

有色家兎眼におけるエンドセリン-1 と前眼部炎症

庄司 信行¹⁾, 大鹿 哲郎²⁾, 増田寛次郎³⁾¹⁾武蔵野赤十字病院眼科, ²⁾東京厚生年金病院眼科, ³⁾東京大学医学部眼科学教室

要 約

有色家兎眼においてエンドセリン-1 (endothelin-1, ET-1) を前房内に投与した場合の瞳孔径, 房水蛋白濃度に及ぼす影響を観察した。また, ET-1 の作用に対するプロスタグランジン合成阻害薬 (PG 阻害薬) 前処置の効果についても検討するとともに, 実験的ぶどう膜炎における房水中 ET-1 濃度も測定した。その結果, 房水蛋白濃度は ET-1 濃度 (10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} および 10^{-7} M) に依存的に上昇し, 投与後 1 ~ 2 時間目にピークに達し, 8 時間目にはほぼ正常に復した。瞳孔径の変化も, 10^{-7} M と 10^{-9} M 群の場合, 投与後 1 ~ 2 時間目に瞳孔径は最小となり, 8 時間目には対照眼と同じ瞳孔径に復した。 10^{-13} M では, 房水蛋白濃度, 瞳孔径ともに有意な変化は認め

られなかった。また, PG 阻害薬前処置により ET-1 の作用はほぼ抑制された。内毒素誘因性実験的ぶどう膜炎起眼における房水中 ET-1 濃度は, 正常対照眼より高く, また, 房水中濃度はいずれの群においても血中濃度より高かった。以上の結果から, ET-1 はアラキドン酸カスケードを介して, 前眼部炎症および瞳孔径の変化に関与している可能性が示唆された。(日眼会誌 99: 631-635, 1995)

キーワード: エンドセリン-1, 房水蛋白濃度, 瞳孔径, プロスタグランジン合成阻害薬, アラキドン酸カスケード

Endothelin-1 and Intraocular Inflammation in Pigmented Rabbit Eyes

Nobuyuki Shoji¹⁾, Tetsuro Oshika²⁾ and Kanjiro Masuda³⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Musashino Red Cross Hospital²⁾Department of Ophthalmology, Tokyo Kosei Nenkin Hospital³⁾Department of Ophthalmology, the University of Tokyo school of Medicine

Abstract

We assessed the role of endothelin-1 (ET-1) in the development of anterior chamber inflammation in pigmented rabbit eyes. After the injection of ET-1 (10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} or 10^{-7} M) into the anterior chamber, aqueous protein concentration increased significantly in a dose-dependant fashion, with a peak at 1 to 2 hours after treatment, and it returned to the normal level 8 hours after the injection. Pupillary diameter was significantly reduced when 10^{-9} M or 10^{-7} M ET-1 solution was injected. These effects were blocked by pretreatment with anti-prostaglandin agents, i.e., topical indomethacin or venous diclofenac sodium. In the endotoxin-induced experi-

mental uveitis model, ET-1 concentration in the aqueous humor was significantly higher than that of normal controls as well as the plasma ET-1 level. These results suggest that ET-1 is an important mediator in the ocular inflammatory reactions through the arachidonic acid cascade. (J Jpn Ophthalmol Soc 99: 631-635, 1995)

Key words: Endothelin-1, Aqueous protein concentration, Pupillary diameter, Anti-prostaglandin agents, Arachidonic acid cascade

I 緒 言

エンドセリン-1 (以下, ET-1) は, 1988 年に血管内皮細胞から抽出された強力な血管収縮作用を持つペプチ

ドである¹⁾。その後, 多くの組織に存在することが知られるようになったが, 眼球内組織では, 虹彩・毛様体・網脈絡膜・角膜内皮などにその受容体の存在が証明されている²⁾³⁾。全身的には高血圧⁴⁾や冠攣縮⁴⁾⁵⁾, 脳血管攣縮⁶⁾,

別刷請求先: 180 東京都武蔵野市境南町1-26-1 武蔵野赤十字病院眼科 庄司 信行

(平成6年8月29日受付, 平成7年1月17日改訂受理)

