

# PAS(periodic acid Schiff)染色 について

千葉市立青葉病院

柿沼 豊

はじめにPAS染色は、粘液質の証明法としMcManus(1946)により考案され、その後Hotchikiss(1948)により各種多糖類にも陽性になる事が明らかになり、さらにWislocki(1949)らにより血球の多糖類証明法として応用されるようになった。また、PAS染色は十数種類もの変法が報告されており、所見の表現方法も、統一されたものがない。

## 目的

1. 一定閾値以上の濃度で唐鎖が存在する部位の証明(他の多糖類とグリコゲンの証明にはアミラーゼ消化試験を行い鑑別する)
2. 細胞鑑別 各種細胞の陽性形態の違いで細胞鑑別を行う

## 【臨床的意義】

- ①正常赤芽球・赤血球は多くは陰性であるが、赤白血病M6や骨髄異形成症候群MDSに出現する赤血球・赤芽球は陽性になることがある。
- ②単球系・顆粒球系・リンパ系との間にはPAS陽性部質の現れ方に差異が認められる。

MDSと貧血症に出現する赤芽球において、MDSでは陽性像が見られる事があるのに対し、貧血症は大部分が陰性。ただし、貧血症のなかで鉄欠乏性貧血やβサラセミアの一部には陽性を呈することがある。小児common ALLのなかで、PAS染色が陽性のものは予後が良いといわれている。

また、病理分野では腺癌細胞や横紋筋肉腫などでは強陽性となることがあり鑑別診断となる。

細菌分野では真菌や放線菌など陽性。

## 【原 理】

多糖類中のグリコール基が過ヨウ素酸によって酸化されアルデヒド基2個に変化、これにSchiff試薬中の塩基性フクシンが反応し、赤色の物質を生成する。グリコーゲンの他にムコ蛋白などもPAS 陽性となりますが、グリコーゲンの場合は唾液(アミラーゼ)消化試験で消化されPASは陰性。

各血球が陽性になるのは殆どがグリコーゲンである。

# 染色方法

固定液 10%ホルマリン・メタノール 5~10分

流水水洗

1%過ヨウ素酸 10分(室温)(長すぎないように)

流水水洗

Schiff試薬 30~40分(室温)(細胞数が多い時延長)

亜硫酸水 5分X2~3回 (省略)

流水水洗

カラッチヘマトキシリン 10分

流水水洗

乾燥

# アミラーゼ消化試験

固定液 10%ホルマリン・メタノール 5~10分

$\alpha$ -amylase 37°C 60分

(ヒトの唾液のほうが消化が良く反応時間15~20分)

