② *Chongqing Public Security Bureau, Chongqing 400039*; ③ *Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Germplasm Innovation of Ministry of Agriculture, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China*

**Abstract:** The hypothalamo-pituitary-gonadal (HPG) axis integrates internal and external cues via intricate network of neuroendocrine systems that ultimately act on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system to regulate reproductive function in mammals. To date, neurokinin B is proposed as a critical factor modulating pulsatile GnRH secretion as well as kisspeptin. A large number of previous studies have confirmed that neurokinin B suppresses GnRH system and luteinizing hormone (LH) secretion, thereby affecting the onset of puberty and reproduction. However, whether the stimulation or inhibition of LH secretion is regulated by NKB remains controversial. In addition, the signaling pathway how NKB acting on GnRH neurons is not clear and

**基金项目** 国家自然科学基金面上项目(No. 31372287),中国农业科学院科技创新工程项目(No. cxgc-ias-13-2014),国家大学生创新性实验计划项目(No. 1210611062),中央高校基本科研业务费(No. CDJXS12230002);

\* 通讯作者, E-mail: wang\_pq@21cn.com;

**第一作者介绍** 向伟,男,硕士;研究方向:分子遗传学;E-mail: xw19880905@sina.com。

**收稿日期:** 2013-10-12, **修回日期:** 2014-02-17

whether steroid hormone participates in this physiological process is currently a subject of intense research in the field. The distribution and bilateral network of NKB and NK3R, as well as effects of NKB on GnRH pulse generator, are systematically summarized and the remaining unsolved problems are also discussed in this paper.

**Key words:** Neurokinin B (NKB); Reproductive function; Gonadotropin-releasing hormone pulse generator; Steroid hormone; Sexual dimorphism

为保证物种的延续,动物生殖调节是一个精密复杂的过程,在生物个体一生的各个阶段都有许多因子参与调节。而这一系列因子通过错综复杂的神经内分泌系统相互协调作用调控下丘脑-垂体-性腺(hypothalamic-pituitary-gonadal, HPG)轴的状态。这些神经内分泌系统最终汇集于促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)系统,通过短暂或持续地调节GnRH系统的活性来影响垂体促性腺激素的分泌,进而影响生殖。

神经激肽B(neurokinin B, NKB)又名神经介素K,是属于速激肽家族的下丘脑十肽。编码NKB及其受体(neurokinin 3 receptor, NK3R)基因的功能性失活突变,能够导致低促性腺素性功能减退症,该症状表现为青春期发育受阻,血液循环中促黄体激素(luteinizing hormone, LH)水平和性激素水平低下。因此,研究者对NKB的生理学功能产生了极大的兴趣。随着研究的深入,越来越多的证据显示NKB及其受体在生殖功能调节过程中起到相当重要的作用,目前被认为是除了kisspeptin外,在GnRH脉冲分泌调控中起到关键作用的又一因子(Navarro 2012)。但是,目前对于NKB神经元如何作用于GnRH神经元以及该神经元信号通路是否参与哺乳动物青春期发育启动和生殖功能成熟调节仍存在争议,还需要大量的研究进行证实。

## 1 NKB及其受体的分布

十肽NKB属于速激肽家族的一员。速激肽家族包括P物质、神经激肽A、NKB、神经肽K、神经肽 $\gamma$ 以及血红素激肽-1,它们的氨基酸分子序列中有共同C-端Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>,具有许多共同的生理学效应。人类

(*Homo sapiens*)编码NKB的基因被命名为TAC3,在非人类灵长类、牛(*Bos taurus*)、狗(*Canis lupus familiaris*)内被命名Tac3,在啮齿动物内被命名Tac2。NKB主要通过Tacr3基因编码的NK3R受体蛋白结合,促使细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度升高或cAMP水平升高,从而发挥其生物学效应(王世冉等2012)。

免疫组化和原位杂交结果表明,在恒河猴(*Macaca mulatta*) (Ramaswamy et al. 2010)、绵羊(*Ovis aries*) (Pillon et al. 2003, Foradori et al. 2006, Goodman et al. 2007)、山羊(*Capra hircus*) (Wakabayashi et al. 2010)、大鼠(*Rattus norvegicus*) (Sandoval-Guzmán et al. 2004)、小鼠(*Mus musculus*) (Duarte et al. 2006, Navarro et al. 2009)中NKB神经元主要位于弓状核。在大鼠下丘脑前部、侧部、背中线、仁核、终纹床核、隔核、伏核、布洛卡氏斜带(Merchenthaler et al. 1992, Krajewski et al. 2010)以及视前区也分散少量的NKB神经元,邻近的大脑皮层也存在分散的NKB阳性神经元(Chawla et al. 1997)。NK3R也在大脑区域广泛分布,大多数但并不是所有弓状核NKB纤维映射的区域都表达NK3R。此外,下丘脑外侧区域、穹窿区域、室旁核、视上核、隔核、布洛卡斜带、基底核、视前区、下丘脑前部、背内侧核和乳头核均有NK3R免疫阳性神经元存在(王世冉等2012)。

## 2 弓状核NKB/kisspeptin/Dynorphin神经元相互连接的网状结构

中枢神经或边缘神经系统中某单一神经元共表达多种多肽是一种普遍现象(Salio et al. 2006)。近来研究发现下丘脑弓状核一群神经元共表达NKB、kisspeptin和强啡肽A(dynorphin, Dyn) (Sandoval-Guzmán et al.

