

金佳昱, 陈纳, 梁冰, 等. 长链非编码 RNA MSTRG. 15296. 5 在流感病毒感染中的作用 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (12): 97-103.

JIN J Y, CHEN N, LIANG B, et al. Roles of long non-coding RNA MSTRG. 15296. 5 in influenza virus infection [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (12): 97-103.

长链非编码 RNA MSTRG. 15296. 5 在流感病毒感染中的作用

金佳昱, 陈纳, 梁冰, 孟琪, 邓璐璐, 曾亦然, 平继辉*

(南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 旨在分析 H1N1 亚型流感病毒 A/WSN/1934 (WSN) 感染 A549 细胞后差异表达的长链非编码 RNA (lncRNA) MSTRG. 15296. 5 作用, 为阐明流感病毒致病相关 lncRNA 的功能及机制提供基础。利用实时荧光定量 PCR 验证 MSTRG. 15296. 5 的表达; 通过空斑试验确定 MSTRG. 15296. 5 对病毒复制的影响; 检测天然免疫相关基因的表达并对 MSTRG. 15296. 5 潜在靶基因进行分析。结果: MSTRG. 15296. 5 对 WSN 的感染具有促进作用, 能够下调多个干扰素刺激基因 (ISGs) 的表达。综上, MSTRG. 15296. 5 通过抑制 ISGs 介导的天然免疫信号通路促进流感病毒复制, 为宿主和病毒相互作用提供了一定理论依据, 为后续防控流感病毒感染提供了新思路。

关键词: 长链非编码 RNA; 甲型流感病毒; 病毒复制; ISGs

中图分类号: S855 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)12-0097-07

Roles of long non-coding RNA MSTRG. 15296. 5 in influenza virus infection

JIN Jiayu, CHEN Na, LIANG Bing, MENG Qi, DENG Lulu, ZENG Yiran, PING Jihui*

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The aim of this study was to analyze the differentially expressed lncRNA-MSTRG. 15296. 5 after infection of A549 cells by influenza virus A/WSN/1934 (WSN) of subtype H1N1, in order to provide a basis for elucidating the function and mechanism of pathogenicity-associated lncRNAs of influenza viruses. The expression of MSTRG. 15296. 5 was verified using qPCR; the effect of MSTRG. 15296. 5 on the viral replication was determined by the null plaque assay; and finally, the expression of natural immunity genes was detected and analyzed for potential target genes of MSTRG. 15296. 5. The results showed that the long non-coding RNA MSTRG. 15296. 5 promoted WSN infection and was able to down-regulate the expression of several ISGs. In conclusion, MSTRG. 15296. 5 promoted influenza virus replication by inhibiting the ISGs-mediated natural immune signaling pathway. This study laid experimental and theoretical basis for host-virus interactions, and suggested new ideas for the subsequent prevention and control of influenza virus infection.

Keywords: lncRNAs; IAV; virus replication; ISGs

流感病毒属于正黏病毒科流感病毒属, 根据核蛋白抗原性的不同, 可以将流感病毒分为甲、乙、丙和丁型流感病毒^[2], 其中甲型流感病毒 (influenza A virus, IAV) 是一种重要的病原体, 研究较多^[3], 可引起人和多种动物 (包括猪、马、禽、犬和水貂、海洋哺乳动物、蝙蝠等) 感染。IAV 基因组由 8 个分节段的 RNA 片段构成, 具有高度易变性^[1]。根据 HA 抗原性的不同, 可以将 IAV 分为不同亚型, 不同亚型之间易发生基因重配, 产生新的病毒, 即出现抗原漂移^[4]。

非编码 RNA (non-coding RNAs, ncRNAs), 包括微 RNA (microRNAs)、长链非编码 RNA (lncRNAs)、环状 RNA (circRNAs) 和穹顶 RNA (vtRNAs) 等, 参与调控多种细胞生物学过程, 包括生长、分化、存活和凋亡^[5]。lncRNAs 一般被定义为长度大于 200 nt 且不具有蛋白质编码能力的 RNA, 主要分布在细胞核中。研究表明, lncRNAs 作为病毒与宿主相互作用的新型调节因子, 能够参与调节病毒感染及宿主免疫应答。lncRNAs 种类繁多, 作用机制复杂, 主要包括表观遗传学修饰^[6]、mRNA 转录调控^[7]、转录后调控等。目前发现调控 IAV 复制的 lncRNAs, 主要通过作用于视黄酸诱导基因蛋白 (RIG-I)、转录因子蛋白家族核因子 κ B (NF- κ B) 等经典天然免疫信号通路来发挥其生物学功能^[8-11]。例如, NRAV^[12] 是一种反义 lncRNA, 也称为 DYNLL1-AS1, 通过作用于黏病毒抗性蛋白 A

收稿日期: 2024-03-06; 修回日期: 2024-11-19

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFD1800205)

