

· 共识 ·

# 重症肌无力自身抗体实验室诊断 专家共识 2022

中华医学会神经病学分会神经免疫学组

通信作者:施福东,天津医科大学总医院神经内科 京津神经免疫中心,天津 300052,  
Email:fshi@tmu.edu.cn

**【摘要】** 重症肌无力(MG)是一种由自身抗体介导的神经-肌肉接头(NMJ)信号传递障碍的获得性自身免疫性疾病。自身抗体检测是国内外MG诊治指南推荐的关键辅助诊断指标。MG自身抗体的检测方法包括放射免疫沉淀法、酶联免疫吸附测定法和细胞免疫荧光法等,研究表明这些检测方法的特异度和敏感度存在客观差异,需要结合临床诊断需求来选择不同的检测方法。为此,中华医学会神经病学分会神经免疫学组基于国内外MG自身抗体诊断指南、检测技术研究进展和充分征求学组专家意见的基础上形成《重症肌无力自身抗体实验室诊断专家共识2022》。本专家共识对MG自身抗体的检测方法学选择给出指导性建议,进一步促进我国MG自身抗体诊断的规范化。

**【关键词】** 重症肌无力; 自身抗体; 实验室诊断; 共识

## Expert consensus on laboratory diagnosis of myasthenia gravis autoantibodies 2022

Chinese Society of Neuroimmunology

Corresponding author: Fu-Dong Shi, Department of Neurology, Tianjin Medical University General Hospital, Beijing Tianjin Neuroimmune Center, Tianjin 300052, China, Email: fshi@tmu.edu.cn

**【Abstract】** Myasthenia gravis (MG) is a neuromuscular junction transmission disorder mediated by autoantibodies against acetylcholine receptor, muscle-specific kinase and other autoantigens located at the postsynaptic membrane of the neuromuscular junction. Autoantibody detection has been the preferred auxiliary diagnostic indicator recommended by the MG treatment and diagnostic guidelines. The methods of MG autoantibodies detection mainly include radioimmunoprecipitation, enzyme-linked immunosorbent assay and cell-based assay. There are objective differences in the specificity and sensitivity of each method, and it is necessary to select different detection method in combination with the needs of clinical diagnosis. To this end, Chinese Society of Neuroimmunology edits the "Expert consensus on laboratory diagnosis of myasthenia gravis autoantibodies 2022". This guideline is generated based on previous diagnosis guideline, the progress of antibody detection and the comparison result from the MG antibody examination methodologies. And it provides guiding suggestions on methodological selection to further standardize autoantibodies testing of MG.

**【Key words】** Myasthenia gravis; Autoantibodies; Laboratory diagnosis; Consensus

**Conflicts of interest:** None declared

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是一种由自身抗体介导的神经-肌肉接头(neuromuscular junction, NMJ)信号传递障碍的获得性自身免疫性

疾病。临床上, MG患者呈现波动性的骨骼肌疲劳无力症状,而自身抗体检测是国内外MG临床诊断的重要辅助检查之一。目前, MG患者血清中发现

DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20221017-00767

收稿日期 2022-10-17 本文编辑 许倩

引用本文:中华医学会神经病学分会神经免疫学组.重症肌无力自身抗体实验室诊断专家共识2022[J].

中华神经科杂志, 2023, 56(3): 251-256. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20221017-00767.



的与神经-肌肉接头结构或骨骼肌胞质成分相关的自身抗体达 10 余种,包括乙酰胆碱受体 (acetylcholine receptor, AChR) 抗体、肌肉特异性受体酪氨酸激酶 (muscle-specific receptor tyrosine kinase, MuSK) 抗体、低密度脂蛋白受体相关蛋白 4 (low-density lipoprotein receptor-related protein 4, LRP4) 抗体、连接素 (titin) 抗体、兰尼碱受体 (RyR) 抗体、聚集蛋白 (agrin) 抗体、Kv1.4 抗体、ColQ 蛋白抗体、皮质蛋白 (cortactin) 抗体、胶原 XIII (collagen XIII) 抗体和突触受体关联蛋白 (rapsyn) 抗体等<sup>[1]</sup>。欧美国家如美国和英国等将 AChR 和 MuSK 抗体作为临床表现高度提示 MG 患者的首选诊断指标<sup>[2-3]</sup>, 抗体阴性患者再进行其他辅助诊断如重复神经电刺激、单纤维肌电图等来进行 MG 诊断<sup>[3-6]</sup>。我国 MG 诊断和治疗指南 (2020 版) 提到在患者具有典型 MG 临床特征 (波动性肌无力) 的基础上, 满足药理学检查、电生理学特征以及血清抗 AChR 和 MuSK 等抗体检测中的任意 1 项即可作出 MG 诊断<sup>[7]</sup>。因此, 抗 AChR 和 MuSK 抗体是国内外 MG 诊断的重要实验室检测指标。在实验室检测中, AChR 和 MuSK 抗体具有多种检测方法学。本专家共识结合当前 MG 自身抗体诊断方法学研究进展, 对 MG 自身抗体的检测方法学选择给出指导性建议。

