

前列腺增生与勃起功能障碍因果关系的孟德尔随机化研究

张玉浩*, 焦伟#

青岛大学附属医院泌尿外科, 山东 青岛

收稿日期: 2023年1月8日; 录用日期: 2023年2月1日; 发布日期: 2023年2月8日

摘要

目的: 探讨良性前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia, BPH)与勃起功能障碍(Erectile dysfunction, ED)的因果关系。方法: 使用公开的BPH及ED全基因组关联研究(Genome-wide association study, GWAS)汇总数据集分别作为暴露因素及结局变量, 运用逆方差加权法、简单模式法、加权中值法、加权模式法及MR-Egger法进行两样本孟德尔随机化(Two-sample Mendelian randomization, TSMR)分析。结果: 经筛选确定23个单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)作为工具变量, 逆方差加权法支持前列腺增生与勃起功能障碍的因果关系(OR and 95% CI: 1.130, 1.014~1.259; $p = 0.026$)。简单模式法(Simple mode)也显示出相同的因果关系(OR and 95% CI: 1.370, 1.033~1.819; $p = 0.040$)。MR-Egger: (OR and 95% CI: 1.276, 0.836~1.946; $p = 0.271$); 加权中位数法: (OR and 95% CI: 1.151, 0.979~1.354; $p = 0.090$); 加权模式法: (OR and 95% CI: 1.267, 0.989~1.622; $p = 0.074$)。工具变量之间可认为不存在异质性与水平多效性; 使用“留一法”(leave-one-out)进行敏感性分析, 因果效应稳健。结论: 孟德尔随机化分析结果支持BPH与ED风险增加存在因果关系, 为ED的预防和治疗提供了新思路。

关键词

良性前列腺增生, 勃起功能障碍, 孟德尔随机化

Mendelian Randomization Study of Causality between Benign Prostatic Hyperplasia and Erectile Dysfunction

Yuhao Zhang*, Wei Jiao#

Department of Urology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

*第一作者。

#通讯作者 Email: jiaowei3929@163.com

文章引用: 张玉浩, 焦伟. 前列腺增生与勃起功能障碍因果关系的孟德尔随机化研究[J]. 临床医学进展, 2023, 13(2): 1356-1363. DOI: [10.12677/acm.2023.132187](https://doi.org/10.12677/acm.2023.132187)

Abstract

Objective: To explore the causal relationship between benign prostatic hyperplasia (BPH) and the risk of erectile dysfunction (ED). **Methods:** The published genome-wide association studies-wide association study (GWAS) BPH and ED data set were used as the exposure factor and outcome variables, respectively. Two-sample Mendelian randomization (TSMR) analysis was performed using inverse variance weighted, simple mode, weighted median, weighted mode methods and MR-Egger regression. **Results:** Twenty-three SNPs were selected as the instrumental variables, and the inverse variance weighted method supported the causal relationship between BPH and risk of ED (OR and 95% CI: 1.130, 1.014~1.259; $p = 0.026$). Simple mode also showed the same causal association (OR and 95% CI: 1.370, 1.033~1.819; $p = 0.040$). MR-Egger: (OR and 95% CI: 1.276, 0.836~1.946; $p = 0.271$); Weighted median: (OR and 95% CI: 1.151, 0.979~1.354; $p = 0.090$); Weighted mode: (OR and 95% CI: 1.267, 0.989~1.622; $p = 0.074$). It could be considered that there was no heterogeneity and horizontal pleiotropic effect between instrumental variables. The causal effect was robust using the "Leave-one-out" method for sensitivity analysis. **Conclusion:** Two-sample Mendelian randomization supports the causal relationship between BPH and increased risk of ED, which provides a new idea for the prevention and treatment of ED.

