

laire induit par l'exercice physique. La démonstration que l'expression de PPAR δ est augmentée d'un facteur 3, environ, dans les muscles d'animaux témoins soumis à un exercice modéré (45 minutes de natation par jour pendant 3 semaines) est un argument fort en faveur de cette hypothèse [4].

L'ensemble de ces données indique donc que PPAR δ joue un rôle important dans la physiologie musculaire. D'une part, son activation par des agonistes synthétiques conduit à une augmentation de l'expression des protéines impliquées dans le catabolisme des acides gras. D'autre part, le facteur de transcription joue probablement un rôle majeur dans les mécanismes d'adaptation du muscle à l'entraînement à l'exercice d'endurance, qui se traduit par une augmentation de la capacité intrinsèque du muscle à consommer des acides gras.

La découverte de ces nouvelles fonctions de PPAR δ dans le muscle permet d'apporter un début d'explication aux effets bénéfiques de ces agonistes synthétiques chez les animaux obèses. Il peut être proposé que, comme le fait l'exercice physique d'endurance, la suractivité de PPAR δ augmente la consommation de lipides dans le muscle sque-

lettique et diminue la disponibilité en acides gras pour la synthèse de triglycérides dans le tissu adipeux, ce qui provoque une réduction de l'adiposité et une normalisation de la production d'adipocytokines (Figure 1). Ces observations font de l'utilisation d'agonistes de PPAR δ une approche thérapeutique nouvelle pour le traitement du syndrome métabolique. Toutefois, le récepteur nucléaire a un profil d'expression tissulaire large et, afin d'éviter des effets néfastes de traitements par de telles molécules, il devient urgent de connaître les fonctions de PPAR δ dans d'autres tissus, comme l'intestin ou le cœur. ♦

Roles of PPAR δ in skeletal muscle physiology

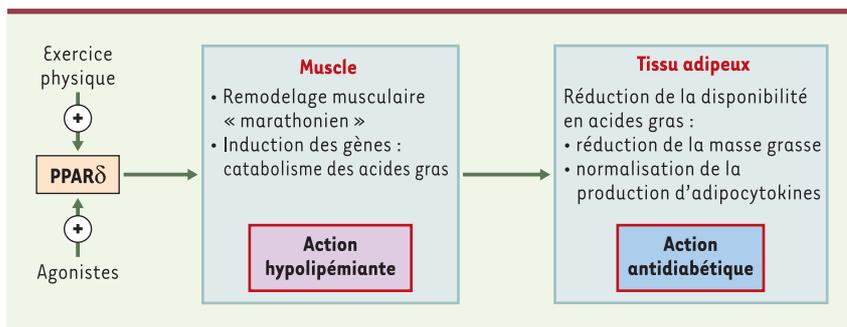


Figure 1. Activation de PPAR δ dans le muscle et correction du syndrome métabolique.

RÉFÉRENCES

1. Oliver WR, Shenk JL, Snaith MR, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor δ agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5306-11.
2. Tanaka T, Yamamoto J, Iwasaki S, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor δ induces fatty acid β -oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15924-9.
3. Holst D, Luquet S, Nogueira V, et al. Nutritional regulation and role of peroxisome proliferator-activated receptor δ in fatty acid catabolism in skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1633: 43-50.
4. Luquet S, Lopez-Soriano J, Holst D, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor δ controls muscle development and oxidative capabilities. *FASEB J* 2003; 17: 2299-301.
5. Wang YX, Zhang CL, Yu RT, et al. Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPAR δ . *PLOS Biol* 2004; 2: 1-8.
6. Allen DL, Harrison BC, Maass A, et al. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary running in the mouse. *J Appl Physiol* 2001; 90:1900-8.

NOUVELLE

Un nouveau rôle pour le récepteur périphérique des benzodiazépines ?

