

# AB-PAS 染色在临床病理诊断中的应用价值

孙 微<sup>1</sup>, 杜 华<sup>2</sup>, 徐晓艳<sup>1,2\*</sup>

(1. 内蒙古医科大学附属医院 病理科, 内蒙古 呼和浩特 010050;

2. 内蒙古医科大学 基础医学院, 内蒙古 呼和浩特 010059)

**【摘要】**目的 探讨 AB-PAS 染色在临床病理诊断中的应用价值。方法 对包括肺黏液表皮样癌、胃印戒细胞癌、膜性肾病和真菌感染在内的 40 例病理标本进行 AB-PAS 染色, 判定组织内是否含有黏液、糖原或是真菌感染, 从而辅助这类疾病的临床病理诊断。结果 通过 AB-PAS 染色, 肺黏液表皮样癌肿瘤细胞质呈现紫红色或蓝色的液滴状; 组织细胞样的胃印戒细胞癌, 可呈蓝色或紫红色; 膜性肾病可清晰地显示增厚的基底膜; 真菌菌丝及孢子均呈阳性, 曲霉菌丝在呈紫红色, 杂乱排列, 粗细均匀, 有隔, 分支状, 常呈 45° 的锐角分支; 放线菌的菌丝呈紫红色, 交织形成菌落, 周围部分菌丝排列成放射状, 菌丝末端膨大成棒状。结论 AB-PAS 染色可直观观察到组织内的黏液、糖原和真菌等物质, 可用于诊断及鉴别一些分泌黏液、糖原的肿瘤以及判定引起感染性疾病的真菌类型, 为疾病的诊断及鉴别诊断提供重要依据。

**【关键词】**AB-PAS 染色; 病理诊断; 黏液; 糖原; 真菌

中图分类号: R361

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2024)01-0053-04

特殊染色是一种传统病理学技术, 是最基本的组织化学染色技术之一。在医疗技术飞速发展的今天, 即使免疫组织化学技术和分子生物学技术已广泛应用在临床病理诊断中, 但由于特殊染色技术能够直接显示细胞内外某些特殊物质的优点, 以及方法简便、快捷、价格低廉等特点是这些新技术无法替代的, 因此可以弥补常规 HE 染色、免疫组织化学以及分子生物学的不足<sup>[1-4]</sup>。爱尔新蓝-过碘酸-雪夫染色(AB-PAS)染色是一种常用的糖原染色方法, 过碘酸是一种氧化剂, 可以把多糖的葡萄糖分子的两个相邻带有羟基的-C-C-键打开, 而生成的醛基再与染色剂结合, 雪夫试剂中的碱性复红是一种混合物, 经过亚硫酸和二氧化硫的作用, 其醌式结构的双键被破坏而消失, 成为无色复红, 再经过氧化后的醛基与无色复红染液结合呈紫红色; 爱尔新蓝分子中带正电荷的盐键能够与酸性黏液物质中带负电荷的酸性基团进行结合, 再与 PAS 进行复合染色, 就能够显示 3 种不同黏液物质成分。本文收集了 40 例病例, 进行爱尔新蓝-过碘酸-雪夫染色(AB-PAS)染色, 以探讨该项染色技术在临床病理诊断以及科研工作中的应用价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 组织标本** 40 例标本包括 5 例肺黏液表皮样癌和 5 例鳞状细胞癌(阴性对照)、5 例胃印戒细胞癌和 5 例胃黄斑瘤(阴性对照)、5 例膜性肾病和 5 例正常肾脏组织(阴性对照)以及 10 例真菌感染标本(包括 5 例曲霉菌病和 5 例放线菌病), 以上标本均来自内蒙古医科大学附属医院病理科 2019 至 2020 年存档的病理标本。

