

Identification des fonctions biologiques, spécifiques d'un tissu ou partagées entre tissus, associées aux différences d'efficacité alimentaire chez le porc en croissance

Florence GONDRET (1), Annie VINCENT (1), Magalie HOUÉE-BIGOT (2), Anne SIEGEL (3), Sandrine LAGARRIGUE (1), David CAUSEUR (2), Hélène GILBERT (4), Isabelle LOUVEAU (1)

(1) PEGASE, Agrocampus-Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France

(2) Laboratoire de Mathématiques Appliquées, Agrocampus-Ouest, Université Rennes-1, 35000 Rennes, France

(3) IRISA, INRIA, CNRS, 35042 Rennes, France

(4) GenPhySE, INRA, INPT, ENVT, Université de Toulouse, 31326 Castanet-Tolosan cedex, France

Florence.gondret@inra.fr

Identification des fonctions biologiques, spécifiques d'un tissu ou partagées entre tissus, et associées aux différences d'efficacité alimentaire chez le porc en croissance

Cette étude vise à décrire les réponses moléculaires communes entre tissus ou spécifiques d'un tissu chez des porcs en croissance sélectionnés de manière divergente sur la consommation moyenne journalière résiduelle (CMJR), une mesure de l'efficacité alimentaire. Des données transcriptomiques ont été acquises dans le muscle long dorsal, le foie et deux tissus adipeux, et analysés pour l'effet de la lignée (n = 24 porcs par lignée). La divergence de CMJR affecte principalement le profil moléculaire du muscle, alors que le tissu adipeux sous-cutané est peu affecté. Des analyses de bio-informatique et de statistiques multidimensionnelles ont été mises en œuvre afin de déterminer les processus biologiques communs aux quatre tissus et les principaux gènes participant à la différence interindividuelle de CMJR. Les fonctions immunitaires, la réponse au stress oxydant et le métabolisme protéique sont les voies communes aux quatre tissus qui distinguent les porcs en fonction de la CMJR. De nombreux gènes immunitaires sont activés chez les porcs à CMJR élevée (les moins efficaces). Les gènes associés aux métabolismes du glucose et des lipides sont également affectés par la sélection mais d'une manière spécifique à chaque tissu. Ainsi, les gènes impliqués dans le métabolisme du glycogène sont activés dans le muscle des porcs à faible CMJR (les plus efficaces). Les gènes en lien avec l'oxydation des acides gras sont réprimés dans le muscle mais activés dans les deux tissus adipeux de ces mêmes porcs. Le métabolisme du cholestérol dans le foie et la panne semble également affecté par la sélection sur la CMJR. En conclusion, les fonctions non productives comme l'immunité et la défense contre le stress oxydant participeraient donc aux variations d'efficacité alimentaire.

Identification of biological functions specific to or shared by different tissues, associated with feed efficiency in growing pigs

This study aims to describe shared or specific molecular responses of different tissues in two lines of growing pigs divergently selected for residual feed intake (RFI), a measure of feed efficiency. Transcriptomics data were acquired in the longissimus muscle, liver and adipose tissues of two different anatomical locations, and analysed for the RFI line effect (n = 24 pigs per line). The most apparent effect of RFI divergence was seen in muscle, whereas subcutaneous adipose tissue was hardly affected. Molecular data were then analysed by bioinformatics and multidimensional statistics to unravel common biological processes across tissues and identify key genes participating in RFI difference. Immune response, response to oxidative stress and protein metabolism were the main biological routes across the four tissues that distinguished low and high RFI pigs. Many immune genes were over-expressed in tissues of high RFI pigs (less efficient). Different genes involved in energy use were also modulated by RFI difference but in a tissue-specific manner. The gene expression program related to glycogen utilization was specifically up-regulated in muscle of low RFI pigs (more efficient). Genes involved in fatty acid oxidation were rather down-regulated in the muscle of low RFI pigs, but were promoted in adipose tissues of the same pigs when compared with high RFI pigs. The cholesterol metabolism in liver and perirenal adipose tissue might also be affected by RFI difference. We conclude that non-productive functions such as immunity and defence against oxidative stress are involved in variations of feed efficiency.