Keywords

Benign Prostatic Hyperplasia, Erectile Dysfunction, Mendelian Randomization

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

良性前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia, BPH)是男性老年人较为常见的一种良性疾病, 在大于 50 岁男性中的发病率超过 50%, 也是引起下尿路症状(Lower urinary Tract symptoms, LUTS)的主要疾病之一[1]。随着我国人口老龄化程度的进展, 良性前列腺增生以及其引起的 LUTS 及其他合并疾病大发生率将进一步增加[2]。无法产生或维持足够的阴茎勃起以满足性表现为勃起功能障碍(Erectile dysfunction, ED), 这是一种传统的男性功能障碍, 在全球范围内随着男性年龄增长而增加[3]。ED 是一种成因多维且较为常见的男性功能障碍, 在过去 ED 曾被认为是一种心理障碍, 但最近的证据表明, 超过 80%的病例存在有器质性成因[4]。过去的研究表明, ED 在老年男性中的发病较为普遍, 马萨诸塞州男性衰老研究(Massachusetts Male Aging Study, MMAS)显示, 在 40~70 岁的男性中, 轻度至中度勃起功能障碍的综合患病率为 52% [5]。

过去的流行病学研究数据表明: 患有 BPH 的男性与 ED 的发生之间可能存在关联[6] [7]。然而传统临床研究中鲜有研究者明确 BPH 与 ED 之间的相互联系, 而基于以上流行病学研究结果以及 BPH 和 ED 的发生在老年患者中均较高的特点, 我们尝试使用孟德尔随机化的方法确定这两种疾病之间可能的关系。

孟德尔随机化法(Mendelian randomization, MR)是一种利用单核苷酸多态性(nucleotide polymorphisms, SNP)作为工具变量去研究暴露或危险因素与临床结局之间关联的因果关系的分析方法[8]。孟德尔

随机化依靠随机化进行因果推论, 也被称作“自然随机对照试验”, 当随机分配的遗传工具引起的暴露与研究结局相关, 那么观察到的暴露与结局之间的关联可解释为因果关系[9]。因此本研究旨在使用孟德尔随机化法探究 BPH 与 ED 之间的因果关系。

2. 资料与方法

2.1. 资料来源

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)作为工具变量, BPH 作为暴露因素, ED 为结局变量。BPH 来自芬兰数据库(https://www.finngen.fi/en/access_results), 包括 22091 例病例和 100050 例具有欧洲血统的对照组。ED 数据来源于目前关于 ED 最广泛的数据库全基因组关联研究(GWAS) [10]。这项研究在 223,805 名欧洲男性中的 6175 名 ED 患者中进行, 所采用的 ED 的诊断是自我报告的或医生诊断的(ICD10 代码: N48.4 和 F52.2)。因性功能障碍而口服 ED 药物(伐地那非/艾力达、他达拉非/西力士或西地那非/伟哥)或接受 ED 手术(OPCS-4 代码: L97.1 和 N32.6)的男性也被包含在内。

2.2. 工具变量的筛选

我们从选定的 GWAS 数据库里提取适合孟德尔随机化的工具变量。为了避免连锁不平衡偏倚, 我们剔除效应等位基因 < 0.01 的 SNP, 在数据库里选择与暴露(良性前列腺增生)强关联的 SNP ($p < 5 \times 10^{-8}$), 与前列腺增生相关的显著 SNP 的 LD 须满足以下条件: $r^2 < 0.001$ 、遗传距离为 10,000 kb。我们在 TwoSampleMR R 包中删除了等位基因频率接近 0.5 的回文 SNP, 因为这些回文 SNP (例如, 它们的等位基因是 A/T 或 G/C)将引入潜在的链翻转问题, 并导致暴露数据集和结果数据集之间效应等位基因协调的模糊性[11]。我们确保暴露和结果数据集中的工具变量是一致的, 都来自同一方向的 DNA 链。为了评估纳入的 SNPs 是否受到了弱工具变量的影响, 我们计算单个 SNP [12]的方差解释比例(PVE), 然后计算 F 统计值[13]来评估这个问题。若该 SNP F 统计量 < 10 , 说明该 SNP 存在弱工具变量偏倚的可能性, 进而将其剔除, 避免对结果造成影响[14]。最后从 23 个选定的 SNP 中, 记录效应等位基因(effect allele, EA)、其他等位基因(other allele, OA)、等位基因效应大小(β)、标准误(SE)、 p 值及 F 值信息(见表 1)。

