

网络出版时间:2023-06-27 15:36:22 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms2/detail/34.1065.R.20230626.1002.023.html

体外培养外周血来源 NK 细胞纯度 影响因素及其预测模型的构建

葛 瑶^{1,2}, 王春燕², 刘 琦², 郭 静², 熊 兵², 刘淑鹏², 程忠平^{1,2}

摘要 目的 探讨体外培养的外周血自然杀伤(NK)细胞纯度的影响因素并建立外周血 NK 细胞纯度预测模型。

方法 收集 93 例健康捐献者的外周血,经体外培养后流式法检测其 NK 细胞的纯度,同时收集捐献者的临床体检指标。随机抽取 77 例作为训练集,剩余 16 例作为测试集。Pearson 相关性检验分析与 NK 细胞纯度有相关性的指标,多因素回归分析建立预测 NK 细胞纯度的模型。分析模型预测纯度与实际纯度的相关性及模型的受试者工作特征曲线(ROC)下面积。**结果** 与 NK 细胞纯度有相关性的指标为年龄、三碘甲状腺原氨酸(T₃)、红细胞分布宽度(RDW)、红细胞分布宽度标准差(RDW-SD)、肌酐(Cr)、淋巴细胞百分比(LY%)、葡萄糖(Glu)、嗜酸粒细胞百分比(EOS%)、嗜酸粒细胞数(EOS)和血小板分布宽度(PDW)。回归模型 NK index = -164.557 + 2.544RDWSD + 3.730DW + 4.389 × Glu + 10.237T₃ ($R^2 = 0.494$, $P < 0.05$)。在测试集中,NK index 模型的预测值与真实值的确定系数(R -Square)为 0.725, P 为 0.001,且 NK index 模型在训练集和测试集中的 ROC 曲线下面积分别为 0.815 和 0.938。**结论** NK index 模型可以较好地预测体外培养外周血来源 NK 细胞的纯度,为后续制定临床回输外周血源 NK 细胞治疗方案提供理论依据。

关键词 NK 细胞;红细胞分布宽度;外周血;免疫细胞治疗;预测指标

中图分类号 R 392

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1205-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.024

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是一群 CD3⁻CD56⁺的先天免疫淋巴细胞,可以快速识别并杀伤病变细胞^[1]。近几年国内外关于 NK 细胞回输所开展的临床实验有很多,研究的疾病主要包括血液系统肿瘤和实体瘤^[2]。用于临床回输的 NK 细胞来源

广泛,包括外周血来源、脐带血来源和细胞系来源的 NK 细胞^[3]。其中,外周血来源的 NK 细胞获取简单,操作方便。外周血来源的 NK 细胞培养方法主要有饲养层培养法和因子激活法。其中,饲养层培养法虽然其扩增 NK 细胞的作用十分显著,但是 K562 细胞作为异源性细胞,存在一定的输入安全隐患^[4]。因子激活培养法是通过使用含有白细胞介素(interleukin, IL)-2 等细胞因子的培养基激活扩增 NK 细胞,安全性较高,但此 NK 细胞纯度存在较大的个体差异,严重影响后续治疗效果^[5]。为了对体外培养的 NK 细胞纯度进行预测,该研究探讨了影响 NK 细胞体外培养纯度的相关因素,构建一种预测 NK 细胞纯度的模型,为后续临床诊疗方案的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 捐献者资料 收集 2020 年 1 月—2022 年 3 月在上海市第十人民医院门诊部体检并同意捐赠外周血用于 NK 细胞体外培养的 93 例健康人群的信息,其中男性 23 例,女性 67 例;年龄 20 ~ 73 (52 ± 9.16) 岁。本研究中 93 例健康捐献者无家族病史以及无传染病、心脑血管疾病、肝肾疾病或免疫学疾病,同时剔除其他相关人群,如吸烟、酗酒、药物滥用史、怀孕。本研究经上海市第十人民医院医学伦理委员会批准(批号:20K180),患者签署知情同意书。