#### 一、AChR 和 MuSK 抗体检测方法学概况

对于 AChR 抗体和 MuSK 抗体常见的检测方法包括放射免疫沉淀法 (radioimmunoprecipitation assay, RIPA)、酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 和细胞免疫荧光法 (cell-based assay, CBA), 既往研究表明这些检测方法的特异度和敏感度存在客观差异。

方法学选择影响自身抗体检测结果的准确性。以 MG 最常见的 AChR 抗体检测为例, 国内外研究结果表明: (1) AChR 抗体的 RIPA 检测方法具有高特异度 (99%)<sup>[8]</sup>。在敏感度方面, RIPA 可以在约 85% 的全身型 MG 和 50% 的眼肌型 MG 患者血清中检测到 AChR 抗体<sup>[9]</sup>。RIPA 的自身局限性包括放射性核素的使用、对眼肌型 MG 的 AChR 抗体检出率偏低和不能完全避免假阳性等<sup>[10]</sup>。(2) AChR 抗体的 ELISA 检测具有易操作的标准化试剂盒和可以抗体定量分析等优势。在敏感度方面除个别研究外<sup>[11]</sup>, 多数研究结果提示 ELISA 对检测 MG 患者 AChR 等抗体的敏感度低于 RIPA 或 CBA<sup>[5, 12-15]</sup>。(3) AChR 抗体的 CBA 检测方法有 10 余年的发展历

程。与 RIPA 相比, CBA 对 AChR 抗体具有相似的高特异度, 同时 CBA 能显著提高 RIPA 血清阴性 MG 样本的 AChR 抗体检出率。例如, 国内外研究表明 CBA 可以从 21%~56% 的 RIPA AChR 阴性血清中检测到 AChR 抗体<sup>[16-19]</sup>。这种敏感度差异主要在于 CBA 提高了对低丰度或聚集性 AChR 抗体的检出率<sup>[17, 20]</sup>。聚集性 AChR 抗体具有致病性和激活补体反应<sup>[21]</sup>, 常见于眼肌型 MG 患者 (68.8%), 也可存在于全身型 MG 患者 (18.8%)<sup>[22]</sup>。这种 CBA 阳性、RIPA 阴性的聚集性 AChR 抗体越来越受到临床关注<sup>[21]</sup>, 部分国家已将 CBA 作为低丰度或聚集性 AChR 检测的推荐方法写入 MG 诊断指南<sup>[23]</sup>。CBA 的局限性在于标准化产品少, 在国内外主要以临床实验室自建项目 (laboratory developed test) 提供服务。

MuSK 抗体常见于部分 AChR 抗体阴性的 MG 患者 (10%~40%)<sup>[20, 24-25]</sup>, 少数情况下与 AChR 抗体或 LRP4 抗体共同存在<sup>[13, 26-27]</sup>。RIPA 对 MuSK 抗体检测的特异度接近 100%<sup>[28]</sup>, 但在不同研究中 RIPA 对 MuSK 抗体的检出率存在较大差异 (0~70%)<sup>[29-35]</sup>, 因此 RIPA 对 MuSK 抗体检测的敏感度仍待进一步研究。MuSK 抗体的 ELISA 检测具备商业化试剂盒, 研究提示 ELISA 对 MuSK 抗体检测的敏感度略低于 RIPA 和 CBA<sup>[13, 36]</sup>。CBA 对 MuSK 抗体同样具有类似 RIPA 的高特异度, 在敏感度方面也有一定程度改善。例如, 一项包含 633 例经 RIPA 法检测 AChR 和 MuSK 抗体双阴性的 MG 样本研究结果显示, CBA 对 MG 抗体双阴性患者的 MuSK 抗体的检出率提高了 13% (83/633), 同时 CBA 对 RIPA 检测结果为 MuSK 抗体阳性患者的检出率为 100% (79/79), 正常对照的 MuSK 抗体阳性率为 1.9% (3/162)<sup>[26]</sup>。另外, 在包含 11 例和 177 例 RIPA MuSK 抗体阴性的小样本研究中, CBA 对 MuSK 抗体的检出率比 RIPA 提高 8%~9%, 同时特异度达 100%<sup>[37-38]</sup>。

