# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号: 12601

研究種目: 基盤研究(B)(一般)

研究期間: 2013~2017

課題番号: 25292082

研究課題名(和文)森林昆虫ー共生微生物の共進化と温度反応及び気候変動から予測される動態予測

研究課題名(英文)Co-evolution between forest insects and their symbiotic microorganisms, and Inferred dynamics of them based on their high temperature tolerance and climate

change

#### 研究代表者

久保田 耕平 (KUBOTA, Kohei)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号:30272438

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文):ルリクワガタ属やその他多くの森林昆虫の分類群について大量の遺伝子データを用いた分化過程の推定を行った。多くの特徴的な分化パターンや隠蔽種の存在が示された他、特にルリクワガタ属で実施したRADシーケンス解析では信頼性の高いトポロジーが得られた。ルリクワガタ属について共生酵母との共進化が検出された。また、酵母の高温耐性は系統による変異が大きかった。ルリクワガタ属について生態ニッチモデリングによる生息適地の推定を現在・過去について行い、この属の種の分布域がおおむね気候条件によって決まっていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文): The differentiation processes using massive amounts of genetic data were estimated on the taxa of the genus Platycerus and many other forest insects. In addition to showing the presence of many distinctive differentiation patterns and cryptic species, highly reliable topology was obtained especially in the RAD sequence analysis carried out in the genus Platycerus. Co-evolution with the symbiotic yeast was detected for the genus Platycerus. The high temperature tolerance of yeasts was greatly affected by their lineages. Regarding the genus Platycerus, we estimated the suitable distribution areas by ecological niche modeling for the present and the past, and it became clear that the distribution areas of Platycerus species are largely decided by climatic conditions.

研究分野: 森林昆虫学、進化生態学

キーワード: 分化過程 共生酵母 森林昆虫 遺伝子解析 ルリクワガタ属

#### 1.研究開始当初の背景

冷温帯林は日本国内において、北海道から 九州にかけての広い範囲に分布し、多くの植 物種、動物種を内包する生物多様性の高い森 林群系である。その分布は北日本で比較的連 続的であるものの、西日本では小規模かつ離 散的となっており、その存在様式の地域差が 大きな生物多様性を生み出している可能性 をもつ。また近年人為によって失われた地域 も少なくない。このような状況から、冷温帯 林に分布する動植物種は、希少種として全国 版または都府県版レッドデータリストにリ ストアップされていることも多い。一方でブ ナアオシャチホコやブナハバチのように主 に東北地方などで従来からしばしば大発生 し、害虫として扱われている昆虫種も存在し、 冷温帯林の昆虫種の存在様式は単純ではな い。保全上隔離個体群の重要性は広く認識さ れているが、昆虫においてそのような隔離個 体群を含む種の遺伝的特性を集団遺伝的か つ系統地理学的に検討した例は少数にとど まっていた。

1-1. 多くの近縁種を内包する分類群では、遺伝的な祖先多型や浸透交雑の影響で信頼性の高い系統関係が推定しにくい場合があるが、進化的重要単位(ESU)設定等には近縁群の系統関係は非常に重要である。次世代シーケンサの進歩によりゲノム情報の多くを利用することが可能となりつつあるが、系統解析に応用した研究はまだ多くなかった。これを利用することで、格段に信頼性の高い分化過程の推定が可能だと考えられた。

として以下のことが考えられた。

1-2. クワガタムシ科の成虫には、雌に限り腹端近くに微生物保持器官である菌嚢(マイカンギウム)が存在することが研究代表者らの研究で明らかにされていた(Tanahashi et al. 2010等)。また、白色腐朽材食性の大多数の種では、菌嚢の中でキシロース発酵性の強い種特異的な Pichia 属の共生酵母が優占することも併せて明らかになっていた。これらの酵母が雌成虫を通じて垂直伝播されている可能性は非常に高い。共生酵母は幼虫の坑道中で大量に繁殖しているため、クワガタムシの生存に重要な働きを担っていると推定さ

れる。種特異性が確認されれば、昆虫と共生 微生物の共進化が示されることとなる。また、 Pichia 属の酵母は系統によって、高温耐性に 差があることが予備的な実験で示唆されている。冷温帯に分布するルリクワガタ属(されている。冷温帯に分布するルリクワガタ属(が 都道府県版レッドデータリストに、複数種で リストアップされている)は、種によの種語が リストアップされている。これが虫自身の 適応の差だけでなく、共生酵母の温度適 を だけでなる可能性も高い。したいって、 共生酵母の適温を解析することからって、 の現在の標高分布や気候変動にともなう分 布変動予想が可能である。