**1.1.2 试剂** 10% 中性缓冲福尔马林、梯度酒精(75%、85%、95%、100%)、二甲苯、中性树脂、蒸馏水、1% 过碘酸水溶液、Schiff 氏试剂、Mayer 苏木素、爱尔新蓝 8GX。

**1.1.3 仪器** 全封闭式组织脱水机、包埋机、石蜡切片机、烤片机和抗体孵育盒等。

### 1.2 方法

40 例标本经 10% 中性缓冲福尔马林固定 18~36 h, 取材、脱水、石蜡包埋、制片、脱蜡至水、常规 HE 染色以及 AB-PAS 染色、固封、镜检等步骤。

AB-PAS 染色方法: (1) 10% 中性缓冲福尔马林

收稿日期: 2022-07-19; 修回日期: 2023-06-06

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2021MS08093); 内蒙古自治区教育科学“十四五”规划课题项目(NGJGH2021307); 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202201300); 内蒙古自治区科技计划项目(2023YFSSH0044, 2021GG0170); 内蒙古医科大学联合项目(YKD2022LH049); 内蒙古医科大学面上项目(YKD2021MS006)

第一作者: 孙微(1988—), 女, 硕士, 主管技师。研究方向: 分子病理学和病理学技术。E-mail: 15947415070@163.com

\*通信作者: 徐晓艳, 女, 博士, 主任医师, 教授。研究方向: 临床病理学、诊断病理学和分子病理学。E-mail: xxy\_patho@163.com

固定组织,组织常规脱水、浸蜡、包埋,切片厚度4  $\mu\text{m}$ ; (2)切片常规脱蜡至水; (3)蒸馏水冲洗1~2 min; (4)AB液浸染切片20 min,蒸馏水冲洗1 min,甩干多余水分; (5)1%高碘酸水溶液氧化10 min; (6)自来水水洗5 s,蒸馏水冲洗1 min,甩干多余水分; (7)Schiff氏试剂浸染15~20 min,避光; (8)流水冲洗10 min,甩干多余水分; (9)Mayer苏木素3~5 min,流水冲洗10 min; (10)镜检、常规脱水透明,中性树胶固封。

## 2 结果

通过AB-PAS染色,真菌、糖原和中性黏液呈紫红色,酸性黏液呈蓝色。肺黏液表皮样癌肿瘤细胞胞质内的黏液呈中性或酸性,进行AB-PAS染色后,呈现紫红色或蓝色的液滴状;而鳞状细胞癌细胞内无黏液,大多AB-PAS染色呈阴性,有时鳞状细胞癌细胞内含有一定量的糖原,AB-PAS染色可呈现阳性,但其阳性模式不一样,呈现粉染颗粒状(见图1、2)。另外,呈现组织细胞样的胃印戒细胞癌,AB-PAS染色阳性,可呈蓝色或紫红色;而胃黄斑瘤瘤细胞多表现为胞质丰富呈泡沫状,核小,肿瘤细胞内无黏液,AB-PAS染色阴性(图3、4)。膜性肾病病例(图5、6)中,肾小球毛细血管壁弥漫性增厚,管腔狭窄,基底膜增厚,AB-PAS染色阳性,可以很好地显示增厚的基底膜,与正常肾小球(图7、8)相比,基底膜明显增厚。某些真菌感染时,为了更好地显示真菌的形态,进而判定真菌类型,可进行AB-PAS染色。真菌感染标本中,真菌菌丝及孢子经AB-PAS染色均呈阳性,曲菌菌丝在显微镜下呈紫红色,杂乱排列,粗细均匀,有隔,分支状,常呈45°的锐角分支;其中放线菌经AB-PAS染色显示,紫红色菌丝交织形成菌落,周围部分菌丝排列成放线状,菌丝末端膨大成棒状(曲霉菌见图9、放线菌见图10)。

## 3 讨论

在临床工作中,有些病变镜下形态较为相似,采取一些鉴别方法可以明确地诊断。其中特殊染色就是常见的鉴别手段,是一种传统的染色方法,在某些病变的病理诊断中具有一定的价值。

