

エンドセリン受容体拮抗剤, 97-139 の家兎眼 眼圧などに及ぼす影響について

杉山 和久, Sabbir Reza Haque, 岡田 和正

谷口 徹, 早川 友康, 北澤 克明

岐阜大学医学部眼科学教室

要 約

エンドセリン (ET) 受容体のサブタイプ ET_A 受容体の拮抗剤である 97-139 前処置が, ET-1 硝子体内投与後の眼圧変動および前房内プロスタグランディン E_2 (PGE_2) 濃度に及ぼす影響について白色家兎を用いて検討した。 $10^{-5}M$ ($20 \mu l$) ET-1 を硝子体投与後の眼圧は一過性に上昇し, その後, 持続的に有意に下降する二相性変動を示した。 $10^{-6}M$ では, 眼圧下降のみ認めた。次に, 97-139 ($10^{-2}M$, $20 \mu l$) の単独投与では眼圧に有意の変化を認めなかった。そこで, 97-139 ($10^{-2}M$, $20 \mu l$) を投与後 30 分で ET-1 ($10^{-5}M$, $20 \mu l$) を投与したところ, 眼圧の下降が有意に抑制された。同様に 97-139 ($10^{-3}M$)

と ET-1 ($10^{-6}M$) を投与しても, 眼圧下降の有意の抑制が認められた。前房内 PGE_2 濃度は, ET-1 ($10^{-5}M$) 投与後 1, 24 時間で著明に上昇したが, 97-139 ($10^{-2}M$) 前投与により有意に抑制された。以上の結果から, ET-1 硝子体内投与後生じる眼圧変動と前房内 PGE_2 の上昇には, 少なくとも ET_A 受容体が関与していることが示唆された。(日眼会誌 99: 271—276, 1995)

キーワード: ET_A 受容体拮抗剤, 97-139, エンドセリン-1, 眼圧, プロスタグランディン E_2

The Effect of an Endothelin Receptor Antagonist, 97-139, on Intraocular Pressure in Rabbits

Kazuhisa Sugiyama, Sabbi Reza Haque, Kazumasa Okada,
Toru Taniguchi, Tomoyasu Hayakawa and Yoshiaki Kitazawa

Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine

Abstract

We studied intraocular pressure (IOP) response to an intravitreal injection of $10^{-5}M$ ($20 \mu l$) endothelin-1 (ET-1) in unanesthetized rabbits, and found a transient IOP rise followed by a prolonged IOP reduction. ET-1 ($10^{-6}M$) caused a sustained IOP reduction without an initial IOP rise. The ET_A receptor selective antagonist, 97-139 ($10^{-2}M$, $20 \mu l$), had no effect when used alone; however, when used in combination with ET-1 ($10^{-5}M$), 97-139 ($10^{-2}M$) significantly blocked the ocular hypotensive response to ET-1. 97-139 ($10^{-3}M$), when used with $10^{-6}M$ ET-1, also suppressed the IOP reduction induced by ET-1. Aqueous prostaglandin (PG) E_2 ,

determined by radioimmunoassay, was significantly elevated following intravitreal injection of ET-1 ($10^{-5}M$). Prior injection of 97-139 ($10^{-2}M$) significantly suppressed the elevation of aqueous PGE_2 concentration caused by ET-1 ($10^{-5}M$). These results suggest that both the IOP response and the elevation of aqueous PGE_2 following ET-1 injection are at least partially mediated by ET_A receptor. (Jpn Ophthalmol Soc 99: 271—276, 1995)

Key words: ET_A receptor antagonist, 97-139, Endothelin-1, Intraocular pressure, Prostaglandin E_2

別刷請求先: 500 岐阜県岐阜市司町 40 岐阜大学医学部眼科学教室 杉山 和久
(平成6年8月15日受付, 平成6年9月29日改訂受理)

Reprint requests to: Kazuhisa Sugiyama, M.D. Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine,
40 Tsukasa-machi, Gifu-shi, Gifu-ken 500, Japan.