酵母と共生しているのは、クワガタムシ科だけでなく、材食性のコガネムシ科やクロツヤムシ科、さらには養菌性キクイムシ等がある。この中には近年北上傾向の著しいカシノナガキクイムシもあり、共生酵母の温度耐性を検討することは、希少種の保全、森林害虫の分布変動予測の2つの観点から意義があると考えられた。

1-3. GIS 情報を利用した生態ニッチモデリングによって対象種の生息適地の分布範囲を解析する。環境データは、標高や気象庁の各種観測データ等を想定している。応募者には、これまでの研究で積み重ねてきた冷温帯林の昆虫種に関する膨大な分布情報があり、それらの生息適地の推定、気候変動にともなう生息適地の変動等が推定できる。森林害虫の被害報告地点の記録を利用することで、今後の分散、気候変動にともなう分布域の変動も推定可能だと考えられた。

#### 2.研究の目的

2-1 .大量の遺伝子データを用いた分化過程の 推定

種分化・個体群分化の詳細が不明である分類群について大量の遺伝子データを用いた分化過程の推定を行う。1 つは比較的よく用いられているミトコンドリア遺伝子や核遺伝子と言った分子マーカーを、大量の個体群・個体数に適用する方法であり、もう1つは次世代シーケンサを用いて個体あたり大量の遺伝子データを用いる方法である。

2-2. 共生微生物の種特異性検討と温度適応との関係

種類数が多く、種ごとに分布標高帯の異なるルリクワガタ属をモデルケースとして、菌嚢から共生酵母を取り出し、系統性の異同を検討し、培養実験により機能や温度適応・耐性を比較する。また、虫体と共生酵母の共進化の有無を確認する。

1-3. GIS 情報利用した生態ニッチモデリングによる生息適地と気候変動にともなう分布域変動の推定

分類群の生息地情報と環境データから、現在の生息適地の範囲と気候変動にともなう過去および未来の分布域変動を推定する。すでに得られているデータをそのまま使用す

る他、短期間で収集可能な分布データは採集 調査によって収集する。

## 3.研究の方法

3-1 .大量の遺伝子データを用いた分化過程の 推定

ルリクワガタ属、オオトラフハナムグリ種群、オオアリガタハネカクシ属、オサムシ属、ブナアオシャチホコ、ツツジグンバイ属、マルグンバイ属、コシビロダンゴムシ科、ヒメフナムシ属等を材料として、ミトコンドリア遺伝子、核遺伝子等の分子マーカーを用いた分化過程の推定を行う。

また、ルリクワガタ属については次世代シーケンサを用いた RAD シーケンス解析を行う。得られたデータにもとづき、系統関係、分岐年代、個体群動態解析等を行う。

3-2. 共生微生物の種特異性検討と温度適応 との関係

共生微生物の系統解析および温度耐性の 検討においても、まず複数のルリクワガタ属 の種の解析から始める。系統解析においては 共進化の有無、その他、機能および温度適 応・耐性等を比較検討する。

3-3. GIS 情報利用した生態ニッチモデリングによる生息適地と気候変動にともなう分布域変動の推定

これについても、ルリクワガタ属で十分な分布情報があること、多くの種が存在し、同所的に生息する複数種や、水平的な置換種(側所的に分布を接しているものも含む)垂直的に分布が入れ替わる複数種等、多様なパターンが見られるので、手始めにこの分類群を対象とする。GISを用いた環境データの入力は、各種の気象データ(年平均気温、平均最高気温、平均最低気温、降水量、降雪量、最大積雪量等)を想定している。

#### 4. 研究成果

4-1 .大量の遺伝子データを用いた分化過程の 推定

日本産ルリクワガタ属について、多様な遺伝子解析を実施した。ミトコンドリア遺伝子データよりクワガタムシ科では初めてとなる種間の交雑帯や、生殖的形質置換と推定される現象も発見できた。また、次世代シーケンサを用いた RAD シーケンス解析を行い、極めて信頼性の高いトポロジーを得る事ができ、この方法が浸透交雑の影響等で解析に困難を伴う近縁群間の分化過程の推定にも有効であることが示された。

