

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.12.1501

异基因造血干细胞移植后慢性移植物抗宿主病小鼠模型的建立和评价

伊文芳^{1*}, 郭坤元², 贺信², 林广¹, 张成¹, 王静²

1. 珠海市人民医院儿科, 珠海 519000

2. 南方医科大学珠江医院血液内科, 广州 510280

[摘要] **目的** 采用化疗药物预处理方案建立异基因造血干细胞移植的慢性移植物抗宿主病小鼠模型, 并进行评价。

方法 以 BALB/c^{H-2^{kd}} 小鼠作为供鼠, C57BL/6^{H-2^{kb}} 小鼠为受鼠。对受鼠使用不同的化疗药物进行预处理[方案 1: 白消安 20 mg/(kg·d)×4 d + 环磷酰胺 150 mg/(kg·d)×2 d; 方案 2: 白消安 20 mg/(kg·d)×4 d + 环磷酰胺 100 mg/(kg·d)×2 d], 然后经尾静脉注射不同剂量的供鼠脾细胞(6×10⁷ 或 4×10⁷ 个)和(或)相同剂量的骨髓细胞(2×10⁷ 个), 建立慢性移植物抗宿主病小鼠模型; 采用嵌合体分析、临床评分、组织病理学等进行评价。**结果** 采用白消安 20 mg/(kg·d)×4 d + 环磷酰胺 150 mg/(kg·d)×2 d 的方案进行预处理, 2×10⁷ 个骨髓单个核细胞+6×10⁷ 个脾单个核细胞进行移植可形成较高水平的供受者混合嵌合体。移植物抗宿主病发生时间多集中在供鼠脾细胞输注后 30~90 d, 化疗药物剂量大的预处理方案及移植细胞数高的移植组小鼠的临床评分和慢性移植物抗宿主病的发生率高于化疗药物剂量小的预处理方案及移植细胞数少的移植组($P<0.05$)。模型小鼠肠、肝脏、皮肤、脾脏等器官出现细胞和结构异常、炎症细胞浸润等病理改变。**结论** 采用白消安和环磷酰胺预处理, 给予 2×10⁷ 个骨髓单个核细胞+6×10⁷ 或 4×10⁷ 个脾单个核细胞可形成较稳定的慢性移植物抗宿主病小鼠模型, 为进一步指导临床治疗慢性移植物抗宿主病奠定了实验基础。

[关键词] 动物模型; 移植物抗宿主病; 同种移植; 造血干细胞移植

[中图分类号] R 457.7

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2016)12-1501-05

Establishment and evaluation of mouse model of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

YI Wen-fang^{1*}, GUO Kun-yuan², HE Xin², LIN Guang¹, ZHANG Cheng¹, WANG Jing²

1. Department of Pediatrics, Zhuhai People's Hospital, Zhuhai 519000, Guangdong, China

2. Department of Hematology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong, China

[Abstract] **Objective** To establish a mouse model of chronic graft-versus-host disease (GVHD) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using chemotherapy preconditioning regimens. **Methods** The donor mouse was BALB/c^{H-2^{kd}} and the recipients mouse was C57BL/6^{H-2^{kb}}. The pretreatment of recipient mouse was performed using different doses of chemotherapy drugs, busulfan (BU) 20 mg/(kg·d)×4 d + cyclophosphamide (CTX) 150 mg/(kg·d)×2 d, or BU 20 mg/(kg·d)×4 d + CTX 100 mg/(kg·d)×2 d, and then the recipient mouse was injected with different doses of spleen cells (6×10⁷ or 4×10⁷ cells) and/or same dose of bone marrow cells (2×10⁷ cells) to establish the model of chronic GVHD. Hematopoietic chimerism analysis, clinical score and histopathology were used to evaluate the model. **Results** The high level of recipient-donor mixture chimera was established by pretreated by BU 20 mg/(kg·d)×4 d + CTX 150 mg/(kg·d)×2 d and 2×10⁷ bone marrow mononuclear cells + 6×10⁷ spleen mononuclear cells. The onset of GVHD was concentrated at the 30-90 d after injecting spleen cells of the donor mouse. The clinical scores and incidence rate of chronic GVHD were significantly increased in the large numbers of cells and high doses of chemotherapy transplantation group compared with those in smaller numbers of cells and lower doses of chemotherapy groups ($P<0.05$). Pathological changes such as cellular and structural abnormalities and inflammatory cell infiltration were noted in the intestines, liver, skin and spleen of the model mice. **Conclusion** Bone marrow mononuclear cells (2×10⁷ cells) + spleen mononuclear cells (6×10⁷ or 4×10⁷ cells) can be used to establish a stable chronic GVHD mouse model via preconditioning with BU and CTX, which paves a way for clinical treatment of chronic GVHD.