Mariano A. Ostuni, Jean-Jacques Lacapère

Inserm U.683, Faculté de Médecine Xavier Bichat, 16, rue Henri Huchard, 75870 Paris Cedex 18, France.
lacapere@bichat.inserm.fr

isoquinoline, le PK 11195, a été décrite comme le ligand le plus spécifique du PBR. Les études de fractionnement subcellulaire ont permis de montrer que le PBR présentait une localisation majoritairement mitochondriale, avec une insertion dans la

> Le récepteur périphérique des benzodiazépines (PBR) est une protéine membranaire de 18 kDa initialement mise en évidence par ses propriétés de liaison du diazépam (Valium[®]) dans les tissus n'appartenant pas au système nerveux central. Cette localisation s'accompagne

de propriétés pharmacologiques qui le distinguent du récepteur central des benzodiazépines, encore appelé récepteur GABA_A. En particulier, le PBR présente une affinité plus faible pour le diazépam que le récepteur central. Plusieurs classes de ligands ont été testées et une

membrane externe de cet organite. Le PBR est exprimé dans tous les tissus examinés à ce jour, la plus forte expression étant observée dans les tissus connus pour synthétiser les hormones stéroïdiennes, glandes surrénales, testicules, ovaires, et dans les astrocytes [1].



Les différents rôles du récepteur périphérique des benzodiazépines

De nombreux rôles du PBR ont été rapportés [1, 2], en particulier – compte tenu de sa localisation – dans la biosynthèse des stéroïdes. Un certain nombre d'études suggère plus précisément un rôle du PBR dans le transport du cholestérol. En effet, il a été montré que le PBR recombinant reconstitué dans des membranes lipidiques artificielles possède des sites de liaison de forte affinité pour le cholestérol [3]. Ces sites pourraient être localisés dans le domaine carboxyterminal de la protéine, comme le suggèrent les données

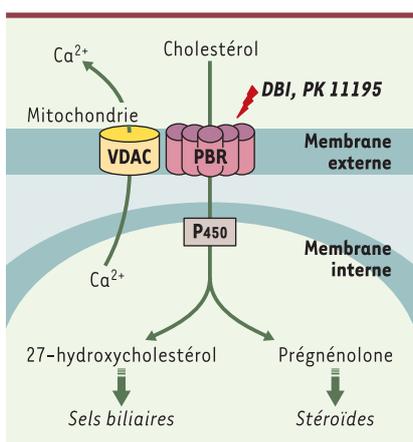


Figure 1. Localisation et fonction du récepteur périphérique des benzodiazépines (PBR) dans les mitochondries. Le PBR est un partenaire de la porine mitochondriale, le *voltage-dependent anion channel* (VDAC) dans la membrane externe. Il pourrait constituer avec elle une partie du complexe dit du pore de transition dont le rôle dans l'apoptose d'origine mitochondriale a été largement décrit. Le VDAC est l'un des principaux transporteur d'ions et de métabolites à travers la membrane externe des mitochondries. Il contrôle, en particulier, l'homéostasie calcique. Le transport de cholestérol à travers la membrane externe est effectué par le PBR sous l'activation d'une endozépine, le DBI, ou de ligands exogènes comme le PK 11195, une isoquinoline. Le cholestérol est délivré au cytochrome P450 dans la membrane interne des mitochondries, où il est clivé en 27-hydroxycholestérol ou en prégnénolone, respectivement dans les cellules hépatiques ou stéroïdogéniques.

structurales couplées aux études de mutagenèse dirigée [4]. Il a également été observé, *in vivo*, que le PBR était impliqué dans le transport du cholestérol de la membrane externe vers la membrane interne des mitochondries, étape limitante dans la biosynthèse des stéroïdes [5]. Cette fonction de transport du cholestérol par le PBR a été aussi décrite dans le foie [5], organe de biosynthèse des sels biliaires ayant pour précurseur le 27-hydroxycholestérol. Le mécanisme de transport du cholestérol, qui n'est pas encore clairement élucidé (Figure 1), impliquerait une activation par les ligands du PBR, le DBI (*diazepam binding inhibitor*, une endozépine décrite comme un ligand endogène) ou le PK 11195. Cette fonction de transport du PBR a été également décrite pour d'autres molécules comme les protoporphyrines IX [6], précurseurs de plusieurs groupes prosthétiques comme les hèmes ou les hémoprotéines (les cytochromes ou les phytochromes). La diversité des fonctions du PBR observée *in vivo* pourrait être liée à son association avec d'autres protéines, mitochondriales ou non. Parmi les protéines décrites pour interagir avec le PBR, on peut citer le VDAC (*voltage-dependent anion channel*), canal de la membrane externe des mitochondries impliqué dans le transport d'ions (Figure 1) et de métabolites [7]. Son rôle semble particulièrement important dans l'homéostasie du Ca^{2+} et pourrait être la clé de l'implication du PBR dans des processus de régulation de l'apoptose.

