



# UN EXEMPLE DE CIRCUIT SYNTHÉTIQUE DE GÈNES REPOSANT SUR LE PRINCIPE DE LA BOUCLE FERMÉE POUR RÉGULER UNE MALADIE MÉTABOLIQUE

## AN EXAMPLE OF A SYNTHETIC GENE CIRCUIT BASED ON THE CLOSED-LOOP PRINCIPLE TO REGULATE A METABOLIC DISEASE

Clélia GIRAUDOT<sup>1,2,3</sup> 

Manuscrit initial reçu le 11 mars 2025, manuscrit révisé reçu le 2 mai 2025 et accepté le 14 mai 2025, révision éditoriale le 3 juin 2025

Communication présentée le 3 avril 2025 lors de la « Séance annuelle des Lauréats » de l'Académie vétérinaire de France

**Mots-clés :** thérapie cellulaire, ingénierie biomédicale, système à boucle fermée, cellules génétiquement modifiées, trouble endocrinien

**Keywords:** cell therapy, biomedical engineering, closed loop system, genetically engineered cells, endocrine disorder

## LES CIRCUITS SYNTHÉTIQUES DE GÈNES FONCTIONNANT À BOUCLE FERMÉE DANS LES NOUVELLES THÉRAPIES CELLULAIRES

Les thérapies cellulaires consistent à greffer, injecter ou implanter des cellules vivantes afin de soigner des maladies, que ce soit pour régénérer des tissus endommagés ou pour combattre des cancers (Guedan *et al.* 2019). Elles ont des champs d'application extrêmement variés, allant de la médecine régénérative à la greffe de moelle osseuse et à l'immunothérapie. Parmi elles, l'immunothérapie cellulaire, avec l'exemple des cellules CAR T, a transformé le traitement de certaines hémopathies malignes (Asmamaw Dejenie *et al.* 2022). Les circuits synthétiques de gènes appartiennent à une nouvelle génération de thérapie cellulaire appelée *cell-based therapy*, visant à doter des cellules de nouvelles fonctions par modification génétique.

1- Docteur vétérinaire

2- École normale supérieure de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

3- Université de Lyon, VetAgro Sup, Marcy-l'Étoile, France

Courriel : [clelia.giraudot@ens-lyon.fr](mailto:clelia.giraudot@ens-lyon.fr)



Les recherches en biologie synthétique, comme l'étude de circuits synthétiques de gènes, cherchent à développer de nouveaux systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature (Xie & Fussenegger 2018). Ils consistent à mettre en œuvre des circuits logiques dans une cellule, à l'image des circuits électroniques. Ces nouveaux outils biologiques sont capables de répondre de façon logique et contrôlable à leur environnement, et de réaliser de nouvelles fonctions (Chakraborty *et al.* 2022). Un circuit en boucle fermée a pour fonction de réguler un processus biologique en associant un ou plusieurs récepteurs (« senseurs »), une voie de transduction du signal et des effecteurs (Stefanov & Fussenegger 2022).

## APPLICATIONS À LA MALADIE DE CUSHING

L'une des applications potentielles concerne la régulation de l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) dans la maladie de Cushing. Cette maladie est due à la présence d'un adénome hypophysaire qui sécrète un excès d'ACTH, ce qui stimule la production de glucocorticoïdes par les glandes surrénales via l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cela entraîne un hypercortisolisme chronique, aussi appelé hypercorticisme. La maladie de Cushing est à différencier du syndrome de Cushing, qui résulte également d'un hypercortisolisme chronique, mais dont la cause principale est iatrogène, par l'administration massive de glucocorticoïdes. Chez le chien, la prévalence de l'hypercortisolisme chronique est d'environ 0,2 % (Carotenuto *et al.* 2019). Même s'il est difficile d'estimer le nombre de cas de syndrome de Cushing iatrogène, il semble largement majoritaire. Une large étude rétrospective de 2018 sur les centres hospitaliers universitaires vétérinaires en Amérique du Nord montre que 65 % des cas d'hypercorticisme chez le chien n'ont pas d'origine diagnostiquée (Hoffman *et al.* 2018). Chez l'homme, la maladie de Cushing a une présentation similaire et l'incidence a été estimée entre 1,2 à 2,5 nouveaux cas par million et par an (Etxabe & Vazquez 1994 ; Lindholm *et al.* 2001). Ainsi, cette maladie commune à l'homme et à l'animal pourrait bénéficier d'une approche unifiée utilisant une thérapie cellulaire reposant sur le principe de la boucle fermée.

