

해양무척추동물을 활용한 골 조직 재생용 바이오 메디컬 소재

오건우 · 정원교*

부경대학교 의공학과

Biomedical Materials for Regenerating Bone Tissue Utilizing Marine Invertebrate

Gun-Woo Oh and Won-Kyo Jung*

*Department of Biomedical Engineering, and Center for Marine-Integrated Biomedical Technology (BK21 Plus)
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

Tissue engineering is an emerging, innovative technology to improve or replace the biological functions of damaged tissues and organs. Scaffolds are important materials for tissue engineering as they support cell attachment, migration, and differentiation. Marine sponges naturally contain scaffolds formed by extracellular matrix proteins (collagen and sponging) and strengthened by a siliceous or calcium carbonate skeleton. Coral skeletons are also derived naturally formed by essential calcium carbonate in the form of aragonite, and are similar to human bone. In addition, collagen extracted from jellyfish is a biosafe alternative to bovine and porcine collagen and gained attention as a potential source for tissue engineering. Moreover, cuttlefish bone is an excellent calcium source and can be used to generate bio-synthetic calcium phosphate. It has become a natural candidate for biomimetic scaffolds. This review describes the use of natural products derived from marine invertebrates for applications in bone tissue engineering based on studies from 2008 to 2014.

Key words: Marine invertebrates, Collagen, Chitin, Hydroxyapatite, Bone tissue engineering

서 론

해양은 생물자원의 보고로서 지구에 존재하는 생물 종의 약 80% 이상이 서식하는 것으로 추정된다(Census of Marine Life Press Release, 2010). 이처럼 무한한 생물-생태학적 잠재력을 보유하고 있는 해양수산생물자원에 대한 관심은 육상생물자원의 고갈문제로 인한 수요 한계 해결 및 이를 대체할 수 있는 생물자원으로써 높은 관심을 받고 있다. 그로 인하여, 해양수산생물자원은 인류의 식량문제의 해결뿐만 아니라 고부가가치 소재로의 다양한 분야의 적용 및 활용에 있어 그 중요성이 부각되고 있다(Kim et al., 2013a; Lee et al., 2013).

동물계(animal kingdom)에는 척추동물(vertebrate)과 무척추동물(invertebrate)로 이루어져 있으며, 각각 동물계의 약 3%와 97%를 차지하고 있다(Buchsbaum et al., 2013). 해양무척추동물(marine invertebrate)은 수생환경(aquatic environment)에서 살아가는 다세포동물로, 이들은 해양생태계의 환경변화를 예

측할 수 있는 생물지시자(bioindicator)의 역할 뿐만 아니라 이차 생산자로서 중요한 역할을 담당하고 있어 생물학적 다양성 측면에서 매우 높은 가치를 지니는 중요생물 구성원 중 하나이다(Hodkinson and Jackson, 2005; Radjasa et al., 2011).

골(bone)은 우리 몸에서 석회화(mineralization)로 이루어진 대표적인 조직으로, 구조적 기능 및 필수대사과정을 담당한다. 먼저 구조적 기능으로는 척수(bone marrow)나 뇌(brain)처럼 생명현상에 필수적인 조직들을 외부 충격으로부터 보호해주며, 근육이 부착 할 수 있는 지지대의 역할을 하여 근육운동(muscular movement)을 할 수 있도록 도와준다. 두번째 기능으로는 필수대사기능으로, 칼슘(calcium)과 인산염(phosphate)의 조절을 통하여 혈액의 항상성(serum homeostasis)을 유지할 수 있도록 도와준다(Hadjidakis and Androulakis, 2006). 이러한 골은 여러 가지 호르몬이나 물리적인 자극에 의해 뼈를 형성하는 조골세포(osteoblast)와 뼈를 흡수하여 제거하는 파골세포(osteoclast)의 상호작용에 의하여 일생 동안 재형성과정(re-

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2015.0001>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Kor J Fish Aquat Sci 48(1) 001-015, February 2015

Received 29 January 2015; Revised 10 February 2015; Accepted 11 February 2015

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5775 Fax: +82. 51. 629. 5775

E-mail address: wkjung@pknu.ac.kr

modeling)을 거친다(Walsh and Gravalles, 2010). 하지만, 뼈의 항상성을 유지하는 두 세포 사이의 균형이 무너지게 되면, 파골세포의 과활성화에 의한 골다공증(osteoporosis)이나 조골세포의 과활성화에 의한 골경화증(osteosclerosis) 같은 문제가 발생하게 된다(Boyle et al., 2003; Dai et al., 2004). 따라서 건강한 뼈 조직을 유지하기 위해서는 이 두 세포들의 생리적 항상성이 매우 중요하다.

조직공학(tissue engineering)은 질병 및 상처에 의해 조직 및 기관이 더 이상 기능을 못할 경우, 이를 재생과 대체를 통하여 원상태의 기능 유지 및 증진시킬 수 있도록 연구하는 다학제간 연구 분야이다(Ehrenfreund-Kleinman et al., 2005; Rim et al., 2010). 조직공학의 필수요소로는 세포(cell)가 자랄 수 있는 공간을 마련해주는 세포지지체(scaffold)와 세포에게 영양분을 공급하며 부착, 증식 및 분화에 영향을 주는 성장인자(growth factor), 그리고 각 조직 및 기관으로 분화할 수 있는 세포가 포함된다(Dvir et al., 2011). 세포지지체로 사용하는 고분자는 크게 2가지로 나눌 수 있는데, 콜라겐(collagen), 알지네이트(alginate), 키틴(chitin) 및 젤라틴(gelatin)과 같은 천연고분자(natural polymer)와 polycaprolactone (PCL), polylactic acid (PLA) 및 polyglycolide (PGA)와 같은 합성고분자(synthetic polymer)가 있으며, 이들은 각각 사용되거나, 또는 2개 이상의 고분자를 이용하여 세포지지체를 제작한다(Kim and Kim, 2013; Fu et al., 2013). 세포지지체는 인체 내에 사용되어야 하기 때문에 무독성(nontoxic)이어야 하고, 외부충격을 견딜 수 있을 만큼의 적절한 기계적 강도(mechanical property)와 공극률(porosity), 가공성(processability) 그리고 생체적합성(bio-compatibility)과 생분해성(biodegradability)이 우수하여야 한다(Yang et al., 2001).

이 논문에서는 해양수산생물 중에서 해양무척추동물을 이용한 골조직재생의 활용 및 적용 가능성에 대하여 알아보려고 한다.

해양무척추동물 유래 의생명공학적 활용 가능 소재

천연자원으로부터 유도되는 다양한 소재들을 이용하여 제작된 의공학용 재료들은 높은 생체적합성과 생분해성 등의 특징들을 가지고 있어 약물전달시스템(drug delivery system), 수술용 봉합사와 임플란트 등의 의료분야에서 널리 이용되고 있다(Zia et al., 2008) (Fig. 1). 육상생물과 비교하여 수인성 감염 등에 대한 안전성과 높은 생체적합성(bio compatibility)을 가지고 있는 수산생물들은 최근 의공학 소재로서 많은 관심을 받고 있다. 콜라겐의 경우 주로 소나 돼지 등의 육상동물로부터 유래된 피부 및 뼈 등으로부터 얻어지고 있으나, 광우병(bovine spongiform encephalopathy), 전염성 해면상 뇌병증(transmissible spongiform encephalopathy) 및 구제역(foot-and-mouth disease)과 같은 안전성 문제로 인하여 육상동물 유래 콜라겐의 사용을 기피하고 있는 추세이다(Zhang et al., 2007). 이러한 안

전성 문제로 인해 생체적합성 소재로서의 이용에 문제점이 대두되고 있어 육상동물 유래 콜라겐의 사용을 기피시키는 등의 문제점을 해결하고자 보다 안전한 해양수산생물자원에 대한 관심이 높아지고 있다.

해양무척추동물들은 해양이라는 특수한 환경에서 온도, pH, pCO_2 및 탄산칼슘 포화정도의 환경적 요인들에 의하여 그들의 행동, 모양, 생리화학적 행동 및 분포의 조절에 영향을 받는다(Byrne, 2011). 이러한 해양무척추동물은 알려진 모든 동물종의 약 92%를 차지하고 있으며, 온라인 국제 데이터베이스 사이트인 '세계 해양 종 등록'의 자료에 따르면 약 23만여 종의 수산생물들이 해양에 서식하고 있으나 현재까지 밝혀지지 않은 생물들이 약 1,000만종 이상이 있을 것으로 추정하고 있으며, 그 중에서도 가장 많은 수를 차지하고 있는 해양종은 무척추동물이라고 추측하고 있다(Guerra et al., 2011). 이처럼 해양수산생물은 육상생물과 비교하여 월등히 많은 종을 보유하고 있어, 이용할 수 있는 범위 및 가치가 높아 다양한 분야에 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

해양무척추동물들의 골격은 연부조직(soft tissue)에 기계적 강도를 통한 지지와 특별한 생리학적 상황에서 요구되는 이온의 비상저장시스템 기능을 한다(Vago, 2008). 이러한 생광물화(biomineralization)는 대부분의 동물이 골격, 껍질 및 이를 구성하는 과정으로, 해양수산생물자원의 골격물질은 일반적으로 탄산칼슘($CaCO_3$)을 주성분으로 하는 방해석(calcite)이나 아라곤나이트(aragonite), 인산칼슘(calcium phosphate) 및 수산화마그네슘[Mg(OH)₂]과 결합된 실리카(SiO_2)화합물의 결정형



Fig. 1. Regenerative medicine for bone tissue.