(Received August 15, 1994 and accepted in revised form September 29, 1994)

I 緒 言

エンドセリン (ET) は、1988 年に Yanagisawa ら¹⁾によって新しく単離された血管内皮細胞由来のペプチドで、強力な血管収縮作用を有している。ET には3種類のアイソペプチドが知られており、それぞれ ET-1, ET-2, ET-3 と命名されている²⁾³⁾。また、ET の受容体には少なくとも2つのサブタイプが存在することが報告されており、それぞれ ET_A 受容体 (ET-1, ET-2 に特異的)、ET_B 受容体 (ET の3つのアイソペプチドにほぼ同等に作用) と呼ばれている⁴⁾。

最近の研究⁵⁾によれば、ET は眼内組織においても重要な血管作動性ペプチドであり、家兎の虹彩および毛様体において高濃度の ET-1 と ET-3 が検出されている⁶⁾。さらに、ET-1, ET-2 および ET-3 の家兎前房注入により房水中プロスタグランディン E₂ (PGE₂) および蛋白濃度の上昇を伴う眼圧上昇が術後早期に生ずることが報告されている⁷⁾。また、ET-1 および ET-3 の家兎硝子体内投与により少なくとも投与後5日間に及ぶ眼圧下降が生じることが報告されている⁸⁾。

最近、著者らは ET-1 家兎硝子体内投与による眼圧変動について、異なった用量を投与し、直後から長期にわたる詳細な観察を行った。その結果、高濃度の ET-1 投与により眼圧は一過性に上昇した後に持続性に下降する二相性変動を示し、しかも、ET-1 投与量と眼圧反応との間には曲線下面積法により有意の用量依存性を認めた⁸⁾。しかしながら、ET-1 投与によって生ずる眼圧変化が ET 受容体を介する作用か否か、もし、受容体を介するならばどのサブタイプの受容体を介するのか未だ解明されていない。

最近見出された ET 受容体の拮抗剤は、ET_B よりも ET_A に対して1,000 倍以上も高親和性のため、ET_A を介する ET の作用を選択的に抑制する^{9)~12)}。また、ET_A 受容体の拮抗剤には、ペプチドと非ペプチドの2種類がある。非ペプチドの ET_A 受容体拮抗剤である 97-139 (塩野義製薬研究所、大阪) は、ET-1 により誘発されたラット大動脈の平滑筋細胞内のカルシウムイオン濃度の上昇を用量依存性に抑制するとともに、ET-1 による平滑筋収縮の用量反応曲線を右方へ平行移動した¹²⁾。今回、著者らは家兎を用い、ET_A 受容体の選択的拮抗剤である 97-139 が、ET-1 投与後の眼圧および房水中 PGE₂ に及ぼす影響について検討したので報告する。

II 実験方法

1. 実験動物

対象には体重 2.0~2.5 kg の白色家兎を雌雄の別なく、各実験に4~6匹を用いた。

2. 使用薬物

ET-1 (Human) (ペプチド研究所、大阪) を 0.1% 酢

酸に溶解して 10⁻⁴M ET-1 溶液を作製し、それをさらに蒸留水に希釈することにより 10⁻⁵、10⁻⁶M の ET-1 溶液を作製した。また、それぞれの溶媒をプラセボとして用いた (0.01%, 0.001% 酢酸)。

ET_A 受容体の選択的拮抗剤である 97-139¹²⁾ (塩野義製薬研究所、大阪) を生理食塩水に溶解して、10⁻²、10⁻³M の溶液を作製した。また、プラセボとして溶媒 (生理食塩水) を用いた。

3. 投与方法

白色家兎を布で包み、0.4% oxybuprocaine hydrochloride (ベノキシール®、参天製薬、大阪) 点眼麻酔後一眼を被験眼としてマイクロシリンジ (ハミルトン社製、米国) を用い、30 G 針を角膜輪部から 2 mm の場所から眼球中心に向けて刺入し、被験薬剤の溶液 20 μl を硝子体内へ注入した。また、他眼を対照眼としてプラセボ 20 μl を同様の方法で硝子体内へ注入した。以下に示す薬剤は、すべて盲検法に従って午前9時に硝子体内投与した。

