Animal Industry and Technology(축산기술과 산업) TITLE PAGE

Upload this completed form to website with submission

ARTICLE INFORMATION	Fill in information in each box below
Article Type	Research article
Article Title (English; within 20 words without abbreviations)	Effects of Excess Dietary Molybdenum on Molybdenum Metabolism and Mfsd5 mRNA Expression in Tissues of Rats
Article Title (Korean; English paper can be omitted)	과잉 몰리브덴 급여가 흰쥐의 몰리브덴 대사 및 조직 내 Mfsd5 mRNA 발현에 미치는 영향
Running Title (English; within 10 words)	Molybdenum Metabolism and Mfsd5 Expression
Author (English)	Ki Hyun Kim1
Affiliation (English)	1 Department of Animal Science and Technology, Sunchon National University, Suncheon 57922, Korea
Author (Korean; English paper can be omitted)	김기현 1
Affiliation (Korean; English paper can be omitted)	1 국립순천대학교 동물자원과학전공
ORCID (for more information, please visit https://orcid.org)	Ki Hyun Kim (https://orcid.org/0000-0002-9834-2126)
Competing interests	No potential conflict of interest relevant to this article was reported.
Funding sources State funding sources (grants, funding sources, equipment, and supplies). Include name and number of grant if available.	이 논문은 2025 년 국립순천대학교 학술연구비(과제번호: 2025-0312) 공모과제로 연구되었음
Acknowledgements	Not applicable.
Availability of data and material	Upon reasonable request, the datasets of this study can be available from the corresponding author.
Authors' contributions Please specify the authors' role using this form.	Conceptualization: Kim KH. Data curation: Kim KH Formal analysis: Kim KH Methodology: Kim KH. Software: Kim KH. Validation: Kim KH. Investigation: Kim KH. Writing - original draft: Kim KH. Writing - review & editing: Kim KH.
Ethics approval and consent to participate	The animal experiment was conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and was approved by the Animal Care Committee of Kyoto University (approval number: 24-68).

Accepted

8
9 **CORRESPONDING AUTHOR CONTACT INFORMATION**
10

For the corresponding author (responsible for correspondence, proofreading, and reprints)	Fill in information in each box below
First name, middle initial, last name	Ki Hyun Kim
Email address – this is where your proofs will be sent	kihyun@scnu.ac.kr
Secondary Email address	Kimkihyun3@gmail.com
Address	255 Jungangro, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea
Cell phone number	+82-10-7677-8393
Office phone number	+82-61-750-3238
Fax number	+82-61-750-6149

11

Accepted

Abstract

Molybdenum (Mo) is an essential trace element, but excessive exposure is more likely than deficiency under certain environmental and dietary conditions. This study evaluated the effects of excess dietary Mo on Mo absorption, excretion, tissue distribution, and the mRNA expression of major facilitator superfamily domain-containing 5 (Mfsd5), a rat homolog proposed to be associated with molybdate transport. Twelve 4-week-old male Sprague-Dawley rats were assigned to a control diet (14.4 μg Mo/100 g diet) or a high-Mo diet (41.1 mg Mo/100 g diet) for 3 weeks. During the final 5 days, feces and urine were quantitatively collected, and Mo concentrations in excreta, plasma, and tissues were determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry. Mfsd5 mRNA expression in the liver, kidney, small intestine, heart, spleen, and bone marrow was measured by quantitative real-time PCR. Feed intake was similar between groups due to the pair-feeding protocol, and excess Mo did not affect body weight, feed efficiency, or tissue weights. Apparent Mo absorption and urinary Mo excretion increased markedly in the high-Mo group. Fractional urinary excretion as a percentage of apparent absorbed Mo was similar between groups, whereas fractional apparent absorption was greater in the high-Mo group. Mo contents in plasma and all examined tissues were significantly increased by excess Mo. However, Mfsd5 mRNA expression was not altered in any tissue. In this study, short-term excess dietary Mo substantially increases intestinal Mo absorption, urinary excretion, and systemic tissue accumulation, whereas no significant changes in Mfsd5 mRNA expression were observed. These findings suggest that the kidney serves as a major route for the elimination of excess Mo, and that excessive dietary Mo intake under the conditions of this study did not significantly affect the transcriptional regulation of Mfsd5.

Accepted

Keywords: molybdenum; Mfsd5; molybdate transporter; absorption; urinary excretion

서론 (Introduction)

몰리브덴(molybdenum, Mo)은 동물의 정상적인 대사를 유지하는 데 필요한 필수 미량원소이다. 몰리브덴은 몰리브덴 보조인자(molybdenum cofactor)의 구성성분으로서

xanthine dehydrogenase, aldehyde oxidase 및 sulfite oxidase 등의 몰리브덴 효소 활성에 관여하며, 퓨린 대사와 아황산염 해독 등 다양한 생리적 과정에 필수적이다 [1-6].

사람과 가축에서의 몰리브덴은 필수 미량원소이나 요구량은 매우 낮은 수준이며, 주된 공급은 식이와 음수를 통해 이루어진다. 사람에서는 콩류, 곡류 및 견과류 등이 주요 식이 공급원이며 일반적인 식이 조건에서는 요구량을 쉽게 충족할 수 있어 겹핍은 흔하게 발생하지 않는다. 다만, 과거의 연구에서 고몰리브덴 토양지역에서 하루 10-15mg 을 섭취한 주민의 통풍 유사증상이 보고되었으며, 광산지역의 오염된 음수도 과잉섭취원이 될 수 있는 것으로 보고되었다 [7,8]. 가축에서는 조사료 및 곡류, 식물성 단백질인 콩류의 원료를 통해 몰리브덴을 섭취한다. 알칼리성 토양이나 산업오염 지역에서 생산되는 조사료의 몰리브덴 함량은 높아질 수 있으며, 이러한 조사료의 섭취에 따른 몰리브덴 중독이 보고된 바 있다 [7, 9]. 따라서, 몰리브덴 함량이 높은 토양에서 생산된 식품이나 고농도 음수에 지속적으로 노출되는 특정 환경에서는 과잉 섭취 가능성을 고려할 필요가 있다.

