

## 3T3-L1 지방전구세포에 대한 다양한 주파수 진동의 지방 생성 억제 효과

이영훈 · 이석호 · 정혜빈 · 정용찬 · 김민환 · 이은미 · 김지현\*

연세대학교 보건과학대학 의공학과

## Anti-adipogenic Effects of Vibration with Varied Frequencies on 3T3-L1 Preadipocytes

Yeong Hun Lee, Seok-Ho Lee, Haebin Jung, Yong Chan Jung, Min Hwan Kim, Eun Mi Lee and Chi Hyun Kim\*

Department of Biomedical Engineering, Yonsei University, Korea

(Manuscript received 20 November 2020 ; revised 26 January 2021 ; accepted 1 February 2021)

**Abstract:** Vibration is a mechanical cue that can be applied to adipose tissues for the purpose of treating obesity. However, the exact correlation between vibration and other anti-adipogenic pathways, such as development of cytoskeleton and apoptosis, remains unknown. The objective of this study was to investigate the unknown anti-adipogenic effects of vibration with varied frequencies on preadipocytes. 3T3-L1 preadipocytes were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 5% calf serum at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub> in a humidified incubator. Vibration was generated using Arduino Uno microcontroller and vibration motor module with 1 V DC, and applied to preadipocytes for 3 days. Frequency conditions were set to 20, 55, and 90 Hz. Then, the expressions of p38 pathway, ROCK-1,  $\alpha$ -actinin, Bax, Bcl-2, caspase-9, 8, and 3 were analyzed with western blot. As a result, p38 pathway was inhibited in 55 and 90 Hz while ROCK-1 and  $\alpha$ -actinin were expressed in 20 Hz. Caspase-3, a terminal apoptotic factor, was activated in 20 Hz via extrinsic pathway rather than intrinsic pathway. Results suggest that various frequencies of vibration can inhibit adipogenesis via different pathways which sheds light on future mechanotransduction applications of vibration for the treatment of obesity.

**Key words:** 3T3-L1 preadipocyte, Vibration, Mechanotransduction, Cytoskeleton, Apoptosis

### 1. 서 론

세포에 도달한 물리적 자극은 mechanotransduction을 통해 생화학적 신호로 전환되어 세포의 활성을 조절한다[1]. 이 때, mechanotransduction은 물리적 수용체나 채널을 통한 신호 전달 경로(signaling pathway) 뿐만 아니라 세포외골격을 통한 에너지의 직접적인 전달에 의해서도 이루어진다[2].

따라서 물리적 자극을 통한 조절은 화학적 자극에 비해 세포의 반응을 즉각적으로 유도할 수 있다는 장점이 있다. Mechanotransduction에 관여하는 신호 전달 경로로 extracellular signal-regulated kinase (ERK), cyclooxygenase-2(COX-2), SMAD family member 2(Smad2), 그리고 p38 mitogen-activated protein kinases (p38)이 있으며[3-5], 세포외골격을 통한 물리적 자극의 전달은 주로 integrin과 F-actin이  $\alpha$ -actinin으로 연결된 국소 접착(focal adhesion)에 의해 이루어진다[2]. 국소 접착의 발달은 세포의 분화를 조절하는 것으로 알려져 있으며[6], rho-associated protein kinase-1 (ROCK-1)에 의해 조절된다[7].

조직의 mechanotransduction을 유도하기 위한 물리적 자극으로는 크게 압축(compression), 인장(stretch), 그리고

\*Corresponding Author : Chi Hyun Kim  
Department of Biomedical Engineering, College of Health Sciences, Yonsei University, Wonju, Gangwon-do, 26493, Korea  
Tel: +82-33-760-2785  
E-mail: chihyun@yonsei.ac.kr  
이 연구는 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2020R1I1A307334311).

진동(vibration) 등이 있으며[3,5], 특히 진동 자극은 비침습적일 뿐만 아니라 부상의 염려가 적기 때문에 *in vivo* 실험에서도 활발히 연구 중에 있다[8]. 세포 및 조직에 진동을 부여할 때 고려되는 주요 변수로 진폭, 진동 가속도, 그리고 주파수 등이 있다[9-12]. 진폭과 진동 가속도는 진동 모터에 가해지는 힘의 세기를 의미하므로, 진동 모터의 입력 전압으로 대체되어 표현되기도 한다[9,10]. 주파수는 매질을 통해 힘이 전달되는 횟수를 의미하며, 물리적 힘에 의한 세포막의 변형에 의해 mechanotransduction이 유도되므로 주파수는 mechanotransduction을 조절하는 주요 변수라 할 수 있다[2,13].

