

의학 석사학위 논문

중증근무력증 환자에서의  
아세틸콜린수용체 항체 농도

아주대학교 대학원

의학과

이진수



# 중증근무력증 환자에서의 아세틸콜린수용체 항체 농도

- 임상적 중증도, 신경생리학적 소견 및  
혈중 사이토카인과의 상관관계

지도교수 주 인 수

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2005년 2월

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

이 진 수

이진수의 의학석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 주 인 수 인

심 사 위 원 방 오 영 인

심 사 위 원 이 용 범 인

아 주 대 학 교 대 학 원

2004년 12월 22일

## 중증근무력증 환자에서의 아세틸콜린수용체 항체 농도

### - 임상적 중증도, 신경생리학적 소견 및 혈중 사이토카인과의 상관관계

중증근무력증은 신경근육이음부의 손상으로 안검하수, 복시, 근력약화 등을 나타내는 자가면역질환이다. 중증근무력증 환자의 80-90%에서 아세틸콜린수용체에 대한 항체가 발견되고 면역학적 기술을 이용한 전자현미경을 통해 IgG 항체가 아세틸콜린 수용체 가까이에 있음이 증명되었다. 환자 혈청에서 IgG를 추출하여 쥐에 주입하면 쥐에서 중증근무력증 증상이 나타나고 혈장교환술 같이 항체를 감소시키는 면역치료를 했을 때 증상이 호전되는 점 등이 이를 뒷받침한다. 그러나 실제로 아세틸콜린수용체 항체의 농도에 대한 환자의 중증도는 일정하지 않아 이 농도의 수치로 환자를 평가하는 부분은 제한적이다. 일반적으로 외래에서 신경과 의사들이 추적 진료하는 환자들은 여러 종류의 면역 치료와 보조 치료를 받고 있다. 이들이 공통적으로 이 항체의 농도에 영향 받고 있는 점들을 고찰하고자 임상적 중증도 뿐만 아니라 반복신경자극검사의 최대감소율 및 관련된 사이토카인 농도와의 상관관계를 분석하였다.

1999년 1월 1일부터 2004년 2월 29일까지 아주대학교병원 신경과에서 중증근무력증으로 진단받은 환자들을 대상으로 하였다. 진단은 특징적인 임상 증상과 네오스티그민 투여 검사, 반복신경자극검사 그리고 혈중 아세틸콜린수용체 항체 농도 중 한가지 이상에서 양성을 보이는 경우로 하였다. 임상적 중증도는 quantitative myasthenia gravis score (QMGS)를 사용하였다. 반복신경자극검사는 눈둘레근과 새끼벌립근에서 5회 반복하여 평가하였다. 항아세틸콜린수용체 항체 농도는 0.2 nmol/L 이상의 경우 양성으로 판정하였다. 사이토카인은 TNF- $\alpha$ ,

IL-6, IL-10 및 IL-4에 대해 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 사용하여 측정하였다. 아세틸콜린수용체 농도와 QMGS 점수, 반복신경자극검사의 최대 감소율, 그리고 사이토카인 농도와의 Pearson 상관관계를 SPSS 10.0을 이용하여 측정하였다.  $P < 0.05$  일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

환자들은 모두 33명이 포함되었고 남자가 12명, 여자가 21명 이었다. 동반질환으로 흉선종 8명, 흉선과형성 5명, 갑상선 항진증 3명이 포함되어 있었다. 26명의 환자에서 스테로이드나 azathioprine, mycophenolate mofetil을 단독 혹은 조합하여 치료 받고 있었다. 사이토카인의 농도를 제조회사의 프로토콜에 따라 측정했을 때 TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10에서 모두 음의 값으로 나와 통계처리를 할 수 없었다. 시료를 희석하였을 때 TNF- $\alpha$ 의 경우 7명만이 음의 값을 보여 26명 환자의 농도로 통계처리 하였다. 아세틸콜린수용체 항체 농도와의 상관관계를 구하였을 때 임상적 중증도와 사이토카인 TNF- $\alpha$ , IL-6에서는 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보이지 않았다. 그러나 반복신경자극검사의 최대감소율과의 관계는  $r = 0.5$  ( $p < 0.05$ )로 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보였다.

최근까지도 아세틸콜린수용체 항체 농도와 반복신경자극검사의 최대 감소율과의 상관관계에 대한 논문을 발견할 수 없었다. 두 검사에서 통계적으로 유의한 상관관계를 나타낸 것에 대해 아세틸콜린수용체 항체 농도를 일반적으로 측정하는 immunoprecipitated radioimmuno assay (RIA) 방법이 주로 binding 항체를 반영하기 때문으로 생각된다. 즉 binding 항체에서 보체 등을 통해 수용체를 파괴하고, 이 파괴의 정도에 따라 최대 감소율이 증가할 것으로 추정되기 때문이다. 한편 사이토카인의 농도는 기대했던 것 보다 낮았는데 이는 면역치료를 받고 있던 환자가 많았기 때문으로 생각되며 향후 면역치료에 따른 환자들을 분류하고 이들의 아세틸콜린수용체 항체 농도, 사이토카인 농도 및 전기생리학적 검사와의 상관관계 연구가 필요할 것이다.

---

**핵심어** : 중증근무력증, 아세틸콜린수용체 항체, 반복신경자극검사, 사이토카인

# 차 례

국문요약 .....	i
차례 .....	iii
그림 차례 .....	v
표 차례 .....	vi
I. 서론 .....	1
A. 연구배경 .....	1
B. 연구목적 .....	3
II. 실험방법 .....	4
A. 연구대상 .....	4
B. 중증근무력증의 임상적 평가 .....	4
C. 반복신경자극검사의 측정 .....	4
D. 혈청검사 .....	6
1. 아세틸콜린 수용체 항체 농도 .....	6
2. 사이토카인 농도 측정 .....	7
III. 결과 .....	9
A. 중증근무력증 환자들의 임상양상 .....	9
B. 아세틸콜린수용체 항체 농도와 사이토카인 .....	9
C. 아세틸콜린수용체 항체 농도와 임상적 중증도, 사이토카인, 반복신경자극검사 최대 감소율 사이의 상관관계 .....	11
IV. 고찰 .....	13
A. 임상적 중증도와 아세틸콜린수용체 항체 농도와의 관계 .....	13
B. 사이토카인의 발현 양상 .....	14
C. 아세틸콜린수용체 항체 농도와 저빈도 반복신경자극검사 최대감소율 과의 상관관계 .....	16