2004, Goodman et al. 2007, Navarro et al. 2009), 因此科学界命名该神经群为 KNDy (NKB/kisspeptin/Dynorphin, KNDy) 神经元 (Lehman et al. 2010)。KNDy 神经元在各物种的生殖调控中起到关键的作用。

采用双标免疫组化、顺向神经追踪和谷氨酸盐损伤技术研究显示, KNDy 神经元在弓状核内广泛的映射, 并且延伸至正中隆起 (Krajewski et al. 2010)。在弓状核内, NKB/Dyns 轴突呈现密集的网络结构, 并且这些轴突与 NKB/Dyns 细胞体及树突相互靠近, 这表明这些神经元相互之间存在联系 (Burke et al. 2006)。此外, 弓状核 NKB 神经纤维映射到正中隆起内部和外部区域, 包括侧部栅状带 GnRH 神经终端位点 (Krajewski et al. 2005, 2010)。采用电子显微镜技术观察结果显示, 正中隆起 NKB 神经纤维与 GnRH 轴突直接靠近, 但是没有特殊化的突触连接。因此, NKB 很可能是通过核心囊泡胞外分泌而不需要传统的突触连接结构进行神经传递 (Salio et al. 2006)。值得注意的是, 研究表明 KNDy 神经元表达 NK3R, 并促进弓状核区域 NKB/kisspeptin 网状纤维的自主突触循环 (Salio et al. 2006, Krajewski et al. 2010, Yeo et al. 2011), 这表明 NKB 有可能通过作用于 KNDy 神经元从而间接调控 GnRH 分泌。KNDy 神经元还表达雌激素受体 (estrogen receptor, ER $\alpha$ ), 这为 NKB 参与雌激素对 GnRH 分泌的负反馈调节提供了解剖学上的结构基础。

### 3 弓状核 NKB 基因对“GnRH 脉冲发生器”基因调控机制

下丘脑 GnRH 是以脉冲的方式分泌的, 且该脉冲模式与 LH 和促卵泡激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 脉冲分泌相关。因此, GnRH 的脉冲分泌对调控和维持动物的生殖功能正常运行十分关键。神经激素和神经递质产生的刺激性信号或抑制性信号综合调控 GnRH 的合成和分泌, 进而调控 LH、FSH 的分泌 (Rance et al. 2010)。基于调控 GnRH 脉冲

分泌神经族群的复杂性, 因此研究者假定激发 GnRH 分泌的神经族群为“GnRH 脉冲发生器” (Knobil 1990)。电生理学研究显示, 恒河猴 (Knobil 1990)、大鼠 (Kinsey-Jones et al. 2008)、山羊 (Wakabayashi et al. 2010) 弓状核中神经元成纤维率显著地瞬时增加 (约 2 000 冲/min), 并且成纤维率根据物种、性激素状态或其他因子而不同。此外, 弓状核神经元多单元活动可能是 GnRH 脉冲发生器, 但是, 弓状核神经元多单元活动的细胞分子结构尚不清楚, 因此 GnRH 神经元自身可能是多单元活性 (multiunit activity, MUA) 的来源, 但是并不能排除在弓状核可能存在外源振子来传递性激素对 GnRH 分泌脉冲的影响。事实上, 多单元活性激发常标记着 GnRH 脉冲发生 (Navarro et al. 2011b)。已有研究表明, 位于弓状核的 KNDy 神经元, 在大鼠 (Kinsey-Jones et al. 2008)、山羊 (Ohkura et al. 2009, Krajewski et al. 2010) 中均证实该区域存在多单元活动。大鼠 (Krajewski et al. 2005, 2010)、恒河猴 (Ramaswamy et al. 2008)、绵羊 (Lehman et al. 2010) 的弓状核 KNDy 神经元映射到正中隆起 GnRH 神经终端, 该区域是最终调节 GnRH 输出信号的理想区域 (Plant et al. 2009)。总之, 以上材料证实 GnRH 脉冲发生器可能来自弓状核。目前, 研究证实 kisspeptin 的分泌是脉冲的, 该脉冲与 GnRH 和 LH 脉冲分泌密切相关, 且 GnRH 和 LH 脉冲分泌依赖于 kisspeptin 脉冲分泌。因此, 大量研究者认为弓状核 KNDy 神经元或 kisspeptin 神经元可能是“GnRH 脉冲发生器”, 其主要通过协同作用调节 kisspeptin 脉冲分泌模式, 进而调节 GnRH 和 LH 脉冲分泌模式 (Navarro 2012)。

