原 著

強大音刺激時のラット脳幹内 c-fos 陽性細胞発現様式
—特に前庭神経核内の分布について—

張 瑞麗

Expression of c-fos Like Protein in the Rat Brainstem Following
Intense Sound Stimulation

RuiLi Zhang

Department of Otolaryngology, Toyama Medical and Pharmaceutical University

In this study the induction of c-fos, a protein product of proto-oncogene *c-fos*, was immunohistochemically examined in rat caudal brainstems in response to intense sound. One kHz of pure tone stimulation at 110 and 130 dB SPL was applied for 60 mins. In comparison with non-stimulated control rats, the brainstem of the sound-stimulated rats showed c-fos protein in both the inside of the cochlear nucleus and the vestibular nucleus. In the vestibular nucleus, sound stimulation at 130 dB SPL led to widespread c-fos labeling in the medial, spinal and lateral vestibular nucleus compared with that at 110 dB SPL. The distribution of the primary vestibular afferent fiber projected from the saccule to the vestibular nucleus overlapped that of c-fos labeling neurons at 130 dB SPL, suggesting that the saccule is the origin of the c-fos labeling vestibular neurons produced in response to the intense sound.

Key words: rat, brainstem, c-fos, sound, gene expression

はじめに

強大音によりめまいや眼振が誘発されることは、1924年に Tullio¹⁾ が鳩の外側半規管に瘻孔を作製して報告して以来 Tullio 現象として広く知られている。この現象は、内耳梅毒²⁾、メニエール病³⁾、外リンパ瘻⁴⁾などの内耳疾患の他、健常人⁵⁾でもジェット機近傍の爆音で同様の症状が起ることが報告されている。

また、Colebatch ら⁶⁾⁷⁾により、強大クリック音を用い胸鎖乳突筋で記録される短潜時の誘発筋電位は前庭神経切断術後に消失することから前庭

系の反応と考えられ、新しい前庭機能検査法として臨床応用が期待されている。

末梢前庭器のうち球形嚢は、発生学的に蝸牛と同一の原基をもつため、聴覚機能をもつと考えられている⁸⁾。動物実験での球形嚢神経応答の特徴を蝸牛神経と比較してみると、蝸牛神経よりも短潜時、高閾値で、特徴周波数が低いことが球形嚢神経の特徴であると報告されている^{9)~11)}。ヒト前庭誘発筋電位でも同様の特徴があるため⁷⁾、このような強大音に対する前庭性反応の起源としては球形嚢が最有力視されている。

一方、前庭神経核 (VN: 表 1 略語参照) のうち外側前庭神経核 (LAV)、内側前庭神経核 (MV)、

表1 略 語

CN: cochlear nucleus	蝸牛神経核
DAB: 3,3'-diaminobenzidine	3,3'-ジアミノベンチジン
DCO: dorsal cochlear nucleus	背側蝸牛神経核
ECU: external cuneate nucleus	外側楔状束核
gVIIIn: genu of the facial nerve	顔面神経膝
HRP: Horseradish Peroxidase	西洋ワサビペルオキシダーゼ
icp: inferior cerebellar peduncle	下小脳脚
LAV: lateral vestibular nucleus	外側前庭神経核
MV: medial vestibular nucleus	内側前庭神経核
PRP: nucleus prepositus	舌下神経前位核
py: pyramidal tract	錐体路
SPIV: spinal vestibular nucleus	下前庭神経核
sptV: spinal tract of the trigeminal nerve	三叉神経脊髄路
SUV: superior vestibular nucleus	上前庭神経核
VCOa: ventral cochlear nucleus, anterior part	前蝸牛神経腹側核
VCOp: ventral cochlear nucleus, posterior part	後蝸牛神経腹側核
VI: abducens nucleus	外転神経核
VII: facial nucleus	顔面神経核
VIIIn: facial nerve	顔面神経
VIIIn: vestibulocochlear nerve	内耳神経
VN: vestibular nucleus	前庭神経核
vVIIIn: vestibular nerve	前庭神経
XII: hypoglossal nucleus	舌下神経核