V. 결론 .....	18
참고문헌 .....	19
영문요약 .....	24



## 그림 차례

Fig. 1. Correlation of antiacetylcholine receptor antibody with the maximal decremental rate of the repetitive nerve stimulation test in patients with myasthenia gravis. ....	12
--	----

## 표 차례

Table 1. Quantitative myasthenia gravis score .....	5
Table 2. The characteristics and data of the patients with myasthenia gravis .....	10

# I. 서 론

## A. 연구배경

중증근무력증은 신경근육이음부의 손상으로 안검하수, 복시, 근력약화 등을 나타내는 자가면역질환이다(Conti-Fine 등, 2002; Christadoss 와 Goluszko, 1999; Drachman, 1994). 특징적 임상증상과 더불어 반복신경자극검사에서 의미 있는 감소율을 보이고 아세틸콜린수용체에 대한 항체의 농도가 증가하면 중증근무력증으로 진단된다. 병의 경과 측면에서 일부 환자는 병이 자연 소멸 되는 경과를 밟지만 일부는 계속 약물치료를 받아야 하고 일부에서는 점차 악화되는 경과를 보인다. 치료로는 아세틸콜린분해효소억제제나 자가면역의 조절을 위한 스테로이드나 다른 면역억제제가 사용되고 흉선에 질환이 있을경우 흉선절제술이 고려된다.

현재까지 알려진 병인 기전은 신경근육이음부의 근육 측 말단에 존재하는 아세틸콜린수용체에 자가 항체가 공격하여 신경말단에서 근육으로의 신경전달이 차단되어 발생하는 것으로 알려져 있다(Conti-Fine 등, 2002; Drachman, 1994). 한편 아직까지 정확한 이유는 밝히지 못하였으나 흉선낭포과증식(thymic follicular hyperplasia)이 약 70% 그리고 흉선종(thymoma)이 10%까지 동반되어 흉선질환이 중증근무력증의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다(Mller-Hermelink 와 Marx, 1999).

중증근무력증 환자의 80-90%에서 아세틸콜린수용체에 대한 항체가 발견되며(Lindstrom 등, 1976; Vincent 등, 1985) 면역화학 기술을 이용한 전자현미경 검사에서 immunoglobulin G (IgG) 항체가 아세틸콜린수용체 가까이에 있음이 증명되었다(Engel 등, 1979). 또한 중증근무력증 환자의 혈청에서 IgG를 추출하여 쥐에 주입하였을 때 쥐에서 중증근무력증 증상을 보이는 것이 밝혀졌고(Toyka 등, 1977) 여러 동물을 이용한 실험에서 그 항원에 대해 면역반응(immunization)을 시켰을 때 특징적인 증상이 나타나는 것도 확인 되었다

(Lambert 등, 1976; Penn 등, 1976). 마지막으로 면역치료를 했을 때 동물과 사람에서 증상이 호전되며 혈중 IgG 항체 농도가 의미 있게 줄어들었다 (Hertel 등, 1979; Dau 등, 1979). 이러한 연구결과들은 항아세틸콜린수용체 항체가 중증근무력증의 특징적인 증상 및 조직학적 소견과 밀접한 연관이 있음을 의미한다. 그러나 현재까지 혈중 농도와 임상적 중증도와의 상관관계가 없다고 밝혀져 있어 (Lindstrom 등, 1976; Besinger 등, 1983) 중증근무력증의 병인에 가장 중요한 역할을 하는 이 항체가의 의미를 보다 넓게 이해할 수 있어야 환자의 상태를 보다 잘 파악할 수 있고 앞으로의 예후를 판단하는 일이나 치료방침을 결정하는데 중요할 것이다. 이에 본 연구에서는 항아세틸콜린수용체 항체와 상관관계가 기대되는 인자들을 분석하고자 한다.

최근 중증근무력증의 병인에 관한 많은 연구가 이루어지고 있는데, 특히 사이토카인을 대상으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 이 중 tumor necrotic factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), interferon gamma (INF- $\gamma$ ) 등이 동물 실험에서 중증근무력증을 발현하는데 가장 많은 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(Conti-Fine 등, 2002; Christadoss와 Goluszko, 2002; Zhang 등, 1997). 특이한 점은 면역 기전에 가장 중요한 역할을 하는 것이 항체이지만 관련된 사이토카인들은 T helper 1 (Th-1) 세포의 계열이라는 점이다(Christadoss 등, 2002; Balasa 등, 2000). 반면 interleukin-4 (IL-4)나 interleukin-10 (IL-10)은 증상을 나타내는데 의미 있는 기여를 하지 못하는 것으로 나타났다(Christadoss 등, 2002). 그러나 이 두가지 사이토카인은 억제성 면역과정을 담당하고 한편으로는 항체 생성과 관련된 Th 2 세포의 계열로 중증근무력증의 치료에 대해 변화가 있을 것으로 사료된다(Feldmann 등, 1998; Sugiyama 등, 1995; Wang 등, 1995; Berg 등, 1995). 사람을 대상으로 한 사이토카인 결과도 발표되었는데 이 실험에서는 TNF- $\alpha$ , IL-6 혹은 transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ )가 중증근무력증의 발병과 관련된 면역반응을 중재하는데 가장 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(Zhang 등, 1997). 그러나 면역 치료 후의 사이토카인의 변화나 이에 대한 아세틸콜린수용체 농도 변화에 대한 연구는 미비하다. 따라서 본 연구는 새롭

게 진단된 환자뿐만 아니라 이미 면역치료나 아세틸콜린분해억제제를 투여받고 있는 모든 환자를 대상으로 아세틸콜린수용체 항체가 임상적 중증도, 전기생리학적 소견 및 혈중 사이토카인과의 상관관계를 살펴보고자 한다.

## **B. 연구목적**

본 연구는 중증근무력증에서 아세틸콜린수용체에 대한 항체가 환자의 증상과 전기생리학적 검사에 대해 어떤 영향을 미치는지 알아보고자 하였다. 또한 혈중 사이토카인의 농도가 아세틸콜린수용체 항체 농도에 어떤 영향을 주는지를 알아보고자 하였다. 한편 본 연구는 외래에서 진료하는 신경과 의사들이 새로 진단된 환자나 지속적으로 약물을 투여 중인 환자 등 다양한 임상상태의 중증근무력증 환자를 파악하기 위한 방법을 고안하고자 하였다.