1) ET-1 (10⁻⁵ または 10⁻⁶M) を一眼に、他眼にプラセボを投与した。

2) 97-139 (10⁻²M) を一眼に、他眼にプラセボを投与した。

3) 97-139 (10⁻²M) を一眼に、他眼にプラセボを投与し、30分後に両眼に ET-1 (10⁻⁵M) を投与した。

4) 97-139 (10⁻³M) を一眼に、他眼にプラセボを投与し、30分後に両眼に ET-1 (10⁻⁶M) を投与した。

4. 眼圧測定

眼圧測定は、各実験について硝子体内投与前、投与後 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96 または 120 時間まで行った。測定は、点眼麻酔 (ベノキシール®) 後 pneumatonometer (アルコン社製、米国) を用いた。

5. 房水中 PGE₂ 濃度の測定

上述の各種薬剤を硝子体内投与後 1, 24 時間で、点眼麻酔 (ベノキシール®) 後 26 G 針と 1 ml 注射筒を用いて角膜輪部から前房穿刺を行い、房水約 0.15 ml を採取した。房水中の PGE₂ 濃度は radioimmunoassay¹³⁾¹⁴⁾ により測定した。

6. 統計学的解析法

測定値は、平均値±標準誤差で示した。薬剤投与前後の眼圧値の比較には paired t-test を用いた。また、同一個体、同一時刻での左右眼の眼圧値、房水中 PGE₂ 濃度の比較には、それぞれ paired t-test, Wilcoxon signed rank test を用いた。有意水準は 5% とした。

III 結 果

1. ET-1, 97-139 の眼圧に及ぼす影響

ET-1 (10⁻⁵、10⁻⁶M) 硝子体内投与後の眼圧の経時的変動を図1, 2に示す。10⁻⁵M ET-1 投与後、被験眼では 0.5~1 時間まで投与前に比べて一過性の眼圧上昇傾向を示し、その後 3~96 時間まで有意の眼圧下降を示した。

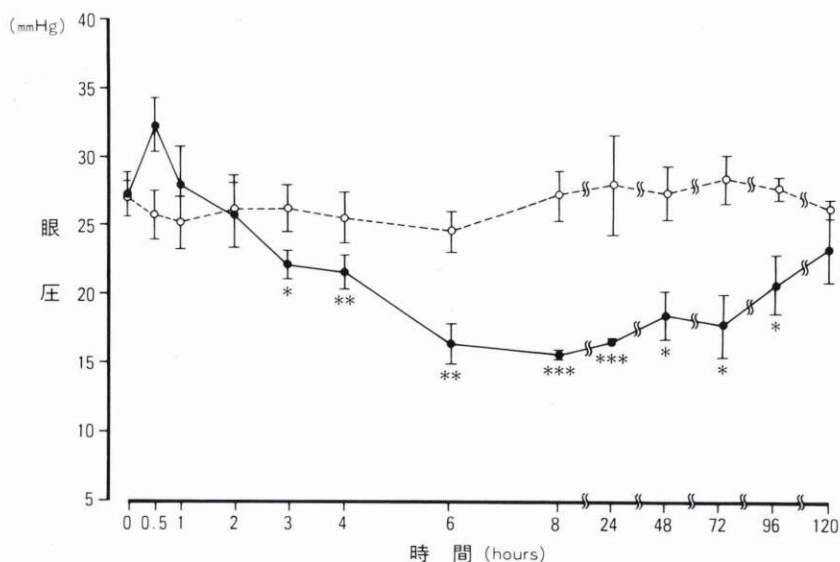


図1 エンドセリン-1 ($ET-1, 10^{-5}M$) 投与後の眼圧変動.