태로 만들어진다(Vago et al., 2002). 생체적합성과 골조직 재생 효능을 보유한 성분을 함유하고 있는 해양무척추동물들 중에서 해면류는 키틴 성분이 풍부하고, 산호와 갑오징어는 탄산칼슘이 풍부하며, 해파리와 전복에는 단백질이 풍부하게 함유되어 있다고 알려져 있다. 이렇게 형성된 골격 및 이들로부터 유래되는 유용물질들은 골조직 재생에 적용될 수 있으며, 실제로도 많은 연구들을 통하여 골조직 재생으로의 활용 및 가능성이 보고되고 있다(Milovac et al., 2014; Wysokowski et al., 2013; Zhang et al., 2014). 또한, 수산생물들은 수생이라는 특수한 환경에 서식하고 있어 많은 생리활성물질과 육상생물로부터 획득하기 힘든 특이한 구조의 생리활성물질들이 해양수산생물자원으로부터 발견되고 있다(Minh et al., 2011). 그 중에서, 해양무척추동물로부터 유래된 해양생리활성물질들은 항산화(Seleghim et al., 2007), 항염증(Thao et al., 2013), 조골세포 분화(Nguyen et al., 2014), 항암(Silchenko et al., 2008) 및 항응고(Luo et al., 2013) 등의 다양한 효과를 가지고 있어 약학적인 측면에서의 이용 가능성이 높다.

이 논문에서는 이처럼 특수한 수생환경에서 서식하는 해양무척추동물을 대상으로 하여 이들의 골격과 해양무척추동물 유래 유용물질을 이용하여 조직공학으로의 적용 및 가능성에 대한 연구결과들에 대하여 고찰하고자 한다. 또한, 해양무척추동물로부터의 유용물질 및 이를 이용한 골조직재생에 관한 최근 연구들을 Table 1에 제시하였다.

키틴

셀룰로오스(cellulose) 다음으로 많이 생산되고 있는 다당류인 키틴은 약 19개의 동물문에서 다른 다당류 및 단백질과의 결합형태로 존재하고, 규조류(diatom)나 균류(fungi)의 세포벽을 이루는 알려져 있는 필수성분이다(Ehrlich et al., 2007). 이러한 키틴은 *N*-아세틸글루코사민(*N*-acetylglucosamine)을 기본단위로 하여 β-1,4 결합에 의해 생성된 천연생체고분자물질(Fig. 2)이다(Zia et al., 2008). 키틴은 주로 해양갑각류(crustaceans)인 새우(shrimp), 게(crab) 및 가재(crawfish)를 주원료로 하여 생산이 되고 있으며, 생체적합성과 생분해성이 우수하며, 창상치유(wound healing)나 항균(anti-microbial) 및 항염증(anti-inflammatory) 등의 다양한 생리활성을 포함하고 있어 많은 연구를 통하여 세포지지체 등의 의료용 재료로서 이용되고 있다(Jayakumar and Tamura, 2008; Madhumathi et al., 2010; Nagahama et al., 2008). 또한, 최근에 조직재생에 대하여 보통해면류로부터 키틴골격을 획득하여 적용시킨 연구들이 보고 되고 있다.

살아있는 화석이라고도 불리며, 후생동물(metazoans)에 속하는 가장 하등한 다세포생물인 해면(marine sponge)은 약 6억 년 전부터 해양에 서식하였으며, 현재까지 알려진 동물 중에서 가장 오래된 동물로 알려져 있다(Pozzolini et al., 2014). 또한, 해면은 다세포의 기원, 조직의 발달, 신호전달경로(signaling pathway), body polarity 및 조직화 체계(coordination system)

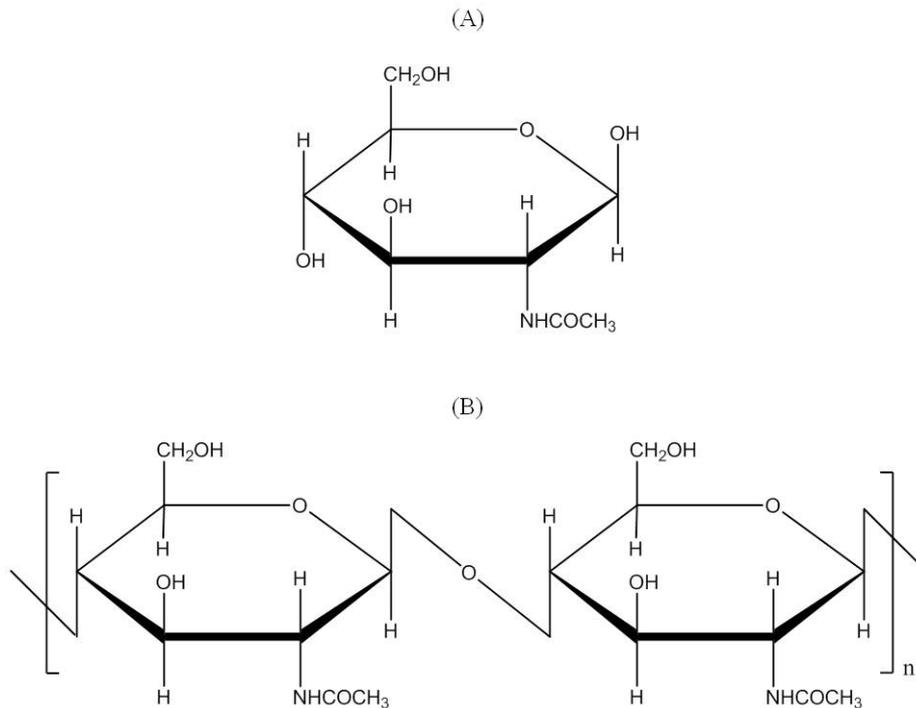


Fig. 2. Structure of chitin. (A) *N*-acetylglucosamine, (B) β-1,4-linked linear homopolymer of *N*-acetylglucosamine.

Table 1. Natural products derived from marine invertebrates for bone tissue regeneration

Products	Animals	Family or Species	Types	Cells	In vivo	References	
Chitin	Sponge	<i>Spongilla lacustris</i>	Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2013	
		<i>Aplysina fulva</i>	Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2010b	
		<i>Aplysina cavernicola</i>	Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2010a	
		<i>Aplysina aerophoba</i>	Skeleton	-	-	Wysokowski et al., 2013c	
		<i>Aplysina cauliformis</i>	Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2010b	
			Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2010a	
			Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2010b	
			Skeleton	-	-	Ehrlich et al., 2010c	
			Skeleton	Porcine chondrocytes	-	Mice	Ehrlich et al., 2013a
			Skeleton	-	-	-	Ehrlich et al., 2010b
Collagen	Jellyfish	<i>Cotylorhiza tuberculata</i>	ASC ² , PSC ³	-	-	Addad et al., 2011	
		<i>Pelagia noctiluca</i>	ASC, PSC	-	-		
		<i>Aurelia aurita</i>	ASC, PSC	-	-		
		<i>Rhizostoma pulmo</i>	ASC, PSC	MG-63 osteoblast-like, HaCat epithelial, HT-1080 fibrosarcoma cells	-	-	Zhang et al., 2014
		<i>Cyanea nozakii</i>	ASC, PSC	-	-	Calejo et al., 2009	
		<i>Catostylus tagi</i>	PSC	-	-	Hoyer et al., 2014	
		<i>Rhopilema esculentum</i>	PSC	-	-	Barzideh et al., 2014	
		<i>Chrysaora</i> sp.	PSC	-	-		
			COP ⁴	MG-63 osteoblast-like cells	-	-	Pallela et al., 2012
			COP	-	-	-	Sudharsan et al., 2013
Calcium carbonate	Coral	<i>Spirastrella inconstansi</i>	COS ⁵	Human BMSCs ¹⁴	Mice	Green et al., 2008	
		<i>Spongia officinalis</i>	COS	Mice primary osteoblasts	-	Lin et al., 2011	
		<i>Callyspongiidae</i>	COS	Mice primary osteoblasts	-		
		<i>Acropora abrotanoides</i>	Skeleton	Human fibroblast, Rat BMSCs	Rat	Sergeeva et al., 2014	
		<i>Acropora cervicornis</i>	Skeleton	Human fibroblast	Rat		
		<i>Acropora hyacinthus</i>	Skeleton	Human fibroblast	Rat		
		<i>Acropora nobilis</i>	Skeleton	Human fibroblast	Rat		
		<i>Acropora samoensis</i>	Skeleton	Human fibroblast	Rat		
		<i>Pocillopora verrucosa</i>	Skeleton	Human fibroblast	Rat		
			Skeleton	-	Rabbit	Ripamonti et al., 2009	
	Skeleton	Human BMSCs	Human	Tran et al., 2011			
	Skeleton	Rat BMSC-AS ¹⁵	-	-	Al-Salih, 2009		
	Skeleton	Human osteoblast CRL 1543 cells	-	-	Foo et al., 2008		
	Skeleton	Human DPSCs ¹⁶ , osteoblast	-	-	Mangano et al., 2011		
	Skeleton	hES-MPs ¹⁷ , Human MSCs ¹⁸	-	-	de Peppo et al., 2013		
	Skeleton	Rabbit BMSCs	-	-	Puvaneswary et al., 2013		

와 같은 기초연구에 대한 해답을 알려 줄 수 있는 모델로 이용되고 있다(Leys and Hill, 2012). 이들은 물이 순환될 수 있는 여러 개의 관(canal)과 깃세포실(choanocyte chamber)을 보유하고 있으며, 기관을 가지고 있지 않은 매우 단순한 몸의 구조를 가지고 있다(Erwin and Thacker, 2007; Leys and Hill, 2012). 해면동물문(phylum porifera)은 보통해면류(demosponge), 석회해면류(calcarea), 육방해면류(hexactinellida) 및 동골해면류(homoscleromorpha)의 4개의 강(Class)으로 분류할 수 있다(Riesgo et al., 2014). 이 중, 보통해면류는 강 중에서 가장 큰 부분을 차지하고 있는 해면동물로서, 다양한 유기성분들로 이루어진 골격을 가지고 있는데, 단백질인 해면질(spongin), 다당류인 키틴과 규질의 골편(siliceous spicule)을 가지고 있다(Kunze et al., 2013). 특히, Verongida 목(Order)을 포함한 모든 보통해면류는 키틴을 기본으로 하는 골격을 보유하고 있다(Kunze et al., 2013). 이러한 특징들을 이용하여 보통 해면류로부터 키틴 골격을 획득하여 조직재생에 적용시킨 연구들이 최근 많이 이루어지고 있다.