## II. 실험방법

### A. 연구대상

1999년 1월 1일부터 2004년 2월 29일까지 아주대학교병원 신경과에서 중증근무력증으로 진단 받은 환자들을 대상으로 하였다. 중증근무력증의 진단은 특징적인 임상 증상과 보조적 검사 중 한가지 이상에서 양성인 경우로 하였다 (Drachman, 1994). 임상 증상은 일중변화를 보이는 눈의 증상, 즉 눈꺼풀하수나 복시, 구음장애나 연하곤란, 혹은 사지의 무력감 등이 보이며 다른 질환을 시사하는 소견을 보이지 않아야 한다. 보조적 검사로서는 네오스티그민 (neostigmin) 투여 검사, 반복신경자극검사와 혈중 항아세틸콜린수용체 항체의 농도를 포함하였다.

### B. 중증근무력증의 임상적 평가

반복신경자극검사 및 혈청 검사를 실시함과 동시에 그 당시의 임상적 중증도 및 주로 침범된 부위를 평가하였다. 본 연구에서는 중증근무력증의 임상적 평가 척도로 quantitative myasthenia gravis score (QMGS)를 사용하였다. QMGS는 기존의 연구에서 사용하였던 것을 변안하여 사용하였다(Tindall 등, 1987) (Table 1). 간략히 설명하면, 13가지의 항목을 증상정도에 따라 0점에서 3점을 부과하여 증상이 없는 경우 0점이 되고 증상이 심할 경우의 최고 점수는 39점이 되었다.

### C. 반복신경자극검사의 측정

반복신경자극검사는 눈돌레근(orbicularis oculi)과 새끼벌림근(abductor

Table 1. Quantitative myasthenia gravis score.

검사 항목	약화 정도			
	None(0)	Mild(1)	Moderate(2)	Severe(3)
1. 복시(옆 주시) (초)	>60	10-60	1-10	자연 사시
2. 안검하수 (상방 주시) (초)	>60	10-60	1-10	자연 안검하수
3. 안면근육	정상	경미한 눈감기 장애	불완전한 눈감기	표정을 흉내내지 못함
4. 삼키기	정상	고형물 먹고 나서 피로감	부드러운 음식만 가능	코위영양관 (Levin tube)
5. 씹기	정상	고형물 먹고 나서 피로감	불완전한 구개단합 : 콧소리	코위영양관 (Levin tube)
6. 머리들기 (45°, 누워서) (초)	>120	30-120	0-30	0
7. 우측팔 펴서 들기 (90°, 서서) (초)	>240	90-240	10-90	<10
8. 좌측팔 펴서 들기 (90°, 서서) (초)	>240	90-240	10-90	<10
9. 호흡곤란	없음	경미함	중등도	심함 (호흡위기)
10. 우측다리 펴서 들기 (45°, 누워서) (초)	>100	30-100	0-30	0
11. 좌측다리 펴서 들기 (45°, 누워서) (초)	>100	30-100	0-30	0
12. 우측손 쥐는 힘	정상	경미한 위약감	중등도	심함 (주먹을 못 쥐)
13. 좌측손 쥐는 힘	정상	경미한 위약감	중등도	심함 (주먹을 못 쥐)
합계				

digiti minimi)에서 최대자극상(supramaximal stimulation)을 통해 시행하였고 복합근육활동전위 (compound muscle action potential)와 2Hz, 3Hz, 5Hz를 5회 반복하여 평가하였다(Oh, 1988). 최대 감소율은 최초 복합근육활동전위 값에서 5번의 자극 중 가장 낮은 값을 갖는 복합근육활동전위를 뺀 값의 최초 복합근육활동전위에 대한 퍼센트로 정의된다. 10% 이상의 감소반응을 보일 경우 유의한 감소로 하였고 10% 미만의 경우 통계에 반영하지 않았다. 아세틸콜린분해효소억제제를 복용 중이던 환자는 최소 검사 12시간 전부터는 복용을 일시적으로 중단하였다. 피부 온도는 32-34 °C, 검사실 주변온도는 약 26 °C로 유지하였다. 기계는 Viking 4.0 (Nicolet Biomedical Inc., Madison, Wisconsin)을 사용하였다. 유의한 감소를 보인 값에 대해 QMGS 값, 아세틸콜린수용체 항체 농도, 그리고 혈중 사이토카인 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 및 IL-4에 대한 Pearson 상관관계를 SPSS 10.0을 이용하여 측정하였다.  $P < 0.05$  일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

## D. 혈청검사

### 1. 아세틸콜린 수용체 항체 농도

20-gauge 주사기를 이용하여 전주관절와정맥(antecubital fossa vein)에서 혈액을 채취하여 EDTA tube에 보관하고 원심분리한 혈청을 냉동보관한 상태로 Seoul Clinical Laboratories에 의뢰하였다. 수용체와 신경독 복합물에 대한 비저해형 항체를 측정하는 방법인 immunoprecipitated radioimmunoassay (RIA) 방법을 이용하였다. 간단히 설명하면, 혈청중의 수용체 항체와  $I^{125}$ -bungarotoxin을 넣어 수용체를 복합체로 만든 후, 이 부착된 결합물에 anti-human immunoglobulin G (IgG)를 넣어 면역침강 시킨 후 항체량을 측정하는 방법이다(Lindstrom 등, 1976; Vincent 등, 1985). 항체 농도가 0.2 nmol/L 이상의 경우 양성으로 판정하였다. 항아세틸콜린수용체 항체 농도에 영향을 주는 인자들을 평가하기 위해 QMGS 점수, 반복신경자극검사치 및 사이토카인 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 및 IL-4에 대한 Pearson 상관관계를 SPSS 10.0을 이용하여 측정하였다.