人の新鮮な唾液をろ過したもの 4ml

1/15 Mリン酸緩衝液 (pH7.0) 1ml

以下PAS染色の1%過ヨウ素酸からPAS染色に入り、グリコーゲンの場合消化されPAS陰性。

# 亜硫酸の役割

シッフ試薬の反応を停止させる

シッフ試薬を綺麗に洗い流す

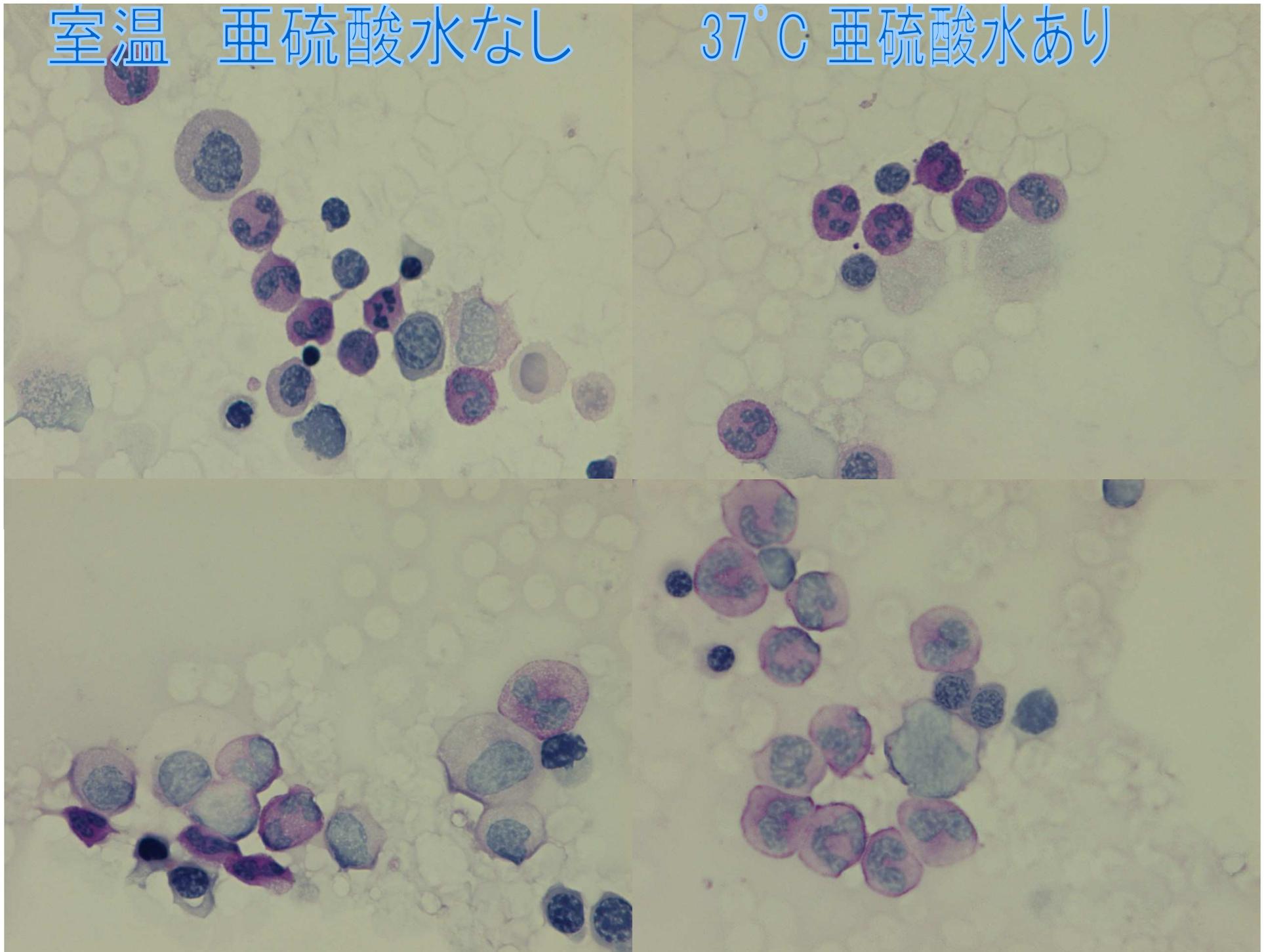
非特異反応や共染を防ぐ

Schiff試薬の後の亜硫酸水処理を省いて水洗しても共染なく綺麗に染まり、亜硫酸水処理を省いても染色態度に差は余り認められない。

染色時間の短縮につながる。

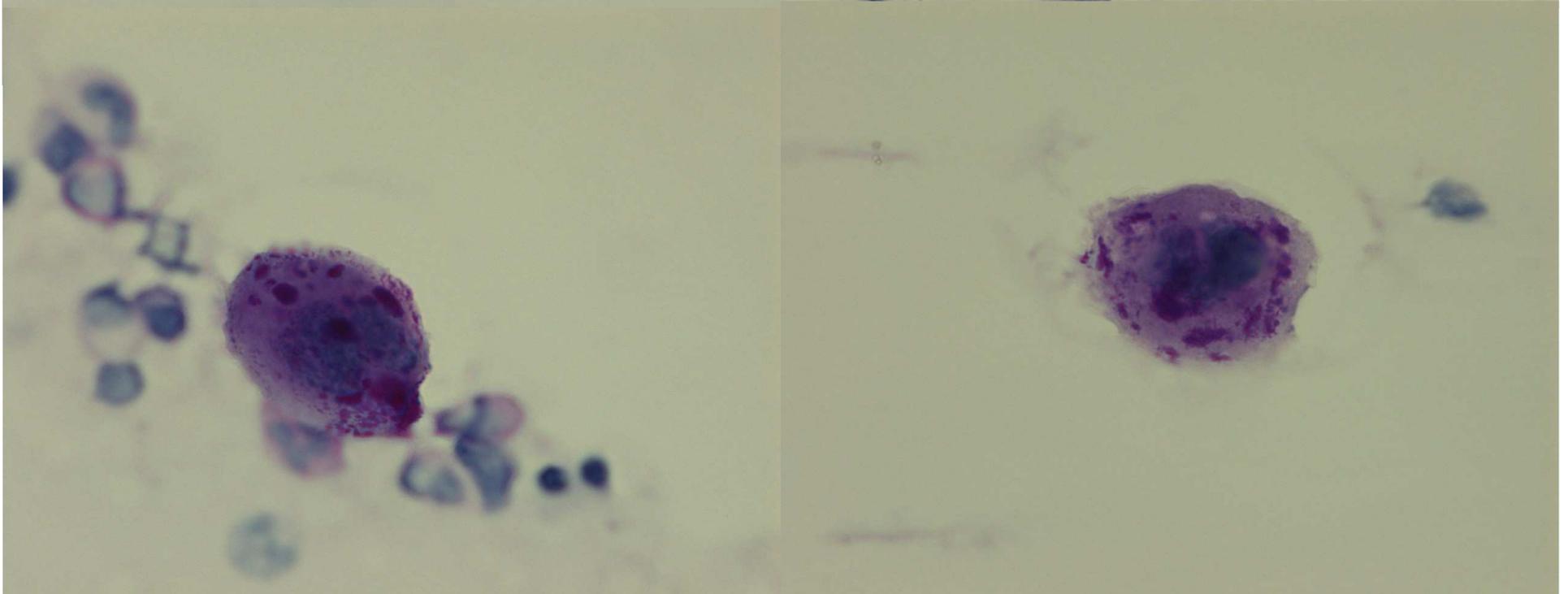
室温 亜硫酸水なし

37°C 亜硫酸水あり



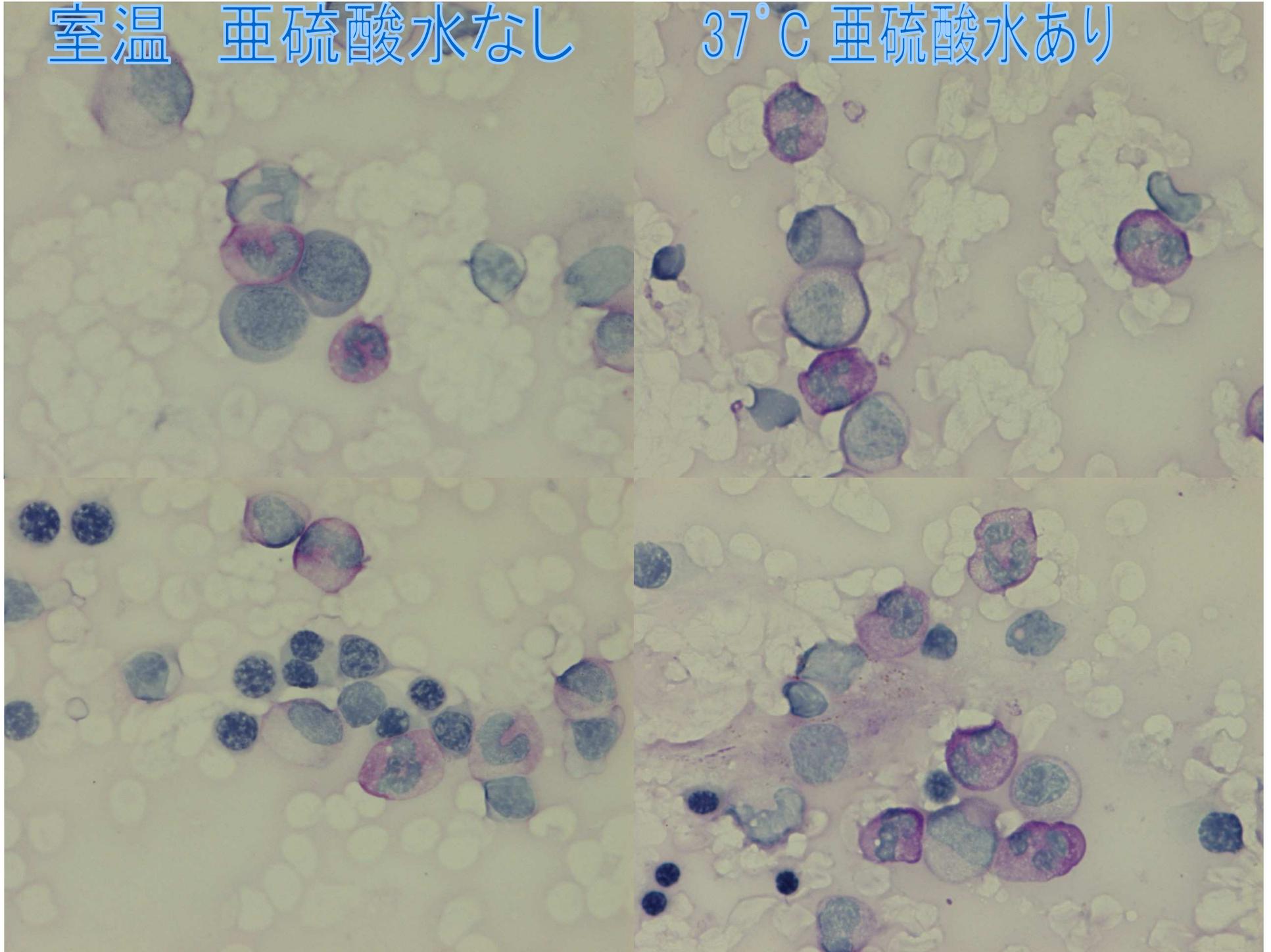
室温 亜硫酸水なし

37°C 亜硫酸水あり



室温 亜硫酸水なし

37°C 亜硫酸水あり



## [PAS 染色の判定]

1. 陽性率(%):対象細胞100個中に占める陽性細胞の比率を明記
2. 陽性度: 対象細胞の反応態度を型別に分類し明記
  - 1) 型別に点数化しその合計をScore(指数)値で報告する(必ず健常人を対象にして報告書に併記する)
  - 2) Score 値は算出せず陽性態度と陽性度合い(弱・中等度・強)を明記する。

# 武藤PAS染色キットより引用

## 陽性有無

骨髓芽球	(-)~(+)
前骨髓球	(±)~(2+)
骨髓球	弱陽性が多い
後骨髓球	
好中球	(+)~(+3)
好酸球※異常細胞では強陽性	(±)~(+)弱陽性
好塩基球	(+)顆粒状
単球	(-)~(+)

リンパ球	(-)~(2+)
形質細胞	(-)~(+)
細網細胞	(-)~(2+)
赤芽球	(-) 異常細胞では(1+)~(3+)
赤血球	(-) 異常細胞では(1+)~(3+)
巨核球	(1+)~(3+)
血小板	(+)

## 陽性態度

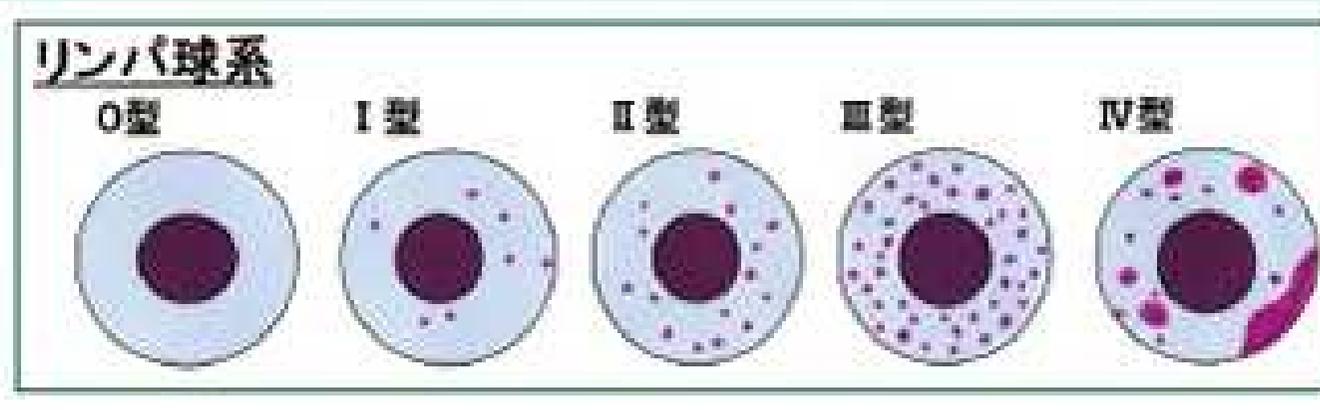
- 1)リンパ球系:顆粒状(粗大)・塊状
- 2) 骨髓系:びまん性・微細顆粒状・両者の混在
- 3) 単球系:びまん性・細胞質辺縁部分微細顆粒状
- 4) 血小板系-巨核球:びまん性・幼若細胞では顆粒状も見られる。

血小板:びまん性

5)赤血球系:正常細胞陰性

\* 異常細胞陽性-顆粒状・びまん性

# 武藤PAS染色キットより引用



## 判定基準

陽性顆粒：紅色・赤紫色 顆粒状～塊状陽性度

O型：陽性顆粒なし(0点)