综上所述, RIPA、ELISA 和 CBA 对 AChR 和 MuSK 抗体的诊断效能存在差异, 在对 AChR 和 MuSK 抗体进行定性和定量分析时, 需要结合各方法的优势提高抗体诊断的准确性。本专家共识有关 MG 自身抗体实验室诊断推荐内容的推荐级别和证据级别划分见表 1。

#### 二、MG 自身抗体的实验室诊断推荐

1. 临床表现高度提示 MG 的患者, 在条件允许的情况下建议将 AChR 抗体和 MuSK 抗体检测作为首选辅助检测手段 (I 级推荐, 1a 级证据)。

表 1 本专家共识的推荐级别和证据级别划分

Table 1 Classification and recommended levels of evidence in this consensus

推荐级别	证据级别	证据特征
I 级:推荐	1a	质量一流的诊断性研究的系统综述或经验证的临床实践指南
	1b	诊断性研究:纳入对象适当,且与“金标准”进行同步、盲法比较
II 级:建议	2a	质量水平低于 I 级证据的诊断性研究的系统综述
	2b	诊断性研究:纳入对象范围有局限性,与“金标准”进行同步、盲法比较
III 级:可选择	3	诊断性研究:纳入对象范围适当但未全部接受“金标准”试验
IV 级:不推荐	4	诊断性研究:纳入对象范围不适当或未与“金标准”进行盲法、同步比较
	5	非诊断性研究,包括专家意见或基于生理、病理和基础研究的证据等

**推荐说明:**本推荐意见参考了 MG 相关诊疗指南和专著<sup>[2-4]</sup>。AChR 抗体和 MuSK 抗体具有高度的 MG 疾病诊断特异度,是国内外指南普遍认可的 MG 诊断指标之一。结合患者临床特征,血清 AChR 或 MuSK 抗体是 MG 诊断和鉴别诊断的重要参考依据。

2. MG 患者血清 AChR 抗体或 MuSK 抗体的定性分析,建议:(1)在条件允许的情况下优先考虑高敏感度的 CBA 法;(2)若诊断方法为 ELISA 或 RIPA,建议对检测结果为阴性的样本用 CBA 进一步验证,或结合临床表现和其他辅助诊断结果进行综合判定。

AChR 抗体或 MuSK 抗体的定量分析,建议用 ELISA 或 RIPA 进行抗体定量,用 CBA 进行抗体半定量。

AChR 抗体或 MuSK 抗体的定性分析可用于 MG 的诊断和鉴别诊断等,定量分析可用于监测 MG 患者的疾病进展或疗效评估等(I 级推荐,1b 级证据)。

**推荐说明:**本推荐内容参考国内外 AChR 和 MuSK 抗体诊断指南和方法学研究进展<sup>[11-13, 16-18, 22-23, 26, 35, 38-40]</sup>。AChR 和 MuSK 抗体的定性和定量分析策略兼顾了 RIPA、ELISA 和 CBA 的技术优势、时效性和临床可及性差异。需要注意的是,本推荐内容不涉及 RIPA、ELISA 和 CBA 的产品来源和诊断机构选择,临床诊断时要根据检测结果的临床符合度自行选择具体的产品服务和检测机构。

3. LRP4 抗体在 MG 中的致病性有待进一步研究,LRP4 抗体也常出现于其他疾病如肌萎缩侧索

硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)。在 MG 自身抗体检测中,单纯 LRP4 抗体阳性应结合临床进行诊断,并注意与 ALS 的区分(I 级推荐,1b 级证据)。

**推荐说明:**LRP4 抗体对 MG 疾病诊断的特异度偏低,不同研究结果的检出率也存在较大差异。例如有研究结果显示 2%~45% 的 AChR 和 MuSK 抗体双阴性 MG 患者存在 LRP4 抗体<sup>[41-43]</sup>。同时,9.8%~23.4% 的 ALS 患者血清内也存在 LRP4 抗体<sup>[44-45]</sup>。