Reprint requests to: Nobuyuki Shoji, M.D. Department of Ophthalmology, Musashino Red Cross Hospital, 1-26-1 Kyonancho, Musashino-shi, Tokyo 180, Japan

(Received August 29, 1994 and accepted in revised form January 17, 1995)

肝・腎疾患⁷⁾との関連が報告されており、眼科領域でも、特に網脈絡膜の循環調節に関する研究^{2)8)~15)}が多くなされている。前眼部に関する作用については、ET-1が角膜内皮¹⁶⁾・上皮¹⁷⁾の増殖因子であること、眼圧、瞳孔径、房水蛋白濃度に影響すること^{18)~20)}などが報告されている。しかし、ET-1投与による房水蛋白濃度の経時的変化は明らかではない。また、ET-1は虹彩毛様体に豊富に存在し¹⁹⁾、フォスホリパーゼA₂の活性を高めることによってアラキドン酸の放出を促進し、プロスタグランジンの合成を促進することが報告²¹⁾され、ET-1のアラキドン酸カスケードへの関与が推察されている¹⁸⁾。しかし、前房炎症におけるET-1濃度とアラキドン酸カスケードの関与は明らかになっていない。

以上の報告から、ET-1のアラキドン酸カスケードを介した前房炎症への関与を調べるために、ET-1投与による房水蛋白濃度・瞳孔径の経時的変化と、これらの変化に対するプロスタグランジン合成阻害薬の影響を検討した。また、内毒素誘因性実験的ぶどう膜炎における房水中のET-1濃度についても検討した。

II 実験方法

1. 実験動物

実験には、体重1.5~2.5 kgの有色家兎を雌雄の別なく使用した。麻酔は、全例実験開始の30~60分前に、ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール®)とクロロプロマジン(ウィンタミン®)を1:2に混合した麻酔液を、1 ml/kgの割合で耳静脈に注射して行った。

2. 方法

1) 実験1

前房内に投与するET-1溶液の希釈には眼内灌流液(オベガードMA®, 千寿製薬)を用いた。そして、ET-1を溶解した眼内灌流液(ET-1溶液)10 µlを、容積300 µlの前房に投与することによって前房内でのET-1濃度が10⁻⁷M, 10⁻⁹M, 10⁻¹¹M, 10⁻¹³Mの4種類になるように調整した。次に、0.4%塩酸オキシブプロカイン(ペノキシル®, 参天製薬)で点眼麻酔を行い、片眼に各濃度のET-1溶液を、他眼にはET-1を含まない眼内灌流液のみ(対照液)を10 µlずつ角膜輪部から30 G針を用いて前房内に投与した(各n=10)。測定項目は瞳孔径・房水蛋白濃度とし、測定時間はET-1投与前、投与30分、1, 2, 4, 8, 12, 24時間後とした。瞳孔径の測定はHaab瞳孔計を用いて一定照度下で行い、右眼-左眼の瞳孔径の差(a)を求めた。そして、この値から術前の両眼瞳孔径の差(b)を引いた値(a-b)を瞳孔径の差の変化(c)とした。また、房水蛋白濃度の測定にはレーザーフレアセルメーター(LC-1000®, 興和)を用い、フォトンカウント値をアルブミン濃度に換算した。なお、ET-1投与时、30 G針抜去後前房水の漏出のみられた場合、あるいは虹彩・水晶体に注射針が接触した場合は対象から除外

した。

2) 実験2

ET-1により瞳孔径・房水蛋白濃度の変化が、プロスタグランジン合成阻害薬(以下、PG阻害薬)による前処置によってどのように変わるかを比較するために、対象とした有色家兎を、次のような3つの群に分けた(各n=5)。

A群: ET-1のみ投与した群

B群: インドメタシン点眼前処置群

C群: ジクロフェナクナトリウム静注前処置群

B群では、ET-1溶液または対照液投与の2時間前から30分毎に計4回、両眼にインドメタシン点眼を行った。また、C群では、ジクロフェナクナトリウム粉末を37°Cに加熱した注射用蒸留水に混ぜ、1時間程度攪拌し、ET-1溶液または対照液投与30分前にこの懸濁液を20 mg/kgで25 G針で耳静脈から投与した。用いたET-1濃度は実験1と同様の方法で調整した10⁻⁷M, 10⁻⁹Mそして10⁻¹¹Mの3種類とした。そして実験1と同様の測定を行った。