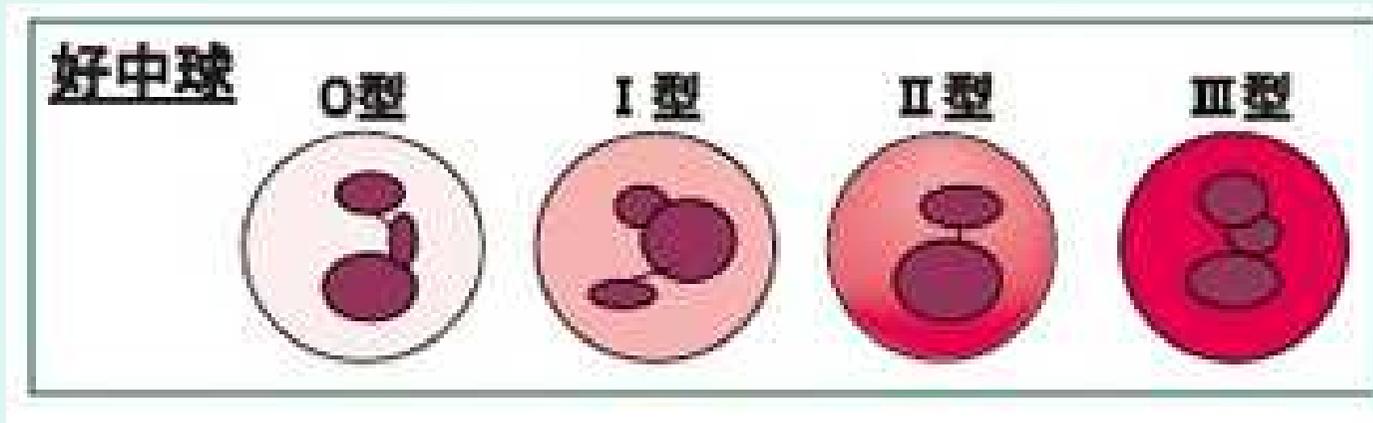
I型：陽性顆粒9個より少ない(1点)

II型：陽性顆粒9個以上、集塊を作らず環状に配列(2点)

III型：陽性顆粒が3列以上に配列(3点)

IV型：陽性顆粒が大きく集塊化(4点)

# 武藤PAS染色キットより引用



## 判定基準

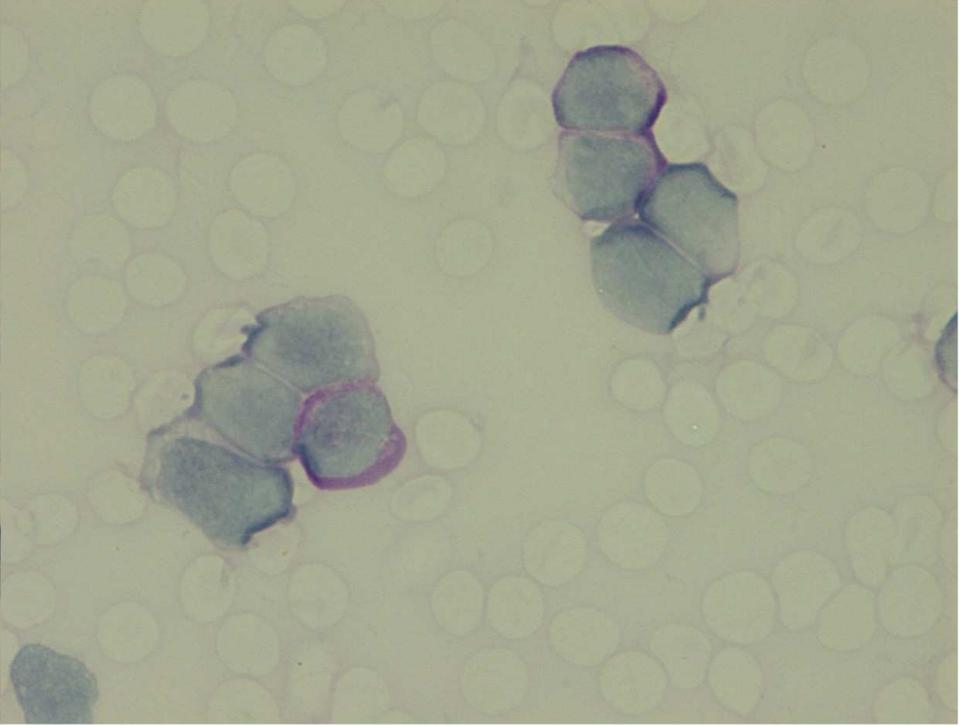
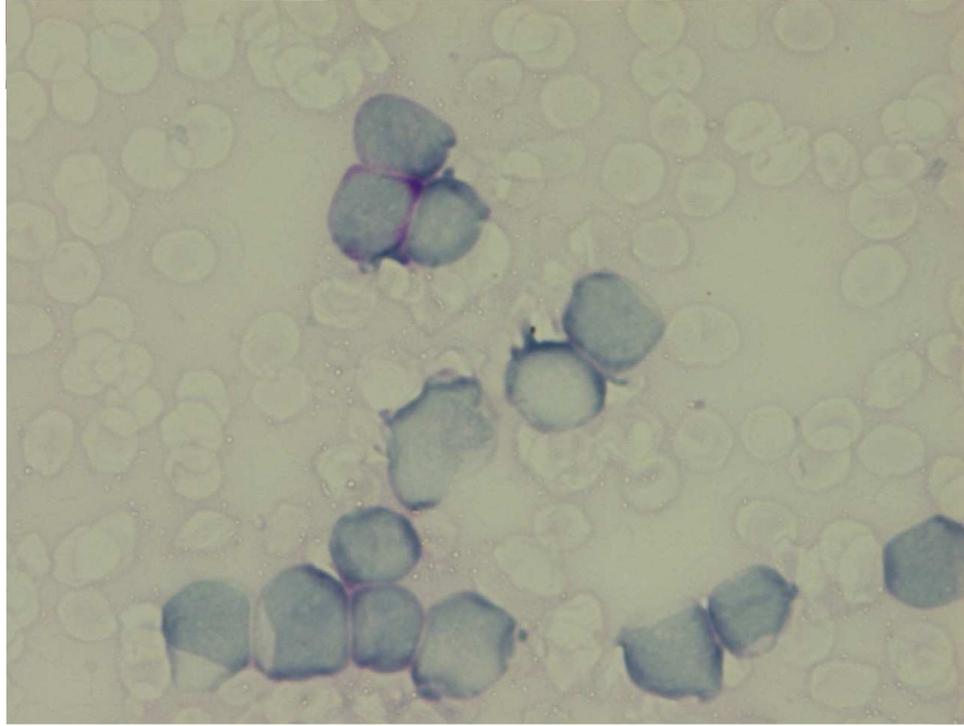
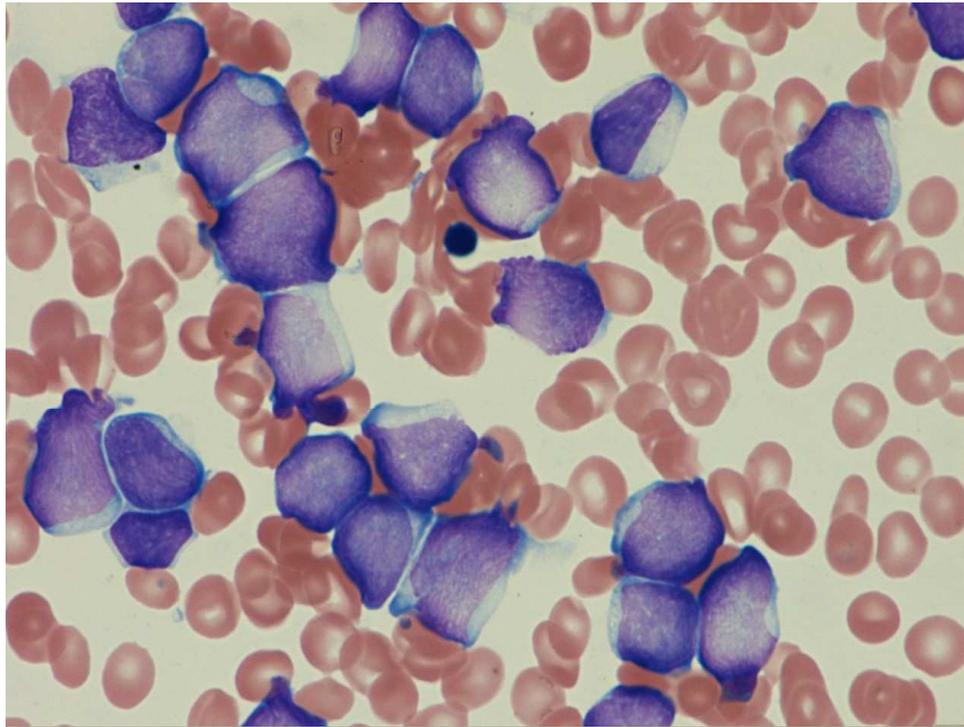
陽性：紅色～赤紫色 びまん性陽性度

O型：陰性(0点)