目前众多研究者关于 NKB 对 LH 分泌的药理学作用进行了大量研究, 但其研究结果尚存在争议。给卵巢切除的大鼠侧脑室注射 NKB 受体选择激动剂 senktide, 能够抑制其血清中 LH 的分泌 (Sandoval-Guzmán et al. 2004, Navarro et al. 2009, Rance et al. 2010, Kinsey-Jones et al. 2012)。同样的, 卵巢切除且 E<sub>2</sub> 替

代的大鼠用 senktide 处理也得到了类似的作用效果 (Sandoval-Guzmán et al. 2004, Kinsey-Jones et al. 2012)。此外,在切除卵巢的山羊 (Pillon et al. 2003) 弓状核内注射 NKB 也抑制了 LH 的分泌。然而,也有不少研究者的研究结果充分证实哺乳动物中 NKB/NK3R 系统能够刺激 LH 的分泌。性腺切除的雄猴静脉注射 senktide 能够刺激血清中 LH 的分泌 (Ramaswamy et al. 2010, 2011)。同样的,在性腺完整的雄性小鼠 (Navarro et al. 2011a, García-Galiano et al. 2012)、雌性大鼠中 (Rance et al. 2010, Kinsey-Jones et al. 2012) 中枢神经注射 senktide 也刺激了血清中 LH 的水平。此外,侧脑室注射 senktide 也刺激了卵泡阶段母羊 LH 的分泌,但是对黄体阶段 LH 的分泌没影响,这表明 senktide 对 LH 分泌的药理学作用可能依赖于性激素水平 (Billings et al. 2010)。值得注意的是,Corander 及其同事 (2010) 首次证实性腺完整的雄性小鼠 senktide 处理不能显著改变 LH 的水平,这与先前 senktide 刺激 LH 的分泌是矛盾的。因此,NKB 或 senktide 对 LH 分泌的药理学作用还需更多研究进一步阐明。综上所述,NKB 或 senktide 处理的药理学作用是复杂且存在一定的矛盾,这种复杂性与 kisspeptin 的作用效果形成了鲜明对比。目前,研究者对 NKB 复杂的药理学作用效果的解释也是多种多样的。首先, senktide 是 NK3R 有效的选择激动剂,但 NKB 可能与其他速激肽受体结合从而发挥生理学作用 (Pennefather et al. 2004, de Croft et al. 2013)。其次,不同物种中 NKB 的药剂功效和药理学作用、NK3R 的结合位点可能存在差异 (Krajewski et al. 2005, Amstalden et al. 2010)。再次,性激素环境可能改变了 NKB 神经元基底活性、NKB 基因的相对表达量或者是产生了不同水平的应答受体 (Kelly et al. 2003)。最后,在内源性神经肽分泌特定的空间和时间格局下,脑室注射外源药物可能使其在非生理学浓度下或与 NK3R 多个作用位点同时相互作用。特别是 NK3R 激动剂也可能直接

作用于 GnRH 神经元,也可能通过弓状核间接调节 GnRH 的分泌模式,进而调节垂体促性腺激素的分泌 (Glidewell-Kenney et al. 2013)。

目前研究者研究主要集中在 NKB 对生殖的药理学作用,但 NKB 对 GnRH 脉冲发生器调节的相关研究较少,其直接作用于弓状核 kiss1 神经元还是通过其上游其他元件,目前尚存在争论。在性腺切除且雌激素替代的雌性大鼠中,中枢神经注射 NK3R 激动剂 senktide 诱导了 kiss1 基因的即早期基因 (immediately early gene c-fos, FOS) 的表达 (Rance et al. 2010)。在性腺完整的雄性小鼠中, senktide 有效地刺激了 kisspeptin 的表达,而 NKB 受体拮抗剂 SB222200 能够消除 senktide 对 kisspeptin 的刺激作用 (de Croft et al. 2013)。采用全细胞记录模式技术检测出 senktide 和 NKB 对大鼠 kiss1 神经元极度去极化,但是 SB222200 处理能消除该现象 (Navarro et al. 2011a)。同样的,全细胞记录模式技术检测显示 senktide 有效刺激小鼠 kisspeptin 神经元纤维活性,且这种刺激作用在性腺切除的小鼠中更明显 (Ruka et al. 2013)。此外,猴 kisspeptin 内源性受体 G-蛋白偶联受体 54 (G-protein-coupled receptor, GPR54) 基因脱敏化后, LH 不能对 senktide 产生应答,这表明 senktide 对 GnRH 分泌的作用可能依赖于 kisspeptin 信号通路 (Ramaswamy et al. 2010, 2011)。值得注意的是, GPR54 基因敲除的小鼠中枢神经注射 senktide 对 LH 的分泌也没有显著影响 (García-Galiano et al. 2012)。众所周知, kiss1 在调控动物青春期的启动及性成熟中起到关键作用, NKB 也可能依赖于 kiss1 神经元调控哺乳动物青春期的启动。在性腺完整的青春期前期的大鼠中,中枢神经注射 senktide 显著刺激了 LH 的分泌,进而诱导青春期的启动, GPR54 拮抗剂 Kp-234 能够有效地阻断 senktide 对 LH 脉冲的诱导 (Grachev et al. 2012a)。总而言之,上述相关研究充分证明 NKB 可能依赖于 Kiss1/GPR54 信号通路影响 GnRH 的脉冲分泌,进而影响 LH 的分泌,但是这并未排除 NKB 也可能作用