INTRODUCTION

L'aliment représente près de 70% du coût de production du porc. Améliorer l'efficacité alimentaire est donc un enjeu crucial pour la filière porcine, d'autant plus que cela contribuera aussi à réduire l'impact environnemental de la production. La consommation alimentaire résiduelle (CMJR) est une mesure de l'efficacité alimentaire testée en expérience de sélection (Gilbert, 2015). La CMJR est définie comme la différence entre la consommation individuelle observée et celle prédite sur la base du poids métabolique du porc, de son gain de poids pendant une période de référence, et de sa composition corporelle. Les porcs à faible CMJR sont qualifiés d'efficaces. Cependant, les bases biologiques expliquant ce caractère restent à clarifier. Les analyses génomiques réalisées jusque-là n'ont pas permis d'identifier de région chromosomique à effet important, et peu de variants géniques sont décrits comme associés à la CMJR (Onteru *et al.*, 2013 ; Do *et al.*, 2014). Plusieurs gènes candidats ont été proposés, mais ils ne sont pas identiques entre études. Ils sont également impliqués dans diverses voies biologiques comme le métabolisme énergétique, la signalisation de l'insuline, la régulation du potassium, ou l'olfaction (Onteru *et al.*, 2013 ; Do *et al.*, 2014).

La multiplicité des processus internes à l'animal susceptibles de participer à la variation individuelle de CMJR, et surtout leur hiérarchie, restent donc encore mal connues. Des analyses transcriptomiques devraient permettre d'identifier ces différents processus fonctionnels en décrivant, dans des tissus cibles, l'expression de plusieurs milliers de gènes que l'on peut regrouper en groupes biologiques fonctionnels. Cela permettra en particulier d'anticiper d'éventuels effets défavorables associés à une sélection sur la CMJR et de proposer des stratégies pour les limiter et/ou améliorer l'efficacité alimentaire chez le porc en croissance.

Les lignées divergentes de porcs sélectionnés depuis plusieurs générations sur la CMJR fournissent une excellente ressource génétique pour l'étude des mécanismes associés à une différence génétique d'efficacité alimentaire. Les porcs de la lignée CMJR- sont plus efficaces et la proportion de longe dans leur carcasse est généralement supérieure à celle des porcs de la lignée CMJR+ (Faure *et al.*, 2013 ; Gondret *et al.*, 2014). Jusqu'à présent, seul un nombre limité d'études a été réalisé pour déterminer les profils transcriptomiques de tissus impliqués dans l'homéostasie énergétique en lien avec la CMJR (Lkhagvadorj *et al.*, 2010 ; Vincent *et al.*, 2015). Lorsque que plusieurs tissus sont considérés dans ces études, ils sont explorés séparément.

Cette étude vise à décrire et analyser les profils transcriptomiques du muscle long dorsal, de deux tissus adipeux et du foie, pour des porcs en croissance issus des lignées CMJR- et CMJR+ : elle se focalise notamment sur les processus partagés entre tissus mais envisage aussi certains mécanismes plus spécifiques à un (des) tissus.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux

Quarante-huit porcs issus de deux lignées divergentes sélectionnées depuis huit générations sur la CMJR par l'INRA ont été considérés (n = 24 porcs/lignée). Ils sont issus d'un dispositif expérimental précédemment présenté (Gondret *et*

al., 2014) incluant deux régimes iso-énergétiques et iso-protéiques mais de composition contrastée (riche en fibres et lipides ou riche en amidon) distribués durant l'engraissement. Les porcs ont été contrôlés entre 77 jours et 132 jours d'âge. A ce stade, tous les porcs ont été abattus 2h après leur dernier repas. Les effets de la lignée, du régime et de leur interaction sur les performances et la composition corporelle ont été testés par ANOVA (SAS v9.4, SAS Inst. Inc., Carry, NC, USA). Le muscle long dorsal (LD, dernière côte), le tissu adipeux sous-cutané dorsal adjacent (TASC ou gras de bardière), le tissu adipeux périrénal (panne) et le foie ont été prélevés, conditionnés et conservés à -75°C.

1.2. Analyses transcriptomiques

Les ARN totaux des quatre tissus ont été extraits par un protocole qui combine TRIzol® et purification sur colonne, quantifiés par spectrophotométrie, et leur qualité a été vérifiée. Le transcriptome de chaque tissu a été obtenu après marquage des ARN par le fluorochrome Cy3 puis hybridation (puce Agilent-037880/INRA_Sus scrofa_60K_v1, GPL1652464). Les données brutes (intensité des signaux) ont été filtrées puis normalisées. Dans chaque tissu, les effets de la lignée, du régime et de leur interaction ont été testés par ANOVA (R Core Team, 2013) pour chaque sonde moléculaire. L'absence d'interaction significative ($P > 0,05$) entre la lignée et le régime sur la croissance, la composition corporelle et les profils moléculaires tissulaires nous permet de considérer l'effet de la lignée indépendamment de celui du régime. Pour éditer la liste de gènes différemment exprimés (DE) entre lignées au sein de chaque tissu, un seuil de probabilité $P < 0,01$ et un rapport d'expression supérieur à 1,1 entre lignées ont été retenus (Fu *et al.*, 2010). L'expression de 6 à 12 gènes cibles pour chacun des quatre tissus a été aussi mesurée par qPCR en temps réel (technologie SybrGreen, Applied Biosystems). Les données obtenues par puces sont bien corrélées ($r = 0,84$) à celles obtenues par qPCR, prouvant la validité des mesures transcriptomiques.

