

令和元年6月4日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05130

研究課題名(和文) ストレス防衛反応の脳内回路の光遺伝学による解明

研究課題名(英文) Optogenetic study of the brain circuits for defense response

研究代表者

桑木 共之 (KUWAKI, Tomoyuki)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：80205260

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)：ストレス防衛反応の脳内回路を、光遺伝学の手法を用いることにより従来よりも神経伝達物質特異的に研究した。以下の4点が明らかになった。ストレス誘発自律反応に先立ってオレキシン神経の活性化が生じた。さらにストレスの予期という心理要因でも活性化された。腹側被蓋野ドーパミン神経は、正の動機付け(近接・獲得)だけでなく、負の動機付け(嫌悪・逃避)にも関与している可能性が示唆された。ストレスによる心拍や呼吸数の上昇には吻側延髄縫線核のセロトニン神経が関与している一方、体温や行動量の増加には他の神経回路が関与していると推測された。危険ストレス情報はオレキシン受容体を抑制しても個体を覚醒に導いた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレスを受けると闘争逃走反応が生じるが、その時体内では心拍数・呼吸数・体温等の増加(まとめて防衛反応と呼ぶ)が生じて闘争逃走行動をサポートする。このメカニズムに視床下部のオレキシン産生神経細胞が重要であることを、オレキシン産生神経細胞の活動をストレス前後で測定することによって証明した。オレキシン産生細胞からの情報の伝達路であるドーパミン神経やセロトニン神経の役割も明らかになった。神経伝達物質オレキシンの作用を阻害する薬剤の効果の検討から、その安全性が確かめられた。

研究成果の概要(英文)：We examined possible contributions of orexin, dopamine, and serotonin to the defense response against stressors. This study revealed following 4 new discoveries. 1) Orexin neurons were activated prior to autonomic responses during stress. Even more, orexin neurons were activated by anticipation to the coming stressor. 2) Dopamine neurons in the ventral tegmental area were activated by not only positive motivations but also aversive stimuli, indicating salience detective role in them. 3) Serotonin neurons in the rostral medullary raphe contribute to tachypnea and tachycardia but not increases in body temperature and locomotor movement associated with stressful condition. 4) Danger signals such as predator odor immediately woke up the animals even during sleep induced by orexin receptor blockade. These result showed specific role of the specific neurotransmitters in the different aspect of the defense response.

研究分野：環境生理学、神経生理学

キーワード：防衛反応 オレキシン ドーパミン セロトニン 視床下部 腹側被蓋野 延髄縫線核

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ストレス防衛反応における循環・呼吸・体温等の自律機能変化にはオレキシン含有ニューロンの存在が必須である事を申請者らは既に明らかにした。しかしながら、オレキシン含有ニューロン活性化メカニズムの詳細やオレキシン含有ニューロンからそれぞれの身体機能変化に至る脳内メカニズムは十分明らかになってはいなかった。

### 2. 研究の目的

光遺伝学の利点を活かして、(1)オレキシン含有ニューロン活性化メカニズムの詳細、(2)オレキシン含有ニューロンからの出力先の一つである腹側被蓋野ドーパミンニューロンのストレス応答における役割、(3)オレキシン含有ニューロンからの出力先の一つである延髄セロトニンニューロンのストレス防衛反応における役割、(4)オレキシンニューロンの出力を受容体阻害剤によって抑制したときの効果、を検討し、これらを総合してストレス防衛反応の全体像を描き出すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1)オレキシンニューロン特異的にカルシウム感受性蛍光蛋白質の G-CaMP6 を発現させたマウスを作成し、各種の刺激を与えたときのオレキシンニューロン活性化をファイバーフォトメトリー法によって観察した。  
(2)ドーパミンニューロン特異的にカルシウム感受性蛍光蛋白質の G-CaMP6 を発現させたマウスを作成し、各種の刺激を与えたときのドーパミンニューロン活性化をファイバーフォトメトリー法によって観察した。  
(3)セロトニンニューロン特異的に光によって神経活動を抑制させることの出来るアーケオロドプシンを発現させたマウスを作成して、ストレス刺激を与えたときの心拍数、呼吸数、体温、行動量の変化を観察した。  
(4)オレキシン受容体阻害剤によって誘発した睡眠、従来のベンゾジアゼピン系睡眠剤による睡眠、無投薬時の自然睡眠、の3者の比較において、ストレス誘発覚醒反応ならびにその後の再入眠時間を測定した。

