

卵泡刺激素的结构、功能与疾病关系

慕云 詹显全 *

作者单位：中国湖南省长沙市湘雅路 87 号中南大学湘雅医院卫生部肿瘤蛋白质组学重点实验室、结构生物学与药物设计湖南省工程实验室、抗癌药物国家地方联合工程实验室（邮编 410008）

* 通讯作者：詹显全，Email: yjzhan2011@gmail.com, Tel: 86-731-84327905.

基金项目：国家高技术“863 计划”子项目（2014AA020610-1），国家自然科学基金（81272798; 81572278），湖南省自然科学基金（14JJ7008），湖南省百人计划基金（詹显全），和湘雅医院人才引进基金（詹显全）。

摘要

卵泡刺激素是垂体糖蛋白激素家族中的一种，它对于维持正常的生殖功能具有十分重要意义，尤其是对阐明生殖生理过程、诊断和治疗生殖系统疾病非常重要。卵泡刺激素的生物学活性是一系列复杂进程的综合：从垂体中合成释放，存在于血液循环中，随血液循环转运至靶器官，与靶点受体结合，调节生长发育，卵泡成熟和精子发生等。本文综述了近年来在卵泡刺激素结构、功能及其与疾病关系的研究进展。

关键词：卵泡刺激素、结构与功能、临床治疗应用

ABSTRACT

Follicle-stimulating hormone (FSH) is a member of glycoprotein hormone superfamily. It is crucial in maintaining normal fertilization, especially in elucidating fertilization process, diagnosing and curing reproductive system diseases. The activation of FSH is a series of comprehensive process. It is synthesized and secreted by the gonadotroph cells in the anterior pituitary gland and transported through blood to the target organ and binds to the target receptors to regulate development, growth, follicular maturation, and spermatogenesis. This article reviews the research progress in the structure, function, and related diseases of FSH these years.

Keywords: Follicle-stimulating hormone, structure and function, clinical therapeutic application



<http://ijmd.oajrc.org>

 OPEN ACCESS

DOI: 10.12208/j.ijmd.20180001

Published: 2018-12-24

* 通讯作者：詹显全，Email: yjzhan2011@gmail.com, Tel: 86-731-84327905.

基金项目：国家高技术“863 计划”子项目（2014AA020610-1），国家自然科学基金（81272798; 81572278），湖南省自然科学基金（14JJ7008），湖南省百人计划基金（詹显全），和湘雅医院人才引进基金（詹显全）。

*Corresponding author: ZHAN Xianquan, Email: yjzhan2011@gmail.com, Tel: 86-731-84327905.

Fund program: China “863” Plan Project (Grant No. 2014AA020610-1 to X. Z.), National Natural Science Foundation of China (81272798; 81572278 to X. Z.), the Hunan Provincial Natural Science Foundation of China (Grant No. 14JJ7008 to X. Z.), Hunan Provincial Hundred Talent Plan Funds (to X.Z.), and the Xiangya Hospital Funds for Talent Introduction (to X.Z.).

1 卵泡刺激素的定义

垂体糖蛋白激素 (glycoprotein hormones, GPH) 是一类具有相似结构的激素家族, 除了卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 外, 它还包括胎盘绒毛膜和脑垂体前叶分泌的绒毛膜促性腺激素 (chorionic gonadotropin, CG)、脑垂体分泌的黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、腺垂体分泌的促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH) [1]。FSH 是由垂体前叶分泌的, 通过下丘脑 - 垂体 - 性腺轴来调节卵巢和睾丸的功能, 具有促进类固醇生成和生殖腺中配子发育形成作用的一种促性腺激素 [2]。对于雌性, FSH 能刺激卵泡成熟、粒层细胞增殖, 引起雄性激素转化酶芳香酶合成 [3]。FSH 和 FSH 受体的浓度持续升高, 然后陡然下降 LH 引起排卵作用。对于雄性, FSH 刺激睾丸支持细胞增殖和维持精子发生 [4]。

2 基本结构

糖蛋白激素是经典的蛋白质激素中结构最复杂的。它由两个亚基通过非共价键连结。 α 亚基对于所有糖蛋白激素来说是一样的, β 亚基有一定的激素特异性但是也因为与共同的 α 亚基结合而出现一定的同源性 [5]。糖蛋白激素共同的 α - 亚基多肽链是一个单个基因的产物, 它包含 90-96 个氨基酸残基, 对于某些特定物种它表现出 N- 末端长度的多态性。绝大部分垂体激素的 β 亚基包含 118-121 个残基。 α 亚基和 β 亚基分别包含 5 个和 6

个二硫键, 而且它们的位置在所有激素中是一样的。 α 亚基中有十个半胱氨酸, 其位置在物种之间高度保守。所有的 β 亚基一共有十二个半胱氨酸, 其位置不仅在物种间而且在不同的激素间也是高度保守。共同的 α - 亚基基因位于 6 号染色体, 包含 4 个外显子, 其中第一个外显子是非编码的。 α 亚基基因中存在几种沉默多态性, 但是都不影响氨基酸序列 [6]。迄今为止, 在这个基因中只发现了一个氨基酸的改变 ----Glu56Ala 替代, 这是在一种肿瘤异位产生的 hCG 中鉴定出的。

FSH、LH、TSH、hCG 这四种糖蛋白激素在序列、结构和功能上是非常相似的。FSH 和 hCG 的晶体结构揭示了 α - 亚基和 β - 亚基都包含了相似的胱氨酸节点折叠结构 [7]。每一个 α 亚基都有两个 N- 联寡聚糖位点, TSH 和 LH 的 β 亚基有一个 N- 联寡聚糖位点, CG 和 FSH 有两个 N- 联寡聚糖位点。糖蛋白的 N- 联寡聚糖位点对于适当的折叠、组装、分泌、代谢清除、血浆半衰期和生物活性意义重大。在内质网中, 寡聚糖促进二硫键的形成和正确折叠 [8]。

人卵泡刺激素可以被定义为一个异源二聚体糖蛋白激素的分子集合 (图 1), 卵泡刺激素存在多种多样的分子结构, 每种结构在生理过程和生化检验中的反应类型也各不相同。因此, 卵泡刺激素并不是一个单独的整体, 而是一个多种不同结构混杂集结成的集合。其 α 亚基和 β 亚基分别包含 92 个氨基酸和 111 个氨基酸, 每一个亚基都有两个 N 连接糖基化位点, 它们各自的结构是由作用于分子内的二硫键决定的。 α 亚基的半胱氨酸节点的二硫键已经被证实对于异源二聚体的形成和分泌至关重要。出现在与不同激素特定的 β 亚基连接时的构象变化, 可能在 α 亚基分子的重要核心区域之外。 β 亚基的 48QKTCT52 氨基酸序列对于卵泡刺激素异源二聚体的形成非常重要, 进一步研究发现