1.3. Exploration des gènes différentiels (DE) à partir de plusieurs méthodes complémentaires

1.3.1. Détermination des gènes DE communs ou non entre les quatre tissus

Un diagramme de Venn représentant toutes les relations entre les gènes différentiels (DE) dans les quatre tissus a été construit à partir de l'outil en ligne VENNY (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>). Les nombres de gènes DE communs ou spécifiques à chaque tissu en ont été déduits.

1.3.2. Analyse fonctionnelle des gènes DE communs aux quatre tissus ou spécifiques d'un tissu

Il s'agit de regrouper les gènes DE selon les processus biologiques dans lesquels ils sont référencés en utilisant les bases d'ontologies fonctionnelles. Cette analyse a été réalisée à l'aide de l'outil en ligne DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>). Pour les gènes activés ou réprimés par la lignée, les groupes d'ontologie significativement enrichis ($P < 0,05$, score d'enrichissement > 1) par rapport à leur représentation dans un génome de référence, ont été ainsi considérés.

1.3.3. Analyse factorielle multiple

Pour résumer les transcriptomes tissulaires et les intégrer, une analyse factorielle multiple (AFM) a été réalisée. L'AFM consiste en une analyse en composantes principales (ACP) sur l'ensemble des données transcriptomiques, mais pondère

chaque groupe de variables de telle sorte que l'influence des groupes (ici, les tissus) soit identique. L'AFM permet ainsi de représenter les facteurs principaux de chaque groupe (combinaisons linéaires de sondes moléculaires) sur un même plan. Cette analyse permet notamment d'identifier les gènes DE communs entre tissus et qui ont le plus de poids dans la variabilité globale représentée par les milliers de données moléculaires obtenues pour les 48 porcs.

2. RESULTATS

2.1. Résumé des phénotypes des animaux

Les porcs CMJR- sont plus efficaces ($P < 0,001$), comme indiqué par leur indice de consommation (IC) plus faible (Tableau 1). A un même âge à l'abattage, ils sont plus lourds et plus musclés ($P < 0,01$) que les porcs CMJR+. L'adiposité de la carcasse évaluée par l'épaisseur et le poids relatif de la bardière (correspondant au tissu adipeux sous-cutané dorsal, TASC) et par le poids de la panne, n'est pas significativement différente entre porcs CMJR- et CMJR+.

Tableau 1 – Performances des porcs selon la lignée¹

	CMJR-	CMJR+	ETM	P
Age, j	132	131	4	-
Consommation, kg/j	2,25	2,31	0,1	0,09
GMQ, g/j	882	796	73	<0,001
IC (77-132 j)	2,6	2,9	0,1	<0,001
Poids vif, kg	78	73	5	<0,01
ELD, mm	13,6	14,0	1,0	0,43
%panne	0,7	0,7	0,1	0,51
%bardière	6,8	7,3	1,0	0,11
%longe	28,7	27,8	0,7	<0,001
%muscle long dorsal	5,4	4,9	0,1	0,05

¹ELD : épaisseur de la bardière ; GMQ : gain moyen quotidien ; IC : indice de consommation ; ETM : écart type moyen ; les poids relatifs des tissus sont exprimés en % de la ½ carcasse (sauf la panne, exprimée en % du poids vif)

2.2. La divergence de CMJR affecte principalement l'expression des gènes dans le muscle

Un effet significatif de la lignée est observé sur le transcriptome des quatre tissus. Dans le muscle LD (Tableau 2), les expressions de 2 494 gènes sont affectées par la lignée au seuil retenu ($P < 0,01$). Ce nombre est deux fois plus faible dans le foie et la panne, et quatre fois plus faible dans le TASC.

Tableau 2 – Gènes tissulaires affectés par la lignée¹

Tissus	Nombre de gènes DE	
	Total	Spécifiques
Muscle LD	2494	1785
Foie	1102	487
Panne	913	281
TASC	647	176
Communs aux 4 tissus	147	

¹DE : gènes différemment exprimés entre lignées ; LD : long dorsal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané dorsal

Un sous-ensemble de 147 gènes DE communs aux quatre tissus est identifié (Tableau 2). Cependant, la plupart des gènes sont modulés exclusivement dans un tissu. Ainsi, 72% des gènes DE dans le muscle LD ne sont pas affectés par la sélection sur la CMJR dans les autres tissus. Seulement 37% des gènes DE dans la panne sont également affectés par la lignée dans le TASC, indiquant des différences dans la réponse à la sélection selon la localisation anatomique des dépôts adipeux.