### 4. 研究成果

(1)ストレス刺激(縄張り侵入者、捕食者の臭い、超音波警戒音、絶食)によって心拍数と体温、行動量が増加するのに先立ってオレキシンニューロンが活性化されることが確認出来た(図1)。また、実際に身体的ストレスが与えられなくてもストレスの予期のみで活性化された。すなわち、オレキシンニューロンの活性化は身体ストレスのみならず心理ストレス誘発自律反応の原因になっていることが確認された。

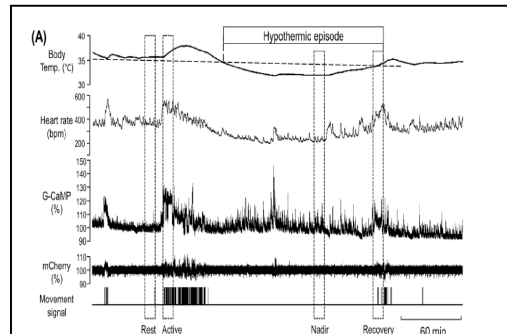


図1. 絶食ストレスによる体温・心拍数上昇、低下、再上昇に伴いオレキシンニューロンの活性化(G-CaMP6 蛍光強度の増加)が観察された (Sci Rep 8: 2717 より)。

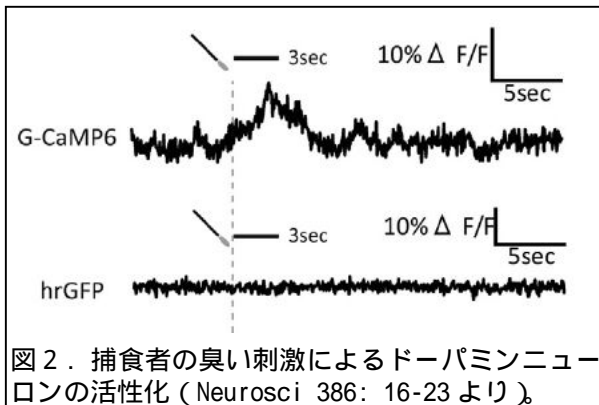


図2. 捕食者の臭い刺激によるドーパミンニューロンの活性化 (Neurosci 386: 16-23 より)。

(2)腹側被蓋野のドーパミンニューロンは嫌悪刺激によっても活性化された(図2)。これは、従来の肯定的動機付け反応への関与説に修正を迫るものであり、刺激の好悪ではなく刺激が顕著なものか否かを判断する役割を担うニューロンであると考えられた。

(3)ストレスによって活性化されるセロトニンニューロン(トリプトファン水酸化酵素 TPH 抗体陽性細胞、緑に染色)を神経細胞活性化マーカーの細胞外シグナル調節キナーゼのリン酸化体(pERK、赤に染色)の発現量によって調べた。縄張り侵入者ストレスによって、背側縫線核、正中縫線核は活性化されず、吻側延髄縫線核のみが活性化された(図3)。