1.2 NK 细胞的体外培养及纯度检测 按照药品生产质量管理规范(good manufacturing practice of medical products, GMP)要求,抽取捐献者 40 ~ 50 ml 的外周血,通过密度梯度离心法获取外周血单个核细胞和血浆,使用添加 100 IU/ml 激活因子的培养基和 10% 的自体血浆重悬细胞(细胞原始密度为 2×10^6 /ml)。培养第 0 ~ 7 天,使用添加激活因子的培养液激活细胞;培养第 8 ~ 14 天使用添加 200 IU/ml IL-2 的扩增培养液扩增细胞。培养第 14 天时,采用流式细胞术检测免疫分子 CD3、CD56 的表达情况。通过检测 CD3⁻CD56⁺ 的细胞占总细胞数的百分比,分析 NK 细胞纯度。

2023-05-30 接收

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(编号:18411964100)

作者单位:¹安徽医科大学上海临床学院,上海 200072

²同济大学附属第十人民医院妇产科,上海 200072

作者简介:葛 瑶,女,硕士研究生;

程忠平,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: mdcheng18@tongji.edu.cn

1.3 临床指标 收集捐献者外周血采样前的检查数据,共 138 项指标。① 血常规指标包括:红细胞(red blood cell,RBC)、血红蛋白、红细胞压积、红细胞平均体积、平均血红蛋白量、平均血红蛋白浓度、红细胞分布宽度(red blood cell distribution width,RDW)、红细胞分布宽度标准差(standard deviation of red blood cell volume distribution width,RDW-SD)、白细胞计数、中性粒细胞数、中性粒细胞百分比、淋巴细胞数、淋巴细胞百分比(percentage of lymphocytes,LY%)、嗜酸粒细胞百分比(percentage of eosinophils,EOS%)、嗜碱粒细胞百分比、嗜酸粒细胞数(number of eosinophils,EOS)、嗜碱粒细胞数、单核细胞百分比、单核细胞数、血小板计数、血小板平均体积、血小板压积、血小板分布宽度(width of platelet volume distribution,PDW)。② 生化指标包括:丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、总蛋白、球蛋白、葡萄糖(glucose,Glu)、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、钾、钠、氯、三酰甘油、尿酸、尿素氮、肌酐(creatinine,Cr)。③ 其他指标包括:凝血功能指标、淋巴细胞亚群(T 细胞、B 细胞和 NK 细胞)、甲状腺功能指标、免疫抗体指标和肿瘤标志物指标。

1.4 统计学处理 将 93 例捐献者的体检指标及 NK 细胞纯度信息随机排列,抽取 77 例作为训练集,16 例作为测试集。对训练集中 138 项临床检测指标进行统计,按照缺失值占比超过 0.4 的原则进行删除。使用 Pearson 相关性检验,将剩余的 63 项临床指标纳入单因素分析,筛选出影响 NK 细胞纯度的变量。多因素分析采用 step AIC 函数进行逐步回归,筛得变量重新建立回归模型。在测试集中,分析 NK index 模型预测纯度与真实纯度的相关性;再对训练集中的自变量进行二分类处理,以 NK 细胞实际纯度的中位值为截断点,分高低两组,分析训练集和测试集受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC)下面积(area under the curve,AUC)。数据采用 R 语言、Prism 8.0 和 Excel 软件进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NK 细胞纯度分布 NK 细胞纯度流式检测结果显示,93 例健康捐献者中,2 例捐献者 NK 的细胞纯度在 0.8 以上,17 例捐献者 NK 细胞的纯度分布在 0.6 ~ 0.8,36 例捐献者 NK 细胞的纯度在 0.4 ~ 0.6 之间,26 例捐献者 NK 细胞的纯度分布在 0.2 ~

0.4 之间,12 例捐赠者 NK 细胞的纯度小于 0.2。以上结果说明在相同的因子诱导条件下,NK 的细胞纯度存在个体间的差异。

2.2 影响 NK 细胞纯度的单因素分析 单因素分析结果显示,年龄、三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine,T3)、RDW、RDW-SD、Cr、LY%、Glu、EOS%、EOS 和 PDW 与 NK 细胞体外培养纯度存在统计学意义($P < 0.05$),见表 1。散点图(图 1)进一步分析