## 2. 사이토카인 농도 측정

각 환자의 혈청을 채혈 즉시 원심분리한 후 영하 80도에 보관하고 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 및 IL-4의 농도를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)로 측정하였다. 각각 Biosource International, Inc. (Camarillo, CA) 의 제품인 TNF- $\alpha$  US Biotin-Streptavidin-HRP detection, IL-6 US Biotin-Streptavidin-HRP detection, IL-10 US Biotin-Streptavidin-HRP detection, 및 IL-4 US Biotin-Streptavidin-HRP detection을 사용하였다. 측정방법을 간략히 설명하면, TNF- $\alpha$ 는 인간 TNF- $\alpha$ 에 특이한 항체가 도장된 96 well microliter strip에 환자의 혈청을 표준희석완충제(standard diluent buffer)와 함께 넣고 biotin conjugate를 첨가 후 37 °C에서 2시간 동안 배양한다. 본 연구에서는 제조회사의 표준희석완충제를 이용하여 실험 후 농도가 낮아 의미 없는 값이 나와 2배 희석시킨 후 다시 실험하였다. Streptavidin-HRP working solution을 첨가 후 실온에서 30분간 배양한다. Stop solution을 첨가 후 450 nm에서 흡광도 값을 읽는다. IL-6는 인간 IL-6에 특이한 항체가 도장된 96 well microliter strip에 환자의 혈청을 표준희석완충제와 함께 넣고 37 °C에서 3시간 동안 배양한다. biotin conjugate를 첨가 후 실온에서 45분간 배양한 뒤 streptavidin-HRP working solution을 첨가 후 실온에서 45분간 배양한다. Stop solution을 첨가 후 450 nm에서 흡광도 값을 읽는다. IL-10은 TNF- $\alpha$ 의 방법과 비교했을 때, 인간 IL-10에 특이한 항체가 도장된 96 well microliter strip에 환자의 혈청을 표준희석완충제와 함께 넣고 먼저 37 °C에서 2시간 배양 후 biotin conjugate를 첨가 후 1시간 동안 배양한 것 외에는 방법이 같았다. IL-4는 실온에서 90분 동안 배양한다. 본 연구에서는 이전 실험에서의 경험에 의해 혈청을 각각 2배와 4배 희석시켜 실험하였다. 음수로 나온 값은 통계처리시 모두 제외하였다. 각 사이토카인의 양은 pg/mL 수준이었다. 각 사이토카인의 농도에 대해 QMGS 점수, 반복 신경자극검사의 감소율, 그리고 아세틸콜린수용체 농도와의 Pearson 상관관계를

SPSS 10.0을 이용하여 측정하였다.

### III. 결 과

#### A. 중증근무력증 환자들의 임상 양상

아세틸콜린수용체 항체 양성인 중증 근무력증으로 본 연구에 포함된 환자는 모두 33명이었다(Table 2). 이 중 남자가 12명이고 여자가 21명 이었다. 15세에서 73세까지 분포하였고 평균연령은  $44.18 \pm 16.87$ 세 였다. 증상이 나타나기 시작해서 검사들을 할 때까지의 기간은 1주에서 26년까지 분포하였다. 환자들은 다음과 같은 동반된 질병을 갖고 있었다. 이 중 흉선종(thymoma)이 8명, 흉선과형성(thymic hyperplasia)가 5명, 갑상선항진증이 3명, 그리고 임신과 간암이 각각 1명씩 있었다. 대상환자들 가운데 특별한 치료 없이 경과를 관찰하거나 아세틸콜린효소분해억제제만 복용하던 환자는 모두 7명 이었다. 나머지 26명은 흉선절제술을 포함하여 스테로이드나 azathioprine 혹은 mycophenolate mofetil을 단독으로 혹은 조합하여 치료받고 있었다. 이 중에는 갑자기 증상이 악화되어 IVIG (intravenous immunoglobulin) 치료나 혈장교환술(plasma exchange)을 시행 받은 환자가 각각 1명과 2명 이었다.

#### B. 아세틸콜린수용체 항체 농도와 사이토카인

사이토카인의 농도를 제조회사의 프로토콜에 따라 제공한 표준희석완충제를 사용하였을 때 TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10에서 모두 음의 값으로 나와 통계처리를 할 수 없었다. 2배 희석하였을 때 TNF- $\alpha$ 에서 7명만이 음의 값을 보여 26명 환자의 농도로 통계처리 하였다. IL-6 농도는 제조회사에서 제공한 프로토콜 대로 실험하였을 때 모두 의미 있게 측정 되었다. TNF- $\alpha$ 의 농도는 0.44-3.63 pg/mL로 분포하였다. IL-6의 농도(33명)는 0.34-2.08 pg/mL로 분포하였다. 그러나 TNF- $\alpha$  및 IL-6 농도가 QMGS 점수나 아세틸콜린수용체 항체와 통계적으로 의

Table 2. The characteristics and data of the patients with myasthenia gravis

No	Sex	Age	Onset age	Accompanying disorders	RNS <sup>1</sup> (%)	Antiachetylcholine receptor antibody (nmol/mL)	QMGS <sup>2</sup>	Therapeutic regimens <sup>3</sup>
1	F	58	53		24	8.578	11	A, B, C
2	F	62	61		<10	3.759	2	H
3	F	31	29		15	15.259	7	A, B, C
4	F	30	4		<10	0.198	3	A
5	M	50	49	Thymoma	<10	6.091	1	A, B, C
6	F	46	36		<10	10.272	2	H
7	F	71	63		<10	7.086	1	A
8	F	15	15	Thymic hyperplasia	42	1.285	1	A, G
9	F	29	19		12	2.942	6	A, B
10	F	40	34		24	9.241	4	A, B, C, F
11	M	49	42		<10	0.176	1	H
12	M	69	69		<10	0.001	4	A, B
13	M	39	39	Hyperthyroidism	66	22.058	6	A
14	M	39	39		16	8.578	8	A, B
15	F	29	27	Thymic hyperplasia	<10	1.612	4	A, B, C, G
16	F	70	69		17	2.305	1	A, B, C
17	M	41	41	Thymoma	<10	5.631	1	A, B, C, G
18	F	43	43	Thymoma	11	6.816	1	A, B, G
19	F	53	49	Thymoma	<10	13.42	1	A, B, G
20	F	33	30	Pregnancy	<10	17.041	1	A, B, C
21	M	40	37	Hyperthyroidism	<10	0.295	1	A, B
22	M	40	35	Hyperthyroidism	<10	0.283	3	A, B
23	M	44	37	Thymic hyperplasia	16	6.239	2	A, C, G
24	F	54	51	Thymoma	<10	10.229	2	A, B, D
25	F	73	73		<10	0.343	1	A, B
26	M	62	64	Hepatoma, DM	10	8.476	1	A, B
27	M	31	29	Thymoma	13	13.582	2	A, B, C, E, F, G
28	M	25	21	Thymoma	68	13.421	2	A, G
29	F	26	26	Thymic hyperplasia	10	1.36	4	H
30	F	71	70	0	<10	5.103	5	G
31	F	23	16	Thymic hyperplasia	23	0.037	1	A, G
32	F	25	18	Thymoma	12	8.242	8	A, B, C
33	F	70	67	0	46	12.021	8	A, B