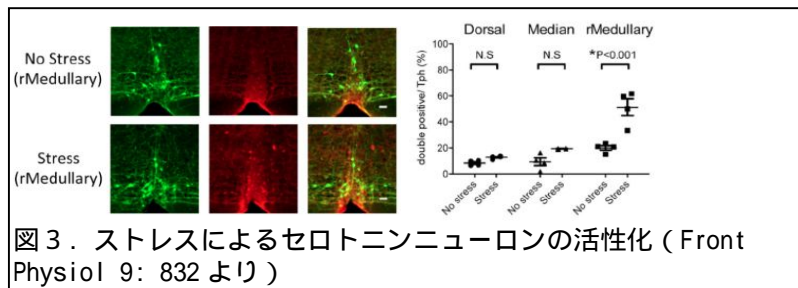


図3. ストレスによるセロトニンニューロンの活性化 (Front Physiol 9: 832 より)。

の発現量によって調べた。縄張り侵入者ストレスによって、背側縫線核、正中縫線核は活性化されず、吻側延髄縫線核のみが活性化された(図3)。

TPH プロモーター調節下にアーケオロドプシンを発現させるマウスを作成し、その吻側延髄縫線核直上に光ファイバーを留置することによって、無麻酔無拘束マウスにおいて任意の時間に、吻側延髄縫線核のセロトニンニューロンの活動を特異的に抑制する実験系を確立した(図4)。

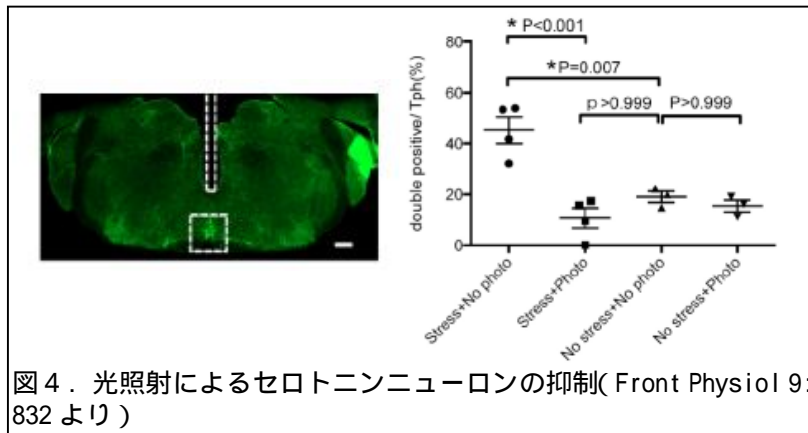


図4. 光照射によるセロトニンニューロンの抑制( Front Physiol 9: 832 より )

この動物モデルを用いて検討したところ、吻側延髄縫線核のセロトニンニューロンの抑制によってストレス誘発性の呼吸数上昇と心拍数上昇は抑制されたが体温上昇は抑制されなかった(図5)。すなわち、呼吸・心拍数と体温の出力経路は別々の脳内回路であることが明らかになった。また、吻側縫線核セロトニンニューロンにオレキシンの投射があることも確認した。

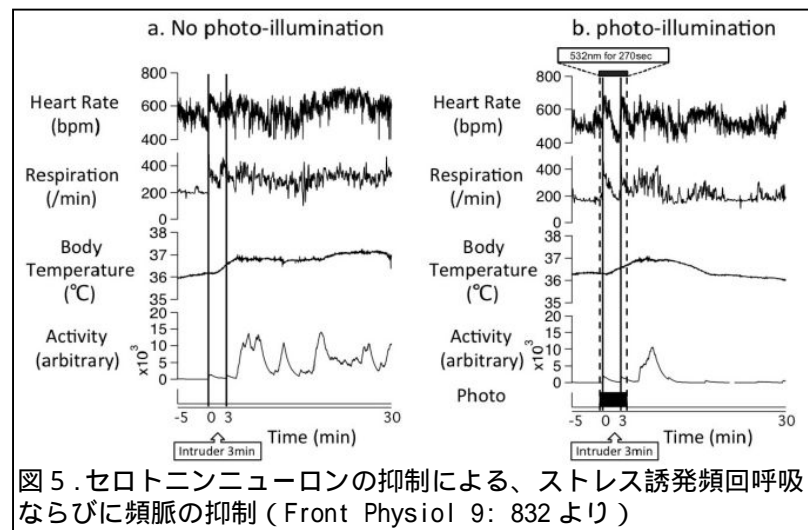


図5. セロトニンニューロンの抑制による、ストレス誘発頻回呼吸ならびに頻脈の抑制 ( Front Physiol 9: 832 より )