于大脑其他区域发挥其对生殖功能的生理学作用。

早期研究显示,大鼠 GnRH 神经终端表达 NK3R (Krajewski et al. 2005, Burke et al. 2006)、小鼠 GnRH 神经元以及 GnRH 神经元分化的 GT1-7 细胞系中表达 Tacr2 mRNA (Todman et al. 2005), 这为 NKB 可能直接作用于 GnRH 神经元提供了结构基础。此外,采用全细胞记录模式技术并未检测出 senktide 注射对 GnRH-绿色荧光蛋白(GnRH-GFP)有任何显著影响(Navarro et al. 2011a), 该研究显示,在 GnRH 神经元水平 NK3R 缺乏活性,但并未排除 NK3R 是否在 GnRH 神经元终端表达。最新研究显示, GnRH 神经元分化的 GT1-7 细胞系急性添加 senktide 诱导了 c-Fos 的表达和 GnRH 的分泌,然而长时间 senktide 处理抑制了 GnRH 的分泌,进一步研究证实长时间 senktide 处理同样也抑制了 GnRH 的转录 (Glidewell-Kenney et al. 2013)。该研究证实了 NKB 能够直接作用于 GnRH 神经元,也推测出 NKB 对 GnRH 的不同作用效果可能依赖于作用时间的长短。值得注意的是,最新研究显示,在切除卵巢且 E<sub>2</sub> 替代的大鼠中,弓状核注射 senktide 以剂量依赖性抑制 LH 脉冲分泌,但强啡肽受体 k-阿片类受体(k-opioid receptor, KOR)选择抑制剂 nor-BNI 能够阻断 senktide 对 LH 分泌的抑制作用,且 nor-BNI 处理对 LH 脉冲分泌没有影响,这表明 NKB 对 GnRH 脉冲发生器的作用及对 GnRH 表达的调节可能通过自分泌、近分泌或旁分泌的方式依赖于 Dyn/KOR 信号通路(Grachev et al. 2012b)。同样的,切除卵巢和切除卵巢且 E<sub>2</sub> 替代的大鼠侧脑室注射 senktide 均以剂量依赖性抑制 LH 脉冲和 MUA 激发, KOR 选择抑制剂 nor-BNI 能够阻断 senktide 对 LH 分泌的抑制作用,但是 GPR54 激动剂 Kp-10 不能影响 senktide 对 LH 分泌的抑制作用(Kinsey-Jones et al. 2012)。这些研究结果同样表明 NKB 对 GnRH 脉冲发生器频率的抑制作用依赖于 Dyn/KOR 信号机制。

综上所述,目前大量研究表明在哺乳动物中弓状核 NKB 神经元对 GnRH 和 LH 的分泌起到关键作用,并且这种作用效果得到一致承认。NKB 对 GnRH 和 LH 脉冲分泌调节的信号通路十分复杂,目前研究显示其主要涉及两条信号通路:(1) NKB 以剂量依赖性调控 GnRH 和 LH 脉冲分泌依赖 Kiss1/GPR54 信号通路;(2) NKB 通过 Dyn/KOR 信号途径自分泌、近分泌或旁分泌的方式调控 GnRH 脉冲分泌,而与 kiss1/GPR54 信号通路无关。然而,研究并未排除 NKB 可能通过其他信号途径或直接作用于 GnRH 神经元调控 GnRH 和 LH 的分泌。NKB 神经纤维映射到弓状核邻近的下丘脑区域,包括弓状核双边映射、正中隆起、室周核、终纹床核、下丘脑外侧、有喙的视前区(Burke et al. 2006, Krajewski et al. 2010, Yeo et al. 2011), 这表明 NKB 也可能存在其他未知信号途径来调节 GnRH 和 LH 的分泌(图 1)。基于 NKB 及其受体神经肽短小,基因敲除模型操作比较困难,据我们所知,至今还未有 Tac2/Tac3R 相关研究报道,目前大多数研究集中在其外源激素及其受体激动剂或拮抗剂对 GnRH 和 LH 脉冲分泌的影响。因此,为了更清楚的阐明 NKB 对 GnRH 和 LH 脉冲分泌的作用机制,基因敲除小鼠为我们提供了一个新的研究方式。

#### 4 性激素调节 NKB/NK3R 系统

在大脑中,性激素对中枢神经的负反馈作用对生殖功能的调控起到非常关键的作用,这主要是通过调节 GnRH 的分泌来实现的。性激素主要通过雌激素受体 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  和雄激素受体(androgen receptor, AR)发挥其生理效应。然而, GnRH 神经元既不表达 ER $\alpha$  又不表达 AR, 这表明性激素负反馈不能直接作用于 GnRH 神经元(Herbison et al. 1996)。因此,性激素可能作用于 GnRH 上游元件调节 GnRH 的分泌,进而调控生殖(Navarro 2013)。目前已有研究证实在大鼠(Burke et al. 2006)、绵羊(Goubillon et al. 2000)、人类(Rance et al.