[收稿日期] 2016-07-17 **[接受日期]** 2016-11-25

[基金项目] 珠海市医学科研基金(2015J030). Supported by the Program of Medicine and Scientific Research in Zhuhai City (2015J030).

[作者简介] 伊文芳, 博士, 主治医师。

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0756-2158541, E-mail: wenfang2988@126.com

[Key words] animal models; graft vs host disease; homologous transplantation; hematopoietic stem cell transplantation
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(12): 1501-1505]

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)为许多恶性血液病的治疗提供了根治手段^[1]。尽管 allo-HSCT 技术已经取得了很大进展,但是因供受者主要或者次要组织相容性抗原存在差异引起的移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)仍然是影响移植后患者长期生活的主要障碍^[2]。急性移植物抗宿主病(acute graft versus host disease, aGVHD)的发病率随着新的免疫抑制剂的使用已经得到了很好的控制,但是慢性移植物抗宿主病(chronic graft versus host disease, cGVHD)的治疗仍然进展缓慢,严重影响患者的预后,cGVHD的发病机制不清楚是主要的原因^[3]。建立能够模拟临床 cGVHD 发病过程的动物模型对于探讨 cGVHD 的发病机制尤为重要,同时也可作为 cGVHD 的治疗提供理论基础。目前国内尚缺乏模拟临床采取化疗药物作为预处理方案的 cGVHD 动物模型及其定量评价体系,本实验模拟临床的移植过程,采取化疗的预处理方案建立此模型并进行评价。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器 RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司),红细胞裂解液(Tris-NH₄Cl),磷酸盐缓冲液(pH = 7.4), FITC-H-2^{kb}mAb、APC-H-2^{kd}mAb (Becton Dickinson 公司,美国),高压灭菌消毒器,玻璃注射器针芯,普通光学显微镜,高速台式离心机(Heermle Z323k, USA), CytoFLEX 流式细胞仪(Beckman 公司,美国),洁净工作台,眼科剪,200 目不锈钢筛网,止血钳,镊。

1.2 实验动物 SPF 级健康雄性 BALB/c^{H-2^{kd}}小鼠 70 只,8~12 周龄,体质量 18~22 g,作为供鼠。SPF 级健康雌性 C57BL/6^{H-2^{kb}}小鼠 80 只,8~12 周龄,体质量 18~22 g,作为受鼠。受鼠在移植前 1 周开始饮用含 3.2 × 10⁵ U/L 庆大霉素和 250 mg/L 红霉素的灭菌溶液,无菌饲养于洁净的饲养柜中。所有供、受体小鼠均购自南方医科大学动物实验中心,SPF 级,动物使用许可证号:SYXK(粤)2011-0074。实验于 2015 年 4 月至 2015 年 10 月在南方医科大学动物实验中心完成,实验过程中对动物的

处置符合医学伦理学标准^[4]的实验方法。

1.3 建模方法

1.3.1 实验动物分组 根据减低强度(reduced intensity conditioning, RIC)预处理方案的不同,分为 RIC-1 预处理方案和 RIC-2 预处理方案。每一种预处理方案根据输注的细胞数不同,将受鼠按照随机数字表法分为 4 组,分别为 2 × 10⁷ 个骨髓细胞组、2 × 10⁷ 个骨髓细胞 + 6 × 10⁷ 个脾细胞组、2 × 10⁷ 个骨髓细胞 + 4 × 10⁷ 个脾细胞组、空白对照组,每组 10 只小鼠。

