

# Comparaison de l'expression des gènes du tissu adipeux entre les porcs Large White et Basque

Annie VINCENT (1,2), Isabelle LOUVEAU (1,2), Joanna WYSZYNSKA-KOKO (1,2), Bénédicte LEBRET (1,2), Marie DAMON (1,2)

(1) INRA, UMR 1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles ; (2) AgroCampus-Ouest, UMR 1079 SENAH, 35000 Rennes

Annie.vincent@rennes.inra.fr

Avec la collaboration technique de Nathalie BONHOMME (1,2), Patrick ECOLAN (1,2), Sandrine TACHER (1,2), Christine TREFEU (1,2) et le personnel de l'élevage et de l'abattoir (1,2)

## Gene expression in subcutaneous adipose tissue: differences between Large White and Basque pigs

Body fat accumulation influences the economical value and product quality in pig production. To enhance our knowledge of the mechanisms underlying fat accumulation, subcutaneous adipose tissue gene expression was studied in two extreme pure breeds of pigs: Large White (LW; conventional, high lean meat content) and local Basque pigs (B; low growth performance and high fat content) (Q-PorkChains European Program). All phenotypic analyses were performed on pigs with live weight of 35 kg and 145 kg. For transcriptomics analysis, a custom microarray with 15 028 oligonucleotides (Agilent) was developed, targeting transcripts expressed in pig adipose tissue. Comparison of gene expression in adipose tissue of LW and B pigs revealed that 1108 and 1474 genes were differentially expressed at 35 kg and 145 kg, respectively (adjusted p value <0,1). To highlight breed-specific differences, we focused our investigations on the 359 genes that were common to both stages. Some genes related to lipid and oxidative metabolisms were expressed more in LW than in B pigs. The finding that genes known to be involved in the immune response were over-expressed in B pigs compared with LW pigs support the notion that adipose tissue may play a significant role in the regulation of the immune system. Further gene ontological investigations should improve our knowledge on mechanisms related to fat accumulation.

## INTRODUCTION

La maîtrise du développement des tissus adipeux chez le porc est un objectif important pour la production porcine et un équilibre doit être trouvé pour valoriser au mieux les carcasses et améliorer la qualité. La génétique et les conditions d'élevage sont connues pour modifier les dépôts de lipides (Lebret et Mourou, 1998).

Néanmoins, les connaissances sur les mécanismes impliqués dans l'accumulation des lipides restent insuffisantes. Dans ce contexte, l'expression des gènes du tissu adipeux sous-cutané (TASC) a été étudiée en comparant le porc Basque (B), race locale, au porc Large White (LW), race conventionnelle. Le porc B est un modèle d'étude intéressant car il se caractérise par une croissance lente et une forte aptitude à déposer les lipides (Alfonso *et al.*, 2005).

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et échantillons

Des porcs mâles castrés de race LW ou B ont été élevés dans des conditions standards sur caillebotis au sein de l'élevage expérimental de l'UMR SENAH. Un premier groupe d'animaux (n=5 par race) a été abattu à 35 kg de poids vif (90 jours d'âge pour les porcs LW et 120 jours d'âge pour les porcs B). Un second groupe d'animaux (n=10 par race) a été abattu à 145 kg de poids vif (229 jours d'âge pour les porcs LW et 319 jours d'âge pour les porcs B). Des échantillons de TASC dorsal

ont été prélevés, immédiatement congelés dans l'azote liquide puis conservés à -70°C jusqu'à la réalisation des analyses.

### 1.2. Mesures des caractéristiques du tissu adipeux

La mesure d'épaisseur de lard dorsal (réglette) a été réalisée après l'abattage par mesure à la fente de la demi-carcasse entre les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> avant-dernières côtes. Les diamètres adipocytaires ont été mesurés sur coupe histologique de TASC.

### 1.3 Analyse du transcriptome

Les ARN totaux ont été extraits (Trizol, Invitrogen) puis purifiés sur colonnes (Nucleospin RNAII, Macherey-Nagel).

La quantification des ARN a été réalisée par spectrophotométrie (Nanodrop) et leur qualité a été vérifiée à l'aide du Bioanalyseur 2100 (Agilent). Pour mesurer ensuite l'expression des gènes, une puce ADN porcine synthétisée à façon (Agilent) qui comporte 15028 oligonucléotides ciblant des gènes exprimés dans les tissus adipeux, a été utilisée. Les échantillons ont été marqués au Cy3 et la référence (mélange d'ARN des échantillons) a été marquée au Cy5 (kit Low RNA Input Linear Amplification, Agilent).