Table 1. Basic information on SNPs associated with benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction
表 1. 与前列腺增生与勃起功能障碍相关的工具变量的基本信息

CHR	SNP	EA	OA	前列腺增生			勃起功能障碍			F
				β	SE	p	β	SE	p	
5	rs10068678	T	C	-0.06621	0.012033	3.74E-08	-0.0176	0.0193	0.3629	30.27895
19	rs11084596	C	T	-0.12072	0.012265	7.38E-23	-0.005	0.0204	0.8057	96.87438
10	rs113524473	G	A	0.153177	0.027964	4.31E-08	0.0581	0.1871	0.756	30.00416
8	rs13276836	C	A	0.065416	0.011995	4.94E-08	0.0093	0.0196	0.6348	29.73993
2	rs145464945	C	A	0.113548	0.017402	6.80E-11	0.06	0.0554	0.2793	42.57391
19	rs17632542	C	T	-0.19177	0.02371	6.06E-16	-0.0494	0.0381	0.1942	65.41516
11	rs192982361	C	T	-0.13298	0.02298	7.18E-09	0.0582	0.0885	0.510301	33.48495
2	rs2457660	T	C	-0.07898	0.012075	6.12E-11	-0.0109	0.0202	0.5875	42.78254
21	rs2836750	G	T	-0.07313	0.011874	7.33E-10	-0.0354	0.0205	0.084721	37.92902
3	rs2871960	C	A	0.070902	0.011819	1.99E-09	-0.007	0.0195	0.7205	35.98428

Continued

6	rs3130623	T	C	-0.09025	0.015341	4.02E-09	0.0283	0.0244	0.2465	34.61369
8	rs366991	G	A	-0.08678	0.012823	1.31E-11	-0.0021	0.0201	0.9175	45.79596
5	rs370348	G	A	-0.09021	0.011826	2.38E-14	0.0268	0.0194	0.167	58.18928
5	rs4869246	C	T	0.074664	0.012473	2.15E-09	-0.0021	0.0202	0.9168	35.83201
2	rs59427754	A	C	-0.17629	0.032149	4.17E-08	-0.0695	0.0881	0.4304	30.06823
16	rs61185428	G	A	0.117403	0.01825	1.25E-10	0.0473	0.0415	0.2547	41.38515
5	rs671044	A	G	0.132515	0.023895	2.93E-08	0.0422	0.033	0.2006	30.75529
8	rs73686991	T	C	-0.10962	0.019281	1.31E-08	0.0301	0.0282	0.2854	32.31917
10	rs7905955	G	A	-0.11574	0.01532	4.19E-14	-0.0327	0.0226	0.1478	57.07773
18	rs8097576	C	T	-0.07191	0.01192	1.61E-09	0.0077	0.02	0.7011	36.39522
7	rs9655205	A	C	-0.09738	0.01433	1.08E-11	-0.0332	0.0233	0.1551	46.17729
13	rs987086	T	C	-0.08112	0.012847	2.71E-10	-0.0451	0.0221	0.04118	39.87397
17	rs9901746	G	A	-0.08203	0.011944	6.50E-12	-0.0221	0.02	0.2678	47.17037

2.3. MR 分析

为更好的估计因果效应, MR 分析中 SNP 做为 IV 应满足 3 个关键假设[15]: ① 选定的 IV 须与暴露因素紧密相关; ② IV 应独立于混杂因素; ③ IV 只能通过暴露因素影响结局, 不通过其他途径。采用 R (4.0.2 版本)中的“TwoSampleMR”进行分析, $p < 0.05$ 认为差异有统计学意义。使用 5 种 MR 分析方法(逆方差加权法、简单模式法、加权中位数法、加权模式法及 MR-Egger 法)分析前列腺增生与勃起功能障碍间是否存在因果关系。其中逆方差加权法(IVW)、简单模式法、加权中位数法及加权模式法主要用于 MR 分析。MR-Egger 截距检验主要用于潜在多效性效应的统计检验。采用随机效应的 IVW 分析方法对前列腺增生和勃起功能障碍的 SNPs 相关性进行回归分析, 计算 IV 比值估计的方差加权平均值的反比。由于随机效应的 IVW 允许每个 SNPs 产生不同的平均效应, 我们采用随机效应的 IVW 方法[16]。为确保选择的 IV 不会通过除前列腺增生以外的生物途径影响勃起功能障碍风险的这一结局变量, 采用 MR-Egger 截距检测评估 IV 与其他潜在混杂因素间的多效性关系[17]。这种回归方法的斜率代表了因果效应的评估, 截距代表遗传变异的平均水平多效性效应的评估[18]。

