文章编号:1000-5404(2008)13-1227-04

论著

Cx40、Cx43 在失血性休克大鼠血管舒张反应调节中的作用

明 佳,张 瑗,李 涛,杨光明,徐 竞,刘良明 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

摘 要:目的 研究 Cx40、Cx43 在失血性大鼠肠系膜上动脉内膜依赖的血管舒张反应性调节中的作用及其可能的调节机制。方法 以 SD 大鼠肠系膜上动脉(superior mesenteric artery,SMA)为研究对象,采用体外缺氧模型,以 Cx40 或 Cx43 的反义寡脱氧核苷酸(Cx40/43 antisense oligodeoxyribonucleotide,Cx40/43 AODN)阻断 SMA 的 Cx40 或 Cx43 表达,观察 Cx40/43 AODN 对缺氧处理 SMA 舒张反应性、MLCP 和 MLCK 活性等的影响。结果 Cx40 AODN 可以显著增加 SMA 内膜依赖的舒张反应性($P<0.01$);Cx43 AODN 可以显著降低 SMA 内膜依赖的舒张反应性($P<0.01$)。Cx40/43 AODN 对 SMA 的 MLCK、MLCP 活性无明显作用。结论 Cx40 和 Cx43 参与了失血性休克后内膜依赖的血管舒张反应性的调节,其机制与血管的 MLCK 和 MLCP 活性无明显关系。

关键词:血管低反应性 连接蛋白 40/43;内膜依赖性 舒张反应性
中图法分类号:R329.26;R331.32;R605.971 文献标识码:A

Regulatory role of Cx40/43 in endothelium-dependent vasorelaxation reactivity of superior mesenteric artery in hemorrhagic shock rats

MING Jia, ZHANG Yuan, LI Tao, YANG Guang-ming, XU Jing, LIU Liang-ming (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Surgery, Department 2, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the role and possible mechanism of Cx40/43 regulating the endothelium-dependent vasorelaxation reactivity following hemorrhagic shock in rats. Methods Superior mesenteric arteries (SMAs) was taken out from SD rats, and cut into 2 – 3 mm segments. Cx40/43 antisense oligodeoxyribonucleotide (Cx40/43 AODN) was transfected into the segments respectively, and then the transfected and non-transfected segments were cultured in a hypoxia culture tank. The changes of vasodilation response, the activities of myosin light chain kinase (MLCK) and myosin light chain phosphatase (MLCP) were observed. Results Cx40 AODN improved the vasorelaxation response of SMA, while Cx43 AODN attenuated it. Cx40/43 AODN had no effect on the MLCK and MLCP activities of SMA. Conclusion Both Cx40 and Cx43 have important effects on regulating the endothelium-dependent vasorelaxation reactivity in rats following hemorrhagic shock. The regulation has no relation with the activities of MLCP and MLCK of SMAs.

Key words: hyporesponsiveness; connexin40/43; endothelium-dependent; vasorelaxation response

缝隙连接(gap junction,GJ)是存在于相邻细胞间的一种膜通道结构,它允许电信号和相对分子质量低于 1 000 或直径 < 1.0 nm 的离子或小分子物质通过,如:小分子代谢产物、水分子、第二信使(Ca^{2+}、三磷酸肌醇、环核苷酸)等[1]。GJ 的基本组成单位是连接蛋白(connexin,Cx),在人类基因谱中 Cx 有 21 个成员,分别以其相对分子质量命名,例如:Cx43,代表相对分子质量为 43×10^3 的连接蛋白。在血管系统中以表达 Cx37、Cx40 和 Cx43 为主[2]。目前发现,GJ 的功能缺陷或异常与高血压、动脉粥样硬化等多种心血管疾病有关。血管内皮细胞(vascular endothelial cell,VEC)是覆盖于血管腔面的单层鳞状上皮细胞,它除了具有屏障作用和调节血管内外物质交换的作用以外,还可以分泌、合成和降解多种活性物质,实现其调节血管张力、细胞间黏附、血管生长以及抗凝和促凝的作用。VEC 和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)间的 GJ 被命名为肌内皮缝隙连接(myo-endo-

