

佐賀県産アスパラガスの新産業活用を目指した機能性素材開発（第3報）

食品工業部

岩元彬 柘植圭介 鶴田裕美

公益財団法人佐賀県地域産業支援センター

さが機能性・健康食品開発拠点 浜島弘史

アスパラガスの抽出物がアレルギー性炎症を引き起こす脱顆粒反応を阻害すること、またその経口投与がアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症状を改善することを明らかにしてきた。しかしながら、アスパラガスそのものを摂取した場合に抽出物と同様の効果が得られるかは不明であった。本報では、アスパラガス乾燥粉末のアトピー性皮膚炎モデルマウスに与える影響及びアスパラガス収穫時期が脱顆粒反応に与える影響について報告する。アスパラガス可食部配合飼料を摂取させたマウスでは、標準精製飼料摂取群と比べ試験開始9週目から皮膚炎症スコアが低下し、切下部配合飼料摂取群でも試験開始8週目から皮膚炎症スコアの低下が認められた。そのため、アスパラガスの摂取はマウスの皮膚炎症症状の予防・改善に有用であることが示唆された。また、3月から10月まで1ヶ月毎に収穫したアスパラガス可食部及び切下部の脱顆粒反応への影響を評価したところ、いずれの試料も有意に脱顆粒反応を抑制し、収穫月は脱顆粒反応阻害活性に大きな影響を及ぼさないことが示唆された。

1. はじめに

近年、国民の健康志向の高まりに伴い、血圧の上昇抑制に有効な食品や体脂肪を減らす食品など健康機能の維持、改善が期待できる農作物素材を使用した機能性食品が数多く販売されるようになってきた。また、このような生理機能を有する食品素材は化粧品分野などでも広く利用され始め、地域農作物素材の高付加価値化や商品価値の低い廃棄部分の有効利用に繋がる新たな取組として注目されている。なかでも、社会問題となっているアレルギー疾患を予防・緩和する機能性素材の開発に対する期待は大きい。

花粉症やアトピー性皮膚炎、気管支喘息などのI型アレルギー症状を有する患者数は、世界中で急速に増加しており¹⁾、日本でも約2人に1人が何らかのアレルギー症状を罹患している²⁾。このI型アレルギーは血液中のマスト細胞や好塩基球といった細胞が、脱顆粒反応によりヒスタミンやロイコトリエンといった炎症物質を放出することにより、症状が亢進することが様々な研究により明らかになっている^{3,4)}。そのため、マスト細胞や好塩基球の脱顆粒反応を抑制することはI型アレルギーの予防や改善に繋がると考えられている。

著者らは、これまでに生体外疾患モデルを構築し、佐賀県内の農作物の機能性を評価してきた。その結果、佐賀県が2,850tの収穫量（令和元年、全国2位）

を誇るアスパラガスから調製した抽出物にI型アレルギーの発症に関与する脱顆粒反応を阻害する機能を見出した。また、アスパラガス抽出物及びその糖脂質画分、リン脂質画分の経口投与はアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症状を改善することを明らかにしてきた⁵⁻⁹⁾。最近の研究で、アスパラガスにはルチンやプロリン-3-アルキルジケトピペラジン、アスパラブチンといった成分が含まれ、炎症抑制効果やメタボリックシンドローム予防効果、血圧上昇抑制効果、睡眠の質を高める効果など様々な生理機能を有することが報告されているが¹⁰⁻¹³⁾、アレルギーの予防・緩和に関する報告はなく、本研究で得られた知見は極めて新規性の高いものであった。加えて、このような脱顆粒反応阻害活性を有する抽出物はアスパラガスの可食部だけではなく、通常廃棄される切下部（根元部分）でも同様に得られることが明らかになった。

このような背景から、アスパラガスの可食部や切下部を機能性素材として活用することが期待されるが、これまでの試験はアスパラガスの可溶性成分を濃縮した抽出物を使用してきたため、実際にアスパラガスそのものを摂取して同様の効果が得られるかは明らかになっていなかった。また、佐賀県ではアスパラガスは2月から10月の長期にかけて収穫されるが、年間を通して収穫されるアスパラガスが機

