

重症肌无力个体化治疗研究方法学的几个问题

李海峰

山东大学齐鲁医院神经内科

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.03.001

重症肌无力 (myasthenia gravis, MG) 是常见的神经免疫病, 现已明确乙酰胆碱受体 (acetylcholine receptor, AChR) 抗体、肌肉特异性酪氨酸激酶 (muscle-specific kinase, MuSK) 抗体和低密度脂蛋白相关蛋白 4 (low-density lipoprotein receptor-related protein 4, LRP4) 抗体是致病性抗体, 约 20% 的患者伴有胸腺瘤, MG 的临床表现与抗体和胸腺瘤存在一定关系。MG 在发病年龄、受累肌群、病程、传统免疫抑制疗法的疗效和预后方面有较大的异质性^[1]。对不同临床和免疫学特征的患者给予适合的免疫治疗是个体化治疗的主要目标。随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT) 是治疗研究的最佳证据, 但对于异质性大且复发性病程的疾病, RCT 研究因纳入标准的限定, 其结果的适用范围有限。队列研究基于临床实践, 能解决 RCT 无法达到的真实世界研究问题, 是 RCT 的有力补充^[2]。RCT 和队列研究方法学的进步, 以及临床和实验室数据全面性和准确性的提高是决定研究质量的重要因素^[3]。本文结合国内外 MG 研究方法学进展和自己的研究讨论分层方法、疗效评价及取得准确的临床和生物标志物资料等几个方面的方法学问题。

1 分层方法是个体化治疗的基础

个体化治疗需要形成能预测疗效和预后的工具, 以指导治疗决策^[4]。大多数复杂疾病尚缺乏单一的分子标志物, 分层医学 (stratified medicine) 的目的是将 RCT 和观察性治疗研究中发现的有预测价值的临床特征和分子标志物结合起来, 把异质性疾

病分类为与疗效相关的亚组, 针对不同亚组提供相应的治疗方案, 这是目前大多数疾病个体化治疗的基础^[5]。

1.1 基于亚组分类的分层

MG 治疗研究早期采用临床分型反映 MG 的异质性, 主要有 Osserman 分型^[6] 和美国 MG 基金会 (Myasthenia Gravis Foundation of America, MGFA) 分型^[7], 作为 RCT 和队列研究的基线期资料, 但未考虑与预后的关系。自身抗体最初仅用于 MG 诊断。2003 年 Vincent 等^[8] 提出 AChR 抗体阴性的 MG 亚组, 其中 MuSK 抗体阳性者与 AChR 抗体阳性者在临床表现、疗效和预后方面不同。从此开始把抗体与临床特征结合起来形成 MG 的亚组分类, 不仅将亚组分类作为基线期资料, 也开始关注不同亚组患者的临床、免疫学和遗传学等特征与疗效和预后的关系。

发病年龄、受累肌群、致病性抗体和胸腺病理学是 MG 亚组分类的基础。国际上现有 3 个分类方案^[1,9,10], 包括纯眼肌型、伴胸腺瘤型、不伴胸腺瘤的 AChR 抗体阳性型、MuSK 抗体阳性型和抗体阴性的全身型等亚组, 并按发病年龄分成早发型和晚发型亚组, 但不同方案中亚组的定义不尽相同。由于亚组定义的不同, 在用不同分类方案的研究间无法进行比较或荟萃分析。按这 3 个方案个别患者无法归属任何一类, 且在同一方案中也有符合两个不同亚组定义者 (如眼肌型中也有伴胸腺瘤者, 可被分到眼肌型和伴胸腺瘤型两个亚组), 一些患

基金项目:国家自然科学基金面上项目 (81070963, 81771362); 山东省自然科学基金面上项目 (ZR2010HM019); 山东省重点研发计划 (2016GSF201210); 青岛市民生科技计划 (17-3-3-26-nsh); 山东大学齐鲁医院 (青岛) 研究基金 (QDKY20152D01)

作者简介:李海峰 (1972 -), 男, 博士, 主任医师, 山东大学齐鲁医院青岛院区脑科中心副主任, 神经内科常务副主任, 主要从事神经系统免疫疾病和脑血管病的临床和基础研究。

