

学 位 論 文 要 旨

氏名 高橋 香

題 目 : Integrative Diagnostic and Therapeutic Approaches to Canine Periodontal Disease:
Glyconanotechnology-Based Molecular Detection of Periodontopathic Bacteria and
Evaluation of Aged Garlic Extract as a Natural Gingivitis Intervention
(犬の歯周病に対する統合的診断・治療アプローチ—糖鎖ナノテクノロジーによる病原
因子の分子生物学的検出と熟成ニンニク抽出物の歯肉炎改善効果の評価—)

論文要旨 :

Periodontal disease is one of the most common progressive inflammatory conditions in companion animals, particularly dogs. It begins as gingivitis and gradually develops into periodontitis if not adequately managed. As the disease progresses, it leads to the destruction of periodontal tissues, tooth loss, and systemic complications, including cardiovascular, renal, and possibly cognitive disorders. The silent and chronic nature of periodontal disease, coupled with the challenges of detection in veterinary settings, often results in underdiagnosis and delayed treatment. Conventional diagnostic approaches, such as probing and radiographic assessment, are effective but invasive and typically require general anesthesia. Similarly, preventive and therapeutic interventions, including professional dental cleaning and daily tooth brushing, are hindered by compliance issues, cost, and animal temperament.

This thesis presents an integrated investigation into both the diagnostic and therapeutic aspects of canine periodontal disease through two original studies.

In the first chapter, I focused on developing a sensitive and noninvasive molecular diagnostic tool for detecting periodontopathic bacteria in dogs. Using a novel method based on sugar chain-immobilized magnetized nanoparticles (SGNP) and magnetic microparticles (MMP), combined with real-time PCR, oral swab samples from 52 dogs were analyzed to identify eight key bacterial species implicated in periodontal disease. Among these, *Treponema denticola* exhibited the strongest positive correlation with clinical signs of gingival recession and disease severity. The SGNP/MMP-qPCR method demonstrated high sensitivity and specificity, enabling quantitative assessment of bacterial load and offering a practical solution for early-stage screening in clinical practice.

In the second Chapter, I evaluated the therapeutic potential of aged garlic extract (AGE), a natural compound known for its antioxidative, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. While raw garlic is contraindicated in dogs due to the risk of hemolytic anemia, AGE is a processed form that eliminates toxic components and has been confirmed as safe in previous toxicological assessments. In this study, ten Beagle dogs with mild gingivitis were administered AGE at a dosage of 18 mg/kg/day for eight weeks. Clinical parameters were comprehensively evaluated, including gingival index scores, volatile sulfur compound (VSC) concentrations in exhaled air, periodontal bacterial enzyme activity, and salivary concentrations of cathelicidin, an antimicrobial peptide linked to oral innate immunity. The results revealed that AGE administration significantly improved gingival health, reduced halitosis-related compounds, and enhanced immune-related salivary markers, all without adverse effects on general health or hematological profiles.

In conclusion, these two studies offer a multifaceted approach to addressing the challenges of periodontal disease in veterinary medicine. The diagnostic study establishes a robust, noninvasive method for detecting microbial profiles associated with disease severity, enabling more accurate assessments without the need for anesthesia. Concurrently, the therapeutic study supports the clinical utility of AGE as a safe and effective natural supplement for managing gingival inflammation in dogs. The integration of molecular diagnostics and phytotherapeutic intervention represents a promising direction for improving the standard of care in veterinary oral health. Moreover, these findings contribute to the broader understanding of microbial pathogenesis, host immune responses, and the translational potential of natural compounds in veterinary practice. By bridging fundamental microbiological research with practical clinical application, this thesis provides an evidence-based foundation for the early diagnosis, targeted treatment, and holistic management of periodontal disease in dogs.