몰리브덴은 생체내 생리적 pH 내에서 주로 몰리브덴산염(molybdate)의 형태로 존재한다. 수용성 몰리브덴산염은 소화관에서 효율적으로 흡수되며, 체내 몰리브덴 잔류량은 주로 소변 배설에 의해 조절된다 [10-12]. 인간을 대상으로 한 기존의 연구에서 몰리브덴의 섭취량이 증가하면 흡수량과 소변 배설량이 함께 증가하는 것으로 보고되고 있으며, 이들의 연구에 의하면 체내 몰리브덴 항상성은 장 흡수 억제보다는 신장의 배설 조절에 크게 의존하는 것으로 추정된다 [12-14].

가축에서의 몰리브덴의 대사와 생리적 영향에 대한 연구는 상당히 제한적이다. 과거 몇몇 연구에서 돼지, 닭, 소에서의 흡수, 체내 분포 및 배설에 대한 일부 기초 연구만 진행되었으며, 이들의 연구에서 몰리브덴의 소화생리 및 축종에 따른 차이를 확인할 수 있다. 특히, 반추동물과 비반추동물은 몰리브덴의 흡수 및 배설 양상에서 뚜렷한 차이를 나타낸다. 비반추동물인 돼지에서는 경구 투여된 몰리브덴이 2–4 시간 내 혈중 최고농도에 도달하고 대부분이 신장을 통해 소변으로 배설되는 반면, 반추동물인 소에서는 혈중

Accepted

최고농도 도달에 약 96 시간이 소요되며 분변이 주요 배설 경로로 작용한다 [15,16]. 이러한 차이는 반추위에서 몰리브덴의 생체이용률이 감소하는 대사과정에 기인하는 것으로 보고되었다. 또한, 미네랄은 생리적 특성에 따라 다른 미네랄과의 상호작용을 가지는데, 닭에서는 몰리브덴과 길항적인 텅스텐의 투여가 조직 내 몰리브덴 농도와 xanthine dehydrogenase 활성을 감소시켜, 몰리브덴이 molybdoenzyme 의 정상적인 활성 유지에 필수적인 역할을 수행함이 확인되었다 [17]. 한편 소에서는 섭취된 molybdate 가 반추위에서 황과 반응하여 thiomolybdate 로 전환되며, 이는 구리와 결합하여 구리의 흡수와 체내 이용을 저해하는 반추동물 특유의 대사적 특징이 보고되었다 [18,19]. 그러나 이러한 축종별 대사 연구에도 불구하고, 가축에서 몰리브덴의 세포막 수송체와 그 발현 조절기전에 관한 연구는 매우 제한적이다.

원핵생물에서는 ATP-binding cassette 계열의 고친화성 몰리브데이트 수송체가 알려져 있으나, 진핵생물의 몰리브데이트 수송 기전은 상대적으로 불명확하다 [20,21]. 녹조류에서의 몰리브덴 수송체는 MOT1 과 MOT2 가 확인되었고, 사람에서도 MOT2 가 몰리브데이트 수송 기능을 갖는 것으로 보고되었으나 [22-24], 다른 동물 및 가축에서의 몰리브덴의 수송기전에 관한 연구는 여전히 미흡한 실정이다.

흰쥐의 major facilitator superfamily domain-containing 5 (Mfsd5)는 사람 MOT2 에 상응하는 상동유전자로 제안되어 왔다. Mfsd5 유전자는 major facilitator superfamily 계열의 atypical solute carrier 후보로 분류되며, 설치류의 뇌를 포함한 여러 조직에서 발현되고 영양 및 에너지 상태에 따라 조절될 가능성이 있는 것으로 보고되고 있으나 [25,26], 그 생리적 기질과 조직별 기능은 아직 충분히 규명되지 않았다. 고몰리브덴 식이는 혈액과 간, 신장 및 기타 조직의 몰리브덴 농도를 증가시킬 수 있으며, 조직별 축적 정도와 포화 양상은 섭취 수준, 노출 기간 및 동물 종에 따라 차이가 존재한다 [27-29]. 높은 수준의 몰리브덴 급여는 체내 몰리브덴의 흡수, 조직 축적 및 배설을 크게 변화시킬 수 있으나, 이러한 항상성 조절기전의 분자생물학적 반응은 아직 충분히 규명되어 있지 않다.

Accepted

본 연구에서는 일반적으로 노출 가능한 몰리브덴의 과잉 섭취 환경을 재현하기보다, 실험적으로 설정한 고농도 노출 조건에서 몰리브덴의 흡수, 배설 및 조직 분포와 수송체 후보 유전자의 발현 반응을 평가하고자 하였다. 따라서, 흰쥐에 몰리브덴 항상성 조절기전을 충분히 자극할 수 있을 정도의 고농도 몰리브덴 식이를 적용하여 장관 흡수와 조직 내 축적, 배설을 극대화한 조건에서 몰리브덴의 소화·대사적 이용, 혈장 및 주요 조직 내 분포, 그리고 Mfsd5 mRNA 발현 변화를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법(Materials and Methods)

1. 실험동물, 시험사료 및 실험설계

4 주령 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐 12 마리를 SLC Japan(Shizuoka, Japan)에서 구입하였다. 실험동물은 개별 대사케이지에 수용하였으며, 온도 24°C, 상대습도 60%, 명암주기 12 시간으로 조절된 환경에서 사육하였다. 모든 동물실험은 Kyoto University Animal Care Committee 의 실험동물 관리지침에 따라 수행하였다(승인번호: 24-68).