黒丸：ET-1 投与眼，白丸：プラセボ投与眼，(n=4). * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.005$ (paired t-test), バーは標準誤差

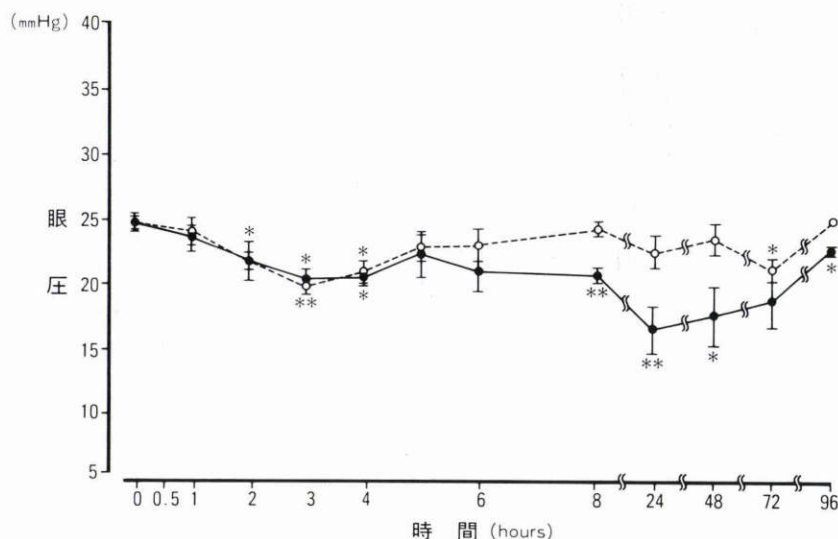


図2 $ET-1 (10^{-6}M)$ 投与後の眼圧変動.

黒丸：ET-1 投与眼，白丸：プラセボ投与眼，(n=4). * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (paired t-test), バーは標準誤差

($p < 0.05 \sim p < 0.005$). 対照眼では，投与前に比べ有意の眼圧変動を認めなかった (図1). $10^{-6}M$ ET-1 投与後，被験眼では投与直後の眼圧上昇はなく，2～3時間にかけて有意に下降し ($p < 0.05$)，その後8～48時間にかけて有意の下降を示した後 ($p < 0.05 \sim p < 0.01$)，96時間で再度有意の眼圧下降を示した ($p < 0.05$). 対照眼では，投与前に比べ投与後1，2，3，72時間を除いて有意の眼圧変動を示さなかった (図2).

ET_A 受容体拮抗剤の 97-139 ($10^{-2}M$) を硝子体内投与後，被験眼，対照眼ともに投与前に比べ投与後有意の眼圧変動を認めなかった (図3).

一眼に $10^{-2}M$ 97-139 を他眼にプラセボを硝子体内投

与後30分で両眼に $10^{-5}M$ ET-1 を硝子体内投与したところ，被験眼 (97-139+ET-1) では対照眼 (プラセボ+ET-1) に比べ処置後24～96時間に及ぶ有意の眼圧下降の抑制が認められた ($p < 0.05 \sim p < 0.01$) (図4). また，同様に一眼に $10^{-3}M$ 97-139 を，他眼にプラセボを投与後30分で両眼に $10^{-6}M$ ET-1 を投与したところ，被験眼 (97-139+ET-1) では対照眼 (プラセボ+ET-1) に比べ処置後6時間と，24～96時間に及ぶ有意の眼圧下降の抑制を認めた ($p < 0.05 \sim p < 0.01$) (図5).

2. ET-1, 97-139 の房水中 PGE_2 濃度に及ぼす影響

ET-1 ($10^{-5}M$) 硝子体内投与後，前房水中の PGE_2 濃度は，1時間後被験眼では $3,198.3 \pm 1,350.1$ pg/ml (n=