α -亚基的 His90-Lys91 对于 FSH 与受体结合非常重要,目前已经鉴定出受体结合位点是在 FSH β -亚基 C 端区域 93-99 个氨基酸序列内。每一个亚基的激素特异性位于一个在 CG 的 β 亚基 Cys93 和 Cys100 之间跟其他 β -亚基相对应的序列形成的决定圈。这个圈在异源二聚体的 α -亚基周围形成了一个类似安全带的结构^[9]。人 FSH 属于胱氨酸节点生长因子家族, α 亚基和 β 亚基有着相似的拓扑结构,这些拓扑结构中胱氨酸节点是中心模块。在这个模块中,半胱氨酸 α 10 (β 3) 和 α 60 (β 51) 之间的二硫键穿过了半胱氨酸 28-82 和半胱氨酸 32-84 组成的环形。三个 β 发夹从胱氨酸节点延伸出来,其中两个在决定圈 L1 和 L3 的一个终点的 tight β -turn 处终止,另一个在另一端形成了一个更长更开放的决定圈 (L2)。 α -亚基的 L2 决定圈包含了分子中唯一的螺旋形片段,即一个 1.5 转的垂直于 β 股的 α -螺旋。B 发夹通过二硫键相互交联形成稳定结构。hFSH 的二硫键配对 α 7-31, α 10-60, α 28-82, α 32-84, α 59-87, β 3-51, β 17-66, β 20-104, β 28-82, β 32-84, β 87-94 与 hCG 的二硫键配对是同样的,两种亚基都是对齐的头部朝向尾部,彼此间紧密缠绕,这样 β L2、 α L1 和 α L3 形成了一个延伸的弯曲的异源二聚体结构的终点, α L2、 β L1 和 β L3 形成另一个。两个亚基之间通过分子间接触紧密连接,包埋了单体溶剂及表面的 32%^[10]。FSH β 基因位于 11 号染色体,包含 3 个外显子,其中第一个是非编码的。迄今为止只发现了 4 个女性 3 个男性出现钝化 FSH β 突变。第一个突变,即 61 号密码子 (Val) 上纯合子 2-bp 缺失是在一个原发无月经不育的女性上发现的。这个突变引起氨基酸 61-87 序列的整体改变,然后提前出现终止密码子。这些改变引起蛋白无法形成正常的、作用于分子内的二硫化物桥梁和正常的三级结构,加速其在

分子内降解,阻碍与 α -亚基的连接,最终影响 FSH 生物活性。出现这种改变的女性肾上腺正常,但是没有初潮和乳腺初发育,因为卵泡发育和粒层细胞雌激素产生时缺乏 FSH^[11]。

FSH 和相应的受体 FSHR 对于性腺的正常发育、青春期性成熟和生殖细胞的产生都非常重要。正常的 FSH 调节卵泡的成熟和雌激素的产生已经支持精子发生。FSHR 是 G 蛋白偶联受体,在由卵巢中的粒层细胞和睾丸中的支持细胞表达^[12] (图 2)。FSHR 编码基因 2 号染色体 2p16.3 的短臂。人类 FSHR 基因横跨 54kb,包含 10 个外显子和 9 个内含子。人类 FSHR 基因的细胞外区域是由 9 个外显子编码的。整个基因编码 695 个氨基酸,其中包括一个由 18 个氨基酸构成的信号肽。9 个内含子在大小上差异非常明显, VIII 号内含子是 108bp, I 号内含子是 15kb。在外显子大小和外显子内含子连接点高度保守性方面人类 FSHR 基因结构表现出与鼠 FSHR 基因的高度相似性^[13]。FSHR 目前已经发现四种变异体 (图 3),其中 FSHR-precursor 只在卵巢粒层细胞中表达,与卵泡成熟和粒层细胞分化相关。其与 FSH 结合引起不同的 G 蛋白活化,刺激 cAMP 的产生。有研究发现,FSHR-precursor 与多种信号转导通路相关,如 MAPKs, ERKs, SFKs 等。FSHR-1 被称为“结构域阴性”,因为它的结构使之与 FSH 能高亲和力结合,但是缺乏与 FSH 结合后活化 G 蛋白的能力。FSHR-2 有一个单跨膜结构域,而且 FSHR-2 的整体拓扑结构与 I 型生长因子受体的结构一致。FSHR-2 引起钙离子大量内流,还能直接激活粒层细胞的 MAPK 通路。FSHR-3 缺乏跨膜结构域,是一种可溶性 FSHR。FSHR-3 的功能尚未清楚。有研究推测其功能与胰岛素样生长因子 -1- 结合蛋白类似^[14]。

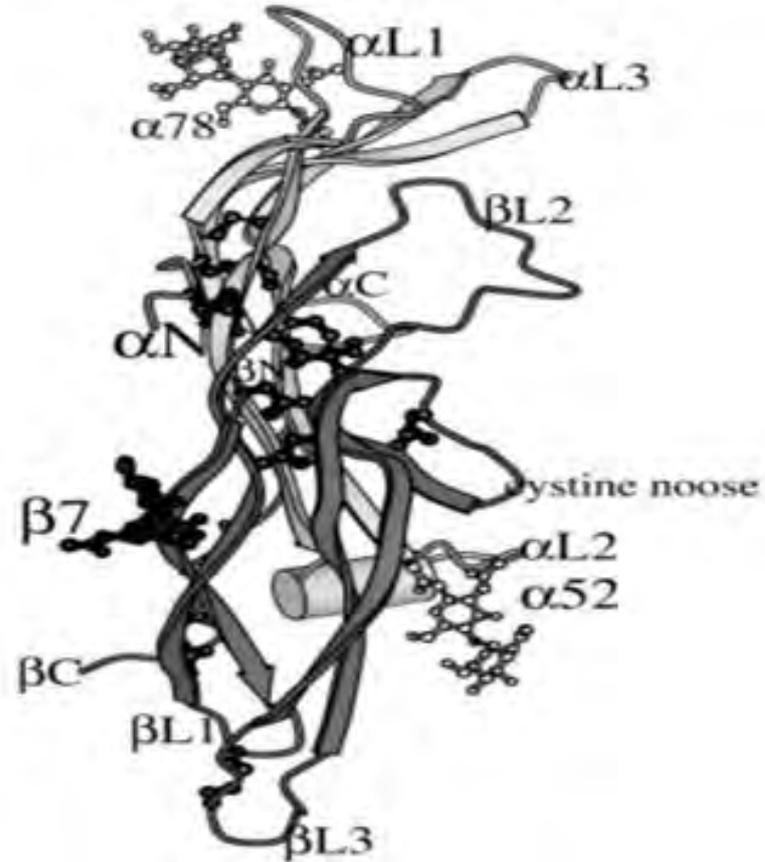
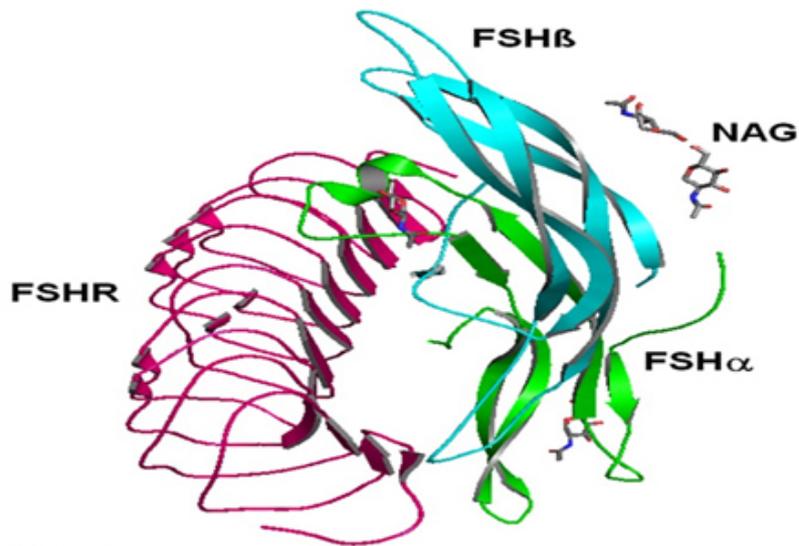