실험동물은 AIN-93G 사료 [30]를 이용하여 6 일간 적응시킨 후, 대조구와 고몰리브덴 처리구에 각각 6 마리씩 배치하였다. 대조구 사료의 몰리브덴 농도는 14.4 μg/100 g 이었으며, 고몰리브덴 사료는 대조구 사료에 sodium molybdate 를 첨가하여 41.1 mg/100 g 으로 제조하였다. 대조구 사료와 처리구 사료를 각 처리구에 3 주간 pair-feeding 하였으며, 미네랄 이온의 간섭을 배제하기 위하여 음수는 탈이온수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험 마지막 5 일간 매일 24 시간 분변과 소변을 전량 채취하여 개체별로 혼합하였다. 실험 종료 후 isoflurane 마취하에 복대동맥에서 채혈하여 안락사 하였으며, 간, 신장, 심장, 비장, 십이지장, 공장, 회장 및 대퇴골을 채취하였다.

2. 시료처리 및 분석

Accepted

채취한 조직은 몰리브덴 분석용과 mRNA 분석용으로 즉시 분할하였다. 몰리브덴 분석용 시료는 -20°C 에서 보관하였고, mRNA 분석용 시료는 RNAlater(AM7021, Applied Biosystems, USA)에 넣어 4°C 에서 24 시간 처리한 후 RNAlater 를 제거하여 -80°C 에 보관하였다. 대퇴골은 액체질소에 침지한 상태로 골수를 분리하여 골 조직은 몰리브덴 분석에, 골수는 mRNA 분석에 사용하였다.

조직, 혈장, 분변 및 소변 시료는 13 N 질산과 과산화수소를 이용하여 hot block bath(TB-620, Advantec, Japan)에서 분해하였다. 몰리브덴 농도는 Inductively coupled plasma-mass spectrometry(ICP-MS; Elan 6000, PerkinElmer, USA)로 정량하였으며, 혈장을 제외한 조직 내 몰리브덴의 함량은 총 조직 내 Total content 로 산출하였다. 몰리브덴의 분석 회수율은 95.3%였고 변이계수는 1.79%였다.

3. 총 RNA 추출 및 cDNA 합성

총 RNA 는 TRIzol reagent(15596-018, Invitrogen, USA)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 조직에서 추출하였다. 260 nm 흡광도로 RNA 농도를 측정하였고, A260/A280 비율로 순도를 확인하였다. cDNA 는 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(4368813, Applied Biosystems, USA)를 이용하여 합성하였다.

4. RT-qPCR

흰쥐에서 사람 MOT2 의 상동유전자를 탐색하여 Mfsd5(major facilitator superfamily domain-containing 5; GenBank accession no. NM_001126282)를 분석 대상 유전자로 선정하였다. RT-qPCR 은 SYBR Premix Ex Taq II(RR081A, Takara, Japan), cDNA 2 μL 및 각 primer 200 nM 을 포함한 총 10 μL 반응액으로 수행하였다. Mfsd5 primer 는 forward 5′-TGACTTCCCTGCCGAGTG-3′ 및 reverse 5′-CCAGCACATGGTTCCAGA-3′를 사용하였다. 대조 유전자로 18S rRNA(GenBank accession no. M11188)를 사용하였으며, primer 는 forward 5′-

Accepted

AATCAGTTATGGTTCCTTTGTCG-3′ 및 reverse 5′-GCTCTAGAATTACCACAGTTATCCAA-3′였다. Mfsd5 발현량은 18S rRNA 에 대해 정규화한 상대값으로 나타냈다.

5. 통계분석

모든 결과는 평균±표준편차로 나타냈다. 대조구와 고몰리브덴구 간 차이는 통계프로그램 IBM SPSS Statistics version 20.0 을 이용하여 독립표본 Student's t-test 로 분석하였다. 통계적 유의수준은 $P<0.05$ 에서 인정하였다.

결과 (Results)

1. 성장 및 조직무게

Pair-feeding 을 실시함에 따라 일일 사료섭취량은 대조구와 고몰리브덴구에서 각각 약 18 g/rat/day 로 유사하였다. 고몰리브덴구의 일일 몰리브덴 섭취량은 체중 kg 당 약 36.9 mg 으로, 대조구의 약 13 μg/kg 에 비해 약 2,800 배 높았다. 그러나 초기 및 종료 체중, 일당증체량, 사료효율 및 조사한 모든 조직의 무게는 처리구 간 유의한 차이가 없었다(Tables 1 and 2).

Accepted

2. 몰리브덴의 흡수와 배설

5 일간 분변으로 배설된 몰리브덴 총량은 고몰리브덴구에서 1,110 μg/rat 으로 대조구의 2.4 μg/rat 보다 현저히 높았다($P<0.001$). 몰리브덴의 외관상 전장 소화율은 대조구 83.0%, 고몰리브덴구 97.3%로 고몰리브덴구에서 유의하게 높았으며($P<0.001$), 몰리브덴의 흡수량은 약 3,300 배 증가하였다. 또한, 소변 배설량도 높은 수준의 몰리브덴 섭취에 의해 크게 증가하여 흡수량 대비 소변 배설 비율은 대조구 80.7%, 고몰리브덴구 83.6%로 유사하였다. 따라서, 섭취량 대비 체내 잔류율은 각각 16.2%와 15.9%로 차이가 없었으나, 절대 잔류량은 고몰리브덴구에서 약 2,800 배 증가하였다(Table 3).