2.3. Des processus biologiques partagés entre tissus sont mis en exergue

L'analyse ontologique des 147 gènes communs aux quatre tissus indique que les processus immunitaires, la réponse au stress oxydant, le métabolisme protéique (traduction des ARN pour la synthèse protéique, transport intracellulaire, et protéolyse) ainsi que l'apoptose (mort cellulaire) seraient les processus biologiques majeurs affectés par la sélection sur la CMJR dans les quatre tissus étudiés (Tableau 3).

Tableau 3 – Processus biologiques partagés entre tissus¹

Processus	Nombre de gènes DE
Réponse immunitaire	13
Transport intracellulaire protéique	17
Traduction (ribosomes)	4
Protéolyse	17
Réponse au stress oxydant	6
Métabolisme des phospholipides	6
Mort cellulaire	18

¹Processus significativement enrichis parmi une liste de 147 gènes différemment exprimés (DE) entre lignées CMJR et communs aux quatre tissus

En parallèle à cette analyse, une AFM a été réalisée pour résumer les variations moléculaires des quatre tissus au sein d'un référentiel commun, afin de faciliter l'identification des gènes les plus importants dans la divergence de CMJR. Pour cela, nous avons considéré les sondes moléculaires dont l'expression était très fortement corrélée à la première dimension de l'AFM ($|r| > 0,70$; $P < 0,001$), dimension qui oppose les deux lignées CMJR. Un résumé des gènes ainsi identifiés est présenté schématiquement dans la figure 2.

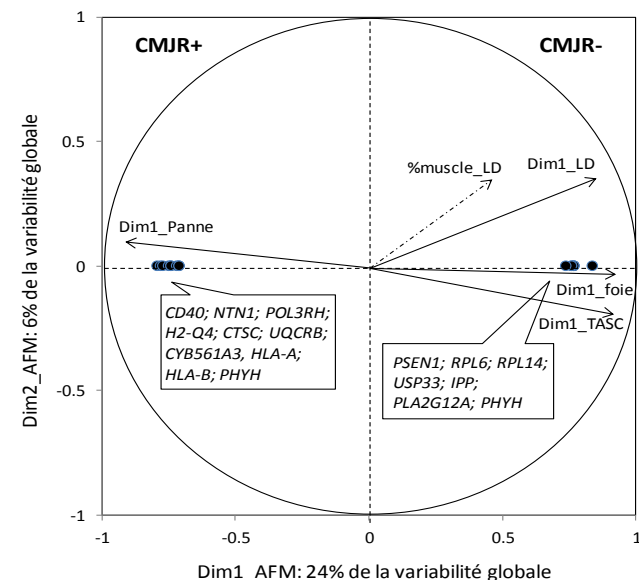


Figure 2 – AFM séparant les lignées et rassemblant les variations moléculaires des quatre tissus¹

¹Les premières dimensions (Dim1_) de chaque tissu qui résument une part significative de la variabilité des transcriptomes contribuent à part égale à la première dimension de l'AFM. Les gènes les plus corrélés sont indiqués.

LD : muscle long dorsal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané dorsal

La surexpression de plusieurs gènes impliqués dans la réponse immunitaire (CD40, CTSC, POLR3H, H2-Q4), incluant également des gènes codant pour des antigènes présents à la surface des leucocytes (HLA-A, HLA-B), est clairement associée à des valeurs élevées de CMJR.

De même, l'activation de deux gènes participant au processus d'oxydo-réduction (*CYB561A3*, *UQCRB*) contribue à une CMJR élevée. La surexpression de *NTN1* codant pour la nétrine, une protéine décrite comme ayant un rôle dans la migration cellulaire, contribue également à discriminer les porcs CMJR+ des porcs CMJR-. A l'inverse, l'activation de gènes ribosomiaux (*RPL6*, *RPL14*) participant à la traduction, de *PSEN1* (préséniline) impliqué dans le transport intracellulaire, et de deux gènes liés à la dégradation protéique par le système dépendant de l'ubiquitine (*USP33*, *IPP*), est associée à une faible CMJR. Enfin, *PHYH* (phytanoyl-coenzyme A 2-hydroxylase) contribue à la fois à une CMJR faible et à une CMJR élevée : ce paradoxe apparent s'explique par le fait que ce gène, connu pour participer à l'oxydation des acides gras, est activé dans les tissus adipeux des porcs CMJR- mais réprimé dans le muscle et le foie de ces mêmes porcs. Notons que le poids relatif du muscle long dorsal (%muscle_LD) est modérément corrélé à la première dimension de l'AFM ($r = 0,45$). Ceci suggère qu'une partie seulement des processus moléculaires ainsi résumés dans les quatre tissus contribue aux variations de masse musculaire entre lignées.