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目("973"项目)(2005CB522601);国家自然科学基金(30625037)
Supported by the National Key Basic Research and Development Plan of China ("973" Projects, 2005CB522601) and the National Natural Science Foundation of China (30625037)
作者简介:明 佳,女,重庆市人,博士,主治医师,主要从事战创伤休克病理生理方面的研究,发表论文 6 篇。电话:(023)68757420
通信作者:刘良明,电话:(023)68757421,E-mail:liuliangming2002@yahoo.com
收稿日期:2007-10-18;修回日期:2007-12-03

thelial gap junction，MEGJ）。MEGJ 可以穿过血管内弹力层，使 VEC 与 VSMC 进行直接的电和化学交流[3,4]，从而参与血管紧张性调节。我们的前期研究发现，VEC 通过 MEGJ 参与调节了失血性休克后 SD 大鼠肠系膜上动脉（superior mesenteric artery，SMA）内膜依赖的舒张反应性，但是，Cx40/43 是否参与了失血性休克后血管舒张反应性的调节及其可能的机制目前尚不清楚。因此，本实验采用体外缺氧模型，以 SD 大鼠的 SMA 为研究对象，利用 Cx40 或 Cx43 的反义寡脱氧核苷酸（antisense oligodeoxynucleotide，AODN）阻断 SMA 的 Cx40 或 Cx43 表达，观察不同程度缺氧的 SMA 在血管内膜依赖性的舒张反应变化及肌球蛋白轻链磷酸酶（myosin light chain phosphorylase，MLCP）和肌球蛋白轻链激酶（myosin light chain kinase，MLCK）活性等方面的变化，希望通过本研究了解 MEGJ 对休克后血管舒张反应性的调节作用及可能机制，以拓宽对 VEC 和 MEGJ 的认识。

1 材料与方法

1.1 标本的制备

按照文献[5,6]的方法，在无菌条件下取正常 SD 大鼠[体质量（270±10）g，雌雄不拘，购自第三军医大学野战外科研究所实验动物中心]的 SMA，清除血管周围结缔组织后进行 Cx40/43 AODN 的转染和不同程度缺氧，用于 MLCP/MLCK 活性的检测。将 1 根 SMA 剪开制成 2～3 mm 的 SMA 血管环，进行 Cx40/43 AODN 的转染，并检测在不同程度缺氧后血管的舒张反应性。

1.2 Cx40/43 AODN 的转染

将 SMA 血管或血管环浸入含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 完全培养基（HyClone，美国）中，根据实验分组要求，将 Cx40 AODN 或 Cx43 AODN（100 μmol/L）与转染试剂（SuperFect Transfection reagent，Qiagen，美国）按 5∶1 的体积比混合后加入 DMEM/F12 完全培养基中，37 ℃孵育 24 h 后用于转染效率的检测和其他后续实验。运用 RT-PCR 的方法检测 Cx40/43 AODN 的转染效率。Cx40 AODN 或 Cx43 AODN 的设计依照反义链与大鼠连接蛋白 mRNA 的 AUG 翻译起始编码区互补的原则进行，Cx40 AODN 和 Cx43 AODN 序列如下：Cx40 AODN：5′-GTCACCCATCTTGCCAAG-3′；Cx43 AODN：5′-CTCCAGTCAC-CCATGTCTG-3′。

1.3 缺氧处理

将装有 SMA 血管或血管环（已转染或未转染 Cx40/43 AODN）的培养板去盖后移入缺氧培养罐（Corning，美国），密闭培养罐后将其置于 37 ℃恒温孵箱中，以 10 L/min 的速度向缺氧培养罐中充入缺氧气体（95% N_2 和 5% CO_2）10 min，然后夹闭 5 min，继续充气，重复 3 次后开始计算血管环缺氧时间。分别在缺氧后 1 h 和 3 h 取出血管环，进行各项指标的测定。常氧组血管在此过程中置于相同的 37 ℃恒温孵箱中。

1.4 内膜依赖的血管舒张反应性测定

实验取正常 SD 大鼠的 72 根 SMA 环，分为常氧组、缺氧 1 h 组和缺氧 3 h 组，每组又分为对照亚组、Cx40 AODN 处理亚组、Cx43 AODN 处理亚组，各组和对照亚组经常氧、缺氧 1 h 或 3 h 处理后，直接用于后续实验；Cx40/43 AODN 处理亚组在进行常氧、缺氧 1 h 或 3 h 处理后与 100 μmol/L 的 Cx40/43 AODN 孵育 24 h，用于后续实验。每组 8 根血管环。