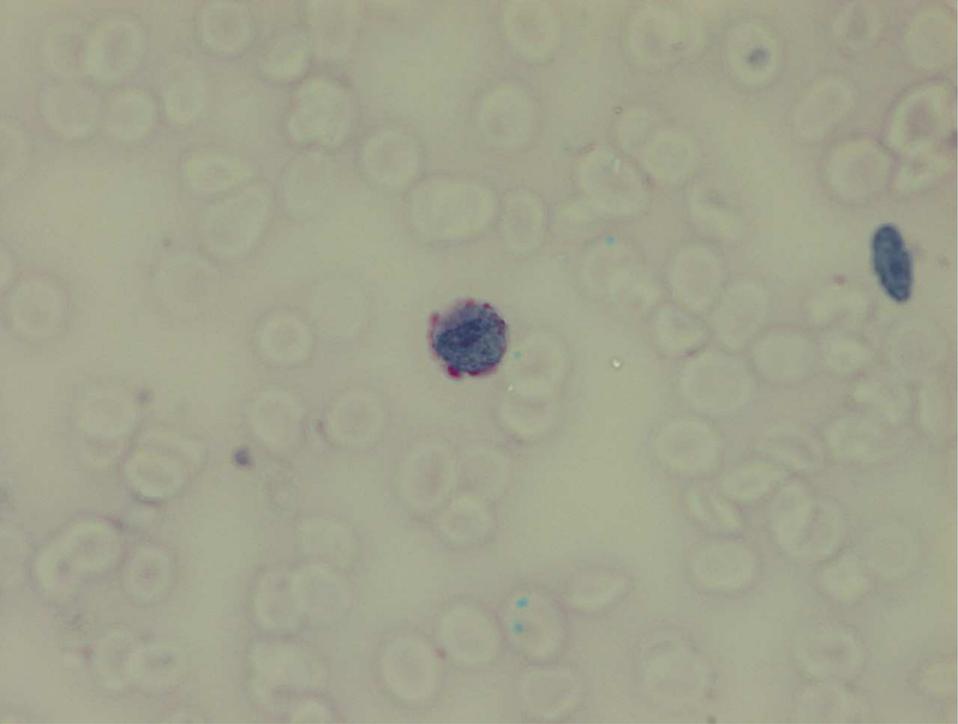
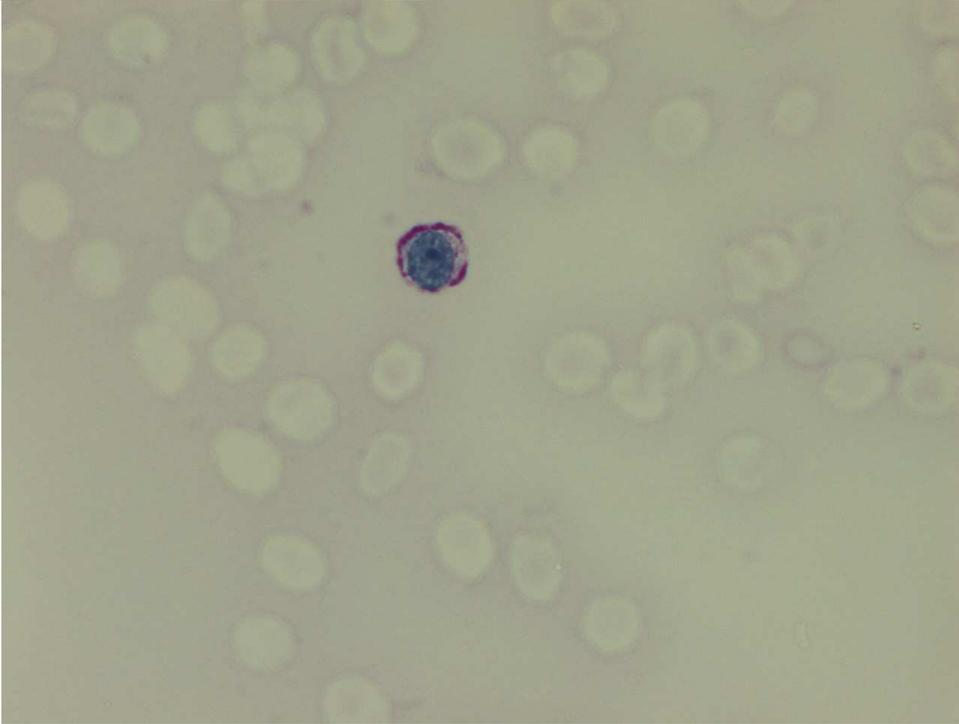
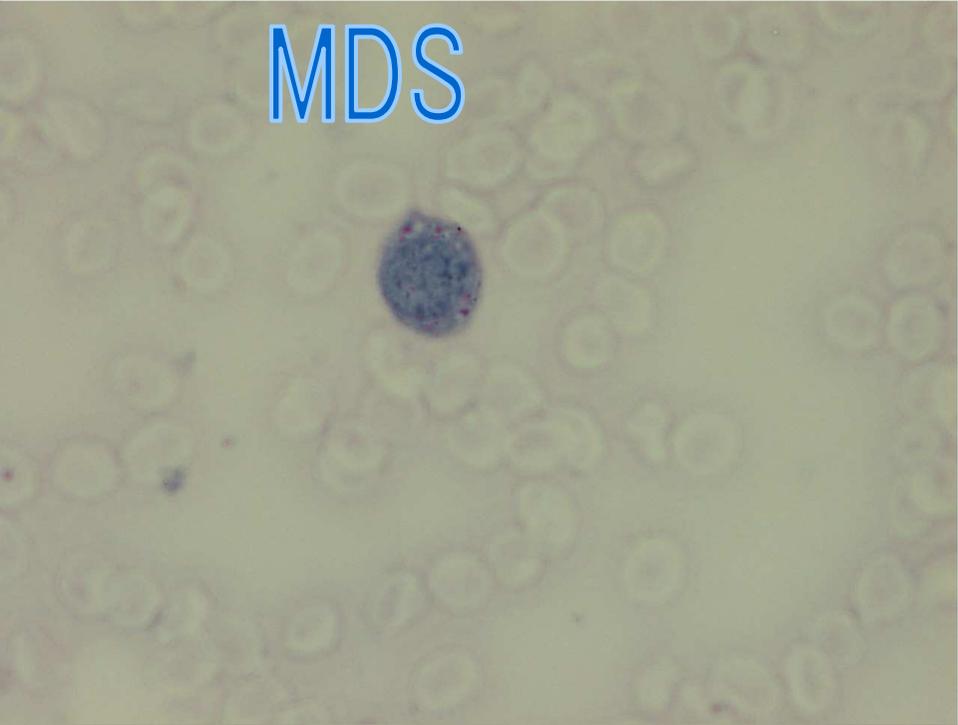
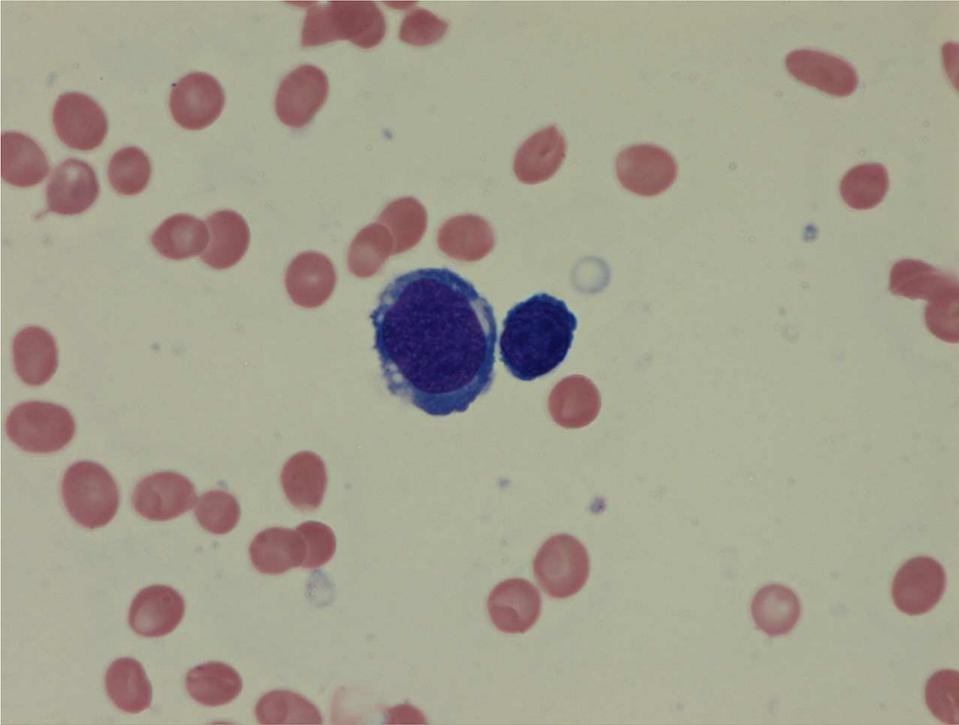
I型：弱陽性(1点)