下前庭神経核 (SPIV) において、これまで強大音に応答するニューロンが数個ずつ記録されているが¹²⁾、サンプル数が少ないためにそれぞれの亜核内での局在の特徴については明らかでない。そのため、強大音応答ニューロンの前庭神経核内の局在と球形囊神経の中枢性投射部位や前庭脊髄路の起始核分布との関係についての検討は十分に行われていない。これらの点を明らかにすることは、音刺激に対する前庭反応の神経経路を解明する上で重要であり、臨床診断学的にも有用性が高

いと考えられる。

ところで、癌ウイルス遺伝子のプロトタイプとして発見された癌原遺伝子 c-fos は正常細胞においては細胞の増殖、分化の調節に関与しており、種々の刺激に反応して神経細胞内に短時間で発現することから最初期遺伝子 (immediate-early gene) とも呼ばれ、細胞活動の指標となることが報告されている¹³⁾。この c-fos マッピング法により、刺激に応答した c-fos 陽性細胞の存在部位から、刺激に関与する神経回路を調べることができ

る¹⁴⁾¹⁵⁾。

本研究では、脳幹において強大音に応答する神経細胞の局在を調べるため、ラットに強大音を負荷した際に発現する c-fos を免疫組織化学的方法により染色、c-fos 陽性細胞の局在を蝸牛神経核 (CN) および前庭神経核で検討した。

対象と方法

1. 対象

実験には Preyer 反射¹⁶⁾¹⁷⁾ 陽性のウィスター系ラット (雄: 体重 250–300 g) を11匹用いた。

2. 音刺激

他覚的聴力検査用信号発生器 Model DA-502A (Dana JAPAN 社製) を用いて発生した 1 kHz の純音をパワーアンプ (SONY TA-N 330-ES) にて増幅して刺激音とした。スピーカー (JBL 社製 Model 2441) はラットを放置する箱から 30 cm 離して設置した。音圧校正には、騒音計 (RION 社製 Sound Level Meter NA-20) を用い、スピーカー前方 30 cm に騒音計を置き、測定された音圧 (dB) レベルを dB SPL と表示した。本実験では、110 dB と 130 dB SPL の2種類のレベルの音刺激を使用した。

3. 実験条件

音刺激は無麻酔で、音、光、振動などの外的刺激が遮断された環境で行った。ラットは遮光された防音室内に設置された透明の箱の中 (25 cm <長>×17 cm<幅>×17 cm<高>) で自由に行動できるようにした。

音刺激条件によりラットは3群に分けられた。I 群 (n=4) は対照群で、音刺激を与えず、先に述べた防音室内の透明箱の中にラットを60分間放置した。II 群 (n=3) は 110 dB SPL で、III 群 (n=4) は 130 dB SPL で音刺激を60分間負荷した。

4. 固定標本作製および免疫組織化学

固定標本の作製および免疫組織化学は、Hambara¹⁸⁾ の方法に従った。音刺激終了後、5分以内にネブタールを腹腔内注射 (50 mg/kg) し、心臓より生理食塩水 (室温) で 300 ml 灌流した後、4%パラホルムアルデヒド (PFA) を含んだ 0.1 M リン酸パフー (PB, pH 7.4, 4°C) 400 ml にて灌流固定し、脳幹を摘出した。摘出脳幹は、同じ固定液中に12時間浸漬 (4°C) して固定した。その後、10%ショ糖を含んだ 0.1 M 塩酸リン酸パ

フー (PBS, 4°C) に24時間、20%同剤で24時間、および30%同剤で48時間浸漬することで固定液を洗浄し、クライオスタット (ライヘルト フリゴカット 2800N) を用いて、20 μm の連続冠状断凍結切片を作製し、スライドガラス上で60分間乾燥させた。

c-fos 陽性細胞の免疫組織化学染色は、VECTASTAIN Elite ABC KIT (VECTOR 社製) による ABC 法¹⁹⁾ を用いた。乾燥させた切片は 0.01 M PBS で洗浄後、c-fos 陽性細胞の非特異的結合のブロックを行うために、0.2% triton-X100 を含む 0.01 M PBS (PBST) のヤギ正常血清による 1%に希釈した液を滴下し3時間反応させた。一次抗体はウサギ抗ヒトポリクローナル抗体 (Oncogene science 社製、c-fos, Ab-2) 0.01 M PBST 400倍希釈液にて 4°C で72時間反応させた。その後、0.1 M PBS にて洗浄し、二次抗体であるビオチン化ヤギ抗ウサギ IgG を8時間、アビジン-ビオチン化 HRP を14時間反応させた。