黏液染色是一种常见的特殊染色方法。黏液物质的染色方法有很多种,如过碘酸雪夫染色(periodic acid-Schiff stain, PAS)染色、爱尔新蓝染色(alcian blue, AB)、爱尔新蓝-过碘酸-雪夫染色

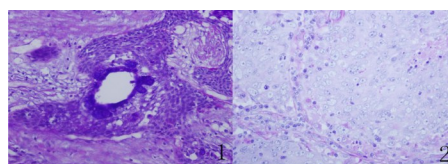


图1 肺黏液表皮样癌 图2 肺鳞状细胞癌

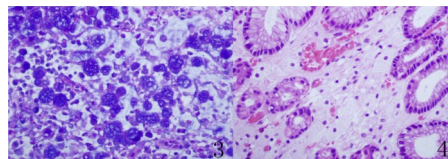


图3 胃印戒细胞癌 图4 胃黄斑瘤

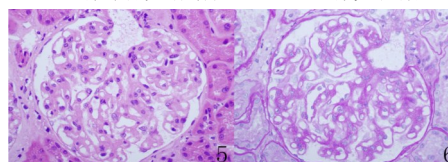


图5 膜性肾病(HE染色) 图6 膜性肾病(PAS染色)

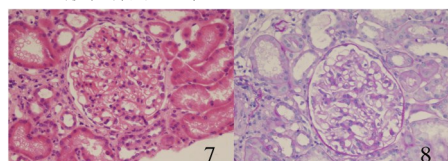


图7 正常肾小球(HE染色) 图8 正常肾小球(PAS染色)

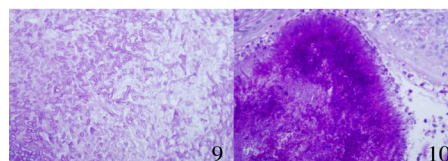


图9 曲霉菌 图10 放线菌

注:图1:肺黏液表皮样癌(图1),部分肿瘤细胞胞质内含酸性黏液,AB-PAS染色显示蓝色的液滴状;图2:鳞状细胞癌,细胞内无黏液,AB-PAS染色阴性。图3:胃印戒细胞癌,AB-PAS染色阳性,呈蓝色;图4:胃黄斑瘤,瘤细胞多表现为胞质丰富呈泡沫状,核小,肿瘤细胞内无黏液,AB-PAS染色阴性。图5-6:膜性肾病病例,前者为HE染色,毛细血管壁略增厚,但显示的不是很清楚;后者为AB-PAS染色,经该染色可清晰地观察到肾小球毛细血管壁弥漫性增厚,管腔狭窄,同时很好地显示增厚的基底膜。图7-8,正常肾小球染色,前者为HE染色,后者为AB-PAS染色,二者均作为阴性对照,与膜性肾病相鉴别。图9:曲霉菌,经AB-PAS染色显示,其菌丝在显微镜下呈紫红色,杂乱排列,粗细均匀,有隔,分支状,常呈45°的锐角分支;图10:放线菌,经AB-PAS染色显示,紫红色菌丝交织形成菌落,周围部分菌丝排列成放线状,菌丝末端膨大成棒状。(箭头所指均为染色部位)

(AB-PAS)、Hicks & Matthaei 选择性荧光染色法、Muller氏胶性铁法、甲苯胺蓝异染法等<sup>[5]</sup>,目前临床病理诊断中最常用PAS染色显示糖原和中性黏多糖,AB染色显示酸性黏多糖,AB-PAS联合染色显示糖原和中性-酸性黏多糖<sup>[6]</sup>。AB-PAS染色是爱尔新兰与过碘酸-雪夫染色的联合染色,通过染色镜下可以直观地观察到组织内糖原、中性黏液、酸性黏液和真菌等物质。爱尔新蓝是一类酮肽花青染料,含有呈蓝色的铜离子,溶于水,其正电荷可与组织细胞内