2.4. Les gènes spécifiques d'un tissu participent à une grande variété de fonctions productives et non-productives

2.4.1. Muscle

Nous identifions 1 202 gènes activés et 583 gènes réprimés exclusivement dans le muscle des porcs CMJR- comparativement aux porcs CMJR+. Ces gènes sont impliqués dans une grande diversité de mécanismes biologiques. De nombreux gènes réprimés spécifiquement dans le muscle des porcs CMJR- sont connus pour participer aux réponses immunitaires (Tableau 4). Ce sont notamment les gènes codant pour les récepteurs TLR ou pour les facteurs du complément, et dont les rôles sont de reconnaître les pathogènes et d'activer la réponse inflammatoire. D'autres gènes réprimés chez les porcs CMJR- sont décrits comme impliqués dans le métabolisme (synthèse et oxydation) des lipides (Tableau 5).

Tableau 4 – Processus liés à la défense immunitaire impliquant des gènes spécifiquement modulés au sein d'un tissu¹

Réprimés chez les porcs CMJR-	Nombre de gènes DE
Muscle LD	
Réponse immunitaire	62
Réponse immunitaire acquise	18
Régulation de la production de cytokines	22
Foie	
Réponse de défense	17
Régulation de la réponse immunitaire	7
Réponse immunitaire humorale	6
TASC	
Réponse de défense	7

¹DE : gènes différemment exprimés entre lignées ; LD : long dorsal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané dorsal

A l'inverse, parmi les gènes musculaires activés chez les porcs CMJR-, on trouve surtout de nombreux acteurs du métabolisme protéique (synthèse, transport et protéolyse ; données non présentées). Les gènes musculaires activés chez les porcs CMJR- participent aussi au métabolisme du glucose et du glycogène, et à la génération de l'énergie qui en découle via l'activité mitochondriale (Tableau 5).

2.4.2. Foie

Un total de 256 gènes activés et de 231 gènes réprimés spécifiquement dans le foie est rapporté pour les porcs CMJR-

comparativement aux porcs CMJR+. Les gènes réprimés spécifiquement dans le foie des porcs CMJR- sont majoritairement impliqués dans les mécanismes de défense cellulaire ou humorale (Tableau 4). Parmi les processus enrichis en gènes activés chez les porcs CMJR-, figurent principalement la régulation des signaux intracellulaires (données non présentées) ainsi que la régulation du transport des lipides et du cholestérol (Tableau 5).

Tableau 5 – Processus biologiques liés aux métabolismes des glucides ou des lipides et impliquant des gènes spécifiquement modulés au sein d'un tissu¹

Processus	Nombre de gènes DE
Réprimés chez les porcs CMJR-	
Muscle LD	
Métabolisme des acides gras (dont biosynthèse des lipides)	27 (19)
Panne	
Métabolisme des stéroïdes et du cholestérol	7
Activés chez les porcs CMJR-	
Muscle LD	
Génération de l'énergie (dont métabolisme du glucose)	31 (26)
Métabolisme du glycogène	8
Régulation de l'entrée du glucose	10
Foie	
Transport des lipides et du cholestérol	6
TASC	
Génération de l'énergie (dont catabolisme des lipides)	11 (6)

¹DE : gènes différemment exprimés entre lignées ; LD : long dorsal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané dorsal

2.4.3. Tissus adipeux

Les gènes affectés par la lignée de manière spécifique aux tissus adipeux sont moins nombreux : 126 gènes activés et 155 gènes réprimés chez les porcs CMJR- exclusivement dans la panne, et 101 gènes activés et 176 gènes réprimés chez ces mêmes porcs exclusivement dans le TASC. Ces faibles nombres rendent difficile l'identification de processus biologiques significativement enrichis en gènes différentiels dans ces deux tissus. Pour la panne, plusieurs gènes liés au métabolisme du cholestérol sont réprimés chez les porcs CMJR- (Tableau 5). Pour le TASC, sept gènes impliqués dans les processus de défense immunitaire sont réprimés chez les porcs CMJR- (Tableau 4) : ils codent notamment pour des chimiokines, c'est-à-dire des cytokines sécrétées par les adipocytes et les macrophages infiltrés dans le tissu adipeux. A l'inverse, des gènes impliqués dans le catabolisme lipidique et dans la production d'énergie sont activés dans le TASC des porcs CMJR- (Tableau 5).