第一作者: 金佳昱, 女, 硕士

* 通信作者: 平继辉, 博士, 教授, 主要从事流感病毒的遗传进化、抗原变异机制、致病机理等方面的研究, E-mail: jihui.ping@njau.edu.cn。

(Mx1) 和感染素诱导跨膜蛋白 3 (IFITM3) 的转录结合蛋白的起点 H3K4me3 和 H3K27me3 并降低 IFITM3 转录水平, 进而促进干扰素刺激基因 (ISGs) 和干扰素 β (IFN- β) 水平, 最终促进 IAV 复制。本研究中尝试挖掘新的调控 IAV 复制的 lncRNAs 并探究其调控机制。

前期利用高通量测序技术分析 A549 在 A/WSN/1934 (H1N1) 感染前后全转录组差异, 发现一种新的 lncRNA, MSTRG. 15296. 5, 其在 WSN 感染后显著上调。本研究通过干扰 MSTRG. 15296. 5 进一步分析这条 lncRNA 在 WSN 感染复制中的作用, 以期获得防治 IAV 新型药物的新靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞和病毒

人非小细胞肺癌细胞 (A549) 和 IAV 经典毒株 WSN 由实验室保存。

1.2 主要试剂

反转录试剂 HiScript II Q Select RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper), 荧光染料 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 和 RNA 提取试剂 RNA Isolater Total RNA Extraction Reagent 购自南京诺唯赞生物科技有限公司; DMEM 培养基粉末购自美国 Gibco 公司; Lipofectamine® 2000 Reagent 和 Ambion™ PARIS™ 核质分离试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 胎牛血清 FBS 购自森贝伽生物科技有限公司; 干扰素购自 Med Chem Express 公司。

1.3 引物设计与合成

引物有 MSTRG. 15296. 5、核蛋白 (NP)、干扰素诱导四肽重复序列蛋白 1 (IFIT1)、干扰素诱导四肽重复序列蛋白 3 (IFIT3)、干扰素刺激基因 15 (ISG15)、黏性抗病毒蛋白 1 (Mx1) 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH), 采用 Oligo 7.0 软件设计并委托通用生物股份有限公司合成, 引物序列如表 1 所示。

1.4 WSN 感染 A549 后 MSTRG. 15296. 5 的表达

A549 接种 6 孔细胞板, 培养至 95% 密度后, 按照病毒感染复数 (MOI) 为 1 感染 WSN 病毒。病毒感染后 6、12、24 和 48 h 收集细胞, 提取总 RNA 并利用反转录试剂将 2 μ g 总 RNA 反转成 cDNA。再分别按照 MOI 为 0. 1、1、3 的 WSN 感染 A549, 24 h 后收集细胞。使用 H1N1、H3N2、H9N2 以及 H10N3 亚型 IAV 按照 MOI = 1 感染 A549 细胞, 收集感染后 24 h 后的样品。按照上述方法, 获得 cDNA, 随后按照说明书所述进行实时荧光定量 PCR 分析。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

引物名称	序列 (5'→3')
MSTRG. 15296. 5-F	GTAATGGGCTACCTGGTGGT
MSTRG. 15296. 5-R	CCAGGAACTGGCCTTAGGAA
NP-F	TCAAACGTGGGATCAATG
NP-R	GTGCAGACCGTGCTAGAA
IFIT1-F	AGAAGCAGGCAATCACAGAAA
IFIT1-R	CTGAAACCGACCATAGTGGAAAT
IFIT3-F	AAAAGCCCAACAACCCAGAAT
IFIT3-R	CGTATTGGTTATCAGGACTCAGC
ISG15-F	CGCAGATCACCCAGAAGATCG
ISG15-R	TTCGTCGCATTTGTCCACCA
Mx1-F	CGTTAGCCGTGGTGATTTAG
Mx1-R	CCCTTTCCACTACGAAGAC
GAPDH-F	CTGGGCTACACTGAGCACC
GAPDH-R	AAAGTGGTCGTTGAGGGCAATG

1.5 MSTRG. 15296. 5 的生物学特性

利用软件 CPC 对 MSTRG. 15296. 5 的蛋白编码能力进行预测, 并利用在线软件 RNAfold (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>) 生成 MSTRG. 15296. 5 二级结构示意图^[13]。利用 Thermo Fisher Scientific 公司试剂盒 Ambion™ PARIS™ 进行核质定位试验^[14], 根据说明书, 从全细胞裂解物中分离 RNA 和蛋白质, 并进一步从 RNA 组分中分离细胞质和细胞核组分, 洗脱出的高质量 RNA 可进行后续的实时荧光定量 PCR。使用 10~100 ng/mL 梯度浓度干扰素刺激 A549 细胞, 24 h 收取总 RNA 样品, 检测 MSTRG. 15296. 5 的表达水平。