能性素材として利用可能か判断するためには、さらなる研究が必要であった。

そこで、本報ではアスパラガス乾燥粉末のアトピー性皮膚炎モデルマウスに与える影響及びアスパラガス収穫時期が脱顆粒反応に与える影響を評価した結果を報告する。

2. 実験方法

2.1 アスパラガス配合飼料の調製

アスパラガスは令和元年6月にJAさがより購入した可食部及び切下部を用いた。アスパラガスは購入当日に、100℃の水蒸気で7分間加熱処理した後に、露点制御型乾燥機を用いて乾燥させた。得られた乾燥物は粉碎し、それぞれアスパラガス可食部粉末と切下部粉末とした。アスパラガス配合飼料は、安田らの報告を参考に総カロリーが標準精製飼料(AIN-93G)と同等になるようにアスパラガス可食部粉末もしくは切下部粉末を4%または8%となるように配合したものを使用した¹⁴⁾。各飼料の成分配合率は表1に示す通りである。

2.2 アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた

抗アレルギー試験

6週齢、オスのNC/Ngaマウスは日本SLCから購入した。これらのマウスは12時間明暗転サイクルが保たれたSPF(Specific pathogen free)環境下で飼育した。給餌及び給水は自由摂取とした。

マウスのアトピー性皮膚炎様症状を誘導するため、まず剃毛した胸部及び腹部、フットパットにエタノール/アセトン(3:1,v/v)に溶解した5%ピクリルクロライド(東京化成工業)を塗布した。続いて、4日目から実験終了時までオリーブオイル(Filippo Berio)に溶解した1%ピクリルクロライドを1週間間隔で背部及び耳介に塗布し、皮膚炎を誘発させた。1週間毎に皮膚炎症状を、(i)発赤・出血、(ii)浮腫、(iii)脱毛・組織欠損、(iv)乾燥、(v)発疹を0(無し)、1(軽度)、2(中程度)、3(重度)で点数化し、評価した。また、試験最終日にマウスから脾臓を摘出し、サイトカイン解析に使用した。本研究は、西九州大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

2.3 マウス脾臓細胞の解析

脾臓は免疫細胞の生産等、生体の免疫応答に関わる代表的なリンパ器官である。アスパラガス配合飼料の脾臓細胞への影響はRT-qPCR法によりmRNA発現を解析することで評価した。まず、マウス脾臓をeBioscience™ RBC lysis buffer(Invitrogen)で懸濁した後に、PBSで3回洗浄し、細胞を回収した。続いて、細胞からTRIzol® Reagent(Thermo)を用いて総RNAを抽出し、PrimeScript™ RT Master Mix(Takara)によりcDNAを合成した。このcDNAを鋳型として、TB Green® Premix EX Taq™(Takara)を用いてリアルタイムPCRを行うことにより、β-actin及びIgE、IL-4 mRNA発現量を比較した。使用したプライマーは表2に示した。得られたデータは、BIO-RAD CFX Manager version 3.1を用いて比較CT法により解析した。これらの操作は製造プロトコールに従って行った。

細胞からTRIzol® Reagent(Thermo)を用いて総RNAを抽出し、PrimeScript™ RT Master Mix(Takara)によりcDNAを合成した。このcDNAを鋳型として、TB Green® Premix EX Taq™(Takara)を用いてリアルタイムPCRを行うことにより、β-actin及びIgE、IL-4 mRNA発現量を比較した。使用したプライマーは表2に示した。得られたデータは、BIO-RAD CFX Manager version 3.1を用いて比較CT法により解析した。これらの操作は製造プロトコールに従って行った。

2.4 アスパラガス抽出物の調製

脱顆粒阻害活性及びポリフェノール含量解析用のアスパラガスは、A-noker(株)において令和元年3月から10月まで同じハウスから1ヶ月毎に収穫された可食部及び切下部を用いた。アスパラガスは収穫当日に、スチームコンベクションオーブンをを用いて、100℃の水蒸気で7分間加熱処理した後に、凍結乾燥させた。得られた乾燥物は粉碎し、アスパラガス粉末試料とした。このアスパラガス粉末試料に50%(v/v)エタノール水溶液を加え、室温で4時間撹拌した。これを吸引ろ過(No.4A)にかけ、得られた濾液をアスパラガス抽出物とした。