Ehrlich et al. (2010b; 2010c)은 5종류의 해면(*Aplysina fulva*, *A. aerophoba*, *A. cauliformis*, *A. cavernicola*, *Aiolochoxia crassa*)으로부터 키틴 골격을 분리하였으며, 이 중 *A. cauliformis*를 통해 *in vitro* 및 *in vivo* 연구를 통하여 조직공학으로의 가능성을 제시 하였으며, *Ianthella basta*, *A. cavernicola* 및 *Spongilla lacustris* 종으로부터 각각 키틴 골격을 획득하여 세포담체로서의 이용가능성을 제시한 연구도 있다(Brunner et al., 2009; Ehrlich et al., 2013; Wysokowski et al., 2013a). 또한, Ehrlich et al. (2010a)은 *A. cavernicola*, *A. cauliformis*, *Verongula gigantea* 3개의 해면종으로부터 실리카-키틴-아라고나이트로 이루어진 새로운 구조의 생체복합재료의 규명을 통하여 적용 조직공학으로의 가능성을 제시하였다. 뿐만 아니라 해면으로부터 골격을 획득하여 직접적으로 이용하지 않고 다른 물질들과의 적용을 통하여 새로운 형태의 세포담체를 제작하여 조직공학으로의 활용가능성을 제시한 연구들도 보고되었다. 그 예로 Wysokowaki et al. (2013a, 2013b)은 *I. basta*로부터 획득한 키틴 골격에 고분자 혼합에 주로 사용되고 있는 보강제인 실리카를 적용시킨 세포담체의 제작과 *A. aerophoba*의 키틴 골격에 세라믹 및 절연체의 생산에 사용하는 ammonium zirconium을 적용시킨 세포담체를 제작한 연구들이 보고되고 있다.

콜라겐

콜라겐은 피부, 뼈, 힘줄 및 연골 같은 조직결합(connective tissue)의 세포외기질(extracellular matrix)을 구성하고 있는 주요 구성성분 중 하나로 동물의 전체 단백질 중 약 30%를 차지하고 있으며, 조직의 기계적 강도와 생리적인 기능유지에 중요한 역할을 한다(Barzideh et al., 2014). 현재까지 알려진 바로는 29개의 콜라겐 형태가 존재한다고 보고되었으며, 구조는 Gly-X-Y의 아미노산 배열의 반복을 통해 형성되는 도메인(domain)으

로 이루어진 삼중나선구조(triple helix structure)이며(Fig. 3), 총 아미노산의 약 30%는 glycine으로 구성되어 있고, X와 Y자리에는 주로 proline이나 hydroxyproline이 존재한다(Schegg et al., 2009). 이러한 콜라겐은 생체재료의 이용에 유리한 높은 생체적합성, 낮은 항원성(low antigenicity), 세포부착능력(cell-binding properties) 및 높은 생분해성 등의 특징들을 가지고 있어 생체재료로서 널리 이용이 되고 있다(Jeong et al., 2007; Murphy et al., 2010). 최근에는 안전성 문제가 대두되고 있는 육상동물유래 콜라겐보다 안전하다고 알려져 있는 해양수산생명자원유래 콜라겐에 대한 관심이 증대되고 있으며, 콜라겐 추출에 대한 연구 또한 활발히 진행되어지고 있다(Duan et al., 2009; Jongjareonrak et al., 2005; Matnroh et al., 2011). 조직재생과 관련하여 해파리(jellyfish) 유래 콜라겐에 대한 연구가 활발하며, 해면 유래 콜라겐에 대한 연구도 점차 증가하고 있는 추세이다.

해파리는 분류학적으로 자포동물문 해파리강(Scyphozoa)에 속하는 무척추동물이다(Lim and Kim, 2014). 해파리는 단백질과 수분이 주성분으로 미량의 당과 칼슘, 인, 요오드 및 비타민 같은 무기질이 풍부하며, 지방 및 콜레스테롤 함량이 적어 천연건강식품으로 오랫동안 이용된 수산생물이다(Ding et al., 2011). 또한 해파리는 몸통의 외피조직과 내피조직의 사이에 다량의 콜라겐을 함유하고 있어(Lim and Kim, 2014), 콜라겐의 추출 및 이를 활용하고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있으며, 이로부터 콜라겐의 추출과 가수분해를 통한 항산화(Ding et al., 2011), 항피로효과(Ding et al., 2011), 항고혈압(Zhuang et al., 2012) 및 멜라닌 형성 억제(Zhuang et al., 2012) 등의 다양한 생리활성에 대한 연구가 보고 되었다. 또한, 다양한 생리활성에 대한 연구뿐만 아니라 해파리로부터 획득한 콜라겐을 이용하여 의공학적 소재로 적용 시키기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

다음은 해파리로부터 추출된 콜라겐에 대한 연구들이다. Ad-

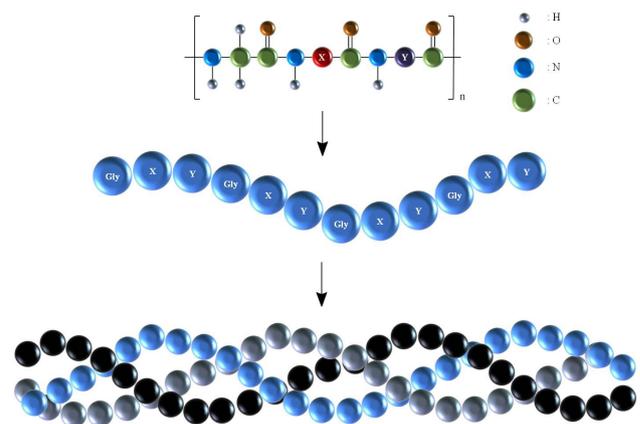


Fig. 3. Repeating amino acid pattern of the Gly-X-Y and triple helical structure of collagen.

dad et al. (2011)은 해파리 2종(*Rhizostoma pulmo*, *Cotylo-rhiza tuberculata*)의 몸통(umbrella)과 구완(oral arms)으로부터 콜라겐을 추출하고, 다른 2종(*Aurelia aurita*, *Pelagia noctiluca*)의 몸통으로부터 콜라겐을 추출하였다. 이들 중 *R. pulmo*의 구완으로부터 획득한 콜라겐 수율이 가장 높았으며, 이를 이용하여 *in vitro* 상에서의 연구를 통하여 의공학소재로의 적용가능성을 제시하였다. 또한, Zhang et al. (2014)은 *Cyanea nozakii*로부터 산과 효소를 이용하여 콜라겐을 추출하였으며, Barzideh et al. (2014)과 Calejo et al. (2009)은 *Chrysaora* sp.와 *Catostylus tagi*에서 효소를 이용한 콜라겐추출을 통하여 해양수산생물유래 콜라겐의 활용가능성을 제시 하였다. 그리고, *Rhopilema esculentum*로부터 효소처리 추출방법으로 획득한 콜라겐을 이용한 세포담체를 제작하여 조직재생으로의 활용가능성을 제시한 연구도 보고 되어졌다(Hoyer et al., 2014).

또한, 해면으로부터 콜라겐을 추출하여 이를 이용한 연구들도 보고 되었다. Sudharsan et al. (2013)은 *Spirastrella inconstans*으로부터 콜라겐을 추출하여 조직재생으로의 활용 가능성을 제시하였고, Pallela et al. (2012)은 *Ircinia fusca*로부터 추출한 콜라겐과 키틴 및 수산화인회석을 사용하여 제작한 세포담체에 조골세포 적용을 통한 연구를 통하여 골조직재생으로의 활용가능성을 제시하였다. Lin et al. (2011)은 Callyspongiidae 과에 속하는 해면종으로부터 하여 콜라겐 골격을 추출하였으며, Green et al. (2008)은 *Spongia officinalis* 종의 콜라겐 골격 추출을 하여, 키틴 골격 뿐만 아니라 콜라겐 골격에 대한 골조직재생용 소재로서의 활용 가능성을 보고하였다.

수산화인회석(hydroxyapatite, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$)

인산칼슘(calcium phosphate)은 골이나 치아 같은 근골격계(musculoskeletal system)의 치료 및 재생에 사용되는 물질이다. 가장 널리 사용되는 인산칼슘 계열로는 수산화인회석, 제삼인산칼슘(β -tricalcium phosphate) 및 이 두 가지 생체재료의 혼합을 통하여 만들어지는 생체친화성과 분해성이 우수한 장점을 가지는 이상인산칼슘(biphasic calcium phosphate)이 있다(Kim et al., 2013c; Sarin et al., 2011). 이 중에서, 수산화인회석이 결정구조를 가지기 위한 단위격자를 Fig. 4에 나타내었다. 수산화인회석의 결정구조는 칼슘과 인산염이 수산화이온 주위에 배열이 되고, 이러한 인산염의 네트워크로 인해 생성된 골격의 구조가 결정구조를 형성할 수 있도록 도와준다(White et al., 2007). 이러한, 수산화인회석은 뼈 조직의 약 75%를 구성하는 주요성분으로, 매우 훌륭한 생체친화성, 생체적합성, 골전도성 등의 특징뿐만 아니라 생리활성을 가지고 있어 의공학 분야에서 골 및 타 조직의 복원을 위한 재료로 널리 사용되고 있는 물질이다. 그러나, 수산화인회석으로만 제작 되어진 세포담체는 약한 기계적 강도로 인해 생체재료로 사용하기에는 다소 제한적이며(Kim et al., 2003; Trinkunaite-Felsen et al., 2014), 미세구조의 복잡한 구조를 제작하기에 어렵다는 단점이 있다(Ma et

al., 2003). 수산화인회석은 천연유기물을 기본으로 한 물질 및 무기물로부터 합성되며, 보통 생선뼈, 산호 및 달걀껍질 등의 천연유기물질로부터 합성된 수산화인회석은 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , F, Cl 및 SO_4^{2-} 등과 같이 골 대사와 연관된 여러 가지 생화학적 반응에 영향을 미치는 유익한 원소들을 포함하고 있는 반면, 일반적인 수산화인회석의 합성 방법에 의한 수산화인회석에는 위와 같은 유익한 원소들이 포함되어 있지 않다(Akram et al., 2014). 따라서, 생물로부터 추출된 수산화인회석은 치료 목적을 위한 귀중한 생체적합물질로 사용될 수 있다. 해양무척추동물 중 산호(coral)와 갑오징어(cuttlefish)는 탄산칼슘으로 골격을 형성하며, 이를 이용한 연구가 많이 이루어 지고 있다.