酵素組織化学染色 HRP には、3,3'-diaminobenzidine による DAB 法を行った。0.05% DAB, 0.01% H₂O₂ を混和した 0.05 M tris-HCl 緩衝液 (pH 7.6) にて室温20分間で発色させた。

5. c-fos 陽性細胞の判定

各ラットの冠状断脳幹切片は光学顕微鏡的に観察し、描画装置 (オリンパス社製 Model BH2-DA) を使用して描画した後に c-fos 陽性細胞の位置を記入した。各切片から、脳幹の立体構造を再構築し、前庭神経核を12等分した前額断の図を作製した。c-fos 陽性細胞の判定は200倍の倍率で明確な DAB 反応を示した細胞のみを陽性とした (図1)。この方法により、ラットの脳幹容積の個体差に関わらず、脳幹尾側部の特定部位を番号で示すことが可能となった。たとえば、背側蝸牛神経核 (DCO) は図2の切片7–10、上前庭神経核 (SUV) は同切片10–12、LAV は同切片9–11、MV は同切片1–12、SPIV は同切片1–9で示される。脳幹の区分と命名は Swanson 脳図譜²⁰⁾ に従った (図2)。

6. 統計処理

本研究では、前庭神経核の MV, LAV, SPIV および蝸牛神経核の DCO において、観察された c-fos 陽性細胞数の群間の比較を Kruskal-Wallis 検定を用いて行った。

図1 c-fos 陽性細胞の明視野顕微鏡写真

A: 下前庭神経核 (SPIV), B: 背側蝸牛神経核 (DCO), 枠内は矢印で示す陽性細胞の拡大写真。校正; A 右下: 0.2 mm, B 右下: 0.25 mm, A, B 枠内: 0.05 mm。

結 果

I 群 (対照) では, DCO, 腹側蝸牛神経核 (VCOa と VCOp), SPIV, MV, LAV で c-fos 陽性細胞が散在性に認められたが, 上前庭神経核 (SUV) では c-fos 陽性細胞は検出されなかった (図2)。

II 群 (110 dB SPL 負荷) では, DCO において c-fos 陽性細胞が I 群に比較して著明に増加し, 特徴的な帯域分布を示した (図3)。DCO の帯域では, 尾側端 (切片7-9) に外背側から内腹側にかけて c-fos 陽性細胞を分布していた。VCOa と VCOp では, c-fos 陽性細胞が観察されたが, DCO に比較して小数で, 特徴的な集積を認めなかった。

前庭神経核では, I 群と比較して, c-fos 陽性細胞数の変化はなく, 特徴的な局在はなかった。

III 群 (130 dB SPL 負荷) では, II 群と比較して DCO の c-fos 陽性細胞数がさらに増加し, 帯域分布はほとんど変化がなかった。VCOa と VCOp においても, II 群と比較して c-fos 陽性細胞が増加した。

II 群でほとんど c-fos 陽性細胞が観察されなかった前庭神経核では, SPIV と MV 中央部の境界部 (切片7と8), SPIV の吻側部外側 (切片8と9), LAV の尾側部内側の MV の境界部 (切片9) に c-fos 陽性細胞の特徴的な分布が観察さ

れた。SUV では, c-fos 陽性細胞は全く検出されなかった (図4)。

蝸牛神経核と前庭神経核で検出された c-fos 陽性細胞数の計測結果を刺激条件毎に図5と図6にまとめて示した。DCO では, 刺激強度に依存して c-fos 陽性細胞数の増加する傾向がみられたが, 統計学的有意差はなかった。SPIV と MV では, II 群では I 群と比較して c-fos 陽性細胞数の増加がみられず, III 群では c-fos 陽性細胞数が有意に増加した。

