

Les récepteurs périphériques des benzodiazépines

**Arnaud
Beurdeley-Thomas
Laurent Miccoli
Didier Decaudin
Stéphane Oudard
Marie-France Poupon**

Les récepteurs périphériques des benzodiazépines (PBR) sont impliqués dans de nombreux processus cellulaires. Les PBR ont été initialement découverts dans les tissus périphériques, et ont également été mis en évidence au niveau des cellules gliales du système nerveux central (SNC). L'étude de la liaison de plusieurs ligands synthétiques ou endogènes a permis la caractérisation tissulaire et moléculaire de ces récepteurs, ainsi que la découverte de protéines susceptibles de leur être associées. Les effets des ligands des PBR concernent principalement les fonctions mitochondriales. Ces ligands interviennent dans la physiologie des mitochondries, la synthèse des stéroïdes, les processus de prolifération et de différenciation cellulaires, les processus d'apoptose, et seraient impliqués dans la réponse immunitaire.

ADRESSES

A. Beurdeley-Thomas : Laboratoire de cytogénétique moléculaire et d'oncologie, Cnrs UMR 147, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France. L. Miccoli : Laboratoire de génétique de la radiosensibilité, CEA Fontenay DSV/DRR/LGR, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex, France. D. Decaudin : Cnrs UMR 147 et Service d'hématologie clinique, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France. S. Oudard : Cnrs UMR 147 et Service de cancérologie, Hôpital européen Georges-Pompidou, 20, rue Leblanc, 75015 Paris, France. M.F. Poupon : Laboratoire de cytogénétique moléculaire et d'oncologie, Cnrs UMR 147, Institut Curie.

Les benzodiazépines appartiennent à une classe de molécules fréquemment prescrites pour leurs propriétés anxiolytiques, anticonvulsives, myorelaxantes et hypnotiques. En 1977, deux laboratoires indépendants mettent en évidence des sites de liaison des benzodiazépines dans le système nerveux central (SNC) et les tissus périphériques, définissant ainsi les deux classes de sites de liaison dits centraux et périphériques chez l'homme. L'effet thérapeutique des benzodiazépines dans le SNC est lié à leur fixation sur un site modulateur couplé aux canaux chlore (canaux Cl⁻) contrôlés par l'acide γ -aminobutyrique (GABA). Les récepteurs centraux des benzodiazépines sont localisés exclusivement

dans les neurones, et les récepteurs de type périphérique (PBR) ont également été détectés dans le SNC au niveau des cellules gliales [1]. Cependant, ces sites de liaison diffèrent de ceux dits « neuronaux », à la fois en ce qui concerne leur profil pharmacologique et leur localisation tissulaire et subcellulaire. En effet, le récepteur de type central est localisé au niveau de la membrane plasmique, alors que le récepteur périphérique est principalement mitochondrial [2]. D'autres dénominations ont d'ailleurs été données à ces récepteurs, tels que (1) MBR pour récepteur mitochondrial des benzodiazépines ; (2) MDR pour récepteur mitochondrial au *Diazepam binding inhibitor* (DBI) ; (3) récepteur $\omega 3$ et (4) site- π [3].

La mise en évidence de deux sites distincts de fixation des benzodiazépines suggère l'existence de différents mécanismes d'action. Les propriétés permettant de distinguer les deux types de récepteurs des benzodiazépines sont résumées dans le *Tableau I*. Ainsi, les PBR pourraient représenter des sites alternatifs de fixation, par lesquels les benzodiazépines exerceraient des actions pharmacologiques différentes. Certains effets indésirables des benzodiazépines pourraient être dus à leur liaison aux PBR, en raison de leur abondance dans de nombreux tissus périphériques [3].

En dépit d'avancées significatives récentes, les mécanismes cellulaires et moléculaires dans lesquels les PBR seraient impliqués sont encore mal compris.

Caractérisation pharmacologique

Paradoxalement, c'est l'utilisation de tissus périphériques comme témoins négatifs de liaison spécifique du diazépam, sur des sites externes au SNC, qui a permis la découverte des PBR. En effet, le diazépam (Valium®) pos-

sède une affinité nanomolaire équivalente pour les deux types de récepteurs. D'autres benzodiazépines présentent une affinité différente pour les deux récepteurs. Ainsi, chez le rat, le dérivé 4'-chloro du diazépam, le Ro5-4864, se fixe aux PBR avec une affinité de l'ordre du nanomolaire, alors que sa liaison au récepteur du GABA requiert une concentration micromolaire. Inversement, le clonazépam (Rivotril®) possède une forte affinité pour le récepteur du GABA et une faible affinité pour les PBR. Ces deux ligands ont donc été classiquement utilisés pour discriminer les deux types de récepteurs. Plusieurs années après la découverte des PBR, Le Fur *et al.* [4] ont décrit une série de composés ayant une affinité très supérieure pour les PBR, les carboxamides d'isoquinolines. Parmi ceux-ci, le PK11195 (ou 1-(2-chlorophényl)-N-méthyl-N-(1-méthylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide), est le ligand le plus couramment utilisé [5]. Chez toutes les espèces étudiées, son affinité pour les PBR est inférieure à 20 nM. Les propriétés distinctives de liaison de ces deux ligands, différant par leur propriété chimique, suggèrent deux hypo-