3. 조직 내 몰리브덴 분포 및 Mfsd5 mRNA 발현

고몰리브덴 식이는 조사한 모든 조직과 혈장의 몰리브덴 함량을 유의하게 증가시켰다(Table 4). 고몰리브덴구의 조직별 함량은 대조구보다 약 7.2 - 90 배 높았다. 간은 두 처리구 모두에서 가장 많은 몰리브덴을 함유하였으며, 그 다음으로 신장의 함량이 높았다. 심장과 비장은 상대적으로 낮은 함량을 보였다. 간, 신장, 십이지장, 공장, 회장, 심장, 비장 및 골수에서 Mfsd5 mRNA 의 발현량을 분석한 결과, 고몰리브덴 식이에 따른 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Figure 1).

고찰 (Discussion)

과잉 몰리브덴 노출은 동물에서 성장 저하, 빈혈, 생식장애 및 신장 기능 이상 등을 유발할 수 있다 [9,31,32]. 우리의 연구설계는 고몰리브덴 섭취시 몰리브덴의 대사와 조직에서 몰리브덴의 수송에 관여할 수 있는 것으로 예측되는 후보 유전자의 발현을 조사하는 것을 목적으로 하여, 독성은 유발하지 않되 충분히 대사자극을 유도할 수 있는 수준에서의 급여량을 결정하였다. 본 실험에서 고몰리브덴구는 대조구 대비 약 2,800 배 높은 36.9 mg/kg BW/day 의 몰리브덴을 21 일간 섭취하였음에도 체중 증가, 사료효율 및 조직 무게에 뚜렷한 이상이 나타나지 않았다. 이는 노출 기간이 비교적 짧았으며, 비반추동물이 반추동물보다 몰리브덴 독성에 덜 민감한 특성과 관련될 수 있다 [15]. 흰쥐에서 몰리브덴의 독성은 투여량과 노출기간에 따라 달라지며, 반복 경구노출 시 성장, 신장 및 생식기능의 변화가 주요 독성지표로 보고되어 있다 [33]. 특히 기존의 연구에서 8 주 동안 40 또는 80 mg Mo/kg BW/day 를 투여한 연구에서는 40 mg/kg/day 가 체중 및 신장 endpoint 의 NOAEL 이었고, 80 mg/kg/day 에서는 체중증가 감소, 이뇨 증가, creatinine clearance 감소 및 신장중량 증가가 나타났다 [34,35]. 이들 연구에 근거하여 본 연구에서 설계한 사료 내 몰리브덴의 농도는 독성 수준 보다 낮아 독성증상은 나타나지 않은 것으로 판단된다.

몰리브덴의 흡수율은 동물 종, 연령, 급여 형태 및 섭취 수준에 따라 달라질 수 있다 [27-29]. 본 연구에서 외관상 전장 소화율은 대조구 83.0%, 고몰리브덴구 97.3%로 높았고, 과잉

Accepted

급여 시 절대 흡수량이 크게 증가하였다. 이는 몰리브덴 섭취 증가에 대응하여 장 흡수가 하향 조절되지 않았음을 시사한다. 특히 고몰리브덴구에서 분변의 배설량은 증가했음에도 섭취량 대비 분변 내 상대적 몰리브덴의 농도는 작은 비율을 차지하여, 과잉 섭취된 몰리브덴 대부분이 흡수된 것으로 분석되었다. 흡수된 몰리브덴의 대부분은 소변으로 배설되었으며, 몰리브덴의 흡수량 대비 소변 배설 비율은 두 처리구에서 약 81-84%로 유사하였다. 따라서 신장은 과잉 몰리브덴의 주요 배설경로로 작용하는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 수용성 몰리브데이트가 장관에서 효율적으로 흡수되고, 섭취 증가에 따른 체내 항상성이 주로 소변 배설을 통해 유지된다는 최근 종설의 결론과 일치한다 [10]. 체내 절대 잔류량 역시 고몰리브덴구에서 크게 증가하였고, 혈장과 분석한 모든 조직에서 몰리브덴 함량이 상승하였다. 이는 본 연구설계에서 고몰리브덴구의 급여수준을 대조구 대비 약 2,800 배 높은 수준으로 극단적으로 높게 설정한 것에서 기인한 것으로 볼 수 있다. 또한, 단기간 뇨를 통한 배설 증가만으로는 과잉 흡수된 몰리브덴이 체내 항상성을 유지할 수 있는 수준으로 배출되지 않으며, 조직 내 몰리브덴의 축적을 완전히 조절할 수 있는 수준에는 미치지 못하는 것으로 판단된다. 다만, 아직까지 장관에서의 몰리브덴의 흡수기전은 명확하게 밝혀져 있지 않아 미네랄의 과잉공급에 따른 흡수억제 작용 또는 농도 기울기에 따른 단순확산 등의 작용기전은 본 연구의 결과만으로는 규명하기에 한계가 존재한다.

몰리브덴의 조직내 축적량을 분석한 결과, 간과 신장의 몰리브덴 함량이 높았으며, 소장, 심장, 비장, 대퇴골 및 혈장에서도 유의한 증가가 관찰되었다. 이러한 결과는 몰리브덴 섭취 증가가 혈액 및 다양한 조직의 몰리브덴 농도를 증가시킨다는 선행연구와 일치한다 [27-29]. 신장의 경우에는 몰리브덴 배설의 주요 기관으로 대사 특성상 간을 제외한 다른 조직보다 높은 수준으로 존재하는 것으로 관찰되었다. Ren 등 (2025)의 연구에서는 염소에게 50mg/kg diet 의 sodium molybdate 를 60 일간 급여시켰을 때, 신장의 구조적 및 기능적 손상을 야기한다는 결과를 보고하였으나 [36], 본 연구에서는 고몰리브덴 섭취에 의한 체중 및 신장 무게나 외관상 이상은 관찰되지 않았다. 이는 기존의 흰쥐에서의 몰리브덴의 독성수준을 평가한 연구와