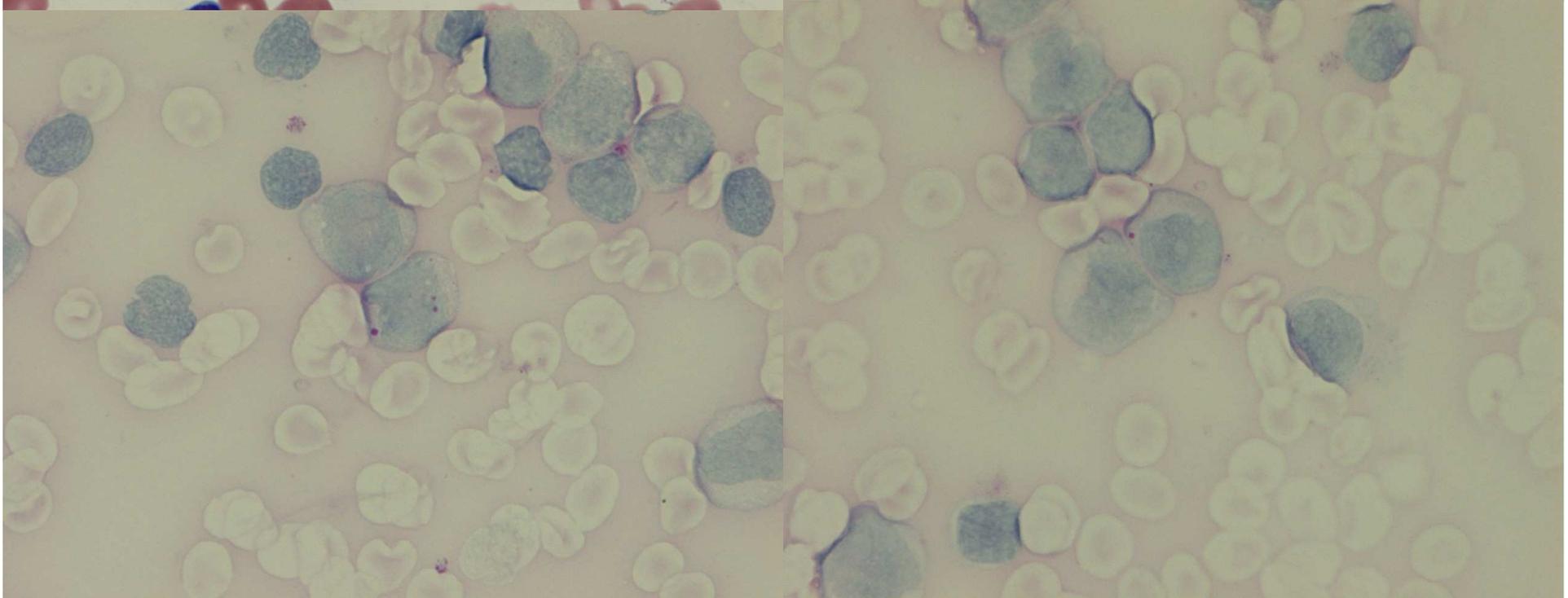
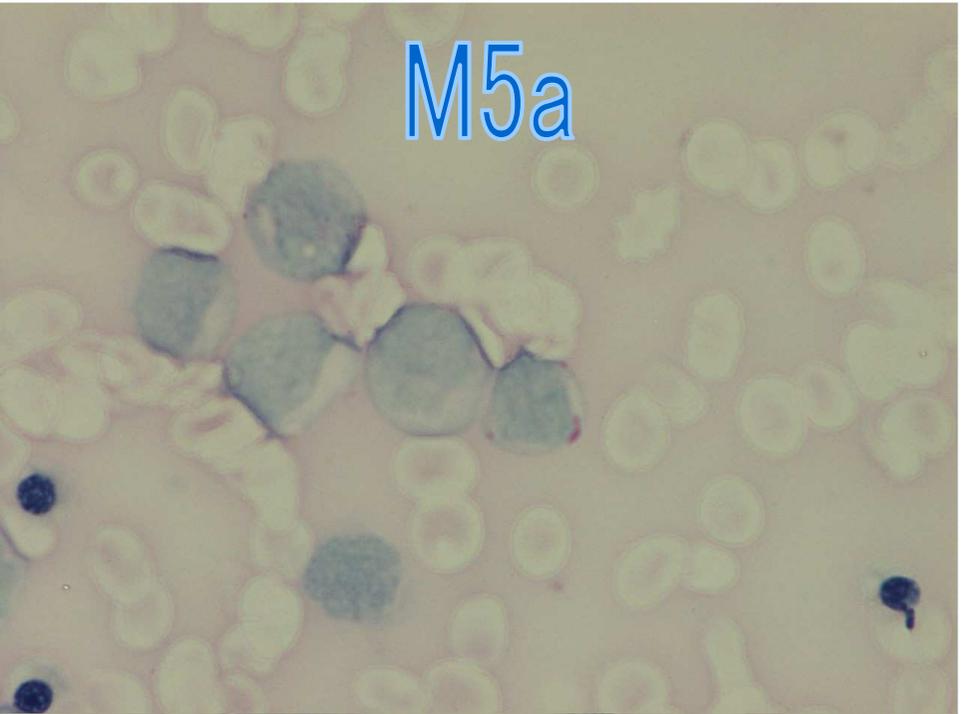
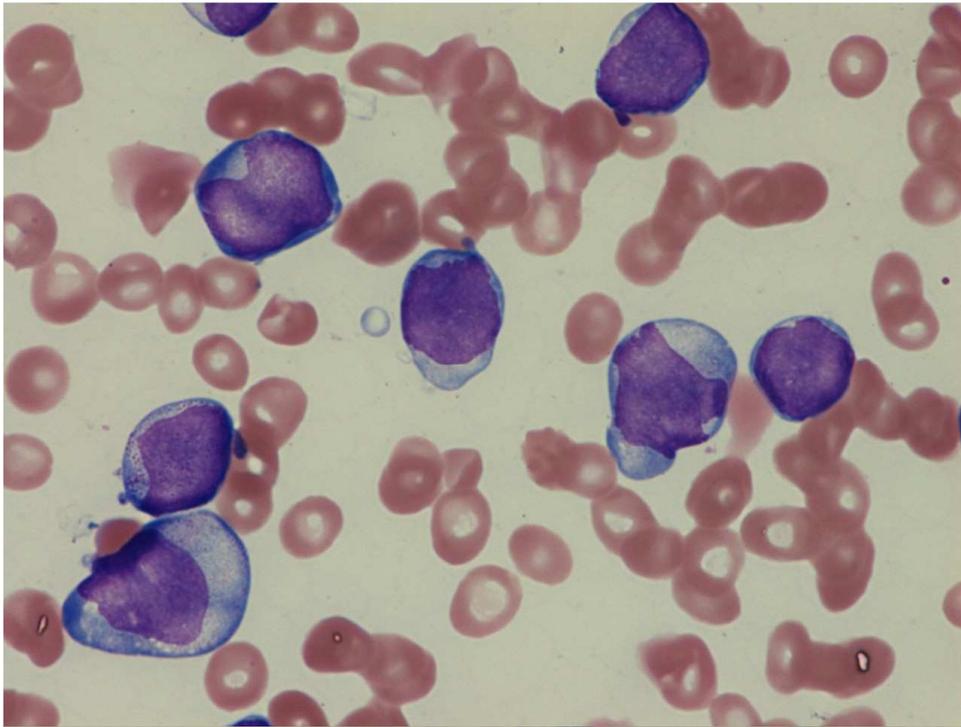
II型：中等度陽性(2点)

III型：強陽性(3点)