4. 除 AChR 抗体和 MuSK 抗体外,MG 其他相关自身抗体的实验室诊断方法学选择证据不足,目前尚无明确的方法学推荐建议。

5. 临床诊断为抗体阴性的 MG 患者,建议间隔 6~12 个月或症状进展后进行 MG 相关抗体复测(II 级推荐,2b 级证据)。

**推荐说明:**研究表明部分 RIPA 检测结果为 AChR 和 MuSK 抗体双阴性的 MG 患者,间隔 12 个月后重新采样的血清中存在抗体转阳的情况<sup>[46]</sup>。需要注意的是,ELISA 和 CBA 检测缺乏相关的研究,尚无证据提示 ELISA 和 CBA 检测最初抗体为阴性的患者何时复查可能发现阳性,需要进一步的研究证据支持。

### 三、影响 RIPA、ELISA 和 CBA 检测准确性的共性因素分析

在 MG 自身抗体实验室诊断中,一些常见的共性因素可能影响 RIPA、ELISA 和 CBA 检测结果的准确性,包括:(1)各检测方法抗原的选择。抗原的含量、序列和空间构象等影响血清抗体的结合和检出率,因此检测时要考虑抗原抗体最适比例(等价带)、抗原的抗体识别区和抗原表位特征等。例如,CBA 通过表达聚集性 AChR 抗原能够提高 RIPA 抗体阴性血清中 AChR 抗体的检出率。(2)检测限(limit of detection)的限制。任何检测方法对血清中抗体含量的敏感度都是有限的,当血清中目标抗体的浓度接近或低于检测限时会存在无法准确判读的临界结果,造成假阴性或假阳性,这些情况需要结合临床或用其他辅助检测进行进一步诊断确认。(3)室间检测条件的差异。如前所述各检测机构间的检测设备、试剂选择、检测环境、操作规范和人员专业化程度等因素差异会影响检测结果的准确性或室间一致性。(4)血清抗体的非特异交叉反应。临床上,待检测血清成分复杂且个体差异大。血清中大量的非目标抗体具有与靶抗原或检测基





质非特异交叉反应结合的可能性,当检测方法无法区分这种非特异性结合时(如 ELISA、RIPA 或单荧光 CBA),会造成检测结果的假阳性。

一些措施被用于改善检测结果的特异度。例如,适当提高检测方法(如 ELISA、RIPA 或 CBA)的判读界值来提升检测结果的特异度,但相应地会降低抗体的检出率。此外,采用含内参的双荧光 CBA 替代单荧光 CBA,从而实现对靶抗原表达细胞和非表达细胞的区分,在检测时可以分辨血清成分的非特异结合信号,从而提高检测结果的特异度(图 1)。

临床上存在各检测方法检测 AChR 和 MuSK 抗体均为阴性的 MG 患者。AChR 和 MuSK 抗体阴性的主要原因包括:(1)MG 患者体内 AChR 或 MuSK 抗体含量过低,无法达到当前检测方法的检测下限;(2)采样时间差异,MG 患者病程及治疗的不同阶段体内 AChR 或 MuSK 抗体含量存在有无和高低的波动;(3)其他 MG 致病性抗体的存在。对于 AChR 和 MuSK 抗体双阴性的 MG 患者,抗体复测的时间间隔和作用有待更多的研究明确。

需要注意的是,MG 的临床诊断不能完全依赖自身抗体的检测结果。一方面,部分抗体阴性患者的临床表现符合 MG 的疾病特征,无法排除患 MG 的可能性。另一方面,AChR 抗体阳性并不一定是 MG 患者。一些研究表明,少数非 MG 人群(1.44%)以及其他自身免疫病患者(如 6.25% 的视神经脊髓炎患者)的血清中存在 AChR 抗体<sup>[47-48]</sup>。此外,受抗体检测机构质控和临界值判读标准差异的影响,抗体检测结果不是绝对准确的,存在假阳性和假阴性的可能性。因此,MG 临床诊断除了参考自身抗体指标,一定要结合患者的临床表现和其他非抗体诊断指标和随访等进行综合判定。