者因检出多种抗体^[11]而被重复分到不同亚组。这些方案也未考虑儿童患者。

为解决上述问题,我们提出下列分类建议^[12]:

①儿童 MG,参考专家建议分成青春前期(<12岁)和青春期后两型^[13];②伴胸腺瘤的成人 MG;③不伴胸腺瘤 AChR 抗体阳性的成人 MG,因为不同发病年龄和首发受累肌群患者的差异相对较大,故根据发病年龄(50岁)分成早发型和晚发型,或根据受累肌群分成眼肌首发型和全身首发型;④不伴胸腺瘤 AChR 抗体阴性的成人 MG,通常不再细分,但为特定研究可进一步分成 MuSK 抗体阳性、LRP4 抗体阳性等类型。该分类方案路线清晰,使每个患者均被分到一个亚组并避免将同一患者重复分到不同亚组。我们用该分类思路在以中等剂量激素为基础治疗的 MG 队列发现不同 MG 亚组的严重程度和治疗后的预后不同^[14]。

1.2 亚组分类的改进

前述各分类方案基于回顾性研究和专家意见,未经过前瞻性验证。我们发现发病年龄、抗体、胸腺瘤和受累肌群间存在相互作用(如以眼肌受累首发的年轻女性多不伴胸腺瘤且 AChR 抗体阳性)^[15,16],提示以单一临床特征进行分类并不可行。前述方案中用这些特征的特定组合进行分类,是否接近真实尚需验证。主成分分析从可能存在混杂作用的多个因素中发现最主要成分,找到分类的关键特征;聚类分析则将多种特征形成合理组合,将类似的患者将归类到相应亚组。在多种自身免疫病已用这些方法进行亚组分类,不同亚组的预后不同^[17-19]。日本学者用聚类分析在一个 MG 队列得到眼肌型、伴胸腺增生型、AChR 抗体阴性型、伴胸腺瘤型和不伴胸腺异常的 AChR 抗体阳性型等亚组,且发现与疗效有关^[19,20]。我们在自己的 MG 队列用聚类分析也有相似发现(尚未发表资料)。应在不同种族的 MG 队列前瞻性验证地应用这些方法探索与 MG 疗效相关更好的分类方案。

1.3 其他分层方法的探索

连接素(titin)抗体和兰尼碱(ryanodine receptor, RyR)抗体与临床特征和疗效存在一定关系。西方国家的研究报告 titin 和 RyR 抗体阳性患者中全身受累和出现吞咽困难的比例高,患者严重程度改变与 titin 抗体水平的改变密切相关,病情较重,预后也较差^[21-23]。我们也发现以中等剂量激素为基础治疗的中国 MG 队列中 titin 和 RyR 抗体阳性者

较重且预后较差,提示需尽早给这些患者更强的免疫治疗^[14]。我们还发现 AChR 基因多态性在不伴胸腺瘤的成人和儿童患者的关联强度远高于免疫调节分子基因,在儿童的关联强度更高,而在伴胸腺瘤者和 AChR 抗体阴性者无关联^[24,25];AChR 基因多态性与 AChR 抗体水平相关^[24],而 AChR 抗体水平高者相对严重,治疗前严重程度与疗效有关^[15]。这些抗体和基因对疗效的分层价值及能否纳入亚组分类有待于多中心前瞻性研究。

2 个体化治疗研究的疗效评价体系

单一药物在特定临床试验有效并不等同于在临床实践中获得良好预后。良好预后包括减轻严重程度、改善生活质量和尽可能少的不良反应。

2.1 明确的治疗目标

2000 年 MGFA 临床研究指南^[7]提出干预后状况的概念,定义了完全稳定缓解、药物缓解和轻微表现(minimal manifestation, MM)等良好预后状况,也定义了改善、无改变和加重等状况,建议采用 MG 定量评分(quantitative myasthenia gravis score, QMGS)等他评量表来评定。2012 年 MG 临床试验指南^[26]支持使用干预后状况,并建议采用运动功能自评条目比例较高的复合量表(如 MG 复合评分)来评定。2016 年国际专家共识指南^[27]提出日常工作治疗目标,即达到 MM 或更好,此目标也作为队列研究的终点。