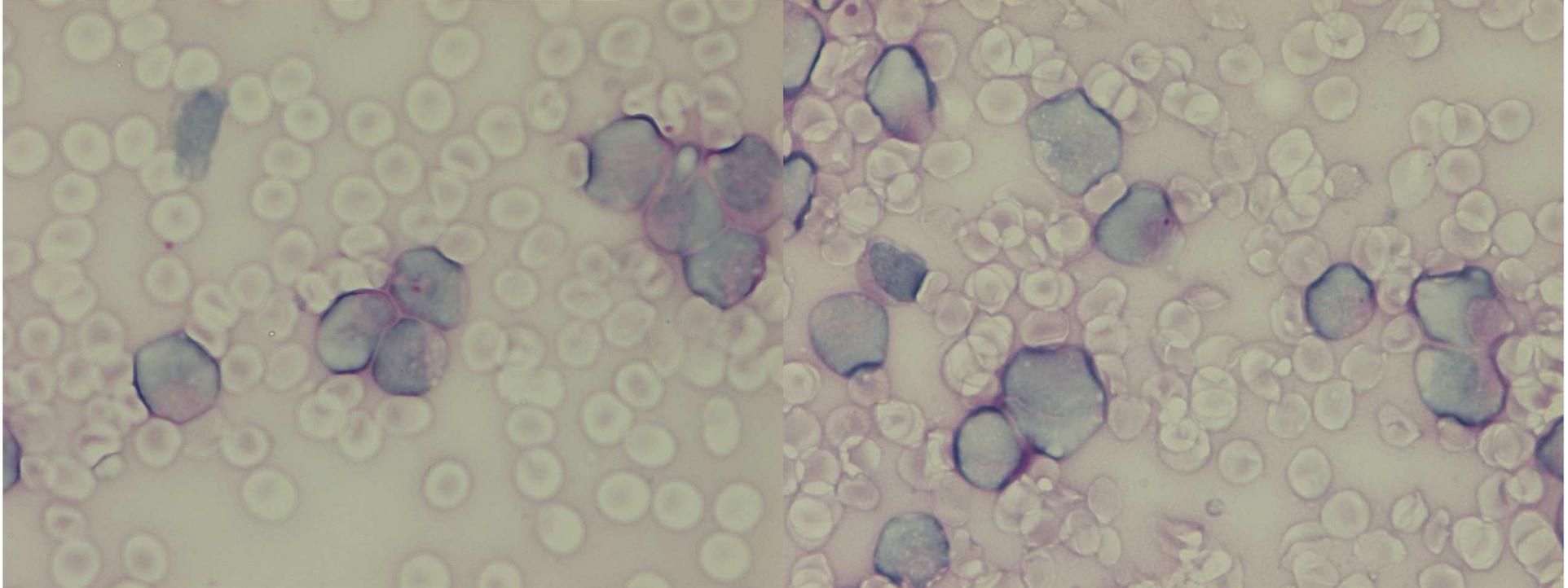
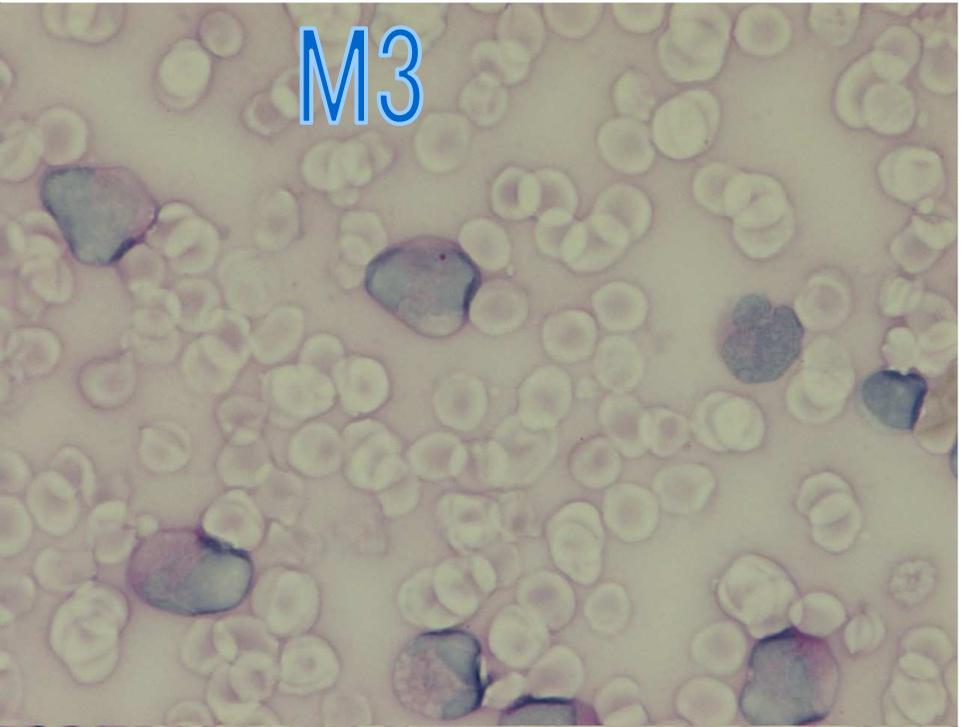
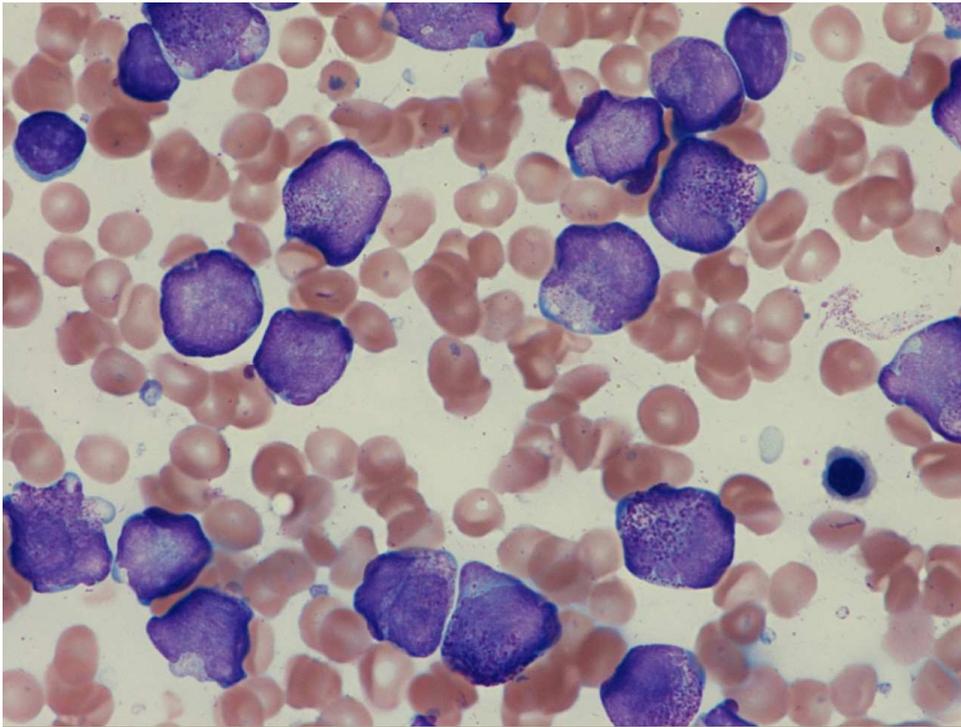