수산생물 중 산호는 군체(colonial organism)를 이루며 살아가는 고착생물로 암초를 형성하는 주요 생물 중 하나이다. 이러한 산호는 산호충강(anthozoa)에 속하는 무척추동물로 약 7,000종 이상이 있으며, 탄산칼슘결정의 일종인 아라고나이트의 형태로 골격을 형성한다(Kon et al., 2014). 형성된 산호골격은 골격자체가 골전도성이 뛰어나거나 골형성 효과를 가지고 있는 것은 아니나 성장인자의 매개와 세포의 부착, 성장, 증식, 확산 및 분화를 도와줄 수 있는 구조와 기공연결 및 탄산칼슘의 결정 등의 특징이 인간의 뼈와 형태학적으로 매우 유사하며, 독성이 없고, 비돌연변이 유도물(nonmutagenic)로서, 생체적합성이 매우 우수하여 다양한 연구를 통하여 골 재생관련 연구의 재료로 사용이 되고 있다(Al-Salihi, 2009; Foo et al., 2008; Gravel et al., 2006). 이러한 산호에서 골조직재생용 세포담체로 주로 사용이 되고 있는 종은 *Porites*, *Acropora*, *Lobophyllia*, *Goniopora*, *Polyphyllia* 및 *Pocillopora*가 있으며, 이들은 골조직재생을 위한 적절한 크기와 기공연결을 가지고 있으며, 특히 *Porites* 종에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Kon et al., 2014).

산호는 오래 전부터 골 재생을 위한 물질로 사용 되고 있으며, 많은 연구들을 통하여 조직공학으로써의 가능성이 증명되었다. Al-Salihi (2009), Mangano et al. (2011), Tran et al. (2011) 및 Tripathi et al. (2001)은 *Porites* sp.의 골격을 이용하

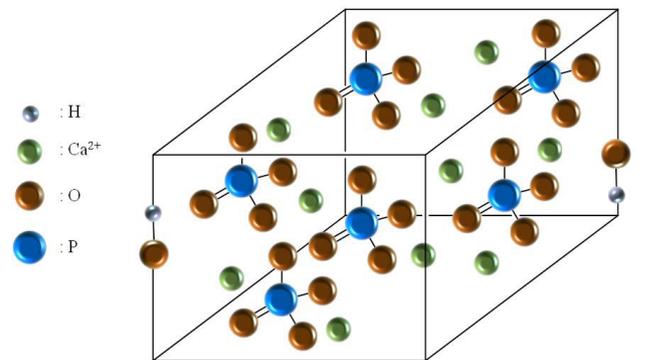


Fig. 4. Unit cell of hydroxyapatite for crystal structure.

여 제작된 세포담체를 이용하여 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 골조직재생 효능을 규명하였다. Ripamonti et al. (2009)은 *Goniorpora* sp.에 속하는 산호유래 세포담체를 이용하였고, Eskandar (2008), Ning et al. (2009) 및 Zheng et al. (2013)은 정확한 종의 정보를 제공하지는 않았으나 산호유래 세포담체를 이용하여 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 골조직재생 효능을 확인 하였다. Foo et al. (2008)은 산호유래의 세포담체에 조골세포를 배양하여 조골세포-특이 단백질들인 alkaline phosphatase (ALP), osteopontin 및 osteocalcin 뿐만 아니라, 조골세포의 분화, 뼈의 형성 및 조골세포 관련 유전자들을 발현시키는데 필요한 발현인자인 runt-related gene2 (RUNX2)의 발현증가를 확인하여 골조직재생으로써의 활용가능성을 제시하였다. Gao et al. (2009)의 연구에서는 관모양의 산호유래 세포담체에 줄기세포를 이용하여 만든 세포시트(cell sheets)를 적용시켜 *in vivo* 상에서 골조직이 산호골격만 단독으로 사용했을 때 보다 더욱 효과적인 골 재생 효능을 확인 하였다. 또한, 다양한 성장인자들을 함유하고 있어 골 및 연부조직의 재생에 사용되고 있는 다혈소판 혈장(platelet rich plasma)를 산호골격에 적용시켜 제작한 세포담체를 이용한 연구들도 있으며, 이들은 산호골격만을 사용하였을 경우보다 다혈소판 혈장을 적용시켜 제작한 산호골격의 세포담체가 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 골조직 재생효능이 더욱 효과적인 것을 증명하였다(Parizi et al., 2013; Zhang et al., 2011). Puvaneswary et al. (2013)은 골 이식(bone graft)에서의 줄기세포배양보다 산호유래 세포담체에서 줄기세포배양이 조골세포의분화에 더욱 효과적이라는 연구결과를 보고하였으며, Liu et al. (2013a)은 자가유래의 줄기세포가 아닌 동종유래의 지방 세포로부터 유래된 줄기세포를 산호유래 세포담체에 적용하여 골조직재생의 대체원료로서의 가능성을 제시하였다. 또한, 은(Ag^+)을 적용시킨 연구결과도 보고되어지고 있으며, 이는 은이 가지고 있는 항박테리아효과를 이용하여 은을 함유한 산호골격 세포담체의 제작을 통해 조직재생으로써의 활용가능성을 보고 하였다(Schlosser et al., 2013; Zhang et al., 2010; 2014). Geng et al. (2013)은 세포-세포담체로 이루어진 의료공학용소재가 가지는 낮은 세포 접착률과 골형성능을 향상시키기 위해 해면유래 골격입자들과 줄기세포시트를 적용시켜 만든 관모양의 세포담체를 이용하여 *in vitro* 상에서 골조직재생효능에 대하여 연구하였으며, de Peppo et al. (2013)은 유동적인 상태에서 세포를 배양하였을 경우, 중간엽줄기세포-해면유래 세포담체보다 배아줄기세포로부터 유래된 중배엽 전구체-해면유래 세포담체가 골조직재생효능이 우수함을 증명하여, 배아줄기세포로부터 유래된 중배엽 전구체의 골조직재생으로써의 활용가능성을 제시하였다. 또한, 단독으로 사용한 산호유래 세포담체보다 고분자 글리코사미노글리칸으로 생분해성이며 생체친화성의 특징을 가지는 천연고분자로 세포의 증식과 부착을 증가시켜주는 히알루론산(hyaluronic acid)과 결합된 산호유래 세포담체가 관절연골(articular hyaline cartilage)

과 연골하골(subchondral bone)의 재생에 효과적임을 증명한 최근 연구결과도 있다(Kon et al., 2014). 그리고, 천연 산호로부터 유래된 세포담체는 그들의 서식 환경의 차이에 의하여 생기는 구성성분들의 차이로 인해 선택 제한의 문제가 발생할 수 있다. 이로 인해 발생하는 문제를 해결하기 위해 동일한 조건하에서 직접 배양한 산호(*Acropora abrotanoides*, *A. nobilis*, *A. hyacinthus*, *A. samoensis*, *Pocillopora verrucosus*)와 천연 산호인 *A. cervicornis*로부터 유래된 세포담체의 비교 연구로 골조직재생으로써의 활용가능성을 제시한 연구결과도 있다(Sergeeva et al., 2014).

또한, 갑오징어는 연체동물에 속하고 뼈는 경조직이며 2가지 영역으로 나뉘는데, 등부분의 두껍고 딱딱한 외벽과 탄산칼슘으로 이루어진 판 사이에 공간을 가지는 얇은 판으로 이루어진 내막으로 되어 있고, 갑오징어가 물에 부유 할 수 있도록 부상조(floating tank)의 역할을 한다(Kim et al., 2012). 갑오징어 뼈의 구성성분은 아라고나이트, 단백질 및 키틴의 무기물 및 유기물로 이루어진 생체적합성물질로, 조직재생 소재로서 잠재력이 풍부하나 주로 가공부산물로 취급하여 이용성이 낮았으나, 최근 갑오징어 뼈가 가지는 특징인 높은 공극률 및 골공강도와 내압강도를 가지는 생체적합성으로 인하여 많은 연구를 통해 조직공학으로써의 활용방안이 연구되고 있다(Cadman et al., 2010; Milovac et al., 2014). 이러한 갑오징어 뼈는 수열처리(hydrothermal treatment)방법을 이용하여 다공성을 가지는 인산칼슘 세포담체를 제작할 수 있으며, 이렇게 생성된 세포담체는 미세구조가 잘 유지되며, 적절한 공극크기(~ 100 – 200 μm)와 조직재생에서 생물학적 활성들을 지지하기 위한 상호연결성을 가지고 있어 골조직공학으로써의 가능성이 높다(Cadman et al., 2010).