3. DISCUSSION

Les phénotypes animaux rapportés dans cette étude sont globalement cohérents avec les études antérieures sur les lignées INRA sélectionnées de manière divergente sur la CMJR (Gilbert *et al.*, 2007 ; Faure *et al.*, 2013). Comme attendu, les porcs CMJR- ont une efficacité alimentaire supérieure, même si dans ce sous-échantillon, cela s'explique non seulement par une tendance à une consommation alimentaire réduite mais aussi par un gain de poids plus rapide. La composition de la carcasse est affectée par la sélection, avec une proportion de longe plus élevée chez les porcs CMJR- pour une adiposité similaire à celle

des porcs CMJR+. Concernant l'expression des gènes dans les tissus, nos résultats indiquent clairement que la divergence de CMJR est associée à des changements subtils dans un grand nombre de gènes dans différents tissus, confirmant la complexité des caractères liés à l'efficacité alimentaire. La sélection sur la CMJR affecte principalement le profil moléculaire du muscle long dorsal, alors que le TASC est le site le moins affecté parmi les quatre tissus étudiés. Ceci s'explique sans doute par le fait que les porcs ont été sélectionnés en prenant en compte l'épaisseur de la bardière dans l'estimation des besoins de production lors du calcul de la CMJR (Gilbert *et al.*, 2007), limitant les différences entre lignées pour ce tissu. Les processus biologiques affectés par la CMJR dans les quatre tissus et identifiés comme impliquant un grand nombre de gènes sont les réactions immunitaires et de défense contre les pathogènes. La plupart des gènes participant à ces processus sont réprimés dans les quatre tissus des porcs CMJR-. D'autres gènes participant à ces processus de défense sont réprimés plus spécifiquement dans le muscle, le foie ou le TASC des porcs CMJR-. Ainsi, nos résultats suggèrent globalement une activation du système immunitaire chez les porcs CMJR+. En accord avec nos données moléculaires, les marqueurs inflammatoires sériques sont décrits comme étant plus élevés chez les porcs de race Yorkshire sélectionnés pour une CMJR élevée (Mani *et al.*, 2013). De telles variations entre lignées dans l'expression des gènes associés aux fonctions de défense immunitaire n'étaient pas explicitement attendues pour un caractère de sélection comme la CMJR, plutôt intrinsèquement lié à l'utilisation des nutriments et de l'énergie. Cependant, elles sont cohérentes avec le fait que l'activation du système immunitaire est généralement décrite comme énergétiquement coûteuse pour l'individu ; elles pourraient au moins partiellement expliquer les différences de métabolisme basal rapportées précédemment entre porcs CMJR- (métabolisme basal plus faible) et porcs CMJR+ (métabolisme basal élevé ; Barea *et al.*, 2010). La stimulation du système immunitaire peut également affecter la digestibilité des nutriments, un processus décrit dans certaines études comme altéré pour les porcs CMJR+ (Harris *et al.*, 2012). Parmi les gènes les plus impliqués dans la différence de CMJR, nous identifions notamment *CD40*. Ce gène codant pour un récepteur au TNF a été précédemment identifié dans une région génomique associée au gain moyen quotidien chez le porc (Do *et al.*, 2014). Exprimé par les lymphocytes T et B, il est décrit comme régulant un large éventail de processus liés à l'initiation et la progression de l'immunité acquise. Nous mettons aussi en évidence l'expression différentielle de *CTSC* (cathepsine-C) comme importante dans la divergence de CMJR. Ce gène code pour une protéase intervenant dans la destruction des bactéries et la régulation des lymphocytes T. Puisqu'une restriction alimentaire active les gènes impliqués dans l'homéostasie des lymphocytes T (Lkhagvadorj *et al.*, 2010), nous supposons que ces variations d'expression seraient liées à des mécanismes génétiques plutôt qu'à une différence interindividuelle dans la prise alimentaire. Plus spécifique au tissu adipeux des porcs CMJR+, nous identifions aussi l'activation de plusieurs gènes codant pour des chimiokines, une famille de protéines sécrétées par les adipocytes et les macrophages. Ces variations sont vraisemblablement associées à l'activation dans les quatre tissus des porcs CMJR de *NTN1* (nétrine), une protéine sécrétée par les cellules et qui serait impliquée dans la rétention des macrophages au sein du tissu adipeux. Les différences dans l'expression des gènes du système immunitaire entre lignées pourraient entraîner des différences dans leurs réponses face à

des environnements susceptibles de stimuler leur système immunitaire. D'ailleurs, Chatelet *et al.* (2017) montrent que la croissance des porcs CMJR- serait moins affectée que celle des porcs CMJR+ par un challenge sanitaire induisant une inflammation systémique. La réponse au stress oxydant est également un processus affecté par la divergence de CMJR, avec des gènes différemment exprimés entre lignées dans les quatre tissus étudiés. Ainsi, les fonctions non-productives comme l'immunité et la défense contre le stress oxydant seraient donc des éléments clés des différences interindividuelles d'efficacité alimentaire.