図7A は本実験 130 dB SPL 音刺激時, 冠状断された c-fos 陽性細胞を背側から見るように前庭神経核を再構築した図で, B と C はスナネズミの球形囊神経と後半規管神経の中樞投射部位²¹⁾の模式図, D と E はネコの内側前庭脊髄路と外側前庭脊髄路の脳幹起始核部位²²⁾の模式図である。これらの図より, 強大音刺激時ラット前庭神経核内 c-fos 陽性細胞発現部位はスナネズミ球形囊神経の中樞投射部位に近似していた。また, c-fos 陽性細胞は内側前庭脊髄路の前庭神経核内起始核部位とほぼ一致して分布していたことを確認した。

考 察

本研究では, 強大音刺激時のラット脳幹内の蝸牛神経核, 前庭神経核内 c-fos 陽性細胞発現様式を検討した。その結果, 強大音刺激時 c-fos 陽性

図2 ラット43（I群：対照）の右側の脳幹のc-fos陽性細胞の分布
図中の1枚の切片は、0.02mmの厚さの切片10枚分を示しており、その10枚に認められた陽性細胞全てを記入してある。VNの小さい点一つは1個、CNの大きい点一つは5個の陽性細胞を示している。c-fos陽性細胞はDNおよびVNに散在性に分布したことを示す。

細胞は蝸牛神経核においてはDCOで外背側から内腹側にかけての帯域分布が観察され、前庭神経核においてSPIVとMVの中央境界部やLAVの尾側部内側に集積が認められた。また、SPIV、MV、LAVの前庭神経核諸核では最大音圧刺激時のみにc-fos陽性細胞増加がみられ、DCOと前庭神経核諸核との間には音刺激時のc-fosの発

現形式に明らかな差がみられた。
音刺激負荷時のc-fosマッピング法による蝸牛神経核の研究は、これまでマウス²³⁾、ラット²⁴⁾²⁵⁾、モルモット²⁶⁾、ネコ²⁷⁾において行われてきた。麻酔によるc-fos陽性細胞数の減少、特徴的な帯域の観察が不能となる報告がされており²⁶⁾、本研究では無麻酔で実験を行った。音刺激の強度

図3 ラット47 (Ⅱ群: 110 dB SPL 負荷) の右側の脳幹の c-fos 陽性細胞の分布

DCO には c-fos 陽性細胞が外背側から内腹側にかけて特徴的な帯域を示した。VN では特徴的な局在がなかった。

と蝸牛神経核内の c-fos 陽性細胞数の関係については, Brown ら²³⁾ がマウスで報告しており, 6 kHz のトーンバーストによる2時間の音刺激の結果, DCO をはじめとする蝸牛神経核の諸核の c-fos 陽性細胞数を計測した。その結果, 刺激音圧を 15 dB SPL から 95 dB SPL まで 10 dB 毎に上昇させていった場合, 蝸牛神経核のいずれの核でも音圧上昇と共に c-fos 陽性細胞数はほぼ直線

性に数を増加すると報告した。一方, ラットでは, Sato ら²⁴⁾ がラットに 0.25 kHz から 8 kHz までの3周波数で純音を10-30分間負荷した場合, 60-70 dB SPL に比べ 80-90 dB SPL では DCO で c-fos 陽性細胞数が増加するが, VCOa や VCOp では細胞数が増加しないと述べている。本研究では, 110 dB SPL 以上の音刺激において DCO の他に VCOp でも増加が認められ, Brown ら²³⁾ の

図4 ラット53 (Ⅲ群: 130 dB SPL 負荷) の右側の脳幹の c-fos 陽性細胞の分布
c-fos 陽性細胞は SPiV と MV 吻側の境界部, SPiV の吻側部外側, LAV の尾側部内側に特徴的な分布を示した。

結果と一致した。

電気生理学的研究²⁸⁾と 2-Deoxyglucose 法を用いた研究²⁹⁾から, ラット DCO ニューロンには周波数局在性があることが報告されている。DCO では, 高い周波数に応答するニューロンは背側部, 低い周波数に応答するニューロンは腹側部に局在すると考えられている。近年, c-fos マッピング法を用いた実験でも周波数局在性について