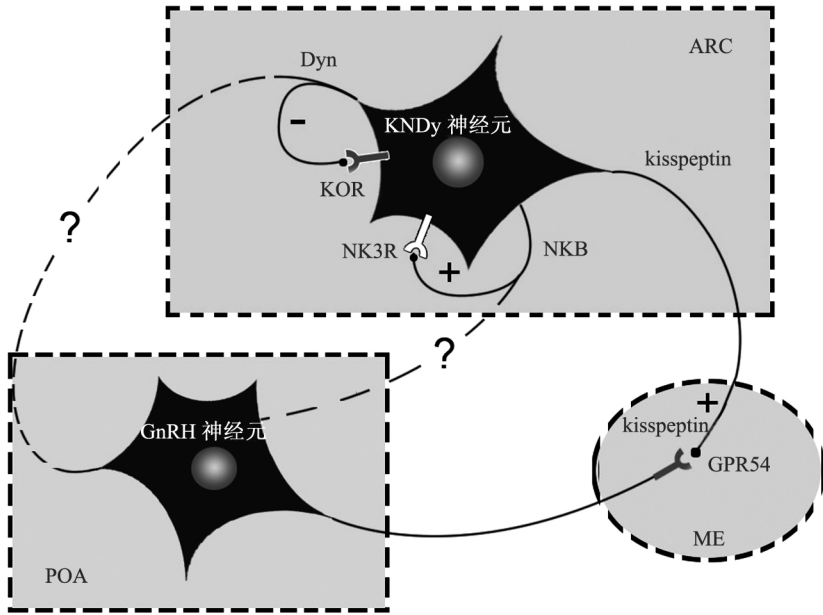


图 1 NKB 对 GnRH 神经元的调控

Fig. 1 Modulation of NKB on GnRH neuron

图中 ARC 表示弓状核, POA 代表视交叉前区, ME 表示正中隆起。图为 NKB 对 GnRH 脉冲分泌的调控。图中显示, NKB 可能依赖于 kiss1/GPR54 信号通路刺激 GnRH 脉冲分泌, 也可能依赖于 KOR 信号通路以自分泌、近分泌或旁分泌的途径调节 GnRH 脉冲分泌, 亦或直接作用 GnRH 神经元调控 GnRH 的脉冲分泌。

The letters above the figure indicate different hypothalamic area. ARC indicates arcuate nucleus, POA indicates preoptic area and ME indicates median eminence. Schematic representation of the effects of NKB on pulsatile release of GnRH. According to this model, NKB actions on GnRH neurons are either indirectly mediated via its ability to regulate Kiss1/GPR54 neuronal output or via autocrine, juxtacrine, and/or paracrine of KOR signaling mechanisms. In addition, NKB could directly regulate GnRH secretion from NK3R-expressing GnRH neurons.

1991) 中 NKB 神经元都能够表达 ER $\alpha$ , 这为雌激素可能通过 ER $\alpha$  调节 NKB 的表达提供了解剖学上的结构基础。值得注意的是, 在雄性小鼠中睾酮也能依赖于雌激素受体和雄激素受体信号通路来调节 NKB 的表达 (Navarro et al. 2011a)。同样的, ER $\alpha$  敲除的小鼠雌激素处理不能抑制 NKB 基因的表达, 这表明 ER $\alpha$  是性激素和 NKB 相互作用的必要元件 (Dellovade et al. 2004)。在哺乳动物中性激素负反馈调节抑制了弓状核 NKB/NK3R 的表达, 而性腺切除能够显著刺激 NKB 和 NK3R 的表达。在猴 (Sandoval-Guzmán et al. 2004, Eghlidi et al. 2010) 和小鼠 (Kauffman et al. 2009, Navarro et al. 2011a) 中, 弓状核 NKB 的表达随发情周期而变化, 且卵巢切除后刺激了其弓状核 NKB

的表达。睾丸切除也刺激了雄性大鼠 (Danzer et al. 1999)、小鼠 (Kauffman et al. 2009, Navarro et al. 2011a) 弓状核中 NKB 基因的表达。然而, 也有研究结果显示性激素对 NKB 的表达的作用效果与之完全相反。在两性大鼠中, 雌激素处理显著刺激了下丘脑外侧区 (lateral hypothalamic area, LHA) NKB 的表达 (Ruiz-Pino et al. 2012)。LHA 是调节代谢状态的神经中心, 能够间接调节生殖功能, 而 LHA 区 NKB 神经元是否直接参与生殖功能的调控还需进一步研究阐明。