thèses, l'une selon laquelle les domaines de liaison seraient complètement séparés mais allostériquement couplés, l'autre selon laquelle ces domaines seraient physiquement proches et pourraient se recouvrir.

Les composés cités ci-dessus connus pour interagir avec les PBR sont parmi les plus utilisés, mais de nombreuses autres molécules possèdent également une haute affinité pour les PBR (pour revue voir [6]). En particulier, les PBR présentent une large gamme de spécificités pour de nombreux composés organiques de synthèse, parmi lesquels se trouvent des médicaments comme le dipyridamole, le disulfirame, la lidocaïne, mais aussi différents principes actifs (insecticides pyréthroïdes, porphyrines, certains stéroïdes, le lindane, l'isomère- γ de l'hexachlorocyclohexane) [7]. De nombreux agents pharmacologiques sont capables de se lier aux PBR, et cette caractéristique doit être prise en compte dans la compréhension des effets relayés par ces récepteurs.

Distribution cellulaire et subcellulaire

Bien que les études de liaison des PBR aient révélé leur présence dans pratiquement tous les tissus, leur taux d'expression varie largement. Les tissus glandulaires (glandes surrénales et salivaires), l'épithélium nasal et les testicules) et endocrines sont particulièrement riches en PBR, mais leur répartition tissulaire n'est pas homogène. Ainsi, dans la glande surrénale, les PBR sont absents dans la medulla, et très abondants dans le cortex; dans le tissu rénal, le récepteur est localisé sélectivement au niveau du tube contourné distal et de la branche ascendante de l'anse de Henlé [8].

Les études pionnières de liaison, fondées sur l'utilisation de ligand radio-maqué et l'autoradiographie sur des coupes de tissus, ont montré que les PBR sont associés aux mitochondries. Anholt *et al.* [9] ont ensuite mis en évidence leur localisation au niveau de la membrane externe des mitochondries. La nature des récepteurs extra-mitochondriaux étant encore mal connue, seules les fonctions des PBR associées aux mitochondries seront développées ci-dessous.

Tableau I. Principales caractéristiques des récepteurs des benzodiazépines de type central et périphérique (d'après [7]).

	Type périphérique	Type central
Distribution tissulaire	Ubiquitaire (tissus périphériques et dans les cellules gliales)	Neuronale
Localisation subcellulaire	Membrane externe mitochondriale principalement et membrane plasmique	Membrane plasmique
Ligands synthétiques	PK11195, benzodiazépines (diazépam, Ro5-4864), FGIN 1-27)	Benzodiazépines (clonazépam, diazépam)
Ligands endogènes	DBI et porphyrines	DBI
Composition moléculaire	pk18, VDAC, ANT, pk10 (protéine inconnue)	Hétérogène (sous-unités α et γ du récepteur au GABA)
Mécanisme effecteur	Transport de cholestérol/prolifération cellulaire/physiologie mitochondriale	Règle le flux de Cl ⁻ en modulant la fixation de GABA sur son récepteur