(4) オレキシン受容体阻害薬 (DORA-22, D) によって誘発した睡眠時にはストレス (音、振動、臭い) 誘発覚醒反応が、vehicle 投与時の自然睡眠とほぼ同様に正常に保たれていることを発見した(図6)。

これは従来のベンゾジアゼピン系睡眠薬の Toriazolam (T) には無い特徴であった。一方、危険ストレスが去った後の再入眠時間は Toriazolam と同様に自然睡眠時よりも短縮していた。オレキシン受容体を阻害してもストレス検出能力にはほとんど影響しないという結果は、ストレス検出が確かにオレキシン活性化の上流に位置することを示すと考えられた。

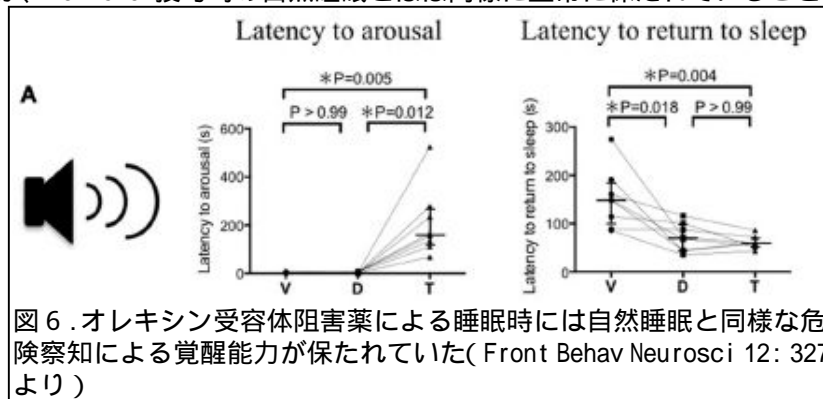


図6. オレキシン受容体阻害薬による睡眠時には自然睡眠と同様な危険察知による覚醒能力が保たれていた( Front Behav Neurosci 12: 327 より )

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計10件)

- 1) Shouhei Iwakawa, Yuichi Kanmura, Tomoyuki Kuwaki (2019) Orexin receptor blockade-induced sleep preserves the ability to wake in the presence of threat in mice. *Front Behav Neurosci* 12: 327, DOI:10.3389/fnbeh.2018.00327、[査読有](#)
- 2) Kengo Nomura, Takeshi Y. Hiyama, Hiraki Sakuta, Takashi Matsuda, Chia-Hao Lin, Kenta Kobayashi, Kazuto Kobayashi, Tomoyuki Kuwaki, Kunihiko Takahashi, Shigeyuki Matsui, Masaharu Noda (2019) [Na<sup>+</sup>] increases in body fluids sensed by central Nax induce sympathetically mediated blood pressure elevations via H<sup>+</sup>-dependent activation of ASIC1a. *Neuron* 101: 60-75.E6, DOI:10.1016/j.neuron.2018.11.017、[査読有](#)
- 3) Yoko Ikoma, Ikue Kusumoto-Yoshida, Akihiro Yamanaka, Youichirou Ootsuka, Tomoyuki Kuwaki (2018) Inactivation of Serotonergic Neurons in the Rostral Medullary Raphé attenuates Stress-induced Tachypnea and Tachycardia in Mice. *Frontiers in Physiology* 9: 832, DOI:10.3389/fphys.2018.00832、[査読有](#)
- 4) Shunpei Moriya, Akira Yamashita, Shigetaka Kawashima, Ryusei Nishi, Akihiro Yamanaka,