検討されている。Rouiller ら³⁰⁾は, ラットに 1 kHz から 32 kHz の 4 種類の周波数で 80 dB SPL のトーンバースト刺激を 1 時間負荷した場合の c-fos 陽性細胞の局在を蝸牛神経核で調べ, DCO 内には尾側部と吻側部に 2 つの c-fos 陽性細胞の帯域が認められ, 後者のみが刺激周波数の上昇により帯域の局在が腹側部から背側部へと変化したと報告している。Sato ら²⁴⁾は, ラットに 0.25 kHz

図5 背側蝸牛神経核 (DCO) の c-fos 陽性細胞数の比較

★は $P < 0.05$ を示す。c-fos 陽性細胞は刺激強度に依存して増加する傾向がみられたが、統計的有意差がなかった。

図6 前庭神経核の c-fos 陽性細胞数の比較

SPIV と MV では、Ⅲ群では c-fos 陽性細胞数が有意に増加したことを示す。

から 8 kHz までの 3 周波数で 60–90 dB SPL の純音を 10–30 分間負荷した場合、吻側端ではなく尾側部で周波数局在性が観察されたと指摘している。実験条件が異なっているが、本研究では Sato ら²⁴⁾ と同様の帯域が尾側部で観察された。

前庭神経核においては、これまで迷路破壊術後の前庭代償課程の研究³¹⁾³²⁾ が c-fos マッピング法を用いて主に行われてきたが、音刺激負荷時に前庭神経核で c-fos 陽性細胞を観察したのは、Sato ら²⁵⁾ の報告が唯一のものである。彼らは、周波

数 0.25 kHz、刺激音圧 80 dB SPL、持続時間 30 分間の条件下でラットの SPIV と MV 内に c-fos 陽性細胞が出現することを報告したが、その集積性の特徴について詳細な分析は行っていなかった。本研究により、周波数 1 kHz、持続時間 60 分間の条件下では、SPIV と MV の境界部および LAV の内側部に c-fos 陽性細胞の集積は音刺激強度が 130 dB SPL で認められることが初めて明らかとなった。

末梢前庭器から前庭神経核への投射様式には特

図7 背側から見る前庭神経核

A: 冠状断を背側から見るように強高音刺激時ラット前庭神経核内 c-fos 陽性細胞分布様式, B: スナネズミ球形囊神経の中樞投射部位, C: スナネズミ後半規管神経の中樞投射部位, D: 内側前庭脊髄路の脳幹起始核部位, E: 外側前庭脊髄路の脳幹起始核部位。

微的な局在がみられるため、c-fos マッピング法による前庭神経核内の c-fos の発現様式から強高音に応答する末梢前庭器の種類を推定することが可能である。本研究で用いたラットでその投射様式を調べた報告はないが、同じ齧歯類に属するスナネズミでは HRP 法により、球形囊神経と後半規管神経で前庭神経核への投射部位が調べられている²¹⁾。球形囊は MV の外背側部、SPIV の吻側部背側部および LAV の尾側部、後半規管は MV の中間部および LAV の尾側部内背側部にそれぞれ神経線維の投射が確認されている。一方、卵形囊、水平半規管および前半規管からの投射については、齧歯類では c-fos マッピング法あるいは HRP 法により検討した報告はなされていない。本研究で明らかになった c-fos 陽性細胞の局在は、SPIV と MV の境界部（MV の中間部外背側部と SPIV の吻側部内背側部）や LAV の尾側部内側部に認められ、これはスナネズミの球形囊神経投射部位とはほぼ一致していた。

また、本研究では蝸牛神経核の c-fos 陽性細胞数の増加が低音圧（110 dB SPL）で、前庭神経核では 130 dB SPL で初めて陽性細胞数が増加し、

c-fos 陽性細胞発現に関して前庭神経核は蝸牛神経核より閾値が高いことが明らかとなった。これは電気生理学的に球形囊神経は蝸牛神経より音刺激に対して高閾値である報告^{9)~11)}と一致していた。これらの結果は、球形囊が末梢前庭器ではあるが蝸牛と同様に強高音刺激により応答することを示唆しているものと考えられた。