表 1 影响 NK 细胞纯度的临床检测指标单因素分析

临床指标	相关性	P 值
年龄	0.271	0.017
凝血功能		
活化部分凝血活酶时间	0.092	0.448
凝血酶原时间	0.109	0.360
凝血酶时间	0.012	0.919
纤维蛋白原定量	0.096	0.425
凝血酶原时间国际标准化比值	0.069	0.564
甲状腺激素		
T3	0.320	0.004
甲状腺素	0.119	0.328
游离三碘甲状腺原氨酸	0.181	0.134
游离甲状腺素	0.006	0.960
促甲状腺激素	0.120	0.324
免疫抗体指标		
丙型肝炎病毒抗体(定量)	-0.185	0.131
乙型肝炎表面抗原	0.070	0.556
乙型肝炎表面抗体	-0.194	0.101
乙型肝炎 e 抗原	0.084	0.482
乙型肝炎 e 抗体	0.070	0.561
乙型肝炎核心抗体	0.004	0.974
梅毒螺旋体抗体(定量)	-0.028	0.820
肿瘤指标		
甲胎蛋白	0.146	0.289
癌胚抗原	-0.073	0.602
糖类抗原 CA125	0.042	0.763
糖类抗原 CA19-9	-0.011	0.935
生化指标		
白/球比值	-0.142	0.255
白蛋白	-0.044	0.726
丙氨酸氨基转移酶	0.110	0.381
尿素氮	0.053	0.671
氯	0.143	0.257
Cr	0.380	<0.001
直接胆红素	-0.127	0.309
球蛋白	0.209	0.092
Glu	0.370	<0.001
高密度脂蛋白胆固醇	-0.197	0.107
间接胆红素	0.014	0.913
钾	0.025	0.844
钠	0.048	0.708
总胆红素	0.041	0.742
总胆固醇	-0.129	0.294
三酰甘油	0.126	0.309

表 1(续)

临床指标	相关性	P 值
总蛋白	0.125	0.320
尿酸	0.209	0.097
血常规指标		
红细胞	0.113	0.329
血红蛋白	0.082	0.476
红细胞压积	0.121	0.296
红细胞平均体积	-0.008	0.947
平均血红蛋白量	-0.048	0.678
平均血红蛋白浓度	-0.111	0.334
RDW	0.410	<0.001
RDW-SD	0.600	<0.001
白细胞数	0.074	0.520
中性粒细胞数	0.085	0.460
中性粒细胞百分比	0.124	0.284
淋巴细胞数	-0.129	0.262
LY%	-0.240	0.037
EOS%	0.274	0.016
嗜碱粒细胞百分比	0.033	0.776
EOS	0.265	0.020
嗜碱粒细胞数	0.083	0.473
单核细胞百分比	0.164	0.153
单核细胞数	0.164	0.154
血小板	-0.107	0.352
血小板平均体积	0.178	0.122
血小板压积	-0.066	0.568
PDW	0.280	0.013

了年龄、T3、RDW、RDW-SD、Cr、LY%、Glu、EOS%、EOS 和 PDW 与 NK 细胞纯度之间的线性关系,除了 LY% 与 NK 细胞纯度之间存在负相关线性关系,其他指标均与 NK 细胞存在正相关线性关系。

2.3 影响 NK 细胞纯度的多因素分析及预测模型的建立 多因素变量回归分析显示, RDW-SD ($P < 0.001$)、PDW ($P < 0.001$)、Glu ($P < 0.001$) 和 T3 ($P < 0.1$) 为影响 NK 细胞纯度的关键变量,并以这 4 个变量重新建立回归模型,最终建立预测模型 NK index = $-164.557 + 2.544 \times \text{RDW-SD} + 3.730 \times \text{PDW} + 4.389 \times \text{Glu} + 10.237 \times \text{T3}$ ($R^2 = 0.494$, $P < 0.05$)。