2.5 ラット好塩基球様細胞株 RBL-2H3 を用いた

脱顆粒試験

アレルギー炎症反応の原因である脱顆粒反応は、脱顆粒中の酵素β-hexosaminidaseの放出率で評価した¹⁵⁾。ラット好塩基球様細胞株 RBL-2H3(国立研究開発法人医学基盤・健康・影響研究所)は10%ウシ胎児血清(FBS, Gibco)を含むダルベッコ改変イーグル培地(DMEM, Gibco)で継代培養した。対数増殖期の細胞をトリプシンで剥離後、Modified Tyrode(MT) buffer(pH 6.8, Sigma-Aldrich)で2回洗浄し、脱顆粒試験に使用した。5.0×10⁵ cellsの細胞を終濃度100 µg/mLのアスパラガス抽出物を添加した50 µM Calcium ionophore A23187含有MT bufferで懸濁し、

表1 飼料組成

成分	標準精製飼料	アスパラガス可食部		アスパラガス切下部	
		4%配合飼料	8%配合飼料	4%配合飼料	8%配合飼料
コーンスターチ	51.9486	50.7786	49.7486	50.0086	48.2286
αコーンスターチ	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ミルクカゼイン	20.0	18.24	16.42	19.22	18.38
グラニュー糖	10.0	10.0	10.0	10	10
精製大豆油	7.0	7.0	7.02	7.0	7.0
セルロースパウダー	5.0	3.93	2.76	3.72	2.34
ミネラルミックス(AIN-93)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
ビタミンミックス(AIN-93)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
レシチン	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
重酒石酸コリン	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
第3ブチルヒドロキノン	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014
アスパラガス可食部粉末		4.0	8.0		
アスパラガス切下部粉末				4.0	8.0

表2 プライマーリスト

プライマー	配列 (5'-3')
β -actin sense	5'-TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC-3'
antisense	5'-TAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG-3'
IgE sense	5'-CTCTGGCCCTGCTTATTGTTG-3'
antisense	5'-AGTTCACAGTGCTCATGTTTCAG-3'
IL-4 sense	5'-TCTCGAATGTACCAGGAGCCATATC-3'
antisense	5'-AGCACCTTGAAGCCCTACAGA-3'

37°C で 30 分間反応させた。これに対し、サンプル溶媒である 0.05% (v/v) エタノール水溶液を添加し、同様に反応させたものをコントロールとした。5 分間氷冷後、10,000 x g で 3 分間遠心分離を行い、上清 50 μ L を回収した。これに 125 μ L の 0.1 M Citrate buffer, pH4.0 に溶解した 2 mM 4-Nitrophenyl - N - acetyl - β - D - glucosaminide (Sigma- Aldrich) を加え、37°C で 30 分間反応させた。反応溶液に 250 μ L の 0.1M Carbonate buffer, pH10 を加えて反応停止後、200 μ L ずつ 96 ウェルマイクロプレートに分注し、415 nm の吸光度をマイクロプレートリーダー (M5-ZX, Molecular Devices) で測定した。 β -hexosaminidase 放出率は以下の式(1)により算出した。

$$[\beta\text{-hexosaminidase 放出率 } \%] = \left(\frac{[A_{\text{Sample}}] - [A_{\text{Negative}}]}{[A_{\text{Positive}}] - [A_{\text{Negative}}]} \right) \times 100 \quad (1)$$

ここで、 $[\beta\text{-hexosaminidase 放出率}]$ は反応液内の β -hexosaminidase 放出率 (%) を、 $[A_{\text{sample}}]$ はアスパラガス抽出物を添加した場合の吸光度を、 $[A_{\text{positive}}]$ はコントロールにおける吸光度を、 $[A_{\text{negative}}]$ は Calcium ionophore A23187 を添加しなかった場合のコントロールにおける吸光度を示している。