이전 진동 자극 연구들은 뼈나 근육 등 근골격계 조직의 반응을 중심으로 분석되어 왔다[14]. 그러나 지방 세포 또한 물리적 자극에 반응하는 세포라는 것이 발견되면서 지방 세포 및 조직을 대상으로 한 물리적 자극 연구가 이루어지고 있으며, 특히 비만 치료와 접목하여 지방 조직의 지질 분해를 촉진시키거나 형질을 변화시키기 위한 노력이 진행 중이다[3,15]. 진동 자극이 지방 생성 억제와 백색 지방의 갈변화 유도에 긍정적인 영향을 준다는 사실은 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 통해서 어느 정도 연구가 이루어졌다[10,16,17]. 예를 들어, 3T3-L1 세포를 이용한 *in vitro* 연구에서는 20~30 Hz의 진동이 세포의 증식과 분화를 억제하였으며[10], 쥐를 이용한 *in vivo* 연구에서는 각각 25, 32 Hz의 진동에서 백색 지방의 갈변화와[17] 운동 효과 모방을 통한 혈당 완화가 보고되었다[16].

기존의 물리적 자극을 통한 지방 세포의 거동은 위에서 언급한 mechanotransduction 경로나 CCAAT-enhancer-binding proteins (CEBPs)와 같은 지방 생성에 직접적으로 관여하는 인자들을 중심으로 분석하였다[8,10,11,18]. 그러나 지방 생성은 다양한 경로를 통하여 조절되며 실제 지방 조직은 종류에 따라 특성, 위치, 분포가 다르므로, 지방 생성 억제를 위한 진동 자극의 효율을 높이기 위하여 관련된 다른 기전들을 다양한 주파수에 대해 규명하고 활용할 필요가 있다. 예를 들어 지방 조직에 존재하는 미분화 세포들은 세포 외기질(extracellular matrix)의 강성(stiffness)이 높아질수록, 국소 접착이 발달할수록 지방 생성이 억제되며, 물리적 민감성(mechanosensitivity) 또한 향상되어 물리적 자극의 영향을 크게 받는다[2,6,7].

세포 예정사(programmed cell death)의 일종인 apoptosis 또한 지방 생성을 억제하는데 기여할 수 있으며[19,20], 진동과 지방 세포의 apoptosis 간의 관계는 아직 밝혀지지 않았다. Apoptosis는 세포 괴사(necrosis)와는 구분되는 기전으로서, 불필요한 세포 및 조직을 안전하게 제거한다. Apoptosis 관련 인자로 내인성 경로를 조절하는 B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax), caspase-9과 외인성

경로를 조절하는 caspase-8, 그리고 최종 인자인 caspase-3이 있다. 내인성 경로는 미토콘드리아에 의해 조절되는 반면, 외인성 경로는 세포막 수용체에 의해 조절된다[21].

본 연구에서는 진동 자극에 의한 지방전구세포의 지방 생성 억제 효과를 세포외골격과 apoptosis 인자의 발현을 통하여 분석하였다. 기존의 연구들에서 다루었던 MAPK pathway인 p38과 함께, 세포외골격 인자인 ROCK-1,  $\alpha$ -actinin, 그리고 apoptosis 인자인 Bax/Bcl-2 ratio와 caspase family 등 지방 세포의 진동 연구에서 아직 연구되지 않은 인자들의 발현이 주파수에 따라 어떻게 변화하는지 분석하였다(그림 1).

## II. 연구 방법

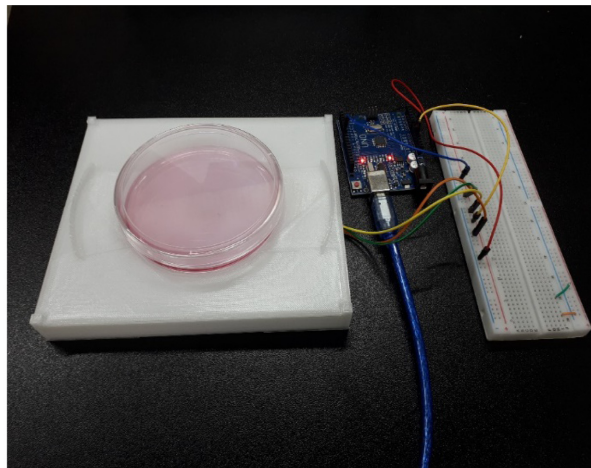
### 1. 세포 배양 및 진동 부여

세포는 mouse-derived 3T3-L1 지방전구세포(Korean Cell Line Bank, Korea)를 사용하였으며, 계대 배양은 1 주일에 한 번, 포화도(confluence)가 80%일 때 실시하였다. 사용한 배지는 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Lonza, USA)에 calf serum (CS, Gibco, USA) 5%, penicillin/streptomycin (Lonza) 1%를 혼합하여 사용하였다. 세포 배양에 사용된 모든 용액은 사용 전 water bath를 이용하여 37 °C로 맞춰 사용하였다. 세포 배양기는 온도 37 °C에 이산화탄소 농도 5%로 고정하였다. 세포의 포화도가 80%일 때, 1 일에 1 시간씩 총 3 일간 진동 자극을 부여하였다.