MDS

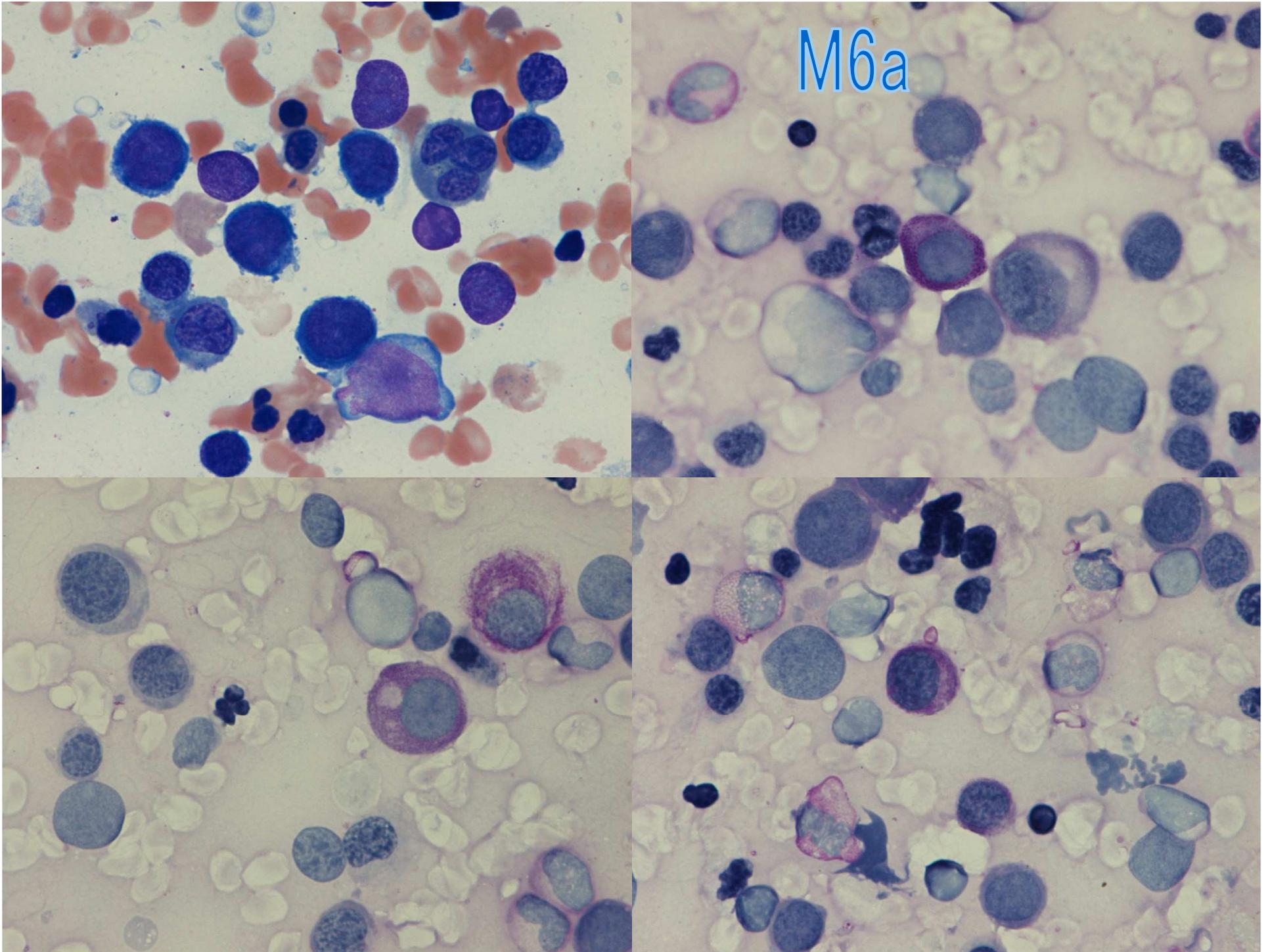




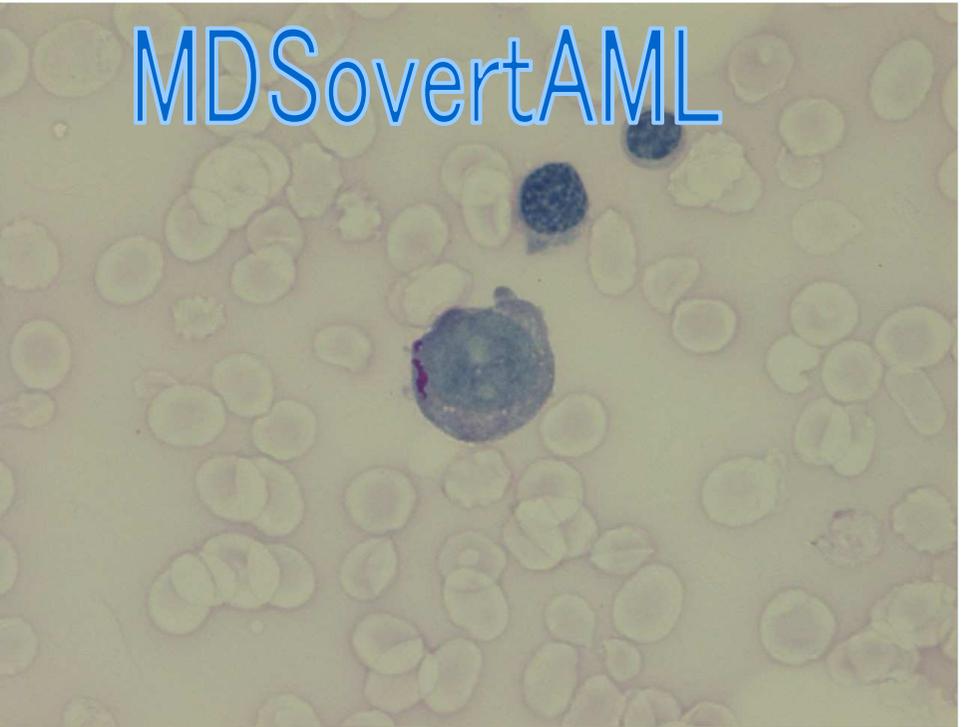
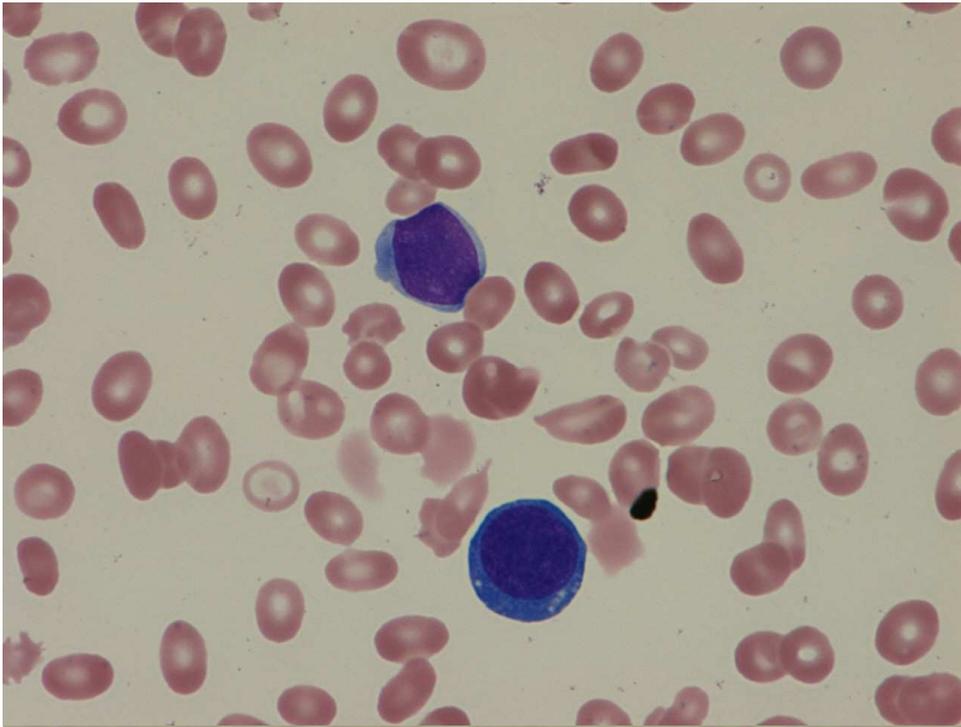
M3