2.4. 异质性和敏感性分析

采用 Cochran 的 Q 检验和漏斗图评估 SNPs 间的异质性[19] [20]。为了评估未知的多效性, 我们采用了多种分析方法: 1) 敏感性分析 使用了“leave-one-out”探讨单个 SNPs 驱动这种因果关联的可能性; 2) MR-Egger 截距检验评估基因变异与其他潜在混杂因素的多效性关联。3) MRPRESSO 评估是否存在离群值。在排除已知的多效性 SNPs 后我们重复上述的孟德尔随机分析。

3. 结果

3.1. SNPs 基本信息

在全基因组水平上能有效预测前列腺增生的 1317 个 SNPs 可以用作潜在的 IV。通过设立连锁不平衡条件: $r^2 < 0.001$ 、遗传距离为 10,000 kb, 与结局变量勃起功能障碍匹配, 共有 28 个 SNP 满足条件, 排除回文 SNP: rs10788167, rs1606303, rs17101982, rs3213180, rs35908689。最终经筛选确定 23 个个与良性前列腺增生与勃起功能障碍均存在关联的具有全基因组意义($p < 5 \times 10^{-8}$)的 SNPs 作为 IV, 这些 SNP

共代表了 0.803% 的 BPH 的变化。总 F 值为 42.960, 每个 SNP 的 F 均 > 29, 说明该研究不受到弱工具变量的影响, 详见表 1。

3.2. TSMR 分析

IVW 方法结果显示前列腺增生与勃起功能障碍存在显著的因果关系(OR and 95% CI: 1.130, 1.014~1.259; $p = 0.026$); Simple mode 与之结果接近(OR and 95% CI: 1.370, 1.033~1.819; $p = 0.040$); MR-Egger: (OR and 95% CI: 1.276, 0.836~1.946; $p = 0.271$); 加权中位数法: (OR and 95% CI: 1.151, 0.979~1.354; $p = 0.090$); Weighted mode: (OR and 95% CI: 1.267, 0.989~1.622; $p = 0.074$)。IVW 方法作为我们研究的主分析, 表明前列腺增生与勃起功能障碍风险增加存在因果关系。MR-Egger 分析显示结果中的定向多效效应不太可能导致偏倚(截距 = -0.011, $P = 0.567$)。详见表 2、图 1(a)、图 1(b)。

Table 2. MR analyses to assess the causal effect of benign prostatic hyperplasia on erectile dysfunction
表 2. 评估前列腺增生对勃起功能障碍的因果影响的 MR 分析方法

方法	n	β 系数	标准误	p 值	OR 值	OR 的置信区间
MR Egger	23	0.243539	0.215435	0.271033	1.275756	(0.836, 1.946)
Weighted median	23	0.140721	0.082885	0.089549	1.151103	(0.979, 1.354)
Inverse variance weighted	23	0.122301	0.055099	0.026442	1.130094	(1.014, 1.259)
Simple mode	23	0.315012	0.144567	0.040323	1.370276	(1.033, 1.819)
Weighted mode	23	0.236283	0.126096	0.074298	1.266533	(0.989, 1.622)