1.6 干扰 MSTRG. 15296. 5 后 WSN 复制能力检测

针对 MSTRG. 15296. 5 设计合成小干扰 RNA (siRNA), 具体序列如下: si-MSTRG. 15296. 5-s1: 5' - GGGCUGUUAUCAUCUUUGUTT - 3'; si-MSTRG. 15296. 5-s2: 5' - GGGCUGAGAAUACCUAACUTT-3'。siRNA 由上海吉玛制药技术有限公司设计合成。

A549 细胞接种 6 孔板培养, 按照 Lipofectamine® 2000 Reagent 说明书将 MSTRG. 15296. 5 siRNA 转染至 A549 细胞。转染后 36 h, 按照 MOI = 1 感染 WSN 病毒。病毒感染后分别收集 12、24、36、48、72 h 的细胞上清液。将全部时间点的上清液样品统一进行空斑滴定。将 MDCK 细胞传代铺至 12 孔板中, 细胞密度达到 95% 以上进行空斑滴定。用 1×DMEM 培养基将病毒原液 10 倍倍比稀释至 10⁻⁶ 稀释度, 将 100 μ L 病毒液从高至低稀释度分别加入每个细胞孔,

后放置于 CO₂ 培养箱以 37 ℃、5% CO₂ 孵育 1 h，每隔 15 min 晃动细胞板 1 次，使病毒分散均匀^[15]。结束后弃去病毒液，加入包含 1×DMEM 的 0.9% 低熔点琼脂糖，同时加入 1 μg/mL TPCK 胰酶，待琼脂糖凝固后，倒置放入培养箱，培养 48 h 后读取空斑数量，计算病毒滴度。

1.7 天然免疫相关基因表达的检测及潜在靶基因预测

A549 接种 6 孔板培养，按照说明书将 MSTRG. 15296.5 siRNA 转染至 A549 细胞。转染后 36 h，按照 MOI=1 感染 WSN 病毒。24 h 后收集细胞提取总 RNA，检测 ISGs (IFIT1、ISG15、Mx1、IFIT3) 的表达水平^[16]。通过网站 RBPDB (<http://rbpdb.ccb.utoronto.ca>)、MEM (<https://biit.cs.ut.ee/mem>)、ca-tRAPID (<http://service.tartagliab.com>) 对 MSTRG. 15296.5 的潜在靶基因进行预测，并使用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行基因本体论 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析，预测 MSTRG. 15296.5 潜在靶基因富集的信号通路及生物学功能。

1.8 数据统计与分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析，独立样本 *t* 检验用于两组数据之间的差异性分析， $P < 0.05$ 表示差异显著， $P < 0.01$ 表示差异极显著， $P < 0.001$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 WSN 感染 A549 后 MSTRG. 15296.5 表达

首先分析 MSTRG. 15296.5 在 WSN 感染 A549 细胞中的表达情况。如图 1A 所示，与 0 h 未感染组相比，MSTRG. 15296.5 在感染后的 6、12、24 和 48 h 均显著上调，在 48 h 达到最高值 (图 1A)。既然在感染后不同时间点 MSTRG. 15296.5 均能显著上调，由此，进一步验证在不同 MOI 和不同亚型流感病毒刺激下，该 lncRNA 的表达情况。如图 1B 所示，与对照组相比，随着 MOI 的增加，MSTRG. 15296.5 的表达量也随之升高。此外，如图 1C 所示，不同亚型流感病毒均能诱导该 lncRNA 的上调，且 WSN 感染后 MSTRG. 15296.5 的上调最为显著。