Accepted

197 비교하였을 때 [34,35], 고몰리브덴구에서의 몰리브덴 섭취수준은 독성수준에 이르지
198 않았음을 시사한다. 그럼에도 불구하고, 본 연구에서는 신장 기능 지표와 조직병리학적 평가는
199 수행하지 않았으므로 무증상성 신장 손상 또는 신장기능 저하 등의 영향을 완전히 배제할 수는
200 없다. 조직별 몰리브덴의 함량과 증가 배수의 차이는 각 조직의 혈류량, 결합단백질, 대사 활성
201 및 배설 기능의 차이에 기인할 수 있다. 최근 설치류 연구에서도 몰리브덴의 조직 분포와 잔류
202 양상은 투여 형태, 입자 크기, 투여경로 및 노출 기간에 따라 달라지는 것으로 보고되었다 [37].
203 따라서 본 연구에서 관찰된 조직별 축적 배수의 차이는 수용성 sodium molybdate 를 이용한
204 몰리브덴의 경구 노출 조건에 따른 특이적인 결과로 해석할 필요가 있다.

205 사람 MOT2 와 녹조류 MOT2 는 몰리브데이트 수송 기능을 갖는 것으로 보고되었으며
206 [24], 흰쥐 Mfsd5 는 이와 상동성이 있는 후보 유전자이다 [25]. 그러나 고몰리브덴 식이는
207 조사한 모든 조직에서 Mfsd5 mRNA 발현을 변화시키지 않았다. 이는 본 연구의 노출
208 조건에서는 과잉 몰리브덴에 대한 장 흡수와 신장 배설 반응, 장기 축적이 Mfsd5 mRNA 의
209 발현에 의해 영향을 받지 않았음을 시사한다. 다만 MFSD5 의 단백질 발현, 세포막 이동 및
210 실제 molybdate transport activity 는 측정하지 않았으므로, 본 결과만으로 Mfsd5 의 수송 기능을
211 배제할 수는 없다. 또한, Mfsd5 mRNA 가 변하지 않았다는 결과만으로 Mfsd5 가 몰리브데이트
212 수송에 관여하지 않는다고 단정할 수는 없다. 수송체 기능은 단백질 발현, 세포막 이동, 번역 후
213 변형 및 기질 경쟁에 의해 조절될 수 있으나, 본 연구에서는 이들 평가지표에 대한 분석은
214 수행되지 않았다. 또한 결핍 조건에서의 수송체 발현이 유도될 가능성도 남아 있다. 따라서,
215 향후 몰리브덴 결핍 및 단계적 과잉 수준을 포함한 용량반응시험, Mfsd5 단백질 정량, 세포막
216 분획 분석 및 기능적 수송에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

217 몰리브덴은 xanthine oxidoreductase, sulfite oxidase 및 aldehyde oxidase 와 같은
218 molybdoenzyme 의 보조인자로 작용하여 퓨린 대사, 황 함유 화합물의 해독 및 다양한 산화환원
219 반응에 관여한다 [38,39]. 가축의 생산성 측면에서는 몰리브덴 의존성 효소의 직접적인
220 효과보다 과잉 몰리브덴에 의한 무기질 상호작용이 더욱 중요하다 [40-42]. 가금류에서는

Accepted

221 몰리브덴과 경쟁하는 텅스텐의 과잉 공급이 조직 내 몰리브덴 농도와 xanthine dehydrogenase
222 활성을 감소시키는 것으로 보고되어 [17], 몰리브덴이 해당 효소의 정상적인 활성 유지에
223 필수적임이 확인되었다. 특히 반추동물에서는 몰리브덴과 황으로부터 형성된 thiomolybdate 가
224 구리의 흡수와 체내 이용을 방해하며, 이에 따른 구리 상태의 저하는 일당증체량과 사료효율
225 감소로 이어질 수 있다 [18,19]. 상기의 문헌을 종합적으로 고려하였을 때, 몰리브덴이 가축의
226 생산성 측면에서 직접적인 영향을 미치는 영향은 미미한 것으로 볼 수 있으나, 몰리브덴의
227 과잉 또는 결핍에 의한 다른 미네랄과의 상호작용은 여전히 배제할 수 없으며, 이러한
228 상호작용에 따른 간접적인 영향의 결과로 생산성의 변화 또한 간과할 수 없다. 따라서
229 가축에서의 미네랄 대사와 관련된 정밀사양 연구를 위해서는 몰리브덴 수송에 관여하는
230 기전을 밝히는 연구는 지속적인 탐구가 필요하다.

231 결론적으로, 단기간의 과잉 몰리브덴 급여는 흰쥐에서 성장과 조직 무게에는 영향을
232 미치지 않았으나, 몰리브덴의 외관상 전장 소화율과 소변 배설량을 크게 증가시키고 혈장 및
233 다양한 조직의 몰리브덴 축적을 유발하였다. 반면 몰리브덴 수송체의 후보유전자로 제시되고
234 있는 Mfsd5 mRNA 발현에는 영향을 미치지 않았다.
235

Accepted

236 ## 요약 (Korean Abstract)