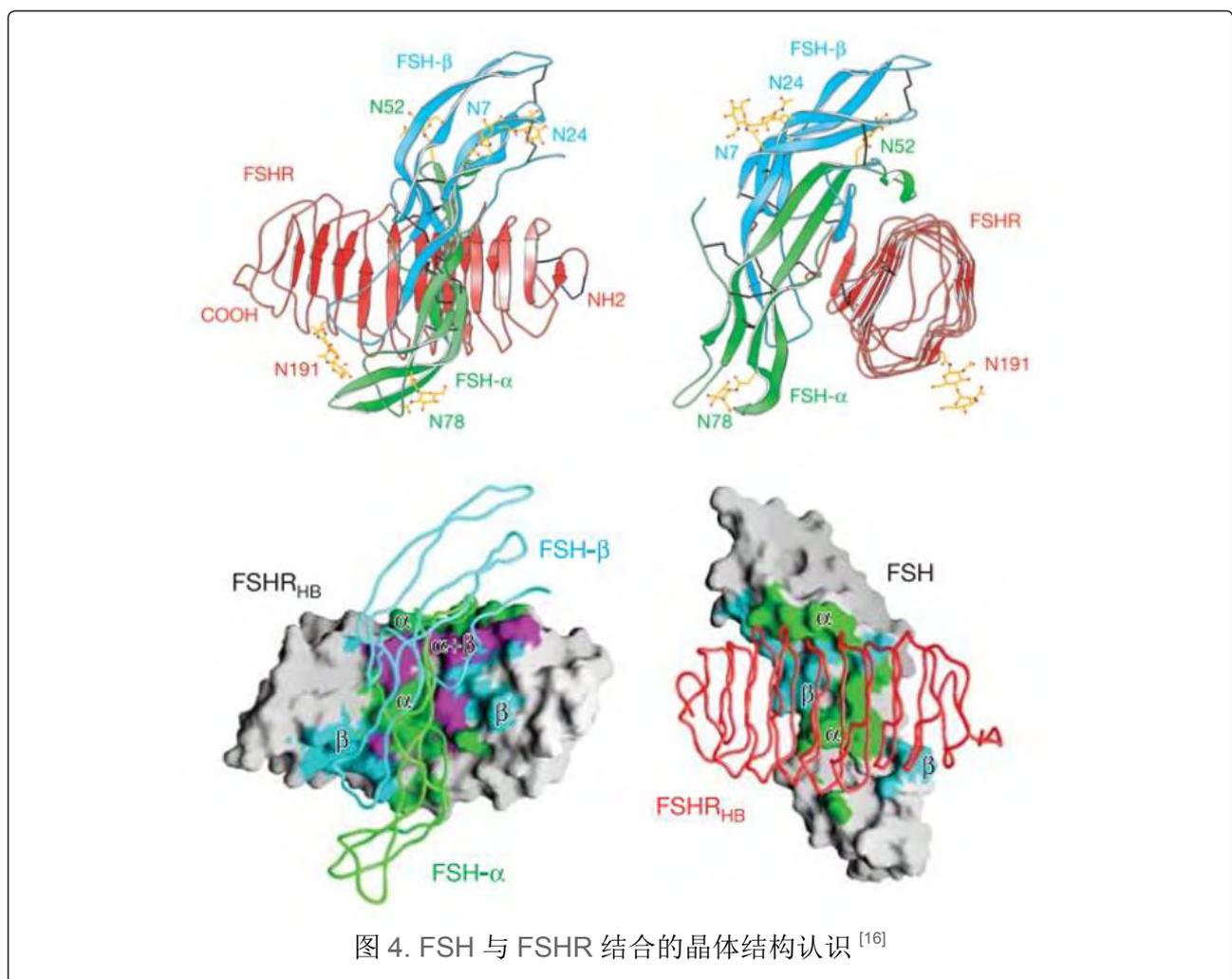
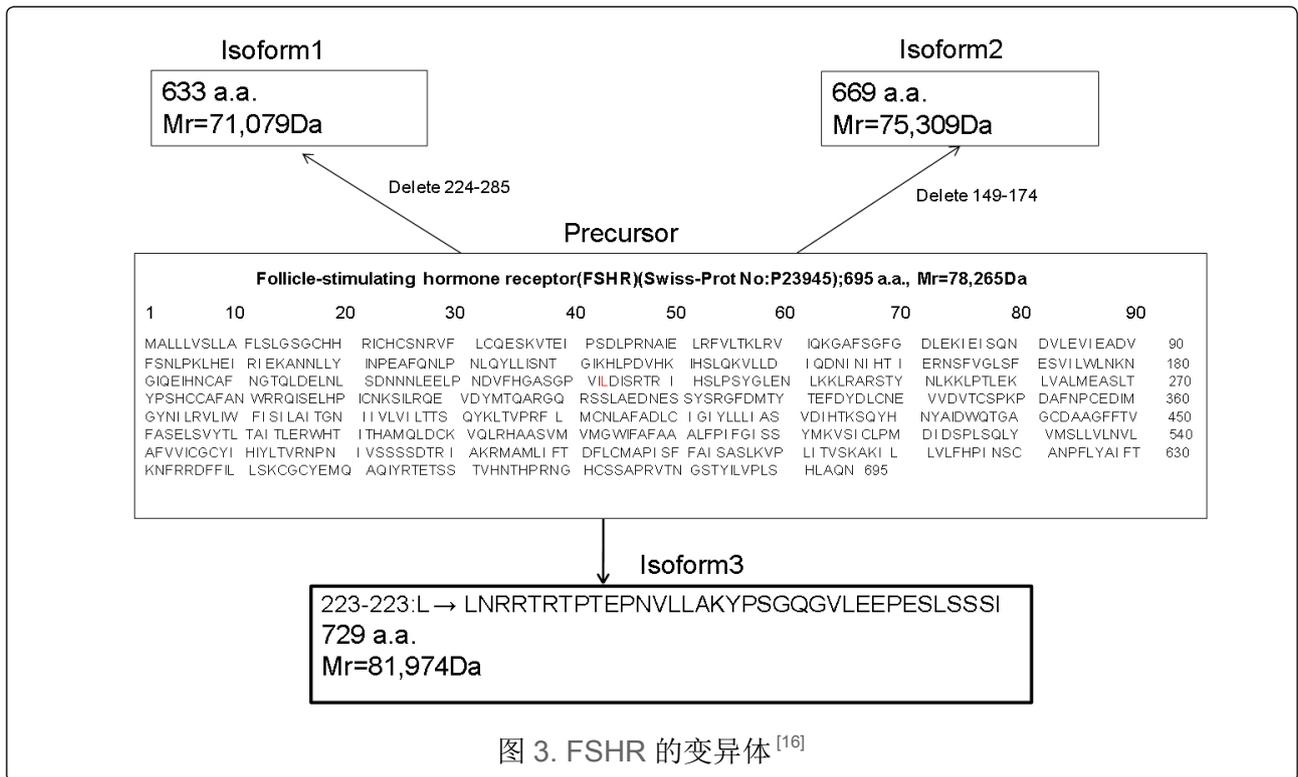
图 1. 人卵泡刺激素总体折叠^[10]