的阴离子基团形成蓝色不溶性复合物而显现出蓝色<sup>[5-6]</sup>。过碘酸是一种氧化剂,可以将组织胞浆内的多糖物质中的乙二醇基或氨基发生氧化反应,转变为二醛基,后者与雪夫试剂中的无色品红结合,生成新的紫红色复合物,定位于胞浆内<sup>[6]</sup>。

黏液是某些细胞所分泌的一种黏稠样分泌物,正常情况下存在于胃黏膜、肠黏膜、肺、胰腺、动脉、脾、脑、胸腺和软骨基质中,病理情况下出现黏液变性和黏液水肿改变。而某些肿瘤可以分泌不同类型的黏液,尤其分化较低时,病理形态及免疫组化特征不明显时可借助黏液染色的方法来辅助诊断疾病。大多数真菌细胞壁的主要成分是多糖,所以经AB-PAS染色后可呈紫红色,从而可以直观的显示真菌的形态,便于识别真菌感染类型,为临床选择用药提供一定的依据。

本文通过对数例肺黏液表皮样癌、胃印戒细胞癌、膜性肾病和真菌感染病例进行观察,大多呈现出较好的形态,证实了AB-PAS染色在临床病理诊断和科研工作中的应用价值。肺黏液表皮样癌、胃印戒细胞癌这类疾病,由于细胞分泌黏液常规HE染色很难准确辨认,通过AB-PAS染色可以直观地从颜色上区别组织中是否含有糖原、中性黏液、酸性黏液,从而进一步与相关疾病鉴别并做出准确诊断。肺黏液表皮样癌是一种罕见的肺部恶性肿瘤,多为囊实性,囊内含有大量浓缩的黏液,肿瘤由三种细胞构成(表皮样细胞、中间型细胞和黏液细胞),黏液样细胞在镜下显示很大,胞浆透明,内含黏液<sup>[7]</sup>。当黏液细胞含量较多时很容易与鳞状细胞癌鉴别,但当含黏液细胞不明显时,肺黏液表皮样癌很难与肺鳞状细胞癌鉴别,尤其是肺鳞状细胞癌分化较低时,角化珠、细胞间桥和单个癌细胞角化不明显时。遇到此种病例时可进行AB-PAS染色标记其特点,从而有利于做出正确诊断及下一步治疗。胃印戒细胞癌是胃癌的一种特殊类型,细胞内充满大量的黏液,形态典型时常将细胞核挤压到细胞的一侧周边,形成印戒样。由于具有高侵袭性,病程大多仅为3~6个月,为此病理诊断的准确性与紧迫性尤为重要,要与具有印戒细胞样淋巴瘤相鉴别,并且二者治疗方案完全不一样,印戒细胞癌AB-PAS染色阳性,而印戒细胞样淋巴瘤由于不含有黏液AB-PAS染色阴性。当印戒细胞癌形态不典型时,常呈组织细胞样形态,此时需与胃黄斑瘤进行鉴别,当AB-PAS染色阳性,则为胃印戒细胞癌,当然还需要借助免疫组化的方法联合确诊;而胃黄