L'ACTH est un biomarqueur spécifique de la maladie de Cushing, bien que son dosage soit délicat en raison de sa demi-vie très courte (Veldhuis *et al.* 2001). Chez les patients humains atteints de la maladie de Cushing, la concentration plasmatique d'ACTH est en moyenne multipliée par sept (Hong *et al.* 2015). Chez l'homme, le traitement de première intention repose sur l'ablation de la tumeur hypophysaire par chirurgie transsphénoïdale, mais cette approche est inefficace chez 20 à 40 % des patients, soit en raison de récurrences causées par une ablation incomplète, soit en raison d'une ablation excessive entraînant un hypopituitarisme (Fleseriu *et al.* 2021). En revanche, cette chirurgie n'est pas courante chez le chien, en raison de sa complexité technique, à laquelle s'ajoute la diversité anatomique des crânes de chiens (forme brachycéphale ou dolichocéphale...). Dans l'ensemble, environ la moitié des patients humains atteints de la maladie de Cushing n'ont pas d'option thérapeutique satisfaisante (Gilis-Januszewska *et al.* 2022). Un circuit synthétique de gènes à boucle fermée régulant l'ACTH représente donc une perspective de traitement particulièrement intéressante pour les patients atteints de la maladie de Cushing.

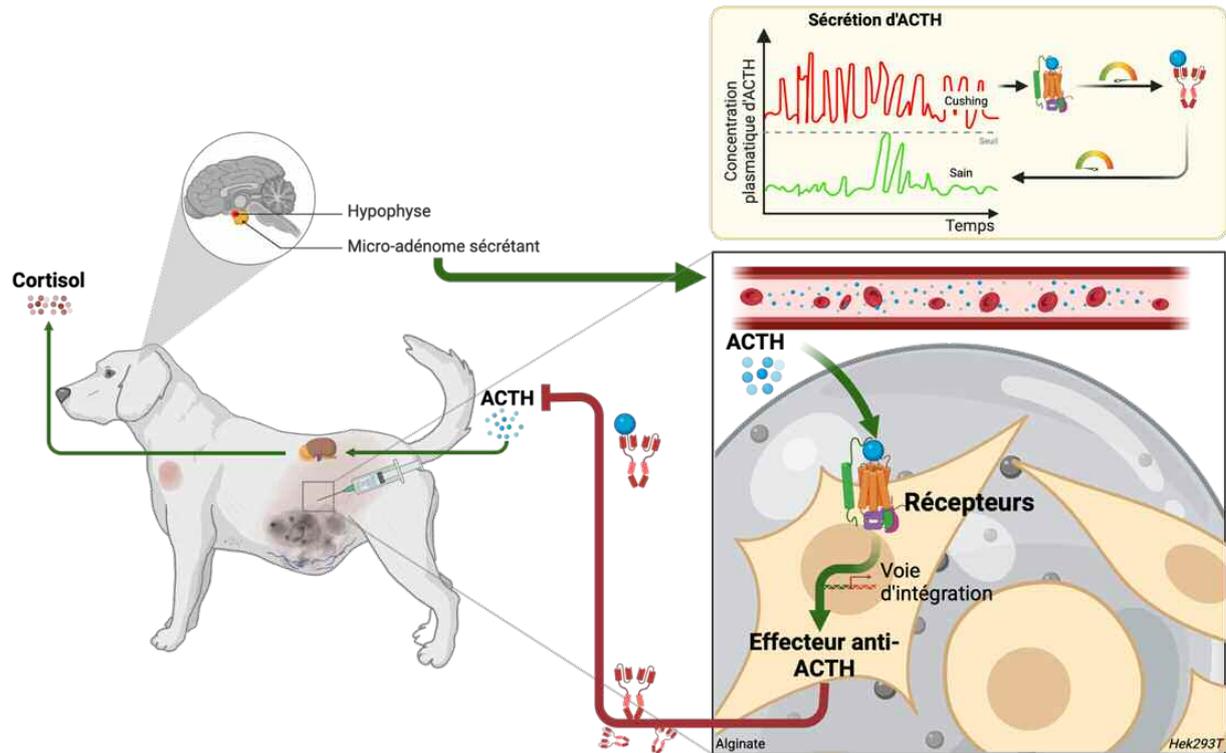
## PREUVE DE CONCEPT EXPÉRIMENTALE

Le défi du traitement de la maladie de Cushing est d'obtenir une régulation fine de la concentration plasmatique d'ACTH. En effet, une inhibition excessive de l'ACTH pourrait entraîner d'autres maladies, comme l'hypopituitarisme. Un circuit génétique en boucle fermée pourrait répondre à cette exigence en ajustant dynamiquement la production d'un effecteur anti-ACTH en fonction des niveaux plasmatiques de l'ACTH. En effet, d'après le principe de la boucle fermée, l'effecteur anti-ACTH n'est produit que lorsque la concentration d'ACTH dépasse le seuil de stimulation du senseur.

La partie expérimentale de notre étude s'est attachée à démontrer l'efficacité *in vitro* d'un senseur d'ACTH et d'un effecteur anti-ACTH, puis le fonctionnement coordonné du circuit complet chez des cellules modifiées pour exprimer tous les éléments du circuit. Elle a été réalisée dans le laboratoire de Martin Fussenegger, qui fait partie de l'École Polytechnique Fédérale de Zurich (Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, ETHZ).