韓国産ルリクワガタ属、中国産ルリクワガタ属についても現地の研究者とともに研究を進めることができ、日本産のものと比較解析を行った。中国産については現在も進行中であるが、3つのエリアには、地形の特色に依存すると考えられる分化・分散パターンが認められ、東アジアでのこの属の分化過程の概要を明らかにすることができた。また数百万円前を中心とする大きな系統の分化が生

じていることも推定された。

その他の分類群では、マルグンバイ属、コシビロダンゴムシ科、ヒメフナムシ属に関関で、詳細な遺伝子解析および形態解析によって隠蔽種の存在が示唆された。ツツジグトス属は側系統であり、常緑広単系統であって、常緑広半系である地であれた。また、オオアリガタハイでは種間の交雑帯の存在ができれた。オオオサムシ亜属では海洋分散と思われる個体群の存在も確認できた。その他、オオトラフハナムグリ種群、ブナアオシにすることができた。

4-2. 共生微生物の種特異性検討と温度適応 との関係

ルリクワガタ属の雌菌嚢には、その分類群に対応した系統の共生酵母がほぼ 100%近く存在することが明らかになった。クワガタと共生酵母の遺伝子をランダマイゼーションにより解析したところ、両者は不完全ながら共進化していることが明らかになった。また、共生酵母の高温耐性に大きな変異があり、ホストのクワガタの系統および生息標高の制約を受けていることが明らかになった。これらのことは、気候変動による影響に共生微生物を通した差がある可能性を示唆する。

共生酵母の受け渡しについては、産卵時に 雌が菌嚢を反転させて材に触れさせている 映像や羽化後雌が菌嚢を反転させて蛹室内 壁にこすりつけている映像を撮影する事が できた。

共生酵母の資化能について、主要な木材構成成分のうち、ヘミセルロースおよびその構成成分の大半を資化できること、セルロースは資化できないが、二糖類にまで分解されたものは資化できることが明らかになった。

野外のホスト材にデータロガーを設置して温度変化を測定し、ホスト材の夏季の温度が培養実験における共生酵母の高温限界温度を超えないことも確認した。また、共生酵母とホストクワガタ幼虫との親和性について、複数種の共生酵母に晒した場合、飼育温度によって幼虫体内で優占する酵母の種類が入れ替わることが明らかになった。

4-3. GIS 情報利用した生態ニッチモデリングによる生息適地と気候変動にともなう分布域変動の推定

日本産ルリクワガタ属全種の現在及び最終氷期の分布適地の推定を行った。現在の推定分布域はおおむね現在既知の産地範囲に一致し、高い再現性があることからルリクワガタ属は基本的に気候条件に依存して生息範囲が決まっていると推定された。ただし、実際よりもかなり広範囲の地域を分布範囲に推定された種もあり、種内の生態分化(は種間の干渉で分布範囲が限定されている可能性も考えられる。これらの成果を踏まえ、将来の気候変動シナリオにもとづいたモデリ

ングを進行中となっている。

以上の成果について、以下のように原著論 文等で公表を行っている他、できる限り速や かに学会大会等で公表して来た。

5 . 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

### [雑誌論文](計11件)

- 1. Tanahashi M., Ikeda H. and <u>Kubota K.</u> Elementary budget of stag beetle larvae associated with selective utilization of nitrogen in decaying wood. *The Science of Nature* (in press).
- 2. <u>Kubota K.</u>, Zhu X.-J., Ma T. and Wen X.-J. A new species of the genus *Platycerus* Geoffroy (Coleoptera: Lucanidae) from Shaanxi Province, China. *Elytra New Series* 8: (in press).
- 3. Fushimi H., Kishimoto T. and <u>Kubota K.</u> Natural hybridization and mitochondrial gene flow at the distributional boundary between two closely related species in the genus *Megalopaederus* Scheerpeltz (Coleoptera, Staphylinidae). *Elytra New Series* 8: (in press).
- 4. Yoshino H. and <u>Kubota K.</u> (2018) Redescription of *Ligidium japonicum* Verhoeff, 1918 based on the type materials (Crustacea, Isopoda, Ligiidae). *Edaphologia* 102: 23-29.
- 5. Tanahashi M., Kim J.-K., Watanabe K., Fukatsu T. and <u>Kubota K.</u> (2017) Specificity and genetic diversity of xylose-fermenting *Scheffersomyces* yeasts associated with small blue stag beetles of the genus *Platycerus* in East Asia. *Mycologia* 109: 630-642.
- 6. <u>Kubota K.</u>, Kubota N., Fukaya M. and Shimoyama R. (2017) Hybrid zones between closely related lucanid species belonging to the genus *Platycerus* (Coleoptera, Lucanidae). *Special Publication of the Coleopterological Society of Japan* (1): 87-96.
- 7. <u>久保田耕平</u> (2017)韓国におけるルリク ワガタ属事情.昆虫と自然,ニューサイエン ス社,52(3): 21-24.
- 8. Sasakawa K., Kim J. L., Kim J. K. and Kubota K. (2017) Morphological phylogeny and biogeography of the *Pterostichus raptor* species (Coleoptera: Carabidae) of ground beetles, endemic to the Korean Peninsula and adjacent islands. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 20: 7-12.