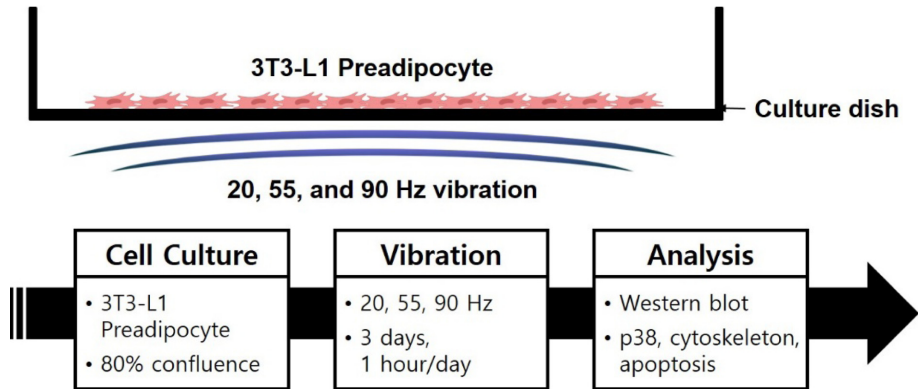
진동 장치는 UNO R3 Arduino microcontroller와 진동 모터 모듈(Alink, Korea)로 설계하였다. 소스 코드는 Arduino IDE 프로그램을 이용하여 입력하였으며, 펄스 폭 변조(PWM) 신호를 이용하여 모터의 주파수 및 DC 전압을 제어하였다. 진동 수 조건은 20, 55, 90 Hz로 설정하였으며, 진폭을 고정하기 위해 피크 전압을 1 V로 설정하였다(그림 1). 주파수 및 진폭 조건은 지방세포 또는 그 전구체에 진동이 가해진 연구를 참조하여 결정하였다[9,10,12]. 진동 부여 실험은 통계적 분석을 위해 서로 다른 세포들로 3 회 이상 반복하였다.

### 2. Western blot

진동 자극이 모두 종료된 3 일차 때 세포를 수확하여 단백질을 추출한 뒤, BCA assay kit을 이용하여 단백질 농도를 측정하였다. SDS-PAGE는 acrylamide/bis의 농도를 running gel 9%, stacking gel 5%로 설정하였으며, 80 V의 전압으로 2 시간 동안 전기 영동을 실시하였다. 전기영동 후, 100 V의 전압에서 50 분 동안 단백질을 PVDF membrane으로 transfer한 후 shaker를 이용, membrane을 1 시간 동안 5% skim milk로 blocking 하였다. 그 후 membrane을 1 차 항체에 하룻밤 동안, 2 차 항체에 1 시간 동안 배양하였다. 1 차 항체는 BSA에 1:1000의 비율로 희석하여 사용하였으



a



b

그림 1. (a) Arduino microcontroller와 진동 모터 모듈을 이용하여 직접 제작한 진동 장치. DC 전압은 pulse-width modulation (PWM) 을 이용하여 1 V로 고정하였으며, 주파수는 1 초 당 진동 신호의 on/off 전환 횟수를 조절하여 설정하였다. (b) 진동 자극 실험의 모식도와 실험 과정. Fig. 1. (a) Custom-designed vibration device comprising Arduino microcontroller and vibration motor module. DC voltage was set to 1 V for amplitude fixation by modulating duty ratio of pulse-width modulation (PWM). Frequency was set by adjusting the number of on/off switching of the vibration signal per second. (b) Schematic diagram of vibration experiment on preadipocytes and its procedure.

20

며, ROCK-1 (1:1000) (sc-17794, Santa Cruz Biotechnology, USA),  $\alpha$ -actinin (1:1000) (sc-17829, Santa Cruz Biotechnology), p38 (1:1000) (sc-7972, Santa Cruz Biotechnology), p-p38 (1:1000) (sc-166182, Santa Cruz Biotechnology), Bax (1:1000) (sc-7480, Santa Cruz Biotechnology), Bcl-2 (1:1000) (sc-7382, Santa Cruz Biotechnology), caspase-9 (1:1000) (9508, Cell Signaling Technology, USA), caspase-8 (1:1000) (4927, Cell Signaling Technology), caspase-3 (1:1000) (9662, Cell Signaling Technology), 그리고 GAPDH (1:1000) (sc-25778, Santa Cruz Biotechnology) 등이 실험에 사용되었다. 2차 항체는 5% skim milk에 1:5000의 비율로 희석하여 사용하였다. 처리의 각 과정 사이에는 TBS-T 용액을 사용하여 10분씩 네 번, 총 40분 간 membrane을 shaker로 세척하였다.

### 3. 통계분석

검광하여 필름에 검출된 밴드는 Image J (National Institutes of Health, USA) 프로그램을 이용하여 밴드의 밝기를 측정 후, Graphpad Prism 5 (Graphpad Software, USA) 프로그램을 이용하여 그래프를 산출한 후 one-way ANOVA를 수행하였다. 결과 값은 평균  $\pm$  표준오차(SEM)로 표현하였고, 사후 검정은 Tukey's test를 사용하였다. 유의 수준은 0.05로 설정하였다.