La figure 1 illustre le fonctionnement théorique du circuit *in vivo*. Les cellules régulatrices sont encapsulées et injectées par voie intrapéritonéale, et l'ACTH plasmatique est détectée en permanence grâce à l'expression de deux récepteurs membranaires. Au-delà d'un certain seuil, l'ACTH entraîne l'activation d'un promoteur minimal synthétique au sein des cellules régulatrices, contrôlant ainsi l'expression de l'effecteur anti-ACTH qui est sécrété par les cellules et diffuse dans la circulation générale. Cet effecteur neutralise l'ACTH circulant, normalisant ainsi les niveaux de cortisol et réduisant les symptômes de la maladie de Cushing. Dès que la concentration d'ACTH revient à la normale, la production d'effecteurs cesse, évitant tout risque d'hypopituitarisme.





**Figure 1.** Conception d'un circuit synthétique de gènes en boucle fermée pour réguler le niveau d'ACTH circulant chez le chien.

Le circuit synthétique de gènes conçu dans cette étude aurait pour objectif de réguler le niveau d'ACTH circulant chez un chien atteint de la maladie de Cushing. Un implant contenant des cellules génétiquement modifiées avec le circuit de gènes serait implanté chez le chien. L'excès d'ACTH produit par le micro-adénome sécrétant serait détecté par les récepteurs et permettrait la sécrétion de l'effecteur anti-ACTH qui capterait l'ACTH et empêcherait la stimulation des glandes surrénales.

## CONCLUSION

Nos résultats<sup>1</sup> ont mis en évidence le potentiel de deux récepteurs de l'ACTH et d'un effecteur anti-ACTH dans la thérapie cellulaire pour la maladie de Cushing. Ils ont également validé le fonctionnement du circuit synthétique de gènes complet *in vitro*. Ces résultats sont prometteurs pour le développement d'un nouveau traitement de la maladie de Cushing, mais nécessitent la réalisation d'expériences dans un modèle murin de la maladie de Cushing afin de tester l'efficacité du circuit *in vivo*. Le modèle murin décrit par Kemeny *et al.* (2020), qui consiste à injecter des cellules tumorales hypophysaires humaines AtT20 par voie sous-cutanée à des souris immunodéficientes BALB/C nude, pourrait constituer un modèle approprié pour cette étude. Quelques modifications du circuit pourraient également être explorées afin d'optimiser sa dynamique et sa réactivité *in vivo*. La mise au point de ce circuit en boucle fermée offre la possibilité d'une régulation fine des concentrations d'ACTH chez les patients atteints de la maladie de Cushing. Les retombées potentielles de cette innovation sont vastes, allant de traitements plus ciblés avec moins d'effets secondaires à l'élaboration de nouveaux outils de diagnostic, améliorant ainsi significativement la qualité de vie des patients.