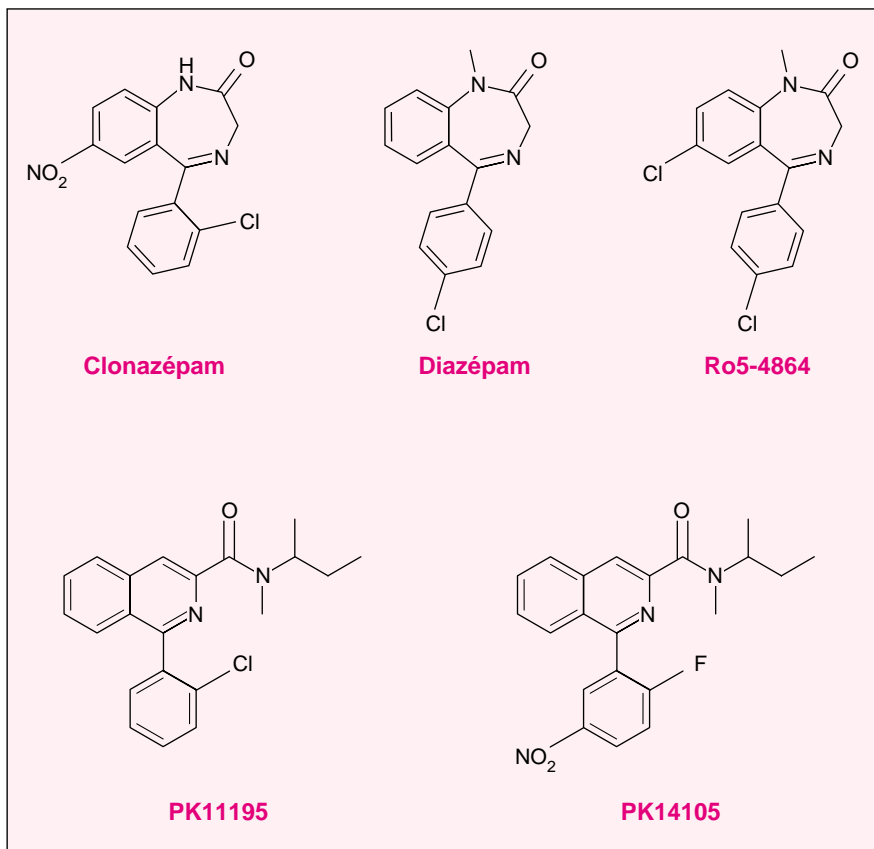


Figure 1. **Structure des principaux ligands des PBR.** Le clonazépam et le diazépam ont permis la localisation des récepteurs centraux des benzodiazépines. Le clonazépam présente une forte affinité pour les récepteurs du GABA (acide- γ -amino-butérique) mais une faible affinité pour les PBR. Le diazépam présente une forte affinité pour les PBR et les récepteurs centraux des benzodiazépines. Ces deux composés ont permis de discriminer ces deux types de récepteurs. Le Ro5-4864, le PK11195 et le PK14105 présentent une forte affinité spécifique des PBR. Toutes ces molécules ont permis de différencier les récepteurs centraux et périphériques des benzodiazépines d'une part, et le récepteur central des benzodiazépines des récepteurs du GABA d'autre part.

Protéines associées aux PBR

L'utilisation de certaines molécules alkylantes autres que le PK14105, capables de se fixer de façon irréversible à des protéines en modifiant leur structure protéique, a été très utile pour permettre l'identification des protéines associées aux PBR. Ainsi, les variations de profils analytiques observés en spectrométrie ont permis d'identifier la p18, le VDAC (voltage dependent anion channel) ou porine, et l'ANT (adénine nucléotide translocase) (figure 2). L'analyse des fractions mitochondriales a permis de démontrer que les protéines

VDAC et ANT sont le plus souvent retrouvées associées aux PBR.

Récemment, l'utilisation de la méthode du double hybride a permis de décrire une nouvelle protéine, nommée PRAX-1 (pour *peripheral benzodiazepine receptor associated protein 1*), qui interagit avec les PBR, en dimérisant ces derniers dans la porine [10, 11] (figure 2). La présence de nombreux domaines impliqués dans les interactions protéines-protéines dans la structure protéique de PRAX-1 suggère que celle-ci pourrait jouer le rôle d'un adaptateur permettant de recruter un large spectre de ligands, ainsi que le contact direct avec les PBR. Bien que les PBR soient pré-

sents principalement au niveau mitochondrial, PRAX-1 permet de lier les PBR à des effecteurs cytoplasmiques ou nucléaires [12]. Ainsi, la protéine PRAX-1 ouvre un nouveau champ d'investigation sur les PBR, qui pourrait permettre une meilleure compréhension de leur physiologie.

Fonctions possibles des PBR

L'interprétation des effets des ligands des PBR sur de nombreux mécanismes cellulaires a toujours été délicate, en raison de la difficulté à corréliser ces effets avec la liaison du ligand au récepteur. Le spectre d'activité des ligands des PBR est très large et ne permet pas d'interpréter clairement son rôle biologique.

Physiologie mitochondriale

La localisation des PBR au niveau de la membrane externe des mitochondries a naturellement orienté les travaux sur les implications potentielles des PBR dans la phosphorylation oxydative. Deux groupes ont montré que le PK11195 et le Ro5-4864, à des concentrations nanomolaires, étaient capables d'inhiber la respiration mitochondriale, et cette inhibition est corrélée à leur affinité pour les PBR. Si ces deux études confirment l'influence des PBR au niveau de la synthèse mitochondriale d'ATP, une étude plus récente n'a pas mis en évidence d'inhibition de la respiration mitochondriale à des concentrations nanomolaires [13].