将转染或未转染 Cx40/43 AODN、常氧或缺氧处理的血管环悬挂于注有 Krebs-Henseleit 重碳酸盐缓冲液[4,5]的离体器官灌流浴槽（Leitca Scientific Instruments，西班牙）中，支架与肌张力换能器（AD Instruments，澳大利亚）相连，浴槽中持续充入含有 95% O_2 和 5% CO_2 的混合气体，给予血管环预初张力 0.5 g，37 ℃孵育 2 h，每 20 分钟换液 1 次，待张力曲线平稳后，以去甲肾上腺素（NE，终浓度为 10^{-6} mol/L）诱导血管环收缩至稳定的平台期后，加入终浓度为 10^{-5} mol/L 的乙酰胆碱（acetylcholine，Ach；内膜依赖性的血管舒张剂，Sigma，美国），以血管环舒张程度（%）评价血管的舒张反应性。

$$\text{血管环舒张程度}(\%)=\frac{\text{加 Ach 后血管张力的下降幅度}}{\text{加 NE 后血管张力的上升幅度}}\times 100\%$$

以血管环舒张程度超过 70% 表示血管内膜完整[7]，本实验用的血管环均在舒张程度大于 75% 的条件下进行。

1.5 MLCP 活性测定

实验取正常 SD 大鼠的 96 根 SMA，分为常氧组、缺氧 1 h 组和缺氧 3 h 组，每组又分为对照亚组、Ach 处理亚组、Ach 和 Cx40 AODN 处理亚组、Ach 和 Cx43 AODN 处理亚组，每组 8 根血管。具体处理方法同 1.4。Ach 终浓度为 10^{-5} mol/L，37 ℃孵育 30 min 后用于后续实验。

将转染或未转染 Cx40/43 AODN、常氧或缺氧处理的 SMA 与 10^{-5} mol/L 的 Ach 孵育 30 min 后，取出血管，立即将其剪碎后匀浆，加入 250 μl 蛋白提取液[Tris 50 mmol/L，NaCl 150 mmol/L，Triton X-100 1%（体积分数），EGTA 1 mmol/L，EDTA 2 mmol/L，NaF 10 mmol/L，Na_3VO_4 1 mmol/L，PMSF 1 mmol/L，Leupeptin 5 μg/ml，Aprotinin 5 μg/ml，β-巯基乙醇 1∶1 000]，按常规方法提取组织总蛋白，Folin-酚法进行蛋白含量的测定。取蛋白 10 μl，加入 240 μl 蛋白稀释液（Tris-HCl 25 mmol/L，EDTA 0.1 mmol/L，0.1% 的 β-巯基乙醇），混匀后，取 40 μl 加入 10 μl 磷酸化 Myosin，25 ℃反应 15 min；加入 100 μl 25% 的三氯乙酸，25 μl 5 mg/ml 的牛血清白蛋白终止反应；13 000×g 离心 3 min；取 100 μl 反应混合液滴于滤纸片上（1.52 cm^2），滴加 6 ml 闪烁液（含 5% PPO、0.03% POPOP 的二甲苯），测定 cpm 值。同时取 10 μl 磷酸化 Myosin 测定 cpm 值，以从磷酸化 Myosin 脱去的 iP 表示 MLCP 活性。

1.6 MLCK 活性测定

实验分组及标本同 1.5 方法，将转染或未转染 Cx40/43 AODN、常氧或缺氧处理的 SMA 与 10^{-5} mol/L 的 Ach 孵育 30 min 后，取出血管，每根血管加入 200 μl 预冷的 MLCK 制备缓冲液（含 Tris-HCl 30 mmol/L pH=7.4，$MgCl_2$ 1 mmol/L，KCl 50 mmol/L，EGTA 0.5 mmol/L，DTT 1 mmol/L）提取组织蛋白，Folin-酚法进行蛋白含量的测定。取定量后的蛋白匀浆液于测定管中，加入 60 μl 酶反应缓冲液（含 Tris-HCl 30 mmol/L pH=7.4，KCl 50 mmol/L，$MgCl_2$ 1 mmol/L，PNPP 60 mg/ml，PKA 抑制剂 0.2 mg/ml，[γ-^{32}P]-ATP 0.2 mmol/L，$CaCl_2$ 1 mmol/L，CaM 50 μg/ml，Myosin 2 mg/ml）混匀后 25 ℃反应 3 min；加入 5% 三氯醋酸液 10 μl 终

止反应 吸取 20 μl 该反应液滴于滤纸片上(1.52 cm^2),放入液闪瓶中,每管加入 6 ml 闪烁液(含 5% PPO、0.03% POPOP 的二甲苯),测定 cpm 值。