1.3.2 移植前预处理 采用化疗药物对受鼠进行预处理。RIC-1:白消安 20 mg/(kg · d) × 4 d,在细胞移植前 4~7 d 给予;环磷酰胺 150 mg/(kg · d) × 2 d,在细胞移植前 2~3 d 给予。RIC-2:白消安 20 mg/(kg · d) × 4 d,在细胞移植前 4~7 d 给予;环磷酰胺 100 mg/(kg · d) × 2 d,在细胞移植前 2~3 d 给予。停药后间隔 24 h 进行细胞移植。

1.3.3 移植细胞制备和 GVHD 诱导 取供鼠脱颈处死,用 75%乙醇消毒 5 min,无菌切取股骨、胫骨、腓骨及脾脏。将股骨、胫骨、腓骨剪开两端骨髓腔,用注射器吸取 RPMI 1640 培养液反复冲洗髓腔,将冲出的所有供鼠的骨髓细胞合并后通过 200 目筛网形成单细胞悬液,再采用淋巴细胞分离液分离单个核细胞,制成悬液。用不含血清的 RPMI 1640 培养液洗涤 2 次,计数细胞并调成所需细胞密度(1 × 10⁸/mL)备用。将脾脏剪成小块后在 200 目筛网上用注射器针芯轻轻研磨,同时用 RPMI 1640 培养液冲洗过滤形成单细胞悬液,离心后去上清液,用 Tris-NH₄Cl 溶液溶解红细胞,同样用不含血清的 RPMI 1640 培养液洗涤 2 次,计数细胞并调成所需细胞密度(1 × 10⁸/mL)备用。根据各分组要求输注的细胞数不同,调整好每只受鼠输入细胞悬液的体积,经尾静脉注入受鼠体内,输注的总体积不超过 0.5 mL。空白对照组在采用不同的预处理方案后,输入等体积的 RPMI 1640 培养液。

1.4 模型的评价

1.4.1 嵌合体分析 细胞移植后第 2、5、8、12 周,每组随机抽取 2 只受鼠,摘眼球取血,采用 FITC-H-2^{kb}mAb(受者型)和 APC-H-2^{kd}mAb(供者型)单克

隆抗体作为双染色受鼠脾细胞, 上流式细胞仪进行嵌合体分析。供鼠染色体占受鼠染色体 15% 以上为植入, 即形成嵌合体。

1.4.2 cGVHD 临床评分 细胞移植 18 d 后, 对受体小鼠的临床表现每 3 d 进行 1 次评分, 主要观察小鼠的体质量、腹泻情况、姿势、活动度、脱毛情况及生存情况。评分标准参照相关文献的评分系统^[5-8]。

1.4.3 组织病理学观察 细胞移植后第 2、5、8、12 周, 每组随机抽取 2 只受鼠, 摘眼球取血后, 取小鼠肝脏、脱毛部分皮肤、肠、脾脏, 用 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 常规切片, 苏木精-伊红染色, 光镜下观察。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 15.0 软件进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差

分析比较各组间的差异; 计数资料以百分率(%)表示, 采用 χ^2 检验比较各组之间的差异。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 嵌合体分析 双标染色体结果显示, 输注 2×10^7 个骨髓细胞 + 6×10^7 个脾细胞时, 采用 RIC-1 预处理方案较 RIC-2 预处理方案能形成更稳定的高水平嵌合体; 采用同一预处理方案时, 输注 2×10^7 个骨髓细胞 + 6×10^7 个脾细胞与 2×10^7 个骨髓细胞 + 4×10^7 个脾细胞均能形成较稳定的嵌合体, 而输注 2×10^7 个骨髓细胞组未能形成嵌合体。随着移植时间的延长, 嵌合体的比例也升高。见图 1。