Kim et al. (2008, 2012)은 *Sepia esculenta*의 뼈로부터 유래된 세포담체를, Li et al. (2013)도 갑오징어 뼈로부터 유래된 세포담체를 이용하여 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 골조직재생효과를 확인하였다. Dutta et al. (2011)은 탄산칼슘에서 인산칼슘으로의 변형을 위해서 사용하는 열수처리방법으로 인한 생체적합물질의 손상 또는 이온교환과정을 거치는 외기조건방법이 가지는 오랜 변형기간의 문제점을 해결하고자 새로운 방법의 외기조건방법을 제시하여 *Sepia officinalis*의 뼈로부터 인산칼슘 세포담체의 제작방법을 제시하였다. 또한, 마이크로파를 적용시켜 갑오징어 뼈로부터 세포담체를 제작한 연구결과도 있으며(Poinem and Fawcett, 2013), Dogan and Okumus (2014)의 연구에서는 갑오징어 뼈, 탈미네랄화된 골기질, 소 해면골 이식 및 제삼인산칼슘의 비교연구를 통하여 갑오징어 뼈의 이식을 통한 골 결합이 가장 신속하고 효과적임을 확인하였다. Liu et al. (2013b)의 연구에서는 갑오징어 뼈로부터 유래된 세포담체에 조골세포의 이동과 골 재생을 촉진시키는 골형성 단백질(bone morphogenetic protein-2)을 결합시킨 세포담체를 제작하였다. 또한, 갑오징어 뼈를 이용하여 제작한 세포담체에 합성

고분자인 PCL을 적용시킨 연구들도 활발히 이루어지고 있다. PCL과 갑오징어 뼈의 혼합물을 이용하여 세포담체를 제작하는 방법 중 하나인 염침출법(slat-leaching)을 사용해 세포담체를 제작한 연구(Park et al., 2012)가 있으며, *S. esculenta*의 뼈로부터 유래된 세포담체에 PCL의 코팅을 한 후 *in vitro* 상에서 골조직재생으로의 가능성을 증명한 연구(Kim et al., 2013b) 뿐만 아니라, *Sapia officinalis*로부터 유래된 세포담체에 합성고분자인 PCL을 코팅시켜 제작한 세포담체의 골조직재생으로의 가능성을 확인한 연구들도 있다(Milovac et al., 2014a; 2014b). Ivankovic et al. (2009, 2010)은 열수처리(hydrothermal treatment)를 통해 *S. officinalis*의 뼈로부터 높은 공극률을 가지는 세포담체를 제작하였으며, Battistella et al. (2011)도 *S. officinalis*의 뼈로부터 유래된 세포담체를 통하여 골조직재생으로써의 적용가능성을 제시하였다. Sarin et al. (2011)은 *S. officinalis*의 뼈로부터 이상인산칼슘형태의 세포담체를 제작하였으며, Lee and Lee (2010)도 인체 내 적용가능성을 가지는 갑오징어 뼈유래의 세포담체를 제작하였다. 더욱이, 상업용 수산화인회석과 갑오징어 뼈로부터 유래된 수산화인회석의 비교연구를 통하여 해양수산생명자원유래 수산화인회석의 우수성을 증명한 사례도 있다. Kim et al. (2014)는 *S. esculenta*로부터 수산화인회석 과립들을 추출하여 *in vivo*와 *in vitro* 상에서 상업용 수산화인회석 보다 갑오징어 뼈로부터 유래된 수산화인회석의 골조직효능이 효과적임을 증명하였고, Lee et al. (2010)도 갑오징어 뼈로부터 추출한 분말형태의 수산화인회석이 상업용 수산화인회석보다 우수함을 *in vitro* 연구를 통하여 증명하였다.

그외의 활용가능 소재

골재생과 관련하여 Nguyen et al. (2014)은 전복 내장(Abalone intestine)을 가지고 소화 효소를 이용한 가수분해물(hydrolysate)을 제조하여, 이를 *in vitro* 상에서 조골세포-특이 단백질들인 ALP와 osteocalcin에 의해 mineralization의 유도뿐만 아니라 mitogen-activated protein kinases (MAPKs)의 경로를 통하여 조골세포 분화를 유도한다는 연구결과로 골조직재생으로의 적용 가능성을 제시하였다. 또한 진주담치로부터 얻은 접착단백질을 포함한 3D-PCL/PLGA 세포담체를 제작하여 지방줄기세포의 정착, 증식 및 분화가 효과적으로 이루어졌음을 증명함으로써 골조직재생으로의 활용가능성을 제시하였다

(Hong et al., 2012).

해양무척추동물 유래 골 조직 재생 소재의 산업적 제품 및 향후 발전 가능성

해양무척추동물 유래 골 조직 재생 바이오 메디컬 소재를 이용하여 현재 산업적으로 생산되는 제품은 Table 2에 나타내었다. 국내기업으로는 유일하게 의료용 소재의 연구개발, 생산, 판매 등을 수행할 수 있는 메타바이오메드사에서 해양무척추동물 중 산호로부터 유래된 수산화인회석기반의 세포담체를 제작하여 산업화 하였다. 생산되는 제품들을 살펴보면, BoneMedik 제품은 천연산호의 탄산칼슘이 수산화인회석으로 전환되는 특징을 이용하여 블록형태와 과립형태의 제품을 통하여 골 대체제 및 손상 치료를 위한 목적으로 제품화 되었으며, BoneMedik-S 제품도 천연산호로부터 유래된 수산화인회석으로 제작되었으며 추가적으로 실리콘을 함유하고 있어 천연산호 기반의 제품들보다 뼈의 성장을 빠르고, 뼈의 강도를 강하게 해주는 제품으로 알려져 있다. 또한, DM Bone 제품은 치과용 골 이식재로 사용되는데, 천연산호로부터 유래된 실리콘이 함유되어있는 수산화인회석 60%와 삼인산칼슘 40%가 혼합되어 치조골 및 안면의 골 결손부위의 이식재로 사용이 되고 있다. 외국기업으로는 프랑스의 Inoteb사에서 생산되고 있는 98% 이상의 탄산칼슘으로 구성되어 있는 산호 유래 제품인 Biocoral이 있으며, 수산화인회석 제품인 스위스의 Sic Invent AG사에서 생산되고 있는 산호유래 수산화인회석 제품 SIC nature graft와 Interpore INTL사에서 생산하고 있는 산호유래 수산화인회석 제품인 Interpore 200과 Pro-osteon이 골 재생 및 이식재로 사용되고 있다.

조직재생 분야 수요 및 시장 분석 차원에서 봤을 때, 조직재생 분야 내에서도 가장 주목 받고 있는 분야는 관절, 골 조직 재생 분야이며, 타 장기에 비하여 비교적 많이 상용화가 되어 있는 상황이다. 최근 사회가 고령화됨에 따라 퇴행성 관절을 비롯한 각종 골 대사 관련 질환에 시달리고 있는 환자수를 고려할 때 인공 관절 시장규모는 꾸준히 증가할 것으로 예상된다. 골조직 재생은 국내에서는 다른 선진국에 비해 출발이 다소 늦은 편이나, 향후 생명공학이나 실버 산업에 대한 관심이 높아짐에 따라 의료 분야에 적용할 수 있는 생체재료로서의 고부가가치 창출이 가능할 것으로 기대된다. 또한, 육상생물자원의 자원적 한계와 안

Table 2. Clinically available bone substitute products from marine invertebrate

Company	Product name	Country	Types	Source
Meta Biomed	BoneMedik	Korea	HA ¹	Coral
Meta Biomed	BoneMedik-S	Korea	HA-Silicon	Coral
Meta Biomed	DM Bone	Korea	Silicon-HA-TCP ²	Coral
Interpore INTL	Interpore 200	USA	HA	Coral
Interpore INTL	Pro-osteon	USA	HA	Coral
Sic Invent AG	SIC nature graft	Swiss	HA	Coral
Inoteb	Biocoral	France	Calcium carbonate	Coral

¹HA, Hydroxyapatite. ²TCP, β-tricalcium phosphate.

전성 문제로 인하여, 전 세계적으로 해양수산생물자원으로부터 조골세포를 활성화시킴으로써 근본적인 뼈 조직 생성을 촉진하는 원천기술 및 소재에 대한 연구 필요성과 중요성이 대두되고 있다. 따라서, 해양수산 자원을 활용한 조골세포 및 골조직 재생 의공학적 활용기술과 원천소재 선점을 위한 연구 및 기술 개발이 절실히 필요하다. 이와 관련하여 국내에서는 해양무척추동물물을 활용한 골 조직 재생에 대한 기초 및 비임상 관련 연구가 일부 시도된 바 있으나, 기초 연구 수준에서 머물러 있는 실정이며, 의공학적 소재 응용 및 개발은 어찌로부터 가공한 HA 소재와 국내 유일하게 메타바이오메드사에서 산호로부터 가공한 HA소재 외에는 관련분야 내 해양무척추동물 유래 골 조직 재생에 관한 연구 및 기술 개발은 미비한 상황이다. 그러나, 앞에서 언급한 바와 같이 해양무척추동물 유래 유용소재들의 골 조직 재생으로 적용 가능성은 높다. 이처럼 적용 가능성이 높은 해양무척추동물 유래 골 조직 재생 바이오 메디컬 소재로서의 연구 및 기술개발은 건강기능성 및 의약 신소재 개발을 위한 연계 기술개발과 생물공정 등 산업화 적용을 위한 선행결과로 활용될 수 있다. 아울러, 제약회사 및 기능성 소재 기업과의 연계를 통하여 전문 연구인력을 공급하고 기술이전 등의 산업화 방안의 모색도 가능하며, 국내외 골 조직 재생 소재 시장에서 높은 경쟁력을 확보하고 해양수산생물소재를 활용한 고부가가치화 창출이 가능할 것으로 사료된다.

과학의 발전과 더불어 인류의 평균 수명이 증가하였고 삶의 질 또한 높아지고 있다. 그에 따라 불의의 사고와 노화에 의해 초래되는 조직 및 장기의 손상과 기능의 상실이 증가하고 있지만, 조직 및 장기의 수요에 비해 공급이 부족한 실정이다. 이러한 문제로부터 벗어나고자 천연 및 합성물질을 이용하여 조직 및 장기의 기능을 대체할 수 있도록 도와주는 조직공학이 높은 관심과 더불어 꾸준한 발전을 이루고 있으며, 육상자원의 한계와 안전성의 문제에서 벗어나고자 해양수산생물자원으로의 관심이 높아지고 있다. 따라서, 이 논문에서는 해양수산생물자원 중에서 해양무척추동물 유래의 의공학적 유용소재를 이용한 골 조직재생으로 이용 가능한 세포담체의 제작과 활용 및 가능성에 대하여 최근 연구내용들을 살펴보았으며, 키틴 및 콜라겐 골격의 추출을 통한 해면유래 세포담체의 제작, 탄산칼슘을 골격으로 형성하고 있는 산호 및 갑오징어 뼈를 이용한 세포담체의 제작, 그리고 생체적합성과 생분해성의 특징으로 인하여 조직 재생에 이용되고 있는 콜라겐을 해파리로부터 추출한 연구들을 바탕으로 의공학적 유용소재로의 활용 및 가능성에 대하여 기술하였다. 해양유래 생물들은 육상생물과 비교하여 월등히 많은 수의 종들이 살고 있음에도 불구하고, 현재까지 우리가 밝혀낸 종들은 10%에도 미치지 않는 극히 소수이며, 아직도 정확히 어느 정도의 생물들이 살아가고 있는지는 추측만 하고 있을 뿐이다. 앞서 기술한 해양생물유래자원에 대한 연구는 아직도 꾸준히 진행 중이며, 많은 연구자들이 해양무척추동물로부터 새로운 구조와 생리활성물질의 발견 및 조직재생으로써의 적용

방법에 대하여 연구하고 있다. 따라서, 앞으로도 무궁무진한 가능성을 가지는 해양유래생물들의 발굴을 통하여 골조직재생분야를 포함한 다양한 분야로의 활용 및 적용가능성이 매우 높을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의기술연구비(2013년)에 의하여 연구되었음.