1. RNS: repetitive nerve stimulation test

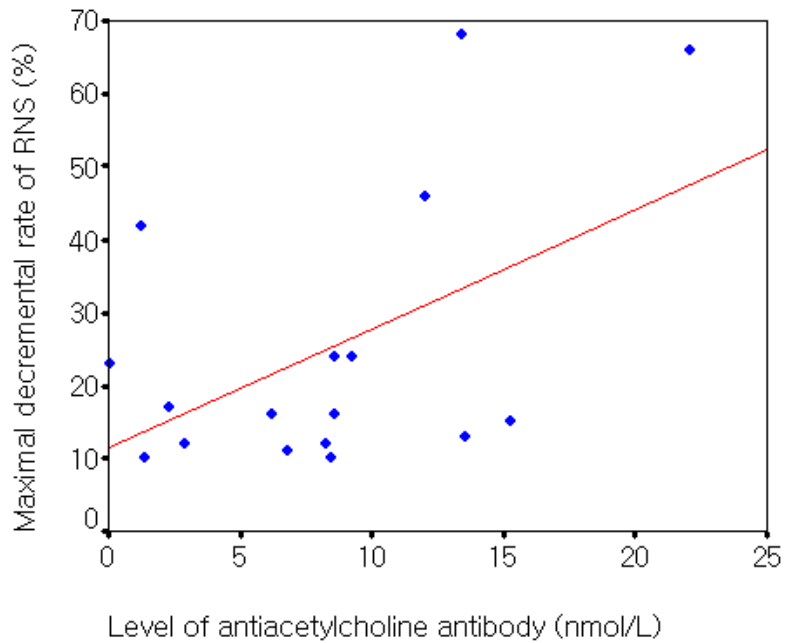
2. QMGS: quantitative myasthenia gravis score

3. A: mestinon, B: solondo, C: azathioprine, D: other immunosuppressants, E: IVIg, F: plasma exchange, G: thymectomy, H: none

미 있는 상관관계를 보이지는 않았다. 이미 언급하였듯이 IL-4와 IL-10은 통계처리할 수 있는 값들을 얻지 못하였다.

### C. 아세틸콜린수용체 항체 농도와 임상적 중증도 및 반복신경자극검사 최대 감소율과의 상관관계

환자들의 중증도 평가 QMGS는 1점에서 11점까지 분포하였다. 항아세틸콜린수용체 항체 농도는 0.001 nmol/L에서 24.000 nmol/L까지 분포하였고 평균값은  $3.21 \pm 2.724$  nmol/L, 중간값은 7.194 nmol/L였다. 항아세틸콜린수용체 항체 농도와 QMGS의 점수와의 상관관계를 분석하였을 때 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보이지 않았다. 한편, 반복신경자극검사와 아세틸콜린수용체에 대한 항체 농도와  $r = 0.50$  ( $p < 0.05$ )로 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보였다(Fig. 1). 눈둘레근과 새끼별립근에서의 각각의 최대 감소율과는 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보이지 않았으나 두 근육에서의 결과 중 보다 감소가 큰 값을 택했을 때 위와 같은 상관관계를 보였다. 그러나 최대 감소율은 QMGS 값과 상관관계를 보이지 않았다.



**Fig. 1. Correlation of antiacetylcholine receptor antibody with the maximal decremental rate of the repetitive nerve stimulation test in patients with myasthenia gravis.** The level of antiacetylcholine antibodies correlates with the maximal decremental rate score of the repetitive nerve stimulation test (RNS) ( $r = 0.5$ ,  $p < 0.05$ ).

## IV. 고 찰

### A. 임상적중증도와 아세틸콜린수용체 항체 농도와의 관계

지금까지의 연구결과에 의하면, 아세틸콜린수용체 항체 농도와 임상적 중증도 간의 상관관계는 없는 대신, 단지 환자 개개인의 임상적 변화에 따른 항체 농도 변화와는 연관이 있는 것으로 알려졌다(Lindstrom 등, 1976; Besinger 등, 1983). 본 연구에서는 다양한 치료 과정의 환자들을 포함하여 측정하였는데 역시 두 요소 간의 의미 있는 상관관계는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 다음과 같은 이유 때문으로 추정된다. 첫째, 아세틸콜린수용체에 대한 항체는 binding, blocking, modulating (down regulation)의 3가지 형태로 존재한다(Besinger 등, 1983; Drachman, 1994). 환자마다 각 항체의 역할이 다를 것이기 때문에, 즉 환자에 존재하는 위의 항체들의 비율이 틀리기 때문에 항체가에 대한 임상적 중증도가 다를 것이다(Drachman, 1994). 둘째로, 현재 중증근무력증의 진단에 이용되는 본 연구에서 사용된 항체의 농도를 검출하는 immunoprecipitated RIA 방법은 binding 항체를 검출한다(Besinger 등, 1983). 이전의 보고에서 중증근무력증의 중증도는 binding 항체가 근육신경이음부에서 신호 전달의 실패를 야기하는 요소만 보기 때문에 이러한 결과를 초래할 것이라고 기술한 바 있다(Besinger 등, 1983). 한편 blocking 항체를 측정하여 비교할 때 정도의 차이는 있으나 binding 항체보다는 임상적 중증도에 대한 상관도가 보다 크다고 하였다. 마지막으로 본 연구에서는 여러 종류의 면역 치료를 시행받은 환자를 대상으로 하였으므로 각 면역치료에 대한 항체의 농도가 서로 달라서 상관관계가 떨어졌을 수 있음을 부인할 수 없다. 이에 대해 향후 각 면역치료에 따른 이들의 상관관계를 구하고 특히 binding 항체와 blocking 항체를 모두 구하는 연구가 필요할 것이다. 이는 이들에 대한 영향을 분석하는 데 도움이 될 것이고, 또한 현재 국내에서는 보편화되지 않고 다소 비싼 검사인 blocking 항체 측정이 중증근무력증 환자에서 일반적으로 사용되어야 하는 지에 대한 판단에 대하여도 도움이 될 것이다.

