

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2005～2008

課題番号：17209002

研究課題名（和文） 瞬目反射条件付けの分子神経機構の解明

研究課題名（英文） A study on molecular and neural mechanism of eyeblink conditioning

研究代表者

桐野 豊 (KIRINO YUTAKA)

徳島文理大学・香川薬学部・教授

研究者番号：10012668

研究成果の概要：

瞬目反射学習と小脳プルキンエ細胞内のシナプス可塑性に関与する機能分子との因果関係を、5種の遺伝子変異マウスを用いて追究し、小脳LTDと学習能の間の強い相関性を明らかにした。条件によっては、小脳以外の上位中枢に強く依存し、小脳に依存しないメカニズムも示唆された。学習と脳波との関係や学習中の小脳神経活動の記録等、新しい実験系の開発を行った。瞬目反射学習の、老化や認知症研究における有用性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	13,500,000	4,050,000	17,550,000
2006年度	12,900,000	3,870,000	16,770,000
2007年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
2008年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
年度			
総計	38,000,000	11,400,000	49,400,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：神経科学、脳・神経、瞬目反射条件づけ

1. 研究開始当初の背景

瞬目反射学習はマウスからヒトまで種を越えて共通に見られる古典的条件付けの一つである。この学習は、それだけでは瞬きを引き起こさない刺激（条件刺激、CS；通常は音）と必ず瞬きを引き起こす刺激（無条件刺激、US；眼球への空気吹きつけあるいは、眼瞼への電気刺激）をペアーにして提示することにより、音だけで瞬きをする（条件応答：CR）ようになる連合学習である。このCRの獲得および維持に必須の神経回路は小脳お

よび脳幹に存在し、入出力経路を含めて、ほぼ同定されている。さらに、小脳と脳幹に加えて、海馬、内側前頭前野、扁桃体等の上位中枢が重要な役割を果たしていること、及び、これら上位中枢の関与の仕方はCSとUSの時間関係に依存して変化することが、我々のこれまでの研究から明らかになってきた。その結果、瞬目反射連合学習に関与する複数の脳領域の構造と機能を、小脳との相互作用を通じて、研究することが可能となってきた。

2. 研究の目的

瞬目反射学習の「記憶の獲得(acquisition), 及び、短期記憶から長期記憶への変換(記憶の固定化, consolidation)」において、「小脳が行っていること」と「脳の他の領域が小脳と協同して行っていること」に分けて、分子レベル, 神経回路レベル, 及び、行動レベルで探究する。これによって、学習・記憶の各過程において、脳のどの領域にどのような変化が生じるのか、という学習・記憶の根元的な問に対する答えを得ることを目的とする。

具体的には、次の6項目の課題に取り組み。

- (1)瞬目反射条件づけの分子基盤、特に、GluRδ2 欠損マウスを用いた小脳の役割の検討
- (2)前頭前野 NMDA 受容体依存的な可塑性の長期記憶形成における役割
- (3)ラット光文脈依存的瞬目反射弁別課題における脳波解析、特に、海馬シータ波成分の解析
- (4)in vivo 電気生理学およびイメージング測定のための頭部固定条件下での瞬目反射条件づけシステムの開発
- (5)瞬目反射学習に関わる小脳活動の光学測定法の開発
- (6)応用研究として、学習・記憶に対する老化や肥満の影響

3. 研究の方法

用いた動物は、ラット (Wistar)、野性型マウス (C57BL/6 と上位中枢に異常を持つ DBA/2)、及び、種々の遺伝子変異マウスである。これら動物の脳の一部の外科手術による破壊、薬物による不活化、あるいは遺伝子変異による特定の分子の欠失(可逆あるいは不可逆)が、どのような学習にどのような影響を与えるかを探究した。また、学習中の脳波の測定や小脳活動の光学測定により、学習中に脳のどの領域がどのような応答を示すか、追究した。

4. 研究成果

- (1)瞬目反射条件づけの分子基盤、特に、GluRδ2 欠損マウスを用いた小脳の役割の検討

小脳機構に重要な役割を果たしていると考えられる4つの機能分子の瞬目反射条件づけにおける役割を追究した。

- ① 小胞体膜を貫通し細胞膜と結合することにより、結合膜構造の形成に寄与するタンパク質である *Junctophilin* が小脳のシナプス可塑性および運動学習の成立に必須であることを示した。このミュータントは小脳 LTD に顕著な障害があることも明らかになったことから、小脳皮質のシナプス可塑性と瞬目反射条件づけの相関関係が示された。