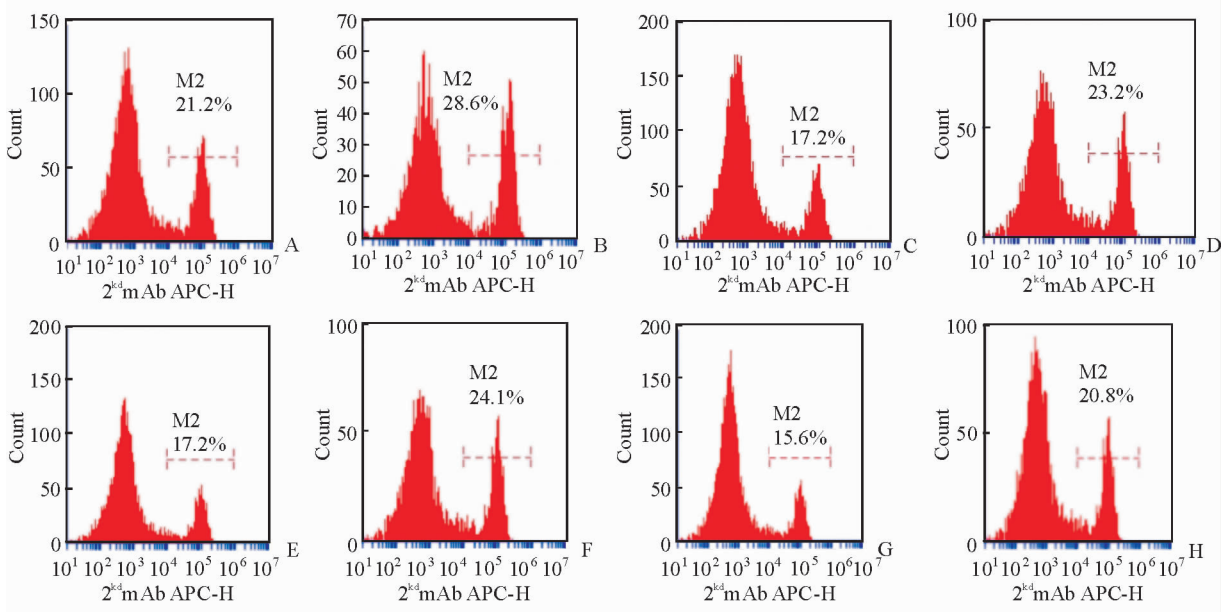


图 1 移植后不同预处理方案及不同时间段供受鼠细胞嵌合体比例

Fig 1 Chimeric ratio in different conditioning regimens at different time points after transplantation in donor mice

A, B: Injecting 6×10^7 spleen cells + 2×10^7 bone marrow cells for 8 weeks (A) and 12 weeks (B) followed by busulfan (BU) 20 mg/(kg · d) × 4 d + cyclophosphamide (CTX) 150 mg/(kg · d) × 2 d preconditioning; C, D: Injecting 4×10^7 spleen cells + 2×10^7 bone marrow cells for 8 weeks (C) and 12 weeks (D) followed by BU 20 mg/(kg · d) × 4 d + CTX 150 mg/(kg · d) × 2 d preconditioning; E, F: Injecting 6×10^7 spleen cells + 2×10^7 bone marrow cells for 8 weeks (E) and 12 weeks (F) followed by BU 20 mg/(kg · d) × 4 d + CTX 100 mg/(kg · d) × 2 d preconditioning; G, H: Injecting 4×10^7 spleen cells + 2×10^7 bone marrow cells for 8 weeks (G) and 12 weeks (H) followed by BU 20 mg/(kg · d) × 4 d + CTX 100 mg/(kg · d) × 2 d preconditioning