### III. 연구 결과

지방전구세포의 mechanotransduction 경로 중 하나인 p38 pathway가 진동 자극에 어떻게 반응하여 발현되는지 확인하였다(그림 2). 실험 결과, p-p38/p38 발현 비가 주파수가

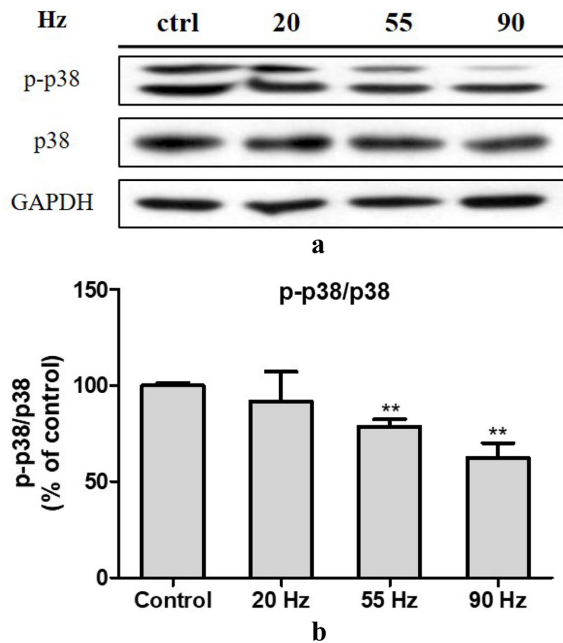


그림 2. 진동을 3T3-L1 세포에 20, 55, 그리고 90 Hz로 1 일에 1 시간씩 총 3 일간 부여한 뒤 western blot으로 측정된 p38 pathway의 활성화. (a) western blot 밴드, (b) p38 대비 p-p38의 발현 비율 변화. (n=3, \*\* $p < 0.01$  vs control)

Fig. 2. The expression of p38 pathway in 3T3-L1 after vibration with frequencies of 20, 55, and 90 Hz. (a) Bands of western blot analysis, (b) Measured expression of p-p38 compared to p38. (n=3, \*\* $p < 0.01$  vs control)

증가함에 따라 감소하였는데, 대조군과 대비하여 20 Hz에서는 큰 변화가 없었던 반면, 55 Hz에서 약 20%, 90 Hz에서 40% 발현이 감소하였다.

다음으로 세포외골격의 진동 자극에 의한 발현 여부를 확인하기 위하여 ROCK-1과  $\alpha$ -actinin의 발현을 분석하였다(그림 3). 실험 결과, ROCK-1의 발현은 대조군 대비 20 Hz에서 70%, 55 Hz에서 30% 증가한 반면 90 Hz에서는 40% 감소하였다.  $\alpha$ -actinin 또한 20 Hz에서 ROCK-1과 일치하는 결과를 보였는데, 대조군 대비 20 Hz에서 90% 증가하였다. 단, 55 Hz와 90 Hz에서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았다.

마지막으로, 지방전구세포의 apoptosis 관련 인자들의 발현이 진동 자극의 영향을 받는지 확인하였다(그림 4). 그 결과 Bax/Bcl-2 발현비는 대조군에 비해 90 Hz에서 30% 감소하였다. 그러나 cleaved caspase-9의 발현 비율은 주파수 조건이 높아짐에 따라 증가하여, 20, 55 Hz에서 40%, 90 Hz에서 70% 증가하였다. Cleaved caspase-8의 발현 비율은 20 Hz에서 약 70% 증가하였으며, 이와 유사하게 cleaved caspase-3의 발현 비율은 20 Hz에서 50% 증가하였다.

#### IV. 고찰 및 결론

주파수, 진폭, 진동가속도, 그리고 지속시간은 세포나 조직에 적용되는 진동 연구에서 고려해야 할 주요 변수들이다. 지방세포 또는 그 전구체를 사용한 선행 연구에서, 일반적