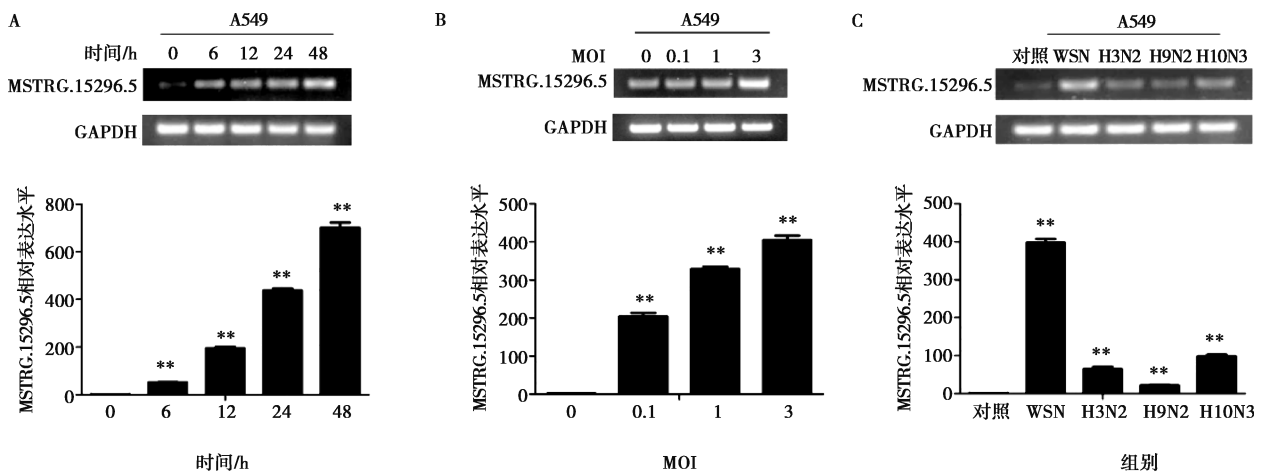


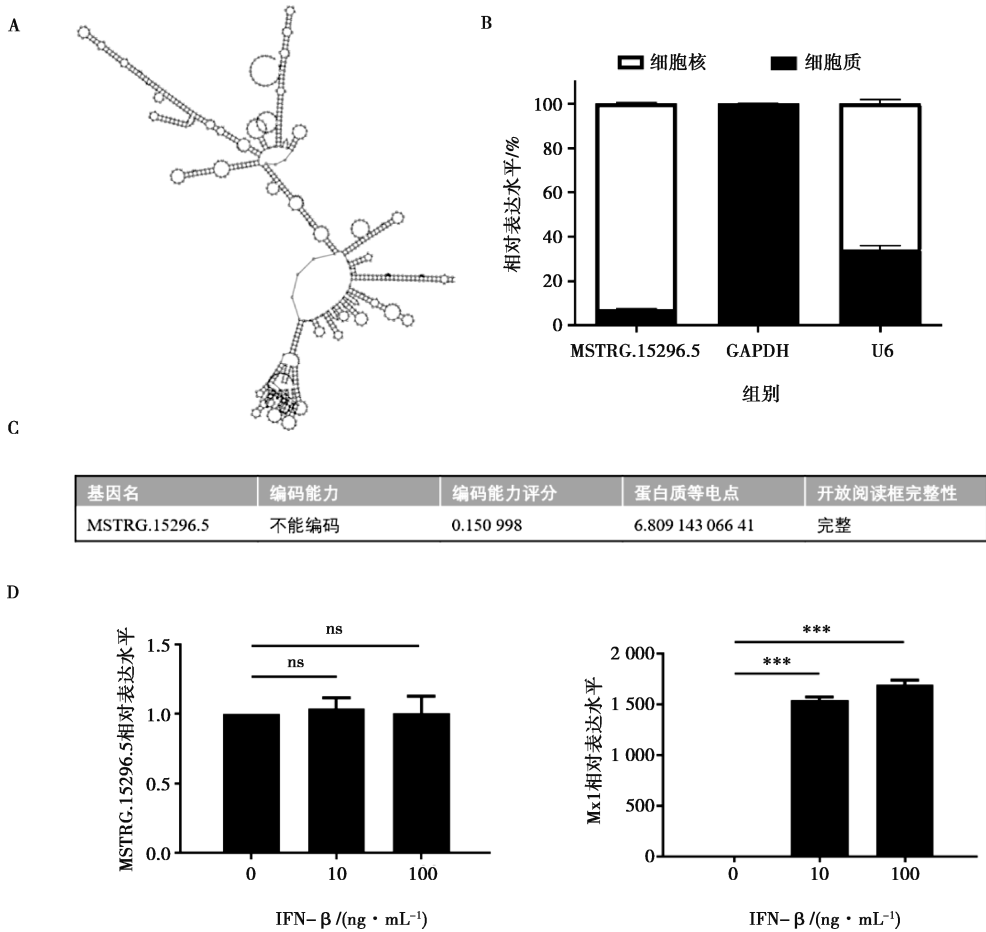
图 1 甲型流感病毒感染 A549 后 MSTRG. 15296.5 表达水平。A. MSTRG. 15296.5 在 WSN 感染后 6、12、24、48 h 的表达水平；B. MSTRG. 15296.5 在 MOI=0.1、1、3 时的表达水平；C. H1N1、H3N2、H9N2、H10N3 流感病毒刺激之后的 MSTRG. 15296.5 表达水平。* * 表示 $P < 0.01$ ，下同。

图 1 甲型流感病毒感染 A549 后 MSTRG. 15296.5 表达水平

2.2 MSTRG. 15296.5 的生物学特性

MSTRG. 15296.5 位于第 17 号染色体上，全长 6 975 bp。利用 RNAfold 结合该 lncRNA 序列信息使用热力学最小自由能法预测并生成二级结构。如图 2A 所示，其由大量茎环、发卡环、内环以及少量的多分支环构成。此外，核质定位结果显示，

MSTRG. 15296.5 在 A549 细胞质中的分布为 7.52%，在细胞核中的分布为 92.48% (图 2B)。在线软件 CPC 预测显示 MSTRG. 15296.5 没有编码蛋白潜能 (图 2C)。另外，干扰素刺激结果显示，这条 lncRNA 不具有 ISGs 特点 (图 2D)，其中 Mx1 为阳性对照。