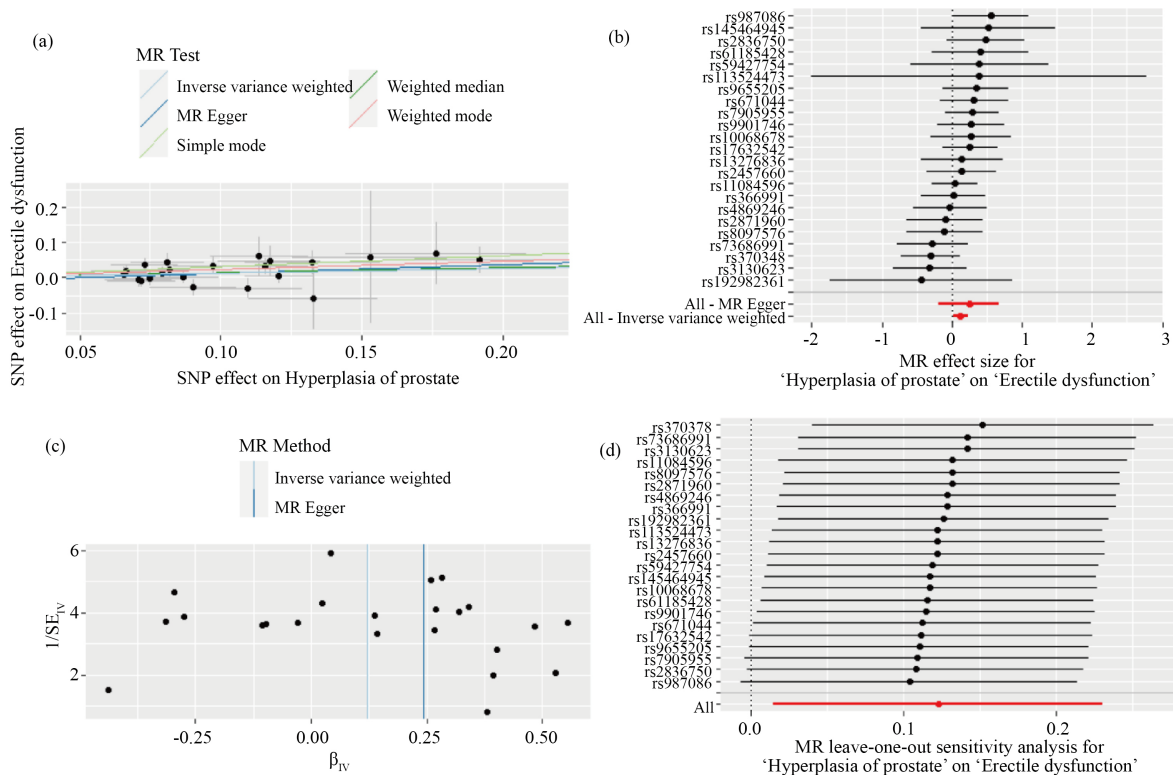


Figure 1. Results of two-sample Mendelian randomization of benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction. (a) Scatter diagram; (b) Forest plot; (c) Funnel plot; (d) Sensitivity analysis

图 1. 前列腺增生与勃起功能障碍的两样本孟德尔随机化结果。(a)为散点图; (b)为森林图; (c)为漏斗图; (d)为敏感性分析

3.3. 异质性检验和敏感性分析

使用 Cochran's Q 检验和漏斗图来检验 IV 间的异质性。MRPRESSO 显示不存在离群值($p = 0.068$)。MR-Egger 回归法结果为 Cochran's Q = 20.265, $p = 0.505$; IVW 结果为 Cochran's Q = 20.604, $p = 0.545$, 可认为 IV 间不存在异质性。MR-Egger 回归的截距可以作为一个指标, 表明 IV 的水平多效性是否影响了 MR 分析的结果。截距接近 0, $p > 0.05$ (Egger_intercept = -0.011, $p = 0.567$), 表明 IV 不存在水平多效性, 影响 MR 分析结果的可能性不大。漏斗图表明, 单个 SNP 作为 IV 产生的因果相关的点, 基本呈对称分布, 表明 IV 之间差异小, 见图 1(c)。敏感性分析使用“留一法”(leave-one-out, LOO)逐个去除 SNP, 剩余 SNPs 的因果效应与全部 SNPs 的 MR 分析结果比较, 以确定因果关联是否由单个 IV 导致, MR 分析结果稳健, 见图 1(d)。

