

Histological features of peritonitis induced by intraperitoneal injection of chitooligosaccharide

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/31356

表題：

キトサンオリゴ糖の腹膜腔内投与により誘発される腹膜炎の組織像

著者名：

向井加奈恵¹⁾、浅野きみ²⁾、中島由加里¹⁾、高田佳奈¹⁾、原由里子¹⁾、浦井珠恵¹⁾、松尾淳子³⁾、中谷壽男¹⁾

所属：

- 1) 金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻看護科学料域
- 2) 金沢医科大学病院
- 3) 大阪医科大学看護学部

(向井と浅野はこの研究に同じ貢献をした筆頭著者である)

略題：キトサンオリゴ糖と腹膜炎

原稿枚数：18

図の枚数：3

著者連絡先：中谷 壽男

金沢大学医薬保健研究域保健学系

〒920-0942

金沢市小立野 5-11-80

TEL：076-265-2542

FAX：076-234-4363

E-mail：nakatosi@staff.kanazawa-u.ac.jp

要旨

(目的) 先の研究において、キトサンオリゴ糖を腹膜腔に長期間投与すると腹膜炎が惹起され、横隔膜に細胞塊が形成されることを明らかにした。今回は、キトサンオリゴ糖よりも低分子の単糖であるブドウ糖、二糖であるショ糖を腹膜腔に投与し、腹水が貯留するか、および横隔膜に細胞塊が形成されるかを観察した。(方法) C57BL/6雄マウスの腹膜腔内に 0.1%のキトサンオリゴ糖・ブドウ糖・ショ糖それぞれ 0.2ml を 1日に1回、14日間投与した。14日間後に安楽死させ、腹膜腔を観察し、かつ、横隔膜の細胞塊を採取して電子顕微鏡で観察した。(結果と考察) 先の研究と同様にキトサンオリゴ糖投与のマウスには大量の乳白色の腹水が観察され、白色の細胞塊が主に横隔膜の腹膜面に観察された。一方、ブドウ糖、ショ糖を投与したマウスに、大量の乳白色の腹水や白色の細胞塊は観察されなかった。白色の細胞塊は、横隔膜の腹膜下においてリンパ管が発達している部位に見られた。細胞塊はキトサンオリゴ糖を貪食した多数の炎症細胞からなり、細胞間にコラーゲンおよび血管も見られた。この細胞塊は乳斑に類似していた。中皮細胞間からコラーゲンが露出し、リンパ管小孔と思われる部位を通過する細胞も観察された。キトサンオリゴ糖を貪食する大食細胞が見られ、このような細胞は拡張したリンパ管内にも観察された。以上の結果から、キトサンオリゴ糖は乳斑の細胞に貪食され、さらにリンパ管小孔からリンパ管に取り込まれてリンパ管内においても細胞に貪食され、炎症反応が誘起されたと考えられた。

キーワード

キトサンオリゴ糖、腹膜腔内注射、マウス、リンパ管小孔、横隔膜

序文

我々は、皮膚全層欠損創の治癒過程において、キトサンオリゴ糖の腹膜腔内投与によって治癒が促進するかを検討し、治癒促進は起きないことを報告した^{1,2)}。その研究過程で、無菌性の腹水が貯留する腹膜炎が惹起されることを見いだした。

キトサンオリゴ糖を腹膜腔内に投与する治療は報告されていないが、1.35%から2.5%のブドウ糖液は腹膜透析液として使用されている³⁾。また、長期の透析期間中に透析液によって生じる感染や被嚢性腹膜硬化症は報告されているが、我々が観察したような腹膜炎に関する記載はない。

一方、横隔膜には von Reclinghausen⁴⁾ が唱えたようにリンパ管小孔が存在し、現在ではその形態も明らかにされている⁵⁻⁸⁾。リンパ管小孔は、腹膜腔と横隔膜の腹膜下リンパ管叢を交通する孔であり、漿液だけでなくリンパ球や赤血球も通過することができるため、内部環境の維持に重要な役割を果たしていると考えられる。

それゆえ今回は、単糖であるブドウ糖や二糖であるショ糖の連日腹膜腔内投与によって腹膜炎が起こるか、二～十糖であるキトサンオリゴ糖の連日腹膜腔内投与で惹起される炎症とリンパ管小孔との間に何らかの関係があるかを、電子顕微鏡を用いて詳細に検討した。