L'association potentielle entre les PBR et le VDAC pourrait expliquer l'influence des PBR sur la respiration mitochondriale. En effet, les PBR pourraient influencer le transport de métabolites vers la matrice mitochondriale. Des concentrations nanomolaires de PK11195 et de Ro5-4864 sont capables d'inhiber l'ouverture de canaux à large conductance [5], alors que des concentrations micromolaires de benzodiazépines ayant une faible affinité pour les PBR sont nécessaires pour produire les mêmes effets. Le Ro5-4864 et le PK11195, utilisés à des concentrations nanomolaires, entraînent des changements dans la morphologie mitochondriale, et stimulent la prolifération des mitochondries dans des cellules de

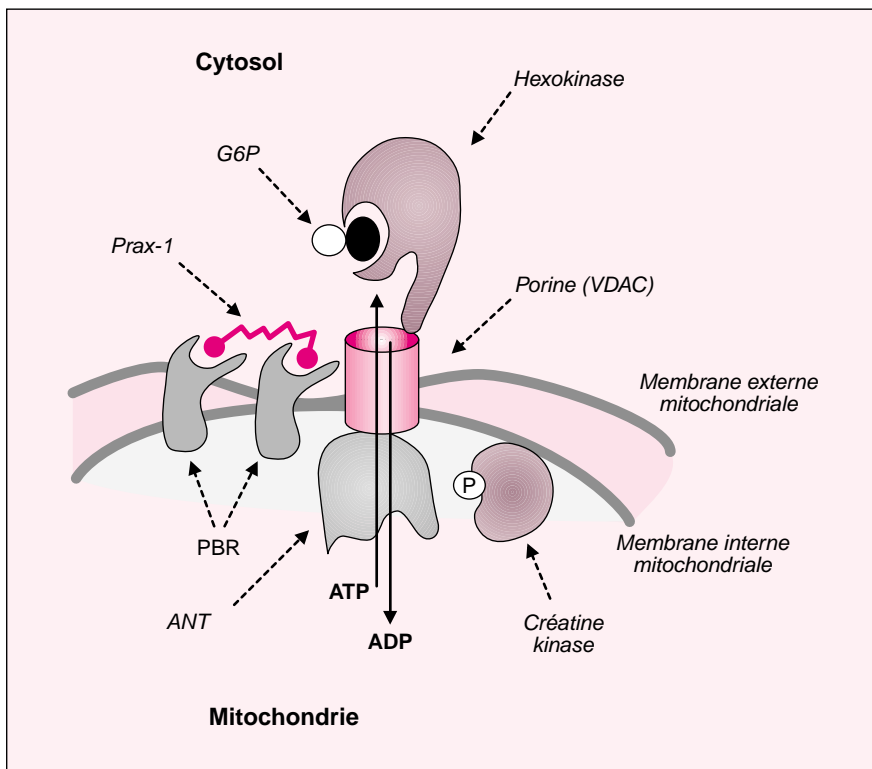


Figure 2. *Structure putative du pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTP) modifiée à partir du schéma de Hirsch [38]. Le pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTP) a un rôle majeur dans les processus de mort cellulaire (apoptose) [24]. Il a été localisé au niveau des zones de contact entre les membranes interne et externe de la mitochondrie. Le PTP se compose principalement de l'ANT (adénine nucléotide translocase) et du VDAC (voltage dependent anion channel). Ce canal permet le passage de différentes molécules (AIF, ions...) suite à une chute du potentiel membranaire ($\Delta\psi_m$). Plusieurs protéines sont associées au PTP : l'hexokinase, la créatine kinase, les récepteurs périphériques des benzodiazépines (PBR), ainsi que la protéine Prax-1 en interaction avec les PBR. L'hypothèse de la dimérisation des PBR par la protéine Prax-1 a été proposée par Galiegue [12]. G6P: glucose-6-phosphate; Prax-1: peripheral benzodiazepine receptor associated protein-1.*

gliome, ainsi que l'activité de la polymérase γ , spécifique de la réplication de l'ADN mitochondrial [14].

Un travail récent a démontré que les ligands des PBR affectent la respiration cellulaire, sans aucune corrélation avec la densité ou la pharmacologie des récepteurs [13], ce résultat étant à l'encontre de l'hypothèse d'un rôle direct des PBR dans la modulation du métabolisme énergétique cellulaire [15, 16]. Le rôle des PBR dans la physiologie mitochondriale peut également se manifester durant un stress hypo-osmotique [17]. Selon le tissu et la quantité d'oxygène présente, les PBR pourraient transmettre un signal régula-

teur à différents gènes, permettant une multiplicité d'effets et une réponse tissu-spécifique.