- ② グルタミン酸受容体 δ2 サブユニットとの

機能的結合が示唆されている新規ホスファターゼ *PTPEMG* が小脳長期抑圧および瞬目反射条件付けに穏やかな障害を呈することを明らかにした。

- ③ *MAP* キナーゼキナーゼの一種である *MEK1* のドミナントネガティブ体 (*dnMEK1*) を、小脳プルキンエ細胞のみに、かつ可逆的に発現することのできるマウス (*HA-dnMEK1 Tg* マウス) に瞬目反射条件づけを行った。ドキシサイクリンを与え、*dnMEK1* の発現を抑えた場合学習は正常であったが、普通の水を与え十分その発現をさせたところ条件反射獲得が著明に阻害された (図1)。この結果はプルキンエ細胞内 *MEK-ERK* カスケードが運動学習に必須であることを示し、小脳学習における *MEK* カスケードの生理機能をはじめて明らかにしたものである。*MEK* カスケードは *in vitro* レベルで小脳 LTD に必須であることがいくつかの研究グループにより報告されていることから本学習における小脳 LTD 仮説を補強する結果となった。

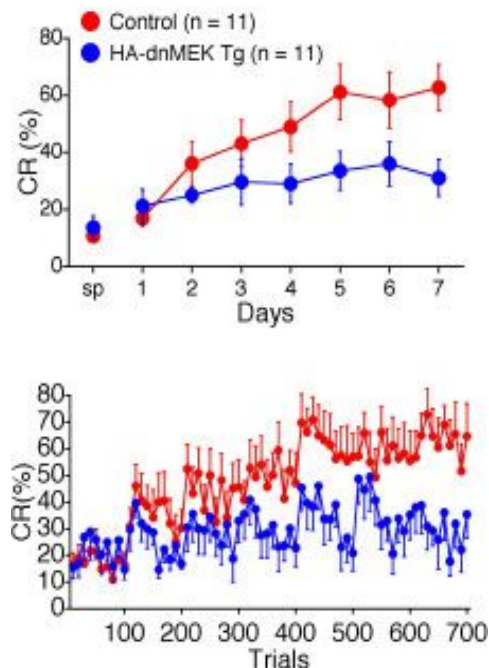


図1. HA-dnMEK マウスは瞬目反射条件付けの初期過程に障害を呈する。

- ④ GABA 合成酵素の一種である *GAD67* の発現が抑制されたマウスに瞬目反射条件づけを行ったところ、学習が阻害された。この結果は小脳における正常な抑制性シナプスの発達が運動学習に重要であることを示し、記憶の分子基盤においてシナプス機能とその発達を結び付ける結果を表すという点が新しい。

- ⑤ *GluRδ2* 欠損マウスに短トレース課題を学習させ、記憶獲得後に両側小脳を破壊して、その記憶保持と再学習能力を調べたところ、

再条件付け開始1日目の記憶が大きく障害されていた(図2)。

しかしながら、その後次第に条件応答を再獲得したことから、小脳皮質に異常がある *GluRδ2* 欠損マウスにおいても小脳に依存して学習が行われるが、両側小脳が破壊された状態でもある程度、再学習が可能であることが示唆された。

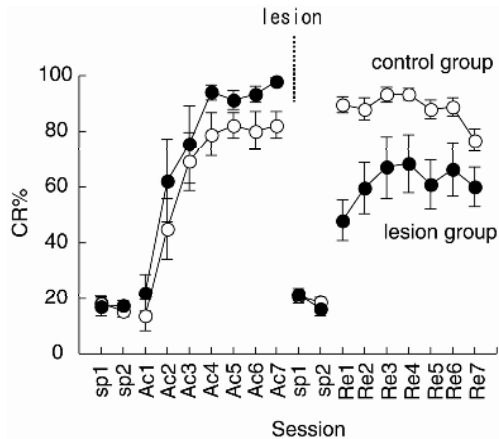


図2. *GluRδ2* 欠損マウスにおける小脳破壊の記憶保持と再学習能力への影響

以上の一連の実験より、遺伝子変異マウスにおける瞬目反射条件づけと小脳 LTD の障害の間には、その障害の度合いも含め、非常に大きな causal relationship が存在することが示された。しかしながら、小脳に依存しない学習経路があることも示唆された。