## B. 사이토카인의 발현 양상

현재까지 중증근무력증에 대한 사이토카인 연구는 동물과 사람을 대상으로 여러 가지 방면에서 이루어져 왔다. 우선 동물 실험은 실험적으로 유도한 자가면역 중증근무력증 (experimental autoimmune myasthenia gravis; EAMG) 쥐에 의해 (Christadoss 등, 2000) 유전자, 세포, 분자의 병인론적 역할 규명이 이루어져 왔다(Christadoss와 Goluszko, 2002). 또한 사이토카인의 역할은 특정 사이토카인 유전자를 제거한 쥐(knockout mice)를 이용하거나 면역기능이 심하게 결핍된 쥐(severe combined immunodeficient mice)에 중증근무력증 환자의 혈청을 투여하는 방법 등으로도 연구되어 왔다(Christadoss와 Goluszko, 2002; Conti-Fine 등, 2003). 이러한 방법들을 통해 동물에서는 INF- $\gamma$ (Balasa 등, 1997; Zhang 등, 1999; Christadoss와 Goluszko, 2002), TNF- $\alpha$ (Christadoss와 Goluszko, 2002; Zhang 등, 1997; Conti-Fine 등, 2003), IL-6(Christadoss와 Goluszko, 2002; Zhang 등, 1997; Conti-Fine 등, 2003), IL-18(Jander S와 Stoll G, 2002) 등이 아세틸콜린수용체 항체 형성에 중요한 것으로 밝혀졌다. 한편 항체 형성에 중요한 역할을 할 것으로 생각되는 Th-2 세포 계열의 사이토카인, IL-4와 IL-10에 대한 연구도 있었다. 이들은 다른 한편으로 면역반응을 억제시키는 역할도 있으므로 (Feldmann 등, 1998; Sugiyama 등, 1995; Wang 등, 1995; Berg 등, 1995) 중증근무력증에 있어서는 이중적인 역할을 갖고 있어 이에 대한 연구 결과에 관심이 집중되었다. IL-10은 중증근무력증의 면역학적 발달에 기여하나(Milani 등, 2003; Conti-Fine 등, 2003; Ostlie 등, 2001; Poussin 등, 2000; Hagenbaugh 등, 1997), IL-4는 결과적으로 중증근무력증 발생에 반드시 필요하지는 않고 오히려 억제하는 것으로 밝혀졌다(Milani 등, 2003; Ostlie 등, 2003). 중증근무력증 환자를 대상으로 한 사람 연구도 이루어져 왔는데 TNF, IL-1 $\beta$ , IL-10에 대한 유전자다형성(gene polymorphism)이 보고 되었지만 아직 유전적 부분에 대한 결과는 미미하다(Christadoss와 Goluszko, 2002; Skeie 등, 1999;



Zelano 등, 1998; Huang 등, 1998; Huang 등, 1999). 그러나 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-6, IL-10 등이 중증근무력증 환자를 대상으로 혈중 단핵세포(mononuclear cell)를 이용한 연구에서 병을 진행시키는데 관련된 것으로 나타났다.

본 연구에서는 ELISA를 이용하여 혈중 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 및 IL-4의 농도에 대해 실험하였다. 중증근무력증에서 특이한 점은 면역 기전에 가장 중요한 역할을 하는 것이 항체이지만 관련된 사이토카인들은 T helper 1 (Th-1) 세포의 계열이라는 점이다(Christadoss 등, 2002; Balasa 등, 2000). 반면 interleukin-4 (IL-4)나 interleukin-10 (IL-10)은 증상을 나타내는데 의미 있는 기여를 하지 못하는 것으로 나타났다(Christadoss 등, 2002). 따라서 본 연구에서도 이러한 점에 초점을 맞추어 사이토카인을 위와 같이 선택하였다. 이 중 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10은 동물실험과 환자들을 대상으로 한 실험에서 중증근무력증 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났고 IL-4는 오히려 중증근무력증을 조절하는 것으로 알려져 있어, 이미 다양한 치료를 받고 있는 중증근무력증 환자에서 이들 사이토카인의 혈중 농도의 변화가 중요할 것으로 생각되었다. 결과적으로 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 농도가 아세틸콜린수용체 항체 농도와 통계학적으로 유의한 상관관계를 이루지 못하였고 IL-10과 IL-4에서는 제조회사에서 제공한 표준회석완충액을 이용하였을 때 농도가 낮아 검출되지 못하였다. 이는 다음과 같은 이유 때문일 것으로 판단된다. 첫째, 사이토카인은 주로 자가분비(autocrine)와 주변분비(paracrine) 양상으로 작용하고 매우 짧은 반감기를 갖기 때문이다(Zhang 등, 1997). 따라서 혈청 검사보다는 세포 단계에서의 사이토카인의 검출을 시도할 수 있겠는데, enzyme-linked immunospot (ELISPOT) 방법이나 in situ hybridization (ISH) 방법 등을 고려해볼 수 있겠다. 둘째, 이번 연구에서는 여러 종류의 면역치료를 받은 사람이 많은데 이로 인해 중증근무력증을 유발시키는 사이토카인의 농도가 낮아졌을 가능성이 있다. 뿐만아니라, 대상군은 다소 병이 안정화된 환자들로서 IL-4 농도가 올라갈 것으로 기대되었으나 오히려 실험 중 농도가 검출되지 않을 정도로 낮았다. 결과적으로 외래 추적 관찰 중인 환자들을 대상으로 혈중 사이토카인을 측정하였을 때, 아세틸콜린수용체 항체와 통계적으로 의미 있는 상관관계

를 보이지 못하였고, 상용화된 ELISA kit를 통하였을 때 검출되지 않은 낮은 농도로 존재하기 때문에 이를 환자들의 상태를 평가하기 위한 지표로 다양한 사이토카인이 사용되기는 어려울 것으로 판단된다.

### C. 아세틸콜린수용체 항체 농도와 저빈도 반복신경자극검사 최대감소율과의 상관관계

임상적 중증도와 항아세틸콜린수용체 항체 농도와의 상관관계를 기술한 보고들은 적지 않으나 저빈도 반복신경자극검사의 최대 감소율과 항체 농도와의 상관관계를 연구한 보고는 발견할 수 없었다. 본 연구에서는 아세틸콜린수용체에 대한 항체의 의미를 보다 고찰해 보기 위해 농도와 최대 감소율과의 상관관계를 측정하였는데 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보였다. 이에 대한 의미는 다음과 같이 해석해 볼 수 있다. 위에서 언급했듯이 본 연구에서 immunoprecipitated RIA 방법으로 측정된 항체 농도는 binding 항체를 반영한다(Besinger 등, 1983). 이 항체는 아세틸콜린수용체에 붙은 뒤 보체 활성화를 통해 수용체를 파괴하여 수를 줄이는 것으로 알려져 있다(Drachman, 1994). 반복신경자극검사는 아세틸콜린수용체를 통해 전기적활성화를 근섬유(muscle fiber)에 일으켜 동시다발적으로 수축하게 하는 데 저빈도로 반복자극을 주면 신경말단에 존재하는 아세틸콜린의 수가 일정하게 줄어 들면서 감소한다. 그러나 중증근무력증에서는 아세틸콜린수용체의 수가 감소하기 때문에 근육이 수축하는데 필요한 말단 전위(end plate potential)의 최소 역치(safety factor)에 도달하지 못하는 근섬유가 많아지게 된다. 이로 인해 저빈도의 반복자극에 감소율이 증가하게 되는 것이다(Preston과 Shapiro, 1998). 본 연구 결과에서 아세틸콜린수용체에 대한 binding 항체 농도와 반복신경자극검사의 최대감소율이 상관관계를 보인 것은 두 검사 모두 아세틸콜린수용체의 수와 밀접한 관계를 갖기 때문인 것으로 추측된다.