前庭脊髄路には内側前庭脊髄路と外側前庭脊髄路の2種類があり、両者には種々の差があることが報告されている²²⁾。図7DとEに示したように、内側前庭脊髄路はMVの中間部外側部、SPIVの吻側部内側部およびLAVの内側部より生じ、両側性に頸髄レベルまで神経線維投射が確認されている。一方、外側前庭脊髄路は、LAV全体から生じ、同側性に腰髄レベルまで下降する。本研究の結果では、強高音刺激に応答するc-fos陽性細胞の局在がMV、SPIVおよびLAVにおいて観察され、内側前庭脊髄路の起始核の分布にはほぼ一致していた。この結果から、前庭神経核まで伝達された強高音刺激情報は、主に内側前庭脊髄路を介して伝達される前庭脊髄反応に関与する可能性が高いことを示すものであった。

結 論

ラットにおいて、c-fos マッピング法を用い、強高音に応答する脳幹尾側部ニューロンの局在を前庭神経核と蝸牛神経核にて観察した。前庭神経核では 130 dB SPL 刺激時のみに c-fos 陽性細胞が有意に増加し、MV と SPIV の境界部や LAV の尾側部内側部に局在し、球形囊神経の脳幹投射部位および内側前庭脊髄路の脳幹起始核の部位とはほぼ一致していた。これらの結果は、強高音に対する前庭性反応の受容器が球形囊であること、および球形囊刺激により応答する前庭神経核ニューロンの神経活動が、主に内側前庭脊髄路を介して伝達され前庭脊髄反射を誘発する可能性を示唆するものであった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご高閲を賜りました富山医科薬科大学耳鼻咽喉科学教室渡辺行雄教授、ならびに実験に関して直接ご指導を頂いた同教室将積日出夫講師に深甚なる謝意を捧げます。また実験手技に関して貴重な意見を頂いた富山医科薬科大学精神神経科学教室鈴木道雄助教授、徳島大学医学部耳鼻咽喉科学教室の武田憲昭教授、および大阪大学医学部耳鼻咽喉科学教室の北原 紵先生、実験全般においてご協力を頂いた富山医科薬科大学第一生理学教室の五十嵐勝美技官に深く感謝致します。

文 献

- 1) Tullio P: Sulla funzione delle varie parti del labirinto acustico. Arch Ital Otol Rinol Laringol 35: 230-267, 1924
- 2) Erlich MA, Lawson W: The incidence and significance of the Tullio phenomenon in man. Otolaryngol Head Neck Surg 88: 630-635, 1980
- 3) Pillsbury III HC, Postma DS: The Tullio phenomenon, fistula test, and Hennebert's sign: clinical significance. Otolaryngol Clin North Am 16: 205-207, 1983
- 4) Fox EJ, Balkany TJ, Arenberg IK: The Tullio phenomenon and perilymph fistula. Otolaryngol Head Neck Surg 98: 88-89, 1988
- 5) Dickson EDD, Chadwick DL: Observations on disturbances of equilibrium and other symptoms induced by jet-engine noise. J Laryngol Otol 65: 154-165, 1951
- 6) Colebatch JG, Halmagyi GM: Vestibular evoked potentials in human neck muscles before and after unilateral vestibular deaf-ferentation. Neurology 42: 1635-1636, 1992
- 7) Colebatch JG, Halmagyi GM, Skuse NF: Myogenic potentials generated by a click-evoked vestibulocollic reflex. J Neurol Neurosurg Psychiatry 57: 190-197, 1994
- 8) 竹森節子：耳-生理（平衡）．沢木修二，設楽哲也，野村恭也編．臨床耳鼻咽喉科学 1 基礎編．116-152頁，中外医学社，東京，1980
- 9) Cazals Y, Aran JM, Erre JP, et al: "Neural" responses to acoustic stimulation after destruction of cochlear hair cells. Arch Otorhinolaryngol 224: 61-70, 1979
- 10) Cazals Y, Aran JM, Erre JP, et al: Acoustic responses after total destruction of the cochlear receptor: brainstem and auditory cortex. Science 210: 83-86, 1980
- 11) Cazals Y, Aran JM, Erre JP: Frequency sensitivity and selectivity of acoustically evoked potentials after complete cochlear hair cell destruction. Brain Res 231: 197-203, 1982
- 12) Murofushi T, Curthoys IS, Gilchrist DP: Response of guinea pig vestibular nucleus neurons to clicks. Exp Brain Res 111: 149-152, 1996
- 13) Sagar SM, Sharp FR, Curran T: Expression of c-fos protein in brain: Metabolic mapping at the cellular level. Science 240: 1328-1331, 1988
- 14) Dragunow M, Faull R: The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. J Neurosci Methods 29: 261-265, 1989
- 15) Hunt SP, Pini A, Evan G: Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. Nature 328: 632-634, 1987
- 16) Lenhardt ML: Preyer reflex in jaundiced rats: central auditory effects. J Aud Res 25: 161-166, 1985
- 17) Francis RL: The preyer reflex audiogram of several rodents, and its relation to the "abso-