尽管上述研究表明性激素能够调节哺乳动物中 NKB 的表达, 但 NKB 神经元的数量和形态学仍存在性别差异。与公羊相比较, 母羊弓状核 NKB 神经元数量明显较高 (Goubillon et

al. 2000, Cheng et al. 2010)。母羊产前睾酮处理将导致后代雌性绵羊雄性化,这表明睾酮能够影响早期组织发育(Goubillon et al. 2000, Cheng et al. 2010)。在雄性大鼠中 NKB 轴突密集的映射到正中隆起的血管四周,而在雌性大鼠中主要是散乱分布,且产后阶段性激素处理能够改变这种形态学分布(Ciofi et al. 2006, 2007)。此外, NKB 神经元对青春期前期性激素的应答也存在性别差异。青春期前期雌性小鼠性腺切除刺激了弓状核中 NKB 和 kisspeptin 基因的表达,然而在雄性中这种应答延迟到青春期之后(Kauffman et al. 2009)。事实上,青春期前期的哺乳动物不仅弓状核 Kiss1 和 NKB 神经元存在性别二态性,而且对于青春期的启动也存在二态性,这是否与 Kiss1 和 NKB 神经元直接相关还需进一步研究证实。最近研究显示雌性大鼠弓状核 NKB 神经元数量明显高于雄性大鼠弓状核 NKB 神经元数量。这种性别差异可能是由早期大脑分化时期性激素环境造成的,因为高浓度雌激素处理初生的大鼠在整个发育阶段都能抑制 NKB 的表达。然而高浓度雌激素处理初生的大鼠,处理 NKB 能够使其 LH 水平标准化。同样的, NK3R 选择激动剂 senktide 处理对雌性大鼠在整个发育阶段能够持续刺激 LH 的分泌,而雄性大鼠中青春期以前 LH 对 senktide 无显著应答(Ruiz-Pino et al. 2012)。

虽然,以上研究表明从发育阶段到成熟阶段性激素参与了 NKB/NK3R 系统的调节,且该调节进程存在性别二态性。然而,性激素如何作用于 NKB/NK3R 系统调控生殖功能、NKB/NK3R 系统的性别二态性尚不清楚。因此,还需更多相关研究进一步阐明性激素调控 NKB/NK3R 系统的作用机制。

## 5 结论与展望

目前,众多研究者已经证实 NKB 在哺乳动物的生殖调控过程中发挥了关键的作用。NKB 在 GnRH 脉冲分泌的调控中起到关键的作用,但是其作用机制和作用效果在不同的物

种中存在着很大的差异性。至今,越来越多的研究试图揭示 NKB 的作用机制和作用效果,这为我们对生殖轴调控的进一步认识提供了充分的证据,同时为我们提供了新的研究思路和方法来更好地了解生殖系统的各种生理活动。但是目前 NKB 在哺乳动物生殖调控的研究过程中仍然存在很多重要的问题尚待解决:NKB 发挥其效应是依赖于 Kiss1/GPR54 信号通路还是 Dyns/KOR 信号途径,亦或其他未知信号通路? NKB 对 GnRH 脉冲发生器的调节是刺激作用、抑制作用或者并无直接作用? 因此, NKB 的 GnRH 脉冲发生器调节机制尚需更多研究来阐明,从而为医学、生殖遗传调控等方面提供理论依据。

## 参 考 文 献

- Amstalden M, Coolen L M, Hemmerle A M, et al. 2010. Neurokinin 3 receptor immunoreactivity in the septal region, preoptic area and hypothalamus of the female sheep: colocalisation in neurokinin B cells of the arcuate nucleus but not in gonadotrophin-releasing hormone neurons. *Journal of Neuroendocrinology*, 22(1): 1-12.
- Billings H J, Connors J M, Altman S N, et al. 2010. Neurokinin B acts via the neurokinin-3 receptor in the retrochiasmatic area to stimulate luteinizing hormone secretion in sheep. *Endocrinology*, 151(8): 3836-3846.
- Burke M C, Letts P A, Krajewski S J, et al. 2006. Coexpression of dynorphin and neurokinin B immunoreactivity in the rat hypothalamus: morphologic evidence of interrelated function within the arcuate nucleus. *The Journal of Comparative Neurology*, 498(5): 712-726.
- Chawla M K, Gutierrez G M, Young W S, et al. 1997. Localization of neurons expressing substance P and neurokinin B gene transcripts in the human hypothalamus and basal forebrain. *The Journal of Comparative Neurology*, 384(3): 429-442.
- Cheng G L, Coolen L M, Padmanabhan V, et al. 2010. The kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) cell population of the arcuate nucleus: sex differences and effects of prenatal testosterone in sheep. *Endocrinology*, 151(1): 301-311.
- Ciofi P, Leroy D, Tramu G. 2006. Sexual dimorphism in the organization of the rat hypothalamic infundibular area. *Neuroscience*, 141(4): 1731-1745.
- Ciofi P, Lapirot O C, Tramu G. 2007. An androgen dependent