FSH α 3-92 = 1-90
 FSH β 3-107 = 91-195
 FSHR 1-241 = 196-437

1	10	20	30	40	50	60	
DVQDCPECTL	QENPFFSQPG	APILQCMGCC	FSRAYPTPLR	SKKTMLVQKN	VTSESTCCVA		60
KSYNRVTVMG	GFKVENHTAC	HCSTCYHKS	CELTNI T I A I	EKEECRF C IS	INTTW/CAGYC		120
YTRDLVYKDP	ARPKI QKTCT	FKELVYETVR	VPGCAHHADS	LYTYPVATQC	HCGKCDSDST		180
DCTVRGLGPS	YCSFGCHHR	CHCSNRVFLC	QESKVTEI PS	DLPRNAI ELR	FVLTKLRM Q		240
KGAFSGFGDL	EK IEI SQNDV	LEVI EADVFS	NLPKLHEI R I	EKANLLY IN	PEAFQNLNPL		300
QYLLI SNTG I	KHLPDVHKI H	SLQKVLLD I Q	DN I N IHT IER	NSFVGLSFES	VILWLNKNG I		360
QEIHNCAFNG	TQLDELNLSD	NNNLEELPND	VFHGASGPV I	LD ISRTR IHS	LPSYGLLENLK		420
KLRARSTYNL	KKLPTLE						437

图 2. FSH/FSHR 基本结构^[15]

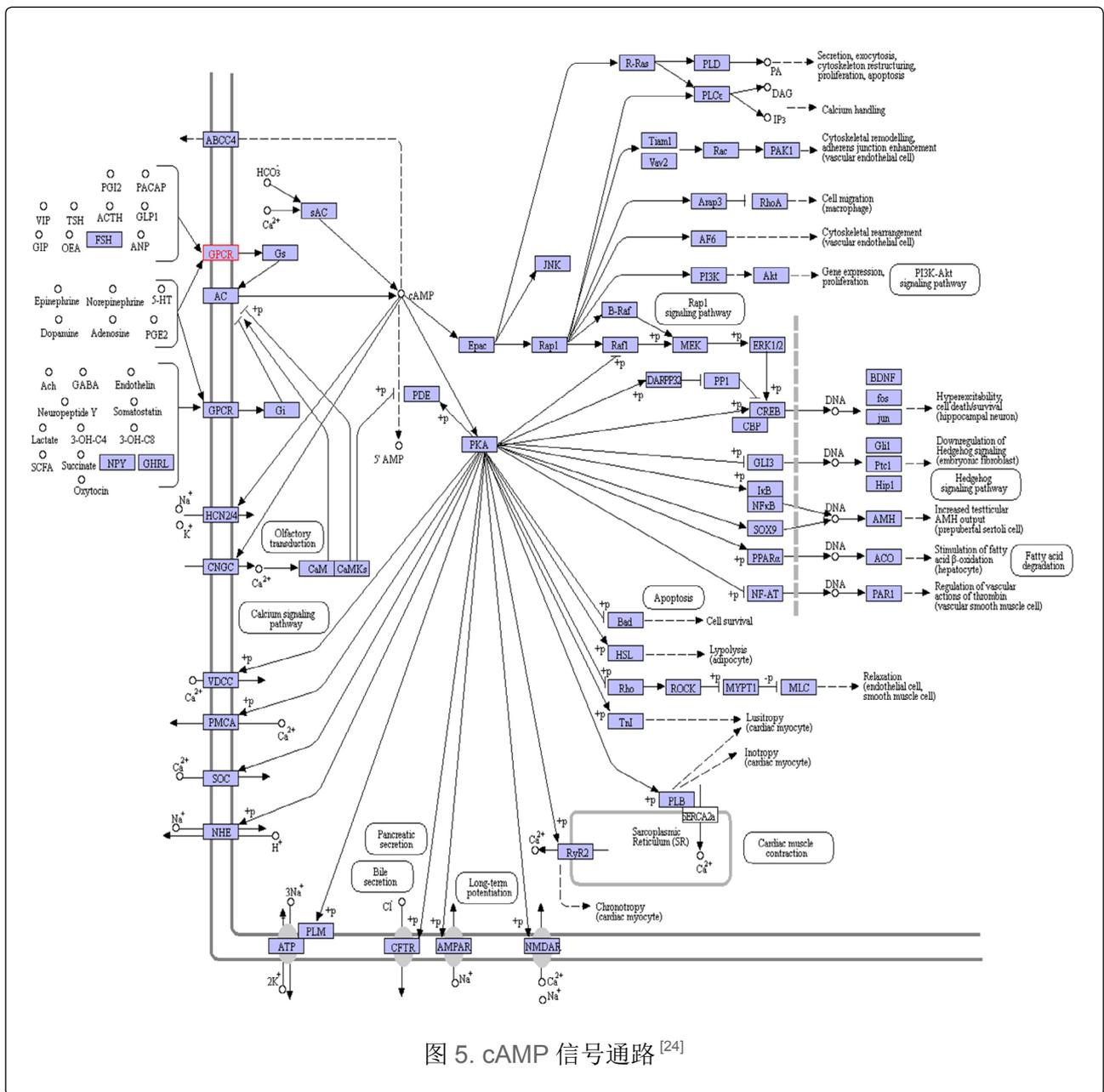


3 卵泡刺激素的功能

3.1 卵泡刺激素的基本功能

关于 FSH 的功能有一个普遍概念是 FSH 受体 (R) 分子连结一个激素分子 (图 2, 图 4), 它们通过 GS 蛋白腺苷酸环化酶共同激活来催化第二信使——cAMP 的产生, cAMP 随之引起一系列细胞内的反应, 从而实现调节

蛋白表达及细胞发育进程 (图 5)。除了几种已知的突变损害 FSH 或 FSH 受体功能^[17,18], FSH 受体多态性已经被证实会影响卵巢对 FSH 刺激的敏感性^[19], FSH 受体有几个剪接变异体, 可表达成生长因子或带单跨膜域的细胞因子受体样蛋白^[20], 不同 FSH 的作用是通过这些相应的受体来调节的。



垂体前叶主要由 5 种类型细胞组成，它们各自分泌特定的激素，其中只有促性腺激素细胞能分泌 FSH 和 LH 两种激素。然而这两种激素的分泌是有差异的，这种差异对于它们各自的生物学功能具有重要意义。无论男性还是女性，FSH 和 LH 都是有节奏的分泌来调控生殖过程。对于男性而言，这两种激素能促使睾丸激素的合成以及精细胞的产生和发育。对于女性而言，FSH 诱使卵泡成熟，LH 的突然猛增促进排卵（图 6，图 7）。令人意外的是，FSH 和 LH 的差异分泌都是由

源于下丘脑的促性腺激素释放激素（GnRH）脉冲式释放引起的。GnRH 通过特定的模式触发促性腺激素细胞 [21] 中 Ca^{2+} 波动，从而差异性的触发 FSH 和 LH 的释放。与 GnRH 受体（GnRHR）协同作用调整细胞内 Ca^{2+} 的信号通路已经被阐明了。目前已有研究在动物上证实 FSH 在雌鼠体内跟突触结合蛋白 -9（syt-9）是高度共定位的，syt-9 的减少导致 FSH 释放减少的现象仅存在于雌鼠，syt-9 作为 Ca^{2+} 感受器在 Ca^{2+} 触发雌鼠体内 FSH 释放的过程中发挥重要作用 [22]。