- lute" audiogram in the rat. *J Aud Res* 19: 217-233, 1979
- 18) Hamba M, Muro M, Hiraide T, et al: Expression of c-fos-like protein in the rat brain after injection of interleukin-1-beta into the gingiva. *Brain Res Bull* 34: 61-68, 1994
- 19) Hsu SM, Rain L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAR) procedures. *J Histochem Cytochem* 59: 577-580, 1981
- 20) Swanson LW: Brain maps: Structure of the rat brain. pp 53-64, Elsevier, 1992
- 21) Kevetter GA, Perachio AA: Distribution of vestibular afferents that innervate the sacculus and posterior canal in the gerbil. *J Comp Neurol* 254: 410-424, 1986
- 22) Wilson VJ: Physiological pathways through the vestibular nuclei. *Int Rev Neurobiol* 15: 27-81, 1972
- 23) Brown MC, Liu TS: Fos-like immunoreactivity in central auditory neurons of the mouse. *J Comp Neurol* 357: 85-97, 1995
- 24) Sato K, Houtani T, Ueyama T, et al: Mapping of the cochlear nucleus subregions in the rat with neuronal Fos protein induced by acoustic stimulation with low tones. *Neurosci Lett* 142: 48-52, 1992
- 25) Sato K, Houtani T, Ueyama T, et al: Identification of rat brainstem sites with neuronal fos protein induced by acoustic stimulation with pure tones. *Acta Otolaryngol Suppl* (Stockh) 500: 18-22, 1993
- 26) Cody AR, Wilson W, Leah J: Acoustically activated c-fos expression in auditory nuclei of the anaesthetised guinea pig. *Brain Res* 728: 72-78, 1996
- 27) Adams JC: Sound stimulation induces fos-related antigens in cells with common morphological properties throughout the auditory brainstem. *J Comp Neurol* 361: 645-668, 1995
- 28) Kaltenbach JA, Lazor J: Tonotopic maps obtained from the surface of the dorsal cochlear nucleus of the hamster and rat. *Hear Res* 51: 149-160, 1991
- 29) Ryan AF, Furlow Z, Woolf NK, et al: The spatial representation of frequency in the rat dorsal cochlear nucleus and inferior colliculus. *Hear Res* 36: 181-190, 1988
- 30) Rouiller EM, Wan XST, Moret V, et al: Mapping of c-fos expression elicited by pure tones stimulation in the auditory pathways of the rat, with emphasis on the cochlear nucleus. *Neurosci Lett* 144: 19-24, 1992
- 31) Kitahara T, Takeda N, Saika T, et al: Role of the flocculus in the development of vestibular compensation: Immunohistochemical studies with retrograde tracing and flocculectomy using fos expression as a marker in the rat brainstem. *Neuroscience* 76: 571-580, 1997
- 32) Kitahara T, Takeda N, Saika T, et al: Effects of MK801 on Fos expression in the rat brainstem after unilateral labyrinthectomy. *Brain Res* 700: 182-190, 1995

(原稿到着：平成11年11月17日
別刷請求先：張 瑞麗
〒930-0194 富山市杉谷2630
富山医科薬科大学耳鼻咽喉科学教室
E-mail: g6410108@ms.toyama-mpu.ac.jp)