## REMERCIEMENTS

Je remercie l'Académie vétérinaire de France pour l'attribution du Prix de thèse d'exercice pour ces travaux, et mon jury de thèse, le Professeur Didier Pin et les Docteurs Véronique Lambert et Thomas Chetot, pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer mon travail et pour leurs conseils précieux.

1- Note de la rédaction : pour des raisons de confidentialité, les résultats ne peuvent être détaillés dans cet article, mais seront disponibles ultérieurement, dans une publication issue du laboratoire d'accueil de l'étudiante.



## CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

## COMITÉ D'ÉTHIQUE

Cet article ne présente pas de travaux impliquant des expérimentations sur l'animal ou l'humain nécessitant un avis éthique.

## RÉFÉRENCES

- Asmamaw Dejenie T, Tiruneh G/Medhin M, Dessie Terefe G *et al.* Current updates on generations, approvals, and clinical trials of CAR T-cell therapy. *Hum Vaccin Immunother.* 2022; 18(6): 2114254. <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2114254>
- Carotenuto G, Malerba E, Dolfini C *et al.* Cushing's syndrome-an epidemiological study based on a canine population of 21,281 dogs. *Open Vet J.* 2019; 9(1): 27 32. <https://doi.org/10.4314/ovj.v9i1.5>
  - Chakraborty D, Rengaswamy R, Raman K. Designing biological circuits: from principles to applications. *ACS Synth Biol.* 2022; 11(4): 1377 88. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.1c00557>
  - Etxabe J, Vazquez JA. Morbidity and mortality in Cushing's disease: an epidemiological approach. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994; 40(4): 479 84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1994.tb02486.x>
  - Fleseriu M, Auchus R, Bancos I *et al.* Consensus on diagnosis and management of Cushing's disease: a guideline update. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021; 9(12): 847 75. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00235-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00235-7)
  - Gilis-Januszczyńska A, Bogusławska A, Rzepka E *et al.* Individualized medical treatment options in Cushing disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022; 13: 1060884. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1060884>
  - Guedan S, Ruella M, June CH. Emerging cellular therapies for cancer. *Annu Rev Immunol.* 2019; 37:145-71. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041407>.
  - Hoffman JM, Lourenço BN, Promislow DEL *et al.* Canine hyperadrenocorticism associations with signalment, selected comorbidities and mortality within North American veterinary teaching hospitals. *J Small Anim Pract.* 2018; 59(11): 681 90. <https://doi.org/10.1111/jsap.12904>
  - Hong AR, Kim JH, Hong ES *et al.* Limited diagnostic utility of plasma adrenocorticotrophic hormone for differentiation between adrenal Cushing syndrome and Cushing disease. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2015; 30(3): 297 304. <https://doi.org/10.3803/EnM.2015.30.3.297>
  - Kemeny HR, Elsamadicy AA, Farber SH *et al.* Targeting PD-L1 initiates effective antitumor immunity in a murine model of Cushing disease. *Clin Cancer Res.* 2020; 26(5):1141 51. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3486>
  - Lindholm J, Juul S, Jørgensen JO *et al.* Incidence and late prognosis of Cushing's syndrome: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(1):117 23. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.1.7093>
  - Stefanov B-A, Fussenegger M. Biomarker-driven feedback control of synthetic biology systems for next-generation personalized medicine. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022; 10: 986210. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.986210>
  - Veldhuis JD, Iranmanesh A, Naftolowitz D *et al.* Corticotropin secretory dynamics in humans under low glucocorticoid feedback. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(11):5554 63. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.11.8046>
  - Xie M, Fussenegger M. Designing cell function: assembly of synthetic gene circuits for cell biology applications. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018; 19(8): 507 25. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0024-z>