References

- Addad S, Exposito JY, Faye C, Ricard-Blum S and Lethias C. 2011. Isolation, characterization and biological evaluation of jellyfish collagen for use in biomedical applications. *Mar Drugs* 9, 967-983. <http://dx.doi.org/10.3390/md9060967>.
- Akram M, Ahmed R, Shakir I, Ibrahim WAW and Hussain R. 2014. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. *J Mater Sci* 49, 1461-1475. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-013-7864-x>.
- Al-Salihi K. 2009. In vitro evaluation of Malaysian natural coral porites bone graft substitutes (CORAGRAF) for bone tissue engineering: A preliminary study. *Braz J Oral Sci* 8, 210-216.
- Battistella E, Mele S, Pietronave S, Foltran I, Lesci G, Foresti E, Roveri N and Rimondini L, 2010. Transformed cuttlefish bone scaffolds for bone tissue engineering. *Adv Mater Res* 89, 47-52. <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.89-91.47>.
- Barzideh Z, Latiff AA, Gan CY, Benjakul S and Karim AA. 2014. Isolation and characterisation of collagen from the ribbon jellyfish (*Chrysaora* sp.). *Int J Food Sci Tech* 49, 1490-1499. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12464>.
- Buchsbaum R. 2013. Introduction: Sorting out living things. In: *Animals without backbones*. Buchsbaum M, Pearse J and Pearse V, eds. University of Chicago Press, Chicago, U.S.A., 3-14.
- Boyle WJ, Simonet WS and Lacey DL. 2003. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 423, 337-342. <http://dx.doi.org/10.1038/nature01658>.
- Brunner E, Ehrlich H, Schupp P, Hedrich R, Hunoldt S, Kammer M, Machill S, Paasch S, Bazhenov V and Kurek D. 2009. Chitin-based scaffolds are an integral part of the skeleton of the marine demosponge *Ianthella basta*. *J Struct Biol* 168, 539-547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsb.2009.06.018>.
- Byrne M. 2011. Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. In: *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. Gibson R, Atkinson R, Gordon J, Smith I and Hughes D, eds. CRE press, London, U.K., 1-42.
- Cadman J, Zhou S, Chen Y, Li W, Appleyard R and Li Q. 2010.

- Characterization of cuttlebone for a biomimetic design of cellular structures. *Acta Mech Sinica-PRC* 26, 27-35. <http://dx.doi.org/10.1007/s10409-009-0310-2>.
- Calejo M, Morais Z and Fernandes A. 2009. Isolation and biochemical characterisation of a novel collagen from *Catostylus tagi*. *J Biomat Sci-Polym E* 20, 2073-2087. <http://dx.doi.org/10.1163/156856208X399125>.
- Census of Marine Life Press Release. 2010. First census shows life in Planet Ocean is richer, more connected, more altered than expected. Retrieved from <http://www.coml.org/press-releases-2010> on October 4.
- Dai J, Kitagawa Y, Zhang J, Yao Z, Mizokami A, Cheng S, Nör J, McCauley LK, Taichman RS and Keller ET. 2004. Vascular endothelial growth factor contributes to the prostate cancer-induced osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic protein. *Cancer Res* 64, 994-999. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-1382>.
- de Peppo GM, Sladkova M, Sjövall P, Palmquist A, Oudina K, Hyllner J, Thomsen P, Petite H and Karlsson C. 2012. Human embryonic stem cell-derived mesodermal progenitors display substantially increased tissue formation compared to human mesenchymal stem cells under dynamic culture conditions in a packed bed/column bioreactor. *Tissue Eng Part A* 19, 175-187. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0412>.
- Ding JF, Li YY, Xu JJ, Su XR, Gao X and Yue FP. 2011. Study on effect of jellyfish collagen hydrolysate on anti-fatigue and anti-oxidation. *Food Hydrocolloid* 25, 1350-1353. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.12.013>.
- Dogan E and Okumus Z. 2014. Cuttlebone used as a bone xenograft in bone healing. *Vet Med-Czech* 59, 254-260.
- Duan R, Zhang J, Du X, Yao X and Konno K. 2009. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chem* 112, 702-706. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.020>.
- Dutta A, Fermani S, Arjun Tekalur S, Vanderberg A and Falini G. 2011. Calcium phosphate scaffold from biogenic calcium carbonate by fast ambient condition reactions. *J Cryst Growth* 336, 50-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2011.09.013>.
- Dvir T, Timko BP, Kohane DS and Langer R. 2011. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nat Nanotechnol* 6, 13-22. <http://dx.doi.org/10.1038/nnano.2010.246>.
- Ehrenfreund-Kleinman T, Golenser J and Domb AJ. 2005. Polysaccharide Scaffolds for Tissue Engineering. In: *Scaffolding in tissue engineering*. Ma PX and Elisseeff J, eds. CRC press, New York, U.S.A., 27-44.
- Ehrlich H, Maldonado M, Spindler KD, Eckert C, Hanke T, Born R, Goebel C, Simon P, Heinemann S and Worch H. 2007. First evidence of chitin as a component of the skeletal fibers of marine sponges. Part I. Verongidae (Demospongia: Porifera). *J Exp Zool Part B* 308, 347-356. <http://dx.doi.org/10.1002/jez.b.21156>.
- Ehrlich H, Simon P, Carrillo-Cabrera W, Bazhenov VV, Botting JP, Ilan M, Ereskovsky AV, Muricy G, Worch H and Mensch A. 2010a. Insights into chemistry of biological materials: newly discovered silica-aragonite-chitin biocomposites in demosponges. *Chem Mater* 22, 1462-1471. <http://dx.doi.org/10.1021/cm9026607>.
- Ehrlich H, Ilan M, Maldonado M, Muricy G, Bavestrello G, Kljajic Z, Carballo J, Schiaparelli S, Ereskovsky A and Schupp P. 2010b. Three-dimensional chitin-based scaffolds from Verongida sponges (Demospongiae: Porifera). Part I. Isolation and identification of chitin. *Int J Biol Macromol* 47, 132-140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.05.007>.
- Ehrlich H, Steck E, Ilan M, Maldonado M, Muricy G, Bavestrello G, Kljajic Z, Carballo J, Schiaparelli S and Ereskovsky A. 2010c. Three-dimensional chitin-based scaffolds from Verongida sponges (Demospongiae: Porifera). Part II: Biomimetic potential and applications. *International journal of biological macromolecules* 47, 141-145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.05.009>.
- Ehrlich H, Kaluzhnaya OV, Brunner E, Tsurkan MV, Ereskovsky A, Ilan M, Tabachnick KR, Bazhenov VV, Paasch S and Kammer M. 2013. Identification and first insights into the structure and biosynthesis of chitin from the freshwater sponge *Spongilla lacustris*. *J Struct Biol* 183, 474-483. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsb.2013.06.015>.
- Erwin PM and Thacker RW. 2007. Phylogenetic analyses of marine sponges within the order Verongida: a comparison of morphological and molecular data. *Invertebr Biol* 126, 220-234. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7410.2007.00092.x>.
- Eskandar H. 2008. The use of coral as a graft in a large cortical bone defect. Department of Orthopaedics. Ph.D. Thesis, Universiti Sains Malaysia, Malaysia.
- Foo LH, Suzina A, Azlina A and Kannan T. 2008. Gene expression analysis of osteoblasts seeded in coral scaffold. *J Biomed Mater Res A* 87, 215-221. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.31765>.
- Fu S, Yang L, Fan J, Wen Q, Lin S, Wang B, Chen L, Meng X, Chen Y and Wu J. 2013. In vitro mineralization of hydroxyapatite on electrospun poly (ϵ -caprolactone)-poly (ethylene glycol)-poly (ϵ -caprolactone) fibrous scaffolds for tissue engineering application. *Colloid Surface B* 107, 167-173. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.068>.
- Gao Z, Chen F, Zhang J, He L, Cheng X, Ma Q and Mao T. 2009. Vitalisation of tubular coral scaffolds with cell sheets for regeneration of long bones: a preliminary study in nude mice. *Brit J Oral Max Surg* 47, 116-122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2008.07.199>.
- Geng W, Ma D, Yan X, Liu L, Cui J, Xie X, Li H and Chen F. 2013. Engineering tubular bone using mesenchymal stem cell sheets and coral particles. *Biochem Bioph Res Co* 433, 595-601. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.03.034>.