Régulation de la synthèse des stéroïdes

L'implication des PBR dans la stéroïdogenèse est certainement l'aspect le plus étudié de la fonction des PBR [18]. Deux observations initiales importantes ont suggéré un rôle possible des PBR dans la synthèse des stéroïdes : la localisation prédominante des PBR au niveau de la membrane externe des mitochondries, et leur densité élevée au niveau des cellules impliquées dans la stéroïdogenèse.

De nombreux travaux ont montré que des ligands des PBR stimulent la synthèse de stéroïdes dans des cellules surréaliennes, placentaires, testiculaires, ovariennes et gliales [19]. En outre, l'affinité de différents ligands pour les PBR a été corrélée avec leur capacité à stimuler la stéroïdogenèse.

L'implication des PBR dans la stéroïdogenèse a été démontrée par l'étude topographique des PBR dans les membranes mitochondriales. Les protéines PBR sont organisées en un ensemble de 4 à 6 molécules. L'inactivation des gènes *PBR* par recombinaison homologue, dans une lignée produisant des stéroïdes de façon constitutive, diminue leur production par rapport à celle de cellules contrôles [20]. De même, l'augmentation de la production de stéroïdes, dans des cellules n'exprimant pas de PBR, est rendue possible par l'ajout d'un analogue hydrosoluble du cholestérol, démontrant ainsi que le mécanisme de transport du cholestérol est altéré dans ces cellules.

Dans le métabolisme des hormones stéroïdes, l'étape initiale commune de la stéroïdogenèse est la conversion du cholestérol en pregnénolone par le cytochrome P-450, l'enzyme de coupure de la chaîne latérale (P-450_{sc}), cette réaction ne constituant pas une étape limitante de la synthèse des stéroïdes. Il a été montré que la translocation du cholestérol de la membrane externe vers la membrane interne des mitochondries est l'étape critique de régulation de la stéroïdogenèse. L'analyse des différentes étapes depuis le transport du cholestérol jusqu'à sa conversion en pregnénolone a permis de montrer que les ligands des PBR stimulent la translocation intramitochondriale de cholestérol de la membrane externe vers la membrane interne [21], suggérant un rôle des PBR dans le transport mitochondrial du cholestérol.

Dans la lignée testiculaire de Leydig, la production de stéroïdes diminue fortement sous l'effet d'un antisens du PBR alors que la prolifération n'est pas affectée [22]. Les auteurs de cette étude concluent que les PBR, dans des tissus différenciés capables de stéroïdogenèse, pour-

raient avoir un rôle plus important dans la stéroïdogenèse que dans la prolifération, suggérant ainsi que les fonctions des PBR pourraient être spécifiques du tissu.

Prolifération et différenciation cellulaires, apoptose

La liaison des ligands spécifiques des PBR induit des effets cellulaires multiples : différenciation de cellules de la leucémie érythroïde Friend, synthèse de mélanine dans des cellules B16/C3 de mélanome, induction de l'ornithine décarboxylase et excroissance de neurites dans des cellules PC12, augmentation de la méthylation des phospholipides dans des cellules de gliome C6, et surexpression du gène du proto-oncogène *c-fos* dans des cellules PC12 exposées au *nerve growth factor* (NGF), modification de la perméabilité membranaire [5]. Cependant, ces activités sont obtenues à des concentrations micromolaires, ne correspondant pas à l'affinité des ligands pour les PBR. Une autre étude a montré une relation entre l'inhibition de la prolifération cellulaire et l'affinité des ligands pour les PBR [23].

L'une des étapes régulatrices du processus apoptotique est caractérisée par la perméabilisation des membranes mitochondriales. Induite par divers stimulus, responsables de l'accumulation intracellulaire de molécules agissant directement sur les mitochondries, la perméabilisation des membranes mitochondriales entraîne une baisse du potentiel membranaire ($\Delta\psi_m$) et la libération cytosolique de protéines localisées dans l'espace intermembranaire de ces organites, telles que le cytochrome c, la protéine AIF (*apoptosis inducing factor*) [24] et certaines procaspases. La libération de ces protéines apoptotiques, déclenche une suite d'activation en chaîne de caspases et de protéases, jusqu'à l'étape terminale et irréversible de la mort cellulaire. Le pore de transition de perméabilité, situé au niveau des sites de contact des membranes interne et externe mitochondriales [25, 26], est constitué d'un ensemble de protéines auquel appartiennent les récepteurs périphériques des benzodiazépines. En raison de leur localisation au sein

d'une structure régulatrice de l'apoptose, les PBR sont apparus comme des cibles potentielles du contrôle de la mort cellulaire.