237 본 연구는 과잉 몰리브덴 급여가 흰쥐의 Mo 흡수, 배설, 조직 분포 및 molybdate 수송체
238 후보 유전자인 Mfsd5 의 mRNA 발현에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행하였다. 4 주령 수컷
239 Sprague-Dawley 흰쥐 12 마리를 대조사료(14.4 μg Mo/100 g) 또는 고몰리브덴 사료(41.1 mg
240 Mo/100g diet)에 배치하여 3 주간 급여하였다. 실험 마지막 5 일간 분변과 소변을 전량
241 채취하였고, 혈장과 조직의 Mo 농도를 ICP-MS 로 분석하였다. 간, 신장, 소장, 심장, 비장 및
242 골수의 Mfsd5 mRNA 발현은 qRT-PCR 로 측정하였다. Pair-feeding 을 실시함에 따라
243 사료섭취량은 유사하였으며, 과잉 Mo 급여는 체중, 사료효율 및 조직 무게에 영향을 미치지
244 않았다. 고몰리브덴구에서 몰리브덴의 외관상 전장 소화율과 소변 배설량이 현저히

증가하였으며, 몰리브덴의 흡수량 대비 소변 배설 비율은 처리구 간 유사하였다. 혈장과 조사한 모든 조직의 몰리브덴의 함량은 과잉 급여에 의해 유의하게 증가하였다. 그러나 Mfsd5 mRNA 발현은 어느 조직에서도 변화하지 않았다. 본 연구에서는 단기간의 과잉 몰리브덴의 섭취가 장내 흡수, 신장 배설 및 전신 조직 축적을 크게 증가시키지만 Mfsd5 의 전사량에는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 신장은 과잉 섭취된 몰리브덴의 주요 배설경로로 작용하며, 본 연구의 과잉 몰리브덴 급여 조건에서는 Mfsd5 의 전사적 조절에 영향을 미치지 않았음을 시사한다.

Acknowledgments

이 논문은 2025 년 국립순천대학교 학술연구비(과제번호: 2025-0312) 공모과제로 연구되었음

Accepted

References

1. Rajagopalan KV. Molybdenum: an essential trace element in human nutrition. Annu Rev Nutr. 1988;8:401-427. https://doi.org/10.1146/annurev.nu.08.070188.002153
2. Rajagopalan KV, Johnson JL. The pterin molybdenum cofactors. J Biol Chem. 1992;267:10199-10202. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50001-1
3. Schwarz G. Molybdenum cofactor biosynthesis and deficiency. Cell Mol Life Sci. 2005;62:2792-2810. https://doi.org/10.1007/s00018-005-5269-y
4. Hille R. Molybdenum enzymes. Essays Biochem. 1999;34:125-137. https://doi.org/10.1042/bse0340125
5. Smolinsky B, Eichler SA, Buchmeier S, Meier JC, Schwarz G. Splice-specific functions of gephyrin in molybdenum cofactor biosynthesis. J Biol Chem. 2008;283:17370-17379. https://doi.org/10.1074/jbc.M800985200
6. Romão MJ. Molybdenum and tungsten enzymes: a crystallographic and mechanistic overview. Dalton Trans. 2009:4053-4068. https://doi.org/10.1039/B821108F
7. Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake level of molybdenum. Brussels: European Commission; 2000.
8. Oskarsson A, Kippler M. Molybdenum - a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023. Food Nutr Res. 2023;67:10326. https://doi.org/10.29219/fnr.v67.10326

9. National Research Council. Mineral tolerance of animals. 2nd rev. ed. Washington, DC: National Academies Press; 2005. https://doi.org/10.17226/11309
10. Van Campen DR, Mitchell EA. Absorption of Cu-64, Zn-65, Mo-99, and Fe-59 from ligated segments of the rat gastrointestinal tract. J Nutr. 1965;86:120-124. https://doi.org/10.1093/jn/86.2.120
11. Turnlund JR, Friberg L. Molybdenum. In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT, editors. Handbook on the toxicology of metals. 3rd ed. London: Academic Press; 2007. p. 731-741.
12. Novotny JA, Turnlund JR. Molybdenum intake influences molybdenum kinetics in men. J Nutr. 2007;137:37-42. https://doi.org/10.1093/jn/137.1.37
13. Yoshida M, Hattori H, Ota S, Yoshihara K, Kodama N, Yoshitake Y, et al. Molybdenum balance in healthy young Japanese women. J Trace Elem Med Biol. 2006;20:245-252. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2006.07.004
14. Thompson KH, Scott KC, Turnlund JR. Molybdenum metabolism in men with increasing molybdenum intakes: changes in kinetic parameters. J Appl Physiol. 1996;81:1404-1409. https://doi.org/10.1152/jappl.1996.81.3.1404
15. Bell MC, Diggs BG, Lowrey RS, Wright PL. Comparison of Mo-99 metabolism in swine and cattle as affected by stable molybdenum. J Nutr. 1964;84:367-372. https://doi.org/10.1093/jn/84.4.367
16. Hynes M, Woods M, Poole D, Rogers P, Mason J. Some studies on the metabolism of labelled molybdenum compounds in cattle. J Inorg Biochem. 1985;24:279-288. https://doi.org/10.1016/0162-0134(85)85056-X
17. Nell JA, Annison EF, Balnave D. The influence of tungsten on the molybdenum status of poultry. Br Poult Sci. 1980;21:193-202. https://doi.org/10.1080/00071668008416657
18. Clarke NJ, Laurie SH. The copper-molybdenum antagonism in ruminants. I. The formation of thiomolybdates in animal rumen. J Inorg Biochem. 1980;12:37-43. https://doi.org/10.1016/S0162-0134(00)80041-0
19. Gould L, Kendall NR. Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption. Nutr Res Rev. 2011;24:176-182. https://doi.org/10.1017/S0954422411000059
20. Wang G, Angermüller S, Klipp W. Characterization of Rhodobacter capsulatus genes encoding a molybdenum transport system and putative molybdenum-pterin-binding proteins. J Bacteriol. 1993;175:3031-3042. https://doi.org/10.1128/jb.175.10.3031-3042.1993
21. Grunden AM, Shanmugam KT. Molybdate transport and regulation in bacteria. Arch Microbiol. 1997;168:345-354. https://doi.org/10.1007/s002030050508