3) 実験3

房水中のET-1濃度の測定を行った。測定方法として、1989年にSuzukiら²²⁾によって開発された高感度サンドイッチ酵素免疫測定法を用いた。対象は、サルモネラ・エンドトキシン全身投与による実験的ぶどう膜炎惹起眼(以下、エンドトキシン投与群)と、正常対照群とした(各n=6)。サルモネラ・エンドトキシン(Lipopolysaccharide WS Thphimurium)を注射用蒸留水に溶解し、2.5 µg/kgを耳静脈から注射した。2時間後にレーザーフレアセルメーターによる房水蛋白濃度を測定したのち前房水を採取した。正常対照群は、任意の時間に房水蛋白濃度の測定を行ったのち検体を採取した。また、これらの2群のうち任意の3例ずつは房水採取時に血液も採取し、血中のET-1濃度測定を行った。なお、房水は片眼では少量であり、測定誤差が大きくなる可能性が高いため、両眼合わせて一検体とした。

III 結果

1. 実験1

前房内ET-1投与による房水蛋白濃度の変化を図1に示した。濃度10⁻⁷M~10⁻¹¹Mまでは、対照群と比較して有意な上昇を認めた(t検定, p<0.05)。蛋白濃度の上昇はET-1濃度に依存的であり、ET-1投与後約1~2時間目にピークを迎え、8時間目にはほぼ正常に復した。ピーク時、つまりET-1投与後1時間の房水蛋白濃度は、10⁻⁷M群で1,909.4±700.7 mg/dl, 10⁻⁹M群で1,744.4±202.5 mg/dl, 10⁻¹¹Mで654.6±410.7 mg/dlであった。10⁻¹³M投与群の場合は、正常対照群と比較して有意な上昇はみられなかった。

瞳孔径の変化を図2に示した。10⁻⁷Mと10⁻⁹M群にお

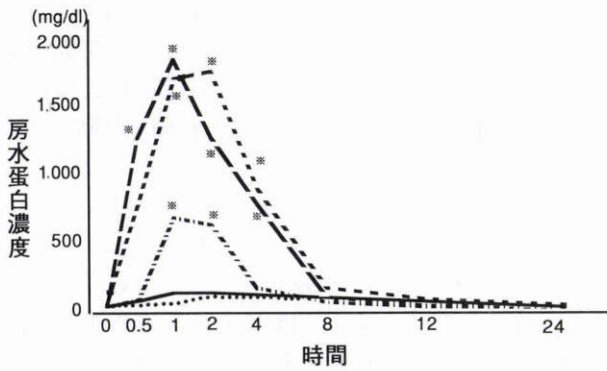


図1 エンドセリン-1 (ET-1) 前房内投与による房水蛋白濃度.

— : $10^{-7}M$, - - - : $10^{-9}M$, - · - : $10^{-11}M$, ····· : $10^{-13}M$, — : 対照, ※ : $P < 0.05$
 ET-1 投与後 30 分～4 時間にかけて, $10^{-7}M$, $10^{-9}M$, $10^{-11}M$ 各投与群における房水蛋白濃度は, 対照群のそれに比し有意に上昇した (各 $n=10$).

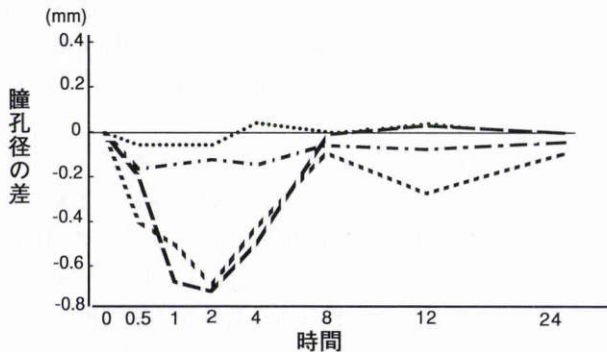


図2 ET-1 前房内投与による瞳孔径の差.