斑瘤,细胞为组织细胞,AB-PAS染色为阴性,表达CD68、CD163组织细胞标志物。另外膜性肾病是慢性原位免疫复合物形成介导的损伤性疾病,由于足突抗原和相应抗体在肾小球基底膜上皮侧原位结合,刺激肾小球基底膜增厚,激活C5b-9膜攻击免疫复合体,从而使增厚的肾小球基底膜溶解和足突细胞损伤,破坏滤过屏障,大量血浆蛋白外渗,患者往往表现为难治性非选择性蛋白尿和肾病综合征,经系统治疗,如果免疫复合物溶解吸收后不再形成,基底膜结构可恢复正常状态,如果免疫复合物慢性持续形成,肾小球基底膜进一步增厚,导致肾小球硬化,出现肾功能不全或衰竭。因此评估肾小球基底膜的形态对于诊断该疾病以及评估治疗效果尤为重要,常规HE染色无法直观明确的观察肾小球基底膜,尤其是“足突”结构。当进行AB-PAS染色,可确切直观地观察到肾小球基底膜结构的改变,从而有利于疾病的诊断和鉴别诊断。还有一类感染性疾病,由真菌感染引起,常见的有曲霉病和放线菌病、新型隐球菌等。曲霉病最常引起呼吸道感染,如鼻腔、肺部疾病等,常有中性粒细胞浸润,甚至形成小脓肿,在脓性渗出物和坏死灶内常有大量的菌丝,菌丝呈放射状排列,粗细均匀,有隔,呈45°分支状,并见较多孢子形成<sup>[8]</sup>,AB-PAS染色阳性,菌丝及孢子呈现紫红色。在变应性真菌性鼻窦炎病例中,AB-PAS染色背景为黏液,真菌存在于AB阳性的蓝染黏液区域,红色真菌菌丝和孢子与蓝色的背景反差明显,更易于鉴别诊断。放线菌病是一种化脓性炎,在脓肿壁和周围肉芽组织中可见大量的吞噬脂质的巨噬细胞,呈细小黄色颗粒状,该细小颗粒是由分支的菌丝交织而成,周边部分菌丝排列成放射状,菌丝末端常有胶样物质组成的鞘包围而膨大呈棒状,AB-PAS染色可以很好地显示周围放射状的菌丝,呈现紫红色。如果不进行AB-PAS染色,很难与细菌菌团进行鉴别。

综上所述,AB-PAS染色在临床病理诊断中发挥的作用是任何一种技术手段不可替代的。除了上述这些疾病的诊断需要AB-PAS染色来帮忙,在临床诊断工作中,还有很多其他疾病的诊断要借助于此种特殊染色方法,如骨髓病理及神经病理等等。因此,我们在用常规HE染色方法对某些疑难疾病进行初步全面观察的基础上,可选用此种特殊染色方法,对需要显示区分或证实的组织病变成分进行直观观察和研究具有重要的意义,有利于疾病的鉴别诊断。

(下转第60页)

的病例数较少,对研究本身可能造成影响,需继续改进。第五,受试者全部招募自内蒙古地区,由于地域环境及饮食等差异,结果可能无法推广到所有地区。

#### 4 结论

通过超声检查发现痛风患者在HUA阶段已经发生了MSU的沉积,引起了组织的损伤,甚至关节的破坏。因此,超声在诊断亚临床痛风,指导临床早期干预痛风过程均体现出重要价值。血清APN在痛风发病的代谢及炎症过程对机体有保护作用,可将其作为预测痛风发病的重要指标,进一步明确其作用机制,能为临床预防及痛风治疗提供新的方向。