- sexual dimorphism visible at puberty in the rat hypothalamus. *Neuroscience*, 146(2): 630 – 642.
- Corander M P, Challis B G, Thompson E L, et al. 2010. The effects of neurokinin B upon gonadotrophin release in male rodents. *Journal of Neuroendocrinology*, 22(3): 181 – 187.
- Danzer S C, Price R O, McMullen N T, et al. 1999. Sex steroid modulation of neurokinin B gene expression in the arcuate nucleus of adult male rats. *Molecular Brain Research*, 60(1/2): 200 – 204.
- de Croft S, Boehm U, Herbison A E. 2013. Neurokinin B activates arcuate kisspeptin neurons through multiple tachykinin receptors in the male mouse. *Endocrinology*, 154(8): 2750 – 2760.
- Dellovade T L, Merchenthaler I. 2004. Estrogen regulation of neurokinin B gene expression in the mouse arcuate nucleus is mediated by estrogen receptor alpha. *Endocrinology*, 145(2): 736 – 742.
- Duarte C R, Schütz B, Zimmer A. 2006. Incongruent pattern of neurokinin B expression in rat and mouse brains. *Cell and Tissue Research*, 323(1): 43 – 51.
- Eghlidi D H, Haley G E, Noriega N C, et al. 2010. Influence of age and 17 $\beta$ -estradiol on kisspeptin, neurokinin B, and prodynorphin gene expression in the arcuate-median eminence of female rhesus macaques. *Endocrinology*, 151(8): 3783 – 3794.
- Foradori C D, Amstalden M, Goodman R L, et al. 2006. Colocalisation of dynorphin A and neurokinin B immunoreactivity in the arcuate nucleus and median eminence of the sheep. *Journal of Neuroendocrinology*, 18(7): 534 – 541.
- García-Galiano D, van Ingen Schenau D, Leon S, et al. 2012. Kisspeptin signaling is indispensable for neurokinin B, but not glutamate, stimulation of gonadotropin secretion in mice. *Endocrinology*, 153(1): 316 – 328.
- Glidewell-Kenney C A, Shao P P, Iyer A K, et al. 2013. Neurokinin B causes acute GnRH secretion and repression of GnRH transcription in GT1-7 GnRH neurons. *Molecular Endocrinology*, 27(3): 437 – 454.
- Goodman R L, Lehman M N, Smith J T, et al. 2007. Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology*, 148(12): 5752 – 5760.
- Goubillon M L, Forsdike R A, Robinson J E, et al. 2000. Identification of neurokinin B-expressing neurons as an highly estrogen-receptive, sexually dimorphic cell group in the ovine arcuate nucleus. *Endocrinology*, 141(11): 4218 – 4225.
- Grachev P, Li X F, Lin Y S, et al. 2012a. GPR54-dependent stimulation of luteinizing hormone secretion by neurokinin B in prepubertal rats. *PLoS One*, 7(9): e44344.
- Grachev P, Li X F, Kinsey-Jones J S, et al. 2012b. Suppression of the GnRH pulse generator by neurokinin B involves a  $\kappa$ -opioid receptor-dependent mechanism. *Endocrinology*, 153(10): 4894 – 4904.
- Herbison A E, Skinner D C, Robinson J E, et al. 1996. Androgen receptor-immunoreactive cells in ram hypothalamus: distribution and co-localization patterns with gonadotropin-releasing hormone, somatostatin and tyrosine hydroxylase. *Neuroendocrinology*, 63(2): 120 – 131.
- Kauffman A S, Navarro V M, Kim J, et al. 2009. Sex differences in the regulation of Kiss1/NKB neurons in juvenile mice: implications for the timing of puberty. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 297(5): 1212 – 1221.
- Kelly M J, Qiu J, Rønnekleiv O K. 2003. Estrogen modulation of G-protein-coupled receptor activation of potassium channels in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1007: 6 – 16.
- Kinsey-Jones J S, Li X F, Luckman S M, et al. 2008. Effects of kisspeptin-10 on the electrophysiological manifestation of gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the female rat. *Endocrinology*, 149(3): 1004 – 1008.
- Kinsey-Jones J S, Grachev P, Li X F, et al. 2012. The inhibitory effects of neurokinin B on GnRH pulse generator frequency in the female rat. *Endocrinology*, 153(1): 307 – 315.
- Knobil E. 1990. The GnRH pulse generator. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 163(5): 1721 – 1727.
- Krajewski S J, Anderson M J, Iles-Shih L, et al. 2005. Morphologic evidence that neurokinin B modulates gonadotropin-releasing hormone secretion via neurokinin 3 receptors in the rat median eminence. *Journal of Comparative Neurology*, 489(3): 372 – 386.
- Krajewski S J, Burke M C, Anderson M J, et al. 2010. Forebrain projections of arcuate neurokinin B neurons demonstrated by anterograde tract-tracing and monosodium glutamate lesions in the rat. *Neuroscience*, 166(2): 680 – 697.
- Lehman M N, Coolen L M, Goodman R L. 2010. Minireview: kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) cells of the arcuate nucleus: a central node in the control of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology*, 151(8): 3479 – 3489.
- Merchenthaler I, Maderdrut J L, O'Harte F, et al. 1992. Localization of neurokinin B in the central nervous system of the rat. *Peptides*, 13(4): 815 – 829.
- Navarro V M. 2012. New insights into the control of pulsatile