2.6 総ポリフェノールの測定

総ポリフェノール量の測定は既報¹⁶⁾に準じ、Folin-Ciocalteu 法¹⁷⁾を一部改良して行った。すなわち、96 ウェルマイクロプレートに 10 μ L の試料溶液を加え、10 倍希釈した Folin-Ciocalteu 試薬 75 μ L を加えて攪拌し、室温で 5 分間静置した。さらに、2%炭酸ナトリウム溶液 75 μ L を加え、攪拌し、室温で 15 分間静置後、マイクロプレートリーダーにて 750 nm の吸光度を測定した。試料溶液は各試料の 80% エタノール抽出液とし、没食子酸を標準物質として検量線を作成した。総ポリフェノール含量は、抽出物の新鮮重量当たりの没食子酸当量として表した。

2.7 統計解析

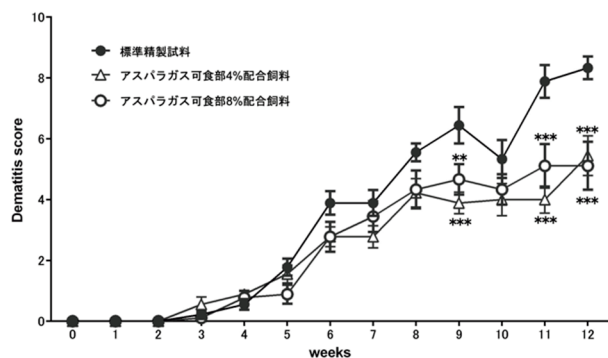
得られたデータは、GraphPad PRISM version 6.0 (GraphPad Software Inc.)を用い、one-way ANOVA で解析した。

3. 結果及び考察

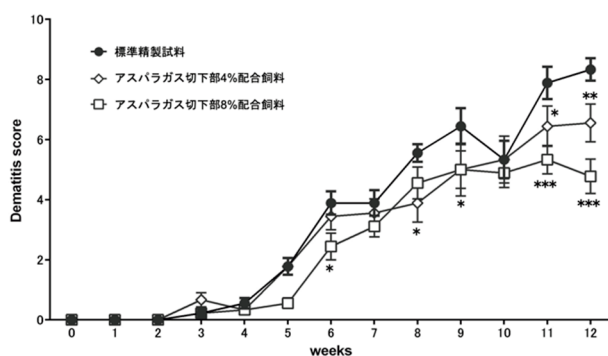
3.1 アスパラガス粉末配合飼料のアトピー性皮膚炎モデルマウスへの影響

アスパラガス摂取のアレルギー反応への影響を調べるため、アスパラガス可食部及び切下部配合飼料をアトピー性皮膚炎モデルマウスに摂取させ影響を評価した。試験期間中、各群のマウス重量には有意な変化は認められなかった。アスパラガス可食部を摂取させたマウスでは、標準精製飼料群と比べ試験開始 9 週目から皮膚炎症スコアの上昇が鈍化し、試験終了時の 12 週目では標準精製飼料群の平均スコアが 8.3 ± 1.1 であるのに対し、アスパラガス可食部 4%配合飼料群、8%配合飼料群の平均スコアは 5.4 ± 1.9 , 5.1 ± 2.4 でまで低下した(図 1(a))。また、アスパラガス切下部配合飼料では試験開始 6 週目から皮膚炎症スコアの上昇が鈍化し、12 週目のアスパラガス切下部 4%配合飼料群、8%配合飼料群の平均スコアはそれぞれ 6.6 ± 1.9 , 4.8 ± 1.7 であった。これらの結果は、4%もしくは 8%のアスパラガス可食部及び切下部の経口摂取がアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症状態の悪化を予防もしくは改善することを示唆していた(図 1(b))。

また、マウス脾臓の mRNA 解析では、図 2 に示すように標準精製飼料群と比べアスパラガス切下部 8%配合飼料群で有意な IgE 発現の低下が認められ、可食部配合飼料群では IL-4 発現が低下する傾向にあった(可食部 8%配合飼料群: $p = 0.099$, 可食部 4%配合飼料群: $p = 0.053$)。アレルギーの炎症症状の発症には、アレルゲンを貪食し、ペプチド断片化して細胞膜上に発現する抗原提示細胞、その抗原ペプチドを認識してサイトカインを産生するヘルパー T 細胞 (Th), IL-4 や IL-13 などのサイトカインなどにより IgE を産生する B 細胞、そして IgE とアレルゲンの結合により、ヒスタミンやロイコトリエンといった炎症因子を放出するマスト細胞、好塩基球などが関与している¹⁸⁾。したがって、アスパラガス配合飼料は炎症因子を放出する脱顆粒反応を直接阻害するだけでなく、T 細胞の IL-4 や B 細胞の IgE 産生も抑制することにより最終的に皮膚炎症症状を改善させた可能性が示された。