(2)前頭前野 NMDA 受容体依存的な可塑性の長期記憶形成における役割

記憶獲得直後から2週間 APV を投与した場合には長期記憶の形成が顕著に障害されたが(図3)、記憶獲得2週間後から4週間後まで APV を投与した場合には長期記憶の形成は障害されなかった。このことは、記憶獲得直後の2週間における前頭前野における NMDA 受容体依存的なシナプス可塑性が長期記憶形成に重要な役割を果たす可能性を示唆した。

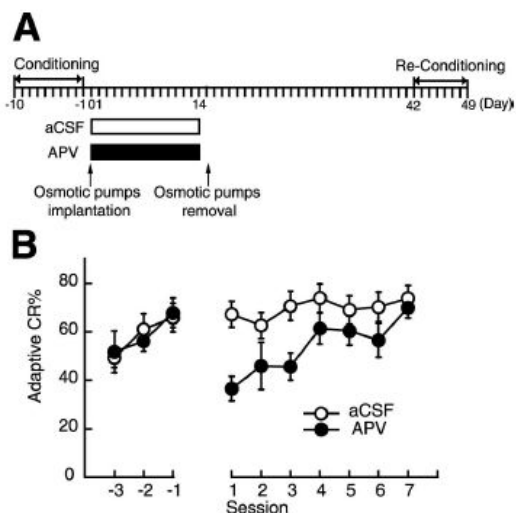


図3. 長期記憶形成に対する APV の効果

(3)ラット光文脈依存的瞬目反射弁別課題における脳波解析、特に、海馬シータ波成分の解析

2週間にわたって条件付けを続けたところ、ラットは光の有無に基づいて同一の音に対して異なった応答を見せるようになった(図4)。ラットは、まず、光の有無に関わらず、音に対して瞼を閉じることを学習し、条件付け開始後1週間すると徐々に、先行した光があった時のみ瞬きするようになった。

さらに、課題遂行中の海馬、内側前頭前野、聴覚野などの脳波を解析したところ、海馬においてシータ波成分が高まっている場合に音に対して正しく瞬きをすることが明らかとなった(図5)。

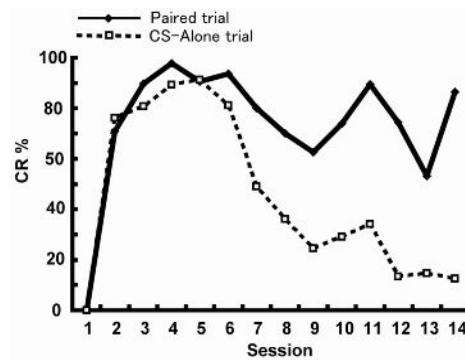


図4. ラット光文脈依存的瞬目反射弁別課題における光の有無による応答の違い

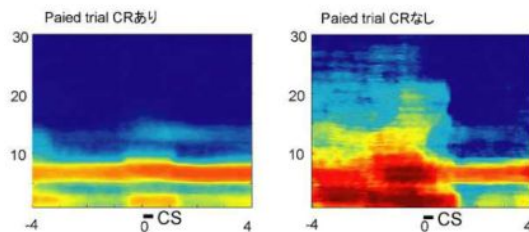


図5. 瞬き時の海馬シータ波の増加

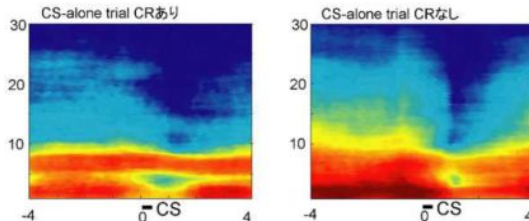


図6. 記憶の発現と海馬シータ波

文脈依存的瞬目反射弁別課題における海馬シータ波成分は、弁別の手がかりとなる光刺激の開始とともに増加することが多いが、シータ波成分が高い場合には音刺激のみで

条件応答を出す（記憶の発現）ことがわかった（図 6）。また、聴覚野で光刺激に条件して自発発火頻度が増加するニューロンが見つかった。これらの結果は、上記課題において記憶の発現に海馬と聴覚野が関与することを示唆する。