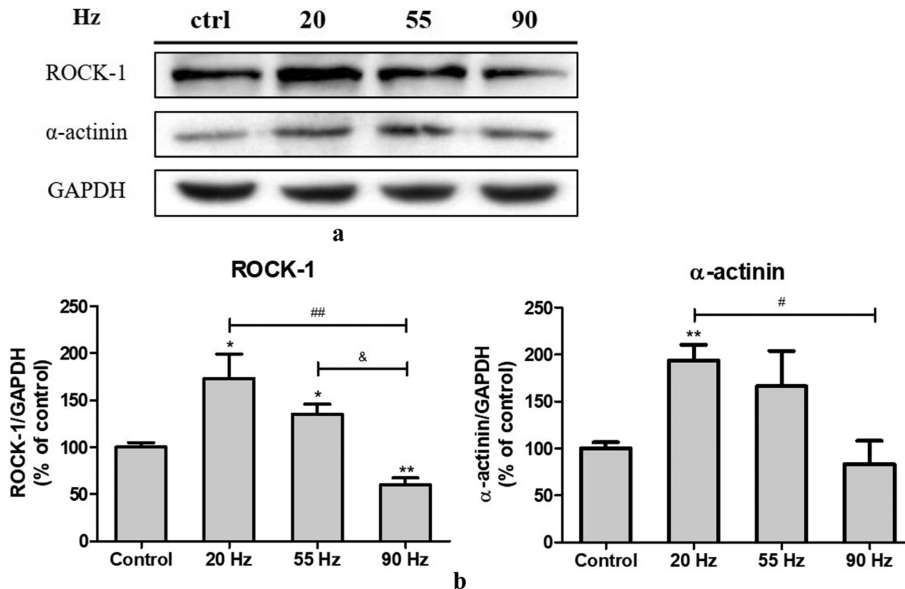


그림 3. 진동을 3T3-L1 세포에 20, 55, 그리고 90 Hz로 1 일에 1 시간씩 총 3 일간 부여한 뒤 western blot으로 측정된 세포외골격 단백질의 활성화. (a) western blot 밴드, (b) ROCK-1과  $\alpha$ -actinin의 발현 변화. (n=3, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , vs control, # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  vs 20 Hz, & $p < 0.05$  vs 55 Hz)

Fig. 3. The expression of cytoskeletal proteins in 3T3-L1 after vibration with frequencies of 20, 55, and 90 Hz. (a) Bands of western blot analysis, (b) Measured expression of ROCK-1 and  $\alpha$ -actinin. (n=3, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs control, # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  vs 20 Hz, & $p < 0.05$  vs 55 Hz)

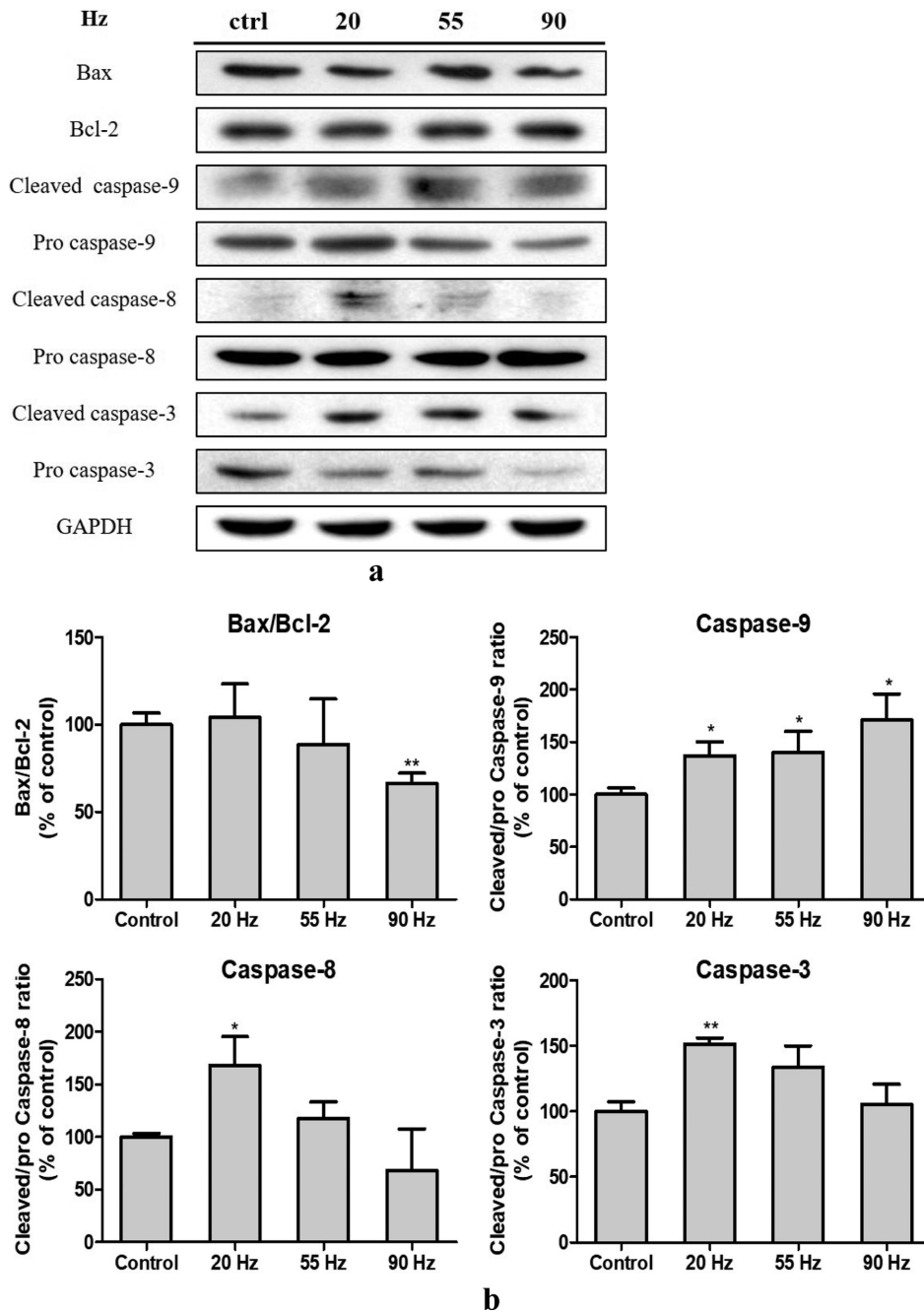


그림 4. 진동을 3T3-L1 세포에 20, 55, 그리고 90 Hz로 1 일에 1 시간씩 총 3 일간 부여한 뒤 western blot으로 측정된 apoptosis 관련 인자들의 활성. (a) western blot 밴드, (b) Bcl-2 대비 Bax의 발현 비율의 변화와 caspase family의 pro form 대비 cleaved form의 발현 비율 변화. (n=3, \* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01 vs control)