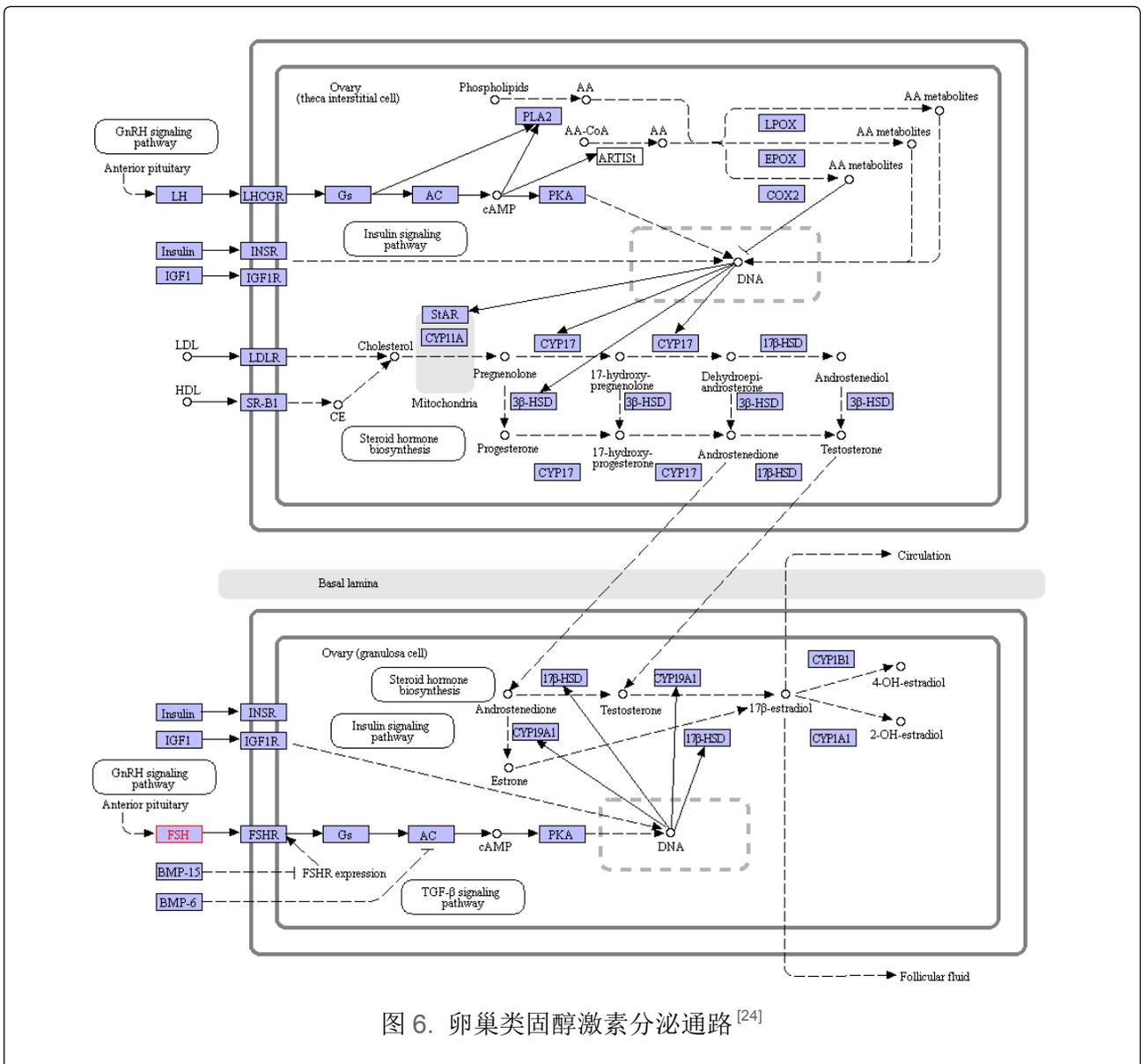
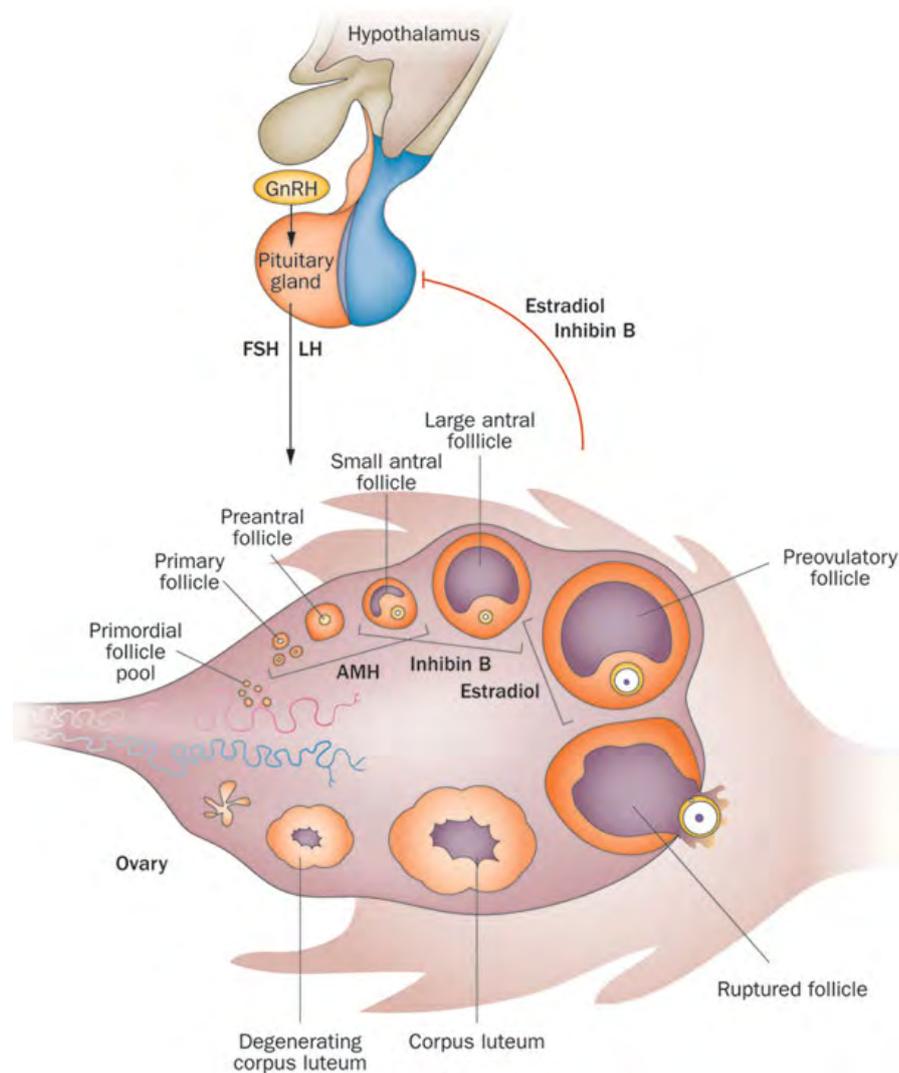


图 6. 卵巢类固醇激素分泌通路 [24]

图 7. 卵泡成熟过程^[24]