近年来,国内外有关 AChR 和 MuSK 抗体的诊断方法学研究为本专家共识提供了参考依据。除了 AChR 和 MuSK 抗体,目前 MG 其他自身抗体的实

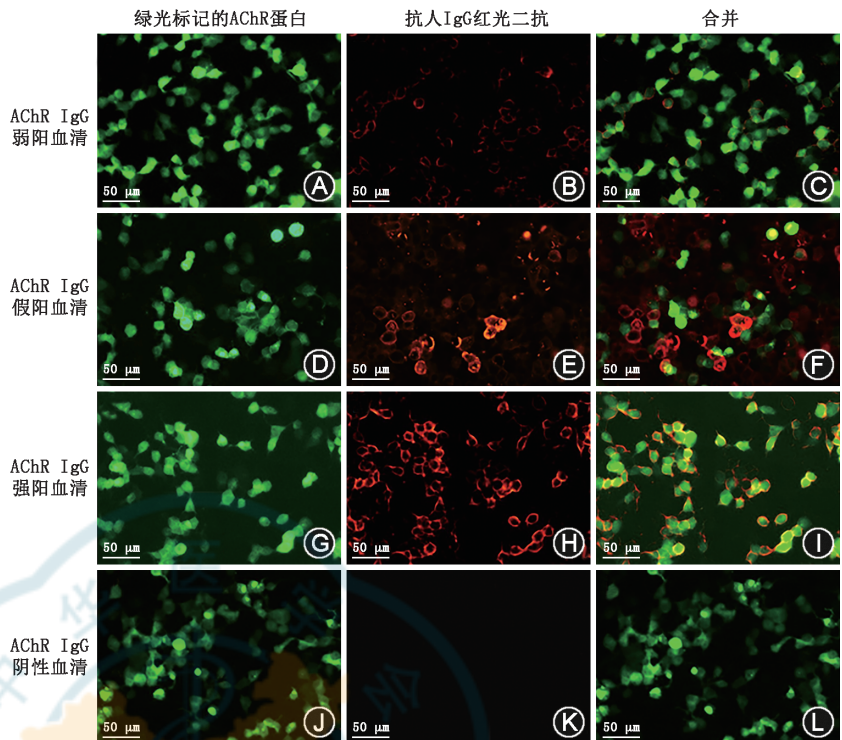


图 1 重症肌无力乙酰胆碱受体(AChR)抗体细胞免疫荧光法(CBA)检测的双荧光判读示意图(本图为原创图片)。如图所示,体外培养的 293 细胞转染人完整的 AChR 和突触受体关联蛋白(rapsyn),并采用绿色荧光蛋白(GFP)作为 AChR 抗原阳性细胞的标记。当 AChR 抗原阳性细胞与待检血清进行孵育后,血清内的 AChR IgG 抗体特异结合到 293 细胞表达的 AChR 抗原上。再通过孵育荧光或辣根标记抗人 IgG 二抗,直接通过荧光显微镜或进一步利用酪胺信号放大技术(TSA)把结合到细胞上的 AChR 抗体转化为红色荧光信号,实现对血清内 AChR IgG 的定性和半定量判读。血清 AChR 抗体弱阳性[放射免疫沉淀法(RIPA)阴性]且临床症状符合 MG 患者的代表性图片(A~C)。红色信号与 AChR-GFP 绿色信号完全重合,提示血清内存在和 AChR 抗原特异性结合的抗体。血清 AChR 抗体假阳性代表性图片(D~F)。红色信号与 AChR-GFP 绿色信号不完全重合,提示患者血清内没有和 AChR 抗原特异性结合的抗体,红色信号为非特异性信号。血清 AChR 抗体阳性对照(G~I)。血清 AChR 抗体阴性对照(J~L)

Figure 1 Schematic diagram of serum acetylcholine receptor antibody in myasthenia gravis interpreted by cell-based assay

实验室诊断方法学比对研究较少,推荐证据不足,仍有待于进一步研究。

执笔 李治国(天津医科大学总医院 京津神经免疫中心)

专家委员会成员(按姓氏汉语拼音排序) 卜碧涛(华中科技大学同济医学院附属同济医院)、常婷(空军军医大学唐都医院)、陈晟(上海交通大学附属瑞金医院)、成江(宁夏医科大学总医院)、段瑞生[山东第一医科大学第一附属医院(山东省千佛山医院)]、冯慧宇(中山大学附属第一医院)、冯娟(中国医科大学附属盛京医院)、付莹(福建医科大学附属第一医院)、管阳太(上海交通大学附属仁济医院)、郝峻巍(首都医科大学宣武医院)、侯世芳(北京医院)、黄德晖(解放军总医院)、金涛(吉林大学第一医院)、金薇娜(国家神经系统疾病临床医学研究中心)、李春阳(内蒙古医科大学附属医院)、李晓玲(兰州大学第二医院)、刘洪波(郑州大