(a) アスパラガス可食部配合飼料



(b) アスパラガス切下部配合飼料

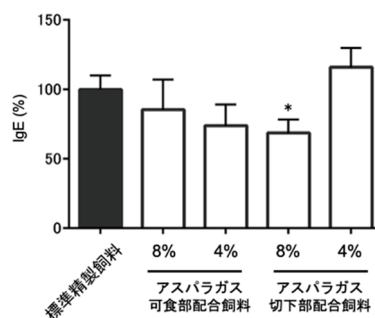
図1 アスパラガス配合粉末のアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症スコアへの影響

測定値は9匹のマウスの平均値であり、エラーバーは±標準誤差を表す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs コントロールを示す。

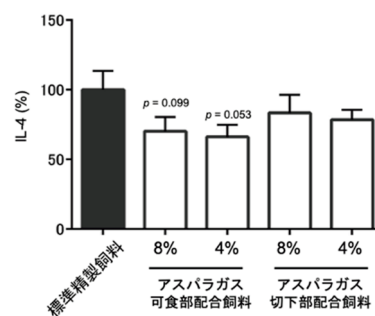
3.2 月別収穫アスパラガスの脱顆粒阻害活性及びポリフェノール含量の比較

抗アレルギー活性に優れたアスパラガス収穫月を特定するため、A-noker(株)において令和元年3月から10月まで同じハウスから1ヶ月毎に収穫された可食部及び切下部から作製した抽出物の脱顆粒阻害活性を比較した(立茎のため5月分は収穫なし)。その結果、図3に示すようにいずれの収穫月のアスパラガス可食部及び切下部抽出物もRBL-2H3細胞の β -hexosaminidase放出を抑制した。各収穫月間で β -hexosaminidase放出抑制活性について統計的有意差は認められなかった。したがって、3月から10月のアスパラガス可食部及び切下部は脱顆粒阻害効果を有し、その活性に収穫時期は大きな影響を及ぼさないことが示唆された。

また、アスパラガスの可食部及び切下部の総ポリフェノール量を解析したところ、図4のように収穫月によってその含量は変化し、3月と4月に収穫したものが他の収穫月よりも多くポリフェノールを含む傾向にあった。しかし、農作物の成分含量は天候等



(a) IgE 発現量



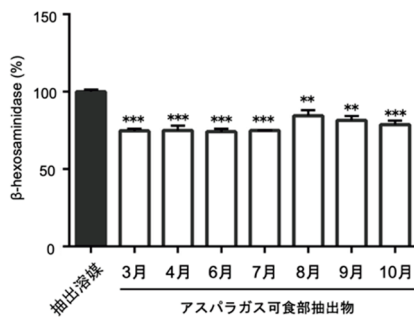
(b) IL-4 発現量

図2 月別収穫アスパラガス抽出物の遺伝子発現への影響

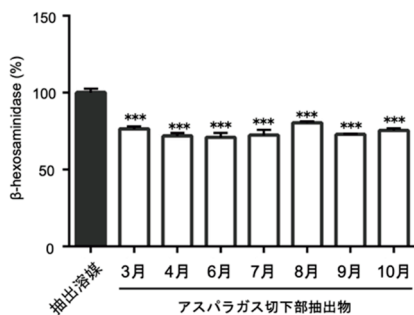
測定値は3連の実験の平均値であり、エラーバーは±標準誤差を表す。* $p < 0.05$ vs コントロールを示す。