材料と方法

動物

8週令の雄マウス C57BL/6（三協ラボサービス）18匹を用いた。室温 24℃、明暗 12 時間周期、餌は自由摂食のもとで飼育した。

方法

単糖であるブドウ糖、二糖であるショ糖、そして二～十糖であるキトサンオリゴ糖をそれぞれ蒸留水あるいは生食 (0.9%NaCl) に溶解し、1%の溶液を作製した。6種類の溶液を、各 3 匹のマウスに投与した。溶液は 1 週間ごとに作製し、冷蔵庫に保存し、使用時に混濁が生じないようにした。先の実験¹⁾と同様に、溶液は細菌除去を目的に使用時に 0.22 μm のフィルターで濾過した。毎回新しいフィルターを使用した。投与期間は、前回の実験²⁾において 1%キトサンオリゴ糖溶液 0.1mL を、約 2 週間継続して腹腔内投与を行うと腹水の貯留が見られたため、今回も 2 週間の継続投与で検討した。毎回新しい 27G の注射針とツベルクリンシリンジを使用し、1 日 1 回午前中に 0.2 mL の溶液を、下腹部から腹腔に左右交互に注入した。2 週間後にマウスを安楽死させて、腹腔を観察し、肝鎌状間膜を含めて白色塊が存在する横隔膜の部位を採取した。白色塊が観察されない場合も、同様の部位の横隔膜を採取した。2%グルタルアルデヒド/0.1M リン酸緩衝液含 5%ショ糖で数時間固定後、一晚 0.1M リン酸緩衝液含 5%ショ糖で洗浄した。透過型電子顕微鏡用試料は細切後、2%オスミウム酸/

0.1M リン酸緩衝液に 2 時間後固定し、定法通りに Quetol 812 (日新 EM) で包埋して超薄切片を作製し、酢酸ウラニル染色液と鉛染色液の二重染色を行い観察した。走査型電子顕微鏡試料は、1 辺が約 5 mm の大きさに横隔膜を切断し、2%オスミウム酸/0.1M リン酸緩衝液に 2 時間後固定し、脱水し凍結乾燥後、白金パラジウム蒸着を行い観察した。

結果

腹水の発生

ブドウ糖とショ糖を投与したマウス（12匹）において、腹水の貯留は明確には認められなかった(図 1a)。蒸留水あるいは生食で溶解したキトサンオリゴ糖をそれぞれ投与したマウス（6匹）では、全例において腹水が貯留していた（図 1b）。肉眼的観察において、腹水による腹部膨隆は9日目から11日目に始まり、キトサンオリゴ糖水溶液を腹腔に注射すると、乳白色の腹水が注射針による孔から漏出する例も見られた。14日目では、腹部は著明に膨隆し、全例において注射部位の針孔より乳白色の腹水が漏出した。安楽死後に開腹すると、前回の実験²⁾と同様に、乳白色の腹水が貯留しており、横隔膜、肝臓、肝鎌状間膜、腸間膜に白色塊が見られた。とくに、横隔膜では非常に大きな白色塊が見られた。線維性組織による腸管の被覆や腸管間の癒着は、見られなかった。

白色塊の組織像

横隔膜上の白色塊を横隔膜とともに切片にして観察すると、白色塊は2種類に分類された。すなわち、横隔膜の腹膜面を覆うように、多数の炎症細胞が増殖し、白色塊を形成し、この部位に横隔膜の漿膜下リンパ管叢が存在している場合（図 2、図 4a、図 5）と、横隔膜から遊離し乳斑状を呈し、内部には血管が存在するとともに炎症細胞が増殖している場合（図 3、図 4b、図 7）である。乳斑状の白色塊では、内部に血管が

存在する他に、中心部は繊細なコラーゲンが充満していた（図 3、図 3a）。トルイジンブルー染色を施した準超薄切片の観察から、青色に染まる顆粒は、キトサンオリゴ糖が貪食され顆粒状に細胞内に貯留したものであると考えられた。白色塊の内部や漿膜下では、多数の大食細胞などの炎症細胞がキトサンオリゴ糖を貪食している像が観察された（図 2a, b、図 3a, b）。透過型電子顕微鏡像では、大食細胞などの炎症細胞がキトサンオリゴ糖を貪食した像が観察された（図 4a, b）。横隔膜に密着した白色塊では、漿膜下およびリンパ管周囲の結合組織は、炎症細胞が増殖し、肥厚していた（図 2、図 2a）。