- Tomoyuki Kuwaki: (2018) Acute aversive stimuli rapidly increase the activity of ventral tegmental area dopamine neurons in awake mice. *Neuroscience* **386**: 16-23, DOI:10.1016/j.neuroscience.2018.06.027、[査読有](#)
- 5) Hiroki Harada, Hideki Kashiwadani, Yuichi Kanmura, Tomoyuki Kuwaki (2018) Linalool odor-induced anxiolytic effects in mice. *Front Behav Neurosci* **12**: 241, DOI:10.3389/fnbeh.2018.00241、[査読有](#)
  - 6) Takahiro Futatsuki, Akira Yamashita, Khairunnisa Novita Ikbar, Akihiro Yamanaka, Kazunori Arita, Yasuyuki Kakihana, Tomoyuki Kuwaki (2017) Involvement of orexin neurons in fasting- and central adenosine-induced hypothermia. *Sci Rep* **8**: 2717, DOI:10.1038/s41598-018-21252-w、[査読有](#)
  - 7) Kohei Miyata, Tomoyuki Kuwaki, Youichirou Ootsuka (2016) The integrated ultradian organization of behavior and physiology in mice and the contribution of orexin to the ultradian patterning. *Neurosci* **334**: 119-133, DOI:10.1016/j.neuroscience.2016.07.041、[査読有](#)
  - 8) Shogo Tashiro, Ran Yamaguchi, Sodemi Ishikawa, Takeshi Sakurai, Katsuko Kajiya, Yuichi Kanmura, Tomoyuki Kuwaki, Hideki Kashiwadani (2016) Odour-induced analgesia mediated by hypothalamic orexin neurons in mice. *Sci Rep* **6**:37129, DOI:10.1038/srep37129、[査読有](#)
  - 9) Hideki Kashiwadani, Yuichi Kanmura, Tomoyuki Kuwaki (2016) Application of calibrated forceps for assessing mechanical nociception with high time resolution in mice. 2017/02/18 *Plos One* **12**(2): e0172461, DOI:10.1371/journal.pone.0172461、[査読有](#)
  - 10) 桑木共之 (2016) オレキシシンと睡眠障害 *The Lung Perspectives* **24**(1): 82-87、[査読無](#)

[学会発表](計46件)