学第一附属医院)、刘建国(战略支援部队特色医学中心)、刘明媛(上海中医药大学附属岳阳医院)、龙友明(广州医科大学附属第二医院)、戚晓昆(解放军第六医学中心)、邱伟(中山大学附属第三医院)、全超(复旦大学附属华山医院)、施福东(天津医科大学总医院 京津神经免疫中心)、檀国军(河北医科大学第二医院)、唐玉兰(广西医科大学第一附属医院)、汪鸿浩(南方医科大学南方医院)、王化冰(首都医科大学附属北京天坛医院)、王佳伟(首都医科大学附属北京同仁医院)、王胜军(山东大学齐鲁医院)、徐雁(中国医学科学院北京协和医院)、徐竹(贵州医科大学附属医院)、杨春生(天津医科大学总医院)、杨春晓(哈尔滨医科大学附属第二医院)、杨欢(中南大学湘雅医院)、张存金(南京大学医学院附属鼓楼医院)、张美妮(山西医科大学第一医院)、张勤(四川大学华西医院)、张旭(温州医科大学附属第一医院)、赵奕楠(中国医科大学附属第一医院)、周官恩(天津市环湖医院)

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**志谢** 学组外专家参与本专家共识的讨论、修订和审阅。参与本专家共识的学组外专家(按姓氏汉语拼音排序) 董会卿(首都医科大学宣武医院)、高峰(河南省医药科学研究所)、郝洪军(北京大学第一医院)、杨丽(天津医科大学总医院)、赵重波(复旦大学附属华山医院)、张超(天津医科大学总医院)

### 参 考 文 献

- [1] Lazaridis K, Tzartos SJ. Myasthenia gravis: autoantibody specificities and their role in MG management[J]. *Front Neurol*, 2020, 11: 596981. DOI: 10.3389/fneur.2020.596981.
- [2] Sussman J, Farrugia ME, Maddison P, et al. Myasthenia gravis: association of British neurologists' management guidelines[J]. *Pract Neurol*, 2015, 15(3): 199-206. DOI: 10.1136/practneurol-2015-001126.
- [3] Meriglioli MN, Sanders DB. Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity[J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8(5): 475-490. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70063-8.
- [4] Gilhus NE, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies[J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(10): 1023-1036. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00145-3.
- [5] Gilhus NE, Tzartos S, Evoli A, et al. Myasthenia gravis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 30. DOI: 10.1038/s41572-019-0079-y.
- [6] Pasnoor M, Dimachkie MM, Farmakidis C, et al. Diagnosis of myasthenia gravis[J]. *Neurol Clin*, 2018, 36(2): 261-274. DOI: 10.1016/j.ncl.2018.01.010.
- [7] 中国免疫学会神经免疫分会. 中国重症肌无力诊断和治疗指南(2020版)[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2021, 28(1): 1-12. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2963.2021.01.001. Chinese Society of Neuroimmunology. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of myasthenia gravis (2020 edition) [J]. *Chin J Neuroimmunol Neurol*, 2021, 28(1): 1-12. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2963.2021.01.001.
- [8] Patrick J, Lindstrom J, Culp B, et al. Studies on purified eel acetylcholine receptor and anti-acetylcholine receptor antibody[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1973, 70(12): 3334-3338. DOI: 10.1073/pnas.70.12.3334.
- [9] Benatar M. A systematic review of diagnostic studies in myasthenia gravis[J]. *Neuromuscul Disord*, 2006, 16(7): 459-467. DOI: 10.1016/j.nmd.2006.05.006.
- [10] Maddison P, Sadalage G, Ambrose PA, et al. False-positive acetylcholine receptor antibody results in patients without myasthenia gravis[J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 332: 69-72. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.04.001.