2.2 cGVHD 临床评分 各组小鼠活动度、皮肤脱毛情况、体质量减轻、腹泻及弓背姿势之间的比较结果提示, cGVHD 的发生时间多集中在细胞移植后的 30~90 d。根据评分标准, 采用 RIC-1 预处理方案时, 2×10^7 个骨髓细胞 + 6×10^7 个脾细胞组和 2×10^7 个骨髓细胞 + 4×10^7 个脾细胞组小鼠 cGVHD 的发生率分别为 72% 和 64%, 差异有统计

学意义 ($P < 0.05$); 采用 RIC-2 预处理方案时, 2×10^7 个骨髓细胞 + 6×10^7 个脾细胞组和 2×10^7 个骨髓细胞 + 4×10^7 个脾细胞组小鼠 cGVHD 的发生率分别为 67% 和 56%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 2×10^7 个骨髓细胞组未发生 cGVHD。 各组发病的小鼠主要表现为静止性弓背, 刺激状态下活动性明显降低, 皮肤表面脱毛以局部脱毛为主, 腹

泻发生情况较少。总体来说,在同一预处理方案下,输注细胞数高的移植组小鼠的临床评分高于输注细胞数少的移植组 ($P < 0.05$);在相同移植细胞数量

的情况下,化疗药物剂量大的预处理方案处理后小鼠的临床评分高于化疗药物剂量小的预处理方案 ($P < 0.05$)。见表1。

表1 移植后第8周各组cGVHD小鼠的临床评分

Tab 1 Clinical score of rats with chronic graft-versus-host disease (cGVHD) at the 8th week after cell transplanting

$n=6, \bar{x} \pm s$

Group	Hunched position	Diarrhea	Skin alopecia	Body mass lost	Total score
RIC-1					
2×10^7 bone marrow cells	$0.48 \pm 0.47^*$	0	0	$1.94 \pm 0.67^{\nabla}$	$0.60 \pm 0.9^{\nabla}$
2×10^7 bone marrow cells + 6×10^7 spleen cells	$0.47 \pm 0.43^*$	0	$0.46 \pm 0.30^{\triangle}$	$6.00 \pm 0.76^{*\triangle\nabla}$	$1.73 \pm 2.65^{*\triangle\nabla}$
2×10^7 bone marrow cells + 4×10^7 spleen cells	$0.47 \pm 0.33^*$	0	$0.45 \pm 0.30^{\triangle}$	$4.40 \pm 0.06^{*\triangle\nabla}$	$1.33 \pm 1.91^{*\triangle\nabla}$
Blank control	0	0	0	0	0
RIC-2					
2×10^7 bone marrow cells	$0.48 \pm 0.47^*$	0	0	$2.64 \pm 0.35^*$	$0.78 \pm 1.19^*$
2×10^7 bone marrow cells + 6×10^7 spleen cells	$0.40 \pm 0.43^*$	$0.47 \pm 0.20^{*\triangle}$	$0.46 \pm 0.30^{\triangle}$	$3.80 \pm 0.82^{*\triangle\blacktriangle}$	$1.28 \pm 1.60^{*\triangle\blacktriangle}$
2×10^7 bone marrow cells + 4×10^7 spleen cells	$0.47 \pm 0.33^*$	$0.48 \pm 0.21^{*\triangle}$	$0.46 \pm 0.30^{\triangle}$	$3.12 \pm 1.18^{*\triangle}$	$1.13 \pm 1.32^{*\triangle}$
Blank control	0	0	0	0	0

RIC-1: BU 20 mg/(kg · d) × 4 d + CTX 150 mg/(kg · d) × 2 d preconditioning; RIC-2: BU 20 mg/(kg · d) × 4 d + CTX 100 mg/(kg · d) × 2 d preconditioning. BU: Busulfan; CTX: Cyclophosphamide. * $P < 0.05$ vs blank control; $\triangle P < 0.05$ vs 2×10^7 bone marrow cells in the same preconditioning; $\blacktriangle P < 0.05$ vs 2×10^7 bone marrow cells + 4×10^7 spleen cells in the same preconditioning; $\nabla P < 0.05$ vs RIC-2 preconditioning in the same cell graft method