- 1) Yoko Ikoma, Ikue Kusumoto, Akihiro Yamanaka, Youichirou Ootsuka, Tomoyuki Kuwaki: Contribution of medullary raphé serotonergic neurons in the stress induced autonomic responses. 9th FAOPS, 2019/03/28-31, Kobe
- 2) Yurina Higa; Mitutaka Sugimura; Tomoyuki Kuwaki; Hideki Kashiwadani: Descending orexinergic inhibition contributes to the linalool odor-induced analgesia in mice. 9th FAOPS, 2019/03/28-31, Kobe
- 3) Jihao Ma, Sakurako Yanase, Lisa Udagawa, Tomoyuki Kuwaki, Ikue Kusumoto-Yoshida: Analysis of activated cortical area caused by food restriction in mice. 9th FAOPS, 2019/03/28-31, Kobe
- 4) Jun Kaminosono; Yuki Kambe; Tomoyuki Kuwaki; Akira Yamashita: Optogenetic cardiac pacing in freely-moving mice. 9th FAOPS, 2019/03/28-31, Kobe
- 5) Akira Yamashita; Shunpei Moriya; Ryusei Nishi; Yoko Ikoma; Akihiro Yamanaka; Tomoyuki Kuwaki: Acute nociceptive stimuli induce the activity of serotonin and noradrenalin neurons in awake mice. 9th FAOPS, 2019/03/28-31, Kobe
- 6) 上之園知邑、神戸悠輝、桑木共之、山下哲：心臓の光ペーシング技術の開発—身体反応が情動へ与える影響の解析に向けて—。第14回環境生理プレコングレス、2019/03/28、神戸
- 7) 桑木共之：遺伝子改変マウスを用いた呼吸調節研究。第27回バイオフィジオリロジー研究会招待講演 2019/3/16 京都
- 8) Tomoyuki Kuwaki: Physical expression of inner emotion: a role for orexin neurons. International Conference in Cognitive Neuroscience and Brain Diseases 招待講演。2019/01/11-13, 濰坊市、中国
- 9) Jingyang SU, Shi ZHOU, Akira YAMASHITA, Liying HAO, Tomoyuki KUWAKI: Fiberphotometric recording of “orexin” neuron activity around cataplexy attack. 第46回自律神経生理研究会, 2018/12/1 東京
- 10) Shouhei Iwakawa, Yuichi Kanmura, Tomoyuki Kuwaki: Orexin receptor blockade preserves the ability to awake in response to aversive stimuli. ASA2018, 2018/10/13-17, San Francisco, awarded as BEST ABSTRACT
- 11) H. Harada, Y. Kanmura, T. Kuwaki, H. Kashiwadani: Linalool Exposure Showed Anxiolyticlike Effects in Mice. ASA2018, 2018/10/13-17, San Francisco
- 12) Tomoyuki Kuwaki (Invited Lecture): Orexin neuron serves as a pivotal link between vigilance state regulation and autonomic functions. 徐州医科大学, 2018/9/27, 中国
- 13) Akira Yamashita, Shunpei Moriya, Shigetaka Kawashima, Ryusei Nishi, Akihiro Yamanaka, Tomoyuki Kuwaki: Acute noxious stimuli rapidly increase the activity of ventral tegmental area dopamine neurons in awake mice. 第41回日本神経科学学会 7/28/2018 神戸
- 14) 上之園知邑、神戸悠輝、加治屋勝子、山中章弘、桑木共之、山下哲：心筋の光操作による無線ペーシング技術の開発(最優秀賞) 第17回九州脳・高血圧・循環制御研究会, 2018/7/21 福岡
- 15) Yoko Ikoma, Ikue Kusumoto, Akihiro Yamanaka, Youichirou Ootsuka, Tomoyuki Kuwaki: Stress-induced tachypnea and tachycardia are mediated by serotonergic neurons in the rostral medullary raphe. 光操作研究会 7/5,6/2018
- 16) 山下哲、守谷俊平、西龍星、上之園知邑、山中章弘、桑木共之：ストレス防衛反応に対する視床下部オレキシシン神経の役割解明のための2chファイバーフォトメトリーシステムの開発。第11回鹿児島神経科学研究会 2018/06/23-24 鹿児島
- 17) 上之園知邑、神戸悠輝、加治屋勝子、山中章弘、桑木共之、山下哲：光操作による心臓ペ