2.4 NK index 模型预测值与实际值的相关分析

在测试集中,对 NK index 模型的预测纯度与真实纯度做线性相关分析 ($R = 0.725$, $P = 0.001$),说明 NK index 模型预测纯度与真实纯度之间存在较强的统计学意义。见图 2。

2.5 NK index 模型在训练集和测试集中 ROC 曲线分析 利用 AUC 分析 NK index 模型对于 NK 细胞纯度高低的预测能力。结果显示,训练集中 NK index 模型的 AUC 为 0.815 (95% CI = 0.753 ~ 0.915),见图 3;测试集中 NK index 模型的 AUC 为

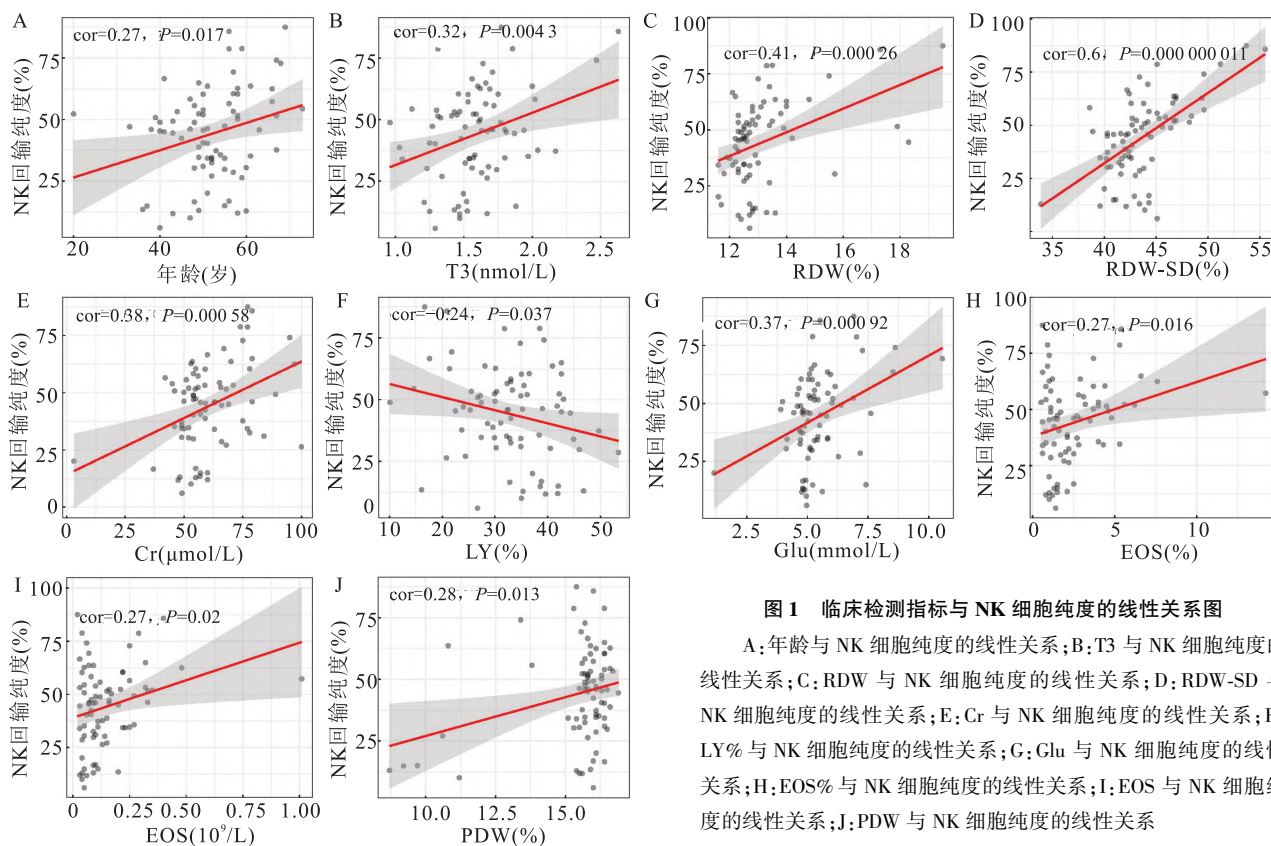


图 1 临床检测指标与 NK 细胞纯度的线性关系图

A: 年龄与 NK 细胞纯度的线性关系; B: T3 与 NK 细胞纯度的线性关系; C: RDW 与 NK 细胞纯度的线性关系; D: RDW-SD 与 NK 细胞纯度的线性关系; E: Cr 与 NK 细胞纯度的线性关系; F: LY% 与 NK 细胞纯度的线性关系; G: Glu 与 NK 细胞纯度的线性关系; H: EOS% 与 NK 细胞纯度的线性关系; I: EOS 与 NK 细胞纯度的线性关系; J: PDW 与 NK 细胞纯度的线性关系