4. 讨论

由于缺乏严格对照的临床试验和纵向的前瞻性研究, BPH 和 ED 之间的关联很难得到证实, 而在孟德尔随机化的框架下, 采用公开的 GWAS 数据集, 运用 TSMR 分析, IVW 方法结果(OR and 95% CI: 1.130, 1.014~1.258; $p = 0.026$)为 BPH 患者发生 ED 的风险更高这一因果关系提供了新证据。

尽管对于 BPH 可能引起 ED 发生的病理生理机制并没有被完全确定[21], 但仍有研究者尝试从阴茎勃起的生理机制方面做出解释。已证明的是阴茎的松弛与否受取决于海绵体平滑肌的状态, 当平滑肌收缩时, 阴茎保持松弛状态, 而这一过程受肾上腺素能受体控制[22] [23]。

Chang S, Hypolite JA 等人进行的动物研究中, 患有膀胱出口梗阻的兔海绵体平滑肌收缩出现困难, 这与 β_1 -肾上腺素受体密度和激动剂亲和力增加有关, 同时膀胱出口梗阻引起海绵体平滑肌收缩元件的分子变化, 导致平滑肌对肾上腺素激动剂响应产生的收缩力量增加, 这些均可能导致了 BPH 男性的勃起功能障碍[24]。另外, BPH 和 ED 之间关系也可以用包括一氧化氮(NO)或氮能神经元缺乏、心理因素和涉及泌尿海绵体平滑肌张力分子调节剂等生物学方面的病理生理学进行解释[25] [26]。同样, 一项关于良性前列腺增生药物治疗与 ED 之间关联的研究表明, 良性前列腺增生与 ED 发生之间存在着显著的统计学关联[27]。

为了进一步确定 BPH 和 ED 的因果关系, 在本次研究中, 我们使用了关于 ED 的最新的 GWAS 中的最广泛的数据集, 这包括了超过 220,000 人的 GWAS [10]。我们采用了 5 种不同的分析方法(逆方差加权法、加权中值法及 MR-Egger 法)进行 MR 分析, 结果显示前列腺增生与勃起功能障碍存在显著的因果关系(OR and 95% CI: 1.130, 1.014~1.258; $p = 0.026$)。我们选取孟德尔这一相对新颖的研究方式, 其具有以下可取的特点: 1) 遗传变异测量准确, 可以捕捉长期时间上的暴露效应, 从而避免了测量误差而导致的估计偏差[28]; 2) 等位基因在形成受精卵时即被随机分离, 这种基因层面上的分离与出生后的混杂因素无关, 使结果不易受到后天的潜在混杂因素和反向因果关系的影响[29]。从这几方面上说, 孟德尔随机化做到了模拟随机对照试验(Randomized controlled trial, RCT)来评估因果关系, 以此得出的结论可为进一步临床或基础研究提供有力的遗传学依据。

由于过去关于 ED 与 BPH 的研究缺乏关键的直接证据, 而孟德尔随机化由于其对于因果关系证明的独特优势, 从遗传学的角度得出了 BPH 作为 ED 的危险因素的关键结论。这对于泌尿外科医生来说, 无疑是具有临床意义的。在 BPH 患者的诊治过程中, 依据研究的结论, 泌尿外科医生可能会加强对患者的心理预防建设, 并给予相应预防指导。同时对于 ED 的临床治疗, 也提供了新的思路, 也有助于下一步对于 ED 的基础及临床药物研究发展开辟了新的方向和道路。

诚然, 本次研究也存在一定的局限性, 首先, 研究中采用的 GWAS 数据均来自于欧洲人群, 需要更

多的研究确认我们的研究结论是否适用于其他种族群体。其次, 我们仅评估了 BPH 对于 ED 的影响, 对于 BPH 引起的其他并发症(例如膀胱过度活动综合征、尿潴留等)也应在未来的研究中进行评估。最后, 虽然 MR 能够评估 BPH 和 ED 的直接因果效应, 但它可能无法准确评估这种效应被效度的大小, 这可能会限制对医疗决策的影响及对临床结果的干预。