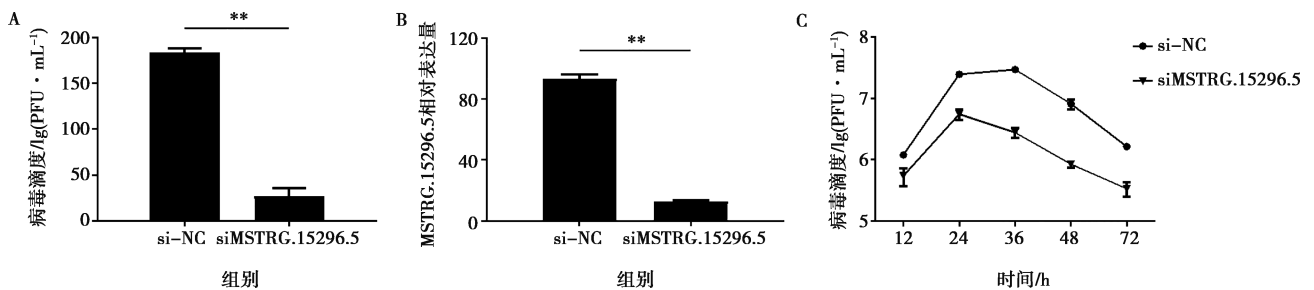
A. MSTRG. 15296. 5 二级结构预测; B. MSTRG. 15296. 5 核质定位检测结果; C. MSTRG. 15296. 5 编码蛋白能力预测; D. IFN-β 刺激 A549 细胞后 MSTRG. 15296. 5 表达水平检测及 Mx1 阳性对照。* * * 表示 $P < 0.001$, ns 表示 $P > 0.05$, 下同。

图 2 MSTRG. 15296. 5 的生物学特性

2.3 MSTRG. 15296. 5 对 WSN 复制影响

MSTRG. 15296. 5 在 IAV 感染后上调, 意味着其可能影响流感病毒的复制能力。干扰 MSTRG. 15296. 5 后, 感染 24 h WSN 病毒滴度显著降低 (图 3A); 图 3B 为 MSTRG. 15296. 5 干扰效率;

复制动力学结果显示, 与对照组相比, 干扰 MSTRG. 15296. 5 后, 病毒滴度在接毒后的 12、24、36、48 和 72 h 均显著降低 (图 3C), 表明 MSTRG. 15296. 5 在 WSN 感染过程中发挥促进病毒复制的作用。



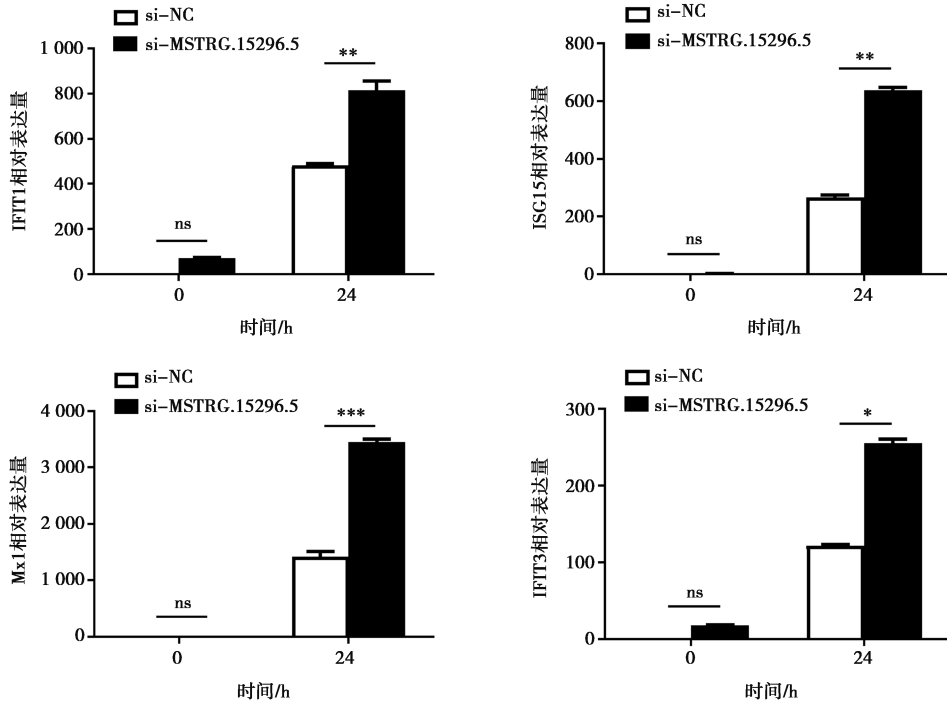
A. 干扰 MSTRG. 15296. 5, 感染后 24 h WSN 病毒滴度; B. 感染后 24 h 后 MSTRG. 15296. 5 干扰效率; C. 干扰 MSTRG. 15296. 5, 感染后 12、24、36、48、72 h WSN 病毒滴度。