- ーシング技術の開発. 第 11 回 鹿児島神経科学研究会 2018/06/23-24 鹿児島
- 18) 生駒葉子、楠本郁恵、山中章弘、大塚曜一郎、桑木共之：吻側延髄縫線核セロトニン神経はストレス誘発性頻脈と頻呼吸の発現に必要なである. 第 11 回 鹿児島神経科学研究会 2018/06/23-24 鹿児島
  - 19) 山下哲、守谷俊平、上之園知邑、加治屋勝子、山中章弘、桑木共之：嫌悪ストレス刺激に対する自律神経応答とオレキシン神経活動との関係. 第 95 回日本生理学会大会 3/28-30/2018 高松、愛媛
  - 20) 岩川昌平、上村裕一、桑木共之：睡眠薬(オレキシン受容体拮抗薬、トリアゾラム)で誘導された睡眠中マウスへの嫌悪刺激による覚醒の比較. 第 95 回日本生理学会大会 3/28-30/2018 高松、愛媛
  - 21) 桑木共之：Brain circuit for the stress defense response. 生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017 招待講演 2017/12/6-9 神戸
  - 22) Ikoma Y, Kusumoto I, Yamanaka A, Ootsuka Y, Kuwaki T: THE MEDULLARY SEROTONERGIC SYSTEM MEDIATES TACHYCARDIA AND TACHYPNEA RESPONSE TO PSYCHOLOGICAL STRESS. 37th Annual Scientific Meeting of the Australasian Neuroscience Society, 2017/12/3-6 Sydney
  - 23) 山下哲、山中章弘、桑木共之：視床下部オレキシン神経のストレス誘発自律応答における役割. 第 45 回自律神経生理研究会 2017/12/02 東京
  - 24) 二木貴弘、山下哲、Khairunnisa Novita Ikbar、山中章弘、有田和徳、垣花泰之、桑木共之：オレキシン神経は飢餓誘発低体温に抵抗する. 第 45 回自律神経生理研究会 2017/12/02 東京
  - 25) Tomoyuki Kuwaki: Orexin neurons serve as a pivotal link between fight-or-flight behavior and autonomic functions. 厦門大学招待講演, 2017/11/10, 中国
  - 26) 生駒葉子、楠本郁恵、山中章弘、大塚曜一郎、桑木共之：Stress-induced tachycardia and tachypnea responses are mediated by serotonergic neurons in the medullary raphe. 第 9 回光操作研究会 2017/10/21,22 仙台
  - 27) 山下哲、守谷俊平、上之園知邑、加治屋勝子、山中章弘、桑木共之: Association between the orexin neural activity and the autonomic response to an acute aversive stress stimulation. 第 9 回光操作研究会 2017/10/21,22 仙台
  - 28) 岩川昌平、上村裕一、桑木共之：オレキシン受容体拮抗薬による睡眠時に、危険刺激で覚醒できるのか？第 10 回鹿児島神経科学研究会 2017/9/9 鹿児島
  - 29) T. Kuwaki, Y. Ikoma, I. Yoshida-Kusumoto, A. Yamanaka, Y. Ootsuka: (Invited symposiast) Contribution of serotonergic neurons in the defense response. ISAN2017, 8/30-9/2/2017, Nagoya
  - 30) Yamashita A, Moriya S, Nishi R, Yamanaka A, Kuwaki T: Analysis of the role of orexin neural circuit under autonomic responses using in vivo fiber photometry system. ISAN2017, 8/30-9/2/2017, Nagoya
  - 31) Ran Yamaguchi, Tomoyuki Kuwaki, Ikue Kusumoto-Yoshida: A candidate neural circuit contributing to orexin-induced food intake. 第 40 回日本神経科学学会 7/20-23/2017 千葉
  - 32) Yamashita A, Yamanaka A, Kuwaki T: Research for orexin based neural circuit of stress-induced autonomy response. 第 40 回日本神経科学学会 7/20-23/2017 千葉
  - 33) Yoko Ikoma, Ikue Kusumoto, Akihiro Yamanaka, Youichirou Ootsuka, Tomoyuki Kuwaki: Stress-induced physiological responses are mediated by serotonergic neurons in the medullary raphe. 第 40 回日本神経科学学会 7/20-23/2017 千葉
  - 34) 桑木共之、岩川昌平、上村祐一：オレキシン受容体阻害薬による睡眠時でも危険刺激による覚醒が起こるか？第 42 回日本睡眠学会 6/29,30/2017 横浜
  - 35) 山下哲、山中章弘、桑木共之：ストレス誘発自律神経応答に対するオレキシン神経活動の役割. 第 94 回日本生理学会大会 3/28-30/2017 浜松
  - 36) 生駒葉子、楠本(吉田)郁恵、山中章弘、大塚曜一郎、桑木共之：ストレス誘発性頻脈には延髄縫線核セロトニン作動性ニューロンが必要である. 第 94 回日本生理学会大会 3/28-30/2017 浜松
  - 37) 山口蘭、桑木共之、楠本(吉田)郁恵：マウスの摂食行動に対するオレキシン神経光刺激の効果. 第 94 回日本生理学会大会 3/28-30/2017 浜松
  - 38) 二木貴弘、Khairunnisa Novita Ikbar、垣花泰之、有田和徳、桑木共之：飢餓およびアデノシン誘発低体温へのオレキシン神経の関与. 第 12 回環境生理プレコングレス 3/27/2017 浜松
  - 39) 山口蘭、楠本郁恵、桑木共之：マウス摂食行動への光刺激の効果. 第 9 回鹿児島神経科学研究会 2017/2/18 鹿児島
  - 40) 山口蘭、楠本郁恵、桑木共之：マウスの摂食行動に対するオレキシン神経光刺激の効果. 第 10 回桜ヶ丘地区基礎系研究発表会 2017/2/2 鹿児島
  - 41) 山下哲、山中章弘、桑木共之：ストレス負荷による自律応答とオレキシン神経活動の相関解析. 第 44 回自律神経生理研究会、2016/12/3 東京
  - 42) 生駒葉子、桑木共之：延髄縫線核のセロトニン神経はストレス誘発頻脈の発現に必要なである. 第 28 回血圧管理研究会 2016/11/26、京都