(4) *in vivo* 電気生理学およびイメージング測定のための頭部固定条件下での瞬目反射条件づけシステムの開発

瞬目反射条件づけの遅延課題において小脳依存性が高い DBA/2 マウスと野生型 C57BL/6 マウスを頭部固定下で学習させたところ、DBA/2 は遅延課題においては学習したが、上位中枢依存性が高いトレース課題では顕著な学習障害を示した。一方、C57BL/6 は両課題とも学習した。以上より、頭部固定条件下で行う光学測定では、小脳解析には DBA/2 を、海馬を含む上位中枢解析には C57BL/6 を用いると良いことが示唆された。

(5) 瞬目反射学習に関わる小脳活動の光学測定法の開発

小脳頭蓋骨を通してフラビン蛋白の蛍光をビデオカメラを用いて測定した。音刺激を与えると、小脳虫部を中心とする部位で蛍光の増大と減少からなる 2 相性の応答が記録された。小脳半球でも時間経過の類似した弱い応答が記録された。聴への電気刺激に対しては音刺激より強い応答が広範囲にみられた。これらの結果は、瞬目反射条件づけにおいて、従来考えられていたより広い領野のニューロンで活動が生じている可能性を示唆している。

(6) 応用研究として、学習・記憶に対する老化や肥満の影響

2 か月間に渡り脂肪 60% を含有する高脂肪食 (high fat diet; HFD) を与え、肥満マウスを作成した。この肥満モデルマウスでは、血漿グルコースおよび血漿インスリン濃度の有意な増加が確認され、2 型糖尿病モデルとしても有用であることを示した。

図 7 左に示すように、Delay 250 課題にて 7 日間条件付けでは、最終的な CR (%) は control 群では 71.5±6.5%、HFD 群では 66.3±7.9% まで上昇し、獲得の段階で両群に差は認められなかった。

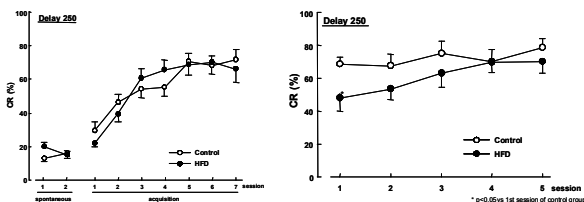


図 7. HFD 飼育マウスの遅延課題における記憶保持障害 (A) 獲得、(B) 記憶保持と再学習

図 7 右に示すように、最後の条件付けセッションから 10 日後に、同様に delay 250 にて再条件付けを行ったところ、control 群においては再条件付けセッション 1 日目において 68.4±4.7% の CR が認められたが、HFD 群においては 48.2±8.3% まで有意に低下した。その後の 5 日間に渡る再条件付けにより、最終的 CR (%) は control 群では 78.7±5.4%、HFD 群では 70.1±7.1% まで上昇し、HFD 群における再学習は正常であった。CB1 受容体拮抗薬の AM-251 (3.2 mg/kg, i.p.) を保持期間および再条件付け期間に投与し、条件付けの 30 分前に投与したところ、HFD 群と control 群とで、1 日目にも有意な差は認められなくなった。従って、肥満マウスで認められた保持障害は内因性カンナビノイドシステムの亢進に起因するものである可能性がある。この実験から、肥満モデルマウスにおいては、少なくとも delay 課題の獲得に必須な小脳の機能に障害がないことが示唆された。それに対し、記憶の固定・保持は海馬や大脳皮質の関与が示唆されている。本研究で認められた保持障害は、それらの部位における障害に起因する可能性が考えられる。そこで、Trace 500 課題にて 10 日間条件付けを行ったところ、最終的な CR (%) は control 群では 68.6±8.1% まで上昇したのに対し、HFD 群では 45.3±6.3% までの上昇にとどまった（図 8）。