图 3 干扰 MSTRG. 15296. 5 后 WSN 复制能力

2.4 MSTRG.15296.5 抑制 ISGs 的表达

如图4所示, 干扰 MSTRG.15296.5 后, 抗病毒天然免疫相关基因 (IFIT1、ISG15、Mx1、IFIT3) 在 A549 细胞中的表达增加, 推测 MSTRG.15296.5 可能通过抑制 ISGs 的表达来促进流感病毒复制。利用方法中所述的 3 个网站, 预测到 253 个潜在靶基因, 接着对这些潜在靶基因进行 GO 和 KEGG 功能富集分析 (图 5)。GO 富集分析显示, lncRNA-MSTRG.15296.5

的靶基因主要与 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控、RNA 聚合酶 I 启动子的转录正调控、DNA 模板转录和延伸的调控、序列特异性 DNA 结合转录因子活性的正调控及核小体组装等相关。KEGG 未富集到显著差异的信号通路。因此, 在 WSN 感染 A549 细胞后, MSTRG.15296.5 很有可能在 ISGs 的转录过程中发挥重要作用。



* 表示 $P < 0.05$ 。

图4 干扰 MSTRG.15296.5 后 A549 细胞中天然免疫基因表达水平

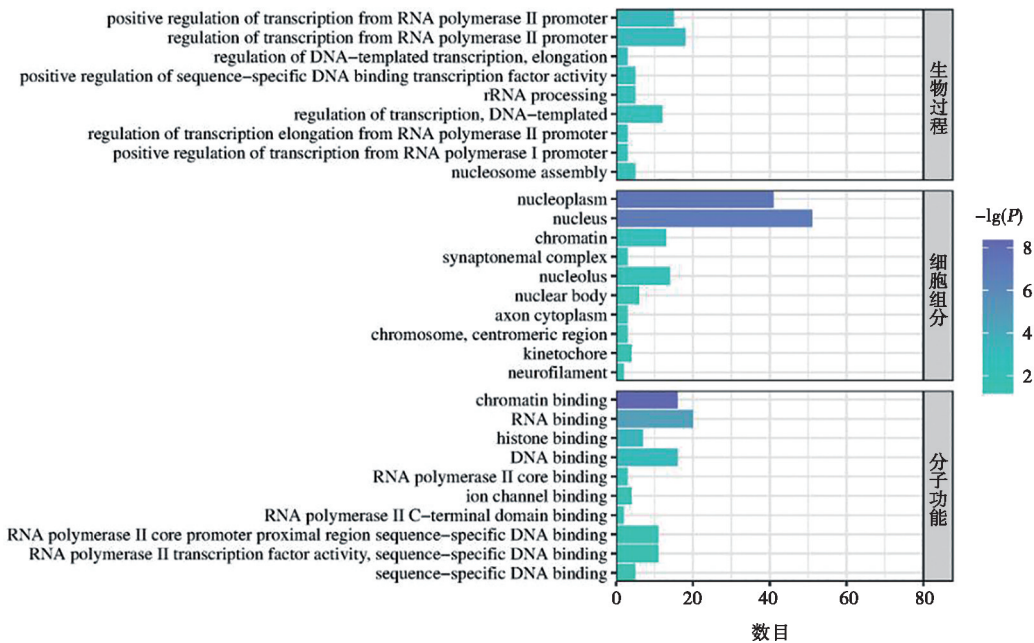


图5 MSTRG.15296.5 潜在靶基因 GO 分析

3 讨论

流感病毒感染机体后,宿主的天然免疫系统能够通过多种途径清除病毒,然而其也进化出了多种策略来劫持宿主因子以逃避宿主天然免疫。lncRNAs 对病毒复制有重要影响,且主要通过作用于 RIG-I、NF- κ B 等经典天然免疫信号通路。本研究中发现一种 lncRNA,并将其命名为 lncRNA-MSTRG.15296.5。该 lncRNA 在 IAV 感染后上调,这可能是细胞抵御病毒感染的一种普遍防御手段,也可能是被病毒劫持后引起该 lncRNA 从而上调。有研究显示, lncRNA-Mx1^[17] 在 IAV 感染后上调,并通过与 IFN- β 启动子形成 RNA-DNA 三重链来抑制 IFN- β 的转录;此外, lncRNA-NSPL^[18] 在病毒感染后上调并直接与 RIG-I 结合,进而阻断 RIG-I 和 E3 连接酶 TRIM25 之间的相互作用,限制 TRIM25 介导的 RIG-I K63 泛素化,最终促进 IAV 的复制;而 lncRNA-TSPOAP1-AS1^[19] 是一个宿主抗病毒天然免疫应答的负调控因子,过表达 TSPOAP1-AS1 显著抑制了 IAV 诱导的 ISRE 转录激活、Irfb1 和 ISGs 基因的表达。以上这些 lncRNAs 在病毒感染后,被病毒劫持上调,通过调节天然免疫信号通路中的重要分子从而拮抗宿主天然免疫。细胞试验证明,干扰细胞中 MSTRG.15296.5 的表达会极大地抑制病毒复制,降低细胞中的病毒滴度,因此, MSTRG.15296.5 在宿主先天免疫中起着关键的促进病毒复制作用。MSTRG.15296.5 能被不同亚型流感病毒所诱导,指示它的作用可能具有广谱性。后续试验证明, MSTRG.15296.5 能显著抑制干扰素刺激基因 (IFIT1、IFIT3、ISG15 和 Mx1) 的表达,这些 ISGs 都是抑制病毒进入 (Mx1) 以及复制 (IFIT1、IFIT3、ISG15) 的重要基因。因此,我们推测 WSN 很有可能通过劫持 MSTRG.15296.5 来削弱宿主抗病毒天然免疫信号的功能,从而促进 WSN 的复制。