한편 상관관계의 정도가 크지 않았던 점은 이 결과의 제한점인데 이는 이번 연구의 설정을 여러 가지 치료를 받은 환자들 모두를 포함하였기 때문일 수

있다. 따라서, 더 많은 환자를 대상으로 치료약물에 따라 균일한 환자를 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

외래에서 추적 관찰 중인 여러 가지 치료를 통해 안정화된 중증근무력증 환자들에서 ELISA를 통한 혈청 사이토카인 농도 측정은 환자의 상태를 파악하는데 의미가 없을 것으로 판단된다. 아세틸콜린수용체 항체 농도는 임상적 중증도나 혈중 사이토카인 농도와 통계적으로 의미 있는 상관관계를 보이지 않았지만, 반복신경자극검사의 최대 감소율과는 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다. 이에 대해, immunoprecipitated RIA 방법으로 측정된 아세틸콜린수용체 항체가 binding 항체를 반영하고 이 항체는 수용체의 파괴로 인해 그 수를 감소시키는 점과, 반복신경자극검사가 수용체의 수의 감소에 따라 감소율이 증가하는 점으로, 두 검사 모두 공통적으로 수용체의 수와 밀접한 관계가 있기 때문이다.

치료에 대한 면역학적인 변화를 규명하기 위해 앞으로 면역치료의 종류에 따라 환자를 분류하고 이들의 아세틸콜린수용체 항체 농도, 사이토카인 농도 및 전기생리학적인 면과의 상관관계에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Balasa B, Deng C, Lee J, Bradley LM, Dalton DK, Christadoss P, Sarvetnick N: Interferon gamma is necessary for the genesis of acetylcholine receptor-induced clinical experimental autoimmune myasthenia gravis in mice. *J Exp Med* 186:385-391, 1997
2. Balasa B, Deng C, Lee J, Christadoss P, Sarvetnick N: The Th2 cytokine IL-4 is not required for the progression of antibody-dependent autoimmune myasthenia gravis. *J Immunol* 161:2856-2862, 1998
3. Balasa B, Sarvetnick N: Is pathogenic humoral autoimmunity a Th1 response? Lessons from (for) myasthenia gravis. *Immunology Today* 21:19-23, 2000
4. Berg DJ, Leach MW, Kuhn R, Rajewsky K, Muller W, Davidson NJ, Rennick D: Interleukin 10 but not interleukin 4 is a natural suppressant of cutaneous inflammatory responses. *J Exp Med* 182:99-108, 1995
5. Besinger UA, Toyka KV, Homberg M, Heininger K, Hohlfeld R, Fateh-Moghadam A: Myasthenia gravis: long-term correlation of binding and bungarotoxin blocking antibodies against acetylcholine receptors with changes in disease severity. *Neurology* 33:1316-1321, 1983
6. Christadoss P, Goluszko E: Myasthenia gravis. In Cytokines and autoimmune diseases. (ed. Kuchroo VK, et al.) Hamana Press, pp.373-385, 2002
7. Christadoss P, Poussin M, Deng C: Animal models of myasthenia gravis. *Clini Immunol* 94:75-87, 2000
8. Conti-Fine BM, Diethelm-Okita B, Ostlie N, Wang W, Milani M: Immunopathogenesis of myasthenia gravis. In Current clinical Neurology:

- Myasthenia gravis and related disorders. (ed. Kaminski HJ) Hamana Press, pp.53-91, 2003.
9. Dau PC, Lindstrom JM, Cassel CK, Clark EC: Plasmapheresis in myasthenia gravis and polymyositis. In Plasmapheresis and the immunobiology of myasthenia gravis. (ed. Dau PC) Boston: Houghton Mifflin, pp.229-247, 1979
  10. Drachman DC: Myasthenia gravis. *N Engl J Med* 330:1797-1810, 1994
  11. Engel AG, Sahashi K, Lambert EH, Howard FM: The ultrastructural localization of the acetylcholine receptor, immunoglobulin G and the third and ninth complement components at the motor end-plate and their implications for the pathogenesis of myastheniagravis. In Current topics in nerve and muscle research. (ed. Aguayo AJ, Karpatis G) Amsterdam: Excerpta Medica, pp.111-122, 1979
  12. Feldmann M, Brennan FM, Maini R: Cytokines in autoimmune disorders. *Int Rev Immunol* 17:217-228, 1998
  13. Hagenbaugh A, Sharma S, Dubinett SM, Wei SH, Aranda R, Cheroutre H, Fowell DJ, Binder S, Tsao B, Locksley RM, Moore KW, Kronenberg M: Altered immune responses in IL-10 transgenic mice. *J Exp Med* 185:2101-2110, 1997
  14. Hertel G, Mertens HG, Reuther P, RickerK: The treatment of myasthenia gravis with azathioprine. In Plasmapheresis and the immunobiology of myasthenia gravis. (ed. Dau PC) Boston: Houghton Mifflin, pp.315-328, 1979
  15. Huang D, Pirskanen R, Hjelmstrom P, Lefvert AK: Polymorphisms in IL-1beta and IL-1 receptor antagonist genes are associated with myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 81:76-81, 1998