Ainsi, dans une grande variété de lignées tumorales humaines, différents ligands des PBR, tels que le PK11195, le Ro5-4864 et à moindre degré le diazépam, augmentent la cytotoxicité de nombreux inducteurs apoptotiques, comme certains agents de chimiothérapie (doxorubicine, étoposide), les glucocorticoïdes, les radiations ionisantes [27], des anticorps anti-Fas [28] ou du TNF- α [29]. Cet effet facilitateur des ligands des PBR n'a été observé que lors d'une exposition concomitante des ligands et de l'inducteur apoptotique [28]. Les PBR ont également été utilisés comme cibles de traitements antitumoraux *in vivo*, soit par l'administration associée de diazépam et de lonidamine à des souris *nude*, chez lesquelles ont été greffés des glioblastomes humains [30], soit par l'utilisation de porphyrines en thérapie photodynamique [31].

De nombreuses données ont montré que l'action des ligands des PBR s'effectuait par une action directe sur le pore de transition de perméabilité : (1) l'augmentation de la chute du potentiel membranaire des mitochondries et de la libération cytosolique du cytochrome c et de la protéine AIF par le PK11195, dans un système acellulaire ; (2) la réversion de l'effet anti-apoptotique de la protéine Bcl-2 par le PK11195 et, inversement, l'abolition de l'action du PK11195 par des ligands de l'ANT, sur des mitochondries isolées surexprimant la protéine Bcl-2 [27] ; (3) l'induction d'une chute du $\Delta\psi_m$ et de l'apoptose nucléaire par la protoporphyrine IX. Cette induction est inhibée par l'acide bongkréic, ligand de l'ANT, et la surexpression de la protéine Bcl-2, à la fois dans un système cellulaire et des mitochondries isolées [32] ; enfin, (4) la chute du $\Delta\psi_m$ et la libération du cytochrome c par des mitochondries isolées par photothérapie [33].

L'ensemble de ces observations démontre un effet synergique des PBR, *via* leurs différents ligands, sur la fonction des agents pro-apoptotiques, et suggèrent de possibles utilisations thérapeutiques des PBR dans les maladies néoplasiques humaines.

Prolifération cellulaire et cancer

L'effet mitogène de concentrations nanomolaires de ligands des PBR suggère une relation entre ces récepteurs et la prolifération cellulaire. Dans de nombreux cancers, tels que des carcinomes de l'ovaire et du côlon, il existe une augmentation du taux de PBR par rapport aux tissus normaux. Inversement, le cas des cellules gliales et des tumeurs qui en dérivent est informatif. Les cellules gliales expriment les PBR, et les tumeurs gliales expriment plus fortement [34]. Les tumeurs gliales ont également une capacité plus importante de métaboliser le glucose et cette capacité est corrélée au grade histologique, les glioblastomes (grade IV) ayant la plus élevée [15]. Ainsi, une corrélation a été trouvée entre la densité des PBR et le taux d'incorporation de glucose [35] ; de fait, ces propriétés sont exploitées pour l'imagerie des tumeurs gliales par l'utilisation de PK11195 et de glucose.

L'équipe de Alho *et al.* [36] a étudié la relation entre l'expression des PBR et la prolifération cellulaire. Ils ont montré que l'expression de ces protéines était maximale dans des cultures primaires d'astrocytes en prolifération, et diminuée lorsque les cellules atteignaient la confluence. Dans les cellules proliférantes, les PBR sont localisés majoritairement au niveau de la membrane externe des mitochondries, du réticulum endoplasmique, de la membrane nucléaire et des centrioles. Ils ont ainsi émis l'hypothèse de localisations membranaires des PBR variables selon le cycle et le type cellulaire.

Les PBR étant vraisemblablement impliqués dans la prolifération et/ou dans la stéroïdogenèse, il est possible que dans les tumeurs cérébrales, le DBI module la croissance cellulaire en agissant directement sur ces récepteurs, ou indirectement *via* les neurostéroïdes. Le DBI se fixe, induit la synthèse d'acétyl-CoA, et agit en tant que transporteur d'acétyl-CoA. Le fait que les tumeurs cérébrales aient à la fois un taux élevé en acides gras [37] et une consommation importante d'énergie, renforce la possibilité d'une liaison du DBI à un type spécifique d'augmentation du métabolisme énergétique.

Conclusions

La structure moléculaire et le véritable rôle physiologique des récepteurs périphériques des benzodiazépines restent encore mal définis. L'ensemble des données obtenues sont en faveur d'un rôle des PBR dans la physiologie mitochondriale, les mécanismes de prolifération et de différenciation cellulaires, et dans la biosynthèse des stéroïdes. La grande hétérogénéité dans le degré de reconnaissance de leurs ligands suggère une complexité des PBR. Cette complexité pourrait être liée à la diversité des sites actifs, qu'ils soient conformationnels ou structurels, conduisant à une multiplicité de fonctions.