- 9. <u>久保田耕平</u> (2015) 森林生態系の分解者 としての虫とそれを支える菌. 樹木医学研究, 20: 11-12.
- 10. <u>久保田耕平</u>(2015)ブナ帯の森林性昆虫—ルリクワガタ属の種分化と分布域形成 . 昆虫と自然,ニューサイエンス社,50(14): 19-22.
- 11. Karasawa S., Kanazawa Y. and <u>Kubota K.</u> (2014) Redefinitions of *Spherillo obscurus* (Budde-Lund, 1885) and *S. dorsalis* (Iwamoto, 1943) (Crustacea: Oniscidea: Armadillidae), with DNA markers for identification. *Edaphologia*, 93: 11-27.

## [学会発表](計40件)

- 1. 朱雪コウ・馬涛・温秀軍・<u>久保田耕平</u> (2018.3.28)東アジアにおけるルリクワガ 夕属の遺伝的分化(II).日本森林学会(高知 大学).
- 2. <u>久保田耕平</u>・渡邉花奈・川上華子・深津 武馬・棚橋薫彦 (2018.3.28) 日本産ルリク ワガタ Platycerus 属とその共生酵母の共進 化.日本森林学会(高知大学).
- 3. 朱雪コウ・馬涛・温秀軍・<u>久保田耕平</u> (2017.11.26) Genetic divergence of the genus *Platycerus* in East Asia based on nuclear and mitochondrial genes (I). 日本甲虫学会(ふじのくに地球環境史ミュージアム).
- 4. 吉野広軌・<u>久保田耕平</u>(2017.9.3)関東 地方のニホンヒメフナムシ種群の系統地理. 日本昆虫学会(愛媛大学).
- 5. 朱雪コウ・馬涛・温秀軍・<u>久保田耕平</u> (2017.9.4) 中国におけるチョウセンルリクワガタとその近縁種の遺伝的分化.日本昆虫学会(愛媛大学).
- 6. <u>久保田耕平</u>・朱雪姣(2017.9.4)日本産ルリクワガタ属のミトコンドリア遺伝子にもとづく遺伝的分化:追加的解析から見えて来た事.日本昆虫学会(愛媛大学).
- 7. 棚橋薫彦・川上華子・朱雪コウ・蔡正隆・ 渡邉花奈・深津武馬・<u>久保田耕平</u>(2017.3.29) 同所的に生息するルリクワガタ属3種のマイ クロハビタットにおける温度環境と共生酵 母の環境適応.日本応用動物昆虫学会(東京 農工大学).
- 8. <u>久保田耕平</u>・曽田貞滋(2016.11.27) RAD シーケンス法による日本産ルリクワガタ属 の系統解析.日本甲虫学会(大阪市立自然史

博物館).