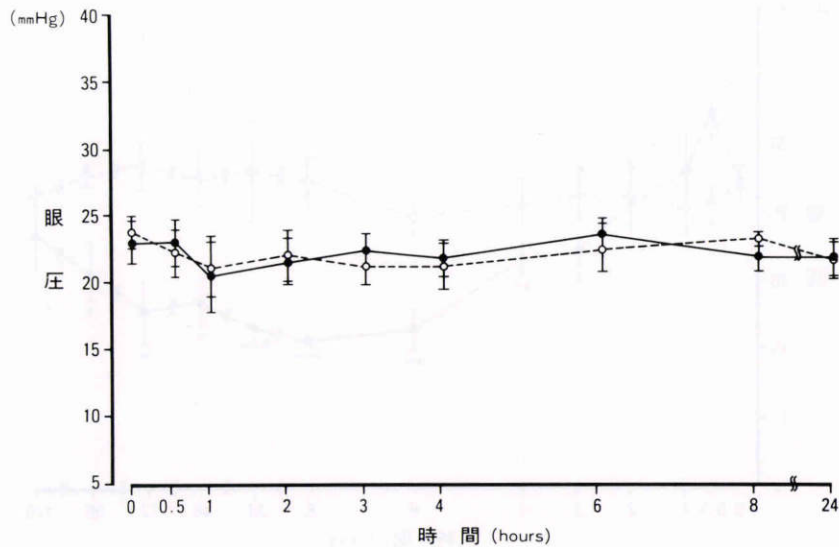


図3 97-139 (10^{-2} M) 投与後の眼圧変動.

黒丸：97-139 投与眼，白丸：プラセボ投与眼，(n=4)，バーは標準誤差

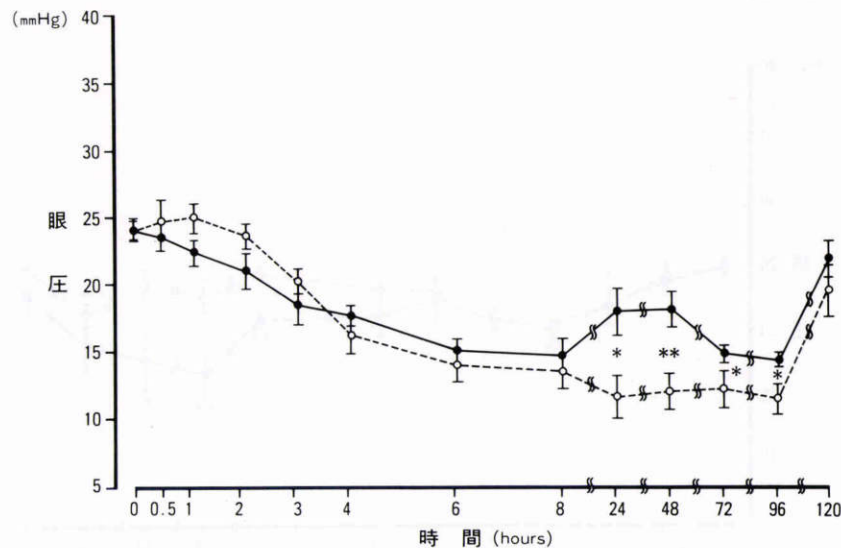


図4 97-139 (10^{-2} M) 前投与による ET-1 (10^{-5} M) 投与後の眼圧変動への影響.

黒丸：97-139+ET-1 投与眼，白丸：プラセボ+ET-1 投与眼，(n=5). *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (paired t-test), バーは標準誤差

6), 対照眼では 13.3 ± 1.8 pg/ml (n=6), 24 時間後被験眼では $2,700.0 \pm 544.8$ pg/ml (n=5), 対照眼では 8.2 ± 0.8 pg/ml (n=5) と両時点とも被験眼では対照眼に比べ有意に上昇していた ($p < 0.05$).

ET_A 受容体拮抗剤の 97-139 (10^{-2}) を硝子体内投与後, 前房水中の PGE₂ 濃度は, 1 時間後被験眼では 17.0 ± 5.0 pg/ml (n=4), 対照眼では 17.5 ± 2.2 pg/ml (n=4), 24 時間後被験眼では 17.0 ± 3.0 pg/ml (n=4), 対照眼では 13.8 ± 3.5 pg/ml (n=4) と両時点とも被験眼と対照眼との間に有意差を認めなかった.