Les PBR sont physiquement associés à la porine (VDAC), l'adénine nucléotide translocase (ANT) et une protéine de 10 kDa encore inconnue, mais ces protéines ne semblent pas avoir d'influence sur les caractéristiques pharmacodynamiques des récepteurs.

La synthèse et la caractérisation de nouveaux ligands spécifiques aideraient à une meilleure compréhension des fonctions et de la structure du récepteur. Enfin, ces récepteurs pourraient constituer des cibles thérapeutiques, notamment dans les cancers, en modulant les mécanismes d'apoptose ■

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr F. Nemati pour ses conseils et sa relecture avisés. Ce travail a été subventionné par l'Association pour la recherche sur les tumeurs cérébrales (ARTC) et le fond d'études de l'Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP).

* GLOSSAIRE *

PBR: peripheral benzodiazepine receptors.

VDAC: voltage dependent anion channel.

ANT: adénine nucléotide translocase.

SNC: système nerveux central.

GABA: acide γ -aminobutyrique.

DBI: diazepam binding inhibitor.

MDR: mitochondrial DBI receptor.

Ro5-4864: 4'-chloro-diazepam.

PK11195: 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide.

DIDS: 4,4'-diisothiocyano-stilbene-2,2'-disulfonic acid.

PRAX-1: peripheral benzodiazepine receptor associated protein 1.

RÉFÉRENCES

1. Lehmann J, Weizman R, Pryce CR, *et al*. Peripheral benzodiazepine receptors in cerebral cortex, but not in internal organs, are increased following inescapable stress and subsequent avoidance/escape shuttle-box testing. *Brain Res* 1999; 851: 141-7.
2. Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine/diazepam-binding inhibitor: biological role in steroidogenic cell function. *Endocr Rev* 1993; 14: 222-40.
3. Krueger KE. Molecular and functional properties of mitochondrial benzodiazepine receptors. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1241: 453-70.
4. Le Fur G, Perrier ML, Vaucher N, *et al*. Peripheral benzodiazepine binding sites: effect of PK11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide. I. *In vitro* studies. *Life Sci* 1983a; 32: 1839-47.
5. Miccoli L, Oudard S, Beurdeley-Thomas A, Dutrillaux B, Poupon MF. Effect of PK11195, a specific ligand of the peripheral benzodiazepine receptor, on the lipid fluidity of mitochondria in human glioma cells. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 715-21.
6. Bourguignon JJ. Endogenous and synthetic ligands of mitochondrial benzodiazepine receptors: structure-affinity relationships. In: Giesen-Crouse E, ed. *Peripheral benzodiazepine receptors*. London: Academic Press, 1993: 59-85.
7. Zisterer DM, Williams DC. Peripheral-type benzodiazepine receptors. *Gen Pharmacol* 1997; 29: 305-14.
8. Drugan RC. Peripheral benzodiazepine receptors: molecular pharmacology to possible physiological significance in stress-induced hypertension. *Clin Neuropharmacol* 1996; 19: 475-96.
9. Anholt RRH, Pedersen PL, Souza EBD, Snyder SH. The peripheral-type benzodiazepine receptor. *J Biol Chem* 1986; 261: 576-83.
10. Hirsch T, Marzo I, Kroemer G. Role of the mitochondrial permeability transition pore in apoptosis. *Biosci Rep* 1997; 17: 67-76.
11. Mannella CA. Minireview: on the structure and gating mechanism of the mitochondrial channel, VDAC. *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 525-31.
12. Galiegue S, Jbilo O, Combes T, *et al*. Cloning and characterization of PRAX-1. A new protein that specifically interacts with the peripheral benzodiazepine receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 2938-52.
13. Zisterer DM, Gorman AM, Williams DC, Murphy MP. The effects of the peripheral-type benzodiazepine receptor ligands, Ro 5-4864 and PK 11195, on mitochondrial respiration. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 1992; 14: 85-90.
14. Black KL, Shiraiishi T, Ikezaki K, Tabuchi K, Becker DP. Peripheral benzodiazepine stimulates secretion of growth hormone and mitochondrial proliferation in pituitary tumour GH₃ cells. *Neurol Res* 1994; 16: 74-80.
15. Oudard S, Boitier E, Poupon A, Miccoli L, Poupon MF. Hexokinase mitochondriale, enzyme clé de la bioénergétique cellulaire: une cible potentielle pour une thérapeutique anticancéreuse. *Med Sci* 1995; 11: 1121-9.
16. Miccoli L, Beurdeley-Thomas A, De Pinieux G, *et al*. Light-induced photoactivation of hypericin affects the energy metabolism of human glioma cells by inhibiting hexokinase bound to mitochondria. *Cancer Research* 1998; 58: 5777-86.
17. Itzhak Y, Bender AS, Norenberg MD. Effect of hypoosmotic stress on peripheral-type benzodiazepine receptors in cultured astrocytes. *Brain Res* 1994; 644: 221-5.
18. Krueger KE, Papadopoulos V. Mitochondrial benzodiazepine receptors and the regulation of steroid biosynthesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 31: 211-37.
19. Papadopoulos V, Amri H, Boujrad N, *et al*. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis. *Steroids* 1997; 62: 21-8.
20. Papadopoulos V, Amri H, Li H, Boujrad N, Vidic B, Garnier M. Targeted disruption of the peripheral-type benzodiazepine receptor gene inhibits steroidogenesis in the R2C Leydig tumor cell line. *J Biol Chem* 1997; 272: 32129-35.
21. Krueger KE, Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptors mediate translocation of cholesterol from outer to inner mitochondrial membranes in adrenocortical cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 15015-22.