0.938 (95% CI = 0.82, 41 ~ 1.00), 见图 4, 说明 NK index 模型对 NK 细胞纯度高低有较好的预测价值。

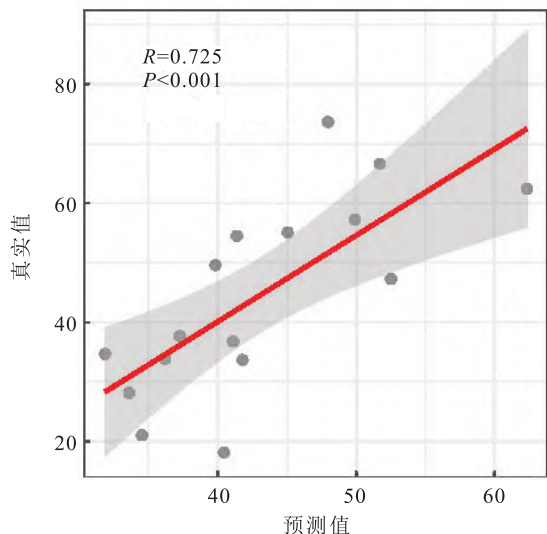


图2 NK index 模型预测值与真实值的线性关系图

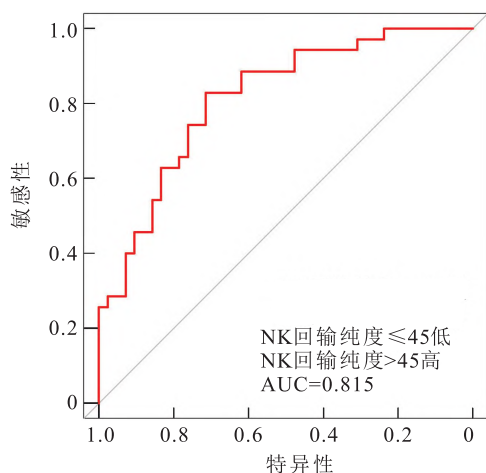


图3 训练集中 NK index 模型的 ROC 曲线

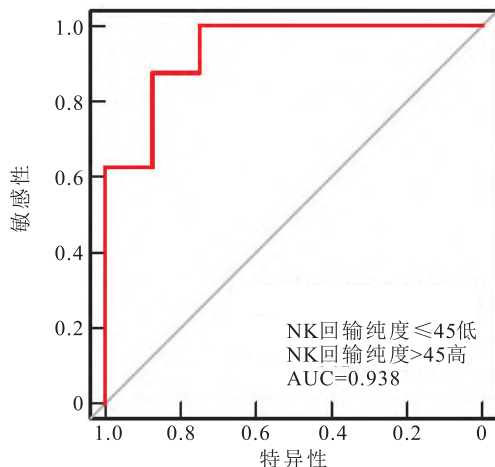


图4 测试集中 NK index 模型的 ROC 曲线

3 讨论

在 NK 细胞的临床回输中,通常需要在体外扩增出大量高纯度的 NK 细胞。使用因子诱导法培养 NK 细胞时,NK 细胞的纯度和数量总是存在较大的个体间差异。通过收集捐献者的外周血进行 14 d 的体外因子刺激培养,统计结果显示 NK 细胞纯度在个体间差异较大。为了找到影响 NK 细胞纯度的指标,该研究收集了常见的临床指标,通过对纳入的 68 项临床指标进行单因素分析,结果显示,年龄、T3、RDW、RDW-SD、Cr、LY%、Glu、EOS%、EOS 和 PDW 与 NK 细胞纯度有相关性。研究^[6]表明,年龄的增加会降低固有免疫系统功能,但同时也会增加疾病的易感性。与成人相比,老年人的促炎细胞因子、肿瘤坏死因子和 IL-6 更高,NK 细胞的数量也呈现出增加的趋势。本研究显示,年龄的增加也会提高 NK 细胞纯度,说明年龄的增加可以促进促炎因子的升高,进而增加 NK 细胞纯度。T3 为主要发挥生物活性的甲状腺激素,在固有免疫系统中具有促炎作用,可以促进 NK 细胞的增殖和活性^[7]。本研究显示 T3 在数值较高时,对应的 NK 细胞纯度值也较大,说明甲状腺原氨酸可能会促进 NK 细胞相关受体的活化与表达。RDW 为红细胞大小的变异系数,RDW-SD 为红细胞分布曲线宽度的实际测量值,两者被广泛应用于炎症性疾病的临床检验,与炎症标志物密切相关,如 C 反应蛋白、IL-6 和肿瘤坏死因子。目前很多学者提出 RDW 可以作为预测多种疾病的参数,RDW 越高,预后越差^[8]。