瞳孔径の差の変化 $c=b-a$ で表す。
 a ; 投与前の瞳孔径の差 (右-左), b ; 測定時の瞳孔径の差 (右-左)
 — : $10^{-7}M$, - - - : $10^{-9}M$, - · - : $10^{-11}M$, ····· : $10^{-13}M$
 ET-1 投与後 30 分～4 時間にかけて, $10^{-7}M$, $10^{-9}M$ 投与群では縮瞳傾向がみられた. (各 $n=10$)

いて縮小傾向がみられた。縮瞳のピークは投与後約2時間目で, $10^{-7}M$ 群では 0.75 ± 0.78 mm, $10^{-9}M$ 群では 0.75 ± 0.56 mm の縮瞳がみられ, 8時間目にはほぼ ET-1 投与前と同じ瞳孔径に復した。

2. 実験2

PG 阻害薬前処置の房水蛋白濃度に対する効果は図3に示した。インドメタシン点眼前処置を行った $10^{-7}M$ 群のみ, 蛋白濃度の軽度な上昇をみたが, 他の濃度の群およびジクロフェナクナトリウム前処置を行ったすべての群では, 房水蛋白濃度の有意な上昇はみられなかった。

瞳孔径の変化に対する PG 阻害薬の効果を図4に示した。前処置を行わなかった場合と比べて縮瞳の程度は小さかった。

3. 実験3

検体採取直前に測定した房水蛋白濃度は, エンドトキ

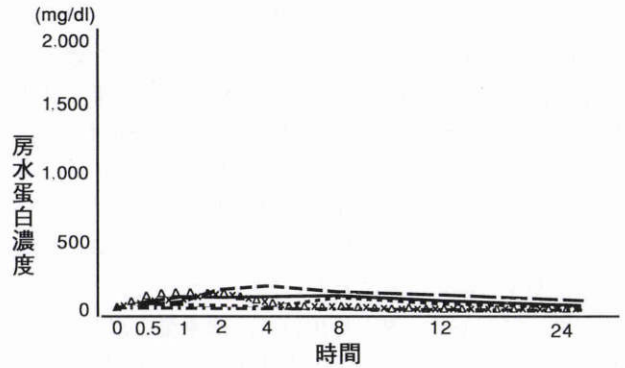


図3 プロスタグランジン (PG) 阻害薬と ET-1 の房水蛋白濃度への影響.

IND ; インドメタシン前投与, DF ; ジクロフェナク前投与, - · - : $IND+10^{-11}M$, - - - : $IND+10^{-9}M$, — : $IND+10^{-7}M$, ×× : $DF+10^{-11}M$, △△ : $DF+10^{-9}M$, — : $DF+10^{-7}M$
 PG 阻害薬の前処置によってほとんどの群で ET-1 投与による房水蛋白濃度の上昇は抑制された (各 $n=5$).

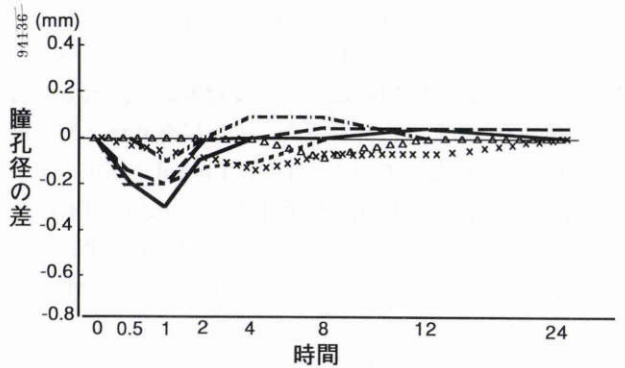


図4 PG 阻害薬と ET-1 の瞳孔径の差への影響.

(凡例は図3と共通)

PG 阻害薬の前処置によって ET-1 投与による縮瞳の程度は小さくなり, ほとんど縮瞳を示さない群も多くみられた (各 $n=5$).