研究表明, lncRNAs 参与调控宿主天然免疫的不同阶段。在本研究中, MSTRG.15296.5 能显著抑制干扰素刺激基因,如 IFIT1、IFIT3、ISG15 和 Mx1 等抗病毒天然免疫基因的表达。GO 和 KEGG 功能富集分析发现, MSTRG.15296.5 的潜在靶基因主要集中在 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控、RNA 聚合酶 I 启动子的转录正调控等生物学过程。这与某些有过报道的 lncRNA 相似,例如, lncRNA NRAV 在 IAV 感染期间显著下调, NRAV 可能通过影响 IFITM3 和 MXA 等关键 ISGs 的组蛋白修饰,进而抑制其初始转录,从而促进流感病毒复制^[12]。lncRNA CHROMR 被 IAV 和 SARS-CoV-2 感染诱导,并协调执行抗病毒反应的 ISGs 的表达^[20]。人类巨噬细胞中 CHROMR

的缺失会减少 ISGs 基因位点调控区的组蛋白乙酰化,并减弱 ISGs 在微生物刺激下的表达^[21]。这提示,在 WSN 感染 A549 细胞后, MSTRG.15296.5 很有可能在 ISGs 的转录过程中发挥重要作用。后续研究可以进一步挖掘 MSTRG.15296.5 在 ISGs 转录激活中的作用,评估组蛋白转录活性的表观遗传学标记 H3K27Ac 的全基因组分布,利用 ChIP 测序 (ChIP-seq) 探究不同基因组位点 H3K27Ac 标记缺失以及富集的情况^[22],并对 H3K27Ac 降低的基因的进行免疫相关生物过程的富集,对所有 ISGs 转录起始位点 (\pm 1 500 bp) 的 H3K27Ac 读数分布进行表征,就可以对 MSTRG.15296.5 调控的 ISGs 及其如何发挥调控作用进行预测。此外, MSTRG.15296.5 位于 17 号染色体上,主要分布于细胞核中,二级结构预测分析发现 MSTRG.15296.5 有许多内环和长茎结构,这些独特的 RNA 结构很有可能在天然免疫信号通路的识别中发挥作用,但具体的调节机制尚不清楚,还有待进一步研究。

lncRNA 可以和 DNA 产生杂合结构,从而影响染色质的可及性,通过 RNA-DNA-DNA 三链体或 R 环的形式,与靶 DNA 结合,调节邻近基因中靶基因组基因座的转录,称为顺式转录。这些复杂的结构变化可以影响基因转录的效率和准确性,从而在基因表达调控中发挥重要作用。由于许多核 lncRNA 可以通过顺式作用调节相邻基因座, MSTRG.15296.5 在细胞核中的分布为 92.48%,所以本研究对 MSTRG.15296.5 是否可以调节邻近基因的表达进行预测。通过全转录组结果综合分析,病毒感染后邻近基因的表达没有显著差异,且 MSTRG.15296.5 与其邻近基因之间不存在弱相互作用,所以不考虑 MSTRG.15296.5 顺式调节邻近基因发挥促进病毒复制的作用机制。lncRNAs 还可以竞争性结合基因阻遏物来促进抗病毒基因的表达。例如, lnc-ISG20 与 ISG20 共享大部分序列, lnc-ISG20 作为竞争性内源性 RNA (ceRNA),能结合 miR-326 以减少其对 ISG20 翻译的抑制,最终抑制 IAV 复制^[23]。目前 lncRNA 靶基因预测技术还不成熟,不同的预测网站对 MSTRG.15296.5 的预测结果不存在交集, MSTRG.15296.5 如何调节下游 microRNA 发挥抗病毒功能还需大量试验探究。

病毒感染可导致宿主细胞中 lncRNA 的异常表达,一些 lncRNA 甚至由病毒基因组编码,这些宿主和病毒编码的 lncRNA 通过多种调节机制调节病毒感染,因此,对先天免疫反应期间相关 lncRNA 进行研究和功能表征,并探究病毒感染后细胞代谢的变化,将有助于阐明宿主针对病毒的防御机制,并为干预病