Accepted

22. Tejada-Jiménez M, Llamas Á, Sanz-Luque E, Galván A, Fernández E. A high-affinity molybdate transporter in eukaryotes. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104:20126-20130. https://doi.org/10.1073/pnas.0704646104
23. Tomatsu H, Takano J, Takahashi H, Watanabe-Takahashi A, Shibagaki N, Fujiwara T. An Arabidopsis thaliana high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104:18807-18812. https://doi.org/10.1073/pnas.0706373104
24. Tejada-Jiménez M, Galván A, Fernández E. Algae and humans share a molybdate transporter. Proc Natl Acad Sci USA. 2011;108:6420-6425. https://doi.org/10.1073/pnas.1100700108
25. Perland E, Lekholm E, Eriksson MM, Bagchi S, Arapi V, Fredriksson R. The putative SLC transporters Mfsd5 and Mfsd11 are abundantly expressed in the mouse brain and have a potential role in energy homeostasis. PLoS One. 2016;11:e0156912. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156912
26. Perland E, Bagchi S, Klaesson A, Fredriksson R. Characteristics of 29 novel atypical solute carriers of major facilitator superfamily type: evolutionary conservation, predicted structure and neuronal co-expression. Open Biol. 2017;7:170142. https://doi.org/10.1098/rsob.170142
27. Sievers E, Oldigs HD, Dörner K, Kollmann M, Schaub J. Molybdenum balance studies in premature male infants. Eur J Pediatr. 2001;160:109-113. https://doi.org/10.1007/s004310000649
28. Pandey R, Kumar R, Singh SP, Srivastava SP. Molybdenum in rat tissue. Hum Exp Toxicol. 2002;21:33-35. https://doi.org/10.1191/0960327102ht203oa
29. Turnlund JR, Keyes WR. Plasma molybdenum reflects dietary molybdenum intake. J Nutr Biochem. 2004;15:90-95. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2003.10.003
30. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr. 1993;123:1939-1951. https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939
31. Jeter MA, Davis GK. The effect of dietary molybdenum upon growth, hemoglobin, reproduction, and lactation of rats. J Nutr. 1954;54:215-220. https://doi.org/10.1093/jn/54.2.215
32. Pandey R, Singh SP. Effects of molybdenum on fertility of male rats. Biometals. 2002;15:65-72. https://doi.org/10.1023/A:1013193013142
33. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for molybdenum. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 2020.
34. Bompart G, Pécher C, Prévot D, Girolami JP. Mild renal failure induced by subchronic exposure to molybdenum: urinary kallikrein excretion as a marker of distal tubular effect. Toxicol Lett. 1990;52:293-300. https://doi.org/10.1016/0378-4274(90)90039-O

Accepted

35. Murray FJ, Sullivan FM, Tiwary AK, Carey S. 90-Day subchronic toxicity study of sodium molybdate dihydrate in rats. Regul Toxicol Pharmacol. 2014;70:579-588. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.003
36. Ren H, Shen X. Molybdenum exposure causes kidney damage related to the excretion of heavy metals. Ecotoxicol Environ Saf. 2025;302:118635. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2025.118635
37. Kuraś R, Stępnik M, Grobelny J, Tomaszewska E, et al. Distribution of molybdenum in soft tissues and blood of rats after intratracheal instillation of molybdenum(IV) sulfide nano- and microparticles. Toxicol Res. 2024;40:163-177. https://doi.org/10.1007/s43188-023-00213-0
38. Hille R. The mononuclear molybdenum enzymes. Chem Rev. 1996;96:2757-2816. https://doi.org/10.1021/cr950061t
39. Mendel RR, Bittner F. Cell biology of molybdenum. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 2006;1763:621-635. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.03.013
40. Pott EB, Henry PR, Zanetti MA, Rao PV, Hinderberger EJ Jr, Ammerman CB. Effects of high dietary molybdenum concentration and duration of feeding time on molybdenum and copper metabolism in sheep. Anim Feed Sci Technol. 1999;79:93-105. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00009-7
41. McDowell LR. Minerals in animal and human nutrition. San Diego, CA: Academic Press; 1992. p. 176-204.
42. Spears JW. Trace mineral bioavailability in ruminants. J Nutr. 2003;133:1506S-1509S. https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1506S

Accepted

Tables and Figures

Table 1. Body weight, feed intake, BWG[1], and FER[2] of rats fed a high-Mo diet

	Control	High-Mo	*P* value
Body weight, g/rat			
Initial	126.5 ± 9.5	125.8 ± 9.0	0.898
Final	279.5 ± 15.1	281.5 ± 7.1	0.779
Feed Intake[3], g/rat/day	17.96 ± 2.05	17.92 ± 2.07	0.299
BWG, g/rat/day	7.28 ± 0.31	7.41 ± 0.38	0.538
FER, g/rat/day	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.478

Values are presented as mean ± SD (n = 6). Control, basal AIN-93G diet containing 14.4 μg Mo/100 g diet; High-Mo, AIN-93G-based diet containing 41.1 mg Mo/100 g diet supplemented with sodium molybdate. [1]BWG: body weight gain; [2]FER: feed efficiency ratio; [3]Values are average from 0 to 21 days.