- [11] Hewer R, Matthews I, Chen S, et al. A sensitive non-isotopic assay for acetylcholine receptor autoantibodies[J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 364(1-2): 159-166. DOI: 10.1016/j.cccn.2005.05.035.
- [12] Martino G, Twaddle G, Brambilla E, et al. Detection of anti-acetylcholine receptor antibody by an ELISA using human receptor from a rhabdomyosarcoma cell line[J]. *Acta Neurol Scand*, 1994, 89(1): 18-22. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1994.tb01626.x.
- [13] Han J, Zhang J, Li M, et al. A novel MuSK cell-based myasthenia gravis diagnostic assay[J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 337: 577076. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.577076.
- [14] Lazaridis K, Tzartos SJ. Autoantibody specificities in myasthenia gravis; implications for improved diagnostics and therapeutics[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 212. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00212.
- [15] Yan C, Li W, Song J, et al. Cell-Based Versus Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of acetylcholine receptor antibodies in Chinese juvenile myasthenia gravis [J]. *Pediatr Neurol*, 2019, 98: 74-79. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.01.016.
- [16] Chang T, Leite MI, Senanayake S, et al. Clinical and serological study of myasthenia gravis using both radioimmunoprecipitation and cell-based assays in a South Asian population[J]. *J Neurol Sci*, 2014, 343(1-2): 82-87. DOI: 10.1016/j.jns.2014.05.037.
- [17] Cai Y, Han L, Zhu D, et al. A stable cell line expressing clustered AChR: a novel cell-based assay for anti-AChR antibody detection in myasthenia gravis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 666046. DOI: 10.3389/fimmu.2021.666046.
- [18] Leite MI, Jacob S, Viegas S, et al. IgG1 antibodies to acetylcholine receptors in 'seronegative' myasthenia gravis [J]. *Brain*, 2008, 131(Pt 7): 1940-1952. DOI: 10.1093/brain/awn092.
- [19] Mirian A, Nicolle MW, Edmond P, et al. Comparison of fixed cell-based assay to radioimmunoprecipitation assay for acetylcholine receptor antibody detection in myasthenia gravis[J]. *J Neurol Sci*, 2022, 432: 120084. DOI: 10.1016/j.jns.2021.120084.
- [20] Oger J, Frykman H. An update on laboratory diagnosis in myasthenia gravis[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 449: 43-48. DOI: 10.1016/j.cca.2015.07.030.
- [21] Masi G, Li Y, Karatz T, et al. The clinical need for clustered AChR cell-based assay testing of seronegative MG[J]. *J Neuroimmunol*, 2022, 367: 577850. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2022.577850.
- [22] Rodríguez Cruz PM, Al-Hajjar M, Huda S, et al. Clinical features and diagnostic usefulness of antibodies to clustered acetylcholine receptors in the diagnosis of seronegative myasthenia gravis[J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(6): 642-649. DOI: 10.1001/jamaneurol.2015.0203.
- [23] Andreetta F, Rinaldi E, Bartocioni E, et al. Diagnostics of myasthenic syndromes: detection of anti-AChR and