次に, 97-139 (10^{-2} M) またはプラセボ硝子体内投与後 30 分で, 両眼に ET-1 (10^{-5} M) 硝子体内投与した後の前房水中 PGE₂ 濃度は, 1 時間後被験眼 (97-139+ET-1)

では 206.5 ± 106.5 pg/ml (n=4), 対照眼 (プラセボ+ET-1) で $2,449.3 \pm 846.7$ pg/ml (n=4), 24 時間後被験眼では 83.0 ± 33.8 pg/ml (n=5), 対照眼で $3,477.0 \pm 1,499.4$ pg/ml (n=5) と両時点とも被験眼では対照眼に比べて, 有意に房水中 PGE₂ 濃度の上昇が抑制されていた ($p < 0.05$).

IV 考 按

Granstam ら⁷⁾ は 4 pmol の ET-1 (10 μ l) を家兎眼前房中に注入することにより, 房水中の蛋白濃度, PGE₂ 濃度の上昇を伴う眼圧上昇を生じ, かつ両者がともにインドメタシンの前処置により阻止されることを報告している. ET-1 の家兎眼硝子体内投与においても, 清水ら¹⁵⁾ は

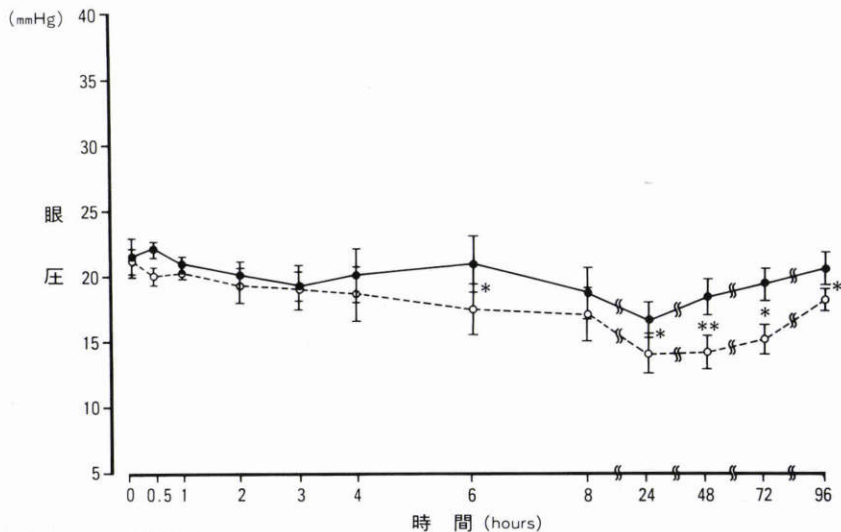


図5 97-139 (10^{-3} M) 前投与による ET-1 (10^{-6} M) 投与後の眼圧変動への影響。

黒丸：97-139+ET-1 投与眼，白丸：プラセボ+ET-1 投与眼，(n=5)，*： $p<0.05$ ，**： $p<0.01$ (paired t-test)，バーは標準誤差

10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} M の ET-1 ($10\mu\text{l}$) を投与し、 10^{-5} M 投与後 90 分で最高値に達する眼圧上昇を認めている。本実験においても、 10^{-5} M ET-1 ($20\mu\text{l}$) を家兎硝子体内投与したところ、房水中 PGE_2 の著明な上昇を伴う早期の一過性眼圧上昇を認めたが、その眼圧上昇の程度は家兎間にばらつきが大きく、投与前との間に統計学的有意差を認めなかった。また、 10^{-6} M ET-1 ($20\mu\text{l}$) の家兎硝子体内投与後には早期の眼圧上昇が全く認められなかった。これらのことから、ET-1 による早期眼圧上昇は家兎により反応性に差があり、かつ ET-1 の投与量に依存している可能性が示唆された。また、著者らの最近の報告⁸⁾では、インドメタシン 50mg/kg 全身投与により 10^{-5} M ET-1 硝子体内投与後に生じる早期の眼圧上昇および房水中 PGE_2 濃度の上昇はほぼ完全に抑制された。さらに、*in vitro* の実験において、ET-1 により家兎虹彩括約筋から PGs が放出されること¹⁶⁾が報告されている。以上のことから、アラキドン酸代謝産物、中でも PGE_2 を含めたプロスタノイドが ET-1 による家兎眼反応に関与し、特に眼圧上昇の主因と考えられる。