Accepted

Table 2. Various tissues weight in rats fed a high-Mo diet

	Control	High-Mo	*P* value
Liver, g	12.1 ± 0.9	11.8 ± 1.0	0.672
Kidney, g	2.12 ± 0.15	2.16 ± 0.16	0.699
Duodenum, g	2.23 ± 0.32	2.23 ± 0.22	0.969
Jejunum, g	2.15 ± 0.25	2.36 ± 0.21	0.151
Ileum, g	2.06 ± 0.21	2.22 ± 0.14	0.162
Heart, g	1.02 ± 0.06	1.02 ± 0.07	0.715
Spleen, g	0.62 ± 0.04	0.64 ± 0.03	0.259
Femur, g	1.67 ± 0.21	1.73 ± 0.25	0.636

Values are presented as mean ± SD (n = 6). Control, basal AIN-93G diet containing 14.4 μg Mo/100 g diet; High-Mo, AIN-93G-based diet containing 41.1 mg Mo/100 g diet supplemented with sodium molybdate.

Accepted

Table 3. Digestive and metabolic utilization of molybdenum in rats fed a high-Mo diet

	Control	High-Mo	*P* value
Mo intake, ug/rat/5days	14.4 ± 0.04	41,026 ± 170	< 0.001
Fecal Mo, ug/rat/5days	2.4 ± 0.47	1,110 ± 201	0.003
Urinary Mo, ug/rat/5days	9.6 ± 0.6	33,394 ± 1,445	<0.001
Apparent absorption, ug/rat/5day	11.9 ± 0.49	39,915 ± 239	<0.001
Mo retention, ug/rat/5day	2.33 ± 0.56	6,522 ± 1,592	0.009
Mo absorption, % of intake	83.0 ± 3.3	97.3 ± 0.5	0.007
Mo retention, % of intake	16.2 ± 3.9	15.9 ± 3.9	0.958

Values are presented as mean ± SD (n = 6). Control, basal AIN-93G diet containing 14.4 μg Mo/100 g diet; High-Mo, AIN-93G-based diet containing 41.1 mg Mo/100 g diet supplemented with sodium molybdate.

Accepted

Table 4. Molybdenum content in various tissues and plasma in rats fed a high-Mo diet

	Control	High-Mo	*P* value
Liver, ug/tissue	5.17 ± 1.11	37.09 ± 15.54	0.004
Kidney, ug/tissue	0.95 ± 0.56	25.90 ± 15.70	0.011
Duodenum, ug/tissue	0.64 ± 0.37	5.74 ± 2.33	0.003
Jejunum, ug/tissue	0.66 ± 0.46	5.25 ± 2.64	0.007
Ileum, ug/tissue	0.68 ± 0.65	9.34 ± 4.08	0.003
Heart, ug/tissue	0.09 ± 0.06	2.38 ± 1.19	0.005
Spleen, ug/tissue	0.08 ± 0.06	2.39 ± 1.23	0.006
Femur, ug/tissue	0.17 ± 0.19	14.73 ± 1.47	< .0001
Plasma, ug/ml	0.18 ± 0.22	11.98 ± 6.54	0.007

Values are presented as mean ± SD (n = 6). Control, basal AIN-93G diet containing 14.4 μg Mo/100 g diet; High-Mo, AIN-93G-based diet containing 41.1 mg Mo/100 g diet supplemented with sodium molybdate.

Accepted

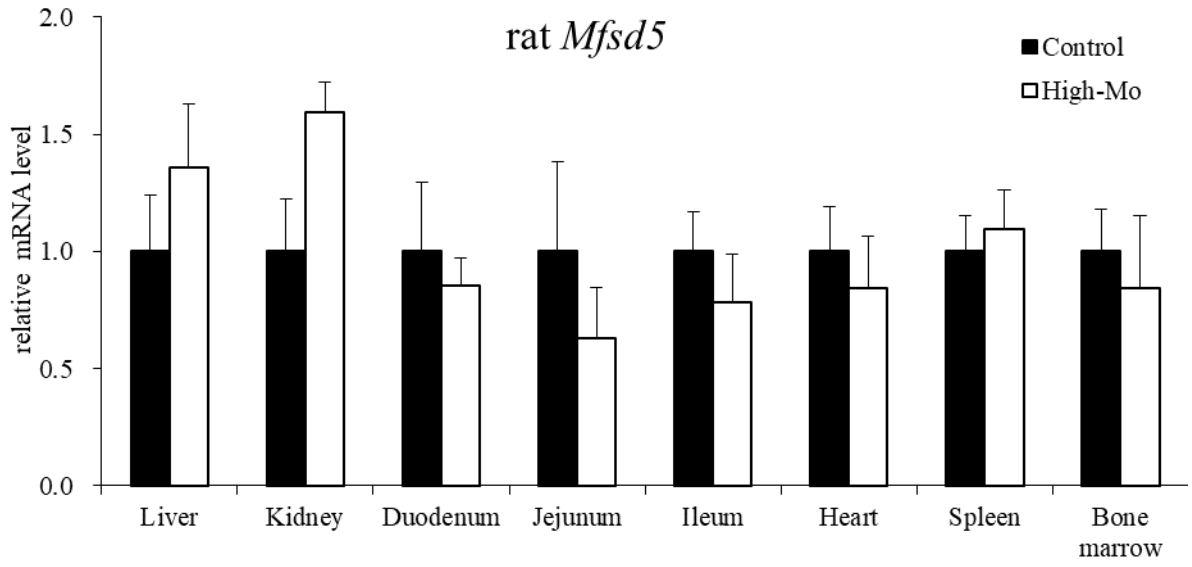


Figure 1. Relative *Mfsd5* mRNA expression in tissues of rats fed a control or high-molybdenum diet for 3 weeks. Expression levels were normalized to 18S rRNA and expressed relative to the control mean for each tissue. Bars represent means ± SD (n = 6 per group). Control, basal AIN-93G diet containing 14.4 µg Mo/100 g diet; High-Mo, AIN-93G-based diet containing 41.1 mg Mo/100 g diet supplemented with sodium molybdate. No significant differences between-group were detected in any tissue (Student's t-test, $P > 0.05$).

Accepted