多数の炎症細胞がリンパ管腔に見られ、切片によっては、炎症細胞がリンパ管腔全体を埋めるように存在している様子が観察された（図 2a、図 4a）。また、切片の観察では、リンパ管小孔は多数の炎症細胞が存在するために明瞭ではなかった。走査型電子顕微鏡像では、リンパ管小孔が観察され、多数の炎症細胞が孔を塞ぐように集まっていた（図 5a, b, c）。

横隔膜に密着した白色塊の周縁の中皮細胞は、増殖して盛り上がっていた（図 4c、図 6b）。白色塊より離れた部位、漿膜下のリンパ管が少ない部位では、中皮細胞は扁平であり、増殖して盛り上がることもなく、正常に近い形状を示していた（図 2b、図 4d、図 6a）。しかし、透過型電子顕微鏡像では、このような中皮細胞下に炎症細胞が浸潤している像がしばしば観察された（図 4d）。

考察

今回の研究では、単糖であるブドウ糖、二糖であるショ糖、二～十糖から成るキトサンオリゴ糖を生食あるいは蒸留水で同じ濃度（1%）に溶解し、また生食によって浸透圧を上昇させ、腹水が貯留するかを検討した。ブドウ糖やショ糖では、腹水の貯留は見られなかった。キトサンオリゴ糖では、蒸留水で溶解した場合も、生食で溶解し浸透圧を上昇させた場合も、同様に腹水が発生した。投与して 10 日目頃に腹水の貯留が確認できた。これは、キトサンオリゴ糖自体が炎症を惹起することを示唆している。

高橋⁸⁾は、キトサンオリゴ糖溶液を静脈内に注射し、投与群での毛細血管透過性の抑制、シクロキナーゼの抑制が見られたことからキトサンオリゴ糖が抗炎症作用を有すると報告している。千葉ら⁹⁾は、キトサンオリゴ糖溶液の腹膜腔内投与によって、口腔粘膜の創傷治癒が促進されると報告している。つまり、キトサンオリゴ糖の薬理作用として、抗炎症作用があると考えられる。今回の実験では、これらの報告とは反対に、キトサンオリゴ糖が炎症を惹起する作用を有することが新たに示唆された。その機構については今後の研究の余地がある。

今回の実験において、キトサンオリゴ糖によって形成された白色塊は、横隔膜のリンパ管小孔が存在する部位、あるいは横隔膜から遊離した乳斑状の部位に観察された。リンパ管小孔が存在する横隔膜の部位を覆う中皮細胞は立方形であり、この部位の漿

膜下にはリンパ管叢が存在する。一方、小孔の無い部位では中皮細胞が扁平であり、この部位での漿膜下にはリンパ管叢が極めて少ない⁵⁻⁸⁾。ゴールデンハムスターの卵巣囊のリンパ管小孔が存在する部位において、立方形中皮細胞は排卵によって剥離するが、扁平な中皮細胞は剥離しない¹¹⁾。卵巣囊内に投与されたフェリチンは、投与後30分以内に中皮細胞に貪食されたり、細胞が剥離し露出した結合組織部位に集積したりと、中皮細胞のフェリチンへの反応が見られた¹²⁾。今回の研究においても、立方形中皮細胞が覆っている部位で、細胞の増殖やキトサンオリゴ糖を貪食した細胞が多数見られ、細胞塊を形成している事から、炎症の発生には立方形中皮細胞が大きく影響していると考えられる。さらに、Leak¹³⁾は、細菌毒によってリンパ管小孔付近に多数の炎症細胞が集族し、それらがリンパ管小孔を通過する像を観察している。これは、リンパ管小孔で炎症反応が活発に起こることを示していると考えられ、今回の我々の結果と一致している。さらに、Yuan ら¹⁴⁾や Akey ら¹⁵⁾も、腹膜炎における炎症細胞や腹水の排泄にリンパ管小孔が重要な役割を果たしていると記載している。すなわち、キトサンオリゴ糖はリンパ管小孔に取り込まれ、リンパ管内の大食細胞やリンパ球を刺激することによって、多数の炎症細胞がリンパ管小孔を通り、腹膜腔に出現し、細胞塊の形成を引き起こしたと考えられる。また、立方形中皮細胞もキトサンオリゴ糖に反応して剥離あるいは増殖し、白色塊の形成に関与すると推測される。これによって、リンパ管小孔からリンパ管へ漿液の流出が阻害されて、大量の腹水が貯留したと