Enfin, le métabolisme protéique est identifié comme un processus biologique affecté par la divergence de CMJR de manière commune aux quatre tissus. Différents gènes impliqués dans la synthèse protéique au sein des ribosomes, le transport et l'adressage intracellulaire des protéines, mais aussi dans la protéolyse sont ainsi différemment exprimés entre lignées CMJR. Le nombre de gènes différentiels identifiés comme participant au métabolisme protéique est cependant plus particulièrement élevé dans le muscle. Sur la base d'une proportion du muscle long dorsal plus élevée chez les porcs CMJR-, on peut penser que le bilan entre synthèse et catabolisme protéique serait en faveur de l'anabolisme protéique. L'hypothèse d'un turn-over protéique plus particulièrement accentué chez les porcs CMJR- constitue cependant un paradoxe apparent pour leur meilleure efficacité alimentaire, puisque synthèse et protéolyse sont deux processus coûteux en énergie. Ce turnover des protéines pourrait participer à réguler un grand nombre de fonctions biologiques affectées par la sélection sur la CMJR.

La CMJR est un caractère intrinsèquement lié à l'utilisation des nutriments par l'animal. En conséquence, identifier des différences d'expression de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme du glucose, des lipides ou plus globalement de l'énergie, était attendu. Notre étude révèle que ces différences sont spécifiques à chaque tissu plutôt que partagées entre tissus. Pour le muscle long dorsal, l'activation d'une grande partie des gènes impliqués dans la synthèse et la dégradation du glycogène chez les porcs à faible CMJR suggère que la production de l'énergie serait principalement assurée par le métabolisme du glucose chez ces animaux. Cette hypothèse formulée à partir des données d'expressions géniques est étayée par des données biochimiques indiquant un potentiel glycolytique plus élevé dans le muscle des porcs CMJR- (Faure *et al.*, 2013). A l'inverse, la mise en réserve et la production de l'énergie dans le muscle long dorsal des porcs à CMJR élevée seraient principalement assurées par le métabolisme des lipides, avec différents gènes impliqués dans le catabolisme des acides gras activés chez ces animaux. Ces processus de synthèse et de catabolisme des lipides étant coûteux en énergie, ceci pourrait contribuer à la moindre efficacité des porcs CMJR+.

A l'inverse du muscle, les gènes de la lipolyse et de l'oxydation des acides gras sont activés dans les tissus adipeux des porcs CMJR-. Les variations d'expression de *PHYH*, un gène codant pour une enzyme impliquée dans l'oxydation des acides gras au sein des peroxisomes, illustrent la régulation opposée de ce processus entre muscle et tissu adipeux : *PHYH* est réprimé dans le muscle des porcs CMJR- mais activé dans les deux tissus adipeux de ces mêmes porcs.

Chez les rongeurs et l'Homme, l'augmentation de l'oxydation des acides gras dans le tissu adipeux blanc a été identifiée comme un élément déterminant d'un phénotype maigre (Flachs *et al.*, 2013).

Chez le porc, notre étude suggère qu'elle pourrait être également importante pour l'efficacité de la conversion d'aliment en tissu maigre, indépendamment d'une variation d'adiposité corporelle.

L'enzyme codée par *PHYH* est impliquée dans le métabolisme de l'acide phytanique, un métabolite du phytol régulant le programme d'oxydation des acides gras ; elle pourrait constituer une cible de stratégies nutritionnelles (régimes riches en phytol, un précurseur de la vitamine E) visant à moduler le métabolisme énergétique tissulaire et l'efficacité alimentaire.

Enfin, le métabolisme du cholestérol est un autre processus lié au métabolisme des lipides et identifié comme enrichi en gènes différemment exprimés entre lignées CMJR, ceci dans le foie et la panne.

Notre analyse indique notamment l'activation d'enzymes de la synthèse du cholestérol pour les porcs CMJR+. Plus spécifique au foie des porcs CMJR-, on observe plutôt l'activation de gènes qui favorisent la sortie du cholestérol. Ces variations moléculaires pourraient contribuer à une réduction des concentrations en cholestérol dans le foie des porcs les plus efficaces (moins de synthèse et plus d'efflux).

Une étude précédente rapportait quant à elle, une association positive entre la CMJR et la cholestérolémie plasmatique chez le porc (Rauw *et al.*, 2007).