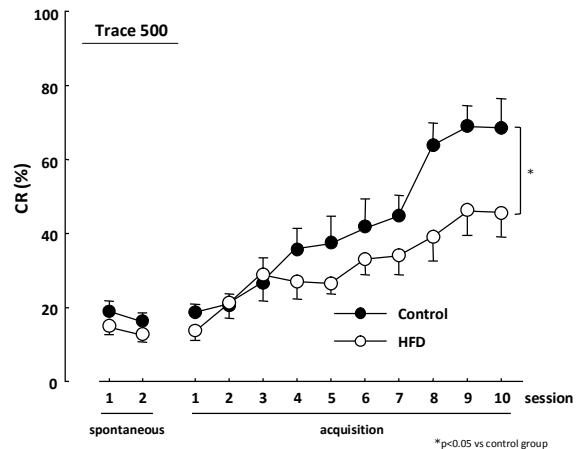


図 8. 肥満マウス(HFD)のトレース条件付け

Trace 500 課題には、小脳のみならず海馬や大脳皮質など、より上位の中枢が関与することが知られており、本研究で認められた学習障害は、肥満モデルマウスにおける上位中枢の障害を示唆するものと考えられる。大脳皮質、海馬および小脳における CB1 受容体の発現量を Western blotting により定量したところ、大脳皮質および海馬において発現量が増加していたことから、Trace 500 における学習障害は、これらの部位におけるカンナビノイド系の活性化によるものである可能性が示唆された。

野生型マウス(9-90 週齢)及び SAMP8 マウス

スの聴性脳幹反応 (ABR) を測定したところ、聴覚機能は障害されていない。従って、これらのマウスにおける瞬目反射学習障害は聴力自体の低下によるものではなく、何らかの脳機能障害によるものであることが示唆された。また、SAMP8 が瞬目反射条件づけに関わる小脳や海馬機能の解明に有効であることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 18 件)

- ① Endo, S., Shutoh, F., Dinh, T. L., Okamoto, T., Ikeda, T., Suzuki, M., Kawahara, S., Yanagihara, D., Sato, Y., Yamada, K., Sakamoto, T., Kirino, Y., Hartell, N. A., Yamaguchi, K., Itoharu, S., Nairn, A. C., Greengard, P., Nagao, S. and Ito, M., Dual involvement of G-substrate in motor learning revealed by gene deletion, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 3525-3530, 2009.
- ② Yamada, N., Katsuura, G., Tatsuno, I., Asaki, T., Kawahara, S., Ebihara, K., Saito, Y. and Nakao, K., Orexins increase mRNA expressions of neurotrophin-3 in rat primary cortical neuron cultures, *Neurosci. Lett.*, 450, 132-135, 2009.
- ③ Watanabe, S., Kirino, Y. and Gelperin, A., Neural and molecular mechanisms of microcognition in *Limax*, *Learn. Mem.*, 15, 633-642, 2008.
- ④ Kakegawa, W., Miyazaki, T., Emi, K., Matsuda, K., Kohda, K., Motohashi, J., Mishina, M., Kawahara, S., Watanabe, M. and Yuzaki, M., Differential regulation of synaptic plasticity and cerebellar motor learning by the C-terminal PDZ-binding motif of GluR δ 2, *J. Neurosci.*, 28, 1460-1468, 2007.
- ⑤ Kakizawa, S., Kishimoto, Y., Hashimoto, K., Miyazaki, T., Furutani, K., Shimizu, H., Fukaya, M., Nishi, M., Sakagami, H., Ikeda, A., Kondo, H., Kano, M., Watanabe, M., Iino, M. and Takeshima, H., Junctophilin-mediated channel crosstalk essential for cerebellar synaptic plasticity, *EMBO Journal*, 26, 1924-1933, 2007.
- ⑥ Kina, S., Tezuka, T., Kusakawa, S., Kishimoto, Y., Kakizawa, S., Hashimoto, K., Ohsugi, M., Kiyama, Y., Horai, R., Sudo, K., Kakuta, S., Iwakura, Y., Iino, M., Kano, M., Manabe, T. and Yamamoto, T., Involvement of protein-tyrosine phosphatase PTPMEG in motor learning and cerebellar long-term depression, *Eur. J. Neurosci.*, 26, 2269-2278, 2007.
- ⑦ Iijima, T., Ogura, H., Takatsuki, K., Kawahara, S., Wakabayashi, K., Nakayama, D., Fujioka, M., Kimura, Y., Bernstein, A., Okano, H. J., Kirino, Y. and Okano, H., Impaired motor functions in mice lacking the RNA-binding protein Hzf, *Neurosci. Res.*, 58, 183-189, 2007.
- ⑧ Watanabe, S. and Kirino, Y., Selective

calcium imaging of olfactory interneurons in a land mollusk, *Neurosci. Lett.*, 417, 246-249, 2007.