思われる。

大網に多く存在する乳斑は、大食細胞やリンパ球などの炎症細胞の集塊からなり、内部に毛細血管が存在し、大食細胞が腹膜腔内の異物を貪食していることが知られている¹⁶⁻¹⁸⁾。今回の研究において横隔膜で観察された白色塊は、キトサンオリゴ糖を貪食した大食細胞やリンパ球からなり、血管も見られることから、乳斑であると考えられる。リンパ管内の炎症細胞と同じように、キトサンオリゴ糖は、乳斑の炎症細胞に異物として認識され貪食されて、巨大な乳斑の白色塊が形成されたものと思われる。

まとめとして、キトサンオリゴ糖は、腹膜腔内の炎症細胞や中皮細胞を刺激して炎症反応を起こし、浸出液を産生させると考えられる。さらに、炎症細胞からなる白色塊を形成し、リンパ管小孔を大量の炎症細胞で塞ぐことで浸出液の排泄を妨げて、大量の腹水を貯留させることが示唆された。

謝辞

キトサンオリゴ糖は焼津水産化学工業株式会社（静岡）の好意により無償で提供された。この研究の一部は、科学研究費基盤 C(22592363) を用いて行われた。

文献

- 1) 島村きみ、村中美緒、石田陽子、二山未央、森摩由美、紺家千津子、須釜淳子、中谷壽男 (2007) 1%キトサンオリゴ酸の腹腔内投与がマウスの皮膚創傷治癒過程におよぼす効果. 形態・機能 5(2): 97-104
- 2) 島村きみ、村中美緒、井上 歩、上田葵子、紺家千津子、大桑麻由美、須釜淳子、中谷壽男 (2008) 1%キトサンオリゴ糖の長期腹腔内投与による皮膚創傷治癒への影響と腹膜炎の誘起. 形態・機能 6(2): 83-87
- 3) 腎と透析編集委員会 編集 (2011) スタンダード透析療法. 腎と透析 70 巻増刊号
- 4) von Recklinghausen FD (1863) Zur Fettersorption. Virchows Arch Pathol Anat 26: 172-208
- 5) Nakatani T, Ohtani O, Tanaka S (1996) Lymphatic stomata in the murine diaphragmatic peritoneum: The timing of their appearance and a map of their distribution. Anat Rec 244(4): 529-539
- 6) Nakatani T, Tanaka S, Mizukami M, Okamoto K, Shiraisi Y, Nakamura T (1997) Peritoneal lymphatic stomata of the diaphragm in the mouse: Process of their formation. Anat Rec 248(1): 121-128
- 7) Shinohara H, Kominami R, Taniguchi Y, Yasutaka S (2003) The distribution and morphology of lymphatic vessels on the peritoneal surface of the adult human diaphragm, as revealed by an ink-absorption method. Okajima Folia Anat Jpn 79: 175-183.
- 8) Wang ZB, Li M, Li JC (2010) Recent advances in the research of lymphatic stomata. Anat Rec 293(5): 754-761
- 9) 高橋顯仁 (2003) 炎症に対するキチンオリゴ糖およびキトサンオリゴ糖の薬理学的検討. 奥羽大歯学誌 30(2): 115-126
- 10) 千葉有、釜田朗、松渕志帆、田谷かほる、齋藤高弘、五十嵐治義 (2004) キトサ