- 43) Eri Inoue, Tomoyuki Kuwaki, Hideki Kashiwadani: Application of calibrated forceps for evaluating antinociceptive effect induced by shortacting analgesic in mice. SfN Annual Meeting 2016/11/12-16, San Diego, USA
- 44) 山口蘭、桑木共之、楠本郁恵：マウス摂食行動に対するオレキシン神経光刺激の効果. 第 67 回西日本生理学会、2016/10/7,8 鹿児島
- 45) 山下哲、山中章弘、桑木共之：ファイバーフォトメトリー法を用いた急性ストレス負荷による循環応答時におけるオレキシン神経活動の測定. 第 67 回西日本生理学会、2016/10/7,8 鹿児島
- 46) 山下哲、中井淳一、大倉正道、山中章弘、桑木共之：ストレス負荷による循環応答時におけるオレキシン神経活動の自由行動マウスからの計測. 第 15 回九州脳・高血圧・循環制御研究会 2016/07/23 福岡

〔図書〕(計3件)

- 1) 桑木共之 (2019)オレキシンと自律神経機能調節. Annual Review 神経 2019 (中外医学社), 284-290. ISBN978-4-498-32830-3
- 2) Pascal Carrive & Tomoyuki Kuwaki (2016) Orexin and Central Modulation of Cardiovascular and Respiratory Function. *In Current Topics in Behavioral Neuroscience* pp1-40, 2016 Dec 02. Springer., Series Editors: Geyer, M.A., Ellenbroek, B.A., Marsden, C.A., Barnes, Th.R.E. ISSN: 1866-3370, DOI:10.1007/7854\_2016\_46
- 3) 桑木共之 (2016) 自律神経と情動 *In 情動学シリーズ (全10巻)* 小野武年監修 6.情動と呼吸—自律系と呼吸法—本間生夫、帯津良一編、pp46-68 全159p、朝倉書店

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計0件)  
取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 統合分子生理学分野ホームページ  
<http://www.kufm.kagoshima-u.ac.jp/~physiol1/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

該当無し

(2) 研究協力者

大塚 曜一郎 (OTSUKA, Youichirou)  
柏谷 英樹 (KASHIWADANI, Hideki)  
楠本 郁恵 (KUSUMOTO, Ikue)  
山下 哲 (YAAMSHITA, Akira)  
宮田 紘平 (MIYATA, Kohei)  
生駒 葉子 (IKOMA, Yoko)  
石川 そでみ (ISHIKAWA, Sodemi)  
上之蘭 知邑 (KAMINOSONO, Jun)  
守谷 俊平 (MORIYA, Shunpei)  
川島 茂隆 (KAWASHIMA, Shigetaka)  
西 龍星 (NISHI, Ryusei)  
二木 貴弘 (FUTATSUKI, Takahiro)  
田代 章悟 (TASHIRO, Shogo)  
上村 裕一 (KANMURA, Yuichi)  
原田 浩輝 (HARADA, Hiroki)  
有田 和徳 (ARITA, Kazunori)  
垣花 泰之 (KAKIHANA, Yasuyuki)  
山口 蘭 (YAMAGUCHI, Ran)  
加治屋 勝子 (KAJIYA, Katsuko)  
桜井 武 (SAKURAI, Takeshi)  
山中 章弘 (YAMANAKA, Akihiro)  
檜山 武史 (HIYAMA, Takeshi)  
KHAIRUNNISA Novita Ikbar