⑨ Fukunaga, S., Matsuo, R., Hoshino, S. and Kirino, Y., A novel kruppel-like factor is induced by neuronal activity and by sensory input in the central nervous system of the terrestrial slug *Limax valentianus*, *J. Neurobiol.*, 66, 169-181, 2006.

⑩ Inoue, T., Murakami, M., Watanabe, S., Inokuma, Y. and Kirino, Y., *In vitro* odor-aversion conditioning in a terrestrial mollusk, *J. Neurophysiol.*, 95, 3898-3903, 2006.

⑪ Kishimoto, Y. and Kano, M., Endogenous cannabinoid signaling through the CB1 receptor is essential for cerebellum-dependent discrete motor learning, *J. Neurosci.*, 26, 8829-8837, 2006.

⑫ Kishimoto, Y., Nakazawa, K., Tonegawa, S., Kirino, Y. and Kano, M., Hippocampal CA3 NMDA receptors are crucial for adaptive timing of trace eyeblink conditioned response, *J. Neurosci.*, 26, 1562-1570, 2006.

⑬ Kotani, S., Kawahara, S. and Kirino, Y., Change of Purkinje cell activity during classical conditioning in decerebrate guinea pig, *Brain Res.*, 1068, 70-81, 2006.

⑭ Takehara-Nishiuchi, K., Nakao, K., Kawahara, S., Matsuki, N. and Kirino, Y., Systems consolidation requires postlearning activation of NMDA receptors in the medial prefrontal cortex in trace eyeblink conditioning, *J. Neurosci.*, 26, 5049-5058, 2006.

⑮ Kato, Y., Takatsuki, K., Kawahara, S., Fukunaga, S., Mori, H., Mishina, M. and Kirino, Y., NMDA receptors play important roles in acquisition and expression of the eyeblink conditioned response in glutamate receptor subunit δ 2 mutant mice, *Neuroscience*, 135, 1017-1023, 2005.

⑯ Sakamoto, T., Takatsuki, K., Kawahara, S., Kirino, Y., Niki, H. and Mishina, M., Role of hippocampal NMDA receptors in trace eyeblink conditioning, *Brain Res.*, 1039, 130-136, 2005.

⑰ Takatsuki, K., Kawahara, S., Mishina, M. and Kirino, Y., Characterization of hippocampal theta rhythm in wild-type mice and glutamate receptor subunit δ 2 mutant mice during eyeblink conditioning with a short trace interval, *Brain Res.*, 1063, 159-167, 2005.

⑱ Takehara-Nishiuchi, K., Kawahara, S., and Kirino, Y., NMDA receptor-dependent processes in the medial prefrontal cortex are important for acquisition and the early stage of consolidation during trace but not delay eyeblink conditioning, *Learn. Mem.*, 12, 606-614, 2005.

〔学会発表〕 (計 17 件)

- ① 岸本泰司, 原田武志, 平井良枝, 中尾晴美, 中

尾和貴, 饗場 篤, 桐野 豊, テトラサイクリン 遺伝子発現誘導系を利用した記憶学習の分子過程の解明, 日本薬学会第129回年会, 2009年3月26-28日, 京都.

② 中山順子, 奥 郁子, 岸本泰司, 桐野 豊, 小脳依存性学習に対するアナンダミド分解酵素阻害の効果, 日本薬学会第129回年会, 2009年3月26-28日, 京都.

③ 白井弘児, 水上愛理, 川原茂敬, マウス瞬目反射条件付けの画像解析, 第31回日本神経科学大会, 2008年7月9-11日, 東京

④ 川原茂敬, 龍崎優一郎, 西澤 遼, 的場圭亮, 堀内富大, DBA/2 マウスの瞬目反射条件付けにおける小脳依存性, 第31回日本神経科学大会, 2008年7月9-11日, 東京.

⑤ 岸本泰司, 桐野 豊, モノアシルグリセロールリパーゼ(MGL)阻害による瞬目反射条件付け記憶の消去障害, 第31回日本神経科学大会, 2008年7月9-11日, 東京.

⑥ 徳田慶太, 西川倫正, 川原茂敬, 瞬目反射学習における文脈依存的弁別学習と応答の海馬の状態への依存性, 第31回日本神経科学大会, 2008年7月9-11日, 東京.