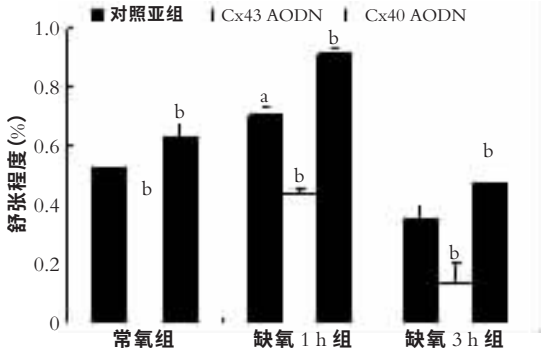
1.7　统计学分析

统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计软件进行数据统计,各组间均数比较行 ANOVA 方差分析和 Post hoc 检验(S-N-K/LSD),自身均数比较行配对 t 检验,相关性分析采用 Pearson correlation 检验。

2　结果

2.1　Cx40/43 AODN 对缺氧 SMA 内膜依赖的舒张反应性的影响

缺氧 1 h 可以明显增加 SMA 对 Ach 的反应性($P<0.01$),缺氧 3 h 可以明显降低 SMA 对 Ach 的反应性($P<0.01$)。Cx40 AODN 可以增加各组血管环对 Ach 的舒张反应($P<0.01$);Cx43 AODN 可以明显降低各组血管环对 Ach 的舒张反应($P<0.01$,图 1)。

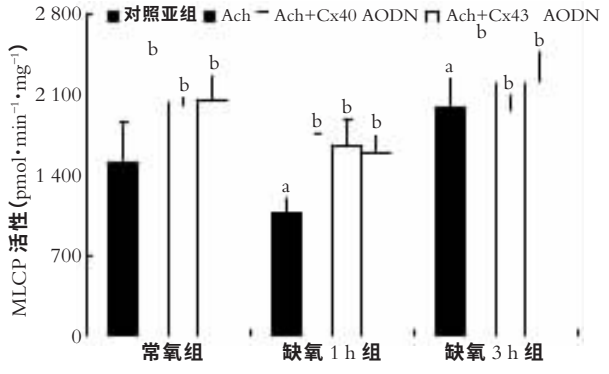


a $P<0.01$,与常氧组比较;b $P<0.01$,与对照亚组比较

图 1　各组缺氧处理 SMA 对 Ach 反应性的影响

2.2　Cx40/43 AODN 对缺氧处理血管 MLCP 活性的影响

缺氧 1 h 组血管的 MLCP 活性明显低于正常对照组($P<0.01$) 缺氧 3 h 组血管的 MLCP 活性明显高于正常对照组($P<0.01$)。Ach 可以升高各组血管的 MLCP 活性($P<0.01$) 在 Ach 的作用条件下,Cx40/43 AODN 对 Ach 诱导的血管 MLCP 活性升高的作用无明显影响(图 2)。

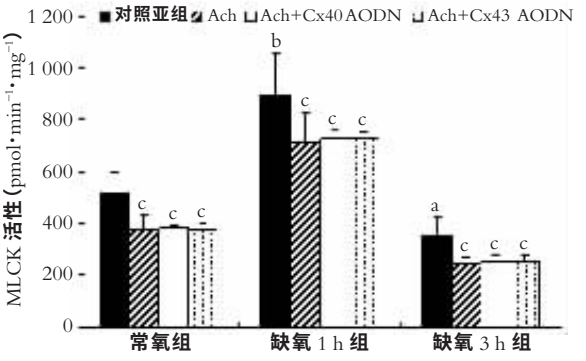


a $P<0.01$,与常氧组比较;b $P<0.01$,与对照亚组比较

图 2　Cx40/43 AODN 对缺氧处理血管 MLCP 活性的影响

2.3　Cx40/43 AODN 对缺氧血管 MLCK 活性的影响

缺氧 1 h 组血管的 MLCK 活性明显高于正常对照组($P<0.01$),缺氧 3 h 组血管的 MLCK 活性较正常对照组降低($P<0.05$)。Ach 可以引起各对照组血管的 MLCK 活性明显降低($P<0.01$),Cx40/43 AODN 对 Ach 诱导的血管 MLCK 活性下降的作用无明显影响(图 3)。



a $P<0.05$,b $P<0.01$,与常氧组比较;c $P<0.01$,与对照亚组比较

图 3　Cx40/43 AODN 对缺氧处理血管 MLCK 活性的影响

3　讨论

本实验观察了 Cx40/43 对缺氧 SMA 对 Ach 的舒张反应性的影响。结果显示,缺氧 1 h 的 SMA 对 Ach 的反应性增加,缺氧 3 h 的 SMA 对 Ach 的反应性降低;Cx40 与降低血管环对 Ach 的反应性有关,Cx43 与增加血管环对 Ach 的反应性有关。实验结果提示,Cx40 和 Cx43 在缺氧血管内膜依赖性的舒张反应性变化中起着重要的调节作用。