- anti-MuSK antibodies[J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(Suppl 2): 253-257. DOI: 10.1007/s10072-017-3026-2.
- [24] Oh SJ. Muscle-specific receptor tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis current status[J]. *J Clin Neurol*, 2009, 5(2): 53-64. DOI: 10.3988/jcn.2009.5.2.53.
- [25] Wolfe GI, Oh SJ. Clinical phenotype of muscle-specific tyrosine kinase-antibody-positive myasthenia gravis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1132: 71-75. DOI: 10.1196/annals.1405.005.
- [26] Tsonis AI, Zisimopoulou P, Lazaridis K, et al. MuSK autoantibodies in myasthenia gravis detected by cell based assay—a multinational study[J]. *J Neuroimmunol*, 2015, 284: 10-17. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2015.04.015.
- [27] Ohta K, Shigemoto K, Kubo S, et al. MuSK antibodies in AChR Ab-seropositive MG vs AChR Ab-seronegative MG[J]. *Neurology*, 2004, 62(11): 2132-2133. DOI: 10.1212/01.wnl.0000129274.12702.92.
- [28] Matthews I, Chen S, Hewer R, et al. Muscle-specific receptor tyrosine kinase autoantibodies—a new immunoprecipitation assay[J]. *Clin Chim Acta*, 2004, 348(1-2): 95-99. DOI: 10.1016/j.cccn.2004.05.008.
- [29] Chang T, Gunaratne P, Gamage R, et al. MuSK-antibody-positive myasthenia gravis in a South Asian population[J]. *J Neurol Sci*, 2009, 284(1-2): 33-35. DOI: 10.1016/j.jns.2009.03.020.
- [30] Kostera-Pruszczyk A, Kamińska A, Dutkiewicz M, et al. MuSK-positive myasthenia gravis is rare in the Polish population[J]. *Eur J Neurol*, 2008, 15(7): 720-724. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2008.02176.x.
- [31] Niks EH, Kuks JB, Verschuuren JJ. Epidemiology of myasthenia gravis with anti-muscle specific kinase antibodies in The Netherlands[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2007, 78(4): 417-418. DOI: 10.1136/jnnp.2006.102517.
- [32] Illa I, Díaz-Manera JA, Juárez C, et al. "Seronegative" myasthenia gravis and antiMuSK positive antibodies: description of Spanish series[J]. *Med Clin (Barc)*, 2005, 125(3): 100-102. DOI: 10.1157/13076937.
- [33] Shiraishi H, Motomura M, Yoshimura T, et al. Acetylcholine receptors loss and postsynaptic damage in MuSK antibody-positive myasthenia gravis[J]. *Ann Neurol*, 2005, 57(2): 289-293. DOI: 10.1002/ana.20341.
- [34] Scuderi F, Marino M, Colonna L, et al. Anti-p110 autoantibodies identify a subtype of "seronegative" myasthenia gravis with prominent oculobulbar involvement[J]. *Lab Invest*, 2002, 82(9): 1139-1146. DOI: 10.1097/01.lab.0000028144.48023.9b.
- [35] Hoch W, McConville J, Helms S, et al. Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies[J]. *Nat Med*, 2001, 7(3): 365-368. DOI: 10.1038/85520.
- [36] Koneczny I, Stevens JA, De Rosa A, et al. IgG4 autoantibodies against muscle-specific kinase undergo Fab-arm exchange in myasthenia gravis patients[J]. *J Autoimmun*, 2017, 77: 104-115. DOI: 10.1016/j.jaut.2016.11.005.
- [37] Kim MJ, Kim SW, Kim M, et al. Evaluating an in-house cell-based assay for detecting antibodies against muscle-specific tyrosine kinase in myasthenia gravis[J]. *J Clin Neurol*, 2021, 17(3): 400-408. DOI: 10.3988/jcn.2021.17.3.400.
- [38] Huda S, Waters P, Woodhall M, et al. IgG-specific cell-based assay detects potentially pathogenic MuSK-Abs in seronegative MG[J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2017, 4(4): e357. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000357.
- [39] Jacob S, Viegas S, Leite MI, et al. Presence and pathogenic relevance of antibodies to clustered acetylcholine receptor in ocular and generalized myasthenia gravis[J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(8): 994-1001. DOI: 10.1001/archneurol.2012.437.
- [40] Devic P, Petiot P, Simonet T, et al. Antibodies to clustered acetylcholine receptor: expanding the phenotype[J]. *Eur J Neurol*, 2014, 21(1): 130-134. DOI: 10.1111/ene.12270.
- [41] Zhang B, Tzartos JS, Belimezi M, et al. Autoantibodies to lipoprotein-related protein 4 in patients with double-seronegative myasthenia gravis[J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(4): 445-451. DOI: 10.1001/archneurol.2011.2393.
- [42] Pevzner A, Schoser B, Peters K, et al. Anti-LRP4 autoantibodies in AChR- and MuSK-antibody-negative myasthenia gravis[J]. *J Neurol*, 2012, 259(3): 427-435. DOI: 10.1007/s00415-011-6194-7.
- [43] Higuchi O, Hamuro J, Motomura M, et al. Autoantibodies to low-density lipoprotein receptor-related protein 4 in myasthenia gravis[J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(2): 418-422. DOI: 10.1002/ana.22312.
- [44] Rivner MH, Liu S, Quarles B, et al. Agrin and low-density lipoprotein-related receptor protein 4 antibodies in amyotrophic lateral sclerosis patients[J]. *Muscle Nerve*, 2017, 55(3): 430-432. DOI: 10.1002/mus.25438.
- [45] Tzartos JS, Zisimopoulou P, Rentzos M, et al. LRP4 antibodies in serum and CSF from amyotrophic lateral sclerosis patients[J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2014, 1(2): 80-87. DOI: 10.1002/acn3.26.
- [46] Chan KH, Lachance DH, Harper CM, et al. Frequency of seronegativity in adult-acquired generalized myasthenia gravis[J]. *Muscle Nerve*, 2007, 36(5): 651-658. DOI: 10.1002/mus.20854.
- [47] Sun F, Tavella-Burka S, Li J, et al. Positive acetylcholine receptor antibody in nonmyasthenic patients[J]. *Muscle Nerve*, 2022, 65(5): 508-512. DOI: 10.1002/mus.27500.
- [48] Leite MI, Coutinho E, Lana-Peixoto M, et al. Myasthenia gravis and neuromyelitis optica spectrum disorder: a multicenter study of 16 patients[J]. *Neurology*, 2012, 78(20): 1601-1607. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31825644ff.