2.3 组织病理学观察 cGVHD 小鼠肠道病理表现为肠壁肌细胞肥大,脂肪细胞减少,单核细胞及淋巴细胞浸润(图2A);肝脏病理表现为肝细胞水肿,细胞排列紊乱呈条索状,汇管区小灶状坏死及炎症

细胞浸润(图2B);皮肤病理表现为皮下胶原沉积,炎症细胞浸润,脂肪层变薄(图2C);脾脏病理表现为脾细胞排列紊乱,脾小结消失,大量的炎症细胞浸润(图2D)。

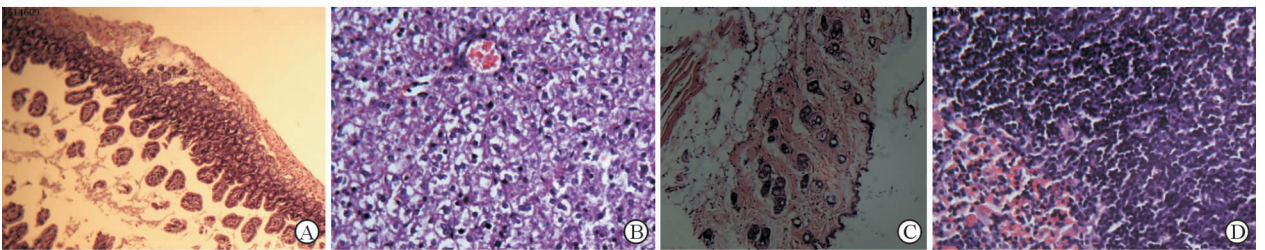


图2 慢性移植抗宿主病小鼠肠(A)、肝脏(B)、皮肤(C)和脾脏(D)病理改变

Fig 2 Pathological changes of the mouse intestinal (A), liver (B), skin (C), and spleen (D)

All of the specimens are from RIC-1, 2×10^7 bone marrow cell + 6×10^7 spleen cell transplant group. H-E staining. Original magnification: ×40

3 讨论

建立能够模拟临床 allo-HSCT cGVHD 发病过程的动物模型对于探讨 cGVHD 的发病机制及预防其发生的策略具有重要意义。邓兰等^[9]通过照射的预处理方案建立了 MHC 半相合的 cGVHD 模型,与 Fujii 等^[10]的研究结果相类似。吴远彬等^[11]以及

Eisenberg 和 Via^[12]建立的单倍体 cGVHD 模型均采取了简化的预处理方案和直接输注脾细胞的方式,此种建模方式与临床实际存在一定的出入。贺信等^[13]采取将 C57BL/6^{H-2^{kb}}小鼠的骨髓及脾细胞移植给 BALB/c^{H-2^{kd}}的移植方式建立了 allo-HSCT aGVHD 模型,为本研究建立 cGVHD 模型提供了很好的实验基础。本研究模型与之相比,同样是采

取脾细胞加骨髓的输注方式,但是增加了细胞数,骨髓细胞为 2×10^7 个,脾细胞为 6×10^7 或 4×10^7 个,同时模拟临床采用化疗作为预处理的方式建模,更符合实际应用。BALB/c^{H-2kd} 及 C57BL/6^{H-2kb} 是两种具有不同遗传背景的小鼠^[9],本研究采取将 BALB/c^{H-2kd} 移植给 C57BL/6^{H-2kb} 的方式建立 allo-HSCT cGVHD 模型,嵌合体分析、临床评分及组织病理学表现均提示 allo-HSCT cGVHD 模型建立成功。移植细胞数高的移植组小鼠的临床评分和 cGVHD 的发生率均高于移植细胞数少的移植组,说明 cGVHD 的发生和来源与供者的 T 细胞及数量有很大关系,这与 Fujii 等^[10]的研究结果相符合。