Fig. 4. The expression of apoptotic pathways in 3T3-L1 after vibration with frequencies of 20, 55, and 90 Hz. (a) Bands of western blot analysis, (b) Measured relative expression of Bax/Bcl-2, caspase-9, caspase-8, and caspase-3. (n=3, \* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01 vs control)

으로 진동의 지속시간이 증가함에 따라 기대 효과 또한 비례하게 증가하였다[16-18]. 그러나 주파수와 진폭 등을 포함한 다른 변수는 기대 효과와 비례하지 않았으며, 특히 적용된 세포의 종류에 따라서 진동의 효과는 다르게 나타났다. 3T3-L1을 이용한 연구에서는 1 g 이하의 약한 가속도를 갖는

아음속 진동을 주파수 별로 세포에 부여하였을 때, 20과 30 Hz의 주파수는 세포의 증식을 억제하고 지방 생성을 촉진한 반면, 40과 45 Hz의 주파수에서는 해당 효과가 나타나지 않았다[10]. 또한, 지방전구세포가 아닌 골수줄기세포(bone marrow stem cell)를 사용한 연구에서는 40 Hz의 아음속 진동이 지방 생성을

촉진하였다[11]. 지방줄기세포(adipose stem cell)를 사용한 연구에서는 진동의 가속도가 1 g 이상, 주파수가 50, 100 Hz 일 때, 지방 생성을 억제함과 동시에 골생성(osteogenesis)을 촉진하였다[18].

주파수나 진폭에 대한 지방세포의 반응 연구는 최종적으로 진동이 인체 모델에 적용될 것을 고려하면 매우 중요하다. 진동은 매질을 통과하면서 감쇠가 일어나 주파수와 진폭이 감소한다는 특징이 있으며, 이를 *in vivo*에 적용할 때, 지방 조직이 신체의 심부에 가까울수록 주파수의 초기 조건보다 낮은 주파수가 적용된다[5,22]. 예를 들어 외부에서 진동을 가해줄 때, 피하 지방 조직(subcutaneous adipose tissue)은 외부의 진동과 거의 같은 조건의 자극을 받지만, 내장 지방 조직(visceral adipose tissue)은 진동이 발생하는 지점에서 떨어져 있기 때문에 초기 주파수보다 낮은 주파수의 영향을 받는다. 실제로 운동을 통한 갈변화 유도에서, 피하 지방 조직과 내장 지방 조직의 결과가 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다[23]. 따라서 *in vitro* 실험을 통해 진동의 주파수, 진폭과 지방세포 간의 상관관계를 밝힌다면 *in vivo*와 같이 복잡한 환경에서 진동의 영향을 조절하거나 해석할 때 유용할 것이다.

본 실험에서는 진동에 의한 mechanotransduction 경로의 변화를 확인하기 위하여 p38의 발현을 분석하였다. 일반적으로, ERK, COX-2, 그리고 Smad2 등의 인자들은 지방세포 내에서 물리적 자극에 의하여 활성화되어 지방 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다[3-5]. 그러나 p38은 다른 인자들과는 달리 물리적 자극 중 하나인 진동에 의해 억제되었다. p38 pathway는 mitogen-activated protein kinase의 일종으로, 여러 종류의 세포 내에서 세포 분화를 조절하며, 지방세포[8], 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)[12], 그리고 골수줄기세포에서[11] 지방 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 결과는 p38 pathway 또한 진동 자극이 지방전구세포의 지방 생성을 억제하는 mechanotransduction 경로 중 하나임을 의미한다. 그러나 골수줄기세포를 이용한 진동 실험에서는 p38이 오히려 활성화되어 지방 생성을 촉진하였다. 이를 통해 진동에 의한 지방 생성의 억제는 여러 경로를 통하여 이루어질 뿐만 아니라 세포의 종류에 따라

그 반응이 달라진다는 것을 알 수 있다[11].