但仅少数 MG 中心有判断 MM 的经验,MG 临床实践和临床研究尚缺乏定量测评指导评定^[28]。目前只有一个研究给出了符合 MM 定义的 QMGS 和生活质量评分范围^[29]。我们的初步研究(尚未发表资料)发现相似趋势,但评分范围稍低,说明不同研究者对 MM 的判断还缺乏统一尺度。

2.2 完善的研究框架

MG 的预后由基线期临床特征、治疗强度、依从性、并发症及药效本身等因素决定,遗传因素是否起作用尚未明确。因为免疫治疗需一定时间才能起效,所以研究周期要考虑疗法的起效时间,过短观察期不能发现疗效,尤其在合用激素治疗时,由于激素本身的治疗作用本身就较强,所以需更长时间才能显示出被研究药物的疗效^[30]。MG 临床试验指南^[26]建议以激素为基础治疗,激素减量是重要的疗效指标。结合临床试验指南^[7,26]和治疗共识^[27],MG 的个体化治疗研究(RCT 或队列研究)应在预设起始剂量激素的基础上合用免疫抑制剂或

其他疗法,以 MM 为治疗目标达到稳定改善后开始激素减量。

近来国际上的主流研究用治疗前后严重程度评分改变的平均值^[31]、合用激素的减量^[31,32]及治疗后状况改变^[33]作为一级终点来评定疗效,激素减量可用激素的平均值^[31]或剂量-时间曲线下面积(area under the dose-time curve, AUDTC)^[32]的改变来评定。严重程度评分和治疗后状况的改善和激素减量两个终点要密切结合,不能以增加免疫治疗强度为代价取得严重程度和状况的改善,因为并未改善生活质量^[31]。治疗和观察期较短(如免疫球蛋白)的研究因期间较少有 MG 加重,可用严重程度评分的改变来评定;对更长时间的研究,由于 MG 的复发性病程宜采用干预后状况来评定。

2.3 合理的疗效定义

严重程度的测量是疗效评价的基础,目前已从以医生对疲劳度测量为主的他评方法转向他评与患者对日常生活功能的自评相结合^[26,34]。既往多数研究将改善定义为 QMGs 评分降低 3 分或降低到 0 分^[35,36]。在未经免疫治疗者单用相当于泼尼松 1 mg/kg/d 剂量的激素治疗后 3 个月时,我们用该定义来筛选激素疗效差者,发现糖皮质激素受体的基因多态性与疗效显著相关^[37]。已有研究确定了有临床意义的最小 QMGs 改变^[38]。

上述定义是基于绝对评分改变的成组比较。许贤豪教授提出的相对评分法用(治疗前评分-治疗后评分)/治疗前评分反映每个患者的改变^[39]。由于基线绝对评分不同,与绝对评分成组比较相比,相对评分更适于评价每位患者的疗效^[40]。我们初步研究发现(尚未发表资料)对基线期绝对评分在一定范围者,改善组和未改善组间相对评分改变的比较与两组评分绝对评分改变的成组比较有一致趋势,而对于基线期较轻和过重者,相对评分更敏感。这种思路也体现在其他自身免疫疾病的治疗研究中^[41]。相对评分法是中国研究者对 MG 研究方法的一个重要贡献。

2.4 标准化的疗效评价体系

MG 的临床分型和严重程度评分的准确性和在不同观察者间的一致性是多中心研究的重要问题。我们研究了 Osserman 分型和 MGFA 分型的流程,发现仅靠病史无法得到准确分型,需经过病史+疲劳试验+新斯的明试验的标准化流程确定,且 Osserman 分型的重复性优于 MGFA 分型^[42]。分型的标

准化流程保证了基线期资料的准确性。

我们对国内外常用的 4 个严重程度量表进行多中心评价,发现它们均有良好的信度和效度,适于多中心研究^[43]。进而收集国内 15 个省市 32 名 MG 专家的意见,用 Delphi 法筛选条目形成初始量表^[44],在此基础上编制和考评了适合我国 MG 临床研究的完整量表和简化版自评量表(中华神经科杂志,待发表),以保证多中心研究测量的准确性和一致性。