本实验进一步研究了 Cx40/43 调节血管舒张反应性的可能机制。结果表明,Ach 可以降低缺氧 SMA 的 MLCK 活性、升高其 MLCP 活性,说明 Ach 可能通过调节 MLCK 和 MLCP 活性参与了内膜依赖的血管舒张反应性的调节。但是,Cx40 和 Cx43 对 Ach 诱导的血管 MLCP 和 MLCK 的活性变化无明显影响,说明 Cx40 和 Cx43 可能通过其他途径调节了休克后内膜依赖的血管舒张反应性。有资料表明,Ach 可以通过 MEGJ 介导的 EDHF 参与内膜依赖的血管舒张反应的调节[8],EDHF 是一种非 NO 和非前列环素的内皮源性的平滑肌超极化因子,目前对于 EDHF 的化学本质还不清楚,可能是 K^+、细胞色素 P450 源性花生四烯酸代谢物、过氧化氢等[9],我们推测,连接蛋白在内膜依赖的血管舒张反应中的调节机制可能与连接蛋白通道对化学物质或电信号的通透性有关。基础研究表明,就阴离子递质(IP_3和 cAMP 等)和有限直径的物质而言,连接蛋白的通透性 Cx32 ≥ Cx43 > Cx26 ≈ Cx40、Cx45 ≥ Cx37;与 Cx45 相比,Cx43 通道直径较大,具有较小的阳离子选择性[10],表达 Cx43 的细胞对 ATP 的通透性是表达 Cx32 细胞的 300 倍,对 ADP 和 AMP 的通透性是后者的 8 倍[11]。结合我们前期的研究结果,在休克

代偿期，Cx40 的表达降低，Cx43 的表达增加，而 Cx43 通道的通透性远大于 Cx40，这就使 Ach 诱导产生的 VEC 超极化的化学信号或电信号能够更加快速有效地传递到 VSMC，引起后者的超极化，表现出血管舒张反应性的代偿性增加；在休克失代偿期，Cx40 的表达增加，Cx43 的表达降低，使 Ach 诱导产生的 VEC 超极化的化学信号或电信号传递到 VSMC 的效率降低，表现出血管舒张反应性的失代偿。但是，连接蛋白参与调节休克后内膜依赖性血管舒张反应的机制是否确实与连接蛋白通道对化学信号或电信号的通透性有关，尚需进一步的深入研究。

参考文献：

[1] Parthasarathi K, Ichimura H, Monma E, *et al*. Connexin 43 mediates spread of Ca^{2+}-dependent proinflammatory responses in lung capillaries [J]. J Clin Invest, 2006, 116(8): 2193 - 2200.

[2] Haefliger J A, Nicod P, Meda P. Contribution of connexins to the function of the vascular wall[J]. Cardiovasc Res, 2004, 62(2): 345 - 356.

[3] Sandow S L, Tare M, Coleman H A, *et al*. Involvement of myoendothelial gap junctions in the actions of endothelium-derived hyperpolarizing factor[J]. Circ Res, 2002, 90(10): 1108 - 1113.

[4] Toyofuku T, Yabuki M, Otsu K, *et al*. Intercellular calcium signaling *via* gap junction in connexin-43-transfected cells[J]. J Biol Chem, 1998, 273(3): 1519 - 1528.

[5] 明 佳，刘良明，李 涛，等. 肌内皮缝隙连接对失血性休克大鼠血管收缩反应的影响[J]. 中国危重病急救医学，2006，18(9)：519 - 522.

[6] 明 佳，刘良明，李 涛，等. 肌内皮缝隙连接对失血性休克大鼠血管舒张反应的影响[J]. 创伤外科杂志，2006，8(2)：120 - 123.

[7] Knapp J, Boknik P, Linck B, *et al*. Cantharidin enhances norepinephrine-induced vasoconstriction in an endothelium-dependent fashion[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2000, 294(2): 620 - 626.

[8] Vanhoutte P M, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension[J]. Br J Pharmacol, 2005, 144(4): 449 - 458.

[9] Edwards G, Dora K A, Gardener M J, *et al*. K^+ is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries [J]. Nature, 1998, 396(6708): 269 - 272.