シン投与群で 571.7 mg/dl, 対照群で 27.5 mg/dl と, エンドトキシン投与群で有意に上昇していた (t 検定, $p < 0.01$). 房水 ET-1 濃度は, 正常対照群が $6.90 \pm 0.91 \times 10^{-13}M/l$ であったのに対し, エンドトキシン投与群では $9.78 \pm 1.08 \times 10^{-13}M/l$ と有意に高かった (t 検定, $p < 0.05$). また, 血漿中の濃度は3匹ずつで測定し, 正常対照群で $3.06 \pm 0.04 \times 10^{-13}M/l$, エンドトキシン投与群で $6.65 \pm 0.31 \times 10^{-13}M/l$ であり, 常に尿水中の濃度の方が血漿中濃度より 1.5～2.5 倍高かった。

IV 考 按

ET-1 の眼組織における作用は, 特に網脈絡膜の循環調節に関する研究^{2)8)~15)}によって示されているように, 強力かつ持続的な血管収縮作用が主なものと考えられる。しかし, その他にも眼圧, 瞳孔径, 房水蛋白濃度に影響すること^{18)~20)}が報告され, ET-1 のアラキドン酸カ

スケードへの関与¹⁸⁾²¹⁾が推察されている。そこで今回、ET-1を前房内に投与した時の瞳孔径・房水蛋白濃度の変化と、その変化に対するPG阻害薬の影響を調べ、ET-1アラキドン酸カスケードへの関与について検討した。

房水蛋白濃度については、これまで、ET-1投与の一定時間後に房水を採取して蛋白濃度を測定した報告¹⁸⁾¹⁹⁾が主なものであり、ET-1投与後長時間にわたる経時的な変化に関する報告はみられない。そこで今回、我々はレーザーフレアセルメーターを用いて、房水蛋白濃度の経時的な変化を測定した。その結果、ET-1投与後約1時間をピークとして房水蛋白濃度の上昇がみられ、ほぼ8時間後に正常化した。そして、この変化はPG阻害薬の全身投与および局所点眼といった前処置によって抑制され、この点から、ET-1のアラキドン酸カスケードへの関与が推察された。これまでの報告のうち、MacCumberら¹⁹⁾は、2.5 μgのET-1を含んだbalanced salt solution 10 μlを前部硝子体に投与し、48時間後に房水を採取した場合、対照眼と比較して房水蛋白濃度が上昇していたと報告している。また、Granstamら¹⁸⁾の報告によると、0.2~4 pmolのET-1、ET-2、ET-3を前房内に投与し、その20分後に房水を採取した場合、対照眼と比較して有意な房水蛋白濃度の上昇を認め、これは血液房水柵の破綻が生じたためとしている。また、4 pmolのET-1を前房内に投与し、その13分後に採取した房水中のPGE₂の濃度は、対照眼に比べて有意に高く、他臓器の場合と同じように、エンドセリンがプロスタグランジンや他のエイコサノイドの増加をもたらす可能性があるとして述べている。今回の実験でも、房水蛋白濃度の上昇がプロスタグランジン合成阻害薬の前処置により抑制されたことから、ET-1プロスタグランジンを介した前眼部炎症への関連が推測される。Abdel-Latifら²¹⁾によると、家兎の虹彩平滑筋においては、ET-1によって遊離されたアラキドン酸は、シクロオキシゲナーゼ系およびリポキシゲナーゼ系のいずれの系にも代謝されると述べている。また、このアラキドン酸放出にはフォスホリパーゼCよりもフォスホリパーゼA₂による部分が大きいといわれている。今回の我々の実験では、シクロオキシゲナーゼ阻害薬であるインドメタシンとジクロフェナクを使用したが、リポキシゲナーゼ阻害薬(アモキサノクス)の使用による検討も今後必要と考えられる。

瞳孔径に関しては、Granstamら¹⁸⁾は家兎眼において、ET-2投与で縮瞳がみられたが、ET-1およびET-3では瞳孔径に影響を及ぼさなかったとしている。また、前部硝子体投与によるMacCumberら¹⁹⁾のやはり家兎眼における報告では、ET-1では散瞳し、ET-3では縮瞳するというように、エンドセリンの種類により瞳孔に対する影響が異なると述べている。そして、この現象の原因の一つとして、ET-1はET-3より強い血管収縮作用をもつため、より高度な虚血が起り、瞳孔括約筋が収縮しな