- Gravel M, Gross T, Vago R and Tabrizian M. 2006. Responses of mesenchymal stem cell to chitosan–coralline composites microstructured using coralline as gas forming agent. *Biomaterials* 27, 1899-1906. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.10.020>.
- Green DW. 2008. Tissue bionics: examples in biomimetic tissue engineering. *Biomed Mater* 3, 034010. <http://dx.doi.org/10.1088/1748-6041/3/3/034010>.
- Guerra Á, González ÁF, Pascual S and Dawe EG. 2011. The giant squid *Architeuthis*: An emblematic invertebrate that can represent concern for the conservation of marine biodiversity. *Biol Conserv* 144, 1989-1997. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2011.04.021>.
- Hadjidakis DJ and Androulakis II. 2006. Bone remodeling. *Ann Ny Acad Sci* 1092, 385-396. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1365.035>.
- Hodkinson ID and Jackson JK. 2005. Terrestrial and aquatic invertebrates as bioindicators for environmental monitoring, with particular reference to mountain ecosystems. *Environ Manage* 35, 649-666. <http://dx.doi.org/10.1007/s00267-004-0211-x>.
- Hong JM, Kim BJ, Shim JH, Kang KS, Kim KJ, Rhie JW, Cha HJ and Cho DW. 2012. Enhancement of bone regeneration through facile surface functionalization of solid freeform fabrication-based three-dimensional scaffolds using mussel adhesive proteins. *Acta Biomaterialia* 8, 2578-2586. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2012.03.041>
- Hoyer B, Bernhardt A, Lode A, Heinemann S, Sewing J, Klinger M, Notbohm H and Gelinsky M. 2014. Jellyfish collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. *Acta Biomater* 10, 883-892. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.022>.
- Ivankovic H, Ferrer GG, Tkalec E, Orlic S and Ivankovic M. 2009. Preparation of highly porous hydroxyapatite from cuttlefish bone. *J Mater Sci-Mater M* 20, 1039-1046. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-008-3674-0>.
- Ivankovic H, Tkalec E, Orlic S, Ferrer GG and Schauerl Z. 2010. Hydroxyapatite formation from cuttlefish bones: kinetics. *J Mater Sci-Mater M* 21, 2711-2722. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-010-4115-4>.
- Jayakumar R and Tamura H. 2008. Synthesis, characterization and thermal properties of chitin-g-poly (ϵ -caprolactone) copolymers by using chitin gel. *Int J Biol Macromol* 43, 32-36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.09.003>.
- Jeong SI, Kim SY, Cho SK, Chong MS, Kim KS, Kim H, Lee SB and Lee YM. 2007. Tissue-engineered vascular grafts composed of marine collagen and PLGA fibers using pulsatile perfusion bioreactors. *Biomaterials* 28, 1115-1122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.10.025>.
- Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T and Tanaka M. 2005. Isolation and characterisation of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chem* 93, 475-484. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.026>.
- Kim BS, Kim JS, Sung HM, You HK and Lee J. 2012. Cellular attachment and osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells on natural cuttlefish bone. *J Biomed Mater Res A* 100, 1673-1679. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.34113>.
- Kim BS, Kang HJ, Yang SS and Lee J. 2014. Comparison of *in vitro* and *in vivo* bioactivity: cuttlefish-bone-derived hydroxyapatite and synthetic hydroxyapatite granules as a bone graft substitute. *Biomed Mater* 9, 025004. <http://dx.doi.org/10.1088/1748-6041/9/2/025004>.
- Kim BS, Kang HJ and Lee J. 2013b. Improvement of the compressive strength of a cuttlefish bone-derived porous hydroxyapatite scaffold via polycaprolactone coating. *J Biomed Mater Res B* 101, 1302-1309. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.b.32943>.
- Kim HW, Lee SY, Bae CJ, Noh YJ, Kim HE, Kim HM and Ko JS. 2003. Porous ZrO₂ bone scaffold coated with hydroxyapatite with fluorapatite intermediate layer. *Biomaterials* 24, 3277-3284. [http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00162-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00162-5).
- Kim JJ, Kim HJ and Lee KS. 2008. Evaluation of biocompatibility of porous hydroxyapatite developed from edible cuttlefish bone. *Key Eng Mater* 361, 155-158. <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.361-363.155>.
- Kim KL, Ok KM, Kim DH, Park HC and Yoon SY. 2013c. Fabrication and characterization of biphasic calcium phosphate scaffolds with an unidirectional macropore structure using tertiary-butyl alcohol-based freeze-gel casting method. *J Kor Ceram Soc* 50, 263-268. <http://dx.doi.org/10.4191/kcers.2013.50.4.263>.
- Kim MS, Jung WK and Kim GH. 2013a. Bio-composites composed of a solid free-form fabricated polycaprolactone and alginate-releasing bone morphogenic protein and bone formation peptide for bone tissue regeneration. *Bioproc Biosyst Eng* 36, 1725-1734. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-013-0947-x>.
- Kim YB and Kim GH. 2013. Collagen/alginate scaffolds comprising core (PCL)–shell (collagen/alginate) struts for hard tissue regeneration: fabrication, characterisation, and cellular activities. *J Mater Chem B* 1, 3185-3194. <http://dx.doi.org/10.1039/C3TB20485E>.
- Kon E, Filardo G, Robinson D, Eisman J, Levy A, Zaslav K, Shani J and Altschuler N. 2014. Osteochondral regeneration using a novel aragonite-hyaluronate bi-phasic scaffold in a goat model. *Knee Surg Sport Tr A* 22, 1452-1464. <http://dx.doi.org/10.1007/s00167-013-2467-2>.
- Kunze K, Niemann H, Ueberlein S, Schulze R, Ehrlich H, Brunner E, Proksch P and Pée KHV. 2013. Brominated skeletal components of the marine demosponges, *Aplysina cavernicola* and *Ianthella basta*: Analytical and biochemical investigations. *Mar Drugs* 11, 1271-1287. <http://dx.doi.org/10.3390/md11041271>.

- Lee KH, Jin GH, Jang CH, Jung WK and Kim GH. 2013. Preparation and characterization of multi-layered poly (ϵ -caprolactone)/chitosan scaffolds fabricated with a combination of melt-plotting/in situ plasma treatment and a coating method for hard tissue regeneration. *J Mater Chem B* 1, 5831-5841. <http://dx.doi.org/10.1039/C3TB21123A>.
- Lee SJ and Lee HC. 2010. Fabrication of Porous Calcium Phosphate by Using a Pre-Form of Nature Material. *J Kor Ceram Sor* 47, 244-248. <http://dx.doi.org/10.4191/KC-ERS.2010.47.3.244>.
- Lee SJ, Lee MH, Kriven WM and Oh NS. 2010. Sintering Behavior and Biocompatibility of Calcium Phosphates Fabricated by Cuttlefish Bone and Phosphoric Acid. *Tissue Eng Regen Med* 7, 556-560.
- Leys SP and Hill A. 2012. 1 The Physiology and Molecular Biology of Sponge Tissues. In: *Advances in marine biology*. Becerro MA, Uriz MJ, Maldonado M and Turon X, eds. Academic press, London, U.K., 1-56.
- Li X, Zhao Y, Bing Y, Li Y, Gan N, Guo Z, Peng Z and Zhu Y. 2013. Biotemplated Syntheses of Macroporous Materials for Bone Tissue Engineering Scaffolds and Experiments *in Vitro* and *Vivo*. *ACS Appl Mater Inter* 5, 5557-5562. <http://dx.doi.org/10.1021/am400779e>.
- Lim CW and Kim JS. 2014. Food component characterization and efficient use of jellyfish. *Kor J Fish Aquat Sci* 47, 459-473. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0459>.
- Lin Z, Solomon KL, Zhang X, Pavlos NJ, Abel T, Willers C, Dai K, Xu J, Zheng Q and Zheng M. 2011. *In vitro* evaluation of natural marine sponge collagen as a scaffold for bone tissue engineering. *Int J Biol Sci* 7, 968-977. <http://dx.doi.org/10.7150/ijbs.7.968>.
- Liu G, Zhang Y, Liu B, Sun J, Li W and Cui L. 2013a. Bone regeneration in a canine cranial model using allogeneic adipose derived stem cells and coral scaffold. *Biomaterials* 34, 2655-2664. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.004>.
- Liu Y, Yu J, Bai J, Gu J, Cai B and Zhou X. 2013b. Effects of cuttlefish bone-bone morphogenetic protein composite material on osteogenesis and revascularization of bone defect in rats. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 29, 548-553.
- Luo L, Wu M, Xu L, Lian W, Xiang J, Lu F, Gao N, Xiao C, Wang S and Zhao J. 2013. Comparison of physicochemical characteristics and anticoagulant activities of polysaccharides from three sea cucumbers. *Mar Drugs* 11, 399-417. <http://dx.doi.org/10.3390/md11020399>.
- Ma J, Wang C and Peng K. 2003. Electrophoretic deposition of porous hydroxyapatite scaffold. *Biomaterials* 24, 3505-3510. [http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00203-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00203-5).
- Madhumathi K, Kumar PS, Abhilash S, Sreeja V, Tamura H, Manzoor K, Nair S and Jayakumar R. 2010. Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *J Mater Sci-Mater M* 21, 807-813. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-009-3877-z>.
- Mangano C, Paino F, d'Aquino R, De Rosa A, Iezzi G, Piattelli A, Laino L, Mitsiadis T, Desiderio V and Mangano F. 2011. Human dental pulp stem cells hook into biocoral scaffold forming an engineered biocomplex. *PloS one* 6, e18721. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0018721>.
- Matmaroh K, Benjakul S, Prodpran T, Encarnacion AB and Kishimura H. 2011. Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food Chem* 129, 1179-1186. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.099>.
- Milovac D, Gallego Ferrer G, Ivankovic M and Ivankovic H. 2014a. PCL-coated hydroxyapatite scaffold derived from cuttlefish bone: Morphology, mechanical properties and bioactivity. *Mater Sci Eng C* 34, 437-445. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.09.036>.
- Milovac D, Gamboa-Martínez TC, Ivankovic M, Gallego Ferrer G and Ivankovic H. 2014. PCL-coated hydroxyapatite scaffold derived from cuttlefish bone: *In vitro* cell culture studies. *Mater Sci Eng C* 42, 264-272. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.05.034>.
- Minh CV, Kiem PV, Nhiem NX, Cuong NX, Thao NP, Nam NH, Anh HLT, Thung DC, Thuy DTT and Kang HK. 2011. Cytotoxic and antioxidant activities of diterpenes and sterols from the Vietnamese soft coral *Lobophytum compactum*. *Bioorg Med Chem Lett* 21, 2155-2159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.01.072>.
- Murphy CM, Haugh MG and O'Brien FJ. 2010. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 31, 461-466. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.063>.
- Nagahama H, Kashiki T, Nwe N, Jayakumar R, Furuike T and Tamura H. 2008. Preparation of biodegradable chitin/gelatin membranes with GlcNAc for tissue engineering applications. *Carbohydr Polym* 73, 456-463. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.12.011>.
- Nguyen MHT, Qian ZJ and Jung WK. 2014. Beneficial Effect of Abalone Intestine Gastro-Intestinal Digests on Osteoblastic MG-63 Cell Differentiation. *J Aquat Food Prod T* 5, 436-446. <http://dx.doi.org/10.1080/10498850.2012.721874>.
- Ning Y, Wei T, Defu C, Yonggang X, Da H, Dafu C, Lei S and Zhizhong G. 2009. The research of degradability of a novel biodegradable coralline hydroxyapatite after implanted into rabbit. *J Biomed Mater Res A* 88, 741-746. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.31424>.
- Pallela R, Venkatesan J, Janapala VR and Kim SK. 2012. Biophysicochemical evaluation of chitosan-hydroxyapatite-marine sponge collagen composite for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A* 100, 486-495. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.33292>.
- Parizi AM, Oryan A, Shafiei-Sarvestani Z and Bigham A. 2012.