CONCLUSION

Notre étude montre que la divergence de CMJR est associée à la modulation de nombreux gènes dans différents tissus. Elle suggère notamment la réponse immunitaire, la réponse au stress oxydant et le métabolisme des protéines comme impliquée dans la divergence de CMJR de manière partagée entre les quatre tissus étudiés ; le métabolisme énergétique est affecté de manière plus spécifique à chaque tissu. Par conséquent, les fonctions non-productives semblent représenter une part importante des différences interindividuelles d'efficacité alimentaire. Nous pouvons en déduire que des composants alimentaires avec des activités à la fois anti-inflammatoires et anti-oxydantes seraient susceptibles d'améliorer l'efficacité alimentaire des porcs en croissance. Dans cette étude, les gènes identifiés comme contributeurs importants à la différence de CMJR ne correspondent pas aux gènes candidats identifiés par des études de génomique comme liés à des caractères impliqués dans l'efficacité alimentaire. Cependant, ils participent à des fonctions biologiques pour certaines déjà identifiées comme associées aux différences de CMJR. Il s'agira donc d'aller plus loin dans l'étude des associations entre ces gènes cibles et des régions génomiques impliquées dans l'efficacité alimentaire sur de larges effectifs. Cette étude a reçu le soutien financier de l'ANR dans le cadre du programme de recherches FatInteger (ANR-11-BSVS7-0004).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barea R., Dubois S., Gilbert H., Sellier P., van Milgen J., Noblet J., 2010. Energy utilization in pigs selected for high and low residual feed intake. *J. Anim. Sci.*, 88, 2062-2072.
- Chatelet A., Gondret F., Merlot E., Gilbert H., Le Floc'h N., 2017. Les performances, la santé et les réponses immunitaires et métaboliques des porcs à un challenge sanitaire différent selon leur potentiel génétique d'efficacité alimentaire. *Journées Rech. Porcine*, 49, 195-202.
- Do D.N., Ostersen T., Strathe A.B., Mark T., Jensen J., Kadarmideen H.N., 2014. Genome-wide association and systems genetic analyses of residual feed intake, daily feed consumption, backfat and weight gain in pigs. *BMC Genet.*, 15, 272014.
- Faure J., Lefaucheur L., Bonhomme N., Ecolan P., Meteau K., Coustard S.M., Kouba M., Gilbert H., Lebreton B., 2013. Consequences of divergent selection for residual feed intake in pigs on muscle energy metabolism and meat quality. *Meat Sci.*, 93, 37-45.
- Flachs P., Rossmeisl M., Kuda O., Kopecky J., 2013. Stimulation of mitochondrial oxidative capacity in white fat independent of UCP1: A key to lean phenotype. *Biochim. Biophys. Acta*, 1831, 986-1003e.
- Fu W.J., Strombeg A.J., Viele K., Carroll R.J., Wu G., 2010. Statistics and bioinformatics in nutritional sciences: analysis of complex data in the era of systems biology. *J. Nutr. Biochem.*, 21, 561-572.
- Gilbert H., 2015. Sélection pour l'efficacité alimentaire chez le porc en croissance : opportunités et challenges. *Journées Rech. Porcine*, 47, 19-30.
- Gilbert H., Bidanel J.P., Gruand J., Caritez J.C., Billon Y., Guillouet P., Lagant H., Noblet J., Sellier P., 2007. Genetic parameters for residual feed intake in growing pigs, with emphasis on genetic relationships with carcass and meat quality traits. *J. Anim. Sci.*, 85, 3182-3188.
- Gondret F., Louveau I., Mourot J., Duclos M.J., Lagarrigue S., Gilbert H., van Milgen J., 2014. Dietary energy sources affect the partition of body lipids and the hierarchy of energy metabolic pathways in growing pigs differing in feed efficiency. *J. Anim. Sci.*, 92, 4865-4877.
- Harris A.J., Patience J.F., Lonergan S.M., Dekkers J.C., Gabler N.K., 2012. Improved nutrient digestibility and retention partially explains feed efficiency gains in pigs selected for low residual feed intake. *J. Anim. Sci.*, 90 (S4), 164-166.
- Lkhagvadorj S., Qu L., Cai W., Couture O.P., Barb C.R., Hausman G.J., Nettleton D., Anderson L.L., Dekkers J.C., Tuggle C.K., 2010. Gene expression profiling of the short-term adaptive response to acute caloric restriction in liver and adipose tissues of pigs differing in feed efficiency. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 298, R494-507.
- Mani V., Harris A.J., Keating A.F., Weber T.E., Dekkers J.C., Gabler N.K., 2013. Intestinal integrity, endotoxin transport and detoxification in pigs divergently selected for residual feed intake. *J. Anim. Sci.*, 91, 2141-2150.
- Onteru S.K., Gorbach D.M., Young J.M., Garrick D.J., Dekkers J.C., Rothschild M.F., 2013. Whole genome association studies of residual feed intake and related traits in the pig. *PLoS One*, 8, e61756.
- Rauw W.M., Portolés O., Corella D., Soler J., Reixach J., Tibau J., Prat J.M., Diaz I., Gómez-Raya L. Behaviour influences cholesterol plasma levels in a pig model. *Animal*, 1, 865-871.
- R Core Team, 2013. R: a language and environment for statistical computing. 1, 409.
- Vincent A., Louveau I., Gondret F., Tréfeu C., Gilbert H., Lefaucheur L., 2015. Divergent selection for residual feed intake affects the transcriptomic and proteomic profiles of pig skeletal muscle. *J. Anim. Sci.*, 93, 2745-2758.