FSH 的生物学功能可总结为：对于男性，FSH 与睾丸激素相结合来激起和维持正常精子生成的质量和数量。尽管有研究数据证实，在转基因小鼠身上 FSH 对于雄鼠的生育能力并不重要，但缺乏 FSH 时精子生成并不完全正常。此外，FSH 在灵长类比啮齿类更具争议性。对于女性，FSH 对于卵巢滤泡的筛选和发育以及源于雄性激素底物的雌激素的生成非常重要。形成部分细胞和组织的一些中间产物可促进 FSH 刺激性腺并最终引起排卵。这些细胞反应证明 FSH 作用的复杂性。FSH 是一种生长因子或者回归线激素，一种

促分泌激素，也是一种细胞发育的调节器。通常认为 FSH 绝大部分的细胞外功能是通过 cAMP 介导的信号通路，尽管 FSH 也能利用其它信号转导通路如 Ca^{2+} ^[9]。

最近研究发现 FSH 能促进脂质合成和脂滴形成，还能改变瘦素和脂联素的分泌（并非使其增多）。FSH 的作用是通过 FSH 受体偶联 Gai 蛋白质。因此， Ca^{2+} 内流被激活，cAMP 反应元件结合蛋白质发生磷酸化，一系列脂质合成的基因被激活。FSH 能随着年龄增长调节脂肪组织积累和再分布^[23]。

3.2 临床用途

3.2.1 治疗

从人尿液中提取的 FSH 自从 1960 年就投入临床使用^[25-27]。随着分子生物学技术的发展, 可以通过克隆共同 α 亚基和 FSH 特异性 β 亚基的基因来得到人 FSH。当包含编码这些亚基的 cDNA 或者基因组 DNA 被导入哺乳动物细胞, 由此获得有生物活性的人 FSH。FSH 已被广泛应用于不孕症的治疗^[28-30]。它在助孕技术的用途有三项: (1) 需要单个健康卵母细胞时, 促进排卵; (2) 当助孕技术可以有多个胚胎时, 促进多重排卵来提高助孕成功率; (3) 刺激精子发生。治疗女性不育的前提条件就是患者在其他方面是健康的, 而生殖方面的一般疾病如无法排卵性不孕可以用安全有效的方法治疗。然而 FSH 使用的剂量安全窗很窄, 即刺激一个卵泡生长的阈值超过最大剂量时可能引起过度排卵。因此, 非常容易出现因为医生的治疗而引起卵巢过度刺激综合征或者多胎妊娠。不同的生理和临床状态可能会影响 FSH 治疗的阈值或者上限水平^[9]。

3.2.2 诊断

测定循环中 FSH 水平被广泛用于诊断多种生殖系统紊乱疾病^[31-33]。FSH 测定主要用于评估性腺功能。通过经典的内分泌反馈通路, FSH 水平增高意味着性腺功能下降或者失去功能。血清 FSH 浓度正常说明性腺功能正常。血清中低水平的 FSH 可能代表下丘脑或者垂体有问题。测量血清 FSH、LH、雌二醇和睾丸激素可能对于发现儿童性早熟或者预防性早熟是很有帮助的, 尤其是可以作为一项敏感的指标在出现临床青春期表现之前发现激素变化^[34, 35]。FSH 测定对于男性可以预测无精子症或者严重的少精子症, 借此来判定性腺衰竭的程度。卵巢储备或者说卵巢

内剩余的卵母细胞的总量随着卵巢年龄增长而减少, 但是并不总是等于女性的年龄。血清 FSH 基础测定, 通常是从月经周期的第 3 日开始, 能很好的预测育龄期妇女卵巢储备。一组上下波动的 FSH 基线水平是卵巢功能的集中反映。如果将来能将血清雌二醇和抑制剂跟 FSH 的测定结合起来, 这个基线将有更大的提示作用。在不规律的月经周期中, 很难在原定的时间收集样品, 因此必须在卵巢超声扫描下收集多个样本来确定周期的不同时期。测量 FSH 也有助于判定是否存在生殖系统的基础疾病如多囊卵巢综合征, 表现为血清 LH 水平升高而 FSH 水平正常^[9]。

FSH 和其他几种促性腺激素、LH 是由垂体前叶分泌产生的, 它是通过下丘脑-垂体-性腺 (HPG) 轴来调节卵巢和睾丸的重要功能, 包括雌性激素的产生和卵泡成熟及精子发生^[36-38]。现在重组 FSH (rFSH) 是几种生殖系统疾病的主流药物。对于女性来说, 下丘脑分泌的脉冲式 GnRH 维持了类似于垂体前叶脉冲式分泌的 FSH 和 LH, 促进了卵巢调节拉格夫卵泡和粒层细胞雌激素产生的激素性能和细胞活动。

4 卵泡刺激素与疾病之间的关系

4.1 卵泡刺激素与精子生成

Matsumoto 等研究发现: FSH 和 LH 治疗通过用睾酮诱导的促性腺激素, 停止分泌抑制精子发生来提高精子的数目。通过一套现有的标准检测不育的精子超微结构和功能来评估 FSH 对男性生殖能力尤其是精子质量的疗效。这一套标准过去是用来验证精子超微结构和不同辅助生殖技术之间的关系, 此套标准非常灵敏有效。把精子作为男科检测仪来体现 FSH 疗法的功效取决于精子缺陷类型。在很多临床病例中, FSH 反应阳性, 这个反应可以通过检测射出精子的状态来判断^[39]。

4.2 卵泡刺激素与女性不孕

女性通过服用纯化的 FSH 来刺激卵巢滤泡的发育和成熟，因此来提高不孕不育夫妇的受孕几率。过去只能通过绝经前妇女的尿液中纯化获取人 FSH^[40, 41]。现在随着分子生物学方法技术的出现，可以通过克隆人 FSH 的共有 α 亚基和激素特异性的 β 亚基的基因来获得人 rFSH^[42-45]。正在接受放化疗的有生育需求的年轻女性常会采取卵巢移植的措施，FSH 可通过促进移植后血管再生，防止移植的卵巢发生局部缺血损伤。

4.3 卵泡刺激素与女性骨质疏松症

导致妇女绝经期后骨质疏松是人口老龄化社会中发病率和死亡率增高的主要原因^[46]。通常，这种骨质流失仅仅因为雌激素水平下降。然而，最近研究发现垂体 FSH 的分泌是受到雌激素的反馈，直接促进破骨细胞形成和发挥作用。FSH β 亚基的缺失在发生严重性腺机能减退时保护骨质不受损^[47]。

许多研究发现围绝经期骨质流失的比率远高于绝经期^[48, 49]，然而围绝经期血清中雌激素水平正常^[50]。因此，雌激素缺乏不能完全解释更年期后骨密度的下降。一项临床调查研究发现：FSH 水平与绝经期妇女骨再吸收标志物显著相关^[51]。有研究表明：雌鼠缺乏 FSH β 或者 FSHR 会出现抵抗骨流失，尽管伴发生殖功能不良^[47]。这些数据大大增加了 FSH 是独立于雌激素之外的妇女绝经后骨质疏松症的可能性。在体外，在破骨细胞中发现 FSHR，FSH 的单克隆或多克隆抗体抑制 FSH 诱导的破骨细胞形成，在某种程度上类似于 FSHR 敲除细胞^[52]。FSH 跟 FSHR 结合，抑制 G 蛋白的 α 亚基激活与细胞增殖相关的信号蛋白，最终刺激破骨细胞的形成和骨再吸收。FSH 是一个骨流失的独立预测

因素。在之前的研究中，无月经的病人的骨质量显著下降，而血中 FSH 水平上升。对全国妇女的研究 (SWAN) 表明血清 FSH 水平和骨流失有很强的相关性^[53]。