ET-1 家兎硝子体内投与後に生じる持続性の眼圧下降については MacCumber ら⁹⁾が既に報告しているが、本実験においても 10^{-5} 、 10^{-6} M とともに投与前に比べ投与後 96 時間に及ぶ長期の持続性の眼圧下降を認めた。しかも、 10^{-5} M ET-1 投与後 24 時間において房水中 PGE_2 濃度は、投与後 1 時間と同程度に著明に増加していた。しかしながら、MacCumber ら⁹⁾や著者ら⁸⁾の報告ではインドメタシンの前処置により ET-1 による持続性の眼圧下降が抑制されなかったことから、ET-1 投与後に生じる眼圧下降には PGs は関与していないものと考えられる。

ET-1 硝子体内投与後に生じる眼圧の変化や房水中への PGE_2 の放出は、ET の受容体を介してその結果発現

したものなのか否か、もし、受容体を介するものならばどのサブタイプ (ET_A 、 ET_B) を介するものか解明されていない。そこで著者らは、 ET_A 受容体の選択的拮抗剤である 97-139 を用いて実験を行った。まず、97-139 自体の眼圧と房水中 PGE_2 濃度への影響を調べたところ、両者とも有意の変化を認めなかった。次に、一眼に 97-139 を他眼にプラセボを硝子体内投与しておき、30 分後に両眼に ET-1 を硝子体内投与したところ、いずれの濃度の組み合わせにおいても後期の持続性眼圧下降を有意に抑制したことから、ET-1 による眼圧下降に少なくとも ET_A 受容体が関与しているものと考えられる。しかし、この眼圧下降の抑制は完全なものではないことから、ET-1 による眼圧下降作用は ET_A 受容体以外の受容体、すなわち、 ET_B 受容体を介する可能性も示唆された。ET-1 による眼圧下降機序に関しては、著者らの行った ET-1 (10^{-5} M、 $20\mu\text{l}$) 家兎硝子体内投与後の房水動態の検討¹⁷⁾から、フルオロフォトメトリーによる測定で 58% の房水産生の減少と、two-level constant pressure perfusion で 94% の房水流出率の増加を認めた。ET-1 投与後の房水産生の低下が、ET-1 のもつ強力な血管収縮作用による毛様体血流量の低下による可能性については、著者らの行った ET-1 (10^{-5} M、 $20\mu\text{l}$) 家兎硝子体内投与後 24 時間で作製した血管鑄型標本の観察から著明な毛様体血管系の収縮が認められなかったこと(未発表データ)、さらに、ネコ眼において ET-1 硝子体内投与後にぶどう膜血流量が低下しないこと¹⁸⁾から、否定的と考えられる。その他の機序としては、autoradiography による観察では ET-1 が白色家兎の毛様体上皮に受容体を有すること¹⁹⁾から、ET-1 が無色素上皮を介し房水産生に影響する可能性が考えられ、現在検討中である。

ET-1 (10^{-5} M) 投与後に生ずる早期の眼圧上昇は、

97-139 (10^{-2} M) と ET-1 (10^{-5} M) の投与後には全く認められなかった。さらに、97-139 の前投与により ET-1 による房水中 PGE_2 濃度の上昇が有意に抑制されることから、ET-1 が ET_A 受容体を介して PGE_2 を含むプロスタノイドを放出し、その結果として一過性の眼圧上昇を生じる可能性が考えられる。

以上のことから、ET-1 家兎硝子体内投与後に、高濃度では眼圧は二相性に変動し、低濃度では持続性の眼圧下降のみ生じ、これらの眼圧変動は少なくとも部分的には ET_A 受容体を介することが示唆された。また、ET-1 家兎硝子体内投与後に生ずる房水中 PGE_2 濃度の上昇にも少なくとも ET_A 受容体に関与しているものと思われる。