Lochowski et al^[9] 研究提示,RDW-SD > 43 时,可以作为非小细胞肺癌预后不良的独立因素。在本研究中,RDW 和 RDW-SD 与 NK 细胞纯度呈现正相关,提示 RDW 和 RDW-SD 的升高会促进体内炎症因子的升高,进而促进 NK 细胞数量和纯度的提高。血清 Cr 作为最常用的肾脏功能的生物学标志物,用来评估慢性肾病^[10]。研究^[11]表明,在慢性肾病的研究中,轻度尿毒症患者可以通过增加 NK 细胞的百分比来影响 NK 细胞的功能。本研究显示 Cr 与 NK 细胞纯度呈现正向相关性,提示 Cr 作为 NK 细胞纯度的预测因素可能具有重要意义。Glu 是一种关键的细胞燃料,通过分解可以产生能量分子,促进 NK 细胞的增殖和代谢^[12],因此推测 Glu 通过产生能量分子,进而提高 NK 细胞纯度。PDW 被定义为血小板大小异质性的指标,作为血栓炎症条件的风险预测因子的有效性^[13],可能会促进 NK 细胞的增殖和活性

作用,在本研究结果中,PDW 可能通过促进 NK 细胞的增殖和活性,进而提高 NK 细胞的纯度。淋巴细胞和嗜酸性粒细胞都属于白细胞的一部分。研究^[14]表明 LY% 的高低与病情严重程度相关,通常认为人体抵御外来病毒的侵袭主要依赖 T 淋巴细胞介导的细胞免疫作用,说明 LY% 的升高可能主要与 T 淋巴细胞的激活有关。在本研究结果中,LY% 与 NK 细胞纯度数值呈负相关,说明 T 淋巴细胞的大量激活可能会抑制 NK 细胞的体外增殖。有研究^[15]表明嗜酸粒细胞主要合成、储存和分泌细胞因子、趋化因子和生长因子,说明嗜酸粒细胞可能促进 NK 细胞的激活和扩增。在本研究结果中,嗜酸粒细胞与 NK 细胞纯度呈正相关,推测嗜酸粒细胞可能促进 NK 细胞的激活和扩增来提高 NK 细胞纯度。

通过对多因素变量的分析,筛选出 RDW-SD、PDW、Glu 和 T3 作为 NK 细胞纯度的预测因素,最终建立了能够较好预测 NK 细胞纯度的 NK index 模型。对于纯度不能达到临床回输要求的个体,可以提前告知患者,从而大大缩减了培养的成本。因此,获取临床可用的、简便有效的指标构建 NK 细胞纯度预测模型具有潜在的科研和社会应用价值。