[10] Harris A L. Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap[J]. Q Rev Biophys, 2001, 34(3): 325 - 472.

[11] Goldberg G S, Moreno A P, Lampe P D. Gap junctions between cells expressing connexin 43 or 32 show inverse permselectivity to adenosine and ATP[J]. J Biol Chem, 2002, 277(39): 36725 - 36730.

（编辑 陈聪连）

（上接 1226 页）

2.3 各组肾组织 Fas 和 bcl-2 的表达

Fas 阳性表达主要位于肾皮质肾小管上皮细胞，细胞质呈棕黄色内，细胞核无表达。假手术组只有少数细胞呈弱阳性表达；手术组与假手术组比较，Fas 表达明显增强，细胞阳性表达率明显增加（$P<0.05$）；药物组与手术组比较，Fas 表达强度显著减弱，细胞阳性表达率也显著减少（$P<0.05$）。

bcl-2 阳性表达主要位于肾皮质肾小管上皮细胞，细胞质呈棕黄色内，细胞核无表达。假手术组只有少数细胞呈弱阳性表达；手术组与假手术组比较，bcl-2 表达增强，细胞阳性表达率增加（$P<0.05$）；药物组与手术组相比，bcl-2 表达显著增强，细胞阳性表达率显著增加（$P<0.05$）。

3 讨论

RPM 为具有与环孢素 A（CsA）不同作用机制的增殖信号抑制剂类免疫抑制剂[3]。研究表明 RPM 可能通过非直接通路使激活的 T 细胞凋亡，阻止树突状细胞（DC）的抗原呈递，并抑制其成熟，减少细胞因子的分泌[4,5]。阻止 DC 在肾组织迁移聚集，可以明显减轻大鼠缺血再灌注肾组织的病理损伤，改善肾功能[6]。

本研究在建立大鼠肾缺血再灌注模型的基础上，观察肾组织 Fas、bcl-2 蛋白表达水平与再灌注损伤之间的关系，以及 RPM 对再灌注损伤的影响，探讨 RPM 保护大鼠肾缺血再灌注损伤的机制。本实验中，药物组与手术组比较，bcl-2 表达强度明显增强，Fas 表达强度明显减弱；手术组光镜、电镜观察的肾组织结构发生了显著的病理改变，肾小管上皮细胞出现不同程度的变性或坏死，药物组与手术组比较，病理改变不明显。本实验结果表明，RPM 对缺血再灌注造成的肾组织损伤有明确的保护作用。推测其作用机制之一是通过调节促凋亡基因 Fas mRNA 和抑制凋亡基因 bcl-2 mRNA 表达来抑制肾小管上皮细胞凋亡。

上述结果提示：RPM 对大鼠缺血再灌注肾的光镜和电镜组织病理改变有明确的保护作用；RPM 可能通过下调 Fas、上调 bcl-2 蛋白表达水平，减轻肾缺血再灌注损伤。RPM 是探索临床预防和减轻肾缺血再灌注损伤的有效方法之一。

关键词：再灌注损伤；雷帕霉素；超微结构；Fas；bcl-2
中图法分类号：R619.9 文献标识码：B

参考文献：

[1] Kuypers D R. Benefit-risk assessment of sirolimus in renal transplantation[J]. Drug Saf, 2005, 28(2): 153 - 181.

[2] 于新路，王 禾，张 波，等. 大鼠实验性肾缺血/再灌注引起肾小管上皮细胞凋亡及其与 Bcl-2，Fas/Fas-L 表达变化的关系[J]. 第四军医大学学报，2003，24(8)：723 - 726.

[3] Lehmkuhl H, Ross H, Eisen H, *et al*. Everolimus (certican) in heart transplantation: optimizing renal function through minimizing cyclosporine exposure[J]. Transplant Proc, 2005, 37(10): 4145 - 4149.

[4] Hackstein H, Taner T, Logar A J, *et al*. Rapamycin inhibits macropinocytosis and mannose receptor-mediated endocytosis by bone marrow-derived dendritic cells[J]. Blood, 2002, 100(3): 1084 - 1087.

[5] Monti P, Mercalli A, Leone B E, *et al*. Rapamycin impairs antigen uptake of human dendritic cells[J]. Transplantation, 2003, 75(1): 137 - 145.

[6] 周 同，孙桂芝，张玉梅，等. 黏附分子与树突状细胞在大鼠肝和肾缺血-再灌注损伤中作用及抗黏附干预的影响[J]. 中华急诊医学杂志，2004，13(5)：315 - 318.

（编辑 陈聪连）