RÉFÉRENCES

22. Kelly-Herskovitz E, Weizman R, Spanier I, *et al*. Effects of peripheral-type benzodiazepine receptor antisense knockout on MA-10 Leydig cell proliferation and steroidogenesis. *J Biol Chem* 1998; 273: 5478-83.
23. Wang JKT, Morgan JI, Spector S. Benzodiazepines that bind at peripheral sites inhibit cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 753-56.
24. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 2000; 6: 513-9.
25. Brdiczka D, Beutner G, Ruck A, Dolder M, Wallimann T. The molecular structure of mitochondrial contact sites. Their role in regulation of energy metabolism and permeability transition. *Biofactors* 1998; 8: 235-42.
26. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochemical Journal* 1999; 341: 233-49.
27. Hirsch T, Decaudin D, Susin SA, *et al*. PK11195, a ligand of the mitochondrial benzodiazepine receptor, facilitates the induction of apoptosis and reverses Bcl-2-mediated cytoprotection. *Exp Cell Res* 1998; 241: 426-34.
28. Decaudin D, Beurdeley-Thomas A, Nemati F, *et al*. Ligands of the peripheral benzodiazepine receptor (PBR) enhance the Fas-mediated apoptosis in human tumor cells. *Blood* 1999; 94: 40-1.
29. Bono F, Lamarche I, Prabonnaud V, *et al*. Peripheral benzodiazepine receptor agonists exhibit potent antiapoptotic activities. *Biochem Biophys Res Com* 1999; 265: 457-61.
30. Miccoli L, Poirson-Bichat F, Sureau F, *et al*. Potentiation of lonidamine and diazepam, two agents acting on mitochondria, in human glioblastoma treatment. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1400-6.
31. Verma A, Facchina SL, Hirsch DJ, *et al*. Photodynamic tumor therapy: mitochondrial benzodiazepine receptors as a therapeutic target. *Mol Med* 1998; 4: 40-5.
32. Marchetti P, Hirsch T, Zamzami N, *et al*. Mitochondrial permeability transition triggers lymphocyte apoptosis. *J Immunol* 1996; 157: 4830-6.
33. Kessel D, Luo Y. Photodynamic therapy: a mitochondrial inducer of apoptosis. *Cell Death Differ* 1999; 6: 28-35.
34. Cornu P, Benavides J, Scatton B, *et al*. Increase in ω_3 (peripheral-type benzodiazepine) binding site densities in different types of human brain tumours. *Acta Neurochir* 1992; 119: 146-52.
35. Ferrarese C, Pierpaoli C, Linfante I, *et al*. Peripheral benzodiazepine receptors and glucose metabolism in human gliomas. *J Neurooncol* 1994; 22: 15-22.
36. Alho H, Varga V, Krueger KE. Expression of mitochondrial benzodiazepine receptor and its putative endogenous ligand diazepam binding inhibitor in cultured primary astrocytes and C-6 cells: relation to cell growth. *Cell Growth Differ* 1994; 5: 1005-14.
37. Martin DD, Robbins ME, Spector AA, *et al*. The fatty acid composition of human gliomas differs from that found in nonmalignant brain tissue. *Lipids* 1996; 31: 1283-8.
38. Hirsch T. Rôle central de la mitochondrie dans la régulation de l'apoptose. Immunologie. Paris V-René Descartes. Paris, Thèse 1998.

Summary

Benzodiazepines peripheral receptors

Peripheral benzodiazepine receptors (PBRs) are implicated in many cellular events. Initially discovered in peripheral tissues, they have also been localized in glial cells in the central nervous system (CNS). Binding studies using synthetic or endogenous ligands have led to the tissular and molecular characterisation of the receptors, and of their associated-proteins. PBRs are involved in mitochondrial physiology, steroid biosynthesis, cellular proliferation, and differentiation, apoptosis, and have putative functions in the immune response.

TIRÉS À PART

A. Beurdeley-Thomas.

Je