5. 结论

我们采用两样本孟德尔随机化的方法进行验证, 研究结果显示良性前列腺增生与勃起功能障碍风险增加存在因果关系, 这为未来的勃起功能障碍的预防和治疗提供了新的治疗思路。

参考文献

- [1] Thorpe, A. and Neal, D. (2003) Benign Prostatic Hyperplasia. *The Lancet (London, England)*, **361**, 1359-1367. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13073-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13073-5)
- [2] 中华医学会老年医学分会, 中华老年医学杂志编辑委员会. 老年人良性前列腺增生症/下尿路症状药物治疗共识 (2015) [J]. *中华老年医学杂志*, 2015, 34(12): 1380-1387.
- [3] NIH Consensus Development Panel on Impotence (1993) NIH Consensus Conference. Impotence. *JAMA*, **270**, 83-90. <https://doi.org/10.1001/jama.270.1.83>
- [4] Yafi, F.A., Jenkins, L., Albersen, M., et al. (2016) Erectile Dysfunction. *Nature Reviews Disease Primers*, **2**, 16003. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.3>
- [5] Feldman, H.A., Goldstein, I., Hatzichristou, D.G., et al. (1994) Impotence and Its Medical and Psychosocial Correlates: Results of the Massachusetts Male Aging Study. *The Journal of Urology*, **151**, 54-61. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)34871-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)34871-1)
- [6] Schouten, B.W., Bosch, J.L., Bernsen, R.M., et al. (2005) Incidence Rates of Erectile Dysfunction in the Dutch General Population. Effects of Definition, Clinical Relevance and Duration of Follow-Up in the Krimpen Study. *International Journal of Impotence Research*, **17**, 58-62. <https://doi.org/10.1038/sj.ijir.3901264>
- [7] Seftel, A.D., de la Rosette, J., Birt, J., et al. (2013) Coexisting Lower Urinary Tract Symptoms and Erectile Dysfunction: A Systematic Review of Epidemiological Data. *International Journal of Clinical Practice*, **67**, 32-45. <https://doi.org/10.1111/ijcp.12044>
- [8] Sekula, P., Del Greco, M.F., Pattaro, C. and Köttgen, A. (2016) Mendelian Randomization as an Approach to Assess Causality Using Observational Data. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, **27**, 3253-3265. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016010098>
- [9] Ference, B.A., Holmes, M.V. and Smith, G.D. (2021) Using Mendelian Randomization to Improve the Design of Randomized Trials. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **11**, a040980. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040980>
- [10] Bovijn, J., Jackson, L., Censin, J., et al. (2019) GWAS Identifies Risk Locus for Erectile Dysfunction and Implicates Hypothalamic Neurobiology and Diabetes in Etiology. *The American Journal of Human Genetics*, **104**, 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.11.004>
- [11] Hartwig, F.P., Davies, N.M., Hemani, G. and Davey, S.G. (2016) Two-Sample Mendelian Randomization: Avoiding the Downsides of a Powerful, Widely Applicable but Potentially Fallible Technique. *International Journal of Epidemiology*, **45**, 1717-1726. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx028>
- [12] Shim, H., Chasman, D.I., Smith, J., et al. (2015) A Multivariate Genome-Wide Association Analysis of 10 LDL Subfractions, and Their Response to Statin Treatment, in 1868 Caucasians. *PLOS ONE*, **10**, e0120758. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120758>
- [13] Maciejewski, M.L., Dowd, B.E. and Norton, E.C. (2022) Instrumental Variables and Heterogeneous Treatment Effects. *JAMA*, **327**, 1177-1178. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.2505>
- [14] Sanderson, E., Spiller, W. and Bowden, J. (2021) Testing and Correcting for Weak and Pleiotropic Instruments in Two-Sample Multivariable Mendelian Randomization. *Statistics in Medicine*, **40**, 5434-5452. <https://doi.org/10.1002/sim.9133>
- [15] Burgess, S., Butterworth, A. and Thompson, S.G. (2013) Mendelian Randomization Analysis with Multiple Genetic Variants Using Summarized Data. *Genetic Epidemiology*, **37**, 658-665. <https://doi.org/10.1002/gepi.21758>
- [16] Bowden, J., Del Greco, M.F., Minelli, C., Davey, S.G., et al. (2017) A Framework for the Investigation of Pleiotropy

