

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : « Biologie cellulaire, biologie du développement »

Par

Julie WARIN

**Etude de la différenciation de cellules notochordales
et du développement du disque intervertébral
à partir de cellules souches pluripotentes induites humaines**

Thèse présentée et soutenue à NANTES, le 16 Décembre 2024

Unité de recherche : INSERM UMR 1229, RMeS Regenerative Medicine and Skeleton

Rapporteurs avant soutenance :

Valérie DUPE

Chargée de recherche

IGDR, UMR 6290, CNRS-UR1,
Université de Rennes

Ludovic VALLIER

Professeur des Universités

Berlin Institute of Health
Max Planck Institute for Molecular Genetics

Composition du Jury :

Président : Prénom Nom Fonction et établissement d'exercice (8) (*à préciser après la soutenance*)

Examineurs : Christian JORGENSEN

Professeur des Universités

IRMB UMR 1183,

Université de Montpellier

Benoît SORRE

Chargé de Recherche

Physique des cellules et cancer, UMR168,
Institut Curie

Charlène GUILLOT

Chargée de recherche

iGReD, UMR 6293,

Université de Clermont-Ferrand

Dir. de thèse : Anne CAMUS

Directrice de recherche

RMeS, UMR1229

Nantes Université

Titre : Etude de la différenciation de cellules notochordales et du développement du disque intervertébral à partir de cellules souches pluripotentes induites humaines

Mots clés : Cellules notochordales, nucléopulpecytes, cellules souches pluripotentes induites humaines, disque intervertébral, étude transcriptomique, culture 3D

Résumé : Environ 40% des lombalgies chroniques dans le monde sont liées à la dégénérescence du noyau pulpeux (NP), la partie centrale du disque intervertébral (DIV), pour laquelle il n'existe actuellement aucun traitement curatif. Le NP contient des nucléopulpecytes (NPCytes), dérivés de la notochorde embryonnaire (NC), intégrés dans une matrice hydratée. Les cellules notochordales (CNT) jouent un rôle clé dans l'homéostasie du DIV. Bien que les CNT dérivées de cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSC) soient prometteuses en médecine régénérative, leur maturation insuffisante limite leurs effets. Les mécanismes de différenciation des hiPSC en CNT immatures, puis en cellules vacuolées matures et en NPCytes, restent peu compris.

Ce projet vise à identifier les trajectoires et acteurs moléculaires régulant cette différenciation et maturation.

En intégrant des données transcriptomiques in vitro et in vivo à l'échelle unicellulaire, nous avons établi une signature moléculaire des CNT et surmonté les défis de l'étude des premiers stades de la notochorde humaine. Grâce à une approche temporelle, nous avons identifié des régulateurs de la différenciation cellulaire. Nos résultats montrent que les cellules différenciées peuvent se transformer en NPCytes et produire une matrice très hydratée. Cette étude révèle des éléments essentiels pour préserver le phénotype des NLC, favoriser leur maturation et leur différenciation en NPCytes, offrant ainsi des perspectives pour la régénération des tissus discaux.

Title : Study of notochordal cell differentiation and intervertebral disc development using human induced pluripotent stem cells.....

Keywords : Notochordal cells, nucleopulpecytes, human induced pluripotent stem cells, intervertebral disc, transcriptomic study, 3D culture

Abstract : Around 40% of chronic lower back pain cases worldwide are linked to degeneration of the nucleus pulposus (NP), the central part of the intervertebral disc (IVD), for which there is currently no curative treatment. The NP contains nucleopulpecytes (NPCytes), derived from the embryonic notochord (NC), embedded in a hydrated matrix. Notochordal cells (NC cells) play a key role in maintaining IVD homeostasis. Although NC cells derived from human-induced pluripotent stem cells (hiPSC) show promise in regenerative medicine, their insufficient maturation limits their therapeutic effects. The mechanisms driving hiPSC differentiation into immature NC cells, then into mature vacuolated cells and NPCytes, remain poorly understood.

This project aims to identify the molecular pathways and key regulators guiding this differentiation and maturation. By integrating in vitro and in vivo transcriptomic data at the single-cell level, we established a comprehensive molecular signature for NC cells and overcame challenges related to studying early-stage human notochord. Through a time-course approach, we identified key regulators of cell fate decisions during differentiation. Our results demonstrate that differentiated cells have the potential to become NPCytes and produce a highly hydrated matrix. This study reveals crucial insights for preserving the phenotype of NLCs, promoting their maturation, and their differentiation into NPCytes, providing new perspectives for intervertebral disc tissue regeneration.