要注意胆碱酯酶抑制剂对以疲劳度测量为主的他评量表得分的影响,最好在服药 6 h 后检查以获得较真实的严重程度评分^[3,40]。尽管 MG 临床研究指南^[26]对胆碱酯酶抑制剂距离量表测评的时间并无要求,但近期依库珠单抗的临床试验已要求在服药后 10 h 才进行 QMGs 评分^[45]。

2.5 混杂因素

MG 因其复发性病程及多种合并治疗而存在对预后影响的许多变量。Bayes 方法不仅使用基线期变量还充分使用基线到终点的整个过程中的变量形成模型来预测病程和预后,已在多发性硬化研究中用于 RCT 或队列研究中的治疗分层^[46,47],但在 MG 尚未应用。倾向评分法已用于 MG 研究^[33],通过多变量的匹配模拟 RCT 的设计。但如果影响预后的主要变量未被选入用来进行基线期匹配,那么匹配就无法达到模拟 RCT 的效果,还会因并未真正做到匹配而使干预组和对照组在整个观察期的自然病程(如复发)不同,从而对最终预后产生影响^[48]。混杂因素的处理是保证队列研究质量的关键。

3 准确的共享临床资料

共享数据是医学研究的大趋势^[49]。我国 MG 病例资源丰富,合作共享将很快使我国的 MG 研究在国际上取得重要影响。需统一数据收集标准,并经培训后实施。

3.1 标准化的临床信息

每项临床信息均应有标准的定义,尤其是下面两个方面:临床分型和严重程度测量过程中要详细判断哪些症状由 MG 所致,哪些非 MG 所致;首发受累肌群甚至发病年龄的判断在病程较长者也有一定难度,我们用症状问卷逐一询问患者的各肌群受累的症状及演变顺序,根据患者(和家属)与医生共同认定的症状判断。

3.2 通用数据元和注册登记

注册登记可前瞻性地收集临床信息,充分显示疾病全貌。已有一些 MG 注册研究形成了数据库^[50,51]。最为成熟的是美国国立神经病和卒中研究所的神经疾病通用数据元(common data element, CDE)工程中的 MG 专病 CDE^[52],涵盖临床表现、免疫学、电生理特征、共患病、治疗信息和随访中严重程度及生活质量等项目,包括核心数据元、扩展数据元和探索数据元。但该数据库涉及胸腺的 CDE 较少,而胸腺研究已有国际标准化数据库^[53]参考。我们正在以这些为基础结合我们的研究经验编制中国 MG 研究的 CDE 及相应工作手册。编制中不仅纳入研究进展提供的新数据元还纳入既往经典文献中的数据元(如不同年代使用的胸腺瘤分型系统),以登记早期的资料。

4 准确的生物标志物资料

生物标志物是患者特征和疾病状态的反映,与临床资料一起构成了个体化治疗的重要内容。但在临床实践中有多种因素影响生物标志物检测的结果,进而影响其预测疗效的价值。准确的生物标志物资料不仅包括检测值,还包括定量方法及检验前因素。

4.1 定量检验信息的标准化

在多中心研究要统一检测方法和数据报告内容。例如为评估 AChR 抗体能否作为疗效替代指标进行过多个 AChR 抗体水平与严重程度的相关研究,但结果不一致^[54-56],这在一定程度上与抗体检测的原理和定量方法及严重程度的测量方法不同有关。以 ELISA 法检测 AChR 抗体为例,检测结果在间接法可用原始光密度(optical density, OD)值或通过标准曲线转换得到的浓度(nmol/L)报告,亦用阳性血清与阴性血清 OD 值的比值(P/N 比)或最大稀释度的自然对数转换报告,在竞争抑制法还可用抑制率报告。我们用竞争抑制法检测 81 例健康人的 AChR 抗体,发现抑制率的变异系数显著低于转换得到浓度的变异系数且天花板和地板效应更低(尚未发表资料)。

4.2 检验前因素

检验结果会受到检验前因素的影响,包括疾病状况和治疗(如采样时 MG 严重程度、合并其他自身免疫病、感染及治疗情况等),以及样本采集、处理和储存条件。我们用竞争抑制 ELISA 法检测 AChR 抗体,比较了不同储存条件和冻融次数对血清和血浆样本检测值的影响。在室温、4℃ 和冻存