16. Huang DR, Zhou YH, Xia SQ, Liu L, Pirskanen R, Lefvert AK: Markers in the promotor region of interleukin-10 (IL-10) gene in myasthenia gravis: implications of diverse effects of IL-10 in the pathogenesis of the disease. *J Neuroimmunol* 94:82-87, 1999
17. Jander S, Stoll G: Increased serum levels of the interferon- $\gamma$ -inducing cytokine interleukin-18 in myasthenia gravis. *Neurology* 59:287-289, 2002
18. Lambert EH, Lindstrom JM, Lennon VA: End-plate potentials in experimental autoimmune myasthenia gravis in rats. *Ann N Y Acad Sci* 274:300-318, 1976
19. Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, Whittingham S, Duane DD: Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis: prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. *Neurology* 26:1054-1059, 1976
20. Milani M, Ostlie N, Wang W, Conti-Fine BM: T cells and cytokines in the pathogenesis of acquired myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci* 998:284-307, 2003
21. Muller-Hermelink HK, Marx A: Pathological aspects of malignant and benign thymic disorders. *Ann Med* 31 (supple 2):5-14, 1999
22. Oh SJ: Anatomy guide and normal values. In *Electromyography: Neuromuscular transmission studies*. (ed. Oh SJ) Baltimore: Williams & Wilkins pp.56-86, 1988.
23. Ostlie N, Karachunski PI, Wang W, Monfardini C, Kronenberg M, Conti-Fine BM: Transgenic expression of IL-10 in T cells facilitates development of experimental myasthenia gravis. *J Immunol* 166:4853-4862, 2001
24. Ostlie N, Milani M, Wang W, Okita D, Conti-Fine BM: Absence of IL-4 facilitates development of chronic autoimmune myasthenia gravis in

C57BL/6 mice. *J Immunol* 170:604-612, 2003

25. Penn AS, Chang HW, Lovelace RE, Niemi W, Miranda A: Antibodies to acetylcholine receptors in rabbits: immunochemical and electrophysiological studies. *Ann N Y Acad Sci* 274:354-376, 1976
26. Poussin MA, Goluszko E, Hughes TK, Duchicella SI, Christadoss P: Suppression of experimental autoimmune myasthenia gravis in IL-10 gene-disrupted mice is associated with reduced B cells and serum cytotoxicity on mouse cell line expressing AChR. *J Neuroimmunol* 111:152-160, 2000
27. Preston DC, Shapiro BE: Repetitive nerve stimulation. In *Electromyography and neuromuscular disorders: Clinical-electrophysiologic correlations*. (ed. Preston DC, Shapiro BE) Butterworth-Heinemann pp.63-73, 1998
28. Skeie GO, Pandey JP, Aarli JA, Gilhus NE: TNFA and TNFB polymorphisms in myasthenia gravis. *Arch Neurol* 56:457-461, 1999
29. Sugiyama E, Kuroda A, Taki H, Ikemoto M, Hori T, Yamashita N, Maruyama M, Kobayashi M: Interleukin 10 cooperates with interleukin 4 to suppress inflammatory cytokine production by freshly prepared adherent rheumatoid synovial cells. *J Rheumatol* 22:2020-2026, 1995
30. Tindall RS, Rollins JA, Phillips JT, Greenlee RG, Wells L, Belendiuk G: Preliminary results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial of cyclosporine in myasthenia gravis. *N Engl J Med* 316:719-724, 1987
31. Toyka KV, Drachman DB, Griffin DE, Pestronk A, Winkelstein JA, Fishbeck KH, Kao I: Myasthenia gravis: study of humoral immune mechanisms by passive transfer to mice. *N Engl J Med* 296:125-131, 1977



32. Vincent A, Newsom-Davis J: Acetylcholine receptor antibody as a diagnostic test for myasthenia gravis: results in 153 validated cases and 2967 diagnostic assays. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48:1246-1252, 1985
33. Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM: Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes: IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanism. *J Biol Chem* 270:9558-9563, 1995
34. Zelano G, Lino MM, Evoli A, Settesoldi D, Batocchi AP, Torrente I, Tonali PA: Tumor necrosis factor beta gene polymorphisms in myasthenia gravis. *Eur J Immunogenet* 25:403-408, 1998
35. Zhang G-X, Navikas V, Link H: Cytokines and the pathogenesis of myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 20:543-551, 1997
36. Zhang G-X, Xiao BG, Bai XF, van der Meide PH, Orn A, Link H: Mice with IFN-gamma receptor deficiency are less susceptible to experimental autoimmune myasthenia gravis. *J Immunol* 162:3775-3781, 1999

- ABSTRACT -

**The Level of Antiacetylcholine Receptor Antibodies  
in the Patients with Myasthenia Gravis**

Lee Jin Soo

Department of Medical Sciences  
The Graduate School, Ajou University

(Supervised by Associate Professor Joo In Soo)

Antiacetylcholine receptor antibodies cause acetylcholine receptor loss, damage of the postsynaptic membrane at the neuromuscular junction, and failure of the neuromuscular transmission. These make the myasthenia gravis (MG) which may cause ptosis, diplopia, dysarthria, dysphagia, generalized weakness, or even respiratory failure. In the previous studies level of antiacetylcholine receptor antibody did not correlate to the severity of patients with MG. In our best knowlegde there was no report of the study correlating the level and repetitive nerve stimulation test (RNS). Some cytokines were related to immunopathogenesis of MG, but there was no report which cytokines were affected by immunotherapy. The authors studied which factors correlated with the level of antiacetylcholine antibodies and which cytokines were affected by immunotherapy.

Thirty three patients with MG were included in this study. Diagnosis of MG

depended on the typical clinical manifestation and one of the following tests; neostigmin test, RNS, and level of antiacetylcholine receptor antibody. Clinical examination was evaluated according to the modified quantitative MG score (QMGS). Examination of level of antiacetylcholine receptor antibody was performed by immunoprecipitated RIA method. Examinations of cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-6, IL-4 and IL-10 were performed by ELISA. The RNS tests were fulfilled by Oh's method. The maximal decremental rate was checked in the orbicularis oculi and the abductor digiti minimi muscles.

Twenty six among 33 included patients were taken steroids or other immunosuppressants. The levels of the acetylcholine receptor antibody correlated with the maximal decremental rate score of RNS tests ( $r = 0.5$ ,  $P < 0.05$ ). The levels, however, did not correlate with any other factors including QMGS and the levels of cytokines. On the other hand, TNF- $\alpha$ , IL-4 and IL-10 was not checked by commercially offered the standard diluent buffer.

The level of antiacetylcholine receptor antibodies correlated with the score of the maximal decremental rate of RNS tests. This finding may result from the similar reflection of the status of impairment in neuromuscular junction because the standard immunoprecipitated RIA examines "binding antibodies" which destruct the acetylcholine receptor mainly.

---

Key words: myasthenia gravis, antiacetylcholine receptor antibody, repetitive nerve stimulation test, cytokine