- Human platelet rich plasma plus Persian Gulf coral effects on experimental bone healing in rabbit model: radiological, histological, macroscopical and biomechanical evaluation. *J Mater Sci-Mater M* 23, 473-483. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-011-4478-1>.
- Park JS, Lim YM, Youn MH, Gwon HJ and Nho YC. 2012. Biodegradable polycaprolactone/cuttlebone scaffold composite using salt leaching process. *Korean J Chem Eng* 29, 931-934. <http://dx.doi.org/10.1007/s11814-011-0271-6>.
- Poinern GEJ and Fawcett D. 2013. The manufacture of a novel 3D hydroxyapatite microstructure derived from cuttlefish bones for potential tissue engineering applications. *Am J Mater Sci* 3, 130-135. <http://dx.doi.org/10.5923/j.materials.20130305.04>.
- Pozzolini M, Mussino F, Cerrano C, Scarfi S and Giovine M. 2014. Sponge cell cultivation: Optimization of the model *Petrosia ficiformis* (Poiret 1789). *J Exp Mar Biol Ecol* 454, 70-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2014.02.004>.
- Puvaneswary S, Raghavendran HRB, Ibrahim NS, Murali MR, Merican AM and Kamarul T. 2013. A Comparative Study on Morphochemical Properties and Osteogenic Cell Differentiation within Bone Graft and Coral Graft Culture Systems. *Int J Med Sci* 10, 1608. <http://dx.doi.org/10.7150/ijms.6496>.
- Radjasa OK, Vaske YM, Navarro G, Vervoort HC, Tenney K, Linington RG and Crews P. 2011. Highlights of marine invertebrate-derived biosynthetic products: Their biomedical potential and possible production by microbial associates. *Bioorgan Med Chem* 19, 6658-6674. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.07.017>.
- Riesgo A, Farrar N, Windsor PJ, Giribet G and Leys SP. 2014. The analysis of eight transcriptomes from all poriferan classes reveals surprising genetic complexity in sponges. *Mol Biol Evol* 31, 1102-1120. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msu057>.
- Rim NG, Lee YB, Kim SJ and Shin H. 2010. Current status and prospect of biomaterials as tissue substitutes in regenerative medicine. *Korean Ind Chem News* 13, 2-17.
- Ripamonti U, Crooks J, Khoali L and Roden L. 2009. The induction of bone formation by coral-derived calcium carbonate/hydroxyapatite constructs. *Biomaterials* 30, 1428-1439. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.10.065>.
- Sarin P, Lee SJ, Apostolov ZD and Kriven WM. 2011. Porous biphasic calcium phosphate scaffolds from cuttlefish bone. *J Am Ceram Soc* 94, 2362-2370. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1551-2916.2011.04404.x>.
- Schlosser M, Fröls S, Hauf U, Sethmann I, Schultheiss S, Pfeifer F and Kleebe HJ. 2013. Combined Hydrothermal Conversion and Vapor Transport Sintering of Ag-Modified Calcium Phosphate Scaffolds. *J Am Ceram Soc* 96, 412-419. <http://dx.doi.org/10.1111/jace.12137>.
- Schegg B, Hülsmeier AJ, Rutschmann C, Maag C and Hennet T. 2009. Core glycosylation of collagen is initiated by two β (1-O) galactosyltransferases. *Mol Cell Biol* 29, 943-952. <http://dx.doi.org/10.1128/MCB.02085-07>.
- Selegim MH, Lira SP, Kossuga MH, Batista T, Berlinck RG, Hajdu E, Muricy G, Rocha RMD, do Nascimento GG and Silva M. 2007. Antibiotic, cytotoxic and enzyme inhibitory activity of crude extracts from Brazilian marine invertebrates. *Rev Bras Farmacogn* 17, 287-318. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300002>.
- Sergeeva N, Britaev T, Sviridova I, Akhmedova S, Kirsanova V, Popov A, Antokhin A, Frank G and Kaprin A. 2014. Scleractinium Coral Aquaculture Skeleton: a Possible 3D Scaffold for Cell Cultures and Bone Tissue Engineering. *B Exp Biol Med* 156, 504-508. <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-014-2385-4>.
- Silchenko AS, Avilov SA, Kalinin VI, Kalinovskiy AI, Dmitrenok PS, Fedorov SN, Stepanov VG, Dong Z and Stonik VA. 2008. Constituents of the Sea Cucumber *Cucumaria okhotensis*. Structures of Okhotosides B1-B3 and Cytotoxic Activities of Some Glycosides from this Species. *J Nat Prod* 71, 351-356. <http://dx.doi.org/10.1021/np0705413>.
- Sudharsan S, Seedeve P, Saravanan R, Ramasamy P, Kumar SV, Vairamani S, Srinivasan A and Shanmugam A. 2013. Isolation, characterization and molecular weight determination of collagen from marine sponge *Spirastrella inconstans* (Dendy). *Afr J Biotechnol* 12, 504-511. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB12.836>.
- Thao NP, Cuong NX, Luyen BTT, Thanh NV, Nhiem NX, Koh Y-S, Ly BM, Nam NH, Kiem PV and Minh CV. 2013. Anti-inflammatory Asterosaponins from the Starfish *Astropecten monacanthus*. *J Nat Prod* 76, 1764-1770. <http://dx.doi.org/10.1021/np400492a>.
- Tripathi A, Murthy PSN, Keshri G and Singh MM. 2011. Tissue Engineered Osteogenesis in Bone Defects by Homologous Osteoblasts Loaded on Sterile Bioresorbable Coral Scaffold in Rabbits. *Surg Sci* 2, 369-375. <http://dx.doi.org/10.4236/ss.2011.27081>.
- Trinkunaite-Felsen J, Stankeviciute Z, Yang J, Yang TC, Be-ganskiene A and Kareiva A. 2014. Calcium hydroxyapatite/whitlockite obtained from dairy products: Simple, environmentally benign and green preparation technology. *Ceram Int* 40, 12717-12722. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.04.120>.
- Tran CT, Gargiulo C, Thao HD, Tuan HM, Filgueira L and Strong DM. 2011. Culture and differentiation of osteoblasts on coral scaffold from human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Bank* 12, 247-261. <http://dx.doi.org/10.1007/s10561-010-9208-2>.
- Vago R. 2008. Cnidarians biomineral in tissue engineering: a review. *Mar Biotechnol* 10, 343-349. <http://dx.doi.org/10.1007/s10126-008-9103-z>.
- Vago R, Plotquin D, Bunin A, Sinelnikov I, Atar D and Itzhak D. 2002. Hard tissue remodeling using biofabricated coralline

- biomaterials. *J Biochem Bioph Method* 50, 253-259. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-022X\(01\)00235-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-022X(01)00235-4).
- Walsh NC and Gravalles EM. 2010. Bone remodeling in rheumatic disease: a question of balance. *Immunol Rev* 233, 301-312. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2009.00857.x>.
- White AA, Best SM and Kinloch IA. 2007. Hydroxyapatite-carbon nanotube composites for biomedical applications: a review. *Int J Appl Ceram Tec* 4, 1-13. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7402.2007.02113.x>
- Wysokowski M, Bazhenov VV, Tsurkan MV, Galli R, Stelling AL, Stöcker H, Kaiser S, Niederschlag E, Gärtner G and Behm T. 2013. Isolation and identification of chitin in three-dimensional skeleton of *Aplysina fistularis* marine sponge. *Int J Biol Macromol* 62, 94-100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.039>.
- Yang S, Leong KF, Du Z and Chua CK. 2001. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Eng* 7, 679-689. <http://dx.doi.org/10.1089/107632701753337645>.
- Zhang J, Duan R, Huang L, Song Y and Regenstein JM. 2014. Characterisation of acid-soluble and pepsin-solubilised collagen from jellyfish (*Cyanea nozakii* Kishinouye). *Food Chem* 150, 22-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.116>.
- Zhang S, Mao T and Chen F. 2011. Influence of platelet-rich plasma on ectopic bone formation of bone marrow stromal cells in porous coral. *Int J Oral Max Surg* 40, 961-965. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijom.2011.02.037>.
- Zhang Y, Liu W, Li G, Shi B, Miao Y and Wu X. 2007. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chem* 103, 906-912. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.053>.
- Zhang Y, Yin QS, Xia H, Ai FZ, Jiao YP and Chen XQ. 2010. Determination of antibacterial properties and cytocompatibility of silver-loaded coral hydroxyapatite. *J Mater Sci-Mater M* 21, 2453-2462. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-010-4101-x>.
- Zheng YH, Xiong W, Su K, Kuang SJ and Zhang ZG. 2013. Multilineage differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Exp Ther Med* 5, 1576-1580. <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2013.1042>.
- Zhuang Y, Sun L and Li B. 2012. Production of the angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptide from hydrolysates of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) collagen. *Food Bioprocess Tech* 5, 1622-1629. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-010-0439-9>.
- Zhuang Y, Sun L, Zhao X, Wang J, Hou H and Li B. 2009. Antioxidant and melanogenesis inhibitory activities of collagen peptide from jellyfish (*Rhopilema esculentum*). *J Sci Food Agr* 89, 1722-1727. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3645>.
- Zia KM, Barikani M, Zuber M, Bhatti IA and Sheikh MA. 2008. Molecular engineering of chitin based polyurethane elastomers. *Carbohydr Polym* 74, 149-158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.03>.