在临床上,对于一些难治性复发的儿童白血病患者,化疗失败后采取移植是治疗方式之一^[14]。基于此,我们的 cGVHD 动物模型的预处理方案采取白消安 + 环磷酰胺化疗模式。实验表明白消安 $20 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d}) \times 4 \text{ d}$ 、在细胞移植前 4~7 d 给予,环磷酰胺 $150 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d}) \times 2 \text{ d}$ 、在细胞移植前 2~3 d 给予,并输注数量较大的骨髓细胞及脾细胞,可以建立比较稳定的 cGVHD 模型。相较于半相合的 cGVHD 小鼠模型,此种 allo-HSCT cGVHD 模型能更好地模拟临床 cGVHD 的发生过程,为探讨预防和治疗 cGVHD 的策略及 cGVHD 的发病机制提供了实验平台。

[参考文献]

[1] APPELBAUM F R. Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy[J]. *Nature*, 2001, 411: 385-389.

[2] JOFFRE O, VAN MEERWIJK J P. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T lymphocytes in bone marrow transplantation[J]. *Semin Immunol*, 2006, 18: 128-135.

[3] PEFFAULT DE LATOUR R. Transplantation for bone marrow failure: current issues[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2016(1): 90-98.

[4] SIMPSON E, SCOTT D, JAMES E, LOMBARDI G, CWYNARSKI K, DAZZI F, et al. Minor H antigens: genes and peptides[J]. *Transpl Immunol*, 2002, 10(2/3): 115-123.

[5] KAPLAN D H, ANDERSON B E, MCNIFF J M, JAIN D, SHLOMCHIK M J, SHLOMCHIK W D. Target antigens determine graft-versus-host disease phenotype[J]. *J Immunol*, 2004, 173: 5467-5475.

[6] ANDERSON B E, MCNIFF J M, JAIN D, BLAZAR B R, SHLOMCHIK W D, SHLOMCHIK M J. Distinct roles for donor- and host-derived antigen-presenting cells and costimulatory molecules in murine chronic graft-versus-host disease: requirements depend on target organ[J]. *Blood*, 2005, 105: 2227-2234.

[7] MATTE C C, LIU J, CORMIER J, ANDERSON B E, ATHANASIADIS I, JAIN D, et al. Donor APCs are required for maximal GVHD but not for GVL[J]. *Nat Med*, 2004, 10: 987-992.

[8] ANDERSON B E, MCNIFF J M, MATTE C, ATHANASIADIS I, SHLOMCHIK W D, SHLOMCHIK M J. Recipient CD4⁺ T cells that survive irradiation regulate chronic graft-versus-host disease[J]. *Blood*, 2004, 104: 1565-1573.

[9] 邓 兰,郭坤元,尹晓琳,李玉华,吴岚晓. MHC 半相合骨髓移植后慢性 GVHD 小鼠模型的建立[J]. *免疫学杂志*, 2005, 21: 306-312.

[10] FUJII H, LUO Z J, KIM H J, NEWBIGGING S, GASSAS A, KEATING A, et al. Humanized chronic graft-versus-host disease in NOD-SCID il2ry^{-/-} (NSG) mice with G-CSF-mobilized peripheral blood mononuclear cells following cyclophosphamide and total body irradiation [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0133216. doi: 10.1371/journal.pone.0133216.

[11] 吴远彬,郭坤元,陆志刚,周 健,宋朝阳,吴秉毅,等. 单倍体相合造血干细胞移植后慢性移植物抗宿主病小鼠模型的建立及评价[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12: 2326-2330.

[12] EISENBERG R A, VIA C S. T cells, murine chronic graft-versus-host disease and autoimmunity [J]. *J Autoimmun*, 2012, 39: 240-247.

[13] 贺 信,许晓军,王 静,伊文芳,叶永斌,黄宇贤,等. 白消安联合环磷酰胺诱导小鼠急性移植物抗宿主病模型的建立[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31: 1637-1642.

[14] NABHAN C, MEHTA J, TALLMAN M S. The role of bone marrow transplantation in acute promyelocytic leukemia[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2001, 28: 219-226.

[本文编辑] 孙 岩