ROCK-1과  $\alpha$ -actinin은 20, 55 Hz의 상대적으로 낮은 주파수에서 발현이 증가하였다. ROCK-1은 국소 접착을 제공하기 위해 세포외골격의 형성을 조절하는 것으로 알려져 있으며, 이는 지방 생성을 억제하는 역할을 한다[7].  $\alpha$ -actinin은 국소 접착을 구성하는 integrin과 F-actin 사이를 연결하며, 세포외기질에서 핵까지 물리적 자극을 전달하는데 기여한다[7,24]. p38의 결과와 선행 연구들은 높은 주파수에서 지방세포의 지방 생성이 억제된 것으로 나타났으나[10,18], 국소 접착의 역할을 고려해보았을 때, 낮은 주파수를 부여함으로써 지방 생성 억제와 지방 조직의 물리적 민감성(mechanosensitivity) 향상을 기대할 수 있다. 이는 낮은 주파수의 진동을 장기간 부여함으로써 지방 세포 및 조직의 물리적 특성을 조절하여 물리적 자극의 지방 생성 억제 효과를 향상시킬 수 있음을 의미한다. 최근 비만 치료 연구 동향은 갈변화 연구와 같이 조직의 변형을 통해 근본적인 체질을 개선하려는 방향으로 이루어지고 있으므로[25], 진동을 통한 지방 조직의 물리적 민감성(mechanosensitivity) 변화를 *in vivo* 모델에서 분석한다면 새로운 비만 치료 방법을 제안할 수 있을 것이다.

Apoptosis 관련 인자들 또한 진동에 영향을 받았다. 미토콘드리아를 통한 내인성 apoptosis의 활성화를 나타내는 Bax/Bcl-2 발현비는 진동에 의하여 감소한 반면, cleaved caspase-9의 발현 비율은 증가하여, 결과가 서로 일치하지 않았다. 외인성 apoptosis의 활성화를 나타내는 caspase-8과 apoptosis의 최종 인자인 caspase-3의 cleavage 비율은 진동에 의하여 증가하였으며, 그 양상이 동일하게 나타났다. 이는 진동이 외인성 경로를 통해 지방전구세포의 apoptosis를 유발한 것으로 볼 수 있다[21]. 선행 연구에 따르면, apoptosis는 지방 생성 억제나 지방 조직의 갈변화와 연관이 있으며, 비만 치료의 방법 중 하나로 고려되고 있다[19,20]. 앞에서 언급한 세포외골격 인자의 결과와 비교해 보았을 때, 낮은 주파수의 진동은 기존에 알려진 것과는 다른 경로를 통하여 지방 생성 억제에 기여하는 것으로 사료된다.

결론적으로, 높은 주파수 조건에서는 지방전구세포의 p38 pathway가 억제되었고, 낮은 주파수 조건에서는 세포외골격의 발달과 외인성 apoptosis 인자의 발현이 유도되었다

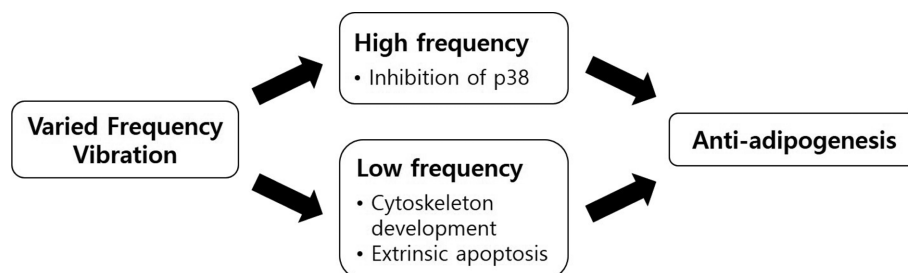


그림 5. 주파수 조건에 따른 진동의 지방생성 억제 경로를 나타낸 모식도

Fig. 5. Schematic diagram of pathways for anti-adipogenesis induced by varied frequency vibration

(그림 5). 이 결과는 다양한 주파수 조건의 진동이 여러 경로를 통해 지방전구세포의 지방 생성 억제를 유도할 수 있으며, 원하는 기전을 위하여 주파수를 조절할 수 있음을 의미한다. 인체 모델에 대한 진동의 지방 생성 억제 효과를 조절하고 분석하기 위하여, 더욱 다양한 조건의 *in vitro* 실험이 진행되어야 한다.