いたためではないかと推察している。しかし、我々の実験ではET-1投与後30分から縮瞳を示し始め、2時間目をピークとし、房水蛋白濃度と同様に約8時間で正常に復した。また、PG阻害薬の前処置により縮瞳は抑制されており、やはりET-1の瞳孔に対する作用はアラキドン酸カスケードを介したものであると考えた方が良いように思われる。これまでもPGE₁やPGE₂投与によりsubstance Pが放出され、縮瞳をもたらすといわれており²³⁾、ET-1の投与によってPGE₁の産生が促進され、substance Pを介して縮瞳を生じたことが考えられる。また、ET-1の硝子体投与を行った奥ら¹⁰⁾の報告では、ET-1投与時に散瞳剤を使用したためかも知れないが、ET-1投与直後は散瞳し、その後縮瞳したと述べている。そして、この縮瞳は散瞳剤に反応しなかったことから、エンドセリンにより神経終末からsubstance PやVIPなどのペプチドが放出されたためであろうと述べている。このように各報告で結果が異なった原因を推察すると、硝子体投与の場合、投与部位によって硝子体内の拡散の差がみられ、その結果、エンドセリンの局所濃度が異なり、作用発現の程度に差があった可能性が考えられる。

なお、Granstamら¹⁸⁾はエンドセリンの前房内投与直後に眼圧が上昇し、13分前後で最高値に達したと報告しているのに対し、ET-1を前部硝子体内に投与したMacCumberら¹⁹⁾は、ET-1投与後48時間目に眼圧が48%低下したと述べているが、投与直後数分から数時間後までのデータは示されていない。したがって、両者の結果の違いが眼圧測定時間の違いによるのか、投与部位の違いによるのか不明だが、PGE₁を投与すると一過性の眼圧上昇に引き続いて長時間にわたり眼圧下降作用が生じることが知られており^{24)~26)}、ET-1の場合も、その投与によってPGE₁の産生が促進され、眼圧の二相性の変化が生じている可能性があると考えられる。残念ながら我々の実験では、眼圧への影響に関しては一定した傾向が得られず、今回は結果を示さなかったが、今後検討を重ねたい。

正常家兎眼の房水ET-1濃度に関する報告はこれまでみられないが、今回の実験3の結果からは、正常対照群における房水中のET-1濃度が 6.9×10^{-13} M/lであったのに対し、エンドトキシン投与群における房水中のET-1濃度が 9.8×10^{-13} M/lと高く、実験的に生じたぶどう膜炎によって、前房中でのET-1の産生が亢進したか、あるいは血管からのET-1漏出が増加した可能性が考えられた。しかし、房水中のET-1濃度は正常眼でも実験的ぶどう膜炎惹起眼でも常に血中濃度より1.5~2.5倍高かったことから、エンドトキシンの全身投与によって、ET-1前房内での産生が亢進し、前房内炎症に関与している可能性が示唆された。また、今回の実験では、投与したET-1の前房内濃度が 10^{-11} M以上になると、房水蛋

白濃度の上昇と縮瞳を示し、これらの変化は投与した ET-1 の濃度に依存的であった。しかし、 10^{-13} M では、蛋白濃度・瞳孔径ともに変化を認めなかった。したがって、房水中の ET-1 濃度が生理的濃度を越えると、房水蛋白濃度の上昇や縮瞳を生じるのではないかと考えられた。しかし、今回は、組織学的検索は行っておらず、今後、組織中の濃度についても検討が必要と考えられる。