4.4 卵泡刺激素与肿瘤

最近有研究发现在许多不同时期的肿瘤的血管表面发现 FSHR，如肺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肾癌和平滑肌肉瘤。在另一些肿瘤中，如肾上腺癌、甲状腺癌、神经内分泌肿瘤和软组织肉瘤中，发现肿瘤细胞中也有 FSHR。尽管 G 蛋白偶联受体信号转导是生长因子调节细胞增殖的主要生化通路，但是 FSH 信号在肿瘤血管中的功能以及 FSHR 与瘤周血管形成的关系仍不清楚^[54-58]。在大部分非肿瘤细胞中 FSHR 表达水平很低，而在恶性肿瘤组织微环境中表达水平较高，表明 FSHR 可能会是一个诊断和治疗的工具，它在恶性内皮细胞的表达水平可能对于疾病进展，尤其是对于肿瘤血管生成的靶向治疗有指示性意义。FSHR 在恶性肿瘤发生过程中的作用，如促进血管生成和恶性肿瘤生长因子等亟待证实^[14]。

5 总结

在过去三十年的研究中关于 FSH 及其受体结构、信号通路、功能、临床应用方面有了很多进展，但是仍有很多问题亟待解决。最近几年关于 FSH 的研究领域也不再局限于生殖系统，关于 FSH 与骨质疏松症、破骨细胞的形成的关系及机制，成了新的热点。还有一些关于 FSH 与肿瘤血管形成的关系的研究也在进行中。随着人们视野与实验水平的提高，会有对 FSH 这一复杂多样的激素性蛋白质有更深入的认识。

参考文献

1. Jiang X, Fischer D, Chen X, *et al.* Evidence for follicle-stimulating hormone receptor as a functional trimer. *J Biol Chem*, 2014; 289(20): 14273-14282.
2. Dias, J. A. Molecular, structural, and cellular biology of follitropin and follitropin receptor. *Vitam Horm*, 2002; 64: 249-322.
3. Mayorga M, Gromoll J, Behre H, *et al.* Ovarian response to follicle-stimulating hormone(FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85(9): 3365-3369.
4. Themmen APN, Huhtaniemi, IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocr Rev*, 2000; 21:551-583.
5. Ryan RJ, Charlesworth MC, McCormick DJ, *et al.* The glycoprotein hormones: recent studies of structure-function relationships. *FASEB J*, 1988; 2(11): 2661-2669.
6. Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: Elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocr Rev*, 2000; 21: 551-583.
7. Szkudlinski M. New frontier in glycoprotein hormones and their receptors structure-function. *Front Endocrinol*, 2015; 6: 155.
8. Nunez M, Sanders J, Fumaniak J, *et al.* Glycosylation pattern analysis of glycoprotein hormones and their receptors. *J Mol Endocrinol*, 2017; 58(1): 25-41.
9. Rose M, Gaines D, Balen A, *et al.* Definition and measurement of follicle stimulating hormone. *Endocr Rev*, 2000; 21(1): 5-22.
10. Kristin M. Fox, James A. Dias, and Patrick Van Roey. Three-Dimensional Structure of Human Follicle-Stimulating Hormone. *Mol Endocrinol*, 2000; 15(3): 378-389.
11. Alevizaki M, Huhtaniemi L. Structure-function relationships of glycoprotein hormones; lessons from mutations and polymorphisms of the thyrotrophin and gonadotrophin subunit genes. *Hormones*, 2002; 1(4): 224-232.
12. Amla Kuechler, Berthold P Hauffa, Angela Koeninger. An unbalanced translocation unmasks a recessive mutation in the follicle-stimulating hormone receptor(FSHR) gene and causes FSH resistance. *Eur J Human Genet*, 2010; 18: 656-661.
13. Ulloa-Aguirre A, Zarinan T. The follitropin receptor: matching structure and function. *Mol Pharmacol*, 2016; 90(5): 596-608.
14. Papadimitriou K, Kountourakis P, Kottorou AE. Follicle-stimulating hormone receptor(FSHR): a promising tool in oncology? *Mol Diagn Ther*, 2016; 20(6): 523-530.
15. Meher BR, Dixit A, Bousfield GR, *et al.* Glycosylation effects on FSH-FSHR interaction Dynamics: A Case Study of Different FSH Glycoforms by Molecular Dynamics Simulations. *Plos One*, 2015; 10(9): e0137897.
16. Fan QR, Hendrickson WA. Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature*, 2005; 433(7023): 269-277.
17. Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: Elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocr Rev*, 2000; 21: 551-583.
18. Huhtaniemi I, Alevizaki M. Gonadotrophin resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2006; 20: 561-576.
19. Ulloa-Aguirre A, Timossi C, Barrios-de-Tomasi J, *et al.* Impact of carbohydrate heterogeneity in function of follicle-stimulating hormone: Studies derived from in vitro and in vivo models. *Biol Reprod*, 2003; 69: 379-389.
20. Gromoll J, Simoni M. Genetic complexity of FSH receptor function. *Trends Endocrinol Metab*, 2005; 16: 368-373.
21. Sanchez-Cardenas, C. & Hernandez-Cruz,

- A. GnRH-Induced $[Ca^{2+}]$ signalling patterns in mouse gonadotrophs recorded from acute pituitary slices *in vitro*. *Neuroendocrinol*, 2010; 91: 239-255.
22. Lindsey K. Roper, Joseph S. Briguglio, Chantell S. Evans. Sex-specific regulation of follicle-stimulating hormone secretion by synaptotagmin 9. *Nat Commun*, 2015; 6: 8645.
23. Liu X, Chan H, Ding G, *et al.* FSH regulates fat accumulation and redistribution in aging through the Gai/ Ca^{2+} /CREB pathway. *Aging Cell*, 2015; 14: 409-420.
24. Visser JA, Schipper I, Laven JS. Anti-müllerian hormone: an ovarian reserve marker in primary ovarian insufficiency. *Nat Rev Endocrinol*, 2012; 8(6): 331-341.
25. Mizunuma H, Takagi T, Honjyo S, Ibuki Y, Igarashi M. Clinical pharmacodynamics of urinary follicle-stimulating hormone and its application for pharmacokinetic simulation program. *Fertil Steril*, 1990; 53(3): 440-445.
26. Qiu Q, Kuo A, Todd H, Dias JA, Gould JE, Overstreet JW, Lasley BL. Enzyme immunoassay method for total urinary follicle-stimulating hormone (FSH) beta subunit and its application for measurement of total urinary FSH. *Fertil Steril*, 1998; 69(2): 278-285.
27. Howles CM. Role of LH and FSH in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol*, 2000; 161(1-2): 25-30.
28. Ganesh V, Venkatesan V, Koshy T, Reddy SN, Muthumuthiah S, Paul SFD. Association of estrogen, progesterone and follicle stimulating hormone receptor polymorphisms with *in vitro* fertilization outcomes. *Syst Biol Reprod Med*, 2018; 64(4): 260-265.
29. Colacurci N, De Leo V, Ruvolo G, Piomboni P, Caprio F, Pivonello R, Papaleo E, La Verde E, Depalo R, Lispi M, Longobardi S, Paoli D, Pallotti F, Lombardo F. Recombinant FSH Improves Sperm DNA Damage in Male Infertility: A Phase II Clinical Trial. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018; 9: 383.
30. Chan Y, Zhu B, Zhang J, Luo Y, Tang W. Associations Between TP53 and MDM2 Polymorphisms and the Follicle-Stimulating Hormone/Luteinizing Hormone Ratio in Infertile Women. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2018; 22(7): 405-412.
31. Alizadeh M, Nasebakht A, Valizadeh R, Mohammadi Fallah M, Taghizadeh Afshari A, Rahimi MM, Daneshyar C. A preliminary evaluation of serum level of testosterone, LH, and FSH in patients with varicocele after varicocelectomy as a kidney-related disease. *Ther Clin Risk Manag*, 2018; 14: 1585-1590.
32. Chu MC, Rath KM, Huie J, Taylor HS. Elevated basal FSH in normal cycling women is associated with unfavourable lipid levels and increased cardiovascular risk. *Hum Reprod*, 2003; 18(8): 1570-1573.
33. Miyazaki K, Miki F, Uchida S, Masuda H, Uchida H, Maruyama T. Serum estradiol level during withdrawal bleeding as a predictive factor for intermittent ovarian function in women with primary ovarian insufficiency. *Endocr J*, 2015; 62(1): 93-99.
34. Hwang JL, Chen SU, Chen HJ, Chen HF, Yang YS, Chang CH, Seow KM, Tzeng CR, Lin YH. Feasibility of corifollitropin alfa/GnRH antagonist protocol combined with GnRH agonist triggering and freeze-all strategy in polycystic ovary syndrome patients. *J Formos Med Assoc*, 2018; 117(6): 535-540.
35. Anaya Y, Mata DA, Letourneau J, Cakmak H, Cedars MI, Rosen MP. A novel oocyte maturation trigger using 1500 IU of human chorionic gonadotropin plus 450 IU of follicle-stimulating hormone may decrease ovarian hyperstimulation syndrome across all *in vitro* fertilization stimulation protocols. *J Assist Reprod Genet*, 2018; 35(2): 297-307.
36. Bishop LA, Richter KS, Patounakis G, Andriani L, Moon K, Devine K. Diminished ovarian reserve as measured by means of baseline follicle-stimulating hormone