## References

- [1] Martino F, Perestrelo AR, Vinarský V, Pagliari S, Forte G. Cellular mechanotransduction: from tension to function. *Front Physiol.* 2018;9:824.
- [2] Wang N, Tytell JD, Ingber DE. Mechanotransduction at a distance: mechanically coupling the extracellular matrix with the nucleus. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10(1):75-82.
- [3] Shoham N, Gefen A. Mechanotransduction in adipocytes. *J Biomech.* 2012;45(1):1-8.
- [4] Hossain MG, Iwata T, Mizusawa N, Shima SW, Okutsu T, Ishimoto K, Yoshimoto K. Compressive force inhibits adipogenesis through COX-2-mediated down-regulation of PPAR- $\gamma$ 2 and C/EBP $\alpha$ . *J Biosci Bioeng.* 2010;109(3):297-303.
- [5] Yuan Y, Gao J, Ogawa R. Mechanobiology and mechanotherapy of adipose tissue-effect of mechanical force on fat tissue engineering. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2015;3(12).
- [6] Sen B, Guilluy C, Xie Z, Case N, Styner M, Thomas J, Oguz I, Rubin C, Burridge K, Rubin J. Mechanically induced focal adhesion assembly amplifies anti-adipogenic pathways in mesenchymal stem cells. *Stem cells.* 2011;29(11):1829-36.
- [7] Xu B, Ju Y, Song G. Role of p38, ERK1/2, focal adhesion kinase, RhoA/ROCK and cytoskeleton in the adipogenesis of human mesenchymal stem cells. *J Biosci Bioeng.* 2014;117(5):624-31.
- [8] Ren Z, Lan Q, Chen Y, Chan YWJ, Mahady GB, Lee SM-Y. Low-Magnitude High-Frequency Vibration Decreases Body Weight Gain and Increases Muscle Strength by Enhancing the p38 and AMPK Pathways in db/db Mice. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2020;13:979.
- [9] Choi YK, Cho H, Seo YK, Yoon HH, Park JK. Stimulation of sub-sonic vibration promotes the differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells into neural cells. *Life Sci.* 2012;91(9-10):329-37.
- [10] Oh ES, Seo YK, Yoon HH, Cho H, Yoon MY, Park JK. Effects of sub-sonic vibration on the proliferation and maturation of 3T3-L1 cells. *Life Sci.* 2011;88(3-4):169-77.
- [11] Zhao Q, Lu Y, Gan X, Yu H. Low magnitude high frequency vibration promotes adipogenic differentiation of bone marrow stem cells via P38 MAPK signal. *PLoS One.* 2017;12(3):e0172954.
- [12] Lu Y, Zhao Q, Liu Y, Zhang L, Li D, Zhu Z, Gan X, Yu H. Vibration loading promotes osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells via p38 MAPK signaling pathway. *J Biomech.* 2018;71:67-75.
- [13] Orr AW, Helmke BP, Blackman BR, Schwartz MA. Mechanisms of mechanotransduction. *Dev Cell.* 2006;10(1):11-20.
- [14] Cardinale M, Rittweger J. Vibration exercise makes your muscles and bones stronger: fact or fiction? *J Br Menopause Soc.* 2006;12(1):12-18.
- [15] Gilleron J, Goudon T, Lagoutière F, Martin H, Mauroy B, Millet P, Ribot M, Vaghi C. Modeling and analysis of adipocytes dynamic with a differentiation process. *ESAIM Proc Surv.* 2020;67:210-41.
- [16] McGee-Lawrence ME, Wenger KH, Misra S, Davis CL, Pollock NK, Elsalanty M, Ding K, Isales CM, Hamrick MW, Wosiski-Kuhn M, Arounleut P, Mattson MP, Cutler RG, Yu JC, Stranahan AM. Whole-Body Vibration Mimics the Metabolic Effects of Exercise in Male Leptin Receptor-Deficient Mice. *Endocrinology.* 2017;158(5):1160-71.
- [17] Sun C, Zeng R, Cao G, Song Z, Zhang Y, Liu C. Vibration Training Triggers Brown Adipocyte Relative Protein Expression in Rat White Adipose Tissue. *Biomed Res Int.* 2015;2015:919401.
- [18] Tirkkonen L, Halonen H, Hyttinen J, Kuokkanen H, Sievanen H, Koivisto AM, Mannerstrom B, Sandor GK, Suuronen R, Miettinen S, Haimi S. The effects of vibration loading on adipose stem cell number, viability and differentiation towards bone-forming cells. *J R Soc Interface.* 2011;8(65):1736-47.
- [19] Alkhoury N, Gornicka A, Berk MP, Thapaliya S, Dixon LJ, Kashyap S, Schauer PR, Feldstein AE. Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. *J Biol Chem.* 2010;285(5):3428-38.
- [20] Sassmann-Schweda A, Singh P, Tang C, Wietelmann A, Wetschurack N, Offermanns S. Increased apoptosis and browning of TAK1-deficient adipocytes protects against obesity. *JCI insight.* 2016;1(7).
- [21] Sayers TJ. Targeting the extrinsic apoptosis signaling pathway for cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2011;60(8):1173-80.
- [22] Saha S, Lakes RS. The effect of soft tissue on wave-propagation and vibration tests for determining the *in vivo* properties of bone. *J Biomech.* 1977;10(7):393-401.
- [23] Zuriaga MA, Fuster JJ, Gokce N, Walsh K. Humans and mice display opposing patterns of "browning" gene expression in visceral and subcutaneous white adipose tissue depots. *Front Cardiovasc Med.* 2017;4:27.
- [24] González-Tarragó V, Elosegui-Artola A, Bazellières E, Oria R, Pérez-González C, Roca-Cusachs P. Binding of ZO-1 to  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 integrins regulates the mechanical properties of  $\alpha$ 5 $\beta$ 1-fibronectin links. *Mol Biol Cell.* 2017;28(14):1847-52.
- [25] Kuryłowicz A, Puzianowska-Kuźnicka M. Induction of Adipose Tissue Browning as a Strategy to Combat Obesity. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6241.