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) MacCumber MW, Jampel HD, Snyder SH: Ocular effects of the endothelins. Abundant peptides in the eye. *Arch Ophthalmol* 109: 705-709, 1991.
- 3) Osborne NN, Barnett NL, Luttmann W: Endothelin receptors in the cornea, iris and ciliary processes. Evidence from binding, secondary messenger and PCR studies. *Exp Eye Res* 56: 721-728, 1993.
- 4) 栗原裕基, 矢崎義雄: エンドセリンの臨床的意義. *実験医学* 8: 2420-2425, 1990.
- 5) 栗原裕基: エンドセリンと冠攣縮. *最新医学* 46: 63-68, 1991.
- 6) Ide K, Yamakawa K, Nakagomi T, Sasaki T, Saito I, Kurihara H, et al: The role of endothelin in the pathogenesis of vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res* 11: 101-104, 1989.
- 7) Moore K, Wendon J, Frazer M, Karani J, Williams R, Badr K: Plasma endothelin immunoreactivity in liver disease and the hepatorenal syndrome. *N Engl J Med* 327: 1774-1778, 1992.
- 8) Chakravarthy U, Archer DB: Endothelin: A new vasoactive ocular peptide. *Br J Ophthalmol* 76: 107-108, 1992.
- 9) 坂上 欧, 桐生純一, 竹内 篤, 山本文昭, 本田孔士: エンドセリンの網膜血管に対する作用. *日眼会誌* 96: 469-472, 1992.
- 10) 奥 英弘, 杉山哲也, 守屋伸一, 浜田 潤, 東 郁郎: エンドセリン硝子体注入による視機能変化. *日眼会誌* 97: 467-473, 1993.
- 11) 杉山哲也, 奥 英弘, 守屋伸一, 清水一弘, 浜田 潤, 東 郁郎: エンドセリン-1 の眼循環に及ぼす影響. *日眼会誌* 97: 678-682, 1993.
- 12) 佐藤 剛, 武井一夫, 野々山智仁, 宮内 卓, 後藤勝年, 本村幸子: エンドセリン-1 の家兎網膜血管に対する収縮作用. *日眼会誌* 97: 683-689, 1993.
- 13) Nyborg NCB, Prieto D, Benedito S, Nielsen PJ: Endothelin-1 induced contraction of bovine retinal small arteries is reversible and abolished by nitredipine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32: 27-31, 1991.
- 14) Ramachandran E, Frank RN, Kennedy A: Effects of endothelin cultured bovine retinal microvascular pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 586-595, 1993.
- 15) Meyer P, Flammer J, Luscher TF: Endothelium-dependent regulation of the ophthalmic microcirculation in the perfused porcine eye: Role of nitric oxide and endothelins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 3614-3621, 1993.
- 16) Cholet P, Malecaze F, Gouzi L, Arne JL, Plouet J: Endothelin-1 is a growth factor for corneal endothelium. *Exp Eye Res* 57: 595-600, 1993.
- 17) Takagi H, Reinach PS, Tachado SD, Yoshimura N: Endothelin-mediated cell signaling and proliferation in cultured rabbit corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 134-142, 1994.
- 18) Grandstam E, Wang L, Bill A: Effects of endothelins (ET-1, ET-2 and ET-3) in the rabbit eye; role of prostaglandins. *Eur J Pharmacol* 194: 217-223, 1991.
- 19) MacCumber MW, Jampel H, Snyder SH: Ocular effects of the endothelins. Abundant peptides in the eye. *Arch Ophthalmol* 109: 705-709, 1991.
- 20) Grandstam E, Wang L, Bill A: Ocular effects of endothelin-1 in the cat. *Curr Eye Res* 11: 325-332, 1992.
- 21) 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 A_2 . *Curr Eye Res* 10: 259-265, 1991.
- 22) Suzuki N, Matsumoto H, Kitada C, Masaki T, Fujino M: A sensitive sandwich enzyme immunoassay for human endothelin. *J Immunol Methods* 118: 245-250, 1989.
- 23) Mandahl A, Bill A: Ocular responses to antidromic trigeminal stimulation, intracameral prostaglandin E1 and E2, capsaicin and substance P. *Acta Physiol Scand* 112: 331-338, 1981.
- 24) Starr MS: Further studies on the effect of prostaglandin on intraocular pressure in the rabbit. *Exp Eye Res* 11: 170-177, 1971.
- 25) Green K, Kim K: Pattern of ocular response to topical and systemic prostaglandin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 14: 36-40, 1975.
- 26) Camras CB, Bitto LZ, Eakins KE: Reduction of intraocular pressure by prostaglandins applied topically to the eyes of conscious rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16: 1125-1134, 1977.