ンオリゴ糖の創傷治癒促進作用. 奥羽大歯学誌 31(1): 23-32

- 11) Shinohara H, Nakatani T, Morisawa S, Matsuda T (1986) On the ovarian bursa of the golden hamster. I. Scanning electron microscopy of the inner surface and stomatal orifices. *J Anat* 147: 45-54
- 12) Nakatani T, Shinohara H, Matsuda T (1986) On the ovarian bursa of the golden hamster. II. Intercellular connections in the bursal epithelium and passage of ferritin from the cavity into lymphatics. *J Anat* 148: 1-12
- 13) Leak LV (1983) Interaction of mesothelium to intraperitoneal stimulation. I. Aggregation of peritoneal cells. *Lab Invest.* 48(4): 479-491
- 14) Yuan Z, Rodela H, Hay JB, Oreopoulos D, Johnston MG (1994) Lymph flow and lymphatic drainage of inflammatory cells from the peritoneal cavity in a casein-peritonitis model in sheep. *Lymphology* 27(3): 114-128
- 15) Akay S, Ozutemiz O, Kilic M, Karasu Z, Akyildiz M, Karasulu E, Baka M, Doganavsargil B, Ersoz G, Ulukaya S, Alper I, Ates U, Batur Y (2008) Reabsorption of ascites and the factors that affect this process in cirrhosis. *Transl Res* 152(4): 157-164
- 16) Kanazawa K, Roe FJ, Yamamoto T (1979) Milky spots (Taches laiteuses) as structures which trap asbestos in mesothelial layers and their significance in the pathogenesis of mesothelial neoplasia. *Int J Cancer* 23(6): 858-865
- 17) Cranshaw ML, Leak LV (1990) Milky spots of the omentum: a source of peritoneal cells in the normal and stimulated animal. *Arch Histol Cytol* 53 Suppl: 165-177
- 18) Shimotsuma M, Shields JW, Simpson-Morgan MW, Sakuyama A, Shirasu M, Hagiwara A, Takahashi T (1993) Morpho-physiological function and role of omental milky spots as omentum-associated lymphoid tissue (OALT) in the peritoneal cavity. *Lymphology* 26(2): 90-101

図の説明

図1 1%ショ糖／生食 (1a) または 1%キトサンオリゴ糖／生食 (1b) を 14 日間継続腹腔内投与後の腹膜腔の状態。ショ糖では、特に著明な変化は観察されない。キトサンオリゴ糖では、横隔膜の腹膜面には白色塊が見られ (矢印)、乳白色を呈する乳汁状の腹水が多量に見られる (*)。D: 横隔膜、L: 肝臓、S: 小腸。

図2 横隔膜腹膜面に見られた白色塊のトルイジンブルー染色の樹脂切片。漿膜下のリンパ管叢 (L) の存在する部位の上には、多量の細胞の集合が見られる。リンパ管叢が無い部位では、明瞭な細胞の集合は見られない。バー: 100 μm 。2a は、図2中の a の部位の拡大像である。リンパ管腔には炎症細胞が存在し、リンパ管を覆う結合組織には多数の炎症細胞が見られ、肥厚している (両矢印)。結合組織中には、キトサンオリゴ糖を貪食した細胞が多数見られる (矢印)。バー: 20 μm 。2b は、図2中の b の部位の拡大像であり、細胞塊の見られる部位と見られない部位の移行部を示している。細胞塊の見られない部位では、扁平な中皮細胞 (矢頭) が覆っている。中皮細胞が増殖した細胞に持ち上げられている (矢印)。バー: 20 μm 。M: 横隔膜の筋層、P: 腹膜腔。

図3 臍中心 (T) の上に見られた細胞塊のトルイジンブルー染色の樹脂切片。バー: 100 μm 。3a は図3の a の部位の拡大像であり、大食細胞がキトサンオリゴ糖を貪食している (矢印)。さらに、中心部には繊細なコラーゲン (*) が集族している。バ

一：20 μm 。3b は図 3 の b の部位の拡大像であり、内部に血管が観察され (○)、この細胞塊は乳斑と思われる。乳斑の細胞が増殖し、キトサンオリゴ糖を貪食している (矢印)。バー：20 μm 。

図 4a~4d 透過型電子顕微鏡像

図 4a リンパ管叢 (L) 上に位置する細胞塊。正常では一層の中皮細胞で覆われているのに対して、多数の細胞が集簇して層を成している (両矢印)。漿膜下の結合組織中 (C) にも線維芽細胞以外の細胞が多数存在している。注目すべき所見は、キトサンオリゴ糖を貪食している細胞 (*) が、リンパ管腔 (L) に存在し、腔を閉塞している。図 2a に相当する。Mu: 横隔膜の筋層。P: 腹膜腔。バー：5 μm 。

図 4b 乳斑の細胞塊。毛細血管 (B)、分核している好中球 (N) やリンパ球 (Ly)、キトサンオリゴ糖を貪食している大食細胞 (M) が見られ、それらの間を、繊細なコラーゲンが埋め尽くしている (**)。図 3b に相当する。P: 腹膜腔。バー：2 μm 。

図 4c 細胞塊の周辺の部位。漿膜下のリンパ管 (L) の上で、中皮細胞 (Me) の下層に増殖した細胞 (C) が潜り込んでいる。図 2b の矢印の部位に相当する。バー：1 μm 。