の影響を受けやすいため、収穫月が生理機能及び成分含量に与える影響を明らかにするためには、さらなる研究が必要であった。これまでに多くの研究で、植物由来ポリフェノールが有用機能を有することが報告されており、アスパラガスもルチンを豊富に含むことが報告されている¹⁹⁾。ルチンはケルセチンの配糖体であり、その経口投与はマウスの血中IL-4などのサイトカイン濃度を低下させ、アトピー性皮膚炎やアレルギー性接触性皮膚炎症状の悪化を抑制することが報告されている²⁰⁾。また、このようなアレルギー症状改善効果はモルモットを用いた気管支喘息モデルにおいても報告されている²¹⁾。一方で、著者らはこれまでにアスパラガスの糖脂質とリン脂質がRBL-2H3の脱顆粒反応を阻害することを見出し、その経口投与がアレルギーモデルマウスの症状を改善することを報告してきた⁵⁻⁹⁾。したがって、アスパラガスは複数の抗アレルギー因子を含むことにより、効率的にアレルギー改善効果を発揮しているのかもしれない。

以上、本研究で得られた知見は、アスパラガスの新



(a) アスパラガス可食部抽出物



(b) アスパラガス切下部抽出物

図3 月別収穫アスパラガス抽出物のβ-hexosaminidase放出への影響

測定値は3連の実験の平均値であり、エラーバーは±標準誤差を表す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs コントロールを示す。

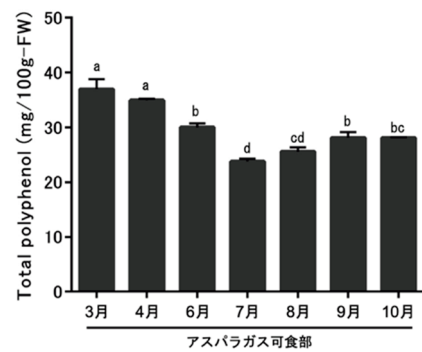
たな機能的価値を示すものであった。佐賀県内では年間約2,500tのアスパラガスが収穫されており、同時に200t以上の未利用部分(切下部)が廃棄されている。今後、アスパラガスのさらなる機能研究が進むことにより、アスパラガスの高付加価値化及び未利用部分の有効活用に繋がることが期待される。

4. おわりに

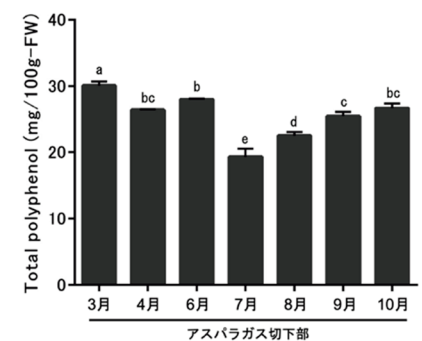
本研究では、アスパラガス可食部及び切下部の経口摂取がアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症症状の悪化を予防・改善することを明らかにし、アスパラガスの新たな機能性価値を示した。

また、月別収穫アスパラガス可食部及び切下部の脱顆粒阻害作用を調べ、3月から10月のアスパラガスには抗アレルギー活性に大きな違いはないことを見出した。一方で、総ポリフェノール含量については収穫月により含量が異なることを示し、可食部では3月と4月、切下部では3月が最もポリフェノールを含むことを明らかにした。

なお、研究を実施するにあたって使用したマイクロプレートリーダーは、電源立地地域対策交付金で



(a) アスパラガス可食部



(b) アスパラガス切下部

図4 月別収穫アスパラガス抽出物の総ポリフェノール量

測定値は3連の実験の平均値であり、エラーバーは±標準誤差を表す。図中の異なるアルファベットは有意差を示す ($p < 0.05$)。

導入した装置である。

謝辞

本研究の実施にあたり、ご協力頂きました A-noker 株式会社に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, Motala C, Martell JAO, Platts-Mills TAE, Ring J, Thien F, Cauwenberge PV, Williams HC, Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003, *J Allergy Clin Immunol*, **113** (5), 832-836 (2004)
- 2) 厚生科学審議会疾病対策部会, リウマチ・アレルギー対策委員会「リウマチ・アレルギー対策委員会報告書 (2011)」
- 3) Iwamoto A, Inoue Y, Tachibana H, Kawahara H, Alkali-soluble pectin suppress IgE production in