本研究通过收集常见的临床指标来分析影响 NK 细胞纯度的因素,但由于该模型还存在一些不足:由于缺少免疫相关的指标,如 IgM、IgG、干扰素和肿瘤坏死因子等。本研究对捐献者的免疫状态描述不够全面,后续可进一步探索以免疫学指标为变量所构建模型的预测价值。因此,需要进一步扩大样本量和临床检测指标进行研究,以得到更理想的预测模型。

参考文献

- [1] Myers J A, Miller J S. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(2): 85 - 100.
- [2] Wang W, Jiang J, Wu C. CAR-NK for tumor immunotherapy: Clinical transformation and future prospects[J]. Cancer Lett, 2020, 472: 175 - 80.
- [3] Yang Y, Badeti S, Tseng H C, et al. Superior expansion and cytotoxicity of human primary NK and CAR-NK cells from various sources via enriched metabolic pathways[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2020, 18: 428 - 45.
- [4] Lee D A. Cellular therapy: Adoptive immunotherapy with expanded natural killer cells[J]. Immunol Rev, 2019, 290(1): 85 - 99.
- [5] Hodgins J J, Khan S T, Park M M, et al. Killers 2.0: NK cell therapies at the forefront of cancer control[J]. J Clin Invest, 2019, 129(9): 3499 - 510.
- [6] Valiathan R, Ashman M, Asthana D. Effects of ageing on the immune system: infants to elderly[J]. Scand J Immunol, 2016, 83(4): 255 - 66.
- [7] Rubingh J, van der Spek A, Fliers E, et al. The role of thyroid hormone in the innate and adaptive immune response during infection[J]. Compr Physiol, 2020, 10(4): 1277 - 87.
- [8] Han F, Liu Y, Cheng S, et al. Diagnosis and survival values of neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) and red blood cell distribution width (RDW) in esophageal cancer[J]. Clin Chim Acta, 2019, 488: 150 - 8.
- [9] Lochowski M, Chalubinska-Fendler J, Lochowska B, et al. Prognostic value of red blood cell distribution width-standard deviation (RDW-SD) in patients operated on due to non-small cell lung cancer[J]. J Thorac Dis, 2020, 12(3): 773 - 81.
- [10] Sitter T. Serum creatinine and estimated glomerular filtration rate[J]. MMW Fortschr Med, 2021, 163(10): 50 - 1.
- [11] Nagai K. Dysfunction of natural killer cells in end-stage kidney disease on hemodialysis[J]. Ren Replace Ther, 2021, 7(1): 8.
- [12] Gardiner C M. NK cell metabolism[J]. J Leukoc Biol, 2019, 105(6): 1235 - 42.
- [13] Izzi B, Gialluisi A, Gianfagna F, et al. Platelet distribution width is associated with P-selectin dependent platelet function: results from the moli-family cohort study[J]. Cells, 2021, 10(10): 2737.
- [14] 刘秀红,赵一鸣,李莉,等. 甲型 H1N1 流感住院患者病毒核酸与淋巴细胞百分比的相关性分析[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(10): 1717 - 22.
- [15] Ravin K A, Loy M. The eosinophil in infection[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2016, 50(2): 214 - 27.

Factors affecting the purity of NK cells from peripheral blood cultured *in vitro* and construction of a prediction model

Ge Yao^{1,2}, Wang Chunyan², Liu Qi², Guo Jing², Xiong Bing², Liu Shupeng², Cheng Zhongping^{1,2}

(¹Anhui Medical University, Shanghai Clinical College, Shanghai 200072;

²Dept of Obstetrics and Gynecology, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072)