毒复制以及发病提供潜在的靶点。在本研究中, MSTRG. 15296.5 在 WSN 感染后上调, WSN 很有可能通过劫持 MSTRG. 15296.5 来削弱宿主抗病毒天然免疫信号的功能进而促进 WSN 的复制。本研究为宿主和病毒相互作用提供了一定的试验基础和理论依据, 其有助于阐明流感病毒的致病机理, 也为后续防控流感病毒感染提供了新思路。

参考文献:

- [1] CHEN S T, CHEN L, LIN D S, et al. NLRP12 regulates anti-viral RIG-I activation via interaction with TRIM25 [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25 (4) : 602-616.
- [2] IWASAKI A, PILLAI P S. Innate immunity to influenza virus infection [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14 (5) : 315-328.
- [3] TE VELTHUIS A J, FODOR E. Influenza virus RNA polymerase: insights into the mechanisms of viral RNA synthesis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14 (8) : 479-493.
- [4] VANDERLINDEN E, NAESENS L. Emerging antiviral strategies to interfere with influenza virus entry [J]. *Med Res Rev*, 2014, 34 (2) : 301-339.
- [5] WANG J, CEN S. Roles of lncRNAs in influenza virus infection [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9 (1) : 1407-1414.
- [6] PRENSNER J R, CHINNAIYAN A M. The emergence of lncRNAs in cancer biology [J]. *Cancer Discov*, 2011, 1 (5) : 391-407.
- [7] MARTIANOV I, RAMADASS A, SERRA BARROS A, et al. Repression of the human dihydrofolate reductase gene by a non-coding interfering transcript [J]. *Nature*, 2007, 445 (7128) : 666-670.
- [8] CHEN N, ZHANG B, DENG L, et al. Virus-host interaction networks as new antiviral drug targets for IAV and SARS-CoV-2 [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2022, 11 (1) : 1371-1389.
- [9] MA Y, OUYANG J, WEI J, et al. Involvement of host non-coding RNAs in the pathogenesis of the influenza virus [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 18 (1) : 18-39.
- [10] LIAO Y, GUO S, LIU G, et al. Host non-coding RNA regulates influenza A virus replication [J]. *Viruses*, 2021, 14 (1) : 51-74.
- [11] LIU J, JI Q, CHENG F, et al. The lncRNAs involved in regulating the RIG-I signaling pathway [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12 (11) : 1-16.
- [12] OUYANG J, ZHU X, CHEN Y, et al. NRAV, a long noncoding RNA, modulates antiviral responses through suppression of interferon-stimulated gene transcription [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 16 (5) : 616-626.
- [13] ZHANG L, ZHENG X, LI J, et al. Long noncoding RNA#45 exerts broad inhibitory effect on influenza A virus replication via its stem ring arms [J]. *Virulence*, 2021, 12 (1) : 2443-2460.
- [14] WANG J, ZHANG Y, LI Q, et al. Influenza virus exploits an interferon-independent lncRNA to preserve viral RNA synthesis through stabilizing viral RNA polymerase PB1 [J]. *Cell Rep*, 2019, 27 (11) : 3295-3304.
- [15] ZHANG Y, CHI X, HU J, et al. LncRNA LINC02574 inhibits influenza A virus replication by positively regulating the innate immune response [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (8) : 7428-7441.
- [16] CHENG J, TAO J, LI B, et al. The lncRNA HCG4 regulates the RIG-I-mediated IFN production to suppress H1N1 swine influenza virus replication [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14 (1) : 1-12.
- [17] LI X, GUO G, LU M, et al. Long noncoding RNA lnc-MxA inhibits beta interferon transcription by forming RNA-DNA triplexes at its promoter [J]. *J Virol*, 2019, 93 (21) : e00786-19.
- [18] JIANG J, LI Y, SUN Z, et al. LncNSPL facilitates influenza A viral immune escape by restricting TRIM25-mediated K63-linked RIG-I ubiquitination [J]. *iScience*, 2022, 25 (7) : 1-23.
- [19] WANG Q, ZHANG D, FENG W, et al. Long noncoding RNA TSPOAP1 antisense RNA 1 negatively modulates type I IFN signaling to facilitate influenza A virus replication [J]. *J Med Virol*, 2022, 94 (2) : 557-566.
- [20] JIANG M, ZHANG S, YANG Z, et al. Self-recognition of an inducible host lncRNA by RIG-I feedback restricts innate immune response [J]. *Cell*, 2018, 173 (4) : 906-913.
- [21] VAN SIDLINGEN C, CYR Y, SCACALOSSO K R, et al. Long noncoding RNA CHROMR regulates antiviral immunity in humans [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119 (37) : e2210321119.
- [22] LIN H, JIANG M, LIU L, et al. The long noncoding RNA Lnc-zc3h7a promotes a TRIM25-mediated RIG-I antiviral innate immune response [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20 (7) : 812-823.
- [23] CHAI W, LI J, SHANGGUAN Q, et al. Lnc-ISG20 inhibits influenza A virus replication by enhancing ISG20 expression [J]. *J Virol*, 2018, 92 (16) : 539-554.