図 4d 細胞塊の周囲の部位。細胞塊の見られない部位を扁平な中皮細胞 (Me) が覆っている。しかしながら、漿膜下の結合組織中には、キトサンオリゴ糖 (矢印) を貪食している大食細胞 (M) がみられる。図 2b の矢頭の部位に相当する。バー：2 μm 。

図 5, 6, 7 走査型電子顕微鏡像

図 5a リンパ管小孔が存在する部位に見られる細胞塊。円形状の中皮細胞や炎症細胞が集合塊（*）を形成している。平滑なリンパ管内皮細胞で覆われたリンパ管小孔が見える部分がある（矢印）。これは、中皮細胞が剥離したためと思われる。バー：100 μm 。

図 5b 図 5a の矢印 b で示す部分の拡大像。多数のリンパ管小孔が見られ、炎症細胞やコラーゲンが入り込んでいる様子が観察される（矢印）。バー：100 μm 。

図 5c 図 5b の c の範囲の拡大像。リンパ管小孔に炎症細胞、線維状のものが入っているのが観察される。バー：10 μm 。

図 6a 細胞集塊が形成されている周囲。剥がれていない扁平な中皮細胞（*）が観察される。この部位は炎症細胞に覆われていない。図 2b の矢頭の部位と図 4d に相当する。バー：100 μm 。

図 6b 細胞塊が形成されている周囲。中皮細胞が浮き上がって、遊離しかけている（矢印）。図 2b の矢印の部位と図 4c に相当する。バー：100 μm 。

図 7a 炎症反応を起こしている巨大な乳斑。横隔膜の上に見られる。図 3 に相当する。バー：500 μm 。

図 7b 図 7a の b の部位の拡大像。無数の炎症細胞が集族している。図 3a、図 3b や図 4b に相当する。バー：50 μm 。

図 7c 図 7b の c の部位の拡大像。多数の球状の炎症細胞の深部に網状にコラーゲン

(F) が張っている。図 3a、図 3b や図 4b に相当する。バー : 10 μm 。

Histological features of peritonitis induced by intraperitoneal injection of chitooligosaccharide

Kanae Mukai¹⁾, Kimi Asada²⁾, Yukari Nakajima¹⁾, Kana Takada¹⁾, Yuriko Hara¹⁾, Tamae Urai¹⁾, Junko Matsuo³⁾, Toshio Nakatani¹⁾

1) Department of Clinical Nursing, Graduate Course of Nursing Science, Division of Health Sciences, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University

2) Kanazawa University Hospital

3) School of Nursing, Osaka Medical Collage

(K. Mukai and K. Asano equally contributed to this research as a first author.)

Aim: Peritonitis was evoked when we administered chitooligosaccharide into the peritoneal cavity in a former long-term study. We clarified that a cell mass was formed on the diaphragm. In this study we observed the cell masses on the diaphragm using an electron microscope and we aimed to determine whether the peritonitis occurred after administration of glucose (monosaccharide) and sucrose (disaccharide), which have lower molecular weights than chitooligosaccharide. into the peritoneal cavity. **Methods:** We administered a 0.2 mL solution containing 0.1% chitooligosaccharide, glucose, or sucrose into the peritoneal cavity of C57BL/6 male mice once a day for 14 days. After a 14-day observation period we euthanized the mice, observed the peritoneal cavities, gathered the cell masses, and observed them with an electron microscope. **Results:** A large quantity of white ascites was present in the peritoneal cavity and the white masses were observed on the diaphragm of the mice treated with chitooligosaccharide. These masses were not observed in mice treated with glucose or sucrose. The white cell masses formed on the peritoneal area where the lymphatic vessel under the diaphragmatic serosa developed and the lymphatic stomata opened. The mass was comprised of a large number of inflammatory cells, with collagen fibers among the cells. Blood vessels also were observed in the mass. Therefore, the masses appeared to be the milky

spot. Collagen was exposed from the intercellular space between mesothelial cells. Cells, which travelled through the lymphatic stomata, were observed. Cells that had phagocytized chitooligosaccharide were observed in enlarged lymphatics. Conclusion: Considered from these findings, it was suggested that chitooligosaccharide was phagocytized by cells in the milky spot and the lymphatics, evoking an inflammatory reaction.

Key words: Chitooligosaccharide, Intraperitoneal injection, Mouse, Lymphatic stomata, Diaphragm