- 9. 朱雪コウ・金鍾國・<u>久保田耕平</u> ( 2016.11.27 ) Phylogeography of Platycerus hongwonpyoi (Coleoptera, Lucanidae) in South Korea based on mitochondrial COI gene. 日本甲虫学会(大 阪市立自然史博物館).
- 10. 蔡正隆·<u>久保田耕平</u>·葉文斌 2016.11.27) Population structure and genetic differentiation of a widespread lineage in *Neolucanus swinhoei* complex (Coleoptera, Lucanidae) across Taiwan island. 日本甲虫学会 (大阪市立自然史博物館).
- 11. <u>久保田耕平</u>(2016.9.3)ルリクワガタ属の種分化と進化生態.日本甲虫学会東京例会招待講演(国立科学博物館附属自然教育園).
- 12. 吉野広軌・<u>久保田耕平</u>(2016.6.14-15) 関東地方を中心としたニホンヒメフナムシ 種群の系統地理.日本土壌動物学会(弘前大学).
- 13. <u>久保田耕平</u>(2016.3.28)近畿地方の昆虫の複雑な生物地理と保全の問題—オサムシ亜族とルリクワガタ属—. 日本昆虫学会・日本応用動物昆虫学会合同大会(大阪府立大学).
- 14. 棚橋薫彦・渡邉花奈・川上華子・<u>久保田</u> <u>耕平</u>・深津武馬(2016.3.29)クワガタムシ の地理的分布と共生酵母の温度適応.日本昆 虫学会・日本応用動物昆虫学会合同大会(大 阪府立大学).
- 15. <u>久保田耕平</u>・渡邉花奈・川上華子・深津 武馬・棚橋薫彦 (2016.3.29) 日本産ルリク ワガタ属共生酵母の高温耐性.日本昆虫学 会・日本応用動物昆虫学会合同大会 (大阪府 立大学).
- 16. 棚橋薫彦・<u>久保田耕平</u>(2015.11.22)クワガタムシ科の雌成虫における卵巣の形質と進化.日本甲虫学会(北九州市立自然史・歴史博物館).
- 17. 吉野広軌・<u>久保田耕平</u>(2015.9.19)関東 地方に置けるヒメフナムシ属の遺伝的分化. 日本昆虫学会(九州大学).
- 18. 室紀行・<u>久保田耕平</u>(2015.9.19)日本産マルグンバイ属(カメムシ目)の系統関係. 日本昆虫学会(九州大学).
- 19. 久保田耕平・氏家昌行・池田紘士 (2015.9.21).日本産ルリクワガタ属の分布 は気候条件で説明できるか?日本昆虫学会 (九州大学).

- 20. 川上華子・渡邉花奈・棚橋薫彦・深津武馬・<u>久保田耕平</u>(2015.9.21)ルリクワガタ属共生酵母が幼虫の生育に与える影響.日本昆虫学会(九州大学).
- 21. 室紀行・<u>久保田耕平</u>(2015.3.27)関東地方におけるマルグンバイ属(カメムシ目)の系統関係と基本的生態.日本森林学会(北海道大学).
- 22. <u>久保田耕平(</u>2015.3.27)冷温帯林の昆虫の種分化過程—ルリクワガタ属とその共生酵母を中心に.日本森林学会(北海道大学).
- 23. 渡邉花奈・棚橋薫彦・深津武馬・<u>久保田</u> <u>耕平</u> (2014.11.23) 日本産ルリクワガタ属共 生酵母のキシロース発酵能および温度適応. 日本甲虫学会(倉敷市立自然史博物館).
- 24. 渡邉花奈・棚橋薫彦・<u>久保田耕平</u> (2014.11.23) ユキグニコルリクワガタの共 生酵母の取り込みと産卵行動.日本甲虫学会 (倉敷市立自然史博物館).
- 25. 粟野雄大・春日速水・<u>久保田耕平</u> (2014.9.15) 房総半島に孤立分布するオサムシ類2種の形態的・遺伝的特性.日本昆虫 学会(広島大学).
- 26. 佐藤優・秋田勝己・乙部宏・<u>久保田耕平</u> (2014.9.15)津市海岸のミカワオサムシ個 体群の形態解析、遺伝子解析にもとづく由来 の推定.日本昆虫学会(広島大学).
- 27. 室紀行・<u>久保田耕平</u>(2014.9.16)ナシゲンバイの系統的位置とツツジゲンバイ属の生態系質の進化過程.日本昆虫学会(広島大学).
- 28. <u>久保田耕平</u>・渡邉花奈・久保田典子・下山良平(2014.9.16)形態解析と遺伝子解析にもとづくトウカイコルリクワガタとユキグニコルリクワガタの種間関係.日本昆虫学会(広島大学).
- 29. 渡邉花奈・棚橋薫彦・深津武馬・<u>久保田</u> <u>耕平(2014.9.16)</u>日本産ルリクワガタ属と共 生酵母の共種分化過程.日本昆虫学会(広島 大学).
- 30. 棚橋薫彦・渡邉花奈・<u>久保田耕平</u>・細谷 忠嗣・荒谷邦雄・深津武馬(2014.9.16)一風 変わったクワガタムシと共生する新規の酵 母類.日本昆虫学会(広島大学).
- 31. 室紀行・<u>久保田耕平</u>(2014.3.28)ツツジ グンバイ属を中心とした日本産グンバイム シ科(カメムシ目)の系統関係.日本森林学 会(大宮ソニック).