#### 参考文献

- [1] STEWART S, SU I, GAMBLE G D, et al. Diagnostic value of different imaging features for patients with suspected gout: A network meta-analysis[J]. Semin Arthritis Rheum, 2021, 51(6): 1251-1257.
- [2] 李春歌, 王博冉, 乔春梅, 等. 多模态超声在痛风性关节炎中的诊断价值[J]. 内蒙古医科大学学报, 2021, 43(3): 324-327.
- [3] SUMPTER N A, SAAG K G, REYNOLDS R J, et al. Comorbidities in gout and hyperuricemia: causality or epiphenomena[J]. Curr Opin Rheumatol, 2020, 32(2): 126-133.
- [4] ESTEVEZ-GARCIA I O, GALLEGOS-NAVAS, VERA-PEREZ E, et al. Levels of cytokines and microRNAs in individuals with asymptomatic hyperuricemia and ultrasonographic findings of gout: a bench-to bedside approach[J]. Arthritis Care & Research, 2018, 70(12): 1814-1821.
- [5] CAO L, ZHAO T, XIE C, et al. Performance of ultrasound in the clinical evaluation of gout and hyperuricemia[J]. J Immunol Res, 2021(2021): 5550626.
- [6] STEWART S, ROME K, EASON A, et al. Predictors of activity limitation in people with gout: a prospective study[J]. Clin Rheumatol, 2018, 37(8): 2213-2219.
- [7] EASON A, HOUSE M E, VINCENT Z, et al. Factors associated with change in radiographic damage scores in gout: a prospective observational study[J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(12): 2075-2079.
- [8] SAPANKAEW T, THADANIPON K, RUENROENGBUN N, et al. Efficacy and safety of urate-lowering agents in asymptomatic hyperuricemia: systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials[J]. BMC Nephrol, 2022, 23(1): 223.
- [9] TIEN Y Y, SHIH M C, TIEN C P, et al. To treat or not to treat? effect of urate-lowering therapy on renal function, blood pressure and safety in patients with asymptomatic hyperuricemia: a systematic review and network meta-analysis[J]. J Am Board Fam Med, 2022, 35(1): 140-151.
- [10] LI Q, LI X, WANG J, et al. Diagnosis and treatment for hyperuricemia and gout: a systematic review of clinical practice guidelines and consensus statements[J]. BMJ Open, 2019, 9(8): e026677.
- [11] FIASCHI T. Mechanisms of adiponectin action[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 2894.
- [12] 赵佳慧, 赵梓娟, 陈雨, 等. 脂联素与炎症关系的研究进展[J]. 现代畜牧兽医, 2023(2): 69-73.
- [13] 郝蕾, 高卫东, 胡娟娟, 等. 非酒精性脂肪性肝病患者血清脂联素、维生素D和载脂蛋白B水平变化及其临床意义探讨[J]. 实用肝脏病杂志, 2023, 26(2): 189-192.
- [14] REN Y, ZHAO H, YIN C, et al. Adipokines, hepatokines and myokines: focus on their role and molecular mechanisms in adipose tissue inflammation[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 873699.
- [15] AUBERT C E. Serum concentration and vascular expression of adiponectin are differentially associated with the diabetic calcifying peripheral arteriopathy[J]. Diabetology & metabolic syndrome, 2019, 11(1): 32-10.
- [16] CHOI H M, DOSS H M, KIM K S. Multifaceted physiological roles of adiponectin in inflammation and diseases[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(4): 1219.

(上接第55页)

#### 参考文献

- [1] 姚莉, 汤显斌, 袁玲玲, 等. 硫酸亚铁特殊染色与免疫组织化学双重染色在黑色素肿瘤诊断中的应用[J]. 中华病理学杂志, 2020(5): 482-484.
- [2] 李绍刚, 殷俊杰, 宋珍珍. 免疫标志物及AB/PAS黏液染色在子宫颈癌分型中的应用研究[J]. 实用肿瘤杂志, 2016, 31(6): 522-525.
- [3] 于立伟. 黏液物质染色的检测操作分析[J]. 中国卫生标准理, 2016, 7(5): 177-178.
- [4] 陈琼霞, 陈莹, 高友晶, 等. 快速黏液染色技术在胃镜活检组织中的应用[J]. 医学理论与实践, 2013, 26(1): 74-75.
- [5] 高欢欢, 林健贤, 李扬杵, 等. 爱先蓝和细胞角蛋白双重染色技术在泪腺腺样囊性癌诊断中的应用[J]. 眼科学报, 2017, 32(2): 64-67.
- [6] 陈敬文, 张伟, 王天娟, 等. 消化后AB-PAS染色法在黏液染色中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(7): 817-818.
- [7] 周莲萍, 马强, 王东, 等. 肺黏液表皮样癌15例临床特征分析及文献回顾[J]. 中外医学研究, 2020, 18(1): 147-149.
- [8] 张勇, 朴颖实, 何春燕, 等. 真菌性鼻窦炎5种真菌染色方法的比较[J]. 诊断病理学杂志, 2008, 15(6): 475-478.
- [9] GUO X Q, LI B, LI Y, et al. Unusual mucoepidermoid carcinoma of the liver misdiagnosed as squamous cell carcinoma by intra-operative histological examination[J]. Diagn Pathol, 2014, 9: 24.