Le récepteur périphérique des benzodiazépines dans le tractus digestif

La présence du PBR a été décrite dans différents organes du système digestif (glandes salivaires, foie). Le DBI et ses peptides dérivés, TTN (trikontéranéuropeptide) et ODN (octadécaneuropeptide), ont quant à eux été trouvés tout le long du tractus digestif. L'ensemble de ces résultats nous a conduits à rechercher la présence de la protéine dans l'estomac [8] et dans l'intestin [9] chez le rat. Nous

avons montré que la protéine est présente dans les cellules à mucus et les cellules pariétales de l'estomac. Des travaux en cours montrent que le PBR est également présent dans les entérocytes des différents segments de l'intestin (duodénum, jéjunum, iléon et côlon), avec une localisation mitochondriale [9]. Ces résultats, en accord avec les données publiées précédemment sur la présence du ligand endogène (DBI) dans ces différents segments, posent la question du mécanisme qui conduit à la stimulation du PBR par le DBI dans ces cellules. Par analogie avec les tissus produisant des hormones stéroïdiennes ou les astrocytes, on peut penser que des récepteurs de la membrane plasmique pourraient être impliqués. En effet, il a été décrit dans ces tissus que des hormones ou des neuropeptides stimulant des récepteurs couplés aux protéines G induisaient une synthèse du DBI et une augmentation de sa concentration cytosolique [10, 11].

Les ligands pharmacologiques qui ont une forte affinité (de l'ordre du nanomolaire) pour le PBR (PK 11195 et Ro5 4864, une benzodiazépine) sont classiquement utilisés pour les études fonctionnelles de cette protéine. Nous avons démontré, dans le fundus et l'antra gastrique, que ces ligands activent une sécrétion électrogénique de Cl^- , distincte de celle couplée à la sécrétion acide [8]. Cette sécrétion est sensible à l'inhibition de l'échange $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ et pourrait être couplée à la sécrétion locale de HCO_3^- , tant dans les cellules pariétales que dans les cellules à mucus de l'estomac. Cet effet et la forte expression du PBR dans ces cellules renforcent l'hypothèse d'un rôle physiologique du PBR dans la protection de la muqueuse gastrique. La diminution du Ca^{2+} intracellulaire ou extracellulaire et la présence de ciclosporine A, un inhibiteur du pore de transition mitochondrial, inhibent cette sécrétion du Cl^- induite par les ligands du PBR (Figure 2). Ces résultats suggèrent donc que l'activation du PBR induit la transmission d'un signal à ses partenaires du complexe multiprotéique et déclenche une sortie

de Ca^{2+} des mitochondries peut-être via le VDAC. Cette sortie mitochondriale de Ca^{2+} provoquerait une augmentation de la concentration de Ca^{2+} cytosolique, qui induirait une libération de Ca^{2+} des réservoirs intracellulaires et une entrée à travers les canaux calciques de la membrane basolatérale. Ce mécanisme provoquerait ainsi une amplification de la première réponse calcique, qui pourrait alors activer un canal chlore de la membrane apicale induisant une sécrétion ionique. Cette hypothèse est en cours d'évaluation au laboratoire; les résultats préliminaires obtenus sur des cellules en culture ont effectivement montré que le PK 11195 induisait une augmentation du calcium cytosolique.

Le récepteur périphérique des benzodiazépines en pathologie

La compréhension de la fonction du PBR et du mode d'action de ses ligands dans les tissus sains pourrait constituer un point de départ pour comprendre le rôle du PBR dans les cancers coliques, où il est largement surexprimé [12], ainsi que dans d'autres atteintes digestives (ulcération ou inflammation) pouvant évoluer ou non vers des cancers du tractus digestif. En effet, des publications récentes décrivent une forte surexpression du PBR dans différents cancers, et certaines présentent le PBR comme un excellent marqueur diagnostique [13]. Les objectifs à terme pourraient être d'utiliser les ligands de cette protéine ou des dérivés de meilleure affinité pour atteindre le PBR comme cible thérapeutique [14]. Toutefois, il n'existe pas actuellement d'explication à cette sur-expression. Est-ce pour lutter contre la prolifération et réparer la formation de cellules anormales ou, au contraire, maintenir cette tumeur en bloquant l'apoptose? Une manière d'aborder

cette question serait d'étudier le rôle du PBR au cours d'états inflammatoires, souvent précurseurs de cancer, dans des modèles animaux. ♦

A new role for peripheral benzodiazepine receptor?

