

1.2. Etude de la différenciation adipocytaire *in vitro*

La différenciation adipocytaire des cellules de la FSV a été étudiée *in vitro* en absence ou présence de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α . Au jour 0 (J0), les cellules ont été ensemencées à une densité de $2,8 \times 10^5$ cellules/cm² (Perruchot *et al.*, 2013). De J0 à J4, elles ont été mises en culture dans du milieu de prolifération. A J4, elles ont été placées dans un milieu de transition puis, de J6 à J22, dans du milieu de différenciation adipogénique en absence ou présence (0, 1 et 10 ng/mL) de TNF- α porcine (R&D Systems). L'estimation de l'accumulation lipidique dans les cellules à l'aide du logiciel ImageJ (ImageJ 1.50i, National Institutes of Health, Bethesda, Etats-Unis) a permis d'évaluer le pourcentage de différenciation adipocytaire à partir des photos prises aux jours de culture J14, J18 et J22 avec un microscope à contraste de phase (AxioVert A1, Zeiss).

1.3. Phénotypage des cellules FSV du tissu adipeux

Le phénotypage des populations cellulaires a été réalisé avec le cytomètre en flux MACSQuant Analyzer 10 (Miltenyi). Les cellules ont été marquées avec les anticorps (Ac) suivants : anti-CD34 (Abcam), anti-CD38 (Miltenyi), anti-CD56 (BD) et anti-CD140a (Miltenyi) pour discriminer les cellules ayant un potentiel adipogénique et l'Ac anti-CD45 (Bio-Rad) pour éliminer les cellules hématopoïétiques. Les données acquises par le cytomètre ont été obtenues à partir d'un minimum de 50000 événements par échantillon et ont ensuite été analysées par le logiciel Flowlogic (Inivai). L'expression des cellules est rapportée au pourcentage de cellules CD45-.

1.4. Analyses statistiques

Les analyses de variance ont été effectuées avec le logiciel R (R Core Team, 2015). Pour les données de différenciation cellulaire, l'analyse a été réalisée par jour de culture pour tester l'effet du génotype, du stress sanitaire, de la dose de TNF- α et des interactions correspondantes. Pour les données de phénotypage, l'analyse a été effectuée pour tester l'effet du génotype, du stress sanitaire et de l'interaction. Un seuil de probabilité de $P < 0,05$ a été retenu.

2. RESULTATS

2.1. Etude de la différenciation adipocytaire *in vitro*

Une augmentation de la différenciation adipocytaire a été observée au cours du temps, avec une différenciation maximale des cellules entre le 18^{ème} et le 22^{ème} jour de culture pour tous les groupes d'animaux. En revanche, que ce soit à J14, J18 ou J22, ce pourcentage de différenciation n'est affecté ni par la lignée génétique, ni par le challenge sanitaire ($P > 0,05$). A J14 et J18, la différenciation adipocytaire des cellules est inhibée ($P < 0,05$) par la présence de TNF- α aux deux doses testées (données non présentées). En revanche, à J22, seule la dose 10 ng/mL de TNF- α réduit la différenciation adipocytaire ($P < 0,05$) (Figure 1).

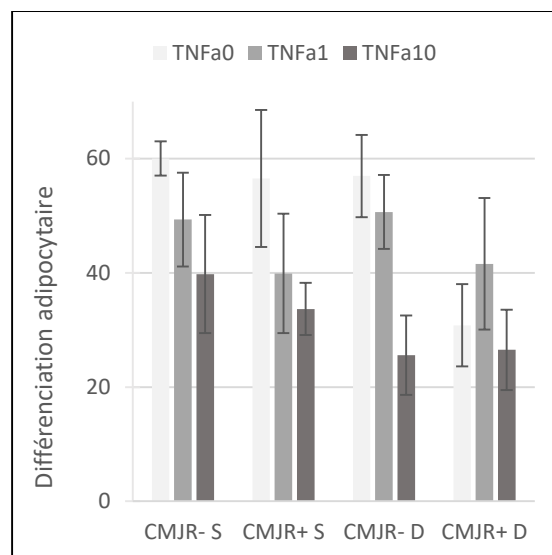


Figure 1 – Pourcentage moyen (\pm SEM) de différenciation adipocytaire (%) des cellules FSV issues des porcs CMJR- et CMJR+ élevés en conditions d'hygiène standards (S) ou dégradées (D) au 22^{ème} jour de culture, en absence ou présence de TNF- α (n=5/groupe).

2.2. Phénotypage des cellules FSV du tissu adipeux

Pour les quatre groupes de porcs, les cellules CD56+ (30%) et les cellules CD45+ (16%) sont prédominantes et leurs proportions ne varient pas entre les groupes ($P > 0,1$). La proportion des cellules CD140a+ tend à être réduite ($P > 0,05$) par les conditions d'hygiène dégradées. Pour les cellules CD34+ et CD38+, l'interaction est significative ($P < 0,05$) avec un impact sur les cellules des animaux CMJR- uniquement.

CONCLUSION

Cette étude montre que les capacités de différenciation, en absence ou en présence de TNF- α , des cellules souches adultes résidentes dans le tissu adipeux ne sont pas influencées par le type génétique et les conditions d'hygiène. La mise en évidence d'un impact de ces conditions d'hygiène sur les proportions des cellules CD34+ et CD38+ chez les animaux CMJR- conforte la différence de réponse de ces animaux à un stress sanitaire. Des analyses complémentaires sont nécessaires pour identifier les différentes sous-populations cellulaires présentes dans le tissu adipeux et examiner les capacités sécrétoires de ces cellules chez ces animaux.

REMERCIEMENTS

Une partie de ces travaux a été réalisée grâce au soutien financier du 7^{ème} programme cadre européen (FP7, projet PROHEALTH, subvention no. 613574). Les auteurs remercient aussi Rémi Resmond pour ses conseils lors de l'analyse statistique des données.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bonnet M., Louveau I., Cassar-Malek I., Lefaucheur L., Rescan P.Y., 2015. Comprendre le développement des muscles et des tissus adipeux : un préalable pour maîtriser les qualités des carcasses et des produits des animaux d'élevage. INRAE Prod. Anim., 28, 137-150.
- Chatelet A., Gondret F., Merlot E., Gilbert H., Friggens N.C., Le Floc'h N., 2018. Impact of hygiene of housing conditions on performance and health of two pig genetic lines divergent for residual feed intake. Animal, 12, 350-358.
- Perruchot M.-H., Lefaucheur L., Barreau C., Casteilla L., Louveau I., 2013. Age-related changes in the features of porcine adult stem cells isolated from adipose tissue and skeletal muscle. Am. J. Physiol. Cell Physiol., 305, C728-C738.