- human myeloma cell line in vitro, *Cytotechnology*, **71**(2), 573-581(2019)
- 4) Iwamoto A, Inoue Y, Inoue Y, Yamada K, Tachibana H, Kawahara H, Anti-allergic effect of strawberry extract, *J Func Food*, **5**(4), 1947-1955 (2013)
- 5) 岩元彬, 瀬部和美, 特許第 6456996 号「 β -ヘキソサミニダーゼ放出抑制用及び／又は IgE 産生抑制用の組成物および, アレルギーの予防治療用及び／又は抗炎症用の組成物, 脱顆粒抑制用の組成物, 並びにその製造方法」
- 6) 岩元彬, 瀬部和美, 特許第 6456997 号「アスパラガス抽出物の製造方法」
- 7) 岩元彬, 柘植圭介, 鶴田裕美, 浜島弘史, 佐賀県産アスパラガスの新産業活用を目指した機能性素材開発 (第 1 報), 平成 30 年度佐賀県工業技術センター報告, 7-12 (2018)
- 8) 岩元彬, 柘植圭介, 鶴田裕美, 浜島弘史, 佐賀県産アスパラガスの新産業活用を目指した機能性素材開発 (第 2 報), 令和元年度佐賀県工業技術センター報告, 21-25 (2019)
- 9) Iwamoto A, Hamajima H, Tsuge K, Tsuruta Y, Nagata Y, Yotsumoto H, Yanagita T, Inhibitory effect of green asparagus extract, especially phospholipids, on allergic responses in vitro and in vivo, *J Agric Food Chem*, **68**(51), 15199-15207(2020)
- 10) Nishizawa M, Kano M, Okuyama T, Okumura T, Ikeya Y, Anti-inflammatory effects of enzyme-treated asparagus extract and its constituents in hepatocytes, *Funct Food Health Disease*, **6**(2), 91-109 (2016)
- 11) Nishimura M, Ohkawara T, Kogami-Katsuyama, H, Sato H, Nishihira J, Improvement of blood pressure, glucose metabolism, and lipid profile by the intake of powdered asparagus (Lu Sun) bottom-stems and cladophylls, *J Tradit Complement Med*, **3**(4), 250-255 (2013)
- 12) 西村太輔, 高橋千尋, 香西慶理, アスパラガス擬葉摂取による睡眠改善効果, 日本食品化学工学会誌, **62**(3), 147-155 (2015)
- 13) Nakabayashi R, Tang Z, Nishizawa T, Mori T, Saito K, Top - down Targeted Metabolomics Reveals a Sulfur-containing Metabolite with Inhibitory Activity against Angiotensin-converting Enzyme in *Asparagus officinalis*, *J Nat Prod*, **78**(5), 1179-1183 (2015)
- 14) 安田みどり, 齋木まど香, 八谷正明, 山田雅隆, 齋藤圭佑, 熊谷とも子, 原功, 早田文, 寺尾和士, アスパラガスの規格外成分 (切下) の機能性成分顔料および抗酸化活性, 西九州大学健康栄養学部紀要第 1 巻別刷 (2015)
- 15) Ishida M, Nishi K, Watanabe H, Sugahara T, Inhibitory effect of aqueous spinach extract on degranulation of RBL-2H3 cells, *Food Chem*, **136** (2), 322-327 (2013)
- 16) 鶴田裕美, 吉村臣史, 澤田和敬, 柘植圭介, 農産物の機能性を強化する加工条件の構築と応用, 平成 28 年度佐賀県工業技術センター報告, 49-53 (2017).
- 17) Sun T., Tang J., Powers J. R., Effect of pectolytic enzyme preparations on the phenolic composition and antioxidant activity of asparagus juice, *J. Agric. Food Chem.*, **53** (1), 42-48 (2005).
- 18) Iwamoto A, Inoue Y, Tachibana K, Kawahara H, Immunomodulatory effect of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) in allergic condition in vitro and in vivo, *Cytotechnology*, (in press)
- 19) Negi JS, Singh P, Joshi GP, Rawat MS, Bisht VK, Chemical constituents of asparagus, *Pharmacogn Rev*, **4**(8), 215-2020(2010)
- 20) Chi JK, Kim SH, Rutin suppresses atopic dermatitis and allergic contact dermatitis, *Exp Biol Med*, **238**(4), 410-417(2013)
- 21) Jung CH, Lee JY, Cho CH, Kim CJ, Anti-asthmatic action of quercetin and rutin in conscious guinea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin, *Arch Pharm Res*, **30**(12), 1599-1607(2007)