- GnRH release: the role of Kiss1/neurokinin B neurons. *Frontier in Endocrinology*, 3: 48.
- Navarro V M. 2013. Interactions between kisspeptins and neurokinin B. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 784: 325 – 347.
- Navarro V M, Gottsch M L, Chavkin C, et al. 2009. Regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion by kisspeptin/dynorphin/neurokinin B neurons in the arcuate nucleus of the mouse. *The Journal of Neuroscience*, 29 ( 38 ): 11859 – 11866.
- Navarro V M, Gottsch M L, Wu M, et al. 2011a. Regulation of NKB pathways and their roles in the control of Kiss1 neurons in the arcuate nucleus of the male mouse. *Endocrinology*, 152 ( 11 ): 4265 – 4275.
- Navarro V M, Tena-Sempere M. 2011b. Neuroendocrine control by kisspeptins: role in metabolic regulation of fertility. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(1): 40 – 53.
- Ohkura S, Takase K, Matsuyama S, et al. 2009. Gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat. *Journal of Neuroendocrinology*, 21 ( 10 ): 813 – 821.
- Pennefather J N, Lecci A, Candenas M L, et al. 2004. Tachykinins and tachykinin receptors: a growing family. *Life Sciences*, 74(12): 1445 – 1463.
- Pillon D, Caraty A, Fabre-Nys C, et al. 2003. Short-term effect of oestradiol on neurokinin B mRNA expression in the infundibular nucleus of ewes. *Journal of Neuroendocrinology*, 15 ( 8 ): 749 – 753.
- Plant T M, Ramaswamy S. 2009. Kisspeptin and the regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Peptides*, 30(1): 67 – 75.
- Ramaswamy S, Guerriero K A, Gibbs R B, et al. 2008. 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. *Endocrinology*, 149 ( 9 ): 4387 – 4395.
- Ramaswamy S, Seminara S B, Ali B, et al. 2010. Neurokinin B stimulates GnRH release in the male monkey (*Macaca mulatta*) and is colocalized with kisspeptin in the arcuate nucleus. *Endocrinology*, 151 ( 9 ): 4494 – 4503.
- Ramaswamy S, Seminara S B, Plant T M. 2011. Evidence from the agonadal juvenile male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) for the view that the action of neurokinin b to trigger gonadotropin-releasing hormone release is upstream from the kisspeptin receptor. *Neuroendocrinology*, 94 ( 3 ): 237 – 245.
- Rance N E, Krajewski S J, Smith M A, et al. 2010. Neurokinin B and the hypothalamic regulation of reproduction. *Brain Research*, 1364: 116 – 128.
- Rance N E, Young W S. 1991. Hypertrophy and increased gene expression of neurons containing neurokinin-B and substance-P messenger ribonucleic acids in the hypothalami of postmenopausal women. *Endocrinology*, 128 ( 5 ): 2239 – 2247.
- Ruka K A, Burger L L, Moenter S M. 2013. Regulation of arcuate neurons coexpressing kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin by modulators of neurokinin 3 and  $\kappa$ -opioid receptors in adult male mice. *Endocrinology*, 154(8): 2761 – 2771.
- Ruiz-Pino F, Navarro V M, Bentsen A H, et al. 2012. Neurokinin B and the control of the gonadotropic axis in the rat: developmental changes, sexual dimorphism, and regulation by gonadal steroids. *Endocrinology*, 153 ( 10 ): 4818 – 4829.
- Salio C, Lossi L, Ferrini F, et al. 2006. Neuropeptides as synaptic transmitters. *Cell and Tissue Research*, 326 ( 2 ): 583 – 598.
- Sandoval-Guzmán T, Rance N E. 2004. Central injection of senktide, an NK3 receptor agonist, or neuropeptide Y inhibits LH secretion and induces different patterns of Fos expression in the rat hypothalamus. *Brain Research*, 1026 ( 2 ): 307 – 312.
- Todman M G, Han S K, Herbison A E. 2005. Profiling neurotransmitter receptor expression in mouse gonadotropin-releasing hormone neurons using green fluorescent protein-promoter transgenics and microarrays. *Neuroscience*, 132 ( 3 ): 703 – 712.
- Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, et al. 2010. Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *The Journal of Neurosciences*, 30(8): 3124 – 3132.
- Yeo S H, Herbison A E. 2011. Projections of arcuate nucleus and rostral periventricular kisspeptin neurons in the adult female mouse brain. *Endocrinology*, 152(6): 2387 – 2399.
- 王世冉, 田占庄. 2012. 神经激肽 B 及其生殖内分泌作用. *生理科学进展*, 43(2): 107 – 110.