状态下的血清样本和冻存状态下的血浆样本检测值的一致性良好,且冻融 3~5 次对检测值无影响,而在常温和 4℃ 保存的血浆样本的检测值低于前者^[57]。免疫治疗对 AChR 抗体水平有影响^[54-56],但治疗对 AChR、titin 和 RyR 等抗体的阳性率无影响^[14]。而一些不稳定分子(基质金属蛋白酶)的采集、处理和保存过程对检测值有影响^[59],合并感染对细胞因子水平也有明确影响^[60]。这些检验前因素要在数据库中登记,以便在分析上考虑到这些因素。

5 小结

总之,在统一的 CDE 基础上,多中心标准化地采集临床和生物标志物数据,以分层方法为基础,在完善的疗效评价体系下,研究方法学的不断提高将使我们更好利用我国的 MG 病例资源,完成高质量的 MG 个体化治疗研究。

参 考 文 献

- [1] Gilhus NE, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies [J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(10): 1023-1036.
- [2] Frieden TR. Evidence for Health Decision Making-Beyond Randomized, Controlled Trials [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(5): 465-475.
- [3] Li HF, Hong Y, Xie Y, et al. Precision medicine in myasthenia gravis: begin from the data precision [J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(6): 106.
- [4] Jameson JL, Longo DL. Precision medicine--personalized, problematic, and promising [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(23): 2229-2234.
- [5] Matthews PM, Edison P, Geraghty OC, et al. The emerging agenda of stratified medicine in neurology [J]. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10(1): 15-26.
- [6] Osserman KE, Genkins G. Studies in myasthenia gravis: review of a twenty-year experience in over 1200 patients [J]. *Mt Sinai J Med*, 1971, 38(6): 497-537.
- [7] Jaretzki A 3rd, Barohn RJ, Ernstoff RM, et al. Myasthenia gravis: recommendations for clinical research standards [J]. *Neurology*, 2000, 55(1): 16-23.
- [8] Vincent A, Bowen J, Newsom-Davis J, et al. Seronegative generalised myasthenia gravis: clinical features, antibodies, and their targets [J]. *Lancet Neurol*, 2003, 2(2): 99-106.
- [9] Meriggioli MN, Sanders DB. Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity [J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8(5): 475-490.