Abstract Objective To investigate the factors influencing the purity of peripheral blood natural killer (NK) cells
(下转第 1216 页)

lateral developmental dysplasia of the hip (DDH) aged 1 – 15 years. **Methods** 329 cases of DDH children aged 1 – 15 years with unilateral dislocation were retrospectively recorded. The connection lines were defined on the coronal plane or axial plane of CT. The connection lines of the Y-shaped cartilage center on both sides were line H, the connection lines of the lowest edge of the ischia on both sides were line b, and the middle part of the two lines were divided into Zone 1 and Zone 2. Zone 1 represented the marginal area, and Zone 2 represented the central area. The thickness of ischium, epiphyseal plate, iliac bone thickness and epiphyseal quotient of femoral head on both sides were measured and compared. **Results** In coronal CL1-CL4, the ischial thickness gradually increased with age from 1 to 10 years old, and decreased from 11 to 15 years old. The range of ischial thickness of CL1-CL4 was 2.1 – 16.7 mm, 3.3 – 18.9 mm, 2.4 – 13.6 mm and 3.0 – 14.9 mm, respectively. The width of the epiphyseal plate in coronal position, the width of the epiphyseal plate in axial position, and the thickness of the iliac bone in the affected side were greater than those in the opposite side and had statistical differences. In the correlation test of ischial thickness with age and degree of dislocation, the thickness of ischial bone in coronal and axial positions was moderately correlated with age ($r=0.413-0.570$, $P<0.05$), and had no correlation with the degree of dislocation ($r=0.024-0.073$, $P>0.05$). In the correlation tests of ischial thickness and epiphyseal thickness CD, epiphyseal quotient, coronal iliac thickness IL on the affected side, the thickness of ischial bone in different parts and sections were positive ($r=0.427-0.681$, $P<0.05$), and the thickness of ischial bone was negatively correlated with the epiphyseal quotient ($r=0.130-0.241$, $P<0.05$). **Conclusion** The ischial thickness in coronal zone 1 and zone 2 of 1 – 10 years old children with unilateral DDH increased at a stable rate with age, and the growth rate decreased gradually in 11 – 15 years old. The thickness of ischia on the affected side in different sections and areas were greater than that on the opposite side. The difference in the central area of the hip joint was greater than that in the marginal area. The thickness of ischia was positively correlated with acetabular cartilage index, epiphyseal plate thickness, and coronal iliac bone thickness.

Key words developmental dysplasia of the hip; computed tomography; ischial; length; evolution; children

(上接第 1209 页)

cultured *in vitro* and to establish a prediction model for the purity of peripheral blood NK cells. **Methods** The peripheral blood of 93 healthy donors was collected, the purity of NK cells was detected by flow cytometry after *in vitro* culture, and the clinical physical examination indicators of the donors were collected. 77 cases were randomly selected as the training set, and the remaining 16 cases were used as the test set. Pearson's correlation test was used to analyze the indexes related to the purity of NK cells, and multivariate regression analysis was used to establish a model for predicting the purity of NK cells. We analyzed the correlation between model predicted purity and actual purity and the area under the receiver operating characteristic curve (ROC) of the model. **Results** The indicators correlated with the purity of NK cells were age, triiodothyronine (T3), red blood cell distribution width (RDW), red blood cell volume distribution width standard deviation (RDW-SD), creatinine (Cr), lymphocyte percentage (LY%), glucose (Glu), percentage of eosinophils (EOS%), number of eosinophils (EOS) and platelet volume distribution width (PDW). For regression model, NK index was $-164.557 + 2.544 \text{ RDW-SD} + 3.730 \text{ PDW} + 4.389 \text{ Glu} + 10.237 \text{ T3}$ ($R^2=0.494$, $P<0.05$). In the test set, the coefficient of determination (*R-Square*) between the predicted value and the true value of the NK index model was 0.725, P was 0.001, and the area under the ROC curve of the NK index model in the training set and test set was 0.815 and 0.938. **Conclusion** The NK index model can better predict the purity of peripheral blood-derived NK cells cultured *in vitro*, and provide theoretical guidance for the subsequent formulation of clinical NK cells reinfusion treatment plans.

Key words NK cells; red cell distribution width; peripheral blood; immunocytotherapy; predictive index