

# THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

*Biologie-Santé*

Spécialité : BS-Technologies Biomédicales, Vectorisation, Nanomédecine, Thérapie Cellulaire et Génique, Médecine Régénératrice et Biomatériaux

Par

**Clémence LIEVRE**

**Développement d'une plateforme préclinique, basée sur des cellules souches pluripotentes humaines, pour l'évaluation de vecteurs AAV recombinants dans la thérapie génique de la dystrophie musculaire de Duchenne**

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 19 Juin 2026

Unité de recherche : TaRGeT - INSERM UMR1089

## Rapporteurs avant soutenance :

Sonia ALBINI Group leader – Généthon  
Aurélié GOYENVALLE Directeur de recherche - INSERM

## Composition du Jury :

Président :	Prénom Nom	Fonction et établissement d'exercice (8)(à préciser après la soutenance)
Examineurs :	Karl ROUGER	Directeur de recherche - INRAE
	Thierry VANDENDRIESSCHE	Professeur des universités – Université de Bruxelles
Dir. de thèse :	Caroline LE GUINER	Ingénieur hospitalier principal – CHU Nantes
Co-dir. de thèse :	Jean-Baptiste DUPONT	Chercheur contractuel - INSERM

**FRANC** Développement d'une plateforme préclinique, basée sur des cellules souches pluripotentes humaines, pour l'évaluation de vecteurs AAV recombinants dans la thérapie génique de la dystrophie musculaire de Duchenne

**Mots clés :** Dystrophie musculaire de Duchenne, Thérapie génique, Vecteurs viraux adéno-associés, Modèles précliniques, Tissus musculaires bio-ingénierés *in vitro*, Cellules souches induites à la pluripotence

**Résumé :** Bien que la thérapie génique utilisant les vecteurs viraux adénoassociés (AAV) soit parmi les approches thérapeutiques les plus prometteuses pour la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), des effets indésirables graves et un manque d'efficacité ont été observés en clinique chez les patients par manque de prédiction des modèles animaux utilisés classiquement dans les études précliniques. Le développement de modèles musculaires *in vitro* reproduisant à la fois la structure et la fonction des tissus humains natifs est essentiel pour mieux comprendre la physiopathologie et améliorer la fiabilité des études précliniques. Durant ce travail de thèse, des tissus musculaires 3D (EMT) ont été développés à partir de cellules souches humaines induites à la pluripotence (hiPSC). Après avoir prouvé la faisabilité des tests de thérapie génique *in vitro* dans un contexte cellulaire humain, il a été montré que l'efficacité

relative de huit sérotypes d'AAV naturels dépendait du niveau de maturation du tissu musculaire. Dans les tissus plus matures, soumis à un étirement mécanique uniaxial, les sérotypes connus pour leur potentiel clinique chez les patients atteints de troubles neuromusculaires sont les plus efficaces. Ces modèles matures sont également capables de prédire la meilleure efficacité des variants artificiels spécialement conçus pour améliorer la transduction musculaire. En outre, des analyses préliminaires ont permis de caractériser le phénotype DMD *in vitro* par étude transcriptomique. Dans l'ensemble, ces travaux démontrent le potentiel des EMTs dérivés de hiPSCs dans les études précliniques des vecteurs AAV pour la DMD, pour des tests plus éthiques, prédictifs et rapides.

**Title :** Development of a preclinical platform based on human pluripotent stem cells for the evaluation of recombinant AAV vectors in gene therapy for Duchenne muscular dystrophy

**Keywords :** Duchenne muscular dystrophy, Gene therapy, Adeno-associated viral vectors, Preclinical models, *In vitro* bioengineered muscle tissue, Induced pluripotent stem cells

**Abstract :** Although gene therapy using adeno-associated viral (AAV) vectors is among the most promising therapeutic approaches for Duchenne muscular dystrophy (DMD), serious adverse effects and a lack of efficacy have been observed in clinical trials due to the limited predictive value of the animal models traditionally used in preclinical studies. The development of *in vitro* muscle models that replicate both the structure and function of native human tissues is essential for better understanding pathophysiology and improving the reliability of preclinical studies. During this thesis work, 3D muscle tissues (EMT) were developed from human induced pluripotent stem cells (hiPSCs). After demonstrating the feasibility of *in vitro* gene therapy testing in a human cellular context, it was shown that the

relative efficacy of eight natural AAV serotypes depended on the degree of muscle tissue maturation. In more mature tissues subjected to uniaxial mechanical stretching, the serotypes known for their clinical potential in patients with neuromuscular disorders are the most effective. These mature models are also capable of predicting the superior efficacy of artificial variants specifically designed to enhance muscle transduction. In addition, preliminary analyses have enabled the characterization of the DMD phenotype *in vitro* through transcriptomic studies. Overall, this work demonstrates the potential of hiPSC-derived EMTs in preclinical studies of AAV vectors for DMD, to enable more ethical, predictive, and rapid.