- and antral follicle count is not associated with pregnancy loss in younger in vitro fertilization patients. *Fertil Steril*, 2017; 108(6): 980-987.
37. Chihaoui M, Kanoun F, Chaker F, Yazidi M, Bouchrit K, Mizouni H, Feki M, Kharrat M, Slimane H. Testicular adrenal rest tumours in young adult males with congenital adrenal hyperplasia: prevalence and impact on testicular function. *Andrologia*, 2016; 48(1): 45-50.
38. Hart RJ, Doherty DA, McLachlan RI, Walls ML, Keelan JA, Dickinson JE, Skakkebaek NE, Norman RJ, Handelsman DJ. Testicular function in a birth cohort of young men. *Hum Reprod*, 2015; 30(12): 2713-2724.
39. Zheng J, Mao J, Cui M, *et al.* Novel FSH β mutation in a male patient with isolated FSH deficiency and infertility. *Eur J Med Genet*, 2017; 60(6): 335-339.
40. Wang H, Chen X, Zhang X, Zhang W, Li Y, Yin H, Shao H, Chen G. Comparative Assessment of Glycosylation of a Recombinant Human FSH and a Highly Purified FSH Extracted from Human Urine. *J Proteome Res*, 2016; 15(3): 923-932.
41. Zhang M, Tong G, Liu Y, Mu Y, Weng J, Xue Y, Luo Z, Xue Y, Shi L, Wu X, Sun S, Zhu Y, Cao Y, Zhang J, Huang H, Niu B, Li H, Guo Q, Gao Y, Li Z, Ning G, Zhu D, Li X; HHIS Study Group. Sequential Versus Continual Purified Urinary FSH/hCG in Men With Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015; 100(6): 2449-2455.
42. Barriere P, Porcu-Buisson G, Hamamah S. Cost-Effectiveness Analysis of the Gonadotropin Treatments HP-hMG and rFSH for Assisted Reproductive Technology in France: A Markov Model Analysis. *Appl Health Econ Health Policy*, 2018; 16(1): 65-77.
43. Barrenetxea G, García-Velasco JA, Aragón B, Osset J, Brosa M, López-Martínez N, Coroleu B. Comparative economic study of the use of corifollitropin alfa and daily rFSH for controlled ovarian stimulation in older patients: Cost-minimization analysis based on the PURSUE study. *Reprod Biomed Soc Online*, 2018; 5: 46-59.
44. Mendret-Pellerin S, Leperlier F, Reignier A, Lefebvre T, Barrière P, Fréour T. A pilot study comparing corifollitropin alfa associated with hp-hMG versus high dose rFSH antagonist protocols for ovarian stimulation in poor responders. *Hum Fertil (Camb)*, 2018; 8(21): 1-8.
45. Abd-Elaziz K, Duijkers I, Stöckl L, Dietrich B, Klipping C, Eckert K, Goletz S. A new fully human recombinant FSH (follitropin epsilon): two phase I randomized placebo and comparator-controlled pharmacokinetic and pharmacodynamic trials. *Hum Reprod*, 2017; 32(8): 1639-1647.
46. OO General. Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Office of the Surgeon General, 2004; 4(3): 379-382.
47. Sun L, Peng Y, Sharrow AC, *et al.* FSH directly regulates bone mass. *Cell*, 2006; 125: 247-260.
48. Imai Y. Bone metabolism by sex hormones and gonadotropins. *Clin Calcium*, 2014; 24(6): 815-819.
49. Sowers MR, Zheng H, Greendale GA, *et al.* Changes in bone resorption across the menopause transition: effects of reproductive hormones, body size, and ethnicity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013; 98: 2854-2863.
50. Sowers MR, Jannausch M, McConnell D, *et al.* Hormone predictors of bone mineral density changes during the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006; 91: 1261-1267.
51. Xu ZR, Wang AH, Wu XP, *et al.* Relationship of age-related concentrations of serum FSH and LH with bone mineral density, prevalence of osteoporosis in native Chinese women. *Clin Chim Acta*, 2009; 400: 8-13.
52. Zhu LL, Tourkova I, Yuen T, *et al.* Blocking FSH action attenuates osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012; 422: 54-58.

53. Zaidi M, Blair HC, Iqbal J, *et al.* New insights: elevated follicle-stimulating hormone and bone loss during the menopausal transition. *Curr Rheumatol Rep*, 2009; 11: 191-195.
54. Siraj A, Desestret V, Antoine M, *et al.* Expression of follicle-stimulating hormone receptor by the vascular endothelium in tumor metastases. *BMC Cancer*, 2013; 13: 246.
55. Ide H, Terado Y, Sakamaki K, *et al.* Serum level of follicle-stimulating hormone is associated with extraprostatic extension of prostate cancer. *Prostate Int*, 2013; 1(3): 109-112.
56. Radu A, Pichon C, Camparo P, *et al.* Expression of follicle-stimulating hormone receptor in tumor blood vessels. *N Engl J Med*, 2010; 363: 1621-1630.
57. Planeix F, Siraj MA, Bidard FC, *et al.* Endothelial follicle-stimulating hormone receptor expression in invasive breast cancer and vascular remodeling at tumor periphery. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015; 34:12.
58. Pawlikowski M, Radek M, Jaranowska M, *et al.* Expression of follicle stimulating hormone receptors in pituitary adenomas - a marker of tumor aggressiveness? *Endokrynol Pol*, 2014; 65(6): 469-471.