- in Two-Sample Summary Data Mendelian Randomization. *Statistics in Medicine*, **36**, 1783-1802.
<https://doi.org/10.1002/sim.7221>
- [17] Bowden, J., Davey, S.G. and Burgess, S. (2015) Mendelian Randomization with Invalid Instruments: Effect Estimation and Bias Detection through Egger Regression. *International Journal of Epidemiology*, **44**, 512-525.
<https://doi.org/10.1093/ije/dyv080>
- [18] Burgess, S. and Thompson, S.G. (2017) Interpreting Findings from Mendelian Randomization Using the MR-Egger Method. *European Journal of Epidemiology*, **32**, 377-389. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0255-x>
- [19] Higgins, J.P., Thompson, S.G., Deeks, J.J. and Altman, D.G. (2003) Measuring Inconsistency in Meta-Analyses. *BMJ*, **327**, 557-560. <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>
- [20] Egger, M., Smith, G.D. and Phillips, A.N. (1997) Meta-Analysis: Principles and Procedures. *BMJ*, **315**, 1533-1537.
<https://doi.org/10.1136/bmj.315.7121.1533>
- [21] Rosen, R., Altwein, J., Boyle, P., *et al.* (2003) Lower Urinary Tract Symptoms and Male Sexual Dysfunction: The Multinational Survey of the Aging Male (MSAM-7). *European Urology*, **44**, 637-649.
<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2003.08.015>
- [22] Andersson, K.E. and Wagner, G. (1995) Physiology of Penile Erection. *Physiological Reviews*, **75**, 191-236.
<https://doi.org/10.1152/physrev.1995.75.1.191>
- [23] Saenz de Tejada, I., Kim, N., Lagan, I., *et al.* (1989) Regulation of Adrenergic Activity in Penile Corpus Caverosum. *The Journal of Urology*, **142**, 1117-1121. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)39009-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)39009-2)
- [24] Chang, S., Hypolite, J.A., Zderic, S.A., *et al.* (2002) Enhanced Force Generation by Corpus Caverosum Smooth Muscle in Rabbits with Partial Bladder Outlet Obstruction. *The Journal of Urology*, **167**, 2636-2644.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)65050-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)65050-1)
- [25] Azadzi, K.M., Babayan, R.K., Kozlowski, R. and Siroky, M.B. (2003) Chronic Ischemia Increases Prostatic Smooth Muscle Contraction in the Rabbit. *The Journal of Urology*, **170**, 659-663.
<https://doi.org/10.1097/01.ju.0000064923.29954.7e>
- [26] Clemow, D.B., Steers, W.D. and Tuttle, J.B. (2000) Stretch-Activated Signaling of Nerve Growth Factor Secretion in Bladder and Vascular Smooth Muscle Cells from Hypertensive and Hyperactive Rats. *Journal of Cellular Physiology*, **183**, 289-300. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(200006\)183:3<289::AID-JCP1>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(200006)183:3<289::AID-JCP1>3.0.CO;2-6)
- [27] Paick, S.H., Meehan, A., Lee, M., *et al.* (2005) The Relationship among Lower Urinary Tract Symptoms, Prostate Specific Antigen and Erectile Dysfunction in Men with Benign Prostatic Hyperplasia: Results from the Proscar Long-Term Efficacy and Safety Study. *The Journal of Urology*, **173**, 903-907.
<https://doi.org/10.1097/01.ju.0000152088.00361.a7>
- [28] Haycock, P.C., Burgess, S., Wade, K.H., *et al.* (2016) Best (but OFT-Forgotten) Practices: The Design, Analysis, and Interpretation of Mendelian Randomization Studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **103**, 965-978.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.115.118216>
- [29] Smith, G.D. and Ebrahim, S. (2003) "Mendelian Randomization": Can Genetic Epidemiology Contribute to Understanding Environmental Determinants of Disease? *International Journal of Epidemiology*, **32**, 1-22.
<https://doi.org/10.1093/ije/dyg070>