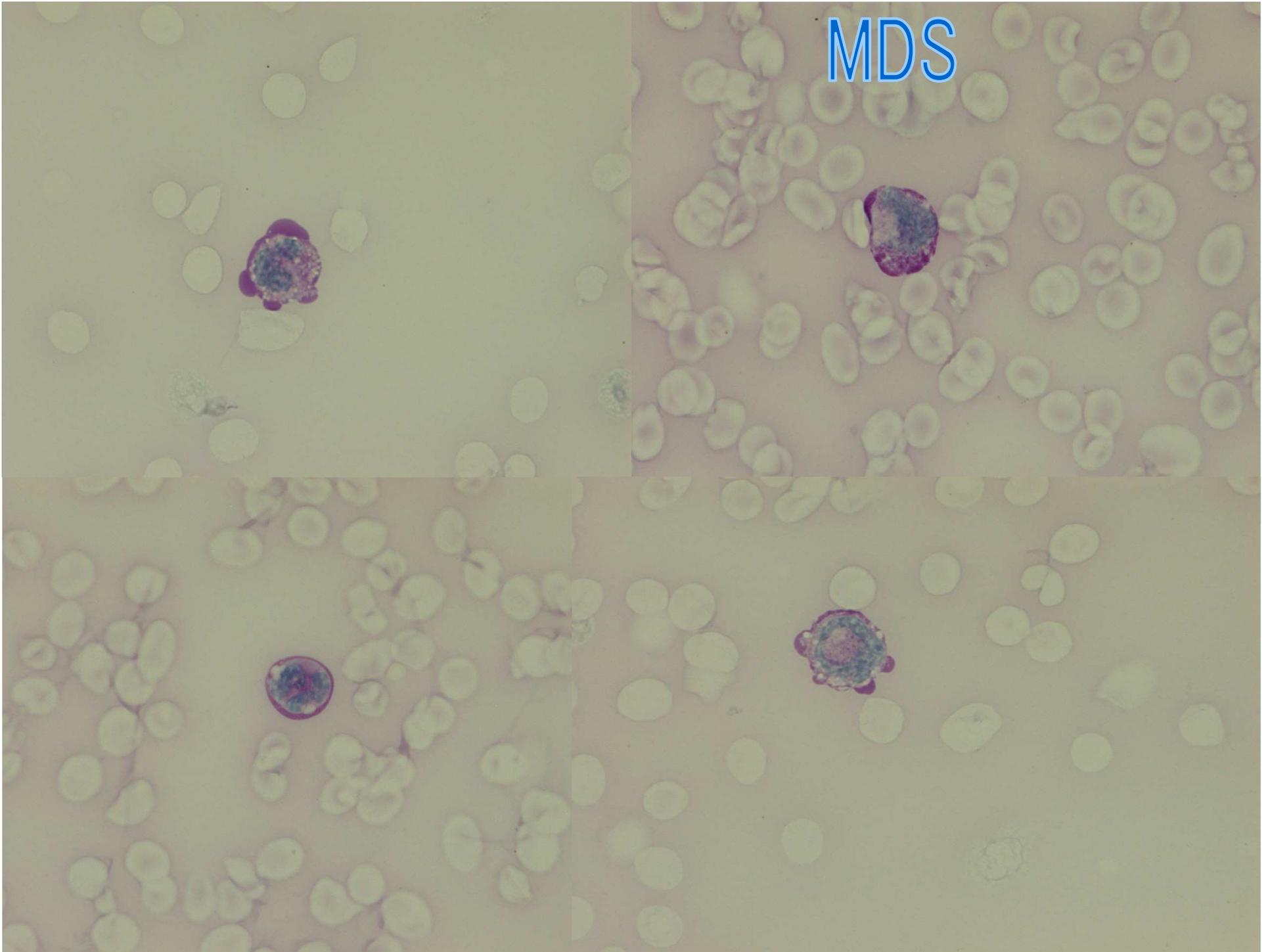
M6a



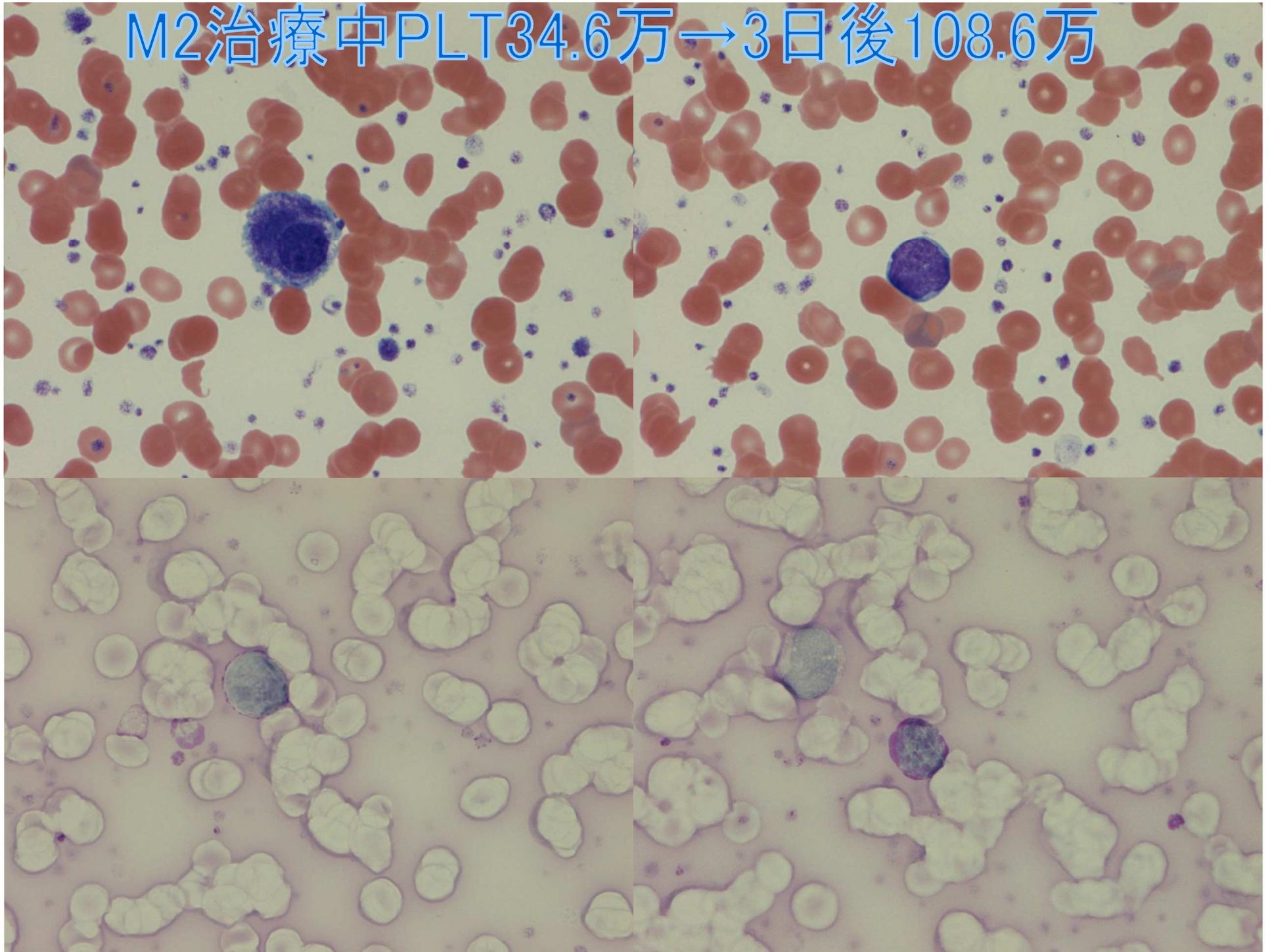
MDSovertAML



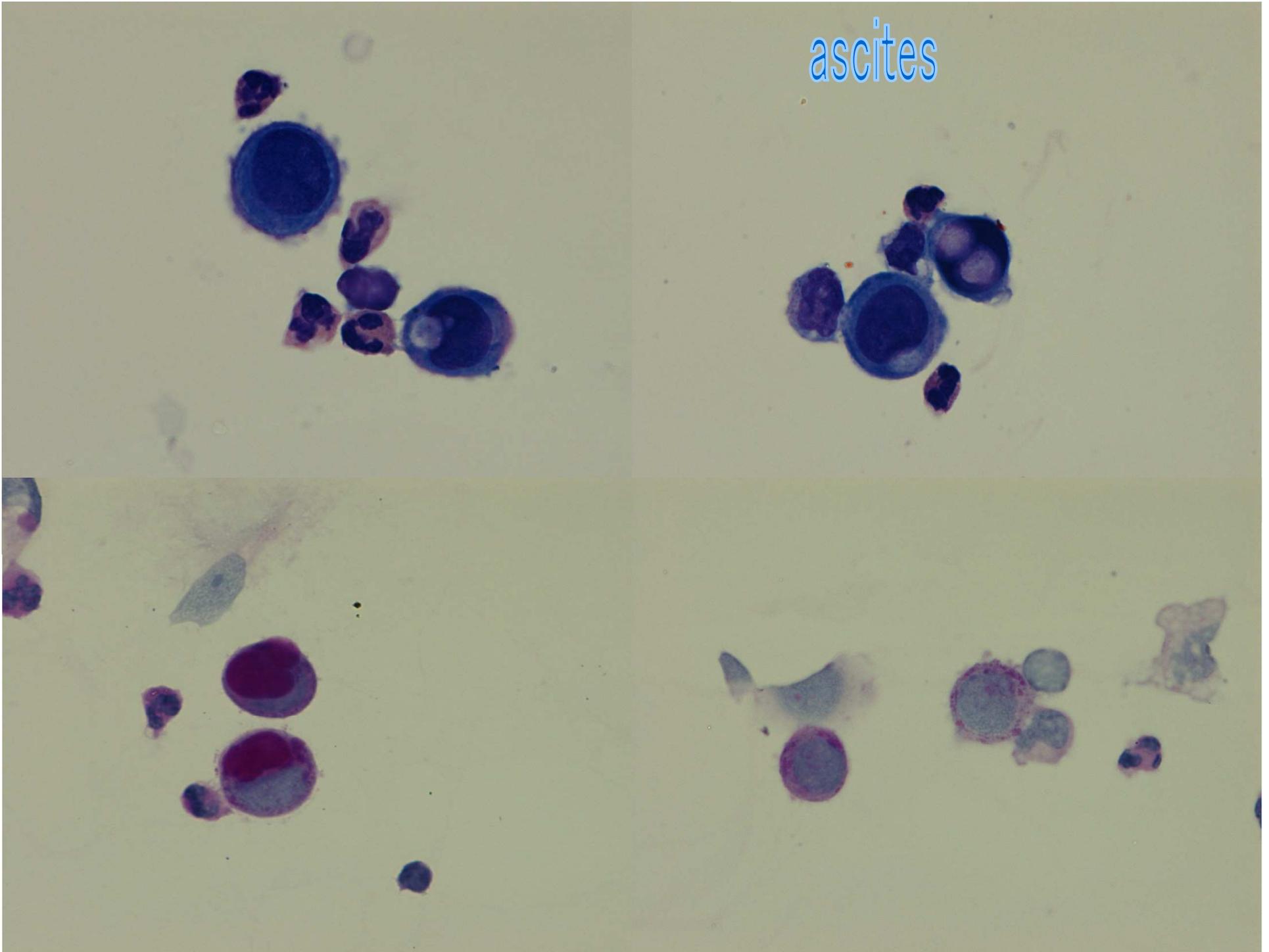
MDS



M2治療中PLT34.6万→3日後108.6万



ascites



# まとめ

**PAS染色の手技は十数種類もの変法が報告されており、所見の表現方法も統一されたものがない(症例の様に、同一細胞系でも顆粒状に染まったり、び慢性に染まったりする)。**

**Schiff試薬の後の亜硫酸水処理を省いて水洗しても共染なく綺麗に染まり、亜硫酸水処理を省いても染色態度に差は余り認められない。**