REMERCIEMENTS

Ce projet de recherche résulte de la collaboration de plusieurs équipes impliquant G. Péranzi, J.C. Robert, R. Ducroc et K. Marazova (Inserm U.683, Faculté Xavier Bichat, Paris, France), B. Vidic (TexasTech University Medical Center, Lubbock, Texas, États-Unis), V. Papadopoulos (Georgetown University Medical Center, Washington DC, États-Unis).

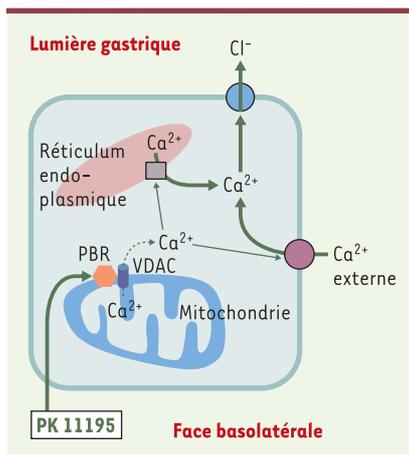


Figure 2. Mode d'action du récepteur périphérique des benzodiazépines (PBR) dans les cellules de l'estomac. La liaison du PK 11195 sur le PBR déclenche une sortie de Ca^{2+} des mitochondries probablement via le voltage-dependent anion channel (VDAC), élément important du pore de transition. Cette augmentation locale de la concentration de Ca^{2+} cytosolique provoquerait l'ouverture de canaux calciques du réticulum endoplasmique et de la membrane basolatérale, et ainsi une amplification de la première réponse calcique. Enfin, un canal Cl^- localisé dans la membrane apicale des cellules serait activé par le Ca^{2+} , induisant une sécrétion électrogénique.

RÉFÉRENCES

- Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor: biological role in steroidogenic cell function. *Endocrinol Rev* 1993; 14: 222-40.
- Casellas P, Galiegue S, Basile AS. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function. *Neurochem Int* 2002; 40: 475-86.
- Lacapere JJ, Delavoie F, Li H, et al. Structural and functional study of reconstituted peripheral benzodiazepine receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 284: 536-41.
- Jamin N, Neumann JM, Ostuni MA, et al. Characterization of the cholesterol recognition amino acid consensus sequence of the peripheral-type benzodiazepine receptor. *Mol Endocrinol* 2004 online.
- Lacapere JJ, Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptor: structure and function of a cholesterol-binding protein in steroid and bile acid biosynthesis. *Steroids* 2003; 68: 569-85.
- Wendler G, Lindemann P, Lacapere JJ, Papadopoulos V. Protoporphyrin IX binding and transport by recombinant mouse PBR. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 847-52.
- Shoshan-Barmatz V, Gincel D. The voltage-dependent anion channel: characterization, modulation, and role in mitochondrial function in cell life and death. *Cell Biochem Biophys* 2003; 39: 279-92.
- Ostuni MA, Marazova K, Peranzi G, et al. Functional characterization and expression of PBR in rat gastric mucosa: stimulation of chloride secretion by PBR ligands. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G1069-80.
- Ostuni MA, Peranzi G, Ducroc R, et al. Caractérisation du récepteur périphérique des benzodiazépines dans l'intestin de rat. *Gastroenterol Clin Biol* 2004; 28: A86.
- Boujrad N, Hudson JR Jr, Papadopoulos V. Inhibition of hormone-stimulated steroidogenesis in cultured Leydig tumor cells by a cholesterol-linked phosphorothioate oligodeoxynucleotide antisense to diazepam-binding inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5728-31.
- Masmoudi O, Gandolfo P, Leprince J, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) stimulates endozepine release from cultured rat astrocytes via a PKA-dependent mechanism. *FASEB J* 2003; 17: 17-27.
- Han Z, Slack RS, Li W, Papadopoulos V. Expression of peripheral benzodiazepine receptor (PBR) in human tumors: relationship to breast, colorectal, and prostate tumor progression. *J Recept Signal Transduct Res* 2003; 23: 225-38.
- Maaser K, Grabowski P, Sutter AP, et al. Overexpression of the peripheral benzodiazepine receptor is a relevant prognostic factor in stage III colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3205-9.
- Galiegue S, Tinel N, Casellas P. The peripheral benzodiazepine receptor: a promising therapeutic drug target. *Curr Med Chem* 2003; 10: 1563-72.