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	高橋 香
審 査 委 員	主 査：山口大学 教授 水野 拓也
	副 査：山口大学 教授 早坂 大輔
	副 査：山口大学 教授 板本 和仁
	副 査：鹿児島大学 教授 大和 修
	副 査：山口大学 准教授 馬場 健司
題 目	Integrative Diagnostic and Therapeutic Approaches to Canine Periodontal Disease: Glyconanotechnology-Based Molecular Detection of Periodontopathic Bacteria and Evaluation of Aged Garlic Extract as a Natural Gingivitis Intervention (犬の歯周病に対する統合的診断・治療アプローチ —糖鎖ナノテクノロジーによる病原因子の分子生物学的検出と 熟成ニンニク抽出物の歯肉炎改善効果の評価—)
<p>審査結果の要旨：</p> <p>犬において極めて罹患率の高い歯周病は、口腔内の問題にとどまらず、全身疾患との関連も指摘されており、その病態解明と効果的な診断・管理法の確立が臨床で強く求められている。本研究は、(1) 歯周病の進行度と関連する可能性のある口腔内細菌を、新規ナノテクノロジーを応用した分子診断法で半定量的に評価すること、(2) 天然物由来成分である熟成ニンニク抽出物 (Aged Garlic Extract : AGE) の歯肉炎に対する治療効果を検証すること、という 2 つの独立した目的に基づき遂行されたものである。</p> <p>第一章: Detection of Periodontopathic Bacteria and Their Correlation with Periodontal Disease in Dogs Using a Novel Molecular Screening Method</p> <p>本章では、糖鎖固定化磁性金ナノ粒子／磁性マイクロ粒子 (SGNP/MMP) を用いた細菌 DNA の抽出技術と定量的 PCR (qPCR) を組み合わせた、新規かつ高感度な口腔内細菌スクリーニング法を開発し、その診断的有用性を検証した。鹿児島大学附属動物病院に来院した犬 52 頭を対象に、歯肉縁部よりスワブ検体を採取し、8 種類の歯周病関連細菌 (<i>Porphyromonas gingivalis</i>, <i>Treponema denticola</i>, <i>Tannerella forsythia</i>, <i>P. gulae</i> など) および総菌数を測定した。視診に基づく歯周病スコア (PD スコア) と細菌の Ct 値との相関を解析した結果、<i>T. denticola</i> が最も強い負の相関 ($\rho = -0.676$, $p < 0.05$) を示し、続いて総菌数、<i>P. gingivalis</i> + <i>P. gulae</i> の共通プライマーによる定量も有意</p>	

な関連性を示した。これらの結果より、SGNP/MMP-qPCR 法は臨床検体に適用可能な高感度診断法として有用であり、*T. denticola* は犬の歯周病重症度を評価するための有望なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

第二章： Evaluation of the Therapeutic Effect of Aged Garlic Extract on Gingivitis in Dogs

本章では、軽度歯肉炎を有するビーグル犬 10 頭を対象に、AGE (18 mg/kg/日) またはプラセボを 8 週間経口投与する二重盲検比較試験を実施し、AGE の治療効果および安全性を検証した。評価項目には、歯肉指数 (Gingival Index: GI)、口臭の指標である揮発性硫黄化合物 (VSCs)、歯周病関連酵素活性 (BANA 試験)、ならびに唾液中の抗菌ペプチド cathelicidin (CAMP) 濃度を含めた。結果として、AGE 投与群ではプラセボ群と比較して GI の有意な改善、VSCs 上昇の抑制、BANA 酵素活性の低下傾向、CAMP 濃度の有意な上昇が認められた。さらに、血液学的・臨床的異常は認められず、安全性も確認された。これらの所見は、AGE が犬の軽度歯肉炎に対して有効な治療補助候補となることを示している。

総括： 本学位論文は、犬の歯周病に対する診断と治療の両側面からアプローチした 2 つの独立した研究で構成されている。第 1 章では、ナノテクノロジーを応用した新規分子診断法により、*T. denticola* をはじめとする病原細菌の定量が歯周病の重症度と相関することを明らかにした。第 2 章では、熟成ニンニク抽出物の歯肉炎改善効果を臨床試験により実証し、その作用機序として細菌抑制と自然免疫応答の活性化が示唆された。

これら一連の研究成果は、犬の歯周病の病態生理の理解を深めるとともに、診断法の客観性向上や、日常的な管理・治療における新たな選択肢の可能性を示すものであり、獣医臨床における歯周病管理の進展に貢献する重要な知見を提供している。

本研究は、計画された実験デザインに基づき遂行され、得られたデータは適切な統計手法を用いて解析・評価されている。結果に対する考察も、関連分野の最新の文献を網羅し、論理的に展開されている。本研究の成果は、獣医学領域のみならず、比較医学的観点からも価値が高く、今後の犬歯周病研究の発展に大きく寄与するものと判断される。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位に十分に値すると判断された。