⑦ 岸本泰司, 原田武志, 平井良枝, 中尾晴美, 中尾和貴, 桐野 豊, 饗場 篤, Tet-OFF 遺伝子発現システムを用いた小脳学習におけるMAPK/ERK kinase 1の機能解析, 第45回日本生物物理学会年会, 2008年12月3-5日, 福岡.

⑧ 北村美一郎, 桐野 豊, 野生型マウスC57BL/6Jにおける聴性脳幹反応の加齢に伴う変化, 第45回日本生物物理学会年会, 2008年12月3-5日, 福岡.

⑨ 窪田剛志, 桐野 豊, 肥満モデルマウスの瞬目反射条件付け学習におけるカンナビノイドシステムの関与, 第45回日本生物物理学会年会, 2008年12月3-5日, 福岡.

⑩ 岸本泰司, 原田武志, 饗場 篤, ヒト-動物共通学習パラダイムを用いたMAPK/ERK kinase 1の分子機能解析, 第2回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 2008年12月20-21日, 京都.

⑪ 鈴木令子, 王 芳, 浅木敏之, 勝浦五郎, 桐野 豊, 川原茂敬, 若齢および老齢マウスの瞬目反射条件付けに対するNMDA受容体阻害薬の効果, 第80回日本薬理学会年会, 2007年3月14-16日, 名古屋.

⑫ 岸本泰司, 狩野方伸, 小脳依存性瞬目反射条件付けにおける内在性カンナビノイド受容体CB1の役割, 第84回日本生理学会大会, 2007年3月20-22日, 大阪.

⑬ 窪田剛志, 川原茂敬, 桐野 豊, 肥満モデルマウスの瞬目反射条件付け学習におけるカンナビノイドの関与, 第127回日本薬学会年会, 2007年3月28-30日, 富山.

⑭ 江見恭一, 幸田和久, 川原茂敬, 柚崎通介, Cbln1欠損マウスを用いた小脳学習および海馬学習におけるCbln1の機能解析, 第30回日本神経科学大会, 2007年9月10-12日, 横浜.

⑮ 北村美一郎, 桐野 豊, 加齢によるマウス聴性脳幹反応の変化, 第45回日本生物物理学会年会, 2007年12月21-23日, 横浜.

⑯ 渡辺 恵, 川原茂敬, 瞬目反射条件付けの自家蛍光イメージング, 第45回日本生物物理学会, 2007年12月21-23日, 横浜.

⑰ Kirino, Y., Kato, Y., Kawahara, S., Sakaguchi, I., Ishibashi, C., Takeyama, C., Takahara, Y., Katsuura, G., Eyeblink conditioning and Morris water maze in senescence-accelerated mice SAMP8, 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2006年10月14-18日, Atlanta, USA.

[図書] (計 1件)

石渡信一, 桂 勲, 桐野 豊, 美宅茂樹 編「生物物理学ハンドブック」, 朝倉書店, 総ページ662, 2007.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

徳島文理大学 香川薬学部 生物物理学講座 ホームページ:

<http://kp.bunri-u.ac.jp/kph16/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桐野 豊 (KIRINO YUTAKA)

徳島文理大学・香川薬学部・教授

研究者番号: 10012668

(2) 研究分担者

川原 茂敬 (KAWAHARA SHIGENORI)

富山大学・大学院理工学研究部 (工学)・教授

研究者番号: 10204752

渡辺 恵 (WATANABE SATOSHI)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 80302610

勝浦五郎 (KATSUURA GORO)

塩野義製薬 (株)

研究者番号: 20401226

松尾亮太 (MATSUO RYOTA)

徳島文理大学・香川薬学部・講師

研究者番号: 40334338

得丸博史 (TOKUMARU HIROSHI)

徳島文理大学・香川薬学部・准教授

研究者番号: 70262160

北村美一郎 (KITAMURA YOSHIICHIRO)

徳島文理大学・香川薬学部・講師

研究者番号: 70348829

岸本泰司 (KISHIMOTO YASUSHI)

徳島文理大学・香川薬学部・助教

研究者番号: 90441592

窪田剛志 (KUBOTA TAKASHI)

徳島文理大学・香川薬学部・助教

研究者番号: 90412402

(3) 連携研究者 (2008年度のみ)

渡辺 恵 (WATANABE SATOSHI)