- [10] Berrih-Aknin S, Frenkian-Cuvelier M, Eymard B. Diagnostic and clinical classification of autoimmune myasthenia gravis [J]. *J Autoimmun*, 2014, 48-49: 143-148.
- [11] 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.
- [12] Li HF, Xie Y, Yue YX. Myasthenia gravis: subgroup classifications [J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(4): 355-356.
- [13] Della Marina A, Trippe H, Lutz S, et al. Juvenile myasthenia gravis: recommendations for diagnostic approaches and treatment [J]. *Neuropediatrics*, 2014, 45(2): 75-83.
- [14] Hong Y, Li HF, Skeie GO, et al. Autoantibody profile and clinical characteristics in a cohort of Chinese adult myasthenia gravis patients [J]. *J Neuroimmunol*, 2016, 298: 51-57.
- [15] 韩继兰, 李海峰, 谢琰臣, 等. 维生素 D 受体基因 Tru91 位点多态性与重症肌无力的相关性研究 [J]. *中华医学杂志*, 2012, 92(29): 2028-2033.
- [16] Yue YX, Hong Y, Xie Y, et al. Association study between IL-17A and IL-17F gene polymorphism and myasthenia gravis in Chinese patients [J]. *Neurol Sci*, 2016, 37(1): 123-130.
- [17] Pes GM, Delitala AP, Errigo A, et al. Clustering of immunological, metabolic and genetic features in latent autoimmune diabetes in adults: evidence from principal component analysis [J]. *Intern Emerg Med*, 2016, 11(4): 561-567.
- [18] Artim-Esen B, Çene E, Şahinkaya Y, et al. Cluster analysis of autoantibodies in 852 patients with systemic lupus erythematosus from a single center [J]. *J Rheumatol*, 2014, 41(7): 1304-1310.
- [19] Akaishi T, Yamaguchi T, Suzuki Y, et al. Insights into the classification of myasthenia gravis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e106757.
- [20] Akaishi T, Suzuki Y, Imai T, et al. Response to treatment of myasthenia gravis according to clinical subtype [J]. *BMC Neurol*, 2016, 16(1): 225.
- [21] Mygland A, Aarli JA, Matre R, et al. Ryanodine receptor antibodies related to severity of thymoma associated myasthenia gravis [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1994, 57(7): 843-846.
- [22] Romi F, Skeie GO, Aarli JA, et al. The severity of myasthenia gravis correlates with the serum concentration of titin and ryanodine receptor antibodies [J]. *Arch Neurol*, 2000, 57(11): 1596-1600.
- [23] Romi F, Gilhus NE, Varhaug JE, et al. Disease severity and outcome in thymoma myasthenia gravis: a long-term observation study [J]. *Eur J Neurol*, 2003, 10(6): 701-706.
- [24] Li HF, Hong Y, Zhang X, et al. Gene polymorphisms for both auto-antigen and immune-modulating proteins are associated with the susceptibility of autoimmune myasthenia gravis [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(6): 4771-4780.
- [25] Hong Y, Skeie GO, Zisimopoulou P, et al. Juvenile-onset myasthenia gravis: autoantibody status, clinical characteristics and genetic polymorphisms [J]. *J Neurol*, 2017, 264(5): 955-962.
- [26] Benatar M, Sanders DB, Burns TM, et al. Recommendations for myasthenia gravis clinical trials [J]. *Muscle Nerve*, 2012, 45(6): 909-917.
- [27] Sanders DB, Wolfe GI, Benatar M, et al. International consensus guidance for management of myasthenia gravis; Executive summary [J]. *Neurology*, 2016, 87(4): 419-425.
- [28] Li HF, Xie Y, Hong Y. Letter re: International consensus guidance for management of myasthenia gravis; Executive summary [J]. *Neurology*, 2017, 88(5): 505.
- [29] Masuda M, Utsugisawa K, Suzuki S, et al. The MG-QOL15 Japanese version: validation and associations with clinical factors [J]. *Muscle Nerve*, 2012, 46(2): 166-173.
- [30] Sanders DB, Siddiqi ZA. Lessons from two trials of mycophenolate mofetil in myasthenia gravis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1132: 249-253.
- [31] Wolfe GI, Kaminski HJ, Aban IB, et al. Randomized trial of thymectomy in myasthenia gravis [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(6): 511-522.
- [32] Pasnoor M, He J, Herbelin L, et al. A randomized controlled trial of methotrexate for patients with generalized myasthenia gravis [J]. *Neurology*, 2016, 87(1): 57-64.
- [33] Brenna G, Antozzi C, Montomoli C, et al. A propensity score analysis for comparison of T-3b and VATET in myasthenia gravis [J]. *Neurology*, 2017, 89(2): 189-195.
- [34] Muppidi S. Outcome Measures in Myasthenia Gravis: Incorporation Into Clinical Practice [J]. *J Clin Neuromuscul Dis*, 2017, 18(3): 135-146.
- [35] Barohn RJ, McIntire D, Herbelin L, et al. Reliability testing of the quantitative myasthenia gravis score [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, 841: 769-772.
- [36] Bedlack RS, Simel DL, Bosworth H, et al. Quantitative myasthenia gravis score: assessment of responsiveness and longitudinal validity [J]. *Neurology*, 2005, 64(11): 1968-1970.
- [37] Xie Y, Meng Y, Li HF, et al. GR gene polymorphism is associated with inter-subject variability in response to glucocorticoids in patients with myasthenia gravis [J]. *Eur J Neurol*, 2016, 23(8): 1272-1279.
- [38] Katzberg HD, Barnett C, Merkies ISJ, et al. Minimally clinically important difference in myasthenia gravis: outcomes from a randomized trial [J]. *Muscle Nerve*, 2014, 49(5): 661-665.
- [39] 王秀云, 许贤豪, 孙宏, 等. 重症肌无力病人的临床绝对评分法和相对评分法 [J]. *中华神经科杂志*, 1997, 30(2): 87-90.
- [40] Li HF, Gao X, Xie YC. Recommendations for myasthenia gravis clinical trials [J]. *Muscle Nerve*, 2013, 47(1): 144-145.
- [41] Quax RA, Koper JW, Huisman AM, et al. Polymorphisms in the