稿を終えるにあたり、97-139 の提供および御協力をいただいた塩野義製薬(株)創薬第二研究所の藤本正文および三原伸一の両氏に深謝いたします。

文 献

- 1) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitui Y, et al: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411-415, 1988.
- 2) Yanagisawa M, Inoue A, Ishikawa T, Kasuya Y, Kimura S, Kumagaye S, et al: Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Proc Natl Acad Sci* 85: 6964, 1988.
- 3) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, et al: The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isoforms predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci* 86: 2863, 1989.
- 4) Kondoh M, Miyazaki H, Uchiyama Y, Yanagisawa Y, Masaki T, Murakami K: Solubilization of two types of endothelin receptor, ET_A and ET_B from rat lung with retention of binding activity. *Biomed Res* 12: 417-423, 1991.
- 5) Chakravarthy U, Archer DB: Endothelin: A new vasoactive ocular peptide. *Br J Ophthalmol* 76: 107-108, 1991.
- 6) MacCumber MW, Jampel HD, Snyder SH: Ocular effects of endothelin. *Arch Ophthalmol* 109: 705-709, 1991.
- 7) Granstam E, Wang L, Bill A: Effects of endothelins (ET-1, ET-2 and ET-3) in rabbit eye; role of prostaglandins. *Eur J Pharmacol* 194: 217-223, 1991.
- 8) Okada K, Sugiyama K, Haque SR, Taniguchi T, Kitazawa Y: Biphasic Intraocular pressure response followed by intravitreal injection of Endothelin-1 in the rabbit eye and role of cyclooxygenase. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35(Suppl): 3682, 1994.
- 9) Ihara M, Noguchi K, Saeki T, Fukuroda T, Tsuchida S, Fukami T, et al: Biological profiles of highly potent novel antagonists selective for the ET_A receptor. *Life Sci* 50: 247-255, 1992.
- 10) Fujimoto M, Mihara S, Nakajima S, Ueda M, Nakamura M, Sakurai K: A novel non-peptide endothelin antagonist isolated from bayberry, *Myrica cerifera*. *FEBS Lett* 304: 41-44, 1992.
- 11) Sogabe K, Nirei H, Shoubo M, Hamada K, Nomoto A, Ao S, Notsu Y, et al: Pharmacological profile of FR139317, a novel, potent endothelin ET_A receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 264: 1040-1046, 1993.
- 12) Mihara S, Nakajima S, Matsumura S, Kohnnoike T, Fujimoto M: Pharmacological characterization of a potent non-peptide endothelin receptor antagonist, 97-139. *J Pharmacol Exp Ther* 268: 1122-1128, 1994.
- 13) Powell WS: Rapid extraction of oxygenated metabolites of arachidonic acid from biological samples using octadecylsilyl silica. *Prostaglandins* 20: 947-957, 1980.
- 14) Kawano K, Sugita M, Oka M, Tabata N: A simple, rapid and simultaneous extraction of thromboxane B₂, 6-Ket-prostaglandin Fla, and prostaglandin E₂. *Jpn J Inflammation* 7: 511-515, 1987.
- 15) 清水一弘, 杉山哲也, 小島祥太, 守屋伸一, 奥 英弘, 東 郁郎: エンドセリンの眼圧に及ぼす影響. *あたらしい眼科* 10: 1167-1170, 1993.
- 16) Abdel-Latif AA, Zhang Y, Yousufzai SYK: Endothelin-1 stimulates the release of arachidonic acid and prostaglandins in rabbit iris sphincter smooth muscle: Activation of phospholipase A₂. *Curr Eye Res* 10: 259-265, 1991.
- 17) Taniguchi T, Okada K, Haque MSR, Sugiyama K, Kitazawa Y: Effects of endothelin-1 on intraocular pressure and aqueous humor dynamics in the rabbit eye. *Curr Eye Res* 13: 461-464, 1994.
- 18) Granstam E, Wang L, Bill A: Ocular effects of endothelin-1 in the cat. *Curr Eye Res* 11: 325-332, 1992.
- 19) Osborne NN, Barneth NL, Luttmann W: Endothelin receptor in the cornea, iris and ciliary processes. Evidence from binding, secondary messenger and PCR studies. *Exp Eye Res* 56: 721-728, 1993.