- 32. 佐藤優・秋田勝己・乙部宏・<u>久保田耕平</u> (2014.3.28)津市海岸のミカワオサムシ個 体群の形態解析にもとづく由来の推定.日本 森林学会(大宮ソニック).
- 33. 粟野雄大・春日速水・<u>久保田耕平</u> (2014.3.29) 房総半島に孤立分布するオサムシ類2種の形態的・遺伝的変異.日本森林学会(大宮ソニック).
- 34. 金澤泰斗・<u>久保田耕平</u>(2014.3.29)関東 平野におけるコシビロダンゴムシ科(等脚目)2種の形態および遺伝的分化. 日本森林 学会(大宮ソニック).
- 35. 渡邉花奈・棚橋薫彦・深津武馬・<u>久保田</u> <u>耕平(</u> 2014.3.29)日本産ルリクワガタ属共生 酵母の系統関係 . 日本森林学会 ( 大宮ソニッ ク ) .
- 36. <u>久保田耕平</u>・下山良平・久保田典子 (2014.3.29)ルリクワガタ属における交雑帯 の発見.日本森林学会(大宮ソニック).
- 37. <u>久保田耕平</u> (2013.11.24) コルリクワガ タ種群の側所的分布:種の組み合わせによる分布境界パターンの相違.日本甲虫学会(東京農業大学).
- 38. <u>久保田耕平</u>・久保田典子(2013.9.14)コルリクワガタ種群2種の分布境界域における排他的分布と形質置換および3個体群間の遺伝子流動. 日本昆虫学会(北海道大学).
- 39. 渡邉花奈・棚橋薫彦・深津武馬・<u>久保田</u> <u>耕平(2013.9.14)</u>関東地方におけるルリクワ ガタ属共生酵母の系統性.日本昆虫学会(北 海道大学).
- 40. 金澤泰斗・<u>久保田耕平</u>(2013.9.14)関東 平野におけるコシビロダンゴムシ科(等脚目)の遺伝的分化.日本昆虫学会(北海道大学).

## [図書](計2件)

- 1. 長谷川道明(企画・編集)(2017)第 32 回特別企画展「武器昆虫―クワガタ、カブトの進化を探る 」解説・クワガタムシ、カブトムシ学の最新研究(<u>久保田耕平</u>担当分: 17-20,36-38).
- 2. 増田健・坂口菊恵 (編)(<u>久保田耕平</u>を含む著者多数)(2017)科学の技法. 東京大学出版会227pp(久保田耕平担当分:158·165).

#### [ 産業財産権]

出願状況(計0件)

名称: 名明者: 者利: 種類: 番号: 田内外の別:

取得状況(計0件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 種号: 番号: 取得年月日: 国内外の別:

〔その他〕 ホームページ等

- 6. 研究組織
- (1)研究代表者

久保田耕平(KUBOTA Kohei)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准

教授

研究者番号:30272438

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号:

(4)研究協力者

主な協力者のみ列挙

棚橋薫彦(TANAHASHI Masahiko)

深津武馬 (FUKATSU Takema)

曽田貞滋 (SOTA Teiji)

金鍾國 (KIM Jong-Kuk)

温秀軍 (WEN Xiu-Jun)

杉浦溪 (SUGIURA Kei)

伏見速雄(FUSHIMI Havato)

金澤泰斗(KANAZAWA Yasuto)

粟野雄大(AWANO Katsuhiro)

渡邉花奈(WATANABE Kana)

佐藤優 (SATO Yu)

川上華子(KAWAKAMI Kako)

室紀行 (MURO Noriyuki)

吉野広軌 (YOSHINO Koki)

朱雪コウ (ZHU Xue-Jiao)