Après hybridation, les puces ont été scannées sur scanner Agilent. Le prétraitement des données brutes, la normalisation et les analyses statistiques ont été réalisés avec le logiciel R (LIMMA). Les valeurs de p ont été corrigées selon la procédure de Benjamini-Hochberg pour les tests multiples et un seuil de 10% a été retenu. Une analyse de variance a été réalisée à chaque stade (35 kg et 145 kg) pour tester l'effet de la race.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Caractéristiques tissulaires

Les mesures d'épaisseur de lard dorsal réalisées aux deux stades d'abattage confirment les différences importantes d'adiposité entre les porcs LW et B (Tableau 1).

La plus forte adiposité des porcs B est associée à un diamètre adipocytaire plus élevé ( $P < 0,001$ ) aux deux stades.

### 2.2. Différentiel d'expression des gènes

L'analyse des données du transcriptome des porcs de 35 kg et 145 kg montre que l'expression des gènes dans le TASC diffère entre les porcs LW et B (Tableau 1).

Pour les animaux de 35 kg, 1108 gènes sur un total de 15028 sont exprimés différemment entre LW et B (valeur de  $p$  corrigée Benjamini-Hochberg).

Pour les animaux de 145 kg, 1474 gènes différentiels sont mis en évidence entre les deux races (valeur de  $p$  corrigée BH). Sur l'ensemble de ces gènes, l'effet race est retrouvé à la fois à 35 kg et 145 kg pour 359 gènes, avec des valeurs d'expression relative similaires aux 2 stades.

Parmi les gènes fortement surexprimés chez les porcs LW (expression relative  $> 2$ ), nous trouvons des gènes du métabolisme lipidique (élongation et transport des acides gras : ELOV3, FABPH), de l'oxydation mitochondriale (NADH deshydrogénase, ATP synthase, isocitrate deshydrogénase) et du métabolisme glucidique (PGM1). Une expression importante des gènes mitochondriaux dans le tissu adipeux chez le porc est également rapportée par Chen *et al.* (2006).

La mise en évidence d'une surexpression de gènes associés à la réponse immunitaire chez les porcs B (interleukine 6, gènes du complexe majeur d'histocompatibilité) renforce l'idée selon laquelle le TASC jouerait un rôle significatif sur le système immunitaire (Gabler et Spurlock, 2008 ; Galic *et al.*, 2010).

## CONCLUSION

Nos résultats montrent que les différences d'adiposité entre les porcs LW et B sont associées à des différences d'expression de gènes.

Il semblerait que l'expression des gènes du métabolisme oxydatif et lipidique soit plus élevée chez les porcs LW que chez les porcs B quelque soit le stade considéré.

L'analyse fonctionnelle en ontologies géniques de l'ensemble des gènes différentiels devraient permettre de mieux appréhender les mécanismes impliqués dans l'adiposité chez le porc.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245.

Les résultats et conclusions de cet article sont sous la seule responsabilité des auteurs et ne reflètent pas nécessairement la position de la Communauté Européenne.

Les auteurs remercient F. Moreews (équipe SIGENAE, INRA) pour l'annotation de la puce ADN et F. Gondret pour la mesure du diamètre adipocytaire.

**Tableau 1** - Caractéristiques du tissu adipeux sous-cutané des porcs LW et B

	35 kg (n=5 / race)			145 kg (n=10 / race)		
	LW	B	p	LW	B	p
<b>ELD (mm)</b>	7,4	13,4	0,03	18,2	46,6	<0,001
<b>Diam. adip. (<math>\mu</math>m)</b>	33,7	52,8	<0,001	68,3	92,61	<0,001
<b>Gènes différentiels</b>	1108		0,1*	1474		0,1*
<b>Gènes communs aux 2 stades</b>	359					

ELD ; épaisseur de lard dorsal, \* ; valeur de  $p$  corrigée Benjamini-Hochberg.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alfonso L., Mourot J., Insausti K., Mendizabal J.A., Arana A., 2005. Comparative description of growth, fat deposition, carcass and meat quality characteristics of Basque and Large White pigs. *Anim. Res.*, 54, 33-42.
- Chen C. H., Lin E. C., Cheng W.T., Sun H.S., Mersmann H.J., Ding S.T., 2006. Abundantly expressed genes in pig adipose tissue: An expressed sequence tag approach. *J. Anim. Sci.*, 84, 2673-2683.
- Gabler N.K., Spurlock M.E., 2008. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. *J. Anim. Sci.*, 86(E. Suppl.), E64-E74.
- Galic S., Oakhill J.S., Steinberg G.R., 2010. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 316, 129-139.
- Lebret B., Mourot J., 1998. Caractéristiques et qualité des tissus adipeux chez le porc. Facteurs de variation non génétiques. *INRA Prod. Anim.*, 11(2), 131-134.