- glucocorticoid receptor gene and in the glucocorticoid-induced transcript 1 gene are associated with disease activity and response to glucocorticoid bridging therapy in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2015, 35(8): 1325-1333.
- [42] 刘培,李海峰,高翔,等. 系统化临床检查对重症肌无力受累范围和分型判断的价值[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2013, 20(4): 241-245.
- [43] 高翔,张栩,杨欢,等. 重症肌无力严重程度量表的评价[J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(5): 375-381.
- [44] 王琳,高翔,夏梦,等. 应用 Delphi 法结合前期条目评价建立重症肌无力严重程度新量表[J]. *中华神经科杂志*, 2017, 50(10): 730-736.
- [45] Howard JF Jr, Utsugisawa K, Benatar M, et al. Safety and efficacy of eculizumab in anti-acetylcholine receptor antibody-positive refractory generalised myasthenia gravis (REGAIN): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre study [J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(12): 976-986.
- [46] Bergamaschi R, Berzuini C, Romani A, et al. Predicting secondary progression in relapsing-remitting multiple sclerosis: a Bayesian analysis[J]. *J Neurol Sci*, 2001, 189(1-2): 13-21.
- [47] Bergamaschi R, Montomoli C, Mallucci G, et al. BREMSO: a simple score to predict early the natural course of multiple sclerosis [J]. *Eur J Neurol*, 2015, 22(6): 981-989.
- [48] American Academy of Neurology Publications [EB/OL]. http://www.neurology.org/content/89/2/189/reply#neurology_el_66226.
- [49] Taichman DB, Sahni P, Pinborg A, et al. Data Sharing Statements for Clinical Trials-A Requirement of the International Committee of Medical Journal Editors [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(23): 2277-2279.
- [50] Baggi F, Mantegazza R, Antozzi C, et al. Patient registries: useful tools for clinical research in myasthenia gravis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1274: 107-113.
- [51] Fulvio B, Mantegazza R. European database for myasthenia gravis: a model for an international disease registry[J]. *Neurology*, 2014, 83(2): 189-191.
- [52] National Institute of Neurological Disorders and Stroke [EB/OL]. http://www.commondataelements.ninds.nih.gov/NMD.aspx?subDiseaseId=DMD#tab=Data_Standards
- [53] Huang J, Ahmad U, Antonicelli A, et al. Development of the international thymic malignancy interest group international database: an unprecedented resource for the study of a rare group of tumors [J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(10): 1573-1578.
- [54] Oosterhuis HJ, Limburg PC, Hummel-Tappel E, et al. Anti-acetylcholine receptor antibodies in myasthenia gravis. Part 2. Clinical and serological follow-up of individual patients[J]. *J Neurol Sci*, 1983, 58(3): 371-385.
- [55] Heldal AT, Eide GE, Romi F, et al. Repeated acetylcholine receptor antibody concentrations and association to clinical myasthenia gravis development[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114060.
- [56] Sanders DB, Burns TM, Cutter GR, et al. Does change in acetylcholine receptor antibody level correlate with clinical change in myasthenia gravis? [J]. *Muscle Nerve*, 2014, 49(4): 483-486.
- [57] Hong Y, Hao HJ, Xie YC, et al. Effect of storage conditions and freeze/thaw cycles on serum and plasma levels of anti-acetylcholine receptor (AChR) antibody[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2014, 52(6): e103-e105.
- [58] Sulik A, Wojtkowska M, Oldak E. Preanalytical factors affecting the stability of matrix metalloproteinase-2 concentrations in cerebrospinal fluid[J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 392(1-2): 73-75.
- [59] McClain MT, Henao R, Williams J, et al. Differential evolution of peripheral cytokine levels in symptomatic and asymptomatic responses to experimental influenza virus challenge[J]. *Clin Exp Immunol*, 2016, 183(3): 441-451.